



RENATA DA COSTA MAGUETA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE SORVENTE C8
IMOBILIZADO TERMICAMENTE SOBRE SÍLICA ZIRCONIZADA PARA EXTRAÇÃO
EM FASE SÓLIDA**

**CAMPINAS
2013**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

RENATA DA COSTA MAGUETA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE SORVENTE C8 SOBRE
SÍLICA ZIRCONIZADA PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

ORIENTADOR: PROF^a. DR^a. ISABEL CRISTINA SALES FONTES JARDIM

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM QUÍMICA NA
ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA.**

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR RENATA DA COSTA MAGUETA E ORIENTADA PELA PROF^a.DR^a. ISABEL CRISTINA SALES FONTES JARDIM.

Assinatura do Orientador

**CAMPINAS
2013**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

M276p Magueta, Renata da Costa (1984-).
Preparação, caracterização e aplicação de sorvente
C8 imobilizado termicamente sobre sílica zirconizada
para extração em fase sólida / Renata da Costa
Magueta. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientadora: Isabel Cristina Sales Fontes Jardim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Extração em fase sólida. 2. Sílica zirconizada.
3. Agrotóxicos. I. Jardim, Isabel Cristina Sales Fontes.
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Preparation, characterization and application of thermally immobilized C8 onto zirconized silica as sorbent for solid-phase extraction

Palavras-chave em inglês:

Solid-phase extraction

Zirconized silica

Pesticides

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Isabel Cristina Sales Fontes Jardim [Orientadora]

Fabio Augusto

Liane Maldaner

Data de defesa: 07/06/2013

Programa de pós-graduação: Química

*Dedico este trabalho ao Boris, a
Morgana, a Mel, ao Buzinho, ao Cleyton e
a Margarete.
E ao recém-chegado George.
Suas vidas mudaram a minha.*

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer aqui a todos os que participaram direta e indiretamente ao longo do percurso deste trabalho. Aqui vão algumas poucas e, com certeza, insuficientes palavras àqueles que me apoiaram e ajudaram a concluir mais uma jornada. A ordem aqui não significa importância, foi apenas o modo que consegui encaixar as palavras neste pequeno espaço.

Agradeço imensamente aos meus pais que me deram o direito à vida, à educação e, principalmente, à livre escolha dos meus caminhos.

A toda a minha família eu gostaria de agradecer um por um, por terem estado sempre lá nos momentos mais difíceis. E por terem contribuído desde o início para eu me tornar o que sou hoje. Agradeço especialmente à minha irmã Vera, que é muito mais do que irmã.

Ao Renato eu quase nem sei o que dizer. Meu amor e meu amigo, obrigada por apoiar e, na verdade, incentivar os meus devaneios. Obrigada por ter ido comigo aos lugares mais interessantes do mundo e, principalmente, ao lugar mais importante de todos. Obrigada por compartilhar a vida comigo, em todos os seus pequenos detalhes e em seus grandes desafios.

Não posso me esquecer de agradecer imensamente à família Bacchi. Minha segunda família, que me acolheu como se eu já tivesse nascido nela. Rogério, Amélia e Carol, muito obrigada, sempre.

Aos meus amigos de LabCrom, obrigada por toda a ajuda nesta jornada semi-infinita. Elisa, Dani, Karen, Elias, Carla, Renata e Liane, que no final teve uma participação especial. Sem a contribuição de vocês tenho certeza que este trabalho não teria chegado nem à metade. A Fernanda, obrigada pela amizade e pelas caronas! Sem elas não haveria dissertação. A Lucília, só tenho a dizer que este laboratório não funcionaria sem você. Obrigada por resolver todos os pepinos. Aos mais novos, Luana e Cláudio, aconselho que tenham muita fé na química analítica.

Aos meus amigos do Laboratório de Ensino do IQ-Unicamp, obrigada por terem me apoiado a me embrenhar nesta aventura da pós-graduação. Mírian, Divino, Humberto, Eraldo, Michele, Micheli, Rinaldo e Betinha. Se vocês não tivessem incentivado acho que eu nem teria começado.

Um agradecimento muito especial a minha orientadora, Prof^a Dr^a Isabel Jardim que além de uma profissional exemplar, é uma das pessoas mais amáveis que eu conheço. Obrigada por ter aceitado me orientar neste caminho e por ter contribuído tanto na minha formação. A Prof^a Dr^a Carol Collins, obrigada por contribuir com todo o seu inestimável conhecimento e por demonstrar tanta disposição em compartilhá-lo.

A todos os funcionários do IQ-Unicamp, gostaria de agradecer pelo companheirismo. Vocês fazem as engrenagens funcionarem diariamente e sem vocês este Instituto não seria o que é hoje. Um agradecimento especial aos meus colegas das salas de aparelhos e a Raquel Miller pela compreensão e amizade.

A Prof^a. Dr^a. Liane Maldaner e ao Prof. Dr. Fábio Augusto, obrigada por aceitarem participar da banca examinadora e por contribuir com valiosas sugestões.

Finalmente, não posso deixar de agradecer ao meu grande amigo André Luiz Affonso Medice Silva. Com seu grande nome e seu grande coração você vem me acompanhando há tempos, sempre a postos. Durante todo este trabalho, você sempre esteve presente, nos bons e maus momentos. Obrigada por tudo.

Agradeço ao CNPq por ter financiado parte do meu trabalho e a diretoria do IQ-Unicamp que me apoiou e deixou o caminho sempre livre para que eu ingressasse e concluísse este trabalho.

Aqueles que se sentiram esquecidos, tenham certeza de que eu agradeço profundamente.

CURRICULUM VITAE

FORMAÇÃO ACADÊMICA

- 2000 – 2001 **Técnico em Química**
Escola Técnica Estadual Getúlio Vargas, São Paulo, Brasil
- 2003 – 2008 **Licenciatura em Química**
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil

EXPERIÊNCIA ACADÊMICA

- 2006 **Programa de Auxiliar Didático**
Disciplina de Química Geral – QG100
Universidade Estadual de Campinas
- 2008 **Programa de Auxiliar Didático**
Disciplina de Química Geral – QG102
Universidade Estadual de Campinas
- 2011 **Programa de Estágio Docente**
Disciplina de Química Analítica Experimental – QA582
Universidade Estadual de Campinas

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL

- 2002 **Técnica em Química**
Escola Técnica Estadual Getúlio Vargas, São Paulo, Brasil
- 2007 – 2008 **Professora de Química**
Cursinho Popular TRIU, Campinas, Brasil
- 2009 – 2010 **Técnica em Química**
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil
- 2012 - **Química**
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- 2010 **I Escola de Inverno de Separações**
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil
- 2010 – 2012 **Bolsista de Mestrado**
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico,
CNPq

2011 **Curso de Introdução a Espectrometria de Massas**
16º Encontro Nacional de Química Analítica, Campos do Jordão,
Brasil

COLABORAÇÃO EM EVENTOS

2010 **II Química em Ação**
Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas,
Campinas, Brasil

INDICADORES DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Trabalhos publicados em eventos nacionais: 01

Título: Otimização do método de extração em fase sólida de agrotóxicos em água utilizando planejamento fatorial 2^2 e com triplicata no ponto central

Evento: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, Campos do Jordão, Brasil. Realizado em 2011.

RESUMO

Preparação, caracterização e aplicação de sorvente C8 imobilizado termicamente sobre sílica zirconizada para extração em fase sólida.

Um novo sorvente para extração em fase sólida foi preparado utilizando a imobilização térmica do polímero poli(metiloctilsiloxano) sobre sílica zirconizada. Foram estudadas as etapas de preparo do sorvente, avaliando-se a quantidade de polímero, a temperatura e o tempo de imobilização e a extração do excesso de polímero não imobilizado. Também se determinou o volume de *breakthrough* e a eficiência de extração dos cartuchos preparados. Para avaliação da eficiência de extração dos sorventes, foram utilizadas amostras de água fortificadas com uma mistura dos agrotóxicos carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, carbofuram, carbaril, metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem. Os resultados de cada estudo realizado foram comparados com os obtidos para o sorvente preparado sobre sílica não modificada e foram consideradas adequadas as eficiências de extração entre 70 e 120%, com coeficiente de variação de até 20%. Com a sílica zirconizada, os melhores resultados foram obtidos com 50% de polímero sobre o suporte, imobilização a 120 °C por 4 horas e extração do excesso de polímero utilizando n-hexano, numa proporção de 36 mL de solvente para cada 1 g de material, a temperatura de 50 °C e vazão de 0,6 mL/min. A caracterização físico-química dos materiais mostrou que houve incorporação satisfatória do zircônio ao suporte de sílica no processo de metalização e o polímero encontra-se fisicamente sorvido e quimicamente ligado ao suporte. O estudo do volume de *breakthrough* dos cartuchos e a avaliação do desempenho do sorvente frente a variações de pH mostraram que a presença de átomos de zircônio na superfície do suporte aumenta a acidez dos grupos silanóis residuais, de modo que estes sítios interagem fortemente com os analitos básicos em pH elevado. Pôde-se observar que as eficiências de extração dos agrotóxicos também variam com a polaridade dos compostos, sendo que, o mecanismo de retenção é complexo, alternando entre interações hidrofóbicas e eletrostáticas. A aplicação do sorvente zirconizado na extração de agrotóxicos em amostras de suco de tomate mostrou que o mesmo apresenta potencial para ser empregado na extração em fase sólida de multirresíduos com características diversas de matrizes complexas.

ABSTRACT

Preparation, characterization and application of C8 thermally immobilized onto zirconized silica as sorbent for solid-phase extraction

A new sorbent for solid-phase extraction was prepared using thermal immobilization of the polymer poly(methyloctylsiloxane) onto a zirconized silica support. The steps of the preparation were studied evaluating the polymer loading, the temperature and time of immobilization and the extraction of the excess non-immobilized polymer as well as the cartridge's breakthrough volume and extraction efficiency. To evaluate the cartridge's extraction efficiency water samples fortified with a mixture of the pesticides carbendazin, imidacloprid, acetamiprid, cymoxanil, carbofuran, carbaryl, methiocarb, tebuconazole, difenoconazole, pirimiphos-methyl and pyriproxyfen were used. The results of each step were compared with those from the sorbent prepared with unmodified silica and adequate extraction efficiencies were considered as being between 70 and 120% with variation coefficients under 20%. With zirconized silica the best results were achieved with 50% polymer loading onto the support, immobilization at 120 °C for 4 hours and extraction of the excess non-immobilized polymer using n-hexane, in the proportion of 36 mL of solvent for 1 g of material, at 50 °C and at a 0.6 mL/min flow rate. The physical-chemical characterization of the materials showed that the incorporation of zirconium onto the silica support in the metalization process was satisfactory and the polymer is physically sorbed and chemically attached to the support. The studies concerning the breakthrough volume and the evaluation of the cartridge's performance over pH variations showed that the presence of the zirconium on the support's surface increases the acidity of the residual silanol so that these sites interact strongly with basic analytes at high pH. It was also possible to observe that the extraction efficiencies vary with the polarity of the compounds. The retention mechanism is complex, mixing hydrophobic and electrostatic interactions. The application of the zirconized sorbent in the extraction of pesticides from tomato juice samples showed that the sorbent has the potential to be used for multiresidue solid-phase extraction of complex matrices having a wide range of characteristics.

ÍNDICE

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xvi
LISTA DE TABELAS.....	xviii
LISTA DE FIGURAS.....	xx
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Extração em fase sólida	1
1.1.1. Aspectos históricos	1
1.1.2. Fundamentos teóricos.....	3
1.1.3. Procedimento de extração em fase sólida	4
1.2. Sorventes para extração em fase sólida	9
1.2.1. Sílica	9
1.2.2. Sorventes quimicamente ligados	10
1.2.3. Sorventes imobilizados	12
1.2.4. Outros sorventes.....	13
1.3. Fases estacionárias metalizadas para CLAE.....	18
2. OBJETIVOS.....	21
2.1. Estratégias para atingir o objetivo	21
3. PARTE EXPERIMENTAL	22
3.1. Materiais.....	22
3.1.1. Reagentes.....	22
3.1.2. Equipamentos	22
3.1.3. Sílica e polímero	24
3.2. Seleção dos agrotóxicos e separação cromatográfica.....	24
3.3. Procedimento de extração em fase sólida	26
3.4. Preparo dos sorventes	27
3.4.1. Zirconização da sílica.....	27
3.4.2. Estudo da carga polimérica na fase sólida.....	28
3.4.3. Estudo das condições de imobilização do PMOS sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado	28

3.4.4.	Estudo do procedimento de extração do excesso de polímero não imobilizado sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado.....	29
3.5.	Caracterização físico-química dos sorventes preparados.....	29
3.5.1.	Análise elementar	29
3.5.2.	Análise termogravimétrica.....	31
3.5.3.	Área superficial específica, volume e diâmetro de poros	31
3.5.4.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{29}Si	31
3.5.5.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	32
3.5.6.	Fluorescência de raios-X	33
3.6.	Determinação do volume de <i>breakthrough</i>	33
3.7.	Avaliação do pH da amostra	35
3.8.	Comparação do sorvente zirconizado com cartucho comercial	36
3.9.	Aplicação do sorvente zirconizado na EFS de amostras de suco de tomate.....	36
3.9.1.	Ensaio de recuperação	36
3.9.2.	Curvas analíticas.....	38
3.9.3.	Efeito matriz	39
3.9.4.	Análise de amostras de suco de tomate	39
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1.	Separação cromatográfica dos agrotóxicos	40
4.2.	Caracterização físico-química dos suportes de sílica não modificado e zirconizado.....	42
4.2.1.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	42
4.2.2.	Análise termogravimétrica.....	43
4.2.3.	Área superficial específica, volume e diâmetro de poros	43
4.2.4.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{29}Si	44
4.2.5.	Espectroscopia de fluorescência de raios-X	46
4.3.	Caracterização físico-química do polímero PMOS.....	48
4.3.1.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	48
4.3.2.	Análise termogravimétrica.....	48
4.4.	Preparo dos sorventes	49

4.4.1.	Estudo da carga polimérica na fase sólida.....	49
4.4.2.	Estudo das condições de imobilização do PMOS sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado	53
4.4.3.	Estudo do procedimento de extração do excesso de polímero não imobilizado sobre os supotes de sílica não modificado ou zirconizado	58
4.5.	Caracterização físico-química dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS preparados pelo método otimizado	63
4.5.1.	Análise elementar	63
4.5.2.	Área superficial específica, volume e diâmetro de poros	66
4.5.3.	Análise termogravimétrica.....	66
4.5.4.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	67
4.5.5.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ²⁹ Si	69
4.6.	Determinação do volume de <i>breakthrough</i>	71
4.7.	Avaliação do pH da amostra	76
4.8.	Comparação do sorvente SiZrPMOS com sorvente C8 comercial.....	78
4.9.	Aplicação do sorvente SiZrPMOS na EFS de agrotóxicos em suco de tomate.....	79
4.9.1.	Ensaio de recuperação	79
4.9.2.	Efeito matriz	82
4.9.3.	Análise de amostras reais.....	85
5.	CONCLUSÕES	86
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
ANEXO A	91
ANEXO B	92
ANEXO C	93

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

- ANVISA – Agência nacional de vigilância sanitária.
- As – Fator de assimetria do pico a 10% da altura.
- BET – Método de Brunauer, Emmett e Teller.
- BF – Branco fortificado.
- BJH – Método de Barret, Joyner e Hallenda.
- C18 – Octadecil.
- C8 – Octil.
- CG – Cromatografia gasosa.
- CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência.
- CP/MAS – Polarização cruzada segundo rotação em ângulo mágico.
- CV – Coeficiente de variação.
- DMFS – Dispersão da matriz na fase sólida.
- DPX – *Disposable pipette extraction*.
- EC – Eletroforese capilar.
- EE_{média} – Eficiência de extração média.
- EFS – Extração em fase sólida.
- ELL – Extração líquido-líquido.
- FRX – Espectroscopia de fluorescência de raios-X.
- HMDS – Hexametildissilazano.
- IV – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.
- k – Fator de retenção.
- LabCrom – Laboratório de pesquisas em cromatografia líquida.
- LMR – Limite máximo de resíduo.
- logP – Logaritmo do coeficiente de partição octanol/água.
- MEFS – Microextração em fase sólida.
- MIP – *Molecularly imprinted polymers*.
- P – Coeficiente de partição octanol/água.
- PARA – Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos.
- PBD – Polibutadieno.
- PMODS – Poli(metiloctadecilsiloxano).

PMOS – Poli(metiloctilsiloxano).
PMTDS – Poli(metiltetradecilsiloxano).
PS-DVB – Poliestireno divinilbenzeno.
PTFE – Politetrafluoretileno.
RAM – *Restricted access materials*.
RMN – Ressonância magnética nuclear.
Rs – Resolução.
SAX – *Strong anion exchange*.
SCX – *Strong cation exchange*.
SiPMOS – Poli(metiloctilsiloxano) termicamente imobilizado sobre sílica não modificada.
SiZrPMOS – Poli(metiloctilsiloxano) termicamente imobilizado sobre sílica zirconizada.
SPE – *Solid-phase extraction*.
TG – Curva termogravimétrica.
TMCS – Trimetilclorossilano.
 V_b – Volume de *breakthrough*.
WAX – *Weak anion exchange*.
WCX – *Weak cation exchange*.
 τ – Espessura da camada de polímero.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais sorventes comercialmente disponíveis para EFS. Adaptado das referências 12 e 29.....	16
Tabela 2: Guia geral para escolha de sorventes e solventes de eluição de analitos por EFS. Adaptado das referências 12 e 29.....	17
Tabela 3: Principais características físico-químicas e grupo químico dos agrotóxicos utilizados neste trabalho.....	25
Tabela 4: Planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central para avaliação dos efeitos da temperatura (F1) e do tempo de imobilização (F2) do PMOS sobre sílica não modificada e sílica zirconizada.....	28
Tabela 5: Concentração das amostras e do branco fortificado de suco de tomate.....	37
Tabela 6: Concentrações dos agrotóxicos nos pontos das curvas analíticas.....	38
Tabela 7: Parâmetros cromatográficos obtidos na separação dos agrotóxicos selecionados, mostrada na Figura 10.....	41
Tabela 8: Área superficial específica, volume e diâmetro de poros do suportes.....	44
Tabela 9: Eficiências de extração média ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) dos experimentos realizados para o estudo da carga polimérica sobre o suporte de sílica não modificada.....	49
Tabela 10: Eficiências de extração média ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) dos experimentos realizados para o estudo da carga polimérica sobre o suporte de sílica zirconizada.....	51
Tabela 11: Eficiências de extração para os experimentos do planejamento fatorial 2^2 , com triplicata no ponto central, realizados com SiPMOS.....	53
Tabela 12: Eficiências de extração para os experimentos do planejamento fatorial 2^2 , com triplicata no ponto central, realizados com SiZrPMOS.....	56
Tabela 13: Eficiências de extração média ($EE_{média}$) e o coeficiente de variação (CV) obtidos nos experimentos realizados em diferentes condições de extração do excesso de PMOS sobre sílica não modificada.....	59
Tabela 14: Eficiências de extração média ($EE_{média}$) e o coeficiente de variação (CV) obtidos nos experimentos realizados em diferentes condições de extração do excesso de PMOS sobre sílica zirconizada (SiZrPMOS).....	61

Tabela 15: Porcentagens de carbono (%C) e cálculo da espessura da camada polimérica (τ) obtidas por análise elementar dos sorventes preparados sobre sílica não modificada e zirconizada. Em destaque, as condições que proporcionaram os melhores resultados de eficiência de extração dos agrotóxicos em cada etapa de otimização.... 63

Tabela 16: Área superficial específica, volume e diâmetro de poros dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS..... 66

Tabela 17: Eficiências de extração médias ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) obtidos para os agrotóxicos presentes em amostras de água fortificadas de 10, 30, 50 e 75 mL, utilizando cartuchos de SiZrPMOS. 74

Tabela 18: Comparação das eficiências de extração médias e coeficientes de variação obtidos nas extrações de amostras de 50 mL de água fortificadas com os agrotóxicos estudados, utilizando os sorventes SiPMOS e SiZrPMOS. 75

Tabela 19: Médias das eficiências de extração ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) das extrações de amostras com diferentes pH..... 76

Tabela 20: Médias das eficiências de extração ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) das extrações dos agrotóxicos em cartuchos comerciais e no sorvente SiZrPMOS..... 78

Tabela 21: Médias das recuperações (%) e coeficientes de variação (%) das extrações dos agrotóxicos nas amostras de suco de tomate..... 81

Tabela 22: Equações lineares e coeficiente de correlação das curvas analíticas na matriz..... 83

Tabela 23: Concentrações médias e erro relativo dos agrotóxicos encontrados na amostra de suco de tomate. 85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Cartucho para extração em fase sólida.....	5
Figura 2: Ponteira para SPE e procedimento de EFS utilizando ponteiras para pipetas automáticas. (A) Sucção da amostra, (B) mistura da amostra com ar e com a fase sólida, (C) expulsão da matriz, (D) aplicação do solvente de eluição dos analitos.....	7
Figura 3: Etapas do procedimento de EFS no modo de concentração dos analitos.	8
Figura 4: Representação esquemática das espécies presentes na estrutura da sílica.	10
Figura 5: Representação de duas conformações dos sorventes quimicamente ligados: (A) estrutura monomérica, (B) estrutura polimérica.....	11
Figura 6: Representação da superfície da sílica porosa, mostrando a deposição do polímero sobre as paredes do mesoporo e o preenchimento de alguns microporos. Adaptado da referência 4.	13
Figura 7: Estruturas dos agrotóxicos selecionados para estudo. (A) carbendazim, (B) imidacloprido, (C) acetamiprido, (D) cimoxanil, (E) carbofuram, (F) carbaril, (G) metiocarbe, (H) tebuconazol, (I) difenoconazol, (J) pirimifós-metílico e (K) piriproxifem.	25
Figura 8: Nomenclatura e deslocamento químico das espécies de silício encontradas nos suportes e nos sorventes ($R = C_8$).....	32
Figura 9: Modelo de curva de <i>breakthrough</i> . V_b indica o volume de <i>breakthrough</i> , volume no qual se começa a detectar o analito no efluente. ⁴⁹	34
Figura 10: Cromatograma obtido em 220 nm na separação dos agrotóxicos estudados. Condições cromatográficas: volume de injeção de 17 μ L; coluna cromatográfica: NovaPak C18, Waters, 3,9x150 mm, partículas de 4 μ m; coluna de guarda: NovaPak C18, Waters, 3,9x20 mm, partículas de 4 μ m; fase móvel: água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5 (solvente A) e acetonitrila (solvente B); vazão de 1,0 mL min^{-1} ; programação do gradiente: 13 a 45% de B em 6 minutos, 45% de B por 2 minutos, 45 a 55% de B em 2 minutos, 55 a 95% de B em 10 minutos, 95% de B por 5 minutos, retorno às condições iniciais e estabilização por 10 minutos.	40
Figura 11: Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras dos suportes de sílica não modificada e zirconizada. Em destaque a atribuição das principais bandas.....	42

Figura 12: Curvas termogravimétricas dos suportes de sílica não modificado e zirconizado.	43
Figura 13: Espectros de RMN de ²⁹ Si dos suportes de sílica não modificado e zirconizado.	45
Figura 14: Espectros de fluorescência dos padrões de SiO ₂ /ZrO ₂ utilizados para construção da curva analítica. Em destaque os picos K α dos padrões com diferentes porcentagens em massa de zircônio.	46
Figura 15: Curva analítica obtida a partir da análise dos padrões de SiO ₂ /ZrO ₂ , por espectroscopia de fluorescência de raios X.	47
Figura 16: Espectro de absorção no infravermelho do PMOS. Em destaque a atribuição das principais bandas.	48
Figura 17: Curva termogravimétrica do polímero PMOS.	48
Figura 18: Eficiências de extração dos agrotóxicos em cartuchos contendo: (a) 35%, (b) 40%, (c) 45% e (d) 50% (m/m) de PMOS termicamente imobilizado sobre sílica não modificada, no preparo de amostra de água a pH 2,5.	50
Figura 19: Eficiências de extração dos agrotóxicos em cartuchos contendo: (a) 35%, (b) 40%, (c) 45% e (d) 50% (m/m) de PMOS termicamente imobilizado sobre sílica zirconizada, no preparo de amostra de água a pH 2,5.	52
Figura 20: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos extraídos em cartuchos de PMOS sobre sílica não modificada em diferentes condições de imobilização. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.	54
Figura 21: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos extraídos em cartuchos de PMOS sobre sílica zirconizada em diferentes condições de imobilização. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.	57
Figura 22: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos em SiPMOS submetido a diferentes condições de extração do excesso de PMOS. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.	60
Figura 23: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos em SiZrPMOS submetido a diferentes condições de extração do excesso de PMOS. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.	62

Figura 24: Curvas termogravimétricas dos sorventes preparados SiPMOS e SiZrPMOS.	67
Figura 25: Espectro de absorção na região do infravermelho do sorvente obtido pelo procedimento otimizado de imobilização do PMOS sobre sílica não modificada.	68
Figura 26: Espectro de absorção na região do infravermelho do sorvente obtido pelo procedimento otimizado de imobilização do PMOS sobre sílica zirconizada.	68
Figura 27: Espectros de RMN de ²⁹ Si dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS.....	70
Figura 28: Curvas de <i>breakthrough</i> do cartucho de SiPMOS. Em destaque a região de volume de amostra de 0 a 50 mL.	72
Figura 29: Curvas de <i>breakthrough</i> do cartucho de SiZrPMOS. Em destaque a região de volume de amostra de 0 a 50 mL.	72
Figura 30: Eficiências de extração médias das amostras de água de diferentes pH utilizando cartuchos de SiZrPMOS.....	77
Figura 31: Cromatograma do branco de suco de tomate, obtido em 220 nm. Condições cromatográficas: volume de injeção de 17 µL; coluna cromatográfica: NovaPak C18, Waters, 3,9x150 mm, partículas de 4 µm; coluna de guarda: NovaPak C18, Waters, 3,9x20 mm, partículas de 4 µm; fase móvel: água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5 (solvente A) e acetonitrila (solvente B); vazão de 1,0 mL min ⁻¹ ; programação do gradiente: 13 a 45% de B em 6 minutos, 45% de B por 2 minutos, 45 a 55% de B em 2 minutos, 55 a 95% de B em 10 minutos, 95% de B por 5 minutos, retorno às condições iniciais e estabilização por 10 minutos.	80
Figura 32: Cromatogramas do branco de suco de tomate e do branco fortificado obtido em 242 nm, no tempo de retenção do cimoxanil. Condições cromatográficas semelhantes às da Figura 31.	80
Figura 33: Curvas analíticas dos agrotóxicos na matriz e no solvente.	84

1. INTRODUÇÃO

O preparo de amostras é uma etapa fundamental que precede a determinação do analito e pode ser determinante para o sucesso ou fracasso do método de análise. As análises que utilizam as técnicas cromatográficas, como a cromatografia gasosa (CG), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a eletroforese capilar (EC), necessitam de amostras livres de interferentes da matriz que possam coeluir com os compostos de interesse e, ainda, de analitos em uma concentração apropriada para poderem ser determinados pelo sistema de detecção utilizado.

Dentre as muitas técnicas existentes, a extração em fase sólida (EFS) se sobressaiu em vários campos de aplicação, sendo atualmente a principal técnica de preparo de amostras farmacêuticas, ambientais, agrícolas, alimentares e toxicológicas. Sua capacidade de concentrar os analitos e eliminar os interferentes, aliada ao menor consumo de solventes e tempo mais reduzido de preparo das amostras fizeram da EFS uma técnica atrativa que se desenvolveu rapidamente. Atualmente, inúmeros sorventes e dispositivos estão disponíveis comercialmente, sendo que a técnica ainda está avançando, no intuito de diminuir ainda mais o tempo, o custo e a quantidade de solventes orgânicos e de amostra necessários para o preparo, atendendo os princípios da Química Verde.

1.1. Extração em fase sólida

1.1.1. Aspectos históricos

A EFS não pode ser considerada uma técnica científica até meados da década de 1970. Antes disso, porém, certas atividades envolvendo a extração de componentes de uma matriz por um substrato sólido já eram conhecidas.

No Egito antigo, o perfume era extraído de plantas por uma técnica, ainda utilizada nos dias de hoje, chamada *enfleurage*. Nesta técnica, o material, como pétalas de flores, era colocado em contato íntimo com uma camada fina de gordura purificada. Depois de certo tempo, os componentes perfumados eram extraídos da matriz pela gordura, que era derretida e filtrada, para depois produzir uma pomada. Os egípcios utilizavam essa pomada, de odor agradável, diretamente em seus corpos, mas como a concentração dos componentes perfumados não era muito alta, a indústria da perfumaria, em tempos mais recentes, desenvolveu uma forma de extrair e concentrar

estes compostos da pomada utilizando etanol. Os óleos essenciais são solúveis em etanol, enquanto a gordura e outras ceras extraídas da planta não são. A remoção do etanol por destilação gera o que se chama em perfumaria de “absoluto”, um concentrado dos componentes perfumados da matriz vegetal¹.

Seja na indústria da perfumaria ou dentro dos laboratórios, no preparo de amostras líquidas para cromatografia gasosa e líquida, a principal técnica de extração utilizada, por muitos anos, foi a extração líquido-líquido (ELL). Neste ínterim, a EFS foi se desenvolvendo e muitas denominações foram atribuídas, como “cromatografia de extração”². Em meados da década de 1980, a técnica já estava bastante difundida e os estudos sobre seus mecanismos aumentaram, sendo que o termo extração em fase sólida (*solid-phase extraction* ou SPE) foi primeiramente utilizado na literatura nos trabalhos de Zief *et al.*^{3,4}.

Em 1977, houve uma inovação importante na EFS: a introdução de dispositivos descartáveis recheados em forma de cartuchos ou colunas. Em 1978, Subden *et al.* publicaram o primeiro trabalho descrevendo o uso de um sorvente de sílica quimicamente ligada, C18, para o *clean-up* ou limpeza da amostra, na extração de histaminas de vinho⁵. Este foi o início de uma grande revolução no preparo de amostras aquosas com o uso de sorventes cromatográficos de fase reversa, o que abriu caminho para o uso da EFS no campo das análises ambientais, farmacêuticas e clínicas⁴.

No final da década de 1980, foram introduzidos no mercado os discos ou membranas, que propiciaram maior rapidez ao preparo das amostras. Atualmente, muitos são os formatos dos dispositivos de EFS utilizados, sendo os cartuchos, ainda, os mais empregados⁶. A dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), que foi introduzida no final da década de 80, é uma forma de EFS na qual o sorvente sólido é disperso na amostra. Esta técnica resolveu muitos problemas de operação da EFS em amostras sólidas ou semi-sólidas e muito viscosas, como tecidos animais e vegetais, que anteriormente entupiam os cartuchos⁷.

A EFS ganhou notoriedade e a preferência dos analistas frente à ELL devido, principalmente, ao menor gasto de solventes orgânicos, além dos procedimentos serem mais rápidos. No final do século 20 e início dos anos 2000, o desenvolvimento da técnica se voltou para a automação e diminuição das quantidades de amostra e de solventes utilizados.

A miniaturização da EFS se fez necessária para ajustar a técnica aos pequenos volumes necessários para análise por CLAE, CG e eletroforese capilar. A microextração em fase sólida (MEFS) surgiu na década de 1990 e utiliza fibras de sílica fundida, recobertas ou não com um modificador, para adsorção dos analitos voláteis da amostra. Esta técnica utiliza volumes mínimos de amostra e possui alta eficiência e precisão⁸.

Seguindo a tendência da miniaturização, as ponteiras descartáveis para EFS surgiram no início do século 21 e originaram a técnica denominada de extração com pipetas descartáveis (do inglês *Disposable Pipette Extraction – DPX*). A DPX consiste no emprego das *tips* que são ponteiras para pipetas volumétricas automáticas, contendo o sorvente frouxamente recheado e contido por filtros. Esta técnica utiliza volumes mínimos de amostra e solventes, é rápida, da ordem de alguns minutos, não requer condicionamento, permite um fluxo bidirecional e pode ser automatizada⁹.

1.1.2. Fundamentos teóricos

Na extração líquido-líquido, a amostra é agitada na presença de um solvente extrator no qual apenas os analitos de interesse são solúveis. A agitação neste processo assegura que toda a amostra entre em contato com o solvente extrator. Em seguida, a mistura é deixada em repouso para que haja o equilíbrio entre as fases e se separem as camadas de amostra e solvente contendo os analitos. Várias etapas de extração, com várias frações de solvente, são necessárias para se obter uma extração satisfatória dos analitos, o que torna o processo custoso e demorado, gerando grandes quantidades de resíduos.

O equilíbrio formado entre as camadas líquidas pode ser descrito pelo coeficiente de partição do analito, que é representado pela razão das atividades deste analito nos dois líquidos. A Equação 1 representa o coeficiente de partição de um analito entre a amostra e um solvente extrator. Por motivos de conveniência, as atividades são substituídas pelas concentrações do analito em cada fase líquida.

$$P = \frac{[\text{Analito}]_{\text{solvente extrator}}}{[\text{Analito}]_{\text{amostra}}} \quad \text{Eq. 1}$$

na qual, P é o coeficiente de partição do analito, $[\text{Analito}]_{\text{solvente extrator}}$ é a concentração do analito no solvente extrator e $[\text{Analito}]_{\text{amostra}}$ é a concentração do analito na amostra.

Quanto maior for o coeficiente de partição, maior a tendência do analito em migrar da amostra para o solvente extrator. Desta forma, deve-se selecionar o solvente que

tenha maior afinidade química com os analitos de interesse, para que se maximize a eficiência de extração⁴.

Em extração em fase sólida, o líquido extrator é substituído por um sólido e os analitos de interesse se distribuem entre a amostra líquida e a superfície do sorvente. Neste caso, os analitos a serem extraídos devem ter maior afinidade pela fase sólida do que pela matriz da amostra. Após a retenção na fase sólida, os analitos passam por uma etapa de eluição com um solvente, pelo qual tenham afinidade suficiente¹⁰.

As interações responsáveis tanto pela retenção dos analitos na fase sólida, como por sua eluição no solvente são as forças intermoleculares entre as moléculas dos analitos, os sítios ativos na superfície do sólido e a fase líquida. O mecanismo é o mesmo que ocorre na cromatografia líquida, de modo que a EFS pode ser considerada uma adaptação da cromatografia líquida em coluna. Por esta razão, as fases sólidas empregadas em EFS são muito similares às usadas em CLAE, tanto em fase normal como em fase reversa, porém com partículas de maior tamanho¹¹.

1.1.3. Procedimento de extração em fase sólida

1.1.3.1. Objetivos

Os objetivos de se realizar o procedimento de EFS em uma amostra podem variar, sendo que esta é outra vantagem da técnica. Basicamente, a EFS pode ser utilizada para:

a) Concentração

Este é o modo mais comum de operação da EFS, em que se deseja obter uma amostra mais concentrada do que a matriz. Neste caso, os analitos são necessariamente retidos no sorvente sólido e posteriormente eluídos com um solvente adequado, no menor volume possível.

b) *Clean-up* ou limpeza da amostra

Neste caso, o objetivo da EFS é remover os interferentes da matriz que possam prejudicar a identificação/quantificação dos analitos de interesse. Para obter uma amostra livre dos interferentes, pode-se tanto reter os analitos e lavar os interferentes eluindo-os do sorvente, como reter os interferentes deixando os analitos serem percolados, sem retenção.

c) Remoção da matriz

A remoção da matriz pode ser necessária para tornar a amostra adequada para ser injetada no sistema de análise que será utilizado. Por exemplo, a introdução de amostras aquosas em um sistema de CG poderia danificar a coluna cromatográfica, de modo que se pode utilizar a EFS para reter os analitos da amostra aquosa e depois fazer a eluição com um solvente orgânico adequado para determinação no cromatógrafo a gás.

d) Estocagem da amostra

A EFS é utilizada como forma de coletar os analitos de interesse em um local longe do laboratório onde serão analisados, sem perda ou degradação dos componentes. Posteriormente, executa-se a concentração e/ou limpeza da amostra^{4, 10, 12}.

1.1.3.2. Dispositivos para EFS

Como foi brevemente descrito na evolução histórica da extração em fase sólida, existem dispositivos para extração em diversos formatos. O formato mais comum é o cartucho, também chamado impropriamente de coluna, o que pode levar a uma confusão com as colunas utilizadas em CLAE, que possuem propriedades completamente distintas⁴.

Na forma de cartucho, o sorvente ou fase sólida, é retido dentro de um cilindro de polipropileno com formato de uma seringa. Existem cartuchos disponíveis comercialmente contendo desde cerca de 50 mg até 10 g de sorvente, com partículas de 35 a 75 μm . Para a fixação do sólido dentro do cartucho são utilizados filtros de polietileno, com poros de 20 μm , mas também podem ser utilizados filtros de aço inoxidável ou teflon. A Figura 1 mostra a montagem típica de um cartucho para EFS.

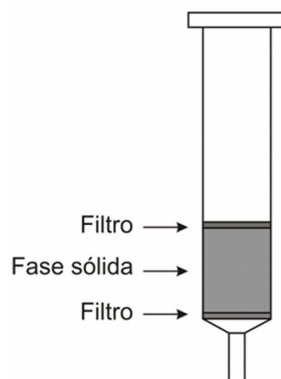


Figura 1: Cartucho para extração em fase sólida.

Os discos para EFS também são um formato muito comum. Neles, o sorvente é imobilizado sobre uma matriz inerte ao procedimento de extração, como microfibras de politetrafluoretileno (PTFE), vidro ou mesmo papel de filtro. Estes discos podem ser acoplados a um cartucho ou a um aparelho de filtração de vidro sinterizado. A vantagem dos discos em relação aos cartuchos é que a camada de sorvente é mais homogênea e o seu formato (usualmente 47 mm de diâmetro por 0,5 mm de espessura) possibilita a passagem da amostra, em uma vazão muito maior, sob menores pressões e sem a formação de caminhos preferenciais.

Normalmente, tanto para os cartuchos como para os discos, utilizam-se bombas de vácuo para facilitar a passagem da amostra pelo dispositivo. No caso dos cartuchos, são comuns os *manifolds*, sistemas comerciais multivias, em que vários cartuchos podem ser utilizados de uma só vez^{4, 6, 12}.

Além dos cartuchos e discos, sistemas de EFS miniaturizados surgiram com o intuito de diminuir o uso de solventes orgânicos e o tempo de preparo das amostras. As placas contendo 96 poços ou reservatórios surgiram neste contexto e são de grande utilidade no preparo de amostras em laboratórios biológicos, pois cada um dos 96 poços contém uma pequena quantidade de sorvente e funciona como um dispositivo de EFS independente, podendo-se preparar um grande número de amostras simultaneamente. As ponteiros para pipetas automáticas também já são largamente utilizadas, principalmente para pequenas quantidades de amostras. Nestes dispositivos, o sorvente fica frouxamente retido entre dois pequenos filtros, semelhantes aos dos cartuchos, dentro da ponteira e a sucção e expulsão da amostra e dos solventes é feita com o auxílio de uma pipeta ou seringa^{9, 12}. A Figura 2 mostra a montagem típica de uma ponteira para EFS e as etapas do procedimento utilizando estes dispositivos.

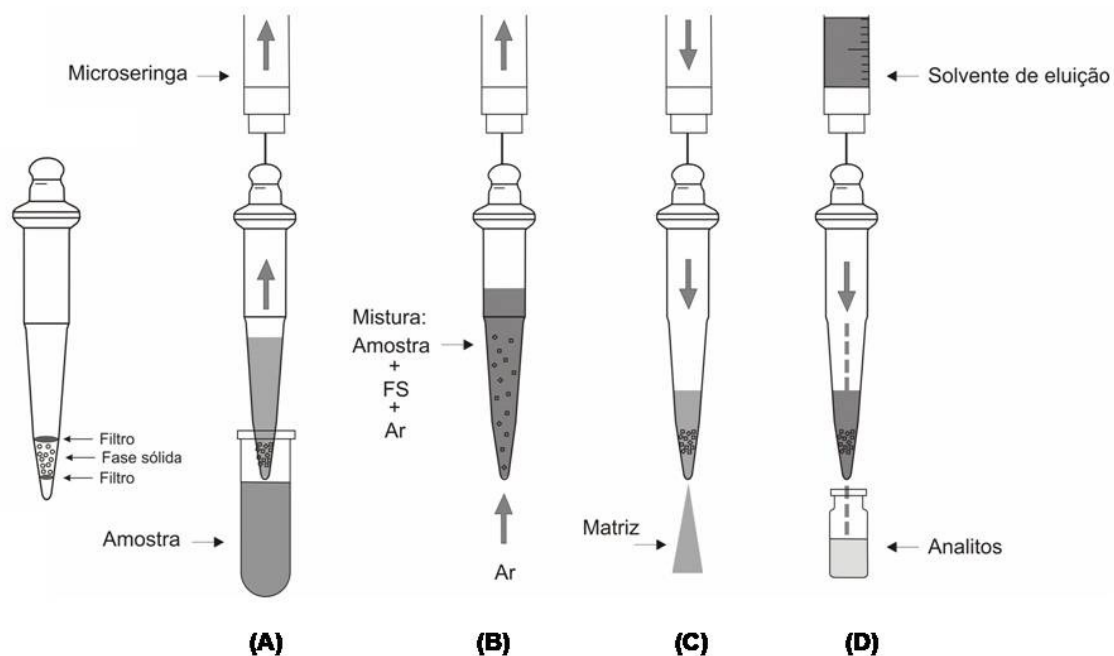


Figura 2: Ponteira para pipetas automáticas e procedimento de EFS utilizando estes dispositivos. (A) Sucção da amostra, (B) mistura da amostra com ar e com a fase sólida, (C) expulsão da matriz, (D) aplicação do solvente de eluição dos analitos.

1.1.3.3. Modos de operação

Existem dois modos de operação da extração em fase sólida: *on-line* e *off-line*. O mais comum é o modo *off-line*, no qual o processamento das amostras e a separação cromatográfica são conduzidos separadamente. No modo *on-line*, é possível acoplar o dispositivo de EFS ao sistema de análise, o que é muito conveniente, pois resulta em uma operação sequencial e automatizada^{12, 13}.

1.1.3.4. Etapas do procedimento de EFS

Seja qual for o modo e o dispositivo de EFS utilizado, esta técnica é realizada em, basicamente, quatro etapas^{4, 10}:

a) Condicionamento do sorvente

É feito pela passagem de um solvente apropriado, de acordo com a natureza do sorvente empregado, que ative a superfície do sólido e remova quaisquer impurezas que possam estar adsorvidas. Este solvente deve ser removido pela passagem de um segundo solvente de natureza semelhante à da matriz da amostra, que ajuste as forças de interação com a amostra e com o solvente de eluição. É importante que o sorvente não seque nesta etapa, para não haver a formação de caminhos preferenciais.

b) Aplicação da amostra

Inicialmente, pode-se fazer necessário um pré-tratamento da amostra antes da sua inserção no dispositivo de EFS, como filtragem, diluição e/ou ajuste de pH. A amostra aplicada no cartucho é percolada através do sorvente em uma velocidade lenta, com auxílio de vácuo ou pela ação da gravidade, para que os analitos sejam retidos pela fase sólida.

c) Remoção dos interferentes

Também chamada de lavagem, esta etapa visa eliminar os interferentes da amostra com um solvente que não remova os analitos. Idealmente, usa-se o mesmo solvente da amostra.

d) Eluição dos analitos

É feita com um pequeno volume de um solvente apropriado que consiga remover os analitos da fase sólida, de preferência em maior número de alíquotas, com o objetivo de aumentar a eficiência da extração. A escolha do solvente de eluição é de extrema importância e devem ser obedecidos os mesmos critérios utilizados na escolha da fase móvel em CLAE, ou seja, que os analitos sejam solúveis neste solvente e que a sua polaridade relativa o faça capaz de sobrepor as interações entre o analito e a fase sólida.

Após o procedimento de extração, a amostra é, normalmente, levada à secura do solvente de extração e reconstituída em um volume conhecido da fase móvel com a qual será analisada. Na Figura 3, pode-se visualizar um esquema das etapas do procedimento de extração em fase sólida com o intuito de isolar e/ou concentrar os analitos da amostra.

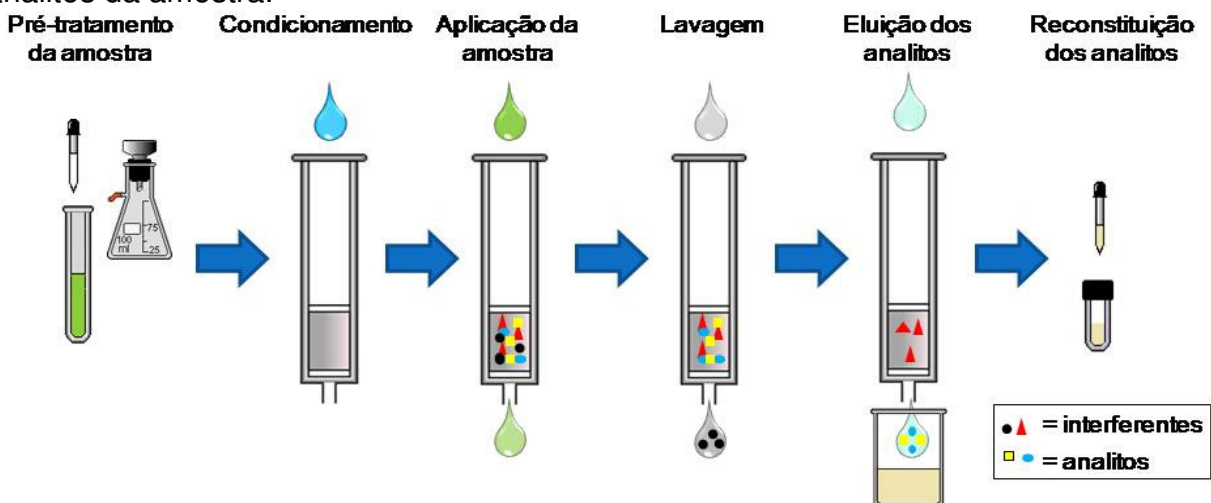


Figura 3: Etapas do procedimento de EFS no modo de concentração dos analitos.

1.2. Sorventes para extração em fase sólida

A escolha da fase sólida para EFS depende da natureza dos analitos e da matriz¹⁰. No caso de amostras solúveis em solventes menos polares, a fase sólida escolhida também deve ter característica mais apolar para que tenha maior afinidade pelos analitos de interesse. As fases menos polares ou apolares são chamadas de fases reversas, pois são o inverso das fases normais, nas quais a fase sólida é mais polar e o solvente de eluição é menos polar.

1.2.1. Sílica

A sílica é a base para a maioria dos sorventes utilizados em EFS. Embora para utilização como fase estacionária para CLAE seja primordial que a sílica possua partículas de tamanho, área superficial e distribuição de poros bem definidos e controlados, estes requisitos não são tão restritos para seu uso como sorvente para EFS, o que a torna mais barata e extremamente popular para esta aplicação⁴.

A química da superfície da sílica a torna um suporte muito versátil e modificações nesta superfície podem produzir materiais com diferentes seletividades. Em sua estrutura interior, a sílica é um polímero inorgânico de fórmula geral $(\text{SiO}_2)_x$ e em sua superfície existem hidroxilas, comumente chamadas de silanóis. Existem principalmente três tipos de silanóis, que diferem na sua posição em relação aos átomos de silício, sendo estes os silanóis isolados, geminais e vicinais. Internamente, as ligações entre os átomos de silício e oxigênio são denominadas ligações siloxano. Os grupos silanóis são hidrofílicos, sendo centros de adsorção de compostos polares e iônicos, enquanto os grupos siloxanos são hidrofóbicos, retendo moléculas apolares¹⁴. As principais espécies existentes na estrutura da sílica estão mostradas na Figura 4.

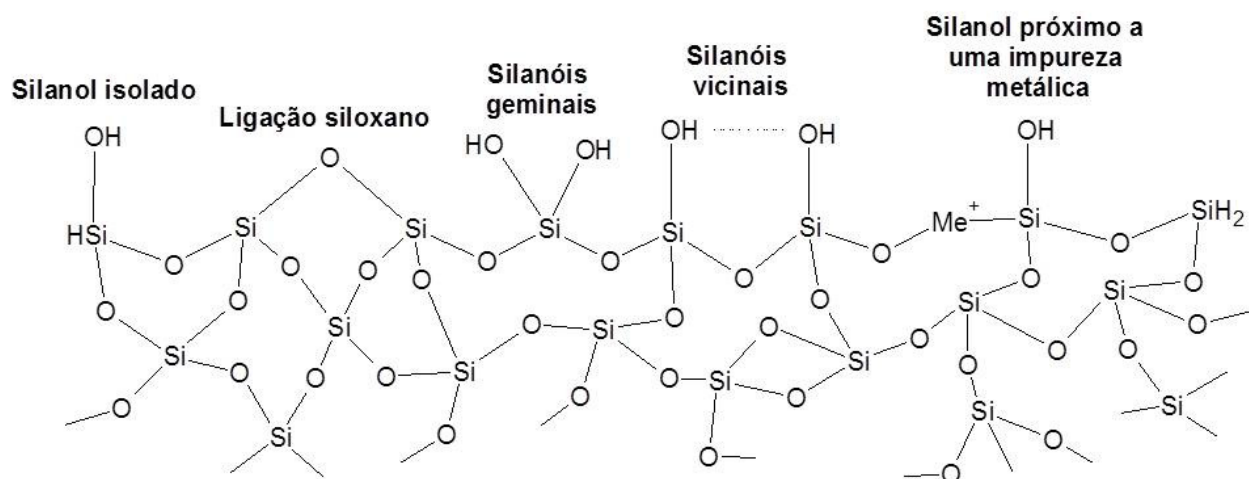


Figura 4: Representação esquemática das espécies presentes na estrutura da sílica¹⁴.

Os silanóis da sílica têm caráter ácido e se não forem recobertos podem causar adsorção irreversível de compostos básicos. Além disso, o uso da sílica como suporte tanto para fases estacionárias para CLAE como sorventes para EFS é limitado, devido às estabilidades química e térmica deste sólido. A faixa de pH apropriada para o uso da sílica como suporte é $2 < \text{pH} < 8$ e a temperatura de trabalho é limitada a valores inferiores a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, uma vez que nessas condições ocorrem o colapso da estrutura e a solubilização da sílica^{4, 15, 16}.

1.2.2. Sorventes quimicamente ligados

As propriedades dos sorventes baseados em sílica podem variar largamente de acordo com as modificações que forem feitas na superfície do suporte. A modificação mais comum é o recobrimento da superfície com polímeros orgânicos por meio de reações químicas, produzindo os sorventes quimicamente ligados.

O método comercial mais comum para a produção de sorventes para EFS e de fases estacionárias para CLAE quimicamente ligados é a organossilanização, que consiste na utilização de um organossilano monofuncional dissustituído que contém um grupo reativo X (X = Cl, OMe ou OEt), dois grupos alquilas pequenos R' (R' = Me) e um outro grupo orgânico R, tipicamente alquil ou alquil substituído, que possui as características desejadas para o sorvente que será produzido. Os materiais resultantes desta reação são chamados de monoméricos e possuem uma camada fina de polímero recobrindo a superfície do suporte, com as cadeias poliméricas bastante organizadas, o que leva a uma rápida transferência de massas no processo de extração. Uma outra

reação de silanização envolve o uso de organossilanos com dois ou três grupos reativos ($X = 2$ ou 3), na presença de água, além do grupo orgânico R, o que resulta não apenas no recobrimento da superfície, mas também no entrecruzamento das moléculas poliméricas. Estes materiais são chamados de sorventes quimicamente ligados poliméricos.

A Equação 2 mostra a equação geral da reação de silanização e a Figura 5 mostra as estruturas monomérica e polimérica dos sorventes quimicamente ligados^{4, 17}.

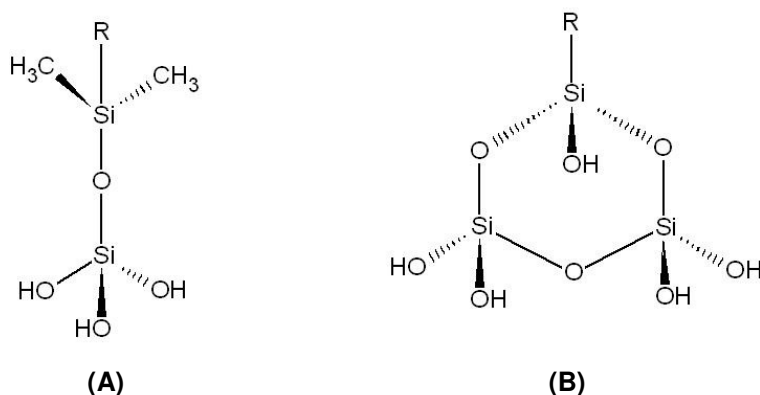
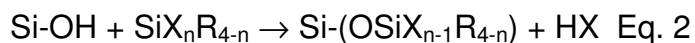


Figura 5: Representação de duas conformações dos sorventes quimicamente ligados: (A) estrutura monomérica, (B) estrutura polimérica.

Apesar do recobrimento, o produto da reação de silanização ainda possui grupos silanóis residuais, que não reagiram com o polímero. As reações de capeamento são realizadas no intuito de diminuir a quantidade de silanóis residuais e consistem em uma segunda silanização com um ou mais reagentes organossilanos de tamanho reduzido, tipicamente trimetilclorossilano (TMCS) e/ou hexametildissilazano (HMDS).

Comercialmente, pode-se encontrar sorventes para EFS capeados e não capeados, porém o capeamento não é garantia de recobrimento de todos os silanóis e aqueles que ainda restam na superfície do suporte são responsáveis por forte retenção de compostos básicos ou de grupos polares e sua eluição pode ser muito difícil. Como os grupos silanóis são ácidos, as bases são retidas mais fortemente e as interações presentes são semelhantes às de troca iônica. Nestes casos, um volume muito grande de solvente de eluição pode ser necessário para uma boa eficiência da extração, o que leva a uma etapa adicional de concentração do extrato e, conseqüentemente, a adição de mais erros ao processo.

1.2.3. Sorventes imobilizados

Uma alternativa ao processo de silanização da sílica é o preparo de sorventes pela sorção, seguida de imobilização, de polímeros orgânicos na superfície do suporte. Esta técnica de preparo mantém as mesmas características de recobrimento dos grupos silanóis, porém, a variedade de polímeros que podem ser utilizados é maior, o que aumenta a seletividade das fases sólidas, e a preparação é mais fácil do que a das fases quimicamente ligadas.

Assim como no preparo de fases estacionárias para CLAE por esta técnica, a deposição do polímero não ocorre de maneira uniforme sobre a superfície do suporte, de modo que se faz necessária uma etapa de imobilização, que induz a formação de uma camada polimérica mais uniforme e a retenção de maiores quantidades de polímero sobre a sílica. A imobilização restringe ainda mais o acesso dos analitos aos silanóis residuais e minimiza a perda de polímero com a passagem dos solventes no procedimento de EFS¹⁸.

Vários modos de imobilização já foram utilizados no preparo dos sorventes para EFS, como tratamento térmico, irradiação gama ou por micro-ondas. O polímero imobilizado pode formar um filme fino sobre a superfície, encher o volume do poro ou ainda uma combinação destas duas formas de deposição. No caso das sílicas cromatográficas, devido tanto ao modo de síntese quanto à sua própria característica amorfa, suas partículas possuem principalmente dois tipos de poros: os mesoporos (de 5 a 50 nm) e os microporos (menores que 5 nm). Os mesoporos são mais acessíveis às cadeias poliméricas na reação de silanização do que os microporos, devido tanto à sua geometria quanto aos impedimentos estéricos das cadeias orgânicas. A Figura 6 mostra uma representação da superfície porosa da sílica, evidenciando o seu recobrimento pelas cadeias poliméricas^{4, 15, 18}.

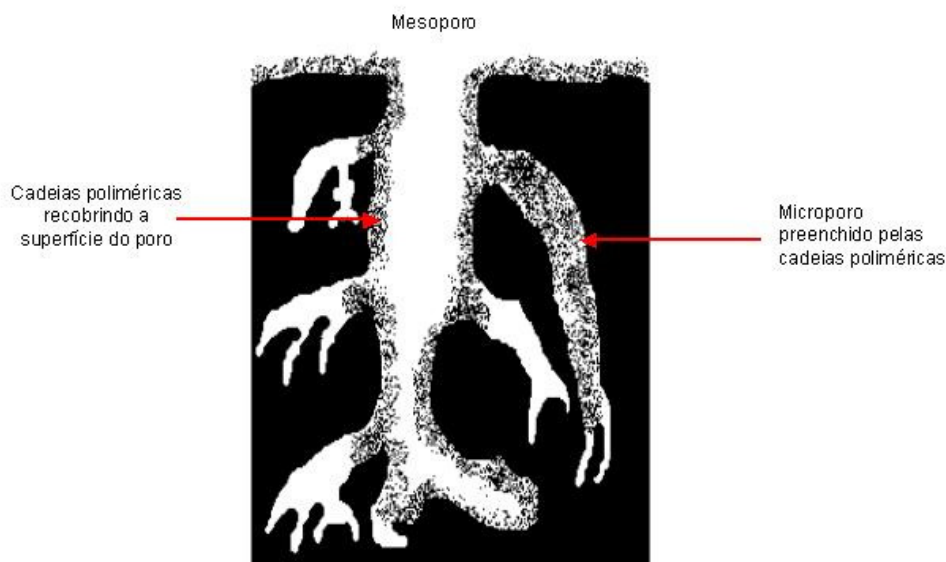


Figura 6: Representação da superfície da sílica porosa, mostrando a deposição do polímero sobre as paredes do mesoporo e o preenchimento de alguns microporos. Adaptado da referência 4.

No início da década de 2000, Queiroz *et al.* utilizaram pela primeira vez um sorvente para EFS obtido pela imobilização do polímero poli(metiloctadecilsiloxano) (PMODS) sobre sílica, por irradiação gama¹⁹. Este sorvente foi utilizado na extração de agrotóxicos em amostras de água. As extrações foram bem sucedidas e, posteriormente, novos estudos com sorventes imobilizados foram realizados no Laboratório de Pesquisas em Cromatografia Líquida (LabCrom).

Há trabalhos publicados na literatura mostrando a potencialidade do uso destes sorventes, preparados com diversos polímeros e métodos de imobilização, aplicados na extração de agrotóxicos e fármacos presentes em matrizes complexas como água, alimentos e urina humana. Os resultados até agora obtidos mostram que os sorventes imobilizados alcançam recuperações iguais ou superiores aos sorventes comerciais, com maiores reprodutibilidades, sendo uma alternativa mais econômica^{20 - 25}.

1.2.4. Outros sorventes

1.2.4.1. Outros óxidos

Além da sílica, o silicato de magnésio (Mg_2SiO_3), conhecido comercialmente como Florisil[®], e a alumina (Al_2O_3) são sorventes polares, de elevada área superficial específica.

1.2.4.2. Carbono grafitizado

O carbono grafitizado foi um dos primeiros sólidos utilizados como sorvente para EFS. Sua capacidade sorviva já era conhecida e utilizada no tratamento de água quando, em 1949, teve seu primeiro uso na extração de compostos orgânicos presentes em águas superficiais. Como sorvente, apresenta pouca resistência mecânica e área superficial específica baixa, porém é altamente homogêneo e atua como fase reversa, podendo alcançar retenções superiores às das fases C18. A desvantagem deste sólido é a adsorção irreversível de alguns analitos, o que pode resultar em baixas recuperações²⁶.

1.2.4.3. Sorventes poliméricos

Em meados da década de 60, foram introduzidas as resinas de poliestireno entrecruzado. Estas resinas são caracterizadas por elevadas áreas superficiais específicas (de 700 a 1200 m² g⁻¹) e estabilidade química na faixa de 1 < pH < 14. O sorvente polimérico mais utilizado é o copolímero poliestireno divinilbenzeno (PS-DVB), seguido do metacrilato entrecruzado e outras modificações com grupos funcionais polares. Estes polímeros são eficientes na extração de ácidos e bases orgânicos fracos e de compostos orgânicos neutros de matrizes aquosas, atuando como fases reversas^{12, 26, 27}.

1.2.4.4. Sorventes iônicos e de modo misto

Os primeiros sorventes trocadores iônicos eram baseados em suportes de sílica modificados com grupos iônicos. Os mais comuns são o ácido sulfônico para as trocas catiônicas fortes e o ácido carboxílico para as trocas fracas (do inglês, *Strong Cation Exchange* – SCX e *Weak Cation Exchange* – WCX, respectivamente). Para as trocas aniônicas, os trocadores mais comuns são as aminas quaternárias para as interações fortes (*Strong Anion Exchange* - SAX) e as aminas secundárias e terciárias para as interações fracas (*Weak Anion Exchange* – WAX). Por serem baseados em sílica, estes sorventes apresentam os mesmos problemas de baixa estabilidade química nos extremos de pH.

Os sorventes de modo misto surgiram com a intenção de acoplar a estrutura das cadeias alquila, que atuam como fase reversa, aos ligantes trocadores iônicos. Nos cartuchos, estes sorventes são dispostos em camadas e realizam, em uma única etapa, a extração e a limpeza de matrizes biológicas. Primeiramente, os analitos ionizados

interagem fortemente com os sítios iônicos; depois, um novo solvente ajusta o pH de modo que são rompidas as interações iônicas entre os analitos e o sorvente. A fase reversa atua separando os analitos e os componentes da matriz de acordo com a sua polaridade²⁸.

1.2.4.5. Sorventes seletivos

Novas tendências no desenvolvimento de fases sólidas para EFS seguem a linha dos sorventes seletivos. Entre eles estão os imunossorventes, os polímeros impressos molecularmente (do inglês, *Molecularly Imprinted Polymers – MIP*) e as fases de acesso restrito (do inglês, *Restricted Access Materials – RAM*).

Os imunossorventes baseiam-se nas reações específicas entre antígeno e anticorpo, o que permite um alto grau de seletividade. Estes sorventes são preparados sobre um suporte sólido, como sílica ou agarose, e podem ser utilizados na extração e concentração de um único analito ou de um grupo de analitos com as mesmas características estruturais.

Os MIP atuam como os imunossorventes, porém são preparados a partir de polímeros com sítios de reconhecimento sintéticos, com seletividade pré-determinada para um ou mais analitos^{12, 26}.

Os sorventes RAM representam uma classe especial de fases sólidas que permitem a injeção direta e repetitiva de amostras biológicas, sem tratamento, em sistemas de cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa, devido à exclusão de compostos macromoleculares, como as proteínas, que interagem somente com a superfície externa do suporte, que é recoberta com grupos hidrofílicos.

Estas classes de sorventes representam um avanço sofisticado na produção de sorventes seletivos, cujo potencial é alto, pois oferecem elevadas resistências mecânica e química.

A Tabela 1 mostra os principais sorventes de fase normal e reversa, de troca iônica e de modo misto, comercialmente disponíveis para EFS. A Tabela 2 mostra um esquema geral para seleção de sorvente e solvente de eluição, de acordo com a natureza dos analitos^{12, 29}.

Tabela 1: Principais sorventes comercialmente disponíveis para EFS. Adaptado das referências 12 e 29.

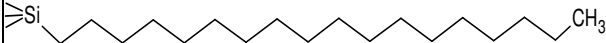

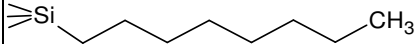
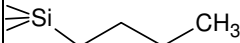
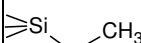
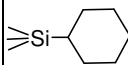
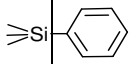
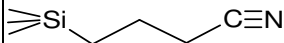
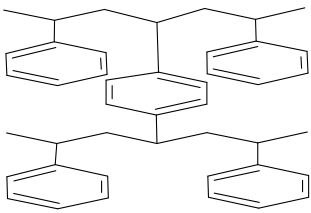
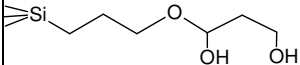
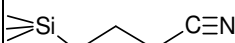
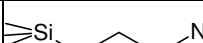
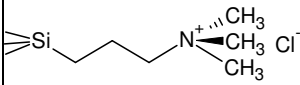
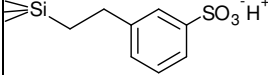
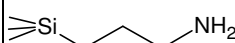
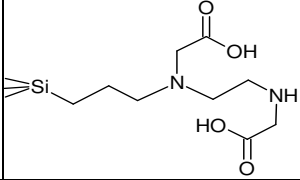
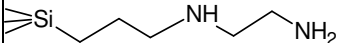
Sorventes apolares (Fase reversa)		
C18	Octadecil	
C14	Tetradecil	
C8	Octil	
C4	Butil	
C2	Etil	
CH	Cicloexil	
Ph	Fenil	
CN	Cianopropil	
PS-DVB	Poliestireno-divinilbenzeno	
Sorventes polares (Fase normal)		
Sílica	Óxido de silício	SiO ₂
Florisil	Silicato de magnésio	Mg ₂ SiO ₃
Alumina	Óxido de alumínio	Al ₂ O ₃
Diol	Diolsilano	
CN	Cianopropil	
NH₂	Aminopropil	
Sorventes de troca iônica		
SAX	Trimetilaminopropil	
SCX	Ácido benzenossulfônico	
WAX	Aminopropil	
WCX	Ácido etilendiaminotriacético	
Sorventes de modo misto		
PSA	Etilendiamino-N-propil	

Tabela 2: Guia geral para escolha de sorventes e solventes de eluição de analitos por EFS. Adaptado das referências 12 e 29.

Amostra		Sorventes	Solventes para eluição dos analitos	
Solubilidade	Características físico-químicas			
Solúvel em água	Não iônico	Apolar	C18	n-hexano diclorometano acetoneitrila álcoois
			C8	
			C4	
			C2	
			Cicloexil	
			Fenil	
			Ciano	
	Moderadamente polar	Sílica	clorofórmio diclorometano acetato de etila álcoois água	
		Florisil		
		Alumina		
		Amino		
	Polar		Dimetilaminopropil	clorofórmio diclorometano acetato de etila álcoois água
			Ciano	
			Diol	
Amino				
Iônico	Catiônico	Poliamida	ácidos tampão ácido	
		SCX		
	Aniônico	WCX	bases tampão básico	
		WAX		
		SAX		
Solúvel em solvente orgânico	Apolar		C18	n-hexano diclorometano acetoneitrila álcoois
			C8	
			C4	
			C2	
			Cicloexil	
			Fenil	
			Ciano	
	Moderadamente polar		Sílica	clorofórmio diclorometano acetato de etila álcoois
			Florisil	
			Alumina	
			Amino	
	Polar		Ciano	clorofórmio diclorometano acetato de etila álcoois
			Diol	
			Amino	
Dimetilaminopropil				

Como foi mencionado anteriormente, no procedimento de EFS, tanto o sorvente quanto o solvente de eluição dos analitos devem ser cuidadosamente escolhidos. Muitas vezes é necessário mais de um solvente, ou mesmo de misturas de solventes na eluição, para que a extração dos analitos seja satisfatória.

1.3. Fases estacionárias metalizadas para CLAE

Na última década, o grupo de pesquisas do LabCrom vem trabalhando intensamente, no preparo, caracterização e aplicações de fases estacionárias para CLAE baseadas em sílica metalizada. Os suportes de sílica metalizados promovem melhorias significativas na estabilidade química das fases estacionárias imobilizadas e as coloca no mesmo nível das fases comerciais.

Os óxidos de metais de transição, principalmente de zircônio e titânio, possuem baixa estabilidade mecânica, porém apresentam elevadas estabilidades química e térmica. A zircônia, por exemplo, é estável na faixa de pH de 1 a 14 e em temperaturas de até 200 °C¹⁶. Outra característica interessante destes óxidos é que eles possuem um menor número de hidroxilas em sua superfície, em comparação com a sílica. Na realidade, a química da superfície da zircônia (ZrO₂) e da titânia (TiO₂) é completamente diferente da sílica, sendo que a maior parte dos grupos hidroxila da superfície formam ligações em ponte e, por isso, são muito menos reativos do que os silanóis livres da superfície da sílica³⁰. Além da zircônia e titânia, a alumina também já foi testada como suporte cromatográfico em substituição à sílica, mas estes materiais são de difícil derivatização e não possuem a variedade de tamanhos de partículas e poros adequados, tornando a sílica o suporte ainda favorito para a produção de fases estacionárias.

A introdução de metais de transição, como titânio e zircônio, à estrutura da sílica faz com que a natureza dos grupos silanóis seja alterada, incorporando parte das estabilidades química e térmica do óxido metálico à estabilidade mecânica da sílica, formando um suporte mais resistente às variações de pH da fase móvel, com elevada área superficial e boa estrutura e distribuição de poros. Estes suportes de sílica metalizada são chamados de óxidos mistos.

O primeiro uso da metalização da superfície da sílica foi relatado por Stout e DeStefano³¹, que adaptaram um método de metalização de vidro poroso, a fim de obter um suporte de sílica menos sensível à dissolução em meio alcalino, para ser utilizado

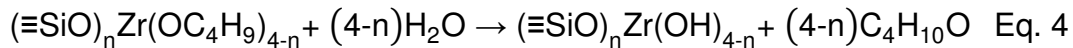
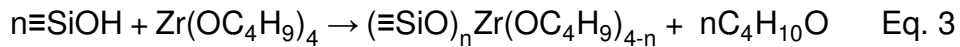
na separação de proteínas, por cromatografia por exclusão. Esta modificação foi feita pelo refluxo da sílica em uma solução aquosa de $ZrOCl_2$. O material foi, então, silanizado e depois utilizado na separação de proteínas utilizando uma fase móvel tamponada a pH 9. A caracterização físico-química desta fase estacionária mostrou que os íons metálicos ficaram adsorvidos preferencialmente nos silanóis geminais da sílica, numa proporção de 1-2% (m/m) de zircônio. A fase zirconizada se mostrou muito mais estável quimicamente em pH elevado em comparação com fases não metalizadas comerciais.

Melo e Jardim³² desenvolveram um método para a zirconização da sílica utilizando tetrabutóxido de zircônio (IV) e tolueno, em condições anidras e obtiveram um suporte com 15% de zircônio incorporado. Após a metalização, a radiação gama foi utilizada como método de imobilização do polímero poli(metiloctilsiloxano) (PMOS) sobre o suporte de sílica zirconizada e os testes de estabilidade química, utilizando fases móveis alcalinas, mostraram que a nova fase estacionária era muito mais estável do que as fases imobilizadas sobre sílica não modificada.

Desde então, diversos trabalhos foram desenvolvidos visando o preparo e a caracterização de fases estacionárias zirconizadas com vários polímeros, entre eles o PMOS³², o poli(metiloctadecilsilano) (PMODS) capeado³³ e não capeado³⁴, poli(metiltetradecilsilano) (PMTDS)³⁵, utilizando diferentes métodos de imobilização. Sobre sílica titanizada, Fonseca *et al.*³⁶ prepararam uma fase estacionária com o PMOS imobilizado por micro-ondas, Morais e Jardim³⁷ imobilizaram o polibutadieno (PBD) também por micro-ondas e Faria *et al.*³⁸ prepararam fases titanizadas com o PMTDS imobilizado termicamente e por micro-ondas. Todos obtiveram resultados satisfatórios, iguais ou melhores do que os das fases estacionárias comerciais. Nos trabalhos publicados por Collins *et al.*³⁹ e Faria *et al.*⁴⁰ foram comparadas as estabilidades químicas e as eficiências cromatográficas de fases estacionárias zirconizadas e titanizadas preparadas por diferentes métodos de metalização. De modo geral, estas fases metalizadas se mostraram muito promissoras, tendo aumentado a estabilidade com o uso de fases móveis alcalinas.

As Equações 3 e 4 representam a reação de um alcóxido de zircônio com os grupos silanóis da superfície da sílica. Nesta reação, o metal pode ficar adsorvido fisicamente ou covalentemente ligado à superfície. Após a sorção e imobilização do polímero sobre o suporte metalizado, a camada polimérica não é uniforme sobre toda a

superfície. Algumas hidroxilas, da sílica ou do óxido metálico, podem ficar expostas e reter analitos básicos, muitas vezes irreversivelmente. Uma característica dos suportes metalizados é que os silanóis residuais isolados têm sua acidez aumentada pela presença dos átomos metálicos adjacentes ao silício que contém o OH. As hidroxilas ligadas ao óxido metálico, titanol (Ti-OH) ou zirconol (Zr-OH), também podem atuar como ácidos de Lewis¹⁸.



Faria *et al.*⁴¹ otimizaram o método de zirconização utilizado por Melo e Jardim³² com o intuito de obter um aumento na incorporação de zircônio à superfície da sílica. A reação foi otimizada utilizando um planejamento experimental e o método de superfície de respostas, variando o tempo e a temperatura de reação, ativação da sílica antes da reação, o solvente e a quantidade de reagentes. O resultado obtido foi muito satisfatório, sendo que aproximadamente 20% (m/m) de zircônio foi incorporado à sílica a partir de uma reação com menores quantidades de reagentes e em condições mais brandas. A caracterização físico-química do suporte obtido mostrou que as propriedades texturais da sílica não foram afetadas pela introdução do zircônio e que houve uma distribuição uniforme do metal na superfície do sólido. A espectroscopia de raios-X foi utilizada para verificar a natureza da ligação do zircônio na superfície e foi observado que há transferência de carga eletrônica do ZrO₂ para o SiO₂, o que evidencia a formação de ligações Si-O-Zr. Este método está sendo atualmente utilizado no LabCrom para zirconização de sílica para o preparo de fases estacionárias para CLAE.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo o preparo, a caracterização físico-química e o estudo da aplicação de um sorvente baseado em sílica zirconizada com o polímero PMOS termicamente imobilizado, na extração em fase sólida, como método de preparo de amostras em análise multirresíduo de agrotóxicos por CLAE.

2.1. Estratégias para atingir o objetivo

Amostras de água fortificadas com a mistura dos agrotóxicos, carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, carbofuram, carbaril, metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem, foram utilizadas nos ensaios de eficiência de extração para avaliar os cartuchos em cada etapa de otimização do método de preparo de amostra. Ênfases foram dadas na otimização do procedimento de preparo dos sorventes, na qual foram avaliadas as melhores condições de carga polimérica sobre os suportes, a melhor temperatura de imobilização do polímero e a melhor condição de extração do excesso de polímero, e na determinação do volume de *breakthrough* dos cartuchos. Para fins de comparação, também foram preparados sorventes com o polímero PMOS sorvido e termicamente imobilizado sobre sílica não modificada.

Os sorventes preparados foram caracterizados físico-quimicamente e foram aplicados na EFS de agrotóxicos em amostras de suco de tomate.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais

3.1.1. Reagentes

- Acetato de etila, grau HPLC, marca Tedia;
- Acetonitrila, grau HPLC, marca Tedia;
- Ácido o-fosfórico, 85,0% P.A. - A.C.S., marca Synth;
- Ácido nítrico, 69,0 – 70,0% (m/v), marca J.T. Baker;
- Água deionizada;
- Carbaril, 99,9%, marca Chem Service;
- Carbendazim, 98,5%, marca Dr. Ehrenstorfer GmbH;
- Carbofuram, 99,9%, marca Riedel-de-Haën;
- Cimoxanil, 99,1%, marca Riedel-de-Haën;
- Difenconazol, 97,3%, marca Riedel-de-Haën;
- Hélio, 5.0 analítico, marca White Martins;
- Imidacloprido, 99,9%, marca Riedel-de-Haën;
- Metanol, grau HPLC, marca Tedia;
- Metiocarbe, 98,5%, marca Dr. Ehrenstorfer GmbH;
- N-hexano, grau HPLC, marca Tedia;
- Pirimifós-metílico, 99,9%, marca Riedel-de-Haën;
- Piriproxifem, 99,1%, marca Fluka;
- Tebuconazol, 99,5%, marca Fluka;
- Tetrabutóxido de zircônio (IV), solução a 80 % (m/v) em 1-butanol, marca Sigma Aldrich;
- Tolueno, marca J.T. Baker.

3.1.2. Equipamentos

- Agitador magnético, modelo 752, marca Fisatom;
- Agitador vórtex, modelo Genius 3, marca IKA;
- Analisador de área superficial e tamanho de poros, marca Quantachrome, modelo NOVA 4200e;
- Analisador elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN), marca Perkin Elmer, modelo 2400;

- Analisador termogravimétrico, marca TA Instruments, modelo TGA2950;
- Balança analítica, modelo A-250, marca Fisher Scientific;
- Balança analítica, modelo CP225D, marca Sartorius;
- Banho de aquecimento de evaporador rotativo, modelo MA120, marca Marconi;
- Bomba de alta pressão do tipo recíproca, de pistão duplo, marca Waters, modelo 510;
- Bomba de vácuo, marca Marconi;
- Bomba de vácuo, marca Millipore;
- Cartuchos para EFS em polipropileno, volume de 6 mL, marca Supelco;
- Centrífuga, modelo 225, marca Fisher Scientific;
- Coluna cromatográfica, marca Waters, modelo NovaPak[®] C18, partículas esféricas de 4 µm, poros de 6 nm, capeada, dimensões 3,9 mm x 150 mm;
- Coluna de guarda, marca Waters, modelo NovaPak[®] C18, partículas esféricas de 4 µm, poros de 6 nm, capeada, dimensões 3,9 mm x 20 mm;
- Cromatógrafo a líquido modular, marca Shimadzu, constituído por: bomba de alta pressão, tipo recíproca de pistão duplo, modelo LC-10AD; detector espectrofotométrico por arranjo de diodos, cela de 8 µL de volume e 10 mm de caminho óptico, modelo SPD-10A; auto-injetor com amostragem programada de 17 µL, modelo SIL-10AD; forno para coluna, modelo CTO-10AS; controlador de sistema, modelo SCL-10A; degaseificador de solventes, modelo DGU-2A; sistema de aquisição de dados composto por microcomputador com software de aquisição e tratamento de dados cromatográficos ClassVP.
- Espectrômetro de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier, marca Bomem, modelo MB100;
- Espectrômetro de fluorescência de raios-X por energia dispersiva, marca Shimadzu, modelo EDX720;
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear 400 MHz, marca Bruker, modelo Avance II;
- Estufa, modelo ADP-21, marca Yamato;
- Filtros para cartuchos de EFS, em polietileno, poros de 20 µm, marca Supelco;
- Forno de aquecimento com controle de temperatura, modelo CH-150, marca Eldex Laboratories, Inc;
- Holder para coluna de guarda, marca Waters, dimensões 3,9 mm x 20 mm;

- pHmetro, modelo 827, marca Metrohm;
- Sistema de vácuo manifold para EFS, com 12 portas, modelo Visiprep[®], marca Supelco;
- Sistema purificador de água, modelo Direct Q, marca Millipore;
- Ultrassom, modelo T14, marca Thornton.

3.1.3. Sílica e polímero

Como suporte para a fase sólida foi utilizada a sílica gel para cromatografia, tamanho de partícula de 35 a 70 μm , tamanho de poro de 6 nm, fabricada pela Acros Organics.

Como fase líquida foi utilizado o polímero poli(metiloctilsiloxano) (PMOS), PS-140, de densidade específica 0,91 g mL^{-1} , índice de refração 1,445 e viscosidade (a 25 °C) de 600-1000 centistokes, produzido pela United Chemicals Technologies Inc. (USA).

3.2. Seleção dos agrotóxicos e separação cromatográfica

Os agrotóxicos empregados para os estudos neste trabalho foram selecionados por serem utilizados na cultura de tomate e por participarem do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (PARA - ANVISA)⁴².

As estruturas dos agrotóxicos estão mostradas na Figura 7. A Tabela 3 apresenta algumas características físico-químicas e o grupo químico destes compostos⁴³. Foram preparadas soluções estoque na concentração de 1000 mg L^{-1} de cada composto em acetonitrila. As soluções de trabalho para fortificação das amostras foram preparadas por diluições das soluções estoque. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro, com tampa de rosca e vedação de teflon, e guardadas no freezer.

Foi feita a separação cromatográfica dos agrotóxicos, utilizando-se um sistema de CLAE e detecção espectrofotométrica por absorção no ultravioleta, por meio de um detector por arranjo de diodos. Inicialmente, foram obtidos os espectros de absorção no ultravioleta de cada agrotóxico e seus comprimentos de onda máximos de absorção foram utilizados para suas detecções. Os espectros de absorção no ultravioleta dos agrotóxicos estão mostrados no Anexo A.

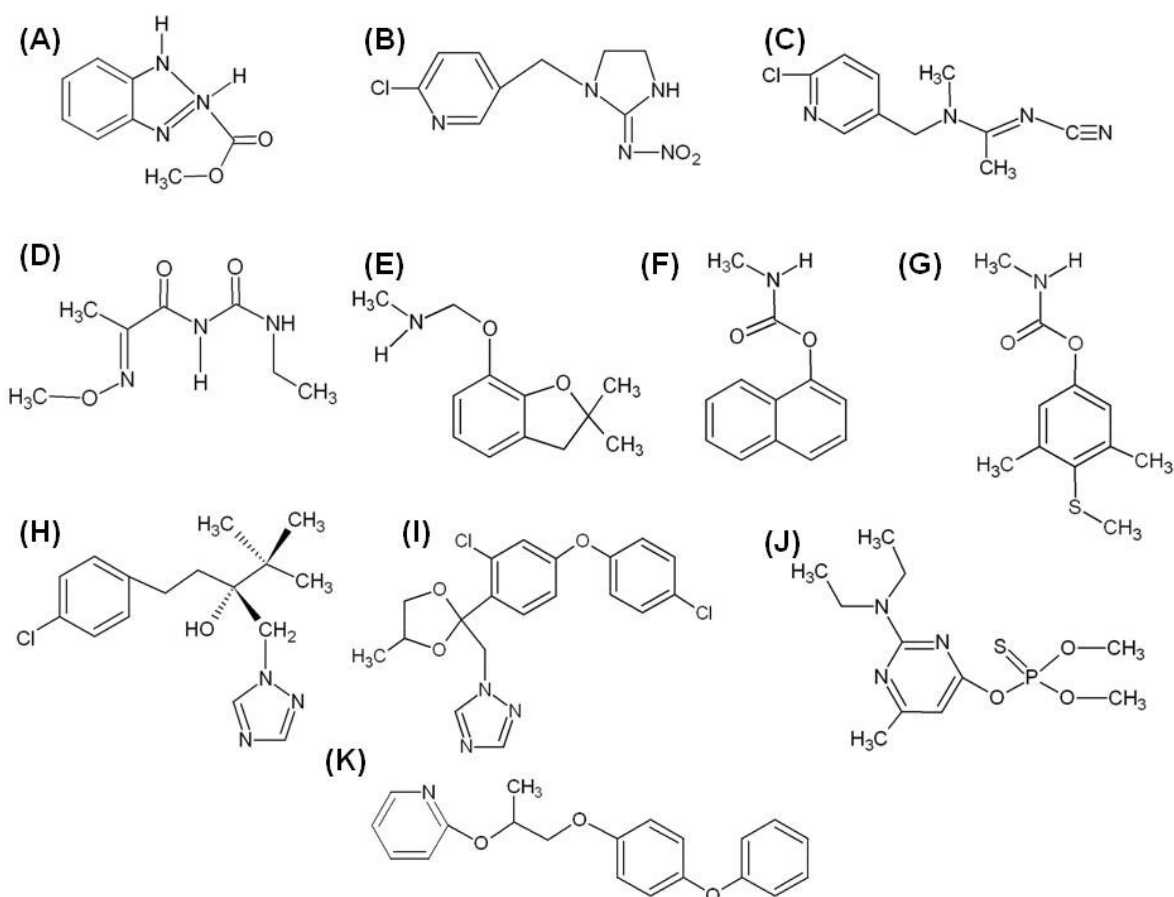


Figura 7: Estruturas dos agrotóxicos selecionados para estudo. (A) carbendazim, (B) imidacloprido, (C) acetamiprido, (D) cimoxanil, (E) carbofuram, (F) carbaril, (G) metiocarbe, (H) tebuconazol, (I) difenoconazol, (J) pirimifós-metílico e (K) piriproxifem.

Tabela 3: Principais características físico-químicas e grupo químico dos agrotóxicos utilizados neste trabalho⁴³.

Agrotóxicos	Grupo Químico	Função	pKa (25 °C)	Coeficiente de partição octanol/água (pH 7, 25 °C)	
				P	log P
Carbendazim	Benzimidazol	F	4,2	3,02x10 ¹	1,48
Imidacloprido	Neonicotinóide	I	-	3,72	0,57
Acetamiprido	Neonicotinóide	I	0,7	6,31	0,80
Cimoxanil	Acetamida	F	9,3	4,68	0,67
Carbofuram	Carbamato	I, N, A	-	6,31x10 ¹	1,80
Carbaril	Carbamato	I	10,4	2,29x10 ²	2,36
Metiocarbe	Carbamato	I	-	1,51x10 ³	3,18
Tebuconazol	Triazol	F	-	5,01x10 ³	3,70
Difenoconazol	Triazol	F	1,1	2,29x10 ⁴	4,36
Pirimifós-metílico	Organofosforado	I, A	4,3	7,94x10 ³	3,90
Piriproxifem	Éter piridiloxipropílico	I	6,9	2,34x10 ⁵	5,37

*os grupos químicos aqui se referem à classificação da Anvisa para estes compostos de acordo com suas funções orgânicas.

Funções: F = fungicida, I = inseticida, N = nematocida, A = acaricida.

Na otimização da separação dos agrotóxicos, uma solução da mistura dos agrotóxicos foi utilizada. A separação foi feita usando-se a eluição por gradiente, variando-se a programação do gradiente até obterem parâmetros cromatográficos aceitáveis de resolução (Rs), fator de assimetria (As) e fator de retenção (k)^{11,44}. Foi mantida a acetonitrila na composição da fase móvel, pois este solvente absorve em 190 nm, enquanto o metanol tem absorção máxima em 210 nm. Dentre os compostos analisados, o carbofuram, o metiocarbe e o difenoconazol têm absorções máximas em 200 nm, tornando o uso da acetonitrila mais adequado, garantindo que não haverá interferência de absorção do solvente nas absorções máximas dos analitos.

3.3. Procedimento de extração em fase sólida

O processo de extração ocorreu em três etapas: condicionamento do cartucho, adição da amostra e eluição dos analitos^{4, 10, 12, 29}. O condicionamento do sorvente foi feito com duas alíquotas de 5,0 mL de metanol, seguidas de uma alíquota de 5,0 mL de água MilliQ e uma alíquota de 5,0 mL de água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5, sob vácuo, a uma vazão de aproximadamente 5,0 mL min⁻¹. A vazão foi controlada manualmente e tomou-se o cuidado de não deixar que o sorvente secasse antes da aplicação da amostra, para evitar a formação de caminhos preferenciais. Como amostras, foram utilizados 10 mL de água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5, fortificada com uma mistura dos agrotóxicos na concentração de 50 µg L⁻¹. A adição da amostra foi feita a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. Após a passagem da amostra, o cartucho foi deixado secar sob vácuo para, então, efetuar a etapa de eluição dos analitos. O solvente de eluição utilizado inicialmente foi o metanol, em cinco alíquotas de 1,0 mL, a uma vazão de aproximadamente 1,0 mL min⁻¹. Os extratos foram recolhidos em um recipiente limpo e seco e levados à secagem do solvente, sob fluxo de nitrogênio, para depois serem reconstituídos em 1,0 mL de acetonitrila e analisados por CLAE, com detecção espectrofotométrica no ultravioleta, utilizando detector por arranjo de diodos.

A Equação 5 mostra o cálculo da eficiência da extração:

$$\% \text{Eficiência de extração} = \frac{\text{Área}_{\text{extração}}}{\text{Área}_{100\%}} \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

na qual: $\text{Área}_{\text{extração}}$ é a área do pico do analito após o procedimento de EFS e $\text{Área}_{100\%}$ é a área do pico em uma solução dos analitos em acetonitrila de concentração equivalente a 100% de eficiência de extração.

O coeficiente de variação é uma estimativa da precisão das extrações e é calculado como mostra a Equação 6:

$$\text{CV}(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

na qual s é a estimativa do desvio padrão absoluto e \bar{x} é a média das eficiências de extração.

3.4. Preparo dos sorventes

3.4.1. Zirconização da sílica

A sílica zirconizada foi preparada de acordo com o método otimizado por Faria *et al.*⁴¹, no qual a reação de zirconização é feita entre a sílica não ativada e o tetrabutóxido de zircônio. A quantidade de 2,5 g de sílica não ativada foi adicionada a 6,8 mL de tetrabutóxido de zircônio, contido em um tubo de vidro com tampa, ao qual foram acrescentados 15,0 mL de tolueno anidro. Esta mistura foi agitada em um agitador vórtex por cerca de 30 segundos e, então, levada ao ultrassom por 10 minutos.

A reação se deu em 5 horas e 10 minutos, sendo que os tubos contendo a mistura dos reagentes foram agitados, em agitador vórtex, a cada 30 minutos. Após a reação, a mistura foi centrifugada por 15 minutos, a uma rotação de 9000 rpm, e o sobrenadante foi, então, descartado. Adicionaram-se mais 15,0 mL de tolueno anidro a cada tubo para lavar o sólido e, posteriormente, repetiu-se o procedimento de centrifugação e lavagem por mais quatro vezes.

Após a reação de zirconização, o material foi hidrolisado com 15 mL de solução $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de ácido nítrico e centrifugado por 15 minutos. O sólido restante foi lavado com 15 mL de água deionizada e novamente centrifugado por 10 minutos para ser, então, levado à estufa, sob pressão atmosférica, a 120 °C, por 12 horas. O procedimento de zirconização foi realizado duas vezes.

3.4.2. Estudo da carga polimérica na fase sólida

Para avaliação da carga de polímero da fase sólida que proporcionasse os melhores resultados de eficiência de extração, foram preparadas, inicialmente, fases com 35, 40, 45 e 50% de polímero sobre a sílica não modificada ou zirconizada.

Foram confeccionados cartuchos com 500 mg de fase sólida, sendo que, em cada cartucho, foram colocados dois filtros de polietileno poroso, com o objetivo de não ocorrer perda de sólido. A avaliação dos cartuchos foi feita através da análise da eficiência de extração de amostras de água fortificadas com a mistura dos agrotóxicos selecionados. Amostras de 10,0 mL de água deionizada foram fortificadas com uma mistura dos compostos, na concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.4.3. Estudo das condições de imobilização do PMOS sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado

Após a sorção do polímero na superfície do suporte, faz-se necessária uma etapa de imobilização, para minimizar a perda de polímero do sorvente com a passagem dos solventes nas etapas de extração em fase sólida.

Para avaliação das melhores condições de temperatura e tempo de imobilização do PMOS sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado, foram realizados planejamentos fatoriais 2^2 , com triplicata no ponto central, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4: Planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central para avaliação dos efeitos da temperatura (F1) e do tempo de imobilização (F2) do PMOS sobre sílica não modificada e sílica zirconizada.

Experimento	F1	F2	Temperatura / °C (F1)	Tempo / h (F2)
1	-	-	120	4
2	+	-	160	4
3	-	+	120	8
4	+	+	160	8
5	0	0	140	6
6	0	0	140	6
7	0	0	140	6

O ponto central foi escolhido de modo que para o experimento 1, a temperatura fosse de 120 °C e o tempo de imobilização de 4 horas, que são as condições de imobilização utilizadas na literatura.²³ A imobilização térmica foi feita em estufa, sob pressão atmosférica.

3.4.4. Estudo do procedimento de extração do excesso de polímero não imobilizado sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado

O material polimérico que não se imobiliza sobre o suporte deve ser removido antes da confecção dos cartuchos, para que se evite, durante o procedimento de EFS, a lixiviação de polímero não imobilizado. Por este motivo, faz-se necessária uma etapa de extração do excesso de polímero com um ou mais solventes^{18, 45}.

A partir dos resultados dos planejamentos fatoriais elaborados para avaliação das melhores condições de imobilização do PMOS sobre sílica não modificada ou zirconizada, os sorventes preparados foram submetidos a três diferentes condições de extração do excesso de polímero:¹⁵

a) Extração com n-hexano, a temperatura ambiente, numa proporção de 36 mL de solvente para cada 1 g de material, a uma vazão de aproximadamente 0,6 mL/min;

b) Extração com n-hexano, a temperatura em 50 °C, numa proporção de 36 mL de solvente para cada 1 g de material, a uma vazão de aproximadamente 0,6 mL/min;

c) Extração com n-hexano seguido de metanol, a temperatura ambiente, ambos numa proporção de 36 mL para cada 1 g de material e a uma vazão de aproximadamente 0,6 mL/min.

Cada condição de extração foi aplicada utilizando-se uma coluna de aço inoxidável de 10 cm, na qual foi colocado o sorvente a ser extraído, acoplada a uma bomba de alta pressão empregada em CLAE, que proporcionou um fluxo contínuo de solvente. Na condição b, a coluna com o sorvente foi colocada dentro de um forno com temperatura controlada de 50 °C, durante a passagem do solvente.

3.5. Caracterização físico-química dos sorventes preparados

3.5.1. Análise elementar

Amostras dos sorventes preparados sobre sílica não modificada ou zirconizada, oriundas das etapas de otimização da carga polimérica (item 3.4.2), estudo das condições de imobilização do PMOS sobre os suportes (item 3.4.3) e estudo do procedimento de extração do excesso de PMOS sobre os suportes (item 3.4.4), foram submetidas à análise elementar, para a determinação da porcentagem de carbono, a fim de avaliar o grau de recobrimento do suporte pelo PMOS.

As análises foram realizadas, no analisador elementar de carbono, nitrogênio e hidrogênio, marca Perkin Elmer, modelo 2400. As amostras foram pesadas em cápsula de estanho, que foi introduzida no equipamento e aquecida à temperaturas de 900 a 1200 °C, na presença de O₂, a fim de converter o material em CO₂, N₂ e H₂, que foram posteriormente quantificados, para fornecer as porcentagens de C, N e H das amostras. As análises foram realizadas em duplicatas.

Para avaliar o grau de recobrimento dos suportes pelo polímero, foram calculadas as espessuras das camadas de polímero imobilizado em cada etapa de otimização do preparo dos sorventes. Sabendo-se que o PMOS contém 62,2% (m/m) de carbono, foram calculadas as porcentagens de PMOS em cada sorvente a partir dos valores de %C, obtidas na análise elementar, como mostra a Equação 7:

$$\%PMOS = \frac{\%C}{62,2} \times 100 \quad \text{Eq. 7}$$

Foi determinada a massa específica de PMOS imobilizado ($m_{PMOSimob}$) também a partir das porcentagens de carbono obtidas na análise elementar dos sorventes, como mostra a Equação 8:

$$m_{PMOSimob} = \frac{\%C}{62,2 - \%C} \quad \text{Eq. 8}$$

A espessura da camada de polímero (τ) é calculada pela Equação 9:

$$\tau = - \left(\frac{\sqrt{d^2 - Fd^2} - d}{2} \right) \quad \text{Eq. 9}$$

na qual d é o diâmetro médio dos poros do suporte e F é a fração de polímero imobilizado. Assume-se para o cálculo de τ que os suportes possuem poros de diâmetro uniforme e que o polímero é imobilizado em uma camada de espessura constante na superfície do suporte. O valor de F é calculado como mostra a Equação 10.

$$F = \frac{m_{PMOSimob}}{m_{PMOSporos\ cheios}} \quad \text{Eq. 10}$$

Na Equação 10, a massa de PMOS necessária para preencher os poros do suporte ($m_{PMOSporos\ cheios}$) foi calculada a partir do volume específico de poros (V_p) de cada suporte, determinado pela análise de volume de poros, e da densidade do PMOS ($\rho = 0,91 \text{ g mL}^{-1}$), como mostra a Equação 11.

$$m_{PMOSporos\ cheios} = V_{p_{suporte}} \times \rho_{PMOS} \quad \text{Eq. 11}$$

Para a sílica não modificada $m_{\text{PMOSporos cheios}} = 0,84$ g de PMOS e, para a sílica zirconizada, $m_{\text{PMOSporos cheios}} = 0,39$ g de PMOS por grama do suporte.

3.5.2. Análise termogravimétrica

A termogravimetria foi utilizada a fim de se obterem informações a cerca das estabilidades térmicas dos suportes, do polímero e dos sorventes preparados pelo método otimizado. As curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas a partir da variação da massa do material em função da temperatura⁴⁶.

Os experimentos foram realizados em um analisador termogravimétrico marca TA Instruments, modelo TGA 2950, sob atmosfera oxidante (O_2), de 25 a 1000 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. As curvas termogravimétricas obtidas são representadas pela porcentagem de perda de massa em função da temperatura⁴⁷.

3.5.3. Área superficial específica, volume e diâmetro de poros

As análises de área superficial específica, volume e diâmetro de poros foram realizadas em um analisador de área superficial e tamanho de poros, marca Quantachrome, modelo NOVA 4200e. Inicialmente, as amostras foram submetidas à elevação da temperatura a 120 °C, sob vácuo, para eliminação de umidade e de gases adsorvidos.

Foram utilizados o método BET, que determina a área superficial a partir da soma das áreas das superfícies interna (parede dos poros) e externa do material, e o método BJH, que determina o tamanho e o volume dos poros a partir da interpretação quantitativa das isotermas de adsorção e dessorção do nitrogênio líquido obtidas para o material.

3.5.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{29}Si

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) em estado sólido foi utilizada para determinar as modificações estruturais obtidas pela zirconização da sílica e pela imobilização térmica do polímero PMOS nos suportes de sílica não modificado e zirconizado, já que os deslocamentos químicos nos espectros de RMN são muito sensíveis às mudanças estruturais e à conformação das moléculas, assim como às interações intermoleculares e à alterações químicas nas espécies. Foram obtidos os espectros de RMN do núcleo de ^{29}Si que mostram as alterações ocorridas nas ligações

dos átomos de silício presentes nos suportes e nos sorventes. As diferentes espécies de silício e seus deslocamentos químicos característicos estão mostrados na Figura 8⁴⁸.

Os espectros de RMN de ²⁹Si com CP/MAS (polarização cruzada segundo rotação em ângulo mágico) foram obtidos em um espectrômetro marca Bruker, modelo Avance II de 400 MHz, usando um rotor de zircônia, com velocidade de rotação de 3500 Hz. O tempo de contato foi de 5 ms e o intervalo entre os pulsos de 1,5 s. O alargamento de banda usado foi de 30 Hz e a largura espectral para todos os espectros foi de aproximadamente 25 kHz.

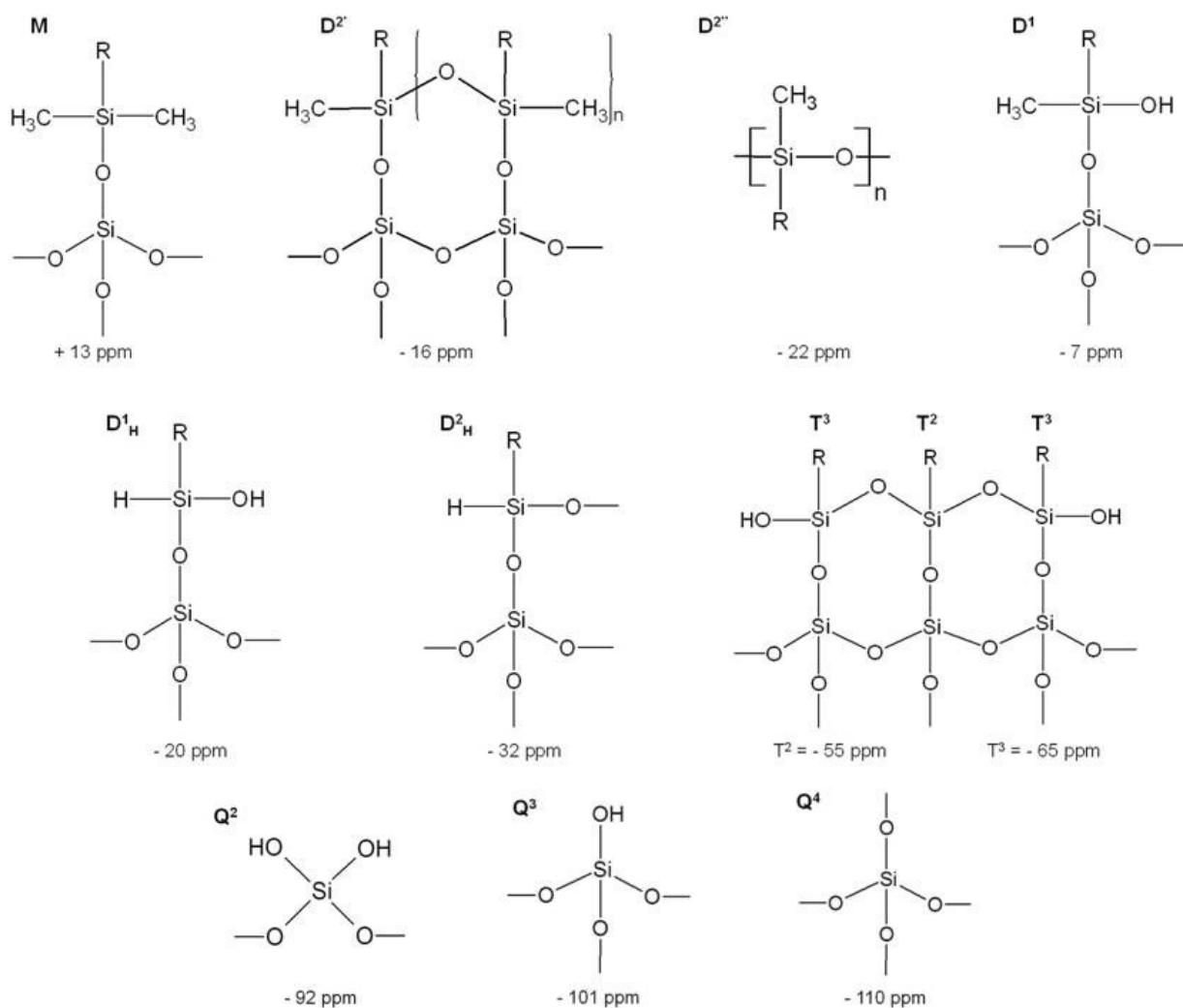


Figura 8: Nomenclatura e deslocamento químico das espécies de silício encontradas nos suportes e nos sorventes (R = C₈).

3.5.5. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos para observar os diferentes tipos de ligações existentes nos suportes de sílica não

modificado e zirconizado e no polímero PMOS e constatar a efetiva imobilização do polímero sobre os suportes nos sorventes preparados.

As análises foram realizadas em um espectrômetro marca Bomem, modelo MB-100, com transformada de Fourier, na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e taxa de aquisição de 20 varreduras por minuto. Os suportes de sílica não modificado e zirconizado foram analisados empregando-se pastilhas de KBr, na concentração de 1% (m/m) de amostra e as amostras dos sorventes foram analisadas tanto em pastilhas de KBr como no acessório de refletância difusa. A amostra líquida do polímero PMOS foi analisada no modo de transmitância, utilizando-se uma janela de NaCl.

3.5.6. Fluorescência de raios-X

A espectroscopia de fluorescência de raios X (FRX) foi utilizada para estimar a quantidade de zircônio incorporada ao suporte de sílica. Para isso, foi construída uma curva analítica obtida a partir da análise de padrões, contendo uma mistura de $\text{SiO}_2/\text{ZrO}_2$ numa faixa de 7,5 a 25% de zircônio em massa.

As análises dos padrões e das amostras foram feitas em um espectrômetro de fluorescência de raios-X por energia dispersiva, Shimadzu, modelo EDX-720/800HS. Quantidades suficientes dos padrões e das amostras foram colocadas em um porta amostras de polietileno, sustentadas por filme de poliéster Mylar[®] com 2,5 μm de espessura. A voltagem aplicada no tubo de raios X foi de 50 kV, corrente de 50 μA , colimador de 10 mm, com 25% de tempo morto do detector. Os espectros foram obtidos de 0 a 40 keV e o tempo de irradiação foi de 300 s. As medidas foram feitas em triplicata tanto para os padrões como para as amostras.

3.6. Determinação do volume de *breakthrough*

O volume de *breakthrough* (V_b) é um parâmetro característico dos sorventes utilizados em EFS e é descrito como o volume máximo de amostra que pode ser percolado através do sorvente sem perdas significativas dos analitos. Considera-se que para volumes de amostra menores ou iguais a V_b , a recuperação após a eluição é de 100% desde que não haja interações irreversíveis entre o analito e o sorvente. Este parâmetro é uma etapa importante na otimização de procedimentos de EFS e é dependente de fatores como a concentração da amostra, a temperatura, a vazão, as

características físico-químicas e cromatográficas do sorvente e da capacidade de retenção dos analitos.

Para a determinação do V_b podem ser utilizados tanto métodos *on-line* quanto *off-line*. Vários procedimentos são descritos na literatura ^{4, 49-51}, inclusive métodos teóricos de predição do V_b . Basicamente os procedimentos consistem na introdução da amostra no sorvente e na análise do eluente, contínua nos métodos *on-line* e em alíquotas nos métodos *off-line*. O monitoramento do efluente pode ser feito por métodos espectroscópicos ou cromatográficos. O *breakthrough* ocorre quando a capacidade do sorvente é excedida e a concentração dos analitos no efluente começa a aumentar.

As curvas de *breakthrough* são construídas a partir da relação entre a concentração dos analitos (ou a área dos picos cromatográficos) no efluente e o volume total de amostra percolado através do sorvente. Sob condições ideais, estas curvas exibem um perfil bi logarítmico e o V_b é definido como o volume de amostra que corresponde a aproximadamente 1% da concentração máxima do analito no efluente. Visualmente, o V_b pode ser estimado pelo ponto em que a área do pico cromatográfico começa a aumentar. Um modelo de curva de *breakthrough* pode ser visto na Figura 9.

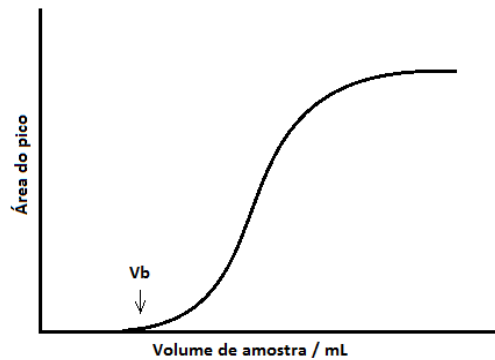


Figura 9: Modelo de curva de *breakthrough*. V_b indica o volume de *breakthrough*, volume no qual se começa a detectar o analito no eluente⁴⁹.

A determinação do volume de *breakthrough* neste trabalho foi feita através do método *off-line*, no qual a amostra é passada pelo cartucho previamente condicionado e alíquotas do eluente são recolhidas e analisadas diretamente por CLAE^{11, 49, 50}.

Nestes experimentos, foram usados volumes de 300 mL de água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5 e fortificadas com os agrotóxicos carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, carbofuram, carbaril, metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem, na concentração de 1,0 mg/L. Os cartuchos foram

condicionados com duas alíquotas de 5,0 mL de metanol, uma alíquota de 5,0 mL de água deionizada e uma alíquota de 5,0 mL de água acidificada a pH 2,5, a uma vazão de 5,0 mL/min.

As amostras foram percoladas através dos cartuchos, a uma vazão de 1,0 mL/min e alíquotas de 1,0 mL foram recolhidas após a passagem de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200, 250 e 300 mL. As curvas de *breakthrough* foram construídas através da relação entre a área do pico do composto no cromatograma e o volume de amostra percolado através do cartucho.

3.7. Avaliação do pH da amostra

Em EFS de fase reversa, as interações existentes entre o sorvente e os analitos são majoritariamente hidrofóbicas. Porém, para fases reversas baseadas em sílica, devido à natureza das partículas com seus grupos silanóis residuais, algumas interações polares podem ocorrer. Em pH acima de 4,0 os silanóis da superfície da sílica podem se encontrar na forma ionizada, Si-O^- , e estas espécies podem provocar interações secundárias do tipo troca iônica, atraindo cátions ou compostos básicos. Desta forma, o ajuste do pH da amostra e do solvente de condicionamento do sorvente é de extrema importância para garantir interações apropriadas entre os analitos e o sorvente.

Se o composto de interesse é ácido ou básico, deve-se usar um pH em que o analito não esteja carregado, já que a retenção de compostos na forma neutra (que não possuam grupos funcionais carregados), utilizando-se sorventes de fase reversa, é aumentada. Os compostos naturalmente neutros, que não possuem grupos funcionais ácidos ou básicos, normalmente não são afetados pelo pH.²⁹

Para verificar a influência do pH das amostras na eficiência da extração, amostras de 50 mL de água, fortificadas com a mistura dos agrotóxicos, carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, carbofuram, carbaril, metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem, foram submetidas ao procedimento de EFS, utilizando-se o sorvente preparado com sílica zirconizada. Os pH estudados foram ácido (pH = 2,5), neutro (pH = 7,0) e básico (pH = 9,0). As extrações foram realizadas em triplicata para cada pH e o condicionamento dos cartuchos foi feito com água, em pH ajustado igual ao da amostra.

3.8. Comparação do sorvente zirconizado com cartucho comercial

Com o objetivo de comparar os cartuchos preparados pela imobilização do polímero PMOS sobre sílica zirconizada com os cartuchos comerciais, foram feitas as extrações em fase sólida de amostras de 50 mL de água, em pH 2,5, fortificadas com a mistura dos agrotóxicos, na concentração de 10 µg/L.

O cartucho comercial utilizado foi o Supelclean™ ENVI-8, da marca Supelco, que possui como sorvente 500 mg de fase reversa C8, capeada, contendo 14% de carbono. As etapas de condicionamento, aplicação da amostra e eluição dos analitos foram feitas seguindo o mesmo procedimento utilizado para os cartuchos preparados em laboratório com o sorvente C8 imobilizado termicamente sobre sílica zirconizada.

3.9. Aplicação do sorvente zirconizado na EFS de amostras de suco de tomate

O procedimento de EFS utilizando o sorvente SiZrPMOS otimizado para a extração dos agrotóxicos carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, carbofuram, carbaril, metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem foi aplicado em amostras de suco de tomate industrializado, para avaliar a aplicabilidade deste sorvente na extração em fase sólida de analitos de matrizes complexas.

3.9.1. Ensaio de recuperação

Foram realizados ensaios de recuperação dos agrotóxicos em suco de tomate. Para isso, foram utilizadas amostras de suco de tomate integral orgânico, livre de agrotóxicos, produzido em Antônio Prado – RS. Este suco foi verificado para confirmar que não havia a presença dos agrotóxicos.

Alíquotas de 50 mL do suco livre de agrotóxicos foram fortificadas com a mistura dos agrotóxicos estudados nas concentrações correspondentes aos limites máximos de resíduos (LMR) de cada composto para a cultura de tomate, especificados pela ANVISA⁴². Para o metiocarbe, a concentração de fortificação das amostras foi de 0,5 mg/L, que é menor do que o seu LMR (1,0 mg/L), pois seu pico cromatográfico é muito intenso. As concentrações de fortificação das amostras estão mostradas na Tabela 5.

Tabela 5: Concentração das amostras e do branco fortificado de suco de tomate.

Agrotóxicos	Concentração das amostras (mg/L)	Concentração do branco fortificado (mg/L)
Carbendazim	0,2	5
Imidacloprido	0,5	12,5
Acetamiprido	0,5	12,5
Cimoxanil	0,1	2,5
Carbofuram	0,1	2,5
Carbaril	0,1	2,5
Metiocarbe	0,5	12,5
Tebuconazol	0,1	2,5
Difenoconazol	0,1	2,5
Pirimifós	0,1	2,5
Piriproxifem	0,1	2,5

O procedimento de EFS utilizado para as amostras de suco de tomate orgânico fortificadas foi adaptado do procedimento otimizado para as amostras de água. As amostras foram acidificadas a pH 2,5, com ácido fosfórico e foram deixadas em repouso por 3 horas, após a fortificação. O sorvente foi condicionado com duas alíquotas de 5,0 mL de metanol, seguidas de uma alíquota de 5,0 mL de água MilliQ e uma alíquota de 5,0 mL de água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5, sob vácuo, a uma vazão de aproximadamente 5,0 mL min⁻¹. A adição da amostra foi feita a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. Após a passagem da amostra, foi utilizada uma alíquota de 5,0 mL de água MilliQ como solvente de lavagem, com o intuito de retirar os componentes da matriz que possivelmente coeluissem com os analitos. Após a lavagem, o cartucho foi deixado secar sob vácuo para, então, efetuar a etapa de eluição dos analitos. Os solventes de eluição utilizados foram cinco alíquotas de 1,0 mL de metanol, seguidas de três alíquotas de 1,0 mL de acetato de etila. Os extratos foram recolhidos em um recipiente limpo e seco e levados à secagem do solvente, sob fluxo de nitrogênio. A reconstituição dos analitos foi feita agitando-se o frasco com o extrato seco em agitador vórtex por 1,0 minuto, com 2,0 mL de acetonitrila. Em seguida, colocaram-se os extratos em banho de ultrassom por 30 segundos e agitou-se novamente por mais 1,0 minuto. Os extratos foram analisados por CLAE, com detecção espectrofotométrica no ultravioleta, utilizando detector por arranjo de diodos.

Uma amostra de suco de tomate não fortificada foi submetida ao procedimento de EFS e a reconstituição foi feita adicionando-se 2,0 mL de uma solução padrão dos agrotóxicos em acetonitrila, em concentração equivalente a 100% de recuperação. Esta

amostra foi chamada de branco fortificado (BF) e sua concentração está mostrada na Tabela 5. Outra amostra de suco não fortificado foi submetida ao procedimento de EFS e o extrato foi utilizado como branco, para avaliar se haveriam componentes da matriz coeluinto com os analitos. A recuperação foi calculada como mostra a Equação 12.

$$\% \text{Recuperação} = \frac{\text{Área}_{\text{extração}}}{\text{Área}_{\text{BF}}} \times 100 \quad \text{Eq. 12}$$

na qual: $\text{Área}_{\text{extração}}$ é a área do pico do analito após o procedimento de EFS das amostras e Área_{BF} é a área do pico do analito no extrato do branco fortificado, equivalente a 100% de recuperação.

3.9.2. Curvas analíticas

Para a quantificação dos analitos na amostra, foi utilizado o mesmo suco de tomate integral orgânico, livre de agrotóxicos. Alíquotas de 50 mL do suco foram fortificadas com a mistura dos analitos nas concentrações mostradas na Tabela 6 e utilizadas para a obtenção das curvas analíticas.

Tabela 6: Concentrações dos agrotóxicos nos pontos das curvas analíticas.

Agrotóxicos	Concentração dos pontos das curvas analíticas / mg/L					
	1/4 LMR	1/2 LMR	LMR	2 x LMR	3 x LMR	4 x LMR
Carbendazim	0,050	0,100	0,200	0,400	0,600	0,800
Imidacloprido	0,125	0,250	0,500	1,000	1,500	2,000
Acetamiprido	0,125	0,250	0,500	1,000	1,500	2,000
Cimoxanil	0,025	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400
Carbofuram	0,025	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400
Carbaril	0,025	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400
Metiocarbe	0,125	0,250	0,500	1,000	1,500	2,000
Tebuconazol	0,025	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400
Difenoconazol	0,025	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400
Pirimifós	0,025	0,050	0,100	0,200	0,300	0,400
Piriproxifem		0,050	0,100	0,200	0,300	0,400

Para o piriproxifem, o primeiro ponto da curva analítica foi equivalente a 1/2LMR, pois não foi obtido pico cromatográfico com repetibilidade adequada na concentração de 1/4LMR.

O procedimento de EFS utilizado foi o mesmo descrito no item 3.9.1 para os testes de recuperação, sendo que cada ponto das curvas analíticas foi analisado em quintuplicata para avaliar a precisão do método.

3.9.3. Efeito matriz

A avaliação do efeito matriz, ou seja, a influência dos componentes do suco de tomate na resposta do detector foi avaliada pela comparação das curvas analíticas preparadas em acetonitrila e com o extrato das amostras de suco de tomate fortificadas.

3.9.4. Análise de amostras de suco de tomate

Uma amostra de suco de tomate integral, produzido em São Paulo – SP, foi submetida ao procedimento de EFS, descrito no item 3.9.1, e analisada por CLAE com detecção espectrofotométrica no ultravioleta, utilizando o detector por arranjo de diodos. A amostra foi analisada em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Separação cromatográfica dos agrotóxicos

A separação cromatográfica foi feita de modo a satisfazer os parâmetros cromatográficos aceitáveis de resolução, fator de assimetria e fator de retenção⁴⁴. A Figura 10 mostra o cromatograma da separação otimizada dos agrotóxicos. A Tabela 7 mostra o tempo de retenção, o comprimento de onda de máxima absorção e os parâmetros cromatográficos de resolução (R_s), fator de assimetria a 10% da altura do pico (A_s) e o fator de retenção (k) obtidos para cada composto.

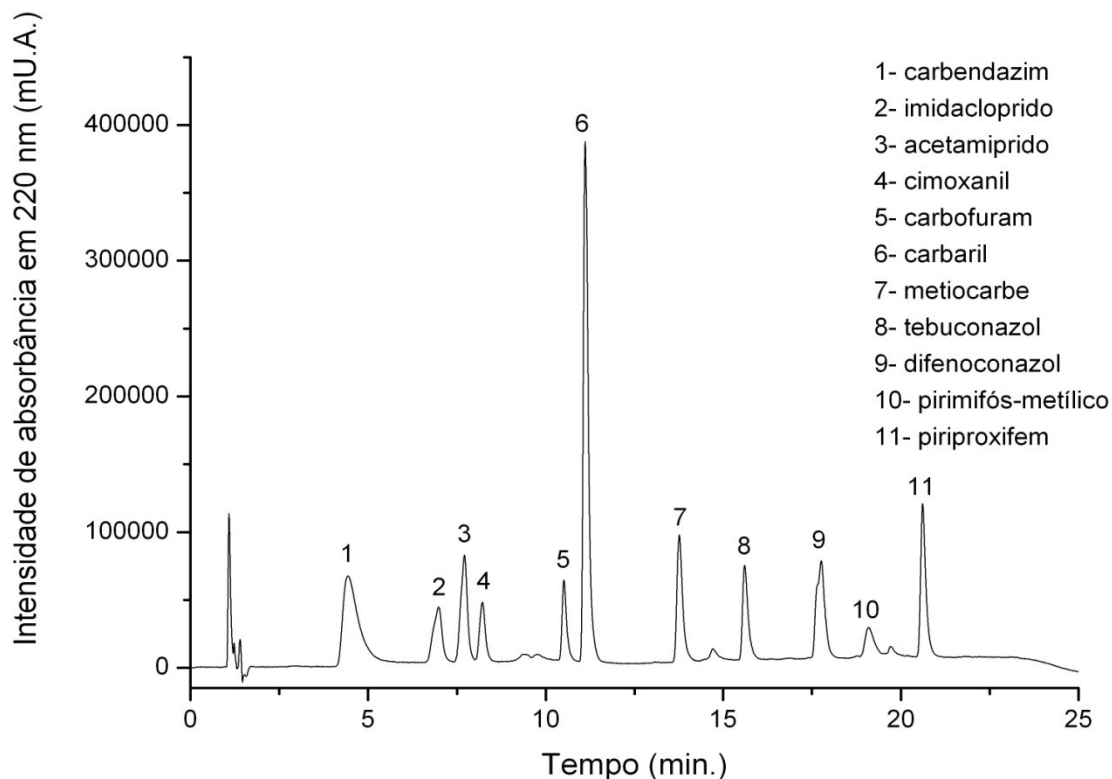


Figura 10: Cromatograma obtido em 220 nm na separação dos agrotóxicos estudados. Condições cromatográficas: volume de injeção de 17 μL ; coluna cromatográfica: NovaPak C18, Waters, 3,9x150 mm, partículas de 4 μm ; coluna de guarda: NovaPak C18, Waters, 3,9x20 mm, partículas de 4 μm ; fase móvel: água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5 (solvente A) e acetonitrila (solvente B); vazão de 1,0 mL min^{-1} ; programação do gradiente: 13 a 45% de B em 6 minutos, 45% de B por 2 minutos, 45 a 55% de B em 2 minutos, 55 a 95% de B em 10 minutos, 95% de B por 5 minutos, retorno às condições iniciais e estabilização por 10 minutos.

Tabela 7: Parâmetros cromatográficos obtidos na separação dos agrotóxicos selecionados, mostrada na Figura 10.

Agrotóxicos	Tempo de retenção / min.	Comprimento de onda de absorção máxima / nm	Rs	As (10%)	k
Carbendazim	4,4	222		1,9	2,9
Imidacloprido	6,9	269	3,8	0,9	5,1
Acetamiprido	7,7	245	1,9	1,0	5,8
Cimoxanil	8,2	242	1,5	1,2	6,2
Carbofuram	10,5	200	9,2	1,4	8,2
Carbaril	11,1	221	3,8	1,5	8,7
Metiocarbe	13,8	200	10,8	1,5	11,1
Tebuconazol	15,6	220	6,4	1,6	12,7
Difenoconazol	17,8	200	5,8	1,0	14,6
Pirimifós	19,1	245	2,4	1,5	15,8
Piriproxifem	20,6	271	3,9	1,5	17,1

Foi obtida uma boa separação dos agrotóxicos, com o último composto sendo detectado em 20,6 minutos após o início da corrida cromatográfica. Como se observa na Tabela 7, os valores de resolução de todos os picos foram maiores que 1,5, o que indica que a separação foi completa. Os valores de assimetria estão aceitáveis, considerando a boa resolução dos picos. O fator de retenção (k) de todos os picos ficou dentro da faixa adequada para o gradiente aplicado, entre 2 e 20^{11, 44}.

Também se pode observar a relação entre a ordem de eluição dos agrotóxicos e o coeficiente de partição octanol/água, representado pelo log P na Tabela 3. Para a maioria dos compostos, quanto mais polar o composto, menor o valor do log P e menor a interação com a fase estacionária C18 utilizada na separação. Portanto, se observa que os compostos imidacloprido, acetamiprido e cimoxanil são os primeiros a serem eluídos e também possuem os menores valores de log P. O carbendazim possui log P de 1,48, maior que os do imidacloprido, acetamiprido e cimoxanil, porém é o primeiro analito a ser eluído, provavelmente, porque seu mecanismo de retenção é mais complexo por sofrer interações iônicas. A mesma observação pode ser feita em relação aos compostos mais apolares (maiores log P), que possuem maior interação com a fase estacionária apolar e, portanto, demoram mais tempo para deixar a coluna cromatográfica, apresentando maior fator de retenção. A utilização de uma fase móvel acidificada promove uma supressão de parte das interações iônicas que poderiam ocorrer, sendo as interações de natureza hidrofóbica as mais pronunciadas na separação.

4.2. Caracterização físico-química dos suportes de sílica não modificado e zirconizado

4.2.1. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho dos suportes de sílica não modificada e zirconizada estão apresentados na Figura 11.

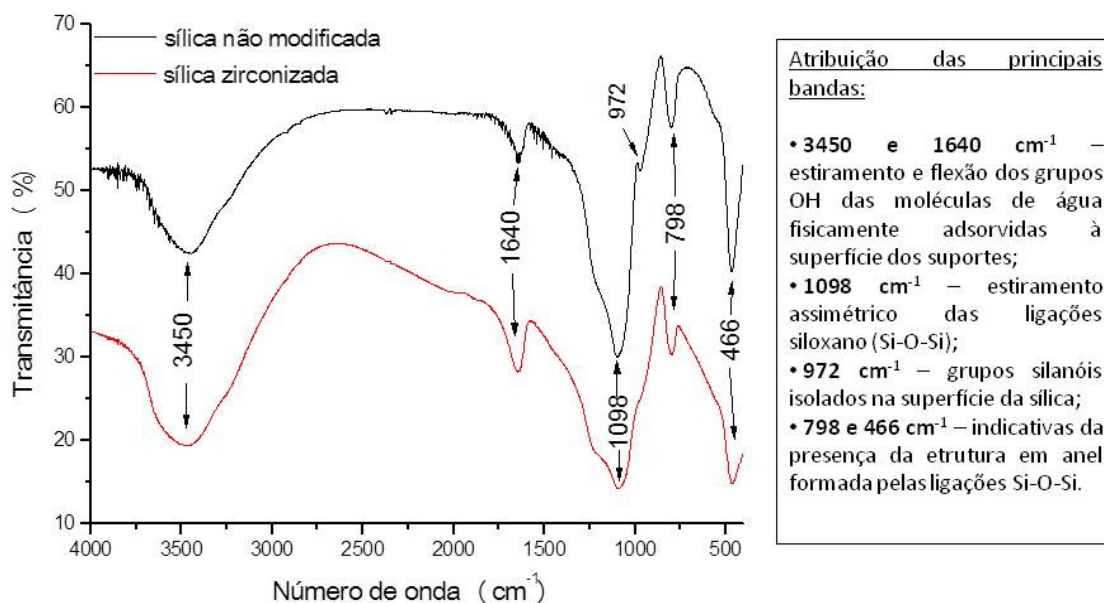


Figura 11: Espectros de absorção na região do infravermelho das amostras dos suportes de sílica não modificada e zirconizada. Em destaque a atribuição das principais bandas⁵².

É possível observar praticamente as mesmas bandas, tanto para sílica não modificada como para a sílica zirconizada. A Figura 11 mostra, em destaque, as atribuições das principais bandas observadas nestes materiais.

As bandas características da estrutura da sílica podem ser usadas como comparação para certificar a presença do zircônio no suporte de sílica zirconizada. A banda observada em 972 cm^{-1} é drasticamente diminuída após a reação de zirconização da sílica, o que pode ser explicado pelo fato de que durante a reação, os átomos de zircônio reagem com os grupos silanóis, formando as ligações Si-O-Zr. A presença do zircônio na estrutura da sílica também provoca diminuição da intensidade das bandas observadas em 798 e 466 cm^{-1} . Apesar de não ser uma análise quantitativa, estas alterações no espectro de absorção no infravermelho indicam que a estrutura altamente entrecruzada da sílica foi modificada após a reação de zirconização^{41, 53}.

4.2.2. Análise termogravimétrica

As curvas termogravimétricas dos suportes de sílica não modificado e zirconizado estão mostradas na Figura 12.

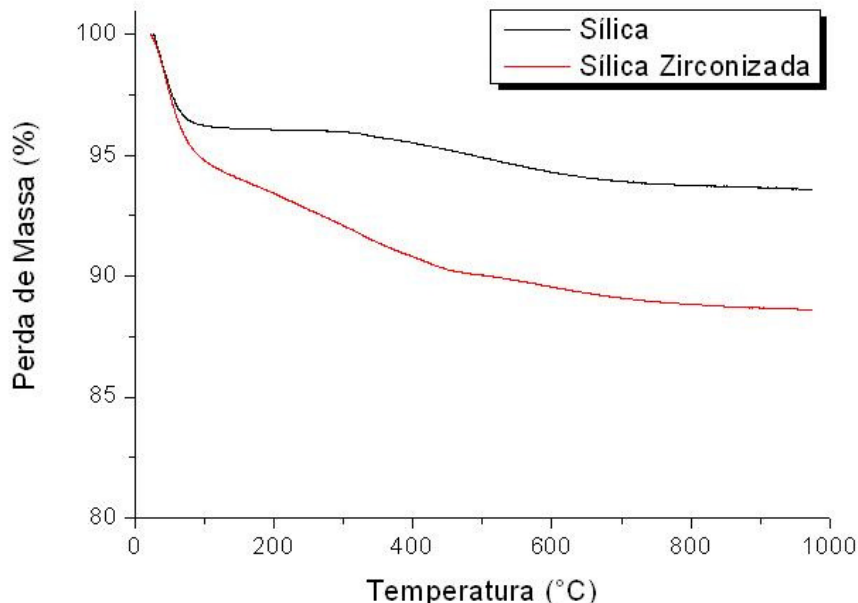


Figura 12: Curvas termogravimétricas dos suportes de sílica não modificado e zirconizado.

Os perfis de degradação dos suportes de sílica não modificada e zirconizada, mostrados na Figura 12, são muito similares e as perdas de massa são atribuídas a fatores como a desidratação da superfície dos suportes, liberando moléculas de água fracamente adsorvidas entre 25 e 150 °C, a condensação dos grupos hidroxila superficiais entre 150 e 650 °C e a desidroxilação da superfície dos suportes acima de 650 °C. No caso da sílica zirconizada, há ainda a perda de massa relacionada aos traços de tetrabutóxido de zircônio e butanol que ficaram retidos nos poros após a reação de metalização. A perda total de massa do suporte de sílica foi de cerca de 6,4%, enquanto da sílica zirconizada foi de 9,6%⁴⁷.

4.2.3. Área superficial específica, volume e diâmetro de poros

Os suportes de sílica não modificado e zirconizado foram submetidos às análises de área superficial específica, diâmetro e volume de poros. Os resultados estão mostrados na Tabela 8.

Tabela 8: Área superficial específica, volume e diâmetro de poros do suportes.

Suporte	Área Superficial / $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	Volume de Poros / $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$	Diâmetro de Poros / nm
Sílica não modificada	508,4	0,92	7,22
Sílica Zirconizada	343,4	0,43	5,04

Observa-se que a metalização da sílica diminuiu a área superficial do suporte em aproximadamente 30%. Este fato, associado à diminuição do volume dos poros, sugere que a deposição de zircônio ocorreu no interior das partículas de sílica. A diminuição do diâmetro dos poros pode ser considerada insignificante e está dentro do erro do equipamento de análise. Assim, se pode considerar que a deposição do metal não obstruiu os poros do suporte e que, mesmo com as variações de área superficial e volume dos poros, o suporte metalizado é adequado para uso em extração em fase sólida^{14, 54}.

4.2.4. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ²⁹Si

A Figura 13 mostra os espectros de RMN de ²⁹Si obtidos para os suportes de sílica não modificado e zirconizado.

O suporte de sílica zirconizado apresenta as ressonâncias das mesmas espécies de silício que a sílica não modificada, sendo elas Q² (diidrossiloxano), Q³ (hidrossiloxano) e Q⁴ (tetrassiloxano). As ressonâncias dessas espécies foram detectadas em -91, -100 e -110 ppm, respectivamente.

A razão Q³/Q⁴ é uma medida relativa da quantidade de grupos silanóis livres presentes nas superfícies dos suportes. Para o suporte de sílica não modificado, esta razão foi de 4,3, enquanto para o suporte de sílica zirconizado, foi de 3,1. Esta diminuição na quantidade de silanóis livres está relacionada à formação de ligações Si-O-Zr, evidenciando a incorporação do zircônio à superfície da sílica^{14, 48, 53}.

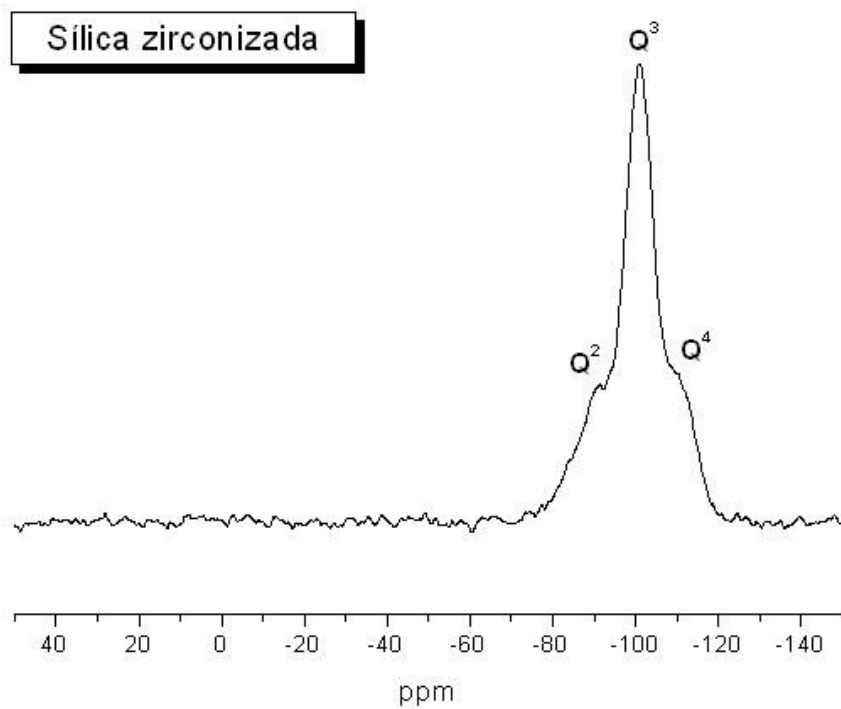
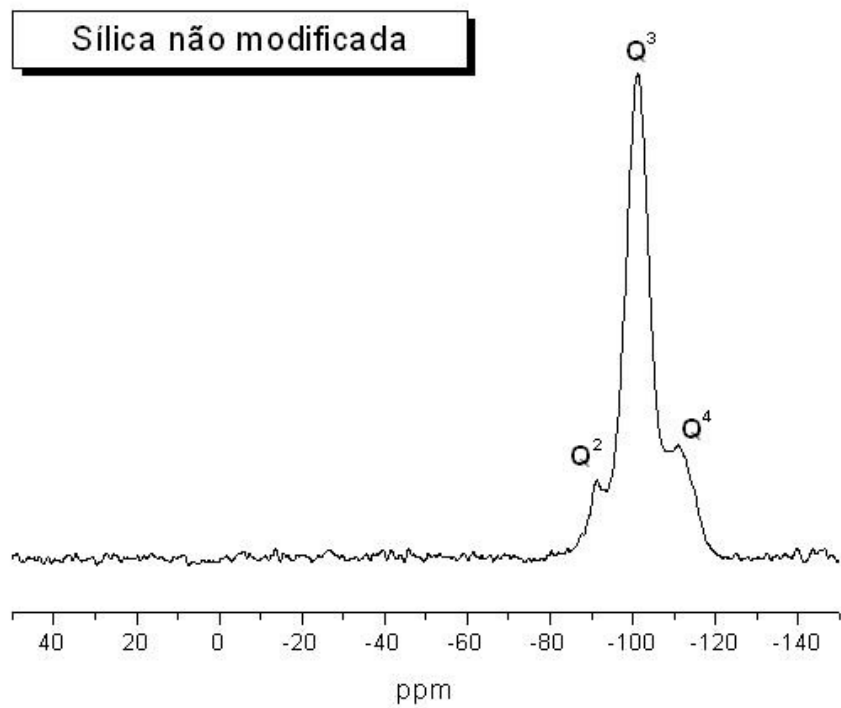


Figura 13: Espectros de RMN de ^{29}Si dos suportes de sílica não modificado e zirconizado.

4.2.5. Espectroscopia de fluorescência de raios-X

A fluorescência de raios-X é um método de análise não destrutivo, semi-quantitativo, que permite confirmar a presença de zircônio incorporado à sílica pelo procedimento de metalização, no qual o tetrabutóxido de zircônio reage com os grupos silanóis da superfície do suporte. Confirma-se a presença do zircônio pelo aparecimento dos picos característicos das transições $K\alpha$ e $K\beta$ dos elétrons da camada K deste metal em 15,78 e 17,70 keV, respectivamente. Uma curva analítica foi construída a partir da relação entre os valores de intensidade de fluorescência do pico $K\alpha$ e da quantidade de zircônio, em porcentagem, de padrões de SiO_2 mecanicamente misturado ao ZrO_2 em proporções de 7,5 a 25% (m/m) de zircônio. A Figura 14 mostra os espectros de fluorescência de raios-X dos padrões utilizados na construção da curva analítica, com um detalhe ampliado das intensidades de fluorescência dos picos $K\alpha$.

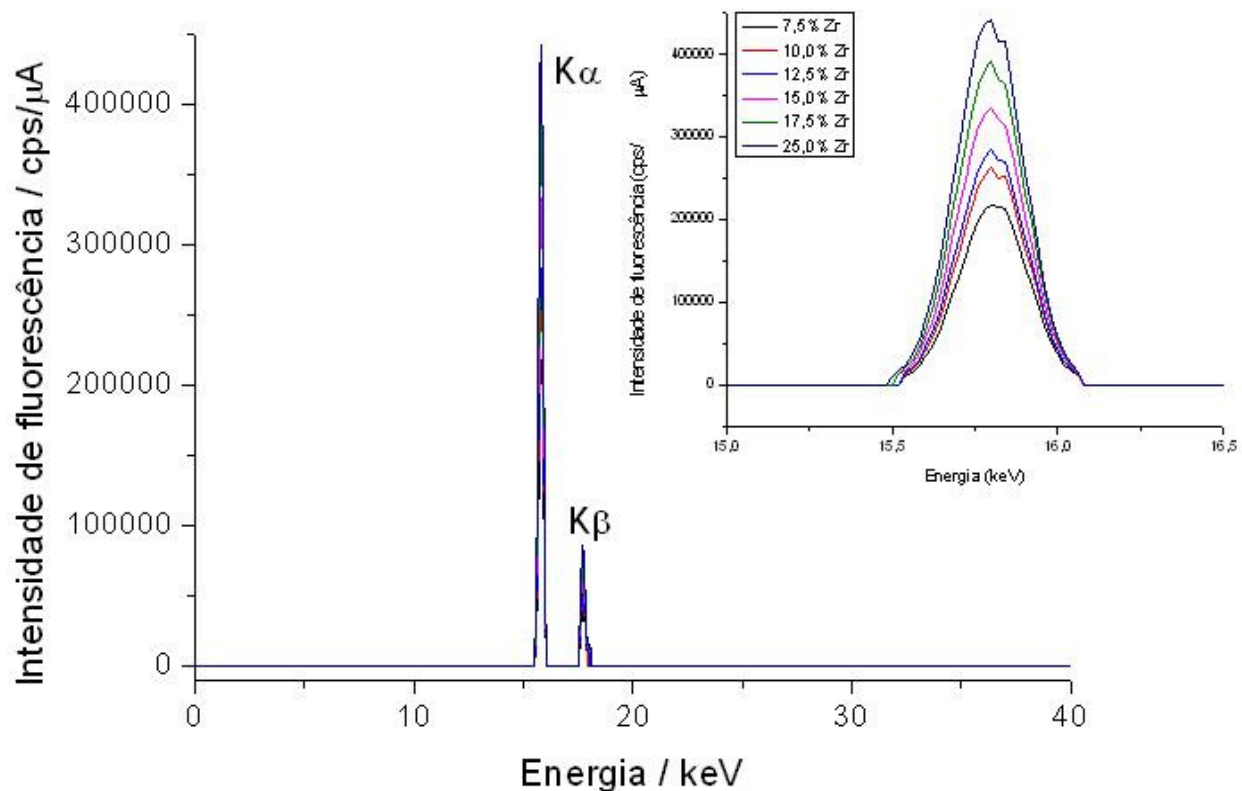


Figura 14: Espectros de fluorescência dos padrões de $\text{SiO}_2/\text{ZrO}_2$ utilizados para construção da curva analítica. Em destaque os picos $K\alpha$ dos padrões com diferentes porcentagens em massa de zircônio.

A curva analítica obtida pode ser representada pela Equação 13:

$$I_{K\alpha} = 172,02 + 15,98 \%Zr \quad \text{Eq. 13}$$

na qual, $I_{K\alpha}$ é a intensidade de fluorescência do pico $K\alpha$ e $\%Zr$ é a quantidade de zircônio na amostra, em porcentagem de massa. A curva analítica está mostrada na Figura 15.

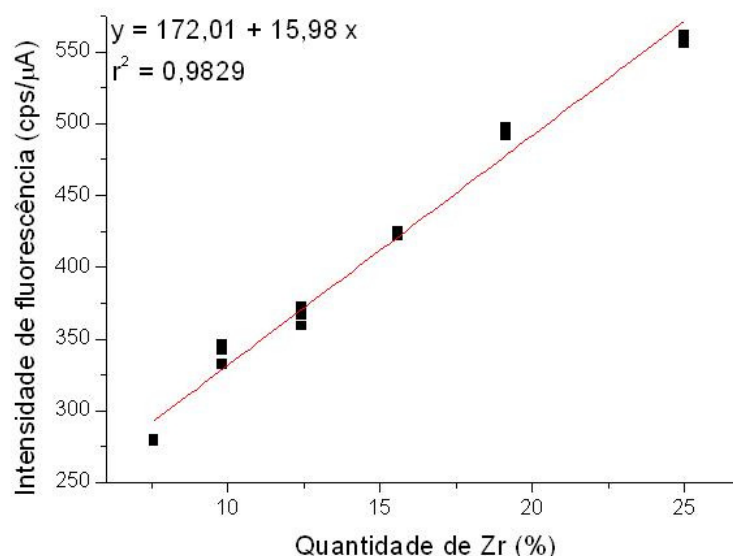


Figura 15: Curva analítica obtida a partir da análise dos padrões de $\text{SiO}_2/\text{ZrO}_2$, por espectroscopia de fluorescência de raios-X.

Dois amostras de sílica zirconizada, preparadas em dias diferentes, foram analisadas por fluorescência de raios-X e foram obtidos os valores de 15,8 e 17,5% de zircônio incorporado à sílica.

São encontrados na literatura trabalhos que envolvem a zirconização da sílica para a obtenção de fases estacionárias para CLAE. Faria *et al.*⁴¹, Silva e Collins⁵³ e Segato⁴⁵ obtiveram, em duas etapas de zirconização, cerca de 20% de zircônio incorporado à sílica Kromasil, com partículas esféricas de 5 μm e tamanho de poros de 10 nm. Melo e Jardim³² obtiveram, com apenas uma etapa de zirconização, a incorporação de 15,3% de zircônio à sílica Davisil, com partículas irregulares de 10 μm e tamanho de poros de 6 nm. Levando em consideração que a sílica Acros, utilizada neste trabalho, possui partículas irregulares de 35 a 75 μm e poros de 6 nm de diâmetro, após duas etapas de zirconização, os resultados obtidos encontram-se em concordância com os observados em trabalhos anteriores envolvendo zirconização de sílica.

4.3. Caracterização físico-química do polímero PMOS

4.3.1. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A Figura 16 mostra o espectro de absorção no infravermelho do PMOS, que foi obtido utilizando-se uma janela de NaCl. As atribuições das principais bandas do polímero estão mostradas em destaque.

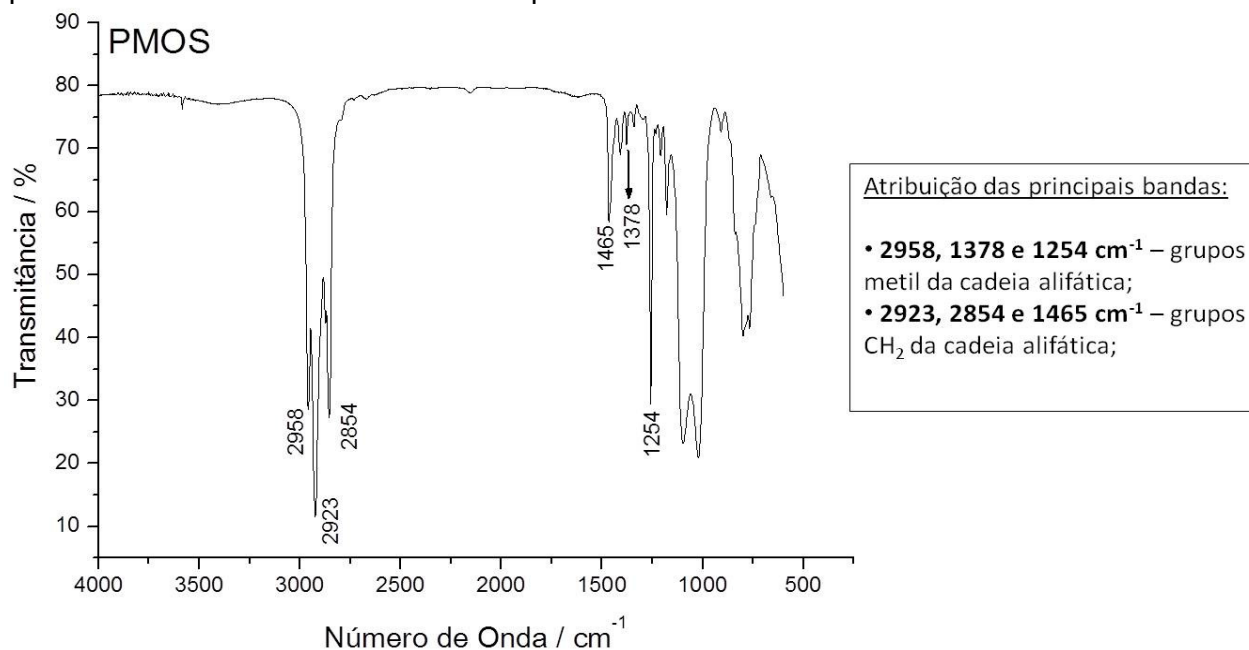


Figura 16: Espectro de absorção no infravermelho do PMOS. Em destaque a atribuição das principais bandas⁵².

4.3.2. Análise termogravimétrica

A curva termogravimétrica do PMOS está mostrada na Figura 17.

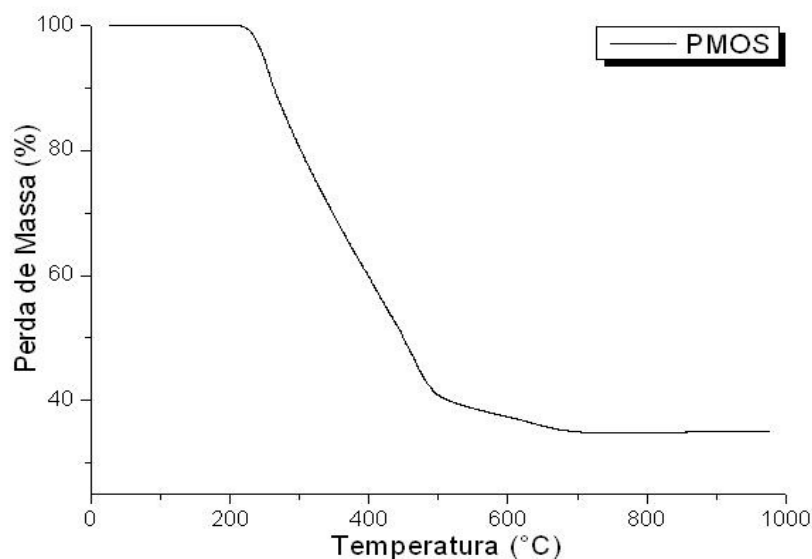


Figura 17: Curva termogravimétrica do polímero PMOS.

Para avaliar a estabilidade térmica dos sorventes preparados, é necessário determinar a faixa de temperatura de degradação do polímero utilizado, no caso o PMOS. Observa-se na curva termogravimétrica do PMOS que o polissiloxano é quase totalmente degradado na faixa de temperatura entre 230 a 650 °C. Ao final da degradação das cadeias orgânicas do polímero, cerca de 35% da massa inicial da amostra não foi volatilizada.

4.4. Preparo dos sorventes

4.4.1. Estudo da carga polimérica na fase sólida

A Tabela 9 mostra as médias das eficiências de extração e os coeficientes de variação das extrações das amostras de água fortificadas com a mistura dos agrotóxicos, extraídas conforme o procedimento de EFS descrito no item 3.3, utilizando-se cartuchos recheados com sorventes contendo diferentes quantidades de PMOS sorvido e termicamente imobilizado sobre sílica não modificada. A imobilização destes sorventes foi feita em estufa a 120 °C por 4 horas. A fim de facilitar a visualização dos resultados, foram construídos os gráficos de barras (Figura 18), sendo que as barras representam a média das eficiências de extração com os seus respectivos coeficientes de variação.

Tabela 9: Eficiências de extração média ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) dos experimentos realizados para o estudo da carga polimérica sobre o suporte de sílica não modificada.

Agrotóxicos	SiPMOS 35%		SiPMOS 40%		SiPMOS 45%		SiPMOS 50%	
	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)
Carbendazim	62	17	71	10	70	6	22	16
Imidacloprido	96	8	92	3	93	3	69	8
Acetamiprido	55	24	46	4	42	13	47	67
Cimoxanil	128	23	100	3	105	2	95	8
Carbofuram	94	7	88	9	86	7	93	6
Carbaril	91	5	88	5	88	4	91	4
Metiocarbe	81	5	75	5	70	3	66	4
Tebuconazol	76	13	78	3	82	4	78	7
Difenoconazol	67	11	65	12	65	12	59	11
Pirimifós	81	3	78	0	77	3	80	3
Piriproxifem	67	18	88	10	57	14	68	37

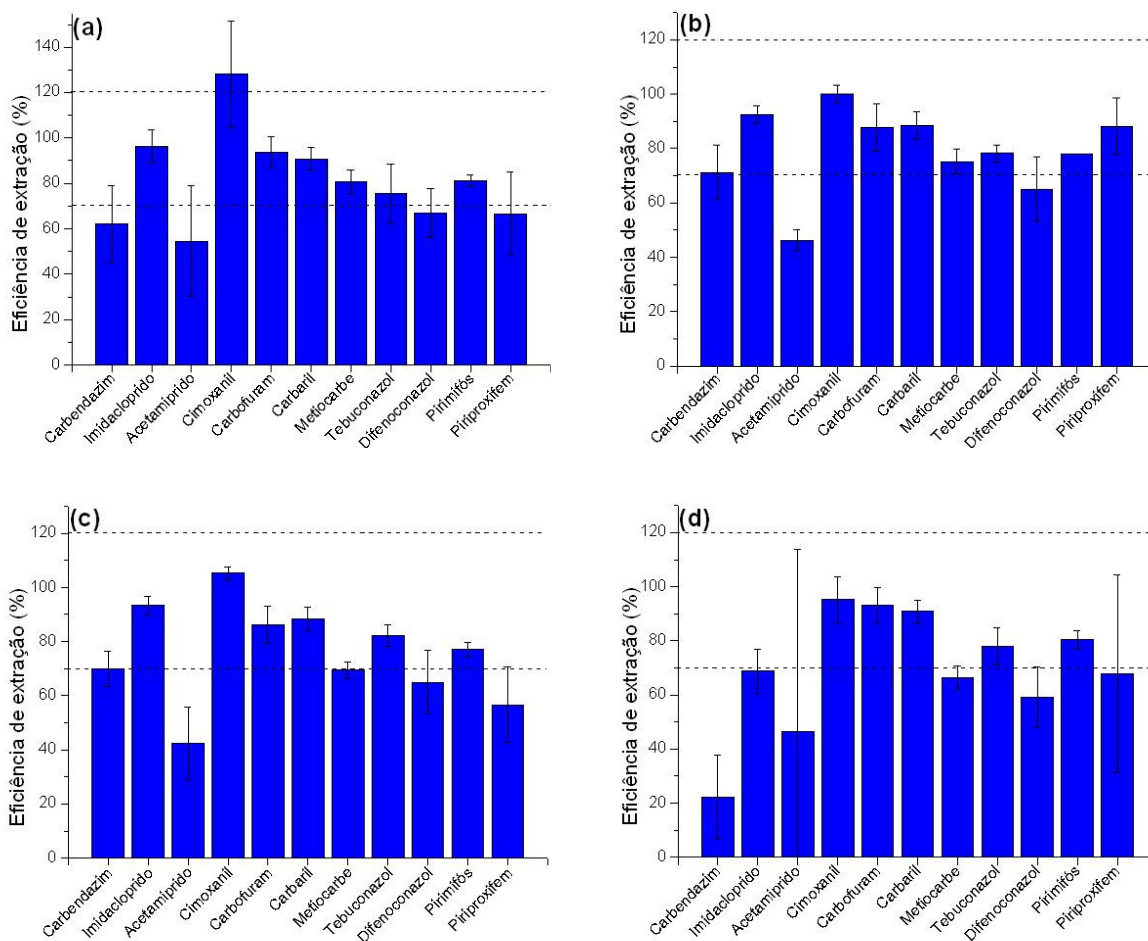


Figura 18: Eficiências de extração dos agrotóxicos em cartuchos contendo: (a) 35%, (b) 40%, (c) 45% e (d) 50% (m/m) de PMOS termicamente imobilizado sobre sílica não modificada, no preparo de amostra de água a pH 2,5.

Os gráficos da Figura 18 contêm linhas horizontais que representam os limites aceitáveis, segundo a ANVISA, de eficiências de extração de agrotóxicos em amostras de alimentos, que devem estar entre 70 e 120%. Além da eficiência de extração, ainda se deve considerar a precisão das medidas, representada pelo coeficiente de variação, que deve ser de até 20% para este nível de fortificação⁵⁵.

Pode-se observar, na Figura 18, que a condição (a), de carga polimérica de 35%, proporcionou eficiências de extração insatisfatórias para os compostos carbendazim, acetamiprido, difenoconazol e piriproxifem e coeficiente de variação maior que o valor aceitável para o acetamiprido e cimoxanil. A condição (b), de carga polimérica 40%, proporcionou resultados abaixo de 70% para o acetamiprido e difenoconazol, assim como a carga polimérica de 45% que, além destes, resultou em baixa eficiência de extração para o piriproxifem. Os valores de coeficiente de variação ficaram adequados para ambas as cargas poliméricas. A pior condição foi, sem dúvida, a de 50% de

polímero, com cinco compostos abaixo de 70% de recuperação, sendo eles o carbendazim (com apenas 22%), acetamiprido, metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol e piriproxifem e com os maiores coeficientes de variação entre as medidas.

A Tabela 10 mostra os resultados do estudo da carga polimérica sobre o suporte de sílica zirconizada (SiZrPMOS). Estes sorventes foram preparados variando-se a quantidade de polímero e com imobilização em estufa a 120 °C por 4 horas. A Figura 19 mostra os gráficos de barras que representam estes dados.

Tabela 10: Eficiências de extração média ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) dos experimentos realizados para o estudo da carga polimérica sobre o suporte de sílica zirconizada.

Agrotóxicos	SiZrPMOS 35%		SiZrPMOS 40%		SiZrPMOS 45%		SiZrPMOS 50%	
	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)
Carbendazim	73	11	67	20	66	9	62	7
Imidacloprido	88	9	92	1	91	10	93	9
Acetamiprido	86	8	89	1	89	5	81	5
Cimoxanil	86	7	93	4	86	10	88	3
Carbofuram	98	2	103	3	99	7	97	3
Carbaril	92	2	95	1	93	3	92	1
Metiocarbe	113	4	110	16	115	19	99	2
Tebuconazol	68	9	67	15	75	4	75	6
Difenoconazol	61	5	60	10	63	11	63	4
Pirimifós	84	2	84	3	82	3	80	0
Piriproxifem	56	30	46	10	53	8	60	7

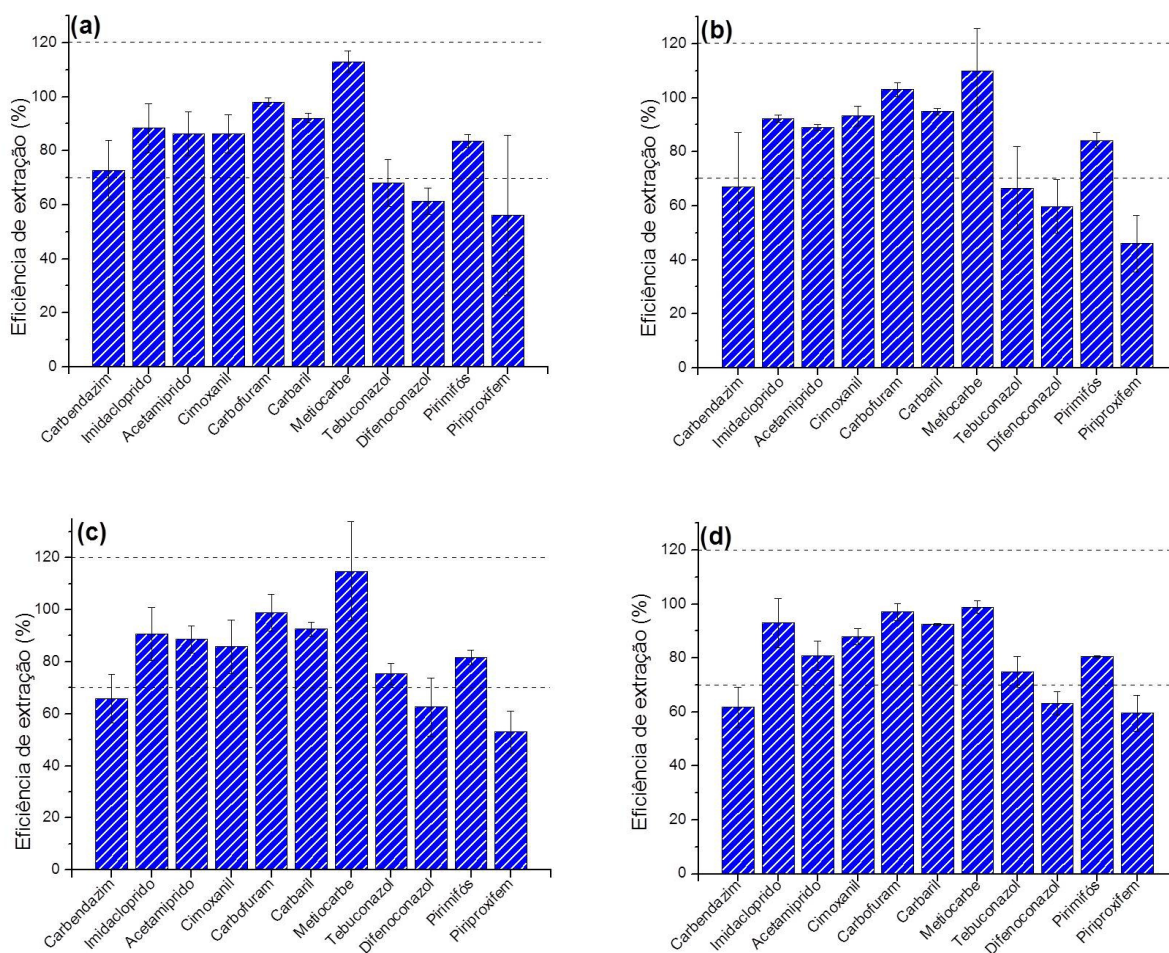


Figura 19: Eficiências de extração dos agrotóxicos em cartuchos contendo: (a) 35%, (b) 40%, (c) 45% e (d) 50% (m/m) de PMOS termicamente imobilizado sobre sílica zirconizada, no preparo de amostra de água a pH 2,5.

Para o suporte de sílica zirconizada observa-se que, de modo geral, as eficiências de extração dos agrotóxicos foram melhores que as do sorvente preparado com sílica não modificada. Os sorventes preparados com menores cargas poliméricas, de 35 e 40%, apresentaram resultados insatisfatórios para os compostos mais apolares, tebuconazol, difenoconazol e piriproxifem.

Nota-se que os sorventes compostos por maiores cargas de PMOS, de 45 e 50%, proporcionaram resultados muito semelhantes, com eficiências de extração abaixo dos limites aceitáveis para o carbendazim, difenoconazol e piriproxifem. Apesar da semelhança, é notável que os coeficientes de variação dos resultados nos cartuchos contendo 50% de PMOS foram bem menores que os de 45%, apontando, dessa forma, para a escolha da carga polimérica de 50%.

Frente a estes resultados, optou-se por continuar a otimização do preparo dos sorventes com 40% de PMOS sobre sílica não modificada e 50% de PMOS sobre sílica zirconizada.

4.4.2. Estudo das condições de imobilização do PMOS sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado

O tratamento térmico acelera a imobilização do polímero na superfície do suporte, auxiliando na sorção de uma camada polimérica mais uniforme e na retenção de maior quantidade de polímero, o que limita o acesso dos analitos aos silanóis ou zirconóis residuais e minimiza a perda de polímero com a passagem dos solventes nas etapas de EFS³⁹. Para avaliação do procedimento de extração do excesso de polímero não imobilizado sobre os suportes, o procedimento de EFS utilizado foi o mesmo descrito no item 3.3.

A Tabela 11 mostra os resultados das eficiências de extração obtidas para os experimentos realizados no planejamento fatorial descrito no item 3.4.3, utilizando-se cartuchos preparados com o sorvente composto por sílica não modificada (SiPMOS), com a carga polimérica de 40%. A extração do excesso de polímero não imobilizada foi feita com n-hexano a temperatura ambiente.

Tabela 11: Eficiências de extração para os experimentos do planejamento fatorial 2², com triplicata no ponto central, realizados com SiPMOS.

Experimento	Eficiências de Extração (%)							EE _{média} no ponto central (%)	CV do ponto central (%)
	1	2	3	4	5	6	7		
Temperatura (°C)	120	160	120	160	140	140	140		
Tempo (h)	4	4	8	8	6	6	6		
Carbendazim	46	43	52	37	68	75	74	72	5
Imidacloprido	103	93	108	93	98	95	94	96	2
Acetamiprido	43	46	101	77	46	68	48	54	22
Cimoxanil	140	95	136	94	96	89	91	92	4
Carbofuram	81	89	64	86	91	81	86	86	5
Carbaril	89	90	89	93	92	84	86	87	5
Metiocarbe	69	67	64	80	75	71	71	72	3
Tebuconazol	72	90	85	93	93	94	87	91	4
Difenoconazol	63	72	77	62	75	74	64	71	9
Pirimifós	78	78	96	90	98	92	85	92	8
Piriproxifem	53	50	62	61	75	34	45	51	42

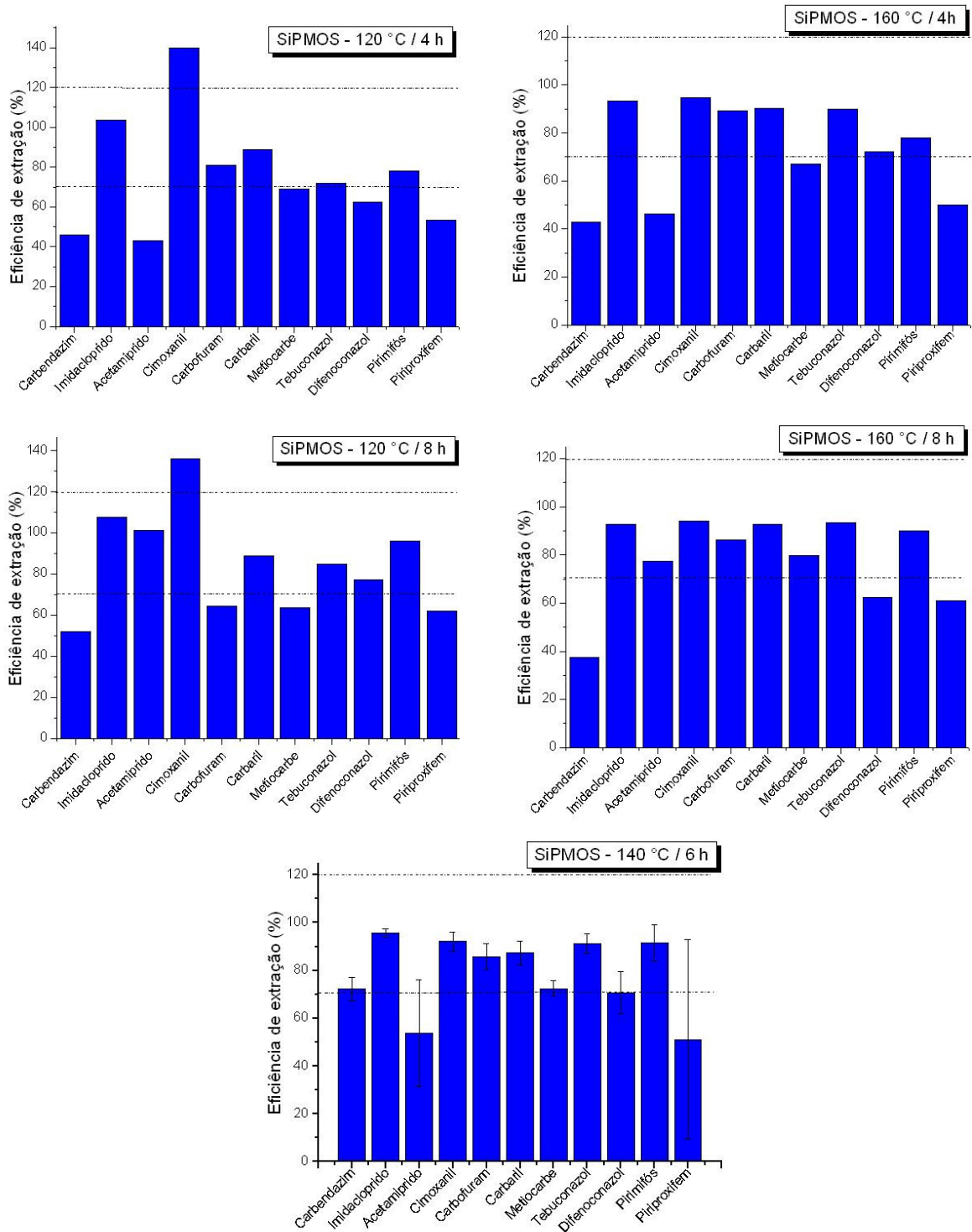


Figura 20: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos extraídos em cartuchos de PMOS sobre sílica não modificada em diferentes condições de imobilização. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.

Foram construídos os gráficos de barras que mostram para cada condição de imobilização (temperatura e tempo), a eficiência de extração obtida para cada agrotóxico estudado utilizando o cartucho de SiPMOS. Estes gráficos podem ser visualizados na Figura 20, sendo que para a condição de imobilização de 140 °C por 6

horas, que é o ponto central do planejamento, estão mostradas as médias das eficiências de extração e a barra referente ao coeficiente de variação.

Inicialmente, pode-se observar que, para os cartuchos confeccionados com o SiPMOS, os experimentos realizados com temperatura de imobilização de 120 °C por 4 horas proporcionaram recuperações fora da faixa aceitável, para o carbendazim, acetamiprido, metiocarbe, difenoconazol e piriproxifem. Na condição de imobilização de 120 °C por 8 horas, além destes, ficou fora da faixa aceitável o carbofuram, porém o acetamiprido e o difenoconazol ficaram dentro da faixa aceitável.

Para os experimentos realizados a 160 °C, o comportamento observado foi semelhante, sendo que, para a imobilização por 4 horas, as eficiências de extração do carbendazim, acetamiprido, metiocarbe e piriproxifem foram insatisfatórias. Para o experimento 4 (160 °C por 8 horas) houve melhora na extração do acetamiprido e metiocarbe, e piora para o difenoconazol.

Observando o resultado da média das eficiências de extração dos experimentos realizados no ponto central, a 140 °C por 6 horas, percebe-se que houve uma melhora geral, ficando fora da faixa aceitável apenas o acetamiprido e o piriproxifem.

Foi feita a estimativa dos efeitos e a análise de variância⁵⁶ dos resultados obtidos para o planejamento fatorial 2² com triplicata no ponto central para cada um dos agrotóxicos analisados e constatou-se que para 2 (imidacloprido e cimoxanil) dos 11 compostos a temperatura é um efeito significativo na imobilização do polímero sobre sílica não modificada, num intervalo de 95 % de confiança. Para nenhum deles o tempo de imobilização ou a interação dos fatores foram significativos.

A Tabela 12 mostra os resultados dos experimentos do planejamento fatorial realizado utilizando-se os cartuchos recheados com SiZrPMOS. Estes sorventes foram preparados com carga de 50% de PMOS e a extração do excesso de polímero não imobilizado foi feita com n-hexano a temperatura ambiente. A Figura 21 mostra os gráficos de barras referentes a estes resultados, que apontam uma piora na eficiência de extração dos analitos mais polares, carbendazim, imidacloprido e acetamiprido com o aumento da temperatura de imobilização. As imobilizações a 120 °C, tanto por 4 como por 8 horas, proporcionaram eficiências de extração aceitáveis para estes compostos

Tabela 12: Eficiências de extração para os experimentos do planejamento fatorial 2², com triplicata no ponto central, realizados com SiZrPMOS.

Experimento	Eficiências de Extração (%)							EE _{média} no ponto central (%)	CV do ponto central (%)
	1	2	3	4	5	6	7		
Temperatura (°C)	120	160	120	160	140	140	140		
Tempo (h)	4	4	8	8	6	6	6		
Carbendazim	74	4	72	8	6	3	5	5	28
Imidacloprido	82	15	90	27	26	18	15	20	30
Acetamiprido	88	16	89	6	28	30	19	26	23
Cimoxanil	91	71	92	72	72	66	60	66	9
Carbofuram	100	70	102	68	77	76	69	74	5
Carbaril	99	91	97	85	90	93	90	91	2
Metiocarbe	116	70	97	68	73	82	72	76	7
Tebuconazol	87	73	92	75	75	71	71	72	3
Difenoconazol	75	75	76	64	69	62	64	65	6
Pirimifós	78	77	78	70	79	76	77	77	2
Piriproxifem	69	92	60	49	49	36	85	56	45

A condição do experimento 4 (160°C por 8 horas) foi a pior, sendo que ficaram fora da faixa aceitável 7 dos 11 agrotóxicos analisados (carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, carbofuram, metiocarbe, difenoconazol e piriproxifem). No ponto central, a média das observações mostra que ficaram fora do intervalo aceitável 6 dos 11 compostos analisados.

Pode-se notar que para os sorventes baseados em sílica zirconizada há uma tendência na eficiência das extrações dos agrotóxicos analisados em relação à temperatura de imobilização do polímero sobre a sílica zirconizada pois, quanto maior a temperatura de imobilização, menores as eficiências de extração da maioria dos agrotóxicos. Ao estimar o efeito dos fatores temperatura e tempo de imobilização, notou-se que o fator temperatura é significativo para 7 dos 11 compostos analisados, enquanto o tempo de imobilização e a interação dos fatores não são significativos para nenhum dos compostos, num intervalo de 95 % de confiança.

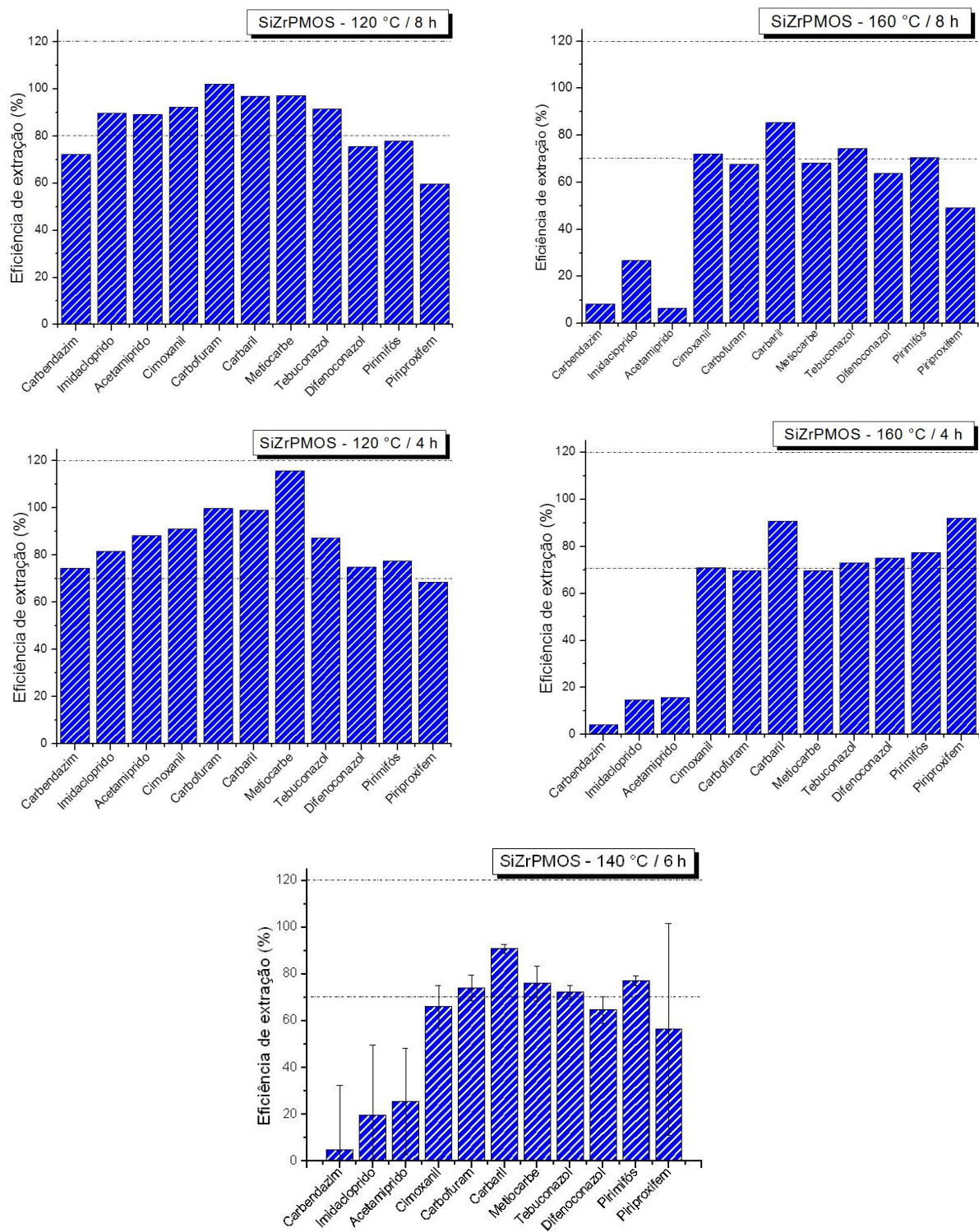


Figura 21: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos extraídos em cartuchos de PMOS sobre sílica zirconizada em diferentes condições de imobilização. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.

A partir dos planejamentos fatoriais 2^2 com triplicata no ponto central realizados para avaliar o efeito da temperatura e do tempo de imobilização do PMOS sobre os suportes, foram obtidas as superfícies de resposta, que facilitaram a interpretação dos

resultados e permitiram observar a variação da eficiência de extração dentro dos intervalos estudados. As superfícies de resposta para os sorventes SiPMOS e SiZrPMOS estão mostradas nos Anexos B e C, respectivamente.

Em relação aos sorventes preparados usando a sílica não modificada, observa-se que para os compostos carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, difenoconazol e pirimifós-metílico, a região correspondente às maiores eficiências de extração foi a dos experimentos realizados a 120 °C, porém se mantém a observação feita anteriormente de que os experimentos no ponto central proporcionaram eficiências de extração dentro da faixa aceitável para a maioria dos compostos. Para o sorvente baseado em sílica zirconizada, observa-se que, com exceção do piriproxifem, a região de imobilização a 120 °C proporcionou as melhores eficiências de extração para todos os demais compostos. Juntamente com as observações anteriores, pode-se concluir que a imobilização feita a 120 °C por 4 horas é a condição que satisfaz a maioria dos compostos.

4.4.3. Estudo do procedimento de extração do excesso de polímero não imobilizado sobre os suportes de sílica não modificado ou zirconizado

Para avaliação do procedimento de extração do excesso de polímero não imobilizado sobre os suportes, o procedimento de EFS utilizado foi o mesmo descrito no item 3.3.

A Tabela 13 mostra os resultados das eficiências de extração obtidas nos experimentos realizados com SiPMOS. Este sorvente foi termicamente imobilizado a 140 °C, por 6 horas, que foi a condição de imobilização otimizada, como discutido no item 4.4.2.

Tabela 13: Eficiências de extração média ($EE_{\text{média}}$) e o coeficiente de variação (CV) obtidos nos experimentos realizados em diferentes condições de extração do excesso de PMOS sobre sílica não modificada.

Agrotóxicos	n-hexano / Temp. amb.		n-hexano / 50 °C		n-hexano e Metanol / Temp. amb.	
	$EE_{\text{média}}$ (%)	CV (%)	$EE_{\text{média}}$ (%)	CV (%)	$EE_{\text{média}}$ (%)	CV (%)
Carbendazim	72	5	40	18	33	3
Imidacloprido	96	2	80	3	79	6
Acetamiprido	54	22	80	11	36	9
Cimoxanil	92	4	95	3	98	4
Carbofuran	86	5	99	1	92	3
Carbaril	87	5	94	0,3	91	1
Metiocarbe	72	3	85	4	80	6
Tebuconazol	91	4	104	0,3	98	4
Difenoconazol	71	9	66	8	66	16
Pirimifós	92	8	89	0,02	88	2
Piriproxifem	51	42	41	3	47	13

Em relação ao SiPMOS, pode-se observar que na extração com n-hexano à temperatura ambiente, ficaram fora dos valores aceitáveis de eficiência de extração apenas o acetamiprido e o piriproxifem. Na extração com n-hexano a 50 °C, obtiveram-se resultados insatisfatórios para o carbendazim, difenoconazol e piriproxifem e para a extração com n-hexano seguido de metanol, foram insatisfatórios os resultados do carbendazim, acetamiprido, difenoconazol e piriproxifem.

Observa-se que, na extração com n-hexano a temperatura ambiente, os coeficientes de variação dos compostos acetamiprido e piriproxifem ficaram elevados, sendo 22 e 42%, respectivamente. Estes valores de coeficiente de variação estão fora do aceitável, segundo a ANVISA⁵⁵, porém quando o conjunto dos resultados é comparado entre as diferentes formas de extração do excesso de PMOS, a condição de extração com n-hexano a temperatura ambiente é a que proporcionou os melhores resultados para a maioria dos compostos em estudo.

A Figura 22 mostra os gráficos de barras construídos a partir dos resultados da Tabela 13, para o sorvente SiPMOS submetido às diferentes formas de extração do excesso de polímero.

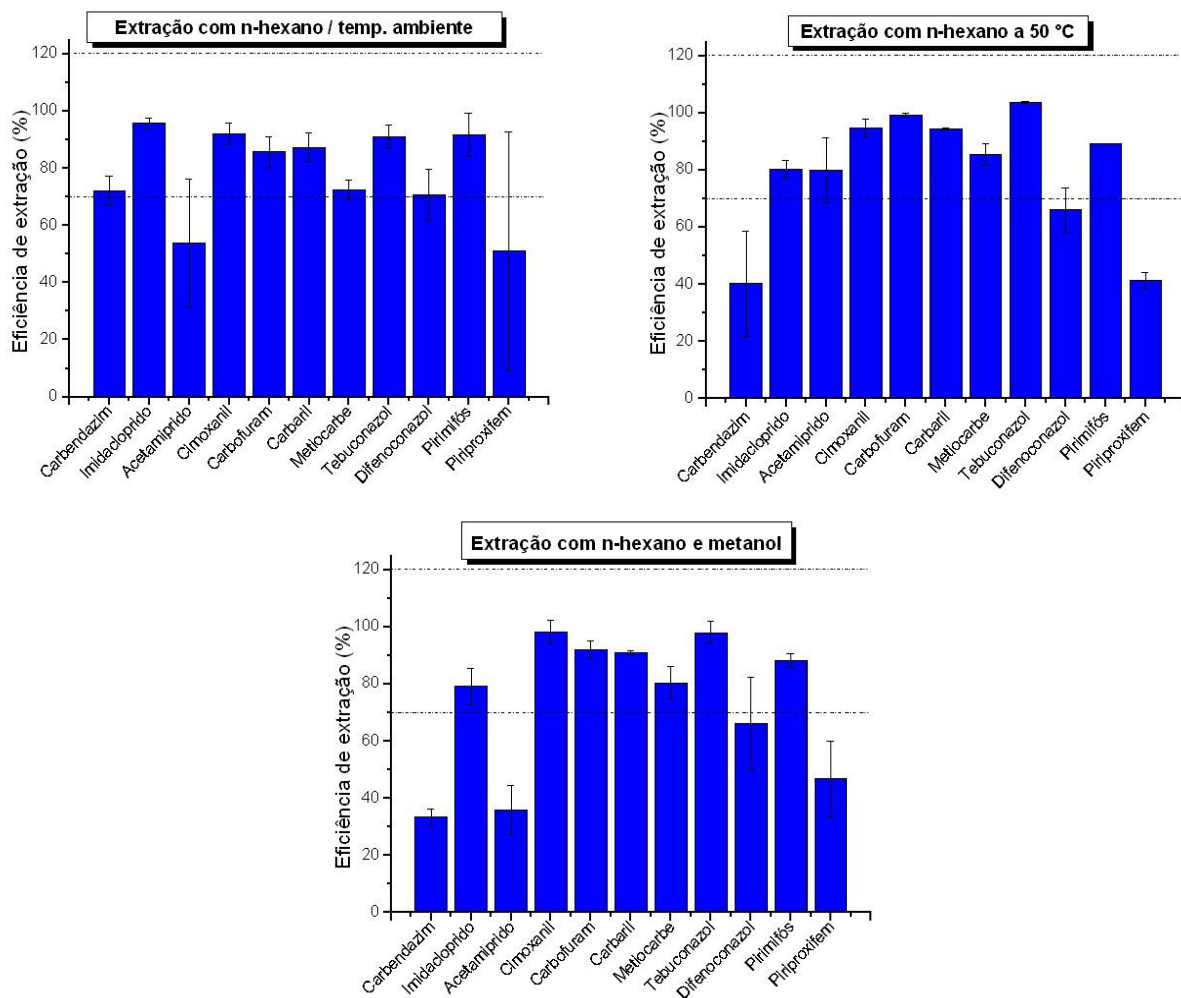


Figura 22: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos em SiPMOS submetido a diferentes condições de extração do excesso de PMOS. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.

A Tabela 14 mostra os resultados das eficiências de extração obtidas nos experimentos realizados com SiZrPMOS. Neste caso, a imobilização foi otimizada em 120 °C, por 4 horas, como discutido no item 4.4.2.

Tabela 14: Eficiências de extração média ($EE_{m\acute{e}dia}$) e o coeficiente de variação (CV) obtidos nos experimentos realizados em diferentes condições de extração do excesso de PMOS sobre sílica zirconizada (SiZrPMOS).

Agrotóxicos	n-hexano / Temp. amb.		n-hexano / 50 °C		n-hexano e Metanol / Temp. amb.	
	$EE_{m\acute{e}dia}$ (%)	CV (%)	$EE_{m\acute{e}dia}$ (%)	CV (%)	$EE_{m\acute{e}dia}$ (%)	CV (%)
Carbendazim	65	11	78	2	69	11
Imidacloprido	90	10	88	4	96	5
Acetamiprido	83	6	90	4	88	1
Cimoxanil	89	3	94	1	89	3
Carbofuram	98	3	96	5	98	1
Carbaril	94	3	95	2	96	1
Metiocarbe	103	8	96	6	101	4
Tebuconazol	78	9	82	3	85	0,5
Difenoconazol	66	9	67	4	80	0,5
Pirimifós	80	2	100	1	99	1
Piriproxifem	62	9	58	19	38	8

A interpretação destes resultados pode ser menos evidente que a dos resultados obtidos para sílica não modificada. Na extração do excesso de PMOS realizada com n-hexano a temperatura ambiente pode-se observar que três compostos ficaram um pouco abaixo dos níveis aceitáveis de eficiência de extração, sendo eles o carbendazim, difenoconazol e o piriproxifem.

Ao se observar a eficiência de extração do carbendazim nas duas outras condições de extração, percebe-se que a extração com n-hexano a 50 °C proporcionou um resultado mais satisfatório, de 78% com coeficiente de variação de apenas 2%. Para o piriproxifem, outro composto bastante problemático por ser muito apolar, a condição de extração com n-hexano a 50 °C proporcionou uma eficiência de extração de 58%, muito acima da obtida pelo sorvente extraído com n-hexano seguido de metanol, de 38%. O sorvente submetido à extração do excesso de PMOS com n-hexano a 50 °C proporcionou uma eficiência de extração ligeiramente abaixo do limite aceitável para o difenoconazol, de 67%, mas com precisão adequada, expressa pelo coeficiente de variação de 4%.

A Figura 23 mostra os gráficos de barras obtidos a partir dos resultados da Tabela 14 para o SiZrPMOS. De modo geral, o sorvente obtido após a extração do excesso de PMOS com n-hexano a 50 °C proporcionou os melhores resultados para a maioria dos compostos analisados, principalmente para os mais polares como carbendazim, imidacloprido e acetamiprido. Em relação aos compostos mais apolares, difenoconazol

e piriproxifem, a eficiência de extração foi menor que 70%, com precisão dentro dos limites aceitáveis. A extração destes compostos poderá ser melhorada testando-se o uso de um solvente mais apolar que o metanol, como o acetato de etila, na etapa de eluição dos analitos do cartucho. Também não foram verificadas diferenças significativas nas linhas de base dos cromatogramas obtidos na separação dos compostos extraídos pelos diferentes sorventes.

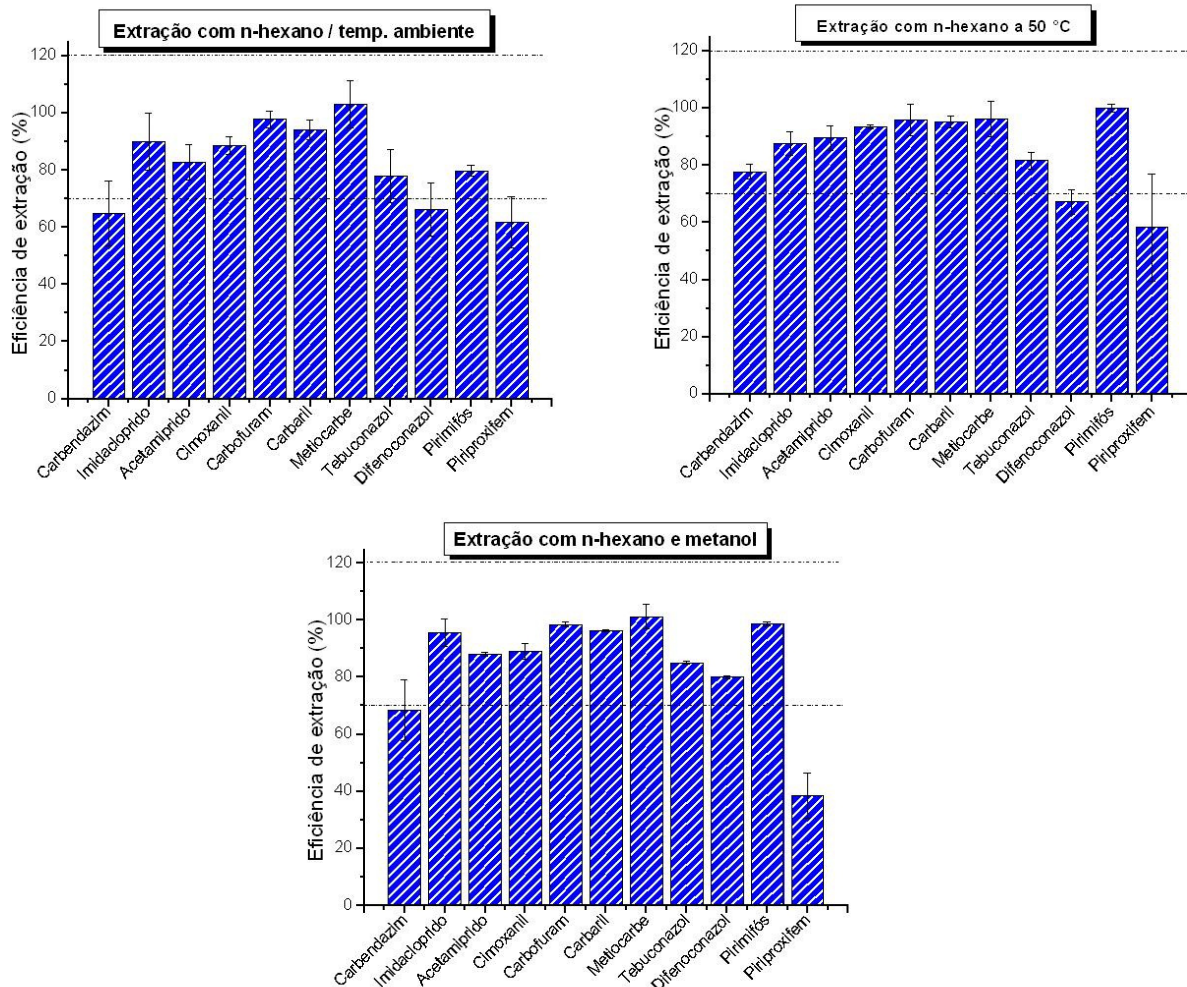


Figura 23: Eficiências de extração obtidas para os agrotóxicos em SiZrPMOS submetido a diferentes condições de extração do excesso de PMOS. As linhas tracejadas delimitam o intervalo aceitável, de 70 a 120% de eficiência de extração.

Por meio dos experimentos realizados para avaliação das diferentes condições de extração do excesso de PMOS sorvido e imobilizado sobre sílica não modificada e sílica zirconizada pode-se concluir que a condição que proporcionou os melhores resultados de eficiência de extração dos agrotóxicos nos cartuchos de SiPMOS foi a com n-hexano à temperatura ambiente. Para os cartuchos confeccionados com SiZrPMOS a condição escolhida foi a extração com n-hexano a 50 °C que, além dos

motivos anteriormente discutidos, requer menor gasto de solvente orgânico que a condição de extração com n-hexano /metanol.

4.5. Caracterização físico-química dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS preparados pelo método otimizado

4.5.1. Análise elementar

A análise elementar foi realizada para todos os sorventes preparados sobre sílica não modificada e zirconizada, em cada etapa do processo de otimização, com o intuito de avaliar a quantidade de carbono efetivamente imobilizada na superfície dos suportes. A Tabela 15 mostra as porcentagens de carbono e a espessura da camada polimérica obtidas para cada sorvente, após as etapas de sorção, imobilização e extração do excesso de PMOS.

Tabela 15: Porcentagens de carbono (%C) e cálculo da espessura da camada polimérica (τ) obtidas por análise elementar dos sorventes preparados sobre sílica não modificada e zirconizada. Em destaque, as condições que proporcionaram os melhores resultados de eficiência de extração dos agrotóxicos em cada etapa de otimização.

Etapa	Condição	SiPMOS		SiZrPMOS	
		%C	τ (nm)	%C	τ (nm)
Estudo da carga de PMOS	35% PMOS	20,5	1,3	15,1	1,5
	40% PMOS	21,9	1,5	15,5	1,5
	45% PMOS	22,5	1,6	14,9	1,4
	50% PMOS	23,3	1,7	14,6	1,3
Estudo das condições de imobilização do PMOS	120 °C / 4 h	20,5	1,3	15,1	1,5
	160 °C / 4 h	19,2	1,1	24,4	-
	120 °C / 8 h	22,4	1,5	16,1	1,7
	160 °C / 8 h	18,4	1,1	24,6	-
	140 °C / 6 h	20,2	1,3	24,4	-
Estudo do procedimento de extração do excesso de PMOS	n-hexano / temp. amb.	20,1	1,2	15,1	1,4
	n-hexano / 50 °C	22,7	1,6	15,3	1,5
	n-hexano / metanol	22,3	1,5	14,5	1,3

Na etapa de otimização da carga de polímero sobre os suportes, observa-se que para os sorventes preparados sobre sílica não modificada, quanto maior a proporção nominal em massa de PMOS, maior a porcentagem de carbono efetivamente imobilizado sobre o suporte. Para a sílica zirconizada percebe-se que a porcentagem de carbono não variou significativamente. Isto pode ser explicado em conjunto com a

análise dos espectros de RMN de ^{29}Si que podem ser visualizados na Figura 27, no item 4.5.5. Observa-se nos espectros do sorvente baseado em sílica não modificada os picos T^2 e T^3 , que indicam o entrecruzamento da cadeia de polímero, enquanto no sorvente zirconizado estes picos não aparecem. O entrecruzamento das cadeias poliméricas acarreta em um maior grau de recobrimento do suporte pelo polímero.

Nos planejamentos fatoriais elaborados para o estudo das condições de imobilização do PMOS sobre os suportes, observa-se uma relação entre a quantidade de carbono imobilizada e os resultados observados nas Tabelas 11 e 12. Para o SiPMOS, o aumento da temperatura de imobilização, que foi o único fator significativo do planejamento, provocou uma pequena diminuição da quantidade de carbono presente no sorvente. Os experimentos realizados a 160 °C por 4 e 8 horas proporcionaram 19,2 e 18,4% de carbono, respectivamente. A 120 °C foi possível imobilizar 20,5% (por 4 horas) e 22,4% (por 8 horas). O ponto central, em que a imobilização foi feita a 140 °C por 6 horas, proporcionou as melhores eficiências de extração e a porcentagem de carbono deste sorvente foi de 20,2%.

Para os sorventes preparados sobre sílica zirconizada observa-se um comportamento completamente oposto, sendo que, com o aumento da temperatura de imobilização, aumenta-se a porcentagem de carbono imobilizado sobre o suporte. Como se pode observar na Tabela 15, foram obtidos 15,1 e 16,1% de carbono nos sorventes preparados nos experimentos a 120 °C por 4 e 8 horas, respectivamente. A 160 °C, foram obtidos 24,4 e 24,6%, nas imobilizações por 4 e 8 horas, respectivamente. No ponto central, obteve-se a quantidade de 24,4% de carbono. Para o SiZrPMOS, as melhores eficiências de extração se deram nos cartuchos preparados com o sorvente imobilizado a 120 °C por 4 horas, ou seja, com quantidades de carbono de 15,1%.

Na etapa de otimização do procedimento de extração do excesso de PMOS observa-se que a variação da porcentagem de carbono dos sorventes extraídos nas variadas condições não sofreu alterações significativas, sendo de 1 a 2%, o que está dentro do erro da própria análise. A condição adotada para a sílica não modificada (com a qual se obteve as melhores eficiências de extração dos agrotóxicos) foi a extração com n-hexano a temperatura ambiente, na qual se obteve 20,1% de carbono. Para a sílica zirconizada, a melhor condição foi a extração com n-hexano a 50 °C, na qual se obteve 15,3% de carbono imobilizado.

O trabalho de Queiroz *et al.*^{20, 51} descreve o preparo de sorventes para EFS envolvendo a imobilização térmica de PMOS sobre sílica não modificada. O procedimento adotado foi o de solubilização do PMOS em n-pentano, com agitação por 3 horas, seguida de imobilização em forno a 120 °C por 4 horas. A extração do excesso de polímero foi feita pela passagem de 25 mL de n-hexano por grama de material a 2 mL/min, seguido de 35 mL de metanol por grama de material, sob pressão de 13,9 MPa. Sob estas condições, foram obtidos 14% de carbono imobilizado sobre a sílica não modificada, sendo que a sílica usada possuía partículas de 40-63 µm e poros de 10 nm. Apesar de poros maiores do que os da sílica utilizada neste trabalho, as porcentagens de carbono foram menores. Entre todas as etapas de otimização do preparo dos sorventes sobre a sílica utilizada neste trabalho (tamanho de partícula de 35 a 70 µm, tamanho de poro de 6 nm), as condições que proporcionaram os melhores resultados permitiram que aproximadamente 20% de carbono permanecessem imobilizados sobre a sílica não modificada e 15% de carbono sobre a sílica zirconizada.

Faria *et al.*²⁵ desenvolveram um método para o preparo de sorventes para EFS, envolvendo a imobilização de PMTDS sobre sílica não modificada. A sílica utilizada possuía as mesmas características da empregada neste trabalho, partículas de 35-70 µm e poros de 6 nm. A porcentagem de carbono do sorvente que proporcionou as melhores eficiências de extração de agrotóxicos em amostras de águas superficiais foi de apenas 8,3%, também menores que as obtidas neste trabalho.

Observa-se, ainda, na Tabela 15 que as espessuras das camadas de polímero sobre ambos os suportes foram maiores que 1,0 nm para todas as etapas de otimização do preparo dos sorventes. A espessura da camada de 1,0 nm equivale à deposição de polímero em uma monocamada, que é considerado um recobrimento uniforme e homogêneo, levando a transferências de massa mais rápidas e eficientes.

O procedimento de imobilização térmica do PMOS proporcionou camadas de polímero de 1,2 nm para o SiPMOS e 1,5 nm para o SiZrPMOS após os procedimentos otimizados. No caso da sílica zirconizada, na etapa de otimização das condições de imobilização, não foi possível calcular, usando a Equação 9, a espessura da camada de polímero nas condições de imobilização a 160 °C por 4 e por 8 horas e no ponto central, pois a porcentagem de polímero imobilizado nestas condições foi maior do que a quantidade dos poros cheios. Apesar das camadas mais espessas de polímero, foi

possível obterem eficiências de extração adequadas no procedimento de EFS utilizando estes sorventes.

4.5.2. Área superficial específica, volume e diâmetro de poros

Amostras dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS, preparados pelo método otimizado, foram submetidas à análise de área superficial específica, volume e diâmetro de poros. Os resultados estão mostrados na Tabela 16.

Tabela 16: Área superficial específica, volume e diâmetro de poros dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS.

Suporte	Área Superficial / $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	Volume de Poros / $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$	Diâmetro de Poros / nm
SiPMOS	66,4	0,12	7,27
SiZrPMOS	110,7	0,16	5,89

No sorvente preparado sobre sílica não modificada, observa-se que houve uma grande diminuição da área superficial específica do suporte após a imobilização do polímero. O volume de poros também foi diminuído, o que sugere que a deposição do polímero ocorreu principalmente dentro dos poros.

No caso do sorvente metalizado, a área superficial específica é maior que a do não metalizado, mas ainda assim 70% menor do que a do suporte. O volume de poros foi igualmente diminuído. Os diâmetros dos poros de ambos os sorventes não sofreram alterações significativas e são praticamente os mesmos dos suportes^{14, 54}.

4.5.3. Análise termogravimétrica

Os comportamentos térmicos dos suportes de sílica não modificada e zirconizada, assim como do polímero PMOS determinam o comportamento térmico dos sorventes preparados com estes materiais e a sua adequação ao tratamento térmico para imobilização do polímero.

A Figura 24 apresenta as curvas termogravimétricas dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS.

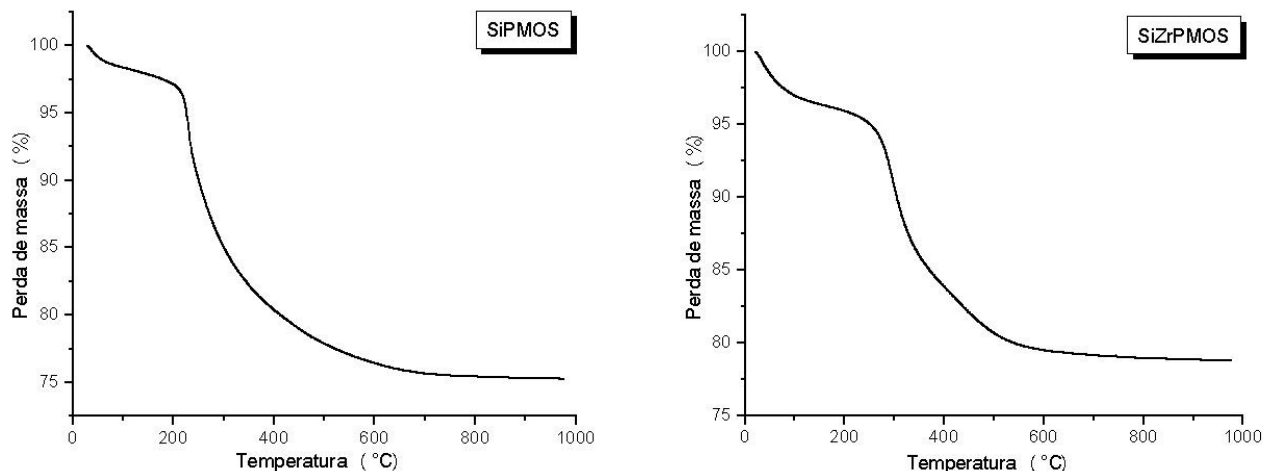


Figura 24: Curvas termogravimétricas dos sorventes preparados SiPMOS e SiZrPMOS.

Observa-se que o perfil de degradação térmica dos sorventes preparados é compatível com os dos suportes e do polímero, sendo que, na faixa de temperatura de 150 a 650 °C, além da degradação do polímero, ocorre a condensação dos grupos hidroxila (silanóis e/ou zirconóis) na superfície dos suportes e a perda de massa decorrente da perda de moléculas de água. Observa-se ainda que a maior taxa de perda de massa para o SiZrPMOS ocorre em torno de 265 °C, enquanto que para o SiPMOS ocorre em torno de 212 °C, o que mostra que o sorvente preparado sobre sílica zirconizada é termicamente mais estável. As temperaturas de imobilização térmica dos sorventes estão de acordo com suas estabilidades térmicas e, portanto, não há degradação do polímero neste processo, nas faixas de temperatura utilizadas.

4.5.4. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Foram obtidos os espectros de transmitância na região do infravermelho dos sorventes preparados pelo procedimento otimizado, SiPMOS e SiZrPMOS. Estes espectros estão mostrados nas Figuras 25 e 26.

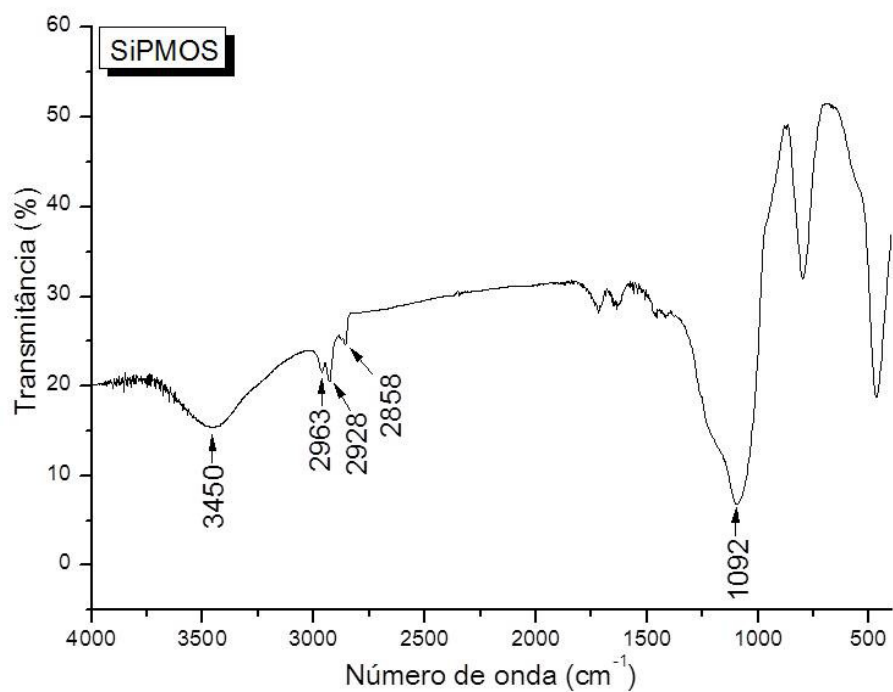


Figura 25: Espectro de absorção na região do infravermelho do sorvente obtido pelo procedimento otimizado de imobilização do PMOS sobre sílica não modificada.

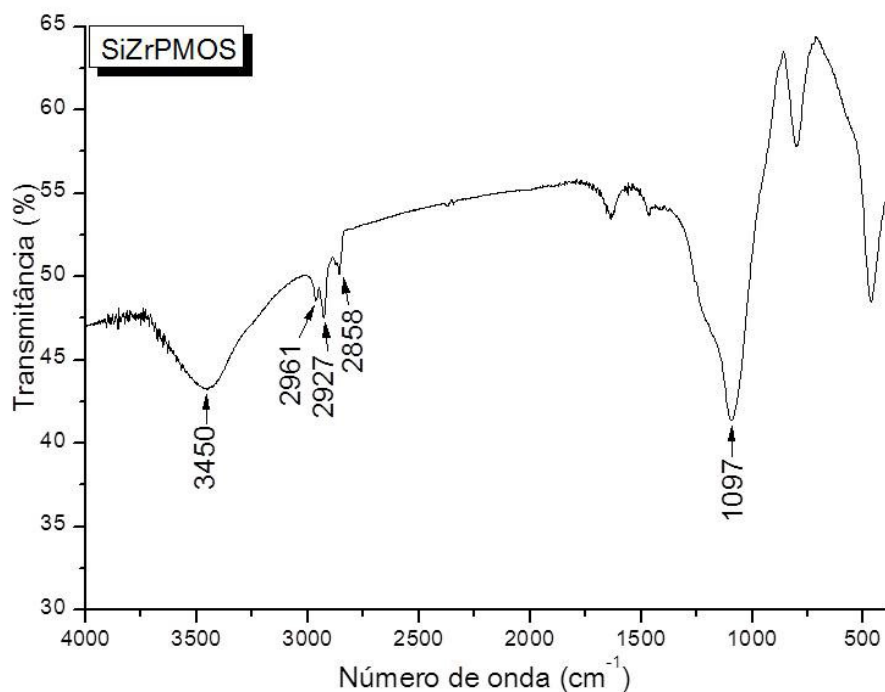


Figura 26: Espectro de absorção na região do infravermelho do sorvente obtido pelo procedimento otimizado de imobilização do PMOS sobre sílica zirconizada.

Em ambos, observa-se a banda em 3450 cm^{-1} referente, principalmente, às moléculas de água fisicamente adsorvidas na superfície do suporte. A banda intensa

em aproximadamente 1095 cm^{-1} , referente ao estiramento das ligações siloxano, também está presente em ambos os espectros.

A presença em ambos os sorventes da banda em aproximadamente 2960 cm^{-1} é atribuída aos grupos $-\text{CH}_3$ e as bandas em 2927 e 2858 cm^{-1} são atribuídas aos grupos $-\text{CH}_2$ na cadeia alifática do polímero, o que indica que houve a imobilização efetiva do polímero PMOS sobre a superfície dos suportes.

4.5.5. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{29}Si

Os espectros de RMN de ^{29}Si dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS foram obtidos nas mesmas condições que os dos suportes. A partir das informações contidas nestes espectros, pode-se determinar as possíveis interações e alterações na superfície destes sólidos geradas pela imobilização do polímero PMOS.

A Figura 27 mostra os espectros de RMN de ^{29}Si dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS preparados pelo método otimizado. Em comparação com os suportes, a razão Q^3/Q^4 dos sorventes diminuiu. Para o SiPMOS, houve uma diminuição de 61% dos grupos silanóis livres e vicinais em relação ao suporte de sílica não modificado. Para o sorvente zirconizado, a relação Q^3/Q^4 diminuiu 33% em relação ao suporte de sílica zirconizado. Houve, também, uma grande diminuição na intensidade do pico do grupo Q^2 em ambos os sorventes, em comparação com os suportes. Estas observações indicam que a imobilização do polímero sobre os suportes proporcionou a diminuição de silanóis nas superfícies dos mesmos e, ainda, que as interações do PMOS ocorreram tanto com silanóis livres e vicinais (Q^3), como com os geminais (Q^2)^{14,54}.

Após a imobilização do polímero, novas espécies de silício foram observadas nos espectros de RMN dos sorventes. Estas espécies (M , D^1 , D^1_{H} , D^2 e D^2_{H}) apresentam picos, principalmente, na região compreendida entre -10 e -20 ppm e estão relacionadas à cadeia do polímero. O pico em -22 ppm está relacionado às ressonâncias da estrutura do PMOS (D^2).

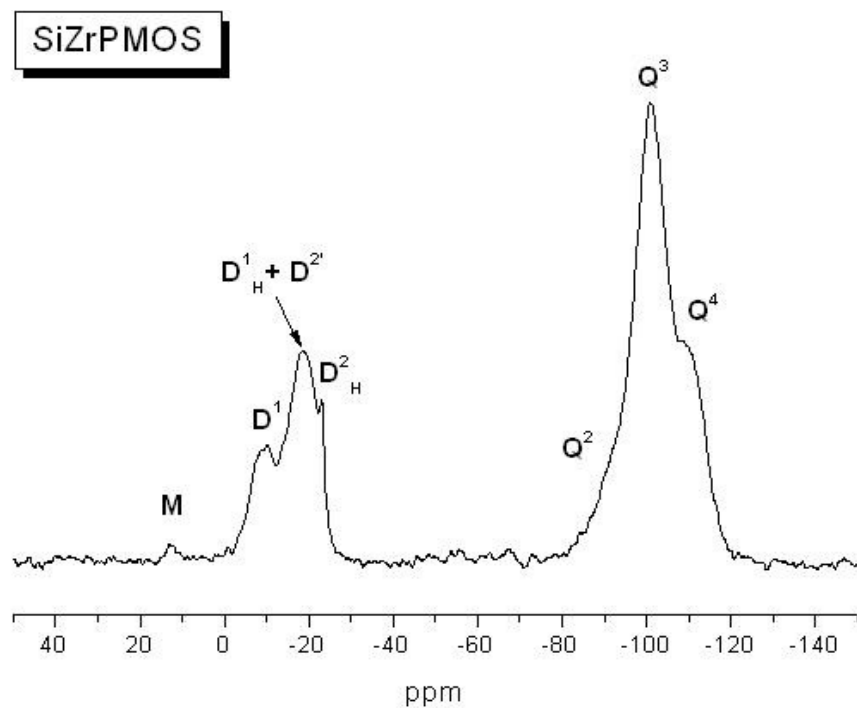
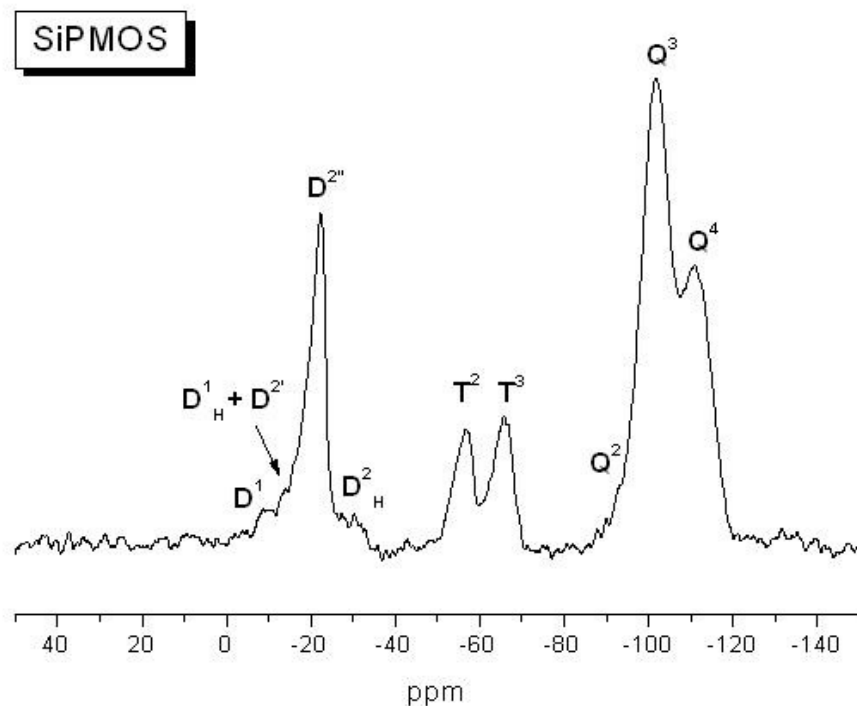


Figura 27: Espectros de RMN de ^{29}Si dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS.

O aparecimento dos picos referentes às ressonâncias das espécies D^1 , D^1_{H} , D^2 pode ser explicado pela quebra das ligações Si-O-Si da cadeia do polissiloxano. As cadeias do polímero podem estar fisicamente adsorvidas (grupos $\text{D}^{2''}$) ou quimicamente ligadas ao suporte (grupos D^2). No SiPMOS, observam-se os picos dos grupos T^2 e T^3

que indicam a presença de entrecruzamento das cadeias do polímero após o tratamento térmico.

No sorvente SiZrPMOS há a presença de um pequeno pico em +13 ppm referente à ressonância dos grupos M. Não se observam as ressonâncias dos grupos T², T³ e D²_H, o que implica que há menos entrecruzamento. Além disso, há um aumento dos sinais referentes aos grupos D¹ e D¹_H, em relação ao SiPMOS, o que indica que, após a imobilização térmica do polímero, a presença do zircônio na superfície do suporte leva à formação de maior número de espécies do grupo D, relacionadas às quebras das ligações Si-O-Si da cadeia do polissiloxano^{48, 54}.

4.6. Determinação do volume de *breakthrough*

Os volumes de *breakthrough* dos cartuchos confeccionados com SiPMOS e SiZrPMOS foram estimados através de um procedimento *off-line*. As curvas de *breakthrough* foram construídas a partir da relação entre a área do pico do analito e o volume total de amostra percolado através do cartucho.

As Figuras 28 e 29 mostram as curvas de *breakthrough* dos agrotóxicos utilizando o cartucho de SiPMOS e SiZrPMOS, respectivamente. Pode-se observar na Figura 28 que os compostos carbendazim, imidacloprido e cimoxanil apresentam *breakthrough*, ou seja, perda de analito, no cartucho de SiPMOS com a passagem de apenas 10 mL de amostra. Após a passagem de 20 mL de amostra, inicia-se a perda também do acetamiprido. O carbofuram e o carbaril começam a deixar de serem retidos pelo sorvente SiPMOS com 75 e 150 mL, respectivamente. Não foram observados, até a passagem de 300 mL de amostra, os *breakthrough* do metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem.

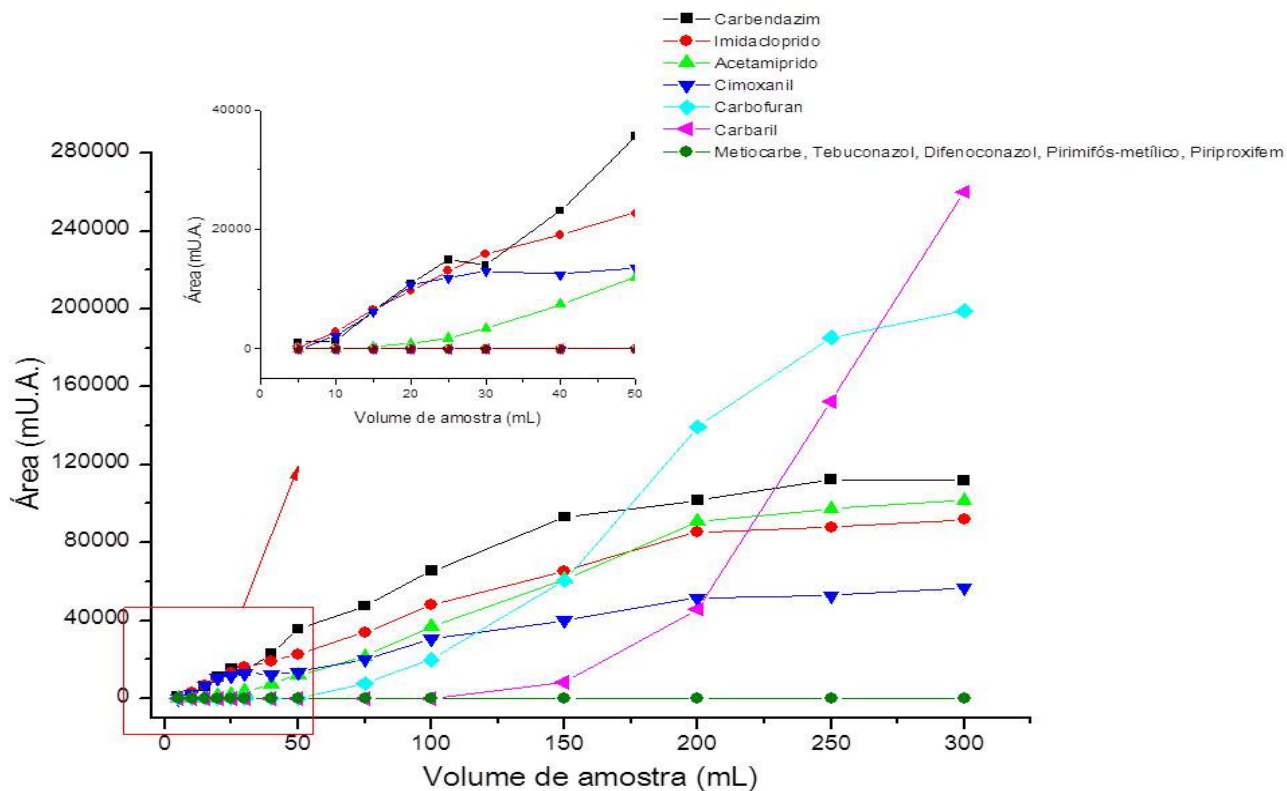


Figura 28: Curvas de *breakthrough* do cartucho de SiPMOS. Em destaque a região de volume de amostra de 0 a 50 mL.

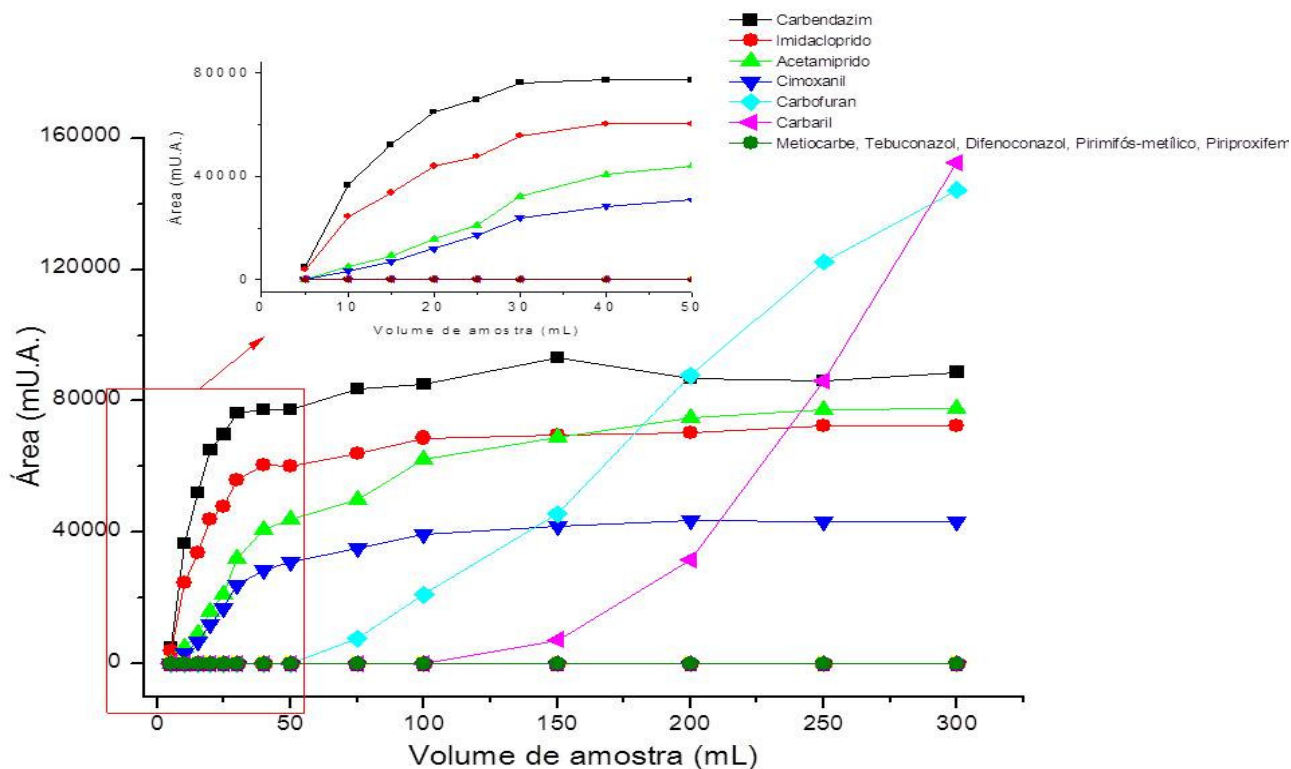


Figura 29: Curvas de *breakthrough* do cartucho de SiZrPMOS. Em destaque a região de volume de amostra de 0 a 50 mL.

A Figura 29 mostra que, para o sorvente SiZrPMOS, os perfis de retenção dos analitos mais polares carbendazim, imidacloprido, acetamiprido e cimoxanil foram muito semelhantes aos obtidos com o SiPMOS, sendo que com a passagem de 10 mL de amostra já foram observados os picos destes quatro analitos. Também semelhante ao SiPMOS, os volumes de *breakthrough* do carbofuram e do carbaril se deram com a passagem de 75 e 150 mL, respectivamente. Também não foram observadas as presenças dos analitos metiocarbe, tebuconazol, difenoconazol, pirimifós-metílico e piriproxifem com a passagem de até 300 mL de amostra, o que indica que seus volumes de *breakthrough* não foram alcançados.

A importância do volume da amostra em SPE está no fato de que quanto maior o volume de amostra e menor o volume final de extrato, maior será o fator de concentração e, portanto, é possível obter um método com menores limites de detecção e quantificação. Pelo exposto, busca-se sempre o melhor compromisso entre o volume de amostra e a eficiência da extração dos analitos.

No caso dos sorventes SiPMOS e SiZrPMOS, pode-se inferir, a partir das curvas de *breakthrough*, que o comportamento de ambos em relação aos compostos analisados é bastante semelhante e que o fato de haver perda dos analitos mais polares com a passagem de pequenos volumes de amostra indica uma característica bastante apolar dos sorventes, provavelmente por causa das interações mais apolares do polímero poli(metiloctilsiloxano) imobilizado sobre os suportes. No SiZrPMOS observa-se ainda que a perda destes analitos mais polares é mais acentuada que na extração com o SiPMOS, sendo que com a passagem de 100 mL de amostra praticamente não há mais retenção destes analitos. Em relação aos compostos mais apolares, o comportamento de ambos os sorventes foi idêntico e não foram alcançados os volumes de *breakthrough* para nenhum deles até 300 mL.

De acordo com as curvas de *breakthrough* obtidas para os sorventes SiPMOS e SiZrPMOS pode-se concluir que não é possível encontrar um único volume de amostra que proporcione uma condição ótima para todos os analitos estudados. A variedade de classes e a grande diferença de polaridade que existem entre estes compostos proporcionam diferentes interações entre estes e os sorventes durante o processo de SPE.

Visando um volume de amostra que fosse capaz de proporcionar um fator de concentração adequado para a análise multirresíduo de agrotóxicos em amostras de

alimentos, foram realizadas extrações em triplicata de amostras de água fortificadas com a mistura dos agrotóxicos nos volumes de 10, 30, 50 e 75 mL, utilizando-se cartuchos recheados com o sorvente SiZrPMOS. Com o intuito de tentar melhorar a eluição dos analitos mais apolares, foram utilizadas cinco alíquotas de 1,0 mL de metanol e três alíquotas de 1,0 mL de acetato de etila na etapa de eluição.

Os resultados destes experimentos estão mostrados na Tabela 17 e pode-se observar que para os analitos que apresentaram os menores volumes de *breakthrough*, carbendazim, imidacloprido e acetamiprido, que são os analitos mais polares, houve uma melhora nas eficiências de extração das amostras usando-se um volume de 50 mL. Para os demais agrotóxicos estudados, o volume de 50 mL de amostra forneceu eficiências de extração dentro do intervalo aceito na literatura, com exceção do piriproxifem, para o qual se obteve 68%. Os coeficientes de variação foram inferiores a 20% para todos os agrotóxicos, indicando que o uso de 50 mL de amostra proporciona repetibilidade.

Tabela 17: Eficiências de extração médias ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) obtidos para os agrotóxicos presentes em amostras de água fortificadas de 10, 30, 50 e 75 mL, utilizando cartuchos de SiZrPMOS.

Volume de amostra (mL)	10		30		50		75	
	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)
Agrotóxicos								
Carbendazim	52	12	47	25	65	2	50	14
Imidacloprido	59	16	57	10	78	12	59	15
Acetamiprido	64	1	62	6	80	7	61	16
Cimoxanil	82	15	81	8	103	9	62	4
Carbofuram	86	5	91	8	98	5	85	3
Carbaril	86	3	90	7	96	3	90	1
Metiocarbe	51	3	67	19	87	2	80	5
Tebuconazol	46	29	66	4	90	4	72	6
Difenoconazol	50	30	59	6	74	8	73	10
Pirimifós	84	6	89	6	92	2	93	2
Piriproxifem	41	20	34	12	68	9	62	16

Para comparação com o sorvente zirconizado, amostras de 50 mL de água fortificada com a mistura dos agrotóxicos foram submetidas ao procedimento de EFS utilizando cartuchos de SiPMOS. Estes resultados estão mostrados na Tabela 18.

Tabela 18: Comparação das eficiências de extração médias e coeficientes de variação obtidos nas extrações de amostras de 50 mL de água fortificadas com os agrotóxicos estudados, utilizando os sorventes SiPMOS e SiZrPMOS.

Agrotóxicos	SiPMOS		SiZrPMOS	
	EE _{média} (%)	CV (%)	EE _{média} (%)	CV (%)
Carbendazim	73	10	65	2
Imidacloprido	64	6	78	12
Acetamiprido	26	32	80	7
Cimoxanil	48	6	103	9
Carbofuram	89	5	98	5
Carbaril	95	2	96	3
Metiocarbe	80	9	87	2
Tebuconazol	83	6	90	4
Difenoconazol	66	7	74	8
Pirimifós	90	4	92	2
Piriproxifem	56	16	68	9

Em relação ao sorvente baseado em sílica não modificada, percebe-se que houve uma perda significativa na eficiência de extração dos compostos mais polares imidacloprido, acetamiprido e cimoxanil, em relação aos resultados observados na extração de amostras de 10 mL, mostrados na Tabela 13. Isto se deve, provavelmente ao volume de *breakthrough* destes compostos, como discutido anteriormente e às características mais apolares do próprio sorvente.

O mecanismo de retenção dos analitos no procedimento de extração em fase sólida com os sorventes SiPMOS e SiZrPMOS são semelhantes aos mecanismos presentes em cromatografia líquida de alta eficiência no modo de fase reversa (CLAE-FR). Por causa de sua natureza hidrofóbica, estes sorventes interagem com os analitos por forças de van der Waals e o caráter aromático das cadeias orgânicas dos agrotóxicos intensifica estas interações⁹. O logaritmo do coeficiente de partição octanol/água (log P), mostrado na Tabela 3, é uma medida da hidrofobicidade da molécula e pode-se observar que as eficiências de extração dos agrotóxicos variaram com esta característica sendo que, de modo geral, o sorvente composto por sílica zirconizada apresentou maiores eficiências de extração que as do SiPMOS, para a maioria dos compostos, com precisão satisfatória, se mostrando útil na extração em fase sólida multirresíduo de compostos que apresentam características físico-químicas diferentes entre si. Observa-se que para os extremos de polaridade, o desempenho do sorvente SiZrPMOS foi mais adequado do que o SiPMOS.

4.7. Avaliação do pH da amostra

A Tabela 19 mostra os resultados dos experimentos realizados com as amostras de 50 mL de água, em diferentes valores de pH, fortificadas com a mistura dos agrotóxicos e submetidas ao procedimento de EFS utilizando-se cartuchos de SiZrPMOS.

Tabela 19: Médias das eficiências de extração ($EE_{\text{média}}$) e coeficientes de variação (CV) das extrações de amostras em diferentes pH.

Agrotóxicos	pH = 2,5		pH = 7,0		pH = 9,0	
	$EE_{\text{média}}$ (%)	CV (%)	$EE_{\text{média}}$ (%)	CV (%)	$EE_{\text{média}}$ (%)	CV (%)
Carbendazim	65	2	81	3	74	5
Imidacloprido	78	12	90	15	84	2
Acetamiprido	80	7	93	0	89	3
Cimoxanil	103	9	75	4	12	1
Carbofuram	98	5	85	3	73	2
Carbaril	96	3	92	7	38	1
Metiocarbe	87	2	61	10	20	1
Tebuconazol	90	4	102	14	77	5
Difenoconazol	74	8	84	9	88	19
Pirimifós	92	2	68	2	72	7
Piriproxifem	68	9	74	11	42	3

Em pH acima de 4,0 os silanóis residuais do sorvente encontram-se dissociados. Esta característica pode provocar interações de troca iônica com os sítios básicos dos analitos. Além disso, os analitos que se encontram ionizados no pH da amostra, participam mais facilmente de interações com os silanóis e zirconóis residuais ionizados e ainda têm sua interação com a parte hidrofóbica do sorvente diminuída.

A Figura 30 mostra os gráficos de barras que facilitam a comparação dos resultados da Tabela 19.

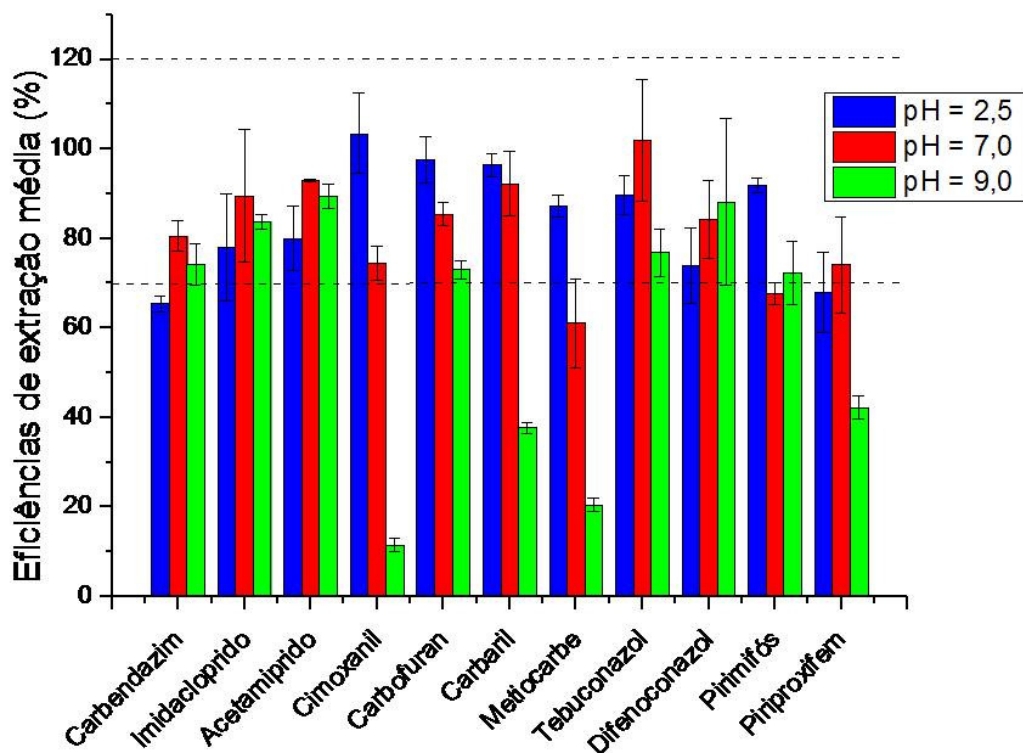


Figura 30: Eficiências de extração médias das amostras de água de diferentes pH utilizando cartuchos de SiZrPMOS.

Na Figura 30 observa-se que a alteração do pH das amostras e das soluções de condicionamento do sorvente afetam a retenção dos agrotóxicos na fase sólida. Os resultados mais evidentes são aqueles relacionados aos analitos básicos cimoxenil ($pK_a = 9,3$) e carbaril ($pK_a = 10,4$), que tiveram suas eficiências de extração bastante diminuídas em pH 7,0 e 9,0, em comparação com o pH 2,5. Os compostos carbofuran, metiocarbe, tebuconazol, pirimifós-metilico e piriproxifem também tiveram suas eficiências de extração diminuídas em pH 9,0.

Em pH básico, os grupos silanóis residuais da superfície da sílica se encontram na forma $Si-O^-$ e retêm fortemente os analitos básicos podendo, inclusive, ocorrer retenções irreversíveis. Estes silanóis têm suas acidez aumentadas, devido a presença dos átomos de zircônio adjacentes aos átomos de silício que contêm o OH. Além disso, os grupos zirconóis podem atuar como ácidos de Lewis, interagindo com compostos básicos em meio alcalino¹⁸.

Devido à complexidade das moléculas em estudo, é difícil prever qual mecanismo de interação será majoritário no procedimento de EFS. Um destaque deve ser feito para os resultados obtidos para os compostos mais polares carbendazim, imidacloprido e

acetamiprido, que tiveram as suas eficiências de extração ligeiramente melhoradas com o aumento do pH das amostras. Apesar do carbendazim e acetamiprido serem moléculas ácidas e o imidacloprido uma molécula neutra, suas estruturas podem propiciar outras interações, como ligações de hidrogênio, com os silanóis ionizados em pH acima de 4,0. Supõe-se que estes mecanismos de interação podem ter influenciado em uma maior retenção destes compostos na etapa de passagem da amostra, sobrepondo as interações de polaridade e aumentando suas eficiências de extração. Contudo, de um modo geral, tanto as eficiências de extração como os coeficientes de variação foram mais satisfatórios em pH 2,5 para a maioria dos compostos.

4.8. Comparação do sorvente SiZrPMOS com sorvente C8 comercial

Os resultados das extrações dos agrotóxicos feitas com o cartucho comercial Supelclean™ ENVI-8 estão mostrados na Tabela 20 juntamente com os resultados do sorvente SiZrPMOS.

Tabela 20: Médias das eficiências de extração ($EE_{média}$) e coeficientes de variação (CV) das extrações dos agrotóxicos em cartuchos comerciais e no sorvente SiZrPMOS.

Agrotóxicos	ENVI-8		SiZrPMOS	
	$EE_{média}$ (%)	CV (%)	$EE_{média}$ (%)	CV (%)
Carbendazim	6	16	65	2
Imidacloprido	0	0	78	12
Acetamiprido	9	11	80	7
Cimoxanil	30	6	103	9
Carbofuram	83	6	98	5
Carbaril	88	7	96	3
Metiocarbe	81	3	87	2
Tebuconazol	89	1	90	4
Difenoconazol	67	10	74	8
Pirimifós	85	5	92	2
Piriproxifem	40	6	68	9

Avaliando os resultados da Tabela 20, nota-se que o cartucho comercial não foi capaz de extrair satisfatoriamente os compostos carbendazim, imidacloprido, acetamiprido, cimoxanil, difenoconazol e piriproxifem. No caso do imidacloprido, não houve a extração de nenhuma quantidade do analito, enquanto o cartucho de SiZrPMOS proporcionou uma eficiência de extração de 78% para este composto.

Para os compostos carbendazim e piriproxifem, mesmo que as eficiências de extração com o sorvente zirconizado esteja abaixo da faixa aceitável, ainda estão muito acima das obtidas com o cartucho comercial, de 6 e 40%, respectivamente.

A extração destes agrotóxicos no cartucho comercial pode ser otimizada, avaliando-se as melhores condições de volume de amostra e de solventes de eluição, mas esta comparação mostra a potencialidade do sorvente preparado sobre sílica zirconizada que, nestas condições, mostrou desempenho superior ao sorvente comercial, provavelmente devido a sua característica de maior polaridade em relação ao cartucho Supelclean™ ENVI-8.

4.9. Aplicação do sorvente SiZrPMOS na EFS de agrotóxicos em suco de tomate

4.9.1. Ensaios de recuperação

Foi avaliada a aplicação do sorvente SiZrPMOS na extração dos agrotóxicos da amostra de suco de tomate. Inicialmente, foi extraído um branco para determinar se algum componente da matriz poderia interferir na análise cromatográfica dos analitos de interesse.

O cromatograma obtido na eluição cromatográfica do branco de suco de tomate está mostrado na Figura 31. A Figura 32 mostra uma comparação entre os cromatogramas do branco e do branco fortificado no tempo de retenção do cimoxanil, no comprimento de onda de absorção máxima deste composto. Observa-se que um componente da matriz elui neste tempo de retenção e, por isso, não é possível a quantificação do agrotóxico cimoxanil, nestas concentrações. Não foram observados interferentes da matriz que prejudicassem a detecção e quantificação dos outros agrotóxicos estudados.

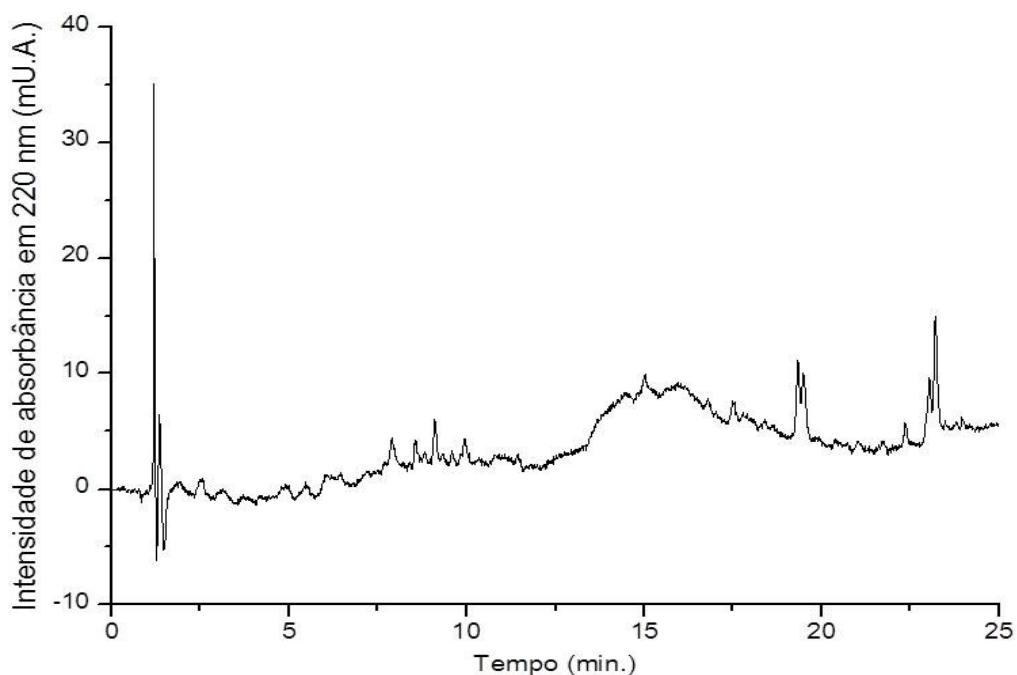


Figura 31: Cromatograma do branco de suco de tomate, obtido em 220 nm. Condições cromatográficas: volume de injeção de 17 μL ; coluna cromatográfica: NovaPak C18, Waters, 3,9x150 mm, partículas de 4 μm ; coluna de guarda: NovaPak C18, Waters, 3,9x20 mm, partículas de 4 μm ; fase móvel: água acidificada com ácido fosfórico a pH 2,5 (solvente A) e acetonitrila (solvente B); vazão de 1,0 mL min^{-1} ; programação do gradiente: 13 a 45% de B em 6 minutos, 45% de B por 2 minutos, 45 a 55% de B em 2 minutos, 55 a 95% de B em 10 minutos, 95% de B por 5 minutos, retorno às condições iniciais e estabilização por 10 minutos.

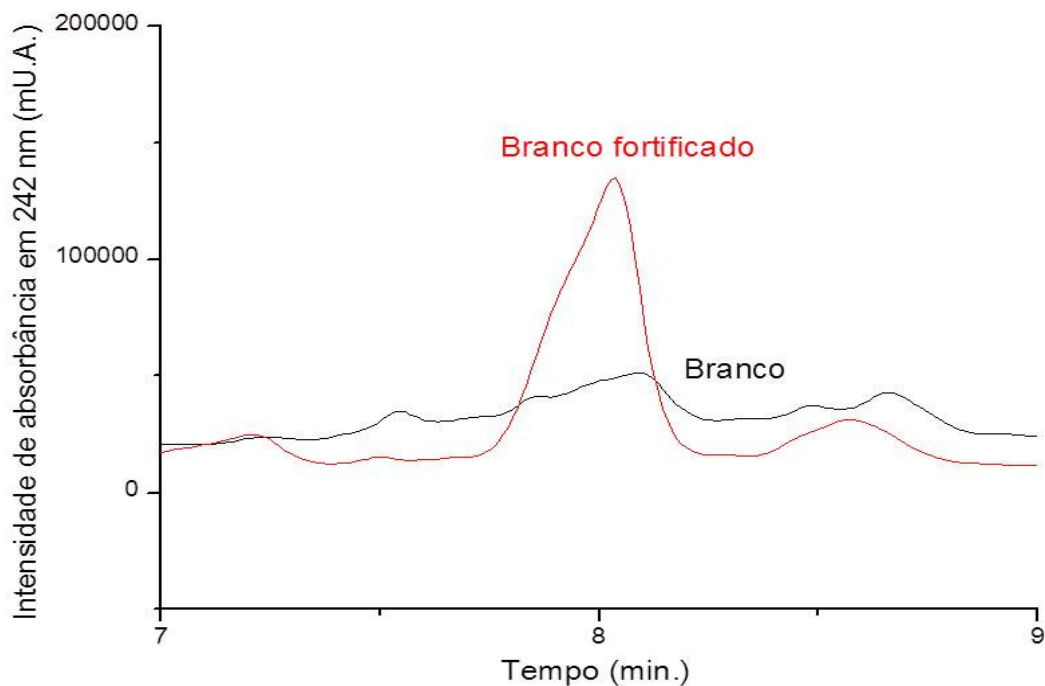


Figura 32: Cromatogramas do branco de suco de tomate e do branco fortificado obtido em 242 nm, no tempo de retenção do cimoxanil. Condições cromatográficas semelhantes às da Figura 31.

As amostras de suco de tomate foram fortificadas com a mistura dos agrotóxicos na concentração do LMR de cada composto. Para o metiocarbe, o limite máximo de resíduo permitido de acordo com o PARA - ANVISA⁴² é de 1,0 mg/kg, para o tomate. Neste caso, foi usada a concentração de 0,5 mg/L para fortificação das amostras, que é uma concentração menor do que o LMR, pois este composto possui uma detectabilidade bastante elevada no detector por arranjo de diodos e a concentração obtida pelo procedimento de EFS levaria a um sinal muito intenso. Após a concentração no procedimento de EFS os extratos das amostras fortificadas com 0,5 mg/L de metiocarbe ficaram com uma concentração calculada de 12,5 mg/L, proporcionando um sinal menos intenso e mais adequado à detecção.

As recuperações foram calculadas de acordo com a Equação 12, que considera a razão entre a área do pico do composto após a extração da amostra e a área do pico obtido em um branco de suco de tomate fortificado após a extração, como descrito no item 3.9.1. No caso da recuperação, diferentemente da eficiência de extração, considera-se o efeito dos componentes da matriz da amostra na extração dos agrotóxicos.

As médias das recuperações, juntamente com os coeficientes de variação, estão mostradas na Tabela 21.

Tabela 21: Médias das recuperações (%) e coeficientes de variação (%) das extrações dos agrotóxicos nas amostras de suco de tomate.

Agrotóxicos	Recuperação média (%)	CV (%)
Carbendazim	10	16
Imidacloprido	37	1
Acetamiprido	60	3
Carbofuram	60	5
Carbaril	65	2
Metiocarbe	57	4
Tebuconazol	43	9
Difenoconazol	11	5
Pirimifós	39	23
Piriproxifem	9	23

Observa-se na Tabela 21 que o sorvente preparado sobre sílica zirconizada foi capaz de extrair todos os agrotóxicos, mas com baixas recuperações. A ANVISA⁵⁵ determina como intervalo aceitável de recuperação para análise de resíduos de

agrotóxicos em amostras de alimentos, de 70 a 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, se destaca que quando a recuperação é baixa, mas possui boa precisão, um valor abaixo de 70% poderá ser aceito.

Considerando estas observações, o sorvente zirconizado foi capaz de recuperar satisfatoriamente do suco de tomate os agrotóxicos acetamiprido, carbofuram, carbaril e metiocarbe. Como o método de EFS utilizado foi adaptado do método otimizado para extração dos agrotóxicos em amostras de água, os valores de recuperação obtidos podem ser vistos como satisfatórios, já que não foi feito nenhum tipo de otimização.

Acredita-se que as recuperações foram prejudicadas em parte pelo fato de que a polpa do suco tenha retido os compostos mais intensamente do que a parte aquosa, no processo de centrifugação. Além disso, o material orgânico suspenso na parte aquosa do suco pode estar sorvendo os agrotóxicos, permitindo apenas a extração dos agrotóxicos livres, e não do total. Fisicamente, pode ocorrer a oclusão de poros do sorvente tanto pelo material particulado em suspensão, quando pela adsorção irreversível de macromoléculas presentes na parte aquosa do suco, o que impede a interação dos analitos com a superfície do sorvente. Uma forma de aumentar a extração dos compostos da polpa seria um pré-tratamento com solventes ou ainda a dispersão da matriz na fase sólida.

4.9.2. Efeito matriz

A avaliação do efeito matriz é uma forma de verificar a seletividade do método cromatográfico, averiguando possíveis interferências na detecção e quantificação dos analitos causadas por componentes da matriz da amostra. Estas interferências podem ocasionar fenômenos de diminuição ou aumento do sinal do detector, interferindo na quantificação⁵⁷.

Para avaliar o efeito matriz, foram obtidas as curvas analíticas na matriz e no solvente (acetonitrila) e estas estão mostradas na Figura 33. A Tabela 22 mostra as equações das curvas analíticas na matriz e no solvente junto com seus respectivos coeficientes de determinação. A ANVISA⁵⁵ recomenda que o coeficiente de determinação da equação linear seja de no mínimo 0,99 o que foi obtido para todos os analitos na faixa de concentração estudada, com boa repetibilidade em todos os pontos.

O efeito matriz foi calculado para cada analito de acordo com a Equação 14⁵⁸:

$$\text{Efeito matriz (\%)} = 100 \times \left(1 - \frac{S_m}{S_s}\right) \quad \text{Eq. 14}$$

na qual S_m é a inclinação da curva analítica obtida na matriz e S_s é a inclinação da curva analítica obtida no solvente.

Quando maior o efeito matriz, maior é o aumento do sinal analítico provocado pelos componentes da matriz. Os valores obtidos para os efeitos matriz dos agrotóxicos em suco de tomate estão mostrados na Tabela 22. Pode-se observar, que foram obtidos valores de efeito matriz bastante pronunciados, entre 32 e 92%, portanto, para o suco de tomate, a calibração deve ser feita na matriz. As curvas analíticas da Figura 33 confirmam a ocorrência do efeito matriz.

Tabela 22: Equações lineares e coeficiente de correlação das curvas analíticas na matriz.

Agrotóxicos	Matriz		Solvente		Efeito matriz (%)
	Equação da reta	r^2	Equação da reta	r^2	
Carbendazim	$y = -14238 + 265944 x$	0,9904	$y = -27073 + 2846220 x$	0,9999	91
Imidacloprido	$y = 67803 + 522314 x$	0,9954	$y = 23,6 + 2186140 x$	0,9999	76
Acetamiprido	$y = 176510 + 1318350 x$	0,9914	$y = -20311 + 3238220 x$	0,9999	59
Carbofuram	$y = -9531 + 2131350 x$	0,9972	$y = 8332 + 4218220 x$	0,9999	49
Carbaril	$y = -7207 + 4910290 x$	0,9951	$y = 20211 + 7460750 x$	0,9996	34
Metiocarbe	$y = -152858 + 2908190 x$	0,9906	$y = 157650 + 4295630 x$	0,9983	32
Tebuconazol	$y = -2831 + 228580 x$	0,9974	$y = -32,7 + 929283 x$	0,9999	75
Difenoconazol	$y = -583 + 435131 x$	0,986	$y = -2168 + 1945420 x$	0,9999	78
Pirimifós	$y = -6681 + 984936 x$	0,9944	$y = -3661 + 1635870 x$	0,9997	40
Piriproxifem	$y = 331 + 40652 x$	0,9883	$y = 1302 + 503262 x$	0,9999	92

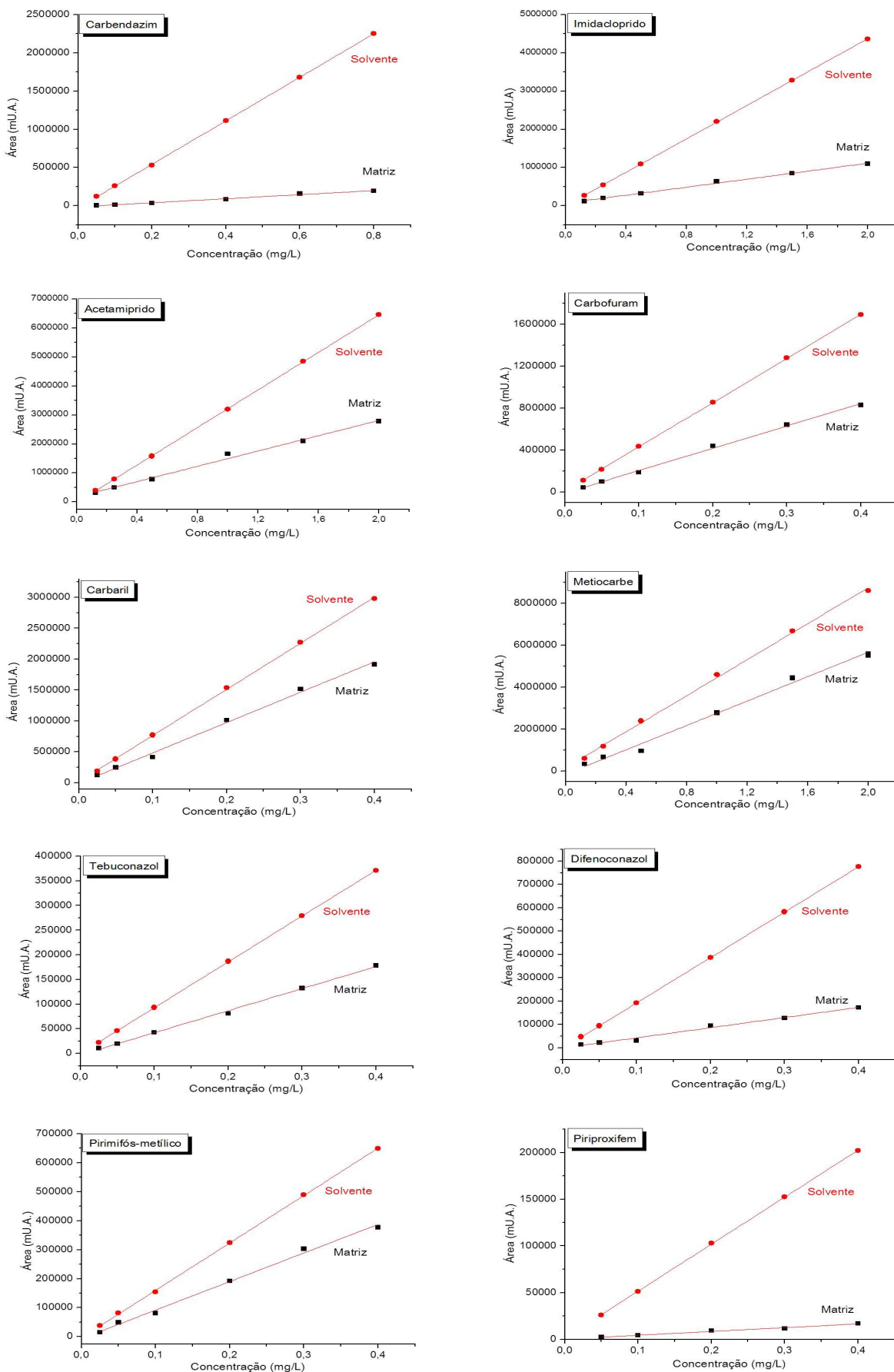


Figura 33: Curvas analíticas dos agrotóxicos na matriz e no solvente.

4.9.3. Análise de amostras reais

O sorvente SiZrPMOS foi utilizado como fase sólida na extração de agrotóxicos de uma amostra de suco de tomate industrializado. O procedimento utilizado foi o descrito no item 3.9.1 e a quantificação dos compostos foi feita utilizando-se as curvas analíticas obtidas na matriz de suco de tomate, livre de agrotóxicos, mostradas na Figura 33 e na Tabela 22.

Foram detectados os agrotóxicos carbendazim e metiocarbe na amostra de suco de tomate. As concentrações médias e os desvios das concentrações estão mostrados na Tabela 23.

Tabela 23: Concentrações médias e erro relativo dos agrotóxicos encontrados na amostra de suco de tomate.

Agrotóxicos	Concentração média (n=3) (mg/kg)
Carbendazim	0,12 ± 0,03
Metiocarbe	1,1 ± 0,2

Tendo como base os limites máximos de resíduo permitidos pela ANVISA para a cultura de tomate, o carbendazim encontra-se abaixo deste limite, enquanto o metiocarbe encontra-se no limiar do LMR, que é de 1,0 mg/kg. Os outros compostos não foram detectados dentro da faixa linear estudada.

5. CONCLUSÕES

O sorvente preparado utilizando a imobilização térmica do polímero poli(metiloctilsiloxano) sobre o suporte de sílica zirconizada mostrou-se útil na extração em fase sólida multirresíduo de agrotóxicos em amostras de água e de suco de tomate.

Na preparação do sorvente SiZrPMOS, verificou-se que as melhores condições de eficiência de extração e coeficiente de variação foram obtidas com 50% de polímero sobre o suporte, imobilização a 120 °C por 4 horas e extração do excesso de polímero utilizando n-hexano a temperatura de 50 °C, numa proporção de 36 mL de solvente para cada 1 g de material, a uma vazão de 0,6 mL/min.

Os suportes de sílica não modificado e zirconizado e os sorventes SiPMOS e SiZrPMOS foram caracterizados físico quimicamente e os resultados mostraram que houve incorporação satisfatória do zircônio ao suporte de sílica no processo de metalização e que o polímero se encontra fisicamente sorvido e quimicamente ligado ao suporte.

O estudo do volume de *breakthrough* dos cartuchos e a avaliação do desempenho do sorvente frente a variações de pH mostraram que a presença de átomos de zircônio na superfície do suporte aumenta a acidez dos grupos OH residuais, de modo que estes sítios interagem fortemente com analitos básicos em pH elevado. Pôde-se observar que as eficiências de extração dos agrotóxicos também variam com a polaridade dos compostos, sendo que, o mecanismo de retenção é bastante complexo, envolvendo interações hidrofóbicas e eletrostáticas.

A aplicação do sorvente zirconizado na extração de agrotóxicos em amostras de suco de tomate mostrou que o sorvente foi capaz de extrair parte dos analitos. As recuperações ficaram entre 50 e 120% para quatro dos onze agrotóxicos, o que é aceitável para matrizes complexas. Foi avaliado o efeito matriz e observou-se que os componentes do suco de tomate influenciam na extração, acarretando em aumento do sinal analítico.

Considerando que o procedimento de EFS adotado para as amostras de suco de tomate não foi otimizado para esta matriz, as recuperações foram satisfatórias e mostraram o potencial deste sorvente na extração em fase sólida multirresíduo de agrotóxicos em amostras de alimentos.

A amostra de suco de tomate integral industrializado, que foi analisada utilizando a EFS com o sorvente SiZrPMOS, como técnica de preparo de amostra, apresentou os agrotóxicos carbendazim e metiocarbe, sendo que a concentração deste último ficou acima do LMR estabelecido pela ANVISA para este agrotóxico na cultura de tomate.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

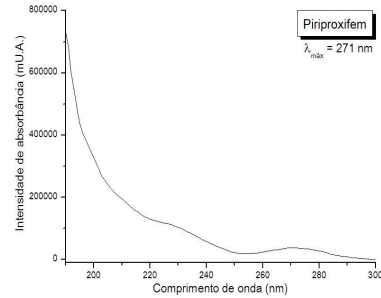
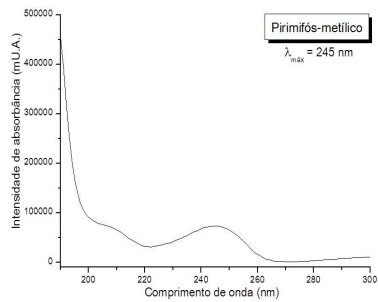
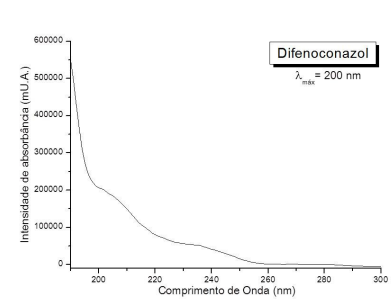
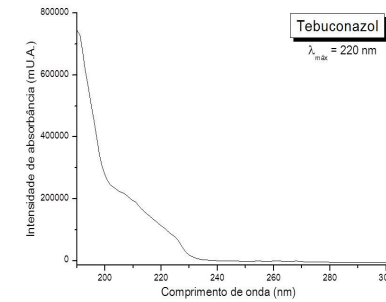
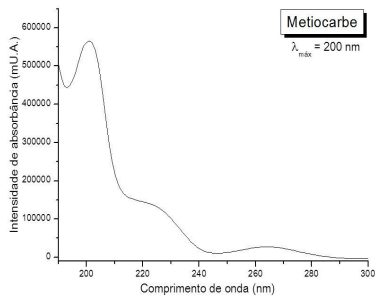
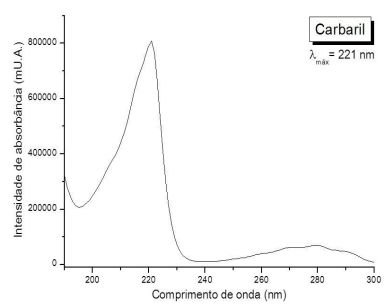
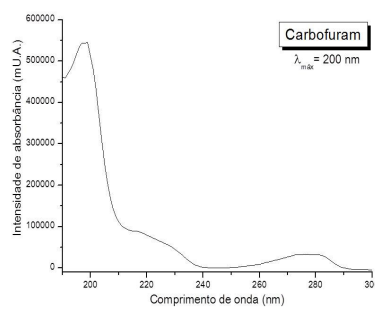
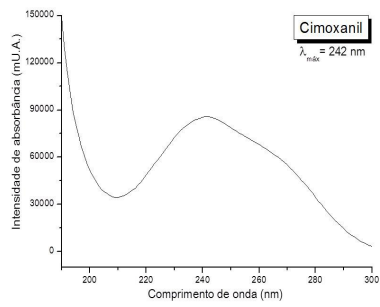
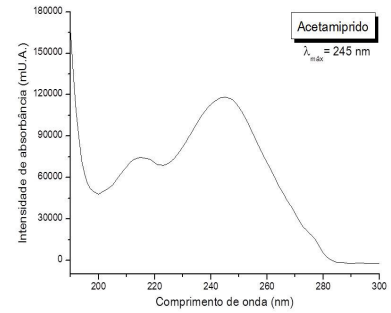
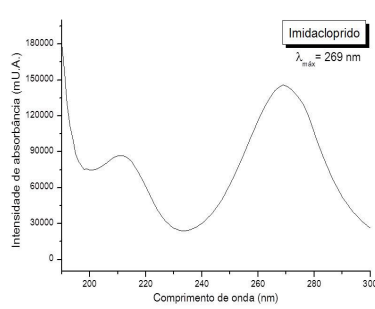
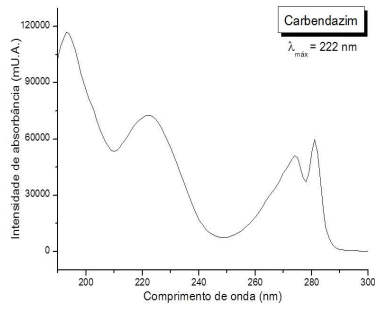
1. Pybus D., Sell C. **The chemistry of fragrances**. Kent: The Royal Society of Chemistry, 1999. 276p.
2. Braun T., Farag A.B. "Chapter 13: Use of Cellular Plastics in Extraction Chromatography", **J. Chromatogr. Lib.** 2 (1975) 344.
3. Zief M., Crane L.J., Horvath J. **Am. Lab.** 14 (1982) 120.
4. Simpson N.J.K. **Solid-phase Extraction: Principles, Techniques and Applications**. California: Marcel Dekker, Inc., 2000. 514p.
5. Subden R.E., Brown R.G., Noble A.C. **J. Chromatogr.**, 166 (1978) 310.
6. Picó Y., Fernández M., Ruiz M.J., Font G. **J. Biochem. Biophys. Methods.** 70 (2007) 117.
7. Barker S.A. **J. Biochem. Biophys. Methods.** 70 (2007) 151.
8. Arthur C.L., Pawliszyn J. **Anal. Chem.** 62 (1990) 2145.
9. Guan H., Brewer W.E., Garris S.T., Morgan S.L. **J. Chromatogr. A**, 1217 (2010) 1867.
10. Lanças F.M. **Extração em Fase Sólida (EFS)**. São Carlos: Rima Editora, 2004.
11. Snyder L.R., Kirkland J.J., Glaich J.L., **Practical HPLC Method Development**. 2ª ed., New York: John Wiley & Sons Inc., 1997, 765p.
12. Jardim I.C.S.F. **Sci. Chromatogr.** 1 (2010) 13.
13. Ramos L. **J. Chromatogr., A**. 1221 (2012) 84.
14. Begnini F.R. "**Preparação e caracterização de fase estacionária reversa fenil-propil-metil-siloxano, imobilizada por micro-ondas, para cromatografia líquida de alta eficiência**". Dissertação de mestrado, Campinas: Instituto de Química, UNICAMP. 2011, 108p.
15. Bottoli C.B.G. "**Sorção, imobilização e extração de polisiloxanos em sílicas porosas para uso em cromatografia líquida de alta eficiência**". Tese de doutorado, Campinas: Instituto de Química, UNICAMP. 2002, 209p.
16. Maldaner L., Collins C.H.C., Jardim I.C.S.F. **Quím. Nova** 7(2010) 1559.
17. Delmonde M.V.F. "**Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa por imobilização térmica do poli(2-fenilpropil)metilsiloxano sobre sílica**". Campinas: Instituto de Química, UNICAMP. 2011, 69p.
18. Faria A.M., Collins C.H., Jardim I.C.S.F. **J. Braz. Chem. Soc.** 8 (2009) 1385.
19. Queiroz S.C.N., Melo L.F.C., Jardim I.C.S.F. **J. Chromatogr., A** 948 (2002) 171.
20. Queiroz S.C.N., Melo L.F.C., Jardim I.C.S.F. **Quim. Nova** 4 (2006) 637.
21. Vigna C.R.M., Morais L.S.R., Collins C.H., Jardim I.C.S.F., **J. Chromatogr., A** 1114 (2006) 211.
22. Pozzebon J.M., Collins C.H., Jardim I.C.S.F. **J. Chromatogr., A** 987 (2003) 381.
23. Melo L.F.C., Collins C.H., Jardim I.C.S.F. **J. Chromatogr., A** 1032 (2004) 51.
24. Melo L.F.C., Collins C.H., Jardim I.C.S.F. **J. Chromatogr., A** 1073 (2005) 75.
25. Faria A.M., Maldaner L., Santana C.C., Jardim I.C.S.F., Collins C.H. **Anal. Chim. Acta** 582 (2007) 34.
26. Liška I. **J. Chromatogr., A**. 885 (2000) 3.
27. Huck C.W., Bonn G.K. **J. Chromatogr., A**. 885 (2000) 51.
28. Fontanals N., Cormack P.A.G., Marcé R.M., Borrull F. **Trends Anal. Chem.**, 7 (2010) 765.

29. **“Supelco – Guide to solid phase extraction”**, Bellefonte: Sigma Aldrich Co., 1998. Em <http://www.sigmaaldrich.com>, acessado em outubro de 2011.
30. Silva C.R., Collins C.H., Collins K.E., Airoidi C. **J. Sep. Sci.** 29 (2006) 790.
31. Stout R.W., DeStefano J.J. **J. Chromatogr.**, 326 (1985) 63.
32. Melo L.F.C., Jardim I.C.S.F. **J. Chromatogr., A** 845 (1999) 423.
33. Silva C.R., Airoidi C., Collins K.E., Collins C.H. **J. Chromatogr., A** 1191 (2008) 90.
34. Pinto G.M.F., Collins K.E., Jardim I.C.S.F. **J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.** 25(2) (2002) 205.
35. Faria A.M., Collins K.E., Collins C.H. **J. Chromatogr., A** 1156 (2007) 51.
36. Fonseca D.A., Collins K.E., Collins C.H. **J. Chromatogr., A** 1030 (2004) 209.
37. Morais L.S.R., Jardim I.C.S.F. **J. Chromatogr., A** 1073 (2005) 127.
38. Faria A.M., Collins K.E., Collins C.H. **Chromatographia** 67 (2008) 357.
39. Collins C.H., Silva C.R., Faria A.M., Collins K.E., Jardim I.C.S.F. **J. Braz. Chem. Soc.** 4(20) (2009) 604.
40. Faria A.M., Jardim I.C.S.F., Collins C.H., Collins K.E. **J. Sep. Sci.** 29 (2006) 782.
41. Faria A.M., Magalhães D.R., Collins K.E., Collins C.H. **Anal. Chim. Acta** 550 (2005) 137.
42. <http://www.portal.anvisa.gov.br>, acessado em abril de 2013.
43. <http://agrochemicals.iupac.org/>, acessado em abril de 2013.
44. Collins C.H., Braga G.L., Bonato P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 453p.
45. Segato M.P. **“Preparo, caracterização e aplicação de fases estacionárias de poli(dimetilsiloxano-co-metilfenilsiloxano) sorvidas e imobilizadas sobre sílica e sílica zirconizada”**. Campinas: Instituto de Química, UNICAMP, 2011.
46. Vogel A.I. **“Análise Química Quantitativa”**. 5ª ed. Rio de Janeiro: LTC editora, 1992, 712p.
47. Faria A.M., Marcos C.A., Vigna C.R.M., Collins C.H. **Quim. Nova** 31 (2008) 417.
48. Bachmann S., Melo L.F.C., Silva R.B., Anazawa T.A., Jardim I.C.S.F., Collins K.E., Collins C.H., Albert K. **Chem. Mater.** 13 (2001) 1874.
49. Daszkiewicz K.B., Voelkel A. **Talanta** 80 (2009) 614.
50. Slobodník J., Lingeman H., Brinkman U.A.Th **Chromatographia**, 50 (1999) 141.
51. Queiroz S.C.N. **“Determinação multirresíduos de pesticidas em água por cromatografia líquida de alta eficiência com ênfase em detecção por espectrometria de massas e novos sorventes para extração em fase sólida”**. Tese de doutorado. Campinas: Instituto de Química, UNICAMP, 2001. 153p.
52. Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle D.J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7ª ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2005. 502p.
53. Silva C.G.A., Collins C.H. **J. Chromatogr., A** 1232 (2012), 248.
54. Faria A.M. **“Desenvolvimento de fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa a partir da adsorção e imobilização do poli(metil tetradecilsiloxano) sobre sílica metalizada”**. Campinas: Instituto de Química, UNICAMP, 2006. 182p.
55. **“Guia para o controle da qualidade para a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos para os laboratórios integrantes do PARA”**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2007. p. 46.

56. Neto B.B., Scarminio I.S., Bruns R.E. “**Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**”. 2^a ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003. 401p.
57. Ribani M., Bottoli C.B.G., Collins C.H., Jardim I.C.S.F., Melo L.F.C. **Quim. Nova.** 27 (2004) 771.
58. Cerqueira M.B.R., Dias A.N., Caldas S.S., Santana F.B., D’Oca M.G.M., Primel E.G. **Quim. Nova.** 34 (2011) 156.

ANEXO A

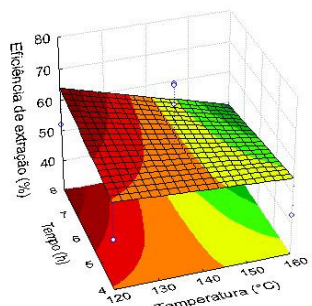
Espectros de absorção no ultravioleta dos agrotóxicos da Tabela 3.



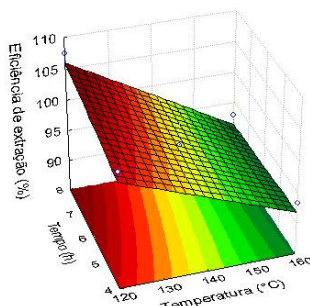
ANEXO B

Superfícies de resposta obtidas com o planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central na etapa de otimização da imobilização térmica do PMOS sobre sílica não modificada.

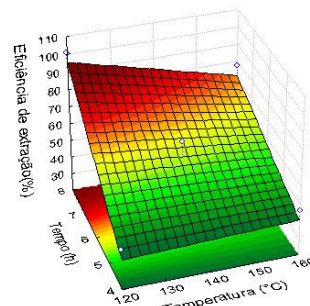
Carbendazim - SiPMOS



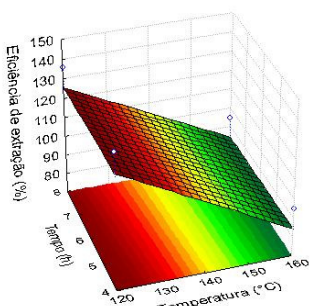
Imidacloprido - SiPMOS



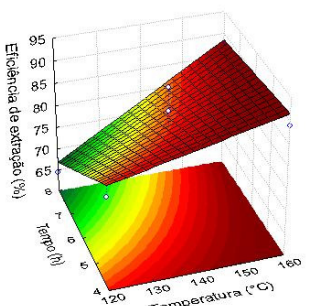
Acetamiprido - SiPMOS



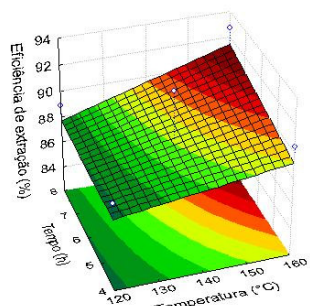
Cimoxanil - SiPMOS



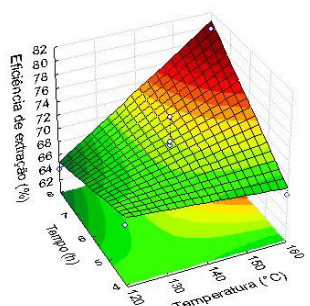
Carbofuram - SiPMOS



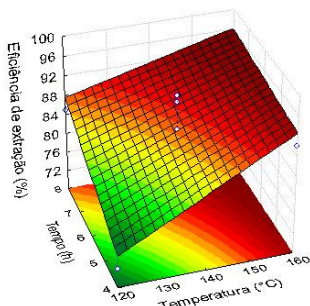
Carbaril - SiPMOS



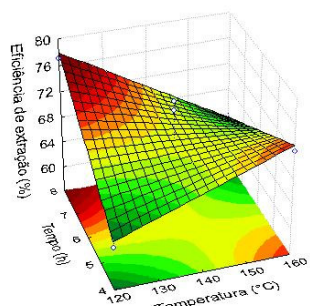
Metiocarbe - SiPMOS



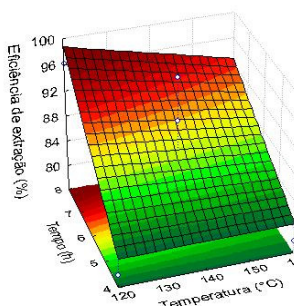
Tebuconazol - SiPMOS



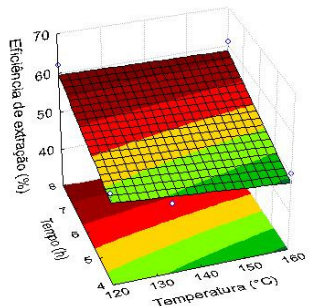
Difenoconazol - SiPMOS



Pirimifós-metílico - SiPMOS



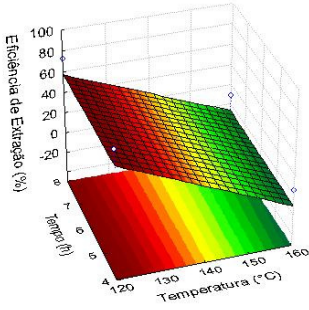
Piriproxifem - SiPMOS



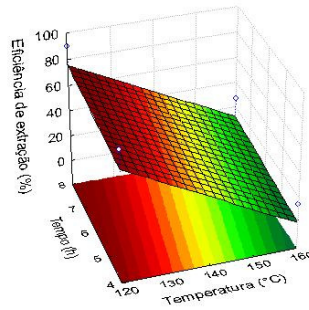
ANEXO C

Superfícies de resposta obtidas com o planejamento fatorial 2^2 com triplicata no ponto central na etapa de otimização da imobilização térmica do PMOS sobre sílica zirconizada.

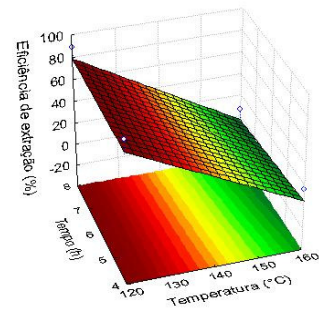
Carbendazim - SiZrPMOS



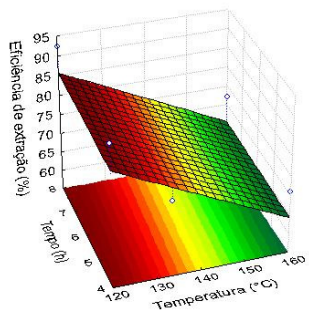
Imidacloprido - SiZrPMOS



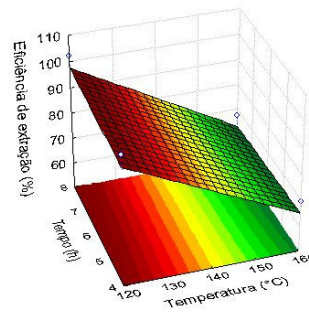
Acetamiprido - SiZrPMOS



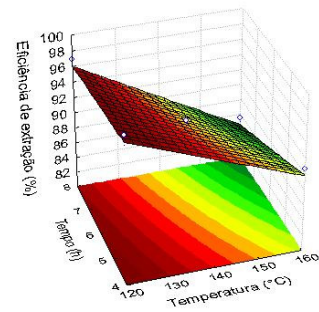
Cimoxanil - SiZrPMOS



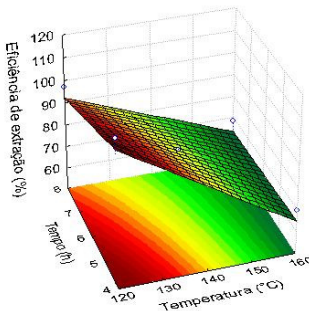
Carbofuram - SiZrPMOS



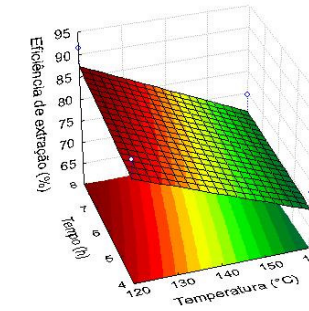
Carbaril - SiZrPMOS



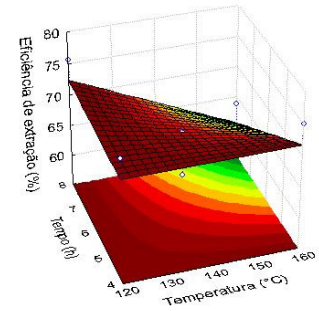
Metiocarbe - SiZrPMOS



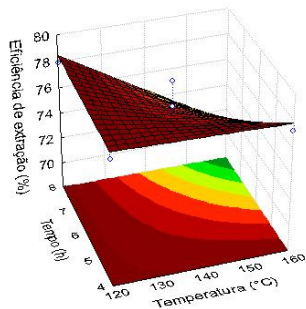
Tebuconazol - SiZrPMOS



Difenoconazol - SiZrPMOS



Pirimifós-metílico - SiZrPMOS



Piriproxifem - SiZrPMOS

