

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de trabalho de conclusão de curso

Otimização e validação de método para análise simultânea de solventes orgânicos em
fluido oral coletado por Quantisal™

Ana Laura Bemvenuti Jacques

Porto Alegre, junho de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de trabalho de conclusão de curso

Otimização e validação de método para análise simultânea de solventes orgânicos em
fluido oral coletado por Quantisal™

Ana Laura Bemvenuti Jacques

Prof. Dra. Renata Pereira Limberger

Orientadora

Msc. Máira Kerpel dos Santos

Coorientadora

Porto Alegre, junho de 2013

À minha mãe e minha avó,
meus exemplos de vida.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, obrigada pelo apoio, pelo conhecimento e pela confiança.

À minha mãe, minha base de tudo, e à minha avó, minha segunda mãe, fundamentais em minha vida.

À minha família, pelo apoio e pelo carinho.

À minha Co, Maíra, obrigada pelos ensinamentos e amizade.

Aos colegas do LabToxico, Bruna Tassi, Bruna Coppe, Elo, Kris, Char, Kelli, Laila, Giuliano, Amanda, Rosana e André pelo companheirismo, risadas e chimarrão.

Ao LAPPS, pela estrutura disponibilizada.

Este artigo foi elaborado segundo as normas da revista Química Nova apresentadas em anexo

Otimização e validação de método para análise simultânea de solventes orgânicos em
fluido oral coletado por Quantisal™

Ana Laura Bemvenuti Jacques, Bruna Tassi Borille, Bruna Cláudia Coppe, Maíra
Kerpel dos Santos, Renata Pereira Limberger*

Laboratório de Toxicologia, Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

*Endereço de e-mail: rlrenata@yahoo.com

Optimization and validation of a method for simultaneous analysis of organic solvents
in oral fluid collected by Quantisal™

The development of analytical methods is required for the biological monitoring of occupational exposure. Considering that oral fluid (OF) is a promising matrix, the aim of this study was to optimize the headspace extraction by using the central composite design and to validate a methodology for the simultaneous analysis of ethyl ether, dichloromethane and ethyl acetate in OF by headspace-gas chromatography with mass spectrometry detector. The best condition chosen for the headspace analysis was 85°C for 5 minutes. The method was satisfactorily validated, making it adequate for use in toxicological analysis of occupational exposure to organic solvents.

Keywords: Analytical method; Occupational exposure; Organic solvents.

INTRODUÇÃO

A exposição a agentes potencialmente tóxicos, advindos de variadas fontes, é cotidiana. Entre as fontes de exposição, destacam-se aquelas relacionadas ao ambiente de trabalho, onde frequentemente substâncias químicas estão presentes, interagindo com o organismo humano. É fundamentalmente necessário para a saúde dos trabalhadores o conhecimento das substâncias as quais estão expostos e o estabelecimento de um programa de controle e avaliação de exposição a elas, buscando assim prevenir ou minimizar a incidência de efeitos deletérios decorrentes dessa interação.¹

No meio ocupacional brasileiro, o uso de solventes orgânicos representa significativo risco à saúde dos indivíduos, uma vez que o espectro de utilização desses compostos é bastante amplo.² Dentre esses, o diclorometano, amplamente empregado na indústria, é classificado no grupo 3A, de substâncias possivelmente carcinogênicas para o homem.³ Também industrialmente empregados e, além disso, muito utilizados na rotina química laboratorial, o éter etílico e o acetato de etila, o primeiro caracteristicamente sedativo por inalação e o segundo irritante, também representam riscos pela exposição.

O monitoramento biológico consiste em uma rotina de avaliação e interpretação da concentração de substâncias ou de seus metabólitos em vários meios biológicos, como o sangue, urina e fluido oral.¹ A determinação quantitativa de solventes orgânicos em fluidos biológicos é de grande importância, considerando a sua volatilidade e toxicidade ao organismo.⁴ Sendo assim, tornam-se necessários métodos que comprovem a presença desses solventes para a realização de monitoramento biológico.

No controle de exposição a esses solventes normalmente empregam-se as matrizes sangue e urina para a determinação do xenobiótico ou de seu metabólito. No entanto, o fluido oral (FO) é uma matriz alternativa que vem sendo utilizada para

diversos fins, entre eles para avaliar a exposição ocupacional no monitoramento de condutores sob influência de drogas e em centros de reabilitação.⁵ Essa matriz é composta de saliva, fluidos gengivais, transudatos da mucosa bucal, detritos celulares, bactérias e resíduos de produtos ingeridos.^{6, 7, 8, 9} A saliva é originada a partir de três pares de glândulas salivares principais (parótida, submandibular e sublingual), além de outras glândulas salivares acessórias situadas sob a língua, na mucosa bucal e no palato.^{9, 10} A concentração dos componentes do FO, bem como o volume e a sua composição, podem variar de acordo com o estado psicológico, influências hereditárias, higiene oral, uso de medicamentos, hora do dia e método de coleta, incluindo o tipo de estimulação utilizado na coleta.⁹ As glândulas salivares são altamente irrigadas, o que permite a rápida transferência da substância do sangue para a saliva.⁷ Para determinada molécula estar presente no FO, esta deve passar através da camada da membrana epitelial e para isso a substância deve apresentar determinado grau de lipofilicidade. Entre os mecanismos de passagem do sangue para o FO, o mais comum é a difusão passiva simples, na qual a maioria das substâncias se enquadra.^{7, 9}

Há uma variedade de dispositivos de coleta de fluido oral disponíveis comercialmente, permitindo uma coleta fácil, rápida, reprodutível e com volume adequado de fluido oral.¹¹ O Quantisal™ (Immunalysis Corporation, Pomona, CA, USA) consiste em um *swab* de celulose absorvente fixado a uma haste de polipropileno e um tubo de plástico contendo uma solução tampão. Apresenta um indicador de volume baseado em um corante azul, que se torna visível quando 1 mL de FO foi coletado. A coleta é realizada sob a língua e ao término o coletor é transferido para o tubo de transporte que contém 3 mL de solução tampão com conservante não-azida.¹²

O crescente uso do FO como matriz biológica se deve principalmente as vantagens sobre outras matrizes comumente empregadas, devido a boa correlação com o estado clínico do indivíduo e a facilidade de coleta, sendo essa não-invasiva e

podendo ser realizada no próprio ambiente de trabalho de forma assistida,^{8, 13} eliminando a necessidade de instalações especiais. Além disso, os riscos associados à coleta são menores se comparado com o sangue e a possibilidade de adulterações e substituições é diminuída, em contraste com a utilização de urina.⁷ Outro aspecto a ser considerado é a detecção dos analitos na forma inalterada e a facilidade da análise laboratorial de rotina, diminuindo o tempo de preparação das amostras e os custos associados.

A técnica mais recomendada para a análise de voláteis em material biológico é a cromatografia em fase gasosa (CG), com utilização da técnica de *headspace* (HS).¹⁴ Os detectores frequentemente usados são o de ionização de chamas (DIC), de captura de elétrons (DCE) e de espectrometria de massas (EM). A análise com CG/EM permite a identificação inequívoca dos analitos¹⁵ além de proporcionar uma maior sensibilidade. O HS é frequentemente associado à CG para fins de concentração e análise de compostos orgânicos voláteis. Neste, a amostra é depositada em um *vial* que, uma vez selado, é submetido à determinada temperatura, na qual os analitos volatilizam até atingir um equilíbrio, e assim uma alíquota do vapor desprendido da amostra é analisada.¹⁵ Trata-se de uma técnica relativamente simples que se caracteriza pela possibilidade de determinação dos voláteis de forma direta, permitindo a introdução da amostra sem pré-tratamento no cromatógrafo à gás,¹⁶ diminuindo assim o tempo de preparação e análise. Devido a essas vantagens, essa técnica vem ganhando aceitação e popularidade mundialmente. Duas metodologias diferentes podem ser aplicadas na análise de compostos voláteis por HS, a estática e a dinâmica. Ao contrário do dinâmico, o HS estático não requer a completa remoção do analito da matriz para sua quantificação, sendo que somente um volume bem definido de amostra em equilíbrio é retirado para análise cromatográfica.¹⁷ É uma técnica mais simples, sendo facilmente aplicada nas rotinas laboratoriais.

Para determinar condições experimentais ótimas de análise, a utilização de experimentos fatoriais é vantajosa por indicar as condições otimizadas a partir de experimentos adequadamente planejados. Um delineamento experimental é conduzido por fatores ou variáveis que interferem na resposta experimental.¹⁸ Com o objetivo de reduzir o número de pontos experimentais existentes nos fatoriais completos, criou-se a técnica dos delineamentos compostos. Dentre os delineamentos padrões, o Delineamento de Composto Central (DCC) é considerado um delineamento ótimo.¹⁸

Considerando que para o estudo dos solventes orgânicos em todas as áreas de interesse, são necessários métodos precisos e exatos que possibilitem a análise dos mesmos,¹⁹ o desenvolvimento e validação de método analítico que permita a identificação e quantificação de solventes em FO torna-se pertinente para o monitoramento biológico ocupacional. Com isso, este trabalho objetiva a otimização das condições de análise por HS através de desenho experimental utilizando como modelo o DCC e posterior validação de metodologia por HS-CG/EM para quantificação simultânea de éter etílico, diclorometano e acetato de etila em fluido oral.

METODOLOGIA

Reagentes e Materiais

Metanol, acetato de etila, éter etílico, diclorometano, clorofórmio, tolueno, etanol, isopropanol, propanol, butanol e isopentanol foram adquiridos da Tedia Company (Fairfield, OH, EUA). O dispositivo de coleta Quantisal™ e a solução tampão conservante foram adquiridos da Immunalysis Corporation (Pomona, CA, USA). Os frascos de headspace e as tampas de alumínio com septo de PTFE e silicone, foram adquiridos da Agilent Technologies (Agilent J&W Scientific, Folsom, CA, USA).

Condições Cromatográficas

Para a realização das análises foi utilizado o cromatógrafo CG 5975C acoplado a detector de massas 7890A (Agilent Technologies, CA, USA) e equipado com injetor automático de HS (CTC Analytics Combipal, Basel, Switzerland). A coluna utilizada foi Phenomenex Zebron ZB-BAC1, 30 mx0,32 mmx1,80 µm. A temperatura do forno foi programada em 40 °C (3 min) com rampa de 5° C/min até 65 °C (1 min) seguida de uma rampa de 60 °/min até 200 °C que foi mantida por 0,75 min, totalizando um tempo de análise de 12 minutos. O injetor foi mantido a temperatura de 200 °C e operado no modo *split* 25:1. As temperaturas da linha de transferência (interface), da fonte e do quadrupolo foram mantidas a 220 °C, 230 °C e 150 °C, respectivamente. Utilizou-se hélio ultrapuro como gás de arraste, com fluxo de 1,4 mL/min. O detector de massas foi operado no sistema de impacto de elétrons de 70 eV e no modo SIM (*Single Ion Monitoring*). Os íons monitorados para o éter etílico foram *m/z* 74, 59, 45, 31, *m/z* 86, 84, 49, 35 para o diclorometano, *m/z* 88, 70, 61, 43 para o acetato de etila e *m/z* 87, 70, 55, 42 para o isopentanol, sendo os íons sublinhados aqueles que foram utilizados para a quantificação. A resposta dos solventes foi avaliada através da relação entre a área do pico do analito e a área do pico do padrão interno (PI).

Amostras Branco

As amostras branco de FO foram obtidas de homens e mulheres voluntários que não estavam expostos a solventes e foram congeladas até a sua utilização.

Soluções padrão

As soluções padrão de éter etílico, diclorometano e acetato de etila, bem como do PI isopentanol, foram preparadas em metanol na concentração de 1 µL/mL.

Preparo das amostras

Para a construção da curva de calibração, foi utilizada uma solução padrão a partir da qual foram realizadas as devidas diluições para as sete concentrações da

curva. Estas foram adicionadas a 1 mL de FO branco e em seguida diluídas com 3 mL de tampão Quantisal™. Após a adição de tampão as amostras foram submetidas à agitação em vórtex por 10 segundos e uma alíquota de 1 mL foi retirada e transferida para um *vial* de HS de 10 mL. Imediatamente após adicionou-se 50 µL de solução de PI e selou-se o *vial*, transferindo-o para a bandeja do injetor automático para ser submetido à análise cromatográfica.

Desenho experimental

A otimização das condições do HS foi realizada através da aplicação do DCC. Os resultados foram analisados utilizando-se o software estatístico Minitab® 16.2.4 (State College, PA, USA). As duas variáveis escolhidas foram tempo e temperatura, sendo o intervalo de estudo estabelecido de 5 a 20 minutos e de 50 a 120 °C, respectivamente. O valor de α foi estabelecido considerando o número de variáveis independentes (n), aplicando $\alpha = (2^n)^{1/4}$. A tabela 1 apresenta os níveis codificados e seus respectivos níveis reais das variáveis avaliadas no desenho.

Tabela 1

O experimento foi realizado de forma randomizada, totalizando 13 análises, que incluíram cinco repetições do ponto central (0;0), quatro pontos cúbicos (1;1)(-1;-1)(1;-1)(-1;1) e quatro pontos axiais (0;1,41)(0;-1,41)(1,41;0)(-1,41;0). As respostas às variações foram avaliadas através da área dos picos dos solventes analisados, sendo que para isso foram construídos gráficos de contorno utilizando o software estatístico.

Validação de método analítico

A validação foi realizada seguindo o preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).²⁰ Os parâmetros avaliados foram seletividade, efeito

residual, efeito matriz, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e estabilidade.

Seletividade

A seletividade foi avaliada através da análise de seis amostras de FO de indivíduos diferentes e os resultados foram comparados com amostras do limite inferior de quantificação (LIQ). De forma complementar, foi realizada a análise de outros seis solventes orgânicos (clorofórmio, etanol, isopropanol, propanol, butanol e tolueno) que foram adicionados às amostras a fim de verificar a possível interferência desses na análise do éter etílico, diclorometano e acetato de etila.

Efeito residual e efeito matriz

Na avaliação do efeito residual, uma amostra branco foi analisada antes e duas amostras branco foram analisadas após uma amostra do limite superior de quantificação (LSQ). Os resultados foram comparados às respostas obtidas no LIQ, não aceitando-se resultados superiores a 20 % no tempo de retenção (tr) dos analitos e 5 % no tr do PI.

O efeito matriz foi avaliado através da análise de 3 controles de qualidade altos (CQA) e 3 controles de qualidade baixos (CQB) em matriz e em solução metanólica. Os resultados foram avaliados através do cálculo do Fator de Matriz Normalizado (FMN), não se admitindo coeficiente de variação (CV %) entre os FMN maiores que 15 %.

Linearidade

A linearidade da faixa de concentração proposta foi verificada através da construção de três curvas de calibração em 3 dias diferentes compreendendo sete concentrações (10 nL/mL; 25 nL/mL; 40 nL/mL; 50 nL/mL; 60 nL/mL; 75 nL/mL e 80 nL/mL). Com os dados, obteve-se a equação da reta através de regressão linear.

Precisão e exatidão

A precisão e exatidão foram realizadas em 3 dias diferentes através da análise de 5 replicatas do CQA (60 nL/mL), controle de qualidade médio - CQM (40 nL/mL), CQB (25 nL/mL), LIQ (10 nL/mL) e controle de qualidade de diluição – CQD (50 nL/mL). A precisão foi avaliada através do CV % e a exatidão através do erro padrão relativo (EPR). Para a exatidão e precisão se admitiram valores inferiores a 15 %, exceto para o LIQ, para o qual pode-se admitir valores menores ou iguais a 20 %.

Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O LQ foi determinado considerando valores de precisão menores que 20 % e de exatidão entre 80-120 % através da análise de cinco amostras nas concentrações do LIQ. O LD foi estimado através da relação sinal/ruído (S/R) de aproximadamente três.

Estabilidade

A estabilidade das amostras foi avaliada através de três amostras de CQA e três amostras de CQB analisados no momento do preparo e após o estudo de estabilidade. Para as análises de estabilidade foram utilizadas curvas de calibração recém preparadas. As amostras foram estudadas após serem submetidas a quatro ciclos de congelamento e descongelamento de 24 horas, 16 horas em geladeira e 4 horas a temperatura controlada (20 °C). A estabilidade do PI e analitos em solução padrão foi avaliada após 20 horas em *freezer*. O resultado foi analisado através do desvio padrão da média das concentrações obtidas com relação ao valor nominal, não aceitando-se valores superiores a 15 %, exceto para as soluções que somente aceitam valores inferiores a 10 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Técnicas estatísticas multivariáveis vêm sendo muito aplicadas a métodos cromatográficos, em especial em estudos de otimização de preparo e extração de amostras, permitindo determinar as condições experimentais ótimas através de um número limitado de experimentos. Das metodologias de resposta de superfície, o DCC é o que vem sendo mais frequentemente utilizado para otimização de métodos cromatográficos.^{21, 22} No caso do HS, a determinação das condições experimentais ótimas para análise de solventes é multifatorial, sendo influenciada por fatores como a temperatura e tempo de equilíbrio no HS. O aumento da temperatura do HS é comumente utilizado a fim de aumentar a pressão de vapor e assim facilitar a detecção sensível de substâncias voláteis.²³ Com o objetivo de obtenção da melhor resposta, o DCC foi aplicado. Nesse caso, a área do pico do solvente analisado é a resposta experimental de interesse e está em função das variáveis de estudo independentes escolhidas, sendo estas a temperatura e o tempo de equilíbrio no HS. A faixa de temperatura e tempo utilizadas no delineamento foram escolhidas baseadas nas condições encontradas na literatura para análise por HS para esses solventes e outros de estrutura química semelhante.^{24, 25, 26, 27, 28, 29} A figura 1 mostra o gráfico de contorno construído a partir dos resultados obtidos na aplicação do DCC. A região de interesse situa-se no ponto extremo ou próximo a ele. Trata-se da região ótima, onde as variáveis associadas resultaram em respostas experimentais maximizadas. Por tratar-se da análise simultânea de três solventes distintos, não há tanto interesse no ponto máximo de resposta para cada um, já que essas não poderiam ser utilizadas simultaneamente, mas sim em uma faixa na qual os três solventes pudessem juntos ter as melhores respostas experimentais. Definiu-se a temperatura de 85°C com tempo de incubação de 5 minutos, pelo fato de todos os solventes apresentarem boa resposta nessas condições, bem como por não ser um tempo excessivamente longo, sendo, portanto viável para a implementação na rotina laboratorial.

O Isopentanol foi escolhido como PI pelo fato de diversas substâncias do grupo dos alcóois serem usualmente utilizadas como PI nas análises dessa classe de solventes,^{29, 30, 31, 32, 33} bem como porque idealmente o PI não pode estar presente na amostra em estudo¹⁵ e de fato este solvente é muito pouco utilizado, tanto em laboratórios, quanto em indústrias, diminuindo a possibilidade de ser encontrado nas amostras. Além disso, não interfere na análise cromatográfica dos analitos, coeluinto ou apresentando baixa resolução com os picos de interesse e apresenta comportamento cromatográfico semelhante aos analitos nas análises.

Os cromatogramas das análises apresentaram adequada resolução (Figura 2). Os solventes foram monitorados através de seus respectivos espectros de massas, no modo SIM, nos quais quatro íons foram selecionados para cada substância (figura 3) buscando o aumento da sensibilidade do método.

A análise de FO de seis indivíduos diferentes na seletividade torna-se importante considerando a grande variabilidade qualitativa e quantitativa do FO. A seletividade do método mostrou-se adequada, não havendo substâncias coeluinto próximo aos tempos de retenção dos analitos e do PI. A análise qualitativa de outros compostos orgânicos voláteis, além dos previamente mencionados na quantificação é de grande interesse, sendo valiosa para a evidenciação da presença ou não das substâncias.³⁴ Sob esse aspecto o método proposto viabiliza a identificação inequívoca de outros sete compostos orgânicos utilizados na seletividade, como demonstrado na figura 4.

O efeito residual avaliado apresentou-se de acordo com o preconizado. O efeito matriz também se manteve dentro dos limites aceitos, apresentando coeficiente de variação de 7,8 % para o éter etílico, 9,8 % para o diclorometano e 7,2 % para o acetato de etila.

As três curvas de calibração realizadas em três dias distintos foram aprovadas de acordo com os critérios estabelecidos pela legislação e apresentaram coeficientes de correlação linear superiores a 0,99. A regressão avaliada através de análise de

variância (ANOVA) validou os resultados obtidos da curva. A precisão e exatidão intradia e interdia apresentaram coeficiente de variação (CV) e erro padrão relativo (EPR) aceitáveis, abaixo de 20 % para o LIQ e abaixo de 15 % para os demais controles, como mostra a tabela 2.

Tabela 2

O limite de quantificação do método proposto é de 10 nL/mL para as três substâncias, sendo este o limite inferior de quantificação das curvas de calibração. O limite de detecção estimado através da relação sinal/ruído foi de 0,5 nL/mL para o éter etílico e 0,01 nL/mL para o diclorometano e 0,01 nL/mL para o acetato de etila. A boa sensibilidade do método pode ser atribuída a utilização do detector de espectrometria de massas.^{35, 36} Métodos de análises que permitam identificar substâncias em baixas quantidades em fluidos biológicos são essenciais para avaliar a exposição e a quantidade de uma determinada substância no organismo. Os métodos podem viabilizar estudos que investiguem a correlação entre a exposição ao xenobiótico e os danos biológicos.³⁷

A estabilidade foi comprovada para as condições de 4 horas a temperatura controlada (20 °C), não apresentando desvio superior a 15 % com relação à concentração nominal. A estabilidade dos analitos e PI em solução por 20 horas em freezer também pode ser comprovada, pois a média dos controles não apresentaram desvios superiores a 10 % em comparação com as soluções recém-preparadas. Entretanto, os analitos sofreram variação superior ao preconizado tanto após a realização de quatro ciclos de congelamento e descongelamento de 12 horas quanto após 16 horas em geladeira. Considerando que o ensaio de estabilidade visa estabelecer as condições ideais para o armazenamento e transporte das amostras, recomenda-se através dos resultados obtidos que as amostras sejam coletadas, imediatamente congeladas e assim mantidas até a análise, evitando o processo de descongelamento e congelamento.

O uso da matriz FO como uma ferramenta diagnóstica vem crescendo nos últimos anos devido ao aumento significativo de metodologias sensíveis e ao maior entendimento dos mecanismos de transferências de substâncias à cavidade oral. Atualmente o FO é reconhecido como uma matriz alternativa robusta, com numerosas aplicações³⁸ e seu uso no monitoramento biológico já foi sugerido como uma possível ferramenta para a avaliação da exposição ocupacional de solventes. O monitoramento biológico do tolueno já demonstrou-se possível utilizando o FO como matriz.³⁹ O tolueno juntamente ao etilbenzeno, *p*-xileno e estireno também já tiveram método em FO desenvolvido, sendo esse aplicável no monitoramento biológico substituindo a matriz urina.⁴⁰ Estes estudos prévios corroboram o grande potencial do FO no monitoramento de outros solventes, o que suporta ainda mais o método desenvolvido e validado neste trabalho.

A especificidade da matriz urina na toxicologia ocupacional vem sendo questionada, principalmente quando a intensidade de exposição ao solvente é baixa.⁴¹⁴² Assim, grande atenção vem sendo dada para a análise do próprio solvente no sangue, sendo a determinação destes em sangue preferível à determinação dos metabólitos na urina devido a baixa especificidade dessa última.^{15, 43} As concentrações dos diversos fármacos no FO correlacionam-se bem com as concentrações sanguíneas,^{7, 44} o que sugere sua intercambialidade com o sangue e que a análise qualitativa no FO pode ser uma alternativa valiosa para determinar se há ou não exposição a uma substância no momento da amostragem, com a vantagem de no FO haver o acúmulo preferencial da substância inalterada, enquanto no sangue alta taxa de biotransformação pode ser encontrada, dificultando a análise.⁴⁵ Embora historicamente a urina seja utilizada como matriz de escolha para testes toxicológicos,⁷ com o avanço de tecnologias, métodos com maior sensibilidade foram desenvolvidos⁸ e dispositivos de coleta de FO comercialmente disponíveis foram introduzidos, prospectando o FO como uma matriz biológica promissora nas análises toxicológicas.⁷

É importante considerar que a utilização de FO como matriz pode apresentar problemas analíticos decorrentes do uso de dispositivos de coleta, que por utilizarem soluções tampão e conservantes com diferentes composições de sais e tensoativos não iônicos, podem alterar a precisão e exatidão das análises. É necessário observar no desenvolvimento de novas metodologias essa possibilidade. Com isso, a utilização do tampão Quantisal™ nos ensaios é pertinente, considerando que essa possibilidade de alteração é avaliada no momento da validação.⁴⁶

Outro aspecto a ser considerado é a importância da aplicação da técnica de HS, eliminando etapas de preparação de amostra, além de proteger o sistema cromatográfico. A injeção direta pode danificar a longo prazo a coluna ou a fonte do CG/EM pela presença de conservantes dos dispositivos de coleta e outros constituintes da matriz biológica.⁴⁷ A utilização da técnica de HS se mostrou vantajosa, por tratar-se de um método mais rápido e limpo para a análise de compostos orgânicos voláteis em matrizes complexas, considerando que amostras biológicas necessitam normalmente de extensas técnicas de preparação buscando extrair e concentrar os analitos não voláteis indesejados. Essas técnicas de extração e concentração exigem tempo e elevam os custos das análises. Além disso, a utilização da técnica de HS demonstra aumentar a vida útil da coluna se comparada com a injeção direta,⁴⁸ devido a adequabilidade à técnica de CG.¹⁵ Estas características são essenciais para que um método possa ser aplicado nas rotinas laboratoriais.

CONCLUSÃO

A realização de desenho experimental através da aplicação do DCC foi adequada e permitiu a otimização do método desenvolvido. Com isso, as condições escolhidas permitiram melhores respostas, gerando uma melhor sensibilidade ao método proposto.

O método validado apresentou precisão, exatidão, linearidade, seletividade, efeito matriz e efeito residual satisfatórios. A metodologia proposta mostrou-se hábil na

detecção e quantificação de solventes orgânicos em baixas quantidades, sendo, portanto, possível a sua utilização no monitoramento biológico ocupacional.

REFERÊNCIAS

1. Amorim, L. C. A.; *Rev. Bras. Med. Trab.* **2003**, 1, 124.
2. Leite, E. M. A.; Em *Fundamentos de Toxicologia*; Oga, S.; Camargo, M. M. A.; Batistuzzo, J. A. O.; eds.; Atheneus: São Paulo, 2008, cap. 3.3.
3. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. *List of MAK and BAT Values 2012*, Wiley-VCH: Bonn, 2012.
4. Barua, R.; Chi, L.; Fitzpatrick, R.; Gillard, D.; Kostyniak, P. J.; *J. Anal. Toxicol.* **2008**, 32, 379.
5. Bosker, W. M.; Huestis, M. A.; *Clin. Chem.* **2009**, 55, 1910.
6. Schramm, W.; Smith, R. H.; Craig, P.A.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1993**, 694, 311.
7. Cone, E. J.; Huestis, M. A.; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2007**, 1098, 51.
8. Frederick, D. L.; *Clin Lab Med.* **2012**, 32, 467.
9. Aps, J. K. M.; Martens, L. C.; *Forensic Science International.* **2005**, 150, 119.
10. Drummer, O. H.; *Clin Biochem Rev.* **2006**, 27, 147.
11. Samyn, N.; Laloup, M.; De Boeck, G.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 1437.
12. Quintela, O.; Crouch, D. J.; Andrenyak, D. M.; *J. Anal. Toxicol.* **2006**, 30, 614.
13. Choo, R. E.; Huestis, M. A.; *Clin. Chem. Lab. Med.* **2004**, 42, 1273.
14. Spinelli, E.; *Vigilância Toxicológica: comprovação do uso de álcool e drogas através de testes toxicológicos*, Interciência: Rio de Janeiro, 2004.
15. Bernal, E. Em *Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology, Toxicology and Some Specific Applications*; Salih, B.; eds.; InTech: México, 2012, cap.10.
16. Gobato, E. A. A. F.; Lanças, F. M.; *Quim. Nova.* **2001**, 24, 176.
17. Markelov, M.; Bershevits, O. A.; *Anal. Chim. Acta.* **2001**, 432, 213.
18. Mateus, N. B.; Barbin, D.; Conagin, A.; *Acta Scientiarum Maringá.* **2001**, 23, 1537.
19. Demeestere, K.; Dewulf, J.; De Witte, B.; Van Langenhove, H.; *J. Chromatogr., A.* **2007**, 1153, 130.

20. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 17 de maio de 2012. Diário Oficial da União, Brasil, 2012.
21. Ferreira, S. L. C.; Bruns, R. E.; Silva, E.G. P.; Santos, W. N. L.; Quintella, C. M.; David, J. M.; Andrade, J. B.; Breitzkreitz, M. C.; Jardim, I. C. S. F.; Neto, B. B.; *J. Chromatogr., A*. **2007**, 1158, 2.
22. Kamankesh, M.; Mohammadi, A.; Tehrani, Z. M.; Ferdowsi, R.; Hosseini, H.; *Talanta*. **2013**, 109, 46.
23. Seto Y.; *J. Chromatogr., A*. **1994**, 674, 25.
24. Groppi, A.; Poletini, A.; Lunetta, P.; Achille, G.; Montagna, M.; *Journal of forensic science*. **1994**, 39, 871
25. Broussard, L. A.; Brustowicz, T.; Pittman, T.; Atkins, K. D.; Presley, L.; *Journal of forensic science*. **1997**, 42, 1186.
26. Schubert, J.; *Journal of forensic science*. **1997**, 42, 144.
27. Broussard, L. A.; Broussard, A. K.; Pittman, T.; Lirette, D. K.; *Journal of forensic science*. **2000**, 45, 223.
28. Zarrabeitia, M. T.; Ortega, C.; Altuzarra, E.; Martinez, M. A.; Mazarrasa, O.; Calvet, R.; *Journal of forensic science*. **2001**, 46, 726.
29. Gaillard, Y.; Masson-Seyer, M. F.; Giroud, M.; Roussot, J. F.; Prevosto, J. M.; *Int J Legal Med*. **2006**, 120, 241.
30. Poli, D.; Manini, P.; Andreoli, R.; Franchini, I.; Mutti, A.; *J. Chromatogr. B*. **2005**, 820, 95.
31. Logan, B. K.; Case, G. A.; Kiesel, E. L.; *Journal of Forensic Sciences*. **1994**, 39, 1544.
32. Sharp, M. E.; *J. Anal. Toxicol*. **2001**, 25, 631.
33. Sharp, M. E.; Dautbegovic, T.; *J. Anal. Toxicol*. **2001**, 25, 628.
34. Idowu, O. R.; Caddy, B.; *Journal of the Forensic Science Society*. **1982**, 22: 123.
35. Vidal, J. L. M.; Frias, M. M.; Frenich, A. G.; Serrano, F. O.; Olea, N.; *Anal. Bioanal. Chem*. **2002**, 372, 766.

36. Espada, M. C. P.; Frenich, A. G.; Vidal, J. L. M.; Parrilla, P.; *Anal. Lett.* **2001**, 314, 597.
37. Ashley, D. L.; Bonin, M. A.; Cardinali, F. L.; McCraw, J. M.; Wooten J. V.; *Environmental Health Perspectives.* **1996**, 104, 871.
38. Spiehler, V.; Cooper, G.; Em *Drug Testing in Alternate Biological Specimens*; Jenkins, A. J.; Caplan, Y. H.; eds.; Humana Press: Totowa, 2008, cap 5.
39. Ferrari, M.; Negri, S.; Zadra, P.; Ghittori, S.; Imbriani, M.; *Int Arch Occup Environ Health.* **2008**, 81, 1021.
40. Gherardi, M.; Gordiani, A.; Gatto, M.; *J. Chromatogr., B.*, **2010**, 878, 2391.
41. Nise, G.; *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* **1992**, 63, 377.
42. Johnai, H.; Sato, M.; *Ind. Health.* **1988**, 26, 197.
43. Kawai, T.; Yasugia, T.; Mizunuma, K.; Horiguchi, S.; Ikedab M.; *Toxicol. Lett.* **1992**, 63, 333.
44. Caplan, Y. H.; Goldberger, B. A.; *J. Anal. Toxicol.* **2001**, 25, 396.
45. Kintz, P.; Samyn, N.; Em *Forensic Science, Handbook of Analytical Separations*; Bogusz, M. J.; eds.; Elsevier Science B. V.: Amsterdam, 2000, cap 13.
46. Gallardo, E.; Queiroz, J. A.; *Biomed. Chromatogr.* **2008**, 22, 795.
47. Gunnar, T.; Ariniemi, K.; Lillsunde, P.; *J. Mass. Spectrom.* **2005**, 40, 739.
48. Corrêa, C. L.; Pedroso, R. C.; *J. Chromatogr., B.* **1997**, 704, 365.

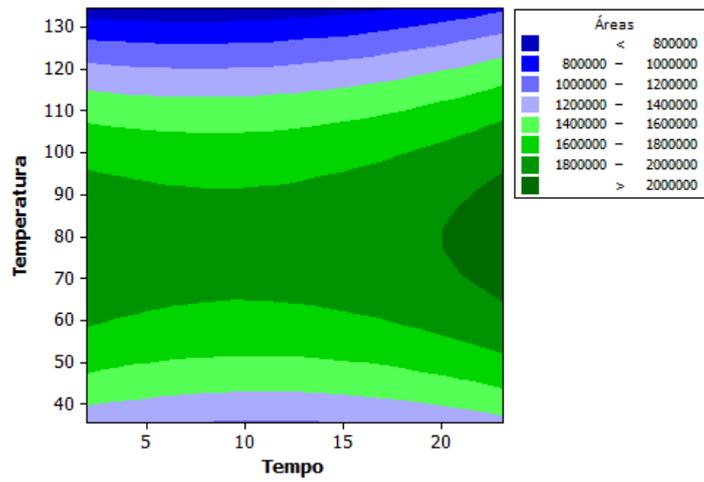
Figura 1. Gráfico de contorno do éter etílico, diclorometano e acetato de etila obtidos através da aplicação de DCC.

Figura 2. Cromatograma da análise de éter etílico(1), diclorometano(2) e acetato de etila(3) com PI (4) em fluido oral por HS-CG-EM.

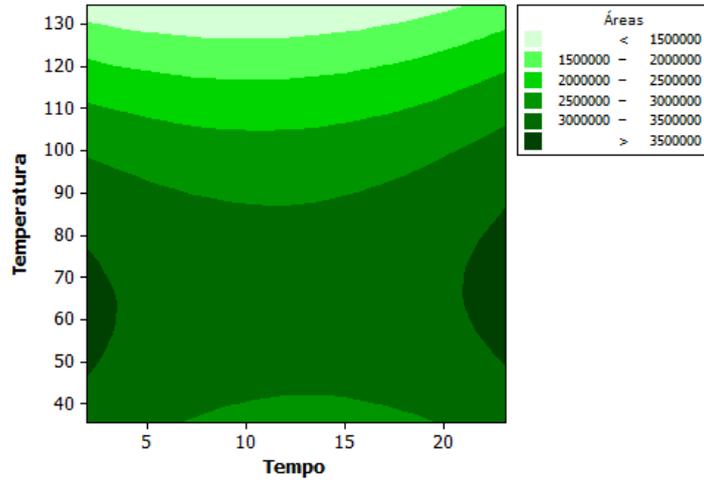
Figura 3. Espectros de massas do éter etílico, diclorometano, acetato de etila e isopentanol com suas respectivas propostas de fragmentação.

Figura 4. Cromatograma da análise simultânea de dez solventes orgânicos para avaliação da seletividade. (1) Etanol (2) Isopropanol (3) Éter Etílico (4) Diclorometano (5) 1-Propanol (6) Clorofórmio (7) Acetato de etila (8) 1-butanol (9) Isopentanol (10) Tolueno

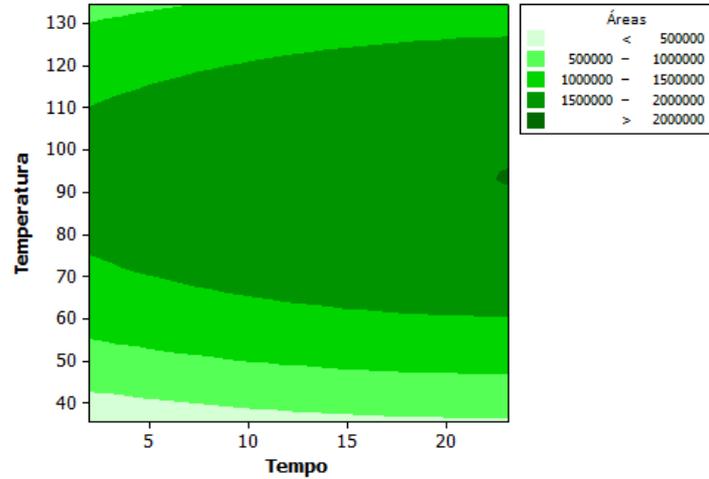
Éter Etílico

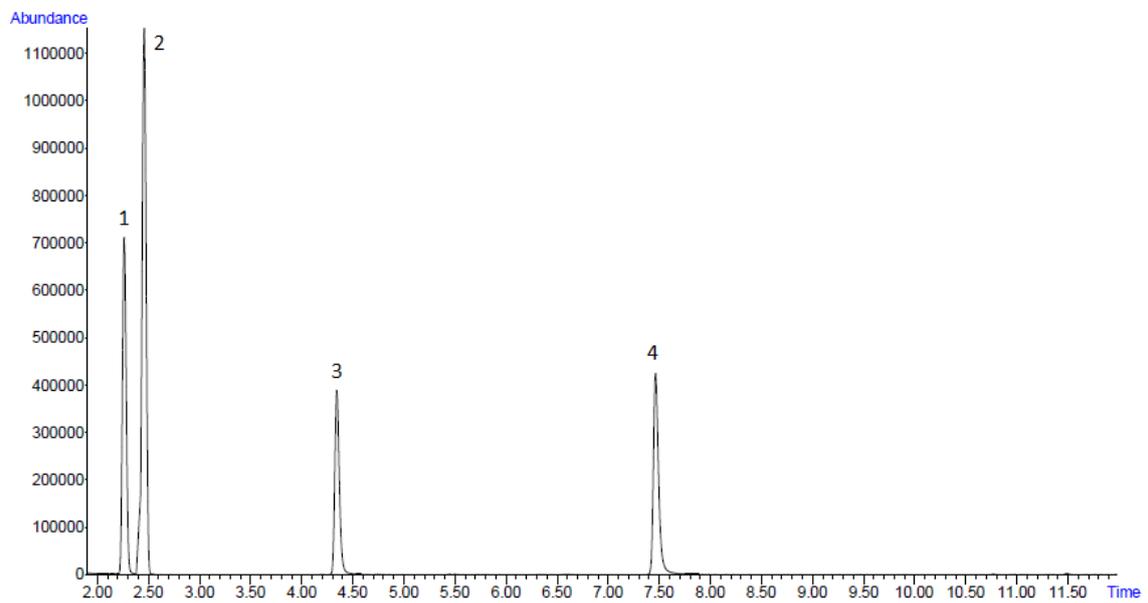


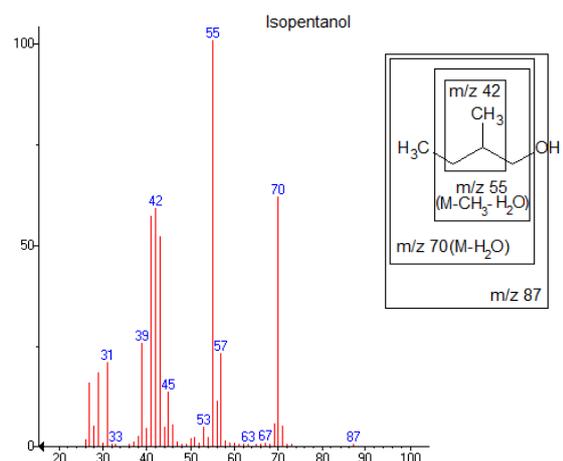
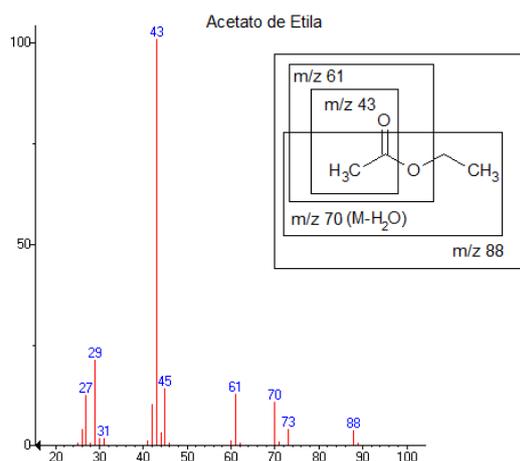
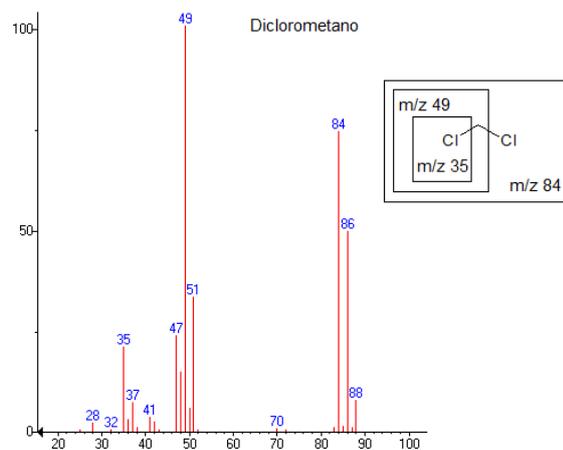
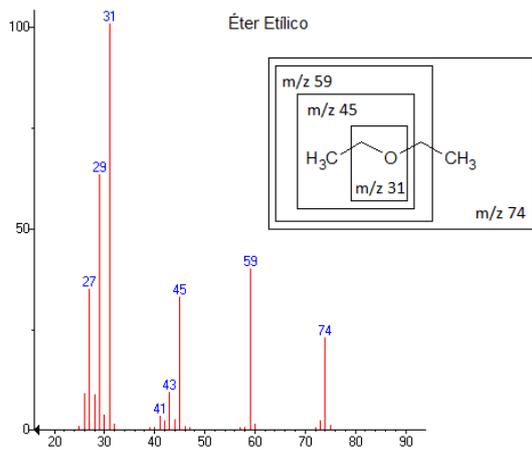
Diclorometano



Acetato de Etila







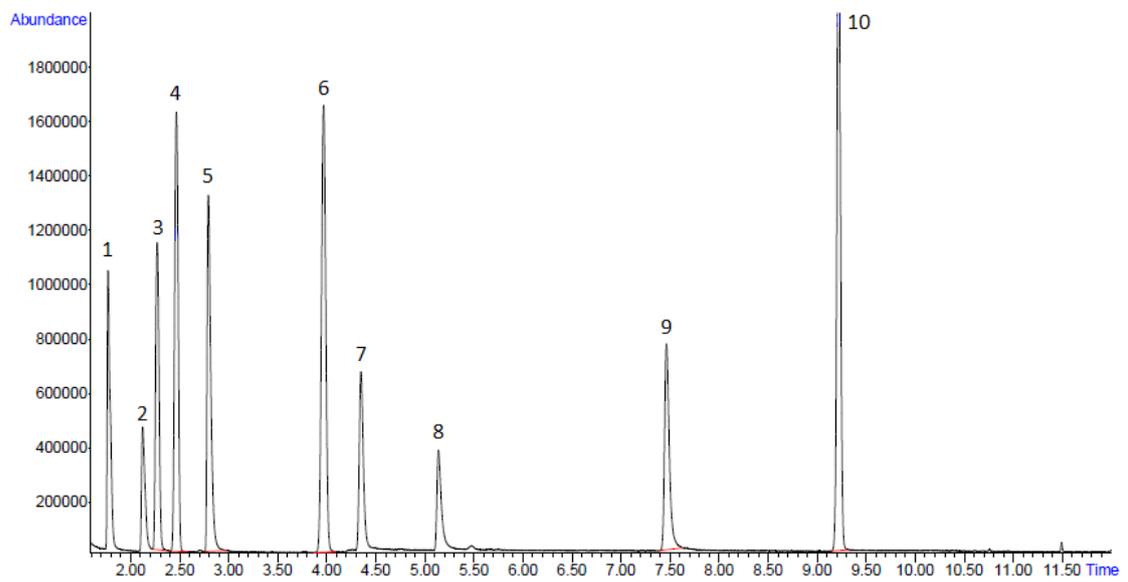


Tabela 1. Fatores e níveis avaliados pelo DCC.

	Níveis codificados	Níveis reais
Tempo (min)	-1,41	1,9
	-1	5
	0	12,5
	1	20
	1,41	23,1
Temperatura (°C)	-1,41	35,5
	-1	50
	0	85
	1	120
	1,41	134,5

Tabela 2. Resultados dos ensaios de precisão e exatidão expressos em CV% e EPR, respectivamente.

Analito		Precisão (%)				Exatidão (%)			
		Intradia			Interdia	Intradia			Interdia
		Dia 1	Dia 2	Dia 3		Dia 1	Dia 2	Dia 3	
Éter Etílico	LIQ	7,0	3,0	5,6	9,7	17,1	3,4	7,4	7,0
	CQB	3,8	7,3	8,2	6,3	5,8	8,9	8,0	7,6
	CQM	7,0	6,0	5,4	6,9	4,6	11,5	12,3	9,5
	CQA	9,6	6,9	7,2	8,1	1,2	3,9	5,8	2,8
	CQD	9,5	4,7	8,0	7,9	2,3	8,8	8,4	6,5
Diclorometano	LIQ	7,7	5,1	10,1	13,7	12,1	14,2	4,2	2,1
	CQB	7,5	9,2	14,0	10,1	12,9	9,4	9,4	10,5
	CQM	10,1	10,9	5,0	8,9	9,5	14,7	14,7	13,0
	CQA	9,1	8,9	11,8	9,7	8,7	12,5	14,8	12,0
	CQD	11,3	10,3	8,1	9,4	11,6	14,8	12,4	13,0
Acetato de Etila	LIQ	7,4	2,2	6,9	9,4	1,0	18,1	1,1	6,7
	CQB	3,7	6,5	8,5	7,7	9,6	0,2	9,2	6,3
	CQM	8,0	5,9	6,3	8,3	3,9	6,7	14,9	8,5
	CQA	9,8	8,0	8,7	8,8	3,8	0,3	3,3	0,3
	CQD	6,4	5,3	8,1	6,8	5,6	6,9	11,4	8,0

ANEXO

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

GERAL - Serão considerados para publicação na Revista Química Nova manuscritos em Português, Inglês e Espanhol, que cubram as áreas tradicionais da Química bem como artigos sobre Ensino de Química, História da Química, Política Científica, etc, além de artigos de áreas afins, desde que tenham acentuado conteúdo químico. Os trabalhos devem se encaixar dentro de uma das modalidades abaixo:

Artigos Originais: refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo Introdução, Resultados e Discussão, Parte Experimental etc, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Artigos de Revisão: destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

É imprescindível que, na referida área, o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, por e-mail, um resumo da revisão pretendida e lista de publicações, acompanhados de uma carta explicativa da pertinência do trabalho. O material será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de QN, e só então será dado início ao processo de avaliação pelos assessores.

O Corpo Editorial de QN poderá, eventualmente, convidar pesquisadores qualificados para submeter artigo de revisão.

Artigos sobre Educação: trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Notas Técnicas: trabalhos de comunicação de métodos, validação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Assuntos Gerais: abordagem de assuntos de interesse geral dos químicos, tais como política científica, programas de graduação e pós-graduação, história da química, etc. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas etc. e todas as páginas deverão ser numeradas.

PREPARAÇÃO DE MANUSCRITOS - Todos os trabalhos deverão ser digitados em espaço duplo, utilizando somente Microsoft Word. A seguir, deve ser gerado um único arquivo no formato *.pdf*, do trabalho todo, para ser submetido através do sistema *on line* de QN. A revista não aceita a submissão de trabalhos por outra forma.

A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão vir imediatamente após o nome de cada autor. Os autores deverão ser agrupados por endereço. O autor para correspondência, que deverá ser o mesmo que submete o artigo *on line*, deverá ser indicado com asterisco (*) e seu e-mail colocado no rodapé da página (um só e-mail).

A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho em inglês (abstract), com no máximo 100 (cem) palavras, e a indicação de 3 palavras-chave (keywords), também em inglês.

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras simples e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior ver o item Material Suplementar. As figuras, tabelas, esquemas, etc deverão ser colocadas após as referências e devidamente identificadas pelo respectivo número. Se escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços).. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm).

Figuras coloridas terão custo de publicação repassado aos autores, quando da publicação. Esse valor só poderá ser informado aos autores quando o trabalho estiver previsto para ser publicado, ocasião em que a gráfica fornece o orçamento. A publicação de figuras coloridas na versão online é isenta de custos.

Para figuras, gráficos, esquemas, tabelas, etc idênticos aos já publicados anteriormente na literatura, os autores deverão pedir permissão para publicação junto à empresa/sociedade científica que detenha os direitos autorais e enviá-la à editoria de QN junto com a versão final do manuscrito.

As referências deverão ser numeradas consecutivamente no texto, na forma de expoentes, após a pontuação (se houver). A lista de referências deverá ser colocada no final do texto. As legendas das figuras, gráficos e esquemas deverão ser colocadas em uma única folha à parte, separadas das figuras. A seguir, deverão ser colocadas as figuras, os gráficos, os esquemas, as tabelas e os quadros. Colocar os títulos acima de cada tabela. No texto, deverá ser indicada apenas a inserção de cada um(a).

Referências

Revistas:

Será utilizada a abreviatura da revista como definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/content/references/corejournals>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, 67, 518.

2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue:

Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, 19, 708. (CA 85:78051s).

3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar doi da seguinte maneira:

Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, *7*, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 473.

Patentes:

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 79 73,771* **1979**. (CA 91:P193174v)

6. Kadin, S.B.; *US pat. 4,730,004* **1988**. (CA 110:P23729y)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI 9.604.468-3*, **1999**.

Livros:

com editor(es):

8. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

sem editor(es):

9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses:

11. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas Internet:

<http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

Os autores devem procurar seguir, naquilo que for possível, as normas recomendadas pela IUPAC, inclusive o Sistema Internacional de Unidades. Sobre a nomenclatura de compostos (orgânicos e inorgânicos) já há traduções para a língua portuguesa publicadas em QN. Quanto aos Símbolos e Terminologias, onde não há tradução, espera-se que adaptação seja feita pelos autores, criando então, paulatinamente, um conjunto de normas em português.

SUBMISSÃO DOS ARTIGOS – A QN oferece aos autores a submissão *on line*, que pode ser acessada através do registro de Login e Senha. É possível registrar-se em nossa home page (<http://quimicanova.s bq.org.br>) usando a opção Novo Usuário. Após estar cadastrado no sistema, o autor pode facilmente seguir as instruções fornecidas na tela. Será solicitada a submissão de um único arquivo do manuscrito completo, em formato .pdf. Está disponível uma ferramenta para gerar o arquivo .pdf, a partir de arquivo .doc ou .rtf, com envio automático para o e-mail do autor. Tão logo seja completada a submissão, o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que este seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail com o número de referência do trabalho.

Se não for recebido o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, a situação de seu manuscrito.

Ao fazer a submissão, solicita-se uma carta de apresentação, que deverá ser digitada no local indicado, sendo obrigatória a apresentação dos e-mails de todos os autores. Além disso, devem ser enviados também os nomes, instituições a que pertencem e e-mails de três ou quatro possíveis assessores, que não podem pertencer à(s) mesma(s) instituição(ões) dos autores.

Material Suplementar – Esta modalidade foi criada para que na versão impressa da revista apareça o número estritamente necessário de figuras e tabelas (6 a 7 figuras

simples). Ressalta-se que, como este material ficará disponível apenas na versão *on line*, figuras, tabelas e ilustrações coloridas apresentadas na forma de material suplementar não terão custo repassado aos autores, nem limite de páginas. Porém, devem ter boa qualidade gráfica.

O material suplementar deverá ser colocado no final do trabalho, com indicação clara. Deverá ser submetido um único documento .pdf, incluindo o material suplementar.

Os Editores poderão solicitar aos autores, em qualquer fase da tramitação, a separação de Material Suplementar.

MANUSCRITOS REVISADOS – Manuscritos enviados aos autores para revisão deverão retornar à Editoria dentro de prazo máximo de trinta dias ou serão considerados retirados, sendo que o sistema encerra o processo, não permitindo que seja reaberto. Vencido o prazo, deverá ser feita nova submissão, dando início a um novo processo.

A submissão do manuscrito revisado deverá ser feita pelo mesmo autor, usando o Login e a Senha registrados anteriormente. O autor deve seguir as instruções fornecidas na tela, para envio do documento .pdf completo da versão revisada. Deve ser redigida uma carta de encaminhamento, em pdf, aos assessores, detalhando as alterações feitas na nova versão e justificando as alterações sugeridas nos pareceres e que não foram aceitas pelos autores. Esses dois arquivos devem ser enviados através da seção Envio de Nova Versão, na Página do Autor, no sistema de submissão *on line* de QN.

Tão logo seja completada a submissão o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que ele seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail contendo o número de referência do trabalho.

Se não receber o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, o status de seu manuscrito.

VERSÃO FINAL – Quando for solicitada a versão final, o autor receberá instruções específicas quanto a programas para envio de arquivos (texto, figuras, tabelas, etc) . Arquivos em formato .pdf não são mais solicitados nessa fase.

Se as Figuras forem escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços) com extensão tif ou jpg, desde que nas dimensões especificadas pelos Editores. As fotos ou desenhos com cor (300 dpi/grayscale) deverão ser enviadas com extensão tif/jpg, com largura máxima total de 8,5 cm para não haver problemas ao aplicá-las no padrão da Revista. Outras extensões possíveis: cdr, eps, cdx ou opi. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente.

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho será atestada por dois consultores, indicados pela Editoria.

Copyright ©2012 Sociedade Brasileira de Química

Para publicação, requer-se que os manuscritos submetidos a esta revista não tenham sido publicados anteriormente e não sejam submetidos ou publicados simultaneamente em outro periódico. Ao submeter o manuscrito, os autores concordam que o copyright de seu artigo seja transferido à Sociedade Brasileira de Química (SBQ), se e quando o artigo for aceito para publicação. O copyright abrange direitos exclusivos de reprodução e distribuição dos artigos, inclusive separatas, reproduções fotográficas, microfilmes ou quaisquer outras reproduções de natureza similar, inclusive traduções. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, armazenada em bancos de dados ou transmitida sob qualquer forma ou meio, seja eletrônico, eletrostático, mecânico, por fotocópia, gravação, mídia magnética ou algum outro modo, sem permissão por escrito da detentora do copyright. Embora todo esforço seja feito pela SBQ, Editores e Conselho Editorial para garantir que nenhum dado, opinião ou afirmativa errada ou enganosa apareçam nesta revista, deixa-se claro que o conteúdo dos artigos e propagandas aqui publicados são de responsabilidade, única e exclusiva, dos respectivos autores e anunciantes envolvidos. Conseqüentemente, a SBQ, o Conselho Editorial, os Editores e respectivos funcionários, diretores e agentes isentam-se, totalmente, de qualquer responsabilidade pelas conseqüências de quaisquer tais dados, opiniões ou afirmativas erradas ou enganosas.