

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS QUANTITATIVOS PARA A DETERMINAÇÃO DE 2,4-DINITROFENILHIDRAZONAS (DNFHO) DE ALDEÍDOS E CETONAS

Maurício X. Coutrim * (ULTRACQUÍMICA, CP 92, 09380 - Mauá-SP)
Carol H. Collins LUNICAMP - IO, CP 6154, 13100 - Campinas-SP

ABSTRACT

EVALUATION OF THE QUANTITATIVE METHODS TO THE DETERMINATION OF 2,4-DINITROPHENYLHYDRAZONES (DNFHO) OF ALDEHYDES AND KETONES

The aldehydes and ketones have been separated in this work, as DNFH, by means Liquid Chromatography of Reversed Phase (HPLC-RP) and the following quantitative methods were evaluated: area normalization, corrected area normalization, internal standardization, external standardization and external calibration. Among these quantitative methods, external calibration presented the lowest standard deviation.

I - INTRODUÇÃO

Os aldeídos, principalmente o formaldeído e a acroleína, causam grande prejuízo à saúde humana. Mesmo quando presentes na atmosfera a nível de traços podem provocar sintomas tais como: letargia, depressão e irritabilidade, além da ação carcinogênica do formaldeído. A ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) estabelece que os TLV's (Threshold Limit Values) para o formaldeído, acetaldeído e acroleína são respectivamente 2ppm, 100ppm e 0,1ppm.

No Brasil, particularmente nas grandes cidades, a utilização de álcool etílico hidratado como combustível aumenta a concentração de acetaldeído no ar atmosférico, enquanto que em países que utilizam o metanol como combustível ocorre um aumento na concentração de formaldeído na atmosfera.

Os aldeídos e cetonas de baixo peso molecular geram radicais muito reativos e por isso têm grande importância na formação do "smog" fotoquímico (processo de fotooxidação do ar atmosférico) provocando, entre outras coisas, o surgimento de "chuvas ácidas".

Como os aldeídos e cetonas, mesmo a níveis de traços, são potencialmente perigosos, torna-se necessário o emprego de um método quantitativo que seja ao mesmo tempo preciso e exato.

Neste trabalho os aldeídos e cetonas, como DNFHO, são separados por cromatografia líquida de fase reversa (CLAE-FR) e quantificados pelos métodos de normalização de área, normalização de área corrigida, padronização interna, padronização externa e calibração externa.

* A quem deve ser enviadas as correspondências.

A concentração de cada componente da amostra, em porcentagem (X C_i) ou em µg/L (C_i), foi calculada a partir das equações apresentadas abaixo:

NORMALIZAÇÃO DE ÁREA *

$$X C_i = \frac{A_i \cdot 100}{A_t} \quad (1)$$

NORMALIZAÇÃO DE ÁREA CORRIGIDA **

$$X C_i = \frac{A_i \cdot Rf_i \cdot 100}{\sum_{i=1}^n (A_i \cdot Rf_i)} \quad (2)$$

Onde: $Rf_i = \frac{F_{i,p} \cdot A_e}{A_{i,p}} \quad (3)$

PADRONIZAÇÃO INTERNA **

Padrão interno = DNFHO de benzaldeído

$$X C_i = \frac{m_{b,i} \cdot A_{i,a} \cdot Rf_i \cdot 100}{m_a \cdot A_{b,a}} \quad (4)$$

Onde: $Rf_i = \frac{m_{i,p} \cdot A_{b,p}}{A_{i,p} \cdot m_{b,p}} \quad (5)$

PADRONIZAÇÃO EXTERNA **

$$C_i = A_{i,a} \cdot Rf_i \quad (6)$$

Onde: $Rf_i = \frac{C_p}{A_p} \quad (7)$

LEGENDA

- A=área do pico no cromatograma
 - i=componente i
 - t=total
 - Rf=fator de resposta
 - p=solução padrão
 - m=massa
 - a=amostra
 - b=padrão interno
 - C=concentração
 - k=coeficiente linear da curva de calibração
 - w=inverso do coeficiente angular da curva de calibração
- A curva de calibração é obtida plotando-se as concentrações do componente de interesse, nas soluções padrões, versus as áreas dos picos nos cromatogramas relativas àquelas concentrações.

III - RESULTADOS

Os resultados obtidos são apresentados na tabela II.

TABELA II - RESULTADOS OBTIDOS COM O EMPREGO DOS DIVERSOS MÉTODOS QUANTITATIVOS - COMPARAÇÃO DOS DESVIOS PADRÕES.

| MÉTODO | FB | FC | FE | FF | FG |
|----------------|------|------|------|------|------|
| FORMALDEÍDO | 0,47 | 7,76 | 0,41 | 1,79 | 0,49 |
| ACETALDEÍDO | 1,19 | 7,11 | 1,39 | 1,97 | 1,24 |
| ACETONA | 0,49 | 3,45 | 0,52 | 0,87 | 1,29 |
| PROPIONALDEÍDO | 0,63 | 4,94 | 0,68 | 1,77 | 1,67 |
| n-BUTILALDEÍDO | 1,56 | 6,86 | 1,94 | 0,88 | 1,27 |
| BENZALDEÍDO | 1,12 | 4,94 | 1,09 | 0,36 | 0,40 |

LEGENDA: FB = MÉTODO DE NORMALIZAÇÃO DE ÁREA; FC = MÉTODO DE NORMALIZAÇÃO DE ÁREA CORRIGIDA; FE = MÉTODO DE PADRONIZAÇÃO INTERNA; FF = MÉTODO DE PADRONIZAÇÃO EXTERNA; FG = MÉTODO DE CALIBRAÇÃO EXTERNA.

NOTAS: - PARA AS DETERMINAÇÕES EM TRIPLÍCITOS UTILIZAM-SE AS REPOSIÇÕES 264, 265 E 266/90; - PARA AS CURVAS DE CALIBRAÇÃO DE "CP" UTILIZAM-SE AS REPOSIÇÕES 264, 265, 266 E 266/90; - A DNFHO DE BENZALDEÍDO FOI UTILIZADA COMO PADRÃO INTERNO EM "PI".

IV - CONCLUSÃO

- 1) Todos os métodos quantitativos testados apresentam boa repetibilidade.
- 2) A correção da resposta do detector por um fator pré determinado melhora os resultados de concentração obtidos.
- 3) A DNFHO de benzaldeído responde de maneira diferenciada ao detector, comparada às demais. Constatou-se que essa espécie absorve o máximo de luz a 381nm. Diferentemente das outras DNFHO testadas, essa espécie absorve menos luz a 365nm devido ao fato de apresentar ressonância eletrônica em sua estrutura molecular.
- 4) A DNFHO de benzaldeído não é indicada para ser utilizada como padrão interno quando se trabalhar a 365nm.
- 5) O método da calibração externa forneceu os melhores resultados, porém é o método mais trabalhoso.

V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Warner, H.; Anal. Chem. (1970), 42, 499A.
- 2- Sax, N.I.; "Dangerous Properties of Industrial Materials", Van Nostrand Reinhold Company, 6ª ed., N. York (1986).
- 3- Grosjean, D.; Miguel, A.H. e Tavares, T.M.; Atmospheric Environment (1970), 24E, 101.
- 4- Newman, A.R.; Anal. Chem. (1970), 42, 847A.
- 5- Tanner, R.L.; Miguel, A.H.; Andrade, J.B.; Gaffney, J.S. e Streit, G.E.; Environ. Sci. Technol. (1978), 12, 1026.
- 6- Johnson, E.L. e Stevenson, R.; "Basic Liquid Chromatography", Varian Associates, Inc., Palo Alto (1978).
- 7- "Varian 4290 Integrator Operator Manual", Varian Associates, Inc., Palo Alto (1985).
- 8- Collins, C.H. e Braga, G.L.; "Introdução a Métodos Cromatográficos", Ed. Unicamp, 1ª ed., Campinas (1987).

II - PARTE EXPERIMENTAL

II.1- EQUIPAMENTO UTILIZADO

- bomba ALTEX, tipo pistão, mod. 110A;
- válvula de injeção RHEODYNE, mod. 7010, com loop de 10µL;
- detector SCHEFFEL, UV-Visível variável, mod. 770;
- registrador/integrador WATERS, mod. 740;
- coluna ZORBAX-ODS (5,5µm) de 250 x 4,6mm (DU PONT);

II.2- O MÉTODO QUALITATIVO

Os aldeídos e cetonas foram derivatizados com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFHi) recrystalizada em metanol (o qual foi purificado com DNFHi), conforme reação abaixo:



Os derivados assim obtidos foram purificados por recrystalização em etanol 95%, v/v, e a pureza destes foi verificada através dos pontos de fusão e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), eluindo-os com acetonitrila/água, 65:35, v/v, através da coluna ZORBAX-ODS, com detecção a 365nm.

II.3- OS MÉTODOS QUANTITATIVOS

Para as avaliações realizadas empregou-se 7 separações de soluções padrões, contendo 2,4-dinitrofenilhidrazonas (DNFHO) a várias concentrações, conforme apresentado na tabela I.

TABELA I - CONDIÇÕES DE ANÁLISE DAS SEPARAÇÕES EFETUADAS PELA COLUNA ZORBAX-ODS UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA

| SEPARAÇÃO Nº | 264/90 | | 265/90 | | 266/90 | | 266/90 | | 266/90 | |
|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | IN | OUT | IN | OUT | IN | OUT | IN | OUT | IN | OUT |
| INÍCIO TESTE (s) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| FIN. INÍCIO (s) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| FASE INÍCIO | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV | ACTV/INACTV |
| COMPOSIÇÃO | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 | 65:35 |
| VAZÃO (µL/min) | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| INTECÇÃO (s) | 365 | 365 | 365 | 365 | 365 | 365 | 365 | 365 | 365 | 365 |
| SENSIBILIDADE (µg) | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| VELAC. ORTO (cm/min) | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| REPRODUTIBILIDADE | 120 | 64 | 64 | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 | 120 |

LEGENDA: µ = UNIDADE DE ABORDAGEM.

CONCENTRAÇÃO TEÓRICA DAS DNFHO TESTADAS

| DNFHO DE | DNF. TESTE C1 | DNF. TESTE C2 | DNF. TESTE C3 | DNF. TESTE C4 | DNF. TESTE C5 | DNF. TESTE C6 |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1- FORMALDEÍDO | 71.0 | 20.4 | 21.3 | 1.4 | 2 | 7.1 |
| 2- ACETALDEÍDO | 70.0 | 20.0 | 21.0 | 1.4 | 0 | 7.0 |
| 3- ACROLEÍNO | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 4- ACETONA | 93.0 | 27.3 | 27.9 | 1.6 | 4 | 9.3 |
| 5- PROPIONALDEÍDO | 82.5 | 23.8 | 24.7 | 1.6 | 5 | 8.2 |
| 6- BUTIRALDEÍDO | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 7- n-BUTILALDEÍDO | 74.0 | 22.6 | 22.2 | 1.4 | 0 | 7.4 |
| 8- BENZALDEÍDO | 71.5 | 22.6 | 21.4 | 1.4 | 3 | 7.1 |