

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**

**“DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE COMPOSTOS  
PERALOGENADOS DO TIPO  $C_xBr_yCl_z$  (onde  $x = 1$  ou  $2$ ;  
 $y + z = 4$  ou  $6$ ) POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA  
EFICIÊNCIA”**

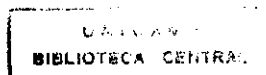


**Marcelo Antônio Morgano**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carol Hollingworth Collins**

**Campinas**

**1996**



*DEDICO ESTE TRABALHO*

*Aos meus pais e irmãos,  
pelo apoio e alegria em todos  
os momentos.*

## **Agradecimentos**

- À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carol Hollingworth Collins, em especial, pela orientação, dedicação e pela amizade;
- À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Isabel Cristina Sales Fontes Jardim, pela atenção e ricas sugestões;
- Ao Prof. Dr. Kenneth E. Collins pelo apoio durante a elaboração da tese;
- À Dilza pelo incentivo e amizade;
- À Soninha e Tânia, pela amizade e colaboração durante todo o trabalho;
- Ao pessoal do grupo C<sup>2</sup>B, pela convivência;
- Ao CNPq, pela bolsa concedida;
- Ao Instituto de Química, pela oportunidade.

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
I- INTRODUÇÃO.....	1
I.1 - Importância do estudo de compostos peralogenados.....	1
I.1.1 - Revisão bibliográfica sobre compostos peralogenados.....	1
I.2 - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	9
I.2.1 - Parâmetros cromatográficos para avaliação do sistema.....	9
I.2.2 - Separação dos componentes da amostra.....	14
I.3 - Detecção indireta em cromatografia líquida de alta eficiência.....	17
II- OBJETIVOS.....	19
III- PARTE EXPERIMENTAL.....	20
III.1- Materiais.....	20
III.1.1 - Reagentes e solventes.....	20
III.1.2 - Coluna empregada.....	21
III.1.3 - Instrumentação e materiais.....	21
III.2 - Avaliação da coluna cromatográfica.....	22
III.2.1 - Recuperação da coluna.....	22
III.2.2 - Escolha da mistura para avaliar a coluna cromatográfica....	22
III.2.3 - Qualidade da coluna cromatográfica.....	23

III.2.4 - Escolha da vazão ótima.....	24
III.3 - Resultados da avaliação da coluna cromatográfica.....	24
III.4 - Avaliação de detecção indireta.....	27
IV - ANÁLISE QUALITATIVA DOS COMPOSTOS PERALOGENADOS...	29
IV.1 - Preparação dos padrões.....	29
IV.2 - Análise qualitativa.....	30
IV.3 - Resultados e discussão da análise qualitativa.....	30
V - DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DOS COMPOSTOS PERALOGENADOS .....	37
V.1 - Determinação por calibração externa.....	37
V.1.1 - Preparo das soluções.....	37
V.1.2 - Cálculo das precisões das concentrações.....	39
V.1.3 - Procedimento para análise cromatográfica.....	40
V.1.4 - Resultados e discussão.....	41
V.2 - Determinação por padrão interno.....	52
V.2.1 - Escolha do padrão interno.....	52
V.2.2 - Construção das curvas analíticas para CCl <sub>4</sub> , CBr <sub>4</sub> , C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> , C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub> usando CHCl <sub>3</sub> como padrão interno (PI).....	54
V.2.3 - Resultados e discussão das curvas analíticas usando PI.....	57
VI - CONCLUSÕES.....	65
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

**LISTA DE FIGURAS**

I.1	Cromatograma obtido por MURTA (1982) com detecção simultânea de uma mistura de compostos peralogenados.....	03
I.2	Cromatogramas obtidos por CLAE, da mistura padrão, para se observar a resposta relativa do detector de ultravioleta em dois comprimentos de onda.....	04
I.3	Cromatograma obtido por BERTRAN (1987) pela técnica de CG para amostra de $CBr_4/CCl_4$ irradiada com 160kGy.....	06
I.4	Cromatograma obtido por LEONE (1988) com coluna Ultrasphere ODS na separação da mistura dos peralogenados padrões.....	08
I.5	Cromatograma mostrando os termos necessários para o cálculo dos parâmetros cromatográficos.....	10
I.6	Curva da equação de van Deemter.....	13
I.7	Medida do fator de assimetria ( $As_{10}$ ) de um pico, tomada a 10% da altura.....	14
I.8	I - Álcoois alifáticos; II - Ácidos carboxílicos.....	18
III.1	Mistura padrão usada na avaliação da coluna cromatográfica.....	25
III.2	Curva de van Deemter experimental.....	26
III.3	Espectros na região de UV (190 a 300 nm) para os compostos peralogenados (1 mg/mL), metanol e ftalato 1 mM.....	27
III.4	Cromatograma mostrando compostos peralogenados detectados pelo método indireto.....	28
IV.1	Sublimador a vácuo, com sistema de refrigeração.....	29
IV.2	Resposta relativa do detector de absorvância no UV de compostos peralogenados obtidos por MURTA (1982).....	31

IV.3	Espectro na região do UV (190 a 300 nm) para metanol.....	32
IV.4	Cromatograma obtido na separação de 7 compostos peralogenados.....	33
IV.5	Cromatograma obtido na separação dos peralogenados usando-se FM MeOH:H <sub>2</sub> O 80:20 v/v.....	34
IV.6	Cromatograma obtido na separação dos peralogenados usando-se FM MeOH:H <sub>2</sub> O 70:30 v/v.....	34
IV.7	Cromatograma obtido por QUEIROZ (1995) na separação dos compostos peralogenados com acoplamento de três colunas em série.....	36
V.1	Cromatograma dos compostos usados na análise quantitativa.....	40
V.2	Critério de triangulação para o cálculo manual da área (A) dos picos resolvidos.....	41
V.3	Determinação da faixa dinâmica para CBr <sub>4</sub> .....	43
V.4	Determinação da faixa dinâmica linear para CBr <sub>4</sub> .....	43
V.5	Determinação da faixa dinâmica para CCl <sub>4</sub> .....	45
V.6	Determinação da faixa dinâmica linear para CCl <sub>4</sub> .....	45
V.7	Determinação da faixa dinâmica para C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub> .....	47
V.8	Determinação da faixa dinâmica linear para C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub> .....	47
V.9	Determinação da faixa dinâmica para C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> .....	49
V.10	Determinação da faixa dinâmica linear para C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> .....	49
V.11	Cromatograma mostrando formato irregular dos picos.....	51
V.12	Cromatograma mostrando peralogenados e clorofórmio.....	53
V.13	Cromatograma mostrando peralogenados e bromofórmio.....	53
V.14	Estudo da faixa linear do CHCl <sub>3</sub> , usado como padrão interno.....	54
V.15	Curva analítica para o CBr <sub>4</sub> usando CHCl <sub>3</sub> como PI .....	58
V.16	Ra x Rm para CBr <sub>4</sub> .....	58
V.17	Curva analítica para o CCl <sub>4</sub> usando CHCl <sub>3</sub> como PI.....	59

V.18	Ra x Rm para $\text{CCl}_4$ .....	60
V.19	Curva analítica para o $\text{C}_2\text{Br}_4$ usando $\text{CHCl}_3$ como PI.....	61
V.20	Ra x Rm para $\text{C}_2\text{Br}_4$ .....	61
V.21	Curva analítica para o $\text{C}_2\text{Cl}_4$ usando $\text{CHCl}_3$ como PI.....	62
V.22	Ra x Rm para $\text{C}_2\text{Cl}_4$ .....	63



## LISTA DE TABELAS

I.1	Concentração mínima detectável para os detectores de ionização de chama e de fotoionização.....	03
I.2	Tempos de retenção experimentais e interpolados para as séries $CBr_xCl_y$ e $C_2Br_xCl_y$ ( $x + y = 4$ ) obtidos por VALENTE.....	05
III.1	Avaliação da coluna Ultrasphere-ODS.....	25
III.2	Determinação da vazão ótima de fase móvel.....	26
V.1	Soluções de partida para determinação da faixa dinâmica linear dos compostos peralogenados.....	38
V.2	Soluções para determinação da faixa dinâmica linear dos compostos peralogenados, preparados por diluição das soluções da Tabela V.1.....	39
V.3	Determinação da faixa dinâmica linear do $CBr_4$ .....	42
V.4	Determinação da faixa dinâmica linear do $CCl_4$ .....	44
V.5	Determinação da faixa dinâmica linear do $C_2Br_4$ .....	46
V.6	Determinação da faixa dinâmica linear do $C_2Cl_4$ .....	48
V.7	Limite de detecção dos peralogenados no detector de UV/Visível.....	51
V.8	Soluções de estoque dos peralogenados para o método de padrão interno	55
V.9	$CBr_4$ - Soluções para o método de PI.....	56
V.10	$C_2Br_4$ - Soluções para o método de PI.....	56
V.11	$C_2Cl_4$ - Soluções para o método de PI.....	56
V.12	$CCl_4$ - Soluções para o método de PI.....	57
V.13	Resultados para $CBr_4$ usando $CHCl_3$ como PI.....	57
V.14	Resultados para $CCl_4$ usando $CHCl_3$ como PI.....	59
V.15	Resultados para $C_2Br_4$ usando $CHCl_3$ como PI.....	60
V.16	Resultados para $C_2Cl_4$ usando $CHCl_3$ como PI.....	62

## Resumo

**Título:** Determinação Quantitativa de Compostos Peralogenados do Tipo  $C_xBr_yCl_z$  (onde  $x = 1$  ou  $2$ ;  $y + z = 4$  ou  $6$ ) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

**Autor:** Marcelo Antônio Morgano

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carol Hollingworth Collins

Foi desenvolvido um método para determinação quantitativa de compostos peralogenados do tipo  $C_xBr_yCl_z$  (onde  $x = 1$  ou  $2$ ;  $y + z = 4$  ou  $6$ ) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

O grande interesse em se determinar os compostos peralogenados por CLAE é devido poder realizar as determinações a temperatura ambiente, evitando decomposições que, possivelmente, ocorrem nas determinações por cromatografia gasosa.

Os compostos foram determinados usando-se uma coluna de fase reversa C-18 com partículas de 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro médio e uma fase móvel polar de metanol/água. O detector usado foi espectrofotométrico de absorção no UV/Visível com comprimento de onda variável com detecção em 220 nm.

As condições de análise foram inicialmente otimizadas para a separação de uma mistura de compostos padrões de  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_6$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$  (1,2-dibromotetracloroetano) e  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  após a recuperação da coluna de fase reversa.

Foram traçadas curvas analíticas para alguns dos compostos peralogenados pela técnica de calibração externa e por padronização interna, usando  $\text{CHCl}_3$  como padrão interno.

Observou-se que ocorre desvio de linearidade para os compostos peralogenados nas concentrações mais elevadas, sendo necessário estabelecer a faixa de concentração adequada. O método usado para o cálculo manual de áreas por triangulação foi adequado às condições realizadas. As curvas analíticas obtidas permitiram interpolações de áreas com reprodutibilidade menor que 5%.

Os limites de detecção obtidos para a análise de  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  e  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$  foram, respectivamente, 2 mg/L, 4 mg/L, 1 mg/L, 0,9 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L e 2 mg/L.

## ABSTRACT

**Title:** “Quantitative Determination of Perhalogenated Compounds with the general formula  $C_xBr_yCl_z$  ( where  $x = 1$  or  $2$  and  $y + z = 4$  ou  $6$ ) by High Performance Liquid Chromatography”

**Author:** Marcelo Antônio Morgano

**Supervisor:** Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carol Hollingworth Collins

A method for quantifying perhalogenated compounds with the general formula  $C_xBr_yCl_z$  ( where  $x = 1$  or  $2$  and  $y + z = 4$  or  $6$ ) by high performance liquid chromatography (HPLC) was developed. The interest in such a determination by HPLC is related to the use of ambient conditions, avoiding possible compound decomposition from the higher temperatures used in gas chromatography.

The determinations were carried out on a reversed phase (C-18) column with a methanol-water mobile phase. Detection was at 220 nm, using a variable wavelength UV/Vis detector. The analytical conditions for separation of  $CCl_4$ ,  $CBrCl_3$ ,  $CBr_2Cl_2$ ,  $CBr_4$ ,  $C_2Cl_4$ ,  $C_2Br_4$ ,  $C_2Br_6$ ,  $C_2Br_2Cl_4$  ( 1,2-dibromotetracloroetano) e  $C_2Cl_6$  were optimized after initial recuperation of the column.

Using these conditions, analytical curves were obtained using both the external standard and the internal standard ( $CHCl_3$ ) methods. The detection limits for  $CBr_4$ ,  $CCl_4$ ,  $C_2Br_4$ ,  $C_2Cl_4$ ,  $CBrCl_3$ ,  $C_2Cl_6$  e  $C_2Br_2Cl_4$  were, respectively, 2, 4, 1, 0,9, 1, 5 e 2  $mg.L^{-1}$ .

Some compounds showed deviation from linearity at the higher concentrations, requiring care in establishing the proper concentration range. Using manual calculation of areas (triangulation) interpolation of areas give a reproducibility of less than 5%.

## I - INTRODUÇÃO

### I.1 - Importância do estudo de compostos peralogenados

Peralogenados são compostos halogenados, não hidrogenados, derivados de hidrocarbonetos. A aplicação para estes compostos se dá no estudo de sistemas onde reações radicalares entre peralogenados são induzidas por fótons ou calor, nêutrons ou raios gama, como: radiólise de  $\text{CCl}_4$ , de  $\text{CBr}_4(\text{s})$ , de  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  e de  $\text{CCl}_4/\text{Br}_2$  ou fotólise de  $\text{CBr}_4$  em presença de  $\text{CCl}_4$ . As informações qualitativas e quantitativas sobre as espécies que são formadas nesses sistemas são importantes fontes de dados para a interpretação da química e dos mecanismos das reações que as originaram. Como exemplo pode-se citar:

- novas rotas de síntese de misturas de haletos e peraleto orgânicos mais complexos a partir de haletos mais simples;
- a destruição destes haletos, mineralizando-os, em sistemas onde eles são indesejáveis, como nas águas potáveis;
- como iniciadores de reações de radicais livres e íon carbônio, pois a ligação C-halogênio tendo energia de ligação menor que C-H e C-C, quebra-se preferencialmente sob o efeito da radiação gama (BERTRAN, 1987).

#### I.1.1 - Revisão bibliográfica sobre compostos peralogenados

Extensas revisões bibliográficas sobre este assunto podem ser encontrados em trabalhos publicados por LEONE (1988), BERTRAN (1987), VALENTE (1984), BONATO (1983) e MURTA (1982), do grupo de radioquímica e cromatografia líquida do Instituto de Química da UNICAMP.

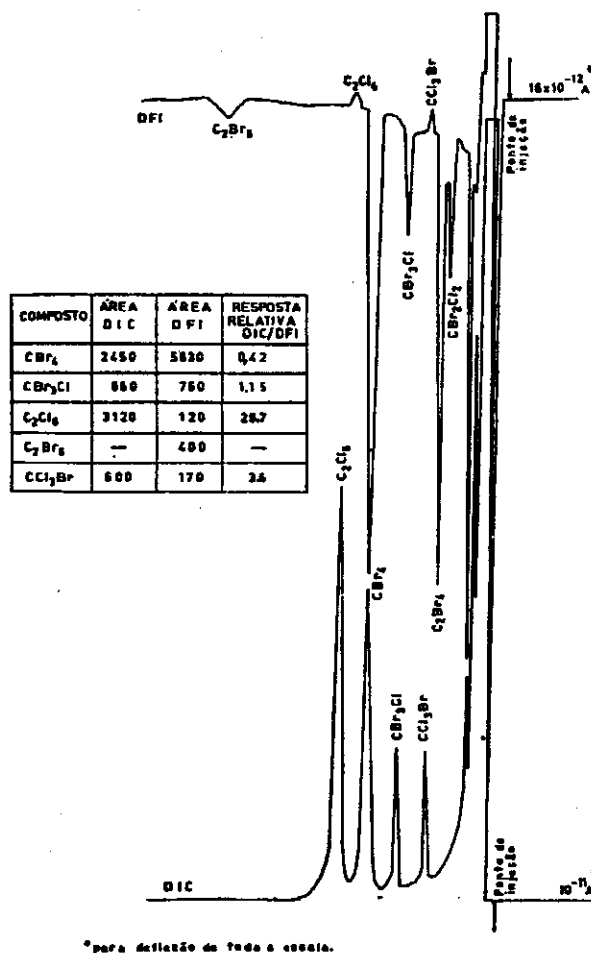
Entre os primeiros trabalhos, utilizando cromatografia gasosa, para a separação dos peralogenados, SISTEK e URBAN (1970) encontraram como produtos de radiólise de soluções de  $\text{CBr}_4$  em  $\text{CCl}_4$  os seguintes compostos:  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CBr}_3\text{Cl}$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_6$ ,  $\text{C}_2\text{BrCl}_5$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_3\text{Cl}_3$ ,  $\text{CBr}_4\text{Cl}_2$ ,  $\text{CBr}_5\text{Cl}$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_6$ . O tempo de retenção para os compostos foi dado em termos de retenção relativa. O composto  $\text{C}_2\text{Br}_6$ , apesar de citado como produto, não aparece nos cromatogramas apresentados. É de se supor que a presença deste composto é uma extrapolação dos tempos de retenção.

SCHWARTZ e FIRESTONE (1962), ao estudarem a radiólise de  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ , encontraram os seguintes peralogenados por CG:  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_4$  e  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ . Sugeriram a presença de outros 4 compostos:  $\text{CBr}_3\text{Cl}$ ,  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{C}_2\text{BrCl}_5$  e  $\text{C}_2\text{Br}_3\text{Cl}_3$ , mas não confirmaram, provavelmente devido à falta destes padrões que são difíceis de serem encontrados na forma pura.

Em trabalho realizado na UNICAMP, MURTA (1982) determinou a concentração mínima detectável para alguns compostos peralogenados, por CG, através de injeções de soluções padrão, com operação de dois detectores em série, detector de ionização em chama (DIC) e de fotoionização (DFI), considerando as áreas obtidas tais que a relação sinal/ruído fosse maior que 2 (Tabela I.1). Observou que o detector de fotoionização era aproximadamente duas vezes mais sensível do que o de ionização em chama, para o  $\text{CBr}_4$ . Para o  $\text{C}_2\text{Br}_6$  a sensibilidade foi ainda maior. A sensibilidade do detector de ionização de chama aumentou com o aumento do número de átomos de cloro na molécula, e o de fotoionização diminuiu (Figura I.1).

**Tabela I.1:** Concentração mínima detectável para os detectores de ionização de chama e de fotoionização. Coluna: SE-30 10% / Chromosorb WAW-DMCS, 80/100 mesh, 3 m, 2 mm DI, vidro, a 100°C. Gás de arraste: nitrogênio a 25 mL/min. Volume injetado: 2 µL.

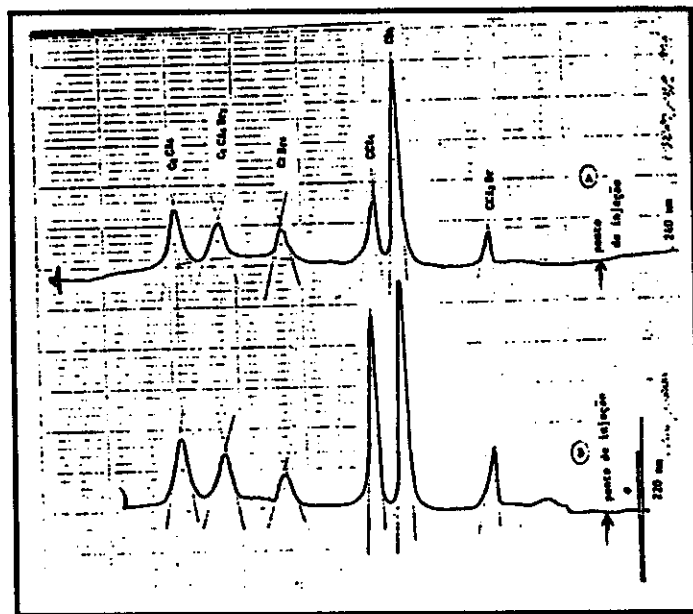
Detector	Concentração ( µg/µL)						
	CCl <sub>4</sub>	CBrCl <sub>3</sub>	CBr <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub>	C <sub>2</sub> Br <sub>6</sub>	C <sub>2</sub> Br <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>
DIC	10 <sup>-4</sup>	5 x 10 <sup>-3</sup>	2 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>
DFI	10 <sup>-3</sup>	2 x 10 <sup>-2</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-3</sup>	1 x 10 <sup>-5</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>	5 x 10 <sup>-4</sup>



**Figura I.1:** Cromatograma obtido por MURTA (1982) com detecção simultânea de uma mistura de compostos peralogenados, por ionização de chama e por fotoionização; repostas relativas dos detectores. Coluna: SE-30 a 100°C. FM.: N<sub>2</sub> a 25 mL/min.



MURTA, também efetuou análise para os peralogenados por CLAE, testando algumas colunas de fase reversa quimicamente ligada e utilizou fase móvel polar metanol/água (70:30v/v) onde conseguiu as melhores separações para os compostos:  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_6$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  (Figura I.2).



**Figura I.2 :** Cromatogramas obtidos por CLAE, da mistura padrão, para se observar a resposta relativa do detector de ultravioleta em dois comprimentos de onda. A: detecção em 240 nm. B: detecção em 220 nm. Coluna: VYDAC-RP 18, diâmetro de partículas 10  $\mu\text{m}$  e dimensões de 250 x 10 mm. Fase móvel: metanol/água 70:30 v/v. Vazão: 2 mL/min. Vol. inj. 100  $\mu\text{L}$  (MURTA 1982).

VALENTE (1984) realizou revisão bibliográfica, de 1962 a 1983, para a determinação dos compostos peralogenados por CG, citando as condições de análise e finalidades. Observou que existe preferência pelo uso de fases estacionárias de baixa polaridade (SE-30, OV-17) e que o detector de captura de elétrons (DCE) é adequado para detecções a nível de nanogramas.

Em seus experimentos, estabeleceu através dos tempos de retenção experimentais de padrões de compostos peralogenados, os tempos de retenção

interpolados para as séries dos peralogenados de fórmulas  $\text{CBr}_x\text{Cl}_y$  e  $\text{C}_2\text{Br}_x\text{Cl}_y$  ( $x + y = 4$ ), plotando-se os tempos de retenção,  $t_R$ , *versus* o número de átomos de bromo nos peralogenados (COLLINS et al., 1988). Usou detector de fotoionização e coluna de Apiezon L 10% + 2% KOH / Chromosorb WHP 100/120 mesh; 1,5 m x 2 mm DI, 1/8" DE, de aço inoxidável (Tabela I.2).

**Tabela I.2:** Tempos de retenção experimentais e interpolados para as séries  $\text{CBr}_x\text{Cl}_y$  e  $\text{C}_2\text{Br}_x\text{Cl}_y$  ( $x + y = 4$ ) obtidos por VALENTE (1984).

Composto	$t_R$ (min)	$t_R$ interpolado (min)
$\text{CCl}_4$	1,9	
$\text{CCl}_3\text{Br}$	3,6	
$\text{C}_2\text{Cl}_4$	4,5	
$\text{CCl}_2\text{Br}_2$	5,6	
$\text{C}_2\text{Cl}_3\text{Br}$	6,8	6,8
$\text{CBr}_3\text{Cl}$	7,6	7,6
$\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_2$	8,8	9,0
$\text{CBr}_4$	9,8	
$\text{C}_2\text{Br}_3\text{Cl}$	11,0	11,3
$\text{C}_2\text{Br}_4$	13,6	

O autor, também desenvolveu métodos de calibração externa e de padrão interno para os compostos peralogenados encontrando como limites inferiores confiáveis de detecção, usando detector de ionização em chama, em termos de massa injetada e concentração da solução do halogenado em  $\text{CCl}_4$  os seguintes valores:

Tetracloroetileno -  $\text{C}_2\text{Cl}_4 = 0,1$  a  $1,5 \mu\text{g}$ ,  $0,135 \text{ mg/mL}$ .

Dibromodichlorometano -  $\text{CCl}_2\text{Br}_2 = 0,25 \mu\text{g}$ ,  $0,243 \text{ mg/mL}$ .

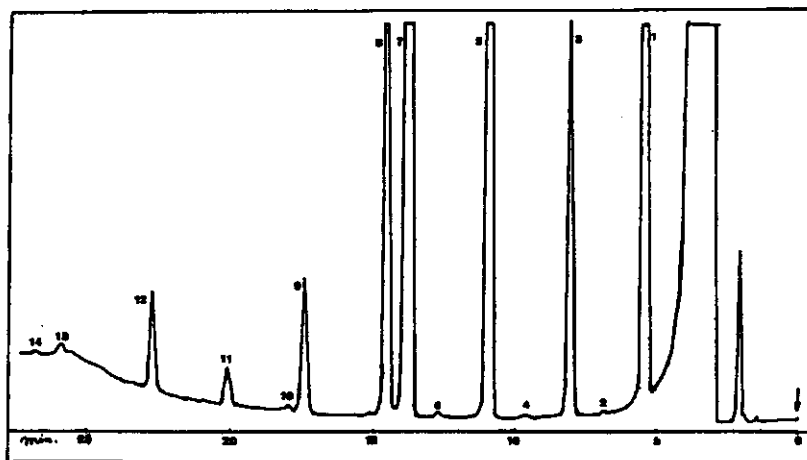
Tetrabromometano -  $\text{CBr}_4 = 2,5 \mu\text{g}$ ,  $2,150 \text{ mg/mL}$ .

Bromotriclorometano -  $\text{CBrCl}_3 = 0,4 \mu\text{g}$ ,  $0,343 \text{ mg/mL}$ .

Tetrabromoetileno -  $\text{C}_2\text{Br}_4 = 7 \mu\text{g}$ ,  $5,48 \text{ mg/mL}$ .

Não se observaram desvios de linearidade para as massas e concentrações mais elevadas. Obtiveram-se retas analíticas que permitiram interpolações de áreas corrigidas com reprodutibilidade entre 2 e 4%. Recomenda-se o uso do método da “adição de volumes fixos” para as diluições no preparo das soluções padrões e que as curvas analíticas devem ser preparadas em épocas próximas da análise.

BERTRAN (1987) determinou os produtos formados por radiólise gama  $^{60}\text{Co}$  de soluções diluídas de  $\text{CBr}_4$  a 3% em  $\text{CCl}_4$  por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), interpolação de tempo de retenção ( $t_R$ ) para os compostos que não dispunha de padrões e resposta seletiva de dois detectores cromatográficos (DIC e DFI). Comparou os produtos formados pela radiólise com os produtos formados pela termólise a várias temperaturas. Encontrou diversos compostos peralogenados como  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CBr}_3\text{Cl}$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{BrCl}_3$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  e  $\text{C}_2\text{Br}_4$  através de análise por CG (Figura I.3). Nas suas determinações, suspeitou de decomposição termal dos produtos de radiólise com dois carbonos.



**Figura I.3:** Cromatograma obtido por BERTRAN (1987) pela técnica de CG para amostra de  $\text{CBr}_4/\text{CCl}_4$  irradiada com 160 kGy. Coluna de vidro de 1,8 m x 2 mm, 20% de SP 2100 + 0,1% de Carbovax 1500 / Supelcoport 100/120; detector: FID 200°C; FM:  $\text{N}_2$ , vazão de gases  $\text{N}_2/\text{H}_2/\text{Ar}$  30/30/300 mL/min; injetor: 150°C; programação: 40 a 180°C a 4°C/min. 1=  $\text{CBrCl}_3$ ; 2=  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ; 3=  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ; 4=  $\text{C}_2\text{BrCl}_3$ ; 5=  $\text{CBr}_3\text{Cl}$ ; 6=  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_2$ ; 7=  $\text{CBr}_4$ ; 8=  $\text{C}_2\text{Cl}_6$  e 9=  $\text{C}_2\text{Br}_4$ .

LEONE (1988) relata que mesmo com a vantagem de a CLAE efetuar as análises à temperatura ambiente, o que evitaria a possível decomposição térmica de alguns dos compostos peralogenados, já citada por MURTA (1982) e ROGOZINSKI (1964), poucos trabalhos são encontrados na literatura a respeito de análises de peralogenados por CLAE. A maioria destes tratam de análise quantitativa de  $C_2Cl_4$  ou  $C_2Cl_6$ , estando relacionados com poluentes de águas naturais em sistemas usando fase móvel polar e fase estacionária apolar quimicamente ligada. Extensas revisões bibliográficas foram feitas sobre análises simultâneas de compostos peralogenados, não encontrando nenhum trabalho.

Devido a suspeitas de decomposição térmica durante as análises de compostos peralogenados, de dois átomos de carbono saturados e ricos em bromo por CG, LEONE (1988) desenvolveu um método de análise qualitativa por cromatografia líquida de alta eficiência para identificar todos os possíveis produtos de reações de radiólise de soluções de  $CBr_4$  em  $CCl_4$  e fotólise de soluções diluídas de  $C_2Br_6 / Cl_2$  em  $CCl_4$ .

Durante o desenvolvimento de metodologia para análise qualitativa de compostos peralogenados por CLAE, LEONE (1988) fez um estudo com várias colunas de fase reversa quimicamente ligada, usando as seguintes fases e colunas: Vydac C-18 de 10  $\mu m$  de diâmetro médio e dimensões de 250 x 4,6 mm, Spherisorb RP-18 de 5  $\mu m$  de diâmetro médio e dimensões de 100 x 4,6 mm, Lichrosorb RP-18 de 5  $\mu m$  de diâmetro médio e dimensões de 100 x 4,6 mm e Ultrasphere ODS de 5  $\mu m$  de diâmetro médio e dimensões de 250 x 4,6 mm. Das colunas testadas, nas condições das análises, a que proporcionou as melhores separações foi a coluna recheada com partículas de Ultrasphere-ODS de 5  $\mu m$ , com fase móvel polar

(Figura I.4). A fotólise de solução diluída (0,3%) de  $C_2Br_6$ , em presença de  $Cl_2$ , usando  $CCl_4$  como solvente, sob luz UV de uma lâmpada de vapor de mercúrio, produziu misturas de compostos do tipo  $C_2Br_yCl_z$  ( $y + z = 6$ ), variando entre  $C_2Br_3Cl_3$  até  $C_2Cl_6$ , em diferentes quantidades, dependendo do tempo de exposição.

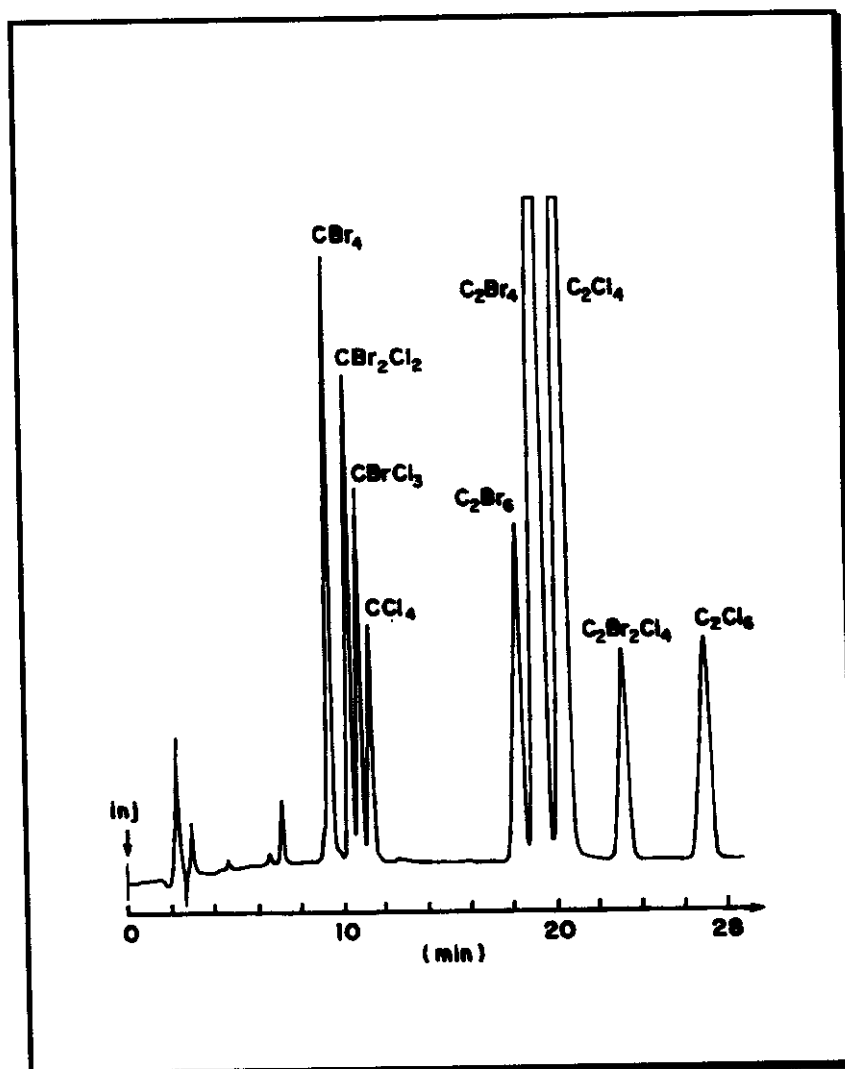


Figura I.4 : Cromatograma obtido por LEONE (1988) com coluna Ultrasphere ODS na separação da mistura dos peralogenados padrões. FM: MeOH/H<sub>2</sub>O 80:20 v/v; vazão: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10  $\mu$ L; detecção 220 nm.

## **I.2 - Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).**

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é definida como um método físico-químico de separação de componentes de uma mistura, realizada através da distribuição desses componentes entre duas fases. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra move-se através dela. Durante o desenvolvimento cromatográfico, os componentes da mistura são distribuídos através das fases, resultando em migrações diferenciais dos componentes da mistura (COLLINS e colaboradores, 1990).

A CLAE é uma das técnicas analíticas mais importantes como método de separação, devido a sua alta eficiência, sensibilidade, versatilidade e rapidez, e apresenta um vasto campo de aplicação para compostos líquidos ou sólidos (solúveis na fase móvel), iônicos ou covalentes, compostos de elevada massa molecular e/ou de baixa estabilidade térmica. Amostras típicas analisadas pela CLAE: aminoácidos, proteínas, polímeros, pigmentos, lipídeos, tintas, vitaminas, resíduos de poluentes, produtos farmacêuticos, etc.

As colunas para a CLAE empregam fases estacionárias (FE) com partículas de pequeno diâmetro (3 a 10  $\mu\text{m}$ ), o que torna necessário trabalhar em altas pressões ( $> 300 \text{ kg/cm}^2$ ), resultando em análises rápidas e eficientes.

### **I.2.1 - Parâmetros cromatográficos para avaliação do sistema**

Para se avaliar as condições do sistema cromatográfico, principalmente a coluna, deve-se fazer os cálculos dos parâmetros cromatográficos, com o propósito

de se obterem informações sobre a qualidade do sistema. Essas medidas são realizadas diretamente no cromatograma, de acordo com a Figura I.5.

O tempo de retenção do soluto,  $t_R$ , corresponde ao tempo desde a injeção até a detecção máxima da banda;  $t_M$  é o tempo de retenção de um composto não retido pela fase estacionária. Os valores são calculados usando as seguintes expressões:

$$t_R = d_R / f \quad (I.1)$$

$$t_M = d_M / f \quad (I.2)$$

onde,

$f$  é a velocidade do papel no registrador;

$d_R$  é a distância de retenção do soluto;

$d_M$  é distância de um soluto não retido.

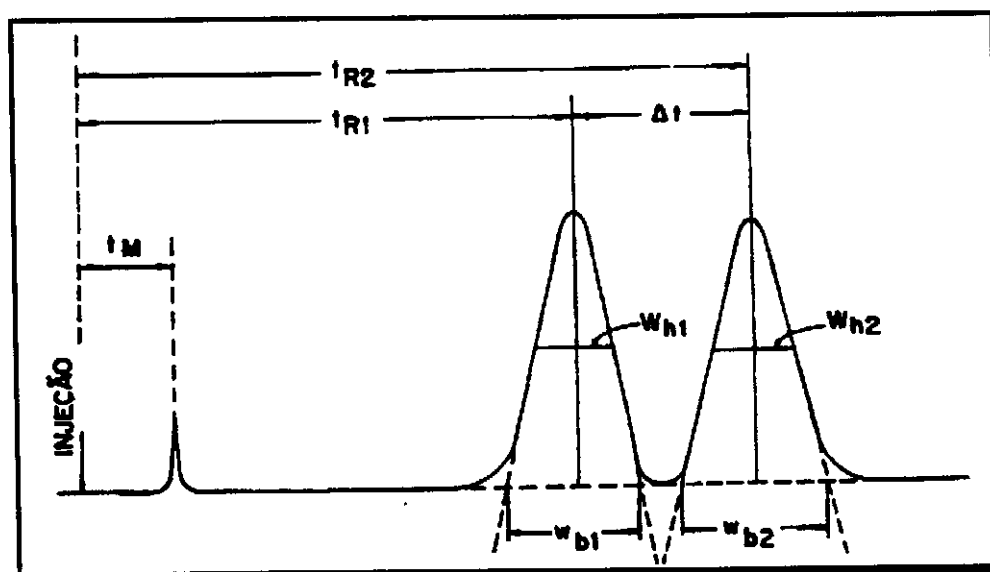


Figura I.5 - Cromatograma mostrando as medidas necessárias para o cálculo dos parâmetros cromatográficos.

O tempo de retenção ajustado,  $t'_R$ , é o tempo que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária, calculado pela diferença:

$$t'_R = t_R - t_M \quad (I.3)$$

O fator de retenção,  $k$ , é uma medida de retenção de um soluto, sendo determinado pela razão dos tempos em que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária e percorrendo a coluna na fase móvel.

$$k = (t_R - t_M) / t_M = t'_R / t_M \quad (I.4)$$

Valores ideais de  $k$  variam entre 2 e 10, sendo que valores altos indicam que o soluto ficou muito tempo retido (longo tempo de análise) e valores baixos indicam que o soluto ficou pouco retido.

A resolução,  $R_s$ , é uma medida quantitativa do grau de separação de dois picos adjacentes, sendo dependente da eficiência, do fator de retenção e do fator de separação da coluna.

$$R_s = 2 \times \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{w_{b1} + w_{b2}} = 1,177 \times \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}} \quad (I.5)$$

onde,

$t_{R1}$  e  $t_{R2}$  = tempos de retenção de 2 picos adjacentes;

$w_{b1}$  e  $w_{b2}$  = largura dos picos na linha de base;

$w_{h1}$  e  $w_{h2}$  = largura dos picos a meia-altura.



A capacidade da coluna de efetivar a separação de dois compostos retidos é dada pelo fator de separação,  $\alpha$ , que é calculado pela razão entre os fatores de retenção para dois picos adjacentes. Valores de  $\alpha$  em torno de 1,2 indicam boa separação.

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad (I.6)$$

A eficiência no sistema de CLAE pode ser avaliada através do número de pratos,  $N$ , que é a medida do número de etapas de equilíbrio do soluto entre a fase móvel e a fase estacionária.

$$N = 16 \times (t_R / w_b)^2 = 5,54 \times (t_R / w_b)^2 \quad (I.7)$$

O parâmetro altura de prato,  $H$ , que é a razão entre o comprimento da coluna ( $L$ ) e o número de pratos, é útil para se comparar colunas diferentes, em termos de eficiência, pois considera o comprimento das colunas.

$$H = L / N \quad (I.8)$$

A eficiência de uma coluna, em termos de altura de prato,  $H$ , pode ser determinada através da equação de van Deemter:

$$H = A + (B/\mu) + C\mu \quad (I.9)$$

onde,

$\mu$  é a velocidade linear média,  $L/t_M$ .

O termo A é a contribuição devido aos diferentes caminhos percorridos pelas moléculas do soluto e que causam alargamento dos picos. Este termo pode ser reduzido, usando-se partículas uniformes e com pequenos diâmetros e colunas uniformemente recheadas. O termo B está relacionado com a difusão longitudinal (ao longo da coluna), resultante do movimento das partículas de soluto, em todas as direções e que causam alargamento dos picos. Este termo é mais importante em cromatografia gasosa do que em cromatografia líquida, pois o coeficiente de difusão no líquido é muito menor do que no gás, porém, altas vazões de fase móvel contribuem para a minimização deste termo porque diminui o tempo de residência do soluto na coluna. O termo C, está relacionado com a transferência de massas, ou seja, a facilidade que as moléculas do soluto têm de serem transferidas da fase móvel para a fase estacionária e vice-versa. Um filme fino de líquido que recobre o suporte irá minimizar este termo. A Figura I.6 mostra uma curva típica de van Deemter.

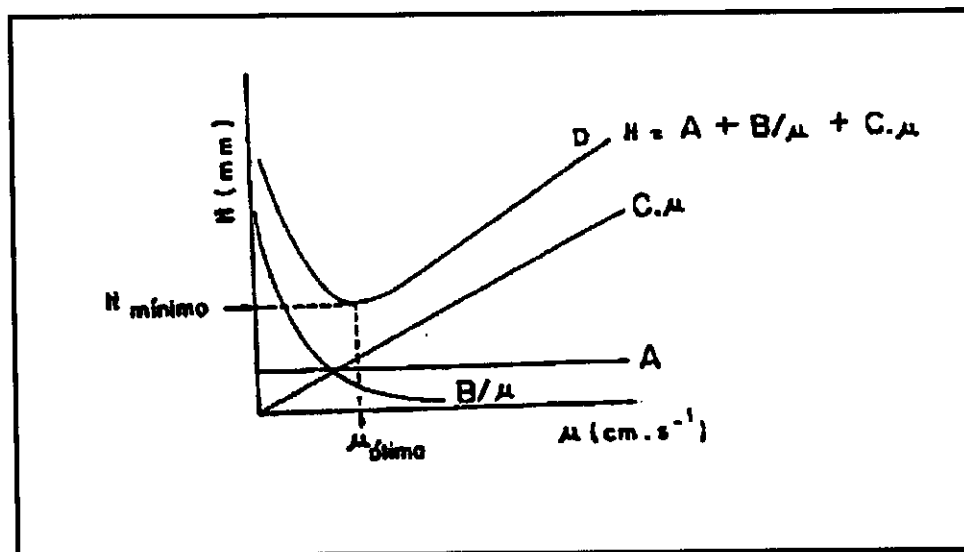


Figura I.6 - Curva da equação de van Deemter mostrando as contribuições dos vários termos e a velocidade linear ótima. (A) difusão turbilhonar; (B) difusão longitudinal; (C) transferência de massas e (D) H total.

Na avaliação de colunas para CLAE, o cálculo de N e H somente é confiável para picos simétricos. Quando se tem picos assimétricos ou com caudas, os valores de N e H calculados podem não ser corretos. Assim, uma maneira fácil de verificar a confiabilidade dos cálculos de alguns dos parâmetros cromatográficos é calcular o fator de assimetria,  $As_{10}$ , medido a 10% da altura do pico:

$$As_{10} = \frac{CB}{AC} \quad (I.10)$$

O valor ótimo para a  $As_{10}$  deve estar entre 0,9 a 1,2, de acordo com SNYDER e KIRKLAND (1979); se for maior, aumentam-se os erros positivos no cálculo de N. A Figura I.7 ilustra a medida do fator de assimetria.

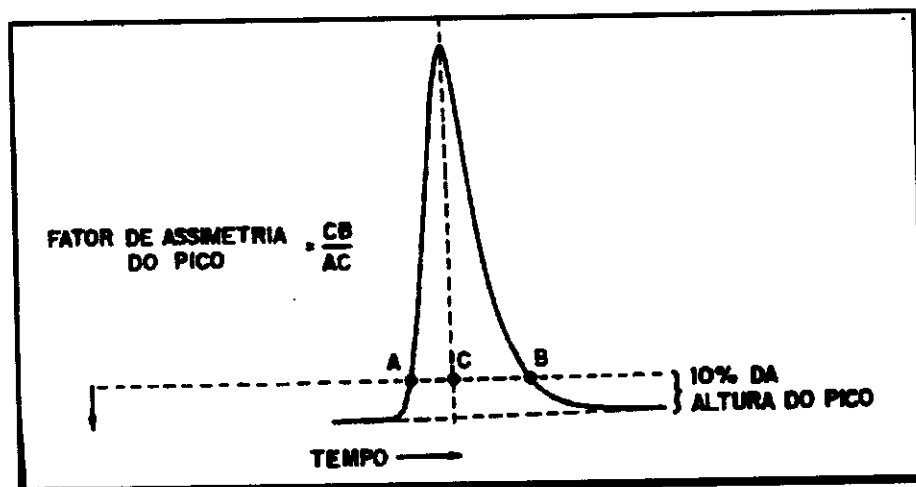


Figura I.7 - Medida do fator de assimetria ( $As_{10}$ ) de um pico, tomada a 10% da altura.

## I.2.2 - Separação dos componentes da amostra

Após a escolha da coluna cromatográfica, procede-se à otimização dos parâmetros que governam a separação dos componentes de uma amostra.

Segundo POOLE e POOLE (1989) para proceder à otimização das variáveis cromatográficas, deve-se avaliar quantitativamente estas, através do cromatograma, em termos da resolução desejada para um conjunto de picos, já que o objetivo da cromatografia é obter a separação de uma mistura em seus componentes individuais em um tempo razoável de análise. Um valor de resolução de 1,0 corresponde a uma separação de 94%, que é considerada adequada para a otimização da separação. Já numa separação de 100%, onde os dois picos consecutivos atingem a linha de base, corresponde a uma resolução de aproximadamente 1,5.

O controle quantitativo da resolução pode ser baseado na otimização das variáveis da equação fundamental (I.11), ou seja, a eficiência ou número de pratos (N), o fator de separação entre picos adjacentes ( $\alpha$ ) e o fator de retenção (k).

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \cdot \frac{k_2}{(k_2 + 1)} \quad (\text{I.11})$$

A primeira tentativa é aumentar k, alterando-se a força da fase móvel. Para um aumento de k deve-se usar fases móveis fracas, e para uma diminuição, fases móveis fortes. A variação da força da fase móvel é feita pela alteração da concentração dos componentes ou substituição destes. Se a força da fase móvel for constante durante toda a análise, o sistema é chamado isocrático e se existir variação desta força com o tempo, o sistema é denominado gradiente. A faixa de resolução ótima para muitas separações corresponde ao intervalo de k entre 2 e 10. Valores de k maiores resultam num tempo de separação longo com uma pequena melhora na resolução.

Uma coluna mais eficiente fornece melhor resolução pela maximização de  $N$ . O valor de  $N$  é governado pelo fator que controla o alargamento do pico. O termo de eficiência aparece como raiz quadrada na equação I.11, assim para mudanças significativas na resolução, deve-se alterar muito  $N$ . A eficiência pode ser aumentada pelo aumento do comprimento da coluna, porém levará a um maior tempo de análise.

O aumento de  $\alpha$  influi muito na resolução, ocasiona o deslocamento de um pico em relação ao outro e geralmente leva à diminuição do tempo de análise. Este aumento pode ser conseguido trocando-se a composição da fase móvel, ou mudando a fase estacionária, ou a temperatura da coluna. Valores da força do solvente são freqüentemente encontrados na literatura (JOHNSON e STEVENSON, 1978). A mudança da fase estacionária implica em mudar a coluna, o que deve ser considerado como última tentativa. A variação da temperatura implica na variação da viscosidade da fase móvel e, conseqüentemente, na vazão e na pressão, porém é uma alternativa que pode ser útil. O limite de temperatura de operação das colunas (fase estacionária) devem ser respeitados e são especificados pelos fabricantes.

### **I.3 - Detecção indireta em cromatografia líquida de alta eficiência**

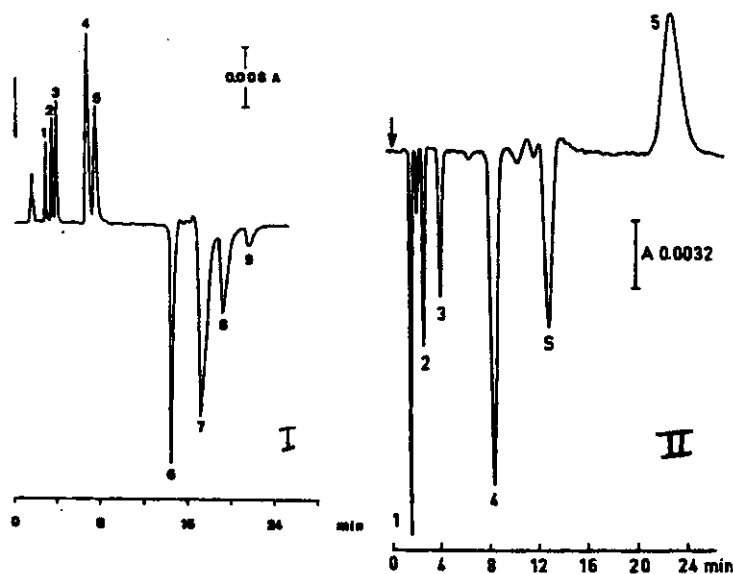
Cromatografia por método fotométrico indireto foi introduzida por SMALL e MILLER em 1982 para detectar espécies iônicas transparentes ao UV, usando detector de UV em cromatografia sem supressão de íons. O método tornou-se rapidamente muito usado para uma grande variedade de aplicações (espécies iônicas e não iônicas) devido a sua boa sensibilidade.

A detecção indireta é um método simples para se identificar e quantificar compostos sem ou com baixa resposta aos detectores de CLAE, como UV/Visível, fluorescência ou eletroquímicos. Na CLAE, podem ser aplicados os métodos indiretos em sistemas onde o soluto tem ou não carga. Um componente detectável é incluído na fase móvel dando uma resposta no detector que varia como resultado da presença de outros solutos na solução. Os principais compostos usados são: benzoatos, ftalatos, salicilatos, carboxilatos, devido terem larga absorvidade molar na região do UV, bem como capacidade seletiva de troca iônica. Ácidos orgânicos, como ácidos tartárico, málico e outros também são usados. A grande vantagem destes métodos é que são de detecção universal.

SCHILL e CROMMEN (1987) aplicaram o método de detecção indireta usando sistemas de CLAE-fase reversa, detector de UV, na separação de álcoois alifáticos com fase móvel nicotinamida  $4 \cdot 10^{-4}$  M em água, fase estacionária Ultrasphere ODS e na separação de ácidos carboxílicos com fase móvel sendo 1-fenil-etil-2-picolino  $3 \cdot 10^{-4}$  M em tampão acetado (pH 4,6), e a fase estacionária composta por Fenil  $\mu$ Bondapak. Os autores, notaram o aparecimento de dois tipos de picos: um correspondente aos solutos injetados e um pico característico do

sistema (“system peak”). Os picos do soluto mudam de sentido (positivo ou negativo) após a eluição do “system peak” (Figura 1.8).

YEUNG e KUHR (1991) relataram que uma das grandes vantagens do uso de métodos indiretos para compostos que não apresentam resposta aos detectores de CLAE é não ser necessário o uso de pré ou pós derivatização para converter o analito de interesse numa espécie que responda ao detector, o que em muitas situações, tornaria a análise muito dispendiosa. Outra vantagem é que devido ao analito não ser alterado quimicamente, estudos das frações separadas podem ser realizados.



**Figura 1.8:** I - Álcoois Alifáticos. FM: nicotinamida  $4.10^{-4}$  M em água; FE: Ultrasphere ODS; detecção em 268 nm. 1= metanol, 2= propileno glicol, 3= etanol, 4= 2-propanol, 5= 1-propanol, 6= “system peak”, 7= 2-butanol, 8= 2-metil-1-propanol e 9= 2-butanol.

II - Ácidos carboxílicos. FM: 1-fenil-etil-2-picolino  $3.10^{-4}$  M em tampão acetado, pH 4,6; FE: Fenil  $\mu$ Bondapak; detecção em 254 nm. 1= ácido acético, 2= ácido propiônico, 3= ácido butírico, 4= ácido valérico, 5= ácido capróico, S= “system peak”. SCHILL e CROMMEN (1987).

## II - OBJETIVOS

O trabalho proposto teve como principal finalidade o desenvolvimento de um método de análise quantitativa para compostos orgânicos halogenados, saturados e insaturados, não hidrogenados, derivados de hidrocarbonetos, do tipo  $C_xBr_yCl_z$  ( $x = 1$  ou  $2$ ;  $y + z = 4$  ou  $6$ ) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Para alcançar este objetivo, o trabalho experimental foi dividido nas seguintes etapas:

- avaliar uma coluna de fase reversa (Ultrasphere-ODS), com relação aos parâmetros cromatográficos: eficiência, resolução, fator de separação e fator de assimetria;
- realizar a separação de uma mistura de nove compostos peralogenados;
- determinar a faixa dinâmica linear para alguns dos compostos;
- estabelecer curvas analíticas para os compostos, dissolvidos em mistura metanol/água, determinar a quantidade mínima detectável no sistema cromatográfico utilizado e quantificar por calibração externa;
- realizar estudo usando clorofórmio como padrão interno, para construção de curvas analíticas, para os mesmos compostos peralogenados.



### III - PARTE EXPERIMENTAL

#### III.1 - Materiais

##### III.1.1 - Reagentes e solventes

- Água destilada e deionizada pelo processo Nanopure da Barsntead
- Acetona p.a.,Merck.
- Benzeno p.a.,Merck.
- Benzonitrila,Carlo Erba.
- $\text{CHCl}_3$  Lichrosolv para cromatografia,Merck.
- $\text{CCl}_4$  p.a.,Merck.
- $\text{CBrCl}_3$  grau "practical",Eastman.
- $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ,Alfa Products.
- $\text{CBr}_4$ ,ICN Pharmaceutical.
- $\text{C}_2\text{Cl}_6$ , Carlo Erba.
- $\text{C}_2\text{Br}_6$ ,K and K Laboratories.
- $\text{C}_2\text{Br}_4$ ,ICN Laboratories.
- $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$  ( 1,2-dibromotetracloroetano),Aldrich.
- $\text{C}_2\text{Cl}_4$  (reagente extra puro),Merck.
- Ftalato ácido de potássio p.a.,Carlo Erba.
- Metanol Lichrosolv para cromatografia,Merck.
- Naftaleno p.a.,Carlo Erba.
- Tolueno p.a.,Merck.
- Cloreto de cálcio p.a., Carlo Erba.
- Hidróxido de potássio p.a., Nuclear.
- Ácido sulfúrico p.a., Merck.

### III.1.2 - Coluna empregada

Coluna recheada com partículas Ultrasphere-ODS, de  $5\mu\text{m}$  de diâmetro médio das partículas,  $250 \times 4,6$  mm de diâmetro interno, fabricada pela Altex.

### III.1.3 - Instrumentação e materiais

-Detector por absorvância no UV/Visível de comprimento de onda variável entre 190 a 770 nm, modelo SPECTROFLOW 770, com volume de cela de  $8\mu\text{L}$  - Schoeffel Instruments.

-Bomba recíproca tipo pistão, cabeça dupla, modelo 510 - Waters.

-Registrador modelo RB 102, Equipamentos Científicos do Brasil.

-Injetor Rheodyne Model 7125 Rheodyne Inc. com alça de amostragem de  $10,0\mu\text{L}$ .

-Espectrofotômetro com conjunto de diodos - HP 8452 - A

-Balança analítica, Fisher Scientific A-250, incerteza  $\pm 0,0001\text{g}$ .

-Sistema de filtração de fase móvel Millipore, com membrana de Teflon FHUP 04700,  $0,45\mu\text{m}$ .

-Materiais volumétricos: balão volumétrico calibrado de  $(10,03 \pm 0,01)$  mL, pipetas volumétricas calibradas de  $(4,00 ; 0,98 ; 0,51 \pm 0,01)$  mL.

## **III.2 - Avaliação da coluna cromatográfica**

### **III.2.1 - Recuperação da coluna**

Inicialmente a coluna cromatográfica apresentava problemas de vazamento nas conexões e alta pressão ao se permitir fluxo de fase móvel. Realizou-se a substituição dos filtros da coluna por novos e procedeu-se a regeneração. A regeneração da coluna foi baseada nos trabalhos de ABBOTT (1985) e DOLAN (1985; 1989 e 1990) que consistiu na passagem de 10 vezes o volume da coluna (aproximadamente 41 mL) dos seguintes solventes: metanol, diclorometano, metanol e fase móvel numa vazão de 0,2 mL por minuto, sendo que a coluna foi revestida externamente por uma camisa de vidro com água termostaticada a 45°C.

Após esta etapa abriu-se a coluna, verificando-se um espaço vazio (volume morto) no topo da coluna. Para eliminar este espaço vazio na coluna foi colocada uma suspensão de material de recheio, partículas de ODS recuperada, por auxílio de uma espátula pequena. Fechou-se a coluna, permitindo-se o fluxo de fase móvel em vazão de 1 mL/min, abriu-se a coluna, colocou-se mais material de recheio. Repetiu-se este procedimento até não mais se observar volume morto no topo da coluna.

### **III.2.2 - Escolha da mistura para avaliar a coluna cromatográfica**

A etapa seguinte da avaliação da coluna, consistiu em testar sua qualidade, usando-se uma mistura padrão formada por acetona, benzeno, benzonitrila, tolueno e naftaleno dissolvidos na mistura metanol/água 70/30 v/v. Estes compostos foram escolhidos em função do tipo de coluna (fase-reversa), disponibilidade no

laboratório, por possuir absorção de luz no U.V. e coincidir com misturas usadas por alguns fabricantes de colunas cromatográficas. A mistura foi preparada de forma a se obter alturas dos picos próximas quando cromatografadas correspondendo a 70% da escala do papel. O comprimento de onda de detecção escolhido foi de 254 nm.

### III.2.3 - Qualidade da coluna cromatográfica

A coluna cromatográfica foi avaliada, injetando-se 10  $\mu\text{L}$  da mistura padrão e determinando-se os seguintes parâmetros cromatográficos:

- número de pratos,  $N$ ;
- número de pratos por metro,  $N.m^{-1}$ ;
- resolução,  $R_s$ ;
- fator de separação,  $\alpha$ ;
- fator de assimetria a 10% da altura do pico,  $As_{10}$ .

Para o cálculo destes parâmetros realizaram-se sempre três injeções, usando-se a média destes valores. As medidas dos picos foram feitas manualmente. Adotou-se como critério a obtenção de picos com largura maior que 1 cm e altura do pico aproximadamente 70 % da escala do papel com o objetivo de minimizar erros nas medidas manuais.

Os valores dos parâmetros cromatográficos foram calculados para os compostos mais retidos, tais como tolueno e naftaleno.

### III.2.4 - Escolha da vazão ótima

Baseando-se na equação de van Deemter, para a otimização da vazão de fase móvel, realizaram-se medidas de altura de prato,  $H$ , para o naftaleno em diferentes vazões e construiu-se uma curva  $H$  (mm) x  $\mu$  (mm/s). O ponto mínimo desta curva corresponde à velocidade linear ótima de análise (Tabela III.2 e Figura III.2).

### III.3 - Resultados da avaliação da coluna cromatográfica

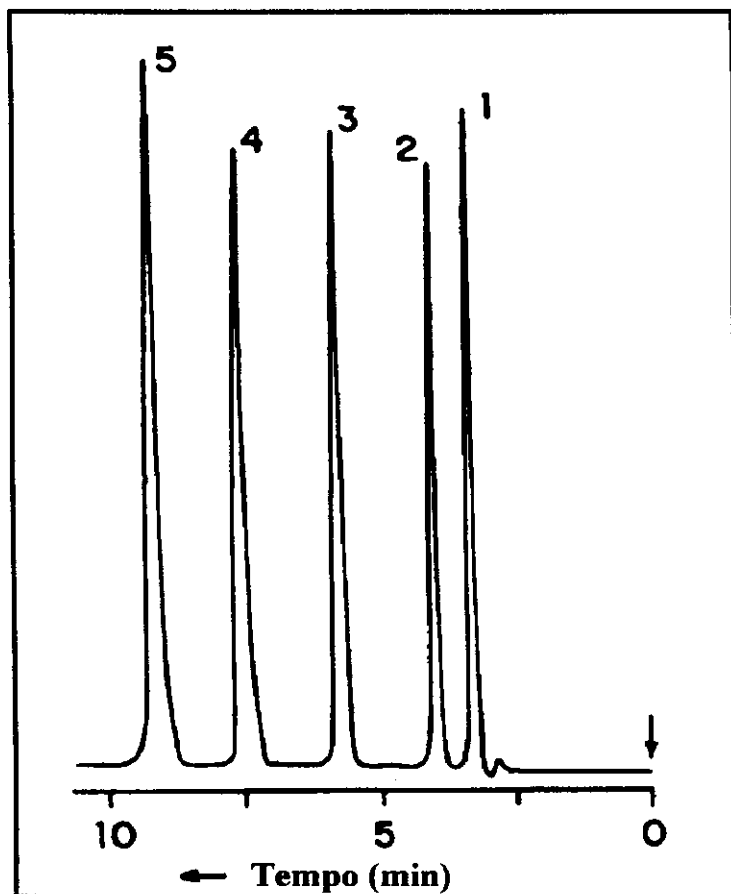
Na avaliação de colunas cromatográficas são usadas misturas de compostos com diferentes polaridades, como: acetona, benzeno, benzonitrila, tolueno, naftaleno. Para avaliação da eficiência da coluna expressou-se o resultado em função de determinados compostos da mistura. As condições de medida dos parâmetros cromatográficos, como a eficiência, devem ser mantidas constantes e especificadas, pois modificações de composição da fase móvel, vazão da fase móvel, do composto teste e sistema cromatográfico, ocasionam alterações nos valores dos parâmetros cromatográficos.

A Figura III.1 mostra um cromatograma obtido para os compostos usados na avaliação da coluna cromatográfica. Na Tabela III.1 têm-se os resultados da avaliação da coluna com valores de eficiência,  $N$ , eficiência por metro de coluna,  $N/m$ , altura equivalente a um prato,  $H$ , assimetria,  $A_s$ , resolução,  $R_s$  e fator de separação, medidos entre naftaleno e tolueno.

**Tabela III.1** : Avaliação da coluna Ultrasphere ODS. Condições de análise: Fase móvel MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20v/v, vazão 0,8 mL/min, volume injetado: 10 µL. Detecção em 254 nm. Sistema Schoeffel.

	Composto	
	Tolueno	Naftaleno
N	12,1 x 10 <sup>3</sup>	16,1 x 10 <sup>3</sup>
N/m (m <sup>-1</sup> )	48,5 x 10 <sup>3</sup>	64,2 x 10 <sup>3</sup>
H (µm)	20,6	15,6
As <sub>10</sub>	0,81	0,90
α*		1,2
Rs*		5,5

\* tolueno-naftaleno

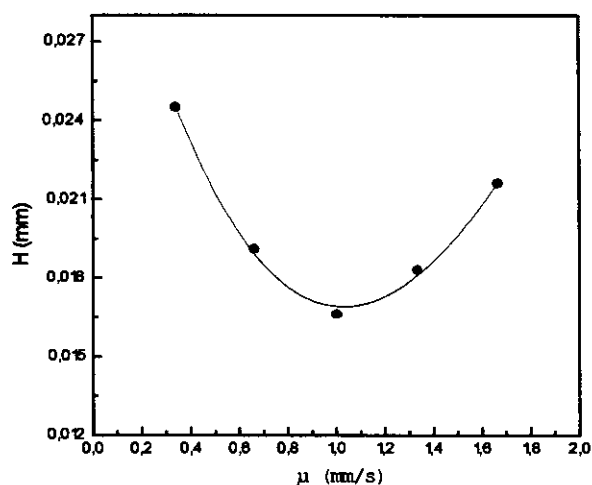


**Figura III.1:** Mistura padrão usada na avaliação da coluna cromatográfica. Condições de análise: FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão 0,80 mL/min, detecção em 254nm. Volume injetado 10µL. 1- Acetona; 2- Benzonitrila; 3- Benzeno; 4- Tolueno e 5- Naftaleno.

Estes resultados demonstram que a coluna apresenta-se em condições para análise.

**Tabela III.2:** Determinação da vazão ótima de fase móvel. Condições de análise: Fase móvel MeOH:H<sub>2</sub>O 70:30 v/v, sistema Schoeffel, detecção em 254nm, coluna Ultrasphere-ODS, volume injetado 10 $\mu$ L.

vazão (mL/min)	H (mm)	$\mu$ (mm/s)
1,0	0,0216	1,667
0,8	0,0183	1,336
0,6	0,0166	1,004
0,4	0,0191	0,664
0,2	0,0245	0,342



**Figura III.2:** Curva de van Deemter experimental.

O ponto mínimo desta curva (Figura III.2) corresponde a velocidade linear ótima de análise, que foi de 0,6 mL/min, onde a eficiência do sistema é máxima.

### III.4 - Avaliação de detecção indireta

Com o objetivo de melhorar a sensibilidade do sistema cromatográfico para os compostos peralogenados, tentou-se aplicar o método de detecção indireta usando-se como fase móvel mistura de metanol:água:ftalato e um detector de UV-Visível. Foram obtidos cromatogramas em comprimentos de onda de absorção para ftalato.

Para se determinar a região no UV onde os compostos peralogenados apresentam baixa absorção, procedeu-se a aquisição de espectros usando-se um espectrofotômetro com conjunto de diodos na região de 190 a 300 nm (Figura III.3).

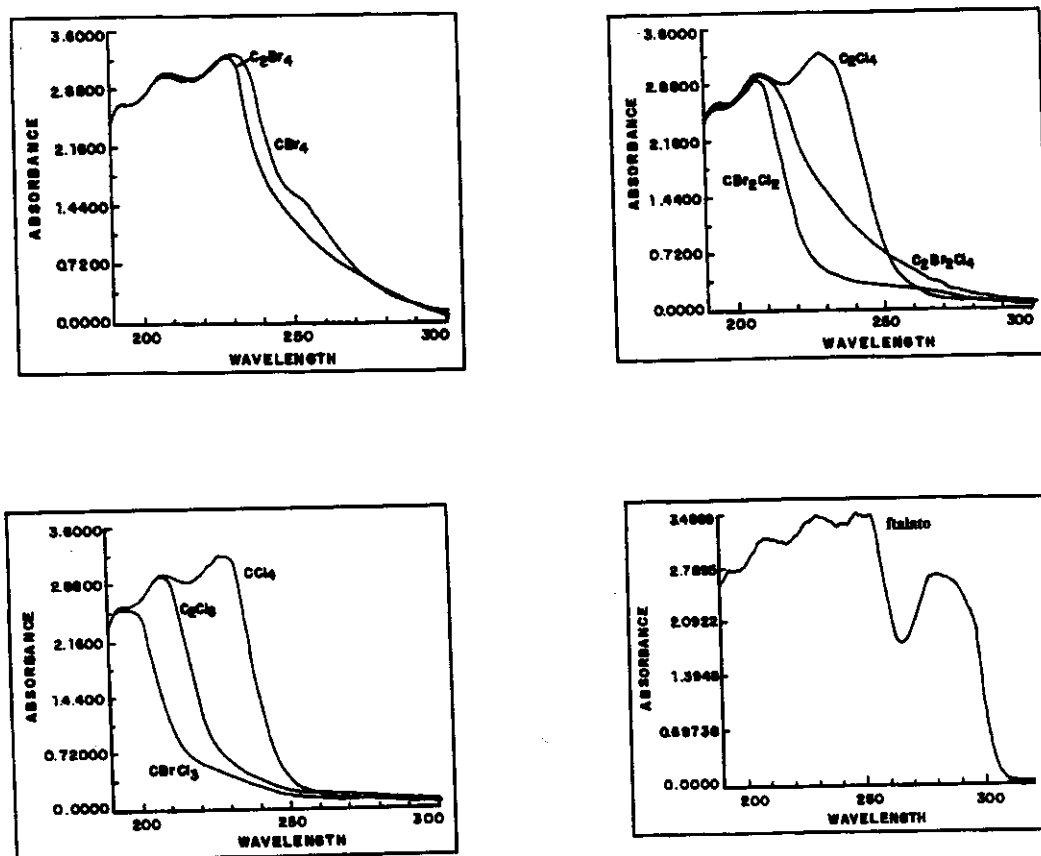


Figura III.3: Espectros na região do UV (190 a 300 nm) para os compostos peralogenados (1 mg/mL), metanol e ftalato 1 mM. Solvente metanol:água 80:20 v/v.



Devido aos compostos peralogenados apresentarem baixa absorvidade na região de 260 nm e a fase móvel contendo ftalato 1 mM absorver neste comprimento de onda, procedeu-se a determinação dos compostos no cromatógrafo pelo método de detecção indireta. A Figura III.4 mostra um cromatograma para 6 compostos peralogenados detectados pelo método indireto.

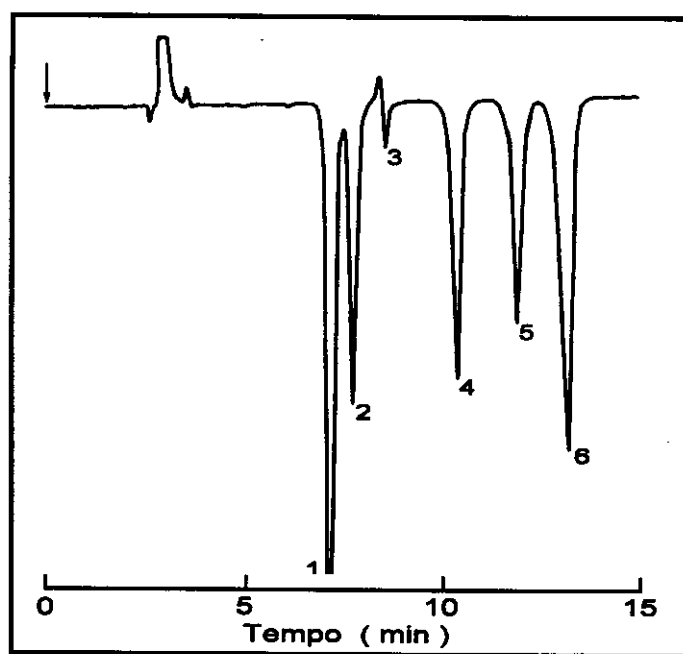


Figura III.4: Cromatograma mostrando compostos peralogenados detectados pelo método indireto. FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v e ftalato 1 mM, vazão 0,6 mL/min; volume injetado 30  $\mu$ L;  $\lambda$ = 260 nm. 1- CBr<sub>4</sub>; 2- CCl<sub>4</sub>; 3- CBr<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 4- C<sub>2</sub>Br<sub>6</sub>; 5- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>; 6- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>.

Apesar dos compostos peralogenados poderem ser determinados pelo método indireto, não conseguiu-se estabelecer curvas analíticas. As curvas não apresentaram linearidade, pois não havia repetibilidade das áreas obtidas para os padrões e assim o método foi abandonado.

## IV - ANÁLISE QUALITATIVA DOS COMPOSTOS PERALOGENADOS

### IV.1 - Preparação dos padrões

Prepararam-se os padrões dos nove peralogenados disponíveis no laboratório, dissolvendo-os em metanol e fase móvel. Injetou-se no sistema cromatográfico, verificando-se a necessidade ou não de purificação.

Devido ao grau de pureza dos compostos peralogenados ser variado, alguns apresentavam-se impuros, com cor marrom, ou apresentavam picos que caracterizavam impurezas, quando cromatografados. Assim, os compostos  $C_2Br_4$ ,  $CBr_4$  e  $C_2Br_6$  foram purificados por sublimação a vácuo ao abrigo da luz (Figura IV.1), produzindo cristais brancos e puros. O composto  $CBrCl_3$  foi destilado, desprezando-se a cabeça e a cauda da destilação.

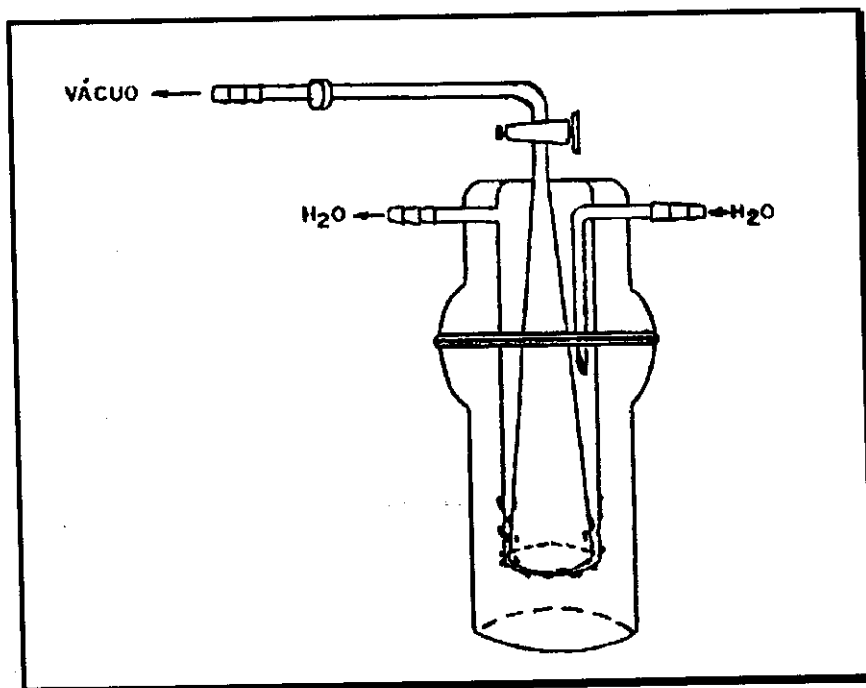


Figura IV.1 - Sublimador a vácuo, com sistema de refrigeração.

Para a purificação de  $\text{CCl}_4$  adotou-se o método descrito por PERRIN e ARMAREGO (1988), que consiste em agitar vigorosamente um litro de  $\text{CCl}_4$ , por 2 horas, com solução saturada de KOH, separar e lavar o  $\text{CCl}_4$  com água deionizada. Repetir este tratamento. Em seguida, agitar o  $\text{CCl}_4$  com pequenas quantidades de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado até não haver coloração e lavar com água deionizada. Após a lavagem, secar o  $\text{CCl}_4$  com  $\text{CaCl}_2$  e destilar.

#### IV.2 - Análise qualitativa

Efetuar-se as análises utilizando-se algumas composições de fase móvel MeOH:H<sub>2</sub>O como 80:20, 70:30, 65:25 v/v, no detector de UV/Visível com detecção em 220 nm usando-se a coluna Ultrasphere-ODS.

Cada solução dos compostos peralogenados ( $\text{CBr}_4$ ,  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_6$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ , e  $\text{C}_2\text{Cl}_6$ ) foi analisada individualmente no sistema cromatográfico com o objetivo de verificar os tempos de retenção desses compostos.

Após a identificação isolada do tempo de retenção dos compostos, foram preparadas misturas destes e novamente identificados na mistura através da observação do aumento da área do pico por adição dos compostos.

#### IV.3 - Resultados e discussão da análise qualitativa

Na escolha do comprimento de onda ideal para a detecção dos compostos peralogenados, com o emprego do detector de UV/Visível, considerou-se como melhor comprimento de onda o que correspondia a uma banda de máximo de

absorção no UV para os compostos e aquele no qual a fase móvel ainda não absorvesse significativamente (Figura IV.2 e Figura IV.3).

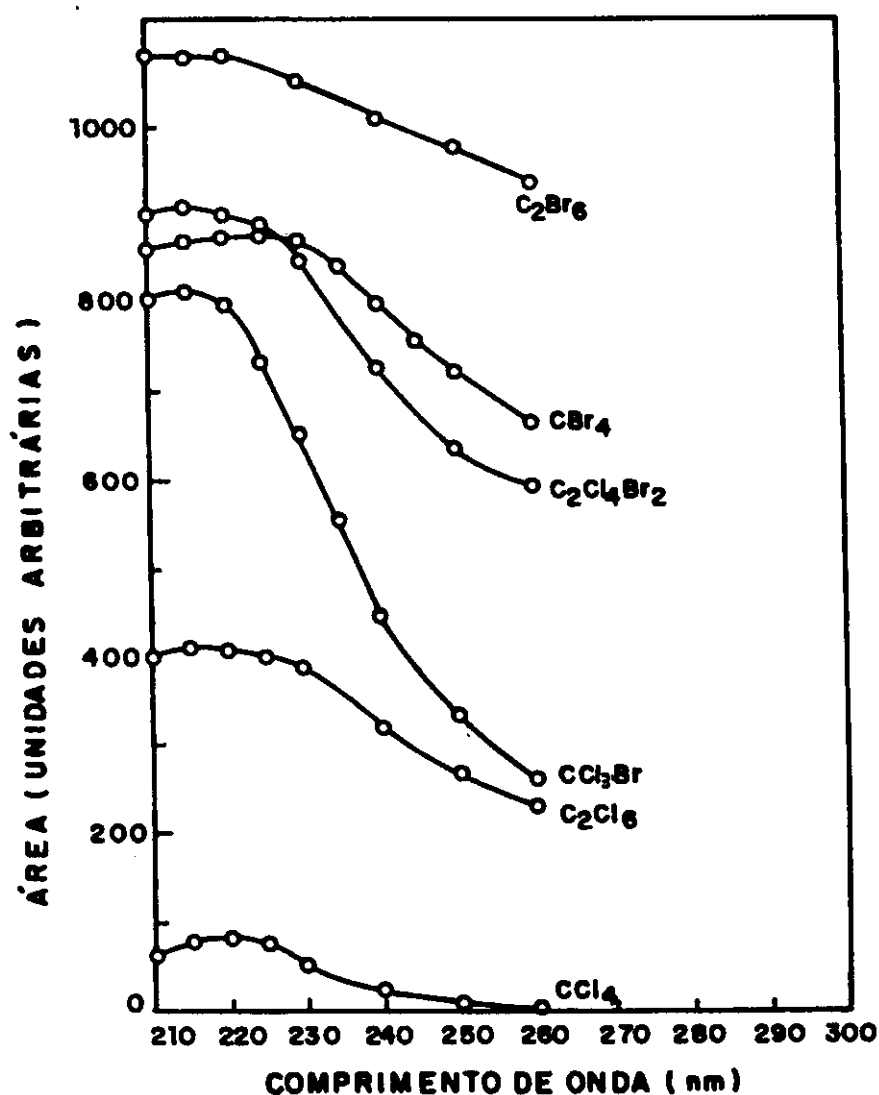


Figura IV.2: Resposta relativa do detector por absorvância no UV de compostos perhalogenados obtidos por MURTA (1982). Coluna : Vydac RP 18 (10 $\mu$ m) de 250 x 10 mm; FM: MeOH:H<sub>2</sub>O 70:30 v/v; concentração de cada composto: 0,1 mg/mL; sistema cromatográfico: Altex/Schoeffel.

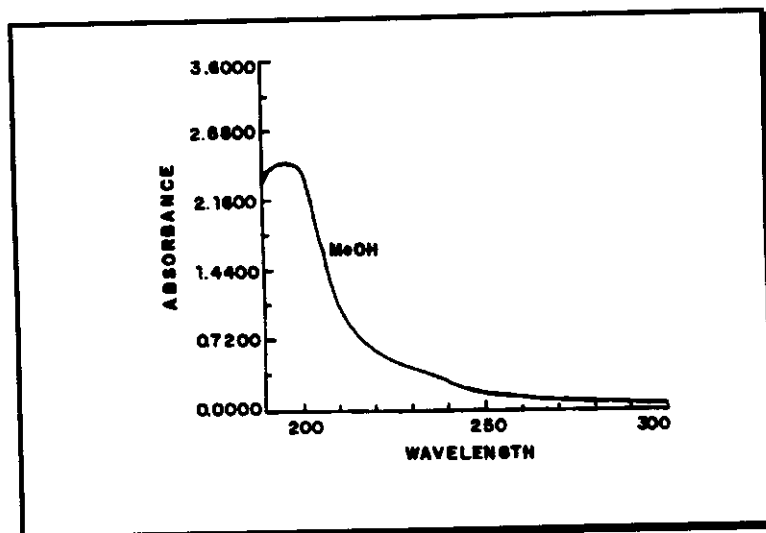


Figura IV.3: Espectro na região do UV (190 a 300 nm) para metanol.

A etapa de identificação dos tempos de retenção dos peralogenados no sistema Schoeffel iniciou-se com os compostos de um carbono ( $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CBrCl}_3$ ,  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CBr}_4$ ). Passou-se em seguida à identificação dos compostos com dois átomos de carbono saturados ( $\text{C}_2\text{Cl}_6$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_6$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ ) e os C2 insaturados ( $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ,  $\text{C}_2\text{Br}_4$ ).

Na Figura IV.4 vê-se a separação completa de 7 dos peralogenados, excluindo-se os compostos  $\text{CBrCl}_3$  e  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ . Os picos estão resolvidos. As Figuras IV.5 e IV.6 apresentam os cromatogramas dos compostos peralogenados utilizando-se fases móveis nas proporções de  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  80:20 v/v e 70:30 v/v, respectivamente, para os 9 compostos. Observa-se que ocorre inversão na ordem de eluição dos compostos  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$  e  $\text{C}_2\text{Cl}_4$  quando se usa fase móvel  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  70:30 v/v em vez de 80:20 v/v.

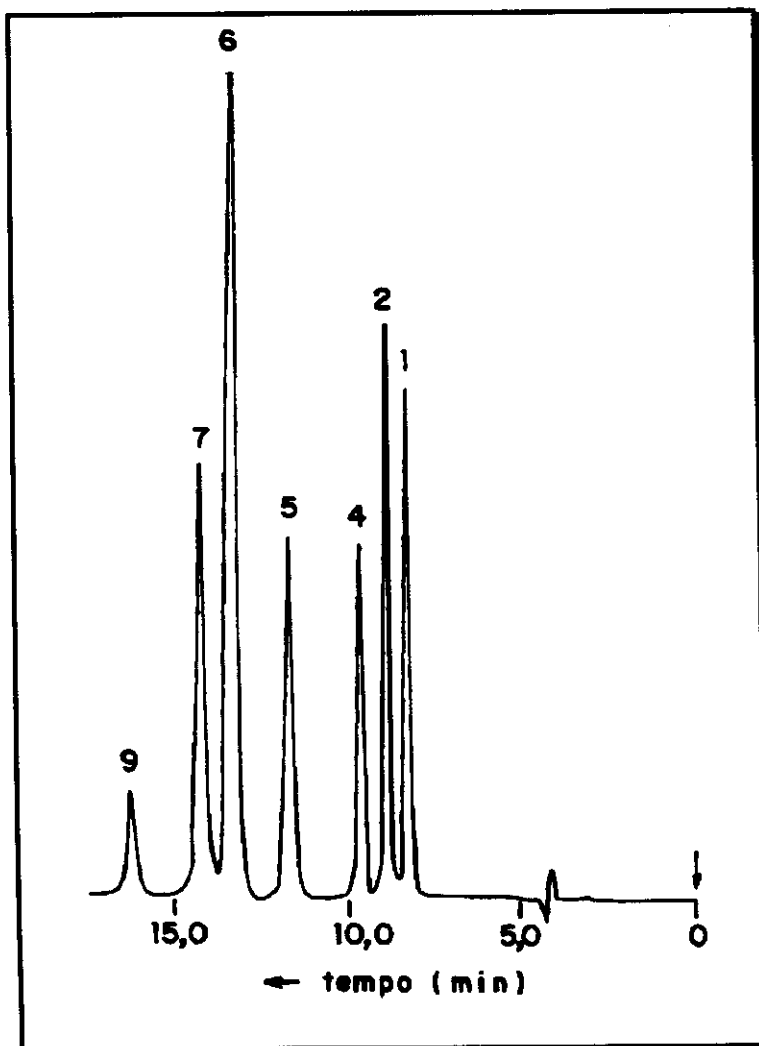


Figura IV.4: Cromatograma obtido na separação de 7 compostos perhalogenados usando-se FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão 0,6 mL/min, volume injetado 10  $\mu$ L, detecção em 220 nm. 1- CBr<sub>4</sub>; 2- CBr<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 4- CCl<sub>4</sub>; 5- C<sub>2</sub>Br<sub>6</sub>; 6- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>; 7- C<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>; 9- C<sub>2</sub>Cl<sub>6</sub>.

Os compostos do tipo C<sub>2</sub>Br<sub>x</sub>Cl<sub>z</sub> (x + z = 6) eluem entre os compostos C<sub>2</sub>Br<sub>x</sub>Cl<sub>z</sub> (x + z = 4). As melhores separações dos compostos C<sub>2</sub> ocorrem com o aumento da polaridade da fase móvel, ou seja, diminuindo-se a proporção de metanol na fase móvel, entretanto, com aumento nos tempos de retenção.

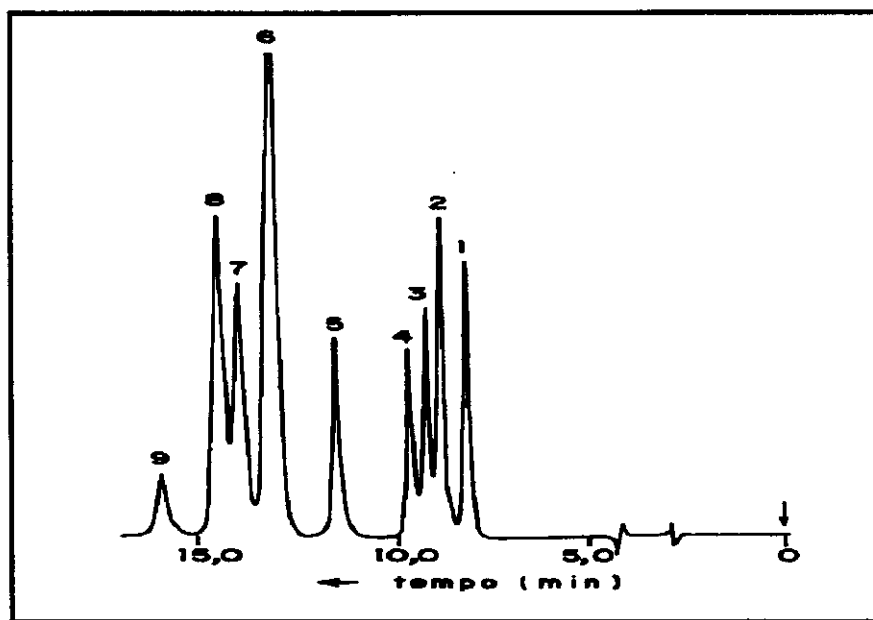


Figura IV.5: Cromatograma obtido na separação dos peralogenados usando-se FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20v/v, vazão 0,6mL/min, volume injetado: 10μL, detecção em 220nm. 1- CBr<sub>4</sub>; 2- CBr<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 3- CBrCl<sub>3</sub>; 4- CCl<sub>4</sub>; 5- C<sub>2</sub>Br<sub>6</sub>; 6- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>, 7- C<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>; 8- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>; 9- C<sub>2</sub>Cl<sub>6</sub>.

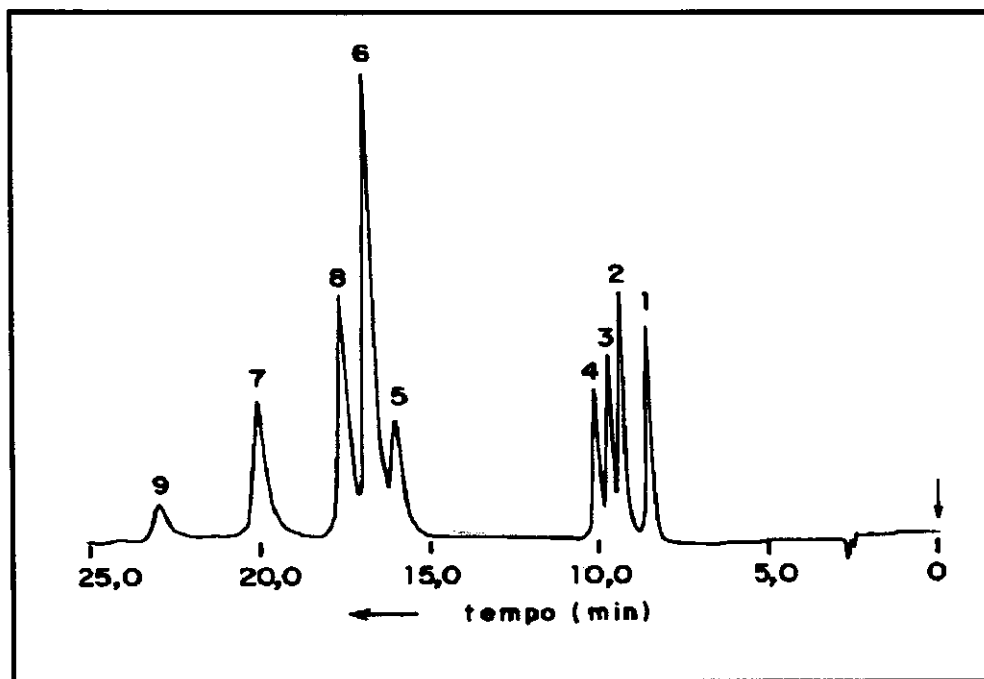


Figura IV.6: Cromatograma obtido na separação dos compostos peralogenados usando-se FM MeOH:H<sub>2</sub>O 70:30 v/v, vazão 0,6 mL/min, volume injetado: 10 μL, detecção em 220 nm. 1- CBr<sub>4</sub>; 2- CBr<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 3- CBrCl<sub>3</sub>; 4- CCl<sub>4</sub>; 5- C<sub>2</sub>Br<sub>6</sub>; 6- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>; 7- C<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>; 8- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>; 9- C<sub>2</sub>Cl<sub>6</sub>.

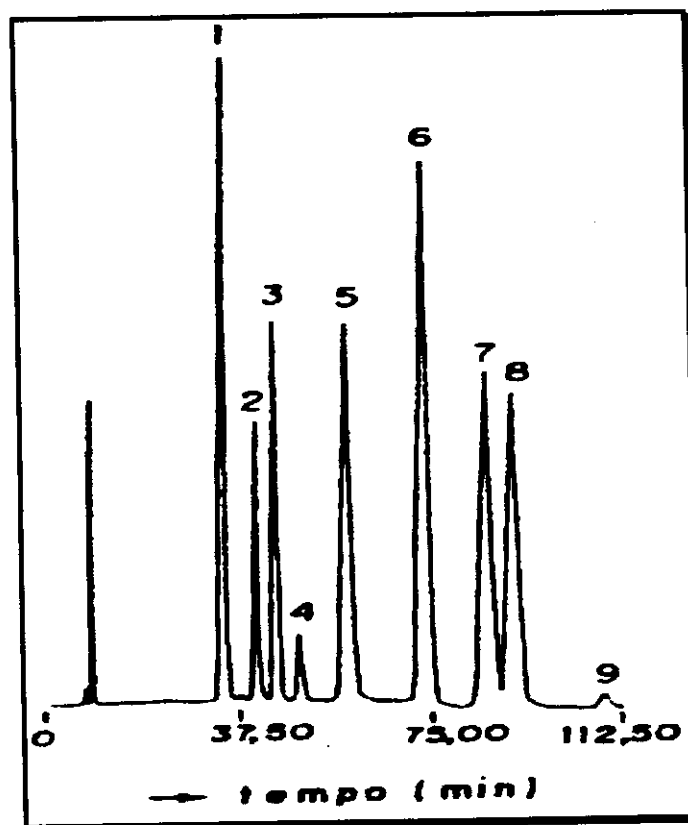
Diminuindo-se a proporção de metanol na fase móvel para 50%, os compostos peralogenados eluem em 3 horas e 30 minutos, aumentando muito o tempo de análise. A diminuição da proporção de metanol na fase móvel, apesar de melhorar a separação, diminui muito a sensibilidade. Esta diminuição da sensibilidade pode ser devida a menor solubilidade dos compostos na fase móvel e também devido ao alargamento da banda do pico decorrente do aumento do tempo de retenção.

Na tentativa de melhorar a separação para os 9 compostos, alterou-se a seletividade com acetonitrila ou tetraidrofurano, não foi bem sucedido. Em tetraidrofurano os compostos não foram solúveis e decompunham-se rapidamente, principalmente os que apresentavam átomos de bromo. Com a acetonitrila a separação não melhorou.

Uma alta resolução destes compostos pode ser conseguida com acoplamento de colunas em série, pois ao se acoplar colunas aumenta-se a resolução. O trabalho realizado por QUEIROZ (1995) mostrou que, com o acoplamento em série de 3 colunas analíticas, consegue-se a separação completa dos 9 compostos. O número de pratos para as três colunas acopladas foi de 10.611 para o naftaleno. Considerando-se que a  $R_s \propto \sqrt{N}$ , um acréscimo da eficiência de 3 vezes provoca uma melhora na resolução de cerca de 1,7 vezes. A separação, também pode ter sido melhorada pelo uso da fase estacionária C-8 usada no acoplamento das colunas. Porém, o tempo de análise é aumentado, sendo que para a separação dos compostos peralogenados foram necessários 112 minutos. A Figura IV.7 mostra a separação conseguida.



Outra possibilidade para resolução de misturas complexas dos peralogenados com apenas uma coluna seria o uso de gradiente de fase móvel. Os compostos C1 são melhor separados com fase móvel menos polar, enquanto os compostos C2 são melhor separados com fase móvel mais polar. Não se tentou a separação com sistema de gradiente, pois não se dispunha deste sistema em nosso laboratório.



**Figura IV.7:** Cromatograma obtido por Queiroz (1995) na separação dos compostos peralogenados com acoplamento de três colunas em série: 1-  $\text{CBr}_4$ , 2-  $\text{CBr}_2\text{Cl}_2$ ; 3-  $\text{CBrCl}_3$ ; 4-  $\text{CCl}_4$ ; 5-  $\text{C}_2\text{Br}_6$ ; 6-  $\text{C}_2\text{Br}_4$ ; 7-  $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ ; 8-  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ; 9-  $\text{C}_2\text{Cl}_6$ . Colunas 100 x 3,8 mm, recheadas com C-8, 10  $\mu\text{m}$ , FM MeOH:H<sub>2</sub>O 70:30 v/v, vazão 0,2 mL/min, volume injetado 10  $\mu\text{L}$ ,  $\lambda = 220\text{nm}$ .

## V - Determinação Quantitativa dos Compostos Peralogenados

Para um estudo inicial dos peralogenados escolheram-se os seguintes compostos: tetrabromometano ( $\text{CBr}_4$ ), tetraclorometano ( $\text{CCl}_4$ ), tetrabromoetano ( $\text{C}_2\text{Br}_4$ ), tetracloroetano ( $\text{C}_2\text{Cl}_4$ ). Estes compostos foram escolhidos pela disponibilidade no laboratório e pureza. Não se dispunha dos 9 peralogenados em quantidades suficientes para desenvolver o método quantitativo de análise.

Os compostos foram testados em várias concentrações com o objetivo de se verificar a região de linearidade destes compostos no detector de UV/Visível. Posteriormente, foram feitas curvas analíticas pelo método de padronização externa e curvas com padrão interno para cada um dos quatro compostos escolhidos.

### V.1 - Determinação por calibração externa

#### V.1.1 - Preparo das soluções

Inicialmente tentou-se preparar soluções concentradas dos peralogenados dissolvendo-os em pequena quantidade de metanol, seguido pela mistura metanol/água 80:20 v/v que corresponde à mesma composição da fase móvel usada nas análises. Essas soluções concentradas seriam posteriormente diluídas sucessivamente de forma a obter-se as curvas analíticas. Isto não foi possível, pois, além dos compostos peralogenados não serem totalmente solúveis em metanol, ocorre decomposição do  $\text{CBr}_4$  e  $\text{C}_2\text{Br}_4$  em concentrações elevadas ao entrarem em contato com o metanol, resultando numa solução de coloração amarelada, que com o tempo, torna-se marrom, indicando a presença da espécie bromo ( $\text{Br}_2$ ). Também, foi necessário desgaseificar totalmente o metanol e a

fase móvel usados para dissolver os compostos peralogenados, para evitar a decomposição dos compostos bromados. Esta desgaseificação foi realizada por ultra-som durante 15 minutos.

Diante disto adotou-se como critério o preparo direto das soluções mais diluídas. Estas foram preparadas da seguinte forma:

- pesaram-se os compostos em balão volumétrico de 10,03 mL aferido, dissolvendo-os em 2 mL de metanol desgaseificado, avolumando-se o balão volumétrico de 10,03 mL com mistura MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20v/v. Essa solução foi denominada G1.1 (Tabela V.1);
- diluiu-se a solução G1.1 retirando-se uma alíquota de 4,00 mL com uma pipeta aferida e diluindo-se novamente a 10,03 mL. Foram feitas assim diluições sucessivas das soluções anteriores, sempre usando-se a mesma pipeta e balão volumétrico (Tabela V.2);
- foi preparada uma nova solução, G2.1, pelo mesmo procedimento descrito, com o objetivo de se obterem mais pontos nos gráficos. As Tabelas V.1 e V.2 sumarizam as soluções preparadas.

**Tabela V.1:** Soluções de partida para determinação da faixa dinâmica linear dos compostos peralogenados no detector de UV/Visível em 220nm.

Solução	Composto	Preparação <sup>(1)</sup>	Concentração $\pm$ EDP ( mg/mL )
G1.1	CB <sub>r4</sub>	28,50 mg diluído a 10,03 mL	2,841 $\pm$ 0,004
G1.1	CCl <sub>4</sub>	512,30 mg diluído a 10,03 mL	51,08 $\pm$ 0,07
G1.1	C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub>	10,60 mg diluído a 10,03 mL	1,057 $\pm$ 0,002
G1.1	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	7,00 mg diluído a 10,03 mL	0,698 $\pm$ 0,001
G2.1	CB <sub>r4</sub>	14,50 mg diluído a 10,03 mL	1,446 $\pm$ 0,002
G2.1	CCl <sub>4</sub>	405,50 mg diluído a 10,03 mL	40,43 $\pm$ 0,06
G2.1	C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub>	8,60 mg diluído a 10,03 mL	0,857 $\pm$ 0,001
G2.1	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	4,00 mg diluído a 10,03 mL	0,399 $\pm$ 0,001

(1) Diluídos com metanol/água.

**Tabela V.2:** Soluções para determinação da faixa dinâmica linear dos compostos peralogenados, preparadas por diluição das soluções da Tabela V.1.

Solução	Concentração; EDP (mg/mL)							
	CBr <sub>4</sub>	EDP	CCl <sub>4</sub>	EDP	C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub>	EDP	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	EDP
G1.1	2,841	0,004	51,08	0,07	1,057	0,002	0,698	0,001
G2.1	1,446	0,002	40,43	0,06	0,857	0,001	0,399	0,001
G1.2	1,133	0,004	20,37	0,08	0,422	0,002	0,278	0,001
G2.2	0,578	0,002	16,12	0,06	0,342	0,001	0,159	0,001
G1.3	0,452	0,002	8,12	0,03	0,168	0,001	0,1109	0,0004
G2.3	0,231	0,001	6,43	0,02	0,136	0,001	0,0634	0,0002
G1.4	0,180	0,001	3,24	0,01	0,0670	0,0003	0,0442	0,0002
G2.4	0,0921	0,0004	2,56	0,01	0,0542	0,0002	0,0253	0,0001
G1.5	0,0718	0,0003	1,29	0,01	0,0267	0,0001	0,0176	0,0001
G2.5	0,0367	0,0001	1,021	0,004	0,0216	0,00004	0,01037	0,00004

### V.1.2 - Cálculo das precisões das concentrações

Utilizou-se para o cálculo da precisão das concentrações das soluções o primeiro algarismo significativo da estimativa do desvio padrão (EDP) que foi calculado de acordo com o critério de propagação de erros segundo BACCAN e colaboradores (1979), isto é, para um resultado,  $r$ , obtido por produto ou quociente de grandezas A,B,C com EDP iguais a  $S_a$ ,  $S_b$ ,  $S_c$ ,

$$r = \frac{A \times B}{C} \quad (\text{V.1})$$

e sua EDP é

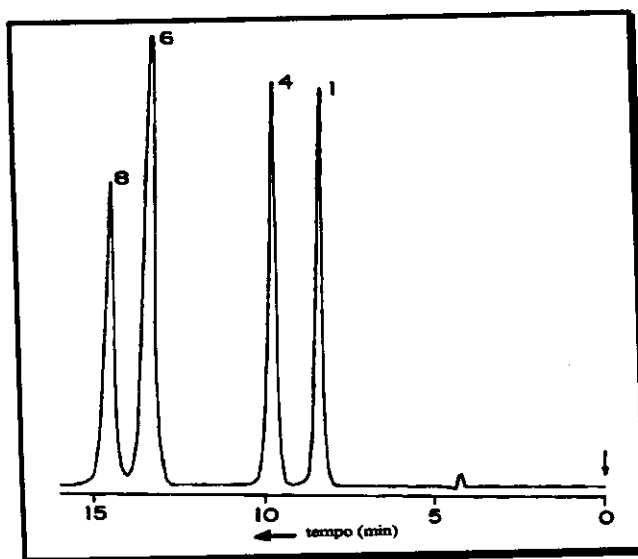
$$\text{EDP} = r \times [ (S_A/A)^2 + (S_B/B)^2 + (S_C/C)^2 ]^{1/2} \quad (\text{V.2})$$

Adotaram-se nos cálculos as seguintes estimativas de desvio padrão, calculadas por propagação de erros: para as massas,  $\pm 0,00014\text{g}$ ; para o balão volumétrico e pipeta volumétrica  $\pm 0,014\text{mL}$ .

### V.1.3 - Procedimento para análise cromatográfica

Após a identificação dos picos, procedeu-se a definição das condições de análise. As concentrações dos compostos das Tabelas V.1 e V.2 foram suficientes para que as alturas dos picos fossem próximas quando cromatografadas.

Usou-se detector de absorção no UV/Visível em 220 nm, fase móvel MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão de fase móvel 0,6 mL/min, velocidade do papel 4 cm/min e atenuações de 0,1; 0,04; 0,02 e 0,01 unidades de absorbância (UA). O volume de solução injetada foi de 10 µL. Todas as amostra foram injetadas 3 vezes sendo a alça de amostragem e o injetor, lavados muito bem com a fase móvel e amostra antes de cada injeção de solução de concentração diferente. Cromatograma é mostrado na Figura V.1.



**Figura V.1:** Cromatograma dos compostos usados na análise quantitativa. Condições de análise: FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20v/v, vazão 0,6mL/min, volume injetado 10µL, velocidade do papel: 1 cm/min. 1- CBr<sub>4</sub>; 4- CCl<sub>4</sub>; 6- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>; 8- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>.

Todos os picos para os 4 compostos escolhidos eluíam separadamente e foram resolvidos até a linha de base. Para o cálculo da área dos picos utilizou-se a

área do triângulo (BALL at al.), que é dada pelo produto  $BD \times EF$ , ou seja, altura vezes a largura a meia altura (Figura V.2).

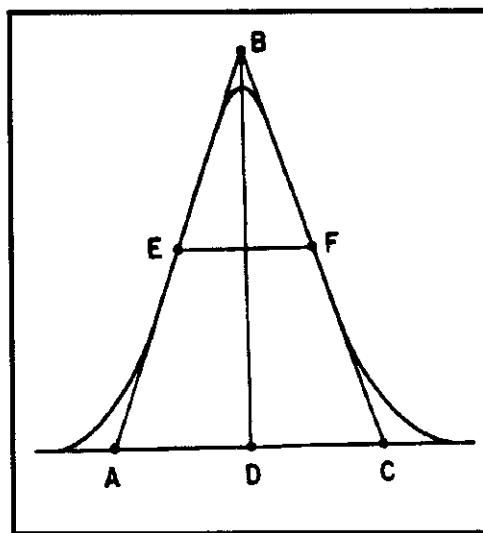


Figura V.2: Critério de triangulação para o cálculo manual da área (A) dos picos resolvidos.  
 $A = BD \times EF$ .

#### V.1.4 - Resultados e discussão

Devido os picos apresentarem-se bem resolvidos e simétricos pode-se calcular suas áreas manualmente. Como utilizaram-se várias atenuações, as áreas foram corrigidas (Acor) para a menor atenuação usada (0,01 UA). A reprodutibilidade das áreas foi estudada pela sua estimativa de desvio padrão absoluto (EDP), calculada por:

$$EDP = [ ( \sum x_i - x )^2 / N - 1 ]^{1/2} \quad (V.3)$$

onde:

$x_i$  = área calculada;

$x$  = média das áreas;

$N$  = número de áreas.

A precisão das medidas, também foi avaliada pela estimativa de desvio padrão relativo (EDPR), calculado por:

$$\text{EDPR} = (\text{EDP} / x) \times 100 \quad (\text{V.4})$$

Baseado no trabalho de VALENTE (1984), adotou-se o critério de desprezar os dados referentes a cada solução que ampliassem a EDP do parâmetro área corrigida média (A.cor.m) para valores acima de 5% da EDPR.

Estes resultados encontram-se nas Tabelas V.3 a V.6. As lacunas nas tabelas indicam pontos desprezados. Com estes dados construíram-se os gráficos de Acor.m *versus* concentração para os 4 peralogenados (Figuras V.3 a V.10).

**Tabela V.3:** Determinação da faixa dinâmica linear para CBr<sub>4</sub>.

Concentração (mg/mL)	A1 (cm <sup>2</sup> )	A2 (cm <sup>2</sup> )	A3 (cm <sup>2</sup> )	A.cor.m (cm <sup>2</sup> )	EDP	EDPR (%)
2,841	194,4	194,4	194,4	194,4	0,0	0
1,446	122,2	122,2	122,2	122,2	0,0	0
1,133	108,5	108,5	108,5	108,5	0,0	0
0,578	54,6	54,6	54,6	54,6	0,0	0
0,452	43,0	42,8	42,7	42,8	0,2	0,4
0,231	21,2	21,0	21,0	21,1	0,1	1
0,180	17,8	16,2	17,8	17,3	0,9	5
0,0921	8,8	8,8	8,7	8,8	0,1	1
0,0718	6,1	6,1	6,2	6,1	0,1	1
0,0367	3,4	3,3	-	3,3	0,1	2

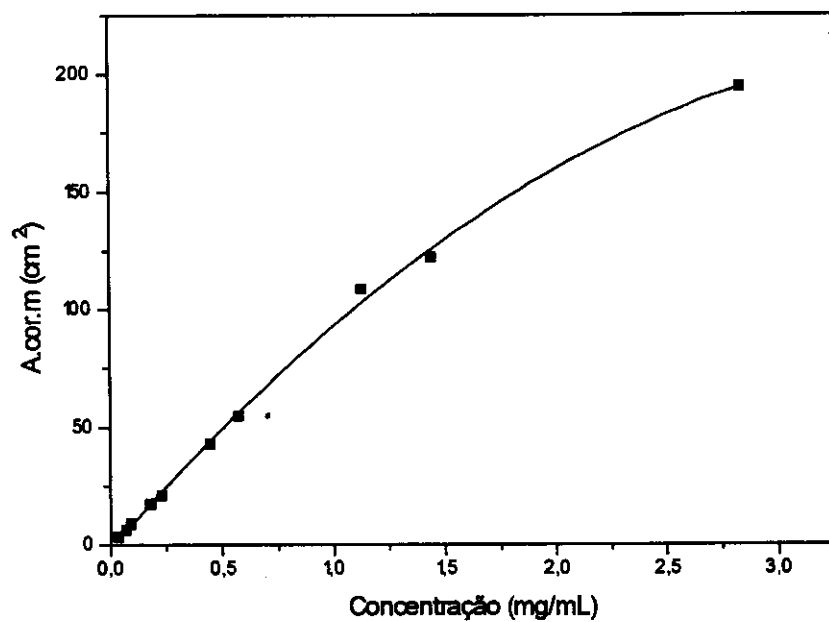


Figura V.3: Determinação da faixa dinâmica para  $\text{CBr}_4$ .

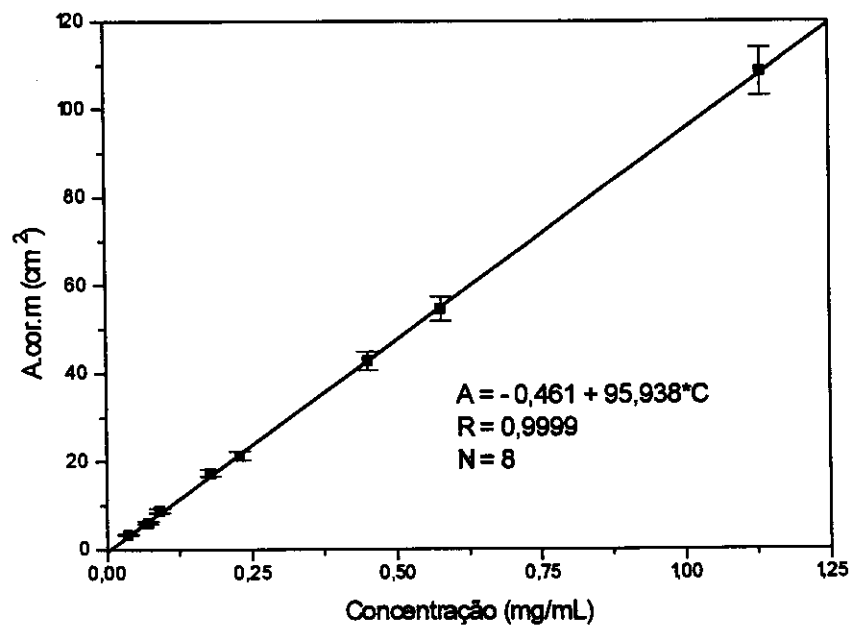


Figura V.4: Determinação da faixa dinâmica linear para  $\text{CBr}_4$ .



Entre o conjunto de 30 cromatogramas para o  $\text{CBr}_4$  foram desprezados 6 cromatogramas. Os cromatogramas desprezados foram os referentes aos dois últimos pontos de maior concentração que não estavam alinhados numa reta como mostra a Figura V.3. Os pontos alinhados para a aplicação da regressão linear (método dos mínimos quadrados) originaram a reta da Figura V.4, que é:

$$\text{Área} = (95,938 \times \text{Conc. do } \text{CBr}_4 - 0,461) \text{ cm}^2 \quad (\text{V.5})$$

Este gráfico resulta em estimativa de desvio padrão relativo entre 0% e 5%, com a maior população entre 1% e 2%. A reprodutibilidade obtida foi boa nas condições do experimento.

**Tabela V.4:** Determinação da faixa dinâmica linear para o  $\text{CCl}_4$ .

Concentração (mg/mL)	A1 ( $\text{cm}^2$ )	A2 ( $\text{cm}^2$ )	A3 ( $\text{cm}^2$ )	A.cor.m ( $\text{cm}^2$ )	EDP	EDPR (%)
51,08	183,6	183,6	183,6	183,6	0,0	0
40,43	174,6	174,4	174,4	174,5	0,1	0,1
20,37	88,8	88,9	89,2	89,0	0,2	0,2
16,12	73,1	72,8	73,5	73,1	0,4	1
8,12	38,1	38,1	37,9	38,0	0,1	0,3
6,43	28,4	28,6	28,7	28,6	0,2	1
3,24	14,5	14,5	14,5	14,5	0,0	0
2,56	11,2	11,2	11,2	11,2	0,0	0
1,29	5,5	5,5	5,4	5,5	0,1	1
1,021	4,3	4,3	4,2	4,3	0,1	1

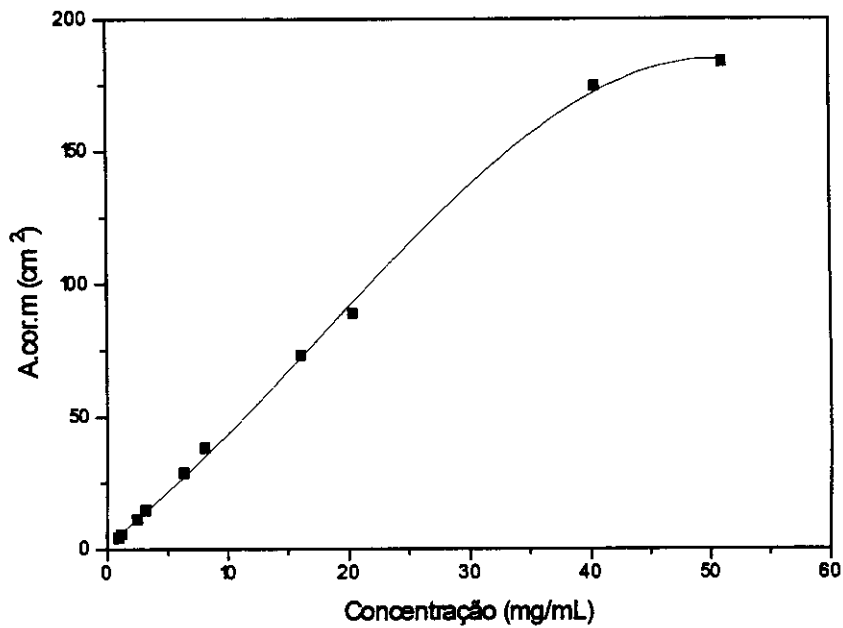


Figura V.5: Determinação da faixa dinâmica para CCl<sub>4</sub>.

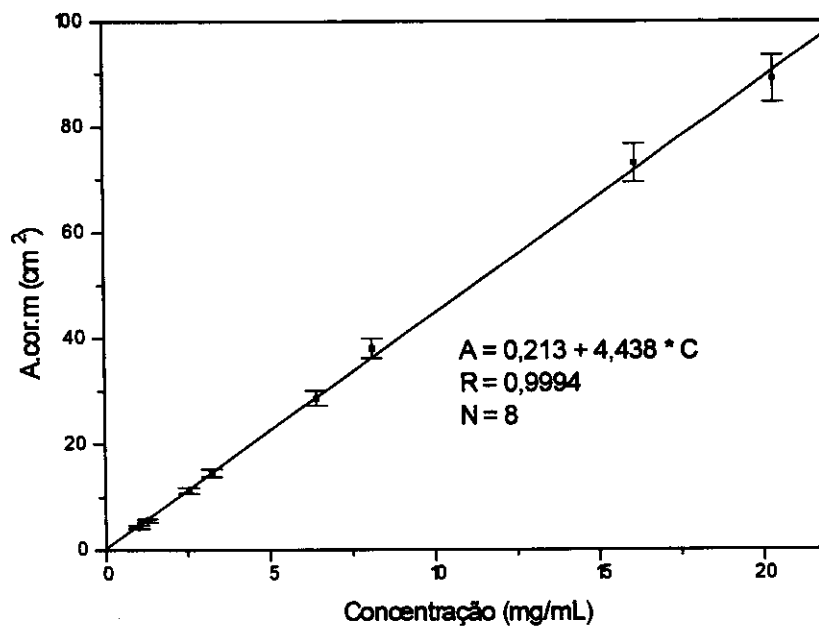


Figura V.6: Determinação da faixa dinâmica linear para CCl<sub>4</sub>.

Para o peralogenado  $\text{CCl}_4$ , também foram desprezados 6 cromatogramas, correspondentes aos de maior concentração, de um conjunto de 30 cromatogramas. Tentou-se aumentar a velocidade do papel no registrador de 4 cm/min para 6 cm/min com o objetivo de verificar se os cromatogramas correspondentes a maior concentração alinhavam-se numa reta, mas não se notou nenhuma melhora. Os pontos alinhados para a aplicação da regressão linear (método dos mínimos quadrados) originaram a reta da figura V.6, que é:

$$\text{Área} = (4,438 \times \text{Conc. do } \text{CCl}_4 + 0,213) \text{ cm}^2 \quad (5.6)$$

Este gráfico resulta em estimativa de desvio padrão relativo entre 0% e 1%. A reprodutibilidade obtida foi muito boa nas condições do experimento.

**Tabela V.5:** Determinação da faixa dinâmica linear para o  $\text{C}_2\text{Br}_4$ .

Concentração (mg/mL)	A1 ( $\text{cm}^2$ )	A2 ( $\text{cm}^2$ )	A3 ( $\text{cm}^2$ )	A.cor.m ( $\text{cm}^2$ )	EDP	EDPR (%)
1,057	283,0	282,9	283,0	283,0	0,1	0,02
0,857	265,1	266,8	266,8	266	1	0,4
0,422	140,9	141,0	141,3	141,1	0,2	0,1
0,342	118,8	119,2	119,2	119,1	0,2	0,2
0,168	60,5	60,5	60,5	60,5	0,0	0
0,136	46,1	45,9	45,9	46,0	0,1	0,3
0,0670	23,5	23,7	23,7	23,6	0,1	1
0,0542	18,4	18,2	18,4	18,3	0,1	1
0,0267	10,4	10,0	-	10,2	0,3	3
0,0216	7,4	7,3	7,0	7,2	0,2	3

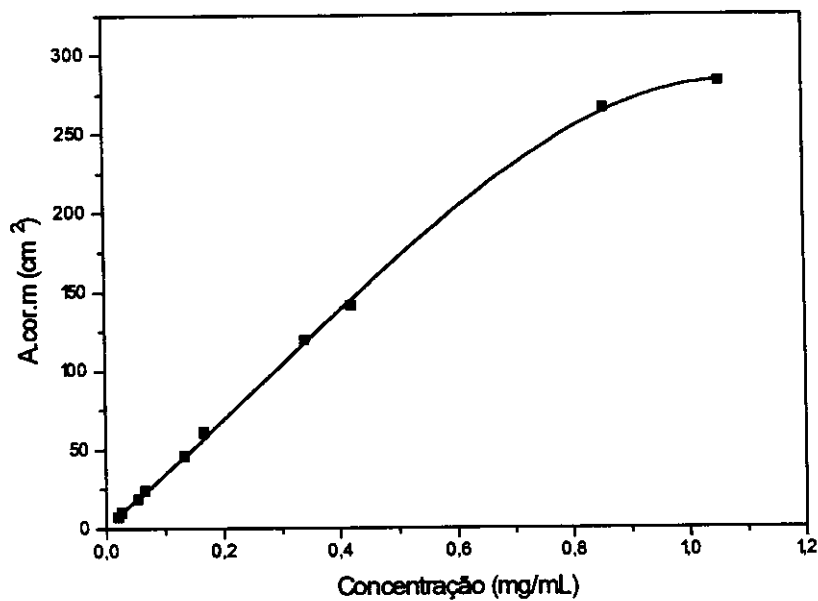


Figura V.7: Determinação da faixa dinâmica para C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>.

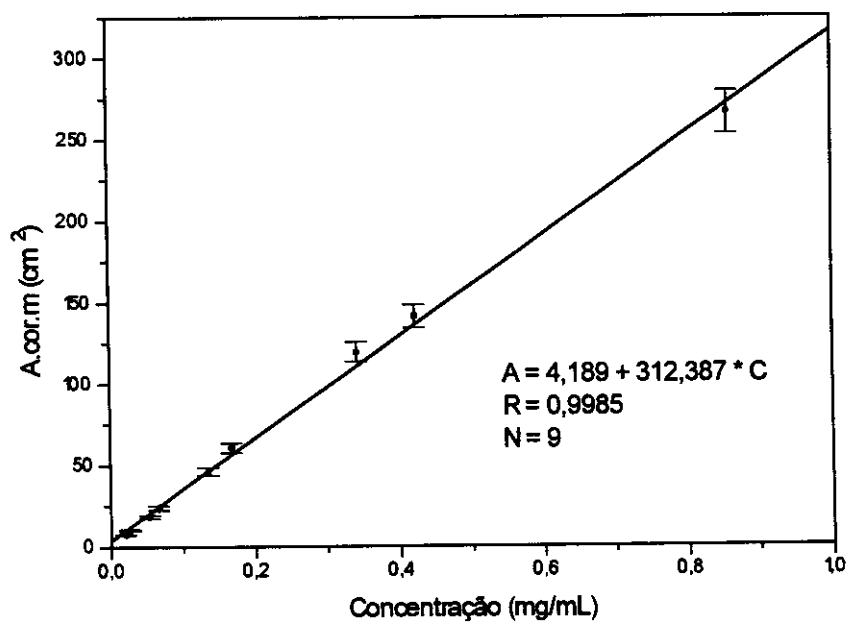


Figura V.8: Determinação da faixa dinâmica linear para C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>.

Para o peralogenado  $C_2Br_4$ , foram desprezados somente 3 cromatogramas, correspondentes aos de maior concentração, de um conjunto de 30 cromatogramas.

Os pontos alinhados para a aplicação da regressão linear (método dos mínimos quadrados) originaram a reta da Figura V.8, que é:

$$\text{Área} = (312,387 \times \text{Conc. do } C_2Br_4 + 4,189) \text{ cm}^2 \quad (\text{V.7})$$

Este gráfico resulta em estimativa de desvio padrão relativo entre 0% e 3%. A reprodutibilidade obtida foi boa nas condições do experimento.

**Tabela V.6:** Determinação da faixa dinâmica linear para o  $C_2Cl_4$ .

Concentração (mg/mL)	A1 (cm <sup>2</sup> )	A2 (cm <sup>2</sup> )	A3 (cm <sup>2</sup> )	A.cor.m (cm <sup>2</sup> )	EDP	EDPR (%)
0,698	206,8	206,8	207,3	207,0	0,3	0,1
0,399	136,5	136,6	136,0	136	1	0,2
0,278	97,8	97,8	97,0	97,5	0,5	1
0,159	56,7	56,7	56,9	56,8	0,1	0,2
0,1109	44,0	42,4	-	43	1	3
0,0634	24,2	24,4	24,5	24,4	0,2	1
0,0442	17,3	17,3	17,0	17,2	0,2	1
0,0253	9,3	9,4	9,3	9,3	0,1	1
0,0176	8,6	8,6	-	8,6	0,0	0
0,01037	4,0	-	4,2	4,1	0,1	3

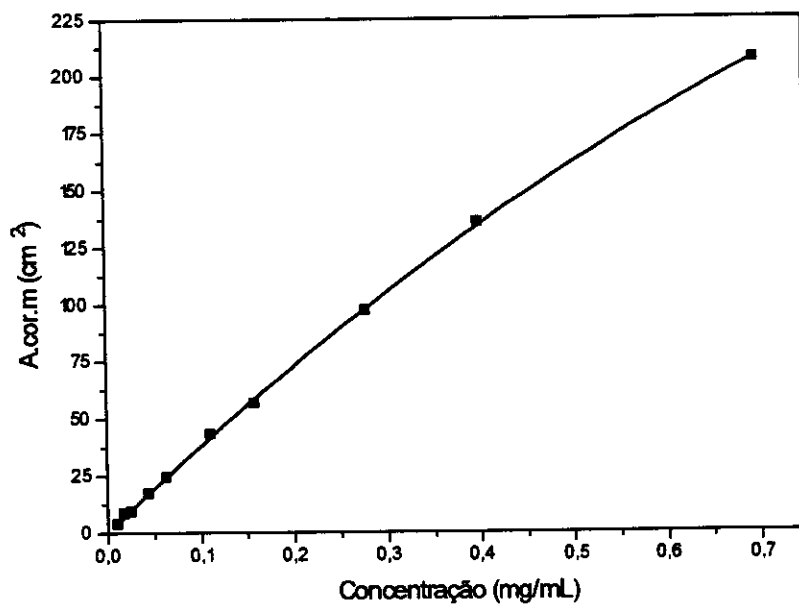


Figura V.9: Determinação da faixa dinâmica para  $C_2Cl_4$ .

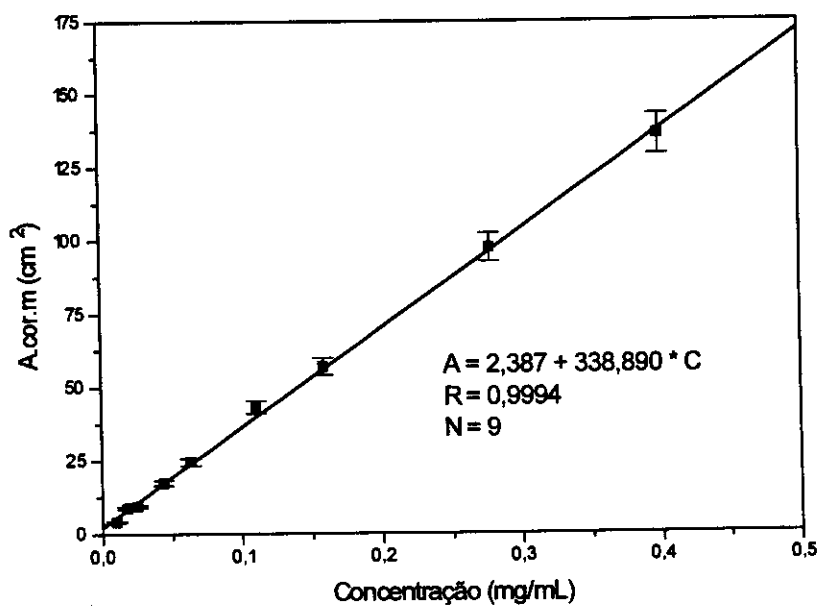


Figura V.10: Determinação da faixa dinâmica linear para  $C_2Cl_4$ .

Na confecção da curva analítica para  $C_2Cl_4$ , também foram desprezados apenas 3 cromatogramas, correspondentes aos de maior concentração, de um conjunto de 30 cromatogramas.

Os pontos alinhados para a aplicação da regressão linear (método dos mínimos quadrados) originaram a reta da Figura V.10, que é:

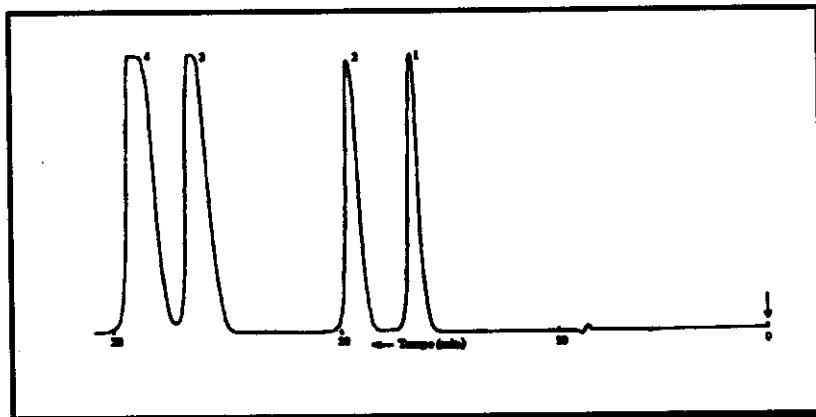
$$\text{Área} = (338,890 \times \text{Conc. do } C_2Cl_4 + 2,387) \text{ cm}^2 \quad (\text{V.8})$$

Este gráfico resulta em estimativa de desvio padrão relativo entre 0% e 3%. A reprodutibilidade obtida foi boa nas condições do experimento.

Nenhum dos compostos apresentou região linear em toda faixa de concentração, sendo que ocorre desvio de linearidade para as maiores concentrações. Para o tetrabromometano ( $CBr_4$ ), ocorre desvio de linearidade no detector de UV/Visível para concentrações maiores que 1,50 mg/mL. Para o tetracloreto de carbono ( $CCl_4$ ) o desvio ocorre a partir de concentrações 40,0 mg/mL. Para o tetrabromoetano ( $C_2Br_4$ ) a partir de 1,0 mg/mL e para o tetracloroetano a partir de 0,5 mg/mL.

Foi observada durante a preparação dos padrões que ocorre saturação da coluna para os compostos  $C_2Br_4$  e  $C_2Cl_4$  em concentrações maiores que 1,6 mg/mL e 1,4 mg/mL, respectivamente. Observam-se cromatogramas com picos deformados na sua extremidade superior (forma quadrada) com alturas fixas. Nestas concentrações, provavelmente, a coluna ultrapassou sua capacidade, provocando uma diminuição nas etapas de equilíbrio o que causou a deformação dos picos. Isto,

provavelmente, pode ser a causa dos desvios negativos nas curvas de calibração que foram observados para os compostos peralogenados (Figura V.11).



**Figura V.11:** Cromatograma mostrando formato irregular dos picos. FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20v/v, vazão 0,6 mL/min, velocidade do papel 2 cm/min, volume injetado 10 $\mu$ L, atenuação 0,4 UA. 1- CCl<sub>4</sub> = 51 mg/mL, 2- CBr<sub>4</sub> = 2,8 mg/mL; 3- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub> = 1,6 mg/mL e 4- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub> = 1,4 mg/mL.

O limite de detecção para os peralogenados foi considerado como a concentração mínima do composto que fornecia uma altura 3 vezes maior que o nível de ruído do aparelho (Tabela V.7).

**Tabela V.7:** Limite de detecção dos peralogenados no detector de UV/Visível com detecção em 220 nm, FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão 0,6 mL/min, atenuação 0,01 UA, coluna Ultrasphere ODS.

Composto	Limite de Detecção (mg/L)
CBr <sub>4</sub>	2
CCl <sub>4</sub>	4
C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub>	1
C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>	0,9
CCl <sub>3</sub> Br	1
C <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub>	5
C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> Br <sub>2</sub>	2



## **V.2 - Determinação por padrão interno**

Devido ao tempo entre as análises que seriam realizadas e pela grande volatilidade das soluções, além de pouca estabilidade em soluções concentradas, foi decidido o uso de curvas analíticas usando padrão interno.

### **V.2.1 - Escolha do padrão interno**

Dentre os compostos disponíveis no laboratório que apresentassem as propriedades de um padrão interno, tais como:

- alta pureza,
- tempo de retenção próximo ao dos componentes da amostra, ou seja, quando cromatografado eluir entre os componentes da amostra, porém separado,
- ter propriedades físico-químicas semelhantes aos componentes da amostra,
- não reagir com os componentes da amostra,
- dois compostos foram candidatos a serem usados: clorofórmio e bromofórmio, sendo que o bromofórmio não pode ser usado, pois seu tempo de retenção foi o mesmo do metanol e como as amostras são dissolvidas em metanol, isto inviabilizou o seu uso. Passou-se, então, a testar o clorofórmio. As Figuras V.12 e V.13 mostram os cromatogramas para alguns dos compostos peralogenados mais clorofórmio e peralogenados mais bromofórmio.

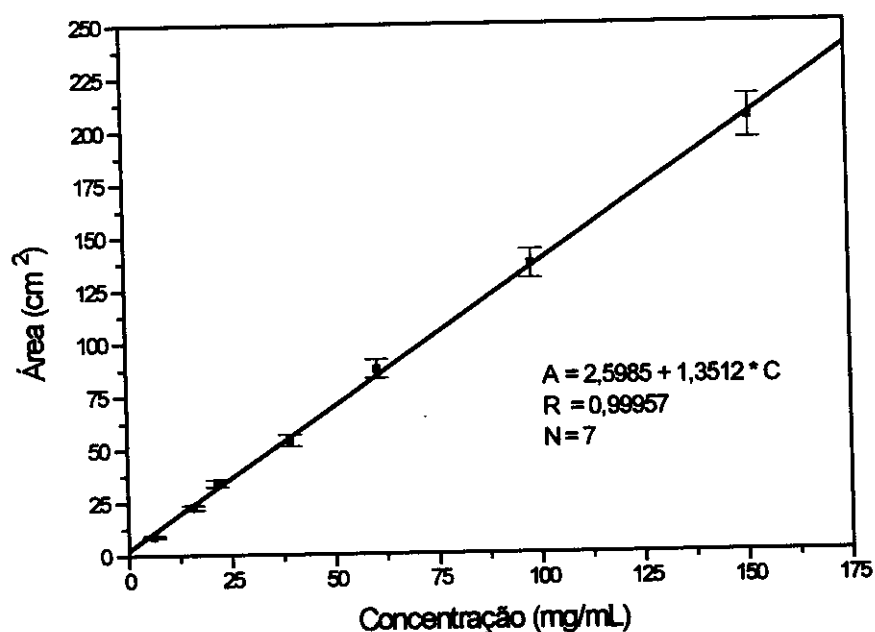


Figura V.12: Cromatograma mostrando peralogenados e clorofórmio. FM: MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão 0,6 mL/min, detecção em 220 nm. 1- CHCl<sub>3</sub>; 2- CBr<sub>4</sub>; 3- CCl<sub>4</sub>; 4- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub> e 5- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>.



Figura V.13: Cromatograma mostrando peralogenados e bromofórmio. FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão 0,6 mL/min, detecção em 220 nm. 1- CHBr<sub>3</sub>; 2- CBr<sub>4</sub>; 3- CCl<sub>4</sub>; 4- C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub> e 5- C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>.

O clorofórmio disponível no laboratório era de alta pureza, grau para cromatografia (LiChrosolv) e eluiu separadamente dos compostos peralogenados. Passou-se, então, a testar este composto em várias concentrações com objetivo de observar seu comportamento frente ao detector de UV/Visível. Obteve-se linearidade em uma faixa de concentração, desde 6 a 160 mg/mL (Figura V.14).



**Figura V.14:** Estudo da faixa linear do  $\text{CHCl}_3$ , usado como padrão interno, no detector de UV/Visível. Condições de análise: FM MeOH:H<sub>2</sub>O 80:20 v/v, vazão 0,6 mL/min,  $\lambda = 220$  nm.

### V.2.2 - Construção das curvas analíticas para $\text{CCl}_4$ , $\text{CBr}_4$ , $\text{C}_2\text{Cl}_4$ , $\text{C}_2\text{Br}_4$ usando $\text{CHCl}_3$ como padrão interno (PI)

Baseando-se nos resultados obtidos anteriormente para a região de linearidade dos peralogenados no detector de UV/Visível, construíram-se curvas de

razão de área ( $R_a$ ) versus concentração e razão de área versus razão de massas ( $R_m$ ), para cada composto isoladamente em solução de metanol/água, adicionando-se uma quantidade fixa de PI em cada solução. Os procedimentos gerais foram os mesmos descritos anteriormente para o método de calibração externa.

Foram pesadas as massas dos padrões dos peralogenados individualmente em balão volumétrico de 10,03 mL e os valores obtidos constam na Tabela V.8. Adicionaram-se 2 mL de metanol p.a., avolumando-se o balão volumétrico com a fase móvel. Fizeram-se diluições sucessivas a partir das soluções anteriores, porém adicionaram-se quantidades fixas do padrão interno (clorofórmio) em todos os balões antes de avolumá-los (Tabelas V.9 a V.11). O composto  $\text{CCl}_4$  foi preparado diretamente por pesagem, não se usou diluição sucessiva, pois as quantidades pesadas permitiam boa precisão (Tabela V.12).

**Tabela V.8:** Soluções de estoque dos peralogenados para o método de padrão interno.

Solução	Composto	Preparação	Conc. $\pm$ EDP (mg/mL)
1	$\text{CBr}_4$	101,6 mg diluído a 10,03 mL	10,13 $\pm$ 0,01
2	$\text{CBr}_4$	1,00 mL sol.1 diluído a 10,03 mL	1,01 $\pm$ 0,01
3	$\text{C}_2\text{Br}_4$	35,0 mg diluído a 10,03 mL	3,49 $\pm$ 0,01
4	$\text{C}_2\text{Br}_4$	7,50 mg diluído a 10,03 mL	0,748 $\pm$ 0,001
5	$\text{C}_2\text{Cl}_4$	22,0 mg diluído a 10,03 mL	2,193 $\pm$ 0,003
6	$\text{C}_2\text{Cl}_4$	2,00 mL sol. 5 diluído a 10,03 mL	0,44 $\pm$ 0,01

**Tabela V.9:** CBr<sub>4</sub> - Soluções para o método de PI.

Solução	Diluição	CBr <sub>4</sub>		CHCl <sub>3</sub>	
		mg/mL	EDP	mg/mL	EDP
1.1	2,0 mL em 10,03 mL	2,02	0,02	115,9	0,2
1.2	1,5 mL em 10,03 mL	1,51	0,01	115,6	0,2
1.3	1,0 mL em 10,03 mL	1,01	0,01	115,3	0,2
1.4	0,5 mL em 10,03 mL	0,51	0,01	115,7	0,2
2.1	2,0 mL em 10,03 mL	0,201	0,001	115,9	0,2
2.2	1,0 mL em 10,03 mL	0,101	0,001	115,9	0,2
2.3	0,5 mL em 10,03 mL	0,050	0,001	115,8	0,2

**Tabela V.10:** C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub> - Soluções para o método de PI.

Solução	Diluição	C <sub>2</sub> Br <sub>4</sub>		CHCl <sub>3</sub>	
		mg/mL	EDP	mg/mL	EDP
3.1	2,0 mL em 10,03 mL	0,70	0,01	115,3	0,2
3.2	1,5 mL em 10,03 mL	0,52	0,01	115,1	0,2
3.3	1,0 mL em 10,03 mL	0,35	0,01	115,9	0,2
4.1	2,0 mL em 10,03 mL	0,149	0,004	115,6	0,2
4.2	1,0 mL em 10,03 mL	0,075	0,001	115,7	0,2
4.3	0,5 mL em 10,03 mL	0,0373	0,001	115,4	0,2

**Tabela V.11:** C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub> - Soluções para o método de PI.

Solução	Diluição	C <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub>		CHCl <sub>3</sub>	
		mg/mL	EDP	mg/mL	EDP
5.1	2,0 mL em 10,03 mL	0,437	0,003	102,1	0,1
5.2	1,5 mL em 10,03 mL	0,328	0,003	102,2	0,1
5.3	1,0 mL em 10,03 mL	0,219	0,003	102,1	0,1
5.4	0,5 mL em 10,03 mL	0,109	0,003	102,5	0,1
6.1	2,0 mL em 10,03 mL	0,088	0,001	102,8	0,1
6.2	1,0 mL em 10,03 mL	0,044	0,001	103,0	0,1
6.3	0,5 mL em 10,03 mL	0,022	0,001	102,7	0,1

**Tabela V.12:** CCl<sub>4</sub> - Soluções para o método de PI.

CCl <sub>4</sub>		CHCl <sub>3</sub>	
mg/mL	EDP	mg/mL	EDP
41,7	0,06	115,6	0,2
31,50	0,04	115,9	0,2
26,00	0,04	115,9	0,2
13,78	0,02	114,8	0,2
9,08	0,01	115,9	0,2
1,900	0,003	115,5	0,2
0,770	0,001	116,1	0,2

**V.2.3- Resultados e discussão das curvas analíticas usando PI**

As soluções preparadas dos compostos com o padrão interno foram injetadas em triplicata no cromatógrafo. Foram feitas medidas de altura e largura a meia altura em milímetros. As áreas obtidas eram corrigidas para a atenuação 0,01UA e expressadas em cm<sup>2</sup>. A reprodutibilidade das áreas foi estudada pela sua estimativa de desvio padrão como em V.1.4. Nas Tabelas V.13 a V.16 encontram-se os dados e resultados usados na construção das curvas analíticas, como área corrigida (Acor.m) para os compostos peralogenados, área do padrão interno (A PI), razão de áreas ( $R_a = A_{cor.m} / A_{PI}$ ), razão de massas ( $R_m = \text{massa composto peralogenado} / \text{massa do PI}$ ). As curvas correspondentes estão mostradas nas Figuras V.15 a V.22.

**Tabela V.13:** Resultados para CBr<sub>4</sub> usando CHCl<sub>3</sub> como PI.

Solução	Acor.m (cm <sup>2</sup> )	EDP	A (PI) (cm <sup>2</sup> )	EDP	R <sub>a</sub>	EDP	R <sub>m</sub>	EDP
1.1	158,0	0,4	78,4	0,4	2,02	0,01	0,0174	0,0001
1.2	120,3	0,7	78,7	0,3	1,53	0,01	0,0131	0,0001
1.3	75,0	0,3	77,9	0,2	0,963	0,005	0,0088	0,0001
1.4	45,20	0,07	80,9	0,1	0,559	0,001	0,0043	0,0001
2.1	17,40	0,04	84,9	0,1	0,205	0,001	0,00173	0,00001
2.2	8,20	0,03	76,6	0,6	0,107	0,001	0,00087	0,00001
2.3	4,60	0,00	75,2	0,8	0,061	0,001	0,00043	0,00001

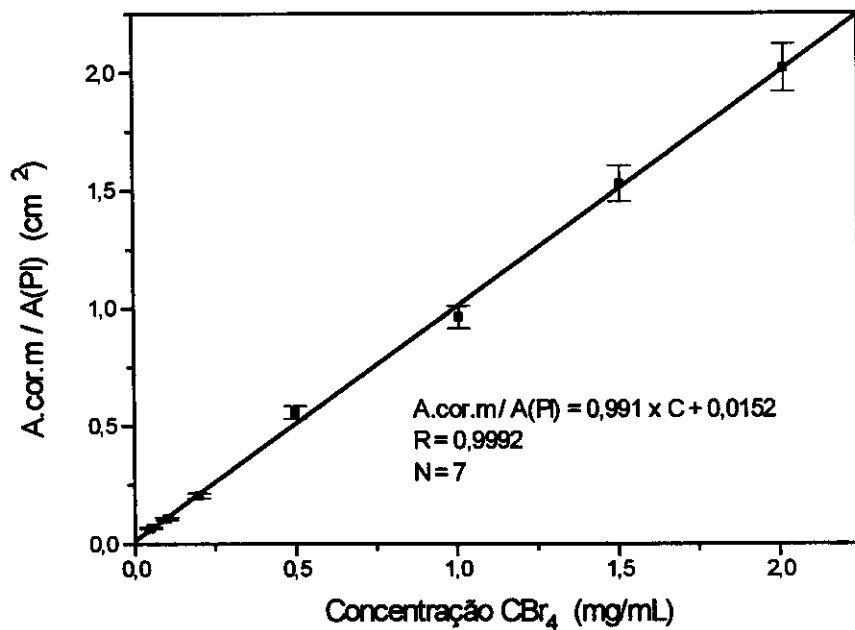


Figura V.15: Curva analítica para o  $\text{CBr}_4$  usando  $\text{CHCl}_3$  como P.I.

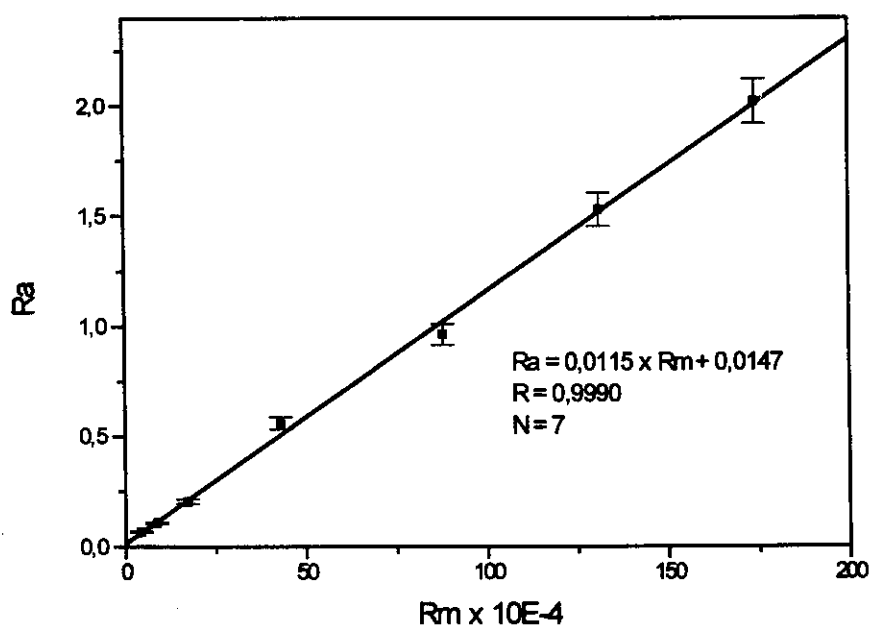
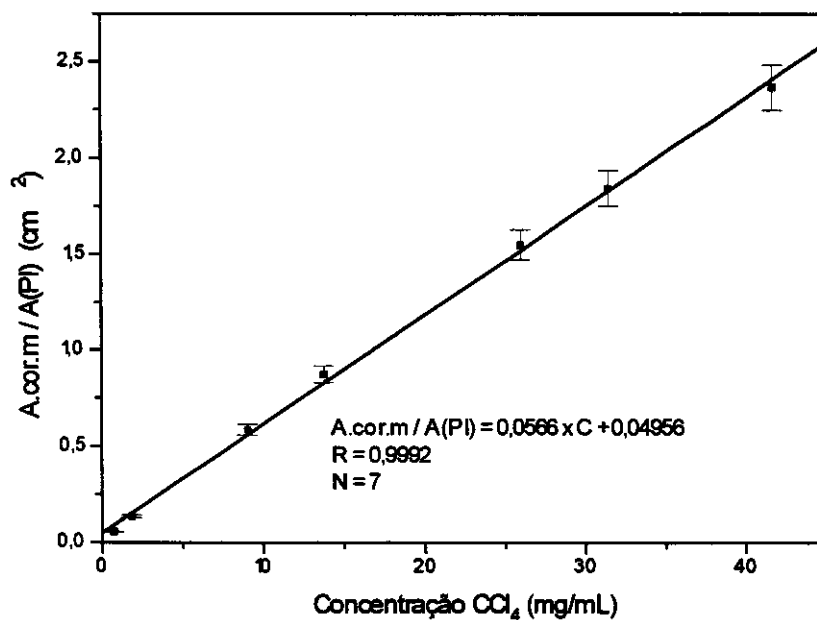


Figura V.16:  $R_a \times R_m$  para  $\text{CBr}_4$ .

**Tabela V.14** : Resultados para o  $\text{CCl}_4$ , usando  $\text{CHCl}_3$  como PI.

Acor.m ( $\text{cm}^2$ )	EDP	A (PI) ( $\text{cm}^2$ )	EDP	Ra	EDP	Rm	EDP
172,00	0,00	72,7	0,0	2,366	0,000	0,361	0,001
132,5	0,1	71,9	0,1	1,843	0,003	0,272	0,001
116,3	0,5	75,1	0,3	1,549	0,009	0,224	0,001
67,50	0,00	77,3	0,0	0,874	0,000	0,1200	0,0003
42,2	0,2	72	1	0,586	0,009	0,0783	0,0002
10,69	0,01	80,0	0,5	0,134	0,001	0,01645	0,00004
4,3	0,3	79,0	0,5	0,054	0,004	0,00663	0,00001

**Figura V.17**: Curva analítica para o  $\text{CCl}_4$  usando  $\text{CHCl}_3$  como PI.



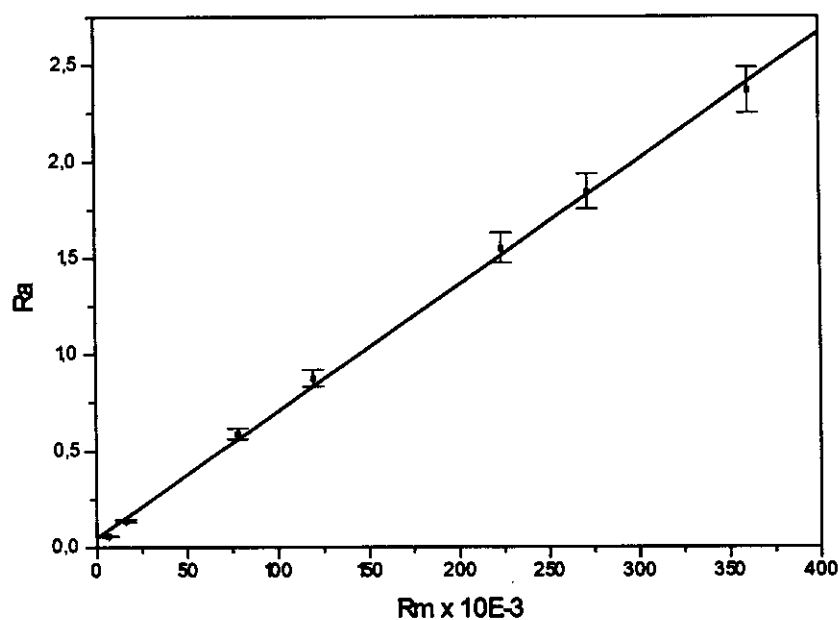


Figura V.18: Ra x Rm para o CCl<sub>4</sub>

Tabela V.15: Resultados para o C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub>, usando CHCl<sub>3</sub> como PI.

Solução	Acor.m (cm <sup>2</sup> )	EDP	A (PI) (cm <sup>2</sup> )	EDP	Ra	EDP	Rm	EDP
3.1	210,1	0,2	78,7	0,2	2,67	0,01	0,00607	0,00004
3.2	166,5	0,4	78,4	0,2	2,12	0,01	0,00452	0,00004
3.3	110,50	0,02	77,87	0,06	1,419	0,001	0,00302	0,00004
4.1	48,6	0,1	77,80	0,08	0,625	0,001	0,00129	0,00003
4.2	26,7	0,1	77,91	0,05	0,343	0,001	0,00065	0,00001
4.3	13,60	0,02	77,12	0,08	0,1763	0,0003	0,00032	0,00001

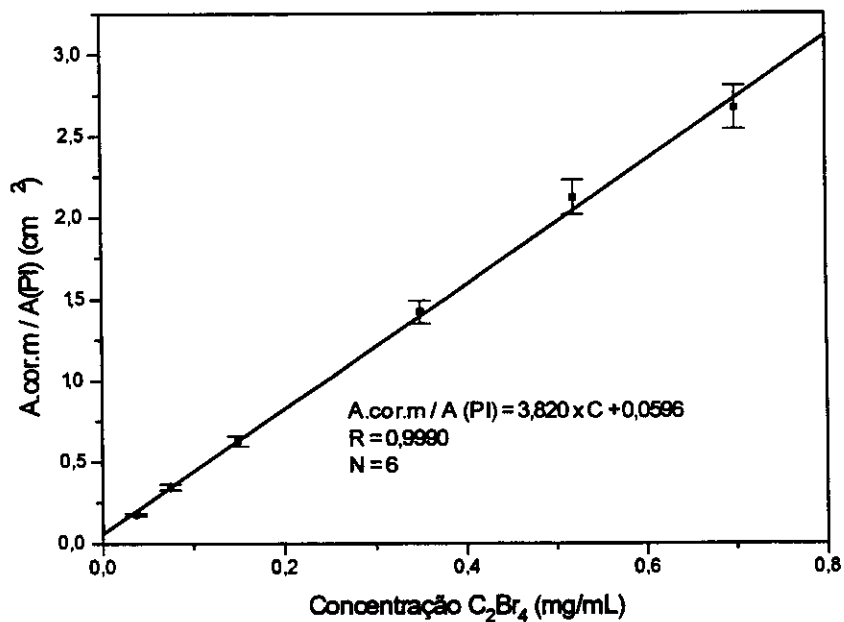


Figura V.19: Curva analítica para o  $C_2Br_4$  usando  $CHCl_3$  como PI.

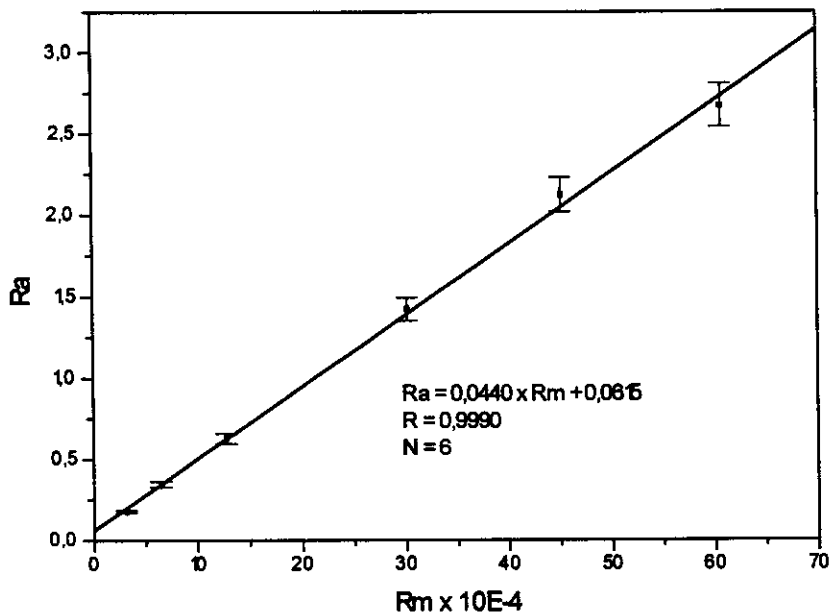
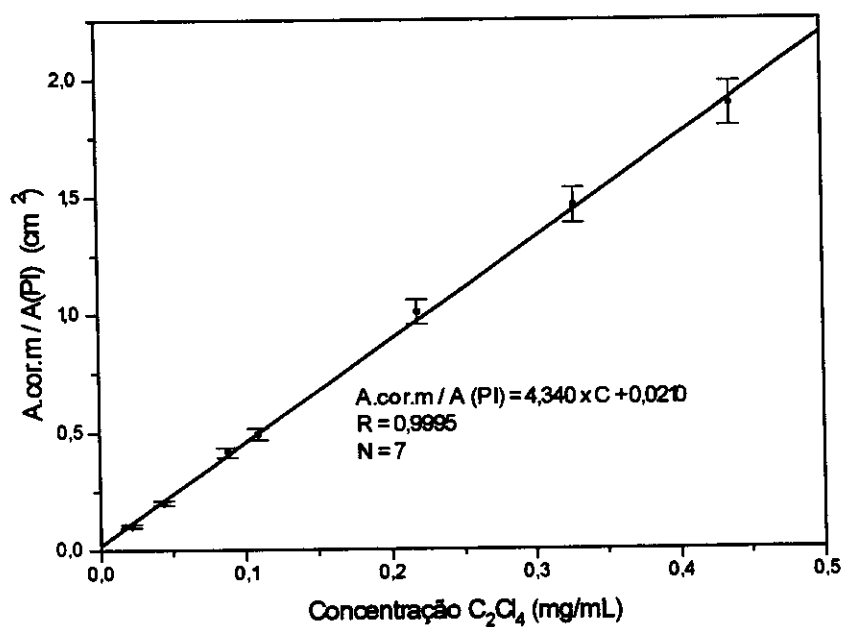


Figura V.20:  $Ra \times Rm$  para o  $C_2Br_4$ .

**Tabela V.16:** Resultados para o  $C_2Cl_4$ , usando  $CHCl_3$  como PI.

Solução	Acor.m ( $cm^2$ )	EDP	A (PI) ( $cm^2$ )	EDP	Ra	EDP	Rm	EDP
5.1	131,8	0,3	69,7	0,5	1,89	0,01	0,00428	0,00003
5.2	101,7	0,2	69,67	0,06	1,460	0,003	0,00321	0,00003
5.3	69,2	0,1	68,8	0,2	1,006	0,003	0,00214	0,00003
5.4	33,79	0,09	69,12	0,08	0,489	0,001	0,00106	0,00003
6.1	28,64	0,07	69,37	0,09	0,413	0,001	0,00086	0,00001
6.2	14,07	0,05	70,56	0,08	0,199	0,001	0,00043	0,00001
6.3	7,17	0,04	70,20	0,08	0,102	0,001	0,00021	0,00001

**Figura V.21:** Curva analítica para o  $C_2Cl_4$  usando  $CHCl_3$  como PI.

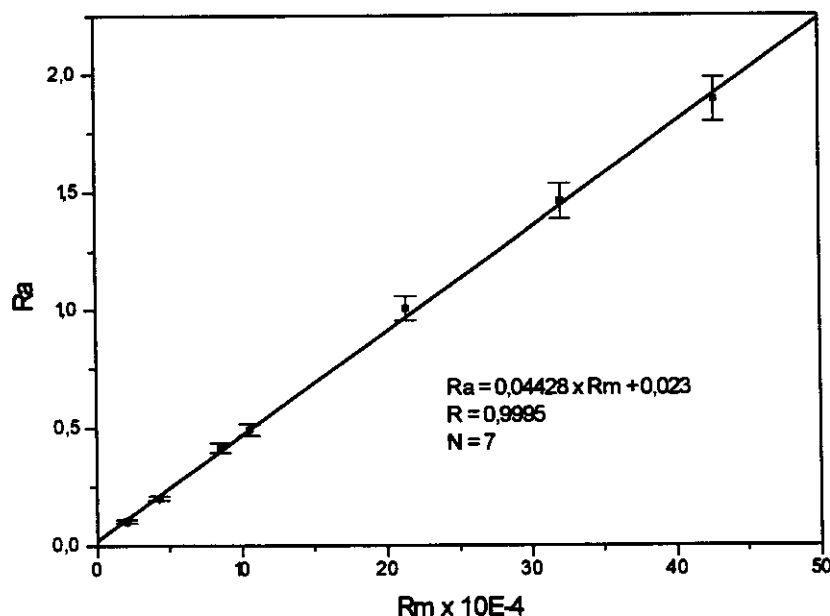


Figura V.22 : Ra x Rm para o C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>.

Os gráficos de Ra x Rm serão uma reta, se a resposta do detector for similar para a amostra e o padrão interno. Como o padrão interno usado (CHCl<sub>3</sub>) não era um composto peralogenado, foram traçadas as curvas Ra x Rm para verificar este efeito. Ra são valores que só dependem da exatidão com que se preparam as soluções padrões, podendo ser controladas de forma a variarem linearmente com as diluições. Rm são dependentes das áreas obtidas nos cromatogramas que dependem do detector e se relacionam com a quantidade da amostra.

Os resultados obtidos para o método de padronização interna para CCl<sub>4</sub>, CBr<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>Br<sub>4</sub> apresentaram comportamento linear para as curvas de Ra x Rm.

As curvas de  $R_a \times C$  foram satisfatórias, indicando a possibilidade de interpolação gráfica na faixa de concentração usada para os compostos.

O  $CBr_4$  apresenta boa regularidade, suas curvas  $R_a \times R_m$  e  $R_a \times C$ , correlacionaram-se bem na faixa de concentração 2,032 - 0,051 mg/mL. A faixa de linearidade encontrada foi de 40 unidades de concentração.

O  $CCl_4$  também apresentou comportamento linear para as curvas de  $R_a \times R_m$  e  $R_a \times C$ . Encontrou-se a maior faixa linear, cerca de 50 unidades de concentração (41 - 0,77 mg/mL), porém, é o composto menos sensível ao detector de UV/Visível, seu limite de detecção foi de 4 mg/mL.

Para o  $C_2Br_4$  encontrou-se uma faixa linear de cerca de 18 unidades de concentração (0,70 - 0,038 mg/ml). As curvas de  $R_a \times R_m$  e  $R_a \times C$  foram satisfatórias.

O  $C_2Cl_4$  é o composto de menor limite de detecção (0,9 mg/mL). Sua faixa linear de concentração está em torno de 20 unidades de concentração (0,44 - 0,022 mg/mL).

Nas condições experimentais obtidas, os compostos podem ser quantificados seguramente pelo método de padronização interna.

## VI - CONCLUSÕES

Compostos peralogenados do tipo  $C_xBr_yCl_z$  (onde  $x = 1$  ou  $2$ ;  $y + z = 4$  ou  $6$ ) podem ser separados por cromatografia líquida de alta eficiência empregando-se sistemas com fase estacionária C-18, do tipo reversa, e fase móvel polar, mistura de metanol/água com diferentes polaridades, devido à grande diferença de polaridade entre estes compostos peralogenados estudados.

Nas condições experimentais utilizadas, com o detector de UV/Visível, não foi possível trabalhar na faixa de microgramas, usando o método de cálculo manual de áreas por triangulação.

Observou-se desvio de linearidade para os compostos peralogenados nas concentrações acima de:

$CBr_4 > 1,5 \text{ mg/mL}$

$CCL_4 > 40 \text{ mg/mL}$

$C_2Br_4 > 1,00 \text{ mg/mL}$

$C_2Cl_4 > 0,50 \text{ mg/mL}$

Todas as curvas analíticas obtidas permitiram interpolações de áreas corrigidas com reprodutibilidade menor que 5% na faixa de concentração em que a resposta do detector é linear.

O método de cálculo manual de área por triangulação foi adequado, apresentando bons níveis de reprodutibilidade, porém, sendo inferior aos obtidos por integração eletrônica.

Os limites inferiores confiáveis de detecção usando o detector de UV/Visível, em concentração de solução do halogenado em metanol e atenuação de 0,01 UA, são:

$$C_{Br_4} = 0,035 \text{ mg/mL,}$$

$$CCl_4 = 1,0 \text{ mg/mL,}$$

$$C_2Br_4 = 0,010 \text{ mg/mL,}$$

$$C_2Cl_4 = 0,010 \text{ mg/mL.}$$

O método de quantificação usando o padrão interno, quando aplicado aos compostos peralogueados, do tipo estudado, parece ser mais adequado do que o método de calibração externa, pelo fato desses compostos não apresentarem estabilidade por longo período em soluções de metanol/água, assim não é necessário fazer-se a curva analítica com freqüência. Além disto, usando-se o método por padronização interna, são corrigidos efeitos de volume e de resposta do detector. Este método é considerado um dos melhores para quantificação de substâncias, apesar de ser um dos mais trabalhosos. Não foi feito nenhum estudo que definisse o espaço de tempo de confiabilidade das curvas analíticas, já que as soluções dos padrões não se mantinham estáveis por vários dias, mesmo sob refrigeração.

O uso de sistemas de detecção mais sensíveis, ou sistemas com microcolunas para a CLAE, pode melhorar a sensibilidade de detecção, pois os componentes da amostra são eluídos em bandas mais estreitas devido a menor quantidade requerida para a análise.

## VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, S. R., Column pressure problems in HPLC, *LC*, **3**: 568-574, 1985.

BACCAN, N., ANDRADE, J. C., GODINHO, O. E. S., BARONE, J. S., **Química Analítica Quantitativa Elementar**, Editora Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 1979.

BAL, D. L.; HARRIS, W. E.; HABGOOD, H. W. Experimental evaluation of indeterminate error in height-width and height only measurements of chromatographic peaks. *Anal. Chem.*, **40**: 129-134, 1968.

BERTRAN, C. A., **Radiólise de Soluções Diluídas de CBr<sub>4</sub> em CCl<sub>4</sub> a 0°C: Comparação com a Termólise a Várias Temperaturas**, Tese de Doutorado, Instituto de Química da Unicamp, Campinas, 1987.

BONATO, P. S., **Determinação da Distribuição de Radioatividade nos Produtos Resultantes da Irradiação de Tetrabromometano com Nêutrons, usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência como Método de Análise**, Tese de Mestrado, Instituto de Química da Unicamp, Campinas, 1983.

BRAITHWAITE, A., SMITH, F. J., **Chromatographic Methods**, 4<sup>a</sup> edition, Chapman and Hall, London, 1985.



- COLLINS, C. H., BERTRAN, C. A., VALENTE, A. L. P., LEONE, P. A., MURTA, A. L. M., COLLINS, K. F., Interpolation of relative retentions as a tool for identification of perhalogenated compounds, **Chromatographia**, **26**: 168-170, 1988.
- COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P.S., coordenadores, **Introdução a Métodos Cromatográficos**, 4ª edição, Editora da UNICAMP, Campinas, 1990.
- DOLAN, J. W., Common column problems, **LC**, **3**: 420-423, 1985.
- DOLAN, J. W., Column flushing demystified, **LC**, **7**: 557-559, 1989.
- DOLAN, J. W., Mobile phase buffer problems, **LC-CG**, **8**: 212-215, 1990.
- JOHNSON, E., STEVENSON, R., **Basic Liquid Chromatography**, Varian, Palo Alto, California, 1978. p.15.
- KAISER, R. , Errors in chromatography. **Chromatographia**, **4**: 123-125; 215-219; 361-365; 479-484, 1971.
- LEONE, P. A., **Análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Compostos Peralogenados do Tipo  $C_xBr_yCl_z$  (  $x = 1$  ou  $2$ ;  $y + z = 4$  ou  $6$  )**, Tese de Mestrado, Instituto de Química da Unicamp, Campinas, S. P., 1988.

- MANFRED, J. F., COLLINS, C. H., VALENTE, A. L. P., A Otimização da Resolução em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - (CLAE), **Química Nova**, 7: 132-137, 1984.
- MILLER, J. N., Basic statistical methods for analytical chemistry - Part 2. Calibration and regression methods, **Analyst**, 116: 3-14, 1991.
- MURTA, A. L. M., **Análises Cromatográficas de Misturas de Compostos de Fórmula  $C_xCl_yBr_z$  (  $x = 1$  e  $2$ ), Ativos ou sem Atividade**, Tese de Doutorado, Instituto de Química da Unicamp, Campinas, S. P., 1982.
- PERRIN, D. D., ARMAREGO, W. F.L., **Purification of Laboratory chemicals**, 3ª edição, Pergamon Press p/c, Oxford, 1988.
- POOLE, C. F., POOLE, S.K., Recent Advances in Chromatography, **Anal. Chim. Acta**, 216: 109-145, 1989.
- QUEIROZ, S. C. N., **Estudo de Variáveis Experimentais no Desempenho de Colunas Recheadas para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**, Tese de Mestrado, Instituto de Química da Unicamp, Campinas, S. P., 1995.
- ROGOZINSKI, M., Subtraction gas chromatography of labile halogen compounds. **J. Gas Chromatogr.**, 2 (5): 163, 1964.

- SCHILL, G.; CROMMEN, J., Indirect detection in high-performance liquid chromatography, **Trends Anal. Chem.**, **6**: 5, 1987.
- SCHWARTZ, L.L., FIRESTONE, R.F., Radiolysis of dibromodichloromethane and the  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -ray induced exchange between  $\text{CCl}_2\text{Br}_2$  and  $\text{Br}_2$ , U. S. At., Energy Comm. Report. TID-16579, Washington, D.C., 1962; C.A.: 59:10909g.
- SISTEK, I., URBAN, J., Radiolysis of halogenated hydrocarbons, **Ceskoslovenska Akademie Véd**, Report ÚJV, 2562, Rez, 1970.
- SMALL, H.; MILLER, T.E. Jr., Indirect photometric chromatography. **Anal. Chem.** **54**: 462-69, 1982.
- SNYDER, L. R., KIRKLAND, J. J., **Introduction to Modern Liquid Chromatography**, 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons Inc., New York, 1979.
- VALENTE, A. L. P., **Desenvolvimento e Avaliação de Métodos Cromatográficos para Compostos do Tipo  $\text{C}_x\text{Cl}_y\text{Br}_z\text{H}_n$** , Tese de Doutorado, Instituto de Química da Unicamp, Campinas, S.P., 1984.
- YEUNG, E. S., KUHR, W.G., Indirect detection methods for capillary separation, **Anal. Chem.**, **63**: 5, 275-278, 1991.

**YOST, R. W., ETTRE, L. S., CONLON, R. D., *Practical Liquid Chromatography. An Introduction*, Perkin Elmer Co., Norwalk, Connecticut, 1980.**