



Helena Becerra Vitorino Moura Ferreira

Licenciada em Ciências de Engenharia Biomédica

**Caracterização de sacos Tedlar® e Flex
Film de recolha de ar exalado**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Professora Doutora Valentina Vassilenko,
Professora auxiliar na Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Mário António Basto Forjaz Secca
Arguente: Prof. Doutor Mário Emanuel Campos de Sousa Diniz
Vogal: Prof. Doutora Valentina Borissovna Vassilenko



Helena Becerra Vitorino Moura Ferreira

Licenciada em Ciências de Engenharia Biomédica

**Caracterização de sacos Tedlar® e Flex
Film de recolha de ar exalado**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Professora Doutora Valentina Vassilenko,
Professora auxiliar na Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Mário António Basto Forjaz Secca
Arguente: Prof. Doutor Mário Emanuel Campos de Sousa Diniz
Vogal: Prof. Doutora Valentina Borissovna Vassilenko

Caracterização de sacos Tedlar® e Flex Film de recolha de ar exalado

Todos os direitos reservados.

É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à minha orientadora, a Professora Valentina Vassilenko, pelo seu apoio e orientação na realização deste projecto e pela confiança que depositou em mim e no meu trabalho.

À Ana Margarida Bragança que muito contribuiu para este trabalho, pela amizade, dicas, ajuda e inesgotável disponibilidade.

À Ana Catarina Silva pelos conselhos e amizade.

Aos meus colegas e amigos que de alguma maneira me ajudaram nesta fase e ao longo de todo o curso, pelo incentivo, preocupação e amizade.

Aos meus pais, António Manuel e Carmen, pelo apoio incondicional e por terem possibilitado a minha chegada até aqui. À minha irmã, Teresa, e a toda a minha família.

Ao João por toda a boa disposição, amor, carinho e paciência.

Resumo

Na prática clínica as análises de ar exalado ainda não se encontram implementadas, por diversos motivos, entre eles a falta de uniformização no processo de recolha. O método mais utilizado para o fazer é através da recolha do ar em sacos, para conservar, transportar até ao sistema de análise e posteriormente manusear a amostra. Até agora não está claro se os materiais destes sacos são inertes, ou se em certas condições libertam compostos orgânicos voláteis (VOCs) que podem tanto interferir na amostra como ser confundidos como provenientes desta. Principalmente se as substâncias libertadas se situarem em concentrações nas zonas de parte por bilião de volume (ppbv) e parte por trilião de volume (pptv).

Neste sentido, o objectivo principal deste trabalho foi analisar os compostos orgânicos voláteis que são emitidos de dois tipos de sacos, os Tedlar® e os Flex Film. Para tal utilizou-se uma técnica de análise inovadora e muito sensível, o espectrómetro de mobilidade iónica acoplado a uma coluna multicapilar (MCC-IMS).

Os recipientes foram analisados em função da temperatura e tempo, bem como numa simulação de variação destes parâmetros. Foi efectuada a aprendizagem da técnica, manuseamento do aparelho e optimização dos parâmetros experimentais para a realização das análises.

As experiências efectuadas mostraram que esta técnica é muito sensível, revelando-se eficaz na detecção dos compostos libertados pelos sacos, uma vez que foi possível detectar 6 picos provenientes do Tedlar® e 4 picos provenientes do Flex Film com concentrações na ordem dos ppbv. A evolução destes picos com as variações no tempo e temperatura foram analisadas e os valores de mobilidade reduzida determinados. Os resultados experimentais obtidos permitiram fazer uma análise qualitativa sobre os VOCs libertados.

O trabalho foi efectuado nas instalações da NMT, lda, uma spin-off da FCT UNL situada no Madan Parque, que está a desenvolver esta técnica e é detentora do único aparelho em Portugal. Os resultados obtidos são originais e permitiram a submissão de um artigo para o *International Journal of Ion Mobility Spectrometry*.

Termos chave: Tedlar®, Flex Film, VOCs – compostos orgânicos voláteis, IMS – espectrometria de mobilidade iónica

Abstract

In clinical practice breath analysis aren't implemented yet, for several reasons, like the lack of standardization in the breath collecting process. The most common method of collecting breath is through the use of appropriate bags that conserves, transports until the analysis system and enables sample handling. However it is not clear if these bags' materials are inert or if in certain conditions release volatile organic compounds (VOCs), that might interfere with the sample or be mistaken as compounds originated from the sample. Especially if the substances released are in concentrations of parts per billion of volume (ppbv) or parts per trillion of volume (pptv).

In that way the main goal of this work was the analysis of volatile organic compounds that are emitted from two types of bags, Tedlar® and Flex Film. To perform this task a very sensitive and new analytical technique was used, the ion mobility spectrometer coupled to a multicapillary column (MCC-IMS).

The bags were analyzed in function of temperature and time, as well as in a simulation of variation of these parameters. The learning of the technique and handling of the device was made, and the experimental parameters were optimized.

The performed experiments showed that this technique is very sensitive, revealing effective in the detection of the compounds released by the bags, since it was possible to detect 6 peaks from the Tedlar® and 4 peaks from the Flex Film with concentrations in the order of ppbv. The evolution of the peaks in function of time and temperature were analyzed and reduced mobility values were determined. The experimental results obtained led to a qualitative analysis of VOCs released.

The experimental work was performed in NMT, Ida facilities, a spin-off of FCT UNL, located in Madan Parque, that is developing this technique and owns the only device that exists in Portugal. The results obtained are unique and allowed the submission of an article to the *International Journal of Ion Mobility Spectrometry*.

Keywords: Tedlar®, Flex Film, VOCs – volatile organic compounds, IMS – ion mobility spectrometry

Índice de Matérias

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2 – OBJECTO DE ESTUDO	5
2.1. ANÁLISE DO AR EXALADO COMO UMA FERRAMENTA EMERGENTE	5
2.2. MÉTODOS DE RECOLHA E ARMAZENAGEM	9
2.2.1. Tedlar® bags	12
2.2.2. Flex Film bags	15
CAPÍTULO 3 – TÉCNICA DE CARACTERIZAÇÃO DE VOCs	17
3.1. IMS	17
3.1.1. Breve análise da técnica e aplicações	17
3.1.2. Princípio físico	19
3.2. MCC-IMS	31
3.2.1. Descrição do aparelho experimental	34
3.2.2 Interface com o utilizador	38
3.3 OUTRAS TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA ANÁLISE DE VOCs	42
3.3.1. GC-MS	43
3.3.2. PTR-MS	47
3.3.3. SIFT-MS	48
3.3.4. GC-IMS	49
CAPÍTULO 4 – MÉTODO EXPERIMENTAL DE OBTENÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS	51
4.1. MATERIAIS E MONTAGEM EXPERIMENTAL	51
4.2 TESTES DE OPTIMIZAÇÃO	52
4.2.1. Determinação da massa óptima de amostra	52
4.2.2. Optimização do modo de operação para a realização de análises	55
4.2.3. Escolha da polaridade	60
4.3. REALIZAÇÃO DA PARTE EXPERIMENTAL	62
4.3.1. Análise em função do tempo e temperatura	62
4.3.2. Simulação de 48 horas	65
4.4. AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS	66
4.4.1. <i>Software</i> LAV®	66
4.4.2. Tratamento de dados	70
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1. VALORES DE MOBILIDADE REDUZIDA	73

5.2. RESULTADOS DA ANÁLISE EM FUNÇÃO DO TEMPO E TEMPERATURA	75
5.2.1. Análise dos gráficos obtidos a partir das amostras de Tedlar®	76
5.2.2. Análise dos gráficos obtidos a partir das amostras de Flex Film.....	82
5.3. SIMULAÇÃO DE 48 HORAS.....	86
5.3.1 Análise das amostras de Tedlar®	86
5.3.2 Análises das amostras de Flex Film	87
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS	91
6.1 CONCLUSÕES	91
6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS	94
Bibliografia	95

Índice de Figuras

Figura 2. 1 – Imagem esquemática da libertação de compostos orgânicos voláteis através da respiração, imagem adaptada de (16).	6
Figura 2. 2 – Exemplos de sacos do tipo a) Flex Foil, imagem obtida de (23), b) Tedlar®, imagem obtida de (24) e c) Flex Film, imagem obtida no laboratório.....	11
Figura 2. 3 – Monómero de fluoreto de vinil (25).....	12
Figura 2. 4 – Estabilidade de alguns VOCs nos sacos Flex Film e Tedlar® dados em termos de percentagem de composto recuperado ao fim de 24 horas dentro dos sacos (14).....	15

Figura 3. 1 – Princípio de funcionamento do IMS. Imagem adaptada de (38). a) as moléculas do gás neutro são ionizadas na câmara de ionização, onde também são introduzidas as moléculas da amostra, formam-se os iões-produto. b) os iões atravessam a grelha de separação, entrando no tubo de deriva e viajando em oposição ao gás de deriva. c) e d) os iões são separados de acordo com a sua massa e estrutura, chegando ao detector, obtém-se assim o espectro de mobilidade.	20
Figura 3. 2 – a) Exemplo de um espectro de mobilidade. b) O mesmo espectro de mobilidade, agora relacionado com o tempo de retenção. No eixo dos xx encontra-se o tempo de deriva e no eixo dos yy, o tempo de retenção. Imagem obtida no laboratório.	21
Figura 3. 3 – Imagem do <i>RIP</i> numa análise feita ao sistema, formação positiva. Imagem obtida no laboratório.	23
Figura 3. 4 – Imagem do <i>RIP</i> numa análise feita ao sistema, formação negativa. Imagem obtida no laboratório.	24
Figura 3. 5 – Exemplo de um espectro com a presença de um dímero, observa-se uma ligeira diminuição de intensidade do <i>RIP</i> na linha de formação dos picos. Imagem obtida no laboratório.....	26
Figura 3. 6 – Exemplo de um espectro saturado, observa-se o desaparecimento do <i>RIP</i> na zona onde há maior presença de iões produto. Imagem obtida no laboratório.	26
Figura 3. 7 – Dois espectros relativos ao sistema limpo, onde se visualiza claramente a humidade presente. a) O pico da água (à esquerda do <i>RIP</i>) é bastante intenso, observa-se uma clara diminuição da intensidade do <i>RIP</i> na mesma zona. b) O pico da humidade encontra-se arrastado ao longo do espectro (à esquerda do <i>RIP</i>), a intensidade do <i>RIP</i> diminui de forma uniforme. Imagens obtidas no laboratório.	29
Figura 3. 8 – Exemplo de um espectro. No eixo dos xx encontra-se o tempo de deriva e no eixo dos yy, o tempo de retenção. Imagem obtida no laboratório.	31
Figura 3. 9 – Exemplo de curvas de calibração, referentes aos compostos 3-Metil-1-Butanol, Heptanona, Benzaldeído e 2-Nonanona (45).....	33
Figura 3. 10 – Imagem do aparelho MCC-IMS utilizado para a realização deste trabalho.	34
Figura 3. 11 – Esquema interno do aparelho MCC-IMS (46).....	35
Figura 3. 12 – Esquemas da posição A e B da válvula do MCC-IMS (46).....	36
Figura 3. 13 – Imagem de uma coluna multicapilar (MCC). Corte longitudinal. Imagem adaptada de (39).	38
Figura 3. 14 – Painel frontal do aparelho.....	39

Figura 3. 15 – Imagem do ecrã na opção <i>Spectra</i> .	39
Figura 3. 16 – Imagem do ecrã na opção <i>Defaults</i> .	40
Figura 3. 17 – Imagem do ecrã na opção <i>Programs</i> .	41
Figura 3. 18 – Imagem do ecrã na opção <i>System</i> .	42
Figura 3. 19 – Esquema do sistema GC-MS (50).	43
Figura 3. 20 – Exemplo de um espectro de massa. Este espectro refere-se ao pentano (49).	44
Figura 3. 21 – Esquema ilustrativo de um PTR-MS (HC – fonte de ionização) (48).	47
Figura 3. 22 – Esquema ilustrativo do instrumento e funcionamento do SIFT-MS (48).	49

Figura 4. 1 – Sistema agulha, tubo de Teflon® e <i>nut</i> utilizado para fazer a introdução da amostra no analisador. Imagem obtida no laboratório.	52
Figura 4. 2 – Imagem da montagem experimental utilizada para realizar as análises. Imagem obtida no laboratório.	52
Figura 4. 3 – Espectros das amostras de Tedlar® com massas: a) 100 mg, b) 200 mg, c) 300 mg, d) 400 mg e e) 500 mg. Imagens obtidas no laboratório.	53
Figura 4. 4 – Percurso efectuado pela amostra durante a posição A (setas a rosa). Imagem adaptada de (46).	57
Figura 4. 5 – Percurso efectuado pela amostra na posição B (setas a rosa). Imagem adaptada de (46).	58
Figura 4. 6 – a) Espectro obtido com uma abertura da válvula de 12 segundos b) Espectro obtido com uma abertura da válvula de 5 segundos. Imagens obtidas no laboratório.	59
Figura 4. 7 – Espectros obtidos no modo negativo. a) Amostra de Tedlar® aquecida a 60°C durante 10 minutos. b) Amostra de Flex Film aquecida a 60°C durante 10 minutos. c) Análise ao ar ambiente da sala. Imagens obtidas no laboratório.	61
Figura 4. 8 – Equilíbrio de <i>headspace</i> . A amostra (1) liberta os compostos voláteis que vão entrar em equilíbrio com o espaço livre de amostra no frasco (2), a agulha e o tubo (3), este último ligado ao MCC-IMS (4). Imagem obtida no laboratório.	63
Figura 4. 9 – Espectro correspondente ao ar da sala feito no dia 5 de Abril de 2011. Observa-se a existência de picos devido a compostos presentes no ar ambiente. Imagem obtida no laboratório.	65
Figura 4. 10 – Espectro correspondente a um frasco vazio, roscado e com um septo de borracha, aquecido a 60°C durante 60 minutos. Os três picos que se observam são devidos ao septo de borracha. Imagem obtida no laboratório.	65
Figura 4. 11 – Visualização simultânea de um espectro (mapa de cores) e de um espectro individual correspondente ao <i>spectra</i> 49 (ao qual está associado o tempo de retenção de 11,088s). Imagem obtida no laboratório.	67
Figura 4. 12 – Nesta imagem visualiza-se o mesmo espectro da imagem 4.10 (mapa de cores), mas o espectro individual já corresponde ao <i>spectra</i> 138 (ao qual está associado o tempo de retenção de 31,647s). Imagem obtida no laboratório.	67
Figura 4. 13 – Janela do software LAV®. (1) Menu que permite dispor todos os ficheiros obtidos e guardados numa pasta, as áreas seleccionadas no <i>Areaset</i> , entre outras opções; (2) Permite colocar uma série de ficheiros previamente seleccionados e guardá-los sob a forma de um projecto; (3) Onde é feita a visualização do espectro obtido, ou do espectro e espectros unitários simultaneamente. Imagem adaptada de imagem obtida no laboratório.	68

Figura 4. 14 – Imagem do espectro de uma amostra de Tedlar® e respectivo <i>Areaset</i> . Imagem adaptada de imagem obtida no laboratório.	69
Figura 4. 15 – Diferentes espectros com o mesmo <i>Areaset</i> sobreposto a) espectro de Flex Film aquecido a 60°C durante 60 minutos, com o respectivo <i>Areaset</i> b) Espectro do ar da sala, obtido no mesmo dia da amostra de Flex Film c) Espectro do frasco vazio com o septo colocado, aquecido a 60°C durante 60 minutos. Imagem obtida no laboratório.	71
Figura 5. 1 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 60°C.	76
Figura 5. 2 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 50°C.	76
Figura 5. 3 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 40°C.	77
Figura 5. 4 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 30°C.	77
Figura 5. 5 – a) Espectro de uma amostra de Tedlar®, amostra 2, aquecida a 50°C durante 10 minutos. b) Espectro de uma amostra de Tedlar®, amostra 4, aquecida a 50°C durante 10 minutos. Imagens obtidas no laboratório.	78
Figura 5. 6 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 60 minutos.	78
Figura 5. 7 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 20 minutos.	79
Figura 5. 8 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 15 minutos.	79
Figura 5. 9 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 10 minutos.	79
Figura 5. 10 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 5 minutos.	80
Figura 5. 11 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 1 minuto.	80
Figura 5. 12 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 60°C.	82
Figura 5. 13 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 50°C.	83
Figura 5. 14 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 40°C.	83
Figura 5. 15 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 60 minutos.	84
Figura 5. 16 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 20 minutos.	84
Figura 5. 17 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 15 minutos.	85
Figura 5. 18 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 10 minutos.	85

Figura 5. 19 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos de Tedlar® antes e depois da simulação de 48 horas.....	86
Figura 5. 20 – Imagem dos espectros de uma amostra de Tedlar® a) para t=0h, b) para t=48h. Imagem obtida no laboratório.	87
Figura 5. 21 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos de Flex Film antes e depois da simulação de 48 horas.....	88
Figura 5. 22 – Imagem dos espectros de uma amostra de Flex Film a) para t=0h, b) para t=48h. Imagem obtida no laboratório.	88
Figura 5. 23 – Espectro de uma amostra de Flex Film aquecida a 30°C durante 60 minutos. Imagem obtida no laboratório.	89

Índice de Tabelas

Tabela 2. 1 – Lista dos compostos orgânicos voláteis que estão presentes com maior frequência no ar exalado humano.....	9
Tabela 2. 2 – Características gerais do filme Tedlar® (27).	12
Tabela 2. 3 – Compostos identificados como libertados pelo filme Tedlar®. Dados obtidos de (20), (29) e (30).....	14
Tabela 2. 4 – Propriedades de permeabilidade do Flex Film e do Tedlar® (14).....	16
Tabela 3. 1 – Algumas características técnicas do MCC-IMS utilizado neste trabalho (46).....	38
Tabela 3. 2 – Valores padrão a utilizar no MCC-IMS.....	40
Tabela 3. 3 – Custos associados à obtenção e manutenção de aparelhos de GC-MS e IMS, valores em euros (dados retirados de (47), (45) e (54))	46
Tabela 4. 1 – Modo de operação padrão para a realização de análises, EXP2 (reprodução da tabela que surge no ecrã do MCC-IMS).	54
Tabela 4. 2 – Parâmetros de análise do modo de operação EXP2 inicial.....	54
Tabela 4. 3 – Modo de operação EXP2 após as alterações (reprodução da tabela que surge no ecrã do MCC-IMS).	55
Tabela 4. 4 – Parâmetros de análise do modo de operação EXP2 após as alterações.	56
Tabela 4. 5 – Tempos e temperaturas de aquecimento das amostras	62
Tabela 4. 6 – Modo de operação de limpeza CLEANING_1 (reprodução da tabela que surge no ecrã do MCC-IMS).	64
Tabela 4. 7 – Parâmetros de análise do modo de operação CLEANING_1	64
Tabela 5. 1 – Valores calculados de mobilidade reduzida, K_0 , e valores obtidos de tempo de deriva, td , e tempo de retenção, tr , dos picos provenientes da amostra de Tedlar®	74
Tabela 5. 2 – Valores calculados de mobilidade reduzida, K_0 , e valores obtidos de tempo de deriva, td , e tempo de retenção, tr , dos picos provenientes da amostra de Flex Film	74

Simbologia e Notações

amu – unidade de massa atómica

CLEANING_1 – modo de operação do aparelho para a realização de limpeza

COS – sulfureto de carbonilo

CS₂ – dissulfureto de carbono

E – campo eléctrico

ECD – detector de captura electrónica

E1 – fluxo do gás de deriva

E2 – fluxo do gás de arraste

EPC1 – controlador de pressão electrónico do gás de deriva

EPC2 – controlador de pressão electrónico do gás de arraste

EXP2 – modo de operação do aparelho para a análise de amostras

GC – cromatografia gasosa

GC-MS – espectrometria de massa com cromatografia gasosa

GC-IMS – espectrometria de mobilidade iónica com cromatografia gasosa

IMS – espectrometria de mobilidade iónica

IMS-TOF-MS – espectrometria de massa de tempo de voo com espectrometria de mobilidade iónica

K – mobilidade iónica

K₀ – mobilidade reduzida

LAV[®] - *software* de gestão e interpretação dos espectros

l_d - comprimento do tubo de deriva

LC-IMS-MS – espectrometria de massa e espectrometria de mobilidade iónica com cromatografia líquida

MCC – coluna multicapilar

MCC-IMS – espectrometria de mobilidade iónica com coluna multicapilar

MS – espectrometria de massa

m/z – relação massa carga

nmol/l – nanomol por litro

NO – óxido nítrico

OFR – Radicais livres de oxigénio

P – bomba

pA – picoampere

P_d – pressão no interior do tubo de deriva

P_0 – pressão ambiente

pmol/l – picomol por litro

ppbv – partes por bilião de volume

ppm – partes por milhão

pptv – partes por trilião de volume

PTFE – Politetrafluoretileno

PTR-MS – espectrometria de massa com reacção de transferência de protões

R – gravação do espectro

RIP – pico de iões reactivos

S – área de análise de substâncias

SIFT-MS – espectrometria de massa associada a um tubo de deriva de selecção de iões

T_0 – temperatura ambiente

T1 – temperatura do IMS;

T2 – temperatura da MCC;

T3 – temperatura da válvula;

T4 – temperatura do sample loop;

T5 – temperatura do tubo aquecido entre a MCC e o sample loop;

T6 – temperatura do tubo de inserção da amostra;

T_d – temperatura no interior do tubo de deriva

t_d – tempo de deriva

t_{dcor} – tempo de deriva corrigido

t_r – tempo de retenção

V – válvula

v_d – velocidade de deriva

VOCs – compostos orgânicos voláteis

VSCs – compostos sulfúricos voláteis

$\Delta\tau$ – tempo de abertura da grelha

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

O grande avanço da ciência e mais recentemente da tecnologia são os principais responsáveis pelo melhoramento e crescente aumento de tratamentos médicos existentes actualmente. Doenças que há alguns anos seriam incuráveis têm hoje uma taxa de sucesso bastante animadora. Mas não só as melhorias nos tratamentos têm contribuído significativamente no combate a doenças, o primeiro passo para um tratamento eficaz é o diagnóstico dessa doença. Também a este nível se têm verificado avanços, no entanto, o diagnóstico precoce é a chave para o aumento da taxa de sobrevivência.

Por vezes os meios de detecção existentes não permitem um rastreio antecipado de doenças cujos estádios iniciais são assintomáticos, é o exemplo do cancro pulmonar (1), da diabetes (2), hipertensão (3), entre outras. No caso dos cancros está provado que a taxa de sobrevivência está fortemente relacionada com a detecção precoce da doença (4), pois o diagnóstico prematuro aumenta a possibilidade de cura total (5).

É por isso fundamental a existência de um meio de diagnóstico precoce, eficaz, rápido, de baixo custo, e que não seja desconfortável ou doloroso para o paciente. A análise de ar exalado reúne todas estas características.

A análise de ar exalado permite obter uma quantidade de informação relevante acerca do organismo, através da detecção dos compostos orgânicos voláteis (VOCs) presentes no mesmo (6) e (7), relacionando as variações na concentração de compostos provenientes do metabolismo, assim como a presença de novos compostos, com o estado de saúde do paciente. Este método é também não invasivo (6), (7) e (8) e pode vir a ter um baixo custo de utilização.

Na rotina clínica a análise de VOCs presentes no ar exalado como método de diagnóstico ainda não acontece como prática comum, à excepção da utilização deste método para a detecção de uma bactéria (*Helicobacter pylori*) responsável por infecções de estômago (8). O motivo passa pela falta de informação acerca da origem e significado de alguns compostos detectados (6), (7) e (8) e uniformização dos métodos de recolha e de análise (9) e (10).

Os estudos feitos até aqui fazem a recolha de ar exalado directamente para o instrumento de análise ou recorrendo à utilização de um recipiente de recolha. Este último método traz várias vantagens devido à sua simplicidade (11).

Existem diversos tipos de recipientes utilizados para a recolha e conservação de ar exalado, actualmente os mais utilizados são os sacos Tedlar® (12), ou mais recentemente os Flex Film.

A utilização destes dois recipientes para a recolha e armazenamento de amostras de ar exalado sujeita-os a condições ambientais diversas, principalmente com variações de temperatura, seja no momento da recolha, no transporte dos mesmos ou durante o seu armazenamento. Uma vez que são constituídos por filmes poliméricos, que como qualquer tipo de polímero, de seu nome comum plástico, são susceptíveis de libertar compostos (13) que poderão interagir quimicamente com a amostra ou serem erradamente confundidos com compostos provenientes da amostra.

Pretende-se com este trabalho comparar os sacos Tedlar® e Flex Film utilizados para a recolha e armazenamento de VOCs, através da análise dos compostos libertados por estes quando sujeitos a determinadas temperaturas durante determinados tempos de aquecimento, e quando sujeitos a variações na temperatura durante 48 horas, simulando uma situação real. Nomeadamente o comportamento do Flex Film por ser um produto recente no mercado e que ainda não foi sujeito a um grande número de estudos.

O único estudo encontrado relativo a este saco foi efectuado pela empresa fabricante dos mesmos, SKC®, onde foi feita uma avaliação da estabilidade de alguns compostos nestes sacos (14). No entanto, até agora não há referência de nenhum estudo que investigue os compostos libertados pelo Flex Film, sendo o estudo a que se refere esta tese o primeiro.

Pretendeu-se também utilizar e explorar as potencialidades de uma técnica de análise inovadora e de elevada sensibilidade, o espectrómetro de mobilidade iónica acoplado a uma coluna multicapilar (MCC-IMS). Esta técnica é extremamente recente no que toca à sua utilização como método analítico e bastante promissora. A utilização desta técnica para a

análise dos compostos libertados pelos sacos Tedlar® e Flex Film é também inovador, uma vez que até aqui não tinha ainda sido realizado.

Inicialmente, para o desenvolvimento deste trabalho, as análises dos compostos libertados pelos sacos seriam feitas utilizando também um outro instrumento de análise, o quadrupolo. Este instrumento foi requalificado e colocado a funcionar. No entanto, revelou-se inadequado para ser utilizado nesta experiência em particular, o principal motivo foi o facto de a sua sensibilidade ser muito inferior em relação aos níveis de sensibilidade conseguidos com o MCC-IMS, este factor é muito importante quando se estão a analisar compostos presentes em concentrações muito baixas cujos limites de detecção são muito pequenos. A percepção da impossibilidade de utilizar este instrumento, o quadrupolo, apenas se verificou após as primeiras análises com o MCC-IMS. Apesar de não ter sido utilizado neste trabalho o quadrupolo encontra-se a funcionar perfeitamente, estando no laboratório de física onde será utilizado.

A escrita desta dissertação foi dividida em 6 capítulos. No capítulo 2 faz-se uma introdução teórica ao ar exalado e suas aplicações, abordam-se os métodos de recolha em estudo, os sacos Tedlar® e Flex Film são vistos em maior detalhe. O capítulo 3 é dedicado à técnica de análise, o princípio físico, o funcionamento do aparelho e a sua interacção com o utilizador, é feita ainda uma comparação entre esta técnica e outras técnicas analíticas também de elevada sensibilidade, como a espectrometria de massa com cromatografia gasosa (GC-MS), considerada técnica de referência, a espectrometria de massa com reacção de transferência de prótons (PTR-MS), a espectrometria de massa associada a um tubo de deriva de selecção de iões (SIFT-MS) e a espectrometria de mobilidade iónica com cromatografia gasosa (GC-IMS). A descrição do método experimental e do tratamento de dados é feita no capítulo 4. No capítulo 5 são dados os resultados obtidos e é feita a discussão dos mesmos. Por fim as conclusões finais deste trabalho e perspectivas futuras encontram-se no capítulo final, capítulo 6.

CAPÍTULO 2 – OBJECTO DE ESTUDO

2.1. ANÁLISE DO AR EXALADO COMO UMA FERRAMENTA EMERGENTE

O ar exalado permite, através da sua análise, obter informações acerca das condições metabólicas humanas. Este transporta substâncias endógenas e também exógenas, que uma vez analisadas podem dar a conhecer a presença de determinadas doenças, mesmo em estados muito iniciais, ou a presença de substâncias nocivas.

A grande quantidade de informação que os VOCs presentes no ar exalado poderão fornecer, permitindo a realização de diagnósticos clínicos de rotina muito completos no controlo de desordens metabólicas provocadas por doenças específicas, ou no controlo da exposição a substâncias tóxicas (8), associado ao método de recolha, não invasivo e por conseguinte totalmente indolor, são as principais características que têm atraído o interesse científico clínico sobre o ar exalado ao longo da última década (6).

O ar exalado é constituído maioritariamente por nitrogénio, oxigénio, dióxido de carbono, água e gases inertes (15), a pequena fracção restante é constituída por compostos orgânicos voláteis (denominados VOCs, do inglês *volatile organic compounds*) em concentrações muito baixas, na ordem de parte por bilião de volume (ppb_v) a parte por trilião de volume (ppt) (7), ou seja, na ordem dos nmol/l a pmol/l (15).

Os VOCs presentes no ar exalado são em parte gerados no organismo mas também provenientes de contaminantes do ar ambiente (6). Os VOCs relacionados com o organismo são gerados por este em diversos processos metabólicos, posteriormente são libertados para o sangue (6), a sua presença no ar exalado deve-se a um equilíbrio quase instantâneo entre o sangue que circula nos pulmões e o ar dos alvéolos pulmonares (8).



Figura 2. 1 – Imagem esquemática da libertação de compostos orgânicos voláteis através da respiração, imagem adaptada de (16).

Os VOCs originados no organismo funcionam como marcadores bioquímicos endógenos pela sua presença singular, mas na maioria dos casos, pela sua presença dentro de um determinado conjunto de VOCs a uma dada concentração, que funciona como indicador de uma doença, podendo ser utilizados para fins diagnósticos. Muitos estudos foram realizados de modo a identificar biomarcadores no ar exalado relacionados com doenças tão diversas como doenças pulmonares, por exemplo cancro pulmonar (4), também outros tipos de cancro, como o cancro da mama (17); doenças do fígado (18) e intestinais (9), falhas renais (18), artrite reumatóide (17), doenças do foro psíquico, como esquizofrenia (9) e (17) e ainda determinadas alterações como a peroxidação lipídica induzida por UV (9) e alterações devido a rejeições de transplantes cardíacos, enfarte do miocárdio (17), entre outras.

Cada amostra de ar exalado é composta por cerca de 200 VOCs, a maioria deles presentes em concentrações picomolares (6) e (7). Alguns destes VOCs têm presença constante e são comuns a todas as amostras, os restantes variam de pessoa para pessoa. Os diferentes VOCs observados devem-se à presença de doenças, aos alimentos ou medicamentos ingeridos ou a diferentes situações de exposição ambiental. Até agora, já foram detectados cerca de 3000 VOCs diferentes possíveis de estar presentes no ar exalado humano (6) e (7), destes, 500 foram já identificados, sendo compostos conhecidos (10).

As análises de ar exalado datam do início da história da medicina (6), desde os tempos da Grécia antiga que é sabido que o hálito humano pode providenciar informação acerca do estado de saúde de um paciente (8) e (19), uma vez que o seu odor é alterado na presença de

determinadas doenças (6). Um médico experiente poderia facilmente reconhecer o típico cheiro frutado da acetona devido à diabetes, o cheiro azedo a peixe de uma doença de fígado avançada, o cheiro a urina devido a falha renal, ou o cheiro pútrido de um abscesso pulmonar (8) e (19).

A era moderna, com a evolução científica e tecnológica, trouxe novos avanços nas análises de ar exalado, permitindo passar para um nível muito mais detalhado e descartar erros humanos de diagnóstico. As análises de ar exalado, como hoje as conhecemos, tiveram o seu início em 1971, quando Linus Pauling recolheu VOCs de uma amostra de ar exalado e usou cromatografia gasosa para os analisar, detectando mais de 200 compostos diferentes em concentrações muito baixas (6), (9), (18) e (19).

Depois deste primeiro passo as análises de ar exalado iniciaram um longo percurso, pois os testes de ar exalado têm vindo a revelar-se um verdadeiro desafio. Inicialmente pela dificuldade técnica, devido à baixa sensibilidade dos aparelhos, em analisar os VOCs do ar exalado que estão presentes em concentrações picomolares (6) e detêm diferentes propriedades, como a pressão de vapor e diferentes solubilidades em água (10), associando ainda ao facto de se inserirem numa matriz que contém muita humidade. O progresso técnico dos métodos analíticos, conseguido em grande parte nas décadas de 80 e 90 (15), permitiu o desenvolvimento de espectrómetros cada vez mais sensíveis associados a técnicas de separação cada vez mais sofisticadas, o que veio reduzir esta dificuldade.

A determinação da origem e do significado bioquímico dos VOCs, uma vez que a maioria é ainda desconhecido (6) e (7), revelou-se como outra dificuldade a necessitar de ser ultrapassada, também neste campo se têm vindo a observar evoluções significativas que levaram a um grande progresso no entendimento da origem destes compostos (6). Apesar de todos estes desafios parcialmente ultrapassados, as análises de ar exalado para a detecção de VOCs ainda não foram introduzidas na prática clínica (5) e (6), a principal razão é a dificuldade associada com a falta de uniformização na metodologia de recolha e análise das amostras (6).

As diferenças nos métodos de recolha passam por questões como a variação das taxas de fluxo expirado, ou a fracção de ar utilizado nas análises. As alterações nas taxas de fluxo provocam diferenças no tempo de contacto entre as mucosas das vias respiratórias e o ar exalado, modificando as concentrações exaladas (9). Uma amostra de ar exalado pode conter o ar na sua totalidade, o que inclui o *dead-space air*, que é o ar que ocupa as vias respiratórias e não toma parte nas trocas gasosas com o sangue, logo assemelha-se mais às condições ambientais (9), ou pode conter apenas o ar alveolar. O ar alveolar não está dissolvido, pode por isso

conter uma concentração de VOCs endógenos até 3 vezes superior à concentração presente em amostras contendo ar exalado na sua totalidade (9). Todos estes factores provocam variações nos resultados obtidos levando a que se tornem difíceis de comparar entre si.

Apesar de todos os obstáculos que este tipo de análise levanta, muitos especialistas consideraram os testes de ar exalado muito promissores (6). Em 2001 Schubert disse (6),

“We have a problem of standardization, defining markers, and sampling methods. But the prospects are so exciting; I think it’s worthwhile to continue and to do basic research.”

A investigação feita em torno das análises de ar exalado já revelou, no entanto, alguns resultados, actualmente já existem algumas análises de ar exalado com aplicação prática. Como é o exemplo do óxido nítrico (NO), um marcador cuja análise já faz parte das práticas clínicas (10). O NO é um gás inorgânico originado nas vias respiratórias e pode funcionar como marcador de inflamação destas (18). Este composto foi sujeito a estudos intensos durante mais de uma década, e necessitou da utilização de processos de análise uniformes, o que muito contribuiu ao progresso para aplicação desta técnica em clínica (10).

Os testes de ar exalado são também aplicados rotineiramente na avaliação da concentração de etanol no sangue para os testes de alcoolemia (8) e na detecção da ^{13}C -ureia no diagnóstico de infecções por *Helicobacter pylori* (8). A infecção por esta bactéria está associada ao cancro do estômago, o segundo tipo de cancro com maior incidência no mundo (5). Neste teste o paciente ingere uma dose de ^{13}C -ureia ($^{13}\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), utilizando espectrometria de massa observa-se o aumento do carbono 13 do dióxido de carbono do ar exalado ($^{13}\text{CO}_2$), caso a presença da bactéria seja positiva (19).

Tabela 2. 1 – Lista dos compostos orgânicos voláteis que estão presentes com maior frequência no ar exalado humano.

VOCs que ocorrem com maior frequência no ar exalado humano	Características desses VOCs
Isopreno	Este composto está sempre presente (6).
Acetona	Um dos VOCs mais abundante no ar exalado humano (6).
Pentano	É um marcador de aumento da actividade dos radicais livres de oxigénio (OFR) em várias doenças, como cancro da mama, rejeição de transplantes cardíacos, esquizofrenia, artrite reumatóide, enfarte agudo do miocárdio (17).

2.2. MÉTODOS DE RECOLHA E ARMAZENAGEM

Os métodos de recolha de amostras de ar exalado podem ser feitos no modo *on-line* ou *off-line* (11). O primeiro consiste na recolha de ar directamente para o sistema de análise, a amostra é analisada com uma perda mínima de compostos, mas obriga a que a recolha seja feita no local onde se encontra o aparelho de análise. Esta característica implica a existência de aparelhos de análise num grande número de centros hospitalares, e consequentemente de pessoal especializado para operar esses instrumentos, o que encarece o custo individual de análise.

A utilização de métodos de recolha *off-line* é uma boa opção quando não é possível ter a fonte emissora de gás e o analisador no mesmo local (20). Na recolha de amostra pelo método *off-line* o ar exalado é introduzido num recipiente, que pode ser um saco específico, um composto de retenção ou um canister (20), as análises não são realizadas de imediato, tendo as amostras de ser transportadas até ao instrumento de análise (10). Este processo também é empregado quando o instrumento de análise a utilizar não permite uma análise directa da amostra, ou seja, não permite análises *on-line*, como é o caso, por exemplo, da espectrometria de massa

com cromatografia gasosa onde é necessário fazer um pré-tratamento da amostra antes da sua análise (21).

Numa situação de aplicação de análises de ar exalado como método de diagnóstico, a utilização de recipientes de recolha de ar exalado traz várias vantagens: permite que uma grande parte da população seja abrangida por este tipo de análise pois não necessita de se deslocar até ao local onde se encontra o aparelho de análise, podendo fazê-lo em centros de saúde ou unidades de rastreio, o que também não obriga a que haja uma grande quantidade de aparelhos analíticos espalhada por vários centros hospitalares, diminuindo o preço unitário por análise, uma vez que ao custo do aparelho se associa o custo de manutenção e da necessidade de um técnico para o utilizar. Se o recipiente a utilizar for um saco de recolha, este soma outra vantagem, o facto da recolha das amostras poder ser feita por pessoal não especializado.

Os recipientes de recolha de amostra, para poderem ser usados para esse fim têm de reunir algumas características. Para uma recolha eficaz devem ser fáceis de utilizar, manusear (20) e de transportar antes e depois da recolha de amostra feita. Outra característica a ter em conta na escolha de um recipiente para a realização de amostras em modo *off-line* é a capacidade de armazenamento por um período prolongado de tempo dos compostos de interesse, isto é, a estabilidade da concentração dos compostos dentro do recipiente desde a altura em que se faz a recolha da amostra até à sua análise (11). O armazenamento das amostras pode levar a perdas de compostos, que serão tanto maiores quanto maior for o tempo de armazenamento, esta é a principal desvantagem destes instrumentos, outra desvantagem é a possibilidade de haver alterações da amostra por interacções com o instrumento onde está inserida. Estas características serão mais ou menos significativas dependendo do tipo de recipiente utilizado.

Daí que o conhecimento dos compostos possivelmente libertados pelo recipiente e que poderão interferir com a amostra, contaminando-a, ou até mesmo com os resultados da análise, assim como os custos e a possibilidade de reutilização, que devem ser tidos em conta no cálculo do custo unitário de análise, a durabilidade, o tamanho e a versatilidade (20) do recipiente são também outras características relevantes.

Como referido anteriormente existem diversos recipientes que poderão ser utilizados para a recolha de amostras, todos eles têm vantagens e desvantagens no que toca à sua utilização para a recolha de ar exalado.

- Os agentes adsorventes, como o Tenax são específicos para alguns compostos (11) e (20), esta característica pode ser vantajosa mas torna a recolha de ar exalado muito limitada;
- os canisters são bastante resistentes (11) mas necessitam de ser evacuados antes da sua utilização, logo não se tornam muito adequados para utilizar na análise de ar exalado (20);
- os sacos de recolha de amostra são actualmente os recipientes mais utilizados para a recolha de ar exalado (11). São resistentes, simples de manusear e utilizar, e os compostos armazenados mantêm uma certa estabilidade, que varia consoante o tipo de saco.

Existem diversas variedades de sacos de recolha de VOCs, entre eles, Flex Foil, Kynar, Fluoro Film, black layered Tedlar® bags, Tedlar® bags e Flex Film bags, todos fabricados pela mesma empresa (SKC®) e todos indicados para a recolha de compostos orgânicos voláteis. No entanto, para a finalidade de recolha de ar exalado, uma vez que os VOCs neste tipo de amostra se encontram em concentrações muito baixas, esta empresa aponta os dois últimos como sendo os mais adequados (22).

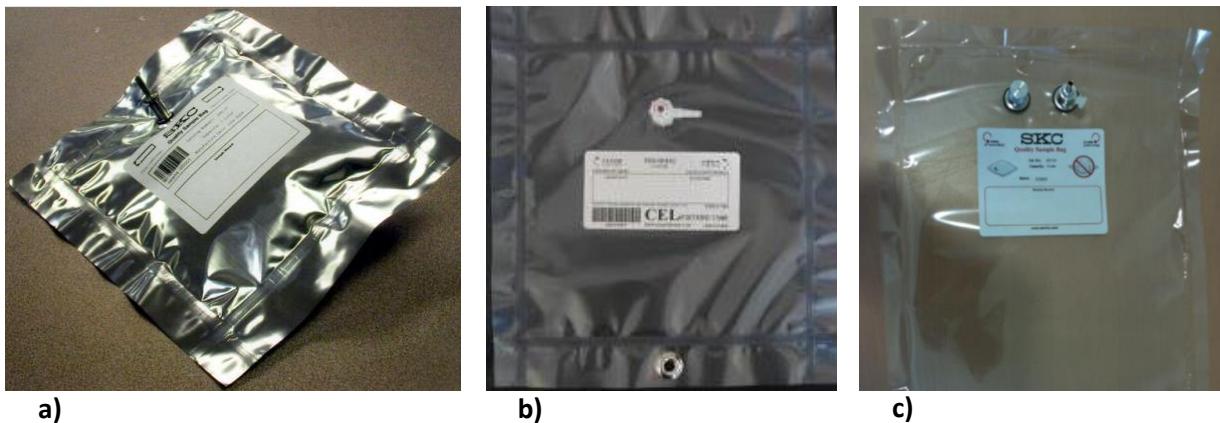


Figura 2. 2 – Exemplos de sacos do tipo a) Flex Foil, imagem obtida de (23), b) Tedlar®, imagem obtida de (24) e c) Flex Film, imagem obtida no laboratório.

Esta mesma empresa recentemente cessou a produção dos sacos Tedlar® devido ao facto da empresa produtora do filme Tedlar® e detentora da patente (DuPont™) ter terminado a venda deste filme para o fabrico de sacos, o que levou a SKC® a desenvolver um novo filme que pudesse vir a substituir o Tedlar®. Surgiu assim o Flex Film, que dada a sua presença recente no mercado não dispõe de um grande número de estudos, contrariamente aos sacos Tedlar®.

2.2.1. Tedlar® bags

O filme que constitui os sacos Tedlar® é composto por fluoreto de polivinil, um polímero cuja fórmula química é $(\text{CH}_2\text{CHF})_n$.

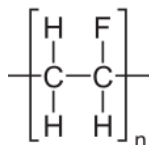


Figura 2. 3 – Monómero de fluoreto de vinil (25).

Os estudos levados a cabo pela empresa fabricante deste filme, a DuPont™, revelaram as várias características do material que compõe estes sacos e que se encontram na tabela 2.2. Este material decompõe-se com o calor a partir dos 204°C, temperatura à qual liberta fluoreto de hidrogénio como produto de degradação em quantidades inferiores a 1%. Outro produto possível de ser libertado pelo Tedlar® é a N,N-dimetilacetamida, em quantidades também muito reduzidas. A temperatura máxima indicada pelo fabricante em que o Tedlar® poderá ser utilizado em segurança, isto é sem que se dê nenhum processo de degradação, é 175°C (26).

Tabela 2. 2 – Características gerais do filme Tedlar® (27).

Características gerais	Termoplástico
	Possui baixa permeabilidade a vapores, queima muito devagar
	Muito resistente à exposição ao ar e solar
	Muito resistente à maioria dos químicos, excepto cetonas e ésteres
	Decompoem-se com o calor a partir dos 204°C

O filme de fluoreto de polivinil é fabricado a partir de fluoreto de polivinil em pó, que é dissolvido num solvente utilizando temperaturas abaixo dos 100°C para permitir que as partículas se unam formando o filme antes de o solvente evaporar (20). A N,N-dimetilacetamida é o solvente utilizado no processo de produção, após a secagem a quantidade deste composto presente no material é inferior a 0,5% (27).

J. Pet'ka *et al.* mostraram, através de testes realizados em sacos Tedlar®, que estes libertavam uma série de contaminantes voláteis em quantidades significativas, utilizaram cromatografia gasosa (GC) para verificar um aumento do nível de contaminantes num saco cheio com azoto, este aumento verificou-se das 0 para as 24 horas (28). Também Marco M. L. Steeghs *et al.* chegaram à mesma conclusão, utilizando um método semelhante, isto é, enchendo sacos Tedlar® com azoto puro e analisando-os ao longo do tempo, neste caso recorrendo a um PTR-MS, conseguiram ainda identificar estes compostos com uma relação massa/carga (m/z) de 88 e 95 unidades de massa atómica (amu), utilizando espectrometria de massa com cromatografia gasosa (GC-MS) (20). O composto encontrado a m/z 88 amu é a N,N-dimetilacetamida, com uma concentração na gama dos 40 a 185 ppbv após 4 horas de armazenamento de azoto, este valor aumentou com o tempo (20), o composto encontrado a uma massa de 95 amu é o fenol (20). Ambos os compostos aumentaram a sua intensidade quando sujeitos a aquecimento, numa ordem de 170% para a N,N-dimetilacetamida e 90% para o fenol (20).

Um outro estudo levado a cabo por Trabue *et al.* identificou ainda a presença de ácido acético como contaminante proveniente dos sacos Tedlar® (29). Estes valores elevados de ácido acético detectados poderão ser devidos à hidrólise da dimetilacetamida para ácido carboxílico (ácido acético) e dimetilamina (29), embora esta última não tenha sido detectada, como é um composto extremamente volátil poderá ser esse o motivo (29).

Ainda estudos feitos por Polasek e Bullin em 1978 e mais recentemente por Keener *et al.* em 2002, ambos envolvendo sacos Tedlar® chegaram às mesmas conclusões em relação aos compostos libertados pelo filme Tedlar® (29).

Para além destes compostos outros já foram identificados em literatura. Marco M. L. Steeghs *et al.* detectaram ainda uma m/z a 59 amu, que aumentou 5 ppbv após 250 horas (20). Paweł Mochalski *et al.* estudaram o armazenamento de compostos voláteis sulfúricos (VSCs) em diferentes tipos de sacos detectando um aumento de concentração de sulfureto de carbonilo (COS) e dissulfureto de carbono (CS₂) nos sacos Tedlar®, correspondentes a 1 ppb e 2,5 ppb,

respectivamente, após 24 horas e 72 horas de armazenamento (30), no entanto a fonte de emissão do COS e do CS₂ não foi identificada.

O fenol não foi referido pelo fabricante como possível substância libertada pelo filme. Além das substâncias indicadas pelo fabricante não há o conhecimento de nenhum outro composto que intervenha na fabricação do filme Tedlar® nem do próprio saco.

A montagem do saco é um processo simples que não envolve a adição de mais nenhum composto. Neste processo o filme é cortado com as dimensões pretendidas, sobrepõem-se duas camadas de filme e estas são unidas a quente, não se utiliza nenhum tipo de cola (31). Os *fittings* permitem a introdução e extracção da amostra contida no saco, são colocados durante a montagem do mesmo, e mais uma vez não há a utilização de cola. Os *fittings* são constituídos por Teflon®, aço inoxidável ou polipropileno (22). Nos estudos acima referidos utilizaram-se sacos Tedlar® cheios com um gás inerte, posteriormente analisado, para tal esse gás foi evacuado para o instrumento de análise através do *fitting*, os compostos detectados poderiam ser influência do material que compõe esses sistemas, no entanto estes estudos demonstraram um aumento da concentração destes compostos com o tempo de permanência dos gases inertes no saco, pelo que a influência do *fitting* à partida poderá ser descartada. Sendo assim, a origem do fenol ainda é uma incógnita.

Tabela 2. 3 – Compostos identificados como libertados pelo filme Tedlar®. Dados obtidos de (20), (29) e (30).

Compostos já identificados como libertados pelo filme Tedlar®
Fluoreto de hidrogénio
N,N-dimetilacetamida
Fenol
Ácido acético
Sulfureto de carbonilo
Dissulfureto de carbono

2.2.2. Flex Film bags

Este saco é constituído por um filme cuja composição não foi ainda divulgada pelo fabricante. Enquanto no caso do Tedlar® o filme era fabricado pela empresa DuPont™ e os sacos eram feitos e comercializados por outras empresas, entre elas a SKC®, este novo polímero e os sacos são fabricados por esta última empresa, que por questões táticas de mercado não disponibiliza a constituição do mesmo, nem outros dados relevantes como os possíveis compostos libertados. No entanto outras informações estão disponíveis, como a temperatura máxima de utilização a partir da qual poderá sofrer decomposição, que se encontra nos 60°C, e a baixa adsorção dos compostos (22). Ainda segundo o fabricante, o Flex Film liberta menor quantidade de VOCs do que o Tedlar® e possui uma estabilidade de armazenamento de vapores orgânicos semelhante à do Tedlar® (22). Na figura 2.4, encontra-se a percentagem de recuperação de alguns compostos armazenados durante 24 horas nestes dois sacos.

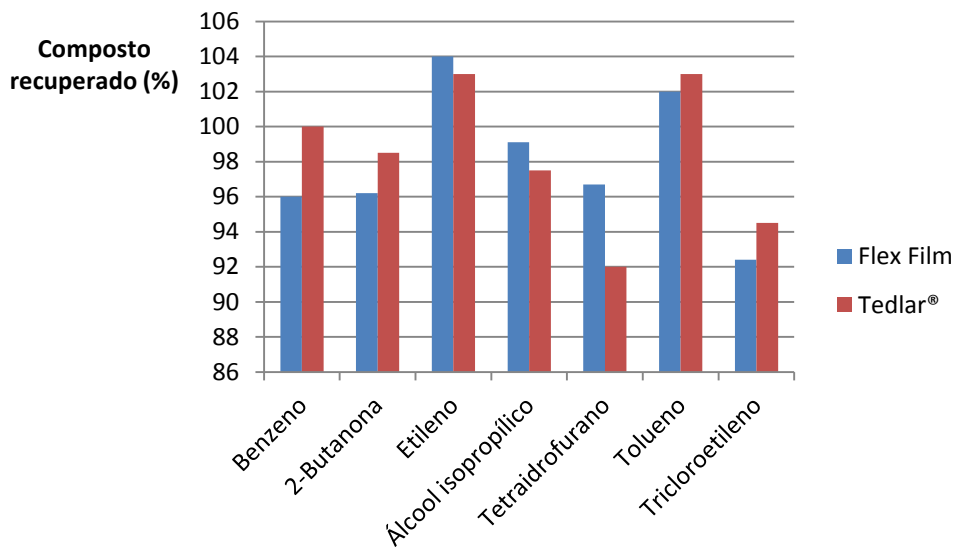


Figura 2. 4 – Estabilidade de alguns VOCs nos sacos Flex Film e Tedlar® dados em termos de percentagem de composto recuperado ao fim de 24 horas dentro dos sacos (14)

A nível macroscópico o aspecto do Flex Film é bastante diferente do aspecto do Tedlar®. O primeiro é mais brilhante, apresenta-se mais transparente e é mais espesso, com um valor de espessura médio de 76 µm (14), enquanto o Tedlar® tem uma espessura de cerca de 51 µm (14). Ao contrário do Tedlar®, ganha electricidade estática e é menos resistente ao calor, como

se viu o Tedlar® pode ser utilizado sob temperaturas até 175°C, enquanto o Flex Film não suporta valores superiores a 60°C.

Dada a sua recente presença no mercado também os estudos independentes envolvendo estes sacos são inexistentes, a realização desses estudos é importante uma vez que os Flex Film vêm substituir os sacos Tedlar® como recipiente de recolha e armazenamento de ar exalado.

Tabela 2. 4 – Propriedades de permeabilidade do Flex Film e do Tedlar® (14)

Propriedade	Flex Film	Tedlar®
Vapor de água	13,5 g/m ² d	9 – 57 g/m ² d
Oxigénio	52,5 g/m ² d	49,6 g/m ² d
Dióxido de carbono	171 g/m ² d	172,1 g/m ² d

CAPÍTULO 3 – TÉCNICA DE CARACTERIZAÇÃO DE VOCs

3.1. IMS

O espectrómetro de mobilidade iónica, ou do inglês *ion mobility spectrometry*, que dá origem à sigla IMS, utiliza a relação massa/carga dos iões para os separar quando estes viajam num campo eléctrico uniforme na direcção oposta ao fluxo de um gás neutro (32). Este processo decorre a pressão ambiente (33). Os iões, provenientes de moléculas de uma amostra gasosa, são detectados gerando um sinal eléctrico que é traduzido e conseqüentemente é formado um espectro de mobilidade que se relaciona com a composição dessa amostra.

3.1.1. Breve análise da técnica e aplicações

Os primeiros estudos envolvendo a mobilidade iónica em gases tiveram início no final do século XIX, e desenvolveram-se até cerca de 1938 (34). Nestes estudos os investigadores chegaram à conclusão que alterações observadas na condutividade do ar deviam-se à formação de iões e electrões, estabelecendo uma relação entre os iões detectados e o significado da mobilidade dos mesmos (34). Rutherford mediu a mobilidade de iões formados por ionização por raio-X dois anos depois da descoberta dos raio-X por Roentgen em 1895 (34).

Estes estudos iniciais de mobilidade sofreram alguns desenvolvimentos fundamentais para o seu avanço, como a determinação dos princípios da mobilidade iónica em campos eléctricos, descritos por Langevin por volta de 1905 (32) e (35). Langevin descreveu ainda as associações

ião-molécula e a influência das interacções ião-molécula na mobilidade (34), também o entendimento do efeito da pressão do gás na mobilidade dos iões em gases (34) contribuiu decisivamente para estes avanços. Outra medida importante foi a utilização de grelhas para fazer a introdução de iões de um modo pulsado na zona de deriva, em tudo semelhante às utilizadas hoje em dia (34).

Em 1948 Lovelock redigiu um relatório no qual relata a detecção, por parte de um detector de ionização simples, de concentrações extremamente baixas de vapores orgânicos industriais libertados como poluentes para a atmosfera, relacionando-os com doenças respiratórias humanas (34). A importância dos estudos de Lovelock sobre ar poluído foi principalmente a ligação entre a composição de uma amostra em estado gasoso e os iões criados a partir de uma fonte emissora de radiação beta (34). Esta técnica era denominada detector de captura electrónica (ECD, *electron capture detector*) (34).

Os primeiros estudos de mobilidade já utilizavam instrumentos constituídos por um tubo de deriva, embora este não se viesse a revelar o mais adequado para a caracterização iónica. Martin Cohen foi o responsável pelo desenvolvimento do tubo de deriva entre os anos de 1964 e 1967 (33) e (34). Obteve-se assim o primeiro IMS, que a nível conceptual é uma mistura do detector de ionização de Lovelock com o tubo de deriva desenvolvido por Cohen (34).

F. W. Karasek, na década de 70, utilizou o IMS para detectar vários compostos orgânicos sem pré-tratamento, chegando a limites de detecção extremamente baixos (33) e (34). Apesar deste resultado surpreendente esta técnica foi posta de lado devido a algumas dificuldades em relacionar a ionização química na espectrometria de massa e o IMS, pois embora esta relação seja próxima não é directa (34). Algumas dificuldades no desenvolvimento técnico deste aparelho também foram determinantes para que fosse considerado como inadequado para análises químicas de espectrometria.

Os princípios físicos do IMS, apesar das dificuldades técnicas no seu desenvolvimento, estavam correctos (34). Este instrumento revelou grande afinidade para a detecção de explosivos e drogas, foi assim direccionado para o uso militar (32) e (34), que permitiu um grande desenvolvimento desta técnica. Hoje em dia a detecção de explosivos é a segunda maior aplicação do IMS (34).

Estes dispositivos por necessitarem de quantidades de energia relativamente baixas e componentes simples tornaram fácil o desenvolvimento de analisadores pequenos, leves, de baixo consumo (34) e facilmente transportáveis, estes factores associados ao grande

desenvolvimento técnico a que este aparelho foi sujeito, à sua elevada sensibilidade, à grande quantidade de informação que permite obter e aos custos de fabricação relativamente baixos (35), aumentaram o espectro de aplicações do mesmo. Actualmente a detecção de drogas e explosivos é feita a nível de segurança em aeroportos e outros espaços, a indústria farmacêutica utiliza o IMS nos procedimentos de controlo de qualidade e de processos de produção (33) e (35), a monitorização ambiental, as análises de ar exalado e de materiais biológicos (33) e (35) são outras das aplicações deste instrumento.

O seu vasto espectro de utilização permitiu a combinação do IMS com outras técnicas analíticas ou de separação, obtendo técnicas finais mais direccionadas para uma determinada aplicação. Alguns exemplos actualmente existentes são a junção do IMS com a cromatografia gasosa (GC-IMS), com a cromatografia líquida com espectrometria de massa (LC-IMS-MS), com uma coluna multicapilar (MCC-IMS) e com espectrometria de massa de tempo de voo (IMS-TOF-MS) (33).

3.1.2. Princípio físico

O gás inerte que compõe a atmosfera do IMS é ionizado por uma fonte de ionização, ficam disponíveis iões e electrões secundários livres (34). De seguida, uma série de reacções entre o gás já ionizado e moléculas de água presentes nessa mesma atmosfera resultam na formação dos iões reactivos, que podem ser iões positivos, do tipo $H^+(H_2O)_n$, ou iões negativos que são do tipo $O_2^-(H_2O)_n$.

Estes iões vão interagir com as moléculas da amostra formando os iões produto, que são posteriormente inseridos num campo eléctrico estável (33) que os faz viajar ao longo do tubo de deriva, onde também se desloca um gás neutro no sentido oposto, este choca com os iões obrigando-os a diminuir a velocidade, permitindo uma melhor separação (36). A separação é feita de acordo com a sua massa e estrutura únicas (33), ou seja de acordo com a respectiva mobilidade, os iões mais pequenos movem-se mais rapidamente no tubo de deriva, e são menos “atrasados” pelo gás, pois a sua área de colisão com as moléculas do gás de deriva é menor do que para os iões de maiores dimensões.

No final do seu percurso são recolhidos por um detector, um *faraday-plate*. Este dispositivo responde com um sinal dependente do tempo que varia conforme os iões com diferente mobilidade chegam ao detector (37). O tempo que os iões necessitam para atravessar uma certa distância é inversamente proporcional à mobilidade iónica.

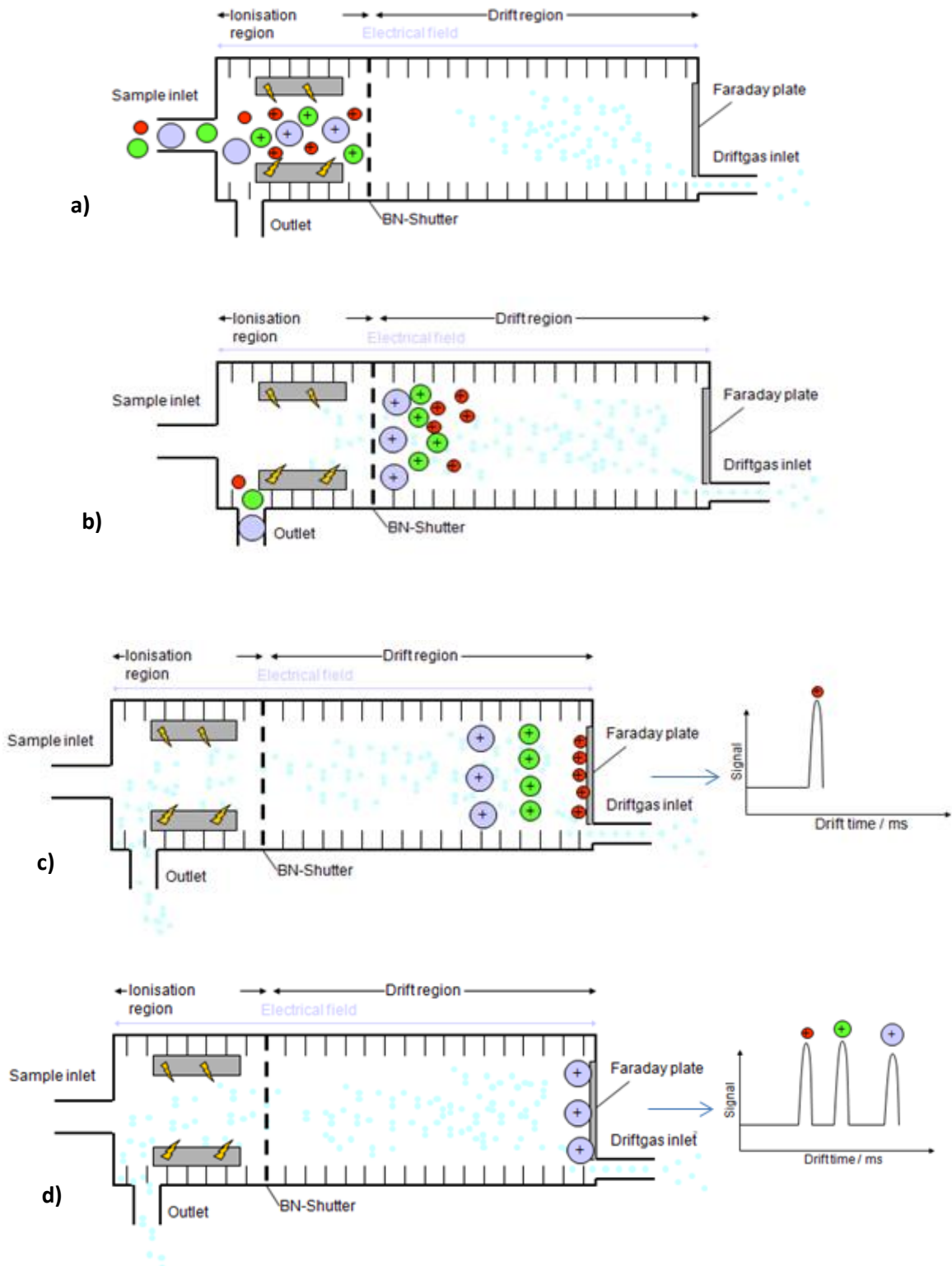


Figura 3. 1 – Princípio de funcionamento do IMS. Imagem adaptada de (38). a) as moléculas do gás neutro são ionizadas na câmara de ionização, onde também são introduzidas as moléculas da amostra, formam-se os iões-produto. b) os iões atravessam a grelha de separação, entrando no tubo de deriva e viajando em oposição ao gás de deriva. c) e d) os iões são separados de acordo com a sua massa e estrutura, chegando ao detector, obtém-se assim o espectro de mobilidade.

Na figura 3.2 a) é possível visualizar o espectro de mobilidade obtido num aparelho IMS, com a intensidade do sinal dada em volts no eixo dos yy e o tempo de deriva no eixo dos xx. Os aparelhos de IMS utilizados para análises que exigem maior sensibilidade usam um método de pré-separação da amostra, permitindo obter um outro tipo de espectro que relaciona o espectro de mobilidade com o tempo que os compostos demoram a ser pré-separados, tempo de retenção. Obtém-se assim um espectro como o da figura 3.2 b), onde se tem o tempo de deriva no eixo dos xx, o tempo de retenção no eixo dos yy e a intensidade dos picos dada pela variação das cores.

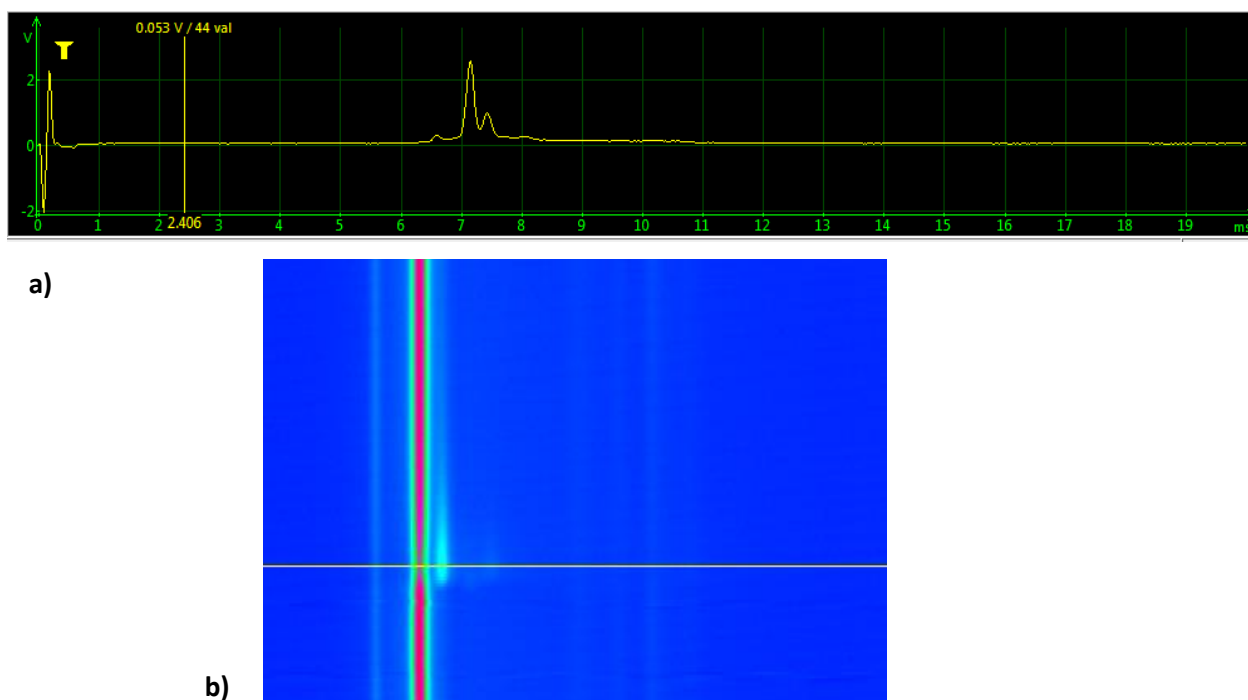
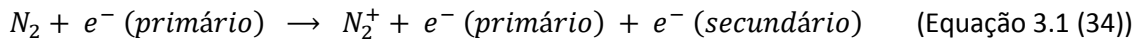


Figura 3. 2 – a) Exemplo de um espectro de mobilidade. b) O mesmo espectro de mobilidade, agora relacionado com o tempo de retenção. No eixo dos xx encontra-se o tempo de deriva e no eixo dos yy, o tempo de retenção. Imagem obtida no laboratório.

Pico de iões reactivos, formação positiva e negativa

A fonte de ionização é por norma uma fonte radioactiva emissora de partículas α ou β , este tipo de fonte realiza uma ionização química estável, e tem a vantagem de o composto radioactivo não necessitar de um fornecimento de potência externo, nem manutenção. No entanto outras fontes de ionização são possíveis de utilizar, como as lâmpadas de ultravioletas, lasers ou descargas eléctricas (39). No caso das fontes radioactivas a ionização é feita através da libertação de electrões primários de elevada energia que ao colidir com uma

molécula de azoto, gás inerte que compõe a atmosfera dentro do IMS, origina um ião positivo e um electrão secundário (cerca de 1 keV), de acordo com a equação,



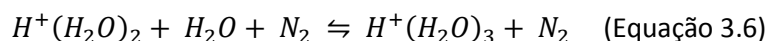
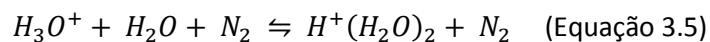
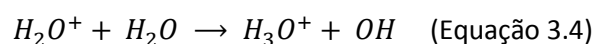
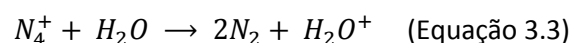
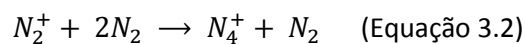
Apesar do electrão primário perder alguma energia no processo de ionização, este continua a ser um electrão de elevada energia e consequentemente pode realizar novas colisões com as moléculas de azoto levando a mais ionizações. Semelhantemente, o electrão secundário também realiza processos de ionização através de colisões com as moléculas de azoto.

No azoto, por cada colisão são libertados 35 eV, os processos de ionização, levados a cabo por ambos os electrões, terminam quando a energia dos electrões for inferior ao potencial de ionização do azoto, que é de cerca de 14,534V (32) e (34). Supondo um electrão com uma energia inicial de 17 keV, dado que são necessários 35 eV para formar um par de iões, então este electrão pode produzir cerca de 485 iões de azoto (34), ficando o electrão posteriormente termalizado, isto é, em equilíbrio térmico.

Os iões formados neste processo podem sofrer alterações na sua identidade levando à obtenção de espectros incorrectos. Isto pode acontecer se o gás que está a ser utilizado nas reacções de formação destes iões não for puro, a presença de outras substâncias, mesmo a concentrações muito baixas, de 1 a 50 ppb (34), são suficientes para a formação de outro tipo de iões e consequente alteração nos resultados obtidos.

Os iões de azoto, formados a partir de um gás puro, juntamente com os electrões termalizados formam uma reserva de carga a partir da qual se originam as ionizações químicas seguintes (34).

- **Formação positiva:** Após a reacção inicial de formação de iões de azoto seguem-se uma sequência de reacções que leva à produção de iões positivos reactivos. As equações 3.2 a 3.6, obtidas de (34), mostram esta sequência.



A sequência de formação de iões hidratados, denominados de iões reactivos, observada nas duas últimas equações, equações 3.5 e 3.6, pode continuar com o aumento do número de moléculas de água no ião, o limite é determinado pela concentração de humidade presente (34). Por exemplo, a uma temperatura de 25°C e uma pressão de 700 Torr, com uma humidade relativa de 20%, os iões reactivos contêm cerca de 5 a 8 moléculas de água (32).

Os iões reactivos formam um pico denominado *RIP*, sigla proveniente do inglês *reactant ion peak*. O *RIP* é visível no espectro sob a forma de um pico intenso, presente ao longo de todo o espectro.

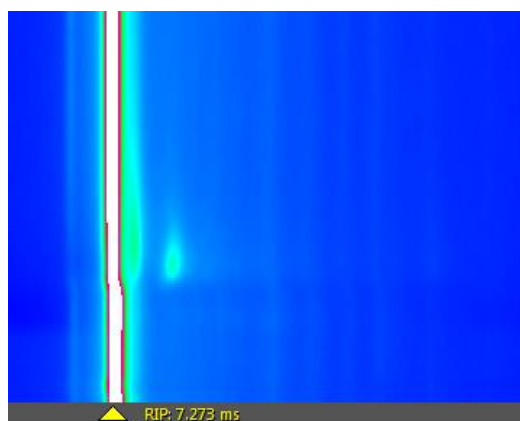
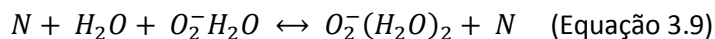
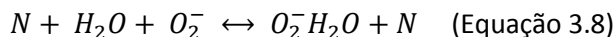
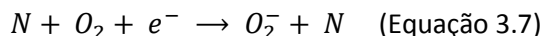


Figura 3. 3 – Imagem do *RIP* numa análise feita ao sistema, formação positiva. Imagem obtida no laboratório.

Os iões reactivos são os iões dominantes no processo atrás referido, no entanto, outros iões podem ser observados, como é o caso do $NH_4^+(H_2O)_n$, com n entre 1 e 10, e do $NO^+(H_2O)_2$ (34). O processo de formação destes iões é desconhecido, à partida terão origem em impurezas presentes na fonte de iões, na região de reacção (34) ou provenientes do gás de arraste (32).

- **Formação negativa:** O processo de formação de iões reactivos negativos é diferente do processo de formação de iões reactivos positivos. Como descrito anteriormente, os electrões provenientes da fonte radioactiva são termalizados a pressão ambiente através de colisões sucessivas com as moléculas de azoto. Em azoto puro a termalização é muito eficiente (34), originando um grande número de electrões livres de baixa energia, estes são capturados por espécies neutras, como o oxigénio, num processo denominado captura electrónica ressonante (34). A partir destes formam-se

os iões reactivos na presença de moléculas de água. As equações 3.7 a 3.9 descrevem o processo até à formação dos iões reactivos:



Onde N pode ser O_2 , H_2O ou outra molécula neutra (equações obtidas de (34)).

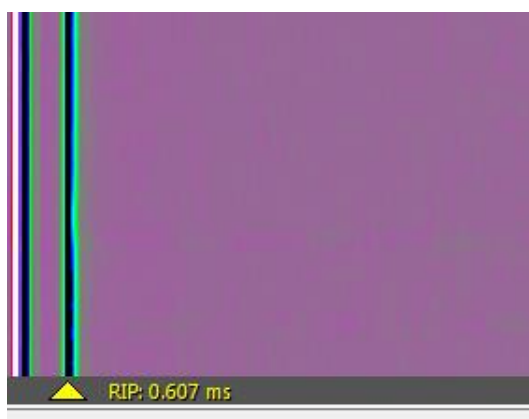


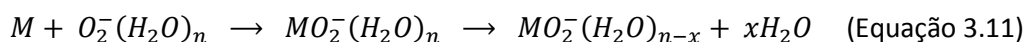
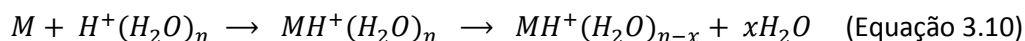
Figura 3. 4 – Imagem do RIP numa análise feita ao sistema, formação negativa. Imagem obtida no laboratório.

A fonte radioactiva leva a uma produção constante de iões reactivos, a quantidade de iões reactivos positivos e de iões reactivos negativos formados é idêntica (34). A presença de cargas opostas faz com que haja forças de Coulomb de atracção, o que poderia levar a colisões entre os iões (34), e conseqüentemente a reacções de recombinação com neutralização dos iões reactivos formados. No entanto, após a sua formação os iões reactivos são extraídos pelo campo eléctrico e separados de acordo com a sua carga.

Formação de iões produto, polarização positiva e negativa

Os iões reactivos, uma vez formados, são os responsáveis pela ionização química das amostras, uma vez que irão transferir a sua carga para as moléculas dos analitos através de colisões com estes, formam-se assim os iões-produto, ou *clusters*.

Os iões-produto formados são estabilizados através da libertação de moléculas de água (33) e (34), este processo acontece tanto para os iões positivos como para os negativos. Nas equações 3.10 e 3.11 pode ver-se o processo de formação dos iões-produto e a sua estabilização, para os iões positivos e negativos, respectivamente:



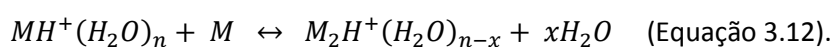
(Equações obtidas de (33) e (34))

O valor que x recebe depende da concentração de humidade, embora, por norma tome valores entre 1 e 3 (34).

Em ambos os modos, positivo ou negativo, as moléculas da amostra, M , são ionizadas através de colisões com os iões reactivos (34), originando os iões produto e moléculas de água, como descrito pelas equações acima. Os processos que levam à formação dos iões-produto são considerados processos de ionização suaves, por esse motivo não existe fragmentação do ião-produto (34), as moléculas da amostra permanecem intactas quando são ionizadas.

A frequência de colisão dos iões com as moléculas neutras do gás, assim como a concentração dos iões reactivos e a concentração das moléculas neutras, determinam a taxa de formação dos iões produto (34). Por sua vez, a quantidade de carga disponível pelos iões reactivos para a formação de iões-produto é determinada pela fonte de ionização, a energia dos electrões libertados vai estabelecer o limite máximo do número de moléculas de azoto que podem ser ionizadas (34).

Conforme os iões produto vão surgindo o número de iões reactivos disponíveis vai diminuindo, o que é visível na diminuição do RIP e conseqüente aumento do pico relacionado com o analito, a existência de uns é inversamente proporcional à existência dos outros. Se a concentração de amostra for relativamente elevada pode haver a formação de um segundo ião-produto, através da união de uma molécula de amostra a um ião-produto já formado, obtém-se assim um dímero (33) e (34). Na polarização positiva esse processo é dado da seguinte maneira, (equação 3.12, obtida de (34))



A formação de um dímero leva à diminuição, não só do pico de iões reactivos, mas também do pico do ião-produto inicial (34). Se a concentração de analitos for bastante elevada pode ainda

observar-se a formação de trímeros, processo idêntico ao anterior onde a amostra se une a um dímero. A presença de dímeros, ou trímeros, permite obter assim informação relevante acerca da concentração de determinado composto. Em concentrações muito elevadas a quantidade de iões reactivos pode não ser suficiente para ionizar todas as moléculas de um composto (33), há um consumo total dos iões reactivos e conseqüente saturação, situação que deve ser evitada (34).

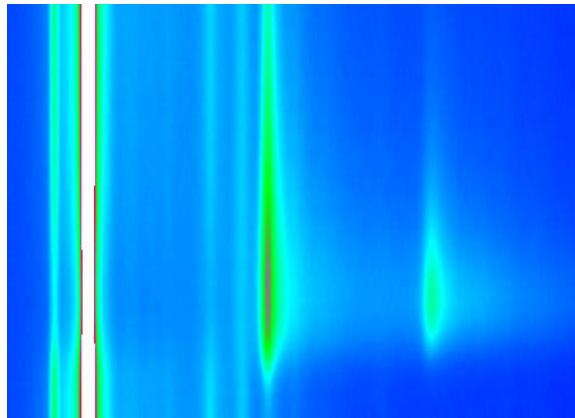


Figura 3. 5 – Exemplo de um espectro com a presença de um dímero, observa-se uma ligeira diminuição de intensidade do RIP na linha de formação dos picos. Imagem obtida no laboratório.

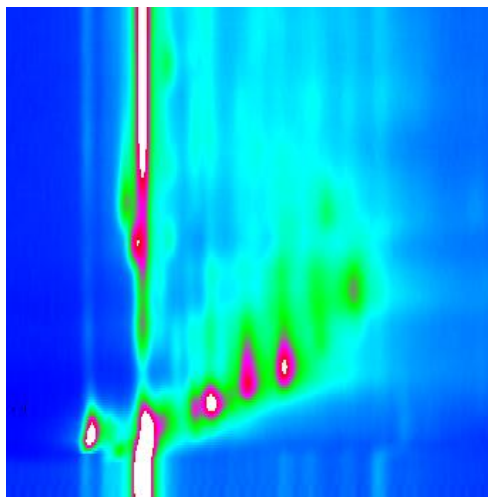


Figura 3. 6 – Exemplo de um espectro saturado, observa-se o desaparecimento do RIP na zona onde há maior presença de iões produto. Imagem obtida no laboratório.

Conforme a substância que se vai analisar tem maior afinidade para os iões-produto positivos ou negativos, assim se formam picos no modo positivo ou negativo.

Mobilidade e separação de iões, mobilidade reduzida

Após a ionização das moléculas da amostra estas estão aptas a percorrer o tubo de deriva até ao detector de Faraday (*Faraday plate*), o tempo que cada molécula irá demorar a percorrer esse tubo depende da sua conformação. O principal objectivo da mobilidade passa por estabelecer uma relação entre a velocidade de deriva dos iões e a identidade química dos mesmos (34).

Dentro do tubo de deriva os iões são acelerados devido ao campo eléctrico, as diferentes massas ou estruturas que os iões possuem determinam as suas diferentes velocidades. A velocidade que os iões alcançam é constante (34), tem o nome de velocidade de deriva, v_d .

A média das velocidades atingidas pelos iões em movimento, ao longo do tubo de deriva é determinada pelo número de colisões entre os iões e as moléculas do gás neutro (35). A pressão ambiente e para campos eléctricos homogéneos de baixa intensidade, esta velocidade é proporcional ao campo eléctrico E . A constante de proporcionalidade dá o coeficiente de mobilidade iónica, K .

$$v_d = KE \quad (\text{Equação 3.13})$$

(equação obtida de (32), (34) e (35)).

O gradiente de campo eléctrico toma valores entre 100 e 400Vcm⁻¹ (33). Como a velocidade de deriva é dada pela média das velocidades dos iões, esta equação é apenas válida para o conjunto de iões, não pode ser aplicada à velocidade individual de cada ião (34) e (39).

A mobilidade pode ser determinada de outra forma, utilizando o tempo de deriva dos iões, que como o nome indica é o tempo que os iões demoram a percorrer o tubo de deriva. O valor da mobilidade para um conjunto de iões de uma dada espécie iónica pode agora ser obtido pela equação 3.14.

$$K = \frac{l_d}{t_d E} \quad (\text{Equação 3.14})$$

(equação obtida de (33), (35) e (40)).

Na equação 3.14, l_d é o comprimento do tubo de deriva e t_d o tempo de deriva.

A mobilidade iónica é característica de cada ião e depende da temperatura, pressão (33) e concentração de humidade, dentro do mesmo aparelho de IMS.

Os valores de tempo de deriva podem variar entre aparelhos de IMS, uma vez que os parâmetros instrumentais como a intensidade do campo eléctrico e o comprimento do tubo de deriva apresentam variações dependendo do construtor e do aparelho. Assim, para a mesma espécie iónica, à mesma concentração, analisada em aparelhos diferentes podem obter-se valores diferentes de tempo de deriva. Esta diferença faz com que não seja possível utilizar este parâmetro como método de identificação de substâncias. A equação 3.14 relaciona as variáveis intensidade do campo eléctrico, comprimento do tubo de deriva e tempo de deriva de modo a obter valores de mobilidade que aplicados na equação 3.15, onde entram em linha de conta outras variáveis como a pressão e a temperatura, permitem chegar aos resultados da mobilidade reduzida, K_0 . A mobilidade reduzida fornece valores comparáveis entre si, mesmo provenientes de resultados obtidos com aparelhos distintos, esta uniformização de valores gera uma correspondência mais directa entre os resultados determinados e as substâncias em análise.

$$K_0 = K \left(\frac{P_d}{P_0} \right) \left(\frac{T_0}{T_d} \right) \quad (\text{Equação 3.15})$$

(equação obtida de (33), (35) e (40)).

Nesta equação P_d é a pressão no interior do tubo de deriva, P_0 e T_0 pressão e temperatura ambiente, respectivamente, e T_d a temperatura no interior do tubo de deriva. O K_0 é dado em $\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Alterações na mobilidade

A mobilidade dos iões-produto relaciona-se com alguns parâmetros de instrumentação como o comprimento do tubo de deriva, a intensidade do campo eléctrico e o tempo de abertura da grelha, a alteração destes parâmetros pode levar a valores de tempo de deriva diferentes para a mesma espécie iónica presente na mesma concentração. Há também parâmetros intrínsecos e mais difíceis de controlar que intervêm nos valores de mobilidade, são eles a temperatura e a humidade.

A variação na concentração de humidade provoca alterações na posição dos picos, pois altera o tempo de deriva das espécies iónicas (41), provoca ainda alterações na forma dos picos, a água presente na região de deriva causa alargamento dos mesmos (41) e alterações na sua presença no espectro, dado que influencia a abundância de espécies iónicas (41).

Um valor de humidade demasiado elevado, gama de valores de humidade relativa entre 10% e 70% (41), que correspondem a valores de aproximadamente 2300 ppm (partes por milhão) e 16 500 ppm (41), pode levar a que os iões produto formados sejam muito instáveis, pois se a sua ligação for fraca num ambiente de humidade elevada pode ocorrer dissociação do ião-produto antes da sua estabilização por perda de moléculas de água, conseqüentemente não vão ser visualizados quaisquer picos no espectro (34). Tomando como exemplo o monómero protonado $MH^+(H_2O)_n$, a sua dissociação fá-lo voltar ao estado inicial, isto é, a $M + H^+(H_2O)_n$ (34).

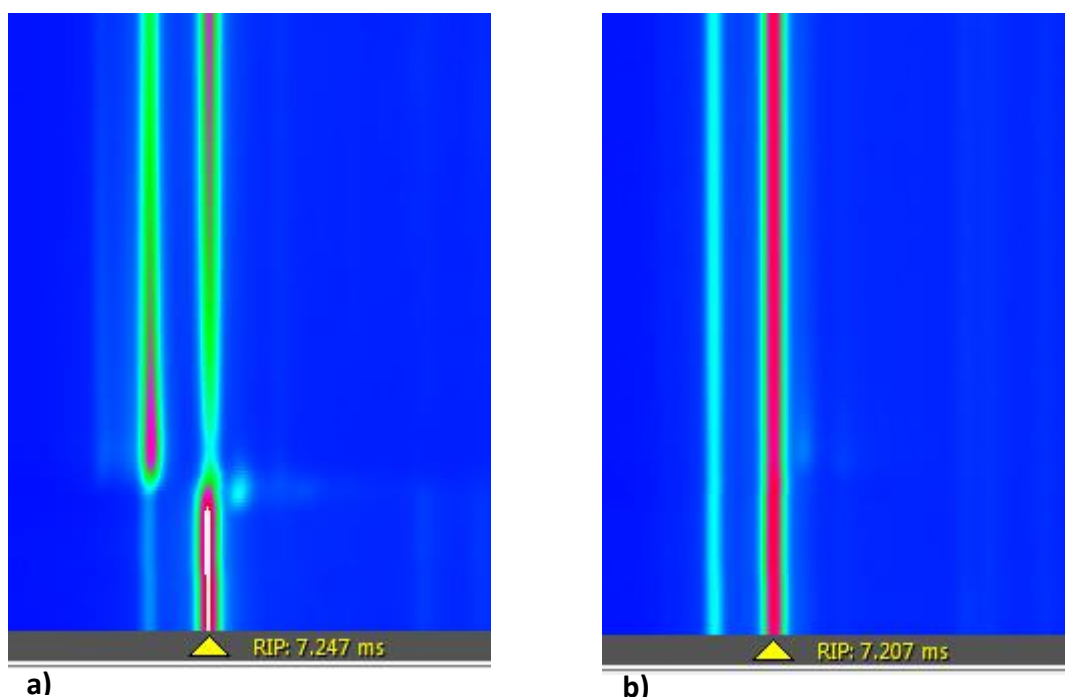


Figura 3. 7 – Dois espectros relativos ao sistema limpo, onde se visualiza claramente a humidade presente. a) O pico da água (à esquerda do RIP) é bastante intenso, observa-se uma clara diminuição da intensidade do RIP na mesma zona. b) O pico da humidade encontra-se arrastado ao longo do espectro (à esquerda do RIP), a intensidade do RIP diminui de forma uniforme. Imagens obtidas no laboratório.

Os dois parâmetros, temperatura e humidade, estão relacionados e não podem ser considerados independentemente. Kim *et al.* estudaram a influência da temperatura na composição dos iões no IMS (34), concluindo que o aumento da mesma altera os valores de mobilidade reduzida, aumentando-os, por provocar uma diminuição do valor de n na equação $H^+(H_2O)_n$, isto é, por reduzir a quantidade de moléculas de água num ião reactivo, com conseqüente aumento dos valores de mobilidade reduzida (34). Também a ionização das

moléculas da amostra é afectada pelos iões reactivos, pelo que a mobilidade dos iões-produto sofre alterações com a variação da humidade e temperatura dentro do tubo de deriva.

A temperatura é um parâmetro relativamente fácil de controlar, é possível manter um valor constante da mesma num espaço pequeno como o tubo de deriva, independentemente das condições de temperatura exteriores a esse espaço. A humidade torna-se um pouco mais difícil de evitar variações, mesmo num espaço estanque, uma vez que a amostra gasosa introduzida contém, na maioria das vezes, água na sua mistura ou composição. A utilização de um componente de pré-separação antes da entrada das amostras no IMS, como uma coluna multicapilar (MCC) ou uma coluna de cromatografia gasosa (GC), permite controlar a quantidade de água que entra na câmara de ionização, ajudando a manter valores óptimos de humidade. Estas colunas têm também a vantagem de poderem separar misturas complexas. A utilização de uma coluna multicapilar aumenta ainda a sensibilidade para a determinação de moléculas com baixa afinidade protónica (33).

Limites de detecção

O limite de detecção de uma técnica analítica é a menor quantidade de uma substância numa amostra que pode ser detectada por essa técnica. No IMS o limite de detecção é da ordem dos ppb_v e ppt_v (33), isto é, na gama de parte por bilião de volume e parte por trilião de volume, que corresponde a valores de nanograma por litro a picograma por litro (33). Estes valores referem-se a concentrações extremamente reduzidas, apenas possíveis de obter com espectrómetros cuja sensibilidade é muito elevada, como é o caso do IMS.

Os limites de detecção notáveis obtidos pelos analisadores IMS podem ser atribuídos a alguns factores como, a elevada eficiência da ionização química a temperatura ambiente devido a elevadas taxas de colisão (34) assim como, a eficiente obtenção de iões-produto através da colisão ião-reactivo molécula (34).

3.2. MCC-IMS

A utilização de um espectrómetro de mobilidade iónica em conjunto com uma coluna multicapilar, formando assim o MCC-IMS, permitiu a utilização deste analisador em misturas extremamente complexas, pois passou a ser possível a separação eficaz dos compostos presentes nestas matrizes.

Este dispositivo alia uma técnica de pré-separação muito eficiente, com as vantagens atrás referidas, com a sensibilidade da técnica de análise. Fornece ainda um espectro de mobilidade iónica que é formado pelo tempo de retenção dos compostos ao percorrerem a coluna multicapilar e o tempo de deriva dos analitos no interior do tubo de deriva.

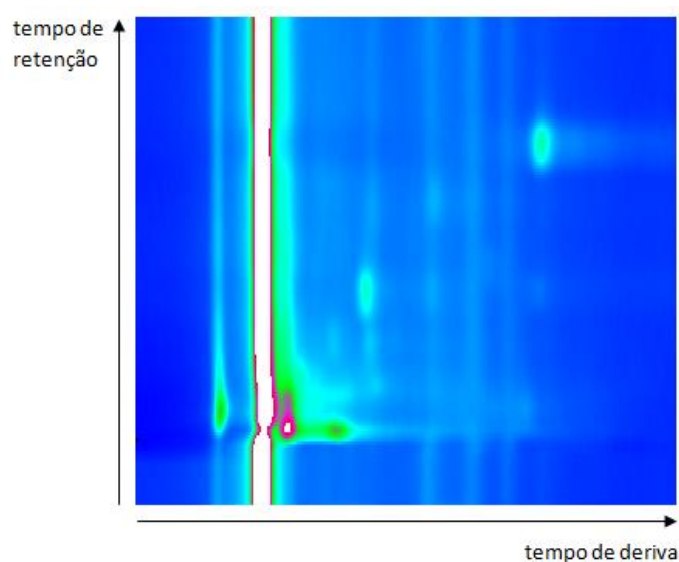


Figura 3. 8 – Exemplo de um espectro. No eixo dos xx encontra-se o tempo de deriva e no eixo dos yy, o tempo de retenção. Imagem obtida no laboratório.

No MCC-IMS o tempo necessário para efectuar uma análise é bastante curto, necessitando de apenas 1 a 6 minutos (42) para a realização de uma análise completa e consequente obtenção de um espectro. O tempo de separação no interior da coluna multicapilar, tempo de retenção, é de apenas alguns segundos até poucos minutos, dependendo do analito. Uma vez os iões-produto no interior do tubo de deriva, 20 a 50 ms são suficientes para a separação e obtenção do espectro, a variação deste tempo está relacionado com o comprimento do tubo de deriva e a mobilidade dos iões (21).

O MCC-IMS não permite apenas a obtenção de espectros de um modo bastante rápido, o facto de não ser necessário proceder a nenhum tipo de pré-tratamento ou pré-concentração para

realizar a análise (33) e (42) são também características que favorecem esta técnica. A facilidade de análise das amostras advém do facto da coluna multicapilar separar compostos no seu estado gasoso, independentemente do estado em que se encontre a amostra, pois os compostos voláteis libertados a temperatura ambiente ou por aquecimento da mesma são suficientes para proceder a uma análise.

No entanto, há algumas dificuldades associadas a este aparelho. Neste analisador os compostos com uma grande afinidade protónica são formados preferencialmente, o que leva a uma falta de informação acerca de compostos com baixa afinidade protónica (21). Actualmente a impossibilidade de identificar as substâncias que estão a ser analisadas é outra desvantagem que necessita ser ultrapassada.

No espectro total obtido numa análise, possível de visualizar por uma escala de cores, os picos que se observam são característicos de um composto, no entanto, a posição a que se encontram sofre variações, estas variações observam-se tanto em análises feitas a partir da mesma amostra utilizando o mesmo aparelho, mas com alterações no modo de operação para a realização das análise ou alteração nos fluxos de gás, como em análises feitas em aparelhos diferentes. Também a concentração de analito pode fazer com que haja variações na intensidade e posição dos picos, em casos de intensidade elevada também se verificam alterações com o aparecimento de dímeros ou até mesmo de trímeros. Esta particularidade torna difícil a identificação de compostos desconhecidos.

Por si só, a visualização de um espectro não fornece a informação suficiente para a caracterização de dada amostra. No entanto, numa série de amostras, conhecidas ou não, analisadas no mesmo aparelho e mantendo as mesmas características de análise é possível chegar a conclusões muito interessantes através da comparação entre os espectros. Por exemplo, sabendo que uma amostra contém um composto, embora desconhecido, pode saber-se se um outro grupo de amostras contém, ou não, esse mesmo composto, desde que as condições de análise se mantenham constantes.

Os valores de mobilidade reduzida, determinados a partir do tempo de deriva dos iões-produto, são valores que não sofrem variações com as alterações instrumentais ou de análise, uma vez que eliminam essas variáveis, são por isso a alternativa à uniformização e comparação dos dados obtidos pelo IMS, podendo ser utilizados para a identificação dos picos. No entanto, em misturas complexas podem ocorrer valores semelhantes ou até mesmo iguais de mobilidade reduzida (43). O tempo de retenção, uma outra variável introduzida pela coluna multicapilar, e que varia com o comprimento da coluna, não é contemplado nos cálculos da

mobilidade reduzida. A cada analito corresponde um valor de mobilidade reduzida e um valor de tempo de retenção (43), este conjunto irá permitir assim uma identificação inequívoca do composto. Para tal, são necessárias bases de dados de substâncias de referência.

Alguns autores relacionaram determinadas substâncias com valores de mobilidade reduzida, Gushinder Kaur-Atwal *et al.* (44), Jörg Ingo Baumbach *et al.* (35), (43) e (21), são alguns dos autores que já reportaram estes dados. No entanto, ainda não são suficientes, em alguns casos faltam os valores de tempo de retenção, como se verifica em (35), (43) e (44), na sua maioria utilizaram ar sintético como gás de deriva e de arraste e ainda não há o conhecimento se a variação no gás altera também os valores de mobilidade dos analitos. Por tudo isto a identificação dos picos detectados ainda enfrenta muitas dificuldades. Uma biblioteca própria e bastante vasta para a utilização com o IMS é de extrema necessidade (21) e seria uma mais-valia para os utilizadores deste tipo de técnica de análise.

Para além da detecção de compostos, e possível identificação através da existência de bibliotecas, o MCC-IMS pode ser aplicado para a realização de análises quantitativas, determinando a concentração de compostos presentes em misturas, pois picos mais intensos revelam concentrações mais elevadas do composto correspondente ao pico. Para tal são necessárias as curvas de calibração de compostos conhecidos, estas associam a intensidade dos picos de uma determinada substância com a concentração dessa mesma substância. À semelhança do que acontece com a identificação dos compostos, são necessárias bibliotecas que incluam as curvas de calibração.

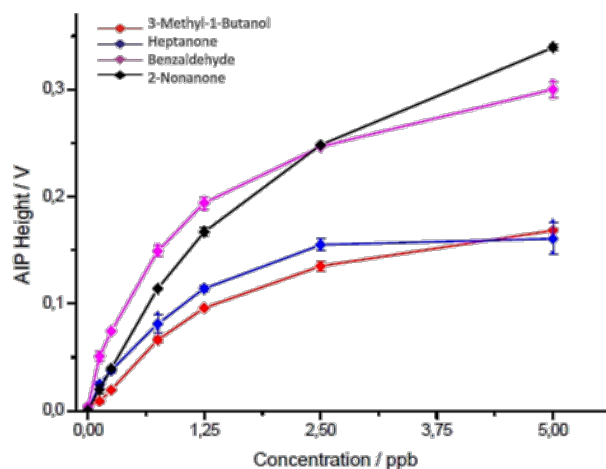


Figura 3. 9 – Exemplo de curvas de calibração, referentes aos compostos 3-Metil-1-Butanol, Heptanona, Benzaldeído e 2-Nonanona (45).

É possível perceber que apesar do estudo que ainda falta esta é uma técnica muito completa pois permite obter uma série de informação a partir de uma única amostra cujos compostos se encontrem em concentrações muito baixas.

O aparelho utilizado para a elaboração deste trabalho foi fornecido pela empresa G.A.S. GmbH (Dortmund, Alemanha). A figura 3.10 mostra o aspecto exterior do MCC-IMS utilizado.



Figura 3. 10 – Imagem do aparelho MCC-IMS utilizado para a realização deste trabalho.

3.2.1. Descrição do aparelho experimental

Para o funcionamento do aparelho MCC-IMS é necessário a utilização de uma fonte de alimentação para criar o campo eléctrico (35) e de uma reserva de gases neutros de arraste e de deriva. Neste trabalho o gás utilizado foi o Azoto, com uma pureza de 99,999%, e com a presença de água e oxigénio em concentrações inferiores a 3 ppm e 2 ppm, respectivamente.

A figura 3.11 apresenta um esquema do interior do aparelho com os seus componentes principais.

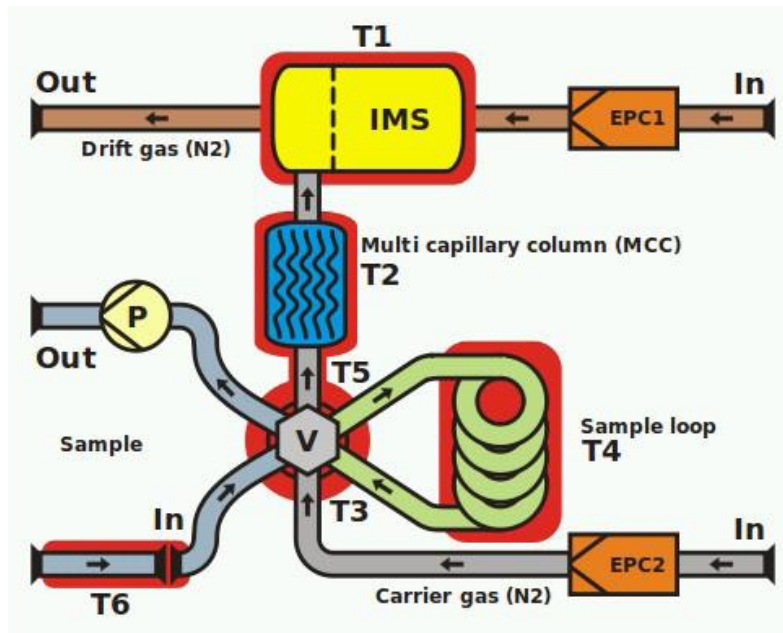


Figura 3. 11 – Esquema interno do aparelho MCC-IMS (46).

Um aparelho MCC-IMS é constituído por:

- um sistema de introdução de amostra
- um loop
- uma coluna multicapilar
- o IMS propriamente dito, composto por: câmara de ionização, grelha de separação de iões, tubo de deriva e um colector de iões.
- uma bomba de sucção
- uma válvula
- dois fluxómetros
- sensores de temperatura

O loop é constituído por um tubo de vidro disposto em espiral, armazena a amostra que é inserida no aparelho, mais tarde levada pelo gás de arraste até ao IMS passando através da coluna multicapilar. A bomba permite o enchimento do loop, num processo explicado mais

adiante, e os dois fluxómetros controlam o fluxo do gás de deriva e do gás de arraste, denominam-se EPC1 e EPC2, respectivamente. EPC é o acrónimo de controlador de pressão electrónico.

A válvula permite a ligação de vários componentes, é constituída por seis portas, a cada porta está conectado um componente. É a válvula que faz a ligação entre o sistema de introdução de amostra, o loop, a coluna multicapilar, o tubo de condução do gás de arraste e a bomba, a válvula controla quais os componentes que estão em contacto, uma vez que estes componentes não estão todos ligados entre si ao mesmo tempo.

Quando a válvula se encontra na posição A, posição por defeito, a amostra é introduzida através do local de introdução de amostra, a bomba permite uma sucção da amostra enchendo assim o loop. Este tem um volume de 5 ml, logo se a quantidade de amostra exceder este volume é evacuada através da bomba. Ainda nesta posição da válvula, num outro plano, que não interfere com a introdução da amostra, uma corrente de gás, EPC2, passa continuamente através da válvula até à coluna multicapilar. Estes dois processos ocorrem em simultâneo sem que se interceptem.

Alterando a posição da válvula para a posição B a amostra contida no loop é arrastada para a coluna multicapilar e IMS. Nesta posição, o fluxo de gás de arraste atravessa o loop percorrendo depois a coluna multicapilar até ao tubo de deriva.

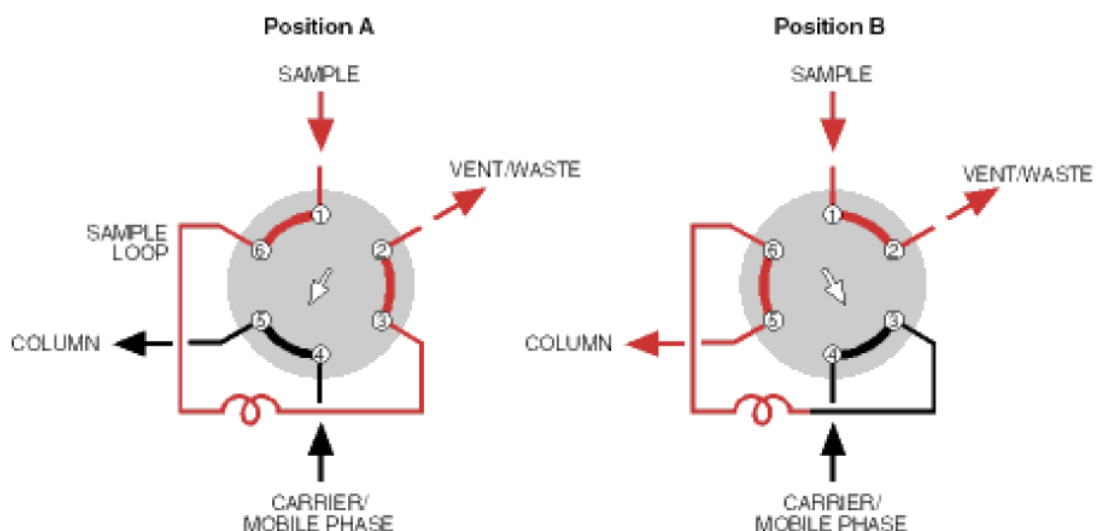


Figura 3. 12 – Esquemas da posição A e B da válvula do MCC-IMS (46).

O tubo de deriva é o componente fundamental do analisador IMS, ambos na figura 3.11 a amarelo, a sua construção com materiais inadequados ou uma má concepção do tubo pode resultar em baixa sensibilidade, pouca resolução e graves efeitos de memória.

O IMS divide-se em duas partes, a câmara de ionização, onde se encontra a fonte de ionização e onde são formados os iões, e o tubo de deriva, região percorrida pelos iões que termina no detector de Faraday. Uma grelha de separação de iões divide estas duas áreas. A grelha de separação de iões abre periodicamente para permitir a entrada dos iões na região de deriva (33), estes iões são separados através de impulsos de curta duração. O intervalo de abertura da grelha de separação varia entre 10 e 100 μ s. O IMS encontra-se mergulhado num campo eléctrico, é ainda atravessado por duas correntes de gás inerte que se deslocam em sentidos opostos.

O tubo de deriva termina no detector de Faraday, os iões ao chegarem a este detector são neutralizados após colisão com o mesmo, originando uma corrente eléctrica de intensidade entre 10 e 1000 pA (34), que é aumentada e convertida em tensão com valores compreendidos entre 0 e 10V (34).

O comprimento do tubo de deriva é de apenas alguns centímetros, no entanto varia de fabricante para fabricante e consoante a finalidade de utilização do IMS. Os comprimentos mais comuns situam-se entre os 4 e os 20 cm (34) nos analisadores modernos.

O IMS não tem uma selectividade muito elevada, pelo que, a análise de amostras com misturas complexas, grande diversidade de moléculas ou uma grande concentração de água se utilizadas em conjunto com uma técnica de pré-separação poderão fornecer melhores resultados. Existem diversos componentes de pré-separação, entre eles, a coluna multicapilar revela-se bastante eficaz. Este componente permite a injeção directa de um grande volume de gás pois admite valores de fluxo de gás até aos 150 mL.min⁻¹, facilita a separação isotérmica dos compostos orgânicos voláteis a temperatura ambiente (33), e reduz significativamente a influência negativa da humidade, o que aumenta a selectividade do método (33).

A coluna multicapilar é constituída por uma série de pequenos capilares, cerca de mil, cada um com um diâmetro interno de 43 μ m e uma espessura de parede de 0,2 μ m, a coluna em si, composta pelos mil capilares tem um diâmetro total de 3 mm e um comprimento de 20 cm, que corresponde também ao comprimento unitário de cada capilar (45).

Na figura 3.13 pode ver-se uma fotografia de um corte longitudinal de uma coluna multicapilar, aumentada 35 vezes.

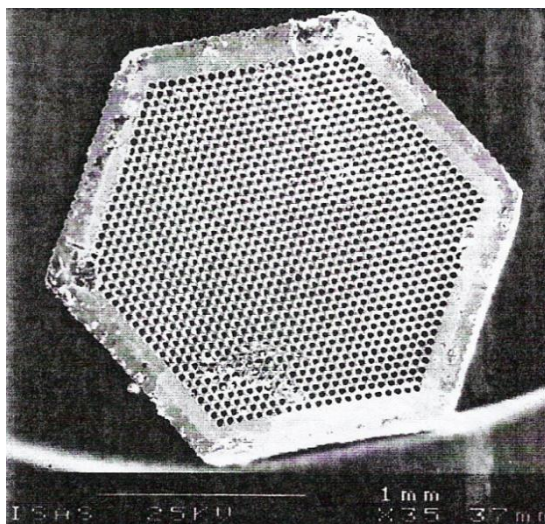


Figura 3. 13 – Imagem de uma coluna multicapilar (MCC). Corte longitudinal. Imagem adaptada de (39).

No aparelho em questão, o MCC-IMS, a coluna multicapilar e o tubo de deriva são os componentes mais importantes.

Tabela 3. 1 – Algumas características técnicas do MCC-IMS utilizado neste trabalho (46)

Método e fonte de ionização	Radiação β emitida por uma fonte de Trítio (^3H)
Actividade da fonte	300 MBq
Consumo energético	< 160 Watt
Dimensões	449 × 375 × 177 mm (L×P×A)
Peso	15,5 kg

3.2.2 Interface com o utilizador

Na óptica do utilizador o MCC-IMS é um aparelho bastante simples de operar. O painel frontal dispõe de um ecrã para a visualização do sistema e de um botão rotativo, que permite navegar pelo sistema, seleccionando o procedimento que se pretende empurrando esse botão, uma vez que este também vem equipado com uma função *enter*.

Ainda no painel frontal encontram-se o botão *ESC*, que permite sair de uma janela ou anular uma opção, uma entrada *USB* e o local de introdução da amostra.

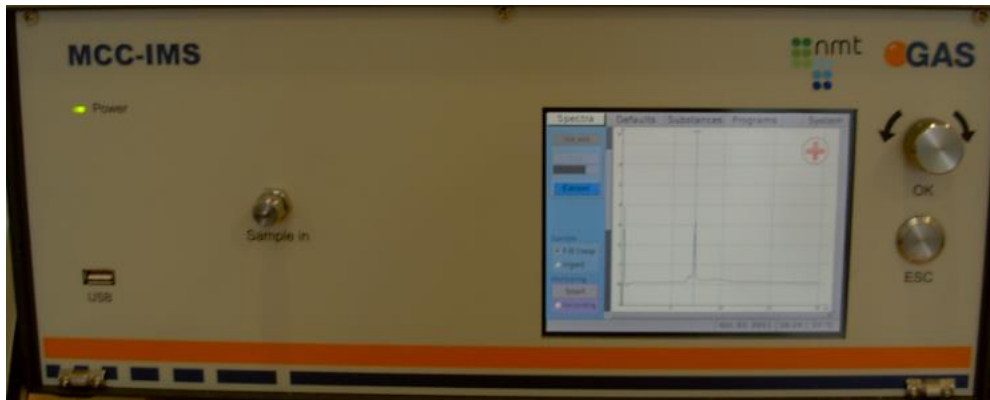


Figura 3. 14 – Painel frontal do aparelho.

No ecrã é possível ver as opções do menu, que correspondem a cinco janelas diferentes: *Spectra*, *Defaults*, *Substances*, *Programs* e *System*.

Janela Spectra – mostra o espectro no modo positivo ou negativo, pode-se iniciar a análise e é possível ainda visualizar o espectro de mobilidade em tempo real.

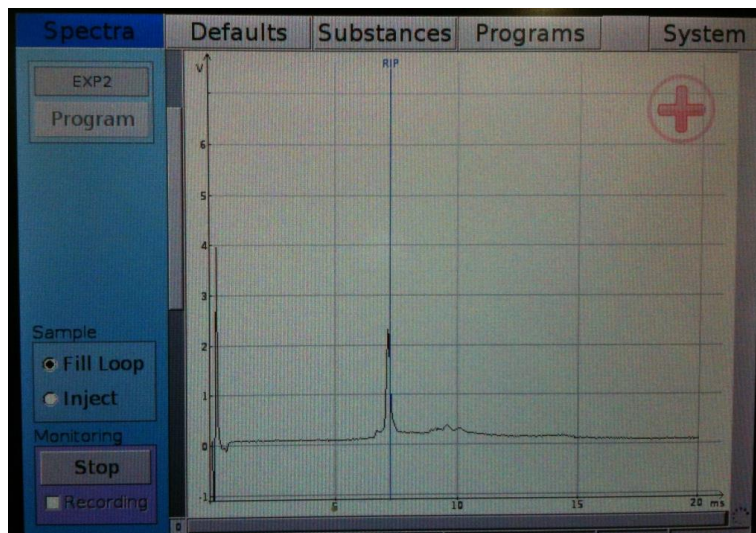


Figura 3. 15 – Imagem do ecrã na opção *Spectra*.

Janela Defaults – permite definir os valores apresentados na tabela 3.2, e ainda alterar a polaridade, o *averaging* ou iniciar a limpeza do aparelho.

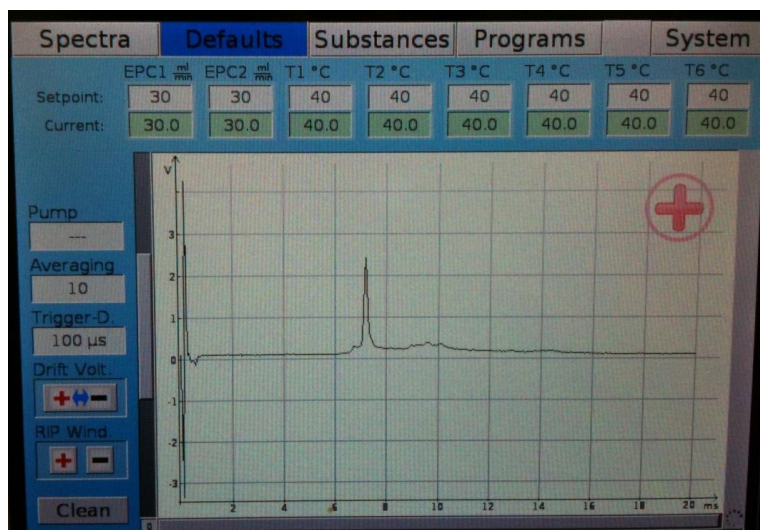


Figura 3. 16 – Imagem do ecrã na opção *Defaults*.

Tabela 3. 2 – Valores padrão a utilizar no MCC-IMS

Parâmetro	Valor
EPC1	100 - 500 mL/min
EPC2	10 – 250 mL/min
T1, T2, T3, T4, T5, T6	40°C
<i>Pump</i>	0 - 100%
<i>Averaging</i>	10
<i>Trigger</i>	100 µs
Intensidade do campo eléctrico (E)	400 V/cm
Comprimento do tubo de deriva	5 cm

Funções dos parâmetros:

EPC1 - permite definir o fluxo do gás de deriva;

EPC2 - permite definir o fluxo do gás de arraste;

T1 - temperatura do IMS;

T2 - temperatura da MCC;

T3 - temperatura da válvula;

T4 - temperatura do sample loop;

T5 - temperatura do tubo aquecido entre a MCC e o sample loop;

T6 - temperatura do tubo de inserção da amostra;

Pump - regula o fluxo da amostra de gás a introduzir.

Averaging - número médio de espectros adquiridos;

Trigger - duração do *trigger*

Janela Substances – é possível editar uma lista de compostos, que contém até 25 compostos diferentes, os seus tempos de deriva e áreas, assim como intervalos de tempo de eluição. Permite programar a detecção de compostos já conhecidos.

Janela Programs – permite ao usuário gerar novos modos de operação do instrumento ou alterar os já existentes.

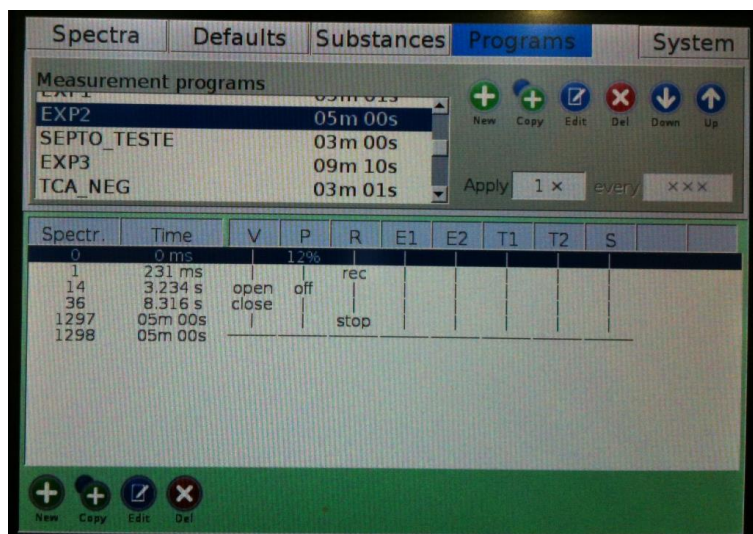


Figura 3. 17 – Imagem do ecrã na opção *Programs*.

Janela System – mostra a informação específica do sistema. Também permite alterar o local de armazenamento das medidas (volume USB ou pasta num computador).

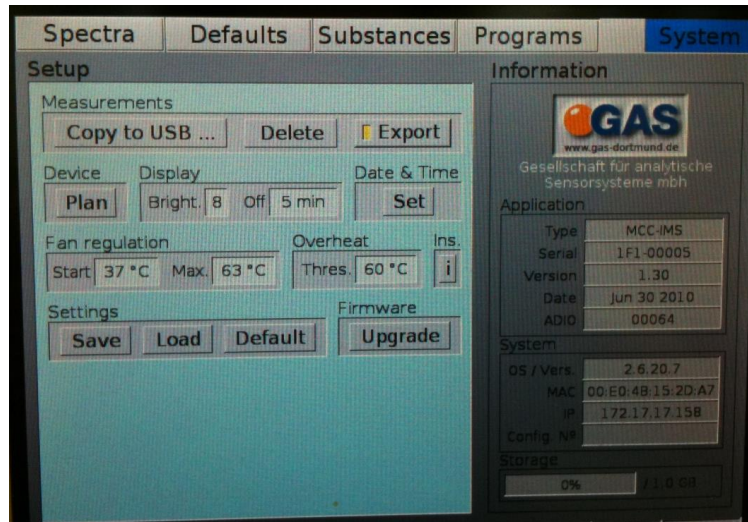


Figura 3. 18 – Imagem do ecrã na opção *System*.

A visualização dos dados do MCC-IMS é feita recorrendo a um computador que deverá ter instalado um *software* específico, este será falado em maior detalhe na secção 4.4. Os espectros podem ser armazenados no próprio aparelho e retirados para o computador através de um dispositivo de armazenamento com saída USB, ou podem ser enviados directamente para o computador via *wireless*.

3.3 OUTRAS TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA ANÁLISE DE VOCs

A técnica de análise utilizada neste trabalho caracteriza-se por ser muito sensível e relativamente simples de operar. A sua extrema sensibilidade e grande capacidade de separação da coluna multicapilar, assim como a rapidez das análises tornaram esta técnica de análise muito promissora. Outras técnicas existem cuja sensibilidade pode ser equiparada à do MCC-IMS, como o GC-MS, PTR-MS e SIFT-MS (21). Nas secções abaixo referem-se algumas das principais diferenças em relação ao MCC-IMS.

3.3.1. GC-MS

O espectrómetro de massa de cromatografia gasosa, ou GC-MS, é uma técnica de separação e identificação de todos os tipos de compostos orgânicos voláteis e vários gases inorgânicos (47) dentro de uma mistura química. Esta excelente técnica tem sido utilizada há vários anos e é capaz de alcançar sensibilidades na ordem dos 0,1 pptv (48).

Divide-se em dois componentes, o GC, a componente de cromatografia gasosa que faz a separação, e o MS, componente utilizado para a identificação dos compostos a um nível molecular. Estes dois sistemas acoplados formam uma técnica analítica.

As substâncias, depois de separadas pela coluna de cromatografia gasosa, são introduzidas no espectrómetro de massa onde sofrem ionização, processo que também leva à fragmentação das moléculas em vários iões (49), estes iões são separados num campo eléctrico de acordo com a sua relação massa/carga e posteriormente detectados, gerando um sinal eléctrico.

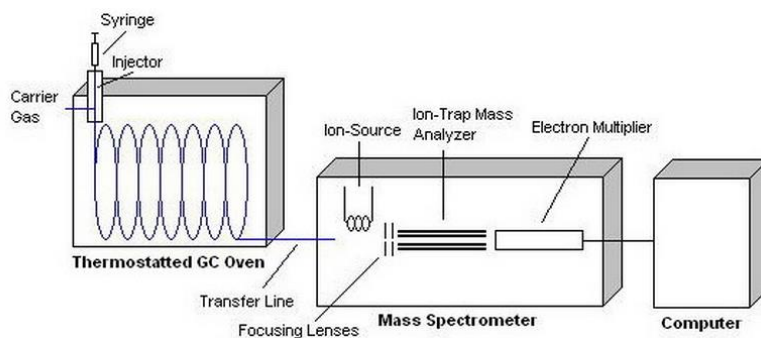


Figura 3. 19 – Esquema do sistema GC-MS (50).

As informações estruturais dos compostos, obtidas através do espectrómetro de massa, originam o espectro de massa, que é uma representação gráfica, onde se dispõe a relação massa/carga no eixo dos xx e a abundância de iões no eixo dos yy (49). A análise de um espectro permite a identificação dos compostos presentes na amostra analisada, através da comparação com espectros de compostos conhecidos, incluídos numa vasta biblioteca, chegando-se assim à identidade das moléculas da amostra.

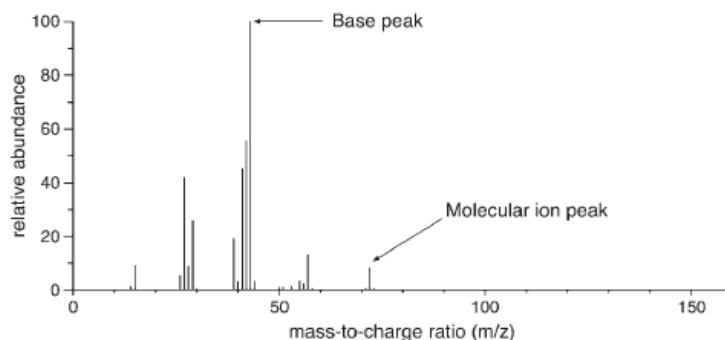


Figura 3. 20 – Exemplo de um espectro de massa. Este espectro refere-se ao pentano (49).

O GC-MS é uma técnica muito sensível e fiável (48), por vezes considerada como o único e definitivo detector analítico (51). No entanto esta técnica revela alguns obstáculos:

- É uma técnica muito demorada (6), (33) e (48), por três motivos. O tempo de separação no interior da coluna, no GC este tempo situa-se entre 1 e 120 minutos dependendo dos analitos (47), o tempo de análise no espectrómetro de massa não é relevante, por norma é determinado pela duração da corrida cromatográfica (47). O tempo de preparação da amostra a analisar, pois a coluna de separação que utiliza a cromatografia gasosa permite a introdução de gases e líquidos, no entanto os sólidos não podem ser directamente analisados têm de ser dissolvidos num solvente adequado (49) para poderem ser injectados como uma solução líquida (47), o processo de preparação das amostras, devido a esta característica da coluna, pode por isso demorar entre alguns minutos até algumas horas, dependendo do tipo de amostra (49) e (47). Ainda o facto de necessitar de pré-concentração dos analitos da amostra, quando estes se encontram em concentrações muito baixas (48).

Contrariamente, como visto anteriormente, no MCC-IMS o tempo de cada análise é nitidamente mais curto, em apenas 1 a 6 minutos (42) é possível obter um espectro. E as amostras não necessitam de pré-tratamento ou pré-concentração, uma vez que os compostos voláteis libertados são os analitos que vão ser introduzidos na coluna e analisados, embora apenas seja necessário um cuidado extra na utilização de amostras líquidas ou pós, pois a sua inserção accidental na coluna pode torná-la inutilizável e até mesmo causar sérios danos no próprio analisador.

A selectividade e separação pelo IMS são funções do tamanho e massa do ião, no caso da espectrometria de massa dependem apenas da massa (52).

- Necessita de vácuo para funcionar, utilizando pressões na ordem dos 10^{-5} a 10^{-6} torr (1 torr $13,3322 \cdot 10^{-4}$ bar), somando o facto de apenas poder analisar compostos cuja pressão de vapor possui valores superiores a 10^{-10} torr (47).

A técnica MCC-IMS funciona a pressão ambiente, não necessitando de vácuo para realizar análises (33).

- O processo de ionização que utiliza ioniza directamente as moléculas da amostra fragmentando-as, esta característica pode trazer dificuldades na análise do espectro uma vez que o conhecimento das várias fragmentações possíveis de cada molécula, e a sua probabilidade de ocorrência é fundamental para a interpretação do espectro (49), o que implica conhecimentos avançados de química, particularmente de química orgânica.

A fonte de ionização no IMS ioniza o gás, e não as moléculas directamente, pelo que não as fragmenta. A necessidade que surge de utilizar técnicas não destrutivas traz vantagem para o MCC-IMS.

- Utiliza temperaturas muito elevadas, algumas substâncias não suportam as temperaturas do injector (53), que se encontram entre os 250°C e os 280°C (47).

A técnica de MCC-IMS pode ser uma boa alternativa para a análise destes compostos uma vez que utiliza temperaturas máximas de 100°C (46).

- Não fornece informação *on-line* e é difícil de movimentar (6) e (33).

O instrumento MCC-IMS tem alguma mobilidade pode por isso ser transportável, o facto de não utilizar bombas de vácuo facilita esse processo.

- Permite identificar os compostos analisados, por comparação com espectros de compostos conhecidos inseridos em bibliotecas (47). A grande utilização deste espectrómetro, o facto de ser uma técnica relativamente antiga, quando comparada com o IMS, e ainda o facto de a partir de uma amostra, independentemente das variações nas condições de análise se obter um espectro único e característico, fez com que se construíssem bibliotecas vastas de espectros. No entanto, a utilização de uma biblioteca para identificar compostos desconhecidos pode ter algumas limitações, pois, como dito anteriormente, para interpretar o espectro é extremamente necessário um conhecimento avançado de química, nomeadamente no conhecimento das várias fragmentações possíveis de cada molécula, assim como a sua probabilidade de ocorrência.

Apesar disso há uma grande facilidade de identificação das substâncias no espectrómetro de massa, esta facilidade de identificação ainda não é permitida ao espectrómetro de mobilidade iónica devido à falta de bibliotecas.

Tanto uma técnica como outra têm uma grande sensibilidade permitindo análises em concentrações muito baixas, na ordem dos ppb (parte por bilião) ou ppt (parte por trilião). O IMS, no entanto, revela baixa afinidade para a detecção de alcanos, alcenos e compostos benzénicos, que são analitos com baixa afinidade protónica (33) sendo esta característica uma limitação desta técnica.

As diferenças entre as duas técnicas de análise aqui discutidas não se ficam por diferenças técnicas e de interpretação de espectros. Os custos associados a cada uma delas são um factor muito importante e determinante na escolha de uma ou outra como técnica de análise.

A tabela 3.3 compara os custos gerais associados a cada uma das técnicas, isto é, os custos de obtenção e manutenção.

Tabela 3. 3 – Custos associados à obtenção e manutenção de aparelhos de GC-MS e IMS, valores em euros (dados retirados de (47), (45) e (54))

	GC-MS	MCC-IMS
Custo do aparelho (€)	De 50 000 a 150 000	Aproximadamente 50 000
Custo de manutenção anual (€)	O valor da manutenção anual ronda os 5-10% do valor do custo do aparelho, de 5000 a 15000 euros anuais	1500 (uma média de utilização de uma garrafa de azoto de 9,4 m ³ por mês, com custo por garrafa de 125€)

3.3.2. PTR-MS

A espectrometria de massa por reacção de transferência de protões (PTR-MS) é uma técnica desenvolvida para a detecção e identificação de compostos, principalmente compostos orgânicos voláteis provenientes de fontes naturais ou processos antropogénicos (48).

O PTR-MS foi introduzido pela primeira vez em meados da década de 90 (48).

É uma técnica analítica que utiliza ionização química de uma amostra gasosa, feita através de transferência protónica (55), a fonte de protões é por norma H_3O^+ (48). Os iões depois de originados são injectados no tubo de deriva, percorrido por um gás inerte a um fluxo elevado (48) e (55), e sujeitos a um campo eléctrico coaxial onde ganham energia atingindo uma velocidade de deriva na direcção do campo, chegando a um espectrómetro de massa onde são analisados (55).

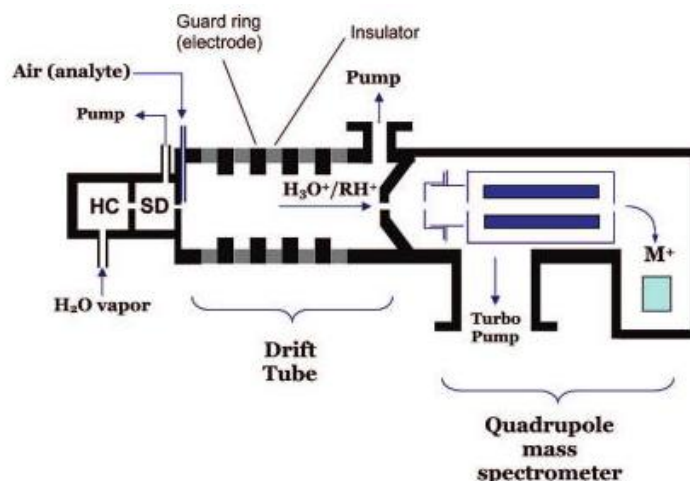


Figura 3. 21 – Esquema ilustrativo de um PTR-MS (HC – fonte de ionização) (48).

A adição de analitos da amostra provoca variações na concentração dos protões, pelo que a medição do sinal do ião permite obter a concentração absoluta das moléculas analisadas (48).

O excesso de energia libertada na transferência protónica é, por norma, suficientemente pequeno para evitar que haja uma grande fragmentação dos iões, pelo que o PTR-MS é muitas vezes referido como um método de ionização suave (48).

Consequentemente combinando esta técnica com a espectrometria de massa é possível identificar e quantificar gases orgânicos individuais num curto espaço de tempo e com uma sensibilidade que pode chegar aos pptv (48), (55). Esta técnica é ainda relativamente rápida,

pois ao contrário do GC-MS não utiliza a coluna de cromatografia, e permite análises em tempo real de pequenas concentrações de gases de amostras de ar, ar exalado e *headspace* de líquidos ou sólidos (55).

Ambas as técnicas, PTR-MS e MCC-IMS, têm sensibilidades em ordens de grandeza semelhantes, ambas permitem a realização de análises *on-line* e têm uma outra característica em comum, permitem a quantificação do composto que está a ser analisado. Para além das diferenças no princípio físico e funcionamento, existem outras, a fragmentação das moléculas de amostra, embora suave, existe na técnica PTR-MS, quando se fala do MCC-IMS essa fragmentação é nula. O MCC-IMS pode ser miniaturizado, uma vez que ao contrário do PTR-MS não utiliza vácuo, o que o torna também uma técnica muito menos dispendiosa, o que é uma vantagem em termos de comercialização pois torna-se bastante mais atractivo.

3.3.3. SIFT-MS

A técnica de espectrometria de massa associada a um tubo de deriva de selecção de iões (SIFT-MS) é um espectrómetro de massa de ionização química que utiliza iões precursores para ionizar gases numa mistura gasosa (56). É uma técnica analítica relativamente recente, foi concebida e desenvolvida em 1976 (56), e é a técnica que está na origem do PTR-MS (48), atrás referido, que tem vindo a revelar maior sensibilidade do que o SIFT-MS (55). A sensibilidade do SIFT-MS situa-se na região dos ppbv (19) e (56).

Os iões são produzidos por uma descarga eléctrica (48), passam através de um quadrupolo onde são separados segundo a sua relação massa/carga (56), este filtro permite que apenas os iões com uma m/z específica passem para a parte seguinte do instrumento, o tubo de deriva (48). Os iões que entram no tubo de deriva são misturados com um fluxo de gás inerte, os iões positivos precursores, H_3O^+ , NO^+ ou O_2^+ reagem com as moléculas da amostra, o que resulta na formação de iões produto (19), que são transportados ao longo de um segundo quadrupolo (inserido no espectrómetro de massa) no final do instrumento (48). Os iões produto são detectados pelo espectrómetro de massa (19) e (48).

Quando se utiliza o ião H_3O^+ os iões produto obtidos tendem a não sofrer grande fragmentação, pelo que misturas com grande variedade de componentes podem ser analisadas quantitativamente (56). À semelhança do PTR-MS, no SIFT-MS a fragmentação dos iões-produto também é muito reduzida o que permite a mistura de compostos no ar a ser

analisado sem necessitar de utilizar técnicas de separação demoradas, como no GC-MS (55), este instrumento também permite a análise em tempo real (55).

O MCC-IMS tem uma clara vantagem sobre o SIFT-MS que é a sua elevada sensibilidade, esta situa-se na ordem dos pptv, ao passo que no SIFT-MS a sensibilidade, como referido, é da ordem dos ppbv, mais uma vez o facto do MCC-IMS poder ser miniaturizado também é vantajoso em relação a esta técnica. Ambas estas técnicas permitem análises *on-line* e a quantificação da amostra.

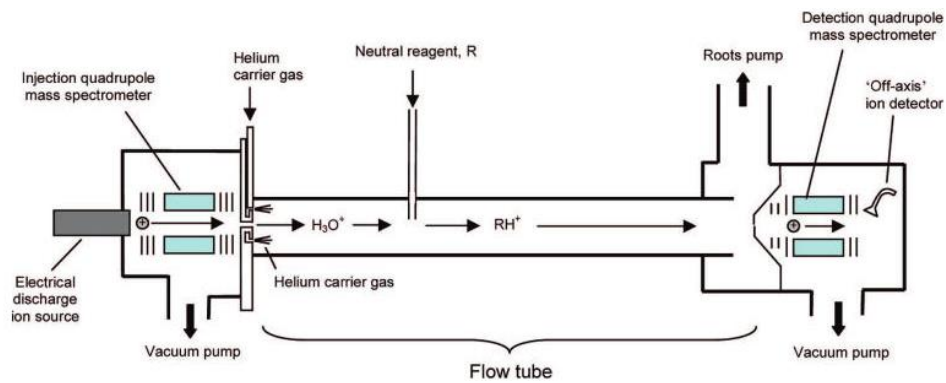


Figura 3. 22 – Esquema ilustrativo do instrumento e funcionamento do SIFT-MS (48).

3.3.4. GC-IMS

Esta técnica associa uma coluna de cromatografia gasosa (GC) ao analisador espectrómetro de mobilidade iónica (IMS). Devido à baixa selectividade do IMS, particularmente no caso da detecção de misturas complexas, torna-se necessário utilizar um método de pré-separação, a coluna de cromatografia gasosa é uma alternativa à coluna multicapilar, aumentando a extensão de aplicações do IMS (32).

CAPÍTULO 4 – MÉTODO EXPERIMENTAL DE OBTENÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS

4.1. MATERIAIS E MONTAGEM EXPERIMENTAL

Para realizar todo o procedimento experimental deste trabalho utilizaram-se diversos materiais.

Os sacos Tedlar® e Flex Film foram adquiridos à empresa SKC® (Eighty Four, PA). Amostras destes sacos foram colocadas em frascos de vidro de 20 ml, fechados com tampas magnéticas roscadas de centro aberto e septos de borracha (butyl red /PTFE grey) de 1,6 mm de espessura, todos provenientes da VWR (Radnor, PA). Os frascos contendo as amostras foram aquecidos utilizando um bloco de aquecimento, também este obtido à empresa VWR, e a temperatura deste bloco foi controlada através do termómetro digital, da FLUKE (Everett, Washington).

Para a introdução das amostras no analisador utilizou-se uma agulha com 0,8 mm de diâmetro interno por 40 mm de comprimento ligada a um tubo de Teflon® de 1 mm de diâmetro interno, fornecido pela Bohlender GmbH (Grünsfeld, Alemanha). Este tubo foi cortado, ficando com um comprimento de 195 mm, na terminação oposta à agulha colocou-se uma *nut* fêmea, obtida da Swagelok (Solon, Ohio), para fazer a ligação ao aparelho, como indicado na figura 4.1.



Figura 4. 1 – Sistema agulha, tubo de Teflon® e *nut* utilizado para fazer a introdução da amostra no analisador. Imagem obtida no laboratório.

As análises foram efectuadas utilizando uma montagem como a representada na figura 4.2.

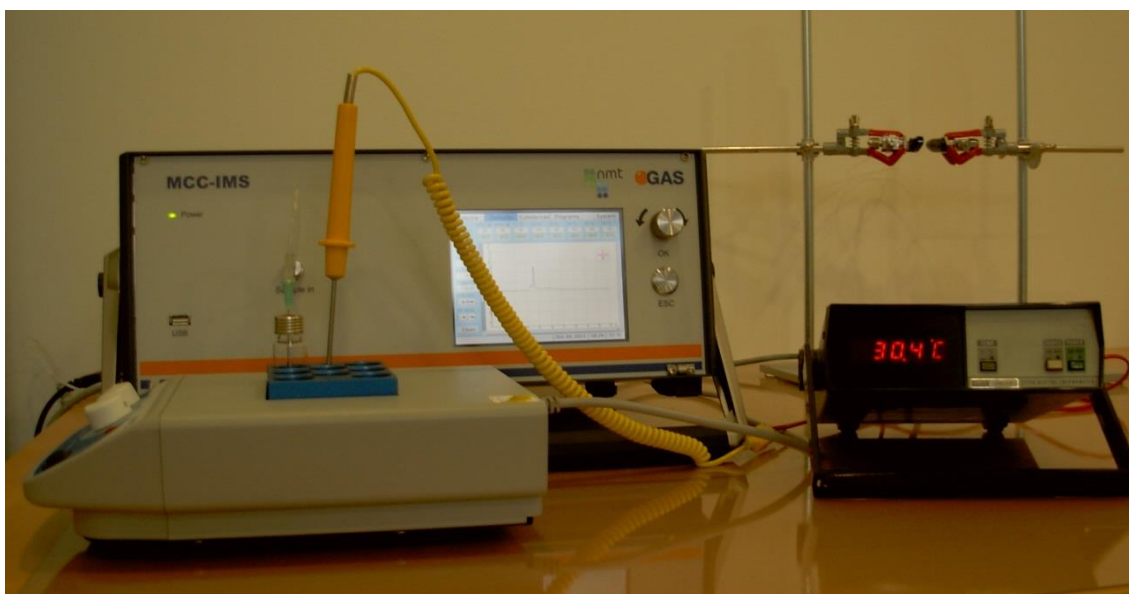


Figura 4. 2 – Imagem da montagem experimental utilizada para realizar as análises. Imagem obtida no laboratório.

4.2 TESTES DE OPTIMIZAÇÃO

4.2.1. Determinação da massa óptima de amostra

Para determinar qual a massa ideal de amostra fizeram-se alguns testes. Colocaram-se quantidades diferentes de Flex Film em cinco frascos diferentes: 100, 200, 300, 400 e 500mg. Estas amostras foram analisadas segundo as mesmas condições de tempo e temperatura de aquecimento, 10 minutos a 90°C, com os mesmos fluxos (EPC1 300 e EPC2 25) e modo de

operação, EXP2, (este é um modo de operação padrão do aparelho, as suas especificações encontram-se na tabela 4.1 e os parâmetros na tabela 4.2).

Não se observaram diferenças significativas entre os espectros concluindo-se que uma massa de 100mg é suficiente para se obter o equilíbrio estático entre o *headspace* e a amostra, e consequentemente um bom espectro.

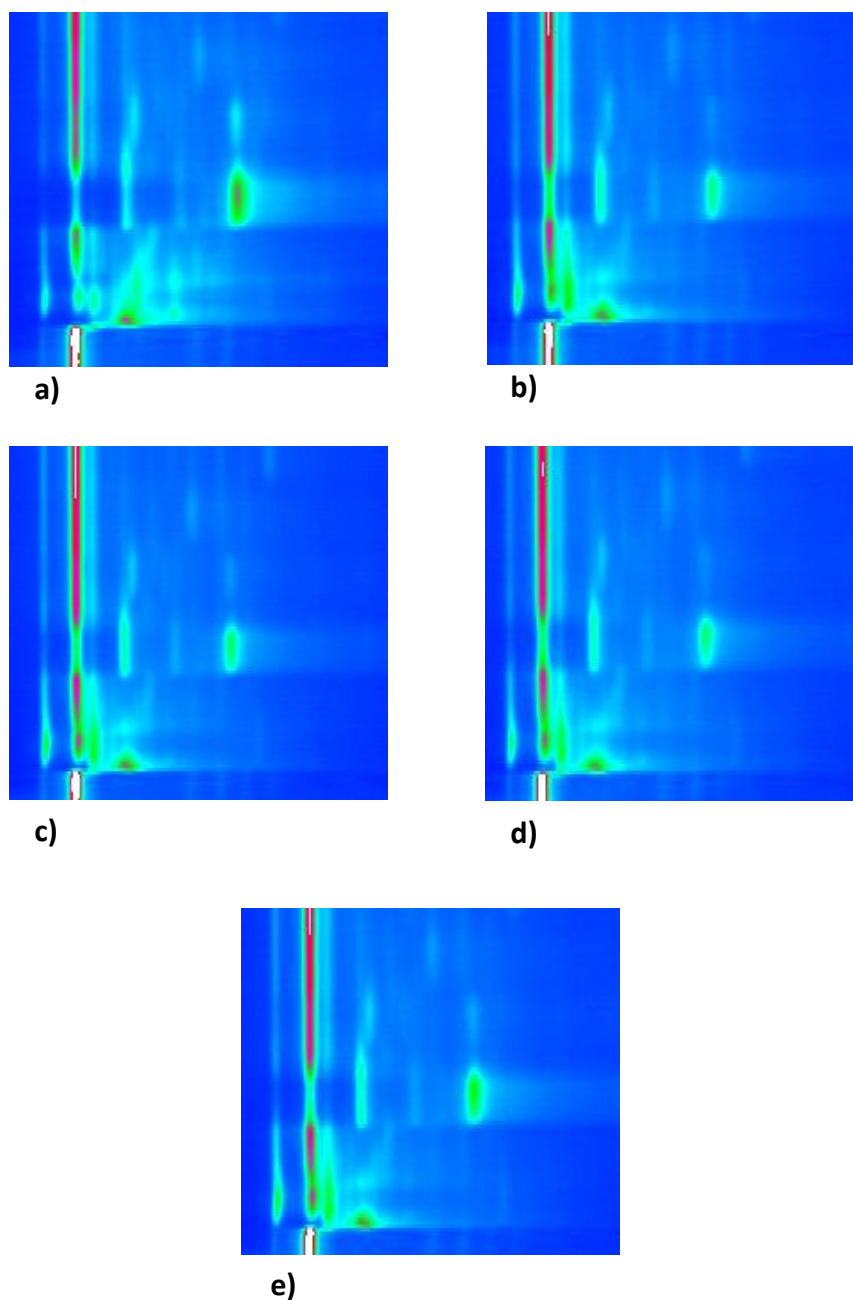


Figura 4. 3 – Espectros das amostras de Tedlar® com massas: a) 100 mg, b) 200 mg, c) 300 mg, d) 400 mg e e) 500 mg. Imagens obtidas no laboratório.

Tabela 4. 1 – Modo de operação padrão para a realização de análises, EXP2 (reprodução da tabela que surge no ecrã do MCC-IMS).

Spectra	Time	V	P	R	E1	E2	T1	T2	S
2	1,386 s		25%	rec					
12	8,316 s	open							
17	11,781 s	close							
18	12,474 s		off						
433	05m00s			stop					
434	05m01s	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda:

V – Válvula: alteração da posição da válvula

P – Bomba: determinação do seu fluxo de funcionamento

R – gravação do espectro

E1 – Valores do fluxo do gás de deriva

E2 – Valores do fluxo do gás de arraste

T1 – temperatura do IMS

T2 – Temperatura da MCC

S – Área de análise de substâncias

Tabela 4. 2 – Parâmetros de análise do modo de operação EXP2 inicial.

Gás de deriva e de arraste	Azoto 5.0
Fluxo do gás de deriva	300 mL/min
Fluxo do gás de arraste	25 mL/min
Temperature T1 a T6	40 °C
Averaging	32
Tensão	Positiva (2kV)

4.2.2. Optimização do modo de operação para a realização de análises

Para a realização das análises com o MCC-IMS utilizou-se o modo de operação denominado EXP2, o mesmo já utilizado anteriormente, mas adaptando-o às necessidades específicas destas análises. Para tal procedeu-se à realização de alguns cálculos para determinar as alterações necessárias a fazer, chegou-se a um modo de operação com as características descritas na tabela 4.3, que operou sob as condições descritas na tabela 4.5.

Tabela 4. 3 – Modo de operação EXP2 após as alterações (reprodução da tabela que surge no ecrã do MCC-IMS).

Spectra	Time	V	P	R	E1	E2	T1	T2	S
0	0 ms		12%						
1	231 ms			rec					
14	3,234 s	open	off						
36	8,316 s	close							
1297	05m00s			stop					
1298	05m00s	-	-	-	-	-	-	-	-

Apesar dos parâmetros fluxo do gás de deriva (E1), fluxo do gás de arraste (E2), temperatura do IMS (T1) e temperatura da MCC (T2) serem controlados directamente noutras opções do aparelho, se for pretendido podem ser alterados durante a execução do modo de operação. No caso dos modos de operação utilizados para desenvolver este trabalho estes parâmetros não necessitaram de alteração, optou-se por manter estes parâmetros na tabela para exemplificar o que é observado na janela do aparelho MCC-IMS.

Tabela 4. 4 – Parâmetros de análise do modo de operação EXP2 após as alterações.

Gás de deriva e de arraste	Azoto 5.0
Fluxo do gás de deriva	300 mL/min
Fluxo do gás de arraste	25 mL/min
Temperatura T1 a T6	40 °C
Averaging	10
Tensão	Positiva (2kV)

Quando se cria ou altera um modo de operação neste aparelho isso faz-se seleccionando o *spectra* (ou espectro individual, explicado em detalhe na secção 4.4) no qual determinada acção tem início, a cada *spectra* corresponde um valor de tempo. O *spectra* e o valor de tempo correspondente relacionam-se pelo *averaging*. Por exemplo, para um *averaging* de 10, a diferença de tempo entre dois *spectra* é de 231 ms, escolhendo um *averaging* de 32, a diferença de tempo entre dois *spectra* passa a ser de 693 ms. A escolha do *averaging* adequado não requer cálculos, optar por um valor maior ou menor tem apenas a ver com o detalhe que se pretende obter no espectro final.

Os cálculos efectuados de forma a otimizar os resultados obtidos foram: cálculo do tempo de funcionamento da bomba e da sua intensidade de bombeamento durante a posição A, o tempo de abertura da válvula na posição B, e finalmente o tempo de corrida do modo de operação.

Tempo de funcionamento da bomba

A bomba inicia o seu funcionamento no arranque do modo de operação, fica a funcionar durante toda a posição A enchendo assim o loop com a amostra.

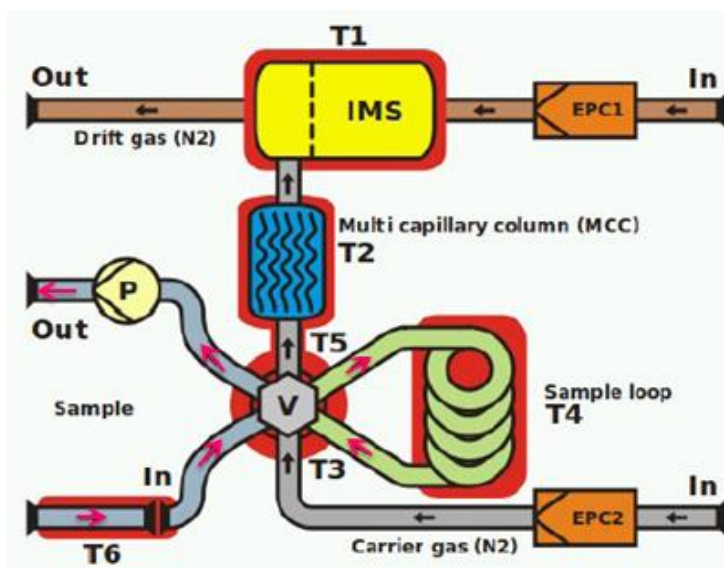


Figura 4. 4 – Percurso efectuado pela amostra durante a posição A (setas azul e rosa). Imagem adaptada de (46).

O loop tem um volume de 5 ml, o frasco que contém a amostra tem um volume de 20 ml, pelo que o volume a retirar do frasco teria sempre de ser inferior ou igual a 20 ml, idealmente seria os 5 ml suficientes para encher o loop, não havendo perdas e assim garantindo que o que é posteriormente inserido na coluna é apenas amostra.

É necessário ter em atenção um outro aspecto, a agulha e o tubo que ligam o frasco ao MCC-IMS também têm volume, este deve ser tido em conta. O volume do tubo de teflon é de 0,153 ml, o da agulha é de 0,0201 ml, e o volume do cone que une a agulha ao tubo é de 0,0586 ml, no total este conjunto perfaz um volume de 0,2317 ml. O volume total a retirar do frasco é então de 5,2317 ml.

Dado que a bomba a funcionar a 25% corresponde a um fluxo de sucção de aproximadamente 200 ml/min, para retirar os 5,2317ml do frasco da amostra seria necessário a bomba funcionar durante cerca de 1,57 s, este tempo é demasiado curto e pode levar a perdas de amostra. O dobro deste tempo seria no entanto suficiente, logo, com um tempo de abertura da válvula de 3,14s, e um volume de 5,2317ml a retirar do frasco, efectuando um cálculo simples sabe-se que seria necessário um fluxo de 99,969ml/min, aproximadamente 100ml/min.

Uma vez que a bomba a funcionar a 25% corresponde a um fluxo de 200ml/min, como referido anteriormente, então para os 100ml/min a bomba teria de funcionar a 12,5%, como o aparelho apenas aceita números inteiros optou-se por estabelecer os 12%, correspondendo a um fluxo de 96ml/min. Esta redução no fluxo fez com que fosse necessário aumentar o tempo

de funcionamento da bomba para 3,269s, o que levou à alteração das especificações do modo de operação EXP2.

A bomba inicia o seu funcionamento aos 0s, que corresponde ao espectro 0, para a percentagem de 12% teria de parar aos 3,269s, como calculado, o espectro com o valor mais próximo deste é o espectro 14 que corresponde aos 3,234s, foi este o escolhido, como se pode ver na tabela 4.3.

Tempo de abertura da válvula

O tempo de abertura da válvula é calculado com base nos fluxos utilizados e no volume que se pretende inserir na coluna multicapilar e no IMS. Após o loop cheio com amostra, processo efectuado na posição A, a válvula troca para a posição B para permitir que a amostra saia do loop e atravesse a coluna multicapilar e o analisador IMS.

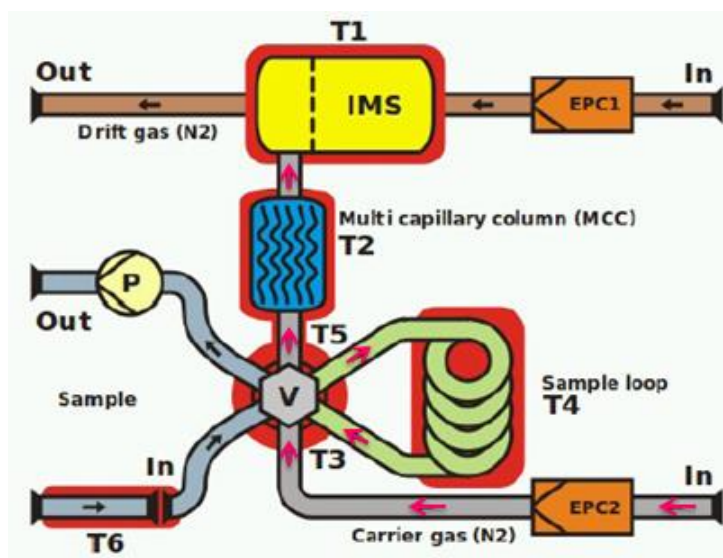


Figura 4. 5 – Percurso efectuado pela amostra na posição B (setas a rosa). Imagem adaptada de (46).

Os fluxos ideais, segundo literatura e o fabricante, são um valor elevado para o gás de deriva (EPC1) e valores pouco elevados para o gás de arraste (EPC2). O gás de deriva permite desacelerar os iões de acordo com o seu tamanho e forma, e assim melhorar a sua separação: iões maiores sofrem uma maior desaceleração. No caso ideal os iões são completamente separados (36).

O gás de arraste é aquele que vai transportar a amostra que está contida no loop através da coluna multicapilar até ao IMS, passando pela válvula, como se pode ver na figura 4.5.

O aparelho permite uma amplitude de valores entre 100 e 500 ml/min para o gás de deriva e entre 10 e 250 ml/min para o gás de arraste (46). Análises feitas anteriormente com o aparelho revelaram valores de 300ml/min para o EPC1 e 25 ml/min para o EPC2 como sendo valores óptimos a utilizar em análises, foram também esses os utilizados.

Para determinar quanto tempo a válvula teria de estar aberta e com base no valor do fluxo do gás de arraste, 25ml/min, fez-se um cálculo inicial onde todo o volume do loop, os 5 ml, entraria na coluna. Com este cálculo obteve-se um tempo de abertura da válvula de 12 s.

Uma quantidade de amostra de 2 ml é por norma suficiente para realizar uma análise, para estes valores de fluxo, isso corresponde a um tempo de abertura da válvula de 5 segundos. Para ter a certeza de qual a melhor opção fez-se um procedimento experimental simples, uma amostra de 100 mg de Flex Film foi aquecida a 60°C durante 10 minutos e analisada com um tempo de abertura de 12 s (5 ml), figura 4.6 a), e outra amostra, do mesmo tipo, com a mesma quantidade e segundo os mesmos parâmetros, foi analisada com um tempo de abertura da válvula de 5s (2 ml), figura 4.6 b).

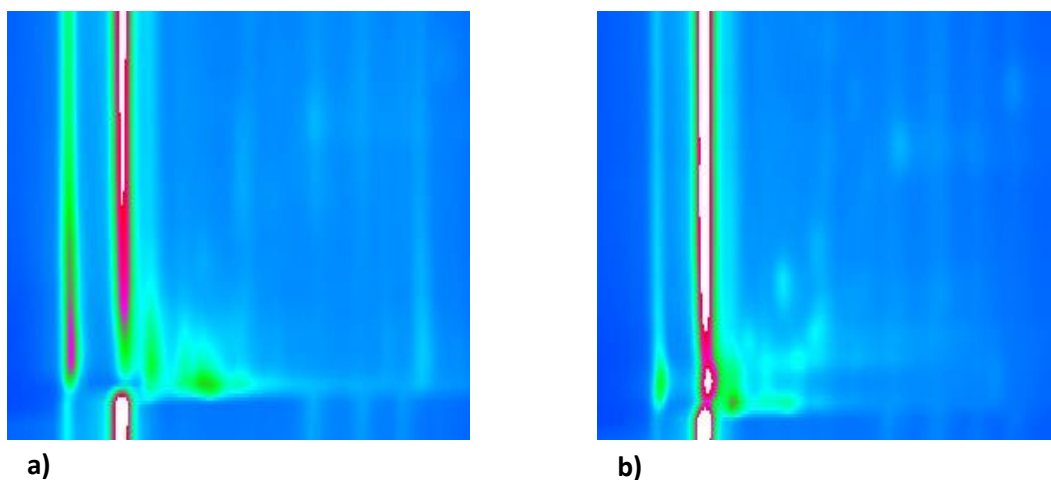


Figura 4. 6 – a) Espectro obtido com uma abertura da válvula de 12 segundos b) Espectro obtido com uma abertura da válvula de 5 segundos. Imagens obtidas no laboratório.

Como se pode ver pela figura 4.6, o tempo de abertura da válvula tem alguma influência na separação dos compostos. Com a entrada dos 5 ml de amostra no analisador os picos ficam ligeiramente mais intensos mas menos separados devido à maior quantidade de composto que está a ser introduzido, os 2 ml permitem obter um espectro nítido, com todos os picos

presentes e bem definidos. Pelo que se optou por um tempo de abertura da válvula de 5 segundos.

O momento em que a bomba desliga corresponde à altura em que a válvula abre, é o momento em que se passa da posição A para a posição B. Dado que a bomba desliga no *spectra* 14, abre-se a válvula nessa altura, para esta se manter aberta durante os 5 segundos calculados terá de fechar aos 8,2 segundos, aproximadamente, o *spectra* 36 com 8,316s foi o escolhido, como se pode ver na tabela 4.3.

Determinação do tempo de corrida

O tempo de corrida do modo de operação é determinado pelo utilizador com base no que se pretende analisar. Para compostos ou amostras desconhecidos é aconselhável utilizar tempos de corrida na ordem dos 5 a 6 minutos para se ter uma visão abrangente das posições onde podem surgir picos. Após a primeira análise, consoante as posições dos picos obtidos, pode-se fazer uma avaliação do tempo de corrida necessário.

A escolha ficou num tempo de corrida de 5 minutos. Embora para tempos de aquecimento curtos, até 10 minutos, e para temperaturas baixas, até aos 40°C, seja um modo de operação um pouco extenso, para as outras análises revelou-se necessário, com a presença de alguns picos aos 201 segundos (cerca de 3,35 minutos), que embora não se relacionassem com a amostra em si, apenas mais tarde isso foi concluído.

4.2.3. Escolha da polaridade

Todos os testes que foram necessários efectuar recorrendo ao MCC-IMS foram feitos na polaridade positiva, que se revelou a mais adequada às análises deste tipo de amostra, no entanto, fizeram-se alguns testes colocando o aparelho na polaridade negativa e fazendo correr o modo de operação EXP2. Na figura 4.7 encontram-se os espectros de análises a amostras de Tedlar®, Flex Film e uma análise ao ar da sala, todos efectuados no modo negativo.

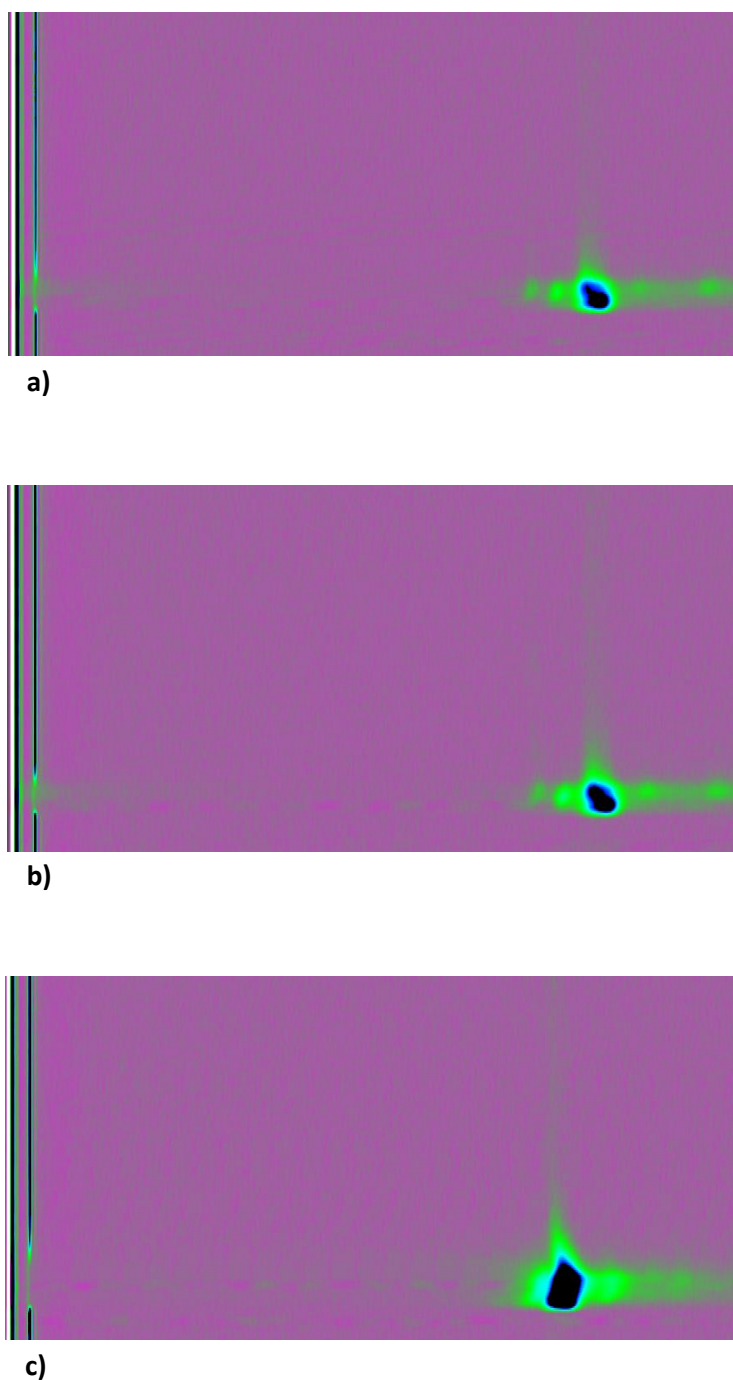


Figura 4. 7 – Espectros obtidos no modo negativo. a) Amostra de Tedlar® aquecida a 60°C durante 10 minutos. b) Amostra de Flex Film aquecida a 60°C durante 10 minutos. c) Análise ao ar ambiente da sala. Imagens obtidas no laboratório.

O pico que surge em todos os espectros, apesar de mais intenso no espectro referente ao ar da sala, tem o mesmo tempo de deriva em todas as análises, cerca de 13,6 ms. Não foi possível concluir uma relação entre o pico obtido no espectro e os compostos das amostras de Tedlar® e Flex Film.

4.3. REALIZAÇÃO DA PARTE EXPERIMENTAL

Fizeram-se as amostras, cada uma com uma massa de 100 mg, aproximadamente, as massas foram determinadas com uma precisão de $\pm 0,1$ mg. Cada amostra foi inserida num frasco de vidro de 20 ml e fechada com a tampa roscada e um septo de borracha. Os frascos foram ainda rotulados segundo a seguinte designação: tipo de amostra, número e massa da amostra, data, número de vezes que foi aquecida.

Foram feitos nove grupos, cada grupo contendo cinco amostras de Flex Film, e cinco grupos, cada grupo contendo cinco amostras de Tedlar®, para realizar as análises de variação com o tempo e temperatura. Para realizar a simulação de 48 horas foram feitos dois grupos, um dos grupos continha quatro amostras de Tedlar® e o outro grupo continha quatro amostras de Flex Film.

4.3.1. Análise em função do tempo e temperatura

Os frascos contendo as amostras foram colocados no bloco de aquecimento, a uma determinada temperatura, através do seu septo foi introduzida a agulha ligada ao tubo de Teflon® e começou a ser contabilizado o tempo de aquecimento, após o qual se fez a análise dos compostos voláteis libertados pela amostra. As amostras foram aquecidas segundo os tempos e temperaturas que se encontram na tabela 4.5.

Tabela 4. 5 – Tempos e temperaturas de aquecimento das amostras

	1 minuto	5 minutos	10 minutos	15 minutos	20 minutos	60 minutos
30°C	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas
40°C	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas
50°C	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas
60°C	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas	5 amostras diferentes analisadas

Este procedimento foi repetido para as amostras de Tedlar® e de Flex Film. Para temperaturas baixas, foi utilizado o mesmo conjunto de 5 amostras para ser analisado a diferentes tempos de aquecimento.

O tempo de aquecimento serviu também como tempo de equilíbrio de *headspace*. O *headspace*, na sua definição mais simples, é o volume existente na parte superior de um frasco parcialmente cheio, e fechado. Os frascos utilizados contêm amostra, que quando aquecida liberta compostos voláteis, estes vão acumular-se no espaço livre de amostra do frasco e também da agulha e tubo, entrando em equilíbrio com o volume de ar já aí existente, chama-se a este processo equilíbrio de *headspace*. Os compostos voláteis são então analisados pelo MCC-IMS.

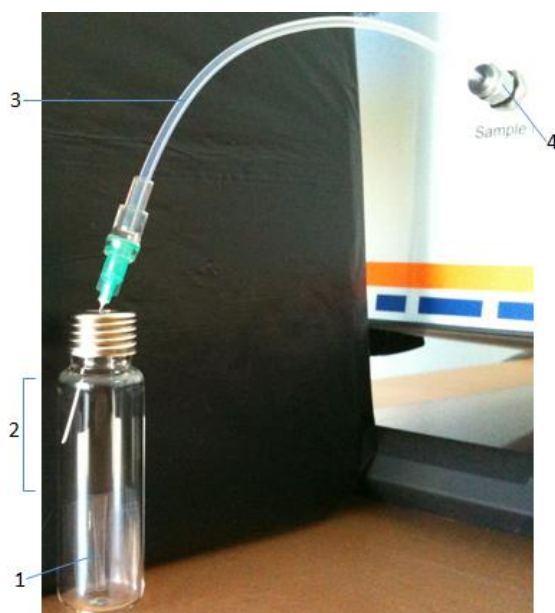


Figura 4. 8 – Equilíbrio de *headspace*. A amostra (1) liberta os compostos voláteis que vão entrar em equilíbrio com o espaço livre de amostra no frasco (2), a agulha e o tubo (3), este último ligado ao MCC-IMS (4). Imagem obtida no laboratório.

Após cada análise foi efectuado um ciclo de limpeza para desimpedir o loop das substâncias da análise anterior de modo a não influenciar a análise seguinte, pois poderia levar a um aumento da concentração obtendo-se valores de intensidade dos picos incorrectos. Para realizar o ciclo de limpeza criou-se um outro modo de operação, denominado CLEANING_1, com as características descritas na tabela 4.6, e os parâmetros da tabela 4.7. Depois de efectuada a limpeza e ainda antes da análise seguinte fez-se uma análise do sistema de modo a confirmar se o mesmo já estava livre de qualquer vestígio da amostra, este processo consistiu em fechar a entrada do MCC-IMS e fazer correr o modo de operação EXP2.

Se necessário, isto é, se a análise do sistema revelasse alguma sujidade residual o processo anterior era repetido.

Tabela 4. 6 – Modo de operação de limpeza CLEANING_1 (reprodução da tabela que surge no ecrã do MCC-IMS).

Spectra	Time	V	P	R	E1	E2	T1	T2	S
15	3,465 s	open							
66	15,2 s	close							
67	15,5 s	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4. 7 – Parâmetros de análise do modo de operação CLEANING_1

Gás de deriva e de arraste	Azoto 5.0
Fluxo do gás de deriva	300 mL/min
Fluxo do gás de arraste	25 mL/min
Temperatura T1 a T6	40 °C

Outros dois tipos de análise foram ainda realizados: foram feitas análises do ar da sala e análises dos frascos de vidro vazios com a tampa e septos colocados, ambos utilizando o modo de operação EXP2.

Todos os dias em que foram realizadas experiências foi feita uma a duas análises do ar da sala para controlo e comparação com os espectros obtidos com as amostras. Este processo consistiu em abrir a entrada do MCC-IMS, colocar a bomba em funcionamento até os 40% (cerca de 320 ml/min) durante alguns segundos, de modo a encher o loop fazendo circular o ar ambiente através do mesmo, e analisar utilizando o modo de operação atrás referido. Após esta análise também se fez o procedimento de limpeza e análise do sistema.

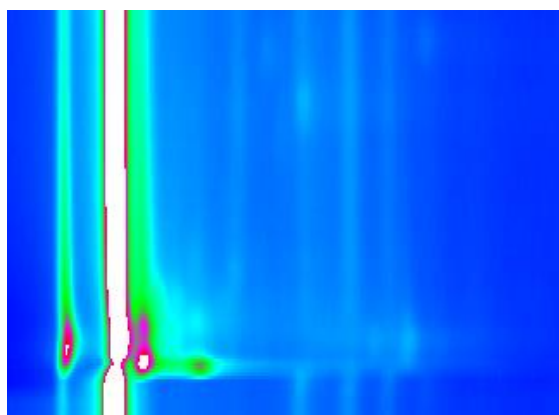


Figura 4. 9 – Espectro correspondente ao ar da sala feito no dia 5 de Abril de 2011. Observa-se a existência de picos devido a compostos presentes no ar ambiente. Imagem obtida no laboratório.

Os frascos de vidro vazios, fechados, foram colocados a aquecer durante o tempo e segundo as temperaturas também utilizadas para as amostras, mas apenas foi feita uma análise para cada conjunto de parâmetros e não cinco, como se fez para as amostras.

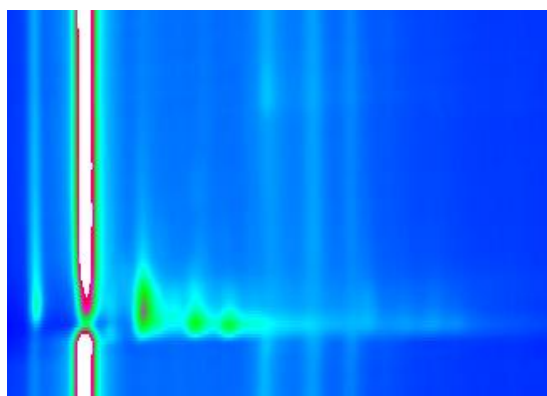


Figura 4. 10 – Espectro correspondente a um frasco vazio, roscado e com um septo de borracha, aquecido a 60°C durante 60 minutos. Os três picos que se observam são devidos ao septo de borracha. Imagem obtida no laboratório.

4.3.2. Simulação de 48 horas

As amostras de Flex Film e Tedlar® foram analisadas a temperatura ambiente após 10 minutos de equilíbrio de *headspace* com a agulha e o tubo de Teflon®. Após a análise, como os septos se encontravam furados foram substituídos por septos novos, para evitar perdas de compostos durante o processo experimental seguinte.

As amostras foram analisadas novamente ao fim de 48 horas. Ao longo deste tempo foram sujeitas a ciclos de temperatura, sendo aquecidas e mantidas a 30°C durante 9 horas, tempo a partir do qual se desligou o bloco de aquecimento, fazendo com que as amostras gradualmente ficassem sujeitas a temperaturas mais baixas durante as 15 horas seguintes, sendo novamente aquecidas durante 9 horas e sujeitas à temperatura ambiente durante 15 horas, fazendo assim as 48 horas, ao fim das quais foram analisadas.

Antes da análise da primeira amostra, foi feita a verificação da limpeza do aparelho fazendo uma análise ao mesmo. De seguida inseriu-se a agulha no septo do frasco, esperou-se 10 minutos para o tempo de equilíbrio de *headspace*, e de seguida fez-se a análise da amostra. Repetiu-se este procedimento para todas as amostras, com ciclos de limpeza e análise do sistema, entre duas análises consecutivas.

Ao longo da realização das experiências foram registados os valores de temperatura e humidade ambientes para controlo.

4.4. AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS

4.4.1. Software LAV®

O aparelho MCC-IMS trabalha em conjunto com um *software* denominado LAV®, desenvolvido pela empresa G.A.S., GmbH. Este programa permite fazer uma interpretação e análise dos espectros obtidos com o MCC-IMS. Neste trabalho foi utilizada a versão 1.5.0 do LAV®.

Este *software* grava o espectro, para tal cria um ficheiro do tipo .mea por cada análise efectuada (se o modo de operação criado no MCC-IMS for assim pré-definido, é possível utilizar o IMS sem gravar o espectro), permitindo ao utilizador uma visualização dessa análise feita sob a forma de um mapa de cores. É também possível visualizar, simultaneamente, diferentes espectros individuais.

A visualização utilizando o espectro individual, que é o espectro de mobilidade, permite a visualização linha a linha, isto é, espectro a espectro. Utiliza-se quando se pretende obter maior detalhe da altura ou do formato de um pico a um determinado tempo de retenção, pois a cada espectro corresponde um valor de tempo de retenção fixo, mas permitindo a análise desse espectro ao longo do tempo de deriva.

Nas figuras 4.11 e 4.12 encontram-se dois exemplos de visualização de um espectro e de um espectro individual em simultâneo. No espectro individual temos um gráfico a duas dimensões, onde o tempo de deriva surge no eixo dos xx (como acontece no mapa de cores) e o eixo dos yy dá a intensidade do pico.

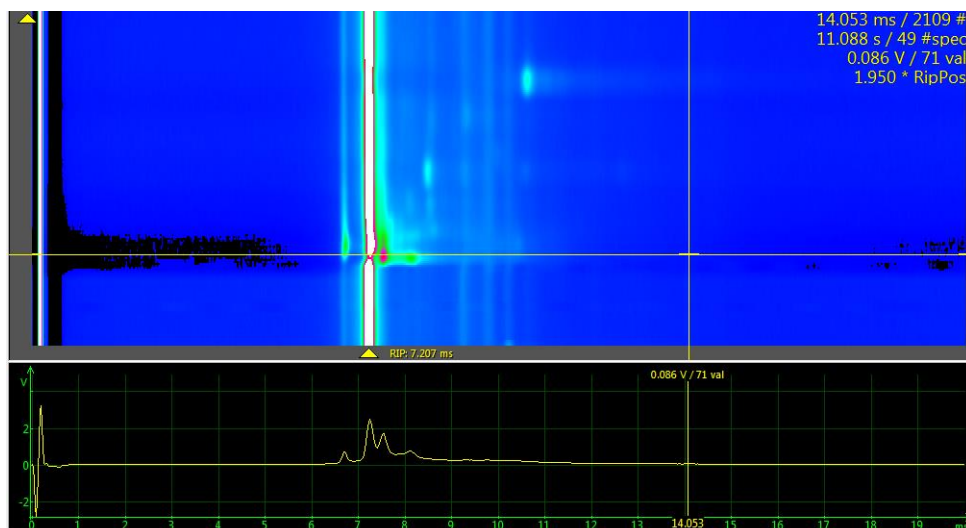


Figura 4. 11 – Visualização simultânea de um espectro (mapa de cores) e de um espectro individual correspondente ao *spectra* 49 (ao qual está associado o tempo de retenção de 11,088s). Imagem obtida no laboratório.

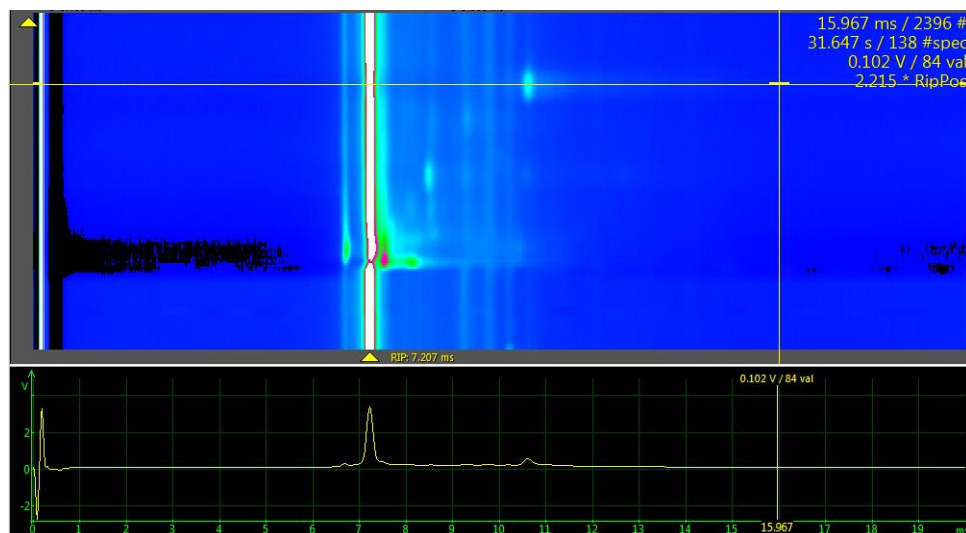


Figura 4. 12 – Nesta imagem visualiza-se o mesmo espectro da imagem 4.10 (mapa de cores), mas o espectro individual já corresponde ao *spectra* 138 (ao qual está associado o tempo de retenção de 31,647s). Imagem obtida no laboratório.

O mapa de cores dispõe o tempo de deriva no eixo dos xx, que se divide em 3000 pontos, e o tempo de retenção no eixo dos yy, composto por 1296 espectros unitários. No eixo dos yy, o número total de linhas, ou seja de espectros unitários, pode variar, este número depende do tempo de corrida do modo de operação, neste caso utilizou-se um modo de operação com um tempo de corrida de 5 minutos ao que corresponde 1296 linhas (ou espectros unitários).

Em termos visuais este espectro mostra uma vista constituída por píxeis numa matriz de 1296 linhas por 3000 colunas, onde a cada pixel corresponde um valor de intensidade, em volts, traduzido por uma cor, numa escala que vai do preto, valores de intensidade negativos, passando pelo azul à medida que os valores de intensidade aumentam, variando entre tons de azul-escuro que progridem para tons de azul mais claro, chegando ao verde, rosa e vermelho consoante os valores de intensidade vão sendo cada vez mais elevados, até ao branco, que corresponde a um valor máximo de intensidade e à saturação.

A figura seguinte mostra a janela do software, onde se pode visualizar um espectro.

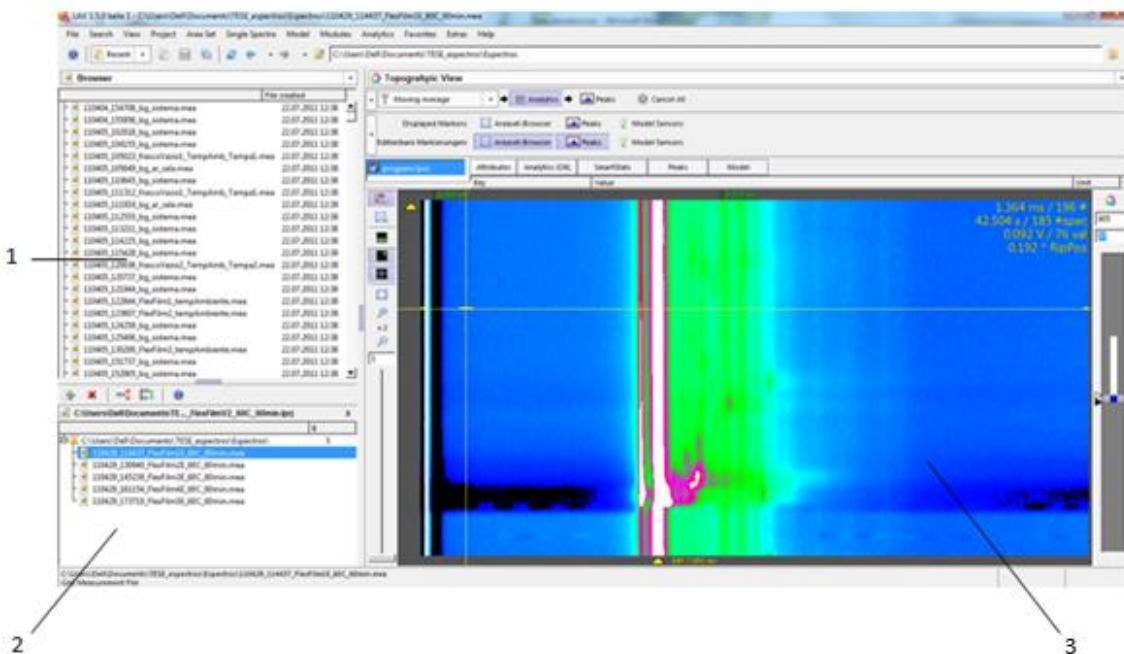


Figura 4. 13 – Janela do software LAV®. (1) Menu que permite dispor todos os ficheiros obtidos e guardados numa pasta, as áreas selecionadas no *Areaset*, entre outras opções; (2) Permite colocar uma série de ficheiros previamente selecionados e guardá-los sob a forma de um projecto; (3) Onde é feita a visualização do espectro obtido, ou do espectro e espectros unitários simultaneamente. Imagem adaptada de imagem obtida no laboratório.

O LAV® dispõe de uma ferramenta que permite seleccionar os picos do espectro e dar-lhes uma designação, formando um conjunto denominado *Areaset*, que pode ser guardado num ficheiro com a terminação .las. Este tipo de ficheiro, uma vez aberto, sobrepõe as áreas seleccionadas, aos espectros dos ficheiros, do tipo .mea, permitindo uma comparação visual entre os picos de diferentes espectros.

Na figura 4.14 pode ver-se um exemplo de um espectro de uma amostra de Tedlar® com o respectivo *Areaset*. A janela no lado superior esquerdo (indicada com 1 na figura 4.13) mostra as características de cada área seleccionada, tais como o nome atribuído a essa área, os tempos de deriva que correspondem ao seu início e final, e ainda a sua posição em relação ao RIP. É também nesta janela que se pode eliminar uma área criada e que não se pretenda manter.

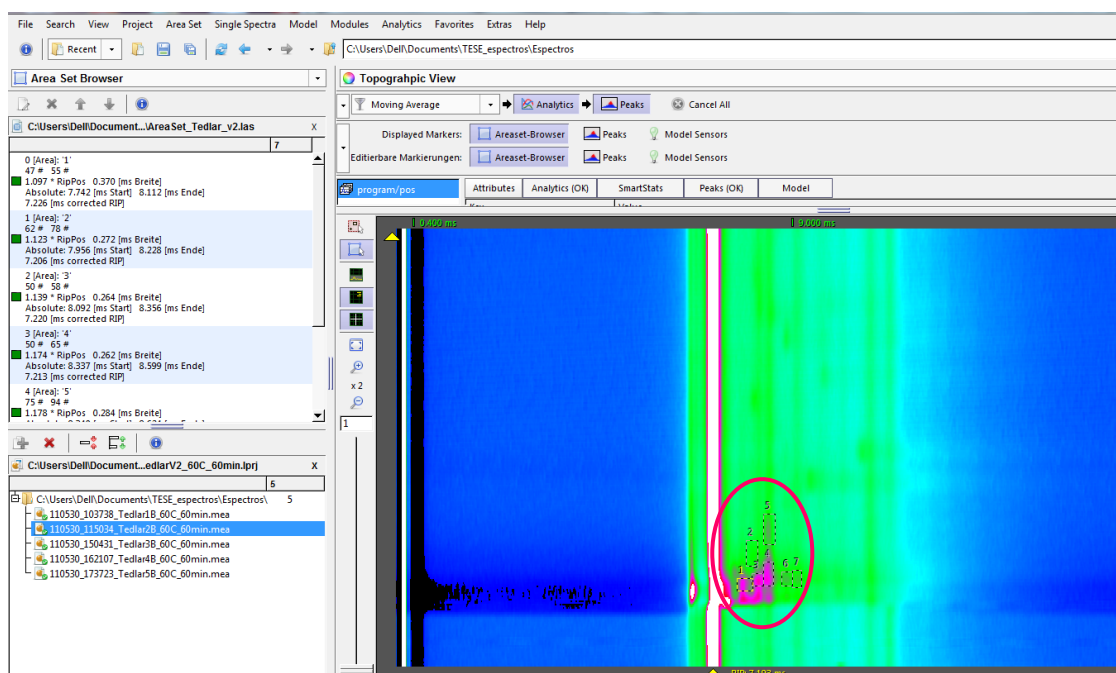


Figura 4. 14 – Imagem do espectro de uma amostra de Tedlar® e respectivo *Areaset*. Imagem adaptada de imagem obtida no laboratório.

Uma vez o *Areaset* determinado pode recorrer-se a uma outra ferramenta que permite a sua análise. No menu, seleccionando a função *Modules* surgem várias opções, entre elas a opção *Analyze Areaset*.

Esta ferramenta permite obter dados sobre um grupo de ficheiros do tipo .mea, como a intensidade dos picos seleccionados no *Areaset*, o seu tempo de deriva e de retenção, entre outros. Para utilizar esta ferramenta tem de se criar um projecto. Para tal adicionam-se os ficheiros dos espectros de interesse na janela 2, ver figuras 4.13 e 4.14, e grava-se, forma-se assim um *projecto*, que não é mais do que um novo ficheiro do tipo .lprj, que contém os vários ficheiros .mea, ou seja, os vários espectros seleccionados. Por cada projecto analisado com a ferramenta *Analyze Areaset* obtêm-se 13 ficheiros do tipo .csv, um ficheiro *pdf* e um ficheiro do tipo .lmc, que é um ficheiro de configuração. Nestes ficheiros estão contidas as informações obtidas com esta ferramenta.

4.4.2. Tratamento de dados

Foi criado um projecto contendo os ficheiros relativos às cinco análises feitas para cada conjunto de parâmetros, para cada uma das amostras. Por exemplo, o projecto intitulado *Tedlar_60C_60min* contém as cinco análises diferentes feitas às amostras de Tedlar® aquecidas a 60°C durante 60 minutos. Foram ainda criados quatro projectos, cada um contendo os quatro ficheiros referentes às análises de Tedlar® e Flex Film a temperatura ambiente e após a simulação de 48 horas.

Uma vez os projectos criados, foi feita a determinação do *Areaset*. Para escolher qual o *Areaset* mais adequado para cada um dos grupos de amostras procedeu-se da seguinte maneira: compararam-se os espectros obtidos a partir das amostras aquecidas a 60°C durante 60 minutos, com os espectros obtidos do ar ambiente da sala do respectivo dia em que foram feitas as análises das amostras, pois verificaram-se a presença de alguns compostos provenientes do ar da sala nos espectros das amostras. Compararam-se também os espectros das amostras com os espectros dos frascos vazios. Estas comparações embora visuais permitiram determinar quais os picos que se relacionavam com as amostras e quais apenas estavam presentes devido ao ar da sala ou aos septos dos frascos.

Este género de análise não permite distinguir picos que estejam sobrepostos, é uma análise simples e inicial que permite apenas escolher o *Areaset* mais adequado para as amostras em questão.

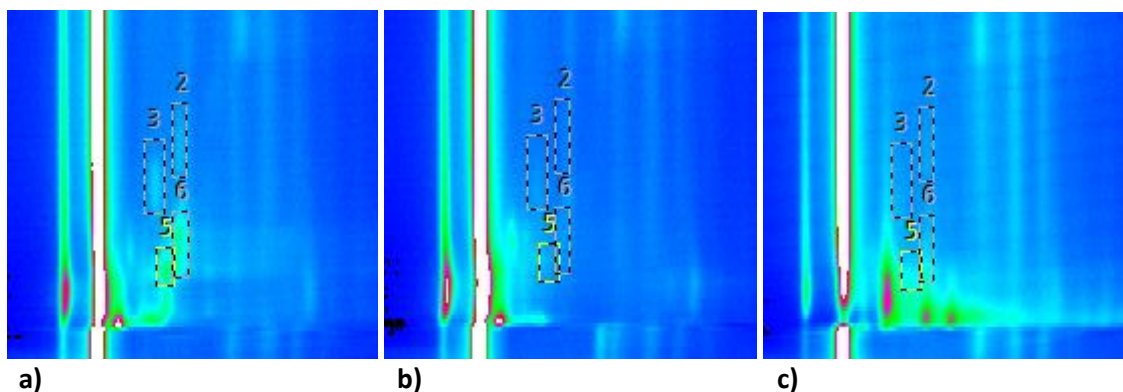


Figura 4. 15 – Diferentes espectros com o mesmo *Areaset* sobreposto a) espectro de Flex Film aquecido a 60°C durante 60 minutos, com o respectivo *Areaset* b) Espectro do ar da sala, obtido no mesmo dia da amostra de Flex Film c) Espectro do frasco vazio com o septo colocado, aquecido a 60°C durante 60 minutos. Imagem obtida no laboratório.

A escolha de utilizar os espectros das amostras aquecidas a 60°C durante 60 minutos para a determinação do *Areaset*, deve-se ao facto de neste conjunto de parâmetros todos os picos estarem presentes e perfeitamente visíveis. Foram definidos dois *Areaset* distintos, um para analisar os ficheiros das amostras de Tedlar®, outro para analisar os ficheiros das amostras de Flex Film.

Fez-se correr a função *Analyze Areaset* para analisar os vários projectos, utilizando o respectivo *Areaset* conforme se tratava de projectos contendo amostras de Tedlar® ou de Flex Film.

Esta função permitiu obter os valores de tempo de deriva, os valores de tempo de retenção e os valores das intensidades dos picos, em volts.

Utilizando os valores do tempo de deriva das amostras aquecidas a 60°C durante 60 minutos fizeram-se os cálculos da mobilidade reduzida dos picos das amostras de Tedlar® e de Flex Film. Escolheram-se os dados obtidos a esta temperatura e a este tempo de aquecimento por ser o único conjunto de parâmetros, comum às duas amostras, onde estão presentes todos os picos em quantidades mensuráveis.

Com os valores de intensidade dos picos construíram-se gráficos que os relacionam com os diferentes tempos de aquecimento e com as diferentes temperaturas, mostrando a evolução dos picos para estes parâmetros.

Os gráficos foram construídos recorrendo ao *software* KaleidaGraph®.

CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. VALORES DE MOBILIDADE REDUZIDA

O cálculo da mobilidade reduzida foi feito utilizando as equações referidas em 3.1, e apresentadas novamente abaixo:

Cálculo da mobilidade
$$K = \frac{l_d}{E \times t_{d\ cor}} \quad (a)$$

Com,

l_d - comprimento do tubo de deriva = 5 cm

E - intensidade do campo eléctrico = 400 V.cm⁻¹

$t_{d\ cor}$ - correcção do tempo de deriva, dado por $t_{d\ cor} = t_d - 0,5 \times \Delta\tau$, onde t_d é o tempo de deriva e $\Delta\tau$ o tempode abertura da grelha, 100 µs.

Cálculo da mobilidade reduzida
$$K_0 = K \left(\frac{P_d}{101} \right) \left(\frac{273}{T_d} \right) \quad (b)$$

Com,

K - mobilidade

P_d - pressão no interior do tubo de deriva = 101 kPa

T_d - temperatura no interior do tubo de deriva = 40°C (313 K)

$[K_0] = \text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$

Os valores P_0 e T_0 , valores de pressão e temperatura ambientes, já se encontram substituídos nesta equação.

Os valores de mobilidade reduzida, tempo de deriva e de retenção obtidos para os picos observados no Tedlar® e no Flex Film encontram-se nas tabelas 5.1 e 5.2, respectivamente.

Tabela 5. 1 – Valores calculados de mobilidade reduzida, K_0 , e valores obtidos de tempo de deriva, t_d , e tempo de retenção, t_r , dos picos provenientes da amostra de Tedlar®

Tedlar®	K_0 ($\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$)	$1/K_0$ (Vscm^{-2})	t_d (ms)	t_r (s)
Pico 2T	1,337	0,748	8,204	20,533
Pico 3T	1,332	0,751	8,234	17,067
Pico 4T	1,304	0,767	8,408	17,267
Pico 5T	1,297	0,771	8,453	27,267
Pico 6T	1,239	0,807	8,850	17,200
Pico 7T	1,201	0,832	9,126	17,333

Tabela 5. 2 – Valores calculados de mobilidade reduzida, K_0 , e valores obtidos de tempo de deriva, t_d , e tempo de retenção, t_r , dos picos provenientes da amostra de Flex Film

Flex Film	K_0 ($\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$)	$1/K_0$ (cm^2Vs)	t_d (ms)	t_r (s)
Pico 2F	1,321	0,757	8,305	27,600
Pico 3F	1,380	0,724	7,948	24,333
Pico 5F	1,353	0,739	8,106	17,333
Pico 6F	1,323	0,756	8,290	19,867

Há um número menor de compostos libertados pelo Flex Film em relação ao número de compostos libertados pelo Tedlar®, o que está de acordo com os dados fornecidos pelo fabricante.

Pelos valores de mobilidade e de tempo de retenção obtidos conclui-se que as substâncias libertadas pela amostra de Tedlar e as substâncias libertadas pelo Flex Film não são as mesmas, logo a composição destes dois materiais é distinta.

Em literatura foram já identificados cerca de seis compostos como provenientes do filme dos sacos Tedlar®. Destes, apenas um é um composto inorgânico, os restantes cinco referem-se a compostos orgânicos. Neste trabalho detectámos seis picos correspondentes a compostos libertados pelo filme Tedlar®, no entanto não foi possível confirmar se estes picos se referiam aos mesmos compostos identificados em literatura.

Não existe qualquer referência aos compostos libertados pelo Flex Film. Com este trabalho foi possível verificar que não se trata de um material inerte uma vez que foram detectados compostos libertados por ele, apesar de em menor número do que os compostos libertados pelo Tedlar®.

A partir dos valores de mobilidade reduzida e de tempo de retenção obtidos não foi possível identificar os compostos correspondentes.

5.2. RESULTADOS DA ANÁLISE EM FUNÇÃO DO TEMPO E TEMPERATURA

Sujeitando amostras de Tedlar® e Flex Film a diferentes temperaturas durante intervalos de tempo determinados foi possível fazer uma avaliação do comportamento destes dois materiais e da existência ou não de compostos libertados por eles quando sujeitos a estas condições.

Quando da criação do *Areaset* chegou-se à conclusão de que alguns picos deixavam de ser detectados a determinadas temperaturas e/ou determinados tempos de aquecimento, recorreu-se à visualização dos espectros e também aos valores obtidos de intensidade, para identificar essas situações. Os gráficos construídos apenas representam os picos que estão efectivamente presentes.

5.2.1. Análise dos gráficos obtidos a partir das amostras de Tedlar®

A partir do *Analyze Areset* foi possível obter os valores de intensidade dos picos, esses valores encontram-se nos gráficos das figuras 5.1 a 5.4 e 5.6 a 5.11, onde estão relacionados com a temperatura e tempo de aquecimento.

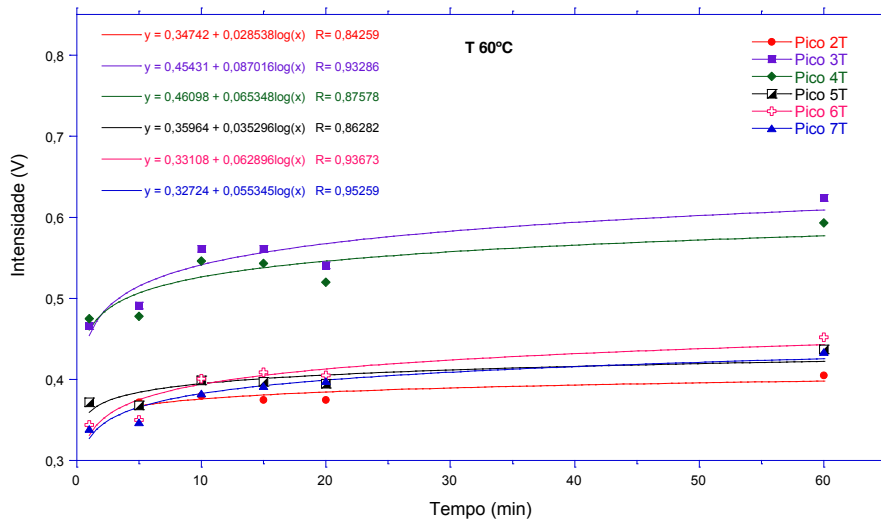


Figura 5. 1 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 60°C.

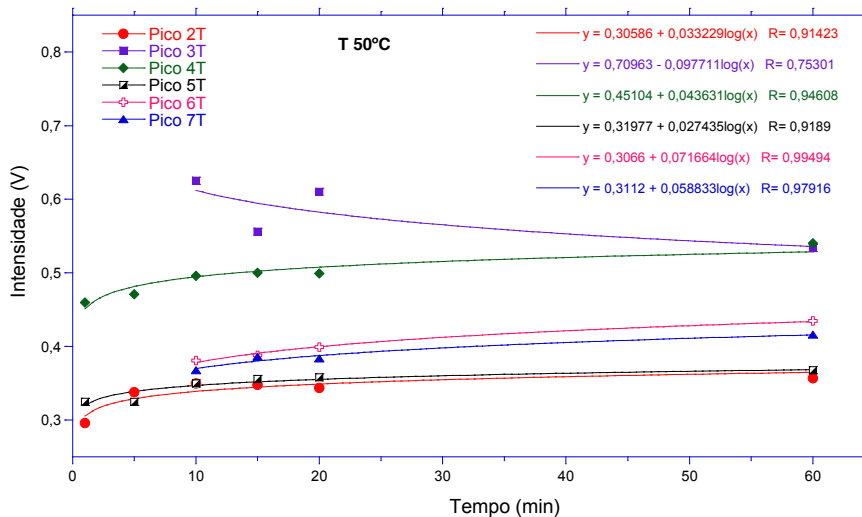


Figura 5. 2 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 50°C.

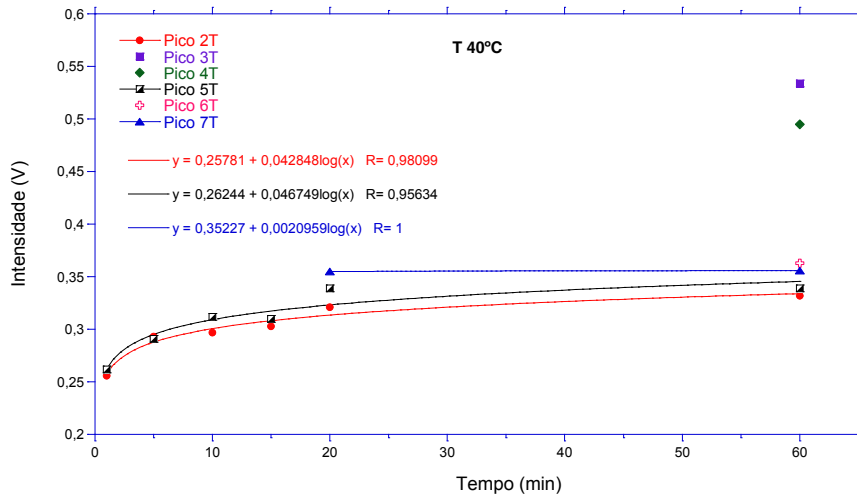


Figura 5.3 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 40°C.

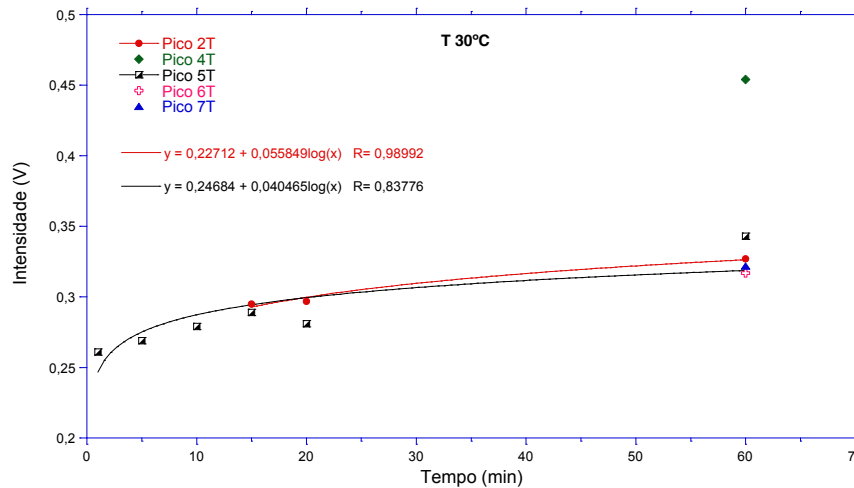


Figura 5.4 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 30°C.

Para um valor de temperatura fixo, a intensidade dos picos aumenta com o tempo de aquecimento, verificando-se um aumento progressivo da intensidade até aos 10 minutos de tempo de aquecimento, um ligeiro declínio seguido de um aumento grande com um valor máximo de intensidade aos 60 minutos. Esta característica é visível para as diferentes temperaturas. Pode concluir-se que 10 minutos são suficientes para haver equilíbrio de *headspace*.

No entanto o pico 3T a 50°C não respeita esse crescimento, esta diferença deve-se provavelmente à influência do pico adjacente que não tem qualquer relação com a amostra,

este tem origem no septo do frasco que contém a amostra. Através das imagens dos espectros vê-se nitidamente que o pico 3 por vezes se sobrepõe ao pico adjacente sendo difícil distingui-los.

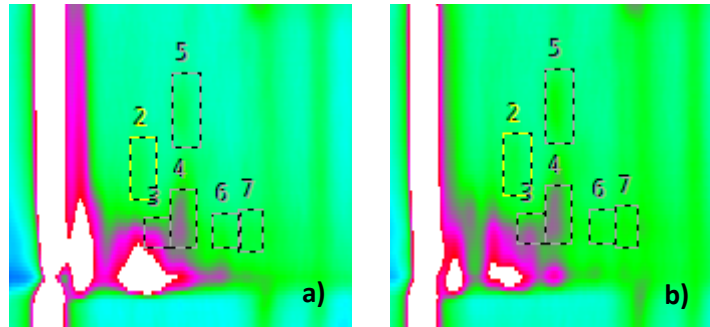


Figura 5. 5 – a) Espectro de uma amostra de Tedlar®, amostra 2, aquecida a 50°C durante 10 minutos. b) Espectro de uma amostra de Tedlar®, amostra 4, aquecida a 50°C durante 10 minutos. Imagens obtidas no laboratório.

A distribuição espacial dos picos nos gráficos é semelhante entre os diferentes gráficos, com o pico 3T apresentando sempre o valor de maior intensidade e o pico 2T o valor de menor intensidade, de um modo geral verifica-se uma diminuição da intensidade dos picos com a diminuição da temperatura.

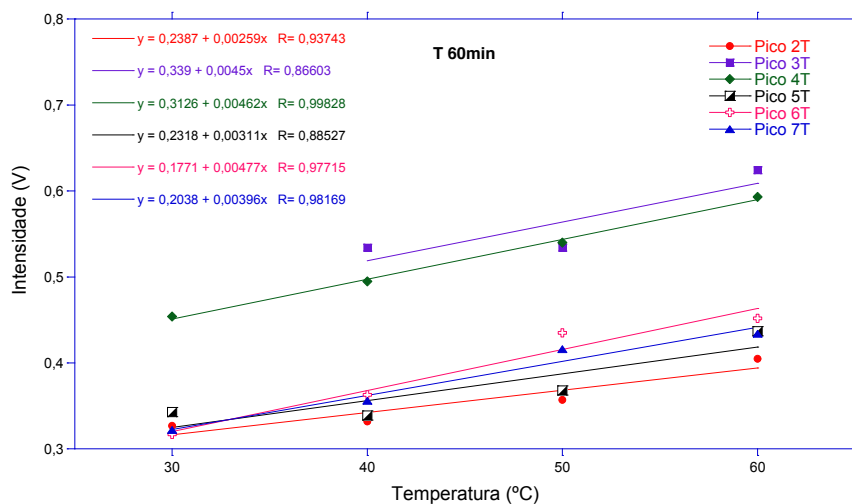


Figura 5. 6 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 60 minutos.

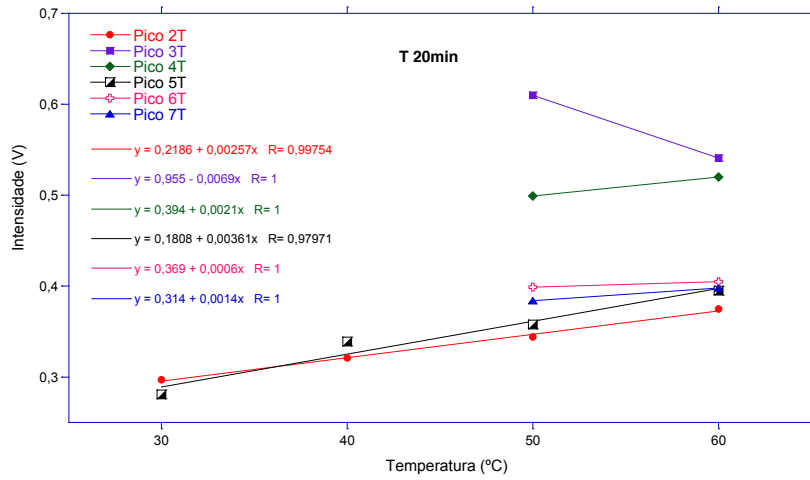


Figura 5. 7 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 20 minutos.

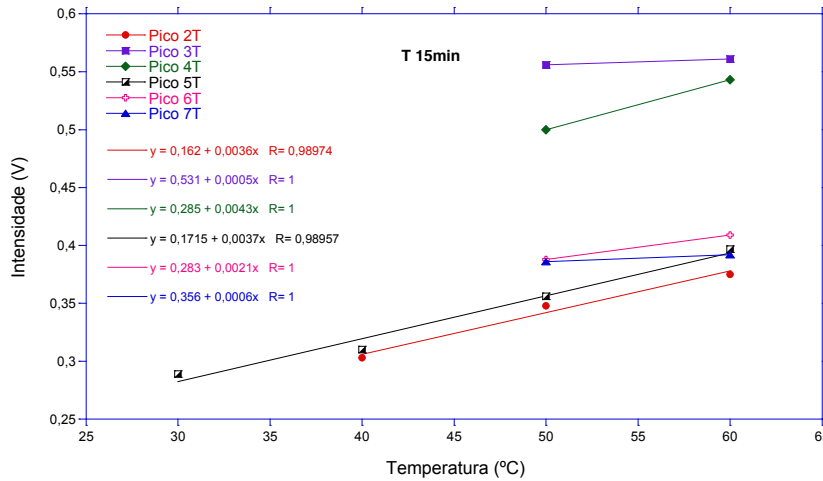


Figura 5. 8 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 15 minutos.

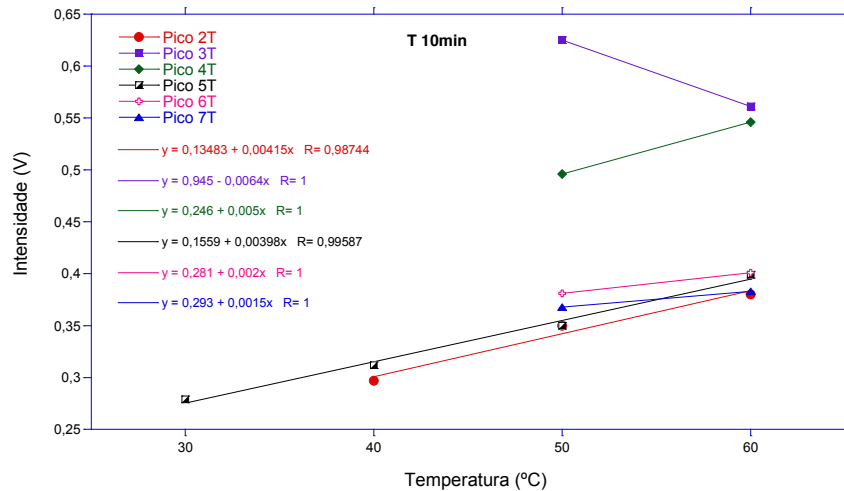


Figura 5. 9 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 10 minutos.

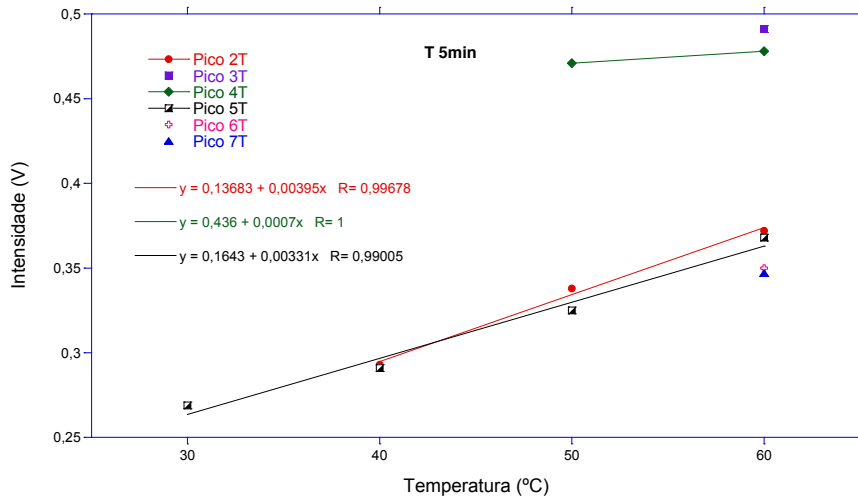


Figura 5. 10 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 5 minutos.

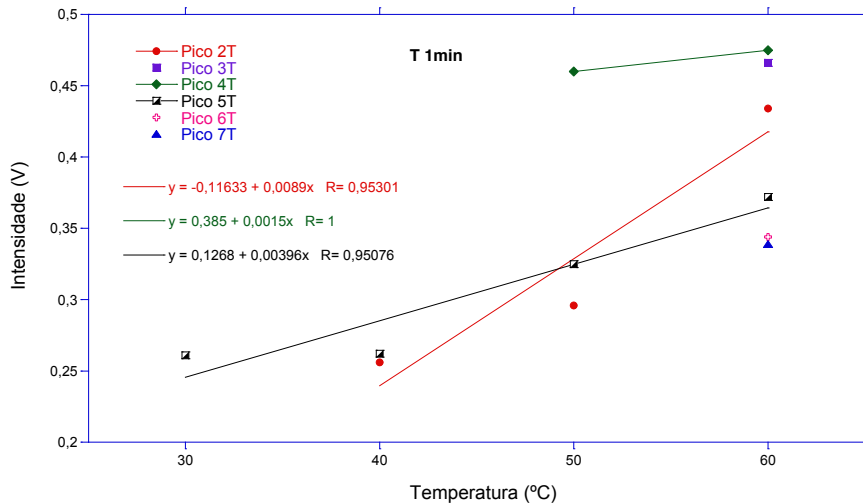


Figura 5. 11 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Tedlar® com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 1 minuto.

Para um tempo de aquecimento fixo, de um modo geral, os picos aumentam de intensidade com o aumento da temperatura, mas não mostram um crescimento semelhante entre eles, há variações.

Apenas o pico 3T não mostra este comportamento de aumento de intensidade com o aumento da temperatura, com os valores de intensidade deste pico por vezes a decrescerem, como se vê nos gráficos das figuras 5.7 e 5.9, valores de tempo de aquecimento de 20 minutos e 10 minutos respectivamente. Estas variações devem-se às alterações já observadas anteriormente neste pico.

Para temperaturas mais baixas e tempos de aquecimento mais curtos há picos que deixam de estar presentes, ou estão sobrepostos com os picos do frasco vazio, sendo impossível separá-los e identificá-los com clareza. Aos 40°C os picos 3T, 4T e 6T apenas estão presentes para um tempo de aquecimento de 60 minutos. Mas aos 30°C os picos 4T e 6T voltam a surgir aos 60 minutos de tempo de aquecimento. O único pico que está sempre presente em todos os tempos e em todas as temperaturas é o pico 5T.

O pico 5T é sempre visível nos espectros da amostra com grande intensidade, no entanto, por vezes este pico também surge nos espectros dos frascos vazios, mas por norma, quando surge é com uma intensidade muito inferior à da amostra. Excepto aos 50°C para os tempos de aquecimento de 5, 10 e 15 minutos, a 40°C para 1 minuto de tempo de aquecimento e a 30°C para 20 minutos e 10 minutos de tempo de aquecimento, nestes casos o pico 5 tem maior intensidade no espectro do frasco vazio do que no espectro da amostra. Isto poderá querer dizer que este pico corresponde a uma substância que além de libertada pelo filme Tedlar® também poderá estar presente na constituição dos septos dos frascos, e devido à inconstância com que surge poder-se-á dizer que existirá em quantidades variáveis. Outra explicação poderá ser a libertação pelo septo de uma outra substância cujo tempo de deriva e de retenção é idêntico ao tempo de deriva e ao tempo de retenção de uma substância libertada pela amostra.

O facto de este pico se visualizar nos espectros dos frascos vazios somente em algumas ocasiões e se visualizar sempre na presença de amostra leva a concluir que este está sem dúvida relacionado com a amostra e é libertado por esta.

5.2.2. Análise dos gráficos obtidos a partir das amostras de Flex Film

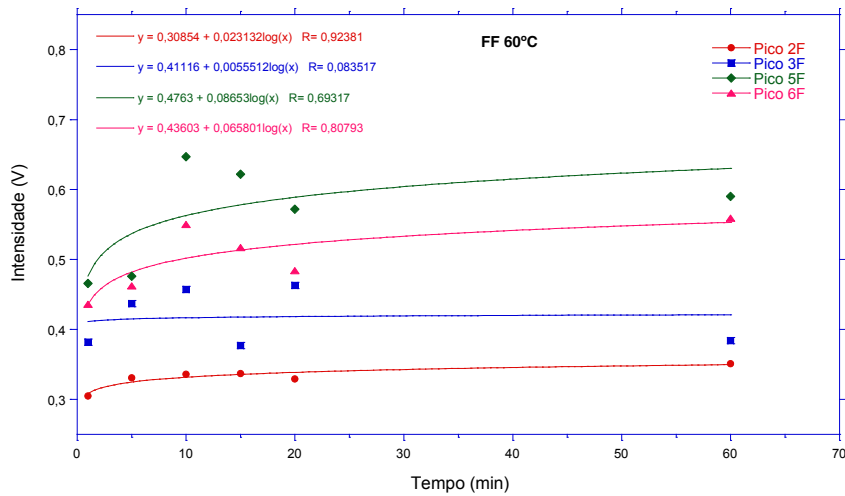


Figura 5. 12 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 60°C.

Aos 60°C apenas os picos 5F e 6F têm o mesmo padrão, com uma intensidade máxima aos 10 minutos de aquecimento seguida de um decréscimo e voltando a ter uma intensidade um pouco mais elevada aos 60 minutos de aquecimento. Como já se tinha verificado para as amostras de Tedlar®, 10 minutos revelaram-se suficientes para se dar o equilíbrio estático de *headspace*.

Ainda para esta temperatura, olhando para a linha da regressão logarítmica do pico 3F esta parece constante, no entanto, a variação verificada na intensidade deste pico não é coerente, observa-se mais uma vez o máximo de intensidade situado nos 10 minutos de aquecimento. O Pico 2F tem um crescimento ligeiro e constante da sua intensidade até aos 60 minutos de aquecimento.

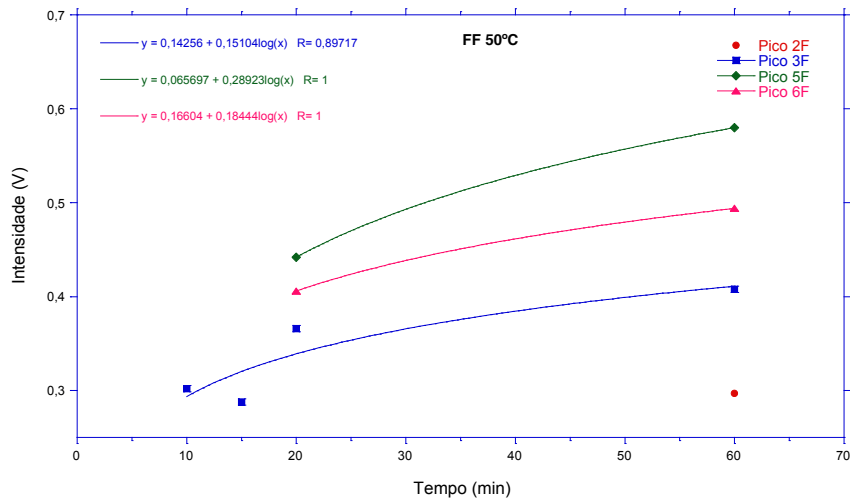


Figura 5. 13 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 50°C.

Aos 50°C os picos 5F e 6F estão ambos presentes aos 20 e aos 60 minutos, mostrando um comportamento semelhante que aumenta com o aumento do tempo de aquecimento.

O pico 3F, mais uma vez não apresenta uma ordem de crescimento, mas intensifica com o aumento do tempo de um modo geral, como já se tinha visto anteriormente para os 60°C. O pico 2F é visível apenas aos 60 minutos.

A esta temperatura, 50°C, já não é possível visualizar picos para tempos de aquecimento de 1 e de 5 minutos.

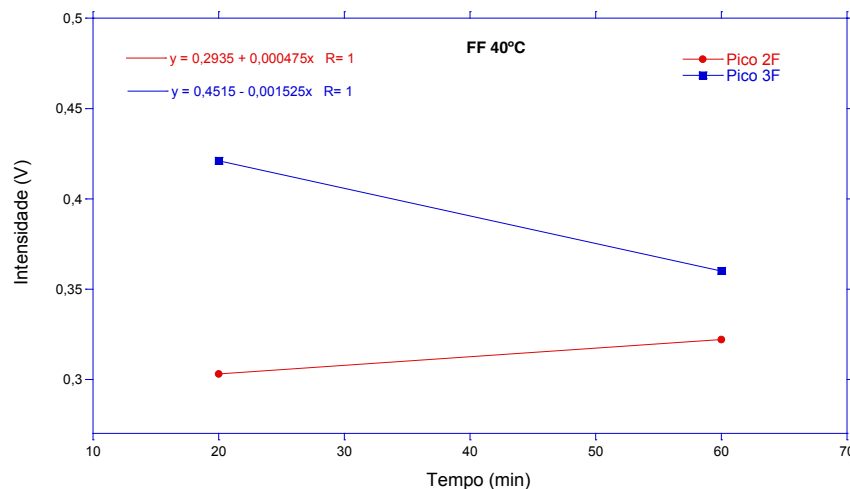


Figura 5. 14 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com o tempo de aquecimento, a uma temperatura de 40°C.

Viu-se que aos 50°C o pico 2F é visível apenas para 60 minutos de tempo de aquecimento, mas para uma temperatura de 40°C este pico aparece aos 20 e aos 60 minutos. O mesmo acontece com o pico 3F. Para a temperatura de 40°C não se observou a presença de mais nenhum pico para além dos picos 2F e 3F.

De um modo geral, para os valores de temperatura fixos, observou-se que:

- Os picos provenientes das amostras de Flex Film, ao contrário do Tedlar®, não apresentam um comportamento idêntico com o aumento do tempo de aquecimento.
- Apenas a uma temperatura de 60°C é possível visualizar todos os picos detectados.
- Aos 30°C não há a presença de picos provenientes das amostras de Flex Film.

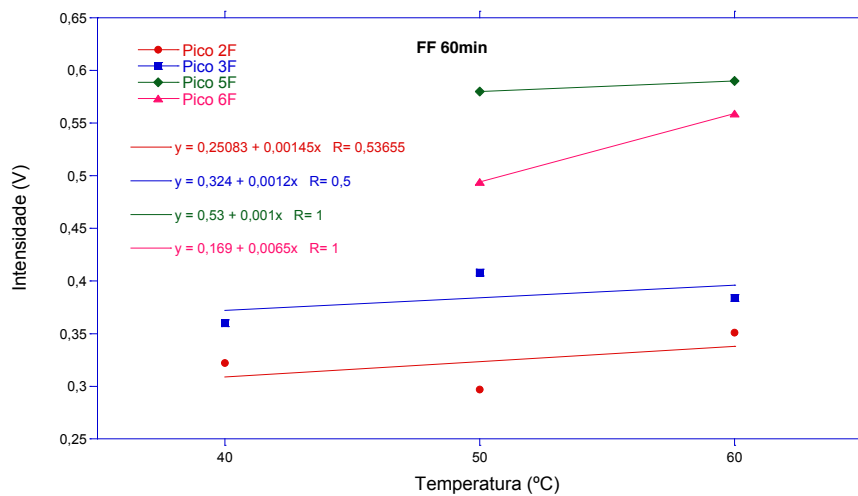


Figura 5. 15 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 60 minutos.

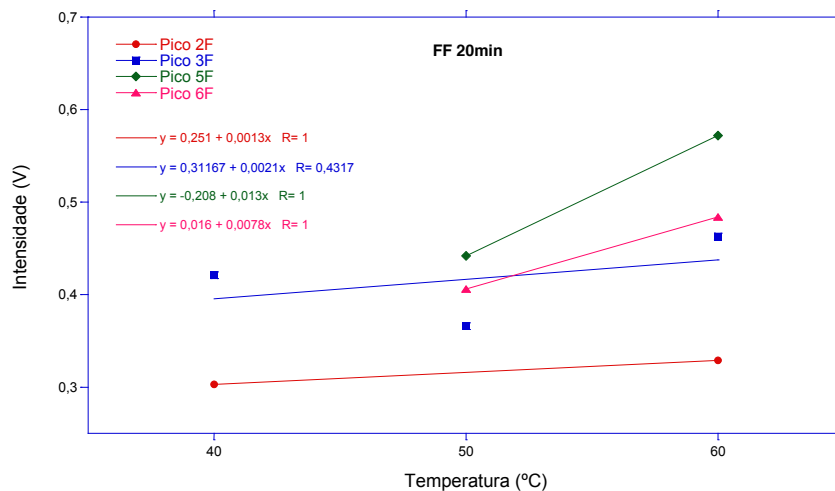


Figura 5. 16 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 20 minutos.

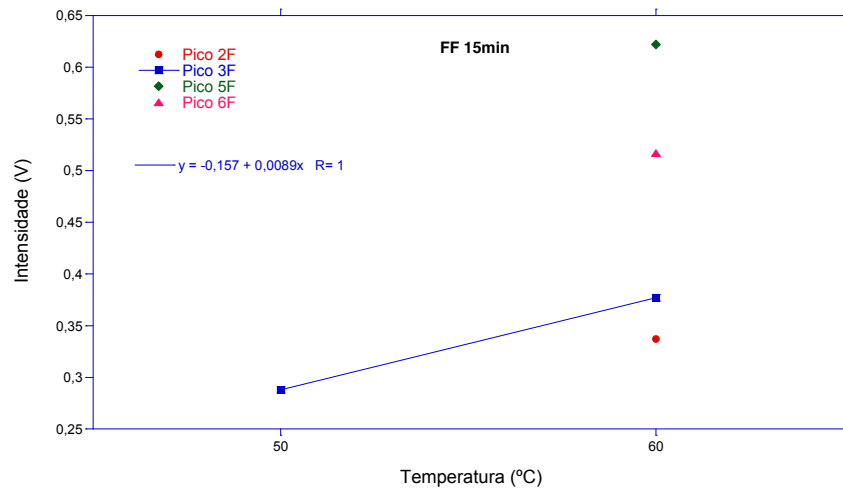


Figura 5. 17 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 15 minutos.

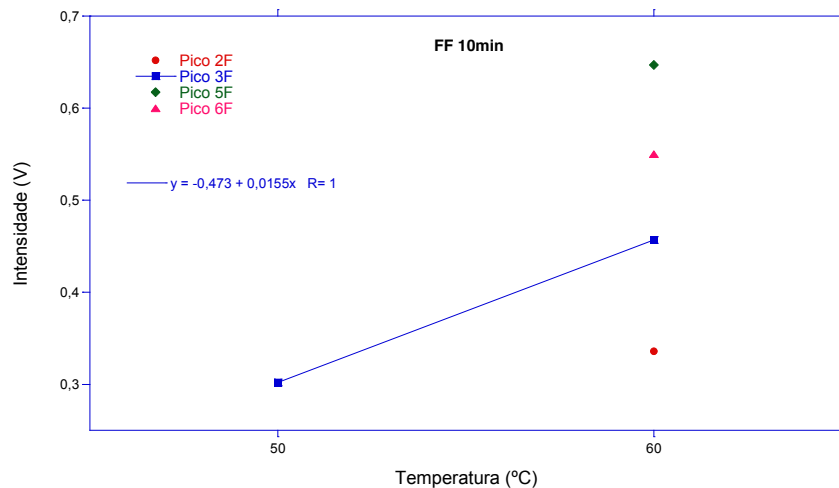


Figura 5. 18 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos da amostra de Flex Film com a temperatura, para um tempo de aquecimento de 10 minutos.

A variação dos picos do Flex Film com a temperatura, como se pode ver nas figuras 5.15 a 5.18, para tempos de aquecimento fixos, mostra que a intensidade destes tende a aumentar com a temperatura.

Para valores de tempo de aquecimento de 1 e 5 minutos (não representado) ainda são visíveis os picos 4F e 5F aos 60°C, como se pode constatar pelo gráfico da figura 5.12 (gráfico que relaciona a variação do tempo com a intensidade a uma temperatura fixa de 60°C).

5.3. SIMULAÇÃO DE 48 HORAS

Com a simulação de 48 horas pretendeu-se sujeitar as amostras a uma situação próxima da realidade, ao mesmo tempo, fazer uma análise mais completa da influência do tempo na intensidade dos picos.

Nos gráficos das figuras 5.19 e 5.21 encontram-se as intensidades dos picos das amostras analisadas a temperatura ambiente, $t=0h$, e as intensidades correspondentes aos picos das mesmas amostras após as 48 horas de ciclo de aquecimento, $t=48h$. O valor de temperatura ambiente registado no momento em que foram efectuadas essas análises foi de 25°C.

Como se viu anteriormente, para uma temperatura de 30°C, e tempos de aquecimento até 60 minutos, não estão todos os picos presentes, ou então são mesmo inexistentes, como é o caso do Flex Film. Para comparação da evolução destes picos antes e após as 48 horas, optou-se por registar na mesma a intensidade de todos, independentemente de ser possível ou não a sua visualização.

5.3.1 Análise das amostras de Tedlar®

Para as amostras de Tedlar® registaram-se os valores dispostos no gráfico da figura 5.19.

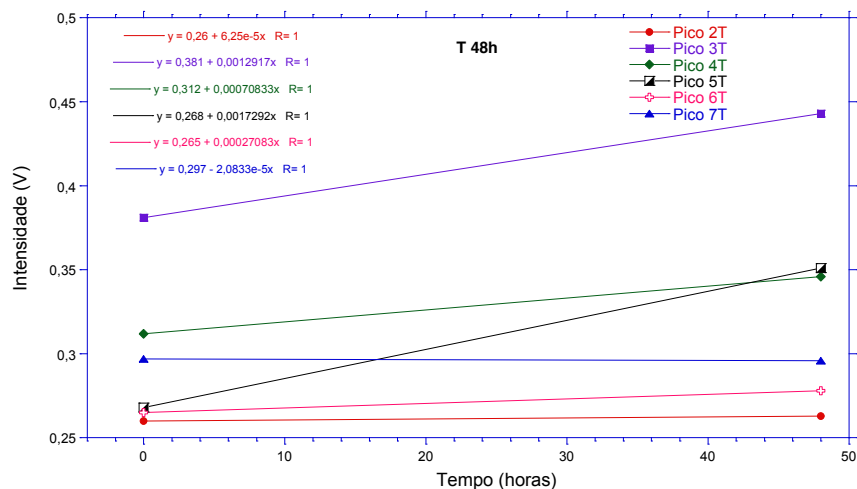


Figura 5. 19 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos de Tedlar® antes e depois da simulação de 48 horas.

À temperatura ambiente, 25°C, olhando para os espectros, como o exemplo da figura 5.20 a) apenas se visualiza, muito tenuemente o pico 5. No gráfico da figura 5.19 os picos 3T, 4T e 7T surgem mais intensos do que o pico 5T, isso tem a ver com a influência de picos adjacentes que nada têm a ver com a amostra, como se pode perceber pela visualização desse espectro (figura 5.20 a)).

Viu-se anteriormente que a 30°C, com um tempo de aquecimento de 10 minutos apenas é possível observar o pico 5T. Mas para um tempo de aquecimento mais longo, como é o caso dos 60 minutos, já se visualizam quase a totalidade dos picos. Ao fim de 48 horas, o pico 5T está nitidamente mais intenso, o que é confirmado pelo respectivo gráfico, há também o aparecimento do pico 4T. Para além destes dois picos não é possível visualizar mais nenhum, o que, aliás, também é corroborado pelo gráfico, dado que os picos 2T, 6T e 7T mantêm a sua intensidade, o pico 3T aumenta, mas devido apenas ao pico que lhe está adjacente e que já influenciou os valores de intensidade do pico 3T anteriormente.

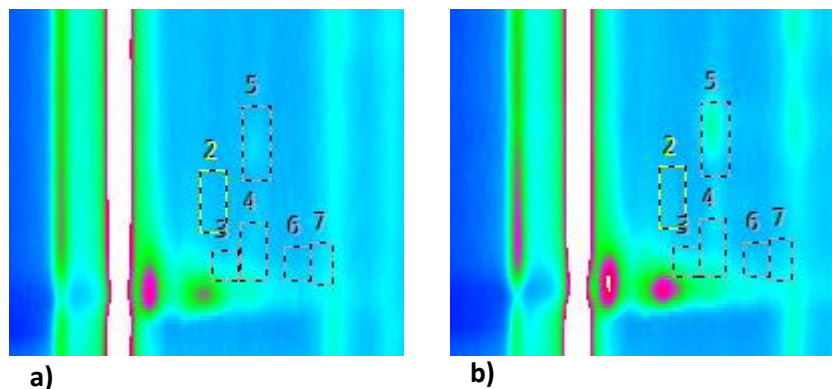


Figura 5. 20 – Imagem dos espectros de uma amostra de Tedlar® a) para t=0h, b) para t=48h. Imagem obtida no laboratório.

5.3.2 Análises das amostras de Flex Film

Para as amostras de Flex Film obtiveram-se as intensidades descritas no gráfico da figura 5.21.

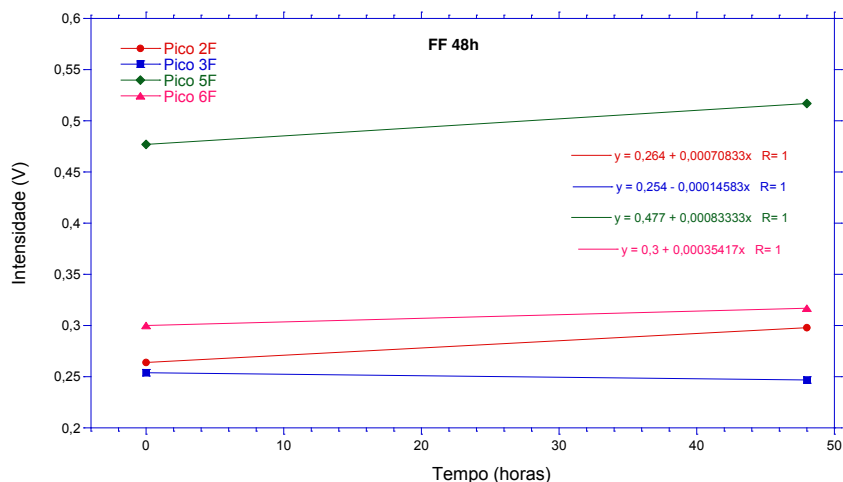


Figura 5. 21 – Gráfico que relaciona a intensidade dos picos de Flex Film antes e depois da simulação de 48 horas.

No caso do Flex Film não se observaram quaisquer picos independentemente do tempo de aquecimento ter sido 1 ou 60 minutos. Com os dados obtidos com a simulação de 48h vê-se que dois dos picos mantêm as suas intensidades aproximadamente constantes, os picos 3F e 6F, e que os outros dois sofrem um ligeiro aumento das suas intensidades.

O pico 5F por ter uma intensidade mais elevada do que os restantes e essa intensidade sofrer um aumento após as 48 horas pode suscitar dúvidas, mas pela visualização do seu espectro percebe-se que, à semelhança do pico 3T observado nas amostras de Tedlar®, este pico também sofre influência do pico adjacente proveniente do septo do frasco.

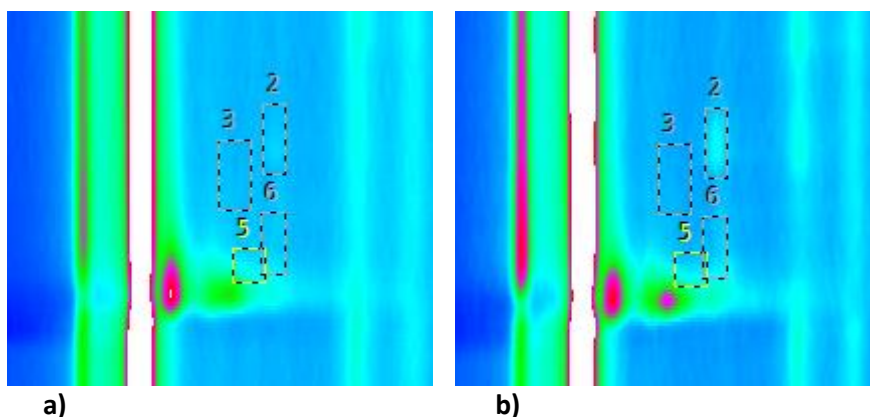


Figura 5. 22 – Imagem dos espectros de uma amostra de Flex Film a) para t=0h, b) para t=48h. Imagem obtida no laboratório.

O pico 2F sofre um aumento de intensidade ao fim das 48 horas, tornando-o possível de visualizar no espectro, como se pode ver pela figura 5.22 b). Também é possível visualizar o pico 2F no espectro obtido a temperatura ambiente, mas é um pico muito ligeiro, ver figura 5.22 a). Nas amostras analisadas a 30°C, com os tempos de aquecimento de 1 até 60 minutos não se visualizou qualquer pico nesta posição, na figura 5.23 encontra-se um espectro de uma amostra de Flex Film aquecida a 30°C durante 60 minutos. Pode concluir-se que o tempo, no caso das amostras de Flex Film tem influência, pelo menos no composto correspondente ao pico 2F.

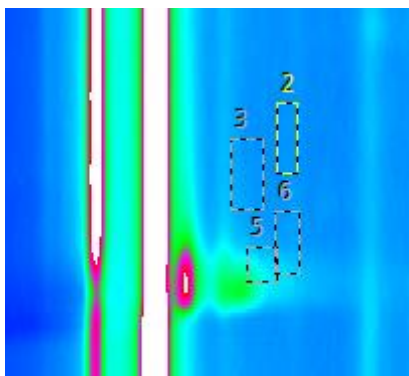


Figura 5. 23 – Espectro de uma amostra de Flex Film aquecida a 30°C durante 60 minutos. Imagem obtida no laboratório.

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

6.1 CONCLUSÕES

O ar exalado pode fornecer uma quantidade muito variada e extremamente importante de informação acerca do estado de saúde dos indivíduos. Daí que tenha vindo a sofrer um aumento cada vez maior de interesse por parte da comunidade científica. Dois tipos de análise de ar exalado são já efectuados na prática clínica, no entanto, muita informação pode ainda ser fornecida por esta técnica indolor e não invasiva, nomeadamente na detecção precoce de diversos tipos de cancro.

Ainda faltam estudos que relacionem os compostos detectados com determinadas doenças, mas também a falta de uniformização nos processos de recolha de amostras e de análise têm sido um obstáculo na utilização do ar exalado como método de diagnóstico. Pretendeu-se com este trabalho estudar os recipientes de recolha de amostras de ar exalado mais utilizados para este fim e que permitem a recolha de ar exalado no modo *off-line*, os sacos Tedlar® e Flex Film, nomeadamente, estudar o seu comportamento no que diz respeito aos compostos libertados, quando sujeitos a determinados valores de temperatura e durante determinado tempo, e quando sujeitos a uma situação semelhante à utilização real.

Com os resultados obtidos das amostras de Tedlar® e Flex Film sujeitas às variações no tempo e temperatura verificou-se que alguns dos picos deixaram de estar presentes para determinados valores de temperatura, esta observação é válida para temperaturas de 30°C e 40°C, e no caso do Flex Film também aos 50°C para tempos curtos de aquecimento.

Concluiu-se que, em geral, a intensidade dos picos aumenta com o aumento do tempo de aquecimento e com o aumento da temperatura, tanto nas amostras de Tedlar® como de Flex Film. No caso das amostras de Flex Film observou-se ainda uma menor quantidade de contaminantes libertados em relação ao filme Tedlar®, e que este último começa a libertar compostos a temperaturas mais baixas e para tempos de aquecimento mais curtos do que o Flex Film.

A partir dos dados obtidos no procedimento experimental de simulação de 48 horas, não se verificou o aparecimento de nenhum pico adicional, para além dos que já tinham sido detectados anteriormente nas experiências envolvendo as variações no tempo e temperatura. Observou-se um ligeiro aumento de intensidade do pico 5T, proveniente da amostra de Tedlar® e do pico 2F, proveniente da amostra de Flex Film. O pico 5T sofreu um aumento de intensidade estabilizando num valor coerente com o que já tinha sido verificado para este pico aos 30°C. No caso do pico 2F, este foi o único que revelou uma relação directa entre o aumento de intensidade e o aumento do tempo.

Os resultados conseguidos a partir dos dois procedimentos experimentais efectuados levaram à conclusão de que o parâmetro temperatura tem uma influência muito superior ao parâmetro tempo na libertação de compostos, isto é, detectou-se um maior número de compostos com concentrações superiores, para valores de temperatura mais elevados do que os compostos libertados para tempos de aquecimento longos.

Foi também possível concluir que, de entre os dois tipos de sacos analisados, o Flex Film revela-se mais adequado para a recolha de VOCs, porque liberta menor quantidade de compostos e fá-lo para temperaturas mais elevadas do que o filme Tedlar®. Este último é mais resistente a temperaturas muito elevadas, uma vez que suporta até aos 175°C, mas para a finalidade de utilização destes recipientes esta característica não é relevante.

A maior dificuldade da utilização deste tipo de sacos para a recolha de ar exalado é o facto dos compostos libertados por estes materiais, em termos de concentração, serem da mesma ordem de grandeza dos VOCs presentes nas amostras de ar exalado.

Outro dos objectivos do trabalho passava pela utilização e estudo das potencialidades de uma técnica analítica recente e inovadora, a espectrometria de mobilidade iónica. Esta técnica tem já uma vasta aplicação na detecção de explosivos e drogas, mas a sua utilização em análises de outros tipos de compostos, particularmente em análises laboratoriais, é recente.

A utilização do MCC-IMS na realização deste trabalho permitiu verificar a grande sensibilidade deste aparelho para a detecção de compostos, na sua maioria presentes em concentrações muito baixas. Foi também possível constatar a rapidez com que as análises são efectuadas.

O facto de ser um instrumento muito intuitivo, é uma característica que torna a operação por parte do utilizador simples de efectuar. A optimização dos parâmetros de análise necessita de alguns cálculos, mas também estes são simples e rápidos de realizar, uma vez isso concluído, o aparelho está apto a utilizar de imediato, pois não necessita de qualquer preparação ou estabilização, uma vez que utiliza pressão e temperatura ambiente.

Todas estas características tornam o MCC-IMS uma técnica muito agradável para trabalhar.

Os parâmetros de análise determinados e aplicados neste trabalho também se revelaram adequados, contribuindo decisivamente para a obtenção de espectros claros e definidos.

Os valores de mobilidade reduzida e tempo de retenção dos picos detectados foram determinados, no entanto, a sua utilização para a identificação desses mesmos picos não foi possível. Em literatura alguns compostos foram já identificados, e os seus valores de mobilidade reduzida publicados. Alguns desses valores são semelhantes aos determinados experimentalmente, no entanto não há informação acerca do seu tempo de retenção, além disso foram determinados utilizando ar sintético, em vez de azoto como gás de deriva. Todos estes factores impediram a identificação fiável dos compostos detectados.

A quantificação dos compostos, ainda não é possível ser feita devido à falta de curvas de calibração para compostos conhecidos, mas visualmente, este instrumento permite ter uma noção da presença de maior ou menor quantidade de composto através da intensidade dos picos. Uma vez que esta relação é direta, um pico mais intenso corresponde a um composto presente em maior quantidade.

Apesar dos obstáculos de identificação e quantificação que ainda necessitam ser ultrapassados, como esta é uma técnica recente estas dificuldades apenas necessitam de tempo para serem superadas, o IMS demonstra claras vantagens em relação a outras técnicas analíticas, principalmente por ser muito completo dado que permite a detecção, quantificação e identificação dos compostos detectados.

6.2 PERSPECTIVAS FUTURAS

O facto de os sacos utilizados para a recolha de ar exalado libertarem alguns compostos poderá ser um entrave à sua utilização para esse fim, apesar das várias vantagens já enumeradas da sua utilização. Por outro lado, uma vez que esses compostos foram detectados e há o conhecimento dos valores de mobilidade reduzida e de tempo de deriva correspondentes, poderá ser possível utilizar estes recipientes para a recolha do ar exalado, desde que as substâncias libertadas por eles sejam tidas em conta na análise da amostra e ignoradas. Um maior conhecimento das possíveis interações destes compostos com os compostos presentes no ar exalado também seria um importante contributo.

Existem diversos estudos que abordam a estabilidade de alguns VOCs no interior de sacos Tedlar®. No caso dos sacos Flex Film apenas existe um estudo feito pela empresa fabricante do saco, a realização de mais estudos sobre a estabilidade de compostos orgânicos no interior do saco Flex Film é bastante importante para determinar a sua utilização na recolha de ar exalado.

O instrumento MCC-IMS, dada a sua sensibilidade e grande afinidade para uma enorme variedade de compostos, revela-se bastante promissor mas ainda tem um obstáculo importante a ultrapassar: a identificação das substâncias analisadas. A criação de bases de dados de valores de mobilidade reduzida e tempo de retenção de compostos conhecidos, que permitam identificar as substâncias, é fundamental no futuro para o desenvolvimento e crescente utilização desta técnica.

De forma semelhante, como é possível proceder à quantificação de compostos utilizando o MCC-IMS, também uma base de dados que inclua curvas de calibração irá alargar de forma significativa o grande espectro de aplicação desta técnica analítica.

Há ainda uma outra aplicação possível deste instrumento, que pode incluir a já vasta utilização do mesmo, dadas as suas características, este poderá ser utilizado na verificação da limpeza de diversos instrumentos ou aparelhos laboratoriais, desde instrumentos reutilizáveis sujeitos a processos de limpeza a instrumentos descartáveis que poderão sofrer contaminações durante o transporte e manuseamento, ou serem constituídos por materiais não inertes.

Bibliografia

- (1) Bajtarevic A., Ager C., Pienz M. *et. al*, “Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath”, *BMC Cancer*, **9**, 348 (2009).
- (2) Scholte A. J. H. A., “Cardiac risk assessment in asymptomatic diabetes: Combing different imaging modalities and surrogate markers?”, Springer, *Journal of Nuclear Cardiology*, **18**, 393-395 (2011).
- (3) Kessler C. S., Joudeh Y., “Evaluation and treatment of severe asymptomatic hypertension”, *American Family Physician*, **81**, 470-476 (2010).
- (4) Chan H. P., Lewis C., Thomas P. S., “Exhaled breath analysis: Novel approach for early detection of lung cancer”, Elsevier, *Lung cancer*, **63**, 164-168 (2009).
- (5) Buszewski B., Ulanowska A., Ligor T., Jackowski M., Kłodzińska E., Szeliga J., “Identification of volatile organic compounds secreted from cancer tissues and bacterial cultures”, Elsevier, *Journal of Chromatography B*, **868**, 88-94 (2008).
- (6) Ma W., Liu X., Pawliszyn J., “Analysis of human breath with micro extraction techniques and continuous monitoring of carbon dioxide concentration”, Springer-Verlag, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **385**, 1398-1408 (2006).
- (7) Amann A., Poupart G., Telser S., Ledochowski M., Schmid A., Mechtcheriakov S., “Applications of breath gas analysis in medicine”, *International Journal of Mass Spectrometry*, **239**, 227-233 (2004).
- (8) Di Francesco F., Fuoco R., Trivella M. G., Ceccarini A., “Breath analysis: trends in techniques and clinical applications”, *Microchemical Journal*, **79**, 405-410 (2005).
- (9) Steeghs M. M. L., Cristescu S. M., Munnik P., Zanen P., and Harren F. J. M., “An off-line breath sampling and analysis method suitable for large screening studies”, IOP publishing, *Physiological Measurement*, **28**, 503-514 (2007).
- (10) Herbig J., Titzmann T., Beauchamp J., Kohl I., and Hansel A., “Buffered end-tidal (BET) sampling – a novel method for real-time breath-gas analysis”, IOP publishing, *Journal of Breath Research*, **2**, (2008).
- (11) Beauchamp J., Herbig J., Gutmann R., and Hansel A., “On the use of Tedlar® bags for breath-gas sampling and analysis”, IOP publishing, *Journal of Breath Research*, **2**, (2008).
- (12) Beghi S., Guillot J., “Sample water removal method in volatile organic compound analysis based on diffusion through poly(vinyl fluoride) film”, Elsevier, *Journal of Chromatography A*, **1127**, 1-5 (2006).
- (13) Halden R. U., “Plastics and health risks”, *Annual review of Public Health*, **31**, 179-194 (2010).
- (14) An Evaluation of a New Film for Air Sampling Bags Used in Industrial Hygiene and Ambient Air Sampling. Disponível em: <http://www.skinc.com/instructions/SKC%20Bag%20Poster.pdf>

- (15) Miekisch W., Schubert J. K., Noeldge-Schomburg G. F. E., "Diagnostic potential of breath analysis—focus on volatile organic compounds", Elsevier, *Clinica Chimica Acta*, **347**, 25-39 (2004).
- (16) netterimages.com. Disponível em: <http://www.netterimages.com/image/58760.htm>
- (17) Phillips M., Herrera J. et al., "Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans", Elsevier, *Journal of Chromatography B*, **729**, 75-88 (1999).
- (18) Miekisch W., Schubert J. K., "From highly sophisticated analytical techniques to life-saving diagnostics: Technical developments in breath analysis", Elsevier, *Trends in Analytical Chemistry*, **25**, No. 7 (2006).
- (19) Cao W. and Duan Y., "Current status of Methods and techniques for breath analysis", *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **37**, 3-13 (2007).
- (20) Steeghs M. M. L., Cristescu S. M., Harren F. J. M., "The suitability of Tedlar bags for breath sampling in medical diagnostic research", Institute of Physics Publishing, *Physiological Measurement*, **28**, 73-84 (2007).
- (21) Jünger M., Bödeker B., Baumbach J. I., "Peak assignment in multi-capillary column-ion mobility spectrometry using comparative studies with gas chromatography-mass spectrometry for VOC analysis", Springer-Verlag, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **396**, 471-482 (2009).
- (22) Sample bag brochure. Disponível em: <http://www.skcinc.com/instructions/SampleBagBrochure.pdf>
- (23) Thomas Net. Disponível em: <http://news.thomasnet.com/news/chemical-processing/sampling-devices/sample-bags>
- (24) CEL, Scientific Corporation. Disponível em: <http://www.celscientific.com/TedlarBag.html>
- (25) Polyvinyl fluoride. Disponível em: http://en.wikipedia.org/wiki/Polyvinyl_fluoride
- (26) DuPont, "Product and properties guide", Tedlar® SP.
- (27) Material safety data sheet. Disponível em: [http://www.skcinc.com/instructions/TEDLAR%20TED014%20\(PVF%20Film\).pdf](http://www.skcinc.com/instructions/TEDLAR%20TED014%20(PVF%20Film).pdf)
- (28) Pet'ka J., Étievant P., Callement G., "Suitability of different plastic materials for head or nose spaces short term storage", *Analisis*, **28**, 330-335 (2000).
- (29) Trabue S. L., Anhalt J. C., Zahn J. A., "Bias of Tedlar Bags in the Measurement of Agricultural Odorants", *Journal of Environmental Quality*, **35**, 1668-1677 (2006).
- (30) Mochalski P., Wzorek B., Śliwka I., Amann A., "Suitability of different polymer bags for storage of volatile sulphur compounds relevant to breath analysis", Elsevier, *Journal of Chromatography B*, **877**, 189-196 (2009).
- (31) Linda Coyne, SKC Inc., "SKC Tedlar bags", email trocado com técnicos da empresa SKC Inc. (2011).

- (32) Stach J., Baumbach J.I., "Ion Mobility Spectrometry - Basic Elements and Applications", *International Journal of Ion Mobility Spectrometry*, **5**, 1-21 (2002).
- (33) Ulanowska A., Ligor M., Amann A., Buszewski B., "Determination of Volatile organic compounds in exhaled breath by ion mobility spectrometry", *Analytical Chemistry*, **53**, 953-965 (2008).
- (34) Eiceman G.A., Karpas Z., "Ion Mobility Spectrometry", Taylor & Francis Group, 2nd Edition (2005).
- (35) Hariharan C. B., Baumbach J. I., and Vautz W., "Linearized equation for the reduced Ion mobilities of polar aliphatic organic compounds", *Analytical Chemistry*, **82**, No. 1, 427-431 (2010).
- (36) Vautz W., Nolte J., Fobbe R., Baumbach J. I., "Breath analysis—performance and potential of ion mobility spectrometry", IOP Publishing, *Journal of Breath Research*, **3**, (2009).
- (37) Westhoff M., Litterst P., Freitag L., Baumbach J. I., "Ion mobility Spectrometry in the diagnosis of sarcoidosis: results of a feasibility study", *Journal of Physiology and Pharmacology*, **58**, Supplement 5, 739-751 (2007).
- (38) Apresentação G.A.S., GmbH; Córdoba, Outubro de 2010.
- (39) Jiménez L. A., "Introducción a la Espectrometria de Movilidad Iónica", Departamento de Química Analítica, Universidad de Córdoba (2010).
- (40) Holopainen S., Nousiainen M., Puton J., Sillanpää M., Bardi U., Tolstogousov A., "Evaporation of ionic liquids at atmospheric pressure: Study by ion mobility spectrometry", Elsevier, *Talanta*, **83**, 907-915 (2011).
- (41) Mäkinen M., Sillanpää M., Viitanen A. -K., Knap A., Mäkelä J. M., Puton J., "The effect of humidity on sensitivity of amine detection in ion mobility spectrometry", Elsevier, *Talanta*, **84**, 116-121 (2011).
- (42) NMT, Lda e G.A.S., GmbH, "MCC-IMS VOC Trace Detection in complex matrices", NMT, Lda (2010).
- (43) Hariharan C., Baumbach J. I., Vautz W., "Empirical prediction of reduced ion mobilities of secondary alcohols", *International Journal of Ion Mobility Spectrometry*, **12**, 59-63 (2009).
- (44) Kaur-Atwal G., O'Connor G., Aksenov A. A., Bocos-Bintintan V., Thomas C. L. P., Creaser C. S., "Chemical standards for ion mobility spectrometry: a review", *International Journal of Ion Mobility Spectrometry*, **12**, 1-14 (2009).
- (45) G.A.S., GmbH, Informações prestadas pela empresa fabricante do MCC-IMS.
- (46) G.A.S. Gesellschaft für analytische Sensorsysteme mbH, "User manual for the MCC-IMS", Version 1.0, Julho 2010.
- (47) Settle F. A., Editor, "Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry", Prentice Hall, (1997).

- (48) Blake R. S., Monks P. S., Ellis A. M., "Proton-Transfer Reaction Mass Spectrometry", *Chemical Reviews*, **109**, 861-896 (2009).
- (49) Stauffer E., Dolan J. A., Newman R., "Fire Debris Analysis", Academic Press, Elsevier (2008).
- (50) UC Davis, Chem Wiki. Disponível em:
http://chemwiki.ucdavis.edu/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis/Gas_Chromatography
- (51) Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Disponível em:
<http://www.cpeo.org/techtree/ttdescript/msgc.htm>
- (52) Kanik I. et al., "Miniature electrospray ionization/Ion mobility spectrometer (ESI/IMS) system for detection of organic molecules on Mars", NASA, National Aeronautics and Space Administration.
- (53) Joshi M., Rigsby K., Almirall J. R., "Analysis of the headspace composition of smokeless powders using GC-MS, GC- μ ECD and ion mobility spectrometry", Science Direct, *Forensic Science International*, **208**, 29-36 (2011).
- (54) Air liquide, Informações prestadas pela empresa distribuidora do gás azoto (2011).
- (55) Smith D., Španěl P., "Direct, rapid quantitative analyses of BVOCs using SIFT-MS and PTR-MS obviating sample collection", *Trends in analytical Chemistry*, **30**, (2011).
- (56) Španěl P., Smith D., "Selected ion flow tube: a technique for quantitative trace gas analysis of air and breath", *Medical & Biological Engineering & Computing*, **34**, 409-419 (1996).
- (57) Rodriguez R. M., "Estudo da emissão de iões Estáveis e metaestáveis $(\text{LiF})_n\text{Li}^+$ Induzida por fragmentos de fissão do ^{252}Cf ", Tese de mestrado, Pontífica Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (2003).