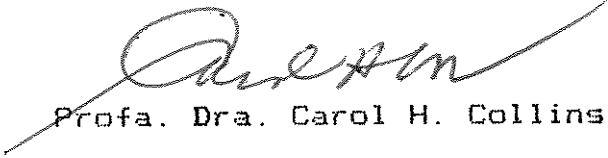


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

"Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por Mauricio Xavier Coutrim e aprovado pela comissão julgadora."

Campinas, 24 de maio de 1991


Prof. Dra. Carol H. Collins

AVALIAÇÃO DA SEPARAÇÃO DAS 2,4-DINITROFENIL-
HIDRAZONAS (DNFHo) DE ALDEÍDOS E CETONAS POR
CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

- CLAE -

TESE DE MESTRADO

MAURICIO XAVIER COUTRIM

ORIENTADORA: Profa. Dra. CAROL HOLLINGWORTH COLLINS

1991

Re/9106214

À ROSINHA, minha esposa, pela
paciência e dedicação- fatores
decisivos para a conclusão
deste trabalho.

À MAYARA, minha filha, que, desde
a sua gestação, sempre me passou
muita força e alegria.

Aos meus pais, pelo sacrifício
que sempre fizeram para que eu
chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

- A DEUS, em primeiro lugar, por ter me concedido essa existência com muita saúde e um pouco de fé.
- À Profa. Dra. CAROL H. COLLINS, pela amizade e dedicação.
- Aos amigos MARTHA e ERNANI, pela força recebida em um momento especial, sem a qual esse trabalho não teria sido concluído.
- Aos colegas do grupo COLLINS^{es}, pela troca de experiência, sempre enriquecedora, durante o nosso agradável período de convivência.
- Aos meus familiares: sogros, irmãos e cunhados, pelo apoio incondicional.
- Ao CNPq, pela bolsa concedida, e à FIAT e ULTRAQUÍMICA pela ajuda e estímulo recebidos.
- Ao AKIRA, pela parte do trabalho realizada em conjunto e pelas "discussões" sempre muito proveitosas.
- Aos colegas de trabalho da ULTRAQUÍMICA: da GEDES em Tremembé-SP e da GEQUAL em Mauá-SP, pela rica convivência.
- À amiga Dra. MARIA APARECIDA F. DE LIMA (CIDA), com quem aprendi muito e cuja experiência me foi muito valiosa.
- À MARIA DE LOURDES (Lu), pela presença constante nos momentos difíceis.
- À SUELY NARESSI FONTES pela revisão do texto.
- Ao CARLOS EDUARDO (MAMÃO), pela ajuda na utilização do microcomputador.
- À todas as pessoas envolvidas direta ou indiretamente neste trabalho.

ÍNDICE

	pág.
RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO.....	1
I.1 - Álcool, Combustível Alternativo no Brasil.....	2
I.2 - Determinação de Aldeídos e Cetonas como Contaminantes...	3
I.2.1 - Presença de Aldeídos na Composição dos Gases de Exaustão dos Automóveis.....	5
I.2.2 - As Técnicas de Análises de Aldeídos e Cetonas...	7
I.2.3 - A DNPHi como Reagente de Derivatização.....	8
I.2.4 - Coleta dos Aldeídos e Cetonas do Meio de Ocor- rência.....	14
I.3 - Determinação de Aldeídos e Cetonas em Gás de Escapamento de Veículos Automotores.....	16
I.3.1 - A análise de Aldeídos e Cetonas Efetuada na FIAT do Brasil.....	20
CAPÍTULO II - OBJETIVOS.....	23
CAPÍTULO III - PARTE EXPERIMENTAL.....	25
III.1 - Equipamentos Utilizados.....	25
III.2 - Reagentes Utilizados.....	26
III.3 - Purificação dos Solventes.....	27
III.4 - Purificação da DNPHi.....	28
III.5 - Purificação dos Derivados de DNPHi.....	29
III.6 - Preparação das Soluções TESTE.....	31

III.7 - Avaliação das Condições Cromatográficas para a Separação das DNFHo.....	35
III.7.1 - Testes de Avaliação Realizados na UNICAMP, em Campinas-SP.....	36
III.7.2 - Testes de Avaliação Realizados na FIAT, em Betim-MG.....	37
III.7.3 - Testes de Avaliação Realizados na ULTRAQUÍMICA SÃO PAULO, em Mauá-SP.....	38
III.8 - Avaliação da Sensibilidade da Técnica.....	38
III.9 - Tratamento dos Dados Obtidos.....	40
III.9.1 - Avaliação Qualitativa.....	40
III.9.2 - Avaliação Quantitativa.....	43
CAPÍTULO IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
IV.1 - Resultados Qualitativos.....	52
IV.1.1 - Retenção.....	52
IV.1.2 - Separação.....	71
IV.1.3 - Eficiência.....	81
IV.2 - Resultados Quantitativos.....	82
IV.2.1 - Método da Normalização de Área.....	83
IV.2.2 - Método da Normalização de Área Corrigida.....	89
IV.2.3 - Método da Padronização Interna.....	91
IV.2.4 - Método da Padronização Externa.....	93
IV.2.5 - Método da Calibração Externa.....	95
IV.2.6 - Quantidade Mínima Detectável.....	97
IV.3 - Resultados Obtidos na FIAT com Amostras Reais.....	102
CAPÍTULO V - CONCLUSÕES.....	104

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107
ANEXO I - Projeto de Norma 5:11.03-018 da ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas: "Gás de Escapamento Emitido por Veículos Rodoviários Automotores Leves do Ciclo Otto - Determinação de Emissão de Aldeídos e Cetonas por Cromatografia Líquida".....	115
ANEXO II - Resultados de Determinações de Aldeídos e Cetonas em Gás de Escapamento de Veículos Automotores Movidos a Álcool e a Gasolina, Realizadas na FIAT em Betim-MG, Conforme Projeto de Norma 5:11.03-018 da ABNT.....	137
ANEXO III - Espectros de absorção de luz ultravioleta e visível das 2,4-dinitrofenilhidrazonas estudadas.....	142

RESUMO

TÍTULO : AVALIAÇÃO DA SEPARAÇÃO DAS 2,4-DINITROFENILHIDRAZONAS (DNFHo) DE ALDEÍDOS E CETONAS POR CROMATOGRRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - CLAE.

AUTOR : MAURICIO XAVIER COUTRIM

ORIENTADORA : PROFa. Dra. CAROL HOLLINGWORTH COLLINS

INSTITUIÇÃO : INSTITUTO DE QUÍMICA - UNICAMP - CAMPINAS - SP

TESE DE MESTRADO

O presente trabalho teve como objetivo a avaliação das condições de análise de aldeídos e cetonas, como DNFHo, através da separação destas por CLAE, a partir do método proposto pela Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.

Utilizaram-se para os testes os seguintes compostos: formaldeído, acetaldeído, acroleína, propionaldeído, acetona, n-butiraldeído e butanona, com benzaldeído como padrão interno, os quais foram derivatizados com 2,4-dinitrofenilhidrazina.

A separação dos derivados por CLAE foi avaliada quanto: 1) à fase móvel, testando-se acetonitrila/água e metanol/água a várias composições; 2) à fase estacionária, testando-se quatro colunas de fase reversa (octadecilsilano); 3) à detecção, utilizando-se os comprimentos de onda de 365nm e 254nm; e 4) à sensibilidade da técnica, detectando-se os compostos estudados a concentrações inferiores a 1,5 pmoles.

A avaliação quantitativa da técnica foi realizada testando-se os métodos de normalização de área, normalização de área corrigida, padronização interna, padronização externa e calibração externa. O método quantitativo que apresentou os menores desvios padrões foi o método da calibração externa.

Somente se conseguiu a separação dos oito compostos estudados em aproximadamente 20 minutos, utilizando-se a coluna ZORBAX-QDS (DUPONT), eluindo-os com metanol/água, 75:25, v/v. Porém, os melhores valores para os parâmetros de eficiência (n e As_{10}) e retenção (D_m) foram obtidos com a coluna NOVA PAK-C₁₈ (WATERS).

O método foi aplicado à análise de aldeídos e cetonas em gás de escapamento de veículos automotores.

ABSTRACT

TITLE : EVALUATION OF THE SEPARATION OF 2,4-DINITROPHENYLHYDRAZONES (DNPH) OF ALDEHYDES AND KETONES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC).

AUTHOR : MAURICIO XAVIER COUTRIM

SUPERVISION : Prof. CAROL HOLLINGWORTH COLLINS, Ph.D.

INSTITUTION : CHEMICAL INSTITUTE - UNICAMP - CAMPINAS - SP

MASTER'S THESIS

The objective of this work was to evaluate the analysis conditions for aldehydes and ketones, as DNPH, by means of their separation by HPLC, starting with the method proposed by ABNT- Associação Brasileira de Normas Técnicas.

The following compounds were used in the tests: formaldehyde, acetaldehyde, acrolein, propionaldehyde, acetone, n-butyraldehyde and methyl ethyl ketone, with benzaldehyde as internal standard. All were determined as 2,4-dinitrophenylhydrazone derivatives.

The following aspects of the separation of the derivatives were evaluated: 1) mobile phase, using for several different compositions of acetonitrile/water and methanol/water; 2) stationary phase, by testing four reversed phase (octadecylsilane) columns; 3) detection at both 365nm and 254nm wavelengths; 4) test method sensitivity by detecting the analysed compounds at concentrations lower than 1,5 pmoles.

Quantitative evaluation of the method was carried out by testing the methods of area normalization, corrected area normalization, internal standardization, external standardization and external calibration. Among these quantitative methods, external calibration presented the lowest standard deviation.

Separation of the eight studied compounds was achieved only after approximately twenty minutes, by using a ZORBAX-ODS (DUPONT) column with methanol/water (75:25, v/v). However, the best results of efficiency parameters (n and As_{10}) and retention (D_m) were obtained with a NOVA PAK C_{18} (WATERS) column.

The method was applied to the analysis of the aldehydes and ketones in automobiles engines exhaust.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A crise do petróleo, que abala o mundo inteiro atualmente, faz com que a procura por fontes alternativas de energia se torne cada vez mais imprescindível.

Outra preocupação a nível mundial é com relação à poluição do meio ambiente. A qualidade do ar que se respira, principalmente nas grandes cidades, é muito ruim. Dentre os principais causadores da deterioração da qualidade do ar estão os veículos automotores que lançam diariamente toneladas de gases tóxicos na atmosfera. Devido ao número excessivo de automóveis nas grandes cidades, a concentração destes gases é maior e sua dispersão é dificultada.

Levando-se em conta esses dois aspectos, vários países vêm investindo em pesquisas a fim de encontrar um combustível alternativo para os veículos automotores. É desejável que esse combustível seja economicamente viável, origine-se de fonte renovável e que não cause grandes danos ao meio ambiente, ou seja, não produza gases nocivos após a queima.

A análise dos gases emitidos pelos veículos automotores após a queima do combustível, tem sido objeto de muitos estudos. A maioria dos países possui normas para a determinação de vários componentes destes gases, tais como: monóxido e dióxido de carbono, óxidos de nitrogênio e hidrocarbonetos. Porém,

atualmente cresce a preocupação com outros compostos presentes nestes gases: os aldeídos.

Os aldeídos, mesmo em baixa concentração são prejudiciais à saúde humana. Como os veículos, quando utilizam etanol ou metanol como combustível, apresentam um teor maior de aldeídos nos gases de emissão, a concentração destes aldeídos na atmosfera torna-se preocupante. O formaldeído se apresenta na atmosfera também como intermediário da reação do metano e outros hidrocarbonetos com os radicais OH ou ozônio (47,51,61).

Os aldeídos, principalmente o formaldeído, quando presentes na atmosfera são fotolizados pela radiação solar, produzindo uma série de radicais que são importantes na química do ar troposférico, tais como na formação de "smog" fotoquímico e "chuva ácida" (10,17,22,36,37,39,43,46,47,51,54,61,62).

I.1 - ÁLCOOL, COMBUSTÍVEL ALTERNATIVO NO BRASIL

Com a publicação do decreto nº 19717, de 20 de fevereiro de 1931, o qual tornou obrigatória a mistura de álcool (etanol) com a gasolina importada, na proporção mínima de 5% (1), o Brasil começa a destinar parte de sua produção de álcool proveniente da cana de açúcar, para ser utilizada como componente de combustível de veículos automotores. Com a quadruplicação do preço do petróleo em 1973 e com a criação do Programa Nacional do Álcool - PROÁLCOOL, em 14.11.1975, a opção do álcool como combustível puro começa a se tornar uma realidade no Brasil, com apoio governamental (1). Em 1980, com o lançamento de veículos movidos exclusivamente a álcool pela indústria automobilística

nacional, este combustível torna-se definitivamente uma alternativa para o mercado interno (1).

O álcool usado como combustível no Brasil é proveniente quase que exclusivamente da cana de açúcar, embora outras matérias primas tenham sido propostas, tais como: a mandioca, a madeira, o sorgo e o coco de babaçu (1). Estes estudos se encontram no estágio experimental e, até o momento, não têm sido viáveis técnica e economicamente.

O PROÁLCOOL tem sido muito controvertido, ora avançando demasiadamente rápido com incentivos e proteções exageradas, ora retrocedendo por erros ou por ameaças de desativação. Com essa instabilidade, a indústria automobilística não tem encontrado balisamento para a programação de sua produção, haja visto que em 1983, 92% da frota de veículos automotores de passeio produzidos no país eram movidos a álcool (etanol hidratado) (2), enquanto que, no começo da década de 90, esse número caiu para 6% (3). Essa instabilidade também afeta o desenvolvimento de pesquisas envolvidas com o programa.

1.2 - DETERMINAÇÃO DE ALDEÍDOS E CETONAS COMO CONTAMINANTES

Os aldeídos estão presentes cada vez em maior quantidade na atmosfera. Várias são as fontes de emissão destes: resíduos de indústrias que os empregam como matéria prima; fumaça de cigarro; uso de formaldeído como bactericida; gás de escapamento de veículos automotores; etc.

Os aldeídos, principalmente formaldeído e acroleína, causam grandes prejuízos à saúde humana. Mesmo quando presentes na

atmosfera a nível de traços, podem provocar sintomas tais como: depressão, letargia e irritabilidade, além da ação carcinogênica do formaldeído (4). Os aldeídos, principalmente o formaldeído, também contribuem para a poluição do ar em ambientes fechados, por serem empregados nos materiais de construção, materiais isolantes, mobílias, etc. As residências onde esses materiais são usados, muitas vezes possuem uma pobre circulação de ar e esse efeito é agravado em cidades com grande número de habitantes (4).

A periculosidade desses aldeídos é avaliada por vários órgãos. A Conferência Americana de Higienistas Industriais do Governo (ACGIH) estabelece em 2 ppm o limite máximo de formaldeído no ar para uma pessoa respirar 8 horas por dia, 5 dias na semana. Para o acetaldeído esse limite é de 100 ppm, enquanto que, para a acroleína, é de 0,1 ppm (5). Vários estudos com ratos e, mesmo com tecidos humanos, têm comprovado a ação carcinogênica do formaldeído (5). Tais índices têm despertado a preocupação de muitas entidades, fazendo com que esses aldeídos sejam quantificados em vários ambientes.

Muitos trabalhos podem ser encontrados na literatura sobre a determinação de aldeídos nas mais diversas fontes, tais como:

- subprodutos em tratamentos quimioterápicos (6);
- tecidos biológicos (7);
- peças íntimas do vestuário (8);
- alimentos (9);
- fumaça emitida por incineradores (10,11);
- fumaça de cigarros (12-16);
- gases emitidos durante a fusão de gorduras animais (17);
- ambientes hospitalares (18-20);

- ambientes fechados como garagens, escritórios, casas, etc. (11, 18, 21, 22);
- bebidas alcoólicas (23-25);
- água potável, fluvial e marítima (26-31);
- produtos cosméticos, onde atuam como bactericidas (32, 33);
- gases de emissão industrial (10, 14, 27);
- gases de emissão de motores, principalmente de veículos leves (12, 14, 15, 27, 34-45);
- ar atmosférico de grandes centros urbanos, de túneis utilizados por veículos automotores, de localidades vizinhas às indústrias que utilizam algum aldeído como matéria prima ou que o emitam como subproduto, etc. (10, 14, 39, 41, 46-51).

I.2.1 - PRESENÇA DOS ALDEÍDOS NA COMPOSIÇÃO DOS GASES DE EXAUSTÃO DOS AUTOMÓVEIS

Para que um motor a explosão trabalhe é necessário que ele seja alimentado com um combustível, o qual, ao ser queimado, libera energia. Porém, esse combustível, após a queima, dá origem a vários outros compostos na forma de gases. Entre esses compostos estão os aldeídos. Os veículos automotores normalmente utilizam motores a explosão do ciclo Otto (ciclo mecânico executado por motores de combustão interna), os quais empregam vários tipos de combustível, sendo que a gasolina (proveniente do petróleo) é o mais comumente utilizado. A concentração de aldeídos nos gases de exaustão desses veículos é muito baixa, porém, varia com o tipo, estado e condições de funcionamento do motor (43).

Por vários anos, compostos à base de chumbo, tais como chumbo tetraetila e tetrametila, foram usados para aumentar o desempenho dos motores do ciclo Otto. Atualmente, tem-se substituído estes compostos, por outros antidetonantes, devido à grande toxidez dos compostos à base de chumbo. No Brasil, o substituto tem sido o etanol enquanto que, nos Estados Unidos, tem-se utilizado o metanol para essa finalidade. No entanto, essa substituição provoca um aumento da concentração de aldeídos nos gases de exaustão dos automóveis: o etanol provoca um grande aumento na concentração de acetaldeído (36), enquanto que, o metanol, na de formaldeído (40). Porém, o metanol é muito mais nocivo que o etanol, assim como o formaldeído em relação ao acetaldeído (5).

Devido ao aumento da incidência de aldeídos no ar atmosférico provenientes dos gases de emissão de veículos automotores, principalmente porque a concentração desses veículos nos grandes centros urbanos tem aumentado consideravelmente, órgãos governamentais competentes se preparam para controlar esta espécie química. No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) possui uma norma, em fase de projeto, que regulamenta o método de ensaio para quantificar aldeídos e cetonas em gás de escapamento emitido por veículos automotores leves (ANEXO I). Esse projeto de norma está em vias de aprovação. Nos Estados Unidos a Environmental Protection Agency (EPA), em 1986, solicitou a regulamentação de normas para estabelecer os padrões de emissão de veículos movidos a metanol (53), enquanto que, outros estudos com relação a essas emissões, vêm sendo realizados pelos membros da EPA, alguns dos quais têm sido publicados (40,45).

I.2.2 - AS TÉCNICAS DE ANÁLISE DE ALDEÍDOS E CETONAS

Várias técnicas têm sido empregadas para a separação de aldeídos e cetonas: cromatografia gás-líquido, cromatografia líquida com fase normal, cromatografia líquida com fase reversa, cromatografia em camada delgada, etc.

O maior problema na análise quantitativa de aldeídos e cetonas a concentrações muito baixas é a escolha de um detector que seja suficientemente sensível aos níveis desejáveis. Como os aldeídos e cetonas, devido aos efeitos nocivos à saúde humana, não podem se apresentar no meio ambiente a não ser em concentrações muito baixas, é imprescindível a escolha de um detector que satisfaça essa necessidade.

Os aldeídos e cetonas não apresentam boa detectabilidade perante os detectores normalmente usados em cromatografia, por isso faz-se necessária a utilização da técnica de derivatização, ou seja, o composto de interesse sofre uma reação da qual resulta outro composto, derivado do primeiro e com características apropriadas para a detecção a níveis muito baixos de concentração. Porém, é imprescindível que essa reação seja rápida e quantitativa, não fornecendo subprodutos que possam interferir na detecção.

Vários reagentes têm sido usados para a reação de derivatização de aldeídos e cetonas, para posterior detecção dos mesmos:

- 1) 5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona (dimedona) (38);
- 2) 1,3-ciclohexanodiona (23);

- 3) acetilacetona (8,32 e 54);
- 4) 3-aminofluoranteno (55);
- 5) cloridrato de o-benzilhidroxilamina seguido de bromação do derivado (42);
- 6) cloridrato de metoxilamina (50);
- 7) 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNFHi) (6,7,9-22,24-27,29-31,33-38,39-41,43-47,49,51,56-65), o principal reagente para derivatização de aldeídos e cetonas;
- 8) bissulfito de sódio (28); e
- 9) MBTH (3-metil-2-benzo-tiazolona hidrazona).

As reações envolvidas durante o emprego dos reagentes de derivatização citados acima, com exceção do MBTH, são apresentadas no ESQUEMA 1.

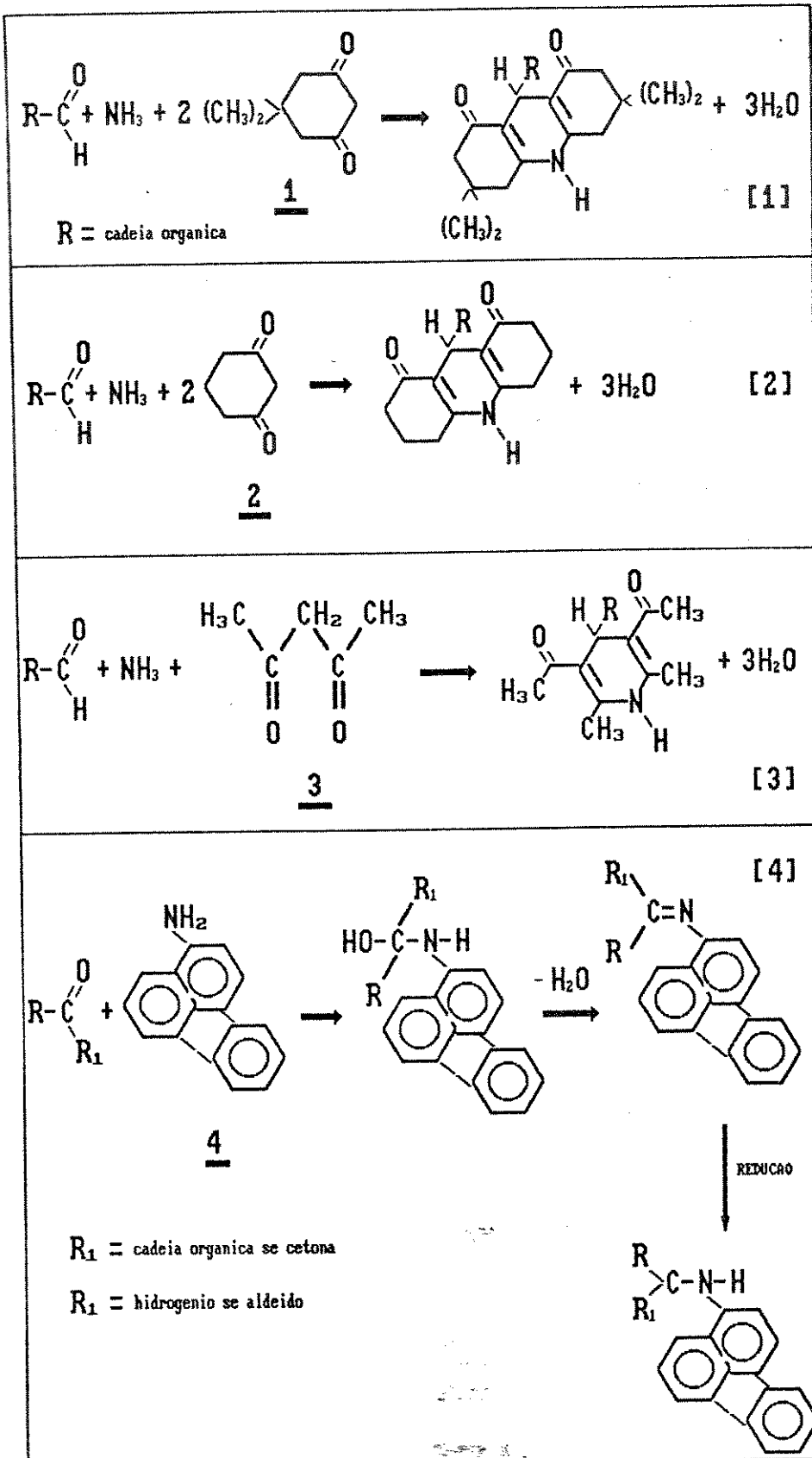
I.2.3 - A DNFHi COMO REAGENTE DE DERIVATIZAÇÃO

Dentre os trabalhos encontrados na literatura envolvendo a separação e análise de aldeídos e cetonas, a maioria emprega a técnica de derivatização com DNFHi. O mecanismo da reação envolvendo essa técnica é apresentado no ESQUEMA 2.

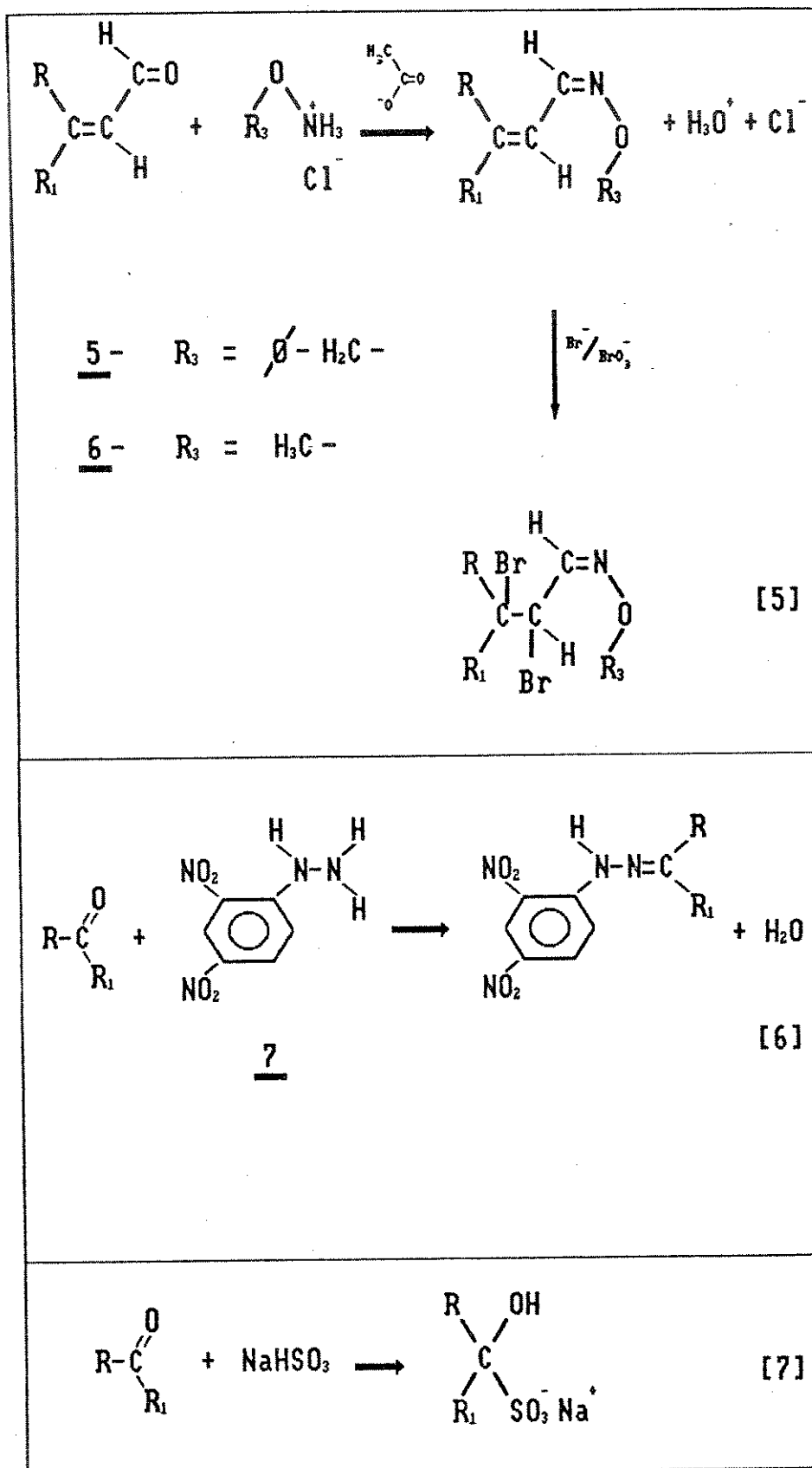
Várias são as razões que levam a escolha da técnica de derivatização com DNFHi:

- a especificidade da reação. A reação é bastante específica para aldeídos e cetonas e, embora alguns álcoois possam sofrer oxidação e interferir nessas determinações, as condições em que isso ocorre são perfeitamente evitáveis (66). Essa especificidade da reação facilita a retirada de aldeídos e cetonas dos mais diversos meios para a análise.

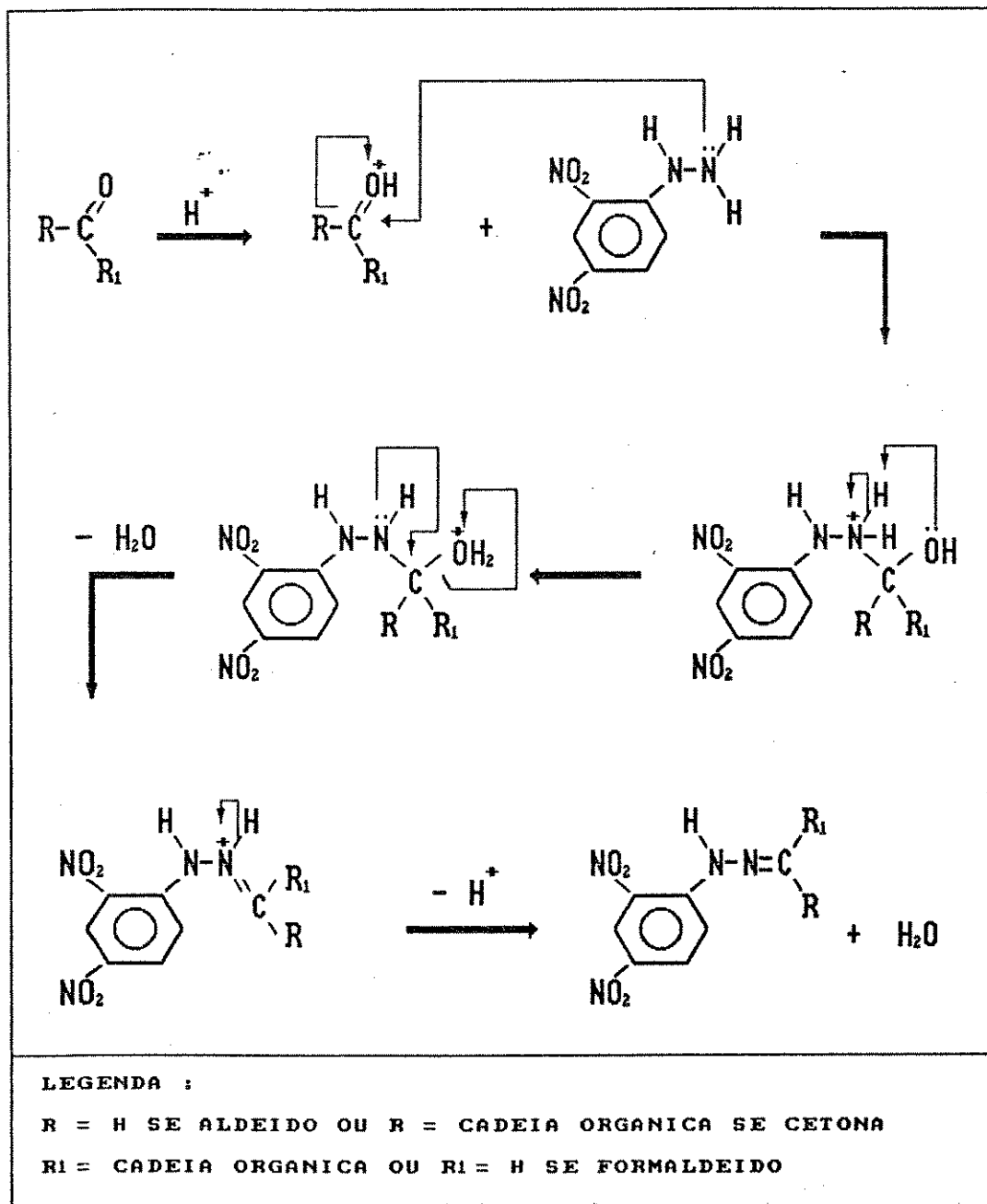
ESQUEMA 1 - REAGENTES DE DERIVATIZACAO DE ALDEIDOS E CETONAS E RESPECTIVAS REACOES.



ESQUEMA 1 - (cont.)



ESQUEMA 2 - MECANISMO DA REACAO DE ALDEIDO OU CETONA
COM 2,4-DINITROFENILHIDRAZINA.



- a detectabilidade dos derivados formados. Os detectores comumente usados em cromatografia líquida e gasosa são mais sensíveis aos derivados formados do que aos respectivos aldeídos e cetonas. Porém, isso é observado com muito mais evidência quando se utiliza a detecção por espectrofotometria na região do UV-Visível. As 2,4-dinitrofenilhidrazonas (DNFHo) de aldeídos e cetonas possuem alto coeficiente de absorvidade molar numa grande faixa de comprimentos de onda no UV-Visível ($\epsilon > 10^4$) e isso aumenta, e muito, a sensibilidade da análise (46).

- minimização da interferência de matriz. Como as DNFHo formadas possuem altos valores de ϵ na região do UV-Visível, é possível a escolha de um comprimento de onda para a detecção dos derivados onde se consegue o máximo de absorção destes com um mínimo de absorção dos componentes presentes na matriz (componentes da fase móvel, solventes empregados na reação, etc.) (59).

- velocidade e rendimento da reação. A formação dos derivados nas condições ótimas para a reação ocorre muito rapidamente, possibilitando a captura de aldeídos e cetonas de amostras gasosas a vazões que variam desde 0,3 a 40 litros por minuto, em dois ou, no máximo, três frascos de absorção (44,47). Vários fatores afetam a velocidade da reação, tais como: o pH do meio reacional; a concentração do composto carbonílico e a concentração do reagente DNFHi (44). Alguns autores se empenham em avaliar a influência desses fatores na velocidade da reação. Bicking et al. (65), mostraram que a reação de formação dos derivados de formaldeído e acetaldeído apresenta melhor rendimento a pH igual a 5, enquanto que Lipari et al. (36), constataram que o rendimento da reação é igual a 98%, com desvio

de $\pm 4\%$, quando se emprega a DNFHi na razão de 3,3 moles ou mais, para 1 mol de composto carbonílico. Quanto a temperatura da reação, Rutten et al. (44) constataram que a temperaturas baixas o equilíbrio da reação é deslocado no sentido da hidrazona e a solubilidade dos derivados formados aumentam significativamente, e o rendimento da reação é satisfatório a 0°C . No entanto, Lowe et al. (47) relataram resultados de rendimento semelhantes aos encontrados por Rutten, realizando as reações à temperatura ambiente.

Após a obtenção das DNFHo de aldeídos e cetonas, as mesmas são separadas cromatograficamente. Na literatura pode-se encontrar muitos trabalhos onde foi utilizada a cromatografia gasosa para se efetuar essa operação (12,19,31,34,42,44,49,50,57,58). Todos empregaram a cromatografia gás-líquido. Porém, nestes trabalhos aparecem cromatogramas com picos duplos, indicando a ocorrência de decomposição da amostra durante a eluição da mesma, efetuada a alta temperatura. A perda de amostra devido à sua decomposição e à menor sensibilidade dos detectores em cromatografia gasosa, comparada com o espectrofotométrico UV-Visível, limitam essa técnica, principalmente quando se tratam de análises de aldeídos e cetonas em amostras cuja concentração é muito baixa.

Atualmente, a cromatografia de camada delgada não tem sido muito empregada na separação das DNFHo de aldeídos e cetonas devido aos altos valores do limite de detecção obtidos com essa técnica (65).

Há trabalho que relata a captura dos aldeídos e posterior eluição em uma coluna trocadora de cátions, os quais são detectados por índice de refração (67). Os aldeídos também são

derivatizados com bissulfito de sódio, separados numa coluna trocadora de ânions e detectados por condutividade elétrica (27).

Sem dúvidas, a técnica mais usada neste tipo de separação é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), pois obtêm-se eficiência e resoluções para muitos isômeros, inclusive a níveis não obtidos por outras técnicas. Em alguns trabalhos foram utilizadas colunas recheadas com sílica, possuindo assim sítios ativos polares (fase normal) (8,13,35,37,57,59). No entanto, a maioria dos autores utilizou colunas recheadas com sílica com superfície modificada, na qual foram "pendurados" grupos constituídos por hidrocarbonetos, dando uma característica apolar à fase estacionária (fase reversa) (6,7,9-11,14-18,20-27,29,30,32,33,36-39,41,43,46,47,49,51,55,56,59-64,66). A detecção normalmente é efetuada espectrofotometricamente. Vários comprimentos de onda na faixa do UV-Visível foram empregados, tais como 254nm e os que se situam entre 335 e 375nm, com ênfase em 365nm (10,11,15,16,18,20,21,25,27,29,30,36,39).

1.2.4 - COLETA DOS ALDEÍDOS E CETONAS DO MEIO DE OCORRÊNCIA

Os aldeídos e cetonas são determinados de muitas maneiras diferentes, dependendo do meio em que estão e da técnica empregada para a capturação, separação e a determinação qualitativa e quantitativa dos mesmos.

A maioria dos trabalhos publicados relata determinações de aldeídos em amostras gasosas, alguns em amostras líquidas e uns poucos em amostras sólidas. Dentre as análises de aldeídos relatadas, o principal aldeído analisado é o formaldeído.

Os autores que analisaram amostras gasosas utilizaram-se de várias técnicas para coletarem os aldeídos e cetonas do meio de ocorrência. As amostras foram passadas por um solvente onde os analitos foram capturados, aí derivatizados, e então analisados (23,27,38,42,50). Outra técnica relatada consiste em passar a amostra por cartuchos recheados com suporte contendo o reagente de derivatização, os derivados formados são eluídos dos cartuchos e analisados (10,18,20-22,39,41,45,46,49). Em outra técnica utilizam-se frascos contendo o reagente de derivatização em solução. Os aldeídos e cetonas são derivatizados nesses frascos e a solução resultante é analisada (11,15,16,36,40,43,47,51), ou os derivados formados são extraídos e diluídos em solventes adequados e, então, analisados (13,14,17,37,44,46). Os analitos podem também ser capturados por criogenia. Neste caso, a amostra passa por ar líquido onde os compostos orgânicos são congelados. Os analitos assim capturados são derivatizados, os derivados são extraídos e diluídos em solvente adequado e, em seguida, analisados (12,61). Alternativamente, a amostra passa por uma peneira molecular, onde os analitos são capturados, e, após serem dissolvidos, são derivatizados e analisados (48).

Quando se trata de amostras líquidas, a reação de derivatização ocorre na própria amostra e a solução resultante é analisada diretamente (23,27,38) ou passa por uma pré separação dos derivados formados (24,25). Os derivados formados também podem ser extraídos do meio reacional e diluídos em solventes adequados para posterior análise (7). Capturar os analitos da amostra através da absorção dos mesmos em um zeólito (26) ou derivatizando-os em um cartucho contendo um reagente de

derivatização (29) ou dissolvendo-os num solvente adequado e aí derivatizando-os (30,32,33) são outras técnicas relatadas.

Poucos trabalhos citam análise de aldeídos e cetonas em amostras sólidas. Nesses casos, os analitos são extraídos da amostra em um solvente, no qual são derivatizados e analisados (8,19), ou a amostra é aquecida fazendo-se com que o vapor emitido passe por um frasco contendo o reagente de derivatização, onde os analitos são capturados, derivatizados e analisados (27).

1.3 - DETERMINAÇÃO DE ALDEÍDOS E CETONAS EM GÁS DE ESCAPAMENTO DE VEÍCULOS AUTOMOTORES

Dos trabalhos encontrados na literatura sobre análise de aldeídos e cetonas em gás de escapamento de veículos automotores, a maioria emprega DNPHi como reagente de derivatização. De uma maneira geral o gás de exaustão do motor é diluído numa câmara de ar e uma parte deste gás passa por frascos coletores ou cartuchos contendo o reagente de derivatização.

Quando se utilizam frascos coletores, geralmente empregam-se dois destes. A FIGURA 1 apresenta um desenho destes frascos. Os frascos são iguais e ambos contêm solução de absorção. A eficiência da coleta dos aldeídos em um frasco é de 95%, enquanto que dois frascos garantem aproximadamente 100% de coleta (36).

Dos trabalhos citados na literatura, muito poucos avaliam os gases de emissão de veículos automotores que utilizam etanol

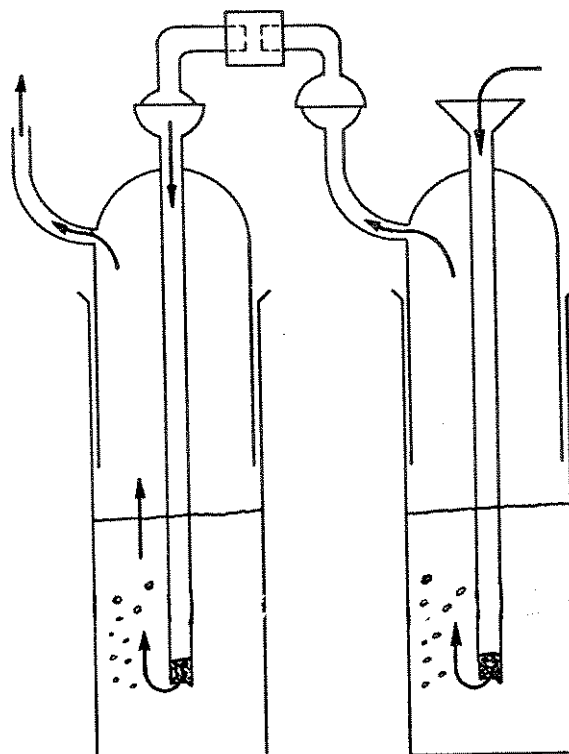


FIG. 1 - Dois frascos contendo solução de absorção (DNFHi) para capturar compostos carbonílicos de amostras gasosas.

como combustível (27,36).

Devido à não uniformidade das condições de análise e da forma de expressão dos resultados, é difícil a comparação entre os resultados publicados. Alguns desses resultados são apresentados na TABELA I.

É comum se empregar a unidade de massa por unidade de distância para expressar a concentração de aldeídos e cetonas nos gases emitidos pelos motores. Dessa forma, nos EUA emprega-se o termo "gramas por milha", enquanto que no Brasil utiliza-se "gramas por quilômetro" ou "miligramas por quilômetro".

A TABELA I ENCONTRA-SE PARTE NO VERSO DESTA PÁGINA

E PARTE NA PÁGINA 19

TABELA I - TABULACAO DE ALGUNS RESULTADOS
CETONAS NOS GASES DE EMISSAO DE

REFERENCIA	36			38	27				12	14			37	
TECNICA USADA	CLAE - FR			CLAE - FR	CLAE - FR				CGL	CLAE - FR			CLAE - FR	
DETECCAO	UV-Vis(365nm)			FLUORESC.	UV-Vis(365nm)/EM ⁵				DIC ⁶	UV-Vis(254nm)			UV (254nm)	
REAGENTE DE DERIVATIZACAO	DNFHi			DIMEDONA	DNFHi				DNFHi	DNFHi			DNFHi	
COMBUSTIVEL DE ALIMENTACAO	¹	²	³	N/C ⁴	etOH/gas (80:20)	etOH			N/C	N/C			A ⁸	B ⁹
UNIDADE DE CONCENTRACAO	ppm, v/v			micro-moles	µg/mL				ppm	ppm			ppm, v/v	
RESULTADOS DE:					UV	EM	UV	EM		7			10	
FORMALDEIDO	4.28	2.54	0.49	23,0	20	18	330	310	2,3	3.30	2.69	2.69	3.48	6.62
ACETALDEIDO	10.10	0.59	0.13	4,5	120	110	150	120	1,5	3.25	6.16	6.05	0.64	0.995
ACROLEINA		0.24	0.05						0,2	0.60	0.79	1.05		
PROPIONALDEIDO			0.03						0,2	2.75	3.83	3.35	0.06	0.084
ACETONA									0,2					
CROTONALDEIDO			0.01							0.37	0.09	0.16	0.03	0.005
n-BUTIRALDEIDO		0.03	0.07							1.56	1.23	1.07	0.14	0.083
BUTANONA														
n-PENTANALD.										0.41	0.42	0.30	0.01	0.041
BENZALDEIDO		0.10	0.02	0,99						1.32	1.97	1.73	0.06	0.043
TOLUALDEIDO										0.97	1.44	1.38	0.01	0.022

TESETAB1

- 1 - DETERMINACAO COM O VEICULO NA FASE AQUECIDA.
- 2 - VEICULO ANO 74, SEM CATALISADOR.
- 3 - VEICULO ANO 80, COM RECIRCULACAO DO GAS DE EXAUSTAO.
- 4 - N/C = NADA CONSTA.
- 5 - EM = ESPECTROMETRIA DE MASSA.
- 6 - DIC = DETECTOR POR IONIZACAO EM CHAMA.
- 7 - TRES RESULTADOS DO GAS DE EMISSAO DE UM MOTOR TOYOTA UG-20 COLETADO EM 2 "IMPINGERS".
- 8 - A = DIESEL.
- 9 - B = DIESEL / TG (75:25, p/p), ONDE TG E' O TERGITOL 15-S-7 (ADITIVO).
- 10 - MEDIA DE COLETAS EM TRES DIAS DIFERENTES.
- 11 - DCE = DETECTOR POR CAPTURA DE ELETRONS.
- 12 - RESULTADOS OBTIDOS COM 4 VEICULOS DIFERENTES. AS DUAS 1^{AS} COLUNAS SAO DO MESMO VEICULO.
- 13 - GLP = GAS LIQUIFEITO DE PETROLEO.
- 14 - RAZAO AR / GLP : C=14,6; D=15,6 e E=16,6.
- 15 - METANOL A 21°C.
- 16 - METANOL / GASOLINA (85:15, v/v) ENTRE 4°C E 21°C.
- 17 - METANOL / GASOLINA (85:15, v/v) ENTRE -7°C E 4°C.
- 18 - COLETA FEITA EM "CARTUCHOS".
- 19 - COLETA FEITA EM "IMPINGERS".
- 20 - VEICULO FORD MUSTANG 3.8, 6 CILINDROS, ANO 84, MOUIDO A GASOLINA PREMIUM.
- 21 - VEICULO CHEVROLET CAVALIER 2.0, 4 CIL., ANO 84, A GASOL. / METANOL / t-BUTANOL (90:5:5).
- 22 - VEICULO FORD ESCORT 1.6, 4 CILINDROS, ANO 83, MOUIDO A METANOL.

No Brasil as concentrações limites de aldeídos nos gases de emissão dos veículos automotores ainda não foram legalizadas. Porém o Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA - determina que, a partir de 1992, o limite máximo para a emissão de aldeídos totais nos gases de escapamento dos veículos ao saírem das montadoras será de 0,150 g/km; e, a partir de 1997, esse limite deverá ser de 0,030 g/km .

I.3.1 - A ANÁLISE DE ALDEÍDOS E CETONAS EFETUADA NA FIAT DO BRASIL (68)

A Fiat do Brasil, situada em Betim-MG, é uma das montadoras que está investindo em pesquisas sobre as emissões de aldeídos por veículos movidos principalmente a álcool. Ela mantém um laboratório de controle de emissões e consumo, onde são analisados os vários gases emitidos por um veículo automotor do ciclo Otto.

Os veículos, antes de se submeterem aos testes na câmara de ensaio, passam pela sala de admissão, onde são condicionados à temperatura de 20°C a 30°C, com precisão de 1°C por, no mínimo, 12 horas e, no máximo, 36 horas.

Após o condicionamento, os veículos são submetidos aos testes conforme procedimento descrito a seguir:

-Os pneus do automóvel são colocados sobre rolos dinamométricos.

-Ao carburador do automóvel é adaptada uma fonte de alimentação, cujo consumo de combustível é medido durante o ensaio.

- Ao escapamento é adaptado um coletor de gás, que leva este a um túnel de diluição (amostragem a volume constante - CVS). Uma bomba de sucção aspira o gás do escapamento juntamente com o ar ambiente, a uma vazão constante e ajustável.
- O gás e o ar passam por um ciclone para a retenção de partículas sólidas, como, por exemplo, fuligem.
- Em seguida, o gás é coletado em balões plásticos inertes para manter as amostras sem contaminação, as quais depois são submetidas à análise de CO, CO₂, hidrocarbonetos e óxidos de nitrogênio (NO_x).
- Em outro ponto, coleta-se a amostra para análise de aldeídos. Daí, através de uma bomba de sucção, o gás passa por dois frascos lavadores, contendo solução de absorção (acetonitrila, DNPH e ácido perclórico) à temperatura ambiente. A temperatura, a vazão e o volume coletado de gás para a determinação de aldeídos são cuidadosamente medidos.
- O conteúdo dos frascos amostrados são diluídos para 100mL com acetonitrila, e 10ul dessa solução é analisada por CLAE em coluna ZORBAX-ODS.
- A coleta do gás é efetuada em quatro etapas. Essas etapas constituem um percurso simulado que representa a média e a variação de trajetos e modos de utilização de um veículo. As mesmas seguem a seguinte ordem:
 - 1º - o veículo é submetido a um teste de desempenho ainda a frio,
 - 2º - o veículo é submetido a um teste de desempenho estabilizado,

3º - o veículo é submetido a um teste de desempenho a quente,

4º - o gás coletado é apenas o ar atmosférico. Este é usado como "branco".

OBS. - Todas as condições definidas para esses ensaios durante essas etapas são regidas pela norma NBR 6601.

-A totalização dos gases emitidos pelo veículo é calculada através da vazão de CO e CO₂ e pela massa de combustível.

-O fluxo do gás que passa pelo frasco lavador varia entre 1,0 e 1,5 L/min.

-Os aldeídos são quantificados por padronização externa. É feito um "branco" com o ar ambiente.

Resultados de amostragem com um veículo a gasolina e outro a álcool são apresentados no ANEXO II.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

A fim de se otimizarem as condições de separação de aldeídos e cetonas apresentadas em norma brasileira em vias de aprovação, procurou-se neste trabalho estudar as implicações nas variações de algumas destas condições.

Avaliando-se os trabalhos publicados sobre análise de aldeídos e cetonas qualitativa e quantitativamente, encontra-se que a maioria emprega Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), derivatização pré-coluna com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFHi), coluna recheada com fase estacionária apolar (octadecilsilano) e, como fase móvel, acetonitrila/água ou metanol/água. A detecção é feita normalmente por UV-Visível. O comprimento de onda utilizado varia muito de trabalho para trabalho, sendo que 365nm aparece no maior número deles.

Com base nessas considerações e nas condições de análise propostas pelo projeto de norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (ANEXO I), optou-se por desenvolver esse trabalho derivatizando os aldeídos e cetonas com DNFHi, separando os derivados por CLAE através de várias colunas recheadas com fase reversa (octadecilsilano) com dimensões diferentes, eluindo-os com acetonitrila/água ou metanol/água a várias composições e detectando-os a 365nm ou 254nm. Optou-se por avaliar detecções a 254nm por ser esse o comprimento de onda

mais comumente encontrado em detectores por ultravioleta em cromatografia líquida. Porém, já foi constatado que na análise do gás de escapamento de veículos automotores pelo método aqui avaliado, muitos interferentes que não são detectados a 365nm, podem sê-lo a 254nm (15).

Procurou-se também avaliar quantitativamente o método proposto para a separação de aldeídos e cetonas, testando-se os métodos de normalização de área, normalização de área corrigida, padronização interna, padronização externa e calibração externa.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTAL

III.1- EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Para se efetuarem os testes de otimização das condições de separação utilizaram-se três sistemas de CLAE constituídos pelos seguintes componentes:

EQUIPAMENTO A (Unicamp, Campinas-SP)

- uma bomba ALTEX, tipo pistão, mod. 110A;
- uma válvula de injeção RHEODYNE, mod. 7010, com alça ("loop") de 10 μ L;
- um detector SCHOEFFEL, UV-Visível variável, mod. 770, a 365nm ou 254nm;
- um registrador potenciométrico SARGENT WELCH, mod. DSGR;
- um registrador/integrador WATERS, mod. 740;
- uma coluna ZORBAX-ODS(5,5 μ m) de 250 x 4,6mm (DU PONT);
- uma coluna SUPELCOSIL LC-PAH (5 μ m) de 250 x 4,6mm (SUPELCO).

EQUIPAMENTO B (Fiat, Betim-MG)

- uma bomba VARIAN, tipo pistão, mod. 5050;
- uma válvula de injeção RHEODYNE, mod. 7125, com alça de 10 μ L;

- um detector VARIAN, UV-Visível variável, mod. 5100, a 365nm;
- um registrador/integrador VARIAN mod. 4290;
- uma coluna ZORBAX-ODS(5,5um) de 250 x 4,6mm (DU PONT).

EQUIPAMENTO C (Ultraquímica, Mauá-SP)

- sistema de gradiente quaternário WATERS, mod. 600E equipado com um controlador de temperatura para a coluna;
- um injetor WATERS, mod. U6K, carregado com uma seringa HAMILTON, para CLAE, com 25uL de capacidade;
- um detector WATERS, UV-Visível variável(programável), mod. 490E, a 365nm;
- um registrador/integrador WATERS, mod. 745B;
- uma coluna NOVA PAK C₁₈(5um) de 150 x 3,9mm (WATERS);
- uma coluna ULTRASPHERE-ODS(5um) de 250 x 4,6mm (BECKMAN).

III.2- REAGENTES UTILIZADOS

nome	procedência
.2,4-dinitrofenilhidrazina (C ₆ H ₆ N ₄ O ₄) para análise	MERCK
.Metanol (CH ₃ OH) para análise	MERCK
.Metanol (CH ₃ OH) para CLAE	MERCK
.Etanol (C ₂ H ₅ OH) para análise	MERCK
.Acetonitrila (CH ₃ CN) para CLAE	MERCK
.Acetonitrila (CH ₃ CN) para CLAE	J.T.BAKER
.Ácido clorídrico (HCl) para análise, teor = 37% min.	MERCK

.Ácido perclórico (HClO_4) para análise, teor = 70% min.	MERCK
.Formaldeído (CH_2O) para análise	VETEC
.Acetaldeído ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) para síntese	MERCK
.Propionaldeído ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) para análise	VETEC
.n-Butiraldeído ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) para análise	VETEC
.Benzaldeído ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$) para síntese	MERCK
.Acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) para análise	MERCK
.Metiletilcetona ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) para análise	MERCK
.Acroleína (sintetizada por desidratação da glicerina com sulfato ácido de potássio)	FIAT

III.3- PURIFICAÇÃO DOS SOLVENTES

Na preparação dos derivados de DNFHi foram usados os seguintes solventes: metanol, etanol e acetonitrila. Esses solventes foram purificados para eliminação de contaminantes contendo grupos carbonílicos. O procedimento empregado é descrito a seguir:

-Em um balão de fundo redondo, de 2000mL, com uma boca com junta 24/40, adicionou-se para cada 100mL de solvente cerca de 0,1g de DNFHi.

-A esse balão acoplou-se uma coluna de Vigreux de 40cm, com juntas 24/40, esmerilhadas e, no topo dessa coluna, adaptou-se um termômetro com escala de -10°C a 110°C , e um condensador do tipo reto, de 60cm.

-A temperatura da cabeça de destilação foi mantida em torno de 78°C quando da purificação do etanol, 64°C para o metanol e 80°C para a acetonitrila.

-O solvente purificado foi recolhido em um balão de 1000mL, onde os 50mL iniciais e finais do destilado foram desprezados.

III.4- PURIFICAÇÃO DA DNFHi

Dois procedimentos diferentes, denominados A e B, foram empregados para a purificação da DNFHi.

Procedimento A

-Durante 6 horas, refluxaram-se 9,4g de DNFHi com 900mL de etanol livre de carbonilas.

-Após resfriamento da solução sobrenadante, os cristais formados foram filtrados, lavados com etanol livre de carbonilas e secos em dessecadores com sílica ativada.

-Esse procedimento foi repetido duas vezes.

-Após a última filtração, cerca de 40mg de DNFHi purificada foi dissolvida em 10mL de acetonitrila e eluída através da coluna ZORBAX-ODS, nas mesmas condições prescritas em projeto de norma da ABNT (ANEXO I). O procedimento total foi repetido várias vezes, porém não forneceu resultados satisfatórios, pois todos os cromatogramas apresentaram picos de impurezas.

Procedimento B

-Adicionou-se DNFHi em 400mL de metanol livre de carbonilas, contido em um béquer de 600mL, a quente (cerca de 60°C), de

maneira que a solução saturasse e um pequeno excesso precipitasse.

-O béquer foi coberto com um vidro relógio e a solução mantida em ebulição em chapa quente com controlador de temperatura por aproximadamente 15 minutos.

-Após esse período, o sobrenadante foi transferido a quente para um outro béquer de 600mL.

-Essa solução foi mantida tampada e em repouso à temperatura ambiente por 3 horas e em geladeira por uma hora.

-Os cristais formados foram lavados 3 vezes com uma quantidade mínima de acetonitrila livre de carbonilas.

-Uma alíquota de acetonitrila da última lavagem foi diluída dez vezes em acetonitrila e cromatografada na coluna Zorbax, conforme condições prescritas em projeto de norma da ABNT (ANEXO I), com sensibilidade de 0,02 AUFS. Como nenhum pico de impureza foi registrado, o procedimento B foi utilizado para a purificação de DNFH_i.

III.5- PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS DE DNFH_i

Cada derivado foi preparado conforme o procedimento descrito a seguir:

-Em um balão volumétrico de 1000mL adicionaram-se 2g de DNFH_i, a qual foi dissolvida com ácido clorídrico (HCl) 2N, completando-se em seguida, o volume do balão com a mesma solução de ácido clorídrico.

-Uma alíquota de 100mL dessa solução, foi transferida para um béquer de 250mL e mantida em banho de gelo.

-Uma alíquota de 10mL de aldeído ou cetona foi adicionada lentamente e com agitação a essa solução.

-Após adição, a solução resultante foi mantida em geladeira por uma noite. A reação ocorreu a uma temperatura em torno de 5°C por 12 horas.

-O precipitado formado foi lavado uma vez com água, uma vez com ácido perclórico 1N e uma vez com etanol livre de carbonilas.

-O precipitado lavado foi purificado por recristalização em etanol livre de carbonilas.

-Os cristais obtidos foram secados em estufa a 40°C por 2 horas e mantidos em dessecador com sílica ativada.

-A pureza dos derivados obtidos foi verificada através do ponto de fusão e análise cromatográfica de soluções contendo 5mg do derivado em 50mL de acetonitrila. A TABELA II apresenta os pontos de fusão obtidos, enquanto que alguns dos cromatogramas

TABELA II - PONTO DE FUSAO DAS DNFHo DE ALDEIDOS E CETONAS .

DNFHo DE	UNICAMP ¹ (°C)	FIAT ¹ (°C)	LITERAT. ² (°C)
1 - FORMALDEIDO	165.2 - 165.9	164.5 - 165.5	166
2 - ACETALDEIDO	166.5 - 167.8	164.3 - 167.8	147 - 168
3 - ACRROLEINA	----	165.2 - 166.0	165
4 - ACETONA	122.7 - 124.3	124.3 - 126.1	126
5 - PROPIONALDEIDO	153.7 - 155.7	152.2 - 154.0	154
6 - BUTANONA	117.0 - 118.0	114.5 - 115.5	117
7 - BUTIRALDEIDO	121.0 - 121.6	119.2 - 121.0	122
8 - BENZALDEIDO	233.4 - 236.7	232.0 - 235.9	237

TESETAB2

NOTA :

1 - APARELHO UTILIZADO: METTLER MOD. SPF E SP52;

VELOCIDADE DE AQUECIMENTO = 3.0°C/min.

2 - VALORES OBTIDOS DA REFERENCIA 66.

dos derivados purificados são apresentados na FIGURA 2. As condições cromatográficas empregadas foram as mesmas utilizadas para a determinação da pureza da DNFHi. Quando houve a verificação de impurezas através dos cromatogramas, todo o processo de purificação foi novamente repetido.

III.6- PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES TESTE

Para avaliação das condições de separação dos derivados de aldeídos e cetonas em estudo, as soluções teste foram preparadas pesando-se os derivados, transferindo-os para um balão volumétrico de 200mL, dissolvendo-se os cristais em acetonitrila e diluindo a solução até se completar o volume do balão.

Foram preparadas cinco soluções partindo-se dos derivados sintetizados, e várias outras soluções foram obtidas de diluições destas. Na UNICAMP foram preparadas três soluções com os derivados aí sintetizados, as quais foram utilizadas para os testes na própria UNICAMP. Com os derivados sintetizados na FIAT, prepararam-se mais duas soluções: uma para os testes na FIAT, em Betim-MG, e outra para os testes na ULTRAQUÍMICA, em Mauá-SP. Essas soluções também originaram várias outras, através de diluições.

A TABELA III mostra as concentrações das soluções teste preparadas conforme descrito acima e utilizadas nas avaliações realizadas na UNICAMP, enquanto que a TABELA IV mostra as concentrações das soluções utilizadas na FIAT e a TABELA V as utilizadas na ULTRAQUÍMICA.

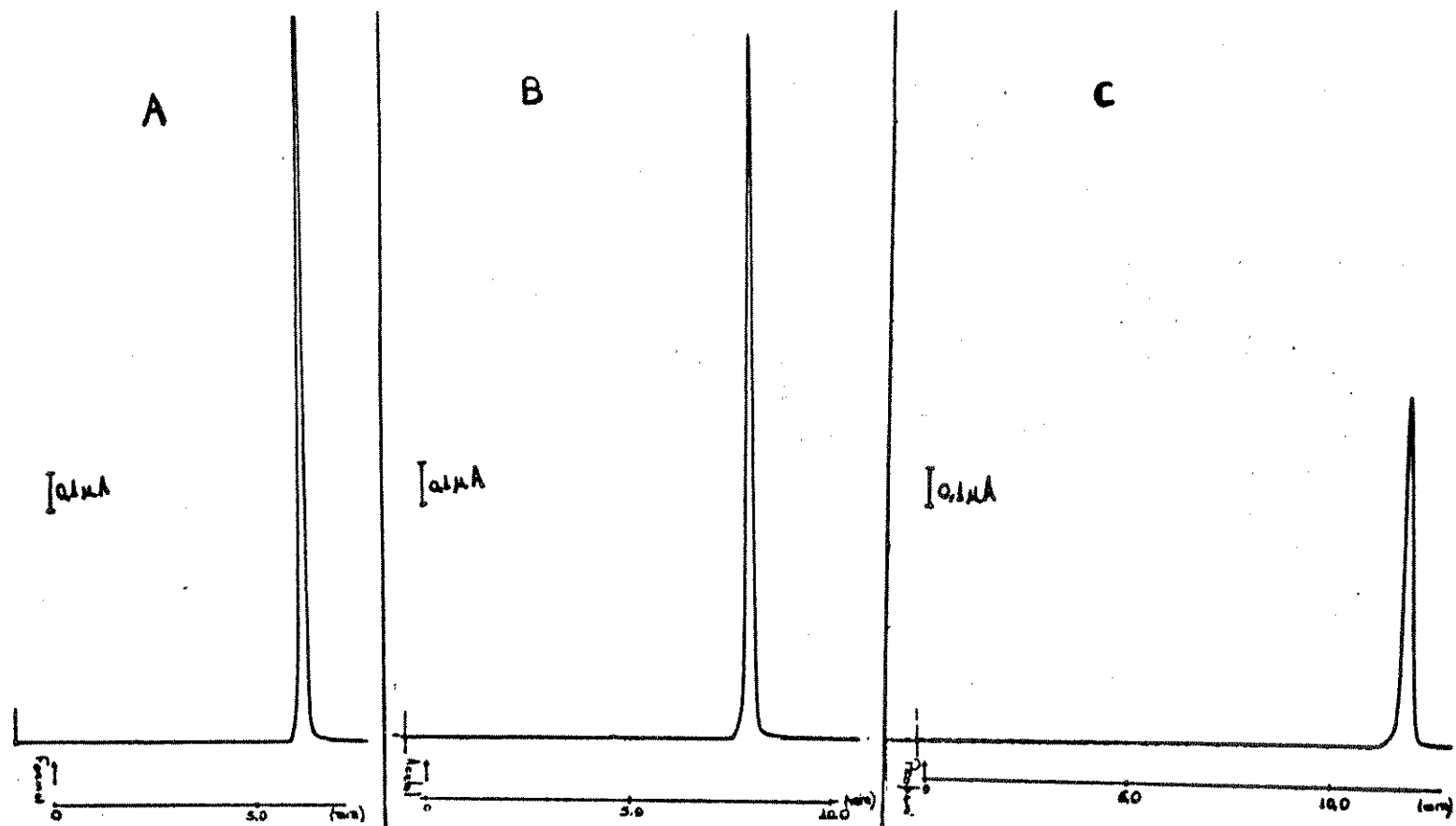


FIG. 2 - Eluição de DNFHo padrões para verificação de pureza: A = formaldeído; B = acetaldeído; C = propionaldeído. Equipamento A (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila/água, 65:35, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL; detecção: UV-Visível (365nm).

TABELA III - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NAS SOLUCOES TESTE UTILIZADAS PARA AS AVALIACOES NA UNICAMP.

DNFH ₀ DE	SOL. TESTE A	SOL. TESTE A1	SOL. TESTE A2	SOL. TESTE B	SOL. TESTE B1
	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)
1- FORMALDEIDO	102.0	34.0	10.2	83.5	27.8
2- ACETALDEIDO	133.0	44.3	13.3	78.0	26.0
3- ACROLEINA	-----	-----	-----	-----	-----
4- ACETONA	385.0	128.3	38.5	76.0	25.3
5- PROPIONALDEIDO	130.5	43.5	13.0	77.5	25.8
6- BUTANONA	-----	-----	-----	51.5	17.2
7- n-BUTIRALDEIDO	304.5	101.5	30.5	68.5	22.8
8- BENZALDEIDO	101.5	33.8	10.1	81.5	27.1

DNFH ₀ DE	SOL. TESTE C	SOL. TESTE C1	SOL. TESTE C2	SOL. TESTE C3	SOL. TESTE C4
	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)
1- FORMALDEIDO	71.0	28.4	21.3	14.2	7.1
2- ACETALDEIDO	70.0	28.0	21.0	14.0	7.0
3- ACROLEINA	-----	-----	-----	-----	-----
4- ACETONA	93.0	37.2	27.9	18.6	9.3
5- PROPIONALDEIDO	82.5	33.0	24.7	16.5	8.2
6- BUTANONA	-----	-----	-----	-----	-----
7- n-BUTIRALDEIDO	74.0	29.6	22.2	14.8	7.4
8- BENZALDEIDO	71.5	28.6	21.4	14.3	7.1

TABUNIC

TABELA IU - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NAS SOLUCOES TESTE UTILIZADAS PARA AS AVALIACOES NA FIAT.

DNFH ₀ DE	SOL. TESTE D	SOL. TESTE D1	SOL. TESTE D2	SOL. TESTE D3
	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)
1- FORMALDEIDO	14.7	1.47	0.147	0.0294
2- ACETALDEIDO	16.5	1.65	0.165	0.0330
3- ACROLEINA	16.3	1.63	0.163	0.0326
4- ACETONA	16.2	1.62	0.162	0.0324
5- PROPIONALDEIDO	15.0	1.50	0.150	0.0300
6- BUTANONA	14.8	1.48	0.148	0.0296
7- n-BUTIRALDEIDO	15.8	1.58	0.158	0.0316
8- BENZALDEIDO	20.4	2.04	0.204	0.0408

TAFIAT

TABELA U - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NAS SOLUCOES TESTE UTILIZADAS PARA AS AVALIACOES NA ULTRAQUIMICA.

DNFH ₀ DE	SOL. TESTE E	SOL. TESTE E1	SOL. TESTE E2
	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)	CONC (µg/mL)
1- FORMALDEIDO	40.5	2.03	0.203
2- ACETALDEIDO	36.7	1.83	0.183
3- ACROLEINA	42.1	2.10	0.210
4- ACETONA	38.9	1.94	0.194
5- PROPIONALDEIDO	39.0	1.95	0.195
6- BUTANONA	39.2	1.96	0.196
7- n-BUTIRALDEIDO	55.0	2.75	0.275
8- BENZALDEIDO	44.0	2.20	0.220

TAPULTRA

III.7- AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA A SEPARAÇÃO DAS DNFHo

Baseado nas condições de análise de aldeídos e cetonas sugeridas pelo projeto de norma da ABNT e resumidas na TABELA VI, considerou-se que alguns parâmetros poderiam ser avaliados levando-se em conta custo, disponibilidade de material, tempo de análise e separação dos derivados em estudo.

Dos derivados apresentados na TABELA VI, não se utilizou nesse trabalho a DNFHo do crotonaldeído e, somente na segunda parte do trabalho, se utilizou a DNFHo da acroleína.

Com a intenção de se avaliar a separação dos derivados em relação ao tempo de análise, procurou-se empregar as condições

TABELA VI - CONDIÇÕES DE ANÁLISE DE ALDEÍDOS E CETONAS APRESENTADAS NO PROJETO DE NORMA DA ABNT (ANEXO I).

TECNICA	CLAE - FASE REVERSA
REAGENTE DE DERIVATIZACAO	DNFHi
COLUNA	ZORBAX-ODS (DUPONT) 5,5µm, 250x4,6mm
FASE MOVEL	ACETONITRILA / AGUA, 65:35, v/v
VAZAO DA FASE MOVEL	1,8 mL / min.
VOLUME DE INJECAO	10 µL
DETECCAO	UV-Visivel, λ = 365nm
ORDEN DE ELUICAO DOS COMPOSTOS	1º - DNFHi
	2º - DNFHo DE FORMALDEIDO
	3º - DNFHo DE ACETALDEIDO
	4º - DNFHo DE ACROLEINA
	5º - DNFHo DE ACETONA
	6º - DNFHo DE PROPIONALDEIDO
	7º - DNFHo DE CROTONALDEIDO
	8º - DNFHo DE BUTANONA E DNFHo DE n-BUTIRALDEIDO
	9º - DNFHo DE BENZALDEIDO

apresentadas na TABELA VI variando-se a composição da fase móvel em incrementos de 2% a 5% relativos a um dos componentes.

Algumas separações foram detectadas a 254nm, a fim de se avaliar a influência do comprimento de onda na análise, pois a maioria dos detectores espectrofotométricos em CLAE com comprimento de onda fixo trabalham a 254nm.

Outras colunas, além daquela indicada na referida norma, foram testadas, e são elas: SUPELCOSIL LC-PAH, NOVA PAK C₁₈ e ULTRASPHERE-ODS.

Quanto à fase móvel, o uso de acetonitrila encarece a execução do método e, por se tratar de um solvente importado, a sua disponibilidade é limitada ao comportamento das relações exteriores do país. Assim, foram efetuadas separações utilizando-se metanol e água como fase móvel, pois o metanol, além de ser mais barato e acessível que a acetonitrila, possui características diferentes (é mais viscoso e mais polar) possibilitando diferentes interações entre os compostos submetidos à separação e a fase estacionária.

Nos testes relatados nos itens III.7.1, 2 e 3, todas as condições cromatográficas que não estão descritas subentende-se que sejam iguais àquelas apresentadas na TABELA VI.

III.7.1 - TESTES DE AVALIAÇÃO REALIZADOS NA UNICAMP, EM CAMPINAS-SP

Os testes realizados na UNICAMP compuseram a primeira parte desse trabalho, quando ainda não se dispunha do derivado de acroleína.

Trabalhando-se com o equipamento A, descrito no item III.1, fez-se a separação dos derivados contidos nas soluções teste A, B e C, e soluções preparadas a partir de diluições destas (TABELA III). Os derivados de DNFHi contidos nessas soluções foram eluídos através de duas colunas, utilizando-se dois tipos de fases móveis e realizando-se a detecção em dois comprimentos de ondas diferentes.

Com a coluna ZORBAX-ODS, utilizou-se como fase móvel ACETONITRILA/ÁGUA, nas seguintes composições: 55:45, 60:40, 63:37, 65:35, 67:33, 70:30 e 75:25; e METANOL/ÁGUA a 70:30 e a 75:25. Com a coluna SUPELCOSIL LC-PAH, utilizou-se como fase móvel METANOL/ÁGUA, nas seguintes composições: 62:38, 65:35, 67:33, 70:30, 72:28 e 75:25.

Com todas as fases móveis testadas empregou-se detecção a 365nm. A detecção a 254nm foi avaliada eluindo-se a solução teste C (TABELA III) através da coluna ZORBAX-ODS com ACETONITRILA/ÁGUA, 65:35 e 70:30 e, através da coluna SUPELCOSIL LC-PAH, utilizando-se como fase móvel METANOL/ÁGUA, 70:30.

III.7.2 - TESTES DE AVALIAÇÃO REALIZADOS NA FIAT, EM BETIM-MG

Com os derivados sintetizados na FIAT, preparou-se a solução TESTE D. Através de diluições desta solução prepararam-se outras soluções (TABELA IV). Os testes com essas soluções foram realizados na FIAT, onde se trabalhou com o equipamento B, descrito no item III.1.

As soluções TESTE D, D1 e D3 foram eluídas através da coluna ZORBAX-ODS, empregando-se ACETONITRILA/ÁGUA, 65:35, como fase móvel, a fim de se verificar a sensibilidade da técnica.

As soluções TESTE D e D2 foram eluídas nessa coluna com METANOL/ÁGUA, 75:25, como fase móvel.

III.7.3 - TESTES DE AVALIAÇÃO REALIZADOS NA ULTRAQUÍMICA SÃO PAULO, EM MAUÁ-SP

A solução TESTE E foi preparada na ULTRAQUÍMICA com os derivados sintetizados na FIAT e, dessa solução, prepararam-se soluções mais diluídas (TABELA V). Vários testes foram realizados na ULTRAQUÍMICA com essas soluções, utilizando-se o equipamento C, descrito no item III.1.

A solução TESTE E foi eluída na coluna NOVA PAK-C₁₈ e ULTRASPHERE-ODS utilizando-se ACETONITRILA/ÁGUA, 50:50, e METANOL/ÁGUA, 70:30, como fases móveis.

As soluções TESTE E1 e E2 foram eluídas na coluna ULTRASPHERE-ODS, utilizando-se METANOL/ÁGUA, 70:30, como fase móvel, a uma vazão de 0,7 mL/min, a fim de se verificar a sensibilidade da técnica nessas condições.

III.8 - AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DA TÉCNICA

A fim de se avaliar a sensibilidade da técnica, fizeram-se várias diluições da solução TESTE D, originando-se outras soluções. As soluções TESTE D, D1 e D2 foram cromatografadas conforme as condições apresentadas no projeto de norma da ABNT

(ANEXO I), utilizando-se o equipamento B, item III.1. A solução TESTE D3 assim cromatografada, teve todos os derivados de DNFHi da sua composição detectados. Dessa forma, essa foi a solução TESTE mais diluída da qual se conseguiu detecção de todos os componentes dentre as testadas nesse trabalho.

A solução TESTE D3 foi preparada conforme procedimento descrito a seguir:

-Transferiu-se 10mL da solução TESTE D, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, para um balão volumétrico de 100mL;

-Completo-se o volume do balão com acetonitrila;

-Transferiu-se 2mL dessa última solução (solução TESTE D1), com o auxílio de outra pipeta volumétrica, para um outro balão volumétrico de 100mL;

-Completo-se o volume desse último balão com acetonitrila.

As concentrações dos derivados nessa última solução, solução TESTE D3, são apresentadas na TABELA IV.

Numa tentativa de se avaliar a sensibilidade da técnica na ULTRAQUÍMICA também foram realizadas várias diluições da solução TESTE E. O procedimento para a preparação da solução mais diluída testada é descrito a seguir:

-Transferiu-se, através de uma pipeta volumétrica, 5mL da solução TESTE E para um balão volumétrico de 100mL, completando-se o volume do balão com acetonitrila.

-Transferiu-se, através de outra pipeta volumétrica, 10mL da solução obtida anteriormente (solução TESTE E1) para um outro balão volumétrico de 100mL. O volume do balão foi completado com acetonitrila, obtendo-se assim a solução TESTE E2.

As concentrações das DNFHo nas soluções preparadas são apresentadas na TABELA V.

A solução TESTE E2 foi cromatografada no equipamento C, descrito no item III.1, através da coluna ULTRASPHERE-ODS utilizando-se METANOL/ÁGUA, 70:30, v/v, como fase móvel, a uma vazão de 0,7 mL/min.

Embora as concentrações de DNFHo na solução TESTE E2 fossem cinco a nove vezes maiores que os respectivos derivados na solução TESTE D3, a detecção daquela foi muito mais prejudicada quanto à sensibilidade do que esta.

III.9 - TRATAMENTO DOS DADOS OBTIDOS

III.9.1 - AVALIAÇÃO QUALITATIVA

As separações das DNFHo de aldeídos e cetonas foram avaliadas qualitativamente através dos parâmetros de separação, retenção e eficiência, calculados a partir dos cromatogramas obtidos.

III.9.1.1 - A SEPARAÇÃO

A separação foi avaliada através da determinação da resolução (Rs_1) dos isômeros, calculada a partir da largura do pico à meia altura, conforme a EQUAÇÃO 1.

$$Rs_1 = \frac{1,177 \cdot (d_{R2} - d_{R1})}{(W_{H1} + W_{H2})} \quad (1)$$

Onde: d_R = distância de retenção do pico, em centímetros;

W_h = largura do pico medida a meia altura, em centímetros;

i e e = índices referentes aos picos dos isômeros eluídos antes e depois, respectivamente.

III.9.1.2 - A EFICIÊNCIA

Para se avaliar a eficiência da coluna na separação dos derivados, utilizou-se o número de pratos teóricos (n_1) e a assimetria (As_{10}). O n_1 , relativo aos picos eluídos, foi obtido através da EQUAÇÃO 2, enquanto que a assimetria do pico foi calculada a 10% da altura do mesmo, conforme Poole et al. (71), e obtido através da EQUAÇÃO 3.

$$n_1 = 5,54 \cdot \frac{(d_R)^2}{(W_h)^2} \quad (2)$$

$$As_{10} = a / b \quad (3)$$

Onde: a = medida da distância do meio do pico à sua calda, a 10% da altura, em centímetros;
 b = medida da distância do meio do pico à sua frente, a 10% da altura, em centímetros.

III.9.1.3 - A RETENÇÃO

A retenção dos compostos na coluna foi avaliada através do cálculo da razão de distribuição das massas (D_m) do primeiro composto eluído a cada separação, utilizando-se a EQUAÇÃO 4.

$$D_m = \frac{(t_R - t_M)}{t_M} \quad (4)$$

Onde: t_R = tempo de retenção do composto de interesse, em minutos;
 t_M = tempo de retenção de um soluto não retido, em minutos.

O tempo de retenção de um soluto não retido (t_M) foi determinado conforme método testado e utilizado por de Lima (69) e também avaliado por Levin et al. (70). Antes de se registrar o pico relativo à eluição do primeiro composto, registra-se um pequeno pico seguido de um outro pico negativo. Esses picos representam a relaxação da perturbação do equilíbrio na cabeça da coluna causada pela introdução da amostra, a qual é considerada como uma concentração de pulsos (70).

O método consiste em se considerar como t_M , o tempo em que a pena do registrador intercepta o prolongamento da linha de base ao registrar a inversão dos picos. Houve casos em que o pico negativo não apareceu, quando, então, se considerou como t_M o tempo de retenção do primeiro pico, cuja área é sempre pequena e o tempo de retenção é constante. Para o cálculo de D_m , considerou-se a média dos valores de t_M dos cromatogramas obtidos com as separações das DNFHo para cada coluna e cada tipo

de fase móvel, pois t_M é independente da composição da fase móvel e da concentração de amostra injetada (71).

Também foi avaliado o comportamento das DNFHo dos aldeídos estudados quanto à série homóloga, através da curva do gráfico obtido plotando-se os valores de $\log D_m$ versus o número de carbono do respectivo aldeído.

III.9.2 - AVALIAÇÃO QUANTITATIVA

Para se avaliar quantitativamente o método em estudo, as concentrações das DNFHo nas várias soluções preparadas foram determinadas através dos métodos da normalização de área, normalização de área corrigida, padronização interna, padronização externa e calibração externa.

Quando se empregaram registradores acoplados a integradores, as áreas fornecidas por estes foram utilizadas nesses cálculos. Quando o registro foi feito por um registrador comum, as áreas foram calculadas conforme de Lima (69). Para isso utilizou-se a EQUAÇÃO 5, a qual descreve a determinação da área de um pico gaussiano.

$$A = \sqrt{\frac{\pi}{2}} \cdot \sigma \cdot h \quad (5)$$

Onde: $\sigma = 6,28318\dots$;

σ = desvio padrão do pico gaussiano;

h = altura do pico gaussiano.

Para se calcular a área do pico a partir da largura deste a meia altura (w_h), tem-se que:

$$w_h = 2,354 \cdot dp \quad (6)$$

Então:

$$A = 1,065 \cdot w_h \cdot h \quad (7)$$

Por outro lado, para se calcular a área do pico a partir da largura do pico na base (w_b), tem-se que:

$$w_b = 4 \cdot dp \quad (8)$$

Então:

$$A = 0,627 \cdot w_b \cdot h \quad (9)$$

Para a avaliação estatística das determinações quantitativas utilizou-se o desvio padrão entre os resultados encontrados a fim de se obter a precisão do método. Para a determinação da exatidão utilizou-se o desvio padrão entre a média dos resultados encontrados e o valor verdadeiro.

III.9.2.1 - NORMALIZAÇÃO DE ÁREA

Essa técnica presume que todos os componentes da amostra eluam da coluna e sejam detectados, e que todos os compostos tenham a mesma resposta do detector (72).

O método da normalização de área consiste em se comparar a porcentagem relativa à área do componente de interesse no cromatograma com a porcentagem deste na solução da amostra (73).

A porcentagem de cada componente na amostra é calculada através da EQUAÇÃO 10.

$$\% C_1 = \frac{A_1 \cdot 100}{A_t} \quad (10)$$

Onde: C_1 = componente de interesse presente na amostra;
 A_1 = área do pico do componente de interesse presente na amostra;
 A_t = soma das áreas dos picos que representam todos os componentes da amostra.

III.9.2.2 - NORMALIZAÇÃO DE ÁREA CORRIGIDA

O método quantitativo de normalização de área pode ser melhorado algumas vezes corrigindo-se as variações na resposta do detector usando-se fatores de resposta. Alguns fatores de resposta são difíceis de se calcular teoricamente, necessitando-se na prática de soluções padrões para fins de calibração (72).

O método da normalização de área corrigida consiste em se corrigir a diferenciação de resposta do detector para cada componente da amostra, injetando-se uma solução de concentração conhecida, contendo as substâncias padrões cujos fatores deseja-se determinar. A seguir, relaciona-se a porcentagem conhecida e observada para cada composto (74).

O cálculo da concentração do componente de interesse é obtido a partir da EQUAÇÃO 11.

$$\% C_i = \frac{A_i \cdot f_{Ri} \cdot 100}{\sum_{i=1}^n (A_i \cdot f_{Ri})} \quad (11)$$

Onde: A_i = área do pico do componente i presente na amostra;
 f_{Ri} = fator de resposta relativo ao componente i ;
 n = número de componentes da amostra.

Sendo que o fator de resposta é calculado conforme a EQUAÇÃO 12.

$$f_{Ri} = \frac{P_{iP} \cdot A_t}{A_{iP}} \quad (12)$$

Onde: P_{iP} = porcentagem conhecida do componente i na solução padrão;
 A_t = soma das áreas dos picos de todos os componentes da solução padrão;
 A_{iP} = área do pico do componente i na solução padrão.

III.9.2.3 - PADRONIZAÇÃO INTERNA

O método da padronização interna para determinações cromatográficas quantitativas é particularmente útil porque seu

emprego pode minimizar erros devido à preparação da amostra, aparelhagem e técnica.

O método consiste na preparação das soluções padrões de concentrações conhecidas, às quais adicionam-se quantidades conhecidas de um padrão interno. A substância utilizada como padrão interno deve ter concentração, tempo de retenção e resposta do detector similares à da substância problema, não pertencer à amostra e eluir separadamente de todos os componentes da amostra. Essas soluções são cromatografadas e a área do pico do composto de interesse pela área do pico do padrão interno é relacionada graficamente com a concentração desse composto nas soluções padrões preparadas (curva de calibração). O valor da área do pico do composto de interesse na amostra, dividido pelo valor da área do pico do padrão interno fornece a concentração deste através da curva de calibração (74).

Neste trabalho a DNFHo do benzaldeído foi utilizada como padrão interno. Utilizou-se apenas uma solução padrão, contendo quantidades conhecidas do padrão interno e dos compostos de interesse, para fins de calibração. Essa solução foi cromatografada em triplicata e o fator de resposta para cada componente da amostra foi calculado conforme a EQUAÇÃO 13 (72).

$$Rf_1 = \frac{m_{1p} \cdot A_{pp}}{A_{1p} \cdot m_{pp}} \quad (13)$$

Onde: Rf_i = fator de resposta do composto de interesse;
 m_{iP} = massa do composto de interesse na solução padrão;
 m_{PP} = massa do padrão interno na solução padrão;
 A_{iP} = área do pico do composto de interesse da solução padrão;
 A_{PP} = área do pico do padrão interno da solução padrão.

A solução contendo a amostra, já com a DNPHo do benzaldeído adicionada a esta em concentração conhecida e semelhante a dos analitos, também foi injetada no cromatógrafo sob as mesmas condições e a porcentagem de cada componente da amostra foi determinada conforme a EQUAÇÃO 14 (72).

$$\% Ci = \frac{m_{PA} \cdot A_{iA} \cdot Rf_i \cdot 100}{m_A \cdot A_{PA}} \quad (14)$$

Onde: m_{PA} = massa de padrão interno adicionado na solução da amostra;
 m_A = massa de amostra em solução;
 A_{iA} = área do pico do componente de interesse na solução da amostra;
 A_{PA} = área do pico do padrão interno na solução da amostra.

III.9.2.4 - CALIBRAÇÃO EXTERNA E PADRONIZAÇÃO EXTERNA

A comparação direta da área ou altura do pico de compostos em amostras desconhecidas com injeção de padrões é frequentemente usada, particularmente para análises a baixo nível de concentração. O método requer técnica analítica precisa, pois necessita-se que as injeções sejam sempre exatamente com o mesmo volume. Alça com volume fixo de injeção da amostra aumenta a precisão desse método.

Na prática, soluções padrões cobrindo a faixa desejada de concentração são preparadas e cromatografadas. Uma curva de calibração da composição versus a área é preparada em seguida. O mesmo volume de amostra é cromatografado e a área do pico obtida. A área do componente de concentração desconhecida deve se situar entre dois pontos na curva de calibração, de modo que a comparação possa ser determinada por interpolação (72).

O método quantitativo que requer uma curva de calibração pode ser denominado de CALIBRAÇÃO EXTERNA (74). Para cada componente da amostra cuja concentração se deseja determinar constróem-se gráficos de "área x concentração" (curvas de calibração), obtidos de injeções de soluções padrões a várias concentrações. A concentração dos componentes da amostra é calculada pela EQUAÇÃO 15 (74), através das curvas obtidas.

$$C_1 = (A_1 - b) \cdot Rf_1 \quad (15)$$

Onde: A_1 = área do pico do componente de interesse presente na amostra;

b = coeficiente linear da curva de calibração;

Rf_1 = inverso do coeficiente angular da curva de calibração.

O método quantitativo que requer a preparação de uma solução semelhante à amostra, com padrões cujas concentrações sejam próximas à solução da amostra, realizando-se um número pré-determinado de injeções dessa solução a fim de se obter o fator de correção médio, foi aqui denominado de PADRONIZAÇÃO EXTERNA. A concentração dos componentes da amostra é obtida por esse método através da EQUAÇÃO 16, sem a necessidade de curvas de calibração (73).

$$C_1 = A_{1A} \cdot Rf_1 \quad (16)$$

Onde: A_{1A} = área do pico do componente de interesse;
 Rf_1 = fator de correção, obtido para cada componente de interesse.

O valor de Rf_1 é calculado conforme a EQUAÇÃO 17:

$$Rf_1 = \frac{C_p}{A_p} \quad (17)$$

Onde: C_p = concentração do componente de interesse na solução padrão;
 A_p = área do pico do componente de interesse na solução padrão.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados qualitativos e quantitativos obtidos dos testes realizados com a finalidade de se avaliar as condições de separação das 2,4-dinitrofenilhidrazonas (DNFHo) de aldeídos e cetonas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) serão aqui discutidos. Na discussão dos resultados qualitativos dar-se-á ênfase à separação (resolução), eficiência (número de pratos teóricos e assimetria) e retenção (razão de distribuição das massas - série homóloga), abordando-se sempre as limitações encontradas. Na parte quantitativa serão avaliados os resultados obtidos com cada método empregado, comparando-os com os valores teóricos a fim de se obter o melhor método. Abordar-se-á aqui também a avaliação da sensibilidade da técnica.

É importante destacar que as medidas realizadas nos cromatogramas para os cálculos, envolvendo a largura do pico, a meia altura ou na base, e a distância de retenção deste, são acompanhadas de erros de leitura da régua. Ao se empregar as medidas obtidas nas fórmulas para a determinação dos parâmetros mencionados acima, esse tipo de erro se propaga e afeta muito o resultado final. No entanto, esses erros podem ser minimizados. Mascioli et al. (75), em estudos sobre a propagação de erros em parâmetros cromatográficos medidos manualmente, concluíram que esses erros são minimizados quando a distância de retenção do

pico no cromatograma for de, no mínimo, 12cm, e a largura deste à meia altura for de, no mínimo, 2cm. Porém, a maioria dos cromatogramas avaliados no presente trabalho apresentam os picos das DNFHo dos compostos carbonílicos com menos de quatro carbonos com distância de retenção menores que 12cm e todos os picos destes cromatogramas apresentam largura à meia altura menores que 2cm. Dessa maneira, os resultados obtidos para os parâmetros cujos cálculos envolvem essas medidas são acompanhados de erros que muitas vezes levam a uma conclusão qualitativa errônea. Quanto à avaliação quantitativa, os resultados também são afetados por esse tipo de erro, já que todos os métodos quantitativos empregam o valor de área do pico, os quais, nos casos em que não se dispunha de integrador, foram determinados a partir da altura e da largura do pico na base, onde se entendeu serem menores os erros de medida.

IV.1 - RESULTADOS QUALITATIVOS

IV.1.1 - RETENÇÃO

Uma das condições básicas para que haja a separação de vários solutos, diferentes quimicamente, através de uma coluna cromatográfica é que as interações, químicas e físicas, entre estes e a fase estacionária sejam diferenciadas.

Antes de se discutirem os resultados obtidos faz-se necessária uma explanação sobre as estruturas das espécies químicas que se interagem nessas separações, a fim de se

entender porque uma espécie fica mais retida do que outra dentro da coluna.

As quatro colunas utilizadas neste trabalho possuíam fases estacionárias quimicamente semelhantes: partículas esféricas de sílica com grupos alquílicos com dezoito carbonos saturados ligados quimicamente à sua superfície. Porém, a maneira como se dão essas ligações resulta em fases estacionárias quimicamente diferentes (74). Assim pode ocorrer a formação :

a) de éster de silicato (Si-O-R) por reação do grupo silanol com um álcool;

b) da ligação siloxano (Si-O-SiR_2) por reação do grupo silanol com um organoclorosilano;

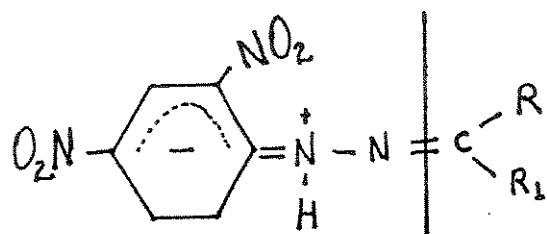
c) da ligação silício-carbono pelo tratamento do grupo silanol com cloreto de tionila, para produzir o cloreto que, em seguida, reage com um composto organometálico para produzir um grupo orgânico ligado diretamente à superfície da sílica (74).

Os fabricantes normalmente não fornecem dados a respeito do processo pelo qual eles modificam a superfície da sílica para a elaboração da fase estacionária.

As diferenças físicas entre colunas cromatográficas também são grandes. Colunas cromatográficas com as mesmas dimensões, recheadas com octadecilsilano quimicamente ligado à sílica, por exemplo, e que aparentemente são idênticas, podem possuir comportamento bastante diferenciado devido a fatores, tais como: porcentagem de recobrimento dos grupos alquílicos sobre a superfície da sílica, tamanho médio de partículas, métodos de enchimento, etc.

Quanto aos compostos estudados, os mesmos pertenciam a mesma classe química: hidrazonas, sendo, dessa forma,

semelhantes. As estruturas dessas moléculas possuem uma extremidade polar e outra apolar. Para facilitar a visualização a mesma é apresentada a seguir:



parte polar da
molécula

parte apolar
da molécula

ONDE:

DNFHo de	R	R ₁
formaldeído	-H	-H
acetaldeído	-CH ₃	-H
acroleína	-C ₂ H ₅	-H
acetona	-CH ₃	-CH ₃
propionaldeído	-C ₂ H ₅	-H
butanona	-C ₂ H ₅	-CH ₃
n-butiraldeído	-C ₃ H ₇	-H
benzaldeído	-C ₆ H ₅	-H

Durante a eluição desses compostos através da coluna cromatográfica, a extremidade apolar da molécula apresenta uma maior afinidade pela fase estacionária, enquanto que a extremidade polar tem maior afinidade pela fase móvel. Essa afinidade é que provoca uma retenção diferenciada desses compostos através da coluna.

A ordem de eluição para compostos de uma mesma classe química pode, de certa maneira, ser prevista. No caso específico dos compostos estudados, à medida que o número de carbonos da cadeia oriúnda dos compostos carbonílicos aumenta, o tempo de retenção do composto na coluna também aumenta. Isso pode ser observado em todas as separações realizadas nesse trabalho. Porém esse tempo depende das condições cromatográficas empregadas. Colunas cromatográficas com mesmas dimensões, mesmo tipo de fase estacionária e sob as mesmas condições cromatográficas poderão apresentar diferentes valores de retenção para compostos iguais, se pertecerem a fabricantes diferentes. Isso pode ser observado nos resultados apresentados

nas TABELAS VII, VIII e IX. A TABELA X apresenta os resultados

TABELA VII - RESULTADOS MAIS REPRESENTATIVOS DE SEPARACOES DAS DNFO DE ALDEIDOS E CETONAS EFETUADAS NA UNICAMP.

SEPARACAO Nº	36H/88	38B/88	35E/88	37B/88	37F/88	34B/88	32C/88	34F/88
SOLUCAO TESTE	B	B	B	B	B	B	B	B
COLUNA	ZORBAX	ZORBAX	ZORBAX	ZORBAX	ZORBAX	SUPELC	SUPELC	SUPELC
FASE MOVEL	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	MeOH/AGUA	MeOH/AGUA	MeOH/AGUA	MeOH/AGUA	MeOH/AGUA
COMPOSICAO	55:45	65:35	75:25	70:30	75:25	65:35	70:30	75:25
R _{S1} DOS ISOM C ₃	3.22	1.96	0.96	1.50	1.56	1.69	1.54	1.50
R _{S1} DOS ISOM C ₄	0.93	NAO	NAO	4.17	4.06	4.30	3.18	2.90
n ₁ DO BENZALDEIDO	13410	14910	15270	11630	9600	5280	5070	4140
As ₁₀ DO BENZALDEIDO	0.87	1.12	0.78	1.50	1.53	0.73	0.55	0.43
t _R DO BENZALDEIDO (min)	36.2	17.4	8.3	47.2	30.3	37.8	17.8	12.1
D _M DO FORMALDEIDO	2.97	1.83	0.97	2.71	2.00	1.54	0.91	0.69

TESETAP7

NOTA: PARA AS CONDICOOES NAO CITADAS CONSIDERAM-SE IDENTICAS AS APRESENTADAS NA TABELA VI.

LEGENDA

- ZORBAX = COLUNA ZORBAX-ODS (5,5µm) 250 x 4,6 mm (DUPONT);
 SUPELC = COLUNA SUPELCOSIL LC-PAH (5µm) 250 x 4,6 mm (SUPELCO);
 ACTN/AGUA = FASE MOVEL ACETONITRILA / AGUA;
 MeOH/AGUA = FASE MOVEL METANOL / AGUA;
 R_{S1} = RESOLUCAO DA SEPARACAO (EQUACAO 1, ITEM III.9.1.1);
 ISOM C₃ = DNFO DE ACETONA E PROPIONALDEIDO;
 ISOM C₄ = DNFO DE BUTANONA E BUTIRALDEIDO;
 n₁ = NUMERO DE PRATOS TEORICOS (EQUACAO 2, ITEM III.9.1.2);
 As₁₀ = ASSIMETRIA (EQUACAO 3, ITEM III.9.1.2);
 t_R DO BENZALDEIDO = TEMPO DE RETENCAO DA DNFO DO BENZALDEIDO;
 D_M = RAZAO DE DISTRIBUICAO DAS MASSAS (EQUACAO 4, ITEM III.9.1.3);
 NAO = ESTES ISOMEROS DE DNFO NAO SE SEPARAM NESTAS CONDICOOES.

TABELA VIII - RESULTADOS MAIS REPRESENTATIVOS DE SEPARACOES DAS DNFH₀ DE ALDEIDOS E CETONAS EFETUADAS NA FIAT.

SEPARACAO N ^o	40B/90	400/90
SOLUCAO TESTE	D	D
COLUNA	ZORBAX	ZORBAX
FASE MOVEL	ACETONITRILA/AGUA	METANOL/AGUA
COMPOSICAO	65 : 35	75 : 25
R _{S1} DOS C ₃ ¹	0.97	4.07
R _{S1} DOS C ₃ ²	1.44	1.71
R _{S1} DOS C ₃ ³	2.49	2.59
R _{S1} DOS C ₄	NAO	3.68
n ₁ DO BENZALDEIDO	9310	11385
A _{S10} DO BENZALDEIDO	0.50	0.58
t _R DO BENZALDEIDO (min)	14.29	20.21
D _m DO FORMALDEIDO	1.58	1.50

TESTES

NOTA : PARA AS CONDICOES NAO CITADAS CONSIDERA-SE IDENTICAS AS DA TABELA VI.

LEGENDA

- ZORBAX = COLUNA ZORBAX-ODS (5,5µm) 250 x 4,6 mm (DUPONT);
- R_{S1} = RESOLUCAO DA SEPARACAO (EQUACAO 1, ITEM III.9.1.1);
- C₃¹ = DNFH₀ DE ACROLEINA E ACETONA;
- C₃² = DNFH₀ DE ACETONA E PROPIONALDEIDO;
- C₃³ = DNFH₀ DE ACROLEINA E PROPIONALDEIDO;
- C₄ = DNFH₀ DE BUTANONA E n-BUTIRALDEIDO;
- n₁ = NUMERO DE PRATOS TEORICOS (EQUACAO 2, ITEM III.9.1.2);
- A_{S10} = ASSIMETRIA (EQUACAO 3, ITEM III.9.1.2);
- t_R DO BENZALDEIDO = TEMPO DE RETENCAO DA DNFH₀ DE BENZALDEIDO;
- D_m = RAZAO DE DISTRIBUICAO DAS MASSAS (EQUACAO 4, ITEM III.9.1.3);
- NAO = ESTES ISOMEROS DA DNFH₀ NAO SE SEPARARAM NESTAS CONDICOES.

TABELA IX - RESULTADOS MAIS REPRESENTATIVOS DE SEPARACOES DAS DNFH_o DE ALDEIDOS E CETONAS EFETUADAS NA ULTRAQUIMICA.

SEPARACAO Nº	45B/90	42B/90	46C/90	47/90	48A/90
SOLUCAO TESTE	E	E	E	E	E
COLUNA	NOVA PAK	NOVA PAK	NOVA PAK	ULTRASPHERE	ULTRASPHERE
FASE MOVEL	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	MeOH/AGUA	ACTN/AGUA	MeOH/AGUA
COMPOSICAO	50:50	70:30	70:30	50:50	70:30
R _{s1} DOS C ₃ ¹	NAO	NAO	1.31	NAO	>1.50
R _{s1} DOS C ₃ ²	3.06	0.54	NAO	2.64	NAO
R _{s1} DOS C ₃ ³	3.06	0.54	1.31	2.64	>1.50
R _{s1} DOS C ₄	1.62	NAO	1.18	1.12	2.09
n ₁ DO BENZALDEIDO	10930	4410	8210	8050	8900
A _{s10} DO BENZALDEIDO	0.92	1.00	0.83	0.61	0.44
t _r DO BENZALDEIDO (min)	16.58	3.54	11.46	47.36	47.92
D _m DO FORMALDEIDO	5.68	2.52	3.23	SEM	4.88

RESISTAS

NOTA : 1. PARA AS CONDICOES NAO CITADAS CONSIDERAM-SE IDENTICAS AS DA TABELA VI.

LEGENDA

- NOVA PAK = COLUNA NOVA PAK-C₁₈ (5µm) 150 x 3,9 mm (WATERS);
- ULTRASPHERE = COLUNA ULTRASPHERE-ODS (5µm) 250 x 4,6 mm (BECKMAN);
- ACTN/AGUA = FASE MOVEL ACETONITRILA / AGUA;
- MeOH/AGUA = FASE MOVEL METANOL / AGUA;
- R_{s1} = RESOLUCAO DA SEPARACAO (EQUACAO 1, ITEM III.9.1.1);
- C₃¹ = DNFH_o DE ACRROLEINA E ACETONA;
- C₃² = DNFH_o DE ACETONA E PROPIONALDEIDO;
- C₃³ = DNFH_o DE ACRROLEINA E PROPIONALDEIDO;
- C₄ = DNFH_o DE BUTANONA E BUTIRALDEIDO;
- n₁ = NUMERO DE PRATOS TEORICOS (EQUACAO 2, ITEM III.9.1.2);
- A_{s10} = ASSIMETRIA (EQUACAO 3, ITEM III.9.1.2);
- t_r DO BENZALDEIDO = TEMPO DE RETENCAO DA DNFH_o DE BENZALDEIDO;
- D_m = RAZAO DE DISTRIBUICAO DAS MASSAS (EQUACAO 4, ITEM III.9.1.3);
- NAO = ESTES ISOMEROS DE DNFH_o NAO SE SEPARAM NESTAS CONDICOES.
- SEM = NAO SE DISPUNHA DE DADOS SUFICIENTES PARA O CALCULO DESSE PARAMETRO.

TABELA X - RESULTADOS DE SEPARACOES DAS DNFHo DE ALDEIDOS E CETONAS ATRAVES DAS COLUNAS UTILIZANDO-SE METANOL/AGUA 70:30, v/v, COMO FASE MOVEL.

SEPARACAO Nº	32C/88	37B/88	46C/90	48A/90
SOLUCAO TESTE	E	E	E	E
COLUNA	SUPELCOSIL	ZORBAX	NOVA PAK	ULTRASPHERE
LOCAL	UNICAMP	UNICAMP	ULTRAQUIMICA	ULTRAQUIMICA
R _{s1} DOS C ₃ ¹	N	N	1.31	>1.50
R _{s1} DOS C ₃ ²	1.54	1.50	NAO	NAO
R _{s1} DOS C ₃ ³	N	N	1.31	>1.50
R _{s1} DOS C ₄	3.18	4.17	1.18	2.09
n ₁ DO BENZALDEIDO	5070	11630	8210	8900
n ₁ / metro	20280	46520	54730	35600
AS ₁₀ DO BENZALDEIDO	0.55	1.50	0.83	0.44
t _R DO BENZALDEIDO (min)	17.8	47.2	11.46	47.92
D _m DO FORMALDEIDO	0.91	2.71	3.23	4.88

TESETAEX

NOTA : 1. PARA AS CONDICÕES NAO CITADAS CONSIDERAM-SE IDENTICAS AS DA TABELA VI.
2. AS CARACTERISTICAS DAS COLUNAS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.1.

LEGENDA

R_{s1} = RESOLUCAO DA SEPARACAO (EQUACAO 1, ITEM III.9.1.1);
 C₃¹ = DNFHo DE ACROLEINA E ACETONA;
 C₃² = DNFHo DE ACETONA E PROPIONALDEIDO;
 C₃³ = DNFHo DE ACROLEINA E PROPIONALDEIDO;
 C₄ = DNFHo DE BUTANONA E n-BUTIRALDEIDO;
 n₁ = NUMERO DE PRATOS TEORICOS (EQUACAO 2, ITEM III.9.1.2);
 AS₁₀ = ASSIMETRIA (EQUACAO 3, ITEM III.9.1.2);
 t_R DO BENZALDEIDO = TEMPO DE RETENCAO DA DNFHo DE BENZALDEIDO;
 D_m = RAZAO DE DISTRIBUICAO DAS MASSAS (EQUACAO 4, ITEM III.9.1.3);
 NAO = ESTES ISOMEROS DE DNFHo NAO SE SEPARAM NESTAS CONDICÕES;
 N = NAO SE DISPUNHA DA DNFHo DE ACROLEINA.

obtidos com as separações das DNFHo de compostos carbonílicos através de várias colunas sob as mesmas condições cromatográficas. Esses resultados mostram que as fases estacionárias dessas colunas não são idênticas.

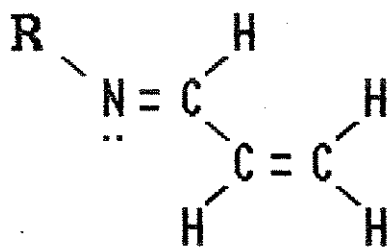
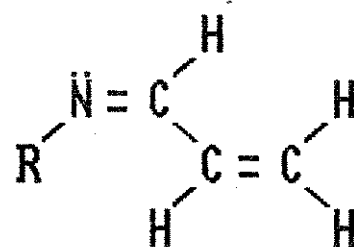
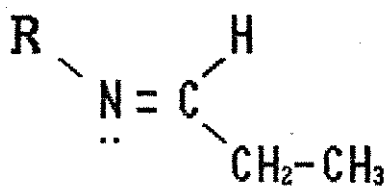
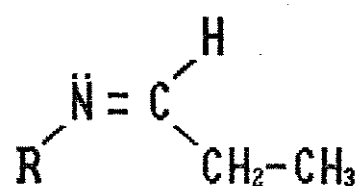
É mais difícil se prever a ordem de eluição de compostos da mesma classe química com o mesmo número de carbonos, principalmente quando se trata de isômeros, dada a semelhança de polaridade desses compostos, necessitando de colunas altamente seletivas para a realização dessa tarefa.

Neste trabalho utilizou-se três DNFHo de compostos carbonílicos com três carbonos, sendo que dois eram isômeros estruturais, e duas DNFHo de compostos com quatro carbonos, ambas também isoméricas. As DNFHo estudadas apresentavam, além dos isômeros estruturais mencionados, isomeria geométrica. Com exceção das DNFHo de acetona e formaldeído, que são moléculas simétricas, todas as outras apresentavam isomeria do tipo E,Z. Porém, em nenhuma condição cromatográfica avaliada neste trabalho se observou a separação de isômeros geométricos, ao passo que separações de isômeros estruturais ocorreram em várias condições testadas.

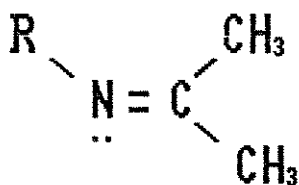
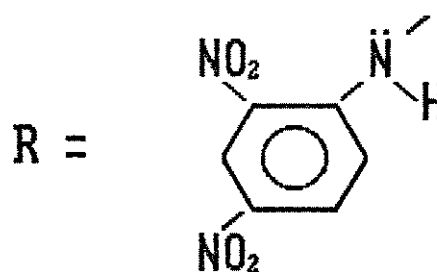
A título de ilustração, todas as estruturas das DNFHo de compostos carbonílicos com três carbonos utilizadas nesse trabalho são apresentadas no ESQUEMA 3. São cinco estruturas diferentes, sendo que três são isoméricas com a fórmula química $C_9H_{10}O_4N_4$.

Avaliando-se os resultados apresentados na TABELA VII observa-se que a mesma coluna (ZORBAX-ODS) separa os isômeros com "quatro carbonos" utilizando acetonitrila/água, 55:45, v/v, como fase móvel, mas não o faz quando essa razão passa a ser

ESQUEMA 3 - AS POSSIVEIS ESTRUTURAS DAS DNFH₀ DE COMPOSTOS CARBONILICOS COM TRES CARBONOS.

E - DNFH₀ DA ACROLEINAZ - DNFH₀ DA ACROLEINAE - DNFH₀ DO PROPIONALDEIDOZ - DNFH₀ DO PROPIONALDEIDO

ONDE :

DNFH₀ DA ACETONA

65:35. À medida que se aumenta o teor de água na composição da fase móvel, aumenta-se a polaridade desta, aumentando-se assim a repulsão entre a parte apolar da molécula do soluto e a fase móvel, além do que a viscosidade da solução aumenta consideravelmente, fazendo com que as moléculas do soluto fiquem retidas mais fortemente na coluna. Nas FIGURAS 3 e 4 encontram-se os cromatogramas de separações das DNFHo através da coluna ZORBAX-ODS, realizadas na UNICAMP, com ACETONITRILA/ÁGUA como fase móvel, nas composições 55:45 e 65:35, v/v.

Da mesma forma se explica a DNFHo do benzaldeído ficar retida na coluna em um tempo três vezes maior quando eluída com metanol/água, 75:25, v/v, do que quando eluída com acetonitrila/água na mesma composição (TABELA VII): o metanol é bem mais viscoso que a acetonitrila. Os cromatogramas referentes a essas separações são apresentados nas FIGURAS 5 e 6.

Quanto à retenção das DNFHo de compostos carbonílicos com o mesmo número de carbonos, os resultados obtidos neste trabalho não concordam com aqueles apresentados por Nakamura et al. (6), pois estes mostram que tais compostos apresentam o mesmo volume de retenção, ou seja, não se separam ao serem eluídos através de uma coluna de fase reversa com metanol/água como fase móvel. Pelos resultados apresentados na TABELA X, constata-se que nessas condições é possível a separação das DNFHo de aldeídos e cetonas com três ou quatro carbonos. Esses resultados são confirmados por vários outros autores.

Quanto à ordem de eluição, Vigh et al. (60) mostram que as DNFHo de compostos carbonílicos com mesmo número de carbono eluem de uma coluna de fase reversa na seguinte ordem: os aldeídos insaturados eluem antes, depois os n-aldeídos, em

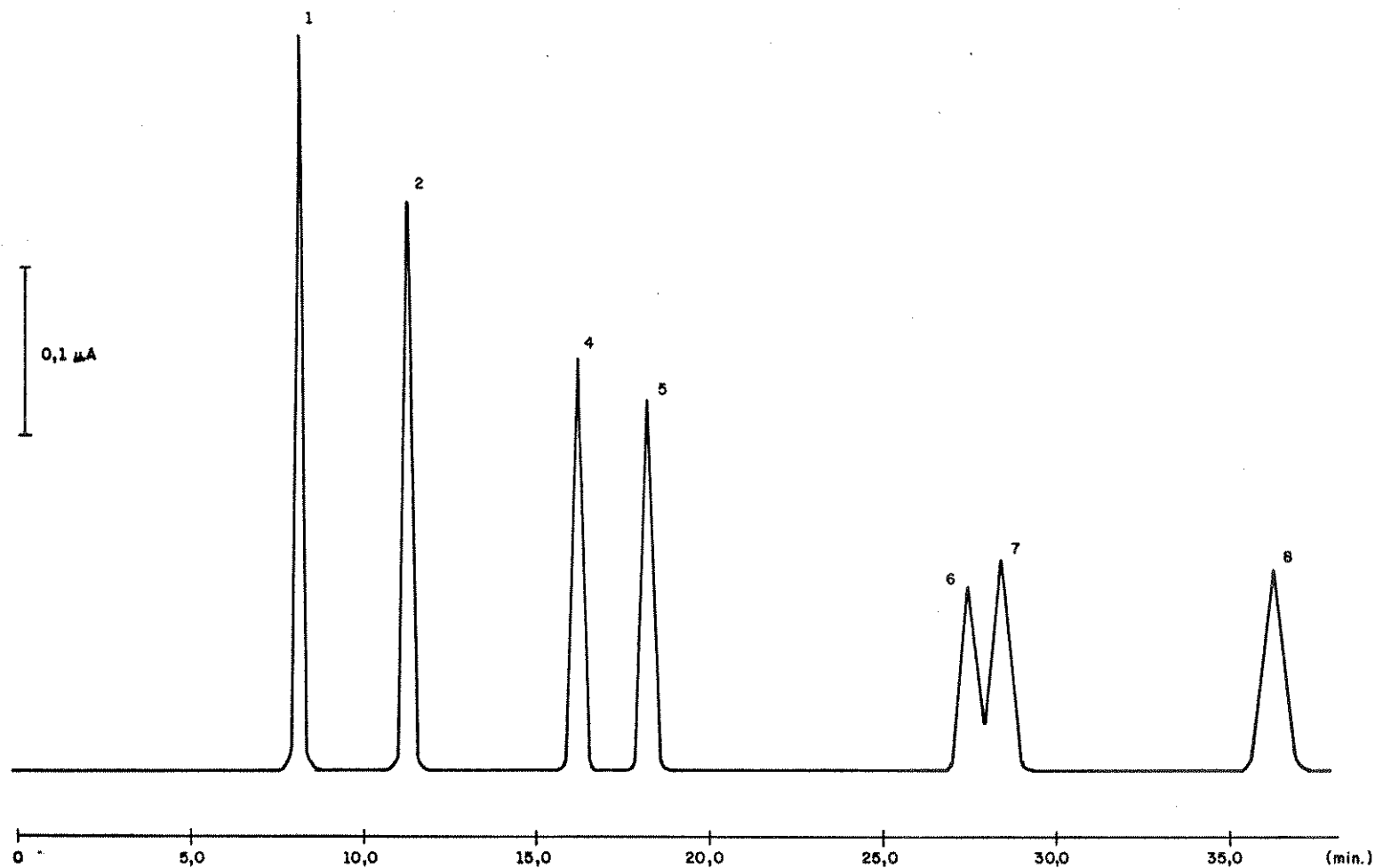


FIG. 3 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABELA III). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila/água, 55:45, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10μL; detecção: UV-Visível (365nm).

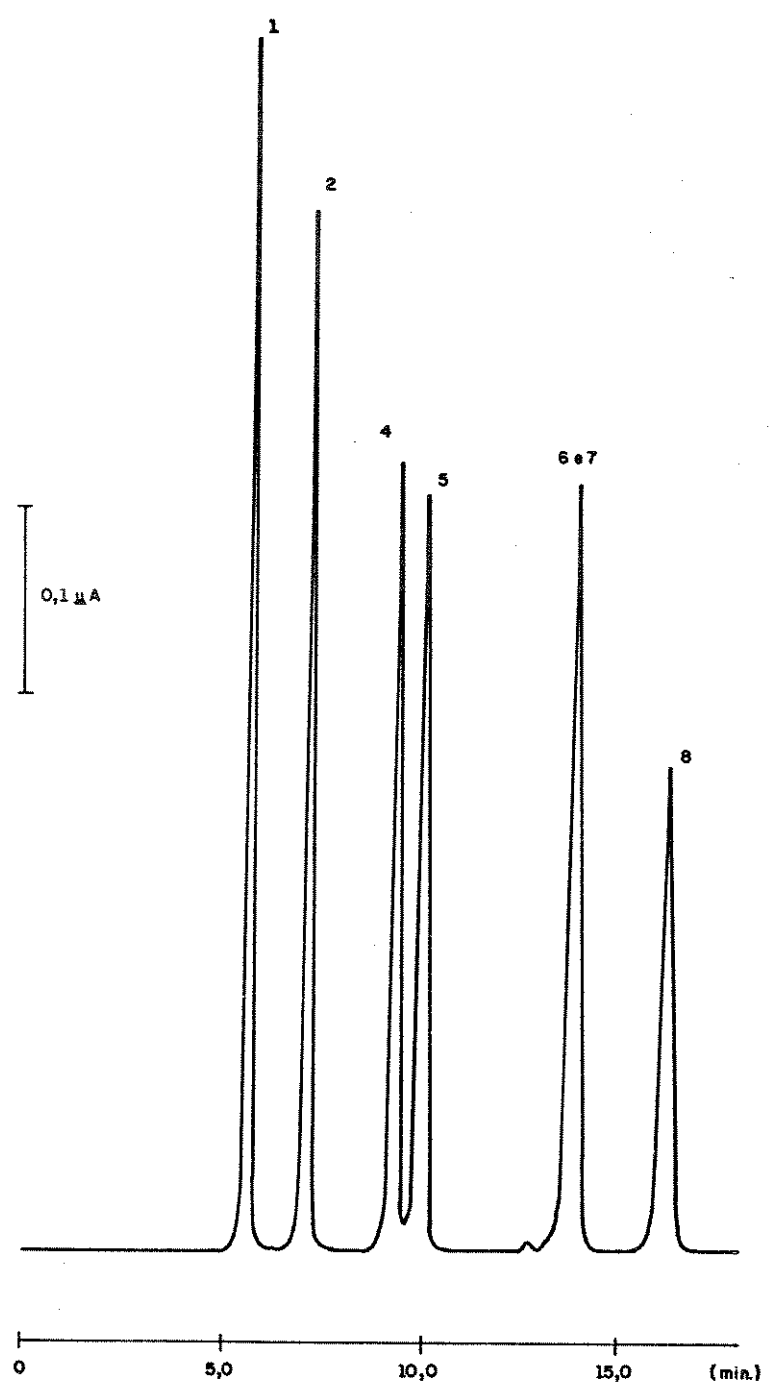


FIG. 4 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABELA III). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila/água, 65:35, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL; detecção: UV-Visível (365nm).

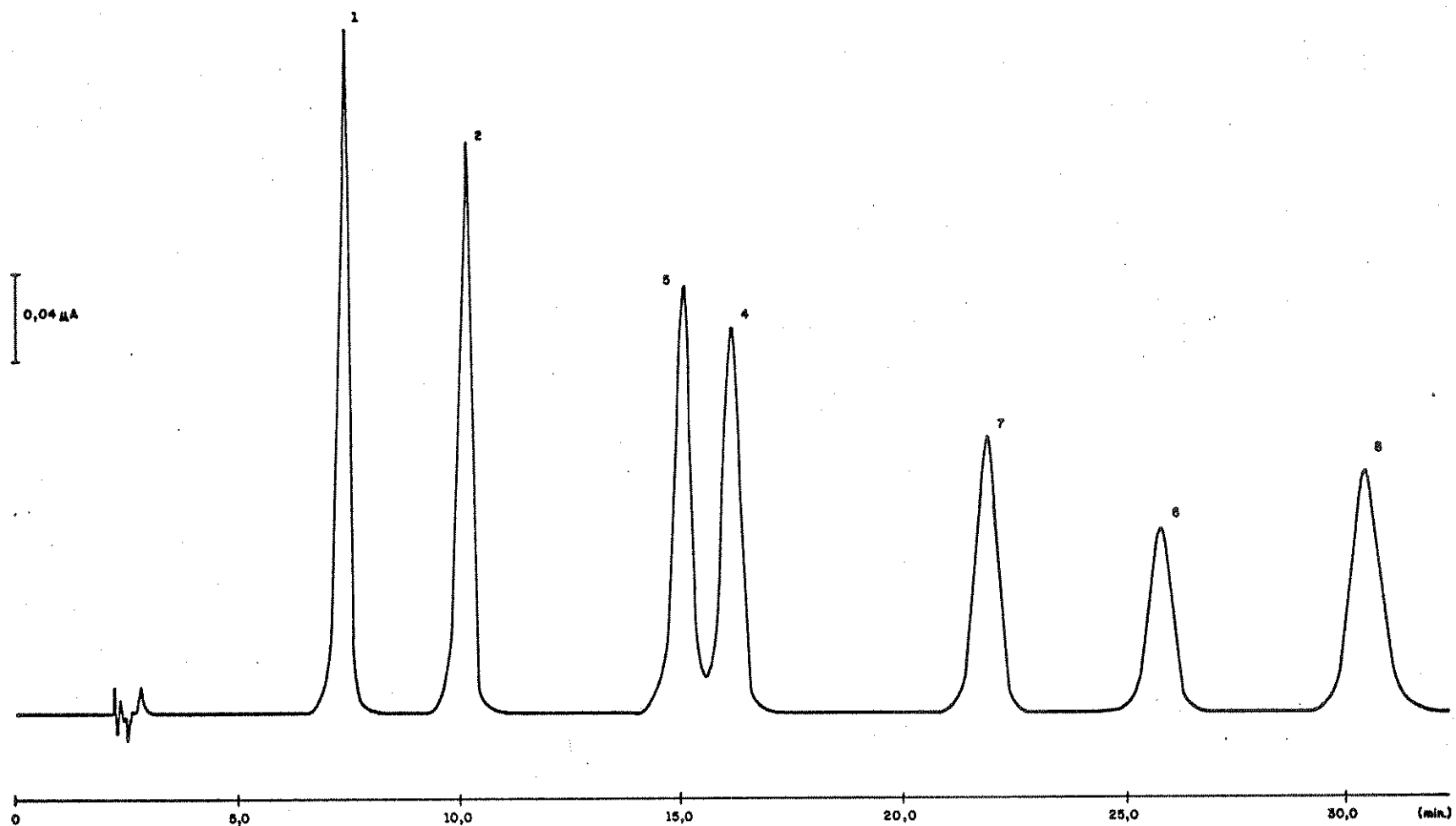


FIG. 5 - Eluição das DNPHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABELA III). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: metanol/água, 75:25, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL; detecção: UV-Visível (365nm).

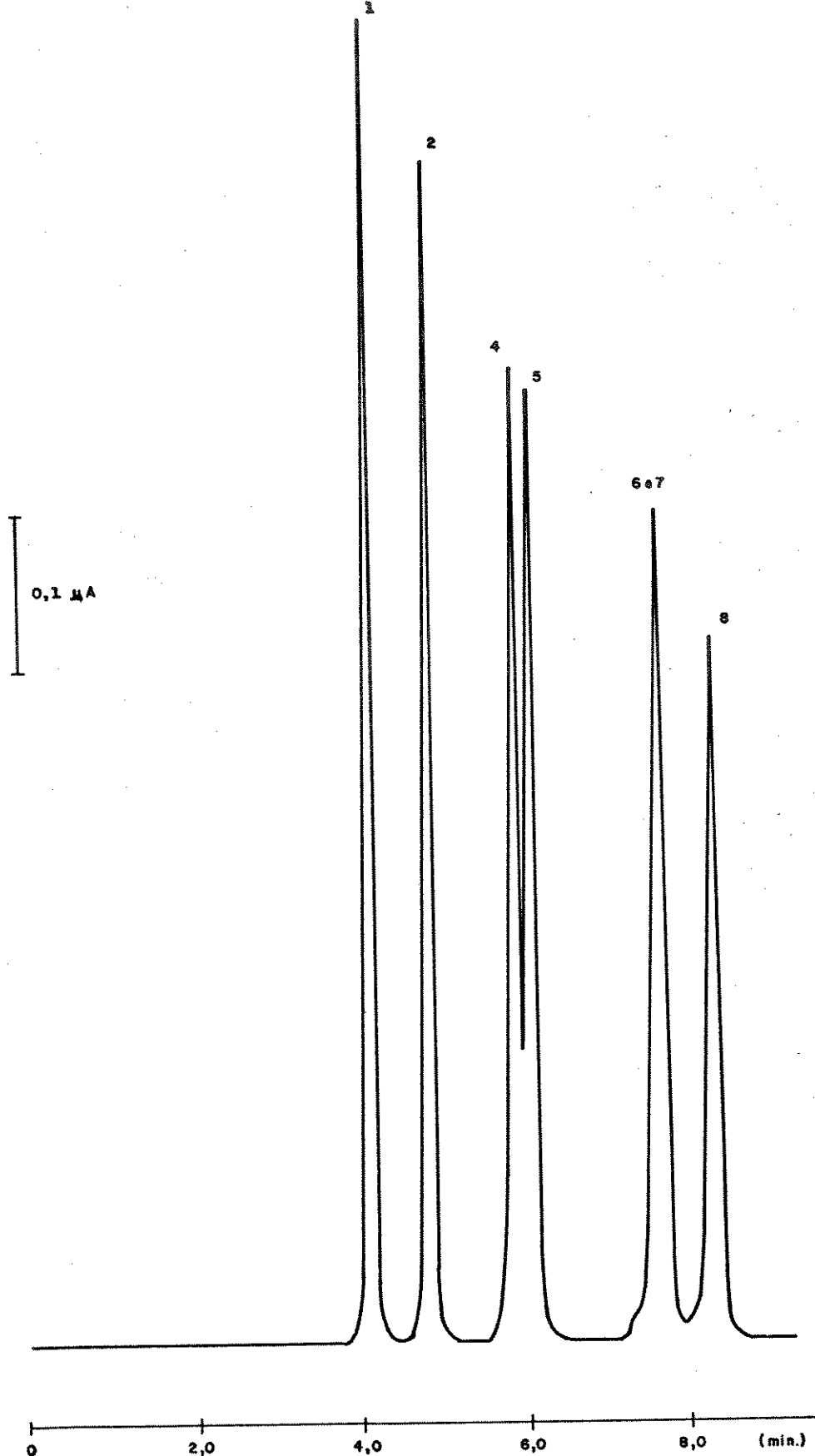


FIG. 6 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABELA III). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila / água, 75:25, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL; detecção: UV-Visível (365nm).

seguida as n-cetonas e, por fim, as cetonas simétricas. Essa ordem segue a teoria solvofóbica de Horváth et al. (76). Porém, avaliando-se apenas as DNFHo de compostos carbonílicos com três carbonos, a TABELA XI mostra que a DNFHo da acroleína (aldeído insaturado) sempre elui antes em todas as condições testadas, mas a ordem de eluição entre a DNFHo do propionaldeído (aldeído saturado) e da acetona (cetona simétrica) altera-se conforme as fases, estacionária e móvel, empregadas. Observa-se também que, entre as três colunas com mesmas dimensões, sob as mesmas condições cromatográficas, duas (ZORBAX-ODS e SUPELCOSIL-PAH) separam as DNFHo de propionaldeído e acetona (isômeros estruturais), enquanto que uma delas (ULTRASPHERE-ODS) não os separam.

A coluna que apresentou melhor desempenho quanto à retenção dos compostos estudados foi a NOVA PAK-C18. Essa coluna, conforme pode ser observado na TABELA X, apresenta o segundo maior valor de razão de distribuição das massas (D_m) para a DNFHo do formaldeído (primeiro composto eluído da coluna), e o menor tempo de retenção para a DNFHo do benzaldeído (último composto eluído pela coluna). Dessa forma, nas condições de separação apresentadas na TABELA X, todas as oito hidrazonas estudadas são eluídas em menos de doze minutos. A FIGURA 7 apresenta um cromatograma referente às separações efetuadas pela coluna NOVA PAK-C18 nessas condições.

é possível se relacionar a estrutura do soluto com a retenção do mesmo em uma coluna cromatográfica de fase reversa. Em se tratando da separação de compostos orgânicos pertencentes a uma mesma classe química, o logaritmo de um parâmetro de retenção varia linearmente com o número de carbonos da cadeia

TABELA XI - ORDEM DE ELUICAO DAS DNFH₀ ESTUDADAS EM FUNCAO DAS COLUNAS E FASES MOVEIS.

COLUNA	ZORBAX			SUPELC	NOVA PAK		ULTRASPHERE	
	ACTN/AGUA		MEOH/AGUA	MEOH/AGUA	ACTN/AGUA	MEOH/AGUA	ACTN/AGUA	MEOH/AGUA
COMPOSICAO	55:45	65:35	75:25	70:30	50:50	70:30	50:50	70:30
DNFH ₀ DE								
FORMALDEIDO	1	1	1	1	1	1	1	1
ACETALDEIDO	2	2	2	2	2	2	2	2
ACROLEINA	N	3	3	N	3	3	3	3
ACETONA	3	4	5	4	4	3	3	4
PROPIONALDEIDO	4	5	4	3	4	4	4	4
BUTANONA	5	6	7	6	5	5	5	6
BUTIRALDEIDO	6	6	6	5	6	6	6	5
BENZALDEIDO	7	7	8	7	7	7	7	7

ORDELU

LEGENDA :

- ZORBAX = COLUNA ZORBAX-ODS (5,5µm) 250 x 4,6mm (DUPONT);
 SUPELC = COLUNA SUPELCOSIL-PAH (5µm) 250 x 4,6mm (SUPELCO);
 NOVA PAK = COLUNA NOVA PAK-C₁₈ (5µm) 150 x 3,9mm (WATERS);
 ULTRASPHERE = COLUNA ULTRASPHERE-ODS (5µm) 250 x 4,6mm (BECKMAN);
 ACTN/AGUA = FASE MOVEI ACETONITRILA/AGUA.
 MEOH/AGUA = FASE MOVEI METANOL/AGUA.
 N = NAO SE DISPUNHA DA DNFH₀ DE ACROLEINA.

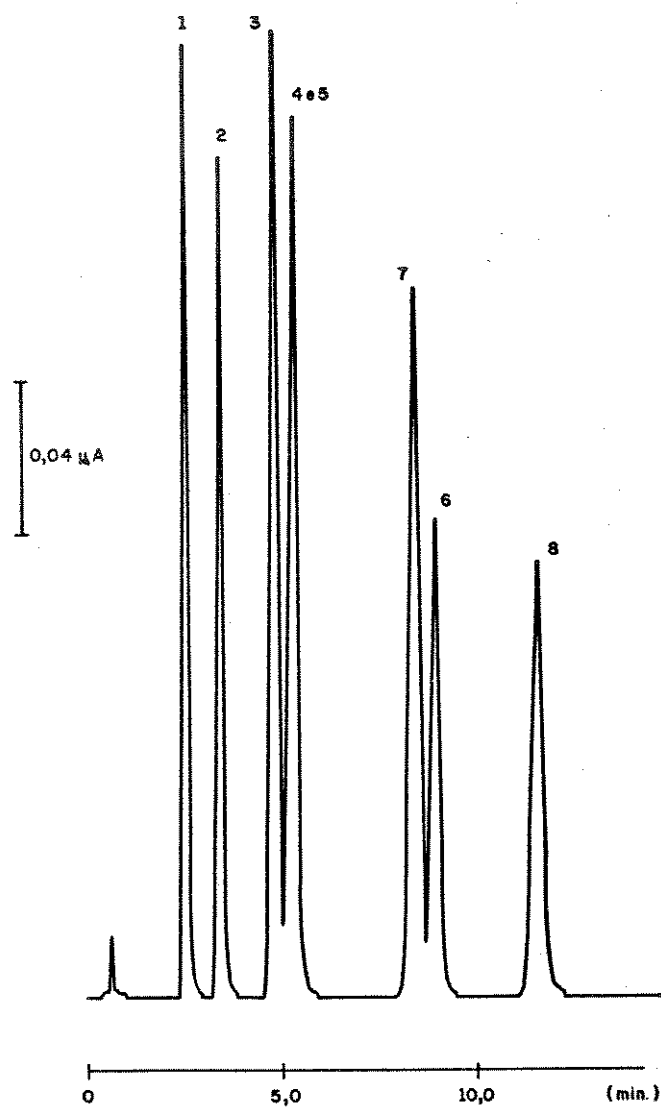


FIG. 7 - Eluição das DNPHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE E (TABELA V). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento C (item III.1); coluna: NOVA PAK-C₁₈; fase móvel: metanol / água, 70:30, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10μL; detecção: UV-Visível (365nm).

normal dos compostos. Essa relação é chamada de série homóloga, onde o logarítmo da razão de distribuição das massas (D_m) dos compostos retidos pertencentes à mesma classe química, versus o número de carbonos dos compostos de cadeias normais, quando plotados resultam em retas, apresentando uma variação linear. Essa linearidade, no entanto, depende da fase estacionária (tamanho do ligante, natureza funcional da fase estacionária, etc.), assim como da temperatura em que ocorre a separação (77). Apesar da dificuldade de se obter uma equação universal que descreva essa relação, algumas equações têm sido sugeridas. Golovnya et al. (78) sugeriram uma equação universal correlacionando os parâmetros de retenção com o número sequencial de um homólogo, válida para compostos orgânicos submetidos à separação por cromatografia gasosa. Vigh et al. (60) apresentaram uma equação para relacionar o valor de D_m com o número de carbonos dos aldeídos e cetonas separados como suas DNFHo, obtida do método de ajuste computadorizado dos mínimos quadrados. Mais tarde Svetlova et al. (63) utilizaram a equação universal sugerida anteriormente para cromatografia gasosa, para as separações de DNFHo de compostos carbonílicos (78). Os resultados obtidos foram comparados com os resultados de Vigh et al. (60), e o desvio padrão foi menor.

No presente trabalho a série homóloga para as DNFHo de aldeídos estudadas, também foi avaliada. Construíram-se gráficos do logarítmo de D_m versus o número de carbonos dos aldeídos normais, para algumas condições de separação. Esses gráficos são apresentados na FIGURA 8. Pelos valores do coeficiente de correlação obtidos pode-se demonstrar que a série homóloga é bem seguida por esses compostos.

SERIE HOMOLOGA DE ALDEIDOS

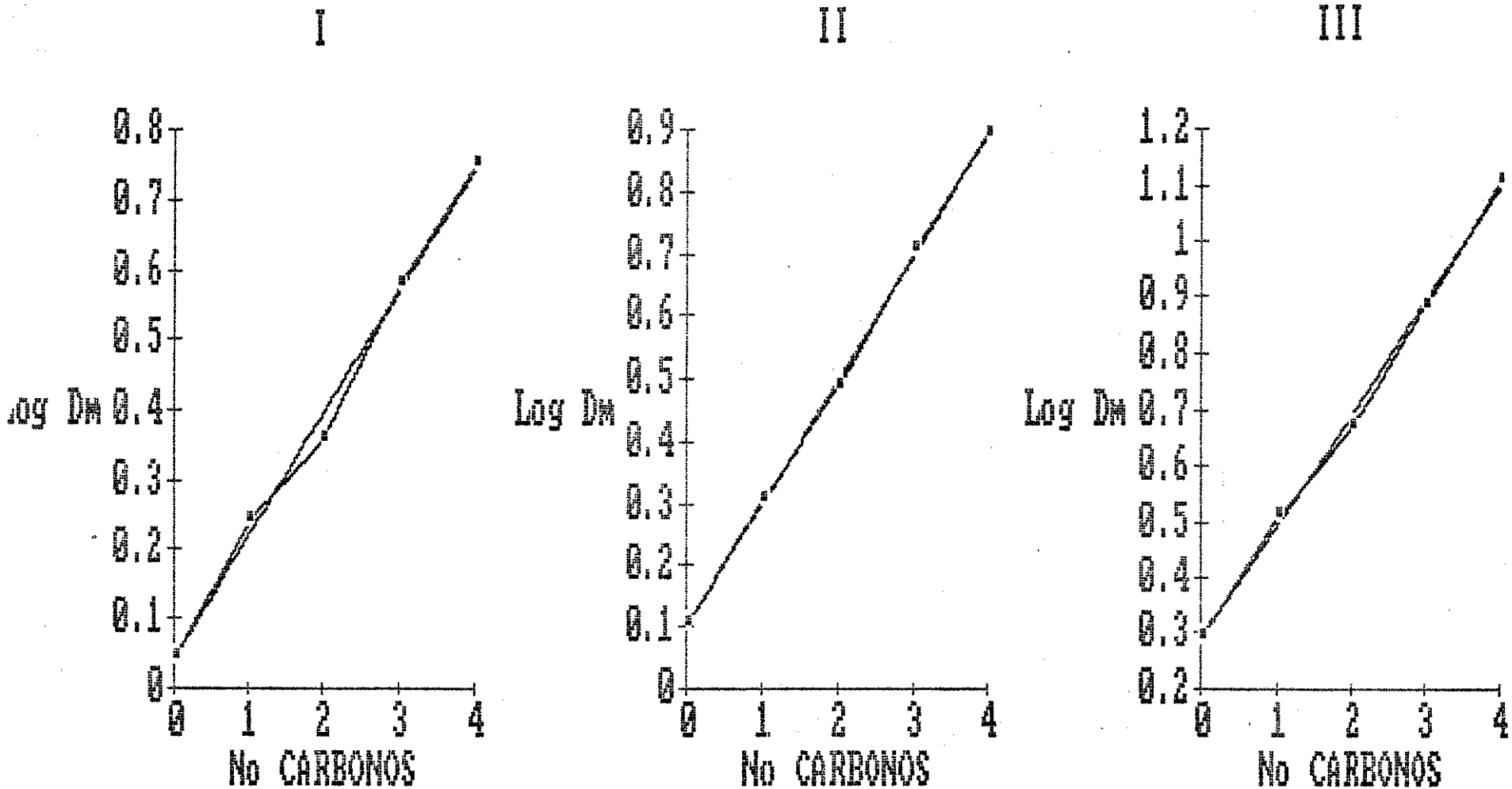


FIG. 8 - Gráficos da série homóloga de aldeídos separados por CLAE-FR como DNFHo. I - Condições cromatográficas apresentadas na FIG. 4; coeficiente de correlação (r) igual a 0,9969. II - Condições cromatográficas apresentadas na FIG. 5; $r = 0,9998$. III - Condições cromatográficas apresentadas na FIG. 7; $r = 0,9985$.

Um fato curioso que merece comentários é o tempo gasto para a coluna ZORBAX-ODS eluir todas as DNFHo utilizando metanol/água, 75:25, v/v, na UNICAMP: 30,3 minutos (separação 37F/88, TABELA VII), e o tempo gasto para realizar essa mesma operação na FIAT, sob as mesmas condições cromatográficas, um ano e oito meses depois: 20,2 minutos (separação 400/90, TABELA VIII). Essa diferença deveu-se ao fato da ocorrência de sujeira no filtro na cabeça da coluna. Nesse intervalo de tempo o filtro da coluna foi limpo utilizando-se vibrações na frequência do ultrassom. Os resultados obtidos com as separações 37F/88 e 400/90 (TABELAS VII e VIII) mostram que a limpeza do filtro da coluna representou uma melhora na performance desta. No entanto a assimetria do pico da DNFHo do benzaldeído não melhorou, havendo apenas uma inversão na forma: antes apresentava uma "calda" ($As_{10} = 1,53$) e depois passou a apresentar uma "tromba" ($As_{10} = 0,58$), ambos resultados fora da faixa normalmente aceitável ($0,7 < As_{10} < 1,4$). Esse fato pode ser claramente observado nos cromatogramas referentes a essas separações e que são apresentados nas FIGURAS 5 e 9.

IV.1.2 - SEPARAÇÃO

Baseado no fato que, para valores de resolução (R_s) igual a 1, têm-se 94% dos picos separados, pode-se considerar isto um bom resultado para uma separação otimizada, enquanto que $R_s = 1,5$ representa uma resolução na linha de base (71), avalia-se que os resultados obtidos com as separações realizadas neste trabalho foram, na maioria dos casos, muito bons.

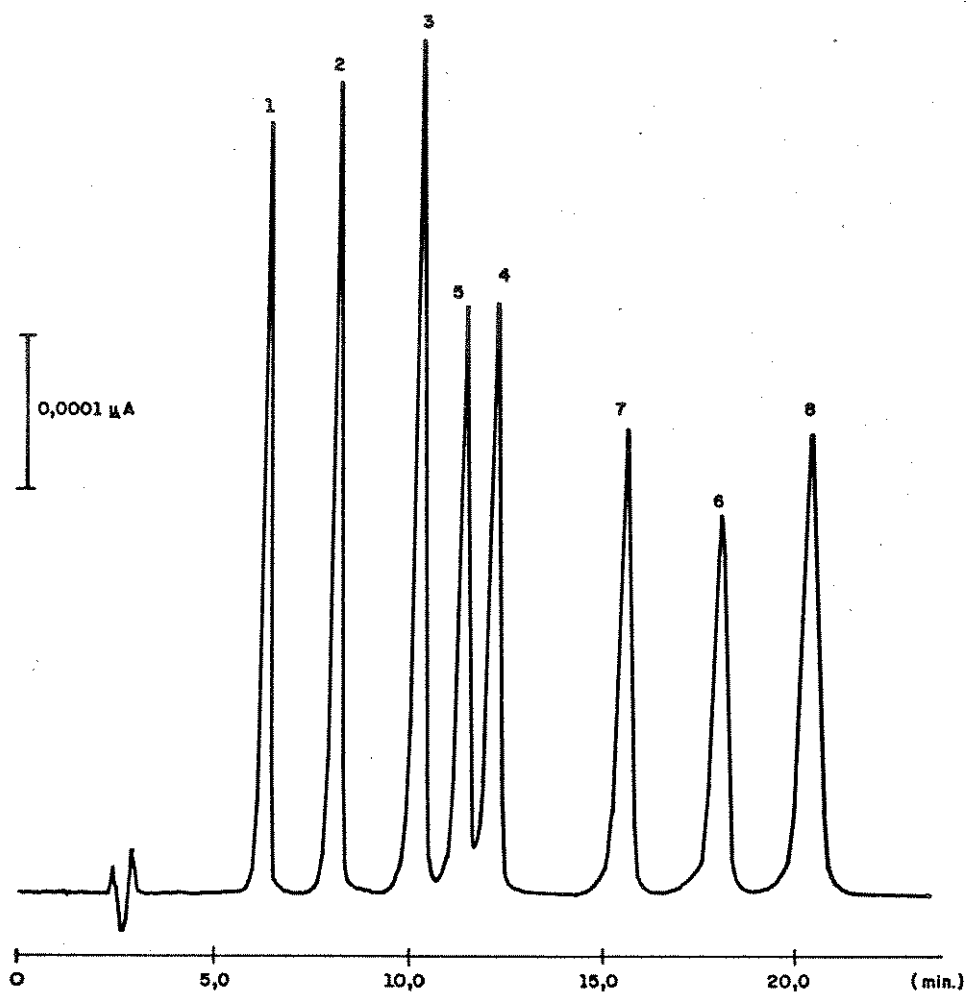


FIG. 9 - Eluição das DNPHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE D(TABELA IV). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento B(item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: metanol/água, 75:25, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10μL; detecção: UV-Visível (365nm).

Alguns dos resultados obtidos com as separações dos isômeros das DNFHo foram discutidos no item IV.1.1.

A fase móvel acetonitrila/água não apresenta bons resultados com relação à separação de todas as DNFHo utilizadas neste trabalho. Essa fase móvel foi testada com três colunas cromatográficas para a separação das DNFHo: ZORBAX-ODS, NOVA PAK-C18 e ULTRASPHERE-ODS e, somente através da coluna ZORBAX-ODS, a uma composição de 60%, v/v, de acetonitrila, se consegue a separação de todas as DNFHo testadas (TABELA XII). Porém, com essa composição a eluição de todos os compostos da solução padrão se dá em aproximadamente 35 minutos, e a resolução dos isômeros com "quatro carbonos" é muito ruim ($R_s = 0,94$). Esse tempo de retenção é muito grande, visto que nas condições prescritas no projeto de norma da ABNT (ANEXO I) todos os derivados eluíram em 15 a 20 minutos.

Por outro lado, a fase móvel metanol/água apresenta um melhor desempenho. Com essa fase móvel a uma composição de 75% de metanol, em teste realizado na FIAT (separação 400/90, FIGURA 9), todos os derivados são eluídos e separados através da coluna ZORBAX-ODS em aproximadamente 20 minutos e os valores de resolução obtidos das várias condições testadas são sempre maiores que 1,5 (TABELA XII). A separação obtida com a coluna ZORBAX-ODS na FIAT foi a única na qual todos os derivados estudados foram separados. O cromatograma obtido é apresentado na FIGURA 9.

Conforme pode ser observado na FIGURA 10, com a coluna SUPELCOSIL-PAH também se conseguiu a separação de todos os derivados da solução padrão e os mesmos foram eluídos em doze minutos. A TABELA VII mostra que os isômeros com três e com

TABELA XII - RESULTADOS OBTIDOS NAS SEPARACOES DOS ISOMEROS DE DNPHo DE ALDEIDOS E CETONAS EFETUADAS COM A COLUNA ZORBAX.

FASE MOVEL	ACETONITRILA/AGUA						METANOL/AGUA		
	55:45	60:40	65:35	65:35	70:30	75:25	70:30	75:25	75:25
COMPOSICAO	36I/88	36F/88	36A/88	40B/90	35G/88	35E/88	37B/88	37F/88	400/90
SEPARACAO N°	B	B	B	D	B	B	B	B	D
SOLUCAO TESTE	B	B	B	D	B	B	B	B	D
DATA	04.06.88	04.06.88	04.06.88	12.02.90	03.06.88	03.06.90	05.06.88	05.06.88	12.02.90
LOCAL	UNICAMP	UNICAMP	UNICAMP	FIAT	UNICAMP	UNICAMP	UNICAMP	UNICAMP	FIAT
R _{s1} DOS C ₃ ¹	N	N	N	0.97	N	N	N	N	4.07
R _{s1} DOS C ₃ ²	N	N	N	2.49	N	N	N	N	2.59
R _{s1} DOS C ₃ ³	3.22	3.08	2.11	1.44	1.43	0.96	1.50	1.56	1.71
R _{s1} DOS C ₄	0.98	0.94	NAO	NAO	NAO	NAO	4.17	4.06	3.68
t _R DO BENZAL (min)	37.0	32.3	16.5	14.29	11.2	8.3	42.2	30.3	20.21

TABZORX

NOTA : 1. PARA AS CONDICOES NAO CITADAS CONSIDERAM-SE IDENTICAS AS APRESENTADAS NA TABELA VI.
2. AS CARACTERISTICAS DA COLUNA ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.1.

LEGENDA

- R_{s1} = RESOLUCAO DA SEPARACAO (EQUACAO 1, ITEM III.9.1.1);
 C₃¹ = DNPHo DE ACROLEINA E ACETONA;
 C₃² = DNPHo DE ACETONA E PROPIONALDEIDO;
 C₃³ = DNPHo DE ACROLEINA E PROPIONALDEIDO;
 C₄ = DNPHo DE BUTANONA E n-BUTIRALDEIDO;
 N = NAO SE DISPUNHA DA DNPHo DE ACROLEINA;
 NAO = ESTES ISOMEROS DE DNPHo NAO SE SEPARAM NESTAS CONDICOES;
 t_R DO BENZAL = TEMPO DE RETENCAO DA DNPHo DE BENZALDEIDO.

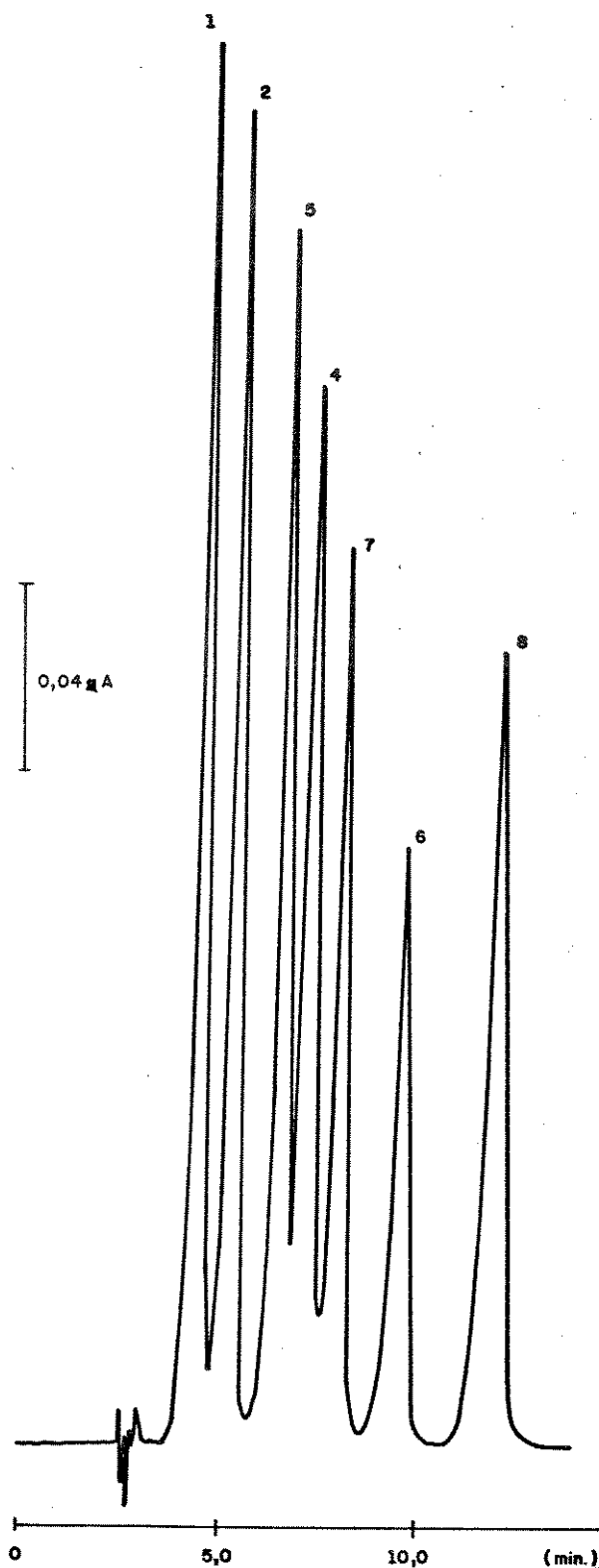


FIG. 10 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABELA III). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A (item III.1); coluna: SUPELCOSIL-PAH; fase móvel: metanol/água, 75:25, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL; detecção: UV-Visível (365nm).

quatro carbonos são separados com valores de R_s maiores que 1,5. No entanto, a DNFHo da acroleína não foi eluída através desta coluna devido à não disponibilidade desse derivado durante a realização dos testes. Essa coluna desapareceu do Laboratório de Radioquímica da Unicamp, impedindo a continuidade dos testes.

Embora não se tenha conseguido a separação dos isômeros de DNFHo de acetona e propionaldeído através das colunas NOVA PAK-C18 e ULTRASPHERE-ODS, com a fase móvel metanol/água, a coluna NOVA PAK-C18 elui todos os derivados com essa fase móvel na composição 70:30, v/v, em aproximadamente 12 minutos, conforme pode ser observado no cromatograma apresentado na FIGURA 7.

Algumas separações foram detectadas no UV-Visível a 254nm. Na TABELA XIII são apresentados alguns resultados obtidos com detecção a 365nm e a 254nm, mantendo-se as demais condições inalteradas, e cujos cromatogramas são apresentados nas FIGURAS 11 e 12. Os resultados mostram que a detecção a 365nm é cerca de duas vezes mais sensível do que a 254nm. Somente este fato já justifica a utilização da detecção a 365nm em detrimento desta a 254nm. Porém, Gromping et al. (22) mostraram que, além desta característica, o aduto 2,4-dinitrofenilhidrazina - ácido clorídrico (DNFHi-HCl), que praticamente não aparece nos cromatogramas de separações de DNFHo detectadas a 365nm, possui uma área considerável em cromatogramas dessas separações detectadas a 254nm. Isso pode ser observado nos cromatogramas obtidos por Gromping et al. (22) e que são mostrados na FIGURA 13. Como esse aduto é um interferente nesse tipo de análise, a sua detecção deve ser evitada. Neste trabalho não houve a detecção do aduto em questão durante as separações das DNFHo,

TABELA XIII - RESULTADOS OBTIDOS COM AS SEPARACOES DE DNFH_o DE ALDEIDOS E CETONAS DETECTADAS A 254nm E A 365nm.

SEPARACAO N ^o	35B/88		35C/88		A x S	31A/88		32C/88		A x S
	254		365			254		365		
DETECCAO (nm)	ZORBAX		ZORBAX		365nm	SUPELC.		SUPELC.		365nm
COLUNA	ACETONIT./AGUA		ACETONIT./AGUA		254nm	METANOL/AGUA		METANOL/AGUA		254nm
FASE MOVEL	CONC	A x S	CONC	A x S		CONC	A x S	CONC	A x S	
FORMALDEIDO	83.5	n	83.5	1.23	n	83.5	0.68	83.5	1.12	1.65
ACETALDEIDO	78.0	0.62	78.0	1.27	2.05	78.0	0.59	78.0	0.99	1.68
ACETONA	76.0	0.54	76.0	1.12	2.07	76.0	0.52	76.0	1.06	2.04
PROPIONALDEIDO	76.0	0.52	76.0	1.23	2.36	76.0	0.60	76.0	1.09	1.82
BUTANONA	51.5	NAO	51.5	NAO	n	51.5	0.35	51.5	0.61	1.74
n-BUTIRALDEIDO	68.5	NAO	68.5	NAO	n	68.5	0.49	68.5	0.80	1.63
BENZALDEIDO	81.5	0.53	81.5	1.09	2.06	81.5	0.59	81.5	1.04	1.76

TAB254

NOTA : 1. PARA AS CONDICOES NAO CITADAS CONSIDERA-SE IDENTICAS AS APRESENTADAS NA TABELA VI.
2. A SOLUCAO TESTE B FOI UTILIZADA EM TODAS AS SEPARACOES CITADAS.

LEGENDA

CONC = CONCENTRACAO DAS DNFH_o NA SOLUCAO ELUIDA ATRAVES DA COLUNA, EM µg/mL.
A x S = AREA SOB O PICO DA DNFH_o, CALCULADA A PARTIR DA LARGURA DA BASE, EM cm², MULTIPLICADO PELA SENSIBILIDADE, EM UNIDADE DE ABSORBANCIA (ua).
A x S (365nm/254nm) = RAZAO DO VALOR DE "AREA x SENSIBILIDADE" DA DNFH_o DETECTADA A 365nm SOBRE O VALOR DESSA GRANDEZA A 254nm.
ZORBAX = COLUNA ZORBAX-ODS (5,5µm) 250 x 4,6 mm (DUPONT);
SUPELC = COLUNA SUPELCOSIL LC-PAH (5µm) 250 x 4,6 mm (SUPELCO);
NAO = ESSAS DNFH_o NAO SE SEPARAM NAS CONDICOES EMPREGADAS.
n = NAO FOI POSSIVEL SE OBTER ESSE RESULTADO.

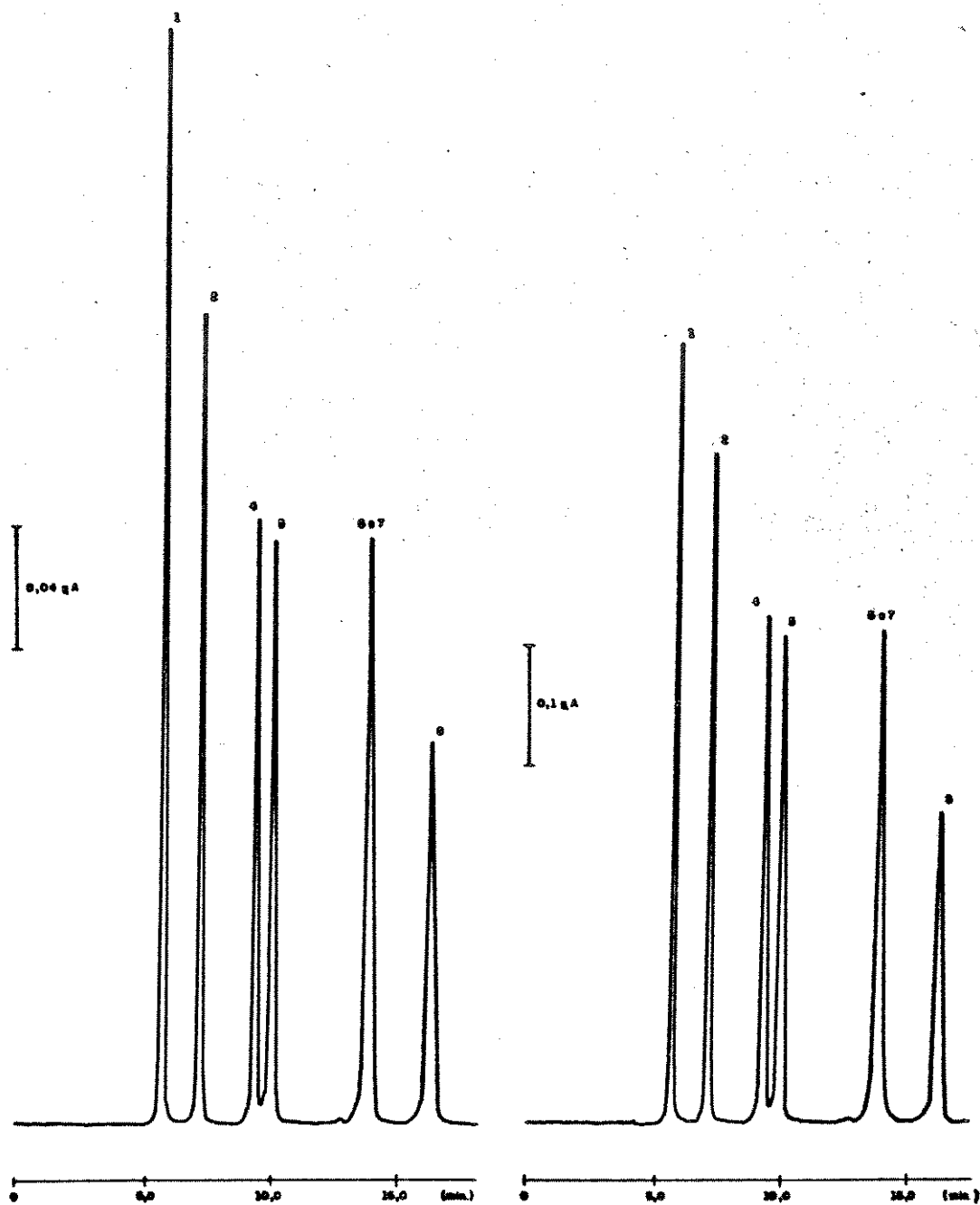


FIG. 11 - Eluição das DNPHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABELA III) e detectadas a 254nm (A) e 365nm (B). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila/água, 65:35, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL.

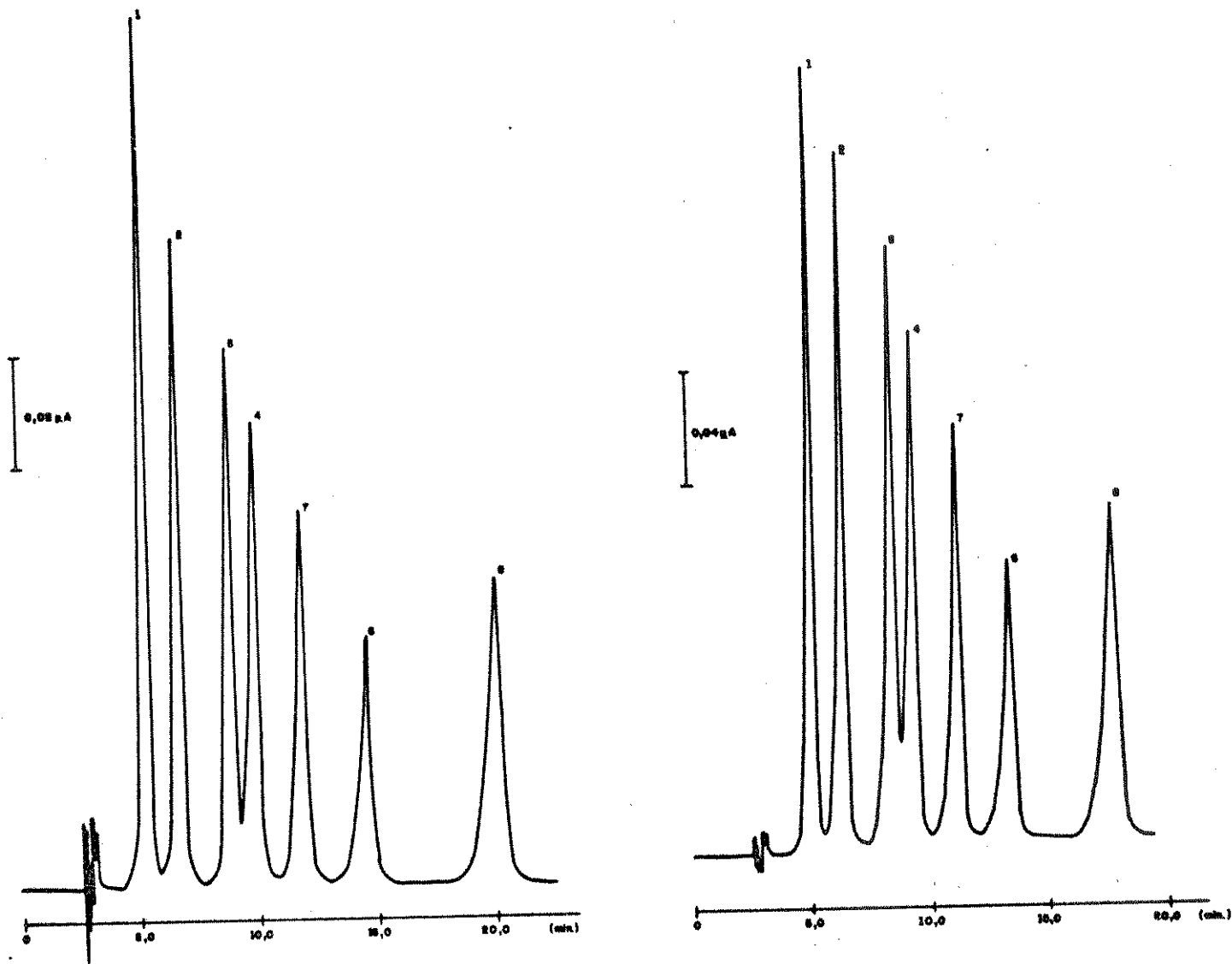


FIG. 12 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas contidas na solução TESTE B (TABFLA III) e detectadas a 254nm (A) e 365nm (B). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento A, item III.1; coluna: SUPELCOSIL-PAH; fase móvel: metanol/água, 70:30, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL.

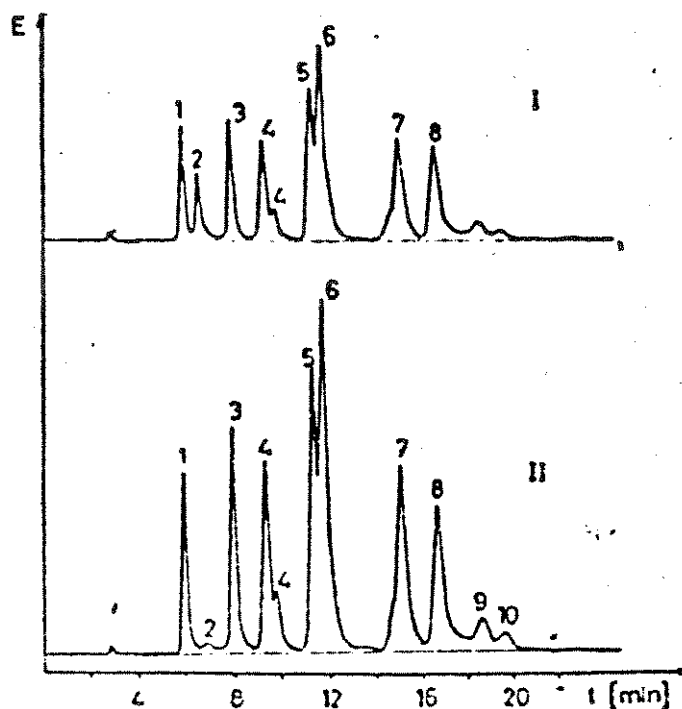


FIG. 13 - Cromatograma de 1) DNFHi; 2) DNFHi-HCl; 3) DNFHo do formaldeído; 4) DNFHo do acetaldeído; 5) DNFHo do propionaldeído; 6) DNFHo da acetona; 7) DNFHo da butanona; 8) DNFHo do benzaldeído; 9) e 10) desconhecidos. Quantidade injetada: ca 100ng de cada componente. Detecção: UV a 254nm (I) e a 345nm (II). Coluna RP-C₁₈, 250mm, 5µm. Vazão: 0,75mL/min; eluente: metanol/água, 75:25 (22).

mas ele foi detectado durante a fase de preparação destas, sendo eliminado durante o processo de purificação.

Nas análises de aldeídos e cetonas em amostras reais, cujas reações são catalisadas por ácido clorídrico, o referido aduto quase sempre se faz presente, pois nesse caso não se realiza a purificação dos derivados formados por razões quantitativas. Lipari et al. (36) estudaram a catálise da reação em questão com ácido clorídrico e com ácido perclórico e encontraram que o ácido clorídrico produz um precipitado branco, identificado por espectrometria de massa como sendo o aduto DNFHi-ácido clorídrico, porém isso não acontece quando se utiliza ácido perclórico como catalisador, além do que, nesse caso, a cinética da reação não se alterou e os derivados formados foram mais estáveis no meio reacional. O ácido perclórico não forma aduto com a DNFHi, provavelmente devido a sua maior solubilidade em acetonitrila comparado com o ácido clorídrico (36).

IV.1.3 - EFICIÊNCIA

A eficiência de uma coluna para efetuar uma determinada separação é avaliada pelo número de pratos teóricos (n) para a eluição dos compostos. A assimetria do pico (As_{10}), medida a 10% da altura também é considerada, pois picos demasiadamente assimétricos fornecem resultados errôneos para o valor de n .

No presente trabalho, a avaliação da eficiência da coluna foi feita com base na eluição da DNFHo do benzaldeído.

Avaliando-se os resultados apresentados nas TABELAS VII, VIII e IX, pode-se observar que:

a) entre todas as colunas avaliadas, a coluna ZORBAX-ODS é que apresenta os maiores valores de n_1 . A fase móvel acetonitrila/água forneceu melhores valores de n_1 e de As_{10} ;

b) a coluna ZORBAX-ODS perdeu muito em eficiência entre a primeira fase dos testes realizada na UNICAMP e a segunda, quase dois anos depois, realizada na FIAT, provavelmente devido ao fato de ter sido aberta para limpeza. Os valores de n_1 e As_{10} das separações 38B/88 (TABELA VII) e 40B/90 (TABELA VIII) comprovam essa observação;

c) As colunas SUPELCOSIL-PAH e ULTRASPHERE-ODS apresentaram os menores valores de n_1 e separações com os picos de DNFHo do benzaldeído mais assimétricos.

d) A coluna NOVA PAK-C18 apresentou a melhor performance quanto a eficiência, pois apresentou os maiores valores de pratos teóricos por metro (n_1/m) e os melhores valores de assimetria (As_{10}) dentre todas as colunas testadas conforme pode ser observado na TABELA X. A DNFHo do benzaldeído foi separada nessa coluna utilizando-se acetonitrila/água, 50:50, v/v, como fase móvel, com aproximadamente 73000 pratos teóricos por metro (separação 45B/90, TABELA IX). Esse valor corresponde a quase o dobro dos valores médios fornecidos por colunas comerciais de fase reversa, recheadas com partículas de 5 μ m de diâmetro (71).

IV.2 - RESULTADOS QUANTITATIVOS

Neste item serão discutidos os resultados obtidos com os vários métodos quantitativos testados: normalização de área, normalização de área corrigida, padronização interna,

padronização externa e calibração externa. Serão também discutidos os resultados obtidos com a avaliação da quantidade mínima detectável (QMD).

Nessa parte do trabalho utilizaram-se cromatogramas fornecidos por registradores\integradores e por registadores simples. No primeiro caso, os valores das áreas utilizados nos calculos foram aqueles fornecidos pelo integrador, enquanto que no segundo caso as áreas foram determinadas conforme a EQUAÇÃO 9 do item III.9.2, ou seja, calculadas a partir da largura do pico na base.

IV.2.1 - MÉTODO DA NORMALIZAÇÃO DE ÁREA

Esse método considera que o detector responde de maneira identica a todas as DNPHo em estudo, o que não é verdade pois o comprimento de onda de máxima absorção dessas hidrazonas varia de composto para composto (46). Pelos espectros de absorção de algumas dessas hidrazonas (ANEXO III) pode-se observar que esses compostos absorvem luz de maneira diferenciada.

As TABELAS XIV e XV sumarizam as condições utilizadas para a avaliação quantitativa na coluna ZORBAX.

Os resultados apresentados nas TABELAS XVI e XVII mostram que a repetibilidade pelo método da normalização de área é muito boa, pois o desvio padrão relativo - precisão (dpr-p) foi sempre menor do que 2, além do que os valores do desvio padrão relativo - exatidão (dpr-e) foram menores que 8%.

As TABELAS XVIII e XIX sumarizam as condições utilizadas em análises realizadas com as colunas NOVA PAK-C18 e ULTRASPHERE-ODS. As TABELAS XX, XXI e XXII apresentam alguns resultados de

TABELA XIU - CONDICÕES DE ANÁLISE DAS SEPARAÇÕES EFETUADAS PELA COLUNA ZORBAX-ODS UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA COM AS ÁREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

SEPARAÇÃO Nº	24B/88	24C/88	25A/88	26A/88	26B/88	26E/88	28A/88
DATA	17.05.88	17.05.88	18.05.88	19.05.88	19.05.88	19.05.88	22.05.88
EQUIPAMENTO ¹	A	A	A	A	A	A	A
SOLUÇÃO TESTE	C4	C3	C4	C4	C3	C2	C1
VOL. INJETADO (µL)	10	10	10	10	10	10	10
FASE MOVEL	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA
COMPOSIÇÃO	65:35	65:35	65:35	65:35	65:35	65:35	65:35
VAZÃO (mL/min)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DETECÇÃO - λ (nm)	365	365	365	365	365	365	365
SENSIBILIDADE (ua) ²	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
VELOC. CARTA (cm/min)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ATENUAÇÃO	128	64	64	128	128	128	512

CONDINT

NOTA: 1. A DESCRIÇÃO SOBRE O EQUIPAMENTO É FEITA NO ITEM III.1.
2. ua = UNIDADE DE ABSORBÂNCIA.

TABELA XU - CONDIÇÕES DE ANÁLISE DAS SEPARAÇÕES EFETUADAS PELA COLUNA ZORBAX-ODS UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA COM AS ÁREAS DETERMINADAS MANUALMENTE.

SEPARAÇÃO Nº	36A/88	36B/88	36C/88	38A/88	38B/88
DATA	04.06.88	04.06.88	04.06.88	06.06.88	06.06.88
EQUIPAMENTO ¹	A	A	A	A	A
SOLUÇÃO TESTE	B	B	B	B	B
VOL. INJETADO (µL)	10	10	10	10	10
FASE MOVEL	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA	ACTN/AGUA
COMPOSIÇÃO	65:35	65:35	65:35	65:35	65:35
VAZÃO (mL/min)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DETECÇÃO - λ (nm)	365	365	365	365	365
SENSIBILIDADE (ua) ²	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
VELOC. CARTA (cm/min)	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27
ATENUAÇÃO	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

CONDIMAN

NOTA: 1. A DESCRIÇÃO SOBRE O EQUIPAMENTO É FEITA NO ITEM III.1.
2. ua = UNIDADE DE ABSORBÂNCIA.

TABELA XVI - CONCENTRACAO DAS DMFH₀ NA SOLUCAO TESTE C4 CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DMFH ₀ DE	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA (%)	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
	SEPARACAO N ^o						
	24B/88	25A/88	26A/88				
FORMALDEIDO	13.75	13.88	13.81	13.81	0.47	15.40	7.70
ACETALDEIDO	17.05	16.66	16.67	16.79	1.32	15.18	7.12
ACETONA	21.31	21.13	21.31	21.25	0.49	20.17	3.69
PROPIONALDEIDO	19.19	18.96	19.01	19.05	0.63	17.79	4.84
n-BUTIRALDEIDO	14.47	14.84	14.89	14.73	1.56	16.05	6.06
BENZALDEIDO	14.23	14.54	14.30	14.36	1.13	15.40	4.94

NOTA: 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.1.
2. AS CONDICÕES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XIV.

TABELA XVII - CONCENTRACAO DAS DMFH₀ NA SOLUCAO TESTE B CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA COM AS AREAS DETERMINADAS MANUALMENTE.

DMFH ₀ DE	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA (%)	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
	SEPARACAO N ^o						
	36A/88	36B/88	36C/88				
FORMALDEIDO	15.14	15.26	15.23	15.21	0.41	16.17	4.33
ACETALDEIDO	15.02	15.14	15.11	15.09	0.41	15.10	0.05
ACETONA	14.72	14.78	14.75	14.75	0.20	14.71	0.19
PROPIONALDEIDO	15.73	15.55	15.59	16.62	0.60	15.00	7.24
BUTIRAL + MEC	23.30	23.30	23.26	23.29	0.10	23.23	0.18
BENZALDEIDO	16.89	15.97	16.06	16.04	0.39	15.78	1.15

NOTA: 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.1.
2. AS CONDICÕES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XV.
3. BUTIRAL = n-BUTIRALDEIDO E MEC = BUTANONA; OS ISOMEROS C4 NAO SE SEPARAM NESSAS CONDICÕES.

TABELA XVIII - CONDIÇÕES DE ANÁLISE DAS SEPARAÇÕES EFETUADAS PELA COLUNA NOVA PAK-C18 UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA.

SEPARAÇÃO Nº	43R/90	45B/90	46A/90	46B/90	46C/90	46L/90
DATA	15.08.90	17.12.90	18.12.90	18.12.90	18.12.90	18.12.90
EQUIPAMENTO ¹	C	C	C	C	C	C
SOLUÇÃO TESTE	E	E	E	E	E	E
VOL. INJETADO (µL)	10	10	10	10	10	10
FASE MOVEL	ACIN/AGUA	ACIN/AGUA	MeOH/AGUA	MeOH/AGUA	MeOH/AGUA	ACIN/AGUA
COMPOSIÇÃO	50:50	50:50	70:30	70:30	70:30	50:50
VAZÃO (mL/min)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DETECÇÃO - λ (nm)	365	365	365	365	365	365
SENSIBILIDADE (ua) ²	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
VELOC. CARTA (cm/min)	1.0	1.0	0.5	0.5	0.5	0.5
ATENUAÇÃO	512	512	512	512	256	512

CONAFAXA

NOTA: 1. A DESCRIÇÃO SOBRE O EQUIPAMENTO É FEITA NO ITEM III.1.
2. ua = UNIDADE DE ABSORBÂNCIA.

TABELA XIX - CONDIÇÕES DE ANÁLISE DAS SEPARAÇÕES EFETUADAS PELA COLUNA ULTRASPHERE-ODS UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA.

SEPARAÇÃO Nº	47/90	48A/90
DATA	19.12.90	17.12.90
EQUIPAMENTO ¹	C	C
SOLUÇÃO TESTE	E	E
VOL. INJETADO (µL)	7	10
FASE MOVEL	ACIN/AGUA	MeOH/AGUA
COMPOSIÇÃO	50:50	70:30
VAZÃO (mL/min)	1.0	0.7
DETECÇÃO - λ (nm)	365	365
SENSIBILIDADE (ua) ²	1.0	1.0
VELOC. CARTA (cm/min)	0.5	0.25
ATENUAÇÃO	256	128

CONAULT

NOTA: 1. EQUIPAMENTO DESCRITO NO ITEM III.1.
2. ua = UNIDADE DE ABSORBÂNCIA.

TABELA XX - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NA SOLUCAO TESTE 'E' CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFH ₀ DE	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA (%)	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
	SEPARACAO N ^o						
	43B/90	45B/90	46L/90				
FORMALDEIDO	11.45	11.37	11.49	11.44	0.53	12.08	3.85
ACETALDEIDO	11.10	11.31	11.39	11.27	1.33	10.95	2.04
ACETONA + ACROL.	26.49	26.63	26.47	26.53	0.33	24.14	6.67
PROPIONALDEIDO	11.60	11.54	11.51	11.55	0.40	11.62	0.43
BUTANONA	10.96	10.73	10.76	10.82	1.16	11.69	5.47
n-BUTIRALDEIDO	15.44	15.69	15.74	15.62	1.03	16.40	3.44
BENZALDEIDO	12.95	12.73	12.65	12.78	1.22	13.11	1.80

CONAPAXA

- NOTA :**
1. A FORMULA UTILIZADA NOS CALCULOS ESTA DESCRITA NO ITEM III.9.2.1.
 2. AS CONDICÕES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XVIII.
 3. AS DNFH₀ DE ACETONA E ACROL. (=ACROLEINA) NAO SE SEPARAM NESSAS CONDICÕES.

TABELA XXI - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NA SOLUCAO TESTE 'E' CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFH ₀ DE	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA (%)	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
	SEPARACAO N ^o						
	46A/90	46B/90	46C/90				
FORMALDEIDO	11.33	11.30	11.58	11.40	1.35	12.08	4.10
ACETALDEIDO	11.29	11.24	11.35	11.29	0.49	10.95	2.16
ACROLEINA	15.13	15.14	15.10	15.12	0.14	12.54	13.19
ACETONA + PROPANAL	23.13	23.03	23.00	23.05	0.29	23.21	0.49
BUTANONA	15.58	15.66	15.50	15.58	0.51	16.40	3.63
n-BUTIRALDEIDO	10.88	10.91	10.82	10.87	0.42	11.69	5.14
BENZALDEIDO	12.66	12.72	12.64	12.67	0.33	13.11	2.41

CONAPAXA

- NOTA :**
1. A FORMULA UTILIZADA NOS CALCULOS ESTA DESCRITA NO ITEM III.9.2.1.
 2. AS CONDICÕES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XVIII.
 3. OS ISOMEROS DE DNFH₀ DE ACETONA E PROPIONALDEIDO NAO SE SEPARAM NESSAS CONDICÕES.

concentração das DNFH_o obtidos com esse método quantitativo para

TABELA XXI I - CONCENTRACAO DAS DNFH_o NA SOLUCAO TESTE 'E' CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFH _o DE	FASE MOVEL ACTN/AGUA			FASE MOVEL MECH/AGUA		
	SEPARACAO Nº 47/90			CROMATOGRAMA Nº 48A/90		
	C _{ENC} (%)	C _{TEOR} (%)	EXAT-σ(%)	C _{ENC} (%)	C _{TEOR} (%)	EXAT-σ(%)
FORMALDEIDO	11.85	12.08	1.36	11.42	12.08	3.97
ACETALDEIDO	11.56	10.95	3.83	11.35	10.95	2.54
ACETONA + ACROL.	27.60	24.14	9.58	----	----	----
ACROLEINA	----	----	----	15.80	12.54	16.27
ACETONA + PROPANAL	----	----	----	23.20	23.21	0.03
PROPIONALDEIDO	11.44	11.62	0.98	----	----	----
BUTANONA	9.48	11.69	14.76	10.47	11.69	7.79
n-BUTIRALDEIDO	15.09	16.40	5.88	14.92	16.40	6.68
BENZALDEIDO	12.97	13.11	0.76	12.84	13.11	1.47

- CONAULT
- NOTA:**
1. A FORMULA UTILIZADA NOS CALCULOS ESTA DESCRITA NO ITEM III.9.2.1.
 2. AS CONDICÕES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XIX.
 3. A FASE MOVEL ACETONITRILA/AGUA NAO SEPARA AS DNFH_o DE ACETONA E ACROLEINA NAS CONDICÕES EMPREGADAS, ENQUANTO QUE METANOL/AGUA COMO FASE MOVEL NESSAS CONDICÕES NAO SEPARAM AS DNFH_o DE ACETONA E PROPIONALDEIDO.

algumas separações efetuadas com essas colunas. Observa-se que tanto os resultados obtidos com a coluna NOVA PAK-C18 quanto os obtidos com a coluna ULTRASPHERE-ODS apresentam altos valores de dpr-e para a DNFHo da acroleína. Isso mostra que a resposta do detector a esse composto é mais diferenciada do que aos demais, e pode ser explicado pela presença dos carbonos sp^2 vizinhos à ligação nitrogênio-carbono na estrutura da hidrazona, aumentando assim uma forma de ressonância e, conseqüentemente, proporcionando ao composto um coeficiente de absorvidade molar maior em relação as DNFHo de compostos carbonílicos saturados, com a absorção máxima em um comprimento de onda maior. Os espectros de absorção apresentados no ANEXO III demonstram isso.

Esse método quantitativo é o mais fácil de se executar; os resultados são obtidos rapidamente.

IV.2.2 - MÉTODO DA NORMALIZAÇÃO DE ÁREA CORRIGIDA

Neste método a determinação da concentração de um certo componente da amostra não depende só de seu fator de correção, mas depende do fator de correção de todos os outros componentes de interesse presentes na amostra. Diferentemente do método da normalização de área, no método em questão a área de cada componente da amostra é corrigida por um fator pré-determinado.

Os resultados apresentados nas TABELAS XXIII e XXIV mostram que todos os dpr-p são menores que 2% e os dpr-e são menores que 5%, com excessão do resultado obtido para a DNFHo do benzaldeído (TABELA XXIII). A causa desse desvio pode ter sido algum erro cometido na determinação da concentração teórica dessa hidrazona e o fato desta não possuir absorção máxima a 365nm (ANEXO III).

TABELA XXIII - CONCENTRACAO DAS DNFHo NA SOLUCAO TESTE C4 CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA CORRIGIDA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFHo DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N°						
		24B/88	25A/88	26A/88	(%)	(%)	(%)	(%)
FORMALDEIDO	107.16	15.94	16.07	16.00	16.00	0.41	15.40	2.70
ACETALDEIDO	85.96	15.85	15.47	15.48	15.60	1.39	15.18	1.93
ACETONA	88.90	20.49	20.30	20.48	20.42	0.52	20.17	0.87
PROPIIONALDEIDO	88.56	18.38	18.14	18.20	18.24	0.68	17.79	1.77
n-BUTIRALDEIDO	100.78	15.77	16.17	16.22	16.05	1.54	16.05	0.0
BENZALDEIDO	88.13	13.57	13.85	13.62	13.68	1.09	15.40	8.36

TAEFRINT

- NOTA: 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.2.
 2. Rfi = FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTES AS SEPARACOES 24C E 26B/88.
 3. AS CONDICOOES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XIV.

TABELA XXIV - CONCENTRACAO DAS DNFHo NA SOLUCAO TESTE B CALCULADA PELO METODO DA NORMALIZACAO DE AREA CORRIGIDA COM AS AREAS DETERMINADAS MANUALMENTE.

DNFHo DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N°						
		36A/88	36B/88	36C/88	(%)	(%)	(%)	(%)
FORMALDEIDO	578.3	16.91	17.04	17.01	16.99	0.40	16.17	3.50
ACETALDEIDO	486.2	14.11	14.22	14.19	14.17	0.40	15.10	4.49
ACETONA	499.6	14.21	14.26	14.24	14.24	0.18	14.71	2.30
PROPIIONALDEIDO	481.3	14.63	14.46	14.49	14.53	0.62	15.00	2.25
BUTIRAL + MEC	528.7	23.80	23.80	23.76	23.79	0.10	23.23	1.68
BENZALDEIDO	525.5	16.34	16.21	16.31	16.29	0.42	15.78	2.25

TAEFRMAN

- NOTA: 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.2.
 2. Rfi = FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTES AS SEPARACOES 38A E 38B/88.
 3. AS CONDICOOES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XV.
 4. BUTIRAL = n-BUTIRALDEIDO E MEC = BUTANONA; OS ISOMEROS C4 NAO SE SEPARAM NESTAS CONDICOOES.

Os resultados obtidos por esse método para a determinação das concentrações das DNFHo são melhores do que aqueles obtidos pelo método da normalização de área (TABELAS XVI e XVII).

IV.2.3 - MÉTODO DA PADRONIZAÇÃO INTERNA

A TABELA XXV apresenta os resultados obtidos para a concentração das DNFHo na solução TESTE C4 através do método da padronização interna com os valores de área fornecidos pelo integrador. Os valores de concentração encontrados para cada hidrazona foram obtidos da média de três determinações. Essas triplicatas apresentaram resultados bastante concordantes entre si. Os valores do desvio padrão relativo da média (dpr-p) dessas triplicatas estiveram sempre abaixo de 3%. Isso mostra que a repetibilidade é boa. No entanto, as médias das triplicatas não concordam muito com os valores teóricos. Os desvios padrões relativos das médias entre os valores teóricos e os valores médios de concentração das DNFHo (dpr-e) na solução TESTE C4 estiveram sempre em torno de 10%.

Os resultados apresentados na TABELA XXVI, obtidos a partir de valores de área determinados manualmente, mostram que os valores de dpr-p para todas as DNFHo foram sempre inferiores a 1%, enquanto que esses valores médios também concordam relativamente bem com os valores teóricos pois os valores para o dpr-e, com exceção de um resultado, foram menores que 5%.

Durante a preparação da solução teste pode ter havido erros nas pesagens das DNFHo, ou na diluição ou evaporação do solvente, causando erros nos cálculos dos fatores de correção. Isso explica os altos valores do dpr-e para as concentrações das

TABELA XXU - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NA SOLUCAO TESTE C4 CALCULADA PELO METODO DA PADRONIZACAO INTERNA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFH ₀ DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N ^o						
		24B/88	25A/88	26A/88	(%)	(%)	(%)	(%)
FORMALDEIDO	1.216	21.39	21.13	21.38	21.38	0.69	18.20	11.10
ACETALDEIDO	0.975	21.26	20.34	20.68	20.76	2.24	17.95	11.05
ACETONA	1.009	27.49	26.69	27.38	27.19	1.59	23.85	9.25
PROPIONALDEIDO	1.005	24.66	23.85	24.32	24.28	1.67	21.03	10.14
n-BUTIRALDEIDO	1.143	21.15	21.24	21.66	21.35	1.27	18.97	8.35

TAEPIINT

- NOTA:**
1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.3.
 2. Rfi = FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTES AS SEPARACOES 24C E 26B/88.
 3. AS CONDICAOES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XIV.
 4. A DNFH₀ DO BENZALDEIDO FOI UTILIZADA COMO PADRAO INTERNO.

TABELA XXUI - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NA SOLUCAO TESTE B CALCULADA PELO METODO DA PADRONIZACAO INTERNA COM AS AREAS DETERMINADAS MANUALMENTE.

DNFH ₀ DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA (%)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (%)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N ^o						
		36A/88	36B/88	36C/88	(%)	(%)	(%)	(%)
FORMALDEIDO	1.100	19.39	19.69	19.54	19.54	0.77	19.19	1.28
ACETALDEIDO	0.925	16.17	16.42	16.30	16.30	0.77	19.93	6.73
ACETONA	0.915	16.30	16.49	16.37	16.39	0.59	17.47	4.51
PROPIONALDEIDO	0.916	16.78	16.71	16.65	16.71	0.39	17.82	4.55
BUTIRAL + MEC	1.006	27.29	27.50	27.29	27.36	0.44	27.59	0.59

TAEPIIMAN

- NOTA:**
1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.3.
 2. Rfi = FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTES AS SEPARACOES 38A E 38B/88.
 3. AS CONDICAOES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XV.
 4. A DNFH₀ DO BENZALDEIDO FOI UTILIZADA COMO PADRAO INTERNO.
 5. BUTIRAL = n-BUTIRALDEIDO E MEC = BUTANONA; OS ISOMEROS C4 NAO SE SEPARAM NESTAS CONDICAOES.

DNFHo na solução TESTE C4 obtidas por esse método. No entanto a causa mais provável desses desvios é o fato da DNFHo do benzaldeído, usada como padrão interno, ter um máximo de absorção a 381nm, longe de 365nm da detecção (ANEXO III).

Os fatores de correção apresentados na TABELA XXV foram obtidos de uma solução duas vezes mais concentrada do que a solução de trabalho e, nesse caso, os valores de concentração determinados pelo método em questão e os valores teóricos divergiram bastante. Por outro lado, os fatores de correção apresentados na TABELA XXVI foram obtidos da mesma solução teste avaliada pelo método e, nesse caso, os valores de concentração encontrados e teóricos não são muito discordantes.

IV.2.4 - MÉTODO DA PADRONIZAÇÃO EXTERNA

Os resultados obtidos com esse método quantitativo estão apresentados nas TABELAS XXVII e XXVIII. A TABELA XXVII apresenta resultados de cálculos baseados nas áreas dos picos fornecidas pelo integrador, enquanto que os resultados apresentados na TABELA XXVIII são baseados nas áreas dos picos determinadas manualmente.

Na TABELA XXVII os valores de dpr-p são inferiores a 3% e os valores de dpr-e são inferiores a 4%, com excessão da concentração encontrada para a DNFHo do benzaldeído, enquanto que na TABELA XXVIII os valores do dpr-p são inferiores a 1% e os valores do dpr-e são inferiores a 5%.

O alto valor da dpr-e (11,87%) para a concentração da DNFHo do benzaldeído apresentado na TABELA XXVII indica que essa hidrazona absorve luz diferentemente das demais, o que já foi

TABELA XXVII - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NA SOLUCAO TESTE C4 CALCULADA PELO METODO DA PADRONIZACAO EXTERNA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFH ₀ DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA (µg/mL)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (µg/mL)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N ^o						
	(10 ⁵)	24B/88	25A/88	26A/88	(µg/mL)	(%)	(µg/mL)	(%)
FORMALDEIDO	1.699	7.04	6.93	6.98	7.0	0.79	7.1	1.00
ACETALDEIDO	1.363	7.00	6.68	6.76	6.8	2.44	7.0	1.80
ACETONA	1.410	9.05	8.76	8.94	8.9	1.64	9.3	3.11
PROPIONALDEIDO	1.404	8.12	7.83	7.94	8.0	1.84	8.2	1.75
N-BUTIRALDEIDO	1.598	6.96	6.97	7.08	7.0	0.95	7.4	3.93
BENZALDEIDO	1.397	5.99	5.97	5.94	6.0	0.42	7.1	11.87

TARPEINT

- NOTA:** 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.4.
 2. Rfi = FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTES AS SEPARACOES 24C E 26B/88.
 3. AS CONDICAOES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XIV.

TABELA XXVIII - CONCENTRACAO DAS DNFH₀ NA SOLUCAO TESTE B CALCULADA PELO METODO DA PADRONIZACAO EXTERNA COM AS AREAS DETERMINADAS MANUALMENTE.

DNFH ₀ DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA (µg/mL)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA (µg/mL)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N ^o						
	36A/88	36B/88	36C/88	(µg/mL)	(%)	(µg/mL)	(%)	
FORMALDEIDO	34.36	87.3	88.0	88.0	87.8	0.46	83.5	3.55
ACETALDEIDO	28.89	72.8	73.4	73.4	73.2	0.47	78.0	4.49
ACETONA	29.69	73.3	73.6	73.6	73.5	0.24	76.0	2.35
PROPIONALDEIDO	28.60	75.5	74.6	74.9	75.0	0.61	77.5	2.32
BUTIRAL + MEC	31.41	122.8	122.8	122.8	122.8	0.00	120.0	1.63
BENZALDEIDO	31.23	84.3	83.7	84.3	84.1	0.41	81.5	2.22

TARPEHAN

- NOTA:** 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.4.
 2. Rfi = FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTES AS SEPARACOES 38A E 38B/88.
 3. AS CONDICAOES DE ANALISE DE TODAS AS SEPARACOES CITADAS ESTAO DESCRITAS NA TABELA XV.
 4. BUTIRAL = n-BUTIRALDEIDO E MEC = BUTANONA; OS ISOMEROS C4 NAO SE SEPARAM NESAS CONDICAOES.

discutido no item IV.2.2 e pode ser verificado nos espectros de absorção das hidrazonas estudadas mostrados no ANEXO III.

O método da padronização externa é o adotado pela ABNT para a determinação das concentrações das DNFHo de compostos carbonílicos conforme o projeto de norma nº 5:11.03-018 (ANEXO I) e é utilizado pela Fiat em seus ensaios para a determinação dos aldeídos totais presentes nos gases de escapamento de seus veículos.

IV.2.5 - MÉTODO DA CALIBRAÇÃO EXTERNA

Esse método de quantificação apresenta uma vantagem sobre os demais, discutidos anteriormente, pelo fato de avaliar a resposta do detector à espécie química em estudo em uma faixa de concentração pré-determinada. Dessa forma é feita uma avaliação da linearidade da resposta do detector na faixa de concentração que se pretende trabalhar.

Os gráficos obtidos para as curvas de calibração apresentaram boa linearidade; os valores dos coeficientes de correlação foram sempre maiores que 0,99. Alguns desses gráficos são apresentados na FIGURA 14.

Os valores de dpr-p (nenhum valor maior que 2,5%) e os valores de dpr-e (todos valores menores que 2,0%) apresentados na tabela XXIX mostram que, sem dúvidas, esse método foi o que forneceu os melhores resultados dentre todos os métodos testados. Porém, esse método é o mais trabalhoso, pois exige a preparação de, no mínimo, três soluções padrões e a construção de uma curva de calibração para cada composto de interesse presente na amostra.

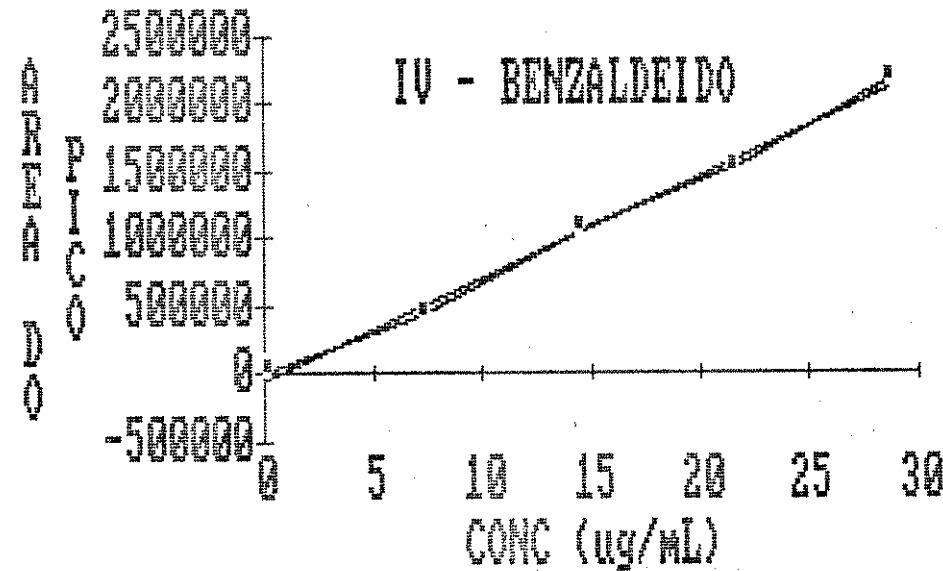
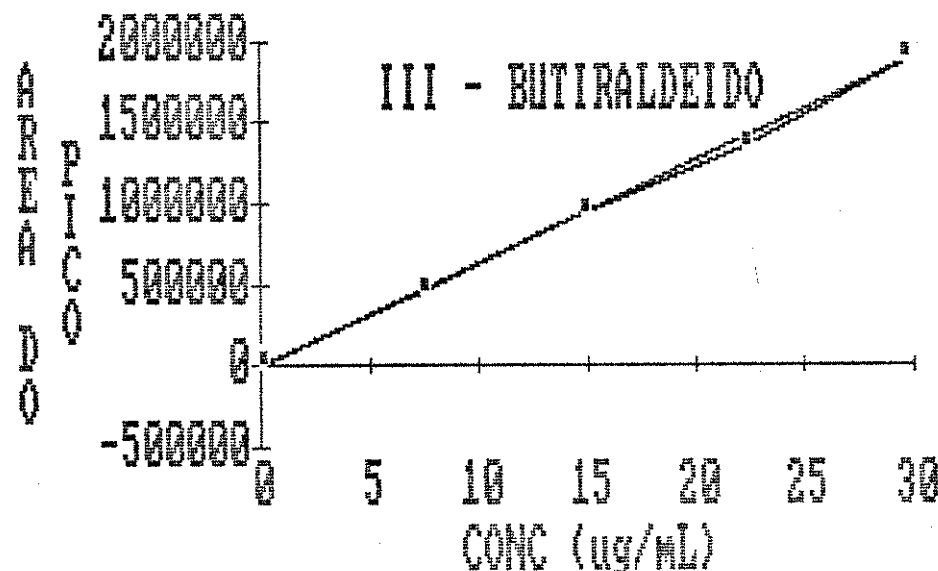
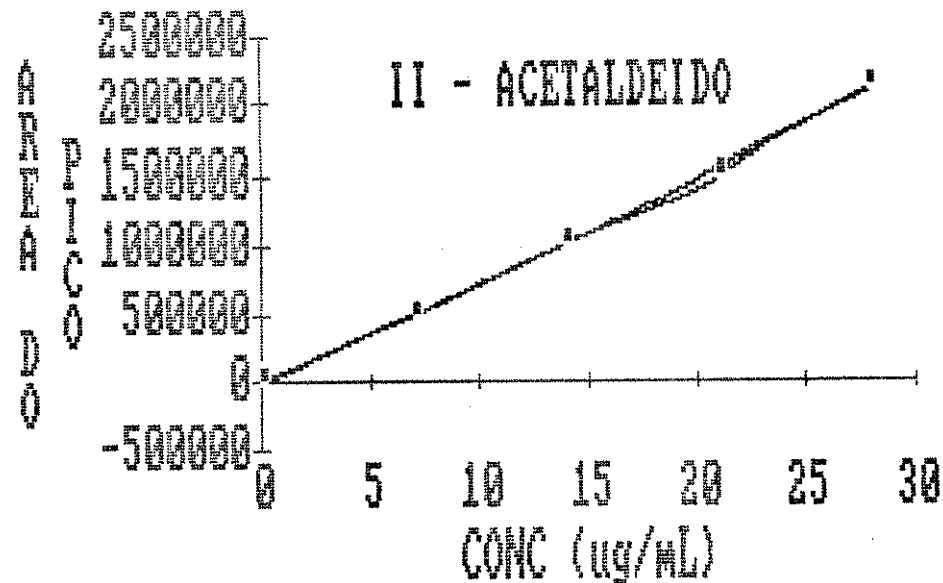
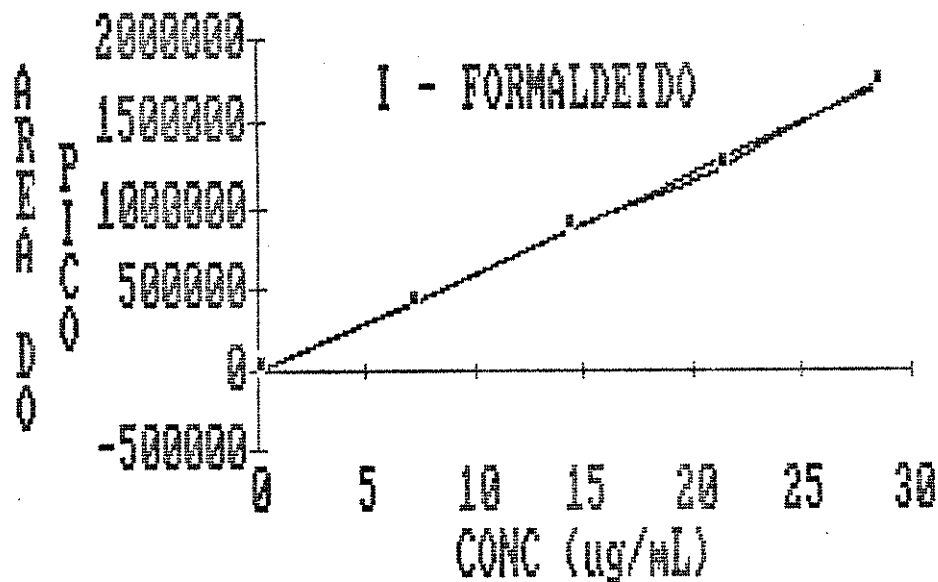


FIG. 14 - Gráficos construídos para a determinação do fator de correção para cada DNPHo utilizado no método da CALIBRAÇÃO EXTERNA. As concentrações utilizadas foram aquelas das soluções TESTE C_1 , C_2 , C_3 e C_4 (TABELA III). Os coeficientes de correlação (r) foram respectivamente: I) 0,9990; II) 0,9990; III) 0,9994 e IV) 0,9977. Os coeficientes lineares (A_0) das melhores curvas foram respectivamente: I) -4640;

TABELA XXIX - CONCENTRACAO DAS DNFHo NA SOLUCAO TESTE C4 CALCULADA PELO METODO DA CALIBRACAO EXTERNA COM AS AREAS FORNECIDAS PELO INTEGRADOR.

DNFHo DE	Rfi	CONC. ENCONTRADA ($\mu\text{g/mL}$)			CONC. MEDIA	DESU.PAD. PRECISAO (%)	CONC. TEORICA ($\mu\text{g/mL}$)	DESU.PAD. EXATIDAO (%)
		SEPARACAO N°						
	(.10 ⁵)	24B/88	25A/88	26A/88	($\mu\text{g/mL}$)	(%)	($\mu\text{g/mL}$)	(%)
FORMALDEIDO	1.678	7.15	7.84	7.89	7.1	0.78	7.1	0.9
ACETALDEIDO	1.328	7.28	6.97	7.04	7.1	2.29	7.0	1.0
ACETONA	1.380	9.21	8.92	9.10	9.1	1.61	9.3	1.5
PROPIONALDEIDO	1.364	8.52	8.24	8.35	8.4	1.68	8.2	1.7
n-BUTIRALDEIDO	1.557	7.27	7.28	7.38	7.3	0.83	7.4	1.0
BENZALDEIDO	1.265	7.06	7.05	7.02	7.0	0.29	7.1	1.0

TABCALEX

- NOTA: 1. AS FORMULAS UTILIZADAS NOS CALCULOS ESTAO DESCRITAS NO ITEM III.9.2.4.
 2. Rfi=FATOR DE CORRECAO, OBTIDO ATRAVES DOS CROMATOGRAMAS REFERENTE AS SEPARACOES 26A, 26B, 26E E 28A/88.
 3. AS CONDICOES DE ANALISE DOS CROMATOGRAMAS ENVOLVIDOS NA AVALIACAO DO METODO ESTAO DESCRITAS NA TABELA XIV.

IV.2.6 - QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL (QMD)

A quantidade mínima detectável (QMD) para o método em estudo foi avaliada neste trabalho, considerando-se como três vezes o ruído. Porém, a QMD depende diretamente da estabilidade do sistema de CLAE utilizado, bem como da qualidade do detector empregado. A estabilidade da energia de alimentação do sistema é fundamental para se obter bons resultados nessa determinação.

A fim de se avaliar a QMD da técnica em estudo, realizaram-se duas separações das DNFHo de compostos carbonílicos presentes nas soluções a baixas concentrações: uma na Fiat e outra na

Ultraquímica. As condições cromatográficas empregadas estão descritas na TABELA XXX. A TABELA XXXI mostra as quantidades injetadas e as FIGURAS 15 e 16 mostram os dois cromatogramas obtidos. Pelos resultados obtidos pode se observar que, com a separação realizada na Fiat (FIGURA 15), embora se estivesse trabalhando com uma solução cerca de cinco vezes mais diluída, obteve-se um cromatograma bem melhor do que aquele obtido na Ultraquímica (FIGURA 16). O cromatograma obtido na Ultraquímica (FIGURA 16) não é considerado para efeitos de cálculos de concentração pois os picos possuem alturas menores que três vezes o ruído, enquanto que o pico referente a DNFHo do benzaldeído é praticamente inexistente neste cromatograma já que apenas se observa uma pequena elevação da linha de base, e só se pode afirmar ser essa elevação a presença do referido derivado pelo fato do mesmo ter sido detectado no mesmo tempo de retenção em uma solução mais concentrada sob as mesmas condições cromatográficas.

Com base nesses resultados é possível se ter uma idéia da sensibilidade da técnica. No entanto, não se pode desconsiderar que as soluções utilizadas nestes testes eram constituídas de padrões e que, em amostras reais, as interferências são bem maiores e a técnica de coleta, tempo de reação, "limpeza" da amostra antes da análise, entre outras coisas, podem impedir detecções a níveis tão baixos quanto se deseja.

Pelos resultados obtidos com as QMD das DNFHo estudadas neste trabalho observa-se que é possível a determinação de aldeídos e cetonas por esse método a níveis inferiores a $1,5 \mu\text{mol}$ (TABELA XXXI). O cromatograma apresentado na FIGURA 15 apresenta melhor resolução na linha de base do que aquele apresentado

TABELA XXX - CONDIÇÕES DE ANÁLISE PARA AS DETERMINAÇÕES DA SENSIBILIDADE DA TÉCNICA.

LOCAL	FIAT	ULTRAQUÍMICA
SEPARAÇÃO Nº	40E/90	48C/90
DATA	12.02.90	20.12.90
EQUIPAMENTO ¹	B	C
SOLUÇÃO TESTE	D3	E2
VOL. INJETADO (µL)	10	10
FASE MOVEL	ACETONITRILA/ÁGUA	METANOL/ÁGUA
COMPOSIÇÃO	65:35	70:30
VAZÃO (mL/min)	1.0	0.7
DETECÇÃO - λ (nm)	365	365
SENSIBILIDADE (uA) ²	0.02	0.5
VELOC. CARTA (cm/min)	0.5	0.25
ATENUAÇÃO	1.0	32

NOTA: 1. A DESCRIÇÃO SOBRE O EQUIPAMENTO ESTÁ NO ITEM III.1.
2. uA = UNIDADE DE ABSORBÂNCIA.

TABELA XXXI - QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL DE ALDEÍDO E CETONA SEPARADA DURANTE A AVALIAÇÃO DA TÉCNICA EM ESTUDO.

LOCAL	FIAT		ULTRAQUÍMICA	
	MASSA (pg)	Nº DE MOLES (pmol)	MASSA (pg)	Nº DE MOLES (pmol)
COMPOSTO CARBONÍLICO				
FORMALDEÍDO	42.0	1.40	289.6	9.65
ACETALDEÍDO	64.8	1.47	359.9	8.18
ACROLEÍNA	77.4	1.38	449.5	8.92
ACETONA	79.0	1.36	474.0	8.17
PROPIONALDEÍDO	73.1	1.26	475.2	8.19
BUTANONA	84.6	1.17	560.6	7.78
n-BUTIRALDEÍDO	90.3	1.25	786.3	10.92
BENZALDEÍDO	151.2	1.43	816.1	7.70

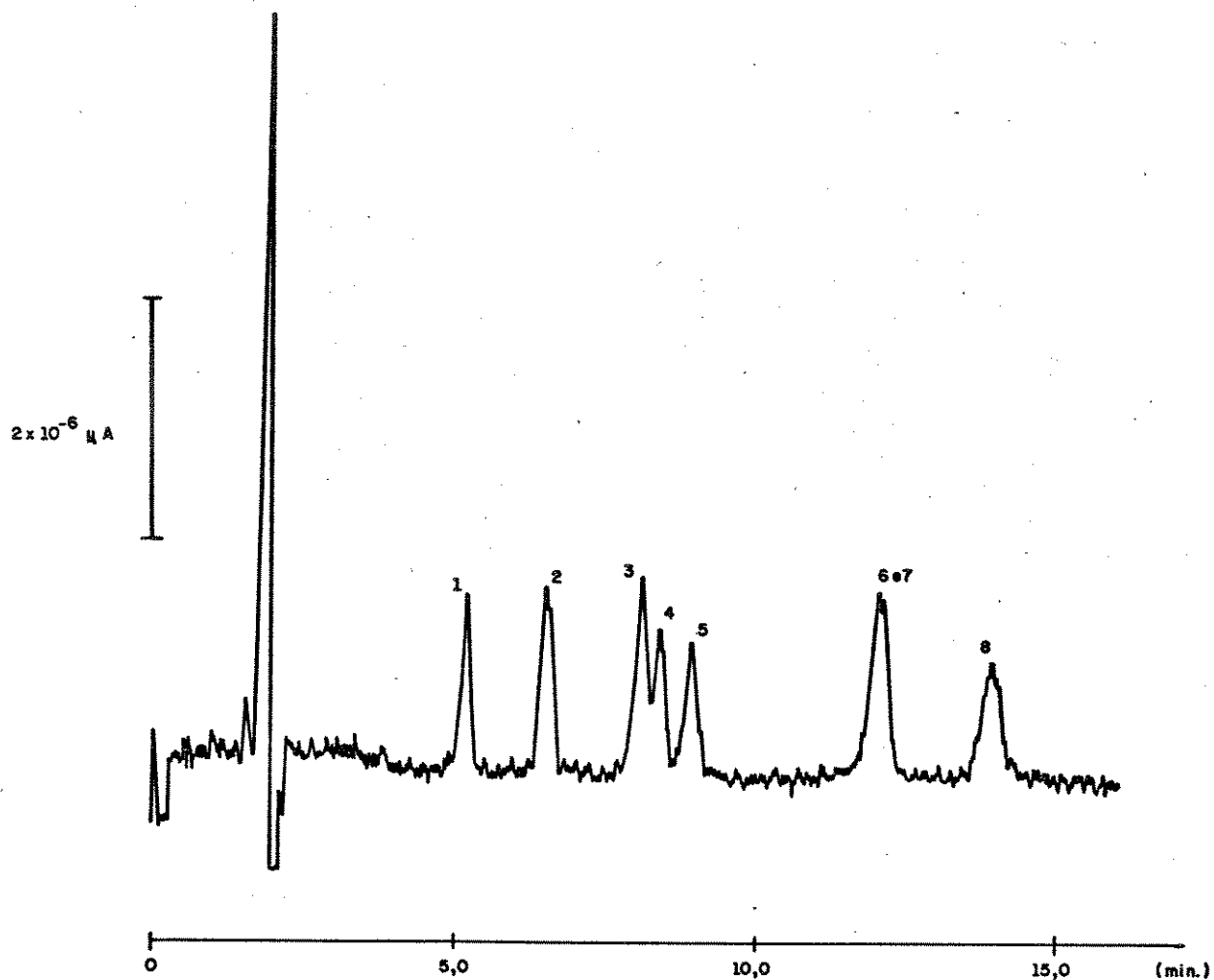


FIG. 15 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas efetuada na FIAT para a determinação da quantidade mínima detectável (TABELA XXXI). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento B (item III.1); coluna: ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila/água, 65:35, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10uL; detecção: UV-Visível (365nm).

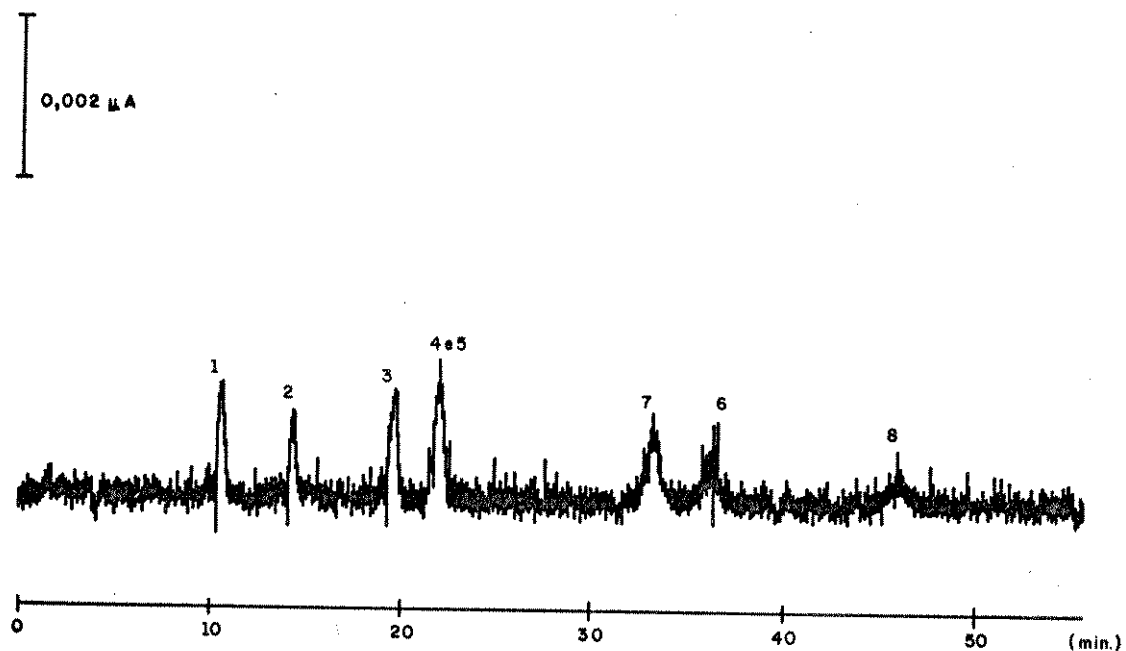


FIG. 16 - Eluição das DNFHo de aldeídos e cetonas efetuada na ULTRAQUÍMICA para a determinação da quantidade mínima detectável (TABELA XXXI). A numeração dos picos segue a ordem apresentada na TABELA II. Equipamento B (item III.1); coluna: ULTRASPHERE-ODS; fase móvel: metanol/água, 70:30, v/v; vazão: 0,7mL/min; volume injetado: 10μL; detecção: UV-Visível (365nm).

por Chiavari et al. (62), sendo que naquele as concentrações das DNPHo representam 2pmol de cada aldeído ou cetona e a detecção utilizada foi a eletroquímica, considerado um detector mais sensível (7, 22, 54, 62).

IV.3 - RESULTADOS OBTIDOS NA FIAT COM AMOSTRAS REAIS

Resultados de análise de aldeídos no gás de escapamento de um veículo movido a álcool e de outro movido a gasolina, obtidos conforme as etapas descritas no item I.3.1 deste trabalho, são apresentados no ANEXO II. A FIGURA 1A e a TABELA IA deste ANEXO apresentam os cromatogramas, as condições de análise e os resultados quantitativos das análises de vários gases emitidos por um veículo movido a álcool, enquanto que a FIGURA 2A e a TABELA IIA apresentam os resultados dos testes de um veículo movido a gasolina. Os resultados mostrados pelas TABELAS IA e IIA são apresentados separadamente por fase de teste. Na fase I (ciclo urbano) o veículo é submetido aos testes ainda frio, na fase II (ciclo urbano) o motor está em uma fase transitória entre frio e quente, e na fase III (ciclo urbano) o motor do veículo já está quente. No ciclo estrada é coletado apenas o ar atmosférico para se fazer uma determinação que sirva de branco.

No presente trabalho interessa a avaliação dos resultados obtidos para os aldeídos, no caso, formaldeído e acetaldeído. As concentrações desses aldeídos foram obtidas através da derivatização dos mesmos com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFHi), separação dos derivados em uma coluna ZORBAX-ODS (5,5µm), 250 x 4,6mm, com acetonitrila/água, 65:35, v/v e detecção a 365nm (FIGURAS 1A e 2A). Os cálculos foram efetuados pelo método da

padronização externa (item III.9.2.4) a fim de se obter a massa de cada derivado em miligramas. Os resultados em ppmv para cada composto carbonílico são obtidos através da fórmula descrita no item 8.1.2 do projeto de norma da ABNT (ANEXO I). Através das fórmulas descritas nos itens 8.1.3 e 8.1.4 da referida norma, obtêm-se as concentrações de cada aldeído em g/fase e g/km, respectivamente.

Embora no Brasil os combustíveis comercialmente disponíveis não sejam "puros", ou seja, a gasolina leva em sua composição uma boa quantidade de álcool etílico (e ultimamente também metanol) e vice-versa, pode-se observar pelos resultados apresentados nas TABELAS IA e IIA do ANEXO II, que o veículo movido a gasolina emite de uma a duas vezes menos formaldeído, dependendo da fase de teste, e de três a quatro vezes menos acetaldeído do que o veículo movido a álcool. Pode-se observar também por esses resultados que a faixa de emissão média de aldeídos totais (formaldeído e acetaldeído) para o veículo movido a álcool é de 0,11 g/km, quantidade esta menor que aquela estabelecida pelo CONAMA (0,150 g/km) a vigorar a partir de 1992. A tendência é que a concentração de aldeídos nos gases de escapamento dos veículos automotores diminua cada vez mais graças ao desenvolvimento de carburadores com injeção eletrônica que otimizam a relação ar/combustível para a queima no motor e também ao desenvolvimento de catalisadores que impedem que certos gases nocivos atinjam a atmosfera.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

* Sob condições cromatográficas idênticas, utilizando-se colunas com mesmas dimensões e recheadas com fases estacionárias quimicamente iguais, pode-se encontrar valores muito diferenciados de retenção para as DNFHO de aldeídos e cetonas eluídas;

* Compostos carbonílicos que apresentam isomeria estrutural podem ser separados pela técnica apresentada sob determinadas condições. Os isômeros geométricos não são separados sob as condições estudadas;

* À medida que se aumenta a polaridade e a viscosidade da fase móvel melhora-se a separação das DNFHO pela técnica estudada. No entanto, o tempo de retenção destes compostos pode aumentar drasticamente, comprometendo a praticidade da técnica;

* O emprego de metanol/água como fase móvel nas separações estudadas implica em análises mais demoradas do que quando se emprega acetonitrila/água. Porém, algumas separações obtidas com o emprego de metanol/água como fase móvel não são conseguidas com acetonitrila/água;

* O uso de metanol no lugar de acetonitrila também traz a vantagem de ser mais barato (US\$4,80 / litro de metanol versus

US\$24,20 / litro de acetonitrila) além do fato de ser um produto nacional, sendo assim mais facilmente encontrado no mercado;

* Os compostos carbonílicos derivatizados com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFHi) e analisados por CLAE sob as condições estudadas neste trabalho segue muito bem a série homóloga (log Dm vs número de carbonos): os coeficientes de correlação das curvas obtidas foram sempre superiores a 0,99;

* A detecção das DNFO de compostos carbonílicos no UV-Visível a 365nm é cerca de duas vezes mais sensível do que a 254nm, além do que a 365nm a sensibilidade ao aduto DNFHi-HCl (um interferente da análise) é muito menor do que a 254nm;

* Dentre os métodos quantitativos testados neste trabalho para a técnica estudada, o método da calibração externa foi o que apresentou resultados mais repetíveis e mais exatos. Porém, o método da normalização de área deve ser considerado por ter apresentado resultados pouco discrepantes. Este método, por ser de extrema simplicidade, deve ser considerado em análises onde esta discrepância for aceitável;

* A técnica estudada é bastante sensível para a análise de aldeídos e cetonas, sendo possível a detecção de menos que 1,5pmoles destes, dependendo da qualidade do detector e da estabilização da voltagem para o aparelho.

* Com relação às condições analíticas apresentadas no projeto de norma da ABNT (ANEXO I), observou-se que essas poderiam ser menos rígidas pois, conforme demonstrado neste trabalho, outras colunas como, por exemplo, NOVA PAK-C18 (WATERS), e outras fases móveis como, por exemplo, METANOL/ÁGUA, forneceria melhores resultados do que aquelas especificadas na referida norma, além do fato de haver uma flexibilidade na

aquisição da coluna importada e barateamento nos custos operacionais, utilizando-se componente de fase móvel totalmente nacional.

Muitas pesquisas ainda podem ser desenvolvidas sobre a técnica apresentada visando a melhoria da sua performance.

-A utilização de colunas com menores diâmetros podem ser testadas, a fim de se obterem melhorias na eficiência da separação a exemplo do que se conseguiu neste trabalho com a coluna NOVAPAK-C18 (WATERS).

-O emprego de fases estacionárias semelhantes às que foram testadas neste trabalho, porém mais esféricas e com diâmetros de partículas menores, certamente representarão melhoria na performance da técnica.

-O emprego de gradiente na composição da fase móvel também pode ser estudado no sentido de se melhorar a separação dos analitos. Muitos trabalhos podem ser encontrados na literatura onde os autores empregam gradiente para a separação de DNPHo de compostos carbonílicos (14,17,23,24,26,27,38,41,59), inclusive um trabalho onde se apresentam resultados de separações de DNPHo de aldeídos em um sistema ternário de gradiente (51).

-Pode ser pesquisada a possibilidade de se separarem os isômeros geométricos de algumas DNPHo de compostos carbonílicos, empregando-se condições que tornam a técnica mais seletiva.

-Quanto a determinação quantitativa, pode ser testados outros compostos como padrão interno, tal como a DNPHo da ciclohexanona que não possui aromaticidade e portanto deve absorver luz semelhantemente as outras hidrazonas testadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Pamplona, C.; "Proálcool: Impacto em Termos Técnico Econômicos e Sociais do Programa no Brasil"; Ministério da Indústria e do Comércio - Instituto do Açúcar e do Alcool, Belo Horizonte (1984).
- 2 Navarro Jr, L.; "Possibilidades de Produção e Aproveitamento do Alcool"; Conferência proferida no Clube Militar de Brasília, em 25.04.84, Editado pela Sociedade de Produtores de Açúcar e de Alcool.
- 3 "Montadoras já se Preparam para Procura Maior por Carros a Alcool"; Folha de São Paulo de 02.09.90, Caderno I.2.
- 4 Warner, M.; Anal. Chem., 62 (1990) 499A.
- 5 Sax, N. I.; "Dangerous Properties of Industrial Materials"; Van Nostrand Reinhold Company, 6ª ed., New York, 1986.
- 6 Nakamura, K. -I.; Asami, M.; Orita, S. e Kawada, K; J. Chromatogr. 168 (1979) 221.
- 7 Boor, P. J. e Ansari, G. A. S.; J. Chromatogr. 375 (1986)

- 8 Okamoto, M.; J. Chromatogr. 202 (1980) 55
- 9 Reindl, B. e Stan, H. -J.; J. Chromatogr. 235 (1982) 481.
- 10 Kuwata, K.; Uebori, M.; Yamasaki, H. e Kuge, Y. e Kiso, Y.;
Anal. Chem. 55 (1983) 2013.
- 11 Gotze, H. -J. e Harke, S.; Fresenius Z. Anal. Chem. 335
(1989) 286.
- 12 Hoshika, Y. e Takata, Y.; J. Chromatogr. 120 (1976) 379.
- 13 Mansfield, C. T.; Hodge, T. B.; Hege Jr, R. B. e Hamlin, W.
C.; J. Chromatogr. Sci. 15 (1977) 301.
- 14 Kuwata, K.; Uebori, M. e Yamasaki, Y.; J. Chromatogr. Sci. 17
(1976) 264.
- 15 Pasquereau, M.; Degobert, P. e Nadaud, Y.; Institut Français
du Pétrole - IFP, Proj. nº B 83/81016 (1983).
- 16 Houlgate, P. R.; Dhingra, K. S.; Nash, S. J. e Evans, W. H.;
Analyst, 114 (1989) 355.
- 17 Langenhove, H. R. V.; Ackes, M. V. e Schamp, N. M.; Analyst
108 (1983) 329.
- 18 Rietz, B.; Anal. Lett. 18 (1985) 2369.
- 19 Profumo, A. e Pesavento, M.; Analyst 111 (1986) 241.

- 20 Levin, J. -O.; Lindahl, R. e Anderson, K.; Environ. Sci. Technol. 20 (1986) 1273.
- 21 Levin, J. -O.; Anderson, K.; Lindahl, R. e Nilson, C. A.; Anal. Chem. 57 (1985).
- 22 Gromping, A. e Cammann, K.; Fresenius Z. Anal. Chem. 335 (1989) 796.
- 23 Stahovec, W. L. e Mopper, K.; J. Chromatogr. 298 (1984) 399.
- 24 Puputti, E. e Lehtonen, P.; J. Chromatogr. 353 (1986) 163.
- 25 de Andrade, J. B. e Bravo, R. Van F.; Química Nova 12 (1989) 196.
- 26 Ogawa, I. e Fritz, J. S.; J. Chromatogr. 329 (1985) 81.
- 27 Olson, K. L. e Swarin, S. J.; J. Chromatogr. 333 (1985) 337.
- 28 Du Val, D. L.; Rogers, M. e Fritz, J. S.; Anal. Chem. 57 (1985) 1583.
- 29 Takami, K.; Kuwata, K; Sugimae, A. e Nakamoto, M.; Anal. Chem. 57 (1985) 243.
- 30 Van Hoof, F.; Wittocx, A.; Van Buggenhout, E. e Janssens, J.; Anal. Chem. Acta 169 (1985) 419.
- 31 Melksham, K. J. e Axelsen, S.; J. Chromatogr. 396 (1987) 399.

- 32 Engelhardt, H. e Klinkner, R.; *Chromatographia* 20 (1985) 559.
- 33 Benassi, C. A.; Semenzato, A. e Bettero, A.; *J. Chromatogr.*
464 (1989) 387.
- 34 Papa, L. J. e Turner, L. P.; *J. Chromatogr. Sci.* 10 (1972)
744.
- 35 Papa, L. J. e Turner, L. P.; *J. Chromatogr. Sci.* 10 (1972)
747.
- 36 Lipari, F. e Swarin, S. J.; *J. Chromatogr.* 247 (1982) 297.
- 37 Creech, G.; Johnson, R. T. e Stoffer, J. O.; *J. Chromatogr.*
Sci. 20 (1982) 67.
- 38 Mopper, K. e Stahovec, W. L. e Johnson, L.; *J. Chromatogr.*
256 (1983) 243.
- 39 Lipari, F. e Swarin, S. J.; *Environ. Sci. Technol.* 19 (1985)
70.
- 40 Gabele, P. A.; Baugh, J. O.; Black, F. e Snow, R.; *J. Air*
Pollut. Control. Assoc. 35 (1985) 1168.
- 41 Tejada, S. B.; "DNPH-Coated Silica Cartridges for Sampling
Carbonyl Compounds in Air and Analysis by High Performance

Liquid Chromatography"; Monografia da U. S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC 27711, 1986.

42 Nishikawa, H.; Hayakawa, T. e Sakai, T.; Analyst 112 (1987) 859.

43 Sigsby Jr, J. E; Tejada, S.; Ray, W.; Lang, J. M. e Duncan, J. W.; Environ. Sci. Technol. 21 (1987) 466.

44 Rutten, G. A.; Burtner, C. W. J.; Visser, H. e Rijks, J. A.; Chromatographia, 26 (1988) 274.

45 Snow, R.; Baker, L.; Crews, W. Davis, C. O.; Duncan, J.; Perry, N. Siudak, P.; Stump, F.; Ray, W. e Braddock, J.; J. Air Pollut. Control. Assoc. 39 (1989) 48.

46 Fung, K. e Grosjean, D.; Anal. Chem. 53 (1981) 168.

47 Lowe, D. C.; Schmidt, U.; Ehhalt, D. H.; Frischkorn, C. G. B. e Nunberg, H. W.; Environ. Sci. Technol. 15 (1981) 819.

48 Mattews, T. G. e Howell, T. C.; Anal. Chem. 54 (1982) 1495.

49 Guenier, J. P.; Simon, P.; Delcourt, J.; Didierjean, M. F.; Lefevre, C. e Muller, J.; Chromatographia 18 (1984) 137.

50 Nishikawa, H.; Hayakawa, T. e Sakai, T.; J. Chromatogr. 370 (1986) 327.

51 Smith, D. F.; Kleindienst, T. E. e Hudgens, E. E.; J. Chromatogr.

Chromatogr. 483 (1989) 431.

52 "Teste do IPT Revela Gasolina Limpa em SP"; Folha de São Paulo de 02.09.90, Caderno I.1.

53 "Standards for Emissions from Methanol Fueled Motor Vehicles and Engines"; Federal Register (U. S.) 40 CFR Part 86, August 29, 1986.

54 Chiavari, G.; Facchini, M. C. e Fuzzi, S.; J. Chromatogr. 333 (1985) 262.

55 Mann, B. e Grayeski, M. L.; J. Chromatogr. 386 (1987) 149.

56 Carey, M. A. e Persinger, H. E.; J. Chromatogr. Sci. 10 (1972) 537.

57 Kallio, H. Linko, R. R. e Kaitaranta, J.; J. Chromatogr. 65 (1972) 355.

58 Selim, S.; J. Chromatogr. 136 (1977) 271.

59 Demko, P. R.; J. Chromatogr. 179 (1979) 361.

60 Vigh, Gy.; Puchony, Z. V.; Hlavay, J.; Turcza, M. P. e Szalma, I. S.; J. Chromatogr. 193 (1980) 432.

61 Tub, H.; Neitzert, V.; Seiler, W. e Neeb, R.; Fresenius Z. Anal. Chem. 312 (1982) 613.

- 62 Chiavari, G. e Bergamini, C.; J. Chromatogr. 318 (1985) 427.
- 63 Svetlova, N. I.; Sokolova, L. I.; Grigoryeva, D. N. e Golovnya, R. V.; J. Chromatogr. 364 (1986) 203.
- 64 Giuliano, V. e Rieck, J. P.; J. Chem. Educ. 64 (1987) 625.
- 65 Bicking, M. K. L.; Cooke, W. M.; Kawahara, F. K. e Longbottom, J. E.; J. Chromatogr. 455 (1988) 310.
- 66 Shriner, R. L.; Fuson, R. C.; Curtin, D. Y. e Morrill, T. C.; "The Systematic Identification of Organic Compounds"; John Wiley & Sons, 6ª ed., New York, 1980.
- 67 Pecina, R.; Bonn, G.; Burtscher, E. e Bobleter, O.; J. Chromatogr. 297 (1984) 245.
- 68 "Na Fiat, Laboratório Controla Emissão de Poluentes"; Meios & Métodos - Jornal de Tecnologia e Ciência da Micronal 65 (1990) 12.
- 69 de Lima, M. A. F.; "Desenvolvimento de Colunas para HPLC e micro-HPLC", Tese de Doutorado, UNICAMP, Instituto de Química, 1988.
- 70 Levin, S. e Grushka, E.; Anal. Chem. 61 (1989) 2428.
- 71 Poole, C. F. e Schuette, S. A.; "Contemporary Practice of Chromatography", Elsevier Science Publishing Company Inc., 1ª ed., Amsterdam, 1985.

- 72 Johnson, E. L. e Stevenson, R.; "Basic Liquid Chromatography", Varian Associates, Inc., Palo Alto, 1978.
- 73 "Varian 4290 Integrator Operator Manual", Varian Associates, Inc., Palo Alto, 1985.
- 74 Collins, C. H. e Braga, G. L.; "Introdução a Métodos Cromatográficos", Editora da UNICAMP, 1ª ed., Campinas, 1987.
- 75 Mascioli, L. C.; dos Santos, M. J. T. F.; Basso, M. A.; Collins, K. E. e Collins, C. H.; "Error Propagation in Manually Measures Chromatographic Parameters". Trabalho apresentado no III Congresso Latino Americano de Cromatografia, em Águas de São Pedro, 1990.
- 76 Horváth, C.; Melander, W. e Molnár, J.; J. Chromatogr. 125 (1976) 191.
- 77 Tchaplá, A.; Heron, S.; Colin, H.; Guiochon, G.; Anal. Chem. 60 (1986) 1443.
- 78 Golovnya, R. V. e Grigoryeva, D. N.; Chromatographia 17 (1983) 613

ANEXO I

PROJETO DE NORMA S:11.03-018 DA ABNT
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS -

"GÁS DE ESCAPAMENTO EMITIDO POR VEÍCULOS RODOVIÁRIOS
AUTOMOTORES LEVES DO CICLO OTTO - DETERMINAÇÃO DA
EMISSÃO DE ALDEÍDOS E CETONAS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA"

Método de Ensaio

GÁS DE ESCAPAMENTO EMITIDO POR VEÍCULOS RODOVIÁRIOS AUTOMOTORES
LEVES: DO CICLO OTTO - DETERMINAÇÃO DA EMISSÃO DE ALDEÍDOS E
CETONAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA
Método de ensaio

SUMÁRIO

1. Objetivo
2. Normas complementares
3. Definições
4. Aparelhagem
5. Reagentes e soluções
6. Padronização
7. Execução do ensaio
8. Resultados
9. Anexo - Obtenção e purificação dos derivados carbonílicos

1. OBJETIVO

Esta Norma prescreve a determinação da emissão de aldeídos e cetonas pelo método de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) por cromatografia líquida de alta eficiência, (HPLC) contidas no gás de escapamento emitido por veículos rodoviários automotores leves, do ciclo Otto, movidos a gasolina, álcool e misturas de gasolina e álcool.

2. NORMAS COMPLEMENTARES

Na aplicação desta Norma é necessário consultar:

NER 6601 - Análise do gás de escapamento de veículos rodoviários automotores leves a gasolina - Método de Ensaio.

3. DEFINIÇÕES

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência.

DNPH - 2,4 Dinitrofenilhidrazina

ACN - Acetonitrila.

UV - Ultravioleta.

WET TEST METER - Totalizador de volume gasoso com vedação por líquido.

4. APARELHAGEM

4.1 Bomba alternativa programável para cromatografia líquida com campo de vazão de 0,1 ml/min a 20 ml/min.

Incremento de vazão: 0,1 ml/min.

4.2 Sistema de injeção universal para HPLC com capacidade de injeção de até 2 ml, e pressão máxima de trabalho de 420 bar,

4.3 Coluna cromatográfica de fase reversa empacotada com octadecilsilano (ODS) ³ *(nota 1)* sobre sílica gel, 5,5 µm, 25 cm x 4,6 mm.

4.4 Detetor espectrofotométrico UV sensível a comprimento de onda de 365 nm para aplicação em HPLC.

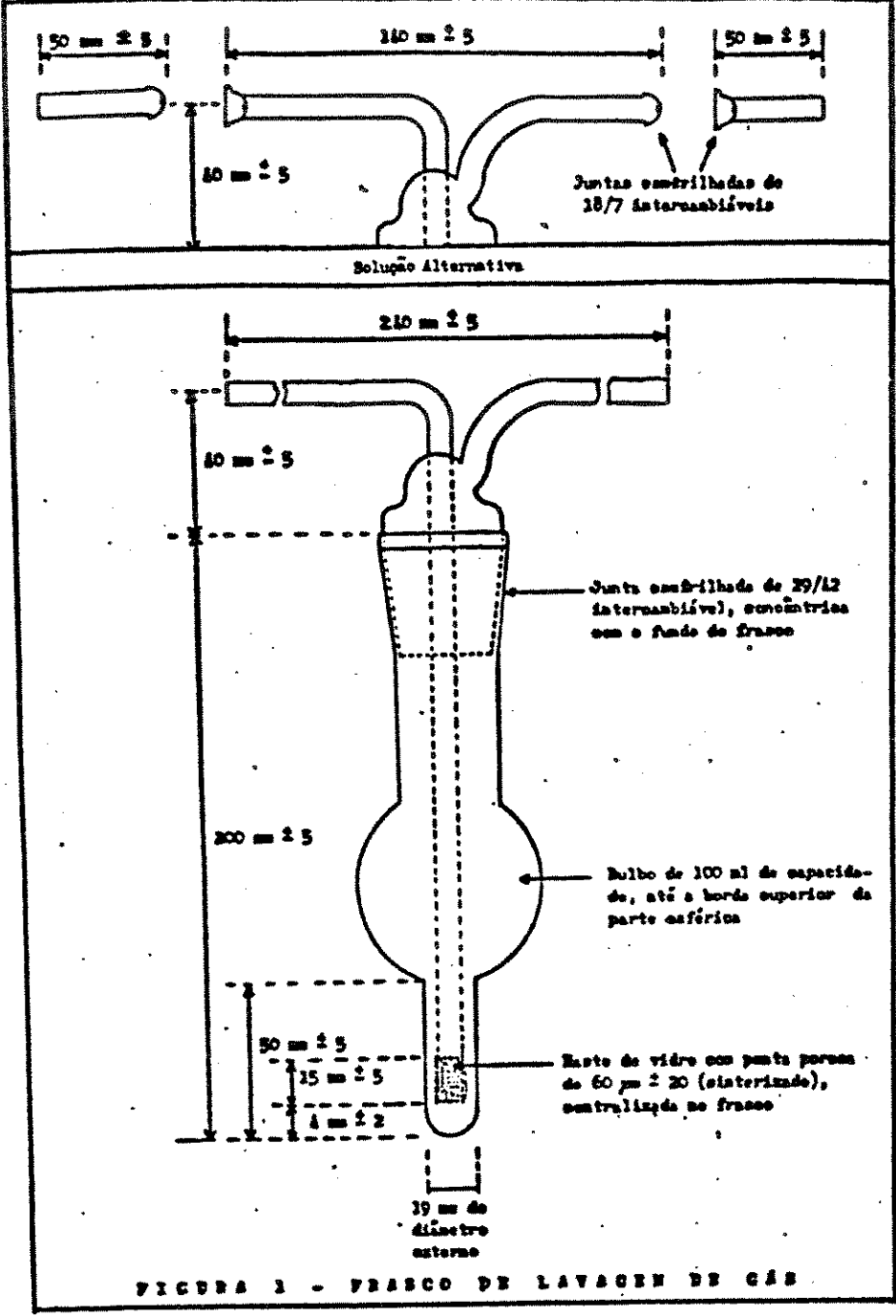
4.5 Registrador.

4.6 Frascos lavadores de gás em vidro borossilicato, conforme figura 1.

4.7 Rotômetros com fluxo entre 0,5 e 4,0 l/min, aferidos com ar a 21 °C e 101,33 kPa.

4.8 Bomba de vácuo com membranas de borracha fluorada, válvula de aço inoxidável ou de politetrafluoretileno, com vazão de 20 a 30 l/min.

nota 1: Os melhores resultados foram obtidos com a coluna ZORBAX ODS, 5,5 µm, 25 cm x 4,6 mm.



4.9 "Net test meter" para vazões de 0,03 a 3,30 l/min, grau de incerteza de 1%, com perda de carga máxima de 5 kPa, dotado de termômetro para medição da temperatura de gás totalizado e do líquido vedante, e de manômetro diferencial para medição da variação da pressão entre o gás totalizado e o ambiente, de modo a se poder corrigir o volume amostrado.

4.10 Balança analítica com grau de incerteza de 0,01 mg.

4.11 Refrigerador.

4.12 Placa ou manta de aquecimento.

4.13 Mangueira de borracha fluorada ou de silicone.

4.14 Pipetas volumétricas de 1 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml e 50 ml.

4.15 Frascos de vidro de 100 ml, com tampa de vidro esmerilhado.

4.16 Esboços volumétricos de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 500 ml e 1000 ml.

4.17 Bequers de 10 ml, 20 ml, 50 ml, 150 ml, 250 ml, 600 ml e 1000 ml.

4.18 Erlenmeyer de 250 ml.

4.19 Pesa filtro de vidro esmerilhado de formas média e alta.

4.20 Funil de vidro, haste longa, raiado, 60 e 100 mm de diâmetro.

4.21 Papel de filtro qualitativo de filtração média.

4.22 Espátula.

4.23 Fisseta de polietileno, de 250 ml.

4.24 Micro seringa de 25 µl.

4.25 Vidro de relógio.

4.26 Balão de fundo redondo de 1000 ml.

4.27 Coluna de Vigreux de 400 mm.

5. REAGENTES E SOLUÇÕES

5.1 Reagentes

Os reagentes devem ser de pureza analítica (p.a.), a água deve ser destilada e desionizada.

5.1.1 DNPH - 2,4 Dinitrofenilhidrazina, (C⁶H⁶O⁴.H²O).

6 6 4 4 2

5.1.2 Acetonitrila 99,7%, (CH³CN).

5.1.3 Álcool etílico 99,5%, (C²H⁵OH).

5.1.4 Ácido perclórico 70%, (HClO⁴).

5.1.5 Reagentes dos compostos carbonílicos, a serem determinados pelo método conforme tabela.

5.2 Soluções

5.2.1 Solução de DNPH:

5.2.1.1 Purificação do álcool etílico

Adicionar 0,1 g de DNPH para 1000 ml de álcool etílico. Destilar usando uma coluna de Vigreux, a uma taxa de destilação de 180 ml/h, a uma razão de refluxo de 5:1, e temperatura da cabeça da ordem de 78 °C, desprezando os 100 ml finais.

5.2.1.2 Purificação da DNPH

Para se obter aproximadamente 4,5 g de DNPH purificada, preparar uma solução dissolvendo 9,0 g de DNPH em 900 ml de álcool etílico isento de carbonilã, próximo a temperatura de ebulição, em um erlenmeyer de 1000 ml sob refluxo por 6 horas. Transferir o sobrenadante para outro erlenmeyer, tampar, manter em repouso em refrigerador próximo a 0 °C por aproximadamente 12 horas e filtrar a solução com uso de cadinho filtrante n. 3, sob vácuo. Lavar

NOME DO ALDEIDO	FÓRMULA	PESO MOLECUL. g/mol	MASSA ESPECÍFICA A 20°C 1 ATM, g/m ³	DNPH DERIVADO PESO MOLECUL.	DNPH DERIVADO PONTO DE FUSÃO	ASPECTO DO DERIVADO	ORIGEM ORIENTATIVA DO PRODUTO
FORMALDEÍDO	H-CHO	30,03	1249,2	210	167°C	Cristais Amarelos	Rectapur Prolabo 12 Ref. 20-880-290
ACETALDEÍDO	CH ₃ -CHO	44,05	1832,4	224	168,5°C	Cristais Amarelos	Para síntese 99% 500ml Merck 800004
ACROLEÍNA	CH ₂ =CH-CHO	56,06	2331,9	235	165°C	Cristais Vermelho-laranja	Para síntese 98% 12 Merck 800178
ACE TONA	CH ₃ -CO-CH ₃	58,08	2416,0	238	128°C	Agulhas Amarelas	Para análise 99,5% 12 Merck 14
PROPIONALDEÍDO	CH ₃ -CH ₂ -CHO	58,08	2418,0	238	156°C	Cristais Laranja	Para síntese 98% 12 Merck 822133
CROTONALDEÍDO	CH ₃ -CH=CH-CHO	70,09	2915,6	250	190°C	Agulhas Vermelhas	Para síntese 98% 12 Merck 802667
n-BUTRALDEÍDO	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CHO	72,11	2996,6	252	123°C	Cristais Amarelos	Puro 98% 500ml Koettlicht Ltd. ref. 9953-50
Metil Etil Cetona	CH ₃ -CH ₂ -CO-CH ₃	72,11	2999,6	252	115°C	Agulhas Amarelo-laranja	Para análise 99,5% 12 Merck 9708
BENZALDEÍDO	C ₆ H ₅ -CHO	106,13	4414,7	286	-237°C	Cristais Laranja	Para análise 500 ml Prolabo ref 20863

TABELA

Projeto 5111.03-018

Página 07

por duas ou três vezes o resíduo com um pequeno volume de álcool etílico, repetindo por duas ou três vezes este processo. Para verificação da pureza pesar 0,04 g de DNPH purificada, dissolver em 10 ml de ACN e injetar no cromatôgrafo nas mesmas condições experimentais de injeção da amostra. O cromatograma obtido deve apresentar somente o pico referente a DNPH purificada conforme figura 2. Repetir o processo de purificação se o nível de pureza for insatisfatório.

Materiais:

Erlenmeyer 1000 ml

Kitzato 1000 ml

Condensador de bola 400 mm

Carvão filtrante n. 3

Troca de vácuo

Junta cônica adaptadora, ângulo de 105°

Junta cônica adaptadora, saída para termômetro

Termômetro com escala entre -10 C e 110 C

5.2.1.1 Preparo da solução de absorção

Pesar 4 g de DNPH purificada e dissolver completamente em 1000 ml de ACN, (4 mg/ml) conservando refrigerado até a sua utilização. Esta solução, e' estavel ate' dois meses se conservada a 0 C.

5.2.1.2 Preparo da solução padrão

Pesar, em balança analítica, aproximadamente 15 mg de cada derivado carbonílico de DNPH, transferir para um balão volumétrico com capacidade de 1000 ml e dissolver com ACN, completar o volume e homogeneizar. conservada sob refrigeração nestas

8

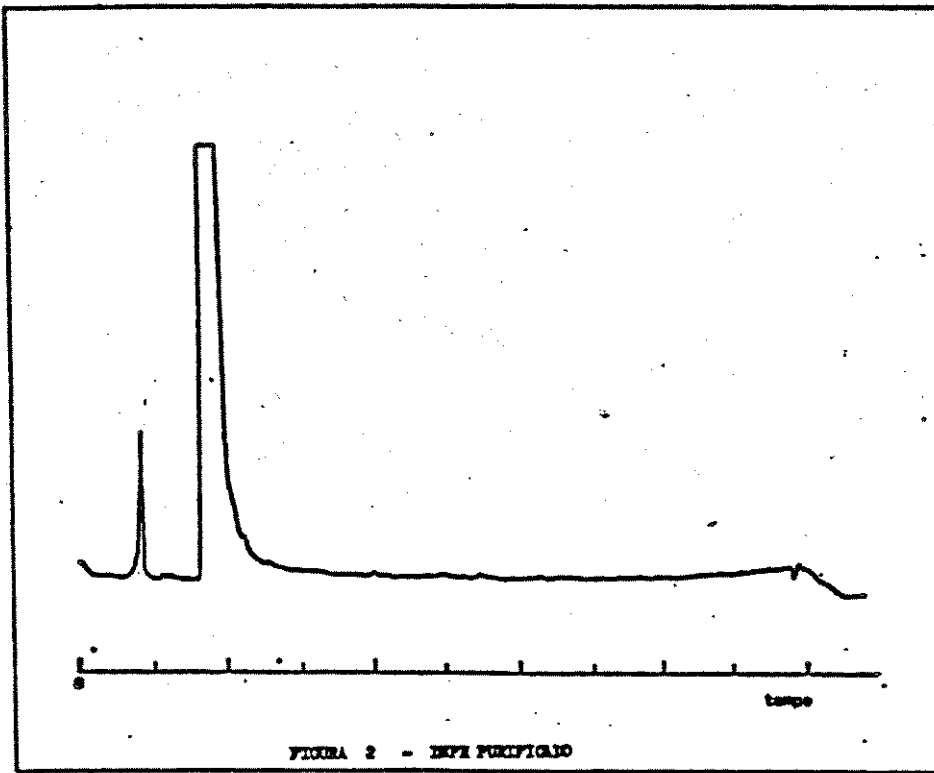


FIGURA 2 - DEFE PURIFICADO

condições esta solução e' estável por varios meses.

5.2.2 Preparo da solução de ácido perclórico 1 N.

Medir por meio de uma proveta, 85 ml de ácido perclórico concentrado, transferir lentamente para um balão volumétrico de 1000 ml contendo cerca de 500 ml de água destilada. Completar o volume e homogeneizar. A solução resultante sera' aproximadamente 1 N.

Nota: A fatoração desta solução não e' necessaria visto que seu uso se restringe basicamente a catalizar o meio reagente.

6. PADRONIZAÇÃO

6.1 Após o preparo da solução padrão, injetar no cromatógrafo e interpretar o cromatograma resultante (fig.3). Se for necessário uma melhor resolução, efetuar sucessivas diluições ate' que o cromatograma atenda as necessidades do trabalho.

O método utilizado para a determinação das concentrações dos derivados carbonílicos consiste na proporcionalidade das áreas sob os picos cromatográficos, relativos ao padrão e da amostra (método de padronização externa).

$$\frac{C}{P} = \frac{A}{\bar{A}_p}$$

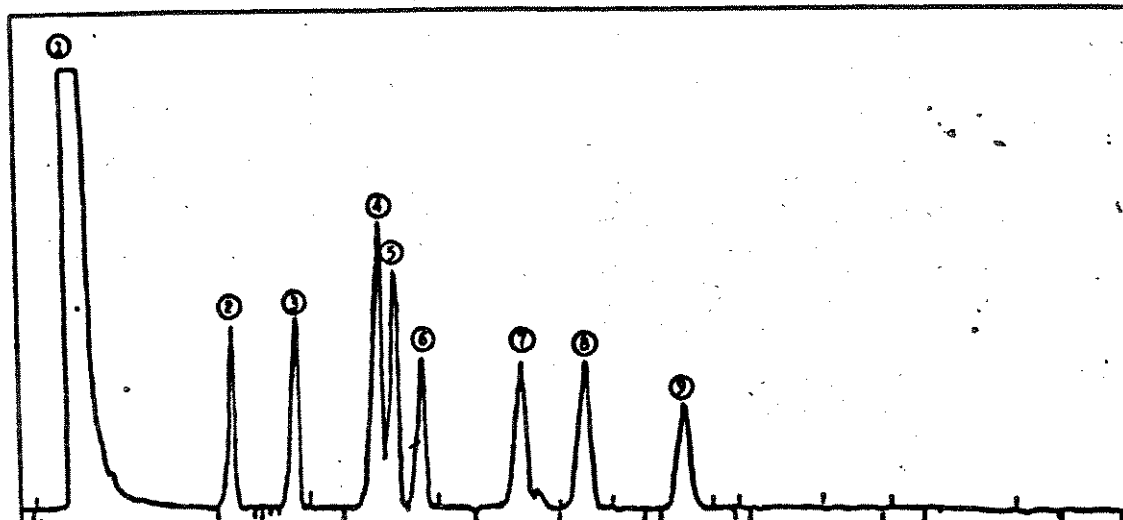
Onde:

C = concentração da amostra

C = concentração do padrão

A = área sob o pico cromatográfico da amostra

\bar{A}_p = área sob o pico cromatográfico do padrão



Injeção 10 µl
 35% H₂O, 65% ACN
 Detecção UV: 365 nm

Coluna: Zorbax COS Dupont 5,3 µm 25cm x 4,6 mm

IDENTIFICAÇÃO DOS ELEMENTOS DO CROMATOGRAMA

- ① IKPH
- ② FORMALDEÍDO
- ③ ACETALDEÍDO
- ④ ACROLEÍNA
- ⑤ ACETONA
- ⑥ PROPIONALDEÍDO
- ⑦ CROTONALDEÍDO
- ⑧ METIL - ETIL - CETONA + n- BUTIRALDEÍDO
- ⑨ BENZALDEÍDO

FIGURA 3 - CROMATOGRAMA HPLC DOS DERIVADOS IKPH PADRÃO

Projeto 14.11.03-018

pagina 011

6.2 Condições de análise

injeção de 10 µl

solução p/eluição: água: ACN(35:65)

variação: 1 ml/min

7. EXECUÇÃO DO ENSAIO

Os aldeídos e as cetonas presentes no gás de escape emitidos por um veículo, durante cada uma das três fases de um ensaio dinâmico, segundo a NBR 6601 são absorvidos em solução ACN/DNPH formando derivados carbonílicos. Tais derivados são separados, identificados e quantificados pelo processo HPLC.

7.1 Amostragem

Realizar a amostragem durante a execução do ensaio dinâmico, como segue:

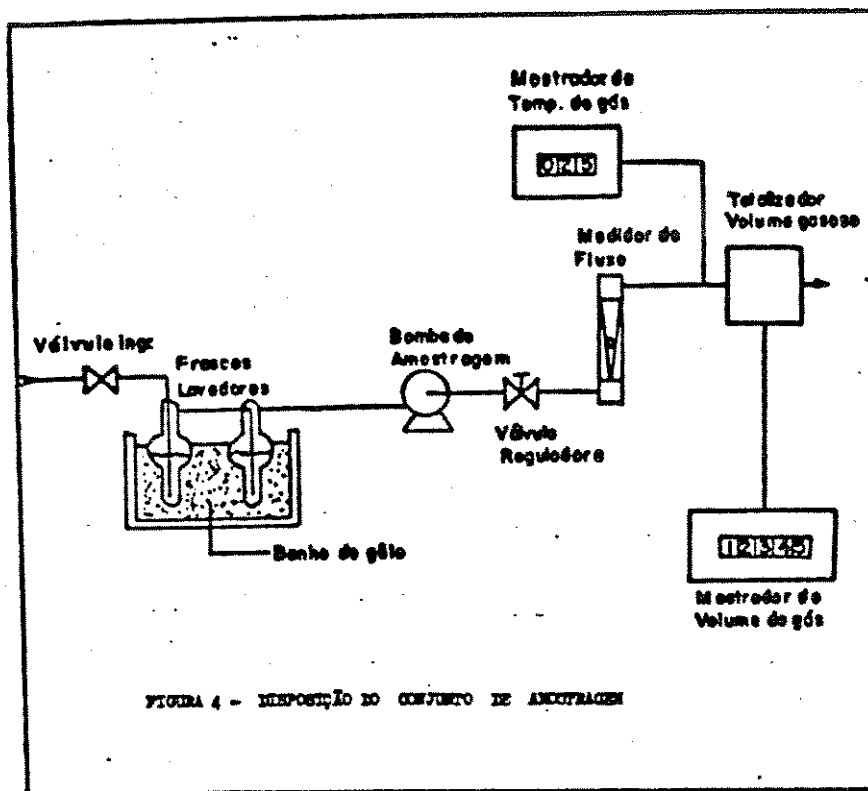
7.1.1 Conjunto de amostragem

Montar o conjunto de amostragem conforme a disposição mostrada na figura 4. Os frascos lavadores de gás (4.6) devem ser montados dois em série ^{dois a dois} sendo utilizado um par para cada fase do ciclo (fase transitória fria, fase estabilizada e fase transitória quente) e mais um par para amostragem do ar de diluição. Cada frasco lavador de gás deve conter 25 ml de solução de ACN/DNPH, medidos com pipeta volumétrica.

Adicionar, imediatamente antes de se iniciar o ensaio, 5 gotas de HClO₄ 1 N em cada frasco lavador de gás já contendo solução de ACN/DNPH.

Nota: A adição do catalizador reduz a estabilidade da solução para 24 horas.

12



7.1.2 Pontos de amostragem

Localizados próximos aos pontos de amostragem do gás de exaustão diluído e do ar de diluição, para análise conforme NBR 6601, conforme figura 5.

7.1.3 Tempo de amostragem

Efetuam a coleta das amostras durante todo o tempo de cada fase. Coletar a amostra do ar de diluição, durante ou imediatamente após o término do ensaio, de modo a se obter um volume total amostrado maior ou igual ao volume de amostra da segunda fase do ensaio.

Nota: Antes de iniciar o ensaio, purgar com ar ambiente durante 30 seg, todo o conjunto de amostragem, exceto os frascos lavadores de gás

7.1.4 Vazão de amostragem

Ajustar a vazão de amostragem do gás de exaustão entre 1,5 l/min e 3,0 l/min.

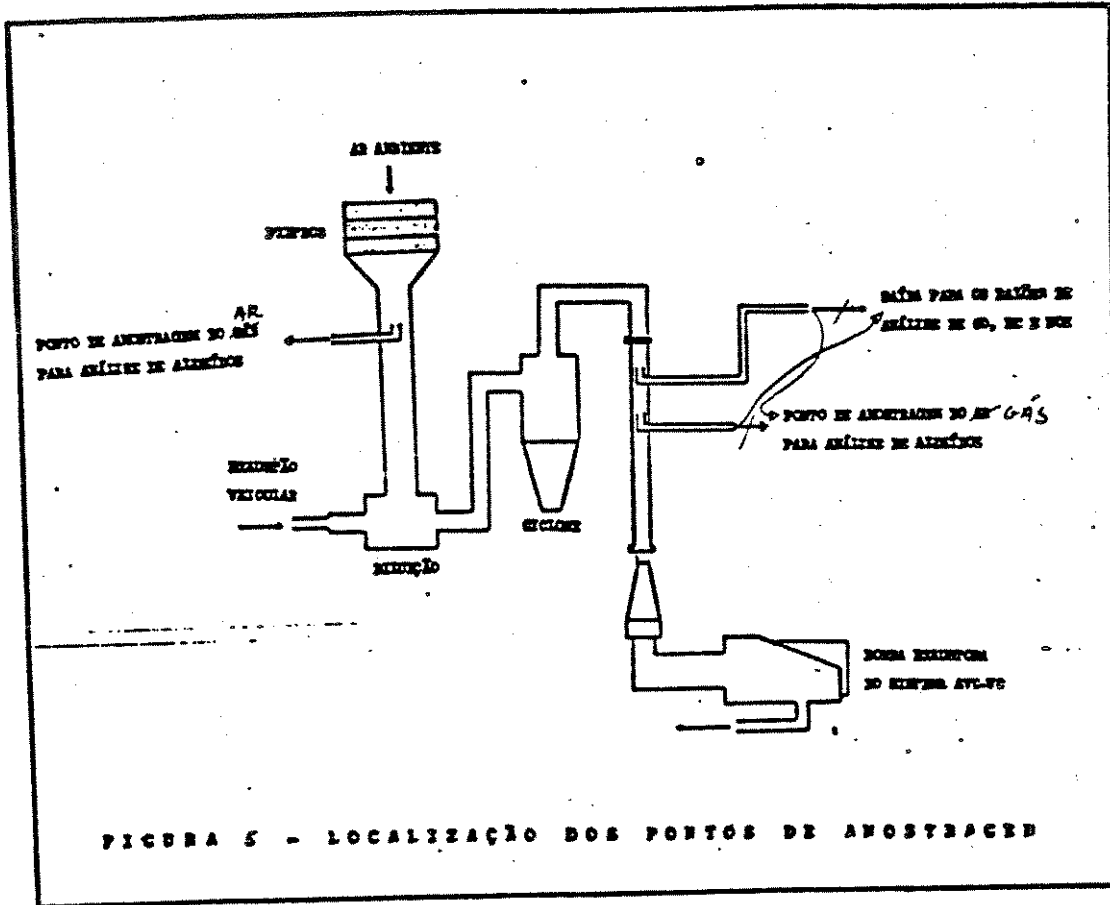
Nota 1: Não se recomenda usar vazões inferiores a 1,5 l/min para não prejudicar a sensibilidade do método, e nem vazões superiores a 3,0 l/min, para não perder solução absorvente por arraste.

Nota 2: Uma vez iniciada cada amostragem a vazão não pode ser alterada, devendo permanecer constante até o final.

7.2 Análise

7.2.1 Transferir para um balão volumétrico de 100 ml, o conteúdo dos dois frascos lavadores de gás correspondentes a cada uma das fases do ciclo de amostragem e do ar de diluição, lavar e completar o volume com ACN, e homogeneizar.

7.2.2 Injetar no cromatógrafo 10 µl da solução obtida em 7.2.1.



B. RESULTADOS

Para o cálculo dos resultados, alguns dos dados necessários são obtidos pelos equipamentos de ensaio conforme a NBR 6601.

B.1 Cálculo dos resultados

B.1.1 Correção do volume de gás amostrado em cada fase do ciclo ou do ar de diluição, de acordo com a fórmula

$$V_c = \frac{P_a \cdot V_a \cdot 293}{T_a \cdot 760}$$

Onde:

V_c = volume corrigido de gás amostrado, em l;

P_a = pressão na qual foi lido o volume amostrado, em mmHg;

V_a = leitura do volume de gás amostrado, obtido no totalizador de volume (4.9), em l;

T_a = temperatura na qual foi lido o volume amostrado, em K.

B.1.2 Cálculo das concentrações dos aldeídos ^{1 e das} cetonas no gás amostrado em cada fase do ciclo, de acordo com a fórmula

$$C_i = \frac{A_{ai} \cdot m_{pi} \cdot V_f \cdot 24,04 \cdot 10^6}{A_{pi} \cdot V_a \cdot M_d \cdot V_c}$$

Onde:

C_i = concentração de carbonilas individuais no gás amostrado, em ppmv;

A_{ai} = área sob o pico cromatográfico relativo a carbonila amostrada (i), lida no integrador;

A_{pi} = área sob o pico cromatográfico relativo a carbonila padrão;

Projeto: 0111.03-010

pagina 16

m_{pi} = massa do padrão injetado, em mg;

V_a = volume da amostra injetada (10 μ l)

M_d = peso molecular do derivado da carbonila ^{DNPH}, em mg;

V_f = volume final da solução absorvente, em μ l;

V_c = volume corrigido do gás amostrado, em l;

8.1.3 Cálculo da massa das carbonilas individuais emitidas pelo veículo, em cada fase do ciclo, de acordo com a fórmula

$$m_i = V_{tc} \cdot Dif \cdot ((C_{if} - C_{id}) \cdot (1 - 1/RD)) \cdot 10^{-6}$$

Onde:

m_i = massa das carbonilas individuais ⁽¹⁾ emitidas pelo veículo, em g/fase;

V_{tc} = volume total corrigido para as condições padrão do gás de escapamento diluído, em m^3 ;

Dif = massa específica de aldeídos ou cetonas individuais no gás de amostragem em uma determinada fase do ciclo, conforme tabela;

C_{if} = concentração dos aldeídos ou cetonas individuais ⁽¹⁾ no gás de amostragem em uma determinada fase do ciclo, em ppmv (8.1.2);

C_{id} = concentração de aldeídos ou cetonas individuais no gás amostrado para o ar de diluição, em ppmv (8.1.2);

RD = razão de diluição do gás emitido pelo veículo pelo ar de diluição.

Nota: Os valores de V_{tc} e de RD são fornecidos pelo amostrador de volume constante ou podem ser calculados conforme NBR 6601.

8.1.4 Cálculo do resultado final de aldeídos e cetonas individuais.

$$Y_i = 0,43 \cdot \frac{Y_{tf} + Y_e}{D_{tf} + D_e} + 0,57 \cdot \frac{Y_{tq} + Y_e}{D_{tq} + D_e}$$

Onde:

Y_i = emissão ponderada de aldeídos e cetonas individuais(i), em g/km;

Y_{tf} = m_i da fase transitória fria do ciclo dinamométrico, em g/fase (8.1.3)

Y_e = m_i da fase estabilizada do ciclo dinamométrico, em g/fase (8.1.3);

Y_{tq} = m_i da fase transitória quente do ciclo dinamométrico, em g/fase (8.1.3);

D_{tf} = distância percorrida pelo veículo medida durante a fase transitória fria, em km;

D_e = distância percorrida pelo veículo medida durante a fase estabilizada, em km;

D_{tq} = distância percorrida pelo veículo medida durante a fase transitória quente, em km.

Nota: os valores de D_{tf} , D_e e D_{tq} são fornecidos pelo equipamento do dinamômetro.

8.1.5 Cálculo das carbonilas totais

Somatória das carbonilas individuais, calculadas em 8.1.4.

8.2 Relatório

Do relatório devem constar:

8.2.1 Data, hora, local e número do ensaio.

8.2.2 Marca e modelo do veículo.

8.2.3 Número de identificação do veículo.

- B.2.4 Leitura do hodômetro no início do ensaio.
- B.2.5 Características mínimas que identifiquem a configuração do motor.
- B.2.6 Configurações da transmissão.
- B.2.7 Massa do veículo para ensaio.
- B.2.8 Inércia utilizada.
- B.2.9 Potência a 80,5 km/h utilizada (PRE ou PRR).
80 80
- B.2.10 Tipo de combustível.
- B.2.11 Temperatura e umidade relativa do ar ambiente.
- B.2.12 Pressão barométrica.
- B.2.13 Distância percorrida em cada fase, em km.
- B.2.14 Volume total, corrigido para condições padrão, do gás de escapamento diluídos em cada fase, em m³.
- B.2.15 Razão de diluição do gás emitido pelo veículo pelo ar de diluição, em cada fase.
- B.2.16 Vazão de amostragem do gás. proveniente dos frascos lavadores de gás (7.1.4) em cada fase, em l/min.
- B.2.17 Volume corrigido de gás amostrado pelos frascos lavadores de gases, para cada fase e para o ar de diluição (8.1.1), em l.
- B.2.18 Emissão ponderada de aldeídos e cetonas individuais (8.1.4), em g/km.
- B.2.19 Emissão ponderada de carbonilas totais, em g/km.
- B.2.20 Observações a respeito do ensaio.
- B.2.21 Nome do laboratório.
- B.2.22 Nome e assinatura do responsável.

ANEXO

OBTENÇÃO E PURIFICAÇÃO DOS DERIVADOS CARBONÍLICOS

1. Aparelhagem

- 1.1. Balança analítica com grau de incerteza de 0,01 mg.
- 1.2. Aparelho para determinação do ponto de fusão.
- 1.3. Trompa ou bomba de vácuo.
- 1.4. Kitasatos de 500 ml.
- 1.5. Flocas ou manta de aquecimento.
- 1.6. Cadinhos filtrantes com porosidade 3 ou 4.
- 1.7. Proveta graduada de 100 ml.
- 1.8. Balão volumétrico de 500 ml.
- 1.9. Bureta de 50 ml.
- 1.10. Erlenmeyer de 500 ml com tampa de vidro esmerilhada.
- 1.11. Funil de vidro, de haste longa, raiada, 60^D, 100 mm de diâmetro.
- 1.12. Papel de filtro qualitativo, de filtragem média.
- 1.13. Espátula.
- 1.14. Pesa filtro, forma alta.
- 1.15. Pisseta de polietileno de 250 ml.
- 1.16. Micro seringa de 25 µl.
- 1.17. Vidro de relógio de 80 mm de diâmetro.
- 1.18. Refrigerador.
- 1.19. Dissecador.

2. Reagentes e soluções

2.1. Reagentes

- 2.1.1. Formaldeído, p.a. (CH₂O; d:1.08).

- 2.1.2. Acetaldeído, p.a. 99% (C_2H_4O ; d:0,78).
- 2.1.3. Acroleína, para síntese 98% (C H O; d:0,84).
- 2.1.4. Acetona, p.a. 99,5% (C H O; d:0,79).
- 2.1.5. Propionaldeído, para síntese 98% (C H O; d:0,81).
- 2.1.6. Crotonaldeído, para síntese 98% (C H O; d:0,85).
- 2.1.7. n-Butiraldeído, p.a. 98% (C H O; d:0,80).
- 2.1.8. Metil etil cetona, p.a. 99,5% (C H O; d:0,80).
- 2.1.9. Benzaldeído, p.a. (C H O; d:1,04).
- 2.1.10. Ácido clorídrico, p.a. (HCl; d:1,19).
- 2.1.11. Álcool etílico, p.a. 99,5% (C H OH; d:0,785).

2.2. Soluções

2.2.1. Solução de ácido clorídrico 2N.

Medir por meio de uma proveta 85 ml de ácido clorídrico, transferir lentamente para um balão volumétrico de 500 ml contendo cerca de 250 ml de água destilada, completar o volume e homogeneizar. A solução resultante será aproximadamente 2N.

2.2.1.1. Solução DNPH/HCl

Pesar aproximadamente 1 g de DNPH purificado adicionar 250 ml de ácido clorídrico 2N em um erlenmeyer, dissolver durante uma hora em banho de gelo (agitar frequentemente para favorecer a dissolução), mantendo a solução em banho de gelo. Filtrar a solução, se a dissolução não for total.

2.2.1.2. Preparo dos derivados carbonílicos de DNPH

Adicionar separadamente 15 ml a 20 ml de cada aldeído ou cetona em 20 ml de solução de DNPH/HCl. Um precipitado de cor amarela, vermelha ou laranja, se formará rapidamente dependendo do aldeído ou cetona utilizado, agitar levemente e manter a solução em banho de gelo.

Filtrar a solução em cadinho filtrante, com o auxílio de vácuo. Lavar o precipitado sucessivamente com a solução de ácido clorídrico 2N para eliminar o DNPH em excesso. Redissolver o precipitado em uma quantidade mínima de álcool etílico purificado e quente.

Após dissolução resfriar novamente em banho de gelo para recristalizar o derivado; aguardar 5 horas (no mínimo) até se obter a máxima quantidade de cristais.

Filtrar novamente o precipitado em cadinho filtrante com o auxílio de vácuo. Secar os derivados assim obtidos a 40 °C (aproximadamente) e mantê-los em dessecador. A pureza dos derivados deve ser controlada por determinação do ponto de fusão conforme tabela e da análise cromatográfica. Preparar uma solução individual de cada derivado, pesar em balança analítica

aproximadamente 15 mg, transferir para um balão volumétrico com capacidade de 1000 ml e dissolver com ACN. Completar o volume, homogeneizar e injetar 10 µl no cromatografo. Repetir este procedimento a cada troca de coluna e anotar os tempos de retenção de cada derivado para a nova coluna.

Caso não sejam obtidos os níveis de pureza desejados, recristalizar os derivados novamente até se obter os graus de pureza especificados.

ANEXO II

RESULTADOS DE DETERMINAÇÕES DE ALDEÍDOS E CETONAS EM GÁS
DE ESCAPAMENTO DE VEÍCULOS AUTOMOTORES MOVIDOS A ÁLCOOL
E A GASOLINA, REALIZADAS NA FIAT EM BETIM-MG, CONFORME
PROJETO DE NORMA 5:11.03-318 DA ABNT.

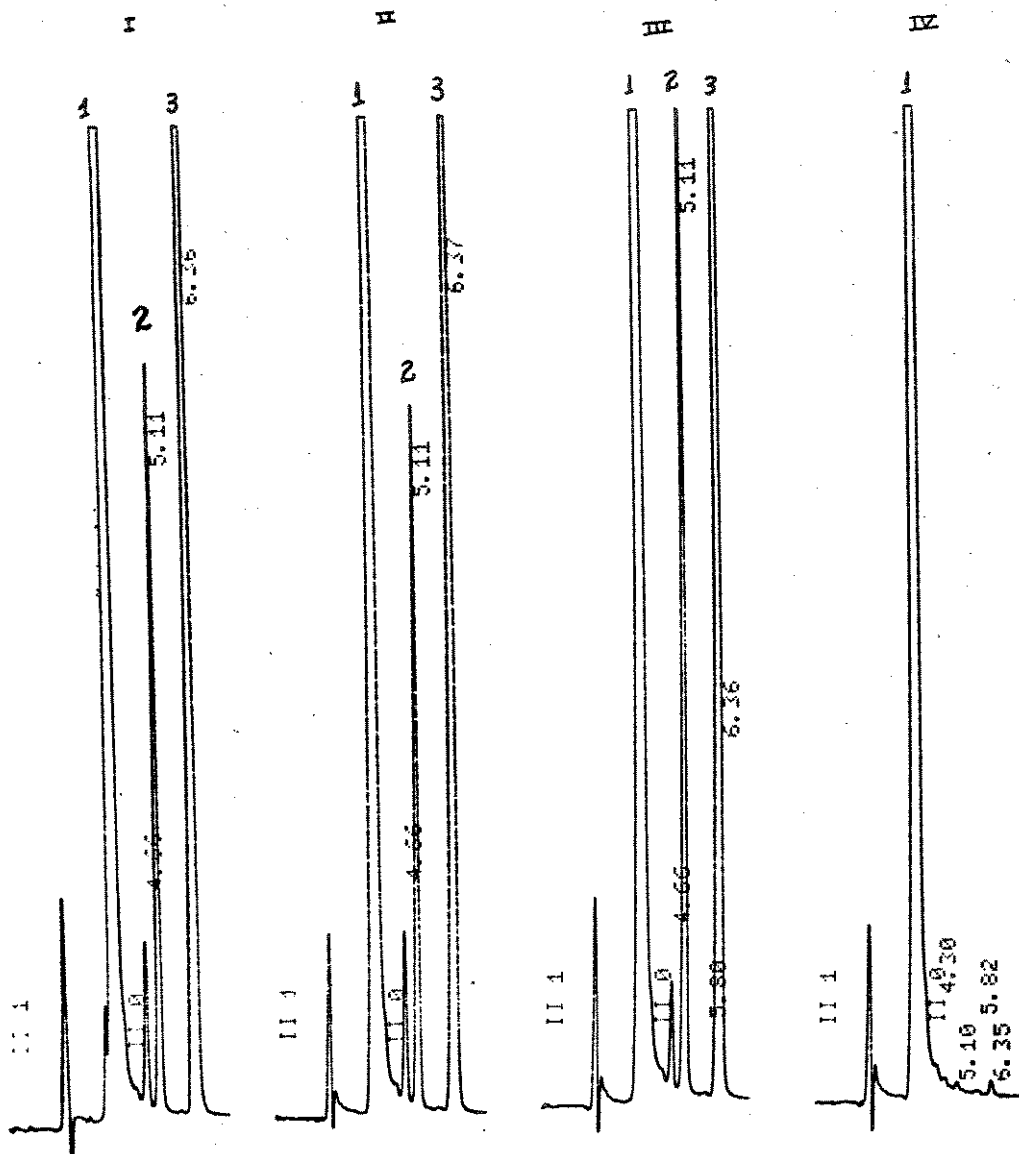


FIG. 1A - I, II e III: cromatogramas obtidos da determinação de aldeídos e cetonas no gás de escape de um veículo movido a álcool. IV - cromatograma do ar de diluição. 1 - DNFH; 2 - DNFHo do formaldeído; 3 - DNFHo do acetaldeído. Equipamento B (item III.1); coluna ZORBAX-ODS; fase móvel: acetonitrila/água, 65:35, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10 μ l; detecção: UV-Visível (365nm).

TABELA IA - RESULTADOS DOS GASES DO ESCAPAMENTO DE UM CARRO MOUIDO A ALCOOL, DETERMINADOS NA FIAT, EM BETIM-MG.

DADOS:	CICLO URBANO	CICLO URBANO	CICLO URBANO	CICLO
	FASE I	FASE II	FASE III	ESTRADA
Horario:	8.40	8.49	9.12	9.34
Massa comb. (g)	620	609	479	1215
Dist. perc. (km)	5.727	6.197	5.748	16.450
Violacoes (s)	0	0	0	0
Temp. amb. (c)	21.50	21.50	21.50	21.00
Pres. b. (mmHg)	691.2	691.6	691.9	691.9
U. rel. ar (%)	52.0	50.0	50.0	-
Vol. amost. (m3)	58.16	100.41	58.19	-
Razao diluicao	12.80	20.95	14.97	-

CONCENTRACOES:

	AR		EMISSAO		AR		EMISSAO		AR		EMISSAO	
CO (ppm)	1.0	693.0	1.1	313.5	1.0	389.0						
CO ₂ (%)	0.039	0.939	0.039	0.597	0.039	0.837						
HC (ppm)	8.3	384.0	8.2	112.5	8.3	195.0						
NO _x (ppm)	0.000	95.7	0.000	45.8	0.000	115.5						
CH ₂ O (ppm)	0.0059	1.2058	0.0059	1.2073	0.0059	1.2039						
C ₂ H ₄ O (ppm)	0.0111	5.6060	0.0111	2.8886	0.0111	3.9655						

MARCA LENTA: CO (%): 1.1 HC (ppm): 40 rpm: 800

RESULTADOS: EMISSOES

	CICLO URBANO		CICLO URBANO		CICLO URBANO		MEDIA
	FASE I		FASE II		FASE III		
	g/FASE	g/KM	g/FASE	g/KM	g/FASE	g/KM	
CO	46.85	8.18	36.52	5.89	26.29	4.57	6.00
HC	12.63	2.20	6.06	0.98	6.29	1.09	1.26
NO _x	10.12	1.77	8.27	1.33	12.08	2.10	1.63
CO ₂	961.2	167.8	1028.8	166.0	852.6	148.3	161.54
CH ₂ O	0.0072	0.0152	0.01507	0.0243	0.0071	0.0152	0.0199
C ₂ H ₄ O	0.5964	0.1041	0.5295	0.0855	0.4217	0.0734	0.0860
Aldeidos	0.6836	0.1194	0.6803	0.1098	0.5088	0.0825	0.1059

NOTA : O ALCOOL USADO NO TESTE FOI O ALCOOL ETILICO HIDRATADO COMBUSTIVEL.

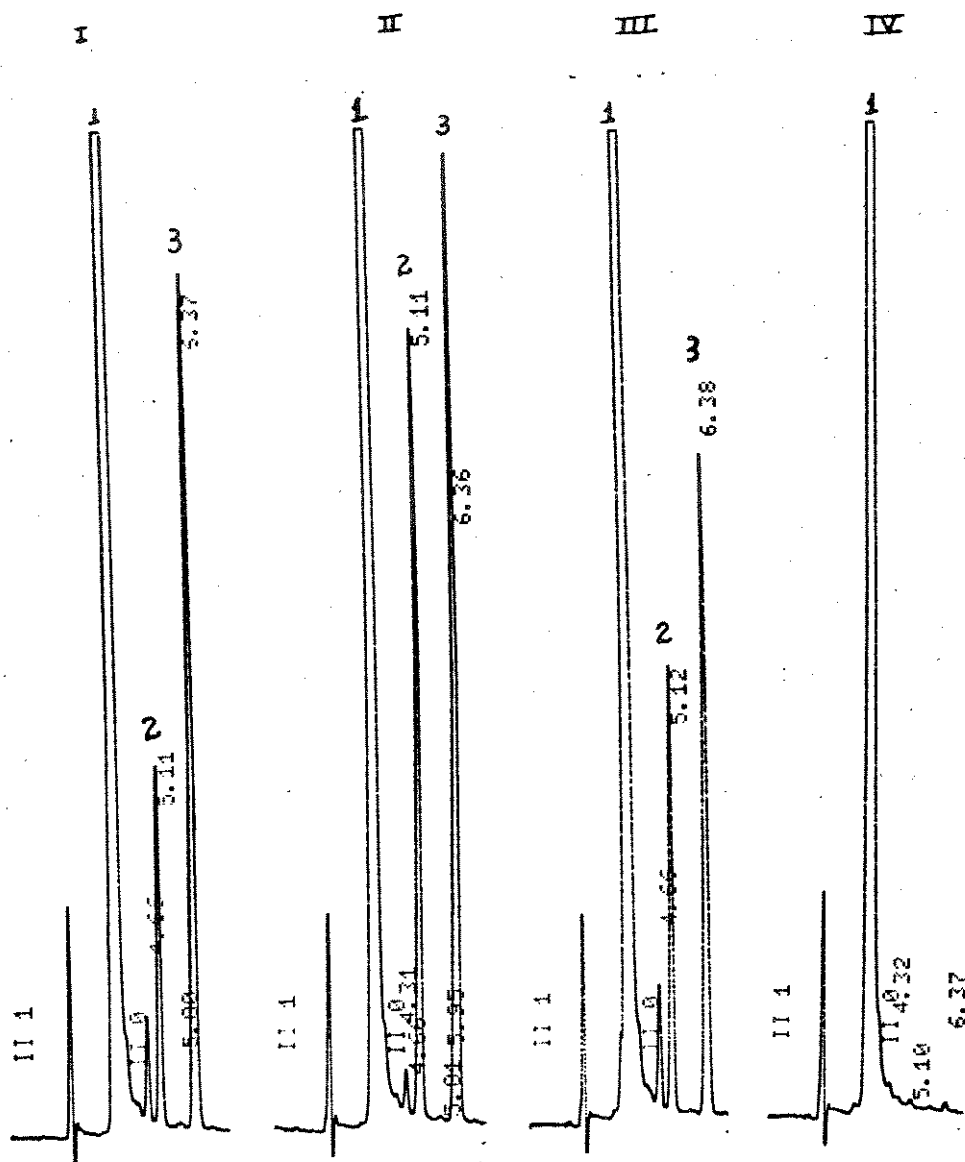


FIG. 2A - I, II e III: cromatogramas obtidos da determinação de aldeídos e cetonas no gás de escape de um veículo movido a gasolina. IV- cromatograma do ar de diluição. 1 - DNFHi; 2 - DNFHO do for maldeído; 3 - DNFHO do acetaldeído. Equipamento B (item III.1); coluna ZORBAX-DDS; fase móvel: acetonitrila/água, 65:35, v/v; vazão: 1,0mL/min; volume injetado: 10ul; detecção: UV-Visível (365nm).

TABELA IIA - RESULTADOS DOS GASES DO ESCAPAMENTO DE UM CARRO MOUIDO A GASOLINA, DETERMINADOS NA FIAT, EM BETIM-MG.

DADOS:

	CICLO URBANO FASE I	CICLO URBANO FASE II	CICLO URBANO FASE III	CICLO ESTRADA
Horario:	10.00	10.09	10.32	0.00
Dist.perc. (km)	5.762	6.163	5.793	0.000
Voltaçoes (s)	0	0	0	0
Temp.amb. (c)	23.00	23.50	23.00	0.00
Pres.b. (mmHg)	692.5	692.5	692.5	0.0
U.rel.ar (%)	50.0	48.0	50.0	-
Vol.amost. (m ³)	57.96	100.10	57.94	-
Razao diluicao	10.76	17.28	12.05	-

CONCENTRAÇÕES:

	AR	EMISSAO	AR	EMISSAO	AR	EMISSAO
CO (ppm)	1.5	1083.0	1.2	322.5	1.1	427.5
CO ₂ (%)	0.039	1.692	0.036	0.726	0.039	0.978
HC (ppm)	9.5	452.0	10.7	171.6	10.0	221.7
NO _x (ppm)	0.000	111.0	0.000	49.9	0.000	117.6
CH ₂ O (ppm)	0.0023	0.5719	0.0023	0.7244	0.0023	0.7330
C ₂ H ₄ O (ppm)	0.0100	1.4212	0.0100	0.9204	0.0100	1.1304

MARCA LENTA: CO (%): 1.5 HC (ppm): 130 rpm: 850

RESULTADOS: EMISSOES

	CICLO URBANO FASE I		CICLO URBANO FASE II		CICLO URBANO FASE III		MEDIA
	g/FASE	g/KM	g/FASE	g/KM	g/FASE	g/KM	g/KM
CO	72.98	12.67	37.44	6.08	28.76	5.02	7.15
HC	14.82	2.57	9.33	1.51	7.10	1.24	1.66
NO _x	11.87	2.06	9.19	1.49	12.57	2.19	1.80
CO ₂	1120.8	194.5	1127.8	205.7	998.8	174.2	194.73
CH ₂ O	0.0410	0.0671	0.0098	0.0146	0.0526	0.0092	0.0115
C ₂ H ₄ O	0.1499	0.0260	0.1070	0.0271	0.1190	0.0208	0.0281
Alcedos	0.1909	0.0331	0.2568	0.0417	0.1716	0.0299	0.0367

NOTA : A GASOLINA USADA NO TESTE FOI A GASOLINA PADRAO COM 22% DE ETANOL ANIDRO.

ANEXO III

**ESPECTROS DE ABSORÇÃO DE
LUZ ULTRAVIOLETA E VISÍVEL DAS
2,4-DINITROFENILHIDRAZONAS ESTUDADAS**

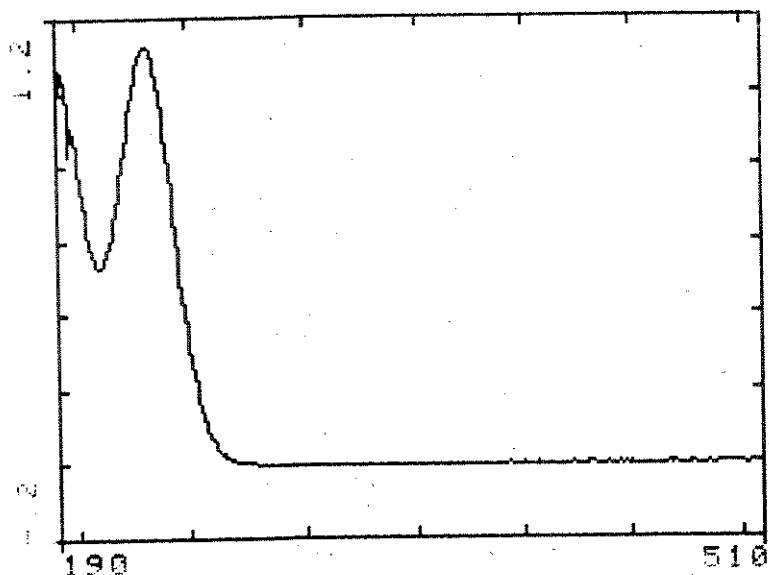


FIG. 1B - Espectro de absorção de luz UV-visível da acetonitrila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array. $\lambda_{\text{max}} = 231\text{nm}$.

FIG. 2B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo do formaldeído em acetonitrila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array. $\lambda_{\text{max}} = 351\text{nm}$.

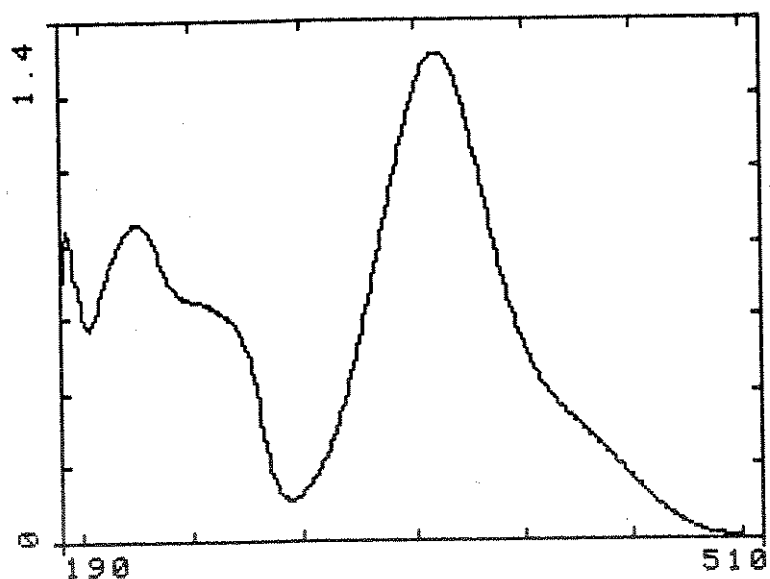
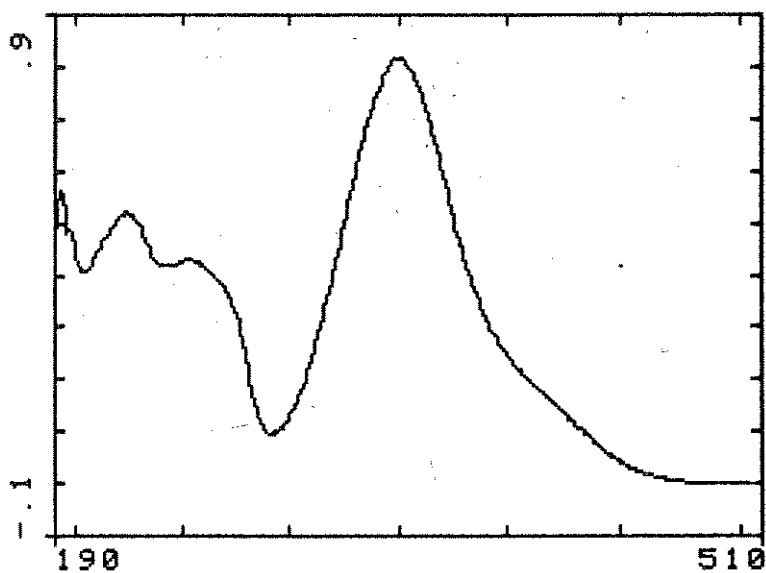


FIG. 3B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo do acetaldeído em acetonitrila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array. $\lambda_{\text{max}} = 361\text{nm}$.

FIG. 4B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo da acroleína em acetonitrila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array.
 $\lambda_{max} = 371\text{nm}$.

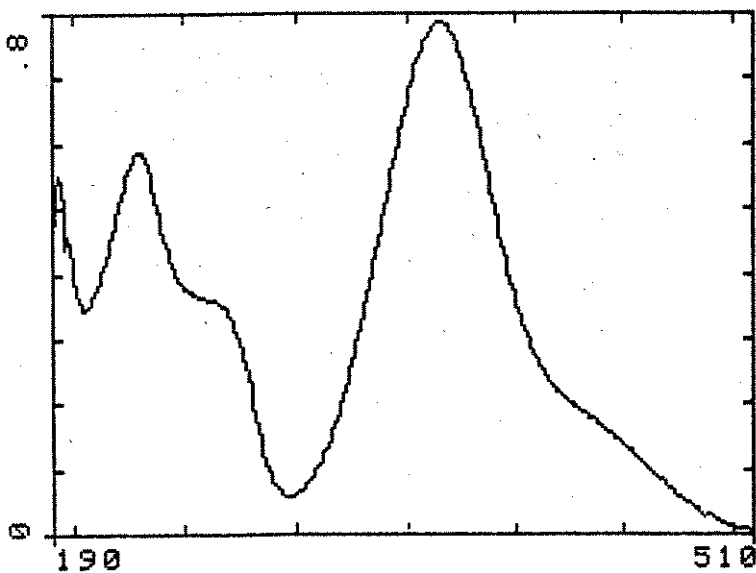
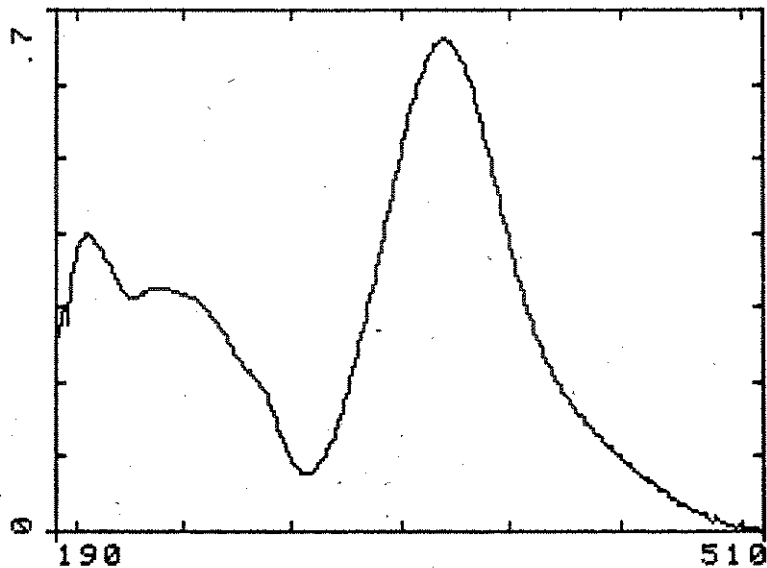
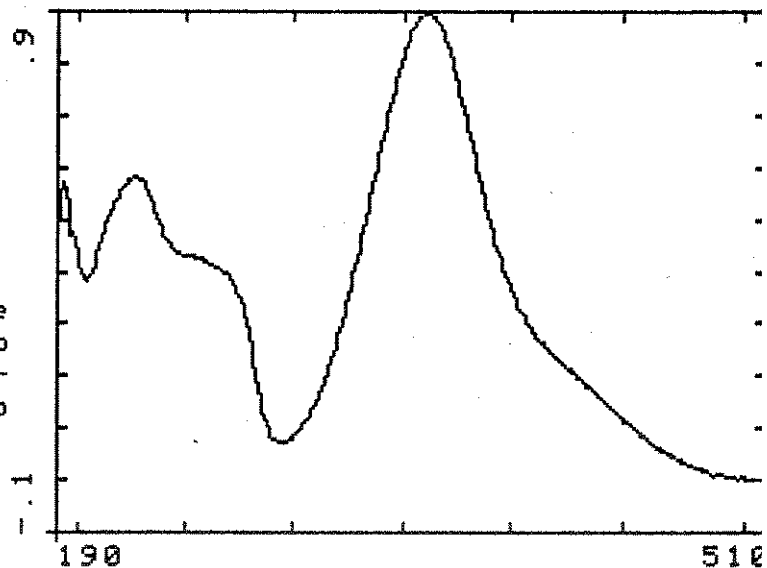


FIG. 5B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo da acetona em acetonitrila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array.
 $\lambda_{max} = 365\text{nm}$.

FIG. 6B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo do propionaldeído em acetonitrila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array.
 $\lambda_{max} = 362\text{nm}$.



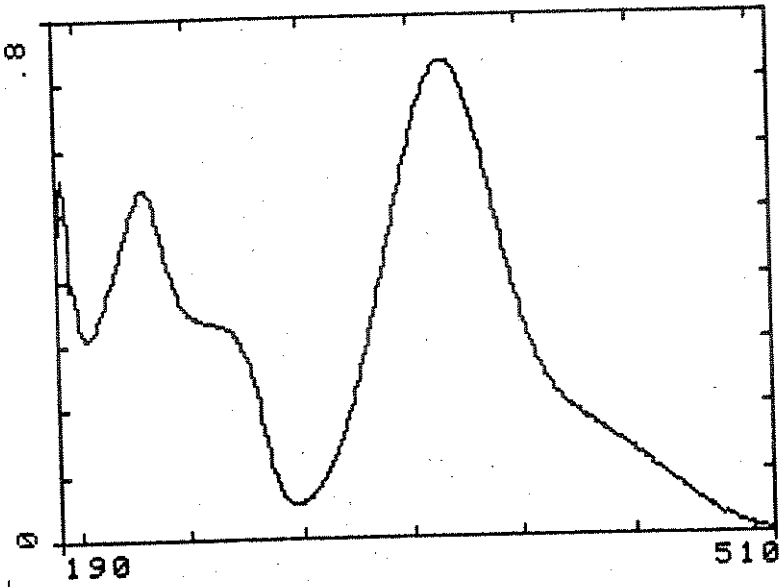


FIG. 7B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo da butanona em acetone-trila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array. $\lambda_{max} = 366$.

FIG. 8B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo do butiraldeído em acetone-trila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array. $\lambda_{max} = 362nm$.

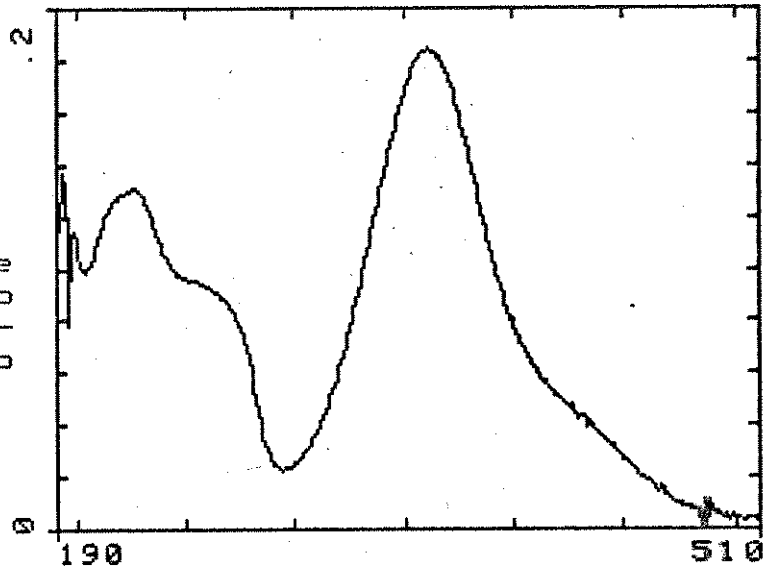


FIG. 9B - Espectro de absorção de luz UV-visível da DNFHo do benzaldeído em acetone-trila. Equipamento HP 8451A, Diode-Array. $\lambda_{max} = 381nm$.

