

Desirée Marianne Sales Silveira

**Novo dispositivo de preparo de amostras:
validação de um método rápido, barato e
ecológico para analisar amostras aquosas por
cromatografia gasosa**

Belo Horizonte - MG

2020

Desirée Marianne Sales Silveira

Novo dispositivo de preparo de amostras: validação de um método rápido, barato e ecológico para analisar amostras aquosas por cromatografia gasosa

Dissertação de mestrado apresentada como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS

Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Patterson Patricio de Souza

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Patrícia Santiago de Oliveira Patricio

Belo Horizonte - MG

2020

Desirée Marianne Sales Silveira

Novo dispositivo de preparo de amostras: validação de um método rápido, barato e ecológico para analisar amostras aquosas por cromatografia gasosa

Dissertação de mestrado apresentada como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Trabalho aprovado. Belo Horizonte - MG, 04 de março de 2020:

Prof. Dr. Patterson Patricio de Souza
Orientador

Prof^a. Dr^a. Patrícia Santiago de Oliveira Patricio
Co-orientadora

Prof^a. Dr^a. Patrícia Sueli Rezende
Avaliador

Prof. Dr. Ildefonso Binatti
Avaliador

Belo Horizonte - MG

2020

Agradecimentos

Agradeço a Deus e ao universo pela oportunidade de realizar meu mestrado em uma instituição de grande reputação e com profissionais exemplares.

Agradeço à minha mãe, exemplo de superação e amor incondicional, por todos os dias de alegria e motivação. Sem ela este trabalho não seria possível.

Agradeço aos meus amigos e familiares, que me acompanharam nos momentos difíceis e também nos felizes, e que fizeram da dura caminhada mais leve e prazerosa.

Quero agradecer ao meu orientador Patterson, por me guiar com dedicação e comprometimento, e me desafiar todos os dias a ser uma profissional melhor.

Agradeço aos meus amigos do CEFET e especialmente do InTechLab, que foram mais do que colegas e proporcionaram dias de crescimento e evolução, tanto profissional quanto pessoal.

Agradeço aos professores Patrícia e Emerson, pelo suporte e pelas sugestões de melhoria que tanto adicionaram à riqueza do trabalho.

Agradeço também aos professores do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, por todo o conhecimento transmitido.

Por fim, agradeço ao CEFET-MG por fornecer o apoio financeiro e estrutural, com a bolsa de mestrado, os laboratórios, equipamentos e materiais necessários para a realização do trabalho.

Na vida, não existe nada a ser temido, apenas a ser compreendido.

(Marie Curie)

Resumo

Sales, D. M.; Patricio, P. S. O.; Pedroso, E.; Souza, P. P.

Em análises químicas, a etapa de preparo da amostra é a mais morosa de todo o processo analítico e a principal fonte de erros no resultado final. Métodos disponíveis para a extração de compostos orgânicos, como SPE (*Solid Phase Extraction*) e SPME (*Solid Phase Microextraction*), são geralmente trabalhosos, caros e algumas vezes frágeis, como a fibra sensível de SPME, a qual um pequeno descuido pode quebrar e inviabilizar seu uso. Portanto, melhorias no processo são desejáveis e importantes para alcançar resultados analíticos mais precisos e exatos. Este trabalho apresenta um método inovador de preparo de amostras aquosas para cromatografia gasosa em um único passo e sem o uso de solventes, utilizando poli(metil metacrilato) (PMMA) como fase extratora. O processo consiste em um fluxo da amostra pelo interior de um *liner* revestido internamente com PMMA, até que o equilíbrio termodinâmico do analito entre o PMMA e a matriz seja atingido. Após a absorção, o *liner* é inserido no cromatógrafo para que seja realizada a dessorção e a separação cromatográfica. O método foi testado usando três classes de compostos: uma solução aquosa de 1-dodecanol, um mix contendo 13 alcanos e um padrão contendo 16 pesticidas. Utilizou-se sistema GC-MS composto por cromatógrafo a gás Agilent 7890A (coluna Supelco HP-5MS) acoplado a espectrômetro de massas Agilent 5975B Single Quadrupolo. O método foi capaz de identificar todos os analitos com sucesso e foi otimizado para aumentar a resolução dos sinais. Avaliou-se o poder de absorção do PMMA em duas massas molares, 120.000 g mol⁻¹ e 350.000 g mol⁻¹, sendo que este último foi termicamente mais estável a longo prazo. Validou-se o método para a análise de quatro pesticidas - heptacloro, aldrin, endosulfan e dieldrin - alcançando limites de detecção de 0,42 a 2,33 µg L⁻¹ e limites de quantificação de 5,10 a 6,08 µg L⁻¹. As curvas analíticas apresentaram valores de R² de 0,97667 a 0,99406. O novo método é uma alternativa viável, barata, rápida e segura para extração e pré-concentração de analitos voláteis em amostras aquosas para análise por cromatografia gasosa, além de ser uma aplicação inovadora, que redefine a função do *liner* no equipamento.

Palavras-chaves: *IT-SPME*, compostos orgânicos voláteis, pesticidas, validação de método, PMMA.

Abstract

Sales, D. M.; Patricio, P. S. O.; Pedroso, E.; Souza, P. P.

In chemical analyses, sample preparation is the most time consuming step of all the analytical process and the main source of errors in the final result. Available methods for extraction of organic compounds, such as SPE (Solid Phase Extraction) and SPME (Solid Phase Microextraction) are usually laborious, expensive and fragile, like the highly sensible SPME fibers, which may break with a little mistake, stopping its use. Therefore, improvements in the process are desirable and important to achieve better analytical results. This work presents an innovative one-step and solvent-free method of aqueous sample preparation for gas chromatography, using poly(methyl methAcrylate) (PMMA) as extractor phase. The process consists of a sample flow through the inside of a liner internally coated with PMMA until the reach of the thermodynamic equilibrium of the analyte between the PMMA and the matrix. After the absorption, the liner is inserted into the gas chromatograph for desorption and chromatographic separation. The method was tested using three classes of compounds: an aqueous solution of 1-dodecanol, a mix containing 13 alkanes and a standard solution containing 16 pesticides. The GC-MS system was composed of an Agilent 7890A GC (Supelco HP-5MS column) coupled with an Agilent 5975B Single Quadrupole MSD. The method was successfully able to identify all the analytes and it was optimized to improve signal's resolution. It was evaluated how the molecular weight of PMMA affects the absorption power, comparing the polymers of 120.000 g mol⁻¹ and 350.000 g mol⁻¹, and it was found that the last one is more thermally stable in the long run. The method was validated for the analysis of four pesticides - heptachlor, aldrin, endosulfan and dieldrin - obtaining LOD of 0,42 to 2,33 µg L⁻¹ and LOQ of 5,10 to 6,08 µg L⁻¹. The analytical curves presented R² values from 0,97667 to 0,99406. The new method is a viable, cheap, fast, and safe alternative for extraction and enrichment of volatile analytes in aqueous samples for gas chromatography analysis, besides being an innovative application, that redefines a liner's function in the equipment.

Key-words: IT-SPME, volatile organic compounds, pesticides, method validation, PMMA.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Principais etapas de uma análise completa.	1
Figura 2 – Tempo gasto em cada etapa de uma análise.	2
Figura 3 – Distribuição de erros gerados durante uma análise cromatográfica. . . .	2
Figura 4 – Ilustração conceitual do sistema GC-MS, destacando os principais componentes.	5
Figura 5 – Representação esquemática do corte transversal do injetor.	7
Figura 6 – Corte transversal do <i>liner split/splitless</i> , utilizado no presente trabalho.	8
Figura 7 – Cromatograma de ésteres de óleo de milho.	9
Figura 8 – Configurações de microextração em fase sólida.	12
Figura 9 – Preparo de amostras por SPME com (a) extração direta e (b) <i>headspace</i> .	14
Figura 10 – Técnicas de extração por <i>headspace</i> (a) estático e (b) dinâmico.	15
Figura 11 – Duas implementações de SPME a) em fibra e b) em tubo.	15
Figura 12 – Comparação entre os modos de extração IT-SPME a) passivo e b) dinâmico.	17
Figura 13 – Heptacloro.	19
Figura 14 – Aldrin.	19
Figura 15 – Endosulfan.	19
Figura 16 – Dieldrin.	19
Figura 17 – Estrutura do poliacrilato.	22
Figura 18 – Estrutura do poli(metil metacrilato).	23
Figura 19 – Estruturas do metil metacrilato (MMA) e do poli(metil metacrilato) (PMMA).	23
Figura 20 – Solução de poli(metil metacrilato) 10% m/v em diclorometano.	27
Figura 21 – <i>Liner</i> Agilent 19251-60540 <i>Split/Splitless</i> , utilizado no método de preparo de amostras.	28
Figura 22 – Métodos estudados para inserção da solução polimérica de PMMA no <i>liner</i> , destacando a) inserção por imersão em tubo de ensaio, 2) inserção com seringa e 3) inserção com micropipeta.	28

Figura 23 – <i>Spin Casting Prototype</i> , equipamento de rotação desenvolvido pelos pesquisadores do InTechLab, destacando 1) <i>liner</i> em rotação, 2) motor de passo, 3) sistema giratório para controle da velocidade de rotação e 4) conexão com a energia elétrica.	30
Figura 24 – FEx - <i>Flux Extraction Device</i> - protótipo para preparo de amostra, desenvolvido no InTechLab, destacando 1) recipientes onde a amostra aquosa é adicionada, 2) <i>liner</i> com fluxo da amostra e 3) equipamento que realiza o fluxo por meio de movimento diagonal.	33
Figura 25 – Equipamentos utilizados para as análises cromatográficas, destacando 1) amostrador, 2) cromatógrafo a gás e 3) espectrômetro de massas. . .	34
Figura 26 – Processo de inserção manual do <i>liner</i> na câmara de injeção do cromatógrafo a gás, destacando 1) <i>liner</i> sendo posicionado e 2) câmara de injeção do cromatógrafo a gás.	34
Figura 27 – Amostra de poliacrilato.	43
Figura 28 – TG do poliacrilato sólido.	43
Figura 29 – TG do poliacrilato pastoso.	43
Figura 30 – Amostra de poliacrilato após teste de aquecimento em estufa.	44
Figura 31 – TG do PMMA 120.000 g mol ⁻¹ sólido, destacando a temperatura de auto-ignição a 250 °C.	45
Figura 32 – TG do PMMA 350.000 g mol ⁻¹ sólido, destacando a temperatura de auto-ignição a 250 °C.	45
Figura 33 – <i>Liner</i> IA, revestido com PMMA 120.000 g mol ⁻¹ , após 25 análises cromatográficas, destacando a coloração amarelada.	45
Figura 34 – <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , após 25 análises cromatográficas, destacando a coloração ainda translúcida.	46
Figura 35 – Espectro de absorção no infravermelho do PMMA de massas moleculares 120.000 g mol ⁻¹ e 350.000 g mol ⁻¹	47
Figura 36 – Teste de solubilidade do PMMA 350.000 g mol ⁻¹ em diclorometano. . .	48
Figura 37 – Secagem por rotação no torno, destacando a) o <i>liner</i> em rotação, b) o equipamento utilizado e c) o <i>liner</i> após deposição e secagem, evidenciado em azul.	51
Figura 38 – Secagem por rotação no <i>Spin Casting Prototype</i> , destacando a) o dispositivo e b) o <i>liner</i> após deposição e secagem.	52

Figura 39 – Secagem por rotação no <i>Spin Casting Prototype</i> , destacando a) luz fluorescente utilizada, b) o <i>liner</i> em rotação c) o <i>liner</i> após deposição e secagem.	52
Figura 40 – Cromatograma do branco do <i>Liner</i> IA, revestido com PMMA 120.000 g mol ⁻¹ , antes do tratamento térmico, obtido no modo <i>full scan</i>	55
Figura 41 – Cromatograma do branco do <i>Liner</i> IA, revestido com PMMA 120.000 g mol ⁻¹ depois do tratamento térmico, obtido no modo <i>full scan</i>	55
Figura 42 – Cromatograma do branco do <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ depois do tratamento térmico, obtido no modo <i>full scan</i>	56
Figura 43 – Condicionamento da coluna cromatográfica.	57
Figura 44 – Condicionamento do <i>Liner</i> IA, revestido com PMMA 120.000 g mol ⁻¹ em temperaturas de injeção de 230 °C, 240 °C e 250 °C.	58
Figura 45 – Condicionamento do <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , a uma temperatura de injeção de 225 °C, obtido no modo <i>full scan</i>	59
Figura 46 – Cromatograma da extração de 1-dodecanol em solução de 5 ppm, utilizando o <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i> , evidenciando em azul o sinal do analito, em 6,5 minutos.	60
Figura 47 – Cromatograma da extração de 1-dodecanol, utilizando o <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , no modo SIM de detecção.	60
Figura 48 – Cromatograma da extração dos alcanos, utilizando o <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i>	61
Figura 49 – Cromatograma da extração dos alcanos, utilizando <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i> , e o sistema FEx com as tampas dos recipientes fechadas.	62
Figura 50 – Cromatograma do teste de efeito memória do <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i>	63
Figura 51 – Cromatograma do teste de efeito memória do <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i>	64
Figura 52 – Cromatogramas nos tempos de equilíbrio estudados.	65
Figura 53 – Gráfico do tempo de equilíbrio do heptacloro.	66
Figura 54 – <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , após dois processos de extração, destacando as diferentes quantidades de gotículas residuais.	67
Figura 55 – Gráfico do tempo de equilíbrio do aldrin.	68

Figura 56 – Gráfico do tempo de equilíbrio do endosulfan.	69
Figura 57 – Gráfico do tempo de equilíbrio do dieldrin.	70
Figura 58 – Cromatogramas dos padrões de pesticidas de 20, 40, 60, 80 e 100 ppb sobrepostos. Utilizando o <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i> , e o sistema FEx com as tampas dos recipientes fechadas.	71
Figura 59 – Curva analítica do heptacloro.	72
Figura 60 – Curva analítica do aldrin.	73
Figura 61 – Curva analítica do endosulfan.	74
Figura 62 – Curva analítica do dieldrin.	75
Figura 63 – Cromatograma do branco do sistema FEx, utilizando <i>Liner</i> IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol ⁻¹ , obtido no modo <i>full scan</i> , e o sistema FEx com as tampas dos recipientes fechadas.	76
Figura 64 – Cromatograma do branco do sistema FEx sobreposto ao cromatograma do padrão de 20 ppb de pesticidas.	77
Figura 65 – Cromatogramas dos padrões de pesticidas de 100 ppb sobrepostos, analisados em quintuplicata, para avaliar a repetibilidade.	78
Figura 66 – Cromatogramas dos padrões de pesticidas de 100 ppb sobrepostos, analisados em sete replicatas, para avaliar a precisão intermediária.	79
Figura 67 – Cromatogramas das soluções de 60 e 100 ppb de pesticidas, obtidos por injeção direta e no modo <i>full scan</i>	80
Figura 68 – Cromatogramas da solução de 60 ppb de pesticidas, obtidos por injeção direta e pelo método validado no presente trabalho.	80

Lista de tabelas

Tabela 1 – Detalhes e códigos dos <i>liners</i> produzidos.	31
Tabela 2 – Detalhes dos métodos cromatográficos para as análises de 1-dodecanol, alcanos e pesticidas.	35
Tabela 3 – Detalhes dos métodos cromatográficos para os condicionamentos da coluna e do <i>liner</i>	36
Tabela 4 – Resultados do revestimento com PMMA 120.000 g mol ⁻¹ por imersão.	49
Tabela 5 – Resultados do revestimento com amostra de poliacrilato por inserção com seringa.	49
Tabela 6 – Resultados do revestimento de PMMA 120.000 g mol ⁻¹ por inserção com micropipeta.	50
Tabela 7 – Resultados do revestimento de PMMA 350.000 g mol ⁻¹ por inserção com micropipeta.	50
Tabela 8 – Tempo de equilíbrio do Heptacloro	66
Tabela 9 – Tempo de equilíbrio do Aldrin	68
Tabela 10 – Tempo de equilíbrio do endosulfan	69
Tabela 11 – Tempo de equilíbrio do dieldrin	70
Tabela 12 – Dados da curva analítica do heptacloro	72
Tabela 13 – Dados da curva analítica do aldrin	73
Tabela 14 – Dados da curva analítica do endosulfan	74
Tabela 15 – Dados da curva analítica do dieldrin	75
Tabela 16 – Repetibilidade das áreas dos sinais dos brancos do sistema.	76
Tabela 17 – Limites de detecção e quantificação	77
Tabela 18 – Médias dos dados das curvas analíticas dos pesticidas estudados	77
Tabela 19 – Teste de repetibilidade das áreas dos sinais dos pesticidas estudados. .	78
Tabela 20 – Teste de precisão intermediária das áreas dos sinais dos pesticidas estudados.	79

Lista de abreviaturas e siglas

ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
CEFET	Centro Federal de Educação Tecnológica
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COV	Composto Orgânico Volátil
DAI	<i>Direct Aqueous Injection</i>
EDC	<i>Endocrine Disrupting Compounds</i>
EU	<i>European Union</i>
FEx	<i>Flux Extraction Device</i>
FTIR	<i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
GPC	<i>Gel Permeation Chromatography</i>
HS	<i>Headspace</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
InTechLab	<i>Integrated Technologies Laboratory</i>
LCGC	<i>Liquid Chromatography Gas Chromatography</i>
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i>
LOD	<i>Limit Of Detection</i>
LOQ	<i>Limit Of Quantitation</i>
MG	Minas Gerais
MIP	<i>Molecularly Imprinted Polymers</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>

MSD	<i>Mass Spectrometry Detector</i>
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
PA	Poliacrilato
PDMS	Polidimetilsiloxano
pH	Potencial Hidrogeniônico
PMMA	Poli(metil metacrilato)
ppb	Partes Por Bilhão
ppm	Partes Por Milhão
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
SCP	<i>Spin-Casting Prototype</i>
SD	<i>Standard Deviation</i>
SE	<i>Solvent Extraction</i>
SIM	<i>Single Ion Monitoring</i>
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
SPME	<i>Solid Phase MicroExtraction</i>
TG	<i>Thermogravimetry</i>
TGA	<i>Thermogravimetric Analysis</i>
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
VOC	<i>Volatile Organic Compound</i>

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Preparo de amostras	2
1.2	Cromatografia gasosa	4
1.2.1	Injeção da amostra	6
1.2.2	A coluna cromatográfica	8
1.3	Preparo de amostras para cromatografia gasosa	9
1.4	Microextração em fase sólida	11
1.4.1	Microextração em fase sólida no tubo	15
1.5	Análise de pesticidas	18
1.6	Validação de métodos analíticos	20
1.7	Poli(metil metacrilato) como material extrator	22
1.8	Escopo do estudo	24
2	METODOLOGIA	25
2.1	Caracterização da amostra de poliacrilato	25
2.2	Caracterização do poli(metil metacrilato)	25
2.2.1	Estabilidade térmica	26
2.2.2	Estabilidade a longo prazo	26
2.2.3	Identificação de grupos funcionais	26
2.3	Estudo da solubilidade do poli(metil metacrilato)	26
2.4	Revestimento do <i>liner</i> com a solução polimérica	27
2.4.1	Revestimento por imersão	28
2.4.2	Revestimento com seringa	29
2.4.3	Revestimento com micropipeta	29
2.5	Secagem do <i>liner</i> revestido	29
2.5.1	Secagem por rotação no torno	29
2.5.2	Secagem por rotação no <i>Spin Casting Prototype</i>	30
2.5.3	Secagem por rotação no <i>Spin Casting Prototype</i> com incidência de luz	30
2.5.4	Uso de aditivo secante	30

2.6	<i>Liners</i> preparados	31
2.6.1	Tratamento térmico dos <i>liners</i> preparados	31
2.7	Preparo das soluções contendo os analitos	31
2.7.1	Soluções de 1-dodecanol	31
2.7.2	Soluções de alcanos	32
2.7.3	Soluções de pesticidas	32
2.8	Estudo exploratório da capacidade de extração	32
2.9	Extração dos analitos com o FEx	33
2.10	Sistema GC-MS	33
2.11	Métodos cromatográficos	35
2.11.1	Determinação de 1-dodecanol, alcanos e pesticidas	35
2.11.2	Condicionamentos da coluna e do <i>liner</i> revestido	35
2.12	Leitura dos brancos	37
2.12.1	Branco da coluna	37
2.12.2	Branco do sistema	37
2.13	Efeito memória do sistema	38
2.14	Análise espectrométrica	38
2.15	Validação do método para análise de pesticidas	38
2.15.1	Tempo de equilíbrio termodinâmico	39
2.15.2	Linearidade	39
2.15.3	Limites de detecção e quantificação	40
2.15.4	Faixa de trabalho	40
2.15.5	Repetibilidade	40
2.15.6	Precisão intermediária	41
2.15.7	Fator de pré-concentração	41
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.1	Caracterização da amostra de poliacrilato	43
3.1.1	Estabilidade térmica	43
3.2	Caracterização do poli(metil metacrilato)	44
3.2.1	Estabilidade térmica	44
3.2.2	Estabilidade a longo prazo	45
3.2.3	Identificação de grupos funcionais	46

3.3	Estudo da solubilidade do poli(metil metacrilato)	48
3.4	Revestimento do <i>liner</i> com solução polimérica	48
3.4.1	Revestimento por imersão	48
3.4.2	Revestimento com seringa	49
3.4.3	Revestimento com micropipeta	49
3.5	Secagem do <i>liner</i> revestido	50
3.5.1	Secagem por rotação no torno	51
3.5.2	Secagem por rotação no <i>Spin Casting Prototype</i>	52
3.5.3	Secagem por rotação no <i>Spin Casting Prototype</i> com incidência de luz	52
3.5.4	Uso de aditivo secante	53
3.6	Otimização dos processos de revestimento e secagem	53
3.7	Estudo da capacidade de extração	54
3.8	Tratamento térmico do <i>liner</i> revestido	54
3.9	Condicionamento da coluna e do <i>liner</i> revestido	57
3.10	Determinação de 1-dodecanol	59
3.11	Determinação dos alcanos	61
3.12	Efeito memória do sistema	63
3.13	Validação do método para análise de pesticidas	64
3.13.1	Tempo de equilíbrio termodinâmico para extração do pesticidas	64
3.13.2	Linearidade	71
3.13.3	Limites de detecção e quantificação	76
3.13.4	Faixa de trabalho	78
3.13.5	Repetibilidade	78
3.13.6	Precisão intermediária	79
3.13.7	Fator de pré-concentração	80
3.14	Contextualização do trabalho	81
3.14.1	Custo da análise	81
3.14.2	Eficiência do método	82
4	CONCLUSÃO	84
4.1	Perspectivas futuras	86
	REFERÊNCIAS	88

1 Introdução

Uma análise química envolve diversas etapas até o resultado final, envolvendo, de forma resumida e generalizada, as seguintes etapas:

1. Amostragem;
2. Armazenamento e transporte;
3. Preparo das amostras;
4. Separação, identificação e quantificação;
5. Validação analítica;
6. Avaliação estatística e tomada de decisões.

Na Figura 1 são apresentadas as principais etapas envolvidas em uma análise química genérica [1].



Figura 1 – Principais etapas de uma análise completa.

Adaptado de [1]

A etapa que mais demanda tempo é o preparo das amostras. Muitas vezes negligenciada, é a etapa que mais gera erros no resultado. Por isso, é necessário que estudos sejam feitos em busca do aprimoramento das técnicas de preparo de amostras, tornando-as mais rápidas, baratas e eficientes [1].

1.1 Preparo de amostras

Algumas amostras não exigem preparo algum e podem ser analisadas diretamente. Entretanto, casos assim não são comuns e a grande maioria das amostras precisa ser tratada e preparada previamente para a análise [1].

De acordo com uma pesquisa realizada por Majors (2015), a etapa de preparo da amostra demanda mais de 60% do tempo total de uma análise (Figura 2) [2].

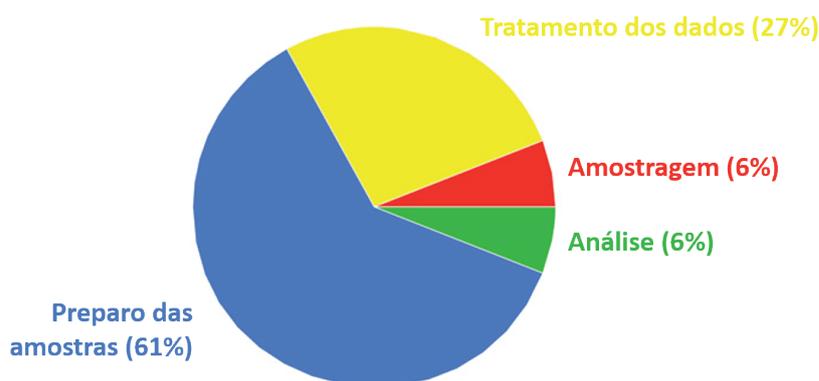


Figura 2 – Tempo gasto em cada etapa de uma análise.

Adaptado de [2]

Além disso, o estudo ainda mostrou que a etapa de preparo de amostras é a que mais gera erros no processo, representando 30% dos erros gerados durante uma análise química. A Figura 3 ilustra a representatividade das principais fontes de erros [2].

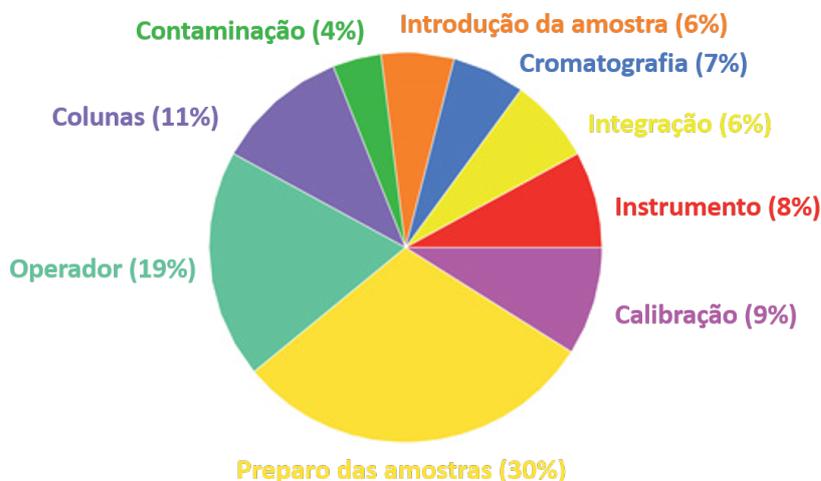


Figura 3 – Distribuição de erros gerados durante uma análise cromatográfica.

Adaptado de [2]

As técnicas mais utilizadas para o preparo de amostras líquidas são [2] [3]. :

- Extração em Fase Líquida (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*, também chamada de Extração com Solvente (SE, do inglês *Solvent Extraction*);
- Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*);
- Micro Extração em Fase Sólida (SPME, do inglês *Solid Phase MicroExtraction*)

A Extração com Solvente (SE) é um processo muito bem estabelecido nos laboratórios e nas indústrias químicas para extração e pré-concentração de analitos de amostras aquosas para solventes orgânicos. No início do século XX ela já era reconhecida como uma técnica de separação e extração poderosa nos laboratórios químicos. A primeira utilização industrial em larga escala da técnica foi realizada em 1942 por Mallinckrodt Chemical Company para produção de urânio por extração seletiva de nitrato de urânio de soluções aquosas utilizando éter como solvente extrator. Nas décadas de 1950 e 1960 ela ganhou espaço em várias outras indústrias [4] [5].

Os métodos baseados na Extração em Fase Sólida (SPE) foram desenvolvidos e introduzidos no meio acadêmico em 1971 como uma alternativa à SE. A SPE combina extração e pré-concentração de compostos orgânicos em água por adsorção em um material sólido, específico para cada classe de analitos e de matrizes das amostras, seguida por dessorção com uma pequena quantidade de solvente orgânico [6].

Em comparação com a LLE, a SE apresenta diversas vantagens, como a redução do volume de solventes orgânicos e a influência de menos interferentes, pois envolve menos etapas. Além disso, o tempo da análise é reduzido, proporcionando um preparo de amostras mais rápido e facilmente automatizado [6].

Essas técnicas são relativamente eficientes e conseguem extrair/pré-concentrar os analitos com rendimento muitas vezes acima de 80%, que é um valor aceitável para níveis analíticos de alta precisão e exatidão [2].

A pré-concentração que ocorre nos processos de preparo de amostras, onde o analito é concentrado na superfície sólida ou no líquido (solvente extrator), melhora o resultado da análise química e aumenta a eficiência do método. O fator de pré-concentração é geralmente calculado como a razão do sinal do analito obtido com e sem a utilização do dispositivo de

melhora do método. Como por exemplo no trabalho realizado por Guo e coautores, em que um novo material extrator foi desenvolvido para ser utilizado em uma fibra de SPME. A pré-concentração foi maior com a utilização do novo material do que na fibra sem o material [7].

O grande problema da LLE e da SE reside no fato de elas serem trabalhosas e onerosas, envolvendo várias etapas, que geralmente incluem:

1. adição do solvente extrator à amostra;
2. agitação com aquecimento;
3. centrifugação; e
4. separação.

A Microextração em Fase Sólida (SPME) é uma técnica rápida e sem solvente, entretanto muito frágil e cara. A fibra de SPME utilizada para a extração dos analitos é altamente sensível, e um pequeno descuido pode quebrá-la, inviabilizando seu uso e o preparo de amostras *in-situ* [2].

1.2 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) é um método de separação e análise de compostos orgânicos voláteis muito utilizado em diversas áreas da ciência, e oferece uma ferramenta instrumental de grande utilidade para laboratórios de controle da qualidade [8].

A técnica foi introduzida por James e Martin em 1952. O princípio operacional básico do GC envolve a volatilização de uma amostra em um injetor aquecido de um cromatógrafo a gás, seguido da separação dos componentes da mistura em uma coluna especificamente preparada. Somente aqueles compostos que podem ser vaporizados sem se decomporem são adequados para análise por GC. Esses compostos incluem a maioria dos solventes, pesticidas, aromas, óleos essenciais e combustíveis hidrocarbonetos. A cromatografia gasosa realiza a separação dos componentes e oferece informação quantitativa dos mesmos. A técnica é capaz de identificar um analito pelo seu tempo de retenção e consegue quantificar até femtomoles do composto de interesse [9].

Há muitos tipos de detectores que são utilizados de forma acoplada aos cromatógrafos. Eles foram desenvolvidos pela necessidade de haver sistemas de detecção que forneçam respostas seletivas a grupos específicos de compostos a fim de simplificar os cromatogramas de amostras complexas. Diferentes detectores oferecem diferentes tipos de seletividade e podem ser classificados também de acordo com sua sensibilidade [10].

O espectrômetro de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometer*) é o detector mais utilizado em cromatografia gasosa, e a configuração GC-MS continua sendo a técnica mais eficiente para separação, detecção e caracterização dos componentes de uma mistura orgânica complexa [10]. Na Figura 4 é apresentada uma ilustração conceitual de GC-MS, destacando o gás de arraste e os principais componentes do GC (injetor e forno com a coluna cromatográfica) e do MS (câmara ionizadora, analisador m/z e detector).

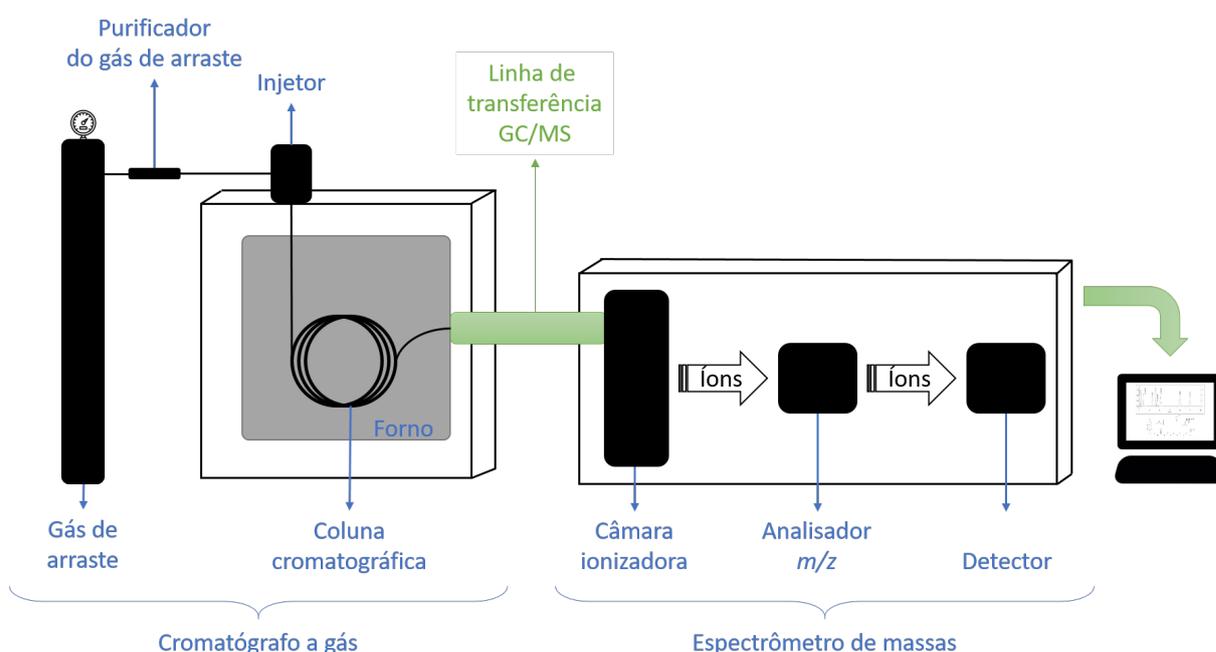


Figura 4 – Ilustração conceitual do sistema GC-MS, destacando os principais componentes.

Adaptado de [9]

Essa configuração é indispensável em áreas como ambiental, forense, pesquisa médica e biológica, saúde e segurança, indústria de fragrâncias, alimentos, embalagens, e muitas outras [9].

Na área ambiental a técnica é muito utilizada para quantificação de pesticidas. Beceiro-González e seu grupo de pesquisa (2007) desenvolveram um método utilizando

SPME e GC-MS para a determinação simultânea de 46 pesticidas em amostras de água. O método foi validado para 29 pesticidas e os limites de detecção variaram na faixa de 4-17 ng L⁻¹ [11].

Já na área alimentícia, Fernandes e coautores (2008) identificaram diversos Compostos Orgânicos Voláteis (VOC, do inglês *Volatile Organic Compounds*) em vinhos brasileiros utilizando GC como forma de separação e identificação, e SPME como método de extração e pré-concentração da amostra [8].

Além das vantagens em relação à seletividade do MS, quando se utiliza a espectrometria de massas como forma de detecção em uma análise cromatográfica, os limites de detecção podem ser diminuídos usando técnicas especiais de aquisição dos dados como o monitoramento seletivo de íons (SIM, do inglês *Selected Ion Monitoring*) [9].

Muitas vezes, compostos de diversas classes podem ser determinados em uma única análise. Rodriguez-Lafuente e coautores (2016) validaram um método para a determinação de pesticidas com uma ampla faixa de polaridades em uma matriz ambiental, alcançando limites de detecção na faixa de 0,05–1 µg L⁻¹, boa linearidade na curva analítica ($R^2 > 0,99$) e desvio padrão relativo abaixo de 7% [12].

Estabelecer os parâmetros de uma análise em GC-MS envolve muito mais do que apenas selecionar uma coluna cromatográfica com comprimento, diâmetro e fase estacionária adequados. A forma de injeção da amostra e o método de extração são tão importantes quanto a seleção da coluna apropriada [13].

1.2.1 Injeção da amostra

A análise cromatográfica se inicia com a introdução da amostra no equipamento com o auxílio de uma seringa. A amostra é, então, aquecida na câmara de injeção, também chamada de *inlet* (Figura 5). Dentro da câmara de injeção a amostra é vaporizada e, junto ao gás de arraste, transferida para a coluna cromatográfica [14].

Essa transferência deve ser feita de forma que moléculas do mesmo composto sejam carregadas em um menor intervalo de tempo possível, gerando, assim, resultados cromatográficos com picos simétricos e finos. Além disso, essa etapa deve ser realizada sem degradação térmica, adsorção ou rearranjo dos componentes da amostra, e não poder haver separação prévia dos componentes por diferenças na temperatura de ebulição, polaridade

ou peso molecular, ou seja, todos os componentes da amostra devem entrar na coluna cromatográfica ao mesmo tempo [13].

Como é difícil atender a todos esses requisitos com um único design de injetor para a ampla variedade de tipos de amostra e coluna encontrados no GC, diversos modelos e métodos foram desenvolvidos ao longo do tempo [13].

O injetor mais comum, versátil e por isso um dos mais usados para colunas capilares é o injetor *split/splitless*, que pode operar em dois modos: *split* e *splitless*. A seleção do modo depende da concentração dos analitos na amostra. A Figura 5 ilustra uma representação esquemática de um injetor *split/splitless*.

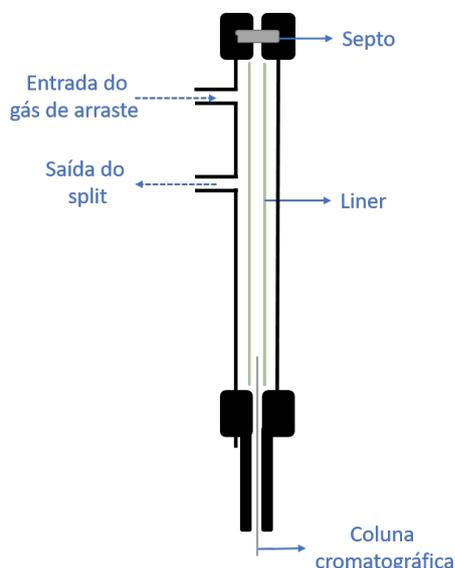


Figura 5 – Representação esquemática do corte transversal do injetor.

Adaptado de [9]

Dentre os diversos componentes do injetor se encontra o *liner*, um tubo de vidro que se localiza dentro da câmara de injeção. Como as amostras líquidas são vaporizadas nessa câmara e transferidas diretamente para a coluna, o *liner* funciona como uma pré-coluna de vidro vazia, onde ocorre o aquecimento da amostra e sua mistura com a fase gasosa. Ele é importante também para limitar a degradação da amostra e melhorar a vaporização da mesma [13].

Assim como existem diferentes modelos de injetores, o design do *liner* também pode ser alterado ou ajustado para otimizar a vaporização e inserção da amostra na coluna cromatográfica [14].

Embora as dimensões externas dos *liners* devam ser compatíveis com os requisitos do GC, *liners* com as mais variadas dimensões internas podem ser instalados em um injetor. Para o presente trabalho, foi selecionado o *liner* do tipo *split/splitless* reto, que é ilustrado na Figura 6.



Figura 6 – Corte transversal do *liner split/splitless*, utilizado no presente trabalho.

Palmer e seu grupo de pesquisa (2017) avaliaram diversos tipos de *liners*, variando *designs* e fabricantes, na determinação de preservantes utilizados em cosméticos. Os *liners* foram comparados com base na eficiência em auxiliar a dessorção térmica e na capacidade de proteger adequadamente a coluna. Todos tiveram desempenhos razoáveis, entretanto o design reto, o mesmo utilizado na presente pesquisa, foi o que proporcionou os melhores resultados, com vaporização mais rápida da amostra e aumento da sensibilidade da análise [15].

As análises de pesticidas em vegetais, realizadas por Khan e colaboradores (2018), bem como as determinações de ésteres organofosforados em ambientes aquáticos, conduzidas por Cristale e colaboradores (2020), também foram desenvolvidas utilizando *liners split/splitless* do tipo reto, comprovando sua versatilidade [16] [17].

1.2.2 A coluna cromatográfica

Em cromatografia gasosa, a separação propriamente dita ocorre dentro de um tubo oco aquecido chamado de coluna cromatográfica, que contém a fase estacionária. Os componentes da amostra injetada são arrastados na coluna pelo gás de arraste (a fase móvel) e seletivamente retardados pela fase estacionária. A temperatura do forno no qual se encontra a coluna do GC é geralmente programada para um aumento de 4-20 °C min⁻¹. Dessa forma os compostos com menor ponto de ebulição e menos retidos na fase estacionária eluem rapidamente, sendo que os que possuem maior ponto de ebulição e são mais fortemente retidos pela coluna são liberados depois [9].

A função da coluna é separar os componentes enquanto minimiza o alargamento do sinal correspondente a cada composto à medida que ele se move pela coluna. Isso resulta nos componentes da mistura sendo eluídos como picos finos, o que maximiza a razão

sinal/ruído para cada analito. A Figura 7 ilustra o cromatograma obtido pelo método de cromatografia por ionização total (TIC, do inglês *Total Ion Chromatogram*) de uma solução padrão de ésteres de fitoesteróides provenientes de óleo de milho [18].

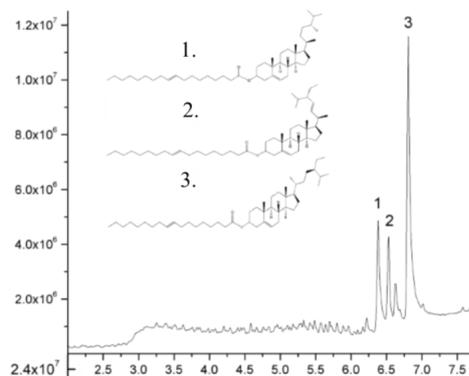


Figura 7 – Cromatograma de ésteres de óleo de milho.

Adaptado de [18]

As colunas mais utilizadas são as capilares de sílica fundida, com fases estacionárias de dimetilsiloxano e 5%-fenil-95%-dimetilsiloxano. Elas são apropriadas para muitas aplicações e por serem relativamente apolares tendem a separar os compostos pelas diferenças nos pontos de ebulição de cada um [9].

1.3 Preparo de amostras para cromatografia gasosa

A injeção direta da amostra em um cromatógrafo a gás ocorre quando quantidades mínimas da amostra são inseridas no equipamento sem tratamento prévio. As vantagens deste procedimento incluem uma preparação rápida e simples da amostra. No entanto, a contaminação do injetor e da coluna pela amostra é uma séria desvantagem e requer a manutenção frequente de componentes do equipamento, tornando a injeção direta limitada ao uso em matrizes mais limpas e não muito complexas [19].

Muitas vezes é difícil atingir uma linha base estável e este modo de injeção não fornece alta sensibilidade devido ao volume de amostra limitado. Além disso, para amostras aquosas a pressão causada pelo vapor d'água pode prejudicar o processo de injeção e perturbar a separação cromatográfica, além de diminuir o tempo de vida útil da coluna. Por estas razões, a injeção direta raramente é utilizada, e geralmente as amostras são preparadas de forma a purificá-las e torná-las mais apropriadas para a análise [1] [19].

Dessa forma, o preparo de amostras tem como objetivo a extração, o isolamento e a concentração do analito, principalmente quando estes se encontram em amostras complexas, que são difíceis de serem estudadas diretamente pelos instrumentos de análise química. O procedimento a ser usado varia com o nível de seletividade, velocidade e conveniência desejados. Portanto, a otimização desse processo é de fundamental importância para a obtenção de resultados precisos e exatos [1].

O método de Extração por Solvente (SE) envolve a extração do analito volátil usando um solvente orgânico. Uma alíquota desse extrato é então introduzida no GC. Este método é usado extensivamente porque é eficaz para substâncias voláteis com altos pontos de ebulição e permite a pré-concentração dos analitos, aumentando a sensibilidade do resultado [19].

Como a SE geralmente envolve a utilização de grandes volumes de solventes, diversos estudos vêm sendo realizados no sentido de diminuir essas quantidades. Duodu e coautores (2016) desenvolveram um método de extração por solvente (SE) seguida de GC-MS para determinação de pesticidas organoclorados em amostras de sedimentos. Variáveis como temperatura, razão de solvente, massa adsorvente e o ciclo de extração foram avaliadas e otimizadas. O método foi capaz de reduzir a quantidade de solvente utilizado e o tempo de preparo das amostras, e se mostrou altamente seletivo e sensível, com desvio padrão relativo abaixo de 10% [20].

Além disso, novas configurações para a extração por solvente também vêm sendo criadas a fim de otimizar o processo de uma forma geral. Nascimento e coautores (2018) utilizaram um procedimento de SE miniaturizado e de baixo consumo de solventes para a determinação simultânea de 34 pesticidas. As recuperações variaram de 72,1% a 120%, apresentando desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) abaixo de 20% na maioria dos pesticidas, se mostrando um método abrangente, preciso e adequado para ser empregado na determinação de pesticidas [21]

Ainda que o volume de solvente não seja diminuído, outra linha que tem sido adotada por pesquisadores no estudo da SE é a utilização de solventes ambientalmente amigáveis. O desenvolvimento de novos solventes verdes é um dos assuntos-chave da Química Verde, que tem o objetivo de reduzir a intensidade das atividades antropogênicas relacionadas aos laboratórios analíticos. Os novos solventes verdes, além de serem mais

ecológicas, proporcionam tempos de extração mais curtos, alta simplicidade, baixo custo e maior seletividade em alguns casos. O trabalho publicado por Wasyłka e coautores (2017) apresenta os solventes de extração verde mais promissores e mais usados, como líquidos iônicos e fluidos supercríticos, e comprova que o desenvolvimento desses materiais abre perspectivas interessantes para novas pesquisas [22].

No entanto, ainda que o volume de solvente seja diminuído e que os mesmos sejam ambientalmente amigáveis, a SE permanece sendo um processo relativamente longo e moroso. Além disso, geralmente não é possível a determinação precisa de analitos com baixos pontos de ebulição, pois o próprio pico do solvente pode interferir na identificação dos analitos e muitos componentes podem ser co-extraídos junto ao composto de interesse, interferindo assim na detecção do sinal. Por esses motivos, a SE também requer a utilização de solventes orgânicos ultra puros, evitando a diminuição da sensibilidade, o que acarreta um custo elevado às análises de uma forma geral [19].

1.4 Microextração em fase sólida

A Microextração em Fase Sólida (SPME) é uma técnica de preparo de amostras em que uma pequena quantidade da fase extratora, dispersa em um suporte sólido, é exposta à amostra por um período de tempo pré-determinado. Dessa forma, um equilíbrio de partição do analito entre a matriz da amostra e a fase extratora é alcançado, finalizando a extração [23].

A SPME se baseia nos processos de adsorção e absorção. Adsorção é o processo físico caracterizado pela retenção do analito na superfície do material extrator, ao passo que na absorção o analito entra no interior do volume do material extrator. O que rege a ocorrência de um ou outro são as interações do analito com o extrator, por isso varia de acordo com as naturezas tanto dos analitos quanto dos materiais extratores [24].

O dispositivo comercialmente disponível para realizar a SPME é composto por uma fibra revestida com o material extrator e fixada a um suporte do tipo seringa. A fibra pode ser colocada em contato com as fases gasosa ou líquida de uma amostra, para que ocorra a extração dos analitos. Após esse processo, geralmente a cromatografia gasosa (GC) é utilizada para separação e análise dos componentes extraídos [25].

Atualmente há diversas abordagens de SPME sendo utilizadas, que abrangem

principalmente conceitos de extração com fibras revestidas e mecanismos com agitação em discos, além disso abordagens *in-tube* são também estudadas e desenvolvidas. A Figura 8 apresenta ilustrações das principais implementações de SPME, sendo que o material em azul escuro representa a fase extratora, que se encontra em contato com a amostra contendo os analitos, representado pela textura azul clara [26].

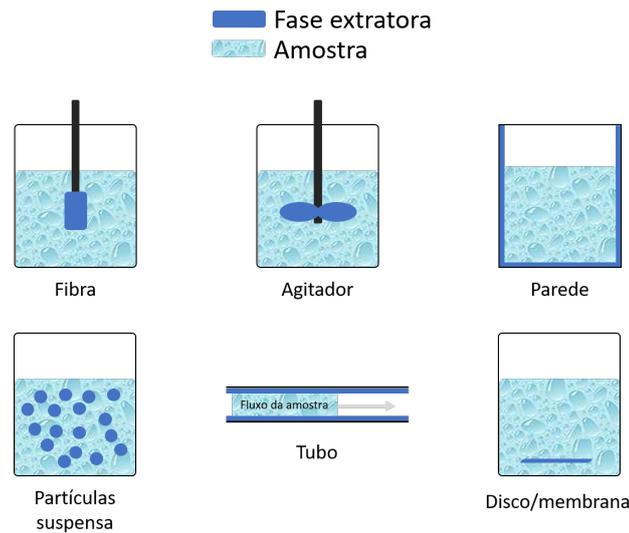


Figura 8 – Configurações de microextração em fase sólida.

Adaptado de [26]

A SPME é uma técnica não exaustiva, que se utiliza do equilíbrio de distribuição do analito entre a matriz da amostra e fibra extratora. Compostos que estejam presentes em quantidades traço em uma amostra e que tenham grandes coeficientes de distribuição podem ser altamente pré-concentrados na superfície da fibra e analisados com sucesso por métodos subsequentes de separação e detecção [25].

A constante de distribuição do analito entre a fase extratora e a matriz é dada pela seguinte expressão:

$$K = \frac{C_f^e}{C_m^e}$$

K: constante de distribuição;

C_f^e : concentração do analito em equilíbrio termodinâmico na fase extratora;

C_m^e : concentração do analito em equilíbrio termodinâmico na matriz.

É possível observar na expressão acima que uma fibra de SPME útil deve ter um revestimento altamente eficiente, para que a concentração do analito em equilíbrio termodinâmico na fase extratora seja alta. Por isso apenas alguns materiais são adequados. Até o momento, os revestimentos usados com maior frequência são o polidimetilsiloxano (PDMS) com espessura de 100 μm e o poliacrilato (PA) com espessura de 85 μm [25].

Diversos estudos encontrados na literatura demonstram que soluções aquosas contendo analitos em quantidades traço podem ser enriquecidas com o auxílio de uma fibra de SPME revestida com os polímeros PDMS e PA. Essa técnica é muito utilizada, por exemplo, na análise de aromas ("*flavors*"), sendo uma ferramenta complementar muito útil para o preparo de amostras [25].

A SPME é selecionada como técnica de preparo de amostras em várias áreas analíticas. Para cada analito, uma fase extratora diferente pode ser desenvolvida, e valores distintos de eficiência e seletividade são atingidos. Nacham e coautores (2017) desenvolveram um método para a purificação de RNA mensageiro (mRNA) de amostras biológicas complexas, utilizando poliacrilato como material do revestimento absorvente. O método foi otimizado para melhorar o desempenho da extração e representa uma vantagem significativa sobre métodos convencionais de extração de RNA, principalmente porque a seletividade do método em relação ao mRNA foi aprimorada e o desempenho de extração foi aumentado [27].

No entanto, uma fibra de SPME é intrinsecamente pequena e não proporciona robustez suficiente para amostragem *in situ*, por isso em condições de campo possuem sua aplicação prática muito limitada [28].

A SPME pode ser realizada de duas formas, por meio do contato direto da fibra com a amostra ou pelo modo chamado de *headspace* (HS) (Figura 9) [23].

As duas formas envolvem o equilíbrio termodinâmico dos analitos voláteis entre a amostra e a fibra extratora. No caso do contato direto o equilíbrio é estabelecido entre a fase líquida da amostra e a fibra, ao passo que no *headspace* o equilíbrio da extração ocorre entre a fase gasosa e a fibra (Figura 9) [19].

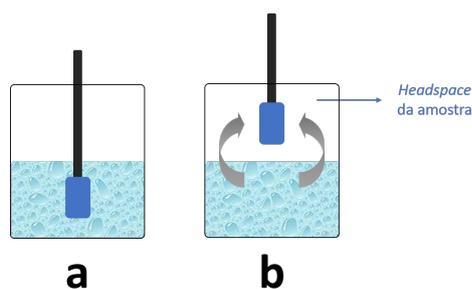


Figura 9 – Preparo de amostras por SPME com (a) extração direta e (b) *headspace*.

Adaptado de [26]

O modo pelo contato direto é muito utilizado para analitos menos voláteis. Canosa e coautores (2006) empregaram essa configuração no desenvolvimento de um procedimento para determinação de cinco parabenos em amostras de água. Os analitos foram concentrados em uma fibra de SPME e determinados seletivamente por GC-MS/MS. Para todos os compostos, os maiores fatores de enriquecimento foram alcançados usando uma fibra de poliacrilato exposta diretamente às amostras de água. Sob condições otimizadas, o método proposto alcançou limites de quantificação de 0,001 a 0,025 ng ml⁻¹ e não apresentou efeitos de matriz [29].

Por outro lado, o modo *headspace* possui diversas vantagens. A principal delas reside no fato de que a amostragem da fase gasosa evita qualquer contaminação de componentes não voláteis que possam ser encontrados na matriz da amostra ou em um solvente orgânico [19]. Além disso, essa configuração oferece resultados com alta sensibilidade. Zhang e coautores (2013) desenvolveram um método para adsorção de pesticidas organoclorados (OCPs, do inglês "*Organochlorine Pesticides*"), utilizando uma nova fibra, com material híbrido de uma estrutura metalorgânica à base de cobre (MOF-199) e óxido de grafite (GO), que foi desenvolvida para o SPME de *headspace*. Os limites de detecção encontrados foram de 2,3 a 6,9 ng L⁻¹ e o método foi utilizado com sucesso na determinação simultânea de oito OCPs em águas de rios [30].

Existem ainda duas principais variações do *headspace*: HS estático e HS dinâmico. No HS estático, a amostra é inserida em um *vial* fechado sob aquecimento e com agitação. Os analitos voláteis começam então a promover o processo de partição entre a amostra e a fase gasosa. Eventualmente o estado de equilíbrio é alcançado. Nesse momento, uma alíquota da fase gasosa é transferida para o GC (Figura 10) [31].

Já no HS dinâmico, um gás inerte é borbulhado pelo interior da amostra e os compostos voláteis são transferidos para uma 'armadilha absorvente'. A armadilha é então aquecida e os voláteis são dessorvidos e transferidos para o GC (Figura 10) [31].

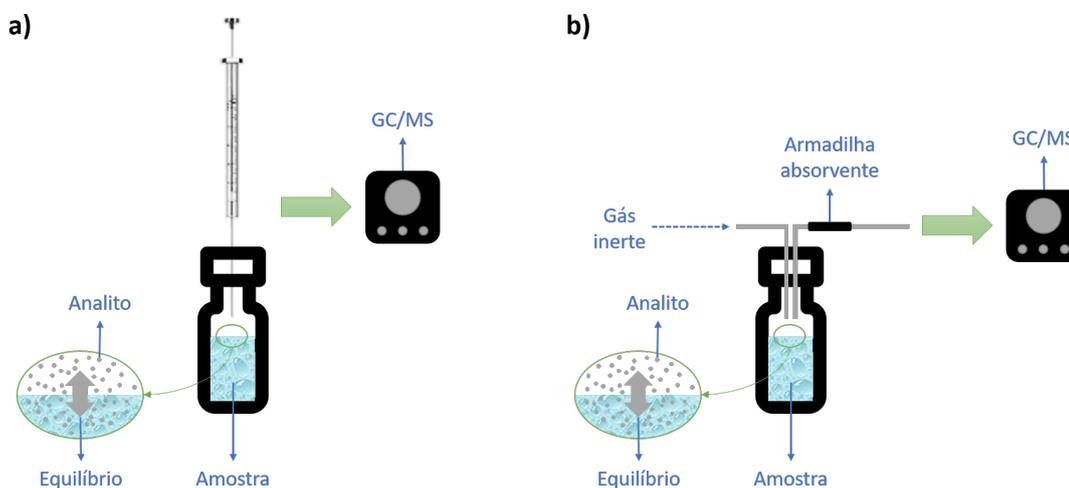


Figura 10 – Técnicas de extração por *headspace* (a) estático e (b) dinâmico.

Adaptado de [32]

Em geral, o método de *headspace* dinâmico é eficaz para a determinação e quantificação de substâncias voláteis de moderada a alta solubilidade em água [19].

1.4.1 Microextração em fase sólida no tubo

A técnica de SPME apresenta duas principais variações: em fibra e em tubo. Na Figura 11 essas configurações são ilustradas, sendo que **a** representa o modelo em fibra, com o polímero revestido na superfície externa, e **b** representa o modelo em tubo, com o polímero revestido na superfície interna [26].

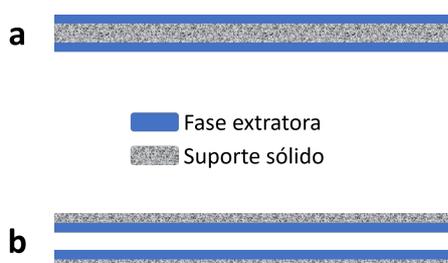


Figura 11 – Duas implementações de SPME a) em fibra e b) em tubo.

Adaptado de [26]

A microextração em fase sólida no tubo (SPME no tubo ou IT-SPME, do inglês *In-Tube SPME*), também chamada de microextração capilar, é uma técnica de preparo de amostras que manteve um desenvolvimento constante desde sua introdução em 1997 por Eisert e Pawliszyn, e demonstrou ao longo do tempo sua capacidade de ser acoplada à cromatografia gasosa [33] [34].

O IT-SPME vem se destacando no preparo das amostras por apresentar vantagens em relação às outras técnicas de preparo de amostras, como facilidade de automatização e acoplamento com equipamentos cromatográficos, além da redução do uso de solventes orgânicos e do tempo total da análise, promovendo uma redução nos custos laboratoriais [35].

Os métodos desenvolvidos e validados utilizando IT-SPME nos trabalhos recentes encontrados na literatura apresentaram resultados satisfatórios, obtendo valores que demonstram alta sensibilidade, seletividade, baixos limites de detecção, eficiente recuperação e baixos valores de desvio padrão relativo para as replicatas [35].

Fernandez-Amado e colegas publicaram em 2016 um artigo de *review* indicando os pontos fortes e fracos do IT-SPME durante o período de 2009 a 2015. O alto uso do IT-SPME em vários trabalhos de diferentes áreas nos últimos anos indica a importância dessa técnica. Eles constataram que os parâmetros mais influentes na otimização dos métodos de IT-SPME são a natureza do material extrator e sua forma de revestimento (capilar ou preenchido) [34].

O grupo de pesquisa observou também que o trapeamento por tubo aberto (OTT, do inglês "*Open Tubular Trapping*"), uma das variações do IT-SPME, é uma configuração muito utilizada quando acoplada à cromatografia gasosa. Além disso, esse formato é o que proporciona maior [34].

Com relação às aplicações do IT-SPME, a maioria dos estudos (cerca de 80%) realiza análises ambientais e biomédicas. Diferentes modos de extração, que implicam diferentes configurações, podem ser usados. Esse fato também demonstra a versatilidade da técnica e pode ser interpretado como um ponto forte do IT-SPME, haja vista que proporciona a possibilidade de enfrentar diferentes problemas analíticos [34].

Em relação aos modos de extração com IT-SPME, a Figura 12 ilustra que há duas abordagens fundamentais:

a) passivo/estático - quando os analitos são transferidos para o sorvente por meio de difusão;

b) ativo/dinâmico - quando os analitos são movidos em uma passagem forçada por dentro do tubo.



Figura 12 – Comparação entre os modos de extração IT-SPME a) passivo e b) dinâmico. (Adaptado de [26])

Como na pesquisa desenvolvida por Wang e coautores (2018), em que criaram um método de IT-SPME utilizando como revestimento nanocompósitos de hidróxido bimetálico Co-Al. As fibras revestidas com nanocompósitos foram testadas para a extração de oito hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Vários parâmetros que afetam a extração de HPAs, incluindo o volume de amostragem, taxa de fluxo de amostragem, conteúdo de metanol e tempo de dessorção foram investigados. Sob condições otimizadas, o método exibiu um desempenho de extração notável em relação aos alvos de HPAs, alcançando limites de detecção inferiores a $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ e linearidade na faixa de $0,03$ a $15 \mu\text{g L}^{-1}$ [36].

Diferentes fases extratoras vêm sendo aplicadas para aumentar a seletividade e aprimorar a pré-concentração e extração dos analitos de interesse. Revestimentos específicos podem ser desenvolvidos para uma série de aplicações, sendo que o volume do revestimento também determina a sensibilidade do método [26].

No trabalho desenvolvido por Bu e coautores (2017), um dispositivo de IT-SPME revestido com aerogel de sílica modificado organicamente foi utilizado como fase extratora. A eficiência de extração do método foi sistematicamente investigada e mostrou fatores de enriquecimento de 2346 a 3132, além de se apresentar como um método automatizado, sensível e seletivo para a determinação de cinco estrogênios. A faixa linear foi de $0,03$ a 100

$\mu\text{g L}^{-1}$ com coeficientes de determinação (R^2) maiores que 0,9989, e limites de detecção (LODs) de 0,01 a 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os desvios padrão relativos (RSD) para repetibilidade e foram inferiores a 4,5% e 6,7% ($n = 6$), respectivamente. Por fim, o método de análise foi aplicado com sucesso para detectar estrogênios em amostras de água [37].

Mais recentemente, Wang e coautores (2019) desenvolveram um novo método de SPME no qual o material extrator é revestido interna e externamente ao capilar (IOT-SPME, do inglês "*In-Out-Tube-SPME*"), utilizando polímeros molecularmente impressos como fase extratora, o que combina as vantagens de eficiências de extração aprimoradas de IOT-SPME e habilidades específicas de adsorção de MIPs (do inglês, "*Molecularly Imprinted Polymers*"), e mostra alta capacidade de enriquecimento. As condições de extração foram otimizadas e um método para determinação de seis compostos desreguladores do sistema endócrino (EDCs, do inglês "*Endocrine Disrupting Compounds*") utilizando MIPs IOT-SPME foi desenvolvido. Sob a condição ideal, o método apresentou baixos limites de detecção (LODs) (0,21–0,80 $\mu\text{g L}^{-1}$) e de quantificação (LOQs) (0,69–2,6 $\mu\text{g L}^{-1}$), amplos intervalos lineares (10,0 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$) para cada composto, e aceitável para cinco determinações paralelas (2,4 a 6,6% (RSD)). Além disso, quando comparada às fibras comerciais, a fibra MIPs-IOT-SPME exibe excelente capacidade de adsorção e seletividade específica [38].

1.5 Análise de pesticidas

O uso excessivo de pesticidas vêm se mostrando como um problema global, que pode causar diversos distúrbios, como a contaminação das águas, dos solos, dos alimentos e, principalmente, a deterioração da saúde humana. Estudos recentes têm confirmado a associação do uso desses compostos com a variação hormonal no organismo humano de homens e mulheres. Tanto para trabalhadores rurais quanto para usuários de alimentos produzidos sob o uso de pesticidas agrícolas, a exposição a curto e longo prazo têm sido vinculada com a alteração de hormônios tireoidianos e reprodutivos [39] [40].

Dessa forma, são necessários estudos de identificação e quantificação de pesticidas agrícolas em amostras de águas, solos e alimentos, a fim de aumentar o controle sobre a utilização desses compostos. A SPME é uma das técnicas utilizadas para o preparo das amostras em análise de pesticidas, sendo que diversos novos métodos vêm sendo

desenvolvidos para aumentar a eficiência de extração desses compostos. Muitos materiais estão sendo criados com essa finalidade, entretanto os principais materiais escolhidos como revestimentos extratores em SPME para a determinação de pesticidas são os compostos poliméricos [41] [42] [43].

Estudos feitos em águas superficiais e águas para o consumo no Brasil confirmam a presença de pesticidas permitidos pela legislação, entretanto em concentrações abaixo das estabelecidas pela Resolução 357/2005 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) no Brasil, pela EPA-US (do inglês, *Environmental Protection Agency - United States*), a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, e pelo Regulamento 396/2005 da União Européia [44] [45] [46] [47] [48] [49].

Pesticidas dos mais variados tipos e classes químicas são encontrados também nos solos do Brasil. A presença desses compostos nos solos e águas superficiais, ainda que não sejam destinados ao consumo humano, entram em contato direto com alimentos e águas de abastecimento, sendo portanto de alto risco para a saúde humana [50] [51].

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), diversos pesticidas têm seu uso não autorizado no Brasil, dentre eles: heptacloro, aldrin, endosulfan, dieldrin [52]. Suas estruturas moleculares são apresentadas nas Figuras 13, 14, 15 e 16.

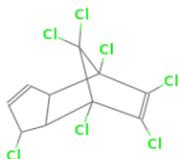


Figura 13 – Heptacloro.

[53]

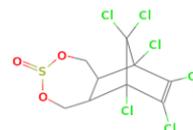


Figura 15 – Endosulfan.

[55]

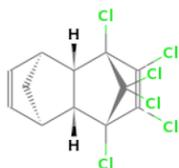


Figura 14 – Aldrin.

[54]

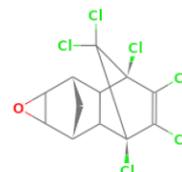


Figura 16 – Dieldrin.

[56]

Apesar do uso desses pesticidas ter sido descontinuado no Brasil desde 1985, sua persistência química deixou quantidades residuais em diversas áreas brasileiras, e por isso possuem alta importância no estudo da dinâmica de pesticidas no meio ambiente, sendo necessário o desenvolvimento de novos métodos analíticos [57] [58].

1.6 Validação de métodos analíticos

A validação de um método analítico envolve o processo de documentar ou provar que o método fornece dados aceitáveis para o uso pretendido [59].

A necessidade de se validar um método analítico e o caminho a ser seguido ficam a critério do julgamento de cada profissional, entretanto procedimentos e diretrizes razoavelmente bem prescritos estão disponíveis na literatura a fim de auxiliar na tomada de decisão [60].

Essas diretrizes são particularmente importante para métodos exigidos pela legislação [59]. O INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) estabelece que o relatório de validação ou de verificação deve incluir, para métodos quantitativos, os seguintes parâmetros [61]:

- Seletividade;
- Linearidade;
- Limite de Detecção;
- Limite de Quantificação;
- Faixa de trabalho;
- Precisão.

Esses parâmetros são chamados de figuras de mérito e são melhor estudados durante o desenvolvimento de um método [60].

Seletividade diz respeito à capacidade do método em quantificar um determinado analito na presença de outros analitos, de diferentes matrizes ou de qualquer outro material potencialmente interferente. Um método que seja capaz de produzir respostas para diversos

analitos, mas que possa distinguir a resposta de um analito das respostas de outros, é chamado seletivo [61].

Um estudo de linearidade verifica que a resposta é linearmente proporcional à concentração do analito dentro do intervalo de concentração da amostra. O estudo deve ser realizado utilizando soluções padrão em cinco níveis de concentração, na faixa de 50 a 150% da concentração do analito, medidos sempre em triplicata [62].

Os dados da linearidade são frequentemente avaliados a partir do coeficiente de determinação (R^2). Um valor de R^2 maior que 0,998 é considerado como evidência de ajuste aceitável dos dados para a linha de regressão [62].

Enquanto estas avaliações estatísticas são uma forma prática de avaliar a linearidade, elas não garantem uma real linearidade. É recomendado sempre fazer uma inspeção visual da curva de calibração. A linearidade muitas vezes se desvia um pouco da curva em valores altos e baixos de concentração [62].

O limite de detecção é o menor nível de concentração que pode ser determinado como estatisticamente diferente do branco analítico. Existem diversas maneiras para se determinar o limite de detecção. Uma definição geralmente aceita pode ser descrita da seguinte forma: “O LOD é a concentração que gera um sinal acima do sinal de fundo em um valor 3 vezes maior que o desvio padrão do sinal de fundo” [63].

O limite de quantificação é a menor concentração de analito que pode ser medida na matriz da amostra em um nível aceitável de precisão e exatidão. Uma precisão aceitável é a concentração que gera um sinal acima do sinal de fundo em um valor 10 vezes maior que o desvio padrão do sinal de fundo [63].

A faixa de trabalho de um procedimento analítico é estabelecida como sendo o intervalo entre a menor concentração medida e a maior concentração do analito sendo determinado na amostra [61].

A precisão de um método analítico é obtida a partir de múltiplas análises de uma amostra homogênea. Os dados de precisão obtidos por um mesmo laboratório em um mesmo dia é chamada de repetibilidade e a precisão em vários dias consecutivos é chamada de precisão intermediária [64].

1.7 Poli(metil metacrilato) como material extrator

Os poliacrilatos compõem um grupo de polímeros que abrange diversos compostos com a estrutura básica monomérica de um éster, como mostrado na Figura 17 [25].

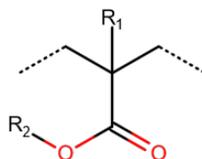


Figura 17 – Estrutura do poliacrilato.

[65]

A superfície do poliacrilato mais simples, no qual os radicais R1 e R2 da Figura 17 são hidrogênios, possui alta polaridade porque apresenta grupos carboxila com característica polar (Figura 17), sendo que nos poliacrilatos em que R1 e R2 são cadeias carbônicas a polaridade diminui, mas por causa da presença dos grupos carboxila a extração de compostos polares ainda é eficiente [25].

Por esse motivo, o PA é bastante utilizado como revestimento de fibras de SPME em extrações de compostos polares. Entretanto, Yang e coautores investigaram o poder de extração das fibras com PA e encontraram que ele é eficiente como material extrator de diversos tipos de compostos voláteis, identificando 31 compostos de diferentes polaridades, presentes em aromas de alimentos e bebidas [25].

Cardeal e coautores (2008) também comprovaram a versatilidade do PA estudando diversas amostras de cachaça por meio de cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplado a espectrometria de massa por tempo de voo (GC/GC-TOF-MS, do inglês "*Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography coupled with Time-Of-Flight Mass Spectrometry*"). A extração dos analitos foi realizada por meio de microextração em fase sólida de headspace (HS-SPME) usando fibra de 85 μm de poliacrilato. Sob essa configuração, eles foram capazes de identificar mais de 70 compostos, incluindo moléculas polares e apolares [66] [67].

O poli(metil metacrilato) (PMMA) pertence ao grupo dos poliacrilatos e por isso também apresenta natureza polar. Ele possui como ramificações radicalares R1 e R2 dois grupos metila ($-\text{CH}_3$), como mostrado na Figura 18.

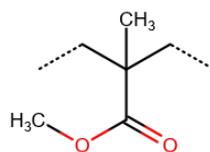


Figura 18 – Estrutura do poli(metil metacrilato).

[65]

O PMMA é um polímero amorfo e sintético, que foi descoberto em 1930 por químicos britânicos e devido ao seu grande potencial em diversas áreas teve sua primeira aplicação já em 1934 na Alemanha [68].

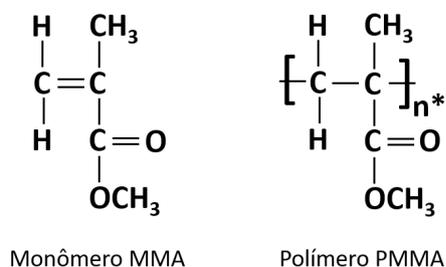


Figura 19 – Estruturas do metil metacrilato (MMA) e do poli(metil metacrilato) (PMMA).

(Adaptado de [68])

O PMMA apresenta características estruturais úteis para diversas aplicações, como força mecânica, leveza e estabilidade térmica. Algumas propriedades excepcionais incluem alta resistência a intempéries e a arranhões. É o polímero sintético mais promissor para aplicações em processos de extração molecular e separações analíticas devido ao seu baixo custo, compatibilidade, facilidade de modificação e processabilidade [69] [70] [71].

Filmes de PMMA com espessura de 40 μm têm sido utilizados em diferentes aplicações, como na análise e comparação de sua capacidade em adsorver piretróides de sedimentos de solo [72].

De acordo com o Handbook de Polímeros, o PMMA apresenta temperatura de transição vítrea na faixa de 120-140 $^{\circ}\text{C}$ e sua densidade é de 1,20 g cm^{-3} . A fabricante do PMMA adquirido no presente trabalho, Sigma-Aldrich, afirma que sua temperatura de autoignição é 304 $^{\circ}\text{C}$ e seu ponto de centelha (*Flash Point*) é 250 $^{\circ}\text{C}$ [73] [74].

O PMMA apresenta alta estabilidade térmica e resiste a temperaturas tão baixas

quanto $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, o que permite que ele seja usado em freezer para estocar os analitos depois do preparo *in-situ* da amostra, durante o transporte até o laboratório onde a análise será realizada [75].

Além disso, o PMMA ainda apresenta uma razoável resistência química, não sendo afetado por soluções aquosas ácidas ou alcalinas, nem sofrendo solubilização em água. Tal característica é particularmente benéfica para o presente trabalho, que propõe um novo método de preparo de amostra para soluções aquosas [76].

A solubilidade do PMMA é maior em solventes orgânicos pouco polares, por ser um composto que apresenta longa cadeia carbônica mas que também possui grupos polares em sua estrutura. Evchuk e coautores (2005) testaram a solubilidade do PMMA em diversos solventes e descobriram que os mais eficientes foram os solventes pouco polares acetato de etila e diclorometano [77].

Em relação ao seu comportamento frente a aquecimentos, o PMMA possui uma estabilidade térmica relativamente alta. Ali e coautores (2015) fizeram uma revisão bibliográfica sobre diversos temas relacionados ao PMMA e sugeriram um mecanismo de decomposição térmica do PMMA a $260\text{ }^{\circ}\text{C}$ pelo qual o produto predominante é o monômero MMA, com um rendimento de 95,5%. [78] [68].

1.8 Escopo do estudo

O intuito do presente trabalho foi desenvolver um método de preparo de amostras mais robusto e econômico do que os métodos atualmente sendo utilizados, a fim de extrair compostos orgânicos voláteis em matrizes aquosas para cromatografia gasosa, utilizando poli(metil metacrilato) (PMMA) como material de captura e pré-concentração dos analitos.

Também fazem parte dos objetivos as seguintes atividades:

- Otimizar o processo de deposição do PMMA no *liner*;
- Avaliar se o peso molecular interfere no poder de trapeamento do PMMA;
- Investigar o método de preparo de amostras, analisando soluções variadas;
- Validar o método para análise de pesticidas.

2 Metodologia

A fim de se avaliar o processo de revestimento do *liner* e o poder de captura e pré-concentração do PMMA como fase extratora em relação aos compostos orgânicos voláteis estudados, duas massas moleculares de PMMA foram testadas:

- Poli(metil metacrilato) Sigma-Aldrich, com peso molecular médio de 120.000 g mol⁻¹;
- Poli(metil metacrilato) Sigma-Aldrich, com peso molecular médio de 350.000 g mol⁻¹.

Além disso, testou-se inicialmente uma amostra de poliacrilato a fim de se estabelecer sua viabilidade no processo de revestimento e secagem. Os detalhes das metodologias utilizadas serão abordados nos próximos tópicos.

2.1 Caracterização da amostra de poliacrilato

A amostra de poliacrilato utilizada foi cedida por uma empresa parceira e sua estabilidade térmica foi testada por Análise Termogravimétrica (TGA, do inglês *Thermogravimetric Analysis*).

A TG foi realizada em célula de alumina em atmosfera de ar, sob fluxo de 50 mL min⁻¹, variando de temperatura ambiente até 900 °C, a uma taxa de 10 °C min⁻¹.

Foi utilizado equipamento do modelo DTG-60H da Shimadzu N^o de Série C305747. A amostra foi entregue no estado pastoso e foi analisada tanto nesse estado quanto no estado sólido, após secagem em estufa a 100 °C por 4 horas.

2.2 Caracterização do poli(metil metacrilato)

Os materiais de PMMA foram primeiramente caracterizados por Análise Termogravimétrica e por Espectrometria de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*), para se avaliar, respectivamente, a estabilidade térmica dos polímeros e a identificação de seus grupos funcionais.

2.2.1 Estabilidade térmica

A TGA dos materiais de PMMA foi realizada sob as mesmas condições das análises termogravimétricas realizadas na amostra de poliacrilato. Os polímeros foram analisados nos estados sólido e em solução com diclorometano, para avaliar se a temperatura de degradação sofreria alteração.

2.2.2 Estabilidade a longo prazo

Além disso, avaliou-se também a estabilidade térmica a longo prazo, observando as características visuais dos revestimentos de PMMA após 25 análises cromatográficas, a fim de estabelecer a possibilidade ou não de utilização do material extrator ao longo do tempo.

2.2.3 Identificação de grupos funcionais

As análises de Espectrometria de Absorção no Infravermelho foram realizadas em um espectrômetro de absorção do modelo IRPrestige-21 da Shimadzu, tendo como faixa de leitura os números de onda entre 400 e 4000 cm^{-1} , em leituras com 63 scans. Os materiais de PMMA foram analisados no estado sólido.

2.3 Estudo da solubilidade do poli(metil metacrilato)

Logo após as caracterizações dos materiais de PMMA, estudou-se sua solubilidade em diversos solventes, a fim de otimizar o preparo da solução polimérica a ser dispersada dentro do *liner*.

A solubilidade dos materiais de PMMA foi testada em quatro solventes, tendo como base os solventes estudados por Evchuk em 2015, que são [77]:

- Acetona (propanona);
- Acetato de etila (etanoato de etila);
- Clorofórmio (triclorometano);
- Diclorometano.

Foi adicionado 0,1 g de PMMA $120.000 \text{ g mol}^{-1}$ em quatro tubos de ensaio e 1 mL de cada solvente em seu respectivo tubo de teste. Depois de anotar as observações, foi adicionado mais 1 mL, e assim sucessivamente até alcançar 5 mL de cada solvente. O procedimento do estudo de solubilidade foi repetido para o PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, a fim de comparar também a solubilidade de cada PMMA nos solventes.

2.4 Revestimento do *liner* com a solução polimérica

O processo otimizado de revestimento do *liner* foi realizado por meio da deposição de 100 μL de solução 10% m/v de PMMA em diclorometano na parte interna do *liner*. A Figura 20 ilustra a solução 10% m/v de PMMA em diclorometano.



Figura 20 – Solução de poli(metil metacrilato) 10% m/v em diclorometano.

Os *liners* utilizados foram do modelo Agilent 19251-60540 *Split/Splitless* (Figura 21) e apresenta as seguintes especificações detalhadas:

- Geometria: Reto
- Diâmetro interno: 4 mm
- Comprimento: 78,5 mm
- Diâmetro externo: 6,3 mm
- Material: Vidro borossilicato
- Volume: 990 μL



Figura 21 – *Liner* Agilent 19251-60540 *Split/Splitless*, utilizado no método de preparo de amostras.

A maneira como o polímero foi depositado na região interna do *liner* foi estudada buscando a maior repetibilidade do processo. Três métodos foram testados, que são ilustrados na Figura 22:

- Revestimento por imersão
- Revestimento com seringa
- Revestimento com micropipeta

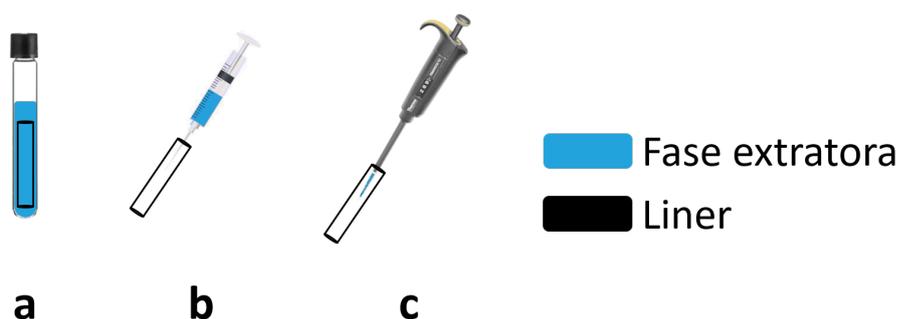


Figura 22 – Métodos estudados para inserção da solução polimérica de PMMA no *liner*, destacando a) inserção por imersão em tubo de ensaio, 2) inserção com seringa e 3) inserção com micropipeta.

2.4.1 Revestimento por imersão

O revestimento por imersão foi feito deixando o *liner* imerso dentro de uma solução de PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$ 10% m/v em diclorometano, por 24 horas. Após esse período, o *liner* foi retirado e o excesso de polímero na parte externa do mesmo foi removida com papel toalha. Foram produzidos três *liners* utilizando o mesmo processo, a fim de avaliar a repetibilidade da massa depositada.

2.4.2 Revestimento com seringa

O revestimento com seringa foi feito com uma agulha 18 G de 1 mL com dimensões 1,20 x 40 mm e menor divisão da escala de 0,02 mL. Foram inseridos volumes de 0,1 mL da amostra de poliacrilato em três *liners*, a fim de avaliar a repetibilidade da massa depositada.

2.4.3 Revestimento com micropipeta

O revestimento com micropipeta foi feito com uma Thermo Scientific Finnpiquette F2 10-100 μ L. Foram inseridos volumes de 0,100 mL da solução de PMMA 350.000 g mol⁻¹ 10% m/v em diclorometano, em três *liners*, a fim de avaliar a repetibilidade da massa depositada.

2.5 Secagem do *liner* revestido

O material depositado foi então, disperso e seco na superfície interna do *liner* por um processo chamado de *spin casting* do polímero [79] [80].

Essa etapa foi estudada de diversas maneiras com o objetivo de encontrar os valores ideais de velocidade e modo de rotação, além de variações adicionais, como presença ou ausência de incidência de luz fluorescente direta, e uso de aditivos de fixação e secagem. Os parâmetros estudados foram os seguintes:

- Secagem por rotação no torno
- Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype*
- Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype* com incidência de luz fluorescente
- Uso de aditivo secante

2.5.1 Secagem por rotação no torno

No processo de secagem por rotação no torno foram avaliados os parâmetros de velocidade de rotação e alinhamento do *liner*.

2.5.2 Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype*

O *spin casting* do revestimento foi testado também com o auxílio do *Spin Casting Prototype*, protótipo desenvolvido no InTechLab (*Integrated Technologies Laboratory*) (Figura 23). O equipamento cria uma rotação com velocidade controlada em torno do eixo horizontal do *liner*, garantindo alta uniformidade do revestimento do polímero ao longo do tubo, e rapidez do processo de secagem.

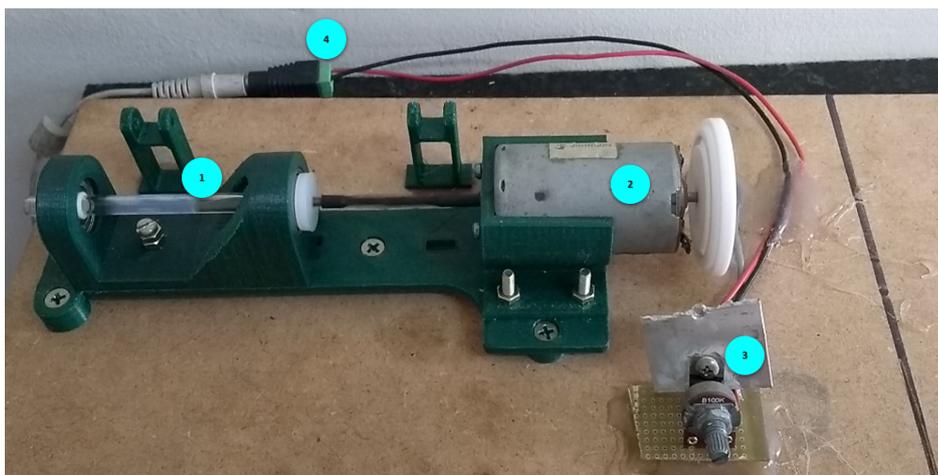


Figura 23 – *Spin Casting Prototype*, equipamento de rotação desenvolvido pelos pesquisadores do InTechLab, destacando 1) *liner* em rotação, 2) motor de passo, 3) sistema giratório para controle da velocidade de rotação e 4) conexão com a energia elétrica.

2.5.3 Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype* com incidência de luz

A secagem no *Spin Casting Prototype* foi avaliada também sob incidência direta de luz fluorescente. Durante o período de secagem a luz foi direcionada para o *liner* em rotação e as observações foram registradas após o período de secagem.

2.5.4 Uso de aditivo secante

A secagem da amostra de poliacrilato foi testada também com a utilização do aditivo secante YCON HP. Sobre uma placa de vidro dividida ao meio, aplicou-se aproximadamente 20 gramas do poliacrilato, 10 gramas em cada lado. Em uma das porções foram gotejadas 3 gotas do aditivo secante, ao passo que a outra porção do poliacrilato foi mantida sem aditivo para efeito de comparação. Após 20 minutos, as duas porções de poliacrilato foram observadas e os resultados foram anotados.

2.6 Liners preparados

Após a otimização dos parâmetros de revestimento, preparou-se os *liners* a serem testados. A Tabela 1 apresenta os detalhes e as codificações de cada um.

Tabela 1 – Detalhes e códigos dos *liners* produzidos.

<i>Liner</i> ID	PMMA	Massa de polímero depositado (mg)
IA	120.000 g mol ⁻¹	9,6
IB	120.000 g mol ⁻¹	9,5
IC	120.000 g mol ⁻¹	9,5
IIA	350.000 g mol ⁻¹	9,6
IIB	350.000 g mol ⁻¹	9,6
IIC	350.000 g mol ⁻¹	9,4

2.6.1 Tratamento térmico dos *liners* preparados

O *liner* revestido com solução polimérica foi submetido a um tratamento térmico sob 250 °C por 4 horas, a fim de finalizar o processo de secagem e principalmente retirar monômeros, provenientes da polimerização incompleta do PMMA, e possíveis interferentes vindos do processo de produção (revestimento e *casting*).

2.7 Preparo das soluções contendo os analitos

O poder de absorção do PMMA foi estudado com 3 classes de compostos:

1-Dodecanol; Alcanos; e Pesticidas.

2.7.1 Soluções de 1-dodecanol

Foram preparadas soluções com concentrações variando de 50 ppm (partes por milhão) a 5 ppb (partes por bilhão) de 1-dodecanol. A solução estoque de 50 ppm foi preparada utilizando como solvente Metanol PA-ACS-ISO Panreac de pureza 99,8% e reagente sólido padrão de 1-dodecanol Sigma-Aldrich com pureza acima de 98,5%. A partir da solubilização de 50 mg do reagente em 1 litro de água destilada foi preparada a solução padrão estoque de 50 ppm (50 µg ml⁻¹), e por meio de diluições da mesma foram preparadas quatro soluções de concentrações 5 ppm, 500 ppb, 50 ppb e 5 ppb.

2.7.2 Soluções de alcanos

Foi utilizada uma solução padrão de alcanos C₈ - C₂₀ Sigma-Aldrich 04070 com concentração de 40 ppm em hexano. A partir dessa solução padrão inicial foi produzida a solução a ser utilizada, de concentração 100 ppb.

2.7.3 Soluções de pesticidas

Foi utilizada uma solução padrão 2000 ppm de pesticidas organoclorados Agilent 5062-3592, contendo 16 pesticidas, dentre eles:

Heptacloro; Aldrin; Endosulfan; e Dieldrin.

A partir dessa solução padrão inicial foram produzidas seis soluções, por meio da diluição em Metanol PA-ACS-ISO Panreac 99,8% de pureza, de concentrações 10 ppm, 100 ppb, 80 ppb, 60 ppb, 40 ppb e 20 ppb.

2.8 Estudo exploratório da capacidade de extração

Para a determinação do 1-dodecanol e dos alcanos investigou-se apenas a capacidade de extração do PMMA, pois a amostra de poliacrilato não se mostrou adequada (detalhes na seção Resultados), a fim de realizar um estudo exploratório do perfil de absorção do polímero.

Esse estudo exploratório foi realizado adicionando-se 30 mL da solução padrão do analito dentro dos recipientes do FEx (sinalizando pelo número **1** na Figura 24) e mantendo o fluxo dentro do *liner* por 20 minutos sob temperatura ambiente. Após esse período de extração o *liner* foi levado ao cromatógrafo a gás para dessorção térmica, utilizando os respectivos métodos cromatográficos de cada analito.

O estudo exploratório foi realizado apenas para os compostos 1-dodecanol e alcanos porque para os pesticidas foi realizada a validação completa, que é um estudo mais completo e torna desnecessário o estudo exploratório.

2.9 Extração dos analitos com o FEx

O processo de preparo das amostras foi realizado com o equipamento FEx, do inglês *Flux Extraction Device* (Figura 24), protótipo desenvolvido no InTechLab. Ele proporciona um fluxo da amostra ao longo de toda a superfície interna do *liner*. Dessa forma, a amostra permanece em contato com o revestimento polimérico até alcançar o equilíbrio termodinâmico do analito entre a matriz e o material extrator.

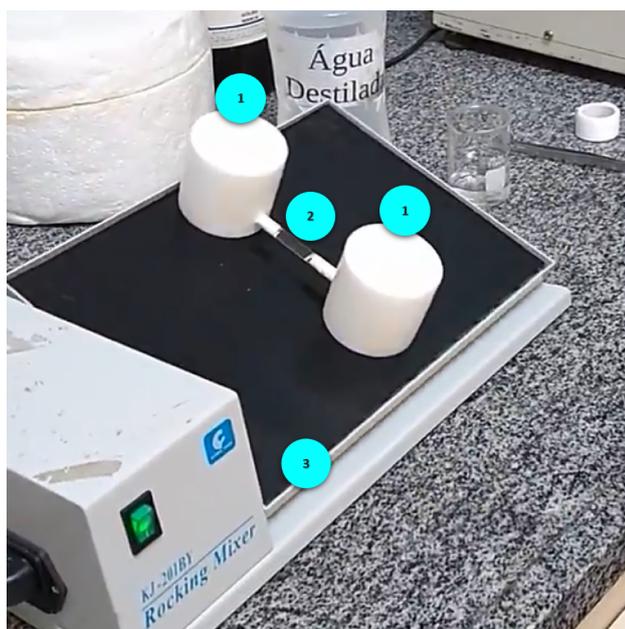


Figura 24 – FEx - *Flux Extraction Device* - protótipo para preparo de amostra, desenvolvido no InTechLab, destacando 1) recipientes onde a amostra aquosa é adicionada, 2) *liner* com fluxo da amostra e 3) equipamento que realiza o fluxo por meio de movimento diagonal.

2.10 Sistema GC-MS

Após a etapa de extração dos analitos, o *liner* foi levado ao cromatógrafo a gás para dessorção e análise cromatográfica dos analitos capturados.

O sistema de equipamentos utilizado é composto por um cromatógrafo a gás Agilent 7890A, com uma coluna capilar HP-5MS Supelco, com característica apolar e composta de (5%-fenil)-metilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 5975B quadrupolo único. O equipamento utilizado é ilustrado na Figura 25 e a Figura 26 ilustra o local onde se encontra o *liner* no equipamento.

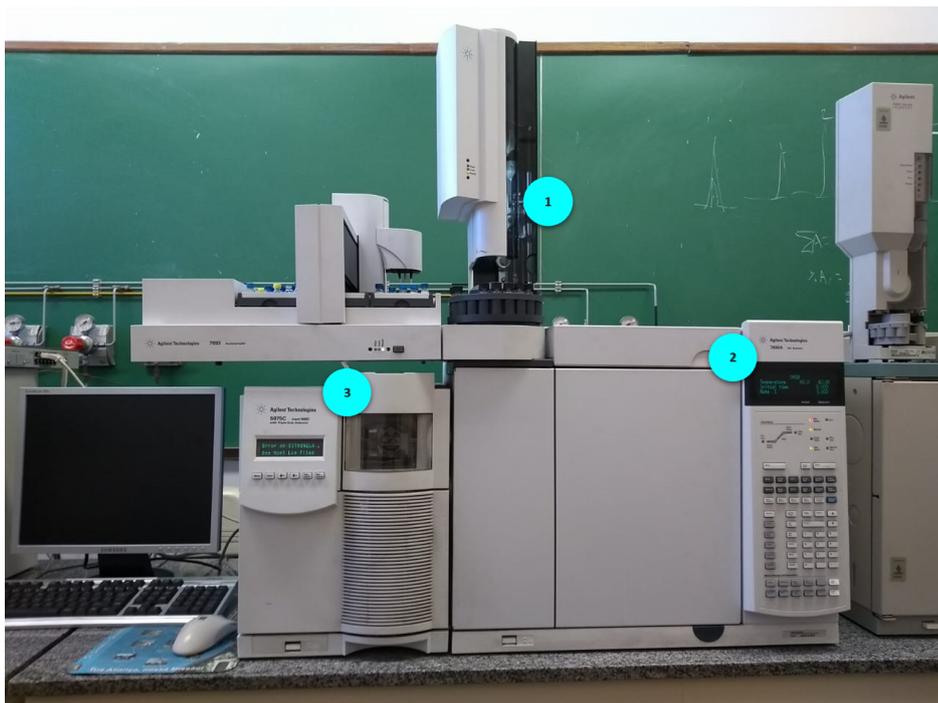


Figura 25 – Equipamentos utilizados para as análises cromatográficas, destacando 1) amostrador, 2) cromatógrafo a gás e 3) espectrômetro de massas.



Figura 26 – Processo de inserção manual do *liner* na câmara de injeção do cromatógrafo a gás, destacando 1) *liner* sendo posicionado e 2) câmara de injeção do cromatógrafo a gás.

2.11 Métodos cromatográficos

Cada grupo de analitos requer um método cromatográfico específico. Para os analitos estudados no presente trabalho, os métodos utilizados estão descritos abaixo.

2.11.1 Determinação de 1-dodecanol, alcanos e pesticidas

Para a determinação de 1-dodecanol, foi utilizado como base o método sugerido pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST) [81]. Para a determinação dos alcanos, foram utilizados como base os métodos sugeridos pelo NIST [81] para cada alcano e estabeleceu-se um único método para todos eles, haja vista que são muito similares. Para a determinação de pesticidas, foi utilizado como base o método 8081b da Agência de Proteção Ambiental (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) [82]. Após testes de otimização dos procedimentos para as condições específicas do presente trabalho, estabeleceu-se os parâmetros apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Detalhes dos métodos cromatográficos para as análises de 1-dodecanol, alcanos e pesticidas.

	1-Dodecanol	Alcanos	Pesticidas
Injeção			
Modo	<i>splitless</i>	<i>splitless</i>	<i>splitless</i>
Temperatura	250 ° C	225 ° C	225 ° C
Rampa de aquecimento	90 ° C por 1 min 200 ° C/min até 250 ° C 250 ° C por 10 min	90 ° C por 1 min 200 ° C/min até 225 ° C 225 ° C por 10 min	90 ° C por 1 min 200 ° C/min até 225 ° C 225 ° C por 10 min
Gás de arraste	Hélio	Hélio	Hélio
Fluxo do gás de arraste	1,0 mL/min	1,0 mL/min	1,0 mL/min
Pressão do gás de arraste	8,0 psi	15,0 psi	16,0 mL/min
Coluna			
Modelo	HP-5MS 5%	HP-5MS 5%	HP-5MS 5%
Dimensões	30 m x 250 µm x 0,25 µm	30 m x 250 µm x 0,25 µm	30 m x 250 µm x 0,25 µm
Forno			
Temperatura inicial	60 ° C	40 ° C	100 ° C
Temperatura máxima	280 ° C	300 ° C	270 ° C
Rampa de aquecimento	60 ° C por 1 min 5 ° C/min até 210 ° C 10 ° C/min até 280 ° C 280 ° C por 5 min	40 ° C por 1 min 10 ° C/min até 300 ° C 300 ° C por 5 min	100 ° C por 2 min 15 ° C/min até 160 ° C 5 ° C/min até 270 ° C 270 ° C por 2 min

2.11.2 Condicionamentos da coluna e do *liner* revestido

Inicialmente é necessário realizar o condicionamento da coluna cromatográfica, a fim de expulsar termicamente interferentes que possam estar adsorvidos na mesma. O condicionamento da coluna cromatográfica foi feito sob uma isoterma a 290 ° C por

30 minutos. Esse processo não precisa ser realizado todos os dias, apenas quando o cromatógrafo é usado para uma pesquisa diferente, ou seja, amostras e analitos distintos são analisados e estudados.

Além disso, é necessário realizar também o condicionamento do *liner* revestido, sob uma isoterma por 30 minutos e é preciso ser feito apenas uma vez antes da utilização inicial do mesmo. Testou-se três temperaturas de injeção, a fim de se avaliar a capacidade condicionante do processo, ou seja, para confirmar a completa dessorção de compostos extraídos pelo revestimento polimérico, e evitar, assim, possível efeito memória no método. As temperaturas testadas foram:

- 230 °C
- 240 °C
- 250 °C

Os detalhes dos métodos cromatográficos utilizado para os condicionamentos da coluna e do *liner* revestido são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Detalhes dos métodos cromatográficos para os condicionamentos da coluna e do *liner*.

	Coluna	Liner
Injeção		
Modo	<i>splitless</i>	<i>splitless</i>
Temperatura	250 °C	230/240/250 °C
Rampa de aquecimento	90 °C por 1 min 200 °C/min até 250 °C 250 °C por 10 min	90 °C por 1 min 200 °C/min até 230/240/250 °C 230/240/250 °C por 10 min
Gás de arraste	Hélio	Hélio
Fluxo do gás de arraste	1,3 mL/min	1,3 mL/min
Pressão do gás de arraste	4,0 psi	4,0 psi
Coluna		
Modelo	HP-5MS 5%	HP-5MS 5%
Dimensões	30 m x 250 µm x 0,25 µm	30 m x 250 µm x 0,25 µm
Forno		
Temperatura inicial	100 °C	100 °C
Temperatura máxima	290 °C	290 °C
Rampa de aquecimento	100 °C por 5 min 50 °C/min até 290 °C 290 °C por 30 min	100 °C por 5 min 50 °C/min até 290 °C 290 °C por 30 min

2.12 Leitura dos brancos

Além do condicionamento, é necessário realizar as leituras dos brancos da coluna, do *liner* e do FEx, a fim de certificar a ausência de interferentes e/ou contabilizar interferentes inerentes aos materiais (sílica da coluna, possíveis ftalatos, entre outros). As leituras dos brancos devem ser feitas utilizando o mesmo método cromatográfico ao qual as amostras serão submetidas, para que os cromatogramas possam ser comparados e os brancos serem, de fato, valores de referência [9].

2.12.1 Branco da coluna

Os brancos da coluna foram realizados utilizando um *liner* sem revestimento. Após sua inserção no injetor, os métodos dos analitos em questão (1-dodecanol, alcanos e pesticidas) foram carregados no sistema e deu-se início às corridas cromatográficas, realizando-se um branco para cada método.

2.12.2 Branco do sistema

Os brancos do sistema *liner* + FEx foram realizados para os métodos de cada analito. Para a determinação de 1-dodecanol foi feito o branco tanto com o *Liner* IA (Tabela 1), revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, quanto com o *Liner* IIA (Tabela 1), revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹.

Entretanto, para as determinações dos outros analitos (alcanos e pesticidas), foi feito apenas o branco com *Liner* IIA, PMMA 350.000 g mol⁻¹, haja visto que o *Liner* IA, PMMA 120.000 g mol⁻¹, não tinha se mostrado termicamente estável a longo prazo e por isso não foi selecionado para as determinações dos outros analitos.

O procedimento foi realizado passando-se um fluxo por 10 minutos com água destilada nos *liners* revestidos. Após o término do fluxo, o *liner* foi inserido na câmara de injeção do cromatógrafo, o método do analito em questão (1-dodecanol, alcanos e pesticidas) foi carregado no sistema e deu-se início à corrida cromatográfica.

Para as determinações de 1-dodecanol e alcanos, o branco foi realizado apenas em triplicata, a fim de fornecer resultados exploratórios. Já para determinação de pesticidas, o branco foi realizado em 10 replicatas utilizando o método cromatográfico respectivo, haja vista que esse foi o processo de extração devidamente validado.

2.13 Efeito memória do sistema

O efeito memória dos sistema FEx + *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, foi testado a fim de garantir a ausência de resquícios de analitos no revestimento.

Para os testes de efeito memória do *Liner* IIA (Tabela 1) realizou-se a leitura do mesmo logo após uma leitura cromatográfica do analito, para confirmar que durante a análise todo o composto havia sido desorvido do revestimento.

Para os testes de efeito memória do FEx realizou-se um fluxo de 30 minutos com água destilada no sistema (FEx + *Liner* IIA), a fim de confirmar que o processo de limpeza do FEx havia sido suficiente para eliminar todo o analito.

2.14 Análise espectrométrica

Acoplado ao cromatógrafo a gás se encontrava um Espectrômetro de Massas Agilent 5975B Single Quadrupolo. Dessa forma, juntamente aos cromatogramas dos analitos eram obtidos os espectros de massa dos mesmos, a fim de se caracterizar e identificar os analitos com maior precisão [9].

O uso do espectrômetro de massas permitiu que fossem feitas análises pelos modos TIC (do inglês, "*Total Ion Chromatogram*") e SIM (do inglês *Single Ion Monitoring*), analisando todos os íons ou apenas os íons selecionados, respectivamente.

Por fim, os espectros foram comparados com o banco de dados do *National Institute of Standards and Technology* (NIST) presente no software do espectrômetro de massas para confirmar a identidade do analito, e os cromatogramas foram analisados com o auxílio do software OriginPro 8. Após os estudos dos experimentos, diversas variações foram testadas a fim de otimizar todo o processo descrito nesta seção, e os resultados encontrados serão abordados nos próximos tópicos.

2.15 Validação do método para análise de pesticidas

O método de preparo de amostras desenvolvido foi validado para a determinação e quantificação de quatro pesticidas - heptacloro, aldrin, endosulfas e dieldrin. Foi utilizado como referência o Guia do Inmetro sobre validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-

008 Revisão 5 de agosto de 2016 - e foram estudados os seguintes parâmetros [61]:

- Tempo de equilíbrio;
- Linearidade;
- Limite de detecção;
- Limite de quantificação;
- Faixa de trabalho;
- Repetibilidade;
- Precisão intermediária.

2.15.1 Tempo de equilíbrio termodinâmico

O tempo de equilíbrio termodinâmico da extração dos pesticidas foi investigado da seguinte maneira, realizando triplicatas das análises de cada tempo:

- Extração da solução de 100 ppb durante 10 minutos, seguida de determinação cromatográfica dos analitos extraídos.

Esse processo foi repetido para os tempos de 20, 30, 40, 50 e 60 minutos.

2.15.2 Linearidade

A linearidade foi determinada por meio da construção da curva de calibração contendo cinco concentrações de cada um dos cinco pesticidas estudados.

- 20 ppb ($20 \mu\text{g L}^{-1}$)
- 40 ppb ($40 \mu\text{g L}^{-1}$)
- 60 ppb ($60 \mu\text{g L}^{-1}$)
- 80 ppb ($80 \mu\text{g L}^{-1}$)
- 100 ppb ($100 \mu\text{g L}^{-1}$)

Para cada concentração todo o processo de análise foi realizado em triplicata, desde a extração do analito até a leitura cromatográfica. As curvas analíticas foram construídas com o auxílio do programa Origin 8.0.

2.15.3 Limites de detecção e quantificação

Para a determinação dos limites de detecção e quantificação foram realizadas 10 replicatas do processo analítico utilizando água destilada, a fim de obter leituras do branco do sistema (FEx + *Liner* IIA). O Limite de Detecção (LOD) foi calculado como sendo três vezes o desvio padrão das medidas dos brancos, como na seguinte expressão :

$$LOD = 3 * SD_b$$

LOD: limite de detecção (LOD, do inglês *Limit Of Detection*); SD_b : Desvio Padrão (SD, do inglês *Standard Deviation*) do branco.

O Limite de Quantificação, por sua vez, foi calculado como sendo dez vezes o desvio padrão das medidas dos brancos, como na seguinte expressão :

$$LOQ = 10 * SD_b$$

LOD: limite de quantificação (LOQ, do inglês *Limit Of Quantitation*); SD_b : Desvio Padrão (SD, do inglês *Standard Deviation*) do branco.

2.15.4 Faixa de trabalho

Todo experimento de determinação da faixa de trabalho é iniciado pela escolha de uma faixa preliminar. No limite inferior da faixa de concentração, o fator limitante é o valor do limite de quantificação (LOQ). No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do equipamento de medição [61]. A faixa preliminar escolhida foi variando a concentração dos analitos de 20 ppb a 100 ppb.

2.15.5 Repetibilidade

A repetibilidade do método foi testada analisando 5 replicatas do processo de extração no mesmo dia, utilizando solução padrão de 100 ppb dos pesticidas.

2.15.6 Precisão intermediária

A precisão intermediária do método foi testada analisando 7 replicatas do processo de extração, cada uma em um dia, totalizando 7 dias diferentes. Foi utilizada solução padrão de 100 ppb dos pesticidas.

2.15.7 Fator de pré-concentração

O fator de pré-concentração do método desenvolvido foi estimado a partir da leitura de soluções dos pesticidas nas concentrações de 60 e 100 ppb, que representam um ponto próximo do centro da curva de calibração e o maior ponto da curva, respectivamente.

A comparação foi realizada analisando as soluções pelo método desenvolvido e por meio de injeção direta das soluções. Como não é recomendável injetar soluções aquosas diretamente no cromatógrafo, preparou-se duas soluções de 60 e 100 ppb utilizando Metanol PA como solvente, e essas foram utilizadas para comparação.

3 Resultados e Discussão

O método de preparo de amostras desenvolvido no presente trabalho se caracteriza como uma técnica IT-SPME estática/passiva, porque se baseia no alcance do tempo de equilíbrio termodinâmico do analito entre a matriz da amostra e a fase extratora [83].

O suporte tubular utilizado é denominado *liner*, e é uma peça cilíndrica de vidro que se localiza na câmara de injeção do cromatógrafo a gás. O *liner* atua essencialmente como um *container* das paredes internas da câmara de injeção, possuindo diversas funções como melhorar a vaporização da amostra, limitar sua degradação e transferir a amostra vaporizada para a coluna cromatográfica [14].

O presente trabalho propõe uma atuação inovadora para o *liner*, atribuindo a ele uma função essencial no preparo de amostras aquosas. Ele atua como um suporte para captura e pré-concentração dos analitos orgânicos voláteis e também como um transferidor desses analitos para a coluna cromatográfica durante a etapa de dessorção dos compostos.

O processo de trapeamento dos analitos ocorre por meio de absorção na camada polimérica extratora, previamente dispersa sobre a superfície interna do *liner*. Essa etapa do trapeamento é realizada com o auxílio do FEx (*Flux Extraction Device*), que estabelece um fluxo da amostra aquosa por dentro do *liner*, proporcionando assim o contato da mesma com a fase extratora e, conseqüentemente, a absorção dos analitos pelo estabelecimento de um equilíbrio termodinâmico entre a amostra e a fase polimérica [35].

O processo como um todo, desde a deposição do material polimérico no interior do *liner* até a análise do cromatograma dos analitos capturados, se mostrou viável para realização em laboratórios acadêmicos e apresenta grande potencial para uso no ambiente comercial.

Cada etapa apresentou seus desafios específicos, que foram contornados e solucionados de diversas maneiras, a fim de fornecer os resultados objetivados, e serão detalhados nos tópicos a seguir.

3.1 Caracterização da amostra de poliacrilato

A amostra de poliacrilato testada foi cedida por uma empresa parceira e sua composição não foi revelada. Ela apresentava características visuais pertinentes a um poliacrilato, como pode ser observado na Figura 27.



Figura 27 – Amostra de poliacrilato.

Os principais resultados das caracterizações realizadas nessa amostra são apresentados nos tópicos a seguir.

3.1.1 Estabilidade térmica

Os gráficos obtidos pela Análise Termogravimétrica da amostra de PA são apresentados nas Figuras 28 e 29, destacando a temperatura de degradação de 320 °C.

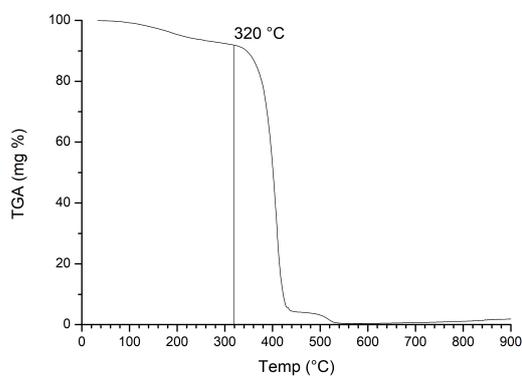


Figura 28 – TG do poliacrilato sólido.

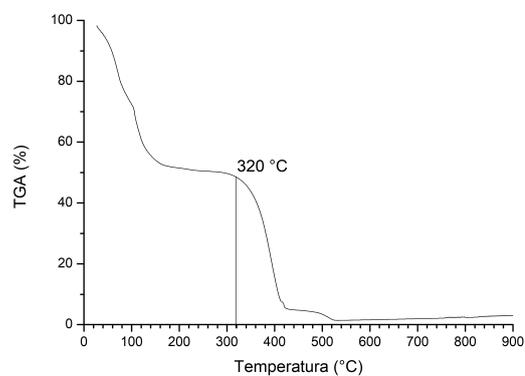


Figura 29 – TG do poliacrilato pastoso.

É possível notar que o poliacrilato pastoso apresenta uma perda de massa inicial por volta de 100 °C devido à água presente na amostra. Essa perda de massa não é vista na TG do poliacrilato sólido, como esperado.

Foram feitos testes térmicos em estufa de secagem a fim de se avaliar seu comportamento visual frente ao aquecimento brando. Foi possível observar que a amostra apresentou uma coloração amarelada intensa, possivelmente devido à presença de compostos interferentes e à degradação térmica do poliacrilato (Figura 30).



Figura 30 – Amostra de poliacrilato após teste de aquecimento em estufa.

O aquecimento ainda provocou a formação de bolhas, mesmo quando era realizado de forma lenta, devido à rápida evaporação do solvente das camadas mais internas. Por essas razões, a amostra de poliacrilato se mostrou inviável para ser utilizada como material extrator no *liner*.

3.2 Caracterização do poli(metil metacrilato)

3.2.1 Estabilidade térmica

Por meio da análise dos gráficos de TGA ilustrados nas Figuras 31 e 32 é possível identificar que a perda de massa de ambos os materiais, PMMA 120.000 g mol⁻¹ e PMMA 350.000 g mol⁻¹, se inicia em aproximadamente 250 °C. Isso indica que o método cromatográfico a ser utilizado posteriormente deve manter a temperatura de injeção abaixo de 250 °C, a fim de evitar perdas do PMMA por degradação térmica.

A temperatura de injeção abaixo de 250 °C não prejudica os métodos cromatográficos utilizados, haja vista que de acordo com a literatura os métodos indicados para determinação dos analitos de interesse (1-dodecanol, alcanos e pesticidas) utilizam temperaturas de injeção menores do que 250 °C [81] [84].

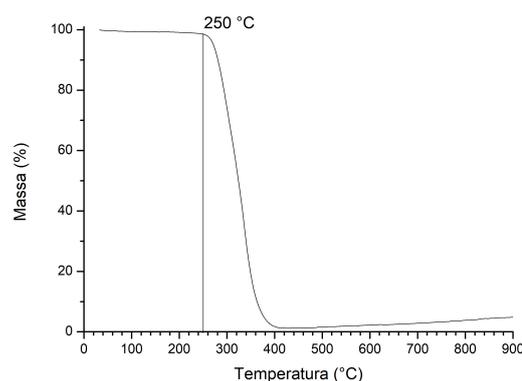
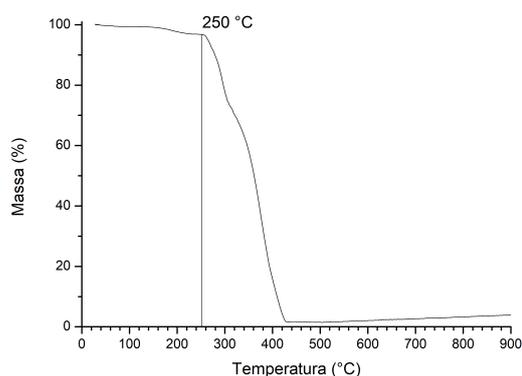


Figura 31 – TG do PMMA 120.000 g mol⁻¹ sólido, destacando a temperatura de auto-ignição a 250 °C. Figura 32 – TG do PMMA 350.000 g mol⁻¹ sólido, destacando a temperatura de auto-ignição a 250 °C.

3.2.2 Estabilidade a longo prazo

O PMMA 120.000 g mol⁻¹ apresentou menor estabilidade térmica a longo prazo. À medida que o *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, foi sendo utilizado nas análises cromatográficas, o material alterou sua coloração de translúcido para amarelo, sendo que após 25 ciclos de extração e dessorção o polímero já se apresentava com cor amarela intensa, como pode ser visto na Figura 33.



Figura 33 – *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, após 25 análises cromatográficas, destacando a coloração amarelada.

Essa coloração se deve à degradação térmica do PMMA, que produz principalmente os monômeros do polímero [68]. Um estudo realizado por Zeng e coautores (2002) encontrou que a decomposição térmica do PMMA segue um mecanismo no qual o principal produto da quebra é seu próprio monômero, e essa pode ser uma das causas da coloração amarelada no *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, após mais de 20 análises [85].

Em princípio o mesmo deveria ocorrer com o PMMA 350.000 g mol⁻¹, mas como sua cadeia polimérica é maior, suas características físico-químicas são diferentes e, por isso, ele pode se comportar de forma distinta ao PMMA 120.000 g mol⁻¹ [86] [87].

Apesar de o gráfico de TG mostrar a mesma perda de massa em 250 °C tanto para

o PMMA 350.000 g mol⁻¹ quanto para o PMMA 120.000 g mol⁻¹, a longo prazo o PMMA 350.000 g mol⁻¹ se mostrou visualmente mais estável, por não alterar sua coloração.

Dessa forma, foi possível concluir que o PMMA com massa molecular de 350.000 g mol⁻¹ é mais apropriado para o método, pois pode ser utilizado mais vezes, sem perder suas características de bom material extrator. A Figura 34 ilustra o *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, ainda translúcido após 25 análises, mesma quantidade que já provoca a coloração amarelada no PMMA 120.000 g mol⁻¹.



Figura 34 – *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, após 25 análises cromatográficas, destacando a coloração ainda translúcida.

De fato, até o presente momento, após mais de 150 análises cromatográficas, o *Liner* IIA ainda mantém sua coloração translúcida, comprovando sua estabilidade como material extrator no método.

A ficha de segurança do material, enviada pelo fabricante, bem como informações encontradas no NIST e no *Handbook* de Polímeros da Universidade de Oxford, apresentam a temperatura de degradação do PMMA como sendo 302 °C. Pelos gráficos das Figuras 31 e 32 essa temperatura pode ser identificada após o início da perda de massa, o que confirma o ponto principal de degradação do polímero [74] [88] [73].

3.2.3 Identificação de grupos funcionais

As amostras de PMMA sólido foram submetidas também à caracterização por espectrometria de absorção na região do infravermelho. A Figura 35 apresenta os espectros do PMMA de massas moleculares 120.000 g mol⁻¹ e 350.000 g mol⁻¹.

No banco de dados do NIST não há padrão de referência de espectro de absorção no infravermelho do PMMA. Por isso a identificação das principais bandas foi feita por meio de comparação com espectros da literatura. Um estudo realizado por Duan e coautores (2008) apresenta as principais bandas que identificam os grupos funcionais do PMMA, e com base nesses valores foi possível observar a presença de bandas que comprovam a existência dos grupos funcionais do PMMA no material utilizado no presente trabalho [88] [89].

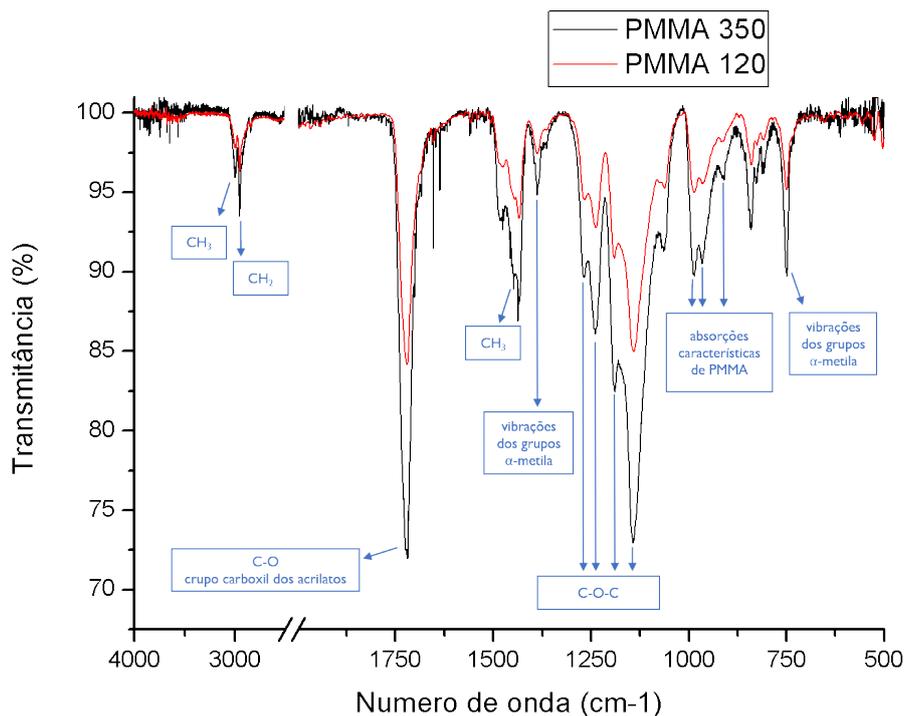


Figura 35 – Espectro de absorção no infravermelho do PMMA de massas moleculares $120.000 \text{ g mol}^{-1}$ e $350.000 \text{ g mol}^{-1}$.

Os comprimentos de onda característicos e os respectivos grupos funcionais e vibrações são listados abaixo [89]:

- Duas bandas em 754 cm^{-1} e 1388 cm^{-1} : deformação angular do grupo α -metil;
- Quatro bandas de 1150 cm^{-1} a 1250 cm^{-1} : deformações axiais C–O–C;
- Um banda em 1732 cm^{-1} : deformação axial de C=O de carboxila;
- Uma banda em 1444 cm^{-1} : deformação angular C–H do grupo $-\text{CH}_3$;
- Duas bandas em 2997 cm^{-1} e 2952 cm^{-1} : deformação axial C–H dos grupos $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2$, respectivamente.

Além disso, é possível notar que o PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$ apresenta maior intensidade das bandas, o que era esperado pois ele apresenta uma cadeia polimérica maior do que o dobro da cadeia do PMMA $120.000 \text{ g mol}^{-1}$ [89].

As informações dos espectros no infravermelho não confirmam a identidade do polímero, mas são fortes indícios de que o material utilizado é de fato o PMMA [88].

3.3 Estudo da solubilidade do poli(metil metacrilato)

Os testes de solubilidade mostraram que o PMMA 350.000 g mol⁻¹ é, de maneira geral, mais solúvel do que PMMA 120.000 g mol⁻¹.

Em acetona e acetato de etila, o PMMA 350.000 g mol⁻¹ não se solubilizou completamente, e o maior grau de solubilidade foi alcançado apenas a uma concentração de 2% m/v, mesmo assim apresentando ainda grânulos e sólidos coloidais.

Em clorofórmio a solubilidade do PMMA 350.000 g mol⁻¹ foi maior do que nos dois primeiros solventes, sendo possível a solubilização completa em concentração de 5% m/v.

O melhor solvente encontrado pelos resultados do teste foi o diclorometano, que conseguiu solubilizar o PMMA 350.000 g mol⁻¹ em uma concentração de 10% m/v. A massa de 0,1 g do polímero se solubilizou completamente com a adição de apenas 1 mL, formando uma solução límpida e sem grânulos ou colóides, como pode ser visto na Figura 36.

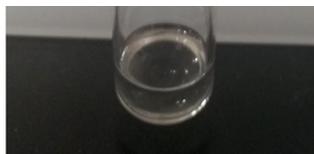


Figura 36 – Teste de solubilidade do PMMA 350.000 g mol⁻¹ em diclorometano.

3.4 Revestimento do *liner* com solução polimérica

A maneira como o polímero foi depositado na região interna do *liner* foi estudada buscando a maior repetibilidade do processo.

3.4.1 Revestimento por imersão

Para o teste do revestimento por imersão foi utilizada a solução de PMMA 120.000 g mol⁻¹ (5% m/v em diclorometano) e foram produzidos três *liners* usando o mesmo processo a fim de avaliar a repetibilidade da massa depositada. Os resultados encontrados não foram satisfatórios, obtendo-se uma média de 8,6 g de polímero depositado e Desvio

Padrão Relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*) de 27,7%, como mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados do revestimento com PMMA 120.000 g mol⁻¹ por imersão.

<i>Liner ID</i>	Massa de polímero depositado (mg)
IM1	5,9
IM2	10,4
IM3	9,5

3.4.2 Revestimento com seringa

Para o teste do revestimento com seringa foi utilizada a amostra de poliacrilato e uma agulha 18 G com dimensões 1,20 x 40 mm. Foram inseridos volumes de 0,1 mL em três *liners*. Os resultados encontrados não foram satisfatórios, obtendo-se uma média de 27,3 g de polímero depositado e Desvio Padrão Relativo (RSD) de 10,7%, como mostrado na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados do revestimento com amostra de poliacrilato por inserção com seringa.

<i>Liner ID</i>	Massa de polímero depositado (mg)
SE1	30,5
SE2	26,5
SE3	24,8

3.4.3 Revestimento com micropipeta

Para o teste do revestimento com micropipeta foi utilizada solução de PMMA 120.000 g mol⁻¹ e a inserção foi feita com o auxílio de uma micropipeta Thermo Scientific Finnpiptette F2 10-100 µL. Foram inseridos volumes de 100 µL (0,1000 mL) de solução de PMMA 120.000 g mol⁻¹ (5% m/v em diclorometano) em três *liners*. O uso de um instrumento de alta precisão garante a obtenção de alta repetibilidade no processo. Os resultados encontrados foram excelentes, obtendo-se uma média de 9,5 g de polímero depositado e Desvio Padrão Relativo (RSD) de 0,6%, como mostrado na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultados do revestimento de PMMA 120.000 g mol⁻¹ por inserção com micropipeta.

<i>Liner</i> ID	PMMA	Polímero depositado (mg)
IA	120.000 g mol ⁻¹	9,6
IB	120.000 g mol ⁻¹	9,5
IC	120.000 g mol ⁻¹	9,5

Como os resultados apresentaram alta precisão utilizando o PMMA 120.000 g mol⁻¹, o processo de revestimento com micropipeta foi realizado novamente utilizando o PMMA 350.000 g mol⁻¹ e os valores de massas depositadas não variaram significativamente, obtendo-se uma média de 9,5 g de polímero depositado e Desvio Padrão Relativo de 1,2%, como mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados do revestimento de PMMA 350.000 g mol⁻¹ por inserção com micropipeta.

<i>Liner</i> ID	PMMA	Polímero depositado (mg)
IIA	350.000 g mol ⁻¹	9,6
IIB	350.000 g mol ⁻¹	9,6
IIC	350.000 g mol ⁻¹	9,4

3.5 Secagem do *liner* revestido

Após a inserção da solução polimérica no *liner* foi feita a secagem da mesma por um processo denominado *casting*. *Casting* por rotação, ou secagem por rotação, é o termo utilizado na área de polímeros que representa uma técnica amplamente utilizada para depositar filmes de espessura uniforme em superfícies sólidas planares. Essa técnica oferece alta e uniformidade estrutural para a fabricação de revestimentos de filmes finos sobre grandes áreas [79] [90] [91].

Nesse processo, uma solução é depositada sobre uma superfície, que é colocada em rotação. Durante um determinado período, a combinação de forças radiais e parâmetros hidrodinâmicos (relacionadas aos movimentos de fluidos, como velocidade, aceleração, viscosidade, poder de escoamento, entre outros) achatará o volume do líquido depositado sobre o filme plano. Com a rotação contínua, esse filme planar se tornará continuamente mais fino [92].

Se a solução for constituída por um soluto não volátil e um solvente volátil, a diminuição da espessura do filme também ocorre devido à evaporação do solvente, além do afinamento hidrodinâmico. Numa primeira aproximação, o *casting* por rotação de líquidos voláteis pode ser considerado como uma sequência de formação de película planar hidrodinâmica seguida por secagem evaporativa deste filme. A evaporação do solvente causará um enriquecimento contínuo dos componentes da solução não volátil. No final, o soluto será depositado como um filme seco [93] [80].

O *casting* por rotação foi utilizado para a secagem do polímero no *liner*, e diferentes variações foram testadas. Seus resultados e as respectivas discussões são apresentados nos próximos tópicos.

3.5.1 Secagem por rotação no torno

Como o torno é um equipamento que não oferece velocidade de rotação superior a 1710 rpm, não foi possível alcançar um revestimento homogêneo, pois essa é uma rotação baixa para a realização eficiente do *casting* por rotação. Além disso, como o *liner* fica apoiado por apenas uma das extremidades, não foi possível nivelar horizontalmente o mesmo, inviabilizando o controle da dispersão no momento da rotação, fazendo com que o revestimento ficasse mais concentrado em um dos lados do *liner*, como apresentado na Figura 37.

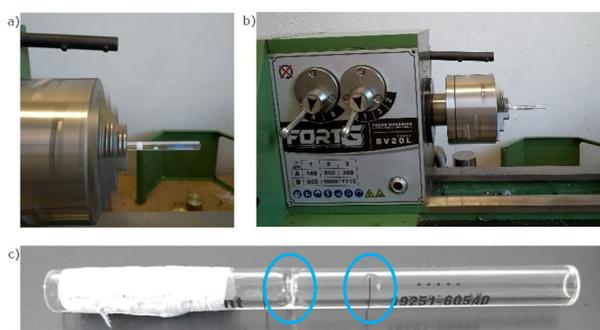


Figura 37 – Secagem por rotação no torno, destacando a) o *liner* em rotação, b) o equipamento utilizado e c) o *liner* após deposição e secagem, evidenciado em azul.

3.5.2 Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype*

Com a utilização do *Spin Casting Prototype* foi possível alcançar uma velocidade máxima de aproximadamente 2700 rpm, que se mostrou ideal para um revestimento homogêneo no *liner*. Além disso, como o *liner* fica apoiado pelas duas extremidades, o problema da dispersão foi solucionado e o polímero não se acumulou em nenhum dos lados do *liner*, ficando visualmente homogêneo ao longo do mesmo (Figura 38).



Figura 38 – Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype*, destacando a) o dispositivo e b) o *liner* após deposição e secagem.

3.5.3 Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype* com incidência de luz

Sob a incidência de luz fluorescente a solução de PMMA apresentou muitos aglomerados após a secagem, não fornecendo um revestimento homogêneo, o que indicou que a secagem com aquecimento pela lâmpada não foi bem-sucedida (Figura 39).

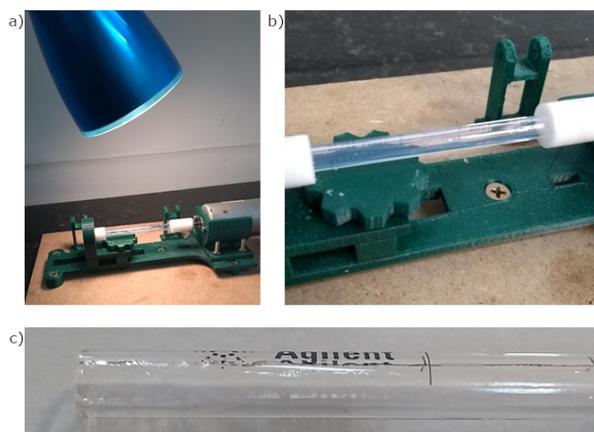


Figura 39 – Secagem por rotação no *Spin Casting Prototype*, destacando a) luz fluorescente utilizada, b) o *liner* em rotação c) o *liner* após deposição e secagem.

A luz fluorescente, apesar de ser chamada de lâmpada fria, emite uma certa quantidade de calor. Ela é considerada fria porque emite muito menos calor do que as lâmpadas incandescentes, popularmente chamadas de lâmpadas amarelas, mas ainda assim existe uma certa quantidade de calor emitida pelas lâmpadas fluorescentes.

Esses aglomerados foram formados porque a camada externa do revestimento seca muito rapidamente com a incidência da luz, aprisionando o solvente das camadas mais internas e formando bolhas quando esse mais interno se vaporiza. Esse fato permite concluir também que a secagem do revestimento deve ser lenta e o mais uniforme possível, para que não haja a formação de bolhas de solvente.

3.5.4 Uso de aditivo secante

A secagem foi testada também com a utilização do aditivo secante YCON HP. A amostra de poliacrilato sem aditivo levou aproximadamente 20 minutos para secar completamente, ao passo que a amostra com aditivo secou completamente no mesmo período de tempo mas não fixou no vidro, o que criaria um obstáculo no revestimento interno do *liner*, já que é necessário que a solução polimérica seja fixada firmemente ao vidro do *liner*. Por esse motivo o aditivo secante não foi utilizado para a produção dos *liners* revestidos.

3.6 Otimização dos processos de revestimento e secagem

Após o processo de *casting* o *liner* foi aquecido sob uma temperatura de 100 °C por 4 horas, a fim de garantir uma completa finalização da secagem e fixação do polímero nas paredes internas do *liner*, bem como já realizar um condicionamento prévio para remoção de interferentes que possam ter sido absorvidos durante o processo. O aquecimento foi feito em estufa de secagem e esterilização do modelo Solab SL-100.

Para o processo completo de revestimento e secagem realizado no presente trabalho, vários parâmetros foram estudados, e seus resultados e conclusões foram abordados nos tópicos acima. Os valores ideais encontradas após a otimização foram os seguintes:

- Massa molecular do PMMA: 350.000 g mol⁻¹
- Solvente: Diclorometano CH₂Cl₂ P.A. ACS 99,5%

- Concentração da solução (%m/v): 10%m/v
- Forma de inserção da solução polimérica no *liner*: com micropipeta de 10-100 μL
- Uso de aditivo secante: não
- Velocidade de rotação durante a secagem: 2700 rpm
- Incidência de luz fluorescente: não
- Tempo em rotação durante a secagem: 6 horas
- Temperatura do aquecimento final: 100 °C
- Tempo no aquecimento final: 4 horas

3.7 Estudo da capacidade de extração

Os analitos 1-dodecanol e todos os pesticidas estudados foram devidamente extraídos e determinados pelos respectivos métodos cromatográficos. Em relação aos alcanos, apenas os de maior cadeia carbônica foram extraídos, devido à rápida volatilização daqueles com menor cadeia carbônica. Os cromatogramas obtidos e a discussão específica de cada grupo de analitos será apresentada nos próximos tópicos.

Os métodos cromatográficos utilizados se basearam em métodos oficiais sugeridos por instituições e bancos de dados confiáveis no âmbito acadêmico e científico de uma forma geral. Métodos cromatográficos não são padronizados, por isso as sugestões propostas pelas instituições devem ser usadas em cada laboratório como ponto de partida básico para gerar seu próprio procedimento operacional padrão detalhado [81] [82].

No presente trabalho os métodos sugeridos foram otimizados para atender as necessidades específicas do projeto, como por exemplo o ajuste da temperatura de injeção para valores menores do que 250 °C, a fim de que o PMMA do *liner* revestido não seja degradado.

3.8 Tratamento térmico do *liner* revestido

Inicialmente, submeteu-se o *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, a um tratamento térmico sob 250 °C por 4 horas, a fim de retirar interferentes provenientes

do processo de revestimento e secagem, além de monômeros restantes de polimerização incompleta.

A necessidade de se realizar esse tratamento térmico foi observada após a leitura do branco do *Liner* IA sob o método cromatográfico do 1-dodecanol. Como pode ser observado na Figura 40, o cromatograma apresentou muitos interferentes em diversos tempos de retenção.

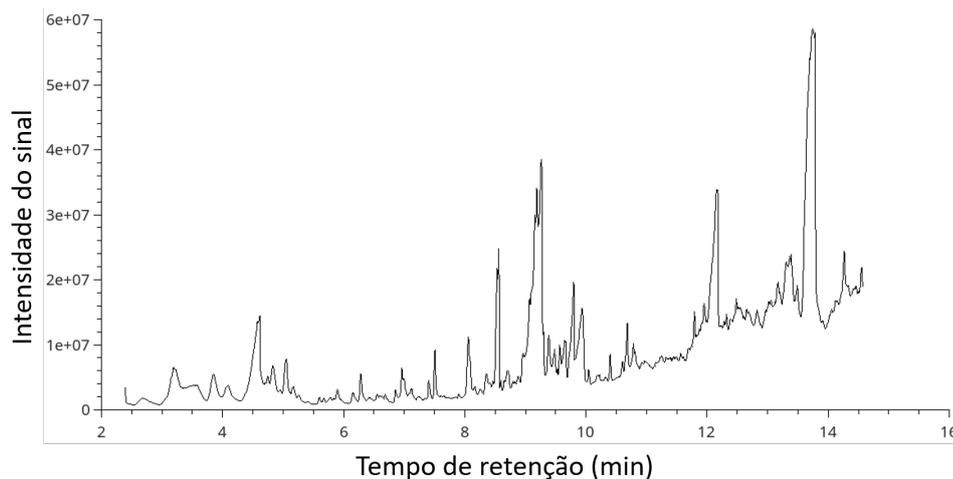


Figura 40 – Cromatograma do branco do *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, antes do tratamento térmico, obtido no modo *full scan*.

Após esse tratamento, o *Liner* IA foi testado novamente e o cromatograma não mais apresentava a maioria dos picos dos interferentes, como pode ser visto na Figura 41.

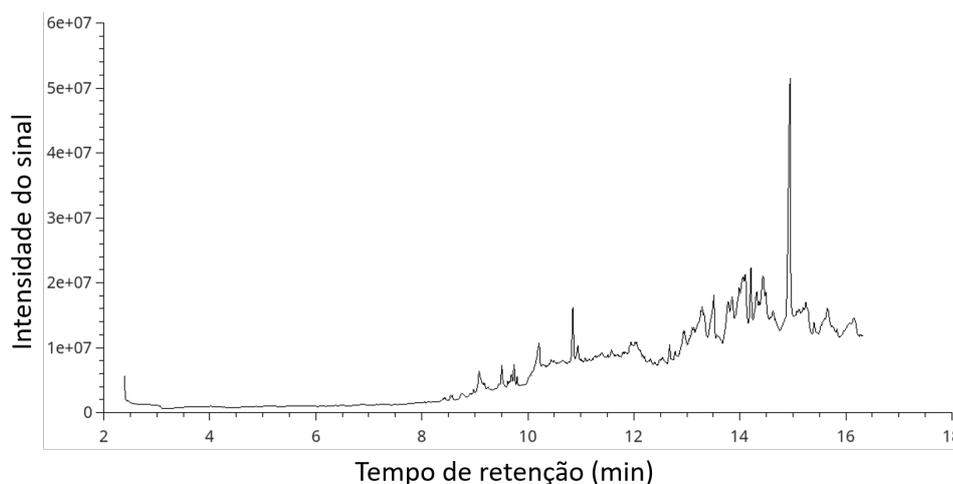


Figura 41 – Cromatograma do branco do *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹ depois do tratamento térmico, obtido no modo *full scan*.

Entretanto, mesmo após o tratamento térmico, o cromatograma do *Liner* IA ainda apresentou alguns sinais de interferentes nos tempos de retenção mais altos. A principal fonte de interferência possível é a degradação térmica do PMMA, que gera monômeros do polímero e ocasiona os sinais interferentes [85].

A coloração amarelada do *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, após mais de 25 análises, que será apresentada e discutida posteriormente, é uma forte evidência da degradação do PMMA e, portanto, da presença desses interferentes.

Como a necessidade do tratamento térmico foi notada durante a utilização do *Liner* IA, revestido com PMMA 120.000 g mol⁻¹, que foi testado antes do *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, este último não foi analisado antes do tratamento térmico, apenas depois do processo. O cromatograma obtido é apresentado na Figura 42

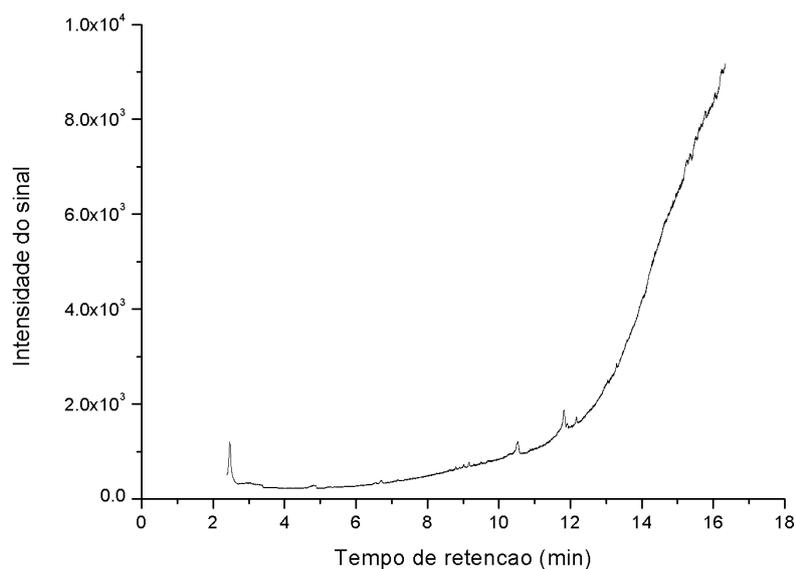


Figura 42 – Cromatograma do branco do *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹ depois do tratamento térmico, obtido no modo *full scan*.

O tratamento térmico precisa ser realizado apenas 1 vez, imediatamente após os processos de revestimento e secagem, e antes do início do seu uso nas análises de rotina. Após o começo de utilização do *liner* revestido não foi necessário realizar o tratamento térmico novamente.

3.9 Condicionamento da coluna e do *liner revestido*

Os processos de condicionamento da coluna foram realizados sempre que havia a possibilidade de contaminação, se a coluna havia sido usada para uma pesquisa diferente ou com amostras muito sujas. Os resultados obtidos pelos condicionamentos da coluna foram satisfatórios (Figura 43).

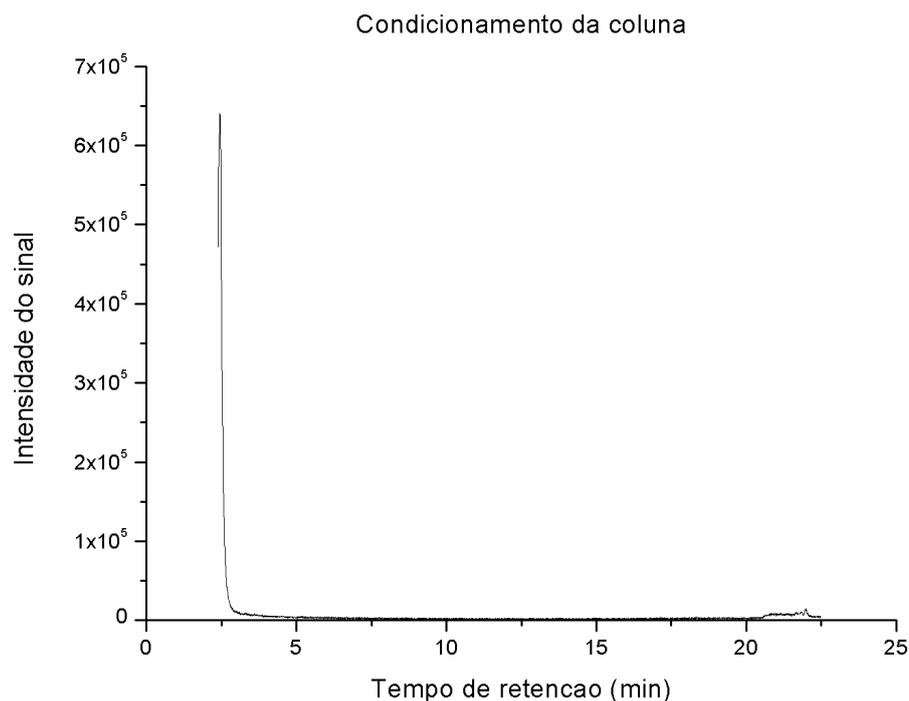


Figura 43 – Condicionamento da coluna cromatográfica.

Os cromatogramas obtidos pelos condicionamentos do *Liner IA*, revestido com PMMA $120.000 \text{ g mol}^{-1}$, foram realizados nas temperaturas de $230 \text{ }^\circ\text{C}$, $240 \text{ }^\circ\text{C}$ e $250 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 44).

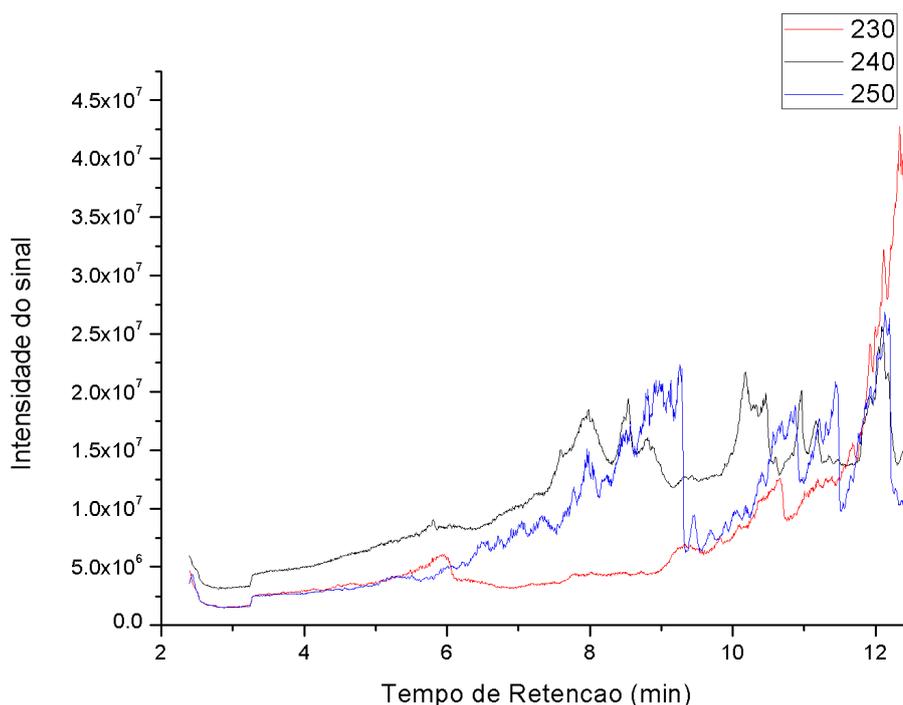


Figura 44 – Condicionamento do *Liner* IA, revestido com PMMA $120.000 \text{ g mol}^{-1}$ em temperaturas de injeção de 230 °C, 240 °C e 250 °C.

Analisando os cromatogramas, é possível notar que aumentando a temperatura do condicionamento de 230 °C para 240 °C e posteriormente para 250 °C a quantidade de sinais aumenta. O gráfico de TG mostrou que o PMMA começa a se degradar em aproximadamente 250 °C, dessa forma o condicionamento próximo a essa temperatura foi prejudicial e os interferentes observados no cromatograma provavelmente são monômeros do PMMA e compostos derivados da degradação térmica.

É importante ressaltar que o tratamento térmico sob essa temperatura é benéfico, para que haja uma remoção eficiente de possíveis monômeros não polimerizados, mas que o condicionamento deve ser feito a uma temperatura inferior, para que outros interferentes sejam retirados e o polímero não seja degradado.

O condicionamento do *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, foi realizado sob temperatura de injeção de 225 °C, já que os testes com o *Liner* IA indicaram que a temperatura apropriada para o processo é abaixo de 230 °C. Com o condicionamento do *Liner* IIA foi possível constatar a remoção de todos os interferentes (Figura 45).

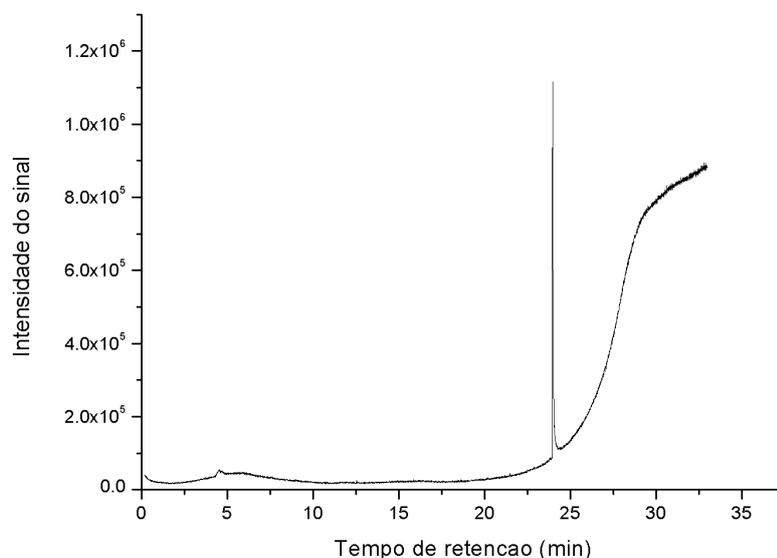


Figura 45 – Condicionamento do *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, a uma temperatura de injeção de 225 °C, obtido no modo *full scan*.

O pico no tempo de retenção em aproximadamente 24 minutos corresponde ao ftalato DEHP (*DiEtilHexilPhthalate*), um composto comumente encontrado em laboratórios analíticos e que geralmente representa contaminações. A presença desse interferente não inviabiliza a realização das análises, porque seu tempo de retenção característico não é similar aos tempos de retenção dos analitos.

3.10 Determinação de 1-dodecanol

As observações iniciais indicaram que o *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, foi o mais adequado para utilização nas análises cromatográficas, já que o material se mostrou termicamente mais estável a longo prazo e os cromatogramas obtidos com o mesmo se apresentaram mais limpos e sem a presença de interferentes.

Por esse motivo as análises posteriores, para as determinações dos analitos foram feitas com o *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹.

A Figura 46 apresenta o cromatograma da solução de 1-dodecanol. O pico duplo no tempo de retenção do 1-dodecanol caracteriza a presença de interferentes que coeluíram junto ao analito, que podem ser provenientes da solução do analito. Além disso, o próprio 1-

dodecanol pode estar saindo em duas etapas, indicando que a dessorção não está ocorrendo de forma uniforme e porções distintas de 1-dodecanol estão iniciando a corrida na coluna em tempos ligeiramente diferentes.

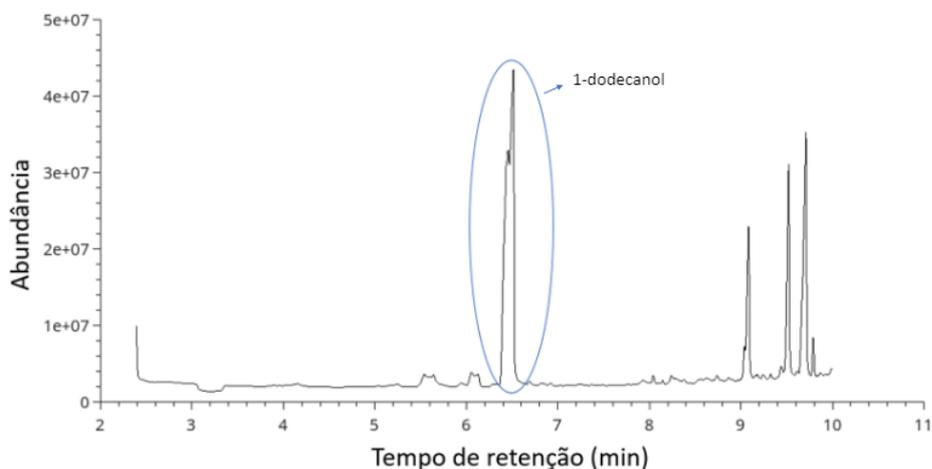


Figura 46 – Cromatograma da extração de 1-dodecanol em solução de 5 ppm, utilizando o *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, obtido no modo *full scan*, evidenciando em azul o sinal do analito, em 6,5 minutos.

Para solucionar o problema, utilizou-se o método de monitoramento de um único íon (SIM, do inglês *Single Ion Monitoring*), selecionando o íon com razão m/z de 140, previamente encontrado como o íon característico do 1-dodecanol no espectrômetro de massas. A Figura 47 apresenta o cromatograma obtido com o método de detecção por SIM e solução de 1-dodecanol.

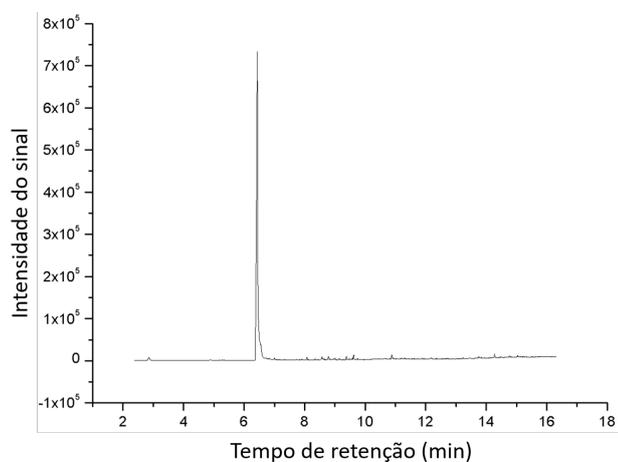


Figura 47 – Cromatograma da extração de 1-dodecanol, utilizando o *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, no modo SIM de detecção.

Com a utilização do modo SIM foi possível solucionar o problema da coeluição no pico do 1-dodecanol e dos interferentes ao final do cromatograma. Dessa forma, foi possível constatar que de fato o pico duplo caracterizava a presença de interferentes, e não de dessorção não-uniforme do analito no injetor.

3.11 Determinação dos alcanos

A determinação dos alcanos foi realizada a fim de se avaliar o perfil de absorção do PMMA. A literatura afirma que os poliacrilatos absorvem diversos grupos de compostos, de diferentes polaridades. Entretanto, como o fabricante da fibra de SPME utilizada na literatura citada não especifica qual é exatamente o poliacrilato utilizado, decidiu-se por confirmar o perfil de absorção do PMMA [66] [67].

A solução de alcanos analisada apresentava hidrocarbonetos com cadeia carbônica variando de 8 a 20 carbonos. Pelo cromatograma apresentado na Figura 48 é possível observar a presença de picos correspondentes aos alcanos de C17 a C20.

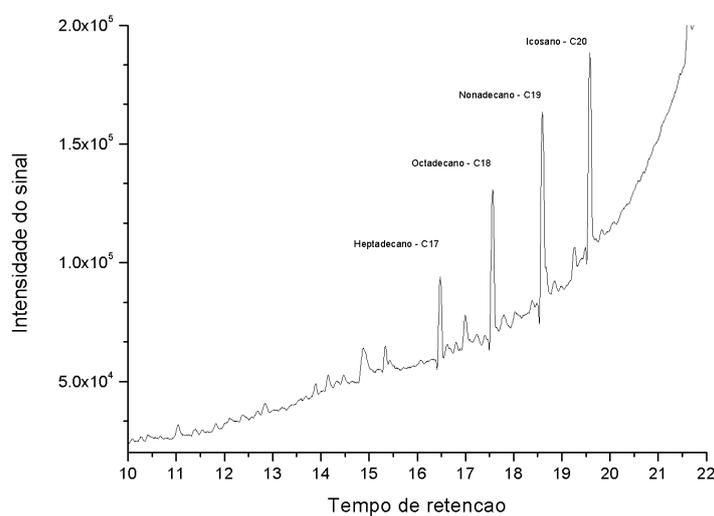


Figura 48 – Cromatograma da extração dos alcanos, utilizando o *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, obtido no modo *full scan*.

Como foram observados apenas picos dos alcanos com as cadeias carbônicas mais longas - C17 a C20 - é possível concluir que o *Liner* IIA, com PMMA 350.000 g mol⁻¹ absorveu mais preferencialmente os alcanos maiores.

Entretanto, notou-se uma importante característica do sistema FEx, os recipientes estavam com as tampas abertas. Isso poderia ter ocasionado a volatilização dos alcanos de cadeias carbônicas menores, que por natureza são mais voláteis. Por esse motivo, o teste com os alcanos foi repetido, com as tampas do sistema FEx fechadas (Figura 49).

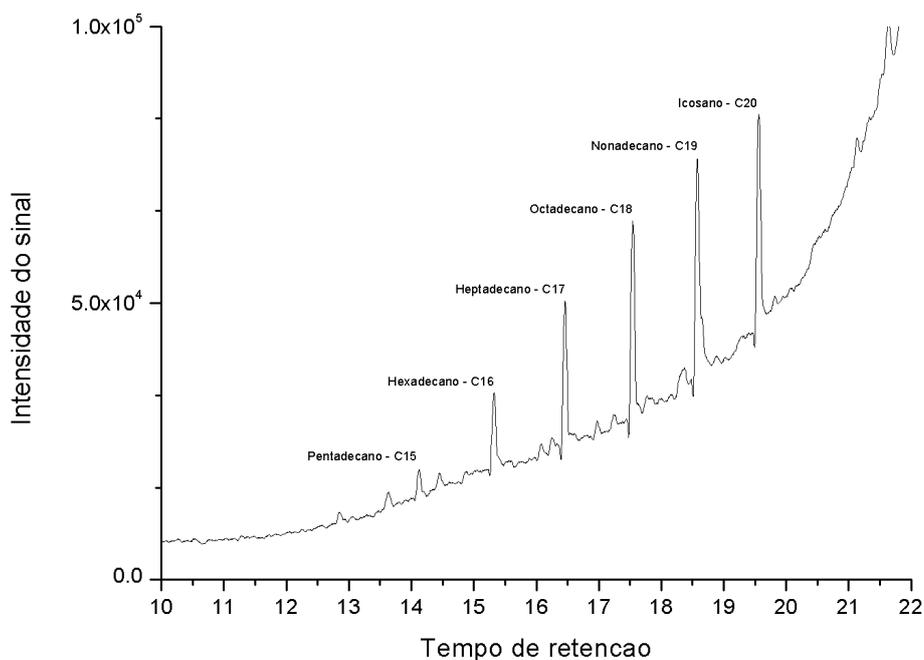


Figura 49 – Cromatograma da extração dos alcanos, utilizando *Liner* IIA, revestido com PMMA 350.000 g mol⁻¹, obtido no modo *full scan*, e o sistema FEx com as tampas dos recipientes fechadas.

Com as tampas dos recipientes fechadas observou-se que o *Liner* IIA foi capaz de absorver dois alcanos a mais do que com as tampas abertas, C15 e C16. Os compostos absorvidos sob essa configuração do FEx tinham cadeias carbônicas menores, como era esperado, já que com os recipientes fechados mesmo os compostos mais voláteis ficam aprisionados no sistema e são absorvidos pelo material extrator.

Os alcanos de C8 a C14 não foram capturados pelo *Liner* IIA. Isso pode indicar que o PMMA 350.000 g mol⁻¹ não foi adequado para o trapeamento de compostos mais voláteis.

3.12 Efeito memória do sistema

O sistema FEx + *Liner* IIA não apresentou efeito memória ao longo do tempo. Mesmo após mais de 100 análises o *Liner* IIA e o FEx não apresentaram sinais de contaminação, diminuição da eficiência ou presença de interferentes.

Os testes de efeito memória foram realizados sob o método cromatográfico da análise dos pesticidas. O teste do *Liner* IIA imediatamente após uma análise é apresentado na Figura 50 e não é possível notar quaisquer sinais interferentes nos tempos de retenção dos analitos estudados, indicando que toda quantidade de analito previamente absorvido havia sido desorvida na corrida da análise.

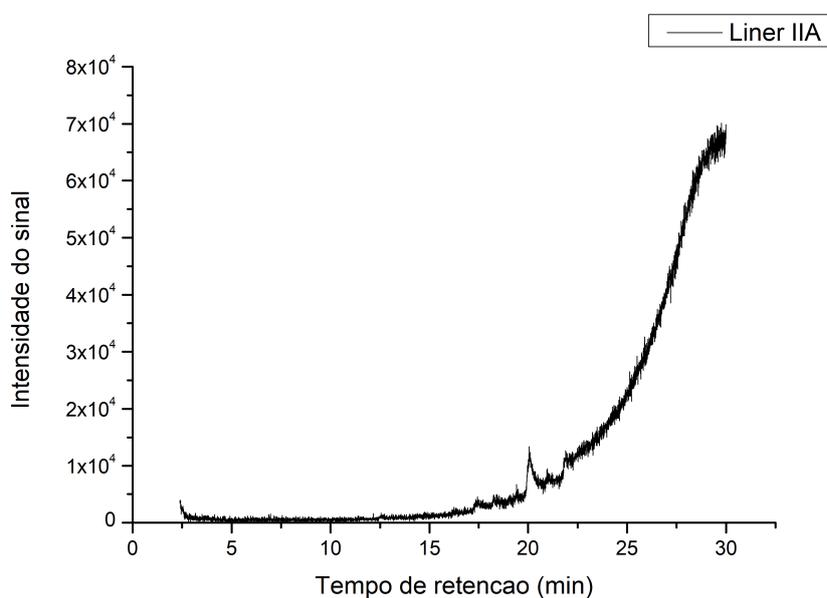


Figura 50 – Cromatograma do teste de efeito memória do *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, obtido no modo *full scan*.

Para o sistema FEx + *Liner* IIA o teste de efeito memória foi feito passando-se um fluxo de água destilada pelo FEx por 30 minutos. O cromatograma também não apresentou quaisquer sinais provenientes de possíveis interferentes (Figura 51), mesmo os menores sinais não representam interferência significativa, indicando que o processo de limpeza do FEx foi eficiente na remoção de analitos previamente extraídos.

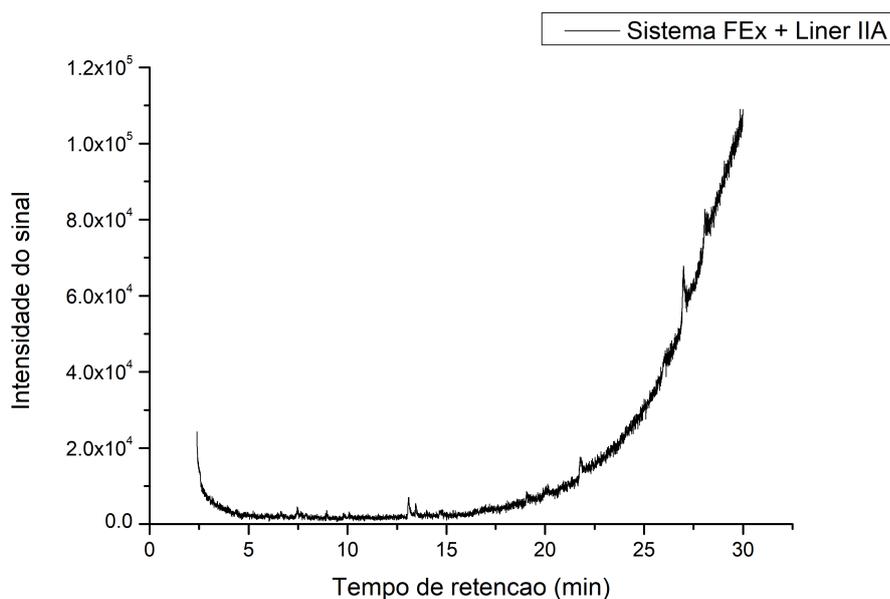


Figura 51 – Cromatograma do teste de efeito memória do Liner IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, obtido no modo *full scan*.

3.13 Validação do método para análise de pesticidas

Os quatro pesticidas estudados - heptacloro, aldrin, endosulfan e dieldrin - têm seu uso proibido na legislação brasileira desde 1987, entretanto materiais residuais ainda se encontram presentes em águas e solos do Brasil. Por isso a determinação e quantificação dos mesmos se faz de grande importância no cenário ambiental [50] [51].

3.13.1 Tempo de equilíbrio termodinâmico para extração do pesticidas

O método de preparo de amostras desenvolvido no presente trabalho possui como princípios técnicos fundamentais os equilíbrios termodinâmicos dos analitos entre a fase extratora e a amostra. Sendo assim, para que a quantificação fosse precisa e fornecesse resultados satisfatórios, foi necessário controlar o tempo de fluxo da amostra no FEx.

Foram testados tempos de fluxo de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, cada um em triplicata, até encontrar o tempo mínimo necessário para o equilíbrio ser alcançado. Não foi possível encontrar esse valor na literatura porque o equilíbrio depende da natureza do analito e das características do material sorvente específico, sendo, portanto, melhor encontrado experimentalmente.

A solução padrão de pesticidas utilizada continha 16 diferentes pesticidas, e cada um possui um tempo de equilíbrio termodinâmico específico em relação à sua absorção pelo PMMA. Foram estudados os tempos de equilíbrio de 5 pesticidas (heptacloro, aldrin, endosulfan, dieldrin), que pelo método cromatográfico utilizado são os que apresentam maior repetibilidade nos sinais e maior resolução.

Na Figura 52 são ilustrados sobrepostos os cromatogramas obtidos em cada tempo de equilíbrio testado. É possível notar que com o aumento do tempo de contato entre a amostra e o revestimento de PMMA, a absorção dos analitos aumenta.

Entretanto, a partir de 30 minutos a quantidade absorvida se mantém em uma mesma faixa, indicando que 30 minutos é o tempo de equilíbrio alcançado. Isso indica que aumentar o tempo de extração além dos 30 minutos não irá aumentar a quantidade de analito absorvida. O padrão de absorção do PMMA com o tempo foi avaliado para cada pesticida estudado.

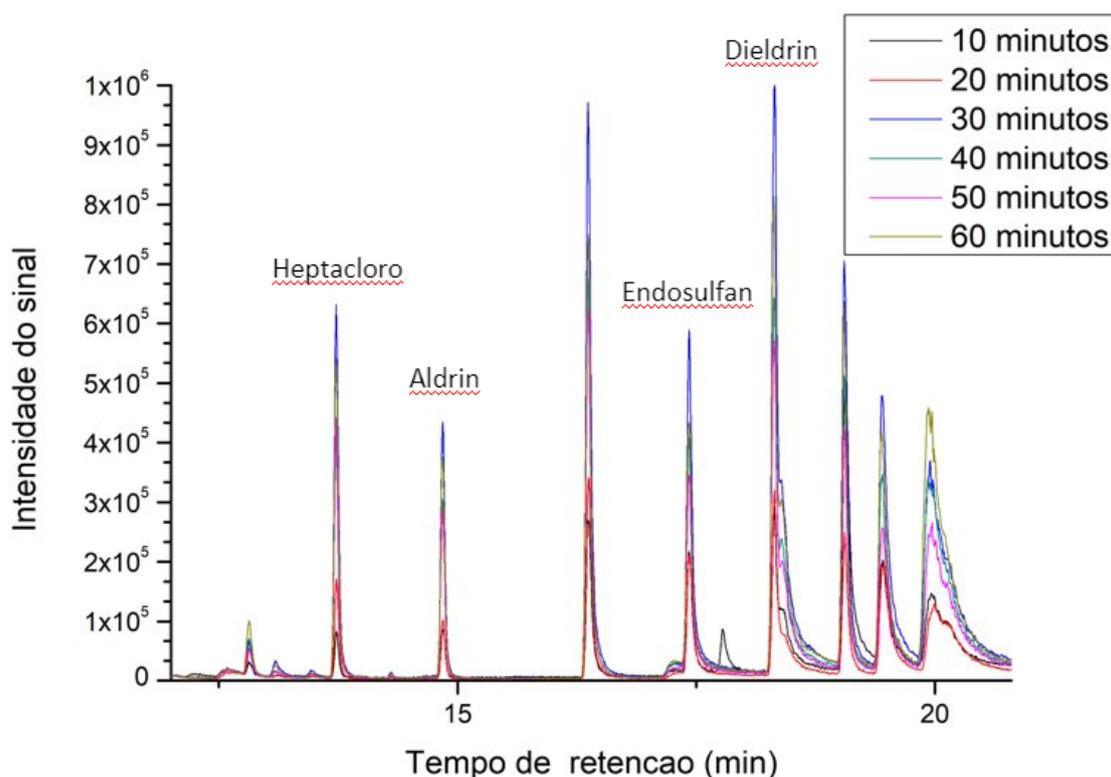


Figura 52 – Cromatogramas nos tempos de equilíbrio estudados.

Heptacloro

Para o heptacloro, o RSD das áreas dos sinais cromatográficos nas replicatas de cada tempo variou de 6,69% a 32,20% (Tabela 8). Os tempos que mais apresentaram variação foram em 40 minutos e 60 minutos.

Tabela 8 – Tempo de equilíbrio do Heptacloro

Tempo de extração (min)	10	20	30	40	50	60
Média	$2,22 \cdot 10^6$	$5,13 \cdot 10^6$	$1,27 \cdot 10^7$	$2,29 \cdot 10^7$	$1,45 \cdot 10^7$	$1,29 \cdot 10^7$
SD	$2,53 \cdot 10^5$	$5,14 \cdot 10^5$	$8,49 \cdot 10^5$	$5,63 \cdot 10^6$	$2,02 \cdot 10^6$	$4,16 \cdot 10^6$
RSD (%)	11,39	10,01	6,68	24,62	13,91	32,20

Com os dados da Tabela 8 foi construído o gráfico do tempo de equilíbrio do heptacloro (Figura 53). É possível notar que a partir de 30 minutos a quantidade absorvida se mantém em uma mesma faixa, indicando que o tempo de equilíbrio foi alcançado. Entretanto, vale ressaltar que como alguns valores de RSD para as replicatas estavam acima do ideal, é necessário solucionar o obstáculo da repetibilidade a fim de encontrar resultados mais precisos.

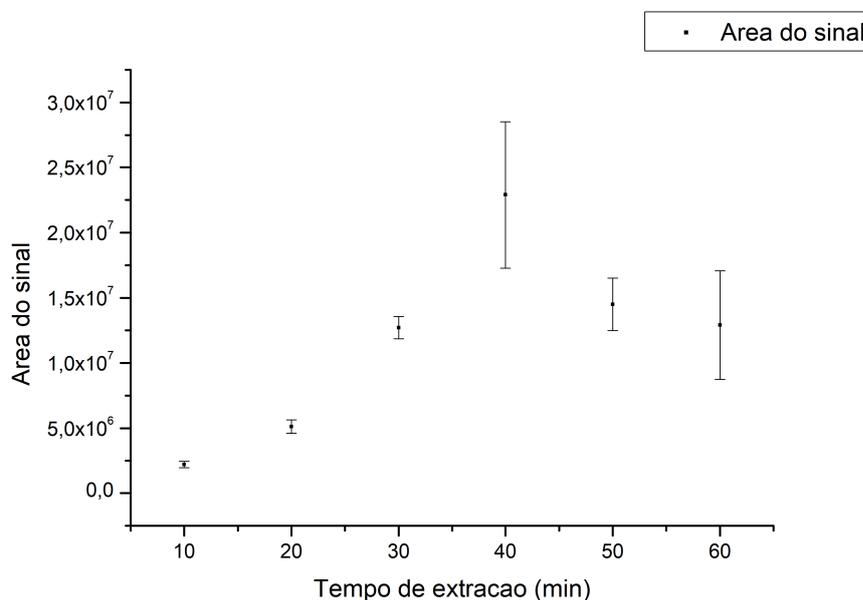


Figura 53 – Gráfico do tempo de equilíbrio do heptacloro.

A baixa repetibilidade dos valores possivelmente se deve ao processo de retirada do excesso de amostra após o período de extração. Esse processo é feito manualmente e gera gotículas residuais da solução aquosa no interior do *liner*. A cada extração o padrão

e a quantidade de gotículas residuais geradas muda, ocasionando possivelmente uma baixa repetibilidade nas leituras. Na Figura 54 são ilustrados dois *liners* após períodos de extração, exemplificando os diferentes padrões de gotículas obtidos.

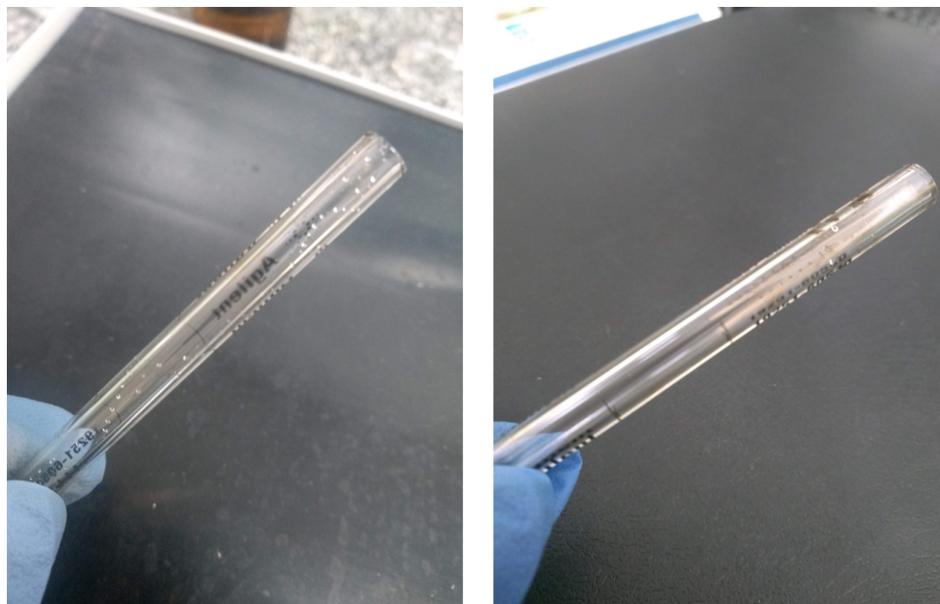


Figura 54 – *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, após dois processos de extração, destacando as diferentes quantidades de gotículas residuais.

Esse obstáculo já está sendo solucionado, e um protótipo de pré-secagem está sendo desenvolvido para garantir maior repetibilidade nesse processo. Após a finalização do novo dispositivo a tendência é que a repetibilidade das extrações seja melhor para todos os cinco pesticidas estudados.

Aldrin

O estudo do tempo de equilíbrio para o aldrin indicou que 30 minutos também é suficiente para alcançar o equilíbrio de absorção desse pesticida com o PMMA. O RSD das áreas dos sinais cromatográficos nas replicatas de cada tempo variou de 5,65% a 33,76% (Tabela 9).

Os tempos que mais apresentaram variação foram em 40 minutos e 60 minutos. Como esse padrão também foi notado na análise do heptacloro, mais uma replicata de cada tempo foi realizada, haja vista que o problema poderia ser em uma replicata específica, sendo portanto um outlier na análise. Entretanto, mesmo com a realização de uma nova replicata de cada tempo (40 e 60 minutos), os valores de RSD permaneceram altos (acima de 20%).

Tabela 9 – Tempo de equilíbrio do Aldrin

Tempo de extração (min)	10	20	30	40	50	60
Média	$2,49 \cdot 10^6$	$3,06 \cdot 10^6$	$1,26 \cdot 10^7$	$1,73 \cdot 10^7$	$1,03 \cdot 10^7$	$9,22 \cdot 10^6$
SD	$3,37 \cdot 10^5$	$2,56 \cdot 10^5$	$7,11 \cdot 10^5$	$4,41 \cdot 10^6$	$1,98 \cdot 10^6$	$3,11 \cdot 10^6$
RSD (%)	13,51	8,36	5,65	25,54	19,15	33,76

O gráfico obtido com os dados da Tabela 9 é apresentado na Figura 55. Assim como no heptacloro, é possível notar que a partir de 30 minutos a variação permanece uniforme, indicando que o tempo de equilíbrio do aldrin foi alcançado.

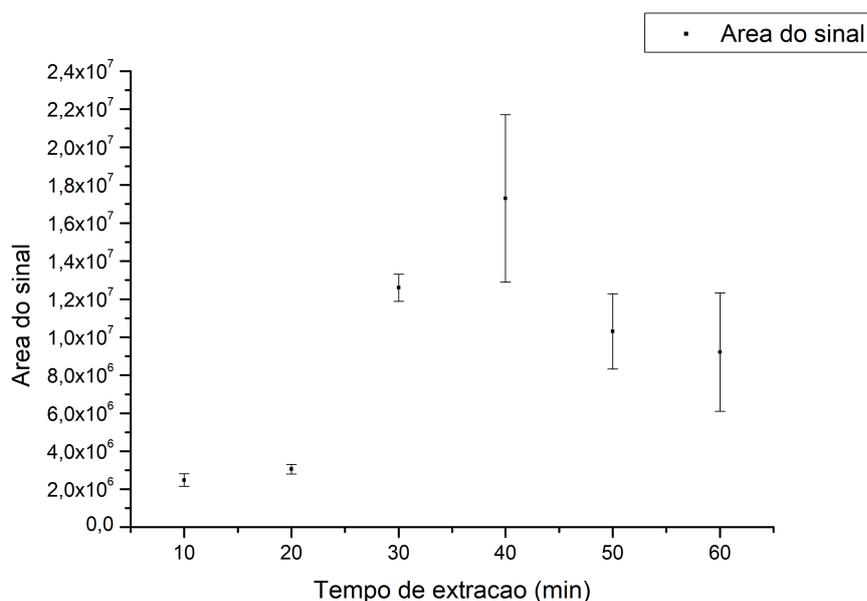


Figura 55 – Gráfico do tempo de equilíbrio do aldrin.

Endosulfan

Para o endosulfan, os valores de RSD das áreas dos sinais variaram de 1,71% a 28,12% (Tabela 10). Os tempos que mais apresentaram variação foram em 10 minutos e 60 minutos. Mais uma replicata de cada tempo foi realizada, tendo em mente que o problema poderia ser em uma replicata específica. Entretanto, mesmo com a realização de uma nova replicata de cada tempo (10 e 60 minutos), os valores de RSD permaneceram altos, acima de 15% para o tempo de 10 minutos e acima de 20% para 60 minutos.

Tabela 10 – Tempo de equilíbrio do endosulfan

Tempo de extração (min)	10	20	30	40	50	60
Média	$9,05 \cdot 10^6$	$9,17 \cdot 10^6$	$1,61 \cdot 10^7$	$2,03 \cdot 10^7$	$1,90 \cdot 10^7$	$1,64 \cdot 10^7$
SD	$1,59 \cdot 10^6$	$1,56 \cdot 10^5$	$1,40 \cdot 10^6$	$3,24 \cdot 10^6$	$9,31 \cdot 10^5$	$4,62 \cdot 10^6$
RSD (%)	17,57	1,71	8,71	16,00	4,89	28,12

O estudo do tempo de equilíbrio para o endosulfan indicou também que 30 minutos é suficiente para alcançar o equilíbrio de absorção desse pesticida entre a amostra e o PMMA (Figura 56).

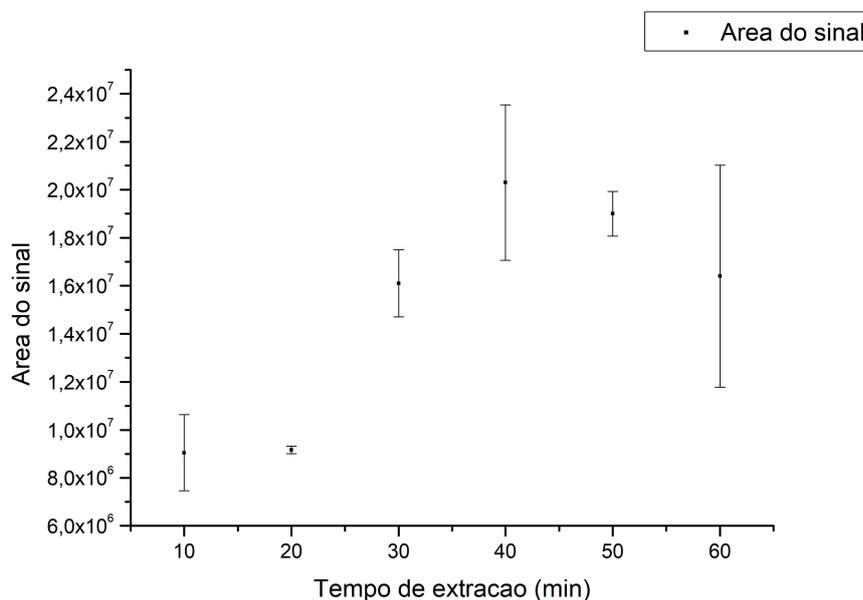


Figura 56 – Gráfico do tempo de equilíbrio do endosulfan.

Dieldrin

O estudo do equilíbrio do dieldrin resultou em valores de RSD entre 3,30% e 49,67% (Tabela 11). Os tempos que mais apresentaram variação foram em 10 minutos e 60 minutos. Foram feitas novas replicatas desses tempos mas os valores de RSD permaneceram altos, acima de 40% para o tempo de 10 minutos e acima de 20% para 60 minutos.

Tabela 11 – Tempo de equilíbrio do dieldrin

Tempo de extração (min)	10	20	30	40	50	60
Média	$1,21 \cdot 10^7$	$1,77 \cdot 10^7$	$1,94 \cdot 10^7$	$2,79 \cdot 10^7$	$2,59 \cdot 10^7$	$2,36 \cdot 10^7$
SD	$6,03 \cdot 10^6$	$8,07 \cdot 10^5$	$6,40 \cdot 10^5$	$5,53 \cdot 10^6$	$3,76 \cdot 10^6$	$5,89 \cdot 10^6$
RSD (%)	49,67	4,57	3,30	19,85	14,52	24,96

O estudo do tempo de equilíbrio para o dieldrin indicou também que 30 minutos é suficiente para alcançar o equilíbrio de absorção desse pesticida entre a amostra e o PMMA (Figura 57).

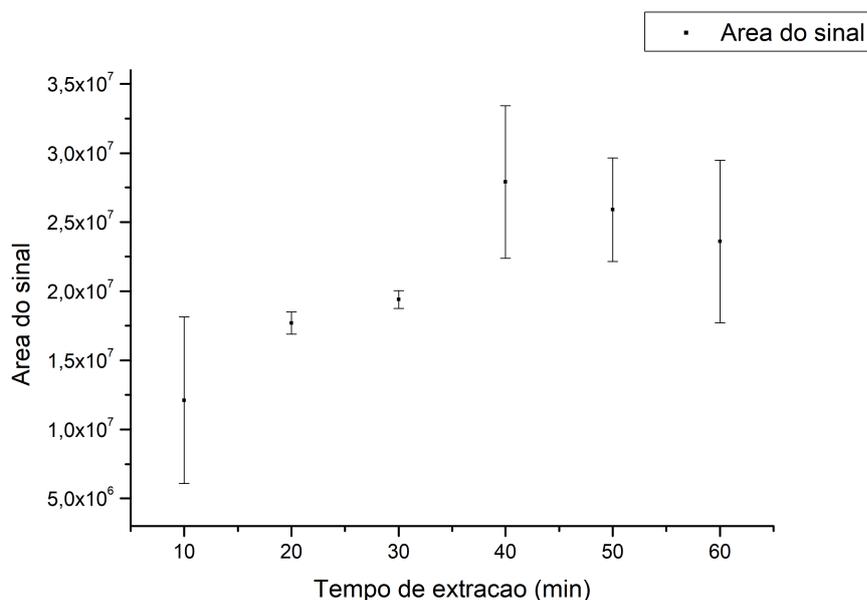


Figura 57 – Gráfico do tempo de equilíbrio do dieldrin.

Avaliando os tempos de equilíbrio de cada pesticida, estipulou-se o tempo mínimo de contato de 30 minutos, para que todos os analitos estudados fossem absorvidos e entrassem em equilíbrio termodinâmico com o PMMA.

3.13.2 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada pela construção das curvas de calibração para os pesticidas estudados. Foi utilizado o software Origin para a plotagem e as áreas dos sinais cromatográficos foram determinadas pela integração automática realizada pelo software Masshunter. Na Figura 58 são ilustrados 5 cromatogramas obtidos, 1 para cada concentração, apresentados sobrepostos.

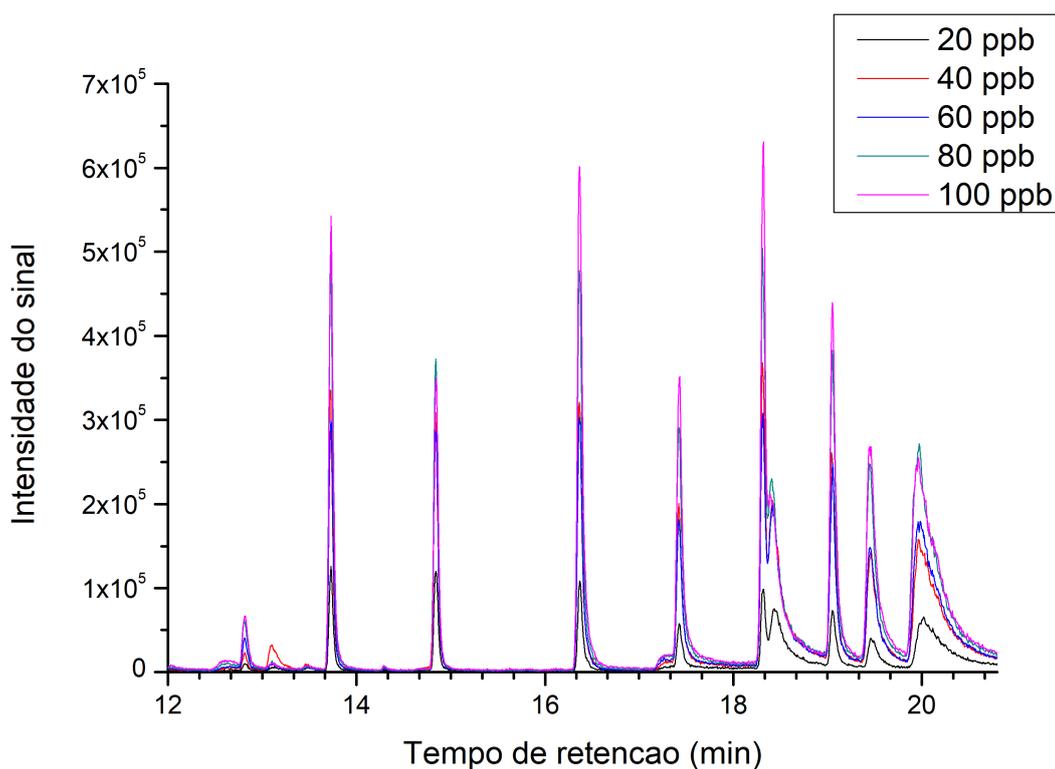


Figura 58 – Cromatogramas dos padrões de pesticidas de 20, 40, 60, 80 e 100 ppb sobrepostos. Utilizando o *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, obtido no modo *full scan*, e o sistema FEx com as tampas dos recipientes fechadas.

Heptacloro

A regressão linear da curva analítica do heptacloro (Figura 59) resultou em um coeficiente de determinação R^2 de 0,98033. Esse valor é suficiente para validar o método para a análise deste pesticida. Valores acima de 0,98 são considerados aceitáveis pelas principais instituições de padronizações como ISO, EPA e Eurachem.

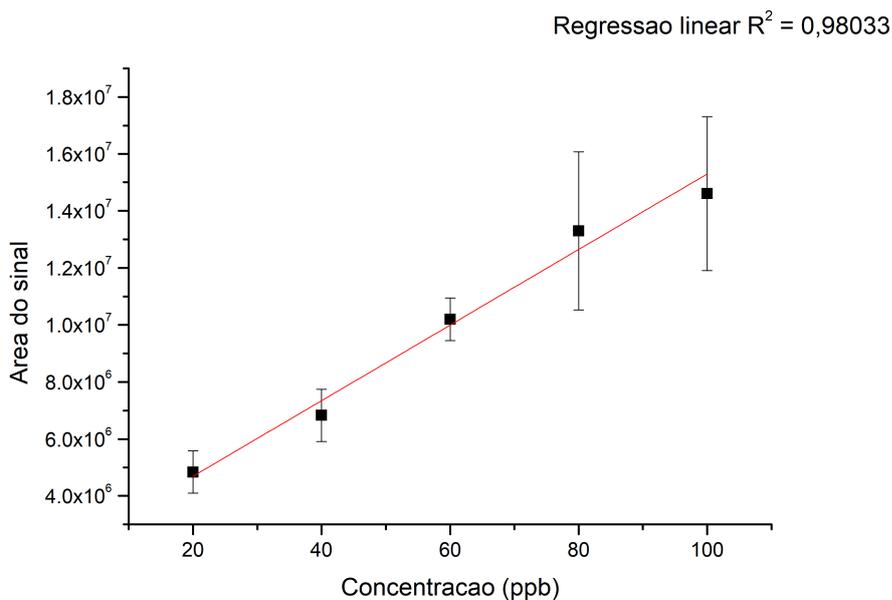


Figura 59 – Curva analítica do heptacloro.

A pesar de o coeficiente de determinação ter sido um valor satisfatório, os valores de RSD variaram de 7,30% a 20,98%, sendo que para as concentrações de 80 ppb e 100 ppb ficaram próximos de 20% (Tabela 12), indicando uma baixa repetibilidade das replicatas desses pontos.

Tabela 12 – Dados da curva analítica do heptacloro

Concentração (ppb)	20	40	60	80	100
Média	$4,84 \cdot 10^6$	$6,83 \cdot 10^6$	$1,02 \cdot 10^7$	$1,33 \cdot 10^7$	$1,46 \cdot 10^7$
SD	$7,49 \cdot 10^5$	$9,17 \cdot 10^5$	$7,46 \cdot 10^5$	$2,78 \cdot 10^6$	$2,70 \cdot 10^6$
RSD (%)	15,46	13,42	7,30	20,98	18,45

Aldrin

A regressão linear da curva analítica do aldrin (Figura 60) resultou em um coeficiente de determinação R^2 de 0,97667. Esse valor é suficiente para validar o método para a análise deste pesticida, mas não é satisfatório, indicando possibilidades de melhoria no processo global de preparo das amostras.

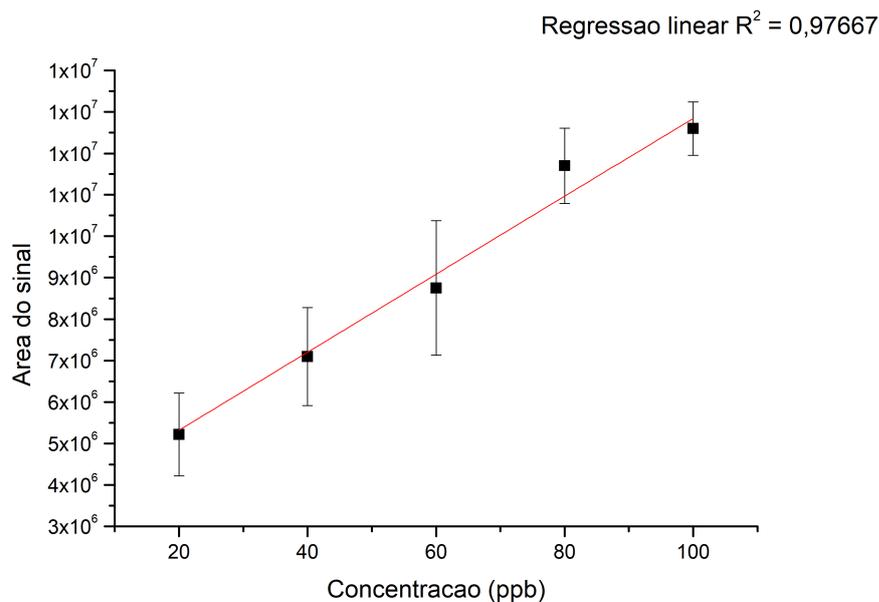


Figura 60 – Curva analítica do aldrin.

As áreas dos sinais do aldrin se encontram listadas na Tabela 13, junto aos valores de Desvio Padrão e Desvio Padrão Relativo para cada concentração, que variaram de 5,10% a 19,12%.

Tabela 13 – Dados da curva analítica do aldrin

Concentração (ppb)	20	40	60	80	100
Média	$5,22 \cdot 10^6$	$7,10 \cdot 10^6$	$8,75 \cdot 10^6$	$1,17 \cdot 10^7$	$1,26 \cdot 10^7$
SD	$9,99 \cdot 10^5$	$1,18 \cdot 10^6$	$1,62 \cdot 10^6$	$9,09 \cdot 10^5$	$6,44 \cdot 10^5$
RSD (%)	19,12	16,63	18,50	7,79	5,10

Endosulfan

A regressão linear da curva analítica do endosulfan (Figura 61) resultou em um coeficiente de determinação R^2 de 0,98078, valor esse aceitável para uma validação do método na análise desse pesticida.

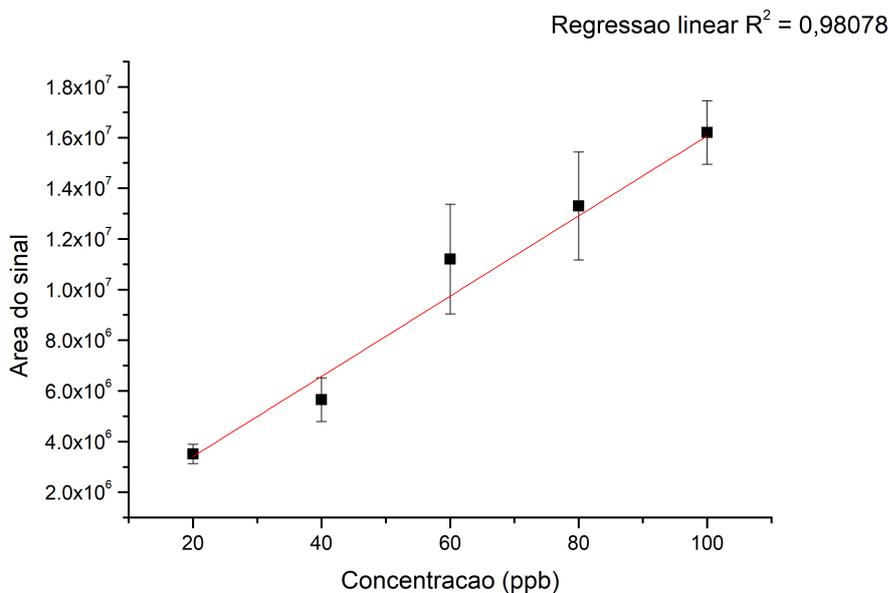


Figura 61 – Curva analítica do endosulfan.

As áreas dos sinais do endosulfan se encontram listadas na Tabela 14, junto aos valores de Desvio Padrão e Desvio Padrão Relativo para cada concentração, que variaram de 7,78% a 19,35%.

Tabela 14 – Dados da curva analítica do endosulfan

Concentração (ppb)	20	40	60	80	100
Média	$3,52 \cdot 10^6$	$5,66 \cdot 10^6$	$1,12 \cdot 10^7$	$1,33 \cdot 10^7$	$1,62 \cdot 10^7$
SD	$3,78 \cdot 10^5$	$8,65 \cdot 10^5$	$2,16 \cdot 10^6$	$2,13 \cdot 10^6$	$1,26 \cdot 10^6$
RSD (%)	10,73	15,29	19,35	15,98	7,78

Dieldrin

A regressão linear da curva analítica do dieldrin (Figura 62) resultou em um coeficiente de determinação R^2 de 0,99406. Esse valor foi o maior coeficiente encontrado dentre os cinco pesticidas estudados e é excelente para uma validação do método na análise deste pesticida.

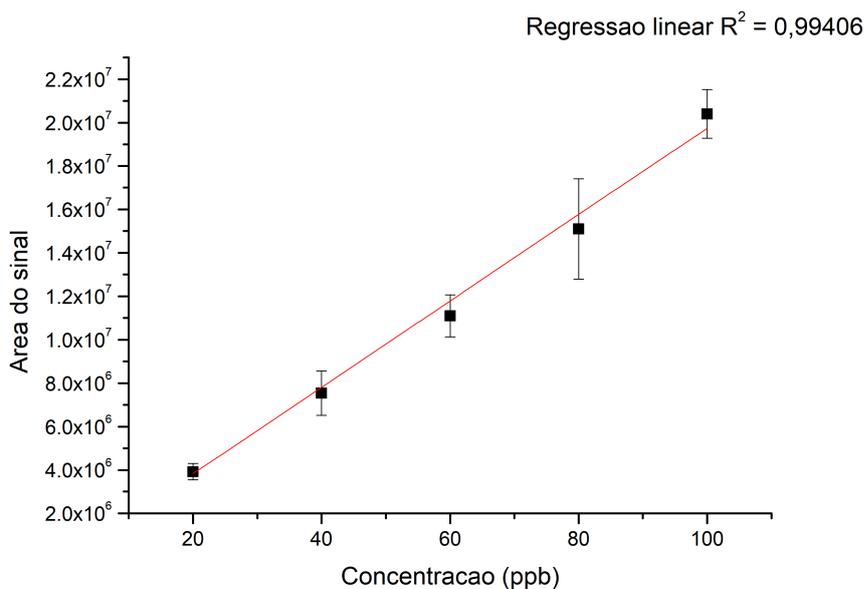


Figura 62 – Curva analítica do dieldrin.

As áreas dos sinais do dieldrin se encontram listadas na Tabela 15, junto aos valores de Desvio Padrão e Desvio Padrão Relativo para cada concentração, que variaram de 5,50% a 15,31%.

Tabela 15 – Dados da curva analítica do dieldrin

Concentração (ppb)	20	40	60	80	100
Média	$3,92 \cdot 10^6$	$7,54 \cdot 10^6$	$1,11 \cdot 10^7$	$1,51 \cdot 10^7$	$2,04 \cdot 10^7$
SD	$3,82 \cdot 10^5$	$1,02 \cdot 10^6$	$9,66 \cdot 10^5$	$2,31 \cdot 10^6$	$1,12 \cdot 10^6$
RSD (%)	9,76	13,56	8,71	15,31	5,50

Mesmo que os coeficientes de determinação do aldrin não tenham sido satisfatórios, as curvas analíticas dos outros três pesticidas (heptacloro, endosulfan e dieldrin) apresentaram valores de R^2 acima de 0,98, indicando que o processo possui repetibilidade suficiente para a validação e ainda comprova o potencial do método para aplicações futuras em amostras reais.

3.13.3 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram determinados por meio da leitura de 10 replicatas do branco do sistema, juntamente aos resultados encontrados nas curvas de calibração dos analitos.

A Tabela 16 mostra valores de RSD variando entre 38,23% e 95,75% para as replicatas do branco. Os valores altos de RSD se comuns para a faixa de trabalho (ppb) sendo estudada.

Tabela 16 – Repetibilidade das áreas dos sinais dos brancos do sistema.

Pesticida	Heptacloro	Aldrin	Endosulfan	Dieldrin
Média	$2,46 \cdot 10^4$	$8,00 \cdot 10^4$	$2,66 \cdot 10^5$	$1,11 \cdot 10^5$
SD	$1,06 \cdot 10^4$	$3,06 \cdot 10^4$	$1,06 \cdot 10^5$	$1,07 \cdot 10^5$
RSD (%)	43,02	38,23	39,76	95,75

O cromatograma de um dos brancos obtidos é ilustrado na Figura 63. O pico em aproximadamente 26 minutos foi identificado como o DEHP, um plastificante comum e geralmente encontrado em materiais de laboratório.

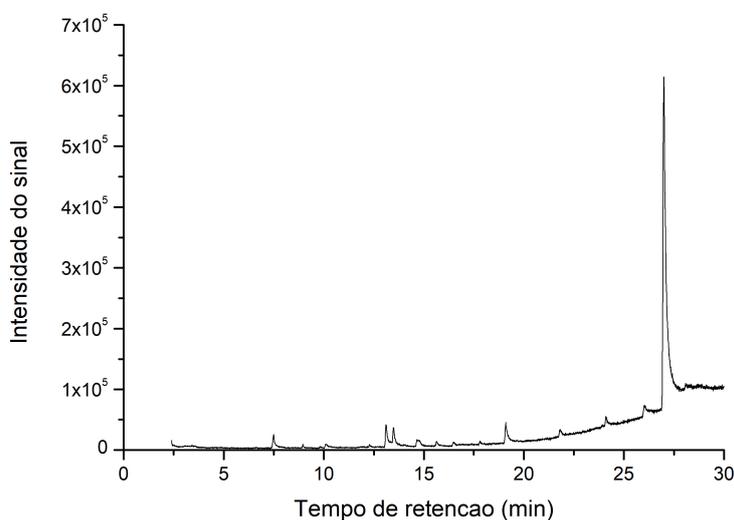


Figura 63 – Cromatograma do branco do sistema FEx, utilizando *Liner* IIA, revestido com PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$, obtido no modo *full scan*, e o sistema FEx com as tampas dos recipientes fechadas.

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram ideais para a validação do método desenvolvido no presente trabalho (Tabela 17), variando nas faixas $0,42 - 2,33 \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,10 - 6,08 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 17 – Limites de detecção e quantificação

Pesticida	Endosulfan	Dieldrin
LOD (ppb = $\mu\text{g L}^{-1}$)	0,42	2,33
LOQ (ppb = $\mu\text{g L}^{-1}$)	5,10	6,08

Não foram apresentados os dados de LOD e LOQ do heptacloro e do aldrin, pois as áreas dos brancos nos tempos de retenção desses pesticidas foram bem pequenas (Tabela 16), resultando em valores de limites de detecção e quantificação abaixo de 0.

Os valores de LOD e LOQ se encontram abaixo do menor ponto da curva analítica, de concentração 20 ppb (Tabela 18), o que é necessário para um processo de validação eficiente e reitera o potencial do método para ser aplicado a amostras reais.

Tabela 18 – Médias dos dados das curvas analíticas dos pesticidas estudados

Pesticida	Heptacloro	Aldrin	Endosulfan	Dieldrin
Padrão de 20 ppb	$4,84 \cdot 10^6$	$5,22 \cdot 10^6$	$3,52 \cdot 10^6$	$3,92 \cdot 10^6$
Padrão de 40 ppb	$6,83 \cdot 10^6$	$7,10 \cdot 10^6$	$5,66 \cdot 10^6$	$7,54 \cdot 10^6$
Padrão de 60 ppb	$1,02 \cdot 10^7$	$8,75 \cdot 10^6$	$1,12 \cdot 10^7$	$1,11 \cdot 10^7$
Padrão de 80 ppb	$1,33 \cdot 10^7$	$1,17 \cdot 10^7$	$1,33 \cdot 10^7$	$1,51 \cdot 10^7$
Padrão de 100 ppb	$1,46 \cdot 10^7$	$1,26 \cdot 10^7$	$1,62 \cdot 10^7$	$2,04 \cdot 10^7$

A Figura 64 apresenta o cromatograma de um dos brancos sobreposto ao cromatograma de uma das leituras da solução de 20 ppb de pesticidas, mostrando a capacidade do método em identificar os pesticidas estudados.

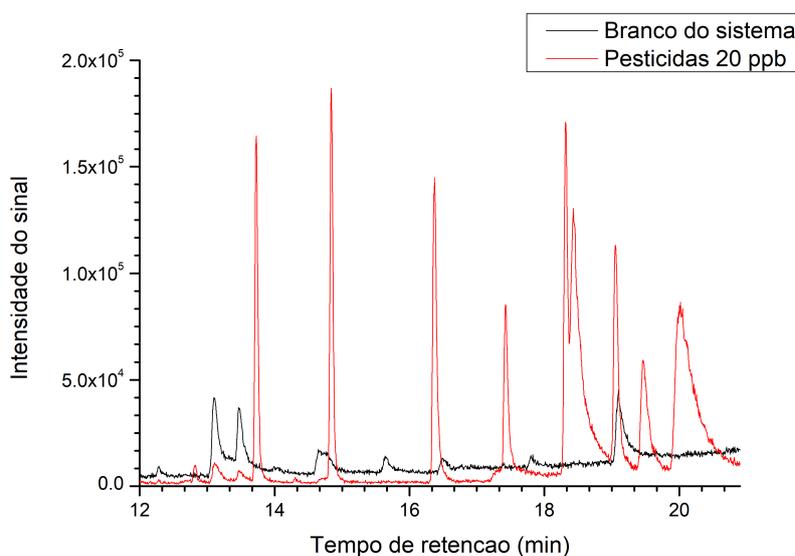


Figura 64 – Cromatograma do branco do sistema FEx sobreposto ao cromatograma do padrão de 20 ppb de pesticidas.

3.13.4 Faixa de trabalho

A faixa de trabalho representa as concentrações onde o método é adequado para a determinação e quantificação do analito em questão [61]. Para o pesticida endosulfan a faixa de trabalho foi de 5,10 ppb a 100 ppb; para o dieldri a faixa de trabalho foi de 6,08 ppb a 100 ppb; para o heptacloro e para o aldrin a faixa de trabalho foi de 20 ppb a 100 ppb.

3.13.5 Repetibilidade

A repetibilidade do método foi testada analisando a solução de pesticidas 100 ppb em cinco replicatas. Os valores de desvio padrão relativo para os 5 pesticidas estudados ficaram na faixa de 5,60% a 16,70% (Tabela 19).

Tabela 19 – Teste de repetibilidade das áreas dos sinais dos pesticidas estudados.

Pesticida	Heptacloro	Aldrin	Endosulfan	Dieldrin
Média	$1,34 \cdot 10^7$	$1,31 \cdot 10^7$	$1,54 \cdot 10^7$	$1,97 \cdot 10^7$
SD	$2,24 \cdot 10^6$	$1,42 \cdot 10^6$	$1,29 \cdot 10^6$	$1,10 \cdot 10^6$
RSD (%)	16,70	10,85	8,38	5,60

Os cromatogramas obtidos nas leituras das 5 replicatas foram sobrepostos e estão ilustrados na Figura 65.

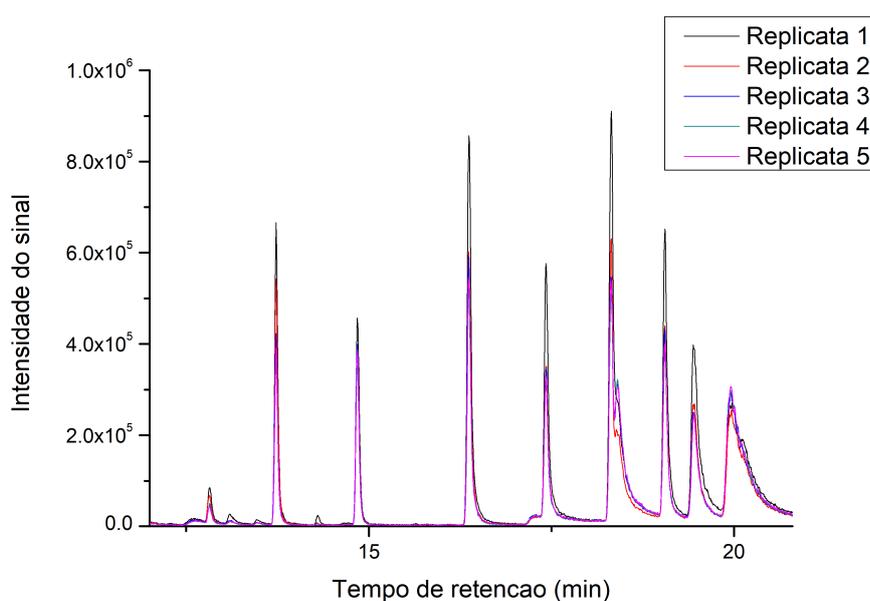


Figura 65 – Cromatogramas dos padrões de pesticidas de 100 ppb sobrepostos, analisados em quintuplicata, para avaliar a repetibilidade.

3.13.6 Precisão intermediária

A precisão intermediária foi determinada analisando a solução de pesticidas 100 ppb em sete dias diferentes. Os valores de desvio padrão relativo para os 5 pesticidas estudados ficaram na faixa de 8,93% a 31,11% (Tabela 20).

Tabela 20 – Teste de precisão intermediária das áreas dos sinais dos pesticidas estudados.

Pesticida	Heptacloro	Aldrin	Endosulfan	Dieldrin
Média	$1,67 \cdot 10^7$	$1,48 \cdot 10^7$	$1,95 \cdot 10^7$	$1,42 \cdot 10^7$
SD	$2,43 \cdot 10^6$	$3,28 \cdot 10^6$	$1,74 \cdot 10^6$	$4,41 \cdot 10^6$
RSD (%)	14,53	22,22	8,93	31,11

Os cromatogramas obtidos nas primeiras três replicatas foram sobrepostos e estão ilustrados na Figura 66.

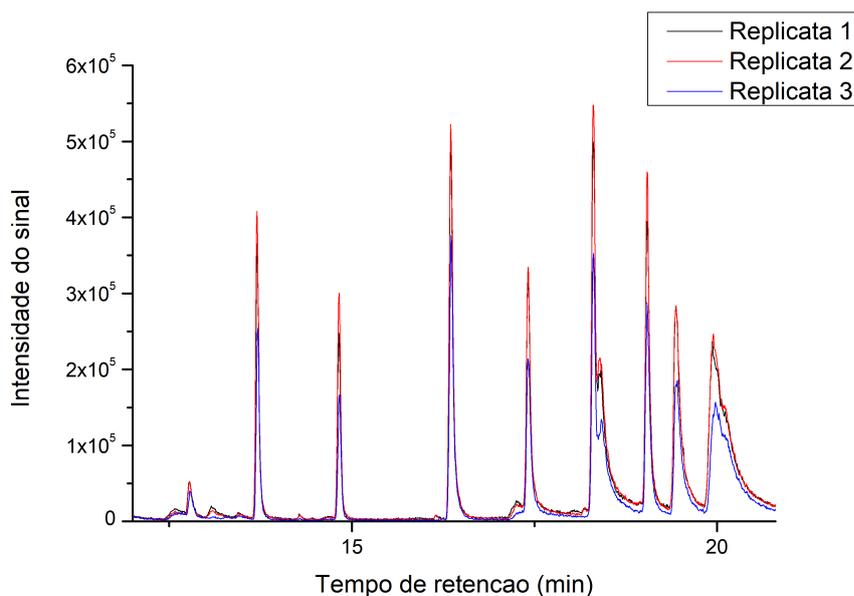


Figura 66 – Cromatogramas dos padrões de pesticidas de 100 ppb sobrepostos, analisados em sete replicatas, para avaliar a precisão intermediária.

3.13.7 Fator de pré-concentração

O fator de pré-concentração foi avaliado por meio da comparação dos resultados encontrados com injeção direta. Por esse modo não foi possível visualizar sinais de nenhum dos 16 pesticidas do padrão, em nenhuma das concentrações (Figura 67). As leituras foram realizadas em triplicata a fim de se garantir a certeza do resultado.

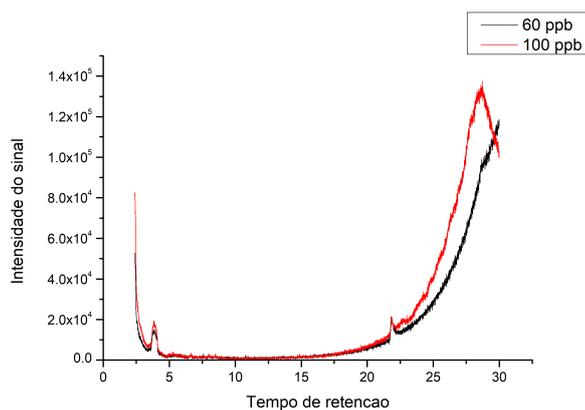


Figura 67 – Cromatogramas das soluções de 60 e 100 ppb de pesticidas, obtidos por injeção direta e no modo *full scan*.

Para efeitos de comparação, a Figura 68 apresenta um dos cromatogramas obtidos por meio de injeção direta da solução de 60 ppb, sobreposto ao resultado obtido utilizando o método de preparo de amostras desenvolvido no presente trabalho. É possível notar a diferença de extração das duas técnicas.

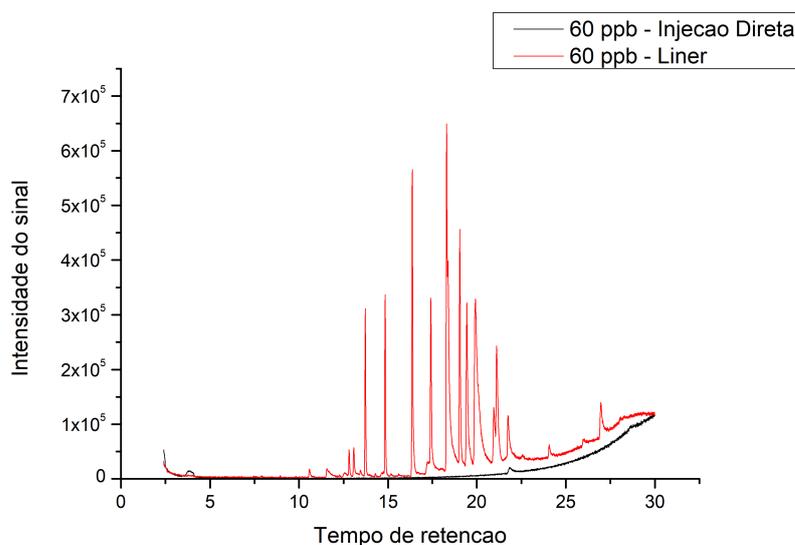


Figura 68 – Cromatogramas da solução de 60 ppb de pesticidas, obtidos por injeção direta e pelo método validado no presente trabalho.

O resultado encontrado demonstra a alta capacidade de extração e pré-concentração do dispositivo com PMMA, sendo portanto altamente adequado para determinação e quantificação de compostos da classe dos pesticidas.

3.14 Contextualização do trabalho

3.14.1 Custo da análise

Uma das grandes vantagens do método desenvolvido no presente trabalho é seu baixo custo em relação ao SPME. Os principais custos envolvidos são:

- *Liner* R\$120,00
- Reagente 25,0g PMMA $350.000 \text{ g mol}^{-1}$ R\$350,00
- Solvente Diclorometano PA 1L \$30,00

Para a produção de 1 *liner* revestido, são utilizados aproximadamente 10 mg de PMMA e 100 μL de diclorometano, o que resulta em um custo aproximado de R\$121,00. Esse *liner* pode ser utilizado por no mínimo 100 análises cromatográficas sem sinais de diminuição da eficiência extratora, resultando em um custo de R\$0,12 por análise.

O preparo de amostras por SPME envolve a compra de um dispositivo que possui um custo de aproximadamente R\$1500,00. De acordo com o fabricante, ele pode ser utilizado por 100 análises cromatográficas sem sinais de diminuição da eficiência, resultando em um custo de R\$15,00 por análise.

Observando esses valores é possível concluir que o uso do método de preparo de amostras desenvolvido pelo presente trabalho representa uma economia superior a 1000% em relação à técnica miniaturizada mais utilizada pelos laboratórios de análises químicas.

Além disso, caso o revestimento de PMMA comece a mostrar sinais de deterioração é possível trocar apenas o polímero, refazendo o revestimento e mantendo a utilização do mesmo *liner*, o que diminui ainda mais os custos a longo prazo.

Em comparação às outras principais técnicas de extração e pré-concentração de analitos em amostras aquosas, que são a Extração em Fase Sólida e a Extração com Solvente, o método desenvolvido pelo presente trabalho também possui um custo menor. Os processos

de SPE e SE possuem várias etapas, como aquecimento e agitação, o que aumenta o custo dessas técnicas, haja visto que o laboratório necessita possuir os equipamentos para essas etapas e há também os custos com eletricidade e treinamento dos funcionários. Além disso, como são utilizados solventes orgânicos para as extrações e dessorções, há um custo elevado na aquisição desses reagentes e no tratamento dos resíduos gerados pelos mesmos.

Esses solventes orgânicos, mesmo quando ambientalmente amigáveis, ainda proporcionam um grande risco para o meio ambiente e para o analista encarregado da análise, acrescentando custos inestimáveis de possível contaminação dos solos e rios e deterioração da saúde humana.

3.14.2 Eficiência do método

Por meio da análise dos resultados obtidos no presente trabalho é possível comprovar a capacidade do PMMA em absorver o 1-dodecanol, um álcool semi-volátil, pouco polar e com cadeia carbônica longa (12 carbonos). Esses resultados corroboram os encontrados em outros estudos, que também comprovam a eficiência dos poliacrilatos como materiais extratores [25] [66] [67] [70] [71] [72].

Papageorgiou e coautores também observaram que essas fibras foram eficientes na pré-concentração de analitos polares semi-voláteis. Eles publicaram em 2018 os resultados de seus estudos realizados em vinhos, no qual analisaram aminas biogênicas utilizando SPME com fibras de poliacrilato para a extração dos analitos [94].

Em 1995, Yang e Pepard já haviam constatado esse fato, por meio de um estudo no qual encontraram que o poliacrilato não absorve preferencialmente os menos voláteis, sendo capaz de absorver analitos de diferentes volatilidades e polaridades [25].

O poder de absorção dos poliacrilatos pode ser comprovado também por Cardeal e coautores, que realizaram um estudo em cachaças brasileiras e conseguiram extrair com eficiência mais de 60 tipos de analitos, com variados pesos moleculares e polaridades [66].

Até o presente momento várias etapas de desenvolvimento do método de preparo de amostras foram concluídas e otimizadas, como a definição da melhor solução polimérica, a determinação dos parâmetros ótimos de inserção e de secagem dessa solução no *liner*, a utilização do *liner* revestido para análise de diversos analitos e a validação do método para a identificação e quantificação de pesticidas organoclorados.

Os resultados foram satisfatórios para essas etapas iniciais, e melhorias já estão sendo implementadas nas etapas de deposição do polímero e de retirada do excesso de amostra após a extração, além disso novas aplicações estão sendo estudadas.

4 Conclusão

O intuito do presente trabalho foi desenvolver um método de preparo de amostras mais robusto e econômico do que os métodos atualmente utilizados, a fim de extrair compostos orgânicos voláteis em matrizes aquosas para cromatografia gasosa, utilizando poli(metil metacrilato) (PMMA) como material de captura e pré-concentração dos analitos.

Como a etapa de preparo de amostras é muito importante e é a etapa na qual há maior probabilidade de erros, faz-se necessário o desenvolvimento de novas metodologias e técnicas que trarão avanços tanto na área da química analítica quanto em outras áreas que utilizam análises químicas como ferramentas de estudo. O presente trabalho foi capaz de desenvolver com sucesso o método proposto.

Além disso, os demais objetivos de otimizar o processo de deposição do PMMA no *liner*, avaliar se o peso molecular do PMMA interfere no seu poder de trapeamento e validar o método para a determinação e quantificação de pesticidas organoclorados por cromatografia gasosa, foram também concluídos com sucesso.

Por meio da otimização dos processos foi possível também aumentar a sensibilidade do método cromatográfico, melhorando a resolução do sinal do 1-dodecanol, reduzindo a linha base do cromatograma e diminuindo os sinais interferentes. Foi possível também verificar poder de absorção do PMMA usando como compostos de teste 1-dodecanol, alcanos e pesticidas, grupos que apresentam variadas polaridades.

O PMMA foi selecionado para representar o grupo dos poliacrilatos devido à sua alta disponibilidade no mercado, preço acessível e ótima eficiência de extração. Testou-se a aplicabilidade do processo entre dois tipos de PMMA, comparando dois diferentes pesos moleculares do polímero, o que altera, conseqüentemente, o tamanho da sua cadeia polimérica.

Essa abordagem de estudar polímeros com mesmo monômero e diferentes pesos moleculares não foi encontrada na literatura até o presente momento, o que representa uma inovação deste trabalho, haja vista que o tamanho da cadeia polimérica interfere na resistência do polímero e, por isso, pode alterar a capacidade de absorção do material extrator, o que foi comprovado pelos experimentos deste trabalho.

Além disso, essa versatilidade do PMMA como material extrator é um ponto positivo para os laboratórios de análise que realizam diversos tipos de extrações na rotina diária, pois o uso de apenas um tipo de dispositivo não requer grandes variações nos materiais da análise.

O PMMA de massa molecular $350.000 \text{ g mol}^{-1}$ foi o que se mostrou mais resistente termicamente após 25 análises cromatográficas, sendo portanto o material selecionado para o trapeamento dos analitos.

O processo de deposição e *casting* do polímero foi otimizado a fim de oferecer alta repetibilidade ($\text{RSD} < 5\%$) e diminuição do tempo de secagem.

O tratamento térmico após a secagem foi constatado como necessário para melhorar a resolução dos picos cromatográficos, pois remove interferentes presentes no PMMA e no *liner*. Além disso, utilizando o método SIM de detecção no espectrômetro de massas, foi possível melhorar ainda mais a resolução do sinal do 1-dodecanol.

A validação do método para análise de quatro pesticidas - heptacloro, aldrin, endosulfan e dieldrin - apresentou resultados satisfatórios e que vão ao encontro dos dados encontrados na literatura e na legislação de pesticidas. Foram alcançados limites de detecção de $0,42$ a $2,33 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e limites de quantificação de $5,10$ a $6,08 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, valores esses muito abaixo do ponto mínimo das curvas analíticas, $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. As curvas analíticas, por sua vez, apresentaram valores de R^2 de $0,97667$ a $0,99406$, o que mostra alta linearidade. Esses valores são satisfatórios e aceitáveis pelos órgãos reguladores de metrologia e qualidade em validação analítica, como a ISO e o INMETRO.

Vale ressaltar aqui que a validação do método para análise de pesticidas foi realizada inteiramente no modo *full scan* do espectrômetro de massas, o que significa uma alta eficiência do método, haja vista que mesmo com todos os íons dentro da faixa de trabalho do espectrômetro sendo analisados ainda houve resolução suficiente para que uma completa validação fosse realizada atingindo excelentes resultados para as figuras de mérito.

O uso do FEx como equipamento de fluxo da amostra por dentro dos *liners* revestidos é uma inovação tecnológica que beneficia tanto laboratórios de pesquisa quanto laboratórios comerciais, já que torna as atividades mais rápidas, mais baratas e mais robustas.

O método desenvolvido possui algumas limitações. Uma delas se refere à quantidade

de amostra necessária e à natureza da mesma. Para realizar o processo pelo FEx são necessários no mínimo 30 mL de amostra, portanto amostras em menor quantidade devem ser diluídas a fim de alcançarem o volume necessário. Além disso, as amostras devem ser aquosas, pois o PMMA é solúvel nos principais solventes orgânicos, fazendo com que amostras que contenham esses solventes destruam o revestimento.

Mesmo considerando essas pequenas limitações, o presente trabalho permanece inovador e pioneiro, sendo que ao longo de dois anos os passos foram otimizados e ajustados para alcançar resultados mais precisos e exatos. O método aqui apresentado possui grande potencial de aplicação no mercado, e traz inovações tecnológicas que agilizam as análises químicas e as tornam mais eficientes. O impacto científico do trabalho é também comprovado pelo estudo da competência do PMMA como material extrator de compostos polares e apolares, bem como da aplicabilidade do material em preparo de amostras aquosas para cromatografia gasosa.

Por fim, as análises cromatográficas mostraram que os analitos foram facilmente dessorvidos termicamente, o que torna possível a reutilização imediata do *liner* logo após uma leitura.

O método de preparo de amostras desenvolvido é uma técnica versátil e condizente com os princípios da Química Verde. A técnica se mostrou capaz de extrair analitos voláteis e semi-voláteis, além de ser rápida, não-destrutiva, reutilizável e de baixo custo.

4.1 Perspectivas futuras

Os próximos passos a médio prazo envolvem a otimização do processo de deposição do polímero no interior do *liner*, com a utilização do novo protótipo que está em desenvolvimento, a fim de garantir repetibilidade não apenas da massa depositada, mas também da espessura do revestimento ao longo do *liner*. Será otimizado também o processo de remoção do excesso de amostra que fica presente no *liner* após a extração, obstáculo principal para a precisão do método.

A fim de melhorar ainda mais os processos de deposição polimérica, secagem e extração dos analitos serão utilizadas ferramentas estatísticas de planejamento de experimentos (DOE, do inglês *Design of Experiments*) e Quimiometria. Além disso, uma patente e um artigo estão em processos de submissão, concretizando os resultados

encontrados e firmando no mundo acadêmico a criação de um novo método analítico rápido, barato e ecológico.

Referências

- [1] BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. *Preparo de Amostras para Análise de Compostos Orgânicos*. LTC, Rio de Janeiro, 1 edition, 2015. Citado 4 vezes nas páginas 1, 2, 9 e 10.
- [2] MAJORS, R. Overview of sample preparation. *LCGC*, 33(11):46–51, 2015. Citado 3 vezes nas páginas 2, 3 e 4.
- [3] AGILENT TECHNOLOGIES. *Sample Preparation Fundamentals for Chromatography*. Agilent Technologies, 2014. Citado na página 3.
- [4] HANSON, C., editor. *Recent advances in liquid-liquid extraction*. Pergamon Press, Oxford, 1 edition, 1971. Citado na página 3.
- [5] ERKEY, C. Extraction of metals using supercritical fluids. In *Supercritical Fluids and Organometallic Compounds*, volume 1, chapter 6, pages 121–160. Elsevier, 2011. Citado na página 3.
- [6] PICO, Y. Solid-phase extraction. In *Herbicides / Solid-Phase Extraction*, pages 2991–3005. Universidade de Valência, 2000. Citado na página 3.
- [7] GUO, X.; BAI, H.; MA, X.; LI, J.; REN, Y.; OUYANG, Z.; MA, Q. Online coupling of an electrochemically fabricated solid-phase microextraction probe and a miniature mass spectrometer for enrichment and analysis of chemical contaminants in infant drinks. *Analytica Chimica Acta*, 1098:66–74, 2020. Citado na página 4.
- [8] FERNANDES, N. C. M.; GOMES, F. C. O.; GARCIA, C. F.; VIEIRA, M. L. A.; MACHADO, A. M. R. Use of solid phase microextraction to identify volatile organic compounds in brazilian wines from different grape varieties. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, jun 2018. Citado 2 vezes nas páginas 4 e 6.
- [9] SPARKAMN, D.; PENTON, Z.; KITSON, F. *Gas chromatography and mass spectrometry. A practical guide*. Elsevier, San Diego, 2 edition, 2011. Citado 8 vezes nas páginas 4, 5, 6, 7, 8, 9, 37 e 38.

- [10] BAUGH, P. J. *Gas chromatography*. Oxford University Press, Oxford, Inglaterra, Reino Unido, 1 edition, 2011. Citado na página 5.
- [11] BECEIRO-GONZÁLEZ, E.; CONCHA-GRAÑA, E.; GUIMARÃES, A.; GONÇALVES, C.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; ALPENDURADA, M. F. Optimisation and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1141(2):165–173, feb 2007. Citado na página 6.
- [12] RODRIGUEZ-LAFUENTE, A.; PIRI-MOGHADAM, H.; LORD, H. L.; OBAL, T.; PAWLISZYN, J. Inter-laboratory validation of automated SPME-GC/MS for determination of pesticides in surface and ground water samples: Sensitive and green alternative to liquid–liquid extraction. *Water Quality Research Journal of Canada*, 51(4):331–343, nov 2016. Citado na página 6.
- [13] MARRIOTT, P. J. Gas Chromatography. *Journal of Chromatography Library*, 69A:319–368, 2004. Citado 2 vezes nas páginas 6 e 7.
- [14] VASCONCELLOS, P. C.; ROCHA, G. O.; CARAMÃO, E. B.; MACHADO, M. E.; KRAUSE, L. C. Chromatographic Techniques for Organic Analytes. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 70:267–309, 2015. Citado 3 vezes nas páginas 6, 7 e 42.
- [15] PALMER, K. B.; LAFON, W.; BURFORD, M. D. Determination of iodopropynyl butylcarbamate in cosmetic formulations utilizing pulsed splitless injection, gas chromatography with electron capture detector. *Journal of Chromatography A*, 1516:131–134, sep 2017. Citado na página 8.
- [16] KHAN, Z.; KAMBLE, N.; BHONGALE, A.; GIRME, M.; CHAUHAN, V. B.; BANNERJEE, K. Analysis of pesticide residues in tuber crops using pressurised liquid extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 241:250–257, feb 2018. Citado na página 8.
- [17] CRISTALE, J.; IZABELA, O. S.; FAGNANI, E. Organophosphate esters by GC–MS: An optimized method for aquatic risk assessment. *Journal of Separation Science*, jan 2020. Citado na página 8.

- [18] TAN, S.; NIU, Y.; LIU, L.; SU, A.; HU, C.; MENG, Y. Development of a GC–MS/SIM method for the determination of phytosteryl esters. *Food Chemistry*, 281:236–241, 2019. Citado na página 9.
- [19] SETO, Y. Determination of volatile substances in biological samples by headspace gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 674(1-2):25–62, 1994. Citado 6 vezes nas páginas 9, 10, 11, 13, 14 e 15.
- [20] DUODU, G. O.; GOONETILLEKE, A.; AYOKO, G. A. Optimization of in-cell accelerated solvent extraction technique for the determination of organochlorine pesticides in river sediments. *Talanta*, 150:278–285, apr 2016. Citado na página 10.
- [21] NASCIMENTO, M. M.; ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B. A rapid low-consuming solvent extraction procedure for simultaneous determination of 34 multiclass pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter (PM_{2.5}) by GC–MS. *Microchemical Journal*, 139:424–436, jun 2018. Citado na página 10.
- [22] WASYLKA, J.; RUTKOWSKA, M.; OWCZAREK, K.; TOBISZEWSKI, M.; NAMIESNIK, J. Extraction with environmentally friendly solvents, jun 2017. Citado na página 11.
- [23] PAWLISZYN, J. Theory of Solid-Phase Microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, 38(July):270–278, 2000. Citado 2 vezes nas páginas 11 e 13.
- [24] ASTLES, G. Adsorption, Absorption and Desorption - What is the Difference? <https://www.chromatographytoday.com/news/hplc-uhplc/31/breaking-news/adsorption-absorption-and-desorption-what39s-the-difference/31397>. Acessado em: 2020-01-20. Citado na página 11.
- [25] YANG, X.; PEPPARD, T. Solid-phase microextraction of flavor compounds: a comparison of two fiber coatings and a discussion of the rules of thumb for adsorption. *LCGC North America*, 13(11):882–886, 1995. Citado 5 vezes nas páginas 11, 12, 13, 22 e 82.
- [26] LORD, H.; PAWLISZYN, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2):153–193, 2000. Citado 4 vezes nas páginas 12, 14, 15 e 17.

- [27] NACGAM, O.; CLARK, K. D.; VARONA, M.; ANDERSON, J. L. Selective and Efficient RNA Analysis by Solid-Phase Microextraction. *Analytical Chemistry*, 89(20):10661–10666, oct 2017. Citado na página 13.
- [28] LIU, H. H.; BAO, L. J.; FENG, W. H.; XU, S. P.; WU, F. C.; ZENG, E. Y. A multisection passive sampler for measuring sediment porewater profile of dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites. *Analytical Chemistry*, 85(15):7117–7124, aug 2013. Citado na página 13.
- [29] CANOSA, P.; RODRÍGUEZ, I.; RUBÍ, E.; BOLLAÍN, M. H.; CELA, R. Optimisation of a solid-phase microextraction method for the determination of parabens in water samples at the low ng per litre level. *Journal of Chromatography A*, 1124(1-2):3–10, aug 2006. Citado na página 14.
- [30] ZHANG, S.; DU, Z.; LI, G. Metal-organic framework-199/graphite oxide hybrid composites coated solid-phase microextraction fibers coupled with gas chromatography for determination of organochlorine pesticides from complicated samples. *Talanta*, 115:32–39, 2013. Citado na página 14.
- [31] PENTON, Z. E. Headspace gas chromatography. In *Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory*, volume 37 of *Comprehensive Analytical Chemistry*, chapter 10, pages 279–296. Elsevier, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 14 e 15.
- [32] CHIRILA, E.; DRAGHICI, C. Analytical Approaches for Sampling and Sample Preparation for Pesticides Analysis in Environmental, Food and Biological Samples. In Lubomir I. Simeonov, Fliur Z. Macaev, and Biana G. Simeonova, editors, *Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe*, chapter 3, pages 37–54. Springer, Vama, Bulgaria, 1 edition, 2012. Citado na página 15.
- [33] EISERT, R.; PAWLISZYN, J. Automated In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled to High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry*, 69(16):3140–3147, 1997. Citado na página 16.
- [34] FERNÁNDEZ-AMADO, M.; PRIETO-BLANCO, M. C.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.. Strengths and weaknesses

- of in-tube solid-phase microextraction: A scoping review, feb 2016. Citado na página 16.
- [35] TOFFOLI, A. L.; LANÇAS, F. M. Recentes avanços da microextração em fase sólida no tubo (in-tube SPME) e sua aplicação em análises ambientais e alimentícias. *Scientia Chromatographica*, 7(4):297–315, apr 2016. Citado 2 vezes nas páginas 16 e 42.
- [36] WANG, X.; FENG, J.; TIAN, Y.; LUO, C.; SUN, M. Co-Al bimetallic hydroxide nanocomposites coating for online in-tube solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1550:1–7, may 2018. Citado na página 17.
- [37] BU, Y.; FENG, J.; TIAN, Y.; WANG, X.; SUN, M.; LUO, C. An organically modified silica aerogel for online in-tube solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1517:203–208, sep 2017. Citado na página 18.
- [38] WANG, X.; HUANG, P.; MA, X.; DU, X.; LU, X. Enhanced in-out-tube solid-phase microextraction by molecularly imprinted polymers-coated capillary followed by HPLC for Endocrine Disrupting Chemicals analysis. *Talanta*, 194:7–13, mar 2019. Citado na página 18.
- [39] SANTOS, R.; PICCOLI, C.; CREMONESE, C.; FREIRE, C. Thyroid and reproductive hormones in relation to pesticide use in an agricultural population in Southern Brazil. *Environmental Research*, 173(January):221–231, 2019. Citado na página 18.
- [40] BERNIERI, T.; RODRIGUES, D.; BARBOSA, I. R.; ARDENGHI, P. G.; SILVA, L. B. Occupational exposure to pesticides and thyroid function in Brazilian soybean farmers. *Chemosphere*, 218:425–429, 2019. Citado na página 18.
- [41] WU, M.; CHEN, G.; LIU, P.; ZHOU, W.; JIA, Q. Preparation of porous aromatic framework/ionic liquid hybrid composite coated solid-phase microextraction fibers and their application in the determination of organochlorine pesticides combined with GC-ECD detection. *Analyst*, 141(1):243–250, 2016. Citado na página 19.
- [42] ZHANG, S.; YANG, Q.; LI, Z.; WANG, W.; WANG, C.; WANG, Z. Zeolitic imidazole framework templated synthesis of nanoporous carbon as a novel fiber coating for solid-phase microextraction. *Analyst*, 141(3):1127–1135, 2016. Citado na página 19.

- [43] WU, M.; WANG, L.; ZENG, B.; ZHAO, F. Ionic liquid polymer functionalized carbon nanotubes-doped poly(3,4-ethylenedioxythiophene) for highly-efficient solid-phase microextraction of carbamate pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1444:42–49, apr 2016. Citado na página 19.
- [44] DELLA-FLORA, A.; BECKER, R. W.; BENASSI, S. F.; TOCI, A. T.; CORDEIRO, G. A.; IBÁÑEZ, M.; PORTOLÉS, T.; HERNÁNDEZ, F.; BOROSKI, M.; SIRTORI, C. Comprehensive investigation of pesticides in Brazilian surface water by high resolution mass spectrometry screening and gas chromatography–mass spectrometry quantitative analysis. *Science of the Total Environment*, 669:248–257, 2019. Citado na página 19.
- [45] BRASIL. Resolução N° 357, de 17 de março de 2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente., 2005. Citado na página 19.
- [46] FARRUGGIA, F. T.; ROSSMEISL, C. M.; HETRICK, J. A.; BISCOE, M. Refined ecological risk assessment for atrazine, 2016. Citado na página 19.
- [47] UNIÃO EUROPEIA. Regulation (EC) N° 396/2005, 2005. Citado na página 19.
- [48] SOUZA, L. F. C. B.; MONTAGNER, C. C.; ALMEIDA, M. B.; KURODA, E. K.; VIDAL, C.; FREIRE, R. L. Determination of pesticides in the source and drinking waters in Londrina, Paraná, Brazil. *Semina:Ciencias Agrarias*, 40(3):1153–1163, 2019. Citado na página 19.
- [49] BRASIL. Portaria N° 2914, de 12 de dezembro de 2011. Ministério da Saúde, 2011. Citado na página 19.
- [50] FERNANDES, C.; VOLCÃO, L. M.; RAMIRES, P. F.; MOURA, R.; JÚNIOR, F. M. R. S. Distribution of Pesticides in Agricultural and Urban Soils of Brazil: a Critical Review. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2020. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 64.
- [51] RÊGO, I. C. V.; SANTOS, G. N. V.; SANTOS, G. N. V.; RIBEIRO, J. S.; LOPES, R. B.; SANTOS, S. B.; SOUSA, A.; MENDES, R. A.; TAKETOMI, A. T. F.; VASCONCELOS, A. A.; TAUBE, P. S. Organochlorine pesticides residues in commercial milk: a systematic review. *Acta Agronômica*, 68(2):99–107, 2019. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 64.

- [52] BRASIL. Regularização de Produtos - Agrotóxicos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária., 2018. Citado na página 19.
- [53] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Heptacloro - Standard Reference Data, 2020. Citado na página 19.
- [54] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Aldrin - Standard Reference Data, 2020. Citado na página 19.
- [55] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Endosulfan - Standard Reference Data, 2020. Citado na página 19.
- [56] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Dieldrin - Standard Reference Data, 2020. Citado na página 19.
- [57] QUINETE, N. S.; OLIVEIRA, E. S.; FERNANDES, D. R.; AVELAR, A. S.; SANTELLI, R. E. Assessment of organochlorine pesticide residues in Atlantic Rain Forest fragments, Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Pollution*, 159(12):3604–3612, 2011. Citado na página 20.
- [58] RISSATO, S. R.; GALHIANE, M. S.; XIMENES, V. F.; ANDRADE, R. M. B.; TALAMONI, J. L. B.; LIBÂNIO, M.; ALMEIDA, M. V.; APON, B. M.; CAVALARI, A. A. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in soil and water samples in the Northeastern part of São Paulo State, Brazil. *Chemosphere*, 65(11):1949–1958, 2006. Citado na página 20.
- [59] BREAUX, J.; JONES, K.; BOULAS, P. Understanding and Implementing Efficient Analytical Methods Development and Validation. *Pharmaceutical Technology*, pages 6–13, 2003. Citado na página 20.
- [60] OYE, B. E.; COUILLARD, F. D.; VALDERSNES, S. Complete validation according to current international criteria of a confirmatory quantitative method for the determination of nitrofuran metabolites in seafood by liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 300, 2019. Citado na página 20.

- [61] INMETRO. DOQ-CGCRE-008 Revisão 05 – Agosto 2016. Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia., 2016. Citado 5 vezes nas páginas 20, 21, 39, 40 e 78.
- [62] ARAUJO, P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 877(23):2224–2234, 2009. Citado na página 21.
- [63] DURAK, B. Y.; CHORMEY, D. S.; FIRAT, M.; BAKIRDERE, S. Validation of ultrasonic-assisted switchable solvent liquid phase microextraction for trace determination of hormones and organochlorine pesticides by GC–MS and combination with QuEChERS. *Food Chemistry*, 305, 2020. Citado na página 21.
- [64] GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. A. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 26(3):227–238, 2007. Citado na página 21.
- [65] CHEMSPACE. <https://chem-space.com/>. Acessado em: 2019-06-20. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 23.
- [66] CARDEAL, Z. L.; SOUZA, P. P.; SILVA, M. D. R. G.; MARRIOTT, P. J. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for fingerprint pattern recognition in cachaça production. *Talanta*, 74(4):793–799, 2008. Citado 3 vezes nas páginas 22, 61 e 82.
- [67] SOUZA, P. P.; CARDEAL, Z. L.; AUGUSTI, R.; MORRISON, P.; MARRIOTT, P. J. Determination of volatile compounds in Brazilian distilled cachaca by using comprehensive two-dimensional gas chromatography and effects of production pathways. *Journal of Chromatography A*, 1216:2881–2890, 2009. Citado 3 vezes nas páginas 22, 61 e 82.
- [68] ALI, U.; KARIM, K. J.; BUANG, N. A. A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA). *Polymer Reviews*, 55(4):678–705, 2015. Citado 3 vezes nas páginas 23, 24 e 45.
- [69] DEMIR, M. M.; MEMESA, M.; CASTIGNOLLES, P.; WEGNER, G. PMMA/zinc oxide nanocomposites prepared by in-situ bulk polymerization. *Macromolecular Rapid Communications*, 27(10):763–770, 2006. Citado na página 23.

- [70] SHAH, J. J.; GEIST, J.; LOCASCIO, L. E.; GAITAN, M.; RAO, M. V.; VREELAND, W. N. Surface modification of poly(methyl methacrylate) for improved adsorption of wall coating polymers for microchip electrophoresis. *Electrophoresis*, 27(19):3788–3796, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 82.
- [71] TAI, Y.; WANG, L.; GAO, J.; AMER, W. A.; DING, W.; YU, H. Synthesis of Fe₃O₄@poly(methylmethacrylate-co-divinylbenzene) magnetic porous microspheres and their application in the separation of phenol from aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 360(2):731–738, 2011. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 82.
- [72] XU, C.; WANG, J.; RICHARDS, J.; XU, T.; LIU, W.; GAN, J. Development of film-based passive samplers for in situ monitoring of trace levels of pyrethroids in sediment. *Environmental Pollution*, 242:1–9, 2018. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 82.
- [73] MARK, J. E., editor. *Polymer Data Handbook*. Oxford University Press, Oxford, 1999. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 46.
- [74] SIGMA-ALDRICH. Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos - Poly(methyl methacrylate), 2018. Citado 2 vezes nas páginas 23 e 46.
- [75] CHARLES, A. H.; EDWARD, M. P. *Plastics Materials and Processes, in Concise Encyclopedia*. Wiley, 2003. Citado na página 24.
- [76] KREVELEN, D. W. V.; NIJENHUIS, K. T. *Properties of Polymers*. Elsevier, Amsterdam, 2000. Citado na página 24.
- [77] EVCHUK, I. Y.; MUSII, R. I.; MAKITRA, R. G.; PRISTANSKII, R. E. Solubility of polymethyl methacrylate in organic solvents. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 78(10):1576–1580, 2005. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 26.
- [78] MADORSKY, S. L.; STRAUS, S. Thermal degradation of polymers at high temperatures. *Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry*, 63A(3):261, 1959. Citado na página 24.
- [79] FRANK, C. W.; RAO, V.; DESPOTOPOULOU, M. M.; PEASE, R. F. W.; HINSBERG, W. D.; MILLER, R. D.; RABOLT, J. F. Structure in thin and ultrathin

- spin-cast polymer films. *Science*, 273(5277):912–915, 1996. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 50.
- [80] DANGLAD-FLORES, J.; EICKELMANN, S.; RIEGLER, H. Deposition of polymer films by spin casting: A quantitative analysis. *Chemical Engineering Science*, 179(January):257–264, 2018. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 51.
- [81] WALLACE, W. E. Retention Indices. In P. J. Linstrom and W. G. Mallard, editors, *NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69*. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 2020. Citado 3 vezes nas páginas 35, 44 e 54.
- [82] US EPA. Method 8081B - Organochlorine pesticides by gas chromatography. United States Environmental Protection Agency, 2007. Citado 2 vezes nas páginas 35 e 54.
- [83] VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. *Química Nova*, 23(4):523–530, 2000. Citado na página 42.
- [84] BROWN, R. L.; STEIN, S. E. Boiling Point Data. In P. J. Linstrom and W. G. Mallard, editors, *NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69*. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 2020. Citado na página 44.
- [85] ZENG, W. R.; LI, S. F.; CHOW, W. K. Preliminary studies on burning behavior of polymethylmethacrylate (PMMA). *Journal of Fire Sciences*, 20(4):297–317, 2002. Citado 2 vezes nas páginas 45 e 56.
- [86] HENN, G.; BUCKNALL, D. G.; STAMM, M.; VANHOORNE, P.; JÉRÔME, R. Chain end effects and dewetting in thin polymer films. *Macromolecules*, 29(12):4305–4313, 1996. Citado na página 45.
- [87] SATOKAWA, Y.; SHIKATA, T.; TANAKA, F.; QIU, X. P. Hydration and Dynamic Behavior of a Cyclic. *Notes*, pages 1400–1403, 2009. Citado na página 45.
- [88] NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Poly(methyl methacrylate) - Standard Reference Data, 2018. Citado 2 vezes nas páginas 46 e 47.
- [89] DUAN, G.; ZHANG, C.; LI, A.; YANG, X.; LU, L.; WANG, X. Preparation and characterization of mesoporous zirconia made by using a poly (methyl methacrylate)

- template. *Nanoscale Research Letters*, 3(3):118–122, 2008. Citado 2 vezes nas páginas 46 e 47.
- [90] LARSON, R. G.; REHG, T. J. *Spin Coating*, pages 709–734. Springer Netherlands, Dordrecht, 1997. Citado na página 50.
- [91] A.; LARSEN N. B. NORRMAN, K.; GHANBARI-SIAHKALI. Citado na página 50.
- [92] EMSLIE, A. G.; BONNER, F. T.; PECK, L. G. Flow of a viscous liquid on a rotating disk. *Journal of Applied Physics*, 29(5):858–862, 1958. Citado na página 50.
- [93] MEYERHOFER, D. Characteristics of resist films produced by spinning. *Journal of Applied Physics*, 49(7):3993–3997, 1978. Citado na página 51.
- [94] PAPAGOORGIOU, M.; LAMBROPOULOU, D.; MORRISON, C.; NAMIESNIK, J.; PLOTKA-WASYLKA, J. Direct solid phase microextraction combined with gas chromatography – Mass spectrometry for the determination of biogenic amines in wine. *Talanta*, 183:276–282, 2018. Citado na página 82.