

# Microextração em gota única (SDME): fundamentos e aplicações

## *Single drop microextraction (SDME): fundamentals and applications*

**Iohana Pinto de Pinto**

**Marcio Pozzobon Pedroso\***

Universidade Federal de Lavras  
Departamento de Química  
37200-000 Lavras (MG) Brasil  
\*marciopedroso@dqi.ufla.br

**Recebido:** 08 Set 2015

**Aceito:** 28 Set 2015

### Resumo

As técnicas clássicas de preparo de amostra têm sido substituídas por técnicas miniaturizadas devido ao baixo custo, pequeno consumo de solventes e possibilidade de automação. A primeira técnica de microextração em fase líquida desenvolvida foi a microextração em gota única (SDME) e, desde então, novos modos de operação foram desenvolvidos. O princípio da SDME está baseado na partição dos analitos de interesse entre a amostra e uma pequena gota de um solvente orgânico. Princípios teóricos, diferentes modos de operação e aplicações recentes da SDME para a determinação de compostos orgânicos por técnicas cromatográficas são apresentados nessa revisão.

**Palavras-chave:** preparo de amostra, microextração em fase líquida, cromatografia, gota única.

### Abstract

The classical sample preparation techniques are being replaced by miniaturized techniques due to low cost, low solvents consume and possibility of automation. The first liquid phase microextraction technique developed was the single drop microextraction (SDME) and since then new operation modes have been developed. The SDME principle is based on partition of the analytes between the sample and a small drop of an organic solvent. Theoretical principles, operation modes and recent applications of the SDME in the determination of organic compounds by chromatographic techniques are presented in this review.

**Keywords:** samples preparation, liquid phase microextraction, chromatography, single drop.

## 1. Introdução

O preparo da amostra se faz necessário quando a amostra não é passível de ser analisada em sua forma bruta, seja pelo fato da concentração ou natureza do analito de interesse não ser compatível com a técnica instrumental, ou porque a amostra contém componentes que possam interferir na análise e/ou danificar o equipamento. Geralmente, essa etapa prévia à análise instrumental tem por objetivo pré-concentrar e extrair da amostra os componentes de interesse. Além disso, é uma etapa que demanda grande parte do tempo total da análise e elevado consumo de recursos<sup>[1]</sup>. Portanto, o preparo de amostra é determinante para a obtenção de resultados confiáveis, bem como minimizar o tempo e os custos da análise.

Para análises por cromatografia gasosa (GC) ou cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), as técnicas de preparo de amostras tradicionais mais conhecidas e utilizadas são a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE)<sup>[2]</sup>. A LLE é uma técnica que demanda tempo, por ser realizada em muitos passos, utiliza uma quantidade elevada de solvente orgânico e resulta na geração de quantidades significativas de resíduos<sup>[3]</sup>. Por sua vez, a SPE surgiu para minimizar algumas limitações da LLE e, embora seja uma técnica amplamente empregada, demanda gastos com cartuchos e acessórios, além da variabilidade entre lotes de cartuchos de um mesmo fabricante<sup>[4]</sup>.

As desvantagens das técnicas tradicionais levaram a diversas pesquisas relacionadas à introdução de novas tecnologias para a extração, as quais preconizam a miniaturização, redução da quantidade de solventes, automação e, quando possível, aplicação *in-situ* ou *in-vivo*<sup>[5]</sup>. Técnicas miniaturizadas baseadas nas extrações por LLE e SPE apresentam vantagens de estarem mais relacionadas à Química Verde e por proporcionarem ao analista maior grau de automação, o que reduz os erros cometidos durante o preparo da amostra. Dentre essas técnicas as mais comuns são microextração em fase sólida (SPME) e microextração em fase líquida (LPME ou LLME).

A LPME possui diferentes métodos de operação, de acordo com a forma que a fase líquida extratora se encontra, que nesse trabalho serão descritos como três grandes grupos<sup>[6,7]</sup>: (i) microextração com fibras ocas (HF-LPME), na qual um solvente orgânico imiscível em água é imobilizado nos poros de uma fibra oca porosa e o interior da fibra é preenchido com o solvente extrator; (ii) microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), na qual a fase extratora imiscível com a amostra é dispersa em solução aquosa pelo auxílio de um solvente dispersivo e, posteriormente, separada por centrifugação; (iii) microextração em gota única (SDME), na qual uma única gota do solvente extrator imiscível com a amostra é colocada em contato com a amostra. Cada uma das técnicas citadas podem apresentar subdivisões e/ou modificações das mesmas, que muitas vezes podem ser tratadas como técnicas diferentes.

Desenvolvida em 1996 por Jeannot et al.<sup>[8]</sup>, a primeira descrição da SDME envolveu a extração de compostos orgânicos presentes em água através de uma gota de n-octano de 8  $\mu$ L suspensa no final de um tubo Teflon imerso na solução aquosa. Após um tempo de contato entre as fases, uma alíquota da gota de solvente contida no interior do tubo foi amostrada com auxílio de uma microseringa e injetada em um GC. Frente à LLE, a extração proposta mostrou-se mais rápida e simples, além de diminuir consideravelmente a quantidade de solvente orgânico empregada<sup>[3]</sup>.

Em 1997 He e Lee<sup>[9]</sup> propuseram uma pequena modificação na técnica, a fim de facilitar seu uso em laboratório. Em substituição ao tubo de Teflon, a gota do solvente extrator foi suspensa na ponta de uma microseringa para GC. Para a extração a amostra foi colocada em um frasco com tampa com septo de silicone e 1  $\mu$ L do solvente orgânico foi aspirado para o lúmen da microseringa. Em seguida, o septo da tampa foi perfurado pela agulha da microseringa e a ponta da agulha foi imersa na amostra. Lentamente, a gota foi

exposta na ponta da microseringa, entrando em contato com a amostra por determinado tempo. Posteriormente, a gota foi retraída para dentro da microseringa e introduzida diretamente no injetor do GC. Essa abordagem mostrou-se vantajosa por minimizar tempo e problemas de diluição e contaminação do extrato, pois extração e injeção são realizadas com a mesma microseringa, sem necessidade de etapas intermediárias.

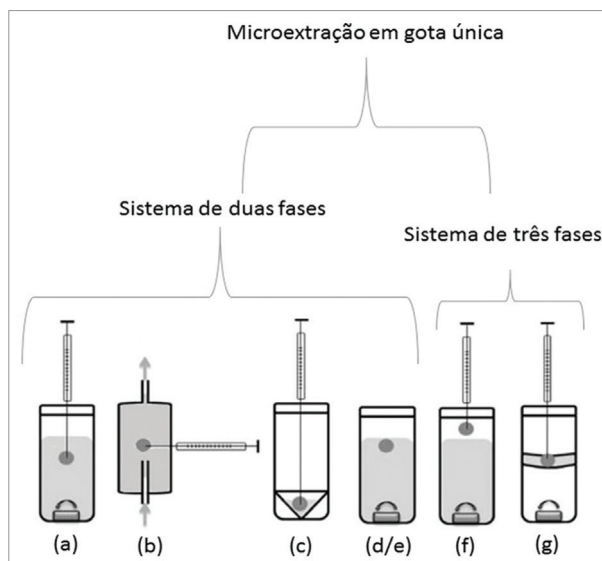
Desde o primeiro trabalho, a SDME tem sido bastante empregada por apresentar simplicidade em sua operação e não exigir equipamentos específicos. Outra vantagem está relacionada a não existência de efeito de memória entre as extrações, já que a gota é renovada em cada extração. Embora tenha sido originalmente desenvolvida para aplicação em GC, a aplicabilidade dos diversos modos da SDME envolve uma ampla faixa de técnicas instrumentais de análise, sendo a GC e a HPLC as mais empregadas. Menos frequente, a determinação dos analitos pode ser feita também por eletroforese capilar (*capillary electrophoresis* - CE), espectrometria de absorção atômica (*atomic absorption spectrometry* - AAS) ou espectrometria de massas (*mass spectrometry* - MS), essa última em suas diferentes formas de ionização. Dessa forma, a gama de analitos passíveis de determinação utilizando a SDME compreende desde compostos orgânicos, leves ou pesados, até íons metálicos<sup>[10-14]</sup>.

Nessa revisão serão abordados os fundamentos teóricos e os modos de operação da SDME, técnica que se destaca por ser simples, rápida e acessível a qualquer laboratório de cromatografia. Embora a SDME também seja muito usada para a determinação de metais, apenas aplicações recentes voltadas para análise cromatográfica serão apresentadas. De 1996 a 2015 cerca de 360 artigos versando sobre os diferentes modos de operação da SDME haviam sido publicados (excluindo revisões), dos quais apenas 8 trabalhos referentes à pesquisadores brasileiros.

## 2. Modos de extração e aspectos teóricos da SDME

A extração por SDME pode ser realizada através de diferentes modos<sup>[7]</sup>, conforme esquema apresentado na Figura 1, os quais são subdivididos em sistemas com duas ou três fases. Quando a gota do solvente extrator e a amostra estão em contato direto, considera-se o sistema de duas fases. Quando há uma terceira fase (*headspace* ou outro solvente) entre as duas anteriormente citadas, assume-se o sistema de três fases<sup>[7]</sup>. Os modos para sistemas de duas fases são: i) imersão direta (*direct immersion* - DI), ii) fluxo contínuo (*continuous flow* - CF ou *continuous flow microextracation* - CFME), iii) gota diretamente suspensa (*directly-suspended droplet* - DSD ou *DSDME*), iv) gota sólida (*solidification of floating drop* - SFD ou *SFDME*), iv) gota a gota (*drop-to-drop* - DDME). Já os modos para sistema de três fases são: i) *headspace* (HS) e ii) líquido-líquido-líquido (*liquid-liquid-liquid* - LLL).

A extração por DI-SDME, apresentada na Figura 1(a), é similar aquela descrita em 1997 por He e Lee<sup>[9]</sup>. Antes da extração a microseringa é imersa



**Figura 1.** Classificação e esquema dos diferentes modos de operação da SDME - (a) Imersão Direta (DI-SDME), (b) Fluxo Contínuo (CFME), (c) Gota a gota (DDME), (d) Gota Suspensa (DSDME), (e) Gota Sólida (DSDME), (f) *Headspace* (HS-SDME) e (g) Líquido-líquido-líquido (LLLME). Adaptado de (76).

no solvente orgânico (imiscível em água) e o lúmen é preenchido com alguns microlitros da fase extratora. Posteriormente, a agulha da microsseringa é inserida no frasco que contém a amostra e a ponta da agulha imersa na amostra. Lentamente o êmbolo da microsseringa é pressionado para formação da gota na extremidade da agulha, havendo contato direto entre a fase orgânica e a amostra aquosa. Após um determinado tempo, a gota é aspirada para o lúmen da microsseringa, sendo imediatamente transferida para o injetor do cromatógrafo.

Como há o contato direto entre as duas fases, o solvente extrator deve ser imiscível em água, possuir baixa pressão de vapor e ter afinidade com o analito<sup>[15]</sup>. Os solventes mais utilizados são o octanol, tolueno, hexano e decano<sup>[16]</sup>. No geral, os solventes orgânicos utilizados são compatíveis com as análises por GC, o que faz dessa a instrumentação mais associada a DI-SDME<sup>[17]</sup>. Os analitos extraídos são normalmente neutros, moderadamente básicos ou ácidos, apolares e semi-voláteis e, geralmente, são extraídos de amostras aquosas<sup>[17]</sup>.

Na DI-SDME, o processo de extração ocorre, idealmente, pelo equilíbrio de partição do analito entre um volume de fase aquosa ( $V_{aq}$ ) e um volume de fase orgânica ( $V_{org}$ ), tal qual uma extração líquido-líquido<sup>[15]</sup>. A razão de distribuição entre a concentração do analito entre as fases pode ser aproximada para:

$$K_d = \frac{C_{org}}{C_{aq}} \quad (1)$$

sendo  $C_{aq}$  a concentração do analito na fase aquosa no equilíbrio e  $C_{org}$  a concentração do analito na fase orgânica no equilíbrio. Muitas vezes utiliza-se a constante de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ), definida como a razão da concentração de um composto no equilíbrio em octanol em relação à sua concentração na fase aquosa, como boa estimativa para  $K_d$ . Uma vez que em grande parte as extrações por SDME o solvente deve ser imiscível em água, tal aproximação é adequada<sup>[18]</sup>.

A quantidade do analito em cada uma das fases depende da concentração inicial da amostra aquosa ( $C_{aq}^0$ ) e pode ser calculada através do balanço de massa para o analito. A quantidade total do analito ( $n$ ), originalmente presente apenas na fase aquosa, corresponde ao somatório da quantidade do analito na fase orgânica ( $n_{org}$ ) e na fase aquosa ( $n_{aq}$ ) no equilíbrio. A partir da Equação 1 e do balanço de massa para o analito, pode-se obter a quantidade do analito extraída para a fase orgânica, dada por:

$$n_{org} = \frac{K_d V_{org} V_{aq} C_{aq}^0}{V_{aq} + K_d V_{org}} \quad (2)$$

A eficiência de extração em SDME geralmente é baixa, o que faz com que a técnica seja considerada como não exaustiva. A eficiência de extração depende de fatores como volume das fases, concentração inicial da amostra e  $K_d$ . Na Figura 2 está apresentada a influência de  $K_d$  na eficiência da extração, considerando uma típica extração por SDME, na qual o  $V_{aq}$  é 10 mL, o  $V_{org}$  de 2  $\mu$ L e a  $C_{aq}^0$  de 2  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. É possível verificar que para compostos com  $\log K_d$  superiores a 5, caso de bifenilas policloradas, a extração pode ser considerada exaustiva. Para a maioria dos compostos extraídos por SDME o valor de  $\log K_d$  é inferior à 5, o que torna a eficiência de extração baixa e, com isso, a extração é considerada não-exaustiva. Por isso, ao contrário das técnicas exaustivas, o sucesso de uma análise por SDME está relacionado à exatidão obtida para a concentração do analito na amostra, e não à eficiência de extração de 100%<sup>[19]</sup>.

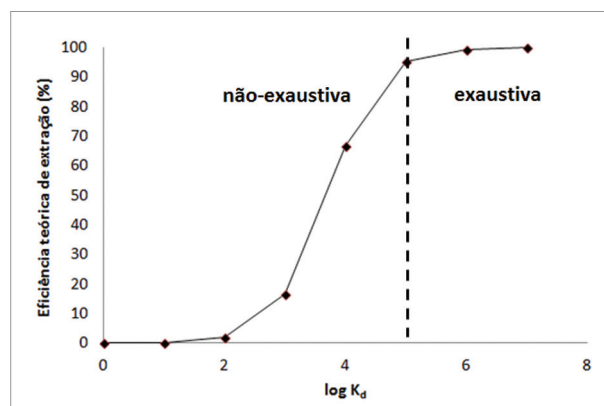


Figura 2. Influência de  $K_d$  na eficiência teórica de extração por SDME.

Mesmo para extrações com baixa eficiência o fator de pré-concentração, definido como a razão entre  $C_{\text{org}}$  e  $C_{\text{aq}}^0$  atinge valores superiores a 1000, dependendo do modo de operação da SDME<sup>[17]</sup>, mas geralmente variam entre 50 e 500. Em outras palavras, como o volume da gota é muito pequeno, o pouco de analito que é extraído proporciona uma concentração elevada na fase orgânica. Experimentalmente, o fator de pré-concentração pode ser determinado por meio da relação entre a área do pico cromatográfico obtido pela injeção direta de uma solução padrão do analito e pela área do pico obtido pela injeção dessa mesma solução padrão após extração por SDME<sup>[20]</sup>.

Inicialmente, o modelo de transferência dos analitos da fase aquosa para a fase orgânica foi baseada em duas teorias: a teoria do filme e a teoria da penetração<sup>[21]</sup>, sendo o coeficiente de transferência de massa da fase aquosa ( $\beta_{\text{aq}}$ ) considerado o passo determinante da extração. Num sistema em que a gota está imersa em solução aquosa e sob agitação, a teoria do filme pressupõe que há um filme de fase aquosa adjacente à gota que está estático e o movimento de convecção da fase aquosa aumenta gradualmente da interface para o seio da solução aquosa. Assim,  $\beta_{\text{aq}}$  depende do coeficiente de difusão do analito no meio aquoso ( $D_{\text{aq}}$ ) e da espessura desse filme ( $\delta_{\text{aq}}$ ):

$$\beta_{\text{aq}} = \frac{D_{\text{aq}}}{\delta_{\text{aq}}} \quad (3)$$

Ao contrário da teoria do filme, na teoria da penetração há o pressuposto de que essa interface não seja estática, mas seja constantemente renovada. Durante a extração, o volume de solução aquosa que entra em contato com fase orgânica por um pequeno tempo ( $t_c$ ) é constantemente substituído por outra parcela de solução. Nesse caso,  $\beta_{\text{aq}}$  depende de  $D_{\text{aq}}$  e de  $t_c$ , conforme a Equação 4:

$$\beta_{\text{aq}} = 2 \sqrt{\frac{D_{\text{aq}}}{\pi t_c}} \quad (4)$$

Usando dados experimentais para a extração de malation, 4-metilacetofenona, 4-nitrotolueno e progesterona, Jeannot e Cantwell<sup>[21]</sup> observaram que a transferência de massa dos solutos é diretamente proporcional a  $D_{\text{aq}}$ , o que leva a concluir que a teoria do filme é mais adequada para descrever a transferência de massa na SDME.

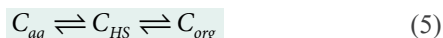
Para realizar a extração em pouco tempo, a solução da amostra é agitada (geralmente com barra de agitação), visto que quanto maior for agitação, menor será a  $\delta_{\text{aq}}$  e, conseqüentemente, maior  $\beta_{\text{aq}}$ . Geralmente utiliza-se rotação inferior a 300 rpm, limitação relacionada à estabilidade da gota, já que quanto maior a agitação da fase aquosa maior será a tendência da gota se desprender da ponta da microsseringa<sup>[22]</sup>.

Os modos mais empregados são a DI-SDME e a HS-SDME, os quais correspondem a cerca de 80% dos trabalhos realizados com SDME, o que pode ser justificado por serem os modos de mais simples operação e, também, por terem sido os primeiros apresentados<sup>[15]</sup>.

No modo de extração por HS-SDME (Figura 1(f)), um sistema de três fases, a gota fica suspensa na ponta da microsseringa e acima da amostra, no espaço denominado *headspace*<sup>[23]</sup>. O procedimento de extração é análogo à DI-SDME, excetuando-se o fato da microsseringa não ser imersa na solução. Dessa forma, os compostos extraídos devem volatilizar da fase aquosa para o *headspace* e, posteriormente, do *headspace* para o solvente. Assim, essa técnica é direcionada para a análise de analitos voláteis e semivoláteis, polares ou não. Além disso, pode-se utilizar solventes hidrofílicos para maior seletividade na extração.

Nessa modalidade a interferência da matriz é minimizada já que não há contato direto entre gota e amostra<sup>[24]</sup>. A extração por HS-SDME permite maior agitação da amostra, já que a gota tem uma maior estabilidade por não apresentar risco de desprendimento, e permite o aquecimento da amostra, com o propósito de maximizar a transferência dos analitos da amostra para o *headspace*<sup>[25]</sup>.

Como mencionado, na HS-SDME o equilíbrio ocorre em três fases (amostra/*headspace*/gota) até que sejam alcançadas as condições de equilíbrio<sup>[26]</sup>, que pode ser descrito por:



no qual o índice HS refere-se ao *headspace*. Assim, a constante de distribuição ( $K_d$ ) entre as fases orgânica e aquosa pode ser escrita como:

$$k_d = K_{org/aq} = \frac{K_{org/HS}}{K_{HS/aq}} \quad (6)$$

o qual, combinando com o balanço de massa para o analito nas três fases, pode-se obter  $n_{org}$ :

$$k_d = K_{org/aq} = \frac{K_{org/HS}}{K_{HS/aq}} \quad (7)$$

O volume do *headspace* apresenta influência contrária na sensibilidade do método e no tempo de extração: enquanto a sensibilidade do método é aumentada para menores volumes de *headspace*, o tempo de extração é minimizado com esse aumento. Dessa forma, um valor de compromisso para o volume do *headspace* deve ser adotado para conciliar sensibilidade do método e tempo de extração.

Os demais modos de operação são menos empregados em relação aos já descritos (DI-SDME e HS-SDME) e apresentam algumas modificações ou melhorias para contornar limitações da SDME. Esses modos correspondem a cerca de 20% dos trabalhos e serão descritos brevemente<sup>[15]</sup>.

A CFME, descrita na Figura 1(b), baseia-se na exposição da gota do solvente em contato com fluxo contínuo da solução aquosa<sup>[27]</sup>, na qual o mecanismo de transferência de massa é mais complexo que aquele para as técnicas de equilíbrio. Nessa técnica, a amostra é circulada sob fluxo constante em uma câmara de extração por meio de uma bomba de HPLC e tubos de polímero termoplástico de poliéter éter cetona (PEEK). Após o preenchimento da câmara com a amostra, uma

gota do solvente orgânico é introduzida no sistema através de uma válvula de injeção manual para HPLC. A gota circula no sistema e fica suspensa na ponta do tubo PEEK, no centro da câmara da extração, enquanto a amostra aquosa circula continuamente ao entorno da gota<sup>[28]</sup>. Após o tempo de extração a gota é retirada com auxílio de uma microseringa e injetada na instrumentação desejada<sup>[17]</sup>.

A CFME permite que os analitos da solução aquosa sejam extraídos eficientemente em comparação aos outros modos devido à presença de mecanismos de difusão e convecção resultante da circulação contínua da amostra. Consequentemente, menores tempos para extração e elevados valores de pré-concentração (de até 1600 vezes) podem ser obtidos<sup>[29]</sup>. A aplicabilidade dessa técnica é limitada a compostos pouco voláteis e apolares, já que somente solventes orgânicos não polares são estáveis no sistema de vazão constante. Além disso, existe a necessidade de equipamentos adicionais como a bomba de microinfusão e outros acessórios<sup>[27]</sup>.

Outro modo de extração relativamente pouco usado é a DDME (Figura 1(c)), uma versão miniaturizada da DI-SDME, a qual é atrativa quando o volume disponível de amostra é pequeno. A extração é feita com volumes de amostra inferiores a 50  $\mu$ L, o que faz com que os fatores de pré-concentração sejam pequenos, da ordem de 20 vezes. Entretanto, o equilíbrio do analito entre as fases ocorre rapidamente e, por isso, a agitação é desnecessária, resultando em um sistema muito simples no qual a estabilidade da gota é maximizada. Assim, esse modo não é o mais adequado quando baixo limite de detecção (LD) é necessário, mas sim quando rápido *clean-up* ou elevada seletividade são necessários<sup>[15]</sup>.

Os modos DSDME<sup>[30]</sup> e SFDME<sup>[31]</sup>, apresentados na Figura 1(d/e), são bastante semelhantes entre si. O procedimento de extração consiste em agitar a amostra aquosa por meio de barra de agitação até obtenção de um vórtice suave. Um pequeno volume de um solvente orgânico, menos denso que a amostra e imiscível nela, é inserido no centro do vórtice e mantido por determinado



tempo para a extração. Como a gota não fica pendente na microsseringa, o volume de solvente orgânico usado pode ser maior que nos modos por DI, HS ou DD, o que maximiza a quantidade de analito extraída. Nesse processo, a fase orgânica também é movimentada (rotação), o que aumenta a transferência de massa e reduz o tempo de extração.

As principais diferenças entre esses dois modos (DSDME e SFDME) devem-se à natureza do solvente orgânico empregado na extração e à forma que ele é removido da solução aquosa. Ao término da extração na DSDME o solvente extrator é removido da solução, ainda sob agitação, com o auxílio de uma microsseringa. Essa etapa requer bastante cuidado para que o extrato orgânico não seja contaminado pela aspiração de uma parcela da solução aquosa. Já na SFDME, após a extração o frasco que contém a amostra (e a gota) é imersa em um banho de gelo por alguns minutos até que o extrato orgânico seja solidificado. Assim, a gota sólida pode ser removida da solução com o auxílio de uma espátula e transferida para um microtubo para que ocorra a fusão desse extrato. Por isso, o solvente orgânico deve apresentar temperatura de fusão próxima da temperatura ambiente, para que a gota do extrato possa ser solidificada por uma pequena diminuição da temperatura do meio. Os solventes mais usados na SFDME são o 1-undecanol e o 1-dodecanol, por atenderem os requisitos apresentados<sup>[32]</sup>.

O modo LLLME é um modo de três fases composto pela amostra aquosa (também denominada fase doadora) em contato com uma fase orgânica (interface), na qual há uma microgota aquosa imersa (fase aceptora), conforme apresentado na Figura 1(g). Na LLLME os analitos são extraídos da amostra aquosa para uma fase orgânica e novamente extraídos para uma fase aquosa aceptora (gota), similarmente às extrações por LLE seguida de retro-extração, porém para pequenos volumes<sup>[16]</sup>. O analito encontra-se dividido nas três fases e, portanto, a quantidade extraída depende das constantes de equilíbrio fase doadora/fase orgânica e fase orgânica/fase aceptora, tal qual a HS-SDME. A LLLME se mostra

adequada para compostos orgânicos hidrofílicos e compostos polares, como fenóis, ácidos graxos e aminas. Ajustes na composição das fases doadora e aceptora são cruciais para obtenção de elevados fatores de pré-concentração<sup>[3]</sup>, como adequação do pH para espécies ionizáveis. Outro parâmetro importante é o volume da fase orgânica (1-7  $\mu\text{L}$ ), o qual deve formar um filme que seja estável sob agitação da fase aquosa de até 2000 rpm. Fatores de pré-concentração de 1712 vezes podem ser atingidos com a LLLME<sup>[33]</sup>.

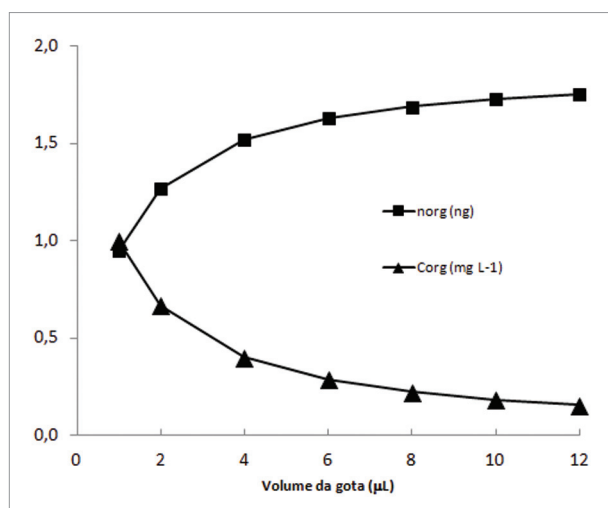
### 3. Parâmetros ajustáveis para a SDME

Para alcançar as condições ótimas de uma extração, em termos de tempo de análise e quantidade de analito extraída, os principais parâmetros a serem ajustados são: escolha do solvente extrator, volume da gota, tempo de extração, velocidade de agitação, temperatura e adição de sal<sup>[34]</sup>.

O critério para escolha do solvente extrator mais adequado baseia-se na sua baixa solubilidade em água e na elevada solubilidade do analito no solvente orgânico em relação à solução aquosa<sup>[16]</sup>. Dentre os diversos solventes que podem ser utilizados, octano, octanol, decano e tolueno são os mais empregados<sup>[16]</sup>. Nas análises por DI-SDME o solvente precisa ter ponto de ebulição elevado o suficiente para não evaporar durante a extração, mas também que seja compatível com o sistema de análise, como a GC<sup>[15]</sup>. No caso de análise por HPLC em modo reverso, o solvente orgânico precisa ser evaporado e ressuspenso na fase móvel, o que não é necessário no modo LLLME. Na extração por HS-SDME é possível empregar um solvente extrator hidrofílico, já que não há contato entre a amostra e o solvente. Contudo, solventes muito voláteis devem ser evitados, visto que a evaporação do solvente quanto em HS é mais pronunciada que em DI.

O volume da gota extratora afeta significativamente o tempo e a eficiência da extração. Os volumes mais utilizados variam entre 1  $\mu\text{L}$  e 3  $\mu\text{L}$  devido a estabilidade e reprodutibilidade da gota<sup>[35]</sup>. Principalmente quando a

análise não é automatizada, o uso de padrão interno se faz necessário para corrigir variação do volume da gota entre replicatas<sup>[19]</sup>. Por meio da equação 2 é possível investigar a influência do tamanho da gota na quantidade de analito extraída sob determinadas condições para DI-SDME ( $K_d = 10^3$ ,  $V_{aq} = 10$  mL e  $C_{aq}^0$  de  $2 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Na Figura 3 verifica-se o aumento do  $V_{org}$  implica em maior  $n_{org}$ , embora leve à diminuição de  $C_{org}$ .



**Figura 3.** Influência do volume da gota na quantidade de analito extraída ( $n_{org}$ ) e na concentração do analito na gota ( $C_{org}$ ).

Nas análises por HPLC o volume da gota é muito pequeno para preencher a alça de amostragem, fazendo-se necessário uma diluição do extrato antes da injeção no equipamento, o que leva à perda na sensibilidade. Maiores volumes de gota são desejáveis para HPLC, porém, para GC pode causar caudas nos picos<sup>[7]</sup>. Amde e colaboradores empregaram gotas de 10  $\mu\text{L}$  para análise por HPLC<sup>[36]</sup> e maiores volumes da microgota podem ser obtidos através de adaptadores acoplados ao final da microseringa<sup>[32]</sup>. O aumento do volume da gota implica em maior área superficial e menor estabilidade da gota, os quais influenciam no tempo de extração e na velocidade de agitação, respectivamente. O aumento na velocidade de agitação proporciona uma redução no tempo para atingir o equilíbrio termodinâmico, mas também pode causar o desprendimento da gota ou

ocasionar o surgimento de bolhas na solução aquosa, o que traz inconvenientes práticos<sup>[37,38]</sup>. A velocidade de agitação geralmente é maior para HS-SDME, mas deve ser cuidadosamente controlada para os demais modos.

A transferência de massa dependente do tempo de extração, sendo que a taxa de transferência se reduz conforme as concentrações nas fases se aproximam daquelas no equilíbrio<sup>[21]</sup>. Por ser uma técnica não exaustiva, a variação dos resultados entre as análises também está relacionado ao tempo de extração, e não apenas à variação no volume da gota. Assim, o tempo de extração deve ser aquele no qual se atinge o equilíbrio do analito entre as fases<sup>[23]</sup>. Já na HS-SDME o equilíbrio é atingido mais rapidamente que nos outros modos, visto que os coeficientes de difusão em fase gás são normalmente  $10^4$  vezes maiores que em fase líquida, além da possibilidade de maiores velocidades de agitação.

A temperatura da extração também afeta o equilíbrio entre as fases, pois altera as constantes termodinâmicas. Na maioria das extrações o aumento da temperatura influencia positivamente na quantidade extraída<sup>[34]</sup>. Porém, no caso da SDME um aumento na temperatura pode ocasionar na dissolução da gota na solução aquosa e diminuir a reprodutibilidade da extração. Sendo assim, a maioria dos pesquisadores preferem utilizar a técnica em temperatura ambiente<sup>[38]</sup>, o que pode ser considerado como vantagem da SDME. Na SFDME a temperatura de extração pode ser elevada para liquefazer o solvente empregado e, ao retornar a temperatura ambiente, o extrato se solidifica. Outro parâmetro muito empregado na LLE e na SPME é a adição de sais na solução aquosa, que altera a força iônica da solução, influenciando na solubilidade dos analitos. Porém, na SDME geralmente se observa uma diminuição na eficiência da extração<sup>[38]</sup>. Isto pode ser explicado pelo aumento da viscosidade causado pela dissolução do sal, que reduz a taxa de difusão dos analitos na fase aquosa ( $D_{aq}$ ), embora a adição de sais seja benéfica nas extrações por HS-SDME por diminuir a solubilidade dos analitos na solução aquosa.



#### 4. Aplicações

A SDME tem sido empregada para extração de diferentes analitos e análise por diferentes técnicas instrumentais por apresentar bons fatores de pré-concentração, baixo LD, facilidade de operação e baixo custo. Na Tabela 1 estão listados alguns trabalhos que usam a extração por SDME e análise por cromatografia gasosa ou líquida, todos publicados desde 2011.

Entretanto, para trabalhos mais antigos há levantamentos bastante abrangentes, incluindo também a determinação de metais ou o uso de nanopartículas na gota<sup>[17,39,40]</sup>.

Como apresentado anteriormente, os parâmetros operacionais dos diferentes modos da SDME apresentam certa interdependência. A estabilidade da gota é influenciada pela natureza do solvente, temperatura e

**Tabela 1.** Aplicações da SDME para análises por HPLC e GC.

Modo	Análise Instrumental	Amostra	Analito (s)	Solvente extrator	Volume da gota	Extração (min)	LD	Ref
HS-SDME	HPLC-UV	Biomassa	Compostos fenólicos	decanol	3,5 µL	25	0,35 – 5,8 µg mL <sup>-1</sup>	(24)
HS-SDME	GC-FID	Petróleo	Hidrocarbonetos leves	n-hexadecano	1,5 µL	30	0,26 – 4,33 µg L <sup>-1</sup>	(61)
HS-SDME	GC-FID	Adoçantes	Ciclamato	dodecano	2,5 µL	9	5 µmol L <sup>-1</sup>	(62)
HS-SDME	GC-MS/MS	Água	Fragrância Musk	Líquido iônico	1 µL	45	0,010 – 0,030 ng mL <sup>-1</sup>	(63)
HS-SDME	GC-MS	<i>Citrus aurantium</i> L.	Compostos voláteis	n-heptadecano	3 µL	4	Não determinado	(64)
HS-SDME	GC-FID	<i>Chamaecyparis Obtusa</i> L.	Terpenos	octadecenol	2 µL	20	1,57 – 2,94 ng mL <sup>-1</sup>	(65)
HS-SDME	GC-MS	Maionese	Compostos voláteis oxidativos	n-dodecano	3 µL	16	0,008 – 0,021 ng g <sup>-1</sup>	(66)
HS-SDME	GC-MS	Sucos	Compostos do aroma	Líquido iônico	12,5 µL	20	0,0044 – 0,1 µg mL <sup>-1</sup>	(67)
HS-SDME	GC-FID	Pasta de dente	Fluoreto (TMS derivado)	1,3,5-trimetilbenzeno	0,8 µL	4	4,4 µg L <sup>-1</sup>	(68)
DI-SDME	HPLC-UV	Água	Clorofenóis	Tolueno	3 µL	10	0,016 – 0,084 µg L <sup>-1</sup>	(56)
DI-SDME	GC-FID	Água	Aminas aromáticas	Tolueno	2 µL	20	6,6 – 62 ng mL <sup>-1</sup>	(69)
DI-SDME	GC-NPD	Água	Organofosforados	Tolueno	3,5 µL	30	0,012 – 0,020 µg L <sup>-1</sup>	(70)
DI-SDME	HPLC-DAD	Água	Estrogênio e Alquilfenóis	octano + octanol	4 µL	40	0,33 – 0,67 µg L <sup>-1</sup>	(71)
DI-SDME	HPLC-VWD	Água	Fungicidas	Líquido iônico	10 µL	40	0,13 – 0,19 ng mL <sup>-1</sup>	(36)
DI-SDME	GC-MS	Vinho	Pesticidas	Tolueno	1 µL	30	0,1 – 4,62 µg L <sup>-1</sup>	(72)
DI-SDME	GC-FID	Batata frita	Acrilamida	Água	3,5 µL	9	57 µg kg <sup>-1</sup>	(73)
DI-SDME	GC-MS	Solo	Atrazina	Difenilamina + Clorofórmio	1 µL	20	0,024 ng L <sup>-1</sup>	(74)
LLL-SDME	HPLC-MS	Água e soro humano	Estatina	Tolueno/Amônia (0,2:1)	1,2 µL	4	0,09 – 13 ng L <sup>-1</sup>	(33)
DSDME	GC-ECD	Chás	Organoclorados	Isooctano	100 µL	15	0,04 – 1 µg L <sup>-1</sup>	(75)

velocidade de agitação, os quais modificam o tempo de extração e a quantidade extraída. Por isso, a otimização multivariada torna-se extremamente adequada para investigar essa interdependência entre os parâmetros e para o ajuste adequado das melhores condições de extração. Entretanto, essa ferramenta ainda é pouco usada para SDME, ao contrário do que é observado para SPME. Pinheiro e colaboradores adotaram o planejamento fatorial  $2^3$  completo para ajustar tempo de extração, volume da gota e velocidade de agitação para a determinação multiresidual de pesticidas em água por GC com detecção por ionização em chama (GC-FID)<sup>[41]</sup>, enquanto que para a determinação por GC-MS também foram avaliados o pH e a adição de sal em planejamento fatorial  $2^{2[42]}$ . Já Martendal e colaboradores<sup>[43]</sup> empregaram planejamento fatorial fracionário e Box-Behnken para a determinação de 2,4,6-trichloroanisol e 2,4,6-tribromoanisol por GC com detecção por captura de elétrons (GC-ECD).

A SDME não possui muitas limitações quanto à natureza da amostra e pode ser utilizada para amostras líquidas, sólidas e gasosas. Entretanto, a maioria das aplicações se referem à amostras líquidas<sup>[17]</sup>. No caso de amostras sólidas faz-se uma suspensão da amostra para a extração prévia dos analitos ou, então, pode-se utilizar a extração por HS-SDME quando os analitos são voláteis. Um dos primeiros artigos aplicando a SDME à amostra sólida foi realizado por Lee e colaboradores<sup>[25]</sup> para a determinação de clorobenzenos em solo por HS-SDME-GC-ECD. Primeiramente, as amostras de solo foram imersas em acetona durante a noite para permitir a extração analitos da amostra sólida para o solvente. Após a evaporação total desse solvente foi realizada a extração por HS-SDME, obtendo-se LD da ordem de  $\text{ng g}^{-1}$ . A extração direta da amostra foi realizada por Yu e colaboradores<sup>[11]</sup> para a determinação de resíduo de metanol e etanol em fármacos por HS-SDME-GC-FID. Até íon fluoreto já foi determinado por HS-SDME-GD-FID em amostra de creme dental, após a derivação com trimetilclorosilano (TMCS). O LD e fator de pré-concentração obtidos foram de  $4,4 \mu\text{L L}^{-1}$  e 58,8 vezes, respectivamente.

Raramente água é usada como solvente extrator em vez a solventes orgânicos. O objetivo é melhorar a extração de compostos polares ou adequar o extrato à análise por cromatografia líquida em fase reversa. Kaykhaii e Abdi<sup>[44]</sup> determinaram acrilamida em batatas fritas por meio da extração por DI-SDME empregando água como solvente extrator e determinação por GC-FID. O analito foi previamente extraído da amostra sólida com hexanoato de etila e, após filtração da suspensão, a microgota de água foi imersa no solvente orgânico. A técnica apresentou boa repetibilidade e LD de  $57 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Devido à inversão da polaridade das fases, o autor denominou a técnica como fase reversa (RP-DI-SDME). A desvantagem desse conceito se deve ao uso de solvente orgânico para o preparo da amostra, embora o volume utilizado seja muito inferior ao usado em LLE. Batlle e colaboradores<sup>[45]</sup> usaram água como solvente extrator na determinação de diisocianatos em mistura gasosa por diferentes variações da HS-SDME e detecção por UPLC-MS. No trabalho foram montados dois sistemas para gerar a atmosfera com isocianato e a água usada como solvente extrator continha um derivatizante (dibutilamina) e padrão interno (fenilisotiocianato).

O uso de líquidos iônicos como fase extratora, os quais são um meio iônico resultante da combinação de cátions orgânicos e vários ânions, tem recebido bastante destaque recentemente como alternativa aos solventes orgânicos, por apresentarem baixa pressão de vapor e elevada viscosidade, bem como boa estabilidade térmica e polaridade ajustável de acordo com os íons escolhidos<sup>[40]</sup>. As características intrínsecas desses líquidos iônicos proporcionam o aumento do volume da gota (maiores que  $15 \mu\text{L}$ ), já que a viscosidade desses líquidos permite uma maior aderência na microseringa; maior temperatura na extração, devido à baixa volatilidade e solubilidade em água<sup>[32]</sup>. Já no caso da GC, a baixa volatilidade dos líquidos iônicos torna necessária alguma modificação no sistema de injeção, para evitar que o líquido iônico seja transferido para a coluna.

Aguilera e colaboradores empregaram 2  $\mu\text{L}$  do líquido iônico formado por 1-butil-3-metilimidazol e hexafluorofosfato para extração de diclorometano, p-xileno e undecano<sup>[46]</sup> e de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos<sup>[47]</sup> e determinação por GC-MS. Um sistema acoplado ao injetor no GC foi especialmente desenvolvido para impedir que o líquido iônico fosse transferido para a coluna. Uma alternativa ao complexo sistema se baseia apenas na exposição e retração da gota do líquido iônico no injetor, tal qual a injeção com uma fibra de SPME, a qual foi adotada na determinação de fenóis em água de lago e esgoto por HS-SDME<sup>[48]</sup>. O uso de líquidos iônicos para HPLC se mostra mais simples que para GC e, portanto, mais difundida, embora exista limitação em relação à viscosidade desses líquidos<sup>[49]</sup>. Aplicação para a determinação de pesticidas<sup>[50]</sup> e fenóis<sup>[51]</sup> em amostras de naturais, 3-benzofenona em urina<sup>[52]</sup> e formaldeído em cogumelos<sup>[53]</sup> são alguns exemplos.

Maiores volumes de gota são alcançados pelo uso de adaptadores, geralmente posicionados na ponta da microseringa<sup>[32]</sup>. Wen e colaboradores utilizaram uma fita de Teflon<sup>®</sup> para aumentar o diâmetro da ponta da agulha proporcionando uma maior área de superfície para a formação da gota, atingindo um volume de 20  $\mu\text{L}$ <sup>[54]</sup>. Outra adaptação se refere ao uso de um funil de polipropileno na ponta da microseringa para a exposição de uma gota de até 150  $\mu\text{L}$ , aplicada para extração de compostos aromáticos<sup>[55]</sup>.

Li e colaboradores combinaram duas técnicas de microextração em fase líquida, DLLME e LLLME na determinação de clorofenóis em águas e determinação por HPLC. A extração por DLLME empregou tolueno dissolvido em metanol para a obtenção da emulsão, que foi separada por centrifugação. Uma gota de 3  $\mu\text{L}$  da solução aquosa acceptora foi inserida na fase orgânica menos densa por 10 min, antes da análise por HPLC<sup>[56]</sup>.

A automatização é uma possibilidade para minimizar erros provenientes de operação manual e aumentar o processamento de amostras. Um dos

primeiros trabalhos com automatização da SDME para os modos DI-SDME e HS-SDME empregou um amostrador automático Combi PAL para a extração e injeção na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos<sup>[57]</sup>. Recentemente, o uso de uma bolha intencionalmente inserida dentro de uma gota<sup>[58]</sup> usando um amostrador automático permitiu maiores fatores de pré-concentração, levando à LD de 0,024  $\text{ng L}^{-1}$  e 0,013  $\text{ng L}^{-1}$  para a determinação de atrazina e metolocloro, respectivamente, em água por GC-MS<sup>[59]</sup>. Entretanto, a automação tem sido mais aplicada para CFME em determinações espectrofotométricas empregando sistemas em fluxo<sup>[60]</sup>.

## 5. Conclusões

A SDME é uma técnica que apresenta diferentes modos de operação, ampla faixa de aplicação, baixos LD e pouco onerosa, o que a torna bastante atrativa para extrações rápidas, com elevado fatores pré-concentração e *clean-up* da amostra. A renovação da microgota a cada análise elimina o efeito de memória e proporciona baixíssimo consumo de solvente orgânico, o que é uma tendência. Diferentes parâmetros influenciam na quantidade de analito extraída e, assim, o conhecimento dos conceitos fundamentais da técnica é fundamental para escolher o melhor modo de operação em função das características do analito ou da técnica de detecção. Ainda, pode ser aplicada a praticamente todo o tipo de analito, orgânico ou inorgânico.

Algumas limitações da técnica também devem ser mencionadas, referentes à instabilidade da gota para volumes maiores, incompatibilidade do solvente orgânico empregado e HPLC em fase reversa, além da necessidade de passos adicionais (filtração, derivação) para certos tipos de analitos ou amostra. Entretanto, devido a grande versatilidade dessa técnica, essas limitações podem ser contornadas.

A SDME é uma técnica que apresenta potencial de crescimento, em especial no Brasil, visto que apenas 8 trabalhos com SDME foram publicados. Imagina-se

que possa ser empregada até em aulas de graduação, em substituição à LLE. A maior parte das aplicações dos diferentes modos da SDME referem-se a amostras líquidas, embora amostras sólidas ou gasosa também possam ser analisadas. Os modos mais simples e mais difundidos são DI-SDME e HS-SDME, sendo que sistemas automatizados aumentam a reprodutibilidade

da análise sem a perda de suas vantagens iniciais. Os modos de DSDME, SFDME e LLLME são mais recentes e de simples aplicação, os quais permitem uma maior flexibilidade de análise. A CFME apresenta a necessidade de acessórios para circular a amostra, o que a torna menos atrativo devido à sua complexidade frente aos outros modos.

### Referências Bibliográficas

1. Chen Y, Guo Z, Wang X, Qiu C. Sample preparation. *Journal of Chromatography A*. 2008;1184(1-2):191–219.
2. Lanças FM. Avanços Recentes e Tendências Futuras das Técnicas de Separação : uma visão pessoal. *Scientia Chromatographica*. 2008;17–44.
3. Psillakis E, Kalogerakis N. Developments in single-drop microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*. 2002;21(1):53–63.
4. Arthur C, Pawlyszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*. 1990;62(19):2145–8.
5. Pawlyszyn J. Sample preparation: Quo vadis? *Analytical Chemistry*. 2003;75(11):2543–58.
6. Moreira BJ, Yokoya JMC, Gaitani CM de. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas. *Scientia Chromatographica*. 2015;6(3):186–204.
7. Hu B, He M, Chen B, Xia L. Liquid phase microextraction for the analysis of trace elements and their speciation. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*; 2013;86:14–30.
8. Jeannot M a, Cantwell FF. Solvent microextraction into a single drop. *Analytical Chemistry*. 1996;68(13):2236–40.
9. He Y, Lee HK. Liquid-phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe. *Analytical Chemistry*. 1997;69(22):4634–40.
10. Cortada C, Vidal L, Tejada S, Romo A, Canals A. Determination of organochlorine pesticides in complex matrices by single-drop microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 2009 ;638(1):29–35.
11. Yu Y, Chen B, Shen C, Cai Y, Xie M, Zhou W, et al. Multiple headspace single-drop microextraction coupled with gas chromatography for direct determination of residual solvents in solid drug product. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(32):5158–64.
12. Jager LS, Andrews a. RJ. Solvent microextraction of chlorinated pesticides. *Chromatographia*. 1999;50(11-12):733–8.
13. Šrámková I, Horstkotte B, Solich P, Sklenářová H. Automated in-syringe single-drop head-space micro-extraction applied to the determination of ethanol in wine samples. *Analytica Chimica Acta*. 2014;828:53–60.
14. Xia L, Hu B, Jiang Z, Wu Y, Li L, Chen R. 8-Hydroxyquinoline-chloroform single drop microextraction and electrothermal vaporization ICP-MS for the fractionation of aluminium in natural waters and drinks. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2005;20(5):441.
15. Jeannot MA, Przyjazny A, Kokosa JM. Single drop microextraction-development, applications and future trends. *Journal of chromatography A*. 2010 ;1217(16):2326–36.
16. Kokosa JM. Advances in solvent-microextraction techniques. *Trends in Analytical Chemistry*. 2013;43:2–13.
17. Jain A, Verma KK. Recent advances in applications of single-drop microextraction: A review. *Analytica Chimica Acta*. 2011;706(1):37–65.
18. Agostinho AD. FM. Determinação do coeficiente de distribuição (Kd) de Benzo(A)pireno em solo por isoterma de sorção. *Química Nova*. 2006;29(4):657–61.
19. Borges, B. K.; Figueiredo, C. E.; Queiroz CME. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 1st ed. GEN, editor. Rio de Janeiro: Editora LTC; 2015.

20. Sarafraz Yazdi A, Razavi N. Separation and determination of amitriptyline and nortriptyline in biological samples using single-drop microextraction with GC. *Chromatographia*. 2011;73(5-6):549–57.
21. Jeannot M a., Cantwell FF. Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle. *Analytical Chemistry*. 1997;69(2):235–9.
22. Xu J, Liang P, Zhang T. Dynamic liquid-phase microextraction of three phthalate esters from water samples and determination by gas chromatography. *Analytica Chimica acta*. 2007;597(1):1–5.
23. Theis AL, Waldack AJ, Hansen SM, Jeannot MA. Headspace solvent microextraction. *Analytical Chemistry*. 2001;73(23):5651–4.
24. Rincón A a., Pino V, Ayala JH, Afonso AM. Headspace-single drop microextraction (HS-SDME) in combination with high-performance liquid chromatography (HPLC) to evaluate the content of alkyl- and methoxy-phenolic compounds in biomass smoke. *Talanta*. 2011;85(3):1265–73.
25. Shen G, Lee HK. Headspace liquid-phase microextraction of chlorobenzenes in soil with gas chromatography-electron capture detection. *Analytical Chemistry*. 2003;75(1):98–103.
26. Xu L, Basheer C, Lee HK. Developments in single-drop microextraction. *Journal of Chromatography A*. 2007;1152(1-2):184–92.
27. Liu W, Lee HK. Continuous flow microextraction exceeding 1000-fold concentration of dilute analytes. *Analytical Chemistry*. 2000;72(18):4462–7.
28. Li Y, Zhang T, Liang P. Application of continuous-flow liquid-phase microextraction to the analysis of volatile halohydrocarbons in water. *Analytica Chimica Acta*. 2005;536(1-2):245–9.
29. Ho TS, Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Recovery, enrichment and selectivity in liquid-phase microextraction: Comparison with conventional liquid-liquid extraction. *Journal of Chromatography A*. 2002;963(1-2):3–17.
30. Yangcheng L, Quan L, Guangsheng L, Youyuan D. Directly suspended droplet microextraction. *Analytica Chimica Acta*. 2006 May;566(2):259–64.
31. Khalili Zanjani MR, Yamini Y, Shariati S, Jönsson JA. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. *Analytica chimica acta*. 2007;585(2):286–93.
32. Kokosa JM. Recent trends in using single-drop microextraction and related techniques in green analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*. 2015;71:194–204.
33. Jahan S, Xie H, Zhong R, Yan J, Xiao H, Fan L, et al. A highly efficient three-phase single drop microextraction technique for sample preconcentration. *The Analyst*. 2015;140:3193–200.
34. López-Blanco C, Gómez-Álvarez S, Rey-Garrote M, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J. Determination of carbamates and organophosphorus pesticides by SDME-GC in natural water. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2005;383(4):557–61.
35. Przyjazny A, Kokosa JM. Analytical characteristics of the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water by headspace solvent microextraction. *Journal of Chromatography A*. 2002;977(2):143–53.
36. Amde M, Tan Z-Q, Liu R, Liu J-F. Nanofluid of zinc oxide nanoparticles in ionic liquid for single drop liquid microextraction of fungicides in environmental waters prior to high performance liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A*. 2015;1395:7–15.
37. Zhang M, Huang J, Wei C, Yu B, Yang X, Chen X. Mixed liquids for single-drop microextraction of organochlorine pesticides in vegetables. *Talanta*. 2008;74(4):599–604.
38. Wardencki W, Curyło J, Namieśnik J. Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2007;70(2):275–88.
39. Bendicho C, Costas-Mora I, Romero V, Lavilla I. Nanoparticle-enhanced liquid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*. 2015;68:78–87.
40. Aguilera-Herrador E, Lucena R, Cárdenas S, Valcárcel M. The roles of ionic liquids in sorptive microextraction techniques. *Trends in Analytical Chemistry*. 2010;29(7):602–16.
41. De Souza Pinheiro A, de Andrade JB. Development, validation and application of a SDME/GC-FID methodology for the multiresidue determination of organophosphate and pyrethroid pesticides in water. *Talanta*. 2009;79(5):1354–9.
42. Pinheiro ADS, da Rocha GO, De Andrade JB. A SDME/GC-MS methodology for determination of organophosphate and pyrethroid pesticides in water. *Microchemical Journal*. 2011;99(2):303–8.



43. Martendal E, Budziak D, Carasek E. Application of fractional factorial experimental and Box-Behnken designs for optimization of single-drop microextraction of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole from wine samples. *Journal of chromatography A*. 2007;1148(2):131–6.
44. Kaykhahi M, Abdi A. Rapid and sensitive determination of acrylamide in potato crisps using reversed-phase direct immersion single drop microextraction-gas chromatography. *Analytical Methods*. 2013;5(5):1289.
45. Batlle R, López P, Nerín C, Crescenzi C. Active single-drop microextraction for the determination of gaseous diisocyanates. *Journal of Chromatography A*. 2008;1185(2):155–60.
46. Aguilera-Herrador E, Lucena R, Cardenas S, Valcárcel M. Direct coupling of ionic liquid based single-drop microextraction and GC/MS. *Analytical Chemistry*. 2008;80(3):793–800.
47. Aguilera-Herrador E, Lucena R, Cárdenas S, Valcárcel M. Ionic liquid-based single-drop microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers in waters. *Journal of Chromatography A*. 2008;1201(1):106–11.
48. Zhao F-Q, Li J, Zeng B-Z. Coupling of ionic liquid-based headspace single-drop microextraction with GC for sensitive detection of phenols. *Journal of separation science*. 2008;31(16-17):3045–9.
49. Spietelun A, Marcinkowski Ł, De La Guardia M, Namieśnik J. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. *Talanta*. 2014;119:34–45.
50. Ye C-L, Zhou Q-X, Wang X-M. Headspace liquid-phase microextraction using ionic liquid as extractant for the preconcentration of dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites at trace levels in water samples. *Analytica Chimica Acta*. 2006;572(2):165–71.
51. Ye C, Zhou Q, Wang X, Xiao J. Determination of phenols in environmental water samples by ionic liquid-based headspace liquid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography. *Journal of Separation Science*. 2007;30(1):42–7.
52. Vidal L, Chisvert A, Canals A, Salvador A. Sensitive determination of free benzophenone-3 in human urine samples based on an ionic liquid as extractant phase in single-drop microextraction prior to liquid chromatography analysis. *Journal of Chromatography A*. 2007;1174(1-2):95–103.
53. Liu J-F, Peng J-F, Chi Y-G, Jiang G-B. Determination of formaldehyde in shiitake mushroom by ionic liquid-based liquid-phase microextraction coupled with liquid chromatography. *Talanta*. 2005;65(3):705–9.
54. Wen X, Deng Q, Wang J, Yang S, Zhao X. A new coupling of ionic liquid based-single drop microextraction with tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013;105:320–5.
55. Čabala R, Bursová M. Bell-shaped extraction device assisted liquid-liquid microextraction technique and its optimization using response-surface methodology. *Journal of Chromatography A*. 2012;1230:24–9.
56. Li X, Xue A, Chen H, Li S. Low-density solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction combined with single-drop microextraction for the fast determination of chlorophenols in environmental water samples by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*. 2013;1280:9–15.
57. Ouyang G, Zhao W, Pawliszyn J. Automation and optimization of liquid-phase microextraction by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2007;1138(1-2):47–54.
58. Williams DBG, George MJ, Meyer R, Marjanovic L. Bubbles in solvent microextraction: the influence of intentionally introduced bubbles on extraction efficiency. *Analytical Chemistry*. 2011;83(17):6713–6.
59. Williams DBG, George MJ, Marjanovic L. Rapid detection of atrazine and metolachlor in farm soils: gas chromatography-mass spectrometry-based analysis using the bubble-in-drop single drop microextraction enrichment method. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. *American Chemical Society*; 2014;62(31):7676–81.

60. Pereira AC, Rocha FRP. Liquid-liquid microextraction in a multicommutated flow system for direct spectrophotometric determination of iodine value in biodiesel. *Analytica Chimica Acta*. 2014;829:28–32.
61. Fang C, Xiong Y, Liang Q, Li Y, Peng P. Optimization of headspace single-drop microextraction technique for extraction of light hydrocarbons (C6-C12) and its potential applications. *Organic Geochemistry*. 2011;42(4):316–22.
62. Hashemi M, Habibi A, Jahanshahi N. Determination of cyclamate in artificial sweeteners and beverages using headspace single-drop microextraction and gas chromatography flame-ionisation detection. *Food Chemistry*. 2011;124(3):1258–63.
63. Vallecillos L, Pocerull E, Borrull F. Fully automated ionic liquid-based headspace single drop microextraction coupled to GC-MS/MS to determine musk fragrances in environmental water samples. *Talanta*. 2012;99:824–32.
64. Gholivand MB, Piryaei M. A method for fast analysis of volatile components of *Citrus aurantium* L. leaves. *Natural Product Research*. 2013;27(14):1315–8.
65. Tang B, Tian M, Row KH. Determination of terpenoids in *Chamaecyparis obtusa* Leaves by headspace single-drop microextraction with gas chromatography detection. *Analytical Letters*. 2013;47(1):48–57.
66. Enteshari M, Mohammadi A, Nayebezhadeh K, Azadnia E. Optimization of headspace single-drop microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for determining volatile oxidation compounds in mayonnaise by response surface methodology. *Food Analytical Methods*. 2014;7(2):438–48.
67. Jiang C, Wei S, Li X, Zhao Y, Shao M, Zhang H, et al. Ultrasonic nebulization headspace ionic liquid-based single drop microextraction of flavour compounds in fruit juices. *Talanta*. 2013;106:237–42.
68. Kaykhaei M, Ghalehno MH. Rapid and sensitive determination of fluoride in toothpaste and water samples using headspace single drop microextraction-gas chromatography. *Analytical Methods*. 2013;5(20):5622–6.
69. Yu J, Zhao C, Chong F, Cao Y, Subhan F, Cui B, et al. A simple, rapid and eco-friendly approach for the analysis of aromatic amines in environmental water using single-drop microextraction – gas chromatography. *Journal of Chromatographic Science*. 2015;53(2):360–5.
70. Tian F, Liu W, Fang H, An M, Duan S. Determination of six organophosphorus pesticides in water by single-drop microextraction coupled with GC-NPD. *Chromatographia*. 2013;77(5-6):487–92.
71. Jiang Y, Zhang X, Tang T, Zhou T, Shi G. Determination of endocrine disruptors in environmental water by single-drop microextraction and high-performance liquid chromatography. *Analytical Letters*. 2014;48(4):710–25.
72. Dos Anjos JP, de Andrade JB. Simultaneous determination of pesticide multiresidues in white wine and rosé wine by SDME/GC-MS. *Microchemical Journal*. 2015;120:69–76.
73. Kaykhaei M, Abdi A. Rapid and sensitive determination of acrylamide in potato crisps using reversed-phase direct immersion single drop microextraction-gas chromatography. *Analytical Methods*. 2013;5(5):1289.
74. George MJ, Marjanovic L. Rapid detection of atrazine and metolachlor in farm soils: gas chromatography – mass spectrometry - based analysis using the bubble-in-drop single drop microextraction enrichment method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62:7676–81.
75. Liu D, Min S. Rapid analysis of organochlorine and pyrethroid pesticides in tea samples by directly suspended droplet microextraction using a gas chromatography-electron capture detector. *Journal of Chromatography A*. 2012;1235:166–73.
76. <http://www.sepscience.com/Sectors/Food/Articles/1455-/Liquid-phase-Microextraction-in-Food-Analysis> [Internet]. Available from: <http://www.sepscience.com/Sectors/Food/Articles/1455-/Liquid-phase-Microextraction-in-Food-Analysis>.

## Símbolos e Abreviaturas

$\beta_{aq}$  – coeficiente de transferência de massa da fase aquosa;

$C_{aq}$  – concentração do analito na fase aquosa no equilíbrio;

$C_{aq}^0$  – concentração inicial da fase aquosa;

$C_{HS}$  – concentração do analito no *headspace* no equilíbrio;

$C_{org}$  – concentração do analito na fase orgânica no equilíbrio;

CFME – microextração em fluxo contínuo (do inglês *continuous flow microextraction*);

$D_{aq}$  – coeficiente de difusão do analito na fase aquosa;

DDME – microextração em gota única por gota a gota (do inglês *drop-to-drop microextraction*);

DI-SDME – microextração em gota única por imersão direta (do inglês *direct immersion single drop microextraction*);

DLLME – microextração líquido-líquido dispersiva (do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*);

DSDME – microextração em gota única diretamente suspensa (do inglês *directly-suspended droplet microextraction*);

GC – cromatografia gasosa (do inglês *gas chromatography*);

GC-ECD – cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (do inglês *gas chromatography with electrons capture detection*);

GC-FID – cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (do inglês *gas chromatography with flame ionization detection*);

GC-MS – cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês *gas chromatography with mass spectrometry*);

GC-NPD – cromatografia gasosa com detector de nitrogênio-fósforo (do inglês *gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector*);

HS-SDME – microextração em gota única por *headspace* (do inglês *headspace-single drop microextraction*);

HF-LPME – microextração em fase líquida com fibra oca (do inglês *hollow fibre liquid phase microextraction*);

HPLC – cromatografia líquida de alta resolução (do inglês *high performance liquid chromatography*);

HPLC-DAD – cromatografia líquida de alta resolução com detector de arranjo de diodos (do inglês *high performance liquid chromatography with diode array detection*);

HPLC-MS – cromatografia líquida de alta resolução acoplado ao espectrômetro de massas (do inglês *high performance liquid chromatography with mass spectrometry*);

HPLC-UV – cromatografia líquida de alta resolução com detector ultra-violeta (do inglês *high performance liquid chromatography with ultravioleta detection*);

HPLC-VWD – cromatografia líquida de alta resolução com detector de comprimento de onda variável (do inglês *high performance liquid chromatography variable-wavelength detection*);

$K_d$  – constante de distribuição;

$K_{HS}$  – constante de distribuição no *headspace*;

$K_{ow}$  – constante de distribuição octanol/água;

LD – limite de detecção;

LLE – extração líquido-líquido (do inglês *liquid-liquid extraction*);

LLME – microextração líquido-líquido (do inglês *liquid liquid microextraction*);

LLLME – Microextração em gota única líquido-líquido-líquido (do inglês *liquid-liquid-liquid microextraction*);

LPME – microextração em fase líquida (do inglês *liquid phase microextraction*);

$n_{aq}$  – quantidade de analito na fase aquosa;

$n_{org}$  – quantidade de analito na fase orgânica;

$n_t$  – quantidade total de analito;

SDME – microextração por gota única (do inglês *single drop microextraction*);

SFME – microextração por gota única sólida (do inglês *solidification of floating drop microextraction*);

SPE – extração em fase sólida (do inglês *solid phase extraction*);

SPME – microextração em fase sólida (do inglês *solid phase microextraction*);

$V_{aq}$  – volume da fase aquosa;

$V_{org}$  – volume da fase orgânica;

$\delta_{aq}$  – espessura do filme da fase aquosa.