**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**ANÁLISE DE ALDEÍDOS DE BAIXA MASSA
MOLAR NO AR UTILIZANDO ELETROFORESE
CAPILAR**

Elisabete Alves Pereira
Tese de doutorado

Orientadora: Dra. Marina Franco Maggi Tavares

**SÃO PAULO
07/05/2002**

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

P436a Pereira, Elisabete Alves
Análise de aldeídos de baixa massa molar no ar utilizando
eletroforese capilar / Elisabete Alves Pereira. -- São Paulo,
2002.
162p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade
de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Tavares, Marina Franco Maggi

1. Eletroforese capilar : Química analítica 2. Poluição
ambiental I. T. II. Tavares, Marina Franco Maggi, orientador.

543.0871 CDD

“Análise de Aldeídos de Baixa Massa Molar no Ar Utilizando Eletroforese Capilar”

ELISABETE ALVES PEREIRA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química – Área: Química Analítica.

Aprovada por:

Profa. Dra. MARINA FRANCO MAGGI TAVARES
IQ – USP
(Orientadora e Presidente)

Profa. Dra. NINA COICHEV
IQ – USP

Prof. Dr. CLAUDIMIR LUCIO DO LAGO
IQ – USP

Prof. Dr. EMANUEL CARILHO
IQSC – USP

Profa. Dra. ROSANA COLOMBARA
UFJF

SÃO PAULO
07 DE MAIO 2002.

Mudanças fazem parte da vida

Elas abrem portas para novos caminhos, que podem ser mais claros e melhores;

Nos levam a situações onde podemos descobrir quem e o que podemos ser;

Nem sempre são fáceis, mas nos tornam pessoas mais maduras

É um desafio!! e pode ser a chance para nos encontrarmos.

Mesmo que difíceis devem ser bem vindas.

(autor desconhecido)

Agradeço à minha família sempre presente em todos os bons e maus momentos. O meu muito obrigada a minha mãe, meu irmão, minha querida cunhada e ao meu pai (in memoriam).

Em especial ao Arnaldo pela cumplicidade, paciência, tolerância e companheirismo durante todos estes anos:

*You were my strength when I was weak ;
You were my voice when I couldn't speak ;
You were my eyes when I couldn't see ;
You saw the best there was in me ;*

(Dion, C.)

AGRADECIMENTOS

Ao longo destes 4 anos muitos foram os nomes carinhosos que a Marina recebeu (professora Varis, green eyes, dona patroa, rosa madalena e por aí afora) mas com certeza nenhum deles define o exemplo de profissional: competente, paciente e tolerante sem falar na pessoa maravilhosa, sensível e amiga que ela é. Marina minha sincera e profunda admiração.

Aos meus colegas do LACE pela convivência diária: Ale, Neide, Fabi, Lurdinha, Bete, Clovis, Maria Helena, aos “desencanados” boys : Gu, Fer, Ma e Edgas que mesmo fazendo muita bagunça foram pessoas importantes na harmonização e alto astral do lab e ao Wilsinho “da vassoura de capim”. Valeu pessoal!!!!

Ao Dr. Emanuel Carrilho e Dra Maria Olímpia por terem gentilmente cedido um espaço em seus laboratórios para que eu pudesse desenvolver parte desta tese. Em especial ao Dr. Carrilho que pacientemente ouviu todas as minhas dúvidas e me ajudou muito com a discussão dos resultados.

Ao Dr. Arnaldo Cardoso que me auxiliou na parte da amostragem, emprestando inúmeros aparatos, e pelo período em que trabalhei em seu laboratório.

Ao Dr. Sérgio Massaro que contribuiu muito com seus comentários ambientais.

À amiga Neide Mitsue pelo companheirismo, paciência e a muita boa vontade que sempre teve comigo.

Ao sempre amigo Sidney pelos longos anos de amizade, respeito e carinho.

Ao meu amigo André Porto que mesmo longe , não tão longe agora, nunca deixará de morar em meu coração.

À amiga Paty por simplesmente ser uma verdadeira amiga e uma amiga verdadeira.

À minha querida roommate Gláucia por ser uma pessoa tão legal, divertida e madura.

Não poderia deixar de agradecer à república dos cowboys que me acolheu nos 3 primeiros anos em São Paulo: Dríca, Lica e Lê.

Ao Massuo Jorge pelas inúmeras caronas até Araraquara sempre regadas com bons e longos papos.

Ao pessoal da dança de salão que tornou minha estadia em São Paulo muito mais agradável e divertida. Em especial ao professor Roberto , Paulinha, Al (Alcídes), Cleria, Leticia, Luciano e Helena.

Ao pessoal de São Carlos: Solange, Ana Paula e Jonatam que me ajudaram muito durante a pilotagem dos equipamentos.

Aos velhos amigos de bebedeiras: Marcia e Marilda.

Aos meninos do xerox, Chico e Jailton sempre muito prestativos.

Ao pessoal da pós graduação

À FAPESP pelo apoio financeiro

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELAS.....	V
ABREVIACÕES E SBOLOS.....	VII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI

CAPULO 1 - Introdução

1. Poluição – Aspectos gerais	1
1.1. Poluição atmosférica urbana	3
1.2. Poluição <i>indoor</i>	4
1.3. Aldeídos e cetonas de baixa massa molar	5
1.3.1. Principais fontes e concentrações	5
1.3.2. Propriedades e usos dos aldeídos	6
1.3.3. Toxicidade	8
1.3.4. Impacto ambiental	9
1.4. Eletroforese capilar	11
1.4.1. Aspectos gerais	12
1.4.2. Instrumentação	12
1.4.3. Introdução da amostra	13
1.4.4. Detecção	14
1.4.4.1. Detecção de absorvância na região do ultra violeta/visível (UV/Vis).....	15
1.4.4.2. Detecção indireta de absorvância na região do UV/Vis..	15
1.4.4.3. Detecção por fluorescência induzida por laser (LIF).....	16
1.4.5. Fundamentos teóricos	17
1.4.5.1. Conceito de mobilidade eletroforética	17
1.4.5.2. Conceito de mobilidade efetiva	18
1.4.5.3. Fluxo eletroosmótico	19
1.4.5.4. Fluxo eletroosmótico invertido	20
1.4.6. Cromatografia eletrocnica micelar	21
1.4.6.1. Introdução	21

1.4.6.2. Princípio da separação	23
1.4.6.3. Equações fundamentais	24
1.4.6.4. Modificadores em MEKC	25
1.4.7. Estratégias de pré-concentração em eletroforese capilar	26
1.4.7.1. Aspectos gerais	26
1.4.7.2. Estratégias de pré-concentração utilizadas em FSCE....	26
1.4.7.2.1. <i>Stacking</i> mediado por força iônica	26
1.4.7.2.2. <i>Stacking</i> em campo amplificado.....	27
1.4.7.2.3 <i>Stacking</i> de grande volume de amostra utilizando um inversor de fluxo	28
1.4.7.2.4. Concentradores.....	29
1.4.7.3. Estratégias de pré-concentração utilizadas em MEKC.....	30
1.4.7.3.1. <i>Stacking</i> mediado por adição de sal	30
1.4.7.3.1.1. Mecanismo proposto.....	31
1.4.7.3.2. <i>Stacking</i> de grande volume de amostra.....	32
1.4.7.3.3. <i>Sweeping</i>	33
1.4.7.3.3.1. mecanismo proposto na ausência de fluxo eletroosmótico.....	33
1.4.7.3.3.1. mecanismo proposto na presença de fluxo eletroosmótico.....	34
1.5. Referências Bibliográficas	35
CAPÍTULO 2 - Objetivos	39
CAPÍTULO 3 - Bissulfito de sódio como agente derivatizante em FSCE.....	41
3. Aspectos Gerais.....	42
3.1. Parte Experimental.....	42
3.1.1. Instrumentação.....	42
3.1.2. Reagentes e soluções.....	43
3.1.3. Coleta da amostra.....	44
3.2. Resultados e discussão.....	46
3.2.1. Testes preliminares com aduto formado.....	46

3.2.2. Estudo de otimização das condições analíticas e instrumentais.....	47
3.2.3. Desempenho do método proposto.....	55
3.2.4. Aplicação do método.....	57
3.3. Conclusões.....	62
3.4. Referências bibliográficas.....	63
CAPÍTULO 4- Dansilhidrazina como agente derivatizante em FSCE.....	64
4. Aspectos gerais.....	65
4.1. Parte experimental.....	65
4.1.1. Instrumentação.....	65
4.1.2. Reagentes e soluções.....	66
4.1.3. Coleta da amostra.....	67
4.2. Resultados e discussão.....	68
4.2.1. Otimização das condições analíticas e instrumentais.....	68
4.2.2. Desempenho do método proposto.....	74
4.2.3 Aplicação do método.....	76
4.2.4. Aldeído-DNSH com detecção por fluorescência induzida por laser (LIF).....	77
4.2.4.1. Avaliação do efeito <i>quenching</i>	77
4.2.4.2. Desempenho do método proposto.....	80
4.2.4.3 Aplicação do método.....	82
4.3. Conclusões.....	85
4.4. Referências bibliográficas.....	87
CAPÍTULO 5- Ácido 4-hidrazino benzóico como agente derivatizante em FSCE.....	88
5. Aspectos gerais.....	89
5.1. Parte experimental.....	89
5.1.1. Instrumentação.....	89
5.1.2. Reagentes e soluções.....	89
5.1.3. Coleta da amostra.....	90
5.2. Resultados e discussão.....	91
5.2.1. Espectro de absorção do reagente	91
5.2.2. Otimização das condições analíticas e instrumentais.....	92

5.2.3. Desempenho do método proposto.....	99
5.2.4 Aplicação do método.....	101
5.3. Conclusões.....	103
5.4. Referências bibliográficas.....	104
CAPÍTULO 6- 3-Metil-2-benzotiazolinona hidrazona como agente derivatizante em MEKC.....	106
6. Aspectos gerais.....	107
6.1. Parte experimental.....	107
6.1.1. Instrumentação.....	107
6.1.2. Reagentes e soluções.....	107
6.1.3. Coleta da amostra.....	108
6.1.4. Confeção dos concentradores.....	109
6.2. Resultados e discussão.....	109
6.2.1. Otimização das condições analíticas e instrumentais.....	109
6.2.2. Desempenho do método proposto.....	120
6.2.3 Aplicação do método.....	121
6.3. Conclusões.....	125
6.4. Referências bibliográficas.....	125
CAPÍTULO 7- 2,4-Dinitrofenilhidrazina como agente derivatizante em MEKC.....	127
7. Aspectos gerais.....	128
7.1. Parte experimental.....	128
7.1.1. Instrumentação.....	128
7.1.2. Reagentes e soluções.....	129
7.1.3. Coleta da amostra.....	130
7.2. Resultados e discussão.....	132
7.2.1. Otimização das condições analíticas e instrumentais.....	132
7.2.2. Desempenho do método proposto.....	139
7.2.3 Aplicação do método.....	142
7.3. Conclusões.....	144
7.4. Referências bibliográficas.....	145
CAPÍTULO 8- Conclusões.....	147
8. Considerações finais.....	148
8.1. Perspectivas futuras.....	152

ANEXO I.....	153
ANEXO II.....	156

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Poluentes primários e secundários.....	2
Figura 2. Fontes do cinco maiores poluentes do ar.....	3
Figura 3. Poluição indoor e sua fontes.....	4
Figura 4. Instrumentação para eletroforese capilar	13
Figura 5. Sistema de injeção em eletroforese capilar.....	14
Figura 6. Representação da análise de ânions pelo método de detecção indireto.....	16
Figura 7. Representação da separação de solutos por eletroforese capilar em solução livre.....	20
Figura 8. Representação do interior do capilar de sílica fundida mostrando a inversão do fluxo eletroosmótico.....	21
Figura 9. Representação esquemática da migração de solutos neutros por cromatografia eletrocinética micelar.....	23
Figura 10. Intervalo característico de eluição em MEKC.....	24
Figura 11. Esquema representativo do <i>stacking</i> por força iônica.....	27
Figura 12. Esquema representativo do <i>stacking</i> em campo amplificado.....	28
Figura 13. Esquema representativo do <i>stacking</i> de grande volume de amostra usando um inversor de fluxo.....	29
Figura 14. Capilar de sílica fundida empacotado com ocatadecilsilica (C ₁₈).....	30
Figura 15. Esquema representativo do <i>stacking</i> mediado por adição de sal.....	31
Figura 16. Esquema representativo do <i>stacking</i> de grande volume de amostra.....	32
Figura 17. Esquema representativo do <i>sweeping</i> na ausência de fluxo eletroosmótico.....	33
Figura 18. Esquema representativo do <i>sweeping</i> na presença de fluxo eletroosmótico.....	34
Figura 19. Reação de derivatização entre aldeídos e bissulfito de sódio.....	42
Figura 20. Sistema 1 de coleta para condensados provenientes do escapamento de um veículo.....	45

Figura 21. Sistema 2 de coleta para condensados provenientes do escapamento de um veículo.....	45
Figura 22. Sistema de coleta para emissão veicular.....	46
Figura 23. Sistema de coleta para amostra de ar <i>indoor</i>	46
Figura 24. Eletroferograma das soluções padrões de formaldeído, acetaldeído e acroleína derivatizados com bissulfito.....	45
Figura 25. Efeito da concentração e pH do eletrólito no sistema aldeído-bissulfito.....	48
Figura 26. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos derivatizados com bissulfito.....	49
Figura 27. Efeito do pH do eletrólito na separação dos adutos aldeídos-bissulfito.....	50
Figura 28. Eletroferograma dos possíveis interferentes do sistema aldeído-bissulfito.....	52
Figura 29. <i>Stacking</i> em campo amplificado no sistema aldeído-bissulfito.....	54
Figura 30. Eletroferograma da amostra de emissão veicular. Método do bissulfito.....	58
Figura 31. Eletroferograma da amostra de condensado. Método do bissulfito.....	59
Figura 32. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. Método do bissulfito.....	61
Figura 33. Reação de derivatização entre DNSH e compostos carbonílicos.....	65
Figura 34. Sistema de coleta para amostra de ar indoor.....	67
Figura 35. Sistema utilizado para a impregnação dos cartuchos com DNSH.....	68
Figura 36. Efeito da composição do eletrólito no sistema aldeído-DNSH. Meio reacional: acetonitrila.....	69
Figura 37. Efeito solvente orgânico no sistema aldeído-DNSH. Meio reacional: metanol.....	71
Figura 38. Efeito solvente orgânico no sistema aldeído-DNSH. Meio reacional: acetonitrila.....	72

Figura 39. <i>Stacking</i> de grande volume de amostra com inversor de fluxo.....	74
Figura 40. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. Sistema aldeído-DNSH.....	77
Figura 41. Efeito da composição do eletrólito no sinal de fluorescência do sistema aldeído-DNSH.....	78
Figura 42. . Eletroferograma da amostra de ar do bloco 11 superior. Sistema aldeído-DNSH.....	83
Figura 43. Reação de derivatização de compostos carbonílicos com HBA.....	89
Figura 44. Sistema de coleta para amostras de ar. Sistema aldeído-HBA.....	91
Figura 45. Espectro de absorção do HBA e formaldeído-HBA.....	91
Figura 46. Eletroferograma de um mistura padrão de aldeídos derivatizados com HBA.....	92
Figura 47. Eletroferograma de um mistura padrão de aldeídos derivatizados com HBA. Concentração do eletrólito otimizada.....	93
Figura 48. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos com HBA mostrando o efeito da temperatura no sistema de derivatização	95
Figura 49. Efeito da temperatura no sistema de derivatização aldeído-HBA.....	96
Figura 50. Efeito do solvente no sistema de derivatização aldeído-HBA.....	98
Figura 51. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. Sistema aldeído-HBA.....	102
Figura 52. Reação de derivatização de compostos carbonílicos com MBTH.....	107
Figura 53. Sistema de coleta para a amostra de ar indoor.....	108
Figura 54. Representação esquemática dos concentradores sólidos.....	109
Figura 55. Sistema de separação de um mistura padrão de aldeídos derivatizados com MBTH.....	110
Figura 56. Efeito da diluição da mistura padrão no sistema de separação.....	111

Figura 57. Efeito da concentração de tetraborato de sódio no sistema aldeído-MBTH.....	113
Figura 58. Efeito da composição do eletrólito no sistema aldeído-MBTH.....	116
Figura 59. Eletroferograma dos possíveis interferentes do sistema aldeído-MBTH.....	117
Figura 60. Eletroferograma de uma mistura padrão contendo formaldeído-MBTH utilizando o concentrador sólido.....	119
Figura 61. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. Sistema aldeído-MBTH.....	122
Figura 62. Reação de derivatização de compostos carbonílicos com 2,4 DNFH	128
Figura 63. Sistema de coleta para emissão veicular.....	130
Figura 64. Sistema de coleta para amostra de ar <i>indoor</i>	131
Figura 65. Sistema utilizado para a impregnação dos cartuchos com DNFH.....	132
Figura 66. Eletroferograma de um mistura padrão de aldeídos derivatizados com DNFH.....	133
Figura 67. Efeito da composição do eletrólito no sistema aldeído-DNFH.....	134
Figura 68. Efeito da diluição da mistura padrão no sistema aldeído-DNFH.....	135
Figura 69. Efeito do <i>stacking</i> mediado por adição de sal no sistema aldeído-DNFH.....	136
Figura 70. Eletroferograma de um mistura padrão de aldeídos derivatizados com DNFH, modo de injeção hidrodinâmico.....	137
Figura 71. Eletroferograma de um mistura padrão de aldeídos derivatizados com DNFH mostrando o <i>sweeping</i>	138
Figura 72. Eletroferograma de uma amostra da emissão veicular. Sistema aldeído-DNFH.....	143
Figura 73. Eletroferograma de uma amostra do ar do laboratório. Sistema aldeído-DNFH.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação entre alguns sistemas de detecção usados em eletroforese capilar.....	15
Tabela 2. Aditivos comumente empregados em MEKC.....	25
Tabela 3. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aduto aldeído-bissulfito.....	56
Tabela 4. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os adutos aldeídos-bissulfito.	57
Tabela 5. Resultados das análises das concentrações de aldeídos dos condensados coletados de veículos “zero quilometro”. Método do bissulfito.....	59
Tabela 6. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada derivado aldeído-DNSH.....	75
Tabela 7. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os aldeídos-DNSH.....	76
Tabela 8. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-DNSH em função do condicionamento do capilar. Condicionamento 1.....	80
Tabela 9. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-DNSH em função do condicionamento do capilar. Condicionamento 2.....	81
Tabela 10. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os aldeídos-DNSH. Detecção LIF.....	82
Tabela 11. Resultados das análises das concentrações de aldeídos no ar do bloco 11 superior. Método da DNSH, detecção LIF.....	84
Tabela 12. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-HBA em função do condicionamento do capilar. Condicionamento 1.....	100
Tabela 13. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-HBA em função do condicionamento do capilar. Condicionamento 2.....	100
Tabela 14. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os aldeídos-HBA.....	101

Tabela 15. Resultados das análises das concentrações de aldeídos no ar do laboratório. Método do HBA.....	103
Tabela 16. Condutividade da mistura padrão contendo diferentes concentrações de tetraborato.....	114
Tabela 17. Ganho de sinal obtido para os derivados aldeído-MBTH.....	115
Tabela 18. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-MBTH.....	120
Tabela 19. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os aldeídos-MBTH.....	121
Tabela 20. Resultados das análises das concentrações de aldeídos no ar do laboratório e corredor do bloco 11 superior. Método do MBTH.....	123
Tabela 21. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-DNFH. Modo de injeção eletrocinético.....	140
Tabela 22. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os aldeídos-DNFH. Modo de injeção eletrocinético.....	141
Tabela 23. Coeficientes de variação do tempo de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-DNFH. Modo de injeção hidrodinâmico.....	141
Tabela 24. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção/quantificação para os aldeídos-DNFH. Modo de injeção hidrodinâmico.....	142
Tabela 25. Descrição dos métodos desenvolvidos	151

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CE	eletroforese capilar
FSCE	eletroforese capilar em solução livre
MEKC	cromatografia eletrocínética micelar
PAN	nitrato de peroxiacetila
DNSH	dansilhidrazina
DNFH	2,4-dinitrofenilhidrazina
MBTH	3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona
HBA	ácido 4-hidrazino benzóico
CTAB	brometo de cetiltrimetilamônio
TTAB	brometo de tetradeciltrimetilamônio
CMC	concentração micelar crítica
SDS	dodecil sulfato de sódio
CD	ciclodextrina
ACN	acetonitrila
MeOH	metanol
LIF	fluorescência induzida por laser
O ₃	ozônio
OH•	radical hidroxila
HC	hidrocarbonetos
VOCs	compostos orgânicos voláteis
EPA	Environmental Protection Agency
HC/Cl	hidrocarbonetos clorados
SO _x	óxidos de enxofre
p-DCIB	para diclorobenzeno
TCIEt	tetracloroetileno
NO _x	óxidos de nitrogênio
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência
UV/Vis	Ultravioleta/Visível
vep	velocidade eletroforética
μep	mobilidade eletroforética
E	campo elétrico
vi	velocidade eletroforética aparente

v_{osm}	velocidade eletroosmótica
v'_{osm}	velocidade eletroosmótica em fluxo invertido
$v_{e,M}$	velocidade eletroforética da micela
v_M	velocidade aparente final da micela
t_m	tempo de migração da micela
l	distância do ponto de injeção até a janela de detecção
t_{mn}	tempo de migração de um composto neutro
μ_{ef}	mobilidade efetiva
μ_j	mobilidade iônica de cada espécie individual j
α_j	fração molar da espécie j
K_a	constante de dissociação
L	comprimento total do capilar
V	tensão
EOF	fluxo eletroosmótico
R_s	resolução
N	eficiência
α	seletividade
k	fator de retenção
t_r	tempo de migração de um analito
t_0	tempo de migração de um soluto não retido
C_{18}	Octadecilsílica
fl	fluxo local
S/N	relação sinal ruído
C.V.	Coeficiente de variação
d.i.	diâmetro interno
s	segundos
min	minutos
LD	limite de detecção

RESUMO

Depois dos hidrocarbonetos, os aldeídos de baixa massa molar são os mais abundantes dos gases orgânicos encontrados na atmosfera. Os aldeídos provêm de diversas fontes como as atividades industriais, incompleta combustão de combustível fóssil e biomassa e como resultado de reações fotoquímicas na atmosfera.

Os aldeídos são potentes precursores de importantes oxidantes como o nitrato de peroxiacetila (PAN) e ozônio. Eles são reconhecidamente irritante dos olhos e trato respiratório, além de possuir características mutagênicas e carcinogênicas em animais. Considerando o impacto toxicológico e ambiental destes compostos, a prevenção e controle dos aldeídos requerem o uso de novas e versáteis metodologias analíticas. Neste sentido, a eletroforese capilar tem mostrado ser uma técnica alternativa para a análise de aldeídos em amostras ambientais.

Este trabalho descreve diferentes metodologias desenvolvidas, em eletroforese capilar, para a separação e análise de aldeídos em amostras de ar (*indoor*, *outdoor*) e emissão veicular. As metodologias incluem a separação dos adutos aniônicos bissulfito–aldeído e das hidrazonas aniônicas formadas a partir da reação dos aldeídos com dansilhidrazina (DNSH) e ácido 4-hidrazino benzóico (HBA) por eletroforese capilar em solução livre (free solution capillary electrophoresis, FSCE), bem como a separação das hidrazonas formadas a partir da reação dos aldeídos com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFH) e 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH), utilizando a cromatografia eletrocínética micelar (micellar electrokinetic chromatography, MEKC). As metodologias foram comparadas em termos de sensibilidade, limite de detecção, procedimento de amostragem, necessidade de purificação dos reagentes derivatizantes e aplicação em amostras de ar.

O método do bissulfito apresentou algumas vantagens sobre os métodos estabelecidos na literatura como boa sensibilidade (limite de detecção de 3,4 – 36,9 ng mL⁻¹), rapidez, facilidade de aplicação e pequena manipulação da amostra. A desvantagem é que requer longos tempos de amostragem para a análise de traços (ng mL⁻¹).

A metodologia com DNFH apresentou baixa sensibilidade (limite de detecção $0,14 - 2,59 \mu\text{g mL}^{-1}$), necessidade de purificação dos reagentes e solventes. No entanto, o sistema de pré-concentração, na coleta, tornou possível a aplicação do método a amostras de ar *indoor*.

Usando MBTH como agente derivatizante foi possível obter limites de detecção na faixa de $3,1 - 21,1 \text{ ng mL}^{-1}$, análise rápida e pouca manipulação da amostra. O reagente não requer purificação. O principal problema do método é o decréscimo do sinal analítico em função do aumento da cadeia carbônica.

O método da DNSH mostrou boa sensibilidade com limites de detecção na faixa de $2,1 - 14,1 \text{ ng mL}^{-1}$ para a detecção UV e $0,96 - 2,6 \text{ ng mL}^{-1}$ para a detecção LIF. O reagente sofre oxidação quando as amostras não são preparadas em acetonitrila ou em outro solvente orgânico. A purificação dos solventes é necessária.

O método do HBA mostrou boa sensibilidade com limites de detecção na faixa de $2,7 - 8,8 \text{ ng mL}^{-1}$, rapidez e simplicidade. O solvente deve ser purificado. As hidrazonas sofrem degradação na presença de água e luz.

As metodologias estudadas foram aplicadas a amostras reais de emissão veicular, ar *indoor* e *outdoor*. Foram verificadas as presenças de formaldeído, acetaldeído e acetona para amostras de ar *indoor* e *outdoor*, em concentrações na faixa de ppbv e em amostras veiculares foram encontradas formaldeído e acetaldeído em concentrações na faixa de ppmv.

ABSTRACT

After the hydrocarbons, the low molecular-weight aldehydes are the most abundant of the organic gases of the atmosphere. The aldehydes are produced from many sources such as industrial activities, incomplete combustion of fossil fuels and biomass or as result of photochemical reactions.

Aldehydes are important precursor compounds of photochemical smog and their chemistry has been associated to the generation of harmful oxidants, peroxyacetylnitrate (PAN) and ozone. Aldehydes are recognized irritants of the eyes and respiratory tracts of animals and humans and often carcinogenic and mutagenic characteristics are attributed to them. Because of the toxicological and environmental importance of these compounds, prevention and control of aldehydes have demanded new and versatile analytical methodologies. In this context, capillary electrophoresis has become an interesting alternative technique for environmental analysis.

This work describes different CE methodologies developed for the separation and analysis of aldehydes in environmental samples of air (indoors and outdoors) and vehicle exhaust. The methodologies comprise the free solution capillary electrophoresis separation of anionic bisulfite-aldehyde adducts, anionic aldehyde-DNSH derivatives and anionic aldehyde-HBA derivatives as well as the micellar chromatographic separation of aldehyde-DNPH derivatives and aldehyde-MBTH derivatives. These methodologies were contrasted in terms of sensitivity, limit of detection, sampling procedure, need for reagent purification and application to air samples.

The bisulfite methodology is a novel approach with several advantages over established methods in the literature, such as good sensitivity (range from 3.4 to 36.9 ng mL⁻¹), very easy to implement, speed of analysis and lack of sample manipulation, but it requires long collection volume of air to achieve ng mL⁻¹ detection level.

The aldehyde-DNPH derivatives methodology presented poor sensitivity (range from 0.14 to 2.59 µg mL⁻¹). The reagents and solvents must be purified to avoid contamination which will completely interfere with the sample components during analysis. However, the preconcentration achieved during sampling allowed to evaluate aldehyde levels in air samples.

Using the MBTH methodology it was possible to obtain a limit of detection range from 3.1 to 21.1 ng mL⁻¹, fast analysis and very little sample manipulation. There is not need for purification of the reagent since it is obtained in grade purity. The main problem with this reaction is that as the length of the aldehyde chain increases, the sensitivity decreases.

The aldehyde-DNSH derivatives method presented good sensitivity with a limit of detection range from 2.1 to 14.1 ng mL⁻¹ (UV detection) and 0.96 to 2.6 ng mL⁻¹ (LIF detection). The reagent shows substantial oxidation when the sample is not prepared in acetonitrile or other organic solvent.

The aldehyde-HBA derivatives method showed good sensitivity with a limit of detection range from 2.7 to 8.8 ng mL⁻¹, it is fast and simple. However, the solvents must be purified and the derivatives shows substantial degradation in presence of water and light.

The developed methodologies were then applied to real samples of indoor, outdoor and automobile emissions. The presence of formaldehyde, acetaldehyde and acetone in indoor and outdoor samples was verified at the low ppbv level and the presence of formaldehyde and acetaldehyde, in automobile samples, was at the ppmv level.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. POLUIÇÃO – ASPECTOS GERAIS

“Até o início do século XX a atmosfera era considerada ilimitada, e não merecia maiores considerações. O homem conhecia os problemas da falta de água potável, de alimentos, mas julgava que o ar necessário a sua respiração nunca deixaria de estar disponível. Na verdade, o homem não estava totalmente equivocado: sempre existirá na atmosfera uma “mistura de gases”, o grande problema é saber se esta mistura será adequada à manutenção da sua vida” [3]

A poluição do ar consiste de gases, líquidos ou sólidos presentes na atmosfera, em níveis elevados, produzindo a mudança em sua composição ou em suas propriedades, causada por emissões de poluentes, tornando-se impróprio ou nocivo à saúde, ao bem estar público, à vida animal e vegetal e, até mesmo a alguns materiais [1].

Os poluentes são freqüentemente divididos em 2 categorias: primários e secundários (Figura 1). Os poluentes primários são aqueles emitidos diretamente para a atmosfera. Esta classe de poluentes incluem: óxidos de carbono, óxidos de enxofre, óxidos de nitrogênio (NO_x), hidrocarbonetos (HC), VOCs (compostos orgânicos voláteis como formaldeído, tetracloreto de carbono, clorofórmio, etc) e material particulado. Os poluentes secundários são aqueles gerados na atmosfera através das interações entre diferentes espécies químicas. Esta classe de poluentes incluem: O_3 (ozônio), formaldeído, acetaldeído, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxila ($\text{OH}\bullet$), ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido nítrico (HNO_3) e PAN (nitrato de peroxiacetila) [1].

Figura 1. Poluentes primários e secundários ¹.

As duas principais fontes antrópicas responsáveis pela emissão de poluentes primários são as indústrias e os veículos automotores (Figura 2) [1]. Os veículos automotores produzem mais poluição atmosférica do que qualquer outra atividade humana isolada. Mais de 50% das emissões de monóxido de carbono, HC e óxidos de nitrogênio provêm da combustão de motores a diesel ou gasolina [2], enquanto os motores a álcool são responsáveis por uma maior emissão de álcoois e aldeídos [3]. As indústrias por sua vez emitem uma maior quantidade de material particulado e óxido de enxofre, também emitem, quantidades consideráveis de óxidos de nitrogênio, HC e óxidos de carbono [1].

Figura 2. Fontes dos 5 maiores poluentes do ar.

1.1. POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA URBANA

A poluição atmosférica, que está localizada em áreas urbanas, e é responsável pela redução da visibilidade é frequentemente denominada de *smog*. O *smog* pode ser dividida em 2 categorias [1]:

smog industrial que apresenta como principais poluentes óxidos de enxofre e material particulado.

smog fotoquímico que é proveniente das reações atmosféricas envolvendo NO_x, HC e luz solar, dando origem as poluentes como PAN, ácido nítrico, aldeídos e O₃.

O primeiro *smog* fotoquímico de que se tem notícia no Brasil ocorreu na cidade de São Paulo, em 1972 e foi provocado principalmente por emissões de veículos, inversão térmica e ausência de vento e de chuvas. A cidade ficou coberta por uma densa névoa. Em 1976, um episódio crítico de poluição do ar ocorrido na cidade de Santo André, região do ABC paulista, de característica industriais, perdurou por uma semana. No início da década de 80 a região de Cubatão, parque industrial de grande porte, registrou altos níveis de poluição de ar, principalmente material particulado. O estado de atenção virou rotina, chegando, muitas vezes, ao estado de alerta e, algumas vezes ao estado de emergência [3,4].

1.2. POLUIÇÃO INDOOR

O ar de ambientes fechados (*indoor*) como automóveis, casa, escolas e escritórios podem apresentar níveis mais altos de poluentes do que em ambientes abertos (*outdoor*). De acordo com a American College of Allergies, 50% de todas as doenças são agravadas ou causadas pelo ar *indoor* poluído [5]. Segundo a EPA (Environmental Protection Agency) o ar em ambientes fechados de alguns locais pode ser de 2 a 10 vezes mais perigoso do que em locais abertos [5]. Este fato se deve principalmente a duas razões:

- em ambientes fechados existe uma menor renovação do ar do que em ambientes abertos;
- os ambientes fechados possuem um grande número de diferentes fontes emissoras de poluentes.

A Figura 3 apresenta os principais poluentes com suas respectivas fontes no interior de uma residência.

Figura 3. Poluição *indoor* e suas fontes. Principais poluentes: VOCs [hidrocarbonetos clorados (HC/Cl)], formaldeído, p- diclorobenzeno (p-DCIB), tricloroetileno (TCIEt), Clorofórmio (CHCl₃), NO_x e CO.

Os contaminantes mais comuns encontrados em ambientes fechados são fumaça de cigarro, responsável pela emissão de mais de 400 tipos de poluentes, monóxido de carbono, NO_x , VOCs (HC, aldeídos, clorofórmio, tetraclore etileno, entre outros), fungos, bactérias e outros organismos vivos [1]. Outras fontes de poluentes incluem: perfumes, velas, brinquedos sintéticos, cosméticos, etc [5].

Entre os contaminantes mencionados, os aldeídos de baixa massa molar, principalmente formaldeído e acetaldeído, tem recebido cada vez mais atenção por parte dos pesquisadores porque estes compostos vêm sendo encontrados em diferentes locais com uma ampla faixa de concentração.

1.3. ALDEÍDOS E CETONAS DE BAIXA MASSA MOLAR

1.3.1. PRINCIPAIS FONTES E CONCENTRAÇÕES

Depois dos hidrocarbonetos, os aldeídos de baixa massa molar são os mais abundantes dos compostos orgânicos normalmente encontrados na atmosfera [6]. Alguns estudos tem mostrado que o formaldeído é a espécie mais abundante dos poluentes carbonílicos, seguido pelo acetaldeído [6,7]. Nos grandes centros urbanos brasileiros, como resultado do uso do álcool hidratado e gasolina misturada com álcool anidro como combustível de automóveis, o acetaldeído é geralmente mais abundante que o formaldeído na atmosfera [8,9].

Várias são as fontes dos aldeídos presentes na atmosfera. A emissão direta ocorre como resultado da formação de aldeídos durante a combustão incompleta de combustível e biomassa [10,11]. É também resultado do seu largo uso como matéria-prima. Os aldeídos também se formam diretamente na atmosfera como produtos de reações de oxidações fotoquímicas de compostos orgânicos voláteis envolvendo óxido de nitrogênio [12,13,14]. Em regiões não urbanas, ricas em vegetação, a principal fonte de aldeído é proveniente de reações entre compostos orgânicos naturalmente emitidos pelas plantas e oxidantes presentes na atmosfera [15,16].

Em ambientes fechados, formaldeído representa cerca de 60% do total de aldeídos. As fontes usuais são carpetes, fumaça de cigarros e de frituras de alimentos, divisórias, madeira compensada, espumas isolantes, máquinas copiadoras [17,18]. Atualmente vem sendo considerada a formação de

formaldeído via reações químicas no ar como produto de reações entre VOCs e oxidantes [17,19]. Outras fontes diretas como as emissões a partir da excreção animal e erupções vulcânicas devem ser consideradas [20].

Em qualquer meio, as concentrações ambientais de aldeídos dependem das taxas de formação e remoção dos mesmos. Em áreas remotas, ambientes considerados limpos, a concentração de compostos carbonílicos varia entre 0,5 – 2,0 ppb. Em áreas urbanas as concentrações são muito mais altas, variando entre 4,0 – 50 ppb. Não é difícil encontrar nos dias de hoje, concentrações *indoor* médias de 24 horas entre 50 – 200 ppb [21].

1.3.2. PROPRIEDADES E USOS DOS ALDEÍDOS

A temperatura ambiente, o formaldeído é um gás incolor, inflamável e tem um forte odor penetrante. Ele é solúvel em água e solventes orgânicos mais comuns [22]. O formaldeído gasoso forma combinações explosivas com o ar, quando sua concentração está na faixa de mistura contendo 7-72% em volume [23]. Comercialmente é vendido com o nome de formol ou formalina, que é uma solução aquosa incolor, contendo 37% em peso do formaldeído em água e com quantidade variáveis de metanol.

A imensa utilidade industrial do formaldeído se deve à sua alta reatividade, natureza incolor, pureza na forma comercial e baixo custo. Embora tenha sido inicialmente produzido comercialmente para uso como fluido para embalsamar, bactericida, desinfetante, fungicida e desodorizante, atualmente estas utilizações consomem apenas uma pequena percentagem do volume total produzido [24]. Sua utilização na indústria é generalizada, as resinas sintéticas (fenol - formaldeído e uréia – formaldeído) são as responsáveis pela metade da demanda total do aldeído. As resinas encontram uso em adesivos, composição de revestimento, modificação de produtos têxteis e de papel. Na indústria têxtil, o formaldeído é usado sozinho ou na forma de derivados para a produção de tecido resistentes ao amarrotamento e encolhimento. A indústria de papel também usa formaldeído porque ele confere resistência ao papel e serve como fixador de pigmentos. Ele é usado como conservante em materiais que incluem alimentos, produtos de higiene pessoal e cosméticos [23].

O acetaldeído é um líquido incolor, volátil, reativo e extremamente inflamável. Ele é solúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos

comuns (acetona, etanol, etc). A mistura do acetaldeído gasoso e o ar é inflamável se a concentração do acetaldeído e oxigênio for superior a 4 e 9%, respectivamente [23].

O principal uso do acetaldeído é como matéria-prima na síntese de outros produtos (ácido acético, n-butanol, acetato de etila e piridina) [23]. Acetaldeído é usado na produção de perfumes, resinas e corantes básicos. É também usado como solvente na indústria de borracha e papel, como conservante de frutas e peixe, como agente aromatizante, para endurecimento de gelatina e na composição de combustíveis [25].

O propionaldeído é um líquido branco, inflamável, volátil e com odor sufocante, pode formar peróxidos no ar que são explosivos. Ele é solúvel em água [22].

O propionaldeído é usado na manufatura de plásticos, derivados de borracha e celulose e também pode ser usado como desinfetante e conservante [26].

À temperatura ambiente a acroleína é um líquido incolor ou amarelo, inflamável, volátil com odor penetrante e altamente reativo. Acroleína é solúvel em água, álcool e éter. Pode sofrer polimerização com a luz [23].

A acroleína vem sendo utilizada na produção de plástico, perfume, em síntese orgânica e como herbicida aquático [27]. Devido a sua atividade antimicrobiana tem sido usada como um agente para controlar crescimento de micróbios em processos contínuos. Acroleína, em concentrações inferiores a 500 ppm, é também usada para proteger combustíveis contra microorganismos [23].

O benzaldeído é um líquido incolor com odor característico de amêndoas. Ele é solúvel em etanol e pouco solúvel em água.

O mais importante uso de benzaldeído está na síntese orgânica, onde ele é matéria-prima para um grande número de produtos. Ele é um importante intermediário no processo de perfume e compostos aromatizantes e na preparação de certos corantes (derivados da anilina) [25].

A acetona é um líquido incolor, inflamável com um suave odor picante. É um composto solúvel em água e solvente orgânicos como éter, metanol, etanol e éster [23].

A acetona é usada como solvente na manufatura de acetato de celulose, na manufatura de produtos farmacêuticos e cosméticos e como matéria-prima para a síntese de um grande número de produtos químicos. Acetona também é usada na indústria de poliéster, na indústria eletrônica (para processos de limpeza) e na indústria de adesivos [28].

1.3.3. TOXICIDADE

Cada um dos aldeídos possui um grau de toxicidade particular, que depende da forma como interage com o organismo humano, em geral os principais sintomas causados pela exposição a estes poluentes são irritação dos olhos e trato respiratório, dor de cabeça, fadiga e sede [23].

Para humanos e animais o principal risco parece ser o formaldeído na forma de vapor, já que experimentos feitos com animais mostraram que o formaldeído quando ingerido, mesmo em quantidades consideráveis, não traz risco aparente [29].

A propriedade do formaldeído de possuir grande solubilidade em água o torna um irritante das mucosas úmidas, mesmo em concentrações muito baixas. Ele é reconhecidamente irritante dos olhos e pulmão e possui características carcinogênicas e mutagênicas em animais [29-32].

Exposição aos vapores de acetaldeído causam irritação das membranas da mucosa e trato respiratório, tosse, tontura, irritação da garganta e acelera os batimentos cardíacos. Prolongada exposição causa um decréscimo dos glóbulos brancos e vermelhos das células [23]. A ingestão causa irritação do sistema gastrointestinal. O contato com o líquido causa irritação, vermelhidão e dor na área afetada [26].

O acetaldeído é um composto supostamente carcinogênico e mutagênico, com base nos estudos em animais [26].

As informações sobre os efeitos do propionaldeído causado ao homem devido a exposição é limitada. A inalação deste composto causa irritação no trato respiratório e nos olhos. Pode apresentar sintomas como tosse e diminuição da respiração. Em altas concentrações pode causar edema pulmonar [26]. Não há informações do efeito do propionaldeído quando ingerido. Não existem informações disponíveis sobre este composto sobre o efeito carcinogênico em humanos e animais [26].

A acroleína é externamente tóxica para seres humanos, e uma pequena quantidade pode ser fatal se ingerida [23]. A exposição do homem a elevados níveis do vapor (10 ppm) pode levar a morte. Elevada irritação do trato respiratório tem sido observada em exposições a níveis de 0,17 – 0,43 ppm. Contato com a solução causa grave irritação local e queimaduras [26].

A EPA tem classificado a acroleína como um possível agente carcinogênico para humanos, baseado nas evidências de carcinogenicidade em animais [26].

O benzaldeído é considerado uma substância moderadamente tóxica quando ingerida. Super exposição a vapores de benzaldeído causa irritação do trato respiratório e produz danos no sistema nervoso central com possível parada respiratória [23]. O contato com o líquido pode causar irritação na pele.

Estudos sobre o potencial carcinogênico deste composto estão sendo conduzidos [26].

A inalação de vapores pode causar a irritação do trato respiratório e olhos. Pode causar tosse, tontura, lentidão e dor de cabeça. Altas concentrações podem causar danos ao sistema nervoso central e inconsciência [26,28].

A ingestão de pequenas quantidades não produz efeito nocivo. A ingestão de grandes quantidade podem produzir dores abdominais, náuseas e vômito. Contato com a pele produz irritação [26].

1.3.4. IMPACTO AMBIENTAL

O papel que os aldeídos ocupam na atmosfera como precursores do *smog* fotoquímico está relacionado com a geração de importantes radicais livres e oxidantes fotoquímicos como o PAN e ozônio.

A ativação dos aldeídos pode ocorrer quando estes compostos absorvem luz solar e sofrem decomposição química ou, mais frequentemente, quando são atacados pelo radical hidroxila ($\text{OH}\bullet$). Tanto o formaldeído como o acetaldeído são importantes iniciadores de uma série de reações fotoquímicas como exemplifica a sequência [6,20,33]:

1) decomposição fotoquímica:

Ozônio

2) o radical hidroxila ataca um hidrocarboneto :

Acetaldeído

3) decomposição do acetaldeído:

4) O radical peroxiacetila reage com NO e NO₂:

PAN

5) Consumo de ozônio :

O equilíbrio fica rompido quando NO é consumido pelos radicais $\text{HO}_2\bullet$ e $\text{CH}_3\text{O}_2\bullet$ e em consequência, aumenta a concentração de oxidantes como o ozônio.

Considerando a importância industrial, o impacto ambiental e toxicológico dos aldeídos, o desenvolvimento de novos métodos e/ou a otimização dos já existentes, é de grande interesse tanto do ponto de vista analítico como toxicológico.

Os principais métodos de análise para aldeídos são baseados em técnicas espectrofométricas e cromatográficas [34,35]. No método espectrofotométrico o resultado final da análise é expresso na forma de aldeído total. Já os métodos cromatográficos, como cromatografia líquida de alta eficiência (high performance liquid chromatography, HPLC), apresentam como desvantagens o uso de grandes volumes de solvente orgânico e longos tempos de análise. Desde as últimas duas décadas, a eletroforese capilar (capillary electrophoresis, CE) vem sendo apontada como uma poderosa ferramenta analítica na área de separação, destacando-se das demais técnicas utilizadas para o mesmo fim, principalmente no que se refere à versatilidade e simplicidade.

1.4. ELETROFORESE CAPILAR

1.4.1. ASPECTOS GERAIS

Eletroforese é uma técnica de separação baseada na migração diferenciada de compostos iônicos ou ionizáveis sob ação de um campo elétrico [36]. Em eletroforese capilar, a separação é conduzida em tubos de dimensões capilares, com 25 a 75 μm de diâmetro interno, e 50 a 100 cm de comprimento, usualmente preenchidos com solução tampão. O uso do capilar oferece muitas vantagens sobre os outros meios utilizados para eletroforese (placas de gel, papel, etc). O uso do capilar possibilita numerosas vantagens, particularmente por favorecer a dissipação eficiente do calor gerado pela passagem da corrente elétrica (efeito Joule). Além disso, a alta resistência elétrica do capilar permite o estabelecimento de campos elétricos elevados (100 a 500 V/cm), resultando em separações de alta eficiência (geralmente

excede 10^5 pratos teóricos), resolução inigualável e tempos de análise apreciavelmente curtos. Outras vantagens decorrentes do uso de capilares são: uma demanda de amostra pequena, com volumes de injeção tipicamente da ordem de 1 a 10 nL, e a possibilidade de injeção e detecção em fluxo. A capacidade de separação, ou seja, o número máximo de bandas separadas numa única corrida é alta [37], tornando a eletroforese capilar uma técnica analítica particularmente atrativa para separação de amostras complexas.

As características de eficiência da técnica estão, em parte, vinculadas a um fenômeno de importância significativa que ocorre em eletroforese capilar, conhecido como eletroosmose (fluxo de solução induzido pelo campo elétrico). O fluxo eletroosmótico é caracterizado por um perfil radial de velocidade praticamente linear, cuja contribuição ao alargamento das bandas é praticamente desprezível. Esta peculiaridade distingue a eletroforese capilar dos métodos cromatográficos em fase líquida, que apresentam um perfil de velocidade parabólico, característico do fluxo induzido por pressão. Além disso, o fluxo eletroosmótico, em geral de grande magnitude, é responsável pela condução dos solutos em direção ao detector, permitindo assim a análise simultânea de amostras contendo ambos solutos catiônicos e aniônicos [38].

1.4.2. INSTRUMENTAÇÃO

Talvez um dos aspectos mais importantes da CE seja a simplicidade de sua instrumentação. O sistema consiste de uma fonte de alta tensão, capilares de sílica fundida, eletrodos (geralmente de platina) e um detector apropriado (Figura 4). A fonte de alta tensão é conectada, através de eletrodos de platina, a dois reservatórios contendo uma solução de um eletrólito conveniente. Tubos capilares de sílica fundida são então preenchidos com a solução e servem como canal de migração. As extremidades do capilar são imersas nos reservatórios da solução para completar o contato elétrico. Para minimizar os efeitos térmicos, o capilar deve ser mantido à temperatura constante. Existem diferentes possibilidades para a termostatização do sistema, incluindo circulação de um líquido ou ar através de um cartucho contendo o capilar, além do uso de ventiladores e fornos [38].

Figura 4. Instrumentação para eletroforese capilar.

1.4.3. INTRODUÇÃO DA AMOSTRA

Em CE, as amostras podem ser injetadas no capilar por métodos hidrodinâmicos ou eletrocinéticos. Na injeção hidrodinâmica utiliza-se um gradiente de pressão. O gradiente de pressão pode ser estabelecido por diferentes mecanismos: pressurização ou vácuo em um dos reservatórios de solução, ou por gravidade, onde um dos reservatórios é elevado em relação ao outro e a amostra é introduzida por sifonagem. Na injeção eletrocinética, um gradiente de potencial é estabelecido ao longo do comprimento do capilar por um período de tempo conhecido [39].

A injeção hidrodinâmica introduz no capilar uma alíquota representativa da composição do soluto na amostra. O volume de injeção (nL) depende do tempo de injeção, dimensões do capilar, viscosidade da solução tampão e da diferença de pressão estabelecida [39].

Na injeção eletrocinética, a amostra é introduzida no capilar como resultado da combinação entre as velocidades eletroforética e eletroosmótica. Assim sendo, a quantidade de material injetado é uma função da mobilidade eletroforética do soluto, das condutividades da amostra e meio condutor, assim como da magnitude do fluxo eletroosmótico [39].

Figura 5. Sistema de injeção em eletroforese capilar

1.4.4. DETECÇÃO

Uma variedade de detectores tem sido usadas em CE, incluindo: UV/vis, fluorescência, fluorescência induzida por laser (LIF), condutividade, índice de refração, espectrometria de massas, amperométricos e radiométricos [38]. A Tabela I compara os limites de detecção de alguns dos sistemas de detecção disponíveis para CE.

Tabela 1. Comparação entre alguns sistemas de detecção usados em eletroforese capilar [39].

MODO DE DETECÇÃO	LIMITES DE DETECÇÃO TÍPICOS (mol L ⁻¹)
ÍNDICE DE REFRAÇÃO	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶
CONDUTIVIDADE	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶
ABSORBÂNCIA	
Direto	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶
Indireto	10 ⁻⁴ - 10 ⁻⁵
FLUORESCÊNCIA	
Direto (lâmpada)	10 ⁻⁷ - 10 ⁻⁸
Direto (laser)	10 ⁻⁹ - 10 ⁻¹²
Indireto	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷
ESPECTROMETRIA DE MASSAS	10 ⁻⁴ - 10 ⁻⁹
AMPEROMETRIA	10 ⁻⁸ - 10 ⁻⁹
RADIOMETRIA	10 ⁻⁹ - 10 ⁻¹¹
RAMAN	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷

1.4.4.1. DETECÇÃO DE ABSORBÂNCIA NA REGIÃO DO ULTRA VIOLETA/VISÍVEL (UV/Vis)

A detecção baseada na absorbância na região do UV/Vis é largamente utilizada em CE. A fonte de luz freqüentemente usada é a lâmpada de deutério. Os capilares de sílica fundida são tipicamente usados como um célula de detector. A janela da célula pode ser simplesmente queimada em uma pequena seção do capilar, retirando-se a cobertura externa de poliimida. Esta seção é então colocada no caminho de luz do detector.

1.4.4.2. DETECÇÃO INDIRETA DE ABSORBÂNCIA NA REGIÃO DO UV/Vis

Compostos que não absorvem luz podem ser determinados utilizando a detecção indireta. Este método tem como base o uso de uma espécie

absorvente, um íon cromóforo, como eletrólito de corrida. Este composto é responsável por um elevado sinal de absorbância (*background*). Quando o ânion do cromóforo, por exemplo, é deslocado por um ânion do soluto, ocorre uma redução no sinal de absorbância do eletrólito, quando este passa pelo detector, resultando em uma queda da linha base representada por um pico negativo (Figura 6). A polaridade do detector é usualmente invertida e os picos passam a ser positivos na detecção. Usando este artifício, compostos que não apresentam absorbância podem ser detectados sem a necessidade de derivatização [38].

Figura 6. Representação da análise de ânions pelo método de detecção indireta.

Existem alguns critérios de escolha da espécie absorvente a ser usada como eletrólito de corrida. A mobilidade do íon cromóforo deve ser semelhante a mobilidade dos solutos. O íons cromóforo deve possuir uma alta absorvidade molar no comprimento de onda selecionado, de modo com que ocorra um grande decréscimo na absorbância quando ele for deslocado por um soluto que não absorva. Terceiro, o íon cromóforo deve absorver fortemente em um comprimento de onda onde os solutos não absorvam [38].

1.4.4.3. DETECÇÃO POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER (LIF)

A sensibilidade da detecção por fluorescência é proporcional a intensidade da luz emitida. A intensidade de luz emitida é dependente da eficiência quântica do soluto e do número de moléculas excitadas. Quanto maior for o número de moléculas excitadas, maior será a quantidade de luz

emitida e conseqüentemente um aumento da altura do pico é esperado. O número de moléculas excitadas é proporcional a intensidade da radiação incidente, e o laser produz alta intensidade de radiação para a excitação. Um outra vantagem do laser é sua propriedade espacial que permite que a luz seja focada em uma área muito reduzida, como o interior de um capilar [38,40].

Devido a alta intensidade de luz incidente e a habilidade para focalizar precisamente a luz sobre a janela de detecção de um capilar, a fluorescência induzida por laser é um modo de detecção de alta sensibilidade [38].

Uma variedade de laser estão disponíveis comercialmente, incluindo íon argônio, hélio-cádmio e hélio-neônio. Existem três principais critérios para a escolha do laser. Primeiro, o comprimento de onda deve ser ou estar próximo do máximo de excitação do soluto a ser determinado. O segundo critério é a potência do laser, quanto maior a potência, maior a intensidade e conseqüentemente, maior a sensibilidade. O terceiro critério é a qualidade espacial do laser, que é a habilidade para focalizar a luz em pequenas áreas [38].

1.4.5. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Os fundamentos teóricos que serão discutidos a seguir são aplicáveis à eletroforese em solução livre (*free solution capillary electrophoresis*, FSCE), praticada em capilares de sílica fundida. A FSCE é um dos modos de separação eletroforética mais usados na prática, provavelmente em razão da facilidade de sua implementação e otimização das condições experimentais. Em FSCE, o tubo capilar é simplesmente preenchido com um eletrólito, geralmente com características tamponantes. A separação ocorre em função das diferenças de mobilidade eletroforética dos solutos e sofre o efeito do fluxo eletroosmótico [43].

1.4.5.1. CONCEITO DE MOBILIDADE ELETROFORÉTICA

Sob a ação de um campo elétrico, um soluto carregado migra através do tampão com uma velocidade eletroforética (V_{ep}), em cm/s, expressa pela equação (1) [38,40]:

$$v_{ep} = \mu_{ep}E \quad (1)$$

onde, μ_{ep} é a mobilidade eletroforética e E é o campo elétrico aplicado.

A velocidade eletroforética aparente (V_i) é definida como a razão entre a distância do ponto de injeção até a janela de detecção (l) e o tempo de migração (t_m):

$$v_i = l/t_m \quad (2)$$

A velocidade dos solutos é influenciada pela velocidade eletroforética e pela velocidade eletrosmótica:

$$v_i = v_{ep} + v_{osm} \quad (3)$$

A velocidade eletrosmótica (V_{osm}) pode ser determinada, medindo o tempo de migração de um composto neutro (t_{mn}), conhecido como marcador:

$$V_{osm} = l/t_{mn} \quad (4)$$

Rearranjando a equação (3) e substituindo a equação (4) e (2), a velocidade eletroforética pode ser determinada experimentalmente pela equação (5):

$$v_{ep} = l/t_m - l/t_{mn} \quad (5)$$

a mobilidade eletroforética pode ser determinada com base na combinação das equações (1), (5), sabendo-se que $E = V/L$ onde L é o comprimento total do capilar e V é a tensão aplicada:

$$\mu_{ep} = v_{ep}/E \quad (6)$$

$$\mu_{ep} = v_{ep} L/V \quad (7)$$

$$\mu_{ep} = (l/t_m - l/t_{mn}) (L/V) \quad (8)$$

1.4.5.2. CONCEITO DE MOBILIDADE EFETIVA

Para descrever a migração de espécies parcialmente dissociadas, que estão presentes no equilíbrio ácido-base gerado, é usado o termo mobilidade efetiva. A mobilidade efetiva (μ_{ef}) pode ser calculada pela definição clássica de Tiselius [41]:

$$(\mu_{ef})_i = \sum (\mu_j \alpha_j) \quad (9)$$

onde α_j é a fração molar e μ_j a mobilidade iônica de cada espécie individual j .

A fração molar depende da magnitude das constantes de dissociação do soluto e do pH do meio e, para sistemas monopróticos, é definida como:

$$\alpha_j = K_a / (K_a + [H^+]) \quad (10)$$

onde K_a é a constante de dissociação

Desta forma, a equação (10) sugere a dependência entre a mobilidade efetiva e o pH do meio. As curvas de mobilidade efetiva *versus* pH são excelentes indicadores da condição de pH mais propício para a separação ocorrer.

1.4.5.3. FLUXO ELETROOSMÓTICO

Os capilares de sílica fundida utilizados em CE são os responsáveis pela existência do fluxo eletroosmótico (EOF). Os grupos silanol na superfície interna do capilar, tem caráter ácido e, em contato com o meio aquoso (pH acima de 2), alguns desses grupos são dissociados, e com a dissociação, a superfície do capilar se torna negativamente carregada. Quando o eletrólito é introduzido no capilar, os íons, do eletrólito, carregados positivamente são atraídos pela superfície do capilar, formando uma camada fixa de cátions. Como estes cátions não neutralizam todas as cargas negativas, uma segunda camada de cátions é formada (camada difusa). Sob a ação de um campo elétrico, parte dos cátions da camada difusa são atraídos em direção ao eletrodo de carga oposta. Durante a migração, os íons transportam moléculas de água, induzindo um fluxo de solução como um todo, este fenômeno é conhecido como fluxo eletroosmótico. A distância na qual uma fração da camada difusa consegue escapar às forças de atração coulômbica da superfície é caracterizada como o plano de cisalhamento. O potencial desenvolvido no plano de cisalhamento é conhecido como potencial zeta [39].

No fluxo eletroosmótico, ou fluxo eletroosmótico normal, a solução se movimenta em direção ao cátodo, o que favorece a análise de cátions, pois cátions e fluxo migram na mesma direção. No caso da velocidade eletroosmótica ser de grande magnitude, ela pode ser responsável pela condução de solutos, sem distinção de carga, em direção ao detector. Assim, a análise simultânea de amostras contendo cátions, ânions e compostos neutros é possível, embora não haja discriminação temporal entre diferentes solutos neutros [38] Figura 7.

Figura 7. A. Representação da separação de solutos por eletroforese capilar em solução livre. A composição vetorial das velocidades eletrosmótica (V_{osm}) e eletroforética (V_{ef}) resulta na velocidade aparente (V_i) de migração do soluto.

1.4.5.4. FLUXO ELETROSMÓTICO INVERTIDO

A análise de ânions sob fluxo eletrosmótico normal, fluxo direcionado ao cátodo e polaridade positiva na extremidade do capilar onde é feita a injeção da amostra, somente é possível no caso de ânions lentos, cuja mobilidade é menor que a mobilidade eletrosmótica. Se os ânions são rápidos ou moderadamente lentos, eles deixam a coluna assim que o campo elétrico é estabelecido e nunca atingem o detector, cuja a posição é fixa em um ponto no final da coluna. A inversão da polaridade torna viável a análise de ânions rápidos, no entanto, como estes migram no contra fluxo, o tempo de análise pode ser consideravelmente longo. A situação ideal para a análise de ânions rápidos ou moderadamente lentos é a inversão do fluxo e da polaridade da fonte de tensão.

O fluxo pode ser invertido, adicionando-se um sal quaternário de amônio ao eletrólito de corrida. Como mostra a Figura 8, a adsorção de tensoativos catiônicos, seguida pela interação por dispersão entre as caudas, permite o estabelecimento de semicelas na superfície, onde as cabeças positivas do

tensoativo estão voltadas para a solução. Desta forma, uma dupla camada elétrica constituída de ânions é então organizada na interface superfície-solução. Sob a ação de um campo elétrico, uma parte dos ânions presentes na camada difusa sofre migração em direção ao eletrodo de carga oposta. Esta migração é estendida a outras camadas da solução, e a solução migra como um todo na direção do ânodo, este processo é conhecido como fluxo eletroosmótico invertido [42].

Figura 8. Representação do interior do capilar de sílica fundida mostrando a inversão do fluxo eletroosmótico pela adição da amina quaternária. v'_{osm} (velocidade eletroosmótica) e v_{ef} (velocidade eletroforética).

1.4.6. CROMATOGRAFIA ELETROKINÉTICA MICELAR

1.4.6.1. INTRODUÇÃO

Enquanto os solutos iônicos podem ser separados simplesmente com base em suas diferentes mobilidades eletroforéticas, os solutos neutros somente podem ser separados por partição entre duas fases. Dentre os métodos de separação que vêm sendo desenvolvidos para misturas contendo solutos neutros, a cromatografia eletrocinética micelar (*micellar electrokinetic chromatography*, MEKC) [44] é o modo que cada vez mais recebe a atenção dos pesquisadores.

Em 1984, S.Terabe e colaboradores [45] introduziram uma versão modificada da eletroforese capilar, a cromatografia eletrocinética micelar (MEKC). Nesta nova versão, agentes tensoativos iônicos, em condições apropriadas à formação de micelas, são adicionados ao eletrólito de corrida, proporcionando desta forma um sistema cromatográfico de duas fases. O eletrólito representa uma fase, a qual é transportada eletroosmoticamente sob a ação do campo elétrico, enquanto que as micelas representam a fase pseudo-estacionária, a qual é transportada por uma combinação de eletroforese e eletroosmose (Figura 9). A partição diferenciada de solutos neutros entre as duas fases é responsável pela seletividade da separação [43]. Visando o aumento de seletividade das separações foram desenvolvidos métodos adicionando ciclodextrinas ao meio micelar. Este método foi denominado de cromatografia eletrocinética micelar com ciclodextrinas (MEKC-CD). Sendo neutras, as ciclodextrinas migram com a velocidade eletroosmótica. A partição diferenciada de solutos entre a micela e a cavidade da ciclodextrina produz a seletividade extra requerida [43]. Recentemente, o uso de ciclodextrinas derivatizadas com grupos funcionais iônicos tem possibilitado a separação de compostos neutros em meio não-micelar [46].

Figura 9. Representação esquemática da migração de solutos neutros por MEKC em fase micelar aniônica (A) e na presença de uma fase auxiliar (B). Detalhe mostrando monômeros e micelas de SDS, ciclodextrinas e a interação de diversos solutos neutros com ambas as fases. Um soluto não retido pela micela migra com a velocidade do fluxo eletrosmótico (v_{osm}). A velocidade eletroforética da micelar é ($v_{e,M}$) enquanto que sua velocidade aparente final é v_M .

1.4.6.2. PRINCÍPIO DA SEPARAÇÃO

Quando os analitos neutros são introduzidos dentro da solução micelar, uma fração é incorporada dentro da micela e migra com a velocidade da micela. A fração restante do analito permanece livre em solução e migra com a velocidade do fluxo eletrosmótico. A velocidade de migração do analito é dependente do coeficiente de distribuição entre a fase micelar e a fase aquosa.

O analito deve migrar com uma velocidade entre a velocidade eletroosmótica e a velocidade da micela [47] (Figura 10).

Figura 10. Intervalo característico de eluição em cromatografia eletrocínica micelar.

1.4.6.3. EQUAÇÕES FUNDAMENTAIS

Em MEKC o fator de retenção de um soluto (quantidade de soluto presente na fase estacionária em relação à presente na fase móvel) k , pode ser expresso como [47]:

$$k = (t_r - t_0) / [t_0(1 - t_r/t_m)] \quad (11)$$

onde t_r é o tempo de retenção do soluto, t_0 é tempo de migração de um soluto não retido e t_m é tempo de migração da micela. O cálculo do fator de retenção de um determinado soluto depende do conhecimento de t_0 e t_m . A avaliação de t_0 envolve a determinação do tempo de migração de um soluto neutro, não retido pela micela: metanol, acetona ou formamida são, em geral, selecionados para esta finalidade. Já para a medida de t_m , se faz necessário determinar o tempo de migração de um soluto permanentemente retido no interior da micela: Sudan III, um corante insolúvel em água, tem sido bastante utilizado como soluto de prova [43].

A equação descrita para determinar a resolução (R_s) em MEKC mostra que nesta técnica, R_s é governado pela eficiência (N), seletividade (α) e o fator de retenção (k) [43].

$$R_s = [N^{1/2}/4] [\alpha - 1/\alpha] [k_2'/1 + k_2'] [1 - (t_0/t_{mc}) / 1 + (t_0/t_{mc})k_1'] \quad (12)$$

1.4.6.4. MODIFICADORES EM MEKC

A MEKC é usualmente feita com um eletrólito de corrida que contém somente um tampão e um detergente. Outras substâncias podem ser adicionadas ao eletrólito de corrida com o objetivo de alterar a seletividade do meio. Cinco classes de aditivos são utilizadas em MEKC (47). A Tabela 2 apresenta os principais aditivos com suas respectivas aplicações:

Tabela 2. Aditivos comumente empregados em MEKC

ADITIVO	FUNÇÃO /EFEITO
Ciclodextrinas	Complexante auxiliar, pode ser usado para a solubilização de soluto nas micelas
Par iônico	Pode afetar a carga das micelas ou dos solutos e muda a solubilidade do soluto nas micelas
Solventes orgânicos	Ajuste de coeficiente de partição do soluto. Alteração da seletividade
Uréia	Aumenta a solubilidade de compostos hidrofóbicos em água
Sais de metais	Aumenta a seletividade

1.4.7. ESTRATÉGIAS PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO EM ELETROFORESE CAPILAR

1.4.7.1. ASPECTOS GERAIS

O uso dos capilares de sílica trouxe grandes vantagens para a eletroforese capilar. A principal delas é que trouxe a técnica de eletroforese para uma dimensão analítica quantitativa e não somente preparativa e/ou qualitativa como quando feita em gel ou em outros meios tradicionais. Os capilares permitem a dissipação efetiva do calor podendo ser usadas altas tensões, gerando campos elétricos elevados mas com corrente baixa; proporciona grande resolução, alta eficiência, tempos de análise curtos e várias outras vantagens; porém seu uso também é responsável pela maior limitação da técnica: a baixa sensibilidade de concentração característica da detecção por absorvância na região do UV-Vis [48].

Várias estratégias têm sido descritas para melhorar a sensibilidade em eletroforese capilar [49-51]. Algumas delas envolvem a concentração da amostra *on-column* durante ou após a injeção na coluna [52]. Estas estratégias são denominadas *stacking* e são baseadas nas diferenças de campo elétrico entre a zona da amostra e o tampão de corrida.

1.4.7.2. ESTRATÉGIAS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO UTILIZADAS, NESTE TRABALHO, EM FSCE

1.4.7.2.1. STACKING MEDIADO POR FORÇA IÔNICA

O *stacking* é obtido quando se dilui a amostra em um solvente com condutividade elétrica menor que a do tampão de corrida. Após a aplicação da tensão, um campo elétrico elevado é desenvolvido na zona da amostra, causando uma migração rápida dos íons. Quando estes alcançam a fronteira entre a zona da amostra (alto campo elétrico local) e a zona do tampão (baixo campo elétrico local), estes são desacelerados, causando uma contração da zona da amostra. Este efeito é contínuo até que todos os íons presentes na região da amostra sejam concentrados em uma banda fina. Após a pré-concentração, os íons são separados segundo os princípios convencionais da eletroforese capilar [43] (Figura 11). Normalmente o *stacking* é obtido quando se prepara a amostra em um tampão que seja 10 vezes menos concentrado que o tampão de corrida ou adicionando solvente orgânico na amostra [38].

Figura 11. Esquema representativo do *stacking* por força iônica.

1.4.7.2.2. STACKING EM CAMPO AMPLIFICADO

A pré-concentração em campo amplificado é similar ao *stacking* mediado por força iônica. Neste caso, uma pequena banda de água é inserida no capilar por pressão antes da injeção da amostra. A amostra pode ser injetada por injeção hidrodinâmica ou eletrocinética. A injeção de uma pequena banda de água garante um elevado campo elétrico local no ponto de injeção. Quando a tensão é aplicada, os íons migram e são acelerados na região da banda de água. Quando estes íons ultrapassam a fronteira entre a zona de água e o tampão de corrida, eles encontram um campo elétrico menor e são desacelerados concentrando-se em uma banda fina na fronteira entre estas duas regiões (Figura 12).

Figura 12. Esquema representativo do *stacking* em campo amplificado

1.4.7.2.3. STACKING DE GRANDE VOLUME DE AMOSTRA UTILIZANDO UM INVERSOR DE FLUXO

Todos os tipos de ânions (lentos ou rápidos) migram em direção ao detector (terminal anódico) quando uma tensão negativa é aplicada e se o fluxo eletroosmótico está suprimido ou revertido. Este comportamento pode ser obtido quando um modificador de fluxo está presente no eletrólito de corrida (seção 1.4.5.4), supõe-se uma adsorção reversível. Estas condições podem levar a um efeito de *stacking* de um grande volume de ânions em matriz de baixa condutividade. O esquema de *stacking* em grande volume é apresentado na Figura 13. Um grande volume de amostra (*plug* da amostra) de baixa condutividade é injetada no capilar, previamente condicionado com o eletrólito contendo o inversor de fluxo. Quando a tensão negativa é aplicada, o modificador de fluxo adsorvido na parede do capilar em contato com a região da amostra dissolve rapidamente, restaurando a carga negativa para a superfície do capilar e conseqüentemente gerando um fluxo eletroosmótico local em direção ao polo negativo. O *plug* da amostra é eletroosmoticamente empurrado para fora enquanto as espécies negativas migram rapidamente em direção a fronteira entre a zona da amostra e o eletrólito de corrida. Como o *plug* da amostra é empurrado para fora, o modificador de fluxo contido no

eletrólito de corrida progressivamente reveste a parede do capilar novamente, reduzindo e finalmente invertendo o fluxo eletroosmótico. Inicia-se a separação das espécies que sofreram o *stacking* sem a necessidade de inverter a polaridade [53].

Figura 13. Esquema representativo do *stacking* de grande volume de amostra usando um inversor de fluxo. A. condicionamento do capilar com eletrólito contendo um inversor de fluxo, B. injeção do *plug* da amostra; B.geração do fluxo local; C. tensão aplicada, D.processo de *stacking*; E.inversão do fluxo e separação dos compostos.

1.4.7.2.4. CONCENTRADORES

Guzman *et al* [54] desenvolveram uma estratégia muito interessante para pré-concentrar amostras em CE empacotando um pequeno pedaço do capilar com materiais como sílica, polímeros, biopolímeros e anticorpos que adsorvem o analito desejado antes da separação, permitindo injetar grandes volumes de amostra e aumentar a sensibilidade da técnica em até 5000 vezes (Figura 14).

Figura 14. Capilar de sílica fundida empacotada com octadecilsilica (C_{18}).

Depois que o capilar é condicionado apropriadamente, um grande volume de amostra (cujo o tempo de injeção pode variar de 20 segundos a 10 minutos) é injetado pelo modo eletrocínético. A amostra fica retida no material empacotado, enquanto a solução restante gradualmente preenche o capilar. Se o material do pré-concentrador for escolhido adequadamente, o analito de interesse permanece retido no material empacotado e não é removido pelo eletrólito de corrida. A amostra é eluída do pré-concentrador usando um pequeno volume de uma solução aquosa de acetonitrila. Quando a tensão é aplicada os analitos são separados normalmente [43].

Concentradores preenchidos com C_{18} ou material similar foram comercializados pela Millipore em 1993 e seu uso foi citado por Swartz [55], atualmente os concentradores não se encontram mais disponíveis comercialmente e a maioria dos autores confeccionam seus próprios concentradores.

1.4.7.3. ESTRÁTEGIAS DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO UTILIZADAS, NESTE TRABALHO, EM MEKC

1.4.7.3.1. STACKING MEDIADO POR ADIÇÃO DE SAL

Análogo ao *stacking* mediado por força iônica para solutos iônicos, o método de *stacking* em MEKC, proposto por Landers [56], também envolve manipulação da força iônica para *stacking* das micelas e não do soluto neutro diretamente. Tendo em vista que as moléculas neutras não possuem mobilidade eletroforética, o método proposto utiliza a baixa força iônica do eletrólito de corrida contendo micelas, para promover o *stacking*. O *stacking*

das micelas é induzido por um simples aumento da condutividade da amostra, obtido através da adição de uma quantidade apropriada de sal.

1.4.7.3.1.1. MECANISMO PROPOSTO [56]

Quando a tensão é aplicada em uma amostra que possui uma condutividade maior do que o eletrólito de corrida, ocorre o desenvolvimento de um baixo campo elétrico na zona da amostra e um alto campo elétrico na zona do eletrólito. Assim as micelas negativas que migram eletroforéticamente para o polo positivo da fonte, são desaceleradas na fronteira entre a amostra e o eletrólito, promovendo um *stacking* das micelas nesta interface (Figura 15). A medida que as micelas penetram na zona da amostra, estas capturam os analitos neutros. O fluxo eletroosmótico é responsável pelo transporte das bandas pré-concentradas ao detector.

Figura 15. Esquema representativo do *stacking* mediado por adição de sal. A: amostra com condutividade maior do que o eletrólito; B: aplicação da tensão ; C: processo de *stacking* das micelas e D: separação das bandas pré-concentradas.

1.4.7.3.2. STACKING DE GRANDE VOLUME DE AMOSTRA

A velocidade de fluxo eletroosmótico dominante na solução tampão e a força de arraste das micelas em MEKC promovem uma excelente oportunidade para o *stacking* de solutos neutros [58]. O princípio do *stacking* baseia-se na injeção de um *plug* da amostra (hidrodinamicamente) de baixa concentração micelar. Sob alta tensão, um alto campo elétrico é estabelecido através do *plug* da amostra. O *stacking* ocorre quando as moléculas neutras, que estão incorporadas dentro das micelas carregadas negativamente, migram rapidamente em direção ao eletrodo de carga positiva. Sua velocidade de migração diminui quando as moléculas encontram a região de baixo campo elétrico onde elas são desaceleradas ocorrendo o *stacking*. Desde que o fluxo eletroosmótico seja maior do que a migração eletroforética das micelas, a zona que sofreu o *stacking* migra em direção ao eletrodo de carga negativa [58]. A Figura 16 representa o mecanismo proposto para o *stacking*.

Figura 16. Esquema representativo do *stacking* de grande volume de amostra. A: amostra preparada em baixa concentração micelar; B: aplicação da tensão; C: processo de *stacking* das micelas e D: separação das bandas pré-concentradas.

1.4.7.3.3. *SWEETING*

O *sweeping* introduzido por Terabe [57] é a captura e acumulação das moléculas do analito por uma fase pseudo-estacionária, que penetra na zona da amostra durante a aplicação da tensão. O método proposto se baseia na injeção de um grande volume da amostra, onde a amostra e o eletrólito de corrida devem possuir a mesma condutividade, sendo que a amostra não deve conter micelas.

1.4.7.3.3.1. Mecanismo proposto na ausência de fluxo

O uso de um eletrólito de corrida com pH muito baixo promove a eliminação do fluxo eletroosmótico. Com a aplicação da tensão negativa, na extremidade do capilar onde a injeção da amostra é praticada, as micelas aniônicas, que migram em direção ao eletrodo de carga oposta, entram na zona da amostra arrastando os analitos neutros e concentrando-os em uma banda fina (Figura 17). A separação das zonas é baseada nos princípios da MEKC [43].

Figura 17. Esquema representativo do *sweeping* na ausência de fluxo eletroosmótico. A: injeção de grande volume de amostra; B: aplicação da tensão; C: início do *sweeping*; D: separação das bandas.

1.4.7.3.3.2. Mecanismo proposto na presença de fluxo

O mecanismo proposto para o *sweeping* [59] está representado pela Figura 18. Um grande volume de amostra, preparado em uma matriz com mesma condutividade que o eletrólito de corrida mas isenta de micelas, é injetado no capilar. Com a aplicação da tensão positiva, no ponto de injeção, as micelas negativas contidas no eletrólito de corrida migram em direção ao eletrodo de carga oposta fazendo uma varredura do analito de forma que as moléculas neutras presentes na região da amostra sejam concentradas em uma banda fina. A separação das zonas é baseada nos princípios da MECC [43]

Figura 18. Esquema representativo do *sweeping* na presença de fluxo eletroosmótico. A: injeção de grande volume de amostra; B: aplicação da tensão; C: início do *sweeping*; D: separação das bandas.

1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Raven, P.H.; Berg, L.R.; Johnson, G.G.; *Environment*, Saunders College Publishing, Orlando, Florida, 2nd, **1995**, 423.
2. [http:// horizontegeografioc.zip.net](http://horizontegeografioc.zip.net)
3. Branco, S.M.; Murgel, R.; *Poluição do ar*, Ed. Moderna, **1995**, 71.
4. Ribeiro, H.; Assunção, J.V.; *A Historical View of the Air Pollution in São Paulo- Metropolitan Region Brazil*. Seventh International Conference on Urban Transport and the Environment for the 21st Century, May **2001**, Greece.
5. Indoor Air Quality Epidemic – [http:// www.indoorpurifiers.com](http://www.indoorpurifiers.com)
6. Graedel, T.E.; *Atmospheric Chemical Compounds: Sources, Occurrence and Biossay*, Ed. Academic Press, Orlando, **1986**, 295.
7. Grosjean, D.; Formaldehyde and Other Carbonyl in Los Angeles Ambient Air. *Environ. Sci. Technol.*, **1982**, 16, 254.
8. Tanner, R.L.; Miguel, A.H.; De Andrade, J.B.; Atmospheric Chemistry of Aldehydes – Enhanced Peroxyacetyl Nitrate Formation from Ethanol – Fuel Vehicular Emissions, *Environ. Sci. Technol.*, **1988**, 22, 1026.
9. Brickus, L.S.R.; Carodos, J.N.; Neto, F.R.D.; Distributions of Indoor and Outdoor Air Pollutants in Rio de Janeiro, Brazil: Implications to Indoor Air Quality in Bayside Offices, *Environ. Sci. Technol.*, **1988**, 32, 3485.
10. Baugh, J.; Ray, W.; Black, F.; Motor-Vehicle Emissions Under Reduced Ambient-Temperature Operating-Conditions, *Atmos. Environ.*, **1987**, 21, 2077.
11. Carlier, P.; Hannachi, H.; Mouvier, G.; The Chemistry of Carbonyl Compounds in the Atmosphere – A Review, *Atmos. Environ.*, **1986**, 20, 2099.
12. Betterton, E.A.; In Gaseous Pollutants, Characterization and Cycling, John Wiley & Sons Inc., New York, 1992, 335.
13. Finlayson-Pitts, B.J.; Pitts, Jr.; *Atmospheric Chemistry: Fundamentals and Experimental Techniques*; John Wiley & Sons, New York, 1986.
14. Grosjean, D.; Time-Averaged Measurements of Peroxyacetyl Nitrate, *Environ. Sci. Technol.*, **1991**, 25, 710.
15. Lloyd, C.A.; Atkinson, R.; Lurmann, F.W.; Modeling Potential Ozone Impacts from Natural Hydrocarbons.1. Development and Testing of a Chemical Mechanism for the Nox-Air Photooxidations of Isoprene and Alpha-Pinene under Ambient Conditions, *Atmos. Environ.*, **1983**, 17, 1931.

16. Shepson, P.B.; Shepson, D.; Hastle R.; Atmospheric Concentration and Temporal Variations of C1-C3 Carbonyl Compounds at 2 Rural Sites in Central Ontario, *Atmos. Environ.*, **1991**, 25, 2001.
17. Zhang, J.; He, Q.; Iloy, P.J.; Characteristics of Aldehydes Concentrations, Sources and Exposures for Indoor and Outdoor Residential Microenvironments, *Environ. Sci. Technol.*, **1994**, 28, 146
18. Kelly, T.J.; Smith, D.L.; Stola, J.; Emission Rates of Formaldehyde from Materials and Consumer Products Found in California Homes, *Environ. Sci. Technol.*, **1999**, 33, 81
19. Wescheler C.J.; Hodgson, A.T.; Wooley, J.D.; Indoor Chemistry Ozone, Volatile Organic Compounds, and Carpets, *Environ. Sci. Technol.*, **1992**, 26, 2371.
20. Pierson, W.R.; On Vehicle VOC and Nox Emissions from the Standpoint of the Tropospheric Ozone Problem, *Israel J.Chem.*, **1994**, 34, 335.
21. Committee on Aldehydes, National Research Council "Formaldehyde and Other Aldehydes", National Academy Press, Washington, 1981.
22. Merck Index, 12th, Merck & CO, Inc, Whitehouse Station, New York, 1996.
23. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4nd, John Wiley & Sons, 1960.
24. Diccionario de Química y de Productos Químicos, Hawley G.G.; Ediciones Omega S.A. , Plató, Barcelona, 1993.
25. <http://www.chemicaland21.com>
26. MSDS- Material Safety Data Sheet, <http://www.itbaker.com>
27. Acrolein-Hazard Summary. <http://www.epa.gov>
28. CCOHS- Your Environmental Health & Safety Partner. <http://www.Ccohs.ca>.
29. Hileman, B.; Formaldehyde Assessing the Risk, *Environ. Sci. Technol.*, **1984**, 18, A216.
30. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poison, 5th, McGraw-Hill Companies, Inc., 1996, 877.
31. Goode, J.W.; In Advances in Chemistry Serie 210 Formaldehyde – Analytical Chemistry and Toxicology, American Chemical Society, Washington, D.C.; 1985, 217.

32. Oser, B.L.; In *Advances in Chemistry serie 210 Formaldehyde – Analytical Chemistry and Toxicology*, American Chemical Society, Washington, D.C.; 1985, XI-XIV.
33. Baird, N.C.; *Introducing Atmospheric Reactions - A Systematic - Approach for Students*, *J.Chem.Educ.*, **1995**, 72, 153.
34. Vairavamurthy, A.; Roberts, J.M.; Newman, L.; *Methods for Determination of Low Molecular Weight Carbonyl Compounds in the Atmosphere: A Review*, *Atmos. Environ.*; **1992**, 26A, 1965.
35. Cardoso, A.A.; Pereira, E.A.; *Importância e Determinação de Traços de Formaldeído no Ar- Uma Revisão*, *Anais Assoc. Bras. Quim.*, **1999**, 48, 63.
36. Bier, M.; *Electrophoresis – Theory, Methods and Application*, Academic Press Inc.; New York, 1959.
37. Jones, W.R.; Jandik, P.; *Controlled Changes of Selectivity in the Separation of Ions By Capillary Electrophoresis*, *J. Chromatogr.*, **1991**, 546, 445.
38. Baker, D.R.; *Capillary Electrophoresis*, John Wiley & Sons, Inc.; New York, 1995.
39. Tavares, M.F.M.; *Eletroforese Capilar: Conceitos Básicos*, *Quim. Nova*, **1996**, 19, 173.
40. Weinberger, R.; *Practical Capillary Electrophoresis*, Academic Press Inc.; New York, 1993.
41. Colombara, R.; Tavares, M.F.; Massaro, S.; Rubin, J.C.; *Method Development Strategy for the Analysis of Anionic*, *J. Cap .Elec.*, **1996**, 3, 147.
42. Tavares, M.F.; Colombara, R.; Massaro, S.; *Modified Electroosmotic Flow By Cationic Surfactant Additives in Capillary Electrophoresis: An Evaluation of Electrolyte Systems for Anion Analysis*, *J. Chromatogr.A*, **1997**, 772, 171.
43. Tavares, M.F.M.; *Mecanismos de Separação em Eletroforese Capilar*. *Quim. Nova*, **1997**, 20, 1.
44. Vindegovel, J.; Sandra, P.; *Introduction to Micellar Electrokinetic Chromatography*; Huthin Verlag GMBH, Herdelbert, 1992.
45. Terabe, S.; Otsuka, K.; Ichikawa, K.; Tsuchiya, A.; Ando, T.; *Electrokinetic Separations with Micellar Solutions and Open – Tubular Capillaries*, *Anal. Chem.*; **1984**, 56, 111.
46. Lelievre, F.; Gareil, P.; Jardy, A.; *Selectivity in Capillary Electrophoresis: Application to Chiral Separations with Cyclodextrins*, *Anal. Chem.*; **1997**, 69, 385.

47. Terabe, S.; *Micellar Electrokinetic Chromatography*, Palmar Analytical Services, Redwood, CA, Beckman, 1995.
48. Ewing, G.W.; *Analytical Instrumentation Handbook*, Marcel Dekker Inc., New York, 2nd, 1997.
49. Albin, M.; Grossman, P.D.; Moring, S.E.; Sensitivity Enhancement for Capillary Electrophoresis, *Anal. Chem.*; **1993**, 65, A 489.
50. Guzman, N.A.; *Capillary Electrophoresis Technology*, Chromatographic Science Series, Dekker, New York, 1993.
51. Guzman, N.A.; Naylor, S.; Tomlinson, A.J.; Enhancement of Concentration Limits of Detection in CE and GEMS: A Review of on – Line Sample Extraction, Clean up, Analyte Preconcentration, and Microreactor Technology, *J. Capillary Electrop.*, **1995**, 2, 247.
52. Chien, R.L.; Burgi, D.S.; On Column Sample Concentration Using Field Amplification in CZE, *Anal. Chem.*; **1992**, 64, A 489.
53. Albert, M.; Debusschere, L.; Demesmay, C.; Large Volume Stacking for Quantitative Analysis of Anions in Capillary Electrophoresis II – Large – Volume Stacking Without Polarity Switching, *J. Chromatogr.A*; **1997**, 757, 291.
54. Guzman, N.A.; Park, S.S.; Schaufelberger, D.; New Approaches in Clinical Chemistry: On line Analyte Concentration and Microreaction Capillary Electrophoresis for the Determination of Drugs, Metabolic Intermediates, and Biopolymers in Biological Fluids, *J. Chromatogr. B.*; **1997**, 697, 37
55. Swartz, M.E.; Merion, M.; On Line Sample Preconcentration on a Packed Inlet Capillary for Improving the Sensitivity of Capillary Electrophoretic Analysis of Pharmaceuticals, *J. Chromatogr.*; **1993**, 632, 209.
56. Landers, J.P.; Munro, N.J.; Palmer, J.; A Universal Concept for Stacking Neutral Analytes in Micellar Electrokinetic Chromatography, *Anal. Chem.*; **1999**, 71, 1679.
57. Terabe, S.; Quirino, J.P.; Exceeding 5000 – Fold Concentration of Dilute Analytes in Micellar Electrokinetic Chromatography, *Science*, **1998**, 282, 465.
58. Zaiyou, Z.; Sam, P.; Sirimanne, S.R.; Field Amplified Sample Stacking in Micellar Electrokinetic Chromatography for On-Column Sample Concentration of Neutral Molecules, *J. Chromatogr.*, **1994**, 673, 125.
59. Terabe, S.; Quirino, J. P.; Sweeping of Analyte Zones in Electrokinetic Chromatography, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 1638.

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver metodologias alternativas utilizando a técnica de eletroforese capilar em solução livre e cromatografia eletrocinética micelar, com agentes derivatizantes, para a separação, identificação e quantificação de aldeídos de baixa massa molar em amostras ambientais.

CAPÍTULO 3

**Bissulfito de sódio como agente derivatizante em
FSCE**

3. ASPECTOS GERAIS

A análise de aldeídos alifáticos por eletroforese capilar apresenta dois desafios: os aldeídos são compostos que não apresentam carga e não possuem absorbância na região do U.V. (acima de 210 nm). Para superar estas dificuldades de análise foram utilizados dois artifícios: a derivatização e a detecção indireta. A derivatização refere-se, em cromatografia, à transformação de um composto químico em outro com o intuito de obter-se um novo composto com características mais convenientes para as etapas de separação ou determinação. O novo composto formado geralmente apresenta uma ou mais das seguintes vantagens em relação ao composto de partida: mais fácil de ser extraído; medida com maior sensibilidade ou exatidão; ou mais facilmente separado de interferentes [1].

Um exemplo clássico de derivatização sugerido para os aldeídos é sua reação com bissulfito de sódio para formar um aduto carregado negativamente (Figura 19). Como os adutos formados não apresentarem absorbância na região do U.V., exceto aqueles formados a partir de aldeídos aromáticos, as análises podem ser feitas utilizando o método da detecção indireta, que consiste em usar um cromóforo como eletrólito de corrida [2].

Figura 19. Reação de derivatização de aldeídos com bissulfito.

3.1. PARTE EXPERIMENTAL

3.1.1. Instrumentação

Os experimentos iniciais foram desenvolvidos no equipamento multi-usuário Perkin Elmer, mas devido a uma falha no sistema de injeção, o funcionamento do equipamento ficou prejudicado, sendo complementemente desativado e os experimentos passaram a ser desenvolvido no equipamento da HP.

Os experimentos, inicialmente, foram realizados no equipamento modelo 270- HT da Applied Biosystems da Perkin Elmer, equipado com detector UV-Vis, que opera na faixa de 190-700 nm, controlador de temperatura, e com programa de aquisição e tratamento de dados (Turbochrom software). Os capilares de sílica fundida utilizados foram da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 μm d. i. e 72 cm de comprimento total (50 cm até detector). A janela de detecção de aproximadamente 0,2 cm foi aberta pela remoção do revestimento de poliimida do capilar por aquecimento. As amostras foram injetadas pelo método hidrodinâmico com pressão de 5 "Hg (169 mBar) x 1.5 s e detectados indiretamente em 254 nm.

A segunda parte dos experimentos foi feita utilizando um equipamento modelo HP 3D CE da Agilent, equipado com um detector diode-array, que opera na faixa de 190-600 nm, controlador de temperatura e com programa de aquisição e tratamento de dados. Os capilares de sílica fundida utilizados são da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 μm d. i. e 58 cm de comprimento total (50 cm até detector). A janela de detecção de aproximadamente 0,2 cm foi aberta pela remoção do revestimento de poliimida do capilar por aquecimento. As amostras foram injetadas pelo modo hidrodinâmico com pressão de 50 mBar x 6 s e detectados indiretamente em 254 nm.

3.1.2. Reagentes e soluções.

Todas os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. Formaldeído, acetaldeído, benzaldeído e brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), foram obtidas da Aldrich/Sigma (St. Louis, MO, U.S.A). O ácido 3,5-dinitrobenzóico foi obtido da Merck (Darmstadt, Germany). Propionaldeído, acroleína e acetona foram obtidas da Riedel Haën (Seelze, Germany).

As soluções estoque dos aldeídos (1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram preparadas pela dissolução de uma determinada quantidade do padrão em água deionizada (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, U.S.A.). As soluções estoques do aduto aldeído-bissulfito foram preparadas pela adição de 1,0 mL da solução estoque de aldeído a 2,0 mL da solução de bissulfito de sódio (10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) diluindo para 100 mL com água deionizada.

Soluções estoque do eletrólito ácido 3,5-dinitrobenzóico (cromóforo) foi preparada na concentração de 50 mmol L^{-1} . Os ajustes necessários de pH foram feitos com adição de soluções diluídas de hidróxido de sódio e ácido clorídrico.

A solução aquosa estoque do tensoativo catiônico CTAB, responsável pela inversão do fluxo (seção 1.4.5.4), foi preparada em concentração equivalente a 10 vezes a sua concentração micelar crítica (CMC), ou seja, $9,2 \text{ mmol L}^{-1}$. As soluções de trabalho contendo concentrações apropriadas de tensoativo e eletrólito foram preparadas diariamente.

O condicionamento do capilar foi feito através da passagem de solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 5 minutos, seguida de água deionizada durante 5 minutos e solução de eletrólito (40 minutos), no início de cada dia ou quando foi efetuada mudança de condição de análise.

3.1.3. Coleta da amostra

Foram coletados três tipos de amostras: condensado proveniente do escapamento de um determinado veículo, vapores proveniente do escapamento de um determinado veículo e o ar *indoor* do laboratório.

Para a coleta dos condensados dos gases de exaustão, feita no laboratório da GM em São José dos Campos, foi definido como veículo a ser utilizado em todas as coletas o CORSA, ano modelo 2000 motor 1,0 L, 8 válvulas, a gasolina. Foram utilizados 2 tipos de sistemas para a coleta. No primeiro sistema o condensado foi coletado em uma proveta graduada de 2000 mL, com boca esmerilhada, inserida em um balde de 10 L contendo uma solução de NaCl a 10%, sendo que este conjunto foi mantido em um congelador a $-40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 16 horas. O balde contendo a solução congelada foi posicionado abaixo do tubo de saída dos gases e condensados (Figura 20).

O segundo sistema de coleta consistiu de um condensador tipo Graham. Este condensador foi construído em parede dupla, com uma circulação de água na espiral interna, com temperatura controlada ($14 \text{ }^{\circ}\text{C}$), conforme mostra a Figura 21.

Figura 20. Sistema 1 de coleta para condensados provenientes do escapamento de um veículo.

Figura 21. Sistema 2 de coleta para condensados provenientes do escapamento de um veículo.

Os vapores foram amostrados diretamente do escapamento de um veículo (Santana, 89, álcool) utilizando uma bomba de vácuo operando com uma vazão de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ (Figura 22). Os aldeídos foram coletados através de um tubo de teflon conectado ao escapamento do automóvel, e a dois *impingers* (arranjados em série) contendo $10,0 \text{ mL}$ de bissulfito de sódio ($210 \mu\text{g mL}^{-1}$) em cada *impinger*. Os *impingers* foram mantidos em banho de gelo durante o período de amostragem. Após 15 minutos de amostragem, a solução absorvente contida em cada *impinger* foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e o volume foi completado com uma solução de bissulfito de sódio ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$). As amostras foram estocadas na geladeira até a análise.

Figura 22. Sistema de coleta para emissão veicular. B: bomba de vácuo; V: válvula de agulha; FS: frasco de segurança; MF: medidor de fluxo.

Para a amostragem do ar interno do laboratório, foi montado um sistema constituído basicamente de uma bomba de vácuo, frasco de segurança, medidor de volume e dois *impingers*, em série, contendo 10 mL de uma solução de bissulfito de sódio ($210 \mu\text{g mL}^{-1}$), como mostra a Figura 23.

Figura 23. Sistema de coleta para ar *indoor*. A: suporte; B: *impingers* em série contendo a solução absorvente; C: frasco de segurança; D: medido de volume e E: bomba de vácuo.

3.2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.2.1. Testes preliminares com aduto formado.

Para os testes iniciais utilizou-se padrões de formaldeído ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$), acroleína ($17 \mu\text{g mL}^{-1}$) e benzaldeído ($31 \mu\text{g mL}^{-1}$) preparados a partir da solução estoque. Optou-se por trabalhar com elevadas concentrações visando somente avaliar o comportamento eletroforético da solução. Procedeu-se uma seqüência de experimentos que envolveram a derivatização dos aldeídos com bissulfito de sódio ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) e injeção dos adutos formados. O eletrólito

utilizado foi uma mistura de CTAB ($0,2 \text{ mmol L}^{-1}$) e ácido 3,5 dinitrobenzóico ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$), pH 3.

No eletroferograma da mistura padrão foi identificado apenas o pico referente ao formaldeído e ao excesso de reagente (bissulfito), como mostra a Figura 24.

Figura 24. Eletroferograma de soluções padrões de formaldeído ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$), acroleína ($17 \mu\text{g mL}^{-1}$) e benzaldeído ($31 \mu\text{g mL}^{-1}$) derivatizados com bissulfito de sódio. A. água; B. solução de bissulfito de sódio; C. formaldeído-bissulfito; D. acroleína-bissulfito e E. benzaldeído-bissulfito. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm total (50 cm até o detector). Eletrólito: $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de CTAB, pH 3,0; 5 "Hg (169 mBar) x 1 s ; -10 kV ; detecção indireta em 254 nm . R. reagente; 1. formaldeído e # não identificado.

3.2.2. Estudo de otimização das condições analíticas e instrumentais

Com o objetivo de otimizar o método proposto, os primeiros parâmetros avaliados foram a concentração do eletrólito de corrida e o pH. Alguns autores [3] têm demonstrado que a formação e estabilidade do aduto formaldeído-bissulfito (ácido hidroximetanosulfônico) tem uma relação direta com o valor de pH do meio. Com base em resultados da literatura [3,4] o pH do eletrólito de corrida foi mantido em 4,3. Foi utilizado como eletrólito de corrida uma mistura de 10 mmol L^{-1} de ácido 3,5 dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ CTAB.

A Figura 25 apresenta os resultados obtidos para este experimento. O aumento da concentração do eletrólito de corrida, possivelmente associada ao ajuste do pH, foi efetivo na separação dos 3 adutos contidos na mistura padrão.

Figura 25. Efeito da concentração e pH do eletrólito no sistema aldeído-bissulfito. Formaldeído ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$), acroleína ($17 \mu\text{g mL}^{-1}$) e benzaldeído ($31 \mu\text{g mL}^{-1}$) derivatizados com bissulfito de sódio ($210 \mu\text{g mL}^{-1}$). A. formaldeído-bissulfito; B. acroleína-bissulfito e C. benzaldeído-bissulfito. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm total (50 cm até o detector). Eletrólito utilizado: $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de CTAB, pH 4,3; 5 "Hg (169 mBar) x 1 s ; -10 kV ; detecção indireta em 254 nm ; polaridade do detector invertida (picos positivos). R. reagente; 1. formaldeído; 4,4a. acroleína, 5. benzaldeído e # pico de sistema.

Foi avaliado o comportamento do sistema de separação quando outros aldeídos foram incorporados na mistura padrão. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 26.

Figura 26. Eletroferograma de uma mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acroleína e benzaldeído) derivatizados com bissulfito de sódio ($210 \mu\text{g mL}^{-1}$). Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm total (50 cm até o detector). Eletrólito: $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de CTAB, pH 4,3; 5 "Hg (169 mBar) x 1 s ; -10 kV ; detecção indireta em 254 nm ; polaridade do detector invertida (picos positivos). R. reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído; 4 e 4a. acroleína, 5. benzaldeído, # pico de sistema e * não identificado.

A próxima etapa consistiu em avaliar, mais detalhadamente, o efeito do pH no perfil de separação, magnitude do sinal analítico e no tempo de formação dos adutos. Para este estudo foi utilizada uma mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído, o pH do eletrólito de corrida variou de 3,5 a 6,0. Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 27.

Figura 27. Efeito do pH na separação dos adutos aldeído-bissulfito. Mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acroleína e benzaldeído) derivatizados com bissulfito de sódio ($210 \mu\text{g mL}^{-1}$). Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m d.i.} \times 72 \text{ cm}$ total (50 cm até o detector). Eletrólito: $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de CTAB; A. pH 3,5; B. pH 4,0; C. pH 4,6; D. pH 5,0; E. pH 5,6 e F. pH 6,0; 5 "Hg (169 mBar) x 2 s; -15 kV; detecção indireta em 254 nm; polaridade do detector invertida (picos positivos). R. reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído; 4 e 4a. acroleína, 5. benzaldeído, #. pico de sistema e * não identificado.

O aduto formaldeído-bissulfito foi o único composto que não sofreu variação significativa do sinal analítico em função do pH. Os melhores resultados para acetaldeído, propionaldeído e acroleína foram obtidos quando o valor de pH variou entre 4,0 e 4,6. O aduto benzaldeído-bissulfito foi o composto mais afetado pelo valor de pH. O comportamento observado mostrou-se de acordo com alguns relatos da literatura [5]. A velocidade de dissociação do aduto aumenta rapidamente quando a concentração do íon hidrogênio decresce de 10^{-2} para 10^{-7} mol L⁻¹. Avaliando-se o comportamento do sistema em função do pH, selecionou-se o valor de pH 4,0 para os próximos experimentos.

Outro parâmetro avaliado foi a possível interferência de alguns ânions no sistema aldeído-bissulfito. Para este estudo foram preparados diferentes padrões: mistura padrão de 10 µg mL⁻¹ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acroleína e benzaldeído) derivatizados com bissulfito de sódio (210 µg mL⁻¹); 10 µg mL⁻¹ de cada sal derivado dos ácidos carboxílicos (formiato, acetato e propionato) derivatizados com bissulfito de sódio (210 µg mL⁻¹), 10 µg mL⁻¹ de uma solução de sulfato de sódio e 10 µg mL⁻¹ de uma solução de piruvato de sódio. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 28.

Figura 28. Eletroferograma dos possíveis interferentes no sistema aldeído-bissulfito. Capilar de sílica fundida de 75 μm d.i. x 72 cm total (50 cm até o detector). A. mistura de aldeídos; B. mistura sais derivados de ácidos carboxílicos (formiato, acetato e propionato); C. sulfato e D. piruvato. Eletrólito: 10,0 mmol L⁻¹ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 4,0; 5 "Hg (169 mBar) x 2 s; -15 kV; detecção indireta em 254 nm; polaridade do detector invertida (picos positivos). R. reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído; 4 e 4a. acroleína, 5. benzaldeído. 6. sulfato, 7. piruvato e # pico de sistema.

Como mostra a Figura 28 nenhum dos ânions investigados apresentou interferência no sistema proposto. O pico inicialmente denominado como pico de sistema na mistura padrão tratava-se do pico de sistema sobreposto pelo pico do sulfato, proveniente da oxidação do bissulfito de sódio. O alargamento da banda é devido a análise ter sido feita em um eletrólito inadequado para esta espécie.

Ainda visando otimizar o método proposto, foram avaliados os modos de injeção hidrodinâmico e eletrocinético, tempo de injeção e o sistema de pré-concentração conhecido como *stacking* em campo amplificado.

Com relação ao modo de injeção, não foram observadas variações significativas entre o modo de injeção hidrodinâmico e eletrocinético quando o tempo de injeção da amostra foi de 6 segundos. Para tempos de injeção inferiores a 6 segundos o modo hidrodinâmico apresentou melhores resultados com relação ao sinal analítico.

Umas das formas mais simples para melhorar a sensibilidade do sistema é aumentar o tempo de injeção da amostra. Porém, um dos inconvenientes gerados pelo aumento do volume de injeção é a perda substancial da resolução devido ao alargamento dos picos. A compressão da zona de injeção, *stacking*, é uma boa alternativa para resolver a perda de resolução. Para avaliar o efeito do *stacking* em campo amplificado, uma mistura contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de formaldeído e propionaldeído, derivatizados com bissulfito de sódio, foi utilizada. Foi avaliado o efeito do *stacking* utilizando diferentes tempos de injeção de água. Os resultados estão apresentados na Figura 29.

Figura 29. *Stacking* em campo amplificado no sistema aldeído-bissulfito. Mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de formaldeído e propionaldeído, derivatizados com bissulfito de sódio. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm total (50 cm até o detector). Eletrólito utilizado: $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de CTAB, pH 4,0; A: sem injeção da banda de água ($-15 \text{ kV} \times 5 \text{ s}$); B: 1 s de injeção, por pressão, de água; C: 2 s de injeção, por pressão, de água e D: 3 s de injeção, por pressão, de água; método detecção indireta em 254 nm; polaridade do detector invertida (picos positivos). R. reagente; 1.formaldeído e 2.propionaldeído.

A Figura 29 mostra que a injeção de uma pequena banda de água, utilizando diferentes tempos, antes da eletroinjeção da amostra, não proporcionou um aumento dos picos. A literatura sugere [6] que após a injeção

da banda de água, a amostra contendo íons negativos seja injetada usando polaridade negativa. Após a injeção a polaridade é revertida para positiva e a separação segue normalmente. Como no nosso caso tanto o fluxo como a polaridade estavam invertidos a separação foi feita com tensão negativa. Com base no modelo proposto para o *stacking* (seção 1.4.7.2.2), teoricamente não haveria motivos para que a pré-concentração não ocorresse. Com a tensão negativa no polo de injeção, os ânions migram em direção ao eletrodo de carga oposta passando pela região da banda de água, onde são acelerados. Quando estes íons alcançam a zona do eletrólito são desacelerados (baixo campo) e o fenômeno de *stacking*, teoricamente ocorreria. Como não há relatos na literatura que pudessem justificar o comportamento observado, sugere-se que as condições de análise utilizadas (fluxo invertido com detecção indireta) seja o fator limitante do sistema de *stacking* proposto.

3.2.3. Desempenho do método proposto

A repetibilidade do tempo de migração, área e altura do pico foram determinadas quanto ao coeficiente de variação (CV), para cinco consecutivas injeções das soluções padrões dos adutos aldeídos – bissulfito sob condições otimizadas: capilar de 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector), injeção de 50 mBar x 6 s, tensão de -15 kV; eletrólito composto de 10 mmol L⁻¹ de ácido 3,5 dinitrobenzóico e 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 4,0.

As Tabelas 3 e 4 apresentam alguns parâmetros avaliados para o método proposto, bem como uma estimativa do limite de detecção e quantificação de cada aldeído. Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura [7,8]

A variação dos tempos de migração foi inferior a 0,5 % e as medidas de altura dos picos apresentaram melhores resultados do que as áreas, portanto a curva de calibração foi baseada na altura dos picos.

Tabela 3. Coeficientes de variação dos tempos de migração, áreas e alturas dos picos de cada aduto aldeído-bissulfito.

Aduto aldeído-bissulfito	C.V. do tempo de migração (%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	0,16	0,27	0,09
Acetaldeído	0,20	0,95	0,23
Propionaldeído	0,27	0,42	0,25
Acroleína	0,23	4,68	1,87
	0,16	1,07	0,27
Benzaldeído	0,18	5,81	6,61

C.V. Coeficiente de variação (n = 5)

Tabela 4. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação, limite de detecção e quantificação para o sistema aldeído-bissulfito.

Aldeído-bissulfito	Equação da curva de calibração	Coeficiente de correlação	Limite de detecção ^{##} (ng mL ⁻¹)	Limite de quantificação ^{##} (ng mL ⁻¹)
Formaldeído ^a	Y= 4,77X + 446,5	0,9886	3,4	11,3
Acetaldeído ^b	Y= 4,44X – 936,4	0,9996	9,9	33,3
Propionaldeído ^b	Y= 3,40X – 628,4	0,9977	27,2	90,6
Acroleína ^b	Y= 2,90X – 557,4	0,9955	36,9	123,0
Benzaldeído	ND			

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura

ND não detectado nas faixas de concentrações avaliadas.

^a concentração do aduto na faixa de 50 – 100 ng mL⁻¹

^b concentração do aduto na faixa de 300 – 900 ng mL⁻¹

^{##} limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre

3.2.4. Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado a três tipos diferentes de amostras: emissão veicular, condensado proveniente do escapamento de veículos e ar do laboratório. As coletas foram feitas como descrito na seção 3.1.3.

A Figura 30 apresenta o eletroferograma da amostra coletada em bissulfito de sódio proveniente do escapamento de um carro movido a álcool. Esta análise mostrou a presença de acetaldeído e formaldeído com concentrações aproximadas de $3,1 \pm 0,1$ ppmv e $0,41 \pm 0,01$ ppmv, respectivamente.

Figura 30. Eletroferograma da amostra proveniente da emissão veicular. Amostra coletada do escapamento de um veículo movido a álcool. A: mistura padrão e B: amostra. Capilar de sílica fundida de 75 μm d.i. x 58 cm total (50 cm até o detector). Eletrólito: 10,0 mmol L⁻¹ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 4,0; 5 "Hg (169 mBar) x 1,5 s; -15 kV; método detecção indireta em 254 nm; polaridade do detector invertida (picos positivos). R: reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído; 4. acroleína; e # não identificado.

A Figura 31 apresenta os resultados obtidos para a amostra de condensado proveniente do escapamento de um veículo. Como mencionado na seção 3.1.3. toda a parte de desenvolvimento dos coletores e coleta da amostra foi realizada no laboratório da GM, sendo apenas realizado por nós a análise das amostras. Foi possível observar a presença de formaldeído e em menor quantidade acetaldeído nas amostras investigadas.

Figura 31. Eletroferograma da amostra de condensado coletada do escapamento de um veículo movido a gasolina. A. mistura padrão e B amostra. Capilar de sílica fundida de 75 μm d.i. x 58 cm total (50 cm até o detector). Eletrólito: 10,0 mmol L⁻¹ de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 4,0; 50 mBar x 6 s; -15 kV; método detecção indireta em 254 nm; polaridade do detector invertida (picos positivos). R. reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído; 4. acroleína e # não identificado.

A Tabela 5 apresenta os valores encontrados para formaldeído e acetaldeído em 5 amostras de condensados analisadas.

Tabela 5. Resultados das análises das concentrações de aldeídos dos condensados coletados de diversos veículos “zero quilômetro”.

amostra	formaldeído ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	acetaldeído ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	5,2 $\pm$ 0,2	0,68 $\pm$ 0,01
2	4,2 $\pm$ 0,1	0,72 $\pm$ 0,02
3	5,0 $\pm$ 0,1	0,69 $\pm$ 0,01
4	12,2 $\pm$ 0,5	0,95 $\pm$ 0,03
5	13,2 $\pm$ 0,4	0,82 $\pm$ 0,02

Os valores encontrados podem estar sub-estimados em razão do pH da amostra. Mesmo com a adição do derivatizante o valor do pH manteve-se

acima de 6, um valor inadequado para a formação dos adutos aldeído-bissulfito.

A próxima etapa foi aplicar o método desenvolvido a amostras de ar *indoor*. Foram testados diferentes tempos de amostragem, com o objetivo de otimizar a etapa de coleta. Para os testes iniciais a solução absorvente era constituída de bissulfito de sódio $210 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o tempo de amostragem foi de 20 min, 40 min e 60 min. Para os tempos de amostragem avaliados não foi observada a formação dos adutos, um indicativo que o tempo de amostragem não estava sendo suficiente para coletar aldeídos em quantidades mínimas para apresentar sinal analítico.

A maior implicação no aumento do tempo de amostragem estava relacionada com a instabilidade do reagente na presença de oxigênio [3]. Alguns autores [9] têm relatado que é possível diminuir a oxidação do reagente utilizando como solução absorvente 1% de bissulfito em banho de gelo. Uma outra alternativa seria o uso de um estabilizante como álcool isopropílico ou etilenoglicol [3]. Como no presente caso o uso de 1% de bissulfito produziria um pico do reagente que iria sobrepor os outros picos, dificultando desta forma a análise, optou-se em preparar o bissulfito em 1 % de álcool isopropílico.

A coleta foi feita utilizando como solução absorvente uma mistura de bissulfito $210 \mu\text{g mL}^{-1}$ contendo 1 % de álcool isopropílico. O volume de ar amostrado foi de 76 litros (tempo de amostragem de 100 min). A Figura 32 apresenta os resultados obtidos.

Figura 32. Eletroferograma da amostra do ar do laboratório coletada em mistura de bissulfito $210 \mu\text{g mL}^{-1}$ contendo 1 % de álcool isopropílico. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm de comprimento total; 50 mBar x 6 s; -15 kV; eletrólito: 10 mmol L^{-1} de ácido 3,5-dinitrobenzóico contendo $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ CTAB pH= 4,2; detecção indireta em 254 nm (sinal do detector invertido); A: mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído em bissulfito/álcool isopropílico. B: amostra de ar *indoor* (volume da ar amostrado 76 litros). R. reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído e 4. acroleína, # não identificado e ** não confirmado.

O uso do álcool isopropílico como estabilizante pode viabilizar a coleta de uma quantidade maior de ar sem que ocorra uma oxidação significativa do reagente. Foi possível identificar a presença de dois picos referente ao formaldeído e acetaldeído com concentrações de $6,1 \pm 0,3$ ppbv e $2,8 \pm 0,2$ ppbv, respectivamente.

Em princípio, a infiltração de ar *outdoor* dentro de lugares fechados (casas, escritórios, etc) poderia resultar na presença de alguns contaminantes no ar *indoor*. Na prática, entretanto, os constituintes traços do ar *indoor* são quase todos produzidos por um grande número de pequenas fontes [10]. As concentrações de aldeídos deve ser resultado de complexos processos químicos e físicos o qual determina geração, acumulação e remoção dos aldeídos em ambientes *indoor*. Um determinado aldeído presente no ar *indoor*

pode ter sua própria fonte, entretanto ele pode dividir fontes comuns com outros aldeídos.

A emissão direta dentro de ambientes *indoor* poderia ser a fonte dominante para determinadas espécies de aldeídos. Formaldeído é um famoso exemplo deste fato: é bem conhecido que emissões diretas de materiais de construção (produtos de madeira e compensados) e móveis podem gerar uma quantidade significativa de formaldeído *indoor*. Outras fontes incluem: material de limpeza, adesivos, resinas, etc. Outro exemplo é o acetaldeído. Desde que o acetaldeído é um produto do metabolismo humano e está presente no ar expirado (humano), as concentrações encontradas em ambientes *indoor* podem ser uma contribuição direta de humanos [10]. Outra explicação para a presença destes compostos no ambiente *indoor* seria a formação química via reação ozônio/orgânicos voláteis [10].

3.3. CONCLUSÕES

O ajuste do pH mostrou-se fundamental para a formação dos adutos aldeídos-bissulfito.

Formiato, acetato, propionato, piruvato e sulfato, ânions freqüentemente encontrados em amostras provenientes da emissão veicular, não apresentaram interferência no sistema proposto. O pico inicialmente denominado apenas como pico de sistema, tratava-se do pico de sistema sobreposto pelo pico do sulfato, proveniente da oxidação do agente derivatizante. Acetona reage com bissulfito de sódio para formar um aduto com o mesmo tempo de migração do que o aduto propionaldeído-bissulfito.

A técnica de pré-concentração (*stacking* em campo amplificado) investigada não apresentou resultados satisfatórios. Este comportamento pode estar associado principalmente as condições de análise: fluxo invertido e detecção indireta.

As melhores condições analíticas e instrumentais na otimização dos adutos, no equipamento da Perkin Elmer, foram: capilar de 72 cm de comprimento total (50 cm até o detector), injeção de 5 μ Hg (169 mBar) x 1,5 s; tensão de -15 kV; eletrólito composto de 10 mmol L⁻¹ de ácido 3,5-dinitrobenzóico e 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 4,0, enquanto que para o equipamento da HP as melhores condições foram capilar de 58 cm de

comprimento total (50 cm até o detector), injeção de 50 mBar x 6 s, tensão de -15 kV; eletrólito composto de 10 mmol L⁻¹ de ácido 3,5-dinitrobenzóico e 0,2 mmol L⁻¹ de CTAB, pH 4,0.

A amostragem de aldeídos no ar requer longos tempos de coleta e uso de uma solução absorvente contendo um estabilizante para minimizar a oxidação do reagente.

O método proposto mostrou-se viável para a análise de aldeídos em gases provenientes do escapamento de veículos e para as análises de ar *indoor*. Com relação ao condensado, coletado do escapamento de um veículo, o método para ser usado precisa de um controle do pH, evitando soluções básicas que inviabilizam a formação quantitativa do aduto.

3.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lanças, F. M.; *Cromatografia em Fase Gasosa*, São Carlos: Acta, 1993, 185.
2. Pereira, E. A.; Cardoso, A. A.; Tavares, M. F. M.; Alternative Methodologies for the Determination of Aldehydes by Capillary Electrophoresis, *J. AOAC Intern.*, **1999**, 82, 1562.
3. Lindgren, M.; Cedergren, A.; Lindberg, J.; Conditions for Sulfite Stabilization and Determination by Íon Chromatography, *Anal. Chim. Acta*, **1982**, 141, 279.
4. Oliveira, A.; De Andrade, J. B.; Determinação Simultânea de Formaldeído, Acetaldeído e os Respectivos Ácidos Hidroxialquilsulfônicos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), *Química Nova*, **1994**, 17, 13.
5. Stewart, T. D.; Donnally, L. H.; The Aldehyde Bissulfite Compounds. I. The Rate of Dissociation of Benzaldehyde Sodium Bissulfite as Measured by first Order Reaction with Iodine., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1932**, 54, 2333.
6. Weinberger, R.; *Practical Capillary Electrophoresis*, Academic Press, INC.; San Diego, USA, 1993, 217.
7. Miller, J.C.; Miller, J.N.; *Statistics for Analytical Chemistry*, 3rd Edition, Ellis Harwood Limited, New York, 1993, 115-117
8. Swartz, M.E.; Validação de Métodos Cromatográficos, *Pharmaceutical technology*, **1998**, 2 (3), 13-21.
9. Wilson, K.W.; Fixation of Atmospheric Carbonyl Compounds by Sodium Bissulfite, *Anal. Chem.*, **1958**, 30, 1127-1129.
10. Zhang, J.; He, Q.; Li, P.J.; Characteristics of Aldehydes: Concentrations, Sources, and Exposures for Indoor and Outdoor Residential Microenvironments, *Environ. Sci. Technol.*, **1994**, 28, 146-152.

CAPÍTULO 4

**Dansilhidrazina como agente derivatizante em
FSCE**

4. ASPECTOS GERAIS

Os aldeídos reagem com dansilhidrazina (DNSH) para formar as dansilhidrazonas que apresentam máximo de absorção em 218 nm (Figura 33).

Figura 33. Reação de derivatização de DNSH com compostos carbonílicos.

Os DNSH-derivatizados formam moléculas carregadas positivamente ou negativamente de acordo com o valor de pH [1]. A carga negativa é formada para valores de pH em torno de 6. O valor de pH pode ser variado de acordo com o eletrólito de corrida utilizado.

4.1. PARTE EXPERIMENTAL

4.1.1. Instrumentação

Os experimentos foram realizados no equipamento P/ACE System 5510 – Beckman Incorporation, Fullerton, CA, equipado com detector UV com filtros, com controlador de temperatura (líquido refrigerante), e com programa de aquisição e tratamento de dados. O detector LIF operando em 325 nm (excitação) e 520 nm (emissão). O detector UV operando com filtro em 214 nm. Os capilares de sílica fundida utilizados são da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 μ m d. i. e comprimento total 58 cm (50 cm até o detector) .

4.1.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. formaldeído, acetaldeído e brometo de tetradeciltrimetilamônio (TTAB), foram obtidos da Aldrich/Sigma (St. Louis, MO, U.S.A). Propionaldeído, acroleína, acetona e dansilhidrazina (DNSH) foram obtidos da Riedel Haën (Seelze, Germany).

As soluções estoque dos aldeídos ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram preparadas pela dissolução de uma determinada quantidade do padrão em água deionizada (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, U.S.A.).

A solução aquosa do tensoativo catiônico, brometo de tetradeciltrimetilamônio (TTAB) foi preparada na concentração de $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$. As soluções de trabalho contendo concentrações apropriadas de tensoativo e eletrólito foram preparadas diariamente.

A derivatização foi feita utilizando $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acroleína e acetona) em DNSH $345 \mu\text{g mL}^{-1}$ (que foi preparada em um solvente orgânico apropriado). Estas soluções permaneceram em repouso por 24 horas para serem posteriormente analisadas.

Acetonitrila e metanol foram purificados através da destilação com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFH) em meio ácido. O solvente foi recolhido em um balão quando a temperatura de destilação encontrava-se em torno de 80°C para acetonitrila e 64°C para metanol.

As colunas de octadecilsílica (obtido da Waters Sep-Pak C₁₈) utilizadas para estudo de amostragem foram condicionadas lavando o cartucho com 10 mL de acetonitrila, seguidos de 10 mL de água e 5 mL de acetonitrila, respectivamente.

A solução tampão de fosfato foi preparada pela mistura de quantidades equimolares de dihidrogenofosfato de sódio diidratado e monoidrogenofosfato de sódio diidratado.

A solução tampão de tetraborato de sódio foi preparada pela dissolução do sal em um determinado volume de água. Para a mistura tetraborato/fosfato o pH foi ajustado para 7,1 com ácido sulfúrico (1 mol L^{-1}).

O condicionamento do capilar foi feito através da passagem, pelo capilar, de solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 5 minutos, seguida de água deionizada durante 5 minutos e solução de eletrólito (40 minutos), no início de cada dia ou quando foi efetuada mudança de condição de análise.

4.1.3. Coleta da amostra

Para a amostragem do ar interno do laboratório foi montado um sistema constituído basicamente de uma bomba de vácuo, frasco de segurança, medidor de volume e cartuchos de C_{18} , conectados em série, impregnado com DNSH, como mostra a Figura 34.

Figura 34. Sistema de coleta para amostras de ar. B: cartuchos de C_{18} em série; C: frasco de segurança; D: medidor de volume; E: bomba de vácuo.

Os aldeídos foram amostrados utilizando uma bomba de vácuo operando com uma vazão de $0,7$ a 1 L min^{-1} . A amostra de ar foi coletada com DNSH impregnada em cartucho Sep-Pak C_{18} . Antes da impregnação com a solução de DNSH, o cartucho (previamente condicionado como mostra na seção 4.1.2) foi lavado com 20 mL de metanol (purificado). Cerca de 20 mL da solução absorvente de DNSH $345 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ contendo $100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido tricloroacético, contida em um frasco de vidro, foi aspirada para dentro do cartucho (Figura 35). O cartucho foi estocado em um frasco de vidro com tampa de polietileno. A solução de DNSH foi preparada dissolvendo $3,6 \text{ mg}$ do reagente em 10 mL de metanol purificado.

Após o término da amostragem, os cartuchos foram extraídos com $2,0 \text{ mL}$ metanol/água (95:5 v/v). Para as análises de ar *outdoor* os cartuchos

foram extraídos com 2,0 mL de metanol, este volume foi evaporado (50 °C a pressão reduzida) e o resíduo dissolvido em 200 μ L de uma mistura de metanol/água (95:5 v/v) para posteriormente serem analisados.

Figura 35. Sistema utilizado para impregnação dos cartuchos com DNSH. 1. Cartucho impregnado com DNSH usado como *Trap*; 2. Solução de DNSH; 3. cartucho pré-condicionado; 4. seringa para aspiração da solução.

4.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1. Otimização das condições analíticas e instrumentais

Alguns estudos [1] têm mostrado que o melhor valor de pH para a separação dos aldeídos-DNSH ocorre em torno de 7 utilizando como eletrólito uma mistura contendo tetraborato/fosfato pH 7 (ajuste de pH com ácido sulfúrico). A maior dificuldade encontrada para a preparação deste eletrólito foi o ajuste do pH. Devido a ausência de informações na literatura que justifiquem o uso de um eletrólito contendo tetraborato pH 7 ao invés de um eletrólito simplesmente constituído de fosfato, foram realizados alguns experimentos para avaliar o comportamento do sistema em função do eletrólito utilizado.

Para este experimento foi preparada uma mistura padrão contendo 5 μ g mL⁻¹ de cada aldeído derivatizado com DNSH em meio de acetonitrila. O comportamento do sistema foi avaliado em relação a dois sistemas de eletrólito: 10 mmol L⁻¹ de tetraborato contendo 5 mmol L⁻¹ de fosfato pH 7,1 e 20 mmol L⁻¹ de fosfato pH 7,02. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 36.

Figura 36. Efeito da composição do eletrólito no sistema aldeído-DNSH. DNSH foi preparado em acetonitrila. A: eletrólito: 10 mmol L⁻¹ borato/5 mmol L⁻¹ fosfato pH=7,1 (ajustado com ácido sulfúrico) B: eletrólito: 20 mmolL⁻¹ fosfato pH=7,02. Mistura padrão contendo 5 µg mL⁻¹ de cada aldeído derivatizado. Capilar de sílica fundida de 75 µm d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector); 0,5 psi (34 mBar) x 2 s; 20 kV; . 214 nm. 1.formaldeído, 2 e 2a.acetaldeído, 3 e 3a. propionaldeído, 4 e 4a acroleína, R. reagente e #. não identificado.

Foi possível observar, com base nos resultados obtidos, que a mistura tetraborato/fosfato apresentou melhores resultados em relação ao sinal analítico, eficiência e tempo de análise. O comportamento observado justifica perfeitamente o uso desta mistura como eletrólito. Como o tetraborato não possui capacidade tamponante em pH 7, a adição do fosfato torna-se necessária.

Outro fato observado foi a ausência do pico referente a acetona-DNSH. Este comportamento pode estar relacionado com o fato da reação de condensação dos compostos carbonílicos com hidrazinas serem usualmente catalisadas em meio ácido [2]. Na ausência de um catalisador ácido, a reatividade das cetonas com DNSH é baixa. As condições usadas neste

trabalho (meio não acidificado com tempo de reação de 24 horas) pode ter sido responsável pela derivatização completa somente dos aldeídos. A opção de trabalhar em meio não acidificado está relacionada com a degradação do reagente e produtos. A reação pode ser efetuada em meio aquoso e ácido desde que as quantidades de ácido e água obedeçam um bom compromisso entre o efeito de aceleração da reação e degradação do reagente e produtos [3]. Todos aos aldeídos, com exceção do formaldeído, produzem 2 isômeros geométricos [2], o qual foram separados por CE.

A escolha do solvente orgânico utilizado para a reação de derivatização tem um efeito importante na determinação da quantidade mínima que pode ser derivatizada com DNSH [4]. Os solventes testados foram metanol e acetonitrila. Cada solvente foi usado individualmente no processo de derivatização para determinar qual deles apresentaria melhores resultados.

Para este experimento foi utilizado uma mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com DNSH em meio de acetonitrila e metanol. Neste experimento também foram avaliados os dois sistemas de eletrólito: 10 mmol L^{-1} de tetraborato contendo 5 mmol L^{-1} de fosfato pH 7,1 e 20 mmol L^{-1} de fosfato pH 7,02. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 37 e 38.

Figura 37. Efeito do solvente orgânico no sistema aldeído-DNSH. Meio reacional: metanol. Mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada derivatizado. A. eletrólito: mistura contendo 5 mmol L^{-1} fosfato/ 10 mmol L^{-1} tetraborato ($\text{pH} = 7,1$ ajustado com ácido sulfúrico) e B. 20 mmol L^{-1} de fosfato $\text{pH} 7,02$. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector); $0,5 \text{ psi}$ (34 mBar) x 2 s ; 20 kV ; 214 nm . A escala foi ampliada no eixo do tempo para melhor visualização da separação (não foi observada a presença de picos antes de 3 minutos). 1. formaldeído, 2 e 2a. acetaldeído, 3 e 3a. propionaldeído, 4 e 4a acroleína, 5. acetona, R. reagente e #. não identificado.

Figura 38. Efeito do solvente orgânico no sistema aldeído-DNSH. Meio reacional: acetonitrila. Mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada derivatizado. A. eletrólito: mistura contendo 5 mmol L^{-1} fosfato/ 10 mmol L^{-1} tetraborato ($\text{pH} = 7,1$ ajustado com ácido sulfúrico) e B. 20 mmol L^{-1} de fosfato $\text{pH} 7,02$. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector); $0,5 \text{ psi}$ (34 mBar) x 2 s ; 20 kV ; 214 nm . A escala foi ampliada no eixo do tempo para melhor visualização da separação. (não foi observada a presença de picos antes de 3 minutos). 1.formaldeído, 2 e 2a.acetaldeído, 3 e 3a. propionaldeído, 4 e 4a acroleína e R. reagente

Como mostram as Figuras 37 e 38, o sistema de separação é afetado tanto pelo solvente orgânico como pelo eletrólito de corrida. O metanol mostrou ser mais apropriado quando o eletrólito utilizado foi o fosfato, não somente devido a um maior sinal analítico, provavelmente relacionado ao melhor rendimento de reação, como também proporcionou melhor resolução entre os compostos. Adicionalmente, a derivatização feita em metanol proporcionou a formação da acetona-DNSH, sem a necessidade de acidificação do meio. Os melhores resultados da derivatização feita em acetonitrila ocorreu quando o eletrólito foi um mistura de tetraborato/fosfato.

Para selecionar as melhores condições analíticas foram consideradas a facilidade de preparo das soluções, magnitude do sinal analítico e o número de compostos separados. Com base nos itens mencionados, optou-se em trabalhar com fosfato como eletrólito e metanol como solvente para a derivatização dos aldeídos.

Outras condições como tensão, tempo de injeção e concentração do eletrólito foram otimizados. O aumento da tensão é responsável pelo aumento do fluxo eletroosmótico e consequentemente uma redução no tempo de migração dos solutos [5], mas por outro lado altos valores de tensão são responsáveis pelo aumento da corrente que por sua vez pode aumentar o calor gerado no capilar. Em baixos valores de tensão o tempo de residência do soluto na coluna aumenta, causando o alargamento das bandas. Foram avaliados 10 kV, 20 kV e 30 kV, optou-se em trabalhar com 20 kV, um valor intermediário, que proporcionou bom compromisso entre tempo de análise, resolução e valor de corrente.

Os tempos de injeção avaliados foram 1, 2, 4 e 5 segundos. Para amostras concentradas (concentração superior a $5 \mu\text{g mL}^{-1}$) o tempo de injeção foi de 2 segundos, enquanto que para amostras diluídas o tempo de injeção foi de 5 segundos.

Com relação a concentração do eletrólito fosfato, foram testados 20, 40 e 50 mmol L^{-1} . Quanto maior a concentração do eletrólito menor é o fluxo eletroosmótico e mais demorada é a análise, no entanto pode-se obter uma melhor separação dos solutos. Altas concentrações de eletrólito podem produzir um aumento na corrente, responsável pelo aumento do calor gerado no capilar. A concentração de 20 mmol L^{-1} de fosfato apresentou bons resultados tanto em relação a resolução como em relação ao tempo de análise.

Visando aumentar a sensibilidade do método, a estratégia de pré-concentração conhecida como *stacking* de grande volume de amostra utilizando um inversor de fluxo (seção 1.4.7.2.3) foi avaliada. Para este experimento utilizou-se uma mistura contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com DNSH em meio de metanol. O eletrólito de corrida consistia de uma mistura de 20 mmol L^{-1} de fosfato contendo 0,75 mmol L^{-1} de TTAB (inversor de fluxo). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 39.

Figura 39. *Stacking* com grande volume de amostra com inversor de fluxo. Mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com DNSH. A. branco, B. mistura padrão sob condições de *stacking*. Eletrólito: 20 mmol L^{-1} de fosfato contendo $0,75 \text{ mmol L}^{-1}$ de TTAB (pH 7,02). Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector); 0,5 psi (34 mBar) x 40 s; 20 kV; 214 nm.

Não foram observados, no eletroferograma da mistura padrão, picos referentes aos aldeídos-DNSH. A adição de TTAB no eletrólito de corrida produziu o alargamento dos picos e um aumento significativo no tempo de migração. Este comportamento pode estar relacionado a algum tipo de pareamento iônica entre o TTAB, carregado positivamente, e os compostos, carregados negativamente, produzindo tempo de migração maior que 30 minutos.

Não foi possível aplicar a técnica de *stacking* com grande volume de amostra uma vez que a adição de modificadores, de alguma forma, influenciou de forma negativa o sistema de separação que se encontrava otimizado.

4.2.2. Desempenho do método proposto

A repetibilidade do tempo de migração, altura e área dos picos foram determinadas quanto ao coeficiente de variação (C.V.), para cinco consecutivas injeções de uma mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído

derivatizada com DNSH em metanol sob condições otimizadas: capilar de 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector), injeção de 0,5 psi (34 mBar) x 1 s ou 5 s (dependendo da amostra), tensão de 20 kV; eletrólito composto de 20 mmol L⁻¹ de fosfato, pH 7,02.

Tabela 6. Coeficiente de variação dos tempos de migração, área e altura dos picos de cada aldeído-DNSH.

Aldeído-DNSH	C.V. do tempo de migração (%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	1,13	2,02	5,42
Acetaldeído	0,66	4,98	15
	0,76	5,69	8,81
Propionaldeído	0,52	3,45	8,81
	0,83	3,07	8,16
Acroleína	0,78	5,71	8,88
	0,78	4,78	6,69
	0,97	5,12	7,19
Acetona	0,65	3,5	6,6

C.V. Coeficiente de variação (n= 5)

O CV dos tempos de migração foi inferior a 1,2 % e as medidas da área dos picos apresentaram melhores resultados do que a altura, portanto, a curva de calibração foi baseada na área dos picos.

A Tabela 7 apresenta as curvas de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção e quantificação para o método proposto. A curva de calibração foi construída no intervalo de 100 a 1000 ng mL⁻¹.

Tabela 7. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação, limite de detecção e quantificação para o sistema aldeído-DNSH.

Aldeído-DNSH	Equação da curva de calibração [#]	Coeficiente de correlação	Limite de detecção* (ng mL ⁻¹)	Limite de quantificação* (ng mL ⁻¹)
Formaldeído	Y= 64,4X + 1925	0,9997	1,1	3,6
Acetaldeído	Y= 13,4X + 236	0,9995	7,6	25
Propionaldeído	Y= 9,98X + 98,9	0,9999	9,5	32
Acroleína	Y= 12,9X – 1,84	0,9987	9,3	31
Acetona	Y= 3,13X – 6.78	0,9997	9,5	32

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura [9,10]

[#] concentração do aduto na faixa de 100 – 1000 µg mL⁻¹

* limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre

4.2.3. Aplicação do método

A amostra proveniente do ar do laboratório foi coletada como descrito na seção 4.1.3. Como o vapor de água é um sério interferente na derivatização dos aldeídos com DNSH, a amostragem do ar foi feita utilizando cartucho de octadecilsílica C₁₈ em combinação com ácido tricloroacético, o que garantiu a redução no efeito deste interferente [6]. A Figura 40 apresenta o eletroferograma da amostra de ar.

Figura 40. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. A: mistura padrão contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$. B: amostra de ar do laboratório. Eletrólito: 20 mmol L^{-1} fosfato $\text{pH}=7,14$. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector); $0,5 \text{ psi}$ (34 mBar) x 5 s ; 20 kV ; Detecção em 214 nm . 1. formaldeído, 2 e 2a. acetaldeído, 3 e 3a. propionaldeído, 4 e 4a acroleína e R. reagente. Volume de ar amostrado 141 litros.

Este sistema mostrou a presença de formaldeído e acetaldeído com concentrações de $2,16 \pm 0,03 \text{ ppbv}$ e $0,67 \pm 0,02 \text{ ppbv}$ respectivamente. Como mencionado no capítulo 3, as concentrações de formaldeído encontradas em ambientes *indoor* frequentemente são maiores em função da emissão direta deste composto por diferentes fontes.

4.2.4. Aldeído-DNSH com detecção por fluorescência induzida por laser (LIF)

4.2.4.1. Avaliação do efeito *quenching*

A derivatização de aldeídos com reagentes fluorescentes tem sido utilizada para aumentar a sensibilidade e seletividade da detecção [7]. Por apresentar um campo de aplicação menor, pois o número de espécies fluorescentes é limitado, o método é muitas vezes altamente seletivo. Além disso, a fluorescência oferece a possibilidade de determinar certas espécies em níveis de partes por trilhão.

Os limites de detecção utilizando a fluorescência induzida por laser (LIF) são de uma a três ordens de magnitude menor do que os obtidos para a detecção UV. Entretanto, a detecção por fluorescência em CE pode eventualmente apresentar menor sensibilidade do que em UV se ocorrer o efeito *quenching*, causado pelo eletrólito. Bächmann [1] relatou em seus estudos que um *quenching* de fluorescência (redução da eficiência quântica de fluorescência sem mudanças no espectro de emissão) pode ocorrer em função do eletrólito de corrida utilizado. Segundo este estudo, onde foram avaliados borato, carbonato e fosfato, o borato foi o eletrólito que apresentou menor efeito de *quenching*.

Para investigar o efeito do *quenching*, dois sistemas de eletrólitos foram testados: uma mistura contendo tetraborato/fosfato e fosfato. Para este experimento utilizou-se uma mistura contendo $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com DNSH, em meio de metanol. Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 41.

Figura 41. Efeito do eletrólito no sinal de fluorescência do sistema aldeído-DNSH. Mistura padrão de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com DNSH, em meio de metanol. A. 20 mmol L^{-1} fosfato pH 7,02; B. 15 mmol L^{-1} tetraborato contendo 5 mmol L^{-1} fosfato pH 7,1 (pH ajustado com ácido sulfúrico). Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector); 0,5 psi (34 mBar) x 2s; 20 kV; detecção: $\lambda_{\text{exc}} = 325 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emiss}} = 520 \text{ nm}$. 1. formaldeído, 2 e 2a. acetaldeído, 3 e 3a. propionaldeído, 4 e 4a acroleína e R. reagente.

Os resultados obtidos indicaram que não ocorreram diferenças significativas na intensidade de fluorescência entre os sistemas de eletrólitos avaliados. A diferença entre os resultados obtidos e os resultados relatados na literatura pode ser devido ao solvente orgânico utilizado para a derivatização. Diferenças no rendimento da reação parecem ser mais relevantes do que a supressão de fluorescência causada pelo efeito *quenching* [8].

Outros parâmetros como a incorporação de aditivos como dodecilsulfato de sódio (SDS) ao eletrólito foi investigada. A adição de SDS ao meio pode produzir um aumento da intensidade de fluorescência [5]. Fluoróforos reagem com as micelas, através da formação do par iônico ou solubilização micelar e sua intensidade de fluorescência freqüentemente sofre um aumento na solução micelar. A adição de SDS ao eletrólito proporcionou perda da resolução e desaparecimento de alguns picos, tornando difícil a identificação dos mesmos.

Com as condições analíticas e instrumentais otimizadas, a próxima etapa foi a validação e aplicação do método otimizado (capilar de 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector), injeção de 0,5 psi (34 mBar) x 1 s ou 5 s (dependendo da amostra), tensão de 20 kV; eletrólito composto de 20 mmol L⁻¹ de fosfato, pH 7,02).

4.2.4.2. Desempenho do método proposto

Com o objetivo de avaliar a repetibilidade das análises, dois tipos de condicionamentos foram testados. O primeiro condicionamento foi feito apenas lavando a coluna entre cada corrida com eletrólito (3 min). O segundo condicionamento testado consistiu em lavar a coluna entre cada corrida com NaOH (2 min), água (1 min) e eletrólito (3 min). Os condicionamentos foram testados utilizando uma mistura padrão contendo 5 µg mL⁻¹ de cada aldeído derivatizado com DNSH. Os resultados obtidos estão listados na Tabela 8 e 9.

Tabela 8. Repetibilidade dos tempos de migração, área e altura dos picos de cada aldeído derivatizado. Condicionamento 1.

DNSH-aldeído derivatizado	C.V. do tempo de migração (%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	0,87	3,47	1,23
Acetaldeído	0,53	4,44	3,15
	0,77	5,36	3,28
Propionaldeído	0,44	5,36	3,45
	0,65	6,15	4,22
Acroleína	0,65	4,19	2,42
	0,74	2,23	2,54
	0,77	3,51	2,18
Acetona	0,19	18,4	10,8

C.V. Coeficiente de variação (n= 5)

Condicionamento do capilar entre cada corrida: eletrólito (3 min).

Tabela 9. Reprodutibilidade dos tempos de migração, área e altura dos picos de cada aldeído derivatizado. Condicionamento 2.

DNSH-aldeído derivatizado	C.V. do tempo de migração (%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	1,12	6,90	3,95
Acetaldeído	0,89	6,61	5,34
	0,78	7,65	5,38
Propionaldeído	0,70	6,99	5,68
	0,82	6,78	5,61
Acroleína	0,84	6,49	5,12
	0,90	4,21	4,59
	0,95	6,87	5,25

C.V. Coeficiente de variação (n= 5)
 Condicionamento do capilar entre cada corrida: NaOH (2 min), água (1 min) e eletrólito (3 min)

Como mostram as Tabelas 8 e 9, os menores valores do coeficiente de variação em relação a área e a altura de pico foram obtidos procedendo a lavagem do capilar apenas com eletrólito entre as corridas. Quando a lavagem do capilar é feita com hidróxido de sódio, água e eletrólito não foi possível identificar o pico da acetona (que está coeluyendo com o pico do reagente). Para a construção da curva de calibração foi utilizada a altura dos picos, a qual apresentou menor desvio em relação a área do pico.

O limite de detecção e quantificação foram calculados segundo a literatura [9,10].

Foi construída uma curva de calibração no intervalo de 40 a 100 ng mL⁻¹. A Tabela 10 apresenta as equações da curva de calibração, coeficientes de correlação e limites de detecção obtidos.

Tabela 10. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limites de detecção e quantificação. Sistema aldeído-DNSH detecção LIF.

Aldeído-DNSH	Equação da curva de calibração [#]	Coeficiente de correlação	Limite de detecção* (ng mL ⁻¹)	Limite de quantificação* (ng mL ⁻¹)
Formaldeído	Y= 0,094X – 9,57	0,9977	0,29	0,98
Acetaldeído	Y= 0,011 - 1,10	0,9975	3,2	11
Propionaldeído	Y= 0,0088X – 0,93	0,9976	5,3	18
Acroleína	Y= 0,019X – 2,27	0,9953	3,9	13
Acetona	ND			

O limite de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura.

[#] concentração do aduto na faixa de 250 – 2500 ng mL⁻¹

* limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre, calculado com a concentração do aduto na faixa de 40 – 100 ng mL⁻¹

ND não identificado no intervalo utilizado

4.2.4.3. Aplicação do método

As amostras foram coletadas no Instituto de Química, bloco 11 superior, conforme descrito na seção 4.1.3. Foram realizadas 3 amostragens nas quais foram coletadas 150 litros de ar (cada coleta). Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 42 e Tabela 11.

Figura 42. Eletroferograma da amostra de ar do bloco 11 superior. DNSH preparada em metanol. Capilar de 75 μm d.i. e 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector); 20 mmol L^{-1} fosfato, $\text{pH} = 7,02$; 0,5 psi (34 mBar) x 5 s; 20 kV; $\lambda_{\text{exc}} = 325 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emiss}} = 520 \text{ nm}$. A. mistura padrão contendo 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, B e C. amostras de ar. Volume de ar coletado: 150 litros; R.reagente; 1.formaldeído; 2,2a,2c.acroleína; 3 e 3a.acetaldeído; 4.propionaldeído;

Tabela 11. Resultado das análises de aldeídos do ar externo que foi coletado através da janela do bloco 11 superior, ao longo do dia, utilizando DNSH como agente derivatizante e detecção LIF.

Data	Horário	Composto	Concentração ppbv
06/07/01	13:00 – 15:15	formaldeído	0,96 ± 0,01
		acetaldeído	0,19 ± 0,03
	15:20 – 17:15	formaldeído	0,66 ± 0,02
		acetaldeído	0,14 ± 0,03
	17:20 – 19:15	formaldeído	0,54 ± 0,03
		acetaldeído	0,06 ± 0,06

Os resultados obtidos mostraram maior concentração de formaldeído ao invés de acetaldeído (o Brasil é o único país do mundo onde a concentração de acetaldeído é superior ao de formaldeído devido ao uso do álcool como combustível), mas este comportamento pode estar relacionado a escolha do local de amostragem (grande proximidade do laboratório). Em áreas remotas (ambientes limpos) as concentrações destes compostos variam entre 0,5–2,0 ppb. Em áreas urbanas as concentrações são mais elevadas, variando entre 4,0-50 ppb [11]. Os resultados obtidos (na faixa de 0,96 a 0,54 ppbv para formaldeído e 0,19 a 0,06 ppbv para acetaldeído) estão abaixo dos relatados pela literatura, levando em consideração o tipo de lugar amostrado, esperava-se concentrações mais elevadas. A hipótese encontrada para este comportamento pode estar relacionada a mudanças meteorológicas. As concentrações ambientais de aldeídos dependem das taxas de formação e remoção dos mesmos, que por sua vez dependem de fatores meteorológicos (vento, chuva, entre outros), intensidade de processos fotoquímicos e transporte ocasional destes poluentes. Como os dias que antecederam a amostragem foram nublados e chuvosos estes processos podem ser responsáveis pelos resultados obtidos. É de senso comum que a água da chuva limpa a atmosfera, sendo este um dos processos mais importantes de

remoção de poluentes da atmosfera (rainout) [12]. Os aldeídos têm ciclo de *smog* típico. Durante as primeiras horas da manhã, quando a atividade humana é mínima, as concentrações dos contaminantes primários como CO, NO e hidrocarbonetos aumentam lentamente, na ausência de vento. Os contaminantes secundários como ozônio, aldeídos e NO₂ permanecem em níveis negligenciáveis na ausência de reações fotoquímicas. Com o nascer do sol, o nível de NO na atmosfera decresce significativamente, um decréscimo que é acompanhado por um pico na concentração de NO₂. A concentração de hidrocarbonetos na atmosfera decresce com o aumento da luz solar, explicando desta forma o máximo da concentração de aldeídos no início da tarde. Consequentemente na ausência de luz solar, tem-se um menor número de reações fotoquímicas responsáveis pelo aumento da concentração de aldeídos na atmosfera.

4.3. CONCLUSÕES

A separação e magnitude do sinal analítico do sistema aldeído-DNSH são dependentes do tipo de solvente utilizado para a derivatização, bem como do eletrólito de corrida.

Os melhores resultados para detecção U.V. foram obtidos com eletrólito fosfato 20 mmol L⁻¹ pH 7,02, derivatização feita em metanol, 34 mBar x 2 s para amostras concentradas e 5 s para amostras diluídas, tensão de 20 kV.

A estratégia de pré-concentração avaliada não apresentou resultados satisfatórios.

Em relação a detecção por fluorescência concluiu-se que o metanol foi o melhor solvente a ser utilizado para o preparo do reagente. O uso de fosfato como eletrólito de corrida não produziu decréscimo do sinal analítico (*quenching*) quando comparado com a mistura tetraborato/fosfato. O melhor compromisso entre tempo de análise, resolução e sinal analítico foram obtidos com eletrólito fosfato 20 mmol L⁻¹. A adição de SDS ao eletrólito de corrida não proporcionou bons resultados.

Os melhores resultados, tanto para tempo de migração, área e altura do pico foram obtidos quando o capilar foi condicionado, entre as corridas, com o eletrólito por 3 minutos. O menor valor de coeficiente de variação foi obtido para a altura do picos, a qual foi utilizada para a construção da curva de

calibração. O método apresentou excelente sensibilidade para o aduto DNSH-formaldeído e boa sensibilidade para os demais adutos.

Os métodos mostraram-se apropriados para a análise de amostras de ar *indoor* e *outdoor*, este último, devido ao uso do detector LIF.

A análise das amostras de ar *outdoor* apresentou valores inferiores aos dados relatados na literatura. Este comportamento sugere que as condições meteorológicas e o local selecionado para a amostragem podem ter sido responsáveis pelos resultados obtidos.

4.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bachmann, K.; Haag, I.; Han, K.Y.; Schmitzer, R.Q.; Determination of Carbonyl Compounds in the Low ppb Range by Capillary Electrophoresis, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1993, 346, 786.
2. Smith, P.A.; Derivatives of Hydrazine and Other Hydronitrogens Having N-N Bonds, Benjamin/Cummings: Reading, MA, 1983, 18-22,118.
3. Binding, N.; Klaning, H.; Karst, V.; Pölter, W.; *et al.*, Analytical Reliability of Carbonyl Compound Determination Using 1,5 Dansylhydrazine-Derivatization, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1998, 362, 270.
4. Perez, S.A., Colón, L.A.; Determination of Carbohydres as their Dansylhydrazine Derivatives by Capillary Electrophoresis with Laser-Induced Fluorescence Detection, *Electrophoresis*, 1996, 17, 352.
5. Baker, D.; *Capillary Electrophoresis*, Wiley-Interscience, New York, N.Y. 1995, 128-129.
6. Rodler, D.R.; Nondek, L.; Birks, J.W.; Evaluation of Ozone and Water Vapor Interferences in the Derivatization of Atmospheric Aldehydes with Dansylhydrazine, *Environ.Sci.Technol.*, 1993, 27, 2814.
7. Ohweiler, O.A.; *Química Analítica Quantitativa*, 2ª edição, Porto Alegre, 1976, 748-758.
8. Pereira, E.A., Carrilho, E.; Tavares, M.F.M.; Laser-Induced Fluorescence and UV Detection of Derivatized Aldehydes in Air Samples by Capillary Electrophoresis, *J.Chromatogr. A*, submetido.
9. Miller, J.C.; Miller, J.N.; *Statistics for Analytical Chemistry*, 3rd Edition, Ellis Harwood Limited, New York, 1993, 115-117.
10. Swartz, M. E. Validação de Métodos Cromatográficos, *Pharmaceutical Technology*, 1998, 2 (3), 12.

11. Graedel, T. E.; Hawkins, D. T.; Claxton, L. D.; *Atmospheric Chemical Compounds: Sources, Occurrence and Biossay*, Academic Press, Orlando, Florida, 1986, 557.
12. Pereira, E. A.; Cardoso, A. A.; Rocha, J. C.; Gotas Suspensas: Uma Proposta para Amostragem e Análise de Gases Traços da Atmosfera, *Química Nova*, **1998**, 21, 217-219.

CAPÍTULO 5

**Ácido 4-hidrazino benzóico como agente
derivatizante em FSCE**

5. ASPECTOS GERAIS

Os aldeídos reagem com ácido 4-hidrazino benzóico (HBA) para formar suas respectivas hidrazonas (Figura 43). A presença de um grupo benzóico pode tornar possível a separação por FSCE.

Figura 43. Reação de derivatização entre compostos carbonílicos e HBA .

Como não foram encontradas muitas informações na literatura sobre o reagente em estudo e o processo de derivatização, alguns parâmetros, como solubilidade, tempo de reação, temperatura de reação, efeito da luz e concentração do reagente foram avaliados.

5.1. PARTE EXPERIMENTAL

5.1.1. Instrumentação

Os experimentos foram realizados no equipamento modelo HP 3D CE da Agilent, equipado com um detector diode-array, que opera na faixa de 190-600 nm, controlador de temperatura, e com programa de aquisição e tratamento de dados. Os capilares de sílica fundida utilizados são da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 µm d. i. e comprimento total 58 cm (50 cm até o detector) .

5.1.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. Formaldeído e acetaldeído foram obtidos da Aldrich/Sigma (St. Louis, MO, U.S.A). Propionaldeído e acroleína foram obtidos da Riedel Haën (Seelze, Germany).

Ácido 4-hidrazino benzóico (HBA) foi obtido da Fluka chemika (Switzerland).

Soluções estoque dos aldeídos ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram preparadas pela dissolução de uma determinada quantidade do padrão em água deionizada (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, U.S.A.).

A acetonitrila e metanol foram purificadas através da destilação com 2,4-dinitrofenildrazina em meio ácido. O solvente purificado foi recolhido em um balão quando a temperatura de destilação encontrava-se em torno de 80°C para acetonitrila e 64°C para metanol.

Para a derivatização com HBA foi preparada uma mistura estoque padrão ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acetona e acroleína) em HBA $123 \mu\text{g mL}^{-1}$ (preparada acetonitrila/água, vide resultados e discussão). Estas soluções permaneceram em repouso por 20 minutos para serem posteriormente analisadas.

As colunas de octadecilsílica (obtidas da Waters Sep-Pak C₁₈) utilizadas para o estudo de amostragem foram condicionadas lavando o cartucho com 10 mL de acetonitrila seguidos de 10 mL de água e 5 mL de acetonitrila.

O condicionamento do capilar foi feito através da passagem de solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 5 minutos, seguida de água deionizada durante 5 minutos e solução de eletrólito condutor (40 minutos), no início de cada dia ou quando foi efetuada mudança de condição de análise.

5.1.3. Coleta da amostra

Para a amostragem do ar interno do laboratório, foi montado um sistema constituído basicamente de uma bomba de vácuo, frasco de segurança, medidor de volume e cartuchos de C₁₈, conectados em série (Figura 44). A amostra de ar do laboratório foi coletada em cartuchos Sep-Pak C₁₈ impregnados com HBA. Antes da impregnação com a solução de HBA, o cartucho foi previamente condicionado como descrito na seção 5.1.1. A impregnação do cartucho foi feita com cerca de 25 mL da solução absorvente de HBA ($242 \mu\text{g mL}^{-1}$) preparada em acetonitrila purificada. Após a coleta da amostra, o cartucho foi extraído com 2,0 mL de uma mistura de acetonitrila/água (1:1 v/v) para serem posteriormente analisadas.

Figura 44. Sistema de coleta para amostras de ar. B: cartuchos de C₁₈ em série; C: frasco de segurança; D: medidor de volume; E: bomba de vácuo.

5.2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.2.1. Espectro de absorção do HBA

Um dos parâmetros mais simples a ser otimizado na detecção direta é o comprimento de onda. A Figura 45 apresenta os espectros da solução de HBA e da mistura formaldeído-HBA. As concentrações utilizadas do HBA e formaldeído foram selecionadas sem um estudo prévio, utilizando um excesso do aldeído, somente com objetivo de conhecer a absorbância máxima do reagente e compostos formados.

Figura 45. Espectro de absorção. A. Espectro do HBA em água ($9 \mu\text{g mL}^{-1}$); B. Espectro da mistura formaldeído ($18 \mu\text{g mL}^{-1}$)/HBA ($9 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Deste estudo foi possível observar que ocorre um deslocamento da absorção máxima quando os espectros do reagente e da mistura foram comparados. O HBA possui uma absorção máxima em 270 nm enquanto a mistura HBA/formaldeído apresenta um máximo de absorção em 290 nm.

5.2.2. Otimização das condições analíticas e instrumentais

Com base nas condições instrumentais utilizadas para outros derivatizantes da classe das hidrazinas, a temperatura, o tempo de injeção e a tensão para as análises iniciais, foram fixados em 27°C, 12 s x 25 mBar e 25 kV, respectivamente. O tampão selecionado foi tetraborato de sódio 20 mmol L⁻¹. Inicialmente a derivatização foi feita utilizando um excesso molar de 3 vezes do reagente HBA para a mistura contendo 10 µg mL⁻¹ de cada aldeído. A Figura 46 apresenta os resultados obtidos.

Figura 46. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos derivatizados com HBA. A: solução de HBA 487 µg mL⁻¹; B: mistura padrão contendo 10 µg mL⁻¹ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acroleína e acetona). A derivatização foi feita utilizando um excesso molar de 3 vezes do reagente HBA. Capilar de 75 µm d.i. x 58 cm de comprimento total (50cm até o detector); 25 mBar x 12 s; 25 kV; eletrólito: 20 mmol L⁻¹ de tetraborato de sódio; detecção em 290 nm.

Foi possível observar, com base na Figura 46, que ocorreu a derivatização dos aldeídos com as condições analíticas selecionadas

inicialmente. Antes da identificação dos picos avaliou-se uma menor tensão (20 kV) com o objetivo de otimizar a separação. O uso de 20 kV produziu um alargamento dos picos, aumento dos tempos de migração e não proporcionou a separação dos picos coeluidos. Optou-se em utilizar 25 kV e avaliar o comportamento do sistema em função da concentração do eletrólito.

A concentração do eletrólito variou de 30 a 50 mmol L⁻¹. O aumento da concentração do eletrólito proporcionou a separação dos componentes da mistura que estavam coeluidos. Os melhores resultados foram obtidos com tetraborato de sódio 40 mmol L⁻¹. O resultado obtido está apresentado na Figura 47.

Figura 47. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos derivatizados com HBA. Concentração do eletrólito otimizada. A: solução de HBA 487 $\mu\text{g mL}^{-1}$; B: mistura padrão contendo 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído. A derivatização foi feita utilizando um excesso molar de 3 vezes do reagente HBA. Capilar de 75 μm d.i. x 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector); injeção: 25 mBar x 12 s; 25 kV; eletrólito: 40 mmol L⁻¹ de tetraborato de sódio; detecção em 290 nm. R.reagente; 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.propionaldeído; 4, 4a.acroleína e # não identificado.

Outro parâmetro avaliado foi o efeito da temperatura no processo de derivatização dos aldeídos-HBA. Geralmente as reações de derivatização que envolvem as hidrazinas são catalisadas por meio ácido. Um dos problemas observados é que a adição do ácido pode promover uma degradação do

reagente e/ou dos produtos. A alternativa encontrada para acelerar o tempo de reação é o aquecimento da mistura [1,2] (em torno de 50 °C durante 15 minutos). Foram preparadas duas misturas contendo aldeídos. Uma delas foi aquecida a 50 °C durante 15 minutos e a outra permaneceu à temperatura ambiente. O comportamento dos componentes da mistura padrão foi avaliado durante o decorrer do dia. A Figura 48 apresenta os resultados obtidos do efeito da temperatura e tempo de reação.

Figura 48. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos-HBA mostrando o efeito da temperatura no sistema de derivatização. Mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído. A derivatização foi feita utilizando um excesso molar de 3 vezes do reagente HBA. A: reação efetuada a temperatura ambiente $t_r = 15$ min, B. $t_r = 3$ h 50 min e C. $t_r = 7$ h; 15 minutos; D. reação efetuada a 50°C durante $t_r = 15$ min, E. $t_r = 3$ h 50 min e F. $t_r = 7$ h. Capilar de $75 \mu\text{m}$ d.i. e 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector); 25 mBar x 12 s; 25 kV; eletrólito: 40 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio; detecção em 290 nm . R. reagente; 1. formaldeído; 2. acetaldeído; 3. propionaldeído, 4, 4a. acroleína e # não identificado. Tr. Tempo de reação.

Observou-se deste estudo que a derivatização feita a 50°C com tempo de reação de 15 minutos proporcionou um pequeno aumento na magnitude do sinal analítico para os aldeídos em questão, mas por outro lado com o aumento

do tempo de reação foi possível observar uma maior decomposição dos produtos formados e a formação de outros produtos (aparecimentos de picos não identificados com tempo de migração superior e inferior ao tempo de migração do reagente). Os resultados são melhor visualizados na Figura 49.

Figura 49. Efeito da temperatura no sistema de derivatização HBA-aldeído. Mistura padrão de aldeídos derivatizados com HBA 3,2 mmol L⁻¹. Mistura padrão contendo 10 µg mL⁻¹ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído e acroleína). A derivatização foi feita utilizando um excesso molar de 3 vezes do reagente HBA. A: reação efetuada a temperatura ambiente; B: reação efetuada a 50 °C. ▼formaldeído; ▲ acetaldeído; ● propionaldeído; ■acroleína.

Esta decomposição pode não estar somente associada ao aquecimento mas também à exposição à luz. Não há muitas informações na literatura sobre o efeito do aquecimento e da luz sobre as hidrazonas, provavelmente porque não são claros os mecanismos que envolvem estas reações, mas é conhecido o fato de que alguns destes compostos sofrem degradação por aquecimento e exposição à luz [3].

Foram otimizadas a concentração do reagente e a solubilidade do reagente. Os melhores resultados com relação ao sinal analítico e resolução foram obtidos com a concentração do reagente de $123 \mu\text{g mL}^{-1}$. Em geral a solubilidade dos ácidos carboxílicos diminui a medida que aumenta o número de carbonos. O ácido benzóico, por contar com grande número de átomos de carbono, não possui apreciável solubilidade em água, sendo solúvel em solventes menos polares [4]. Para este experimento foram avaliados três diferentes solventes para a preparação do reagente: água, metanol (1:1 água-metanol v/v) e acetonitrila (1:1 água-acetonitrila v/v). Os resultados estão apresentados na Figura 50.

Figura 50. Efeito do solvente no sistema de derivatização HBA-aldeído. Mistura padrão de aldeídos derivatizados com HBA $123 \mu\text{g mL}^{-1}$. Mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído e acroleína). A: HBA preparado em água; B: HBA preparado em acetonitrila (1:1 água-acetonitrila v/v); C: HBA preparado em metanol (1:1 água-metanol v/v); ■ formaldeído; ● acetaldeído; ▲ propionaldeído; ▼ acroleína.

A reação precisa de um maior tempo para que seja obtido um máximo de sinal quando o reagente é preparado em água. Este fato pode estar relacionado com a baixa solubilidade do reagente em água. Outro fato observado é que, em água, os adutos apresentaram maior grau de decomposição quando comparados a acetonitrila e metanol. Como não foram

observadas diferenças significativas entre os dois solventes orgânicos, a acetonitrila foi selecionada para os próximos experimentos.

A próxima etapa, visando otimização do sistema, foi avaliar a temperatura a ser utilizada durante a separação. Mudanças na temperatura do capilar podem causar variações na eficiência, tempo de migração e volumes de injeção [5]. As temperaturas investigadas foram 25, 27, 29, 31, 33 e 35 °C. O aumento da temperatura não influenciou de forma significativa o sistema de separação. O aumento de temperatura proporcionou um decréscimo no tempo de migração dos solutos. Isso porque a viscosidade do eletrólito é dependente da temperatura, a medida que aumenta a temperatura diminui a viscosidade do eletrólito e consequentemente aumenta o fluxo eletroosmótico e a mobilidade aparente dos solutos, resultando em mudanças no tempo de migração [5]. O uso de menores valores de temperatura do capilar permite o uso de alta tensão produzindo separações mais rápidas e com alta eficiência [5]. Elevadas temperaturas podem causar decomposição do soluto ou mudanças na configuração molecular dos solutos [5]. Por estas razões optou-se em continuar utilizando para as análises temperatura de 27 °C.

5.2.3. Desempenho do método proposto

Com o objetivo de avaliar a repetibilidade das análises, dois tipos de condicionamentos para o capilar foram testados. O primeiro condicionamento foi feito apenas lavando a coluna, entre cada corrida, com eletrólito (3 min). O segundo condicionamento consistiu em lavar a coluna, entre cada corrida, com hidróxido de sódio 1 mmol L⁻¹ (1 min) seguidos por água (1 min) e eletrólito (2 min). Os condicionamentos foram testados utilizando uma mistura padrão contendo 5 µg mL⁻¹ de cada aldeído derivatizado com HBA 123 µg mL⁻¹.

Os resultados obtidos estão listados na Tabela 12 e 13. Condições utilizadas: 40 mmol L⁻¹ tetraborato de sódio; 25 mBar x 12 s; 27 °C; 25 kV.

Tabela 12. Coeficientes de variação dos tempos de migração, área e altura dos picos de cada aldeído derivatizado com HBA. Condicionamento 1.

HBA-aldeído derivatizado	C.V. do tempo de migração(%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	1,19	1,93	1,81
Acetaldeído	1,14	1,74	1,33
Propionaldeído	1,11	1,35	1,25
Acroleína	1,08	1,78	2,11
	1,10	1,19	1,58

C.V. Coeficiente de variação (n= 5)

Condicionamento do capilar entre cada corrida: eletrólito (3 min)

Tabela 13. Reprodutibilidade dos tempos de migração, área e altura de pico de cada aldeído derivatizado. Condicionamento 2.

HBA-aldeído derivatizado	C.V. do tempo de migração (%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	0,70	7,47	6,77
Acetaldeído	0,65	10,09	9,54
Propionaldeído	1,11	11,49	9,56
Acroleína	1,13	13,27	9,53
	0,58	10,25	9,19

C.V. Coeficiente de variação (n= 5)

Condicionamento do capilar entre cada corrida: NaOH (1 mmol L⁻¹, 1 min), água (1 min) e eletrólito (2 min).

Como mostram as Tabelas 12 e 13 os menores desvios com relação a área e a altura de pico foram obtidos procedendo a lavagem do capilar apenas com eletrólito. Como não ocorreram diferenças significativas nos desvios da área dos picos em relação a altura dos picos, a curva de calibração foi construída com base na área dos picos.

A Tabela 14 apresenta as equações da curva de calibração, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação obtidos. O limite de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura [6].

Tabela 14. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção para o sistema aldeído-HBA.

Aldeído-DNSH	Equação da curva de calibração	Coeficient e de correlação	Limite de detecção* (ng mL ⁻¹)	Limite de quantificação* (ng mL ⁻¹)
Formaldeído ^a	Y= 0,037X – 0,19	0,9990	2,7	9,0
Acetaldeído ^b	Y= 0,012X – 0,083	0,9986	4,6	15,3
Propionaldeído ^c	Y= 0,0088X – 0,051	0,9971	8,8	29,3
Acroleína ^c	Y= 0,009X – 0,015	0,9984	6,2	20,7

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura

^a curva de calibração de 50 – 300 ng mL⁻¹

^b curva de calibração de 62,5 – 300 ng mL⁻¹

^c curva de calibração de 75 – 300 ng mL⁻¹

* limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre

5.2.4. Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado a amostras de ar do laboratório. As amostras de ar foram coletadas no laboratório como descrito na seção 5.1.2. O volume de ar coletado para cada amostra foi de 133 litros. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 51 e Tabela 15.

Figura 51. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. A. mistura padrão contendo $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado HBA; B e C amostras provenientes do ar do laboratório coletadas em diferentes períodos do dia. Capilar de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector); 25 mBar x 20 s; 25 kV; eletrólito: 40 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio; detecção em 290 nm. R.reagente; 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.propionaldeído; 4, 4a.acroleína e # não identificado. Volume de ar amostrado 133 litros.

Tabela 15. Resultados das análises de aldeídos do ar do laboratório, utilizando HBA como agente derivatizante.

Data	Horário	Composto	Concentração ppbv
21/02/02	10:10 – 12:15	formaldeído	2,4 ± 0,2
		acetaldeído	2,6 ± 0,2
	12:50 – 15:05	formaldeído	2,9 ± 0,07
		acetaldeído	4,3 ± 0,04

Como mostra os resultados da Tabela 15 a concentração de acetaldeído encontrado foi superior a concentração de formaldeído. Este comportamento não era o esperado, visto que geralmente a concentração de formaldeído em ambientes *indoor* é maior devido ao grande número de fontes emissoras [7]. O comportamento observado pode estar relacionado com o fato da amostragem ter sido feita em um laboratório fechado, com ar condicionado ligado em tempo integral, grande número de pessoas circulando e sujeito a produtos de limpeza. A principal fonte antrópica de acetaldeído provém da respiração humana [8], mas não podemos descartar fontes como produtos de limpeza e perfumes [9].

5.3. CONCLUSÕES

O HBA mostrou ser um reagente eficiente para a derivatização dos aldeídos, sendo possível a separação e identificação das hidrazonas por FSCE.

O processo de derivatização mostrou-se dependente da concentração do reagente e do tipo de solvente utilizado. O aumento da temperatura, durante o processo de derivatização, e a reação em meio aquoso acelerou o processo de decomposição das hidrazonas. A variação da temperatura de análise não mostrou mudanças significativas no sistema de separação.

As melhores condições analíticas e instrumentais foram: eletrólito: 40 mmol L⁻¹ de tetraborato de sódio, 25 mBar x 12 s, 27°C, 25 kV, concentração do HBA 123 µg mL⁻¹, reação de derivatização em meio de acetonitrila/água (1:1 v/v). O melhor sistema de condicionamento do capilar, entre as corridas, foi obtido lavando-se o capilar com eletrólito durante 3 minutos.

Não foram observadas variações significativas no coeficiente de variação entre as áreas e alturas dos picos, sendo selecionada para as análises quantitativas as medidas de área dos picos.

O método desenvolvido apresentou boa sensibilidade, simplicidade e rapidez. O método foi eficiente para as análises de amostras de ar *indoor*, podendo ser aplicado a amostras de ar *outdoor* desde que um maior tempo de amostragem e uma maior quantidade de reagente, para impregnação dos cartuchos, sejam utilizados (comentário com base em resultados de experimentos que não foram mostrados).

5.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nondek, L.; Rodler, D.R.; Birks, J.W.; Measurement of Sub ppbv Concentration of Aldehydes in a Forest Atmosphere Using a New HPLC Technique, *Environ. Sci. Technol.*, **1992**, 26, 1174.
2. Astahana, A.; Base, D.; Kulshrestha, S.; Pathak, S.P.; *et al.*, Determination of Aldehydes in Water Sample by Capillary Electrophoresis After Derivatization with Hydrazino Benzene Sulfonic Acid, *Chromatographia*, **1998**, 48, 807.
3. Smith, P.A.; *Derivatives of Hydrazine and other Hydronitrogens Having N-N Bonds*, Benjamim/Cummings: Reading, MA, 1983, 18-22,118.
4. Boyd, r.; Morrison, R.; *Química Orgânica*, Allynand Bacon, Boston, 1983, 937.
5. Baker , D.; *Capillary Electrophoresis*, Wiley-Intersciense, New York, N.Y. 1995, 128-129.
6. Swartz, M. E.; Validacao de Métodos Cromatográficos, Pharmaceutical Technology, **1998**, 2 (3), 12.
7. Pereira, E.A.; Cardoso, A.A.; Gota Suspensa para Avaliação de Aldeído Total no Ar Interno e Externo do Ambiente, *Quim.Nova*, **2001**, 24(4), 443.
8. Zhang,J.; He, Q.; Liyo, O.J.; *Environ.Sci.Technol.*; **1994**, 28, 146.

9. <http://www.chemicaland21.com/acetaldehyde.htm>

CAPÍTULO 6

3- Metil-2 benzotiazolinona hidrazona como agente derivatizante em MEKC

6. Aspectos gerais

Os aldeídos reagem com 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH) para formar uma azina, um composto neutro, com máximo de absorção em 216 nm [1]. Figura 52.

Figura 52. Reação de derivatização de compostos carbonílicos com MBTH.

Embora este reagente tenha potencial para determinação simultânea de vários compostos carbonílicos, sua seletividade para diferentes aldeídos e cetonas difere consideravelmente dependendo da estrutura do analito e condições experimentais [2].

6.1. PARTE EXPERIMENTAL

6.1.1. Instrumentação

Os experimentos foram realizados no equipamento modelo HP 3D CE da Agilent, equipado com um detector diode-array, que opera na faixa de 190-600 nm, controlador de temperatura, e com programa de aquisição e tratamento de dados. Os capilares de sílica fundida utilizados são da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 µm d. i. e comprimento total 48 cm (40 cm até o detector).

6.1.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. Formaldeído, acetaldeído, benzaldeído, β-ciclodextrina e MBTH foram obtidos da Aldrich/Sigma (St. Louis, MO, U.S.A). Propionaldeído, acroleína, e dodecilsulfato de sódio (SDS) foram obtidos da Riedel Haën (Seelze, Germany).

Soluções estoque dos aldeídos ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram preparadas pela dissolução de uma determinada quantidade do padrão em água deionizada (Milli-Q, Millipore, Bedford, MA, U.S.A.). A reação de derivatização foi feita utilizando $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, propionaldeído, acroleína, acetona e benzaldeído) em 0,05 % de MBTH. Esta mistura permaneceu em repouso por 1 hora e antes do ajuste do volume para 10,0 mL, adicionou-se 3,0 mL tetraborato de sódio (100 mmol L^{-1}) a mistura, o volume final foi ajustado com 0,05 % de MBTH.

O condicionamento do capilar foi feito através da passagem de solução de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 5 minutos, seguida de água deionizada durante 5 minutos e solução de eletrólito (40 minutos), no início de cada dia ou quando foi efetuada mudança de condição de análise.

6.1.3. Coleta da amostra

Para a amostragem do ar interno do laboratório, foi utilizado um sistema constituído basicamente de uma bomba de vácuo, frasco de segurança, medidor de volume e dois *impingers*, conectados em série, contendo 7 mL de 0,05 % de MBTH.

Figura 53. Sistema de coleta para amostras de ar. A: suporte; B: *impingers* em série; C: frasco de segurança; D: medidor de volume; E: bomba de vácuo.

Os aldeídos foram amostrados utilizando uma bomba de vácuo operando com uma vazão de $0,7$ a 1 L min^{-1} . Os aldeídos foram coletados em 7,0 mL de uma solução de 0,05% MBTH, após uma hora de reação o volume foi ajustado com tetraborato 100 mmol L^{-1} (correspondendo a concentração final de 30 mmol L^{-1}) e as amostras foram analisadas utilizando a estratégia de

pré-concentração conhecido como *stacking* das micelas (discutido na seção 1.4.7.3.1.).

6.1.4. Confeção dos concentradores

Os concentradores foram preparados a partir de um pedaço de 2 cm de um tubo de teflon (77 μm diâmetro interno e 367 μm diâmetro externo). Inicialmente uma pequena membrana de teflon foi inserida dentro do tubo e posicionada no final do tubo com auxílio de uma agulha (de ponta cortada) de seringa hipodérmica. A próxima etapa foi preencher o tubo com 3-4 mm de octadecilsílica (C_{18}) manualmente. Uma nova membrana foi inserida e posicionada na outra extremidade do tubo, tendo como objetivo isolar o material adsorvente. Foram conectados, ao tubo contendo C_{18} , 2 capilares de sílica fundida (75 μm diâmetro interno e 365 μm diâmetro externo) um de cada lado. As junções foram coladas com uma cola epóxi e permaneceram em repouso por 24 horas (Figura 54).

Figura 54. Representação esquemática dos concentradores em fase sólida.

6.2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.2.1. Otimização das condições analíticas e instrumentais

Alguns testes preliminares foram feitos com o objetivo de avaliar o comportamento do sistema. Para os experimentos utilizou-se uma mistura padrão contendo 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído (formaldeído, acetaldeído, acroleína e benzaldeído) derivatizados com 0,05% de MBTH (como descrito na seção 6.1.2). Inicialmente selecionou-se como eletrólito uma mistura contendo 50 mmol L^{-1} de SDS e 20 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio pH ~ 9 . Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 55.

Figura 55. Sistema de separação de um mistura padrão de aldeídos ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada) derivatizados com 0,05% MBTH. Capilar de sílica fundida $75 \mu\text{m}$ d.i. x 48 cm total (40 cm até o detector), 12 s x 25 mBar, 20 kV, 27°C , eletrólito: 50 mmol L^{-1} de SDS e 20 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio pH ~ 9 . R.reagente, 1.formaldeído, 2.acetaldeído, 3.propionaldeído, 4.acroleína e # não identificado. Detecção em 216 nm.

Foi possível observar deste estudo que houve a separação completa de 4 adutos, porém não foi observado o pico para o aduto do benzaldeído-MBTH. Este comportamento está relacionado com o fato que a medida que aumenta a cadeia carbônica ocorre decréscimo da sensibilidade [1].

A próxima etapa consistiu em avaliar o efeito do meio de diluição no perfil da separação dos aldeídos-MBTH. Para este experimento foi utilizada uma mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído em 0,05% MBTH. Foram avaliados três sistemas de diluição da mistura padrão: em 0,05% MBTH, 1:1 v/v mistura padrão/eletrólito e em tetraborato de sódio 30 mmol L^{-1} . Os resultados deste experimento estão apresentados na Figura 56.

Figura 56. Efeito do meio de diluição da mistura padrão no perfil da separação dos aldeídos-MBTH. Mistura padrão ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$). A: mistura de aldeídos-MBTH diluída em 0,05 % de MBTH; B: aldeídos-MBTH diluída em eletrólito (1:1 v/v) e mistura de aldeídos-MBTH diluída em tetraborato de sódio 30 mmol L^{-1} . Capilar de sílica fundida $75 \mu\text{m}$ d.i. x 48 cm total (40 cm até o detector), 12 s x 25 mBar, 20 kV, 27°C , eletrólito: 50 mmol L^{-1} de SDS e 20 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio pH ~ 9 . R.reagente, 1.formaldeído, 2.acetaldeído, 3. propionaldeído, 4.acroleína e # não identificado. Detecção em 216 nm.

A diluição dos aldeídos-MBTH em tetraborato de sódio proporcionou um aumento significativo na eficiência e magnitude do sinal analítico para o sistema investigado. Este fenômeno é conhecido como *stacking* por adição de sal (vide seção 1.4.7.3.1.).

Alguns autores [3] têm relatado que este aumento do sinal é uma função direta da concentração de sal utilizada. A próxima etapa foi avaliar o comportamento do sistema de separação, em função de diferentes concentrações de tetraborato. Para este experimento foi utilizada uma mistura padrão estoque contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com 0,05%

de MBTH, esta mistura foi apropriadamente diluída para $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. A concentração de tetraborato nesta solução variou de 15-95 mmol L^{-1} . A Figura 57 mostra os resultados obtidos para estes experimentos.

Figura 57. Efeito da concentração de tetraborato no sistema aldeído-MBTH ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído) em 0,05 % de MBTH. A: mistura padrão sem adição de tetraborato de sódio; B: concentração de tetraborato de sódio no padrão 15 mmol L^{-1} ; C: 30 mmol L^{-1} ; D: 45 mmol L^{-1} ; E: 60 mmol L^{-1} e F: 95 mmol L^{-1} . Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 48 cm comprimento total (40 cm até detector), 40 s x 25 mBar, 20 kV, 27°C , eletrólito: 50 mmol L^{-1} de SDS e 20 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio pH ~ 9 . R.reagente, 1.formaldeído, 2.acetaldeído, 3. propionaldeído, 4.acroleína e # não identificado. Detecção em 216 nm.

A adição de tetraborato de sódio na mistura padrão possibilitou o uso de longos tempos de injeção sem produzir alargamento das bandas. O máximo de sinal analítico foi obtido quando a concentração de tetraborato de sódio foi de 30 mmol L^{-1} . Concentrações superiores a 30 mmol L^{-1} não proporcionaram mudanças significativas no sinal analítico.

Os valores de condutividade medidos (triplicata) para cada mistura padrão da Figura 57 estão listados na Tabela 16.

Tabela 16. Condutividade da mistura padrão contendo diferentes concentrações de tetraborato de sódio

Concentração de tetraborato de sódio na mistura padrão mmol L ⁻¹	Condutividade dos padrões mS/cm
0	0,26 ± 0,002
15	2,29 ± 0,010
30	4,24 ± 0,006
45	6,03 ± 0,010
60	7,49 ± 0,006
95	10,84 ± 0,060

eletrólito: 20 mmol L⁻¹ tetraborato de sódio contendo, 50 mmolL⁻¹ SDS, condutividade de 5,19 ± 0,02 mS/cm.

Alguns estudos [3,4] tem mostrado a ocorrência de um máximo de eficiência no *stacking* em função da concentração do sal na mistura padrão e este fenômeno ocorre somente quando a condutividade da mistura padrão excede a condutividade do eletrólito. É interessante notar que a condutividade da mistura padrão contendo 30 mmol L⁻¹ é menor do que a condutividade do eletrólito. Como mencionado anteriormente, estes resultados não concordam com o mecanismo de *stacking* proposto por Landers [3] (vide seção 1.4.7.3.2). Desde que a condutividade da zona da amostra é menor do que a condutividade do eletrólito, o *stacking* ocorre na interface oposta, isto é, as micelas atravessam rapidamente a zona da amostra capturando os analitos e pré-concentrando na fronteira com o eletrólito.

Outro fenômeno de pré-concentração de analitos neutros é conhecido como *sweeping*, esta estratégia foi descrita por Terabe em 1999 [5] e apresenta o maior fator de ganho entre todas as estratégias para CE. Como relatado na seção 1.4.7.3.4 para que o *sweeping* ocorra é necessário que as amostras e o eletrólito apresentem a mesma condutividade e a amostra não deve conter micelas. Observando a Tabela 16 novamente, fica claro que a condutividade da amostra será a mesma que a do eletrólito em uma

concentração intermediária entre 30 e 45 mmol L⁻¹. Entretanto o máximo de sinal analítico foi observado quando a concentração de tetraborato de sódio na mistura padrão foi de 30 mmol L⁻¹.

Embora os resultados da Tabela 16 não concordem com os mecanismos de pré-concentração propostos para MEKC, o fato é que a pré-concentração ocorre, viabilizando, desta forma, a aplicação do método a amostras ambientais.

A Tabela 17 apresenta o ganho (S/N= 3) para cada derivado aldeído-MBTH.

Tabela 17. Ganho de sinal obtido para os derivado aldeído-MBTH

Aldeído-MBTH	LD antes da pré- concentração ng mL ^{-1*}	LD depois da pré- concentração ng mL ⁻¹	Ganho em S/R
Formaldeído	283	7,59	37
Acroleína	773	21,7	35
Acetaldeído	920	17,1	54
Propionaldeído	949	17,9	53

LD limite de detecção

*calculado para o derivado aldeído-MBTH, diretamente do eletroferograma, com base no sinal ruído S/N=3.

O efeito da composição do eletrólito na separação dos aldeídos-MBTH está apresentada na Figura 58. Para este experimento foi preparada uma mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído derivatizado com 0,05% de MBTH. Após o tempo de uma hora de reação foi adicionado à mistura tetraborato de sódio para fornecer uma solução de concentração final de 30 mmol L^{-1} .

Figura 58. Efeito da composição do eletrólito no sistema aldeído-MBTH. Mistura padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada aldeído em 0,05 % de MBTH, contendo 30 mmol L^{-1} de tetraborato. A: 50 mmol L^{-1} SDS contendo 20 mmol L^{-1} tetraborato, B: 80 mmol L^{-1} SDS contendo 20 mmol L^{-1} tetraborato; C: 50 mmol L^{-1} SDS contendo 20 mmol L^{-1} tetraborato e 15 mmol L^{-1} β -CD. Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 48 cm comprimento total (40 cm até detector), 12 s x 25 mBar, 20 kV, 27°C , R.reagente, 1.formaldeído, 2.acetaldeído, 3. propionaldeído, 4.acroleína e #. não identificado. Detecção em 216 nm.

O aumento da concentração de SDS proporcionou um decréscimo do sinal analítico principalmente para formaldeído e acetaldeído. O aumento do tempo de migração observado é devido ao aumento do número de micelas e, conseqüentemente, uma maior interação soluto-micela. [6].

A adição de β -CD não proporcionou variações significativas no sinal analítico e no sistema de separação. Com base nos resultados obtidos optou-se pelo uso do eletrólito contendo 50 mmol L^{-1} SDS e 20 mmol L^{-1} tetraborato, pH ~ 9 .

A presença de possíveis interferentes no sistema de separação foi investigada. Foram avaliados como interferentes acetona, formiato e acetato. Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 59.

Figura 59. Eletroferogramas dos possíveis interferentes no sistema aldeído-MBTH. A: padrão contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de formaldeído, acetaldeído, propionaldeído e acroleína derivatizados com 0,05% MBTH; B: $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de acetona e propionaldeído derivatizados com 0,05% MBTH; C: $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ formiato em 0,05 % MBTH; D: $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ acetato em 0,05% de MBTH. Capilar de $75 \mu\text{m d.i.} \times 48 \text{ cm}$ de comprimento total (40 cm até o detector); 12 s x 25 mBar, 20 kV; eletrólito: 20 mmol L^{-1} de tetraborato contendo 50 mmol L^{-1} SDS; $\lambda = 216 \text{ nm}$. R.reagente; 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.acroleína 4.propionaldeído; 5.acetona e # não identificado.

Como mostra a Figura 59 o único composto investigado que reagiu com MBTH foi a acetona. Sob as condições otimizadas já estabelecidas foi possível separar o aduto acetona-MBTH do aduto propionaldeído-MBTH. A acetona foi incluída na mistura padrão.

Antes da validação do método proposto, avaliou-se a possibilidade da formação de adutos catiônicos, provenientes da reação entre MBTH e aldeídos em baixos valores de pH, para testar o sistema de pré concentração utilizando os concentradores empacotados em C₁₈ (vide seção 1.4.7.2.3).

Alguns experimentos (não mostrados) comprovaram que os adutos adquirem carga positiva em meio ácido, mas devido a dificuldade em separar os picos coeluidos dos adutos acetaldeído e propionaldeído e dos adutos acroleína e formaldeído, optou-se em utilizar para os testes iniciais com os concentradores uma solução de padrão contendo somente formaldeído-MBTH. O capilar contendo o pré concentrador foi inicialmente lavado com acetonitrila 15 minutos para remover qualquer bolha de ar remanescente no material empacotado. Para o condicionamento do capilar foram testadas várias soluções de pré-tratamento. O melhor sistema de condicionamento consistiu da lavagem do capilar com acetonitrila (10 min), seguidos por água (10 min) e eletrólito de corrida (15 min). Inicialmente a amostra foi injetada por pressão (169 mBar x 20 s), a maior dificuldade encontrada foi observada quando a tensão era aplicada: a corrente sofria uma queda, provavelmente devido a formação de bolhas no sistema. Visando eliminar as bolhas, adicionou-se ao eletrólito um detergente não iônico (brij 35). Após um longo tempo de injeção, a eluição da amostra foi feita por injeção de um plug de acetonitrila/eletrólito (1:1 v/v). Um ponto importante a se determinar no método empregando concentradores é o volume e a proporção do solvente necessários para eluir os compostos do concentrador. Foram avaliados diferentes proporções do solvente orgânico bem como diferentes tempos de eluição. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 60.

Figura 60. Eletroferograma de uma amostra padrão de formaldeído-MBTH utilizando o concentrador sólido. A. formaldeído: $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, 5"Hg (169 mBar) x 1 s, sem concentrador na coluna, B. formaldeído: $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, 5"Hg (169 mBar) x 20 s; eluente: acetonitrila/eletrolito (1:1 v/v) durante 12 s, 30 kV; eletrólito: 20 mmol L^{-1} de ácido cítrico pH= 2,50 . Detecção em 216 nm. R.reagente e 1.formaldeído.

Como mostra a Figura 60 o uso do concentrador produziu um alargamento das bandas e não houve aumento na magnitude do sinal analítico. Estes fatos podem estar relacionados ao tamanho de empacotamento, volume inadequado de eluente, imperfeições na conexão entre os capilares e o tubo de teflon que continha a fase sólida e a própria química do aduto que pode estar desfavorecendo o sistema de pré-concentração. Outros parâmetros foram avaliados (injeção da amostra pelo modo eletrocínético e uso de um maior tempo de eluição com acetonitrila), mas também não apresentaram resultados satisfatórios.

Foram confeccionadas cerca de 25 colunas. Uma vez prontas as colunas foram testadas com relação à obstrução, estabilidade de corrente e resposta em relação ao sinal analítico. Das 25 colunas apenas uma produziu algum tipo de resultado, mesmo que não satisfatório.

6.2.2. Desempenho do método proposto

As Tabelas 18 e 19 apresentam a validação de alguns parâmetros para o método proposto, bem como uma estimativa do limite de detecção e quantificação de cada aldeído livre. As condições utilizadas foram: 50 mmol L⁻¹ de SDS contendo 20 mmol L⁻¹ tetraborato de sódio; 25 mBar x 40 s; 27 °C; 20 kV. Aldeídos derivatizados com MBTH contendo 30 mmol L⁻¹ tetraborato de sódio.

Tabela 18. Coeficientes de variação dos tempos de migração, área e altura dos picos de cada aldeído derivatizado com MBTH.

Aldeído-MBTH derivatizado	C.V. do tempo de migração(%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	2,3	1,9	6,4
Acetaldeído	2,5	1,8	8,6
Propionaldeído	2,1	3,6	3,9
Acroleína	2,3	4,1	8,2
	2,4	1,5	7,9

C.V. Coeficiente de variação (n= 6)

Condicionamento do capilar entre cada corrida: eletrólito (3 min).

Como mostra a Tabela 18 os menores desvios foram obtidos com relação às áreas dos picos, sendo então a curva de calibração construída com base na área dos picos.

A Tabela 19 apresenta as equações da curva de calibração, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação obtidos. O limite de detecção e quantificação foram calculados como nos capítulos anteriores.

Tabela 19. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção para sistema aldeído-MBTH.

Aldeído-MBTH	Equação da curva de calibração	Coeficiente de correlação	Limite de detecção* (ng mL ⁻¹)	Limite de quantificação* (ng mL ⁻¹)
Formaldeído ^a	Y= 281,89X – 0,081	0,9997	0,54	1,79
Acetaldeído ^a	Y= 133,78X – 0,462	0,9992	3,5	11,7
Propionaldeído ^a	Y= 69,39X + 0,318	0,9950	4,0	13,3
Acroleína ^a	Y= 78,99X – 0,285	0,9934	1,1	3,7
Acetona ^b	Y= 0,03X – 0,210	0,9803	11	36,7

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura

* limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre

^a Curva de calibração de 20 – 120 ng mL⁻¹

^b Curva de calibração de 80 – 150 ng mL⁻¹

6.2.3. Aplicação do método

As amostras do ar do laboratório foram coletadas utilizando dois *impingers* conectados em série, contendo 0,05% de MBTH, como descrito na seção 6.1.3. O volume de ar coletado para cada amostra foi de 124 litros. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 61 e Tabela 20 (amostras de ar do laboratório e corredor do bloco 11 superior).

Figura 61. Eletroferograma das amostras de ar do laboratório. Capilar de 75 μm d.i. x 48 cm de comprimento total (40 cm até o detector); 25 mBar x 40 s; 20 kV; eletrólito: 20 mmol L^{-1} de tetraborato contendo 50 mmol L^{-1} SDS; detecção em 216 nm; A: mistura padrão (1 $\mu\text{g mL}^{-1}$) B:e C: amostras de ar do laboratório coletadas ao longo do dia. R.reagente; 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.acroleína; 4.propionaldeído; 5.acetona; # não identificado. Volume de ar amostrado: 124 L

Tabela 20. Resultados das análises de aldeídos no ar do laboratório e do corredor, ao longo do dia, utilizando MBTH como agente derivatizante.

Data	Horário	Composto	Concentração ppbv
15/03/01 ar do laboratório volume de ar amostrado 124 L	9:30 – 12:00	formaldeído	4,3 ± 0,1
		acetaldeído	2,5 ± 0,1
17/05/01 ar do laboratório volume de ar amostrado 128 L	9:20 – 11:30	formaldeído	5,2 ± 0,2
		acetaldeído	1,7 ± 0,1
		acetona	6,9 ± 0,1
	12:15 – 14:30	formaldeído	4,5 ± 0,1
		acetaldeído	1,5 ± 0,3
		acetona	451,9 ± 0,1
	16:00 – 18:10	formaldeído	4,9 ± 0,1
		acetaldeído	1,9 ± 0,3
		acetona	43,9 ± 0,1
	19:00 – 21:25	formaldeído	5,2 ± 0,1
		acetaldeído	2,2 ± 0,2
		acetona	8,7 ± 0,1
24/05/01 ar do corredor volume de ar amostrado 131 L	12:00 – 15:00	formaldeído	2,4 ± 0,1
		acetaldeído	1,3 ± 0,2
		acetona	5,5 ± 0,1
	16:00 – 18:30	formaldeído	2,3 ± 0,1
		acetaldeído	1,7 ± 0,1
		acetona	3,0 ± 0,1
	19:30 – 22:30	formaldeído	1,9 ± 0,2
		acetaldeído	1,2 ± 0,2

Como mostra a Tabela 20 as maiores concentrações encontradas dos compostos estudados foram no ar do laboratório. Este fato pode estar relacionado às próprias condições do laboratório que incluem manuseio de solventes e outros compostos químicos, ambiente fechado (ausência de ventilação), ar condicionado, entre outros. A acetona foi o composto carbonílico que apresentou maior concentração (com exceção do dia 15/03, em que o composto não foi detectado), destacando-se no dia 17/05 na coleta feita das 12:15 às 14:30, cuja concentração encontrada foi de 451,9 ppbv. Um determinado aldeído presente no ar *indoor* pode ter sua própria fonte, ou pode dividir fontes comuns com outros aldeídos. A acetona possui 26 diferentes fontes de emissão [7] que incluem: combustão de biomassa, emissão veicular, materiais de construção, solventes (em resinas de vinil e acrílicas, tinta), vegetação, entretanto, a maior fonte de exposição são os cosméticos [8]. Os resultados obtidos podem ser justificados com base nesta informação. No horário da coleta estavam presentes no laboratório cerca de 6 pessoas, sendo que pelo menos duas destas pessoas apresentavam odores extremamente perceptíveis de diferentes fragrâncias (provavelmente perfume, mas não descarta-se a possibilidade de loção ou desodorante) e permaneceram na sala, por pelo menos uma hora. Com a falta de ventilação (dificultando a dispersão dos odores), provavelmente, o odor permaneceu na sala mesmo após a saída das pessoas, o que pode ser a causa do elevado valor da concentração encontrada.

Não foram observadas variações significativas para formaldeído e acetaldeído no decorrer do dia nas amostras provenientes do ar coletado do corredor. Não foi detectada acetona na última coleta (19:30 – 22:30). Como este corredor está situado entre 3 laboratórios de orgânica e um laboratório de química analítica e mesmo possuindo uma boa ventilação, as concentrações encontradas podem ser resultado das atividades provenientes dos laboratórios, uma vez que este reagente é utilizado em numerosas operações práticas.

6.3. CONCLUSÕES

O uso de MBTH como agente derivatizante tornou possível a separação, identificação e quantificação de formaldeído, acetaldeído, acroleína, propionaldeído e acetona.

A adição de tetraborato de sódio nas amostras proporcionou um ganho significativo do sinal analítico, devido ao efeito de *stacking* mediado por adição de sal.

Formiato e acetato não apresentaram interferência no sistema aldeído-MBTH. A acetona reage com MBTH para formar um aduto que foi separado dos demais adutos sem a necessidade da incorporação de aditivos ao eletrólito de corrida.

Com relação aos pré-concentradores sólidos, foi possível observar que a manufatura de colunas contendo este tipo de sistema é um trabalho que requer bastante persistência e paciência. Foram inúmeras as dificuldades encontradas para a confecção dos concentradores, entre elas: empacotamento com o material adsorvente, a colocação das membranas para isolar o material empacotado, desobstrução dos capilares, entre outros. Outro problema foi a constante queda da corrente, causada provavelmente por formação de bolhas. A falta de repetibilidade e as dificuldades encontradas durante a confecção não tornam os concentradores sólidos atrativos.

Os melhores resultados foram obtidos com o eletrólito contendo de 50 mmol L⁻¹ de SDS e 20 mmol L⁻¹ de tetraborato de sódio, 12 s de injeção para amostras concentradas e 40 s para amostra diluídas, 25 mBar, 20 kV, 27 °C e detecção em 216 nm.

O método proposto mostrou-se simples, rápido e com boa sensibilidade, sendo perfeitamente aplicável a amostras de ar *indoor* e amostras de água de chuva (resultados não mostrados) [9].

6.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bryan, R.J.; Hyde, D.L.; Levaggi, D.A.; Locke, D.C.; *et.al*, Methods for Air Sampling and Analysis, 3rd, Lewis, Chelsea, MI, 1989, 279.
2. Vogel, M.; Büldt, A.; Karst, U.; Hydrazine Reagents as Derivatizing Agents in Environmental Analysis – A Critical Review, *Fresenius J. Anal.*, **2000**, 366, 781.

3. Landers, J.P.; Munro, N.J.; Palmer, J.A., Universal Concept for Stacking Neutral Analytes in Micellar Electrokinetic Chromatography, *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 1679.
4. Palmer, J.; Landers, J.P.; Stacking Neutral Analytes in Capillary Electrokinetic Chromatography with High-Salt Sample Matrixes, *Anal. Chem.*, **2000**, *72*, 1941.
5. Terabe, S.; Quirino, J. P.; Sweeping of Analyte Zones in Electrokinetic Chromatography, *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 1638.
6. Weinberg, R.; Practical Capillary Electrophoresis, Academic Press, Inc. San Diego, 1993, 157.
7. Graedel, T. E.; Hawkins, D. T.; Claxton, L. D.; *Atmospheric Chemical Compounds: Sources, Occurrence and Biossay*, Academic Press, Orlando, Florida, 1986, 557.
8. Bloemen, H. J. Th.; Burn, J.; Chemistry Analysis of Volatile Organic Compounds in the Environmental, Blackie Academic & Professional, Glasgow, U.K., 1993, 6.
9. Pereira, E.A., Stevanato, A., Cardoso, A. A., Tavares, M. F. M.; Determinação de aldeídos de baixa massa molar em água de chuva por eletroforese capilar. 25^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, livro de resumos, QA-082, 2002.

CAPÍTULO 7

**2,4-Dinitrofenilhidrazina como agente
derivatizante em MEKC**

7. ASPECTOS GERAIS

Os aldeídos reagem com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFH), em meio ácido, para formar as 2,4-dinitrofenilhidrazonas com máximo de absorção em 360 nm [1], Figura 62.

Figura 62. Reação de derivatização entre compostos carbonílicos e 2,4-dinitrofenilhidrazina .

Entre os reagentes derivatizantes mencionados neste trabalho, a DNFH é o mais popular devido a sua rápida reação com os compostos carbonílicos [2]. Outra vantagem é a gama de técnicas de amostragem que são compatíveis com o método como por exemplo, a utilização de *impingers*, *denuders*, filtros impregnados e sorventes sólidos (sílica gel, C_{18} , florisil, chromosorb, etc) [3].

7.1. PARTE EXPERIMENTAL

7.1.1. Instrumentação

Parte dos experimentos foram realizados no equipamento modelo 270-HT da Applied Biosystems da Perkin Elmer, equipado com detector UV-Vis, que opera na faixa de 190-700 nm, controlador de temperatura, e com programa de aquisição e tratamento de dados (Turbochrom software). Os capilares de sílica fundida utilizados foram da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 μm d. i. e 72 cm de comprimento total (50 cm até detector). A janela de detecção de aproximadamente 0,2 cm foi aberta pela remoção do revestimento de poliimida do capilar por aquecimento. As amostras foram injetadas pelo método eletrocínético com 10 kV x 2 s .

A segunda parte dos experimentos foi realizada no equipamento modelo HP 3D CE da Agilent, equipado com um detector diode-array, que opera na faixa de 190-600 nm, controlador de temperatura e com programa de aquisição

e tratamento de dados. Os capilares de sílica fundida utilizados são da Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, com dimensões de 75 μm d. i. e 58 cm de comprimento total (50 cm até detector). A janela de detecção de aproximadamente 0,2 cm foi aberta pela remoção do revestimento de poliimida do capilar por aquecimento. As amostras foram injetadas pelo modo hidrodinâmico com pressão de 50 mBar x 1,5 s.

7.1.2. Reagentes e Soluções

Todas os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico. Formaldeído, acetaldeído, benzaldeído, 2,4-dinitrofenilhidrazina e β -ciclodextrina foram obtidas da Aldrich/Sigma (St. Louis, MO, EUA). Propionaldeído, acroleína, acetona e SDS foram obtidos da Riedel Haën (Seelze, Germany).

Os solventes foram purificados através da destilação com DNFH (1L de solvente, 0,5 g DNFH e 10 gotas de ácido sulfúrico). O solvente purificado foi recolhido em um balão de 0,5 L quando a temperatura de destilação encontrava-se em torno de 80 °C para acetonitrila, 64 °C para metanol e 78 °C para etanol.

A DNFH foi purificada através da recristalização com etanol (livre de carbonílicos): 2,5 g de DNFH foram adicionados a 500 mL de etanol e levados à ebulição. Após a decantação das impurezas insolúveis, o sobrenadante foi mantido em repouso por 12 h em geladeira. Os cristais formados foram filtrados e secos em dessecador.

As dinitrofenilhidrazonas de cada aldeído estudado foi precipitada de acordo com o método oficial [4]. A solução estoque contendo 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de cada hidrazona foi preparada em acetonitrila e mantida em frasco âmbar, sob refrigeração. As soluções padrões foram preparadas pela diluição apropriada da solução estoque com eletrólito.

A solução de DNFH, utilizada para as coletas, foi purificada com duas extrações sucessivas com clorofórmio [5].

O condicionamento do capilar foi feito através da passagem, pelo capilar, de solução de hidróxido de sódio 1,0 mol L⁻¹ durante 5 minutos, seguida de água deionizada durante 5 minutos e solução de eletrólito

(40 minutos), no início de cada dia ou quando foi efetuada mudança de condição de análise.

7.1.3. Coleta da amostra

Foram coletadas dois tipos de amostras: ar proveniente da emissão veicular e o ar do laboratório.

Os vapores foram amostrados diretamente do escapamento de um veículo (Santana, 89, álcool) utilizando uma bomba de vácuo operando com uma vazão de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ (Figura 63). Os aldeídos foram coletados através de um tubo de teflon conectado ao escapamento do automóvel, e a dois *impingers* (arranjados em série) contendo 7,0 mL de DNFH purificada.

Após o período de amostragem (15 minutos, 7,5 L de ar amostrado), os *impingers* contendo as soluções absorventes foram combinados e extraídos com duas aliquotas de 5,0 mL de clorofórmio. A fase orgânica foi lavada com 20 mL de água e finalmente evaporada sob pressão reduzida a 50°C . O resíduo foi dissolvido em 2,0 mL de acetonitrila para ser posteriormente analisado.

Figura 63. Sistema de coleta para emissão veicular. B: bomba de vácuo; V: válvula de agulha; FS: frasco de segurança; MF: medidor de fluxo.

Para a amostragem do ar do laboratório, foi utilizado um sistema constituído basicamente de uma bomba de vácuo, frasco de segurança, medidor de volume e dois cartuchos de C_{18} , conectados em série, impregnados com DNFH purificada (Figura 64).

Figura 64. Sistema de coleta para amostras de ar. A: filtro contendo iodeto de potássio, B: cartuchos de C₁₈ em série; C: frasco de segurança; D: medidor de volume; E: bomba de vácuo.

Os aldeídos foram amostrados utilizando uma bomba de vácuo operando com uma vazão de 0,7 a 1 L min⁻¹. A amostra de ar foi coletada com DNFH impregnada em cartucho Sep-Pak C₁₈. Antes da impregnação com a solução de DNSH, o cartucho foi condicionado com 20 mL de acetonitrila, seguido de 10 mL de DNFH purificada e 10 mL de acetonitrila. Cerca de 20 mL da solução de DNFH, contida em um frasco de vidro, foi aspirada para dentro do cartucho (Figura 65). O cartucho foi estocado em um frasco de vidro com tampa de polietileno. A solução de DNFH foi preparada pela diluição de 1,5 mL da solução concentrada de DNFH (100 mg/20 mL; 8:2 de 5 mmol L⁻¹ HCl-acetonitrila v/v) com 250 mL de água deionizada. Esta solução foi purificada através de duas extrações sucessivas com clorofórmio.

Após o término da amostragem (3 h e 30 min, 203 L), os cartuchos foram extraídos com 5,0 mL acetonitrila e evaporado a 50 °C sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em 750 µL de eletrólito para posteriormente ser analisado.

Figura 65. Sistema utilizado para impregnação dos cartuchos com DNFH. 1. Cartucho impregnado com DNFH usado como *Trap*; 2. Solução de DNFH purificada; 3. cartucho pré-condicionado; 4. seringa para aspiração da solução.

7.2. RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.2.1. Otimização das condições analíticas e instrumentais

Alguns testes preliminares foram feitos utilizando uma mistura padrão contendo $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada hidrazona. Inicialmente a separação eletroforética foi feita utilizando como eletrólito uma mistura contendo 50 mmol L^{-1} de SDS e 20 mmol L^{-1} tetraborado de sódio, $169 \text{ mBar} \times 1 \text{ s}$, 20 kV . A maior dificuldade encontrada no sistema foi a constante queda da corrente, provavelmente gerada pela formação de bolhas no interior do capilar, quando a injeção pelo modo hidrodinâmico era utilizada. A alternativa encontrada foi utilizar o modo de injeção eletrocinético ($10 \text{ kV} \times 2 \text{ s}$). Os resultados obtidos estão ilustrados na Figura 66.

Figura 66. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos-DNFH. Concentração de cada hidrazona $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Capilar de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm de comprimento total (com 50 cm até o detector); 10 kV x 2 s, 25 kV, $29,0^\circ\text{C}$, detecção em 360 nm, eletrólito: 50 mmol L^{-1} SDS contendo 20 mmol L^{-1} tetraborato de sódio. 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.acroleína; 4.propionaldeído; 5.benzaldeído.

As condições inicialmente selecionadas proporcionaram a separação das hidrazonas do formadeído, acetaldeído e benzaldeído, no entanto acroleína e propionaldeído apresentaram coeluição.

Visando otimizar o sistema de separação foram investigados diferentes composições do eletrólito. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 67.

Figura 67. Efeito da composição do eletrólito no sistema aldeídos-DNFH. Concentração de cada hidrazona $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Capilar de $75 \mu\text{m d.i.} \times 72 \text{ cm}$ de comprimento total (com 50 cm até o detector); $10 \text{ kV} \times 2 \text{ s}$, 25 kV , $29,0^\circ\text{C}$, detecção em 360 nm . A: 70 mmol L^{-1} SDS em 20 mmol L^{-1} tetraborato de sódio; B: 50 mmol L^{-1} SDS em 30 mmol L^{-1} tetraborato de sódio; C: 50 mmol L^{-1} SDS em 20 mmol L^{-1} de tetraborato de sódio contendo 15 mmol L^{-1} $\beta\text{-CD}$; 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.acroleína; 4.propionaldeído; 5.benzaldeído.

Em geral o aumento da concentração de SDS no eletrólito proporciona aumento da resolução, eficiência e seletividade [6]. Em particular neste caso, o aumento da concentração de SDS não proporcionou mudanças apreciáveis na resolução do sistema. Do ponto de vista prático, a concentração de SDS no eletrólito dever ser otimizada em função da sensibilidade (altura do pico) bem como em função da resolução [7].

O aumento da concentração do tetraborato de sódio proporcionou melhor resolução entre os picos coeluídos, mas por outro lado ocorreu um decréscimo significativo do sinal analítico. Este comportamento pode estar simplesmente relacionado à propriedade de absorção dos analitos. Altas concentrações do eletrólito podem alterar a absorvidade molar das espécies absorventes devido a grande proximidade entre os íons do eletrólito e as espécies responsáveis pela absorção.

A adição de β -CD ao eletrólito promoveu um aumento significativo na magnitude do sinal analítico, mas não foi obtido uma resolução completa entre os picos coeluídos. O mecanismo de separação para MEKC-CD está ilustrado na seção 1.4.6.1. Na fase aquosa as micelas e as CDs coexistem com pequena interação. O mecanismo de separação é baseado nas diferenças dos coeficientes de partição dos solutos entre as micelas e as CDs [8]. Quando a CD é adicionada ao eletrólito, analitos insolúveis em água distribuem-se entre as micelas e as CDs, reduzido consideravelmente sua permanência na fase aquosa. Com base nestas informações acredita-se que o aumento de sinal analítico observado para o sistema de eletrólito contendo CD pode estar relacionado diretamente com o aumento da solubilidade dos compostos investigados.

Outro parâmetro investigado foi o efeito da diluição da amostra no eletrólito de corrida. A mistura padrão contendo as hidrazonas foi diluída 1:1 v/v no eletrólito (contendo 50% acetonitrila) que continha SDS, tetraborato e β -CD. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 68.

Figura 68. Efeito da diluição da amostra no perfil da separação e na magnitude do sinal analítico. Mistura padrão $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ dissolvida no eletrólito (contendo 50 % de acetonitrila). Capilar de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm de comprimento total (com 50 cm até o detector); 10 kV x 2 s, 25 kV; $29,0^\circ\text{C}$ detecção em 360 nm. Eletrólito de corrida: 50 mmol L^{-1} SDS em 20 mmol L^{-1} tetraborato sódio contendo 15 mmol L^{-1} β -CD. 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.acroleína; 4.propionaldeído; 5.benzaldeído.

Quando a amostra foi diluída no eletrólito de corrida observou-se um aumento na resolução dos picos coeluidos (propionaldeído e acroleína). Este comportamento condiz com relatos da literatura.

Com a finalidade de aumentar a sensibilidade do sistema, a estratégia de pré-concentração conhecida como *stacking* mediado por adição de sal (vide seção 1.4.7.3.1.) foi avaliada. Para este estudo a amostra padrão contendo $100\ \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada hidrazona foi diluída (1:1 v/v) em eletrólito (contendo 50 % acetonitrila) e o cloreto de sódio foi adicionado com concentração final de $150\ \text{mmol L}^{-1}$. O resultado deste experimento está apresentado na Figura 69.

Figura 69. Efeito do *stacking* mediado por adição de sal. Mistura padrão ($100\ \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada hidrazona) dissolvida em eletrólito [eletrólito/acetonitrila (1:1 v/v)], Capilar de $75\ \mu\text{m d.i.} \times 72\ \text{cm}$ de comprimento total (com 50 cm até o detector); 10 kV x 2 s, 25 kV, $29,0\ ^\circ\text{C}$, detecção em 360 nm. Eletrólito: $50\ \text{mmol L}^{-1}$ SDS em $20\ \text{mmol L}^{-1}$ de tetraborato de sódio contendo $15\ \text{mmol L}^{-1}$ β -CD; 1.formaldeído; 2.acetaldeído; 3.acroleína; 4.propionaldeído; 5.benzaldeído.

Não foram observadas variações no perfil do eletroferograma com a adição de cloreto de sódio à amostra. Diferentes concentrações de cloreto de sódio foram avaliadas mas não resultaram em resultados satisfatórios.

Outra estratégia de pré-concentração avaliada foi o *sweeping* na ausência de fluxo eletroosmótico.

A primeira mudança feita no sistema para avaliar o *sweeping* foi o tipo de injeção, uma vez que na injeção eletrocinética, os solutos neutros são carregados para o interior do capilar somente em função do fluxo eletroosmótico. Como este tipo de estratégia envolve a ausência do fluxo, os solutos, necessariamente, deveriam ser introduzidos no capilar pelo modo de injeção hidrodinâmico. Devido à troca de equipamento, as condições otimizadas pré-estabelecidas foram novamente avaliadas, sendo apresentada na Figura 70 a separação das hidrazonas sob condições otimizadas.

Figura 70. Eletroferograma de uma mistura padrão de aldeídos-DNFH, modo de injeção hidrodinâmico. Concentração de cada hidrazona $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (dissolvida no eletrólito). Capilar de sílica fundida de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 58 cm comprimento total (50 cm até detector), 50 mbar x 1,5 s, 25 kV; 29°C , eletrólito: 50 mmol L^{-1} de SDS, 20 mmol L^{-1} borato, 15 mmol L^{-1} β -CD e 10% de metanol, detecção em 360 nm, 1.formaldeído; 2.acetaldeído, 3.acroleína; 4.propionaldeído, 5. acetona e 6. benzaldeído.

Para os testes com *sweeping* as seguintes condições experimentais foram utilizadas: o fluxo eletroosmótico foi eliminado utilizando-se um eletrólito de corrida com $\text{pH}=1,9$. A condutividade da mistura padrão foi ajustada com ácido fosfórico 200 mmol L^{-1} . Os resultados deste experimento estão apresentados na Figura 71.

Figura 71. Eletroferograma de uma mistura padrão aldeídos-DNFH mostrando o *sweeping*. Capilar de 75 μm d.i. x 58cm de comprimento total (com 50 cm até o detector), -25 kV; 29,0 °C detecção em 360 nm, eletrólito: 50 mmol L⁻¹ SDS em 20 mmol L⁻¹ de fosfato contendo 15 mmol L⁻¹ β -CD e 10% de metanol; 29,0 °C. A: 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de cada hidrazona sem ajuste de condutividade, 50 mBar x 1,5 s; B: 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de cada hidrazona com ajuste de condutividade, 50 mBar x 50 s. 1.formaldeído; 2.acetaldeído, 3.acroleína; 4.propionaldeído, 5. Acetona.

Devido a ausência de fluxo eletroosmótico a tensão aplicada no polo de injeção deve ser negativa, assim os analitos migram apenas influenciados em decorrência da interação com a micela negativa. Foi possível observar na Figura 71 A uma inversão da ordem de eluição dos picos, este comportamento pode estar relacionado com a interação analito-micela. Quando o tensoativo utilizado é o SDS, a micela migra em direção ao eletrodo positivo. O fluxo eletroosmótico transporta a solução em direção ao eletrodo negativo devido as cargas negativas na parede do capilar de sílica. O fluxo eletroosmótico é freqüentemente mais forte do que a migração das micelas sob condições básicas ou neutras, desta forma a micela aniônica também é transportada em direção ao eletrodo negativo com uma velocidade retardada [9], e os compostos que possuem maior interação com as micelas, conseqüentemente, apresentam um tempo de migração mais longo. Na ausência do fluxo eletroosmótico e polo de injeção negativo, o comportamento contrário é

esperado, os compostos com maior interação possuem menor tempo de migração.

Com relação a Figura 71 B foi possível observar que a mistura padrão sob condições de *sweeping* não produziu o resultado esperado, ganho de sinal de cerca de 5000, segundo relatos da literatura [10].

Destes estudos conclui-se que as melhores condições de separação para o modo de injeção eletrocinético foram: eletrólito contendo 50 mmol L⁻¹ SDS, 20 mmolL⁻¹ de tetraborato sódio e 15 mmolL⁻¹ de β-CD , 10 kV x 2 s, 25 kV, 29 °C, amostra diluída no eletrólito de corrida. Com relação ao modo hidrodinâmico os melhores resultados foram obtidas com eletrólito contendo: 50 mmol L⁻¹ SDS, 20 mmolL⁻¹ de tetraborato sódio, 15 mmolL⁻¹ de β-CD e 10% de metanol, 50 mbar x 1,5 s, 25 kV, 29 °C, amostra diluída no eletrólito de corrida.

7.2.2. Desempenho do método proposto

Como descrito na seção 1.4.3. na injeção eletrocinética, a amostra é introduzida no capilar como resultado da combinação entre as velocidades eletroforéticas e eletroosmótica. Para amostras neutras , como os aldeídos-DNFH, este tipo de injeção pode ser um fator limitante para a sensibilidade do sistema. Para o presente caso talvez o uso do modo de injeção hidrodinâmico proporcione melhores limites de detecção.

A. Modo de injeção eletrocinético

As Tabelas 21 e 22 apresentam alguns parâmetros avaliados para o método proposto, bem como a estimativa do limite de detecção e quantificação de cada aldeído livre.

Tabela 21. Coeficientes de variação dos tempos de migração, área e altura dos picos para cada aldeído-DNFH.

Aldeído –DNFH	C.V. do tempo de migração(%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	0,39	0,63	0,96
Acetaldeído	0,29	1,78	1,53
Propionaldeído	0,11	1,46	0,50
Acroleína	0,15	6,10	4,20
Benzaldeído	0,14	0,80	2,56

C.V. Coeficiente de variação (n= 5)

A curva de calibração foi construída com base nas alturas dos picos que apresentaram, com exceção de benzaldeído e formaldeído, menores coeficientes de variação.

Tabela 22. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção e quantificação para o sistema aldeído-DNFH. Modo de injeção eletrocínético.

Aldeído-DNFH [#]	Equação da curva de calibração	Coeficient e de correlação	Limite de detecção* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Limite de quantificação* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Formaldeído	Y= 141,0X -79,4	0,9980	0,6	2,0
Acetaldeído	Y= 170,9X - 113,6	0,9996	0,2	0,7
Propionaldeído	Y= 138,6X - 380,9	0,9941	2,0	6,7
Acroleína	Y= 132,0X - 191,8	0,9964	1,6	5,3
benzaldeído	Y= 1103,6X - 5087,6	0,9990	1,1	3,7

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura

[#] Curva de calibração de 5 – 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$

* limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre

B. Modo de injeção hidrodinâmico

As Tabelas 23 e 24 apresentam alguns parâmetros avaliados para o método proposto, bem como a estimativa do limite de detecção e quantificação de cada aldeído livre.

Tabela 23. Coeficientes de variação dos tempos de migração, área e altura dos picos para cada aldeído-DNFH. Modo de injeção hidrodinâmico.

DNFH-aldeído derivatizado	C.V. do tempo de migração(%)	C.V. da área do pico (%)	C.V. da altura do pico (%)
Formaldeído	2,07	2,00	12,58
Acetaldeído	1,25	1,46	7,94
Propionaldeído	1,38	1,12	4,38
Acroleína	0,69	1,33	9,38
Acetona	1,21	1,35	8,82
Benzaldeído	0,59	1,09	8,39
C.V. Coeficiente de variação (n= 5)			

Como mostra a Tabelas 23 os menores desvios foram obtidos com relação as áreas dos picos. A curva de calibração foi construída com base com na área dos picos.

A Tabela 24 apresenta as equações da curva de calibração, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação obtidos. O limite de detecção e quantificação foi determinado como descrito na literatura.

Tabela 24. Equações da curva de calibração, coeficiente de correlação e limite de detecção para o sistema aldeído-DNFH. Modo de injeção hidrodinâmico.

Aldeído-DNFH	Equação da curva de calibração [#]	Coeficiente de correlação	Limite de detecção* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Limite de quantificação* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Formaldeído	$Y = 2,71X + 0,51$	0,9993	0,14	0,47
Acetaldeído	$Y = 3,85X - 1,37$	0,9963	0,45	1,50
Propionaldeído	$Y = 3,09X - 2,61$	0,9920	0,82	2,73
Acroleína	$Y = 3,92X + 0,15$	0,9948	0,64	2,13
Acetona	$Y = 4,91X - 5,39$	0,9914	0,86	2,87
benzaldeído	$Y = 2,27X + 8,82$	0,9672	2,59	8,63

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base na literatura

[#] Curva de calibração de 1 – 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$

* limite de detecção e quantificação referentes ao aldeído livre

7.2.3. Aplicação do método

A amostra proveniente da emissão veicular foi coletada como descrito na seção 7.1.3. A Figura 72 apresenta o eletroferograma da amostra proveniente do escapamento de um veículo movido a álcool. Este sistema mostrou a presença de acetaldeído e formaldeído com concentrações estimadas em 6,1 ppmv e 3,1 ppmv respectivamente.

Figura 72. Eletroferograma da amostra proveniente da emissão veicular. A: mistura padrão ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) dissolvida em eletrólito–acetonitrila (1:1 v/v). B: Amostra coletada do escapamento de um veículo movido a álcool. Capilar de $75 \mu\text{m}$ d.i. x 72 cm de comprimento total (50 cm até o detector); 10 kV x 2 s, 25 kV; $29,0^\circ\text{C}$, detecção em 360 nm. Eletrólito: 50 mmol L^{-1} SDS contendo 20 mmol L^{-1} tetraborato sódio e 15 mmol L^{-1} β -CD. 1.formaldeído, 2.acetaldeído, 3. acroleína, 4.propionaldeído, 5.acetona e 6. benzaldeído. Volume de ar coletado: 7,5 L.

O sistema apresentou comportamento similar ao já observado anteriormente (Capítulo 3), uma maior concentração de acetaldeído em relação ao formaldeído. Os resultados obtidos com relação à concentração de formaldeído e acetaldeído, quando comparados ao método do bissulfito, apresentam uma discrepância significativa.

Um das alternativas para explicar este comportamento é a seqüência de amostragem. A coleta utilizando bissulfito de sódio foi feita primeiro com o motor frio. Um motor de combustão aspira um certo volume de ar que é misturado com o combustível vaporizado. A mistura ar-combustível deve ter uma relação adequada, a fim de que o oxigênio presente no ar seja suficiente para provocar a queima completa do combustível. Os produtos da combustão são expelidos pelo tubo de escapamento [11]. Normalmente, quando o motor está frio, uma parcela do combustível vaporizado condensa-se nas paredes do cilindro e não se queima. Essa parcela é, então lançada na atmosfera em sua forma natural (no presente caso como álcool), esta redução na emissão de aldeídos pode ser responsável pelo comportamento observado.

A amostra de ar *indoor* foi coletada utilizando cartuchos de octadecilsílica (C₁₈), como descrito na seção 7.1.3 Os resultados estão ilustrados na Figura 73.

Figura 73. Eletroferograma da amostra de ar do laboratório. Capilar de 75 μm d.i. x 58 cm de comprimento total (50 cm até o detector); 50 mbar x 5 s, 25 kV; 29,0 °C, detecção em 360 nm. Eletrólito: 50 mmol L⁻¹ de SDS, 20 mmol L⁻¹ tetraborato, 15 mmol L⁻¹ β -CD e 10% de metanol; 1.formaldeído, 2.acetaldeído, 3.acroleína, 4.propionaldeído, 5.acetona. A: mistura padrão (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e B: amostra proveniente do ar do laboratório . Volume de ar coletado: 203 L

O sistema apresentou um comportamento similar ao já observado anteriormente, uma maior concentração de formaldeído ($10,70 \pm 0,05$ ppbv) em relação ao acetaldeído ($3,6 \pm 0,1$ ppbv).

7.3. CONCLUSÕES

A separação dos aldeídos utilizando 2,4-dinitrofenilhidrazina como agente derivatizante e injeção eletrocínética, foi possível com a adição de β -CD ao eletrólito. A diluição da amostra no eletrólito proporcionou melhor resolução entre os picos da acroleína e propionaldeído. A adição de cloreto de sódio foi responsável pela recuperação do sinal analítico para o benzaldeído, mas produziu uma perda de resolução entre acroleína e propionaldeído. Devido a uma menor probabilidade de benzaldeído ser encontrado em amostras

ambientais, optou-se em trabalhar com a amostra diluída no eletrólito (50 mmol L⁻¹ SDS contendo 20 mmol L⁻¹ de tetraborato e 15 mmol L⁻¹ β-CD).

Com relação ao modo de injeção hidrodinâmica, conclui-se que os melhores resultados foram obtidos com eletrólito contendo 50 mmol L⁻¹ SDS, 20 mmol L⁻¹ de tetraborato, 15 mmol L⁻¹ β-CD e 10% de metanol, a amostra diluída no eletrólito. Melhores limite de detecção foram obtidos com o modo de injeção hidrodinâmico, consequência de um maior tempo de injeção 5 s.

As estratégias de pré-concentração avaliadas não apresentaram resultados satisfatórios.

A metodologia desenvolvida mostrou-se viável para amostras provenientes da emissão veicular, bem como mas amostras de ar *indoor*. A coleta de grandes volumes de amostra de ar viabilizou do método para a análise de traços.

O uso da MEKC associada a DNFH mostrou ser o método menos atrativo de todos os métodos avaliados, principalmente no que se refere ao tempo de análise (cerca de 20 minutos), rigorosa purificação do reagente, solventes e padrões e baixa sensibilidade. Por outro lado a rápida reação de derivatização e a possibilidade do uso de diferentes técnicas de amostragem podem ser as principais razões para o emprego da metodologia.

7.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bryan, R.J.; Hyde, D.L.; Levaggi, D.A.; Locke, D.C.; Rsmussen, R.A.; Warner, P.P.; *Methods for Air Sampling and Analysis*, 3rd ed., (J.P.Lodge, Jr., ed.), Lewis, Chelsea, MI, 1989, 293.
2. Vogel, M.; Büldt, ^a; Karst, U.; *Hydrazine Reagents as Derivatizing Agents in Environmental Analysis – A Critical Review*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2000**, 366, 781.
3. Vairavamurthy, A.; Roberts, J. M.; Newman, L.; *Methods for Determination of Low Molecular Weight Carbonyl Compounds in the Atmosphere: A Review*; *Atmos. Environ.*, **1992**, 26 A, 1965.
4. Shriner, R.L.; Fuson, R.C.; Curtin, D.Y.; *The Systematic Identification of Organic Compounds*, 5rd, John Wiley, New York, 1948, 253.
5. Zhou, X.; Mopper, K.; *Measurments of Sub-Parts-per- Billions Levels of Carbonyl Compounds in Marine Air by a Simple Cartidge Trapping Procedure Followed by Liquid Chromatography*, *Environ. Sci. Technol.*, **1990**, 24, 1482.

6. Mc Laughlin, G.M.; Weston, A.; Hauffe, K.D.; Capillary Electrophoresis Methods Development and Sensitivity Enhancement Strategies for the Separation of Industrial and Environmental Chemicals, *J. Chromatogr. A.*, **1996**, 744, 123.
7. Shihabi, Z.K.; Hinsdale, M.E.; Sample Matrix Effects in Micellar Eletrokinetic Capillary Electrophoresis, *J.Chromatogr. B*, **1995**, 669, 75.
8. Weinberger, R. Practical Capillary Electrophoresis, Academic Press, Inc.; San Diego, 1993, 173.
9. Terabe, S.; Micellar Electrokinetic Chromatography, Beckman, 1995. Branco,
10. Quirino J.P.; Terabe ,S.; Exceeding 5000-fold Concentration of Dilute Analytes in Micellar Electrokinetic Chromatography, *Science*, **1998**, 282, 465.
11. Branco, S.N.; Murgel, E.; Poluição do Ar, Editora Moderna, São Paulo, 1995.

CAPÍTULO 8

Conclusões

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho propôs cinco metodologias para a determinação de aldeídos de baixa massa molar em amostras ambientais, especificamente em amostras de ar.

Todas as metodologias desenvolvidas mostraram grande potencial para as análises, entretanto, todas apresentaram vantagens, desvantagens e limitações inerentes à própria técnica, ou a uma situação em particular.

Uma vez que o objetivo do trabalho foi avaliar a eletroforese capilar como técnica alternativa para determinação de aldeídos em amostras ambientais, as metodologias desenvolvidas foram avaliadas levando em consideração:

tempo de análise e reação

necessidade de purificação dos reagentes e solventes

limitações

limite de detecção

amostragem e aplicação

custo dos reagentes

tempo de análise e reação

Com relação ao tempo de análise todas as metodologias, com exceção do método da DNFH, mostram tempos inferiores a 10 minutos.

A reação de derivatização ocorreu em curto período de tempo para bissulfito, DNFH e HBA (inferior a 20 minutos), tempos mais longos para derivatização foram encontrados para o método do MBTH (1 hora) e DNSH (24 horas). O tempo de reação entre a DNSH e os aldeídos pode ser reduzido acidificando o meio reacional, sempre tendo cuidado com a quantidade de ácido adicionada, para evitar degradação do reagente e/ou produtos.

Necessidade de purificação dos reagentes e solventes

O método do MBTH e bissulfito não requerem nenhum tipo de purificação. HBA e DNSH requerem a utilização de solventes purificados. O método mais crítico com relação a purificação foi a DNFH (purificação do solvente, reagente e padrões).

limitações

Todos os métodos apresentaram algum tipo de limitação. A principal limitação do método bissulfito é a oxidação do reagente na presença de oxigênio, mas o problema pode ser controlado com amostragens em banho de gelo e adição de um estabilizante à solução absorvente. Com relação ao MBTH é observado um decréscimo da sensibilidade em função do aumento da cadeia carbônica. No método da DNSH o reagente e as hidrazonas formadas podem sofrer degradação na presença de água. O uso de cartuchos de octadecilsílica (C_{18}) e ácido tricloroacético, no processo de coleta, diminuem consideravelmente o efeito da degradação. Com relação a DNFH, o reagente e as hidrazonas podem sofrer degradação na presença de NO_2 , O_3 e luz. Afim de evitar este processo, as amostragens devem ser feitas utilizando filtro de iodeto de potássio na ausência de luz. No método do HBA, a degradação das hidrazonas está relacionado com presença de luz, aquecimento e meio reacional. A derivatização deve ser feita à temperatura ambiente, em meio de solvente orgânico/água e na ausência de luz.

Limite de detecção

Todas as metodologias, com exceção da DNFH ($\mu g\ mL^{-1}$), apresentaram boa sensibilidade com limites de detecção na faixa de $ng\ mL^{-1}$.

Amostragem e aplicação

Os métodos do bissulfito e MBTH utilizam *impingers* para a coleta, enquanto DNSH e HBA utilizam cartuchos sólidos. As coletas com DNFH podem ser feitas tanto em *impingers* como em cartuchos.

De uma forma geral, pode-se concluir que a eletroforese capilar utilizando os modos FSCE e MEKC, com diferentes reagentes derivatizantes, forneceu resultados bastantes interessantes, mostrando ser uma técnica bastante promissora para a difícil tarefa que é a determinação e análise de aldeídos em amostras ambientais.

Custo dos reagentes

Com relação ao custo dos reagentes, sem dúvida o bissulfito de sódio é o reagente de menor custo (100 g - \$12.90). Em segundo lugar está a DNFH (10 g - \$11.70). MBTH e HBA possuem preços semelhantes (5 g - \$23.90 e \$23.20 respectivamente). O reagente de maior custo é a DNSH (5 g - \$147.00)

A escolha do reagente deve ser feita de forma abrangente, considerando além do custo, o tipo de matriz, tempo de reação e análise, pureza, sensibilidade, entre outras.

A descrição de todos os métodos avaliados está apresentada na Tabela 25.

Tabela 25. Sumário dos métodos desenvolvidos para a análise de aldeídos por CE

Reagente	Método analítico	Limite de detecção instrumental	Vantagens	Desvantagens	Aplicação
DNSH	FSCE / UV FSCE / LIF	2,1 – 14,1 ng mL ⁻¹ 0,96 – 2,6 ng mL ⁻¹	Boa sensibilidade e o reagente pode ser utilizado tanto para detecção de absorbância como por fluorescência. A detecção por fluorescência torna o método mais sensível.	Degradação dos produtos e/ou reagente em presença de água, é necessária purificação dos solventes.	Amostras de ar <i>indoor</i> e <i>outdoor</i> (detecção LIF) Coleta da amostra em cartuchos C ₁₈ .
Bissulfito	FSCE / UV detecção indireta	3,4 – 36,9 ng mL ⁻¹	Simples, rápido e eficiente, fácil preparo e manuseio da amostra. boa sensibilidade.	Oxidação do reagente na presença de oxigênio, necessária adição de um estabilizante na solução absorvente.	Emissão veicular e ar <i>indoor</i> . Coleta da amostra em <i>impingers</i> .
HBA	FSCE / UV	2,7 – 8,8 ng mL ⁻¹	Rápido, simples, boa sensibilidade.	Degradação dos produtos na presença de água, luz e aquecimento. Purificação do solvente.	Amostras de ar <i>indoor</i> Coleta da amostra em cartuchos C ₁₈ .
DNFH	MEKC / UV	0,14 – 2,59 µg mL ⁻¹	Procedimento padrão internacional, larga variedade de aplicações, estabilidade do reagente e hidrazonas.	Purificação do reagente, solvente e padrões, tempo de análise superior a 15 min, sofre degradação por NO ₂ e O ₃ .	Emissão veicular e amostras de ar <i>indoor</i> Coleta da amostra em cartuchos C ₁₈ e <i>impingers</i> .
MBTH	MEKC / UV	3,1 – 21,1 ng mL ⁻¹	Simples, rápido, boa sensibilidade e não requer purificação.	Decréscimo da sensibilidade em função do aumento da cadeia carbônica.	Amostras de ar <i>indoor</i> e água de chuva. Coleta da amostra em <i>impingers</i> .

8.1. PERSPECTIVAS FUTURAS

A próxima etapa do trabalho seria avaliar os métodos desenvolvidos dando ênfase na parte ambiental. Avaliar os sistemas de pré-concentração utilizados durante a coleta, *impingers* e cartuchos sólidos, produção e calibração de padrões gasosos, avaliar a eficiência de coleta, e aplicação do melhor método a amostras reais.

ANEXO I

Exemplo do cálculo da concentração de aldeído atmosférico.

Volume de ar amostrado: 131 L

Volume corrigido a 25 °C = 24,04 L (CNTP)

Concentração do aduto após amostragem = $0,307 \mu\text{g mL}^{-1}$

Volume de coleta (ou extração): 10 mL

a. massa do aduto no volume de coleta: $3,07 \times 10^{-6} \text{ g}$

164,16 g do aduto corresponde 30,03 g de formaldeído

$$3,07 \times 10^{-6} \text{ g} \quad \quad \quad x$$

$$x = 5,62 \times 10^{-7} \text{ g de formaldeído}$$

1 mol de formaldeído nas CNTP 30,03 g 24,04 L

$$5,62 \times 10^{-7} \text{ g} \quad \quad \quad y$$

$$y = 4,49 \times 10^{-7} \text{ L}$$

b. conversão em ppbv

$$4,49 \times 10^{-7} \text{ L de formaldeído} \quad \quad 131 \text{ L amostragem}$$

$$W \quad \quad \quad 10^9 (\text{ppb})$$

$$W = 3,43 \text{ ppbv}$$

Calculo do ganho de sinal no sistema de pré-concentração em MEKC

O ganho de sinal foi calculado com base no limite de detecção considerando a situação em foi adicionada à amostra tetraborato de sódio (concentração final 30 mmol L⁻¹) contra a situação onde a amostra foi diluída em 0,05% de MBTH. Em cada caso o limite de detecção foi estimado para S/N=3.