

Leonardo Luiz Okumura

“Desenvolvimento de Método para Determinação de Acetaldeído em
Álcool Etílico Hidratado Combustível por Cromatografia Líquida de
Alta Eficiência com Detecção Eletroquímica”

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Instituto de Química – Câmpus de
Araraquara da Universidade Estadual
Paulista, como requisito para
obtenção do título de Mestre, no curso
de pós-graduação em Química, área
de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA

Araraquara

2003

Agradeço à Deus...



... pela VITÓRIA !

SUMÁRIO

SUMÁRIO	II
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABELAS	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT.....	XV
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Álcool Etílico Hidratado Combustível (AEHC).....	1
1.1.1 A matéria-prima.....	1
1.1.2 Processo de Produção Industrial.....	2
1.1.3 Contaminantes presentes no AEHC	7
1.2 Proálcool.....	8
1.3 Legislação brasileira referente ao Álcool.....	8
1.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (C.L.A.E.)	10
1.5 Detector Eletroquímico.....	13
1.6 Comportamento Eletroquímico do Acetaldeído	17

1.6 Métodos de Determinação de Aldeídos.....	18
1.7. Toxicologia do Acetaldeído ^[22] (AcH).....	22
2. OBJETIVO	24
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	25
3.1 Estudo Cromatográfico	25
3.2 Estudo Voltamétrico	26
3.3 Soluções.....	27
3.4 Síntese da 2,4–dinitrofenilhidrazona (AcH–DNPHo)	27
3.5 Caracterização da 2,4–dinitrofenilhidrazona (AcH–DNPHo).....	29
3.5.1 Ponto de Fusão	29
3.5.2 Análise Elementar.....	29
3.5.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (F.T.I.R.)	29
3.6 Coleta das amostras comerciais de AEHC.....	30
3.7 Análise espectrofotométrica das amostras comerciais de AEHC	30
3.8 Preparação da 2,4–dinitrofenilhidrazona nas amostras comerciais de AEHC.....	30

3.9 Determinação do acetaldeído em amostras comerciais de AEHC	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 Comportamento Eletroquímico do Acetaldeído e do AcH–DNPHo....	32
4.1.1 Caracterização Voltamétrica do Acetaldeído sobre Eletrodo de Mercúrio	32
4.1.2 Caracterização Voltamétrica do Acetaldeído sobre Eletrodo de Carbono Vítreo	42
4.1.3 Caracterização Voltamétrica do Acetaldeído Derivado (AcH–DNPHo) sobre Eletrodo de Carbono Vítreo	48
4.2 Mecanismo de Redução Eletroquímica do Acetaldeído (AcH) em meio aquoso	52
4.3 Caracterização do Acetaldeído derivado (AcH–DNPHo).....	53
4.3.1 Ponto de Fusão (P.F.).....	54
4.3.2 Análise Elementar de C, H e N.....	54
4.3.3 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (I.V.)...	55
4.4 Estudo Cromatográfico	57
4.4.1 Influência da Composição da Fase Móvel	57
4.4.2 Influência da Vazão na Fase Móvel	59
4.4.3 Otimização do Potencial no Eletrodo de Trabalho	61

4.5 Metodologia Cromatográfica para Determinação de Acetaldeído.....	65
4.6 Caracterização da Reação de Derivação “ <i>In Situ</i> ”.....	70
4.6.1 Reação de Derivação das Amostras Comerciais de AEHC.....	70
4.6.2 Estudo da Estabilidade do Produto Formado (AcH–DNPHo).....	72
4.6.3 Estudo da solução solvente utilizada na diluição dos padrões de AcH–DNPHo	75
4.7 Estudo da Composição das Amostras Comerciais de AEHC por Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta e do Visível (UV/Vis)	76
4.8 Quantificação do Acetaldeído em AEHC utilizando–se Derivação “ <i>in situ</i> ”.....	78
5. CONCLUSÕES	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
APÊNDICE A	91
APÊNDICE B	97
APÊNDICE C	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de blocos, dos componentes importantes de uma equipamento simples de C.L.A.E.....	11
Figura 2. Ilustração do conceito da detecção eletroquímica em C.L.A.E... 14	14
Figura 3. Características fundamentais da D.E e da C.L.A.E.....	15
Figura 4. Corte transversal em uma célula eletroquímica.....	16
Figura 5. Células eletroquímicas utilizadas em C.L.A.E. com detecção eletroquímica A) fluxo, B) “thin-layer” e C) “wall-jet”.	16
Figura 6. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de eletrólito suporte contendo KH_2PO_4 $0,1$ mol L^{-1} sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$	33
Figura 7. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de eletrólito suporte contendo $LiOH$ $0,1$ mol L^{-1} sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$	35
Figura 8. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em solução de eletrólito suporte contendo $LiCl$ $0,1$ mol L^{-1} sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$	36
Figura 9. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Curva a) solução de $LiOH$ $0,1$ mol L^{-1} e b) solução de $LiCl$ $0,1$ mol L^{-1} . Velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$	37
Figura 10. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $7,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} presente na mistura de eletrólito suporte contendo 60/40 % de $LiOH$	

- + LiCl 0,1 mol L⁻¹ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio.
 Velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. 39
- Figura 11. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído 7,0 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ presente na mistura de eletrólito suporte contendo 60/40 % de LiOH + LiCl 0,1 mol L⁻¹ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidades de varredura: (—) 10 mV s⁻¹, (—) 20 mV s⁻¹, (—) 30 mV s⁻¹, (—) 50 mV s⁻¹, (—) 100 mV s⁻¹, (—) 150 mV s⁻¹, (—) 200 mV s⁻¹, (—) 300 mV s⁻¹ e (—) 500 mV s⁻¹. 40
- Figura 12. Corrente de pico obtida em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial a partir do voltamograma de acetaldeído 7,0 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ presente na mistura de eletrólito suporte composta por 60/40 % de LiOH + LiCl em eletrodo de gota pendente de mercúrio. 41
- Figura 13. Voltamogramas cíclicos da redução do acetaldeído 5,0 × 10⁻² mol L⁻¹ sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva a) solução de LiCl 0,1 mol L⁻¹ e b) solução de LiOH 0,1 mol L⁻¹. Velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹. 43
- Figura 14. Voltamogramas cíclicos da redução do acetaldeído 5,0 × 10⁻² mol L⁻¹ em uma solução de eletrólito suporte contendo LiOH_(aq) 0,1 mol L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidades de varredura: (—) 10 mV s⁻¹, (—) 50 mV s⁻¹, (—) 80 mV s⁻¹, (—) 150 mV s⁻¹, (—) 200 mV s⁻¹ e (—) 300 mV s⁻¹. 44
- Figura 15. Corrente de pico obtida em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial a partir do voltamograma do acetaldeído 5,0 × 10⁻² mol L⁻¹ presente na solução de eletrólito suporte composta por LiOH 0,1 mol L⁻¹, em eletrodo de carbono vítreo. 45

- Figura 16. Voltamograma cíclico sucessivo do acetaldeído $1,0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} em uma mistura de eletrólito suporte contendo LiCl + LiOH $0,1$ mol L^{-1} , em eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura de 50 $mV s^{-1}$ 48
- Figura 17. Voltamograma cíclico da redução do AcH–DNPHo $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em uma solução de eletrólito suporte contendo uma solução de acetonitrila / PTBA $0,1$ mol L^{-1} em eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$ 50
- Figura 18. Voltamogramas cíclicos correspondentes à de redução de (a) AcH–DNPHo e (b) DNPHi, ambos $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$ em solução de eletrólito suporte contendo acetonitrila / PTBA $0,1$ mol L^{-1} 51
- Figura 19. Voltamograma cíclico da redução do AcH–DNPHo $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em uma solução de eletrólito suporte contendo uma solução de etanol / PTBA $0,1$ mol L^{-1} em eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura de 100 $mV s^{-1}$ 52
- Figura 20. Espectro de absorção no infravermelho do composto de derivação DNPHi, em pastilha de KBr 56
- Figura 21. Espectro de absorção no infravermelho do derivado AcH–DNPHo, em pastilha de KBr 56
- Figura 22. Influência da variação na vazão da fase móvel para a determinação de AcH–DNPHo utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm D.I.; $5 \mu m$) da Shimadzu e fase móvel contendo uma solução metanol – LiCl_(aq) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} (80:20% v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo a $+ 1,0$ V..... 61
- Figura 23. Voltamogramas hidrodinâmicos de a) oxidação e b) redução do AcH–DNPHo (50 $mg L^{-1}$) em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl.

- Fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v)..... 63
- Figura 24. Cromatograma referente à eluição da solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}$; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em + 1,0 V. Identificação dos picos: 1= AcH–DNPHo. 66
- Figura 25. Cromatograma referente à eluição da solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}$; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em – 0,8 V..... 67
- Figura 26. Curva analítica obtida a partir das soluções de AcH–DNPHo. Detecção eletroquímica, no módulo de oxidação em +1,0 V; equação da reta $A = 3518660 + 100155,2 [\text{AcH–DNPHo}]$ e coeficiente correlação linear de 0,9998. 69
- Figura 27. Volume da solução de DNPHi necessária para conversão do acetaldeído presente na amostra A_9 obtido em sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica no módulo de oxidação em +1,0 V em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl. utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}$; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v)..... 71
- Figura 28. Cromatograma referente à eluição do AcH–DNPHo obtido imediatamente após a injeção de $20 \mu\text{L}$ da amostra A_9 derivada, utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}$; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e

- vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em $+1,0 \text{ V}$. Identificação dos picos: 1= DNPHi; 2= AcH–DNPHo. 73
- Figura 29. Cromatograma C.L.A.E. referente à eluição do AcH–DNPHo obtido pela injeção de $20 \mu\text{L}$ da amostra A_9 derivada após 12 horas do início da reação de derivação, utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm}$ d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em $+1,0 \text{ V}$. Identificação dos picos: 1= DNPHi; 2= AcH–DNPHo. 74
- Figura 30. Cromatograma referente à eluição da solução solvente etanol absoluto–água (95:5 % v/v), utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm}$ d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em $+1,0 \text{ V}$ 75
- Figura 31. Espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta e do visível (UV/Vis) das amostras comerciais de AEHC. 77
- Figura 32. Cromatograma C.L.A.E. referente à eluição do AcH–DNPHo presente na amostra comercial de AEHC (A_4), utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm}$ d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em $+1,0 \text{ V}$. Identificação dos picos: 1= DNPHi; 2= AcH–DNPHo. 78
- Figura 33. Cromatograma C.L.A.E. referente à eluição de outras substâncias presente na amostra comercial de AEHC (A_4), utilizando-se

- coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em $+ 1,0 \text{ V}$. Identificação dos picos: 1= DNPHi; 2= AcH–DNPHo. 79
- Figura 34. Esquema de um voltamograma cíclico reversível representando a obtenção dos principais parâmetros eletroquímicos. 101
- Figura 35. Espectro na região UV/Vis para análise de acetaldeído utilizando-se fase móvel contendo metanol – cloreto de lítio $_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 % v/v) com fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ de AcH–DNPHo 100 mg L^{-1} em uma coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu. 103
- Figura 36. Cromatograma da eluição da solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção espectrofotométrica em 365 nm . Identificação dos picos: 1= AcH–DNPHo. 104
- Figura 37. Curva analítica obtida a partir das soluções de AcH–DNPHo. Detecção espectrofotométrica em 365 nm ; equação da reta $A = -275818,65 + 87171,868 [\text{AcH–DNPHo}]$, coeficiente correlação linear = $0,9999$, RSD = $5,6 \%$ e limite de detecção de $2,03 \text{ mg L}^{-1}$ 104

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Portaria da ANP (nº 2) que estabelece critérios de qualidade para o Álcool, anidro e hidratado, para uso como combustível.	9
Tabela 2. Características importantes dos detectores mais utilizados em C.L.A.E. ^[5]	13
Tabela 3. Emissão de acetaldeído e suas fontes poluidoras nos E.U.A. ^[22]	23
Tabela 4. Influência da composição da mistura de eletrólito suporte sobre o potencial de pico (E_p) na redução de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}	38
Tabela 5. Influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre os parâmetros voltamétricos (I_{pC} e E_{pC}) obtidos a partir do voltamograma de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ presente na mistura de eletrólito suporte composta por 60/40 % de LiOH + LiCl em eletrodo de gota pendente de mercúrio.	42
Tabela 6. Influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre os parâmetros voltamétricos (I_{pC} e E_{pC}) obtidos a partir do voltamograma de acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ presente na solução de eletrólito suporte composta por LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de carbono vítreo.....	46
Tabela 7. Determinação do Ponto de Fusão (P.F.).....	54
Tabela 8. Análise elementar da DNPHi e do AcH–DNPHo	55
Tabela 9. Determinação de acetaldeído nas AEHC por C.L.A.E. com detecção eletroquímica.	80

Tabela 10. Avaliação da recuperação do AcH–DNPHo, em amostras de etanol combustível, pelo método da adição de padrão em C.L.A.E. com detecção eletroquímica.	82
Tabela 11. Parâmetros cromatográficos referente à eluição do AcH–DNPHo presente nas amostras comerciais de AEHC obtidos por C.L.A.E. com detecção eletroquímica.	92
Tabela 12. Determinação de AcH nas amostras de AEHC por C.L.A.E. com detecção espectrofotométrica.	105

RESUMO

O comportamento cíclico voltamétrico do acetaldeído e seu derivado foi estudado em eletrodo de gota pendente de mercúrio e carbono vítreo. Este estudo foi utilizado na otimização das condições para a detecção eletroquímica desses compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (C.L.A.E.). O acetaldeído foi derivado com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPHi) e o produto, a 2,4-dinitrofenilhidrazona do acetaldeído (AcH-DNPHo) foi eluída e separada por coluna de fase reversa C₁₈ em condições isocráticas com fase móvel contendo uma mistura binária de metanol-solução aquosa de cloreto de lítio (LiCl) com concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ M (80:20% v/v) e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. A detecção eletroquímica (D.E.) do AcH-DNPHo foi realizada por C.L.A.E. com potencial fixado em + 1,0 V vs eletrodo de referência Ag/AgCl. O método proposto foi simples, rápido (tempo de análise 7 min.), com limite de detecção $3,80 \text{ mg L}^{-1}$, altamente seletivo, e reprodutível [desvio padrão relativo 8,2% (n=12)]. A curva analítica do AcH-DNPHo foi linear na faixa compreendida de 0 – 300 mg L^{-1} , com índice de correlação linear 0,9998. A concentração de acetaldeído determinada em amostras de álcool combustível foi de 83 – 341 mg L^{-1} com desvio padrão de 1 – 6 %, na variação da área de pico e recuperação superior a 99%. A quantidade do teor de acetaldeído encontrado nestas amostras foi significativamente alta e os resultados obtidos foram comparados com o método de detecção espectrofotométrica (UV/Vis).

Palavras-chaves: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; Detecção Eletroquímica; Acetaldeído, Álcool Combustível.

ABSTRACT

The cyclic voltammetric behaviour of acetaldehyde and their derivatives has been studied at a hanging drop mercury and glassy carbon electrode. This study was used to optimise the conditions for the electrochemical detection of these compounds following high-performance liquid chromatographic (H.P.L.C.) separation. The acetaldehyde was derivatized with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPHi) and the product 2,4-dinitrophenylhydrazone (AcH-DNPHo) was eluted and separated by reversed-phase column C₁₈ in isocratic conditions with mobile phase containing binary mixture of methanol-chloride lithium aqueous solution with concentration $1,0 \times 10^{-3}$ M (80:20% v/v) and flow rate of 1.0 mL min^{-1} . The electrochemical detection (E.D.) of AcH-DNPHo was performed by H.P.L.C. set at +1.0 V vs Ag/AgCl as reference electrode. The proposed method was simple, rapid (analysis time 7 min), with detection limit 3.80 mg L^{-1} , highly selective, and reproducible [relative standard deviation 8.2 % (n=12)]. The calibration graph for AcH-DNPHo was linear in the range of 0 – 300 mg L^{-1} with correlation coefficient 0,9998. The concentrations of acetaldehyde determined in fuel alcohol samples was in the range of 83 – 341 mg L^{-1} with standard deviation of 1 – 6 %, in peak area variation and analytical recovery was >99%. The amount of acetaldehyde content found in these samples was significantly higher and the results obtained were compared to the spectrophotometric detection method (UV/Vis).

Keywords: High-performance Liquid Chromatographic, Electrochemical Detection, Acetaldehyde; Fuel Alcohol.

1.INTRODUÇÃO.

1.1 Álcool Etílico Hidratado Combustível (AEHC)

1.1.1 A matéria-prima

A cana-de-açúcar é uma gramínea , pertencente ao gênero *SACCHARUM ssp.*, própria de climas tropicais e subtropicais, possivelmente originária do sudeste da Ásia.

A cana-de-açúcar desenvolveu-se em todos os estados do Brasil, entretanto a zona de grande produção compreende, principalmente, os estados próximos à costa, do Nordeste ao Paraná, entre 8 e 23 graus de latitude sul. O primeiro grande empreendimento para o estabelecimento da cultura da cana-de-açúcar, com apoio oficial do Rei D. João III, foi implantado pouco depois de 1530, quando Martim Afonso de Souza, trouxe em sua expedição, mudas originárias da ilha da Madeira e as plantou nos arredores do nascente povoado de São Vicente, onde a “indústria açucareira” teve, inicialmente, uma certa prosperidade. Cerca de 3 anos mais tarde, Duarte Coelho desenvolveu rapidamente a plantação de cana em Pernambuco e, paralelamente, a produção de açúcar, que foi ganhando espaço no nordeste do país.

Atualmente, a cultura da cana-de-açúcar está colocada entre as primeiras do agronegócio brasileiro devido a sua importância e volume de produção, principalmente no fornecimento de matéria-prima para fabricação de açúcar e álcool etílico hidratado combustível para o mercado interno e de exportação.

1.1.2 Processo de Produção Industrial

Inicialmente, a cana-de-açúcar é transportada em caminhões e é recebida na usina (pesada e descarregada). Esta alimenta a moenda, utilizando uma esteira rápida, equipada, geralmente, com eletroimã. Posteriormente, o caldo da cana-de-açúcar é utilizado na produção de AEHC. O AEHC é obtido após a fermentação do caldo ou de uma mistura de melaço e caldo, por meio de um processo bioquímico que emprega leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae*. Todavia, antes de ser enviado ao processo fermentativo, este caldo deve receber um tratamento de purificação.

A – Tratamento do caldo para destilaria

Após o tratamento primário, o caldo deverá sofrer pasteurização: aquecimento e resfriamento imediato. Um tratamento mais completo do caldo implica adição de cal, aquecimento e posterior decantação, tratamento semelhante àquele utilizado na fabricação de açúcar.

Em geral, o resfriamento do caldo é realizado em duas etapas:

1-) fazendo-se passar o caldo quente por um trocador de calor (regenerativo) em contracorrente com o caldo misto frio, onde o caldo misto é aquecido e o caldo para destilaria é resfriado (aproximadamente 60 °C).

2-) resfriamento final até, aproximadamente, 30 °C, normalmente realizado em trocadores de placas utilizando água em contracorrente, como fluido de resfriamento.

Livre de impurezas (areia, bagacilho, etc.) e devidamente esterilizado, o caldo está pronto para ser encaminhado à destilaria.

B - Fermentação

Preparação do mosto

O mosto nada mais é do que uma solução de açúcar cuja concentração foi ajustada de forma a facilitar a sua fermentação. Basicamente é constituído pela mistura de méis e caldo com uma concentração de sólidos de 17 a 22° Brix.

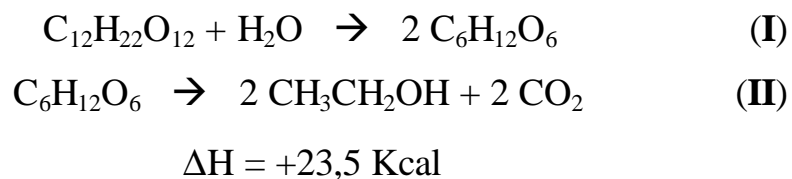
Preparo do fermento

O processo de fermentação mais comumente utilizado nas destilarias do Brasil é o Melle-Boinot, cuja característica principal é a recuperação de leveduras por meio da centrifugação do vinho. Esta levedura recuperada, antes de retornar ao processo fermentativo, recebe um tratamento severo que consiste em diluição com água e adição de ácido sulfúrico até, normalmente, $\text{pH} = 2,5$, ou mais baixo ($\text{pH} = 2$) no caso de haver infecção bacteriana. Esta suspensão de fermento diluído e acidificado, conhecido na prática com o nome pé-de-cuba, permanece em agitação por 1 a 3 horas, antes de retornar à dorna de fermentação.

Fermentação propriamente dita

É nesta fase que os açúcares são transformados em álcool. As reações ocorrem em tanques, denominadas dornas de fermentação, onde se misturam o mosto e o pé-de-cuba na proporção de 2:1, respectivamente. O mosto é alimentado nas dornas em um tempo que varia entre 4 e 10 horas.

Os açúcares (sacarose) são transformados em etanol, segundo a reação simplificada de Gay Lussac:



Durante a reação (I) e (II), ocorre uma intensa liberação de gás carbônico, na qual a solução aquece-se provocando a formação de alguns produtos secundários como: álcoois superiores, glicerol, aldeídos de baixo peso molecular, etc. O tempo de fermentação varia de 4 a 12 horas. Ao final deste período, praticamente todo o açúcar já foi consumido, com a conseqüente redução da liberação de gases. Ao terminar a fermentação, o teor médio de etanol nestas dornas varia de 7 a 10% e a mistura recebe o nome de vinho fermentado. Devido à grande quantidade de calor liberado durante o processo e à necessidade da temperatura ser mantida baixa (34 °C), é preciso realizar o resfriamento do vinho, circulando água em serpentinas internas às dornas, ou em trocadores de calor, por onde o vinho é bombeado continuamente com água em contracorrente.

Atualmente, este processo de fermentação é realizado de forma descontínua ou contínua, em dornas abertas ou fechadas. Nestas últimas, procede-se à lavagem dos gases de saída para recuperação do etanol evaporado pela passagem através de uma torre e por absorção do etanol em água, que é retornada ao processo.

C - Centrifugação do vinho

Após a fermentação, o vinho é enviado às separadoras centrífugas para recuperação do fermento. O centrado do fermento recuperado, denominado leite de

levedura, retorna às cubas para o tratamento. A fase leve da centrifugação, ou vinho “delevedurado”, é enviada para as colunas de destilação.

D - Destilação

O vinho que vem da fermentação possui, em sua composição, de 7 a 10° GL (% em volume) de etanol, além de outros componentes de natureza líquida, sólida e gasosa. Dentro dos líquidos, além do etanol, encontra-se a água com teores de 89 a 93%, glicerina, álcoois homólogos superiores, furfural, acetaldeído, ácido succínico, acético, etc., em quantidades bem menores. Já os sólidos são representados por bagacilho, leveduras e bactérias, açúcares que não foram fermentados, sais minerais, matérias albuminóides e os gasosos, principalmente CO₂ e SO₂. O etanol presente neste vinho é recuperado por destilação, processo que se utiliza dos diferentes pontos de ebulição das diversas substâncias voláteis presentes, separando-as. A operação é realizada com auxílio de sete colunas distribuídas em três troncos: destilação propriamente dita, retificação e desidratação.

A destilação é processada em três colunas superiores. Nestas, o etanol é separado do vinho (inicialmente com 7 a 10° GL) e sai com a flegma (vapores com 40 a 50° GL) que posteriormente destilada elimina as impurezas que ainda estão presentes (ésteres e aldeídos). Os voláteis, principalmente ésteres e aldeídos, são concentrados em outra coluna e retirados no seu topo, sendo posteriormente condensados.

Retificação

A finalidade deste sistema é concentrar a flegma a uma graduação de aproximadamente 96° GL e proceder a sua purificação com a retirada das impurezas que a acompanham, como álcoois homólogos superiores, aldeídos, ésteres, aminas, ácidos e

etc. A flegma é retirada sob a forma de álcool etílico hidratado. Os voláteis retirados passam por uma seqüência de condensadores, onde parte do calor é recuperado pelo vinho, uma fração do condensado é reciclada e outra retirada como etanol. Os álcoois homólogos superiores, denominados óleos fúseis e alto, são retirados de bandejas próximas à entrada da flegma. O óleo alto retorna à dorna volante e o óleo fúsel é resfriado, lavado, decantado e armazenado para posterior comercialização. O aquecimento da coluna é realizado pela injeção de vapor.

Desidratação

O AEHC, produto final dos processos de depuração (destilação) e retificação, é uma mistura binária etanol-água que atinge um teor da ordem de 96° GL. Isto ocorre devido à formação de uma mistura azeotrópica, fenômeno físico no qual os componentes não são separados pelo processo de destilação. Este AEHC pode ser comercializado desta forma ou pode sofrer um processo de desidratação com etileno glicol (etanol anidro ou absoluto).

E - Armazenamento do etanol

Os álcoois produzidos, hidratado e anidro, são quantificados por meio de medidores de vazão ou tanques calibrados e são enviados para armazenagem em tanques de grande volume, situados em parques de tanques, onde aguardam sua comercialização e posterior remoção por caminhões.

1.1.3 Contaminantes presentes no AEHC

O controle da qualidade do álcool etílico produzido e disponível comercialmente requer métodos analíticos cada vez mais sensíveis para análise de seus contaminantes inorgânicos e orgânicos e também para acompanhar a modificação do combustível que em determinado estágio pode apresentar um contaminante em grau majoritário, até teores mais baixos, após envelhecimento ou armazenamento do produto; além, é claro, da alteração da amostra pela própria interferência do recipiente que o contiver. Embora estes contaminantes representem um papel quantitativamente secundário no etanol produzido, o conhecimento e controle dessas impurezas assume papel fundamental nas diversas etapas de seu emprego como: evitar envenenamento de catalisadores cada vez mais sofisticados e caros e minimizar reações secundárias em motores desenvolvidos com alta tecnologia, cuja emissão de poluentes acarreta prejuízos ao meio ambiente.

Os principais contaminantes orgânicos presentes no etanol compreendem uma grande quantidade de compostos e podem ser divididos em duas classes: componentes mais voláteis e componentes menos voláteis que o etanol. Os contaminantes menos voláteis são denominados “álcoois superiores” e são constituídos principalmente pelos álcoois n-propílico, isobutílico e isoamílico. O grau de ocorrência destes compostos no produto final é variável e diretamente dependente da eficiência do processo de destilação. Os contaminantes mais voláteis que o etanol constituem suas impurezas quantitativamente mais significativas e são constituídas principalmente por: metanol, acetaldeído e acetato de etila. Por outro lado, estes contaminantes constituem uma mistura de componentes químicos muito instáveis ou reativos entre si, sendo que suas proporções tendem a alterar-se no decorrer da estocagem do produto^[1].

1.2 Proálcool

Frente às crises do petróleo, foi implantada no Brasil uma política de substituição energética, apoiada no etanol, chamado Programa Nacional do Álcool (Proálcool) o qual foi criado através do decreto nº 76.593 (1975). A criação do Proálcool, teve por finalidade básica incrementar a produção de etanol para fins combustíveis, sob a ameaça dos crescentes preços do petróleo no mercado internacional. Dentre os avanços tecnológicos que viabilizaram uma melhor utilização para o etanol, está sua utilização como combustível e como aditivo à gasolina, melhorando suas propriedades anti-detonantes, permitindo a fabricação de motores com maiores rendimentos e dispensando o emprego do chumbo tetraetila como aditivo à gasolina, uma das espécies tóxicas presentes no ar das grandes cidades brasileiras. Os aspectos positivos e negativos causados pelo emprego do AEHC são motivo de muitas discussões, tanto pela sociedade como no meio científico, e talvez a maior delas seja quanto ao termo técnico atribuído ao álcool etílico como sendo o “combustível verde”, ou seja, que sua combustão libera apenas para o meio ambiente CO₂ e água. No entanto, a utilização do etanol como combustível ou aditivo adicionado à gasolina têm aumentado a quantidade de acetaldeído no ar, enquanto que em outros países que utilizam o metanol como combustível ou aditivo, a quantidade de formaldeído têm aumentando^[2-4].

1.3 Legislação brasileira referente ao Álcool

A legislação brasileira mais recente, através da Portaria nº 2, de 16 de Janeiro de 2002, estabelece as especificações para a comercialização do álcool etílico anidro combustível (A.E.A.C.) e do álcool etílico hidratado combustível (A.E.H.C.) em

todo o território nacional e define obrigações dos agentes econômicos sobre o controle de qualidade dos produtos. A agência reguladora brasileira responsável pela fiscalização e pelas regras de comercialização do álcool, anidro e hidratado, é a Agência Nacional do Petróleo (ANP). Esta portaria tem como objetivo principal estabelecer critérios de controle de qualidade, seguindo especificações de Normas Brasileiras (NB), da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e das normas da “American Society for Testing and Materials” (ASTM) nas características do produto final, nacional ou importado, para uso como combustível. De acordo com a Tabela 1, as características do álcool deverão ser determinadas de acordo com a publicação mais recente dos métodos de ensaio escolhidos.

Tabela 1. Portaria da ANP (nº 2) que estabelece critérios de qualidade para o Álcool, anidro e hidratado, para uso como combustível.

Método	Especificação
NBR 5992	Determinação da massa específica e do teor alcoólico do Álcool Etílico e suas misturas com a água
NBR 8644	Álcool Etílico Combustível – Determinação do resíduo de evaporação
NBR 9866	Álcool Etílico – Verificação da alcalinidade e determinação da acidez total
NBR 10422	Álcool Etílico – Determinação do teor de sódio por fotometria de chama
NBR 10547	Álcool Etílico – Determinação da condutividade elétrica
NBR 10891	Álcool Etílico Hidratado – Determinação do pH
NBR 10893	Álcool Etílico – Determinação do teor de cobre por espectrofotometria de absorção atômica
NBR 10894	Álcool Etílico – Determinação de íons cloreto e sulfato por cromatografia iônica

NBR 10895	Álcool Etílico – Determinação do teor de íon cloreto por potenciometria
NBR 11331	Álcool Etílico – Determinação do teor de ferro por espectrofotometria de absorção atômica
NBR 12120	Álcool Etílico – Determinação do teor de sulfato por volumetria
NBR 13993	Álcool Etílico – Determinação do teor de hidrocarbonetos
ASTM D512	Íon cloruro em água
ASTM D1125	Condutividade elétrica e resistividade da água
ASTM D1613	Acidez em solventes voláteis e intermediários químicos
ASTM D4052	Densidade e Densidade relativa de líquidos
ASTM D5501	Determinação do teor de Etanol por cromatografia gasosa

Esta portaria abrange as características físicas e a análise de alguns compostos que poderão estar presentes no álcool utilizado como combustível ou aditivo. Não há, de fato, nenhuma especificação ou restrição quanto à presença de outros contaminantes na matriz alcoólica que podem influenciar no desempenho dos motores, bem como, nos produtos secundários gerados a partir da queima desse combustível.

1.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (C.L.A.E.)

Dentre as técnicas cromatográficas existentes, destacam-se como as mais usadas a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (C.L.A.E.) e a Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (C.G) acoplados a uma grande variedade de detectores. Desde seu desenvolvimento na década de 60, a utilização da técnica C.L.A.E. têm sido uma das técnicas analíticas mais utilizadas na separação de substâncias orgânicas, operando com fase móvel líquida sob pressão e com métodos de detecção que podem oferecer seletividade, sensibilidade e rapidez de análise. A Figura 1 mostra um esquema, na

forma de um diagrama de blocos, dos componentes importantes de um equipamento simples de cromatografia líquida de alta eficiência.

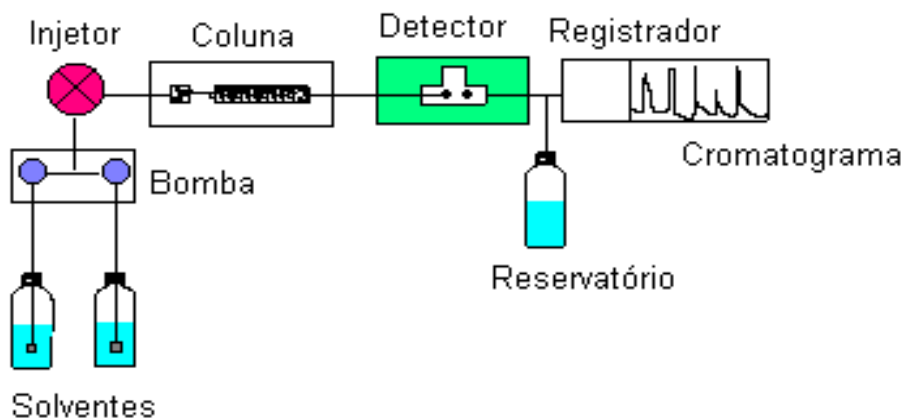


Figura 1. Diagrama de blocos, dos componentes importantes de uma equipamento simples de C.L.A.E..

Os cinco tipos de cromatografia nos quais a fase móvel é um líquido são: cromatografia líquido-sólido ou adsorção, cromatografia líquido-líquido ou por partição, cromatografia líquida com fase ligada, cromatografia de troca iônica e cromatografia de exclusão por tamanho^[5]. Dentre estas, a cromatografia líquida com fase ligada tornou-se a mais amplamente utilizada.

Dois tipos de cromatografia líquida com fase ligada podem ser distingüidos com base nas polaridades relativas das fases estacionária e móvel: cromatografia de fase normal e cromatografia de fase reversa. A cromatografia que emprega fase normal baseia-se em fases estacionárias altamente polares, suportados em partícula de sílica ou alumina e fase móvel com solvente relativamente não-polar. Já na cromatografia que utiliza fase reversa, a fase estacionária é não-polar, geralmente um

hidrocarboneto, e a fase móvel relativamente polar. As colunas com empacotamento de fase reversa utilizam comumente hidrocarbonetos de cadeia longa, como uma cadeia C_8 (n-octil) ou uma cadeia C_{18} (n-octildecil).

Em cromatografia de fase normal, o analito menos polar é eluído primeiro, por ser o mais solúvel na fase móvel. Ao contrário, no método que emprega fase reversa, o componente mais polar elui primeiro e o aumento da polaridade da fase móvel aumenta o tempo de eluição.

A cromatografia líquida não possui atualmente detectores universalmente aplicáveis, como os detectores de ionização por chama e de condutividade térmica, utilizados na cromatografia gasosa, mas o desenvolvimento tecnológico têm ampliado a disponibilidade dos métodos de detecção acoplados à C.L.A.E., podendo ser utilizados detectores fotométricos baseados na absorção UV/Vis, fluorescência, índice de refração, condutividade, eletroquímicos e outros. O sucesso da análise dependerá da escolha apropriada da coluna e do módulo de detecção. A Tabela 2 lista os detectores mais comuns utilizados em C.L.A.E. e algumas das suas propriedades mais importantes.

Dentre estes módulos, o acoplamento de detectores eletroquímicos em sistemas C.L.A.E. têm demonstrado grande potencialidade na identificação e quantificação de componentes orgânicos de interesse clínico, biológico e ambiental, em nível de traços em matrizes altamente complexas^[6].

A grande maioria das aplicações envolvendo C.L.A.E. com detecção eletroquímica têm utilizado colunas de fase reversa e detectores amperométricos, embora detectores coulométricos também estejam disponíveis no mercado.

Tabela 2. Características importantes dos detectores mais utilizados em C.L.A.E.^[5].

	UV/Vis	Fluorescência	Índice de Refração	Eletroquímico	Condutividade
Princípio de aplicação	Absorbância de luz na faixa UV/Vis	excitação com luz produz emissão	mudanças no índice de refração da fase móvel	oxidação ou redução em potencial fixo	Condutividade elétrica devido à presença de íons
L.D. /g mL ⁻¹	10 ⁻⁹	Hg: 10 ⁻⁹ laser: 10 ⁻¹²	10 ⁻⁷	10 ⁻¹²	10 ⁻⁸
Volume de cela /µL	1–20	10–25	3–15	5–10	1,5–2,5
Sensibilidade à temperat.	baixa	baixa	alta	média	média
Sensível à vazão da fase móvel	não	não	não	sim	sim
Útil com gradiente	sim	sim	não	não	não
Aplicações	compostos que absorvem no comprimento selecionado	compostos (ou derivados) que fluorescem	geral	espécies que oxidam ou reduzem	soluções aquosas com compostos iônicos

Deste modo, considerando a ampla versatilidade da técnica C.L.A.E. utilizando detector eletroquímico e a grande demanda por métodos analíticos sensíveis para quantificação de contaminantes orgânicos no AEHC, é de nosso interesse investigar um novo método de análise para a determinação de acetaldeído nesta matriz.

1.5 Detector Eletroquímico.

A C.L.A.E. acoplada ao detector eletroquímico (D.E.) foi introduzida em 1974, baseado nos trabalhos de Kissinger, na Universidade de Purdue (E.U.A.), sendo

então, considerada uma técnica relativamente nova. A partir de 1974, têm-se observado na comunidade científica um grande número de aplicações da técnica em simpósios e artigos científicos.

A detecção amperométrica consiste no monitoramento de reações eletroquímicas que ocorrem na superfície do eletrodo de trabalho, como pode visto pela ilustração da Figura 2, no sistema C.L.A.E.. Para tal, a espécie a ser determinada necessita apresentar grupos funcionais redutíveis ou oxidáveis ou ser derivada com grupos passíveis destas transformações eletroquímicas. Detectores típicos operam com eletrodos de trabalho constituídos de diversos materiais, tais como: carbono vítreo, ouro e platina e com eletrodos tendo sua superfície modificada por grupos específicos que possuem alta seletividade na identificação do analito.

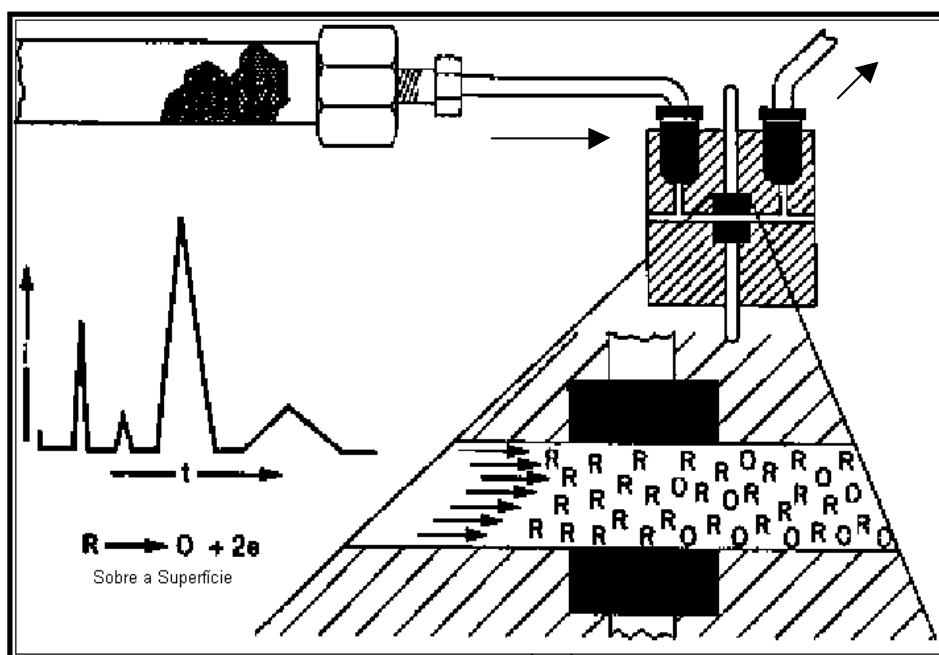


Figura 2. Ilustração do conceito da detecção eletroquímica em C.L.A.E.

A C.L.A.E. e D.E. são mutuamente compatíveis, ou seja, a primeira atuando na separação e a segunda na detecção do analito de interesse. Na D.E., o

eletrólito suporte está em contato com a superfície do eletrodo enquanto que na C.L.A.E., a fase móvel está em contato com a fase estacionária. Ambas técnicas utilizam o processo de difusão para liberar o analito de interesse a partir do volume da solução da fase líquida para a fase interface. A Figura 3 ilustra as características fundamentais da C.L.A.E. e D.E^[7].

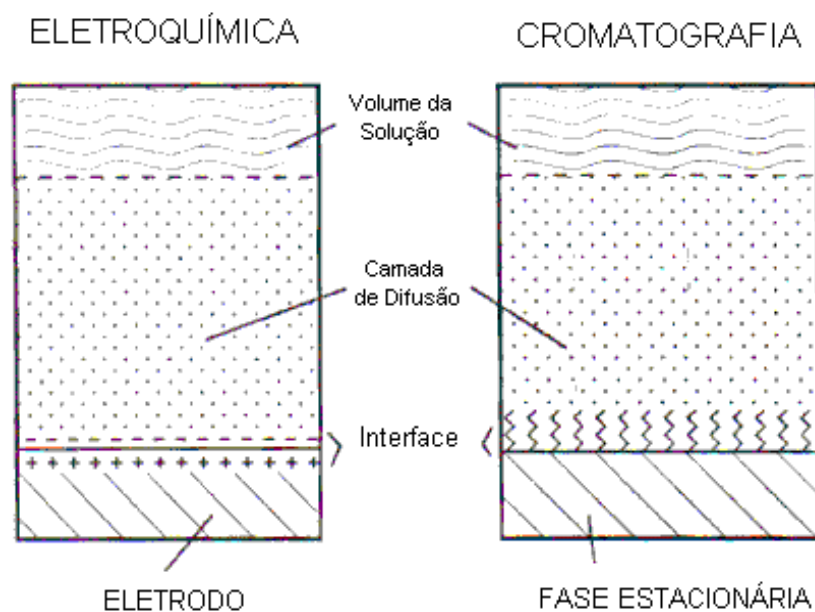


Figura 3. Características fundamentais da D.E e da C.L.A.E..

As células eletroquímicas dos modernos D.E. utilizam a configuração clássica de um sistema de três eletrodos. A Figura 4 representa uma ilustração de um corte transversal em uma célula eletroquímica e a disposição destes eletrodos. O potencial aplicado sobre o eletrodo auxiliar (E.A.) promove a ocorrência da reação redox na superfície do eletrodo de trabalho (E.T.). O eletrodo de referência (E.R.) é o responsável pela manutenção do potencial constante durante as mudanças de corrente no E.A.. Os elétrons doados ou consumidos durante a reação redox são os responsáveis pela corrente produzida no E.T. A corrente gerada na superfície do E.T. é convertida a uma voltagem (relação I/E) que é traduzida ao equipamento com o auxílio de um

integrador de voltagem. No entanto, a detecção é susceptível a fatores que podem alterar a conversão do sinal I/E influenciadas pela temperatura, vazão da fase móvel e eventuais pulsações da bomba^[8]. Operando sobre condições dinâmicas, estas células eletroquímicas podem apresentar três tipos diferenciados: células de fluxo, “thin layer” e “wall-jet”, conforme mostra a Figura 5.

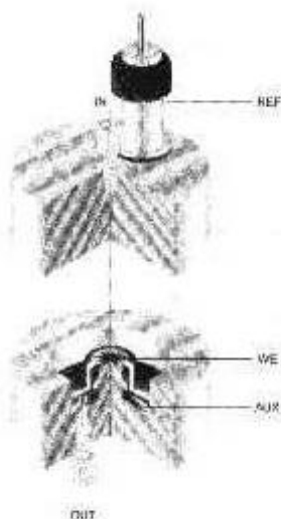


Figura 4. Corte transversal em uma célula eletroquímica

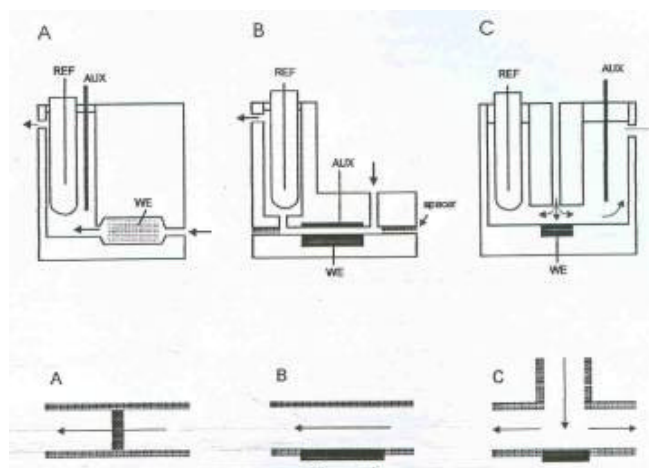


Figura 5. Células eletroquímicas utilizadas em C.L.A.E. com detecção eletroquímica A) fluxo, B) “thin-layer” e C) “wall-jet”.

A célula eletroquímica “wall-jet” apresenta características importantes quanto: (i) sensibilidade, pois o movimento de transferência de massa até o ponto de impacto na superfície do eletrodo de trabalho se dá por meio de um processo rápido de convecção; (ii) volume da cela variável, podendo-se obter configurações com um mínimo de 0,5 μL e (iii) amplo intervalo analítico na varredura de potencial no modo de oxidação e redução, utilizando-se eletrodo de carbono vítreo^[9].

1.6 Comportamento Eletroquímico do Acetaldeído

Aldeídos alifáticos são compostos difíceis de serem reduzidos em solvente apróticos com potencial de meia onda ($E_{1/2}$) entre -2,2 a -2,8 V vs E.C.S., por outro lado, são reduzidos mais facilmente em soluções aquosas, quando na forma protonada. Entretanto, a aplicação da técnica eletroquímica para determinação de acetaldeído tem sido muito pouco explorada.

Assim, acetaldeído pode ser determinado voltametricamente em eletrodos de mercúrio e carbono, usando-se $\text{LiOH} / \text{LiCl}$ 0.1 mol $\cdot \text{L}^{-1}$ ou KH_2PO_4 como eletrólito suporte, tendo valores de $E_{1/2}$ entre -1,65 e -1,51 V, respectivamente^[10].

A maioria dos compostos contendo o grupo carbonila podem reagir com uma ampla variedade de aminas resultando em compostos com o grupo ($>\text{C}=\text{N}-$) e, os produtos resultantes, como as iminas, hidrazonas substituídas, oximas e semicarbazonas podem ser reduzidos em eletrodo gotejante de mercúrio^[11]. Aldeídos de pequeno peso molecular também podem ser titulados amperométricamente com iodato de potássio em eletrodo rotatório de platina após reação com cloreto de hidroxilamina^[12].

Embora a reação de derivação do acetaldeído com hidrazina do tipo 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPHi) seja amplamente utilizada nas técnicas

espectrofotométricas e cromatográficas, o produto gerado apresenta grupos funcionais facilmente redutíveis. No entanto, até o presente momento, nenhuma investigação do comportamento eletroquímico do produto da reação de derivação do acetaldeído têm sido reportada na literatura.

1.6 Métodos de Determinação de Aldeídos

O número de publicações em periódicos internacionais envolvendo o assunto é muito grande. No entanto, a quantificação de acetaldeído (CH_3COH), também chamado de aldeído acético em AEHC têm sido objeto de pouquíssimos estudos. Sua presença é proveniente da ação de processos oxidativos durante etapas do processo de fabricação (destilação) ou de armazenamento.

Os métodos analíticos para identificação e quantificação de acetaldeído encontrados na literatura são aplicados principalmente para sua quantificação em água, bebidas alcoólicas e ar atmosférico, utilizando principalmente, as técnicas espectrofotométricas e cromatográficas com derivação.

Espectrofotometricamente, acetaldeído têm sido determinado pela reação com ácido cromotrópico (1,8-dihidroxi-naftaleno-3,6-dissulfônico) em meio ácido com a formação de um composto de cor violeta que pode ser quantificado em comprimento de onda de 578 nm ^[13].

Outro método espectrofotométrico para determinação de aldeídos de baixo peso molecular (formaldeído e acetaldeído) é baseado na reação entre o cloridrato de 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) em presença de cloreto férrico em meio

ácido^[14]. O produto formado apresenta coloração azul e pôde ser determinado espectrofotometricamente em comprimento de onda correspondente a 628 nm.

A utilização da cromatografia gasosa na análise de acetaldeído em bebidas alcoólicas é descrita por Shiomi *et al.* ^[15]. Segundo este autor, o método permite a determinação de formaldeído e acetaldeído nesta matriz, porém apresenta baixa sensibilidade e necessita da utilização de colunas muito longas para obter uma melhor resolução, tornando o processo de análise muito demorado.

A aplicação da C.L.A.E. na quantificação de acetaldeído têm utilizado principalmente a detecção espectrofotométrica UV/Vis, através de reações de derivação. Dentre estas, a derivação com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPHi) têm sido a reação preponderante. A reação se processa por uma adição nucleofílica da DNPHi na carbonila, seguida pela eliminação de água e formação da dinitrofenilhidrazona correspondente.

A determinação de acetaldeído em amostras de urina têm sido investigada por Andrade *et al.* ^[16]. Os autores descrevem uma metodologia para quantificação de formaldeído e acetaldeído utilizando-se o monitoramento de seus derivados dinitrofenilhidrazonas geradas após reação com DNPHi. A concentração de formaldeído e acetaldeído determinada em 32 amostras de urina encontra-se em uma faixa de concentração de 12 – 293 ng mL⁻¹ e 1,13 – 409 ng mL⁻¹, respectivamente.

Grosjean *et al.*^[17] têm mostrado que acetaldeído e outros compostos carbonílicos podem ser determinados em nível de nanogramas, em ar atmosférico, por C.L.A.E.. O método baseia-se na separação dos compostos utilizando também a reação típica de derivação com DNPHi, eluição isocrática e detecção na região de ultravioleta (360 nm).

Franco *et al.*^[18], também descrevem um método analítico para separação e identificação de uma grande variedade de aldeídos presentes na cachaça brasileira. O método envolve derivação com DNPHi e monitoramento por C.L.A.E. acoplado a um detector espectrofotométrico utilizando-se comprimento de onda igual a 365 nm. Dentre os aldeídos analisados, o acetaldeído foi o único presente em todas as amostras de cachaça.

Chiavari *et al.*^[19], publicou na literatura que é possível detectar compostos carbonílicos presentes na água da chuva ácida utilizando-se a técnica C.L.A.E. acoplada a um detector eletroquímico. Os autores utilizaram a derivação dos compostos carbonílicos com o cloridrato de 3-metil-2-benzotiazolona (MBTH), eluição isocrática com mistura de metanol-KH₂PO_{4(aq)} e eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho. O comportamento eletroquímico dos compostos derivados foi acompanhado por mudanças na resposta do detector eletroquímico (altura de pico) em diferentes potenciais. Não foram observadas respostas significativas abaixo de +0,8 V e o potencial de oxidação de trabalho foi +1,05 V.

Uma comparação entre os métodos de detecção espectrofotométrica e eletroquímica utilizando-se C.L.A.E. foi realizado por Smyth *et al.*^[20] na determinação de compostos fenólicos comumente encontrados na cerveja. Os detectores foram conectados em série após a saída da coluna no sistema C.L.A.E. e os parâmetros experimentais utilizados na análise foram: potencial de oxidação de + 1,0 V, comprimento de onda de 254 nm, fase móvel composta por solução de ácido acético – metanol com vazão de 2 mL min⁻¹, utilizando-se eluição por gradiente. Os resultados obtidos indicaram que a detecção eletroquímica foi mais adequada em relação à detecção espectrofotométrica oferecendo boa sensibilidade (baixo limite de detecção) e

seletividade na determinação dos compostos em concentrações na faixa de 0,1 – 10,0 p.p.m.(m/v).

Uma análise geral dos principais métodos descritos para determinação de aldeídos (acetaldeído) mostrou que os métodos espectrofotométricos possuem limitada sensibilidade, enquanto que, os métodos cromatográficos disponíveis apresentam uma maior sensibilidade, aliada a uma melhor seletividade, dependendo do detector utilizado na análise. Adicionalmente, nenhum método cromatográfico é descrito na literatura para monitoramento de acetaldeído em AEHC.

O Instituto Nacional de Tecnologia (I.N.T.), órgão do Ministério da Ciência e Tecnologia, iniciou na década de 80 o desenvolvimento de método analítico para determinação de acetaldeído presente em gases de exaustão de veículos automotores por Cromatografia Gasosa com detecção por ionização de chama ^[21]. O método foi baseado na reação de aldeídos alifáticos com o cloridrato de 3–metil–2–benzotiazolona (MBTH). Esta reação tem como resultado a formação de um complexo estável que oxidado em meio ácido com a presença de cloreto férrico produz uma azina de coloração azul, cuja absorbância é determinada à 628 nm. Fundamentado neste princípio, desenvolveu-se um sistema de absorção de gases, provenientes da combustão de motores que utilizam álcool hidratado como combustível, em MBTH e posterior extração. Uma alíquota dessa solução (4µL) foi injetada no sistema cromatográfico. Utilizou-se uma coluna Carbowax 20 M a 75 °C. Os resultados obtidos para a determinação de acetaldeído, expresso como aldeídos totais, em motores que utilizam este combustível situam-se entre 11,2 – 56,0 p.p.m. (m/v) (25 °C e 760 mmHg).

Neste estudo também foi avaliado o impacto causado pela presença de acetaldeído proveniente da combustão desses motores em seres vivos (camundongos) e vegetais (Marantaceas). Tanto nas análises efetuadas no lote inicial de animais quanto de vegetais pode-se estabelecer diversas conclusões preliminares, como: problemas respiratórios, pulmonares, abdominais e torácicos para os camundongos, enquanto as plantas apresentaram mutações gradativas em sua estrutura, culminando com a morte de todas as frações expostas ao acetaldeído.

1.7. Toxicologia do Acetaldeído^[22] (AcH)

O acetaldeído é um líquido incolor, extremamente volátil (P.E. 20,2 °C a 1atm) com um forte odor característico. É uma substância altamente inflamável e reativa que é miscível em água e na maioria dos solventes orgânicos.

Em soluções aquosas, o acetaldeído existe em equilíbrio com seu hidrato, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})_2$. Sua decomposição, acima de 400 °C, dá origem ao metano e monóxido de carbono, principalmente. Mais de 80% do acetaldeído consumido comercialmente nos E.U.A. é produzido pela oxidação de etileno com uma solução catalítica de cloretos de paládio e cobre e sua produção destina-se basicamente para o mercado de alimentos e produção de ácido acético. Nos E.U.A., a emissão de acetaldeído, proveniente de diversas fontes, está estimado em 12,2 milhões de quilos / ano, de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Emissão de acetaldeído e suas fontes poluidoras nos E.U.A.^[22].

Fonte Poluidora	Emissão de acetaldeído / ton. por ano
Aquecimento em residências (queima de madeira)	5056,4
Torrefação de café	4411,4
Fabricação de ácido acético	1460,9
Produção de acetato vinílico	1094,6
Fabricação de etanol	57,8
Fabricação de acrilonitrila	51,6
Fabricação de ácido acético a partir do butano	20,8
Fabricação de crotonaldeído	4,5
Fabricação de acetona e fenol	1,9
Fabricação de acetaldeído pela hidratação de etileno	0,5
Fabricação de cloreto de polivinil	0,2
Fabricação de acetaldeído pela oxidação de etanol	0,1

A toxicidade do acetaldeído têm sido bastante estudada. Ele é reconhecidamente irritante aos olhos e aparelho respiratório em exposições de curto prazo em concentrações de 50 a 135 p.p.m. (m/v), mas nenhum estudo recente comprovou sua ação carcinogênica no homem, sendo apenas descrito como altamente (potencialmente) suspeito de ser um composto carcinogênico. O acetaldeído é metabolizado no ser humano por oxidação a acetato sobre a influência de A.L.D.H. (acetaldeído desidrogenase). O acetaldeído pode reagir com vários tipos de macromoléculas no corpo, mas preferencialmente reage com aquelas que contém resíduos de lisina, e é o responsável pelas principais alterações das funções biológicas dessas moléculas no organismo.

2. OBJETIVO

Tendo em vista que a presença de contaminantes orgânicos, do tipo, acetaldeído, podem acarretar problemas ao meio ambiente e no desempenho dos motores automotivos, o objetivo do presente projeto foi estudar o desenvolvimento de um método analítico para a determinação de acetaldeído empregando-se a técnica de C.L.A.E. com detecção eletroquímica e posterior quantificação deste contaminante em diferentes amostras comerciais de AEHC.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Estudo Cromatográfico

O cromatógrafo líquido utilizado foi um sistema C.L.A.E. ProStar Varian[®] em condições isocráticas equipado com duas bombas. Uma válvula de injeção manual da Rheodyne[®] modelo 7725 com alça de amostragem de 20 μ L foi usada. A coluna comercial de fase-reversa empregada nesses experimentos foi a Shim-pack C₁₈ (150 \times 6,0 mm diâmetro interno, 5 μ m) da SHIMADZU[®]. O detector empregado no sistema C.L.A.E. foi um detector eletroquímico (Varian ProStar[®] 370) equipado com uma cela de fluxo do tipo “wall-jet” constituído de três eletrodos: eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho (E.T.), eletrodo Ag/AgCl como eletrodo de referência (E.R.) e carbono vítreo como eletrodo auxiliar (E.A.). Utilizou-se, também, um detector espectrofotométrico na região do UV/Vis (Varian ProStar[®] 320), fixado em comprimento de onda em 365 nm. O volume da célula eletroquímica utilizada nos experimentos foi ajustado a 120 μ L. Todos os solventes utilizados nos experimentos foram filtrados em filtros 0,45 μ m da Millipore[®] e posteriormente degaseificados por um sistema com ultrassom que acompanha o próprio equipamento. Um programa de eluição isocrática foi utilizado para ambas detecções e as condições cromatográficas foram fixadas após otimização em potencial de oxidação e redução de +1,0 V e - 0,8 V, respectivamente; composição da fase móvel contendo uma mistura de metanol - LiCl_(aq) 1,0 \times 10⁻³ M (80:20 v/v) com vazão de 1,0 mL min⁻¹ e comprimento de onda selecionado em 365 nm.

3.2 Estudo Voltamétrico

Utilizando-se uma célula eletroquímica, previamente lavada com solução Extran 7%, água purificada com sistema MILLI-Q utilizando-se sonicação e posteriormente seca em estufa a 110°C, foram efetuadas medidas voltamétricas do acetaldeído na sua forma original e derivada, em diferentes meios de eletrólito suporte sobre eletrodos de gota pendente de mercúrio e carbono vítreo. Os estudos voltamétricos do acetaldeído e do AcH-DNPHo foram realizados em um potenciostato/galvanostato EG & G Princeton Applied Research Corp. (PARC) modelo 173 e modelo 283. A célula eletroquímica utilizada consistiu num modelo clássico de três eletrodos, sendo: eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho (E.T.), uma placa de platina como eletrodo auxiliar (E.A.) e eletrodo de calomelano saturado (E.C.S.) como eletrodo de referência (E.R.). Para as medidas voltamétricas referente ao emprego de eletrodo de gota pendente de mercúrio, utilizou-se um sistema de três eletrodos da EG & G Princeton Applied Research Corp. (PARC) modelo 303, que consistiu em eletrodo de gota pendente de mercúrio como eletrodo de trabalho, eletrodo de referência Ag/AgCl e como eletrodo auxiliar um fio de platina.

Os parâmetros eletroquímicos foram fixados após os experimentos iniciais com tempo de equilíbrio de 15 seg. e temperatura em ambiente climatizado de 15 °C. As soluções de eletrólito suporte utilizadas para as medidas voltamétricas foram $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ (0,1 M); $\text{LiOH}_{(\text{aq})}$ (0,1 M); KH_2PO_4 (0,1 M); acetonitrila – perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) (0,1 M) e etanol – perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) (0,1 M). Todas as soluções foram degaseificadas com gás nitrogênio puro por 10 min. e mantidas sob atmosfera inerte de nitrogênio enquanto as medidas eram realizadas. Uma alíquota de 20 mL de eletrólito suporte foi adicionada na célula eletroquímica contendo

o sistema de três eletrodos e o potencial de redução/oxidação do acetaldeído e seu derivado (AcH-DNPHo) foi investigado em eletrodo de carbono vítreo e de gota pendente de mercúrio visando a otimização dos parâmetros cromatográficos na detecção eletroquímica.

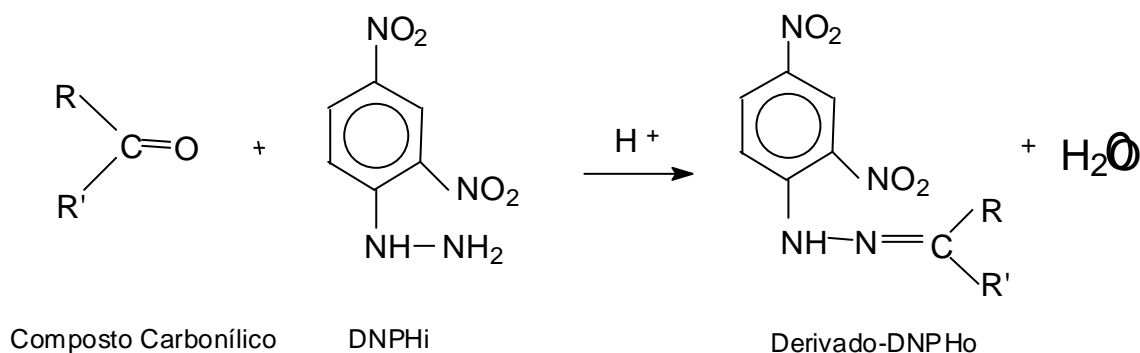
3.3 Soluções

A solução padrão de acetaldeído de grau analítico Merck utilizada nos experimentos de voltametria cíclica foi preparada pela transferência de alíquotas quantitativas de acetaldeído, em ambiente climatizado, mantendo-se a temperatura abaixo do seu ponto de ebulição (20°C), para um volume final de 20 mL em uma célula eletroquímica contendo uma das soluções de eletrólito suporte. O LiCl, LiOH, PTBA, KH_2PO_4 (Aldrich) foram utilizados como soluções de eletrólito suporte e diluídos em água purificada no sistema Milli-Q. Todos os solventes orgânicos utilizados (metanol, etanol e acetonitrila) foram de grau HPLC (Mallinckrodt, Baker). Água destilada foi obtida e tratada em um sistema Milli-Q (Millipore). A solução de DNPHi (Merck) foi purificada por três sucessivas recristalizações com metanol.

3.4 Síntese da 2,4-dinitrofenilhidrazona (AcH-DNPHo)

A solução padrão do AcH-DNPHo foi sintetizada por um método bem conhecido da literatura ^[23], que envolve a reação de compostos carbonílicos com DNPHi em presença de meio ácido, que promove a protonação do grupo carbonílico. Após a protonação, a reação se processa por uma adição nucleofílica da DNPHi na

carbonila do acetaldeído, seguida pela eliminação de água e formação da dinitrofenilhidrazona correspondente. No preparo da DNPHi necessária na reação de derivação do padrão utilizou-se 3 g de DNPHi em 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. Esta solução foi então adicionada, com agitação, à 20 mL de água + 70 mL de etanol 95% (v/v). Após vigorosa agitação foi adicionado à solução 3 mL de acetaldeído concentrado. Agitou-se vigorosamente a solução e deixou-se a solução em repouso por 15 minutos. O precipitado cristalino amarelado, produto da reação de derivação do acetaldeído e da DNPHi, foi separado por filtração à vácuo e lavado com água destilada gelada até a total remoção da DNPHi presente em excesso. O AcH-DNPHo obtido foi recristalizado duas vezes em etanol absoluto e colocado em uma estufa de secagem rápida a 50 °C, durante 1 dia. A pureza foi confirmada pela determinação do ponto de fusão (P.F.), análise elementar de C, H, N e espectroscopia de absorção na região do infravermelho (I.V.). A solução estoque foi preparada dissolvendo-se 1000 mg L⁻¹ do AcH-DNPHo em acetonitrila. Porções desta solução foram então diluídas com etanol-água (95:5% v/v) em uma faixa de concentração de 0 – 300 mg L⁻¹ para obtenção dos padrões e, posteriormente, da curva analítica.



3.5 Caracterização da 2,4–dinitrofenilhidrazona (AcH–DNPHo)

O AcH–DNPHo sintetizado foi caracterizado por medidas de ponto de fusão (P.F.), por análise elementar de C, H e N e por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IR).

3.5.1 Ponto de Fusão

Foi determinado o ponto de fusão do acetaldeído–DNPHo para confirmação da pureza da hidrazona obtida. A determinação do ponto de fusão foi realizado em um aparelho digital de ponto de fusão da Micro Química MQAPF-301.

3.5.2 Análise Elementar

Foi realizada a análise elementar de C, H e N do AcH–DNPHo e da DNPHi, sendo os resultados expressos em % de C, N, e H presentes nestes compostos. A análise foi realizada utilizando-se um equipamento da CE Instruments modelo EA 1110 – CHNS–O.

3.5.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (F.T.I.R.)

Os espectros de infravermelho foram registrados num equipamento NICOLET modelo Impact 400. O AcH–DNPHo e a DNPHi foram analisados na região

de $4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$. As amostras foram preparadas sob a forma de pastilha de brometo de potássio (KBr), aproximadamente 1,0 mg de amostra para 100 mg de KBr

3.6 Coleta das amostras comerciais de AEHC

Diferentes amostras comerciais de etanol combustível foram coletadas em postos de abastecimento da cidade de Araraquara – SP. A amostragem abrangeu de forma aleatória a coleta do etanol combustível e estes foram estocadas em frasco de vidro, tipo Pyrex, com tampa de PTFE em ambiente climatizado. Estas amostras foram analisadas e a identificação e quantificação do teor de acetaldeído presente em cada uma delas foi realizado por C.L.A.E. com detecção eletroquímica.

3.7 Análise espectrofotométrica das amostras comerciais de AEHC

A análise espectrofotométrica das amostras comerciais de AEHC foi realizada em um espectrofotômetro H.P.[®], modelo 8453, em uma cela de quartzo, no intervalo de 150 a 400 nm. Utilizou-se uma solução de etanol absoluto (Mallinckrodt) como branco nas análises.

3.8 Preparação da 2,4–dinitrofenilhidrazona nas amostras comerciais de AEHC

Em um béquer foram adicionados 0,900 mL de solução de DNPHi (0,4% m/v em acetonitrila), 4,0 mL da amostra (sem prévio tratamento) e 50 μL de H_3PO_3 1

M, consecutivamente. A solução resultante foi mantida à temperatura em ambiente controlado (15 °C) em recipiente fechado e por agitação utilizando-se barra magnética recoberta com PTFE durante 20 min. As amostras derivadas foram imediatamente filtradas em membranas de polietileno 0,45 µm Millipore® e injetadas no sistema C.L.A.E. via alça de amostragem de 20 µL.

3.9 Determinação do acetaldeído em amostras comerciais de AEHC

A conversão quantitativa do acetaldeído presente nas amostras comerciais de AEHC no seu derivado foi garantida pelo excesso de DNPHi empregado durante a reação. O AcH-DNPHo foi determinado e quantificado nas amostras utilizando-se o método da curva analítica, na faixa linear de 0 – 300 p.p.m.. A curva analítica referente ao AcH-DNPHo foi obtida por regressão linear, plotando-se área de pico *vs* concentração.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento Eletroquímico do Acetaldeído e do AcH–DNPHo.

4.1.1 Caracterização Voltamétrica do Acetaldeído sobre Eletrodo de Mercúrio

A técnica de Voltametria Cíclica (V.C.) fornece geralmente informações importantes a respeito da natureza do processo eletródico, tais como: a investigação da reversibilidade do processo e as etapas eletródicas envolvidas em uma determinada reação redox, podendo fornecer, uma proposta para o mecanismo de redução e/ou oxidação da espécie que está sendo analisada.

O eletrodo de mercúrio é bastante empregado na técnica voltamétrica por se tratar de um eletrodo que fornece reprodutibilidade ao método cada vez que há renovação da gota pendente e por apresentar, dentre os demais eletrodos conhecidos, o maior intervalo analítico de potencial de redução. Dessa forma, investigou-se o comportamento eletroquímico do acetaldeído em meio aquoso, em diferentes soluções de eletrólito suporte, sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio (E.G.P.M.), visando obter algumas informações sobre o mecanismo da reação eletródica do acetaldeído.

O voltamograma cíclico correspondente à redução de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de acetaldeído em KH_2PO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio pode ser observado na Figura 6. O acetaldeído apresentou inicialmente um pico de redução em potencial de $E_{pC} = -1,9 \text{ V}$, e nenhum pico na varredura reversa de potencial, no intervalo de $-1,0$ a $-2,0 \text{ V}$. Estes resultados permitiram observar que a grande proximidade da onda catódica com a descarga do eletrólito suporte impedem a

sua detecção voltamétrica em concentrações menores que a utilizada no experimento e também apresentou como limitação, baixa reprodutibilidade e má definição da onda para velocidades de varredura abaixo de 100 mV s^{-1} .

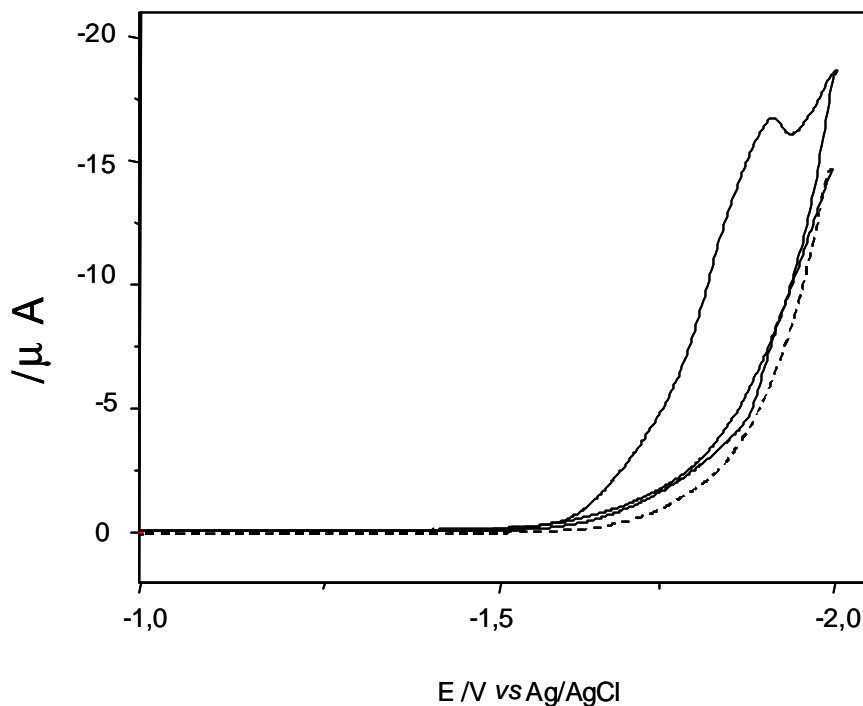


Figura 6. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de eletrólito suporte contendo KH_2PO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Não foi observada nenhuma onda anódica na varredura de potencial neste intervalo de trabalho. Deste modo, outros tipos de eletrólitos suporte foram investigados com o intuito de obter voltamogramas definidos que viabilizassem a análise direta de acetaldeído (redução), em concentrações mais baixas que as requeridas em solução de KH_2PO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A redução de acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em LiOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ pode ser observada no voltamograma da Figura 7. O voltamograma caracteriza-se por um pico de redução em $E_{pC} = -1,9\text{V}$, no intervalo de potencial de $-0,3$ a $-2,1 \text{ V}$. O

voltamograma apresentou pico de redução bem definido, que aumentou com a concentração de acetaldeído entre $1,0 \times 10^{-3}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ em LiOH 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte, evidenciando boa potencialidade analítica, embora o pico ainda apresente grande proximidade com a descarga do eletrólito suporte, podendo comprometer a determinação do acetaldeído em concentrações mais baixas. Também não foi observada nenhuma onda anódica na varredura de potencial no intervalo de trabalho.

A análise deste voltamograma evidenciou que em altas concentrações de acetaldeído ($5,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) a curva voltamétrica apresentou como característica um pico (pré-pico) de pequena intensidade, em potencial menos negativo (-1,3V), que aumentou com a concentração de acetaldeído, indicando que reações secundárias podem estar ocorrendo, impurezas podem estar sendo reduzidas ou o processo eletrodico envolve uma etapa de adsorção que promove a ocorrência de um pré-pico.

Deste modo, investigou-se a seguir a possibilidade de utilizar-se LiCl 0,1 mol L⁻¹ como eletrólito suporte para melhorar a sensibilidade e resolução do pico de redução do acetaldeído, trazendo-o para valores de potencial de redução menos negativos.

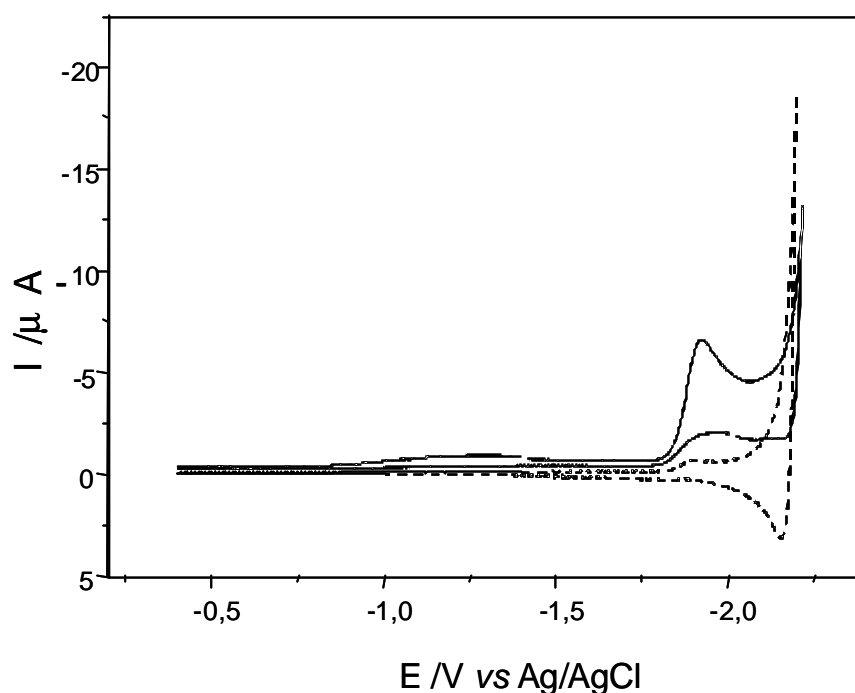


Figura 7. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de eletrólito suporte contendo LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

O voltamograma cíclico correspondente à redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre E.G.P.M. pode ser observado na representação da Figura 8. A análise do voltamograma evidenciou que acetaldeído é reduzido em potencial menos negativo, $E_{pC} = -1,85 \text{ V}$, sendo esta redução em valor de potencial mais afastado da descarga do eletrólito suporte quando comparado a redução de acetaldeído em KH_2PO_4 e LiOH, nas mesmas condições. Nenhum pico foi observado na varredura reversa de potencial neste intervalo de trabalho, sugerindo um processo eletródico irreversível ou com reações químicas subsequentes à reação de transferência de carga.

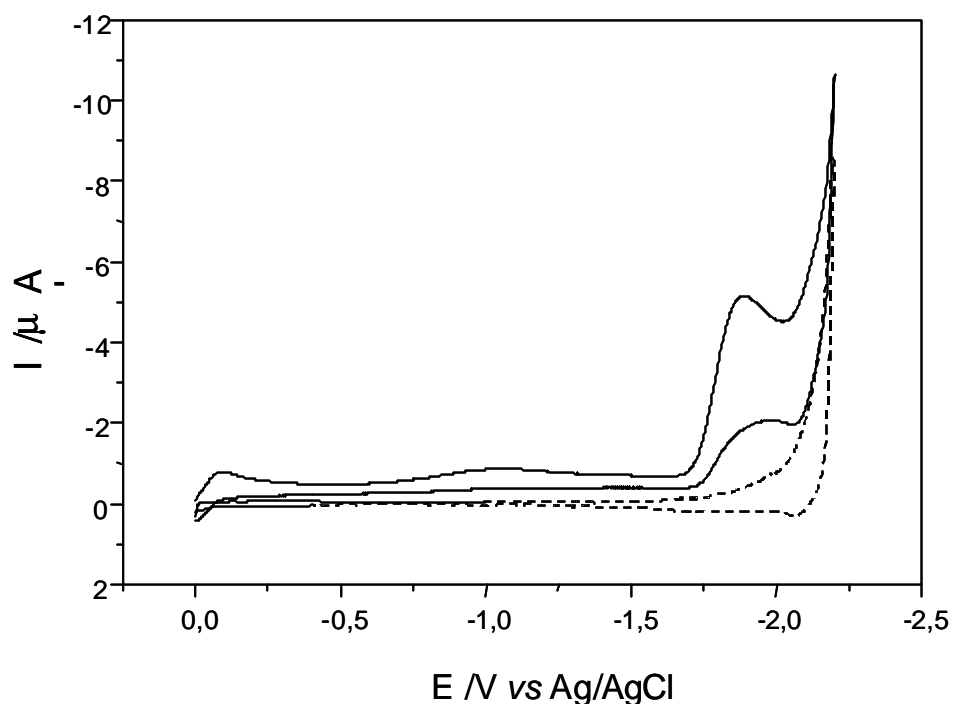


Figura 8. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de eletrólito suporte contendo LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Uma comparação entre os voltamogramas obtidos do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em LiOH e LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pôde ser constatada na Figura 9. Uma variação de 50 mV para potenciais menos negativos é observado em LiCl como eletrólito suporte (curva b). No entanto, o voltamograma do acetaldeído em LiOH (curva a) apresentou características mais definidas e com melhor resolução, como picos mais estreitos e com maior intensidade de corrente. Deste modo, investigou-se a seguir diferentes composições do eletrólito suporte, com concentrações variáveis de LiCl e LiOH para escolher a melhor condição experimental para obtenção da curva voltamétrica de redução de acetaldeído.

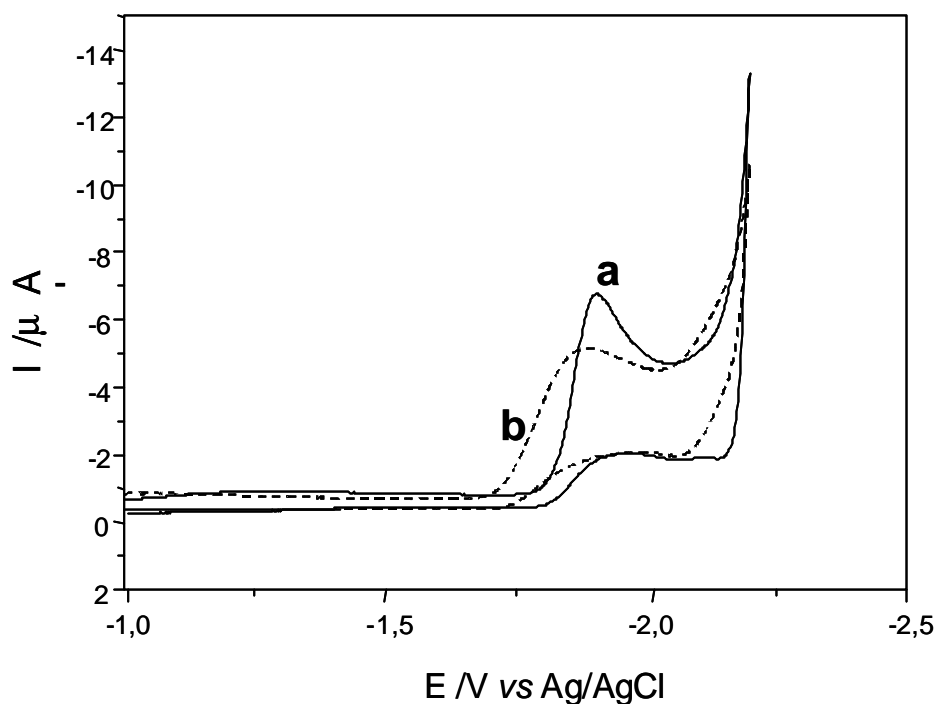


Figura 9. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Curva a) solução de LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e b) solução de LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Analisou-se também a influência da composição das soluções de eletrólitos suporte (mistura de LiOH + LiCl) com uma concentração de acetaldeído mais diluída que a anteriormente, na tentativa de deslocar ainda mais o potencial de redução do acetaldeído para valores menos negativos.

Voltamogramas cíclicos foram obtidos para redução de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em uma mistura de eletrólitos contendo soluções de LiOH + LiCl, ambos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ nas respectivas proporções: 90/10; 80/20; 70/30; 60/40 e 50/50 (% v/v).

Registrou-se os respectivos valores de potencial de pico (E_p), a partir dos voltamogramas cíclicos obtidos em cada proporção estudada, os quais encontram-se listados na Tabela 4.

Tabela 4. Influência da composição da mistura de eletrólito suporte sobre o potencial de pico (E_p) na redução de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

LiOH : LiCl (% v/v)	E_{p_c} / V vs Ag/AgCl
90:10	-1,78
80:20	-1,76
70:30	-1,75
60:40	-1,72
50:50	-1,68

Apesar da composição da mistura de eletrólito suporte na proporção de 50/50 % de LiOH + LiCl apresentar um potencial de pico mais distante da descarga do eletrólito e portanto deslocado para potencial menos negativo, como mostrado nos resultados apresentados na Tabela 4, seu pico apresentou-se pouco intenso e mal resolvido. Dessa forma, adotou-se a composição presente na mistura de 60/40 % de LiOH + LiCl como a mais apropriada para o estudo voltamétrico do acetaldeído em meio aquoso, cujo comportamento encontra-se representado na Figura 10. Nenhum pico foi observado na varredura reversa de potencial, neste intervalo de trabalho.

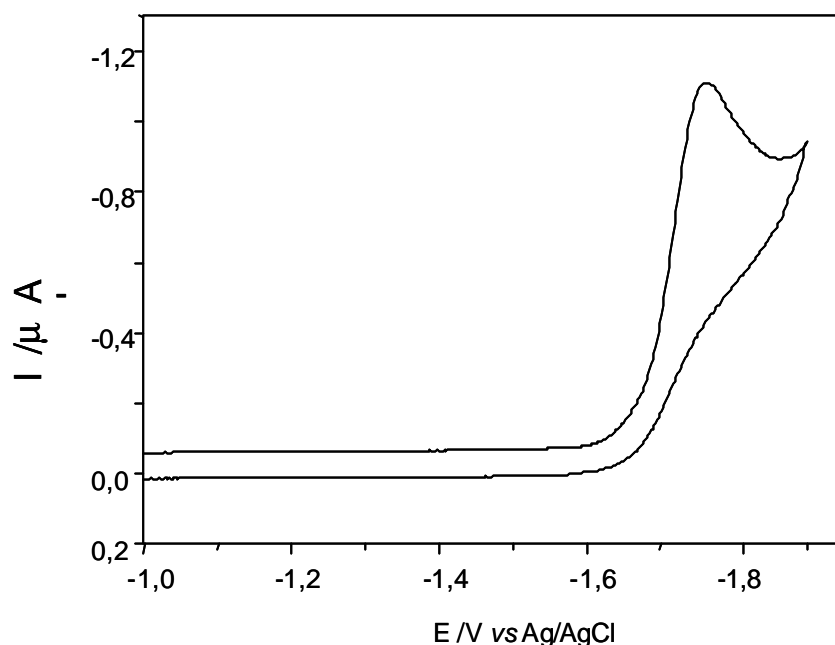


Figura 10. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ presente na mistura de eletrólito suporte contendo 60/40 % de LiOH + LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Estabelecidos os critérios para a redução do acetaldeído nas melhores condições eletródicas, procedeu-se o estudo referente à influência da variação da velocidade de varredura de potencial em eletrodo de gota pendente de mercúrio. A influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre a redução de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ presente na mistura de eletrólito suporte composta por 60/40 % de LiOH + LiCl, foi investigado no intervalo de 10 a 500 mV s^{-1} , e os voltamogramas mostrados na Figura 11. Nenhum pico foi observado na varredura reversa de potencial, neste intervalo de trabalho, sugerindo um processo eletródico irreversível ou com reações químicas subsequentes à reação de transferência de carga.

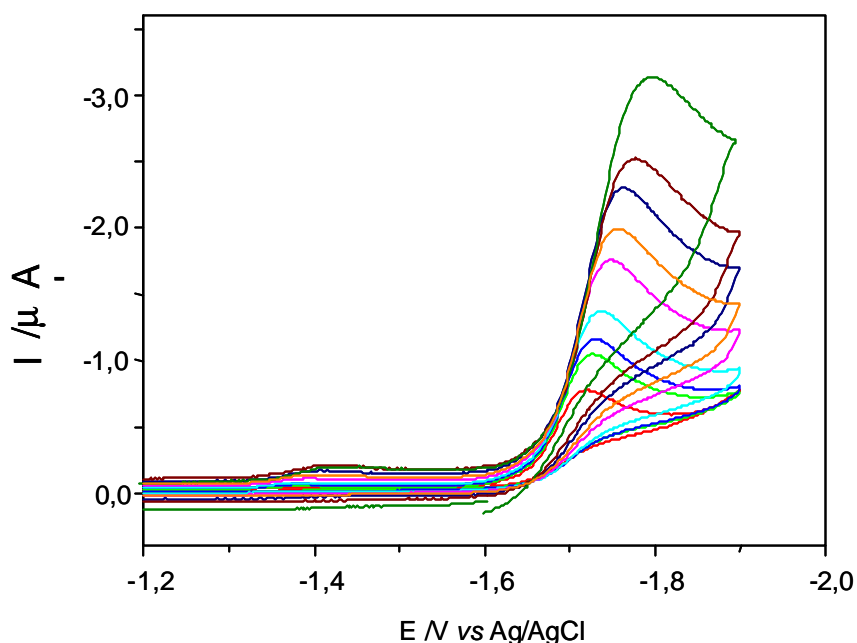


Figura 11. Voltamograma cíclico da redução do acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ presente na mistura de eletrólito suporte contendo 60/40 % de LiOH + LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio. Velocidades de varredura: (—) 10 mV s^{-1} , (—) 20 mV s^{-1} , (—) 30 mV s^{-1} , (—) 50 mV s^{-1} , (—) 100 mV s^{-1} , (—) 150 mV s^{-1} , (—) 200 mV s^{-1} , (—) 300 mV s^{-1} e (—) 500 mV s^{-1} .

Os respectivos valores de corrente de pico catódica (I_{pC}) e potencial de pico catódico (E_{pC}) estão apresentados na Tabela 5. De acordo com os resultados apresentados nesta Tabela, observa-se que o potencial de pico deslocou-se para valores mais negativos de potencial, indicativo de mecanismo de transferência de carga acoplado a reação química.

Os valores correspondentes da corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial estão representados na Figura 12. A análise desta figura evidencia que a corrente de pico aumentou linearmente com a raiz

quadrada da velocidade de varredura de potencial em todo o intervalo de concentração estudado (1×10^{-5} a 1×10^{-4} mol L⁻¹), de acordo com a equação de Randles e Sevcik:

$$I = 2,687 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2}$$

(onde n é o número de elétrons, D é coeficiente de difusão, A é a área do eletrodo de trabalho e C é a concentração da espécie eletroativa), a relação linear entre I_{pC} e $v^{1/2}$ é um indicativo de que o processo de transferência de carga é controlado por difusão da espécie eletroativa até a superfície do eletrodo de trabalho.

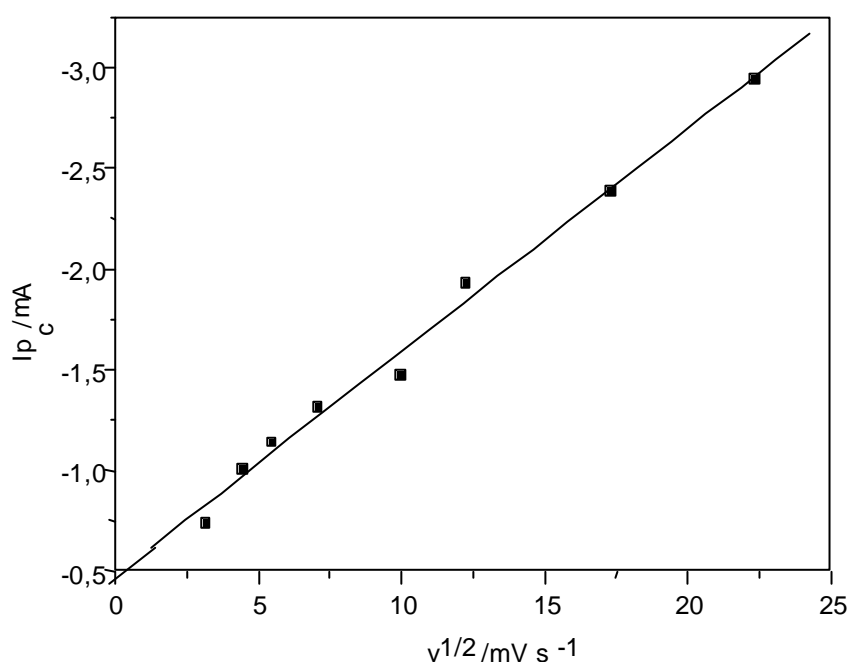


Figura 12. Corrente de pico obtida em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial a partir do voltamograma de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ presente na mistura de eletrólito suporte composta por 60/40 % de LiOH + LiCl em eletrodo de gota pendente de mercúrio.

Tabela 5. Influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre os parâmetros voltamétricos (I_{pC} e E_{pC}) obtidos a partir do voltamograma de acetaldeído $7,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ presente na mistura de eletrólito suporte composta por 60/40 % de LiOH + LiCl em eletrodo de gota pendente de mercúriol.

$v / \text{mV s}^{-1}$	10	20	30	50	100	150	200	300	500
I_{pC} / mA	0,740	1,01	1,14	1,32	1,47	1,93	2,69	2,39	2,94
E_{pC} / V	-1,71	-1,72	-1,73	-1,73	-1,74	-1,75	-1,76	-1,78	-1,78

4.1.2 Caracterização Voltamétrica do Acetaldeído sobre Eletrodo de Carbono Vítreo

O eletrodo de carbono vítreo é bastante comum e empregado na técnica voltamétrica por se tratar de um eletrodo estável e barato, apresentando um maior intervalo analítico de potencial para o estudo da oxidação quando comparado com o eletrodo de mercúrio. Dessa forma, investigou-se o comportamento eletroquímico do acetaldeído em carbono vítreo, em diferentes soluções de eletrólito suporte, com o objetivo de estudar a influência do material eletródico sobre o comportamento eletroquímico e obtenção dos parâmetros eletroquímicos para a otimização do método cromatográfico com detecção eletroquímica na determinação de acetaldeído.

A redução voltamétrica de acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em meio aquoso, sobre eletrodo de carbono vítreo pode ser observada nas respectivas curvas a e b da Figura 13. Comparando-se os voltamogramas cíclicos obtidos na redução do acetaldeído, observou-se em ambos os eletrólitos uma

onda catódica com pico de redução em $E_{pC} = -1,6$ V, sendo que em meio de $\text{LiOH}_{(aq)}$ este pico apresentou-se mais pronunciado (maior intensidade de corrente) quando comparado à redução do acetaldeído em meio de $\text{LiCl}_{(aq)}$.

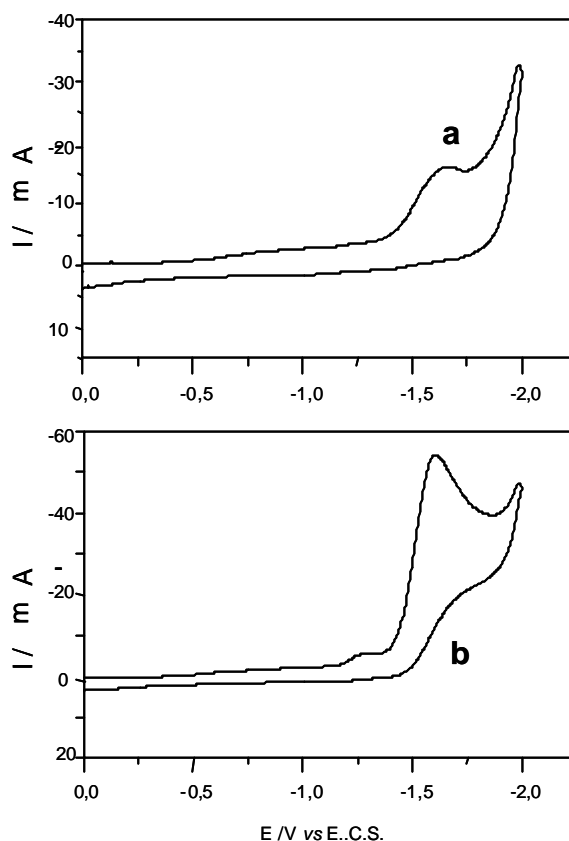


Figura 13. Voltamogramas cíclicos da redução do acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva a) solução de LiCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e b) solução de LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Dessa forma, o $\text{LiOH}_{(aq)}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ mostrou-se como sendo potencialmente melhor eletrólito suporte para a redução do acetaldeído em eletrodo de carbono vítreo, demonstrando comportamento semelhante ao obtido em eletrodo de gota pendente de mercúrio.

A influência na variação da velocidade de varredura de potencial foi investigada no intervalo de 10 a 300 mV s^{-1} , em uma solução de eletrólito suporte

composta por $\text{LiOH}_{(\text{aq})}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e os respectivos voltamogramas cíclicos estão mostrados na Figura 14. Nenhum pico foi observado na varredura reversa de potencial, neste intervalo de trabalho, em qualquer velocidade investigada, sugerindo um processo eletródico irreversível ou com reações químicas subsequentes à reação de transferência de carga, como também ocorreu em eletrodo de mercúrio.

Os valores de I_{pC} foram representados em um gráfico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, cujo resultado é mostrado na Figura 15. Como pode-se observar, a corrente de pico catódica do acetaldeído aumenta linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, indicando que o processo de transferência de carga também é controlado por difusão do analito até a superfície do eletrodo de carbono vítreo.

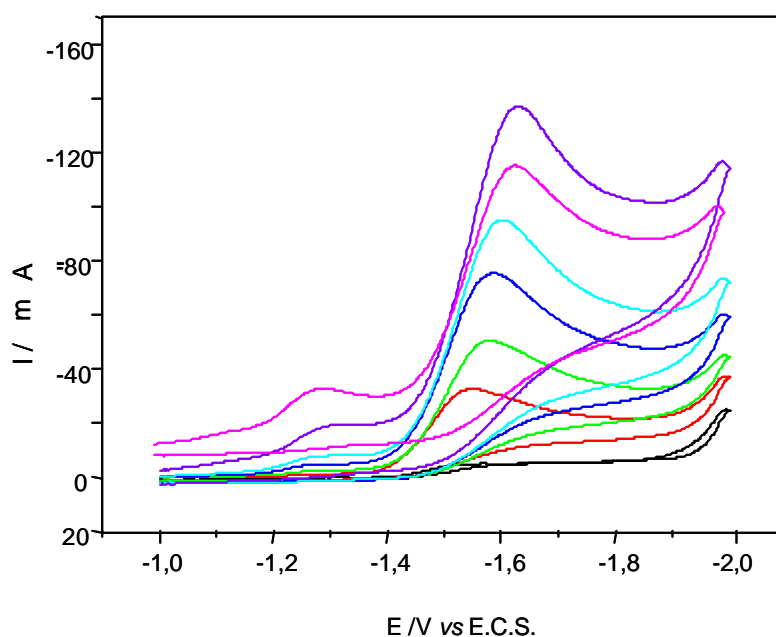


Figura 14. Voltamogramas cíclicos da redução do acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução de eletrólito suporte contendo $\text{LiOH}_{(\text{aq})}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo de carbono vítreo. Velocidades de varredura: (—) 10 mV s^{-1} , (—) 50 mV s^{-1} , (—) 80 mV s^{-1} , (—) 150 mV s^{-1} , (—) 200 mV s^{-1} e (—) 300 mV s^{-1} .

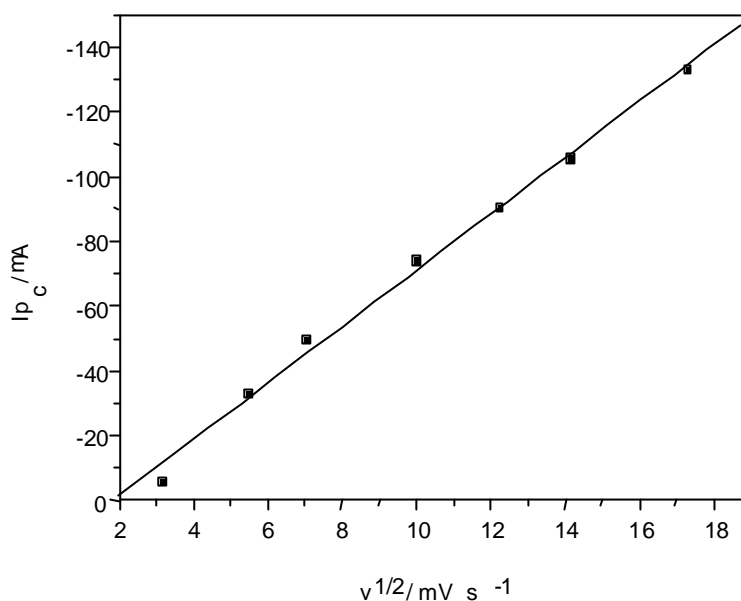


Figura 15. Corrente de pico obtida em função da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial a partir do voltamograma do acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ presente na solução de eletrólito suporte composta por LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de carbono vítreo.

A influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre os parâmetros voltamétricos, tais como: corrente de pico catódica (I_{p_c}) e potencial de pico catódico (E_{p_c}) para a redução do acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi analisada e encontra-se disposta na Tabela 6. O acetaldeído apresentou resposta similar, quanto ao deslocamento do E_{p_c} , para ambos os eletrodos empregados no estudo da variação da velocidade de varredura de potencial e também observa-se que o potencial de pico deslocou-se para valores mais negativos de potencial, indicativo de mecanismo de transferência de carga acoplado a reação química e de um processo eletródico com característica irreversível.

Tabela 6. Influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre os parâmetros voltamétricos (I_{pC} e E_{pC}) obtidos a partir do voltamograma de acetaldeído $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ presente na solução de eletrólito suporte composta por LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de carbono vítreo.

$v / \text{mV s}^{-1}$	10	30	50	100	150	200	300
I_{pC} / mA	0,57	3,35	4,92	7,38	9,01	10,60	18,27
E_{pC} / V	-1,48	-1,54	-1,57	-1,58	-1,60	-1,62	-1,63

Em uma solução contendo uma mistura de 10 mL de LiCl e 10 mL de LiOH como eletrólito suporte, foi adicionado 1 mL de solução de acetaldeído $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ com o intuito de investigar a influência dos intermediários gerados eletroquimicamente na redução do acetaldeído através de varreduras sucessivas de potencial utilizando-se a voltametria cíclica, pois o pré - pico em $-1,3 \text{ V}$, observado na redução do acetaldeído em eletrodo de carbono vítreo contendo uma solução de LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (curva b da Figura 13), é característico de uma etapa de adsorção do produto gerado na redução.

A diferença entre o primeiro e os subsequentes voltamogramas freqüentemente fornecem informações mecanísticas importantes. Diversas modificações posteriores à transferência eletrônica podem ser observadas no ciclo repetitivo. Dentre estas manifestações, espécies eletroativas formadas por reações químicas seguintes à transferência de carga podem ser detectadas na varredura sucessiva pela presença de picos não presentes na primeira varredura de potencial ^[24-25]. O voltamograma cíclico obtido para o acetaldeído com varreduras sucessivas de potencial esta representado nas

curvas da Figura 16. Uma análise desta figura mostra que nas varreduras sucessivas, a intensidade da corrente no segundo ciclo diminuiu 10 % em relação ao ciclo inicial e após 30 ciclos a intensidade de corrente diminuiu em aproximadamente 48 %. Este comportamento pode ser indicativo de que a primeira etapa de transferência eletrônica está sendo inibido devido à adsorção de algum produto formado ou que na escala de tempo do experimento existe alguma provável reação química entre o produto formado e o material inicial. Segundo a literatura ^[26-27], a fraca adsorção do produto de uma transferência de carga ou reação química causam deformações nos voltamogramas e alterações no valor do potencial de pico comparado ao processo em que não há adsorção.

Se uma forte adsorção se faz presente, podem aparecer pré ou pós picos separados do pico normal. A influência na variação da velocidade de varredura de potencial no estudo destes processos pode ser uma variável importante. Considerando-se que o fluxo de carga e quantidade do material adsorvido são constantes e a quantidade do material eletroativo que chega na superfície do eletrodo por difusão depende do tempo, um aumento na velocidade de varredura (v) causa um aumento relativo na resposta devido ao processo de adsorção comparada ao processo difusional e os diagnósticos para um processo de adsorção podem se tornar mais evidentes. Os voltamogramas cíclicos com varredura sucessivas de potencial em altas velocidades mostraram que o comportamento eletroquímico não é alterado em relação às baixas velocidades de varredura.

Deste modo, a hipótese de que há uma inibição da etapa eletródica devido à adsorção de algum produto formado tem grande probabilidade de acontecer devido à presença de pré-pico correspondente à uma forte adsorção da espécie

formada na superfície do eletrodo, mostrados anteriormente no estudo voltamétrico do acetaldeído sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio (Figura 7) e em eletrodo de carbono vítreo em solução aquosa de LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 13).

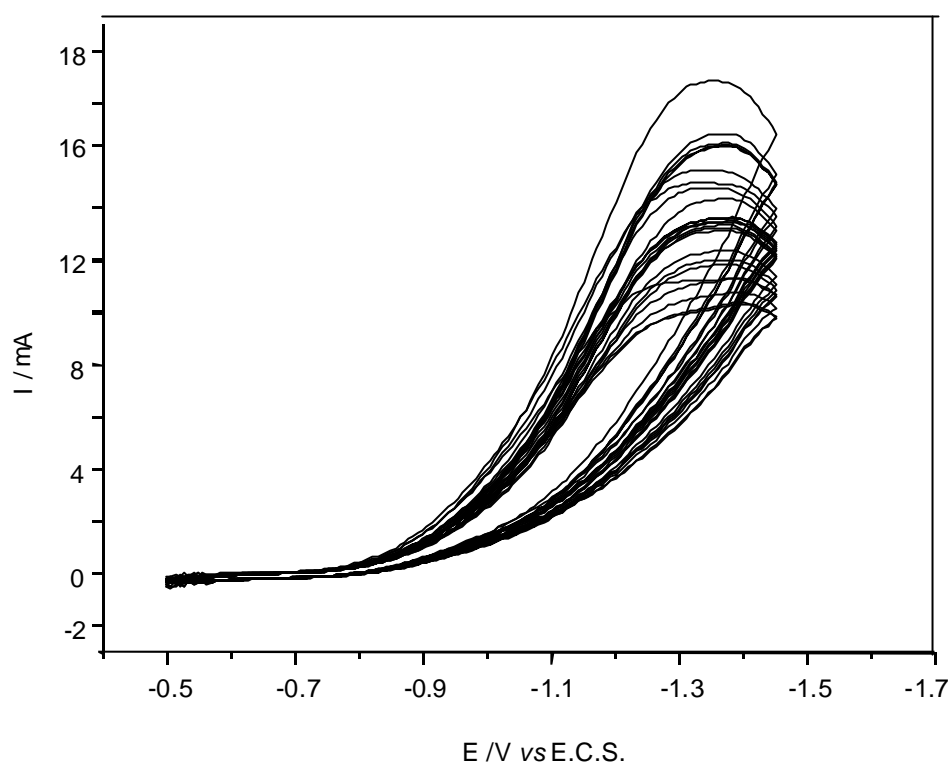


Figura 16. Voltamograma cíclico sucessivo do acetaldeído $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em uma mistura de eletrólito suporte contendo LiCl + LiOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

4.1.3 Caracterização Voltamétrica do Acetaldeído Derivado (AcH–DNPHo) sobre Eletrodo de Carbono Vítreo

Os compostos nitroaromáticos apresentam comportamento característico na redução e ocorre segundo a transferência de 4 elétrons e 4 íons H^+ a cada grupo nitro, com geração da hidroxilamina correspondente. De acordo com a literatura^[11], o

primeiro grupo nitro a ser reduzido é o da posição para, enquanto o nitro da posição orto seria reduzido posteriormente em potencial mais negativo. Investigou-se o comportamento eletroquímico do AcH-DNPHo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em soluções de eletrólito suporte contendo uma mistura de acetonitrila / perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) e etanol / perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), ambos $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, com o intuito de obter informações a respeito do processo eletródico e seu possível emprego na otimização da metodologia a ser desenvolvida no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica.

A escolha de acetonitrila e etanol como soluções de eletrólito suporte para análise voltamétrica do AcH-DNPHo foi baseada na solubilidade desses dois compostos com o acetaldeído derivado. O perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) foi escolhido para compor a solução de eletrólito suporte por ser um sal solúvel tanto em acetonitrila quanto em etanol. A Figura 17 evidenciou um voltamograma cíclico correspondente à redução de AcH-DNPHo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução de eletrólito suporte contendo uma mistura de acetonitrila / PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em eletrodo de carbono vítreo com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

A análise dessa figura evidencia a presença de três etapas de redução bem definidas. O primeiro pico (I_C) de redução da espécie AcH-DNPHo aparece em potencial de $-0,6 \text{ V}$, o segundo pico (II_C) de redução aparece em $-1,0 \text{ V}$ e o terceiro pico (III_C) de redução em $-1,3 \text{ V}$. Na varredura reversa de potencial, observaram-se três picos anódicos (I_A , II_A e III_A), mostrando que os produtos formados no processo de redução do AcH-DNPHo são eletroativos.

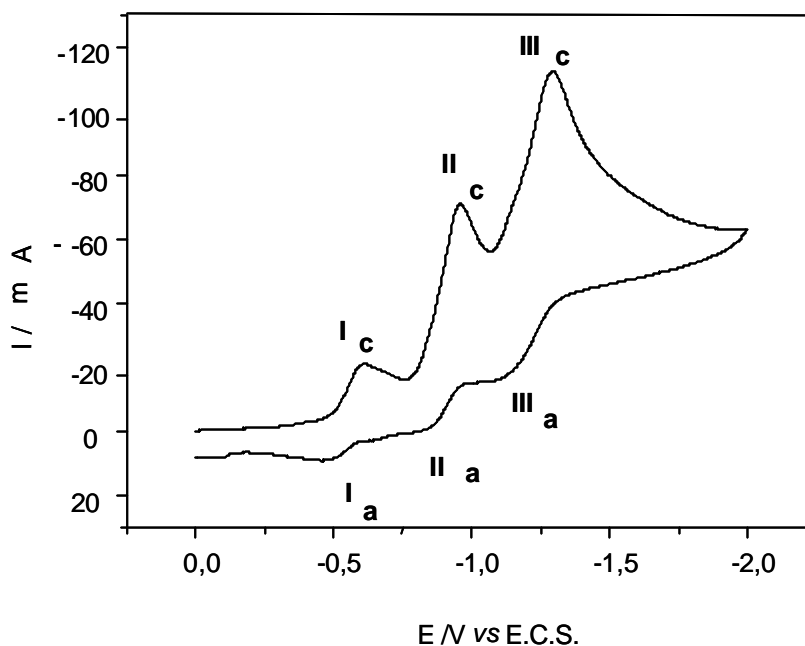


Figura 17. Voltamograma cíclico da redução do AcH-DNPHo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução de eletrólito suporte contendo uma solução de acetonitrila / PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Um estudo comparativo do comportamento eletroquímico do agente derivatizante (DNPHi) e seu respectivo derivado (AcH-DNPHo) foi realizado registrando-se voltamogramas cíclicos destas duas espécies em concentrações de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} em solução de eletrólito suporte contendo acetonitrila / PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, os quais são mostrados na Figura 18. A análise dos voltamogramas mostra que os dois primeiros picos de redução do AcH-DNPHo apresentam apenas um pequeno deslocamento de potencial em relação aos dois primeiros picos de redução da DNPHi, sendo $0,05 \text{ V}$ para o primeiro pico e $0,1 \text{ V}$ para o segundo pico. No entanto, o terceiro pico de redução de AcH-DNPHo

apresenta-se bem mais definido em relação ao terceiro pico de redução da DNPHi, com diferença de potencial da ordem de 0,35 V.

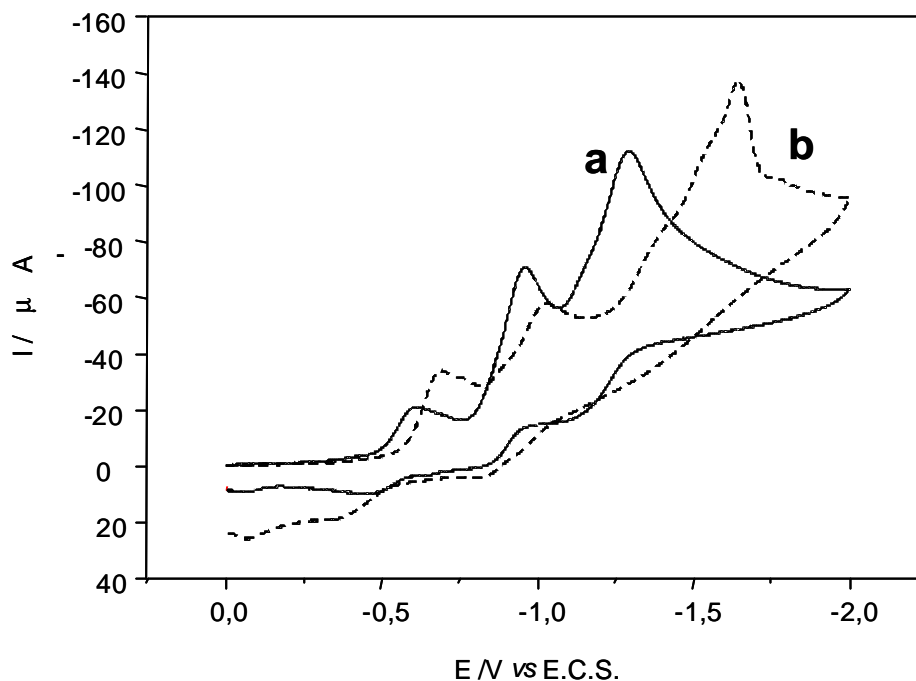


Figura 18. Voltamogramas cíclicos correspondentes à de redução de (a) AcH- DNPHo e (b) DNPHi, ambos $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} em solução de eletrólito suporte contendo acetonitrila / PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A Figura 19 apresenta um voltamograma cíclico correspondente à redução de AcH-DNPHo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em etanol / PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo de carbono vítreo a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . A análise deste voltamograma evidencia que, como em acetonitrila, a redução do AcH-DNPHo em meio alcoólico ocorre em três etapas, sendo a primeira em potencial de $-0,50 \text{ V}$, a segunda em potencial de $-0,90 \text{ V}$ e a terceira em potencial de $-1,75 \text{ V}$.

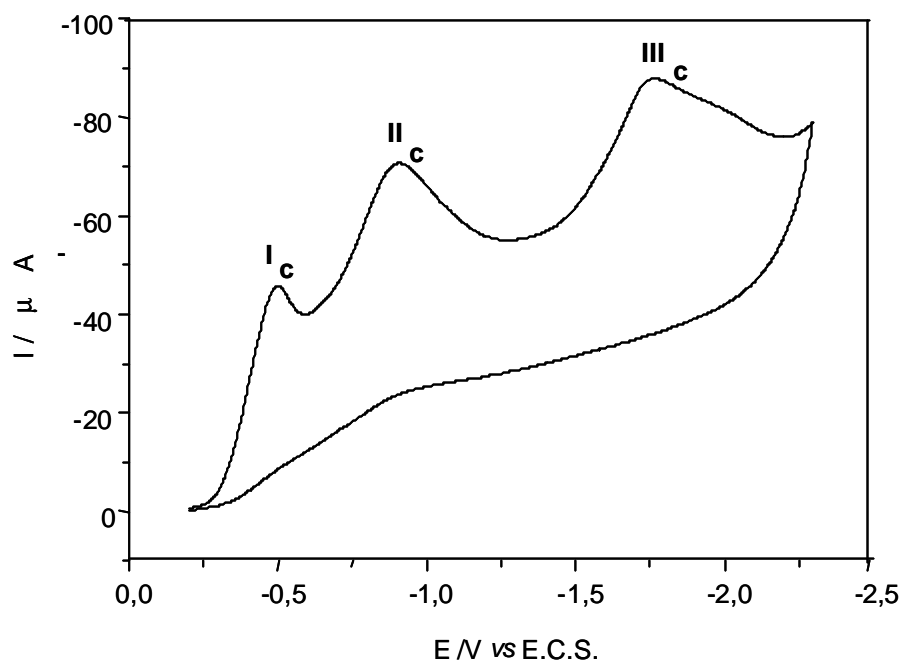
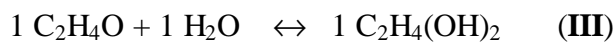


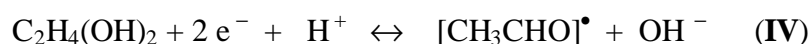
Figura 19. Voltamograma cíclico da redução do AcH–DNPHo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma solução de eletrólito suporte contendo uma solução de etanol / PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em eletrodo de carbono vítreo. Velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

4.2 Mecanismo de Redução Eletroquímica do Acetaldeído (AcH) em meio aquoso

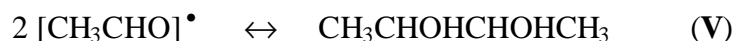
Assim, considerando os resultados obtidos através do comportamento voltamétrico do AcH por voltametria cíclica e a partir de dados da literatura^[10], a redução de AcH poderia ocorrer segundo as três etapas abaixo descritas:



forma hidratada



etanol



2,3–butanodiol

Na primeira etapa (III), o AcH reage com um solvente prótico (H_2O) na presença de Li^+ , formando predominantemente um composto hidratado. A seguir, ocorre a redução do composto formado com transferência de dois elétrons e formação do etanol correspondente (IV). Após esta etapa, ocorre a formação de 2,3–butanodiol através da dimerização do etanol adsorvido no eletrodo de trabalho (V). Esta adsorção é favorecida com o aumento da cadeia carbônica do produto formado.

Portanto, de acordo com a literatura e observações experimentais a adsorção do produto formado na dimerização do etanol pode ser responsável pela ocorrência do pré–pico em altas concentrações de AcH.

4.3 Caracterização do Acetaldeído derivado (AcH–DNPHo)

O AcH–DNPHo foi sintetizado e caracterizado por medidas de ponto de fusão (P.F.), por análise elementar de C, H e N, e por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (I.V.).

4.3.1 Ponto de Fusão (P.F.)

O ponto de fusão de uma substância orgânica pura é definido como a temperatura na qual a fase sólida coexiste com a fase líquida. Durante a fusão, a temperatura permanece inalterada até que todo sólido tenha se convertido em líquido. No ponto de fusão, a pressão de vapor da fase sólida é igual à pressão de vapor da fase líquida. Uma substância orgânica pura e cristalina possui, geralmente um ponto de fusão bem definido, isto é, a fusão ocorre em uma faixa estreita de temperatura (0,5 – 1,0 °C) e esta propriedade é bastante usada como critério de pureza de uma substância.

A Tabela 7 evidencia o resultado obtido do ponto de fusão do AcH–DNPHo, bem como, o citado em literatura^[23]. A análise foi feita em triplicata, a fim de obter-se uma média dos resultados.

Tabela 7. Determinação do Ponto de Fusão (P.F.)

Composto	P.F. observado (° C)	P.F. literatura (° C)
AcH–DNPHo	166,7 ± 0,2	168

4.3.2 Análise Elementar de C, H e N

A análise elementar é essencial para determinação da estrutura da molécula, já que fornece subsídios importantes para análise dos grupos funcionais. A comparação entre a porcentagem teórica e aquela determinada experimentalmente na amostra contribui na comprovação o grau de pureza do composto obtido. A Tabela 8

evidencia os resultados da análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio da DNPHi e do AcH–DNPHo, sendo os resultados expressos em % de C, N, e H presentes nestes compostos.

Tabela 8. Análise elementar da DNPHi e do AcH–DNPHo

Composto	Nitrogênio %		Carbono %		Hidrogênio %	
	Teórico	Exper.	Teórico	Exper.	Teórico	Exper.
DNPHi	28,26	26,91	36,33	34,76	3,03	2,93
AcH–DNPHo	24,99	24,78	42,84	43,04	3,60	3,52

4.3.3 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (I.V.)

As frequências de absorção analisadas foram aquelas de maior interesse para caracterização dos compostos, na região de $4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$ [28], conforme pode ser visualizado nas Figuras 20 e 21.

 Região de $4000 - 2000 \text{ cm}^{-1}$

A DNPHi contém grupo(s) N-H que apresentam como características bandas de absorção da deformação angular simétrica da ligação N –H na região de $3277-3330 \text{ cm}^{-1}$

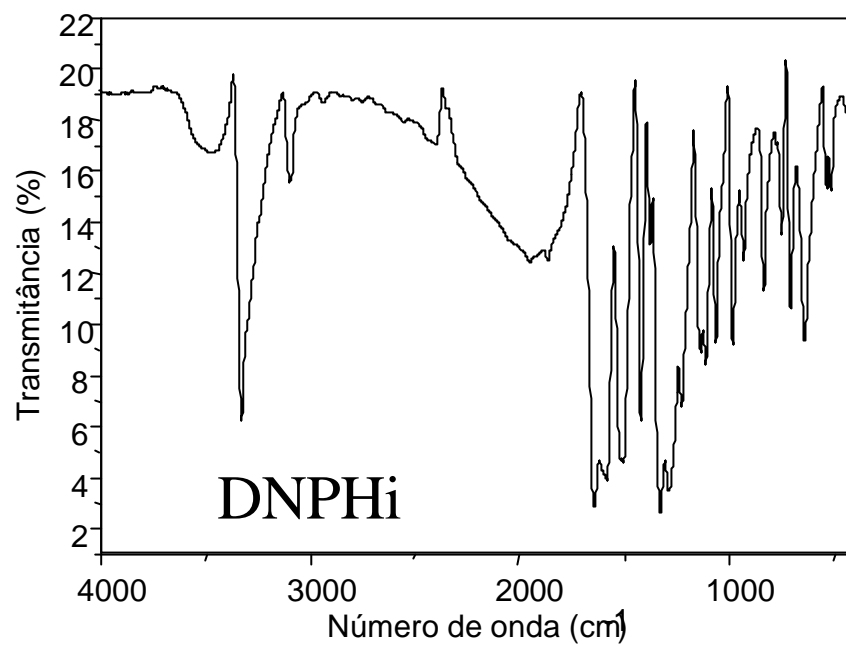


Figura 20. Espectro de absorção no infravermelho do composto de derivação DNPHi, em pastilha de KBr

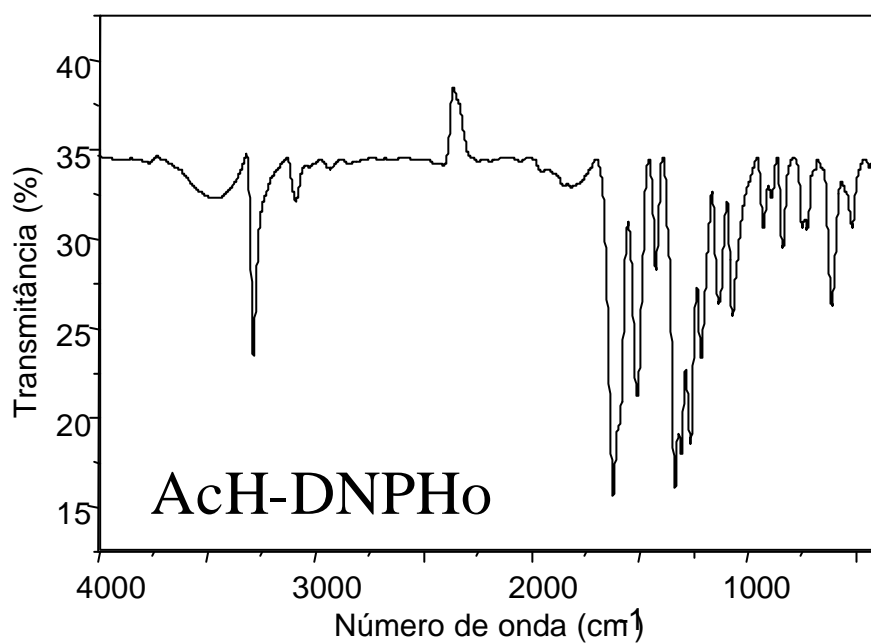


Figura 21. Espectro de absorção no infravermelho do derivado AcH-DNPHo, em pastilha de KBr

Dessa maneira, as bandas intensas observadas nesta região são atribuídas à frequência de absorção do grupo N-H. As bandas fracas observadas em 3096–3150 cm^{-1} para os compostos investigados são atribuídos à deformação angular da ligação C-H do carbono aromático próximo do grupo NO_2 .

Região de 2000 – 500 cm^{-1}

Nos dois compostos aparecem bandas intensas na região de 1500 cm^{-1} devidas as frequências de estiramento simétrico do grupo NO_2 do anel aromático. Frequências de estiramento simétrico e assimétrico de (C=N) de hidrazonas ocorrem em 1689 – 1471 cm^{-1} . Logo, as bandas de absorção observadas na região de 1640–1587 cm^{-1} contribuem para a caracterização do composto AcH–DNPHo. As bandas na região de 1332–1213 cm^{-1} são provavelmente atribuídas às deformações axiais fora do plano da ligação C-H do anel aromático, enquanto que absorções em maiores comprimentos de onda (900–675 cm^{-1}) podem ser atribuídas à deformação angular fora do plano da ligação C-C do anel aromático.

4.4 Estudo Cromatográfico

4.4.1 Influência da Composição da Fase Móvel

A composição adequada da fase móvel no sistema C.L.A.E. pode ser evidenciada pela eficiência da separação das substâncias presentes na matriz estudada através do fator de capacidade (k) ou fator de retenção, parâmetro

cromatográfico que diz respeito à retenção do soluto que é determinado pela razão entre o tempo em que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária e em que percorre a coluna na fase móvel.

Várias composições de fase móvel foram testadas na separação do AcH–DNPHo para a construção da curva analítica.

A utilização de eletrólito suporte na fase móvel em uma concentração previamente estabelecida de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ inviabilizou as primeiras tentativas de separação no sistema C.L.A.E.. A resposta do detector eletroquímico, tanto para potenciais de redução como oxidação, apresentou uma intensidade de corrente excessivamente elevada impedindo a detecção. De posse desses resultados, foi realizado um estudo para a escolha do perfil de concentração do eletrólito suporte e também do solvente necessário para a composição da mistura final da fase móvel. Todas as soluções, descritas anteriormente no estudo voltamétrico do acetaldeído e seu derivado, em eletrodos de gota pendente de mercúrio e carbono vítreo, foram testadas no sistema C.L.A.E. em concentrações abaixo de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em acetonitrila e etanol.

A melhor resposta obtida para o desenvolvimento da metodologia proposta para análise de acetaldeído foi a mistura contendo metanol – cloreto de lítio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma proporção 80/20 v/v. A seguir, verificou-se a influência da vazão na fase móvel para obtenção das melhores condições cromatográficas na eluição do AcH–DNPHo no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica.

4.4.2 Influência da Vazão na Fase Móvel

Outra opção para melhorar a resolução dos cromatogramas obtidos da eluição dos compostos presentes na matriz alcoólica, foi a variação da vazão da fase móvel através da coluna no sistema cromatográfico. Alterando-se a vazão na fase móvel percebe-se mudanças na eficiência da coluna que refletiram na mudança do número de pratos teóricos (N). A dependência da resposta do detector, medida em termos da corrente de pico do AcH-DNPHo através da variação na vazão da fase móvel foi avaliada neste estudo em uma faixa de 0,8 – 1,5 mL min⁻¹. Uma vazão superior a 2,0 mL min⁻¹ causou um aumento muito grande na pressão do sistema C.L.A.E., excedendo o limite máximo de segurança estabelecido no equipamento. Vazões menores que 0,8 mL min⁻¹ (0,5 – 0,7 mL min⁻¹) necessitaram tempos de separação excessivos (20 min), tornando a metodologia analítica inadequada.

Foi avaliada a influência da vazão na fase móvel no sistema cromatográfico com detecção eletroquímica, como esta representado na Figura 22. Um aumento linear da vazão na fase móvel resultou num aumento da corrente de pico observada para o AcH-DNPHo.

Aumentos adicionais na vazão, acima de 1,0 mL min⁻¹ resultaram em grandes aumentos na corrente de pico, sendo que acima de 1,5 mL min⁻¹ a corrente de pico excedeu o limite na resposta do detector. O fato de que o aumento na corrente de pico foi consideravelmente reduzido comparado com fluxos baixos (0,8 – 1,0 mL min⁻¹) foi inicialmente interpretado baseado no aumento da passivação do eletrodo de carbono vítreo por adsorção dos produtos na superfície do eletrodo de trabalho.

Nesse tipo de célula eletroquímica (wall-jet), as espécies eletroativas são transportadas para a superfície do eletrodo de trabalho por convecção. Portanto, um aumento na vazão da fase móvel implicaria num aumento da convecção, sendo que um número maior de moléculas do analito sejam transportadas até a superfície do eletrodo de trabalho. Conseqüentemente, as espécies adsorvidas poderiam reduzir a sensibilidade do detector devido à passivação da superfície do eletrodo durante o aumento na vazão da fase móvel. No entanto, a limpeza da cela eletroquímica deve ser considerada.

A cada medida foi necessária a limpeza da célula, ora por métodos eletroquímicos, ora por métodos convencionais de limpeza utilizando-se o polimento mecânico em uma superfície lisa com uma solução de alumina $0,05\mu\text{m}$.

Desse modo, houve uma resposta para o aumento na vazão da fase móvel no sistema cromatográfico com detecção eletroquímica. Ficou evidente que a resposta do detector eletroquímico é muito sensível às variações da vazão na fase móvel e apesar do aumento na corrente de pico, as separações foram suficientemente resolvidas para serem medidas separadamente, sem nenhuma dificuldade.

O tempo necessário para estabilizar a linha base na detecção eletroquímica foi de aproximadamente 1 hora, dependendo da vazão escolhida.

Para a detecção eletroquímica pode-se concluir que um aumento na vazão da fase móvel implicou na passivação mais rápida da superfície do eletrodo de trabalho, alterando a sensibilidade na resposta do detector, sem se considerar a limpeza adequada da cela eletroquímica. Assim, admitiu-se como vazão ótima $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

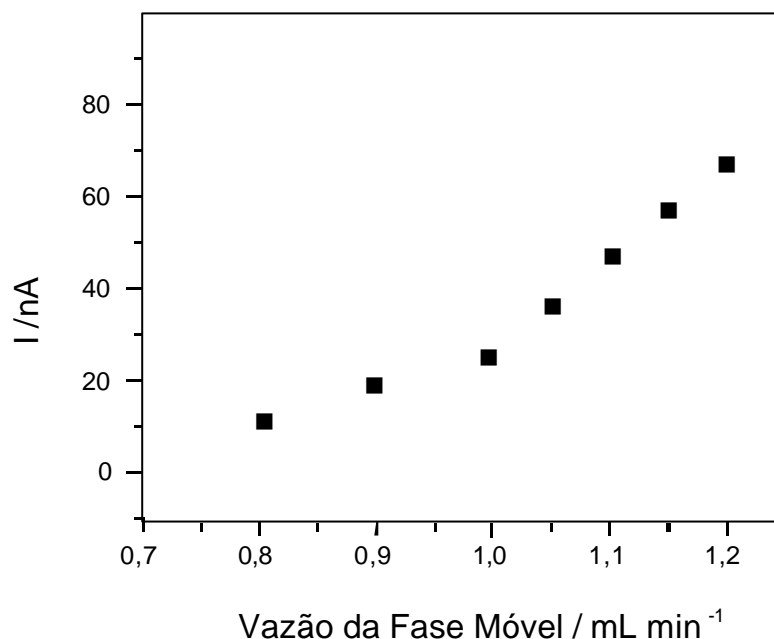


Figura 22. Influência da variação na vazão da fase móvel para a determinação de AcH–DNPHo utilizando–se coluna C₁₈ (150 × 6,0 mm D.I.; 5 μm) da Shimadzu e fase móvel contendo uma solução metanol – LiCl_(aq) 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (80:20% v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo a + 1,0 V.

4.4.3 Otimização do Potencial no Eletrodo de Trabalho

No sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica, a seletividade dos compostos esta associada às características da fase estacionária e da fase móvel e suas interações entre os analitos de interesse, sendo possível somente se o potencial de pico da espécie eletroativa estiver separado por 100 mV de diferença. Nos detectores eletroquímicos amperométricos, as análises baseiam–se em medir a corrente (área ou altura do pico) em função do tempo para um determinado potencial (constante).

Usualmente, a aplicação do potencial no detector eletroquímico corresponde a um potencial mínimo no qual a corrente alcança seu limite, sendo esse potencial conhecido como $E_{\text{platô}}^{[29]}$. Um grande número de métodos têm sido

empregados para a determinação do $E_{p_{\text{platô}}}$ baseados em medidas diretas e indiretas. Para medidas diretas, pode-se destacar os voltamogramas hidrodinâmicos que possuem um aspecto semelhante aos polarogramas D.C., e que permitem a escolha direta do potencial de trabalho para a aplicação no sistema cromatográfico com detecção eletroquímica. A determinação indireta pode ser efetuada através de estudos voltamétricos utilizando-se a técnica de voltametria cíclica (V.C.) em célula eletroquímica sobre condições estáticas. Ambos os métodos foram utilizados para a determinação do $E_{p_{\text{platô}}}$. Todavia, valores de $E_{p_{\text{platô}}}$ obtidos por métodos indiretos não são suficientemente adequados quando aplicados à detecção eletroquímica em C.L.A.E., que opera em condições dinâmicas. A investigação do melhor potencial foi limitada entre valores de potencial $-0,3$ a $-1,0$ V para redução e $+0,4$ a $+1,4$ V para oxidação, respectivamente. Quando o potencial do detector foi aumentado para valores acima de $+1,2$ V (oxidação) e $-1,0$ V (redução), houve um significativo aumento da corrente de fundo. Foi utilizada a fase móvel otimizada anteriormente na separação do AcH-DNPHo, composta por uma solução de metanol – cloreto de lítio $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} numa proporção 80:20 em volume e vazão de $0,040$ mL min^{-1} , para a construção do voltamograma hidrodinâmico.

A Figura 23 apresenta os resultados dos voltamogramas hidrodinâmicos obtidos a partir de uma solução de AcH-DNPHo 50 mg L^{-1} em acetonitrila. Todas as medidas foram efetuadas após purga com N_2 durante, aproximadamente, 20 minutos para eliminar o oxigênio molecular eletroativo presente na solução. O volume de injeção, utilizando-se válvula manual, da solução de AcH-DNPHo no sistema C.L.A.E. foi de 100 μL .

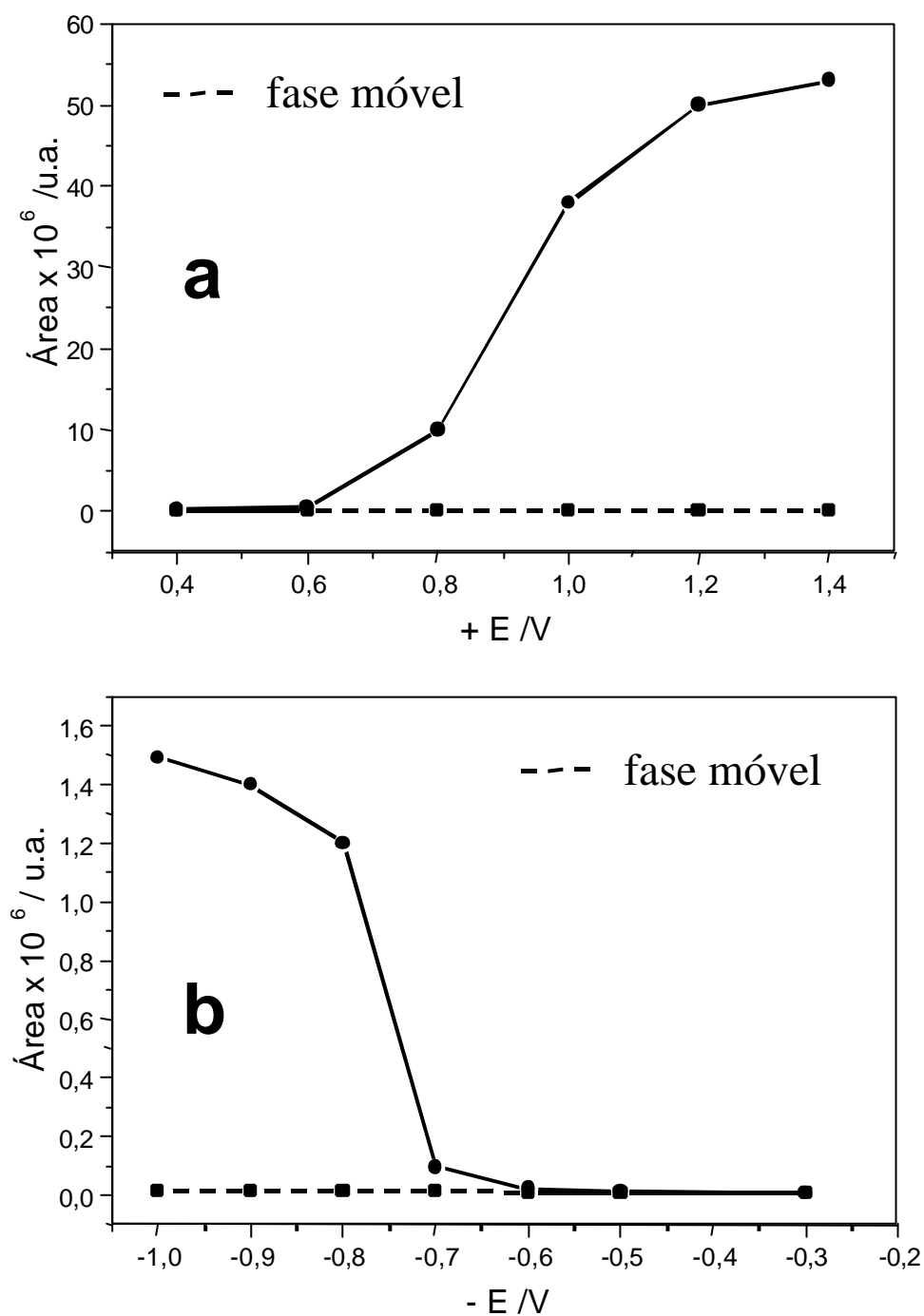


Figura 23. Voltamogramas hidrodinâmicos de a) oxidação e b) redução do AcH-DNPHo (50 mg L^{-1}) em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl. Fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v).

A curva (a) apresentada na Figura 23 mostrou que os valores da área obtidos para potenciais abaixo de + 0,6 V foram insignificantes. Potenciais de trabalho, igual ou menores que o escolhido não são suficientes para promover a oxidação do AcH-DNPHo em eletrodo de carbono vítreo.

Os potenciais na faixa de + 0,8 a + 1,0 V, foram considerados como potencialmente ideais, sendo que valores de potencial acima +1,2 V evidenciaram saturação na superfície do eletrodo, o que pôde ser constatado pela estabilização da área de pico do AcH-DNPHo (mesmo após limpeza da cela eletroquímica). Adicionalmente, os valores da área obtidos para os potenciais de redução abaixo de -0,6 V (curva b da Figura 23), também foram considerados insignificantes.

Os potenciais ideais escolhidos para este estudo foram - 0,80 V para a redução e + 1,0 V para a oxidação do AcH-DNPHo em eletrodo de carbono vítreo, respectivamente. Isso também pôde ser confirmado pelos estudos voltamétricos da caracterização do AcH-DNPHo, sobre eletrodo de carbono vítreo, quando utilizou-se acetonitrila / PTBA 0,1 mol L⁻¹ como solução de eletrólito suporte, sendo que o primeiro pico da redução da espécie derivada ocorreu em potencial de -0,60 V.

Os estudos voltamétricos anteriores, em condições estáticas, não evidenciaram ondas anódicas no intervalo de trabalho estudado. No entanto, os voltamogramas hidrodinâmicos apresentaram bom desempenho, cujo resultado pôde ser visualizado pela obtenção dos valores de área a partir da eluição do AcH-DNPHo, em diferentes potenciais de oxidação.

4.5 Metodologia Cromatográfica para Determinação de Acetaldeído

A otimização dos parâmetros cromatográficos quanto: à influência da composição da fase móvel, influência da vazão na fase móvel, do potencial $E_{\text{platô}}$ na resposta do detector eletroquímico e na separação do AcH–DNPHo foram estudados anteriormente. Os valores estabelecidos para cada um desses parâmetros foram: fase móvel solução de metanol – cloreto de lítio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma proporção 80:20 v/v; $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ vazão na fase móvel e potencial de redução $-0,80 \text{ V}$ e oxidação $+1,0 \text{ V}$, respectivamente.

No módulo de detecção eletroquímica acoplado ao sistema C.L.A.E., pode-se fazer algumas observações. Primeiramente, quanto à sensibilidade do sinal em relação à problemas operacionais do sistema e de variações na corrente elétrica fornecida ao sistema (não foi observada nenhuma ocorrência quanto à oscilações da corrente elétrica em função da existência de um estabilizador de tensão nas instalações do laboratório). Para isso, foram feitos testes de performance das bombas, do degasseificador por ultrassom e do sistema de aquisição de dados, sugerido pelo fabricante.

Em segundo lugar, pode-se operar o detector eletroquímico em faixas de sensibilidade diferentes. As faixas de sensibilidade disponíveis para o uso são: μA , ηA e ρA . Todas as análises realizadas nesse estudo foram viabilizadas pelo uso da escala em ηA , onde foram observadas correntes de fundo em aproximadamente $15 \eta\text{A}$. A Figura 24 apresenta um cromatograma com detecção eletroquímica em potencial de oxidação fixado em $+1,0 \text{ V}$, obtido após a injeção de $20 \mu\text{L}$ de solução de AcH–DNPHo, na faixa de concentração $0 - 300 \text{ ppm}$, diretamente em uma coluna cromatográfica LC Shim-pack

CLC-ODS ($150 \times 6,0$ mm de diâmetro interno; $5\mu\text{m}$) da SHIMADZU em condições isocráticas.

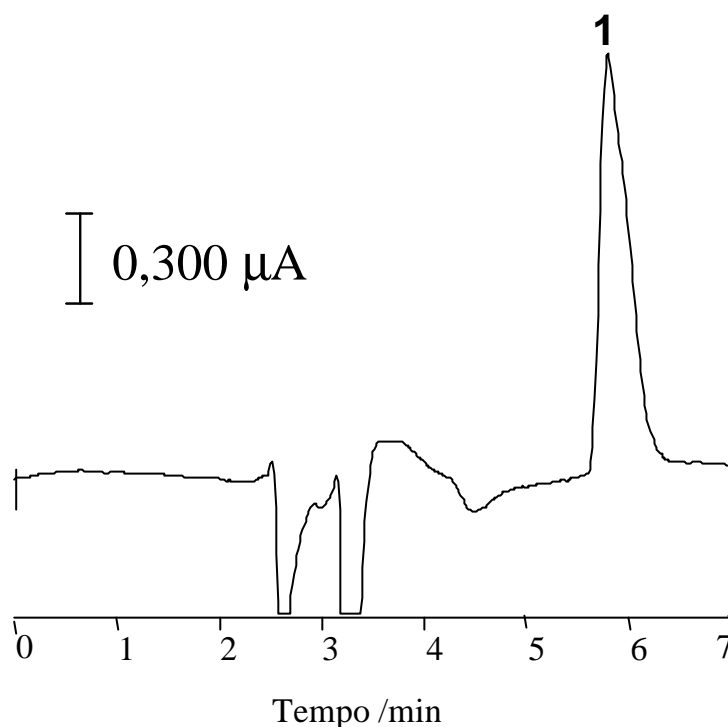


Figura 24. Cromatograma referente à eluição da solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Schimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em +1,0 V. Identificação dos picos: 1= AcH–DNPHo.

O tempo de retenção médio observado na eluição do AcH–DNPHo foi de 5,80 min., fator de seletividade (α) igual a 1,50; fator de capacidade (K) de 3,29 e fator de assimetria (As) igual a 0,96. Também foram realizados estudos para separação cromatográfica do AcH–DNPHo no potencial de redução $-0,80 \text{ V}$. Para isto, foi aplicado um fluxo de N_2 , em um intervalo de 30 minutos, na solução de AcH–DNPHo e também na fase móvel, com o intuito de remover o oxigênio molecular eletroativo

presente nestas soluções. A Figura 25, apresenta o cromatograma com detecção eletroquímica no módulo de redução para a eluição da solução de AcH–DNPH (50 mg L^{-1}).

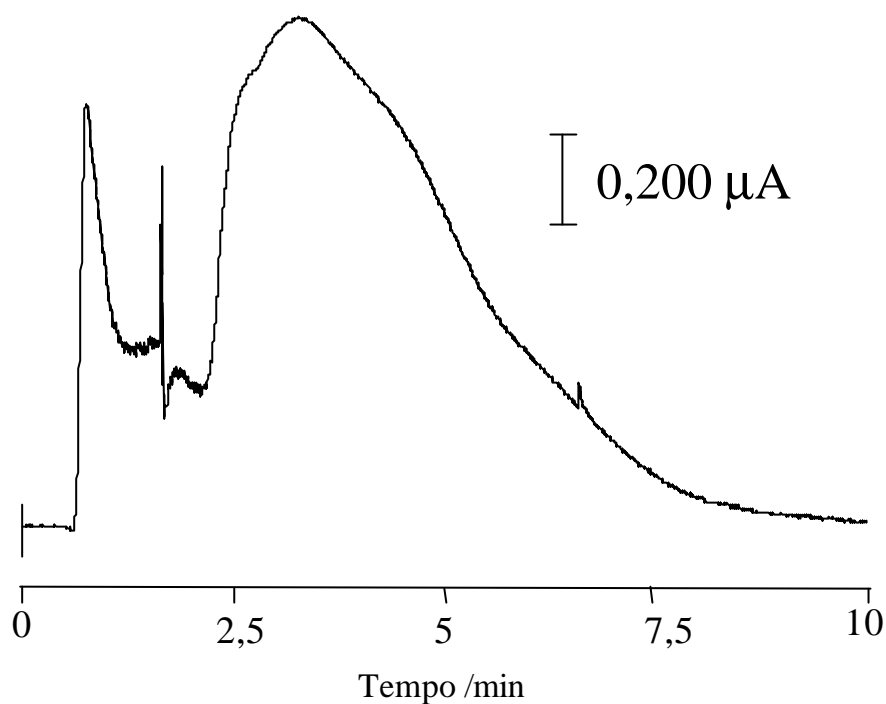


Figura 25. Cromatograma referente à eluição da solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}; 5 \text{ }\mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \text{ }\mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo vs Ag/AgCl, em $-0,8 \text{ V}$.

Pode-se observar através da análise da figura acima, que a remoção do oxigênio molecular eletroativo no sistema cromatográfico com detecção eletroquímica não foi eficiente, dificultando-se a detecção catódica do AcH–DNPHo. Grandes correntes de fundo (background) resultaram em um aumento do ruído limitando a sensibilidade da análise. Portanto, a remoção do oxigênio molecular eletroativo do

sistema cromatográfico é uma etapa importante para a detecção eletroquímica, especialmente na região de redução.

Os trabalhos encontrados na literatura não evidenciam a possibilidade da determinação de substâncias eletroativas, no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica, na módulo de redução. A maioria dos trabalhos publicados que envolvem este tipo de detecção evidenciam a determinação do analito somente na região de oxidação, frente à dificuldade na remoção do oxigênio molecular eletroativo.

A curva analítica, a partir das soluções de AcH-DNPHo, foi obtida através de diluições da solução estoque (1000 mg L^{-1}) em um solução contendo a mistura etanol – água (95:5 v/v), no intervalo de concentrações de 0 – 300 mg L^{-1} .

Utilizou-se a mistura etanol absoluto-água na proporção acima descrita visando-se minimizar os efeitos da matriz. A detecção eletroquímica das soluções padrões no sistema cromatográfico foi realizada medindo-se a resposta do detector (área) em função da concentração, em potencial de oxidação fixo em + 1,0 V. A utilização dos valores de área obtido após a eluição de AcH-DNPHo no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica para a construção da curva analítica foi preferida em relação à altura do pico porque podem ocorrer adsorção do analito na superfície do eletrodo de trabalho e com isso ocorrer uma diminuição na resposta do detector, a qual poderia ser interpretada como erro quantitativo das medidas realizadas neste estudo^[30].

O gráfico apresentado na Figura 26 exhibe uma relação linear sobre a resposta do detector (área) *vs* concentração das soluções de AcH-DNPHo, para a detecção eletroquímica no sistema cromatográfico no intervalo de concentrações de 0 – 300 mg L^{-1} .

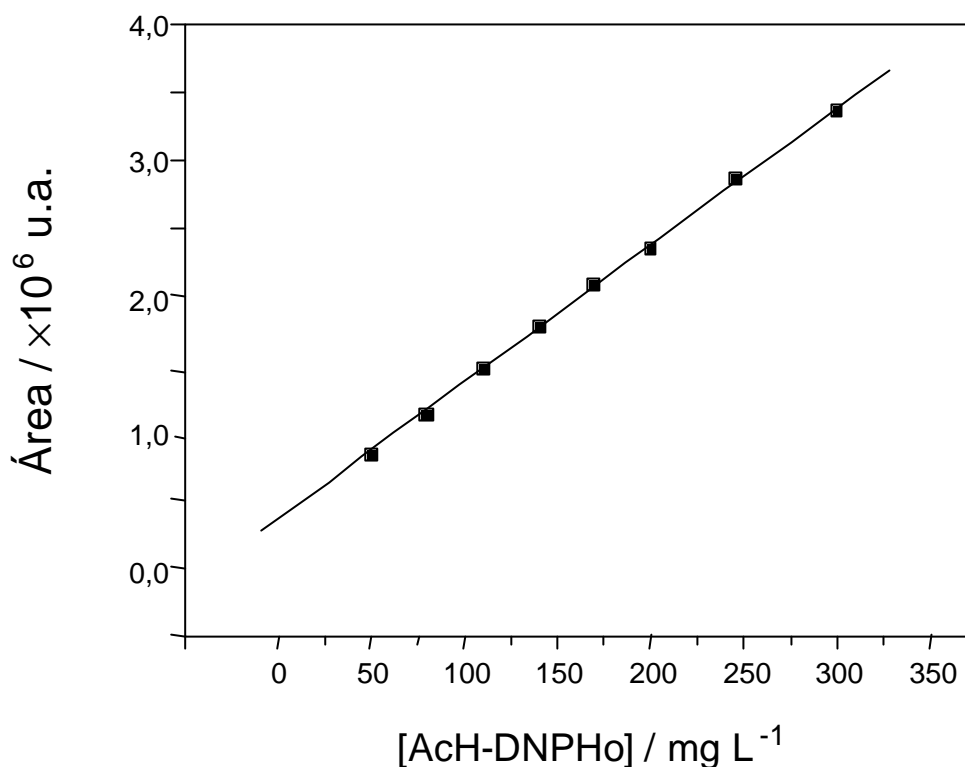


Figura 26. Curva analítica obtida a partir das soluções de AcH–DNPHo. Detecção eletroquímica, no módulo de oxidação em +1,0 V; equação da reta $A = 3518660 + 100155,2 [\text{AcH-DNPHo}]$ e coeficiente correlação linear de 0,9998.

O método analítico obtido para a determinação de acetaldeído utilizando o sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica, apresenta RSD de 8,2 % (medido a partir do padrão mais diluído), com uma relação sinal/ruído de 3:1 e um coeficiente de correlação linear de 0,9998, sendo o limite de detecção (L.D.) igual a 3,80 mg L⁻¹, obtido à partir das conveções adotadas pela IUPAC^[31].

4.6 Caracterização da Reação de Derivação “*In Situ*”

4.6.1 Reação de Derivação das Amostras Comerciais de AEHC

Com o intuito de conhecer como se procede a reação de transformação do acetaldeído em seu derivado (AcH- DNPHo) nas amostras de AEHC “in situ”, dada a complexidade da matriz, estudou-se a influência do volume da DNPHi necessária para reagir com o acetaldeído numa proporção equimolar. De acordo com estudos observados a partir da literatura^[18], um grande excesso do reagente de derivação garantiria o sucesso na conversão de 100 % dos aldeídos presentes na matriz alcóolica. A reação de derivação de uma amostra comercial (A₉) foi realizada utilizando-se, inicialmente, uma solução de DNPHi 0,4 % (m/v) em acetonitrila. Manteve-se a agitação da solução derivada, com barra magnética recoberta por PTFE por 20 min., em um recipiente hermeticamente fechado em uma sala com temperatura controlada em 15 °C . A seguir, injetou-se imediatamente uma alíquota de 20 µL da solução resultante no sistema C.L.A.E., previamente filtrada em membrana de PTFE Millipore[®] 0,45 µm. O monitoramento da resposta do detector eletroquímico (área) vs volume da solução de DNPHi empregada (intervalo 0,100 – 1,00 mL), pôde ser observado pelo gráfico representado na Figura 27. Para volumes da solução de DNPHi empregada na reação de derivação acima de 0,300 mL, observou-se que não houve variação significativa na área do pico referente à eluição do AcH-DNPHo. No entanto, para valores de volume da solução de DNPHi empregadas abaixo de 0,300 mL na reação de derivação, houve uma queda acentuada na resposta do detector (área) do pico referente à eluição do AcH-DNPHo. Desse modo, volume acima de 0,300 até 1,00 mL da DNPHi garantiria a presença de excesso do reagente na conversão do acetaldeído presente na matriz

alcoólica, justificado pela área constante obtida pela separação cromatográfica do AcH-DNPHo. O mesmo procedimento foi realizado para as demais amostras e os resultados obtidos evidenciaram comportamento semelhante ao observado no estudo realizado para a amostra A₉ e, assim sendo, estabeleceu-se que o volume necessário da solução de DNPHi para a reação de derivação quantitativa das amostras igual a 0,900 mL.

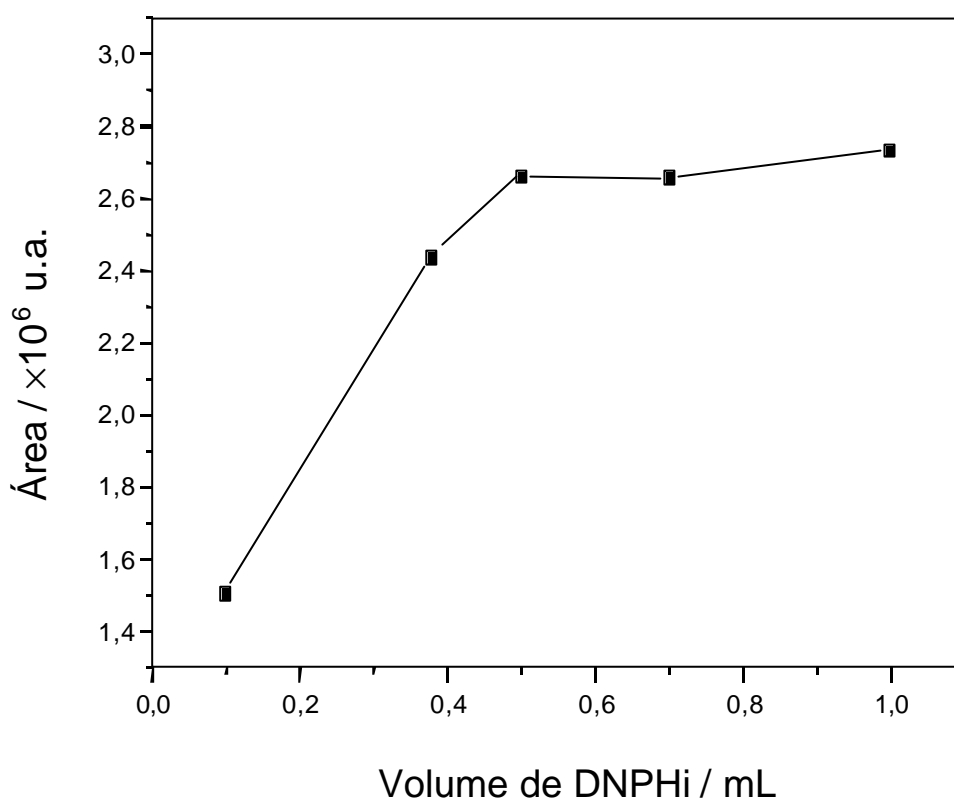


Figura 27. Volume da solução de DNPHi necessária para conversão do acetaldeído presente na amostra A₉ obtido em sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica no módulo de oxidação em +1,0 V em eletrodo de carbono vítreo *vs* Ag/AgCl. utilizando-se coluna C₁₈ (150 × 6,0 mm d.i.; 5 μm) da Shimadzu e vazão de 1,0 mL min⁻¹. Injeção de 20 μL e fase móvel contendo uma solução metanol – LiCl_(aq) 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (80:20 v/v).

4.6.2 Estudo da Estabilidade do Produto Formado (AcH- DNPHo)

Avaliou-se nesse estudo, inicialmente, a concentração formada do AcH-DNPHo, a partir da reação de derivação, entre as amostras comerciais de AEHC com a DNPHi, monitorando-se a área obtida do pico referente à eluição do AcH-DNPHo no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica no módulo de oxidação (+ 1,0 V).

A amostra A₉ foi derivada, como descrito anteriormente, e uma alíquota da solução resultante foi injetada no sistema C.L.A.E., durante intervalos de tempo de 15 min, até um total de 48 horas. Durante o monitoramento do produto formado na reação de derivação, encontrou-se um aumento da sensibilidade e do ruído do detector frente as mudanças provenientes de possíveis reações secundárias originadas a partir dessa reação (depois de 2 horas do início da reação).

A análise dos cromatogramas das Figuras 28 e 29 evidencia a ocorrência de mudanças importantes durante o transcorrer da reação. Para o pico que caracteriza a presença da DNPHi, houve uma diminuição da área em relação ao cromatograma apresentado depois de transcorrida 12 horas do início da reação de derivação. Isso sugere que, ou a DNPHi ainda está sendo consumida na reação ou que transformações químicas estejam ocorrendo em sua composição, diminuindo assim sua sensibilidade na detecção.

A presença característica da eluição do pico do AcH-DNPHo, no tempo de retenção médio de 5,81 min, apresenta um aumento de aproximadamente duas vezes na área se comparado com a área obtida imediatamente à injeção da solução proveniente da reação de derivação.

A justificativa de tal fato pode ser explicada à partir da reação de derivação, que, após transcorridas algumas horas, intermediários reativos ou espécies secundárias tenham reagido com a DNPHi e produzido análogos ao AcH-DNPHo que eluam no sistema C.L.A.E. com o mesmo tempo de retenção. Portanto, a soma da área desses análogos teria contribuição no aumento da área do pico do AcH-DNPHo.

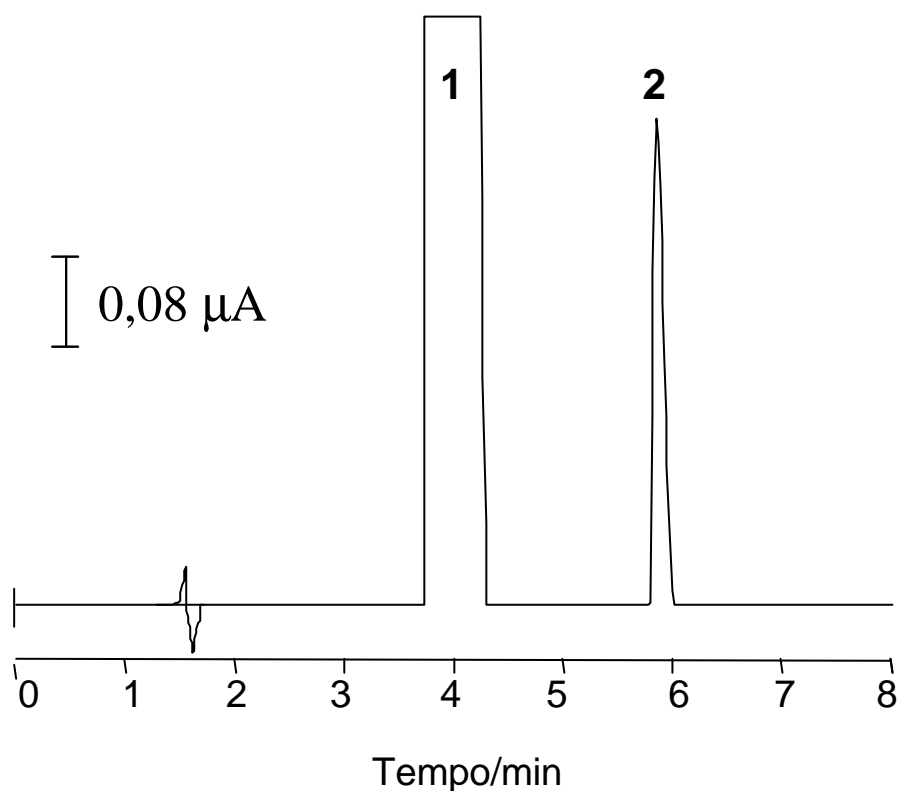


Figura 28. Cromatograma referente à eluição do AcH-DNPHo obtido imediatamente após a injeção de 20 μL da amostra A_9 derivada, utilizando-se coluna C_{18} (150 \times 6,0 mm d.i.; 5 μm) da Shimadzu e vazão de 1,0 mL min^{-1} . Fase móvel contendo uma solução metanol - $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em +1,0 V. Identificação dos picos: 1= DNPHi; 2= AcH-DNPHo.

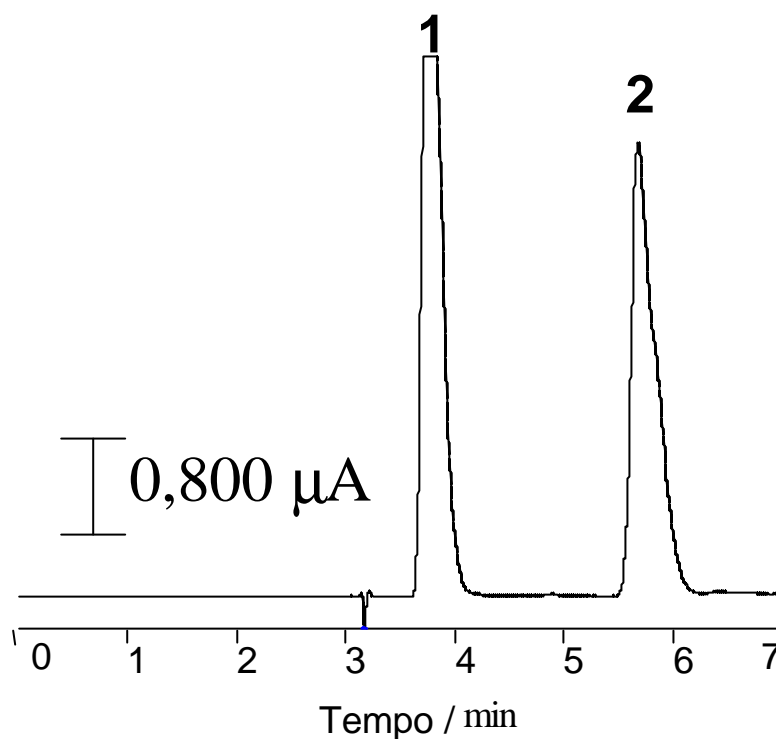


Figura 29. Cromatograma C.L.A.E. referente à eluição do AcH–DNPHo obtido pela injeção de 20 μL da amostra A₉ derivada após 12 horas do início da reação de derivação, utilizando-se coluna C₁₈ (150 × 6,0 mm d.i.; 5 μm) da Shimadzu e vazão de 1,0 mL min⁻¹. Fase móvel contendo uma solução metanol – LiCl_(aq) 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em +1,0 V. Identificação dos picos: **1**= DNPHi; **2**= AcH–DNPHo.

Portanto, se faz necessária a injeção de uma alíquota da solução resultante da reação de derivação imediatamente após o término da reação (20 min.).

4.6.3 Estudo da solução solvente utilizada na diluição dos padrões de AcH-DNPHo

Foi realizado um estudo comparativo da reação de derivação, sem a presença da amostra comercial de AEHC, com o objetivo de avaliar a presença de contaminantes na solução usada na diluição das soluções de AcH-DNPHo, no desenvolvimento do método analítico. Realizou-se este experimento com o mesmo procedimento de derivação, descrito anteriormente para as amostras, utilizado-se a mistura de etanol absoluto-água (95:5 v/v) . A Figura 30 ilustra o cromatograma obtido no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica no módulo de oxidação, onde observa-se a ausência do pico de interesse do analito no solvente utilizado para a diluição das soluções padrão de AcH-DNPHo.

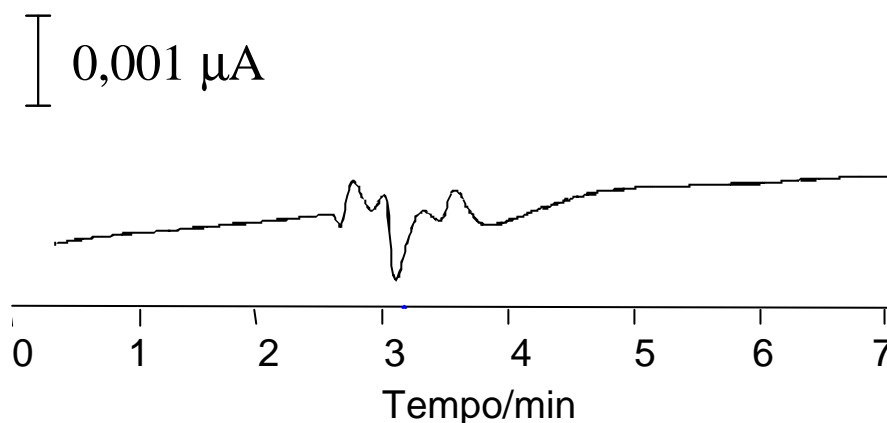


Figura 30. Cromatograma referente à eluição da solução solvente etanol absoluto-água (95:5 % v/v), utilizando-se coluna C_{18} (150 × 6,0 mm d.i.; 5 μm) da Schimadzu e vazão de 1,0 mL min⁻¹. Injeção de 20 μL e fase móvel contendo uma solução metanol – LiCl_(aq) 1,0 × 10⁻³ mol L⁻¹ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em + 1,0 V.

4.7 Estudo da Composição das Amostras Comerciais de AEHC por Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta e do Visível (UV/Vis)

As interações entre radiação eletromagnética absorvida e uma substância são determinadas pela natureza e estrutura eletrônica da molécula. Comumente, as transições entre os níveis eletrônicos de moléculas orgânicas ocorrem na região de 200 à 1000 nm e correspondem na maioria das vezes à excitação de elétrons livres ou elétrons π , ou ainda, à excitação de elétrons desemparelhados em um radical^[32]. Os principais fatores que influenciam na variação desta absorção relacionam-se: com o número, conjugação e posição das duplas ligações nas moléculas; a presença de grupos substituintes saturados e conjugação dessas duplas ligações ou grupos saturados com pares eletrônicos na molécula. Qualquer mudança na conjugação eletrônica da molécula ou interação com outras substâncias que se fazem presentes, tal como dímeros, hidratos ou seus contaminantes são acompanhadas por um deslocamento significativo do espectro de absorção^[28].

É conhecido da literatura que compostos como o etanol absoluto absorvem fortemente na região do ultravioleta (190 nm). A espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e do visível UV/Vis (180 – 400 nm) evidencia que há forte absorção numa faixa de comprimento de onda de 180 – 350 nm, para as amostras de AEHC analisadas, como mostra a Figura 31. A comparação do espectro obtido para o branco (etanol absoluto), com o comportamento dos espectros obtidos nas mesmas condições experimentais para as amostras, evidenciou que existem diferenças significativas na composição das amostras em relação ao branco e também em relação às próprias amostras entre si. Também foi avaliado o espectro de absorção do acetaldeído, já que esta substância apresenta-se em grau majoritário dentre os contaminantes orgânicos mais comuns encontrados no AEHC. Pode-se observar que a

banda de máxima absorvância do acetaldeído encontra-se em aproximadamente 277 nm (Figura 31).

Por outro lado, estes contaminantes constituem uma mistura de componentes químicos muito instáveis ou reativos entre si, sendo que suas proporções tendem a alterar-se no decorrer da estocagem do produto. Estes resultados são indicativos que na matriz alcoólica estudada, podem existir contaminantes derivados da própria produção e armazenagem^[1], que absorvem no espectro UV/Vis, numa região não definida e, desse modo, dificultam a análise quantitativa das amostras de AEHC por se apresentarem com uma composição muito heterogênea.

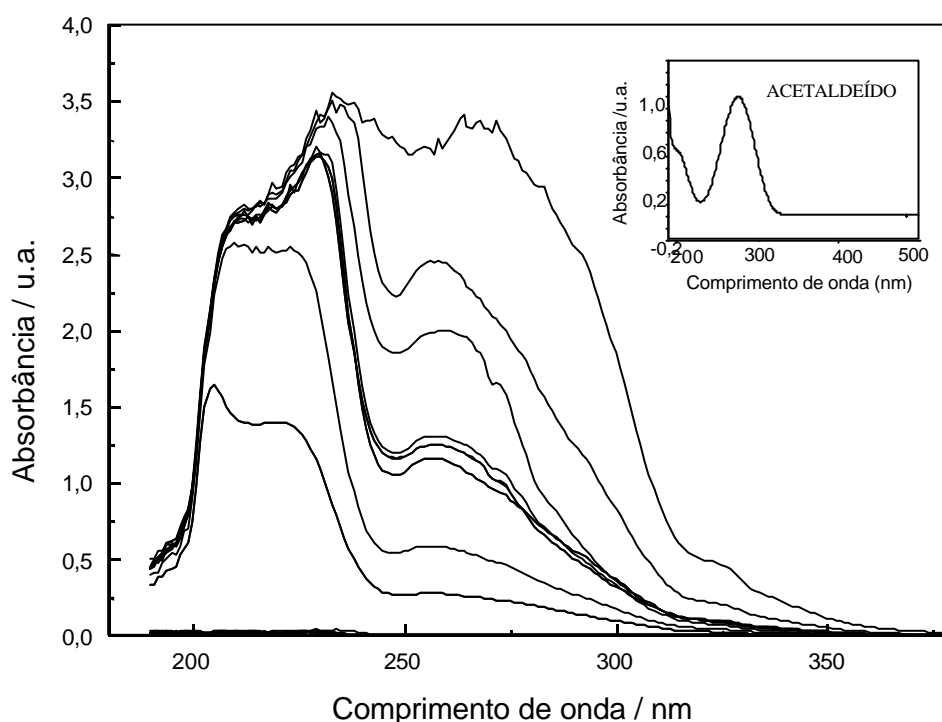


Figura 31. Espectroscopia eletrônica de absorção na região do ultravioleta e do visível (UV/Vis) das amostras comerciais de AEHC.

4.8 Quantificação do Acetaldeído em AEHC utilizando-se Derivação “in situ”.

A conversão quantitativa do acetaldeído presente nas amostras de etanol combustível em seu correspondente derivado AcH-DNPHo foi assegurada pelo uso de uma solução de DNPHi em excesso. O AcH-DNPHo identificado, foi quantificado usando-se o método da curva analítica com detecção eletroquímica em +1,0 V, de acordo com os resultados apresentados anteriormente. O cromatograma da Figura 32 ilustra a separação cromatográfica para a determinação do acetaldeído em amostra reais de AEHC.

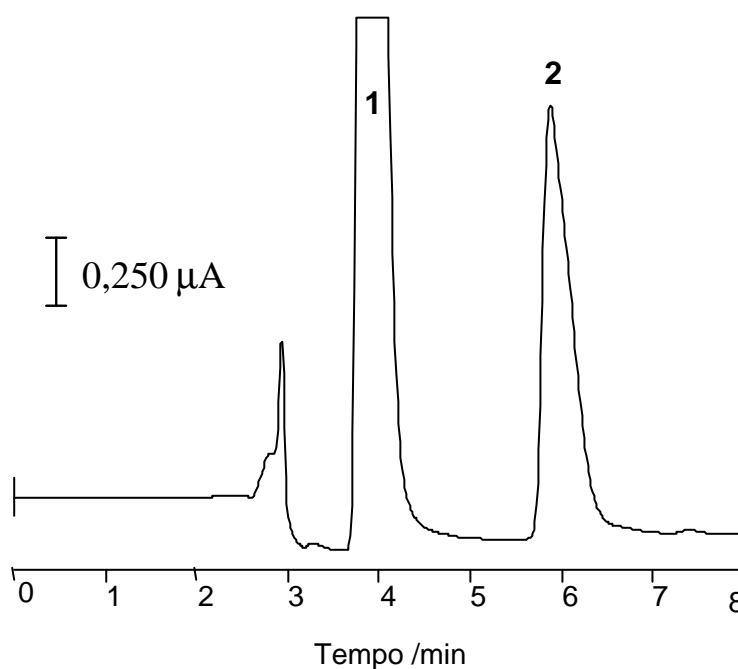


Figura 32. Cromatograma C.L.A.E. referente à eluição do AcH-DNPHo presente na amostra comercial de AEHC (A_4), utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol - $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica

em eletrodo de carbono vítreo em + 1,0 V. Identificação dos picos: **1**= DNPHi; **2**= AcH-DNPHo.

A presença de outros contaminantes presentes em grau minoritário nas amostras de AEHC pode ser evidenciado na Figura 33. Com exceção dos picos identificados anteriormente, os demais picos não foram identificados, mas merecem atenção em estudos posteriores.

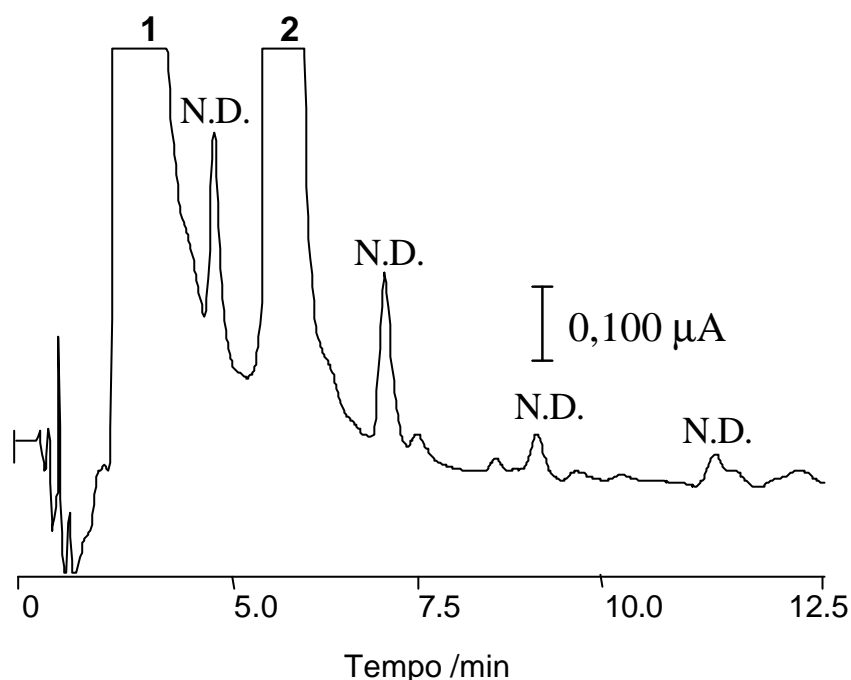


Figura 33. Cromatograma C.L.A.E. referente à eluição de outras substâncias presente na amostra comercial de AEHC (A_4), utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0$ mm d.i.; $5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol - $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção eletroquímica em eletrodo de carbono vítreo em + 1,0 V. Identificação dos picos: **1**= DNPHi; **2**= AcH-DNPHo.

Tabela 9. Determinação de acetaldeído nas AEHC por C.L.A.E. com detecção eletroquímica.

Amostras	[AcH] / mg L⁻¹ (SD)
A ₁	193 ± 3
A ₂	249 ± 3
A ₃	83.0 ± 1
A ₄	203 ± 4
A ₅	90.8 ± 1
A ₆	338 ± 5
A ₇	122 ± 3
A ₈	341 ± 6
A ₉	139 ± 3

O acetaldeído quantificado nas amostras comerciais de AEHC, pela metodologia desenvolvida neste estudo, esta descrito na Tabela 9. A faixa de concentração obtida, após a análise em triplicata das amostras, no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica, esta compreendida em 83 – 341 mg L⁻¹, com SD na faixa de 1 – 6 %. Todas as amostras foram diluídas na proporção 1:50 v/v com o intuito de minimizar os efeitos causados pelo ruído (mudança na linha de base) na análise

cromatográfica. Adicionalmente, utilizando C.L.A.E. com detecção espectrofotométrica, em comprimento de onda fixado em 365 nm, comparou-se a determinação deste analito pela metodologia desenvolvida neste estudo (Apêndice C).


Esses resultados mostraram que o acetaldeído presente no AEHC possui uma composição extremamente heterogênea, que também refletiu pelos altos desvios na resposta do detector eletroquímico. A detecção eletroquímica, em potencial de oxidação de +1,0V promove um grande aumento na sensibilidade, quando comparada com outras detecções, por se tratar de uma técnica que envolve reações químicas do analito frente ao eletrodo de trabalho. Pequenas mudanças na linha de base ocorreram nos cromatogramas obtidos com detecção eletroquímica. Essa linha de base regular é atribuída à contínua igualdade na composição da fase móvel, inerente à eluição por modo isocrático. Os resultados obtidos indicaram que o detector eletroquímico é muito susceptível à problemas de ruído. A repetibilidade do método foi verificada realizando-se 12 injeções da amostra A₉ no sistema C.L.A.E., imediatamente à reação de derivação, cujo valor obtido foi 3,9 %. O estudo da repetibilidade intra-dia apresentou valores de SD insatisfatórios (altos) devido à instabilidade dos derivados formados após a reação de derivação das amostras comerciais de AEHC, transcorridas 12 horas após o início da reação.


A recuperação foi avaliada em três amostras de AEHC adicionando-se solução de AcH-DNPHo em uma proporção de aproximadamente 25 % do teor analisado por C.L.A.E. e reproduzidas em triplicata para cada adição. A concentração de AcH-DNPHo foi calculada pelo incremento na área dos picos, obtida após a adição de uma quantidade conhecida de padrão. Os resultados estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Avaliação da recuperação do AcH–DNPHo, em amostras de etanol combustível, pelo método da adição de padrão em C.L.A.E. com detecção eletroquímica.

Amostras	Concentração presente/ mg L ⁻¹	Concentração adicionada / mg L ⁻¹	Concentração obtida (SD)	Recuperação % (SD)
A ₃	83	21	103 ± 0.02	99 ± 2
A ₈	341	85	425 ± 0.04	100 ± 3
A ₉	139	35	176 ± 0.05	101 ± 2

5. CONCLUSÕES

 A caracterização voltamétrica do acetaldeído sobre eletrodo de gota pendente de mercúrio, foi realizada utilizando-se soluções de eletrólito suporte compostas por: KH_2PO_4 , LiOH e LiCl 0,1 M, respectivamente. O voltamograma cíclico obtido para o acetaldeído em LiOH apresentou os melhores resultados quanto a maior intensidade na corrente de pico, se comparado com os outros voltamogramas obtidos em KH_2PO_4 e LiCl . Porém, a mistura composta por 60:40 v/v de $\text{LiOH} + \text{LiCl}$, possibilitou uma melhora do sinal eletroquímico, deslocado para potencial de redução menos negativo (-1,72 V) e um incremento maior observado na corrente de pico do acetaldeído. A influência da variação da velocidade de varredura de potencial sobre a redução do acetaldeído, presente na mistura de eletrólitos suporte, evidenciou aumento da corrente de pico catódica com o aumento da velocidade de varredura. A relação linear obtida entre a corrente de pico catódica e $v^{1/2}$ mostra que o processo de transferência de carga é controlado por difusão da espécie eletroativa até a superfície do eletrodo de mercúrio. Nenhum pico foi observado na varredura reversa de potencial, no intervalo de oxidação, sugerindo um processo eletródico irreversível ou com reações químicas subsequentes à reação de transferência de carga.

 O comportamento eletroquímico do acetaldeído sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes soluções de eletrólito suporte (LiOH e LiCl), também foi avaliado. O acetaldeído presente em uma solução de LiOH apresentou os melhores resultados, com potencial de redução deslocado ainda mais que o obtido em eletrodo de mercúrio (-1,6 V contra -1,72 V), respectivamente. Também observou-se que o processo de transferência de carga é controlado por difusão e o estudo da redução com

varreduras sucessivas de potencial evidenciou que o pré-pico observado durante os experimentos de voltametria cíclica, tanto em eletrodo de mercúrio quanto de carbono vítreo, correspondem à uma forte adsorção do produto da reação de redução e pode influenciar a resposta catódica. Comparativamente, também não foi observado nenhum pico na varredura reversa de potencial, no intervalo de oxidação, sugerindo um processo eletródico irreversível ou com reações químicas subsequentes à reação de transferência de carga.


✚ Utilizou-se soluções de eletrólito suporte contendo uma mistura de acetonitrila/PTBA e etanol/PTBA, ambos 0,1 M, na caracterização do comportamento voltamétrico do AcH-DNPHo em eletrodo de carbono vítreo. O AcH-DNPHo apresentou três picos de redução, em ambos os meios estudados, porém deslocados para potenciais menos negativos quando se utilizou acetonitrila/PTBA.


✚ O mecanismo proposto na redução do acetaldeído poderia ocorrer segundo três etapas, sendo que a última etapa seria a responsável pela adsorção do produto formado na reação redox.


✚ O AcH-DNPHo utilizado como padrão analítico para a obtenção da curva analítica teve sua caracterização realizada pelo uso das técnicas de P.F., análise elementar de C, H e N e por espectroscopia vibracional na região do infravermelho.


✚ A otimização dos parâmetros cromatográficos no desenvolvimento desta metodologia, quanto à influência da composição da fase móvel, da vazão da fase móvel e do potencial na resposta do detector eletroquímico foi estabelecida. Os resultados obtidos para cada um desses parâmetros foram: fase móvel contendo uma solução de metanol – LiCl $1,0 \times 10^{-3}$ M na proporção 80:20 v/v, 1,0 mL

min^{-1} a vazão da fase móvel e potencial de oxidação de +1,0 V. O tempo de retenção médio observado na eluição do AcH–DNPHo, no módulo de oxidação, foi de 5,80 min., α igual a 1,50, K igual a 3,29 e As igual a 0,96. Não foi possível a obtenção de nenhum cromatograma no módulo de redução, pois a remoção do oxigênio molecular eletroativo não foi suficientemente eficiente.

 A caracterização da reação de derivação “in situ” estabeleceu que o volume necessário da solução de DNPHi empregada na reação de derivação quantitativa das amostras de AEHC como sendo 0,900 mL, injeção de uma alíquota imediatamente após o término da reação de derivação (20 min.) e ausência do analito de interesse no solvente utilizado para a diluição das soluções de AcH–DNPHo.

 O estudo qualitativo da composição das amostras de AEHC com espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e do visível (UV/Vis) evidenciou a grande heterogeneidade da matriz alcoólica em relação ao branco e também em relação às próprias amostras entre si.

 O método proposto para a quantificação do acetaldeído, via reação de derivação utilizando-se o método da curva analítica, no sistema C.L.A.E. com detecção eletroquímica, apresentou linearidade no intervalo de concentração estudada ($0 - 300 \text{ mg L}^{-1}$) acima de 10^{-5} u.a., RSD de 8,2 % e coeficiente de correlação linear de 0,9998, sendo o L.D de $3,80 \text{ mg L}^{-1}$.

 A aplicação desta metodologia na análise de acetaldeído em amostras comerciais de AEHC, evidenciou a presença de grandes quantidades deste contaminante em todas as amostras analisadas. A faixa de concentração obtida na análise das amostras esta compreendida entre os valores $83 - 341 \text{ mg L}^{-1}$, com SD na

faixa de 1 – 6 %. A recuperação foi superior a 99 %. A determinação do acetaldeído utilizando-se o método desenvolvido neste trabalho foi comparado por C.L.A.E. com detecção espectrofotométrica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BRÜNING, I. M. R.; MALM, E. B. Identificação e quantificação das impurezas presentes no etanol. *Bol. Téc. Petrobrás*, v. 25, n. 4, p. 217–228, 1982.
- 2 GROSJEAN, D.; MIGUEL, A. H.; TAVARES, T. M. Urban air-pollution in Brazil-acetaldehyde and other carbonyls. *Atmos. Environ. B-Urb.*, v. 24, n. 1, p. 101–106, 1990.
- 3 TANNER, R. L. et al. Atmospheric chemistry of aldehydes-enhanced peroxyacetyl nitrate formation from ethanol fueled vehicular emissions. *Environ. Sci. Technol.*, v. 22, n. 9, p. 1026–1034, 1988.
- 4 BRICKUS, L. S. R.; CARDOSO, J. N.; AQUINO NETO, F. R. Distributions of indoor and outdoor air pollutants in Rio de Janeiro, Brazil: implications to indoor air quality in bayside offices. *Environ. Sci. Technol.*, v. 32, n. 22, p. 3485–3490, 1998.
- 5 COLLINS, C. H. et al. *Introdução a métodos cromatográficos*. 7 ed. Campinas: UNICAMP, 1999.
- 6 COLLINS, C. H.; MANFREDI, J. F.; VALENTE, A.L.P. O que é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Quím. Nova*, v. 6, p. 46–57, 1983.
- 7 CIOLA, R. *Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho*. São Paulo: Edgard Blucher, 1998.
- 8 MANUAL de Instruções Star 9080 Electrochemical Detector da VARIAN[®]. p. 1–10
- 9 PUNGOR, E. et al. Design and evaluation of electrochemical detectors for HPLC. *J. Chromatog. Sci.*, v. 12, n. 12, p. 747–752, 1974.
- 10 BIEBER, V. R.; TRÜMPLER, G. Über die polarographische reduktion der aliphatischen aldehyde. *Helv. Chim. Acta*, v. XXX, n. VII, p. 2000–2010, 1947.
- 11 BAIZER, M. M.; LUND, H. *Organic Electrochemistry*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, 1991.
- 12 AFGHAN, A. V.; KULKARNI, J. F.; RYAN, D. Determination of nanogram quantities of carbonyl compounds using twin cell potencial sweep voltammetry. *Anal. Chem.*, v. 47, n. 3, p. 488–496, 1975.

- 13 ALTSHULER, P. A. ; MILLER, D. L. ; SLEVA, S. F. Determination of acetaldehyde in gas mixtures by the chromatropic acid method. *Anal. Chem.*, v. 33, p. 621–626, 1961.
- 14 SAWICKI, E. et al. The 3–methyl–2–benzothiazolone hydrazone test: sensitive new methods for the determination, rapid estimation, and determination of aliphatic aldehydes. *Anal. Chem.*, v. 33, p. 93–97, 1961.
- 15 SHIOMI, K. J. High resolution gas chromatographic hydrocarbon–types analysis of alcoholic beverages. *High Res. Chromatog.*, v. 14, n. 2, p. 136–140, 1991.
- 16 ANDRADE, J. B. et al. Determination of formaldehyde and acetaldehyde in urine by HPLC. *Americ. Lab.*, v. 24, p. 22–27, 1999.
- 17 GROSJEAN, D.; FUNG, K. Determination of nanogram amounts of carbonyl as 2,4–dinitrophenylhydrazones by high–performance liquid chromatography. *Anal. Chem.*, v. 53, n. 2, p. 168–171, 1981.
- 18 FRANCO, D. W. et al. Qualitative and quantitative high–performance liquid chromatographic analysis of aldehydes in brazilian sugar cane spirits and other distilled alcoholic beverages. *J. Chromatog. A*, v. 782, p. 13–23, 1997.
- 19 CHIAVARI, G.; BERGAMINI, C. High–performance liquid chromatography of carbonyl compounds as 2,4–dinitrophenylhydrazones with electrochemical detection. *J. Chromatog.*, v. 318, p. 427–432, 1985.
- 20 SMYTH, M. R.; HAYES, P. J.; McMURROUGH, I. Comparison of electrochemical and ultraviolet detection methods in high–performance liquid chromatography for the determination of phenolic compounds commonly found in beers (Part II). *Analyst*, v. 112, p. 1205–1207, 1987.
- 21 MAIA, C. A. M. Estudo da influência do aldeído acético proveniente da combustão do álcool combustível em veículos automotores sobre seres vivos. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Tecnologia / Divisão de Meio Ambiente, 1981, (Relatório Técnico).
- 22 WORLD Health Organization. Acetaldehyde. *Environmental Health Criteria*, v. 167, 1995. ISBN 92–4–157167–5.

23 SHRINER, R. L. et al. *The systematic identification of organic compounds*. 6th ed. New York: Wiley & Sons, 1980.

24 PLETCHER, D. *Advanced instrumental methods in electrode kinetics*. 3rd ed. London: Southampton University Press, 1984.

25 EGGINS, B. R. Introduction to spectroscopic of some carbonyl compounds. *Trans. Farad. Disc. Chem. Soc.*, v. 56, p. 276–287, 1973.

26 OSTERYOUNG, R. A.; LAUER, G.; ANSON, F. C. Carbonyl compounds and their interactions. *J. Electrochem. Soc.*, v. 110, p. 936–940, 1963.

27 KEMULA, W.; AXT, A. Electrochemical and spectroscopic investigations on triphenylmethane dyes. *Rocz. Chem.*, v. 43, n. 1, p. 199–210, 1969.

28 SILVERSTEIN, R. M. et al. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 5 ed. Rio de Janeiro: L.T.C., 1994.

29 SMYTH, M. R.; HAYES, P. J.; McMURROUGH, I. Comparison of electrochemical and ultraviolet detection methods in high–performance liquid chromatography for the determination of phenolic compounds commonly found in beers (Part I). *Analyst*, v. 112, p. 1197–1204, 1987.

30 ALBERY, W. J. et al. The determination of noradrenaline using differential double pulse voltammetry. *J. Electroanal. Chem.*, v. 125, p. 205–217, 1981.

31 CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). *Anal. Chim. Acta*, v. 391, n. 2, p. 105–126, 1999.

32 DUNCAN, A. B. F. *Chemical applications of spectroscopy*. 2nd ed. New York: Inters Publ., 1956.

33 LANÇAS, F. M. *Cromatografia em fase gasosa*. 3 ed. São Carlos: Acta, 1993.

34 ATKINS, P.; JONES, L. *Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*. Porto Alegre: Bookman, 2001.

35 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Principles of instrumental analysis*. 5th ed. Orlando: Harcourt College Publishers, 1998.

36 BARD, A.J.; LUND, H. *Encyclopedia of electrochemistry of the elements - organic section*. v. XIII. New York: Marcel Dekker, 1980.

APÊNDICE A

Avaliação dos Parâmetros Cromatográficos Referente à Eluição do AcH–DNPHo Presente nas Amostras Comerciais de AEHC.


A avaliação dos parâmetros cromatográficos referente à eluição do AcH–DNPHo presente nas amostras comerciais de AEHC foi obtida após a separação cromatográfica em C.L.A.E. com detecção eletroquímica, em módulo de oxidação, fixado em +1,0 V. Esses parâmetros forneceram informações importantes quanto à eficiência da coluna cromatográfica, resolução entre dois picos e seletividade, entre outros. A Tabela 1 apresenta os parâmetros cromatográficos calculados para o AcH–DNPHo, a partir dos cromatogramas obtidos individualmente para cada amostra.

Conforme observado na tabela abaixo, o número de pratos teóricos calculados na análise cromatográfica para a coluna cromatográfica LC Shim-pack CLC-ODS (150 × 6,0 mm de diâmetro interno; 5µm), da SHIMADZU, em todas as amostras, foi considerado satisfatório, confirmando uma boa eficiência, com valores de N elevados.

Pode-se observar também que a coluna cromatográfica permitiu boa resolução na separação do AcH–DNPHo derivado, pois todos os parâmetros cromatográficos avaliados apresentaram valores dentro de uma faixa adequada. Assim, pode-se inferir que a coluna cromatográfica apresentou uma boa performance. Todas as definições dos parâmetros cromatográficos, bem como, as equações utilizadas para os cálculos destes foram descritas a seguir^[33].

Tabela 11. Parâmetros cromatográficos referente à eluição do AcH–DNPHo presente nas amostras comerciais de AEHC obtidos por C.L.A.E. com detecção eletroquímica.

Amostras	T_R/min	N	H/mm	R_s	a	K	As
A1	5,798	2974	0,050	1,85	1,10	4,56	1,18
A2	5,803	2981	0,050	1,89	1,07	4,63	1,13
A3	5,799	2975	0,050	1,85	1,10	4,57	1,18
A4	5,800	2980	0,050	1,86	1,06	4,62	1,11
A5	5,809	2981	0,050	1,86	1,03	4,60	1,09
A6	5,801	2980	0,050	1,85	1,06	4,62	1,11
A7	5,801	2980	0,050	1,85	1,06	4,62	1,11
A8	5,803	2979	0,050	1,89	1,07	4,63	1,13
A9	5,807	2976	0,050	1,89	1,03	4,60	1,08

 Tempo de retenção (t_R)

O tempo de retenção é o tempo gasto desde o momento da injeção (t₀) até a saída do componente do sistema (t_R), e é a variável impressa pelos dispositivos eletrônicos freqüentemente acoplados a sistemas automatizados de cromatografia. Faltando esse dispositivo, o t_R é calculado a partir das medidas feitas no cromatograma.

O tempo de retenção engloba todo o tempo que o componente em questão fica no sistema cromatográfico, quer na fase móvel, quer na fase estacionária⁽³³⁾.

$$t_R = d_R / f \quad \text{ou} \quad t_M = d_M / f$$

onde: t_R = tempo de retenção do AcH–DNPHo (min); t_M = tempo morto ou tempo de retenção do AcH–DNPHo não retidos (min); d_R = distância de retenção do soluto; d_M = distância de retenção de um soluto não retido ou da fase móvel; f = velocidade (min).



Número de Pratos Teóricos (N)

Número de prato teórico é definido como um segmento da coluna onde se atinge um equilíbrio termodinâmico entre a fase móvel, a fase estacionária e o componente que está sendo analisado. Em cromatografia líquida, quanto maior o número de pratos da coluna, maior a intensidade dos picos e menor a possibilidade de ocorrer sobreposição (overlap). Porém, este valor só seria válido quando calculado com a coluna mantendo todas as outras variáveis iguais e após um condicionamento de algumas horas. O conceito de número de pratos teóricos somente é válido para cromatogramas obtidos isotermicamente e em condições isocráticas, e é calculado a partir do próprio cromatograma⁽³³⁻³⁴⁾.

$$N = 5,54 (t_R / W_{1/2})^2$$

onde: N = número de pratos teóricos; t_R = tempo de retenção do AcH–DNPHo (min.);

$W_{1/2}$ = largura do pico à meia altura.



Altura equivalente a um prato teórico (H)

Segundo a equação de Van Demter, o valor equivalente a um prato teórico, tem grande importância para avaliação da eficiência da coluna, mas também para avaliar a fase móvel empregada. Entende-se por H o comprimento da coluna no qual o equilíbrio termodinâmico foi atingido entre a substância, a fase móvel e a fase estacionária. Este valor é calculado dividindo-se o valor do comprimento da coluna pelo número de pratos teóricos calculado⁽³³⁻³⁵⁾.

$$H = L / N$$

onde: H = altura equivalente a um prato teórico (mm); L = comprimento da coluna (mm); N = número de pratos teóricos.



Resolução (R_s)

A resolução (R_s) é a medida quantitativa do grau de separação entre dois picos adjacentes e pode ser calculada de acordo com a expressão⁽³⁵⁾:

$$R_s = 2 [(t_{r2} - t_{r1}) / (W_{b1} + W_{b2})]$$

onde: t_{r2} e t_{r1} = tempo de retenção de dois picos adjacentes; W_{b1} e W_{b2} = largura dos picos na base em unidade de tempo.

Os valores de resolução acima de 1,5 significam que os analitos têm uma separação até a linha base, fato importante em análises quantitativas, pois a medida exata da área depende da resolução total dos analitos envolvidos. Ainda, os valores inferiores a 1,5 significam que a separação somente é parcial e, portanto, a determinação da área dos picos do analito se torna inexata e a análise quantitativa errônea.

Seletividade (α)

Seletividade ou fator de separação é relacionado com a separação de dois picos adjacentes, sendo calculado pela razão entre os respectivos fatores de retenção k_2 (analito mais retido) e k_1 (analito menos retido), por sua vez, relacionados aos tempos de retenção ajustados, conforme a expressão⁽³³⁾:

$$\alpha = k_2 / k_1 = t'_{R2} / t'_{R1}$$

O fator de separação é uma medida de seletividade de um sistema cromatográfico. Assim, quanto mais seletivamente a fase estacionária reter o segundo componente que está sendo analisado, maior será o fator de separação. Se $\alpha = 1$ não há diferenças termodinâmicas entre os dois componentes em um dado sistema e eles podem ser separados. Entretanto, quando $\alpha > 1$ não significa que os picos estão totalmente separados, porque eles podem ser largos e estarem parcialmente sobrepostos.

Conseqüentemente, não somente com valores elevados de α se consegue separação, é necessário também que os picos sejam estreitos.

Fator de capacidade (K)

O fator de capacidade ou fator de retenção diz respeito à retenção do soluto que é determinado pela razão entre os tempos em que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária e percorre a coluna na fase móvel, de acordo com a expressão⁽³³⁻³⁵⁾:

$$K = (t_R - t_M) / t_M = t'_R / t_M$$

Onde: t_R = tempo de retenção do analito; t_M = tempo "morto"; t'_R = tempo de retenção ajustado.

Os valores ideais de K devem variar de 2 a 10. Os valores de K menores que 2 implicam em pouca interação do soluto com a fase estacionária, o que pode ser prejudicial à análise.

Fator de assimetria (A_s)

O fator de assimetria é 10% da altura do pico. O valor de A_s deve ficar no intervalo de 1,0 a 1,5. Embora valores menos desejáveis de 1,5 são admitidos. Como regra geral, colunas com fator de assimetria acima de 1,5, devem ser descartadas⁽³³⁾.

APÊNDICE B

Abordagem Teórica Básica das Técnicas Utilizadas

B.1 Espectroscopia Eletrônica Na Região Do Ultravioleta E Do Visível (UV/Vis)^[34].

A espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e do visível (UV/Vis) tem se tornado uma técnica de determinação estrutural altamente eficaz, principalmente na análise de estrutura de compostos complexos e de metais de transição. A espectroscopia eletrônica fornece informações a respeito das bandas de transições eletrônicas entre os níveis de energia do íon, de seu estado fundamental para estados excitados num complexo. O espectro eletrônico pode ser obtido na faixa de 2500 a 200 nm. Nesta faixa do espectro podem ser observados quatro tipos de bandas de transição: a) transições do tipo d-d (transições internas); b) transições por transferência de carga; transições nos ligantes e d) vibrações de combinação dos ligantes na região do infravermelho próximo. As transições eletrônicas são controladas pelas regras de seleção, distinguindo-se entre transições permitidas e as transições proibidas. Paralelamente a ocorrências de transições permitidas, as transições proibidas também podem ocorrer, só que mais raramente e apresentam em consequência, intensidades muito menores. As transições que envolvem uma variação de número quântico secundário $\Delta l = \pm 1$, são transições permitidas pela regra de seleção de Laporte. São proibidas todas as transições envolvendo a redistribuição dos elétrons numa única camada quântica. A regra de Laporte é vulnerável e sua vulnerabilidade se explica pela

ocorrência de complexos com carência de centro de simetria, e de modo menos significativo, pelo fato de se produzirem vibrações moleculares fora da sua posição de equilíbrio. Nos dois casos os orbitais d e p podem se sobrepor e as transições deixam de ser transições d-d puras. As transições proibidas podem ocorrer com uma pequena intensidade, proporcionalmente ao grau de sobreposição dos orbitais d e p. Outra regra de seleção, refere-se às transições entre níveis energéticos onde o elétron não altera o seu spin ($\Delta S = 0$). Em outras palavras, num átomo livre ou em compostos, são proibidas as transições eletrônicas com variação do número de elétrons com spins desemparelhados, raramente aparecendo na absorção, tais transições são proibidas pela multiplicidade.

B.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho^[35].

A radiação infravermelha é a radiação eletromagnética localizada nos comprimentos de onda mais longos (baixas frequências) que a luz vermelha. O comprimento de onda típico é cerca de 1000 nm. Um comprimento de onda de 1000 nm corresponde a uma frequência de cerca de 3×10^{14} Hz, que é comparável à frequência que as moléculas vibram. Conseqüentemente, as moléculas podem absorver a radiação infravermelha e tornar-se vibracionalmente excitadas. Qualquer ligação entre dois átomos vibra, movendo átomos na direção de aproximá-los e a seguir distanciá-los. Este tipo de movimento é chamado de modo de estiramento. Moléculas poliatômicas podem também realizar vibrações de “dobramento” na qual os ângulos de ligação aumentam e diminuem periodicamente. A frequência com que a molécula vibra depende da massa de seus átomos e da força de suas ligações; uma molécula constituída de átomos leves

unidos por ligações fortes tem frequência vibracional mais alta que uma constituída de átomos pesados unidos por ligações fracas. A primeira deverá absorver radiação de frequência mais alta que a última. Movimentos de dobramento das moléculas tendem a serem menos fortes que os movimentos de estiramento, assim as vibrações de dobramento normalmente absorvem frequências mais baixas que as vibrações de estiramento. A força de ligação é medida pela constante de força, k . Esta é a mesma constante prevista pela lei de Hooke para a força de restauração de uma mola. A constante de força é maior para deslocamentos de estiramento de moléculas do que para movimentos de dobramento.

A frequência vibracional, ν (ni), de uma ligação entre dois átomos A e B de massas m_A e m_B é dada por:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad m = \frac{m_A \cdot m_B}{m_A + m_B}$$

A quantidade μ é chamada de massa efetiva da vibração molecular. A frequência é maior para ligações fortes (k grande) e massas atômicas pequenas (μ pequeno). O espectro de absorção vibracional de uma molécula é medido usando-se um espectrômetro de infravermelho. A fonte da radiação infravermelha é um filamento quente, e o comprimento de onda é selecionado pela difração da radiação em uma rede. A interferência construtiva resulta em radiação intensa sendo obtida para uma dada direção e um dado ângulo da rede; e, quando este ângulo é mudado, radiação de comprimento de onda variado é passada através da amostra. O feixe é dividido, sendo que um feixe passa pela amostra e outro pelo branco; e a intensidade dos dois feixes é comparada no detector e a redução na intensidade é monitorada. O resultado é um espectro no qual ocorrem decréscimos nos comprimentos de onda da radiação infravermelha absorvida pela amostra.

B.3 Voltametria Cíclica (V.C)^[36]

A voltametria cíclica é uma técnica que emprega a varredura de potencial e registra a corrente que flui entre os eletrodos de trabalho e referência. O potenciostato é capaz de manter seu potencial constante ou variar de maneira controlada para um potencial pré-selecionado. É possível realizar varredura de potencial em uma faixa pré-determinada e o ciclo pode ser repetido várias vezes, permitindo mostrar o comportamento redox de um sistema em um grande intervalo de potencial. A corrente registrada é função do potencial aplicado no eletrodo de trabalho. A reversibilidade de um processo eletródico também pode ser verificada e apresenta as seguintes relações:

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 59/n \text{ mV}$$

$$I_{pa}/I_{pc} = 1$$

$$I_p \propto v^{1/2}$$

E_p independe de v

Os parâmetros eletroquímicos podem ser medidos diretamente das curvas corrente (I) vs potencial (E). Na Figura 1, estão representados os principais parâmetros eletroquímicos obtidos para um processo reversível.

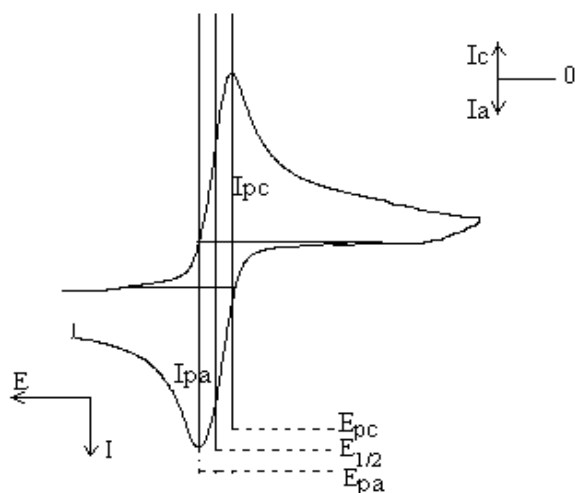


Figura 34. Esquema de um voltamograma cíclico reversível representando a obtenção dos principais parâmetros eletroquímicos.

Os valores de I_{p_a} e I_{p_c} podem ser determinados medindo-se a distância tomada verticalmente do máximo da corrente ao prolongamento da linha base. O potencial médio (E_m) é obtido como a média aritmética dos potenciais dos picos anódicos (E_{p_a}) e catódicos (E_{p_c}), ou seja, $E_m = (E_{p_a} + E_{p_c}) / 2$. A diferença entre os potenciais de pico corresponde ao parâmetro ΔE_p . Nos casos em que os voltamogramas cíclicos não apresentam linha de base bem definida, emprega-se o método de Nicholson⁽³⁾, o qual permite calcular a relação I_{p_a}/I_{p_c} .

APÊNDICE C

Determinação de Acetaldeído em Amostras Comerciais de AEHC Utilizando C.L.A.E. com Detecção Espectrofotométrica UV/Vis

A determinação do acetaldeído utilizando C.L.A.E. com detecção espectrofotométrica foi obtida pelo arranjo, **em série**, dos detectores após a saída da coluna, operando nas mesmas condições com eluição isocrática. A quantificação do acetaldeído, por detecção espectrofotométrica e eletroquímica, pôde ser avaliada em tempo real para ambas as detecções com o objetivo de se comparar os resultados obtidos, a partir das amostras comerciais de AEHC, utilizando-se o método proposto e aquele utilizado na literatura para a determinação de acetaldeído em outras matrizes.

Primeiramente, foi necessário otimizar o comprimento de onda mais seletivo para quantificar o acetaldeído presente nas amostras de AEHC. Foi realizada uma varredura no comprimento de onda no intervalo de 285 até 535 nm, medindo-se a resposta do detector (área) para uma solução contendo AcH-DNPHo 100 mg L^{-1} . A análise da Figura 1, mostra que o comprimento de onda mais seletivo para a determinação de acetaldeído é 365 nm, ou seja, aquele que apresentou a maior área.

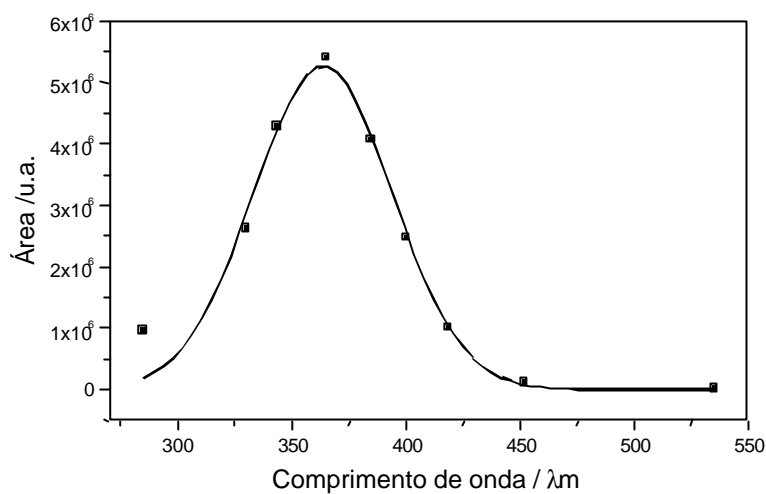


Figura 35. Espectro na região UV/Vis para análise de acetaldeído utilizando-se fase móvel contendo metanol – cloreto de lítio_(aq) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 % v/v) com fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ de AcH–DNPHo 100 mg L^{-1} em uma coluna C₁₈ ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}; 5 \mu\text{m}$) da Shimadzu.

A seguir, foi obtido o cromatograma a partir da eluição de uma solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} observando-se um tempo médio de retenção de 5,80 min. (Figura 2)

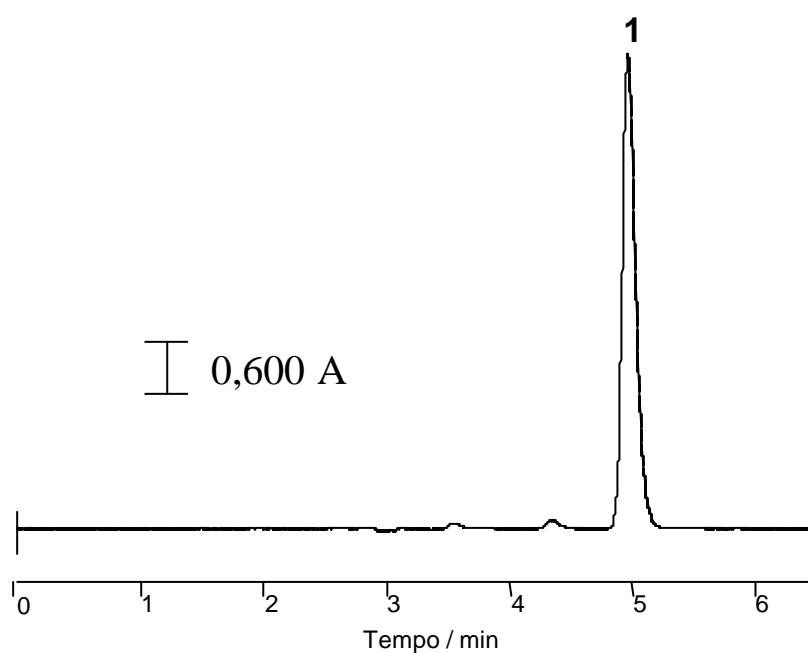


Figura 36. Cromatograma da eluição da solução de AcH–DNPHo 50 mg L^{-1} utilizando-se coluna C_{18} ($150 \times 6,0 \text{ mm d.i.}; 5 \mu\text{m}$) da Shimadzu e vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Injeção de $20 \mu\text{L}$ e fase móvel contendo uma solução metanol – $\text{LiCl}_{(\text{aq})}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (80:20 v/v) com detecção espectrofotométrica em 365 nm . Identificação dos picos: 1= AcH–DNPHo.

A curva analítica foi obtida através de diluições da solução estoque (1000 mg L^{-1}) em uma solução contendo a mistura etanol – água (95:5 % v/v), no intervalo de concentrações de $0 - 300 \text{ mg L}^{-1}$. O gráfico apresentado na Figura 3 exibe uma relação linear da resposta do detector (área) vs concentração das soluções de AcH–DNPHo no sistema cromatográfico com detecção espectrofotométrica.

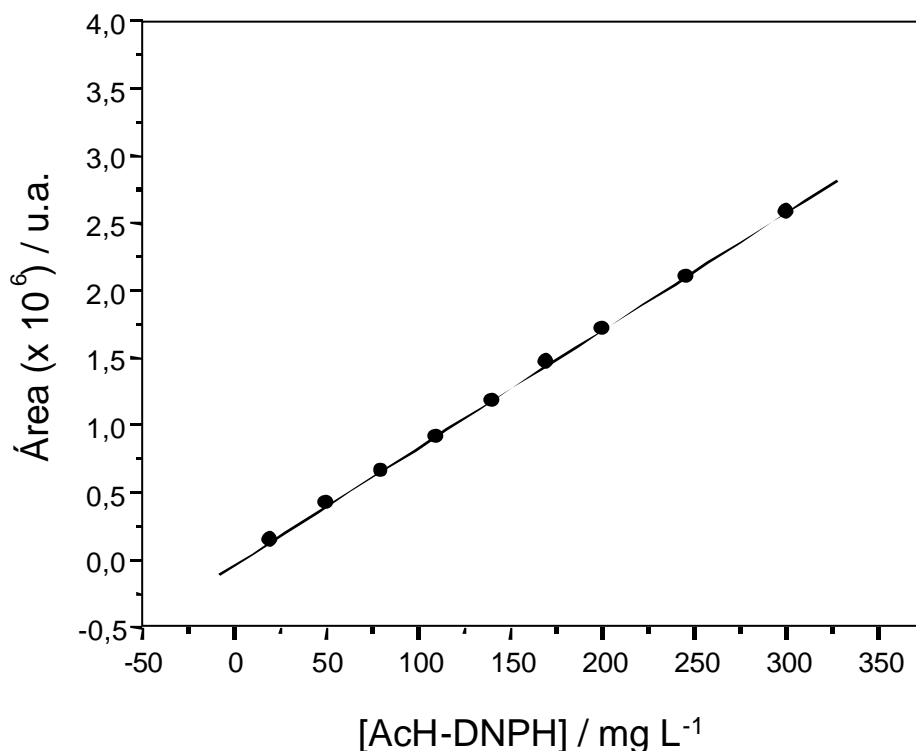


Figura 37. Curva analítica obtida a partir das soluções de AcH–DNPHo. Detecção espectrofotométrica em 365 nm ; equação da reta $A = -275818,65 + 87171,868$

[AcH–DNPHo], coeficiente correlação linear = 0,9999, RSD = 5,6 % e limite de detecção de 2,03 mg L⁻¹.

O método proposto foi empregado na determinação do acetaldeído em AEHC e os resultados estão listados na Tabela 1.

Tabela 12. Determinação de AcH nas amostras de AEHC por C.L.A.E. com detecção espectrofotométrica.

Amostras	[AcH] / mg L⁻¹ (SD)
A ₁	177 ± 2
A ₂	65,8 ± 1
A ₃	61,5 ± 1
A ₄	195 ± 3
A ₅	80,9 ± 1
A ₆	306 ± 4
A ₇	98,4 ± 1
A ₈	259 ± 3
A ₉	122 ± 2