

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Utilização de adsorventes durante o processo de
microextração em fase sólida de *flavours* de cerveja

Mestrando: Cesar Luís Biazon

Orientador: Prof. Dr. João Henrique Z. Dos Santos

Dissertação para a obtenção do título de
Mestre em Química

Porto Alegre - RS

Fevereiro de 2008

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. João Henrique Z. dos Santos, uma pessoa simples e objetiva em seus ensinamentos, cuja valorosa orientação foi de fundamental importância para o êxito deste trabalho.

À Profa. Dra. Tânia Pizzolato pela co-orientação, ensinamentos em SPME e disponibilidade de materiais de laboratório.

Aos membros da banca examinadora, pela participação.

À Profa. Dra. Ana Cristina Borba da Cunha (Unilassale) e Prof. Dr. Edílson Benvenuti, por terem participado do exame de qualificação.

À Profa. Dra. Maria do Carmo pela atenção, ensinamentos em GC/MS e disponibilidade de materiais de laboratório.

Aos colegas: Gilvan Pozzebon Pires, Maria Angélica Gollmann e Rodrigo Brambilla pelas sílicas sintetizadas pelo método sol-gel, sílicas dopadas com metais, sílicas funcionalizadas com organossilano, respectivamente.

Aos colegas: Rodrigo Brambilla, Fernando Silveira, pelas medidas de SEM e AFM, respectivamente.

À Profa. Dra. Sibeles B. Pergher (URI, Erechim) pelo fornecimento de zeólitas e SBA-15

Ao Prof. Dr. Urbano (ITQ, Valência, Espanha) pela síntese do ITQ-2

Ao Prof. Dr. Tsuneji Sano (JAIST, Ishikawa, Japão) pela síntese de MCM-41.

Ao Sr. William Bretas Linares (SAMA, Uruaçu, Go) pelo envio de amostras de crisotila.

À Maria Odete (FEMSA – Gravataí) pelo fornecimento de amostras de cerveja pilsen.

À minha esposa Gessi, pelo carinho, compreensão e incentivo.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	I
Lista de Tabelas	III
Lista de Esquemas	IV
Resumo	V
Abstract	VI
Introdução	1
Capítulo 1 - Revisão Bibliográfica	5
1. Revisão Bibliográfica	6
1.1 Compostos voláteis na cerveja	6
1.2 Técnicas de preparação de amostras	9
1.2.1 Micro Extração em Fase Sólida	9
1.3 Adsorventes	15
1.3.1 Adsorventes amorfos	18
1.3.1.1. Sílicas	18
1.3.1.2 Sílicas funcionalizadas	23
1.3.1.3 Alumina	24
1.3.1.4 Magnésia (MgO)	27
1.3.2 Adsorventes cristalinos	28
1.3.2.1 Zeólitas	28
1.3.2.2. Materiais mesoporosos: MCM-41, SBA-15, ITQ-2	30
1.3.2.3. Crisotila	32
Capítulo 2 – Objetivos	34
Capítulo 3 – Parte Experimental	36
3.1 Materiais	37
3.2 Tratamento do material	38
3.3 Caracterização dos adsorventes	38
3.3.1 Análise porosimétrica (adsorção de nitrogênio)	38
3.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	39
3.3.3 Microscopia de força atômica (AFM)	39
3.3.4 Difração de Raios-X (XRD)	39
3.4 Condições de SPME	39

3.5 Condições cromatográficas	40
Capítulo 4 – Resultados e Discussões	41
4. Resultados e discussões	42
4.1 Avaliação preliminar das condições de análise cromatográfica	42
4.2 Condições de SPME	44
4.2.1 Natureza da fibra	45
4.2.2 Tempo de equilíbrio e tempo de extração	49
4.2.3 Influência da temperatura de extração	53
4.2.4 Influência da agitação por ultra-som	54
4.2.5 Adição de NaCl	55
4.2.6 Volume de <i>headspace</i>	57
4.2.7 Temperatura <i>versus</i> ultra-som	58
4.2.8 Temperatura <i>versus</i> ultra-som e adição de NaCl	59
4.3 Avaliação preliminar do efeito da adição de adsorventes	61
4.4 Características morfológicas e texturais dos adsorventes	65
4.5 Efeito dos adsorventes na SPME	75
4.5.1 Efeito de sílicas comerciais e sintéticas na SPME	75
4.5.2 Efeito de sílicas híbridas comerciais e sintéticas na SPME	80
4.5.3 Efeito de sílicas dopadas com metais	86
4.5.4 Efeito de materiais mesoporosos cristalinos	87
4.5.5 Efeito de zeólitas	88
4.5.6 Efeito de crisotilas natural e lixiviada	92
Capítulo 5 – Conclusões	94
5. Conclusões	95
Referências Bibliográficas	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Publicações referentes a pesquisas de <i>flavours</i> em cervejas.	3
Figura 2. Cromatograma típico de componentes pré-concentrados na fibra DVB-CAR-PDMS.	42
Figura 3. Eficiência de extração de cada tipo de fibra em relação aos seis analitos em estudo.	47
Figura 4: Comparativo da performance das 5 fibras na extração dos analitos em estudo.	48
Figura 5: Influência do tempo de equilíbrio na eficiência da extração dos analitos de referência.	50
Figura 6: Área total dos compostos de referência em função do tempo de equilíbrio.	51
Figura 7: Influência do tempo de extração na eficiência da extração dos analitos.	52
Figura 8: Área total dos compostos de referência em função do tempo de extração.	53
Figura 9: Influência da temperatura na extração com fibra DVB-CAR-PDMS.	54
Figura 10: Influência da utilização do tempo de uso de banho de ultra-som na extração com fibra DVB-CAR-PDMS.	55
Figura 11: Influência da adição de NaCl na extração com fibra DVB-CAR-PDMS.	56
Figura 12: Influência do uso simultâneo de ultra-som e NaCl na eficiência da extração com fibra DVB-CAR-PDMS.	57
Figura 13: Influência do volume de <i>headspace</i> na eficiência da extração com fibra DVB-CAR-PDMS.	58
Figura 14: Comparação entre os efeitos da temperatura de extração e utilização de ultra-som com fibra DVB-CAR-PDMS.	59
Figura 15: Comparação entre os efeitos da temperatura de extração e utilização de ultra-som em combinação com adição de NaCl com fibra DVB-CAR-PDMS.	60
Figura 16. Efeito da adição de sílica granulada na pré-concentração dos analitos.	61
Figura 17: Efeito da adição de adsorventes na intensidade do sinal dos analitos investigados.	62
Figura 18: Efeito da massa de sílica Aerosil na intensidade do sinal dos analitos investigados no perfil de extração.	63
Figura 19. Sobreposição dos difratogramas de crisotila nativa e crisotila lixiviada.	67
Figura 20. Micrografias de AFM da superfície de sílicas: (a) Sílica Grace 948; (b) Sílica aerogel; (c) sílica sintetizada por método sol-gel hidrolítico e (d) sílica sintetizada por método sol-gel não-hidrolítico.	69
Figura 21. Micrografias de AFM da superfície de sílicas: (a) MCM-41; (b) SBA-15; e (c) ITQ-2.	70
Figura 22. Micrografias de AFM da superfície de crisotila: (a) natural; (b) lixiviada.	71
Figura 23. Micrografias de AFM da superfície de sílicas híbridas produzidas por método-gel, contendo octadecilsilano : (a) SG100; (b) SG10.	71
Figura 24. Micrografias de SEM da superfície de sílicas: (a) ES70; (b) ES70X; (c) ES10X; e (d) PQ-CS-2133.	73
Figura 25. Micrografias de SEM da superfície de sílicas híbridas: (a) Sílica C16 (Degussa) e (b) SG10.	74
Figura 26. Micrografias de SEM da superfície de crisotila lixiviada.	74

Figura 27. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas comerciais e sintéticas.	76
Figura 28. Efeito da adição de sílica ao sistema SPME para os compostos acetato de isoamila e hexanoato de etila.	77
Figura 29. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica obtidas por diversas rotas de síntese.	77
Figura 30. Concentração do acetato de isoamila adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas, dotadas de diferentes valores de área específica.	78
Figura 31. Concentração do acetato de isoamila adsorvido na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas, dotadas de diferentes valores de diâmetro de poro	79
Figura 32. Concentração dos analitos acetato de isoamila (1), hexanoato de etila (2) e octanoato de etila (4) adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas, dotadas de diferentes valores de área específica.	80
Figura 33. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica híbrida comercial. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.	81
Figura 34. Relação entre o tamanho da cadeia do ester, tipo de sílica e intensidade do sinal cromatográfico	82
Figura 35. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica híbrida sintetizada pelo método sol-gel contendo diferentes teores de TEOS: SG100, SG50 e SG10, significa, respectivamente 100, 50 e 10% de TEOS na síntese.	83
Figura 36. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas híbridas sintetizadas pelo método sol-gel, dotadas de diferentes rugosidades.	84
Figura 37. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica híbrida sintetizada pelo método sol-gel (SG) e <i>grafting</i> (GR).	85
Figura 38. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica dopadas com Cu e Ag.	86
Figura 39. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de materiais mesoporosos.	88
Figura 40. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas.	89
Figura 41. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversas áreas específicas.	89
Figura 42. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversos volumes de poros.	90
Figura 43. Concentração dos analitos acetato de isoamila, hexanoato de etila e octanoato de etila, adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversos diâmetros de poro	91
Figura 44. Concentração dos analitos acetato de acetato de 2-feniletila e decanoato de etila, adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversos diâmetro de poro.	91
Figura 45. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de crisotila natural e lixiviada.	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de trabalhos empregando a SPME na análise de voláteis de cervejas.	11
Tabela 2: Exemplos de adsorventes comerciais e aplicações em processos de separação ou purificação.[60]	17
Tabela 3: Classificação das sílicas de acordo com Barby (<i>apud Vansant et alli</i>).[66]	18
Tabela 4. Propriedades físicas de sílicas pirogênicas e obtidas via úmida. [67]	20
Tabela 5. Tipos de zeólitas e razão Si/Al na estrutura.	28
Tabela 6. Relação de <i>thresholds</i> e <i>flavours</i> atribuídos aos compostos de referência encontrados na cerveja.[26, 29]	44
Tabela 7. Tipo de interação e polaridade de algumas fibras de SPME.	46
Tabela 8. Dados texturais dos adsorventes utilizados.	62
Tabela 9. Propriedades texturais das sílicas comerciais e sintetizadas.	65
Tabela 10. Propriedades texturais dos materiais mesoporosos.	66
Tabela 11. Análise das propriedades texturais da sílica modificada com metal.	68
Tabela 12. Análise das propriedades texturais da sílica modificada com organosilanos.	68
Tabela 13. Diâmetro de partícula dos adsorventes, determinado por AFM.	72

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Equilíbrios envolvidos no sistema de três fases da HS-SPME	14
Esquema 2: Adição de um adsorvente ao sistema de extração via HS-SPME	15
Esquema 3. Reações químicas durante processo sol-gel.	20
Esquema 4. Rota não hidrolítica para síntese de xerogéis.	21
Esquema 5. Grupos silanóis da superfície da sílica.	22
Esquema 6. Desidratação e desidroxilação da superfície da sílica.	22
Esquema 7. Grupos funcionais dos organosilanos.	23
Esquema 7. Grupos funcionais dos organosilanos.	24
Esquema 9. Representação simplificada da desidroxilação da superfície (111) da γ -Al ₂ O ₃ . [70]	25
Esquema 10. Diferentes grupos hidroxilas terminais presentes na alumina.	26
Esquema 11. Representação simplificada da desidroxilação do MgO.	27
Esquema 12. Estruturas de materiais zeolíticos: (a) faujasita natural e as zeólitas sintéticas X e Y; (b) zeólita A; e (c) sodalita	29
Esquema 13. Estrutura das famílias das zeólitas ZSM-5 e ZSM-11.	30
Esquema 14. Estrutura tipo “favo de mel”, apresentada pelo MCM-41.	31
Esquema 15. Estrutura do mesoporoso ITQ-2.	32
Esquema 16. Estrutura da crisotila natural e lixiviada.	33
Esquema 17. Sistema para avaliar a influência da temperatura no processo de microextração em fase sólida	40
Esquema 18. Curvatura das superfícies de adsorventes com partículas de diâmetro grande (A) e pequeno (B)	72
Esquema 19. Diferenças nas conformações das cadeias de C18 em função do método de preparação.	85
Esquema 20. Interação dos grupos carbonílicos com a superfície da sílica dopada com metais.	86

RESUMO

A fração volátil presente na cerveja desempenha um papel importante na composição das características de *flavour*. O *flavour* da cerveja é complexo e representa um balanço de compostos químicos introduzidos pelas matérias-primas ou formados durante o processo de fabricação e estocagem. A análise da fração volátil presente na cerveja torna-se então um ponto importante no controle de qualidade das cervejarias, pois estes compostos estão diretamente relacionados à percepção final do consumidor em relação ao produto. Microextração em fase sólida (SPME) apresenta-se com uma técnica de extração e pré-concentração de voláteis, bastante eficaz e sensível para a detecção de analitos nesse tipo de matriz. O objetivo da presente dissertação foi de investigar o efeito do uso de adsorventes durante o processo de microextração em fase sólida de *flavours* de cerveja tipo Pilsen. A estratégia proposta consistiu em introduzir uma fase suplementar que influenciará a adsorção seletiva de determinados analitos, disponibilizando sítios de adsorção/absorção na fibra de SPME, e conseqüentemente vir a aumentar a sensibilidade da técnica.

No presente estudo, adsorventes, dotados de diferentes características químicas (ácidas ou básicas) e propriedades texturais (área específica, tamanho e volume de poros) e morfológicas (materiais amorfos, cristalinos, esféricos, fibriformes) foram avaliados. Assim foram utilizados materiais amorfos, a saber sílica (pura, funcionalizada com organosilanos e dopada com metais), alumina, magnésia; e materiais cristalinos: zeólitas, materiais mesoporosos (MCM-41, SBA-14 e ITQ-12) e crisotila, em sua forma natural e lixiviada. O efeito desses adsorventes foi avaliado na pré-concentração dos seguintes analitos: acetato de isoamila; hexanoato de etila; álcool fenil etílico; octanoato de etila; acetato de 2-feniletila e decanoato de etila, utilizando a fibra DVB-CAR-PDMS.

Sílicas, sintetizadas por várias rotas, mostraram desempenhar um efeito positivo, sobretudo, se funcionalizadas com organosilano. A competição e adsorção preferencial desses analitos por certas fases podem ser evidenciadas no caso de sílicas dopadas com metal (Ag e Cu) e zeólitas, onde a presença de sítios ácidos de Lewis deve promover a adsorção preferencial dos analitos investigados. Correlações entre área específica ou diâmetro de poros dos materiais e sinal do analito pré-concentrado na fibra de SPME puderam ser evidenciadas em alguns casos.

ABSTRACT

The volatile fraction of beer plays an important role for the composition of the flavour characteristics. The flavour of beer is complex and represents a balance among chemical compounds, which were introduced by the raw materials or generated during the production process or storage. The volatile fraction analysis is an important issue for quality control in brewery, since the presence of such compounds is directly bound to the final taste perceived by the consumers. Solid-phase microextraction (SPME) is efficient and sensible for the extraction and pre-concentration of volatiles in this kind of matrix. The present dissertation aims at investigating the effect of using adsorbents during the solid-phase microextraction process of flavours present in Pilsen beer. The proposed strategy consists in introducing a supplementary phase, which might influence on the selective adsorption of certain analytes, which in turn might engender more available sites on the SPME fiber. Therefore, an increase in sensibility for certain analytes is expected.

In the present study, adsorbents, bearing different chemical characteristics (acid and basic sites), textural (surface area, pore volume and pore diameter) and morphological (amorphous materials, crystalline solids, spherical and fibriform materials) properties were evaluated. Thus, amorphous materials, namely silica (bare, chemically modified with organosilanes and doped with metals), alumina, magnesia; and crystalline materials: zeolites, mesoporous materials (MCM-41, SBA-15 and ITQ-2), and chrysotile (natural and leached) were employed. The effect of such adsorbents was evaluated in the pre-concentration of the following analytes: isoamyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl decanoate, phenylethyl alcohol and phenylethyl acetate, using DVB-CAR-PDMS fiber.

Silica, synthesized by different routes, was shown to affect positively the detected signal, especially in the case of organosilane-modified silicas. Competition and preferential adsorption of such analytes onto some phases could be clearly evidenced in the case of silicas doped with metal (Ag and Cu) and of zeolites, in which the presence of Lewis acid sites might have promoted the preferential adsorption of the investigated analytes. Correlations between surface area or pore diameter of the materials and the analyte pre-concentrated amount on the SPME fiber were observed.

Introdução

Introdução

A cerveja é uma bebida consumida há pelo menos 6000 anos, conforme relatos históricos. Até o século XIX, o processo de fabricação de cerveja era caracterizado pela experimentação e tradição. A partir dos estudos de Louis Pasteur (microorganismos), Emil Christian Hansen (microscopia) e Carl von Linde (geração de frio), a fabricação de cerveja passa a ser dominada pela ciência e pela técnica. No Brasil, a cerveja foi introduzida pela família real portuguesa em 1808.

Atualmente, a cerveja é uma das bebidas mais consumidas no mundo e seu consumo apresenta constante crescimento. A produção mundial de cerveja aumentou de 127,8 bilhões de litros produzidos em 1996 para 168,7 bilhões de litros em 2006. No mercado mundial de cervejas, em 2006, o Brasil foi o quinto maior produtor, atrás da China (35,15 bilhões de litros/ano), Estados Unidos (23,18 bilhões de litros/ano), Alemanha (10,72 bilhões de litros/ano) e Rússia (9,99 bilhões de litros/ano).¹ A produção desta bebida no Brasil, em 2006 totalizou 9,70 bilhões de litros, sendo a maior do mercado latino-americano. O consumo *per capita* no Brasil neste ano ficou em 51,9 litros/ano por habitante, o qual tem se mantido estável desde a metade da década de 90 especialmente porque, ao se levar em conta o baixo poder aquisitivo de boa parte de seus consumidores, o preço do produto ainda é considerado alto. O mercado brasileiro está constituído por mais de 100 empresas produtoras (incluindo as microcervejarias) e movimentou cerca de R\$ 19,1 bilhões no ano de 2005. O setor emprega mais de 150 mil pessoas, entre postos diretos e indiretos e encontra-se em franca expansão. Nos últimos cinco anos, as indústrias cervejeiras investiram mais de R\$ 3 bilhões, com 10 novas plantas industriais entrando em operação, além de ampliações e modernizações em fábricas já existentes.²

Diante de um quadro de constante crescimento e investimentos, uma das principais preocupações da indústria cervejeira é produzir uma cerveja que tenha grande aceitação diante do público consumidor e que mantenha suas características inalteradas até o momento do consumo. Para tanto, espera-se que a cerveja mantenha cor e brilho originais, estabilidade microbiológica, estabilidade de espuma e estabilidade organoléptica, visto que, a aceitação e a ingestão de um alimento está diretamente relacionada com a resposta dos sentidos quanto à aparência, textura e *flavour*.

¹ Disponível em <http://www.cerveceroslatinoamericanos.com/INDICE2007.pdf>; acessado em 23/12/2007.

² Disponível em <http://www.sindicerv.com.br/mercado.php>; acessado em 23/12/2007.

Flavour pode ser considerado como a sensação produzida por qualquer material colocado na boca, percebido principalmente pelos sentidos do paladar e do odor e também pelos receptores de dor, tato e temperatura existentes na boca.

O *flavour* da cerveja é complexo e representa um balanço de compostos químicos introduzidos pelas matérias-primas ou formados durante o processo de fabricação e estocagem. Obter o correto balanço dos constituintes de *flavour* através da adequada manipulação das variáveis envolvidas é o constante desafio dos fabricantes de cerveja. A fração volátil presente na cerveja desempenha importante papel na composição das características de *flavour*. Compostos que contribuem positivamente para o perfil de *flavour* tornam-se indesejáveis quando presentes em elevadas concentrações. Por outro lado, compostos que contribuem negativamente para o perfil de *flavour*, chamados *off-flavours*, podem não representar um problema, se presentes em concentrações não percebidas pelas nossos órgãos sensoriais.

A análise da fração volátil presente na cerveja torna-se então um ponto importante no controle de qualidade das cervejarias, pois estes compostos estão diretamente relacionados à percepção final do consumidor em relação ao produto. A relevância dessa temática pode ser avaliada pelo número de publicações envolvendo pesquisas de *flavours* em cervejas.

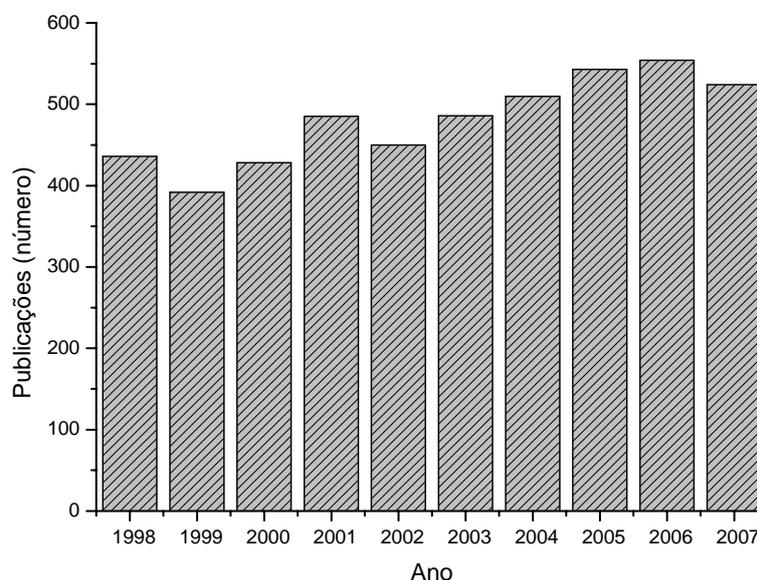


Figura 1. Publicações referentes a pesquisas de *flavours* em cervejas.

(Fonte: Web of Science).³

³ Disponível em <http://apps.newisiknowledge.com>; acessado em 26/12/2007.

A Figura 1 mostra que há dez anos, o número de publicações pertinentes a pesquisas de *flavours* em cerveja tem se mantido constante, com um ligeiro crescimento a partir de 2002.

Definir um protocolo de análise que possibilite a determinação destes compostos de forma simples, rápida, com alta sensibilidade e baixo consumo de solventes torna-se um importante desafio para o químico analítico interessado na monitorização da qualidade durante o processo produtivo e do produto final obtido na fabricação de cervejas.

Micro extração em fase sólida é uma técnica potencialmente útil para análise de *flavours*. O mecanismo de adsorção por SPME envolve uma competição entre os compostos pelos sítios de adsorção nas fibras. Pareceu então relevante investigar que papel uma outra fase de adsorção desempenharia na competição dos analitos presentes na cerveja. O questionamento reside na possibilidade de alterar a distribuição relativa dos compostos adsorvidos por SPME pela presença no meio de uma outra fase capaz de levar à adsorção preferencial de determinados analitos presentes na matriz de cerveja.

No presente manuscrito, o Capítulo 1 descreve um panorama geral dos constituintes da cerveja, a aplicação dos métodos de SPME à análise de cerveja, bem como características gerais de adsorventes. Os objetivos são apresentados no item seguinte. O Capítulo 3, destinado à parte experimental dessa dissertação, descreve os procedimentos de análise instrumental para caracterização dos materiais, bem como os testes de avaliação de pré-concentração e extração em fase sólida com as fibras e os adsorventes. O capítulo 4 discute os resultados pertinentes aos estudos preliminares de avaliação das fibras e os testes sistemáticos com os diversos adsorventes. Finalmente, o último capítulo apresenta as principais conclusões extraídas nessa dissertação.

Capítulo 1
Revisão Bibliográfica

1. Revisão Bibliográfica

1.1 Compostos voláteis na cerveja

Mais de 850 compostos já foram identificados em cervejas [1]. Os principais compostos voláteis encontrados na cerveja pertencem aos seguintes grupos funcionais:

- Ácidos orgânicos
- Fenóis
- Aldeídos
- Cetonas
- Compostos sulfurosos
- Álcoois
- Ésteres

Estas substâncias voláteis contribuem nas características de *flavour* da cerveja, atuando individualmente e de forma sinérgica ou antagonista [2]. Estes compostos podem ser originados das matérias-primas, fermentação alcoólica e durante a estocagem do produto acabado [3,4]. Aromas naturais ou artificiais também podem ser adicionados à cerveja, modificando sua qualidade sensorial e introduzindo um aroma específico de frutas, tais como cereja, framboesa, maçã e damasco [5].

O *flavour* de uma cerveja sofre alterações durante a estocagem e, um incremento na concentração de determinados compostos voláteis está associado ao envelhecimento da mesma, o qual provoca odor e sabor desagradáveis [6,7]. A literatura, por exemplo, cita o aumento das concentrações de 2-furfuril etil éter [7], furfural [8], 5-hidroximetil furfural [9], (E)-2-nonenal [10], β -damascenona [11], dimetiltrisulfeto [12] como possíveis indicadores do grau de envelhecimento de uma cerveja. Compostos, tais como 2-propanona, 2-metilpropanal 3- e 4-metilbutanona são formados pela degradação oxidativa de isohumulonas e também têm sido reportados como indicadores de *off-flavours* de cerveja envelhecida [13].

Os iso-alfa-ácidos ou isohumulonas são derivados do lúpulo e responsáveis pelo sabor amargo e aroma “lupulado” da cerveja [14]. Os ácidos metanóico, etanóico, hexanóico, octanóico também podem compor o perfil de voláteis presentes [2,5].

O *off-flavour* de mofo na cerveja pode ser produzido devido à contaminação da mesma por 2,3,6-tricloroanisol e 2,4,6-tricloroanisol, 2-isobutillmetoxipirazina, 2-isopropilmetoxipirazina, os quais podem ocorrer separadamente ou em combinação [15].

Uma grande variedade de compostos sulfurosos, originados principalmente durante a fermentação, tem sido determinada na cerveja, entre eles o metilmercaptana, etilmercaptana, metiltioacetato, etiltioacetato, dietildissulfeto, sulfeto de carbono e dimetil sulfeto (DMS) [16]. DMS (dimetilsulfeto) é reportado por conferir um aroma de milho verde e apresenta um *threshold* de 50 ppb, sendo indesejado em concentrações elevadas [17]. Outros compostos sulfurosos, como o ácido sulfídrico (H₂S) e dióxido de enxofre (SO₂) são importantes para o *flavour* e estabilidade da cerveja. SO₂ liga-se aos compostos carbonílicos, mascarando o *off-flavour* produzido pelos mesmos [18]. H₂S em altas concentrações provoca um efeito negativo no *flavour* da cerveja, produzindo uma nota sulfurosa, semelhante a odor de ovos podres [19]. 3-metilbutenotiol é o principal composto responsável pelo odor desagradável e indesejável, denominado de “lightstruck”, o qual ocorre quando a cerveja é exposta à luz na faixa de 350-500 nm [20].

Os aldeídos estão presentes na cerveja e podem ser produtos remanescentes da fermentação alcoólica, como o acetaldeído (aroma de maçã verde) ou então devido a reações relacionadas ao envelhecimento, tais como: 2-metilpropanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal (*flavour* banana verde), metional, e fenilacetaldeído, chamados aldeídos de Strecker e são formados a partir da reação entre compostos dicarbonílicos e aminoácidos; pentanal, hexanal e (E)-2-nonenal, os quais são produtos de degradação do ácido linoleico e o furfural, um produto da reação de Maillard e indicador de exposição do produto ao calor [21-23].

O composto diacetil (2,3-butanodiona) é um *off-flavour* que ocorre quando o tempo de maturação da cerveja é insuficiente. Quando presente em concentrações acima de 0,05 mg/l pode produzir um indesejável aroma “amanteigado”. Em condições normais de maturação, o diacetil é reduzido ao álcool 2,3-butanodiol [24,25].

O principal álcool presente na cerveja é o etanol, o qual juntamente com o gás carbônico são os produtos primários da fermentação alcoólica. Alcoois de cadeia maior que a do etanol, como o propanol, 1-butanol, 2-metilpropanol (*flavour* alcoólico), alcoois amílicos (2-metil-1-butanol e 3-metil-1-propanol, *flavour* banana) e alcoois aromáticos são produzidos pelo metabolismo dos aminoácidos [23]. Os alcoois aromáticos feniletanol, tirosol e triptofol são compostos *flavours* ativos resultantes do metabolismo dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano, respectivamente, pela levedura durante a fermentação. O *flavour* de rosas do feniletanol é considerado um atributo desejável na cerveja, enquanto o tirosol (*flavour*

amargo, químico) e o triptofanol (*flavour* amêndoa, solvente) são geralmente considerados indesejáveis [26].

Ésteres estão entre os compostos de *flavour* mais importantes em bebidas alcoólicas. Eles são formados em baixas concentrações durante a fermentação alcoólica. Dos compostos voláteis presentes na cerveja, os ésteres fazem parte de um grupo muito importante na composição do perfil de *flavour* da mesma. Os ésteres denominados *flavour ativos* mais importantes na cerveja são o acetato de etila (aroma de solvente), acetato de isoamila (aroma de banana), caproato de etila e caprilato de etila (aroma de maçã verde) e acetato de feniletila (aroma floral, de rosas, de mel). O fato de que muitos ésteres estão presentes em concentrações próximas ao valor limite de detecção pelas vias organolépticas (*threshold*) implica que pequenas mudanças nas suas concentrações podem ter efeitos dramáticos no *flavour* da cerveja [27-29].

O conhecimento dos compostos formadores do *flavour* é uma importante ferramenta para a moderna tecnologia cervejeira, particularmente na seleção de matérias-primas, controle de qualidade e desenvolvimento de produtos. Técnicas sensoriais e analíticas podem fornecer as informações necessárias para o entendimento da complexidade do *flavour* da cerveja. Dados sensoriais são obtidos através da utilização de um painel de degustadores treinados. Os membros deste painel devem estar aptos para identificar as características associadas ao aroma e sabor do produto. Pequenas oscilações na composição química podem provocar grandes variações na percepção sensorial do produto. A identificação destas variações pelo painel de degustadores e a definição do tipo de desvio observado pode levar a conclusões ambíguas ou contraditórias. Trabalhos têm sido publicados visando atender a necessidade de padronização do vocabulário e de um sistema de substâncias de referência de *flavour*, bem como determinar os fatores que determinam o *flavour* de uma cerveja em função de sua composição química [1]. Para isto, metodologias analíticas sensíveis e confiáveis são requeridas para a extração e análise destes compostos. Por sua vez, em um procedimento analítico, a etapa de preparação da amostra representa uma etapa crucial, e muitas vezes limitante, que visa obter os componentes de interesse em solução, livre de elementos interferentes da matriz e em uma concentração apropriada para detecção e determinação.

1.2 Técnicas de preparação de amostra

A etapa de preparação das amostras para análise dos componentes de *flavour* da cerveja pode ser realizada através de técnicas como a extração líquido-líquido (LLE) com solventes orgânicos e extração em fase sólida (SPE) com resinas poliméricas porosas, entre outras.

A extração líquido-líquido apresenta como desvantagens o consumo excessivo de solventes orgânicos e de tempo, além de ser uma técnica laboriosa e exigir vários estágios de operação. Cada etapa, especialmente a concentração, pode introduzir erros e perdas especialmente na análise de compostos voláteis. A utilização de SPE tem reduzido muitas das limitações dos métodos clássicos de LLE e tem adquirido crescente importância em metodologias envolvendo etapas de *clean-up* ou de pré-concentração. Além disso, a SPE demanda menores quantidades de solvente. Contudo, trata-se de um processo que também consome tempo, envolve de várias etapas e sempre necessita da etapa de concentração, a qual pode resultar também na perda de compostos voláteis [30].

Técnicas analíticas para análise de voláteis de cervejas incluem ainda “*purge and trap*” (P&T) e “*stir bar sorptive extraction*” (SBSE) como técnicas de preparação de amostras. Técnicas de P&T foram utilizadas para quantificação de compostos sulfurosos em cerveja através de cromatografia gasosa com detector de quimiluminescência [12], de compostos fenólicos com detecção por ionização de chama (FID), por captura de elétrons (ECD) ou por espectrometria de massas (MS)[31] ou ainda para estudo da variação da composição química e das propriedades sensoriais da cerveja com o envelhecimento[6,7]. SBSE foi utilizada para determinação ésteres *flavour* ativos em cervejas [32].

1.2.1 Micro Extração em Fase Sólida

Em um procedimento analítico, há basicamente três abordagens para a determinação de um dado analito em presença de espécies interferentes da matriz [33]:

- (i) Uso de uma técnica analítica seletiva, capaz de medir apenas o analito, sem necessidade de isolá-lo, como é o caso de emprego de eletrodos seletivos a íons;
- (ii) Conversão, *in situ*, em uma outra espécie química, através de derivatização, de forma a ser mais facilmente medida, como é caso de transformação do

analito de interesse em espécies coloridas, capazes de serem determinadas por espectrofotometria;

- (iii) Remoção do analito da matriz, através de um processo de extração ou de separação.

A abordagem mais corriqueira na separação de analito envolve sistemas bifásicos onde os analitos e interferentes distribuam-se entre duas fases. A distribuição é um processo de equilíbrio e reversível. Em processos onde a amostra encontra-se distribuída entre dois líquidos imiscíveis, como na extração líquido-líquido, o fenômeno de partição do analito entre as duas fases determina a eficiência do processo. Contudo, a separação pode ser realizada através da distribuição do analito entre uma fase sólida e uma fase líquida ou gasosa, através de processos de adsorção sólido-líquido. Dentro dessa terceira abordagem, insere-se a micro extração em fase sólida (SPME).

A SPME é uma técnica que envolve extração e pré-concentração da amostra, na qual a adsorção dos analitos ocorre em uma fibra imersa (modo direto) ou exposta ao *headspace* (modo *headspace*) da amostra. SPME no modo *headspace* (HS-SPME) é uma técnica de preparação de amostra livre de solvente, na qual uma fibra de sílica fundida coberta com filme polimérico é introduzida no *headspace* da amostra. Os analitos orgânicos são extraídos e concentrados no filme polimérico e então transferidos para o instrumento analítico para desorção e análise [34,35]. Frente ao modo direto, essa amostragem protege a fibra de analitos de alto peso moleculares e interferentes não-voláteis, uma vez que a SPME não necessita de prévio tratamento da amostra. Uma terceira modalidade de SPME, menos freqüente, envolve a inserção de uma fibra em uma membrana imersa na amostra, e por essa razão é denominada de SPME no modo indireto (por membrana).

HS-SPME tem sido utilizada para análise de voláteis em gêneros alimentícios e bebidas, tais como, manteiga [36], vinagre [37], lúpulo [38], água [39], suco de laranja [40], whisky [41], tequila [42], cidra de maçã [43] e vinho [44-46]. A aplicação da técnica de HS-SPME para análise de voláteis em amostras aquosas implica na investigação de uma série de fatores que influenciam na quantidade de analito extraída e nos equilíbrios envolvidos. Nos artigos relacionados às aplicações citadas na Tabela 1 é possível encontrar uma ampla investigação sobre os fatores envolvidos na amostragem via HS-SPME, bem como são apresentados métodos otimizados para aplicação da técnica. A Tabela 1 ilustra alguns exemplos de aplicação da SPME à análise de composto voláteis de cervejas.

Tabela 1. Exemplos de trabalhos empregando a SPME na análise de voláteis de cervejas.

Tipo de fibra	Método Analítico	Tipo de cerveja	Análise Quantitativa	Compostos analisados	Referência
CAR/PDMS, 75 µm	GC-MS ^a	Puro malte	Não	80 compostos entre ésteres, álcoois, ácidos, aromáticos carbonílicos, heterocíclicos e hidrocarbonetos	[2]
PDMS, 100 µm	GC-FID ^b e GC-MS ^a	Cerveja aromatizada	Não	44 compostos entre ésteres, álcoois, ácidos, carbonílicos e aromáticos	[5]
CAR/PDMS, 75 µm	GC-PFPD ^c	Cervejas alemãs	Sim	14 compostos sulfurosos	[16]
PDMS/DVB, 65 µm	GC-MS ^a	Lager	Sim	9 aldeídos	[22]
CAR/PDMS, 85 µm	GC-SCD ^d	Ale, Lager	Sim	8 compostos sulfurosos	[47]
PDMS/DVB, 65 µm	GC-ITMS ^e	Lager	Sim	Furfural, 5-HMF ^f , hexanal e trans-2-nonenal	[48]
PA, 85 µm	GC-FID ^b e GC-ITMS ^e	Lager	Sim	3 álcoois e 7 ésteres	[49]
PA, 85 µm	GC-FID ^b	Pilsener	Sim	4 álcoois e 6 ésteres	[50]
CAR/PDMS, 75 µm	GC-FPD ^b	Lager	Sim	DMS - dimetilsulfeto	[51]
PDMS/DVB, 65 µm	GC-MS ^a	Cerveja alemã	Sim	(R) e (S)-Linalool	[52]
PDMS/DVB, 60 µm	LC-FD ^g	Pale	Sim	Ocratoxina A	[53]
DVB/CAR/PDMS 50/30 µm	GC-MS ^a	Cervejas frescas de ensaios de fermentação	Sim	80 compostos entre ésteres, álcoois, ácidos, carbonílicos, aromáticos e heterocíclicos	[54]
CAR/PDMS, 75 µm	GC-MS ^a	Pilsener	Não	6 ésteres, 2 álcoois, 2 ácidos carboxílicos	[55]
TMSPMA-OH-TSO ^h	GC-FID ^b	Cerveja chinesa	Sim	6 álcoois, 5 ácidos carboxílicos, 9 ésteres	[56]
CAR/PDMS, 75 µm	GC-PFPD ^c	Bock e Light	Não	14 compostos sulfurosos	[57]
PA, 85 µm	GC-ECD ⁱ e GC-MS ^a	Bock e Light	Sim	Dionas e aldeídos	[58]
PDMS, 100 µm	GC-FPD ^j	Cerveja chinesa	Sim	5 compostos sulfurosos	[59]

a: GC/MS - Gas Chromatography and Mass Spectrometer

b: GC/FID - Gas Chromatography and Flame Ionization Detector

c:GC/PFPD- Gas Chromatography and Pulsed Flame Photometric Detector

d: GC/SCD – Gas Chromatography and Sulfur Chemiluminescent Detector

e: GC/ITMS - Gas Chromatography and Ion Trap Mass Spectrometer

f: 5-hidroximetilfurfural

g: GC/FD - Gas Chromatography and Fluorescence Detector

h: fibra obtida pelo processo sol-gel, não disponível comercialmente

i: GC/ECD - Gas Chromatography and Electron Capture Detector

j: GC/ FPD - Gas Chromatography and Flame Photometric Detector

De acordo com a Tabela 1, uma grande variedade de fibras de SPME, de detectores e de cervejas tem sido investigada. A grande maioria das referências explora a SPME como técnica quantitativa e compreende a determinação de compostos específicos como os

compostos sulfurosos [16, 47, 51, 57, 59], aldeídos [22, 48], dionas [58], ésteres, álcoois, ácidos [49,50,55], linalol [52], aromas de frutas [5], toxinas [53], bem como a determinação do perfil de voláteis de diferentes cervejas [2] e investigação da formação de voláteis em função do processo de fermentação [54].

Matematicamente, a quantidade de analito sorvido pela fibra dependerá da razão de distribuição de massa D:

$$D = K_d \frac{V_2}{V_1} \quad (\text{eq. 1})$$

onde V_1 e V_2 são os volumes da amostra e do revestimento da fibra, respectivamente, e K_d , o coeficiente de distribuição. Neste caso considera-se que o analito é uma espécie química isolada e simples.

Assim, a fração do analito extraído é dada por:

$$f_{ex} = \frac{D}{D+1} = \frac{K_d V_2}{K_d V_2 + V_1} \quad (\text{eq. 2})$$

Portanto, f_{ex} dependerá de K_d e dos volumes V_2 e V_1 das duas fases.

Para empregar análises quantitativas que são baseadas em frações constantes de analitos extraídos da amostra, a massa da substância (n) deve ser igual ao produto da sua concentração inicial (C_o) com a fração extraída (f_{ex}), conforme equação 3.

$$n = C_o \cdot f_{ex} \quad (\text{eq. 3})$$

Na amostragem por *headspace* tem-se o equilíbrio entre três fases: amostra-ar; ar-revestimento e amostra-revestimento, considerando as seguintes equações.

Equilíbrio amostra-ar:

$$K_1 = D_1 \frac{V_1}{V_2} \quad (\text{eq. 4})$$

Neste caso, V_1 é o volume da amostra e V_2 é o volume do *headspace*.

Equilíbrio ar-revestimento:

$$K_2 = D_2 \frac{V_2}{V_3} \quad (\text{eq. 5})$$

Onde V_3 é o volume do revestimento.

Assim o equilíbrio amostra-revestimento será:

$$K_1 K_2 = D_1 \cdot D_2 \frac{V_1}{V_3} = D_3 \frac{V_1}{V_3} \quad (\text{eq. 6})$$

A fração total do analito extraído pela fibra (f_{ex}) será dada por:

$$f_{ex} = \frac{D_3}{D_3 + 1} = \frac{K_1 K_2 V_3}{K_1 K_2 V_3 + V_1} \quad (\text{eq. 7})$$

As expressões descritas acima consideram de uma forma geral as extrações por SPME, não diferenciando o tipo de revestimento. Quando o revestimento for um polímero líquido, como PDMS, o mecanismo físico-químico de extração será por partição ou absorção. Nesse caso, o equilíbrio de analitos envolvido entre o sistema de três fases: solução aquosa - filme polimérico e *headspace*, traduz-se na quantidade de analito adsorvida na fibra descrita pela eq. 8:

$$n = \frac{C_0 V_1 V_2 K}{K V_1 + K_2 V_3 + V_2} \quad (\text{eq. 8})$$

Onde:

n : quantidade de analito adsorvida na fibra;

C_0 : concentração inicial do analito na solução aquosa;

V_1 , V_2 e V_3 : volume da fibra, da solução aquosa e do *headspace*, respectivamente;

K ($K = K_1 \cdot K_2$): coeficiente de partição do analito entre a fibra e a solução aquosa;

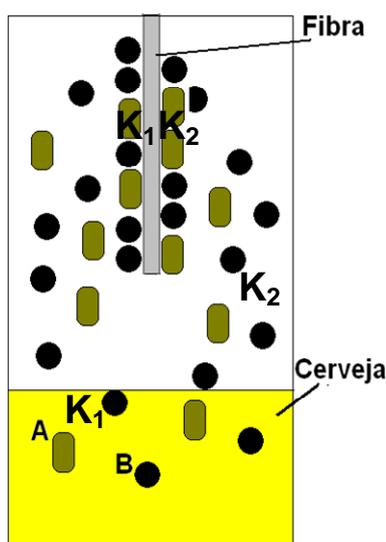
K_1 : coeficiente de partição do analito entre *headspace* e fibra;

K_2 : coeficiente de partição do analito entre *headspace* e solução aquosa;

A eq. 8 fornece a massa de analito adsorvida pelo filme polimérico quando o equilíbrio é atingido. O tempo de amostragem em HS-SPME para que o equilíbrio seja atingido é determinado pelos processos de transporte de massa, onde os analitos movem-se da fase aquosa para o headspace e deste para a fibra.

Revestimentos sólidos ou mistos, como CW-DVB, apresentam mecanismo por adsorção. O princípio de extração é o mesmo para ambos: inicialmente há a interação das moléculas dos analitos com a superfície do revestimento. Nessa etapa, o coeficiente de difusão é o limitante. A migração dos analitos ao seio do revestimento ou sua permanência na superfície do mesmo dependerá da grandeza do coeficiente de difusão. Moléculas orgânicas em PDMS apresentam coeficientes de difusão próximas àquelas em solventes orgânicos (valores entre 10^3 - 10^4 $\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$) o que possibilita uma difusão dentro do PDMS relativamente rápida. Por outro lado, no revestimento sólido os coeficientes de difusão de moléculas orgânicas são tão pequenos que considera-se que todas as moléculas permanecem na superfície do revestimento. Todavia, como o revestimento sólido é formado por poros, analitos remanescentes podem provocar um fenômeno conhecido como "*carryover*", no qual mesmo após sucessivas dessorções ainda pode ocorrer a retenção de analitos no interior dos poros. Um dos meios de contornar este problema é deixar a fibra dessorvida no injetor do cromatógrafo por um tempo maior do que o estipulado para dessorção dos analitos.

Considerando os equilíbrios acima discutidos, para uma dada amostra de cerveja contida em um frasco de amostragem e exposta a uma fibra de SPME, espera-se a existência de três equilíbrios, conforme Esquema 1:



Esquema 1. Equilíbrios envolvidos no sistema de três fases da HS-SPME

camada sobre a superfície sólida, e libera uma quantidade de energia considerável (da ordem de uma reação química). Por sua vez, a adsorção física, que constitui a maioria dos processos de purificação e separação, é um fenômeno reversível onde se observa normalmente a deposição de mais de uma camada de adsorbato sobre a superfície adsorvente. As forças atuantes na adsorção física são idênticas às forças de coesão, tais como forças de Van der Waals, que operam em estados líquido, sólido e gasoso. As energias liberadas são relativamente baixas e o equilíbrio do sistema, comumente é rapidamente atingido.

Sendo a adsorção um fenômeno essencialmente de superfície, para que um adsorvente tenha uma capacidade adsorptiva significativa, esse deve apresentar uma grande área superficial específica, o que implica em uma estrutura altamente porosa. As propriedades adsorptivas dependem do tamanho dos poros, da distribuição do tamanho dos poros, bem como da natureza da superfície sólida. Levando em conta a combinação dessas propriedades, carvão, sílica, alumina e zeólitas destacam-se dentre os adsorventes comumente empregados. A Tabela 2 exemplifica algumas aplicações comerciais desses adsorventes.

Os adsorventes podem ser amorfos ou cristalinos. No primeiro grupo, adsorventes tais como carvão ativado, sílica-gel e alumina, apresentam áreas específicas entre $200-1000 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e são dotados de uma faixa de distribuição de tamanho de poros bem ampla. Zeólitas, e mais recentemente novos materiais desenvolvidos como MCM (*Mobil Composition of Matter*), SBA (*Santa Barbara Amorphus*), por exemplo, são sólidos cristalinos que apresentam um tamanho de poro de ordem de grandeza molecular definido pela estrutura. Assim, esses materiais muitas vezes são denominados com relação à classificação do tamanho de poros, segundo a IUPAC, que considera o diâmetro de poro (D_p):

- (i) microporos: $D_p < 2 \text{ nm}$
- (ii) mesoporos: $2 \text{ nm} < D_p < 50 \text{ nm}$
- (iii) macroporos: $D_p > 50 \text{ nm}$

Tabela 2: Exemplos de adsorventes comerciais e aplicações em processos de separação ou purificação.[60]

Separação - Aplicação	Adsorventes
<i>Separação de gases</i>	
Parafinas normais/Isoparafinas, compostos aromáticos	Zeólita
Separação cromatográfica	Sílica, polímeros orgânicos e inorgânicos
Purificação de gases	
CO ₂ /C ₂ H ₄ , gás natural, etc.	Zeólita, carvão ativado
Compostos de enxofre/Gás natural, hidrogênio, GLP, etc.	Zeólita, alumina ativada
Compostos orgânicos voláteis	Sílica, resinas, carvão ativado
Separação líquido-bulk	
<i>p</i> -xilenos, <i>o</i> -xilenos, <i>m</i> -xilenos	Zeólita
Separações Cromatográficas	Sílica, polímeros orgânicos e inorgânicos
Purificação em fase líquida	
H ₂ /Orgânicos, orgânicos oxigenados, orgânicos halogenados, etc.	Sílica, alumina, zeólita
Metais pesados/ Água	Carvão ativado
Compostos de enxofre/ Orgânicos	Zeólitas, alumina
Compostos orgânicos/ Água	Carvão ativado, sílica, resinas

Na presente investigação, diversos adsorventes foram empregados. Dentre os materiais amorfos, foram utilizados sílica, alumina, magnésia. Dentre os materiais cristalinos foram avaliados zeólitas, materiais mesoporosos e crisotila, em sua forma natural e lixiviada. A seguir, as principais características texturais, estruturais e químicas desses materiais serão abordadas.

1.3.1 Adsorventes amorfos

Os adsorventes amorfos a seguir tratados são a sílica, alumina e magnésia.

1.3.1.1. Sílicas

A sílica é o óxido de silício e possui fórmula geral $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Existem tanto sílicas naturais, como sílicas sintéticas, sendo que as sílicas naturais constituem 60 % (p/p) da crosta terrestre.[61]

Devido a sua elevada área específica, as sílicas sintéticas possuem mais aplicações em química do que as sílicas naturais. Dentre as aplicações, podem ser citadas: fases estacionárias para colunas cromatográficas,[62] fases para pré-concentração de metais [63] e poluentes orgânicos,[64] agentes dessecante e suportes para catalisadores.[65]

De acordo com o método de preparação utilizado, a sílica sintética poderá apresentar características distintas. Um resumo dos tipos de sílica e suas características são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Classificação das sílicas de acordo com Barby (*apud* Vansant *et alli*).[66]

Sílicas coloidais (sílicas sóis)	Dispersões estáveis de discretas partículas de sílica amorfa.
Sílicas géis	Rede tridimensional de contínuas partículas de sílica coloidal.
<i>Hidrogéis</i>	Sílica gel em que os poros são preenchidos com o correspondente líquido (água).
<i>Xerogéis</i>	Gel obtido pela remoção do meio solvente e que resulta em uma compressão na estrutura e redução na porosidade.
<i>Aerogéis</i>	Uma forma especial de xerogel, na qual o líquido foi removido de uma forma em que não ocorra nenhum colapso ou mudança na estrutura.
Sílicas precipitadas	Feitas pela precipitação da solução de ácido silícico.
Sílicas pirogênicas	Sílicas obtidas em elevadas temperaturas.
<i>Aerosil</i>	Produtos da hidrólise em chama do SiCl_4 . São materiais com elevada pureza.
<i>Sílicas arco</i>	Sílicas obtidas pela redução de areias de alta pureza.
<i>Sílicas plasma</i>	Pós extremamente finos obtidos pela volatilização direta de areia em jato de plasma.

Sóis e géis de sílica são obtidos pelo método sol-gel através da condensação de Si(OH)_4 sob forma de retículo Si-O-Si (siloxano). Sóis de sílica são formado a partir da reação de silicato de sódio ou alcóxidos de silício com um ácido em presença de água, que através de reações de condensação, geram partículas de tamanho coloidal estáveis. À medida que a condensação avança, redes tridimensionais de siloxano vão sendo formadas de forma que a partícula vai crescendo e a viscosidade do meio reacional aumenta, resultando em um gel, denominado hidrogel ou alcogel (se o solvente utilizado for um álcool). Xerogel é formado a partir do envelhecimento e secagem do hidrogel. Nesse caso, os poros sofrem um estreitamento devido às forças aplicadas pelo líquido. Se um alcogel é seco sob condições supercríticas, esse estreitamento de poros por forças de capilaridade inexistente, e obtém-se um aerogel. O processo sol-gel será posteriormente mais aprofundado no presente texto.

Sílicas pirogênicas são obtidas através da queima de SiCl_4 com H_2 e O_2 em uma chama, arco ou plasma. Nessa reação, água é gerada através da reação entre H_2 e O_2 , que reage com SiCl_4 formando a sílica e liberando HCl , que é evacuado no sistema. Independentemente do método de preparação, essas sílicas caracterizam-se por elevada pureza.

Sílicas precipitadas incluem uma vasta gama de sílicas dotadas de diferentes características estruturais, cujas rotas de preparação encontram-se patenteadas. De uma forma geral, sua síntese envolve coagulação e precipitação de soluções de sílica. As propriedades assemelham-se àquelas dos géis de sílica. No entanto, nesse tipo de sílica, as condições de preparação buscam evitar o crescimento do gel e acarretar a precipitação.

As propriedades físicas das sílicas são extremamente influenciadas pelo método de preparação. A Tabela 4 apresenta as principais propriedades dos diversos tipos de sílica preparadas pelos métodos pirogênicos e por via úmida.

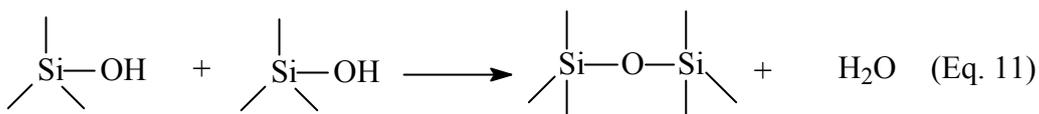
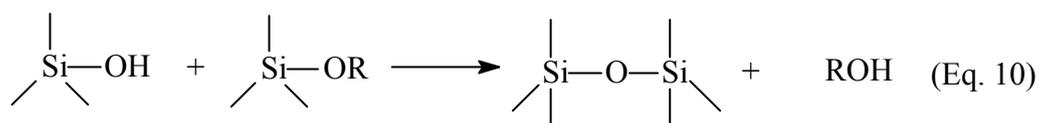
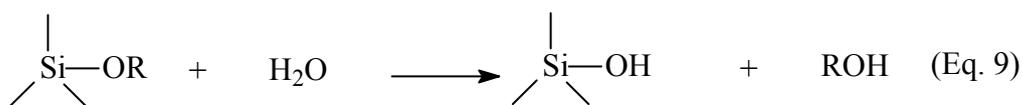
O tamanho das partículas primárias, juntamente com a densidade e o grau de aglomeração e agregação, determinam a porosidade e a área específica de superfície das sílicas. A aglomeração em cadeia (*chain-like*) das partículas primárias nas sílicas Aerosil resulta em uma estrutura não porosa. As sílicas Aerosil são finamente divididas e não possuem superfície interna. Para as sílicas arco, as partículas primárias aglomeram-se para originar esferas. Devido ao denso empacotamento das partículas, essas esferas não são porosas. A área específica de superfície é equivalente à superfície externa das esferas. Os xerogéis e os aerogéis são formados por aglomerados de partículas porosas.

Tabela 4. Propriedades físicas de sílicas pirogênicas e obtidas via úmida. [67]

Características	Sílicas pirogênicas		Sílicas obtidas via úmida		
	Aerosil	Sílica arco	Sílica precipitada	Xerogel	Aerogel
S_{BET} ($m^2 \cdot g^{-1}$)	50-600	25-300	30-800	250-1000	250-400
d_{part} (nm)	5-50	5-550	5-100	3-20	3-20
d_{agreg} (μm)	-	2-15	1-40	1-20	1-15
δ ($g \cdot cm^{-3}$)	2,2	2,2	1,9-2,1	2,0	2,0
V ($mL 100g^{-1}$)	1000-2000	500-1000	200-2000	100-200	800-2000
D_p (nm)	-	-	>30	2-20	>25

d_{part} : diâmetro da partícula; d_{agreg} : diâmetro do agregado; D_p : diâmetro de poro

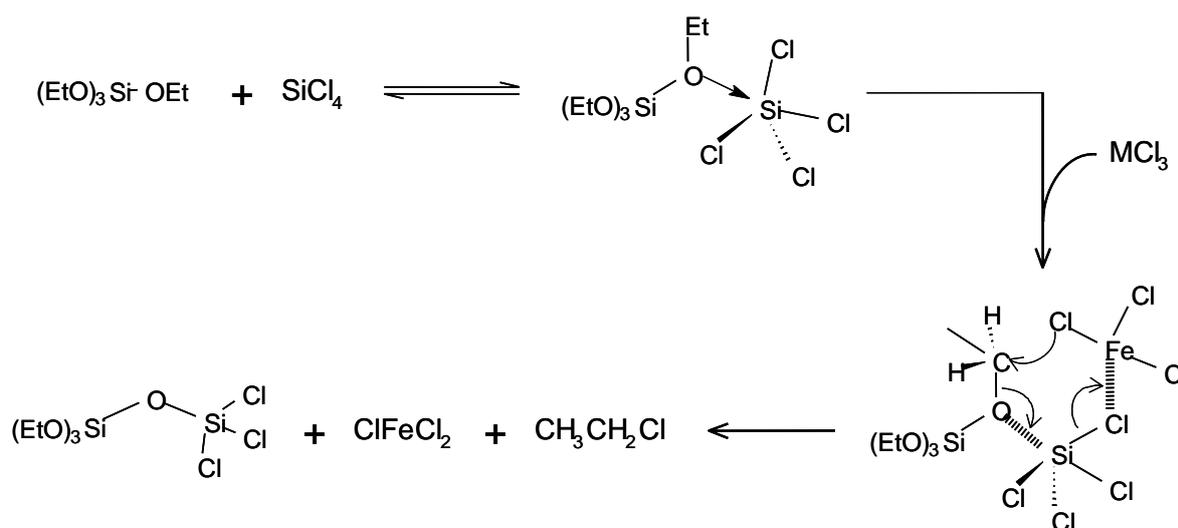
O processo de formação de sílicas géis pelo método sol-gel comumente é realizado a partir de silicatos de sódio e alcoxisilanos. As reações químicas durante o processo sol-gel podem ser formalmente descritas por três equações. As reações de hidrólise (Eq. 9) são requeridas para gerar grupos silanóis a partir de grupos alcóxidos. A condensação pode acontecer através de dois mecanismos: via produção de álcool (Eq. 10) ou água (Eq. 11), como mostrado no Esquema 3. [63]

**Esquema 3.** Reações químicas durante processo sol-gel.

Nas reações de hidrólise, tem-se a substituição do grupo alcóxido (OR) do alcóxissilano, pelo grupo OH da molécula de água formando o grupo silanol (Si-OH) e um álcool. Nas reações de condensação, ocorre o ataque nucleofílico do grupo silanol do alcóxissilano hidrolisado ao átomo de silício do alcóxissilano, liberando álcool ou o ataque do nucleofílico do grupo silanol ao átomo de silício de outro grupo silanol, liberando água. As reações químicas mencionadas ocorrem simultaneamente durante todo o processo de formação do sol, do gel e mesmo depois da formação do gel no envelhecimento da sílica. O processo de formação do sol encerra quando as partículas atingem um tamanho macroscópico. A partir desse instante, dependendo das condições de reação e conseqüentemente, da estrutura das partículas do sol já formadas nas etapas iniciais da reação, a sílica pode ser formada ou por precipitação do sol ou por gelificação dessas partículas através da formação de redes poliméricas tridimensionais.[64]

Esse processo, considerado hidrolítico por ser realizado em meio aquoso, pode ser ainda promovido por catalisadores ácidos ou básicos, conduzindo a tipos de sílicas distintas. No caso da catálise ácida, a sílica resultante é um monólito, com aparência de uma lente transparente, de estrutura mais ramificada, pois a etapa de hidrólise predomina. Na catálise básica, a etapa de condensação é promovida e o sólido resultante é esférico, com aparência macroscópica de um pó fino.

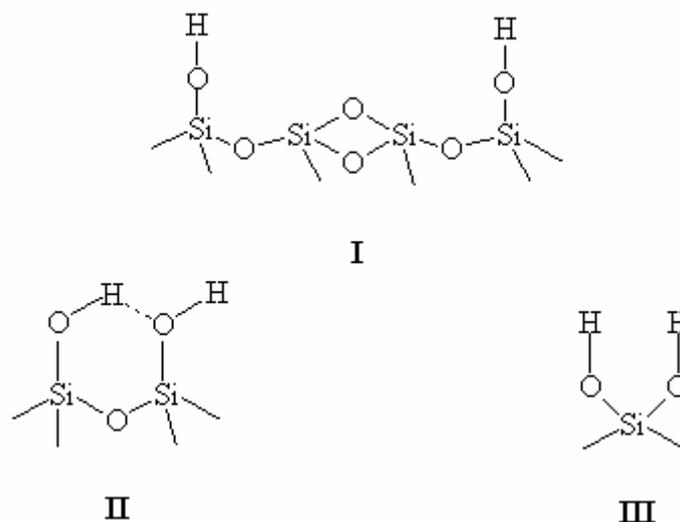
Ainda com relação ao processo sol-gel, um terceiro tipo de rota, denominada não hidrolítica, pode ser empregada na síntese de xerogéis (Esquema 4).



Esquema 4. Rota não hidrolítica para síntese de xerogéis.

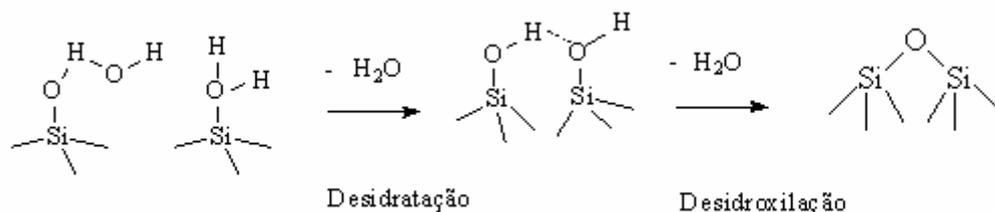
Essa rota evita a presença de água e utiliza SiCl_4 como o principal componente do esqueleto da sílica. A reação utiliza alcóxido de silício em quantidades mínimas e é catalisada por ácidos de Lewis (FeCl_3 , TiCl_4 , AlCl_3 , por exemplo).[68, 69]

Do ponto de vista estrutural, a superfície da sílica é constituída por diversos grupos Si-OH denominados de grupos silanóis. Os grupos silanóis podem ser classificados em três tipos: isolados (livres) (I), vicinais (II) e geminais (III), conforme Esquema 5.[67]



Esquema 5. Grupos silanóis da superfície da sílica.

A superfície da sílica amorfa é desordenada, não apresentando uma distribuição regular dos grupos silanóis. À temperatura ambiente, a sílica encontra-se totalmente hidroxilada, e nesse caso, é capaz de adsorver água fisicamente através de pontes de hidrogênio. Tratamento térmico até $200\text{ }^\circ\text{C}$ remove basicamente a água fisicamente adsorvida (desidratação). Acima dessa temperatura, inicia-se a condensação dos grupos silanóis, produzindo água (desidroxilação), sendo que acima $800\text{ }^\circ\text{C}$ o processo torna-se irreversível. [67] (Esquema 6).



Esquema 6. Desidratação e desidroxilação da superfície da sílica.

A densidade de grupos silanóis na superfície da sílica é denominada de *número de silanóis* (α_{OH}) e é normalmente expressa em número de grupos OH por nanômetro quadrado ($OH\ nm^{-2}$). O número de silanóis pode ser assim controlado por tratamento térmico indo de $5\ OH\ nm^{-2}$ a $1,5\ OH\ nm^{-2}$, por exemplo, partindo de uma sílica totalmente hidroxilada e aquecendo-a até $450\ ^{\circ}C$.

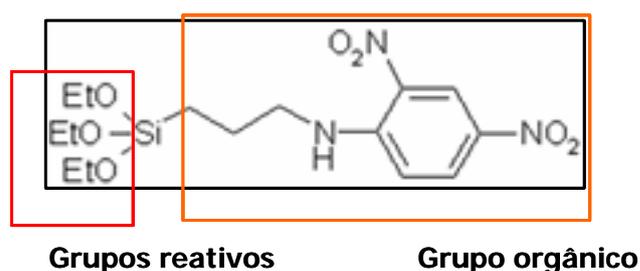
No presente trabalho, sílicas comerciais obtidas por precipitação e pirólise (pirogênicas) e sílicas sintetizadas (xerogéis e aerogéis) pelo métodos sol-gel, em rotas hidrolíticas e não hidrolíticas, foram investigadas.

Sílicas quimicamente modificadas com grupos funcionais na superfície podem ser também sintetizadas e empregadas como adsorventes. A obtenção desses materiais, muitas vezes denominados de sílicas híbridas, será sucintamente abordada a seguir.

1.3.1.2 Sílicas funcionalizadas

Modificando-se a superfície da sílica, consegue-se uma combinação entre as propriedades mecânicas e estruturais do substrato de sílica com a capacidade de interações físicas e químicas específicas das moléculas orgânicas fixadas na superfície do óxido.[66]

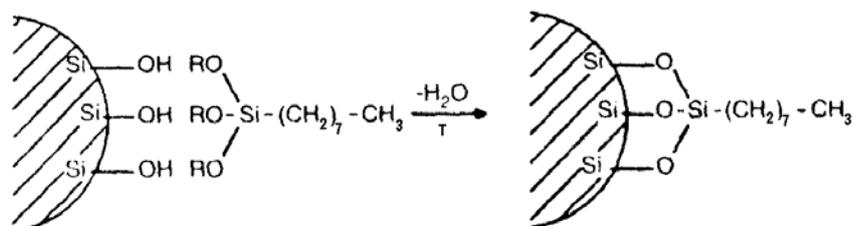
Dentre os compostos orgânicos mais utilizados para a funcionalização da superfície da sílica, destacam-se os organosilanos. Esses possuem a vantagem de permitir uma grande versatilidade em termos de grupos funcionais, mas devem possuir algum grupo reativo (alcóxido), capaz de interagir para a formação da sílica (Esquema 7)



Esquema 7. Grupos funcionais dos organosilanos.

Conforme o Esquema 7, os organosilanos possuem pelo menos um grupo orgânico diretamente ligado ao átomo de silício e grupos reativos passíveis de hidrólise (etóxi, no caso), e, portanto, permitem a síntese via processo sol-gel. Contudo, a presença desses grupos reativos em organosilanos (incluindo haletos, hidretos) permite ainda a funcionalização da

silica através de sua reação com grupos silanol na superfície de uma sílica comercial. Materiais cromatográficos (para colunas de cromatografia de fase reversa), por exemplo, são preparados pela reação de alquilsilanos de diferentes tamanhos de cadeia (C8, por exemplo) com a superfície da sílica, conforme mostrado no Esquema 8. [63]



Esquema 8. Funcionalização da sílica com C8.

No Esquema 8, a funcionalização da sílica com o organosilano foi realizada utilizando-se o método de *grafting*, que consiste na reação de superfície entre os grupos silanóis do suporte e os grupos reativos do composto orgânico (cloreto, alcóxido, hidreto). Neste método de imobilização, variáveis como o efeito estérico desempenhado pelo grupo orgânico, bem como a densidade de grupos silanóis sobre a superfície influenciam na natureza e na concentração das espécies de superfície geradas. No entanto, trata-se de um método de preparação bastante reproduzível, se comparado com o método sol-gel. [67]

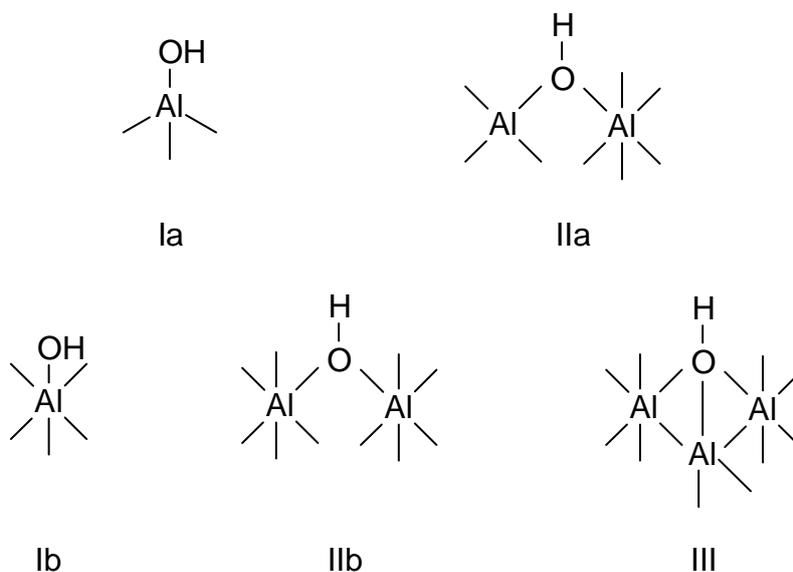
No presente trabalho, foram empregadas sílicas híbridas, dotadas por ligantes octadecilsilano (ODS), preparadas através de reações de *grafting* e de sol-gel.

1.3.1.3 Alumina

As aluminas são amplamente utilizadas como adsorventes e existem em uma variedade de valores de área específica e de tamanho de poros. Além disso, trata-se de suportes baratos, termo- e mecanicamente estáveis.

As dimensões dos microporos são determinadas pelo empacotamento de partículas primárias (cristalitos); os microporos e alguns mesoporos são resultantes das lacunas entre as partículas primárias, atingindo dimensões da ordem de 10 nm. Algumas dimensões representativas são as seguintes [70]:

Os diferentes tipos de grupos hidroxilas terminais estão representados no esquema a seguir:



Esquema 10. Diferentes grupos hidroxilas terminais presentes na alumina.

O tipo **Ia** consiste de um Al^{+3} coordenado tetraedricamente, enquanto o tipo **IIa** tem Al^{+3} octaédrico e tetraédrico ligados por um grupo hidroxila. O tipo **IIa** ocorre três vezes mais do que o tipo **Ia**. Existem também três vezes mais hidroxilas do tipo **IIb** do que o tipo **III**. O número máximo de tipos de hidroxila na superfície da alumina é 5 OH.nm^{-2} e suas concentrações relativas dependem do grau de exposição das várias faces cristalinas.[71] Assim, comparando com a sílica, a superfície da alumina é muito mais complexo em termos de grupos OH.

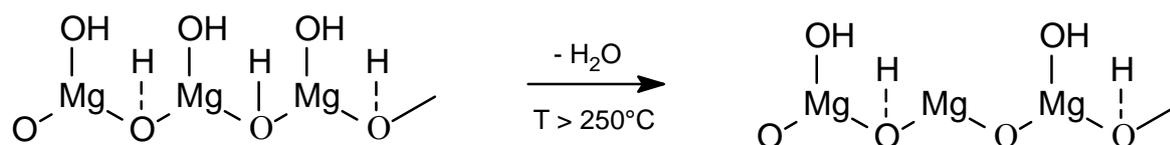
A ordem crescente de aumento de carga positiva nos grupos hidroxilas (e decrescente de carga negativa nos oxigênios remanescentes) é **Ib**<**Ia**<**IIb**<**IIa**<**III**. Desta forma, é esperado que as hidroxilas do tipo **III** tenham maior acidez de Brønsted, pois a remoção de um próton da hidroxila leva a uma carga negativa menor. Sendo assim, o tipo **Ib** poderia apresentar maior basicidade porque a remoção de um grupo hidroxila deixa uma carga positiva menor na vacância aniônica.

Aluminas com área específica relativamente alta estão disponíveis comercialmente. Aluminas com área específica e porosidade total muito alta são obtidas por calcinação de boemita seca em condições supercríticas, produzida por hidrólise sol-gel

1.3.1.4 Magnésia (MgO)

Magnésia ou óxido de magnésio tem sido considerado um sistema ideal de adsorção porque no estado cristalino tem a estrutura simples do NaCl. Acima de tudo, é um óxido fortemente básico em virtude da presença de íons O^{2-} na superfície receptores de prótons, embora uma fraca acidez de Lewis tenha sido atribuída aos íons Mg^{+2} . Entretanto, trata-se de um óxido complexo em virtude da presença de múltiplas espécies de OH e um grande número de espécies superficiais que são formadas quando moléculas simples como CO, H_2 e NH_3 reagem com o óxido ativado.

Os íons $Mg^{+2} O^{2-}$ na superfície ideal possuem cinco tipos distintos de coordenação. A superfície é neutra, e não necessita da presença de íons adicionais para contar com um balanço de cargas. Entretanto, prótons estão presentes na superfície dos grupos $-OH$, de acordo com observações em espectroscopia molecular no infravermelho, e são formados por adsorção dissociativa de água.[70]. Estas estruturas podem ser vistas no Esquema 11.



Esquema 11. Representação simplificada da desidroxilação do MgO.

A hidroxilação, reação com água, resulta em grupos $-OH$ superficiais e protona os íons O^{2-} da superfície. Nesta estrutura, existem dois tipos de grupos $-OH$: um promovendo a coordenação de um sexto grupo em um íon Mg^{+2} (tornando-o coordenativamente saturado) e outro resultante da protonação de um íon O^{2-} do seio do suporte. Estes diferentes grupos $-OH$ são distinguidos por suas frequências no espectro de infravermelho.

Quando ativado, o MgO pode apresentar área superficial de $200 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, embora este valor possa decrescer drasticamente se houver reidratação a altas temperaturas, quando ocorre a sinterização. O tratamento a altas temperaturas (600°C) resulta em uma superfície altamente desidroxilada que expõe muitos sítios ácidos de Lewis.[70]

Os íons O^{2-} e grupos $-OH$ da superfície do MgO são básicos, e a química da superfície do MgO é dominada por esta basicidade. Ácidos de Brønsted quimisorvidos sobre MgO formam carbânions e grupos $-OH$. Aumentando a desidroxilação, aumenta a força básica na

superfície. MgO altamente desidroxilado atua como uma base forte que desprotona os ácidos fracos de Brønsted. Os sítios superficiais com tal basicidade forte, são mais altamente insaturados do que os íons com cinco coordenações.

1.3.2 Adsorventes cristalinos

1.3.2.1 Zeólitas

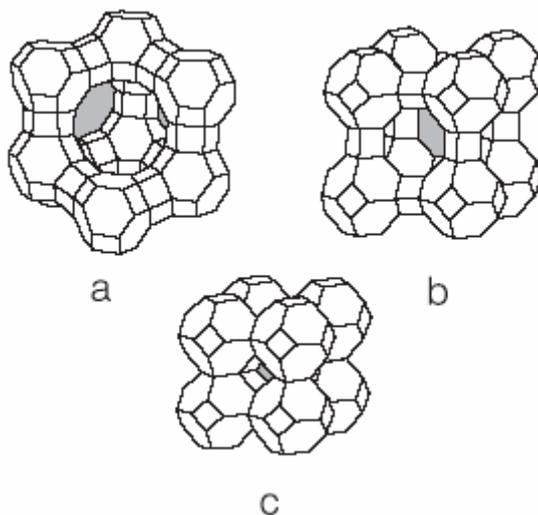
Zeólitas são compostos, naturais ou sintéticos, essencialmente construídos a partir de estruturas primárias constituídas de tetraedros de $(\text{SiO}_4)^{-4}$ e $(\text{AlO}_4)^{-5}$. Como os íons aluminato são estáveis somente em pH elevado, a síntese desses compostos é realizada sob condições básicas. Um parâmetro importante nos materiais zeolíticos é a razão Si/Al: quanto menor o teor de Al, mais difícil a obtenção do material e mais severas as condições de síntese. A razão Si/Al, bem como as condições de síntese, afetam as características estruturais e morfológicas das zeólitas resultantes. A Tabela 5 ilustra alguns exemplos de zeólitas formadas [72]:

Tabela 5. Tipos de zeólitas e razão Si/Al na estrutura.

Tipo de Zeólita	Razão Si/Al
Zeólita A	1
Zeólita Y	2,5
Mordenita	5
Zeólita ZSM-5	> 12

As zeólitas possuem propriedades especiais de adsorção ocasionadas pelas suas superfícies químicas peculiares e, sobretudo, pela estrutura de poros cristalina, que lhes confere uma seletividade de forma (*shape selectivity*). A forte natureza aniônica da sua estrutura e a presença de cátions compensadores de carga são características peculiares das zeólitas. A interação de cátions e ânions exerce fortes campos elétricos e gradientes de campos na superfície. As zeólitas do tipo A, X e Y e peneiras moleculares são predominantemente utilizadas para adsorção e troca iônica.[73]

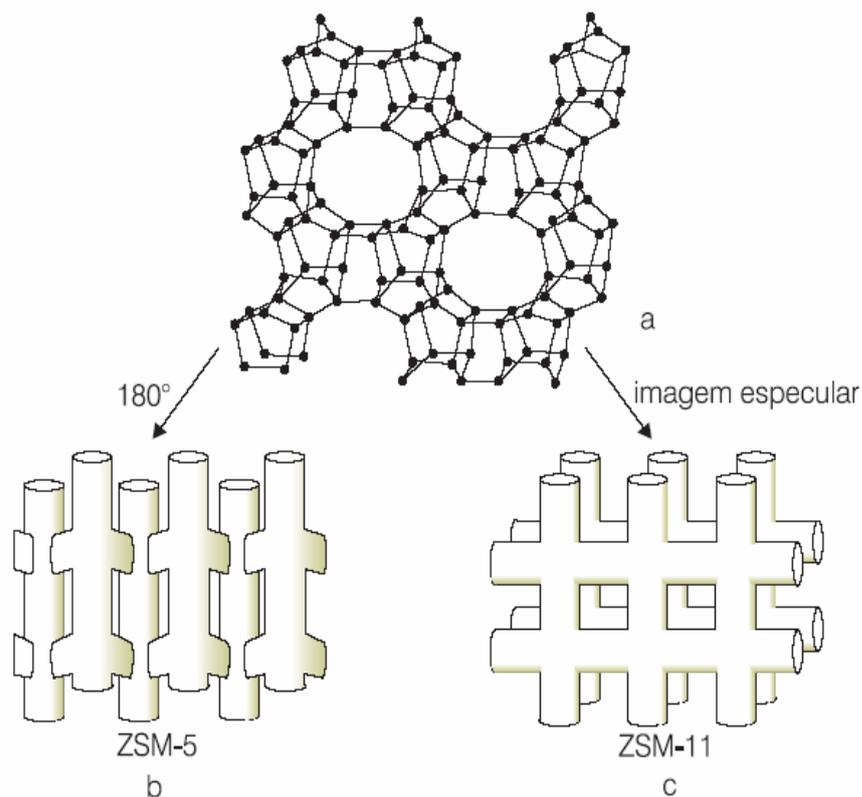
Toda estrutura zeolítica é composta pelo encadeamento de unidades TO₄, onde T = Si ou Al, coordenado por quatro átomos de oxigênio. A maneira de encadear esses tetraedros gera unidades secundárias, cuja combinação, por sua vez leva à formação de poliedros (ou cavidades). O Esquema 12 ilustra algumas estruturas de materiais zeolíticos: (a) faujasita natural e as zeólitas sintéticas X e Y; (b) zeólita A; e (c) sodalita.[74]



Esquema 12. Estruturas de materiais zeolíticos: (a) faujasita natural e as zeólitas sintéticas X e Y; (b) zeólita A; e (c) sodalita.

Na família das zeólitas ZSM-5 e ZSM-11, as estruturas são formadas pelo empilhamento de lâminas, conforme Esquema 13. No caso da zeólita ZSM-5, de uma lâmina para outra, existe uma rotação de 180° , resultando em uma estrutura tridimensional, formada de canais elípticos que se cruzam, e dois sistemas de poros: um reto e outro sinusoidal. O acesso a ambos os canais ocorre por aproximadamente 6 Å. A zeólita ZSM-11 também é formada por empilhamento dessas lâminas, mas de forma especular àquela da ZSM-5. A estrutura resultante também é tridimensional, com dois sistemas de canais elípticos que se cruzam, com a diferença de que neste caso, os dois sistemas de canais são retos.

Na síntese de algumas zeólitas, como é o caso da ZSM-5, uma molécula “molde” (*template*) é empregada para direcionar o crescimento dos canais e cavidades do material zeolítico. Essas moléculas são posteriormente eliminadas da zeólita, geralmente, por calcinação.



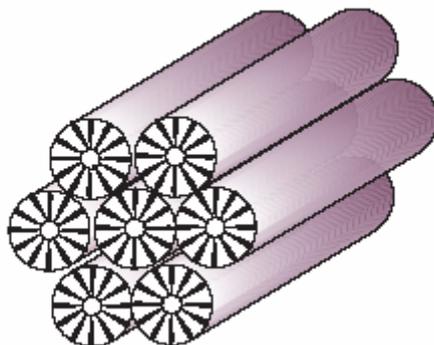
Esquema 13. Estrutura das famílias das zeólitas ZSM-5 e ZSM-11.

No presente trabalho, foram utilizadas as seguintes zeólitas: NaY, mordenita, USY, zeólita beta e ZSM-5.

1.3.2.2. Materiais mesoporosos: MCM-41, SBA-15, ITQ-2

MCM (*Mobil Composition of Matter*) 41 foi o primeiro sólido mesoporo sintetizado que mostrou um arranjo regular de poro e uma distribuição de tamanho de poro muito estreita. Este material é um aluminossilicato que consiste de agregados e aglomerados soltos de partículas pequenas. Depois da sua descoberta em 1992,[75] muitos estudos estão sendo realizados visando sua caracterização, mecanismos de formação, síntese de novos materiais baseados no conceito de síntese do MCM-41, controle morfológico, aplicações técnicas e materiais mesoporosos relacionados.[76] Atualmente, materiais como MCM-49, MCM-56, MCM22 e MCM-36 já foram sintetizados.

Sua estrutura é do tipo “favo de mel”, que é o resultado de um empacotamento hexagonal de poros cilíndricos unidimensionais, uniformes com tamanho de 4 nm (Esquema 14).

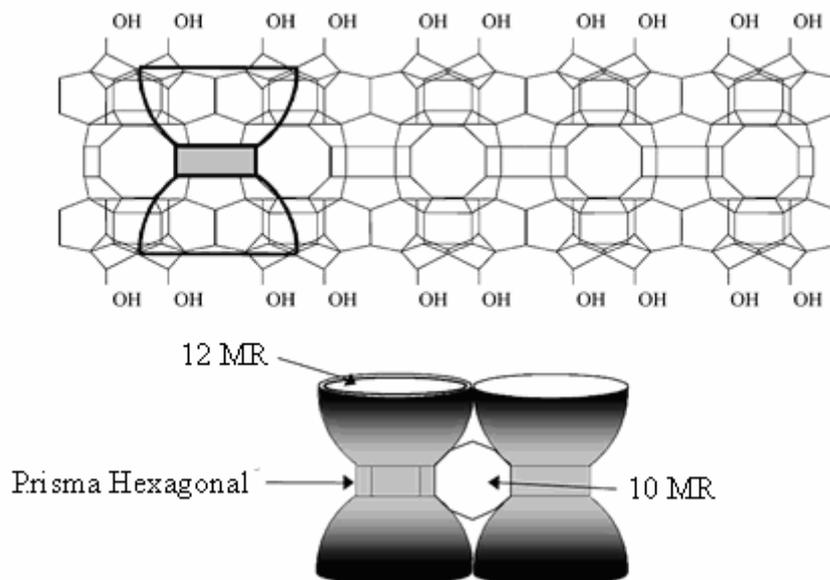


Esquema 14. Estrutura tipo “favo de mel”, apresentada pelo MCM-41.

Devido à formação de sítios ácidos cataliticamente ativos, a incorporação do alumínio dentro da rede de sílica é de interesse especial. O alumínio contido em amostras estudadas mostrou átomos de Al com coordenação tetraédrica assim como, octaédrica.[77, 78] Alumínio de coordenação tetraédrica é desejado porque se assume que apenas estes estão incorporados dentro da rede, sendo os responsáveis pela formação de sítios ácidos, enquanto as espécies octaédricas ficam absorvidas dentro dos poros e existem como um subproduto amorfo. Cabe salientar que a incorporação do alumínio dentro de estruturas de sílica é conhecida por formar sítios ácidos na rede. Entretanto, independente da quantidade de alumínio presente na rede, MCM-41 mostrou apenas acidez fraca, comparável aos aluminosilicatos amorfos. Desta forma, este suporte é promissor apenas para reações que não requerem acidez muito forte.[75]

O mesoporoso SBA-15 (*Santa Bárbara Amorphous*) é semelhante a MCM-41, também composto por mesoporos paralelos, mas possui um conjunto de microporos conectando os poros maiores.[79]

O mesoporoso ITQ-2 (*Instituto de Tecnologia Química*) pertence à família das zeólitas deslaminadas. Sua preparação baseia-se na expansão e deslaminação de algum precursor laminar. Esse sólido está formado por lâminas individuais de aproximadamente 25 Å de espessura que proporcionam ao material uma elevada superfície externa ($> 700 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). As lâminas estão constituídas por uma distribuição de “cálices” hexagonais que se encontram em ambos os lados de cada lâmina. Esses cálices encontram-se delimitados por anéis de 12 membros (12 MR), sendo a abertura $0,7 \times 0,7 \text{ nm}$, e se encontram conectadas com os “cálices” de outra face das lâminas por anéis duplos de 6 membros que as unem pela base. Além disso, um sistema de canais de 10 membros (10 MR) percorre ao redor dos “cálices” pelo interior de cada lâmina (Esquema 15).[80, 81]



Esquema 15. Estrutura do mesoporoso ITQ-2.

Na presente dissertação, foram empregados MCM-41, SBA-15 e ITQ-2.

1.3.2.3. Crisotila

Crisotilas são silicatos hidratado de magnésio naturais, também denominado de "serpentina" ou "amianto branco". A estrutura fibrosa do crisotila é flexível, fina e sedosa. Geralmente ocorre associado a rochas ultramórficas (dunito, periododito, serpentinito) e podem formar jazidas de grande porte, com reservas da ordem de milhões de toneladas. Sua fórmula geral é $3\text{MgO} \cdot \text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. [82, 83] A camada externa formada por brucita ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) pode ser removida por tratamento ácido, resultando em uma sílica fibriforme, ou simplesmente desidratada, removendo os grupos OH da superfície (Esquema 16).

No presente trabalho, tanto crisotila, em sua forma natural e lixiviado por tratamento ácido, foram avaliados como adsorventes.

Capítulo 2

Objetivos

2. Objetivos

O objetivo geral do presente trabalho foi investigar o efeito do uso de adsorventes durante o processo de microextração em fase sólida de *flavours* de cerveja tipo Pilsen.

Os objetivos específicos foram:

- selecionar compostos voláteis modelos na cerveja para a monitorização do fenómeno de adsorção seletiva;

- correlacionar o efeito dos parâmetros abaixo relacionados com a adsorção seletiva de *flavours* da cerveja:

- (i) Natureza da fibra;
- (ii) Tempo de equilíbrio;
- (iii) Tempo de extração;
- (iv) Temperatura de extração;
- (v) Agitação por ultra-som
- (vi) Adição de NaCl
- (vii) Volume de *headspa*

- correlacionar propriedades texturais, morfológicas e químicas dos adsorventes com a natureza e o teor dos analitos adsorvidos nas fibras;

Capítulo 3
Parte Experimental

3. Parte Experimental

3.1 Materiais

As fibras avaliadas, com seus respectivos valores de espessura de filme foram adquiridas na SUPELCO e encontram-se, a seguir, listadas:

- Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), 75 μ m
- Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB), 65 μ m
- Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), 50 μ m
- Carbowax/Divinilbenzeno (CW-DVB), 65 μ m
- Poliacrilato (PA), 85 μ m.

As amostras de cerveja analisadas foram de baixa fermentação, tipo Pilsen, envasadas em garrafas de 600 mL, provenientes do mesmo lote de fabricação. As amostras foram resfriadas a 5 °C para diminuir as perdas de compostos voláteis e evitar o espumamento excessivo.

Os adsorventes empregados no presente trabalho foram adquiridos de fornecedores comerciais, ou foram sintetizados e cedidos por outras Instituições de pesquisas. Os xerogeis, as sílicas modificadas com metais ou organosilanos, foram preparadas no Laboratório K106 do Instituto de Química da UFRGS, como parte de outros trabalhos de dissertação ou teses.

As sílicas comerciais foram:

- EP10X, ES70X e ES70 (Crossfield);
- Sílica 2133 (PQ Corporation);
- Sílica HDK N20 (Wacker)
- Sílica Aerosil (Degussa)

As sílicas sintetizadas pelo método sol-gel, hidrolítico (EqA1) [68] e não-hidrolítico (E12B1) [69], foram preparadas no Laboratório K106 do Instituto de Química da UFRGS. Sílica aerogel foi sintetizada sob condições supercríticas junto ao CENERG (Sophia, França) [84].

Sílicas funcionalizadas com octadecilsilano foram obtidas através de rotas de sol-gel e *grafting*. [85, 86]. Sílicas comerciais funcionalizadas (SC16) foram também adquiridas junto a Degussa. Sílicas dopadas com Ag e Cu foram preparadas pelo método de impregnação. [87]

As zeólitas e os mesoporosos [88] foram fornecidos pelo Departamento de Química da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), Erechim (RS). O mesoporoso MCM-41 foi sintetizado junto ao *Japan Advanced Institute for Science and Technology* (JAIST), Ishikawa (Japão). SBA-15 foi preparado no Instituto de Tecnología Química de Valencia - ITQ-UPV (Espanha). Crisotila foi gentilmente doada pela SAMA, Mineração de Amianto Ltda, sediada em Uruaçu (GO). Crisotila lixiviada foi tratada com 1,0 L de solução de HCl (Merck), em concentração de 5,0 mol L⁻¹, por 48 h a 50 °C, conforme proposto na literatura.[89] O material resultante foi lavado abundantemente com água deionizada.

3.2 Tratamento do material

Toda vidraria foi lavada com água, detergente líquido e água deionizada. O material não volumétrico foi enxaguado com acetona comum e levado ao forno a 300 °C por duas horas. O material foi embalado com papel laminado. Para a vidraria volumétrica, o enxágüe foi com acetona comum, acetona grau pesticida, n-hexano grau pesticida e, após evaporação, foi coberta com folha de alumínio.

3.3 Caracterização dos adsorventes

As características texturais e morfológicas dos adsorventes foram caracterizadas, respectivamente por técnicas de adsorção de nitrogênio e microscópicas, conforme a seguir descrito. No caso da crisotila, o lixiviamento do material natural foi monitorado por espectroscopia de difração de raios-X (XRD).

3.3.1 Análise porosimétrica (adsorção de nitrogênio)

Cerca de 100-150 mg de amostra foram previamente degazeificadas (10⁻² mbar) a 120 °C por 8 h. Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio foram medidas a -196 °C em um equipamento Gemini 2375 da Micromeritics (Instituto de Química, UFRGS). A superfície específica (S_{BET}) foi determinada pela equação de Brunauer-Emmett-Teller (BET) ($P/P_0 = 0,05-0,35$). O tamanho e distribuição de mesoporos foi calculado pelo método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH). O ramo de dessorção foi utilizado. Os volumes de microporo foram calculados pelo método *t*-plot, usando as isotermas padrão de Harkins e Jura.

3.3.2 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As medidas de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas em um aparelho JEOL JSM-5800 (Centro de Microscopia, UFRGS). As amostras sólidas foram fixadas sobre uma fita de carbono de dupla face, e posteriormente foram recobertas com carbono ou ouro, através de técnicas convencionais de *sputtering*. A voltagem empregada foi de 20 KeV e a corrente, cerca de 18 mA.

3.3.3 Microscopia de força atômica (AFM)

As imagens foram obtidas utilizando um microscópio de força atômica Nanoscope IIIa[®] fabricado pela Digital Instruments Co. (Instituto de Física, UFRGS), operando em modo contato e utilizando *probes* de nitreto de silício. Para o tratamento das imagens, o programa WS M 4.0 da Nanotec Eletronic S.L. foi utilizado. As amostras de sílica foram pastilhadas e fragmentadas para serem analisadas.

3.3.4 Difração de Raios-X (XRD)

O equipamento utilizado foi um difratômetro de Raios-X, marca Rigaku operando a: 40kV, 17,5 mA, 200 V (Instituto de Física, UFRGS), modelo DMAX 2200, equipado com tubo de Cu (1,54178Å) e monocromador secundário.

3.4 Condições de SPME

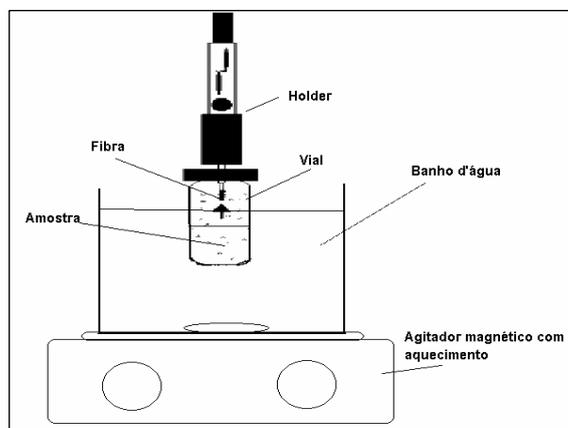
Experimentos com SPME foram realizados com aparato fornecido pela Supelco (Bellefonte, PA, USA), composto por *holder* para amostragem manual e *vials* de 30 mL com septo de PTFE-silicone. Os *vials* foram limpos, seqüencialmente, com detergente neutro, água deionizada, acetona, hexano e secos a 180°C durante 30 min.

Antes do uso, as fibras foram condicionadas conforme instruções do fabricante.

A performance de cada fibra foi comparada, utilizando 15 mL de cerveja. Os *vials*, contendo as amostras, foram mantidos em um banho a 40 °C por 10 min e após, a fibra foi introduzida e exposta ao *headspace* da amostra de cerveja durante 30 min.

O Esquema 17 representa o aparato utilizado para avaliar a influência da temperatura no processo de microextração em fase sólida.

No sistema demonstrado abaixo, os *vials* contendo determinado volume de cerveja foram mantidos nas temperaturas em estudo durante um tempo estabelecido. A fibra foi então introduzida e exposta ao *headspace* durante um período estabelecido.



Esquema 17. Sistema para avaliar a influência da temperatura no processo de microextração em fase sólida.

Na busca de condições otimizadas de pré-concentração, os seguintes parâmetros foram avaliados: natureza da fibra, tempo de exposição da fibra (5 - 60 min), temperatura de extração (25 – 55⁰C), tempo de equilíbrio com ultra-som (15 – 30 min), adição de NaCl (1,5 – 3,75 g), volume de headspace (10 - 20 mL) e adição de adsorventes. A reprodutibilidade foi avaliada em triplicata.

3.5 Condições cromatográficas

As análises com SPME foram realizadas em um cromatógrafo a gás Varian 3800 equipado com uma coluna HP-5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) e acoplado a um espectrômetro de massas do tipo quadrupolo *ion trap Saturn 2000*. Devido à concentração de cerca de 4,0 – 5,0 % p/v de etanol nas cervejas, *solvent delay* de 3 min foi utilizado. Cabe salientar que o *solvent delay* tem por objetivo preservar o filamento do *ion trap*. A temperatura utilizada no injetor foi de 250 °C. A programação utilizada para a coluna foi de 40 °C durante 2 min, e após, elevada a 10°C min⁻¹ até 250 °C e mantida nesta temperatura durante 7 min, sob um fluxo de 1,0 mL min⁻¹ de He.

Os espectros de massas foram obtidos no modo EI (do inglês, *Electron Impact*) a 70 eV. Os dados foram coletados e analisados através da comparação das áreas relativas dos picos cromatográficos.

Capítulo 4

Resultados e discussões

4. Resultados e discussões

Os resultados obtidos no presente trabalho serão a seguir discutidos em termos da avaliação preliminar das variáveis envolvidas nas condições de SPME, do estudo exploratório do efeito dos adsorventes no processo de extração e pré-concentração dos analitos de interesse, da caracterização textural e morfológica dos adsorventes avaliados e finalmente, o efeito da incorporação desses adsorventes em processos de SPME na concentração relativa de *flavours* presentes em cerveja tipo Pilsen.

4.1 Avaliação preliminar das condições de análise cromatográfica

Inicialmente foi realizada uma avaliação preliminar do perfil cromatográfico obtido a partir da extração por SPME dos voláteis presentes na amostra de cerveja em estudo. Na Figura 2 é apresentado o cromatograma obtido nas condições citadas em 3.5.

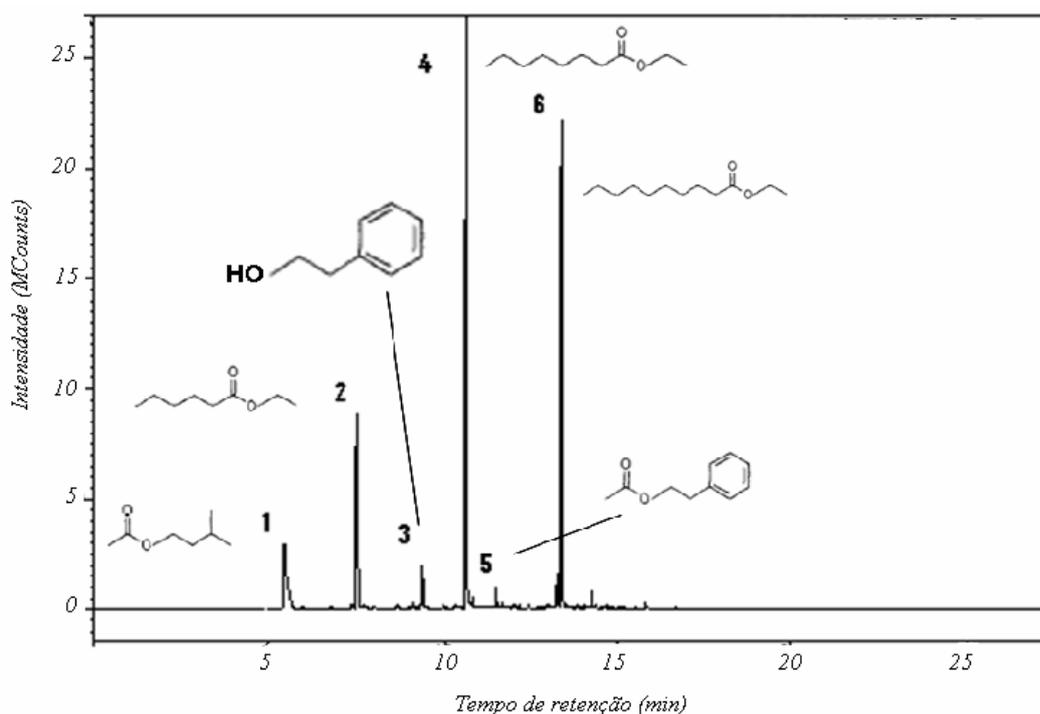


Figura 2. Cromatograma típico de componentes extraídos pelo revestimento DVB-CAR-PDMS. Identificação dos picos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

Considerando que o álcool etílico é o composto volátil majoritário presente na cerveja, com uma concentração variando entre 4 e 5 % p/v, inicialmente, foi determinado seu tempo

de retenção, utilizando uma solução aquosa contendo 20 mg L⁻¹ de etanol. Nas condições cromatográficas citadas em 3.3, o pico cromatográfico do etanol é detectado a partir de 1,3 min. A análise da amostra real apresenta um pico largo que inicia em 1,3 min, o qual foi atribuído ao etanol. Além deste pico, a avaliação do cromatograma obtido a partir da análise dos voláteis da amostra de cerveja permite-nos identificar a presença de seis outros sinais bastante intensos, além de uma série de picos de intensidade bem menor.

A identificação dos seis compostos assinalados no cromatograma da Figura 2 foi realizada com base nos registros da literatura [5, 6, 23, 29, 90] e na biblioteca NIST do equipamento Saturn 2000. De acordo com essas fontes de dados, os compostos detectados são cinco ésteres e um álcool, considerados importantes na composição do perfil de *flavour* da cerveja em estudo [23, 29]. Cabe salientar que o acetato de etila, outro composto relevante na constituição do *flavour* da cerveja, não foi identificado dentre os picos avaliados. Esse fato levou à determinação do tempo de retenção do mesmo, utilizando uma solução aquosa contendo 20 mg L⁻¹ do mesmo e as condições cromatográficas citadas em 3.3. O tempo de retenção determinado foi de 1,4 min. Pela avaliação dos tempos de retenção do etanol e do acetato de etila, nota-se que, na extração de ambos os compostos da cerveja, devido ao alargamento do pico do etanol, ocorre uma sobreposição dos picos destes compostos. A partir de uma solução aquosa contendo etanol e acetato de etila na concentração de 20 mg L⁻¹, estudou-se a aplicação de diversas programações de temperatura para o forno e diferentes vazões para o gás de arraste para promover a separação de ambos, sem resultado satisfatório. Estes fatos levaram a crer que a resolução dos picos do etanol e acetato de etila somente seria possível com a utilização de outro tipo de coluna. Devido a estas dificuldades optou-se então por excluir o acetato de etila desta análise inicial e por utilizar um *solvent delay* em 3 min.

A Tabela 6 apresenta o limite de detecção pelas vias organolépticas (*threshold*) e o *flavour* associado aos cinco compostos majoritários. O composto acetato de 2-fenil etila foi encontrado em pequena intensidade, mas foi incluído por ser citado na literatura.[29]

Tabela 6. Relação de *thresholds* e *flavours* atribuídos aos compostos de referência encontrados na cerveja.[26, 29]

Ordem	Composto	Threshold (mg L ⁻¹)	Flavour
1	Acetato de isoamila	1,20	banana
2	Hexanoato de etila (caproato de etila)	0,21	maçã verde
3	Álcool fenil etílico	40,00	rosas
4	Octanoato de etila (caprilato de etila)	0,90	maçã verde
5	Acetato de 2-fenil etila	3,80	floral, rosas, mel
6	Decanoato de etila	0,57	frutífero

Dessa forma, considerando a boa resolução cromatográfica desses compostos nessas condições de análise, sua presença relativamente majoritária na marca de cerveja investigada, e sua relevância na composição do perfil do *flavour* da cerveja, optou-se por desenvolver o presente estudo com esses seis compostos.

4.2 Condições de SPME

A SPME baseia-se em um equilíbrio de partição entre três fases de um sistema: a líquida, a gasosa e a fibra. Dessa forma, a qualidade desses resultados está na dependência que este equilíbrio venha a ser atingido [91]. Tendo em vista que a amostragem por SPME envolve estes múltiplos equilíbrios, e a sensibilidade e reprodutibilidade da técnica dependem das condições empregadas [5], utilizando os seis analitos listados na Tabela 6, cada um dos fatores que influenciam no processo de extração foram investigados, com o objetivo de determinar as condições mais favoráveis para aplicação desta técnica no sistema em investigação. Assim, nessa etapa preliminar, o efeito dos seguintes parâmetros foi investigado:

- (i) Natureza da fibra;
- (ii) Tempo de equilíbrio;
- (iii) Tempo de extração;
- (iv) Temperatura de extração;
- (v) Agitação por ultra-som
- (vi) Adição de NaCl

(vii) Volume de *headspace*

O critério avaliado foi o efeito desses parâmetros na área integrada dos sinais dos seis analitos investigados.

4.2.1 Natureza da fibra

As fibras, quanto ao processo de fabricação, podem ser consideradas como fases homogêneas ou heterogêneas. No primeiro caso, a haste da fibra, constituída de sílica fundida obtida a partir de uma fibra ótica aquecida, é resfriada e introduzida em uma solução da fase polimérica a ser depositada. O polímero é então seco por exposição à temperatura controlada ou luz ultravioleta. Dentre as fibras empregadas, a fibra de poliacrilato é produzida através desse processo. Essa fase é parcialmente entrecruzada e altamente polar. Cabe salientar que a estabilidade térmica de uma dada fibra é determinada pela habilidade de entrecruzar-se e ligar-se à própria sílica fundida. A preparação de fases heterogêneas, como PDMS-DVB, DVB-CAR-PDMS, CW-DVB, é muito complexa e ainda não se encontram plenamente descritas na literatura aberta.[92]

As fibras porosas são recobertas com polímeros porosos e combinados com fases poliméricas parcialmente entrecruzadas. Geralmente, esses tipos de fibras têm baixa estabilidade mecânica em relação às fases poliméricas homogêneas. Contudo, elas apresentam alta seletividade. O aumento da porosidade das partículas dos polímeros constituintes das fibras acarreta um aumento da capacidade total da fibra, adsorção mais forte do analito na fase e aumento da seletividade da fibra.[92] Por exemplo, a fibra de PDMS-DVB é constituída de uma mistura de polímeros sólidos porosos de DVB com líquido polimérico PDMS. A área específica da fibra é da ordem de $750 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e a textura do material combina uma superfície mesoporosa, com alguns macro- e microporos. Os microporos são regularmente maiores que aqueles das partículas de Carboxen, com diâmetro médio de 17 \AA . A fibra de CW-DVB é uma mistura de partículas de polímero poroso sólido divinilbenzeno com a fase líquida Carbowax. Essa fase é mais polar que a fase PDMS-DVB e é altamente sensível a oxigênio em temperaturas elevadas, devido à possibilidade de oxidação. A fibra CAR-PDMS é o resultado da mistura de partículas de polímero poroso Carboxen com polímero líquido de PDMS. Seu volume total de poros é da ordem de $78 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, e o diâmetro de poros -na faixa de $2\text{-}20 \text{ \AA}$. Dessa forma, a fibra PDMS-DVB é adequada para moléculas na faixa de $\text{C}_2\text{-C}_{12}$. Moléculas maiores que C_{12} serão fortemente retidas na superfície da partícula, que serão dificilmente dessorvidas, posteriormente. [93]

Os componentes constituintes da fibra determinam a natureza do processo envolvido: absorção ou adsorção. Fibras absorventes extraem os analitos pelo processo de partição dentro de uma fase líquida. Sua capacidade de retenção é dependente principalmente da espessura da camada líquida e do tamanho do analito. Por outro lado, fibras adsorventes extraem os analitos por intermédio de interações físicas. A coleta ocorre por retenção dos analitos dentro dos poros internos. Os analitos pequenos e intermediários ficam retidos nos micro- e mesoporos até que seja realizada a dessorção térmica no injetor do cromatógrafo, por exemplo. Macroporos podem adsorver analitos mais volumosos através de interações de Van der Waals ou ligações de hidrogênio. Nesse tipo de fibras, tendo em vista a existência de um número limitado de sítios de adsorção, a competição entre os analitos ocorre, ao contrário do que ocorre nas fibras absorventes. Modelos de Langmuir foram empregados para descrever os fenômenos de adsorção em fibras PDMS-DVB e CW-DVB.[94] A adequabilidade desse modelo implica a existência de um número limitado de sítios de adsorção nessas fibras, que possam ser ocupados pelos analitos.

A Tabela 7 resume a natureza da interação envolvida e a polaridade das fibras de SPME empregadas no presente trabalho, com base em dados da literatura.[95]

Tabela 7. Tipo de interação e polaridade de algumas fibras de SPME.

Fibra de SPME	Tipo de interação	Polaridade
CAR-PDMS	Adsorção	Mista
PDMS-DVB	Adsorção	Mista
DVB-CAR-PDMS	Adsorção	Mista
CW-DVB	Adsorção	Polar
PA	Absorção	Mista

A Figura 3 apresenta os dados de eficiência de extração para as cinco fibras, expressos para cada analito.

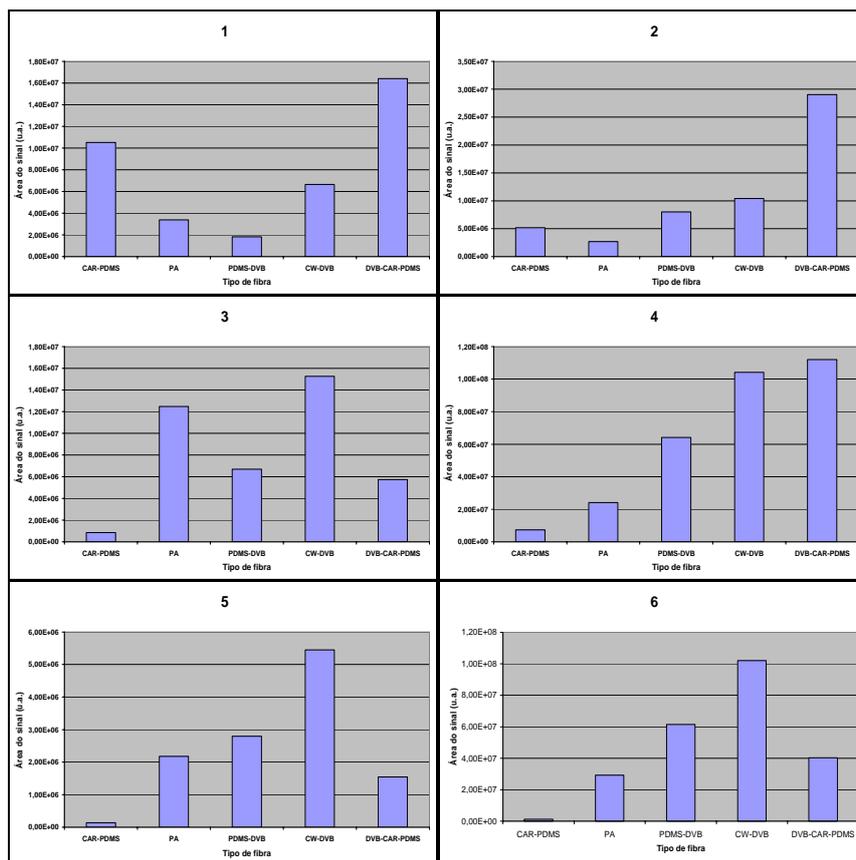


Figura 3. Eficiência de extração de cada tipo de fibra em relação aos seis analitos em estudo (quantidade expressa em unidades arbitrárias de área): (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

A comparação das performances das fibras estudadas mostra claramente que as fibras CW-DVB (65 μm) e DVB-CAR-PDMS (50 μm) apresentaram maior eficiência no processo de extração, o que é demonstrado pelas maiores intensidades de sinais para a maioria dos compostos de referência, conforme mostra a Figura 3. Trata-se de fibras cujo processo de interação com os analitos é através de adsorção. A fibra de PA, cujo processo de interação é a absorção, só foi relevante no caso do álcool fenil etílico. Cabe salientar que a fibra PDMS-DVB, embora tenha uma área específica elevada, apresentou uma eficiência intermediária. Sua faixa de tamanho de poros relativamente baixa (2-20 Å) garante a adsorção preferencial de moléculas pequenas, que embora não detectadas no presente estudo (devido ao corte do solvente), possam estar interagindo preferencialmente nesse tipo de fibra, competindo assim com os analitos de interesse, que são mais volumosos. Além disso, comparando o desempenho entre as fibras PDMS-DVB e CW-DVB, esta última, dada à maior polaridade de sua superfície, garantiu uma eficiência maior de concentração dos analitos, que são de natureza polar.

A Figura 4 apresenta um panorama geral da performance de extração das cinco diferentes fibras em relação aos analitos em estudo.

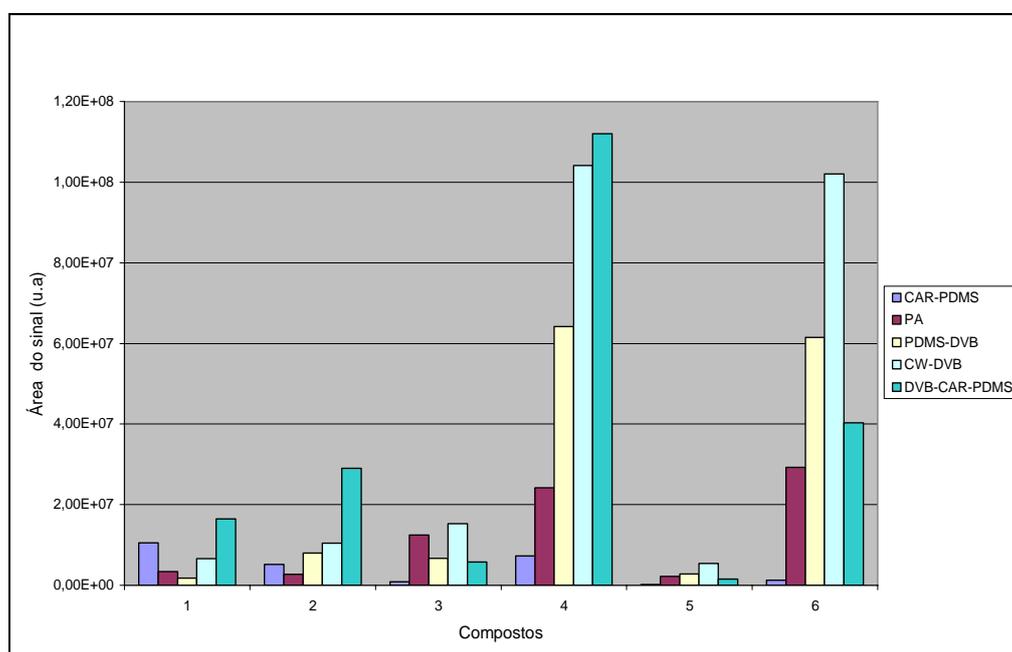


Figura 4: Comparativo da performance das 5 fibras na extração dos analitos em estudo. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 4, conforme anteriormente mencionado, a natureza da fibra a ser utilizada demonstrou ser um fator muito importante na pré-concentração dos analitos, visto que as diversas fibras utilizadas demonstraram diferenças significativas nos perfis de extração. Os compostos 1, 2 e 4 tiveram maior afinidade com a fibra DVB-CAR-PDMS, enquanto que os compostos 3, 5 e 6 com a CW-DVB. Cabe salientar que para o composto 6, a intensidade do pico chega a ser de 15 vezes maior quando se utiliza a fibra DVB-CAR-PDMS em relação à fibra CAR-PDMS. Em recente trabalho publicado, [2] pesquisadores demonstraram que o tipo de fibra utilizado determina diferenças qualitativas e quantitativas nos perfis de voláteis obtidos via SPME. No trabalho por eles realizado, foram comparadas as fibras PA, PDMS e CAR-PDMS, sendo que esta última fibra extraiu o maior número de compostos com a maior intensidade de sinal, totalizando 103 compostos extraídos, contra 62 da PA e 77 compostos extraídos pela PDMS. A melhor performance da fibra CAR-PDMS foi atribuída ao efeito mútuo de adsorção e distribuição de sua fase estacionária. Tanto a fibra CAR-PDMS, quanto a DVB-CAR-PDMS apresentam tipos de interação e polaridades

semelhantes, porém com uma evidente vantagem para a DVB-CAR-PDMS, conforme relatado na presente dissertação.

Independentemente do tipo de fibra utilizada, os compostos **4** e **6** apresentaram as maiores intensidades relativas, o que é forte indicativo destes serem os voláteis de maior concentração presentes no tipo de cerveja analisado, com exceção do álcool etílico. O álcool fenilético (**3**) apresentou maior afinidade pelas fibras PA e CW-DVB. O acetato de 2-fenil etila (**5**) teve comportamento semelhante. A fibra CAR-PDMS teve maior eficiência na extração do acetato de isoamila (**1**).

Tanto a fibra CW-DVB, quanto a DVB-CAR-PDMS mostraram-se adequadas para o propósito deste trabalho. Contudo, a fibra DVB-CAR-PDMS, além de ser quimicamente mais estável que a CW-DVB, apresentou um comportamento intermediário ao longo dos seis analitos: afinidade baixa para os compostos **3** e **5**, média para o composto **6**, e alta para **1**, **2** e **4**. Dessa forma, efeito das variações nas condições de SPME, incluindo o uso de adsorventes, pode vir a ser mais claramente revelados no comportamento relativo desses analitos frente à fibra DVB-CAR-PDMS

4.2.2 Tempo de equilíbrio e tempo de extração.

O tempo de equilíbrio pode ser definido como o tempo necessário para que os compostos voláteis alcancem o equilíbrio entre a solução e o *headspace*. [99] O tempo durante o qual a fibra fica em contato com o *headspace* da amostra, denominado tempo de extração, é o tempo necessário para a fibra atingir o equilíbrio com o *headspace*. Ambos têm uma significativa influência nas intensidades das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos. O tempo de extração depende da natureza da fibra e do analito a ser extraído. [100] Utilizamos a fibra DVB-CAR-PDMS e os seis analitos para definir os tempos ideais de equilíbrio e extração, com a amostra a uma temperatura fixa de 40 °C.

A Figura 5 mostra a eficiência da extração dos compostos de referência (expressa pela área dos picos cromatográficos) em função do tempo utilizado para que ocorresse o equilíbrio entre a solução e o *headspace*.

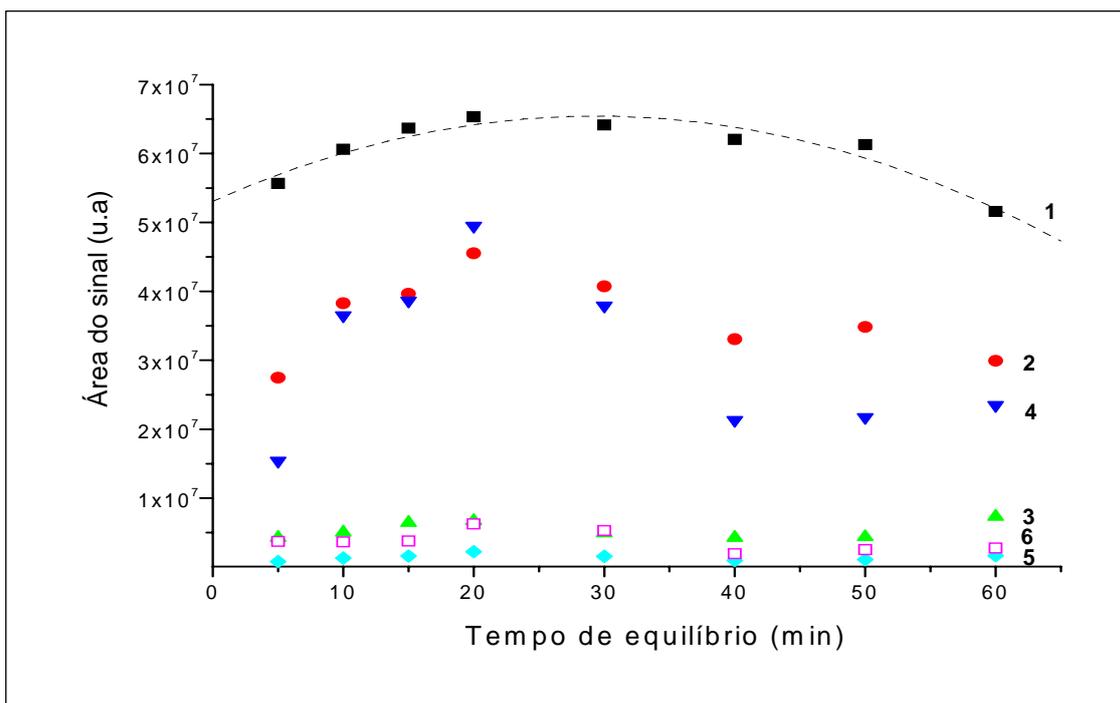


Figura 5: Influência do tempo de equilíbrio na eficiência da extração dos analitos de referência. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 5, todos os compostos tiveram uma taxa de extração maior quando um tempo de equilíbrio de 20 minutos foi utilizado. Observa-se também um comportamento diferenciado entre os compostos 2 e 4, cujas intensidades aumentam significativamente até 20 minutos e tendem a cair após o ápice. Esse comportamento pode ser decorrente de uma competição perante outros analitos ou devido a uma difusão na fibra e adsorção em poros mais profundos, o que dificulta sua posterior dessorção. Os demais compostos (1, 3, 5 e 6) apresentam variações menos significativas, crescendo ligeiramente para maiores tempos de equilíbrio.

A Figura 6 é a representação gráfica da área total dos picos dos analitos em função do tempo de equilíbrio, a qual segue a tendência dos compostos 1, 2 e 4, apresentada na Figura 5.

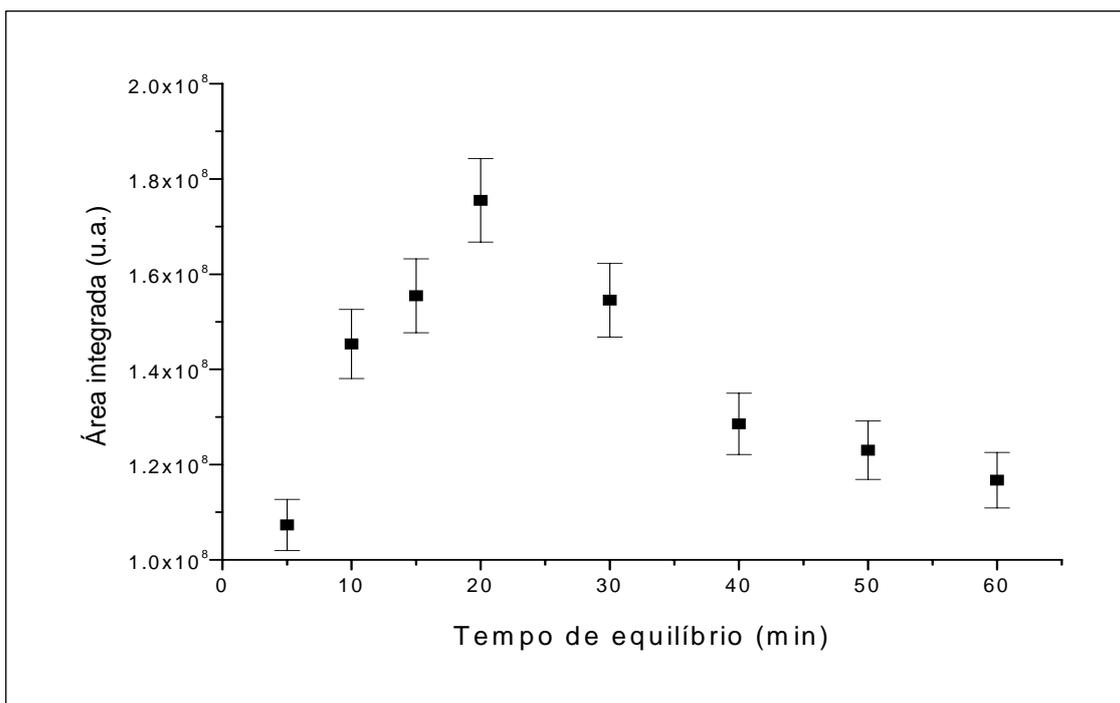


Figura 6: Área total dos compostos de referência em função do tempo de equilíbrio

A partir dos dados da Figura 6, estabeleceu-se 20 min., como sendo o tempo necessário para que ocorra o equilíbrio entre a fase líquida e vapor dos analitos investigados.

A quantidade de analito transferida à fibra, em princípio, é esperada de aumentar com o tempo de exposição (da fibra) ao *headspace* da amostra. Analitos com volatilidade mais baixa ou peso molecular mais elevado necessitam de maior tempo para atingir o equilíbrio. Na Figura 7 são apresentados os perfis de extração dos compostos de referência como função do tempo de exposição da fibra ao *headspace* da amostra.

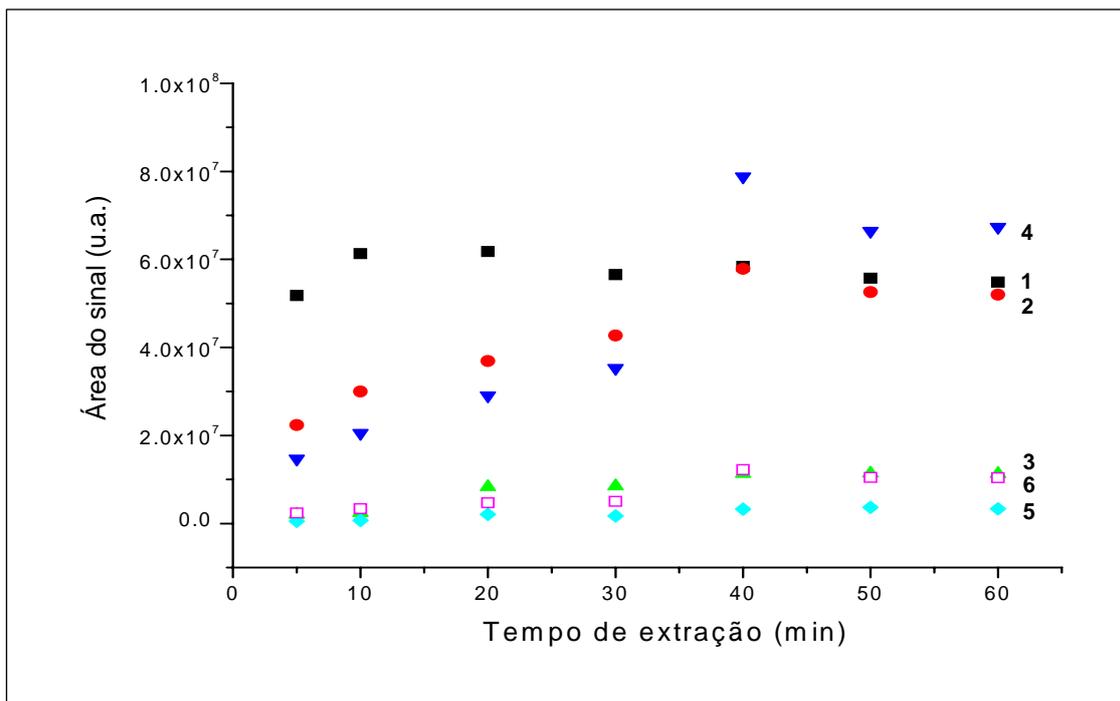


Figura 7: Influência do tempo de extração na eficiência da extração dos analitos. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 7, observa-se que para o composto 1, a saturação da fibra com relação a esse composto, já é atingida em 10 min. Os compostos 2 e 4 nitidamente mostram que a saturação ocorre a partir de 40 min de tempo de extração. A comparação entre esses três compostos demonstra nitidamente o efeito do peso molecular (ou até mesmo do efeito estérico) envolvido nesses três analitos em termos de tempo de extração necessário para atingir o equilíbrio. Embora quimicamente esses três analitos sejam semelhantes, o menor peso molecular do composto 1 garante-lhe que o tempo de extração seja atingido em 10 min. Para os demais compostos (3, 5 e 6), ocorrem variações menos significativas, crescendo ligeiramente para maiores tempos de extração e tendendo à estabilização a partir de 40 min.

Na Figura 8 é apresentada a variação da área total dos picos cromatográficos em função do tempo de exposição da fibra ao *headspace* da amostra.

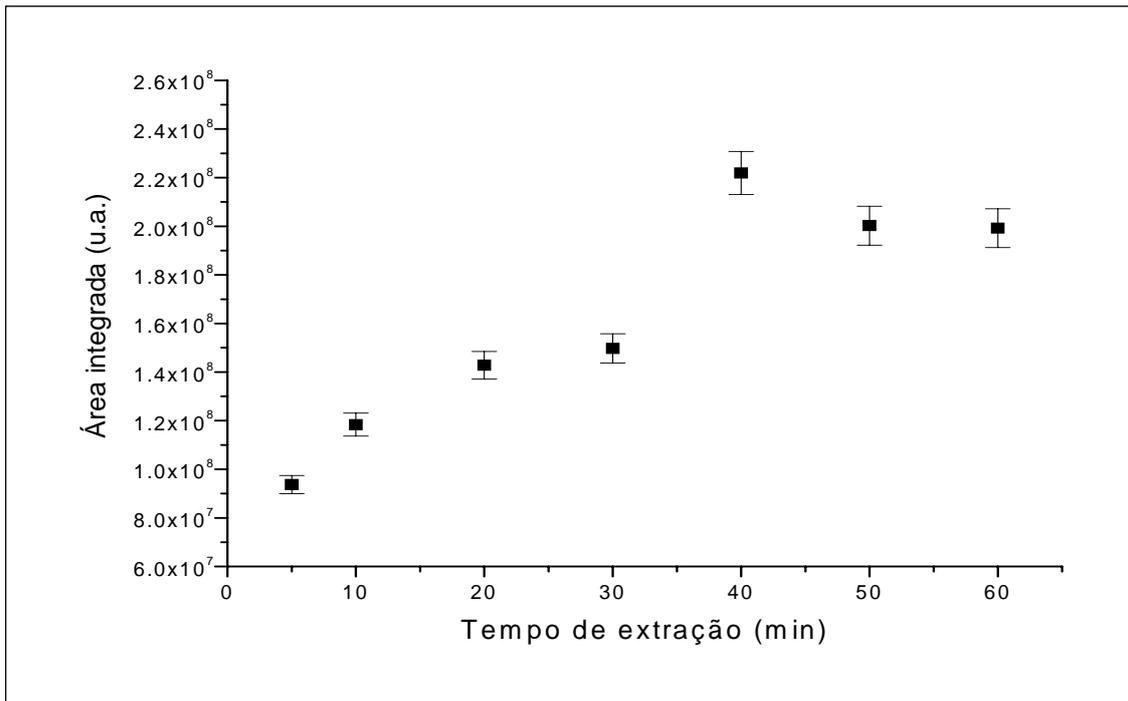


Figura 8: Área total dos compostos de referência em função do tempo de extração.

Através da avaliação dos perfis de extração obtidos, o tempo de 40 minutos de exposição da fibra ao *headspace* da amostra foi determinado como sendo o ideal para extração dos seis analitos, pois neste período ocorre o máximo de adsorção destes compostos.

4.2.3 Influência da temperatura de extração

A mudança da temperatura de extração influencia a eficiência do processo de SPME. Ao aumentar a temperatura da amostra, os coeficientes de difusão e pressão de vapor dos analitos são aumentados, o que provoca o aumento de suas concentrações no *headspace*. A Figura 9 apresenta os valores das áreas dos analitos obtidas por GC/MS em função da temperatura de extração para a fibra DVB-CAR-PDMS.

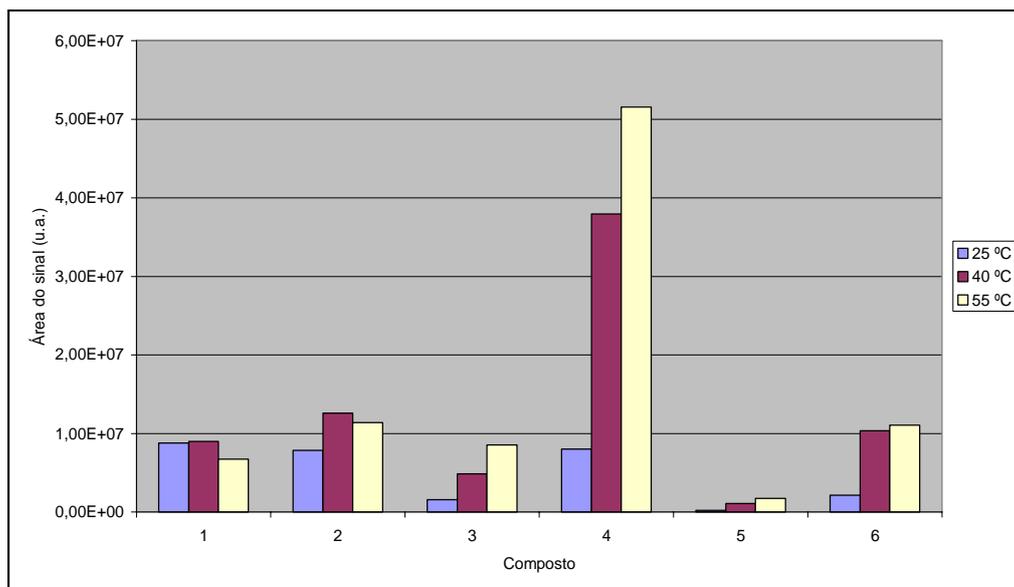


Figura 9: Influência da temperatura na extração com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 9, observa-se que para todos os analitos, um aumento significativo na resposta do detector ocorre quando a temperatura é alterada de 25 para 40 °C. Conforme anteriormente comentado, por razões de ordem cinética, a quantidade de analito extraído aumenta devido ao aumento do coeficiente de difusão dos analitos entre a fase líquida e o *headspace*. Contudo, para os compostos 1 e 2, o aumento da temperatura leva a uma diminuição da quantidade extraída, pois a adsorção é um processo exotérmico. Por razões termodinâmicas, um aumento de temperatura prejudica a extração desses dois analitos. Além disso, na temperatura de 55 °C ocorre intensa condensação nas paredes do *vial*. Por essa razão, a temperatura de 40 °C foi considerada para a continuidade do estudo.

4.2.4 Influência da agitação por ultra-som

A transferência de massa no *headspace* é considerada como um processo rápido, uma vez que os coeficientes de difusão na fase gasosa são tipicamente 10^4 superiores àqueles correspondentes na fase condensada. Assim, tanto a transferência lenta de massa na fase líquida, como em termos de difusão na fibra, são fatores limitantes no processo global de extração.[96] De acordo com a teoria de transferência de massa de soluto, na fase aquosa, o coeficiente de transferência de massa aumenta com a intensificação da velocidade de agitação. Portanto, a agitação da solução da amostra melhora a transferência de massa na fase aquosa e

induz convecção no *headspace*, e conseqüentemente, o equilíbrio entre as fases aquosa e vapor podem ser atingidos mais rapidamente.

A Figura 10 apresenta os resultados de extração em função do tempo de agitação da amostra por banho de ultra-som.

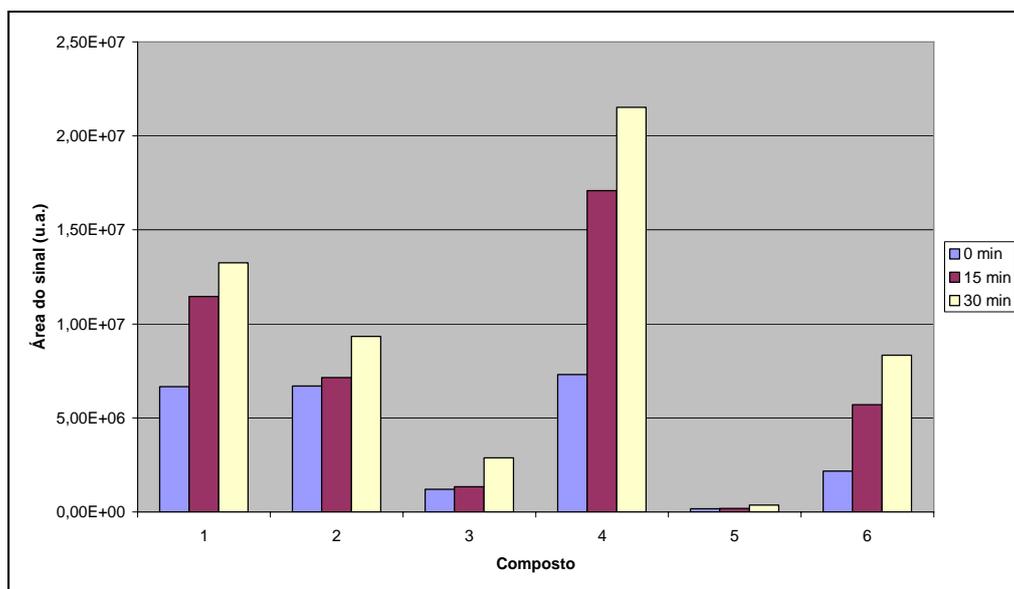


Figura 10: Influência da utilização do tempo de uso de banho de ultra-som na extração com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 10, observa-se que a utilização do ultra-som desloca o equilíbrio no sentido do *headspace*, aumentando a capacidade de extração e que, aumentando o tempo de uso do ultra-som, observa-se um acréscimo na intensidade das áreas dos picos.

O fato de haver uma maior concentração de compostos na fase vapor aparentemente não resultou em adsorção preferencial significativa para determinado analito, visto que para todos os compostos de referência houve aumento na intensidade dos picos.

4.2.5 Adição de NaCl

A adição de um sal inorgânico em uma amostra aquosa altera o equilíbrio de partição e um maior número de analitos serão extraídos.[99] A adição de sais (tais como NaCl ou Na₂SO₄) à amostra pode diminuir a solubilidade dos analitos na fase aquosa e aumenta sua partição na fase orgânica. A quantidade de analito comumente cresce com o aumento da concentração de sal e polaridade dos compostos.[97] A força iônica da solução claramente

afeta a quantidade de analitos liberados no *headspace* e, conseqüentemente, a quantidade de analitos voláteis adsorvidos na fibra.[44] A avaliação da influência da adição de NaCl foi realizada com auxílio do uso de ultra-som, pois este acelera a dissolução do mesmo. Na Figura 11 estão demonstrados os resultados da influência da adição de NaCl no perfil de voláteis extraídos.

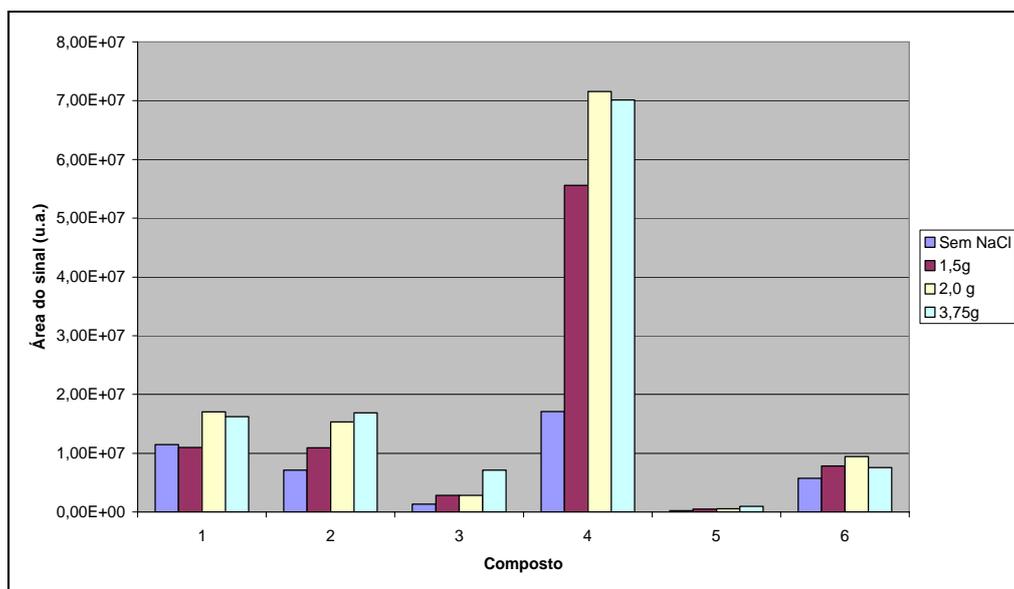


Figura 11: Influência da adição de NaCl na extração com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 11, a adição de NaCl na amostra aumentou a eficiência da extração para todos os compostos de referência, demonstrada pelo incremento na intensidade dos picos cromatográficos. A adição de 2,0 g de NaCl foi considerada satisfatória, visto que, quando se utilizou uma quantidade maior (3,75 g), foi necessária a ação do ultra-som por um tempo mais prolongado para dissolvê-lo e, ainda assim, a dissolução não foi completa. Além disso, adição de 3,75 g de NaCl resultou em melhora apenas na extração dos compostos 2 e 3.

Quando se utiliza ultra-som e NaCl, os efeitos de ambos se somam, como pode ser observado no gráfico da Figura 12.

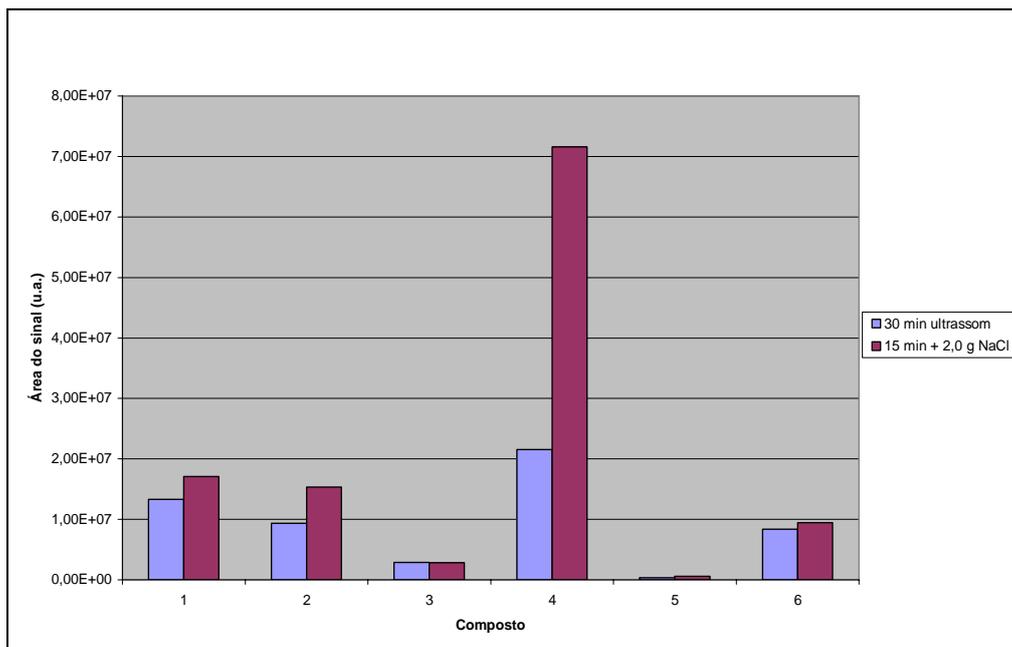


Figura 12: Influência do uso simultâneo de ultra-som e NaCl na eficiência da extração com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 12, com a adição de 2,0 g de NaCl, o tempo de ultra-som pode ser reduzido de 30 para 15 min e, ainda assim, obtém-se um aumento na intensidade do sinal para a maioria dos compostos.

4.2.6 Volume de *headspace*

Em geral, a combinação da constante de distribuição entre o *headspace* e o solvente e entre a fase condensada e o *headspace* determina a magnitude do efeito do volume da amostra na quantidade de analito extraído na fibra. Um aumento no volume da amostra, e conseqüentemente uma diminuição no volume do *headspace*, aumenta a quantidade de analitos transferidos ao *headspace*, aumentando assim a sensibilidade.[98] A influência do volume de amostra (e conseqüentemente, volume de *headspace*) na eficiência da extração encontra-se apresentada na Figura 13.

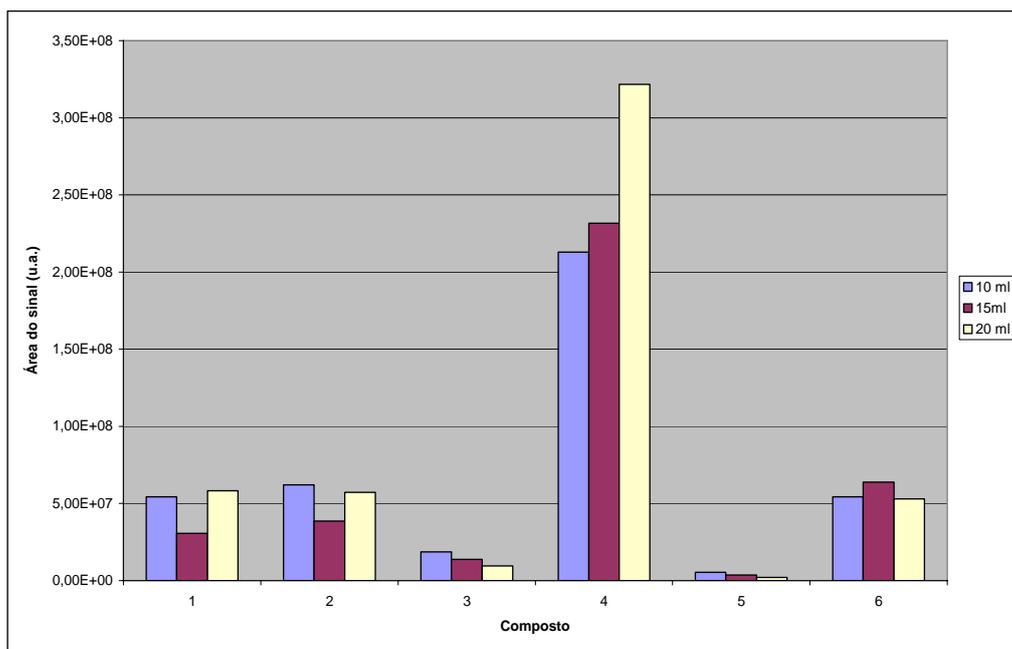


Figura 13: Influência do volume de amostra na eficiência da extração com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 13, a variação do volume de amostra empregado (e, conseqüentemente, o de *headspace*) não apresentou uma tendência única entre os compostos. Por exemplo, para o composto 4, a intensidade aumentou de forma significativa à medida que o volume de *headspace* diminuiu. Por outro lado, para os compostos 3 e 5, houve uma diminuição progressiva na intensidade dos picos. Uma razão para esse comportamento pode ser devido ao fato que em volumes maiores de amostra, a convecção é distinta e, portanto, a eficiência de extração é reduzida.

A utilização de um volume de amostra de 50% em relação ao volume do *vial* é uma opção viável para a extração dos analitos de referência.

4.2.7 Temperatura *versus* ultra-som

A Figura 14 apresenta, comparativamente, o efeito da combinação dos parâmetros da temperatura de extração e a utilização de ultra-som.

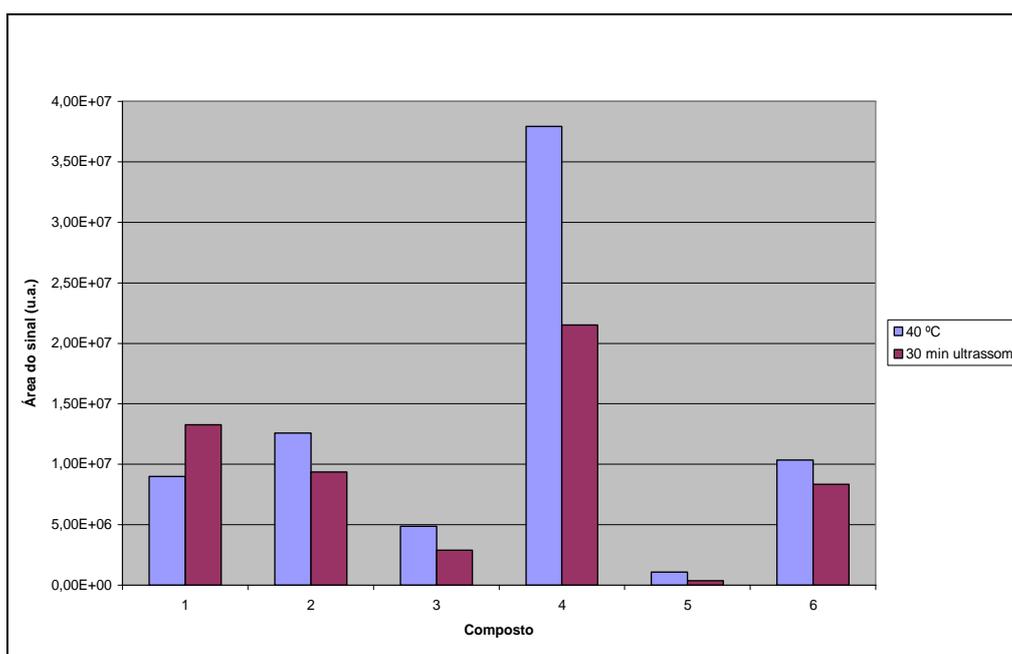


Figura 14: Comparação entre os efeitos da temperatura de extração e utilização de ultra-som com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

Ao comparar a melhor condição de temperatura (40 °C) com a melhor de ultra-som (30 min.) obtida, observa-se que a primeira tem um efeito mais significativo na sensibilidade da técnica. Além disso, o uso de tempos maiores de ultra-som tornaria a técnica demorada, se comparada com o tempo de 20 min. de equilíbrio a 40 °C. Com exceção do composto número 1, todos os demais tiveram melhor resposta do detector quando empregada a temperatura de 40 °C, ao se comparar com a utilização de ultra-som.

4.2.8 Temperatura *versus* ultra-som e adição de NaCl

Na Figura 15 está demonstrado o comparativo realizado entre os efeitos da temperatura *versus* ultra-som e NaCl.

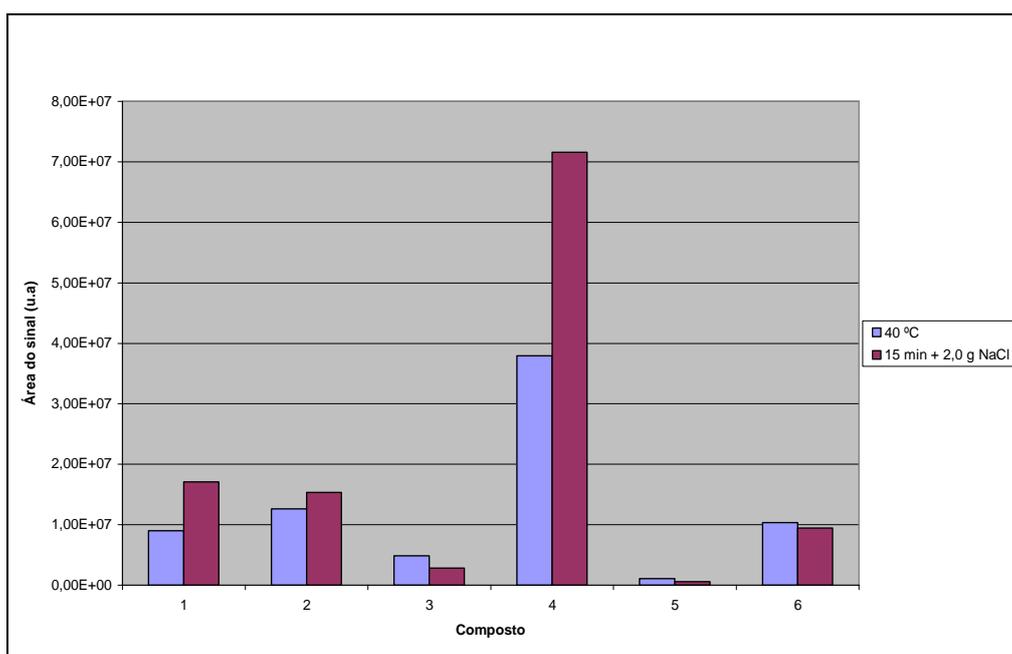


Figura 15: Comparação entre os efeitos da temperatura de extração e utilização de ultra-som em combinação com adição de NaCl com fibra DVB-CAR-PDMS. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

Conforme verificado em 4.2.5, a adição de NaCl à amostra provoca um incremento na quantidade de analito extraída. Quando comparado com o efeito da temperatura, percebe-se que a utilização de ultra-som juntamente com a adição de NaCl provoca um aumento de sensibilidade superior à primeira. Isto foi verificado para os compostos, cujos picos cromatográficos apresentaram maior intensidade, **1**, **2** e **4**. Conforme já relatado, a utilização de ultra-som também favorece a dissolução de todo o NaCl adicionado na amostra, o que não acontece com o simples aquecimento da mesma nos tempos utilizados para análise.

Os resultados até aqui demonstraram que a técnica de SPME é bastante sensível às condições de amostragem e de extração. Para os analitos em investigação, um balanço entre tempo de equilíbrio e de extração viáveis de análise e sinais analíticos representativos para o conjunto de compostos deve ser levado em conta. Em termos de fibras, a DVB-CAR-PDMS foi a que, de uma forma global, permitiu uma pré-concentração mais eficiente dos analitos. Tempos de equilíbrio relativamente curtos (20 min.), de extração mais longo (40 min.) e temperatura relativamente baixa (40 °C) permitem conduzir a SPME em tempo exequível de análise com bom nível de detecção. Outros parâmetros como o uso de ultra-som ou a adição de NaCl afetam também a análise. No presente trabalho, o efeito da adição de adsorventes no

vial de amostragem configura-se como uma proposta de parâmetro complementar a afetar o equilíbrio entre as fases presentes no sistema, o que será objeto de discussão a seguir.

4.3 Avaliação preliminar do efeito da adição de adsorventes

Foram avaliados os efeitos da adição de três diferentes tipos de adsorventes: (i) sílica; (ii) alumina e (iii) magnésia. Sílica apresenta sítios ácidos de Brønsted (grupos silanol). Alumina é de caráter anfótero, podendo apresentar sítios ácidos e básicos de Lewis. Óxido de magnésio caracteriza-se por um caráter básico. O objetivo da utilização desses componentes foi o de promover uma interação potencial de alguns compostos na fase líquida da matriz, alterando, conseqüentemente a composição do *headspace*. Sílica granulada ($S_{BET} = 640 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$; $d_p = 22 \text{ \AA}$ e $V_p = 0.20 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) foi inicialmente avaliada. A Figura 16 mostra o efeito da adição de 1,5 g de sílica granulada sobre a performance de extração dos analitos de referência.

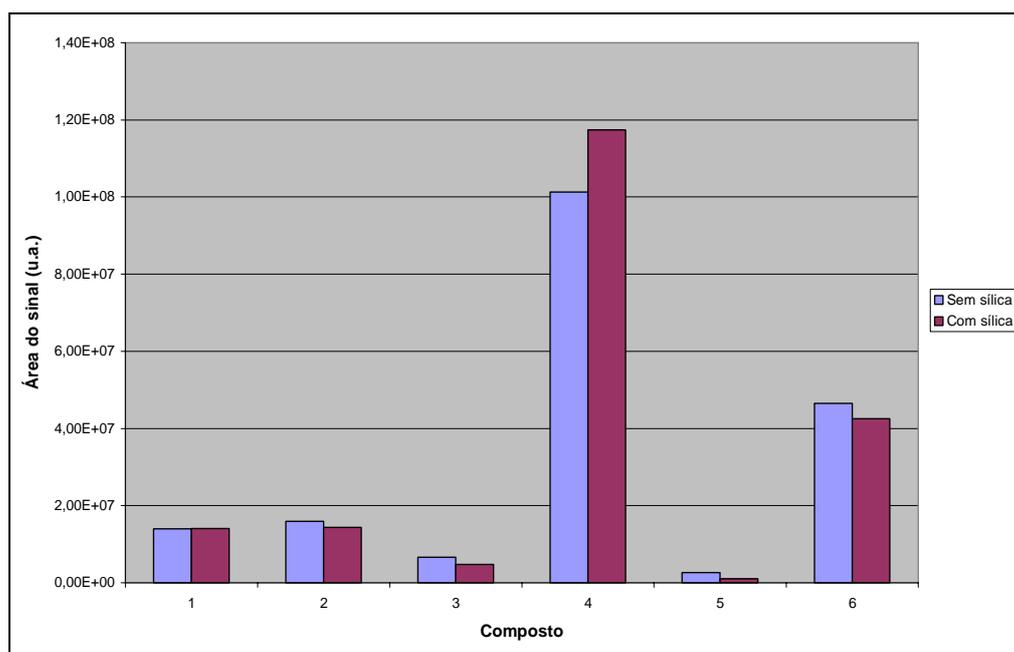


Figura 16. Efeito da adição de sílica granulada na pré-concentração dos analitos. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 16, o efeito da adição de sílica acarretou variações distintas conforme o analito. Por exemplo, para o composto 1, praticamente não desempenhou nenhum efeito, mas aumentou a área do pico cromatográfico para o composto 4, enquanto para os demais, houve redução na quantidade adsorvida na fibra.

O estudo exploratório do potencial efeito de adsorventes foi realizado com três óxidos: sílica, alumina e magnésia. A Tabela 8 apresenta características texturais desses adsorventes, determinado por adsorção de nitrogênio e calculados pelos métodos BET e BJH.

Tabela 8. Dados texturais dos adsorventes utilizados.

Adsorvente	S_{BET} ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	d_p (Å)	V_p ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)
SiO ₂	180	115	0,4
Al ₂ O ₃	140	40	0,2
MgO	10	10	0,002

Sílica e alumina apresentam áreas específicas comparáveis. Contudo, magnésia apresenta área extremamente baixa. Por sua vez, sílica apresenta diâmetro de poro mais elevado. Além das diferenças texturais entre os três suportes, a própria natureza ácida ou básica da superfície pode influenciar na interação dos analitos com esses adsorventes. Uma avaliação da potencialidade do uso de adsorventes foi realizada e é apresentada na Figura 17.

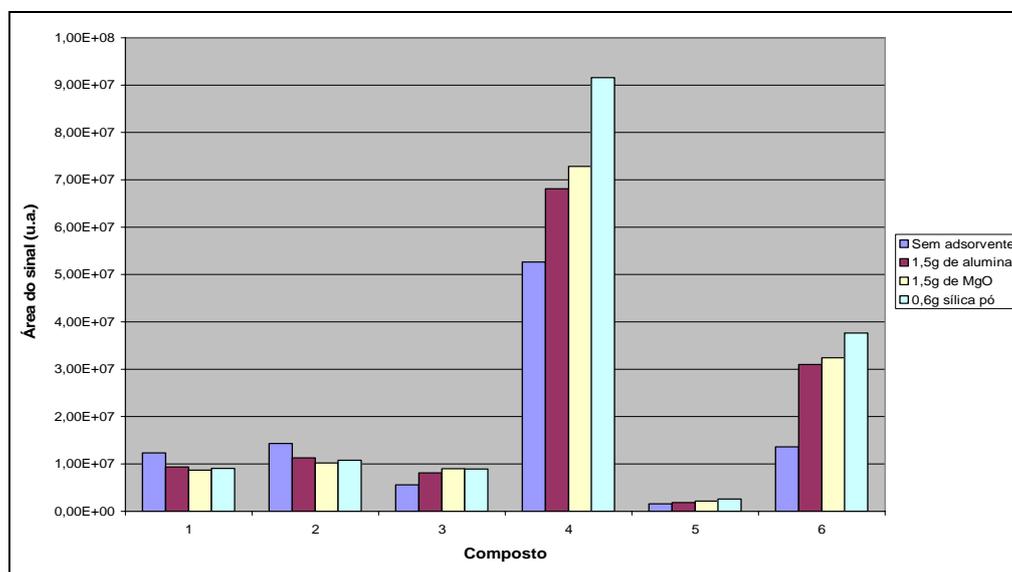


Figura 17: Efeito da adição de adsorventes na intensidade do sinal dos analitos investigados. (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

A introdução do adsorvente no sistema acarretou a diminuição da concentração no *headspace* dos analitos acetato de isoamila e do hexanoato de etila, sugerindo sua maior afinidade pelos sítios adsorventes. Contudo, para os demais compostos, um incremento de

concentração na fibra pode ser observado. Uma das razões, poderia ser a maior disponibilidade de sítios potenciais de adsorção na fibra, pela diminuição da competição entre os compostos **1** e **2**, que aparentemente, tendem a interagir preferencialmente com os adsorventes.

De uma forma geral, observa-se que alumina, magnésia e sílica acarretam, em ordem crescente, um incremento dos compostos **3-6** no *headspace*. Um justificativa entre os suportes é ambígua, pois a massa empregada variou, além das propriedades químicas (acidez ou basicidade) e texturais dos adsorventes. Cabe salientar que a magnésia, embora tenha uma área específica extremamente baixa ($10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) e volume de poro praticamente nulo, desempenha um efeito positivo na intensidade dos analitos voláteis, superior ao da alumina, que possui valores de área específica e volume de poros mais elevados. Esses resultados sugerem que a natureza química do adsorvente é um fator importante. Por outro lado, sílica, que foi o suporte empregado em menor massa foi aquele que acarretou um maior aumento no sinal dos analitos **3-6**.

Assim, na tentativa de elucidar o efeito desses parâmetros (natureza química, propriedades texturais, morfologia), inicialmente foi avaliado o efeito da quantidade de sílica no sistema, empregando diversos valores de massa de adsorvente compreendidas entre 0 e 500 mg (Figura 18).

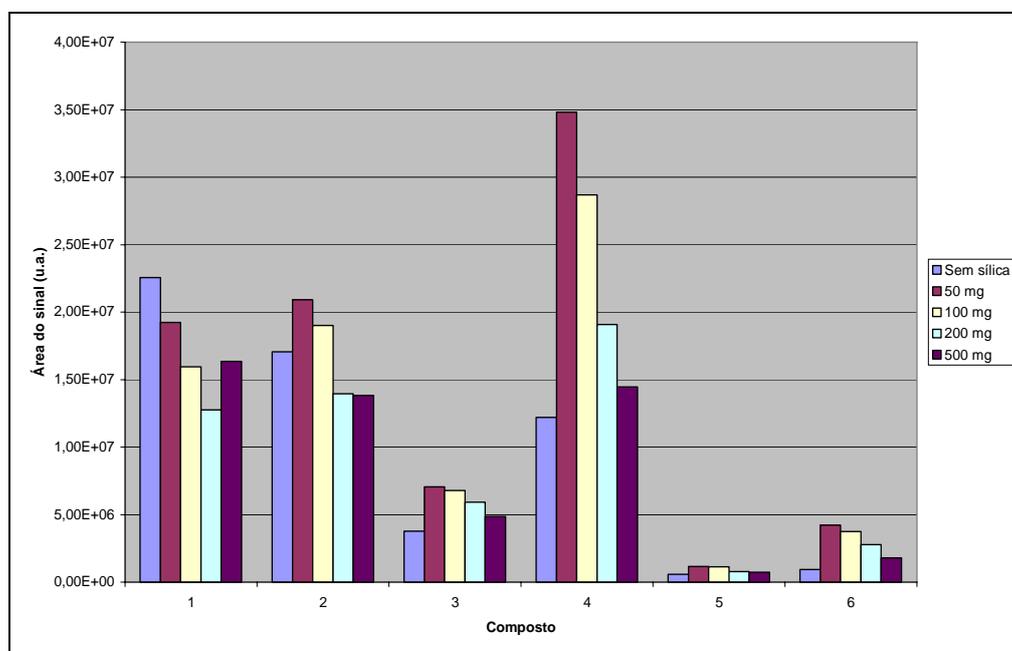


Figura 18: Efeito da massa de sílica Aerosil na intensidade do sinal dos analitos investigados no perfil de extração. **(1)** acetato de isoamila; **(2)** hexanoato de etila; **(3)** álcool fenil etílico; **(4)** octanoato de etila; **(5)** acetato de 2-feniletila; **(6)** decanoato de etila.

De acordo com a Figura 18, excetuando-se o composto **1**, 50 mg de sílica acarretou um aumento do sinal do analito. Especificamente, no caso do analito octanoato de etila, a intensidade do sinal praticamente triplicou. Contudo, um aumento suplementar na massa de adsorvente implicou uma redução do sinal no *headspace*, sugerindo que os analitos em questão, passam provavelmente também a serem adsorvidos sobre esses óxidos.

Esses resultados demonstraram que a adição de um componente suplementar no sistema acarreta modificações nos equilíbrios entre as diversas fases presentes no vial, influenciando a quantidade de analito pré-concentrado na fibra de SPME. Dessa forma, na seqüência desse trabalho, o efeito de uma série de adsorventes, dotados de diferentes propriedades texturais, morfológicas e químicas foi avaliado na pré-concentração desses analitos. A seguir, as características texturais e morfológicas dos adsorventes utilizados são discutidas.

4.4 Características morfológicas e texturais dos adsorventes

A interação dos analitos com adsorventes pode ocorrer através de interações de natureza física ou química. No primeiro caso, características texturais como área específica, volume e diâmetro de poro são propriedades importantes que afetam a disponibilidade de sítios de adsorção, bem como a acessibilidade a poros existentes nos materiais. A Tabela 9 apresenta os dados texturais das sílicas empregadas.

Tabela 9. Propriedades texturais das sílicas comerciais e sintetizadas.

Adsorvente	Área específica (m ² g ⁻¹)	Volume poro (cm ³ g ⁻¹)	Diâmetro de poro (Å)
Grace 948	263 ± 3,3	0,0242	279
PQ CS2-133	350 ± 4,2	0,0444	272
ES 70X	255 ± 3,2	0,0334	20
ES 70	204 ± 4,1	0,0309	35
EP 10X	333 ± 2,2	0,4444	53
Hidrolítica	650 ± 3,9	0,6970	52
Não-hidrolítica	195 ± 10,3	0,0728	38
Aerogel	600 ± 2,8	0,4300	78

As sílicas comerciais apresentam valores de área específica relativamente elevada, na faixa de 200 a 350 m² g⁻¹. Contudo, distinguem-se dois grupos de adsorventes, em termos de diâmetro de poro: macroporosos (Grace 948 e PQ CS2-133), e as demais mesoporosos. No caso de sílicas sintetizadas, a Aerogel combina elevada área específica com diâmetro de poro elevado. A sílica sintetizada pelo método sol-gel hidrolítico possui a maior área específica dentre as sílicas investigadas.

As propriedades dos materiais mesoporosos cristalinos, incluindo zeólitas, encontram-se apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10. Propriedades texturais dos materiais mesoporosos.

Adsorvente	Área específica (m ² g ⁻¹)	Volume poro (cm ³ g ⁻¹)	Diâmetro de poro (Å)
MCM-41	958 ± 18	0,158	25
SBA-15	518 ± 0	0,158	50
ITQ-2	723 ± 8	0,124	15
NaY	360 ± 24	0,1917	22
Mordenita	374 ± 44	0,1687	33
Beta	266 ± 10	0,0760	51
ZMS-5	510 ± 24	0,2300	26
Crisotila natural	23 ± 0	0	44
Crisotila lixiviada	294 ± 14	0	48

Os mesoporosos utilizados apresentam elevada área específica, embora o diâmetro de poro venha a ser em média inferior ao das amostras de sílicas. As zeólitas avaliadas possuem área específica na faixa de 260 – 520 m² g⁻¹, com diâmetro de poro variando entre 22 e 51 Å. Por outro lado, a crisotila natural apresenta uma área específica extremamente baixa (23 m² g⁻¹). No entanto, sua área específica aumenta após tratamento ácido, que permite retirar a camada externa de brucita (Mg(OH)₂). A análise por difração de raios-X, antes e após a lavagem ácida, confirma essa remoção.

As amostras de crisotila nativa e crisotila após o tratamento ácido (lixiviada) foram caracterizadas através de análise de Difração de Raios-X (Figura 19).

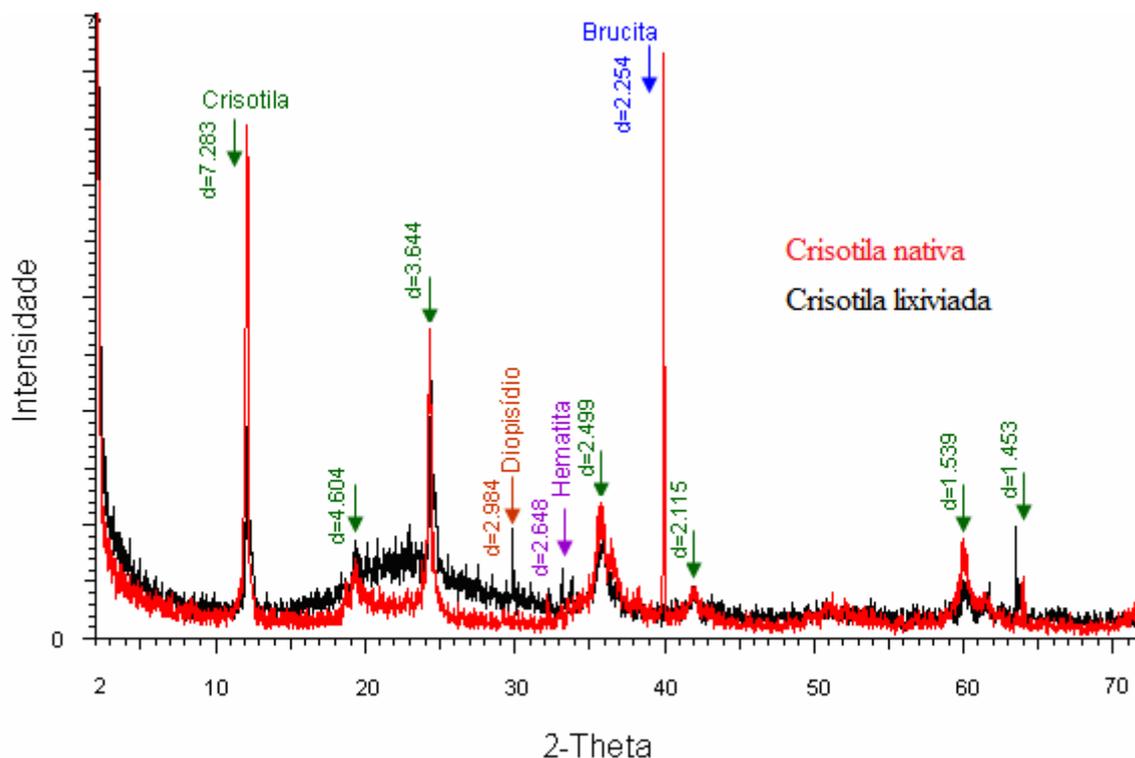


Figura 19. Sobreposição dos difratogramas de crisotila nativa e crisotila lixiviada.

O difratograma da crisotila pura apresenta sinais característicos deste material, como a presença de sinais de crisotila ($3\text{MgOSiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e brucita ($\text{Mg}(\text{OH})_2$). Após o tratamento com ácido, a crisotila apresenta a perda do sinal correspondente à brucita. Geralmente, o que ocorre é a perda total da elasticidade característica da crisotila, ou seja, perda da forma de fibra, resultando em uma sílica amorfa [101-103]. A análise de difração da amostra evidencia que as características iniciais do material não foram completamente removidas, embora a crisotila tratada se apresente como um material mais amorfo, sua estrutura continua sendo do mineral crisotila, apresentando apenas a perda da brucita. Na crisotila lixiviada observa-se a presença de um sinal referente ao diopisídido (CaMgSiO_6). Hematita deve ser oriunda de eventual ocorrência natural ou contaminação.

A modificação de sílica com sais de Ag e Cu, para fins de inclusão de sítios ácidos de Lewis sobre a superfície da fase, acarretou redução na área específica do suporte de partida (vide Tabela 11), sugerindo que a deposição desses metais possa ter ocorrido na entrada desses poros.

Tabela 11. Análise das propriedades texturais da sílica modificada com metal.

Teor de metal (%)	Área específica (m ² g ⁻¹)	
	Cu	Ag
0	646	646
10	578	454

Os resultados demonstram que a adição do metal resulta em uma significativa queda da área específica, sendo que na sílica modificada com Ag essa queda é bem mais evidente que na sílica modificada com Cu. Não houve variações de volume e diâmetro de poros.

Redução na área específica foi também observada no caso de modificação de sílica com octadecilsilano por *grafting* (GR100). As sílicas híbridas obtidas pelo método sol-gel geraram materiais de baixa área específica.

Tabela 12. Análise das propriedades texturais da sílica modificada com organosilanos.

Sílica híbrida	Área específica (m ² g ⁻¹)
Wacker	280
GR100	160
SG100	10
SG50	7
SG10	8

A microscopia de força atômica (AFM) é uma técnica complementar que auxilia a caracterização da superfície de materiais micro- e mesoporosos. Essa técnica tem sido empregada para determinação de tamanho de partículas e o grau de rugosidade de sílicas.[104] No presente estudo, as imagens obtidas por AFM complementam os dados de adsorção de nitrogênio, através da elucidação das entradas dos poros, suas dimensões, tipo de relevo (fendas ou buracos) e morfologia das partículas. A Figura 20 apresenta a superfície de quatro tipos de sílicas.

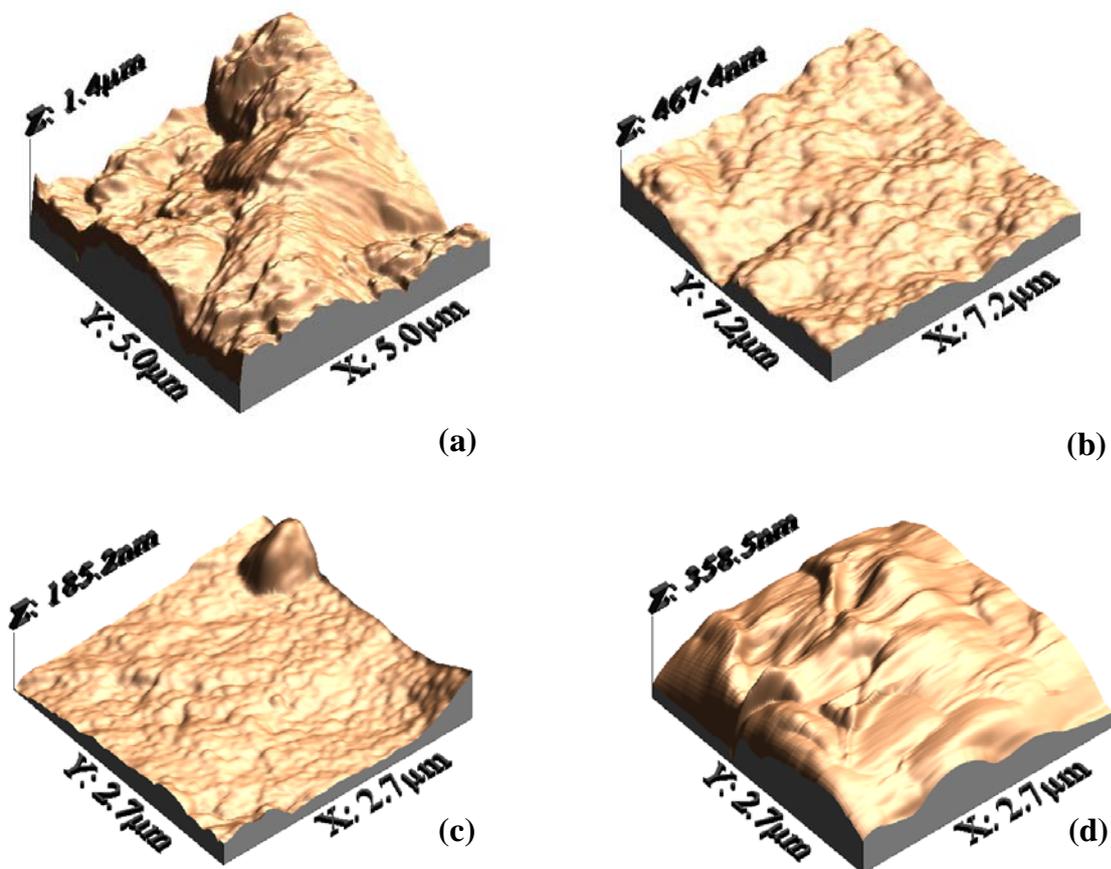


Figura 20. Micrografias de AFM da superfície de sílicas: (a) Sílica Grace 948; (b) Sílica aerogel; (c) sílica sintetizada por método sol-gel hidrolítico e (d) sílica sintetizada por método sol-gel não-hidrolítico.

De acordo com a Figura 20, a superfície da sílica Grace 948 apresenta homogeneidade na forma dos grãos e dos poros. Os mesoporos nesses sistemas possuem a forma de fenda, com largura média de 130 Å, confirmando os valores calculados pelo método BET. A sílica Aerogel apresentou um perfil distinto: um grande número de pequenos fragmentos ao redor de fragmentos maiores. Esse delineamento confere uma grande quantidade de partículas e fendas, que aumentam a área específica, apesar dos mesoporos serem da ordem de 80 Å. Finalmente, as imagens das sílicas obtidas pelos métodos hidrolítico e não-hidrolítico são bastante esclarecedores. Na sílica obtida pelo método hidrolítico, dotada de elevada área específica ($650 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), observa-se uma superfície rugosa, composta por pequenas partículas, contendo mesoporos com diâmetros na faixa de 50 Å, enquanto a sílica preparada pelo método não-hidrolítico, a superfície é composta por partículas maiores, com uma superfície

menos ondulada, o que justifica sua menor área específica ($193 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). De acordo com medidas de AFM, o diâmetro de poro é em torno de 40 \AA (próximo a 38 \AA , calculado pelo método BET), provavelmente resultante da presença de fendas entre os grãos.

A Figura 21 apresenta as micrografias de AFM dos adsorventes mesoporosos.

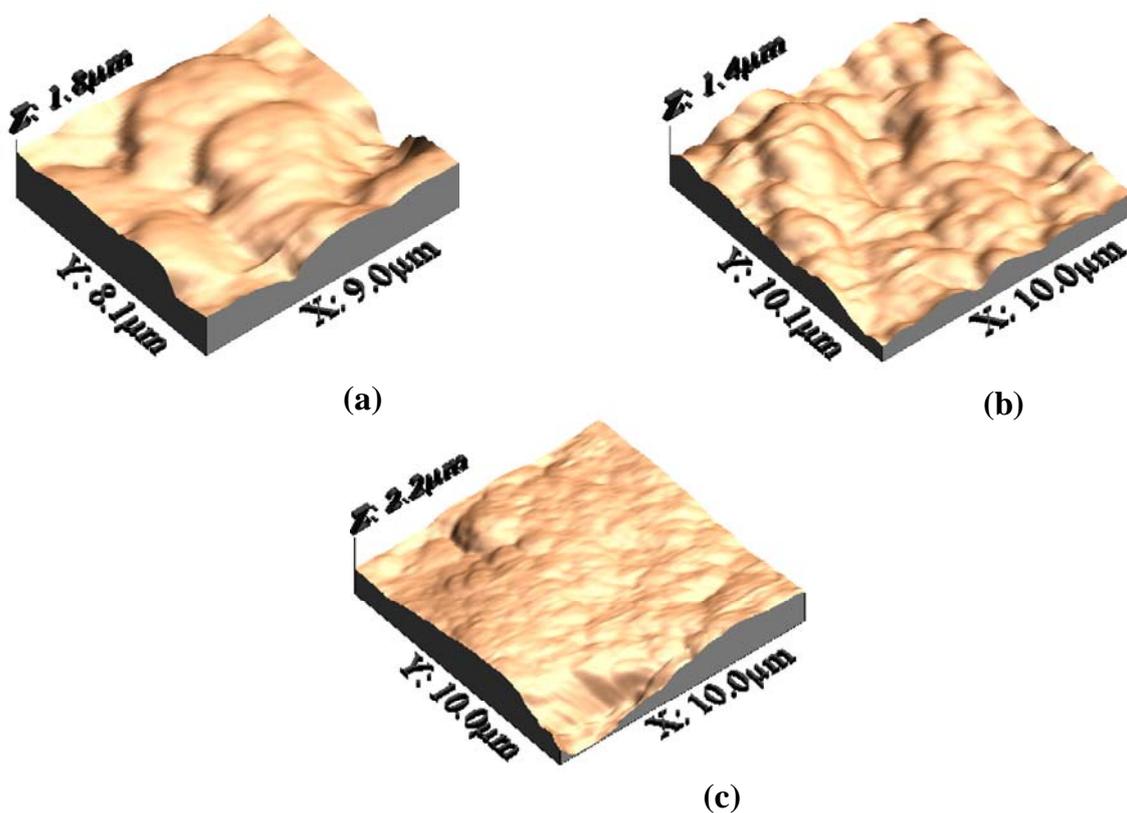


Figura 21. Micrografias de AFM da superfície de sílicas: (a) MCM-41; (b) SBA-15; e (c) ITQ-2.

Todos os três sistemas apresentam uma superfície bastante rugosa, coerente com a superfície elevada desses sistemas. Figura 22 apresenta as imagens de AFM das amostras de crisotila.

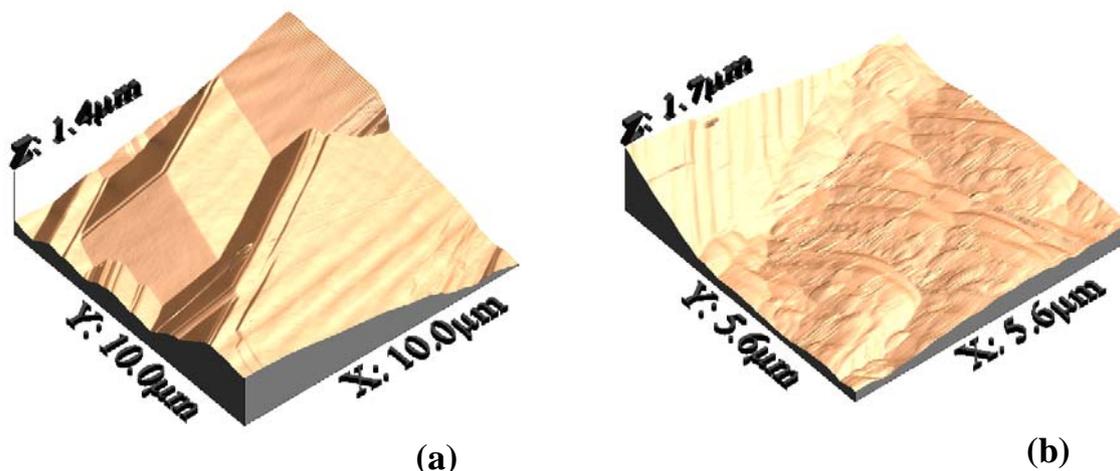


Figura 22. Micrografias de AFM da superfície de crisotila: (a) natural; (b) lixiviada.

De acordo com a Figura 22, a crisotila apresenta uma forma regular e simétrica na forma de folhas. As camadas de espessura da ordem de $0,2 \mu\text{m}$ são reduzidas para $0,13 \mu\text{m}$ após lixiviação. Contudo, a natureza fibriforme é preservada.

As sílicas híbridas, sintetizadas pelo método sol-gel foram também caracterizadas por AFM (vide Figura 23).

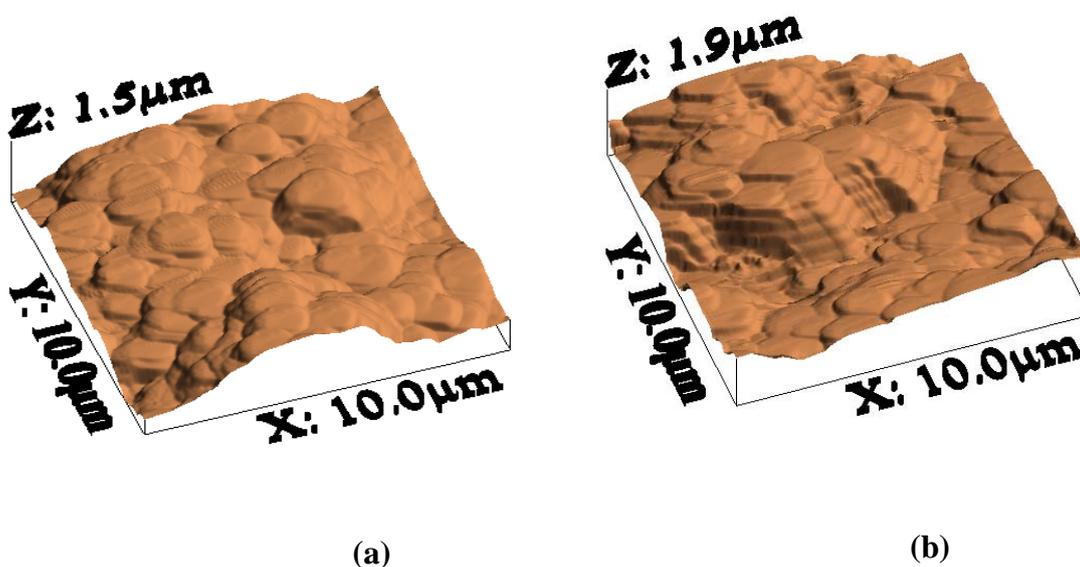


Figura 23. Micrografias de AFM da superfície de sílicas híbridas produzidas por método-gel, contendo octadecilsilano : (a) SG100; (b) SG10.

Pela análise das imagens de AFM da Figura 23, observa-se uma morfologia predominantemente esférica para as partículas do sistema SG100. O diâmetro médio das esferas de sílica foi estimado como sendo $1,2 \mu\text{m}$. Observa-se também, que essas partículas são formadas por partículas menores com diâmetro inferior a $0,2 \mu\text{m}$. Para o sistema SG10A,

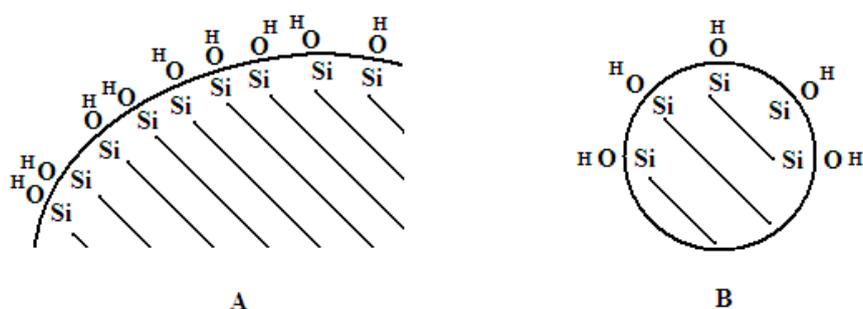
uma combinação de domínios esféricos e lamelares pode ser observada. Com o auxílio do programa computacional, o tamanho das lamelas foi estimado como sendo 4,5 μm com 200 nm de espessura. A distância entre as lamelas é de 48 nm.

A caracterização dos adsorvente permitiu calcular o diâmetro de partícula. A Tabela 13 apresenta esses resultados.

Tabela 13. Diâmetro de partícula dos adsorventes, determinado por AFM.

Adsorvente	Diâmetro de partícula (μm)
Grace 948	43
Hidrolítica	75
Não-hidrolítica	83
Aerogel	0,2
MCM-41	1,7
SBA-15	1,0
ITQ-2	1,0
Crisotila natural	0,2
Crisotila lixiviada	0,1

De acordo com a Tabela 13, as dimensões de partículas avaliadas abrangem uma variada gama de dimensões de partícula. A curvatura dessa partícula pode vir a influenciar a superfície de interação (Esquema 17).



Esquema 18. Curvatura das superfícies de adsorventes com partículas de diâmetro grande (A) e pequeno (B)

Em partículas de diâmetro grande (A), a curvatura aproxima-se de uma superfície quase plana. No entanto, em partículas pequenas (B), a interação intermolecular sobre a superfície é prejudicada pelo ângulo de curvatura [105].

A morfologia dos adsorventes foi complementarmente caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (SEM). A Figura 24 apresenta micrografias de sílicas comerciais empregadas. Nenhuma delas apresenta uma morfologia controlada (esférica, por exemplo). Contudo, a superfície apresenta-se bastante porosa, corroborando com os dados obtidos por adsorção de nitrogênio.

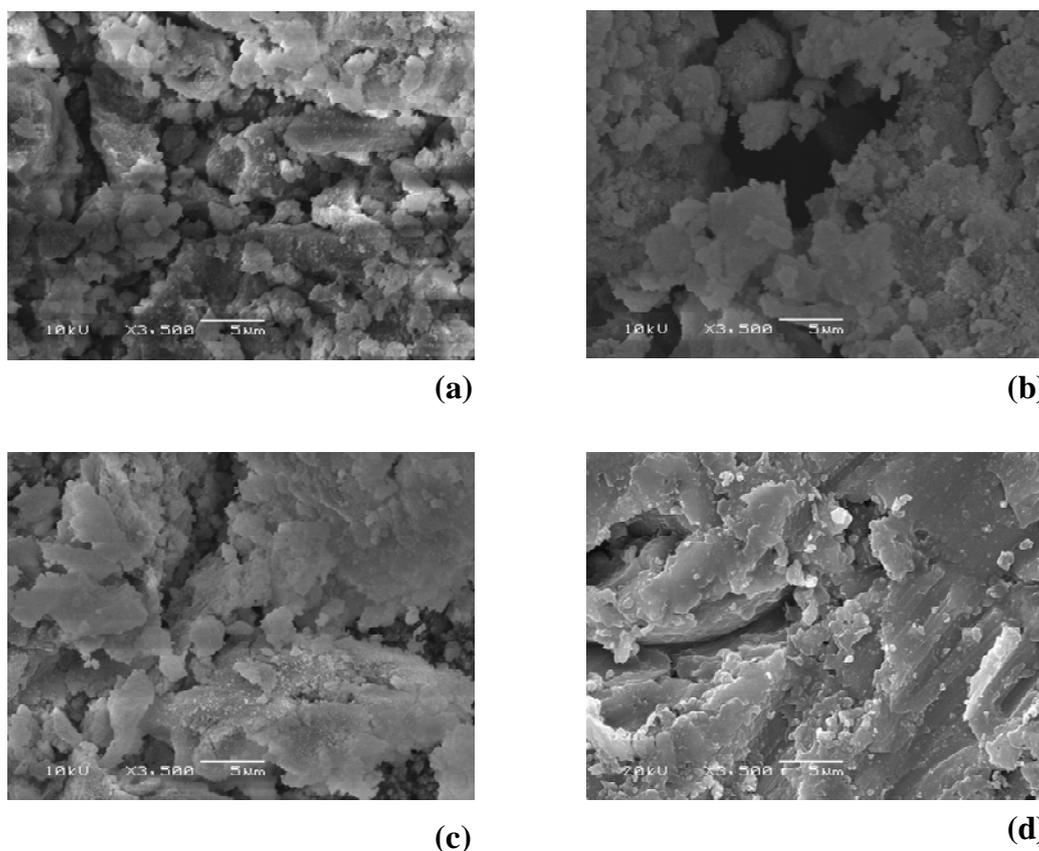
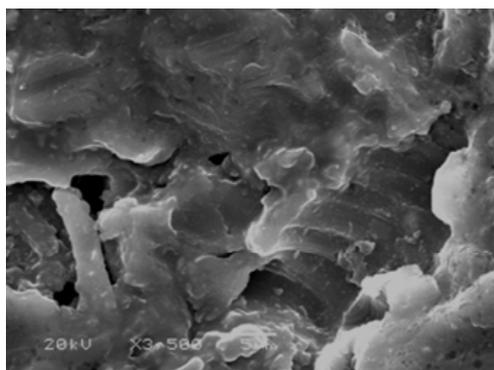
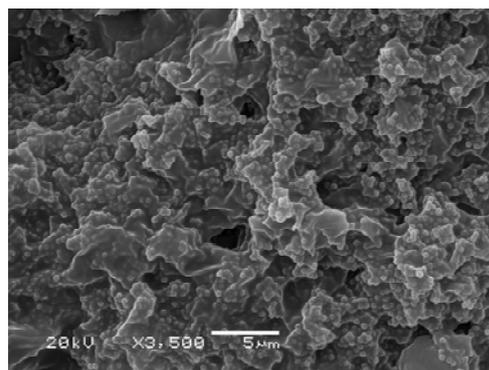


Figura 24. Micrografias de SEM da superfície de sílicas: (a) ES70; (b) ES70X; (c) ES10X; e (d) PQ-CS-2133.

No caso de sílicas híbridas (Figura 25), observam-se domínios laminares, provavelmente associados à presença dos grupos orgânicos na superfície. Para a amostra SG10 (micrografia b), verifica-se nitidamente a presença de domínios esféricos e laminares, conforme já discutido na literatura [86]. A presença dessas lamelas encontra-se associada à concentração de octadecilsilano.



(a)



(b)

Figura 25. Micrografias de SEM da superfície de sílicas híbridas: (a) Sílica C16 (Degussa) e (b) SG10.

No caso da crisotila lixiviada, observa-se a natureza fibrilar da sílica resultante após remoção da camada de brucita (Figura 26).

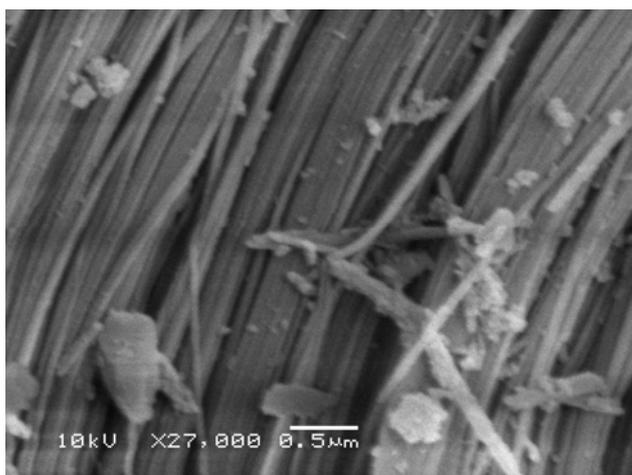


Figura 26. Micrografias de SEM da superfície de crisotila lixiviada.

A análise textural e morfológica dos adsorventes investigados na presente dissertação sugerem que suas diferentes características devem impingir um comportamento distinto durante o processo de extração e pré-concentração de SPME. A seção seguinte abordará os resultados dessas diversas famílias de adsorventes frente ao conjunto de analitos de interesse.

4.5 Efeito dos adsorventes na SPME

O adsorvente no sistema de SPME desempenha o papel de uma superfície adicional para interação dos analitos presentes na matriz de cerveja. Os adsorventes avaliados diferem nas propriedades texturais, morfológicas e químicas. No caso das propriedades texturais, diferenças em área específica e diâmetro de poro podem facilitar ou dificultar a adsorção de determinados analitos. Contudo, a natureza química da superfície desempenha também um papel importante, na capacidade de adsorver ou não, determinados analitos através da interação de grupos funcionais presentes tanto na molécula-alvo, como na superfície do adsorvente. Dessa forma, os adsorventes avaliados, e a seguir discutidos, foram agrupados de acordo com propriedades e finalidades comuns:

(i) sílicas, dotadas de diferentes propriedades texturais, sintetizadas através de diversas rotas;

(ii) sílicas funcionalizadas com grupos orgânicos, de cadeia longa, que possam atuar no equilíbrio da distribuição entre a cadeia orgânica (octadecil ou hexadecil) e o seio da solução da amostra, através de mecanismo de partição;

(iii) sílicas funcionalizadas com metais (Ag e Cu), que possam atuar como sítios ácidos de Lewis, promovendo a adsorção preferencial de moléculas eletronegativas;

(iv) materiais mesoporosos e zeólitas, de estrutura cristalina, que permitem, através de seletividade de forma, a adsorção preferencial de moléculas de determinadas dimensões ou geometrias;

(v) material laminar, nanoestruturado (crisotila), que pode também atuar de forma seletiva na adsorção preferencial de moléculas dotadas de determinada geometria.

A seguir, os resultados de SPME em presença de cada uma dessas famílias de adsorventes serão discutidos. Para todos os sistemas, um branco (ausência do adsorvente) foi realizado antes de efetuar cada série de medidas com os sólidos. A reprodutibilidade foi avaliada em triplicata para alguns sistemas e o desvio padrão observado foi inferior a 8 %.

4.5.1 Efeito de sílicas comerciais e sintéticas na SPME

A Figura 27 apresenta os resultados de extração e pré-concentração para o conjunto de sílicas comerciais e sintéticas, obtidas por diversas rotas de síntese.

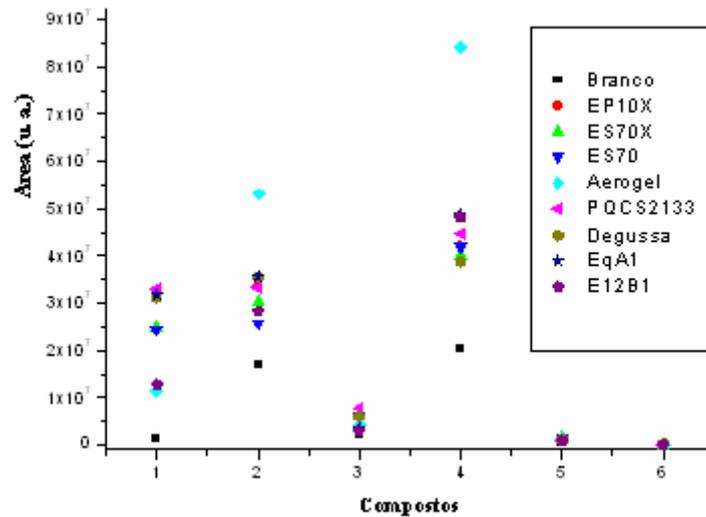


Figura 27. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas comerciais e sintéticas. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

A presença de sílica no vial de SPME afetou a presença de todos os analitos de referência. Para esses compostos, um aumento na concentração na fibra pode ser observado, com exceção do composto 6.

Para um dado composto, a natureza da sílica parece afetar a quantidade retida na fibra. Especificamente para o composto acetato de isoamila, um aumento significativo no sinal (cerca de 20 vezes maior que o sinal da amostra sem adsorvente) pode ser observado para as sílicas PQCS2133, EqA1, EP10x e Degussa, conforme demonstrado na Figura 28. Nesta figura, ao compararmos os efeitos produzidos pela adição das sílicas EqA1 e EP10x no sistema SPME, observa-se um aumento na intensidade do sinal do composto o acetato de isoamila, porém, para o composto hexanoato de etila uma redução do mesmo é observada. Ainda que a cerveja seja uma matriz complexa, contendo vários compostos que possam estar concorrendo pela adsorção sobre os sítios da sílica, verifica-se no presente sistema que esse par de composto é particularmente afetado: o incremento do sinal do acetato de metila é acompanhado pela redução do sinal do decanoato de etila.

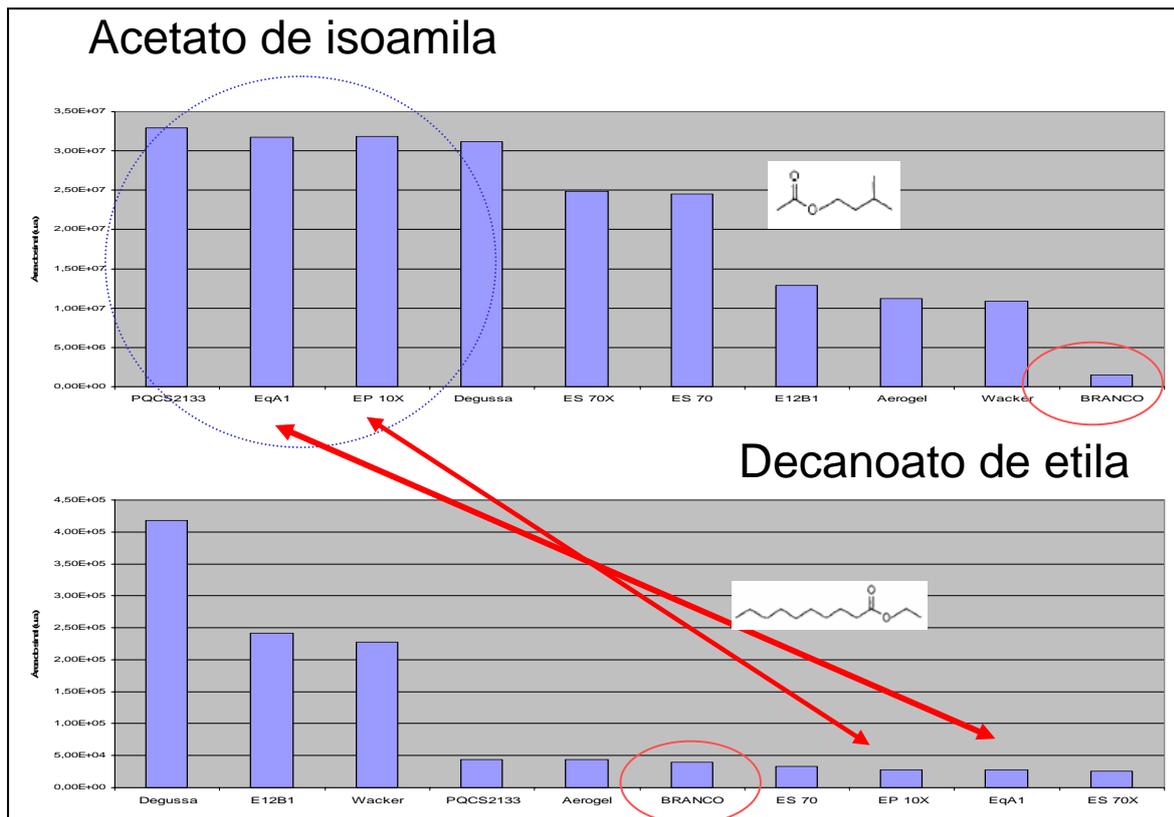


Figura 28. Efeito da adição de sílica ao sistema SPME para os compostos acetato de isoamila e hexanoato de etila.

A Figura 29 relaciona a intensidade do sinal para os seis analitos com a rota de preparação da sílica.

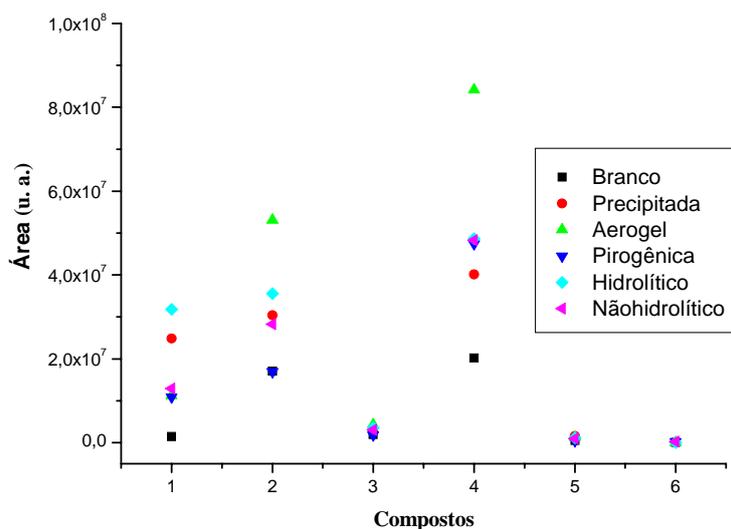


Figura 29. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica obtidas por diversas rotas de síntese. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

A natureza da sílica, em termos de rota sintética, parece influenciar diferentemente cada analito. Para o composto **1**, a adição de uma sílica hidrolítica aumenta sua concentração na fibra, enquanto para o composto **2**, a sílica aerogel acarreta um aumento maior de pré-concentração. De toda forma, trata-se de sílicas que apresentam uma área específica elevada. Uma análise dos resultados para o composto acetato de isoamila em função da área específica da sílica, independentemente de sua rota de preparação é apresentada na Figura 30.

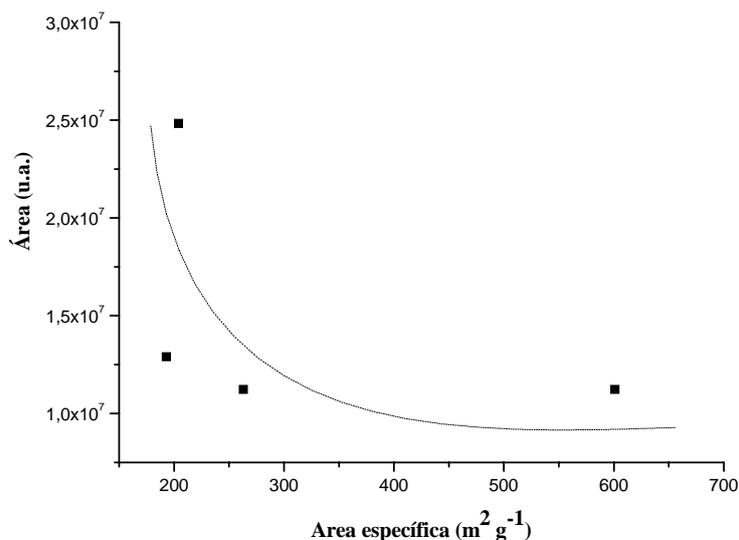


Figura 30. Concentração do acetato de isoamila adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas, dotadas de diferentes valores de área específica.

De acordo com a Figura 30, para o acetato de isoamila, um aumento na área específica diminui a concentração do analito na fibra. Esse comportamento sugere que esse composto pode estar adsorvendo sobre a superfície da sílica, reduzindo assim, sua concentração na fibra de SPME. No caso da sílica sintetizada pela rota sol-gel hidrolítica, apesar de sua área específica elevada, observa-se um alto valor de analito pré-concentrado. Uma análise das características texturais desse adsorvente revelam que essa sílica é dotada de um diâmetro de poro relativamente pequeno (52 Å). A reduzida acessibilidade a esses poros, apesar da elevada área específica, deve dificultar o acesso aos sítios de adsorção a esse analito, favorecendo assim sua migração ao *headspace* do vial, e posteriormente, aos sítios de adsorção da fibra DVB-CAR-PDMS. Esse comportamento indica que não apenas a área específica desempenha um papel importante no processo de extração e pré-concentração, mas o diâmetro de poro do material pode influenciar nos teores de analitos na fibra de SPME. A

Figura 31 relaciona o teor de acetato de isoamila pré-concentrado em função do diâmetro do poro das sílicas adicionadas no *vial* de SPME.

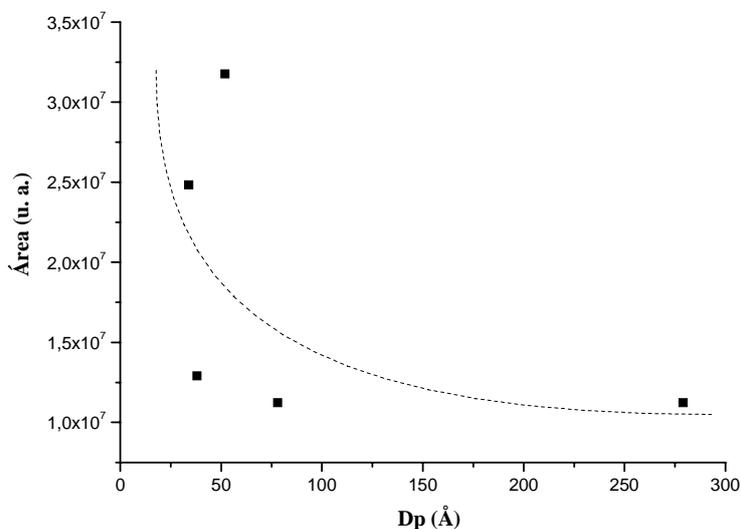


Figura 31. Concentração do acetato de isoamila adsorvido na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas, dotadas de diferentes valores de diâmetro de poro.

De acordo com a Figura 31, existe uma tendência de diminuição na intensidade do sinal de analito detectado na fibra de SPME à medida que aumenta o diâmetro de poro da sílica. Conforma anteriormente comentado, um aumento no diâmetro de poro facilita o acesso do analito aos sítios de adsorção do material, reduzindo por sua vez, sua concentração no *headspace*, e conseqüentemente na fibra.

Para o álcool fenil etílico, nenhuma correlação explícita entre teor determinado por SPME e propriedades texturais das sílicas pode ser estabelecida. Para esse composto, dotado de uma hidroxila em sua estrutura, a interação com grupos silanóis na superfície da sílica parece ser o fator preponderante. Conforme apresentado na Figura 27, a adição de diferentes sílicas não acarretou nenhum aumento significativo de sinal de analito pré-concentrado.

Uma análise comparativa do comportamento dos compostos hexanoato de etila (**2**) e octanoato de etila (**4**) pode revelar a influência do efeito estérico ou do peso molecular do analito nesse processo competitivo de adsorção. A Figura 32 ilustra o efeito da área específica nos sinais entre esses dois compostos. Para fins comparativos, dados referentes ao acetato de isoamila (**1**) são também incluídos.

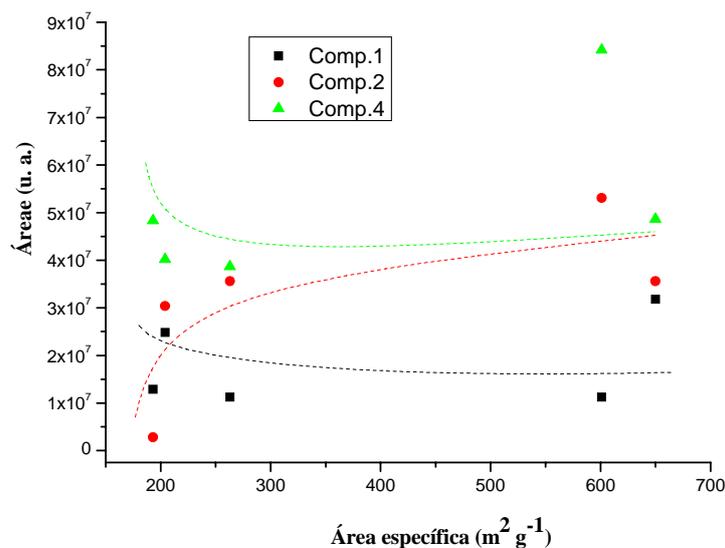


Figura 32. Concentração dos analitos acetato de isoamila (1), hexanoato de etila (2) e octanoato de etila (4) adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas, dotadas de diferentes valores de área específica.

A análise comparativa da concentração desses três compostos na fibra de SPME sugere uma competição pelos sítios de adsorção. Para esse tipo de adsorvente, o aumento da área específica da sílica favorece a adsorção do acetato de isoamila e do octanoato de etila. Em presença desses dois compostos, o hexanoato de etila permanece preferencialmente nas outras fases do vial, resultando em um aumento de seu sinal na fibra. No caso da competição pelos sítios de adsorção entre os compostos 2 e 4, não se pode negligenciar a maior concentração desse último, que por sua vez deve garantir um deslocamento do equilíbrio, favorecendo sua adsorção preferencial sobre o adsorvente.

4.5.2 Efeito de sílicas híbridas comerciais e sintéticas na SPME

Sílicas híbridas dispõem de grupos funcionais orgânicos que interagirão diferentemente de grupos silanóis, usualmente presentes na superfície sílica. A Figura 33 apresenta os dados de SPME para uma sílica e uma sílica modificada com grupos hexadecilsilano na superfície.

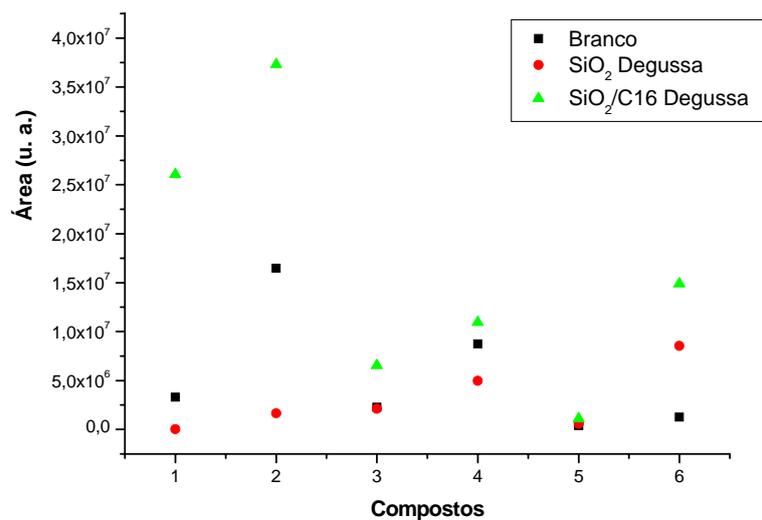


Figura 33. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica híbrida comercial. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

Com a adição de sílica, ocorreu uma redução do sinal após SPME para todos os compostos, provavelmente porque os analitos interagiram preferencialmente com a superfície do adsorvente. Contudo, a utilização de suportes com grupos alifáticos (apolares) propiciou um aumento na sensibilidade de detecção de todos os compostos. A natureza hidrofóbica dos grupos alifáticos na superfície da sílica deve ter favorecido a interação (por partição) com outros compostos presentes na matriz de cerveja ou induzido a migração desses analitos para o *headspace*, e conseqüentemente para a adsorção sobre a fibra de SPME.

De acordo com a Figura 33, o sinal dos compostos **1** e **6** foi seletivamente incrementado em relação aos demais analitos, com um aumento de intensidade do sinal de cerca de oito e doze vezes, respectivamente. Esses resultados sugerem que para esse tipo de matriz, adsorventes modificados com grupos apolares podem desempenhar um papel seletivo na pré-concentração de determinados analitos. No caso dos ésteres, o aumento ou atenuação da intensidade do sinal cromatográfico pode estar relacionada com o tamanho da cadeia alifática do ester, conforme demonstrado na Figura 34. De acordo com a Figura 34, para o hexanoato de etila a atenuação do sinal é de aproximadamente dez vezes, enquanto que, para o decanoato de etila ocorre um incremento do mesmo.

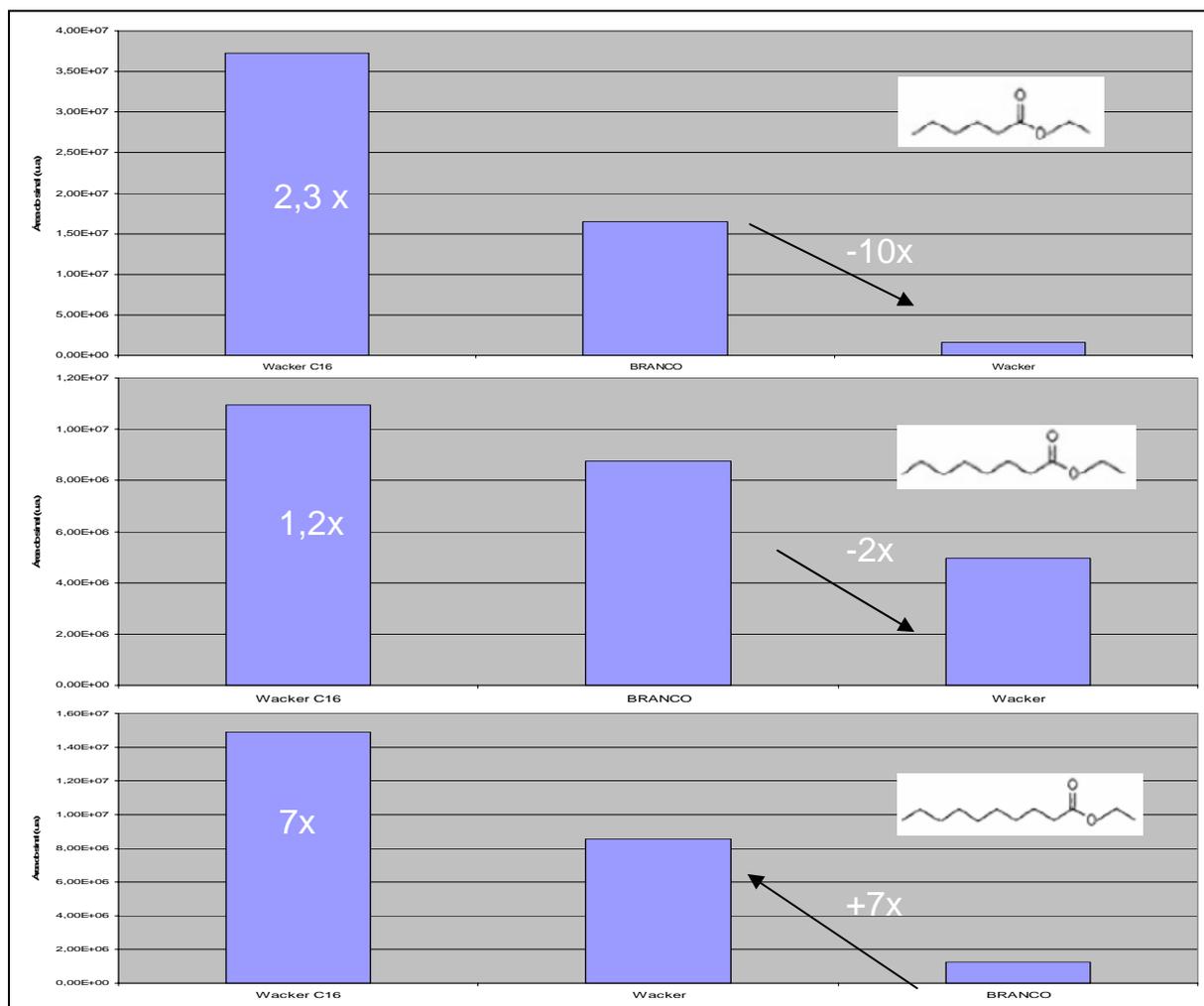


Figura 34. Relação entre o tamanho da cadeia do ester, tipo de sílica e intensidade do sinal cromatográfico

Sílicas híbridas sintetizadas em laboratório, dotadas de grupos octadecilsilano, preparadas pelo método sol-gel e *grafting* foram também avaliadas no presente estudo. Na Figura 35, os resultados de sílica obtida pelo processo sol-gel (SG), empregando diversas razões tetraetoxisilano (TEOS) e octadecilsilano (ODS) são apresentados. SG100 corresponde a uma sílica, obtida com 100% de TEOS, ou seja, isenta de grupos ODS na superfície. Nesse caso, o material resultante é uma sílica, dotada com grupos silanol, e alguns grupos etoxi (2,5 % de C), residuais do processo de síntese.

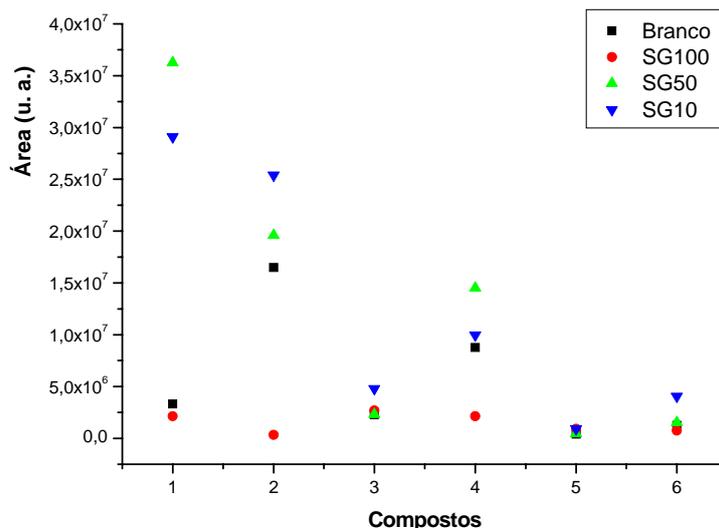


Figura 35. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica híbrida sintetizada pelo método sol-gel contendo diferentes teores de TEOS: SG100, SG50 e SG10, significa, respectivamente 100, 50 e 10% de TEOS na síntese. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De uma forma geral, a adição de sílica obtida pelo método sol-gel (SG100) levou a uma redução do sinal, comparando os resultados àqueles referentes à ausência de adsorvente (branco). Como no caso de suportes anteriores, a presença de grupos silanois (e nesse caso, de etóxi também), sugere uma adsorção preferencial desses analitos sobre a superfície do adsorvente. Por outro lado, para os demais adsorventes houve um aumento no sinal de pré-concentração dos analitos pré-concentrados na fibra. A exemplo do que ocorreu no caso de sílicas híbridas comerciais (Figura 33), a sensibilidade frente ao composto acetato de isoamila foi seletivamente aumentada. Além disso, observou-se uma variação na intensidade do sinal detectado de acordo com o teor de octadecilsilano. Comparando ambas as sílicas SG50 e SG10, a primeira contém 5,1% de C, enquanto a segunda, 19 % C. Nesse caso, a adição de adsorvente com maior teor de carbono (SG10) favoreceu a pré-concentração do hexanoato de etila, enquanto a SG50 levou a uma maior intensidade de acetato de isoamila na fibra.

De acordo com a discussão acima, a presença desses grupos funcionais na superfície pode causar a interação preferencial de outros compostos dotados de grupos apolares ou pode induzir a migração dos analitos polares para demais fases (permanecer na matriz ou deslocar-se para o *headspace*). Contudo, não se pode negligenciar que a textura da superfície é alterada pela presença desses grupos volumosos (ODS), dificultando, por outro lado, a interação com poros do próprio suporte. A análise por AFM permite calcular a rugosidade da superfície. A

Figura 36 apresenta a correlação entre a rugosidade da superfície dessas sílicas híbridas produzidas pelo processo sol-gel e o sinal detectado após pré-concentração por SPME.

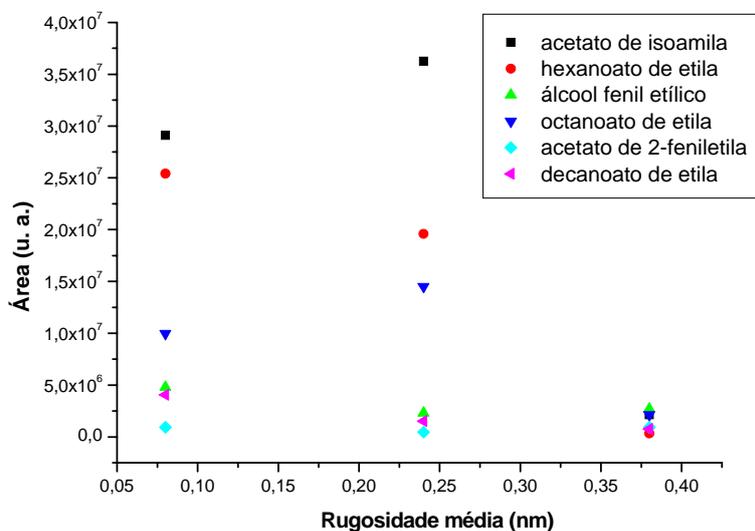


Figura 36. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílicas híbridas sintetizadas pelo método sol-gel, dotadas de diferentes rugosidades.

De acordo com a Figura 36, com a adição de adsorventes com rugosidade baixa obteve-se um teor mais significativo dos analitos na fibra de SPME. Por outro lado, um aumento da rugosidade deve permitir a existência de sítios de interação no suporte.

A Figura 37 avalia o efeito do método de preparação da sílica híbrida, sol-gel ou *grafting*, no teor pré-concentrado na fibra de SPME. Cabe lembrar que a sílica híbrida preparada pelo método sol-gel implica em sintetizar o material híbrido concomitante com a síntese da sílica, enquanto no caso de *grafting*, uma sílica comercial é funcionalizada com os ligantes orgânicos através de reação química com os grupos silanóis do suporte.

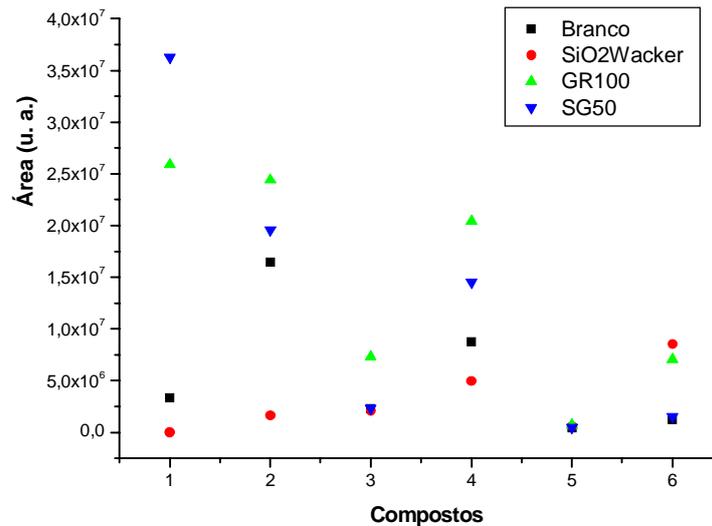
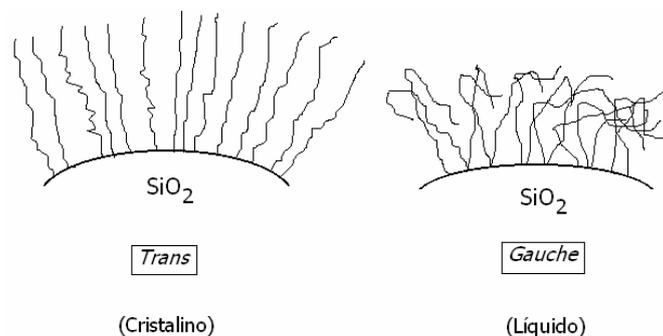


Figura 37. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica híbrida sintetizada pelo método sol-gel (SG) e *grafting* (GR). Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De acordo com a Figura 37, a sensibilidade na detecção do acetato de isoamila é aumentada no caso de adição de sílica preparada por método sol-gel, enquanto os compostos hexanoato de etila e octanoato de etila, a sílica preparada por *grafting*. As sílicas obtidas por ambos os métodos apresentam teores de octadecilsilano na mesma faixa de concentração (3,5 % C para GR100 e 5,0 % C para SG50). A diferença das duas sílicas híbridas, oriundas da rota de preparação, está na conformação das cadeias de C18. Para sílica preparada pelo método sol-gel, as cadeias apresentam-se em estado cristalino, altamente organizadas, enquanto para sílica preparada pelo método *grafting*, encontram-se emaranhadas, em uma conformação próxima a um estado líquido, conforme ilustra o Esquema 18. [85]



Esquema 19. Diferenças nas conformações das cadeias de C18 em função do método de preparação

Parece haver um equilíbrio de competição na interação do adsorvente com os analitos **1**, **2** e **4**. Cadeias cristalinas, bem estruturadas, favorecem interação com os compostos **2** e **4**, reduzindo sua detecção no *headspace*. Para esse adsorvente, a detecção do acetato de isoamila é favorecida. Comportamento oposto ocorre com relação à estrutura emaranhada das cadeias, presente em sílicas híbridas preparadas pelo método *grafting*.

Considerando a série dos compostos **2**, **4** e **6**, observa-se uma redução no sinal no *headspace* à medida que aumenta a cadeia alifática na série. Esse comportamento sugere que a presença de grupos apolares nos analitos deve promover, em parte, a interação desses compostos com esse tipo de fases.

Uma outra estratégia de modificar a natureza química de uma superfície consiste na introdução de centros metálicos que podem atuar como sítios ácidos de Lewis. O efeito de adsorventes dessa natureza será discutido no item a seguir.

4.5.3 Efeito de sílicas dopadas com metais

A Figura 38 apresenta os dados de pré-concentração por SPME para sistemas onde sílicas dopadas com 10% de Cu ou Ag foram adicionadas. Para fins de comparação, dados referentes à sílica não-modificada são também apresentados.

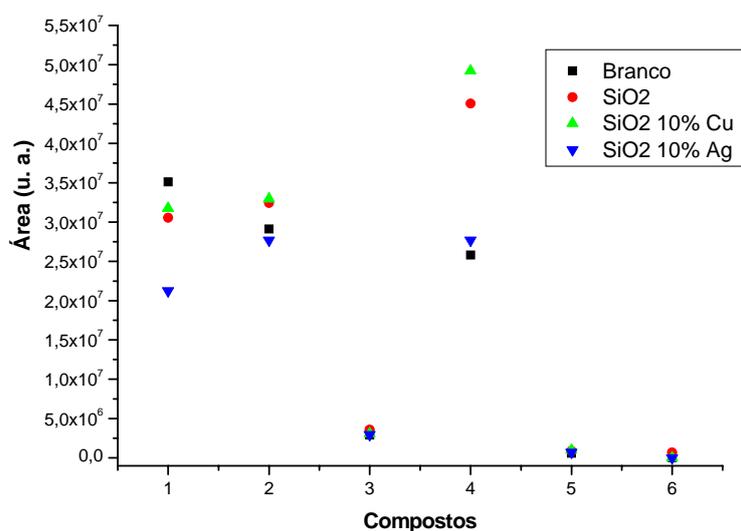
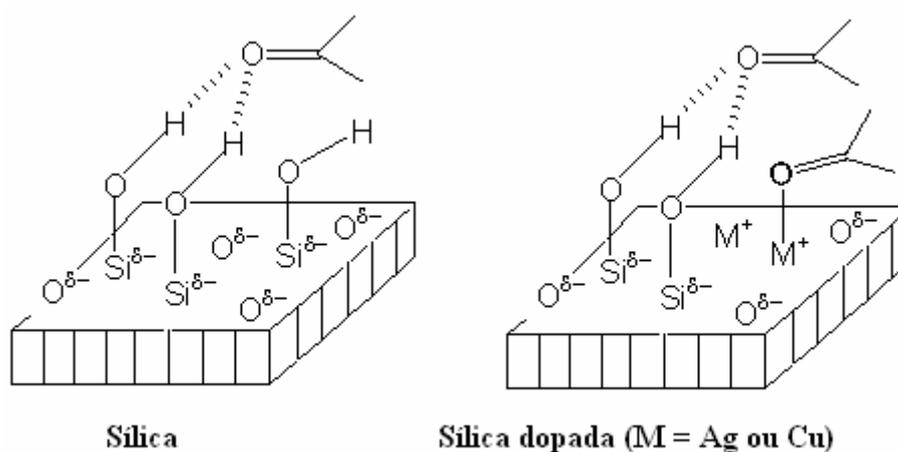


Figura 38. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de sílica dopadas com Cu e Ag. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

De uma forma geral, a presença de sílicas modificadas com metais acarretou uma redução no sinal dos analitos no *headspace*. Para o analito acetato de isoamila, por exemplo, o sinal foi inferior em comparação com aquele em ausência de sílica, modificada ou não. Os analitos em investigação possuem carbonilas ou hidroxilas. Esses compostos são passíveis de interagir com grupos OH do suporte, presente na sílica, conforme ilustra o Esquema 19.[106]



Esquema 20. Interação dos grupos carbonílicos com a superfície da sílica dopada com metais.

A inclusão de átomos de Ag ou Cu no adsorvente aumentou o número de sítios potenciais de adsorção, de forma que esses analitos interagem preferencialmente com o suporte. No caso do composto **4**, um pequeno efeito positivo foi observado com 10% Ag, mas pode ser decorrente por se tratar do analito em maior concentração entre os seis compostos.

4.5.4 Efeito de materiais mesoporosos cristalinos

No presente trabalho, o efeito de três materiais mesoporosos foi investigado, a saber: ITQ-2, MCM-41 e SBA-15 (Figura 39).

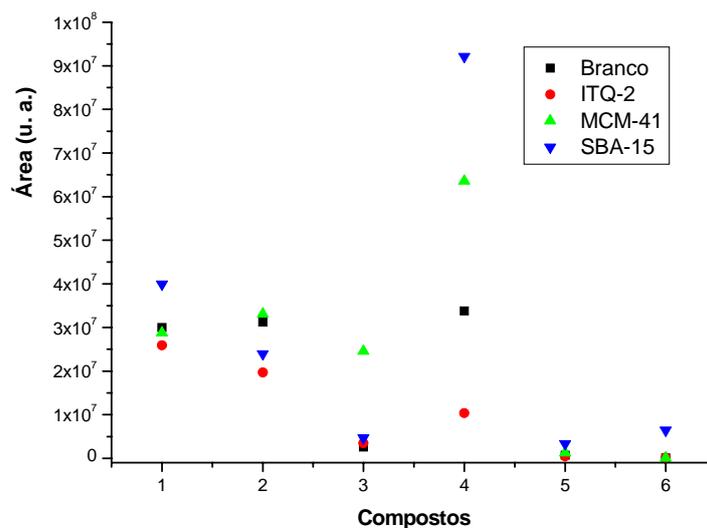


Figura 39. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de materiais mesoporosos. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

Com exceção do composto 6 (incremento de 145 vezes no sinal), os demais não exibiram um efeito positivo significativo na adição desses materiais frente à concentração dos analitos no *headspace*. ITQ-2 apresenta uma estrutura de cálice aberto, com grupos silanol, o que pode facilitar a interação com os analitos. Para o composto 6, a SBA-15 desempenhou um efeito superior a da MCM-41. Esse resultado pode ser em parte justificado pela menor área específica da SBA-15 ($518 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), em comparação com a MCM-41 ($958 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). Além disso, o maior diâmetro da partícula da MCM-41 ($1,7 \text{ }\mu\text{m}$) frente ao da SBA-15 ($1,0 \text{ }\mu\text{m}$) deve também facilitar a interação dos analitos com a superfície. Cabe salientar que um pequeno aumento do composto 3 na fibra, ocorreu para o MCM-41.

4.5.5 Efeito de zeólitas

De uma forma geral, a adição de zeólita teve pouco ou nenhum efeito positivo sobre a concentração dos analitos no *headspace*. O efeito da adição de zeólitas no sistema de SPME encontra-se apresentado na Figura 40.

A elevada área específica desses materiais, aliada à presença de sítios ácidos de Lewis (em decorrência da presença de átomos de Alumínio em sua estrutura) podem ter promovido uma interação preferencial desses analitos com a superfície desses adsorventes.

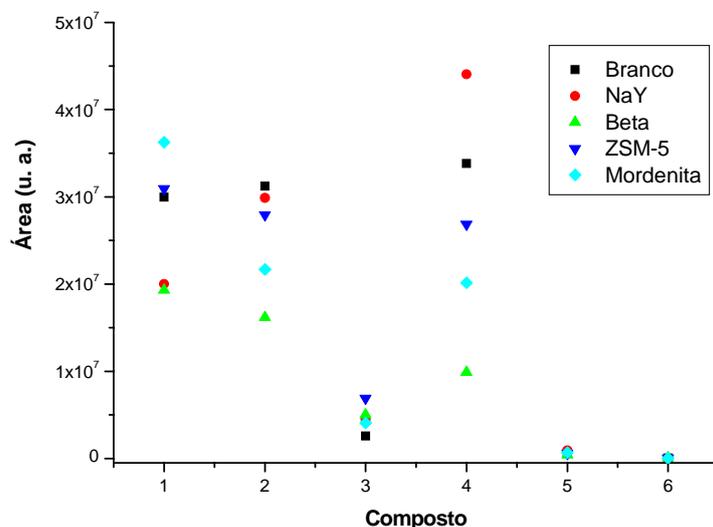


Figura 40. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas. Compostos: (1) acetato de isoamila; (2) hexanoato de etila; (3) álcool fenil etílico; (4) octanoato de etila; (5) acetato de 2-feniletila; (6) decanoato de etila.

A Figura 41 relaciona a área específica dessas zeólitas com a concentração de alguns analitos na fibra de SPME.

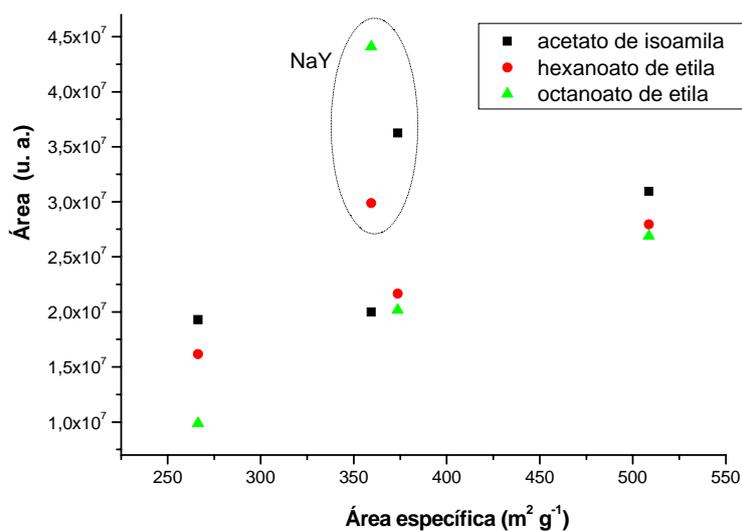


Figura 41. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversas áreas específicas.

Considerando os seis analitos em questão, o aumento da área específica não acarreta uma diminuição da concentração dos analitos no *headspace*, mas, ao contrário, leva a um aumento de sensibilidade na detecção desses compostos. Esse aumento pode ser decorrência de outros compostos que estão sendo preferencialmente adsorvidos nesse tipo de adsorvente. Cabe salientar que o comportamento distinto da NaY, embora dotado de área específica semelhante à mordenita, deve-se provavelmente à presença de poros de dimensões menores.

Comportamento semelhante ao observado no caso da relação com a área específica foi observado no caso de volume de poro (Figura 42): um aumento do volume de poro está aumentando a sensibilidade no caso da detecção do hexanoato de etila e octanoato de etila. Da mesma forma que na figura anterior, NaY apresenta um comportamento distinto, provavelmente devido ao menor diâmetro de poro.

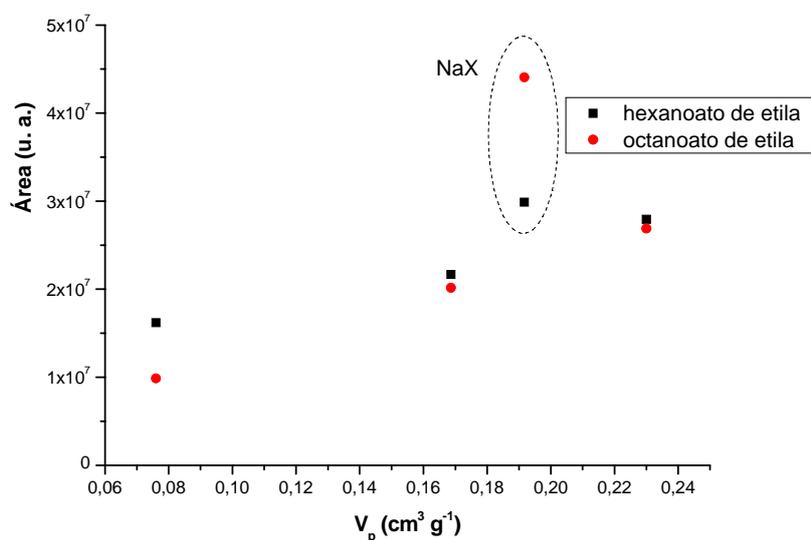


Figura 42. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversos volumes de poros.

Contudo, um parâmetro importante na química de zeólitas é o diâmetro de poro, que possibilita a seletividade de forma e tamanho de acesso aos sítios de adsorção presente no interior desse tipo de material. A Figura 43 relaciona a área do sinal detectado na fibra, em função do diâmetro de poro das zeólitas adicionadas ao sistema. Os dados representados na Figura 43 sugerem que para os analitos hexanoato de etila e octanoato de etila, um aumento do diâmetro de poro da zeólita desfavorece os níveis de detecção desses analitos no *headspace*.

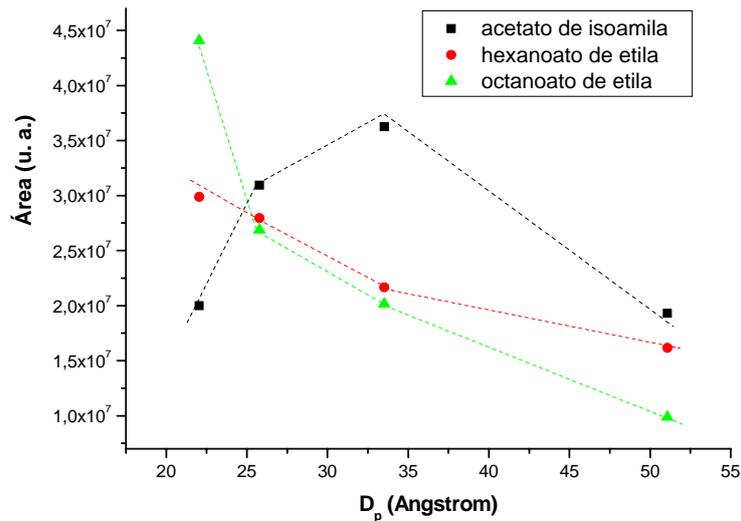


Figura 43. Concentração dos analitos acetato de isoamila, hexanoato de etila e octanoato de etila, adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversos diâmetros de poro.

Esses analitos devem interagir preferencialmente com as zeólitas. No caso do acetato de isoamila, parece existir um mecanismo de competição em função do tamanho do poro. Para diâmetro de poros na faixa de 35 Å, outras moléculas devem interagir preferencialmente com o suporte, liberando o analito para migração ao *headspace*. A Figura 44 ilustra outro exemplo de competição entre analitos em função do diâmetro de poro das zeólitas.

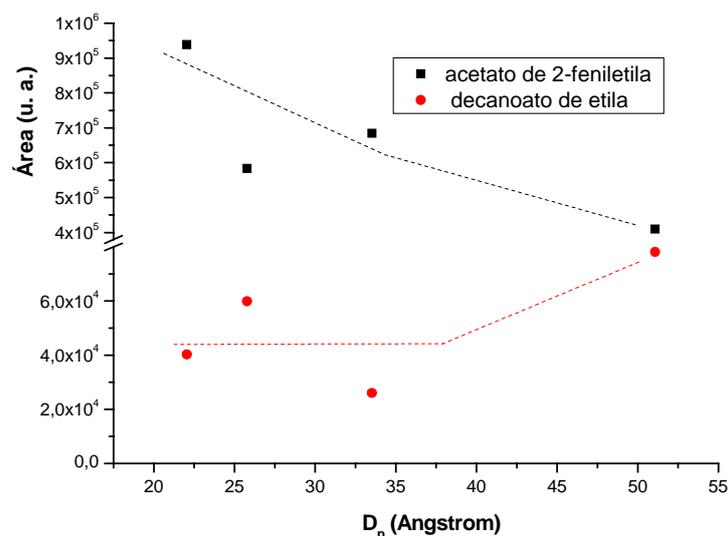


Figura 44. Concentração dos analitos acetato de acetato de 2-feniletila e decanoato de etila, adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de zeólitas dotadas de diversos diâmetro de poro.

De acordo com a Figura 44, o aumento do tamanho de poro favorece a adsorção do acetato de 2-feniletila, cuja concentração na fibra é reduzida. Paralelamente, o decanoato de etila passa a ser mais facilmente detectável no *headspace*.

4.5.6 Efeito de crisotilas natural e lixiviada

A introdução da crisotila natural no sistema aumentou a concentração na fibra dos compostos **1**, **2** e **4**. Esse comportamento pode ser resultante de sua baixa área específica ($23 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) ou da natureza dos grupos $\text{Mg}(\text{OH})$ na superfície da crisotila, que apresentam uma acidez de Brønsted, distinta daquela da sílica. Cabe salientar, que esse sistema atua seletivamente na pré-concentração do acetato de isoamila, cujo sinal é aumentado mais de 10 vezes, se comparado com a concentração obtida, em ausência de adsorvente (branco).

No caso de crisotila lixiviada, cuja natureza é semelhante a uma sílica, para a maioria dos compostos (excetuando o composto **4**), o efeito é similar àquele observado para alguns tipos de sílica (Figura 27), cuja adição em pouco incrementou a concentração do analito na fibra. A relativa área específica ($294 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) e a própria morfologia em forma de fibras do material podem contribuir à retenção preferencial desses analitos sobre a superfície desse material.

A Figura 45 apresenta os dados referentes ao uso da crisotila como adsorvente.

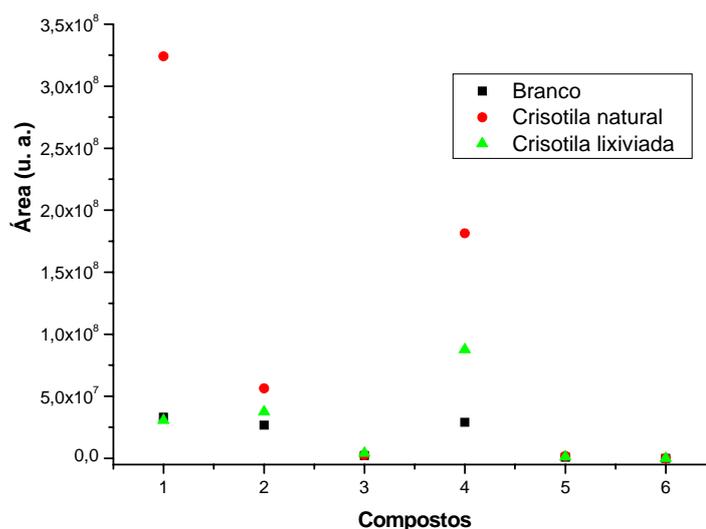


Figura 45. Concentração dos analitos adsorvidos na fibra DVB-CAR-PDMS, em presença de crisotila natural e lixiviada. Compostos: **(1)** acetato de isoamila; **(2)** hexanoato de etila; **(3)** álcool fenil etílico; **(4)** octanoato de etila; **(5)** acetato de 2-feniletila; **(6)** decanoato de etila.

Os resultados até aqui demonstram que a estratégia de adicionar um adsorvente afeta a concentração relativa de analitos presentes em matrizes de cerveja Pilsen na fibra DVB-CAR-PDMS. Características texturais, morfológicas e estruturais influenciam o comportamento dos analitos investigados dentro de sistema vial-fibra de SPME. A afinidade dos analitos por alguns dos adsorventes utilizados, tais como zeólitas ou sílicas dopadas com metal, embora tenham reduzido a sensibilidade do processo de extração e pré-concentração dos analitos, indica potenciais materiais a serem empregados na fabricação das fibras de SPME.

Capítulo 5

Conclusões

5. Conclusões

A inclusão de sólidos adsorventes de um sistema de SPME desempenha o papel de uma fase suplementar que permite a interação seletiva de moléculas presentes no seio de uma matriz de cerveja tipo Pilsen. Para os seis analitos (acetato de isoamila; hexanoato de etila; álcool fenil etílico; octanoato de etila; acetato de 2-feniletila e decanoato de etila) investigados no presente estudo, a presença de um sólido no *vial* pode alterar a concentração extraída pela fibra de SPME.

Características texturais e químicas dos adsorventes influenciam no teor de extração e pré-concentração do analito. Matérias com área específica elevada ou diâmetro de poros largo, promovem a adsorção dos analitos nos sólidos adsorventes, diminuindo sua disponibilidade no *headspace*, e conseqüentemente na fibra de SPME. Esse fenômeno está sujeito a mecanismos competitivos pela adsorção nos sítios de interação dessas fases. Em zeólitas, por exemplo, o aumento do diâmetro de poro deve ter facilitado a adsorção de hexanoato e de octanoato de etila, em detrimento da adsorção do acetato de isoamila, cuja concentração na fibra, conseqüentemente, aumentou. Do ponto de vista estrutural, a natureza química da superfície afeta nitidamente o comportamento dos analitos. Em se tratando de moléculas polares, o uso de sílicas funcionalizadas com cadeias alquílicas (e portanto, apolares), acarretou um aumento dos teores dos analitos na fibra de SPME, provavelmente pela interação potencialmente fraca do binômio analito-adsorvente. Igualmente, o uso de sílicas dopadas com metais (sítios ácidos de Lewis) levou a um decréscimo na sensibilidade de detecção desses analitos, provavelmente resultante da interação de grupos funcionais (cetona e hidroxila) dos analitos com os sítios ácidos dos adsorventes.

Considerando especificamente cada analito, para o acetato de isoamila, a crisotila natural levou seletivamente a um sensível aumento em sua detecção no *headspace*, embora sua concentração relativa seja baixa, em comparação aos demais analitos. Para os analitos hexanoato e octanoato de etila, sílica aerogel promoveu um aumento significativo na detecção desses analitos na fibra empregada. O analito decanoato de etila, por seu peso molecular mais elevado, deve ter interagido preferencialmente com os adsorventes.

O presente estudo configurou-se como uma investigação exploratória, ao nosso conhecimento, inédita do potencial papel de adsorventes no sistema de SPME. Vários parâmetros necessitam ainda de uma investigação mais aprofundada incluindo a análise complementar com técnicas espectroscópicas como espectroscopia molecular no

infravermelho e no ultra-violeta, ou ainda, espectroscopia fotoeletrônica de raios-X, que permitam revelar efetivamente a interação dos analitos com grupos funcionais dessas fases. Além disso, um delineamento estatisticamente embasado faz-se necessário para avaliar o caráter quantitativo dessa abordagem, através da determinação de figuras de mérito do método aqui proposto. De toda forma, independentemente do aumento de sensibilidade ou não na detecção de um dado analito, a estratégia metodológica aqui empregada pode servir de ferramenta na investigação prévia de materiais potenciais para confecção de fibras de SPME ou de fases a serem empregadas em etapas de *clean-up* na preparação de amostras.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- [1] Meillgard, M. C.; J. Agric. Food Chem., 1982, 1009, 30.
- [2] Pinho O.; Ferreira I.M.PL.V.O.; Santos L.H.M.L.M.; J. Chromatogr. A, 2006, 1121, 145.
- [3] Titica, M.; Trelea, I. C.; Landaud, S.; Latrille, E; Corrieu, G.; Cheruy, A.; J. Am. Soc. Brew. Chem ., 2000, 167, 58.
- [4] Madigan, D.; Perez, A.; Clements, M.; J. Am. Soc. Brew. Chem 1998, 146, 56.
- [5] Constant, M.; Collier, J.; J. Am. Soc. Brew. Chem. 1997, 112, 55.
- [6] Vanderhaegen, B.; Neven, H.; Daenen, L.; Verstrepen, K.J.; Verachtert, H.; Derdelinckx, G.; J. Agric. Food Chem. 2004, 1661, 54.
- [7] Vanderhaegen, B.; Neven, H.; Coghe S.; Verstrepen, K.J.; Verachtert, H.; Derdelinckx, J. Agric. Food Chem. 2003, 6782, 51.
- [8] Macias, J.R.; Espinosa, I.; MBAA Technical Quarterly, 1981, 18, 3.
- [9] Shimizu, C.; Nakamura, Y.; Miyai, K.; Araki, S.; Takashio, M.; Shinotsuka, K.; J. Am. Soc. Brew. Chem. 2001, 51, 59..
- [10] Lermusieau, G.; Noël, S.; Liégeois, C.; Collin, S.; J. Am. Soc. Brew. Chem. 1999, 29, 57.
- [11] Chevance, F.; Guyot-Declerck, C.; Dupont, J.; Collin, S.; J. Agric. Food Chem. 2002, 3818, 50.
- [12] Gijs, L.; Collin, S.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2002, 68, 60.
- [13] Araki, S.; Takashio, M.; Shinotsuka, K.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2002, 26, 60.
- [14] Vanhoenacker, G.; De Keukeleire, D.; Sandra, P.; J. Chromatogr. A, 2004, 53, 1035.
- [15] McGarrity, M. J.; McRoberts, C.; Fitzpatrick, M.; MBAA Technical Quarterly, 2003, 44, 40.
- [16] Hill, P. G.; Smith, R. M.; J. Chromatogr. A, 2000, 203, 872.
- [17] Samp, E. J.; Foster II, R. T.; MBAA Technical Quarterly, 2002, 203, 39.
- [18] Duan, W.; Roddick, F. A.; Higgins, V. J.; Rogers, P. J.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2004, 35, 62.
- [19] Nagata, O.; Okazaki, Z.; Kawamura, H.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 1998, 47, 56 .
- [20] Masuda, S.; Kikuchi, K.; Harayama, K.; Sakai, K.; Ikeda, M.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2000, 152, 58.
- [21] Vanderhaegen, B.; Neven, H.; Coghe S.; Verstrepen, K.J; Derdelinckx, G.; Verachtert, V.; Appl. Microbiol. Biotechnol. , 2003, 140, 62.
- [22] Vesely P.; Lusk, L.; Basarova, G.; Seabrooks, J.; Ryder, D.; J. Agric. Food Chem., 2003, 6941, 51 .
- [23] Fix, G.; Principles of Brewing Science. Brewers Publication: Boulder, 1989.

- [24] Hannemann, W.; MBAA Technical Quarterly, 2002, 149, 39.
- [25] Trelea, I. C.; Landaud, S.; Latrille, E.; Corrieu, G.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2001, 77, 59.
- [26] Dufour, J.; Wierda, R.; Leus, M.; Lissens, G.; Delvaux, F.; Derdelinckx, G.; Larsen, D.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2002, 88, 60.
- [27] Quilter, M. G.; Hurley, J. C.; Lynch, F. J.; Murphy, M. G.; J. Inst. Brew., 2003, 34, 109.
- [28] Bamforth, C. W.; Kanauchi, M.; FEMS Microbiology Letters, 2003, 111, 228.
- [29] Verstrepen, K. J.; Derdelinckx, G.; J. Biosc. Bioengineering, 2003, 110, 96.
- [30] Vas, G.; Vékey, K.; J. Mass Spectrometry, 2004, 233, 39.
- [31] Murakami, A.A.; Goldstein, H.; Navarro, A.; Seabrooks, J.R.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2003, 23, 61.
- [32] Horak, T.; Kellner, V.; Culik, J.; Jurková, M.; Cejka, P.; J. Inst. Brew., 2007, 154, 113.
- [33] Majors, R.E.; Sample preparation in Analytical Chemistry. In: Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, F. Settle (Ed.). New Jersey: Prentice Hall, 1997, pp. 17-54.
- [34] Arthur, C. L.; Pawliszyn, J.; Anal. Chem., 1990, 2145, 62.
- [35] Zhang, Z.; Pawliszyn, J.; Anal. Chem. 1993, 1843, 65.
- [36] Giordano, L.; Calabrese, R.; Davoli, E.; Rotilio, D.; J. Chromatography A, 2003, 1041, 1017.
- [37] Povolo, M; Contarini, G.; J. of Chromatography A, 2003, 117, 985.
- [38] Field, J. A.; Nickerson, G.; James, D. D.; Heider, C.; J. Agric. Food Chem., 1996, 1762, 44.
- [39] Steffen, A.; Pawliszyn, J.; J. Agric. Food Chem., 1996, 2187, 44.
- [40] Diaz, A.; Ventura, F.; Galceran, M. T; J. Chromatography A, 2004, 175, 1034.
- [41] Demyttenaere, J. C. R; Martinez, J. I. S.; Verhe, R.; Sandra, P.; De Kimpe, N.; J. Chromatography A, 2003, 221, 985.
- [42] Vallejo-Cordoba, B.; Gonzalez-Córdova, A. F.; Estrada-Montoya, M. C.; J. Agric. Food Chem., 2004, 5567, 52.
- [43] Fan, W.; Xu, Y.; Yu, A.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2006, 255, 112.
- [44] Demyttenaere, J. C. R.; Dagher, C.; Sandra, P.; Kallithraka, S.; Verhe, R.; De Kimpe, N.; J. Chromatography A, 2003, 233, 985.
- [45] Bonino, M.; Schellino, R.; Rizzi, C.; Aigotti, R.; Delfini, C.; Baiocchi, C.; Food Chemistry, 2003, 125, 80.
- [46] R-Bencomo, J.J.; Conde, J.E.; R-Delgado, M.A.; G-Montelongo, F.; Pérez-Trujillo, J.P.; J. Chromatography A, 2002, 213, 963.
- [47] Miracle, R. E.; Ebeler, S.E.; Bamforth, C. W.; J. Am. Soc. Brew. Chem., 2005, 129, 63.
- [48] Techakriengkrai, I.; Paterson, A.; Taidi, B.; J. Inst. Brew., 2006, 36, 112.

- [49] Techakriengkrai, I.; Paterson, A.; Taidi, B.; Piggott, J. R.; *J. Inst. Brew.*, 2006, 41, 112.
- [50] Jelen, H.H.; Wlazly, K.; Wasowicz, E.; Kaminski, E.; *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 1469, 46.
- [51] Scarlata, C. J.; Ebeler, S. E.; *J. Agric. Food Chem.* , 1999, 2505, 47.
- [52] Steinhaus, M.; Fritsch, H. T.; Schieberle, P.; *J. Agric. Food Chem.* , 2003, 7100, 51.
- [53] Aresta, A.; Palmisano, F.; Vatinno, R.; Zambonin, C. G.; *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 1594, 54.
- [54] Kopsahelis, N.; Kannellaki, M.; Bekatorou, A.; *Food Chemistry*, 2007, 480, 104 .
- [55] Kolahgar, B.; Heiden, A.C; Gerstel GmbH & Co. KG Application Note 11/2002
- [56] Liu, M.; Zeng, Z.; Xiong, B.; *J.Chromatography A*, 2005, 287, 1065.
- [57] Penton, Z.; SPME Varian Application N° 16.
- [58] Penton, Z.; SPME Varian Application N° 15.
- [59] Xiao, Q.; Yu, C.; Xing, J.; Hu, B.; *J. of Chromatography A*, 2006, 133, 1125 .
- [60] Yang, R.T. *Adsorbents: fundamentals and applications*; Wiley: Hoboken, 2003.
- [61] Faria, A. M.; Maldaner, L.; Santana, C.C.; Jardim, I.C.S.F.; Collins, C. H.; *Anal. Chimi. Acta* , 2007, 582 , 34.
- [62] Zhuravlev, L.T.; *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* , 2000, 173 , 1.
- [63] Bergna, H.E.; Roberts, W.O.; *Colloidal Silica: fundamentals and applications*; H.E. Bergna Consultants: Wilmington, 2005.
- [64] Schubert, U.; Hüsing, N.; *Synthesis of inorganic materials*. Wiley: Weinheim, 2005.
- [65] Hench, L.L.; West, J.K.; *The Sol-Gel Process*, *Chem. Rev.*, 1990, 33, 90.
- [66] Brinker, C.J.; Scherer, G.W.; *Sol-Gel Science*; Academic Press: San Diego, 1990.
- [67] Vansant, E.F.; Van Der Voort, P.; Vrancken, K.C.; *Stud. Surf. Sci. Catal.*, 1995, 131, 93.
- [68] Hay, J.N.; Haval, H.M.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 1998 , 109, 13.
- [69] Bourget, L.; Corriu, R.J.P.; Leclereq, D.; Mutin, P.H.; Vioux, A.; *J. Non-Cryst. Solids*, 1998 , 242, 81.
- [70] Gates, C. B.; *Catalitic Chemistry*, University of Delaware, 1992.
- [71] Knözinger, H.; Ratnasamy, P.; *Catal. Rev. Sci. Eng.*, 1978, 17, 31.
- [72] Doesburg, E.B.M.; Van Hoof, J.H.C.; Preparation of catalists supports and zeolites. In: J.A Moulijn, P.W.N.V van Leeuwen, R.A. van Santen, *Catalysis. An integrated approach to homogenous, heterogeneous and industrial catalysis*. Ámsterdam: Elsevier. Capítulo 8, p. 318-322, 1993.
- [73] Mascarenhas, A.J.S.; Oliveira, E.C.; Pastore, H.O.; *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, Edição Especial*, 2001, p. 25.

- [74] Giannetto, G.; Zeolitas: Características, propiedades y aplicaciones industriales. Innovación Tecnológica: Caracas, 1990.
- [75] Kreswge, C. T.; Leonowicz, M. E.; Roth, W. J.; Vartulli, J. C.; Beck, J. S., *Nature*, 1992, 359, 710.
- [76] Ciesla, U. Schuth, F.; *Microporous and Mesoporous Materials*, 1999, 27, 131.
- [77] Luan, Z.; Chen, C.-F.; Zhou, W.; Klinowski J.; *J. Phys. Chem.*, 1995, 99, 1018.
- [78] Luan, Z.; Chen, C.-F.; Zhou, W.; Klinowski J.; *J. Phys. Chem.*, 1995, 99, 1059.
- [79] Zhao, D. Y.; Feng, J. L.; Huo, Q. S.; Melosh, N.; Fredrickson, G. H.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D.; *Science* 1998, 279, 548.
- [80] Corma, A.; Fornes, V.; Pergher, S.B.C.; Maesen Th. L.; Buglass, J.G.; *Nature* 1998, 396, 353.
- [81] Pergher, S.B.C.; Detoni, C.; Mignoni, M.L.; *Materiais laminares pilarizados*. Erechim; EdiFAPES, 2005.
- [82] Yang, H.; Xiao, Y.; Liu, K.; Yang, Y.; Feng, Q.; *Colloid. Surf. A: Physicochem Eng. Asp.* (2007) (no prelo).
- [83] Da Fonseca, M. G.; Airoidi, C.; *Química Nova* , 2003, 699, 26.
- [84] Rigacci, A.; Dolle, F.E.; Geissler, E.; Chevalier, B.; Sallée, H.; Achard, P.; Barbieri, O.; Berthon, S.; Bley, F.; Livet, F.; Pajonk, G.M.; Pinto, N.; Rochas, C.; *J. of Non-Cryst. Solids* , 2001, 187, 285 .
- [85] Brambilla, R.; Pires, G.P.; Santos, J.H.Z.; Miranda, M.S.L.; Chornik, B.; *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, 2007, 156, 420.
- [86] Brambilla, R.; Pires, G.P.; Santos, J.H.Z.; Miranda, M.S.L.; *J. Colloid Interf. Sci.*, 2007, 326, 312.
- [87] Gollmann, M.A.C.; *Adsorventes para acetona em ciclexano. Aplicação em polimerização de etileno*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química, UFRGS, 2007.
- [88] Corma, A.; Fornés, V.; Pergher, S.B.; Maessen, T.L.M.; Buglass, J.G.; *Nature*, 1998, 353, 396.
- [89] Fonseca, M.G.; Oliveira, A.S.; Airoidi, C.J.; *Coll. Interf. Sci.*, 2001, 533, 240.
- [90] Meilgaard, M. C.; *Food Quality and Preference*, 1993, 153, 4.
- [91] Pawliszyn, J.; *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. Wiley-VCH: New York, 1997, p. 97–130.
- [92] Mani, V. In: *Applications of solid phase microextraction*. Pawliszyn, J. (Ed.) Cambridge: Royal Society Chemistry, 1999, cap. 5.
- [93] Parreira, F. V.; Cardeal, Z. de L.; *Quim. Nova*, 2005, 646, 28 .

- [94] Benfenati, E.; Müller, P., Pierucci, P. In: Applications of solid phase microextraction. Pawliszyn, J. (Ed.) Cambridge: Royal Society Chemistry, 1999, cap. 25.
- [95] Llompart, M.; Li, K.; Fingas, M.; J. Chromatography A, 1998, 53.
- [96] Przyjazny, A.; Kokosa, J. M.; J. Chromatography A, 2002, 143, 977 .
- [97] Yamini, Y.; Hojjati, M.; Haji-Hoseni, M.; Shamsipur, M.; Talanta, 2004, 265, 62.
- [98] Besharati-Seidani, A.; Jabbari, A ; Yamini, Y.; Anal. Chim. Acta , 2005, 155, 530 .
- [99] Fritz, J.S.; Analytical Solid-Phase Extraction. Wiley: New York, 1999, capítulo 3, p. 28.
- [100] Béné, A.; Fornage, A.; Luisier, J-L.; Pichler, P.; Villettaz, J-C.; Sensors and Actuators B, 2001, 184, 72.
- [101] Morgan, A.; Talbot, R. J.; The Annals of Occupational Hygiene, 1997, 269, 41.
- [102] Gazzano, El.; Foresti, E.; Lesci, I. G.; Tomatis, M.; Riganti, C.; Fubini, B.; Roveri, N.; Ghigo, D.; Toxicology and Applied Pharmacology. 2005, 356, 206.
- [103] Liu, K.; Feng, Q.; Yang, Y.; Zhang, Ou, G. L.; Lu, Y.; Journal of Non-Crystalline Solids, 2007, 1534, 353.
- [104] Paredes, J.I.; Martínez-Alonso, A.; Tascón, J.M.D.; Microporous and Mesoporous Materials, 2003, 93, 65.
- [105] Iler, R.K.; Chemistry of Silica. Willey: New York, 1979.
- [106] Schwarzenbach, R. P.; Environmental Organic Chemistry. Wiley: New York, 1995, 392.