

Microextração em fase sólida: aspectos termodinâmicos e cinéticos

H. S. Dórea¹, A. Gaujac², S. Navickiene¹

¹ Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos Poluentes (LCP), Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-SE, Brasil

² Escola Agrotécnica Federal de São Cristóvão, 49100-000, São Cristóvão – Sergipe, Brasil
hdorea@ufs.br

(Recebido em 9 de maio de 2008; aceito em 14 de julho de 2008)

As técnicas tradicionais de preparação de amostras empregam quantidades de solventes orgânicos que são prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana. Estes procedimentos envolvem grande número de etapas, o que aumenta a possibilidade de erros além de maior tempo envolvido nas análises. Assim, tem sido dada especial atenção ao desenvolvimento de métodos mais rápidos, mais simples e que façam pouco ou nenhum uso de solventes orgânicos. A microextração em fase sólida consolida-se como uma opção com excelentes resultados nas aplicações cromatográficas, para a determinação de diversas classes de analitos. Estes são adsorvidos em um filme micrométrico de um polímero que atua de modo altamente seletivo, sendo desorvidos, diretamente, no injetor do sistema cromatográfico. A SPME é uma técnica extremamente simples, versátil, com um alto fator de enriquecimento e que envolve, num tempo muito reduzido e em apenas duas etapas, a extração, pré-concentração, *clean-up* e introdução dos analitos no sistema de separação e quantificação. Além de ser facilmente portátil, tem também como característica o fato de dispensar completamente o uso de solventes orgânicos. Os fundamentos teóricos são indispensáveis para a compreensão dos princípios da nova técnica e esse artigo, com este objetivo, enfatiza os aspectos termodinâmico e cinético da SPME.

Palavras-chave: SPME, preparação de amostras, matrizes ambientais.

Traditional sample preparation techniques use large quantities of organic solvents, which are prejudicial to the environment and to public health. These are usually multiple-step procedures, involving several clean-up phases, which can increase the likelihood of errors and extend analysis time. Hence, special attention has been given to the development of faster, simpler methods that do not use organic solvent. Solid-Phase Microextraction (SPME) has been shown to give excellent results for volatile and semi-volatile compounds, which are adsorbed onto a highly selective polymeric film. SPME is a versatile, simple, fast, inexpensive and solvent free procedure, with a high enrichment factor. Only two steps are required to complete extraction, preconcentration, clean-up, and introduction of compounds into a chromatographic separation and quantitation system. A knowledge of theoretical fundamentals is essential for the development of a new technique, hence this paper considers the thermodynamic and kinetic aspects of SPME, and the different parameters affecting extraction efficiency.

Keywords: SPME, sample preparation, environmental matrices.

1. INTRODUÇÃO

Todas as etapas de um trabalho analítico são fundamentais para o sucesso da determinação das espécies químicas presentes em uma matriz ambiental: a coleta e manipulação da amostra, a separação e quantificação, a análise estatística e a interpretação dos dados. Dentre elas, as mais susceptíveis a erros são aquelas nas quais a intervenção humana é mais direta. Normalmente, envolvem a coleta do material e seu armazenamento, a extração dos analitos da matriz, a eliminação de interferentes (*clean-up*) e a pré-concentração. Costumam ser mais lentas e, freqüentemente, envolvem perdas consideráveis do analito devido ao grande número de sub-etapas envolvidas [1].

A preparação de amostras ambientais procura extrair o analito da matriz e concentrá-lo num pequeno volume de solvente apropriado. As extrações clássicas trazem consigo alguns

inconvenientes como o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos tóxicos e extremamente dispendiosos. São realizadas em várias sub-etapas, o que faz aumentar a probabilidade de erros e consumir a maior parte do tempo da análise. A utilização de tais solventes orgânicos, por si só, gera graves problemas ambientais e, freqüentemente, envolve baixa seletividade, fato que dificulta bastante a análise das matrizes ambientais, altamente complexas [2].

No sentido de diminuir o uso de solventes orgânicos, em concordância com o documento assinado por vários países no final da década de 80, *The Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer* (www.unep.org), métodos como a extração líquido-líquido e extração Soxhlet vêm sendo progressivamente substituídos por outros menos dependentes do emprego de solventes [3].

O desenvolvimento de novas metodologias analíticas, ocorrido em meados do século passado, acarretou na automatização das metodologias de quantificação e análise de dados, e trouxe a necessidade latente de aprimorar também o modo de preparo das amostras. Por outro lado, com o crescente interesse mundial na conservação dos meios naturais, aumentou-se na mesma proporção a demanda por métodos que se adequassem as exigências das análises ao nível de traços em matrizes ambientais: alta seletividade, baixos níveis de quantificação, alta precisão e exatidão. Buscou-se então por procedimentos mais rápidos e que diminuíssem o consumo de solventes orgânicos, caros e nocivos [4].

Desta forma, as pesquisas voltaram-se à manipulação das propriedades físicas do solvente utilizado na extração, no caso das matrizes sólidas, e na aplicação de adsorventes seletivos, para as matrizes líquidas. A partir disto, surgiram técnicas importantes como a extração por fluido supercrítico (SFE, *supercritical fluid extraction*), extração com líquido pressurizado (PLE, *pressurized liquid extraction*) ou um líquido aquecido por meio de micro-ondas (MAE – *microwave-assisted extraction*) e extração em fase sólida (SPE, *solid phase extraction*), a extração sortiva em barras de agitação (SBSE, *stir-bar sortive extraction*) (RAYNIE, 2004) e a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD, *matrix solid phase dispersion*) [5-6].

A SPME, sigla para *solid-phase microextraction* (microextração em fase sólida), foi criada com o intuito de simplificar a etapa de preparação de amostras, diminuindo o tempo envolvido nas análises. Os testes iniciais foram publicados no final dos anos 80, nos quais foram utilizadas pequenas seções de fibra ótica de sílica fundida, algumas recobertas com líquido polimérico ou com um material sólido adsorvente e outras sem qualquer recobrimento. O desenvolvimento da técnica se intensificou a partir da introdução da fibra no interior de uma agulha adaptada numa micro-seringa, o que facilitou bastante a coleta dos analitos e a introdução da amostra no injetor do cromatógrafo [7].

O método consiste na captura dos analitos em uma fibra capilar de sílica fundida quimicamente modificada, recoberta com uma película de material apropriado, com posterior dessorção térmica no injetor de um cromatógrafo. Uma vez introduzida no septo do recipiente contendo a amostra, a fibra de sílica é exposta ao meio onde ocorrerá a extração dos analitos [8].

A fase extrativa pode ser posicionada diretamente na fase líquida ou, no caso de amostras gasosas, em contato com o gás, ou ainda, em contato com o vapor em equilíbrio com a amostra líquida ou sólida. Após um certo período de tempo, necessário para que se estabeleça o equilíbrio entre as fases envolvidas, a fibra é reposicionada no interior da agulha (figura 1). Em seguida, a seringa é levada a um cromatógrafo a gás, onde a fibra é introduzida no seu injetor, ficando exposta a ação do calor - os analitos são dessorvidos e o processo de separação / quantificação então tem início [9].

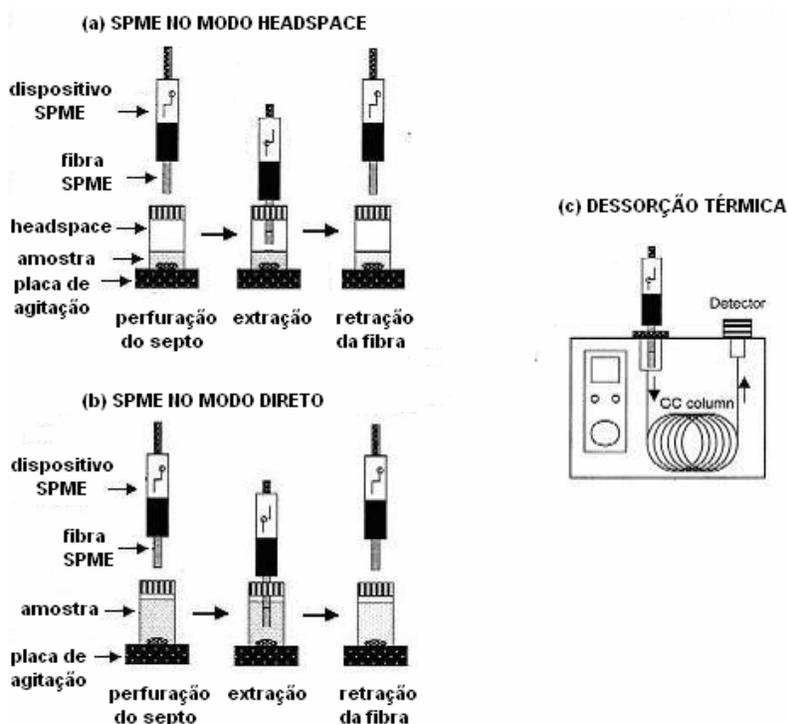


Figura 1. Etapas da microextração em fase sólida. (a) extração no modo headspace (b) extração no modo direto (c) dessorção dos analitos no cromatógrafo. Adaptado de Kataoka et al. (2000).

Na sua configuração mais comumente utilizada, o dispositivo comercial consiste de uma fibra de sílica fundida com 1 cm de comprimento e poucos micrometros de diâmetro, inserida na agulha da seringa (figura 2). A fibra encontra-se posicionada dentro da agulha que tem a finalidade de protegê-la quando não está em uso, bem como de perfurar o septo de borracha, momentos antes da exposição da fibra à amostra, ou na dessorção dos analitos no injetor do cromatógrafo [10].

Atualmente, a microextração em fase sólida encontra aplicações em diversos segmentos da análise química, envolvendo matrizes sólidas, líquidas e gasosas [11-24].

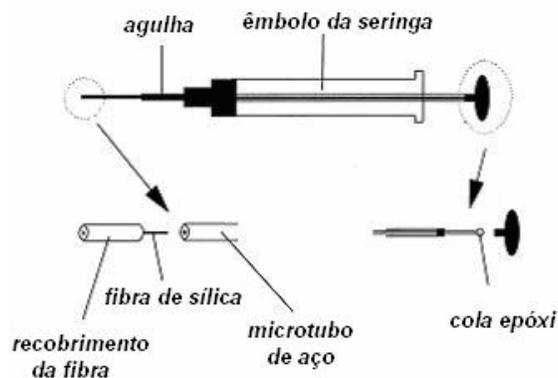


Figura 2. Configuração do dispositivo proposto nos primeiros trabalhos em SPME, através de adaptações feitas em seringas para cromatografia gasosa. Adaptado de Lord & Pawliszyn (2000).

O conhecimento da termodinâmica do método SPME e a identificação de fatores que, diretamente, afetam sua cinética, são de grande utilidade para se alcançar o objetivo da análise, no menor tempo possível. Para isso, parâmetros que são fundamentais na otimização são revelados pelos conhecimentos termodinâmicos e cinéticos, fundamentos da técnica. São também essenciais no desenvolvimento de novos recobrimentos, através dos quais se processam as extrações.

Nesta revisão abordaremos os aspectos termodinâmicos e cinéticos da microextração em fase sólida, uma recente metodologia de preparação de amostras, que agrega precisão, exatidão, sensibilidade e seletividade em uma simples fibra ótica recoberta por uma micrométrica camada extratora polimérica, normalmente, um tipo de silicone.

2. ASPECTOS TERMODINÂMICOS DA SPME

A microextração em fase sólida baseia-se no equilíbrio da concentração do analito na amostra e na fase extrativa. Logo após a introdução da fibra, os analitos começam a migrar da matriz para o meio extrativo. Considera-se o final do processo, na maioria das vezes, o momento a partir do qual o analito alcança a concentração de equilíbrio nas fases - após esse instante, a quantidade de analito retido permanece constante com o passar do tempo. Em uma análise em particular, deve-se encontrar o intervalo de tempo requerido para que o sistema atinja este equilíbrio [25].

A SPME no modo direto envolve o equilíbrio do analito em duas fases distintas, e no modo *headspace*, entre três fases - a amostra líquida (ou gasosa), a fase de vapor sobre a amostra líquida (*headspace*) e a fase extrativa (líquido polimérico ou sólido adsorvente) [9]. Idealmente, a matriz deve ser completamente homogênea e os analitos estáveis nas fases envolvidas. O tratamento termodinâmico abaixo se refere ao processo de partição, característico dos recobrimentos da fibra com filme líquido polimérico. Nos casos em que se utiliza como fase extrativa um sólido adsorvente, como sílica fundida, as equações são similares na análise ao nível de traços, salvo algumas restrições [26].

A quantidade total do analito nas três fases pode ser dada pelo balanço de massa:

$$C_0 V_A = C_F^\infty V_F + C_H^\infty V_H + C_A^\infty V_A \quad (1)$$

onde, C_0 é a concentração inicial do analito na amostra; C_F^∞ , C_H^∞ , C_A^∞ são as concentrações no equilíbrio do analito, na fibra extrativa, no *headspace* e na amostra, respectivamente, e V_F , V_H e V_A são, nessa ordem, os volumes da película de recobrimento da fibra, do *headspace* e da amostra.

A constante de distribuição do analito entre as fases fibra / *headspace*, K_{FH} , e *headspace* / amostra, K_{HA} , são definidas como:

$$K_{FH} = \frac{C_F^\infty}{C_H^\infty} \quad (2)$$

e

$$K_{HA} = \frac{C_H^\infty}{C_A^\infty} \quad (3)$$

A quantidade do analito recolhido na fibra extrativa, n , é calculada pela expressão:

$$n = C_F^\infty V_F \quad (4)$$

$$n = \frac{K_{FH} K_{HA} V_F C_0 V_A}{K_{FH} K_{HA} V_F + K_{HA} V_H + V_A} \quad (5)$$

Como a constante de distribuição do analito nas fases fibra/amostra, K_{FA} , é igual ao produto $K_{FH} K_{HA}$, temos que:

$$n = \frac{K_{FA} V_F C_0 V_A}{K_{FA} V_F + K_{HA} V_H + V_A} \quad (6)$$

Considerando a extração da amostra no modo direto, a parcela $K_{HA} V_H$ pode ser desprezada. Deste modo, a equação (6) assume a forma:

$$n = \frac{K_{FA} V_F C_0 V_A}{K_{FA} V_F + V_A} \quad (7)$$

Como K_{FA} apresenta, geralmente, uma ordem de grandeza muito pequena, aliada ao fato de que, normalmente, o volume da amostra, V_A , é muito superior ao volume do recobrimento da fibra, V_F , podemos aplicar a aproximação de que $K_{FA} V_F \ll V_A$. Logo, pode ser abreviada para:

$$n = K_{FA} V_F C_0 \quad (8)$$

Podemos perceber uma relação linear entre a quantidade de analito extraído da amostra e a concentração inicial deste na matriz, ou seja:

$$n = K C_0 \quad (9)$$

No modo *headspace*, partindo-se da equação (7), podemos inicialmente considerar que as fases amostra / *headspace* apresentam o mesmo volume ($V_A = V_H$)

$$n = \frac{K_{FA} V_F C_0 V_A}{K_{FA} V_F + (1 + K_{HA}) V_A} \quad (10)$$

Usando o mesmo raciocínio empregado para o modo direto, temos:

$$K_{FA} V_F \ll (1 + K_{HA}) V_A, \quad \text{logo:} \quad n = \frac{K_{FA} V_F}{(1 + K_{HA})} C_0 \quad (11)$$

Conclui-se então que a quantidade do analito coletado pela fibra, no modo *headspace*, segue também uma dependência linear com a concentração inicial do analito na amostra:

$$n = k' C_0 \quad (12)$$

Uma outra constatação interessante é o fato de que a quantidade extraída do analito independe do volume da amostra em análise. Assim, a coleta dos analitos pode ser feita diretamente no ambiente natural, expondo a fibra extrativa ao sistema em estudo, como a atmosfera, a água de um rio ou efluentes industriais [26].

3. ASPECTOS CINÉTICOS DA SPME

O tempo requerido para o equilíbrio, t_e , no modo direto, depende apenas da espessura do filme líquido da fibra, L_f , e do coeficiente de difusão do analito na fibra extrativa, D_f :

$$t_e = \frac{L_F^2}{2D_F} \quad (13)$$

Aumentos na espessura do recobrimento, apesar de propiciar uma maior quantidade de analito retido pela fibra, gera maiores tempos de extração. Por outro lado, alguns parâmetros de operação devem ser cuidadosamente avaliados, como a temperatura de extração e o nível de agitação da amostra, a fim de otimizar o coeficiente de difusão do analito na fibra coletora [26].

No modo *headspace* sem agitação da amostra, o tempo de equilíbrio pode ser expresso por:

$$t_e = 1,8 \left(\frac{L_H}{K_{HA} D_H} + \frac{L_S}{1,6 D_A} \right) K_{FA} L_F \quad (14)$$

onde L_H , L_A e L_F são as espessuras do *headspace*, da amostra e do filme líquido, respectivamente; D_H e D_A , os coeficientes de difusão do analito no *headspace* e na amostra,

nesta ordem; e K_{HA} e K_{FA} as constantes de distribuição do analito nas fases *headspace* / amostra e fibra / amostra, respectivamente.

Uma análise da equação (14) nos revela que reduções na espessura das fases diminuem o tempo de equilíbrio, porém tais reduções são limitadas a alguns aspectos: uma diminuição na espessura do filme líquido, L_F , diminui também a capacidade da fibra em extrair os analitos – as películas mais finas retêm uma menor quantidade de analitos, o que pode comprometer a análise de matrizes ao nível de traços. Além disso, reduções significativas da espessura da amostra, L_A , podem também comprometer a sensibilidade do método e, quando aliada à diminuição da espessura do *headspace*, L_H , pode também produzir efeitos indesejáveis à termodinâmica do processo, principalmente, quando a concentração do analito difere bastante nas duas fases – amostra e *headspace* [27].

Um aumento nos coeficientes de difusão, D_H e D_A , também diminui o tempo de extração. Isto pode ser conseguido com agitação eficiente da amostra e/ou aquecimento. Quanto às constantes de distribuição, K_{HA} e K_{FA} , o tempo de extração é otimizado para analitos com pequenas constantes de distribuição entre as fases fibra / amostra, K_{FA} , e com grandes constantes de distribuição nas fases *headspace* / amostra, K_{HA} [27].

Por fim, é importante salientar que se pode trabalhar fora da condição de equilíbrio, principalmente nos casos em que o tempo de extração é excessivamente longo. No entanto, as condições de extração devem ser extremamente bem controladas para assegurar a precisão do método, tais como o grau de agitação da amostra e a temperatura. Nestes casos, é fundamental uma boa reprodutibilidade dos tempos de extração em cada amostra, pois variações deste comprometeriam facilmente as determinações. Sistemas automatizados são mais indicados nestas situações [28].

4. APLICAÇÕES COM SPME

Os compostos voláteis benzeno, tolueno, etilbenzeno e os isômeros do xileno são muito usados para monitoramento ambiental em área de exploração e produção de petróleo. Gaujac et al [24] estabeleceram um método por SPME para analisar esses compostos fazendo uso da otimização multivariada. Em seguida o método analítico foi validado e análises de amostras de águas de mar e de produção foram realizadas. Os valores encontrados variaram de 145,8 a 1891 $\mu\text{g L}^{-1}$, bem acima do estabelecido pela legislação brasileira.

Wang et al. [29] estudaram a padronização interna do método SPME por meio da adição de um padrão à fibra antes da exposição da mesma à amostra. Foram investigados modos possíveis de carregar a fibra com quantidades reprodutíveis do padrão. Foi encontrado que, ao se adicionar alguns miligramas de padrões, como naftaleno, em poucos gramas de óleo para bombas, tem-se um excelente gerador de padrões. Uma única solução pode conduzir a pelo menos a cem padronizações da fibra, com reprodutibilidade de $\text{RSD} < 4\%$. Quando a fibra carregada com o padrão é inserida no vial contendo os analitos ocorre, simultaneamente, a dessorção do padrão na amostra e a captação das moléculas de interesse. A quantificação é baseada no equilíbrio de distribuição das moléculas dos padrões e dos analitos, entre a fibra e a amostra dentro do vial. Uma comparação foi feita entre os perfis de equilíbrio obtidos no modo tradicional de padronização interna e no modo proposto.

Em trabalho desenvolvido por Ji et al [30] foi proposta uma metodologia de quantificação de BTEX em matrizes aquosas no campo. Um equipamento portátil de cromatografia gasosa com um micro-detector por ionização de chama foi empregado. As melhores respostas foram obtidas com fibra PDMS-DVB com 65 μm de espessura, nível de agitação de 900 rpm, volume do *headspace* em 3,0 mL (em vial de 4 mL) e concentração de NaCl em peso/volume igual a 35%. Um tempo e extração de 1,0 min foi suficiente para os analitos alcançarem o equilíbrio entre as fases. O RSD para o método variou entre 5,4% a 8,3%. O limite de detecção do método ficou em 1,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, o qual é suficientemente sensível para detectar BTEX em amostras naturais de água. O método otimizado foi empregado para análise em campo de BTEX em água de descarte.

5. CONCLUSÃO

A microextração em fase sólida é uma das mais modernas e simples opções de trabalho em química analítica, para o preparo de amostras ambientais a serem analisadas por técnicas cromatográficas. Utilizada para uma ampla variedade de matrizes nos mais diferentes tipos de análises, é facilmente adaptável a analitos polares, apolares, voláteis ou semi-voláteis. Além disso, é altamente sensível e seletiva, apresenta baixo custo e grande portabilidade, permitindo extrações diretamente no meio natural, facilitando bastante as análises de matrizes ambientais. Por fim, é uma técnica que não utiliza solvente orgânico, trazendo benefícios para a saúde humana e contribui para a redução de resíduos tóxicos no laboratório e no meio ambiente.

-
- [1] F. W. Fifield, P. J. Haines. *Environmental Analytical Chemistry*. London, Blackweel Science Ltd, 2000. 490p.
- [2] S. Huang, C. Cheng, Y. Sung. *Analytica Chimica Acta* 343 (1996) 101.
- [3] J. C. F. Menéndez, M. L. F. Sanches, J. E. S. Uria, E. F. Martinez,; A. Sans-Medel. *Analytical Chimica Acta* 415 (2000) 9.
- [4] J. Pawliszyn. *Analytical Chemistry* 75 (11) (2003) 2543.
- [5] H. S. Dórea, W.G.Lopes. *Química Nova*, 27 (2004) 892.
- [6] D. E. Raynie. *Analytical Chemistry* 76 (16) (2004) 4659.
- [7] C. L. Arthur.; J. Pawliszyn. *Analytical Chemistr.* 62 (1990) 2145.
- [8] E. Matisová, M. Medved'ová, J. Vraniaková, P. Simon. *Journal of Chromatography A*.960 (2002) 159.
- [9] H. Lord; J. Pawliszyn. *Journal of Chromatography A* 885 (2000) 153.
- [10] F. M. Lanças. *Extração em Fase Sólida (SPE)*. São Carlos, Ed. RiMa (2004) 93p.
- [11] H. Kataoka, H. L. Lord, J. Pawliszyn. *Journal of Chromatography A* 880 (2000) 35.
- [12] F. M. Musteata and J. Pawliszyn. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 70 (2007) 181.
- [13] A. K. Malik, V. Kaur, N. Verma. *Talanta*, 68 (3) (2006) 842.
- [14] J. S. Aulakh, A. K. Malik, V. Kaur, P. Schmitt-Kopplin. *Analytical Chemistr.* 35 (1) (2005) 71.
- [15] L. J. Krutz, S. A. Senseman, A. S. Sciumbato. *Journal of Chromatography A* 999 (1-2) (2003) 103.
- [16] C. G. Zambonin. *Analytical and Bioanalytical Cheiustry* 375 (2003) 73.
- [17] F. Augusto, A. L. P. Valente. *Trends in Analytical Chemistry* 21 (6-7) (2002) 428.
- [18] G. A. Mills and V. Walker. *Journal of Chromatography A* 902 (1) (2000) 267.
- [19] M. de Fátima Alpendurada. *Journal of Chromatography A* 889 (1-2) (2000) 3.
- [20] J. Beltran, F. J. López, F. Hernández. *Journal of Chromatography A* 885 (1-2) (2000) 389.
- [21] J. Namiesnik, B. Zygmunt, A. Jastrzebska.. *Journal of Chromatography A* 885 (1-2) (2000) 405.
- [22] K. G. Furton, J. R. Almirall, M. Bi, J. Wang, L. Wu. *Journal of Chromatography A* 885 (1-2) (2000) 419.
- [23] G. Theodoridis, E. H. M. Koster, G. J. Jong *Journal of Chromatography B* 745 (2000) 49.
- [24] A. Gaujac, E. S. Emídio, S. Navickiene, S. L. C. Ferreira, H. S. Dórea. *J. Chromatography A* 1203 (2008) 99.
- [25] S. Ulrich. *Journal of Chromatography A* 902 (2000)167.
- [26] J. Pawliszyn. *Solid-Phase Microextraction*, New York, Willey-VHC (1997) 247.
- [27] A L. P. Valente; F. Augusto. *Química Nova* 23 (4) (2000) 523.
- [28] Z. Mester, R. Sturgeon, J. Pawliszyn. *Spectrochimica Acta Part B* 56 (2001) 233.
- [29] L. Wang, C.L.Weller, *Trends in Food Science & Technology*, 17 (6) (2006) 300.
- [30] J. Ji, C. Deng, W.Shen, X. Zhang, *Talanta*, 69 (4) (2006) 894