

Microextração em fase sólida com recobrimento internamente refrigerado: fundamentos teóricos e aplicações

Eduardo Carasek *, Edmar Martendal, Dilma Budziak

*Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Química
88040-900 Florianópolis (SC)*

Resumo

A microextração em fase sólida (SPME) é uma das técnicas modernas de preparação de amostras que vem causando grande impacto nas ciências de separações. Essa técnica permite a determinação de analitos em concentrações muito baixas, mesmo em amostras complexas, e a detecção deles por métodos como cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e eletroforese capilar. Neste artigo serão discutidos os fundamentos e aplicações de uma nova geração de SPME a qual é refrigerada internamente, contornando os efeitos exotérmicos da SPME.

Palavras-chave

Microextração em fase sólida internamente refrigerada; cromatografia; técnicas de preparação de amostras.

Abstract

Solid phase microextraction (SPME) is one of the modern sample preparation techniques which is deeply changing the separation sciences. This technique is very useful for determination of analytes present in low concentration even from complex samples, and become the analytes detectable by methods such as high-performance liquid chromatography, gas chromatography and capillary electrophoresis. This paper aims to discuss the fundamental aspects and some applications of a new SPME generation which is internally cooled, avoiding the SPME exothermic effect.

Keywords

Internally cooled solid phase microextraction; chromatography; sample preparation techniques.

1 Introdução

A qualidade de uma determinação quantitativa depende, dentre diversos fatores, principalmente da etapa de preparação da amostra. Preparar uma amostra significa adequá-la para introdução no instrumento de detecção. Esse procedimento deve envolver uma adequada separação dos analitos da matriz e, se necessário, promover uma pré-concentração deles para uma satisfatória detecção instrumental. Com isso, a determinação de analitos orgânicos em amostras complexas, os quais geralmente contêm uma grande diversidade de compostos orgânicos com diferentes polaridades e reatividades, torna-se um grande desafio (1). Dentre os procedimentos adotados para preparação de amostras, estão extração líquido-líquido (2), extração em fase sólida (3), extração com Soxhlet (4), extração assistida por micro-ondas (5) ou por ultrassom (6) e extração com fluido supercrítico (7).

Entre as principais desvantagens dessas técnicas está no uso de solventes orgânicos, os quais devem ser de alta pureza e, portanto, economicamente inviáveis. O extrato orgânico obtido, muitas vezes, necessita ser concentrado pela evaporação do solvente, fato que pode levar a perdas dos analitos mais voláteis. Perdas por evaporação ou adsorção podem ser compensadas pelo uso de um ou mais padrões internos adicionados à amostra antes de sua preparação. Contudo, um padrão interno adequado pode não estar disponível, seja pela dificuldade na escolha seja na obtenção, principalmente no caso de padrões deuterados (8).

A procura de soluções para os vários problemas encontrados nas técnicas convencionais de preparação de amostras tem levado a um notável avanço nesta área de conhecimento. Particularmente, o interesse na miniaturização em química analítica e/ou minimização no consumo de solventes orgânicos levou à introdução de técnicas alternativas em substituição aos convencionais procedimentos de extração de amostras.

A técnica de microextração em fase sólida (SPME: solid phase microextraction), introduzida por Pawliszyn e colaboradores (9), basicamente iniciou a era da miniaturização nos procedimentos analíticos

de preparação de amostras, sendo, atualmente, amplamente aceita e com constante aumento no número de novas publicações. A SPME representa um importante avanço na eficiência de extração de vários poluentes orgânicos em nível de traço (10) de matrizes líquidas (11), sólidas (12) e gasosas (13). A SPME também tem sido usada para amostragem de compostos voláteis e semivoláteis de amostras complexas como lodo (14). Adicionalmente, a SPME também tem sido aplicada com sucesso como um dispositivo para amostragem de compostos orgânicos voláteis de amostras biológicas (15-17) e gêneros alimentícios (18-20) em análise cromatográfica.

A microextração em fase sólida é uma técnica de preparo de amostra que não utiliza solvente. Contudo, sem o uso de solvente, a dessorção de analitos de amostras complexas para a análise no *headspace* pode ser extremamente prejudicada. Uma alternativa seria promover a dessorção térmica dos analitos da amostra pelo aumento da temperatura de extração. Entretanto, sabe-se que o equilíbrio de partição entre os analitos e a fase extratora da fibra é exotérmico (21). Assim, elevadas temperaturas favorecem a retirada dos analitos da matriz, mas também desfavorecem sua sorção desta pela fibra.

Algumas alternativas promissoras para contornar o efeito exotérmico do processo de SPME vêm sendo estudadas. Kan-Jung Chia *et al.* (22), em 2004, na tentativa de melhorar a sensibilidade na extração de dioxinas fortemente ligadas ao solo, desenvolveram um aparato onde amostras de solo em água foram aquecidas a 85 °C, e álcool (resfriado pela circulação e auxílio de um banho refrigerador) foi usado para resfriar a região superior do frasco da amostra e o recobrimento da fibra a aproximadamente 4 °C. Esse procedimento, em que não somente a fibra é resfriada, mas também toda a parte superior do frasco de amostra, requer uma hora para pré-tratamento da amostra e não utiliza solventes orgânicos. Um termopar foi introduzido na parte superior do frasco que continha a amostra para monitorar a temperatura do *headspace*. Dessa forma, a sensibilidade para a determinação de 4-cloro-dibenzo-p-dioxina-policlorada/dibenzofurano-policlorado (4Cl-PCDDs/PCDFs) e para 6Cl-PCDDs/PCDFs foi aumentada em, respectivamente, 2 e 22 vezes.

Um novo aparato de SPME, o qual é resfriado internamente e chamado de microextração em fase sólida com recobrimento internamente refrigerado (internally cooled solid-phase microextraction) ou *Cold Fiber (CF-SPME)*, foi proposto por Pawliszyn e colaboradores (23) como alternativa para minimizar o efeito exotérmico da SPME quando são empregadas altas temperaturas. Tal sistema permite o controle da temperatura da fase extratora e pode ser completamente automatizado.

Este artigo tem o objetivo de discutir os fundamentos da CF-SPME, o que possibilita o uso de novas estratégias de preparo de amostras complexas que vêm sendo desenvolvidas no Laboratório de Pesquisas em Cromatografia e Espectrometria Atômica do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

2 CF-SPME: Fundamentos teóricos

No dispositivo de CF-SPME, a refrigeração da fase extratora é realizada internamente pelo auxílio de um fluxo de dióxido de carbono líquido. O primeiro dispositivo de CF-SPME foi desenvolvido em 1995 (23) e aperfeiçoado/miniaturizado em 2006 (24) e é apresentado na Figura 1. O menor tubo metálico selecionado como suporte para o recobrimento da fase extratora, também servindo como um êmbolo da microsseringa, foi um tubo de aço inoxidável com diâmetro externo (d.e.) e interno (d.i.) de 0,60 e 0,71 mm, respectivamente. Essas dimensões foram compatíveis com o tubo que permite a passagem de CO₂ líquido (0,13 mm de d.i. e 0,30 mm de d.e.) e do fio de termopar ($\approx 0,08$ mm). Uma das extremidades desse tubo foi selada com cimento de alta temperatura. O termopar usado para monitorar a temperatura do recobrimento da fibra foi fixado no cimento a aproximadamente 2 mm da extremidade (ver parte ampliada da Figura 1). Aproximadamente 1 cm de uma membrana tubular polimérica de PDMS, com 0,30 mm d.i. e com 0,18 mm de espessura de filme, foi expandido em hexano e então colocado sobre a extremidade do tubo selado com cimento. A evaporação do hexano promove uma forte adaptação do tubo de PDMS sobre o suporte.

Um tubo auxiliar de aço inoxidável (0,81 mm de d.i. e 1,07 mm de d.e.) foi posicionado a aproximadamente 1 cm da ponta selada do êmbolo/suporte para proteger o recobrimento da fibra durante o procedimento de exposição e retração do recobrimento. E, finalmente, o menor tubo externo, com capacidade para acomodar o dispositivo de êmbolo/suporte mais o tubo protetor, foi um tubo de aço inoxidável com 1,14 mm de d.i. e 1,27 mm de d.e., o qual trabalha como protetor e agulha na perfuração de septos de frascos ou de GC (24).

Durante a evaporação do CO₂ líquido, energia térmica é absorvida do ambiente ao redor a aproximadamente 2,52 kJ min⁻¹ (calculado usando a densidade do CO₂ líquido de 0,2 g mL⁻¹ e entalpia de evaporação de 25,23 kJ mol⁻¹). Como resultado, o recobrimento da fibra colocado sobre a superfície externa do capilar pode ser efetivamente resfriado enquanto a amostra no frasco é aquecida (23).

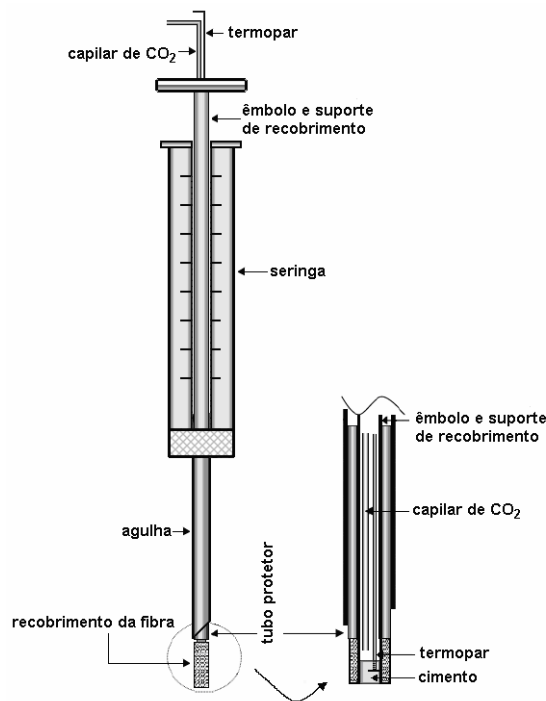


Figura 1. Aparato de SPME resfriado internamente.

Um controlador eletrônico de temperatura monitora a temperatura da região interna do tubo metálico, onde a membrana de PDMS foi posicionada,

e permite o acionamento de uma válvula solenóide que controla o fluxo de CO₂ líquido para o interior do referido tubo metálico. Um esquema do sistema completo é apresentado na Figura 2.

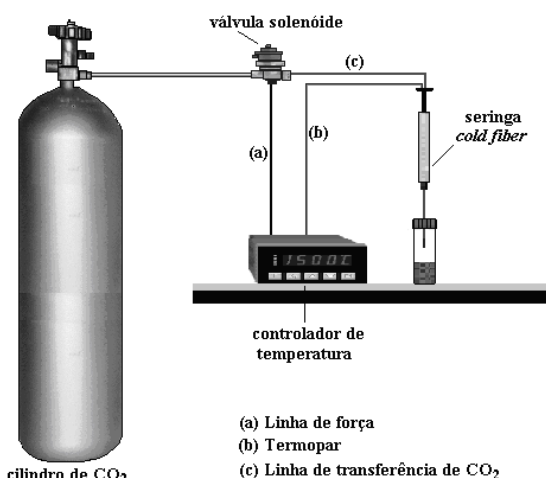


Figura 1. Esquema completo do sistema de SPME refrigerada internamente.

Usando tal estratégia de amostragem, a transferência de massa é favorecida e uma diferença de temperatura é criada entre o recobrimento da fibra resfriada e o *headspace* aquecido, com significativo aumento nos coeficientes de distribuição. Com esse arranjo, a temperatura pode ser muito elevada e é limitada somente pela estabilidade dos analitos e da matriz da amostra (25).

Segundo Pawliszyn, a força motriz da transferência do analito da fase gasosa para o recobrimento da fibra é o aumento da entropia do sistema. Como a variação da entropia independe das etapas, mas somente dos estados inicial e final, podem-se estabelecer etapas hipotéticas simples de maneira a tornar mais simples o cálculo da variação de entropia do processo. A seguir, será apresentada uma dedução simplificada da expressão para o cálculo da variação de entropia do processo de extração por um polímero líquido de um analito hipotético presente em fase gasosa, o que culminará em uma expressão para o cálculo da constante de partição do analito entre a fase gasosa a uma temperatura T_s e o recobrimento a uma temperatura T_f. A dedução completa pode ser

encontrada na referência 23. Inicialmente, pode-se supor que o processo ocorra em três etapas, cada uma com sua variação de entropia ΔS:

- 1) mistura do vapor do analito com o ar do *headspace* à temperatura e pressão constantes (T_s e P_s, respectivamente): ΔS₁;
- 2) resfriamento do vapor do analito de T_s para T_f nas proximidades do recobrimento resfriado: ΔS₂;
- 3) absorção do analito à temperatura constante T_f pelo recobrimento líquido: ΔS₃.

A variação de entropia total do processo é representada por:

$$\Delta S = \Delta S_1 + \Delta S_2 + \Delta S_3 \quad (\text{eq. 1})$$

ΔS₁, ΔS₂ e ΔS₃ podem ser estimados, respectivamente, pelas equações 2, 3 e 4:

$$\Delta S_1 = -n_s R \ln \frac{n_s}{n_H} + n_0 R \ln \frac{n_0}{n_H} \quad (\text{eq. 2})$$

$$\Delta S_2 = n_f C_p \left(\frac{T_s - T_f}{T_f} + \ln \frac{T_f}{T_s} \right) = n_f C_p \left(\frac{\Delta T}{T_f} + \ln \frac{T_f}{T_s} \right) \quad (\text{eq. 3})$$

$$\Delta S_3 = -n_f R \ln \frac{T_f n_f V_s}{T_s V_f K_0 n_H} \quad (\text{eq. 4})$$

Onde: n_s é a quantidade do analito no *headspace* quando o equilíbrio é alcançado; n₀ é a quantidade do analito inicialmente presente no *headspace*; n_H é a quantidade de ar no *headspace*, o qual é constante durante todo o processo e a consideração n_H >> n₀ pode ser feita uma vez que o analito, na maioria dos casos, encontra-se em muito

menor quantidade; n_f é a quantidade de analito absorvida pelo recobrimento da fibra no equilíbrio; C_p é a capacidade calorífica do analito à pressão constante, assumindo-se que esse valor é aproximadamente constante entre T_s e T_f ; K_o é a constante de distribuição do analito entre o *headspace* e o recobrimento da fibra quando ambos se encontram na temperatura da fibra T_f .

Tem-se que, no equilíbrio, a taxa de variação da entropia ΔS em relação à quantidade absorvida pela fibra n_f é igual à zero. Matematicamente, essa condição equivale à equação 5:

$$\frac{\partial \Delta S}{\partial n_f} = 0$$

(eq. 5)

Derivando-se $\Delta S = \Delta S_1 + \Delta S_2 + \Delta S_3$, em relação a n_f , lembrando que $n_o = n_f + n_s$, obtém-se a equação 6:

$$C_p \left(\frac{\Delta T}{T_f} + \ln \frac{T_f}{T_s} \right) - R \ln \frac{T_f n_f V_s}{T_s V_f n_s K_o} = 0$$

(eq. 6)

A constante de distribuição do analito entre o recobrimento e o *headspace* aquecido é convenientemente definida por $K_T = C_f/C_{HS} = n_f V_s / n_s V_f$. Substituindo essa relação na equação 4 e isolando o termo K_T , tem-se a equação 7:

$$K_T = K_o \frac{T_s}{T_f} \exp \left[\frac{C_p}{R} \left(\frac{\Delta T}{T_f} + \ln \frac{T_f}{T_s} \right) \right]$$

(eq. 7)

K_o é o coeficiente de partição quando tanto o recobrimento da fibra quanto o *headspace* estão na mesma temperatura da fibra T_f , e ΔT é a diferença de temperatura entre o *headspace* e o recobrimento da fibra: $T_s - T_f$.

A equação 7 mostra claramente o aumento do coeficiente de partição K_T conforme o aumento

da variação de temperatura entre o *headspace* e o recobrimento da fibra. Dessa maneira, pode-se utilizar uma alta temperatura para auxiliar na dessorção térmica dos analitos da matriz e aumentar sua volatilidade e, simultaneamente, resfriar o recobrimento da fibra, podendo-se alcançar extrações exaustivas, fato que, com SPME não refrigerada, isso somente poderia ser realizado em condições extremas, ou seja, quantidades de amostra muito pequenas e coeficientes de partição fibra-matriz muito altos.

3 Aplicações da CF-SPME

Esta nova e promissora adaptação em SPME ainda foi pouco explorada, mas sua excelente eficiência pode ser avaliada por meio das últimas publicações. Em 2006, Guiasvand e colaboradores (25) utilizaram o dispositivo miniaturizado de CF-SPME para a determinação de naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, antraceno, fluoranteno e pireno em amostras de areia e sedimento. Nesse estudo, os efeitos da temperatura e tempo de extração foram inicialmente analisados de forma univariada no sentido de maximizar a quantidade extraída de cada HPA de uma amostra de areia previamente adicionada aos analitos. A temperatura do recobrimento da fibra foi fixada em todos os experimentos em 5 °C. Dessa matriz, como temperatura de extração ótima, foram obtidos 150 °C e como tempo de extração, 40 min. Limites de detecção na faixa de 0,3 a 3 pg g⁻¹ (para uma massa de amostra de 2 g) foram obtidos. Duas amostras de referência de sedimento foram submetidas ao método proposto. Para naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno e antraceno, os resultados foram concordantes com os certificados. Já para fluoranteno e pireno, recuperações na faixa de 40 a 60% foram obtidas. De maneira a melhorar a recuperação para esses compostos, alguns modificadores foram utilizados, como metanol, sulfato de sódio e água. Apenas com o uso de água, os autores relatam uma melhora significativa na recuperação, contudo a sua evaporação a 150 °C causa um grande aumento na pressão interna e pode levar a vazamentos, deteriorando a precisão e exatidão do método. Assim,

maiores tempos de extração foram estudados, atingindo-se uma extração exaustiva e concordância com os valores certificados para esses compostos em 180 min.

Outra aplicação do dispositivo de CF-SPME foi realizada em 2006 por Carasek e Pawliszyn (26) para determinação de compostos provenientes do aroma de frutas tropicais, como maracujá, caju, tamarindo, acerola e goiaba. Uma comparação foi realizada entre fibras comerciais disponíveis e CF-SPME, sendo que o sistema de Cold Fiber mostrou-se mais atrativo, uma vez que um maior número de compostos pôde ser tentativamente identificado devido ao maior poder de extração. As variáveis que influenciam o processo foram otimizadas por meio de ferramentas quimiométricas, como planejamento fatorial e matriz Doehlert. As condições ótimas utilizando fibra comercial (DVB/CAR/PDMS) foram: 10 min de tempo de incubação, agitação da amostra em 500 rpm, tempo de extração de 25 min e temperatura de extração de 60 °C. Para a otimização utilizando CF-SPME, o tempo de incubação e o tempo de extração foram fixados em 10 e 25 min, respectivamente, de maneira a permitir uma comparação com o método que utiliza fibra comercial. As variáveis avaliadas pela metodologia de superfície de resposta foram as temperaturas da fibra e da amostra. Levando em consideração um compromisso entre a extração dos compostos mais voláteis e os semivoláteis, a condição ótima foi avaliada como 60 °C para temperatura da amostra e 0 °C para temperatura da fibra. Os resultados da análise das amostras de frutas mostraram que, exceto para a polpa de maracujá, o método que utilizou CF-SPME foi mais eficiente, pois foi possível identificar um maior número de compostos comparativamente às outras fibras comerciais avaliadas. A maior eficiência foi atribuída ao aumento da capacidade de extração do sistema de CF-SPME devido à capacidade de resfriamento do recobrimento simultaneamente ao aquecimento da amostra.

Em 2007, Carasek e colaboradores (27) novamente utilizaram o dispositivo de CF-SPME, desta vez para determinação de compostos que causam cheiro de mofo em vinhos engarrafados: 2,4 dicloroanisol, 2,6 dicloroanisol, 2,4,6 triclороanisol

e pentacloroanisol em amostras de rolha de cortiça. As condições experimentais foram otimizadas tanto para fibra comercial quanto para CF-SPME por meio de planejamento fatorial completo e matriz Doehlert. As melhores condições de extração usando CF-SPME foram: 10 min de tempo de incubação, 10 min de tempo de extração, temperaturas da amostra e da fibra de 130 e 10 °C, respectivamente. Para a fibra comercial avaliada (DVB/PDMS), as condições ótimas foram: 10 min de incubação, 75 min de tempo de extração a 85 °C, adição de 8 mL de água sobre 200 mg de amostra e agitação magnética de 500 rpm. Os limites de detecção do método que utilizou fibra comercial foram cerca de uma ordem de grandeza superiores, comparativamente, ao método que utilizou CF-SPME (1,2 a 1,8 ng g⁻¹ contra 0,25 a 0,45 ng g⁻¹). Além dessa vantagem, deve-se destacar a diferença no tempo de extração entre os dois métodos (10 min para CF-SPME contra 75 min para SPME comercial). Com a temperatura da amostra em 130 °C, a taxa de evaporação dos analitos da matriz para o *headspace* é alta. Assim, a difusão dos analitos pelo recobrimento da fibra é a etapa determinante do processo, e não a taxa de evaporação dos analitos da matriz, levando a extrações mais rápidas (27). Contrariamente, com a temperatura da amostra em 85 °C, provavelmente a etapa determinante da velocidade deve ser a evaporação dos analitos da matriz, fato que torna necessário um maior tempo de extração para que se atinja o equilíbrio.

Guiasvand e colaboradores (28), no ano de 2007, desenvolveram um método para determinação do perfil aromático de amostras de arroz. Nove amostras analisadas são variedades cultivadas e consumidas principalmente no Irã. Também foram analisadas duas amostras de arroz cultivadas na Índia e bastante consumidas na América do Norte, especialmente Canadá. Os autores basearam a otimização na maximização da área de quatro compostos selecionados: hexanal, D-limoneno, tetradecano e 2-acetil-1-pirrolina, sendo esse último composto importante componente do aroma do arroz, persistente mesmo depois do cozimento, e sua presença na amostra é desejável por conferir qualidade a ela. As melhores condições obtidas foram: fibra CAR/DVB/PDMS, adição de 200 µL de

água em 2 g de amostra e 30 minutos de extração a 60 °C. Com essas condições, os autores identificaram tentativamente cerca de 30 compostos em cada amostra analisada. Utilizando o sistema CF-SPME, as seguintes condições ótimas foram obtidas: temperatura da amostra de 100 °C, sem adição de água e 30 min de extração. Vale ressaltar que a temperatura da fibra não foi otimizada, sendo em todos os estudos fixada em 5 °C. Cerca de 50 compostos foram tentativamente identificados utilizando CF-SPME, demonstrando que o sistema de refrigeração da fibra torna o aparato mais eficiente quando comparado ao comercial.

Yong Chen e colaboradores (29) analisaram amostras de xampu com o objetivo de quantificar compostos responsáveis pelo seu perfume e *flavor*. Os compostos estudados foram divididos em dois grupos: (1) hexenal, acetato de butila, (E)-2-hexenal, acetato de isoamila, isobutirato de isobutila, acetato de hexila e acetato de heptila foram extraídos de soluções aquosas e (2) acetato de benzila, 3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol (geraniol) e ((±)-8,12-epoxi-13,14,15,16-tetranorlabdano (Cetalox®) foram extraídos de solução aquosa contendo 1% de xampu. O grupo (1) foi considerado responsável pelo *flavor* da amostra, e o grupo (2), pelo perfume. As condições ótimas para o grupo dos flavorizantes foram: extração por 20 min a 60 °C com a temperatura do recobrimento fixada em 1 °C, volume de 8 mL de amostra em frasco de 20 mL com agitação magnética. A temperatura máxima da amostra avaliada foi limitada a 60 °C para preservar a integridade dos analitos e da amostra. Já para fibra comercial de PDMS 100 µm, a extração foi realizada a 45 °C por 20 min, com agitação magnética, volume de amostra de 8 mL em frasco de 20 mL. Limites de detecção de 2 a 10 vezes menores foram obtidos com o sistema internamente refrigerado para o grupo dos flavorizantes. Para o grupo (2), utilizando CF-SPME, as condições otimizadas foram: volume de amostra de 50 µL em frasco de 20 mL, com agitação magnética, tempo e temperatura de extração de 45 min e 60 °C, respectivamente, e a temperatura da fibra não foi estudada, sendo fixada em todo o trabalho em 1 °C. Com essas condições, a extração foi praticamente quantitativa, com recuperações de 83, 87 e 90% para Cetalox®, acetato de benzila e geraniol,

respectivamente. Os limites de quantificação (para 50 µL de amostra diluída a 1%) foram de 1 a 8 µg g⁻¹. As condições para fibra comercial foram otimizadas em um trabalho posterior dos mesmo autores (30), sendo: fibra de poliacrilato (PA 85 µm), tempo e temperatura de 45 min e 45 °C, respectivamente, 8 mL de amostra diluída a 0,01% em frasco de 20 mL, saturada com NaCl e agitação magnética. Nessas condições, os limites de quantificação ficaram na faixa de 2 a 20 µg g⁻¹. Embora, nesse caso, o melhoramento no poder de detecção do sistema CF-SPME não tenha ficado muito óbvio quando comparado com o sistema comercial, devem-se destacar as diferenças entre os volumes de amostra (50 µL contra 8 mL) e o fator de diluição (1% contra 0,01%) empregados em cada caso, o uso de NaCl no caso do método com fibra comercial, e a facilidade no procedimento de calibração quando o método de preparo de amostra empregado funciona de maneira exaustiva.

CF-SPME foi utilizada por Haddadi e colaboradores (31) como ferramenta para estudar a cinética de dessorção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de matrizes sólidas (solo e sedimento). Inicialmente os autores apresentam a cinética de sorção dos HPA's presentes em fase gasosa pelo sistema de CF. Com a amostra a 150 °C e o recobrimento da fibra em 25 °C, os analitos foram extraídos quase exaustivamente (80% ou mais) da fase gasosa em apenas 5 minutos. Esse curto tempo de extração é previsto pela teoria, visto que a difusão pela matriz gasosa é rápida e, sendo a difusão pelo recobrimento a etapa lenta do processo, as velocidades de transferência de massa são altas (apenas 5 min para atingir o equilíbrio, nesse caso). Sabendo-se o tempo de equilíbrio entre a fração dos compostos em fase gasosa e o recobrimento da fibra quando não há matriz (frasco vazio), o atraso na absorção dos analitos pela fibra, quando a matriz está presente, deve-se à lenta dessorção deles da matriz da amostra. O coeficiente angular do gráfico, relacionando o logaritmo natural da fração dessorvida no tempo t em função do tempo de dessorção, fornece a constante de dessorção. Valores dessa constante foram obtidos em temperaturas na faixa de 90 a 180 °C, e, com isso, as energias de ativação aparente de dessorção puderam ser estimadas.

Outra aplicação físico-química do dispositivo de SPME internamente refrigerado foi realizada em 2009 por Sanchez-Prado e colaboradores (32). Nesse estudo, hexaclorobenzeno foi inicialmente absorvido pelo recobrimento do sistema de CF a partir de 10 mL de solução $5 \mu\text{g L}^{-1}$ contida em frasco de 22 mL. A temperatura da amostra foi de $100 \text{ }^\circ\text{C}$, o tempo de extração foi de 45 min e a temperatura da fibra, de $50 \text{ }^\circ\text{C}$. A seguir, o sistema foi retirado do frasco contendo a amostra, a temperatura do recobrimento foi ajustada para $0 \text{ }^\circ\text{C}$, e o recobrimento foi exposto à irradiação na região do ultravioleta (254 nm) a uma potência de 16 W por diferentes tempos (0 a 20 min). Após o tempo de exposição à radiação, os compostos dissolvidos no recobrimento da fibra foram termicamente desorvidos no injetor do cromatógrafo a gás e analisados. Os autores relatam a identificação de quatro compostos durante o intervalo estudado de fotodegradação: pentaclorobenzeno, dois isômeros do tetraclorobenzeno (1,2,3,5 e 1,2,4,5-tetraclorobenzenos) e pequenas quantidades de 1,3,5-triclorobenzeno. Em 20 min de irradiação, hexaclorobenzeno foi praticamente todo convertido. Baseado também em outros estudos da literatura, os autores sugerem que a principal rota de fotodegradação foi a de de cloração redutiva, seguida por uma sucessiva perda de átomos de cloro. Resultados similares foram obtidos em outros estudos quando a fotodegradação foi realizada em meio orgânico. O sistema de CF-SPME mostrou-se uma efetiva e conveniente ferramenta para estudar a cinética de fotodegradação, bem como a análise dos compostos formados, pois utiliza o próprio recobrimento da fibra como um meio orgânico para a reação e facilita a introdução dos produtos formados diretamente no cromatógrafo para análise e identificação. A Tabela 1 mostra resumidamente algumas das aplicações da CF-SPME.

4 Conclusões e perspectivas

A microextração em fase sólida com recobrimento internamente refrigerado oferece um bom desempenho analítico, com boa sensibilidade e uma redução significativa no tempo de análise. É uma técnica atrativa para a análise de matrizes sólidas e complexas, como solo, sedimento, frutas e plantas. Por possibilitar uma extração quantitativa, as interferências de matriz são superadas, permitindo uma determinação com boa exatidão.

Por se tratar de uma técnica em desenvolvimento, poucos trabalhos até hoje foram publicados, e há muito que se explorar. A técnica se mostra muito promissora na análise de matrizes complexas, em que o analito se encontra fortemente e intimamente ligado. Ela se apresenta como uma alternativa em substituição às técnicas tradicionais aplicadas na análise de amostras complexas. A viabilidade de novos recobrimentos para CF-SPME deve ser investigada. O emprego de novos materiais sorventes pode promover à técnica uma ampliação de sua faixa de aplicação, visto que até hoje apenas o recobrimento de PDMS foi usado. Futuros estudos podem incluir uma miniaturização adicional do dispositivo. A diminuição nas dimensões dos fios de termopar poderia permitir uma significativa redução nas dimensões da agulha.

5 Agradecimentos

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Tabela 1. Resumos de algumas aplicações qualitativas e quantitativas da CF-SPME.

Analitos	Matriz	Condições CF-SPME	LD ^a	Observações	Ref.
HPA	Areia	T _{fibra} = 5 °C T _{amostra} = 140 °C t _{extração} = 40 min	0,3 – 3 pg g ⁻¹	GC-FID	25
Aromas	Polpa de frutas	T _{fibra} = 0 °C T _{amostra} = 60 °C t _{extração} = 25 min	não determinado	Estudo qualitativo GC-MS	26
Anisóis	Rolhas de cortiça	T _{fibra} = 10 °C T _{amostra} = 130 °C t _{extração} = 10 min	0,25 – 0,45 ng g ⁻¹	GC-TOF-MS	27
Aromas	Arroz	T _{fibra} = 5 °C T _{amostra} = 100 °C t _{extração} = 30 min	não determinado	Estudo qualitativo GC-TOF-MS	28
Aromas	Perfumes/ Xampu	T _{fibra} = 1 °C T _{amostra} = 60 °C t _{extração} = 20 min	1 – 8 µg g ⁻¹	GC-MS	29
HPA	Solos	T _{fibra} = 25 °C T _{amostra} = 150 °C t _{extração} = 5 min	não determinado	Estudo da cinética de dessorção GC-FID	31
Hexaclorobenzeno	Água	T _{fibra} = 50 °C T _{amostra} = 100 °C t _{extração} = 45 min	não determinado	Estudo de fotodegradação GC-FID	32

^a limite de detecção

Referências Bibliográficas

- P.M. Medeiros, B.R.T. Simoneit, J. Chromatogr. A 1141, 271 (2007).
- I. Harrison, R.U. Leader, J.J.W. Higgo, J.C. Tjell, J. Chromatogr. A, 688, 181 (1994).
- X. Shen, J. Cai, Y. Gao, Q. Su, Chromatographia 64, 71 (2006).
- Q.-Y. Cai, C.-H. Mo, Q.-T. Wu, Q.-Y. Zeng, A. Katsoyiannis, J. Chromatogr. A 1143, 207 (2007).
- T.H. Hoang, R. Sharma, D. Susanto, M. Di Maso, E. Kwong, J. Chromatogr. A 1156, 149 (2007).
- C. Sánchez-Brunete, E. Miguel, J.L. Tadeo, Talanta 70, 1051 (2006).
- G. Anitescu, L.L. Tavlarides, J. Supercrit. Fluids 38, 167 (2006).
- A. Hildebrandt, S. Lacorte, D. Barceló, Anal. Bioanal. Chem. 387, 1459 (2007).
- C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Anal. Chem. 62, 2145 (1990).
- J. Pawliszyn, R. Belardi, Water Pollution Research Journal of Canada 24, 179 (1989).
- M.I.H. Helaleh, S. Fujii, T. Korenaga, Talanta 54, 1039 (2001).
- Ó. Ezquerro, G. Ortiz, B. Pons, M.T. Tena, J. Chromatogr. A, 1035, 17 (2004).
- D. Gorlo, L. Wolska, B. Zygumunt, J. Namiesnik, Talanta 44, 1543 (1997).
- C. Basheer, H.K. Lee, J. Chromatogr. A 1047, 189 (2004).
- B.S. De Martinis, M.A.M. Ruzzene, C.C.S. Martin, Anal. Chim. Acta 522, 163 (2004).
- C. Deng, J. Zhang, X. Yu, W. Zhang, X. Zhang, J. Chromatogr. B 810, 269 (2004).
- A.M. Bermejo, P. López, I. Álvarez, M.J. Taberero, P. Fernández, Forensic Sci. Int. 156, 2 (2006).
- B. Plutowska, W. Wardencki, Food Chem. 101, 845 (2007).

19. E. Ibáñez, S. López-Sebastián, E. Ramos, J. Tabera, G. Reglero, *Food Chem.* 63, 281 (1998).
20. R. Azodanlou, C. Darbellay, J.-L. Luisier, J.-C. Villettaz, R. Amado, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 36, 223 (2003).
21. J. Pawliszyn, *Applications of Solid Phase Microextraction, Royal Society of Chemistry, pg 655 (1999)*.
22. K.-J. Chia, T.-Y. Lee, S.-D. Huang, *Anal. Chim. Acta* 527, 157 (2004).
23. Z. Zhang, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 67, 34 (1995).
24. Y. Chen, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.* 78, 5222, (2006).
25. A.R. Ghiasvand, S. Hosseinzadeh, J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. A*, 1124, 35 (2006).
26. E. Carasek, J. Pawliszyn, *J.Agric.Food Chem.* 54, 8688 (2006).
27. E. Carasek, E. Cudjoe, J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. A*, 1138, 10 (2007).
28. A.R. Ghiasvand, L. Setkova, J. Pawliszyn, *Flavour and Fragrance Journal*, 22, 377 (2007).
29. Y. Chen, F. Begnaud, A. Chaintreau, J. Pawliszyn, *J. Sep. Sc.* 30, 1037 (2007).
30. Y.Chen, F. Begnaud, A. Chaintreau, J. Pawliszyn, *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 822 (2006).
31. S.H. Haddadi, V.H. Niri, J. Pawliszyn, *Anal. Chim. Acta* 224, 652 (2008).
32. L. Sanchez-Prado, S. Risticovic, J. Pawliszyn, E. Psillakis, Low, J. *Photochem. and Photobiology A: Chemistry*, 206, 227 (2009).