



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**

**FIBRAS PARA SPME (MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA)  
RECOBERTAS COM SÍLICAS MODIFICADAS POR GRUPOS  
VINILA**

**Dissertação de Mestrado**

Autor: Alex Domingues Batista  
Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto

Outubro/2010  
Campinas – SP - Brasil

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

B32f            Batista, Alex Domingues.  
                  Fibras para SPME (microextração em fase sólida)  
                  recobertas com sílicas modificadas por grupos vinila /  
                  Alex Domingues Batista. -- Campinas, SP: [s.n], 2010.

                  Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto.

                  Mestrado - Universidade Estadual de Campinas,  
                  Instituto de Química.

                  1. Sol-gel. 2. Vinilsilica. 3. Poliestireno. 4. SPME.  
                  I. Augusto, Fabio. II. Universidade Estadual de  
                  Campinas. Instituto de Química. III. Título.

**Título em inglês:** Fibers for SPME (Solid Phase Microextraction) coated with modified silica vinyl groups

**Palavras-chaves em inglês:** Sol-gel, Vinilsilica, Polystyrene, SPME

**Área de concentração:** Química Analítica

**Titulação:** Mestre em Química na área de Química Analítica

**Banca examinadora:** Prof. Dr. Fabio Augusto (orientador), Profa. Dra. Maria Eugênia Queiroz Nassur (FFCLRP-USP), Profa. Dra. Ana Valéria Cantu Simionato (IQ-UNICAMP)

**Data de defesa:** 22/10/2010

## RESUMO

**TÍTULO:** FIBRAS PARA SPME (MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA) MODIFICADAS COM GRUPOS VINILA.

**AUTOR:** Alex Domingues Batista

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Fabio Augusto

No trabalho estudou-se o preparo de fibras para Microextração em Fase Sólida (SPME) com recobrimentos baseados em sílicas organicamente modificadas através de processo sol-gel. O modificador utilizado foi o viniltriemetoxisilano para a obtenção de um revestimento inicial que posteriormente foi recoberta com poliestireno através da polimerização de monômeros de estireno catalisada por luz ultravioleta. As fibras foram caracterizadas química e morfológicamente através de Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia no Infravermelho e Análise Termogravimétrica. Os recobrimentos apresentaram uma estrutura compacta, sem a presença visível de poros com uma espessura de 97  $\mu\text{m}$ . Eles se apresentaram estáveis termicamente até uma temperatura de aproximadamente 320°C. As fibras foram utilizadas com sucesso na quantificação de BTEX em água de torneira, as curvas analíticas obtidas apresentaram coeficientes de correlação linear acima de 0,99. Os limites de detecção calculados pela curva analítica foram para benzeno, tolueno, etilbenzeno e o-xileno foram respectivamente 0,023, 0,042, 0,027 e 0,061  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . As novas fibras foram utilizadas também na quantificação de androstenona e escatol em toucinho suíno onde também observado um coeficiente de correlação linear para a curva analítica acima de 0,99. Os limites de detecção foram 0,003  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  para androstenona e 0,009  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  para escatol.

## ABSTRACT

**TITLE:** FIBER TO SPME (SOLID PHASE MICROEXTRACTION) MODIFIED WITH VINYL GROUP.

**AUTHOR:** Alex Domingues Batista

**SUPERVISOR:** Prof. Dr. Fabio Augusto

In this work we studied the preparation of fibers for Solid Phase Microextraction (SPME) with coatings based on organically modified silica via sol-gel process. Vinyltrimethoxysilane was used as modifier for obtaining an initial coat that was later covered with polystyrene by polymerizing styrene monomers catalyzed by ultraviolet light. The fibers were characterized chemically and morphologically by scanning electron microscopy, infrared spectroscopy and thermogravimetric analysis. The coatings had a compact structure without the visible presence of pores with a thickness of 97 micrometers. They showed thermal stability up to a temperature of about 320 ° C. The fibers were successfully used in the quantification of BTEX in tap water, the analytical curves showed correlation coefficients above 0.99. The detection limits were calculated by the analytical curve for benzene, toluene, ethylbenzene and o-xylene were respectively 0.023, 0.042, 0.027 and 0.061  $\mu\text{L}^{-1}$ . The new fibers were also used for quantification of skatole and androstenone in pig fat which also observed a linear correlation coefficient for the calibration curve above 0.99. The detection limits were 0.003  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  for androstenone and 0.009  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  for skatole..

## **Agradecimentos**

- Ao Professor Fabio, por me receber e orientar ;
- A todos do IQ que me ajudaram direta ou indiretamente durante o desenvolvimento do projeto;
- A todos meu amigos e colegas de laboratório, especialmente a Lucília e o Julio Cesar que me apoiaram durante esta etapa;

## **CURRICUM VITAE**

### **FORMAÇÃO ACADÊMICA**

Bacharel em Química – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, SP, 2008

### **INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

Otimização e validação de método para análise multirésíduo de praguicidas em ração animal. IQ- UNESP 2007-2008.

### **TRABALHOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS EM CONGRESSO**

- Batista, Alex Domingues ; Augusto, Fabio . Cross-Linked Polystyrene - Vinylsilica Coated SPME. In: Eleventh International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers (HTC), 2010, Bruges, Bélgica. Eleventh International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers (HTC), 2010.
- Batista, Alex Domingues ; MARCHI, M. R. R. ; PIMENTEL, A. C. ; RIBEIRO, M. L. . Otimização de método para análise de Diclorvos em ração animal. In: XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2008, São José dos Campos. Anais do XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2008.

**PUBLICAÇÕES**

- Augusto, Fabio ; Carasek, Eduardo ; Silva, Raquel Gomes Costa ; Rivellino, Sandra Regina ; Batista, Alex Domingues ; Martendal, Edmar . New sorbents for extraction and microextraction techniques. Journal of Chromatography (Print), p. 2533-2542, 2009.

## Sumário

Lista de abreviaturas .....	x
1 Introdução .....	2
2 Objetivos .....	5
3 Revisão Bibliográfica .....	7
3.1.1 Técnicas de extração .....	7
3.2 Microextração em fase sólida (SPME) .....	9
3.3 Aspectos teóricos em SPME .....	12
3.4 Parâmetros que afetam a extração dos analitos .....	14
3.4.1 Força iônica .....	14
3.4.2 pH da amostra .....	15
3.4.3 Agitação da amostra .....	16
3.4.4 Temperatura de extração .....	17
3.4.5 Tipo de recobrimento .....	19
3.5 O processo sol-gel .....	21
3.6 Fibras de SPME preparadas por química sol-gel .....	23
4 Parte Experimental .....	29
4.1 Reagentes e Padrões .....	29
4.2 Materiais .....	29
4.3 Instrumental .....	29
4.4 Preparo de fibras para SPME a partir da tecnologia sol-gel .....	31
4.4.1 Pré-tratamento da superfície de sílica fundida .....	31
4.4.2 Recobrimento das fibras de sílica .....	31
4.4.3 Avaliação analítica das fibras de PS-Vinilsilica .....	32
5 Resultados .....	35
5.1 Caracterização química e morfológica do revestimento .....	35
5.2 Caracterização Analítica da fibra .....	42
5.2.1 Propriedades sortivas .....	42
5.3 Análise quantitativa de BTEX em água de torneira .....	48
5.4 Análise quantitativa de Escatol e Androstenona em toucinho suíno .....	49
6 Conclusão .....	53
7 Referências .....	54

## Lista de abreviaturas

SPME - Microextração em fase sólida

BTEX – Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno

GC – Cromatografia gasosa

ELL – Extração Líquido-líquido

PMDS – Polidimetilsiloxisano

PMDS/DVB – Polidimetilsiloxisano/Divinilbenzeno

PA – Poliacrilato

CV/PMDS – Carbowax/Polidimetilsiloxisano

DVB/CB/PMDS – Divinilbenzeno/Carbowax/Polidimetilsiloxisano

SPE – Extração em fase sólida

MSPD – Dispersão de Matriz em Fase Sólida

SFE – Extração com Fluido Supercritico

HS – *Headspace*

GC/MS – Cromatografia gasosa/Espectrometria de massas

LPME – Microextração em Fase Liquida

LC – Cromatografia liquida

FS – Sílica Fundida

MS – Espectrometria de massas

TGA – Analise Termogravimétrica

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

PS – Poliestireno

DVB – Divinilbenzeno

MTMS – Metiltrimetoxisilano

VTMS – Viniltrimetoxisilano

UV - Ultravioleta

# Capítulo 1:

# INTRODUÇÃO

## 1 Introdução

Nos últimos 30 anos, o preparo/pré-tratamento de amostra antes da análise cromatográfica, ganhou lugar de destaque na maioria dos estudos sobre a determinação de micro-contaminantes orgânicos em nível de traços em amostras reais. Tradicionalmente, o preparo de amostra se mostra ser necessário por várias razões:

- Melhoria da detectabilidade do analito (s), ou
- Isolamento do analito(s) da matriz.

Ao longo dos anos percebeu-se que em muitos casos, a preparação da amostra é a etapa mais demorada, tediosa e propensa a erros do procedimento analítico total. Além disso, a preparação da amostra, muitas vezes não pode ser facilmente acoplada on-line (ou linha) com a posterior etapa de separação e detecção, tornando assim a automatização do preparo de amostras, em análise por cromatografia gasosa (GC) uma tarefa difícil. A etapa de preparo de amostra afeta negativamente o desempenho global de uma análise através de efeitos como a perda e/ou decomposição dos analitos-alvo, e introdução de contaminantes externos.

Ao longo dos anos, muitos grupos de pesquisas têm tentado melhorar a situação, com a concepção de novas técnicas de preparo de amostras para substituir métodos tradicionais, tais como extração em fase sólida (SPE) e extração líquido-líquido (ELL), métodos estes que ainda são largamente utilizados hoje em dia.

Alguns destes métodos requerem muito tempo e/ou apresentam altos custos enquanto outros utilizam um volume muito grande de solventes orgânicos tóxicos. A microextração em fase sólida (SPME, do inglês Solid Phase

Microextraction) desenvolvida por Pawliszyn e seus colaboradores em 1989, contorna estas dificuldades.

Somente sete tipos de revestimentos para SPME são comercialmente disponíveis, incluindo polidimetilsiloxano (PDMS), polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), poliacrilato (PA), carboxen/polidimetilsiloxano (CB/PDMS), carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB), resina carbowax e divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CB/PDMS). Estas fibras são geralmente preparadas por deposição física do revestimento polimérico na superfície da fibra de sílica fundida. A falta de ligação química adequada entre o revestimento polimérico e a superfície da fibra de sílica fundida pode ser responsável por sua baixa estabilidade química e térmica. Como alternativa para contornar estas limitações a técnica sol-gel foi introduzida para preparar fibras de SPME **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, técnica esta que incorpora eficientemente compostos orgânicos em estruturas poliméricas inorgânicas. As vantagens da química sol-gel são simplicidade, custo relativamente baixo, forte adesão entre o recobrimento polimérico e o substrato através de ligações químicas.

A proposta deste trabalho é o desenvolvimento de recobrimentos de fibras de SPME por química sol-gel com grupos vinil como modificadores de cadeia e posterior polimerização de estireno sobre o revestimento inicial. O recobrimento da fibra foi caracterizado química e morfologicamente e aplicada a análise de vinho tinto comercial. Em trabalhos quantitativos a nova fibra foi utilizada na quantificação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX) em água de torneira e de escatol e androstenona em toucinho suíno.

# Capítulo 2:

# OBJETIVOS

## 2 Objetivos

- Preparo, através de processos sol-gel, de fibras recobertas com ormosils com modificador vinil e poliestireno sobre vinil;
- Caracterização física, química e morfológica dos recobrimentos;
- Avaliação das propriedades analíticas das fibras preparadas;
- Aplicação das fibras preparadas a problemas analíticos reais, envolvendo amostras não-sintéticas.

# Capítulo 3:

## Revisão Bibliográfica

### **3 Revisão Bibliográfica**

#### **3.1.1 Técnicas de extração**

Atualmente uma grande variedade de técnicas está disponível para a preparação de amostras sólidas, líquidas e gasosas, antes da sua análise instrumental por meio também das mais diversas formas de análise, como por exemplo, cromatografia gasosa (CG). Nas últimas duas décadas, um grande número de novas técnicas de preparo de amostra foi introduzido, e substituiu parcialmente suas técnicas homologas clássicas, onde miniaturização e processos livres de solventes recebem atenção crescente a fim de melhorar o desempenho de extração.

Uma das técnicas mais tradicionais de preparo de amostra é a extração líquido-líquido (LLE, Liquid-Liquid extraction). Nesta técnica, usa-se um solvente orgânico imiscível com água como fase extratora; os analitos hidrofóbicos sofrerão partição entre a fase aquosa e a fase orgânica, sendo transferidos à fase orgânica de acordo com a afinidade por esta última. Entretanto, a LLE apresenta algumas limitações, como a necessidade do uso de solventes orgânicos ultra puros e frequentemente tóxicos, formação de emulsões e pré-concentração limitada.

A extração em fase sólida (SPE, Solid Phase Extraction) utiliza uma fase extratora empacotada em seringa plástica (cartucho) por onde a amostra é percolada, sendo os analitos retidos na fase sólida de acordo com suas afinidades. Estes são posteriormente desorvidos por um solvente apropriado, que deve remover quantitativamente os compostos da fase extratora. O extrato pode então

ser analisado por cromatografia gasosa [5,6] ou cromatografia líquida de alta eficiência [7,8].

Outro método de preparo de amostra muito utilizado é a dispersão de matriz em fase sólida (MSPD, Matrix Solid-Phase Dispersion), que envolve a mistura mecânica direta da amostra com um sorbente, que geralmente é um alquil-silica, como por exemplo C18. Durante a trituração da amostra com o sorbente, os constituintes da amostra são dissolvidos e dispersos na fase ligada na sílica. Esta mistura é colocada em um cartucho e então se utiliza um solvente apropriado para eluir os compostos de interesse e este extrato é utilizado na análise por GC. Uma das desvantagens do MSDP é a baixa repetibilidade dos resultados 0.

Uma ferramenta que também é utilizada em procedimentos de preparo de amostra é a utilização de um fluido supercrítico como fase extratora. Este é um método que foi utilizado industrialmente por muitos anos e começou a ser estudado como técnica de extração em escala analítica quando a utilização de fluidos supercríticos ganhou importância em procedimentos cromatográficos. A extração por fluido supercrítico (SFE, Supercritical Fluid Extraction) emprega na maioria das vezes dióxido de carbono (ponto crítico 30,9 °C; 73,8 bar) como um fluido supercrítico, pois ele é quase um solvente ideal devido à combinação de baixa viscosidade e alta difusividade com alta volatilidade 0.

Técnicas tradicionais de análise como LLE e SPE, por exemplo, apresentam algumas desvantagens e limitações, como o uso de solventes orgânicos puros, e às vezes tóxicos e a perda de analito durante o procedimento de extração. Em razão disso começaram a serem introduzidas as técnicas de

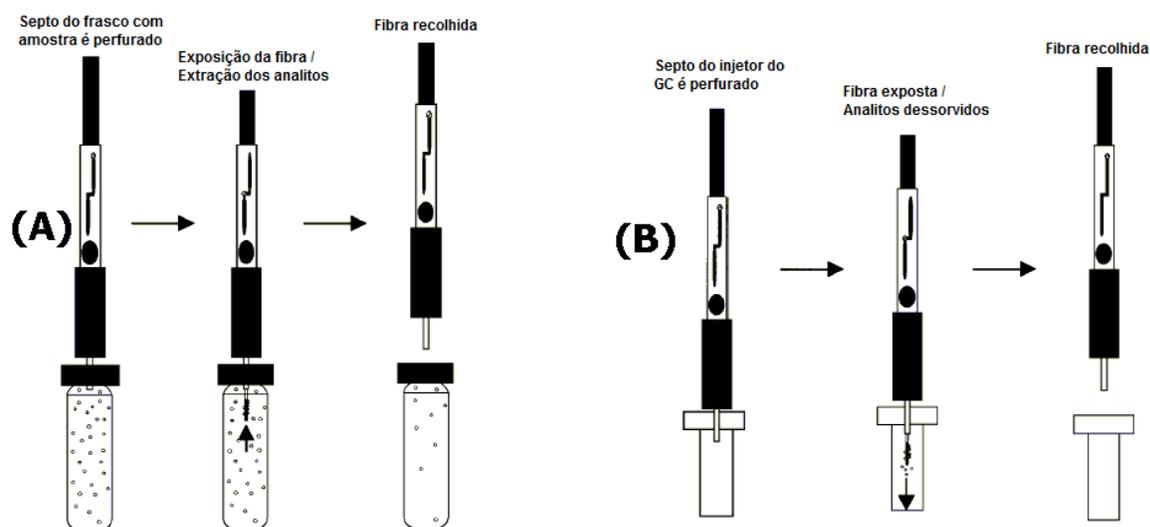
microextração, seguindo uma tendência de miniaturização dos métodos conhecidos.

Um exemplo é a Microextração em Fase Líquida (LPME, Liquid Phase Microextraction) que foi introduzida por Jeannot e Cantwell. em 1996 [1] e é uma técnica de preparo de amostra que utiliza quantidades mínimas de solvente além de ser rápida, de baixo custo e com mínima exposição a solventes orgânicos tóxicos. LPME tem por princípio a partição dos analitos de interesse entre uma pequena quantidade de um solvente imiscível em água e uma fase aquosa contendo os analitos. A fase aceitadora pode ser imersa diretamente ou suspensa acima da amostra por extração de headspace (HS). O volume da fase receptora utilizada é na escala de microlitros. Desta forma, fatores de enriquecimento elevado podem ser obtidos devido à alta razão entre o volume das fases.

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

SPME foi introduzida por Pawliszyn no início da década de 1990 [2] e tem sido amplamente utilizada no preparo de amostra, especialmente desde que as fibras se tornaram comercialmente disponíveis em 1993. Ela tem sido usada rotineiramente em combinação com GC e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) e aplicado com sucesso a uma grande variedade de compostos, especialmente para extrações de compostos orgânicos voláteis e semivoláteis de amostras ambientais, biológicas e de alimentos. A SPME baseia-se na partição dos analitos entre um revestimento suportado em uma fibra e a amostra. A fibra revestida consiste em uma haste de sílica fundida

revestida com uma camada fina de material sorvente. Após a exposição à fase vapor acima da solução (amostragem do HS) ou em imersão direta na solução, um processo de transferência de massa se inicia, até um estado de equilíbrio dos analitos entre a amostra e o revestimento da fibra. Após a fibra ter sido exposta à amostra por determinado período, ela é então recolhida e exposta no injetor de um cromatógrafo a fim de se liberar os analitos por dessorção térmica em GC e por dissolução em um solvente em cromatografia líquida (LC) [12,13]. A Figura 1 mostra o esquema operacional em SPME.



**Figura 1.** Procedimento básico de SPME: A – extração e B – dessorção.

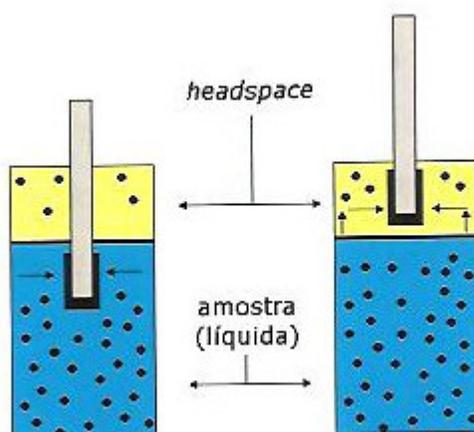
Todos os analitos chegam ao detector produzindo um sinal em que no cromatograma não é observado um pico muito significativo referente ao solvente. Embora a massa de analito seja apenas uma fração do analito presente na amostra, em razão da alta sensibilidade dos detectores em CG, os métodos padronizados têm apresentado limites de quantificação (LQ) adequados aos

objetivos propostos. Apesar de ser aplicável tanto em GC quanto em LC, o uso em LC é extremamente restrito devido a diversos fatores como a pequena disponibilidade de sorventes compatíveis, a falta de interfaces disponíveis comercialmente, tempos de equilíbrios altos e falta de automação.

SPME tem várias vantagens sobre outros métodos tradicionais de extração. É rápido, simples, livre de solventes, sensível, compatível com a separação e detecção do analito por diferentes sistemas, fornece resultados lineares para uma ampla concentração dos analitos, e por apresentar dimensões reduzidas se torna conveniente para a concepção de dispositivos portáteis que podem ser utilizados em análises de campo. SPME apresenta resultados quantitativos para concentrações muito baixas de analitos e evita as perdas que podem ocorrer durante as etapas de extração, concentração e de limpeza da amostra que ocorrem em procedimentos tradicionais de preparo amostra. Por outro lado, uma das principais desvantagens da técnica é o número limitado de fases estacionárias que estão comercialmente disponíveis. Outros possíveis problemas em SPME são relativa baixa temperatura de operação recomendada (240-280 °C), a instabilidade e inchaço dos revestimentos em solventes orgânicos (limitada o seu uso em LC), a ruptura da fibra e a remoção de revestimentos.

Há dois modos de extração em SPME: extração direta, onde a fibra extratora é mergulhada diretamente na amostra líquida. Este modo é indicado para analitos pouco voláteis; a desvantagem é a possibilidade de sorção de interferentes e de compostos de alta massa molecular que possam causar efeito de memória e/ou encurtar a vida útil da fibra. No modo de extração indireta, mais conhecida como extração por *headspace* (HS), consiste em expor a fibra à

atmosfera confinada dentro do frasco que contém a amostra. Este modo de extração é indicado para análise de compostos de média a alta volatilidade, tendo como vantagem o prolongamento da vida útil da fibra, já que ela não entra em contato mecânico com a amostra. A Figura 2 ilustra os dois possíveis modos de extração.



**Figura 2.** Modos de extração em SPME: direta (esquerda) e por *headspace*.(direita)

### 3.3 Aspectos teóricos em SPME

O princípio de operação em SPME é a distribuição dos analitos entre a fase extratora, o *headspace* e a amostra. Deste modo a extração é governada por constantes de equilíbrio entra estas fases.

**amostra** ↔ **headspace** ↔ **fibra** (extração por *headspace*)

**amostra** ↔ **fibra** (extração direta)

Antes da extração,  $n_0$  gramas de analito estão presentes, em uma concentração  $C_0$  em um volume  $V_s$  da amostra. Após a extração, a massa se distribuiu entre as fases. A quantidade de analito extraída ( $n$ ) é descrita pela equação a seguir que correlaciona as constantes de distribuição entre todas as fases.

$$n = \frac{K_{fm} V_f C_0 V_m}{K_{fm} V_f + K_{hm} V_h + V_m} \text{ (extração por } headspace \text{)} \quad (1)$$

Sendo  $n$  = massa de analito sorvido;

$V_f$  = volume de recobrimento;

$V_m$  = volume de amostra;

$C_0$  = concentração inicial do analito na amostra;

$K_{fm}$  = coeficiente de partição de analito entre o recobrimento e a amostra;

$K_{hm}$  = coeficiente de partição do analito entre a amostra e o *headspace*;

Para extrações no modo direto, assumindo-se que não há *headspace*, a equação anterior assume a forma

$$n = \frac{K_{fm} V_f C_0 V_m}{K_{fm} V_f + V_m} \text{ (extração direta)} \quad (2)$$

O volume de amostra (da ordem de mililitros) é muito maior que o volume de um recobrimento de SPME, que tipicamente, é da ordem de microlitros ( $V_a \gg K_{fm} V_m$ ). A equação 2 então toma a seguinte forma:

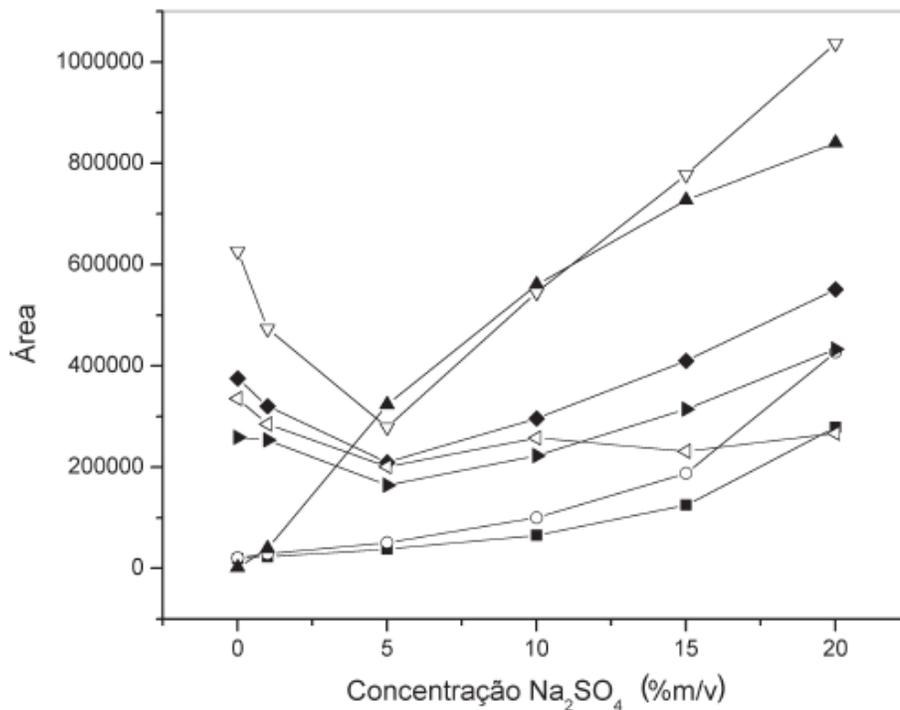
$$n = K_{fm} V_f C_0 \quad (3)$$

Analisando-se a equação 3, pode-se observar que em extrações diretas a quantidade de analito extraído não depende do volume de amostra empregada, possibilitando assim o uso de pequenos volumes de amostra [14]

### **3.4 Parâmetros que afetam a extração dos analitos**

#### **3.4.1 Força iônica**

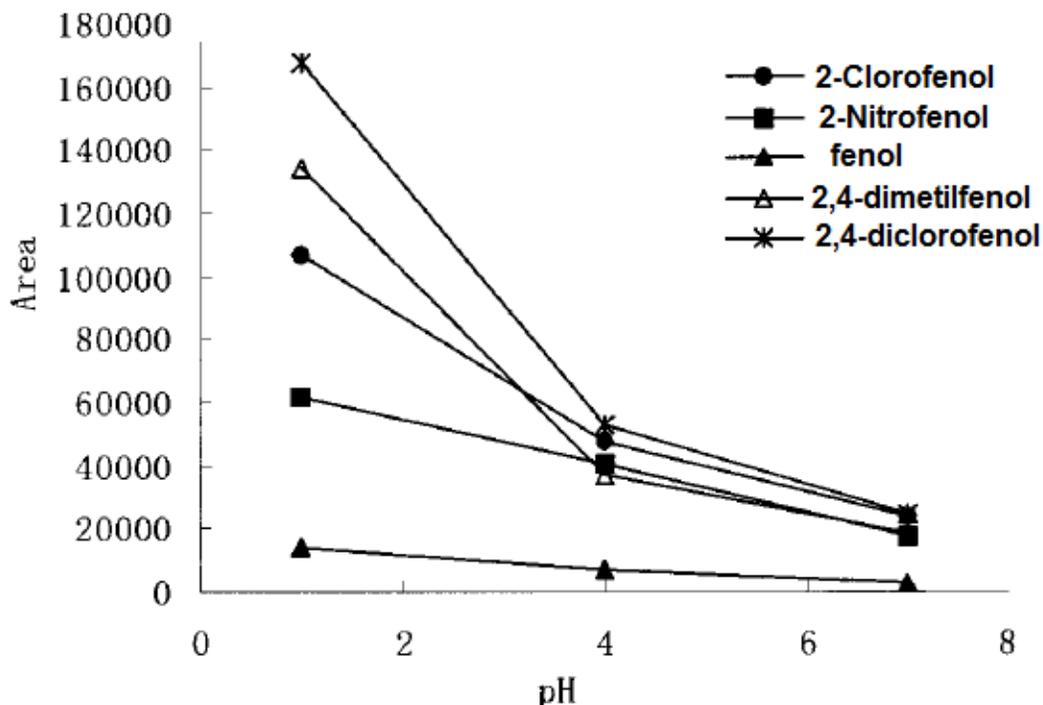
Quando há a adição de um eletrólito forte à amostra tem-se a minimização da solubilidade de compostos poucos polares, forçando-os a passar a fase vapor e/ou à fibra. Este efeito pode ser observado na Figura 3, que mostra o aumento na eficiência de extração de pesticidas. Entretanto, a adição de eletrólitos pode ser desfavorável para compostos muito polares e/ou ionizados, uma vez que sua atividade na solução aumenta com a força iônica [15].



**Figura 3.** Efeito da concentração salina na extração de pesticidas, extraídos durante 30 minutos com fibra de PA, sob agitação constante de 900 rpm e temperatura ambiente (25°C).  $\Delta$  Trifluralina,  $\blacksquare$  Simazina,  $\circ$  Atrazina,  $\blacktriangle$  Pentaclorofenol,  $\blacklozenge$  cis-permetrina,  $\blacktriangleright$  trans-permetrina.[15]

### 3.4.2 pH da amostra

A influência do pH na extração de analitos básicos ou ácidos é bastante pronunciada. Compostos ácidos são melhores extraídos em pH baixos e vice e versa. Em amostras ácidas os analitos básicos permanecem em sua forma ionizada, diminuindo assim sua volatilidade e sua afinidade com o recobrimento da fibra, o efeito inverso ocorre em amostras básicas, onde os analitos ácidos estão em sua forma ionizada. A Figura 4 mostra o efeito do pH na extração de fenóis.

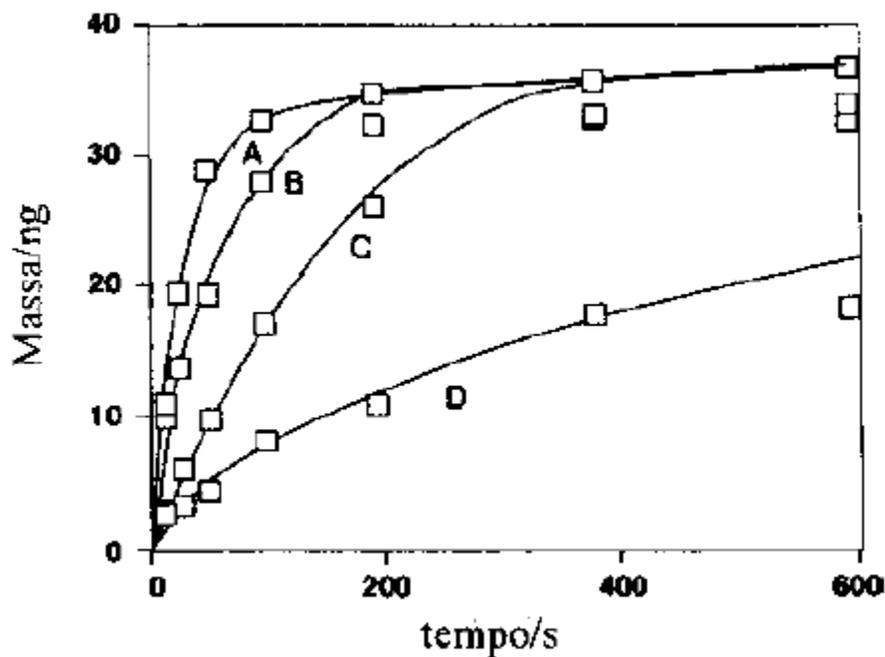


**Figura 4** Efeito do pH sobre a extração de clorofenóis extraídos por 30 minutos a uma temperatura de 40 °C sob agitação constante com fibra CW/DVB. A eficiência diminui com o aumento do pH devido a desprotonação dos analitos que então permanecem na forma iônica (Adaptado de [16])

### 3.4.3 Agitação da amostra

A agitação da amostra tem uma influência decisiva no tempo de extração. Ela facilita a difusão dos analitos na amostra, acelerando assim a transferência de massa entre as fases, conseqüentemente a extração se dá um tempo menor. A Figura 5 mostra perfis de extração de benzeno em diferentes velocidades de agitação. Aplicando-se uma agitação de 2500 rpm o equilíbrio é atingido em menos de 200 segundos enquanto em velocidades menores este tempo é maior. A curva D onde não foi aplicado agitação na amostra não atingiu o equilíbrio nem mesmo no tempo máximo estudado de 600 segundos. O processo de agitação

não influencia na capacidade de extração da fibra, somente no tempo necessário para o estabelecimento do equilíbrio dos analitos entre a fibra e a amostra e/ou *headspace*.

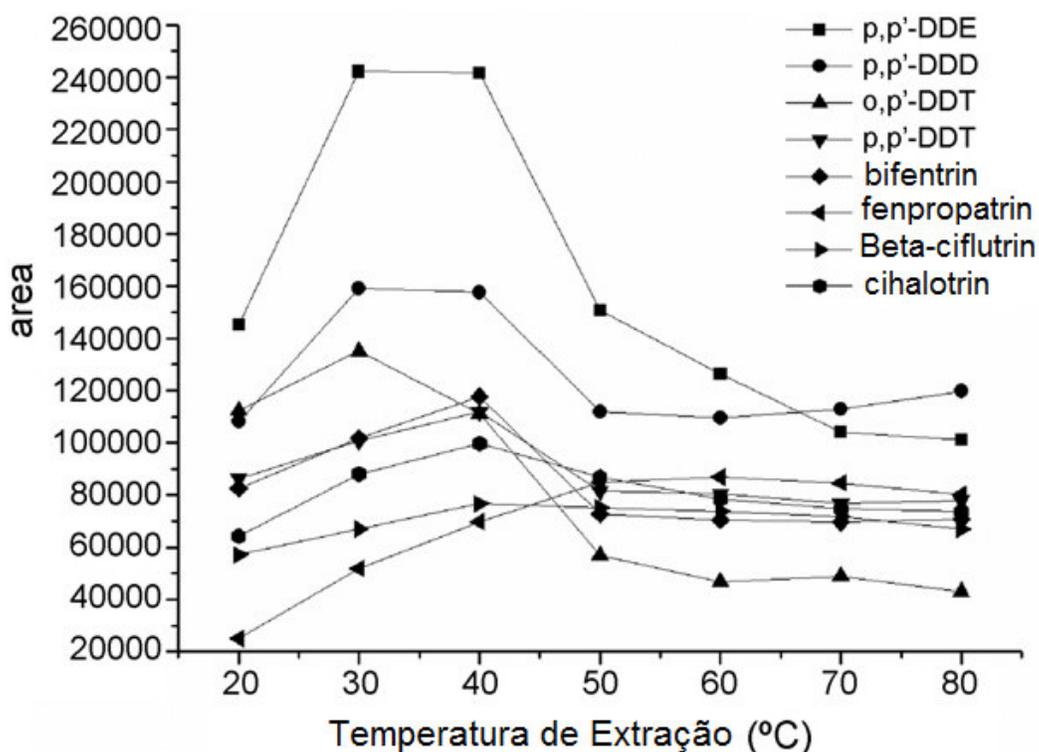


**Figura 5** Perfis de extração para 1 ppm de benzeno em água sob três condições de agitação: (A) agitação magnética a 2500 rpm, (B) 1800 rpm, (C) 400 rpm e (D) sem agitação. (Adaptado de [14])

#### 3.4.4 Temperatura de extração

Em extrações realizadas no modo *headspace* o aquecimento da amostra é uma ferramenta importante na eficiência de extração, uma vez que se aumentando a temperatura, há o aumento da pressão de vapor dos analitos da amostra que passam mais facilmente à fase vapor favorecendo o equilíbrio com o recobrimento da fibra. Entretanto temperaturas muito elevadas podem apresentar

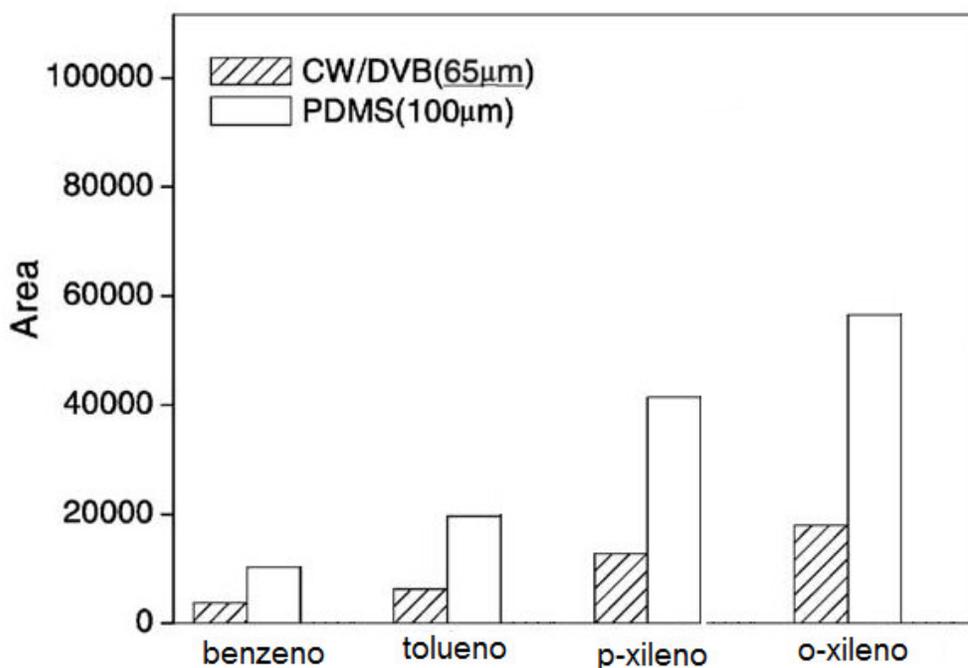
efeito contrário, pois diminuem a constante de equilíbrio dos analitos entre a fase vapor e o revestimento. Com isso o aumento na temperatura pode favorecer a extração de compostos pesados ao mesmo tempo em que desfavorece a extração de compostos mais leves. Busca-se então uma temperatura em que haja uma boa extração dos compostos pesados sem a perda dos compostos mais leves. A Figura 6 apresenta o perfil de extração de pesticidas organoclorados e piretróides em função da temperatura de extração. Nota-se que a partir de uma determinada temperatura há a diminuição na eficiência de extração.



**Figura 6** Efeito da temperatura na eficiência de extração de pesticidas organoclorados e piretróides. (Adaptado de [17])

### 3.4.5 Tipo de revestimento

A eficiência de extração, como discutido anteriormente, depende das constantes de partição dos analitos entre a amostra, o *headspace*, e o revestimento da fibra. O valor que estas constantes assumem depende fortemente do tipo de revestimento utilizado, sendo assim a escolha apropriada da fase um parâmetro essencial para uma extração eficiente. Como pode ser observado na Figura 7, os analitos foram mais bem extraídos quando utilizado uma fibra PDMS do que quando utilizado uma fibra CW/DVB, devido sua maior afinidade com os analitos, que são compostos voláteis e apolares. Na Tabela 1 são apresentados alguns revestimentos disponíveis comercialmente e suas aplicações.



**Figura 7** Diferença nos perfis de extração para benzeno, tolueno, p-xileno e o-xileno utilizando fibras com revestimentos diferentes. (Adaptado de [18])

**Tabela 1** Principais fibras para SPME disponíveis comercialmente. [19]

<b>Tipo</b>	<b>Composição</b>	<b><math>L_f/\mu\text{m}</math></b>	<b><math>\Delta T/^\circ\text{C}</math></b>	<b>Aplicações</b>
Não-polares	PDMS	100	200-270	Compostos apolares
		30		
		7	220-320	
Polares	PA	85	220-310	Media e alta polaridade
	CW-DVB	65	200-260	
Bipolares	PMDS-DVB	65	200-270	Voláteis e não voláteis
	Carboxen-PMDS	75		Voláteis

Dentre estes revestimentos o mais utilizado é o de PDMS, que extrai com eficiência compostos apolares, por ser uma fase também apolar. Pode ser utilizado também com sucesso em extrações de compostos polares, desde que as condições de extração sejam otimizadas. Já as fibras com revestimento de PA são utilizadas para extração de compostos polares. As fibras com revestimento misto apresentam propriedades complementares ao PDMS e ao PA. As fibras de PDMS com Divinilbenzeno (PMDS/DVB), por exemplo, possuem diferentes seletividades para compostos polares e como a maioria das interações são determinadas pela adsorção nas partículas porosas de DVB, as constantes de distribuição são maiores do que a do PDMS e extraem melhor compostos não voláteis.

Estes dispositivos comerciais de SPME consistem em recobrimentos suportados em uma fibra de sílica fundida. Como não são quimicamente ligados à fibra, estes recobrimentos comerciais não são aplicáveis a situações que exijam exposição direta a solventes orgânicos ou a altas temperaturas. Estas limitações têm levado muitos grupos de pesquisa a desenvolverem novos revestimentos. O método sol-gel é o mais utilizado para a obtenção de novos revestimentos, quer por sua simplicidade, quer por seu baixo custo. E como os revestimentos obtidos

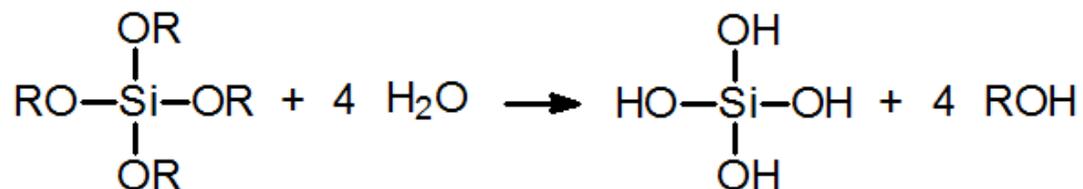
são ligados quimicamente ao suporte de sílica, eles apresentam maior tolerância a condições químicas e físicas mais extremas.

### 3.5 O processo sol-gel

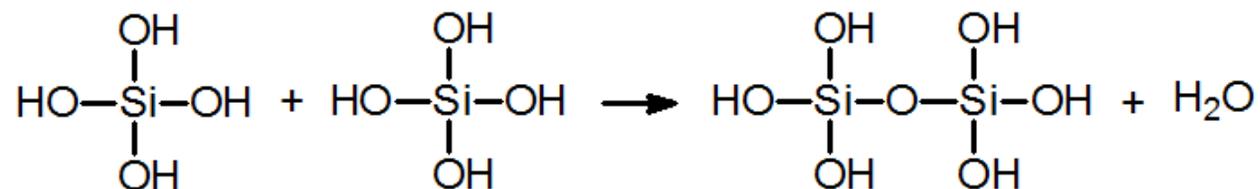
No método sol-gel, a hidrólise catalisada de um alcóxido de metal ou semi-metal (precursor) gera espécies hidroxiladas que podem se condensar formando reticulados poliméricos que, inicialmente, formam uma suspensão coloidal no meio reacional (um sol). Se esses precursores forem alcoxisilanos, o sol consiste em uma suspensão coloidal de sílica. Outros compostos hidroxilados adicionados ao meio reacional podem participar do processo, ligando-se aos retículos coloidais de sílica e gerando materiais com propriedades sortivas diferenciadas. Dependendo do tempo de reação e das condições experimentais, os retículos podem crescer e se unir, formando um único corpo macroscópico onde o solvente original da reação está disperso em microcavidades (um gel). A eliminação desse solvente com o envelhecimento e secagem do gel forma um xerogel.

Quando o sol é exposto a uma fibra de sílica previamente tratada para a ativação dos grupos  $-OH$  de sua superfície, que se ligam através de reações de condensação aos agregados reticulares, geram um filme quimicamente ligado. A reação de polimerização sol-gel ocorre em etapas:

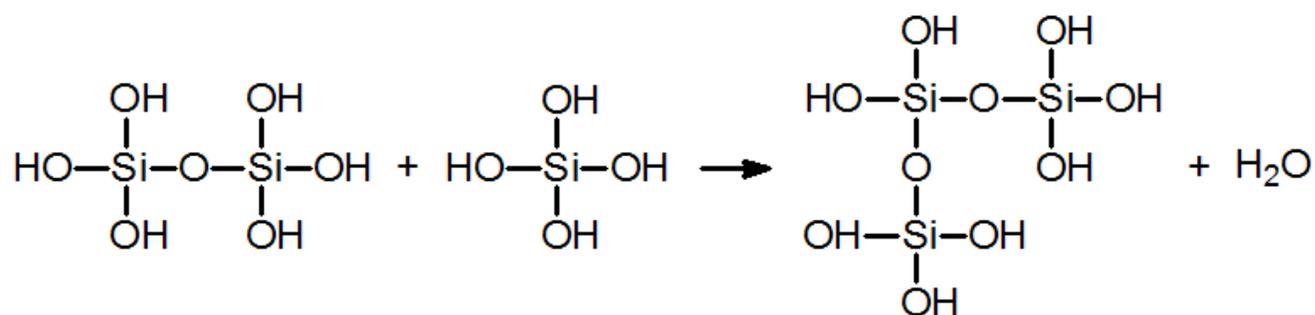
(a) hidrólise dos grupos alcóxido para formar grupos silanóis reativos:



(b) Condensação (formação de dímero)

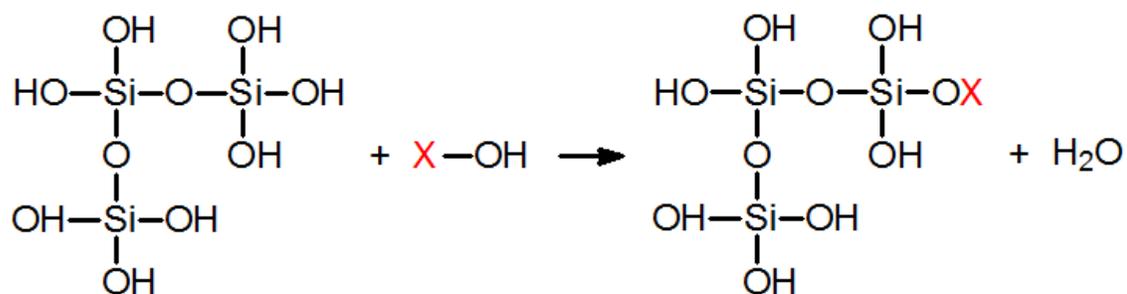


(c) Formação de uma estrutura tridimensional



Durante o processo de condensação pode-se inserir um grupo modificador orgânico que modifica as propriedades da estrutura obtida:

(d) Incorporação de grupo orgânico modificador (X)



Com a possibilidade da incorporação de modificadores orgânicos na estrutura final, o processo sol-gel se tornou o método mais utilizada na obtenção de fibras para SPME.

### 3.6 Fibras de SPME preparadas por química sol-gel

Os dispositivos comerciais de SPME consistem em recobrimentos suportados em uma fibra de sílica fundida. Estas fibras podem ser classificadas em absorventes, como o polidimetilsiloxano (PDMS) e o poliacrilato (PA), líquidos de alta viscosidade que extraem os analitos via absorção, e adsorventes, como PDMS/DVB (divinilbenzeno) e Carbowax/DVB, onde um sólido poroso está disperso no suporte. Como não são quimicamente ligados à fibra de sílica fundida, os recobrimentos comerciais de SPME não são aplicáveis a situações que exijam exposição direta a solventes orgânicos (como, por exemplo, na cromatografia líquida de alta eficiência) ou altas temperaturas. Estas limitações têm levado muitos grupos de pesquisa à produção de fibras através de diferentes abordagens.

Uma das vias mais utilizadas para a síntese de recobrimentos que não apresentem ou minimize tais limitações é química sol-gel. As fibras obtidas por processo sol-gel apresentam muitas vantagens em relação as fibras comerciais. Isso se dá devido o revestimento estar quimicamente ligado ao substrato de sílica, assim possui maior estabilidade térmica e mecânica em comparação aos recobrimentos de fibras convencionais, facilitando a dessorção de espécies extraídas. Além disso, podem ser obtidos filmes altamente porosos, aumentando a área superficial exposta à amostra, o que resulta em rápido equilíbrio amostra / fibra e maior eficiência de extração.

O primeiro trabalho na literatura que utilizou o processo sol-gel para obtenção de recobrimentos para SPME foi realizado por Malik e colaboradores 0

que desenvolveram uma fibra com recobrimento de sílica modificada com PDMS. Os revestimentos obtidos foram altamente porosos e com uma espessura de 10  $\mu\text{m}$ . Esta alta porosidade é responsável pela grande área superficial, sendo um dos motivos pela qual a fibra sol-gel proporcionou altas taxas de transferência de amostra para o recobrimento. As fibras apresentaram estabilidade térmica até 320°C enquanto as fibras comerciais de PDMS são estáveis termicamente até 280°C, esta maior estabilidade está relacionada ao fato de o recobrimento estar ligado quimicamente ao suporte.

A partir de então muitos foram os trabalhos publicados utilizando química sol-gel para obtenção de diferentes revestimentos de fibras para SPME principalmente utilizando fibras de sílica fundida (FS) como suporte. Estes trabalhos utilizaram como abordagem básica o procedimento sol-gel utilizando diferentes modificadores orgânicos para atribuir características de seletividades diferentes. Por exemplo, Bianchi e colaboradores [20,21] descreveram uma fibra sol-gel de SPME preparada com 3-Aminopropiltriétoxissilano (APTES) e dietoxidifenilsilano como reticulante; o revestimento apresentou uma excelente estabilidade térmica e química (útil até 400 ° C) e foi aplicado na determinação de PAH em amostras de água e leite. Biajoli e Augusto [20] descreveram uma fibra revestida de sol-gel de sílica preparados de MTMS/3-aminopropiltrimetoxissilano (APTMS) como mistura precursor e modificado por hidróxi-PDMS, e aplicou-se na caracterização da fração volátil da cerveja Pilsner. A seletividade da fibra foi notavelmente diferente da fibra PDMS preparada com MTMS puro como precursor: como resultado da incorporação dos grupos amino primário na rede de sílica, que tinha uma elevada afinidade para analitos ácidos, como os ácidos

acético e capróico. Alternativas interessantes como modificadores orgânicos são éteres de coroa, como proposto por Zeng e colaboradores 0, que prepararam um sol-gel fibra utilizando hidroxidibenzo-14-coroa-4-éter (OH-DB14C4) e hidroxipdms como modificadores. Estes revestimentos são esperadas maior afinidade por compostos aromáticos e polarizáveis devido a eletronegatividade dos heteroátomos na coroa. Esta fibra foi aplicada com sucesso à determinação de halofenóis em água, comparando-se favoravelmente às fibras de SPME comercial. O mesmo grupo também descreveu a aplicação destas OHDB14C4 sol-gel fibras revestidas com a determinação de compostos básicos (anilinas), juntamente com as fibras modificadas com similares éteres de coroa 0. Calixarenos, ciclodextrinas e fulerenos também podem resultar em revestimentos seletivos, e hidroxicalixarenos [25,26,27],  $\beta$ -ciclodextrinas [28,29] e hidroxifulerenos 0, também foram aplicados com sucesso em fibras sol-gel. Yu et al. 0 também preparou fibras para SPME por rota sol-gel modificadas com um éter de coroa, mas usando uma abordagem diferente: um alcoxissilano (alcoxibis-benzo-16-coroa-5-trimetoxissilano) já contendo o éter coroa radical foi empregado como precursor reticulante. O mesma estratégia já foi empregado por Gbatu et al.00, que utilizou n-octiltrietoxissilano como precursor reticulante; esta fibra foi aplicada com sucesso na determinação de compostos organometálicos (trifenilarsina, difenilmercurio e trimetilfeniltin) por HPLC.

Além de sua importância para determinar a seletividade do revestimento, alguns modificadores orgânicos pode também melhorar outras características desejáveis das fibras de SPME. Por exemplo, a seletividade da fibra sol-gel descrito por Lopes e Augusto 0, baseado em poli(vinil álcool) (PVA) e PDMS-OH,

é bastante semelhante as fibras convencionais de PDMS pura, sendo indicado como adequado GC para aplicações convencionais, como a determinação de pesticidas organoclorados e organofosforados em infusões de *Passiflora L.*, utilizando-se GC-ECD para a separação e detecção. No entanto, o revestimento de PDMS/PVA, apresenta maior estabilidade térmica como mostraram as análises termogravimétrica (TGA) ele é estável para temperaturas de até 350°C, possivelmente devido a ligações cruzadas entre os reticulados de sílica promovidos pela presença de PVA na mistura reacional. Este aprimoramento na estabilidade térmica do filme sorvente de PDMS / PVA foi também evidente na sua aplicação a FIMS (*Fiber Introduction Mass Spectrometry*), onde uma fibra de SPME é diretamente introduzida na zona de ionização do espectrômetro. O aquecimento causado pela irradiação dos filamentos de ionização do MS e do alto vácuo induz induzem a dessorção, ionização e fragmentação das espécies previamente extraídas. Durante a determinação de pesticidas em infusões por FIMS, foi observado que a fibra de PDMS / PVA era utilizável até 400 extrações enquanto a fibra comercial PDMS/DVB se degrada após 150 operações devido ao estresse imposto durante as duras condições de dessorção. Polietilenoglicol (PEG) é também um modificador orgânico, que resultam em camadas sorventes com determinadas características estruturais e morfológicas. Silva e Augusto descreveram uma fibra sol-gel utilizando PEG (Carbowax 20 M, a massa molar média de 14 kg.mol<sup>-1</sup>) como modificador de sílica. O revestimento apresentou uma estrutura com aparência esponjosa, parecendo ser um aglomerado de microesferas com até 2 µm de diâmetro.

Poliestireno (PS) também é um polímero utilizado com adsorvente em procedimentos de extração, principalmente combinado com divinilbenzeno (DVB). Adsorventes PS/DVB são utilizados usualmente em procedimentos de SPE como no sistema desenvolvido por Gülbakan et. al para extração de pesticidas organoclorados 0.

# Capítulo 4:

## Parte Experimental

## 4 Parte Experimental

### 4.1 Reagentes e Padrões

Nas avaliações feitas com a fibra foram utilizadas soluções em metanol de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (Fluka, Buchs, Suíça). Os reagentes utilizados para as reações sol-gel foram de grau analítico, sendo estes o metiltrimetoxisilano (MTMS) (Acros, Nova Jersey, EUA), viniltrimetoxisilano (VTMS) (Acros, Nova Jersey, EUA), monômeros de estireno (Fluka, Buxhs, Suíça) hidróxido de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).

### 4.2 Materiais

Foram utilizadas fibras ópticas de 125  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Xtal, Campinas, Brasil) como suporte dos revestimentos sol gel, um *holder* de SPME (Supelco, Bellefonte, PA, USA), fibras comerciais recobertas com PDMS/DVB como material de referência. Foram utilizadas também frascos de vidro com tampa e septos de silicone, barras de agitação, agitador de tubos

### 4.3 Instrumental

Foi utilizado um cromatografo a gás HP-6890 equipado com detector de ionização em chama (FID), injetor split/splitless (operado no modo splitless em todas as corridas), coluna HP-5 ( $L=30\text{m} \times dc = 0.32\text{mm} \times df = 0.25\mu\text{m}$ ) e usando

hélio ( $1,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ) como gás de arraste. O injetor e o detector foram mantidos a  $230 \text{ }^\circ\text{C}$  e o forno da coluna foi programado da seguinte maneira: 2 min a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , elevado então a  $110 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , e de  $110$  a  $130 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Para todos os experimentos, as fibras foram expostas por um período de tempo entre 3 a 20 minutos ao headspace de  $3,0 \text{ mL}$  de amostra teste aquosa agitada com agitador magnético a  $1200 \text{ rpm}$ . Os analitos extraídos foram imediatamente desorbidos, separados e detectados por GC-FID; o tempo de desorção variou entre 5 a 50 segundos. Como comparativo, extrações de 30 min do headspace de amostras de vinho branco foram feitas utilizando uma fibra comercial de  $65 \text{ }\mu\text{m}$  PDMS/DVB, utilizando as mesmas condições cromatográficas citadas acima alterando somente a programação de temperatura do forno que foi a seguinte: temperatura inicial de  $60^\circ\text{C}$  elevada a  $250^\circ\text{C}$  a uma taxa de  $3 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ . Para a avaliação da nova fibra em trabalhos quantitativos, determinou-se a concentração de BTEX em água de torneira e para isso utilizado um cromatógrafo a gás Shimadzu QP-2010 acoplado a um detector de espectrometria de massas, injetor split/splitless (operado no modo splitless em todas as corridas), coluna HP-5 ( $L=30\text{m}\times dc = 0.32\text{mm}\times df = 0.25\mu\text{m}$ ) e usando hélio ( $1,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ) como gás de arraste. O injetor e o detector foram mantidos a  $230 \text{ }^\circ\text{C}$  e o forno da coluna foi programado da seguinte maneira: 2 min a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , elevado então a  $110 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $7 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , e de  $110$  a  $130 \text{ }^\circ\text{C}$  a  $20 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Para caracterização morfológica do revestimento foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura JSM 6360-LV (JEOL, Tokyo, Japan). Análises termogravimétricas do revestimento PS-Vinilsilica foram feitas em atmosfera inerte ( $\text{N}_2$ ) em um analisador Termogravimétrico 2050 (TA Instruments, New

Castle, DE), com uma faixa de temperatura de 30 a 1000 °C com uma razão de aquecimento de 10°C/min. Para a obtenção de um espectro de infravermelho do revestimento foram utilizadas placas de vidro que foram revestidas com o revestimento PS-Vinilsilica e analisadas em um microscópio de infravermelho Spotlight 400 FTIR Imaging System (Perkin Elmer, Waltham, MA). A varredura foi feita de 4000 a 7800  $\text{cm}^{-1}$  em uma seção quadrada de 5 x 5  $\mu\text{m}$ .

#### **4.4 Preparo de fibras para SPME a partir da tecnologia sol-gel**

##### **4.4.1 Pré-tratamento da superfície de sílica fundida**

Pedaços de 5 cm de fibra ópticas foram tratadas por 3 horas em ácido sulfúrico concentrado para retirada da camada de polímero protetor. As fibras foram então lavadas com água destilada varias vezes e tratadas em NaOH 1  $\text{mol.L}^{-1}$  por 1 hora para ativação dos grupos silanóis da superfície da sílica e em HCl 0,1  $\text{mol.L}^{-1}$  por 30 minutos para neutralização do excesso de base, lavadas com água destilada e lavadas a estufa a uma temperatura de aproximadamente 120 °C.

##### **4.4.2 Recobrimento das fibras de sílica**

Em um frasco pequeno frasco de vidro adicionou-se 400  $\mu\text{L}$  de metiltrimetoxisilano (MTMS), 150  $\mu\text{L}$  de viniltrimetoxisilano (VTMS) e 200  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,0350  $\text{mol.L}^{-1}$ , esta mistura foi agitada em um agitador de tubos por dois

minutos, a cada 5 min, por um tempo total de 30 min. As fibras pré-tratadas foram expostas a esta mistura para formação do revestimento de vinilsilica por um período de 30 min. Posteriormente as fibras com o revestimento foram expostas a monômeros de estireno para a formação de uma película líquida sobre o revestimento que foi então exposto a luz UV por um período de 10 min para que houvesse a polimerização dos monômeros de estireno sobre o revestimento de vinilsilica. Este procedimento foi repetido 5 vezes. As fibras foram adaptadas em uma agulha hipodérmica e colocadas em um holder de SMPE. As fibras então foram condicionadas em um injetor com fluxo contínuo de nitrogênio a uma temperatura de 180 °C por 1 hora e a 230 °C por mais três horas. O sólido resultando da reação sol-gel também foi submetido a polimerização de estireno em sua superfície para ser utilizado em análises de TGA. O mesmo procedimento de recobrimento foi feito em placas de vidro para obtenção do espectro de infravermelho a partir de um espectrômetro de infravermelho.

#### **4.4.3 Avaliação analítica das fibras de PS-Vinilsilica**

Para avaliação analítica da fibra de PS-Vinilsilica foram utilizadas soluções de padrões de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX). Em um frasco de 7 mL com septo foram adicionados 3 mL de uma solução padrão de BTEX em uma concentração de 1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . A extração foi realizada com agitação de 1200 rpm com fibras obtidas com o método descrito anteriormente. Foi avaliado o tempo necessário para se atingir o equilíbrio dos analitos entre o headspace e o revestimento das fibras traçando-se um perfil de extração onde foi avaliado a quantidade de analito extraído em função do tempo de extração. Para avaliação

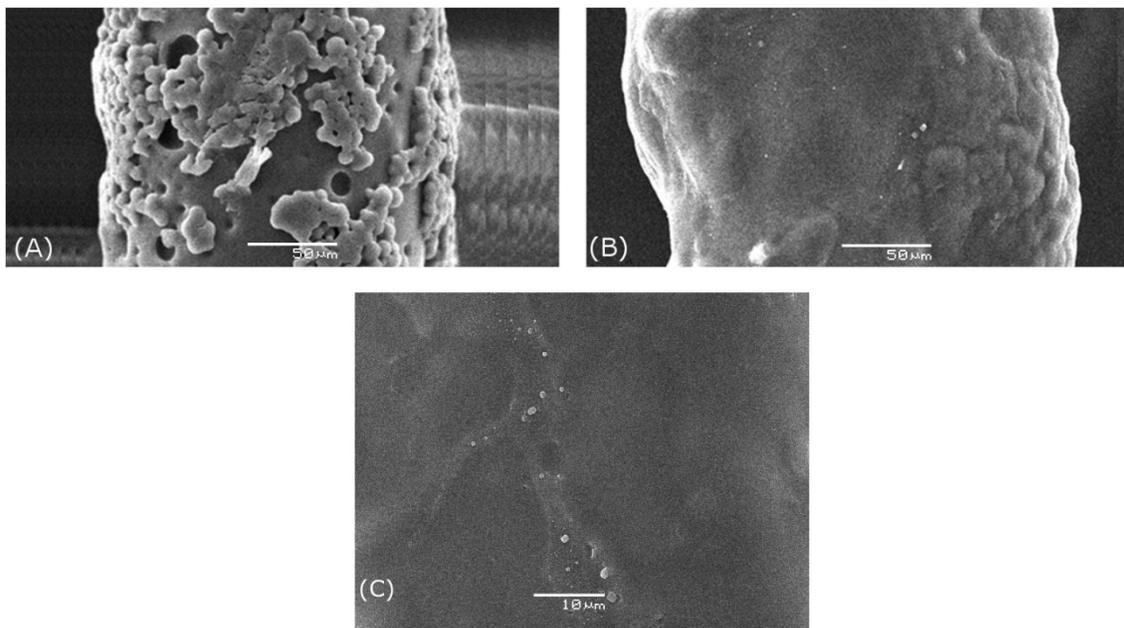
da fibra em trabalhos quantitativos foram utilizadas as condições de extração acima para a quantificação de BTEX em água de torneira. Para avaliações qualitativas foram realizadas análises de vinho tinto comercial: foram utilizados 3 mL de amostra agitada a 1200 rpm por 30 minutos extraídas com fibra comercial de de 65  $\mu\text{m}$  de PDMS/DVB e com as fibras obtidas neste trabalho. Para análise quantitativa de escatol e androstenona em toucinho suíno foram utilizados 1 grama de amostra, agitada a 1200 rpm por 30 minutos em uma temperatura de 70  $^{\circ}\text{C}$ . As amostras de toucinho suíno foi cedida pelo Instituto de Tecnologia dos Alimentos de Campinas (ITAL) e são provenientes de porcos castrados quimicamente.

# Capítulo 5: Resultados

## 5 Resultados

### 5.1 Caracterização química e morfológica do revestimento

A Figura 8 mostra as micrografias da fibra de PS-Vinilsilica (aumento 650x) antes (a) e depois (b) da deposição e polimerização *in-situ* da camada de poliestireno. A espessura da camada primária de sol-gel de vinilsilica (antes do revestimento de poliestireno) foi estimado em  $16 \pm 2 \mu\text{m}$ , e consiste em uma camada sólida com aglomerado de microesferas ( $\sim 4 \mu\text{m}$  de diâmetro) disperso sobre a superfície. Esta morfologia já era esperada devido à utilização de um catalisador básico, como o hidróxido de sódio, ele faz com que a velocidade da etapa de policondensação seja maior, fazendo com que a velocidade global da reação seja determinada pela etapa mais lenta que é a hidrólise dos alcóxidos silanos produzindo uma estrutura que consiste de um aglomerado de partículas sólidas. A deposição de estireno e a polimerização *in situ* resultaram em um volumoso revestimento com aspecto não poroso, a espessura do revestimento da fibra após a deposição de PS foi calculada como sendo  $93 \pm 7 \mu\text{m}$ , com isso a camada de PS tem aproximadamente  $77 \pm 8 \mu\text{m}$  de espessura. A Figura 8 C mostra a superfície da fibra PS-Vinilsilica sob maior ampliação (2000x); a superfície parece ser lisa sem a presença aparente de macroporos (diâmetros  $> 50 \text{ nm}$ ). Deve ser considerado que, sob essa ampliação, seria improvável a detecção de micro e mesoporos (2 nm a 50 nm e menos de 2 nm, respectivamente) e, portanto, a presença destas estruturas no revestimento PS-Vinil não pode ser descartada.

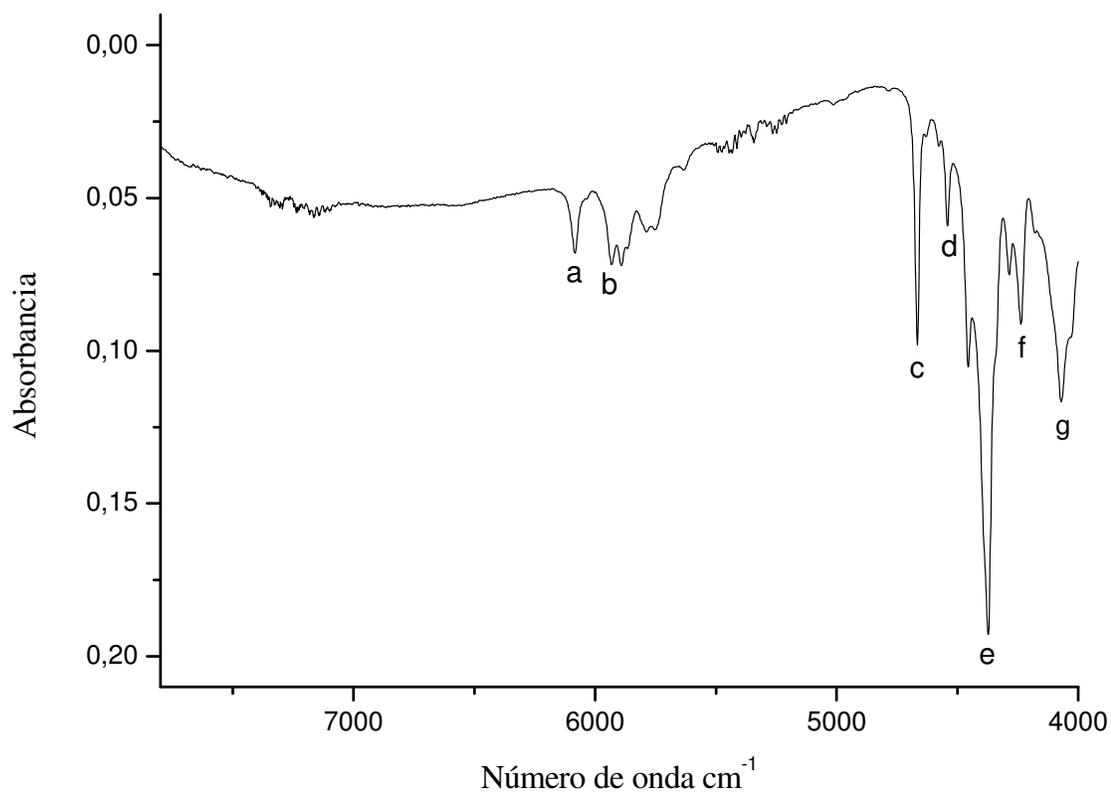


**Figura 8:** Imagens de MEV das fibras (a) com revestimento de vinilsilica (600x), (b) após a polimerização com estireno e (c) a mesma com ampliação de 2000x

Deve ser salientado que, para a fibra DVB comercial, micro e mesoporos são responsáveis pela maior parte do volume total de poros e, portanto, a superfície disponível.

Para a obtenção do espectro de absorção no infravermelho foram feitos os revestimentos em placas de vidro e foram obtidos espectros em varias regiões do revestimento para avaliar a homogeneidade do revestimento. Todos os espectros obtidos nas diferentes áreas apresentaram o mesmo perfil, indicando que o revestimento tem as mesmas características químicas em toda sua extensão. Como pode ser observado no espectro apresentado na Figura 9 as bandas em  $5938$ ,  $4665$ ,  $4541$ ,  $4070$  e  $4370\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento de ligações C–H em grupos aromáticos do estireno;  $6120\text{ cm}^{-1}$  (ligação C–H em grupos vinil);  $4670\text{ cm}^{-1}$  (estiramento Ar–CH), 0 não foram obtidas bandas correspondentes a

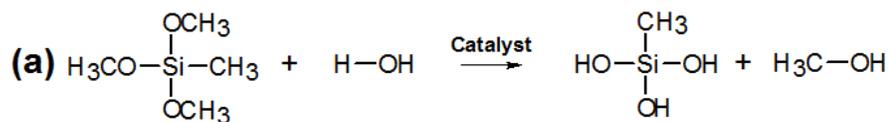
ligação Si-O ( $6887\text{ cm}^{-1}$ ), o que significa que todo o primeiro recobrimento de vinilsilica foi coberto pela polimerização do estireno.



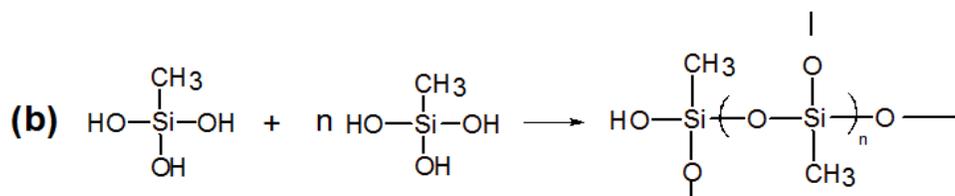
**Figura 9.** Espectro de absorção no infravermelho do sol-gel PS-Vinilsilica; a:  $6120\text{ cm}^{-1}$ , b:  $5938\text{ cm}^{-1}$ ; c:  $4670\text{ cm}^{-1}$ ; d:  $4541\text{ cm}^{-1}$ ; e:  $4370\text{ cm}^{-1}$ ; f:  $4237\text{ cm}^{-1}$ ; g:  $4070\text{ cm}^{-1}$

O espectro apresentado é consistente com as estruturas químicas esperadas do material como pode ser visto na Figura 10.

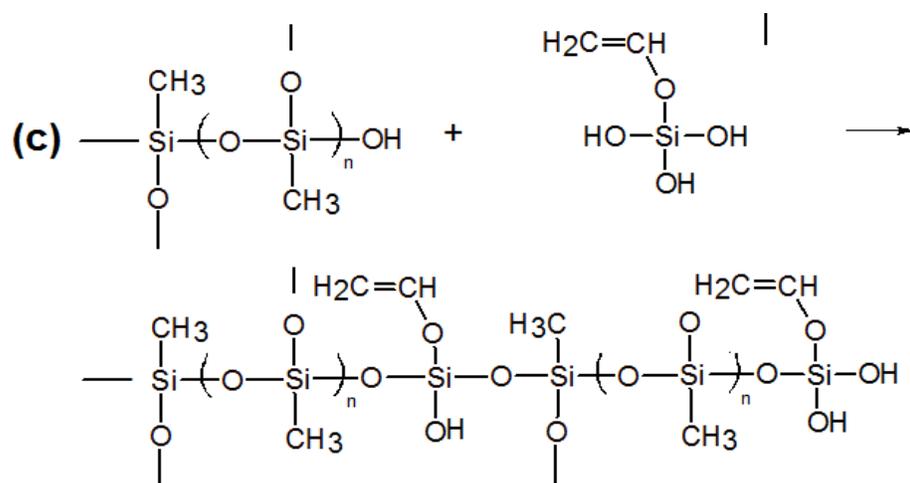
## 1) Hidrolise



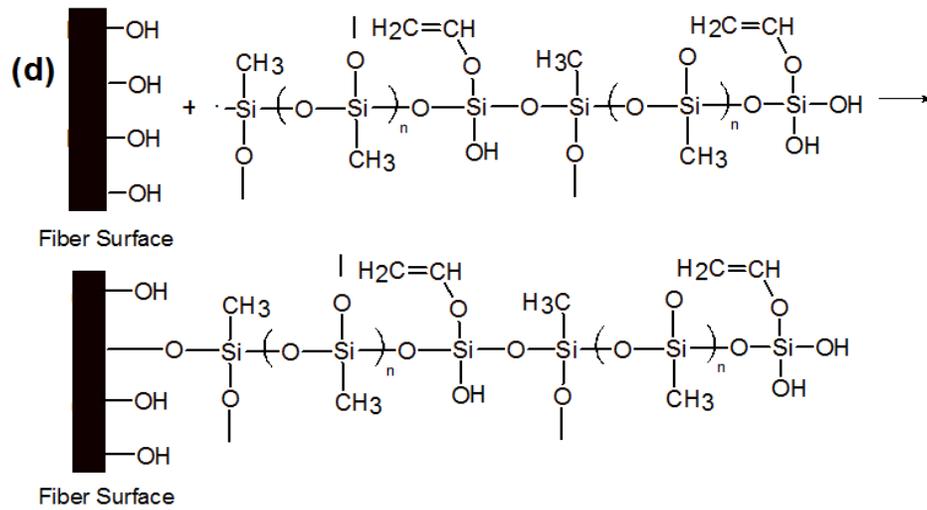
## 2) Condensação



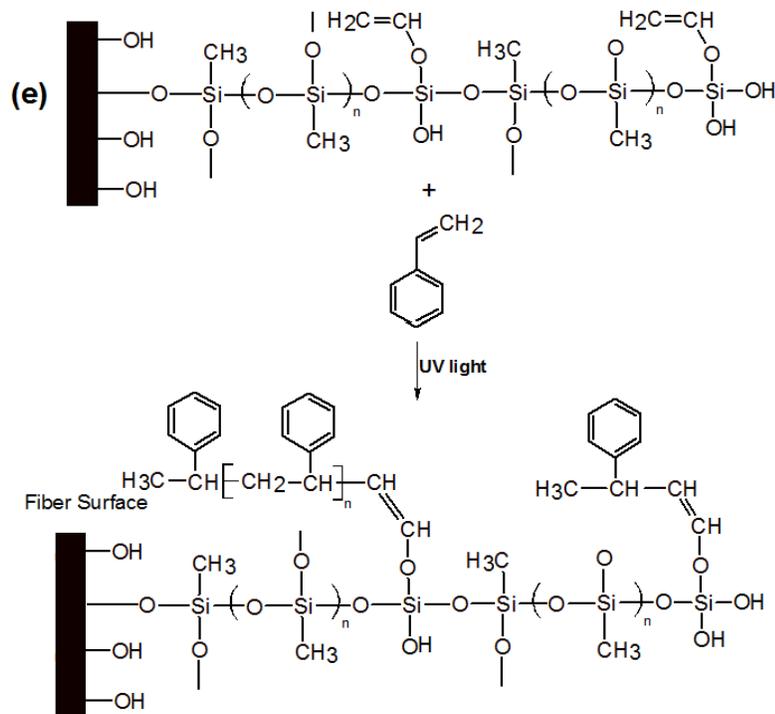
## 3) Incorporação de modificador orgânico



## 4) Ligação à superfície da fibra de sílica fundida

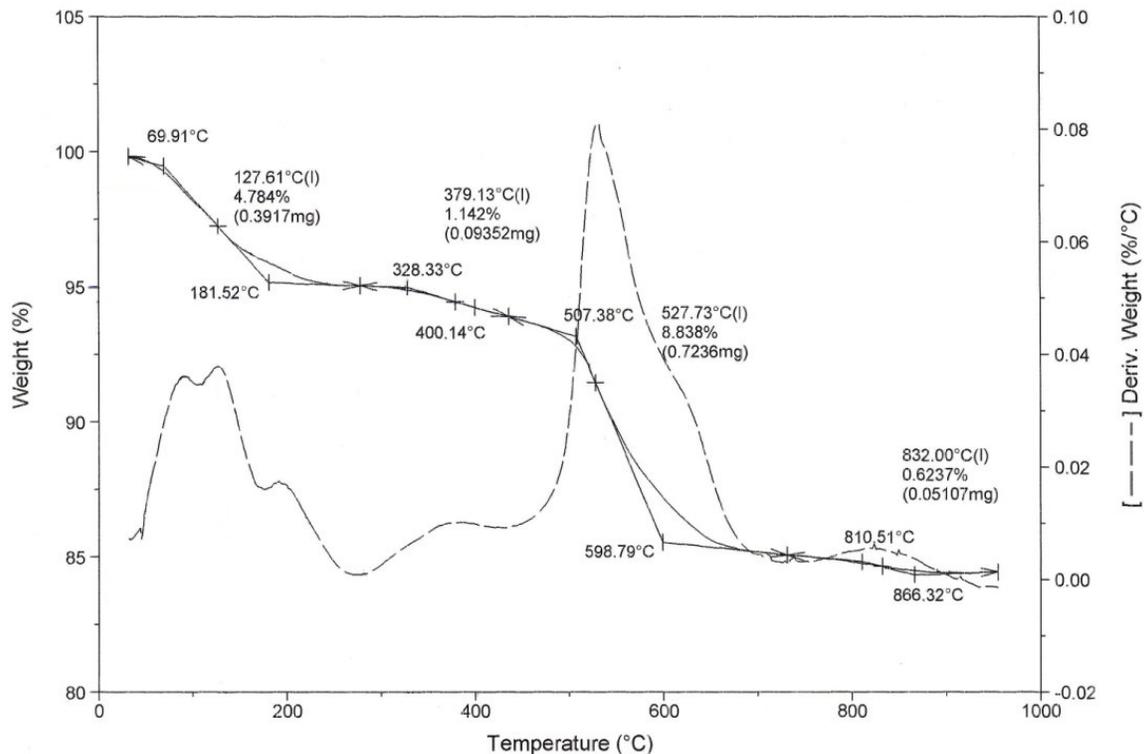


## 5) Polimerização de estireno sobre o revestimento inicial de vinilsilica



**Figura 10.** Reações envolvidas no processo sol-gel para obtenção da fibra de PS-Vinilsilica

As propriedades térmicas do revestimento PS-Vinilsilica pode ser discutido com base na Figura 11 que mostra a curva de TG.

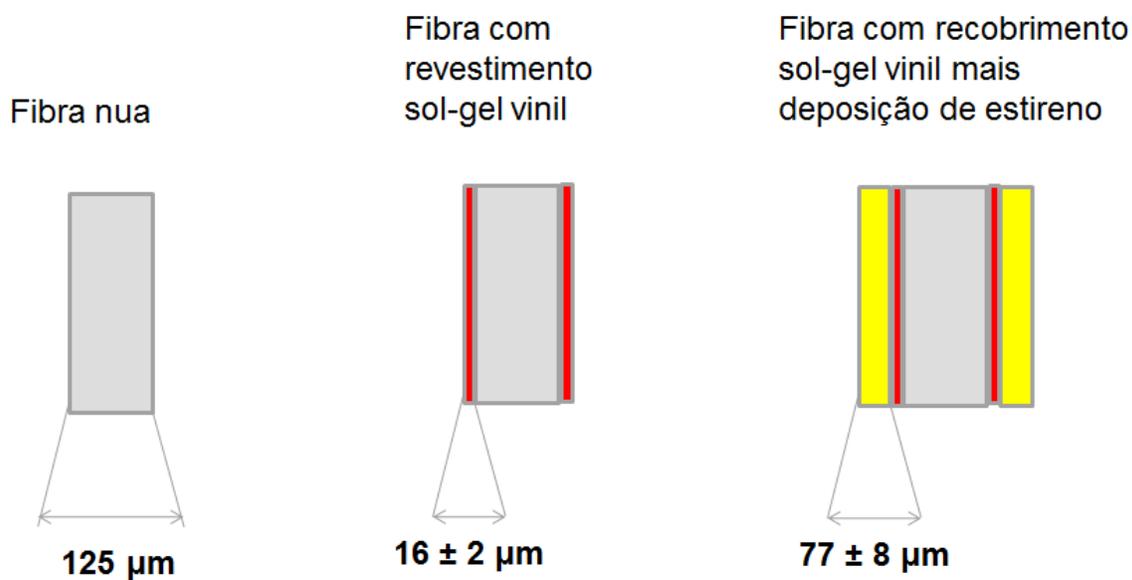


**Figura 11.** Curva de TGA (linha continua) e segunda derivada curva de TGA (linha descontinua) para o PS-Vinilsilica.

Quatro eventos térmicos são visíveis: o primeiro se inicia em aproximadamente 40°C com picos em 88, 128 e 185 °C. Eles são atribuídos a resíduos de estireno (p.e. 146 °C), MTMS (102°C) e VTMS (126°C) e estas perdas correspondem a 5% da massa inicial. A perda de massa mais significativa se inicia em 300 °C e se prolonga até 700 °C, correspondendo a 8% da massa inicial. Os três primeiros eventos térmicos correspondem à eliminação de resíduos que

ficaram retidos no material durante a sua preparação (que na fibra vão ser eliminados depois do condicionamento inicial), o ultimo evento térmico é característico da degradação térmica da estrutura de PS-Vinilsilica e pode ser tomado como a temperatura máxima aplicável ao material sem que ele sofra decomposição térmica. O comportamento térmico é similar do que foi reportado na literatura para sílicas modificadas com PS, como por exemplo, partículas de sílica/poliestireno preparado por Feng e colaboradores 0.

Com estas informações sobre o revestimento, conclui-se que a fibra final apresentou a seguinte estrutura:



**Figura 12.** Espessura dos revestimentos obtidos na síntese das fibras PS-vinilsilica

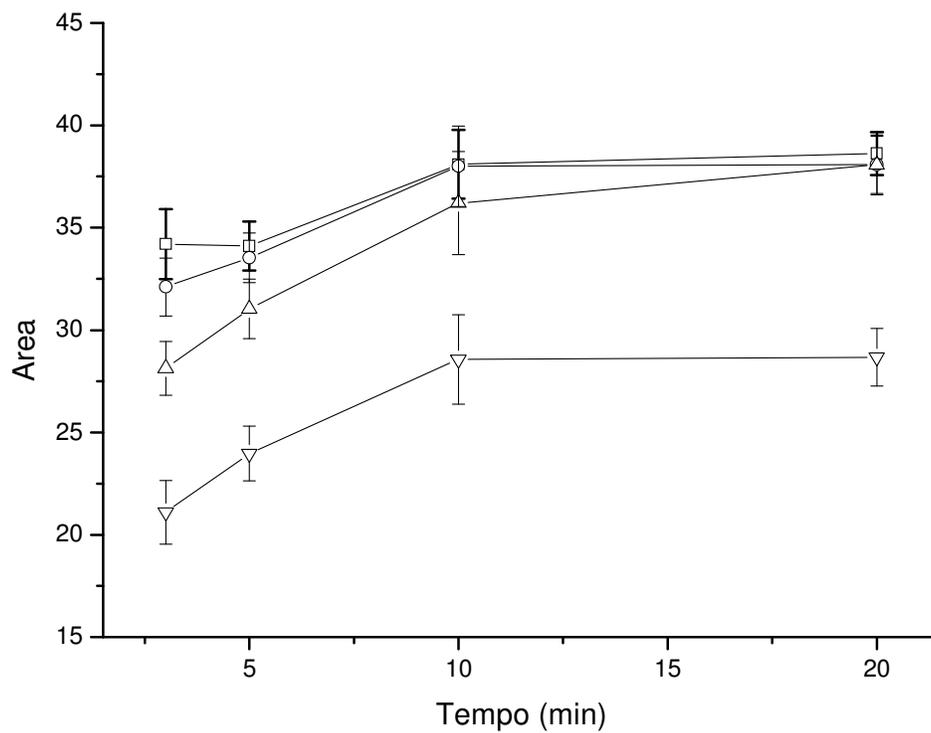
Fibras preparadas por método sol-gel, como já mostrado na literatura apresentam uma boa reprodutibilidade. Yu e colaboradores [30], por exemplo,

obtiveram fibras que apresentaram uma reprodutibilidade entre fibras que variaram de 2,1 a 6,1% na extração de bifenilas com fibras obtidas pelo método sol-gel.

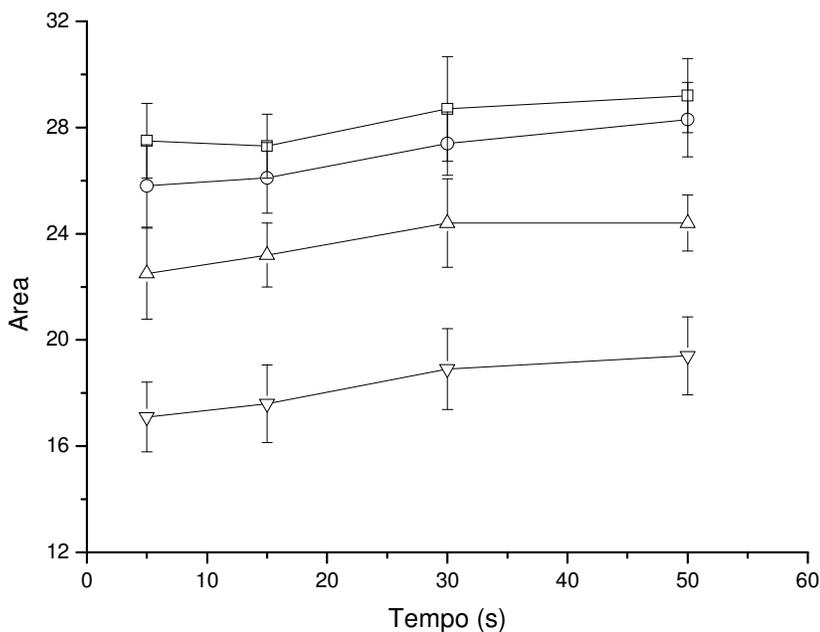
## **5.2 Caracterização Analítica da fibra**

### **5.2.1 Propriedades sortivas**

As Figuras 13 e 14 mostram os perfis de extração e dessorção para extrações por headspace para soluções padrões de BTEX 1 mol.L<sup>-1</sup> utilizando a fibra PS-Vinilsilica.



**Figura 13.** Perfil do tempo de extração para analitos testes: benzeno (□); tolueno (○); etilbenzeno (Δ) e o-xileno (∇).

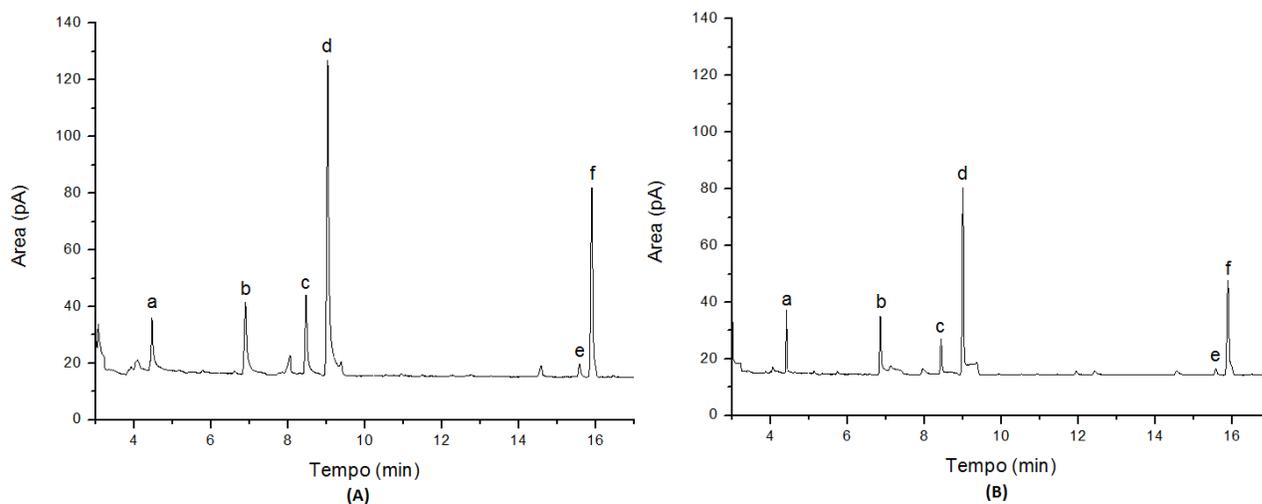


**Figura 14.** Áreas dos picos para analitos testes em função do tempo de dessorção: benzeno (□); tolueno (○); etilbenzeno (Δ) e o-xileno (▽).

Como pode ser observado nos gráficos anteriores, tanto o tempo de extração quanto o tempo de dessorção são extremamente baixos. Todas as espécies foram extraídas em 10 minutos e dessorvidas em 15 segundos. Estes baixos tempos de extração e dessorção são característicos de fibras preparadas por química sol-gel. No entanto, este não é o caso aqui, uma vez que a espessura média da camada exterior de PS do revestimento,  $\sim 77 \mu\text{m}$ , está na mesma ordem de grandeza daquela encontrada nas fibras SPME convencional (a camada interna sol-gel atua como um suporte onde o PS é quimicamente ligado, e é improvável que interaja com os analitos sorvidos). No entanto, a cinética de extração e de dessorção observados para a fibra PS-Vinil é comparável à das

fibras revestidas com filmes poliméricos compactos, e adequada para a maioria dos aplicativos analíticos.

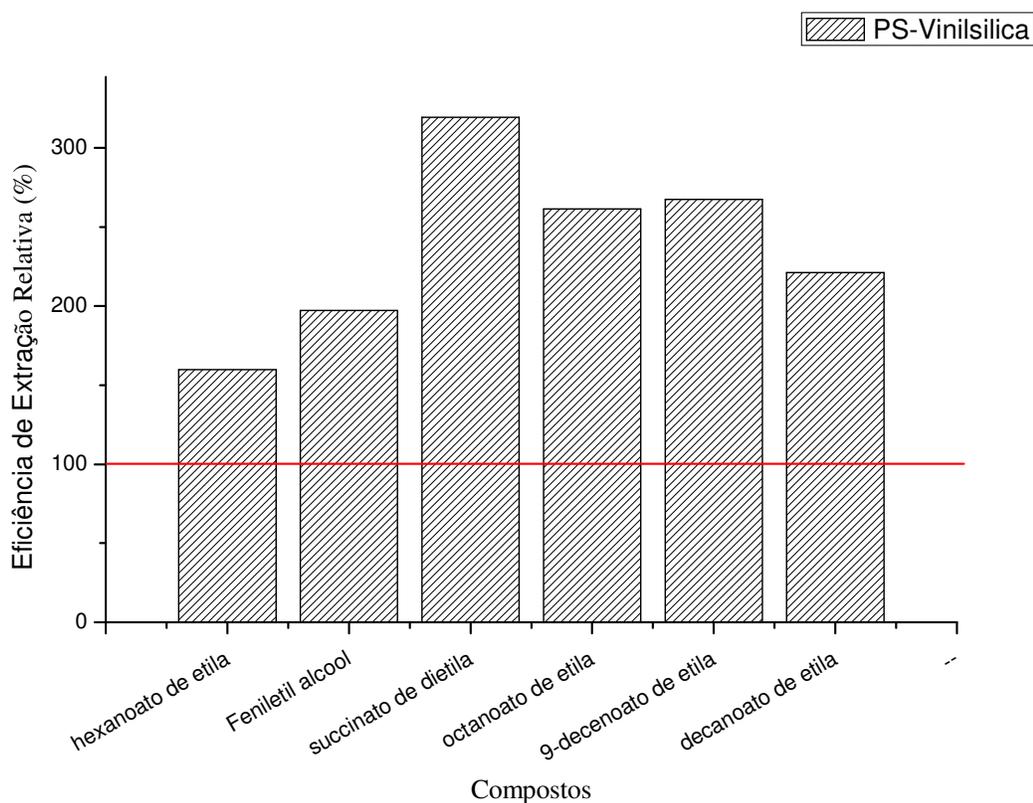
A Figura 15 compara cromatogramas típicos de GC-FID obtidos com a fibra PS-Vinylsilica e fibra comercial de PDMS / DVB na extração de headspace de vinho tinto. Vinho foi selecionado para esta avaliação, uma vez que sua fração volátil contém uma variedade de compostos orgânicos voláteis, com pressões de vapor e funções químicas variadas, que vão desde compostos não-polares a polares e semi-polares. Compostos como o acetato de 3-metil-butil, 3-metil-1-butanol, hexanoato de etila, 1-hexanol, octanoato de etila, succinato etílico, ácido hexanóico, 2-feniletanol, ácido octanóico, ácido decanóico e geraniol foram encontrados entre os principais componentes do "headspace" de vinhos 0. A preparação de uma amostra sintética contendo este conjunto abrangente de analitos com concentrações controladas seria difícil e, portanto, o vinho foi utilizado como amostra aquosa para avaliar o desempenho de novas fibras de SPME sol-gel [42,43,44] entre outras misturas não-sintéticas. Os picos mais relevantes identificados no cromatograma mostrado na Figura 15 são, como esperado, ésteres etílicos (hexanoato, succinato, octanoato, 9 decanoato e decanoato), bem como um álcool aromático (álcool feniletil). A simples comparação visual dos cromatogramas mostra que, pelo menos em termos qualitativos, os perfis - em termos de intensidades de pico relativa - obtido a partir de ambas as fibras são semelhantes. Esta é uma indicação de que a seletividade da fibra de vinil PS é similar ao da fibra comercial PDMS-DVB, e na verdade a camada interna sol-gel de sílica modificada vinil não tem um efeito significativo sobre as propriedades analíticas da fibra.



**Figura 15.** Cromatogramas obtidos no GC–FID correspondente a extração do headspace de 3 mL de vinho tinto usando (A) fibra PS-Vinilsilica (B) 65  $\mu$ m PDMS/DVB; a: hexanoato de etila; b: feniletil álcool; c: succinato de dietila; d: octanoato de etila; e: decenoato de etila; f: decanoato de etila.

A Figura 16 mostra as relações entre as áreas de pico para analitos extraídos do "headspace" do vinho obtido utilizando a fibra de vinil PS e comercial fibra PDMS / DVB, permite a comparação das eficiências de extração fornecidas por ambos os dispositivos para cada substância selecionada. Pode ser visto que, dependendo da substância, a massa extraída pela fibra PS-Vinilsilica pode ser até três vezes maior que a comercial de fibra PDMS / DVB. Embora a espessura total do revestimento de vinil PS é muito maior do que o DVB / PDMS comercial, a camada de adsorvente eficaz é apenas 77  $\mu$ m, correspondendo a um volume de fase sorvente de  $\sim 570 \mu$  L. Este é apenas 37% a mais do que o volume de fase

disponível na fibra comercial (como relatado 418  $\mu\text{L}$  0) e não seria responsável por todas as melhorias na eficiência de extração aqui observados. No entanto, deve-se considerar que o revestimento da fibra comercial PDMS/DVB não é puro poliestireno reticulado, mas a dispersão de suas partículas em um adesivo. Portanto, o aumento da massa extraível deve estar relacionado à maior quantidade de adsorvente realmente disponível na fibra, mais do que qualquer outra causa, como a diferenças de porosidade ou químicas.



**Figura 16.** Eficiência de extração relativa para fibra sol-gel PS-Vinilsilica comparada a fibra PDMS/DVB 65  $\mu\text{m}$  do headspace de amostras de vinho tinto comercial.

### 5.3 Análise quantitativa de BTEX em água de torneira

A nova fibra de PS-vinilsilica foi utilizada na extração de BTEX em água de torneira a fim de se avaliar a capacidade de aplicação da fibra a trabalhos quantitativos. A Tabela 2 sumariza os limites de detecção, os coeficientes de correlação linear e os resultados obtidos na análise de BTEX em água de torneira.

**Tabela 2.** Dados obtidos na quantificação de BTEX em água de torneira

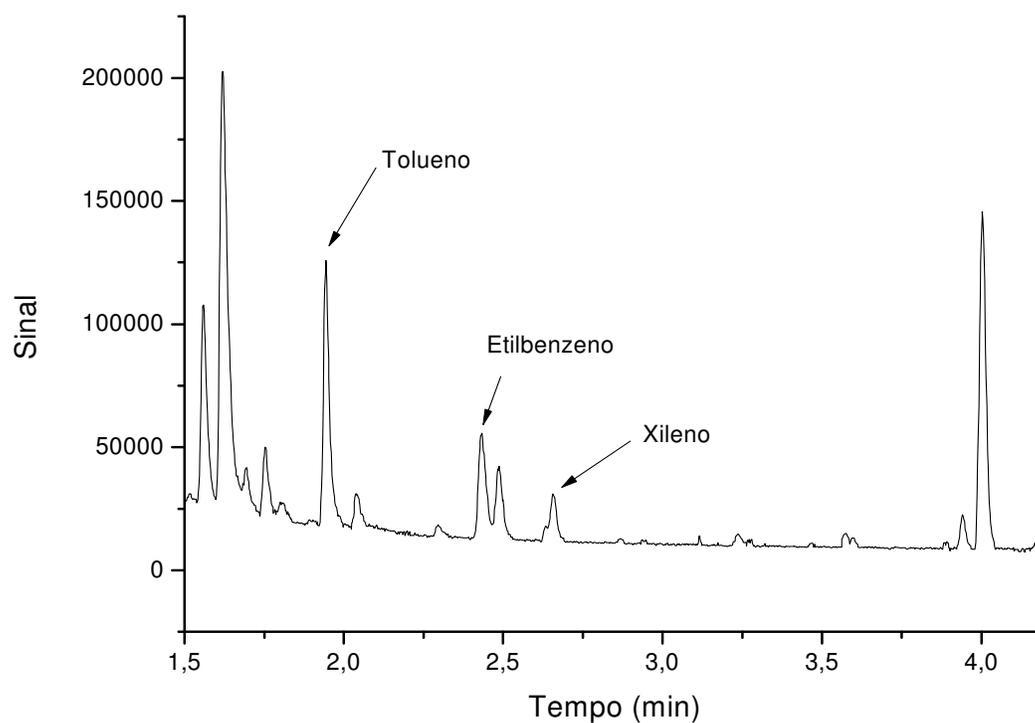
<b>Analitos</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>LD (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração amostra (µg.L<sup>-1</sup>)</b>
Benzeno	0,990	0,023	0,069	ND*
Tolueno	0,993	0,042	0,126	0,90
Etilbenzeno	0,993	0,027	0,081	0,64
Xileno	0,996	0,061	0,183	1,30

ND = não detectado

As análises apresentaram desvios padrão relativos (RSD) das áreas dos picos variando entre 4,2% e 13,1% com todas as análises em triplicatas, isso demonstra que a fibra apresenta uma boa repetibilidade nas extrações. Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir das curvas de calibração que também demonstraram boa linearidade apresentando valores de coeficiente de correlação linear (R<sup>2</sup>) maiores que 0,990. A Figura 17 apresenta um cromatograma obtido na análise de água de torneira com a nova fibra PS-Vinilsilica.

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Portaria 518/04, determina que os valores máximos permitidos (VMP) para benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos em água para consumo humano são de 5, 170, 200 e 300 µg.L<sup>-1</sup>,

respectivamente, sendo os valores encontrados bem abaixo dos valores recomendados [45].



**Figura 17.** Cromatograma obtido no GC/MS correspondente a extração do headspace de 3 mL de água de torneira utilizando fibra PS-Vinilsilica

#### 5.4 Análise quantitativa de Escatol e Androstenona em toucinho suíno.

As razões que tem limitado a produção e abate de suínos machos inteiros (não castrados) diz respeito a possibilidade do tecido gorduroso desses animais apresentar um odor desagradável, devido a presença de altos níveis de androstenona e de escatol. A literatura mostra que os teores de androstenona na

gordura de machos inteiros variam até 5,0 ppm, dependendo, principalmente, do peso, maturidade sexual ou idade e genótipo. Já os teores de escatol, de acordo com trabalhos realizados ao longo dos últimos anos, variam até 0,8 ppm. O toucinho de suínos castrados quimicamente, onde não há a retirada dos testículos e sim a injeção de drogas que o deixam estéril, não há a presença de escatol e androstenona ou há a presença de quantidades bem pequenas [46].

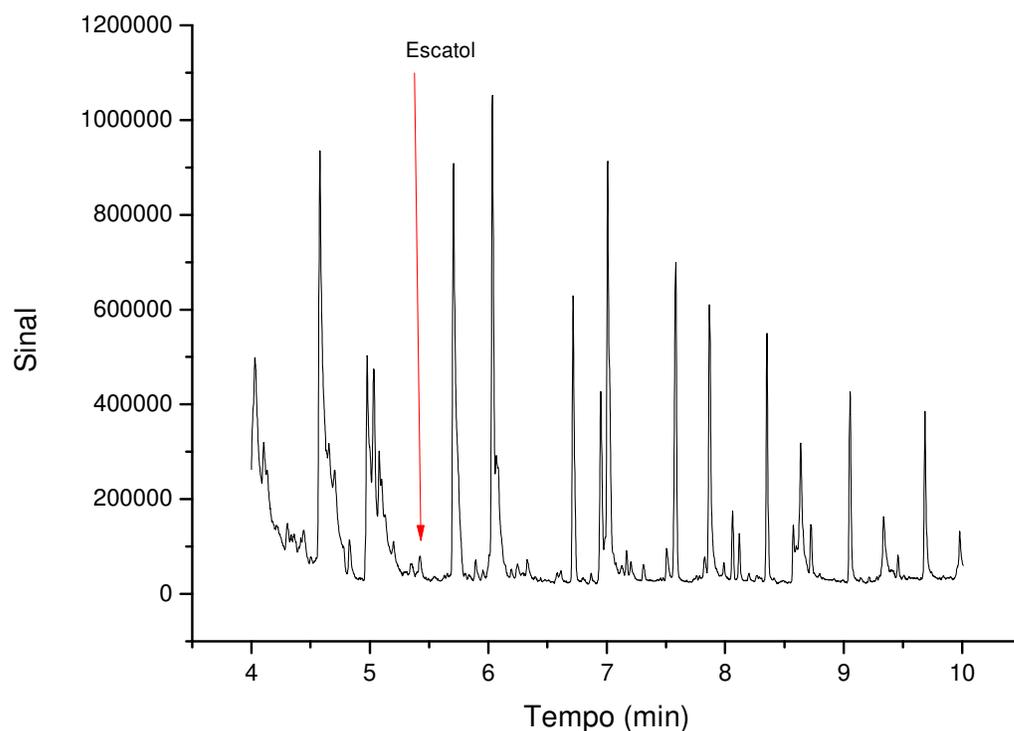
Foi feito um trabalho para a quantificação destes dois compostos em toucinho de suínos castrados quimicamente utilizando a nova fibra de PS-vinilsilica. Os resultados são mostrados na Tabela 3 e na Figura 18 a seguir:

**Tabela 3.** Dados obtidos na quantificação escatol e androstenona em toucinho suíno.

<b>Analitos</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>LD (ng.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (ng.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração amostra (ng.g<sup>-1</sup>)</b>
Escatol	0,999	3,8	11,4	14,8
Androstenona	0,994	9,1	27,3	ND*

\*ND = não detectado

Todas as análises foram feitas em triplicata e apresentaram um desvio padrão relativo entre 5,6% e 16,9%. Os coeficientes de correlação linear obtido a partir das curvas de calibração ficaram acima de 0,99 o que indica uma boa resposta linear. Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir da curva de calibração.



**Figura 18** Cromatograma obtido por GC/MS na extração de amostras de toucinho suíno com fibra PS-Vinilsilica.

As amostras analisadas de toucinho suíno apresentaram uma concentração baixa de escatol e não apresentaram concentrações detectáveis de androstenona. Isso se dá devido às amostras serem provenientes de suínos castrados quimicamente onde se esperava não se encontrar estes compostos. Os resultados demonstram a aplicabilidade da nova fibra em trabalhos quantitativos, assim como já foi observado na quantificação de BTEX em água de torneira.

# Capítulo 6: Conclusões

## 6 Conclusão

O procedimento apresentado se mostrou eficiente na síntese de um revestimento para fibras de SPME a base de PS-Vinilsilica, nunca citada antes na literatura. As fibras obtidas apresentaram rápidos equilíbrios de extração e dessorção e alta estabilidade térmica. As imagens de microscopia eletrônica de varredura dos revestimentos mostraram que o revestimento apresenta um aspecto compacto e com uma espessura de aproximadamente 97  $\mu\text{m}$ . Os testes comparativos com fibra comercial demonstraram que a nova fibra apresenta uma eficiência de extração bem maior na extração de compostos do headspace de amostras de vinho tinto. A fibra também se mostrou eficiente em trabalhos quantitativos, no caso da quantificação de BTEX em água de torneira e no caso de quantificação de escatol e androstenona.

Com todas as características apresentadas, ela pode ser empregada facilmente em análises cotidianas, tanto em trabalhos qualitativos, quanto em trabalhos quantitativos.

## 7 Referências

- [1] Kumar, Gaurav, A. K. Malik, D. K. Tewary, B. Singh, *Analytica Chimica Acta* 610 (2008) 1–14.
- [2] C.L. Arthur, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2145.
- [3] S.L. Chong, D. Wang, J.D. Hayes, B.W. Wilhite, A. Malik, *Anal. Chem.* 69 (1997) 3889.
- [4] C.I.C. Silvestre, J. L.M. Santos, J. L.F.C. Lima, E. A.G. Zagatto, *Analytica Chimica Acta* 652 (2009) 54–65.
- [5] R. Akcan, A. Hilal, N. Daglioglu, N. Cekin, M. K. G, *Forensic Science International* 189 (2009) 82–87
- [6] W.-C. Lin, S.-L. Wang, C.-Y. Cheng, W.-H. Ding, *Food Chemistry* 114 (2009) 753–757
- [7] Á. Tölgyesi, Z. Verebey, V. K. Sharma, L. Kovacsics, J. Fekete, *Chemosphere* 78 (2010) 972–979.
- [8] G. Kaklamanos, G. Theodoridis, T. Dabalís, *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 8072–8079.
- [9] B. Albero, C. Sánchez-Brunete, J.L. Tadeo, *Journal of Chromatography A*, 1007 (2003) 137–143.
- [10] M. A. Pozo-bayo, i. Andújar-ortiz, J. A. Mendiola, E. Ibáñez, M. V. Moreno-Arribas, *J. Agric. Food Chem.*, 58, (2010) 3772–3778.
- [11] M.A. Jeannot, F.F. Cantwell, *Anal. Chem.* 68 (1996) 2236–2240.
- [12] Batlle R, Sanchez C, Nerin C (2001) *J AOAC Int* 84:431–436.
- [13] Nerin C, Philo MR, Salafranca J, Castle L (2002) *J Chromatogr A* 963:375–380
- [14] A. L. P. Valente, F. Augusto, *Química Nova*, (2000) 23(4)
- [15] E. Komatsu, J. M. Vaz, *Química Nova*, (2004), 27(5)
- [16] Z. Zeng, W. Qiu, Z. Huang, *Anal. Chem.* 73 (2001) 2429
- [17] J. Zeng, J. Chena, Z. Lin, W. Chen, Xi Chen, X. Wang, *Analytica Chimica Acta* 619 (2008) 59–66
- [18] L. Yun, *Analytica Chimica Acta* 486 (2003) 63–72
- [19] Supelco Inc. *Chromatography Products (catálogo)*; Supelco, Bellefonte, PA, (1996), 373
- [20] F. Bianchi, F. Bisceglie, M. Careri, S. di Bernardino, A. Mangia, M. Musci, *J. Chromatogr. A* 1196 (2008) 15.
- [21] F. Bianchi, M. Careri, A. Mangia, M. Mattarozzi, M. Musci, *J. Chromatogr. A* 1196 (2008) 41
- [22] A.F.P. Biajoli, F. Augusto, *Anal. Sci.* 24 (2008) 1141.
- [23] Z. Zeng, W. Qiu, Z. Huang, *Anal. Chem.* 73 (2001) 2429.
- [24] Z. Zeng, W. Qiu, M. Yang, X. Wei, Z. Huang, F. Li, *J. Chromatogr. A* 934 (2001) 51.
- [25] X. Li, Z. Zeng, J. Zhou, *Anal. Chim. Acta* 509 (2004) 27.
- [26] X. Li, Z. Zeng, M. Hu, M. Mao, *J. Sep. Sci.* 28 (2005) 2489.
- [27] X. Li, Z. Zeng, J. Zhou, S. Gong, W. Wang, Y. Chen, *J. Chromatogr. A* 1041 (2004) 1.
- [28] Y.L. Fu, Y.L. Hu, J. Zeng, G.K. Li, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 2864.

- [29] J. Zhou, F. Yang, D. Cha, Z. Zeng, Y. Xu, *Talanta* 73 (2007) 870.
- [30] J. Yu, L. Dong, C. Wu, L. Wu, J. Xing, *J. Chromatogr. A* 978 (2002) 37.
- [31] J. Yu, C. Wu, J. Xing, *J. Chromatogr. A* 1036 (2004) 101.
- [32] T.P. Gbatu, K.L. Sutton, J.A. Caruso, *Anal. Chim. Acta* 402 (1999) 67.
- [33] A.L. Lopes, F. Augusto, *J. Chromatogr. A* 1056 (2004) 13.
- [34] V.G. Zuin, A.L. Lopes, J.H. Yariwake, F. Augusto, *J. Chromatogr. A* 1056 (2004) 21.
- [35] R.C. Silva, V.G. Zuin, J.H. Yariwake, M.G. Eberlin, F. Augusto, *J. Mass Spectrom.* 42 (2007) 825.
- [36] R.G.C. Silva, F. Augusto, *J. Chromatogr. A* 1072 (2005) 7.
- [37] B. Gülbakan, C. Uzun, O. Çelikbıçak, O. Güven, B. Salih, *Reactive & Functional Polymers* 68 (2008) 580–593
- [38] A. Kumar, Gaurav, A.K. Malik, D. K. Tewary, B. Singh, *Anal. Chim. Acta* 610 (2008) 1.
- [39] R.E. Shirey, in J. Pawliszyn (Ed.), *Handbook of Solid Phase Microextraction*, Chemical Industry Press of China, Beijing, 2009, pp. 87 to 115.
- [40] J. Workman, L. Weyer, *Practical guide to interpretive near-infrared spectroscopy*, CRC Press, 1<sup>st</sup> ed., 2008, Boca Raton.
- [41] L. Feng, H. Li, M. Yang, X. Wang, *Colloid Polym. Sci.* in press, 2010 (disponível em <http://dx.doi.org/10.1007/s00396-010-2186-x>)
- [42] S. Cabredo-Pinillos, T. Cedron-Fernandez, C. Saenz-Barrio, *Eur. Food Res. Technol.* 226 (2008) 6.
- [43] W.M. Liu, Y.A. Hu, J.H. Zhao, Y.A. Xu, Y.F. Guan, *J. Chromatogr. A* 1102 (2006) 37
- [44] M.M. Liu, Z.R. Zeng, Y. Lei, H.B. Li, *J. Sep. Sci.* 28 (2005) 230
- [45] F. F. Heleno, A. C. Lima, R. J. C. F. Afonso, M. X. Coutrim, *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 2, (2010) 329-336
- [45] J. A. Fávero, Embrapa Suínos e Aves, disponível em [http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais00cv\\_favero\\_pt.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais00cv_favero_pt.pdf)