

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTO SENSU” EM
ENGENHARIA QUÍMICA – NÍVEL DE MESTRADO

**OBTENÇÃO DE FIBRA DE VIDRO RECOBERTA COMO
DISPOSITIVO DE MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA
DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS POR
CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)**

THIAGO ILIPRONTI

TOLEDO – PR – BRASIL

Março de 2017

THIAGO ILIPRONTI

**OBTENÇÃO DE FIBRA DE VIDRO RECOBERTA COMO
DISPOSITIVO DE MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA
DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS POR
CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração em **Desenvolvimento de Processos.**

Orientador: Prof. Dr. Elvio Antônio de Campos

TOLEDO – PR – BRASIL

Março de 2017

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.
Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

I28o Ilipronti, Thiago
Obtenção de fibra de vidro recoberta como dispositivo de
microextração em fase sólida para determinação de solventes
residuais por cromatografia gasosa (CG) / Thiago Ilipronti. --
Toledo, PR : [s. n.], 2017.
xvii , 101 f. : il. (algumas color.), figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Élvio Antonio de Campos
Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Universidade
Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de
Engenharias e Ciências Exatas.

1. Engenharia química – Dissertações 2. Fibras de vidro 3.
Óxido de zinco 4. Cromatografia a gás 5. Extração por solvente I.
Campos, Élvio Antonio de, orient. II. T

CDD 20. ed. 660.284248
543.0896

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO “STRICTO SENSU” EM
ENGENHARIA QUÍMICA – NÍVEL DE MESTRADO

Esta é a versão final da dissertação de Mestrado apresentada por Thiago Ilipronti
a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 13 de
março de 2017

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Elvio Antônio de Campos
Orientador

Prof^a. Dr. Soraya Moreno Palácio
Membro

Prof. Dr. Ricardo Schneider
Membro

Dedico este trabalho aos meus pais, Álvaro e Maria Ana e a minha esposa Waleska.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Elvio Antônio de Campos, pelo apoio, amizade, confiança, e pela orientação.

Aos colegas e amigos do PD&I da Prati-Donaduzzi pela ajuda nas análises cromatográficas e validação de metodologia, especialmente ao Bruno, Kamei e Lislaine pelo auxílio e amizade.

Aos colegas e amigos de mestrados, pela amizade, apoio e ajuda durante as aulas, trabalhos e seminários.

Aos professores, colegas e funcionários do Departamento de Engenharia Química da UNIOESTE.

A Prati-Donaduzzi pelo apoio e suporte na execução das análises cromatográficas e validação de metodologia.

Aos meus amados pais, irmã, cunhado e sobrinhos, e toda minha família pelo amor, apoio, educação e incentivo.

A todos aos meus amigos pela amizade, carinho e apoio, em especial ao Bruno e Vinicius.

A minha esposa, Waleska, pelo amor, paciência, companheirismo e apoio em todos os momentos do desenvolvimento do trabalho.

A todos, que de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Viver é enfrentar um problema atrás do outro. O modo como você o encara é que faz a diferença.”.

Benjamin Franklin

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo Geral	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Microextração em Fase Sólida - SPME	5
3.2. Teoria e uso da SPME.....	5
3.3. Tipos de fibras e recobrimentos com ZnO.....	10
3.4. Técnicas para obtenção do ZIF-8 e características do material	13
3.5. Solventes Residuais.....	15
3.6. Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica.....	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1. MATERIAIS	20
4.1.1. Reagentes em geral.....	20
4.2. MÉTODOS.....	21
4.2.1. Seleção e retirada da camada polimérica da superfície da fibra de vidro.....	21
4.2.2. Recobrimento da superfície das fibras com ZnO pelos métodos 1 e 2.....	21
4.2.3. Obtenção do ZIF-8	23
4.2.4. CARACTERIZAÇÃO	24
4.3. METODOLOGIA ANALÍTICA.....	26
4.3.1. Preparo das amostras	26
4.3.2. Sistema Cromatográfico Gasoso.....	27
4.3.3. Otimização do método analítico.....	29
4.3.4. Temperatura de incubação	29
4.3.5. Tempo de incubação	30
4.3.6. Tempo de extração/sorção	30
4.3.7. Tempo de dessorção	30
4.4. Validação da metodologia analítica	31
4.4.1. Especificidade	31
4.4.2. Linearidade.....	32
4.4.3. Exatidão	33
4.4.4. Precisão	35
4.4.5. Limite de Quantificação.....	36
4.4.6. Intervalo	36

4.4.7. Robustez.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1. Fibras de vidro recobertas com ZnO	37
5.2. Análise por MEV e DRX da fibra de vidro recoberta com ZnO	39
5.2.1. Análise por MEV da fibra de vidro antes do recobrimento com ZnO	39
5.2.2. Análise por MEV da fibra de vidro recoberta pelo ZnO pelo método de recobrimento 2	40
5.2.3. Análise da fibra de vidro recoberta com ZnO por DRX	41
5.3. Análise da Fibra de vidro por MEV e DRX após a síntese do ZIF-8	42
5.3.1. Análise da fibra de vidro por MEV após síntese do ZIF-8	42
5.3.2. Análise da fibra de vidro após síntese do ZIF-8 por DRX.....	46
5.4. Análise termogravimétrica (TGA) das fibras de vidro recobertas com ZnO e ZIF-847	
5.5. Otimização do método analítico	48
5.5.1. Temperatura de incubação	49
5.5.2. Tempo de incubação	50
5.5.3. Tempo de extração/sorção	52
5.5.4. Tempo de dessorção	54
6. Validação da metodologia analítica	55
6.1 Especificidade	55
6.2 Linearidade	56
6.3 Exatidão e Precisão.....	62
6.3.1. Exatidão e Precisão primeiro dia	63
6.3.2. Exatidão e Precisão segundo dia	64
6.4 Limite de Quantificação	66
6.5 Intervalo.....	66
7. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS.....	68
7.1. Conclusão	68
7.2. Trabalhos Futuros.....	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
9 APÊNDICE	77
APÊNDICE A: Cromatogramas obtidos das etapas de otimização da metodologia analítica, avaliando os parâmetros de temperatura e incubação, tempo de incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção respectivamente.	77
APÊNDICE B: No apêndice B estão os cromatogramas obtidos do parâmetro de especificidade da validação do método analítico, avaliando parâmetros de resolução e interferência na solução amostra, utilizando as injeções das soluções Analito 1, 2, 3, 4 e padrão interno individualmente para efeito de identificação dos picos no cromatograma. Também constam os cromatogramas obtidos do parâmetro de linearidade da validação do	

método analítico. A exatidão e precisão primeiro e segundo dia foram calculadas a partir dos níveis 1 (20%), 4 (80%) e 6 (120%) da linearidade conforme descrito no item 6.3 e . 84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática de uma seringa de SPME comercializado pela Supelco	8
Figura 2 – Modo de extração de analitos por headspace	8
Figura 3 – Mecanismo de extração/sorção por headspace	9
Figura 4 – Procedimento de dessorção térmica headspace-SPME-CG.....	9
Figura 5 – Representação da técnica dip-coating para obtenção de filmes	12
Figura 6 – (a) Representação da síntese para obtenção da estrutura de ZIF-8 e (b) fragmento da estrutura cristalina de ZIF-8	14
Figura 7 – Imagem obtida por microscópio ótico da fibra de vidro sem a camada polimérica e revestimento da camada	37
Figura 8 – Imagens obtidas das fibras de vidros após recobrimento com ZnO; 1a, 1b e 1c representam a fibra em contato por 12, 24 e 48 horas pelo método 1 respectivamente; 2a, 2b e 2c representam a fibra em contato por 12, 24 e 48 horas pelo método 2 respectivamente	38
Figura 9 – Imagem da fibra de vidro antes do recobrimento com ZnO, com magnitude de 150 vezes.	39
Figura 10 – Imagens das fibras recobertas com ZnO pelo método 2, na magnitude de 1800 vezes (10a), 30000 vezes (10b) e 32000 vezes (10c) respectivamente	40
Figura 11 – (a) Padrão de Difração do ZnO (b) Padrão Cristalográfico do ZnO hexagonal JCPDS nº 36-1451	41
Figura 12 – padrão de difração do ZnO comercial (a) e Padrão de Difração do ZnO pelo método de recobrimento 2 (b)	42
Figura 13 – Imagens das fibras após a etapa de pré-ativação; 13a fibra na magnitude de 30000 vezes; 13b fibra na magnitude de 50000 vezes.....	43
Figura 14 – Imagens obtidas das fibras após síntese do ZIF-8; 14a imagem da fibra após contato com solução precursora por 12 horas com magnitude de 30,0 k vezes, 14b imagem da fibra após contato com solução precursora por 24 horas com magnitude de 30,0 k vezes	45
Figura 15 – Padrão de Difração da estrutura sodalita de ZIF-8.....	46
Figura 16 – Análise Termogravimétrica da fibra de vidro sem modificação, com recobrimento dos nanobastões de ZnO e com ZIF-8.....	47
Figura 17 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função da temperatura de incubação.....	50
Figura 18 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função do tempo de incubação.....	51
Figura 19 – Cromatogramas obtidos da solução amostra com tempo de incubação de 5 minutos (a) e com tempo de incubação de 15 minutos (b).....	52
Figura 20 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função do tempo de extração/sorção	53
Figura 21 – Cromatogramas obtidos da solução amostra com tempo de extração/sorção de 60 s (a) e com tempo de extração/sorção de 120 s (b)	53
Figura 22 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função do tempo de dessorção	55
Figura 23 – Cromatograma referente a solução Amostra utilizada no estudo da especificidade	56
Figura 24 – Curvas de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito metanol.....	58

Figura 25 – Curva de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito butanol	58
Figura 26 – Curva de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito diclorometano	59
Figura 27 – Curva de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito acetato de etila ...	59
Figura 28 – Distribuição dos resíduos para o analito metanol	61
Figura 29 – Distribuição dos resíduos para o analito butanol	61
Figura 30 – Distribuição dos resíduos para o analito diclorometano	62
Figura 31 – Distribuição dos resíduos para o analito acetato de etila	62

APÊNDICE A

Figura A 1 – Cromatograma referente a solução branco	77
Figura A 2 - Cromatograma referente a solução amostra temperatura de incubação de 50 °C	78
Figura A 3 – Cromatograma referente a solução amostra temperatura de incubação de 60 °C	78
Figura A 4 – Cromatograma referente a solução amostra temperatura de incubação de 70 °C	79
Figura A 5 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de incubação de 5 minutos	79
Figura A 6 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de incubação de 10 minutos	80
Figura A 7 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de incubação de 15 minutos	80
Figura A 8 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de extração de 30 segundos	81
Figura A 9 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de extração de 60 segundos	81
Figura A 10 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de extração de 120 segundos	82
Figura A 11 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de dessorção 0,60 minutos	82
Figura A 12 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de dessorção 2,5 minutos	83
Figura A 13 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de dessorção 4 minutos	83

APÊNDICE B

Figura B 1 – Cromatograma referente a solução amostra no estudo de especificidade ...	84
Figura B 2 – Cromatograma referente a solução branco no estudo de especificidade	85
Figura B 3 – Cromatograma referente a solução Analito 1 (metanol) no estudo de especificidade	85
Figura B 4 – Cromatograma referente a solução Analito 2 (butanol) no estudo de especificidade	86
Figura B 5 – Cromatograma referente a solução Analito 3 (diclorometano) no estudo de especificidade	86
Figura B 6 – Cromatograma referente a solução Analito 4 (acetato de etila) no estudo de especificidade	87

Figura B 7 – Cromatograma referente ao Padrão Interno (acetona) no estudo de especificidade	87
Figura B 8 – Cromatograma solução amostra nível 1 (20%) da linearidade 1	88
Figura B 9 – Cromatograma solução amostra nível 2 (40%) da linearidade 1	88
Figura B 10 – Cromatograma solução amostra nível 3 (60%) da linearidade 1	89
Figura B 11 – Cromatograma solução amostra nível 4 (80%) da linearidade 1	89
Figura B 12 – Cromatograma solução amostra nível 5 (100%) da linearidade 1	90
Figura B 13 – Cromatograma solução amostra nível 6 (120%) da linearidade 1	90
Figura B 14 – Cromatograma solução amostra nível 1 (20%) da linearidade 2	91
Figura B 15 – Cromatograma solução amostra nível 2 (40%) da linearidade 2	91
Figura B 16 – Cromatograma solução amostra nível 3 (60%) da linearidade 2	92
Figura B 17 – Cromatograma solução amostra nível 4 (80%) da linearidade 2	92
Figura B 18 – Cromatograma solução amostra nível 5 (100%) da linearidade 2	93
Figura B 19 – Cromatograma solução amostra nível 6 (120%) da linearidade	93
Figura B 20 – Cromatograma solução amostra nível 1 (20%) da linearidade 3	94
Figura B 21 – Cromatograma solução amostra nível 2 (40%) da linearidade 3	94
Figura B 22 – Cromatograma solução amostra nível 3 (60%) da linearidade 3	95
Figura B 23 – Cromatograma solução amostra nível 4 (80%) da linearidade 3	95
Figura B 24 – Cromatograma solução amostra nível 5 (100%) da linearidade 3	96
Figura B 25 – Cromatograma solução amostra nível 6 (120%) da linearidade 3	96
Figura B 26 – Cromatograma solução amostra do nível 1 (20%) da exatidão e precisão segundo dia primeira determinação	97
Figura B 27 – Cromatograma solução amostra do nível 1 (20%) da exatidão e precisão segundo dia segunda determinação	97
Figura B 28 – Cromatograma solução amostra do nível 1 (20%) da exatidão e precisão segundo dia terceira determinação	98
Figura B 29 – Cromatograma solução amostra do nível 4 (80%) da exatidão e precisão segundo dia primeira determinação	98
Figura B 30 – Cromatograma solução amostra do nível 4 (80%) da exatidão e precisão segundo dia segunda determinação	99
Figura B 31 – Cromatograma solução amostra do nível 4 (80%) da exatidão e precisão segundo dia terceira determinação	99
Figura B 32 – Cromatograma solução amostra do nível 6 (120%) da exatidão e precisão segundo dia primeira determinação	100
Figura B 33 – Cromatograma solução amostra do nível 6 (120%) da exatidão e precisão segundo dia segunda determinação	100
Figura B 34 – Cromatograma solução amostra do nível 6 (120%) da exatidão e precisão segundo dia terceira determinação	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Reagentes utilizados e suas respectivas finalidades	20
Tabela 2 – Padrões utilizados no preparo das amostras.....	26
Tabela 3 – Rampa de aquecimento utilizada na metodologia analítica proposta.....	28
Tabela 4 – Parâmetros otimizados para técnica de SPME-HS-CG	31
Tabela 5 – Níveis de concentração da curva analítica.....	32
Tabela 6 – Preparo das soluções amostra para realizar a linearidade do método.....	33
Tabela 7 – Preparo das soluções amostras para realização da exatidão do método.....	34
Tabela 8 – Preparo das soluções amostra para realização da precisão do método	35
Tabela 9 – Percentual (% m/m) dos elementos C, N, O e Zn obtidos por EDS da fibra de vidro após recobrimento com ZnO e pré-ativação	43
Tabela 10 – Percentual (% m/m) dos elementos C, N, O e Zn obtidos por EDS da fibra de vidro após a síntese do ZIF-8 depois de 12 horas de contato com solução precursora .	45
Tabela 11 – Percentual (% m/m) dos elementos C, N, O e Zn obtidos por EDS da fibra de vidro após a síntese do ZIF-8 depois de 24 horas de contato com solução precursora .	46
Tabela 12 – Tempo de retenção aproximado dos analitos e o tempo de corrida cromatográfica	48
Tabela 13 – Tempo de Retenção, Área e Resolução dos analitos na solução amostra no estudo de especificidade.....	56
Tabela 14 – Razões obtidas do estudo de linearidade para cada analito em seus níveis de concentração	57
Tabela 15 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do metanol	60
Tabela 16 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do butanol .	60
Tabela 17 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do diclorometano.....	60
Tabela 18 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do acetato de etila	60
Tabela 19 – Recuperação de cada analito para o nível 1 (20%) para exatidão primeiro dia	63
Tabela 20 – Recuperação de cada analito para o nível 4 (80%) para exatidão primeiro dia	63
Tabela 21 – Recuperação de cada analito para o nível 6 (120%) para exatidão primeiro dia	64
Tabela 22 – Desvio padrão relativo na triplicata de cada nível para precisão primeiro dia	64
Tabela 23 – Recuperação de cada analito para o nível 1 (20%) para exatidão segundo dia	65
Tabela 24 – Recuperação de cada analito para o nível 4 (80%) para exatidão segundo dia	65
Tabela 25 – Recuperação de cada analito para o nível 6 (120%) para exatidão segundo dia	65
Tabela 26 – Desvio padrão relativo na comparação dos resultados obtidos da precisão primeiro e segundo dia	66

LISTA DE ABREVIações

2Hmim	2-metilimidazol
AcEt	Acetato de Etila
Act	Acetona
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BuOH	Butanol
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CW	Carbowax
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
DVB	Divinilbenzeno
EDS	Espectroscopia de Raio X por Dispersão de Energia
F125	Fibras 125 µm
F325	Fibras 325 µm
<i>FID</i>	<i>Flame Ionization Detector</i>
HMTA	Hexametenotetramina
<i>HS</i>	<i>Headspace</i>
<i>ICH</i>	Intenational Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
MeOH	Metanol
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
<i>MOF</i>	<i>Metal-Organic Framework</i>
PA	Poliacrilato
PAHs	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
PDMS	Polidimetilsiloxano
SPME	Microextração em fase sólida

TGA	Análise Termogravimétrica
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
ZIF-8	<i>Zeolitic-Imidazolato Frameworks-8</i>
ZnO	Óxido de Zinco

OBTENÇÃO DE FIBRA DE VIDRO RECOBERTA COMO DISPOSITIVO DE MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA DETERMINAÇÃO DE SOLVENTES RESIDUAIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)

AUTOR: THIAGO ILIPRONTI

ORIENTADOR: PROF. DR. ELVIO ANTÔNIO DE CAMPOS

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Rua da Faculdade, 645; CEP: 85903-000 - Toledo - PR, Brasil, defendida em 13 de março de 2017, 101 p.

RESUMO

No presente trabalho, fibras de vidros foram utilizadas como suporte para deposição de uma camada de Óxido de Zinco (ZnO) e uma camada de *Zeolitic-Imidazolato Frameworks-8* (ZIF-8), ambas para aplicação da técnica de microextração em fase sólida (SPME). O recobrimento das fibras com ZnO foi realizado por meio da técnica “*dip coating*”, utilizando como reagente precursor do ZnO, nitrato de zinco e hexametilenotetramina. Para a síntese do ZIF-8 foi utilizado o precursor 2-metilimidazol. As fibras foram caracterizadas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar a morfologia das mesmas sem recobrimento, com recobrimento do óxido de zinco e com o recobrimento do ZIF-8. A técnica de Difração de Raio X (DRX) permitiu obter o padrão de difração dos cristais de ZnO e do ZIF-8. Para avaliar a estabilidade térmica ZnO e do ZIF-8 utilizou-se a técnica de análise termogravimétrica (TGA), obtendo-se estabilidade térmica do material em torno de 400 °C. Os resultados obtidos por MEV mostram que o método de síntese em meio metanólico apresentou um recobrimento da camada de ZnO homogêneo e regular em formas de nanobastões e, para a síntese do ZIF-8, a formação da rede *Framework-8*. Sendo assim, utilizou-se as fibras

recobertas com ZnO em meio metanólico para aplicação da técnica de *SPME* utilizando um amostrador *headspace (HS)* acoplado a um cromatógrafo gasoso com detecção por ionização de chama (CG-FID) nas determinações cromatográficas dos solventes residuais acetona, diclorometano, metanol, butanol e acetato de etila. Na etapa cromatográfica foi realizada a otimização do método, na qual testaram-se os parâmetros de temperatura de incubação, tempo de incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção, obtendo-se como resultado 70 °C, 10 minutos, 1 minuto e 4 minutos, respectivamente. Após a otimização dos parâmetros do método, foi realizado a validação da metodologia analítica para determinação dos solventes. O método mostrou-se específico, ausência de coeluição entre os analitos estudados. Para a linearidade na faixa de concentração de 5,99 a 299,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$ obteve-se coeficiente de correlação (R) de 0,9938, 0,9983, 0,9988 e 0,9982 para o metanol, butanol, diclorometano e acetato de etila, respectivamente. O método mostrou-se exato na faixa de recuperação de 80 a 120% e preciso, obtendo desvio padrão relativo menor que 15% em todas determinações nos níveis 1 (20%), 4 (80%) e 6 (120%). O método apresentou-se robusto, e possui grande potencial para ser utilizado em determinações de solventes residuais.

Palavras-chave: Microextração em fase sólida, recobrimento, óxido de zinco (ZnO), *Zeolitic-Imidazolato Frameworks-8 (ZIF-8)*, cromatografia gasosa.

ATTAINMENT OF A FIBERGLASS COATED AS A PHASE SOLID MICRO EXTRACTION DEVICE TO DETERMINE RESIDUAL SOLVENTS BY GAS CHROMATOGRAPHY (GC)

AUTHOR: THIAGO ILIPRONTI

SUPERVISOR: PROF. DR. ELVIO ANTÔNIO DE CAMPOS

Master's Thesis; Pos-Graduation Program on Chemical Engineering; Western Paraná State University; University st. 645; Zip Code: 85903-000 - Toledo - PR, Brazil, presented on March 13th, 2017, 101 p.

ABSTRACT

In this work, glass fibers have been used as support for the decomposition of a Zinc Oxide (ZnO) layer and a *Zeolitic-Imidazolate Frameworks-8* (ZIF-8) layer, both for the application of *Solid Phase Micro-Extraction* (SPME) technique. The coating ZnO fiber was obtained by dip coating technique in and by using zinc nitrate and hexamethylenetetramine as precursor reagents of the ZnO. The synthesis of ZIF-8 was used the 2-methylimidazole as precursor. The fibers were characterized by Electron Microscopy Scanning (SEM) to evaluate their morphology of fibers without coating, fibers with zinc oxide coating and fibers with ZIF-8 coating. The X-ray Diffraction (XRD) technique has allowed attaining the diffraction standard of the ZnO and ZIF-8 crystals. Thermogravimetric analysis (TGA) was performed to evaluate the thermal stability of ZnO and ZIF-8, indicating thermal stability around 400 °C. The SEM results indicated that the synthesis method in methanolic medium has presented a homogenous and regular coating of the ZnO layer in nanorods shape and, for the ZIF-8 synthesis, the Framework-8 net formation. As such, the ZnO coated fibers were used in the methanolic medium to the application of the SPME technique by using a Headspace sampler (HS) coupled to a gas chromatograph with flame ionization detection (GC-FID) in the chromatographic determination of

the following residual solvents: Acetone, dichloromethane, methanol, butanol and ethyl acetate. The method optimization was performed in the chromatographic step, in which four parameters were tested: the incubation temperature, incubation time, extraction/ sorption time and desorption time. The obtained values were 70 °C, 10 minutes, 1 minute and 4 minutes, respectively. After methods optimization, the analytical methodology validation was performed to determine the solvents (quantify the solvents). The method was shown to be specific, absence of coelution between the analytes studied. For the linearity in the concentration interval from 5,99 to 299,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$ the correlation coefficient (R) was 0,9938, 0,9983, 0,9988 and 0,9982 for methanol, butanol, dichloromethane and ethyl acetate, respectively. The method has shown precision and accuracy in the recovery interval, from 80 to 120%, presenting Relative Standard Deviation (RSD) not more than 15% in all determination levels 1 (20%), 4 (80%) and 6 (120%). The method has also presented Robustness and a large potential for residual solvents determination.

Key words: Solid phase microextraction, coated fibers, Zinc oxide (ZnO), Zeolitic-Imidazolate Frameworks-8 (ZIF-8), gas chromatography.

1. INTRODUÇÃO

No desenvolvimento e fabricação de formulações farmacêuticas e insumos farmacêuticos ativos (IFA's), são necessários em suas rotas de sínteses um elevado número de solventes orgânicos voláteis, que nem sempre são totalmente removidos durante o processo de fabricação (YU *et al.*, 2010). Esses solventes não apresentam valor terapêutico e, por conta disso, podem representar risco a saúde do consumidor, tendo em vista que esses resíduos podem vir a apresentar toxicidade e efeitos adversos em sua administração. A quantificação dos mesmos é fundamental para garantir a eficácia, a segurança e a estabilidade em produtos farmacêuticos (Resolução RDC nº 57, 2009; *United States Pharmacopeia*, 2009; *International Conference on Harmonization*, 1997).

É importante que a concentração desses resíduos esteja dentro dos limites especificados pela legislação. Essa verificação é realizada nos testes de solventes residuais, geralmente tais procedimentos não são mencionados em monografias ou compêndios nas farmacopeias, uma vez que os solventes utilizados na síntese variam entre fabricantes. No Brasil o teste de solventes residuais entrou em vigor através da RDC nº 57 de 18 de novembro de 2009, visando melhorar a qualidade do IFA garantindo um controle de qualidade efetivo no processo do produto final.

Internacionalmente o órgão que rege os limites permitidos de solventes residuais em produtos farmacêuticos é o *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH)* pelo guia Q3C(R5). O guia traz três classificações para solventes residuais relacionadas à sua toxicidade e riscos potenciais. A primeira classe inclui os solventes mais tóxicos, tais como benzeno, tetracloreto de carbono, dicloroetano, dicloroeteno e tricloroeteno, a segunda inclui solventes com toxicidade inerente, na qual o agente tóxico pode provocar efeitos nocivos em organismos vivos e devem ser limitados em produtos farmacêuticos e a terceira os solventes potencialmente de menor risco (ICH, 1997).

Uma das técnicas mais comumente utilizada para a determinação dos limites de solventes residuais é a cromatografia gasosa de alta resolução com detecção

por ionização de chama agregado a um amostrador automático do tipo *headspace*. Essa técnica é altamente sensível na detecção desses solventes (JACQ *et al.*, 2008). No entanto, em muitas metodologias já desenvolvidas são necessárias várias etapas de extração, altas quantidades de solventes e às vezes pré-concentração da amostra.

A microextração em fase sólida (do inglês *Solid Phase Microextraction - SPME*) é uma técnica de preparação, extração e pré-concentração de amostra, que surgiu no início dos anos noventa desenvolvida pelo Professor Janusz Pawliszyn da Universidade de Waterloo, em Ontário, Canadá. Essa técnica permite que a extração ocorra sem o uso de solventes, por meio de uma fibra de sílica fundida ou fibra de aço inoxidável revestido com uma película fina de polímero, que atua como o solvente durante a extração de compostos. Essa técnica tem como vantagem sua seletividade, ausência de várias etapas de extração, purificação e concentração da amostra, uma vez que todas essas etapas são eliminadas quando se utiliza a SPME (PAWLISZYN, 2012).

Na *SPME* os analitos serão extraídos e concentrados na superfície adsorvente desse dispositivo, regido pela afinidade entre as espécies. O mecanismo de extração ocorre imergindo-se a fibra recoberta com material adsorvente na amostra de forma direta, ou no seu "*headspace*". Transcorrido o tempo de extração essa fibra é recolhida do contato com a amostra e dessorvida termicamente para separação e detecção em cromatografia gasosa ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (MÜLLER *et al.*, 2015).

No entanto, muitos desses recobrimentos apresentam limitações, tais como instabilidade térmica, o que acaba gerando um tempo de vida útil menor para a fibra, não atendendo demandas de análise devido a degradação do revestimento. Devido a esses fatores, o desenvolvimento de novas fases estacionárias vem ganhando cada vez mais prestígio, buscando o melhoramento das propriedades químicas e estabilidade térmica (BAGHERI *et al.*, 2012 & XU *et al.*, 2013). Dentro desse contexto, um material que vem chamando atenção dos pesquisadores da área para o recobrimento em *SPME* são os *ZIF's*, uma subclasse dos *MOF's*.

Os *MOF's* surgiram na década de 80, e também são conhecidos como polímeros de coordenação porosos. Sua estrutura é constituída por um íon metálico

e ligantes orgânicos. Muitos *MOFs* têm atraído grande interesse na área da cromatografia, em especial o *ZIF-8*, uma subclasse dos *MOFs* obtida a partir de ligantes imidazois, na quais conferem propriedades como porosidade em nano escala, elevada área superficial e termicamente estáveis. Essas características atuam em fases estacionárias para separação tanto em cromatografia líquida quanto para cromatografia gasosa, conferindo aplicabilidade na técnica de *SPME* (FU *et al.*, 2013).

A proposta é obter um dispositivo com uma camada de ZnO ou com *ZIF-8* na superfície de uma fibra de vidro, e avaliar a aplicabilidade dessa(s) fibra(s) recoberta(s) pela técnica de *SPME* na determinação de solventes residuais utilizando a cromatografia gasosa. Além de realizar a validação da metodologia analítica avaliando os parâmetros de linearidade, especificidade, limite de detecção e quantificação, precisão, exatidão e robustez, conforme preconizado pela resolução 899 de 2003 da ANVISA.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Construir um dispositivo para aplicações em SPME a partir da cobertura da superfície de uma fibra de vidro comercial com um material inorgânico com estabilidade térmica suficiente para aplicação em cromatografia a gás e utilizá-lo na análise de alguns solventes residuais.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar a retirada da camada polimérica existente na superfície da fibra de vidro e a limpeza e tratamento prévio com solução de limpeza.
- Revestir as fibras de vidros com uma camada de óxido de zinco (ZnO), e utilizá-las para realizar a síntese do *ZIF-8* sobre a superfície modificada.
- Caracterizar as fibras obtidas, por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Espectroscopia de Raio X por Dispersão de Energia, Difração de raio X (DRX) e Análise Termogravimétrica (TGA).
- Projetar uma seringa/*holder* para fixação da fibra de vidro de modo que a mesma possa ser movida através do tubo hipodérmico da seringa, na qual possibilite a exposição e retirada da fibra no momento da extração e injeção.
- Determinar as condições ótimas de tempo de extração/sorção, dessorção, temperatura de incubação e tempo de incubação das fibras nas etapas cromatográficas.
- Realizar a validação da metodologia analítica para determinação de solventes residuais, utilizando o dispositivo de *SPME*, aplicável à cromatografia gasosa a partir das fibras de vidros recobertas com ZnO e *ZIF-8* e avaliar os parâmetros de linearidade, especificidade, limite de detecção e quantificação, precisão, exatidão e robustez.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Microextração em Fase Sólida - SPME

A técnica de microextração em fase sólida é considerada uma técnica relativamente nova, surgiu em 1990 desenvolvida pelo Professor Janusz Pawliszyn (ARTHUR *et al.*, 1990). Em relação às técnicas convencionais que se necessita de várias etapas na separação e purificação da amostra, a SPME consiste em reunir as etapas de amostragem, extração, concentração e introdução da amostra em uma única etapa, que se dividi em dois fenômenos físico-químicos, a adsorção e dessorção térmica do analito (ZHANG *et al.*, 2014).

As principais vantagens da técnica estão relacionadas à sua facilidade na operação e automação, agilidade, utilização de menos solventes, diminuição no risco de contaminação do extrato, perdas do analito, baixo custo, boa sensibilidade, podendo ser acoplada a sistemas de detecção e quantificação modernos (XIE, 2015). Devido essas características a SPME é uma técnica que vem ganhando espaço nas análises de alimentos, ambientais, clínicas e farmacêuticas, reduzindo consideravelmente a quantidade de solventes orgânicos utilizados nos mais diversos processos da indústria (VUCKOVIC *et al.*, 2011; ARTHUR *et al.*, 1990).

3.2. Teoria e uso da SPME

A teoria da SPME foi amplamente difundida por Pawliszyn e seus colegas de trabalho. A técnica está baseada no equilíbrio que se estabelece entre o analito e a fase estacionária recoberta na superfície da fibra (SPIETELUN, 2010). Os analitos são extraídos da amostra e se adsorvem sobre a fase estacionária contida na superfície da fibra que é regida pela afinidade da matriz-fase estacionária, a concentração de analitos adsorvidos é proporcional à quantidade de sítios de adsorção da fase estacionária. Após atingir o equilíbrio, os analitos são dessorvidos termicamente podendo ser separados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou cromatografia gasosa (PAWLISZYN, 2012; TOGUNDE *et al.*, 2012).

O equilíbrio simultâneo entre os analitos e superfície da fibra baseia-se em sistemas multifásicos, um sistema trifásico ideal simples é o de uma fibra imersa numa matriz aquosa ou gasosa com um amostrador *headspace*. Sistemas reais são mais complexos, pois nem o *headspace* nem a matriz são soluções ideais e os analitos podem interagir entre si, com as paredes do frasco (*vial*) e possivelmente com o suporte da fase estacionária. Portanto, a teoria baseia-se na cinética de transferência de massa entre fases e na termodinâmica que descreve o equilíbrio de partição do analito entre a matriz da amostra e a fase estacionária (VALENTE & AUGUSTO, 2000).

Durante a extração em um sistema trifásico ideal, as moléculas do analito migram entre as três fases (matriz – *headspace* – fibra) até atingir o equilíbrio de partição. Desta forma, a massa extraída do analito pela fase estacionária está relacionada ao equilíbrio de massas nas fases do sistema. A conservação de massa no processo deverá permanecer constante, sendo expressa pela Equação 1:

$$C_0 \cdot V_m = C_m^e \cdot V_m + C_h^e \cdot V_h + C_f^e \cdot V_f \quad (1)$$

onde C_0 indica a concentração inicial do analito na amostra, C_m^e , C_h^e e C_f^e as concentrações no estado de equilíbrio nas fases matriz, *headspace* e na fibra respectivamente. V_m , V_h , V_f os volumes das fases matriz, *headspace* e fibra respectivamente (PAWLISZYN, 2000). A Equação 1 pode ser resumida em função do número de mols, expressa pela Equação 2:

$$n_0 = n_m^e + n_h^e + n_f^e \quad (2)$$

onde n_0 mols do analito presentes na condição inicial, e n_m^e , n_h^e e n_f^e moles na matriz aquosa, no *headspace* e fibra, respectivamente.

As constantes de partição do analito entre as fases temos:

- Fibra-matriz: $K_{fm} = \frac{C_f^e}{C_m^e}$ (3)

- Fibra-headspace: $K_{fh} = \frac{C_f^e}{C_h^e}$ (4)

- Headspace-matriz: $K_{hm} = \frac{C_h^e}{C_m^e}$ (5)

Correlacionando as constantes obtemos a Equação 6 substituindo os volumes e concentrações das fases em equilíbrio, respectivamente, para a matriz, o *headspace* e a fibra, V_m^e e C_m^e , V_h^e e C_h^e , V_f^e e C_f^e :

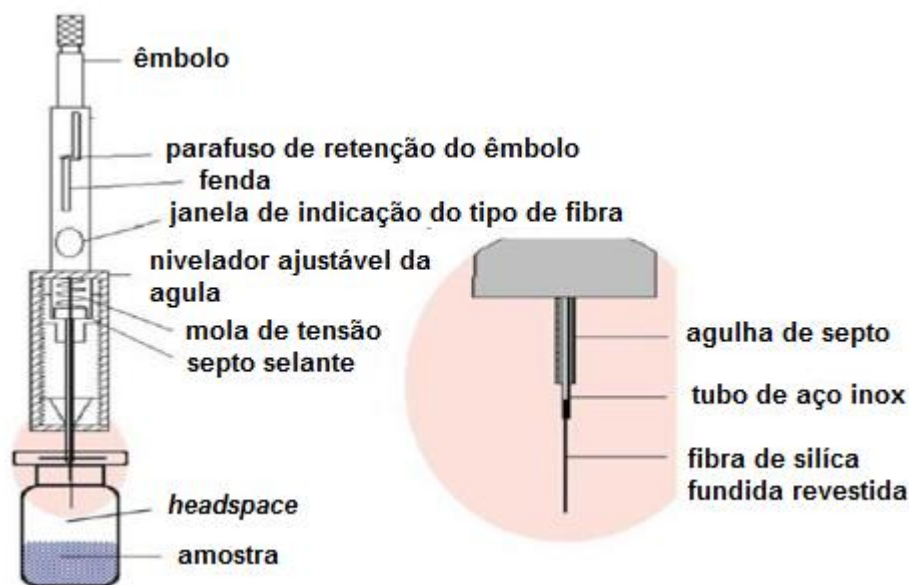
$$K_{fm} = K_{fh} \cdot K_{hm} \quad (6)$$

Após substituição das constantes de partição e da Equação 6 na Equação 2 e rearranjos algébricos, obtém-se a Equação 7:

$$n_f^0 = \frac{K_{fm} \cdot V_f \cdot C_0 \cdot V_m}{K_{fm} \cdot V_f + K_{hm} \cdot V_h + V_m} \quad (7)$$

Esta equação fornece a quantidade de analito extraído no sistema em equilíbrio com os parâmetros fundamentais dos equilíbrios simultâneos e descreve o aspecto termodinâmico da *SPME* (VALENTE & AUGUSTO, 2000).

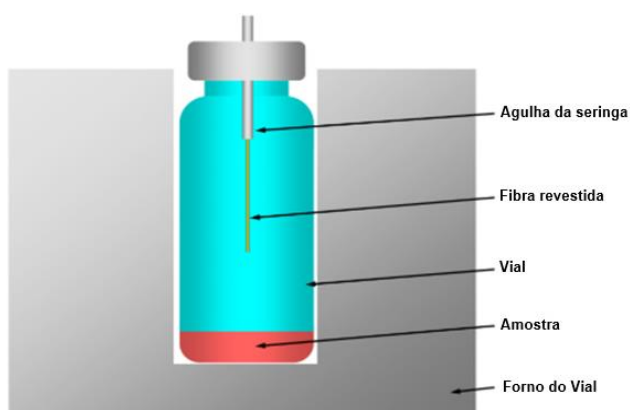
A *SPME* é relativamente de fácil aplicação, instrumentalmente faz-se uso de uma amostrador (*seringa/holder*), pois o dispositivo com a fibra é muito frágil e não deve ser manipulado diretamente. A fibra de sílica é presa a um êmbolo, e na extremidade oposta do dispositivo existe um tubo hipodérmico que fica exposto (Figura 1), o qual além de proteger a fibra, funciona como agulha na perfuração dos septos dos recipientes das amostras (CANUTO *et al.*, 2011).



Fonte: Adaptado de KATAOKA *et al.*, 2000.

Figura 1 – Representação esquemática de uma seringa de SPME comercializado pela Supelco

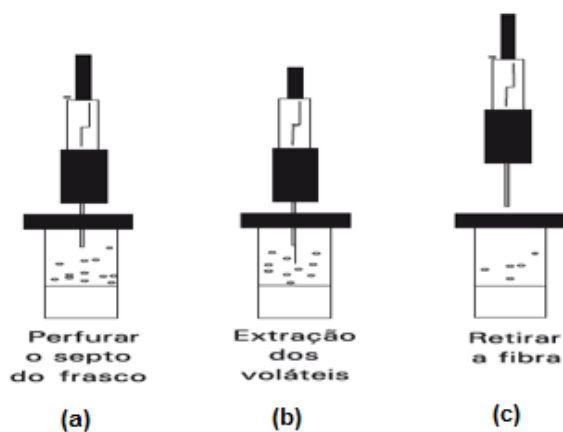
A técnica de *SPME* pode ser utilizada em dois modos de extração, uma delas é a extração direta na qual, a fibra revestida é inserida diretamente na amostra, e os analitos são extraídos diretamente da matriz da amostra na fase de extração. O outro modo é o *headspace*, onde a fibra é colocada logo acima do volume da matriz (que pode ser líquida ou sólida) (LANÇAS, 2005). A Figura 2 representa o modo de extração *headspace*, o mecanismo de extração se dá pela exposição da superfície ativa da fibra no *headspace*.



Fonte: Adaptado de PERKIN ELMER, 2014.

Figura 2 – Modo de extração de analitos por headspace

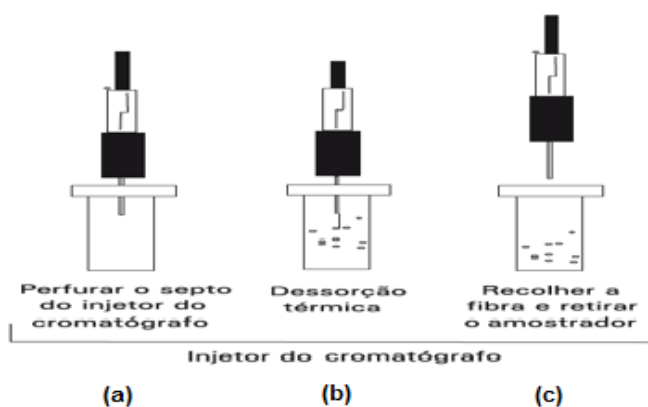
A sequência das etapas realizadas na extração e seguida dessorção no injetor do cromatógrafo é mostrada nas Figuras 3 e 4, respectivamente. Na figura 3 temos a fibra retraída na agulha do amostrador (3a), o septo do frasco então é perfurado e a fibra é exposta à amostra, após (3b) o término do tempo de extração a fibra é novamente recolhida para dentro do tubo hipodérmico, e a agulha é retirada do septo (3c) e levada para injeção no CG.



Fonte: Adaptado de CANUTO *et al.*, 2011.

Figura 3 – Mecanismo de extração/sorção por *headspace*

Com a fibra recolhida no amostrador, (4a) perfura-se o septo do injetor, em seguida a fibra é exposta para dessorção térmica e (4b), terminada a dessorção a fibra é novamente recolhida e a agulha retirada da cabeça do injetor, conforme figura (4c) (CANUTO *et al.*, 2011).



Fonte: Adaptado de CANUTO *et al.*, 2011.

Figura 4 – Procedimento de dessorção térmica *headspace*-SPME-CG

3.3. Tipos de fibras e recobrimentos com ZnO

O desenvolvimento de fases estacionárias para *SPME* tem um fator categórico em suas propriedades de extração. Desde sua criação, vários tipos de recobrimentos e materiais para *SPME* vêm sendo desenvolvidos com notáveis vantagens químicas e térmicas. No entanto, muitos desses recobrimentos apresentam instabilidade térmica, saturação de solventes inorgânicos e a degradação do revestimento, o que se torna uma desvantagem para a técnica (BAGHERI *et al.*, 2012; XU *et al.*, 2013).

Atualmente, o número e a variedade de fibras disponíveis comercialmente para *SPME* ainda são limitados, dentre as mais conhecidas temos as fibras com poldimetilsiloxano (PDMS), poldimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), poliacrilato (PA) e Carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB). No entanto, nem sempre os recobrimentos disponíveis se apresentam satisfatório perante algumas matrizes, visto que a gama de analitos existentes para extrações é muito vasta. Devido a esses problemas, novos recobrimentos vêm sendo sintetizados e explorados para melhorar a especificidade das fibras *SPME*, sensibilidade, seletividade e instabilidade térmica (ZHANG *et al.*, 2013).

Na busca pelo desenvolvimento de novas fases estacionárias em superfícies de vidro, recobrimentos com óxidos metálicos tornaram-se uma alternativa analítica, atribuindo ao material propriedades de elevada porosidade, resistência mecânica e química. A maioria dos recobrimentos metálicos sobre a sílica, $\text{SiO}_2/\text{M}_x\text{O}_y$, é obtido por meio de reações catalíticas, onde grupos siloxanos e silanóis livres permitem que várias técnicas sejam utilizadas para este propósito, os quais são classificadas de acordo com a natureza do precursor e o meio reacional.

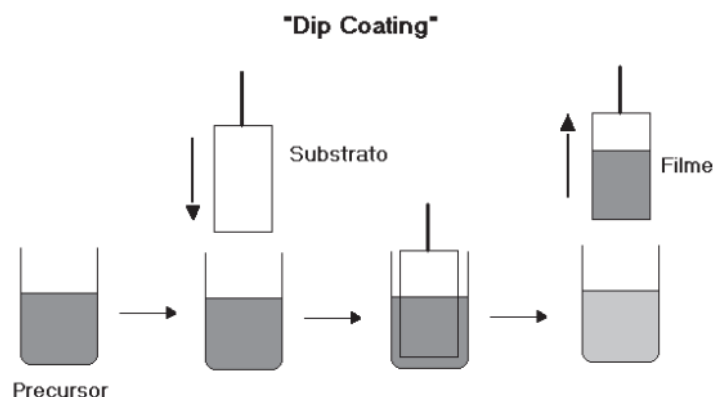
As técnicas de deposição em fase líquida geralmente envolvem a dissolução de um precursor em um solvente apropriado, seguida de sua deposição na superfície do substrato e subsequente evaporação controlada do solvente e/ou tratamento térmico. As técnicas de deposição em fase líquida estão fundamentadas no processo sol-gel, que é um método bastante utilizado para preparação de filmes finos, uma vez que possibilita seu processamento a baixas temperaturas e baixo custo (OLIVEIRA *et al.*, 2005).

Historicamente, o uso da tecnologia sol-gel tem sido mencionado desde 1800, e foi empregada em 1939 pela primeira vez em escala industrial para aplicação de óxidos em superfícies de vidros pela empresa *Schott Glass Company* (Jena, Alemanha). Na mesma época, o trabalho pioneiro desenvolvido por Kistler, mostrou que a estrutura do gel não era destruída quando a secagem era efetuada em condições extremas. H. Dislich no final dos anos 60 mostrou a viabilidade de preparar vidros multicomponentes controlando-se a taxa das reações de hidrólise e condensação de alcóxidos, durante a transição sol-gel (KUMAR *et al.*, 2008; HIRATSUKA *et al.*, 1994).

A química do processo sol-gel é baseada em reações de polimerização inorgânica onde os precursores usualmente empregados são soluções aquosas de sais inorgânicos ou alcóxidos dissolvidos em solventes orgânicos. Após as reações de hidrólise e subsequente condensação das espécies hidratadas, pode-se ter a formação de partículas coloidais ou cadeias poliméricas lineares (HIRATSUKA *et al.*, 1994). O processo sol-gel pode ocorrer sob condições extremamente suaves, de modo que pode ser usada para se obter produtos de diferentes tamanhos, formas e formatos (por exemplo, fibras, filmes e monólitos) (KUMAR *et al.*, 2008).

As técnicas mais utilizadas para obtenção de filmes pelo processo sol-gel em substratos específicos são por meio de *spin coating* e *dip coating*. O método *spin coating* consiste no movimento rotacional do substrato em torno de um eixo que deve ser perpendicular à área de revestimento, onde gotas da solução precursora são depositadas durante o processo. No momento da disposição os solventes mais voláteis aceleram o processo de hidrólise e condensação que são iniciados, devido o contato com a umidade do ar ambiente (FELTRIN *et al.*, 2013).

O método *dip coating* consiste em imergir, perpendicularmente, o substrato a ser revestido dentro da solução precursora e retirada com velocidade definida, sob temperatura controlada e condições atmosféricas. A velocidade de retirada do substrato da solução é fator predominante na obtenção da espessura do revestimento. A técnica consiste basicamente de 5 etapas, imersão, emersão, deposição e drenagem seguido de evaporação, conforme Figura 5.



Fonte: NASSAR, 2003.

Figura 5 – Representação da técnica *dip-coating* para obtenção de filmes

A camada de filme no substrato é obtida por hidrólise devido a exposição do filme em contato com a umidade, constituindo um gel úmido (NASSAR *et al.*, 2003). A técnica permite realizar o procedimento de deposição mais de uma vez para aumentar a camada do filme. A inserção e retirada do substrato na solução precursora deve ser constante e controlada sem nenhum tipo de interferência ou vibração, sendo o tempo de permanência também um fator importante, que garante assim filmes com maior qualidade é deposição homogênea. Com a repetida ação desse procedimento é possível obter filmes com dimensões de aproximadamente 10 – 12 m² (MESSIAS, 1998).

A tecnologia sol-gel pelo método *dip coating* tem encontrado cada vez maior aplicação em desenvolvimento de novos materiais para catálise, sensores químicos, membranas e fibras. Existem inúmeras vantagens inerentes ao processo de sol-gel, tais como: melhor homogeneidade de matérias-primas; melhor pureza de matérias-primas; boa mistura para sistemas multicomponentes; possibilidade de criação de materiais híbridos orgânico-inorgânico e, assim, um ajuste fino na seletividade cromatográfica; possibilidade de projetar a estrutura e propriedades do material, através da seleção adequada do precursor sol-gel e outros blocos de construção e a possibilidade de alcançar estabilidade reforçada para a fase estacionária e melhores desempenhos em separações cromatográficas (KUMAR *et al.*, 2008).

3.4. Técnicas para obtenção do ZIF-8 e características do material

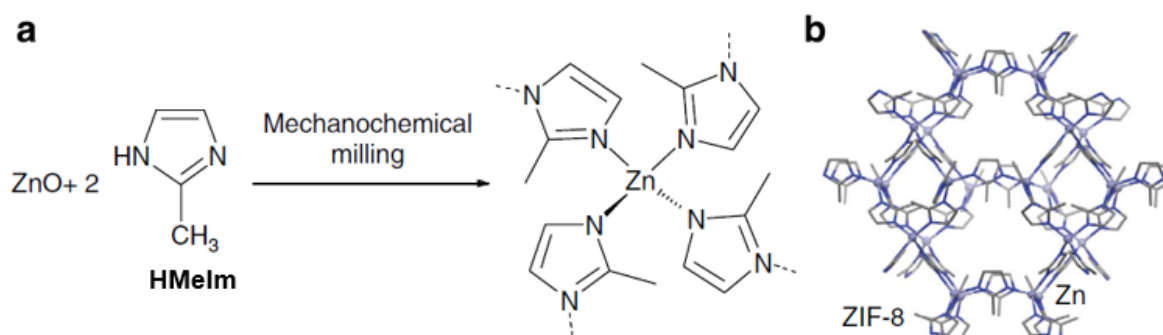
A utilização do processo sol-gel em fibras para *SPME* foi relatado por Chong *et al.* (1997), com intuito de melhorar a estabilidade térmica das fibras de *SPME* utilizadas em cromatografia gasosa. Yu *et al.* (2004) utilizando como precursor o reagente aliloxi bisbenzo 16-coroa-5-trimetoxisilano desenvolveu um revestimento para *SPME* bisbenzo coroa éter/hidroxila terminado com óleo de silicone (TSO-OH). O processo foi catalisado por ácido e se mostrou eficaz para a preparação de diferentes revestimentos quimicamente ligados à fibra de vidro (KUMAR *et al.*, 2008). A abordagem pelo processo sol-gel estimulou trabalhos na área de desenvolvimento de fibras para *SPME*, proporcionando maior estabilidade e eficiência no revestimento das fibras.

Esses trabalhos ampliaram consideravelmente a pesquisa nessa área, e novas perspectivas foram adquiridas dentro deste contexto. Existem estudos realizados a partir dessas técnicas introduzindo *MOF's*, do inglês *Metal Organic Frameworks* para dispositivos de *SPME*. Os primeiros *MOF's* ou também conhecidos como polímeros de coordenação porosos foram desenvolvidos por Yaghi e seus colegas de trabalho, e trata-se de um material com uma estrutura construída a partir de íons metálicos ou clusters e ligantes orgânicos que auto se organizam entre si (YAGHI *et al.*, 1995). Os *MOF's* apresentam propriedades, tais como uma porosidade em nano escala permanente, uma estrutura com topologia diversificada, tamanhos de poros regulares, elevada área superficial e são estáveis termicamente (ZHANG *et al.*, 2013).

Essas qualidades conferem as *MOF's* uma aplicabilidade bastante interessante em dispositivos de *SPME*, tais como na preparação e pré-concentração de amostras devidas suas propriedades de adsorção. O método de revestimento das fibras de *SPME* com *MOF's* geralmente se dá pelo crescimento hidrotérmico, o que confere uma síntese relativamente simples (ZHANG *et al.*, 2014). Alguns *MOF's* já vêm sendo sintetizados para utilização em *SPME* para diversos tipos de analitos, incluindo, n-alcenos e homólogos do benzeno, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, compostos orgânicos voláteis não polares, e desreguladores endócrinos fenólicos. Alguns exemplos desses *MOF's* são os *MOF-199*, *ZIF-8*, *MIL-53 (Al)*, *MAF-X8*, *ZIF-90*, e *MIL-88B* (WU *et al.*, 2014).

Como uma subclasse dos *MOF's*, as *Zeolitic-Imidazolato Frameworks*, conhecidas como *ZIF's* é uma estrutura orgânica de metal feito por íons de zinco coordenados por quatro anéis imidazolato, ligados covalentemente da mesma forma que átomos de Si e Al são covalentemente ligados por pontes de oxigênios em zeólitas (HE *et al.*, 2013). A Figura 6 representa a síntese para obtenção do *ZIF-8* (a) e um fragmento da estrutura cristalina (b) formando em forma de poro, estrutura na qual pode ser utilizado para o armazenamento de gases. Na última década mais de 90 estruturas de *ZIF's* foram sintetizadas, dentre essas estruturas uma que apresentou grande potencial foi a *ZIF-8*, com topologia sodalita formada por ligantes de 2-metilimidazol com íons centrais de zinco, tem apresentado cavidades com diâmetros de 11,6 Å e pequenas aberturas com 3,4 Å (BARANKOVA *et al.*, 2013).

O *ZIF-8* tem atraído cada vez mais atenção, sua topologia sodalita proporciona alta estabilidade térmica em torno de 400 °C e também a umidade. A presença de ligantes orgânicos na estrutura de *ZIF's* também conferem importantes aplicações na química, uma delas conhecida como *tunability*, muito útil para aplicações, tais como armazenagem de gás, separações, catálise e sensores químicos (HE *et al.*, 2013).



Fonte: KATSENIS, 2015.

Figura 6 – (a) Representação da síntese para obtenção da estrutura de *ZIF-8* e (b) fragmento da estrutura cristalina de *ZIF-8*

A síntese do *ZIF-8* foi primeiramente relatada por Yaghi *et al.*, utilizando um método solvotérmico a 140° C por 24 horas, usando dimetilformamida (DMF) como reagente precursor. No entanto, a molécula hospede orgânica foi maior do que a cavidade da estrutura da sodalita o que aprisionou o solvente DMF em seu interior.

Ao longo do tempo o solvente orgânico utilizado teve que ser mudado, *Cravillon et al.*, utilizaram o solvente metanol que apresenta um menor diâmetro, empregando Nitrato de Zinco hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) e 2-metilimidazol (HMeIm), com isso o metanol tornou-se o solvente orgânico mais utilizado para síntese do ZIF-8 devido sua facilidade em ser removido da rede de poros (*HE et al.*, 2013).

Recentemente, pesquisas com *MOF's* e *ZIF's* e *SPME* vêm sendo bastante exploradas pelos cientistas da área. Novos dispositivos para *SPME* contendo *MOF's* estão sendo utilizados como materiais adsorventes para amostragem e pré-concentração de formaldeído, para homólogos de benzeno e compostos aromáticos substituídos (*ZHANG et al.*, 2013). Mais recentemente Zhao e colaboradores, realizaram pesquisas baseados em *SPME* e *MOF's*, desenvolvendo um método para a preparação de um adesivo de MIL-53 com fibras (Al, Cr, Fe) para *SPME* de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em amostras de água (*CHEN et al.*, 2012). Esses materiais têm apresentado grande potencial em diversas áreas da química analítica, promovendo abordagens de preparação de amostras utilizando cada vez menos solventes orgânicos.

3.5. Solventes Residuais

Os solventes residuais em formulações farmacêuticas estão atrelados a rota sintética na qual tais excipientes e insumos farmacêuticos ativos (IFA) foram submetidos, onde se faz necessário um elevado número de solventes orgânicos no processo. Esses resíduos nem sempre são completamente removidos por técnicas utilizadas durante a fabricação, ficando retidos na matriz quantidades na ordem de ppm, quantidades essas que não apresentam atividade terapêutica ao medicamento. Portanto estes resíduos devem ser controlados devido ao risco tóxico representativo ao consumidor, podendo carregar consigo efeitos adversos, tornando essencial a realização de análises no controle desses resíduos (*United States Pharmacopeia*, 2009; *International Conference on Harmonization*, 1997).

No Brasil, testes de solventes residuais estão previstos desde de 2009 pela resolução da diretoria colegiada da ANVISA nº 57, e da resolução da diretoria colegiada da ANVISA nº 48 de 2009, na qual a presença destes solventes orgânicos residuais deve ser determinada por ensaios de pureza e não deve ultrapassar os

valores previstos. Foi por meio dessa resolução que os ensaios desse tipo se tornaram obrigatórios e fazem parte da documentação que regulamenta o registro de insumos farmacêuticos, permitindo um maior controle de qualidade. A resolução determina também que os solventes utilizados na rota de síntese sejam determinados ao fim do processo, garantindo a pureza do princípio ativo e evitando riscos à saúde do paciente (Resolução RDC nº57, 2009; *United States Pharmacopeia*, 2009; *International Conference on Harmonization*, 1997).

Internacionalmente o nível máximo de solventes presentes no produto acabado segue normativas baseadas no guia de solventes residuais e impurezas da *International Conference on Harmonization – ICH – of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Q3C*. Esse guia classifica os solventes residuais em 3 classes de acordo com o risco à saúde humana e ao ambiente, sendo Classe 1: solventes que devem ser evitados inclui os solventes mais tóxicos como o benzeno, tetracloreto de carbono, 1,2-dicloroetano, tricloroetano, e seu uso deve ser evitado na produção de medicamentos a não ser que seja justificado por uma avaliação de risco-benefício; Classe 2: solventes que devem ser limitados inclui os solventes de toxicidade moderada ou limitada. Nesse grupo podemos observar solventes como: Acetonitrila, Diclorometanol, Clorobenzeno, ciclohexano, metanol, formamida, entre outros e Classe 3: solventes com baixo potencial tóxico, solventes nessa classe são bem mais tolerados e apresentam menor risco a saúde. Nesse grupo podemos observar solventes como: acetona, butanol, acetato de etila, etanol, entre outros (ICH-Q3C, 1997).

Os procedimentos analíticos que são comumente utilizados para determinação de solventes residuais são as técnicas cromatográficas, tal como cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a detectores como ionização de chamas ou espectrometria de massa empregando-se um amostrador automático conhecido como *Headspace*. A validação de métodos de solventes residuais deve estar em conformidade com as normativas da RDC 899 e orientações dos guias ICH-Q3C e também ao capítulo geral da USP-467 (JACQ *et al.*, 2008).

3.6. Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica

Para a utilização da técnica *SPME* em cromatografia gasosa, existem alguns parâmetros que influenciam o desempenho da fibra e devem ser avaliados durante o desenvolvimento do método. Esses parâmetros são a escolha da fase estacionária, condições de extração, como o tempo e a temperatura de extração, pH da amostra, velocidade de agitação, tempo de incubação, posição da agulha no injetor, ou seja, o tamanho da área exposta da fibra, tanto na adsorção quanto na dessorção, e o tempo de dessorção (LORD & PAWLISZYN, 2000; PROSEN & KRALJ, 1999).

Em vista dessa quantidade de fatores que podem influenciar a técnica, a validação analítica é determinante para demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida. A metodologia e os objetivos dos procedimentos analíticos devem ser claramente estabelecidos antes de iniciar os estudos de validação. A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atende às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconiza os seguintes parâmetros na validação analítica: especificidade, linearidade, intervalo, precisão, exatidão, limite de quantificação e detecção, robustez adequados à análise (ICH, 2005; BRASIL, 2003).

A especificidade do método analítico indica sua capacidade de diferenciar e quantificar o analito, na presença de outros constituintes da amostra que inclusive poderiam interferir na sua determinação, tais como, impurezas, excipientes, produtos de degradação ou mesmo outra substância ativa. Deve-se evitar interferentes com o mesmo tempo de retenção dos analitos que serão quantificados. Essa prática pode ser realizada utilizando testes de pureza de pico espectral, garantido assim a confiabilidade do método.

A linearidade corresponde à capacidade do método analítico para demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração da substância sob análise. A faixa linear do método é obtida por meio de uma curva de calibração determinada experimentalmente pela relação matemática da concentração do analito e o seu sinal gerado. Os pontos experimentais são tratados pelo método de regressão linear, obtendo a equação

da regressão, estimando-se os coeficientes angular (a) e linear (b) e o coeficiente de correlação (r), sendo o critério mínimo de aceitação de 0,99.

A precisão representa o grau de concordância entre os resultados de análises individuais de uma mesma amostra homogênea, em idênticas condições de ensaio. É determinada pela repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetibilidade avalia a concordância entre os resultados obtidos em curto intervalo de tempo com um mesmo analista e a mesma instrumentação. É verificada por, no mínimo nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, sendo 3 concentrações, baixa, média e alta com três réplicas cada ou no mínimo 6 determinações de 100 % da concentração. A precisão intermediária expressa o efeito das variações devido a eventos como diferentes dias, analistas ou equipamentos. A reprodutibilidade se refere ao uso do procedimento analítico em diferentes laboratórios, como parte de estudo colaborativo. A precisão normalmente é expressa através de Desvio Padrão Relativo percentual (DPR %) ou coeficiente de variação (CV %).

A exatidão descreve a proximidade dos resultados médios fornecidos pelo método em relação ao valor teórico, ou seja, em termos de recuperação. Pode ser determinada através do ensaio de quantidade conhecida da substância sob análise adicionada em meio preparado com excipientes da formulação ou em solução da amostra de produto farmacêutico. Os critérios de aceitação desse parâmetro estão relacionados com a faixa linear de concentração, recomenda-se que os parâmetros de precisão e exatidão sejam realizados depois do parâmetro de linearidade.

O limite de detecção (LD) corresponde à menor concentração da substância em análise que pode ser detectada com certo limite de confiabilidade, conhecido pela relação de sinal/ruído. A relação sinal/ruído pode ser obtida baseada na menor concentração da curva de calibração, o critério de aceitação é normalmente de 3:1.

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração de um analito que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis. Para avaliação deste parâmetro também se utiliza a relação sinal/ruído, na qual admite-se um valor maior de 1:10. Outros métodos baseados na curva de calibração ou até mesmo visuais também são utilizados, no entanto, o mais utilizado é pelo método de sinal/ruído.

A robustez avalia a reprodutibilidade do método analítico, frente a pequenas variações dos parâmetros analíticos, como por exemplo: proporção e pH da fase móvel, temperatura, comprimento de onda, estabilidade da solução analítica, entre outros. Em cromatografia gasosa a robustez normalmente é avaliada por diferentes lotes ou fabricantes de colunas, temperatura e velocidade do gás de arraste (BRASIL, 2003).

Todos esses parâmetros devem ser avaliados perante a um *system suitability*, um procedimento de adequabilidade do sistema que consiste na verificação de parâmetros como simetria, fator de capacidade, pratos teóricos, resolução, área e tempo de retenção (USP, 2009).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. Reagentes em geral

Reagentes utilizados para o desenvolvimento do trabalho e suas respectivas aplicações encontram-se discriminados na Tabela 1.

Tabela 1 – Reagentes utilizados e suas respectivas finalidades

Reagente	Finalidade	Fabricante	Lote
Ácido Clorídrico	Solução Piranha (Limpeza das fibras)	VETEC	DCBD2143V
Peróxido de Hidrogênio	Solução Piranha (Limpeza das fibras)	VETEC	DCBC4670
Tolueno	Processo de retirada da camada de polímero da fibra	SCHARLAU	13871611
Água ultrapura	Limpeza das fibras e preparo de soluções e das amostras (Diluyente)	Mille-Q Ultrapore	N/A
Acetona	Limpeza da fibra	SYNTH	A10170BJ
Sulfato de Zinco	Processo de formação do precursor do ZnO método 1	VETEC	DCBC9399V
Sulfato de Amônio	Processo de formação do precursor do ZnO método 1	VETEC	DCBB8841
Nitrato de Zinco	Processo de formação do precursor do ZnO método 2 e processo de síntese do ZIF-8 pelo método A (aquoso) e B (metanólico)	BIOTEC	33049
Hexametilenotetramina	Processo de formação do precursor do ZnO método 2	SIGMA-ALDRICH	STBD9288V
Hidróxido de Sódio	Ajuste de pH da solução precursora de recobrimento	VETEC	DCBD7005V
Hidróxido de Amônio	Processo da síntese do ZIF-8 pelo método A	SYNTH	H20010105

2-Metilimidazol	Precursor utilizado para síntese do <i>ZIF-8</i> pelo método A e B	SIGMA-ALDRICH	SHBB3579V
Metanol	Diluyente utilizado no preparo das soluções pelo método B	SIGMA-ALDRICH	SHBG9607V

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Seleção e retirada da camada polimérica da superfície da fibra de vidro

As fibras de vidros foram doadas pelo Departamento de Química da Unesp, Campus de Araraquara. Foram cortadas 12 fibras de 7 cm com diâmetro de 125 µm (F125) e 28 fibras de 4 cm com diâmetro de 325 µm (F325) totalizando 40 fibras. As fibras (F325) foram destinadas para caracterização do material obtido a cada etapa do processo descritas abaixo como método de recobrimento 1 e 2 e depois método A e B e C para síntese do *ZIF-8*.

As fibras foram levadas a um tratamento prévio com tolueno em banho de ultrassom para o amolecimento da camada polimérica das fibras, em seguida as fibras foram tratadas com solução de acetona em banho de ultrassom para garantir total remoção da camada polímera existente na superfície das fibras. Após tratamento com os solventes orgânicos as fibras foram lavadas com uma solução de água ultrapura/acetona na proporção 80:20 (v/v), e depois lavadas com 200 mL de água ultrapura. Em seguida foram levadas para secagem em uma estufa a 70° C por 1 hora.

Após a secagem, as fibras de vidro ficaram por 30 minutos em uma solução de limpeza de HCl 2 mol L⁻¹/H₂O₂ 5%, conhecida como solução de limpeza para remoção de qualquer resíduo existente, seguido de lavagem com água ultrapura e secagem em estufa a 80 °C por 2 horas.

4.2.2. Recobrimento da superfície das fibras com ZnO pelos métodos 1 e 2

Os recobrimentos das fibras de vidros foram realizados por dois métodos diferentes: no método 1 o reagente precursor utilizado foi sulfato de zinco, e para o

método 2 foi utilizado o Nitrato de Zinco. Todas as fibras passaram pelos mesmos processos de retirada da camada polimérica com tolueno, acetona e água ultrapura e por fim pelo tratamento prévio com solução limpeza para retiradas de possíveis sujidades.

Após limpeza e secagem, as fibras foram separadas, sendo 12 fibras F325 e 6 fibras F125 destinada para o método 1 de recobrimento com ZnO, e 12 fibras F325 e 6 fibras F125 para o método 2 de recobrimento com ZnO.

4.2.2.1. Método de recobrimento 1 ($ZnSO_4/(NH_4)_2SO_4$)

Preparou-se 125 mL de uma solução de Sulfato de Zinco ($ZnSO_4$) a 7,5 mmol e 125 mL Sulfato de Amônia $(NH_4)_2SO_4$ a 112,5 mmol. As soluções foram misturadas e o pH foi ajustado em 11,7 pela adição de hidróxido de sódio (NaOH) 5 mol L⁻¹ em seguida foram transferidas para um reator de teflon com capacidade de 250 mL, as fibras foram colocadas em um suporte de teflon perfurado superficialmente em torno de 0,5 cm, de modo que as fibras ficaram dispostas a um ângulo de 90° em relação a base do suporte. Foram colocadas 6 fibras F125 e 12 fibras F325 no reator, que foi lacrado e levado a uma estufa a 70° C. As fibras foram coletadas nos tempos de 12, 24 e 48 horas, sendo retiradas 4 fibras F325 e 2 F125 fibras a cada tempo de coleta. As fibras foram lavadas 3 vezes com 100 mL de água ultrapura e levadas para secagem a 75° C por 3 horas (XU *et al.*, 2007).

4.2.2.2. Método de recobrimento 2 ($Zn(NO_3)_2/HMTA$)

Preparou-se uma solução de $Zn(NO_3)_2$ 0,5 mol L⁻¹ dissolvendo-se 18,5918 g de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ em 125 mL de água ultrapura.

Preparou-se uma solução de hexametilenotetramina (HMTA) 0,5 mol L⁻¹ dissolvendo-se 8,7617 g de hexametilenotetramina em 125 mL de água ultrapura.

Misturou-se as duas soluções e homogeneizou-se. Transferiu-se a solução para o reator de teflon em contato com 6 fibras F125 e 12 fibras F325. Foi realizado o procedimento de *dip-coating* retirando o suporte com as fibras do reator e submetendo-as em aquecimento por 10 minutos a 180° C em uma estufa. Repetiu-

se o procedimento por 5 vezes. Posteriormente, diluiu-se 50 mL da solução precursora de ZnO para 250 mL de água ultrapura e então transferiu-se novamente para o reator de teflon, inserindo as fibras previamente tratadas e levando a aquecimento por 3 horas a 95° C.

Após realizado o procedimento de deposição do ZnO, as fibras foram retiradas do reator e lavadas 3 vezes com 100 mL de água ultrapura e levadas para secagem em estufa por 3 horas a 75° C (WANG *et al.*, 2011).

Após recobrimento das fibras pelos dois métodos, 2 fibras de cada método e de cada tempo de coleta foram destinadas a caracterização, e 2 fibras F125 de cada método para utilização na etapa cromatográfica. As 12 fibras F325, 6 do método 1 e 6 do método 2, foram armazenadas para síntese do *ZIF-08*. Em todas as etapas de recobrimento com ZnO foram recolhidos os sólidos formados para caracterização.

4.2.3. Obtenção do *ZIF-8*

A síntese do *ZIF-08* foi realizada em duas etapas, a primeira etapa foi a de pré-ativação da camada de ZnO, na qual as fibras ficaram em contato com uma solução de 2-metilimidazol e depois foram para a segunda etapa onde ocorreu a síntese do *ZIF-8*.

4.2.3.1. Pré-ativação

Em um balão volumétrico de 250 mL foi preparada uma solução de 0,5 mol L⁻¹ de 2-metilimidazol em meio metanólico para realizar a etapa de pré-ativação. Essa solução foi transferida para o reator de teflon em contato com as fibras recobertas com ZnO, em seguida foi levado a estufa a 50° C onde ficou por 3 horas. No final das 3 horas 1 fibra foi retirada e lavada com água ultrapura e seca por 6 horas a 80 °C para realizar a caracterização por MEV.

Em seguida a solução de 2-metilimidazol utilizada na etapa de pré-ativação foi retirada do reator e iniciou-se a etapa para a síntese do *ZIF-8* (ZHANG *et al.*, 2014).

4.2.3.2. Síntese do ZIF-8

Nessa etapa, em um balão volumétrico de 200 mL adicionou-se 150 mL de metanol e dissolveu-se 1,8972 g de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,5 mmol), em seguida completou-se o volume com metanol. Em um outro balão volumétrico de 200 mL adicionou-se 150 mL de metanol e dissolveu-se 6,5080 g de 2-metilimidazol (20 mmol) em seguida completou-se o volume com metanol.

Após preparo das soluções, ambas foram divididas em outras duas soluções de 100 mL cada. Sendo 2 soluções de 100 mL de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,5 mmol) e 2 soluções de 100 mL de 2-metilimidazol (20 mmol).

Em um primeiro momento, foram misturadas no reator de teflon uma solução de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,5 mmol) e 1 solução de 2-metilimidazol (20 mmol) de 100 mL cada e homogeneizadas. Em seguida as fibras que permaneceram da etapa de pré-ativação foram colocadas em contato com essa solução e permaneceram por 12 horas em temperatura ambiente. Após as 12 horas o mesmo procedimento foi repetido com soluções novas, totalizando 24 horas (ZHANG *et al.*, 2014; YAO *et al.*, 2010).

4.2.4. CARACTERIZAÇÃO

4.2.4.1. Análise de Microscopia Ótica

Imagens por meio de um microscópio ótico da Opticam® foram feitas para avaliar macroscopicamente a superfície das fibras recobertas com ZnO. Foi realizada uma imagem da fibra de vidro sem a camada polimérica e imagens das fibras na sequência dos tempos de contatos de 12, 24 e 48 horas, referente ao método de recobrimento 1 e 2.

4.2.4.2. Análise Térmica

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada com o uso de um analisador termogravimétrico STM 6000 Simultaneous Thermal Analyzer. Foram utilizadas uma fibra de sílica fundida sem recobrimento com ZnO, uma fibra de cada com

recobrimento de ZnO pelos métodos de recobrimentos 1 e 2 e uma fibra da síntese do *ZIF-8*. As amostras foram acondicionadas em painéis de alumínio com tampa perfurada. As condições operacionais utilizadas foram: taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ sob atmosfera de nitrogênio e com vazão de 20 mL min^{-1} intervalo de temperatura de 100 a 900°C .

4.2.4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Raio X por Dispersão de Energia

Uma fibra de sílica fundida F325 sem recobrimento e fibras F325 recobertas com ZnO pelos métodos de recobrimento 1 e 2 e posterior síntese do *ZIF-8* foram separadas a cada etapa do processo. Cada fibra foi colocada em um porta amostra metálico e fixadas com fita adesiva de carbono em seguida recobriu-se a fibra com um filme fino de ouro utilizando uma corrente de 4 mA por um período de 3 minutos. A morfologia foi analisada por meio de um Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um equipamento MEV Zeiss, modelo EV0 50 Digital Processing equipado com acessório de mapeamento EDX IXRF system

4.2.4.4. Difração de Raio X

Foi realizada uma análise de difração de raio X nos sólidos formados nas etapas de recobrimento da camada de ZnO e da síntese de *ZIF-8* por meio de um Difratorômetro de raios X (DRX) RIGAKU CORPORATION modelo MiniFlex 600, software Miniflex Guidance e PDXL2 licenciado por RIGAKU, operando com a tensão de 40 kV e 15 mA. Os padrões de difração foram identificados entre 5° e 80° com ângulo de 2θ a uma taxa de varredura de $5^{\circ}/\text{min}$, passo ($^{\circ}$) 0,020, 40 s; fenda DS $1/16^{\circ}$; máscara de 15 mm, Tubo de Cu $K\alpha_1$ e detector DTEX Ultra. Os picos foram identificados através de comparação com microfichas do arquivo JCPDS.

4.3. METODOLOGIA ANALÍTICA

4.3.1. Preparo das amostras

A vidraria utilizada para realizar o preparo das amostras deve estar completamente limpa e isenta de etanol.

Os padrões primários de referência utilizados no preparo dos analitos são o de alto grau de pureza, classificados como grau CG. Possuem procedência e rastreabilidade, certificados de análise, garantindo assim resultados confiáveis.

Tabela 2 – Padrões utilizados no preparo das amostras

Padrão	Finalidade	Fabricante	Lote	Pureza	Validade
Metanol (MeOH)	Analito 1 (A1)	MERCK	I771811	99,8%	24/02/2028
Butanol (BuOH)	Analito 2 (A2)	SIGMA- ALDRICH	SZBE3290V	99,5%	27/04/2020
Diclorometano (DCM)	Analito 3 (A3)	SIGMA- ALDRICH	STBFS831V	99,9%	30/10/2018
Acetato de Etila (AcEt)	Analito 4 (A4)	SIGMA- ALDRICH	STBF4589V	99,5%	01/08/2018
Acetona (Act)	Padrão Interno (P.I)	SIGMA- ALDRICH	MKBX5029V	99,9%	30/05/2019

Analito 1 (Metanol) – Transferiu-se 237 μL do *padrão metanol* ($d = 0,791 \text{ g mL}^{-1}$) para balão volumétrico de 25 mL contendo cerca de 15 mL de água purificada. Em seguida completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. $[\text{Metanol}] = 7498,68 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Analito 2 (Butanol) – Transferiu-se 385 μL do *padrão butanol* ($d = 0,810 \text{ g mL}^{-1}$) para balão volumétrico de 25 mL contendo cerca de 15 mL de água purificada. Em seguida completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. $[\text{Butanol}] = 12474,00 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Analito 3 (Diclorometano) – Transferiu-se 113 μL do *padrão diclorometano* ($d = 1,325 \text{ g mL}^{-1}$) para balão volumétrico de 100 mL contendo cerca de 50 mL de água purificada. Em seguida completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. $[\text{Diclorometano}] = 1497,25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Analito 4 (Acetato de Etila) – Transferiu-se 347 μL do *padrão acetato de etila* ($d = 0,897 \text{ g mL}^{-1}$) para balão volumétrico de 25 mL contendo cerca de 15 mL de água purificada. Em seguida completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. $[\text{Acetato de Etila}] = 12450,4 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Padrão Interno (Acetona) – Transferiu-se 158 μL do *padrão acetona* ($d = 0,7899 \text{ g mL}^{-1}$) para balão volumétrico de 50 mL contendo cerca de 40 mL de água purificada. Em seguida completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. Transferiu-se 10,0 mL para balão volumétrico de 50 mL contendo cerca de 25 mL de água purificada. Completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. $[\text{Acetona}] = 499,22 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Solução Amostra Intermediária - A amostra analisada consiste de uma solução composta dos 4 analitos mais o padrão interno. Preparou-se uma solução contentando os 4 analitos transferindo 1,0 mL das soluções Analito 1, 2, 3 e 4 para um balão volumétrico de 50 mL contendo cerca de 35 mL de água purificada. Completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se por inversão. $[\text{Acetato de Etila}] = 249,01 \mu\text{g mL}^{-1}$; $[\text{Butanol}] = 249,94 \mu\text{g mL}^{-1}$; $[\text{Metanol}] = 149,97 \mu\text{g mL}^{-1}$; $[\text{Diclorometano}] = 29,95 \mu\text{g mL}^{-1}$

Solução Amostra - Em seguida foi preparada a solução amostra na qual será utilizada para realizar a extração por *SPME* e posterior injeção no sistema cromatográfico gasoso. Essa solução foi preparada transferindo 0,5 mL do padrão interno (Acetona), 1,0 mL da solução amostra composta pelos 4 analitos para um *vial* de 20 mL contendo 4,5 mL de água purificada. Em seguida vedou-se o *vial* com *crimp* de alumínio e septo de silicone e homogeneizou a solução.

Uma solução Branco foi preparada transferindo 6 mL de água purificada para um *vial* de 20 mL. Vedou-se o *vial* com *crimp* de alumínio e septo de silicone.

4.3.2. Sistema Cromatográfico Gasoso

A técnica utilizada foi a cromatografia gasosa com detecção por *FID* com extração e injeção por *Headspace/SPME (HS-SPME)*. Os parâmetros utilizados para realização da metodologia analítica pelo método de microextração em fase

sólida acoplada ao amostrador *headspace* em cromatografia gasosa são descritos abaixo.

Gás de arraste: Hélio;

Vazão do gás de arraste: 4,9 mL min⁻¹;

Modo de injeção: *SPME* - Exposição de 1 cm da fibra na etapa de extração e dessorção;

Coluna: G43 – Agilent: 30 m x 0,53 mm x 3,0 µm
6 % Cianopropilfenil
94 % Dimetilpolisiloxano

Liner: Split – Part Number: 5181-8818

Detector: *FID (Flame Ionization Detector)*;

Temperatura do detector: 250 °C;

Temperatura do injetor: 240 °C;

Nitrogênio: 22 mL.min⁻¹;

Hidrogênio: 30 mL min⁻¹;

Ar sintético: 300 mL min⁻¹;

Tempo de retenção aproximado: Acetona 5,12 min; Metanol 3,21 min; Diclorometano 6,16 min; Acetato de Etila 8,20 min e Butanol 9,12 min.

As condições de aquecimento da coluna foram: temperatura inicial de 40 °C permanecendo por 7 minutos, após esse tempo a taxa de aquecimento foi de 20 °C/min até 240 °C, com esse gradiente de fluxo permanecendo por 11 minutos conforme Tabela 3.

Tabela 3 – Rampa de aquecimento utilizada na metodologia analítica proposta

Rampa (°C.min ⁻¹)	Temperatura (°C)	Tempo de permanência (min)	Tempo total (min)
-	40	7	7
20	240	11	18

4.3.3. Otimização do método analítico

Com a metodologia analítica definida, foi realizado a otimização de 4 parâmetros diretamente ligado a técnica de *SPME*, utilizando a fibra recoberta com ZnO pelo método em meio metanólico. Avaliou-se os parâmetros de otimização de temperatura de incubação no *headspace*, tempo de incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção.

A otimização do método analítico foi realizada preparando-se 12 *vials* da solução amostra. Os testes foram conduzidos em 4 grupos, deste modo 3 *vials* da solução amostra foi destinada para cada parâmetro avaliado. Os testes objetivaram avaliar a área do pico obtida em cada condição, visando ganho de sensibilidade, especificidade, co-eluição de picos e os tempos de retenção de cada analito. Os testes foram realizados trabalhando-se com a solução amostra e com a solução de cada analito individualmente.

Para avaliar o tempo de retenção dos analitos, realizou-se a injeção individual de cada analito utilizando como modo de injeção *headspace*, na qual é realizada uma injeção a gás dos analitos no equipamento. Esse procedimento foi realizado a fim de otimizar tempo uma vez que a injeção é feita no modo automático e os tempos de retenção não se alteram uma vez que a coluna cromatográfica e o método utilizado são o mesmo.

4.3.4. Temperatura de incubação

Avaliou-se a quantidade de analito extraído em função da temperatura de incubação no forno do *headspace*. As condições experimentais utilizadas para este estudo foram de 50, 60 e 70 °C, o tempo de incubação foi de 10 minutos, tempo de extração/sorção foi de 1,0 minuto e o tempo de dessorção foi de 2,5 minutos, velocidade de agitação de 500 rpm com 15 segundos de agitação e 99 segundos de repouso. Foram utilizados 3 *vials* da solução amostra para cada injeção das condições testadas.

4.3.5. Tempo de incubação

Avaliou-se a quantidade de analito extraído em função do tempo de incubação da amostra no *headspace* e a área do pico. A etapa de extração/sorção também foi realizada na mesma temperatura na qual realizou-se a incubação, uma vez que a injeção foi realizada com o *vial* dentro do forno do *headspace*.

As condições experimentais utilizadas foram de 5, 10 e 15 minutos, com temperatura de incubação de 70 °C, tempo de extração/sorção de 1,0 minuto e tempo de dessorção de 2,5 minutos, velocidade de agitação de 500 rpm com 15 segundos de agitação e 99 segundos de repouso. Foram utilizados 3 vials da solução amostra para cada injeção das condições testadas.

4.3.6. Tempo de extração/sorção

Avaliou-se a quantidade de analito extraído em função da área obtida dos picos de cada analito e pelo tempo de exposição da fibra. Esse parâmetro nos fornece um possível ganho de sensibilidade, mas deve-se cuidar com possíveis alongamento de picos, resoluções e fator de caudas elevados.

As condições experimentais utilizadas para esse parâmetro foram os tempos de extração de 0,50, 1,0 e 2,0 minutos, com temperatura de incubação de 70 °C, tempo de incubação de 10 minutos, tempo de dessorção de 2,5 minutos, velocidade de agitação de 500 rpm com 15 segundos de agitação e 99 segundos de repouso. Foram utilizados 3 vials da solução amostra para cada injeção das condições testadas.

4.3.7. Tempo de dessorção

Avaliou-se a quantidade de analito extraído pelo tempo que a fibra ficou exposta no injetor do cromatógrafo, sob a temperatura de 240 °C, temperatura que foi definida em relação aos critérios estabelecidos pela coluna cromatográfica utilizada, na qual o fabricante recomenda não utilizar a coluna acima de

temperaturas de 250 °C, em vista disso optou-se por escolher a temperatura de dessorção de 240 °C, para manter uma margem de segurança.

As condições experimentais para o teste foram tempo de dessorção de 0,60, 2,5 e 4,0 minutos, com temperatura de incubação de 70 °C, tempo de incubação de 10 minutos, tempo de extração/sorção de 1,0 minuto, velocidade de agitação de 500 rpm com 15 segundos de agitação e 99 segundos de repouso. Foram utilizados 3 vials da solução amostra para cada injeção das condições testadas.

Após realizado os testes de otimização do método, as melhores condições para a realização da técnica foram estabelecidas conforme Tabela 4 abaixo:

Tabela 4 – Parâmetros otimizados para técnica de *SPME-HS-CG*

Parâmetros Otimizados	
Temperatura de incubação/Extração (°C)	70
Velocidade de agitação (rpm)	500
Tempo de agitação (s)	15
Tempo sem agitação (s)	99
Tempo de incubação (min)	10
Tempo de Extração/Sorção (s)	60
Tempo de dessorção (min)	4
Tempo de corrida do CG (min)	18

4.4. Validação da metodologia analítica

Os critérios de avaliação para os parâmetros de especificidade, linearidade, exatidão, precisão, limite de quantificação, intervalo e robustez na validação está baseada na resolução RE nº 899 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

4.4.1. Especificidade

A especificidade do método foi avaliada através da análise da solução branco, solução amostra, e uma solução de cada analito individualmente na mesma concentração de cada analito na solução amostra. Para que o método se mostre específico a resolução entre os picos de metanol, butanol, diclorometano, acetato

de etila e acetona, na solução amostra em relação a qualquer outro pico deve ser maior ou igual 1,5.

4.4.2. Linearidade

A linearidade do método foi verificada através da análise de uma curva analítica de 6 níveis com 3 réplicas em cada nível compreendendo o intervalo de 6 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ conforme Tabela 5:

Tabela 5 – Níveis de concentração da curva analítica

	Nível 1 (20%) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Nível 2 (40%) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Nível 3 (60%) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Nível 4 (80%) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Nível 5 (100%) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Nível 6 (120%) ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Metanol	30	60	90	120	150	180
Butanol	50	100	150	200	250	300
Acetato de etila	50	100	150	200	250	300
Diclorometano	6	12	18	24	30	36

A fórmula matemática que relaciona as duas variáveis, concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$ versus resposta de cada solvente de interesse é a equação da reta (Eq. 8):

$$y = a x + B \quad (8)$$

Em que:

y: resposta medida (área do pico)

x: concentração em mg mL^{-1}

a: inclinação da curva de calibração (ou coeficiente angular)

B: intersecção com o eixo y, quando $x = 0$ (ou coeficiente linear)

A linearidade foi realizada preparando soluções linearidade, conforme Tabela 6, com seguinte extração e análise das mesmas.

Com os resultados obtidos realizou-se a regressão linear da curva analítica através do método por mínimos quadrados e avaliou-se coeficiente angular (inclinação da reta), coeficiente linear (intercepto com o eixo y), coeficiente de correlação (R), análise de variância (ANOVA) e teste F. Para a validação dos

resultados obtidos na regressão linear, o coeficiente de correlação (R) deve ser igual ou maior que 0,99, o desvio padrão relativo (DPR) entre as três determinações em cada nível deve ser menor ou igual a 15%.

Tabela 6 – Preparo das soluções amostra para realizar a linearidade do método

Padrão	Solvente	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Volume de água purificada (mL)	Volume do padrão interno (mL)	Volume da solução amostra intermediária (mL)
Nível 1 (20%)	Metanol	29,99	5,3	0,5	0,2
	Butanol	49,99			
	Acetato de etila	49,80			
	Diclorometano	5,99			
Nível 2 (40%)	Metanol	59,99	5,1		0,4
	Butanol	99,98			
	Acetato de etila	99,60			
	Diclorometano	11,98			
Nível 3 (60%)	Metanol	89,98	4,9		0,6
	Butanol	149,96			
	Acetato de etila	149,41			
	Diclorometano	17,97			
Nível 4 (80%)	Metanol	119,98	4,7	0,8	
	Butanol	199,95			
	Acetato de etila	199,21			
	Diclorometano	23,96			
Nível 5 (100%)	Metanol	149,97	4,5	1,0	
	Butanol	249,94			
	Acetato de etila	249,01			
	Diclorometano	29,95			
Nível 6 (120%)	Metanol	179,96	4,3	1,2	
	Butanol	299,93			
	Acetato de etila	298,81			
	Diclorometano	35,94			

4.4.3. Exatidão

O parâmetro de exatidão foi verificado através da recuperação do solvente em três réplicas nas concentrações níveis 1, 4 e 6 que contemplam o intervalo estabelecido pela linearidade.

Primeiro calculou-se a concentração obtida experimentalmente, através da Equação (9):

$$T (\mu\text{g mL}^{-1}) = C x \left[\frac{R_{\%}}{R_{100\%}} \right] \quad (9)$$

Em que, T é o teor, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, do analito; C é a concentração do analito, em $\mu\text{g mL}^{-1}$ na solução amostra; $R\%$ é a razão entre a área do analito com a área do padrão interno na solução linearidade correspondente ao nível analisado, $R_{100\%}$ é a razão entre a área do analito com a área do padrão interno na solução linearidade no nível 6.

Posteriormente calculou-se a exatidão pela relação entre a concentração determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente a Equação 10:

$$\text{Exatidão} = \frac{C_p}{C_t} \times 100 \quad (10)$$

Em que, C_p é a concentração do analito na solução amostra, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, obtida da equação 6 e C_t é a concentração teórica, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, obtida na tabela 6.

O preparo das amostras de cada nível da exatidão foi realizado transferindo os volumes da solução amostra intermediária, solução padrão interno e água purificada conforme descrito na Tabela 7, em *vial* de 20 mL. Vedou-se com septo de silicone e *crimp* de alumínio e homogeneizou-se. Preparou-se 3 curvas da exatidão, utilizando para cada uma das curvas uma solução amostra intermediária.

Tabela 7 – Preparo das soluções amostras para realização da exatidão do método

Padrão	Solvente	Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Volume de água purificada (mL)	Volume do Padrão Interno (mL)	Volume da Solução amostra intermediária (mL)
Nível 1 (20%)	Metanol	29,99	5,3		0,2
	Butanol	49,99			
	Acetato de etila	49,80			
	Diclorometano	5,99			
Nível 4 (80%)	Metanol	119,98	4,7	0,50	0,8
	Butanol	199,95			
	Acetato de etila	199,21			
	Diclorometano	23,96			
Nível 6 (120%)	Metanol	179,96	4,3		1,2
	Butanol	299,93			
	Acetato de etila	298,81			
	Diclorometano	35,94			

Para exatidão, a recuperação de cada analito deve estar entre 80% e 120% de cada concentração.

4.4.4. Precisão

A precisão da metodologia analítica foi verificada com três réplicas nos níveis de concentrações de 1, 4 e 6, que contemplam o intervalo linear.

A precisão do método analítico foi expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas, conforme a Equação 11:

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (11)$$

Onde, DPR é o desvio padrão relativo, DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada.

Para o preparo das amostras de cada nível da precisão, transferiu-se os volumes da solução amostra intermediária, padrão interno e água purificada conforme descrito na Tabela 8, em um *vial* de 20 mL. Vedou-se com septo de silicone e *crimp* de alumínio e homogeneizou-se. Preparou-se três curvas da precisão, utilizando para cada uma, uma solução amostra intermediária.

Tabela 8 – Preparo das soluções amostra para realização da precisão do método

Padrão	Solvente	Concentração (µg mL ⁻¹)	Volume de água purificada (mL)	Volume do Padrão Interno (mL)	Volume da Solução amostra intermediária (mL)
Nível 1 (20%)	Metanol	29,99	5,3		0,2
	Butanol	49,99			
	Acetato de etila	49,80			
	Diclorometano	5,99			
Nível 4 (80%)	Metanol	119,98	4,7	0,50	0,8
	Butanol	199,95			
	Acetato de etila	199,21			
	Diclorometano	23,96			
Nível 6 (120%)	Metanol	179,96	4,3		1,2
	Butanol	299,93			
	Acetato de etila	298,81			
	Diclorometano	35,94			

Para a precisão primeiro dia (repetibilidade) o desvio padrão relativo (DPR) na triplicata de cada nível deve ser menor ou igual a 15%. Para precisão segundo dia (intermediária), o desvio padrão relativo entre as observações da precisão primeiro dia comparada com as observações da precisão segundo dia deve ser menor ou igual a 10%.

4.4.5. Limite de Quantificação

O limite de quantificação é a menor concentração quantificável no nível 1 (20%) dos analitos metanol, butanol, diclorometano e acetato de etila garantindo-se a precisão, exatidão e linearidade do método nesse ponto.

4.4.6. Intervalo

O intervalo da metodologia analítica foi estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados dentro da faixa dos níveis de concentração 1 a 6, conforme tabela da concentração nominal dos analitos nas soluções descritas no preparo de soluções.

4.4.7. Robustez

A robustez por SPME exige uma avaliação de fatores que afetam a eficiência da extração e resposta cromatográfica, deste modo optou-se por avaliar a robustez durante as etapas de otimização do método onde foram testadas condições de temperatura de incubação no *headspace*, tempo de incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção. Assim a robustez foi definida nas condições ideais obtidas na etapa de otimização visando ganho de sensibilidade e reprodutibilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Fibras de vidro recobertas com ZnO

Para o recobrimento da fibra de vidro pelo método 1, utilizando o precursor o ZnSO_4 a uma temperatura de $70\text{ }^\circ\text{C}$. O crescimento da camada de ZnO ocorre por meio de uma via hidrotérmica, havendo a deposição do substrato em forma de cristais hexagonais na superfície da fibra de vidro. O valor de pH no sistema é um fator crítico no crescimento dessa camada hexagonal de ZnO, pois em pH abaixo de 11,70 o crescimento ocorre mais lentamente, e quando ajustado para aproximadamente 11,70, a precipitação ocorre rapidamente e mais homogênea. Em pH acima desses valores desfavorece a formação dos cristais (XU *et al.*, 2007).

Para o recobrimento da fibra de vidro pelo método 2, utilizando como precursor o $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, o crescimento das nanopartículas de ZnO na superfície da fibra ocorreu pelo método sol-gel. Com o processo de *dip-coating* foi possível obter a deposição uniforme das nanopartículas de ZnO. O crescimento hidrotérmico se deu em um segundo momento quando se diluiu 50 mL da solução precursora para 250 mL no reator de teflon (WANG *et al.*, 2011).

Após realizado o recobrimento por ambos os métodos, imagens por meio de um microscópio ótico foram feitas para avaliar a superfície das fibras recobertas pelos métodos 1 e 2. A Figura 7 mostra a fibra de vidro sem a camada polimérica.



Figura 7 – Imagem obtida por microscópio ótico da fibra de vidro sem a camada polimérica e revestimento da camada

A Figura 8 mostra a superfície das fibras na sequência dos tempos de contatos de 12, 24 e 48 horas, sendo as figuras 1a, 1b e 1c referente ao método de recobrimento 1, e as figuras 2a, 2b e 2c referente ao método de recobrimento 2.

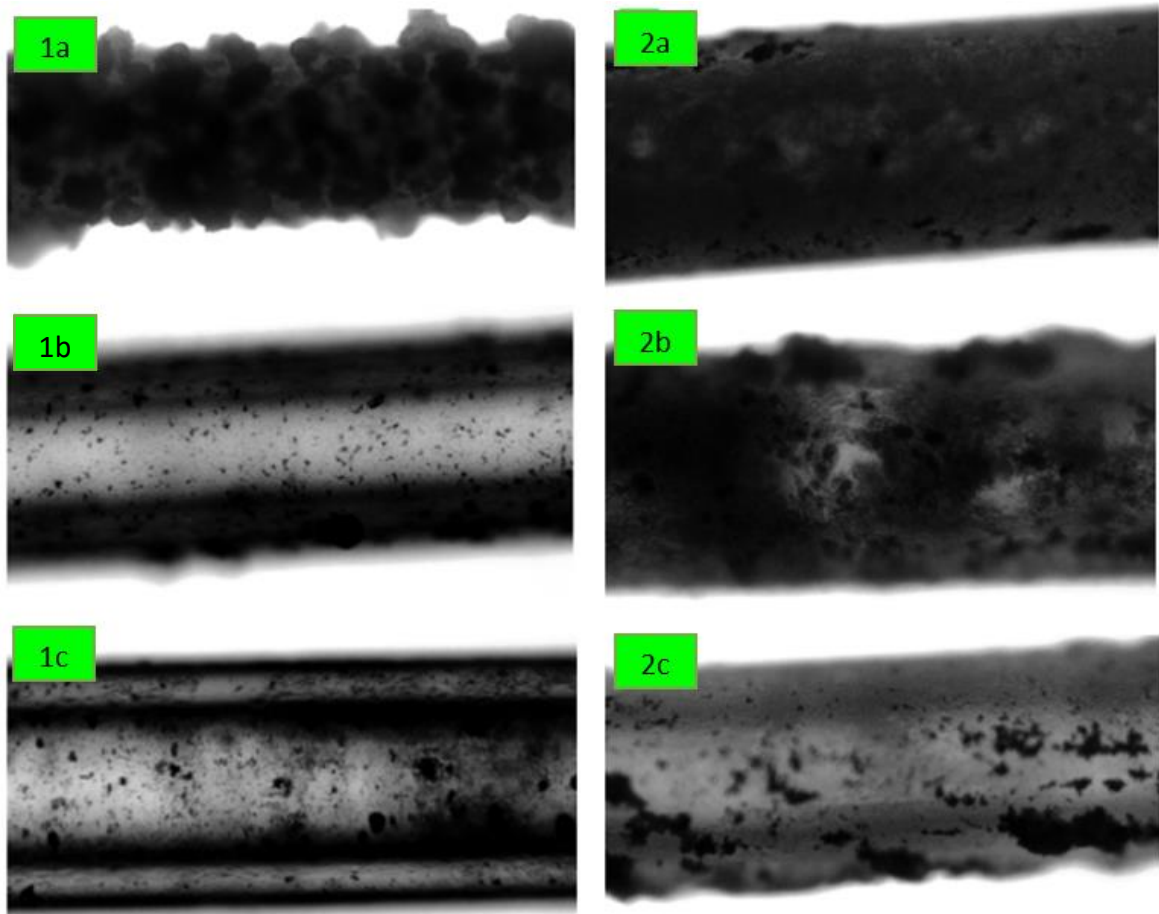


Figura 8 – Imagens obtidas das fibras de vidros após recobrimento com ZnO; 1a, 1b e 1c representam a fibra em contato por 12, 24 e 48 horas pelo método 1 respectivamente; 2a, 2b e 2c representam a fibra em contato por 12, 24 e 48 horas pelo método 2 respectivamente

Observa-se que no tempo de 12 horas em ambos os métodos há uma camada recobrindo a superfície da fibra, sendo que na fibra recoberta pelo método 2 a superfície apresentou-se aparentemente mais uniforme, devido ao pré-tratamento realizado a 180 °C e posterior procedimento de *dip-coating*. Essa característica geralmente é obtida quando utilizada a técnica sol-gel (NASSAR *et al.*;2003). Para o tempo de contato de 24 e 48 horas, observou-se a perda da camada formada no tempo de 12 horas, sendo mais característica nas fibras pelo método 1. Esse comportamento pode ter ocorrido devido a formação excessiva da camada de ZnO pelo crescimento hidrotérmico ao longo do tempo, proporcionando cristais hexagonais em forma de bastonetes cada vez maiores, gerando a queda dos cristais da superfície.

Essas imagens preliminares foram realizadas para avaliar qual foi a melhor condição de recobrimento da camada de ZnO. A partir das observações, decidiu-

se utilizar o método de recobrimento 2 para obtenção da camada de ZnO, utilizando o $Zn(NO_3)_2$ como precursor e reduzindo o tempo de contato na solução precursora para 3 horas, uma vez que esse tempo de contato foi suficiente para a observação do recobrimento da camada de ZnO, evitando assim a queda dos cristais de ZnO devido ao longo tempo de exposição das fibras em contato com a solução precursora. Comportamento que foi confirmado pelas análises de MEV e DRX presentes nos resultados e discussão deste trabalho.

5.2. Análise por MEV e DRX da fibra de vidro recoberta com ZnO

Para observar a camada de ZnO depositada sobre a superfície das fibras, realizaram-se análises por MEV e DRX.

5.2.1. Análise por MEV da fibra de vidro antes do recobrimento com ZnO

A Figura 9 apresenta a imagem obtida por MEV da fibra de vidro antes do recobrimento da superfície com ZnO, na qual percebe-se que os tratamentos prévios para retirada da camada polimérica com tolueno, acetona, água e posterior tratamento com solução limpeza não causaram mudanças significativas na superfície de contato. Sendo assim, obteve-se uma superfície uniforme, regular e sem porosidade, comportamento típico de amostras vítreas que favorece a adsorção química obtendo um recobrimento uniforme e uma área superficial de contato regular (SILVEIRA, 2005).

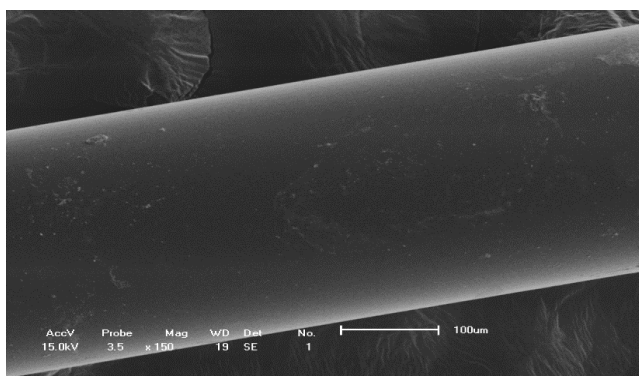


Figura 9 – Imagem da fibra de vidro antes do recobrimento com ZnO, com magnitude de 150 vezes.

5.2.2. Análise por MEV da fibra de vidro recoberta pelo ZnO pelo método de recobrimento 2

A Figura 10 apresenta a imagem obtida por MEV da fibra após recobrimento com a camada de ZnO pelo método de recobrimento 2 para um tempo de contato de 3 horas em solução precursora. Observa-se um recobrimento regular da superfície na Figura 10a após os 5 ciclos que foram realizados na etapa de *dip-coating*. Na Figura 10b e 10c com maior ampliação é possível notar que a fibra de sílica fundida é revestida com um matriz uniforme de nanobastões de ZnO hexagonais alinhados verticalmente (WANG *et al.*, 2011). Os nanobastões de ZnO cresceram continuamente a partir do suporte da fibra de vidro, o que indica uma forte adesão na superfície da fibra.

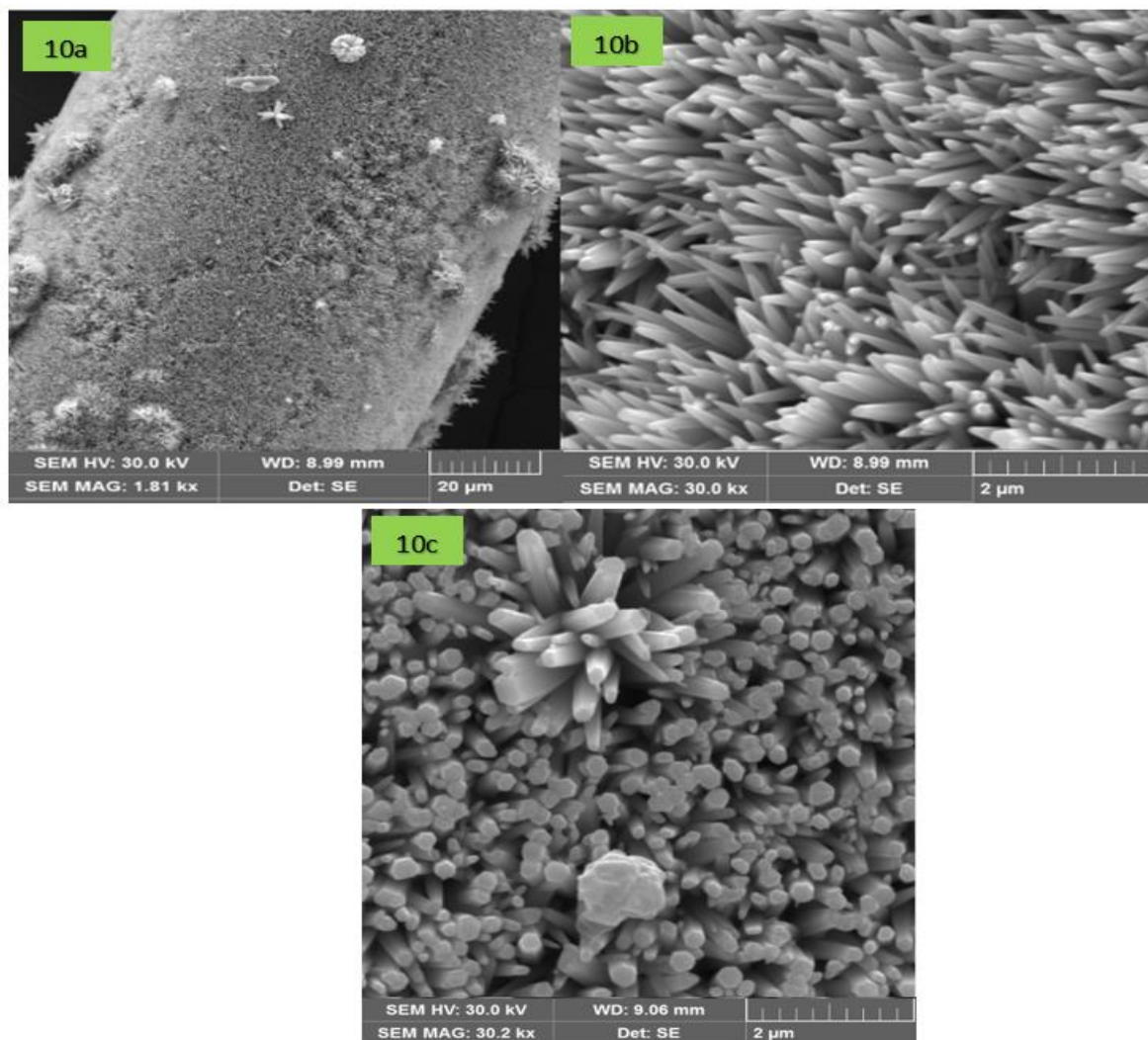


Figura 10 – Imagens das fibras recobertas com ZnO pelo método 2, na magnitude de 1800 vezes (10a), 30000 vezes (10b) e 32000 vezes (10c) respectivamente

O tratamento térmico proporcionou um intercrescimento entre os nanobastões de ZnO gerando uma interligação planar e uma camada de maior resistência (ZHANG *et al.*, 2014). Os nanobastões de ZnO apresentam uma elevada área superficial, estabilidade térmica e uma matriz com inter espaços, o que a torna um excelente material para adsorção de gases (WANG *et al.*, 2011; YAO *et al.*, 2010).

5.2.3. Análise da fibra de vidro recoberta com ZnO por DRX

A análise de DRX foi realizada utilizando o sólido formado no recobrimento pelo método sol-gel, utilizando como precursor o $Zn(NO_3)_2$, observa-se pelo padrão de difração que o material analisado apresenta cristalinidade, uma vez que não há alteração na linha de base do difratograma. Na Figura 11 temos os picos característico da fase cristalina wurtzita hexagonal do ZnO (Grupo espacial P63mc; arquivo JCPDS nº 36-1451) (XU *et al.*, 2006). Seis picos de difração correspondendo aos planos (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3) e (1 1 2) do ZnO hexagonal podem ser claramente identificados na Figura 11. A intensidade do pico (1 0 1) confirma que os nanobastões de ZnO são altamente cristalinos com uma estrutura hexagonal (GUERGUERIAN *et al.*, 2012). Os índices de Miller correspondem as direções cristalográficas $h k l$, para o sistema hexagonal a 4ª direção i no sistema $h k l i$ é igual a $i = -(h+k)$.

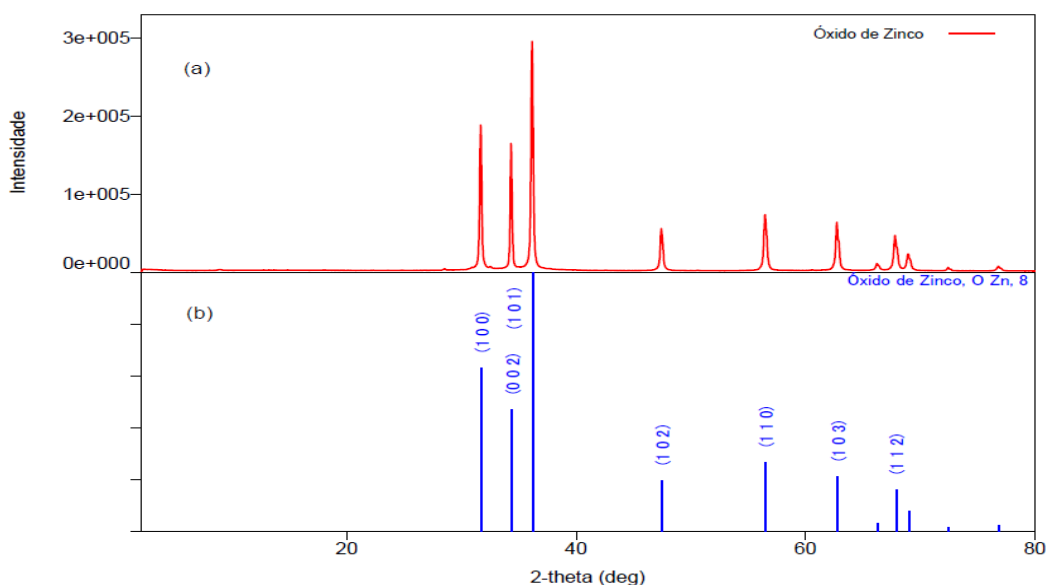


Figura 11 – (a) Padrão de Difração do ZnO (b) Padrão Cristalográfico do ZnO hexagonal JCPDS nº 36-1451.

O padrão de difração do ZnO foi comparado com o padrão de difração do ZnO comercial (Figura 12) e nota-se que o perfil de difração é praticamente idêntico ao ZnO obtido pelo método de recobrimento 2.

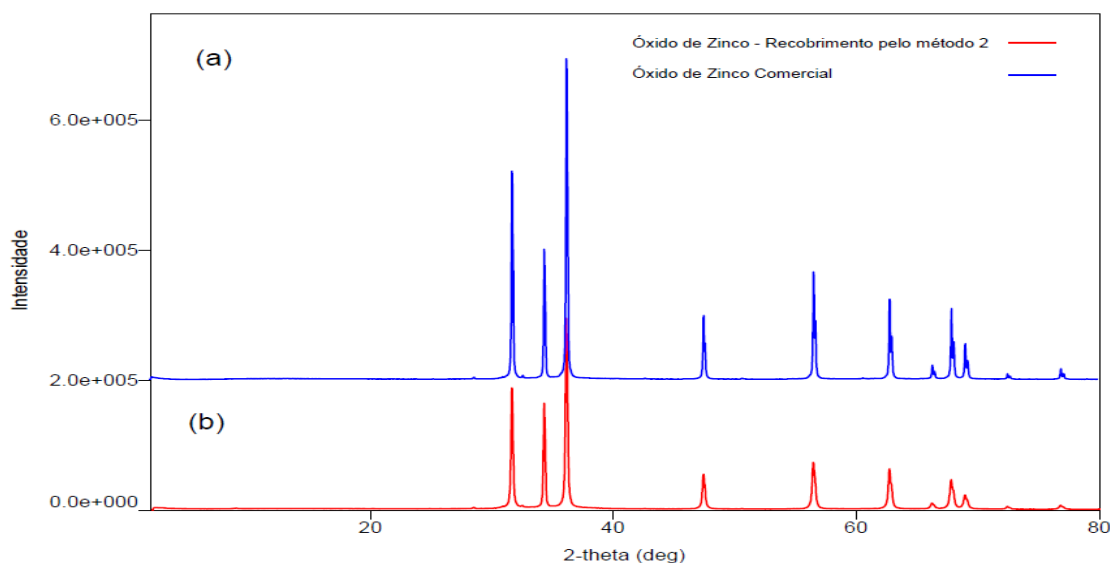


Figura 12 – padrão de difração do ZnO comercial (a) e Padrão de Difração do ZnO pelo método de recobrimento 2 (b)

5.3. Análise da Fibra de vidro por MEV e DRX após a síntese do *ZIF-8*

Para observar a formação do *ZIF-8* depositada sobre a superfície das fibras, realizaram-se análises por MEV e DRX.

5.3.1. Análise da fibra de vidro por MEV após síntese do *ZIF-8*

A síntese do *ZIF-8* foi realizada em meio metanólico utilizando como precursor o 2-metilimidazol nas etapas de pré-ativação e síntese. A etapa de pré-ativação é crucial para posterior deposição do *ZIF-8*. Observa-se pela Figura 13^a e 13^b que houve a formação de locais de nucleação sobre a superfície dos nanobastões de ZnO como destacado na Figura 13^b. Tais sítios de nucleação favorecem o crescimento da camada de *ZIF-8* na próxima etapa. Esses sítios de nucleação são formados pela reação do 2HMelm com a superfície do ZnO.

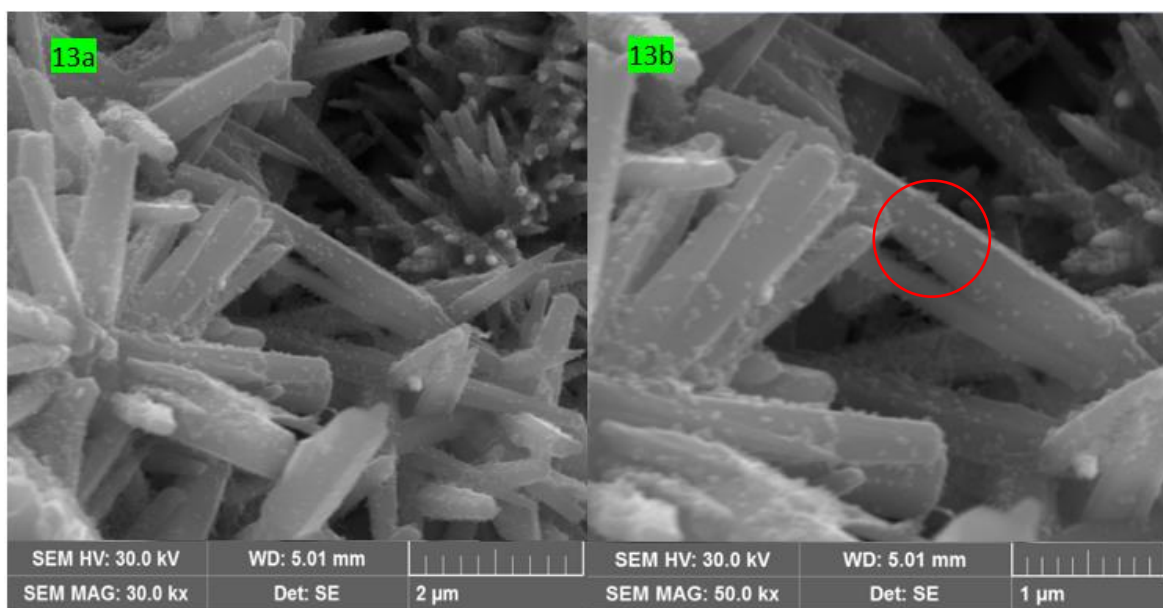


Figura 13 – Imagens das fibras após a etapa de pré-ativação; 13a fibra na magnitude de 30000 vezes; 13b fibra na magnitude de 50000 vezes

Na etapa de pré-ativação Zhang *et al.*, 2014, relatam que a difração de raios X mostra apenas linhas de difração da camada de ZnO, podendo não ser detectada a presença de ZIF-8. Como a molécula de 2-metilimidazol contém um grupamento com nitrogênio e átomos de carbono, foi utilizado a técnica de EDS para determinar a presença desses elementos na amostra em porcentagem de massa (ZHANG *et al.*, 2014). As porcentagens de massa dos elementos presentes na etapa de pré-ativação obtidos por EDS são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Percentual (% m/m) dos elementos C, N, O e Zn obtidos por EDS da fibra de vidro após recobrimento com ZnO e pré-ativação

Espectro	Carbono (C) (%)	Nitrogênio (N) (%)	Oxigênio (O) (%)	Zinco (Zn) (%)	Total
Espectro 1	10,93	-	18,87	70,20	100,00
Espectro 2	9,85	2,92	16,18	71,05	100,00
Espectro 3	9,85	2,90	15,41	71,82	100,00
Média (%)	10,21	2,91	16,82	71,02	100,00

A Tabela 9 mostra que existe uma pequena quantidade de nitrogênio e carbono na camada de nanobastões de ZnO sugerindo a presença de grupamentos de nitrogênio e átomos de carbono.

Após a etapa de pré-ativação foi realizada a síntese do *ZIF-8*, na qual as fibras ficaram em contato com a solução precursora de 2-metilimidazol por 12 horas, havendo a renovação da solução e contato por mais 12 horas, totalizando 24 horas. A Figura 14a mostra a imagem obtida da fibra de vidro após a síntese do *ZIF-8* em contato com a solução precursora por 12 horas, nota-se que há formação da rede *framework* sobre a camada de nanobastões de ZnO, também é possível observar alguns nanobastões que não foram recobertos totalmente. Na Figura 14b temos a imagem da fibra após síntese do *ZIF-8* em contato por 24 horas, observa-se que todos os nanobastões de ZnO foram recobertos pela rede *framework*.

Em ambas as imagens 14a e 14b é notável a camada de *ZIF-8* desenvolvida sobre a superfícies dos nanobastões de ZnO pré-ativados, havendo um crescimento contínuo e penetração dos nanobastões de ZnO na rede *framework* *ZIF-8* com vários pontos de fixação, fornecendo fortes ligações moleculares entre os planos cristalinos do nanobastões de ZnO e *ZIF-8*. Tais características fornecem propriedades de resistência adicional com o arranjo cristalino do *ZIF-8*, a camada de nanobastões de ZnO proporcionam maiores graus de verticalidade do material. Isto pode vir a prevenir a formação de fraturas e propagação de fendas na superfície do material e fornece melhores propriedades térmicas (EIRAS *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2014).

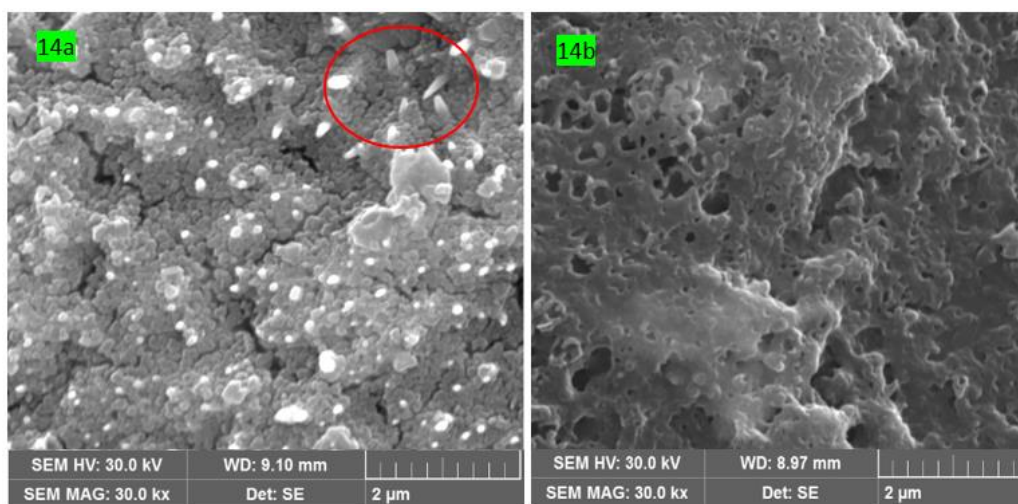


Figura 14 – Imagens obtidas das fibras após síntese do ZIF-8; 14a imagem da fibra após contato com solução precursora por 12 horas com magnitude de 30,0 k vezes, 14b imagem da fibra após contato com solução precursora por 24 horas com magnitude de 30,0 k vezes

Foi utilizada a técnica de EDS para determinar a porcentagem de massa nos tempos de 12 horas e 24 horas. As Tabelas 10 e 11 mostram um aumento na proporção de nitrogênio e carbono do tempo de contato de 12 horas para 24 horas. O tempo de contato da fibra de 12 horas com a solução precursora dobrou a quantidade de nitrogênio e carbono na superfície dos nanobastões de ZnO, aumentando de 2,91% para 6,77% para o nitrogênio e de 10,21% para 27,74%. Esse mesmo comportamento é observado do tempo de 12 horas para 24 horas. Para os átomos de oxigênio e zinco é notável a queda na porcentagem de massa ao decorrer das etapas de pré-ativação, tempo de contanto de 12 e 24 horas com a solução precursora, essa queda sendo mais evidente para o átomo de zinco.

Tabela 10 – Percentual (% m/m) dos elementos C, N, O e Zn obtidos por EDS da fibra de vidro após a síntese do ZIF-8 depois de 12 horas de contanto com solução precursora

Espectro	Carbono (C) (%)	Nitrogênio (N) (%)	Oxigênio (O) (%)	Zinco (Zn) (%)	Total
Espectro 1	24,35	6,37	10,12	59,15	100,00
Espectro 2	22,61	5,72	7,14	64,54	100,00
Espectro 3	27,74	8,23	19,02	45,01	100,00
Média (%)	24,90	6,77	12,09	56,23	100,00

Tabela 11 – Percentual (% m/m) dos elementos C, N, O e Zn obtidos por EDS da fibra de vidro após a síntese do ZIF-8 depois de 24 horas de contanto com solução precursora

Espectro	Carbono (C) (%)	Nitrogênio (N) (%)	Oxigênio (O) (%)	Zinco (Zn) (%)	Total
Espectro 1	44,52	18,16	8,00	29,32	100,00
Espectro 2	20,08	8,71	68,28	2,93	100,00
Espectro 3	29,55	13,01	50,03	7,41	100,00
Média (%)	31,38	13,29	42,11	13,22	100,00

5.3.2. Análise da fibra de vidro após síntese do ZIF-8 por DRX

A análise de DRX foi realizada utilizando o sólido formado na síntese do ZIF-8, após 24 horas de contanto utilizando como precursor o 2-metilimidazol. Para o ZIF-8 o plano mais importante que correspondem a estrutura de sodalita de ZIF-8 (arquivo JCPDS nº. 7111968) é o pico que aparece em $2\theta = 6,81^\circ$ que representa o plano (0 1 1) da estrutura cristalina do ZIF-8 e é usualmente utilizado como referência para a identificação de ZIF-8 (EIRAS *et al.*, 2015).

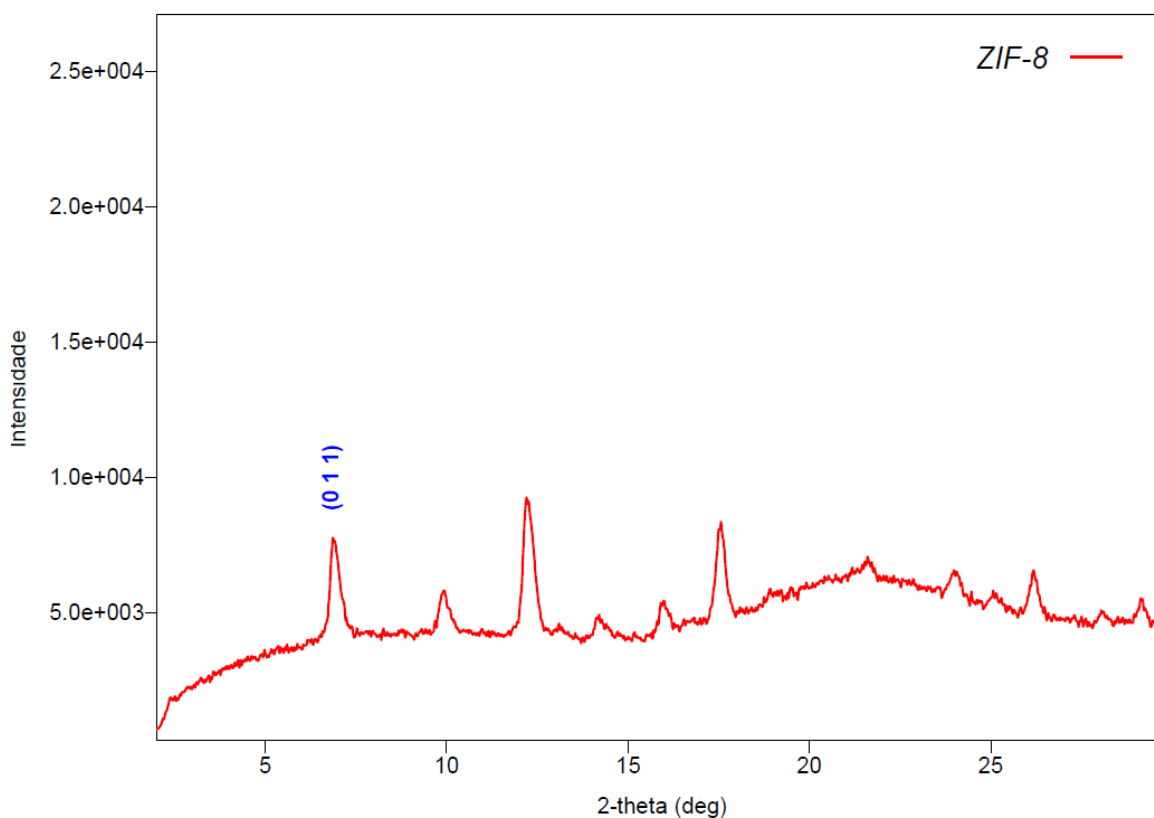


Figura 15 – Padrão de Difração da estrutura sodalita de ZIF-8

5.4. Análise termogravimétrica (TGA) das fibras de vidro recobertas com ZnO e ZIF-8

A análise termogravimétrica foi utilizada para o monitoramento da perda ou agregação de massa das fibras de vidro em função da temperatura, em um ambiente de atmosfera controlada de nitrogênio. Realizou-se a análise da fibra de vidro não modificada quimicamente, na fibra com recobrimento com ZnO e da fibra após a síntese do ZIF-8 (Figura 16). A aplicação dessa técnica possibilitou conhecer a faixa de temperatura em que a fibra de vidro adquire uma composição química fixa e a temperatura em que se decompõe e o andamento das reações de desidratação, oxidação, combustão, decomposição entre outros.

Para análise termogravimétrica da fibra de vidro sem modificação química na sua superfície, uma pequena perda de massa em torno de 3% foi verificada na faixa de temperatura aplicada, conforme comportamento observado em literatura (GARAY *et al.*, 2011).

Para análise termogravimétrica da fibra de vidro recoberta com ZnO, observa-se que a perda de massa em função da temperatura variou entre 300 e 600 °C, possivelmente associada à queima de material orgânico proveniente do processo de recobrimento pelo método sol-gel. No entanto, tal variação não ultrapassou os 3% de perda de massa nessa região, havendo no total uma perda de aproximadamente 5% de massa no sistema.

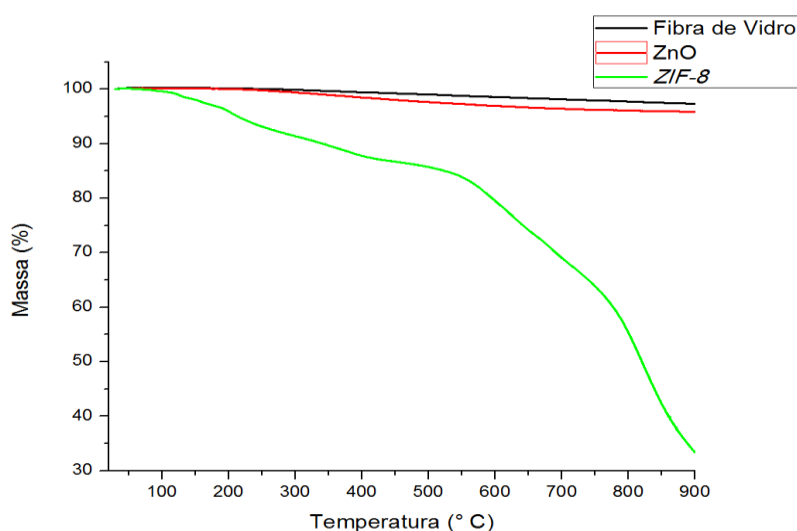


Figura 16 – Análise Termogravimétrica da fibra de vidro sem modificação, com recobrimento dos nanobastões de ZnO e com ZIF-8

Para análise termogravimétrica da fibra de vidro após síntese do *ZIF-8*, mostrou uma perda de massa em função da temperatura em torno de 14%, considerando a perda de massa de aproximadamente 5% da fibra de vidro recoberta com ZnO, para o *ZIF-8* temos um torno de 9% e perda de massa até 400 °C, esta região tem sido associada a liberação de moléculas hóspedes e de algumas espécies do ligante que não reagiram (PAN & LAI, 2011). Acima dessa região até próximo a 500 °C temos um período de maior estabilidade, provavelmente devido à forte ligação entre o ligante imidazolato e o centro metálico, o que fornece a alguns *ZIF's* estabilidade térmica em torno de 400 °C (YAO *et al.*, 2010).

5.5. Otimização do método analítico

Os trabalhos realizados resultaram em dois potenciais dispositivos aplicáveis à SPME: um com o recobrimento de nanobastões de ZnO e outro com recobrimento de ZnO/*ZIF-8*. Para as etapas cromatográficas foi utilizada somente a fibra recoberta com os nanobastões de ZnO, uma vez que estes nanobastões podem apresentar excelentes propriedades de adsorção de gases. Além disso, a morfologia regular da distribuição destes nanobastões na fibra, recobrendo toda superfície da mesma, pode resultar num dispositivo de excelente desempenho frente à SPME-CG.

Os tempos de retenção obtidos para cada analito injetado individualmente nas condições cromatográficas estabelecidas pelo método analítico estão dispostos na Tabela 12.

Tabela 12 – Tempo de retenção aproximado dos analitos e o tempo de corrida cromatográfica

Analito	Tempo de Retenção (min)
Metanol	3,21
Butanol	9,12
Diclorometano	6,16
Acetato de Etila	8,20
Acetona	5,12
Tempo de Corrida	18,0

A ordem de eluição obtida está de acordo com o esperado, pois seguem a relação de massas molares, exceto para o butanol, no qual, devido a sua estrutura linear, prevalece uma maior interação com a coluna, devido ao caráter apolar da sílica fundida. Este fato justifica seu tempo de retenção maior comparado ao do acetato de etila e diclorometano.

Os parâmetros de otimização, temperatura de incubação, tempo de incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção foram enquadrados como parte da robustez do método, pois foi possível, a partir dessas pequenas variações, determinar as condições ótimas da técnica *SPME* no método proposto.

Segundo CHO *et al* (2003) deve-se utilizar temperatura de extração na faixa de 50 a 65 °C, pois os solventes residuais mais utilizados apresentam ponto de ebulição muito próximo dessa faixa. Temperaturas muito acima dessas, dependendo do diluente utilizado, comprometem o equilíbrio do sistema, havendo competição pela fase gasosa entre os analitos o diluente e a matriz. Outro fator importante é a alta pressão de vapor gerada dentro do *vial*, o que pode ocasionar uma fissura ou até mesmo a explosão do vial.

No entanto, a temperatura de extração foi definida em 70 °C, uma vez que os analitos acetato de etila e o butanol apresentam pontos de ebulição de 77,1 e 117,7 °C, respectivamente, e apresentaram ganho de área em relação as condições de 50 e 60 °C. Esse comportamento é discutido no item 5.5.1.

5.5.1. Temperatura de incubação

Na Figura 17 é possível observar que há um ganho de área quando a temperatura de incubação é de 70 °C. O aumento da temperatura de incubação gera um aumento na transferência de massa dos analitos da fase aquosa para a fase vapor (*headspace*) e para a superfície de fibra contendo ZnO (LUO *et al.*; 2013).

Nota-se que para os analitos acetato de etila e butanol o ganho de área foi maior e esse aumento justifica-se com base em três fatores: o primeiro está relacionado com o caráter polar dos nanobastões de ZnO e dos analitos em questão; o segundo é devido a estrutura linear desses analitos em relação aos

analitos metanol e diclorometano e; por último ao ponto de ebulição mais elevado dos analitos acetato de etila e butanol (JI *et al.*, 2012).

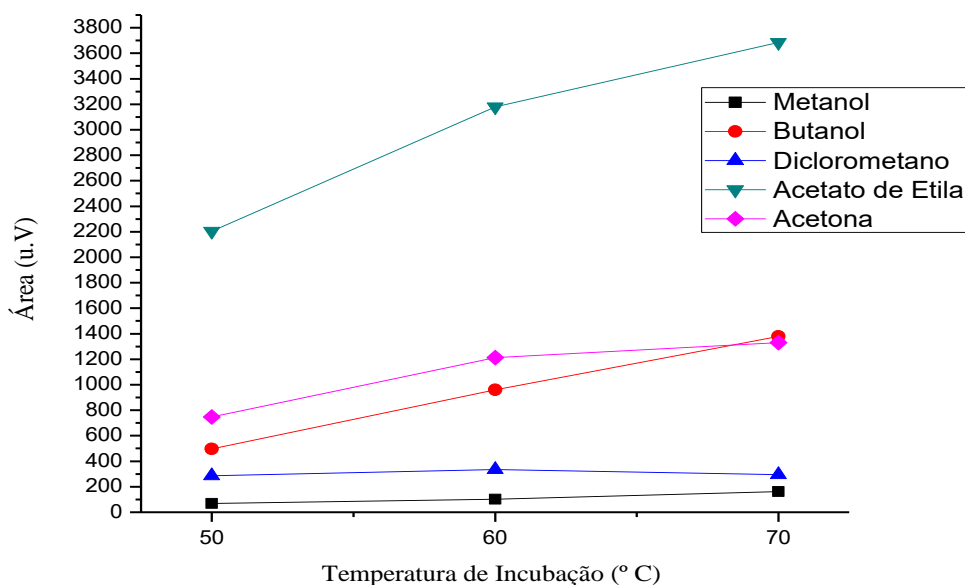


Figura 17 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função da temperatura de incubação

Observa-se também pelo gráfico, uma menor variação da área dos picos em relação a temperatura de incubação de 60 °C para 70 °C, possivelmente devido a fibra estar perto de atingir a saturação. Os cromatogramas podem ser verificados pelos cromatogramas no APÊNDICE A.

5.5.2. Tempo de incubação

O tempo de incubação está relacionado diretamente com a obtenção do tempo no qual ocorre o equilíbrio entre a fase aquosa e a fase gasosa *headspace*. Os analitos tendem a apresentar melhor resposta na área do pico quando se trabalha com essa condição otimizada (PAWLISZYN, 1997).

Observa-se pela Figura 18, que não se obteve um ganho de área significativa entre os tempos de incubação de 5, 10 e 15 minutos, exceto para o caso do butanol, efeito ocasionado devido a molécula de butanol ser linear e teoricamente ter maior

área de contato em relação aos demais analitos. De modo geral, na etapa de incubação, onde a amostra fica em agitação no forno do *headspace* por determinado período de tempo, haverá uma tendência de aumento da quantidade de analito extraída e um tempo de extração reduzido. Esse efeito é mais evidente em analitos com coeficientes de difusão baixo e de maior peso molecular, como é o caso do butanol (NICOLLI, 2009).

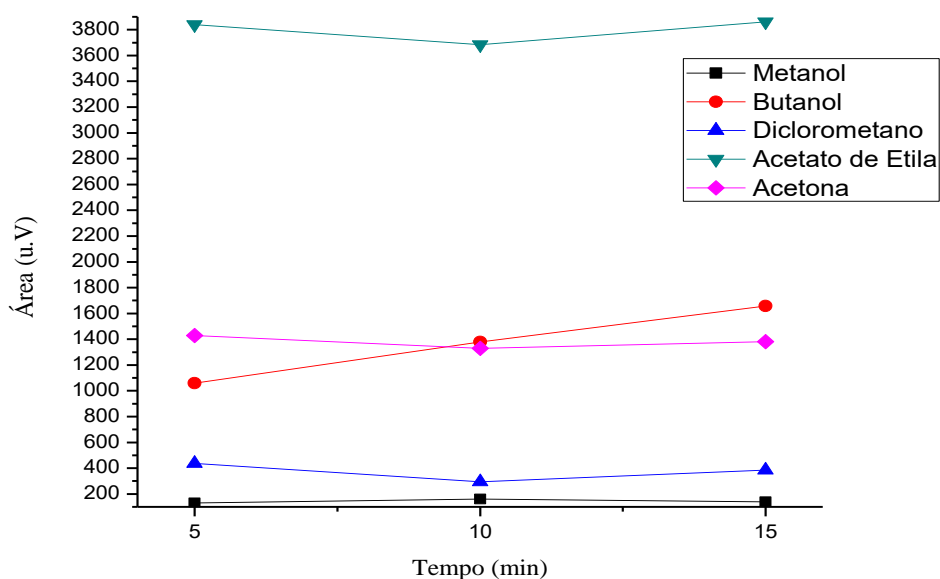


Figura 18 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função do tempo de incubação

A Figura 19 mostra o tempo de incubação de 15 minutos que ocasionou maior extração do Butanol levou a coeluição do ativo a um pico referente à matriz/diluyente quando comparado com a tempo de incubação de 10 minutos.

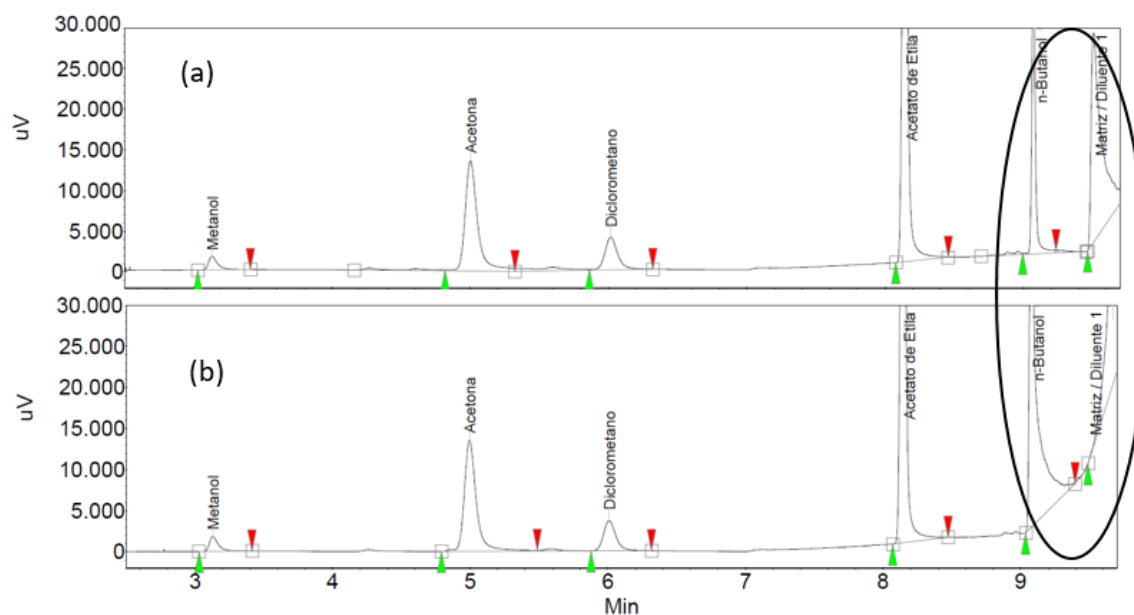


Figura 19 – Cromatogramas obtidos da solução amostra com tempo de incubação de 5 minutos (a) e com tempo de incubação de 15 minutos (b)

Em geral, os demais analitos conseguem atingir o equilíbrio na fase vapor em 10 minutos de incubação e esse curto tempo de equilíbrio é atribuído aos nanobastões de ZnO, que adsorvem rapidamente os analitos da fase gasosa (JI *et al.*, 2012). Desta forma, optou-se por trabalhar com o tempo de incubação de 10 minutos para evitar possíveis coeluições na etapa de validação. Os cromatogramas dos analitos para o tempo de incubação podem ser verificados no APÊNDICE A.

5.5.3. Tempo de extração/sorção

Na Figura 20 tem-se que entre 30 e 60 s de extração, tempo no qual a fibra ficou exposta em contato com a fase gasosa, não houve aumento expressivo de área quando comparado com o tempo de extração de 120 segundos. O processo de partição foi mais otimizado nesse tempo, no entanto, o ganho de área do pico dos analitos ocasionou novamente em problemas de resolução, em particular para o Butanol, possivelmente pela maior quantidade extraída do analito nesse tempo de extração. Esse efeito é mostrado na Figura 21.

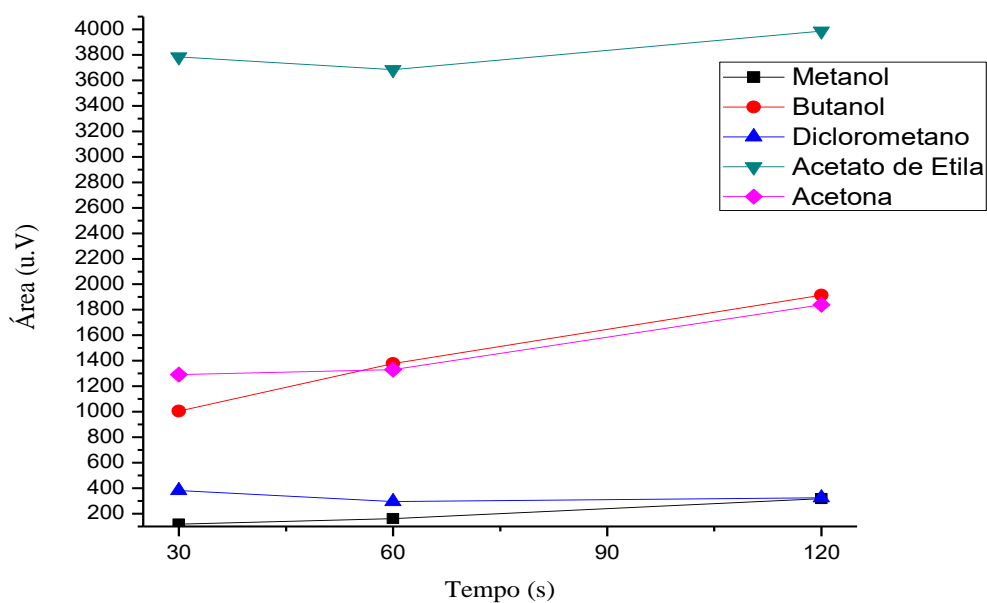


Figura 20 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função do tempo de extração/sorção

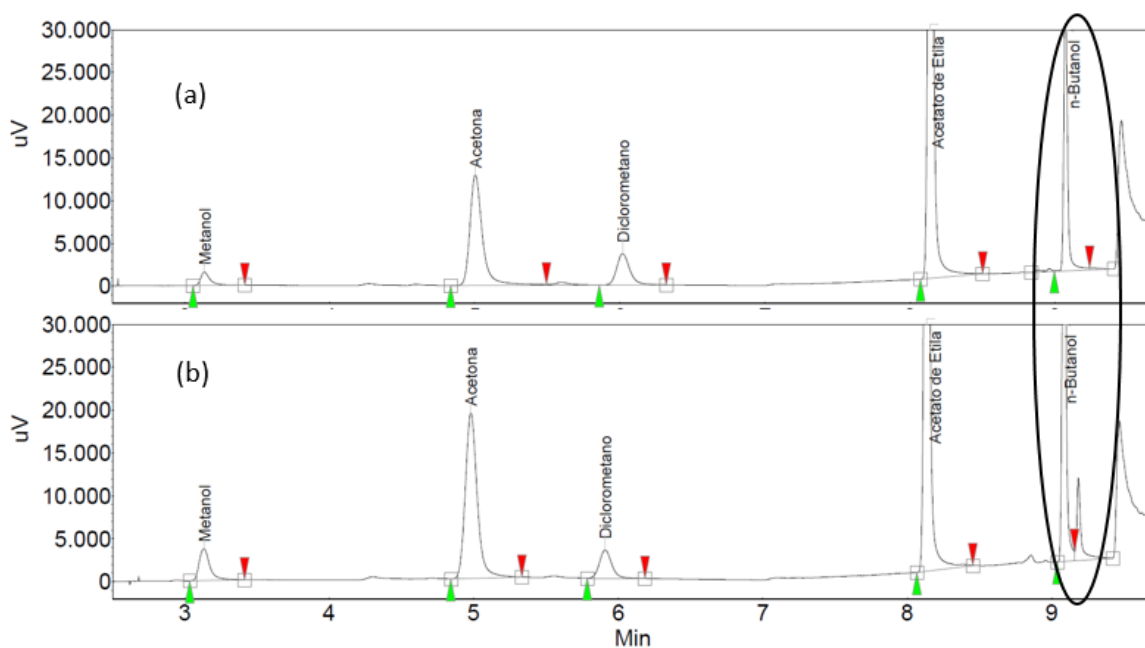


Figura 21 – Cromatogramas obtidos da solução amostra com tempo de extração/sorção de 60 s (a) e com tempo de extração/sorção de 120 s (b)

Devido a esse comportamento, foi definido o tempo de 60 segundos de extração/sorção, uma vez que o compromisso da análise é de velocidade e sensibilidade. Isto é possível porque a *SPME* é um método quantitativo para

qualquer tempo de extração, podendo-se, em vários casos obter sensibilidade suficiente antes de se atingir o tempo de equilíbrio e também a fim de evitar possíveis coeluições na etapa de validação do método (ULRICH, 2000).

Os cromatogramas dos analitos para o tempo de extração/sorção podem ser verificados no APÊNDICE A.

5.5.4. Tempo de dessorção

A Figura 22 apresenta que não houve um ganho expressivos de área para os analitos com a temperatura de dessorção em 240 °C. Para os analitos acetato de etila, acetona e diclorometano a alta temperatura garantiu uma maior eficiência na dessorção térmica desses analitos da superfície da fibra para entrada do injetor. No caso do Metanol a alta temperatura promoveu a decomposição térmica do analito (ULRICH, 2000; JI *et al.*, 2012).

O tempo de dessorção adotado foi de 4 minutos, uma vez que neste tempo não foram observados efeitos de memória (*carry-over*) na qual analitos de uma primeira injeção são carregados para uma próxima injeção, incrementando uma maior concentração do que deveria. A temperatura de dessorção foi fixada em 240 °C pois nessa temperatura observou-se que o revestimento da fibra não sofreu nenhum tipo de dano. Esses efeitos acabam gerando um alto desvio padrão quando observados (OLIVARES, 2006; JI *et al.*, 2012).

Os cromatogramas dos analitos para o tempo de dessorção podem ser verificados no APÊNDICE A.

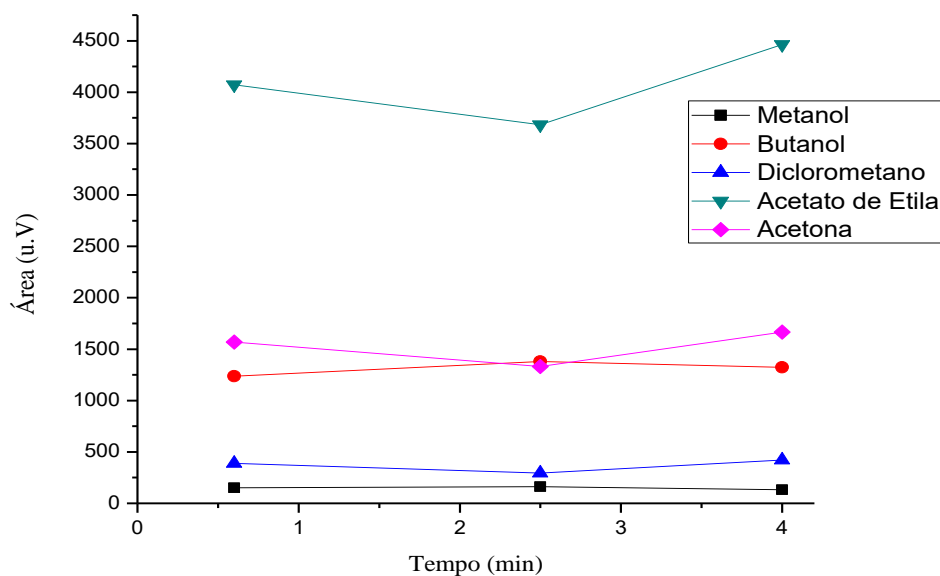


Figura 22 – Áreas dos picos cromatográficos dos analitos em função do tempo de dessorção

6. Validação da metodologia analítica

6.1 Especificidade

Para avaliar a especificidade do método foram analisados uma solução amostra, solução branco e cada analito injetado no sistema individualmente. A Figura 23 mostra o cromatograma da solução amostra em que as condições cromatográficas utilizadas proporcionaram a todos os analitos tempos de retenção distintos, com resolução maior de 1,5 em relação ao qualquer outro pico da solução amostra.

O software calcula a resolução de um pico sempre em relação a um pico com tempo de eluição anterior, para o metanol não há um valor de resolução atribuído pelo software, uma vez que não há nenhum pico eluindo antes do metanol. Como a resolução (R) mede o grau ou magnitude da separação entre dois picos, foi atribuído o valor de resolução para o metanol como sendo o mesmo da acetona de 14,01, uma vez que a distância entre os picos da acetona e metanol é a mesma entre metanol e acetona.

Para o butanol, diclorometano, acetato de etila e acetona os valores de resolução foram de 17,69, 6,65, 18,84 e 14,01, respectivamente, conforme Tabela 13. O cromatograma da solução branco apresentou picos somente do diluente e constituintes da fase estacionária.

Os cromatogramas da solução branco e dos analitos injetados individualmente estão dispostos no APÊNDICE B.

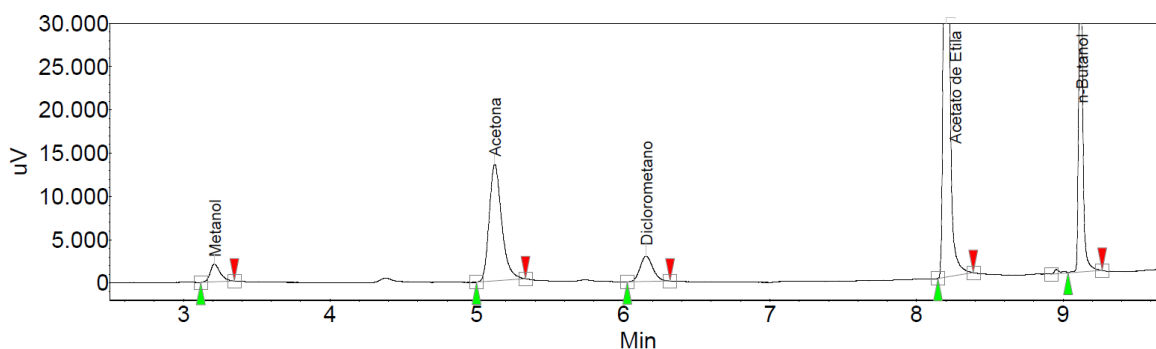


Figura 23 – Cromatograma referente a solução Amostra utilizada no estudo da especificidade

Tabela 13 – Tempo de Retenção, Área e Resolução dos analitos na solução amostra no estudo de especificidade

Analito	Tempo de Retenção (min)	Área (u.V)	Resolução
Metanol	3,21	160,7	14,01
Butanol	9,12	1379,0	17,69
Diclorometano	6,16	294,5	6,65
Acetato de Etila	8,20	3687,4	18,84
Acetona	5,12	1329,9	14,01

O estudo de especificidade se mostrou conciso e sem a presença de interferentes, concluindo que o método é específico para os analitos testados.

6.2 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada na faixa de 6 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ utilizando seis níveis de concentração e analisando cada nível de concentração em triplicata.

A Tabela 14 apresenta os dados da razão de cada analito em relação ao padrão interno que foram obtidas analisando cada nível de concentração em triplicata.

Tabela 14 – Razões obtidas do estudo de linearidade para cada analito em seus níveis de concentração

	Níveis	Razões			
		Metanol	Diclorometano	Acetato	Butanol
Linearidade 1	20%	0,012	0,062	0,682	0,137
	40%	0,023	0,115	1,316	0,269
	60%	0,034	0,166	2,131	0,389
	80%	0,044	0,227	2,913	0,516
	100%	0,054	0,272	3,443	0,622
	120%	0,065	0,317	4,104	0,728
Linearidade 2	20%	0,013	0,051	0,615	0,136
	40%	0,021	0,106	1,294	0,247
	60%	0,031	0,163	2,003	0,363
	80%	0,042	0,213	2,676	0,492
	100%	0,054	0,262	3,365	0,625
	120%	0,066	0,307	4,014	0,771
Linearidade 3	20%	0,011	0,052	0,611	0,137
	40%	0,021	0,106	1,316	0,257
	60%	0,029	0,163	1,950	0,360
	80%	0,040	0,214	2,656	0,493
	100%	0,049	0,262	3,357	0,610
	120%	0,060	0,316	3,971	0,732

A partir das razões obtidas (Tabela 14) foi possível traçar curvas de calibração e obter os valores do coeficiente de correlação linear, coeficiente angular (a) e linear (B) para cada analito, utilizando os seis níveis de concentração em triplicata. As Figuras de 24, 25, 26 e 27 mostram as curvas analíticas da concentração obtida versus a resposta cromatográfica. Os cromatogramas referente ao estudo de linearidade encontram-se no APÊNDICE B.

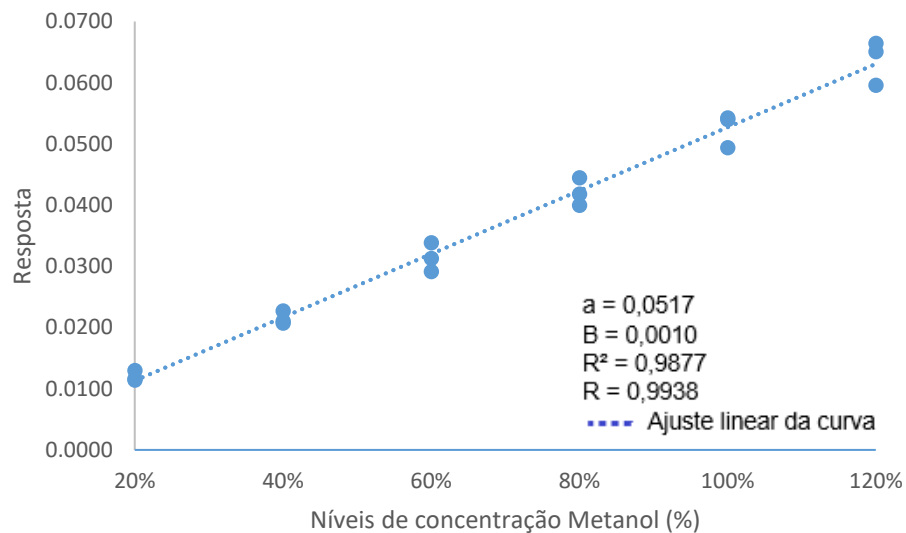


Figura 24 – Curvas de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito metanol

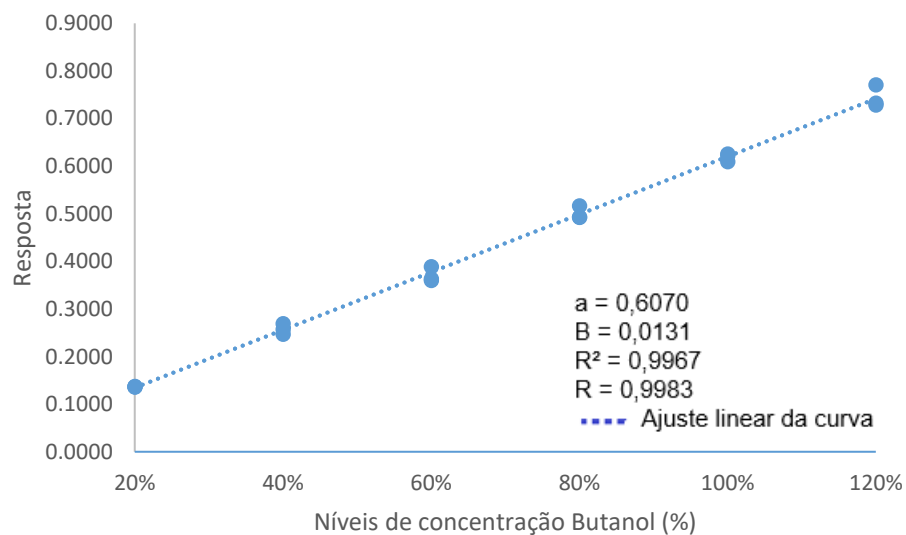


Figura 25 – Curva de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito butanol

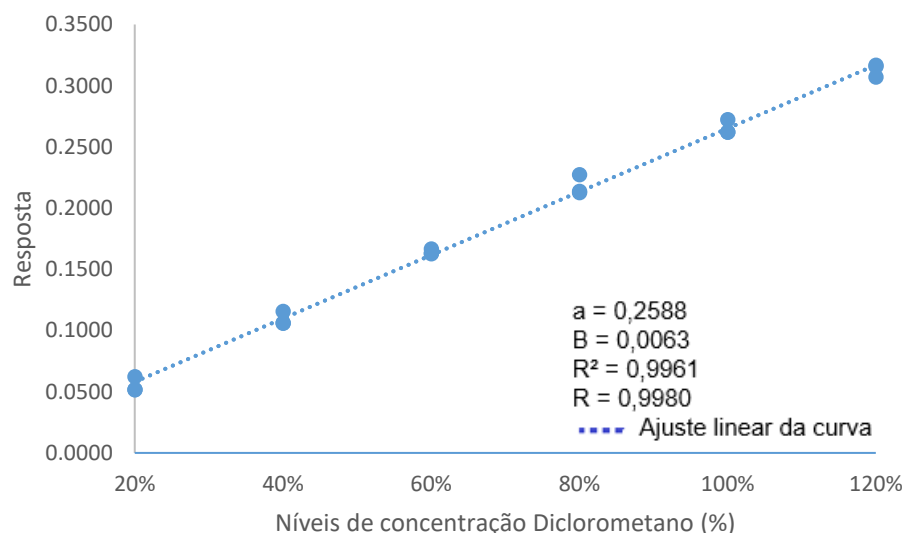


Figura 26 – Curva de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito diclorometano

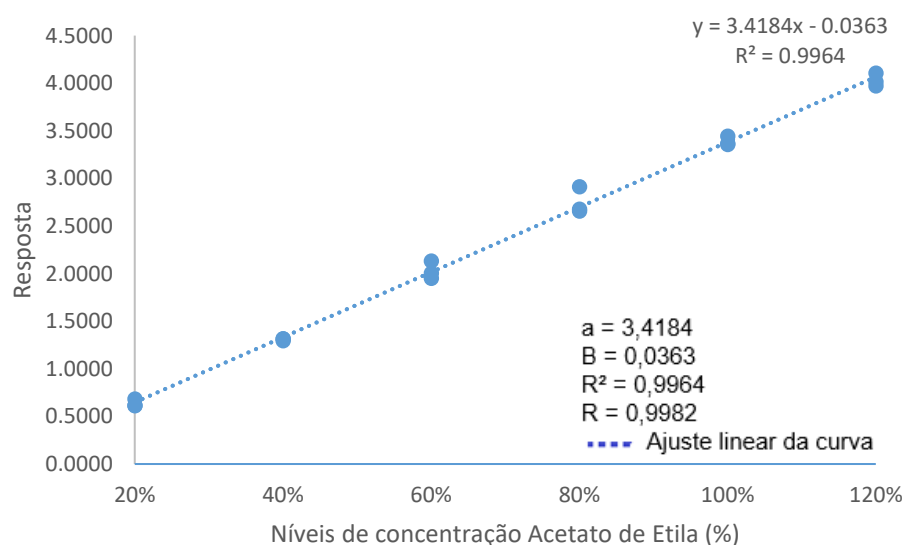


Figura 27 – Curva de calibração da linearidade 1, 2 e 3 para o analito acetato de etila

Os valores dos coeficientes de correlação (R), inclinação da reta e os interceptos da reta apresentaram resultados individuais satisfatórios na faixa de concentração proposta pelo método, atingindo valores exigidos na legislação RE 899 da ANVISA de (R) maior que 0,99.

Nas Tabelas 15, 16, 17 e 18 estão apresentados o resultado da análise de variância (ANOVA) da regressão dos analitos metanol, butanol, diclorometano e

acetato de etila, respectivamente. Observa-se que para o metanol que o F calculado ($MQ_{reg}/MQ_{residuo} = 1279,84$) foi maior que o F tabelado (4,45), assim como para o butanol ($F_{calc} = 4838,29$), diclorometano ($F_{calc} = 4107,46$) e acetato de etila ($F_{calc} = 4380,37$) os valores de F se mostraram maior que o F tabelado (4,45).

Tabela 15 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do metanol

	G.L	SQ	MQ	F_{calc}	F_{tab(0,95;1;17)}	F de significação
Regressão	1	0,0056	0,0056	1279,84	4,45	1,0667E-16
Resíduo	16	7,03E-05	4,39408E-06			
Total	17	0,0057				

Tabela 16 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do butanol

	G.L	SQ	MQ	F_{calc}	F_{tab(0,95;1;17)}	F de significação
Regressão	1	0,7738	0,7738	4838,29	4,45	2,74E-21
Resíduo	16	0,0026	0,0002			
Total	17	0,7764				

Tabela 17 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do diclorometano

	G.L	SQ	MQ	F_{calc}	F_{tab(0,95;1;17)}	F de significação
Regressão	1	0,1407	0,1407	4107,46	4,45	1,01E-20
Resíduo	16	0,0006	3,43E-05			
Total	17	0,1412				

Tabela 18 – Resultado da análise de variância (ANOVA) para a linearidade do acetato de etila

	G.L	SQ	MQ	F_{calc}	F_{tab(0,95;1;17)}	F de significação
Regressão	1	24,5399	24,5399	4380,37	4,45	6,05E-21
Resíduo	16	0,0896	0,0056			
Total	17	24,6295				

Os valores de F calculado para todos os analitos mostraram-se estatisticamente significativos ($F_{calc} > F_{tab}$) indicaram uma relação linear entre as duas variáveis (resposta versus concentração), onde quanto maior for a razão entre o F_{calc} e F_{tab} mais significativa é essa relação. É recomendando, para que a regressão tenha utilidade prática, que o valor de $MQ_{regressão}$ seja no mínimo cinco vezes maior que o $MQ_{residuo}$, valor na qual foi atingindo para todos os analitos na análise de regressão (PIMENTEL & NETO, 1996; DRAPER & SMITH, 1981).

O modelo da regressão linear simples foi validado pela análise visual dos resíduos, os quais se mostraram adequados para o modelo de regressão. Nas Figuras 28, 29, 30 e 31 são apresentados a distribuição dos resíduos nos analitos metanol, butanol, diclorometano e acetato de etila, respectivamente, observa-se que os resíduos são independentes, apresenta distribuição normal, com dispersão adequada em torno da reta da regressão e variância constante nos diferentes níveis, indicando que o modelo é adequado (PIMENTEL & NETO, 1996).

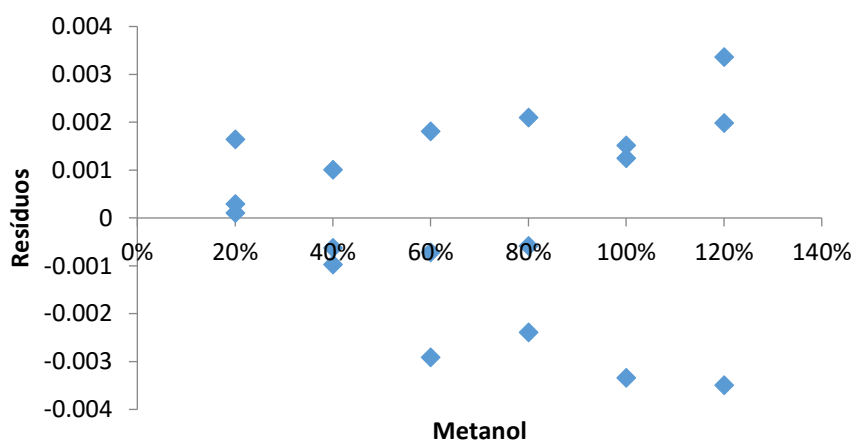


Figura 28 – Distribuição dos resíduos para o analito metanol

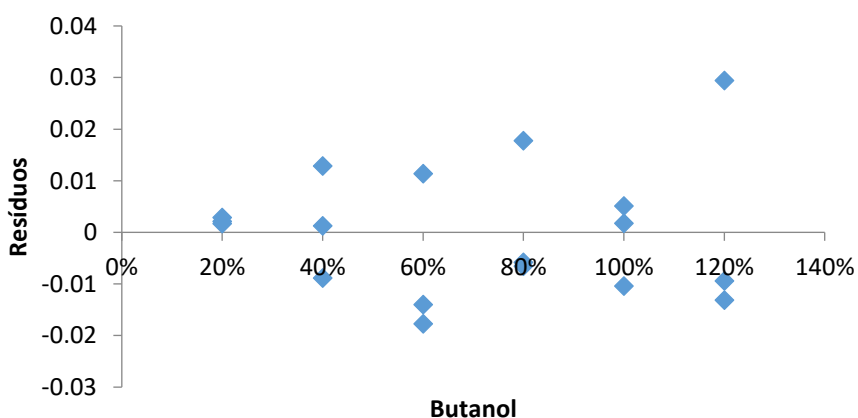


Figura 29 – Distribuição dos resíduos para o analito butanol

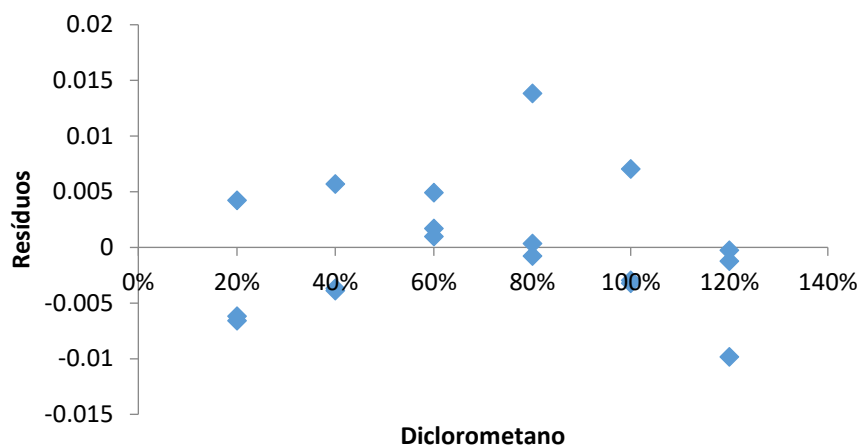


Figura 30 – Distribuição dos resíduos para o analito diclorometano

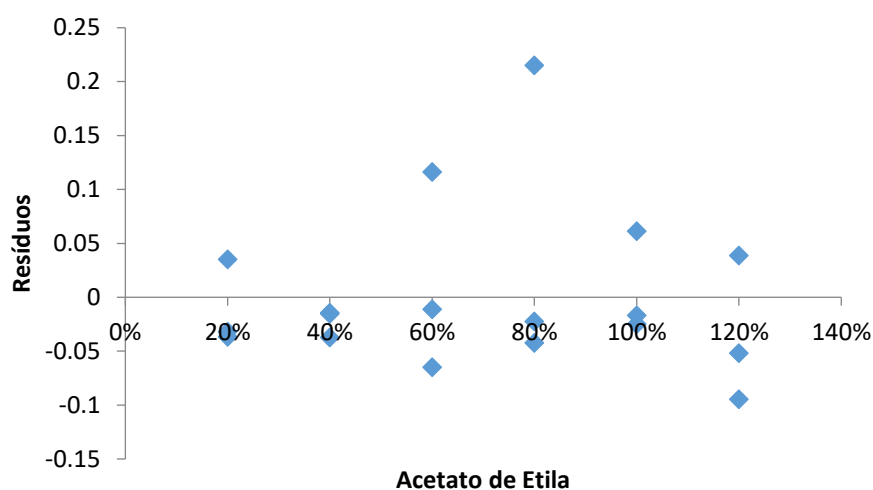


Figura 31 – Distribuição dos resíduos para o analito acetato de etila

Os critérios de aceitação para a linearidade foram satisfatórios atingindo as especificações preconizadas pela legislação RE 899. Os resultados demonstraram que no intervalo proposto o método é linear e quantificável, e, por conseguinte que a área dos picos dos analitos são diretamente proporcionais a concentração dos mesmos presente na amostra.

6.3 Exatidão e Precisão

Avaliou-se a exatidão e precisão em dias diferentes para verificar a reprodutibilidade do método. Tanto a exatidão quanto a precisão foram calculadas

a partir dos níveis 1 (20%), 4 (80%) e 6 (120%) da linearidade uma vez que a mesma foi realizada de forma matrizada. A exatidão e precisão segundo dia foram realizadas injetando os níveis 1, 4 e 6 em um segundo momento.

Utilizaram-se as razões de cada analito para a avaliação da exatidão comparando as concentrações obtidas (experimental) com os níveis das teóricas para obtenção da recuperação do método analítico. A precisão foi verificada calculando o desvio padrão relativo da triplicata de cada nível.

6.3.1. Exatidão e Precisão primeiro dia

Para exatidão, a recuperação de cada analito se mostrou dentro da faixa especificada de 80% a 120% para cada nível de concentração conforme mostra as Tabelas 19, 20 e 21.

Tabela 19 – Recuperação de cada analito para o nível 1 (20%) para exatidão primeiro dia

Amostra	Metanol		Butanol	Diclorometano	Acetato de Etila
	Teórica (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)
Nível 1 (20%)		21,40	21,97	22,87	19,82
		24,01	21,78	19,64	18,28
	-	23,12	22,53	19,77	18,19
Média		22,84	22,09	20,76	18,76
DPR (%)		5,82	1,76	8,81	4,87
Recuperação (%)	100,00	114,21	110,47	103,80	93,82

Tabela 20 – Recuperação de cada analito para o nível 4 (80%) para exatidão primeiro dia

Amostra	Metanol		Butanol	Diclorometano	Acetato de Etila
	Teórica (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)
Nível 4 (80%)		81,99	83,05	83,48	84,61
		77,43	78,71	81,17	79,52
	-	80,96	80,84	81,51	79,12
Média		80,13	80,87	82,05	81,08
DPR (%)		2,99	2,68	1,52	3,78
Recuperação (%)	100,00	100,16	101,09	102,56	101,35

Tabela 21 – Recuperação de cada analito para o nível 6 (120%) para exatidão primeiro dia

Amostra	Metanol		Butanol	Diclorometano	Acetato de Etila
	Teórica (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)
Nível 6 (120%)	-	119,95	117,13	116,34	119,20
	-	123,10	123,31	117,24	119,27
	-	120,65	120,08	120,42	118,29
Média		121,23	120,17	118,00	118,92
DPR (%)		1,36	2,57	1,81	0,46
Recuperação (%)	100,00	101,03	100,14	98,33	99,10

Para precisão primeiro dia o desvio padrão relativo (DPR) na triplicata de cada nível se mostrou menor que 15% para todos os analitos conforme Tabela 22 demonstrando adequada dispersão de resultados entre os ensaios.

Tabela 22 – Desvio padrão relativo na triplicata de cada nível para precisão primeiro dia

Nível	Metanol	DPR (%)	Butanol	DPR (%)	Diclorometano	DPR (%)	Acetato de Etila	DPR (%)
20%	0,0116	7,0	0,1366	0,4	0,0622	11,1	0,6823	6,3
	0,0130		0,1362		0,0514		0,6153	
	0,0114		0,1374		0,0518		0,6107	
80%	0,0445	5,4	0,5165	2,8	0,2272	3,7	2,9134	5,2
	0,0418		0,4921		0,2125		2,6760	
	0,0400		0,4928		0,2137		2,6560	
120%	0,0650	5,7	0,7284	3,2	0,3166	1,7	4,1045	1,7
	0,0664		0,7709		0,3070		4,0140	
	0,0596		0,7321		0,3156		3,9711	

6.3.2. Exatidão e Precisão segundo dia

Para exatidão segundo dia, a recuperação de cada analito também se mostrou dentro da faixa especificada de 80% a 120% para cada nível de concentração conforme mostra as Tabelas 23, 24 e 25.

Tabela 23 – Recuperação de cada analito para o nível 1 (20%) para exatidão segundo dia

Amostra	Metanol		Butanol	Diclorometano	Acetato de Etila
	Teórica (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)
Nível 1 (20%)	20,00	18,34	19,97	20,90	19,24
	20,00	21,99	20,70	17,94	17,10
	20,00	22,72	21,86	20,47	19,66
Média	20,00	21,02	20,84	19,77	18,67
DPR (%)	0	11,17	4,56	8,10	7,36
Recuperação (%)	100,00	105,08	104,22	98,84	93,33

Tabela 24 – Recuperação de cada analito para o nível 4 (80%) para exatidão segundo dia

Amostra	Metanol		Butanol	Diclorometano	Acetato de Etila
	Teórica (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)
Nível 4 (80%)	80,00	78,30	74,86	80,41	74,86
	80,00	78,20	76,09	79,09	74,32
	80,00	79,27	79,63	78,17	81,20
Média	80,00	78,59	76,86	79,22	76,79
DPR (%)	0	0,76	3,22	1,42	4,99
Recuperação (%)	100,00	98,24	96,07	99,03	95,99

Tabela 25 – Recuperação de cada analito para o nível 6 (120%) para exatidão segundo dia

Amostra	Metanol		Butanol	Diclorometano	Acetato de Etila
	Teórica (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)	Experimental (%)
Nível 6 (120%)	120,00	113,08	115,18	113,08	111,39
	120,00	120,93	116,58	119,24	119,56
	120,00	118,45	121,40	117,68	122,03
Média	120,00	117,49	117,72	116,67	117,66
DPR (%)	0	3,42	2,77	2,75	4,73
Recuperação (%)	100,00	97,91	98,10	97,22	98,05

Para precisão segundo dia (intermediária), a comparação entre os resultados entre os dois dias apresentou desvio padrão relativo (DPR) abaixo do limite máximo especificado de 10%, demonstrando que o método analito é preciso para a faixa linear estudada conforme Tabela 26. Os cromatogramas da exatidão e precisão segundo dia estão dispostos no APÊNDICE B.

Tabela 26 – Desvio padrão relativo na comparação dos resultados obtidos da precisão primeiro e segundo dia

Nível	Metanol	DPR (%)	Butanol	DPR (%)	Diclorometano	DPR (%)	Acetato de Etila	DPR (%)
Nível 1 (20%)	0,0107	8,4	0,1331	1,9	0,0607	9,2	0,7099	6,5
	0,0129		0,1370		0,0512		0,6106	
	0,0109		0,1309		0,0594		0,6387	
	0,0116		0,1366		0,0622		0,6823	
	0,0130		0,1362		0,0514		0,6153	
	0,0114		0,1374		0,0518		0,6107	
Nível 4 (80%)	0,0458	7,8	0,4988	2,6	0,2335	3,7	2,9402	5,1
	0,0459		0,5035		0,2257		2,6543	
	0,0379		0,4770		0,2269		2,6383	
	0,0445		0,5165		0,2272		2,9134	
	0,0418		0,4921		0,2125		2,6760	
	0,0400		0,4928		0,2137		2,6560	
Nível 6 (120%)	0,0668	8,2	0,7674	3,0	0,3284	4,4	4,1096	2,8
	0,0710		0,7715		0,3403		4,2699	
	0,0566		0,7272		0,3416		3,9649	
	0,0650		0,7284		0,3166		4,1045	
	0,0664		0,7709		0,3070		4,0140	
	0,0596		0,7321		0,3156		3,9711	

6.4 Limite de Quantificação

O limite de quantificação foi definido pela análise da menor concentração do analito utilizado na linearidade, demonstrando sensibilidade significativa do método com exatidão e precisão dentro do limite estabelecido. Deste modo o limite de quantificação para o método foi a concentração de 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o metanol, 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o butanol, 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o acetato de etila e de 6 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o diclorometano.

6.5 Intervalo

O intervalo do método foi compreendido entra a faixa do limite de quantificação superior e inferior do método analítico. Os resultados demonstraram que o método é valido para a faixa de concentração de 6 a 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, uma vez que nessa faixa o método é linear, preciso e exato.

Após otimização e validação do método analítico realizando todos os parâmetros exigidos por legislação, foi possível comprovar analiticamente que o método proposto atende todos os critérios de aceitação estabelecidos, se mostrando adequado para a determinação dos solventes orgânicos estudados nesse trabalho.

7. CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

7.1. Conclusão

As fibras doadas foram modificadas superficialmente com nanobastões de ZnO e por uma camada de *ZIF-8* e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura e difração de raio X. A estabilidade do material foi determinada por meio de análise de termogravimétrica. Os resultados obtidos das técnicas de caracterização se apresentaram muito semelhantes com os encontrados na literatura.

O recobrimento com ZnO foi realizado por dois métodos distintos: o método de recobrimento 1, utilizando como precursor o $Zn(SO_4)_2$ e método de recobrimento 2, utilizando como precursor o $Zn(NO_3)_2$. Ambos os métodos utilizaram o método sol-gel utilizando a técnica de *dip coating*. No entanto, resultados preliminares por microscopia ótica foi determinante para o rumo do trabalho a ser seguido, pois mostraram que o melhor método para o recobrimento com ZnO se deu pelo método 2.

O recobrimento pelo do método 2, resultou em nanobastões de ZnO que se desenvolveram verticalmente e de forma regular nas fibras obtidas com um menor tempo do que sugerido por WANG *et al.*, 2011. As caracterizações por MEV e DRX mostraram que os nanobastões obtidos se mostraram muito promissores na adsorção de gases como sugerido por Wang *et al.*, 2011.; e Zhang *et al.*, 2014).

Na obtenção do *ZIF-8*, o método de pré-ativação se mostrou crucial para o crescimento da camada de *ZIF-8* sobre a superfície da fibra, gerando sítios de nucleação para uma formação regular e homogênea.

Com as fibras devidamente caracterizadas, optou-se em realizar a validação analítica com a fibra recoberta com os nanobastões de ZnO.

O dispositivo foi projetado (*seringa/holder*) para utilização em *SPME* acoplada a cromatografia gasosa. Após obtenção da seringa, foi realizada os estudos cromatográficos com a otimização da metodologia analítica, utilizando a solução padrão contendo metanol, butanol, acetona (P.I), diclorometano e acetato de etila, verificando os parâmetros de temperatura de incubação, tempo e

incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção, que ficaram fixados em 70 °C, 10 minutos, 1 minuto e 4 minutos respectivamente.

A validação analítica avaliou os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limite de quantificação e intervalo. Os valores de coeficiente de correlação linear obtidos em todas as análises apresentaram valores superiores a 0,99, indicando a linearidade do método. O método se mostrou exato não ultrapassando a faixa de 80 a 120% de recuperação e se mostrou preciso não ultrapassando valores de DPR acima de 15% para a precisão primeiro dia e 105 para precisão segundo dia.

Apesar da robustez não ter sido avaliada diretamente, o método mostrou-se robusto frente aos parâmetros de otimização na etapa de desenvolvimento.

7.2. Trabalhos Futuros

Para trabalhos futuros fica a sugestão da validação do método analítico utilizando o disposto de *SPME* com a fibra recoberta com a camada de *ZIF-8*.

Comparar os métodos analíticos da fibra recoberta com os nanobastões de ZnO e com a camada de *ZIF-8* verificando a comportamento dos analitos frente aos dois recobrimentos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers.** *Analytical Chemistry*. v. 62, p. 2145–2148, 1990.

BAGHERI, H.; PIRI-MOGHADAM, H.; NADERI, M. **Towards greater mechanical, thermal and chemical stability in solid-phase microextraction.** *Trends in Analytical Chemistry*. v. 34, n. 1, p. 126-139, 2012.

BARANKOVA, E.; PRADEEP, N.; PEINEMANN, K-V. **Zeolite-imidazolate framework (ZIF-8) membrane synthesis on a mixed-matrix substrate.** *Chemistry Communications*. Ed. 82, v. 49, p. 9419-9421, August. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.** Diário Oficial da União, Brasília, 2003.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 57 de 18 de novembro de 2009.** 2009.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. S.; MAGALHÃES, H. C. R. **Microextração em Fase Sólida: Método Analítico Prático para Extração de Compostos voláteis de Frutas.** *Comunicado Técnico*. 166. Ed. 1. Abril. 2011.

CHEN. X-F.; ZANG, H.; WANG, X.; CHENG, J-G.; ZHAO, R-S.; CHENG, C-G.; LU, X-Q. **Metal-organic framework MIL-53 (Al) as a solid-phase microextraction adsorbent for the determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry.** *Analyst*, v. 137. p. 5411-5419, September 2012.

CHO, D.; KONG, S.; OH, S. **Analysis of trialomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography.** *Water Research*, v. 37, n. 2, p. 402-408, January 2003.

CHONG, S. L.; WANG. D.; HAYES. J. D.; WILHITE, B. W.; MALIK, A.; **Sol-gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability.** *Analytical Chemistry*. v. 69, n. 19, p. 3889-3898, October. 1997.

DRAPER, N. A.; SMITH, H. **Applied Regression Analysis.** 2 ed. Wiley: 709 p.

EIRAS, D.; LABRECHE, Y.; PESSAN, A. **Ultem®/ZIF-8 Mixed Matrix Membranes for Gas Separation: Transport and Physical Properties.** *Materials Research.* v. 19, n. 1, p. 220-228, October. 2015.

FELTRIN, J; SARTOR, M. N; NONI JR, A; BERNARDIN, A. M; HOTZA, D; LABRINCHA, J. A. **Superfícies fotocatalíticas de titânia em substratos cerâmicos. Parte II: substratos, processos de deposição e tratamento térmico.** *Cerâmica.* v. 60, p. 1-9, Julho. 2013.

FU, Y-Y.; YANG, C. X.; YAN, X. P. **Fabrication of ZIF-8@SiO₂ Core-Shell Microspheres as the Stationary Phase for High-Performance Liquid Chromatography.** *Chemistry European Journal.* v. 19, n. 40, p. 13484-13491, August. 2013.

GARAY, A, C; HECK, V; ZATTERA, A, J; SOUZA, J, A; AMICO, S, C. **Influence of calcium carbonate on RTM and RTM lighth processing and properties of molded composites.** *J. of Reinforced Plastics and Composites.* v. 30, n. 14, p. 1213-1221, July. 2011.

GUERGUERIAN, G.; ELHORDOY, F.; PEREYRA, C. J.; MAROTTI, R. E.; MARTIN, F.; LEINEN, D.; BARRADO, R. J. R.; DALCHIELE, E. A. **ZnO/Cu₂O heterostructure nanopillar arrays: synthesis, structural and optical properties.** *Applied Physics A.* v. 45, n. 24, p. 1-10, May. 2012.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2005, p.853.

HE, M.; YAO, J.; LI, L.; ZHONG, Z.; CHEN, F.; WANG, H. **Aqueous solution synthesis of ZIF-8 films on a porous nylon substrate by contra-diffusion method.** *Microporous and Mesoporous Materials.* v. 179, p. 10-16, May. 2013.

HE, M.; YAO, J.; LIU, Q.; WANG, K.; CHEN, F.; WANG, H. **Facile synthesis of zeolitic imidazolato framework-8 from a concentrated aqueous solution.** *Microporous and Mesoporous Materials.* v. 184, p. 55-60, October. 2013.

HIRATSUKA, R. S.; SANTILLI, C. V.; PULCINELLI, S. H. **O processo sol-gel: uma visão físico-química.** *Química Nova.* v.18, n. 2, p. 171-180, Agosto. 1994.

ICH – **International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Validation of Analytical Procedure: Text and Methodology Q2(R1).** ICH Steering Committee, Switzerland, 2005.

International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the registration of Pharmaceuticals for Human Use, Q3C: Impurities: Guideline for residual solvents, 1997.

JACQ, K., DAVID, F., SANDRA, P.; **A generic method for the analysis of residual solvents in pharmaceuticals using static headspace-GC-FID/MS, Agilent Technologies publication, 5989-9726EN, 2008.**

JI, J.; LIU, H.; CHEN, J.; ZENG, J.; HUANG, J.; GAO, L.; WANG, Y.; CHEN, X. **ZnO nanorod coating for solid phase microextraction and its applications for the analysis of aldehydes in instant noodle samples.** *Journal of Chromatography A*. v. 1246, p. 22-27, February 2012.

KATAOKA, H; LORD, H. L; PAWLISZYN, J. **Applications of solid-phase Microextraction in food analysis.** *Journal of Chromatography A*. v. 880, n. 1, p. 35-62, June. 2000.

KATSENI, A, D.; PUSKARIC, A.; STRUKIL, V.; MOTTILO, C.; JULIEN, P, A.; UZAREVIC, K.; PHAM, M-H.; DO, T-O.; KIMBER, S. A. J.; LAZIC, P.; MAGDYSYUK, O.; DINNEBIER, R. E.; HALASZ, I.; FRIS, T. **In situ X-ray diffraction monitoring of a mechanochemical reaction reveals a unique topology metal-organic framework.** *Nature Communications*. v. 6, n. 6662, p. 1-8, March. 2015.

KUMAR, A.; GAURAV.; MALIK, A. K.; TEWARY, D. K.; SINGH, B. **A review on development of Solid-Phase Microextraction fibers by sol-gel methods and their applications.** *Analytica Chimica ACTA*. v. 610, p. 1-14, January. 2008.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análises.** São Carlos, SP; RIMA, 2005. p. 62.

LORD, H.; PAWLISZYN, J. **Microextraction of Drugs.** *J. Cromatogr. A*. v. 902, n. 1, p.17-63, December. 2000.

LUO, Y-B.; YUAN, B-F.; YU, Q-W.; FENG, Y-Q. **Substrateless graphene fiber: A sorbent for solid-phase microextraction.** *Journal of Chromatography A*. v. 1268, n. 14, p. 9-15, October. 2012.

MESSIAS, F. R.; SCALVI, L. V. A.; LI, M. S.; SANTILLI, C. V.; PELCINELLI, S. H.; **Photodesorption and Electron trapping in n-type SnO₂ thin films grown by dip-coating technique.** *Radiation Effects and Defects in Solids: Incorporating Plasma Science and Plasma Technology*. v. 146, n.1-4, p. 199-206. 1998.

MÜLLER, V.; CESTARI, M.; PALÁCIO, S. M.; CAMPOS, S. D.; Muniz, E. C.; CAMPOS, E. A. **Silk fibroin nanofibers electrospun on glass fiber as a potential device for solid phase microextraction.** *Journal Applied Polymer Science*, v. 132, n. 13, p. 41717, April. 2015.

NASSAR, E. J.; CIUFFI, K. J.; GONÇALVES, R. R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L.; **Filmes de titânio-silício preparados por spin e dip-coating.** *Química Nova*, v.26, n. 5, p. 674-677, Fevereiro. 2003.

NICOLLI, KARINE, P. **Novo Revestimento de Fibra de SPME Sintetizada Pelo Método Sol-Gel para Análise de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.** Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Instituto de Química. 2009, 43 p. Dissertação.

OLIVARES, IGOR, R, B. **Desenvolvimento, otimização e validação da técnica HS-SPME-GC/MS para análise de amostras obtidas do Rio Atibaia através da aplicação de uma sistemática “ISO” para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas.** São Carlos: Universidade de São Paulo – Instituto de Química de São Carlos. 2006, 191 p. Tese.

OLIVEIRA, A. R. M & ZARBIN, A, J, G. **Um procedimento simples e barato para a construção de um equipamento “dip-coating” para deposição de filmes em laboratórios.** *Química Nova*, v. 28, n. 1, p. 141-144, 2005.

PAN, Y; LAI, Z. **Sharp separation of C₂/C₃ hydrocarbon mixtures by zeolitic imidazolato framework-8 (ZIF-8) membranes synthesized in aqueous solutions.** *Chemistry Communications*. v. 37, n. 47, p.10275-10277, August. 2011.

PAWLISZYN, J. **In Handbook of Solid Phase Microextraction, 1st ed.;** Pawliszyn, J., Ed.; Elsevier: USA, 2012; pp2–12.

PAWLISZYN, J. **Solid Phase Microextraction – Theory and Practice.** Wiley-VCH: New York, 1-127, 1997.

PAWLISZYN, J. **Theory os Solid-Phase Microextraction.** *Journal of Chromatographic Science*. v. 38, p. 270-278, July. 2000.

PIMENTEL, M. F.; NEETO, B.B. **Calibração: Uma Revisão para Químicos Analíticos.** *Química Nova.* v. 19, n. 3, p. 268-277, Setembro. 1996.

PROSEN, H.; KRALJ, L. Z. **Solid-phase Microextraction.** *Trends in analytical Chem.* v. 18, n. 4, p. 272-282, 1999.

SILVEIRA, C. B. **Fibras de vidro a base de Li₂O-ZrO₂-BaO-SiO₂ recobertas com Nb₂O₅ para utilização em micro-extração em fase sólida.** Florianópolis, SC: Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005. 91 p. Tese (Doutorado)

SPIETELUN, A. PILARCZYK, M. KLOSKOWSKI, A. NAMIEŚNIK, J. **Current trends in solid-phase microextraction (SPME) fiber coatings.** *Chemical Society Reviews.* v. 39, n. 11, p. 4524-37, November 2010.

TOGUNDE, O. P.; OAKES, K. D.; SERVOS, M. R.; PAWLISZYN, J. **Optimization of solid phase microextraction for non-lethal in vivo determination of selected pharmaceuticals in fish muscle using liquid chromatography-mass spectrometry.** *Journal of Chromatography A.* v. 1261 p. 99-106, October. 2012.

ULRICH, S. **Solid phase microextraction in biomedical analysis, review.** *Journal Chromatography A,* v. 902, n. 1, p. 167-194, December 2000.

United States Pharmacopeia (USP), Chapter 621 - CROMATOGRAPHY. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009.

United States Pharmacopeia (USP), method 467 - Residual Solvents. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009.

VALENTE, A. L. P; AUGUSTO, F. **Microextração por fase sólida.** *Química Nova.* v. 4, n. 23, p. 523-530, Outubro. 2000.

VUCKOVIC, D.; RISTICEVIC, S.; PAWLISZYN. J. **In vivo solid-phase microextraction in metabolomics: opportunities for the direct investigation of biological systems.** *Angewandte Chemie International Edition.* v. 50, p. 5618, may. 2011.

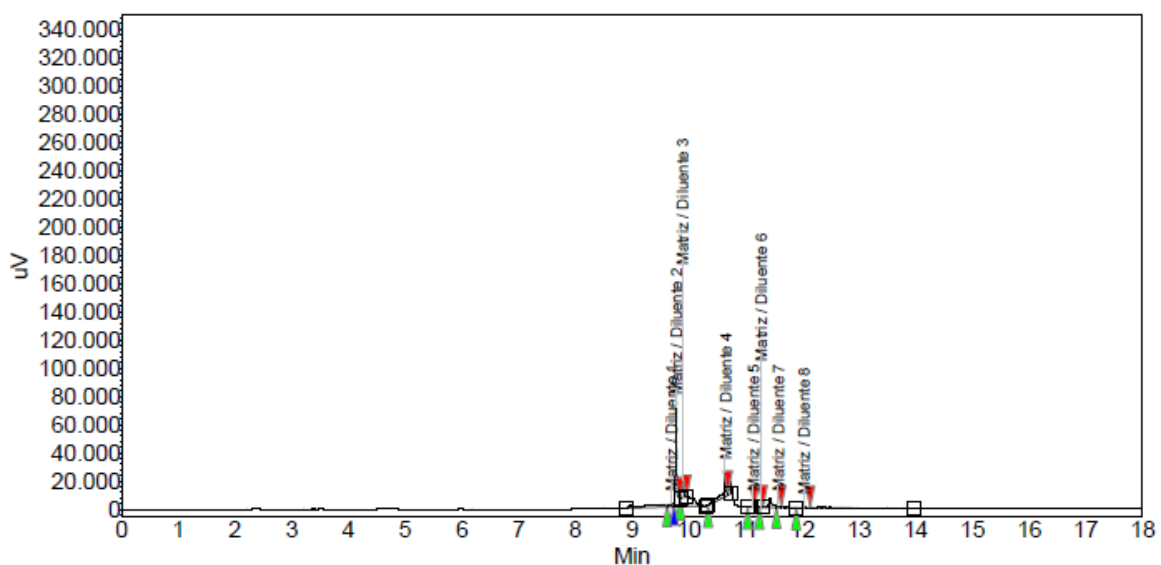
- WANG, D.; WANG, Q.; ZHANG, Z.; CHEN, G. **ZnO nanorod array polydimethylsiloxane composite solid phase micro-extraction fiber coating fabrication and extraction capability.** *Analyst.* v. 137, n°2, p. 476-480, November. 2011.
- WU, Y-Y.; YANG, C. X.; YAN, X-P. **Fabrication of metal–organic framework MIL-88B films on stainless steel fibers for solid-phase microextraction of polychlorinated biphenyls.** *Journal of Chromatographic.* v. 1334, p. 1-8, January. 2014.
- XIE, L.; LIU, S.; HAN, Z.; JIANG, R.; LIU, H.; ZHU, F.; SU, C.; OUYANG, G. **Preparation and characterization of metal-organic framework MIL-101(Cr)-coated solid-phase microextraction fiber.** *Analytica Chimica Acta* v. 853, p. 303–310, 2015.
- XU, F.; YUAN, Z, Y.; DU, G. H.; HALASA, M.; SU, B. S. **High-yield synthesis of single-crystalline ZnO hexagonal nanoplates and accounts of their optical and photocatalytic properties.** *Applied Physics A.* v. 86, n. 2, p. 181-185, November. 2007.
- XU, J.; ZHENG, J.; TIAN, J.; ZHU, F.; ZENG, F.; SU, C.; OUYANG, G. **New materials in solid-phase microextraction,** *Trends in Analytical Chemistry.* v. 47, p. 68-83, June. 2013.
- YAGHI, O. M.; LI, H. **Hydrothermal Synthesis of a Metal-Organic Framework Containing Large Rectangular Channels.** *Journal of the American Chemical Society.* v. 117, n. 41, p. 10401-10402, October. 1995.
- YAO, J.; DONG, D.; LI, D.; HE, L.; XU, G.; WANH, H. **Contra-diffusion synthesis of ZIF-8 films on a polymer substrate.** *Chemistry Communications.* v. 47, n° 9, p. 2559-2561, December. 2010.
- YU Y.; SHEN, C.; CAI, Y.; XIE, M.; ZHOU, W.; CHEN, Y.; DUAN, G. **Multiple headspace single-drop microextraction coupled with gas chromatography for direct determination of residual solvents in solid drug product.** *Journal of Chromatography A.* v. 1217, p. 5158–5164, june. 2010.
- ZHANG, G.; ZANG, X.; LI, Z.; WANG, C.; WANG, Z. **Polydimethylsiloxane/metal-organic frameworks coated fiber for solid phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in river and lake Water samples.** *Talanta.* v.129, p. 600–605, june. 2014.

ZHANG, S.; DU, Z.; LI, G. **Metal-organic framework-199/graphite oxide hybrid composites coated solid-phase microextraction fibers coupled with gas chromatography for determination of organochlorine pesticides from complicated samples.** *Talanta*, v. 115, p. 32–39, April. 2013.

ZHANG, X.; LIU, Y.; LI, S.; KONG.; LIU, H.; LI, Y.; HAN, W.; YEUNG, K, L.; ZHU, W.; YANG, W.; QIU, J. **New Membrane Architecture with High Performance: ZIF-8 Membrane Supported on Vertically Aligned ZnO Nanorods for Gas Permeation and Separation.** *Chemistry of Materials*. v. 26, n. 5, p. 1975-1981, February. 2014.

9 APÊNDICE

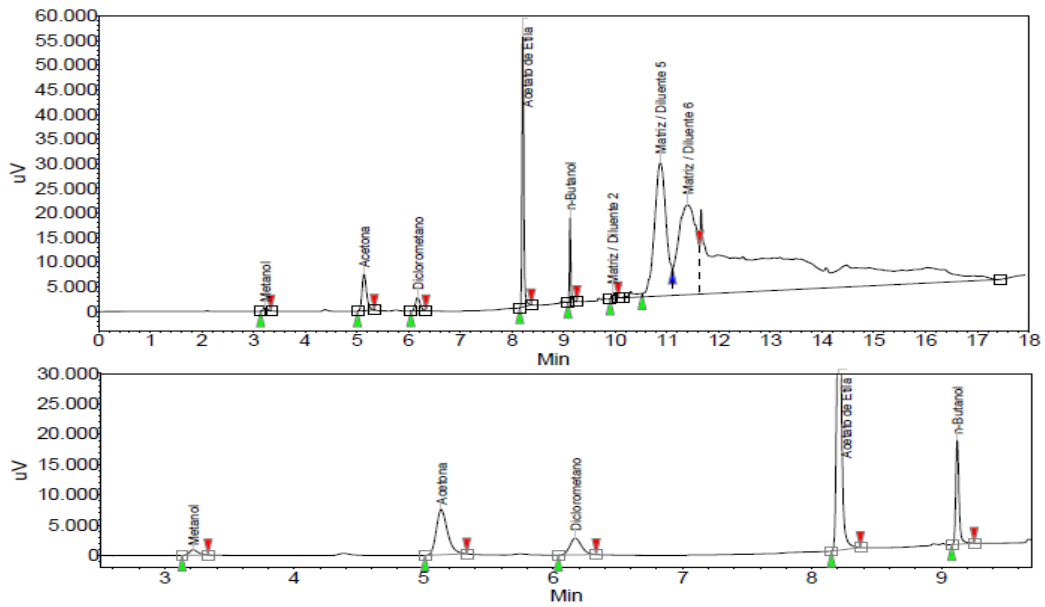
APÊNDICE A: Cromatogramas obtidos das etapas de otimização da metodologia analítica, avaliando os parâmetros de temperatura e incubação, tempo de incubação, tempo de extração/sorção e tempo de dessorção respectivamente.



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de Etila	-	-	-	-
Butanol	-	-	-	-

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

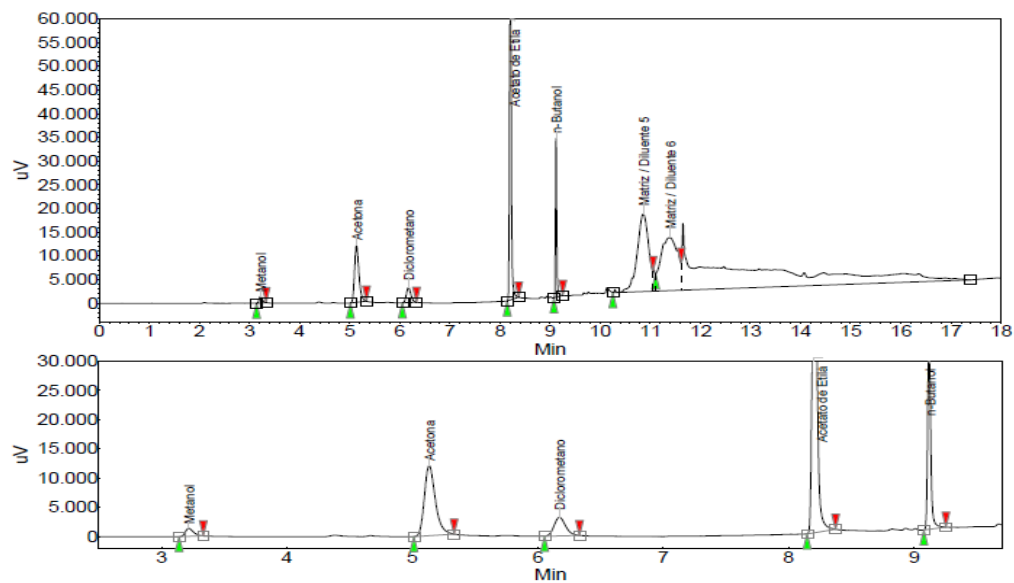
Figura A 1 – Cromatograma referente a solução branco



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,22	68,0	0,00	1,51
Acetona	5,13	748,1	13,90	1,44
Diclorometano	6,17	284,7	6,52	1,25
Acetato de Etila	8,21	2203,2	18,19	1,25
Butanol	9,12	496,0	17,62	1,31

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura A 2 - Cromatograma referente a solução amostra temperatura de incubação de 50 °C



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,22	101,9	0,00	1,62
Acetona	5,14	1212,2	13,87	1,41
Diclorometano	6,17	334,7	6,44	1,27
Acetato de Etila	8,21	3179,6	18,09	1,25
Butanol	9,12	958,5	17,67	1,33

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura A 3 – Cromatograma referente a solução amostra temperatura de incubação de 60 °C

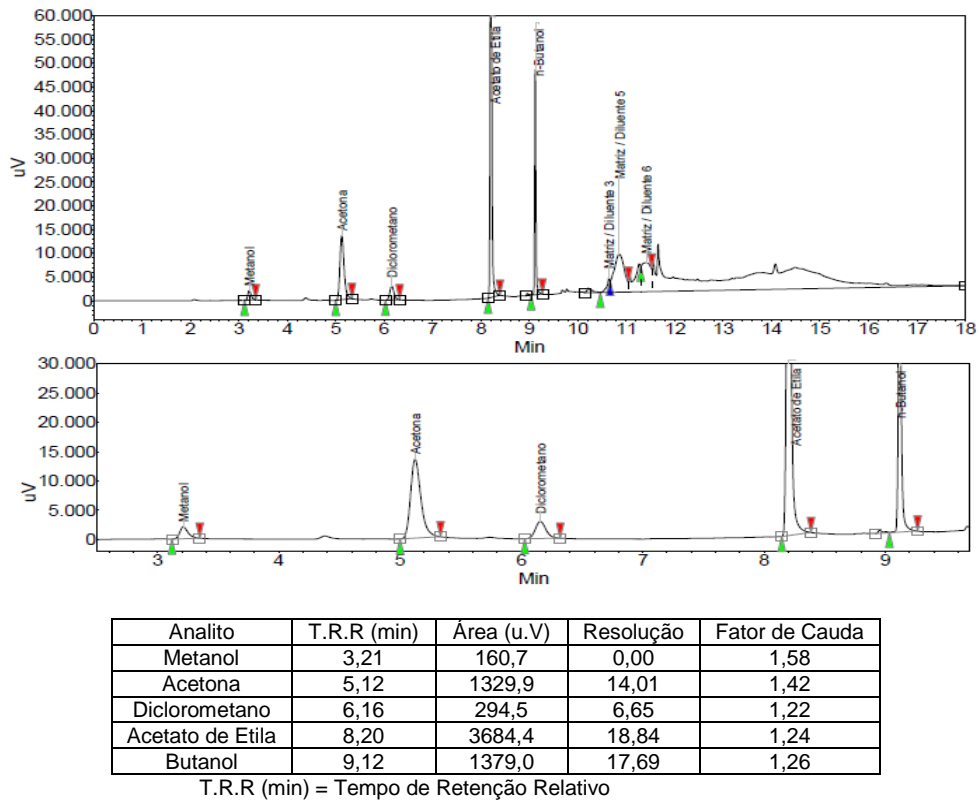


Figura A 4 – Cromatograma referente a solução amostra temperatura de incubação de 70 °C

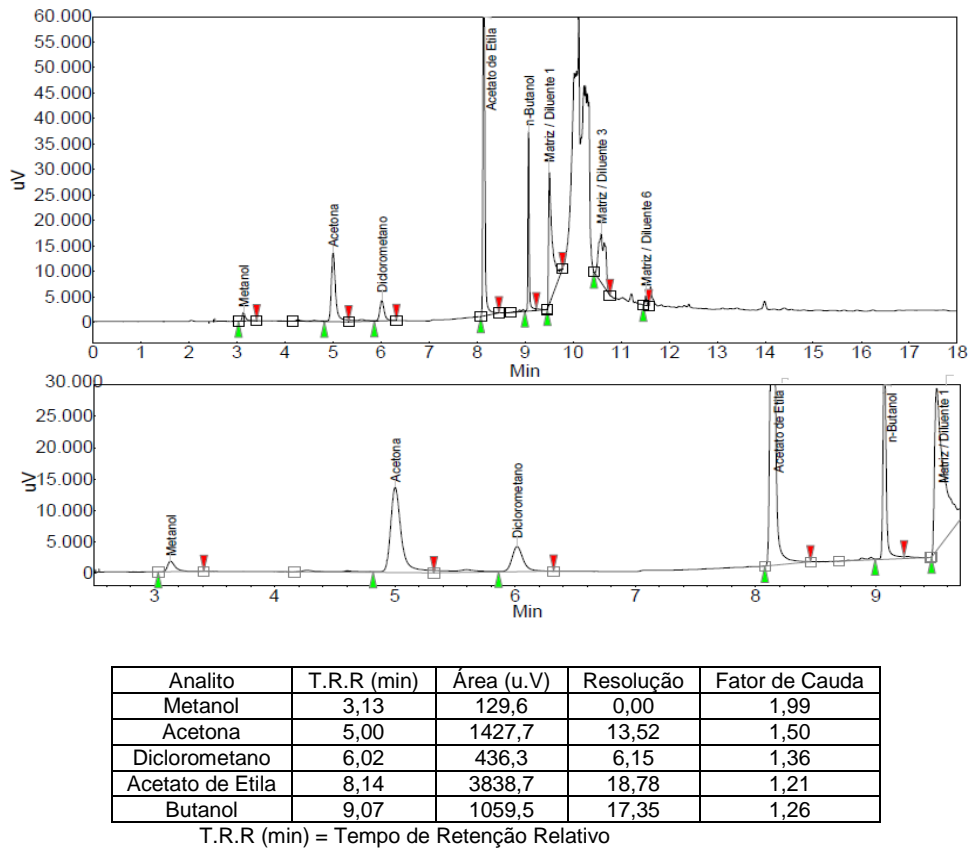


Figura A 5 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de incubação de 5 minutos

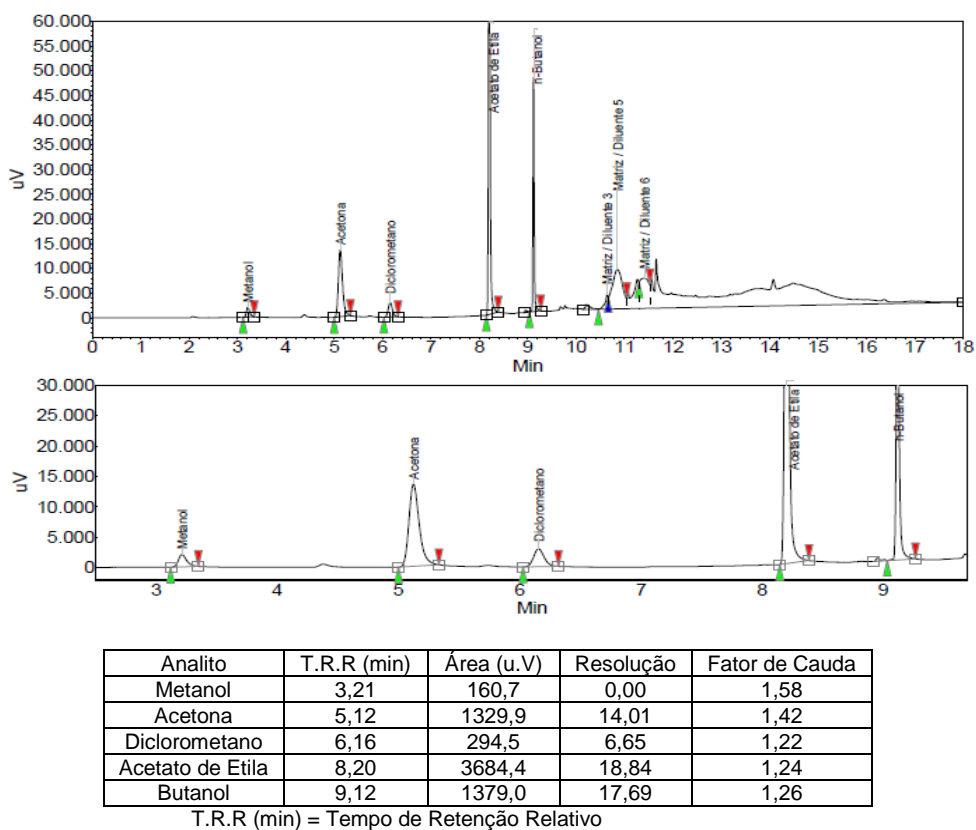


Figura A 6 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de incubação de 10 minutos

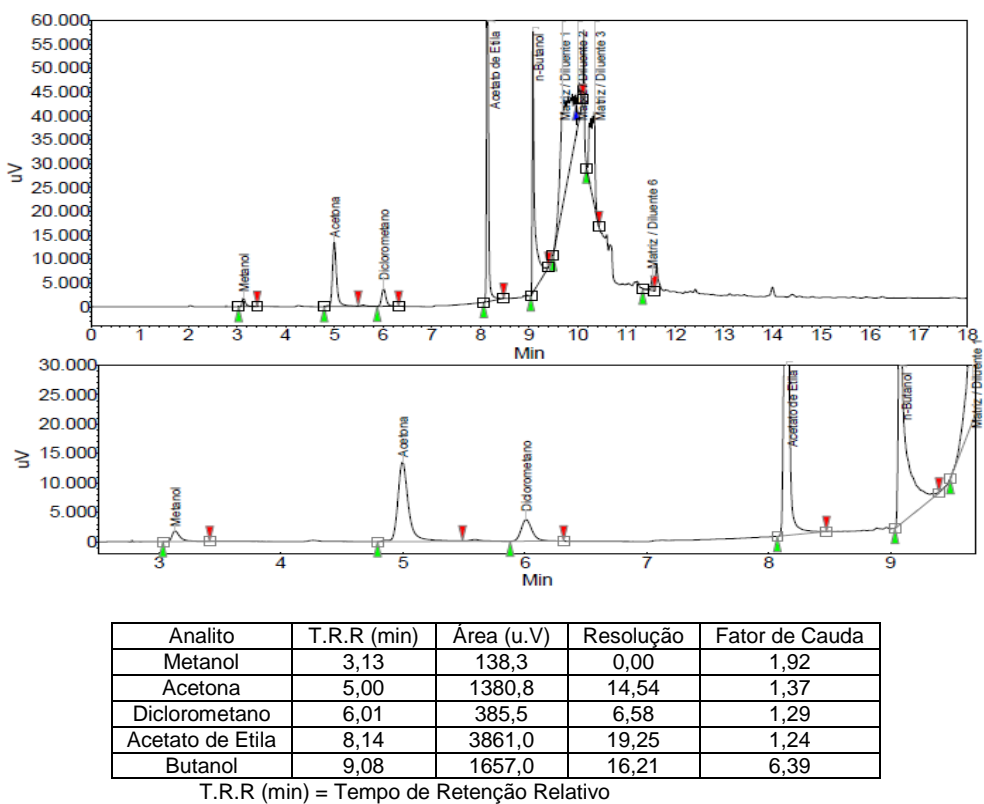
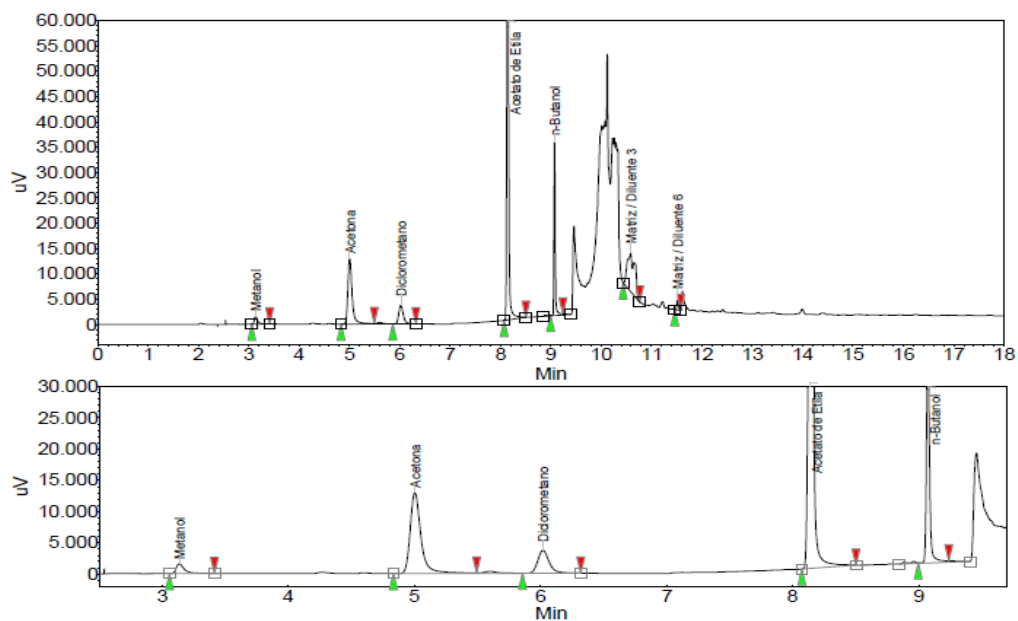


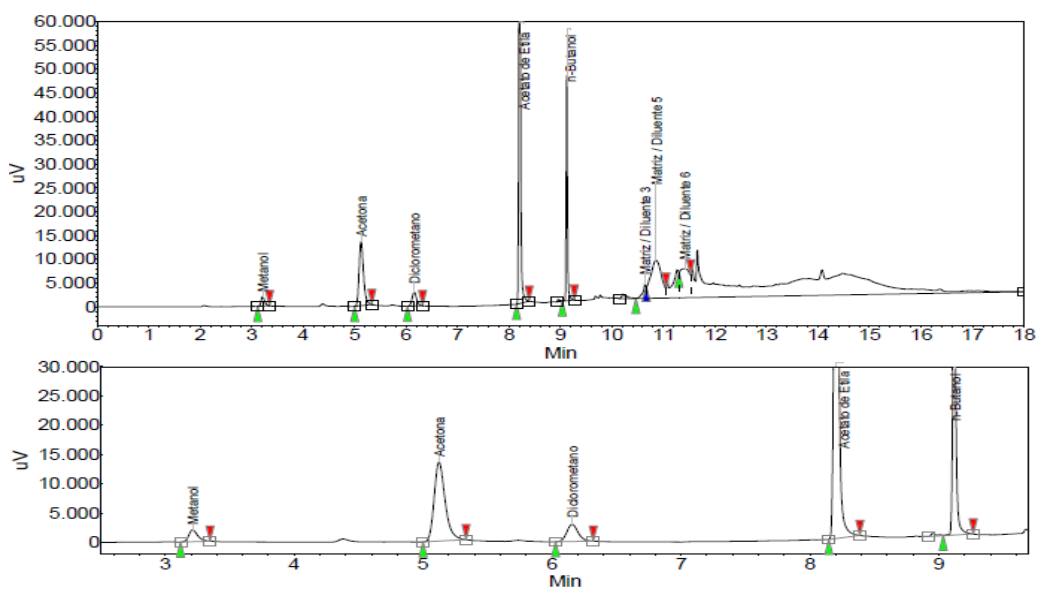
Figura A 7 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de incubação de 15 minutos



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,14	117,6	0,00	1,87
Acetona	5,00	1290,5	14,97	1,41
Diclorometano	6,02	381,9	6,80	1,26
Acetato de Etila	8,14	3782,5	19,55	1,22
Butanol	9,07	1006,4	17,88	1,23

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura A 8 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de extração de 30 segundos



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,14	117,6	0,00	1,87
Acetona	5,00	1290,5	14,97	1,41
Diclorometano	6,02	381,9	6,80	1,26
Acetato de Etila	8,14	3782,5	19,55	1,22
Butanol	9,07	1006,4	17,88	1,23

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura A 9 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de extração de 60 segundos

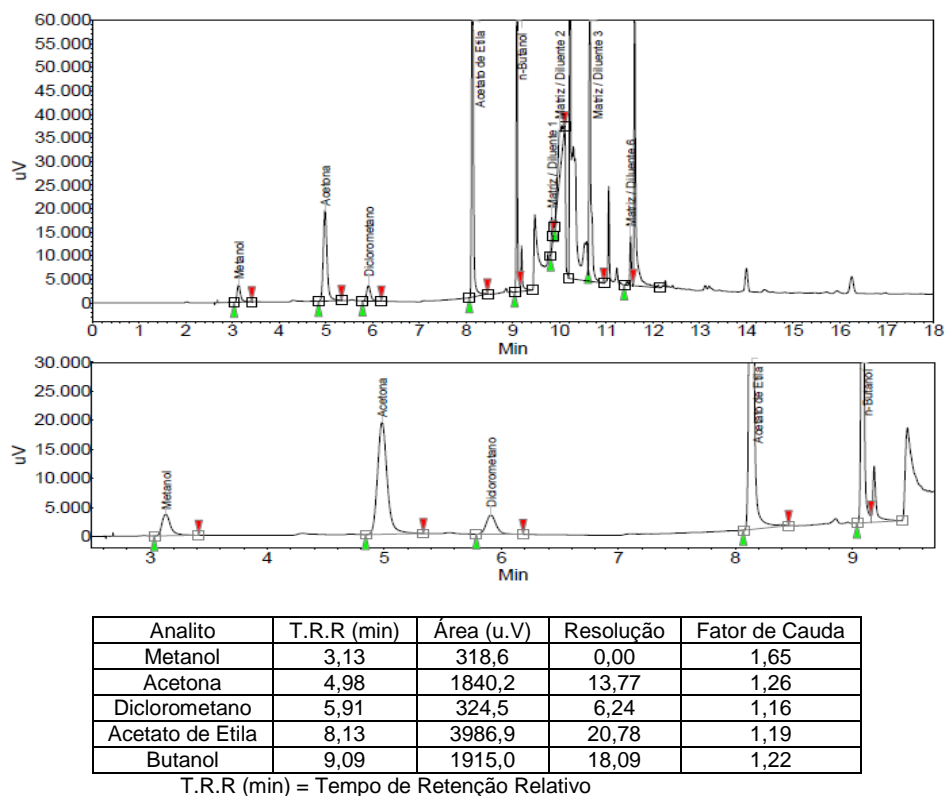


Figura A 10 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de extração de 120 segundos

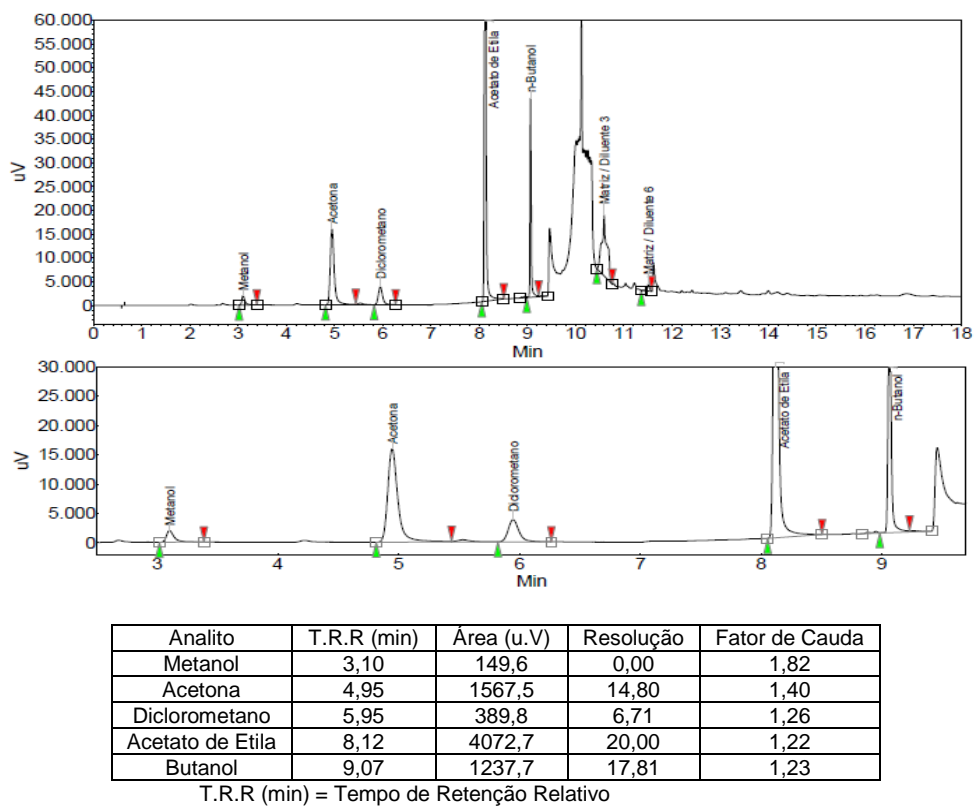
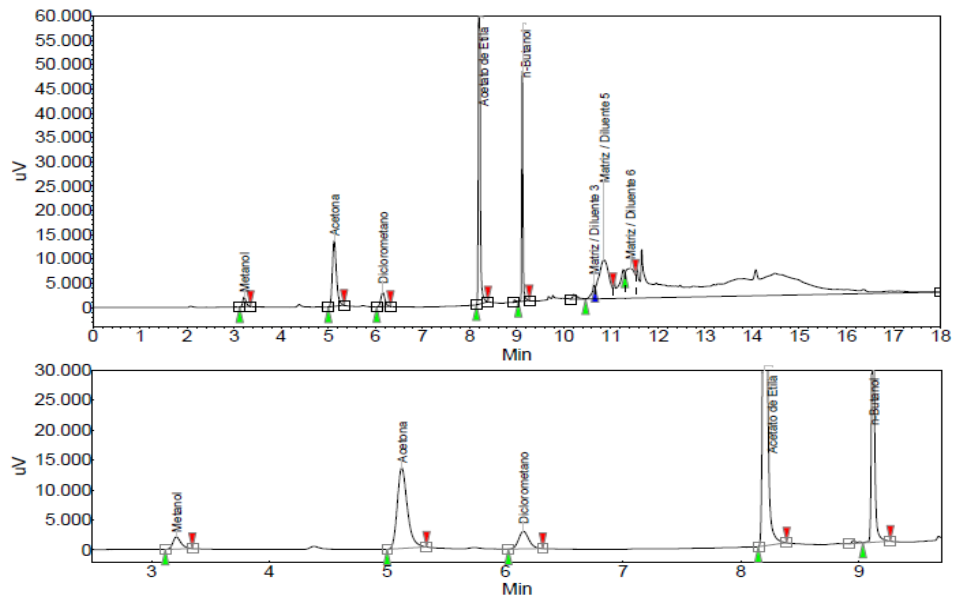


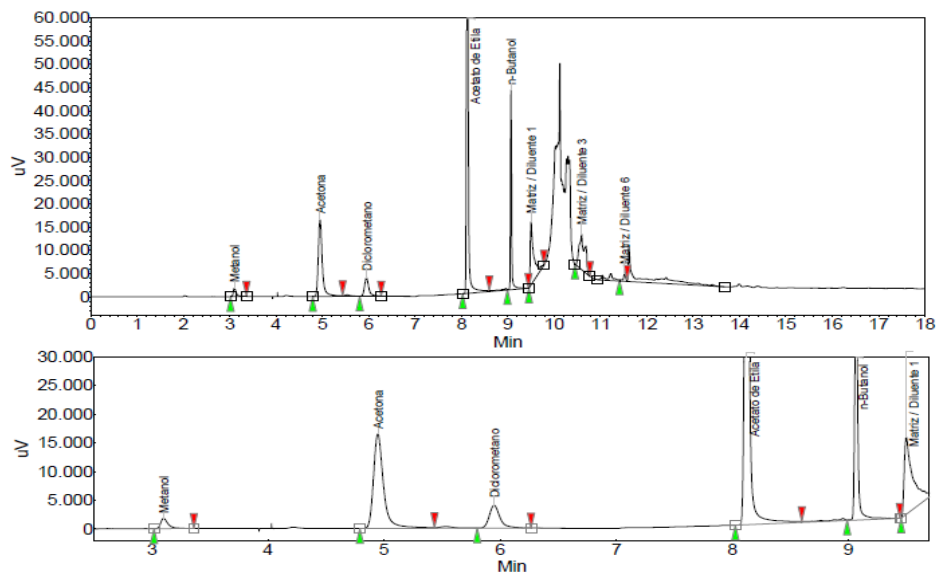
Figura A 11 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de desorção 0,60 minutos



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,21	160,7	0,00	1,58
Acetona	5,12	1239,9	14,01	1,42
Diclorometano	6,16	294,5	6,65	1,22
Acetato de Etila	8,20	3684,4	18,84	1,24
Butanol	9,12	1397,0	17,69	1,26

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura A 12 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de dessorção 2,5 minutos



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,10	133,3	0,00	1,87
Acetona	4,95	1664,9	14,61	1,41
Diclorometano	5,95	421,4	6,63	1,37
Acetato de Etila	8,13	4465,0	19,85	1,18
Butanol	9,07	1323,5	17,50	1,28

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura A 13 – Cromatograma referente a solução amostra tempo de dessorção 4 minutos

APÊNDICE B: No apêndice B estão os cromatogramas obtidos do parâmetro de especificidade da validação do método analítico, avaliando parâmetros de resolução e interferência na solução amostra, utilizando as injeções das soluções Analito 1, 2, 3, 4 e padrão interno individualmente para efeito de identificação dos picos no cromatograma. Também constam os cromatogramas obtidos do parâmetro de linearidade da validação do método analítico. A exatidão e precisão primeiro e segundo dia foram calculadas a partir dos níveis 1 (20%), 4 (80%) e 6 (120%) da linearidade conforme descrito no item 6.3 e

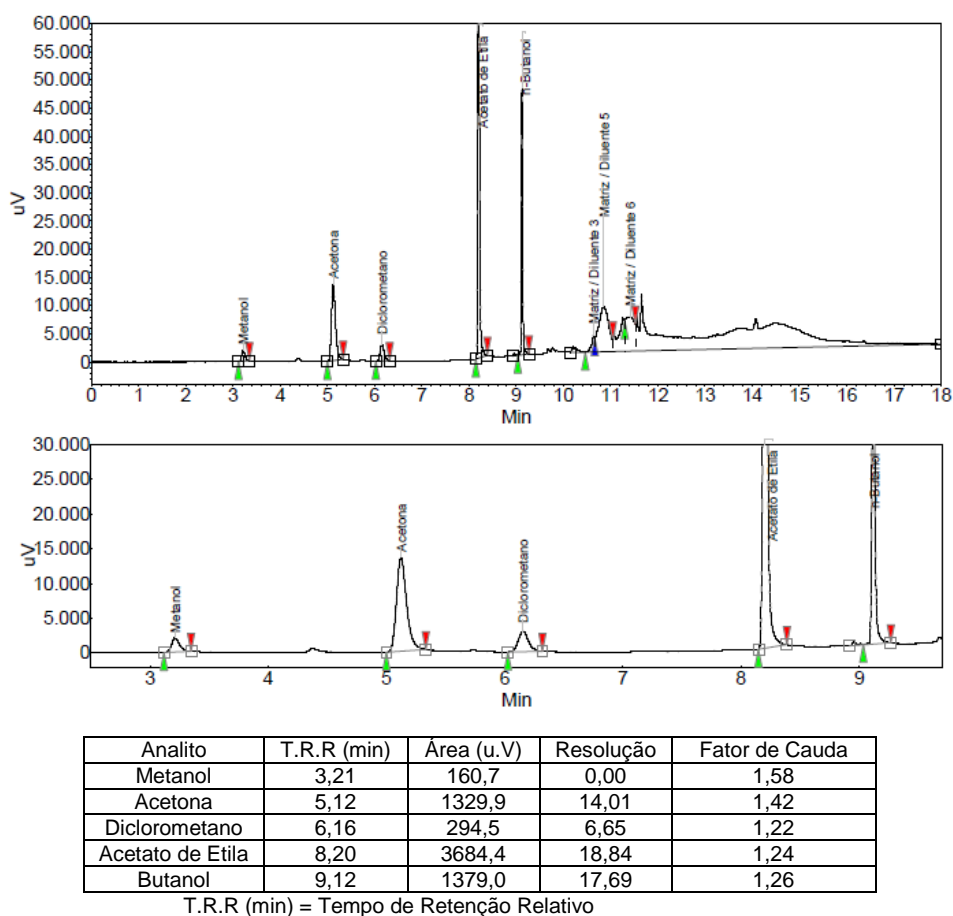
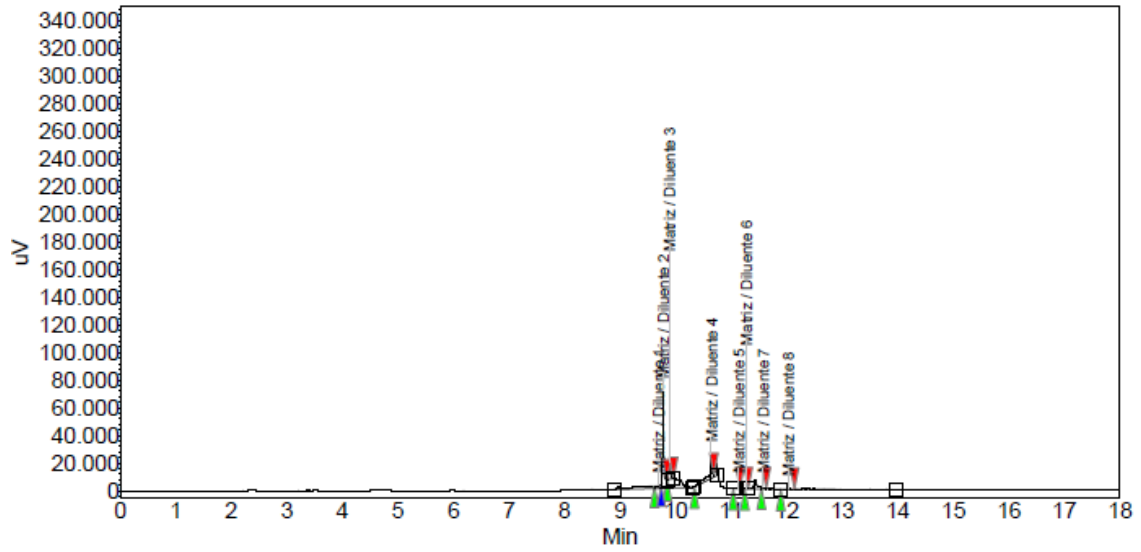


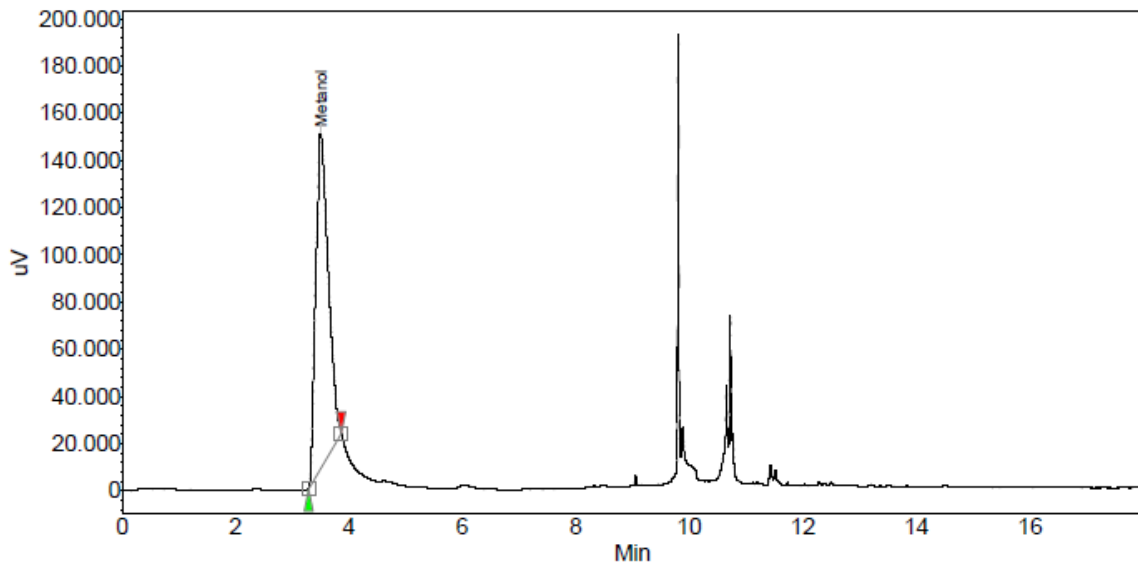
Figura B 1 – Cromatograma referente a solução amostra no estudo de especificidade



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de Etila	-	-	-	-
Butanol	-	-	-	-

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

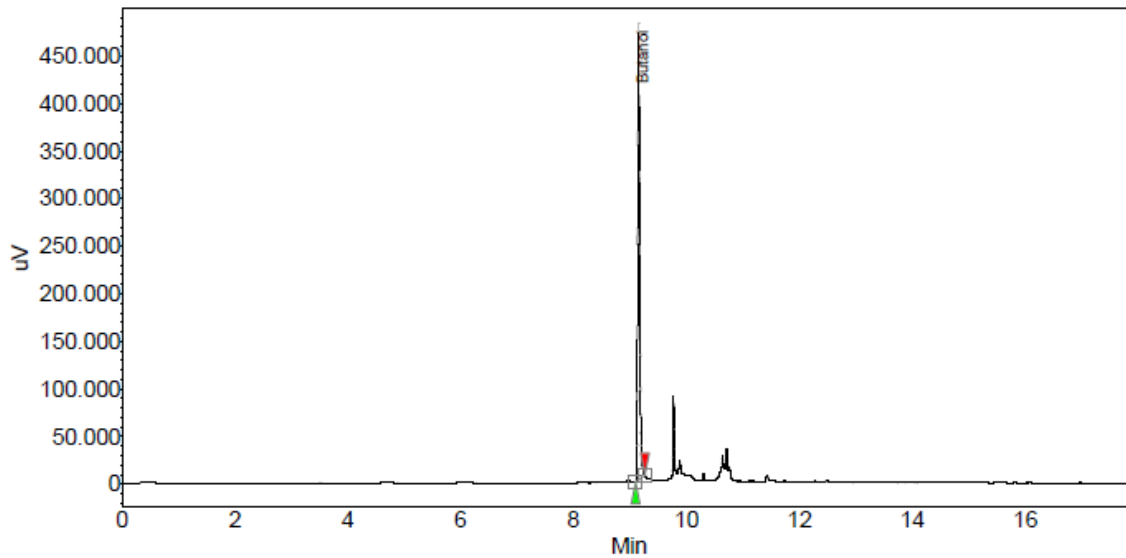
Figura B 2 – Cromatograma referente a solução branco no estudo de especificidade



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,50	36450,9	0,00	2,18
Acetona	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de Etila	-	-	-	-
Butanol	-	-	-	-

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

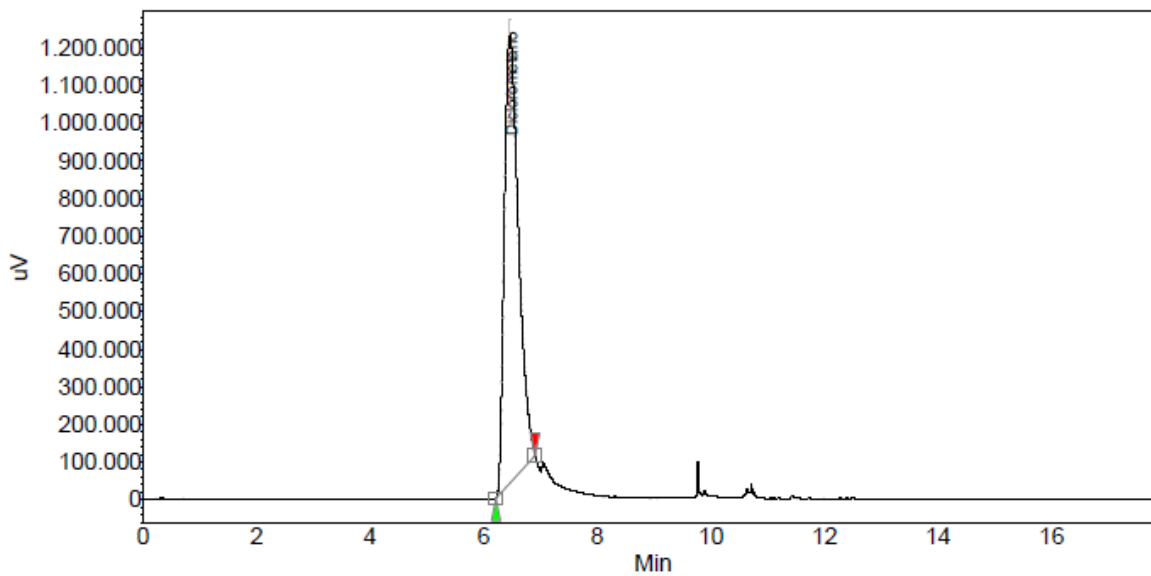
Figura B 3 – Cromatograma referente a solução Analito 1 (metanol) no estudo de especificidade



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de Etila	-	-	-	-
Butanol	9,15	18817,9	0,00	1,44

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

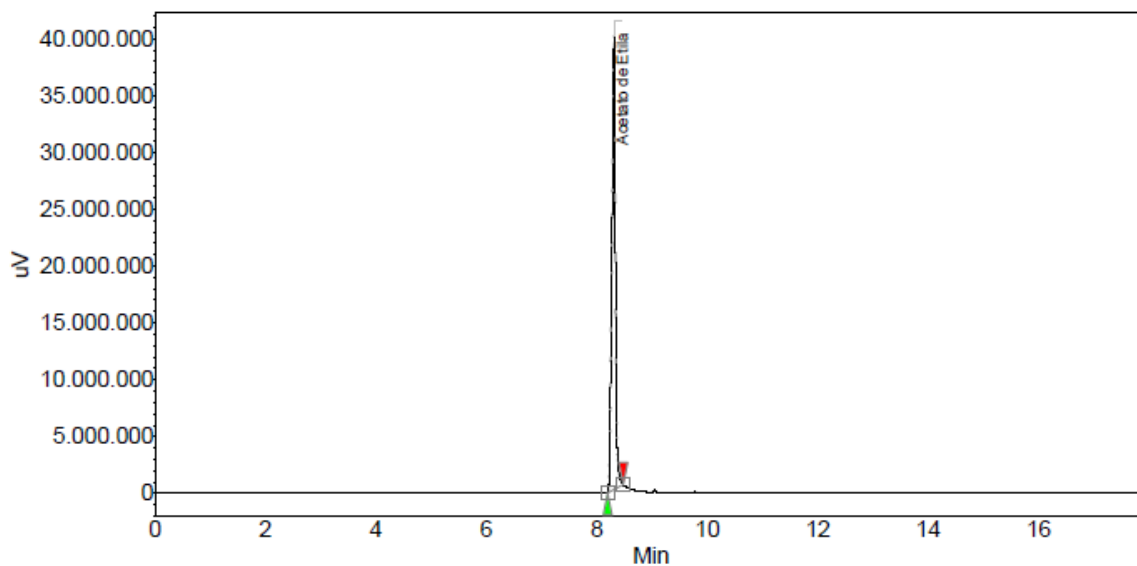
Figura B 4 – Cromatograma referente a solução Analito 2 (butanol) no estudo de especificidade



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	-
Diclorometano	6,45	343411,6	0,00	1,89
Acetato de Etila	-	-	-	-
Butanol	-	-	-	-

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

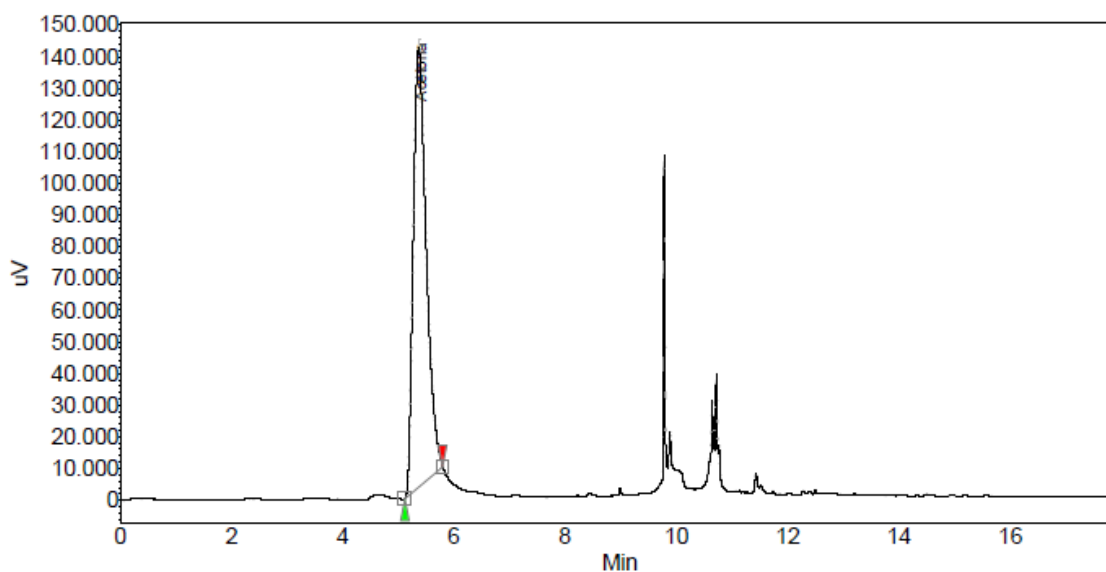
Figura B 5 – Cromatograma referente a solução Analito 3 (diclorometano) no estudo de especificidade



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de Etila	8,31	2979118,9	0,00	1,92
Butanol	-	-	-	-

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 6 – Cromatograma referente a solução Analito 4 (acetato de etila) no estudo de especificidade



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	-	-	-	-
Acetona	5,37	37711,6	0,00	1,85
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de Etila	-	-	-	-
Butanol	-	-	-	-

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 7 – Cromatograma referente ao Padrão Interno (acetona) no estudo de especificidade

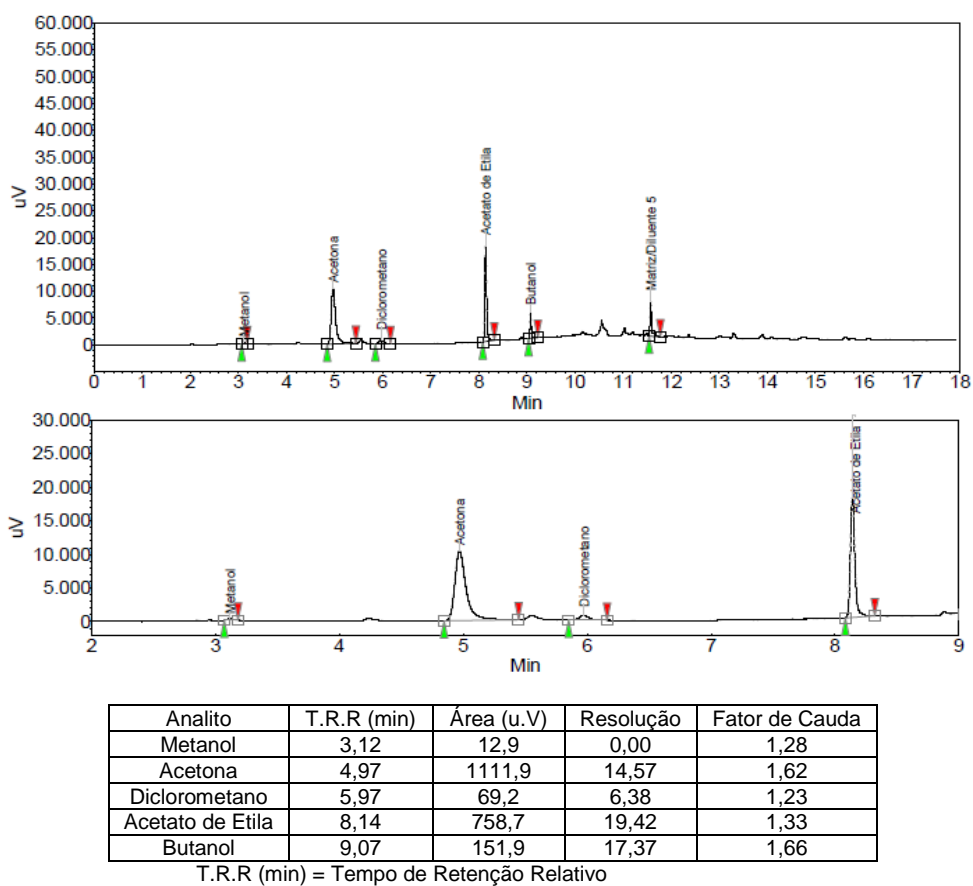


Figura B 8 – Cromatograma solução amostra nível 1 (20%) da linearidade 1

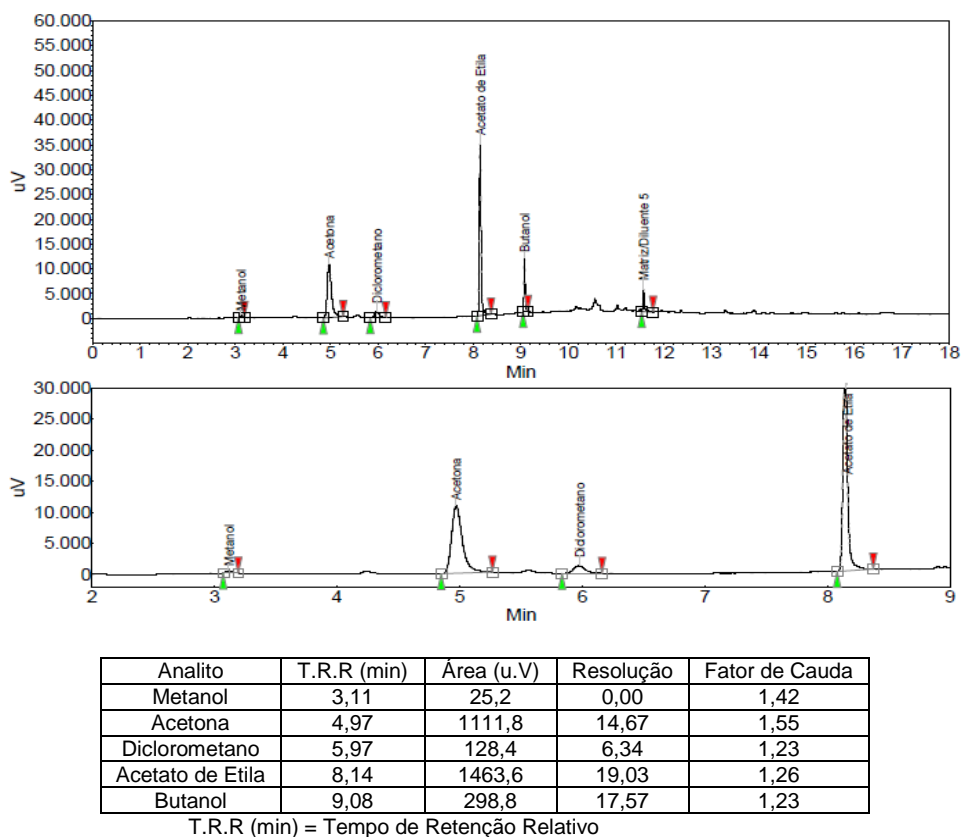


Figura B 9 – Cromatograma solução amostra nível 2 (40%) da linearidade 1

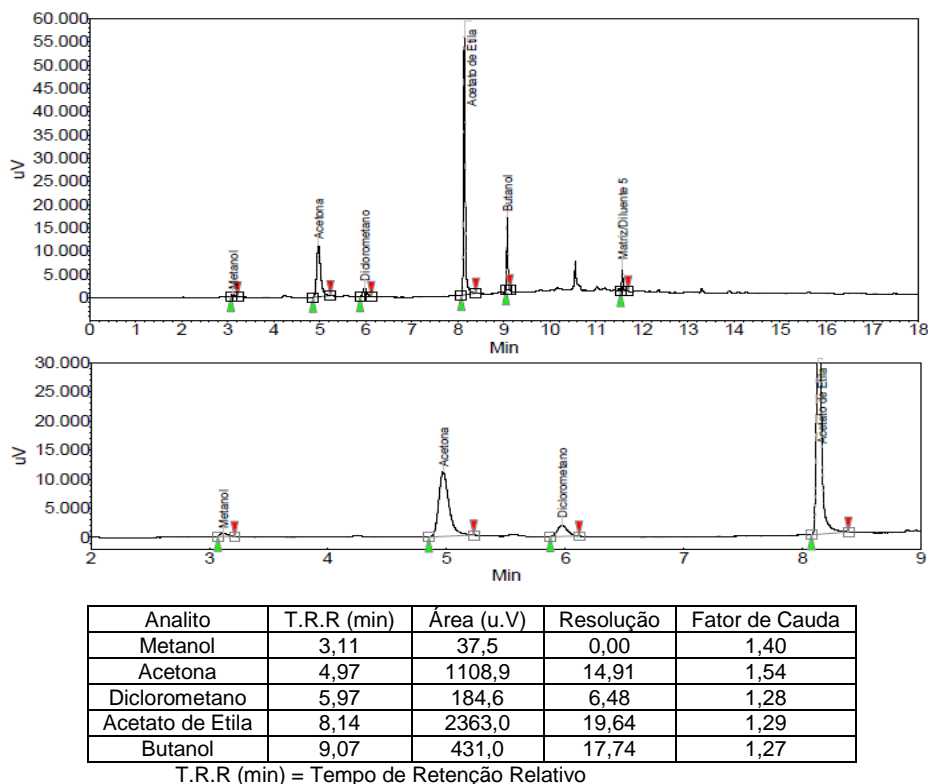


Figura B 10 – Cromatograma solução amostra nível 3 (60%) da linearidade 1

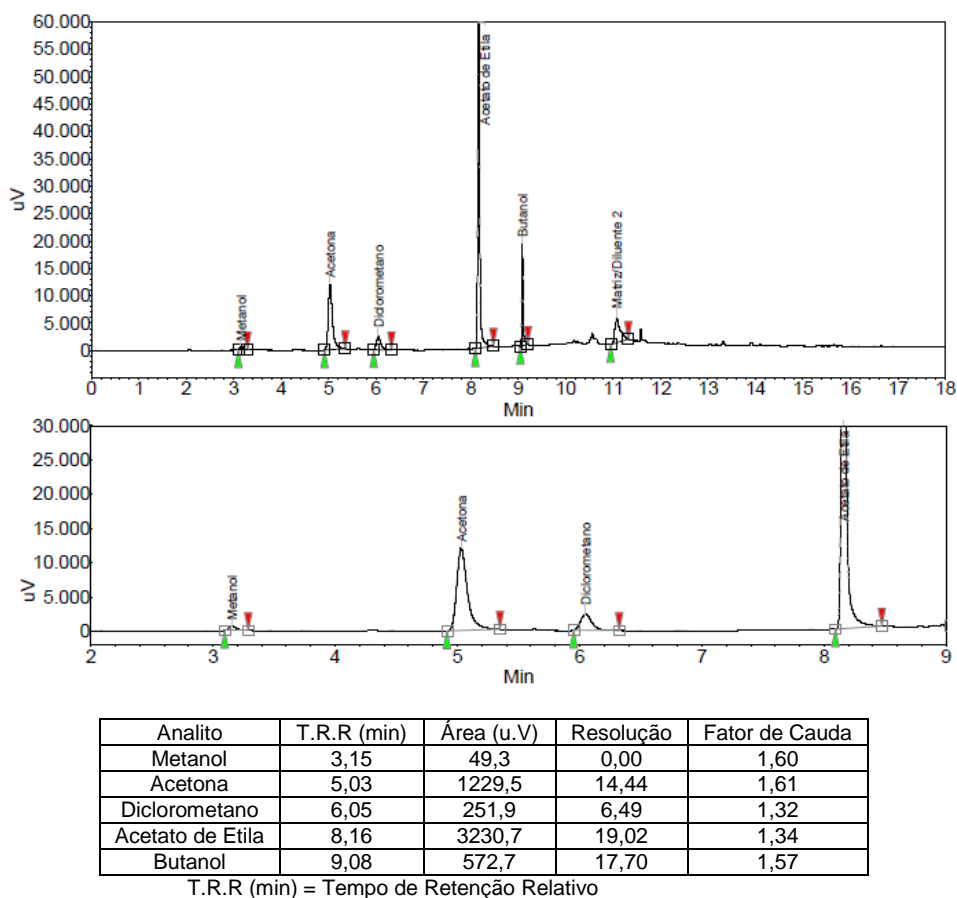


Figura B 11 – Cromatograma solução amostra nível 4 (80%) da linearidade 1

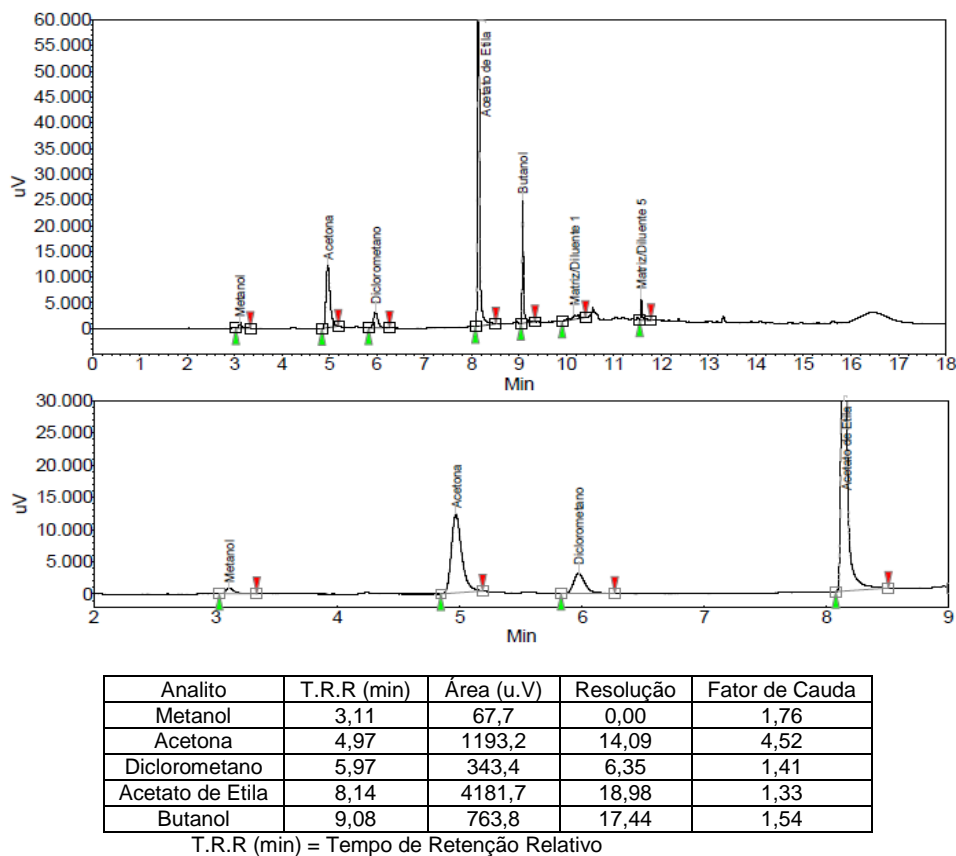


Figura B 12 – Cromatograma solução amostra nível 5 (100%) da linearidade 1

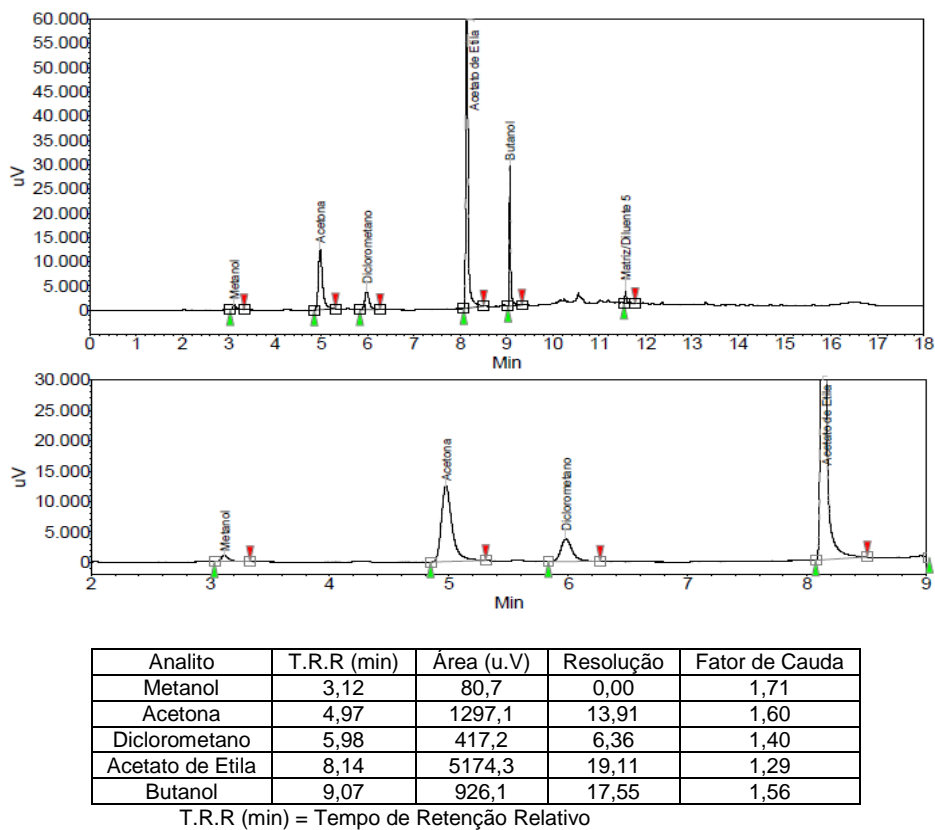
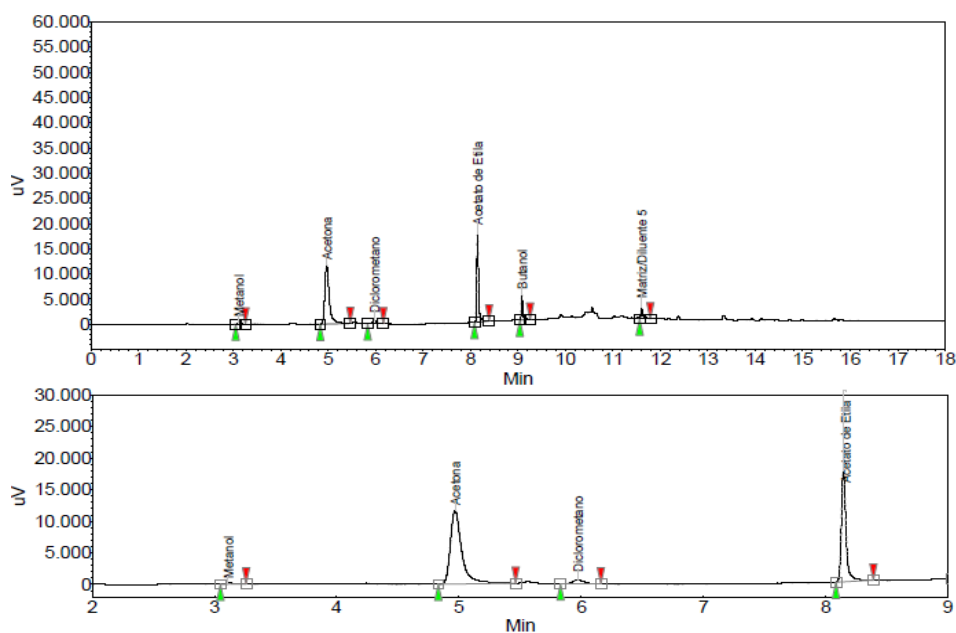


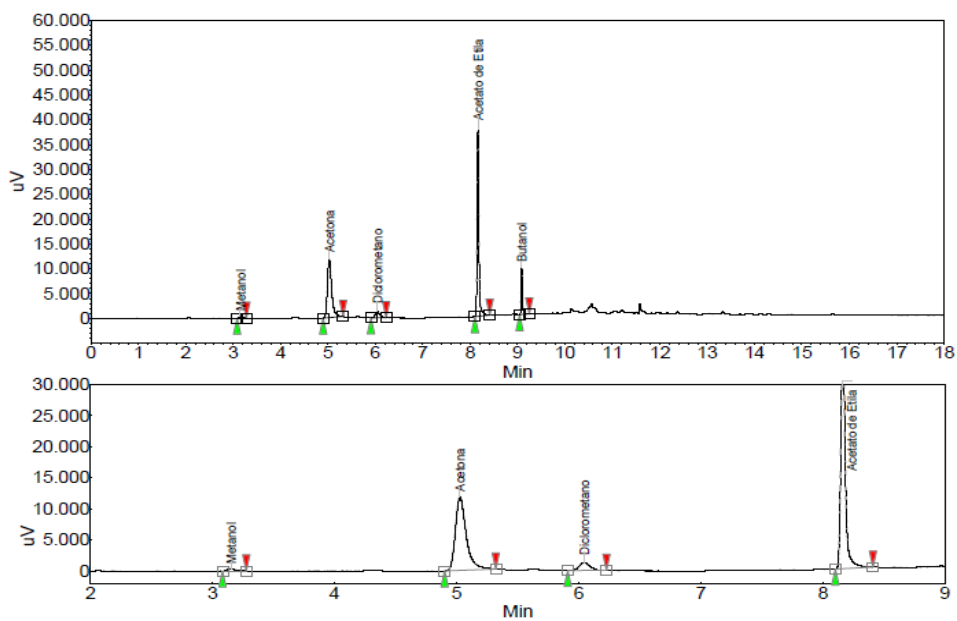
Figura B 13 – Cromatograma solução amostra nível 6 (120%) da linearidade 1



Análito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,12	80,7	0,00	1,71
Acetona	4,97	1297,1	13,91	1,60
Diclorometano	5,98	417,2	6,36	1,40
Acetato de Etila	8,14	5174,3	19,11	1,29
Butanol	9,07	926,1	17,55	1,56

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 14 – Cromatograma solução amostra nível 1 (20%) da linearidade 2



Análito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,15	25,7	0,00	1,69
Acetona	5,03	1221,8	13,99	1,61
Diclorometano	6,04	129,4	6,36	1,33
Acetato de Etila	8,16	1580,7	18,80	1,35
Butanol	9,09	9,26	17,51	1,72

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 15 – Cromatograma solução amostra nível 2 (40%) da linearidade 2

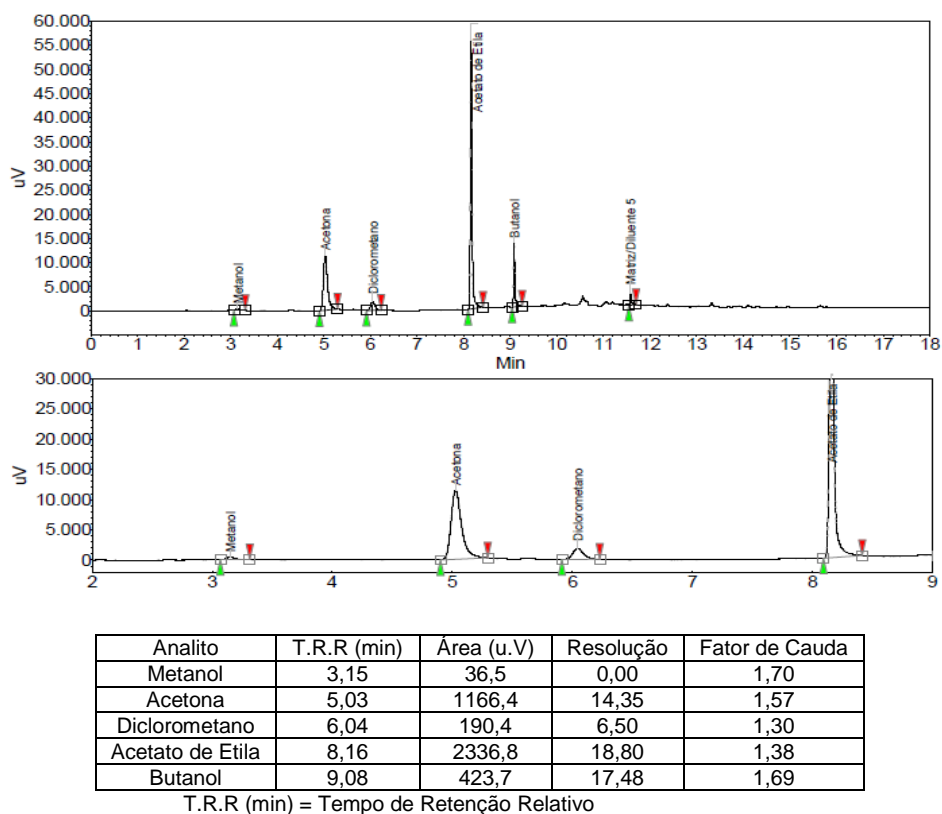


Figura B 16 – Cromatograma solução amostra nível 3 (60%) da linearidade 2

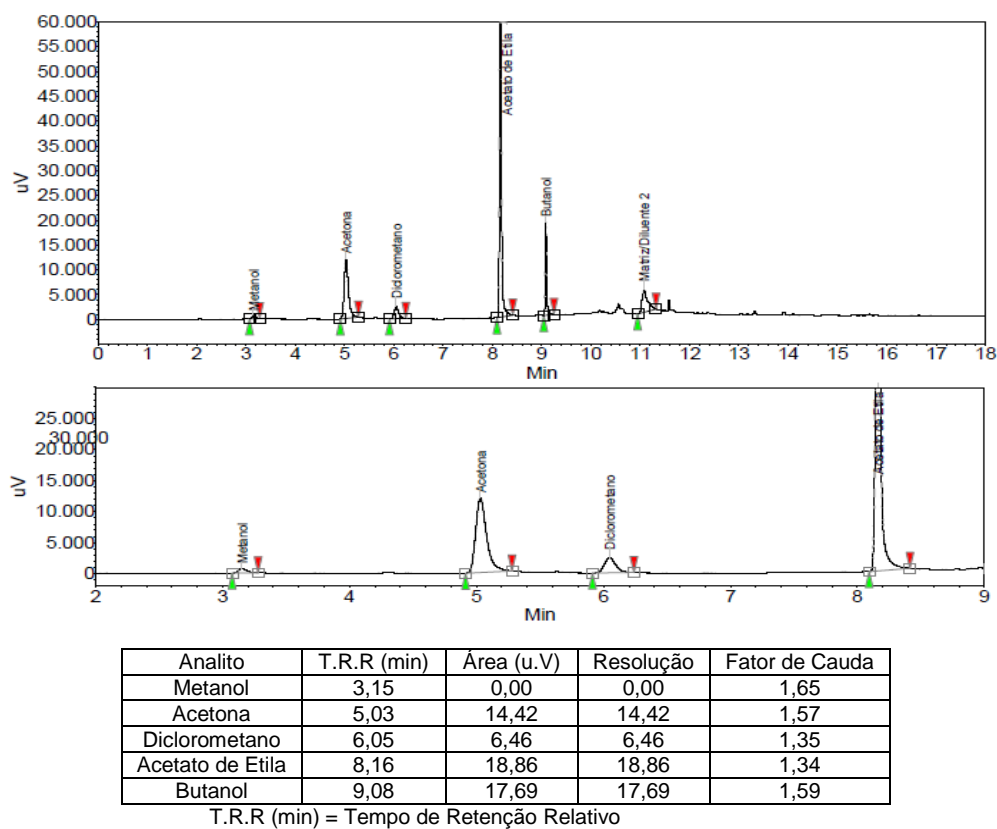
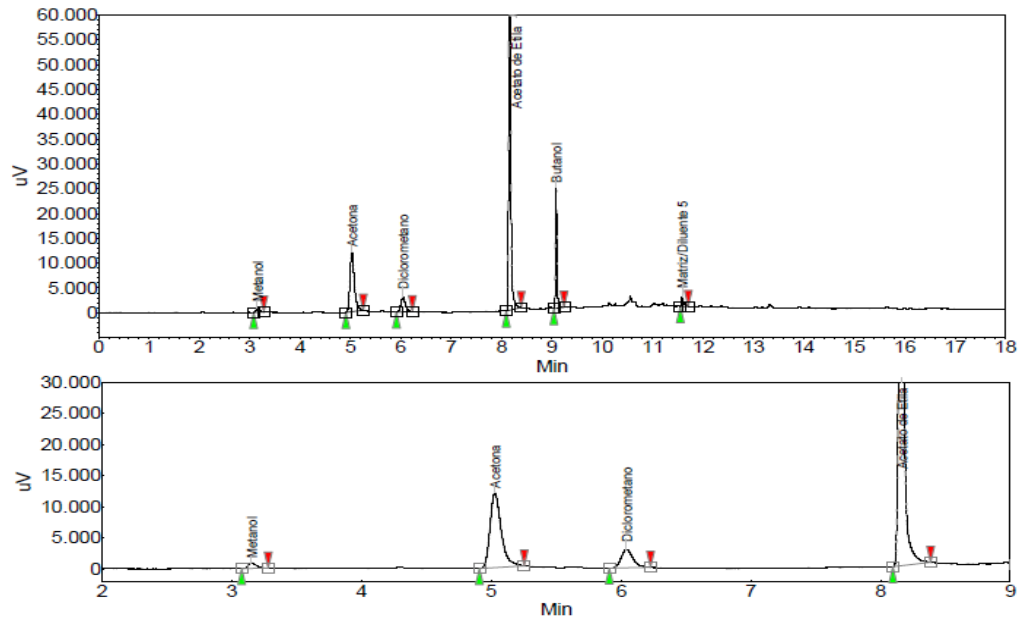


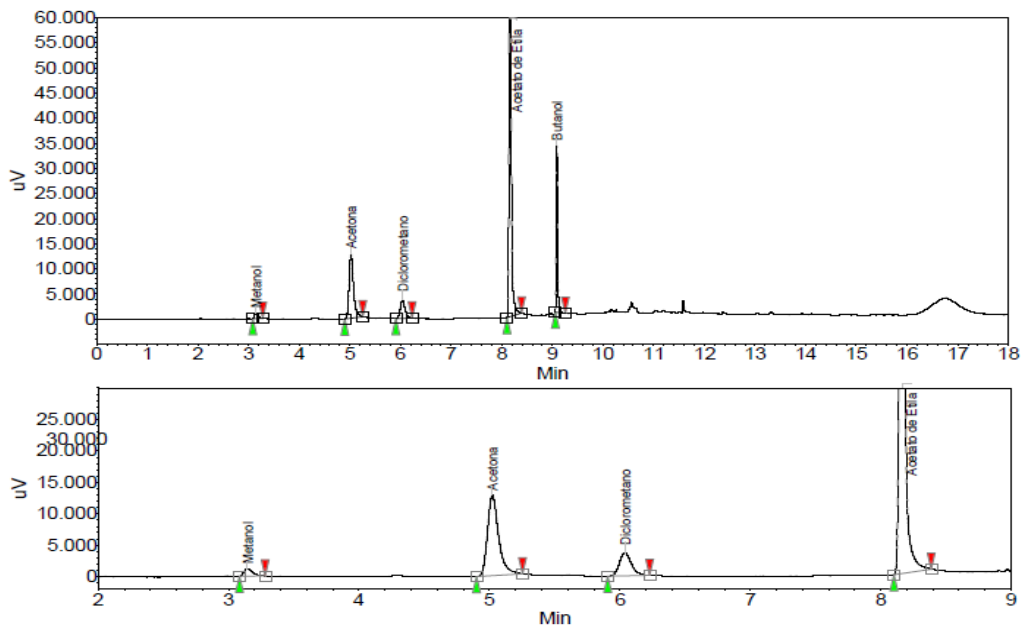
Figura B 17 – Cromatograma solução amostra nível 4 (80%) da linearidade 2



Análito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,15	64,2	0,00	1,77
Acetona	5,03	1189,9	14,23	1,53
Diclorometano	6,04	311,6	6,56	1,34
Acetato de Etila	8,16	4004,4	19,09	1,32
Butanol	9,08	743,9	17,51	1,50

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 18 – Cromatograma solução amostra nível 5 (100%) da linearidade 2



Análito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,14	83,7	0,00	1,58
Acetona	5,02	1260,2	14,17	1,54
Diclorometano	6,04	386,9	6,51	1,35
Acetato de Etila	8,16	5058,4	19,03	1,30
Butanol	9,09	971,5	17,73	1,40

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 19 – Cromatograma solução amostra nível 6 (120%) da linearidade

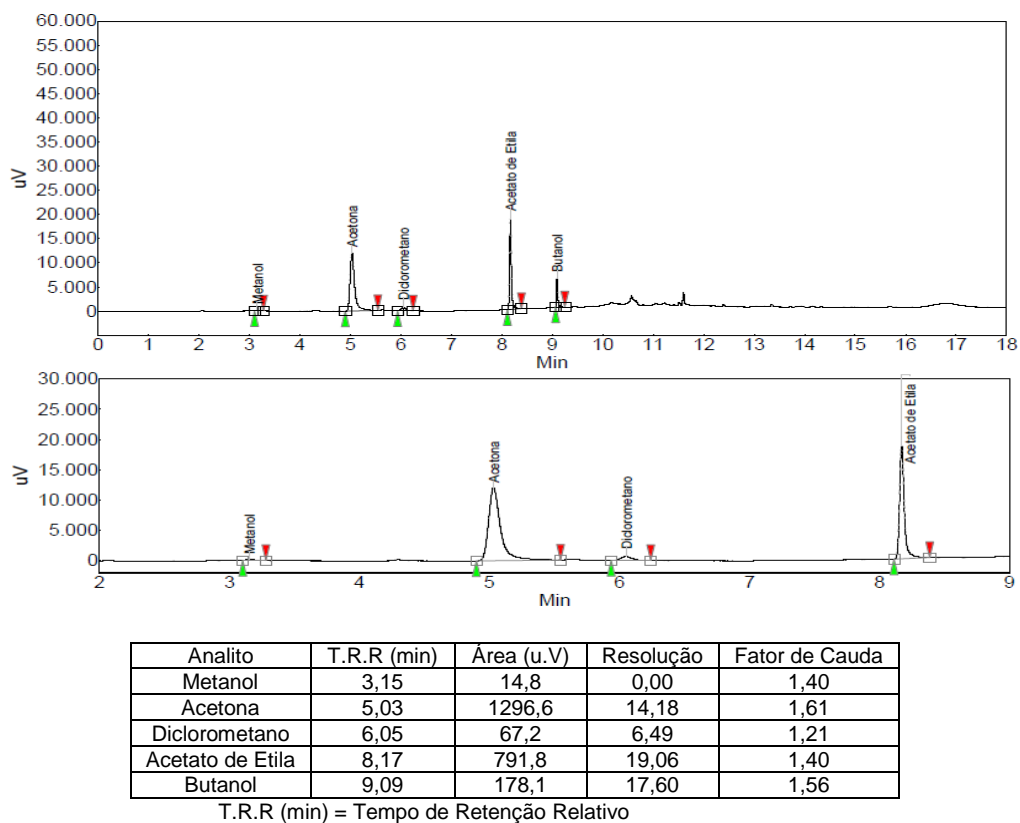


Figura B 20 – Cromatograma solução amostra nível 1 (20%) da linearidade 3

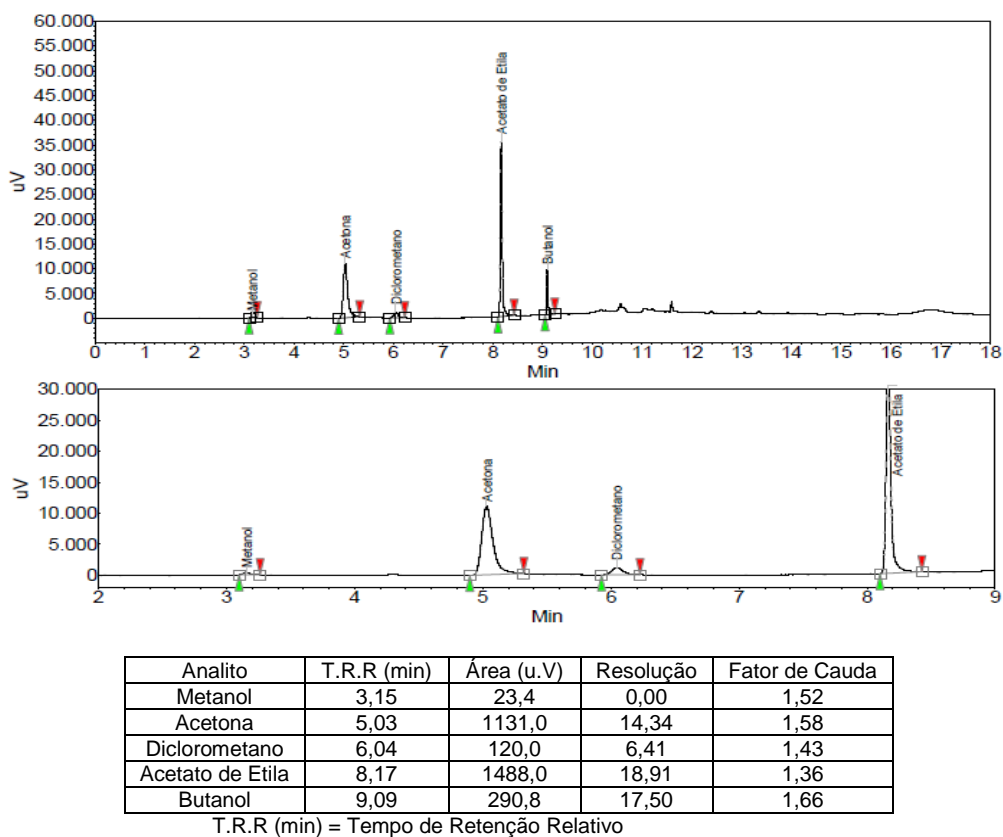
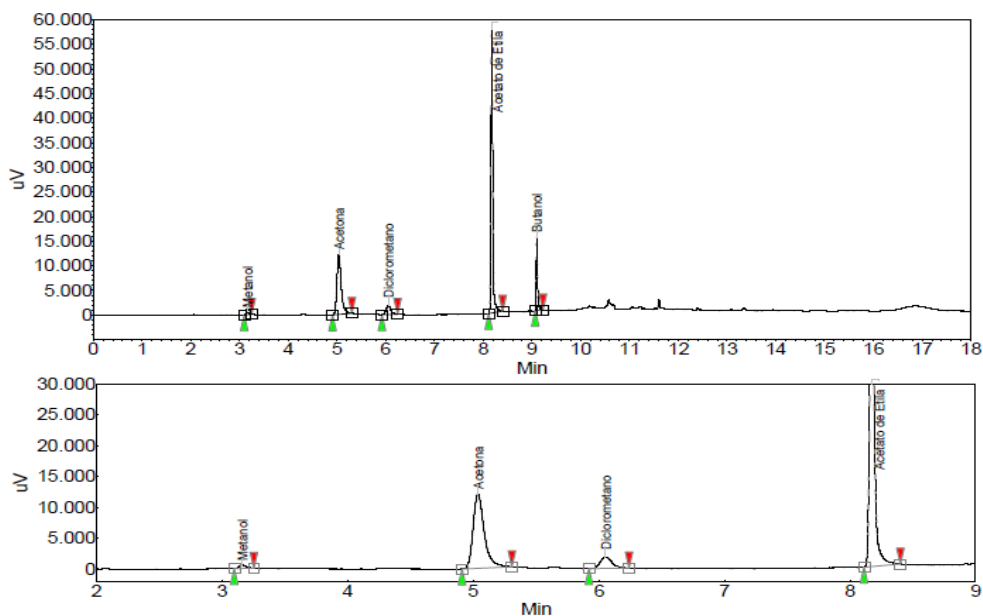


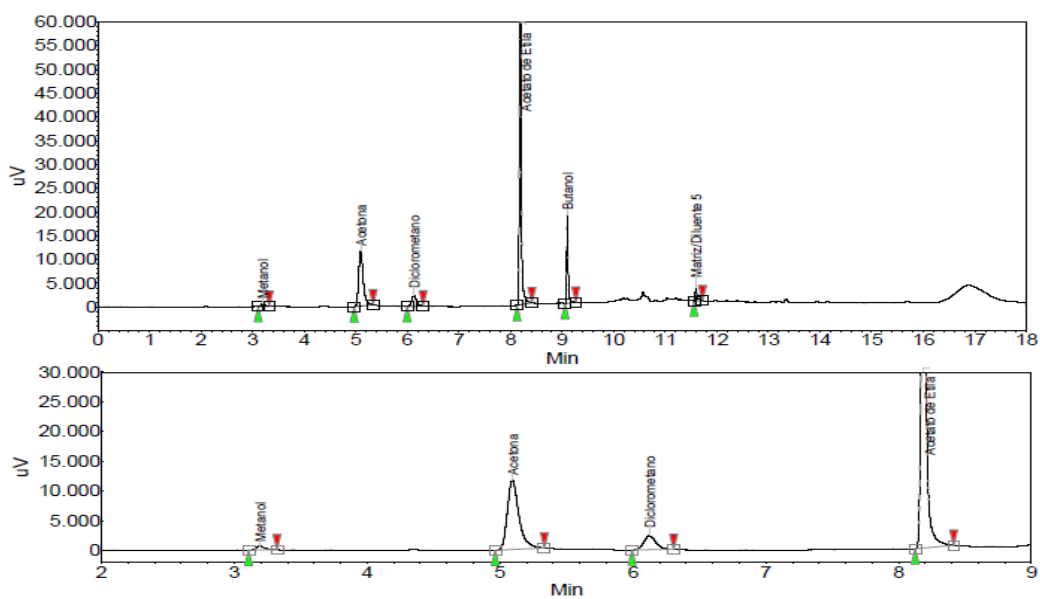
Figura B 21 – Cromatograma solução amostra nível 2 (40%) da linearidade 3



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,15	23,4	0,00	1,52
Acetona	5,03	1131,0	14,34	1,58
Diclorometano	6,04	120,0	6,41	1,43
Acetato de Etila	8,17	1488,0	18,91	1,36
Butanol	9,09	290,8	17,50	1,66

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

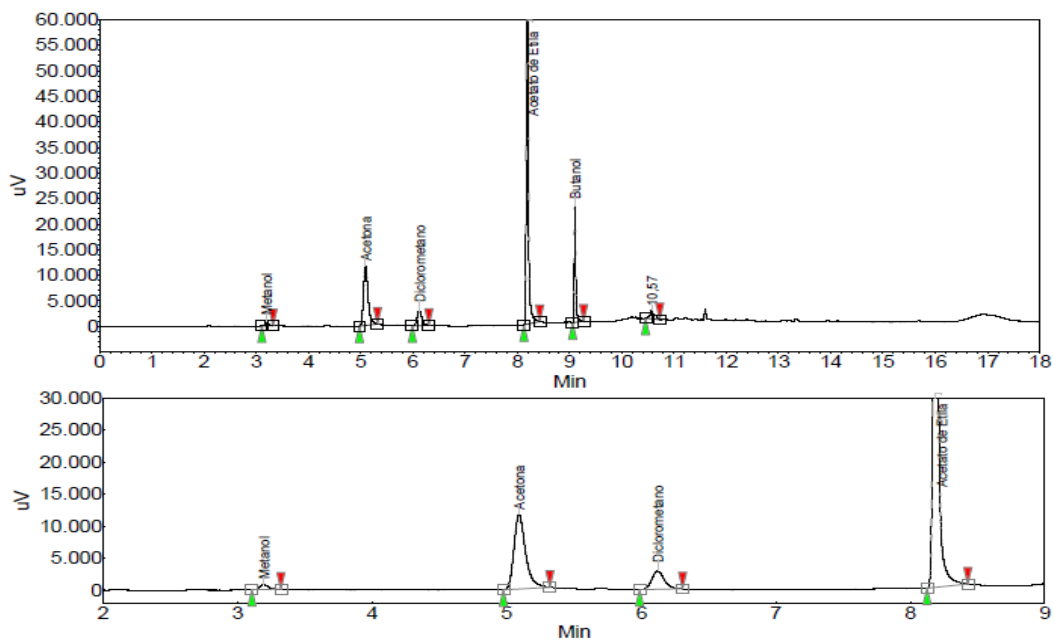
Figura B 22 – Cromatograma solução amostra nível 3 (60%) da linearidade 3



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,19	47,2	0,00	1,68
Acetona	5,09	1180,9	14,38	1,51
Diclorometano	6,13	252,3	6,51	1,29
Acetato de Etila	8,19	3136,5	18,33	1,32
Butanol	9,10	582,0	17,50	1,56

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

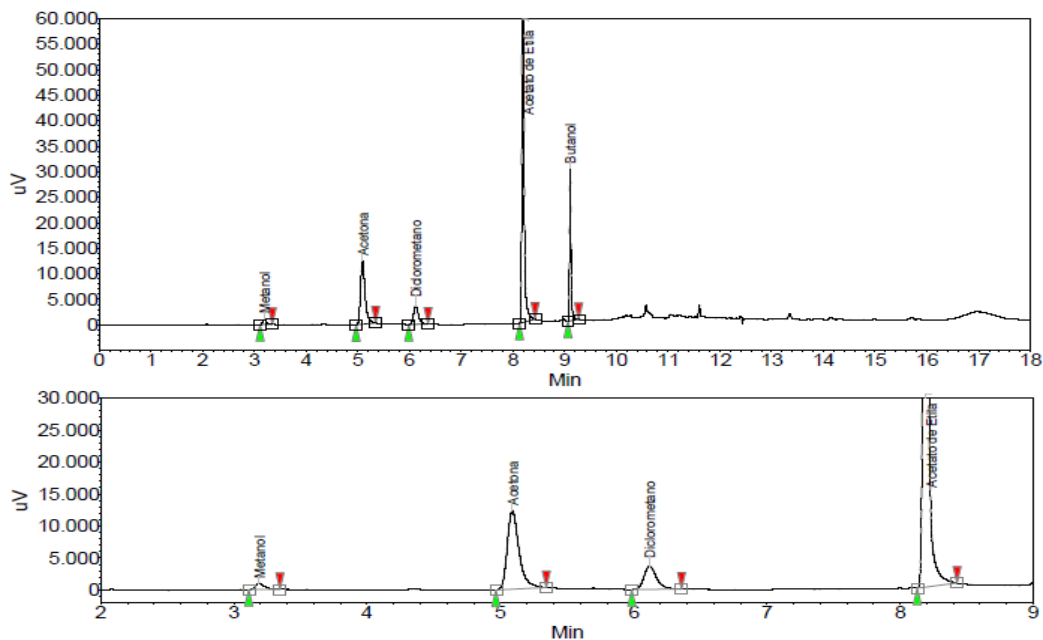
Figura B 23 – Cromatograma solução amostra nível 4 (80%) da linearidade 3



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,19	58,3	0,00	1,73
Acetona	5,09	1165,9	14,44	1,55
Diclorometano	6,12	305,6	6,56	1,31
Acetato de Etila	8,19	3914,1	18,42	1,33
Butanol	9,10	710,8	17,54	1,59

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 24 – Cromatograma solução amostra nível 5 (100%) da linearidade 3



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,19	74,9	0,00	1,75
Acetona	5,09	1257,5	14,16	1,51
Diclorometano	6,12	396,9	6,36	1,38
Acetato de Etila	8,19	499,6	18,14	1,32
Butanol	9,10	920,6	17,47	1,54

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 25 – Cromatograma solução amostra nível 6 (120%) da linearidade 3

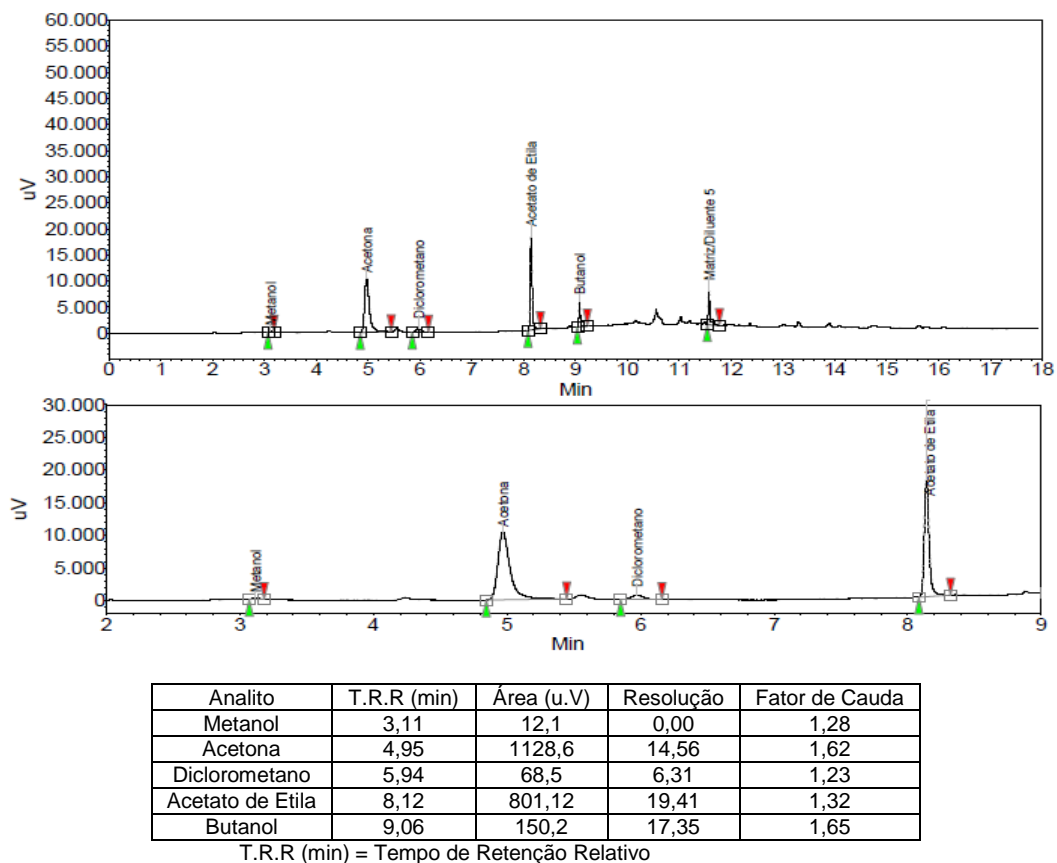


Figura B 26 – Cromatograma solução amostra do nível 1 (20%) da exatidão e precisão segundo dia primeira determinação

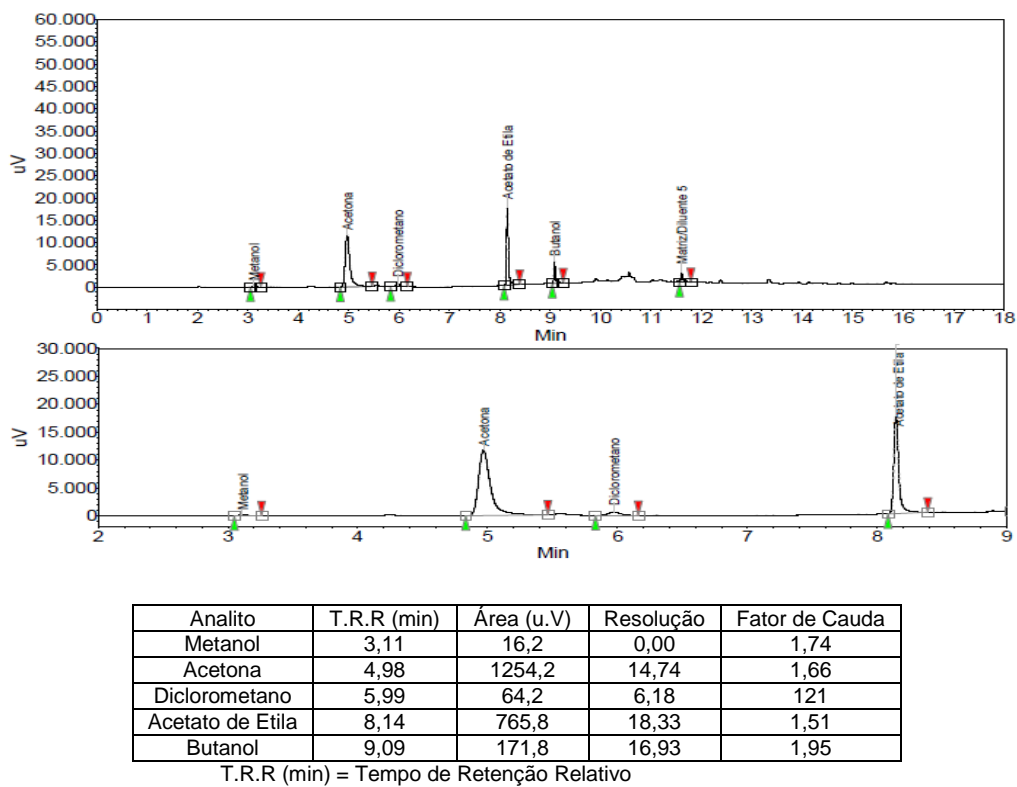


Figura B 27 – Cromatograma solução amostra do nível 1 (20%) da exatidão e precisão segundo dia segunda determinação

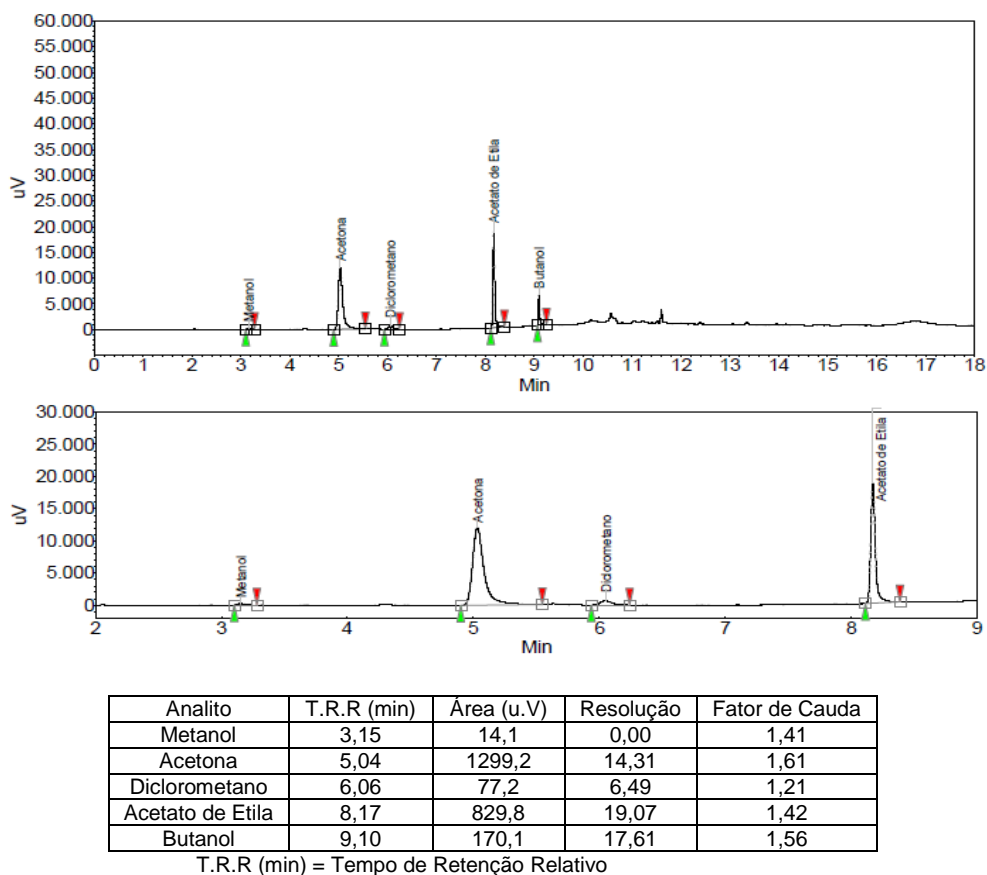


Figura B 28 – Cromatograma solução amostra do nível 1 (20%) da exatidão e precisão segundo dia terceira determinação

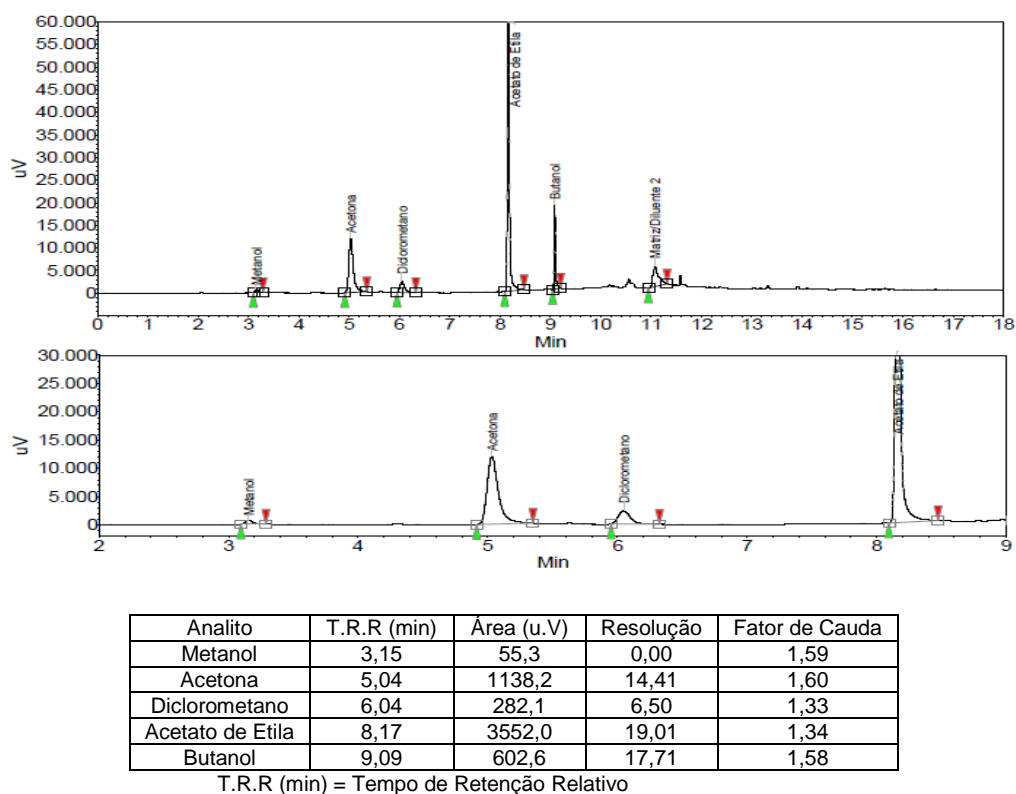
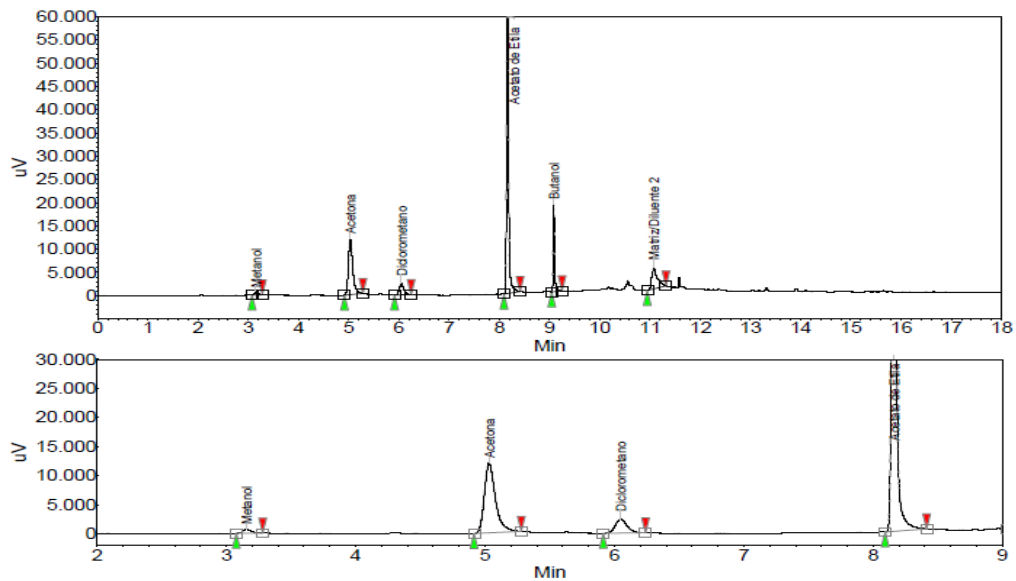


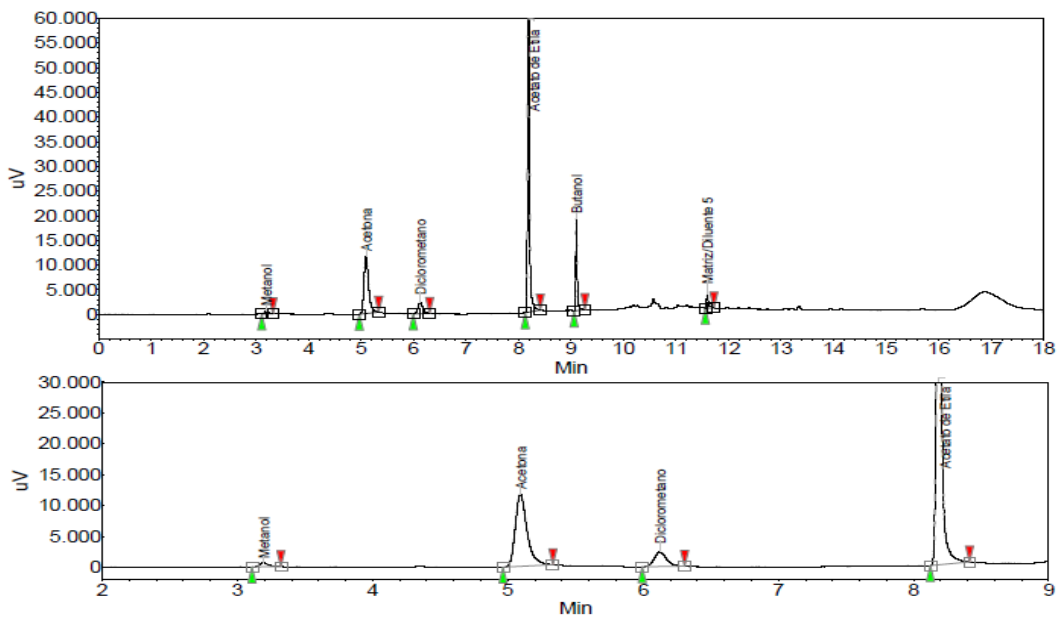
Figura B 29 – Cromatograma solução amostra do nível 4 (80%) da exatidão e precisão segundo dia primeira determinação



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,16	55,2	0,00	1,65
Acetona	5,04	1201,5	14,13	1,57
Diclorometano	6,08	271,2	6,46	1,36
Acetato de Etila	8,16	3189,1	18,85	1,35
Butanol	9,08	605,0	17,70	1,59

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 30 – Cromatograma solução amostra do nível 4 (80%) da exatidão e precisão segundo dia segunda determinação



Analito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3,20	45,9	0,00	1,69
Acetona	5,09	1299,2	14,35	1,51
Diclorometano	6,12	275,1	6,50	1,29
Acetato de Etila	8,18	3198,2	18,32	1,32
Butanol	9,09	578,2	17,52	1,57

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 31 – Cromatograma solução amostra do nível 4 (80%) da exatidão e precisão segundo dia terceira determinação

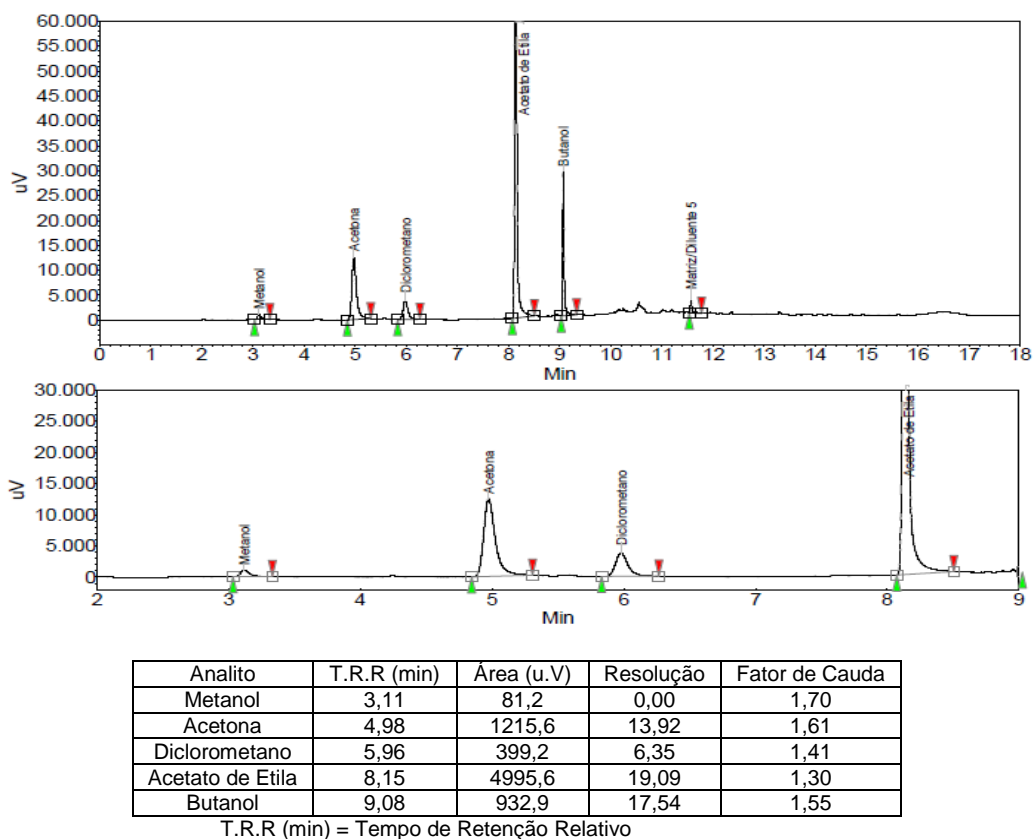


Figura B 32 – Cromatograma solução amostra do nível 6 (120%) da exatidão e precisão segundo dia primeira determinação

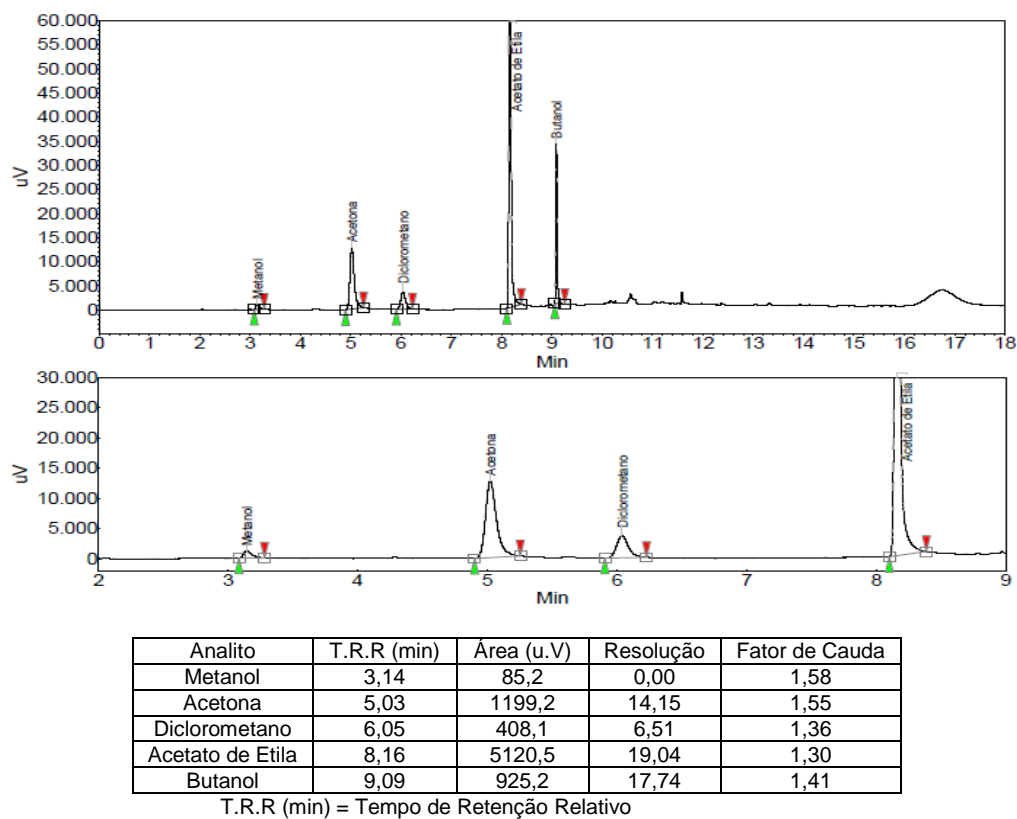
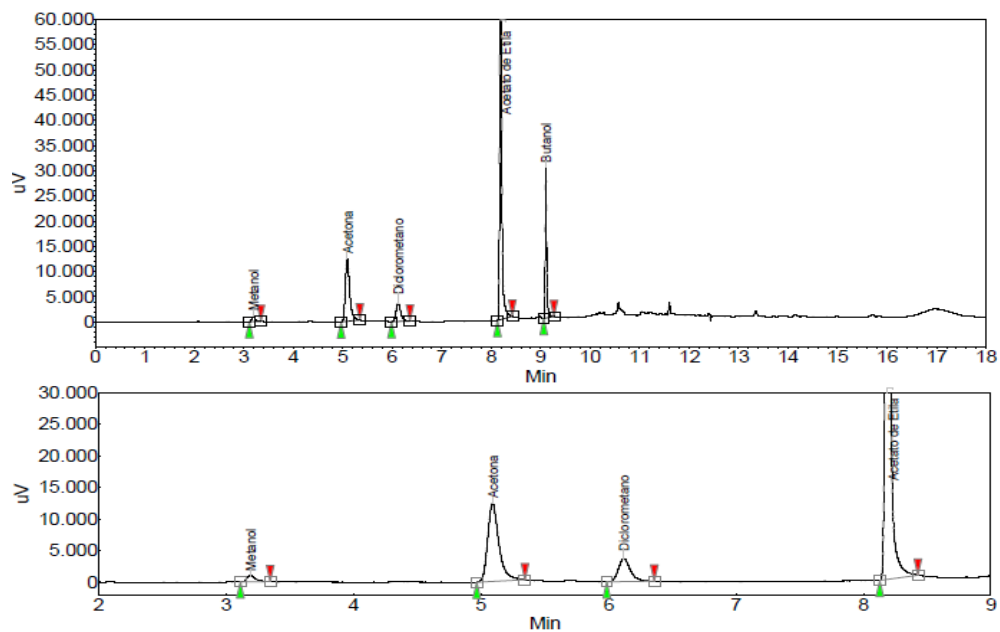


Figura B 33 – Cromatograma solução amostra do nível 6 (120%) da exatidão e precisão segundo dia segunda determinação



Análito	T.R.R (min)	Área (u.V)	Resolução	Fator de Cauda
Metanol	3.18	69.9	0.00	1.75
Acetona	5.10	1235.5	14.17	1.52
Diclorometano	6.13	422.1	6.36	1.39
Acetato de Etila	8.20	4898.6	18.15	1.33
Butanol	9.09	898.4	17.45	1.55

T.R.R (min) = Tempo de Retenção Relativo

Figura B 34 – Cromatograma solução amostra do nível 6 (120%) da exatidão e precisão segundo dia terceira determinação