

Novas perspectivas em técnicas de microextração estática

**Alessandra Honjo Ide, José
Manuel Florêncio Nogueira***

Centro de Química Estrutural
and Departamento de Química e
Bioquímica, Faculdade de Ciências,
Universidade de Lisboa, 1749-016
Lisboa, Portugal

*DQB/FCUL, Campo Grande Ed. C8

1749-016 Lisboa, Portugal

Tel.: +351-217500899

nogueira@fc.ul.pt

Resumo

A determinação vestigial de compostos orgânicos prioritários ou emergentes em matrizes com elevada complexidade, exige o recurso a técnicas analíticas adequadas para o preparo da amostra prévia à análise instrumental. Nas últimas três décadas, as técnicas de microextração estática têm evidenciado grande preponderância na monitorização de contaminantes orgânicos em diversos tipos de amostras, em combinação com a grande seletividade e sensibilidade da instrumentação analítica moderna. Embora a literatura proponha diversas técnicas de microextração, muitas das abordagens, para além de onerosas, apresentam diversas limitações do ponto de vista prático, são ambientalmente questionáveis e exigem aperfeiçoamento com a finalidade de poderem ser facilmente aplicadas em rotina.

Recentemente, foram introduzidos dispositivos analíticos de última geração na técnica de microextração adsorptiva em barra (BA μ E) e, proposta uma técnica híbrida inovadora, a microextração em fibra oca (HF μ E). As principais vantagens destas novas abordagens são, para além dos dispositivos poderem ser facilmente preparados no próprio laboratório, a grande simplicidade, fácil manipulação, elevado custo-benefício, sustentabilidade ecológica, assim como exequibilidade para o trabalho de rotina.

A presente contribuição pretende perspetivar um outro olhar sobre as vantagens das técnicas de microextração estática, com especial ênfase para as inovações introduzidas pelas metodologias BA μ E e HF μ E, como ferramentas analíticas alternativas para a monitorização vestigial de contaminantes orgânicos com impacto.

Palavras chaves: Microextração adsorptiva em barra (BA μ E), Microextração em fibra oca (HF μ E), Técnicas de microextração estática, Tecnologia de amostragem por flutuação, Amostras reais

Abstract

The trace determination of priority or emerging organic compounds in matrices with high complexity, requires the use of appropriate analytical techniques for sample preparation prior to instrumental analysis. In the last three decades, the static microextraction techniques have shown great preponderance to monitor organic contaminants in different types of samples, in combination with the great selectivity and sensitivity of the modern analytical instrumentation. Although the literature proposes several microextraction techniques, most of the approaches, apart from being expensive, present several limitations from the practical point of view, are environmentally questionable and require improvement in order to be easily applied in routine.

Recently, state-of-the-art analytical devices were introduced in the bar adsorptive microextraction (BA μ E) technique and, proposed an innovative hybrid technique, the hollow fiber microextraction (HF μ E). The main advantages of these new approaches are, in addition to the devices being easily prepared at the laboratory, the great simplicity, easy handling, high cost-benefit, ecological sustainability, as well as feasibility for routine work.

The present contribution intends to envisage another perspective on the advantages of static microextraction techniques, with special emphasis on the innovations introduced by BA μ E and HF μ E methodologies, as alternative analytical tools for monitoring traces of organic

contaminants with impact.

Keywords: Bar adsorptive microextraction (BA μ E), Hollow fibre microextraction (HF μ E), Static microextraction techniques, Floating sampling technology, Real samples

1. Introdução

A análise direta de contaminantes orgânicos em matrizes complexas é uma tarefa árdua de efetuar, uma vez estes compostos ocorrerem genericamente quase sempre em concentrações vestigiais juntamente com dezenas ou mesmo centenas de potenciais interferentes. Na esmagadora maioria das situações, a preparação ou preparo da amostra é uma obrigação indispensável para enriquecimento prévio à aplicação de técnicas cromatográficas e/ou hifenadas adequadas, podendo esta tarefa ser responsável por mais de 80 % do tempo despendido em muitos dos protocolos analíticos [1].

Nos últimos anos, as técnicas convencionais de preparo de amostras que envolvem extração líquido-líquido ou extração em fase sólida têm vindo a ser amplamente substituídas por técnicas inovadoras para o enriquecimento e pré-concentração dos analitos alvo, capazes de incrementar quer a sensibilidade quer a seletividade analíticas [2]. Mesmo assim, estas tendências emergentes visaram, numa primeira fase, a miniaturização dos dispositivos analíticos, diminuição do volume da amostra, bem como a redução ou mesmo a eliminação de solventes orgânicos tóxicos em linha com os princípios da química analítica verde [3].

Neste âmbito, as técnicas de microextração estática introduzidas nas últimas três décadas, têm vindo a adquirir maior visibilidade, face ao notável desempenho e demonstração de eficácia no domínio da análise vestigial em diversos tipos de matrizes, como etapa de enriquecimento prévia à análise instrumental. Porém, nas técnicas de microextração estática, o meio extrator tanto pode ser à base de fases sólidas como de líquidas. Na atualidade, de entre as abordagens de microextração estática baseadas

em fases sólidas, destacam-se a extração em fase sólida dispersiva (DSPE) [4, 5], a microextração em fase sólida (SPME) [6, 7], a extração sortiva em barra de agitação (SBSE) [8, 9] e, mais recentemente, a microextração adsortiva em barra (BA μ E) [10, 11]. Em alternativa, as técnicas de microextração estática baseadas em líquidos, mais referenciados na literatura, são a microextração em gota única (SDME) [12, 13], a microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME) [14, 15] e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) [16, 17]. A figura 1 reproduz imagens dos dispositivos e aparatos analíticos relativos às principais técnicas de microextração estática baseadas em fases líquidas (a) e sólidas (b), atualmente mais usadas em análise vestigial durante o processo de preparo de amostras.

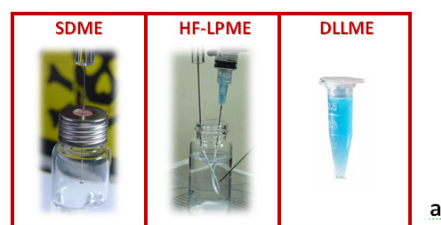


Figura 1. Imagens dos dispositivos e aparatos analíticos, relativos às principais técnicas de microextração estática baseadas em fases líquidas (a) e sólidas (b), atualmente mais usadas em análise vestigial.

Muitas das técnicas de microextração estática referidas apresentam diversas outras vantagens, nomeadamente, maior facilidade de manipulação, baixo custo e capacidade para operar em rotina. Mesmo assim, para além dos benefícios introduzidos, algumas destas metodologias apresentam ainda diversas limitações do ponto de vista prático, morosidade e dificuldade de interface ou associação com os sistemas de instrumentação convencionais. Neste contexto, a presente contribuição tem como objetivo abordar novas perspectivas recentemente propostas, no domínio das técnicas de microextração estática, com o intuito de superar algumas das insuficiências anteriormente referidas.

2. Vantagens e limitações das técnicas modernas de preparo de amostras

Sendo o preparo da amostra o procedimento mais relevante e limitativo em qualquer processo analítico, uma vez ser o principal responsável por eventuais erros associados e significativo dispêndio de tempo, é de todo justificável o grande desenvolvimento neste domínio que vem acontecendo nas últimas décadas. Embora sejam propostas na literatura diversas técnicas diferenciadas para enriquecimento de amostras, é praticamente impossível eleger apenas uma que seja considerada como de abordagem universal sendo, portanto, obrigatório tomar sempre em consideração as características do(s) analito(s) alvo, do tipo de matriz envolvida, assim como do teor expectável. Apesar das técnicas de microextração frequentemente adotadas serem dedicadas à análise vestigial em amostras complexas é, todavia, fundamental o conhecimento objetivo das características quer de volatilidade quer de polaridade dos compostos alvo envolvidos, no sentido de se seleccionar a mais adequada para cada caso em apreço. Genericamente, compostos orgânicos apolares ou com características mais hidrofóbicas ($\log K_{ow} \geq 3$) são mais facilmente microextraídos por solventes orgânicos imiscíveis em meios aquosos, embora os mais polares

ou hidrofílicos ($\log K_{ow} < 3$), sejam melhor retidos em materiais poliméricos ou sólidos devendo-se, neste sentido, atender a esta diferenciação objetiva. Por outro lado, de entre as técnicas de microextração anteriormente referidas, é igualmente difícil seleccionar uma que apresente simultaneamente simplicidade, baixo custo, facilidade de manipulação, seja completamente ecológica e com possibilidade de automatização, evidenciando todas elas vantagens e inconvenientes neste domínio. As técnicas de microextração baseadas em fases sólidas como a SPME, a SBSE, a BAμE ou a DSPE, para além de serem de fácil aplicação, são consideradas amigas do ambiente, podendo ainda as duas primeiras ser automatizadas e facilmente usadas em rotina com diversas configurações (ex., imersão, *in-tube* e *headspace*) [18, 19]. Mesmo assim, qualquer destas técnicas necessita sempre de uma etapa de retroextração, genericamente realizada por dessorção líquida (LD) ou térmica (TD), dependendo das propriedades físico-químicas dos analitos alvo e da instrumentação envolvida, sendo a última opção ecologicamente mais favorável, uma vez tratar-se de uma abordagem isenta de solventes orgânicos, *i.e.*, *solventless* ou *solvent-free*. Por outro lado, a TD é apenas compatível com sistemas de cromatografia em fase gasosa (GC) e, dedicada exclusivamente, para compostos com características desde voláteis a semi-voláteis. Em contrapartida, apesar da LD ser mais versátil e abrangente, menos onerosa e até permitir reanálises, a principal limitação encontra-se associada ao maior tempo despendido face à exigência dos diversos passos envolvidos, tornando a manipulação do utilizador incompatível em ambiente de rotina. Contrariamente às anteriores, as técnicas de microextração baseadas em fases líquidas, como a SDME, a HF-LPME ou mesmo a DLLME, permitem o fácil enriquecimento com cinética rápida e, possibilitam ainda, elevado fator de concentração. Todavia, mesmo apesar de utilizarem materiais, solventes e aparatos expeditos, para além de pouco onerosas, exigem do ponto de vista prático diversos passos durante os ensaios experimentais sendo, igualmente, de difícil automatização.

Não obstante as diversas desvantagens apontadas pelas técnicas mencionadas, é imperativa a introdução

de ideias inovadoras, ou estratégias simples, para o desenvolvimento de abordagens dedicadas à análise de rotina, que apresentem elevado custo-benefício e sejam compatíveis com os sistemas instrumentais convencionais disponíveis em laboratórios comuns de química analítica. Acresce que um outro desafio consiste em alcançar o compromisso entre a qualidade dos resultados e a operacionalidade das metodologias utilizando, contudo, processos analíticos simplificados, de fácil utilização e impacto ambiental negligenciável. Nesta perspetiva, foram recentemente propostas duas abordagens inovadoras, nomeadamente o aperfeiçoamento da técnica BA μ E [20] e, a introdução de uma técnica híbrida, a microextração em fibra oca (HF μ E) [21] que, para além de poderem funcionar complementarmente, visam solucionar diversas das limitações anteriormente mencionadas.

3. Microextração adsortiva em barra (BA μ E)

3.1. Fundamentos e principais características

A técnica BA μ E foi proposta por J.M.F. Nogueira e colaboradores em 2010 [10, 11, 22], tendo sido inicialmente concebida para solucionar a limitação da SBSE para analitos polares, uma vez esta última, apesar de ambientalmente favorável, utilizar exclusivamente polidimetilsiloxano (PDMS), um polímero vocacionado para analitos hidrofóbicos [23]. Neste sentido, esta abordagem analítica enquadrou-se como alternativa complementar e promissora, fundamentalmente para a determinação vestigial de compostos com características mais polares, tendo demonstrado excelente desempenho em diversos domínios de aplicações, nomeadamente na monitorização de subprodutos da desinfecção de água para consumo humano [24], compostos derivados aromáticos [25-27], pesticidas [28-37], produtos farmacêuticos, de higiene e cuidado pessoal [38-47], esteroides e hormonas [48, 49], drogas de abuso [50], biomarcadores [51], entre outras classes de compostos, numa ampla gama de matrizes ambientais, alimentares, farmacêuticas, forenses e biológicas.

Nesta técnica são utilizados dispositivos analíticos constituídos por um substrato à base de polipropileno (PP) contendo geometria cilíndrica, onde são fixados os materiais sorventes finamente divididos. Um dos aspetos claramente diferenciadores, comparativamente a muitas outras técnicas de microextração, é a possibilidade dos dispositivos BA μ E poderem ser preparados e, de forma muito simples em qualquer laboratório, evitando a dependência e os elevados custos geralmente associados às tecnologias apenas disponíveis comercialmente. Originalmente, os dispositivos BA μ E possuíam dimensões com 15,0 mm de comprimento e 3,0 mm em diâmetro e eram revestidos com fase sorvente contendo massa compreendida entre 1 e 5 mg. Durante a etapa de microextração e, por serem menos densos que a água, os dispositivos flutuam na amostra junto ao vórtice gerado com recurso a agitação magnética convencional. É justamente durante esta etapa que ocorre o enriquecimento através da difusão dos analitos do seio da amostra para a fase sorvente. Esta inovadora abordagem de enriquecimento, designada por ‘tecnologia de amostragem por flutuação’, é vantajosa uma vez evitar a ocorrência de choques mecânicos entre os dispositivos e as paredes dos frascos de amostragem, resultantes da rápida agitação magnética, que poderiam promover a desagregação da fase sorvente. Uma das principais vantagens da técnica BA μ E, consiste na possibilidade da escolha da fase sorvente mais seletiva, de acordo com as características de polaridade dos analitos envolvidos tentando-se, desta forma, alcançar a máxima eficiência durante a etapa de microextração. Neste contexto, são utilizados materiais nanoestruturados contendo textura conveniente, porosidade bem desenvolvida ao nível dos mesoporos e possuindo centros ativos adequados, aos quais os compostos polares são facilmente adsorvidos por fenômenos eletrostáticos e dispersivos (propriedades de adsorção/dessorção) ou ainda através de outro tipo de interações. Refira-se que os sorventes sólidos que têm vindo a ser usados pela técnica BA μ E são fundamentalmente carvões ativados (ACs) [22, 29, 40, 41] e polímeros [22, 29, 35, 40, 41], mas também, polímeros molecularmente impressos [33], nanotubos de carbono [47], quer adquiridos comercialmente quer preparados laboratorialmente, por exemplo, a partir de materiais com

diversa origem, destacando-se os biomateriais [32, 38, 46]. Quando finamente divididos, estes materiais caracterizam-se ainda por possuírem áreas superficiais consideráveis ($> 900 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$) e apresentarem grande capacidade sorviva (100-500 μg analito/mg sorvente) que, contrariamente a outras abordagens, se tornam ideais para a determinação vestigial de compostos orgânicos mais polares, podendo contudo responder a uma ampla gama de polaridade [22].

Apesar de todas as vantagens e robustez já evidenciadas pela técnica BA μ E, nomeadamente excepcional relação custo-benefício, fácil aplicabilidade e a possibilidade de selecionar a fase sorvente mais conveniente para cada aplicação em particular, existem ainda limitações pontuais passíveis de serem aperfeiçoadas. Recentemente, foram introduzidos alguns progressos [30] que consistiram fundamentalmente na redução da dimensão do dispositivo BA μ E para metade do tamanho original, com o intuito de se eliminar diversos passos que incluíam a evaporação e ‘troca de solvente’, para além de possibilitarem a diminuição substancial do volume em solvente orgânico (de 1,5 mL para apenas 200 μL) necessário à etapa de retroextração, com todas as vantagens ecológicas que isso representa. Apesar da retroextração ter evoluído para uma etapa que recorre a volume de solvente da ordem dos microlitros (μLD), manteve-se limitativa do ponto de vista prático, uma vez continuar a persistir a necessidade de manipulação de diversos passos. Recorde-se, neste contexto, que após a etapa de microextração, o dispositivo é removido do frasco de amostragem e transferido para um *insert*, contendo um solvente orgânico adequado, colocado dentro de um *vial* convencional (2 mL) sendo, de seguida, efetuado tratamento ultrassónico. Posteriormente, retira-se o dispositivo do *insert* e sela-se o *vial*, contendo o microextrato orgânico resultante, podendo de imediato, ser submetido a análise instrumental. Por conseguinte, nesta tecnologia continuam inequivocamente a persistir diversos passos de manipulação, particularmente durante a etapa de retroextração, sendo por esse motivo, de difícil adequação ao regular trabalho de rotina.

3.2. Dispositivos BA μ E de última geração

No sentido de superar diversas das limitações anteriormente mencionadas, foram recentemente propostas inovações na técnica BA μ E que, para além de proporcionarem a alteração das dimensões dos dispositivos, consistiram ainda na simplificação global do procedimento experimental, através da introdução de um ‘ciclo analítico inovador’, formado por uma etapa de retroextração realizada em apenas um único passo [20, 52]. Nesta perspetiva, foram introduzidos dispositivos BA μ E de última geração como os apresentados na figura 2a, constituídos por substratos à base de *nylon* contendo geometria cilíndrica, dimensões menores (7,5 mm de comprimento e 1,0 mm em diâmetro) e maior flexibilidade que os originais, sendo a fixação das fases sorventes em tudo efetuada de forma semelhante. Por outro lado, os novos dispositivos BA μ E foram ainda concebidos para o melhoramento de diversos aspetos, nomeadamente, o aumento da razão de fase (β) entre o sorvente e a matriz da amostra durante a etapa de microextração, mas também para a diminuição drástica do volume (100 μL) de solvente envolvido na etapa de retroextração e, que fosse considerado aceitável, do ponto de vista da sustentabilidade ecológica. Para além disso, uma vez os dispositivos serem preparados com materiais simples e de muito baixo custo, foram concebidos para serem descartáveis, ou seja, utilizados apenas uma única vez por amostra, evitando assim potenciais contaminações sobretudo quando está implícita análise vestigial. Deste modo, no novo ciclo analítico proposto, após a etapa de microextração, o dispositivo analítico é retirado do frasco de amostragem (25 mL), sendo igualmente colocado num *insert*, contendo um solvente orgânico adequado, dentro de um *vial* e, de seguida, selado sem qualquer tipo de manipulação adicional. Após vortex, o *vial* contendo o microextrato conjuntamente com o dispositivo BA μ E fica imediatamente disponível para ser colocado no amostrador automático e apto a ser analisado. Face à pequena dimensão e flexibilidade apresentada pelos dispositivos BA μ E de última geração, a etapa da retroextração é realizada num único passo, sem a necessidade da remoção do dispositivo do *insert*, havendo espaço suficiente para a entrada da agulha da seringa aquando da injeção automática. Refira-se

que esta operação decorre sem qualquer risco de dano para a agulha do injetor ou, qualquer outro tipo de problema técnico sendo, por esse motivo, totalmente compatível com os sistemas de amostradores convencionais e proporcionar trabalho de rotina. A figura 3 reproduz o esquema do ciclo analítico inovador relativo ao procedimento experimental

Em suma, a técnica BA μ E foi basicamente concebida para dar resposta à monitorização de compostos orgânicos prioritários e emergentes, principalmente os que apresentam características mais hidrofílicas, uma vez

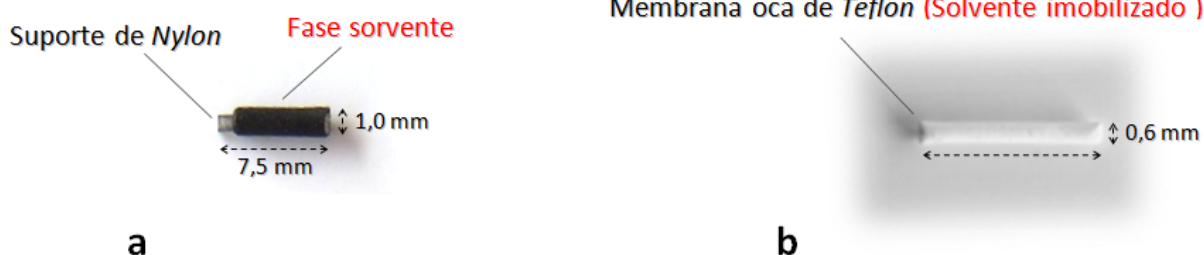


Figura 2. Imagem e dimensões do dispositivo BA μ E de última geração (a) e do dispositivo HF μ E (b). Adaptado das referências 20 e 21.



Figura 3. Ciclo analítico inovador introduzido com os dispositivos BA μ E de última geração. Adaptado da referência 20.

proposto para os dispositivos BA μ E de última geração, observando-se uma abordagem claramente vantajosa quer do ponto de vista da simplicidade para o utilizador e custo-benefício, quer ainda para a sustentabilidade ecológica e produtividade analítica.

serem melhor microextraídos de meios aquosos através de sorventes nanoestruturados. Contudo, esta metodologia tem igualmente demonstrado grande eficácia para uma gama alargada de compostos com impacto que se apresentam mais hidrofóbicos, sendo por este motivo uma técnica tanto vocacionada para associação com sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) como de GC.

3.3. Aplicações dos dispositivos BA μ E de última geração

Para demonstrar o desempenho analítico das inovações introduzidas, os novos dispositivos BA μ E foram testados eficazmente na determinação vestigial de fármacos antidepressivos (bupropiona, trazodona, citalopram e amitriptilina) em amostras biológicas como plasma e urina [20] e, de filtros UV (ácido 2-fenil-5-benzimidazol sulfônico e ácido 5-benzoil-4-hidroxi-2-metóxi-benzeno sulfônico), em matrizes ambientais e cremes de proteção solar [52]. As metodologias foram desenvolvidas, otimizadas e validadas, tendo evidenciado excelente desempenho na análise vestigial dos compostos

alvo referidos, com recurso a análise por HPLC e deteção por rede de díodos (DAD) em ambas as aplicações. A figura 4 reproduz perfis cromatográficos obtidos a partir da monitorização vestigial de antidepressivos numa amostra de urina (a) e de filtros UV num creme de proteção solar (b) por BA μ E- μ LD/HPLC-DAD, onde é notória grande seletividade e sensibilidade. A introdução dos dispositivos BA μ E de última geração, permitiu que esta técnica apresentasse ainda maior simplicidade, ser mais amigável ao usuário e ao ambiente, e inequivocamente compatível com o trabalho de rotina.

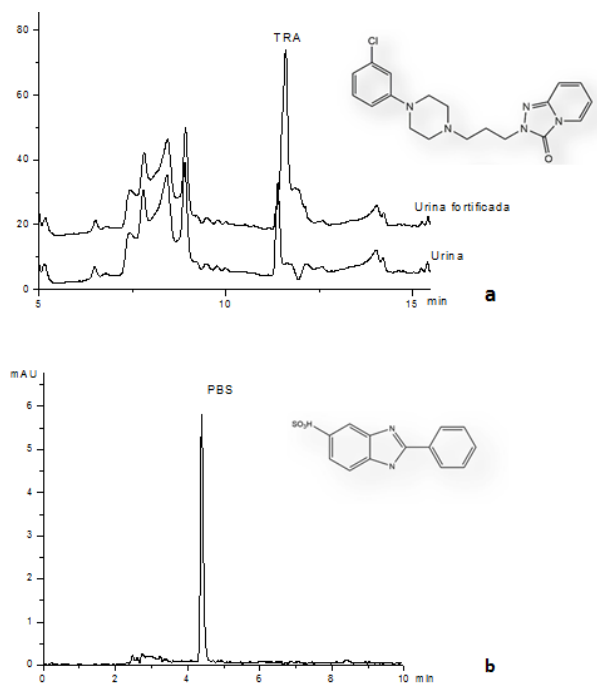


Figura 4. Cromatogramas exemplificando a aplicação da técnica BA μ E- μ LD, usando os dispositivos de última geração, na determinação vestigial de fármacos antidepressivos numa amostra de urina (a) e de filtros UV num creme de proteção solar (b), seguido de análise por HPLC-DAD. TRA: trazodona; PBS: ácido 2-fenil-5-benzimidazol sulfónico. Adaptado das referências 20 e 52.

Por último, refira-se que face ao enorme sucesso analítico alcançado, a técnica BA μ E tem continuado a ser alvo de outros aperfeiçoamentos e conceções inovadoras,

destacando-se a recente proposta dos dispositivos de alto rendimento [53].

4. Microextração em fibra oca (HF μ E)

4.1. Conceitos e principais características

A microextração em fibra oca (HF μ E - *hollow fiber microextraction*), é uma técnica inovadora proposta igualmente para a análise vestigial de compostos orgânicos em matrizes reais [21, 54]. A técnica HF μ E pode ser entendida como uma abordagem híbrida, uma vez reunir conjuntamente as principais características diferenciadoras de diversas técnicas de microextração estática, nomeadamente da HF-LPME, da SDME e da BA μ E. Esta metodologia surgiu como alternativa simples e prática relativamente aos métodos analíticos de microextração bem estabelecidos que recorrem a fibras ou membranas ocas [14, 15, 55, 56], os quais envolvem sempre diversos passos de manipulação durante o processo de enriquecimento, como é o caso particular da HF-LPME. Genericamente, esta técnica inclui, a utilização de microseringas para inserção do solvente no lúmen da membrana, selagem das pontas para a etapa de microextração, corte das extremidades seladas para retirar alguns μ L do solvente enriquecido para posterior injeção instrumental, não sendo por esse motivo, nem prática nem conveniente para a aplicação em contexto de rotina. Contrariamente, na técnica HF μ E, a etapa de microextração é efetuada com um dispositivo analítico como o reproduzido na figura 2b, constituído por uma pequena membrana oca em PP com geometria cilíndrica, contendo 10,0 mm de comprimento e 0,6 mm em diâmetro interno, sendo um material de muito baixo custo. Do ponto de vista prático e, para a etapa de microextração, o dispositivo é embebido durante alguns segundos num solvente orgânico conveniente, ocorrendo a respetiva imobilização na membrana oca, retendo um volume médio de cerca de 25 μ L. De seguida, o dispositivo HF μ E é inserido no frasco de amostragem contendo 25 mL de amostra conjuntamente com uma barra convencional de *teflon* para agitação magnética, sendo de seguida fechado. Para além da elevada relação de fase ($\beta = 1000$) que

proporciona e grande capacidade de partição dos analitos para o solvente orgânico, a etapa de microextração apresenta cinética rápida, sendo esta abordagem uma vantagem inequívoca relativamente a algumas das metodologias de preparo de amostras baseadas em fases líquidas. Nesta perspectiva, o dispositivo HF μ E usa a mesma membrana da técnica HF-LPME, um solvente orgânico conforme acontece na técnica SDME e opera sob a tecnologia de amostragem por flutuação como na técnica BA μ E. Após alcançado o equilíbrio, o dispositivo analítico é removido do frasco de amostragem e inserido num *insert*, contendo um solvente orgânico conveniente (100 μ L), dentro de um *vial*, para a posterior etapa de retroextração. Seguidamente, o *vial* é selado e, após vortex, fica imediatamente apto para posterior análise instrumental. Para além de demonstrar extraordinária facilidade de manipulação, recorre a um volume negligenciável de solvente orgânico durante a etapa de retroextração, em linha com a sustentabilidade ecológica, sendo uma técnica fundamentalmente vocacionada para associação com GC.

Em analogia com o novo ciclo analítico proposto para a técnica BA μ E, que recorre a dispositivos de última geração, a etapa de retroextração é de igual modo efetuada num único passo face às reduzidas dimensões e flexibilidade do dispositivo HF μ E, sem a necessidade de remoção do mesmo, uma vez haver espaço suficiente para a posterior operação de injeção. Neste sentido, a técnica HF μ E pode ser facilmente combinada com os amostradores automáticos convencionais dos sistemas instrumentais comuns, particularmente de GC, sendo igualmente uma abordagem abrangente e dedicada à aplicação em rotina. A figura 5 apresenta o esquema do ciclo analítico associado à técnica HF μ E, sendo em tudo similar ao da figura 3.

Uma das vantagens diferenciadoras desta abordagem consiste em apresentar cinética rápida durante a etapa de microextração, no qual ocorre o fenómeno de partição dos analitos entre a amostra aquosa e o solvente orgânico imobilizado na membrana oca. Neste contexto, o solvente usado no dispositivo HF μ E determina a afinidade dos analitos do seio da amostra para a fase líquida extratora. Assim, o solvente deve de



Figura 5. Ciclo analítico inovador introduzido com os dispositivos HF μ E. Adaptado da referência 21.

ser cuidadosamente selecionado tomando-se em linha de conta duas características fundamentais, nomeadamente, a volatilidade e a solubilidade que apresenta no meio aquoso durante a etapa de microextração. Deste modo, o solvente orgânico adotado deve possuir um ponto de ebulição suficientemente adequado no sentido de evitar a ocorrência de perdas por evaporação. Por outro lado, a solubilidade em água é outro fator relevante, uma vez que se o solvente apresentar elevada miscibilidade, poderão ocorrer perdas para o seio da matriz da amostra durante a etapa de microextração, diminuindo desta forma, a eficiência do processo. Como exemplo de solventes orgânicos que apresentam características compatíveis com a técnica HF μ E, destacam-se o tolueno, o octanol, o diclorometano, os hidrocarbonetos alifáticos (ex. *n*-heptano, *n*-octano e *n*-nonano) entre outros, devendo o mesmo ser sempre criteriosamente selecionado para cada aplicação em particular. A técnica HF μ E foi fundamentalmente concebida para dar resposta a compostos alvo com características mais hidrofóbicas e, portanto, melhor microextraídos por solventes face à maior solubilidade que evidenciam em meio orgânico, assim como à rápida cinética promovida por partição. Como técnica afim à BA μ E, a HF μ E pode considerar-se complementar e, ser uma opção alternativa, sempre que os compostos alvo sejam predominantemente apolares e esteja implícita análise vestigial.

4.2. Aplicações da técnica HF μ E

No sentido de demonstrar o desempenho desta nova abordagem, a aplicação da técnica HF μ E seguida de análise por GC acoplada a espectrometria de massa (MS) foi testada com enorme sucesso na análise vestigial de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) [21] e de pesticidas organoclorados (OCPs) [54] em diferentes tipos de matrizes reais. Neste contexto, foram estudados 18 PAHs (naftaleno, 1-metilnaftaleno, 2-metilnaftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[a]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[a,h]antraceno e benzo[g,h,i]perileno), tendo sido microextraídos com membranas contendo *n*-nonano imobilizado, possibilitando tempos de equilíbrio reduzidos (1 h) e alcançado limites de detecção ao nível das partes-por-trilhão (2,5 - 6,0 ng L⁻¹). A metodologia demonstrou, de forma abrangente, excelente desempenho na análise de PAHs em diversos tipos de matrizes, nomeadamente amostras ambientais (água superficial, efluentes e solo), alimentares (chá) e biológicas (fígado de peixe).

A partir da aplicação aos OCPs foi ainda possível introduzir um aperfeiçoamento na técnica HF μ E, tendo-se usado simultaneamente duas fibras por amostra contendo, cada uma, diferentes solventes (tolueno e heptano) imobilizados. Desta forma, reduziu-se significativamente o tempo de equilíbrio (2 h) e incrementou-se a seletividade da metodologia, tendo sido estudados 17 OCPs (α -BHC, γ -BHC, β -BHC, heptacloro, aldrin, heptacloro epóxido, γ -clordano, α -clordano, α -endossulfan, 4,4'-DDE, dieldrin, endrin, β -endossulfan, 4,4'-DDD, endrin aldeído, 4,4'-DDT e metoxicloro) em amostras ambientais (água potável, efluentes e solo) e alimentares (chá e tomate). A figura 6 reproduz perfis cromatográficos obtidos a partir da monitorização vestigial de PAHs num efluente aquoso (a) e de OCPs numa amostra de tomate (b) por HF μ E- μ LD/GC-MS, onde é notória a grande seletividade e sensibilidade alcançadas.

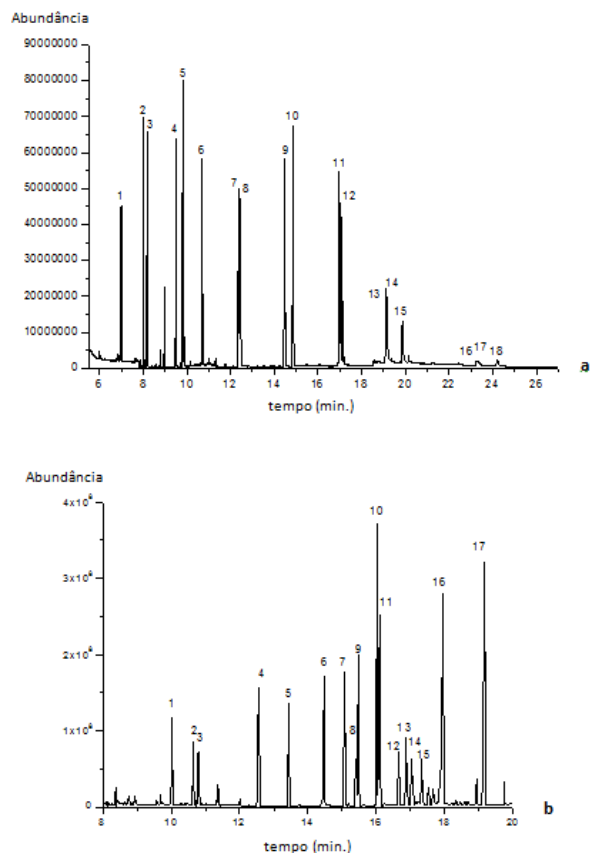


Figura 6. Cromatogramas exemplificando a aplicação da técnica HF μ E- μ LD na monitorização vestigial de PAHs num efluente aquoso (a) e de OCPs numa amostra de tomate (b), seguido de análise por GC-MS. PAHs: 1. naftaleno, 2. 1-metilnaftaleno, 3. 2-metilnaftaleno, 4. acenaftileno, 5. acenafteno, 6. fluoreno, 7. fenantreno, 8. antraceno, 9. fluoranteno, 10. pireno, 11. benzo[a]antraceno, 12. criseno, 13. benzo[a]fluoranteno, 14. benzo[k]fluoranteno, 15. benzo[a]pireno, 16. indeno[1,2,3-cd]pireno, 17. dibenzo[a,h]antraceno, 18. benzo[g,h,i]perileno; OCPs: 1. α -BHC, 2. γ -BHC, 3. β -BHC, 4. heptacloro, 5. aldrin, 6. heptacloro epóxido, 7. γ -clordano, 8. α -clordano, 9. α -endossulfan, 10. 4,4'-DDE, 11. dieldrin, 12. endrin, 13. β -endossulfan, 14. 4,4'-DDD, 15. endrin aldeído, 16. 4,4'-DDT, 17. metoxicloro. Adaptado das referências 21 e 54.

Os resultados obtidos demonstram que a técnica HF μ E é muito promissora, quando comparada com outras abordagens de microextração citadas na literatura, uma vez ser simples, de fácil aplicação em rotina, baixo custo e com consumo negligenciável de solventes orgânicos, ou seja, em linha com as tendências ecológicas atuais.

5. Conclusões

Face à grande importância da etapa de preparo de amostras em qualquer protocolo analítico, a presente contribuição pretende perspetivar um outro olhar sobre as vantagens das técnicas de microextração estática, com especial ênfase para as inovações recentemente introduzidas, através das metodologias BA μ E e HF μ E, como ferramentas analíticas promissoras para a monitorização vestigial de contaminantes prioritários e emergentes com impacto.

Para além dos dispositivos analíticos poderem ser facilmente preparados no próprio laboratório, a grande simplicidade, fácil manipulação, elevado custo-benefício, sustentabilidade ecológica, assim como o

notável desempenho e exequibilidade que evidenciam para o trabalho de rotina, demonstram ainda ser alternativas analíticas credíveis para a microextração vestigial de compostos orgânicos com polaridade abrangente em matrizes com elevada complexidade.

Agradecimentos

Os autores agradecem à “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” pela bolsa de doutorado (CAPES BEX 0394-14-9) e à “Fundação para a Ciência e a Tecnologia” (Portugal) pelo financiamento (UIDB/00100/2020).

Referências

- [1] Chen Y, Guo Z, Wang X, Qiu C. Sample preparation. *J. Chromatogr. A.* 2008; 1184(1-2): 191-219.
- [2] Borges KB, de Figueiredo EC, Queiroz MEC. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. RJ-Brasil. LTC. 2015.
- [3] Raynie DE, Modern extraction techniques. *Anal. Chem.* 2010; 82(12): 4911-4916.
- [4] Islas G, Ibarra IS, Hernandez P, Miranda JM, Cepeda A. Dispersive solid phase extraction for the analysis of veterinary drugs applied to food samples: A review. *Int. J. Anal. Chem.* 2017; 1-16.
- [5] Cabrera LC, Martins ML, Primel EG, Prestes OD, Adaime MB, Zanella R. Extração em fase sólida dispersiva na determinação de resíduos e contaminantes em alimentos. *Sci. Chromatogr.* 2012; 4(3): 227-240.
- [6] Arthur CL, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.* 1990; 62(19): 2145-2148.
- [7] Valente ALP, Augusto F. Microextração por fase sólida. *Química Nova.* 2000; 23(4): 523-530.
- [8] Baltussen E, Sandra P. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles. *J. Microcolumn.* 1999; 11(10): 737-747.
- [9] Nogueira JMF. Extração sortiva em barra de agitação (SBSE): Uma metodologia inovadora para microextração estática. *Sci. Chromatogr.* 2012; 4(4): 1-11.
- [10] Neng NR, Silva ARM, Nogueira JMF. Adsorptive micro-extraction techniques -Novel analytical tools for trace levels of polar solutes in aqueous media. *J. Chromatogr. A.* 2010; 1217(47): 7303-7310.
- [11] Nogueira JMF. Microextração adsorptiva em barra (BA μ E): Um conceito analítico inovador para microextração estática. *Sci. Chromatogr.* 2013; 5(4): 275-283.
- [12] Jeannot M, Cantwell FF. Solvent microextraction into a single drop. *Anal. Chem.* 1996; 68(13): 2236-2240.
- [13] Pinto IP, Pedroso MP. Microextração em gota única (SDME): Fundamentos e aplicações. *Sci. Chromatogr.* 2015; 7(3): 183-198.
- [14] Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid - liquid - liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* 1999; 71(14): 2650-2656.
- [15] Merib J, Carasek E, Microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME): Fundamentos e aplicações recentes. *Sci. Chromatogr.* 2013; 5(4): 249-262.
- [16] Rezaee M, Assadi Y, Milani Hosseini MR, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *J. Chromatogr. A.* 2006; 1116(1-2): 1-9.
- [17] Moreira BJ, Yokoya JMC, Gaitani CM. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas. *Sci. Chromatogr.* 2014; 6(3): 186-204.
- [18] Toffoli AL, Lanças FM. Recentes avanços da microextração em fase sólida no tubo (in-tube SPME) e sua aplicação em análises ambientais e alimentícias. *Sci. Chromatogr.* 2015; 7(4): 297-315.
- [19] Queiroz MEC, Melo LP, Recentes avanços da in-tube SPME-LC para bioanálises. *Sci. Chromatogr.* 2013; 5(3): 167-179.
- [20] Ide AH, Nogueira JMF. New-generation bar adsorptive microextraction (BA μ E) devices for a better eco-user-friendly analytical approach - Application for the determination of antidepressant pharmaceuticals in biological fluids. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018; 153: 126-134.
- [21] Ide AH, Nogueira JMF. Hollow fiber microextraction: A new hybrid microextraction technique for trace analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 2018; 410: 2911-2920.
- [22] Nogueira JMF. Novel sorption-based methodologies for static microextraction analysis: A review on SBSE and related techniques. *Anal. Chim. Acta.* 2012; 757: 1-10.
- [23] Nogueira JMF. Stir-bar sorptive extraction: 15 years making sample preparation more environment-friendly, *TrAC.* 2015; 71: 214-223.
- [24] Neng NR, Nogueira JMF. Determination of short chain carbonyl compounds in drinking water matrices by bar adsorptive micro-extraction (BA μ E) with *in-situ* derivatization. *Anal. Bioanal. Chem.* 2010; 398: 3155-3163.
- [25] Neng NR, Nogueira JMF, Determination of phenol compounds in surface water matrices by bar adsorptive microextraction-high performance liquid chromatography-diode array detection. *Molecules.* 2014; 19(7): 9369-9379.

- [26] Neng NR, Sequeiros RCP, Nogueira JMF. Combining bar adsorptive microextraction with capillary electrophoresis-Application for the determination of phenolic acids in food matrices. *Electrophoresis*. 2014; 35(17): 2488-2494.
- [27] Neng NR, Nogueira JMF. Monitoring trace levels of hydroxy aromatic compounds in urine matrices by bar adsorptive microextraction (BA μ E). *Anal. Meth.* 2017; 9(36): 5260-5265.
- [28] Neng NR, Mestre AS, Carvalho AP, Nogueira JMF. Powdered activated carbons as effective phases for bar adsorptive microextraction (BA μ E) to monitor levels of triazinic herbicides in environmental water matrices. *Talanta*. 2011; 83(5): 1643-1649.
- [29] Almeida C, Nogueira JMF. Comparison of the selectivity of different sorbent phases for bar adsorptive microextraction - Application to trace level analysis of fungicides in real matrices. *J. Chromatogr. A*. 2012; 1265: 7-16.
- [30] Almeida C, Strzelczyk R, Nogueira JMF. Improvements on bar adsorptive microextraction (BA μ E) technique - Application for the determination of insecticide repellents in environmental water matrices. *Talanta*. 2014; 120: 126-134.
- [31] Bernarda JR, Ahmad SM, Almeida C, Neng NR, Nogueira JMF. Application of bar adsorptive microextraction-large-volume injection-gas chromatography-mass spectrometric method for the determination of trace levels of agrochemicals in real matrices. *J. Braz. Chem. Soc.* 2015; 26(10): 2150-2158.
- [32] Dias AN, da Silva AC, Simao V, Merib J, Carasek. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. *Anal. Chim. Acta*. 2015; 888: 59-66.
- [33] Andrade FN, Ide AH, Neng NDR, Lanças FM, Nogueira JMF. Determination of trace levels of triazines in corn matrices by bar adsorptive microextraction with a molecularly imprinted polymer. *J. Sep. Sci.* 2016; 39(4): 756-761.
- [34] Calado BB, Ahmad SM, Almeida C, Neng NR, Nogueira JMF. Determination of trace levels of irgarol in estuarine water matrices by bar adsorptive microextraction. *J. Chromatogr. Sci.* 2016; 54(8): 1453-1459.
- [35] de Souza MP, Rizzetti TM, Francesquett JZ, Prestes OD, Zanella R. Bar adsorptive microextraction (BA μ E) with a polymeric sorbent for the determination of emerging contaminants in water samples by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Anal. Methods*. 2018; 10(7): 697-705.
- [36] Ahmad SM, Gomes MI, Ide AH, Neng NR, Nogueira JMF. Monitoring traces of organochlorine pesticides in herbal matrices by bar adsorptive microextraction - Application to black tea and tobacco. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2019; 1-15.
- [37] dos Santos AL, Krause LC, Schneider JK, Nogueira, JMF, Caramão EB. Evaluation of alpha- and beta-endosulfan residues in teas and yerba mate infusions by bar adsorptive microextraction and large volume injection-gas chromatography mass spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.* 2020; 31(3): 550-555.
- [38] Neng NR, Mestre AS, Carvalho AP, Nogueira JMF. Cork-based activated carbons as supported adsorbent materials for trace level analysis of ibuprofen and clofibrac acid in environmental and biological matrices. *J. Chromatogr. A*. 2011; 1218(37): 6263-6270.
- [39] Neng NR, Nogueira JMF. Development of a bar adsorptive micro-extraction-large-volume injection-gas chromatography-mass spectrometric method for pharmaceuticals and personal care products in environmental water matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 2012; 402(3): 1355-1364.
- [40] Almeida C, Stępkowska A, Alegre A, Nogueira JMF. Determination of trace levels of benzophenone-type ultra-violet filters in real matrices by bar adsorptive micro-extraction using selective sorbent phases. *J. Chromatogr. A*. 2013; 1311: 1-10.
- [41] Almeida C, Nogueira JMF. Determination of trace levels of parabens in real matrices by bar adsorptive microextraction using selective sorbent phases. *J. Chromatogr. A*. 2014; 1348: 17-26.
- [42] Ahmad SM, Almeida C, Neng NR, Nogueira JMF. Bar adsorptive microextraction (BA μ E) coated with mixed sorbent phases - Enhanced selectivity for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in real matrices in combination with capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. B*. 2016; 1008: 115-124.
- [43] Ide AH, Ahmad SM, Neng NR, Nogueira JMF. Enhancement for trace analysis of sulfonamide antibiotics in water matrices using bar adsorptive microextraction (BA μ E). *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016; 129: 593-599.
- [44] Ahmad SM, Ide AH, Neng NR, Nogueira JMF. Application of bar adsorptive microextraction to determine trace organic micro-pollutants in environmental water matrices. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2017; 19
- [45] Almeida C, Ahmad SM, Nogueira JMF. Bar adsorptive microextraction technique - Application for the determination of pharmaceuticals in real matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 2017; 409(8): 2093-2106.
- [46] Mafra G, Oenning AL, Dias AN, Merib J, Budziak D, da Silveira CB, Carasek E. Low-cost approach to increase the analysis throughput of bar adsorptive microextraction (BA μ E) combined with environmentally friendly renewable sorbent phase of recycled diatomaceous earth. *Talanta*. 2017; 178: 886-893.

- [47] Abujaber F, Ahmad SM, Neng NR, Martin-Doimeadios RCR, Bernardo, FJG, Nogueira JMF. Bar adsorptive microextraction coated with multi-walled carbon nanotube phases - Application for trace analysis of pharmaceuticals in environmental waters. *J. Chromatogr. A.* 2019; 1600: 17-22.
- [48] Ahmad SM, Almeida C, Neng NR, Nogueira JMF. Application of bar adsorptive microextraction (BA μ E) for anti-doping control screening of anabolic steroids in urine matrices. *J. Chromatogr. B.* 2014; 969: 35-41.
- [49] Almeida C, Nogueira JMF. Determination of steroid sex hormones in real matrices by bar adsorptive microextraction (BA μ E). *Talanta.* 2015; 136: 145-154.
- [50] Neng NR, Ahmad SM, Gaspar H, Nogueira JMF. Determination of mitragynine in urine matrices by bar adsorptive microextraction and HPLC analysis. *Talanta.* 2015; 144: 105-109.
- [51] Oenning AL, Mores L, Dias AN, Carasek E. A new configuration for bar adsorptive microextraction (BA μ E) for the quantification of biomarkers (hexanal and heptanal) in human urine by HPLC providing an alternative for early lung cancer diagnosis. *Anal. Chim. Acta.* 2017; 965: 54-62.
- [52] Ide AH, Nogueira JMF. Determination of hydrophilic UV filters in real matrices using new-generation bar adsorptive microextraction devices. *Separations* 2019; 45(6): 1-11.
- [53] Ahmad SM, Nogueira JMF, High throughput bar adsorptive microextraction: A novel cost-effective tool for monitoring benzodiazepines in large number of biological samples. *Talanta* 2019; 199: 195-202.
- [54] Ide AH, Nogueira JMF. Dual-hollow fiber microextraction (dual-HF μ E) - Application for monitoring trace levels of organochlorine pesticides in real matrices. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2019; *in press*
- [55] Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction. *J. Chromatogr. A.* 2008; 1184(1-2): 132-142.
- [56] Jiang X, Lee HK. Solvent bar microextraction. *Anal Chem.* 2004; 76(18): 5591-5596.