

A microextração em fase sólida como técnica de preparação de amostras em química analítica e toxicologia: Teoria e aplicações

Solid-phase microextraction as a sample preparation technique in analytical chemistry and toxicology: Theory and applications

E. Gallardo¹, S. Costa², M. Barroso²

¹CICS – Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, 6201-001 Covilhã

²Instituto Nacional de Medicina Legal, IP – Delegação do Sul, Serviço de Toxicologia Forense, Rua Manuel Bento de Sousa 3, 1150-219 Lisboa

E-mail: egallardo@fcsaude.ubi.pt

Resumo

A microextração em fase sólida, SPME, é uma técnica de adsorção/dessorção desenvolvida na Universidade de Waterloo (Ontário, Canadá) que elimina a necessidade de utilização de solventes orgânicos ou instrumentos complicados para a extração e concentração de compostos voláteis e não voláteis a partir de amostras líquidas ou gasosas. A SPME origina resultados lineares dentro de um amplo intervalo de concentrações, é compatível com qualquer tipo de equipamento de cromatografia gasosa, com colunas de enchimento ou capilares, ou ainda cromatografia gasosa-espectrometria de massa. Pode, inclusivamente ser utilizado com injectores split/splitless ou directos.

Na análise de urina, sangue ou outras matrizes biológicas, a preparação das amostras é normalmente necessário extrair e concentrar os analitos de interesse, o que é efectuado com recurso à extração líquido-líquido, extração em fase sólida, ou outras técnicas. Estes procedimentos apresentam várias desvantagens, onde se incluem o tempo excessivo de preparação e gasto desnecessário de solventes orgânicos. A SPME elimina a maior parte destes inconvenientes, já que é uma técnica rápida e que não necessita de solventes orgânicos ou de equipamentos complicados para ser levada a cabo. Esta técnica pode ser utilizada para monitorizar analitos em amostras líquidas ou gasosas, podendo ser acoplada à cromatografia gasosa, cromatografia gasosa-espectrometria de massa ou cromatografia líquida de alta eficiência.

Embora inicialmente direccionada para a determinação de compostos orgânicos no meio ambiente, as suas vantagens nas análises clínicas, forenses e de alimentos têm vindo a ser postas em evidência. Desta forma, com este trabalho pretende-se conhecer mais aprofundadamente esta técnica bem como rever as suas principais aplicações no campo da toxicologia e da química analítica.

Palavras chave: Microextração em Fase Sólida; Toxicologia; Química Analítica.

Abstract

Solid phase microextraction, or SPME, is an adsorption/desorption technique developed at the University of Waterloo (Ontario, Canada), which eliminates the need for solvents or complicated apparatus for concentrating volatile or non volatile compounds in liquid or gaseous samples. SPME provides linear results over wide concentrations of analytes, and it is compatible with any packed column or capillary gas chromatograph or gas chromatograph-mass spectrometer systems, and can be used with split/splitless or direct/packed injectors.

In urine, blood and other drug analysis the sample preparation usually involves removing and concentrating the analytes of interest through liquid-liquid extraction, solid phase extraction, or other techniques. These methods have various drawbacks, including excessive preparation time and extravagant use of organic solvents. The Solid phase microextraction eliminates most of these drawbacks. SPME is fast, it requires no solvents or complicated apparatus, and provides linear results over wide concentrations of analytes (typically to parts per million/parts per billion levels). The technique can be used to monitor analytes in liquid samples or headspace, and can be used with any GC, GC mass spectrometer, or HPLC system.

Although initially directed for the determination of organic compounds in environmental samples, the advantages of this technique in clinical, forensic and food analysis fields are becoming more important. The purpose of this paper is to study in depth SPME, and review its main applications in both toxicology and analytical chemistry.

Keywords: Solid-phase Microextraction; Toxicology; Analytical Chemistry.

Recebido em 31/01/2009

Aceite em 15/04/2009

Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2009; (6) 1: 105-124

Versão electrónica: <http://revistasaude.ulusofona.pt>

Introdução

Nas análises cromatográficas em geral, o processamento das amostras envolve normalmente a extracção e concentração dos analitos de interesse a partir da matriz, para o que se usam por exemplo a extracção líquido-líquido (LLE) e a extracção em fase sólida (SPE). Estas técnicas possuem vários inconvenientes, como sejam o tempo excessivo de preparação e o uso de solventes orgânicos^[1,2,3].

Para eliminar a maior parte destes inconvenientes surgiu a microextracção em fase sólida (SPME), uma técnica de absorção/dessorção desenvolvida a princípios da década de 90 na Universidade de Waterloo (Ontário, Canadá) por Janusz Pawliszyn e colaboradores^[4,5].

É uma técnica de extracção rápida e de fácil manuseamento, que não necessita de equipamentos complicados e pode ser usada para isolar e concentrar compostos voláteis e não voláteis em amostras líquidas, gasosas ou sólidas, permitindo obter resultados lineares e reprodutíveis dentro de um amplo intervalo de concentrações^[1-3,6,7,8].

Consiste basicamente numa fibra capilar de sílica fundida de aproximadamente 1cm, revestida por uma fase estacionária que pode ser líquida (em geral, um polímero) ou sólida (substância adsorvente)^[9]. A fibra está unida a uma agulha de aço inoxidável que permite o seu movimento e a protege durante os processos de extracção e dessorção (Figura 1).

Introduction

In chromatographic analysis in general, sample processing usually involves the extraction and concentration of the analytes of interest from the matrix, for which it is used liquid-liquid extraction (LLE) and solid-phase extraction (SPE). These techniques present several drawbacks, such as excessive preparation time and the use of organic solvents^[1-3]. Solid-phase microextraction (SPME), an absorption/desorption technique developed in the early 90s at the Waterloo University (Ontario, Canada) by Janusz Pawliszyn and collaborators, had helped to overcome most of these drawbacks^[4,5].

It is a quick and easy to perform extraction technique, which does not require complicated equipments and that can be used to isolate and concentrate volatile and non-volatile compounds in liquid, gaseous or solid samples, allowing the retrieval of linear and reproducible results within an wide concentration range^[1-3,6-8].

It consists basically in a fused-silica capillary fibre of approximately 1 cm, coated by a stationary phase which can be liquid (usually, a polymer) or solid (adsorbent substance)^[9]. The fibre is connected to a stainless steel needle, which allows its movement and protects it throughout the extraction and desorption processes (Figure 1).

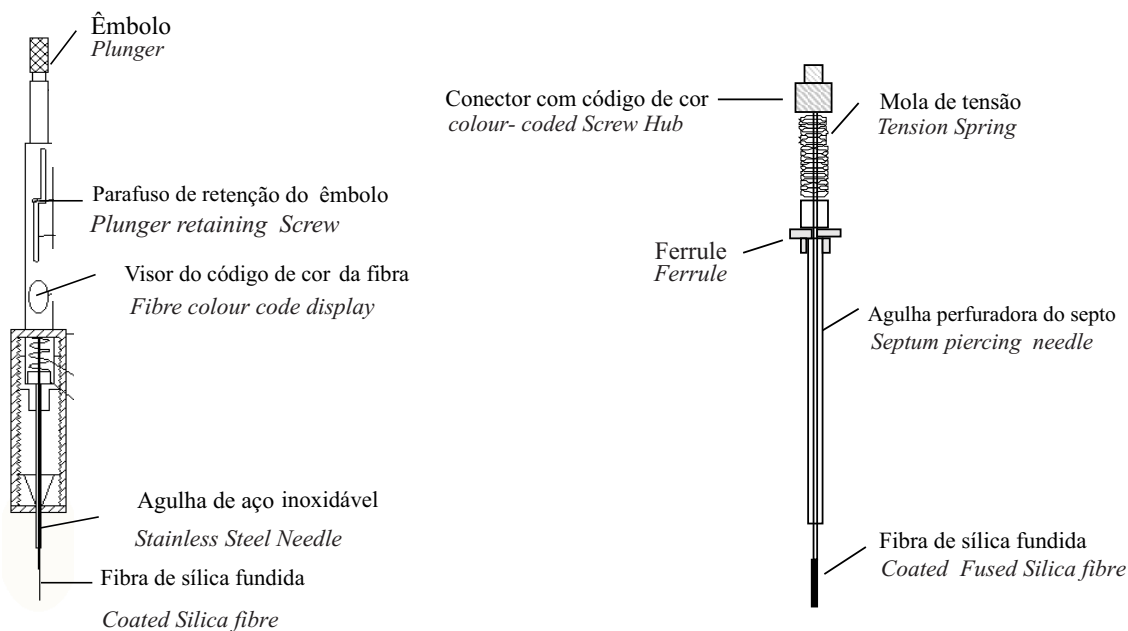


Figura 1 - Suporte manual de SPME e detalhe de uma fibra (modificado de Graham KN, Sarna LP, Webster, GRB, Gaynor JD, Ng HYF. J Chromatogr A 1996, 725: 129).

Figure 1 - SPME fibre holder for manual use and detail of a fibre (modified from Graham KN, Sarna LP, Webster, GRB, Gaynor JD, Ng HYF. J Chromatogr A 1996, 725: 129).

Fundamento teórico

Esta técnica baseia-se em fundamentos de termodinâmica e transferência de massa e, contrariamente a outros métodos de extração, toda a quantidade de analito extraída é introduzida no sistema cromatográfico^[4].

Quanto ao procedimento de extração este é simples: em primeiro lugar deve perfurar-se o septo do recipiente onde se encontra a amostra e, com o suporte de SPME dentro do recipiente, a fibra é empurrada para o exterior da agulha de aço inoxidável, colocando-a em contacto com a amostra ou com o espaço que há entre a amostra e o septo (headspace). Os analitos são então adsorvidos/absorvidos no revestimento da fibra e, após alcançado o equilíbrio (normalmente de 2 a 30 minutos), esta é recolhida para o interior da agulha, sendo o dispositivo retirado de dentro do recipiente. Finalmente, a agulha é introduzida no injetor do sistema cromatográfico, onde ocorre a dessorção térmica dos analitos, sendo estes libertados na coluna do cromatógrafo de gases (Figura 2) ou na interface SPME-HPLC, neste último caso com o auxílio de solventes.

Theory

This technique is based on principles of thermodynamic and mass transference foundations and, contrarily to other extraction methods, all the whole of the extracted analyte is intruduced in the chromatographic system.^[4]

The extraction procedure is simple: first, the septum of the sample vial is pierced and with the SPME holder inside the vial, the fibre is pushed towards the outside of the stainless steel needle, and is exposed to the sample or the headspace. The analytes are then adsorbed/absorbed in the fibre's coating and, after the equilibrium is reached (usually between 2 to 30 minutes), it is collected to the inside of the needle, and the device is withdrawn from the vial. Finally, the needle is introduced in the injection port of the chromatographic system, where the analytes are thermally desorbed and released in the chromatographic column (Figure 2) or in the SPME-HPLC interface (by means of solvents).

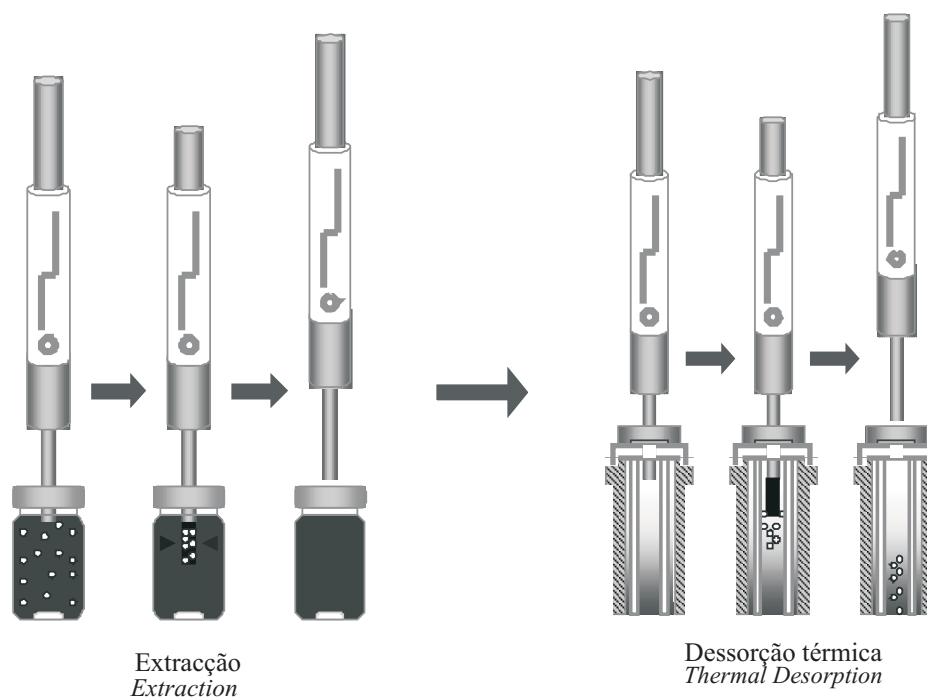


Figura 2 - Etapas do processo de microextração em fase sólida
Figure 2 - Schematic representation of the Solid Phase Micro-Extraction (SPME) procedure.

Na SPME, num sistema com duas fases, o equilíbrio é estabelecido entre a concentração de analito na amostra e no polímero que cobre a fibra^[7]. A passagem dos analitos da matriz para o revestimento da fibra inicia-se

In SPME, if a system of two phases is considered, equilibrium is established between the concentration of the analyte in the sample and in the fibre coating^[7]. Analyte transfer to the fibre coating starts when it is in

no momento em que esta é colocada em contacto com a amostra. Normalmente, o processo considera-se terminado quando a concentração de analito atinge o equilíbrio de distribuição entre a matriz e o revestimento da fibra. Na prática, a partir do momento em que o equilíbrio é atingido, a quantidade extraída é constante dentro dos limites do erro experimental, sendo independente de aumentos adicionais no tempo de extracção. As condições de equilíbrio podem ser descritas como ^[10,11]:

$$n = \frac{K_{fs} \times V_f \times V_s \times C_0}{K_{fs} \times V_f + V_s} \quad \text{(Equação 1)}$$

Onde n representa a massa do analito extraída pelo revestimento da fibra; C₀ a concentração inicial do analito na amostra; K^{fs} a constante de distribuição do analito entre a fibra e a amostra; V^s o volume da amostra e V^f o volume do revestimento da fibra.

Esta equação demonstra que existe uma relação directamente proporcional entre a concentração inicial do analito na amostra e a quantidade extraída, sendo esta relação o fundamento da análise quantitativa ^[11,12].

Outra das características da SPME é que se trata de uma técnica de equilíbrio, pelo que os analitos não são extraídos exaustivamente ^[12,13]. De facto, a extracção só será completa nos casos em que a constante de distribuição (K^{fs}) é consideravelmente elevada e o volume da amostra (V^s) bastante pequeno (K^{fs} × V_f >> V_s) ^[14,15].

Nos casos em que o volume de amostra é muito elevado (K^{fs} × V_f << V_s), a equação anterior pode ser simplificada ^[4,6]:

$$n = K_{fs} \times V_f \times C_0 \quad \text{(Equação 2)}$$

Nesta segunda equação a quantidade de analito extraída pela fibra corresponde directamente à sua concentração na matriz, sendo independente do volume da amostra, o que torna óbvia a utilidade desta técnica para aplicações de campo. Na prática, não será necessário definir um volume de amostra a recolher antes da análise, já que a fibra pode ser exposta directamente ao ar, água, etc. Ao eliminar o procedimento de amostragem, todo o processo analítico pode ser acelerado, e os erros associados à perda do analito por decomposição ou adsorção nas paredes dos recipientes que condicionam a amostra são minimizados ^[12,17,18].

As duas equações referidas anteriormente indicam que a eficiência do processo extractivo é dependente da constante de distribuição (K^{fs}), sendo este um parâmetro característico que descreve as propriedades de um revestimento e a sua selectividade face a um determinado analito, em detrimento de outras substâncias presentes na matriz.

contact with the sample. Usually, the process is considered ended when the concentration of the analyte reaches the equilibrium of distribution between the matrix and the fibre coating. In practice, from the moment equilibrium is reached, the extracted amount is constant within the limits of experimental error, being independent of additional increases in the extraction time. The equilibrium conditions can be described as ^[10,11]:

$$n = \frac{K_{fs} \times V_f \times V_s \times C_0}{K_{fs} \times V_f + V_s} \quad \text{(Equation 1)}$$

In this equation n represents the mass of the extracted analyte by the fibre coating; C₀ the initial concentration of the analyte in the sample; K_{fs} the distribution constant of the analyte between the fibre and the sample; V_s the sample volume and V_f the fibre coating volume.

This equation demonstrates that there is a directly proportional relationship between the initial analyte concentration in the sample and the extracted amount, and this is the basis of quantitative analysis ^[11,12].

Another characteristic of SPME is that it is an equilibrium, rather than exhaustive, technique ^[12,13]. In fact, the extraction will only be complete in those cases where the distribution constant (K_{fs}) is considerably high and the sample volume (V_s) is very low (K_{fs} × V_f >> V_s) ^[14,15].

In those cases where sample volume is very high (K_{fs} × V_f << V_s), the previous equation can be simplified ^[4,6]:

$$n = K_{fs} \times V_f \times C_0 \quad \text{(Equation 2)}$$

In this equation the amount of the analyte extracted by the fibre relates directly to its matrix concentration, being independent of the sample volume, which makes the usefulness of this technique obvious for field applications. In practice, it won't be necessary to define a sample volume to collect before the analysis, because the fibre can be directly exposed to air, water, etc. By eliminating the sampling procedure, the entire analytical process can be accelerated, and the errors associated to analyte loss due to decomposition or adsorption in the vial's walls that involve the sample are minimized ^[12,17,18].

The above mentioned equations indicate that the efficiency of the extraction process depends on the distribution constant (K^{fs}), and this is responsible for the fibre coating's selectivity for a certain analyte even if other substances are present in the matrix.

Modos de Extração

Em SPME é possível trabalhar de três modos de extração diferentes: por imersão directa (DI-SPME), por headspace (HS-SPME) e por membrana. Estes modos encontram-se esquematizados na Figura 3.

Extraction Modes

Three different extraction modes exist: direct immersion (DI-SPME), headspace (HS-SPME) and membrane. These modes are shown in Figure 3.

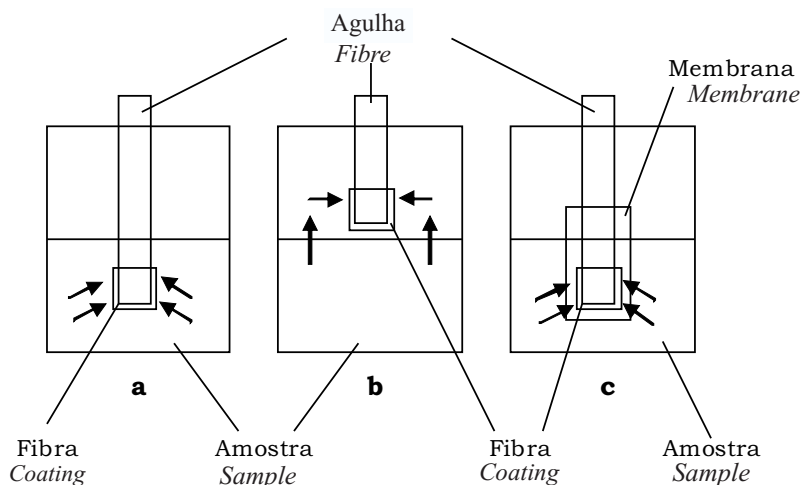


Figura 3 - Modos de extração: (a) imersão directa, (b) extração por headspace, (c) extração por membrana.
Figure 3 - Extraction modes: (a) direct immersion, (b) headspace extraction, (c) membrane extraction.

Na imersão directa, a fibra é posta directamente em contacto com a amostra, e os analitos distribuem-se entre a matriz e a fase extractiva. Para tornar a extração mais rápida é frequentemente necessário agitar a amostra, uma vez que o contacto entre os analitos e o revestimento da fibra é, deste modo, facilitado. Este modo é usado idealmente para extrair analitos pouco voláteis a partir de matrizes pouco sujas. Quanto à extração por headspace, neste caso os analitos necessitam de ser volatilizados antes de serem adsorvidos/absorvidos pelo revestimento da fibra, estando esta em contacto com o headspace do recipiente e não com a amostra. Deste modo protege-se a fibra de interferentes pouco voláteis e substâncias de peso molecular elevado (como por exemplo as proteínas) eventualmente presentes na matriz. É possível ainda levar a cabo modificações da amostra, como por exemplo a alcalinização, sem danificar a fibra, prolongando-se assim a sua vida média. Este modo de extração é ideal para analitos voláteis.

Similar à imersão directa encontra-se a extração por membrana, diferindo apenas no facto da fibra se encontrar protegida por uma membrana semi-permeável, prolongando assim a sua vida média. Este tipo de extração está indicado para matrizes sujas, nos casos em que a extração por headspace não é possível (e.g. analitos pouco voláteis)^[4,12].

Por outro lado, uma membrana feita de material

In direct immersion, the fibre is directly exposed to the sample and the analytes distribute between the matrix and the extraction phase. To make the extraction faster it is usually necessary to stir the sample, because the contact between analytes and fibre coating will be enhanced. This mode is used ideally to extract non volatile analytes from clean matrices.

Concerning headspace extraction, the analytes need to be volatilized before adsorption/absorption by the fibre coating, since this is in contact with the headspace and not with the sample. This way the fibre is protected from non volatile interferences and substances with high molecular weight (for example, proteins) eventually present in the matrix. It is also possible to modify the sample, e.g. increasing its pH without damaging the fibre, thus increasing its life. This extraction mode is ideal for volatile analytes.

Membrane extraction is similar to the direct immersion. The difference lies in the fact that in the former the fibre is protected by a semi-permeable membrane, thus increasing its life. This extraction mode is indicated for dirty matrices, in cases where the headspace extraction is not possible (e.g. non volatile analytes)^[4,12].

On the other hand, a membrane made from appropriate material can give a certain degree of selectivity to the extraction process. The kinetics of this extraction mode is substantially slower when compared to direct

apropriado pode proporcionar um certo grau de selectividade ao processo extractivo. A cinética deste modo de extracção é substancialmente mais lenta que na imersão directa, uma vez que os analitos têm de difundir-se através da membrana antes de chegar ao revestimento da fibra^[4].

Optimização do Processo de Extracção

Para obter uma boa precisão, e rendimento elevado num curto intervalo de tempo no processo de SPME, existem vários parâmetros que devem ser optimizados, já que como foi referido anteriormente com esta técnica a extracção dos analitos nunca é completa. De forma resumida são apresentados os principais parâmetros que afectam esta técnica de preparação de amostras:

Revestimento da fibra

O tipo de revestimento da fibra deve ser escolhido consoante a polaridade do analito que se pretende extrair. Assim, analitos pouco polares terão maior afinidade para revestimentos apolares (e.g. polidimetilsiloxano – PDMS –), ao passo que analitos mais polares serão adsorvidos preferencialmente por um revestimento polar (e.g. poliacrilato – PA –)^[13].

A adsorção dos analitos na superfície da fase estacionária é, independentemente da natureza desta, a primeira fase do processo extractivo. Posteriormente, se estamos na presença de uma fase líquida (e.g. PDMS), tem lugar uma etapa de absorção, ou de adsorção no caso de polímeros sólidos (e.g. , carbowax-divinilbenzeno –CW-DVB–)^[12,19-22].

Com fases líquidas, a relação espessura/comprimento (volume) da fase estacionária vai condicionar a sensibilidade do método, aumentando a quantidade de analito absorvido com o aumento da espessura. No entanto, uma vez que a cinética de extracção é, à medida que a espessura da fibra aumenta, mais lenta, são necessários tempos de extracção mais longos.

Em geral, compostos voláteis necessitam de uma espessura maior no revestimento da fibra, ao passo que se recomendam menores espessuras para analitos semi-voláteis. Na Tabela 1 são apresentados os diferentes tipos e características de revestimentos disponíveis comercialmente.

Agitação da amostra

De um modo geral, a agitação da amostra aumentará a quantidade de analito extraída e reduzirá o tempo de extracção, principalmente para analitos de maior peso molecular e com coeficientes de difusão elevados. Contudo, no caso de não se conseguir agitar uniformemente a amostra, é preferível omitir este passo, uma vez que a precisão será consideravelmente

immersion, due to the fact that the analytes have to transfer throughout the membrane before reaching the fibre coating^[4].

Optimization of the Extraction Process

Several parameters need to be optimized in order to obtain good precision and maximize the method's recovery, since as already mentioned above the extraction of the analytes is never complete. The main parameters that affect this technique will be discussed below:

Fibre Coating

The type of fibre coating should be chosen according to analyte polarity. This way, slight polar analytes will have higher affinity for polar coatings (e.g. Polydimethylsiloxane – PDMS –), and more polar analytes will be adsorbed preferably by a polar coating (e.g. Polyacrylate – PA –)^[13].

Independently of the stationary phase, the adsorption of the analytes on its surface is the first step of the extraction process. Subsequently, in the case of a liquid phase (e.g. PDMS) absorption takes place, or adsorption in the case of solid polymers (e.g. , Carbowax-Divinylbenzene –CW-DVB –)^[12,19-22].

In liquid phases, the volume of the stationary phase will affect the sensitivity of the method, increasing the amount of the absorbed analyte with the increase in thickness. However, since the extraction kinetics decreases with the increase in the fibre's thickness, longer extraction times will be required.

In general, volatile compounds need higher thickness in the fibre coating, and semi-volatile analytes require less thickness. In Table 1 different types and characteristics of commercially available coatings are presented.

Sample Stirring

In general, stirring the sample will increase the amount of the extracted analyte and will reduce the extraction time, mainly for analytes with higher molecular weight and high diffusion coefficients. However, in case a uniform sample stirring is not possible, it is preferable to omit this step, since the precision will be considerably lower.

The magnetic stirring is the most used technique. Other stirring techniques include ultrasonic stirring, fibre vibration and rotation, flow-through cell and vortex.

^[11,13,18,23-25]

menor.

A agitação magnética é a técnica mais utilizada. Entre outras destacam-se a agitação por ultra-sons, vibração e rotação da fibra, agitação sob fluxo e vórtex^[12,13,18,13-25].

Tabela 1 - Características dos diferentes tipos de fibras disponíveis no mercado.
Table 1 - . Characteristics of the different SPME fibres commercially available

TIPO DE FIBRA <i>Fibre Coating</i>	ESPESSURA <i>Film THICKNESS</i> (μm)	TEMPERATURA DE TRABALHO <i>WORKING TEMPERATURE</i> ($^{\circ}\text{C}$)
Polidimetilsiloxano <i>Polydimethylsiloxane</i> (PDMS)	7	220-320
	30	200-280
	100	
PDMS-Divinilbenzano <i>PDMS- Divinylbenzene</i> (PDMS/DVB)	60	HPLC
	65	200-270
Poliacrilato <i>Polyacrylate</i> (PA)	85	220-310
Carboxen TM /PDMS (CAR/PDMS)	75	250-310
	85	250-310
Carbowax [®] /DVB (CW/DVB)	65	200-250
	70	200-250
CW/Templated resin (CW/TPR)	50	HPLC
DVB/CAR/PDMS	50/30	230-270

Tempo de extracção

Em princípio, o objectivo da SPME é alcançar o equilíbrio de distribuição no sistema. O tempo de equilíbrio é definido como o tempo a partir do qual a quantidade de analito extraída permanece constante e corresponde, dentro do erro experimental, à quantidade extraída num tempo de extracção infinito^[4].

No entanto, os tempos de equilíbrio em análises biomédicas podem ser muito longos, estando descritos alguns métodos nos quais, por razões práticas, foram escolhidos tempos de extracção consideravelmente menores que o tempo de equilíbrio^[26-29]. Isto é possível porque a SPME é um método quantitativo para qualquer tempo de extracção, podendo obter-se sensibilidade suficiente antes de atingir o tempo de equilíbrio^[13,30]. Neste caso, este tempo deverá ser cuidadosamente controlado, já que pequenas alterações poderão conduzir a grandes erros experimentais^[4].

Tempo de dessorção

Como ficou referido anteriormente, a SPME pode ser utilizada em associação com a GC e a HPLC^[13,31,32]. Quando acoplada à GC, a dessorção térmica dos

Extraction Time

The objective of SPME is to reach distribution equilibrium within the system. The equilibrium time is defined as the time after which the amount of extracted analyte remains constant and corresponds, within the experimental error, to the extracted amount using an infinite extraction time^[4].

However, equilibrium times in biomedical analysis can be very long, and some methods are described in which, for practical reasons, extraction times considerably lower than equilibrium time were chosen^[26-29]. This is possible because SPME is a quantitative method for any extraction time, and it is possible to obtain enough sensitivity prior equilibrium^[13,30]. Nevertheless, this extraction time should be carefully controlled, due to the fact that small alterations can lead to great experimental errors^[4].

Desorption Times

As previously stated, SPME can be used in association with GC and HPLC^[13,31,32]. In GC, thermal desorption of the analytes takes place within the chromatograph, but these must have enough thermal stability and volatility in order to be thermally desorbed and separated by GC

analitos ocorre no interior do cromatógrafo, mas estes devem possuir estabilidade térmica e volatilidade suficientes para que possam ser desorvidos termicamente e separados por GC ^[5]. Se associada à HPLC a fase estacionária é lavada com um solvente orgânico e os analitos desorvidos na fase móvel, numa interface para SPME-HPLC ^[28,29]. Na literatura descreve-se ainda a associação da SPME com a electroforese capilar ^[30,31]. Neste trabalho apenas consideramos a desorção térmica dos analitos, dado que na literatura, a associação entre a SPME e a GC-MS é a mais usada.

O tempo de desorção deverá ser o mais curto possível para que os eventuais efeitos de arrastamento de analito de uma análise para outra (carry over) possam ser eliminados. O tempo ideal de desorção deve ser obtido experimentalmente, usando-se como temperatura do injector a maior possível, desde que não danifique o revestimento da fibra nem promova a decomposição térmica dos analitos. Após a introdução da agulha no injector, a exposição da fibra deverá ser feita rapidamente, para evitar que a desorção ocorra dentro da agulha, o que pode levar a que os picos cromatográficos saiam desdobrados (split peaks) ^[5,13].

Temperatura

Este parâmetro tem um efeito significativo, tanto na selectividade e sensibilidade como na cinética de extracção. Ao aumentar a temperatura, aumenta também a velocidade de extracção, mas a constante de distribuição entre a fibra e a amostra (K_{fa}) será mais pequena, originando uma perda de sensibilidade.

Do ponto de vista cinético, um aumento na temperatura de extracção produz um aumento dos coeficientes de difusão e uma diminuição das constantes de distribuição, conduzindo a um tempo de equilíbrio mais curto. Assim, os tempos de extracção serão mais curtos, mas a sensibilidade será menor ^[12,13].

Volume de amostra e de headspace

A sensibilidade do método é proporcional à quantidade de analito extraído da amostra. Como já referimos anteriormente, para a extracção por imersão directa (Equação 1), à medida que o volume de amostra aumenta, aumenta também a quantidade de analito extraída. Para volumes de amostra suficientemente elevados, a quantidade de analito extraída dependerá exclusivamente da constante de distribuição, do volume da fibra e da concentração inicial, sendo independente do volume de amostra (Equação 2).

Os compostos muito voláteis concentram-se preferencialmente no headspace, dando lugar a uma perda substancial da sensibilidade quando o volume deste é elevado. Deste modo, para aumentar a

^[5]. On the other hand, if HPLC is used, the stationary phase is rinsed with an organic solvent, and the analytes are desorbed in the mobile phase within an interface for SPME-HPLC ^[33,34]. It is also described in the literature the SPME association with capillary electrophoresis ^[35,36]. In this paper only the thermal desorption of the analytes will be considered, since the association of SPME and GC-MS is the most used in the literature. Desorption time should be as short as possible so that the eventual analyte carryover can be eliminated. The ideal desorption time should be experimentally obtained, using the highest injector temperature possible, as long as it does not damage the fibre coating or promote the decomposition of analytes. After introducing the needle in the injector, the fibre exposure should be made quickly, to avoid desorption within the needle and split peaks ^[5,13].

Temperature

This parameter has significant effect in selectivity and sensitivity as well as in the extraction kinetics. By increasing the temperature, the extraction speed is also increased, but the distribution constant between the fibre and the sample (K_{fa}) will be smaller, leading to a loss in sensitivity.

An increase in the extraction temperature will lead to an increase in the diffusion coefficients and a decrease of the distribution constants, leading to a shorter equilibrium time. Thus extraction times will be shorter but the sensitivity will be lower ^[12,13].

Sample and headspace volume

The sensitivity of the method is proportional to the amount of extracted analyte from the sample. As stated previously, in the direct immersion extraction (Equation 1), as the sample volume increases, the amount of extracted analyte also increases. For sample volumes sufficiently high, the amount of extracted analyte will depend exclusively on the distribution constant, the fibre volume and the initial concentration, being independent from the sample volume (Equation 2).

The highly volatile compounds concentrate preferably in the headspace, leading to a substantial loss of sensitivity when this volume is elevated. This way, to increase the method sensitivity, the headspace volume should be minimal, both in DI-SPME and in HS-SPME.

The headspace volume also affects the extraction time. In equilibrium, the headspace capacity should be higher than that of the stationary phase ($K_{hs}V_h = 20K_{fs}V_f$) if in a short extraction time ^[37]. However, for analytes with low headspace-sample (K_{hs}) distribution coefficients, the extraction time can be reduced if the

sensibilidade do método, o volume do headspace deverá ser mínimo, tanto na DI-SPME como na HS-SPME.

O volume de headspace também afecta o tempo de extração. No equilíbrio, a capacidade do *headspace* deve ser superior à da fase estacionária ($K_{hs}V_h = 20K_{fs}V_f$) se um tempo de extração curto^[37]. Porém, para analitos com coeficientes de distribuição headspace-amostra (K_{hs}) baixos o tempo de extração poderá ser reduzido se o volume de headspace (V_h) for diminuto^[10].

Adição de sais

Este parâmetro pode produzir uma alteração nos coeficientes de partição, levando muitas vezes a um aumento da quantidade de analito extraída. No entanto, a adição de sais conduz por vezes a uma diminuição na quantidade extraída quando os analitos se encontram na forma dissociada, já que o coeficiente de actividade das espécies iónicas aumenta com o aumento da força iónica da amostra, diminuindo assim o coeficiente de partição^[4,38]. Deste modo, é importante que os analitos estejam na sua forma não dissociada antes da extração.

No caso de analitos simultaneamente neutros e polares, o aumento da força iónica diminui a sua solubilidade, pelo que a quantidade de analito extraída aumenta. Por outro lado, os analitos apolares não são afectados.

A adição de sais é frequentemente utilizada para aumentar a concentração de compostos polares no headspace, melhorando a sua extração^[1,4,7].

pH

O pH da amostra afecta o equilíbrio de dissociação em meio aquoso, sendo a extração mais eficaz quando os analitos estão na forma não dissociada. Por exemplo, uma diminuição de pH resulta num aumento da concentração da espécie não dissociada dos compostos ácidos presentes na amostra, aumentando deste modo a quantidade extraída pela fibra. A mesma situação ocorre para os compostos básicos quando se aumenta o pH. Na prática é muito difícil levar a cabo alterações no pH quando se usa o modo de imersão directa, uma vez que o revestimento da fibra é danificado a valores de pH muito baixos ou muito altos. No entanto, na extração por headspace não há qualquer inconveniente em recorrer à modificação deste parâmetro para conseguir um aumento da sensibilidade da técnica^[1,4,7].

headspace's volume (V_h) is small^[10].

Salts Addition

This parameter can modify the partition coefficients, leading to an increase in the amount of extracted analyte. However, the salt addition sometimes leads to a decrease of the extracted amount when the analytes are ionized, because the coefficient of activity of the ionic species increases with the increase of the sample ionic strength, thus reducing the partition coefficient^[4,38]. It is thus important that the analytes are in its non-dissociated form previously to the extraction.

Concerning analytes that are simultaneously neutral and polar, the increase of ionic strength will decrease its solubility, increasing the amount of extracted analyte. On the other hand, apolar analytes are not affected.

Salt addition is often used to increase the concentration of polar compounds in the headspace, improving its extraction^[1,4,7].

pH

The pH of the sample affects the dissociation equilibrium in an aqueous medium, being the extraction more efficient when the analytes are in the non-dissociated form. For example, a decrease in the pH results in an increase of the concentration of the non-dissociated species of the acidic compounds present in the sample, thus increasing the extracted amount by the fibre. The same situation occurs for basic compounds when the pH is increased. In practice it is difficult to modify pH when the direct immersion mode is used, since the fibre coating is damaged for extreme pH values. However, in the headspace extraction one can modify the pH in order to obtain better sensitivity^[1,4,7].

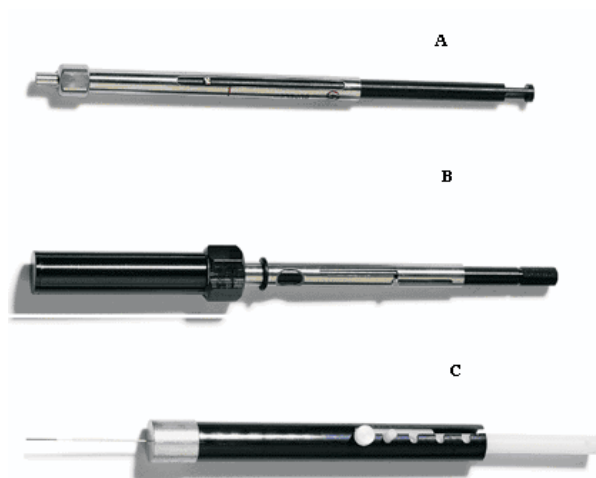


Figura 4 - Dispositivos comerciais de SPME para diferentes tipos de amostragem: (a) Fibra para processos automáticos e HPLC, (b) fibra para análise manual e (c) dispositivo portátil para efectuar trabalhos de campo.

Figure 4 - Commercial SPME fibre holders for different types of sampling: (a) fibre holder for automatic sampling and HPLC (High Performance Liquid Chromatography), (b) fibre holder for manual sampling and (c) SPME portable field sampler

Outros dispositivos

A partir de 2000 têm vindo a surgir novas variantes de SPME, como por exemplo a microextração em revestimentos capilares (in-tube SPME), a extração dinâmica em fase sólida utilizando seringas internas (SPDE) e ainda os agitadores adsortivos (SBSE) ^[39-42] (figura 5). Estas técnicas surgiram para colmatar as principais desvantagens da SPME, como a fragilidade da sílica fundida e a falta de protecção da fase estacionária aquando da sua extensão através da agulha da seringa.

Other devices

Since the year 2000 new approaches for SPME have appeared, e.g. the micro-extraction in capillary coatings (in-tube SPME), the solid phase dynamic extraction using internal syringes (SPDE) and the stir bar sorptive extraction (SBSE) ^[39-42] (Figure 5). These techniques have overcome the main SPME disadvantages, such as the fused silica fragility and the lack of protection of the stationary phase during its extension through the syringe needle.

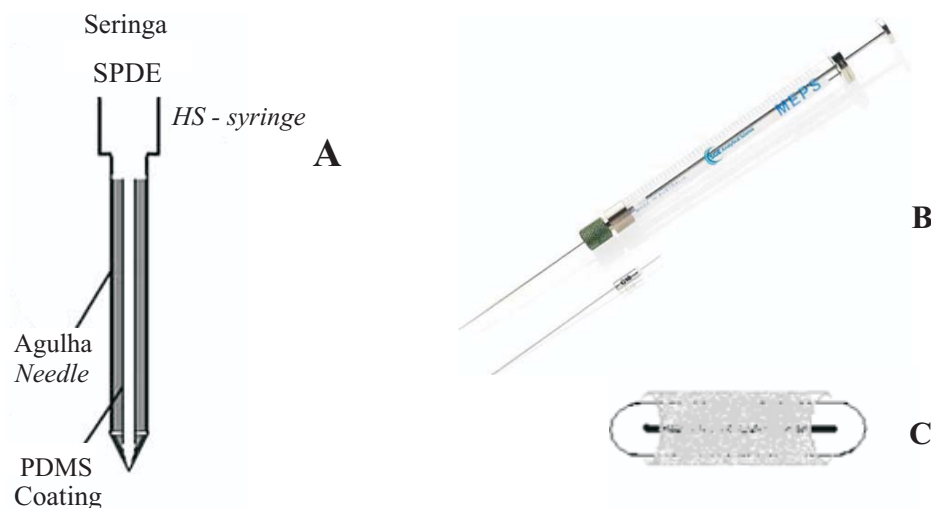


Figura 5 - Dispositivos comerciais de (a) Extração dinâmica em fase sólida (SPDE), (b) Microextração em seringa empacotada (MEPS), e (c) Extração por absorção sobre barra de agitação (SBSE).

Figure 5 -Commercial devices for (a) solid phase dynamic extraction (SPDE), (b) micro-extraction in packed syringe (MEPS), and (c) stir bar sorptive extraction (SBSE).

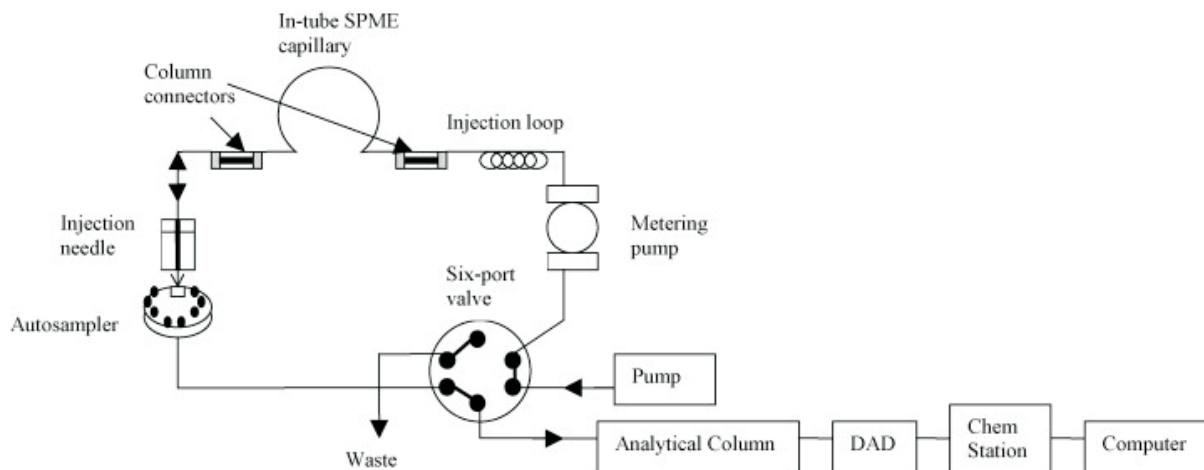


Figura 6 - Diagrama do processo automatizado de in-tube-SPME acoplado à HPLC (adaptado de Cháfer-Pericás C, Campíns-Falcó P, Prieto-Blanco MC. Automatic in-tube SPME and fast liquid chromatography: A cost-effective method for the estimation of dibutyl and di-2-ethylhexyl phthalates in environmental water samples. *Anal Chim Acta* 2008; 610:268-273).

Figure 6 - Schematic diagram of an automated in-tube SPME-HPLC system (adapted from Cháfer-Pericás C, Campíns-Falcó P, Prieto-Blanco MC. Automatic in-tube SPME and fast liquid chromatography: A cost-effective method for the estimation of dibutyl and di-2-ethylhexyl phthalates in environmental water samples. *Anal Chim Acta* 2008; 610:268-273).

Microextração em revestimentos capilares (In-tube SPME)

A microextração em revestimentos capilares é uma modificação da SPME que pode ser totalmente automatizável mediante utilização de amostradores automáticos^[41], permitindo ainda o acoplamento on-line com sistemas de HPLC. Este acoplamento é vantajoso na análise de compostos menos voláteis e/ou termicamente instáveis^[43]. Esta técnica utiliza o interior de uma coluna capilar aberta, com superfície interna revestida de um material absorvente. Encontram-se disponíveis no mercado diferentes tipos de material, sendo normalmente pouco polares e não iónicos, pelo que não são eficazes para a extração de analitos polares e espécies iónicas^[44].

Durante a extração ocorrem vários ciclos de aspiração/dispensa, até que o equilíbrio ou a sensibilidade desejada sejam alcançados^[45]. O processo de dessorção é efectuado passando a fase móvel ou um solvente adequado através do capilar, com posterior introdução na coluna analítica^[46] (Fig.6). À semelhança do que ocorre com outros tipos de SPME, alguns parâmetros, como por exemplo as dimensões do capilar, o volume, a capacidade da seringa de injeção, o número de ciclos, etc^[32], devem ser otimizados para maximizar o rendimento de extração.

Micro-extraction in capillary coatings (In-tube SPME)

The micro-extraction in capillary coatings is a SPME modification which can be fully automated by using automatic samplers^[41], further allowing the on-line coupling with HPLC systems. This coupling is advantageous in the analysis of less volatile and/or thermally unstable compounds^[43]. This technique uses the interior of an open capillary column, with the internal surface coated with an absorbent material. Different types of materials are available, but these are usually poorly polar and non-ionic, thus inefficient in the extraction of polar analytes and ionic species^[44].

During the extraction, several withdrawal/ejection cycles take place, until the desired equilibrium or sensitivity is achieved^[45]. The desorption process is made by pumping the mobile phase or an adequate solvent through the capillary, followed by an introduction in the analytical column^[46] (Figure 6). Similarly to what occurs in other types of SPME, some parameters, e.g. capillary dimensions, volume, capacity of the injection syringe, number of cycles, etc^[32], should be optimized to maximize the extraction efficiency.

This technique displays several advantages when compared to the conventional SPME, due to the fact that its constituents are a capillary column of fused silica (like the GC columns), which makes the

Esta técnica oferece numerosas vantagens quando comparada com a SPME convencional, uma vez que o facto de ter como constituintes uma coluna capilar de sílica fundida (como as colunas de GC), torna a fase estacionária mais resistente. Por outro lado, e como estão comercialmente disponíveis vários tipos de fases estacionárias, a modificação da sua polaridade é possível, o que contribui para a análise de um maior número de analitos. Os principais inconvenientes desta variante residem no facto de estar limitada à análise de amostra líquidas e da separação cromatográfica ter de ser efectuada por HPLC.

Extracção dinâmica em fase sólida

A extracção dinâmica em fase sólida (SPDE) foi desenvolvida e comercializada pela primeira vez em 2000 pela Chromtech (Idstein, Alemanha). Utiliza a mesma quantidade de adsorvente que a SPME convencional e à semelhança desta é utilizada uma seringa com uma agulha revestida com um material adsorvente, mas neste caso a fibra não é retráctil. Tanto para amostras gasosas como líquidas, a amostragem é realizada mediante ciclos de aspiração/dispensa por parte do êmbolo da seringa, pelo que a amostra entra em contacto com o material adsorvente várias vezes. Ao contrário do que é sugerido pelo nome desta técnica, a amostragem é estática, já que é estabelecido um equilíbrio na distribuição do soluto entre o adsorvente e a matriz, apesar da amostra passar através do material adsorvente (a movimentação da amostra só vai contribuir para que seja alcançado o equilíbrio num menor espaço de tempo).

A maior vantagem da SPDE quando comparada com a SPME é a maior robustez da fibra utilizada.

Quanto à sua aplicação, ainda existem poucos trabalhos referidos na literatura, devido sobretudo ao facto de se tratar de uma técnica muito recente. No entanto, a SPDE tem sido aplicada com sucesso na análise de compostos voláteis^[47-49], pesticidas^[50] e drogas de abuso^[8,51]. A principal desvantagem radica no carry over, já que os analitos tendem a ficar retidos no revestimento do material adsorvente mesmo após a sua desorção^[50].

Microextracção em seringa empacotada

A microextracção em seringa empacotada (MEPS) é também uma técnica recente de preparação da amostra que utiliza um procedimento de extracção muito semelhante ao da SPME em tubo e à SPDE^[47-49]. Trata-se de uma versão em miniatura da SPE, mas permite o acoplamento on-line a sistemas de GC-MS ou LC-MS sem modificações do dispositivo de extracção^[50]. Esta técnica utiliza aproximadamente 1 mg de um material sólido que se encontra empacotado no interior de uma seringa de 100-250 µL de volume. Numa primeira fase,

stationary phase more resistant. On the other hand, and because there are several types of stationary phases commercially available, the modification of its polarity is possible, which contributes for the analysis of a higher number of analytes. The main drawback of this variant lies in the fact that it is limited to the analysis of liquid samples and that the chromatographic separation must be performed by HPLC.

Solid-phase dynamic extraction (SPDE)

Solid-phase dynamic extraction (SPDE) was developed for the first time in 2000 by Chromtech (Idstein, Germany). It uses the same amount of adsorbent as conventional SPME, and uses a needle coated with an adsorbent material, but in this case the fibre is not retractable. For both gas and liquid samples, the sampling is made through withdrawal/ejection cycles by the syringe plunger, thus the adsorbent material is exposed to the sample several times. Despite of the fact that the sample passes through the adsorbent material, the sampling is static, since equilibrium is established in the distribution of the analyte between the adsorbent and the matrix.

The biggest SPDE advantage when compared to SPME is the higher robustness of the fibre. As for its application, there are still little cases referred in the literature, due mostly to the fact that it is a very recent technique. However, SPDE has been applied successfully in the analysis of volatile compounds^[47-49], pesticides^[50] and drugs of abuse^[8,51]. The main disadvantage lies in the carryover, because the analytes tend to be withheld in the coating of the adsorbent material even after desorption.^[50]

Micro-extraction in a packed syringe (MEPS)

The micro-extraction in a packed syringe (MEPS) is also a recent technique for sample preparation, which uses an extraction process very similar to those of in-tube SPME and SPDE^[52-54]. It is a miniaturized version of SPE, but allows the online coupling to GC-MS or LC-MS systems, without modifications in the extraction device^[55]. This technique uses approximately 1 mg of a solid material which is packed inside of a 100-250 µL volume syringe. On a first stage, the material is activated with an organic solvent like methanol, thus facilitating analyte retention. Then, the syringe withdraws the sample and the analytes are retained. This process can be repeated several times, concentrating the analytes inside the syringe^[56]. The packing material is then rinsed with water (usually 50 µL), removing proteins and other interferences present in the sample. The analytes are then eluted with 20-50 µL of an organic solvent (e.g. methanol or mobile phase) and directly injected in the chromatographic

o suporte sólido é activado com um solvente orgânico como o metanol, de forma a facilitar a retenção dos analitos. Seguidamente, a amostra entra em contacto com a seringa sendo aspirada por esta, de modo a que os analitos fiquem retidos no suporte sólido. Este processo pode ser repetido sucessivas vezes, de forma a concentrar os analitos no interior da seringa^[51]. O suporte é então lavado com água (habitualmente 50 µL), de forma a remover as proteínas e outros interferentes que possam estar presentes na amostra. Os analitos são depois eluídos com 20-50 µL de um solvente orgânico pelo qual tenham afinidade (e.g. metanol ou fase móvel) e injectados directamente no sistema cromatográfico^[53].

A MEPS é uma técnica totalmente automatizável que tem como vantagem o facto de ser uma técnica de extracção rápida, uma vez que permite a análise de uma amostra num minuto. Quando comparada com outras técnicas, a MEPS é uma técnica mais robusta que pode ser aplicada não só a amostras mais complexas como plasma e urina, como também a amostras com conteúdo elevado de solventes orgânicos.

Por outro lado, tem ainda como vantagens o facto de se obterem rendimentos de extracção elevados (60–90%) quando comparados com a SPME (1–25%), a utilização de um amplo intervalo de volumes de amostra (10–1000 µL), a redução no tempo de extracção e ainda um menor consumo de solventes orgânicos, ao contrário do que acontece com técnicas mais tradicionais como a LLE e a SPE^[53]. Além disso, o suporte sólido pode ser reutilizado, permitindo pelo menos a extracção de até 100 amostras de plasma ou 400 amostras de água, o que não acontece com as colunas de SPE, que são de utilização única^[52].

Extracção por absorção sobre barra de agitação (Stir Bar Sorptive Extraction; SBSE)

A constatação de que o teflon de um agitador magnético tinha a capacidade de reter parte dos analitos de uma amostra quando esta era agitada fez pensar na possibilidade de utilizar um agitador magnético revestido de PDMS como material extractor^[53,54]. Estes dispositivos comercializados sob o nome de Twister® (Figura 5) utilizam uma barra de agitação magnética revestida por uma camada de PDMS (a quantidade de PDMS varia entre 55 ou 219 µL dependendo do comprimento).

A extracção por absorção sobre barra agitadora ou SBSE é uma nova técnica de isolamento e concentração que permite a extracção de analitos orgânicos voláteis presentes em amostras mediante absorção sobre o PDMS que reveste o agitador^[59,55]. A teoria desta técnica baseia-se nos mesmos princípios da SPME, onde se pressupõe que os coeficientes de partição dos analitos entre a fase estacionária e a água (KPDMS/W)

system^[53].

The MEPS is a totally automated technique that has as advantage the fact that the extraction is fast, since it allows the analysis of a sample per minute. When compared with other techniques it is more robust and can be applied to more complex samples like plasma or urine, as well as to samples with high content in organic solvents.

On the other hand, high extraction efficiencies are obtained (60–90%) when compared with SPME (1–25%), and it is possible to use a wide range of sample volumes (10–1000 µL). In addition, the extraction time is reduced, and the use of organic solvents is minimal^[53]. Furthermore, the packing material can be reused, allowing for at least 100 extractions from plasma or 400 extractions from water samples, while SPE cartridges are of single-use^[57].

Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)

The fact that the teflon of a magnetic stirrer had the capacity to withhold part of the analytes of a sample when it was stirred, had lead to the possibility to use a magnetic stirrer coated with PDMS as extracting material^[58,59]. These devices commercialized under the name of Twister® (Figure 5) use a magnetic stir bar coated by a PDMS layer (the amount of PDMS varies between 55 or 219 µL according to its length).

The stir bar sorptive extraction or SBSE is a new isolation and concentration technique, which allows the extraction of volatile organic analytes present in samples through absorption by the PDMS layer coating the stirrer^[59,60]. The theory of this technique is based on the same principles of SPME, where it is assumed that the coefficients of analyte partition between the stationary phase and water (KPDMS/W) are proportional to the water/octanol partition coefficients (KO/W)^[59]. The extraction procedure is very simple, and the sampling can be done by suspension of the magnetic stirrer in the headspace of a solid or liquid sample (HSSE)^[61], or placing the stirrer in direct contact with the sample. The time necessary to reach equilibrium depends on sample volume, stir speed and the stirrer dimensions, and therefore these parameters should be optimized since they affect significantly the extraction efficiency^[62].

After the extraction, the magnetic stir bar is withdrawn from the sample and dried. The drying process is quick, and this is an advantage for the extraction of volatile compounds, e.g. volatile organic compounds (VOCs). Desorption depends on the separation technique used, and SBSE can be easily coupled to both HPLC and GC. The main advantage of this technique is its sensitivity. Indeed, it is 100 to 1000 times more sensitive than SPME, which is due to the difference in the amount of sorbent material used (between 55 and 219 µL of

são proporcionais aos coeficientes de partição octanol/água (KO/W) [59]. Quanto ao procedimento de extracção, este é muito simples, podendo a amostragem ser feita suspendendo o agitador magnético no headspace de uma amostra sólida ou líquida (HSSE) [56], ou colocando o agitador em contacto directo com a amostra. O tempo necessário para alcançar o equilíbrio depende do volume de amostra, da velocidade de agitação e das dimensões do agitador, pelo que estes parâmetros deverão ser alvo de optimização, uma vez que influenciam significativamente a eficiência da extracção [57].

Após a extracção, o agitador magnético é retirado da amostra e seco. A secagem ocorre rapidamente, o que constitui uma vantagem na extracção de compostos voláteis, como por exemplo compostos orgânicos voláteis (VOCs). A etapa de dessorção depende da técnica separativa a utilizar, tendo-se que a SBSE é perfeitamente acoplável tanto a HPLC como a GC.

A maior vantagem desta técnica é a sua sensibilidade, já que é entre 100 e 1000 vezes mais sensível que a SPME, o que se deve à diferença na quantidade de material absorvente empregue (entre 55 e 219 μL de PDMS na SBSE vs. 0.5 μL de PDMS na SPME). Os principais inconvenientes são o elevado custo do dispositivo aliado ao sistema de dessorção, a sua difícil automatização e o facto de só serem comercializados agitadores com PDMS.

Aplicações

Apesar de se tratar de uma técnica bastante recente, são muitos os trabalhos publicados na literatura científica nos últimos anos. O maior número encontra-se no campo das análises ambientais, apesar das aplicações clínicas e análise de alimentos estarem em crescimento. Outro campo importante de aplicação é no sector dos aromas e fragrâncias. Referem-se alguns exemplos de possíveis aplicações desta técnica nas áreas da química analítica e da toxicologia.

Análises ambientais

A SPME tem sido aplicada na extracção de compostos orgânicos a partir de diversas matrizes, incluindo amostras de água [33,58,59], ar [60], solos e sedimentos [61,62]. A maior parte dos trabalhos refere-se à extracção de VOCs [4,63,64]. No entanto, esta técnica foi também aplicada à determinação de outro tipo de contaminantes, como pesticidas [65-67], fenóis [33,68], hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), bifenilos policlorados (PCBs) [69,70], compostos nitroaromáticos e organometálicos [66], herbicidas [63].

PDMS in SBSE vs. 0.5 μL of PDMS in SPME). The main drawbacks are the high cost of the desorption device, the difficult automation and the fact that only PDMS stir bars are commercially available.

Applications

Despite of being a quite recent technique, many papers have been published in the scientific literature over the past few years. The highest number of papers belongs to environmental analysis, even though clinical applications and food analysis are growing. Another important application field is in the aroma and scent sectors. Some examples of applications of this technique in the areas of analytical chemistry and toxicology will be discussed below.

Environmental analysis

SPME has been applied in the extraction of organic compounds from several matrixes, including water samples [33,58,59], air [60], soil and sediments [61,62]. The majority of the papers deal with the extraction of VOCs [4,63,64]. However, this technique was also applied to the determination of other types of contaminants, like pesticides [65-67], phenols [33,68], Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Polychlorinated Biphenyls (PCBs) [69,70], nitroaromatic compounds and organometallics [66], herbicides [63].

Food analysis

This technique has also been used in the determination of contaminants in food [76-78], to determine the composition of food and beverages [66,79,80], and in the analysis of aromas and flavors [81-83].

Pharmaceutical applications

In the field of pharmaceutical analysis, the SPME is used to determine volatiles [79], fragrances and cosmetic components [86-87].

Clinical and Forensic applications

The use of SPME in this area is growing, and it is used in the determination of recreational drugs like amphetamines, ecstasy and piperazines [29,88-91], methadone [92,93], cannabinoids [8,94,95], biomarkers of alcohol consumption [96-99], GHB [100-102] and cocaine and metabolites [103-106] in different biological fluids. Furthermore, it is also possible to determine anaesthetics [66,107,108], antidepressants [66,109], benzodiazepines [110,111], barbiturates [112], phenothiazines [113], β -blockers [114], ethanol [115], hormones [116], diluents

Análise de alimentos

Esta técnica também é utilizada na determinação de contaminantes em alimentos [76-78], para determinar a composição de alimentos e bebidas [66,79,80], e na análise de aromas e sabores [81-83].

Aplicações farmacêuticas

No campo das análises farmacêuticas, a SPME é utilizada para determinar voláteis [84], fragrâncias e componentes de cosméticos [85-87].

Aplicações Clínicas e Forenses

A utilização da SPME nesta área está em grande expansão, sendo usada para a determinação de drogas recreativas, como anfetaminas, ecstasy e piperazinas [29,88-91], metadona [92,93], canabinóides [8,94,95], biomarcadores do consumo de álcool [96-99], GHB [100-102] e cocaína e metabolitos [103-106] em distintos fluidos biológicos. Além disso, é também possível determinar anestésicos [66,107,108], antidepressivos [66,109], benzodiazepinas [110,111], barbitúricos [112], fenotiazinas [113], bloqueadores β -adrenérgicos [114], etanol [115], hormonas [116], diluentes [117], cianeto [118], iões metálicos [119], rodenticidas [120] e pesticidas [26-28,66,121].

Outro campo de interesse é na análise de explosivos [1,122,123] e de agentes químicos utilizados na guerra química [124-128].

Outras aplicações

Estão também publicados trabalhos referentes à determinação de óleos essenciais [66] e de constituintes do tabaco [129,130].

Conclusões

Concluindo, ressaltamos as vantagens e inconvenientes esta técnica que possui quando comparada com técnicas mais convencionais utilizadas na rotina laboratorial, tais como a LLE e a SPE.

Entre as principais vantagens da SPME contam-se o facto de não utilizar solventes orgânicos (se associada à GC), ser simples e rápida, e o custo por análise ser reduzido. Por outro lado, permite a extração e a concentração dos analitos a partir de matrizes muito diversas como ar, água, solos e ainda matrizes biológicas (tanto in vivo como post mortem).

Trata-se de uma técnica com sensibilidade e selectividade elevadas, podendo apresentar limites de detecção muito baixos (na ordem dos ng/L, consoante o composto e o método de detecção).

Quanto ao dispositivo de extração, este é simples e

[117], cyanide [118], metallic ions [119], rodenticides [120], and pesticides [26-28,66,121].

Another field of interest in in the analysis of explosives and fire debris [1,122,123], as well as its use to determine chemical warfare agents [124-128].

Other applications

The determination of essential oils [66] and tobacco constituents [129,130] have also been published.

Conclusions

In conclusion, the advantages and drawbacks of SPME when compared to more conventional techniques used in laboratory routine analysis, such as LLE and SPE, have been highlighted.

SPME is not a simple and fast technique. Indeed, its main advantages are the fact that it does not require the use of organic solvents (if associated to GC), and cost-effective analysis. On the other hand, it allows the extraction and concentration of analytes from several matrices like air, water, soil and biological samples (both in vivo and post mortem).

It is a highly sensitive and selective technique, and the detection limits can be in the ng/L range, depending on the compound and the detection method).

Concerning the extraction device, it is simple and portable, thus the SPME can be easily applied to field analysis. The fibres can be reused, which is an advantage when compared to SPE, where the extraction cartridges are of single-use. The handling is simple and sample manipulation is reduced, minimizing errors and analyte loss during extraction.

The fact that little or no organic solvents are needed to accomplish the analysis has contributed to the implementation of the SPME in an increasing number of laboratories, which contributes positively to the environment and public health. The main drawbacks are the high costs associated to method development and validation and difficulties in automation, which can constitute a limitation factor in the analysis total time, in the case that a high number of samples is to be analyzed.

pode ser transportado, deste modo a SPME pode ser aplicada a análises de campo. As fibras são reutilizadas, o que é uma vantagem quando comparada à SPE, onde as colunas de extracção são de uso único. O manuseamento é simples e a preparação da amostra por parte do operador é reduzida, diminuindo deste modo os erros de manipulação e a perda de analitos durante a extracção.

O facto do consumo de solventes orgânicos ser reduzido ou mesmo nulo tem contribuído para a implementação da SPME num número cada vez maior de laboratórios, dado que representa um ganho para o ambiente e para a saúde pública.

Os principais inconvenientes são os custos elevados associados ao desenvolvimento e validação dos métodos e alguma dificuldade na automatização, o que pode constituir um factor de limitação no tempo total da análise, em caso de análise de um número elevado de amostras.

Referências / References

- [1]. Supelco. SPME/GC for forensic applications: Explosives, fire debris, and drugs of abuse. Bulletin 922. [documento online] 1998 [consultado em 2008 Jun 16] em: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4546.pdf>.
- [2]. Supelco. Solid phase microextraction/capillary GC analysis of drugs, alcohols, and organic solvents in biological fluids. Bulletin 901A. [documento online] 1999 [consultado em 2008 Jun 15] em: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4533.pdf>
- [3]. Supelco. Solid phase microextraction of volatile compounds. Application Note 11. [documento online] 1998 [consultado em 2008 Jul 23] em: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4558.pdf>.
- [4]. Pawliszyn J. Solid phase microextraction: Theory and practice. New York: Wiley-VCH; 1997.
- [5]. Arthur CL, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal Chem* 1990; 62(19): 2145-2148.
- [6]. Abdel-Rehim M, Carlsson G, Bielnstein M, Arvidsson T, Blomberg LG. Evaluation of solid-phase microextraction for the study of protein binding in human plasma samples. *J Chromatogr Sci* 2000; 38: 458-464.
- [7]. Supelco. Solid phase microextraction: Theory and optimization of conditions. Bulletin 923. [documento online] 1998 [consultado em 2008 Jun 15] em: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4547.pdf>.
- [8]. [Muschhoff F](#), [Lachenmeier DW](#), [Kroener L](#), [Madea B](#). Automated headspace solid-phase dynamic extraction for the determination of cannabinoids in hair samples. *Forensic Sci Int*. 2003;133:32-38.
- [9]. Lopes AL, Valente ALP (in memoriam), Augusto F. Microextraccao em fase solida. *Revista Analytica* [serie na Internet]. 2002 [consultado 2003 Dez 30]; (1): [p. 25-31]. Disponível em: http://www.revistaanalytica.com.br/analytica/ed_anteriores/01/index.html.
- [10]. Zhang Z, Pawliszyn J. Headspace solid phase microextraction. *Anal Chem*. 1993; 65(14): 1843-1852.
- [11]. Louch D, Motlagh S, Pawliszyn J. Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibers. *Anal Chem*. 1992; 64(10): 1187-1199.
- [12]. Lord H, Pawliszyn J. Evolution of solid-phase microextraction technology, review. *J Chromatogr A*. 2000; 885(1-2): 153-193.
- [13]. Ulrich S. Solid phase microextraction in biomedical analysis, review. *J Chromatogr A*. 2000; 902(1):167-194.
- [14]. Hubschamann H-J. Handbook of GC/MS - Fundamentals and applications. Weinheim: Wiley-VCH; 2001.
- [15]. Zhang Z, Yang MJ, Pawliszyn J. Solid-phase microextraction - A new solvent free alternative for sample preparation. *Anal Chem*. 1994; 66(17): 844A-853A.
- [16]. Gorecki T, Pawliszyn J. Effect of sample volume on quantitative analysis by solid-phase microextraction. Part 1: Theoretical considerations. *Analyst*. 1997; 122(10): 1079-1086.
- [17]. Muller L, Gorecki T, Pawliszyn J. Solid-Phase microextraction in analysis of pollutants in the field. In: Meyers RA, editors. *Encyclopedia of analytical chemistry*. New York: John Wiley & Sons, Inc; 2000. p. 3815-3831.

- [18]. Potter DW, Pawliszyn J. Rapid determination of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in water using solid-phase microextraction and GC-MS. *Environ Sci Technol.* 1994; 28(2):298-305.
- [19]. Gorecki T, Yu X, Pawliszyn J. Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. *Analyst.* 1999; 124(5): 643-649.
- [20]. Hawthorne SB, Yang Y, Grabanski CB, Miller DJ, Lee ML. Response to comments on adsorption versus absorption of polychlorinated biphenyls onto solid-phase microextraction coatings (comment). *Anal Chem.* 2000; 72(3): 642-643.
- [21]. Vaes WHJ, Hamwijk C, Ramos EU, Verhaar HJM, Hermens JLM. Partitioning of organic chemicals to polyacrylate-coated solid phase microextraction fibers: kinetic behavior and quantitative structure-property relationships. *Anal Chem.* 1996; 68(24): 4458-4462.
- [22]. Poerschmann J, Gorecki T, Kopinke F-D. Sorption of very hydrophobic organic compounds onto poly(dimethylsiloxane) and dissolved humic organic matter. 1. Adsorption or partitioning of VHOC on PDMS-coated solid-phase microextraction fibers-A never-ending story? *Environ Sci Technol.* 2000; 34(17): 3824-3830.
- [23]. Geppert H. Solid-phase microextraction with rotation of the microfiber. *Anal Chem.* 1998; 70(18):3981-3982.
- [24]. Eisert R, Pawliszyn J. Design of automated solid-phase microextraction for trace analysis of organic compounds in aqueous samples. *J Chromatogr A.* 1997; 776(2): 293-303.
- [25]. Ai J. Solid phase microextraction for quantitative analysis in nonequilibrium situations. *Anal Chem.* 1997; 69(6): 1230-1236
- [26]. Gallardo E, Barroso M, Margalho C, Cruz A, Vieira DN, López-Rivadulla M. Determination of parathion in biological fluids by means of direct solid-phase microextraction. *Anal Bioanal Chem.* 2006;386: 1717-26.
- [27]. Gallardo E, Barroso M, Margalho C, Cruz A, Vieira DN, López-Rivadulla M. Determination of quinalphos in blood and urine by direct solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2006; 832:162-168.
- [28]. Gallardo E, Barroso M, Margalho C, Cruz A, Vieira DN, López-Rivadulla M. Solid-phase microextraction for gas chromatographic/mass spectrometric analysis of dimethoate in human biological samples. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006;20:865-869.
- [29]. Costa S. Métodos de análise de piperazinas em fluidos biológicos. Dissertação de mestrado. Universidade de Aveiro. [documento online] 2007 [consultado em 2008 Sep 17]. em: URL: <http://biblioteca.sinbad.ua.pt/teses/2008001185>.
- [30]. DeBruin LS, Josephy PD, Pawliszyn, JB. Solid-phase microextraction of monocyclic aromatic amines from biological fluids. *Anal Chem.* 1998; 70(9): 1986-1992.
- [31]. Pragst F. Application of Solid-phase microextraction in analytical toxicology. *Anal Bioanal Chem.* 2008; 338: 1393-1414.
- [32]. Lord HL. Strategies for interfacing solid-phase microextraction with liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2007; 1152: 2-13.
- [33]. Gonzalez-Toledo E, Prat MD, Alpendurada MF. Solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of phenolic compounds in water. *J Chromatogr A.* 2001; 923(1-2): 45-52.
- [34]. Kumazawa T, Seno H, Watanabe-Suzuki K, Hattori H, Ishii A, Sato K, et al. Determination of phenothiazines in human body fluids by solid-phase microextraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom.* 2000; 35(9): 1091-1099.
- [35]. Jarmalaviciene R, Szumski M, Kornysova O, Kłodzińska E, Westerlund D, Krawczyk S, Mickevicius D, Buszewski B, Maruska A. Coupling of solid-phase microextraction continuous bed (monolithic) capillaries with capillary zone electrophoresis for direct analysis of drugs in biological fluids. *Electrophoresis* 2008; 29: 1753-1760.
- [36]. Kumar A, Gaurav, Malik AK, Tewary DK, Singh B. A review on development of solid phase microextraction fibers by sol-gel methods and their applications. *Anal Chim Acta* 2008; 610: 1-14.
- [37]. Gorecki T, Khaled A, Pawliszyn J. The effect of sample volume on quantitative analysis by solid phase microextraction. Part 2: Experimental verification. *Analyst.* 1998; 123(12): 2819-2824..
- [38]. Buchholz KD, Pawliszyn J. Optimization of solid-phase microextraction conditions for determination of phenols. *Anal Chem.* 1994; 66(1): 160-167.
- [39]. Gupta M, Pillai AK, Jain A, Verma KK. Coupled in-tube and on-fibre solid-phase microextractions for cleanup and preconcentration of organic micropollutants from aqueous samples and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2008; 618: 61-9.
- [40]. Dietz C, Sanz J, Cámara C. Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques. *J Chromatogr A.* 2006; 1103:183-192.
- [41]. Globig D, Weickhardt C. Fully automated in-tube solid-phase microextraction for liquid samples coupled to gas chromatography. *Anal Bioanal Chem.* 2005; 381:656-659.
- [42]. Kataoka H. Recent advances in Solid-Phase Microextraction and related techniques for pharmaceutical and biomedical analysis. *Current Pharmaceutical Analysis* 2005;1:65-84.
- [43].Djozan DJ, Amir-Zehni M. In-Loop Solid-Phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography. *Chromatographia* 2004;60:567-572.
- [44]. Wu J, Pawliszyn J. Polypyrrole-coated capillary coupled to HPLC for in-tube solid-phase microextraction and analysis of aromatic compounds in aqueous samples. *Anal. Chem.* 2001;73: 55-63.
- [45]. Kataoka H. Automated sample preparation using in-tube solid-phase microextraction and its application - a review. *Anal Bioanal Chem.* 2002; 373: 31-45.

- [46]. Lord HL, Pawliszyn J. Recent Advances in Solid Phase Microextraction and Membrane Extraction with a Sorbent Interface [documento online] 1998 [consultado em 2008 Oct 23] em: <http://www.spme.uwaterloo.ca/Mesi/Recentadvances.htm>.
- [47]. Sieg K, [Fries E](#), [Püttmann W](#). Analysis of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes and n-aldehydes in melted snow water via solid-phase dynamic extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2008;1178:178-86.
- [48]. [Van Durme J](#), [Demeestere K](#), [Dewulf J](#), [Ronsse F](#), [Braeckman L](#), [Pieters J](#), [Van Langenhove H](#). Accelerated solid-phase dynamic extraction of toluene from air. *J Chromatogr A*. 2007;1175:145-53.
- [49]. [Jochmann MA](#), [Yuan X](#), [Schmidt TC](#). Determination of volatile organic hydrocarbons in water samples by solid-phase dynamic extraction. *Anal Bioanal Chem*. 2007; 387:2163-74.
- [50]. [Lipinski J](#). Automated solid phase dynamic extraction--extraction of organics using a wall coated syringe needle. *Fresenius J Anal Chem*. 2001;369:57-62.
- [51]. [Lachenmeier DW](#), [Kroener L](#), [Musshoff F](#), [Madea B](#). Application of tandem mass spectrometry combined with gas chromatography and headspace solid-phase dynamic extraction for the determination of drugs of abuse in hair samples. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2003;17:472-478.
- [52]. Abdel-Rehim M AstraZeneca application "syringe for solid phase microextraction". *Current Patents Gazette* 2003, week 0310, WO 03019149, p. 77.
- [53]. Abdel-Rehim M. New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr. B* 2004;801:317-321.
- [54]. Abdel-Rehim M, Altun Z, Blomberg L. Microextraction in packed syringe (MEPS) for liquid and gas chromatographic applications. Part II-Determination of ropivacaine and its metabolites in human plasma samples using MEPS with liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2004; 39:1488-1493.
- [55]. Fritz J. *Analytical Solid Phase Extraction*, Wiley-VCH: New York; 1999.
- [56]. Blomberg LG. Two new techniques for sample preparation in bioanalysis: Microextraction in packed sorbent (MEPS) and use of a bonded monolith as sorbent for sample preparation in polypropylene tips for 96-well plates. *Anal Bioanal Chem* 2008; in press.
- [57]. El-Beqqali A, Abdel-Rehim M. Quantitative analysis of methadone in human urine samples by microextraction in packed syringe-gas chromatography-mass spectrometry (MEPS-GC-MS). *J Sep Sci* 2007; 30: 2501-2505.
- [58]. Baltussen E, Sandra P, David F, Cramers C. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles *J Microcol Sep* 1999; 11:737- 747.
- [59]. Sánchez- Rojas F, Bosch- Ojeda C, Cano -Pavón JM. A review of stir bar sorptive extraction. *Chromatographia* 2008; in press
- [60]. Baltussen E., Cramers C.A., Sandra P.J.F. Sorptive sample preparation - a review. *Anal Bioanal Chem* 2002; 373: 3-22.
- [61]. Tienpont B, David F, Desmet K, Sandra P.J.F. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary GC-MS applied to biological fluids. *Anal Bioanal Chem* 2002; 373: 46-55.
- [62]. Bicchi C, Cordero C, Rubiolo P, Sandra P. Impact of water/PDMS phase ratio, volume of PDMS, and sampling time on Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) recovery of some pesticides with different KO/W. *J. Sep. Sci.* 2003; 26:1650-1656.
- [63]. Gerecke AC, Tixier C, Bartels T, Schwarzenbach RP, Muller SR. Determination of phenylurea herbicides in natural waters at concentrations below 1 ng L⁻¹ using solid-phase extraction, derivatization, and solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2001; 930(1-2): 9-19.
- [64]. Blair S, Song M, Hall B, Brodbelt J. Determination of γ -hydroxybutyrate in water and human urine by solid phase microextraction-gas chromatography/quadrupole ion trap spectrometry. *J Forensic Sci*. 2001; 46(3): 688-693.
- [65]. Koziel JA, Noah J, Pawliszyn J. Field sampling and determination of formaldehyde in indoor air with solid-phase microextraction and on-fiber derivatization. *Environ Sci Technol*. 2001; 35(7): 1481-1486.
- [66]. Supelco. SPME Applications guide. 3rd ed. Bulletin 925 B [documento online] 2001 [consultado em 2002 Fev 2] em: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/8700/8652.pdf>
- [67]. Santos FJ, Sarrion MN, Galceran MT. Analysis of chlorobenzenes in soils by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1997; 771(1-2): 181-189.
- [68]. Kuran P, Sojak L. Environmental analysis of volatile organic compounds in water and sediment by GC. *J Chromatogr A* 1996; 733: 119-141.
- [69]. Bartelt R, Zilkowski B. Nonequilibrium quantitation of volatiles in air streams by SPME. *Anal Chem* 1999;71:92-101.
- [70]. Magdic S, Pawliszyn JB. Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *J Chromatogr A*. 1996 2; 723:111-22
- [71]. Boyd-Boland A, Magdic S, Pawliszyn J. Simultaneous determination of 60 pesticides in water using solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analyst*. 1996; 121(7): 929-937.
- [72]. Lambropoulou DA, Sakkas VA, Albanis TA. Validation of an SPME method, using PDMS, PA, PDMS-DVB, and CW-DVB SPME fiber coatings, for analysis of organophosphorus insecticides in natural waters. *Anal Bioanal Chem*. 2002; 374: 932-941.
- [73]. Buchholz KD, Pawliszyn J. Optimization of solid-phase microextraction conditions for determination of phenols. *Anal Chem*. 1994; 66(1): 160-167.
- [74]. Yang Y, Miller DJ, Hawthorne SB. Solid-phase microextraction of polychlorinated biphenyls. *J Chromatogr A* 1998; 800: 257-266.

- [75]. Cam D, Gagni N, Punin MO. Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental solid matrices. *J Chromatogr Sci* 2004; 42: 329-335.
- [76]. Kataoka H, Lord H, Pawliszyn J. Application of SPME in food analysis. *J Chromatogr A* 2000; 880: 35-62.
- [77]. Page B, Lacroix G. Analysis of volatile contaminants in vegetable oils by headspace SPME with carboxen-based fibers. *J Chromatogr A* 2000; 873: 79-94.
- [78]. Grimm CC, Bergman C, Delgado JT, Bryant R. Screening for 2-acetyl-1-pyrroline in the headspace of rice using SPME/GC-MS. *J Agric Food Chem*. 2001; 49(1): 245-249.
- [79]. Fitzgerald G, James K, MacNamara K, Stack M. Characterization of whiskeys using SPME with GC-MS. *J Chromatogr A* 2000; 896: 351-359.
- [80]. Wasowicz E, Kaminski E, Jelen H, Wazly K. Solid phase microextraction for the analysis of some alcohols and esters in beer: comparison with static headspace method. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 1496-1473.
- [81]. Marsili R, Miller N. Determination of major aroma impact compounds in fermented cucumbers by SPME-GC-MS olfactometry detection. *J Chromatogr Sci* 2000; 38: 307-314.
- [82]. Chin H, Bemhard R, Rosenberg M. SPME for cheese volatile compound analysis. *J Food Sci* 1996; 61: 1118-1129.
- [83]. Yang X, Peppard T. Solid phase microextraction for flavour analysis. *J Agric Food Chem*. 1994; 42(9): 1925-1930.
- [84]. Milsson T, Larsen T, Montanarella L, Madsen J. Application of headspace SPME for the analysis of volatile metabolites. *J Microbiol Methods* 1996; 25: 245.
- [85]. Liu Z, Wene M. Measurement of gas-liquid partition coefficient and headspace concentration profiles of perfume materials by SPME and capillary. *J Chromatogr Sci* 2000; 38: 377-382.
- [86]. Lambropoulou DA, Giokas DL, Sakkas VA, Albanis TA, Karayannis MI. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-p-aminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid-phase microextraction. *J Chromatogr A* 2002; 967: 243-253.
- [87]. Rivero RT, Topiwala V. Quantitative determination of formaldehyde in cosmetics using a combined solid-phase microextraction-isotope dilution mass spectrometry method. *J Chromatogr A* 2004; 1029: 217-22.
- [88]. Jurado C, Gimenez MP, Soriano T, Menendez M, Repetto M. Rapid analysis of amphetamine, methamphetamine, MDA, and MDMA in urine using SPME, direct on-fibre derivatization, and analysis by GC-MS. *J Anal Toxicol* 2000; 24: 11-16.
- [89]. Pawliszyn J. Applications of Solid phase microextraction. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 1999.
- [90]. Kongshaug K, Perdensen-Bjergard S, Krongh M, Rasmunssen K. SPME/capillary GC for the profiling of confiscated ecstasy and amphetamine. *Chromatographia* 1999; 50: 247-252.
- [91]. Ugland HG, Krogh M, Rasmussen KE. Automated determination of 'Ecstasy' and amphetamines in urine by SPME and capillary gas chromatography after propylchloroformate derivatization. *J Pharm Biomed Anal*. 1999; 19(3-4): 463-475.
- [92]. Lucas AC, Bermejo AM, Taberner MJ, Fernandez P, Strano-Rossi S. Use of SPME for the determination of methadone and EDDP in human hair by GC-MS. *Forensic Sci Int* 2000; 107: 225-232.
- [93]. Bermejo A, Seara R, Lucas AS, Taberner M, Fernandez P, Marsili R. Use of SPME for the determination of methadone and its main metabolite, EDDP, in plasma by GC-MS. *J Anal Toxicol* 2000; 24: 66-69.
- [94]. Hall B, Satterfield-Doeer M, Parikh A, Brodbelt J. Determination of cannabinoids in water and human saliva by SPME and quadrupole ion trap GC-MS. *Anal Chem* 1998; 70: 1788-1796.
- [95]. Strano-Rossi S, Chiarotti M. Solid-phase microextraction for cannabinoids analysis in hair and its possible application to other drugs. *J Anal Toxicol*. 1999; 23(1): 7-10.
- [96]. De Martinis BS, Martin CC. Automated headspace solid phase microextraction and capillary gas chromatography analysis of ethanol in postmortem specimens. *Forensic Sci Int* 2002; 128: 115-119.
- [97]. Pragst F, Auwarter V, Sporkert F, Spiegel K. Analysis of fatty acid ethyl esters in hair as possible markers of chronically elevated alcohol consumption by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Forensic Sci. Int.* 2001; 121: 76-88.
- [98]. Auwarter V, Sporkert F, Hartwig S, Pragst F, Vater H, Diefenbacher A. Fatty acid ethyl esters in hair as markers of alcohol consumption. Segmental hair analysis of alcoholics, social drinkers, and teetotalers. *Clin Chem* 2001; 47: 2114-2123.
- [99]. Pragst F, Auwarter V, Kiessling B, Dyes C. Wipe-test and patch-test for alcohol misuse based on the concentration ratio of fatty acid ethyl esters and squalene CFAEE/CSQ in skin surface lipids. *Forensic Sci. Int.* 2004; 143: 77-86.
- [100]. Frison G, Tedeschi L, Maietti S, Ferrara SD. Determination of γ -hydroxybutyric acid (GHB) in plasma and urine by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/positive ion chemical ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2000; 14: 2401-2407.
- [101]. Blair S, Song M, Hall B, Brodbelt J. Determination of γ -hydroxybutyrate in water and human urine by solid phase microextraction-gas chromatography/quadrupole ion trap mass spectrometry. *J Forensic Sci.* 2001; 46: 688-693.
- [102]. Meyers JE, Almirall JR. Analysis of γ -hydroxybutyric acid (GHB) in spiked water and beverage samples using solid phase microextraction (SPME) on fiber derivatization/gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). *J Forensic Sci.* 2005; 50: 31-36.
- [103]. Hall BJ, Parikh AR, Brodbelt JS. Aqueous phase hexylchloroformate derivatization and solid-phase microextraction: determination of benzoylecgonine in urine by gas chromatography-quadrupole ion trap mass spectrometry. *J Forensic Sci* 1999; 44: 527-534.
- [104]. Toledo FC, Yonamine M, Moreau RLM, Silva OA. Determination of cocaine, benzoylecgonine and cocaethylene in human hair by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2003; 798: 361-365.

- [105]. Follador MJ, Yonamine M, Moreau RLM, Silva OA. Detection of cocaine and cocaethylene in sweat by solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2004; 811: 37-40.
- [106]. Alvarez I, Bermejo AM, Tabernero MJ, Fernández P, López P. Determination of cocaine and cocaethylene in plasma by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2007; 798: 361-365.
- [107]. Watanabe T, Namera A, Yaskiki M, Iwasaki Y, Kojima T. Simple analysis of local anaesthetics in human blood using headspace SPME and GC-MS-electron impact ionization selected ion monitoring. *J Chromatogr B* 1998; 709: 225-232.
- [108]. Cánovas Martínez L, Barros Núñez C, Gallardo E, González González D, López Piñero S, Castro Méndez A. Clinical effects and pharmacokinetics of ropivacaine and bupivacaine for epidural analgesia during labor. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2004;51:128-32.
- [109]. Ulrich S, Martens J. Solid phase microextraction with Capillary GLC and NDPD for the assay of antidepressant drugs in human plasma. *J Chromatogr B* 1997; 696: 217-234.
- [110]. Luo Y, Pan L, Pawliszyn J. Determination of five benzodiazepines in aqueous solution and biological fluids, using SPME with carbowax/DVB fiber coating. *J Microcolumn Sep* 1998; 10: 193-201.
- [111]. Reubsat KJ, Ragnar Norli H, Hemmersbach P, Rasmussen KE. Determination of benzodiazepines in human urine and plasma with solvent modified solid phase micro extraction and gas chromatography; rationalisation of method development using experimental design strategies. *J Pharm Biomed Anal* 1998; 18:667-680.
- [112]. Frison G, Favretto D, Tedeschi L, Ferrara SD. Detection of thioental and pentobarbital in head and pubic hair in a case of drug-facilitated sexual assaults. *Forensic Sci Int* 2003; 133:171-174.
- [113]. Seno H, Kumazawa T, Ishii A, Hattori H, Nishikawa M, Watanabe K, Suzuki O. Determination of phenothiazines in human body fluids by SPME and LC-tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2000; 35: 1091-1099.
- [114]. Wu J, Lord H, Pawliszyn J, Kataoka H. Polypyrrole coated capillary in-tube SPME coupled with HPLC electrospray ionization MS for the determination of beta blockers in urine and serum samples. *J Microcolumn Sep* 2000; 12: 255-266.
- [115]. Grote C, Pawliszyn J. Solid phase microextraction for the analysis of human breath. *Anal Chem* 1997; 69: 587-596.
- [116]. Okeyo P, Snow N. Analysis of estrogens and anabolic steroids by SPME with on-fiber derivatization and GC-MS. *J Microcolumn Sep* 1998; 10: 551-556.
- [117]. Kim N, Park S. The comparison of toluene determination between headspace SPME and headspace methods in glue sniffer's blood and urine samples. *J Forensic Sci* 2000; 24: 702-70.
- [118]. Frison G, Zancanaro F, Favretto D, Ferrara SD. An improved method for cyanide determination in blood using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2006; 20:2932-2938
- [119]. Yu X, Yuan H, Gorecki T, Pawliszyn J. Determination of lead in blood and urine by SPME/GC. *Anal Chem* 1999; 71:2998-3002.
- [120]. Barroso M, Gallardo E, Margalho C, Avila S, Marques EP, Vieira DN, López-Rivadulla M. Application of solid phase microextraction to the determination of strychnine in blood. *J Chromatogr B* 2005;816:29-34.
- [121]. Musshoff F, Junker H, Madea B. Simple determination of 22 organophosphorous pesticides in human blood using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *J Chromatogr Sci* 2002; 40:29-34.
- [122]. Furton K, Almirall J, Bi M, Wang J, Wu L. Application of SPME to the recovery of explosives and ignitable liquid residues from forensic specimens. *J Chromatogr A* 2000; 885:419-432.
- [123]. Supelco. SPME/HPLC Interface Combines Fast Sample Extraction with Efficient Analysis for Explosives. Application Note 98. [documento online] 1997 [consultado em 2008 Sep 19] em: URL: <http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4700/4642.pdf>.
- [124]. D'Agostino PA, Chenier CL, Hancock JR, Lepage CR. Liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometric and desorption electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of chemical warfare agents in office media typically collected during a forensic investigation. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007; 21:543-549.
- [125]. Schneider JF, Boparai AS, Reed LL. Screening for sarin in air and water by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr Sci* 2001; 39:420-424.
- [126]. Hook GL, Kimm G, Koch D, Savage PB, Ding B, Smith PA. Detection of VX contamination in soil through solid-phase microextraction sampling and gas chromatography/mass spectrometry of the VX degradation product bis(diisopropylaminoethyl)disulfide. *J Chromatogr A* 2003; 992:1-9.
- [127]. Kimm GL, Hook GL, Smith PA. Application of headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for detection of the chemical warfare agent bis(2-chloroethyl) sulfide in soil. *J Chromatogr A* 2002; 971:185-191.
- [128]. Wooten JV, Ashley DL, Calafat AM. Quantitation of 2-chlorovinylarsonous acid in human urine by automated solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2002; 772:147-153.
- [129]. Watson C, Ashley D. Quantitative analysis of acetates in cigarette tobacco using SPME-GC-MS. *J Chromatogr Sci* 2000; 38:137-144.
- [130]. Yang S, Smetena I. Determination of tobacco alkaloids using SPME and GC-NPD. *Chromatographia* 1998; 47: 443-448.