

Josias de Oliveira Merib

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE ESTRATÉGIAS  
ALTERNATIVAS PARA A MICROEXTRAÇÃO EM GOTA  
ÚNICA E MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA  
UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS POLIMÉRICOS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Florianópolis  
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Merib, Josias de Oliveira

Desenvolvimento e aplicação de estratégias alternativas para a microextração em gota única e microextração em fase sólida utilizando líquidos iônicos poliméricos / Josias de Oliveira Merib ; orientador, Eduardo Carasek da Rocha - Florianópolis, SC, 2016.

196 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação Multidisciplinar em Saúde.

Inclui referências

1. Saúde. 2. Preparo de Amostras. 3. Microextração em Fase Sólida. 4. Microextração em Gota Única. I. Carasek da Rocha, Eduardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação Multidisciplinar em Saúde. III. Título.

*Este trabalho é dedicado aos meus pais, José e Izaldi  
ao meu irmão, Jonivan e  
à minha namorada, Giuliana*



## AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Eduardo Carasek da Rocha, pela oportunidade de trabalho e valiosa orientação, pelas excelentes conversas e ensinamentos que levarei para toda a vida.

Ao professor Dr. Jared Lee Anderson, pela incrível oportunidade de trabalho nos Estados Unidos e pelos ensinamentos durante os 12 meses de convivência.

Ao Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo, Prof. Dr<sup>a</sup> Cláudia Alcaraz Zini, Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira, Prof. Dr. Luciano Vitali e Prof. Dr. Gustavo Amadeu Micke deixo meu enorme agradecimento por terem feito parte da banca de avaliação. Obrigado pelas valiosas sugestões e pela agradável discussão que enriqueceram muito esse trabalho.

Aos meus pais José e Izaldi, e ao meu irmão Jonivan pelo amor, carinho, incentivo e apoio de sempre. Pai e mãe, me faltam palavras para definir pessoas tão especiais como vocês, exemplos de pessoas simples, batalhadoras e honestas em que me espelho muito.

À minha namorada Giuliana, pelos incríveis anos ao seu lado, por todo carinho, amor e compreensão que tem comigo, pela enorme aprendizagem e por ser essa excelente pessoa pela qual tenho grande admiração.

Aos colegas do Laboratório de Cromatografia de Absorção Atômica da UFSC, pelo excelente ambiente de trabalho e por toda a amizade durante esses anos.

Às minhas colegas e amigas Adriana e Vanessa, pela parceria durante praticamente todo o período da pós-graduação, pela oportunidade de aprendizado na realização de diversos trabalhos, pelas conversas divertidas, e pela força que sempre me deram mesmo em momentos complicados.

Aos amigos, Edinho, Alfredo e Mauana pela amizade que fizemos durante esses anos de pós-graduação, pelas conversas sérias e também descontraídas de sempre.

Aos ex-alunos de Iniciação Científica, Lucas Morés, Francielle, Naysla e Ana Cristine, pela oportunidade de auxiliá-los durante uma importante etapa da trajetória acadêmica de vocês. Sou muito grato pelas conversas e pela aprendizagem que vocês me permitiram.

Aos colegas de laboratório da *Iowa State University*, principalmente Honglian e Omprakash pela parceria nos trabalhos e pelo auxílio em diversos momentos.

Aos meus grandes amigos Anderson e Claudinei.

Aos professores e servidores do Departamento de Química da UFSC, em especial ao Jadir e a Grace que muito auxiliaram em diversas etapas durante minha pós-graduação.

À Universidade Federal de Santa Catarina, pelo ensino gratuito e de qualidade.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido.

## RESUMO

Neste trabalho são abordados novos métodos de extração para duas técnicas de preparo de amostras distintas, a microextração em gota única (SDME) e a microextração em fase sólida (SPME). Essa abordagem consistiu na utilização, sequencialmente, dos modos de imersão direta (DI) e *headspace* (HS) em um mesmo procedimento de microextração com a finalidade de permitir extrações eficientes de compostos com comportamentos físico-químicos bastante distintos. Primeiramente, com a utilização da SDME, foram realizadas extrações/determinações de hidrocarbonetos voláteis incluindo benzeno, etil benzeno, xilenos e também trihalometanos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água de torneira por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS). As condições de extração para o novo método foram otimizadas, bem como os resultados obtidos foram comparados ao procedimento convencional. A nova abordagem chamada DI-HS-SDME proporcionou extrações eficientes dos analitos pertencentes a diferentes classes tendo e propriedades físico-químicas distintas. Em um segundo estudo, desta vez com a utilização da SPME e fases extratoras compostas de líquidos iônicos poliméricos e também com a aplicação do modo DI-HS, foram determinados 21 compostos de diferentes classes em água de torneira e de lago por GC-MS. Da mesma forma, as condições de extração foram otimizadas e as eficiências foram comparadas. Neste caso, a sensibilidade principalmente para hidrocarbonetos policíclicos aromáticos foi aumentada em virtude da utilização de líquidos iônicos poliméricos que possuíam em sua estrutura grupos aromáticos. Num terceiro estudo, pela primeira vez foram sintetizadas e aplicadas fases extratoras compostas por líquidos iônicos poliméricos compatíveis com cromatografia líquida (LC). Essas fases mostraram-se extremamente resistentes mesmo com a utilização de dessorção líquida nos solventes tipicamente utilizados. Os recobrimentos poliméricos foram caracterizados, as condições de extração foram otimizadas e a seletividade de cada recobrimento foi avaliada frente à extração de fenóis, inseticidas e fármacos em amostras de água de lago e de torneira.

**Palavras-chave:** SDME. SPME. Contaminantes ambientais. Líquidos iônicos poliméricos.



## ABSTRACT

In this work, new extraction methodologies for two different sample preparation techniques, single drop microextraction (SDME) and solid-phase microextraction (SPME) are presented. These approaches consisted of using direct immersion (DI) and headspace (HS) modes, sequentially, in the same microextraction procedure to allow efficient extractions of compounds with huge difference in their physico-chemical behaviors. First, using SDME, the extraction/determination of volatile hydrocarbons including benzene, ethylbenzene, xylenes and also trihalomethanes and polycyclic aromatic hydrocarbons from tap water samples were performed using gas chromatography – mass spectrometer (GC-MS). The extraction conditions were optimized and results were compared to a conventional procedure. The new approach called DI-HS-SDME provided efficient extractions for the analytes of different classes and exhibiting varied physico-chemical properties. In a second study, using SPME and extraction phases comprised of polymeric ionic liquids, and also applying the DI-HS sampling mode, 21 analytes of different chemical classes were determined from tap and lake water samples using GC-MS. Likewise, the extraction conditions were optimized and the extraction efficiencies were compared. In this case, the selectivity for polycyclic aromatic hydrocarbons was increased due to the use of polymeric ionic liquids with aromatic groups in their structure. In a third study, extraction phases comprised of polymeric ionic liquids compatible with liquid chromatography (LC) were synthesized and applied for the first time. These phases exhibited extremely robust behavior even using the typical solvents for liquid chromatography. The sorbent coatings were characterized, the extraction conditions were optimized and the selectivity of each coating was evaluated for the extraction of phenols, pesticides and pharmaceuticals from lake and tap water samples.

**Keywords:** SDME. SPME. Environmental contaminants. Polymeric ionic liquids.



**LISTA FIGURAS**

Figura 1. Estrutura química correspondente a alguns HPA.....	23
Figura 2. Estrutura química correspondente a alguns agrotóxicos organolclorados. ....	24
Figura 3. Estrutura química correspondente a alguns ésteres de ftalato.	25
Figura 4. Esquema representando a microextração em gota única no modo de imersão direta (A) e no modo <i>headspace</i> (B).....	29
Figura 5. Dispositivo de SPME: (a) fibra revestida fixada na ponta de um tubo capilar de aço inoxidável, (b) haste de suporte, (c) fase extratora e (d) suporte para injeção manual ( <i>holder</i> ). ....	43
Figura 6. Etapas envolvidas em um procedimento de SPME, incluindo a perfuração do septo do frasco (A); exposição da fibra na amostra (B); extração dos analitos (C); retração da fibra e retirada do frasco (D); perfuração do septo do injetor do cromatógrafo a gás (E).....	43
Figura 7. Representação da camada-limite em uma amostra. ....	48
Figura 8. Perfis de extração de benzeno a uma concentração de 1 mg L <sup>-1</sup> em água com diferentes taxas de agitação.....	49
Figura 9. Esquema da DI-SPME (A) e HS-SPME (B).....	51
Figura 10. Quadro para auxílio na seleção de um recobrimento extrator para SPME, dependendo das características de volatilidade e polaridade dos analitos.....	55
Figura 11. Estrutura química dos cátions e ânions mais comuns de líquidos iônicos empregados. ....	57
Figura 12. Micrografia de fibra para SPME depois de 50 ciclos de extração, produzida em suporte de sílica fundida através do processo de polimerização mediante luz ultravioleta.....	59
Figura 13. Esquema do procedimento de DI-HS-SDME proposto nesse estudo. ....	69

Figura 14. Superfícies de resposta obtidas para o modo HS-SDME, considerando a área cromatográfica dos compostos mais voláteis (THM, benzeno, etil benzeno e tolueno).....	75
Figura 15. Superfícies de resposta obtidas para o modo DI-SDME, considerando a área cromatográfica dos compostos menos voláteis (HPA).....	76
Figura 16. Superfícies de resposta obtidas para o modo DI-HS-SDME, considerando a área cromatográfica de todos os compostos abordados nesse estudo. ....	78
Figura 17. Gráfico de barras relacionando a área cromatográfica normalizada para cada analito nos modos HS, DI e DI-HS-SDME em condições previamente otimizadas. As análises foram realizadas em triplicata. ....	80
Figura 18. Cromatogramas obtidos através de GC-MS-SIM de uma amostra de água ultrapurificada fortificada com 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THM, 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de benzeno, etil benzeno e xilenos, e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de HPA (A) e de uma amostra real de água de torneira (B) Os compostos presentes nos cromatogramas acima são: 1) clorofórmio; 2) benzeno; 3) bromodiclorometano; 4) dibromoclorometano; 5) etil benzeno; 6) <i>p,m</i> -xileno; 7) <i>o</i> -xileno; 8) bromofórmio; 9) acenaftileno; 10) fluoreno; 11) fenantreno; 12) antraceno; 13) pireno; 14) benzo(a)antraceno; 15) criseno. ....	86
Figura 19. Representação esquemática das etapas envolvidas no processo de produção das fibras de líquidos iônicos poliméricos. ....	94
Figura 20. Reator utilizado para as polimerizações. ....	95
Figura 21. Imagens obtidas a partir de SEM das seções transversais da fibra 1 (A, B e C), fibra 2 (D, E e F) e fibra 3 (G, H e I). ....	100
Figura 22. Eficiências de extração para os analitos que eluíram até 27 min (A) e após 27 min (B). ....	101
Figura 23. Área cromatográfica normalizada obtida para cada analito nas diferentes temperaturas de extração avaliadas no modo HS (Figura 23-A) e no modo DI (Figura 23-B).....	104

- Figura 24. Superfície de resposta obtida para a otimização do modo DI-HS-SPME..... 107
- Figura 25. Gráficos de barras contendo a área normalizada em relação à espessura de cada recobrimento polimérico para etil benzeno (A) e *m*-xileno, HPA (B), agrotóxicos organoclorados (C) e ésteres de ftalato (D)..... 109
- Figura 26. (A) Cromatograma de íons totais utilizando a fibra 1 para a extração em amostra de água fortificada com as seguintes concentrações: compostos orgânicos voláteis (etil benzeno e *m*-xileno):  $7 \mu\text{g L}^{-1}$ ; ésteres de ftalato:  $7 \mu\text{g L}^{-1}$ ; HPA:  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e agrotóxicos organoclorados:  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ . ..... 119
- Figura 27. Micrografia da seção transversal da fibra 3A após 36 ciclos de extração..... 133
- Figura 28. Superfícies triangulares correspondentes à média aritmética de todos os analitos para extrações em amostras de água fortificadas com  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  utilizando a fibra 1 (A) e fibra DVB/PDMS (B). Foram empregados 30 min de extração, 15 min de dessorção e 50  $\mu\text{L}$  de solvente de dessorção. .... 134
- Figura 29. Superfícies triangulares para a otimização do tipo de solvente de dessorção com a fibra 1 para: (A) fármacos, (B) fenóis e (C) inseticidas. .... 136
- Figura 30. Gráfico de Pareto obtido para as variáveis pH da amostra, volume do solvente de dessorção, tempo de extração e tempo de dessorção, bem como para as interações entre as variáveis..... 138
- Figura 31. Otimização do tempo de extração para fibra 1 (A) e fibra comercial de DVB/PDMS (B) para os analitos: (□) fenacetina; (◇) 2,4-dinitrofenol; (Δ) 2-nitrofenol; (×) cetoprofeno; (✕) 17- $\alpha$ -etinilestradiol; (-) fenoprofeno de cálcio; (–) 2,4,6-triclorophenol; (○) diclofenaco de sódio; (+) ibuprofeno; (■) hexaflumurona; (◆) foxima; (▲) clorfenapir; (✱) flufenoxuron; (✳) hexitiazox; (▣) clorfluazuron; (⊙) deltametrina; (●) fenvalerato; (■)  $\tau$ -fluvalinato. Condições de extração para a fibra 1: pH: 1,5; dessorção: 15 min em 30  $\mu\text{L}$  de

metanol; Fibra DVB/PDMS: pH: 2,0; dessorção: 15 min em 30  $\mu$ L de acetoneitrila..... 140

Figura 32. Otimização do pH da amostra para a fibra 1 (A) e fibra comercial de DVB/PDMS (B) para os analitos: (□) fenacetina; (■) 2,4-dinitrofenol; (▣) 2-nitrofenol; (▤) cetoprofeno; (▥) 17- $\alpha$ -etinilestradiol; (▦) fenoprofeno de cálcio; (▧) 2,4,6-triclorofenol; (▨) diclofenaco de sódio; (▩) ibuprofeno; (▪) hexaflumurona; (▫) foxima; (▬) clorfenapir; (▭) flufenoxuron; (▮) hexitiazox; (▯) clorfluazuron; (▰) deltametrina; (▱) fenvalerato; (▲)  $\tau$ -fluvalinato. 142

Figura 33. Cromatograma obtido a partir de uma extração de uma amostra de água fortificada com 200  $\mu$ g L<sup>-1</sup> dos analitos: 1) fenacetina 2) 2,4-dinitrofenol 3) 2-nitrofenol 4) cetoprofeno 5) 17- $\alpha$ -etinilestradiol 6) fenoprofeno de cálcio 7) 2,4,6-triclorofenol 8) diclofenaco de sódio 9) ibuprofeno 10) hexaflumuron 11) foxima 12) clorfenapir 13) flufenoxuron 14) hexitiazox 15) clorfluazuron 16) deltametrina 17) fenvalerato 18)  $\tau$ -fluvalinato. .... 146

Figura 34. Eficiência de extração obtida para os analitos utilizando diferentes fases extratoras (A) (□) fenacetina; (■) 2,4-dinitrofenol; (▣) 2-nitrofenol; (▤) cetoprofeno; (▥) 17- $\alpha$ -etinilestradiol; (▦) fenoprofeno de cálcio; (▧) 2,4,6-triclorofenol; (▨) diclofenaco de sódio; (▩) ibuprofeno. .... 148

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais solventes empregados em SDME. ....	38
Tabela 2. Estudos previamente reportados na literatura envolvendo PIL .....	60
Tabela 3. Relação de $m/z$ selecionadas para análises no espectrômetro de massas, os valores em negrito representam os fragmentos utilizados para a quantificação. ....	66
Tabela 4. Matriz de experimentos para o planejamento composto central utilizando os modos DI-SDME e HS-SDME. ....	70
Tabela 5. Matriz de experimentos para o planejamento composto central utilizando o modo DI-HS-SDME. ....	71
Tabela 6. Parâmetros analíticos de mérito obtidos através de DI-HS- SDME em amostras aquosas .....	83
Tabela 7. Valores de concentração obtidos para amostras reais de água de torneira utilizando DI-HS-SDME e GC-MS-SIM. ....	85
Tabela 8. Relação de $m/z$ selecionados para análises por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas. Os valores em negrito representam os fragmentos utilizados para a quantificação. ....	90
Tabela 9. Estruturas químicas dos monômeros e <i>crosslinkers</i> utilizados neste estudo para a produção dos recobrimentos de líquidos iônicos poliméricos (PIL). ....	96
Tabela 10. Matriz de experimentos utilizada no planejamento composto central. ....	98
Tabela 11. Parâmetros analíticos de mérito obtidos com a fibra 1 e DI- HS-SPME-GC-MS. ....	113
Tabela 12. Recuperação relativa dos analitos nas diferentes amostras avaliadas. ....	116
Tabela 14. Matriz de experimentos utilizada para o planejamento fatorial completo. ....	128
Tabela 14. Estruturas das fibras de PIL empregadas nesse estudo. ....	131
Tabela 15. Parâmetros analíticos de mérito utilizando-se a Fibra 3B. ....	152
Tabela 16. Recuperação relativa dos analitos utilizando-se a fibra 3B. .....	153



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- BTEX - Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos  
Car - Carboxeno  
Car/PDMS - Carboxeno/polidimetilsiloxano  
DI - Imersão direta, do inglês *direct immersion*  
DI-HS - Imersão direta-*headspace*  
DI-SDME - Microextração em gota única em imersão direta, do inglês *direct immersion-single drop microextraction*  
DI-SPME - - Microextração em fase sólida em imersão direta, do inglês *direct immersion-solid phase microextraction*  
DLLME - Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*  
DVB/Car/PDMS - Divinilbenzeno/Carboxeno/polidimetilsiloxano  
DVB/PDMS - Divinilbenzeno/polidimetilsiloxano  
EI - Ionização por impacto de elétrons, do inglês *electron impact ionization*  
FDA - Administração de Alimentos e Remédios, do inglês *Food and Drug Administration*  
GC-MS - Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas, do inglês *gas chromatography - mass spectrometry*  
HF-LPME - Microextração em fase líquida suportada com fibra oca, do inglês *hollow fiber - liquid phase microextraction*  
HPA - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos  
HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *high performance liquid chromatography*  
HPLC-UV - Cromatografia líquida de alta performance acoplada a detector de ultravioleta, do inglês *high performance liquid chromatography-ultaviolet*  
HS - *Headspace*  
HS-SDME - Microextração em gota única em *headspace*, do inglês *headspace-single drop microextraction*  
HS-SPME - Microextração em fase sólida no *headspace*, do inglês *headspace-solid phase microextraction*  
LLE - Extração líquido-líquido, do inglês *liquid-liquid extraction*  
LOD - Limite de detecção, do inglês *limit of detection*  
LOQ - Limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*  
LPME - Microextração em fase líquida, do inglês *liquid-phase microextraction*

NIST - Instituto Nacional de Padrozinação e Tecnologia, do inglês do inglês *National Institute of Standards and Tecnology*

PA - Poliacrilato

PDMS - polidimetilsiloxano

PEG - polietilenoglicol

PIL - Líquido iônico polimérico, do inglês *polymeric ionic liquid*

RSD - Desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*

SDME - Microextração em gota única, do inglês *single drop microextraction*

SEM - Microscopia eletrônica de varredura, do inglês *scanning eletronic microscopy*

SIM - Monitoramento de íons selecionados, do inglês *selected ion monitoring*

SLE - Extração sólido-líquido, do inglês *solid-liquid extraction*

SPME - Microextração em fase sólida, do inglês *solid-phase mciroextraction*

THM - Trihalometanos

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protection Agency*)

VTMS - Viniltrimetoxisilano

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Constante de distribuição octanol/água.....	30
Equação 2. Balanço de massa para um sistema de duas fases.....	30
Equação 3. Rearranjo matemático para um sistema de duas fases.....	31
Equação 4. Concentração extraída na fase orgânica como função da concentração inicial do analito na amostra aquosa.....	31
Equação 5. Coeficientes de partição do analito entre a amostra aquosa e a fase gasosa sobre a amostra.....	32
Equação 6. Coeficientes de partição do analito entre a fase orgânica e a fase gasosa sobre a amostra.....	32
Equação 7. Balanço de massa para o sistema de três fases.....	32
Equação 8. Rearranjo matemático para um sistema de duas fases.....	33
Equação 9. Constante de distribuição global entre a fase orgânica e a fase aquosa.....	33
Equação 10. Quantidade extraída do analito pela fase orgânica.....	33
Equação 11. Fluxo de moléculas (mols, $n$ por área $A$ por tempo) em função da concentração gradiente ( $dC/dx$ ).....	34
Equação 12. Coeficientes de transferência de massa para a fase aquosa.....	35
Equação 13. Coeficientes de transferência de massa para a fase orgânica.....	35
Equação 14. Balanço de massa sistema de três fases em SPME.....	45
Equação 15 Constante de distribuição matriz/headspace.....	45
Equação 16. Constante de distribuição headspace/fibra.....	45
Equação 17. Constante de distribuição fibra/matriz.....	45
Equação 18. Quantidade de analito extraída pela fibra.....	46
Equação 19. Tempo de equilíbrio em SPME.....	47
Equação 20. Tempo de equilíbrio ajustado em SPME.....	49
Equação 21. Constante de distribuição em função do pH.....	53



## SUMÁRIO

Capítulo I. Introdução .....	21
Capítulo II. Revisão de literatura .....	23
2.1 Contaminantes em matrizes aquosas .....	23
2.2 Preparo de amostras em química analítica .....	26
2.3 Técnicas clássicas de preparo de amostra .....	27
2.4 Técnicas miniaturizadas de preparo de amostras .....	28
2.4.1 Microextração em gota única (SDME) .....	28
2.4.1.1 Princípios da técnica .....	28
2.4.1.2 Teoria básica da SDME .....	30
2.4.1.3 Aspectos cinéticos da SDME .....	34
2.4.1.4 Principais fatores a serem otimizados em SDME .....	36
2.4.1.4.1 Modo de extração .....	36
2.4.1.4.2 Escolha do solvente extrator .....	36
2.4.1.4.3 Volume da microgota .....	38
2.4.1.4.4 Tempo de extração .....	39
2.4.1.4.5 Temperatura de extração .....	40
2.4.1.4.6 Ajuste da força iônica .....	40
2.4.1.4.7 Agitação da amostra .....	41
2.4.1.5 Aplicabilidade da microextração em gota única .....	42
2.4.2 Microextração em fase sólida (SPME) .....	42
2.4.2.1 Princípios básicos da SPME .....	42
2.4.2.2 Considerações Teóricas .....	44
2.4.2.3 Aspectos cinéticos em SPME .....	46
2.4.2.4 Principais parâmetros a serem otimizados em SPME .....	50
2.4.2.4.1 Modos de extração em SPME .....	50
2.4.2.4.2 Tempo de extração .....	51
2.4.2.4.3 Temperatura de extração .....	52
2.4.2.4.4 Ajuste da força iônica .....	53
2.4.2.4.5 Ajuste do pH da amostra .....	53
2.4.2.4.6 Escolha da fase extratora em SPME .....	54
2.5 Líquidos iônicos em química analítica .....	56
2.5.1 Líquidos iônicos poliméricos - PIL .....	58
Capítulo III. Objetivos .....	63
3.1 Objetivo Geral .....	63
3.2 Objetivos Específicos .....	63

Capítulo IV - Determinação simultânea de contaminantes ambientais de diferentes volatilidades em água de torneira utilizando uma nova abordagem para o procedimento de microextração em gota única .....	65
4.1 Introdução .....	65
4.2 Materiais e métodos .....	65
4.2.1 Instrumentação.....	65
4.2.2 Materiais em geral.....	67
Para a realização deste estudo foram utilizados os materiais listados abaixo:.....	67
4.2.3 Reagentes e soluções .....	67
Os seguintes reagentes e soluções foram utilizados:.....	67
4.3 Parte Experimental.....	68
4.3.1 Escolha do solvente extrator e otimização do volume da gota .....	68
4.3.2 Procedimento experimental para a SDME.....	68
4.3.3 Otimização das condições de extração .....	69
4.3.4 Comparação da eficiência de extração entre os modos DI, HS e DI-HS-SDME .....	71
4.3.4 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito e análise de amostras reais.....	72
4.5 Resultados e discussão.....	72
4.5.1 Escolha do solvente extrator .....	72
4.5.2 Volume da microgota .....	73
4.5.3 Otimização das condições de extração .....	74
4.5.3.1 Otimização para o modo HS-SDME.....	74
4.5.3.2 Otimização para o modo DI-SDME .....	76
4.5.3.3 Otimização para o modo DI-HS-SDME.....	77
4.5.4 Comparação entre a eficiência de extração para os diferentes modos .....	79
4.5.5 Parâmetros analíticos de mérito utilizando-se o modo DI-HS-SDME .....	82
4.5.6 Análises de amostras reais.....	85
4.6 Conclusão parcial.....	88
Capítulo V. Determinação de compostos com volatilidades distintas em amostras aquosas utilizando líquidos iônicos poliméricos como fases extratoras e amostragem por DI-HS-SPME .....	89
5.1 Introdução .....	89
5.2 Materiais e Métodos.....	89
5.2.1 Instrumentação.....	89
5.2.2 Reagentes e soluções .....	91

5.2.3 Materiais em geral.....	92
Para a realização deste estudo foram utilizados os materiais listados abaixo:.....	92
5.3 Parte experimental.....	93
5.3.1 Síntese dos líquidos iônicos .....	93
5.3.2 Fabricação das fibras de líquidos iônicos poliméricos.....	93
5.3.3 Comparação da eficiência de extração utilizando os modos DI, HS e DI-HS-SPME.....	97
5.3.4 Otimização das condições de extração para o modo DI-HS-SPME utilizando PIL como fases extratoras.....	97
5.3.5 Comparação da eficiência de extração utilizando o modo DI-HS-SPME e determinação das figuras analíticas de mérito.....	98
5.4 Resultados e Discussão .....	99
5.4.1 Fabricação e determinação da espessura do filme polimérico .....	99
5.4.2 Estudo da viabilidade de aplicação do modo DI-HS-SPME utilizando sorvente de líquido iônico polimérico.....	100
5.4.3 Otimização das condições de extração para o modo DI-HS-SPME utilizando sorvente de líquido iônico polimérico .....	102
5.4.4 Otimização do tempo de extração para o modo DI-HS-SPME .....	106
5.4.5 Comparação da eficiência de extração utilizando DI-HS-SPME com difefentes recobrimentos poliméricos .....	107
5.4.6 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito.....	111
5.4.7 Recuperação do analito e análise de amostras reais utilizando PIL e modo de amostragem DI-HS-SPME .....	115
5.5 Conclusões parciais.....	121
Capítulo VI. Líquidos iônicos poliméricos como fases extratoras para cromatografia líquida de alta eficiência .....	123
6.1 Introdução .....	123
6.2 Materiais e métodos .....	123
6.2.1 Instrumentação.....	123
6.2.2 Síntese dos líquidos iônicos e fabricação das fibras para SPME .....	124
6.2.3 Reagentes .....	126
6.2.4 Materiais em geral.....	127
6.3 Parte Experimental.....	127
6.3.1 Otimização do tipo do solvente de dessorção para os recobrimentos de PIL .....	127

6.3.2 Estudo das variáveis de influência: planejamento fatorial completo para recobrimentos de PIL .....	128
6.3.3 Otimização das condições de extração para o recobrimento comercial DVB/PDMS .....	128
6.3.4 Comparação das eficiências de extração e seletividades para os analitos .....	129
6.3.5 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito para o recobrimento PIL de (Fibra 3B).....	129
6.4 Resultados e discussão .....	130
6.4.1 Características estruturais dos recobrimentos de PIL sintetizados e compatíveis com HPLC .....	130
6.4.2 Otimização das condições de extração utilizando fases extratoras de líquidos iônicos (Fibra 1) .....	134
6.4.2.1 Otimização do solvente de dessorção .....	134
6.4.2.2 Planejamento fatorial completo: variáveis de influência na metodologia .....	137
6.4.2.3 Otimização de tempo de extração e pH da amostra .....	139
6.4.3 Comparação da eficiência de extração entre as fases extratoras utilizadas .....	145
6.4.4 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito e análise de amostras reais utilizando-se a Fibra 3B .....	151
6.5 Conclusões parciais.....	154
Capítulo VII. Conclusão Final e Perspectivas.....	155
Referências.....	157

## Capítulo I. Introdução

Mesmo com o crescente desenvolvimento dos equipamentos analíticos utilizados para diversos tipos de determinações na área da química, a etapa de preparo de amostras continua sendo uma parte de fundamental importância para assegurar uma análise com boa confiabilidade de resultados.

Com o objetivo de assegurar metodologias eficientes e exatas, bem como reduzir a utilização de solventes tóxicos, as técnicas de microextração representam um grande avanço no campo de preparo de amostras, proporcionando análises seguras, eficientes, exatas e com reduzidos impactos ambientais se comparadas aos métodos clássicos de preparo de amostras.

Dentre essas técnicas, a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*), a microextração em gota única (SDME, do inglês *single drop microextraction*), a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) e a microextração em fase líquida suportada por membrana oca (HF-LPME, do inglês *hollow fiber – liquid-phase microextraction*) apresentam papel de destaque. Essas técnicas de preparo de amostras são utilizadas em vários laboratórios de pesquisas para determinação de diversos analitos em matrizes com diferentes graus de complexidade.

A SPME, desenvolvida por Pawliszyn e colaboradores em 1990 (Arthur e Pawliszyn, 1990), representou um verdadeiro marco no desenvolvimento de técnicas de preparo de amostras. Características como a não utilização de solventes e simplicidade de aplicação, bem como a possibilidade de pré-concentração de analitos e *cleanup* das amostras, aliadas a altas eficiências de extração fazem com que essa técnica possibilite determinações em nível de traço. Esses fatores tornaram a SPME uma importante ferramenta, com um crescente campo de aplicações incluindo matrizes alimentícias, ambientais, biológicas etc.

A partir da segunda metade da década de 1990 foram desenvolvidos trabalhos envolvendo a utilização de microextração em fase líquida (Jeannot e Cantwell, 1996; Liu e Dasgupta, 1996), incluindo os primeiros trabalhos utilizando a SDME. Na SDME, uma pequena gota de solvente extrator (geralmente de 1 a 3  $\mu\text{L}$ ) é colocada imersa diretamente na amostra aquosa ou exposta ao *headspace* da mesma. Posteriormente, esta gota é conduzida ao equipamento analítico para a realização das separações/determinações. A SDME apresenta

características semelhantes à SPME no que diz respeito à rapidez, sensibilidade e precisão.

Na área de preparo de amostras existe o grande desafio de desenvolver eficientes formas de determinação de diversos compostos de interesse, bem como selecionar ou produzir fases extratoras com alta eficiência e que sejam estáveis. Com isso, tornam-se indispensáveis pesquisas para o desenvolvimento e produção de fases extratoras compatíveis com os sistemas em estudo e que, ao mesmo tempo, possuam boa eficiência e robustez.

Muitos desafios têm sido encontrados quando são empregadas amostras contendo diversos analitos com comportamento físico-químicos muito distintos. Nesse caso, uma metodologia de preparo de amostras que permita a determinação simultânea desses analitos é altamente desejada.

Para contornar essas dificuldades em analisar amostras contendo uma gama de analitos com comportamentos distintos, foi proposta uma forma alternativa de extração empregando SDME. Para isso, dois modos de extração foram aplicados no mesmo procedimento. Esta estratégia foi desenvolvida devido às características físico-químicas dos analitos e da matriz. Essa forma alternativa de microextração também foi aplicada, pela primeira vez, no procedimento de SPME utilizando-se líquidos iônicos poliméricos (PILs, do inglês *polymeric ionic liquids*) como fases extratoras.

Além desses tópicos, também foram desenvolvidas, pela primeira vez, fases extratoras robustas para SPME formadas por líquidos iônicos poliméricos compatíveis com os solventes comumente utilizados em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*). Essas fases foram caracterizadas e aplicadas na determinação de compostos de diferentes classes em amostras de água de lago e de torneira.

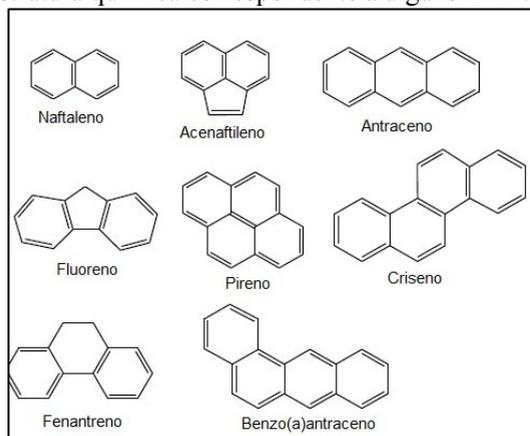
## Capítulo II. Revisão de literatura

### 2.1 Contaminantes em matrizes aquosas

Diversos tipos de compostos que podem causar sérios problemas à saúde humana podem ser encontrados nos diferentes corpos hídricos disponíveis tais como rios, lagos, lagoas e, até mesmo, em águas de torneira. Algumas classes de compostos têm sido intensamente estudadas, incluindo hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), agrotóxicos (pertencentes a diversas classes), ésteres de ftalato, fenóis entre outros.

Os HPA são moléculas constituídas por dois ou mais anéis aromáticos fundidos, sendo produzidas principalmente pela combustão incompleta de matéria orgânica, tanto de fontes naturais (incêndios florestais e erupções vulcânicas) como fontes antropogênicas (por exemplo de veículos a motor, processos industriais, aquecimento doméstico, incineração de resíduos etc). Esses compostos apresentam alta carcinogenicidade e mutagenicidade (Coelho *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2010). Devido a essa alta toxicidade, apresentam legislação específica de acordo com normas internacionais, sendo estabelecidos pela União Europeia limites para o antraceno ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), benzo(a)pireno ( $0,27 \mu\text{g L}^{-1}$ ), benzo(b)fluoranteno ( $0,017 \mu\text{g L}^{-1}$ ), benzo(k)fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno ( $0,0082 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em água. Estruturas químicas correspondentes a alguns HPAs estão representadas na Figura 1.

**Figura 1.** Estrutura química correspondente a alguns HPA.



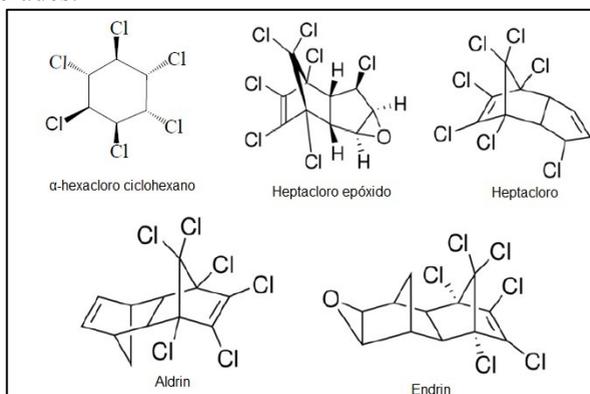
Fonte: Autoria própria (2016).

Outra classe de compostos que pode ser encontrada em matrizes aquosas são os agrotóxicos organoclorados. Esses compostos foram

largamente utilizados na agricultura para o controle de pragas e vetores de doenças em plantas até por volta da década de 1970.

Os seres humanos e outros animais expostos a esses compostos podem desenvolver vários problemas de saúde, incluindo câncer, variação genética e doenças do sistema imunológico. Agrotóxicos organoclorados são caracterizados pela sua baixa solubilidade em água e uma elevada solubilidade em lipídios e, portanto, facilmente podem se acumular no ambiente e nos organismos vivos (Dias *et al.*, 2015). Na Figura 2 estão representadas algumas estruturas de agrotóxicos organoclorados que podem ser encontrados em corpos hídricos.

**Figura 2.** Estrutura química correspondente a alguns agrotóxicos organoclorados.



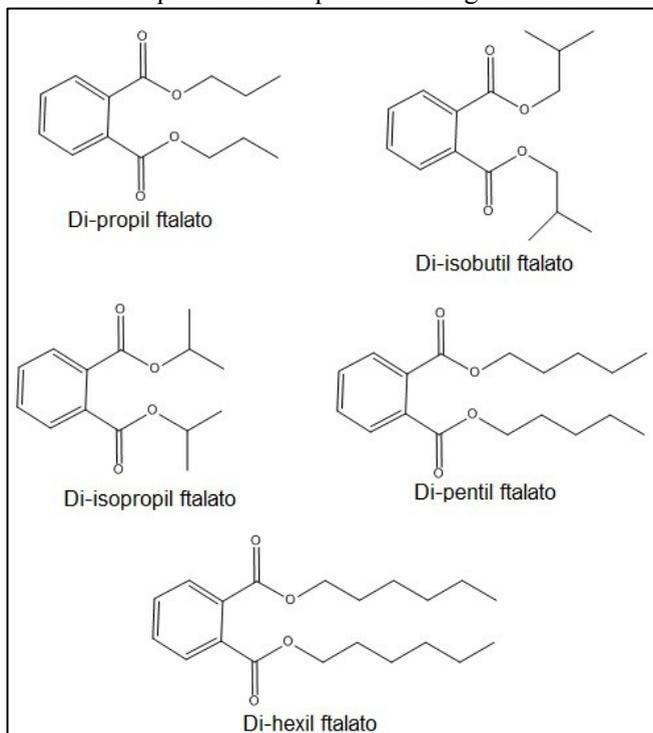
Fonte: Autoria própria (2016).

Algumas outras classes de compostos também podem ser encontradas em diversas fontes naturais de águas, dentre essas classes podem ser citados os ésteres de ftalato. Esses compostos são amplamente utilizados como aditivos para polímeros na fabricação de plásticos, borracha, materiais de construção, equipamentos médicos, brinquedos para crianças, bem como cosméticos. Estima-se que o consumo mundial de ésteres de ftalato na indústria de plásticos esteja ao redor de 8 bilhões de quilogramas por ano. Esses compostos podem ser liberados dos materiais acima mencionados e atingir várias matrizes ambientais, as quais podem ser rios, lagos, mananciais etc (Liu *et al.*, 2015).

Vários estudos têm mostrado que ésteres de ftalato podem produzir efeitos semelhantes aos dos estrogênios, causando

feminilização e perturbações no desenvolvimento e maturação dos testículos. Em animais, mostraram efeitos carcinogênicos, reprodutivos e de desenvolvimento (Cinelli *et al.*, 2013; Servaes *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2015). Na Figura 3 estão representadas algumas estruturas desses compostos.

**Figura 3.** Estrutura química correspondente a alguns ésteres de ftalato.



Fonte: Autoria própria (2016).

Tendo em vista os comprovados danos causados à saúde por esses compostos, a União Europeia banuiu o uso do di-butil ftalato e do di(2-etil-hexil) ftalato para o uso como aditivo em cosméticos. Nos Estados Unidos, uma diretriz do *Center for Drug Evaluation and Research*, órgão pertencente a FDA, limitou a concentração do di-butil ftalato a 0,1% (em relação à massa total do material) na produção de brinquedos para crianças.

Outros inúmeros contaminantes podem estar presentes em águas incluindo compostos orgânicos voláteis tais como benzeno, tolueno,

etilbenzeno e xilenos (conhecidos como BTEX). Além desses, também podem estar presentes - principalmente em águas submetidas a algum processo de tratamento com cloro os compostos conhecidos como trihalometanos (THM), os quais são formados por reações do cloro com a matéria orgânica. Também podem ser encontrados resíduos de medicamentos, fenóis, inseticidas etc.

Tendo em vista essa grande variedade de classes de compostos que podem estar presentes nos diversos corpos hídricos, torna-se indispensável o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas analíticas que permitam a determinação não só qualitativa, mas também quantitativa desses analitos. Geralmente, as técnicas de cromatografia a gás e cromatografia líquida são utilizadas para separação e quantificação desses compostos orgânicos. Entretanto, na grande maioria dos casos, métodos de preparo de amostra tornam-se necessários previamente à análise cromatográfica, devido a possíveis incompatibilidades provenientes da matriz.

## **2.2 Preparo de amostras em química analítica**

Em praticamente todos os tipos de análises realizados na área da química é necessária uma etapa de preparo de amostra anteriormente à análise instrumental propriamente dita. É comum não se analisar quimicamente matrizes na forma bruta, pois elas costumam apresentar interferências e incompatibilidades com equipamentos analíticos. Para contornar tais problemas, são empregados procedimentos de preparo da amostra.

Esses procedimentos têm como finalidade isolar e concentrar os analitos a níveis adequados e obter um nível de limpeza da amostra que não comprometa a sua análise química. Portanto, o preparo da amostra também inclui a sua compatibilização com a técnica que fornecerá os dados analíticos (Valente e Augusto, 2000; Merib, 2013). Essa etapa de preparo de amostras é de fundamental importância e essencial para o sucesso de qualquer método analítico (Merib e Carasek, 2013).

A escolha da técnica de preparo de amostras deve ser fundamentada na compreensão dos princípios que governam a transferência de massa dos analitos em sistemas multifásicos (Pawliszyn, 2009). A transferência de massa é baseada em diversas características dos componentes da amostra (analitos, interferentes e matriz) tais como polaridade, solubilidade, estabilidade química e térmica, coeficiente de partição, lipofilicidade, entre outros (Borges *et*

al., 2015). Diversos métodos de preparo de amostras foram e estão sendo desenvolvidos para proporcionar eficientes determinações em amostras com diferentes graus de complexidade.

Dentre as técnicas clássicas mais difundidas de preparo de amostras, podem ser destacadas a extração sólido-líquido (SLE, do inglês *solid-liquid extraction*) e a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*). Essas técnicas apresentam fácil aplicabilidade, mas em contrapartida possuem grandes limitações, entre as quais está o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos tóxicos e dispendiosos.

Para superar esses problemas e tendo em vista o foco na busca de técnicas de preparo de amostras eficientes e com reduzido impacto ambiental, a última década do século XX teve extrema importância. Várias das técnicas desenvolvidas nesse período são atualmente utilizadas e aperfeiçoadas.

Nesse contexto, ganharam destaque as chamadas técnicas miniaturizadas de preparo de amostras, as quais tiveram grande impulso com o desenvolvimento da SPME, proposta por Pawliszyn e colaboradores no ano de 1990 (Arthur e Pawliszyn, 1990). Além da SPME e utilizando o conceito de miniaturização de técnicas de extração, os primeiros trabalhos sobre a microextração em fase líquida (LPME, do inglês *liquid phase microextraction*) introduzidos por Dasgupta e colaboradores (Liu e Dasgupta, 1996) e Cantwell e colaboradores (Jeannot e Cantwell, 1996) também foram desenvolvidos.

### 2.3 Técnicas clássicas de preparo de amostra

Como mencionado anteriormente, existem algumas técnicas clássicas de preparo de amostras muito difundidas em diversos laboratórios. Essas técnicas são utilizadas principalmente em análises de rotina. Dentre essas técnicas, podem ser apontadas a LLE e a SLE também conhecida como extração em Soxhlet como algumas das mais difundidas.

A LLE é baseada no equilíbrio envolvendo a solubilidade do analito em duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) (Queiroz, 2001). Os componentes da amostra são vigorosamente misturados. Desta forma, ocorre a partição do analito entre as fases que compõem o sistema. Após um determinado tempo, as fases são separadas e a fase de interesse é retirada.

Na LLE é de suma importância a escolha de um solvente orgânico adequado, o qual possa ter grande afinidade com o analito para que ocorra uma extração eficiente. Dentre as principais vantagens desse tipo clássico de preparo de amostras está a simplicidade e fácil manuseio do sistema, bem como boa reprodutibilidade alcançada. Entre as principais desvantagens associadas à LLE podem ser destacadas a possibilidade de formação de emulsões, sendo a principal desvantagem o elevado consumo de solventes. A utilização de tais solventes, por si só, gera problemas ambientais e, frequentemente, resulta em baixa seletividade analítica, fato que dificulta bastante a análise de amostras complexas (Borges *et al.*, 2015).

Para a SLE, geralmente é utilizado um sistema conhecido como Soxhlet, no qual se tem um sifão e um condensador. Com isso, há a recirculação do solvente, e desta forma, sucessivas “lavagens” da amostra sólida, a qual geralmente é armazenada em um cartucho de filme celulósico. Esse solvente permite a extração dos analitos e posteriormente pode ser evaporado e ressuspenso em volume específico para introdução no sistema de análise. A SLE apresenta, assim como a LLE, um grande consumo de solventes extratores, os quais muitas vezes podem ser tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente e também aos trabalhadores envolvidos nas análises.

## **2.4 Técnicas miniaturizadas de preparo de amostras**

Em virtude das já comentadas desvantagens apresentadas pelas técnicas clássicas de preparo de amostras, foram desenvolvidas as chamadas técnicas miniaturizadas de preparo de amostras. Dentre essas técnicas podem ser destacadas a SDME, a SPME, a HF-LPME e a DLLME. Neste trabalho serão abordadas mais detalhadamente a SPME e a SDME, as quais constituem-se as técnicas de preparo de amostras utilizadas para esse estudo.

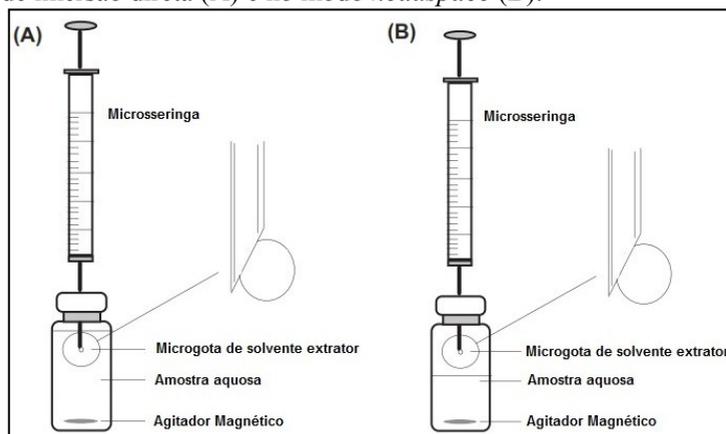
### **2.4.1 Microextração em gota única (SDME)**

#### **2.4.1.1 Princípios da técnica**

A microextração em gota única tem se apresentado como uma das técnicas de preparo de amostras mais simples e fáceis de serem empregadas. No seu formato mais simples, uma microsseringa (tipicamente empregada em cromatografia a gás) é utilizada para expor

alguns microlitros de um determinado solvente extrator diretamente na amostra aquosa ou no *headspace* sobre a amostra. Essa microsseringa é utilizada para injetar esse mesmo solvente extrator no sistema analítico para separação/quantificação dos compostos extraídos (Jeannot *et al.*, 2010). A Figura 4 representa um esquema da microextração em gota única no modo de imersão direta (A) e no modo *headspace* (B).

**Figura 4.** Esquema representando a microextração em gota única no modo de imersão direta (A) e no modo *headspace* (B).



Adaptado de (Jain e Verma, 2011).

O modo de imersão direta (Figura 4-A), o qual foi a proposta original da microextração em gota única (Jeannot e Cantwell, 1997), consiste basicamente na utilização de uma microsseringa com capacidade para 10  $\mu\text{L}$  contendo entre 1 e 3  $\mu\text{L}$  de solvente orgânico extrator. O septo do frasco no qual está contida a amostra é perfurado e a agulha é exposta diretamente na solução. Após a inserção, o êmbolo da microsseringa é pressionado fazendo-se formar uma pequena microgota de solvente extrator no interior da solução da amostra. Também é possível a agitação da amostra durante a microextração.

Após o tempo de extração, a gota é retraída para o interior da microsseringa e imediatamente conduzida à injeção no sistema analítico. Esse modo de extração é geralmente utilizado para analitos apolares ou moderadamente polares. É importante que a amostra aquosa não contenha material particulado, o solvente extrator possua baixa solubilidade em água e taxa de agitação da amostra não seja muito

acentuada, pois poderá causar instabilidade da microgota (Jain e Verma, 2011).

O modo de extração envolvendo o *headspace* (HS) da amostra possui algumas vantagens em relação ao modo de imersão direta. Dentre as principais vantagens está a possibilidade de aplicação em amostras que possuam material particulado e amostras complexas nas quais o modo de imersão direta não seja possível. Outra potencial vantagem é a possibilidade do emprego de taxas de agitação da amostra mais elevadas. Entretanto, esse modo de extração é comumente empregado para analitos voláteis ou moderadamente voláteis, sendo muitas vezes inviável sua aplicação para análise de compostos pouco voláteis.

Para a HS-SDME deve ser escolhido um solvente extrator que possua baixa volatilidade, visto que a taxa evaporação pode ser muito acentuada no *headspace* da amostra. Em virtude dos coeficientes de difusão para a fase gasosa serem aproximadamente  $10^4$  vezes maiores que em fase condensada, a transferência de massa utilizando-se HS-SDME é também um processo mais rápido se comparado a DI-SDME (Jain e Verma, 2011).

#### 2.4.1.2 Teoria básica da SDME

Qualquer tipo de microextração utilizando solventes é baseado na distribuição das moléculas do analito entre a amostra (geralmente aquosa) e a fase extratora (geralmente um solvente orgânico). A constante de distribuição pode ser representada pela equação 1.

$$K = \frac{C_o}{C_w} \quad \text{Eq.1}$$

Onde:

$C_o$  = concentração do analito na fase orgânica

$C_w$  = concentração do analito presente na amostra aquosa

$K$  = constante de distribuição do analito entre a fase orgânica e a fase aquosa

A expressão geral para o balanço de massa do sistema formado entre o analito, particionado entre a fase aquosa e a fase orgânica (para um sistema bifásico) no equilíbrio, pode ser representada pela equação 2.

$$n_t = n_w + n_o \quad \text{Eq. 2}$$

Onde:

$n_t$  = quantidade total de analito presente na amostra.

$n_w$  = quantidade de analito presente na fase aquosa, no equilíbrio.

$n_o$  = quantidade de analito extraído pela microgota, no equilíbrio.

Através da combinação da condição de balanço de massa dada pela equação 2 e uma concentração inicial de analito  $C_w^0$  juntamente com os volumes da fase aquosa e orgânica, respectivamente, pode-se chegar a equação 3 para um sistema de duas fases.

$$C_w^0 \cdot V_w = C_w \cdot V_w + C_o \cdot V_o \quad \dots \quad \text{Eq. 3}$$

Isolando-se o termo  $C_o$  e relacionando com a constante de partição, pode-se chegar à expressão da concentração extraída de analito na fase orgânica como função da concentração inicial do analito na amostra aquosa, como representado pela equação 4.

$$C_o = \frac{K \cdot C_w^0}{1 + K \frac{V_o}{V_w}} \quad \text{Eq. 4}$$

Em virtude da razão ( $V_o/V_w$ ) ser muito pequena para microextrações envolvendo solvente ( $10^{-3}$  ou menor), o termo da equação  $K \cdot V_o/V_w$  é frequentemente muito pequeno, por exemplo, se for considerada uma constante de distribuição para o analito com valor abaixo de  $10^2$ , com isso o denominador da equação 4 deve ser muito próximo de 1.

Desta forma, em virtude do pequeno volume de solvente orgânico utilizado, pode-se dizer que o número de mols do analito na fase orgânica é muito pequeno se comparado ao número de mols na fase aquosa, e conseqüentemente, uma negligenciável quantidade de analito é removida da amostra. Com esse conceito, pode-se concluir que qualquer equilíbrio envolvendo o analito na fase aquosa não é perturbado se a mesma for submetida a uma microextração envolvendo solvente quando a razão entre os volumes da fase orgânica e da fase aquosa é muito pequena.

Em contrapartida, se a constante de distribuição for muito elevada o termo do denominador da equação 4 possui valor elevado e muito superior a 1. Desta forma,  $C_o$  é independente de  $K$  e pode ser relacionado somente com  $C_w^0 \left(\frac{V_o}{V_w}\right)$ . Em situações como essa, se forem

utilizados volumes maiores de solvente extrator (por exemplo, 5  $\mu\text{L}$ ) e volumes menores de amostra (0,5 mL) podem ser obtidas extrações exaustivas, onde todo o analito é extraído da amostra.

Em relação às microextrações envolvendo a fase gasosa acima da amostra (*headspace*), podem ser descritas equações que englobam os coeficientes de distribuição e o balanço de massa para um sistema de três fases, neste caso o sistema pode ser dividido em três partes:

- gota de solvente orgânico (*o*)
- amostra aquosa (*w*)
- fase gasosa ou *headspace* (*a*)

Podem ser estabelecidos coeficientes de partição do analito entre a amostra aquosa e a fase gasosa sobre a amostra ( $K_{aw}$ ) e também entre a gota de solvente orgânico e o *headspace* ( $K_{oa}$ ), os quais estão representados nas equações 5 e 6.

$$K_{aw} = \frac{c_a}{c_w} \quad \text{Eq. 5}$$

$$K_{oa} = \frac{c_o}{c_a} \quad \text{Eq. 6}$$

Onde:

$K_{aw}$  = constante de distribuição do analito entre o *headspace* e a fase aquosa

$K_{oa}$  = constante de distribuição do analito entre a fase orgânica e o *headspace*

$c_o$  = concentração do analito na fase orgânica

$c_a$  = concentração do analito no *headspace*

$c_w$  = concentração do analito na fase aquosa

Utilizando-se o balanço de massa para o sistema de três fases, pode-se representar a equação 7.

$$n_t = n_w + n_o + n_a \quad \text{Eq. 7}$$

Onde:

$n_t$  = quantidade total do analito presente na amostra

$n_w$  = quantidade de analito presente na fase aquosa, no equilíbrio

$n_o$  = quantidade de analito extraída pela microgota, no equilíbrio

$n_a$  = quantidade de analito presente no *headspace* da amostra, no equilíbrio.

Através da combinação da condição de balanço de massa dada pela equação 7 e uma concentração inicial de analito  $C_w^0$ , juntamente com os volumes da fase aquosa, fase orgânica e o volume do *headspace* da amostra, respectivamente, pode-se chegar à equação 8 para um sistema de três fases.

$$C_w^0 \cdot V_w = C_w \cdot V_w + C_o \cdot V_o + C_a \cdot V_a \quad \text{Eq. 8}$$

Onde:

$C_w^0$  = concentração inicial do analito na amostra

$V_w$  = volume da fase aquosa

$C_w$  = concentração do analito na fase aquosa, no equilíbrio

$C_o$  = concentração do analito na fase orgânica, no equilíbrio

$C_a$  = concentração do analito no *headspace*, no equilíbrio

$V_o$  = volume da fase orgânica

$V_a$  = volume da fase gasosa (*headspace*)

A partir das equações 5 e 6 pode-se estabelecer a constante de distribuição global entre a fase orgânica e a fase aquosa conforme a equação 9.

$$K_{ow} = \frac{C_o}{C_w} = K_{aw} \cdot K_{oa} \quad \text{Eq. 9}$$

Desta forma, pela combinação das equações acima, pode-se estabelecer a equação 10 a qual representa a quantidade extraída do analito pela fase orgânica.

$$C_o = \frac{K_{ow} \cdot C_w^0}{1 + K_{aw} \frac{V_a}{V_w} + K_{ow} \frac{V_o}{V_w}} \quad \text{Eq.10}$$

Através da equação 10, caso o volume da fase gasosa ( $V_a$ ) seja nulo, essa equação se reduz a equação 4 conforme ocorre para um sistema de duas fases. Como em um sistema de duas fases, a situação de equilíbrio não deve ser perturbada caso o volume da fase orgânica e do *headspace* sejam pequenos e os coeficientes de distribuição não possuam valores elevados. Para serem obtidas extrações exaustivas, deve-se ter um pequeno valor para  $K_{aw}$  e/ou  $V_a$  e um valor elevado para  $K_{ow}$  (Kokosa *et al.*, 2009).

### 2.4.1.3 Aspectos cinéticos da SDME

A taxa de transporte das moléculas de analito entre as fases é governada a nível molecular por movimentos Brownianos ou difusão. Primeiramente, podem ser descritos alguns modelos para sistemas que são estudados sem agitação.

É bastante difundido que moléculas em solução (em fase gasosa ou fase líquida) submetidas a movimento translacional, a direção e velocidade desse movimento está constantemente mudando devido a colisões e interações com moléculas do solvente. Devido à natureza aleatória desse movimento, a velocidade média do conjunto de moléculas é zero.

Porém, há uma variação estatística na velocidade das moléculas, isto é, embora a velocidade média seja zero, há uma variação associada a essa média e uma dada molécula, provavelmente, terá um movimento translacional em certo período de tempo. Desta forma, um conjunto de moléculas originalmente concentradas em um ponto ou em um plano, irão se espalhar ou se difundir ao longo do tempo, de regiões de alta concentração para regiões de baixa concentração (Kokosa *et al.*, 2009).

Um modelo matemático que descreve esse processo é a chamada primeira lei de Fick da difusão, a qual descreve o fluxo de moléculas (mols,  $n$  por área  $A$  por tempo) em função da concentração gradiente ( $dC/dx$ ) segundo a equação 11.

$$- \frac{1}{A} \frac{dn}{dt} = D \frac{dC}{dx} \quad \text{Eq. 11}$$

A constante de proporcionalidade entre o gradiente de concentração e o fluxo corresponde ao coeficiente de difusão,  $D$ , tendo as unidades de  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$  (com  $A$  em  $\text{cm}^2$ ,  $dC$  em  $\text{mol cm}^{-3}$  e  $dx$  em  $\text{cm}$ ). O sinal negativo indica a difusão de uma região de alta concentração para outra de baixa concentração.

Coefficientes de difusão de moléculas na fase gasosa são relativamente elevados (na ordem de  $0,1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ), possuindo os mais diversos movimentos translacionais. Já os coeficientes de difusão para moléculas de soluto em soluções líquidas são muito menores (na ordem de  $10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ).

Através dessas informações, pode-se dizer que o transporte de moléculas de analito da amostra aquosa para a microgota é geralmente limitado por taxas de difusão lentas das moléculas de analito entre as

fases. Embora a temperatura e viscosidade do solvente desempenhem um papel fundamental nestas taxas de difusão, o principal fator para aumentar a taxa de transporte é a redução da distância no meio onde ocorre a transferência. Desta forma, as amostras são normalmente agitadas, geralmente por meio de agitação magnética, para aumentar a área de contato interfacial entre a microgota de solvente extrator e as moléculas do analito presentes na fase aquosa e, portanto, reduzir a distância de difusão (Jeannot *et al.*, 2010).

Para a microextração em gota única, onde o solvente é suspenso em uma gota e a agitação da amostra é realizada, há evidências que apontam para uma convecção induzida do solvente no interior da própria gota, desta forma tem-se a transferência de massa por difusão/convecção para ambas as fases.

Uma das teorias que propõe uma explicação para a transferência de massa entre duas interfaces é a chamada teoria de filme, a qual assume a completa mistura da fase aquosa e fase orgânica até certa distância,  $\delta_w$  e  $\delta_o$ , respectivamente, para a interface. No interior destes “filmes” de espessura  $\delta_w$  e  $\delta_o$ , a solução é dada como estagnada, com a transferência de massa via difusão molecular. Altas taxas de agitação resultam em espessuras de filme menores o que pode reduzir significativamente a resistência à transferência de massa. As equações 12 e 13 permitem o cálculo dos coeficientes de transferência de massa  $\beta_w$  e  $\beta_o$  para as fases aquosa e orgânica, respectivamente.

$$\beta_w = \frac{D_w}{\delta_w} \quad \text{Eq. 12}$$

$$\beta_o = \frac{D_o}{\delta_o} \quad \text{Eq. 13}$$

Onde:

$D_w$  = coeficiente de difusão do analito na fase aquosa

$D_o$  = coeficiente de difusão do analito na fase orgânica

$\delta_w$  = espessura do filme na fase aquosa

$\delta_o$  = espessura do filme na fase orgânica

O tempo necessário para atingir o equilíbrio em SDME pode ser de alguns minutos a horas, dependendo do grau de agitação, volume de fase, a área de contato interfacial e constante de equilíbrio. Assim, para evitar tempos muito longos de análise, a SDME muitas vezes é realizada sob condições de não equilíbrio (cineticamente controladas).

Mesmo nos casos em que a distribuição de equilíbrio é atingida em SDME, é importante notar que a extração é raramente exaustiva, ou seja, uma fração significativa do analito permanece na amostra aquosa. Isto é uma consequência da pequena proporção de fase orgânica em relação ao volume total da amostra aquosa, semelhante ao que geralmente se encontra em microextração em fase sólida (SPME). Em alguns casos, apenas uma pequena quantidade de analito é removida a partir da solução da amostra, o que pode ser vantajoso evitando a perturbação do equilíbrio na amostra. Em qualquer caso, se o equilíbrio é atingido ou não, a calibração é normalmente baseada em padrões em fase aquosa que são extraídos em condições idênticas às da amostra desconhecida, com ou sem o auxílio de padrões internos (Jeannot *et al.*, 2010).

#### **2.4.1.4 Principais fatores a serem otimizados em SDME**

##### **2.4.1.4.1 Modo de extração**

Geralmente para a escolha do modo de extração em SDME devem ser levados em consideração alguns fatores tais como as propriedades dos analitos e também da matriz a ser analisada. Os principais pontos a serem avaliados são em relação à volatilidade, ionização e polaridade do analito. Essas propriedades podem afetar a eficiência de extração em virtude das constantes de distribuição entre a fase aquosa e a fase orgânica ( $K_{ow}$ ) e entre a fase gasosa e a fase aquosa ( $K_{aw}$ ).

Teoricamente, o modo de HS-SDME é mais apropriado para a maioria dos compostos polares e não polares de baixa massa molar, a maioria voláteis e alguns semivoláteis. O modo DI-SDME é geralmente utilizado para extrair compostos com massa molar maior, apolares ou moderadamente polares, na maioria semivoláteis (Jeannot *et al.*, 2010).

Desta forma, para matrizes que contenham uma grande quantidade de analitos com diferentes comportamentos físico-químicos, principalmente no que diz respeito à polaridade/volatilidade, a escolha de um ou outro modo de extração pode influenciar significativamente a extração de uma ou outra classe de compostos.

##### **2.4.1.4.2 Escolha do solvente extrator**

Esta é uma otimização fundamental em SDME, visto que a eficiência da extração vai depender muito do solvente orgânico

utilizado. Há algumas limitações importantes na seleção do solvente orgânico extrator. Um dos requisitos é que, ao utilizar a DI-SDME em amostras aquosas, o solvente seja imiscível em água e também possua um ponto de ebulição alto o suficiente para que não evapore, mas também seja compatível com o sistema analítico de leitura, sendo que em grande parte das vezes é utilizada a cromatografia a gás (Pinto e Pedroso, 2015).

Além disso, o solvente precisa ter uma viscosidade suficientemente elevada para se aderir à ponta da agulha da microseringa, mas não ser tão viscoso para que a taxa de difusão do analito na gota altere significativamente o tempo de extração. As características de atração intermoleculares do solvente devem também ser compatíveis com o analito, dentre os tipos de interação mais importantes estão as forças de dispersão de London (forças de van der Waals), interações dipolo-dipolo permanentes e ligações de hidrogênio (Jeannot *et al.*, 2010).

Diversos solventes orgânicos têm sido empregados em SDME incluindo 1-octanol, tolueno e *o*-xileno os quais são muito empregados em DI-SDME. Na HS-SDME é mais comum a utilização de 1-octanol, dodecano, tetradecano e hexadecano. Na Tabela 1 são listados os solventes mais comuns empregados para SDME bem como algumas propriedades físico-químicas dos mesmos.

**Tabela 1.** Principais solventes empregados em SDME.

Solvente	Ponto de ebulição / °C	Ponto de fusão / °C	Log K (em relação à água)	Pressão de vapor / kPa a 25°C
tolueno	110	-93	2,73	3,79
<i>o</i> -xileno	143	-57	3,12	0,70
1-octanol	196	-15	3,00	0,0106
<i>n</i> -hexano	69	-95	3,94	17,0
decano	174	-30	5,98	0,17
dodecano	215	-10	7,13	0,028
hexadecano	287	18	8,25	0,0004

Adaptado de (Kokosa *et al.*, 2009).

Um dos solventes mais utilizados tanto para o emprego no modo de DI como no modo HS é o 1-octanol, devido ao fato de que esse solvente está em confirmidade, em grande parte, com as características ideais para um bom solvente extrator.

O 1-octanol apresenta grande estabilidade e alta capacidade de extração provavelmente devido à baixa solubilidade em água, baixa pressão de vapor, e por possuir uma cadeia relativamente longa de hidrocarboneto que pode facilmente acomodar moléculas de analitos com baixa polaridade. Além disso, possui um grupo hidroxila que pode ser importante para a estabilização de quaisquer grupos funcionais polares na molécula (Kokosa *et al.*, 2009). Possui também moderada viscosidade o que é muito importante para a estabilização da microgota, principalmente quando se faz a utilização do modo DI-SDME (Jeannot *et al.*, 2010).

#### 2.4.1.4.3 Volume da microgota

Outra importante variável a ser ajustada em SDME é o volume da microgota, visto que, principalmente para o modo de imersão direta, esse parâmetro é fundamental para manter a estabilidade da gota de solvente orgânico no momento da extração. Teoricamente, utilizando-se uma gota de volume maior (acima de 5  $\mu\text{L}$ ), uma maior quantidade de analito será extraída. Porém, volumes maiores de solvente implicam em limitações práticas, justamente em virtude da estabilidade já comentada. Desta forma, a maioria dos trabalhos já reportados empregando SDME fazem o uso de gotas de solvente orgânico entre 1 e 2  $\mu\text{L}$ .

A microsseringa utilizada no procedimento também pode influenciar na eficiência de extração, bem como na estabilidade da microgota de solvente extrator. Até o presente momento, a melhor seringa para a utilização da microextração em gota única é a que possui bitola de 26 gauges com ponta curvada em 22°. Essa ponta curvada em 22° permite uma maior área de contato entre a amostra aquosa e a gota do solvente orgânico, estabilizando a mesma. Além disso, um volume de aproximadamente 95 a 98% da gota pode ser retraído da solução e conduzido ao instrumento analítico, sem que ocorram perdas consideráveis de analito e, permitindo que os limites de detecção e quantificação sejam menores (Kokosa *et al.*, 2009).

#### **2.4.1.4.4 Tempo de extração**

Essa variável é estudada em praticamente todos os tipos de microextração, sendo de extrema importância a determinação do tempo que proporcione extrações com boas respostas analíticas. A teoria para SDME, incluindo cálculos para a quantidade de analito extraída pelo solvente orgânico, é baseada em condições de equilíbrio. Porém, na prática, o tempo necessário para que se atinja o equilíbrio pode ser muito longo.

Tempos de equilíbrios relativamente longos podem ser obtidos especialmente para analitos que possuam alta massa molar, para os quais os coeficientes de difusão em líquidos são muito pequenos, mesmo com coeficientes de distribuição ( $K$ ) tendo valores elevados. Uma consequência de tempos de extração muito longos para a SDME é a possibilidade da dissolução da gota de solvente orgânico, ocasionando perda na eficiência de extração. Outro fator que pode influenciar bastante no tempo de equilíbrio é a complexidade da matriz (Kokosa *et al.*, 2009). Muitas vezes, devido a fortes interações das moléculas dos analitos com alguns componentes presentes nessas matrizes complexas faz-se necessário tempos de equilíbrio relativamente longos.

Desta forma, mesmo quando se tem tempos de equilíbrio muito longos, um tempo de extração mais curto pode ser utilizado para análises quantitativas. Os tempos de extração típicos irão depender da massa molar do analito e da sua volatilidade bem como do modo de extração empregado (DI ou HS). Geralmente os tempos de extração mais comuns para microextrações utilizando solventes estão entre 3 e 60 min, podendo haver variações conforme a natureza do analito e o tipo de microextração empregado.

#### 2.4.1.4.5 Temperatura de extração

A temperatura de extração pode apresentar múltiplos efeitos em microextrações que empregam solventes. Essa variável pode afetar tanto a quantidade de analito extraída (através da mudança nos coeficientes de distribuição) quanto à cinética de extração (velocidade da extração). Além disso, a temperatura influencia na taxa de dissolução de solventes orgânicos durante o modo de imersão direta e também a taxa de evaporação de solventes extratores no modo *headspace* (Kokosa *et al.*, 2009).

O controle de temperatura é muito importante em microextração em gota única, principalmente para extrações envolvendo o modo *headspace*. A constante de distribuição entre água e o solvente orgânico ( $K_{ow}$ ) é apenas fracamente afetada pela temperatura, mas a constante de distribuição entre amostra aquosa e a fase gasosa ( $K_{aw}$ ) e a constante de distribuição entre a fase gasosa e o solvente orgânico ( $K_{oa}$ ) são fortemente dependentes da temperatura.

Portanto, uma temperatura de extração que estabeleça um compromisso entre os diversos parâmetros deve ser encontrada, especialmente quando se trabalha com amostras contendo múltiplos analitos, devendo-se também levar em consideração que uma temperatura elevada pode causar efeitos negativos sobre a microgota de solvente orgânico, tais como a dissolução ou evaporação da mesma (Jeannot *et al.*, 2010).

#### 2.4.1.4.6 Ajuste da força iônica

A solubilidade de solutos orgânicos hidrofóbicos em água geralmente diminui na presença de sais dissolvidos devido ao chamado efeito *salting-out*. De acordo com as teorias baseadas na hidratação, como a concentração de íons na água aumenta, uma quantidade maior de moléculas de água são utilizadas para hidratá-los, conseqüentemente um menor número de moléculas de água estarão disponíveis para hidratar o soluto orgânico.

Esse comportamento ocasiona um aumento na constante de distribuição ( $K$ ) para um sistema de duas fases, e resulta também em um aumento nas constantes de distribuição ( $K_{aw}$ ) e ( $K_{ow}$ ) em microextrações envolvendo o *headspace*, acarretando um aumento da quantidade de analito extraída pelo solvente orgânico.

Para os analitos benzeno e tolueno, por exemplo, bem como produtos clorados para a desinfecção, o coeficiente de distribuição entre um solvente extrator (octanol) e a água ( $K_{ow}$ ) apresenta valores inferiores a 1000, desta forma são extraídos com maior eficiência aumentando concentração de sal na amostra aquosa. Para ajuste da força iônica da solução, geralmente é utilizado NaCl em solução ou, muitas vezes, o sal em sua forma sólida (Kokosa *et al.*, 2009).

Em geral, se o valor para a constante de distribuição  $K_{ow}$  é elevado (analitos semivoláteis), as quantidades de analito extraídas são, na maioria das vezes, suficientes para análises quantitativas sem a adição de sal. Para outros analitos, o efeito da adição de sal na eficiência de extração deve ser avaliado empiricamente. Para alguns analitos, a adição de sal tem um efeito negativo e diminuem a eficiência de extração.

Para alguns HPA e PCB, por exemplo, os quais exibem coeficientes de distribuição ( $K_{ow}$ ) superiores a 1000, têm sua eficiência de extração muito pouco afetada pela concentração de sal na amostra, não sendo necessária a adição de sal na solução, a menos que isso seja feito para a diminuição da solubilidade do próprio solvente orgânico, o que pode ser aplicável para solventes com baixos pontos de ebulição (Kokosa *et al.*, 2009).

Desta forma, para amostras que possuem analitos com diferentes volatilidades/polaridades torna-se necessário uma otimização para determinar a quantidade de sal necessária para que sejam obtidas respostas eficientes na extração das diferentes classes de analitos. Com isso, deve-se também obter uma condição “compromisso” que permita a obtenção de boas respostas analíticas para os compostos em estudo.

#### **2.4.1.4.7 Agitação da amostra**

Para grande parte dos procedimentos de microextração, utiliza-se um método de agitação da amostra com a finalidade de reduzir o tempo de extração do procedimento em questão, como já foi comentado na parte teórica da SDME. Geralmente é utilizada a agitação magnética para esse fim, com isso taxas de agitação de 300 – 600 rpm são comumente empregadas para o modo DI-SDME e taxas entre 500 – 1000 rpm podem ser empregadas para o modo HS-SDME. Um importante fator a ser considerado é que para o modo DI-SDME devem ser empregadas taxas de agitação menores em virtude da possibilidade

de instabilidade e, conseqüentemente, perda da gota de solvente orgânico (Jeannot *et al.*, 2010).

#### **2.4.1.5 Aplicabilidade da microextração em gota única**

Devido à simplicidade de utilização, bem como o baixo custo associado a resultados eficientes nas extrações, a SDME tem sido empregada em diversos laboratórios de pesquisa. Podem ser encontrados diversos trabalhos na literatura com uso deste tipo de microextração em fase líquida, sendo também encontrados trabalhos que trazem possibilidades de automação para esse tipo de microextração.

Dentre os analitos determinados através da SDME podem ser mencionados agrotóxicos (Ye *et al.*, 2006; Zhang e Lee, 2010), fenóis (Zhang *et al.*, 2005; Fiamegos *et al.*, 2008; Zhao, F. Q. *et al.*, 2008), HPA (Wu *et al.*, 2008), THM (Aguilera-Herrador *et al.*, 2008a; 2009) BTEX (Aguilera-Herrador *et al.*, 2008b). Também foi reportada a utilização dessa técnica para a extração/determinação de espécies metálicas (Fan e Zhou, 2006; Pena *et al.*, 2008; Bagheri e Naderi, 2009) para as quais geralmente é utilizada absorção atômica como técnica instrumental.

### **2.4.2 Microextração em fase sólida (SPME)**

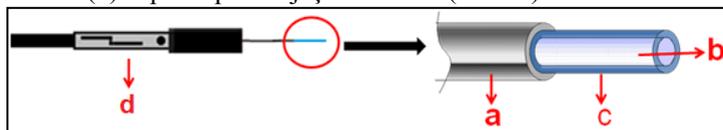
#### **2.4.2.1 Princípios básicos da SPME**

Uma técnica bastante importante em preparo de amostras é a microextração em fase sólida. Trata-se de uma técnica simples, relativamente rápida e que dispensa o uso de solventes orgânicos extratores (Mohammadi *et al.*, 2005). Esta técnica de preparo de amostras é baseada na adsorção/absorção de analitos por uma fibra revestida com uma fase extratora e a sua subsequente dessorção imediatamente antes da análise cromatográfica (Kataoka *et al.*, 2000). A etapa de dessorção pode ser térmica (cromatografia a gás) ou realizada mediante dessorção em um solvente (cromatografia líquida).

Ao se colocar a fibra de SPME em contato com a amostra, moléculas dos analitos migram pela matriz até o recobrimento da fibra. Se o mecanismo de extração for predominantemente baseado na adsorção, essas moléculas serão retidas na superfície do recobrimento ou no interior dos seus poros; caso o processo predominante seja absorção (partição), as moléculas dos analitos devem cruzar a interface

solvente/matriz, se difundindo pelo filme do recobrimento (Borges *et al.*, 2015). Na Figura 5 é mostrada uma ilustração esquematizando uma fibra para SPME juntamente com um dispositivo que protege a fibra e controla a exposição da mesma, conhecido como *holder*.

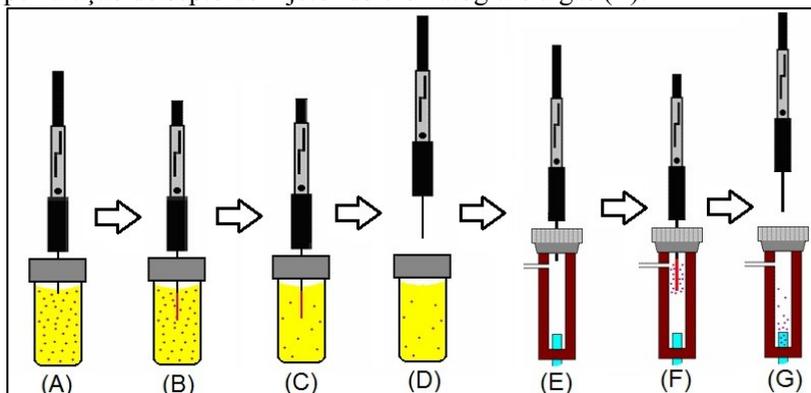
**Figura 5.** Dispositivo de SPME: (a) fibra revestida fixada na ponta de um tubo capilar de aço inoxidável, (b) haste de suporte, (c) fase extratora e (d) suporte para injeção manual (*holder*).



Adaptado de (Pawliszyn, 2009)

Diversos tipos de fibras para SPME são disponíveis comercialmente, podendo exibir diferenças quanto ao tamanho, espessura e também tipo de fase extratora. As fases extratoras mais comumente utilizadas são produzidas a partir de polidimetilsiloxano (PDMS), carboxeno (Car), divinilbenzeno (DVB), poliacrilato (PA) e polietilenoglicol (PEG). A partir desses materiais podem ser confeccionadas fibras mistas formadas por combinações entre os mesmos. A Figura 6 representa as etapas envolvidas na técnica de SPME, desde a extração até a injeção no cromatógrafo.

**Figura 6.** Etapas envolvidas em um procedimento de SPME, incluindo a perfuração do septo do frasco (A); exposição da fibra na amostra (B); extração dos analitos (C); retração da fibra e retirada do frasco (D); perfuração do septo do injetor do cromatógrafo a gás (E).



Adaptado de (Borges, 2015).

A SPME tem apresentado uma vasta gama de aplicações nas mais diversas matrizes para a determinação de analitos pertencentes a diferentes grupos químicos. Dentre essas matrizes incluem-se águas de variadas fontes (rios, lagos, águas residuais), sedimentos, fluidos biológicos, bebidas, entre outros. Outro grande campo de aplicação da SPME é na determinação de perfis aromáticos de plantas e alimentos, tendo em vista que esse tipo de análise é fundamental no controle de qualidade em diversos segmentos da indústria. Várias classes de compostos têm sido determinados utilizando-se a essa técnica incluindo BTEX (Cho *et al.*, 2003; Almeida e Boas, 2004; Djozan *et al.*, 2004), HPA (Chen, 2004; Mohammadi *et al.*, 2005; Dias *et al.*, 2013), agrotóxicos (Perez-Trujillo *et al.*, 2002; Sakamoto e Tsutsumi, 2004; Merib *et al.*, 2014), bem como determinação de compostos organometálicos (Centineo *et al.*, 2004; Parkinson *et al.*, 2004) dentre outros.

Além das diversas características previamente comentadas, a SPME possui algumas desvantagens em seu emprego. Dentre essas possíveis desvantagens estão o custo das fibras comerciais e também a fragilidade das mesmas. Em virtude disso, estão sendo produzidas fibras para SPME contendo suportes metálicos, o que aumenta consideravelmente a resistência desses materiais.

#### 2.4.2.2 Considerações Teóricas

Na SPME acontecem equilíbrios simultâneos em um sistema multifásico. Um sistema trifásico ideal simples pode ser considerado como uma fibra mergulhada numa matriz aquosa em contato com um espaço confinado (*headspace*). Sistemas reais são mais complexos, sendo que os analitos podem interagir entre si, com as paredes do frasco ou até mesmo com algum material particulado que possa estar presente na amostra (Borges *et al.*, 2015).

Mesmo que seja aplicado o modo de imersão direta, caso o frasco contendo a amostra não esteja completo, e os analitos apresentarem baixas pressões de vapor, uma pequena quantidade dos mesmos pode migrar da matriz ao *headspace*. Desta forma, o sistema deve ser considerado de três fases.

Tendo-se uma relação simplificada de um sistema de três fases em SPME, existem algumas importantes considerações sobre o

equilíbrio estabelecido em relação aos seus constituintes. Desta forma o sistema pode ser dividido em três partes principais:

- fibra (f)
- matriz (m) e
- *headspace* (h)

Supondo um sistema ideal trifásico, antes da extração - seja ela direta ou no *headspace* - uma quantidade inicial de analito  $n_0$  estaria presente na matriz em concentração  $C_o$  em um volume  $V_m$ . Completada a extração, no equilíbrio, pode-se dizer que a quantidade de analito presente na matriz da amostra é a soma das quantidades presentes quando a condição de equilíbrio é alcançada nos três constituintes do sistema (matriz, *headspace* e fibra) e pode ser representada pela equação 14.

$$n_0 = n_f + n_{hs} + n_m \quad \text{Eq. 14}$$

Onde:

$n_0$  = quantidade inicial do analito presente na amostra

$n_f$  = quantidade de analito extraída pela fibra, no equilíbrio

$n_{hs}$  = quantidade de analito presente no *headspace* da amostra, no equilíbrio

$n_m$  = quantidade de analito presente na matriz da amostra, no equilíbrio

No processo de microextração podem ser considerados os seguintes equilíbrios e as respectivas constantes de equilíbrio (K) entre o analito (A) e as partes constituintes do sistema, conforme equações 15 e 16.

$$A(\text{matriz}) \rightleftharpoons A(\text{headspace}) \quad K_{mhs} = \frac{Chs}{Cm} \quad \text{Eq. 15}$$

$$A(\text{headspace}) \rightleftharpoons A(\text{fibra}) \quad K_{hsf} = \frac{Cf}{Chs} \quad \text{Eq. 16}$$

Somando-se as equações 15 e 16 pode-se chegar à equação 17 resultante do processo de microextração.

$$A(\text{matriz}) \rightleftharpoons A(\text{fibra}) \quad K_{mf} = \frac{Cf}{Cm} \quad \text{Eq. 17}$$

Onde:

$C_f$  = concentração do analito extraída pela fibra  
 $C_m$  = concentração do analito presente na matriz  
 $C_{hs}$  = concentração do analito presente no *headspace* da amostra  
 $K_{mhs}$  = constante de equilíbrio matriz – *headspace*  
 $K_{hsf}$  = constante de equilíbrio *headspace* – fibra  
 $K_{mf}$  = constante de equilíbrio matriz – fibra

Utilizando as equações anteriores e fazendo-se algumas relações matemáticas, pode-se calcular a quantidade de analito extraída pela fibra, mostrada na equação 18.

$$n_f = \frac{C_0 \cdot V_m \cdot V_f \cdot K_{mhs} \cdot K_{hsf}}{V_m + V_{hs} \cdot K_{msh} + V_f \cdot K_{mhs} \cdot K_{hsf}} \quad \text{Eq. 18}$$

Atingido o equilíbrio, a quantidade extraída de analito é diretamente proporcional a sua concentração inicial na amostra, ou seja, em condições ideais de equilíbrio a SPME é uma técnica quantitativa de preparo de amostras. Entretanto, mesmo sendo uma técnica de extração quantitativa não significa que ocorra extração exaustiva, isto é, que a totalidade do analito presente no sistema seja extraída pela fibra. Na verdade, excluindo casos específicos, uma fração muito pequena da quantidade de analito presente na amostra é extraída (Borges *et al.*, 2015).

### 2.4.2.3 Aspectos cinéticos em SPME

Seja qual for o mecanismo físico-químico relevante na extração (absorção ou adsorção), o tempo necessário para que sejam atingidos os equilíbrios de distribuição dos analitos entre amostra, fibra e *headspace* depende da velocidade com que as moléculas dos analitos são transportadas por essas fases e atravessam as interfaces dos componentes do sistema (Borges *et al.*, 2015). Por exemplo, considerando-se uma extração no modo DI e uma agitação perfeita, ou seja, a fase aquosa se move tão rapidamente em relação ao recobrimento da fibra que todos os analitos têm acesso à fase extratora.

Neste caso, quando a fibra é colocada na amostra contendo os analitos é imediatamente formada uma fina camada próxima à superfície do recobrimento na qual estão presentes os analitos. Após um determinado tempo, as moléculas dos analitos se difundem progressivamente para uma camada mais profunda no recobrimento e alcançam o equilíbrio. Desta forma, sob perfeitas condições de agitação,

pode-se dizer que a velocidade de sorção é determinada pela difusão dos analitos pelo recobrimento polimérico (Pawliszyn, 2009).

Em teoria, o equilíbrio entre fases somente poderia ser alcançado em um intervalo infinito de tempo. Na prática, definiu-se o tempo de equilíbrio  $t_{eq}$  como aquele necessário para que sejam sorvidos 95% da quantidade máxima teórica extraível do analito (Borges *et al.*, 2015). Esse tempo de equilíbrio é relacionado com a espessura do filme sorvente e o coeficiente de difusão do analito na fase sortiva, de acordo com a equação 19.

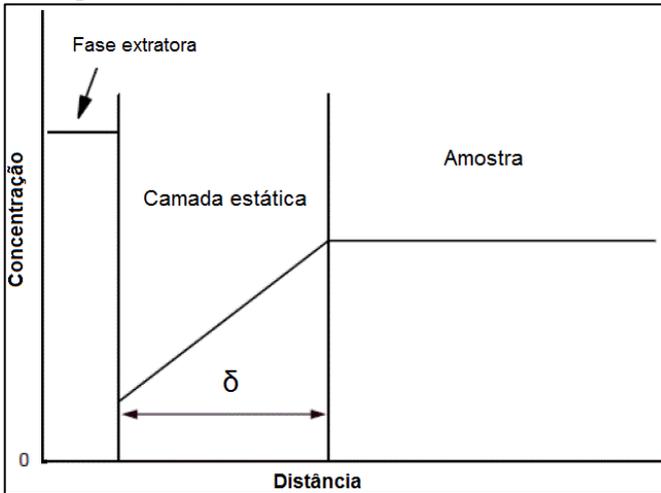
$$t_{eq} \approx t_{95} = \frac{L_f^2}{2D_f} \quad \text{Eq. 19}$$

Onde:

$L_f$  = espessura do recobrimento

$D_f$  = coeficiente de difusão do analito no recobrimento

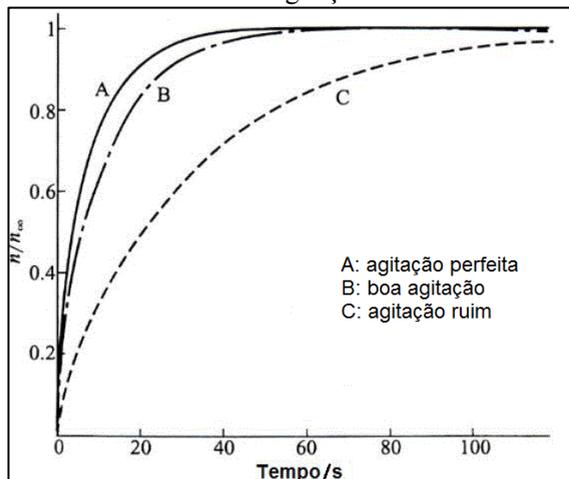
Em condições reais, independente do nível de agitação, sempre haverá uma camada estagnada da amostra que estará em contato com a superfície da fibra e não é agitada com a mesma intensidade que o restante da matriz. Essa região é chamada de camada-limite (*boundary layer*) de espessura  $\delta$ , sendo que à medida que se distancia dessa camada o movimento da amostra aumenta. O transporte dos analitos através da camada-limite se faz exclusivamente pela difusão, sendo mais lenta que o restante da amostra, em que o transporte se dá por convecção. A Figura 7 representa um esquema da camada-limite.

**Figura 7.** Representação da camada-limite em uma amostra.

Fonte: (Pawliszyn, 2009).

A etapa limitante no transporte de moléculas do analito da amostra para a interface fibra/amostra é a camada-limite. Quanto menor a espessura dessa camada, mais rápida é a difusão dos analitos. Desta forma, para garantir menores espessuras de camada  $\delta$  empregam-se vigorosas agitações em SPME. A Figura 8 mostra alguns perfis de extração de benzeno a uma concentração de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  em água, utilizando-se diferentes taxas de agitação.

**Figura 8.** Perfis de extração de benzeno a uma concentração de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  em água com diferentes taxas de agitação.



Fonte: (Pawliszyn, 2009).

Através do gráfico mostrado na Figura 8, o qual relaciona a fração em massa extraída no equilíbrio e o tempo de extração, pode-se ter uma ideia do perfil de extração utilizando-se diferentes taxas de agitação da amostra. Como se pode ver, com uma agitação deficiente da amostra (curva C) o tempo para se atingir o equilíbrio é extremamente longo. Em SPME podem ser empregadas taxas de extração mais acentuadas comparadas às taxas de agitação em SDME, tendo em vista que nesta última a estabilidade da gota torna-se muito prejudicada com altas taxas de agitação.

A equação 19 pode ser modificada para incluir o coeficiente de partição entre a fibra e a matriz ( $K_{fm}$ ), resultando em uma expressão mais próxima da realidade e mostrada na equação 20.

$$t_{eq} \approx = 3\delta \frac{K_{fm}L_f}{D_m} \quad \text{Eq. 20}$$

Onde:

$D_m$  = coeficiente de difusão do analito na matriz

$K_{fm}$  = constante de distribuição do analito entre a fibra e a matriz

Através da equação 20 pode-se concluir que o tempo de equilíbrio é mais dependente da difusão do analito na matriz aquosa estacionária ( $D_m$ ) do que na fibra. Além disso, fibras com recobrimentos

finos levam a extrações mais rápidas, porém a quantidade de material extraído é menor o que limita a detectabilidade. Além da espessura da camada-limite e do recobrimento da fibra, a constante de distribuição fibra/matriz ( $K_{fm}$ ) também afeta o equilíbrio (Borges *et al.*, 2015).

#### **2.4.2.4 Principais parâmetros a serem otimizados em SPME**

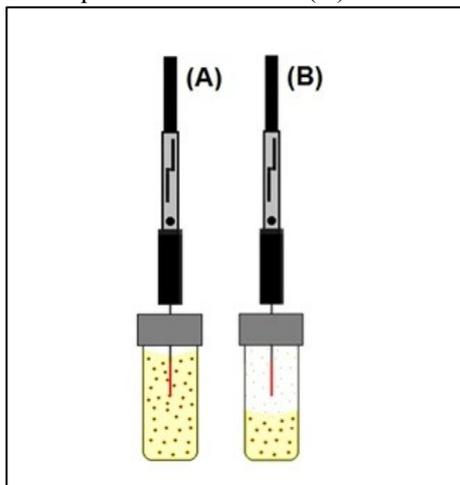
##### **2.4.2.4.1 Modos de extração em SPME**

A microextração em fase sólida apresenta três modos de extração, um desses modos é caracterizado pela imersão direta da fibra na amostra (DI), o outro é chamado de extração no *headspace* (HS) e um terceiro é a extração com fibra protegida. Nesse último, uma membrana microporosa é empregada para a proteção da fibra quando a mesma é imersa na amostra, sendo geralmente utilizado na análise de amostras muito complexas, contendo sólidos em suspensão ou material particulado que possam danificar a fibra de SPME. Entretanto, há poucos relatos na literatura sobre a utilização desse modo de amostragem comparado aos modos DI e HS. Em virtude disso, esses dois modos serão abordados nesse estudo.

Para o modo de imersão direta é estabelecido um equilíbrio entre o recobrimento da fibra e a amostra propriamente dita. Esta forma de extração é bastante utilizada quando os analitos apresentam uma baixa pressão de vapor, ou seja, apresentam baixa volatilidade e, desta forma, esses analitos apresentam certa dificuldade em serem liberados para o *headspace* da amostra.

O outro modo de microextração envolve a extração no *headspace* da amostra, ou seja, no espaço que apresenta espécies no estado gasoso acima da amostra. Desta forma, é estabelecido um equilíbrio entre a matriz da amostra, o espaço superior acima da amostra e a fase extratora da fibra de SPME. Esse modo de extração tem sido utilizado para a extração de compostos voláteis em diversas matrizes, incluindo legumes, frutas, sucos, refrigerantes ou bebidas alcoólicas (Kataoka *et al.*, 2000). A Figura 9 mostra um esquema dos dois principais modos de extração em SPME.

**Figura 9.** Esquema da DI-SPME (A) e HS-SPME (B).



Fonte: Autoria própria (2014).

Mais recentemente, foi desenvolvido um novo modo de extração que engloba a utilização dos modos de imersão direta e *headspace* em um mesmo procedimento de microextração. Esse modo foi chamado de DI-HS-SPME e tem como principal vantagem a eficiente extração de compostos com comportamentos bastante distintos em relação às suas volatilidades. Esse novo modo de extração foi utilizado com sucesso na determinação de BTEX e HPA (Bianchin *et al.*, 2012), e THM e agrotóxicos organoclorados (Merib, Simao, *et al.*, 2013) em amostras aquosas.

#### **2.4.2.4.2 Tempo de extração**

Essa é uma variável bastante importante em SPME. Vários fatores afetam o tempo necessário para uma eficiente transferência de massa do analito para a camada-limite e, posteriormente para o recobrimento extrator. Alguns desses fatores incluindo a agitação da amostra, o coeficiente de distribuição fibra/matriz e a espessura do filme já foram discutidos nos aspectos cinéticos referentes à SPME.

Outro importante fator associado ao tempo de extração em SPME é a característica físico-química dos analitos. Dependendo da pressão de vapor dos analitos estes estarão presentes em maiores quantidades no *headspace* da amostra ou na própria matriz da mesma.

Caso os analitos possuam alta pressão de vapor (alta volatilidade) haverá uma maior concentração dos mesmos no HS da amostra. Entretanto, no equilíbrio, a quantidade extraída será a mesma se a fibra estiver localizada imersa na amostra ou no *headspace* e os volumes de amostra e do HS se mantiverem constantes. Mas nesse caso, a cinética de extração será muito diferente, sendo favorecida a extração no HS da amostra. Caso os analitos possuam baixa pressão de vapor (baixa volatilidade) o princípio será o mesmo, porém a cinética será favorecida caso a extração seja realizada no modo de imersão direta (Pawliszyn, 2009).

#### 2.4.2.4.3 Temperatura de extração

A variação na temperatura de extração em SPME afeta tanto a posição dos equilíbrios envolvidos quanto a velocidade com que são atingidos. Em relação à cinética de extração, à medida que se aumenta a temperatura a transferência de massa entre as fases envolvidas também aumenta.

Por exemplo, para extrações no modo *headspace* da amostra, deve-se garantir que uma significativa quantidade de analitos migre da amostra para o *headspace*, essa migração pode ser bastante favorecida com um aumento da temperatura em virtude de um aumento nos coeficientes de difusão e das constantes de Henry. Entretanto, quando a temperatura é aumentada também ocorre uma diminuição dos coeficientes de distribuição dos analitos em relação à fase extratora.

Esse decréscimo nos coeficientes de distribuição dos analitos pode ser explicado em função do efeito exotérmico de sorção dos analitos no recobrimento polimérico. Esse efeito pode ser contornado com a utilização da chamada “*cold-fiber*” SPME (Zhang e Pawliszyn, 1995; Merib, Nardini, *et al.*, 2013), na qual a fibra é mantida resfriada enquanto que a temperatura da amostra pode ser aumentada, facilitando a liberação dos analitos da matriz para o *headspace* da amostra.

Desta forma, torna-se fundamental uma otimização adequada das temperaturas de extração em um procedimento de SPME para garantir que boas eficiências de extração sejam obtidas, bem como para reduzir tempos de equilíbrio longos que, por ventura, possam ser encontrados.

#### 2.4.2.4.4 Ajuste da força iônica

Como previamente discutido em SDME, a adição de um sal pode aumentar a eficiência de extração em métodos envolvendo SPME. Para o ajuste da força iônica o NaCl é comumente usado. Geralmente, um aumento na quantidade extraída é observado com um aumento na concentração de sal, até o alcance de um máximo, seguido por um decréscimo na massa extraída de analito quando se adiciona uma maior quantidade de sal.

Esse comportamento pode ser explicado devido a dois processos envolvidos simultaneamente. Inicialmente, uma maior quantidade de analito é extraída devido ao fenômeno chamado “*salting out*” pelo fato de as moléculas de água formarem esferas de hidratação ao redor dos íons provenientes do sal (solvatação). Essas esferas de hidratação reduzem a concentração de moléculas de água disponíveis para dissolverem as moléculas de analitos, desta forma os analitos são melhores extraídos pelos recobrimentos das fibras.

Em contrapartida, em altas concentrações de sal, a interação dos íons de sal com as moléculas dos analitos pode se tornar significativa, o que pode ocasionar um decréscimo na mobilidade das moléculas dos analitos para o recobrimento (Pawliszyn, 2009).

Quando se utiliza SPME em amostras contendo altas concentrações de sal e separações envolvendo cromatografia a gás é aconselhável que a fibra seja lavada previamente à sua desorção térmica. Caso contrário, é possível a ocorrência de deposição de cristais de sais sobre a superfície da mesma podendo ocasionar problemas de precisão e exatidão no método.

#### 2.4.2.4.5 Ajuste do pH da amostra

Levando-se em consideração que somente espécies não dissociadas podem ser extraídas pelo recobrimento da fibra, o ajuste do pH de uma solução aquosa afetará a constante  $K$  para espécies dissociáveis segundo a equação 21.

$$K = K_0 \frac{[H^+]}{K_a + [H^+]} \quad \text{Eq. 21}$$

Onde:

$K_0$  = constante de distribuição entre a amostra e a fibra do analito em sua forma não dissociada.

$K_a$  = constante de acidez do analito dissociado

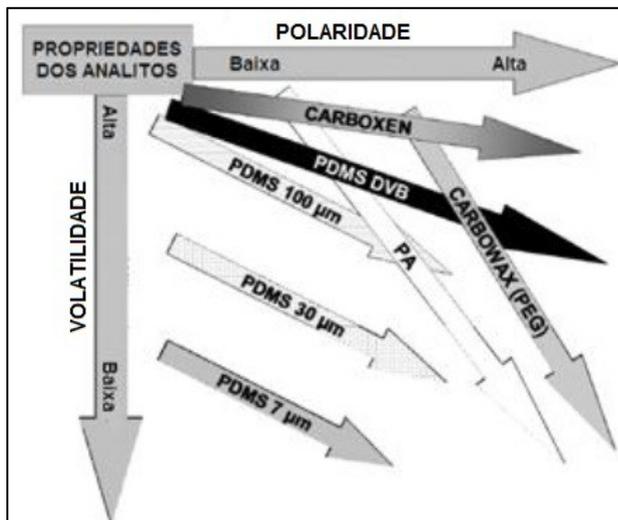
Utilizando-se estas definições, pode-se verificar que uma condição ideal para analitos ácidos é a utilização de um pH da amostra o qual seja 2 unidades menores que o valor de pKa. Em contrapartida, para analitos básicos um pH 2 unidades acima do pKa favorecerá a extração, tendo em vista que a forma neutra do analito predominará (Pawliszyn, 2009).

#### **2.4.2.4.6 Escolha da fase extratora em SPME**

Outro fator fundamental em extrações envolvendo SPME é a escolha de um recobrimento extrator adequado para o tipo de compostos que se deseja determinar. Para a seleção da fibra deve-se levar em consideração a seletividade do recobrimento em relação aos analitos, a sua compatibilidade com a matriz e a espessura do filme extrator (Borges *et al.*, 2015).

Na Figura 10 é mostrado um quadro contendo os principais recobrimentos disponíveis comercialmente para SPME, bem como as características dos analitos para os quais esses recobrimentos são indicados.

**Figura 10.** Quadro para auxílio na seleção de um recobrimento extrator para SPME, dependendo das características de volatilidade e polaridade dos analitos.



Fonte: (Pawliszyn, 2009).

Como pode ser observado pelo quadro da Figura 10, para a análise de espécies químicas de baixa polaridade são indicados os recobrimentos compostos por PMDS, enquanto que para espécies que possuem uma maior polaridade as fibras compostas por PA são mais adequadas. Em relação às fibras de recobrimentos mistos incluindo DVB/PMDS, estas são indicadas para compostos voláteis e com alta polaridade.

Em fibras com recobrimentos mistos tais como DVB/PDMS, algumas vezes o mecanismo de extração é definido como sendo simultaneamente absorção e adsorção, já que estes recobrimentos são dispersões de um sólido adsorvente em um polímero que, a princípio, atua como sorvente. Entretanto, foi observado que a contribuição do material adsorvente é muito baixa na massa total extraída de analito, com isso foi definido que o mecanismo preponderante que atua sobre esses recobrimentos mistos é a adsorção (Borges *et al.*, 2015).

Mesmo com a boa capacidade de extração das fibras comerciais frente a uma diversa gama de compostos, tem crescido muito os estudos no sentido do desenvolvimento de novas fases extratoras para SPME. Um dos objetivos desses estudos tem sido a fabricação de fases

extratoras resistentes e que apresentem boa capacidade de extração, bem como uma redução nos custos das análises. Muitas vezes, recobrimentos que possuam uma seletividade maior para determinados tipos de analitos são estudados.

Tendo em vista esses fatores, a classe de compostos que compreende os líquidos iônicos vem sendo bastante estudada não só como fases extratoras alternativas em SPME, mas também em diversas subdivisões da química analítica. Isso se dá muito em função das propriedades físico-químicas desses compostos, os quais possuem características únicas e uma capacidade de solvatação de uma grande quantidade compostos.

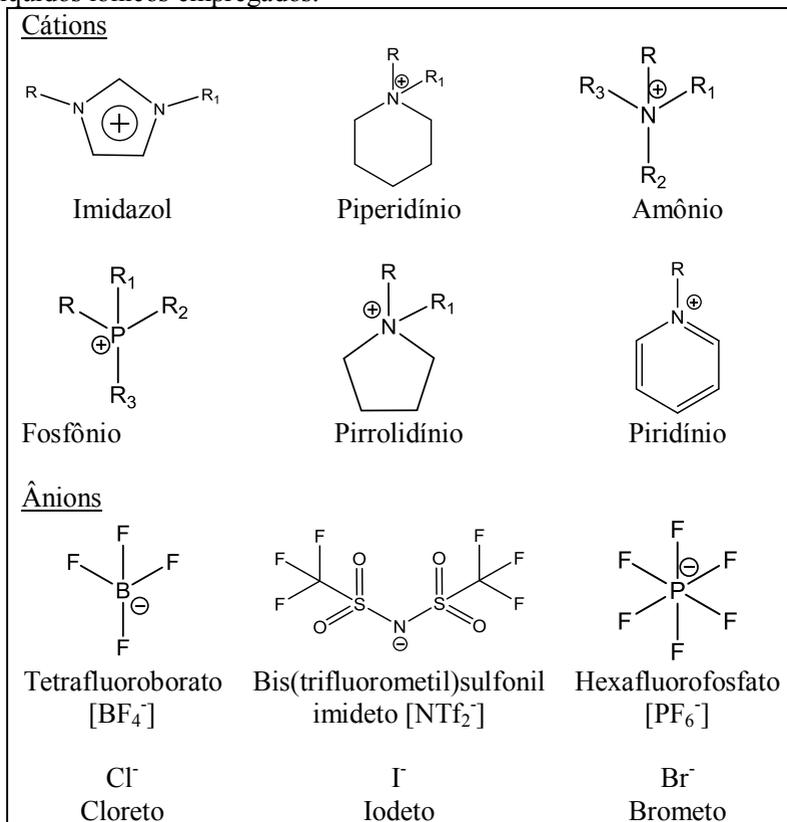
## 2.5 Líquidos iônicos em química analítica

Em química analítica há sempre o desafio de desenvolver e aperfeiçoar técnicas versáteis e que possuam boa aplicabilidade. Nesse sentido, os líquidos iônicos têm sido uma classe de compostos muito utilizada em diversas técnicas analíticas, tanto na parte de preparo de amostras quanto na área de separações.

Desde a sua descoberta em 1914, os líquidos iônicos têm sido objeto de vários estudos. As aplicações em química analítica têm crescido muito nos últimos anos e contribuíram para o rápido crescimento dessa área. Esses compostos são conhecidos como sais orgânicos que possuem pontos de fusão menores ou iguais a 100 °C, e na maioria dos casos são formados por um cátion orgânico e um ânion orgânico/inorgânico. É estimado que a possibilidade de combinações diferentes para a formação de líquidos iônicos possa alcançar a ordem de  $10^{18}$  (Ho, Zhang, *et al.*, 2014).

Dentre as características dos líquidos iônicos estão a alta estabilidade térmica, pressão de vapor desprezível e não inflamabilidade. Além de viscosidades variadas, condutividade e miscibilidade em diferentes solventes. Na Figura 11 são representadas as estruturas químicas dos cátions e ânions de líquidos iônicos mais comumente empregados.

**Figura 11.** Estrutura química dos cátions e ânions mais comuns de líquidos iônicos empregados.



Fonte: Adaptado de (Ho, Zhang, *et al.*, 2014).

Em relação às propriedades de solvatação, os líquidos iônicos podem ser estruturados para compreenderem interações que vão desde forças dispersivas, interações intermoleculares envolvendo dipolos permanentes, interações de hidrogênio e interações eletrostáticas. Desta forma, dependendo da estrutura dos compostos, alguns tipos de interações predominantes podem ser observadas, como por exemplo, a presença de um grupo aromático na estrutura do líquido iônico pode favorecer as interações  $\pi$ - $\pi$  com algum soluto que contenha anel aromático em sua estrutura. Já a presença de uma longa cadeia alquílica no líquido iônico pode fazer com que as interações dispersivas entre o

mesmo e algum soluto com baixa polaridade sejam predominantes (Hantao *et al.*, 2015).

Essa multiplicidade de interações permite que os líquidos iônicos possam ser ajustados complementarmente aos analitos, ou seja, a estrutura dos líquidos iônicos pode ser ajustada para que potencialize algum tipo específico de interação com os compostos que se deseja determinar. Desta forma, a seletividade pode ser bastante favorecida.

Nos últimos anos, a utilização de líquidos iônicos nas diferentes técnicas de preparo de amostra tem crescido consideravelmente. Estudos envolvendo a extração de analitos através da utilização de líquidos iônicos têm sido reportados para SDME (Manzoori, J. *et al.*, 2009; Manzoori, J. L. *et al.*, 2009; Pena-Pereira *et al.*, 2009; Wen *et al.*, 2011), HF-LPME (Abulhassani *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2011; Ge e Lee, 2012) e DLLME (Yousefi e Shemirani, 2010; Zhang *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012). Uma outra técnica de preparo de amostras que foi beneficiada com a utilização dos líquidos iônicos foi a SPME.

No caso da SPME, foram desenvolvidas fases extratoras baseadas em polímeros de líquidos iônicos (PIL) para o uso em cromatografia a gás. Essa síntese de polímeros a partir de líquidos iônicos surgiu através do estudo de Anderson e colaboradores (Zhao, F. *et al.*, 2008), proporcionando a formação de polímeros estáveis termicamente e com boa resistência e estabilidade.

### 2.5.1 Líquidos iônicos poliméricos - PIL

Como brevemente comentado no tópico anterior, os líquidos iônicos poliméricos, ou simplesmente PIL, foram introduzidos como sorventes em SPME no ano de 2008. Esses compostos são polímeros sintetizados a partir de monômeros de líquidos iônicos e apresentam diversas vantagens quando utilizados como fases extratoras em SPME, incluindo boa estabilidade mecânica e térmica e, além disso, a possibilidade de inserção de substituintes em suas estruturas o que pode favorecer a seletividade frente a determinados analitos (Yu *et al.*, 2013).

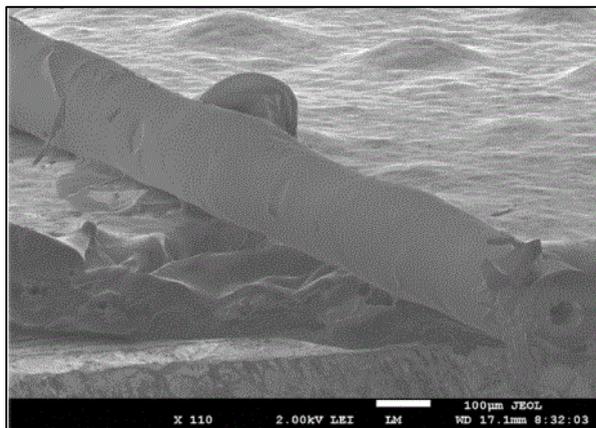
Em relação à estabilidade térmica dessas moléculas, a natureza do ânion desempenha uma influência mais pronunciada se comparada ao cátion. Líquidos iônicos que contêm ânions orgânicos geralmente apresentam estabilidade térmica mais elevada em comparação com os ânions inorgânicos (Ngo *et al.*, 2000). Foi demonstrado também que íons à base de imidazólio apresentam ordem de estabilidade crescente conforme:  $[Cl^-]$ ,  $[Br^-]$ ,  $[I^-] < [BF_4^-] < [CF_3SO_3^-] < [NTf_2^-] < [PF_6^-]$  (Ngo

*et al.*, 2000; Huddleston *et al.*, 2001). As estabilidades térmicas inferiores dos haletos são devido à natureza nucleofílica destes ânions, uma vez que é possível a substituição nucleofílica entre os mesmos e os substituintes alquil dos cátions (Awad *et al.*, 2004; Ho *et al.*, 2011).

Algumas técnicas de produção de fibras contendo líquidos iônicos foram abordadas, incluindo polímeros de líquidos iônicos ligados a partículas de sílica (Wanigasekara *et al.*, 2009), compósitos de líquidos iônicos poliméricos eletroquimicamente depositados (Gao *et al.*, 2011), e compósitos de líquidos iônicos derivados de reações sol-gel (Liu *et al.*, 2010). Além disso, fases extratoras baseadas em líquidos iônicos poliméricos utilizando-se suportes modificados de sílica fundida (Zhao, F. *et al.*, 2008) e aço inoxidável (Feng *et al.*, 2011) também foram descritos.

Mais recentemente, Anderson e colaboradores apresentaram um modo de produção de fibras para SPME baseado na polimerização “*on-fiber*” sem a utilização de solventes (Ho *et al.*, 2012). Esse modo consistiu na aplicação de radiação ultravioleta para a polimerização dos líquidos iônicos, produzindo recobrimentos bastante resistentes e eficientes. A Figura 12 mostra uma micrografia de uma fibra para SPME depois de 50 ciclos de extração, produzida em suporte de sílica fundida através do processo de polimerização descrito nesse parágrafo.

**Figura 12.** Micrografia de fibra para SPME depois de 50 ciclos de extração, produzida em suporte de sílica fundida através do processo de polimerização mediante luz ultravioleta.

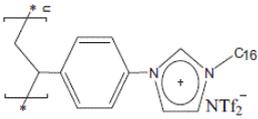
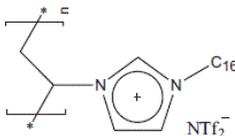
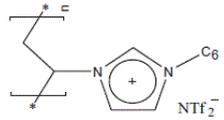
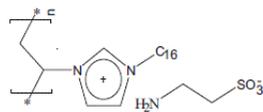


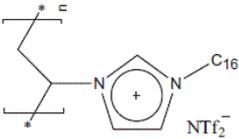
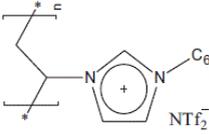
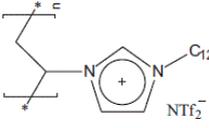
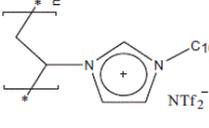
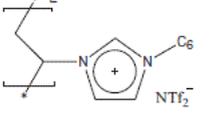
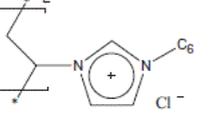
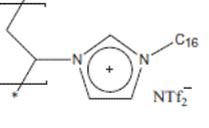
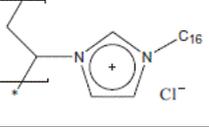
Fonte: (Ho *et al.*, 2012).

Em outro estudo, o mesmo grupo de pesquisas apresentou um avanço nessa metodologia de produção de fibras, através da utilização de suportes de nitinol como base para os recobrimentos poliméricos (Ho, Toledo, *et al.*, 2014). As propriedades da liga formada por Ni e Ti (nitinol) incluindo estabilidade mecânica, robustez e flexibilidade (Nardini *et al.*, 2013) permitiram que a resistência térmica e mecânica das fibras fosse significativamente aumentada se comparada ao suporte de sílica fundida primeiramente utilizado.

Para exemplificar a aplicabilidade desses materiais, é mostrado na Tabela 2 uma lista com alguns estudos previamente publicados. Essa tabela contém os analitos e algumas das características da metodologia utilizada (tempo de extração e temperatura de dessorção) e também o tipo de líquido iônico polimérico empregado nas suas determinações.

**Tabela 2.** Estudos previamente reportados na literatura envolvendo PIL.

Analito	Estrutura do monômero do PIL	Tempo de extração / min	Temperat. de dessorção / °C	Ref
HPA, parabe-nos e fenóis		60	250	(López-Darias <i>et al.</i> , 2010)
				
Dióxido de carbono		20	250	(Zhao, F. Q. <i>et al.</i> , 2008)
				

Ésteres metílicos		100	250	(Meng <i>et al.</i> , 2009)
				
Ésteres metílicos de ácidos graxos		50	250	(Zhao, F. Q. <i>et al.</i> , 2008)
				
			250	
Álcoois, xilenos, octilaldeído, naftaleno, etil-fenil éter, benzonitri-la, 1,2-diclorobenzeno		35	160	(Graham <i>et al.</i> , 2011)
			250	
			160	



## Capítulo III. Objetivos

### 3.1 Objetivo Geral

- Desenvolver e aplicar um modo alternativo de extração para a técnica de SDME e SPME (utilizando PIL) através da utilização da imersão direta (DI) e extração no *headspace* (HS) em um mesmo procedimento de microextração (DI-HS-SDME).

### 3.2 Objetivos Específicos

- Propor a utilização do modo DI-HS-SDME em amostras aquosas contendo analitos de diferentes classes
- Realizar otimizações para a determinação das melhores condições experimentais do modo DI-HS-SDME.
  - Determinar os parâmetros analíticos de mérito, incluindo limite de detecção, limite de quantificação, faixa linear, linearidade, exatidão (ensaios de recuperação) e precisão (desvio padrão relativo) para análises envolvendo DI-HS-SDME
  - Avaliar amostras reais de água de torneira utilizando DI-HS-SDME
  - Produzir fibras para SPME utilizando líquidos iônicos poliméricos como fase extratora
    - Utilizar a microscopia eletrônica de varredura para avaliar os recobrimentos poliméricos produzidos
    - Aplicar o modo de extração DI-HS-SPME na determinação de compostos com comportamentos físico-químicos muito distintos.
    - Comparar as eficiências de extração do modo proposto nesse estudo com os tradicionais modos de DI e HS.
      - Determinar os parâmetros analíticos de mérito tais como limite de detecção, limite de quantificação, faixa linear, linearidade, exatidão (ensaios de recuperação) e precisão (desvio padrão relativo).
      - Determinar compostos com volatilidades bastante distintas em amostras de água de torneira e água de rio.
      - Produzir fibras para SPME compatíveis com cromatografia líquida.
      - Otimizar as condições para a extração de fármacos, fenóis e inseticidas.
      - Determinar os parâmetros analíticos de mérito e avaliar amostras reais de água de torneira e água de lago.



## **Capítulo IV - Determinação simultânea de contaminantes ambientais de diferentes volatilidades em água de torneira utilizando uma nova abordagem para o procedimento de microextração em gota única**

### **4.1 Introdução**

Tendo em vista o enfoque pela busca de configurações simples e eficientes para as técnicas de microextração, bem como a necessidade da determinação de analitos com distintas propriedades físico-químicas, foi proposto um novo modo de extração para a microextração em gota única. Esse modo de extração foi chamado de DI-HS-SDME e foi utilizado para a determinação de compostos possuindo ampla faixa de volatilidade em amostras de água de torneira. Trihalometanos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e hidrocarbonetos possuindo maior volatilidade (benzeno, etil benzeno, *o-m-p*-xileno) foram utilizados como analitos. O tipo de solvente extrator foi otimizado utilizando diferentes solventes comumente empregados em SDME, bem como o volume do mesmo. As condições de extração foram otimizadas mediante planejamento composto central e foram feitas comparações relativas entre as eficiências de extração para os modos de DI-SDME e HS-SDME, bem como utilizando-se a nova abordagem proposta (modo DI-HS-SDME). Os parâmetros analíticos de mérito incluindo LOD, LOQ, faixa linear e precisão foram determinados, também sendo realizados ensaios de recuperação relativa dos analitos em amostras de água de torneira coletadas diretamente no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria Atômica do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

### **4.2 Materiais e métodos**

#### **4.2.1 Instrumentação**

Para a realização desse estudo foi utilizado um cromatógrafo a gás equipado com detector por espectrometria de massas modelo GC-MS-QP 2010 Plus Shimadzu (Shimadzu Inc., Kyoto, Japão). Esse instrumento possui injetor com e sem divisão de fluxo e gás hélio de alta pureza como gás de arraste. Foi utilizada coluna cromatográfica capilar modelo Restek Rtx® com dimensões 30 m x 0,25 mm 0,25  $\mu$ m (Restek, Bellefonte, Estados Unidos). A programação de temperatura utilizada

para o forno do cromatógrafo foi iniciada em 40 °C (mantida por 10 min), 20 °C min<sup>-1</sup> até 80 °C e 6 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C (mantida por 3 min). A temperatura do injetor foi ajustada a 260 °C e a da fonte de ionização e da interface a 270 °C e 280 °C, respectivamente. O fluxo de gás hélio foi mantido em 1,0 mL min<sup>-1</sup>, com injeção no modo de divisão de fluxo na razão de 1:10. O espectrômetro de massas foi ajustado no modo de impacto de elétrons a uma energia de 70 eV. As análises foram realizadas no modo SIM (do inglês, *selected ion monitoring*) e a escolha das *m/z* foi baseada nos espectros de massa fornecidos pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST, do inglês *National Institute of Standards and Technology*) e são apresentadas na Tabela 3, sendo a *m/z* marcada em negrito utilizada para a quantificação. A aquisição de dados foi realizada mediante *software GC-Solution* (Shimadzu).

**Tabela 3.** Relação de *m/z* selecionadas para análises no espectrômetro de massas, os valores em negrito representam os fragmentos utilizados para a quantificação.

Analito	Íons selecionados
clorofórmio	47/ <b>83</b> /85
bromodichlorometano	47/ <b>83</b> /85
dibromoclorometano	127/ <b>129</b> /131
bromofórmio	171/ <b>173</b> /175
benzeno	51/77/ <b>78</b>
etil benzeno	51/106/ <b>91</b>
<i>p-m</i> xileno	<b>91</b> /105/106
<i>o</i> -xileno	<b>91</b> /105/106
acenaftileno	151/ <b>152</b> /153
fluoreno	165/ <b>166</b> /167
fenantreno	176/ <b>178</b> /179
antraceno	176/ <b>178</b> /179
benzo(a)antraceno	226/ <b>228</b> /229
criseno	226/ <b>228</b> /229
pireno	200/ <b>202</b> /203

### 4.2.2 Materiais em geral

Para a realização deste estudo foram utilizados os materiais listados abaixo:

- Frascos hermeticamente vedados com septos de PTFE/Silicone (Supleco, Bellefonte, EUA).
- Balança analítica modelo AY 220 Marte (Mars Trade, Instrumentação Analítica, São Paulo, Brasil).
- Banho termostatizado modelo NT 269 (Nova Técnica, São Paulo, Brasil).
- Banho termostatizado (Microquimica Ind. e Com Ltda, Palhoça, Santa Catarina, Brasil).
- Agitadores magnéticos modelo MQAMA 301 (Microquimica Ind. e Com Ltda, Palhoça, Santa Catarina, Brasil).
- Microesseringa de 10  $\mu\text{L}$  tipo *gas tight* modelo 1700 marca Hamilton (Hamilton, Reno, EUA).
- Balões volumétricos com capacidade de 10 mL.
- Micropipetadores com capacidade variável (100 – 5000  $\mu\text{L}$ ) (Labmate, Polônia, Digipet).

### 4.2.3 Reagentes e soluções

Os seguintes reagentes e soluções foram utilizados:

- Cloreto de sódio P.A. (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).
- 1-octanol, tolueno, *n*-hexano, acetona, metanol todos com 99% ou mais de pureza (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).
- Água ultrapurificada (Mega Purity, Billerica, EUA).
- Soluções estoque de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em acetona contendo acenafileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, benzo(a)antraceno, criseno e pireno (Supelco, Bellefonte, EUA) na concentração de 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .
- Solução estoque de THM contendo clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio na concentração de 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em metanol (Supelco).
- Solução estoque contendo benzeno, tolueno, etilbenzeno, *o-p-m*-xileno na concentração de 2000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em metanol (Supelco).

### 4.3 Parte Experimental

#### 4.3.1 Escolha do solvente extrator e otimização do volume da gota

A seleção do solvente extrator foi realizada utilizando-se *n*-hexano, tolueno e 1-octanol. Soluções aquosas contendo  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de trihalometanos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e hidrocarbonetos possuindo maior volatilidade (benzeno, etil benzeno, *o*-*m*-*p*-xileno) foram submetidas às microextrações utilizando-se  $1,0 \mu\text{L}$  de cada solvente. Os modos de HS e DI foram empregados para verificar o solvente que apresentou maior eficiência e estabilidade. A estabilidade da gota de solvente orgânico foi verificada univariadamente, utilizando-se tempo de extração de 40 minutos e as temperaturas de 20, 30 e 45 °C, sendo empregadas amostras de 10 mL de água ultrapurificada.

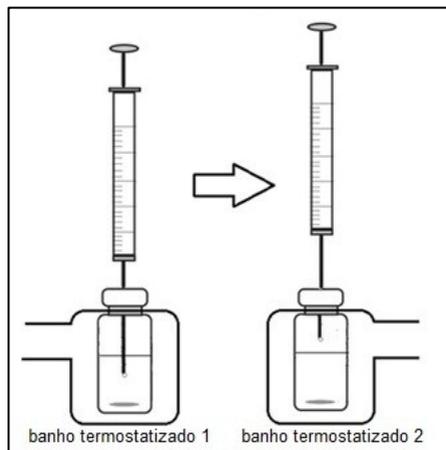
Após a escolha do solvente extrator, o volume da microgota também foi otimizado. Amostras de 10 mL de água ultrapurificada contendo  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito e volumes de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0  $\mu\text{L}$  foram empregados. Para o modo HS foi utilizada temperatura de extração de 20 °C e tempo de extração de 20 minutos. Em relação ao modo DI, uma temperatura de 40 °C e tempo de extração de 30 minutos foram utilizados.

#### 4.3.2 Procedimento experimental para a SDME

Os procedimentos de SDME foram realizados em três modos distintos (HS, DI e DI-HS), para o modo HS e o modo de DI apenas um banho termostaticado foi utilizado e a temperatura foi ajustada de acordo com as condições de extração desejadas. Após o tempo necessário para a extração, o solvente foi retraído para o interior da microsseringa e esta conduzida ao injetor do cromatógrafo a gás, para a dessorção térmica.

Para a abordagem DI-HS-SDME, dois banhos termostaticados foram dispostos lado a lado para facilitar a transferência do frasco que continha a amostra aquosa e a microsseringa. Um esquema do procedimento de microextração empregado para o modo DI-HS-SDME é mostrado na Figura 13.

**Figura 13.** Esquema do procedimento de DI-HS-SDME proposto nesse estudo.



Fonte: Autoria própria (2015).

Inicialmente, o modo de microextração em DI foi realizado no banho termostatizado 1, após o tempo de extração necessário, a microgota de solvente orgânico foi retraída para o interior da microseringa e o frasco contendo a amostra e a microseringa foi transferido para o banho termostatizado 2.

Utilizando-se o banho termostatizado 2, a microgota foi exposta novamente, desta vez no *headspace* da amostra. Após o tempo de extração necessário no modo HS, a microgota foi novamente retraída e a microseringa contendo o solvente foi conduzida ao injetor do cromatógrafo a gás para posterior determinação cromatográfica.

#### 4.2.3 Otimização das condições de extração

A determinação das condições otimizadas de extração foi realizada através da aplicação de planejamentos compostos centrais em cada modo (DI, HS e DI-HS-SDME). As variáveis estudadas no planejamento multivariado foram o tempo e temperatura de extração, bem como a modificação da força iônica da amostra aquosa através da adição de NaCl.

Para o modo DI-HS-SDME foram utilizadas como variáveis o tempo total da extração, o percentual de tempo no modo HS e a adição

de cloreto de sódio na amostra. Nas Tabelas 4 e 5 são mostradas as matrizes de experimentos para os diferentes modos de extração.

**Tabela 4.** Matriz de experimentos para o planejamento composto central utilizando os modos DI-SDME e HS-SDME.

	Modo de extração					
	DI			HS		
	Tempo (min)	Temperat. (°C)	NaCl (g)	Tempo (min)	Temperat. (°C)	Na Cl (g)
Exp. 1	40	35	0,8	20	20	0,8
Exp. 2	40	55	2,8	20	50	2,8
Exp. 3	80	35	2,8	50	20	2,8
Exp. 4	80	55	0,8	50	50	0,8
Exp. 5	60	45	1,8	35	35	1,8
Exp. 6	40	35	2,8	20	20	2,8
Exp. 7	40	35	0,8	20	50	0,8
Exp. 8	80	55	0,8	50	20	0,8
Exp. 9	80	55	2,8	50	50	2,8
Exp.10	60	45	1,8	35	35	1,8
Exp. 11	26	45	1,8	10	35	1,8
Exp. 12	94	45	1,8	60	35	1,8
Exp. 13	60	28	1,8	35	10	1,8
Exp. 14	60	62	1,8	35	60	1,8
Exp. 15	60	45	0	35	35	0
Exp. 16	60	45	3,6	35	35	3,6
Exp. 17	60	45	1,8	35	35	1,8

**Tabela 5.** Matriz de experimentos para o planejamento composto central utilizando o modo DI-HS-SDME.

Modo de extração DI-HS-SDME			
	Tempo (min)	% do tempo no modo HS	NaCl (g)
Exp. 1	40	20	0,8
Exp. 2	40	80	2,8
Exp. 3	80	20	2,8
Exp. 4	80	80	0,8
Exp. 5	60	50	1,8
Exp. 6	40	20	2,8
Exp. 7	40	80	0,8
Exp. 8	80	20	0,8
Exp. 9	80	80	2,8
Exp. 10	60	50	1,8
Exp. 11	26	50	1,8
Exp. 12	94	50	1,8
Exp. 13	60	0	1,8
Exp. 14	60	100	1,8
Exp. 15	60	50	0
Exp. 16	60	50	3,6
Exp. 17	60	50	1,8

Os valores correspondentes às médias geométricas obtidas em cada experimento (para todos os analitos) foram levados em consideração para a construção das superfícies de resposta. Este tratamento estatístico foi realizado através do software *Statistica* 8.0. A partir dos pontos de máxima resposta, foram obtidos os valores ideais das condições de extração em cada modo abordado.

#### 4.3.4 Comparação da eficiência de extração entre os modos DI, HS e DI-HS-SDME

Após a determinação das condições ideais, foi realizada uma comparação da eficiência de extração de cada analito frente aos diferentes modos estudados. Neste caso, pode-se verificar o comportamento dos analitos com distintas propriedades físico-químicas

o que é particularmente interessante para amostras contendo diversos compostos de interesse.

#### **4.4.4 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito e análise de amostras reais**

Tendo como base as condições otimizadas de extração para o modo DI-HS-SDME foram determinados os parâmetros analíticos de mérito, incluindo linearidade, faixa linear, precisão, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ). Para a construção da curva de calibração foi utilizado o método de adição de padrão sendo realizadas extrações em 5 diferentes concentrações para cada analito.

O LOQ foi obtido de acordo com estudos previamente reportados na literatura (Dias *et al.*, 2013; Merib, Simao, *et al.*, 2013). O valor de LOQ foi calculado como o primeiro ponto da faixa linear dos analitos. O LOD foi obtido mediante a divisão do valor de LOQ por 3,3.

A exatidão do método foi avaliada mediante ensaios de recuperação relativa dos analitos em amostras reais de água de torneira. As amostras foram obtidas no Laboratório de Cromatografia e Absorção Atômica do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, sendo analisadas imediatamente após a coleta.

### **4.5 Resultados e discussão**

#### **4.5.1 Escolha do solvente extrator**

Um parâmetro de fundamental importância em técnicas de microextração em fase líquida é o tipo de solvente empregado. Desta forma, uma otimização para a escolha do solvente mais adequado em cada caso é de extrema necessidade. Essa escolha dependerá tanto das propriedades físico-químicas tanto do solvente orgânico utilizado, como das características dos analitos e da matriz em questão.

Dentre as características desejáveis para um bom solvente extrator em SDME estão a insolubilidade ou baixa solubilidade em água (se o modo DI for aplicado), compatibilidade com a técnica de determinação analítica, baixa volatilidade, alta pureza devido à possibilidade de conter interferentes e baixa toxicidade (Kokosa *et al.*, 2009).

Neste estudo foram avaliados os solventes orgânicos *n*-hexano, tolueno e 1-octanol. A estabilidade desses solventes tanto no modo HS

como no modo DI foi estudada devido à utilização de ambos os modos de extração em um mesmo procedimento. Para estes experimentos foram utilizadas as condições de extração previamente mencionadas na seção experimental desse capítulo.

Levando em consideração a estabilidade da microgota e a volatilidade do solvente extrator, os melhores resultados foram obtidos utilizando-se 1-octanol. Quando o *n*-hexano foi empregado foram observados alguns problemas no modo HS devido à alta pressão de vapor desse solvente comparado aos demais testados, com isso, o volume da microgota foi reduzido drasticamente durante a exposição no HS da amostra aquosa, impossibilitando a injeção no cromatógrafo.

Com o emprego de tolueno foi observada uma significativa diminuição do volume da microgota para o modo DI. Esse fato pode ser explicado devido à constante de partição tolueno:água ser mais elevada para o tolueno em relação aos demais solventes testados.

Tendo em vista o comportamento dos solventes orgânicos, o 1-octanol apresentou maior estabilidade e resultados mais precisos. Essa estabilidade do 1-octanol pode ser explicada devido à baixa solubilidade em água, baixa pressão de vapor, cadeia carbônica relativamente longa a qual pode acomodar moléculas de analito com baixa polaridade. Além disso, a presença de grupos hidroxila pode ser importante para a estabilização de grupos funcionais polares presentes nas moléculas (Kokosa *et al.*, 2009).

#### 4.5.2 Volume da microgota

Nos procedimentos envolvendo SDME geralmente são empregados volumes de solventes orgânicos entre 1 e 3  $\mu\text{L}$ . Apesar de volumes maiores possibilitarem um aumento na taxa de extração, pode também ocorrer o desprendimento da microgota da extremidade da agulha da microsseringa (Borges *et al.*, 2015). Em extrações no modo DI, a utilização de agitação da amostra pode potencializar a instabilidade da microgota.

Volumes de microgota de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0  $\mu\text{L}$  de 1-octanol foram avaliados nesse estudo. O volume de 2,0  $\mu\text{L}$  apresentou problemas de estabilidade no modo DI comparado aos demais volumes estudados, neste caso a microgota foi frequentemente perdida durante a realização dos experimentos. Entre os volumes de 0,5; 1,0 e 1,5; este último apresentou uma maior eficiência de extração, provavelmente em

virtude de apresentar uma maior quantidade de fase extratora o que proporcionou uma extração mais efetiva dos analitos.

Outro importante fator referente à microgota é o formato da ponta da microsseringa utilizada. Essa ponta deve permitir, além de uma boa estabilidade, uma grande área de contato entre o solvente orgânico e a amostra. Neste trabalho foi utilizada uma microsseringa com ponta curvada a 22°, a qual é definida como uma das melhores para utilização nesse tipo de microextração visto que aproximadamente de 95 a 98% da gota pode ser recuperada pela microsseringa e levada ao instrumento de análise (Kokosa *et al.*, 2009).

#### **4.5.3 Otimização das condições de extração**

Para a determinação das condições ideais de extração nos modos HS-SDME, DI-SDME e DI-HS-SDME, planejamentos compostos centrais foram realizados conforme tabela previamente mencionada neste trabalho. Os analitos foram divididos em dois grupos distintos incluindo o grupo dos compostos mais voláteis (THM, benzeno, etil benzeno e xilenos) e um segundo grupo para os compostos menos voláteis (HPA).

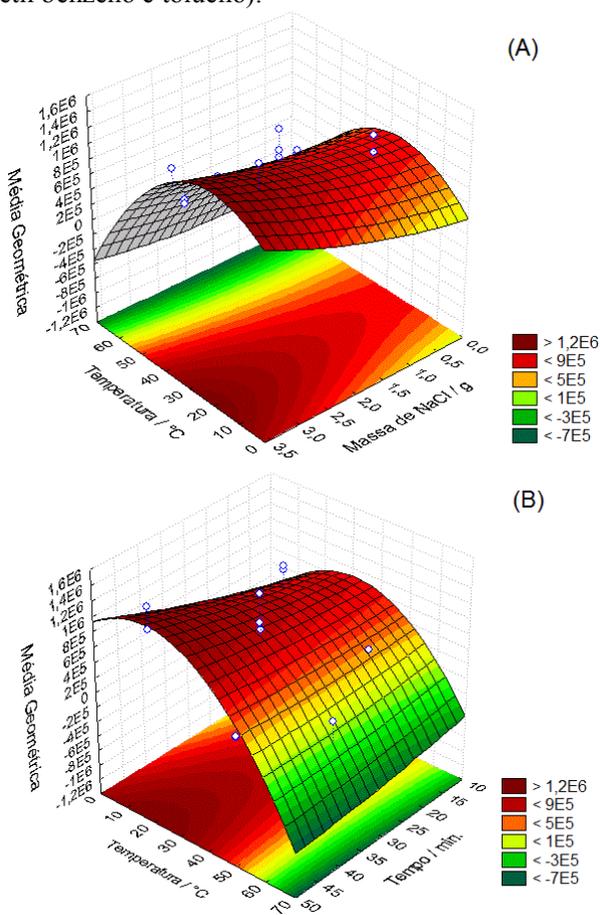
##### **4.5.3.1 Otimização para o modo HS-SDME**

Para a otimização no modo HS-SDME, somente a média geométrica para o primeiro grupo de compostos foi levada em consideração, devido a uma maior eficiência de extração para esse grupo de compostos utilizando-se o modo HS.

A média geométrica foi usada em virtude de alguns compostos apresentarem áreas cromatográficas muito superiores a outros, o que poderia ocasionar alguns problemas para a determinação da condição otimizada de extração. Desta forma, a utilização da média geométrica pode reduzir esse efeito.

Foram construídas superfícies de resposta para a obtenção das condições ideais de extração em cada modo abordado nesse estudo. Na Figura 14 (A e B) são mostradas superfícies correspondentes ao modo HS-SDME utilizando-se as variáveis tempo e temperatura de extração, bem como massa de NaCl adicionada na amostra.

**Figura 14.** Superfícies de resposta obtidas para o modo HS-SDME, considerando a área cromatográfica dos compostos mais voláteis (THM, benzeno, etil benzeno e tolueno).



Fonte: Autoria própria (2015).

De acordo com as superfícies de resposta e considerando somente os compostos com maior volatilidade, eficiências de extração mais elevadas foram obtidas com um tempo de extração de 35 minutos, temperatura de extração em 15 °C e 3,2 g de NaCl adicionados na amostra. Com o objetivo da utilização sequencial dos modos DI e HS

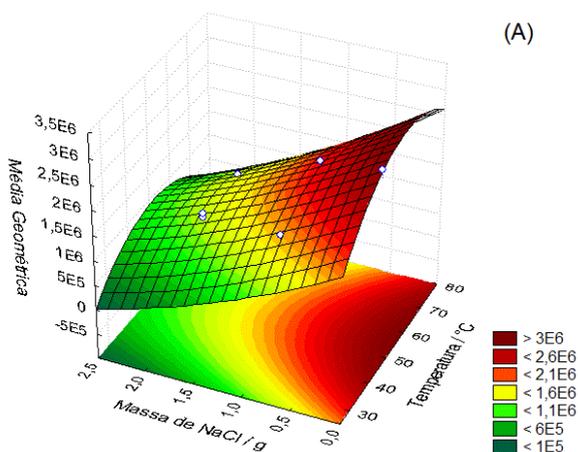
em um mesmo procedimento de microextração, esta temperatura otimizada para o modo HS (15 °C) foi utilizada posteriormente para o modo DI-HS-SDME. Os dados referentes às equações das superfícies e à tabela ANOVA estão dispostos no apêndice I deste documento.

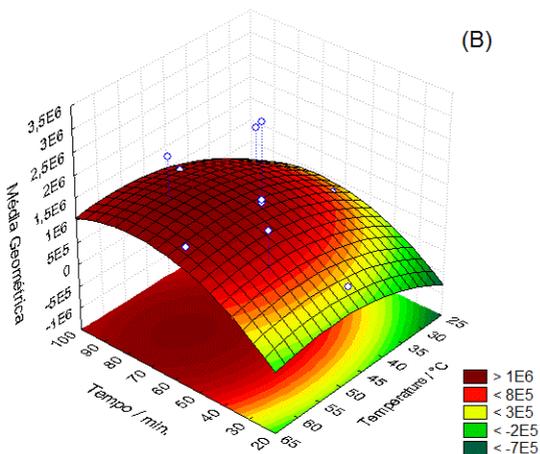
#### 4.5.3.2 Otimização para o modo DI-SDME

As condições de extração para o modo DI-SDME foram também otimizadas através de um planejamento composto central. A matriz de experimentos realizados para esse planejamento está disposta na Tabela 4, previamente discutida.

Uma estratégia de otimização similar à aplicada no modo HS foi realizada para a determinação das condições ideais no modo DI. Porém, contrariamente à utilização da área cromatográfica dos compostos mais voláteis, desta vez os valores obtidos para os compostos menos voláteis pertencentes ao segundo grupo (HPA) foram levadas em consideração. Neste caso, a média geométrica para esses compostos foi também utilizada, sendo as superfícies de resposta mostradas na Figura 15 (A e B).

**Figura 15.** Superfícies de resposta obtidas para o modo DI-SDME, considerando a área cromatográfica dos compostos menos voláteis (HPA).





Fonte: Autoria própria (2015).

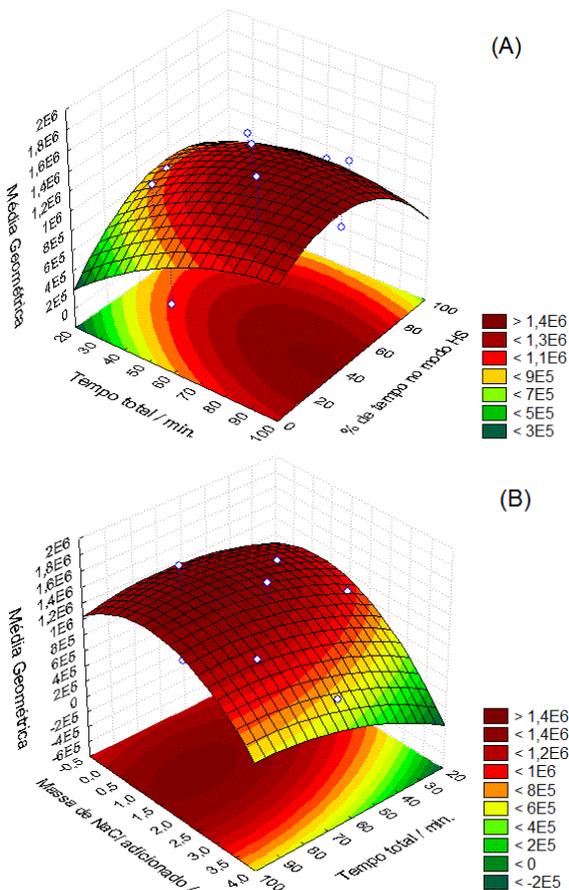
Como pode ser observado através das superfícies de resposta na Figura 15, as condições que proporcionaram extrações mais eficientes desses compostos em DI-SDME foram obtidas com tempo de extração de 50 minutos ou mais, temperatura de extração de 40°C e 0,2 g de NaCl adicionado na amostra. Os dados referentes às equações das superfícies e à tabela ANOVA estão dispostos no apêndice II deste documento.

#### 4.5.3.3 Otimização para o modo DI-HS-SDME

Para a otimização do modo DI-HS-SDME foram utilizados os valores previamente otimizados para temperatura de extração nos modos DI (40 °C) e HS (15 °C). Tendo esses valores já definidos, as outras variáveis estudadas nesse modo de extração foram a massa de NaCl adicionada na solução, o tempo total de extração e o percentual desse tempo no qual a extração no modo HS foi realizada.

Com o objetivo de criar uma condição compromisso para a eficiência de extração entre todos os analitos, a média geométrica correspondendo a todos os compostos estudados foi levada em consideração como resposta. As superfícies de resposta obtidas estão mostradas na Figura 16 (A e B).

**Figura 16.** Superfícies de resposta obtidas para o modo DI-HS-SDME, considerando a área cromatográfica de todos os compostos abordados nesse estudo.



Fonte: Autoria própria (2015).

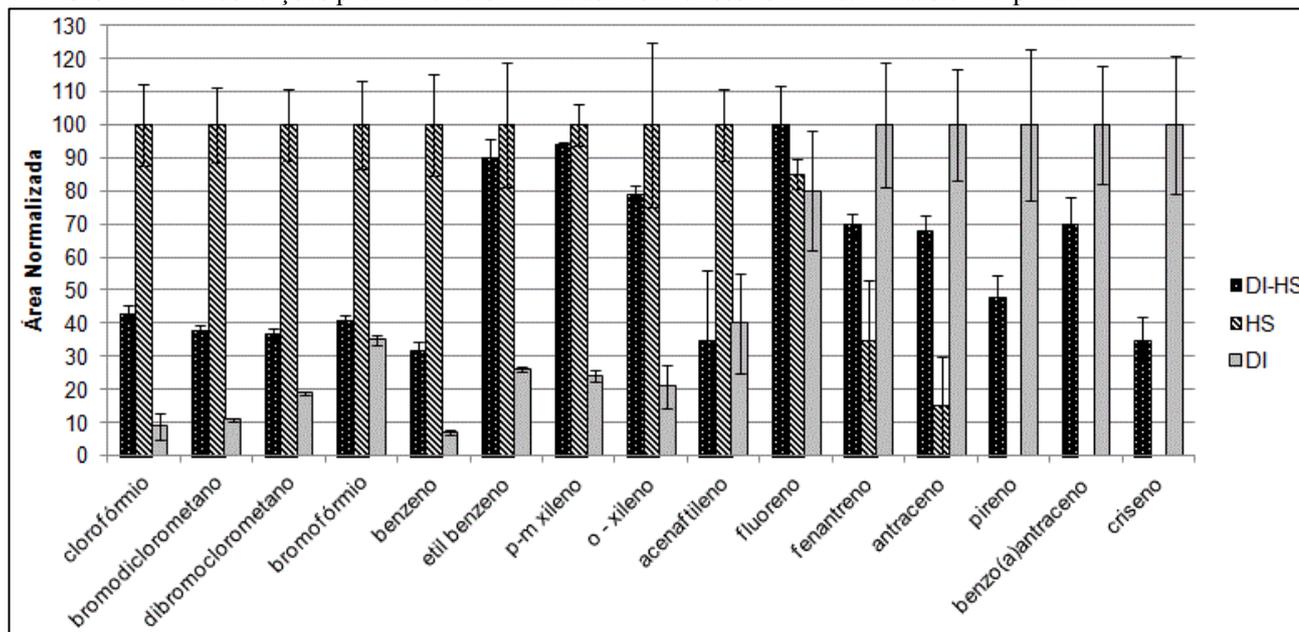
De acordo com as superfícies de resposta da Figura 16, pode ser observado que um tempo total de extração de 80 minutos utilizando-se 40% desse tempo (32 minutos) no modo HS obteve-se extrações mais eficientes. Em relação à massa de NaCl adicionada na amostra, observou-se que 1,2 g foi a condição ideal para esta variável. Os dados referentes às equações das superfícies e à tabela ANOVA estão dispostos no apêndice III deste documento.

#### **4.5.4 Comparação entre a eficiência de extração para os diferentes modos**

Foi observado que a extração dos compostos com menor volatilidade (HPA com maior massa molecular) foi prejudicada utilizando-se o modo HS. Em contrapartida, a extração dos compostos possuindo maior volatilidade (THM, benzeno, etil benzeno e xilenos) apresentou boa eficiência utilizando-se HS-SDME em comparação com DI-SDME. Para o modo DI-SDME foi observado o inverso, sendo extraídos com maior eficiência os compostos com maior massa molecular (HPA). Tendo em vista essa grande diferença na eficiência de extração, a utilização sequencial dos modos DI e HS em um mesmo procedimento foi proposta.

Após a realização das otimizações em cada modo (DI, HS e DI-HS), a eficiência de extração foi avaliada. Para a realização dessa comparação, as condições experimentais otimizadas para cada modo foram utilizadas. Um gráfico de barras contendo a área cromatográfica normalizada para cada composto em estudo é mostrado na Figura 17.

**Figura 17.** Gráfico de barras relacionando a área cromatográfica normalizada para cada analito nos modos HS, DI e DI-HS-SDME em condições previamente otimizadas. As análises foram realizadas em triplicata.



Fonte: Autoria própria (2015).

O gráfico de barras mostrado na Figura 17 é bastante útil para a avaliação do comportamento individual dos analitos frente aos modos de extração abordados nesse trabalho. Como pode ser observado, o modo HS apresentou a melhor eficiência de extração para os analitos mais voláteis, incluindo todos os THM e também benzeno, etilbenzeno e xilenos. Além disso, a utilização desse modo também permitiu uma maior eficiência de extração para o acenaftileno.

Entretanto, o modo HS não apresentou desempenho satisfatório na extração de compostos com massa molecular mais elevada (HPA com maior ponto de ebulição) incluindo o pireno, benzo(a)antraceno e criseno, para os quais não foi possível a determinação de valores correspondentes à área cromatográfica, visto que a eficiência de extração foi bastante prejudicada.

Em contrapartida, a eficiência de extração para o modo DI apresentou resultados satisfatórios para os analitos com massa molecular mais elevada (HPA). Entretanto, um desempenho muito inferior pode ser visto para os compostos mais voláteis (THM, benzeno, etilbenzeno e xilenos) quando esse modo de extração foi utilizado.

Considerando-se amostras que contenham analitos com características físico-químicas bastante distintas, é extremamente complicada a definição de qual modo de extração será o mais favorável (DI ou HS), tendo em vista, em muitas vezes, a alta gama e diversidade de compostos presentes em algumas amostras. Com isso, a utilização sequencial (DI-HS) dos dois modos de extração aparece como uma alternativa bastante interessante devido à presença de diversas classes de analitos.

Como abordado anteriormente, o modo HS apresentou excelentes resultados para os compostos mais voláteis, entretanto para compostos menos voláteis, o modo DI teve um desempenho melhor. Invariavelmente, a escolha de um ou outro modo de extração irá proporcionar uma significativa redução na eficiência de extração de alguns compostos. Todavia, utilizando-se a combinação dos dois modos de extração (DI-HS-SDME), foi obtida uma condição “compromisso” de extração entre os diversos analitos.

O modo DI-HS-SDME permitiu que todos os compostos fossem extraídos em um único procedimento de microextração e com uma eficiência satisfatória. Esse modo surge como uma excelente alternativa para os modos tradicionais (DI e HS) em SDME, aliando a simplicidade e baixo custo das análises com boa capacidade de extração de diversos tipos de compostos. Um excelente campo de aplicação para esse modo

de extração são amostras aquosas ambientais, onde podem estar presentes contaminantes com distintas propriedades físico-químicas.

#### **4.5.5 Parâmetros analíticos de mérito utilizando-se o modo DI-HS-SDME**

Os parâmetros analíticos de mérito previamente citados na seção experimental foram determinados com a utilização do modo DI-HS-SDME. Para avaliação da exatidão do método, amostras de água de torneira foram fortificadas com concentrações conhecidas de cada analito e as análises foram realizadas em triplicata. Os valores obtidos estão dispostos na Tabela 6.

**Tabela 6.** Parâmetros analíticos de mérito obtidos através de DI-HS-SDME em amostras aquosas

Composto	Faixa Linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$R^2$	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD no menor nível (%)	RSD no maior nível (%)	Rec. relativa no menor nível (%)	Rec. relativa no menor nível (%)
clorofórmio	20 – 200	0,9940	6	20	17	12	108	98
bromodiclorometano	20 – 200	0,9979	6	20	18	6	97	99
dibromoclorometano	20 – 200	0,9976	6	20	15	9	75	96
bromofórmio	20 – 200	0,9911	6	20	10	2	125	101
benzeno	0,3 – 10	0,9898	0,09	0,3	19	13	97	99
etil benzeno	0,1 – 10	0,9934	0,03	0,1	5	9	71	101
<i>p,m</i> -xileno	0,5 – 10	0,9784	0,15	0,5	4	22	84	96
<i>o</i> -xileno	0,1 – 5	0,9767	0,03	0,1	2	13	86	93
acenaftileno	2 – 15	0,9968	0,6	2	18	4	65	100
fluoreno	1 – 15	0,9699	0,3	1	25	17	118	94
fenantreno	0,5 – 10	0,9990	0,15	0,5	12	13	72	99
antraceno	0,5 – 10	0,9998	0,15	0,5	12	12	97	99
benzo(a)antraceno	0,5 – 15	0,9851	0,15	0,5	5	25	82	105
criseno	1 – 15	0,9725	0,3	1	2	15	84	108
pireno	1 – 15	0,9943	0,3	1	12	8	104	98

Níveis menores de fortificação: THM – 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; benzeno, etil benzeno and xilenos – 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  and HPA – 2  $\mu\text{g L}^{-1}$  (n=3). Níveis maiores de fortificação: THM – 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; benzeno, etil benzeno and xilenos – 5  $\mu\text{g L}^{-1}$  and HPA – 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  (n=3).

Como pode ser observado através da Tabela 6, foram obtidos aceitáveis parâmetros analíticos de mérito para os compostos em estudo. Os valores de desvio padrão relativo variaram entre 2% obtidos para o *o*-xileno e bromofórmio, e 25% para o benzo(a)antraceno e fluoreno. Em relação aos valores obtidos para a recuperação relativa estes variaram entre 65 e 125% para o acenaftileno e o bromofórmio, respectivamente.

As faixas lineares obtidas para os THM variaram entre 20 e 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  com limites de detecção na ordem de 6  $\mu\text{g L}^{-1}$ , com  $R^2$  variando entre 0,9911 e 0,9979 para o bromofórmio e bromodichlorometano, respectivamente. Esses resultados foram similares aos obtidos por Maia e colaboradores (Maia *et al.*, 2014) que determinaram os níveis de trihalometanos em águas de piscina utilizando SPME e cromatografia gasosa equipada com detector por captura de elétrons.

Em relação ao benzeno, etil benzeno e xilenos, as faixas lineares obtidas variaram de 0,1 a 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , com  $R^2$  entre 0,9767 e 0,9934 para o *o*-xileno e etil benzeno, respectivamente. Limites de detecção foram de 0,03  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o etil benzeno e o *o*-xileno, e de 0,15  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o *p*-*m*-xileno.

Para os HPA, as faixas lineares obtidas variaram entre 0,5 e 15  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Com  $R^2$  variando entre 0,9699 para o fluoreno e 0,9998 para o antraceno, e limites de detecção variando de 0,15  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o fenantreno, antraceno e benzo(a)antraceno, e 0,6  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o acenaftileno. Os valores obtidos neste estudo para benzeno, etil benzeno, xilenos e HPA utilizando-se DI-HS-SDME foram similares aos obtidos por Bianchin e colaboradores obtidos utilizando SPME e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (Bianchin *et al.*, 2012).

As técnicas de SPME e SDME são técnicas de preparo de amostras eficientes e com reduzido impacto ambiental se comparadas às técnicas clássicas de preparo de amostras. Entretanto, a SPME possui um custo de análise mais elevado comparada à SDME, sendo este um fator que também deve ser levado em consideração na escolha da técnica a ser aplicada. Desta forma, como proposto neste estudo, a SDME com a utilização sequencial dos modos de DI e HS aparece como uma técnica extremamente versátil principalmente para amostras aquosas ambientais, aliando baixo custo e boas eficiências de extração, bem como a possibilidade da determinação de diversos analitos em uma única análise.

#### 4.5.6 Análises de amostras reais

As amostras de água de torneira foram coletadas diretamente no Laboratório de Cromatografia e Absorção Atômica da Universidade Federal de Santa Catarina. Após a coleta, as amostras foram submetidas às extrações pelo modo DI-HS-SDME utilizando-se as condições previamente otimizadas neste estudo. Os dados contidos na Tabela 7 mostram os valores encontrados para as concentrações dos possíveis contaminantes ambientais nas amostras.

**Tabela 7.** Valores de concentração obtidos para amostras reais de água de torneira utilizando DI-HS-SDME e GC-MS-SIM.

Composto	Concentração	Concentração
	encontrada amostra 1 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	encontrada amostra 2 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
clorofórmio	$47 \pm 2.5$	$42 \pm 2.2$
bromodichlorometano	DE	DE
dibromochlorometano	ND	ND
bromofórmio	ND	ND
benzeno	ND	ND
etil benzeno	DE	DE
<i>p,m</i> -xileno	DE	DE
<i>o</i> - xileno	DE	DE
acenaftileno	ND	ND
fluoreno	ND	ND
fenantreno	ND	ND
antraceno	ND	ND
benzo(a)antraceno	ND	ND
criseno	ND	ND
pireno	ND	ND

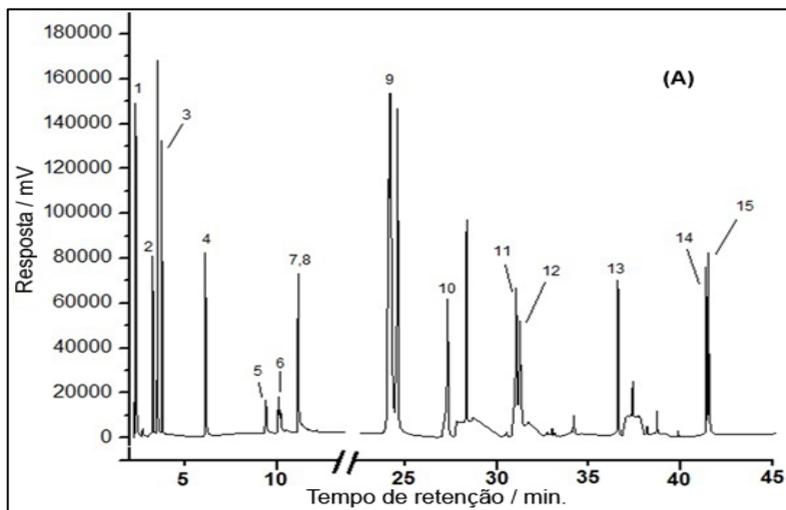
DE: Detectado, porém com concentração abaixo do LOQ.

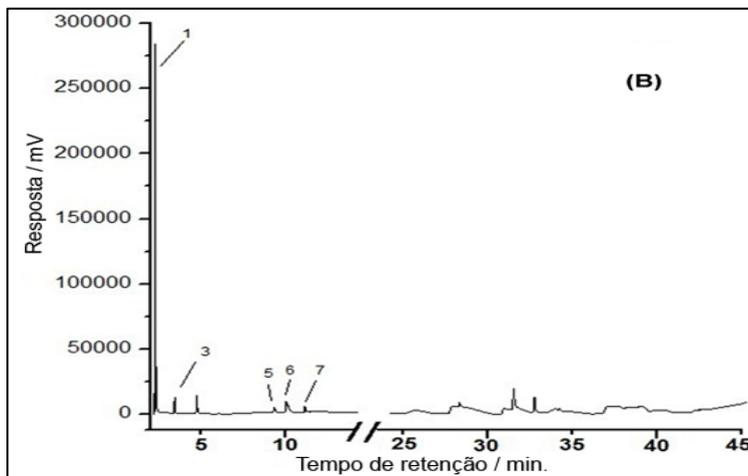
ND: Não detectado.

Através dos valores dispostos na Tabela 7 pode ser visto que alguns dos contaminantes estudados foram encontrados nas amostras de água de torneira avaliadas. Um cromatograma obtido com a utilização de GC-MS-SIM de uma amostra de água ultra purificada fortificada com  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de THM,  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  de benzeno, etil benzeno e xilenos, e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de HPA está mostrado na Figura 18-A, também é mostrado um cromatograma obtido de uma amostra real obtida diretamente no

Laboratório de Cromatografia e Absorção Atômica da Universidade Federal de Santa Catarina (Figura 18-B).

**Figura 18.** Cromatogramas obtidos através de GC-MS-SIM de uma amostra de água ultrapurificada fortificada com  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de THM,  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  de benzeno, etil benzeno e xilenos, e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de HPA (A) e de uma amostra real de água de torneira (B) Os compostos presentes nos cromatogramas acima são: 1) clorofórmio; 2) benzeno; 3) bromodiclorometano; 4) dibromoclorometano; 5) etil benzeno; 6) *p,m*-xileno; 7) *o*-xylene; 8) bromofórmio; 9) acenaftileno; 10) fluoreno; 11) fenantreno; 12) antraceno; 13) pireno; 14) benzo(a)antraceno; 15) criseno.





Fonte: Autoria própria (2015).

O composto encontrado em concentração mais elevada em ambas as amostras de água de torneira foi o clorofórmio, com valores ao redor de  $40 \mu\text{g L}^{-1}$ . A presença desse composto pode ser explicada em virtude do uso do tratamento químico com cloro. Isso é feito com a finalidade de inativar alguns microorganismos patogênicos na água. O cloro livre pode reagir com a matéria orgânica presente e gerar alguns compostos de trihalometanos.

O bromodiclorometano também foi encontrado, porém em concentrações menores que o LOQ. A agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*) e da União Europeia apresentam limites de 80 e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, para a soma dos compostos clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio em amostras de água potável (Rodriguez-Cabo *et al.*, 2012).

Etil benzeno e todos os xilenos foram detectados nas amostras de água de torneira analisadas. Esses compostos também são caracterizados como contaminantes ambientais, sendo estabelecidos limites máximos de concentração pela USEPA de 700  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o etil benzeno e de 10000  $\mu\text{g L}^{-1}$  para os xilenos em água potável (Nollet, 2006; Li *et al.*, 2010). Nas amostras de água de torneira estudadas, as concentrações encontradas de etil benzeno e xilenos ficaram abaixo do LOQ. Em relação ao grupo de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, nenhum

dos compostos em estudo foi detectado nas amostras de água de torneira analisadas.

#### **4.6 Conclusão parcial**

A proposta de uma nova abordagem de extração em microextração em gota única permitiu a extração dos compostos em estudo com satisfatória eficiência. Os dados correspondentes aos parâmetros analíticos de mérito obtidos também foram muito satisfatórios e similares a estudos já reportados na literatura. Aliado a um bom desempenho analítico, pode ser citado o custo extremamente baixo da metodologia proposta se comparada a SPME utilizando-se fibras comerciais, por exemplo. Comparado aos modos HS e DI utilizados separadamente, com o modo DI-HS foi possível a obtenção de uma condição “compromisso” de extração entre os diferentes compostos, tendo em vista os distintos comportamentos dos mesmos principalmente no que se refere à volatilidade. Essa característica torna essa metodologia bastante interessante para amostras contendo analitos com comportamentos físico-químicos distintos, principalmente na área de determinação de contaminantes diversos tipos de amostras aquosas, incluindo amostras de água proveniente de rios, lagos e também em águas residuais. Como possíveis desvantagens dessa metodologia está a instabilidade da microgota de solvente orgânico, sendo esta muito dependente da taxa de agitação empregada na amostra.

## **Capítulo V. Determinação de compostos com volatilidades distintas em amostras aquosas utilizando líquidos iônicos poliméricos como fases extratoras e amostragem por DI-HS-SPME**

### **5.1 Introdução**

Para esse estudo foram fabricadas e utilizadas fibras de líquidos iônicos poliméricos para a extração de compostos de diferentes classes. Pela primeira vez foi utilizado o modo de extração DI-HS-SPME aliado a esse tipo de sorvente. Uma grande vantagem da utilização de líquidos iônicos poliméricos em SPME é a possibilidade de modificação da estrutura da fase extratora de acordo com a necessidade, com isso, extrações mais seletivas podem ser alcançadas. Para esse estudo, foram utilizados compostos pertencentes a diferentes classes incluindo hidrocarbonetos voláteis, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, agrotóxicos organoclorados e ésteres de ftalato. As condições de extração, incluindo tempo e temperatura de extração, e também o percentual do tempo no modo HS foram otimizadas. Os parâmetros analíticos de mérito foram determinados utilizando-se a fibra de líquido iônico polimérico que apresentou o melhor desempenho. Comparações da eficiência de extração foram realizadas com diferentes fibras de líquidos iônicos poliméricos, bem como com fases extratoras comercialmente disponíveis. As análises foram realizadas em amostras de água de torneira coletadas no Laboratório de Cromatografia da Iowa State University e também em água do lago *Ada Hayden Heritage Park*, ambos localizados em Ames, nos Estados Unidos.

### **5.2 Materiais e Métodos**

#### **5.2.1 Instrumentação**

Um cromatógrafo a gás modelo 7890B acoplado a um espectrômetro de massas modelo 5977A (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, EUA) foi utilizado. As separações cromatográficas foram realizadas em uma coluna HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), também proveniente da *Agilent Technologies Inc.* O programa de temperatura utilizado foi iniciado a 40 °C (mantido por 4 min), 10 °C  $\text{min}^{-1}$  até 80 °C e 6 °C até 290 °C. Hélio ultra-puro foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1 mL  $\text{min}^{-1}$ . A temperatura do injetor do cromatógrafo foi ajustada a 250 °C, exceto para as análises utilizando o

líquido iônico polimérico composto pelo ânion cloreto no qual uma temperatura de 175 °C foi aplicada, sendo as injeções realizadas sem divisão de fluxo.

A fonte de ionização foi mantida a 260 °C, sendo operada no modo de impacto de elétrons a 70 eV. As análises foram realizadas no modo SIM e a escolha das determinadas  $m/z$  foi baseada nos espectros de massa fornecidos pelo NIST, as quais são mostradas na Tabela 8, com os valores em negrito correspondentes às  $m/z$  utilizadas para a quantificação.

**Tabela 8.** Relação de  $m/z$  selecionados para análises por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas. Os valores em negrito representam os fragmentos utilizados para a quantificação.

Analito	Íons selecionados
etil benzeno	51/ <b>91</b> /106
<i>m</i> -xileno	<b>91</b> /105/106
naftaleno	127/ <b>128</b> /129
acenaftileno	76/151/ <b>152</b>
acenafteno	152/ <b>153</b> /154
fluoreno	165/ <b>166</b> /167
fenantreno	176/ <b>178</b> /179
antraceno	176/ <b>178</b> /179
fluoranteno	200/ <b>202</b> /203
pireno	200/ <b>202</b> /203
di-isopropil ftalato	<b>149</b> /150/209
di-isobutil ftalato	47/ <b>149</b> /150
di-heptil ftalato	41/57/ <b>149</b>
$\alpha$ -hexacloro ciclohexano	109/ <b>181</b> /183
$\beta$ -hexacloro ciclohexano	109/ <b>181</b> /183
$\delta$ -hexacloro ciclohexano	109/ <b>181</b> /183
$\gamma$ -hexacloro ciclohexano	<b>181</b> /183/219
aldrin	<b>66</b> /79/263
heptacloro	<b>100</b> /272/274
heptacloro hepóxido	<b>81</b> /353/355
dieldrin	<b>79</b> /81/82

Para a polimerização através de luz ultravioleta foi utilizado um reator modelo RPR-100 (*Southern New England Ultraviolet Company*, Connecticut, EUA), com capacidade para 16 lâmpadas. Um microscópio eletrônico de varredura marca JEOL modelo JSM-6060LV

(JEOL Company Inc., Peabody, EUA) foi utilizado para as medidas da espessura de filme das fibras de líquidos iônicos poliméricos.

### 5.2.2 Reagentes e soluções

- 1-clorohexano 99% (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA).
- 1-clorohexadecano 99% (Sigma Aldrich).
- 1,12 dibromododecano 98% (Sigma Aldrich).
- Acrilnitrila 99% (Sigma Aldrich).
- 1-vinil imidazólio 99% (Sigma Aldrich).
- Imidazólio (99%) (Sigma Aldrich).
- Viniltrimetoxisilano (VTMS) 98% (Sigma Aldrich).
- Peróxido de hidrogênio (Fisher Scientific, Fair Lawn, EUA).
- Acetonitrila ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Dimetil sulfóxido ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Bis[(trifluorometil) sulfonyl]imideto de lítio (SynQuest Laboratories, Alachua, EUA).
  - *n*-hexano (99%) (Sigma Aldrich).
  - 2-hidróxi-2-metil propilfenona (DAROCUR 1173) (Sigma Aldrich).
  - 4-clorometil estireno (90%) (Sigma Aldrich).
  - Água ultrapurificada (Millipore, Bedford, EUA).
  - Solução padrão de  $\alpha$ - hexacloro ciclohexano,  $\beta$ -hexacloro ciclohexano,  $\delta$ -hexacloro ciclohexano,  $\gamma$ -hexacloro ciclohexano, aldrin, heptacloro, heptacloro hepóxido e dieldrin na concentração de  $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Sigma Aldrich) em hexano:tolueno (50:50). Soluções intermediárias nas concentrações  $200 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  foram preparadas em hexano.
  - Soluções individuais contendo naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, di-iso propil ftalato, di-isobutil ftalato e di-heptil ftalato (Sigma Aldrich) foram preparadas em acetonitrila a uma concentração de  $5000 \text{ mg L}^{-1}$ . Soluções intermediárias foram preparadas com as concentrações de  $200 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  em acetonitrila.
  - Soluções contendo etil benzeno e m-xileno (Sigma Aldrich) a uma concentração de  $5000 \text{ mg L}^{-1}$  foram preparadas em acetonitrila. Soluções intermediárias a concentrações de  $200 \text{ mg L}^{-1}$  e  $5 \text{ mg L}^{-1}$  foram também preparadas em acetonitrila.

### 5.2.3 Materiais em geral

Para a realização deste estudo foram utilizados os materiais listados abaixo:

- Frascos âmbar hermeticamente vedados com capacidade de 20 mL com septos de PTFE/Silicone (Supleco, Bellefonte, EUA).
- Filtros Minisart® de polietersulfona com tamanho de poros de 0,22  $\mu\text{m}$  (Sartorius, Goettingen, Alemanha).
- Balões volumétricos com capacidade de 10 mL.
- Micropipetadores com capacidade variável (1 – 1000  $\mu\text{L}$ ) (Eppendorf, Hauppauge, EUA).
- Fios de nitinol com diâmetro de 128  $\mu\text{m}$  (Nitinol Devices and Components, Fremont, EUA).
- Fibras para SPME com os recobrimentos de polidimetilsiloxano (PDMS, 7  $\mu\text{m}$ ), divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/Car/PDMS, 50/30  $\mu\text{m}$ ), poliacrilato (PA, 85  $\mu\text{m}$ ), divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (DVB/PDMS 65  $\mu\text{m}$ ) e carboxeno/polidimetilsiloxano (Car/PDMS, 75  $\mu\text{m}$ ) (Supelco, Bellefonte, EUA).
- Cola epóxi (J-B Weld, Sulfur Springs, Texas, EUA).

### 5.3 Parte experimental

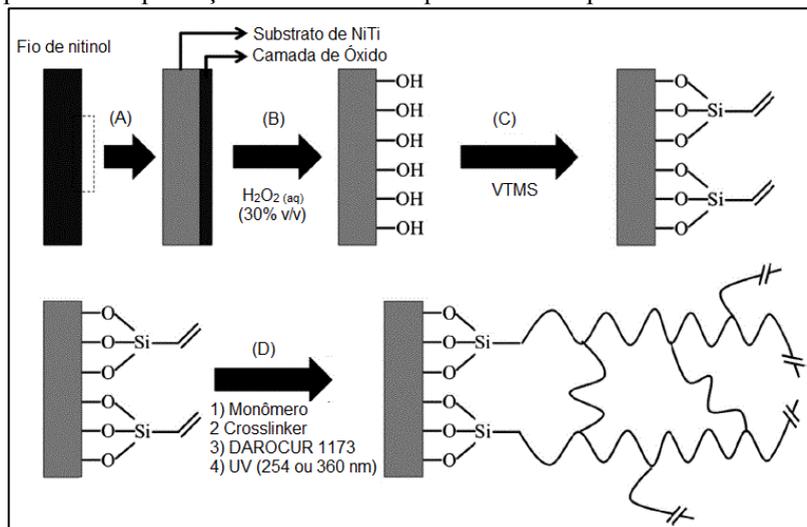
#### 5.3.1 Síntese dos líquidos iônicos

A síntese dos monômeros dos líquidos iônicos, bis[(trifluorometil)sulfonyl]imidato de 1-vinilbenzil-3-hexadecilimidazol [VBC<sub>16</sub>IM][NTf<sub>2</sub>]; cloreto de 1-vinil-3-hexilimidazol [VC<sub>6</sub>IM][Cl]; cloreto de 1-vinilbenzil-3-hexadecilimidazol [VBC<sub>16</sub>IM][Cl] e dos *crosslinkers* de líquidos iônicos: dibis[(trifluorometil)sulfonyl]imidato de 1,12-di(3-vinilbenzilhexadecilimidazol)dodecano [(VBIM)<sub>2</sub>C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>[NTf<sub>2</sub>]; dibrometo de 1,12-di(vinilimidazol) dodecano [(VIM)<sub>2</sub>C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>[Br]; dicloreto de 1,12-di(vinilbenzil-imidazol)dodecano [(VBIM)<sub>2</sub>C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>[Cl] foi realizada conforme estudos previamente reportados na literatura (Baltazar *et al.*, 2007; Zhao, F. *et al.*, 2008; Yu, H. L. *et al.*, 2015). Os resultados correspondentes aos <sup>1</sup>H-RMN desses compostos estão disponíveis nos apêndices IV - IX deste documento.

#### 5.3.2 Fabricação das fibras de líquidos iônicos poliméricos

A fabricação das fibras de SPME contendo fios de nitinol como suporte foi baseada nos procedimentos experimentais inicialmente propostos por Carasek e colaboradores (Nardini *et al.*, 2013) e modificado por Anderson e colaboradores (Ho, Toledo, *et al.*, 2014). As etapas, desde o preparo do suporte até a polimerização do recobrimento, estão representadas na Figura 19.

**Figura 19.** Representação esquemática das etapas envolvidas no processo de produção das fibras de líquidos iônicos poliméricos.



Fonte: (Ho, Toledo, *et al.*, 2014).

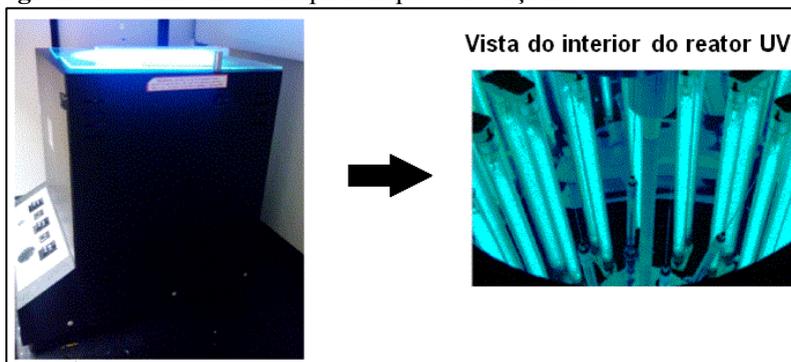
Primeiramente, fios de aproximadamente 1,5 cm de nitinol foram cortados (Figura 19-A) e colocados em uma solução de  $H_2O_2$  (aq) (30% v/v) a uma temperatura de 72 °C durante 2 horas (Figura 19-B). Após esse procedimento, a superfície do fio metálico foi funcionalizada com grupos Ti-OH. Em seguida, os pequenos segmentos de nitinol foram secos e colocados em VTMS (viniltrimetoxissilano) puro, a uma temperatura de 85 °C durante 2 horas (Figura 19-C). Com isso, foi possível ligar quimicamente a superfície dos fios metálicos com um organossilano. Uma etapa de lavagem com metanol e secagem a 150 °C por 20 min foi realizada.

Posteriormente, foi feita a colagem dos fios de nitinol em suportes para SPME utilizando-se cola epóxi. O tamanho das fibras foi fixado em 1 cm. Um tempo de aproximadamente 12 horas foi utilizado para a secagem da cola epóxi seguido pelo processo de recobrimento com a fase extratora desejada.

O procedimento de recobrimento dos fios de nitinol, previamente funcionalizados com a fase extratora polimérica, foi realizado utilizando-se a mistura de uma determinada massa (10 mg) de monômero de líquido iônico, *crosslinker* (50% da massa do monômero) e uma alíquota do iniciador UV (3% da massa total), neste caso foi utilizado

DAROCUR 1173. Essa mistura foi depositada na superfície do fio metálico e conduzida a um reator contendo uma série de lâmpadas emitindo radiação UV para a polimerização (Figura 19-D). Na Figura 20 são mostradas algumas imagens do reator UV utilizado nesse procedimento.

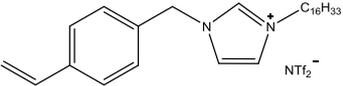
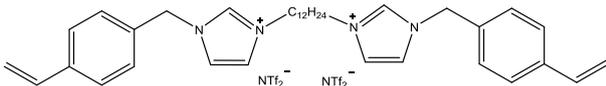
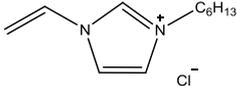
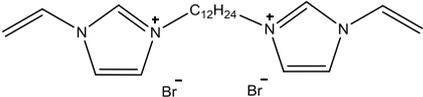
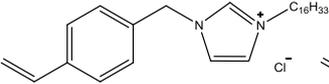
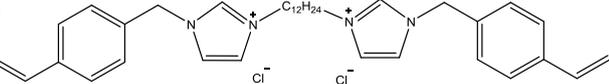
**Figura 20.** Reator utilizado para as polimerizações.



Fonte: Autoria própria (2016).

Após o tempo determinado de polimerização, as fibras foram retiradas e condicionadas durante 45 minutos a temperaturas de 250 °C para recobrimentos contendo o ânion  $\text{NTf}_2^-$ , e 175 °C para recobrimentos contendo halogênios como ânion ( $\text{Cl}^-$  ou  $\text{Br}^-$ ). As estruturas dos recobrimentos poliméricos utilizados para este estudo são mostradas na Tabela 9, bem como o comprimento de onda e o tempo para a polimerização.

**Tabela 9.** Estruturas químicas dos monômeros e *crosslinkers* utilizados neste estudo para a produção dos recobrimentos de líquidos iônicos poliméricos (PIL).

	Estrutura do monômero	Estrutura do <i>crosslinker</i>	Comprimento de onda (nm)	Tempo de polimerização (min)
Fibra 1			360	30
Fibra 2			254	120
Fibra 3			254	120

A determinação da espessura de recobrimento polimérico, bem como a verificação da morfologia de cada fibra foi realizada através da microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *scanning electron microscopy*). Como as fibras de PIL não apresentam uma uniformidade em seu recobrimento, principalmente em virtude da viscosidade dos líquidos iônicos utilizados para a sua produção, o cálculo da espessura do filme polimérico foi realizado mediante a média aritmética simples do valor da espessura de cinco seções transversais das fibras. Em virtude da necessidade de sacrificar as fibras para a realização dessas medidas, essas análises foram realizadas após o final de todos os experimentos descritos nesse capítulo.

### **5.3.3 Comparação da eficiência de extração utilizando os modos DI, HS e DI-HS-SPME**

Para a avaliação da viabilidade do modo DI-HS-SPME utilizando-se líquidos iônicos poliméricos como fase extratora, foram realizadas microextrações com uso da fibra **1**, composta pelo monômero [VBC<sub>16</sub>][NTf<sub>2</sub>] e pelo *crosslinker* [(VBIM)<sub>2</sub>C<sub>12</sub>]<sub>2</sub>[NTf<sub>2</sub>]. Frascos hermeticamente vedados contendo 15 mL de água ultrapurificada fortificada com 20 µg L<sup>-1</sup> de cada analito foram submetidos à SPME.

As extrações foram realizadas à temperatura de 25 °C, utilizando-se os modos DI, HS e DI-HS. Para o modo de DI e HS, empregados separadamente, um tempo total de extração de 30 minutos foi utilizado. Para o modo DI-HS também foi utilizado um tempo total de 30 minutos, porém 15 minutos foram realizados no modo DI e 15 minutos no modo HS. Para esta avaliação, as extrações foram realizadas em triplicata, com as fibras sendo mantidas no injetor do cromatógrafo durante 5 minutos para a dessorção térmica dos analitos.

### **5.3.4 Otimização das condições de extração para o modo DI-HS-SPME utilizando PIL como fases extratoras**

A fibra **1** foi utilizada para a realização dos experimentos de otimização em virtude de ter apresentado uma maior eficiência de extração comparada às demais fibras. Esse fato será discutido mais detalhadamente na seção de resultados e discussão.

Para a otimização da temperatura de extração utilizada nos modos DI e HS, empregados separadamente, foram avaliadas 25 °C, 40 °C e 60 °C. Nesta etapa, amostras de 15 mL água ultrapurificada foram transferidas para frascos vedados e fortificadas com de 20 µg L<sup>-1</sup> dos analitos. O tempo de extração de 30 minutos, agitação constante de 600 rpm e temperatura de 40 °C foram utilizados. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A otimização para o modo DI-HS-SPME foi realizada levando-se em consideração o tempo total de extração (20 - 80 minutos) tempo no qual a extração foi realizada no modo HS (0 - 100%). Essas duas variáveis foram estudadas em cinco níveis cada uma, mediante um planejamento composto central. Nesta otimização, 10 experimentos foram realizados, incluindo uma duplicata no ponto central. O tratamento de dados foi realizado através do software *Statistica 8.0*. A matriz de experimentos está representada na Tabela 10.

**Tabela 10.** Matriz de experimentos utilizada no planejamento composto central.

Experimento	Tempo total (min)	% do tempo total no modo HS
1	30	20
2	30	80
3	70	20
4	70	80
5	20	50
6	80	50
7	50	0
8	50	100
9 (central)	50	50
10 (central)	50	50

### 5.3.5 Comparação da eficiência de extração utilizando o modo DI-HS-SPME e determinação das figuras analíticas de mérito

As eficiências de extração obtidas para as fibras compostas por líquidos iônicos poliméricos foram comparadas às obtidas para fibras comerciais de SPME. Dentre as fibras utilizadas nessa etapa estão incluídas fibras compostas por PDMS, DVB/Car/PDMS, DVB/PDMS, Car/PDMS e PA. Aliquotas de água ultrapurificada fortificadas com 10

$\mu\text{g L}^{-1}$  de cada composto foram submetidas às microextrações. O modo DI-HS-SPME foi utilizado com as condições previamente otimizadas.

A determinação das figuras analíticas de mérito incluindo LOD, LOQ, coeficiente de correlação, faixa linear, precisão e também a recuperação relativa dos analitos foram avaliadas em amostras de água de torneira e água de lago. As amostras de água de torneira foram coletadas diretamente do Laboratório de Química Analítica e Bioanalítica da Iowa State University, localizada em Ames nos Estados Unidos. As amostras de água de lago foram coletadas no lago *Ada Hayden Heritage Park Lake* (42°04'18.1"N 93°37'24.8"W), também localizado na cidade de Ames, no estado de Iowa, EUA.

As amostras de água de torneira foram analisadas logo após a coleta. Em relação às amostras de água de lago as mesmas foram coletadas em frascos âmbar de vidro e armazenadas a 5 °C. Essas amostras foram submetidas à filtração em filtros de 0,22  $\mu\text{m}$  previamente às microextrações.

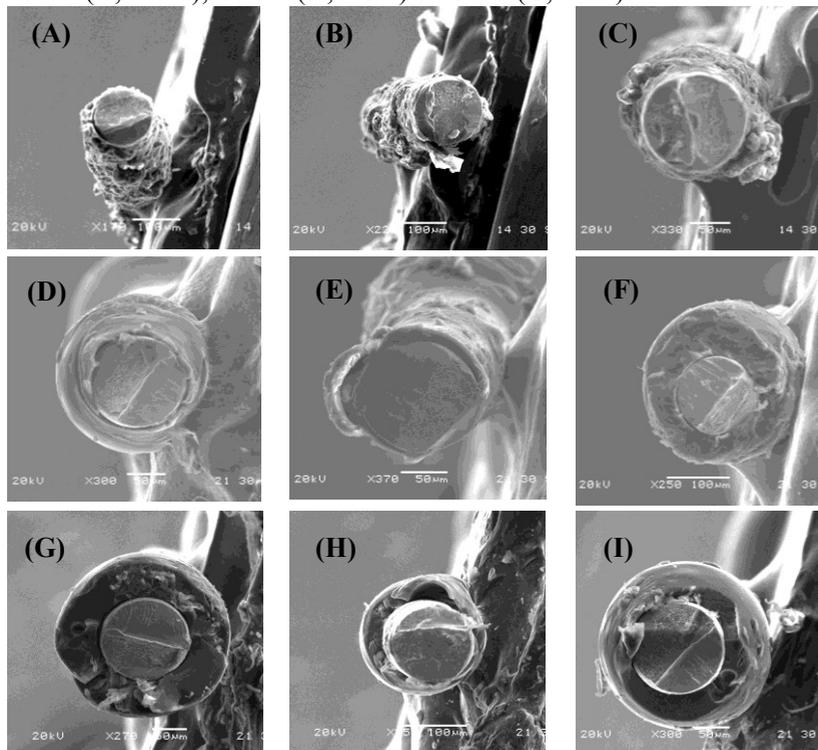
## 5.4 Resultados e Discussão

### 5.4.1 Fabricação e determinação da espessura do filme polimérico

As fibras foram confeccionadas mediante procedimento previamente descrito na seção experimental desse capítulo. O modo de recobrimento da superfície derivatizada do fio de nitinol foi manual e envolveu uma etapa de manipulação da mistura monômero, *crosslinker* e iniciador UV. Essa mistura é colocada na superfície dos fios de nitinol com auxílio de um pequeno capilar de vidro. Desta forma, muito provavelmente devido à viscosidade da mistura, são formadas pequenas gotículas contendo o material sorvente.

Imagens correspondentes a três seções transversais das fibras utilizadas nesse estudo estão representadas na Figura 21, onde é possível observar algumas diferenças na superfície de cada seção transversal.

**Figura 21.** Imagens obtidas a partir de SEM das seções transversais da fibra 1 (A, B e C), fibra 2 (D, E e F) e fibra 3 (G, H e I).



Fonte: Autoria própria (2016).

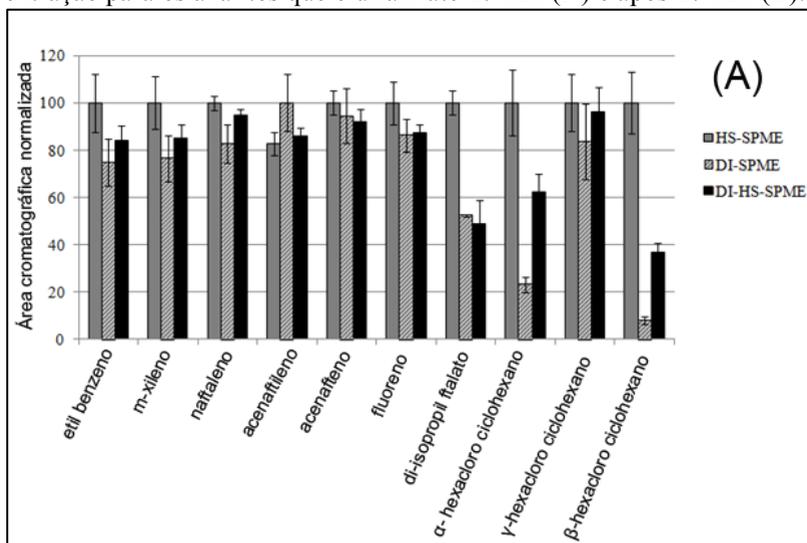
Com auxílio das micrografias mostradas na Figura 21 foi possível estimar os valores das espessuras de filme polimérico para cada fibra. A fibra 1 foi utilizada mais vezes por ter apresentado maior eficiência de extração comparada às demais. Essa fibra foi utilizada em aproximadamente 110 ciclos de extração. De acordo com os dados obtidos através da SEM, os valores de espessura encontrados para as fibras 1, 2 e 3 foram 21, 36 e 40  $\mu\text{m}$ , respectivamente.

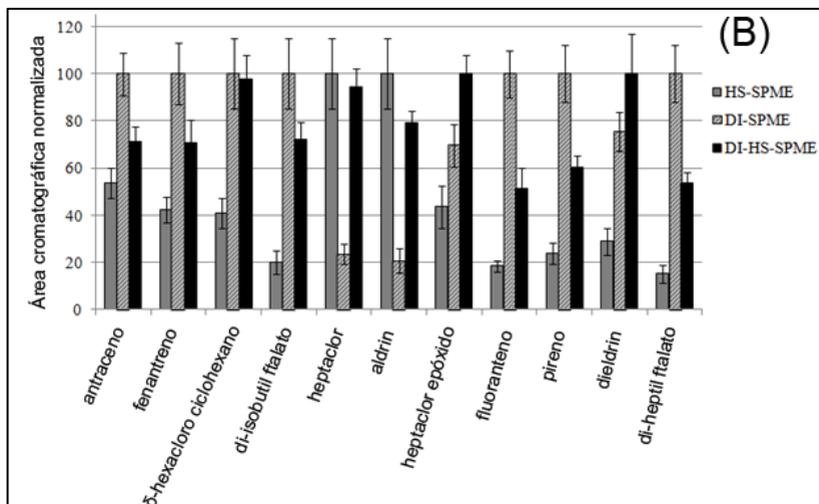
#### **5.4.2 Estudo da viabilidade de aplicação do modo DI-HS-SPME utilizando sorvente de líquido iônico polimérico**

A escolha do modo de extração em microextração em fase sólida afeta diretamente a eficiência de extração dos analitos. Um dos grandes desafios é a escolha do modo de extração apropriado quando se trabalha com amostras contendo analitos tendo diversas propriedades (volatilidade, polaridade, etc.). Neste etapa, a eficiência de extração obtida através dos modos DI, HS e DI-HS-SPME para a extração dos compostos abordados nesse estudo foram avaliadas. Para isso, a fibra **1** foi utilizada como fibra modelo nesse estudo comparativo, devido a ter apresentado uma maior eficiência de extração em estudos preliminares.

Os gráficos de barras mostrados na Figura 22 (A e B) representam as áreas cromatográficas normalizadas para cada analito. Os analitos foram organizados mediante ordem de eluição e dois gráficos de barras foram criados para uma melhor visualização. As eficiências de extração para os analitos que eluíram até 27 minutos são mostradas na Figura 22-A e, após 27 minutos, são representadas na Figura 22-B.

**Figura 22.** Eficiências de extração utilizando-se diferentes modos de extração para os analitos que eluíram até 27 min (A) e após 27 min (B).





Fonte: Autoria própria (2016).

De acordo com a Figura 22 (A e B), os compostos mais voláteis incluindo etil benzeno, *m*-xileno, alguns HPA incluindo naftaleno, fluoreno, e alguns agrotóxicos organoclorados tais como  $\alpha$ -hexacloro ciclohexano,  $\beta$ -hexacloro ciclohexano, heptacloro, aldrin e o di-isopropil ftalato foram mais eficientemente extraídos utilizando-se o modo HS.

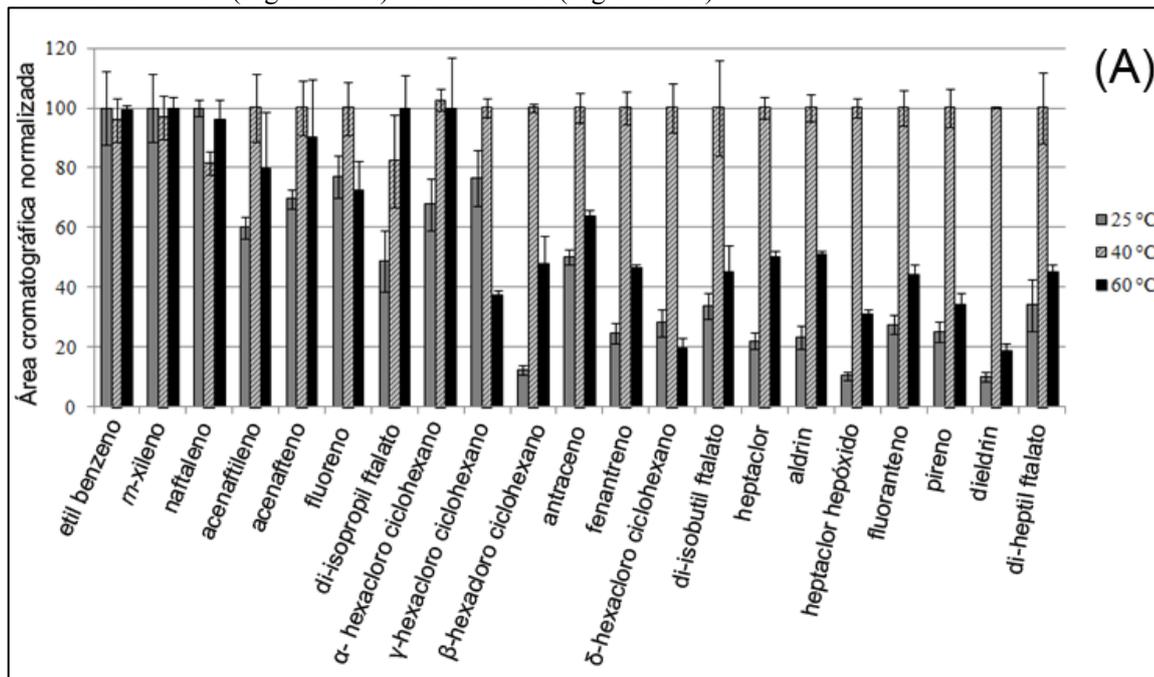
Em contrapartida, o modo DI foi mais eficiente para a extração de alguns HPA incluindo antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno e também para a maioria dos ésteres de ftalato estudados nesse trabalho, com exceção do di-isopropil ftalato.

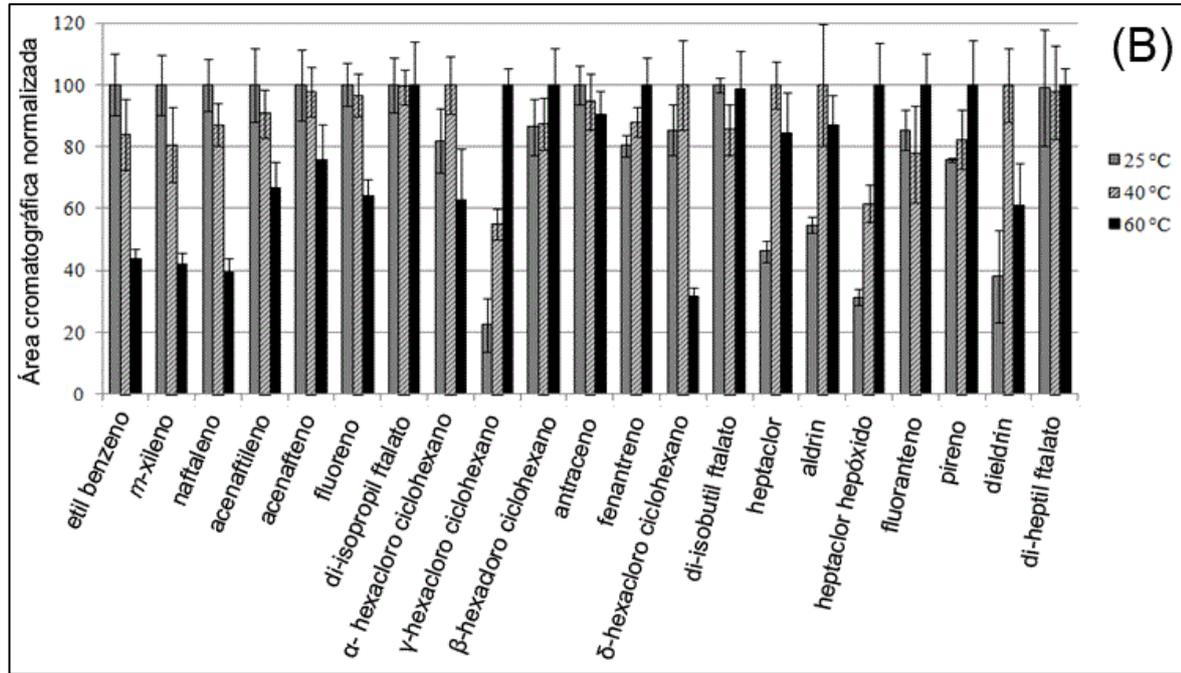
Tendo em vista essa diferença bastante significativa na eficiência de extração entre esses dois modos (DI e HS) para os analitos em questão, a possibilidade de utilização sequencial desses modos de amostragem em um único procedimento de microextração é uma alternativa muito interessante. De acordo com os resultados apresentados pelo modo DI-HS-SPME foi possível observar, na maioria dos casos, uma condição intermediária de extração. Além disso, para alguns compostos incluindo o heptacloro epóxido e o dieldrin, esse modo permitiu a obtenção de melhores eficiências de extração.

### 5.4.3 Otimização das condições de extração para o modo DI-HS-SPME utilizando sorvente de líquido iônico polimérico

Todas as otimizações realizadas neste estudo foram feitas com a fibra **1**. A temperatura de extração foi estudada para os modos DI e HS, separadamente, sendo avaliadas as temperaturas de 25, 40 e 60 °C para os diferentes modos. Os gráficos de barras mostrados na Figura 23 (A e B) representam a área normalizada em relação à maior área cromatográfica obtida para cada analito nas diferentes temperaturas de extração avaliadas no modo HS (Figura 23-A) e no modo DI (Figura 23-B). Foram realizadas extrações em triplicata para cada temperatura.

**Figura 23.** Área cromatográfica normalizada obtida para cada analito nas diferentes temperaturas de extração avaliadas no modo HS (Figura 23-A) e no modo DI (Figura 23-B).





A temperatura de extração é uma variável bastante importante em SPME, principalmente no que se refere a extrações no modo HS. Neste modo há dois processos envolvidos, sendo eles a liberação dos analitos da matriz e a sorção dos analitos pelo recobrimento da fibra (Ghiasiand *et al.*, 2006). Desta forma, a determinação de uma temperatura na qual os analitos sejam liberados eficientemente da matriz, bem como possam permanecer sorvidos no recobrimento polimérico durante todo o tempo da extração é desejada.

De acordo com a Figura 23-A foi possível observar que foram obtidas extrações mais eficientes utilizando-se temperatura de 40 °C para a maioria dos analitos. Também foi possível observar que a 25 °C, eficiências de extração bastante similares às obtidas a 40 °C foram obtidas para os analitos mais voláteis incluindo o etil benzeno e *m*-xileno. Este fato pode ser explicado devido à facilidade destes analitos serem liberados da matriz e estarem presentes no headspace da amostra, tendo em vista a alta pressão de vapor dos mesmos.

Para a temperatura de 60 °C, mesmo presumindo-se que uma maior quantidade de analitos estaria presente no *headspace* da amostra, não foi observada uma eficiência de extração superior. Este fato pode ser explicado em virtude do efeito exotérmico de sorção dos analitos pelo recobrimento polimérico. Desta forma, pode ocorrer a extração dos analitos pelo recobrimento polimérico e a liberação novamente desses analitos para o *headspace* durante o procedimento de extração acarretando em respostas cromatográficas inferiores (Merib, Nardini, *et al.*, 2013).

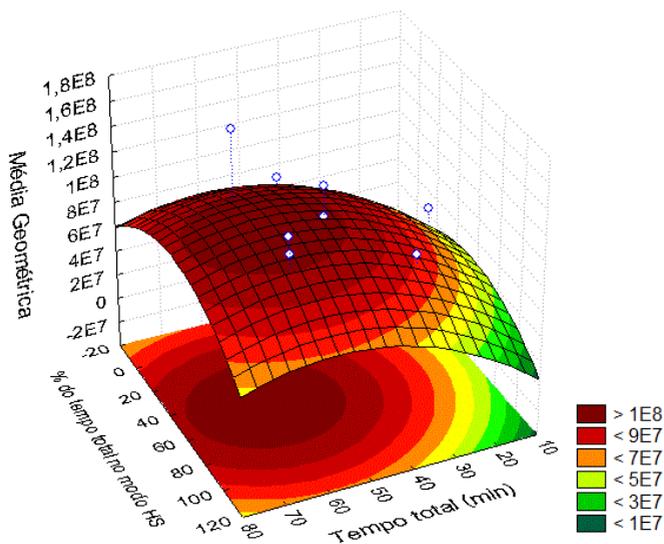
Já em relação ao modo DI (Figura 23-B) as maiores eficiências de extração para os compostos mais voláteis, incluindo etil benzeno, *m*-xileno e também para alguns HPA tais como naftaleno, acenaftileno e fluoreno foram obtidas a 25 e 40 °C. Em relação aos compostos menos voláteis, foram obtidas maiores eficiências com as extrações realizadas a 40 e 60 °C.

Desta forma, utilizando-se a temperatura de 40 °C foram obtidas satisfatórias eficiências para a maioria dos compostos, tanto no modo HS como no modo DI. Com isso, essa temperatura foi fixada em ambos os modos para a posterior otimização do tempo de extração modo DI-HS-SPME.

#### **5.4.4 Otimização do tempo de extração para o modo DI-HS-SPME**

Com a temperatura em cada modo de extração já otimizada, foi realizada a otimização do tempo total e percentual de tempo de extração no modo HS mediante um planejamento composto central. A matriz de experimentos está mostrada na seção experimental desse capítulo. A superfície de resposta obtida é mostrada na Figura 24.

**Figura 24.** Superfície de resposta obtida para a otimização do modo DI-HS-SPME.



Fonte: Autoria própria (2016).

De acordo com a superfície de resposta obtida através do planejamento composto central, pode ser observado que eficiências de extrações mais elevadas podem ser obtidas utilizando 50 min de tempo total de extração com 50% desse tempo no modo HS. Desta forma, as condições otimizadas para o procedimento de extração foram 25 min de extração no modo DI (a 40 °C) seguidos por 25 min no modo HS (a 40 °C). Os dados correspondentes à equação da superfície de resposta e à tabela ANOVA estão dispostos no apêndice X.

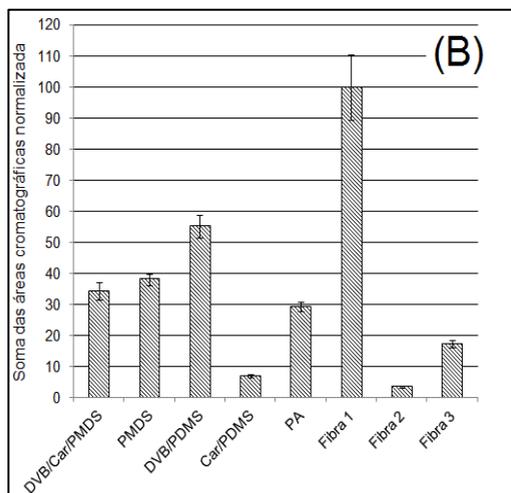
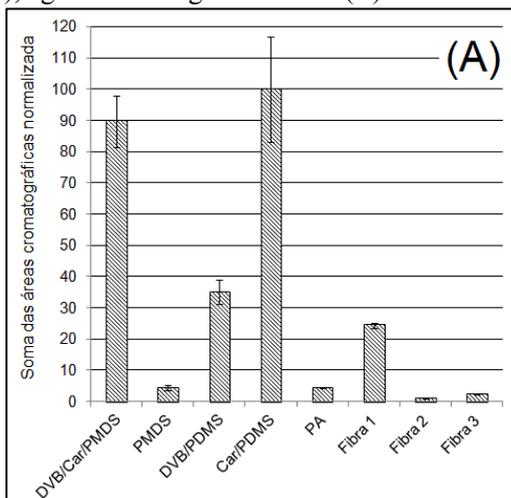
#### 5.4.5 Comparação da eficiência de extração utilizando DI-HS-SPME com diferentes recobrimentos poliméricos

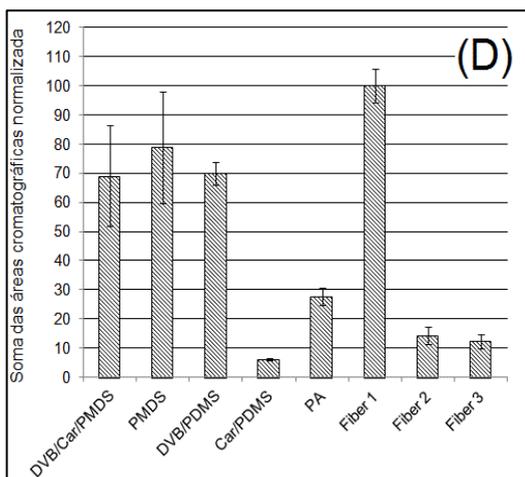
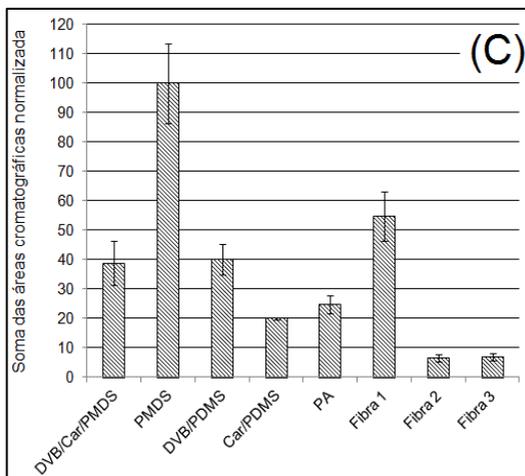
Para a avaliação do desempenho de extração dos diversos recobrimentos poliméricos utilizados neste estudo foram realizadas microextrações em amostras de água ultrapurificada contendo  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito. As fibras compostas por líquidos iônicos poliméricos (fibras **1**, **2** e **3**), bem como fibras comercialmente disponíveis para SPME (DVB/Car/PDMS, PA, DVB/PDMS, Car/PDMS e PDMS) foram avaliadas. Para este estudo, as condições previamente otimizadas foram utilizadas.

Para uma melhor visualização dos comportamentos de cada classe de analito frente à fase extratora, os analitos foram divididos em quatro grupos, sendo eles formados por compostos orgânicos bastante voláteis (etil benzeno e *m*-xileno), HPA (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno), agrotóxicos organoclorados ( $\alpha$ -hexacloro ciclohexano,  $\beta$ -hexacloro ciclohexano,  $\delta$ -hexacloro ciclohexano,  $\gamma$ - hexacloro ciclohexano, aldrin, heptacloro, heptacloro epóxido e dieldrin) e ésteres de ftalato (di-isopropil ftalato, di-isobutil ftalato e di-heptil ftalato).

Como foram feitas análises com fibras diferentes, os resultados mostrados na Figura 25 (A-D) foram normalizados, dessa vez, levando-se em consideração a espessura do recobrimento polimérico de cada fibra. Desta forma, o valor correspondente à área dos picos cromatográficos para cada grupo foi dividido pelo valor da espessura do filme polimérico. Essa razão foi normalizada em relação ao maior valor obtido para a soma das áreas cromatográficas para cada classe de analitos.

**Figura 25.** Gráficos de barras contendo a área normalizada em relação à espessura de cada recobrimento polimérico para etil benzeno e *m*-xileno (A), HPA (B), agrotóxicos organoclorados (C) e ésteres de ftalato (D).





Fonte: Autoria própria (2016).

Em relação aos analitos mais voláteis (Figura 25-A), tais como etil benzeno e *m*-xileno, melhores eficiências de extração foram obtidas utilizando-se as fibras compostas por Car/PDMS e também DVB/Car/PDMS. Esses recobrimentos são comprovadamente adsorventes sendo muito indicados para compostos de média ou alta volatilidade (Pawliszyn, 2009). Desta forma, estas fibras apresentaram melhor desempenho comparadas às fibras compostas por PDMS e PA, e também às fibras recobertas por PIL estudadas.

Em relação às fibras de líquidos iônicos poliméricos, a fibra **1** apresentou melhor desempenho comparada às fibras **2** e **3**, tendo obtido cerca de 25% da eficiência de extração em comparação com a fibra composta por Car/PDMS. A fibra **1** também apresentou desempenho superior se comparada às fibras comerciais compostas por PDMS e PA. Em um estudo recente (Ho *et al.*, 2013) foi reportado que o mecanismo de extração de fibras de líquidos iônicos poliméricos consistiu-se como sendo essencialmente absorção, o que pode explicar a menor eficiência das fibras de PIL frente aos compostos muito voláteis.

No que diz respeito aos HPA (Figura 25-B), a eficiência obtida para a fibra **1** superou todos os outros recobrimentos examinados neste estudo. A elevada seletividade da fibra **1** em relação a estes analitos pode ser explicada devido à presença de grupos benzil tanto no monômero quanto no *crosslinker*, aumentando assim as interações  $\pi$ - $\pi$  entre os analitos e a fase extratora (Cordero-Vaca *et al.*, 2015). Este comportamento também foi observado na extração de ésteres de ftalato (Figura 25-D), onde a fibra **1** também exibiu a mais alta eficiência de extração em comparação com os outros revestimentos avaliados neste estudo. No caso dos ésteres de ftalato, também há a possibilidade de interações  $\pi$ - $\pi$  entre os analitos e a fase extratora.

Para agrotóxicos organoclorados (Figura 25-C) a mais alta eficiência de extração foi obtida utilizando-se o revestimento composto por PDMS. Essa maior eficiência de extração pode ser explicada devido à natureza dos agrotóxicos organoclorados em estudo. Estes compostos pertencem a uma classe não-polar, por conseguinte, um revestimento absorvente que possui características menos polares é mais apropriado para a extração destes analitos (Ho e Hsieh, 2001).

#### 5.4.6 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito

Como a fibra **1** apresentou o melhor eficiência de extração comparada às demais fibras compostas por líquidos iônicos poliméricos, os parâmetros analíticos de mérito foram determinados utilizando esse recobrimento. Nesta etapa, também foram utilizadas as condições de extração previamente otimizadas e as curvas de calibração foram obtidas pela adição de concentrações conhecidas de cada analito em amostras de água ultrapura em cinco níveis de concentração.

Para a determinação do LOD e LOQ, um método previamente relatado na literatura foi adotado (Dias *et al.*, 2013; 2015; Merib *et al.*, 2015). De acordo com este método, o primeiro ponto da curva de calibração foi utilizado como LOQ e esses valores foram divididos por 3,3 para a obtenção do LOD. Estudos de precisão foram realizados em dois níveis de concentração, com extrações realizadas em triplicata para cada nível. Os resultados dos parâmetros analíticos de mérito são mostrados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros analíticos de mérito obtidos com a fibra 1 e DI-HS-SPME-GC-MS.

Analito	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Coeficiente de correlação (R)	<i>Intra-day</i> RSD (%)	
					Menor concentração <sup>a</sup>	Maior concentração <sup>b</sup>
<i>m</i> -xileno	0,5 - 10	0,15	0,5	0,997	12	5
etil benzene	0,5 - 10	0,15	0,5	0,997	12	3
naftaleno	0,01 - 10	0,003	0,01	0,996	3	11
acenafrileno	0,01 - 10	0,003	0,01	0,990	3	12
pireno	0,01 - 10	0,003	0,01	0,992	18	11
fluoranteno	0,01 - 10	0,003	0,01	0,993	7	10
acenafteno	0,05 - 10	0,015	0,05	0,997	7	11
fluoreno	0,05 - 10	0,015	0,05	0,996	9	12
antraceno	0,05 - 10	0,015	0,05	0,990	8	9
fenantreno	0,05 - 20	0,015	0,05	0,996	7	10
heptacloro	0,03 - 5	0,01	0,03	0,994	14	2
aldrin	0,03 - 5	0,01	0,03	0,980	14	5
heptacloro epóxido	0,03 - 3	0,01	0,03	0,989	2	8
$\alpha$ -hexacloro ciclohexano	0,03 - 3	0,01	0,03	0,993	5	4
$\beta$ - hexacloro ciclohexano	0,1 - 3	0,03	0,1	0,996	12	5
$\delta$ - hexacloro ciclohexano	0,1 - 5	0,03	0,1	0,993	11	5
$\gamma$ - hexacloro ciclohexano	0,1 - 3	0,03	0,1	0,988	16	5
dieldrin	0,1 - 3	0,03	0,1	0,997	9	12

Analito	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Coeficiente de correlação (R)	<i>Intra-day</i> RSD (%)	
					Menor concentração <sup>a</sup>	Maior concentração <sup>b</sup>
di-iso-propil ftalato	0,1 - 5	0,03	0,1	0,992	13	6
di-iso-butil ftalato	0,1 - 5	0,03	0,1	0,989	8	12
di-heptil ftalato	0,1 - 5	0,03	0,1	0,999	17	7

<sup>a</sup> concentrações adicionadas para compostos orgânicos mais voláteis (etil benzeno e *m*-xileno):  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ; HPA:  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ; agrotóxicos organoclorados:  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e ésteres de ftalato:  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ .

<sup>b</sup> concentrações adicionadas para compostos orgânicos mais voláteis (etil benzeno e *m*-xileno):  $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ; HPA:  $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ; agrotóxicos organoclorados:  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  e ésteres de ftalato:  $3 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Como se pode observar, boa linearidade foi alcançada através do método proposto, sendo obtidos coeficientes de correlação que variaram de 0,980 a 0,999 para aldrin e di-heptil ftalato, respectivamente. Os resultados correspondentes à precisão variaram de 2% para 3  $\mu\text{g L}^{-1}$  de heptacloro até 18% para 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  de pireno.

Os resultados obtidos empregando-se a abordagem DI-HS-SPME mostraram bom desempenho analítico em relação a estudos previamente relatados. Os limites de detecção na ordem de partes por trilhão obtidos para os HPA foram comparáveis aos relatados por King *et al.* (King *et al.*, 2004) em amostras de água. Esse fato enfatiza uma maior seletividade frente aos HPA quando se utilizou o revestimento de líquido iônico polimérico (fibra 1), sendo obtidos menores LOD para esses compostos em comparação com os resultados obtidos por Bianchin *et al.* (Bianchin *et al.*, 2012) utilizando também o modo de extração DI-HS-SPME, entretanto com aplicação de uma fibra comercial de SPME.

Além disso, foram obtidos limites de detecção para os agrotóxicos organoclorados na ordem de 0,01-0,03  $\mu\text{g L}^{-1}$ , os quais foram semelhantes aos obtidos por Tomkins *et al.* (Tomkins e Barnard, 2002). Não obstante, os resultados obtidos para LOD tanto para o etil benzeno e *m*-xileno, bem como para os ésteres de ftalato foram muito satisfatórios e também comparáveis a estudos já relatados. (Penalver *et al.*, 2000; Bianchin *et al.*, 2012).

#### **5.4.7 Recuperação do analito e análise de amostras reais utilizando PIL e modo de amostragem DI-HS-SPME**

Primeiramente, para a avaliação da exatidão do método proposto, foram realizados ensaios de recuperação dos analitos em amostras de água de lago e de torneira. As amostras foram fortificadas com concentrações conhecidas dos diferentes analitos empregados nesse estudo, sendo avaliados dois níveis de concentração dependendo da faixa linear. Os resultados obtidos para a recuperação relativa dos analitos estão mostrados na Tabela 12.

Tabela 12. Recuperação relativa dos analitos nas diferentes amostras avaliadas.

Analito	Recuperação (%) $\pm$ SD (n = 3)			
	Água de torneira		Água de lago	
	Menor concentração <sup>a</sup>	Maior concentração <sup>b</sup>	Menor concentração <sup>a</sup>	Maior concentração <sup>b</sup>
<i>m</i> -xileno	84 $\pm$ 7	96 $\pm$ 1	80 $\pm$ 8	68 $\pm$ 2
etil benzeno	88 $\pm$ 7	101 $\pm$ 1	81 $\pm$ 9	71 $\pm$ 2
naftaleno	78 $\pm$ 8	84 $\pm$ 5	73 $\pm$ 9	104 $\pm$ 19
acenaftileno	101 $\pm$ 13	90 $\pm$ 10	84 $\pm$ 9	109 $\pm$ 5
pireno	71 $\pm$ 12	83 $\pm$ 2	114 $\pm$ 7	63 $\pm$ 3
fluoranteno	72 $\pm$ 10	97 $\pm$ 12	87 $\pm$ 5	72 $\pm$ 2
acenafteno	91 $\pm$ 12	76 $\pm$ 4	107 $\pm$ 12	88 $\pm$ 18
fluoreno	97 $\pm$ 14	76 $\pm$ 5	71 $\pm$ 3	100 $\pm$ 13
antraceno	84 $\pm$ 9	86 $\pm$ 4	80 $\pm$ 11	71 $\pm$ 3
fenantreno	101 $\pm$ 19	102 $\pm$ 16	113 $\pm$ 4	71 $\pm$ 7
heptacloro	112 $\pm$ 12	69 $\pm$ 9	94 $\pm$ 15	107 $\pm$ 15
aldrin	88 $\pm$ 10	98 $\pm$ 16	89 $\pm$ 9	83 $\pm$ 17
heptacloro epóxido	63 $\pm$ 15	102 $\pm$ 1	66 $\pm$ 11	79 $\pm$ 5
$\alpha$ -hexacloro ciclohexano	90 $\pm$ 3	87 $\pm$ 4	108 $\pm$ 1	87 $\pm$ 8
$\beta$ - hexacloro ciclohexano	114 $\pm$ 3	117 $\pm$ 6	85 $\pm$ 4	85 $\pm$ 4

Recuperação (%)  $\pm$  SD (n = 3)

Analito	Água de torneira		Água de lago	
	Menor concentração <sup>a</sup>	Maior concentração <sup>b</sup>	Menor concentração <sup>a</sup>	Maior concentração <sup>b</sup>
γ- hexacloro ciclohexano	85 ± 4	76 ± 9	96 ± 7	58 ± 4
dieldrin	104 ± 17	95 ± 6	106 ± 14	77 ± 5
di-iso-propil ftalato	107 ± 9	72 ± 10	105 ± 4	52 ± 6
di-iso-butil ftalato	84 ± 15	67 ± 11	52 ± 6	53 ± 5
di-heptil ftalato	61 ± 13	61 ± 12	95 ± 7	53 ± 4

<sup>a</sup>menor concentração para compostos orgânicos voláteis (etil benzeno e *m*-xileno): 1,5 µg L<sup>-1</sup>; HPA: 0,25 µg L<sup>-1</sup>; agrotóxicos organoclorados: 0,15 µg L<sup>-1</sup>; ésteres de ftalato: 0,3 µg L<sup>-1</sup>.

<sup>b</sup>maior concentração para compostos orgânicos voláteis (etil benzeno e *m*-xileno): 7,5 µg L<sup>-1</sup>; HPA: 7,5 µg L<sup>-1</sup>; agrotóxicos organoclorados: 1 µg L<sup>-1</sup>; ésteres de ftalato: 3 µg L<sup>-1</sup>.

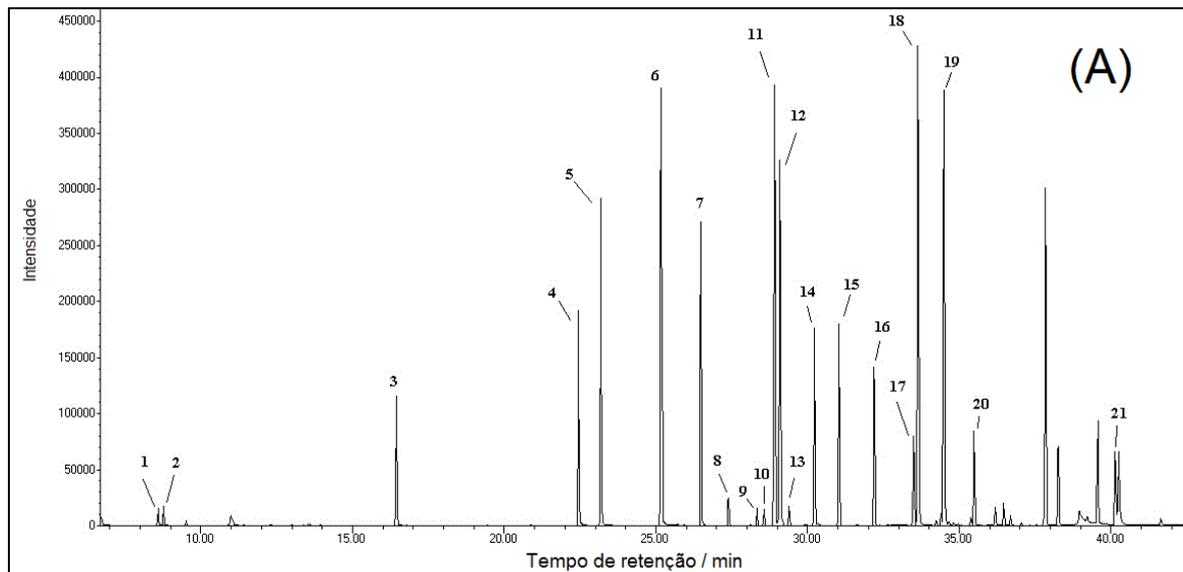
As recuperações relativas dos analitos apresentaram valores que variaram entre 52% para  $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$  de di-isobutil ftalato e 114% para  $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$  de pireno para amostra de água do lago em níveis de concentração menores. Para essas amostras, em valores maiores de concentração, as recuperações variaram entre 52% para  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  de di-isopropil ftalato e 109% para  $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de acenaftileno.

No que diz respeito às amostras de água de torneira, as recuperações relativas variaram entre 61% para  $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$  de di-heptil ftalato e 114% para  $0,15 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\beta$ -hexacloro ciclohexano em níveis de concentração menores e de 61% para  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  de di-heptil ftalato a 117% para  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\beta$ -hexacloro ciclohexano em níveis de concentração mais elevados. Valores aceitáveis de precisão foram obtidos para os estudos de recuperação relativa de analito, variando entre 0,5% para  $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de *m*-xileno e 19% para  $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$  de naftaleno.

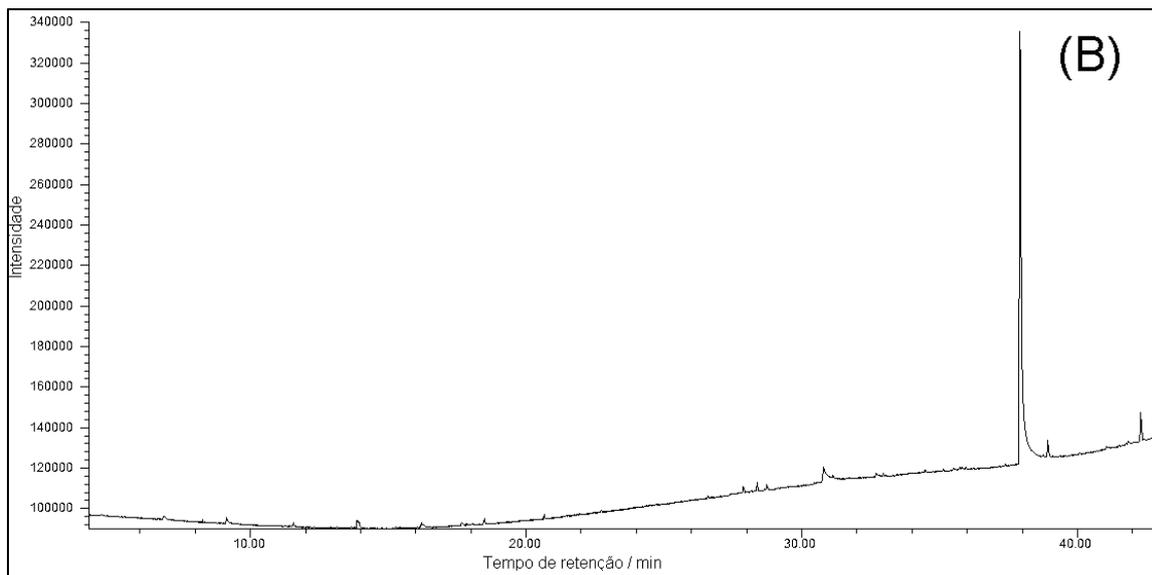
Na Figura 26 (A e B) são mostrados dois cromatogramas. O cromatograma representado na Figura 26-A corresponde a uma amostra de água ultrapura fortificada com os compostos em estudo, e o cromatograma da Figura 26-B foi obtido a partir de uma extração feita em uma amostra real de água de lago. Na amostra de água de lago avaliada, nenhum dos compostos de interesse foi quantificado. A ordem de eluição dos compostos é descrita abaixo.

Ordem de eluição: 1) etil benzeno; 2) *m*-xileno; 3) naftaleno; 4) acenaftileno; 5) acenafteno; 6) fluoreno; 7) di-isopropil ftalato; 8)  $\alpha$ -hexacloro ciclohexano; 9)  $\gamma$ -hexacloro ciclohexano; 10)  $\beta$ -hexacloro ciclohexano; 11) antraceno; 12) fenantreno; 13)  $\delta$ -hexacloro ciclohexano; 14) di-isobutil ftalato; 15) heptacloro; 16) aldrin; 17) heptacloro epóxido; 18) fluoranteno; 19) pireno; 20) dieldrin; 21) di-heptil ftalato.

**Figura 26.** (A) Cromatograma de íons totais utilizando a fibra 1 para a extração em amostra de água fortificada com as seguintes concentrações: compostos orgânicos voláteis (etil benzeno e *m*-xileno):  $7 \mu\text{g L}^{-1}$ ; ésteres de ftalato:  $7 \mu\text{g L}^{-1}$ ; HPA:  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e agrotóxicos organoclorados:  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figura 26.** (B) Cromatograma obtido da extração em uma amostra real de água de lago. Condições cromatográficas utilizadas: Tempo de extração de 50 min (25 min no modo DI seguidos por 25 min no modo HS), temperatura de extração: 40 °C e agitação de 600 rpm.



Fonte: Autoria própria (2016)

## 5.5 Conclusões parciais

Um revestimento composto de líquido iônico polimérico como fase extratora (fibra **1**) foi empregado no modo de amostragem DI-HS-SPME resultando em boas eficiências de extração para as diferentes classes de analitos examinadas neste estudo. Diferentes modos de amostragem para SPME foram explorados e a utilização de DI-HS-SPME possibilitou a determinação simultânea de analitos com grande variação na volatilidade/polaridade, sendo este um grande desafio em SPME. O modo de amostragem DI-HS pode ser extremamente útil para aplicações em que os analitos pertençam a diferentes classes químicas e exibam propriedades distintas, o que é bastante interessante para amostras ambientais (águas de rios e lagos, e também águas residuais). A comparação das eficiências de extração entre os diversos revestimentos permitiu a observação da seletividade frente às diversas classes de analitos. A fibra **1** produziu excelente eficiência de extração para compostos que apresentam unidades aromáticas, possibilitando a obtenção de LOD na faixa de partes por trilhão para HPA. Além disso, as precisões e as linearidades alcançadas foram aceitáveis e as recuperações foram satisfatórias para as extrações realizadas em amostras de água de lago e de torneira.



## **Capítulo VI. Líquidos iônicos poliméricos como fases extratoras para microextração em fase sólida aplicados em cromatografia líquida de alta eficiência**

### **6.1 Introdução**

Tendo em vista a grande quantidade de compostos que podem ser determinados por cromatografia líquida, emerge a necessidade da utilização de técnicas de preparo de amostras compatíveis com esse método de separação. A SPME é uma técnica que apresenta uso muito difundido, tendo como principais vantagens a não utilização de solventes na etapa de extração, bem como a versatilidade nas amostragens. Neste estudo, fases extratoras compostas de líquidos iônicos poliméricos para SPME foram desenvolvidas e aplicadas pela primeira vez em análises envolvendo cromatografia líquida de alta eficiência. Seis polímeros de líquidos iônicos estruturalmente diferentes foram aderidos a suportes de nitinol e aplicados para a determinação de fármacos, fenóis e inseticidas em amostras aquosas. As condições de extração incluindo pH da amostra, tempo de extração, solvente e volume de dessorção, e tempo de dessorção foram otimizados. Para a realização das otimizações, modelos univariados e também multivariados foram utilizados. As novas fases extratoras compostas de PIL compatíveis com solventes utilizados para HPLC apresentaram-se bastante estáveis durante a realização das extrações, inclusive sob pH baixo, mantendo-se sem degradação visível perante vários solventes orgânicos de dessorção incluindo metanol, acetonitrila e acetona. Os parâmetros analíticos de mérito foram determinados para os compostos em estudo, sendo também realizados ensaios de recuperação relativa dos analitos em amostras reais de água de lago e de torneira.

### **6.2 Materiais e métodos**

#### **6.2.1 Instrumentação**

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo líquido Shimadzu LC-20A (Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com um injetor manual Rheodyne, duas bombas modelo LC-20AT, um degaseificador modelo DGU-20A3 e um detector UV/Vis modelo SPD-20. A separação dos analitos foi realizada em uma coluna da marca Restek modelo Ultra C18 (250 mm × 4,6 mm de diâmetro

interno) com tamanho de partículas de 5,0  $\mu\text{m}$  (Palo Alto, EUA). O método cromatográfico de separação por gradiente foi aplicado, tendo início com 60% de fase móvel A (ácido acético a 0,1% em água) e 40 % de fase móvel B (0,05% de ácido acético em acetonitrila). A fase móvel B foi gradualmente aumentada de 40% para 70% em 15 min e novamente aumentada de 70% para 85% em 15 min, seguido por um período isocrático a 85% durante 10 min. A vazão foi mantida a 1 mL  $\text{min}^{-1}$ . Foi utilizado 220 nm como comprimento de onda de detecção para monitorar  $\alpha$ -17-etinilestradiol, fenoprofeno, ibuprofeno, deltametrina e fenvalerato, para os demais analitos foi utilizado 254 nm.

Um microscópio eletrônico de varredura marca JEOL modelo JSM-6060LV (JEOL Company Inc., Peabody, EUA) foi utilizado para as medidas da espessura de filme das fibras de líquidos iônicos poliméricos. Um espectrômetro de ressonância magnética nuclear Bruker modelo DRX 500 MHz (Bruker, Massachusetts, EUA) foi utilizado para caracterização dos produtos obtidos nas sínteses.

Para a polimerização dos recobrimentos de líquidos iônicos utilizados como fase extratora foi utilizado um reator modelo RPR-100 (Southern New England Ultraviolet Company, Connecticut, EUA) com capacidade para 16 lâmpadas. Um comprimento de onda de 360 nm foi utilizado para a polimerização dos líquidos iônicos contendo o ânion  $\text{NTf}_2^-$ , e 254 nm foram selecionados para a polimerização dos compostos contendo ânions de algum haleto.

### 6.2.2 Síntese dos líquidos iônicos e fabricação das fibras para SPME

A síntese dos monômeros cloreto de 1-vinilbenzil-3-hexadecilimidazol  $[\text{VBC}_{16}\text{IM}][\text{Cl}]$ , bis[(trifluorometil)sulfonyl]imideto de 1-vinilbenzil-3-hexadecilimidazol  $[\text{VBC}_{16}\text{IM}][\text{NTf}_2]$ , brometo de 1-vinil-3-(2-hidroxietil)imidazol  $[\text{VC}_2\text{OHIM}][\text{Br}]$ , cloreto de 1-vinil-3-(10-hidroxidecil)imidazol  $[\text{VC}_{10}\text{OHIM}][\text{Cl}]$ , bis[(trifluorometil)sulfonyl]imideto de 1-vinil-3-(10-hidroxidecil)imidazol  $[\text{VC}_{10}\text{OHIM}][\text{NTf}_2]$ , e dos *crosslinkers* dicloreto de 1,12-di(3-vinilbenzilimidazol) dodecano  $[(\text{VBIM})_2\text{C}_{12}]_2[\text{Cl}]$ , di-bis[(trifluorometil)sulfonyl]imideto de 1,12-di(3-vinylbenzylimidazolium) dodecano  $[(\text{VBIM})_2\text{C}_{12}]_2[\text{NTf}_2]$  foi realizado tendo como base estudos previamente reportados na literatura (Baltazar *et al.*, 2007; Zhao, F. *et al.*, 2008; Yu, H. *et al.*, 2015). A síntese do monômero brometo de 1-vinil-3-(9-carboxionil)imidazol

[VC<sub>9</sub>COOHIM][Br] foi feita pela mistura de 13,3 mmol de 1-vinilimidazol e 20,0 mmol de ácido 10-bromodecanóico em acetonitrila. A reação foi mantida a 60 °C durante 3 dias. Após esse tempo, o solvente foi removido sob vácuo e o produto foi dissolvido em 8 mL de água e lavado com 4 mL de acetato de etila por 6 vezes, seguido por outra lavagem com clorofórmio para a remoção de possíveis impurezas. A fase aquosa foi então retirada e seca sob vácuo. Todos os produtos das reações foram caracterizados por <sup>1</sup>H RMN, sendo estes dados mostrados nos apêndices XI - XVIII.

Em relação à fabricação das fibras, seguiu-se o mesmo procedimento comentado no capítulo anterior (Ho, Toledo, *et al.*, 2014), com exceção de que os segmentos de nitinol foram polidos com uma lixa para proporcionar uma melhor aderência do recobrimento polimérico previamente ao procedimento de oxidação. Na Tabela 13 são representadas as estruturas dos recobrimentos de PIL empregadas nesse estudo, bem como o valor de espessura de filme aproximado para as mesmas obtidas por SEM.

### 6.2.3 Reagentes

- Acrilonitrila 99% (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA).
- 1-clorohexadecano 99% (Sigma Aldrich).
- 1,12 dibromododecano 98% (Sigma Aldrich).
- 4-clorometil estireno 90% (Sigma Aldrich).
- Ácido 10-bromodecanóico 95% (Sigma Aldrich).
- 10-cloro-1-decanol 90% (Sigma Aldrich).
- 1-vinil imidazol 99% (Sigma Aldrich).
- Imidazol (99%) (Sigma Aldrich).
- Viniltrimetoxisilano (VTMS) 98% (Sigma Aldrich).
- Peróxido de hidrogênio (Fisher Scientific, Fair Lawn, EUA).
- Acetonitrila grau HPLC ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Acetona grau HPLC ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Metanol grau HPLC ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Isopropanol ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Ácido acético glacial (Fisher Scientific, Fair Lawn, EUA).
- Ácido clorídrico (Fisher Scientific, Fair Lawn, EUA).
- Hidróxido de sódio (Fisher Scientific, Fair Lawn, EUA).
- Dimetil sulfóxido ( $\geq 99\%$ ) (Sigma Aldrich).
- Bis[(trifluorometil)sulfonyl]imideto de lítio (SynQuest Laboratories, Alachua, EUA).
  - *n*-Hexano (99%) (Sigma Aldrich).
  - 2-hidróxi-2-metil propiofenona (DAROCUR 1173) (Sigma Aldrich).
    - Água ultrapurificada (Millipore, Bedford, EUA).
    - Fenacetina ( $\geq 98\%$ ), cetoprofeno ( $\geq 98\%$ ), 17- $\alpha$ -etinilestradiol ( $\geq 98\%$ ), fenoprofeno de cálcio ( $\geq 97\%$ ), diclofenaco de sódio ( $\geq 98.5\%$ ), ibuprofeno (98%), 2,4,6-triclorofenol (98%), hexaflumurona (99,1%), foxima (98,1%), clorfenapir (98,8%), flufenoxuron (98,1%), hexitiazox (99%), clorfluazuron (98,9%), deltametrina (99,7%), fenvalerato (99%) e  $\tau$ -fluvalinato (99%) (Sigma Aldrich)
      - 2-nitrofenol (99%) (Acros Organics, PA, EUA)
      - 2,4-dinitrofenol (99%) (Eastman Organic Chemicals, Tennessee, EUA).

### 6.2.4 Materiais em geral

- Frascos âmbar hermeticamente vedados com capacidade para 10 mL com septos de PTFE/Silicone (Supelco, Bellefonte, EUA).
- Filtros Minisart® de polietersulfona com tamanho de poros de 0,22  $\mu\text{m}$  (Sartorius, Goettingen, Alemanha).
- Balões volumétricos com capacidade de 5 e 10 mL.
- Micropipetadores com capacidade variável (1 – 1000  $\mu\text{L}$ ) (Eppendorf, Hauppauge, EUA).
- Fios de nitinol com diâmetro de 128  $\mu\text{m}$  (Nitinol *Devices and Components*, Fremont, EUA).
- Fibra para SPME com o recobrimento de DVB/PDMS 65  $\mu\text{m}$  (Supelco, Bellefonte, EUA)

## 6.3 Parte Experimental

### 6.3.1 Otimização do tipo do solvente de dessorção para os recobrimentos de PIL

Para a utilização da microextração em fase sólida em análises envolvendo HPLC é necessário uma adequada otimização do solvente de dessorção dos analitos. Nesta etapa, um modelo de superfície triangular foi aplicado para a avaliação do solvente mais apropriado para a dessorção dos analitos fenacetina, cetoprofeno, 17- $\alpha$ -etinilestradiol, fenoprofeno de cálcio, diclofenaco de sódio, ibuprofeno, 2,4,6-triclorofenol, hexaflumurona, foxima, 2-nitrofenol, 2,4-dinitrofenol, clorfenapir, flufenoxuron, hexitiazox, clorfluazuron, deltametrina, fenvalerato e  $\tau$ -fluvalinato. A fibra **1** foi utilizada como modelo. Os solventes avaliados foram acetonitrila, metanol e acetona, sendo utilizado volume de dessorção de 50  $\mu\text{L}$  para todas as análises, as quais foram realizadas em duplicata.

Os dados foram avaliados mediante utilização do software *Statsoft Statistica* 8.0, sendo consideradas como respostas as médias aritméticas correspondentes às áreas cromatográficas dos analitos em cada análise. O solvente extrator mais adequado foi escolhido baseado na superfície de resposta triangular obtida após a realização das análises.

### 6.3.2 Estudo das variáveis de influência: planejamento fatorial completo para recobrimentos de PIL

Para a realização do planejamento fatorial completo em dois níveis foram escolhidas quatro variáveis, incluindo pH da amostra (2 e 10), tempo de extração (15 e 45 min), tempo de dessorção (5 a 25 minutos) e volume do solvente de dessorção (30 e 70  $\mu\text{L}$ ). A matriz dos experimentos está mostrada na Tabela 13.

**Tabela 13.** Matriz de experimentos utilizada para o planejamento fatorial completo.

Experimento	pH da amostra	tempo de extração / min	tempo de dessorção / min	volume de dessorção / $\mu\text{L}$
1	2	15	5	30
2	10	15	5	30
3	2	45	5	30
4	10	45	5	30
5	2	15	25	30
6	10	15	25	30
7	2	45	25	30
8	10	45	25	30
9	2	15	5	70
10	10	15	5	70
11	2	45	5	70
12	10	45	5	70
13	2	15	25	70
14	10	15	25	70
15	2	45	25	70
16	10	45	25	70

Após esse estudo, as variáveis que apresentaram efeitos mais pronunciados na resposta cromatográfica foram estudadas mais detalhadamente.

### 6.3.3 Otimização das condições de extração para o recobrimento comercial DVB/PDMS

Os parâmetros de extração/dessorção, incluindo solvente de dessorção, pH e tempo de extração foram estudados individualmente

para a fibra de DVB/PDMS. O solvente de dessorção foi otimizado utilizando-se o mesmo procedimento empregado para as fibras baseadas em PIL, ou seja, pela aplicação de um modelo de superfície triangular. O tempo de extração foi estudado univariadamente com valores variando de 5 a 120 minutos. O pH da amostra foi avaliado entre 2,5 e 7,5; levando-se em consideração que para o recobrimento composto por DVB/PMDS não é indicada a utilização de pH menor que 2. O mesmo tempo de dessorção e volume de solvente de dessorção utilizado para as fibras compostas por PIL foram aplicados para a fibra de DVB/PDMS.

### **6.3.4 Comparação das eficiências de extração e seletividades para os analitos**

A seletividade para analitos foi estudada por comparação das eficiências de extração obtidas pelos seis recobrimentos compostos por PIL nas condições de extração previamente otimizadas. Uma fibra comercial composta por DVB/PMDS também foi utilizada para efeito de comparação.

Além disso, o efeito da espessura de filme do recobrimento foi estudado comparando-se o desempenho de extração para uma fibra composta pelo monômero  $[\text{VC}_{10}\text{OHIM}][\text{Cl}]$  e o *crosslinker*  $[(\text{VBIM})_2\text{C}_{12}]_2[\text{Cl}]$  com diferentes espessuras. Duas fibras compostas somente por fios de nitinol (sem recobrimento polimérico) foram também avaliadas sob as mesmas condições de extração já otimizadas. A Fibra **a** foi produzida pelo tratamento do fio de nitinol com solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% v/v), enquanto a Fibra **b** foi produzida pelo tratamento com  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% v/v) seguido pela ativação com VTMS.

### **6.3.5 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito para o recobrimento PIL de (Fibra 3B)**

Após a realização das otimizações e comparações, os parâmetros analíticos de mérito foram determinados incluindo linearidade, faixa linear, precisão, LOQ e LOD. A exatidão do método foi avaliada mediante ensaios de recuperação relativa dos analitos em amostras reais de água de torneira e água de lago.

As amostras de água de torneira foram coletadas no Laboratório de Química Analítica e Bioanalítica da Iowa State University, localizada em Ames nos Estados Unidos. As amostras de água de lago foram coletadas no lago Ada Hayden Heritage Park Lake (42°04'18.1"N

93°37'24.8"W), também localizado na cidade de Ames, no estado de Iowa, EUA.

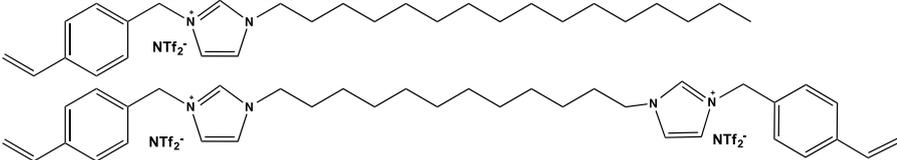
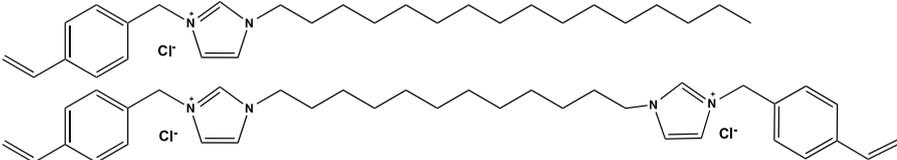
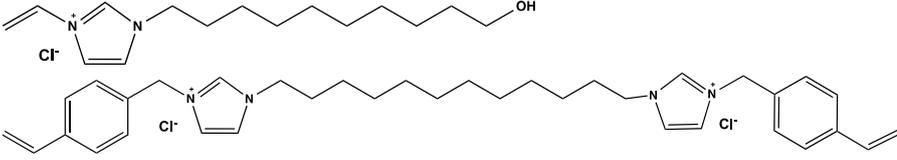
## **6.4 Resultados e discussão**

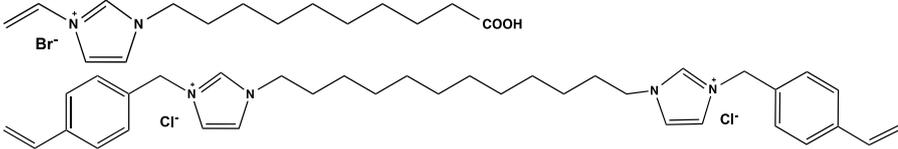
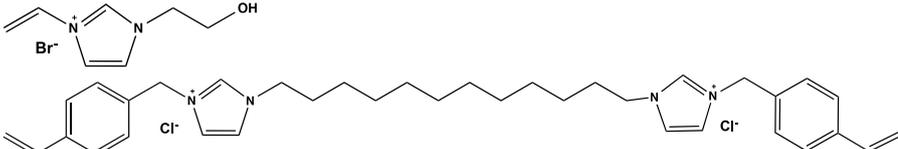
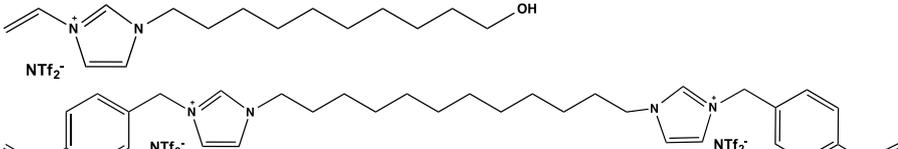
### **6.4.1 Características estruturais dos recobrimentos de PIL sintetizados e compatíveis com HPLC**

Seis fibras com diferentes recobrimentos de líquidos iônicos poliméricos foram fabricadas mediante combinação de vários monômeros e *crosslinkers* para explorar a sua seletividade frente aos analitos. Como pode ser visto no apêndice XIX, a maioria dos analitos possui diferentes substituintes incluindo partes aromáticas, carbonilas, aminas, grupos hidroxila e halogênios.

Com a finalidade de avaliar a seletividade de extração para os analitos frente às fases extratoras, a natureza dos revestimentos poliméricos foi variada através do emprego de diferentes ânions e também de diferentes grupos funcionais ligados aos cátions, como pode ser observado na Tabela 14,

**Tabela 14.** Estruturas das fibras de PIL empregadas nesse estudo.

Fibra	Monômero e <i>crosslinker</i> utilizados <sup>a</sup>	Espessura de filme (μm)
Fibra 1		29
Fibra 2		20
Fibra 3		23 (Fibra 3A) 89 (Fibra 3B)

Fibra	Monômero e <i>crosslinker</i> utilizados <sup>a</sup>	Espessura de filme (μm)
Fibra 4		16
Fibra 5		28
Fibra 6		21

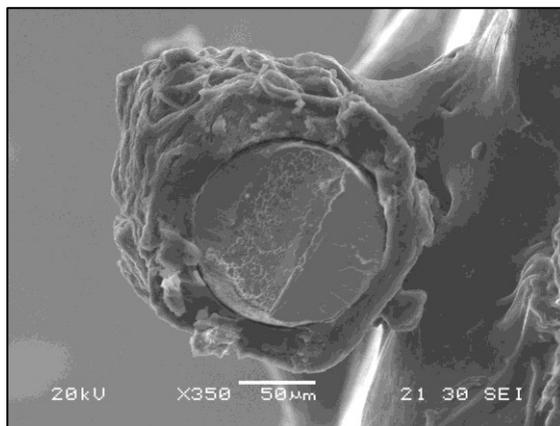
<sup>a</sup>O percentual em massa de *crosslinker* empregado na mistura foi de 50% da massa do monômero.

Através da Tabela 14 pode-se notar que diferentes estruturas foram sintetizadas e utilizadas como fases extratoras. O ânion cloreto foi incorporado nas fibras **2**, **3** e **4**, com a finalidade de aumentar a basicidade da ligação de hidrogênio dos revestimentos extratores em comparação com as fibras **1** e **6**, as quais contêm o ânion  $\text{NTf}_2^-$ .

Grupos hidroxila foram incorporados nas fibras **3**, **5**, **6** e também grupos de ácidos carboxílicos na fibra **4** com a finalidade de aumentar a acidez desses recobrimentos, o que pode aumentar a interação por meio de ligação de hidrogênio com os analitos mais básicos. O comprimento da cadeia alquil dos substituintes no cátion do monômero foi variado nas fibras **3** e **5**, a fim de explorar o efeito de interações do tipo dispersivas entre esses recobrimentos e os analitos. Além disso, grupos aromáticos foram introduzidos em todos os revestimentos para aumentar as interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  entre o revestimento extrator e os analitos.

Esses revestimentos poliméricos formados por monômeros e *crosslinkers* de líquidos iônicos possibilitaram a formação de fases extratoras reticuladas, as quais apresentaram excelente resistência frente aos solventes utilizados para HPLC e eficientes dessorções com efeito de memória não significativo. Uma imagem de uma microscopia eletrônica de varredura correspondente a uma seção transversal da fibra **3A** é mostrada na Figura 27, sendo obtida após 36 ciclos de extração/dessorção.

**Figura 27.** Micrografia da seção transversal da fibra 3A após 36 ciclos de extração.



Fonte: Autoria própria (2016).

Como pode ser observado através da micrografia acima, após os 36 ciclos de extração/dessorção, a fibra ainda apresentou uma considerável quantidade de fase extratora. Foi possível verificar que mesmo na presença de solventes orgânicos comuns para HPLC (metanol, acetonitrila, acetona) esses solventes exibiram boa estabilidade. Esse fato comprova a alta resistência das fibras compostas por líquidos iônicos poliméricos desenvolvidos para estudo, sendo estas compatíveis com a técnica de HPLC.

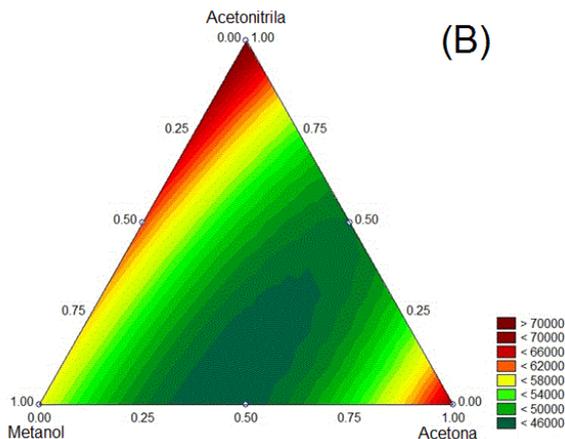
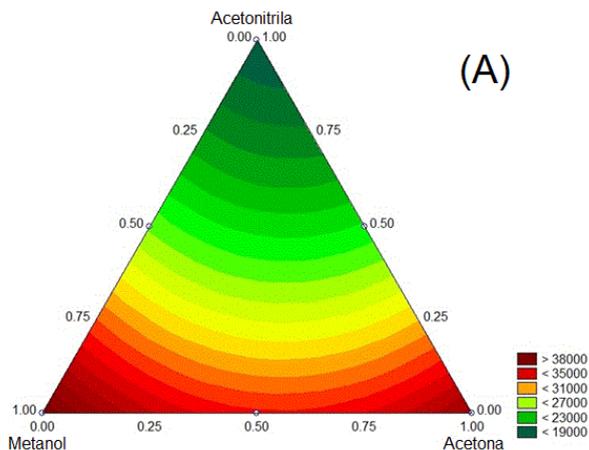
## **6.4.2 Otimização das condições de extração utilizando fases extratoras de líquidos iônicos (Fibra 1)**

### **6.4.2.1 Otimização do solvente de dessorção**

O solvente de dessorção foi otimizado através de um modelo de superfície triangular. Amostras aquosas de 10 mL foram fortificadas com  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito, sendo submetidas a 30 minutos de extração utilizando 50  $\mu\text{L}$  de solvente de dessorção e 15 minutos de dessorção. Foram selecionados três solventes orgânicos polares, incluindo acetonitrila, acetona e metanol.

As médias aritméticas das áreas cromatográficas correspondentes a todos os analitos foram utilizadas para a construção das superfícies triangulares. Uma maior média aritmética indica uma melhor capacidade de dessorção para o solvente. Na Figura 28-A é mostrada a superfície triangular obtida para essa otimização. Também foi otimizado o tipo de solvente de dessorção para a fibra comercial composta por DVB/PMDS, sendo mostrada a superfície na Figura 28-B. As equações referentes às superfícies de respostas estão dispostas no apêndice XX.

**Figura 28.** Superfícies triangulares correspondentes à média aritmética de todos os analitos para extrações em amostras de água fortificadas com  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  utilizando a fibra 1 (A) e fibra DVB/PDMS (B). Foram empregados 30 min de extração, 15 min de dessorção e 50  $\mu\text{L}$  de solvente de dessorção.



Fonte: Autoria própria (2016).

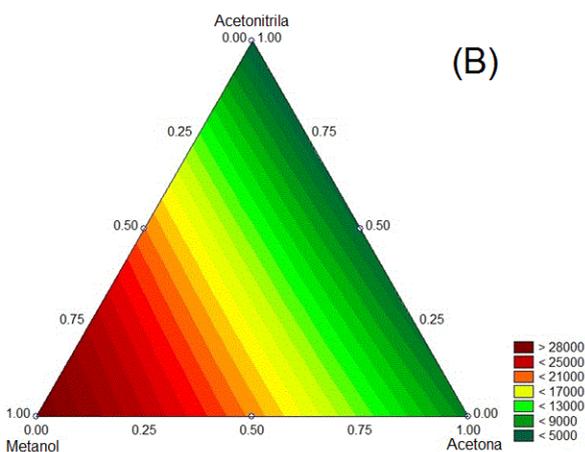
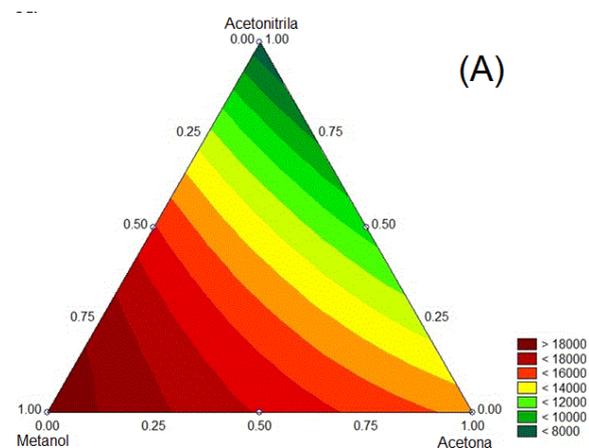
A partir da superfície triangular mostrada na Figura 28-B pode-se observar que para a fibra comercial de DVB/PDMS os melhores resultados foram obtidos utilizando-se acetonitrila e acetona como solventes de dessorção, entretanto a acetonitrila apresentou eficiências ligeiramente superiores. Desta forma, esse solvente foi fixado como o solvente otimizado de extração para a fibra comercial abordada nesse estudo.

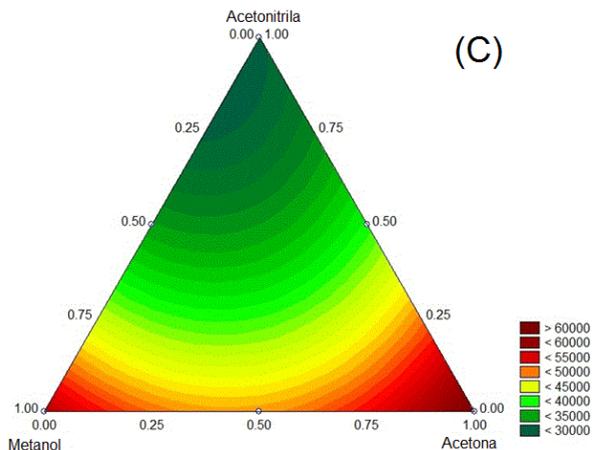
Em relação à fibra **1**, metanol e acetona exibiram respostas mais eficientes enquanto que a acetonitrila forneceu os piores resultados. Desta forma, para a escolha do solvente ideal, os dados foram avaliados

para os analitos separados em diferentes classes incluindo fármacos, fenóis e inseticidas. As superfícies triangulares para essas diferentes classes são mostradas na Figura 29 (A, B e C).

**Figura 29.** Superfícies triangulares para a otimização do tipo de solvente de dessorção com a fibra 1 para: (A) fármacos, (B) fenóis e (C) inseticidas.

Condições de extração: concentração dos analitos:  $400 \mu\text{g L}^{-1}$ , tempo de extração: 30 min, tempo de dessorção: 15 min e volume de solvente de dessorção  $50 \mu\text{L}$ .





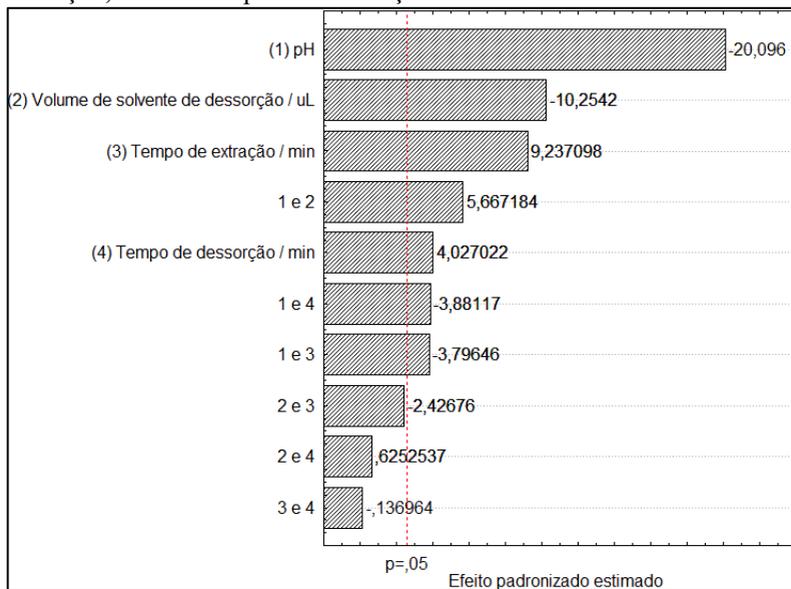
Fonte: Autoria própria (2016).

Como mostrado na Figura 29 (A, B e C), o metanol apresentou melhor desempenho na dessorção dos fármacos e também para os compostos fenólicos avaliados neste estudo, enquanto que a acetona exibiu uma melhor eficiência de dessorção para os inseticidas. Também foi possível observar o fraco desempenho de dessorção referente à acetonitrila para todas as classes de compostos avaliadas. Desta forma, o metanol foi escolhido como o solvente de dessorção para estudos subsequentes. As equações referentes às superfícies de respostas estão dispostas no apêndice XXI.

#### 6.4.2.2 Planejamento fatorial completo: variáveis de influência na metodologia

Um planejamento fatorial completo em dois níveis foi utilizado para a avaliação da influência das variáveis de extração/dessorção incluindo o volume de solvente de dessorção, pH da amostra, tempo de extração e tempo de dessorção, sendo que a matriz dos experimentos foi mostrada na Tabela 14 na seção de materiais e métodos. A partir da média aritmética das áreas cromatográficas obtidas para os analitos, foi construído um gráfico de Pareto mostrado na Figura 30, o qual permite a avaliação das variáveis que mais exibiram maior influência nas respostas.

**Figura 30.** Gráfico de Pareto obtido para as variáveis pH da amostra, volume do solvente de dessorção, tempo de extração e tempo de dessorção, bem como para as interações entre as variáveis.



Fonte: A autoria própria (2016).

Verificando-se as variáveis que exibiram influência no procedimento de extração foi observado que o pH da solução da amostra foi o parâmetro mais importante seguido por volume de solvente de dessorção e o tempo de extração. O tempo de dessorção também foi significativo para o procedimento, entretanto se comparado às demais variáveis foi o que apresentou a menor influência nas respostas.

Os valores negativos para os efeitos referentes ao volume de solvente de dessorção e pH indicaram que, para essas variáveis, o menor valor utilizado aumentou a resposta cromatográfica. Utilizando-se um volume maior de solvente de dessorção, os analitos serão mais “diluídos”, ocasionando uma menor resposta. Desta forma, um volume de dessorção de 30  $\mu\text{L}$  foi fixado.

A variável tempo de dessorção exibiu valor de efeito positivo, com isso um tempo de dessorção mais elevado favoreceria a resposta. Entretanto, a utilização de um tempo de 25 minutos (maior tempo de dessorção utilizado no planejamento fatorial completo) diminuiria a

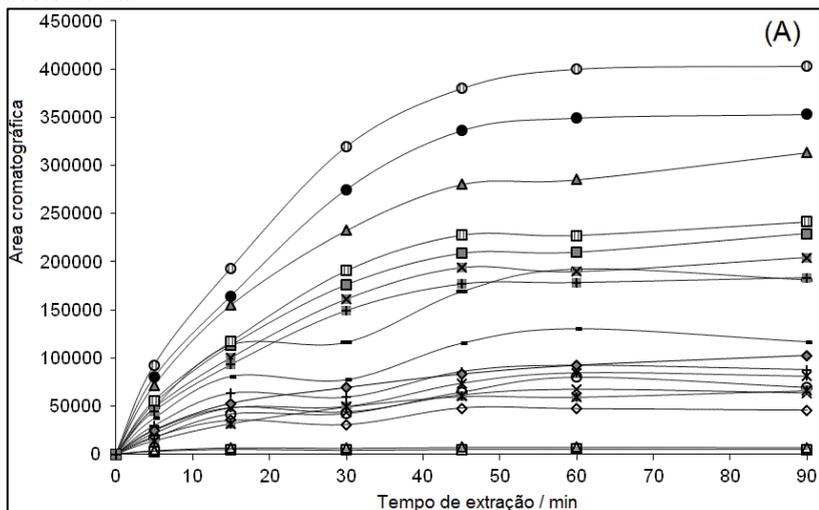
frequência analítica do método, sendo assim, um tempo de 15 minutos foi fixado.

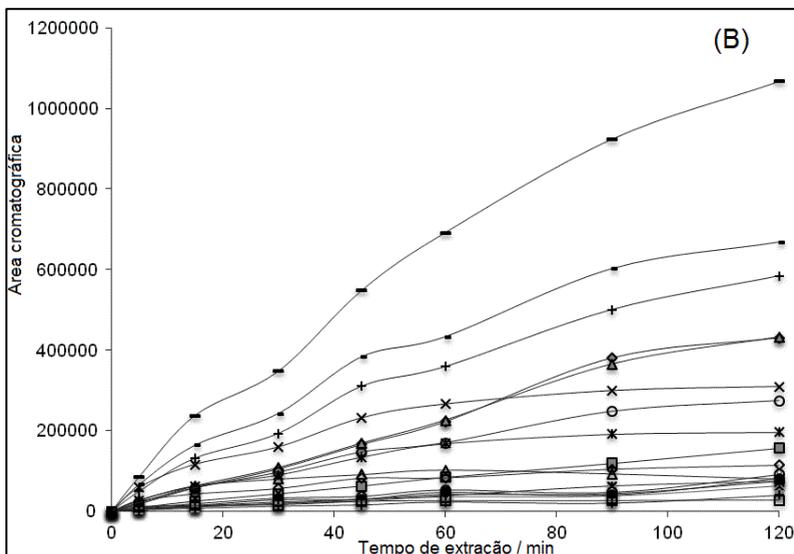
As variáveis pH da amostra e tempo de extração também obtiveram efeitos bastante significativos. Desta forma, essas variáveis foram novamente avaliadas de forma univariada para uma melhor verificação das condições ótimas de extração.

#### **6.4.2.3 Otimização de tempo de extração e pH da amostra**

De acordo com os dados obtidos no gráfico de Pareto, as variáveis tempo de extração e pH da amostra exibiram valores de efeitos bastante significativos, sendo estudadas mais detalhadamente. Foram realizadas extrações em amostras de 10 mL contendo  $400 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito, utilizando-se diferentes tempos de extração e diferentes pH. Essas variáveis foram estudadas para a fibra **1** e também para a fibra comercial, composta por DVB/PDMS. Os resultados correspondentes ao tempo de extração referentes à fibra **1**, e para a fibra comercial estão dispostos na Figura 31 (A e B), respectivamente.

**Figura 31.** Otimização do tempo de extração para fibra 1 (A) e fibra comercial de DVB/PDMS (B) para os analitos: (□) fenacetina; (◇) 2,4-dinitrofenol; (△) 2-nitrofenol; (×) cetoprofeno; (✱) 17- $\alpha$ -etinilestradiol; (-) fenoprofeno de cálcio; (-) 2,4,6-triclorophenol; (○) diclofenaco de sódio; (+) ibuprofeno; (■) hexaflumurona; (◆) foxima; (▲) clorfenapir; (✱) flufenoxuron; (✱) hexitiazox; (▣) clorfluazuron; (⊙) deltametrina; (●) fenvalerato; (⊞)  $\tau$ -fluvalinato. Condições de extração para a fibra 1: pH: 1,5; dessorção: 15 min em 30  $\mu$ L de metanol; Fibra DVB/PDMS: pH: 2,0; dessorção: 15 min em 30  $\mu$ L de acetonitrila.





Fonte: Autoria própria (2016).

Como mostrado na Figura 31-A, um perfil de tempo de sorção utilizando a Fibra 1 foi gerado através da variação do tempo de extração entre 0 e 90 minutos. A maioria dos analitos atingiu o equilíbrio de extração em cerca de 60 minutos. Sendo assim, um tempo de extração de 60 minutos foi utilizado para análises empregando a fibras à base de PIL. A precisão das extrações foi avaliada aos 30 minutos e 60 minutos e variou de 1,6% a 18,9%, sendo os resultados mostrados no apêndice XXII.

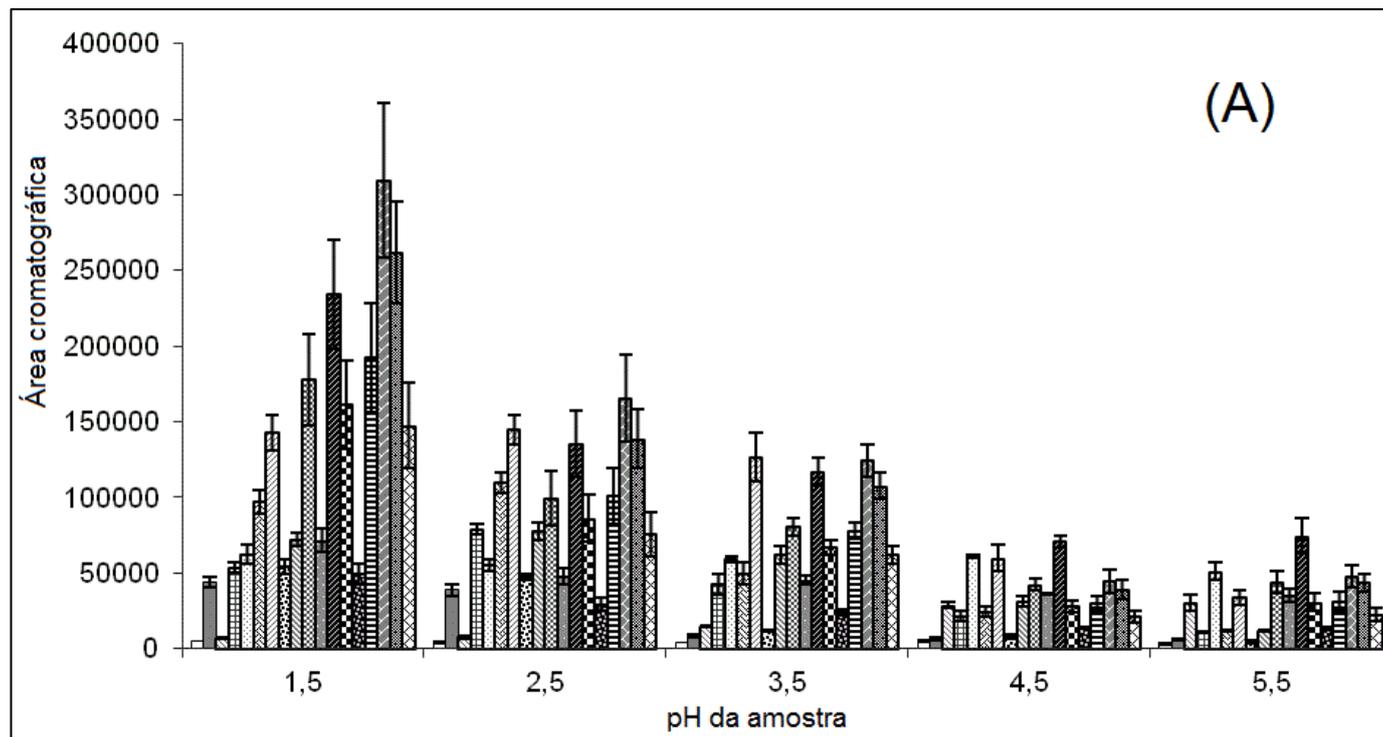
Em relação aos dados obtidos para o perfil de tempo de extração referente à fibra DVB/PDMS, pode-se observar que a maioria dos analitos alcançou o equilíbrio em 90 minutos, com isso esse tempo de extração foi selecionado para estudos subsequentes. A precisão das análises também foi avaliada nos tempos de extração de 30 minutos e 60 minutos e variou entre 0,8% e 14,7%, sendo os valores para cada analito também mostrados no apêndice XXII.

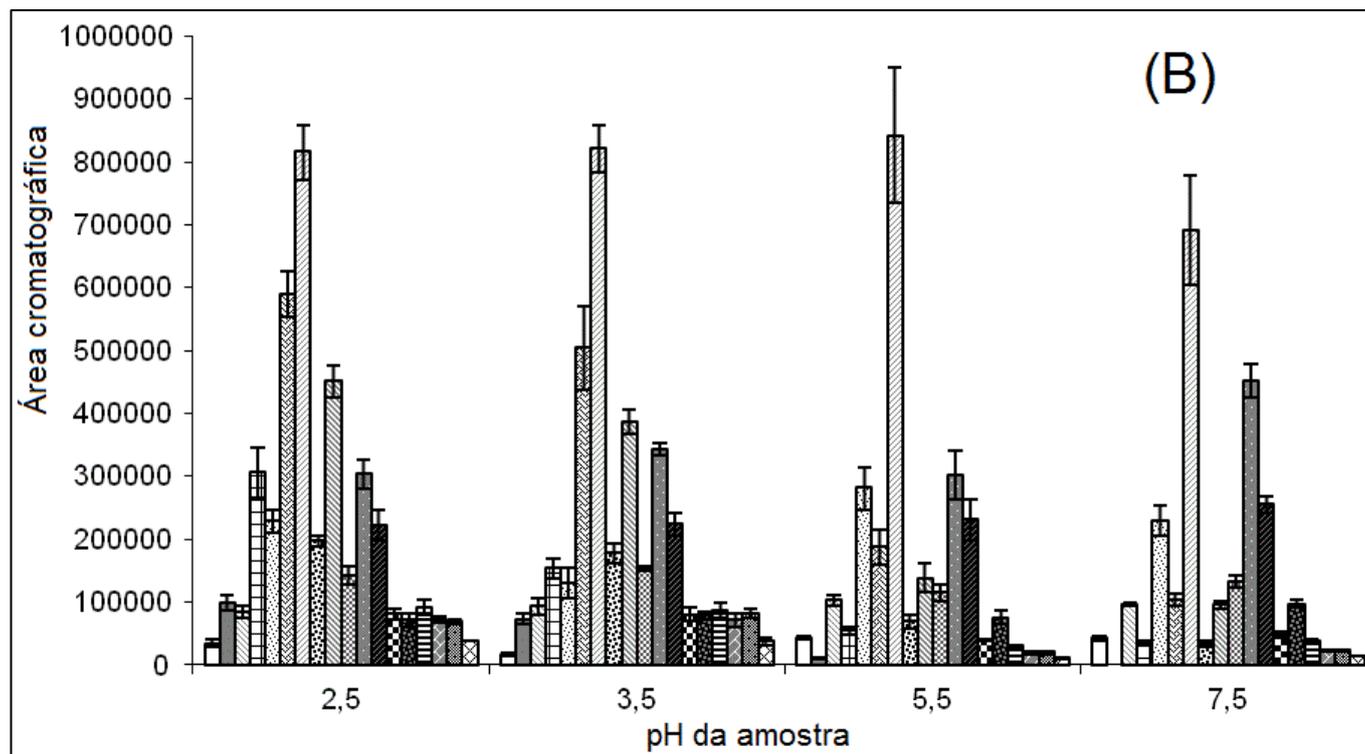
Em relação ao pH da amostra, de acordo com o gráfico de Pareto, pode-se observar que foi obtido um valor negativo referente ao efeito dessa variável, indicando que um para baixos valores de pH foram obtidas as melhores respostas. Desta forma, um intervalo de pH entre 1,5 e 5,5 foi escolhido para um estudo mais detalhado. A Figura 32 (A e

B) representa os valores de área cromatográfica obtidos nos diferentes pH avaliados para a fibra **1** e a fibra comercial de DVB/PDMS.

**Figura 32.** Otimização do pH da amostra para a fibra **1** (A) e fibra comercial de DVB/PDMS (B) para os analitos: (□) fenacetina; (■) 2,4-dinitrofenol; (▣) 2-nitrofenol; (▤) cetoprofeno; (▥) 17- $\alpha$ -etinilestradiol; (▦) fenoprofeno de cálcio; (▧) 2,4,6-triclorofenol; (▨) diclofenaco de sódio; (▩) ibuprofeno; (▪) hexaflumurona; (▫) foxima; (▬) clorfenapir; (▭) flufenoxuron; (▮) hexitiazox; (▯) clorfluazuron; (▰) deltametrina; (▱) fenvalerato; (▲)  $\tau$ -fluvalinato.

Condições de extração para a fibra **1**: tempo de extração: 60 min; dessorção: 15 min em 30  $\mu$ L de metanol; Fibra DVB/PDMS: tempo de extração: 90 min; dessorção: 15 min em 30  $\mu$ L de acetonitrila.





Fonte: Autoria própria (2016).

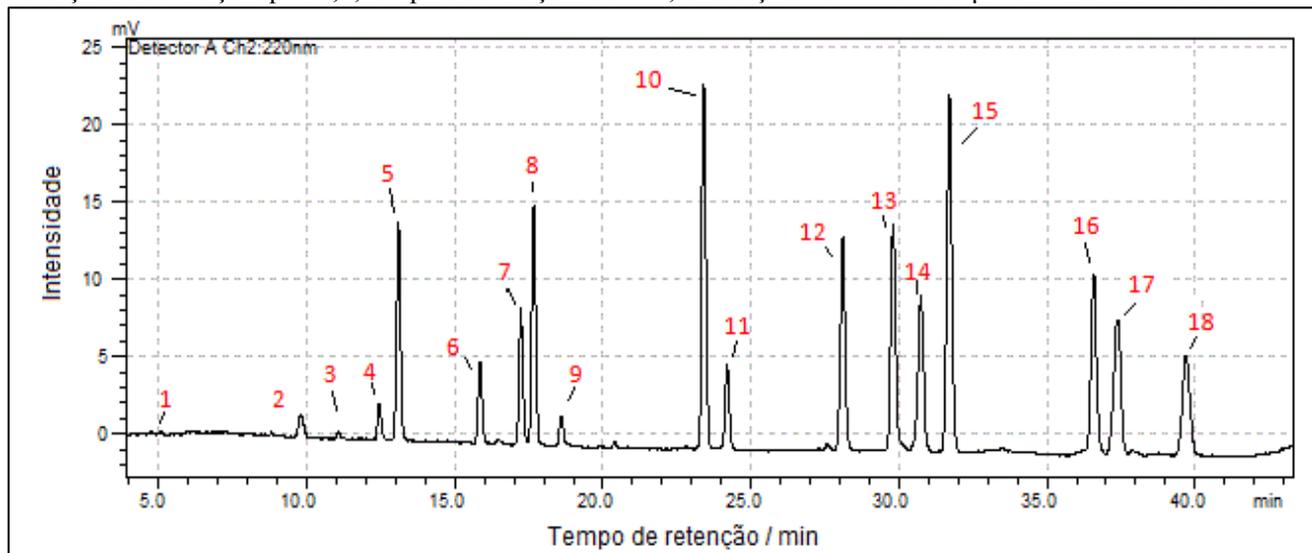
Como mostrado na Figura 32-A, utilizando-se a fibra **1**, uma maior eficiência de extração, para a maioria dos analitos, foi alcançada com um menor pH da amostra. Sendo assim, o pH de 1,5 foi aplicado para os estudos subsequentes.

Em relação à fibra comercial de DVB/PDMS (Figura 32-B) houve uma diminuição na eficiência de extração, para a maioria dos analitos, quando o pH foi aumentado de 2,5 a 7,5, especialmente para 2,4-dinitrofenol, cetoprofeno, fenoprofeno, diclofenaco de sódio e ibuprofeno. Desta forma, um pH de 2,5 foi o que permitiu, no geral, os melhores resultados para a fibra DVB/PDMS.

### **6.4.3 Comparação da eficiência de extração entre as fases extratoras utilizadas**

A seletividade dos seis diferentes recobrimentos formados por líquidos iônicos poliméricos foi estudada. As condições otimizadas foram aplicadas para todas as extrações, sendo estas realizadas no modo de imersão direta, com agitação magnética de 450 rpm e as amostras fortificadas com  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ . Na Figura 33 é mostrado um cromatograma obtido a partir de uma extração utilizando-se a fibra **3A** de uma amostra de água ultra purificada, fortificada com  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  dos analitos.

**Figura 33.** Cromatograma obtido a partir de uma extração de uma amostra de água fortificada com  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  dos analitos: 1) fenacetina 2) 2,4-dinitrofenol 3) 2-nitrofenol 4) cetoprofeno 5) 17- $\alpha$ -etinilestradiol 6) fenoprofeno de cálcio 7) 2,4,6-triclorofenol 8) diclofenaco de sódio 9) ibuprofeno 10) hexaflumuron 11) foxima 12) clorfenapir 13) flufenoxuron 14) hexitiazox 15) clorfluazuron 16) deltametrina 17) fenvalerato 18)  $\tau$ -fluvalinato. Condições de extração: pH: 1,5; tempo de extração: 60 min; dessorção: 15 min em  $30 \mu\text{L}$  de metanol. Fibra 3A.



Fonte: Autoria própria (2016).

Para as extrações com fibras de PIL, o pH foi ajustado para 1,5. Previamente à extração, a solução amostra foi agitada durante 2 minutos e, em seguida, a fibra foi imersa na solução da amostra durante 60 minutos. Após o tempo de extração, a fibra foi recolhida e imersa em 30  $\mu\text{L}$  de metanol para a dessorção, em seguida, 20  $\mu\text{L}$  desse solvente foi injetado no HPLC.

Posteriormente, a fibra foi lavada em metanol durante 30 minutos, e em seguida em água desionizada durante 10 minutos. O passo de lavagem foi realizado após cada processo de extração/dessorção a fim de minimizar possíveis efeitos de memória. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

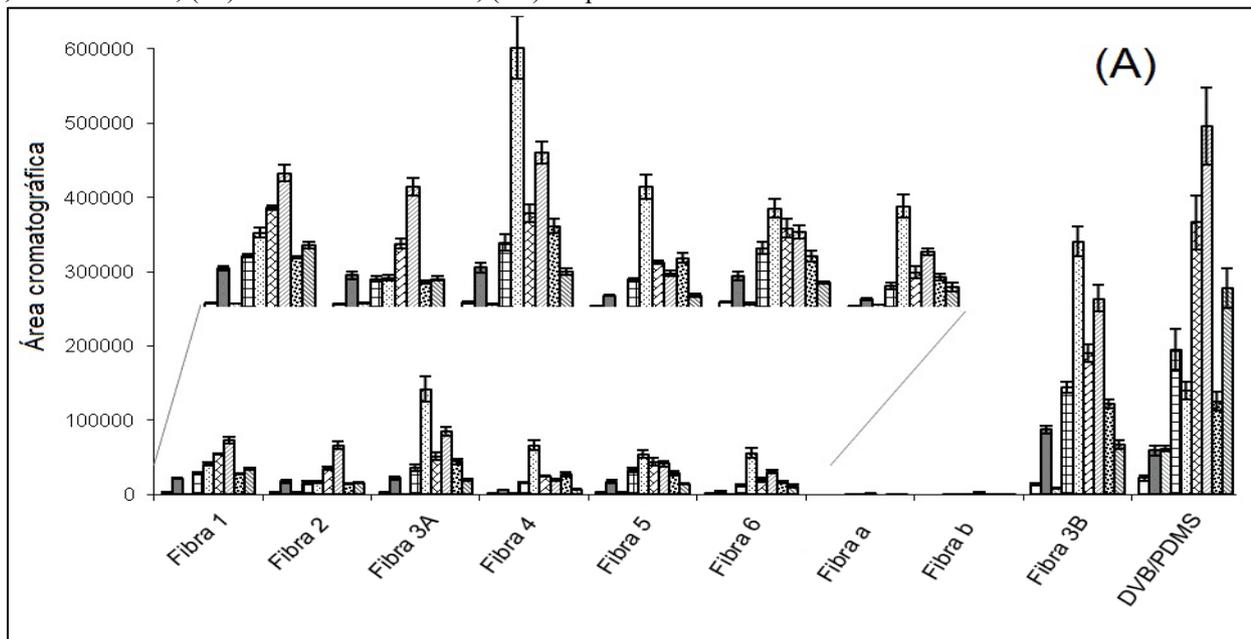
Em relação às extrações utilizando-se a fibra comercial de DVB/PDMS, foram adotadas as condições previamente otimizadas para esse recobrimento. O tempo de extração foi de 90 minutos, com pH ajustado em 2 e acetonitrila como solvente de dessorção. As etapas de extração foram as mesmas já descritas para as fibras de PIL.

Um gráfico de barras representando a área cromatográfica obtida para cada um dos analitos, sendo os mesmos divididos em dois grupos para facilitar a visualização, está mostrado na Figura 34 (A e B).

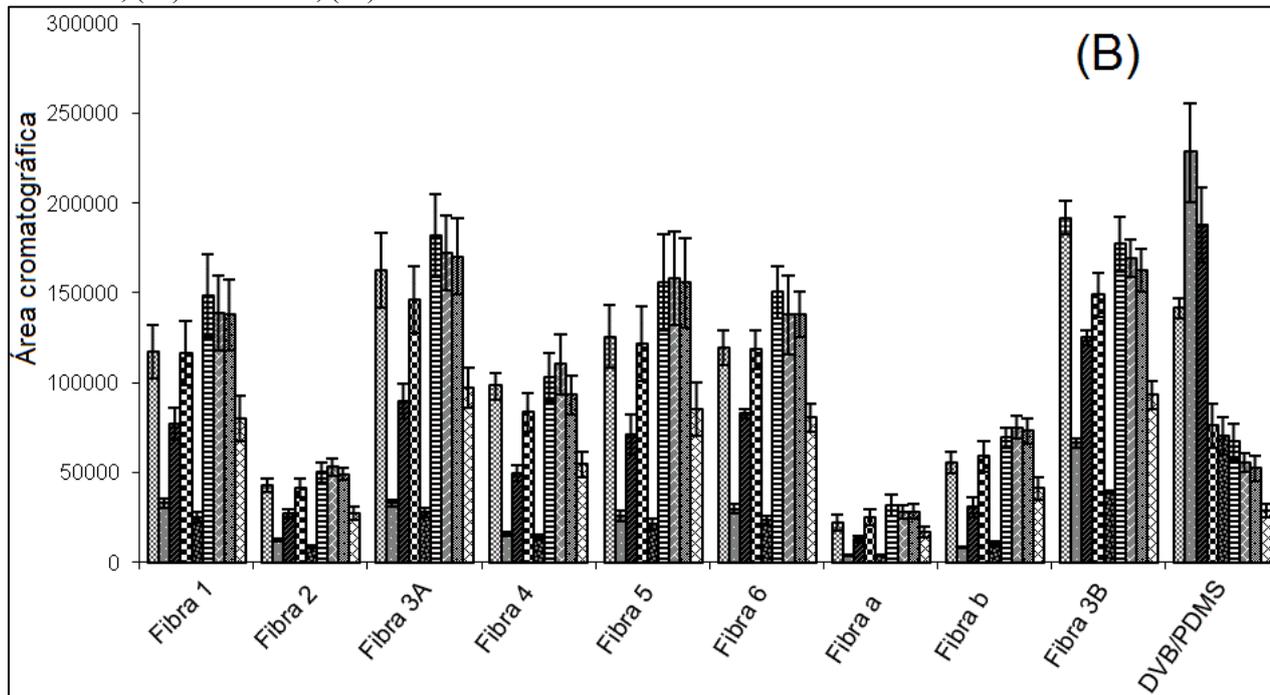
As seguintes condições foram utilizadas:

Concentração dos analitos: 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; tempo de extração: 60 minutos (fibras de PIL), 90 minutos (DVB/PDMS); solvente de dessorção: metanol (fibras de PIL), acetonitrila (DVB/PDMS); pH: 1.5 (fibras de PIL), 2 (PDMS/DVB); Tempo de dessorção: 15 min; volume de dessorção: 30  $\mu\text{L}$ .

**Figura 34.** Eficiência de extração obtida para os analitos utilizando diferentes fases extratoras (A) (□) fenacetina; (■) 2,4-dinitrofenol; (▨) 2-nitrofenol; (▩) cetoprofeno; (▧) 17- $\alpha$ -etinilestradiol; (⊞) fenoprofeno de cálcio; (▤) 2,4,6-triclorofenol; (⊞) diclofenaco de sódio; (▦) ibuprofeno.



(B) (▨) hexaflumurona; (■) foxima; (▩) clorfenapir; (▣) flufenoxuron; (▧) hexitiazox; (▤) clorfluazuron; (▥) deltametrina; (▦) fenvalerato; (▩)  $\tau$ -fluvalinato.



Fonte: Autoria própria (2016).

Através dos gráficos de barras dispostos acima, pode ser avaliada a eficiência de extração em termos de seletividade de cada fase extratora em relação aos analitos. A fibra **3**, a qual apresenta em sua estrutura um substituinte decanol no cátion imidazólio e o cloreto como contra-íon exibiu o melhor desempenho de extração para a maioria dos analitos em comparação com outras fibras de PIL.

As fibras **3**, **4**, **5** e **6** contêm hidroxila ou radicais de ácidos carboxílicos nos cátions dos monômeros e exibiram uma maior seletividade para 17- $\alpha$ -etinilestradiol em comparação com as fibras **1** e **2**, as quais possuem cadeia de hexadecil alquil. Essa diferença na seletividade pode ser devido a uma maior interação a partir de ligações de hidrogênio entre estes revestimentos e os dois grupos hidroxila presentes na estrutura do analito. Verificou-se também que a fibra **2** exibiu a menor eficiência de extração para os inseticidas em comparação com as outras fibras de PIL.

As espessuras de filme de todas as fibras compostas por PIL (mostrados na Tabela 13) foram comparáveis, com a exceção da fibra **3B**, a qual apresentou uma maior espessura. O efeito da espessura do filme na eficiência foi examinado através da avaliação de duas fibras de mesma composição, porém com espessuras de filme diferentes (fibras **3A** e **3B**).

Como pode ser observado através da Figura 34, a eficiência de extração para fenóis e fármacos (fenacetina; cetoprofeno; 17- $\alpha$ -etinilestradiol; fenoprofeno de cálcio; diclofenaco de sódio; ibuprofeno; 2,4,6-triclorofenol; 2-nitrofenol e 2,4-dinitrofenol) foi maior para o revestimento mais espesso, enquanto que a seletividade para os analitos permaneceu a mesma. No entanto, a eficiência de extração para a maioria dos inseticidas permaneceu em grande parte inalterada entre as duas fibras, com a exceção dos analitos foxima e clorfenapir, os quais exibiram uma maior eficiência quando a espessura do revestimento sorvente foi aumentada. Os fenóis, os fármacos e os dois inseticidas mencionados são relativamente mais polares ( $\log P$  variando de 1,65 a 4,88), como mostrado no apêndice XIX, e possuem uma estrutura menos volumosa em comparação com o resto dos inseticidas ( $\log P$  variando de 4,81 a 6,55), sendo que estas características podem desempenhar importante papel no comportamento observado para as extrações.

Dois fios de nitinol sem qualquer revestimento sorvente de PIL foram também estudados (fibras **a** e **b**). Como mostrado na Figura 34-A e 34-B, as áreas cromatográficas referentes aos fármacos e fenóis foram inferiores a 3% em comparação com os obtidos para a fibra **3B**, exceto no caso do 2-nitrofenol extraído pela fibra **b** (8,5%). Mesmo os suportes

de nitinol tendo apresentado extrações perceptíveis referentes aos inseticidas, as áreas cromatográficas para esses compostos ainda apresentaram-se consideravelmente menores do que a maioria dos revestimentos à base de PIL.

Comparando-se os resultados obtidos para a fibra **3B** aos obtidos com a fibra comercial de DVB/PDMS, foi observado que a eficiência de extração foi bastante similar. A fibra de DVB/PDMS exibiu maior eficiência de extração para o 2-nitrofenol, 2,4,6-triclorofenol, fenoprofeno, ibuprofeno, foxima, clorfenapir e hexitiazox. No entanto, a eficiência da extração dos analitos 17- $\alpha$ -etinilestradiol, hexaflumurona, flufenoxuron, clorfluazuron, deltametrina, fenvalerato e  $\tau$ -fluvalinato foram significativamente superiores utilizando-se a fibra **3B**. Outro importante fator a ser observado foi o tempo de extração, no caso da fibra **3B** foi utilizado um tempo de extração de 60 minutos enquanto que para a fibra comercial de DVB/PMDS foram utilizados 90 minutos.

#### **6.4.4 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito e análise de amostras reais utilizando-se a Fibra 3B**

O desempenho analítico foi avaliado para a fibra **3B** através da construção de curvas de calibração, da determinação dos limites de detecção para todos os analitos, bem como a precisão do método. Os dados referentes aos parâmetros analíticos de mérito para os compostos em estudo estão dispostos na Tabela 15.

**Tabela 15.** Parâmetros analíticos de mérito utilizando-se a Fibra **3B**.

Analito	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	R	% RSD (n=3)	
					1 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$
fenacetina	1-500	0,5	1	0,999	3,1	1,3
2,4-dinitrofenol	1-500	0,2	1	0,999	15,7	2,5
2-nitrofenol	1-500	0,5	1	0,999	17,8	0,8
cetoprofeno	1-500	0,2	1	0,999	6,6	3,7
17- $\alpha$ -etinilestradiol	1-500	0,5	1	0,999	13,2	1,7
fenoprofeno de cálcio	1-500	0,5	1	0,999	14,5	3,0
2,4,6-triclorofenol	1-500	0,5	1	0,999	9,2	0,3
diclofenaco de sódio	1-500	0,2	1	0,999	17,4	4,5
ibuprofeno	5-500	2,0	5	0,999	N/D	3,5
hexaflumurona	1-500	0,2	1	0,999	8,3	10,5
foxima	1-500	0,5	1	0,999	13,1	3,3
clorfenapir	1-500	0,2	1	0,999	6,6	7,5
flufenoxuron	1-500	0,2	1	0,999	13,6	15,7
hexitiazox	1-500	0,5	1	0,999	16,6	8,1
clorfluazuron	1-500	0,2	1	0,998	13,6	17,3
deltametrina	1-500	0,5	1	0,998	7,4	16,9
fenvalerato	5-500	1,0	5	0,998	N/D	15,7
$\tau$ -fluvalinato	1-500	0,5	1	0,998	18,6	18,3

N/D- Não-detectado a esse nível de concentração.

Como mostrado na Tabela 15, a faixa linear obtida para a maioria dos analitos ficou entre 1 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ , exceto para o ibuprofeno e o fenvalerato, que foram estudados de 5 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Satisfatórias linearidades foram obtidas com coeficientes de correlação variando entre 0,998 e 0,999 para cinco níveis de concentração. O LOD foi determinado através da redução da concentração do analito até uma razão de 3:1 entre o sinal do analito e o ruído instrumental. Os limites de detecção para todos os analitos variaram entre 0,2 e 2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A precisão do método foi avaliada em duas diferentes concentrações de analito (1  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) sendo o desvio padrão relativo variando de 0,3% a 18,6%.

A avaliação da recuperação relativa dos analitos foi estudada mediante extrações em amostras de água de torneira e água de lago. O estudo de recuperação foi realizado através de extrações em amostras fortificadas em dois níveis de concentração diferentes, sendo os resultados mostrados na Tabela 16.

**Tabela 16.** Recuperação relativa dos analitos utilizando-se a fibra **3B**.

Analito	Recuperação $\pm$ RSD / %			
	Água de torneira		Água de lago	
	1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	150 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	150 $\mu\text{g L}^{-1}$
fenacetina	80 $\pm$ 4	86 $\pm$ 6	80 $\pm$ 11	102 $\pm$ 13
2,4-dinitrofenol	81 $\pm$ 3	84 $\pm$ 7	74 $\pm$ 9	101 $\pm$ 13
2-nitrofenol	74 $\pm$ 3	96 $\pm$ 7	97 $\pm$ 15	114 $\pm$ 5
cetoprofeno	91 $\pm$ 1	82 $\pm$ 7	78 $\pm$ 3	95 $\pm$ 10
17- $\alpha$ -etinilestradiol	56 $\pm$ 1	92 $\pm$ 10	54 $\pm$ 5	104 $\pm$ 10
fenoprofeno de cálcio	86 $\pm$ 2	82 $\pm$ 7	82 $\pm$ 3	93 $\pm$ 10
2,4,6-triclorofenol	62 $\pm$ 2	96 $\pm$ 9	52 $\pm$ 3	112 $\pm$ 12
diclofenaco de sódio	71 $\pm$ 2	87 $\pm$ 9	58 $\pm$ 1	95 $\pm$ 11
ibuprofeno	94 $\pm$ 11	78 $\pm$ 11	107 $\pm$ 12	89 $\pm$ 10
hexaflumurona	50 $\pm$ 2	101 $\pm$ 17	51 $\pm$ 4	64 $\pm$ 4
foxima	75 $\pm$ 1	116 $\pm$ 14	77 $\pm$ 4	54 $\pm$ 10
clorfenapir	78 $\pm$ 1	106 $\pm$ 16	74 $\pm$ 5	68 $\pm$ 4
flufenoxuron	80 $\pm$ 1	91 $\pm$ 18	85 $\pm$ 14	53 $\pm$ 4
hexitiazox	70 $\pm$ 7	104 $\pm$ 11	79 $\pm$ 2	69 $\pm$ 2
clorfluaazuron	86 $\pm$ 2	87 $\pm$ 18	92 $\pm$ 14	49 $\pm$ 3
deltametrina	80 $\pm$ 6	86 $\pm$ 17	91 $\pm$ 13	50 $\pm$ 3
fenvalerato	103 $\pm$ 13	87 $\pm$ 17	117 $\pm$ 16	52 $\pm$ 4
$\tau$ -fluvalinato	87 $\pm$ 4	86 $\pm$ 18	95 $\pm$ 19	49 $\pm$ 4

Como mostrado na Tabela 16, as recuperações a  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  em água de torneira variaram de 50% a 103% para hexaflumorona e fenvalerato, respectivamente. Para essa mesma matriz foram obtidas recuperações entre 78 e 116%, em concentrações de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  para ibuprofeno e foxima, respectivamente.

Recuperações satisfatórias também foram obtidas para água de lago, referente à concentração de  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  as recuperações variaram de 51% a 117% para hexaflamorona e fenvalerato, respectivamente. Para a concentração de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  foram obtidas recuperações entre 49 e 114% para  $\tau$ -fluvalinato e 2-nitrofenol, respectivamente.

Além dos testes de recuperação, também foram analisadas amostras reais de água de torneira e água de lago sem adição de analito. Essas amostras foram filtradas e submetidas a microextrações utilizando a fibra **3B**. Nessas amostras não foram observados quaisquer sinais detectáveis dos analitos.

## 6.5 Conclusões parciais

Os recobrimentos baseados em líquidos iônicos poliméricos para microextração em fase sólida foram utilizados pela primeira vez em conjunto com análises envolvendo HPLC para a determinação de fármacos, fenóis e inseticidas. A fibra **3** apresentou os melhores resultados, sendo composta por uma cadeia lateral de decanol ligada ao cátion imidazol e tendo como contra-íon o ânio cloreto exibiu a melhor eficiência de extração para a maioria dos analitos em comparação com os outros recobrimentos avaliados. Foram obtidos LOD na faixa de partes por bilhão utilizando detecção por UV. Além disso, boas recuperações relativas foram alcançados em amostras reais, incluindo água de torneira e água de lago. O desenvolvimento de revestimentos de PIL compatíveis com HPLC aumenta muito a aplicabilidade destes materiais no sentido da possibilidade de determinação de um maior número de analitos, particularmente não-voláteis, polares, e compostos ionizáveis. A possibilidade de variar a seletividade da extração, adequando a estrutura química do PIL de acordo com os analitos, bem como a boa durabilidade dos materiais são algumas das vantagens destes revestimentos. Sendo aberta uma interessante área de aplicação desses recobrimentos em amostras ambientais e biológicas mais complexas.

## Capítulo VII. Conclusão Final e Perspectivas

A proposta da utilização sequencial em um mesmo procedimento dos modos DI e HS para a microextração em gota única apresentou resultados bastante satisfatórios quando comparada aos métodos tradicionais de amostragem. Os resultados mostraram que o modo de extração tem influência muito pronunciada na eficiência de uma metodologia, devendo ser rigorosamente estudado e otimizado de acordo com as características da matriz e principalmente dos analitos em questão. A utilização da SDME, além de apresentar fácil aplicação e grande poder de concentração dos analitos, proporciona análises extremamente baratas e com reduzido impacto ambiental.

Com a abordagem DI-HS-SDME proposta nesse trabalho foram obtidas boas eficiências de extração para compostos bastante voláteis, bem como para compostos que apresentam volatilidade reduzida. Esse fator permitiu a obtenção de uma condição de extração intermediária entre os modos HS e DI para grande parte dos analitos, e também proporcionou a extração/determinação simultânea de todos os compostos estudados em apenas uma corrida cromatográfica.

A síntese e a utilização de líquidos iônicos poliméricos como materiais sorventes para SPME também apresentou excelentes resultados. Aliados ao modo de amostragem DI-HS, os polímeros de líquidos iônicos permitiram extrações bastante eficientes de compostos com comportamento físico-químico muito diferentes, principalmente no que se refere à volatilidade. As fibras utilizadas em conjunto com cromatografia a gás tiveram uma performance analítica muito satisfatória, sendo utilizadas mais de 100 vezes sem prejuízo na eficiência de extração e, desta forma, evidenciando a alta resistência desses materiais.

Os recobrimentos baseados em líquidos iônicos poliméricos para SPME compatíveis com cromatografia líquida também foram desenvolvidos e resultados muito promissores foram encontrados. O fato de esses materiais serem compatíveis com solventes tais como acetonitrila, metanol e acetona faz com que aumente muito o número de compostos que podem ser estudados com essa classe de fases extratoras, tendo em vista a vasta gama de compostos que podem ser analisados por cromatografia líquida. Assim como acontece para as fases extratoras baseadas em PIL para cromatografia a gás, uma característica desse tipo de material sorvente que sempre deve ser levada em consideração é a possibilidade de modificação da estrutura química do polímero. Com isso, a seletividade pode ser consideravelmente incrementada

simplesmente pela retirada/incorporação de grupos funcionais específicos nas moléculas do material sorvente.

A utilização de métodos alternativos, bem como a possibilidade do uso de novas fases extratoras na área de preparo de amostras faz com que surjam novas e interessantes linhas de pesquisa. Esforços devem feitos para a aplicação dessas metodologias em análises de amostras mais complexas incluindo fluídos biológicos (urina, plasma, saliva etc), matrizes alimentícias e ambientais. Sendo sempre importante salientar a importância dos métodos de microextração para o meio ambiente, proporcionando análises eficientes e com reduzido impacto ambiental.

## REFERÊNCIAS

ABULHASSANI, J.; MANZOORI, J. L.; AMJADI, M. Hollow fiber based-liquid phase microextraction using ionic liquid solvent for preconcentration of lead and nickel from environmental and biological samples prior to determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, n. 1-3, p. 481-486, 2010.

AGUILERA-HERRADOR, E. et al. Determination of trihalomethanes in waters by ionic liquid-based single drop microextraction/gas chromatographic/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1209, n. 1-2, p. 76-82, 2008

\_\_\_\_\_. Ionic liquid-based single-drop microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers in waters. **Journal of Chromatography A**, v. 1201, n. 1, p. 106-111, 2008.

\_\_\_\_\_. Ionic liquid-based single drop microextraction and room-temperature gas chromatography for on-site ion mobility spectrometric analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 29, p. 5580-5587, 2009.

ALMEIDA, C. M. M.; BOAS, L. V. Analysis of BTEX and other substituted benzenes in water using headspace SPME-GC-FID: method validation. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 6, n. 1, p. 80-88, 2004.

ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid-Phase Microextraction with Thermal-Desorption Using Fused-Silica Optical Fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 2145-2148, 1990.

AWAD, W. H. et al. Thermal degradation studies of alkyl-imidazolium salts and their application in nanocomposites. **Thermochemica Acta**, v. 409, p. 3-11, 2004.

BAGHERI, H.; NADERI, M. Immersed single-drop microextraction-electrothermal vaporization atomic absorption spectroscopy for the trace determination of mercury in water samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, n. 1-3, p. 353-358, 2009.

BALTAZAR, Q. Q. et al. Interfacial and micellar properties of imidazolium-based monocationic and dicationic ionic liquids. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 302, n. 1-3, p. 150-156, 2007.

BIANCHIN, J. N. et al. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using a new sampling strategy combining different extraction modes and temperatures in a single extraction solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry procedure. **Journal of Chromatography A**, v. 1233, p. 22-29, 2012.

BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C., Eds. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**: LTCed. 2015.

CENTINEO, G.; GONZALEZ, E. B.; SANZ-MEDEL, A. Multielemental speciation analysis of organometallic compounds of mercury, lead and tin in natural water samples by headspace-solid phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1034, n. 1-2, p. 191-197, 2004.

CHEN, H. W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction and liquid chromatography. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 10, p. 1383-1388, 2004.

CHO, H. J. et al. Competitive extraction of multi-component contaminants in water by Carboxen-polydimethylsiloxane fiber during solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 988, n. 2, p. 177-184, 2003.

CINELLI, G. et al. Rapid analysis of six phthalate esters in wine by ultrasound-vortex-assisted dispersive liquid-liquid micro-extraction coupled with gas chromatography-flame ionization detector or gas chromatography-ion trap mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 769, p. 72-78, 2013.

COELHO, E.; FERREIRA, C.; ALMEIDA, C. M. M. Analysis of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by SPME-GC-FID in Environmental and Tap Waters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 6, 2008.

CORDERO-VACA, M. et al. Automated direct-immersion solid-phase microextraction using crosslinked polymeric ionic liquid sorbent coatings for the determination of water pollutants by gas chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 16, p. 4615-4627, 2015.

DIAS, A. N. et al. Cork as a new (green) coating for solid-phase microextraction: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 772, p. 33-39, 2013.

\_\_\_\_\_. Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection. **Talanta**, v. 134, p. 409-414, 2015.

DJOZAN, D.; POURNAGHI-AZAR, M. H.; BAHAR, S. Modified polypyrrole with tetrasulfonated nickel phthalocyanine as a fiber for solid-phase microextraction. Application to the extraction of BTEX compounds from water samples. **Chromatographia**, v. 59, n. 9-10, p. 595-599, 2004.

FAN, Z.; ZHOU, W. Dithizone-chloroform single drop microextraction system combined with electrothermal atomic absorption spectrometry using Ir as permanent modifier for the determination of Cd in water and biological samples. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 7, p. 870-874, 2006.

FENG, J. J. et al. Preparation of a polymeric ionic liquid-coated solid-phase microextraction fiber by surface radical chain-transfer polymerization with stainless steel wire as support. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 43, p. 7758-7764, 2011.

FIAMEGOS, Y. C.; KEFALA, A. P.; STALIKAS, C. D. Ion-pair single-drop microextraction versus phase-transfer catalytic extraction for the gas chromatographic determination of phenols as tosylated derivatives. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, n. 1-2, p. 44-51, 2008.

GAO, Z. Q. et al. Nano-structured polyaniline-ionic liquid composite film coated steel wire for headspace solid-phase microextraction of organochlorine pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 37, p. 6285-6291, 2011.

GE, D.; LEE, H. K. Ionic liquid based hollow fiber supported liquid phase microextraction of ultraviolet filters. **Journal of Chromatography A**, v. 1229, p. 1-5, 2012.

GHIASVAND, A. R.; HOSSEINZADEH, S.; PAWLISZYN, J. New cold-fiber headspace solid-phase microextraction device for quantitative extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment. **Journal of Chromatography A**, v. 1124, n. 1-2, p. 35-42, 2006.

GRAHAM, C. M. et al. Sorbent coatings for solid-phase microextraction based on mixtures of polymeric ionic liquids. **Journal of Separation Science**, v. 34, p. 340-346, 2011.

HANTAO, L. W.; TOLEDO, B. R.; AUGUSTO, F. Ionic Liquid Stationary Phases in Gas Chromatography: Fundamentals, Recent Advances, and Perspectives. **Quimica Nova**, 2015.

HO, T. D.; CANESTRARO, A. J.; ANDERSON, J. L. Ionic liquids in solid-phase microextraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 695, n. 1-2, p. 18-43, 2011.

HO, T. D. et al. Insight into the extraction mechanism of polymeric ionic liquid sorbent coatings in solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1298, p. 146-151, 2013.

HO, T. D. et al. Chemical immobilization of crosslinked polymeric ionic liquids on nitinol wires produces highly robust sorbent coatings for solid-phase microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 843, p. 18-26, 2014.

HO, T. D. et al. Ultraviolet Photoinitiated On-Fiber Copolymerization of Ionic Liquid Sorbent Coatings for Headspace and Direct Immersion Solid-Phase Microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 21, p. 9520-9528, 2012.

HO, T. D. et al. Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 262-285, 2014.

HO, W. H.; HSIEH, S. J. Solid phase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants. **Analytica Chimica Acta**, v. 428, n. 1, p. 111-120, 2001.

HUDDLESTON, J. G. et al. Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. **Green Chemistry**, v. 3, p. 156-164, 2001.

JAIN, A.; VERMA, K. K. Recent advances in applications of single-drop microextraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, n. 1, p. 37-65, 2011.

JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F. F. Solvent microextraction into a single drop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 13, p. 2236-2240, 1996.

JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F. F. Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle. **Analytical Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 235-239, 1997.

JEANNOT, M. A.; PRZYJAZNY, A.; KOKOSA, J. M. Single drop microextraction-Development, applications and future trends. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2326-2336, 2010.

KATAOKA, H.; LORD, H. L.; PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, n. 1-2, p. 35-62, 2000.

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**, v. 523, n. 2, p. 259-267, 2004.

KOKOSA, J. M.; PRZYJAZNY, A.; JEANNOT, M. A. **Solvent Microextraction: Theory and Practice**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009.

LI, Q. L. et al. Evaluation of the solid-phase microextraction fiber coated with single walled carbon nanotubes for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 15, p. 2191-2196, 2010.

LIU, H. H.; DASGUPTA, P. K. Analytical chemistry in a drop. Solvent extraction in a microdrop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 11, p. 1817-1821, 1996.

LIU, M. et al. Innovative chemically bonded ionic liquids-based sol-gel coatings as highly porous, stable and selective stationary phases for solid phase microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 683, n. 1, p. 96-106, 2010.

LIU, X. et al. Determination of phthalate esters in environmental water by magnetic Zeolitic Imidazolate Framework-8 solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1409, p. 46-52, 2015.

LÓPEZ-DARIAS, J. et al. Utilization of a benzyl functionalized polymeric ionic liquid for the sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons; parabens and alkylphenols in waters using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-flame ionization detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 46, p. 7189-7197, 2010.

MA, J. et al. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples by solid-phase extraction using multi-walled carbon nanotubes as adsorbent coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 34, p. 5462-5469, 2010.

MA, X. et al. Hollow fiber supported liquid-phase microextraction using ionic liquid as extractant for preconcentration of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes from water sample with gas chromatography-hydrogen flame ionization detection. **Journal of Hazardous Materials**, v. 194, p. 24-29, 2011.

MAIA, R. et al. Optimization of HS-SPME analytical conditions using factorial design for trihalomethanes determination in swimming pool water samples. **Microchemical Journal**, v. 112, p. 164-171, 2014.

MANZOORI, J.; AMJADI, M.; ABULHASSANI, J. Ionic liquid-based single drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of manganese in water samples. **Talanta**, v. 77, n. 4, p. 1539-1544, 2009.

MANZOORI, J. L.; AMJADI, M.; ABULHASSANI, J. Ultra-trace determination of lead in water and food samples by using ionic liquid-based single drop microextraction-electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 644, n. 1-2, p. 48-52, 2009.

MENG, Y. J.; PINO, V.; ANDERSON, J. L. Exploiting the Versatility of Ionic Liquids in Separation Science: Determination of Low-Volatility Aliphatic Hydrocarbons and Fatty Acid Methyl Esters Using Headspace Solid-Phase Microextraction Coupled to Gas Chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 16, p. 7107-7112, 2009.

MERIB, J.; CARASEK, E. Microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME): Fundamentos e aplicações recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 4, p. 13, 2013.

MERIB, J. et al. Simultaneous Determination of Environmental Contaminants with Different Volatilities in Tap Water Samples Using a New Approach to Single-Drop Microextraction Procedure. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 8, p. 1674-1683, 2015.

MERIB, J. et al. Use of two different coating temperatures for a cold fiber headspace solid-phase microextraction system to determine the volatile profile of Brazilian medicinal herbs. **Journal of Separation Science**, v. 36, n. 8, p. 1410-1417, 2013.

MERIB, J.; NARDINI, G.; CARASEK, E. Use of Doehlert design in the optimization of extraction conditions in the determination of organochlorine pesticides in bovine milk samples by HS-SPME. **Analytical Methods**, v. 6, n. 10, p. 3254-3260, 2014.

MERIB, J. et al. Simultaneous determination of trihalomethanes and organochlorine pesticides in water samples by direct immersion-headspace-solid phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1321, p. 30-37, 2013.

MERIB, J. O. **Otimização e aplicação da microextração em fase sólida com e sem refrigeração interna em amostras de ervas medicinais e água de rio.** 2013. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC.

MOHAMMADI, A.; YAMINI, Y.; ALIZADEH, N. Dodecylsulfate-doped polypyrrole film prepared by electrochemical fiber coating technique for headspace solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Chromatography A**, v. 1063, n. 1-2, p. 1-8, 2005.

NARDINI, G. S. et al. Determination of volatile profile of citrus fruit by HS-SPME/GC-MS with oxidized NiTi fibers using two temperatures in the same extraction procedure. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 128-133, 2013.

NGO, H. L. et al. Thermal properties of imidazolium ionic liquids. **Thermochimica Acta**, v. 357, p. 97-102, 2000.

NOLLET, L. M. L., Ed. **Chromatographic analysis of the environment.** Boca Raton: Taylor & Francis Group. 2006.

PARKINSON, D. R. et al. Full automation of derivatization-solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry with a dual-arm system for the determination of organometallic compounds in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1025, n. 1, p. 77-84, 2004.

PAWLISZYN, J., Ed. **Handbook of Solid Phase Microextraction.** Beijing: Chemical Industry Press of China, p.410, 2009.

PENA-PEREIRA, F. et al. Speciation of mercury by ionic liquid-based single-drop microextraction combined with high-performance liquid chromatography-photodiode array detection. **Talanta**, v. 78, n. 2, p. 537-541.

PENA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Immersed single-drop microextraction interfaced with sequential injection analysis for determination of Cr(VI) in natural waters by electrothermal-atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 4, p. 498-503, 2008.

PENALVER, A. et al. Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 872, n. 1-2, p. 191-201, 2000.

PEREZ-TRUJILLO, J. P. et al. Comparison of different coatings in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in ground water. **Journal of Chromatography A**, v. 963, n. 1-2, p. 95-105, 2002.

PINTO, I. P.; PEDROSO, M. P. Microextração em gota única (SDME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 7, n. 3, p. 183-198, 2015.

QUEIROZ, S. C. N. C., C.H; JARDIM, I.C.F.S. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluídos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, p. 68-76, 2001.

RODRIGUEZ-CABO, T. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction with non-halogenated extractants for trihalomethanes determination in tap and swimming pool water. **Talanta**, v. 99, p. 846-852, 2012.

SAKAMOTO, M.; TSUTSUMI, T. Applicability of headspace solid-phase microextraction to the determination of multi-class pesticides in waters. **Journal of Chromatography A**, v. 1028, n. 1, p. 63-74, 2004.

SERVAES, K. et al. Direct analysis of phthalate ester biomarkers in urine without preconcentration: Method validation and monitoring. **Journal of Chromatography A**, v. 1294, p. 25-32, 2013.

TOMKINS, B. A.; BARNARD, A. R. Determination of organochlorine pesticides in ground water using solid-phase microextraction followed by dual-column gas chromatography with electron-capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 964, n. 1-2, p. 21-33, 2002.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. SPME, solid phase microextraction. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 523-530, 2000.

WANIGASEKARA, E. et al. Bonded ionic liquid polymeric material for solid-phase microextraction GC analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 1, p. 511-524, 2009.

WEN, X.; DENG, Q.; GUO, J. Ionic liquid-based single drop microextraction of ultra-trace copper in food and water samples before spectrophotometric determination. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 79, n. 5, p. 1941-1945, 2011.

WU, Y. L. et al. Headspace single drop microextraction combined with HPLC for the determination of trace polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. **Talanta**, v. 74, n. 4, p. 470-477, 15 2008.

YE, C. L.; ZHOU, Q. X.; WANG, X. M. Headspace liquid-phase microextraction using ionic liquid as extractant for the preconcentration of dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites at trace levels in water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 572, n. 2, p. 165-171, 2006.

YOUSEFI, S. R.; SHEMIRANI, F. Development of a robust ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction against high concentration of salt for preconcentration of trace metals in saline aqueous samples: Application to the determination of Pb and Cd. **Analytica Chimica Acta**, v. 669, n. 1-2, p. 25-31, 2010.

YU, H.; CLARK, K. D.; ANDERSON, J. L. Rapid and sensitive analysis of microcystins using ionic liquid-based in situ dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1406, p. 10-18, 2015.

YU, H.; HO, T. D.; ANDERSON, J. L. Ionic liquid and polymeric ionic liquid coatings in solid-phase microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, p. 219-232, 2013.

YU, H. L.; CLARK, K. D.; ANDERSON, J. L. Rapid and sensitive analysis of microcystins using ionic liquid-based in situ dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1406, p. 10-18, 2015.

ZHANG, H.; CHEN, X.; JIANG, X. Determination of phthalate esters in water samples by ionic liquid cold-induced aggregation dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 689, n. 1, p. 137-142, 2011.

ZHANG, J.; LEE, H. K. Headspace ionic liquid-based microdrop liquid-phase microextraction followed by microdrop thermal desorption-gas chromatographic analysis. **Talanta**, v. 81, n. 1-2, p. 537-542, 2010.

ZHANG, J. et al. In-situ metathesis reaction combined with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction method for the determination of phenylurea pesticides in water samples. **Talanta**, v. 98, p. 145-151, 2012.

ZHANG, J.; SU, T.; LEE, H. K. Headspace water-based liquid-phase microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 7, p. 1988-1992, 2005.

ZHANG, Z. Y.; PAWLISZYN, J. Quantitative Extraction Using an Internally Cooled Solid-Phase Microextraction Device. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 34-43, 1995.

ZHAO, F.; MENG, Y. J.; ANDERSON, J. L. Polymeric ionic liquids as selective coatings for the extraction of esters using solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1208, n. 1-2, p. 1-9, 2008.

ZHAO, F. Q.; LI, J.; ZENG, B. Z. Coupling of ionic liquid-based headspace single-drop microextraction with GC for sensitive detection of phenols. **Journal of Separation Science**, v. 31, n. 16-17, p. 3045-3049, 2008.

## Produção científica durante o doutorado

TURAZZI, F.; MORES, L.; MERIB, J.; CARASEK, E.; NARAIN, N.; LIMA, L.; NUNES, M. Evaluation of volatile profiles obtained for minimally-processed pineapple fruit samples during storage by headspace-solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. In press, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2016.

CARASEK, E.; ROUX, K.; JASINSKI, É; MERIB, J.; SARTORELLI, M. L. Application of robust solid-phase microextraction fiber consisting of NiTi wire coated with polypyrrole for determination of haloanisoles in water and wine. **Analytical Methods**, v. 8, p. 5503-5510, 2016.

MERIB, J.; YU, H.; CARASEK, E.; ANDERSON, J. L. Determination of compounds with varied volatilities from aqueous samples using a polymeric ionic liquid sorbent coating by direct immersion-headspace solid-phase microextraction, **Analytical Methods**, v. 8, p. 4108-4118, 2016.

YU, H.; MERIB, J.; ANDERSON, J. L. Crosslinked polymeric ionic liquids as solid-phase microextraction sorbent coatings for high-performance liquid chromatography **Journal of Chromatography A**, v. 138, p. 10-21, 2016.

SHACKER, R.; MORITZ, D.; CARO, M.; MADUREIRA, L.; DIAS, A. N.; MERIB, J.; ISFRAN, D.; CARASEK, E. Study of Viability of Solid-Phase Microextraction, in vivo, in the Extraction of Microbial Volatile Organic Compounds Associated to the Pigment Production Process by the *Monascus Fungus*, in Submerged Fermentation. In press, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.

YU, H.; MERIB, J.; ANDERSON, J. L. Faster dispersive liquid-liquid microextraction methods using magnetic ionic liquids as solvents. **Journal of Chromatography A**, v. 1463, p. 11-19, 2016.

CARASEK, E.; MERIB, J. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 880, p. 8-25, 2015.

MERIB, J.; SIMÃO, V.; DIAS, A. N.; CARASEK, E. Simultaneous Determination of Environmental Contaminants with Different Volatilities in Tap Water Samples Using a New Approach to Single-

Drop Microextraction Procedure. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1674-1683, 2015.

DIAS, A. N.; SIMÃO, V.; MERIB, J. ; CARASEK, E. Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection. **Talanta**, v. 134, p. 409-414, 2015.

BRUNETTI, A.; MERIB, J.; CARASEK, E.; CARAMÃO, E.; BARBARÁ, J.; ZINI, Claudia; FAIVOVICH, J. Frog Volatile Compounds: Application of in vivo SPME for the Characterization of the Odorous Secretions from Two Species of Hypsiboas Treefrogs. **Journal of Chemical Ecology**, v. 41, p. 360-372, 2015.

DIAS, A. N.; DA SILVA, A. C.; SIMÃO, V.; MERIB, J.; CARASEK, E. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 59-66, 2015.

SIMÃO, V.; MERIB, J.; DIAS, A. ; CARASEK, E.. Novel analytical procedure using a combination of hollow fiber supported liquid membrane and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of aflatoxins in soybean juice by High Performance Liquid Chromatography - Fluorescence Detector. **Food Chemistry**, v. 196, p. 292-300, 2015.

BIANCHIN, J.; NARDINI, G.; MERIB, J.; DIAS, A. N.; MARTENDAL, E.; CARASEK, E. Screening of volatile compounds in honey using a new sampling strategy combining multiple extraction temperatures in a single assay by HS-SPME-GC-MS. **Food Chemistry**, v. 145, p. 1061-1065, 2014.

MERIB, J.; NARDINI, G.; CARASEK, E. Use of Doehlert design in the optimization of extraction conditions in the determination of organochlorine pesticides in bovine milk samples by HS-SPME. **Analytical Methods**, v. 6, p. 3254-3260, 2014.

COLARES, L.; PEREIRA, E.; MERIB, J.; RAMOS, J.; SILVA, J.; BORGES, D. L.; CARASEK, E.; WELZ, B. Application of disposable starch-based platforms for sample introduction and determination of

refractory elements using graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, p. 381-388, 2014.

MERIB, J.; NARDINI, G.; BIANCHIN, J.; DIAS, A. N.; SIMÃO, V.; CARASEK, E. Use of two different coating temperatures for a cold fiber-headspace-solid-phase microextraction system to determine the volatile profile of Brazilian medicinal herbs. **Journal of Separation Science**, v. 00, p. 1-9, 2013.

MERIB, J.; SIMÃO, V.; DIAS, A. N.; CARASEK, E. Simultaneous determination of trihalomethanes and organochlorine pesticides in water samples by Direct Immersion-Headspace-Solid Phase Microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1321, p. 30-37, 2013.

MERIB, J.; CARASEK, E.. Microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME): Fundamentos e aplicações recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 249-262, 2013.

DIAS, A. N.; SIMÃO, V.; MERIB, J.; CARASEK, E. Cork as a new (green) coating for solid-phase microextraction: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 772, p. 33-39, 2013.

## APÊNDICE I

Equações das superfícies de resposta:

$$(A) z = -413146,31 + 56363,26(x) - 766,32(x)^2 + 57815,64(y) + 31817,02(y)^2 - 443,69(35)(x) + 1972,12(35)(y) - 2908,76(x)(y) + 620527,27$$

$$(B) z = -413146,31 + 13992,54(x) + 106,76(x)^2 + 56363,26(y) - 766,32(y)^2 - 443,69(x)(y) + 1972,12(1,8)(x) - 2908,76(1,8)(y) + 207155,33$$

Tabela ANOVA:

ANOVA; Var.:Geom. mean; R-sqr=,77307; Adj.,48129 (HS-SDME) 3 factors, 1 Blocks, 17 Runs					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo (L)	2,744971E+11	1	2,744971E+11	3,10544	0,121407
Tempo (Q)	6,231392E+09	1	6,231392E+09	0,07050	0,798264
(2) Temperatura (L)	9,930669E+11	1	9,930669E+11	11,23478	0,012220
Temperatura (Q)	3,210272E+11	1	3,210272E+11	3,63185	0,098372
(3) NaCl (L)	2,820861E+11	1	2,820861E+11	3,19130	0,117190
NaCl (Q)	1,427272E+10	1	1,427272E+10	0,16147	0,699792
1L by 2L	7,972920E+10	1	7,972920E+10	0,90199	0,373877
1L by 3L	7,000707E+09	1	7,000707E+09	0,07920	0,786521
2L by 3L	1,522962E+10	1	1,522962E+10	0,17230	0,690506
Error	6,187456E+11	7	8,839223E+10		
Total SS	2,726542E+12	16			

## APÊNDICE II

Equações das superfícies de resposta:

$$(A) z = -2902003,22 + 125417,66(x) - 1145,36(x)^2 - 862314,98(y) + 114158,52(y)^2 + 116,67(61,25)(x) - 1054,60(61,25)(y) - 4594,60(x)(y) + 2228829,93$$

$$(B) z = -2902003,22 + 64612,84(x) - 460,79(x)^2 + 125417,66(y) - 1145,36(y)^2 + 116,67(x)(y) - 1054,60(1,86)(x) - 4594,60(1,86)(y) - 1210056,50$$

Tabela ANOVA:

ANOVA; Var.:Geom. mean; R-sqr=,94546; Adj.,87534 (DI-SDME) 3 factors, 1 Blocks, 17 Runs					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo (L)	1,610693E+12	1	1,610693E+12	18,60987	0,003506
Tempo (Q)	5,312072E+11	1	5,312072E+11	6,13754	0,042371
(2) Temperatura (L)	1,233164E+12	1	1,233164E+12	14,24792	0,006941
Temperatura (Q)	2,429636E+11	1	2,429636E+11	2,80719	0,137750
(3) NaCl (L)	5,878395E+12	1	5,878395E+12	67,91869	0,000075
NaCl (Q)	1,113409E+11	1	1,113409E+11	1,28643	0,294051
1L by 2L	1,333529E+11	1	1,333529E+11	1,54075	0,254485
1L by 3L	2,409172E+11	1	2,409172E+11	2,78355	0,139170
2L by 3L	3,148673E+11	1	3,148673E+11	3,63796	0,098140
Error	6,058533E+11	7	8,655047E+10		
Total SS	1,110864E+13	16			

### APÊNDICE III

Equações das superfícies de resposta:

$$(A) z = 60450,72 + 23567,56(x) - 123,71(x)^2 + 21305,38(y) - 184,69(y)^2 - 114,85(x)(y) + 1811,38(1,8)(x) + 1970,66(1,8)(y) - 345435,34$$

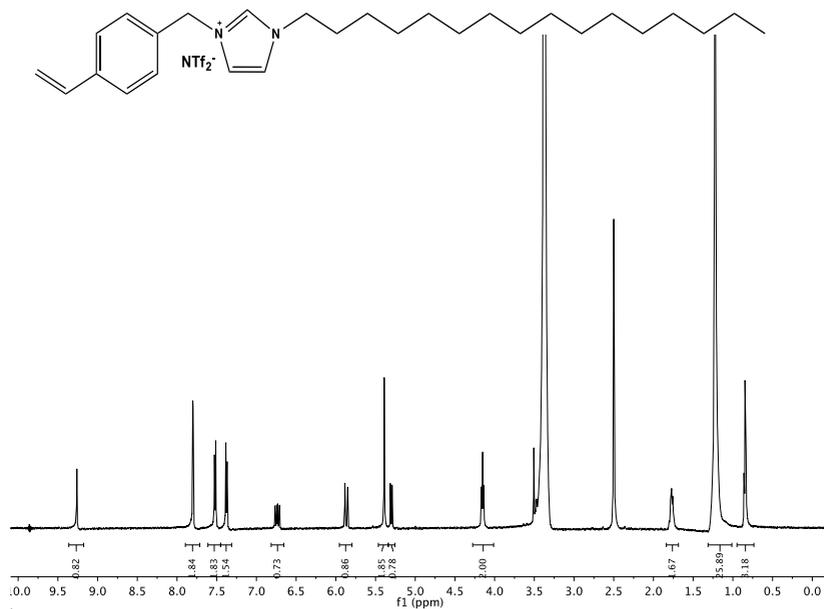
$$(B) z = 60450,72 + 23567,56(x) - 123,71(x)^2 + 8565,07(y) - 111374,22(y)^2 - 114,85(50)(x) + 1811,38(x)(y) + 1970,66(50)(y) + 603536,47$$

Tabela ANOVA:

		ANOVA; Var.: Geom. mean; R-sqr=.86434; Adj.:.34014 (DI-HS-SDME) 3 factors, 1 Blocks, 17 Runs				
Factor	SS	df	MS	F	p	
(1)Tempo Total (L)	2,864477E+10	1	2,864477E+10	0,525725	0,500910	
Tempo Total (Q)	5,374077E+10	1	5,374077E+10	0,986318	0,366244	
(2) % do tempo no HS (L)	4,073768E+10	1	4,073768E+10	0,747669	0,426744	
% do tempo no HS (Q)	3,269843E+11	1	3,269843E+11	6,001224	0,057955	
(3) NaCl (L)	1,568376E+11	1	1,568376E+11	2,878480	0,150534	
NaCl (Q)	2,003023E+11	1	2,003023E+11	3,676198	0,113314	
1L by 2L	2,063827E+10	1	2,063827E+10	0,378779	0,565188	
1L by 3L	1,581362E+11	1	1,581362E+11	2,902314	0,149179	
2L by 3L	2,799643E+10	1	2,799643E+10	0,513825	0,505566	
Error	2,724313E+11	7	5,448627E+10			
Total SS	1,156017E+12	16				

## APÊNDICE IV

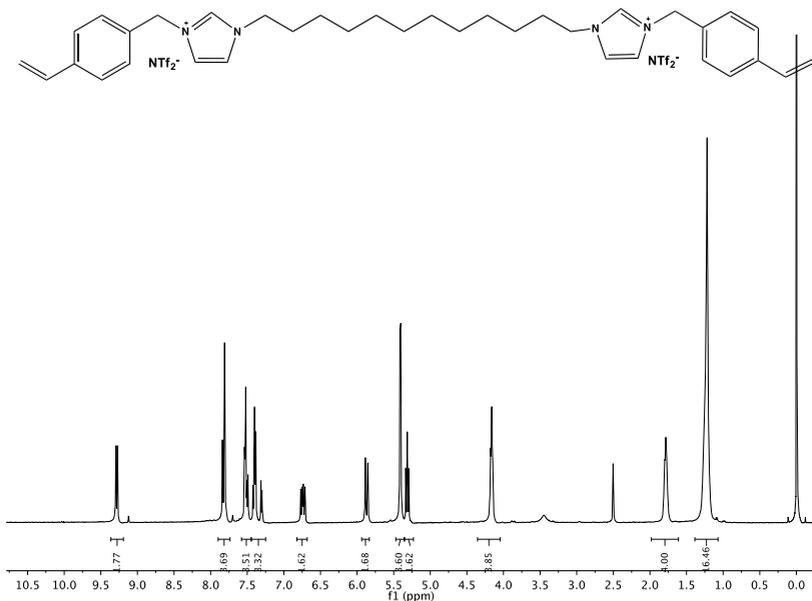
$^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VBC}_{16}\text{IM}][\text{NTf}_2]$



$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 9,26 (s, 1H), 7,80 (d, 2H), 7,61 – 7,45 (m, 2H), 7,38 (d, 2H), 6,74 (dd, 1H), 5,87 (dd, 1H), 5,39 (s, 2H), 5,30 (d, 1H), 4,15 (t, 2H), 1,84 – 1,68 (m, 2H), 1,22 (d, 26H), 0,95 – 0,74 (m, 3H).

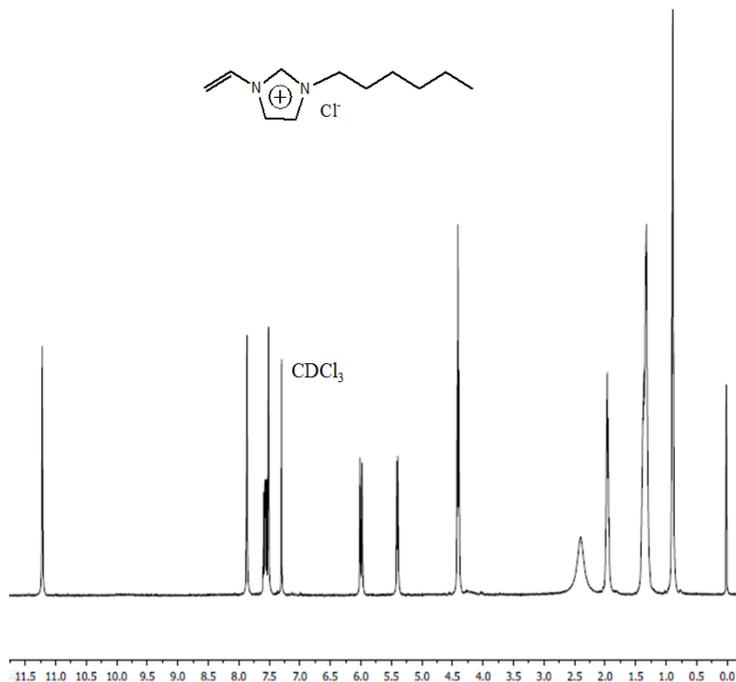
## APÊNDICE V

$^1\text{H}$ -RMN para o *crosslinker*  $[(\text{VBIM})_2\text{C}_{12}] 2[\text{NTf}_2]$



$^1\text{H}$  RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 9,28 (dt, 2H), 7,90 – 7,74 (m, 4H), 7,58 – 7,45 (m, 4H), 7,45 – 7,25 (m, 4H), 6,74 (ddd, 2H), 5,87 (ddd, 2H), 5,41 (d, 4H), 5,31 (ddd, 2H), 4,16 (td, 4H), 1,78 (s, 4H), 1,23 (d, 16H).

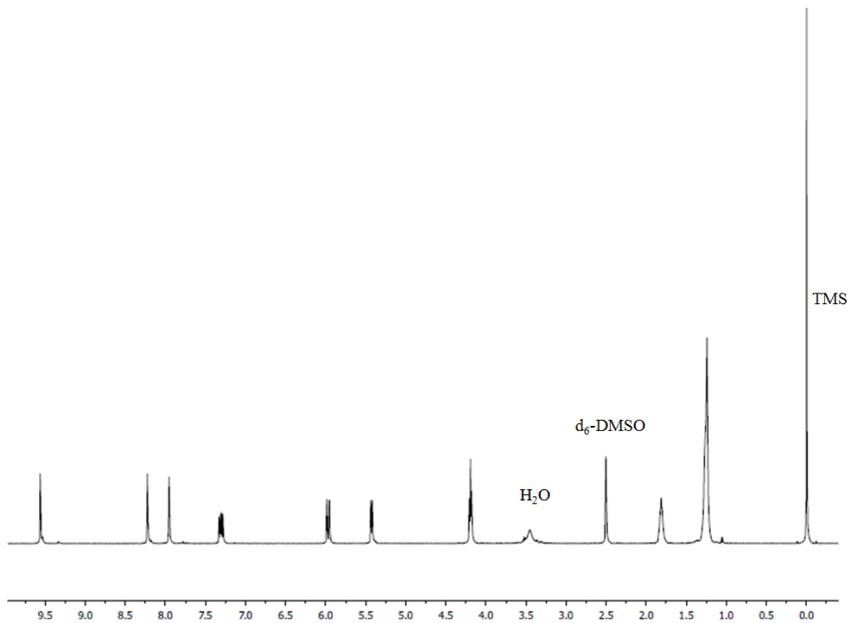
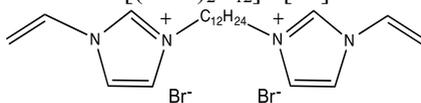
## APÊNDICE VI

 $^1\text{H}$ -RMN para o monômero ([VC<sub>6</sub>IM][Cl])

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 11,21 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,49 (s, 1H), 5,98 (s, 1H), 5,38 (s, 1H), 4,40 (t, 2H), 1,96 (m, 2H), 1,35 (m, 6H), 0,87 (t, 3H).

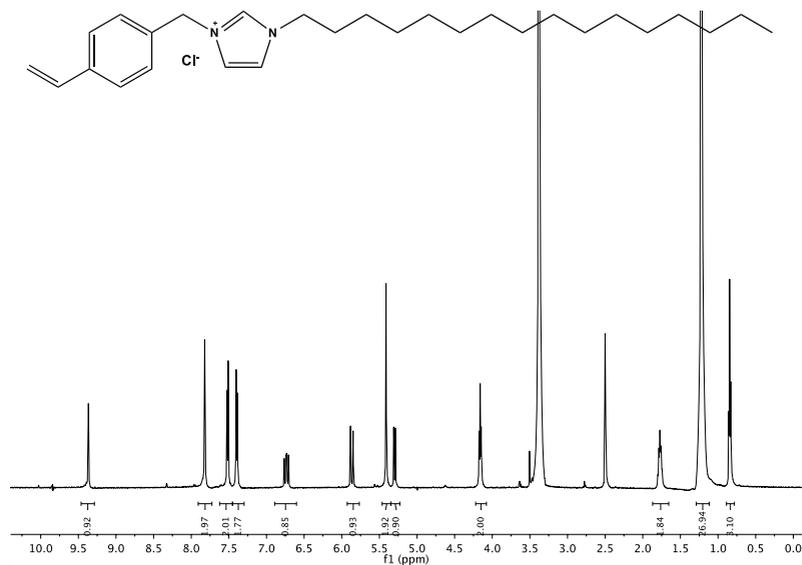
## APÊNDICE VII

$^1\text{H}$ -RMN para o *crosslinker*  $[(\text{VIM})_2\text{C}_{12}] 2[\text{Br}^-]$



$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{d}_6$ -DMSO): 9,55 (s, 2H), 8,22 (s, 2H), 7,95 (s, 2H), 7,30 (m, 2H), 5,97 (d, 2H), 5,42 (d, 2H), 4,18 (t, 4H), 1,80 (t, 4H), 1,24 (m, 16H).

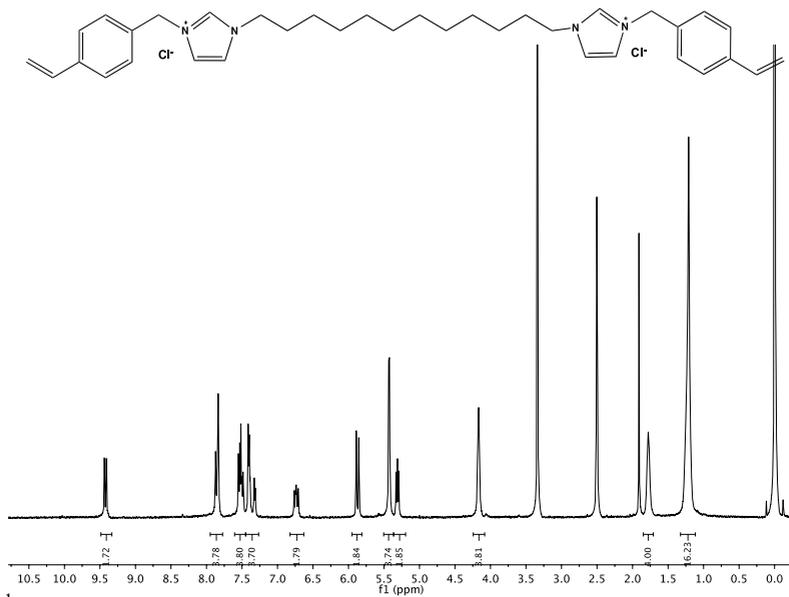
## APÊNDICE VIII

 $^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VBC}_{16}\text{IM}][\text{Cl}]$ 

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 9,37 (s, 1H), 7,82 (p, 2H), 7,62 – 7,45 (m, 2H), 7,40 (d, 2H), 6,74 (dd, 1H), 5,87 (dd, 1H), 5,41 (s, 2H), 5,30 (dd, 1H), 4,16 (t, 2H), 1,78 (q, 2H), 1,22 (d, 26H), 0,89 – 0,78 (m, 3H).

## APÊNDICE IX

$^1\text{H}$ -RMN para o *crosslinker* [(VBIM) $_2\text{C}_{12}$ ] 2[Cl]



$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ): 9,42 (d, 2H), 7,95 – 7,77 (m, 4H), 7,60 – 7,45 (m, 4H), 7,40 (dt, 4H), 6,74 (ddd, 2H), 5,87 (d, 2H), 5,43 (d, 4H), 5,31 (dd, 2H), 4,17 (td, 4H), 1,78 (s, 4H), 1,21 (s, 16H).

## APÊNDICE X

Equação da superfície de resposta:

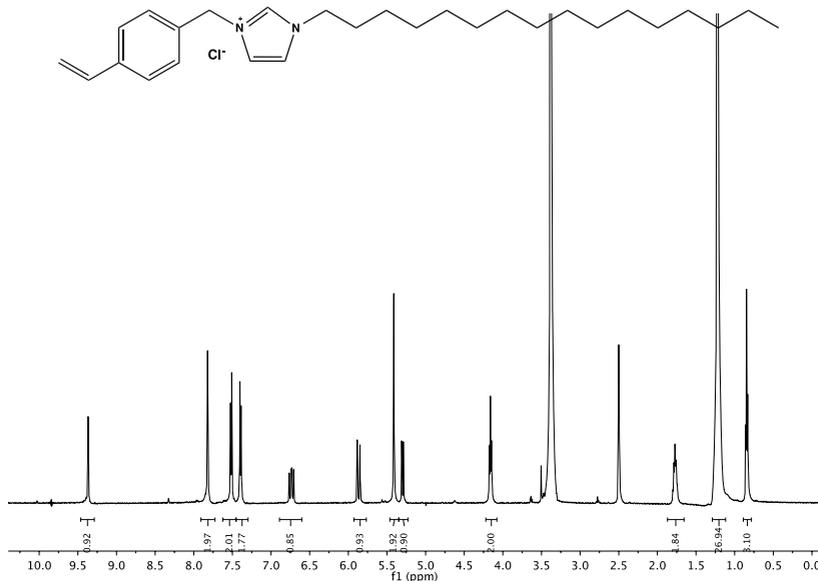
$$Z = 13200267,10 + 1994911,38(x) - 27299,07(x)^2 + 1185954,34(y) - 8089,87(y)^2 + 84503,10(15)(x) - 687,74(x)(y) - 22882,13(15)(y) - 21659193$$

Tabela ANOVA:

Factor	ANOVA; Var.:Response; R-sqr=,99379; Adj.,98344 2 factors, 1 Blocks, 10 Runs				
	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo (L)	3,825439E+15	1	3,825439E+15	281,1968	0,000462
Tempo (Q)	9,624458E+11	1	9,624458E+11	0,0707	0,807485
(2) % de tempo no HS (L)	5,211444E+13	1	5,211444E+13	3,8308	0,145243
% de tempo no HS (Q)	2,102364E+15	1	2,102364E+15	154,5386	0,001122
1L by 2L	8,828859E+14	1	8,828859E+14	64,8983	0,003995
Error	4,081241E+13	3	1,360414E+13		
Total SS	6,570497E+15	9			

## APÊNDICE XI

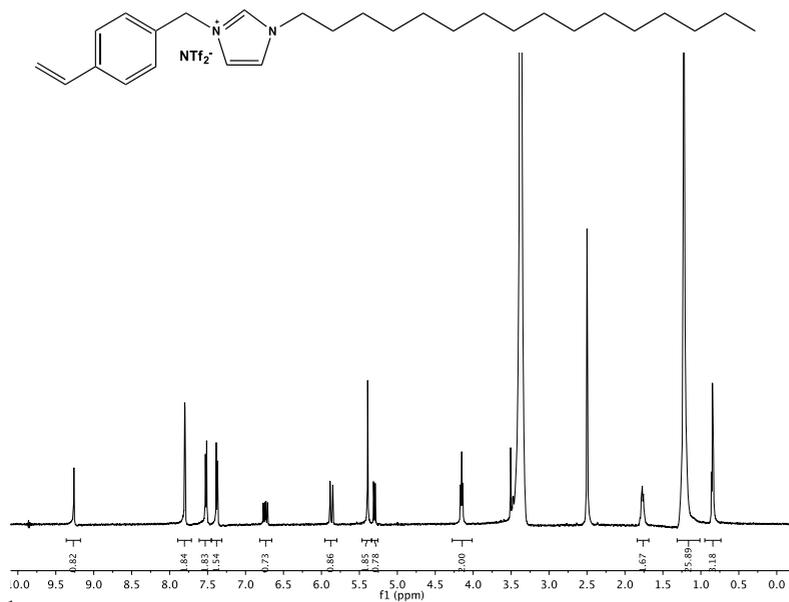
$^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VBC}_{16}\text{IM}][\text{Cl}]$



$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,37 (s, 1H), 7,82 (p,  $J = 2,0$  Hz, 2H), 7,62 – 7,45 (m, 2H), 7,40 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 6,74 (dd,  $J = 17,7; 11,0$  Hz, 1H), 5,87 (dd,  $J = 17,7; 1,0$  Hz, 1H), 5,41 (s, 2H), 5,30 (dd,  $J = 10,9; 1,0$  Hz, 1H), 4,16 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 1,78 (q,  $J = 7,9$  Hz, 2H), 1,22 (d,  $J = 4,0$  Hz, 26H), 0,89 – 0,78 (m, 3H).

## APÊNDICE XII

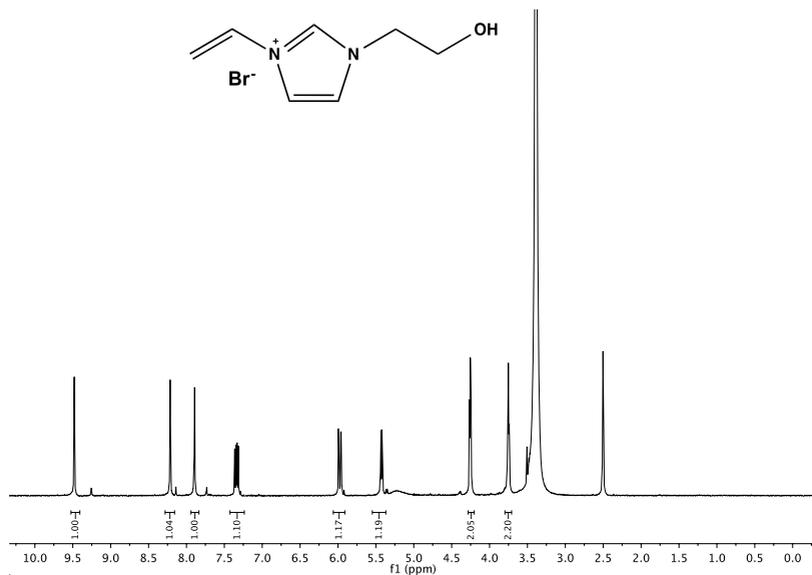
$^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VBC}_{16}\text{IM}][\text{NTf}_2]$ .



$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,26 (s, 1H), 7,80 (d,  $J = 1,6$  Hz, 2H), 7,61 – 7,45 (m, 2H), 7,38 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 6,74 (dd,  $J = 17,6$ ; 10,9 Hz, 1H), 5,87 (dd,  $J = 17,7$ , 1,0 Hz, 1H), 5,39 (s, 2H), 5,30 (d,  $J = 11,0$  Hz, 1H), 4,15 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H), 1,84 – 1,68 (m, 2H), 1,22 (d,  $J = 4,2$  Hz, 26H), 0,95 – 0,74 (m, 3H).

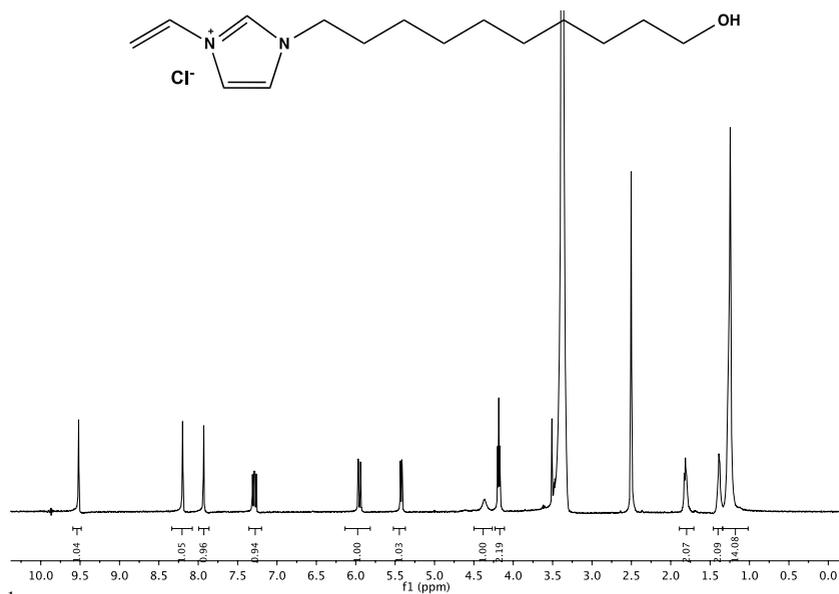
## APÊNDICE XIII

$^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VC}_2\text{OHIM}][\text{Br}^-]$



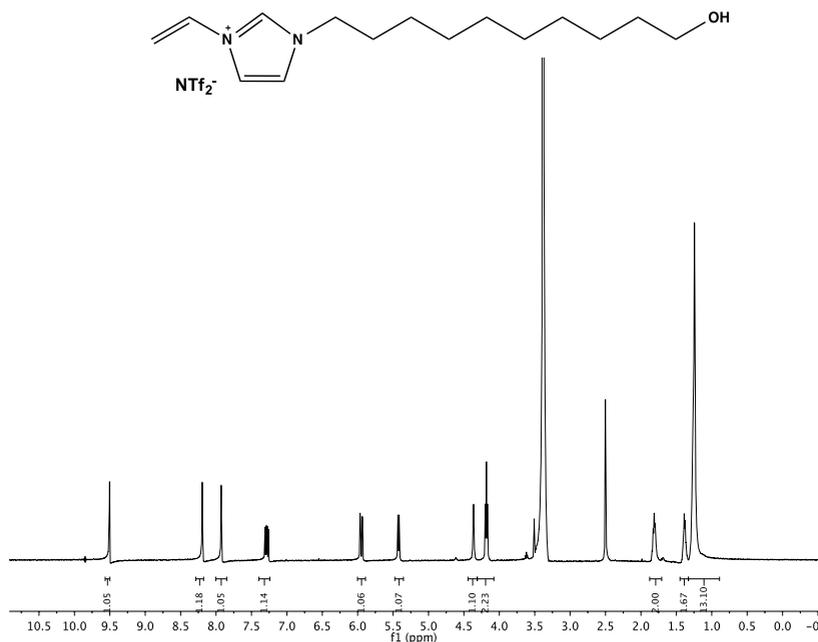
$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,48 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,34 (dd,  $J = 15,6; 8,7$  Hz, 1H), 5,98 (dd,  $J = 15,7; 2,4$  Hz, 1H), 5,43 (dd,  $J = 8,7; 2,4$  Hz, 1H), 4,25 (t,  $J = 5,0$  Hz, 2H), 3,75 (t,  $J = 5,0$  Hz, 2H).

## APÊNDICE XIV

 $^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VC}_{10}\text{OHIM}][\text{Cl}^-]$ 

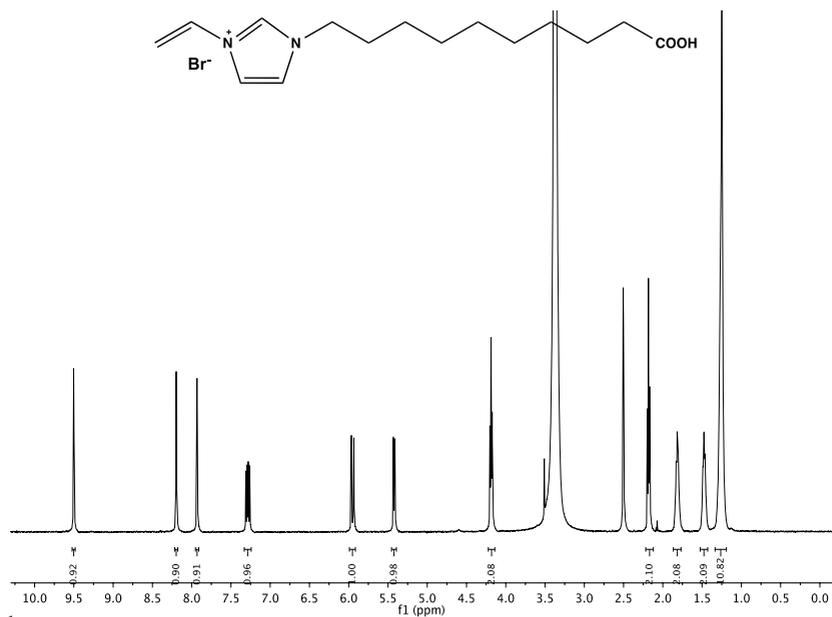
$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,52 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,29 (dd,  $J = 15,6; 8,8$  Hz, 1H), 5,95 (dd,  $J = 15,7; 2,4$  Hz, 1H), 5,42 (dd,  $J = 8,7; 2,4$  Hz, 1H), 4,36 (s, 1H), 4,18 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H), 1,89 – 1,71 (m, 2H), 1,46 – 1,34 (m, 2H), 1,26 (d,  $J = 12,9$  Hz, 14H).

## APÊNDICE XV

 $^1\text{H}$ -RMN para o monômero  $[\text{VC}_{10}\text{OHIM}][\text{NTf}_2]$ 

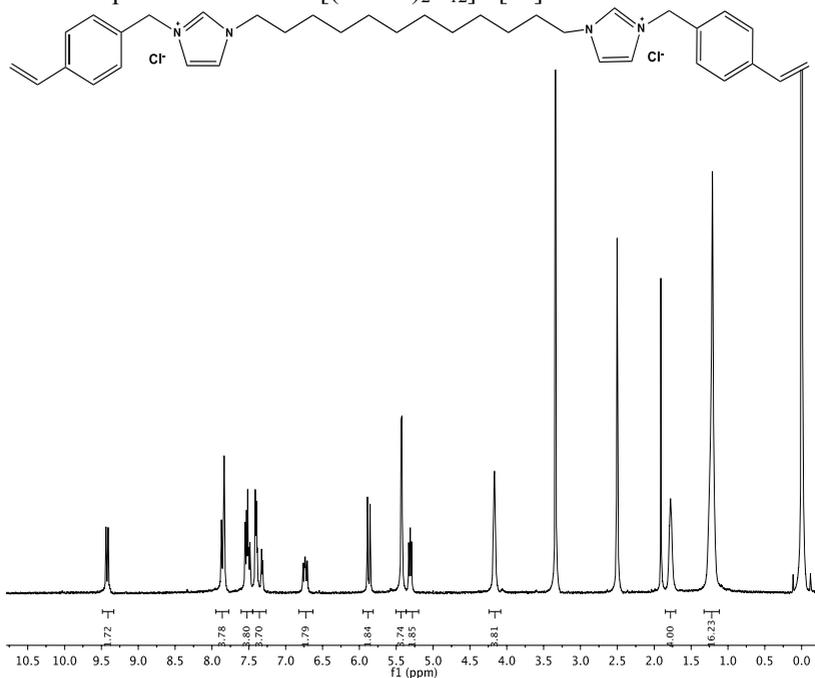
$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,50 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,28 (dd,  $J = 15,6; 8,7$  Hz, 1H), 5,95 (dd,  $J = 15,7; 2,4$  Hz, 1H), 5,42 (dd,  $J = 8,7; 2,4$  Hz, 1H), 4,36 (t,  $J = 5,1$  Hz, 1H), 4,18 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H), 1,81 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H), 1,39 (s, 2H), 1,33 – 0,89 (m, 14H).

## APÊNDICE XVI

<sup>1</sup>H-RMN para o monômero [VC<sub>9</sub>COOHIM][Br]

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,50 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,29 (dd, *J* = 15,6; 8,7 Hz, 1H), 5,95 (dd, *J* = 15,6; 2,4 Hz, 1H), 5,42 (dd, *J* = 8,6; 2,3 Hz, 1H), 4,19 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,18 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,82 (p, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,48 (p, *J* = 7,0 Hz, 2H), 1,26 (d, *J* = 14,0 Hz, 10H).

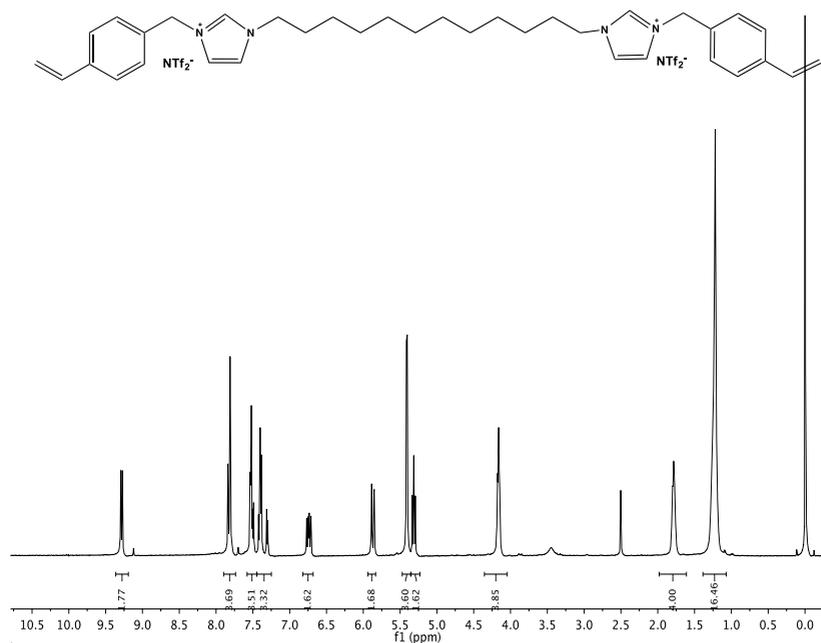
## APÊNDICE XVII

<sup>1</sup>H-RMN para o *crosslinker* [(VBIM)<sub>2</sub>C<sub>12</sub>] 2[Cl]

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9,42 (d, *J* = 14,7 Hz, 2H), 7,95 – 7,77 (m, 4H), 7,60 – 7,45 (m, 4H), 7,40 (dt, *J* = 7,6; 3,6 Hz, 4H), 6,74 (ddd, *J* = 17,8; 10,9; 3,4 Hz, 2H), 5,87 (d, *J* = 17,6 Hz, 2H), 5,43 (d, *J* = 5,8 Hz, 4H), 5,31 (dd, *J* = 10,9; 8,5 Hz, 2H), 4,17 (td, *J* = 7,8; 7,3; 3,1 Hz, 4H), 1,78 (s, 4H), 1,21 (s, 16H).

## APÊNDICE XVIII

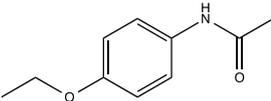
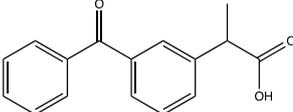
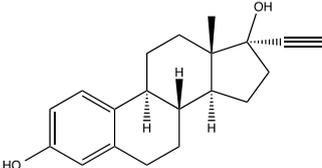
$^1\text{H-NMR}$  para o *crosslinker*  $[(\text{VBIM})_2\text{C}_{12}] 2[\text{NTf}_2]$



$^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,28 (dt,  $J = 11,0, 1,7$  Hz, 2H), 7,90 – 7,74 (m, 4H), 7,58 – 7,45 (m, 4H), 7,45 – 7,25 (m, 4H), 6,74 (ddd,  $J = 17,7; 11,0; 2,4$  Hz, 2H), 5,87 (ddd,  $J = 17,7; 2,6; 1,0$  Hz, 2H), 5,41 (d,  $J = 6,1$  Hz, 4H), 5,31 (ddd,  $J = 10,8; 9,6; 1,0$  Hz, 2H), 4,16 (td,  $J = 7,0, 3,0$  Hz, 4H), 1,78 (s, 4H), 1,23 (d,  $J = 11,3$  Hz, 16H).

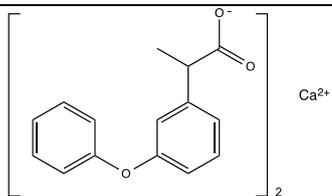
## APÊNDICE XIX

Características e estruturas químicas dos analitos.

Analito	Estrutura Química	Classificação	Log $P^b$	pKa
Fenacetina		fármaco	1,65	5,2
Cetoprofeno		fármaco	2,91	4,23
17- $\alpha$ - etinilestradiol		fármaco	4,11	10,24

---

Fenoprofeno de cálcio

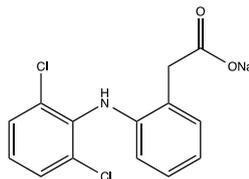


fármaco

-

-

Diclofenaco de sódio

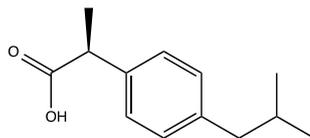


fármaco

4,06

4,01

Ibuprofeno

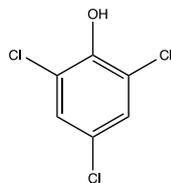


fármaco

3,50

4,41

2,4,6-triclorofenol

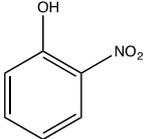
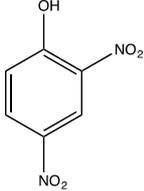
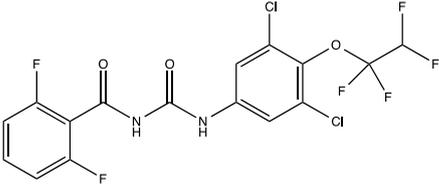
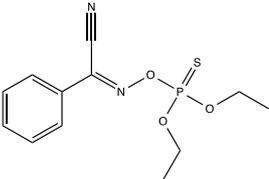


fenol

3,77

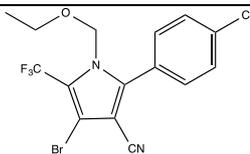
6,59

---

2-nitrofenol		fenol	1,67	7,14
2,4-dinitrofenol		fenol	1,71	4,04
Hexaflumurona		inseticida	5,67	8,54
Foxima		inseticida	4,39	-

---

Clorfenapir

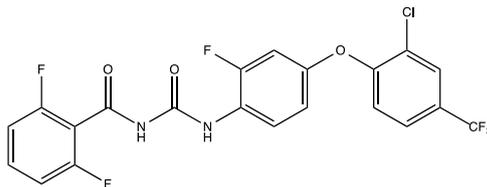


inseticida

4,88

-

Flufenoxuron

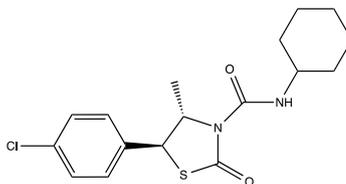


inseticida

4,81

10,1

Hexitiazox

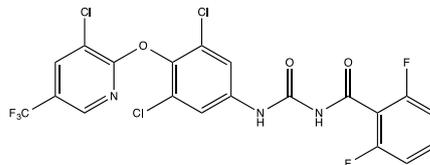


inseticida

5,03

12,77

Clorfluazuron

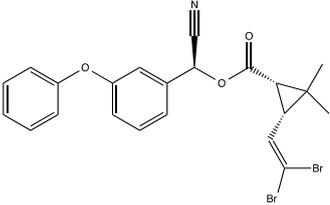
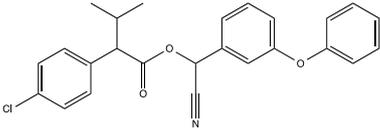
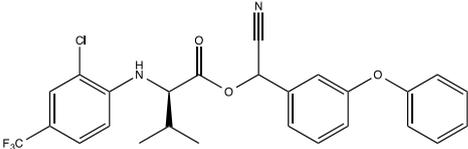


inseticida

5,43

8,10

---

Deltametrina		inseticida	6,42	-
Fenvalerato		inseticida	6,55	-
$\tau$ -Fluvalinato		inseticida	5,93	-

---

**APÊNDICE XX**

Equações das superfícies triangulares:

$$(A) v = 39919,80(x) + 37506,94(y) + 18065,25(z) - 21918,72(x)(y) - 12817,88(x)(z) - 14483,38(y)(z)$$

$$(B) v = 57702(x) + 67339,22(y) + 71231,55(z) - 68784,66(x)(y) - 9270,22(x)(z) - 89741,77(y)(z)$$

**APÊNDICE XXI**

Equações das superfícies triangulares:

$$(A) v = 19723(x) + 14684,83(y) + 7269(z) - 1113,66(x)(y) + 10420,66(x)(z) - 1595,66(y)(z)$$

$$(B) v = 29941,5(x) + 7349(y) + 4902,66(z) + 4207(x)(y) + 10721(x)(z) - 1216(y)(z)$$

$$(C) v = 56710,44(x) + 62774,33(y) + 29650,27(z) - 44497,33(x)(y) - 36156,55(x)(z) - 27497,66(y)(z)$$

## APÊNDICE XXII

Dados referentes à precisão para: fibra 1 e fibra composta por DVB/PDMS

	Fibra 1		DVB/PDMS		
	% RSD (n=3)		% RSD (n=3)		
	30	60	30	60	
	min	min	min	min	
Fenacetina	14,4	7,0	Fenacetina	1,0	9,7
2,4-Dinitrofenol	15,5	10,2	2,4-Dinitrofenol	1,8	10,3
2-Nitrofenol	7,2	1,6	2-Nitrofenol	1,1	8,4
Cetoprofeno	14,4	9,7	Cetoprofeno	0,8	11,4
17 $\alpha$ - Ethinilestradiol	14,0	11,4	17 $\alpha$ - Ethinilestradiol	2,9	4,9
Fenoprofeno	14,3	15,4	Fenoprofeno	3,1	9,6
2,4,6- Triclorofenol	15,5	14,0	2,4,6- Triclorofenol	2,7	4,0
Diclofenaco de sódio	14,7	8,3	Diclofenaco de sódio	3,5	8,9
Ibuprofeno	12,0	14,5	Ibuprofeno	2,2	6,0
Hexaflumurona	17,6	8,6	Hexaflumurona	1,5	4,4
Foxima	9,6	12,3	Foxima	4,8	2,3
Clorfenapir	16,5	7,7	Clorfenapir	3,3	2,6
Flufenoxuron	18,9	10,9	Flufenoxuron	5,8	7,8
Hexitiazox	13,9	7,0	Hexitiazox	11,5	4,4
Clorfluazuron	18,5	8,1	Clorfluazuron	13,5	14,6
Deltametrina	18,2	11,0	Deltametrina	14,7	11,8
Fenvalerato	17,0	11,3	Fenvalerato	10,8	10,0
$\tau$ -Fluvalinato	18,6	8,0	$\tau$ -Fluvalinato	12,8	13,9