

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

KARINE PRIMIERI NICOLLI

**NOVO REVESTIMENTO DE FIBRA DE SPME SINTETIZADA
PELO MÉTODO SOL-GEL PARA ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS**

Porto Alegre, novembro de 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

KARINE PRIMIERI NICOLLI

NOVO REVESTIMENTO DE FIBRA DE SPME SINTETIZADA
PELO MÉTODO SOL-GEL PARA ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do Curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau de Químico Industrial.

Prof. Dra. Claudia Alcaraz Zini
Orientadora

Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenutti
Co-orientador

Porto Alegre, novembro de 2009.

Sumário

Sumário	3
Abreviações	4
Apresentação	6
Estado da arte	9
<i>Microextração em Fase Sólida</i>	9
<i>Método sol-gel</i>	14
Situação atual	18
Objetivo	22
Proposta tecnológica	23
Metodologia	24
<i>Síntese do revestimento</i>	24
<i>Técnicas de caracterização</i>	24
<i>Espectroscopia na Região do Infravermelho(IV)</i>	24
<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	25
<i>Análise termogravimétrica (TG)</i>	26
<i>Análise por Cromatografia Gasosa (GC)</i>	26
<i>Otimização do Processo de Extração</i>	27
<i>Tipo de revestimento</i>	28
<i>Agitação da amostra</i>	28
<i>Tempo de extração</i>	28
<i>Tempo de dessorção</i>	29
<i>Temperatura de extração</i>	29
<i>Adição de sais</i>	30
<i>pH</i>	30
<i>Validação do método analítico</i>	31
<i>Seletividade</i>	32
<i>Linearidade e faixa de aplicação</i>	32
<i>Precisão</i>	33
<i>Exatidão</i>	33
<i>Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)</i>	34
Conclusão crítica	34
Bibliografia	36

Abreviações

BTEX - benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos
C8-TEOS - n-octiltrietoxissilano
CAR-PDMS - carboxen-polidimetilsiloxano
CE - eletroforese capilar (do inglês, *Capillary Electrophoresis*)
COV - compostos orgânicos voláteis
CV - coeficiente de variação
CW-DVB - carbowax-divinilbenzeno
DVB-CAR-PDMS - divinilbenzeno carboxen-polidimetilsiloxano
FID - detector de ionização em chama (do inglês, *Flame Ionization Detector*)
FTIR - transformada de *Fourier* (do inglês, *Fourier transform infrared*),
GC – cromatografia gasosa (do inglês, *Gas Chromatography*)
HF – fluoreto de hidrogênio ou ácido fluorídrico
HPAs - hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HPLC - cromatografia líquida (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)
HS – *headspace*
in-tube SPME - microextração em revestimentos capilares
IV - espectroscopia na região do infravermelho
LLE – extração líquido-líquido (do inglês, *Liquid Liquid Extraction*)
LOD - limite de detecção
LOQ - limite de quantificação
MEV – microscopia eletrônica de varredura
PA – poliacrilato
PCB – bifenilas policloradas
PDMS – polidimetilsiloxano
PDMS-DVB - polidimetilsiloxano-divinilbenzeno
RSD - desvio padrão relativo
SBSE – agitadores sortivos

SDME - microextração em gota suspensa (do inglês, *Single Drop Micro Extraction*)

SPDE - extração dinâmica em fase sólida utilizando seringas internas

SPE - extração em fase sólida (do inglês, *Solid Phase Extraction*)

SPME - microextração em fase sólida (do inglês, *Solid Phase Micro Extraction*)

TEOS - alcóxido tetraetilortosilicato

TG – termogravimetria

US EPA - Agência de Proteção do Meio Ambiente dos Estados Unidos

Apresentação

A qualidade de uma análise química depende da técnica de amostragem e dos procedimentos empregados para o preparo da amostra, pois dificilmente se analisam matrizes na forma bruta, especialmente as mais complexas. Matrizes complexas usualmente geram interferências e, eventualmente, incompatibilidades com equipamentos analíticos. Para contornar tais problemas são empregados procedimentos, com os quais procura-se isolar e concentrar os analitos em níveis adequados. A microextração em fase sólida (do inglês, *Solid Phase Micro Extraction*, SPME) é uma opção relativamente recente, que tem sido empregada para essas operações que criam o elo entre a matriz química e o instrumental analítico, sendo particularmente interessante para cromatografia gasosa (GC). Além disso, pode-se selecionar uma fibra de SPME cujo revestimento seja o mais adequado para a amostra de interesse, eliminando interferentes, facilitando a extração e determinação dos analitos.

A técnica de SPME que se baseia na sorção dos analitos presentes na amostra, absorvidos e/ou adsorvidos em uma fase extratora, é aplicável a uma grande variedade de matrizes sólidas, líquidas e gasosas e para diversos analitos, de voláteis a não voláteis. Essa fase extratora consiste em um filme polimérico líquido, sólido ou misto, suportado sobre uma fibra de sílica fundida, dispensa o uso de solventes orgânicos e tem alto poder de concentração, o que a torna adequada para otimização da sensibilidade do método analítico como um todo¹.

O dispositivo básico de SPME pode ser recoberto com diversos tipos de filmes poliméricos, dos quais vários estão disponíveis comercialmente, como por exemplo, Polidimetilsiloxano (PDMS) e Poliacrilato (PA). A natureza do filme polimérico é de fundamental importância na determinação do tipo de analito a ser extraído, visto que analitos semelhantes à natureza do filme polimérico serão preferencialmente sorvidos no mesmo. Em vista disto, muitos pesquisadores investigam a performance de novos recobrimentos que tenham maior eficiência, capacidade e seletividade para uma determinada classe de compostos^{2,3}.

A própria Supelco, empresa que detém o conhecimento desta tecnologia, tem desenvolvido novos recobrimentos e posteriormente lançado os mesmos no mercado. Dentre as inúmeras possibilidades de novos revestimentos, as sílicas híbridas foram

escolhidas. Neste caso, a parte orgânica está ligada covalentemente ao substrato inorgânico (sílica), sendo que a síntese pode ser essencialmente realizada pelo método de enxerto (*grafting*) ou sol-gel. O método sol-gel apresenta-se como o mais promissor devido à possibilidade de formação de oligômeros, pois, permite um revestimento mais efetivo. Já o método *grafting* consiste na formação de apenas uma monocamada.

O método sol-gel resulta em novos materiais conhecidos como híbridos organo-inorgânicos que envolvem a formação de uma rede polimérica inorgânica por reações de gelificação a baixas temperaturas, permitindo que se alcance uma organização em nível molecular ou nanométrico. As reações resultam na transição de um líquido para um sólido, sendo que os reagentes precursores dos componentes, orgânico e inorgânico, que são geralmente alcóxidos de silício ou de metais como alumínio, titânio, zircônio, se encontram inicialmente dissolvidos nesse líquido. No decorrer do processo, as reações de gelificação levam à formação de um estado sol, que se caracteriza por apresentar oligômeros que formarão cadeias de dimensões coloidais e partículas primárias dispersas. A evolução desse processo forma o estado gel, que apresenta conectividade entre as unidades de dimensões coloidais, formando uma rede tridimensional, entrelaçada e macroscopicamente observável. Devido a essas características, os materiais híbridos à base de sílica, além de serem materiais adsorventes para processos de extração e separação, têm apresentado outras possibilidades de aplicações tecnológicas como catalisadores, carreadores de fármacos, sensores eletroquímicos e dispositivos ópticos⁴.

Na área da Química Ambiental, esses materiais adsorventes podem ser utilizados no monitoramento de diversos contaminantes como, por exemplo, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que constituem uma família de compostos caracterizada por possuírem dois ou mais anéis aromáticos condensados. Estas substâncias, bem como seus derivados nitrados e oxigenados, têm ampla distribuição e são encontrados como constituintes de misturas complexas em todos os compartimentos ambientais. De maneira geral, tanto os HPAs quanto seus derivados estão associados ao aumento da incidência de diversos tipos de câncer no homem⁵. Vários componentes deste grupo são capazes de reagir com o DNA diretamente, ou após sofrerem transformações metabólicas, tornando-se potenciais carcinógenos e eficientes mutagênicos⁶. Dentre suas inúmeras fontes, podem ser citados os processos de combustão de material orgânico (particularmente a exaustão de motores a

diesel ou a gasolina), a queima de carvão, as fotocopiadoras, a exaustão de plantas de incineração de rejeitos, a fumaça de cigarro além de vários processos industriais como, por exemplo, a produção de alumínio e a gaseificação do coque, etc⁷.

No ambiente aquático, os HPAs podem contaminar tanto a água quanto o sedimento, de acordo com a sua hidrofobicidade. Os HPAs mais hidrofóbicos tendem a aderir nas partículas do sedimento, ou nos tecidos biológicos, enquanto aqueles menos hidrofóbicos tendem a ficar menos retidos nestas matrizes⁸. A água potável pode conter somente de 1-10 ng/L de cada HPAs, sendo que o limite superior não deve ultrapassar 100 ng/L. Segundo a US EPA (Agência de Proteção do Meio Ambiente dos Estados Unidos), 16 HPAs são considerados como poluentes prioritários. A estrutura química e o nome destes compostos estão descritos na Figura 1^{9,10}.

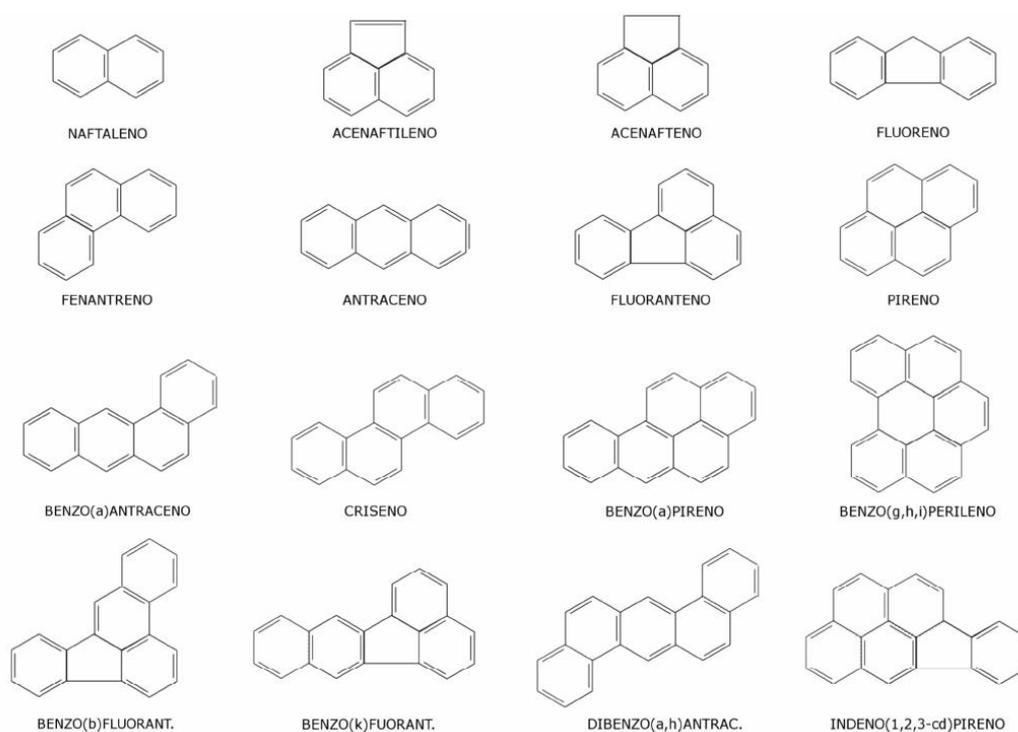


Figura 1. Estrutura e nome dos 16 HPAs considerados como poluentes prioritários pelo EPA.

A seriedade dos efeitos que a exposição aos HPAs pode ter sobre o organismo humano fez com que especial atenção fosse dedicada ao desenvolvimento de materiais adsorventes e metodologias analíticas hábeis para identificação e determinação de áreas

contaminadas, dentre estas, águas contaminadas que podem ser ingeridas pela população. A variabilidade da composição das misturas, a complexidade das amostras e as baixas concentrações que, em geral, são observadas, exigem a utilização de matérias e métodos analíticos altamente seletivos e de elevada sensibilidade.

Em vista das informações acima mencionadas, verifica-se que o desenvolvimento de novos revestimentos, através da utilização do processo sol-gel, é uma proposta interessante para um projeto científico e tecnológico promissor. Este projeto tem por objetivo verificar as potencialidades de um novo filme para fibras de SPME para extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), utilizando o método sol-gel de síntese, de forma a possibilitar a simplificação e maior eficiência do processo de extração destes analitos de matrizes aquosas.

Estado da Arte

Microextração em Fase Sólida

A microextração em fase sólida (SPME) foi introduzida em 1990 por Arthur e Pawlinszyn. Os primeiros experimentos com SPME foram realizados usando fibra ótica, com e sem revestimento com fases poliméricas líquidas e sólidas. Um rápido desenvolvimento desta técnica resultou na incorporação de fibras revestidas com fases poliméricas dentro de uma micro-seringa gerando o primeiro dispositivo de SPME¹¹.

A técnica de SPME foi desenvolvida com o objetivo de facilitar o preparo rápido das amostras. No primeiro trabalho, publicado em 1990, ela foi aplicada a diversas amostras aquosas¹². Posteriormente, sua aplicação foi proposta e avaliada na extração e pré-concentração de analitos no *headspace* (HS – *headspace* ou espaço confinado). *Headspace* é definido como sendo constituído dos compostos voláteis contidos na fase de vapor sobre uma solução em equilíbrio ou também sobre uma fase sólida que é mantida em ambiente fechado, pode ser definido também como espaço confinado de fase gasosa imediatamente acima da amostra^{12,13}.

A Figura 2 apresenta um dispositivo de SPME baseado em uma micro-seringa HamiltonTM série 7000 e a Figura 3 representa a primeira versão comercial do dispositivo de SPME introduzida pela Supelco em 1993. A haste de metal, que serve como pistão na

micro-seringa, é substituída por um micro-tubo de aço inoxidável com um diâmetro interno ligeiramente maior que o diâmetro externo da haste de sílica fundida. Uma cola epóxi resistente a altas temperaturas é usada para montar a fibra recoberta com filme polimérico. A movimentação do êmbolo permite expor a fibra durante a extração e dessorção, além de protegê-la dentro da agulha durante a estocagem e perfuração do septo¹⁴.

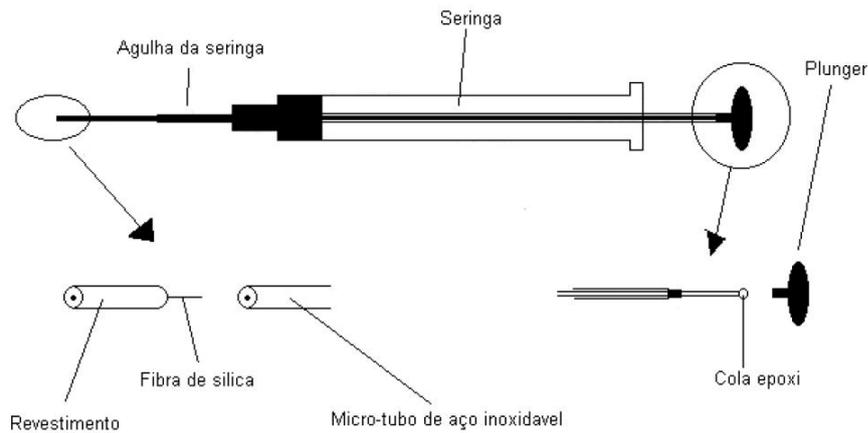


Figura 2. Dispositivo de SPME baseado numa seringa Hamilton série 7000.

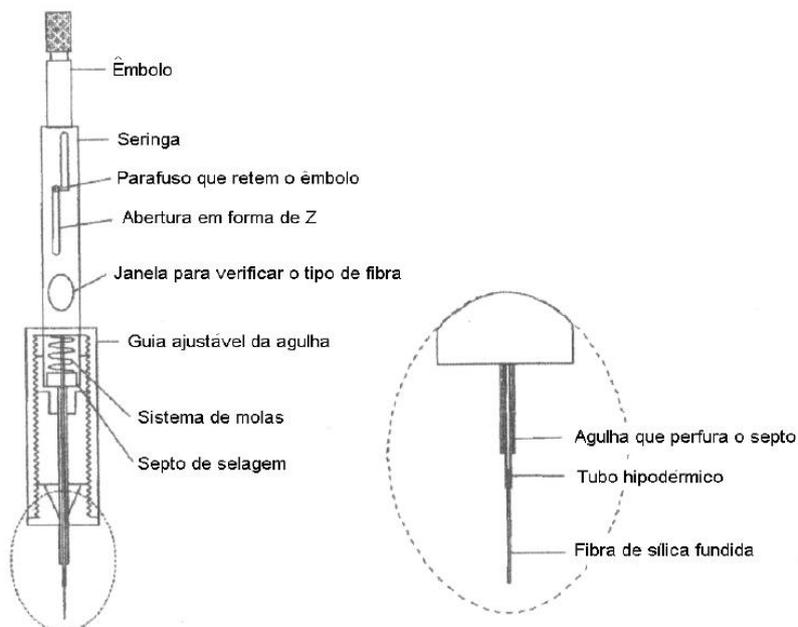


Figura 3. Dispositivo de SPME comercializado pela Supelco.

Antes da SPME ser introduzida, as principais técnicas para extração e/ou pré-concentração de compostos presentes em fluidos biológicos eram extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid Liquid Extraction*) e a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*). Existem também técnicas de *headspace* (extração do *headspace* no modo estático – SHE e extração do *headspace* no modo dinâmico – DHE) utilizadas para extração de analitos de fase gasosa, no entanto, essas técnicas não são indicadas para extração de HPAs devido a baixa volatilidade dos mesmos¹. As técnicas LLE e SPE, apresentam o inconveniente da utilização de solventes orgânicos (normalmente inflamáveis e tóxicos) e excessiva manipulação da amostra, levando a riscos de contaminações e perdas de analitos. As tendências atuais apontam no sentido da utilização de menores quantidades de amostras, até mesmo para análises de traços; obtenção de maior seletividade e especificidade na extração; aumento no potencial para automação e utilização de métodos "on-line", reduzindo assim a operação manual; desenvolvimento de métodos menos agressivos ao meio ambiente, com menor desperdício e, o uso de quantidade mínima ou nenhuma de solventes orgânicos^{15,16}.

Dentro deste contexto, técnicas de microextração, que utilizam quantidades mínimas de solventes orgânicos e um número menor de etapas na preparação das amostras vêm sendo desenvolvidas. Entre as principais técnicas de microextração existentes destacam-se a micro-extração em fase sólida (SPME) e a microextração em gota suspensa (SDME, do inglês, *Single Drop Micro Extraction*).

O princípio da microextração em gota suspensa é similar ao da extração líquido-líquido convencional, contudo apresenta vantagens como a minimização na quantidade de solvente utilizado, simplicidade de operação, baixo custo e consumo de tempo. No entanto, a microextração em gota suspensa não é tão robusta, podendo ocorrer perda de solvente durante a extração, especialmente quando é aplicada agitação para acelerar o processo, além da necessidade de pré-tratamento de amostras bastante viscosas ou contendo material particulado (possível colisão com a microgota)^{17,18}.

A Tabela 1 apresenta as principais etapas de preparação de amostras para três técnicas de extração¹⁹.

Tabela 1. Comparação entre as técnicas de extração LLE, SPE e SPME.

Técnica	Etapas
LLE	Adição de solvente orgânico na amostra; Agitação no funil de separação; Separação das fases aquosa e orgânica; Remoção da fase orgânica; Evaporação/concentração da fase orgânica; Injeção no instrumento analítico.
SPE	Condicionamento dos cartuchos ou membranas; Eluição da amostra; Eluição do solvente para remover interferentes e analitos dessorvidos; Evaporação/concentração da fase orgânica; Injeção no instrumento analítico.
SPME	Exposição da fibra de SPME à amostra; Dessorção dos analitos no instrumento analítico

Como se pode observar na Tabela 1, a técnica de SPME envolve apenas duas etapas de manipulação. A primeira etapa consiste em expor a fibra revestida diretamente à amostra ou ao seu *headspace* (HS). Os analitos são então adsorvidos/absorvidos no revestimento da fibra e, após alcançado o equilíbrio entre a amostra e o sorvente, a fibra é recolhida para o interior da agulha, sendo o dispositivo retirado de dentro do recipiente. Assim, nesta etapa ocorre a sorção dos analitos. A quantidade de analito extraída dependerá de sua concentração na amostra e de sua afinidade pelo material de recobrimento, bem como das dimensões da fibra (comprimento e espessura do filme polimérico) e alguns parâmetros operacionais (temperatura de extração, força iônica, etc). Na segunda etapa, a fibra contendo os analitos concentrados é transferida para o instrumento analítico, onde ocorre a dessorção, separação e quantificação dos analitos extraídos.^{1,20,21} A etapa de dessorção dos analitos geralmente é realizada colocando a fibra no injetor do cromatógrafo aquecido, conforme a Figura 4.

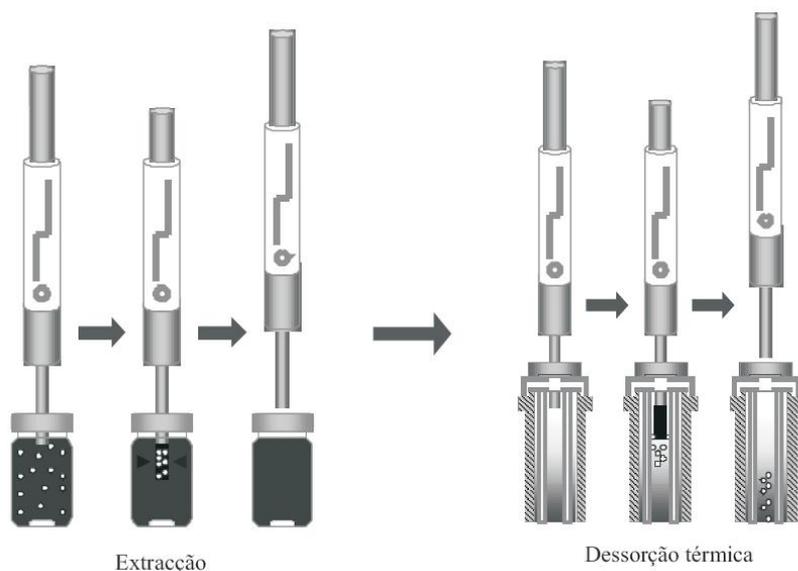


Figura 4. Etapas do processo de microextração em fase sólida.

Basicamente, há dois modos de extração a serem considerados em SPME: extração direta e extração através do headspace. Na primeira, a fibra é inserida diretamente na matriz (geralmente aquosa), e na segunda, a fibra é exposta à fase de vapor em contato com a amostra e os analitos presentes na amostra passam para a fase de vapor e então são sorvidos no filme polimérico. Para aumentar a velocidade de extração, em ambos os modos, é necessária uma agitação vigorosa para transporte rápido dos analitos²². A extração direta é indicada para analitos que possuem volatilidade de média a baixa, enquanto que a extração através do headspace é aconselhável para analitos que possuem volatilidade de média a alta²³.

Segundo Chen, para a extração e concentração de compostos orgânicos em amostras de água, principalmente em baixas concentrações, como é o caso dos HPAs, o método mais indicado é a pré-concentração com adsorventes²³.

Em vista disso e também devido a sua simplicidade, baixo consumo de solvente, seletividade e sensibilidade, a SPME foi proposta como técnica de extração e concentração de HPAs deste trabalho. Muitas das técnicas tradicionais de extração envolvem procedimentos com várias etapas, durante as quais pode ocorrer a perda do analito, enquanto a SPME permite a extração e concentração do analito em uma única etapa. As amostras aquosas podem ser estudadas diretamente, inserindo-se a fibra na solução e esta técnica pode ser utilizada também em campo, minimizando perdas²⁵.

Método sol-gel

Essa tecnologia surgiu em meados de 1800 e, quase um século depois ela foi usada por uma indústria de vidro alemão que descobriu a viabilidade em se preparar vidros multicomponentes através do controle das etapas de hidrólise e policondensação de alcóxidos²⁶.

O primeiro trabalho utilizando a tecnologia sol-gel na deposição de materiais sorventes para SPME foi apresentado por Chong *et al* em 1997²⁷. Eles desenvolveram uma fibra de SPME com recobrimento de sílica modificada com PDMS. Para isso, foi utilizado como precursor o metiltrimetoxissilano e como modificador orgânico o PDMS hidroxilado (PDMS-OH).

A partir de 1999, a tecnologia sol-gel foi sem dúvida a técnica mais utilizada para preparo de novos materiais para SPME, já que se pode criar uma variedade de recobrimentos com diferentes seletividades. Gbatu *et al* descreveram a preparação de fibras usando n-octiltrietoxissilano (C8-TEOS) como precursor, conferindo características hidrofóbicas à cadeia²⁸. As fibras são altamente estáveis à exposição direta a solventes orgânicos com xileno e clorofórmio, bem como soluções básicas e ácidas com pH 13 e 0,3. As fibras foram aplicadas com sucesso na extração de compostos organometálicos em análise por HPLC. Esse trabalho foi de extrema importância para demonstrar a estabilidade das fibras preparadas por sol-gel frente a solventes; uma fibra comercial de PDMS/DVB 60 µm ficou inutilizada após 12 h de uso nas mesmas condições, já que ocorreu o intumescimento do filme, que se descolou da fibra.

Yu *et al* apresentaram fibras recobertas com hidroxifulereno (fulerol)²⁹. As fibras preparadas apresentaram uma superfície porosa com alta estabilidade a altas temperaturas (360°C) e frente à exposição direta a solventes (orgânicos e tampões). As fibras preparadas foram comparadas com a fibra comercial PDMS 30 µm e a fibra sol-gel apresentou uma maior sensibilidade e maiores velocidades de transferência de massa para compostos aromáticos. As fibra foram testadas para hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), bifenilas policloradas (PCB) e aminas aromáticas. A estabilidade térmica do recobrimento foi avaliada realizando-se extrações de PCB variando-se a temperatura do injetor do

cromatógrafo gasoso. Verificou-se que as áreas avaliadas não diminuíram com o aumento da temperatura. A durabilidade destas fibras foi alta, chegando a serem utilizadas aproximadamente 200 vezes. Os limites de detecção calculados para os PCB variaram de 0,013 ng L⁻¹ até 0,051 ng L⁻¹ e a repetibilidades de 1,8 até 4,6 % (expressa como desvio padrão relativo).

Li *et al* prepararam fibras para SPME utilizando como modificadores calixarenos (uma classe de oligômeros cíclicos preparados a partir de formaldeído e fenóis substituídos via condensação cíclica sob condições alcalinas)³⁰. A fibra apresentou uma alta sensibilidade para compostos polares (aminas aromáticas) e alta seletividade para compostos apolares (derivados de benzeno, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) e compostos com alto ponto de ebulição (ftalatos). Os equilíbrios de extração foram rápidos e a fibra apresentou alta estabilidade a altas temperaturas (380° C) e a solventes orgânicos e tampões, além de possuir um longo tempo de vida e boa repetibilidade entre lotes. Os limites de detecção obtidos foram baixos, variando entre 1,2 e 7,2 ng L⁻¹.

A química sol-gel oferece um caminho relativamente simples para a síntese de materiais que são aplicados no recobrimento de superfícies, incorporando compostos orgânico em estruturas poliméricas inorgânica^{28,31}.

Uma vantagem da utilização da técnica sol-gel no recobrimento de superfícies é a facilidade em se obter mudança de estrutura química, e, portanto, de seletividade em extrações. Outras vantagens são simplicidade, custo relativamente baixo, forte adesão entre o recobrimento polimérico e o substrato através de ligações químicas. Todas essas características são muito importantes em recobrimentos sortivos de fibras de SPME.

Além disso, outra característica importante em SPME é que a fase extratora deve ser estável. Para a maioria das fibras disponíveis comercialmente, a deposição da fase extratora é feita fisicamente sobre a superfície de uma fibra de sílica nua, sem ligação química. Por essa razão, alguns recobrimentos possuem restrições à exposição direta a solventes e a altas temperaturas. Portanto, a tecnologia sol-gel tem sido empregada na confecção de novos recobrimentos para SPME, já que ela permite a ligação química entre a superfície e o recobrimento. O recobrimento é feito simplesmente expondo a superfície ativada de uma fibra de sílica nua à solução sol por certo período de tempo. A espessura do filme

polimérico pode ser controlada variando-se o tempo de exposição à solução sol e a concentração da mesma.

Os revestimentos da fibra de SPME podem ser sintetizados pelo método sol-gel, baseado na hidrólise e policondensação de precursores moleculares, principais reações de gelificação, conforme representado nas equações 1, 2a e 2b.



Como as reações de gelificação de alcóxidos de silício são bastante lentas, comumente adiciona-se catalisadores que geralmente são classificados em dois tipos: ácidos e básicos³².

A gelificação em meio ácido resultará em cadeias que se unem para formar géis poliméricos. Após a secagem dão origem a uma matriz compacta com baixo volume de poros e cujo tamanho é, geralmente, menor que 2 nm de diâmetro, chamados microporos. Quando adicionado catalisador básico, o gel tende a crescer mais esfericamente, formando partículas primárias esféricas e resultará em matriz com maior porosidade, entre 2 e 50 nm de diâmetro, chamados mesoporos. No caso dos precursores serem alcóxissilanos, os catalisadores mais utilizados no processo sol-gel são os ácidos, pois produzem polímeros com cadeias ramificadas, enquanto que para os polímeros formados utilizando-se catalisadores básicos produzem-se estruturas altamente condensadas^{33,34}.

Outro catalisador bastante empregado é o ânion fluoreto, que pode ser utilizado tanto em meio ácido ou básico e tem se mostrado como o catalisador mais eficiente para o processo de gelificação de híbridos à base de sílica. Apesar do mecanismo de sua ação não ser completamente compreendido, há um consenso que o fluoreto, por ser um ânion muito pequeno e difundir facilmente no sistema, inicia o processo, através de um ataque nucleofílico ao silício, coordenando-se a ele e promovendo as reações subsequentes.

O processo de gelificação, representado nas Equações 1 e 2, refere-se à formação de sílica pura, onde se utiliza apenas o precursor do componente inorgânico, do tipo ortossilicato de tetra-alkila. Na preparação de materiais híbridos à base de sílica o

processo, apesar de semelhante, envolve a adição de novos constituintes que aumentam a complexidade do sistema, ou seja, também são adicionados precursores moleculares do componente orgânico. Nesse caso, dois tipos de procedimentos podem ser utilizados:

a) o primeiro, envolve a adição de precursores moleculares orgânicos não polimerizáveis, que são solúveis ao meio no qual se obtém sílica pura (Equações 1 e 2), mas que não participam diretamente das reações de gelificação. O híbrido resultante apresenta o componente orgânico, adsorvido à rede inorgânica por forças intermoleculares do tipo Van der Waals ou ligações de hidrogênio. Esses materiais são também chamados de híbridos de classe I;

b) o segundo processo utiliza, como precursores do componente orgânico, organossilanos polimerizáveis que apresentam grupo orgânico ligado diretamente ao silício, em ligação Si – C não hidrolisável como, por exemplo: (RO)₃Si – R', (RO)₂Si – R', RO – Si – R', onde R é geralmente etil ou metil e R' um grupo orgânico alifático ou aromático que pode conter diferentes grupos funcionais de interesse para serem incorporados através de ligação química à estrutura do híbrido. Esses materiais, também conhecidos como híbridos de classe II, mostram uma maior estabilidade térmica do componente orgânico quando comparados aos híbridos de classe I.

Pode-se ainda subdividir os híbridos de classe II em dois tipos distintos:

i) aqueles formados a partir de precursores do componente orgânico que apresentem apenas um ponto de polimerização, que resultarão em um híbrido com o componente orgânico preso à matriz inorgânica na forma pendente;

ii) híbridos formados a partir de precursores do componente orgânico que contenham dois ou mais pontos de polimerização. Nesse caso, o híbrido resultante apresenta o componente orgânico preso à rede inorgânica formando pontes^{4,35,36}.

Os materiais híbridos de classe II, devido ao fato de poderem ser sintetizados com diferentes propriedades texturais e morfológicas, tais como tamanho de partículas, área superficial específica, tamanho e volume de poros, podem ser utilizados como materiais adsorventes. Adicionalmente, é possível inserir nesses materiais grupos orgânicos quelantes, com sítios específicos, que possibilitam a adsorção de metais. Já foram desenvolvidos materiais adsorventes de metais pesados de interesse ambiental, tanto em

meio aquoso como também em meio etanólico, sendo que alguns apresentaram seletividade a cátions específicos como Cu(II) e Hg(II)³⁷.

Além de adsorventes de metais, os materiais híbridos de classe II também têm sido usados na adsorção de compostos orgânicos de interesse ambiental e em processos de SPME^{38,39}.

Situação atual

Em função de suas vantagens, a SPME é amplamente utilizada para quantificação e identificação de diversos compostos químicos em uma grande variedade de matrizes, o que tem gerado um constante aumento de novas publicações em diversas áreas da ciência. O maior número de publicações encontra-se no campo das análises ambientais, apesar de as aplicações clínicas e análise de alimentos estarem em crescimento. Outro campo importante de aplicação é no setor dos aromas e fragrâncias. Na área de análises ambientais, a SPME tem sido aplicada na extração de compostos orgânicos a partir de diversas matrizes, incluindo amostras de água^{39,40}, ar⁴¹, solos e sedimentos⁴².

A maior parte dos trabalhos refere-se à extração de VCOs. No entanto, esta técnica foi também aplicada à determinação de outros tipos de contaminantes, como pesticidas, fenóis, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), bifenilas policlorados (PCBs), compostos nitroaromáticos e organometálicos⁴³⁻⁴⁵.

Na área de alimentos, esta técnica também é utilizada para determinar a composição de alimentos e bebidas, bem como na determinação de contaminantes e na análise de aromas e sabores⁴⁶⁻⁴⁸.

No campo das análises farmacêuticas, a SPME é utilizada para determinar voláteis, fragrâncias e componentes de cosméticos⁴⁹.

A utilização da SPME na área de análises clínicas e forenses está em grande expansão, sendo usada para a determinação de drogas recreativas, como anfetaminas, ecstasy e piperazinas, biomarcadores do consumo de álcool, cocaína e metabólitos em distintos fluidos biológicos. Além disso, é também possível determinar anestésicos e antidepressivos⁵⁰⁻⁵².

Outro campo de interesse é na análise de explosivos e de agentes químicos utilizados na guerra química. Estão também publicados trabalhos referentes à determinação de óleos essenciais e de constituintes do tabaco^{53,54}.

No mercado existem diferentes tipos de revestimentos que podem ser apolares (PDMS), polares (PA, CW-DVB) e semipolares (PDMS-DVB, CAR-PDMS), como mostra a Figura 5. Existe também a DVB-CAR-PDMS, dotada de triplo revestimento, que é considerada como de polaridade intermediária. Esta gama de polaridades disponível oferece vantagens como seletividade, possibilidade de maior recuperação de analitos específicos e redução da extração de interferentes.

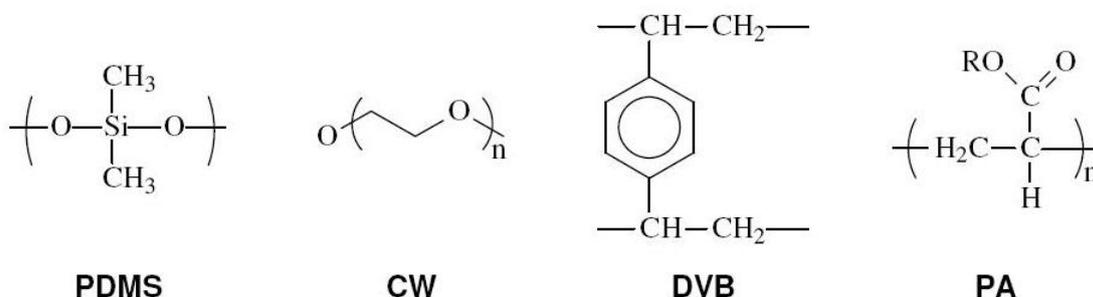


Figura 5. Fórmulas estruturais dos polímeros presentes nos revestimentos poliméricos.

As tradicionais fibras de sílica fundida (Tabela 2) usadas na microextração em fase sólida (SPME) são muito frágeis e possuem custo elevado. Entretanto, o mercado vem investindo em filmes poliméricos cada vez mais resistentes, tais como as fibras StableFlex (R\$ 1430,00), que são mais flexíveis e, portanto, apresentam menor probabilidade de quebra, além de maior tempo de vida, em função de maior estabilidade e menor sangria do filme^{55,56}.

Além das fibras comerciais, existem muitos laboratórios desenvolvendo experimentalmente novos revestimentos com maior eficiência, capacidade e seletividade para uma determinada classe de compostos como alguns revestimentos apresentados na Tabela 3 e 4.

Tabela 2. Principais fibras comerciais utilizadas em SPME.

Tipo	Composição Química do Recobrimento	Aplicação
Apolar	Polidimetilsiloxano (PDMS)	Compostos orgânicos pouco polares como COV*, HPA e BTEX**
Polar	Poliacrilato (PA)	Compostos orgânicos polares como triazinas e fenóis
	Carbowax-divinilbenzeno (CW-DVB)	Compostos orgânicos polares como os álcoois
Bipolar	Polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS – DVB)	Hidrocarbonetos aromáticos e pouco voláteis como análise de ar
	Carboxen-polidimetilsiloxano (Carboxen-PDMS)	COV e hidrocarbonetos

*COV- compostos orgânicos voláteis

**BTEX - benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno.

Tabela 3. Composições químicas e aplicações das novas fibras que vêm sendo desenvolvidas e utilizadas em SPME.

Composição química do recobrimento	Aplicação	Referência
Alumínio anodizado	BTEX, álcoois e produtos de petróleo	57
Oxido de nióbio	Fenóis e álcoois	58
Vidro de carbono a baixa temperatura	BTEX, HPA, VOC	59,60
Multifibras porosas de C18	Pesticidas	61
Polipirrole	Dopamina	62
Poli(butilacrilato)	Ésteres de ftalatos	19

Tabelas 4. Novas fibras para SPME desenvolvidas por processo sol-gel, composição, espessura de filme e analitos que apresentam afinidades com o recobrimento.

Composição do recobrimento	Espessura do filme (μm)	Analitos que apresentam afinidades	Referência
Poli(dimetilsiloxano) PDMS ^a	10	HPA, alcanos, derivados de anilina, álcoois e fenóis	27
Polisilicone fullereno	33	HPA, naftalenos, bifenilas, BTX, hidrocarbonetos aromáticos	63
Hidroxi-crown éter	73	Compostos fenólicos	64
Éter de coroa	70	Aminas aromáticas	65
Hidroxifulereno	30	HPA, PCB, aminas aromáticas	66
Benzo-15-crown-5	67	COV, fenóis, arilaminas	67
Polifenilmetilsiloxano	70	Pesticidas organoclorados	68
Calix-[4]arene	55-65	HPA, ftalatos, BTEX, aminas	30,69

^a – sob suporte de sílica fundida

Alguns outros processos, que podem ser vistos como variações da SPME, podem ser citados: a microextração em revestimentos capilares (*in-tube* SPME)⁷⁰, a extração dinâmica em fase sólida utilizando seringas internas (SPDE)⁷¹ e ainda os agitadores sortivos (SBSE)⁷². Estas técnicas surgiram para resolver as principais desvantagens da SPME, como a fragilidade da sílica fundida e a falta de proteção da fase estacionária.

A concepção dos agitadores sortivos surgiu quando da constatação de que o teflon de um agitador magnético apresentava a capacidade de reter parte dos analitos de uma amostra, quando esta era agitada com um agitador magnético⁷³.

Estes dispositivos comercializados sob o nome de Twister® utilizam uma barra de agitação magnética revestida por uma camada de PDMS. A extração por absorção sobre barra agitadora ou SBSE é uma nova técnica de isolamento e concentração que permite a extração de analitos orgânicos voláteis presentes em amostras, mediante absorção sobre o PDMS que reveste o agitador. A teoria desta técnica baseia-se nos mesmos princípios da SPME, quanto ao procedimento de extração. O procedimento é muito simples, podendo a

amostragem ser feita suspendendo-se o agitador magnético no *headspace* de uma amostra sólida ou líquida (HSSE), ou colocando-se o agitador em contacto direto com a amostra. A etapa de dessorção depende da técnica de separação a ser utilizada, sendo a SBSE acoplável tanto a HPLC como a GC. Entretanto, esta técnica exige uma adaptação no cromatógrafo, aumentando o custo da instrumentação. A maior vantagem da mesma é a sua sensibilidade, visto que é de 100 e 1000 vezes mais sensível do que a SPME, o que se deve à diferença na quantidade de material absorvente empregado (entre 55 e 219 μL de PDMS na SBSE vs. 0.5 μL de PDMS na SPME). Além do custo elevado do dispositivo, aliado ao sistema de dessorção, outro inconveniente é de que apenas a fase estacionária apolar (PDMS) está disponível comercialmente^{74,75}.

Esta técnica de microextração em revestimentos capilares utiliza o interior de uma coluna capilar aberta, com superfície interna revestida de um material absorvente. Encontram-se disponíveis no mercado diferentes tipos de material, sendo normalmente pouco polares e não iônicos. A extração dinâmica em fase sólida (SPDE) foi desenvolvida e comercializada pela primeira vez em 2000 pela Chromtech (Idstein, Alemanha). Utiliza a mesma quantidade de absorvente que a SPME convencional e à semelhança desta, utiliza uma seringa com uma agulha revestida com um material absorvente, mas, neste caso, a fibra não é retrátil. A maior vantagem da SPDE quando comparada com a SPME é a maior robustez da fibra utilizada.

Objetivo

Esse projeto tem como objetivo verificar a possibilidade de utilização de um novo revestimento híbrido desenvolvido em fibra de sílica para aplicação em microextração em fase sólida (SPME) de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) presentes em matrizes aquosas como rios, lagos e águas contaminadas.

Para obtenção deste objetivo propõe-se o seguinte plano de trabalho:

- Desenvolvimento da concepção de um novo revestimento híbrido em fibra de sílica pelo método sol-gel;
- Síntese do novo revestimento híbrido em fibra de sílica pelo método sol-gel;

➤ Desenvolvimento de um método analítico através da SPME para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), utilizando soluções padrão de HPA;

Proposta tecnológica

A SPME tem sido muito utilizada atualmente por ser uma técnica extremamente simples do ponto de vista instrumental, porém ela apresenta algumas limitações. Poucos sorventes conhecidos podem ser depositados como filmes estáveis sobre uma fibra de sílica fundida. Por essa razão, existe um número limitado de sorventes disponíveis comercialmente. Além disso, as fibras de SPME não são produzidas no Brasil e são fornecidas por apenas uma fabricante. Uma outra limitação é o alto custo das fibras – uma caixa com três fibras custa em média U\$ 300,00 ou R\$ 600,00 – extremamente onerosas devido ao valor do dólar frente a nossa moeda e aos elevados impostos para importação. Deve-se levar em consideração também o tempo de espera pelo material, sendo que alguns dos filmes disponíveis possuem restrições à exposição direta a solventes e ao uso em temperaturas elevadas.

A proposta tecnológica é preparar, utilizando método sol-gel, um novo revestimento para fibra de SPME que seja adequado para análise de HPA, seja estável sobre a fibra de sílica fundida, apresente boa reprodutibilidade e repetibilidade, além de suportar temperaturas elevadas. Esse revestimento deve ter características apolares para que tenha afinidade com os analitos de interesse (HPAs).

Para controlar a velocidade e frequência de mergulho da fibra na solução que confere o revestimento, propõe-se utilizar um *dip counter*, equipamento imprescindível para se obter reprodutibilidade do material.

Desconsiderando valores agregados à síntese do material e considerando apenas os reagentes utilizados bem como o equipamento *dip counter*, estima-se que o custo para cada fibra seja inferior ao de uma fibra comercial.

Metodologia

Síntese do revestimento

Para a síntese do revestimento deve-se utilizar um organossilano sintetizado com aproximadamente 50% de TEOS e uma gota de HF como catalisador. Esse tipo de material híbrido confere uma estrutura do tipo pendente da classe II, resistente e mais adequado para o revestimento de fibras de SPME. Posteriormente é feito o recobrimento de uma fibra de vidro com o material sintetizado através da simples imersão na solução, que pode ser manual ou através de um *dip counter*.

Técnicas de caracterização

Para avaliar o processo de síntese e a eficiência do novo recobrimento serão realizadas análises como, por exemplo, espectroscopia na região do infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TG) e cromatografia gasosa (GC).

Espectroscopia na Região do Infravermelho(IV)

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica amplamente utilizada para determinação estrutural de substâncias, determinação da pureza, quantificação e acompanhamento de reações. A espectroscopia no infravermelho é um método que se baseia na propriedade que determinadas moléculas tem de absorver radiações eletromagnéticas na região do infravermelho, que compreende as radiações com comprimento de onda na faixa de 0,75 a 1000 μm .

Para que uma molécula absorva radiação na região do infravermelho, ela precisa sofrer uma variação no momento de dipolo como consequência do movimento vibracional ou rotacional, apenas nessas condições o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos. Se a amostra absorve radiação no infravermelho, o espectro apresenta bandas devidas aos modos de vibração de estiramentos e de deformações das ligações moleculares resultantes de excitação causada pela radiação incidente.

Os instrumentos mais usados são os espectrofotômetros com transformada de *Fourier* (*FTIR – Fourier transform infrared*), que ao invés de usarem grades de difração para a seleção de frequência, são dotados de interferômetro de *Michelson*. Esses equipamentos possibilitam a aquisição simultânea de espectro em todas as frequências, tornando a aquisição de dados mais rápida, eficiente, confiável e com melhor resolução espectral devido à possibilidade de acumulação de dados.

Quando as bandas na região do infravermelho da sílica e dos grupos orgânicos utilizados não se sobrepõem, esta técnica é apropriada para verificação da efetivação das reações de sol-gel, assim como para estudo da estabilidade térmica dos materiais. Tal verificação é possível através da análise das bandas de absorção.

As principais bandas de absorção da sílica são: vibração de estiramento Si-O-Si com máximo em 1100 cm^{-1} ; deformação angular Si-O-Si em 450 cm^{-1} ; estiramento Si-OH em 950 cm^{-1} e SiO-H entre 3740 e 3300 cm^{-1} . Já o componente orgânico pode ser identificado com bandas de estiramento C-H em torno de 2950 cm^{-1} ; deformação angular CH_2 entre 1500 e 1400 cm^{-1} , bandas características, como por exemplo, bandas de amins, amidas e anéis aromáticos quando for o caso.

Para realizar a análise preparam-se amostras na forma de pastilhas de KBr ⁷⁶.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura tem sido amplamente empregada na caracterização morfológica de sólidos. O microscópio eletrônico de varredura é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação e resolução, mostrando o formato das partículas primárias. Pode-se observar claramente se o recobrimento foi completo, observa-se também que a fibra precisa ser recoberta mais de uma vez para uma cobertura completa, além de se obter uma estimativa de espessura média do recobrimento.

O princípio de funcionamento do microscópio consiste em varrer a amostra com um feixe de elétrons chamados de secundários. A cada ponto da amostra, dentro da resolução desejada, a energia desses elétrons é transformada num sinal e amplificada por um tubo fotomultiplicador e o sinal correspondente ao ponto escolhido da amostra é aplicado na tela de raios⁷⁷.

Nos materiais não condutores ou semi-condutores, é depositado um fino filme de ouro ou grafite, para evitar o acúmulo de cargas elétricas, que passam a repelir o feixe eletrônico. Essa camada sobre a amostra deve ter espessura da ordem de 100 Å e deve estar ligada ao material metálico da porta-amostra para possibilitar passagem da corrente elétrica.

Análise termogravimétrica (TG)

As propriedades térmicas do revestimento podem ser discutidas pelas curvas termogravimétrica (TG). Termogravimetria é a técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto esta é submetida a uma programação controlada. O equipamento utilizado na análise termogravimétrica é basicamente constituído por uma microbalança, um forno, termopares e um sistema de fluxo de gás. Nessa análise, observa-se uma temperatura de degradação térmica do revestimento que pode ser considerada a temperatura máxima de operação⁷⁸.

Análise por Cromatografia Gasosa (GC)

Vários métodos analíticos foram desenvolvidos para medir baixas concentrações de HPAs em água. A análise destes compostos pode ser realizada por cromatografia gasosa (do inglês, *Gas Chromatography*, GC), cromatografia líquida (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) e eletroforese capilar (do inglês, *Capillary Electrophoresis*, - CE)⁷⁹⁻⁸¹.

O cromatógrafo é um aparelho utilizado em análises cromatográficas de métodos físicos de separação, no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases: a fase estacionária, e a fase móvel. A amostra é transportada por uma corrente de gás através de uma coluna recoberta com uma película de um filme líquido, que consiste na fase estacionária (no caso das colunas capilares). Devido a sua simplicidade, sensibilidade e efetividade para separar os componentes de misturas, a cromatografia gasosa é uma das ferramentas mais importantes em Química⁸².

O intensivo uso da GC e os conseqüentes desenvolvimentos tecnológicos resultaram em uma poderosa técnica de separação que possibilita a separação, detecção, identificação e quantificação de analitos virtualmente puros. Entre as vantagens da GC, pode-se citar:

elevada resolução, alta eficiência na introdução de amostra, baixo ruído de fundo devido à elevada pureza do gás inerte empregado como fase móvel e possibilidade de emprego de padrão interno⁸³.

A cromatografia gasosa com um detector de ionização em chama (do inglês, *Flame Ionization Detector*, FID) oferece uma boa sensibilidade e seletividade na análise de HPAs. Entretanto, a técnica pode ter uma baixa sensibilidade devido a interferências na análise de matrizes ambientais complexas. Através da cromatografia avalia-se a recuperação, reprodutibilidade e repetibilidade das novas fibras, além da otimização das condições de extração.

Entretanto, como técnica analítica, a GC depende da qualidade da etapa de preparo da amostra, pois poucas matrizes podem ser diretamente injetadas num cromatógrafo gasoso. Este é o caso típico de análise de matrizes de origem ambiental, como a água, que via de regra, além de conter particulados não voláteis, apresenta os analitos em quantidades incompatíveis com as colunas cromatográficas e detectores de GC. Portanto, a viabilização da análise por GC depende de um método adequado de preparo da amostra. Um destes métodos é a SPME, por ser uma técnica operacionalmente simples, por não utilizar solvente e por apresentar alto poder de concentração, adequando-se às sensibilidades dos detectores de GC⁸⁴.

A cromatografia líquida também é uma das técnicas mais utilizada para determinar HPAs em matrizes ambientais, porém não tão interessante quando se deseja utilizar a microextração em fase sólida devido a instabilidade dos revestimentos frente a solventes⁸⁵.

Otimização do Processo de Extração

Entre os fatores que influenciam a eficiência do processo extrativo estão a escolha do filme polimérico mais apropriado ao analito que se deseja extrair e o tipo de matriz em que está contido. A escolha do filme, bem como de sua espessura, é geralmente feita em uma etapa de otimização das condições de análise, tendo como base as características físico-químicas dos analitos e das fibras disponíveis.

Para que se obtenha uma boa precisão, e rendimento elevado num curto intervalo de tempo no processo de SPME, existem vários parâmetros que devem ser otimizados. De

forma resumida são apresentados os principais parâmetros que afetam esta técnica de preparação de amostras e precisam ser avaliados:

Tipo de revestimento

O tipo de revestimento da fibra deve ser escolhido conforme a polaridade do analito que se pretende extrair. Assim, analitos pouco polares terão maior afinidade para revestimentos apolares como, por exemplo, polidimetilsiloxano (PDMS), ao passo que analitos mais polares serão adsorvidos preferencialmente por um revestimento polar como, por exemplo, poliacrilato (PA)⁸⁶. Em vista disso, escolheu-se a fibra PDMS para realizar a comparação entre uma fibra comercial e o novo recobrimento em análises de HPAs.

Agitação da amostra

De um modo geral, a agitação da amostra aumentará a quantidade de analito extraída e reduzirá o tempo de extração, principalmente para analitos com coeficientes de difusão baixos e de maior peso molecular, como é o caso dos HPAs. Contudo, no caso de não se conseguir agitar uniformemente a amostra, é preferível omitir este passo, uma vez que a precisão será consideravelmente menor.

A agitação magnética é a técnica mais utilizada. Entre outras, destacam-se a agitação por ultra-som, vibração e rotação da fibra, agitação sob fluxo e vórtex⁸⁶.

Tempo de extração

Em princípio, o objetivo da SPME é alcançar o equilíbrio de distribuição no sistema. O tempo de equilíbrio é definido como o tempo a partir do qual a quantidade de analito extraída permanece constante e corresponde, dentro do erro experimental, à quantidade extraída num tempo de extração infinito². No entanto, os tempos de equilíbrio, para alguns analitos e matrizes, podem ser muito longos, estando descritos alguns métodos nos quais, por razões práticas, foram escolhidos tempos de extração consideravelmente menores que o tempo de equilíbrio⁸⁷. Isto é possível porque a SPME é um método quantitativo para qualquer tempo de extração, podendo-se, em vários casos, obter-se sensibilidade suficiente antes de atingir o tempo de equilíbrio⁸⁶. Na hipótese de ser

necessário interromper o processo de extração antes que se atinja o equilíbrio, este tempo deverá ser cuidadosamente controlado, já que pequenas alterações poderão conduzir a grandes erros experimentais.

Tempo de dessorção

Como ficou referido anteriormente, a SPME pode ser utilizada em associação com a GC e a HPLC⁸⁸. Quando acoplada à GC, a dessorção térmica dos analitos ocorre no interior do cromatógrafo, mas estes devem possuir estabilidade térmica e volatilidade suficientes para que possam ser dessorvidos termicamente e separados por GC. Se associada à HPLC, a fase estacionária é lavada com um solvente orgânico e os analitos dessorvidos na fase móvel, numa interface para SPME-HPLC⁸⁷. Neste trabalho apenas consideramos a dessorção térmica dos analitos, dado que na literatura, a associação entre a SPME e a GC-MS é a mais usada. O tempo de dessorção deverá ser o mais curto possível para que os eventuais efeitos de memória de uma análise para outra (*carryover*) possam ser eliminados. O tempo ideal de dessorção deve ser obtido experimentalmente, usando-se como temperatura do injetor a maior possível, desde que não ocorra dano para o revestimento da fibra, nem se promova a decomposição térmica dos analitos. Após a introdução da agulha no injetor, a exposição da fibra deverá ser feita rapidamente, para evitar que a dessorção ocorra dentro da agulha, o que pode levar a que os picos cromatográficos saiam desdobrados (*split peaks*)⁸⁶.

Temperatura de extração

Este parâmetro tem um efeito significativo, tanto na seletividade e sensibilidade, como na cinética de extração. Uma temperatura mais elevada provoca um aumento na velocidade de extração devido a um maior coeficiente de difusão, entretanto a constante de distribuição dos analitos no filme polimérico será menor. Assim, os tempos de extração serão mais curtos, mas a sensibilidade será menor⁸⁶.

Em sua tese, Ferreira também pode observar que o aumento da temperatura não produziu aumento significativo na eficiência de extração dos hidrocarbonetos pela fibra CW/TRP, ocorrendo apenas um pequeno decréscimo nas quantidades extraídas⁸⁹. O tempo

de extração de 40 minutos foi o tempo de equilíbrio atingido para a maioria dos analitos na otimização do tempo de extração. Este decréscimo na adsorção com o aumento da temperatura é devido à diminuição no coeficiente de distribuição dos analitos no filme polimérico.

Adição de sais

Este parâmetro pode produzir uma alteração nos coeficientes de partição, levando muitas vezes a um aumento da quantidade de analito extraída. No entanto, a adição de sais conduz, por vezes, a uma diminuição na quantidade extraída quando os analitos se encontram na forma dissociada. Deste modo, é importante que os analitos estejam na sua forma não dissociada antes da extração. No caso de analitos simultaneamente neutros e polares, o aumento da força iônica pode diminuir a sua solubilidade, e, por conseguinte a quantidade de analito extraída aumenta. Por outro lado, os analitos apolares não são afetados. A adição de sais é frequentemente utilizada para aumentar a concentração de compostos polares no *headspace*, melhorando a sua extração².

Lee *et al* também observaram um decréscimo na massa extraída na análise de HPAs por SPME/GC utilizando fibras com revestimento octadecilsilano, quando 5% de cloreto de sódio foi adicionado a amostra⁹⁰. Eles observaram que o efeito foi mais significativo para hidrocarbonetos com maior número de anéis. Segundo os autores, somente 20% dos hidrocarbonetos foram extraídos da solução saturada de cloreto de sódio quando comparado com uma solução sem sal adicionado. Eles atribuíram o fato a deposição do sal na superfície da fibra, o que teria diminuído o número de sítios ativos disponíveis para a adsorção.

pH

O pH da amostra afeta o equilíbrio de dissociação em meio aquoso e a extração pode tornar-se mais eficaz quando os analitos estão na forma não dissociada. Por exemplo, uma diminuição de pH pode resultar em um aumento da concentração da espécie não dissociada dos compostos ácidos presentes na amostra, aumentando deste modo a quantidade extraída pela fibra. A mesma situação ocorre para os compostos básicos, quando

se aumenta o pH. Na prática é muito difícil levar a cabo alterações no pH quando se usa o modo de imersão direta, uma vez que o revestimento da fibra é danificado a valores de pH muito baixos ou muito altos. No entanto, na extração por *headspace* não há qualquer inconveniente em recorrer à modificação deste parâmetro para conseguir um aumento da sensibilidade da técnica².

Segundo Ferreira, a microextração em fase sólida demonstrou ser uma técnica simples e precisa na análise de HPAs em água. Foi possível desenvolver um método preciso e linear, mas não exato e sensível, de acordo com normas e guias internacionais, que estabelecem uma faixa de recuperação de 70 a 120% para a análise de resíduos e uma concentração máxima de 100 ng/L para os HPAs. A extração dos HPAs em amostras de água foi influenciada pelo tempo de extração, tipo de fibra, temperatura de extração e força iônica do meio. De modo geral, um maior tempo de extração favoreceu a sorção dos HPAs, enquanto que um aumento na temperatura e na força iônica do meio dificultaram a extração destes compostos. As condições otimizadas para a extração dos HPAs foram: fibra Carbowax/templated resin de 50 µm, 40 minutos, 25° C, sem adição de sal⁸⁹.

Validação do método analítico

A validação de um método analítico é um procedimento que avalia se o método é seletivo, linear dentro da faixa de trabalho, exato, preciso e robusto. Os estudos de validação precisam ser representativos e conduzidos de modo que a variação da faixa de concentração e os tipos de amostra sejam adequados. Um método para um composto majoritário requer um critério de aceitação e uma abordagem diferente de um método desenvolvido para análise de resíduos. De um modo geral, os parâmetros analíticos avaliados são: seletividade, linearidade de resposta do padrão e amostra na faixa de concentração escolhida, exatidão, precisão (repetibilidade e intermediária) e robustez. A robustez geralmente envolve estabilidade do padrão e amostra, e análise das variações das condições estabelecidas no método (composição da fase móvel, temperatura, ...) ⁹⁰⁻⁹².

Seletividade

A seletividade de um método avalia se o analito de interesse é identificado de forma inequívoca, na presença ou não de interferentes presentes na amostra. A seletividade garante que o pico cromatográfico seja exclusivamente do composto de interesse. A seletividade pode ser avaliada de várias maneiras:

- Comparação da matriz isenta do analito de interesse com a amostra (fortificada ou não) e com o padrão do analito; a ausência de interferentes no mesmo tempo de retenção que o analito deve ser garantida;
- Pureza do pico, avaliada através de um detector de arranjo de diodos ou por espectrometria de massas acoplada a uma técnica cromatográfica.

Linearidade e faixa de aplicação

A linearidade é a capacidade de um método analítico em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de uma faixa de aplicação.

Uma relação matemática entre o sinal e a concentração, ou massa do analito deve ser determinada experimentalmente e pode ser representada por uma equação linear, chamada de curva analítica ou de calibração. A estimativa dos coeficientes angular e linear da equação linear (a e b) e o coeficiente de correlação (r) pode ser feita a partir dos pontos experimentais, através do método de regressão linear.

A faixa de linearidade deve abranger um mínimo de cinco pontos, sendo que o número de injeções para cada ponto varia de três a seis vezes. A curva pode ser construída pelo método do padrão externo, padrão interno ou adição de padrão. No método do padrão externo, gera-se uma curva analítica que relaciona a concentração de um padrão ao sinal analítico obtido na medida do padrão.

No método do padrão interno, adiciona-se na amostra e na solução padrão, um composto (padrão interno) de concentração fixa e conhecida, mas que não interfira na análise. A curva analítica relaciona o sinal analítico obtido pelo padrão interno versus o sinal analítico obtido pelo analito na solução padrão e na amostra, através da razão destes sinais.

No método de adição de padrão, adicionam-se a amostra várias concentrações da solução padrão. Gera-se uma curva analítica que relaciona a massa adicional ao sinal analítico obtido. A massa de analito na amostra é obtida pela extrapolação da curva obtida.

Precisão

A precisão é a avaliação da concordância dos resultados obtidos para ensaios diferentes, para uma mesma amostra. A precisão é avaliada pelo desvio padrão absoluto (s) e pelo desvio padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$RSD (\%) \quad \text{ou} \quad CV (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

onde:

\bar{x} = média aritmética do número de medidas

x_i = valor de cada medida

n = número de medidas

A precisão é considerada em três níveis: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetibilidade é a concordância entre os resultados obtidos em medidas repetidas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições. A intermediária avalia o efeito de variações como dias diferentes (para um mesmo analista). A reprodutibilidade expressa o grau de concordância entre os resultados obtidos no preparo de uma amostra em laboratórios diferentes.

Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor aceito como verdadeiro. Os critérios de aceitação para a exatidão estão associados também à faixa de concentração trabalhada.

Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, mas não quantificada com um valor exato e preciso. O limite de detecção pode ser obtido pelo método visual, método sinal/ruído e método baseado em parâmetros da curva de calibração. No método visual, o LOD é determinado utilizando soluções padrão do analito de interesse até a visualização da menor concentração visível na qual seja possível distinguir entre sinal e ruído. No método sinal/ruído, o sinal das soluções contendo o analito em concentrações muito baixas é comparado com o sinal de um branco; a relação sinal/ruído normalmente aceita é de 3:1.

O limite de quantificação LOQ representa a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, sendo que os critérios de aceitação podem variar de acordo com o nível de concentração do limite de quantificação e com as necessidades do método. O limite de quantificação também pode ser estabelecido pelos mesmos métodos utilizados para o LOD.

Considerações finais

A técnica de SPME apresenta inconvenientes e vantagens quando comparada com técnicas mais convencionais utilizadas na rotina laboratorial, tais como a LLE e a SPE. Entre as principais vantagens da SPME pode-se citar o fato de não utilizar solventes orgânicos (se associada à GC), ser simples e rápida. Por outro lado, permite a extração e a concentração dos analitos a partir de matrizes muito diversas como ar, água, solos e ainda matrizes biológicas. Trata-se de uma técnica com sensibilidade e seletividade elevadas, podendo apresentar limites de detecção muito baixos (na ordem dos ng/L, conforme o composto e o método de detecção). Quanto ao dispositivo de extração, é simples e pode ser transportado, deste modo a SPME pode ser aplicada a análises de campo. As fibras são reutilizadas, o que é uma vantagem quando comparada à SPE, onde as colunas de extração são de uso único. O manuseio é simples e a preparação da amostra por parte do operador é reduzida, diminuindo, deste modo, os erros de manipulação e a perda de analitos durante a extração. O fato do consumo de solventes orgânicos ser reduzido ou mesmo nulo tem

contribuído para a implementação da SPME em um número cada vez maior de laboratórios, dado que representa um ganho para o ambiente e para a saúde pública.

Por outro lado, a técnica de SPME possui algumas limitações. Uma delas é a faixa limitada de temperatura, na qual as fibras comerciais de SPME podem ser utilizadas na dessorção dos analitos. Outra limitação é a restrição das fibras a solventes orgânicos, o que é especialmente sério quando esta é aplicada em cromatografia líquida (HPLC). Estas restrições são comuns em muitas fibras comerciais de SPME, pois elas são preparadas apenas pela deposição física ou reticulação parcial dos recobrimentos na superfície de sílica fundida. Porém, essas limitações podem ser resolvidas com o desenvolvimento de novos revestimentos, principalmente quando se aplica o método sol-gel de síntese. Esse método permite uma ligação química entre o recobrimento e a fibra, dando maior estabilidade a fibra.

Em SPME, a espessura do recobrimento é um fator importante, já que ela determina o volume do recobrimento, e conseqüentemente, a quantidade de analito que é extraída. A sensibilidade aumenta com essa espessura, porém o tempo de equilíbrio também aumenta. Em conseqüência, o processo de extração e dessorção pode tornar-se mais lento, resultando processos mais demorados. Sendo assim, busca-se uma espessura que resulte em um tempo de análise viável e uma boa sensibilidade.

Com relação ao método sol-gel, embora o custo de alguns precursores ainda seja alto, exista um número limitado deles disponíveis comercialmente e a reprodutibilidade nas propriedades finais dos materiais seja alcançada com um controle minucioso das condições experimentais de síntese, este trabalho propõe o desenvolvimento de novos materiais com propriedades otimizadas e aperfeiçoadas.

Como perspectivas de trabalho, sugere-se a continuidade do desenvolvimento de novos recobrimentos, uma vez que os resultados obtidos com as novas fibras em outros trabalhos mostram-se promissores para a extração de diversos analitos. Além disso, espera-se que esse novo recobrimento possa ser aproveitado para a aplicação na extração de outros compostos apolares como, por exemplo, COV, BTEX, etc.

Bibliografia

1. Zini, C. A. Estudos dos compostos voláteis de algumas espécies de Eucalipto através do uso de microextração em fase sólida no modo headspace (HS-SPME). Tese - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2002**.
2. Pawliszyn, J. Solid Phase Microextraction – Theory and Practice, Wiley-VCH: New York, 1-127, **1997**.
3. Belardi, R. G.; Pawliszyn, J.; The Application of Chemically Modified Fused Silica Fibres in Extraction of Organics from Water Matrix Samples, and their Rapid Transfer to Capillary Column, *Water Pollution Research Journal of Canada*, 24,179, **1989**.
4. Benvenuti, E. V.; Moro, C. C.; Costa, T. M. H.; Gallasmateriais, M. R. Híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel, *Química Nova*, 32, 7, 1926-1933, **2009**.
5. IARC; *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Polynuclear Aromatic Compounds*, Lyon, 32 – 35, 1 – 4, **1983 - 1995**.
6. Selkirk, J. K.; In *Carcinogenesis: A Comprehensive Survey: Modifiers of Chemical Carcinogenesis*; Slaga, T. J.; Ed.; Raven Press, N.Y., 5, **1980**.
7. Lopes, W. A.; de Andrade, J. B.; Fonte, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. *Química Nova*, 19, 497, **1996**.
8. Hatch, A. C.; Burton Jr, G. A. Photo-induced toxicity of HPAs to *Hyalella Azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixtures and behavior, *Environmental Pollution*, 106, 157-167, **1999**.
9. US EPA, Agência de Proteção do Meio Ambiente dos Estados Unidos. Disponível em: <http://www.epa.gov/> . Acesso em: 15 out. de 2009.
10. Sargenti, S.R.; McNair, H. M. Comparison of solid phase extraction and supercritical fluid extraction for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking water, *Journal of Microcolumn Separations*, 10, 125-131, **1998**.
11. Arthur C. L.; Pawliszyn J.; Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers, *Analytical Chemistry*, 62, 2145-2148, **1990**.
12. Arthur, C. L.; Pawliszyn, J., Solid phase Microextraction with the desorption using fused silica optical fibers, *Analytical Chemistry*, 62, 2145, **1990**.

13. Zhang, Z.; Pawliszyn, J. Headspace Solid- Phase Microextraction, *Analytical Chemistry*, **1993**.
14. Lord, H., Pawliszyn, J., Evolution of solid-phase microextraction technology – A review, *Journal of Chromatography A*, 885, 153, **2000**.
15. Smith, M. R.; Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques *Journal of Chromatography A*, 1000, 3, **2003**.
16. Saito, Y.; Jinno, K.; Miniaturized Sample Preparation Combined with Liquid Phase Separations. *Journal of Chromatography A*, 1000, 53, **2003**.
17. Pedersen-Bjergaard, S.; Rasmussen, K. E.; Bioanalysis of drugs by liquid-phase microextraction coupled to separation techniques, *Journal of Chromatography B*, 817, 3, **2005**.
18. E. Zhao, L. Han, S. Jiang, Q. Wang, Z. Zhou. Application of a single-drop microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in juice, *Journal of Chromatography A*, 1114, 269–273, **2006**.
19. Bortoluzzi, J. H. Confecção de fibras de microextração em fase sólida (SPME) e aplicação na determinação de produtos da degradação térmica do poli(propileno). Florianópolis, Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Catarina, **2003**.
20. Eisert, R.; Levsen, K. Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: a new method for the analysis of organics in water, *Journal of Chromatography A*, 733, 143, **1996**.
21. Motlagh, S., Pawliszyn, J., On-line monitoring of flowing samples using solid phase microextraction-gas chromatography, *Analytical Chimica Acta*, 284, 265, **1993**.
22. Supelco Inc. Solid Phase Microextraction. Theory and Optimization of Conditions, Bulletin 923 A, **1999**.
23. J. Pawliszyn, Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory, Elsevier, Amsterdam, **2002**.
24. Chen, H. W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid phase microextraction and liquid chromatography. *Analytical Sciences*, 20, 1383-1388, **2004**.
25. King, A. J. Readman J. W.; Zhou, J. L. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 523, 259-267, **2004**.

26. Brinker, C. J.; Scherer, G. W. *The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Sol-gel Science, Academic Press, Boston, MA, **1990**.
27. Chong, S. L.; Wang, D.; Hayes, J. D.; Wilhite, B. W.; Malik, A. *Analytical Chemistry*, **69**, **1997**.
28. Gbatu, T.P.; Sutton, K. L.; Caruso, Development of new SPME fibers by sol-gel technology for SPME-HPLC determination of organometals, *Analytica Chimica Acta*, **402**, 67-79, **1999**.
29. Yu, J.; Dong, L.; Wu, C.; Wu, L.; Xing, J.; *Journal of Chromatography A*, **978**, 37-48, **2002**.
30. Li, X.; Zeng, Z.; Gao, S.; Li, H. *Journal of Chromatography A*, **1023**, 15-25, **2004**.
31. Livage, J. M.; Sanches, H. J. *Solid State Chemistry*, **19**, 259, **1988**.
32. Nassar, E. J.; Messaddeq, Y.; Ribeiro, S. J. L.; *Química. Nova*, **25**, 27, **2002**.
33. Tilgner, I. C.; Fischer, P.; Bohnen, F. M.; Rehage, H.; Maier, W. F. Effect of acidic, basic and fluoride catalyzed sol-gel transitions on the preparation of sub-nanostructured silica, *Microporous Mater*, **5**, 77, **1995**.
34. Gregg, S. J.; Sing, K. S. W.; *Adsorption, Surface Area and Porosity*, 2nd ed., Academic Press: London, **1982**.
35. Brinker, C. J.; Scherer, G. W.; *Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing*, Academic Press: San Diego, **1990**.
36. Collinson, M. M.; *Analytical Chemistry*, **29**, 289, **1999**.
37. Im, H. J.; Yang, Y.; Allain, L. R.; Barnes, C. E.; Dai, S.; Xue, Z.; *Environmental Science Technology*, **34**, 2209, **2000**.
38. de Moraes, S. V. M.; Passos, J. B.; Schossler, P.; Caramão, E. B.; Moro, C. C.; Costa, T. M. H.; Benvenuti, E. V.; *Talanta*, **59**, 1039, **2003**.
39. Bianchi, F.; Bisceglie, F.; Careri, M.; Di Bernardino, S.; Mangia, A.; Musci, M.; *Journal Chromatography A*, **1196–1197**, 15, **2008**.
40. Sánchez, R. F.; Bosch, O. C.; Cano, P. J. M. A review of stir bar sorptive extraction. *Chromatographia*, **2008**.
41. Baltussen, E.; Cramers, C. A.; Sandra, P. J. F.; Sorptive sample preparation - a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **373**, 3-22, **2002**.

42. Tienpont, B.; David, F.; Desmet, K.; Sandra, P. J. F. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary GC-MS applied to biological fluids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373, 46-55, **2002**.
43. Santos, F. J.; Sarrion, M. N.; Galceran, M. T. Analysis of chlorobenzenes in soils by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal Chromatography A*, 77, 1-2, 181-189, **1997**.
44. Kuran, P.; Sojak, L. Environmental analysis of volatile organic compounds in water and sediment by GC. *Journal Chromatography A*, 733, 119-141, **1996**.
45. Bartelt, R.; Zilkowski, B. Nonequilibrium quantitation of volatiles in air streams by SPME. *Analytical Chemistry*, 71, 92-101, **1999**.
46. Page, B.; Lacroix, G.; Analysis of volatile contaminants in vegetable oils by headspace SPME with carboxen-based fibers. *Journal Chromatography A*, 873, 79-94, **2000**.
47. Grimm, C. C.; Bergman, C.; Delgado, J.T.; Bryant, R. Screening for 2-acetyl-1-pyrroline in the headspace of rice using SPME/GCMS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49,1, 245-249, **2001**.
48. Marsili, R.; Miller, N. Determination of major aroma impact compounds in fermented cucumbers by SPME-GC-MS olfactometry detection. *Journal Chromatography Science*, 38, 307- 314, **2000**.
49. Rivero, R.T.; Topiwala, V. Quantitative determination of formaldehyde in cosmetics using a combined solid-phase microextraction–isotope dilution mass spectrometry method. *Journal Chromatography A*, 1029, 217-22, **2004**.
50. Pragst, F.; Auwarter, V.; Kiessling, B.; Dyes, C. Wipe-test and patch-test for alcohol misuse based on the concentration ratio of fatty acid ethyl esters and squaleneCFAEE/CSQ in skin surface lipids. *Forensic Science International*, 143, 77–86, **2004**.
51. Alvarez, I.; Bermejo, A. M.; Tabernero, M. J.; Fernández, P.; López, P. Determination of cocaine and cocaethylene in plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Chromatography B*, 798, 361-365, **2007**.

52. Cánovas, M. L.; Barros, N. C.; Gallardo, E.; González, D.; López, P. S.; Castro, M. A. Clinical effects and pharmacokinetics of ropivacaine and bupivacaine for epidural analgesia during labor. *Esp Anesthesiol Reanim*, 51, 128-32, **2004**.
53. D'Agostino, P. A.; Chenier, C. L.; Hancock, J. R.; Lepage, C. R. Liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometric and desorption electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of chemical warfare agents in office media typically collected during a forensic investigation. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 21, 543–549, **2007**.
54. Watson, C.; Ashley, D. Quantitative analysis of acetates in cigarette tobacco using SPME-GC-MS. *Journal of Chromatography Science*, 38, 137-144, **2000**.
55. Sigma-Aldrich. T499102 - Sample Prep Made Easy, **1999**.
56. Sigma-Aldrich. T705002A - Solid Phase Microextraction (SPME) Metal Fiber Assemblies, **2005**.
57. Djozan, D., Assadi, Y., Hosseinzadeh, S.; Anodized aluminum wire as a solid-phase microextraction fiber, *Analytical Chemistry*, 73, 4054-4058, **2001**.
58. Oliveira, A. F.; Silveira, C. B.; Carasek, E.; Campos, S. D.; Campos, E. A. Niobium (V) Oxide Coated on Thin Glass-Ceramic Rod as a Solid Phase. *Talanta*, **2005**.
59. Giardina, M.; Olesik, S. V.; Application of low-temperature glassy carbon films in solid-phase microextraction; *Analytical Chemistry*; 73, 5841-5851, **2001**.
60. Giardina, M.; Olesik, S. V.; Application of low-temperature glassy carbon-coated macrofibers for solid-phase microextraction analysis of simulated breath volatiles; *Analytical Chemistry*; 75, 1604-1614, **2003**.
61. Xia, X., Leidy, R. B.; Preparation and characterization of porous silica-coated multifibers for solid-phase microextraction; *Analytical Chemistry*; 73, 2041-2047, **2001**.
62. Wu, J., Mullet, W. M., Pawliszyn, J.; Electrochemically controlled solid-phase microextraction based on conductive polypyrrole films; *Analytical Chemistry*; 74, 4855-4859, **2002**.
63. Xiao, C., Han, S., Wang, Z., Xing, J., Wu, C.; Application Of The Polysilicone fullerene coating for solid-phase microextraction in the determination of semi-volatile compounds, *Journal of Chromatography A*, 927, 121-130, **2001**.

64. Zeng, Z., Qiu, W., Huang, Z.; Solid-Phase Microextraction Using Fused-Silica fibers coated with sol-gel-derived hydroxy-crown ether, *Analytical Chemistry*, 73, 2429-2436, **2001**.
65. Zeng, Z., Qiu, W., Yang, M., Wei, X., Huang, Z., Li, F.; Solid-Phase microextraction of monocyclic aromatic amines using novel fibers coated with crown ether, *Journal of Chromatography A*, 934, 51-57, **2001**.
66. Yu, J., Dong, L., Wu, C., Wu, L., Xing, J.; Hydroxyfullerene As A Novel Coating For solid-phase microextraction fiber with sol-gel technology, *Journal of Chromatography A*, 978, 37-48, **2002**.
67. Wang, D., Xing, J., Peng, J., Wu, C.; Novel Benzo-15-Crown-5 Sol-Gel Coating For solid-phase microextraction, *Journal of Chromatography A*, 1005, 1-12, **2003**.
68. Cai, L., Xing, J., Dong, L., Wu, C.; Application of polyphenylmethylsiloxane coated fiber for solid-phase microextraction combined with microwave- assisted extraction for the determination of organochlorine pesticides in Chinese teas, *Journal of Chromatography A*, 1015, 11-21, **2003**.
69. Li, X., Zeng, Z., Zhou, J.; High thermal-stable sol-gel-coated calix[4]arene fiber for solid-phase microextraction of chlorophenols, *Analytica Chimica Acta*, 509, 27-37, **2004**.
70. Gupta, M.; Pillai, A. K.; Jain, A.; Verma, K. K. Coupled in-tube and on-fibre solid-phase microextractions for cleanup and preconcentration of organic micropollutants from aqueous samples and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Chimica Acta*, 618, 61-9, **2008**.
71. Dietz, C., Sanz, J., Cámara, C. Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques. *Journal Chromatography A*, 1103, 183-192, **2006**.
72. Kataoka, H. Recent advances in Solid-Phase Microextraction and related techniques for pharmaceutical and biomedical analysis. *Current Pharmaceutical Analysis*, 1, 65-84, **2005**.
73. Abdel-Rehim, M. New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Chromatography B*, 801, 317-321, **2004**.

74. El-Beqqali, A; Abdel-Rehim, M. Quantitative analysis of methadone in human urine samples by microextraction in packed syringe-gas chromatography-mass spectrometry (MEPS-GC-MS). *Journal of Separation Science*, 30, 2501-2505, **2007**.
75. Sánchez, R. F.; Bosch, O. C.; Cano, P. J. M. A review of stir bar sorptive extraction. *Chromatographia*, **2008**.
76. Nakamoto, K. Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds, John Wiley, New York, **1997**.
77. Joy, D.C., Roming, A. D., Goldstein Jr, J.I. Principles of analytical Electron Microscopy, Plenum Press, New York, **1989**.
78. Thermal Characterization of Polymeric Materials - Editado por Edith A. Turi, Academic Press, 2ª edição, 1, Califórnia USA, **1997**.
79. Santos, F. J.; Galceran, M T. The application of gás chromatography to environmental analisys. *Trend in analytical chemistry*, 21, 672-685, **2002**.
80. Mao, C.; Tucker, A. A. High performance liquid chromatography separation of polycyclic aromatic hydrocarbons using pyridinium chloride as a selective fluorescence quencher to aid detection. *Journal of Chromatography A*, 966, 53-61, **2002**.
81. Nguyen, a.l luong, Jht Separation and Determination of polyciclic aromatic hydrocarbons by solid phase microextraction/cyclodextrin-modified capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, 69, 1726-1731, **1997**.
82. Bonato, P. S. - Cromatografia gasosa. In: C.H. Collins, G.L. Braga, P.S. Bonato (coords.) Introdução a métodos cromatográficos. 6ª ed. Campinas Unicamp – **1995**.
83. Bisinoti, M.C.; Jardim, W.F. O emprego de Técnicas Analíticas na especiação de metais pesados e a sua importância para o estudo do Ambiente. Caderno Temático Vol. 02 Unicamp, SP, **2004**.
84. Valente, A.L.P; Augusto, F.; Micro Extração em Fase Sólida – *Química Nova*, 23, 4, **2000**.
85. Chen, F. J.; Galceran, M.T. The application of gas chromatography to environmental analysis. *Trends in analytical chemistry*, 21, 672-685, **2002**.
86. Ulrich, S. Solid phase microextraction in biomedical analysis, review. *Journal Chromatography A*, 902,1, 167-194, **2000**.

87. Gallardo, E.; Barroso, M.; Margalho, C.; Cruz, A.; Vieira, D. N.; López, R. M. Determination of parathion in biological fluids by means of direct solid-phase microextraction, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386, 1717-26, **2006**.
88. Irich, S. Solid phase microextraction in biomedical analysis, review, *Journal Chromatography A*, 902, 1, 167-194, **2000**.
89. Ferreira, F. C. S.; Desenvolvimento de metodologia analítica para análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água utilizando uma interface SPME/LC/DAD, Tese - Universidade de São Paulo, **2006**.
90. Liu, Y; Lee, M.L.; Hageman, K.J.; Yang, Y.; Haethorne, S. B.; Solid phase microextraction of PAHs from aqueous samples using fibres coated with hplc chemically bonded silica stationary phases. *Analytical Chemistry*, 69, 5001-5005, **1997**.
91. Brasil. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução Número 899 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Brasília: ANVISA, **2003**.
92. Lanças, F. M. Validação de métodos cromatográficos. São Carlos: IQSC, 76, **2000**.