



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química



A ESTRATÉGIA DE INJEÇÕES CONSECUTIVAS EM CROMATOGRAFIA
GASOSA APLICADA À ROTINA DE ANÁLISE DE ANTIOXIDANTES EM
POLIETILENO

VANJOALDO DOS REIS LOPES NETO

Orientador: Prof. Dr. Mauro Korn

Co-Orientador: Dr. Fabio Oliveira dos Santos

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade Federal da
Bahia para obtenção de título de Mestre
em Ciências Naturais - Química.

Salvador, BA
2006

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho é fruto da colaboração direta ou indireta de algumas pessoas e instituições, as quais eu gostaria de agradecer.

Gostaria de agradecer ao Led Zeppelin, ao Pink Floyd e ao Legião Urbana por suas fantásticas canções. Alguém já disse que escrever rima com solidão. Grande parte da minha solidão, ao escrever esta dissertação, foi embalada por músicas destas bandas.

A CAPES, FAPESB, CNPQ, e outros. Nunca fui bolsista, mas muitos de meus colegas são. É necessário valorizar estas instituições que apostam em nossos pesquisadores e, com isso, fazem nosso país se desenvolver e crescer.

À Braskem pelo apoio fornecido (amostras e laboratórios), que facilitou bastante o andamento do trabalho, e pelas pessoas que a compõe. Em especial aos meus colegas e amigos do LCQ pelas trocas de turno e pelas palavras de incentivo.

À UFBA pela oportunidade de fazer parte do seu copo discente. Em especial ao PPG em Química.

Minha gratidão à UNEB, minha academia, e a toda galera do Sonofia, em especial Daniela Pessoas (pelas traduções), Vitória (duas das seis mãos na construção do Software) e Fábio Oliveira, meu Co-orientador.

Aos meus amigos que “suportaram” minhas ausências nos bares, festas e eventos nestes dois anos e, ainda assim, me consideram amigo. Para Day, pois você foi muito importante nesta caminhada.

Ao meu grande amigo Antonio Inácio Santiago Neto. É melhor falar o apelido, se não ninguém vai saber de quem se trata: Sapé.

Camila, estes quatro últimos meses foram difíceis, interessantes e únicos, mas foi muito legal estar com você neste período, sua ajuda foi importante.

À banca, Profs. Drs. Pedro Afonso e Claudimir Lúcio, pelas correções que melhoraram e engrandeceram o trabalho como um todo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mauro Korn, pelo exemplo e amizade. Minha admiração por você sempre aumenta. Espero não tê-lo desapontado.

À minha família pelo apoio, ajuda e incentivo. Em especial a minha filha, Lisa Natália, por entender os momentos de ausência. Você sempre será o “Amor de Pai”.

In Memoriam à minha Mãe e ao meu Avô: onde quer que estejam, vocês vão estar sempre comigo. “... És parte ainda do que me faz forte...”

Por fim, mas não menos importante, muito pelo contrario, gostaria de agradecer a Deus, nosso Criador, nossa fonte de energia e inteligência. Obrigado Senhor por colocar pessoas tão importantes em meu caminho.

Vanjoaldo Lopes

Outono/Inverno de 2006

RESUMO

A automação é uma das tendências da Química Analítica Moderna e esta visa o aumento da produtividade sem afetar a qualidade dos resultados, melhorar a segurança do operador e minimizar possíveis impactos ao ambiente. Na mesma frente, deve ser citada a quimiometria, a qual permite extrair o máximo de informações químicas com menor número de observações. Nesta lógica, diferentes estratégias têm sido desenvolvidas para aumentar a produtividade das determinações cromatográficas.

Nas análises cromatográficas é usual que uma nova injeção da amostra seja feita após a eluição de todos os componentes da alíquota da amostra anteriormente injetada, mas aplicando critérios de lógica associada à automação, foi possível incrementar a produtividade analítica sem afetar a qualidade dos resultados, aplicando o conceito de injeções consecutivas. O procedimento foi aplicado nas determinações de aditivos em polietileno, com amostras cedidas pela Braskem S.A.

Foi desenvolvido um software em QuickBasic 4.5 para estabelecer os intervalos de tempo entre as consecutivas injeções para que não ocorressem sobreposições dos picos dos componentes de interesse com outros picos oriundos de alíquotas anteriormente inseridas.

Os três aditivos avaliados (Irganox 1076, Irgafós 168 e Irgafós 168oxi) foram determinados em 45 amostras de polietileno, com redução do tempo total de operação de 38 para 13,5 h. Os resultados obtidos pela metodologia proposta não apresentaram diferenças significativas frente aos obtidos pelo método convencional empregado nas rotinas analíticas da Braskem, para 95% de confiabilidade.

Palavras chave: Quimiometria, aumento de produtividade, cromatografia gasosa, polietileno.

ABSTRACT

Automation is one of the tendencies of Modern Analytical Chemistry and it aims the increase of analytical productivity without detriment of results, the improvement of operator security and to minimize the possibility of environmental impact. In the same way chemometrics deserves prominence since it allows maximization of extraction chemical information with minimal number of experiments. This logic has been employed to develop different strategies to increase the productivity of chromatographic determinations without detriment of quality results.

In chromatographic analysis it is usual that a new injection is carried out after elution of all components of related to prior injection, but with logical criteria coupled to automation it was possible to increase analytical productivity with the concept of successive injection. The procedure was applied in the determination of polyethylene additives in Braskem S.A. samples.

A QuickBasic 4.5 software was developed in order to define the time intervals between successive injection that did not leads to analyte peaks carryover with peaks from prior injection.

Three additives were evaluated (Irganox 1076, Irgafós 168 and Irgafós 168oxi) and determined in 45 polyethylene samples with reduction of 38 for 13,5 h of total determination time. The results obtained by proposed methodology were compared with those ones obtained by conventional methodology employed in Braskem analytical routines, and they agreed at 95% confidence level.

Keywords: Chemometrics, analytical throughput, gas chromatography, polyethylene

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Polietileno	1
1.1.1. Histórico do polietileno	1
1.1.2. Tipos de polietileno	3
1.1.3. Aditivos em polietilenos	6
1.2. Cromatografia gasosa	7
1.3. Quimiometria	10
1.4. Produtividade em laboratórios industriais	12
2. OBJETIVOS	15
3. EXPERIMENTAL	17
3.1. Equipamentos	17
3.2. Reagentes	18
3.3. Procedimentos	18
3.3.1. Preparo de soluções de referência	18
3.3.2. Determinação dos aditivos em polietilenos	18
3.4. Algoritmo desenvolvido para injeções consecutivas	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1. Reações químicas no cromatógrafo	23
4.2. Quimiometria na análise cromatográfica	25
4.3. Avaliação do desempenho do software	29
4.4. Estratégia de Injeções Consecutivas em Padrões Sintéticos	40
4.5. Aplicação	44
5. CONCLUSÕES	53
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	56
8. ANEXOS	65
8.1 Programa Desenvolvido em Linguagem QuickBasic 4.5	65
8.2 Tempo de início e fim dos picos dos analitos avaliados e contaminantes, obtidos a partir de injeções executadas por três técnicos diferentes.	68

LISTA DE FIGURAS

	Pág.	
1	Fórmula estrutural do PEBD.	4
2	Fórmula estrutural do PEAD.	5
3	Fórmula estrutural do PEBDL.	5
4	Cromatograma de uma amostra hipotética.	35
5	Avaliação de um primeiro traslado dos cromatogramas.	36
6	Avaliação subsequente ao primeiro traslado dos cromatogramas..	36
7	Momento em que o algoritmo reconhece a segunda injeção consecutiva.	37
8	Esboço do cromatograma final das duas injeções consecutivas	37
9	Representação da lógica do nível adequado de translação empregando cores permitidas (magenta, amarelo, laranja e violeta) e proibidas (azul e verde).	39
10	Cromatogramas das primeiras tentativas de emprego da estratégia das injeções consecutivas.	43
11	Cromatograma de amostra de Polietileno contendo Irg 168, Irg 1076 e Irg 168oxi.	45
12	Cromatograma com três injeções consecutivas de padrões sintéticos.	47
13	Curvas analíticas dos três analitos obtidas com injeções consecutivas.	48
14	Cromatograma com injeção consecutiva de três amostras de antioxidantes em polietileno.	49
15	Ampliação da área do cromatograma da figura 11, onde estão os analitos de interesse.	49

LISTA DE TABELAS

	Pág.	
1	Classificação dos Métodos cromatográficos em coluna	10
2	Tratamento das áreas das primeiras injeções consecutivas	44
3	Dados das curvas obtidas com injeções convencionais e consecutivas.	48
4	Resultados das análises (concentrações) de aditivos pelo método convencional (normal) e pelo novo conceito de injeções consecutivas para 45 amostras de polietileno e as diferenças (%) entre os resultados obtidos pelas duas estratégias de injeção de amostra.	51

ABREVIATURAS

CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DIC	Detector por ionização em chama
MRU	Movimento retilíneo uniforme
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PEBDL	Polietileno de baixa densidade linear

1.0 INTRODUÇÃO

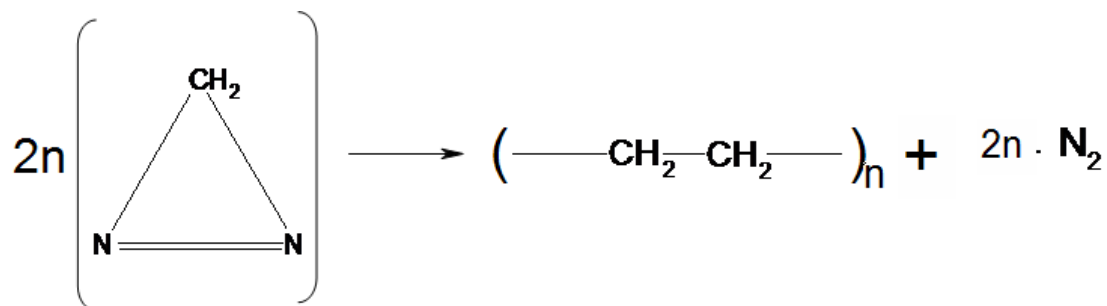
1.1 Polietileno

O polietileno é um polímero, da família dos plásticos, formado por unidades de etileno. Ele pertence ao grupo dos termoplásticos e, portanto, tem a propriedade de amolecer, sob ação do calor; ser convenientemente moldado e depois endurecido, mediante resfriamento, adquirindo a forma do molde desejado (Mano e Mendes, 1999).

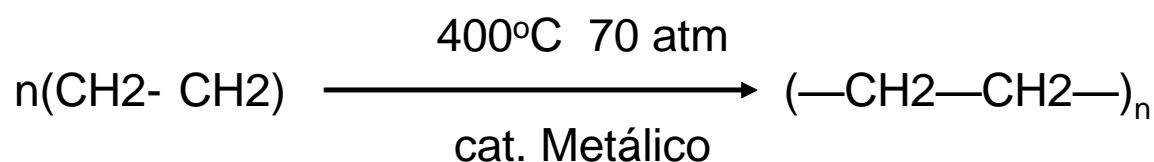
O polietileno é produto de baixo custo, fácil processamento, boas resistências elétrica e química, além de seus produtos finais são bastante compactos. Essas propriedades conferem a este polímero uma grande versatilidade, com grande campo de aplicação. Muitas técnicas de obtenção de produtos com o polietileno são usadas. Entre estas se destacam a extrusão, injeção e moldagem por sopro (Walsilkoski, 2002; Coutinho *et al*, 2003; Mano e Mendes, 1999; Miles, Bristol, 1975).

1.1.1 Histórico do Polietileno

As primeiras tentativas de obter polímeros de etileno datam de 1879, quando foram produzidos polímeros de baixa massa molar. O processo foi descrito como de condensação usando diazometano (Miles e Bristol, 1975):



Em 1913, Ipatieff polimerizou etileno empregando haletos metálicos como catalisadores (Miles e Bristol, 1975):



O primeiro produto de alta massa molar só foi obtido em 1933, durante um programa de pesquisa que visava investigar o efeito de pressões extremamente elevadas sobre as reações químicas. Dentre as diversas reações estudadas estava a reação do etileno com benzaldeído, a qual levou à obtenção de um pó branco que, mais tarde, verificou ser o polímero de etileno (polietileno). Posteriormente constatou-se que o etileno continha uma pequena quantidade de oxigênio que foi suficiente para catalisar a reação. A partir desse ensaio, obteve-se uma produção suficiente de polietileno para permitir o estudo das suas propriedades (Miles e Bristol, 1975).

Após o termino da Segunda Grande Guerra, a produção de polietileno aumentou significativamente devido à crescente demanda nas áreas de extrusão de

filme, fabricação de brinquedos, mangueiras, isolamento de fios elétricos, entre outros (Mano e Mendes, 1999; Miles e Bristol, 1975).

Desenvolvimentos subseqüentes referentes à fabricação de polietileno ocorreram no início dos anos 50, com os trabalhos dos professores Karl Ziegler (EUA) e Giulio Natta (Itália). Durante estes trabalhos foram descobertos uma serie de Catalisadores Estereoespecíficos capazes de permitir a polimerização a pressões baixas, próximas à atmosférica. Essas descobertas foram importantes não só para a produção de polietileno, mas para toda a indústria de fabricação de polímeros em geral (Coutinho *et al*, 2003; Mano e Mendes, 1999; Miles e Bristol, 1975).

Atualmente grande parte da pesquisa voltada ao desenvolvimento de novos catalisadores está relacionada com uma família de catalisadores estereoespecíficos, chamados de metalocênicos, dentre os quais se destacam os compostos ciclopentadiênicos a base de metais de transição, como zircônio, háfnio e titânio (Deffieux *et al*, 1998; Hanamoto, 2000).

Em todos os processos o polietileno é obtido na forma de pó, o que dificulta o transporte e armazenagem. Por conta desse inconveniente, as indústrias transformam este pó em grânulos, chamados na indústria de pelotas (*pellets*).

1.1.2 Tipos de Polietileno

Entre os vários tipos de polietileno conhecidos, três destacam-se pelo alto volume comercializado: polietileno de baixa densidade (PEBD), polietileno de baixa densidade linear (PEBDL) e polietileno de alta densidade (PEAD). As variedades desses tipos de polietilenos dependem das condições reacionais e a possíveis

copolimerizações de pequenas quantidades de outras olefinas, como 1-buteno, 1-hexeno e 1-octeno, sendo considerável a influência destes copolímeros nas propriedades físicas do material (Coutinho *et al*, 2003).

Outra forma de influenciar nas propriedades da resina é a adição de substâncias, durante a granulação, que vão originar qualidades especiais à resina. Esses aditivos são específicos para cada tipo de polietileno e, também, para cada tipo de transformação. Esses aditivos são agentes antioxidantes, agentes branqueadores, deslizantes, protetores à radiação UV, e outros (Miles e Bristol, 1975).

O processo a alta pressão leva à reação violenta e ao aparecimento de uma grande quantidade de ramificações na cadeia principal (Figura 1). Neste processo há a garantia da produção de cadeias curtas e ramificadas. As ramificações impedem uma maior aproximação entre as cadeias, resultando em baixas densidade e rigidez (Walsilkoski, 2002; Coutinho *et al*, 2003; Mano e Mendes, 1999; Miles, Bristol, 1975).

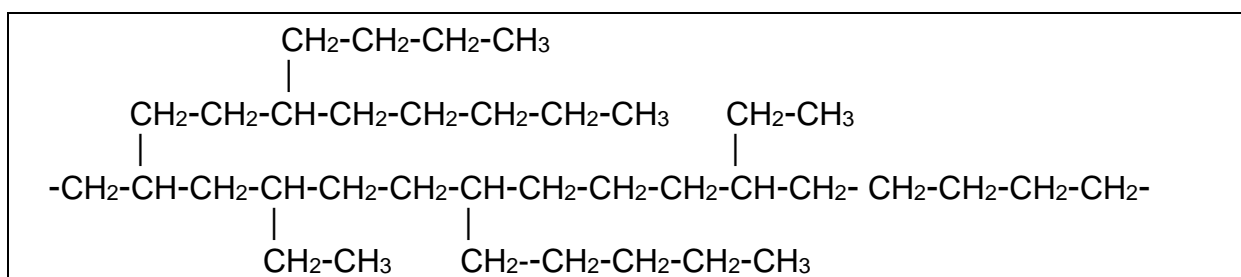


Figura 1. Fórmula estrutural do PEBD.

O processo a baixa pressão leva à produção de polímeros com cadeias longas, quase desprovidas de ramificações (Figura 2). Essa condição garante uma maior proximidade entre as moléculas e, conseqüentemente, um aumento considerável na

densidade e na rigidez do polímero. Esse tipo de polietileno é conhecido comercialmente como PEAD (Walsilkoski, 2002; Coutinho *et al*, 2003; Mano e Mendes, 1999; Miles e Bristol, 1975).

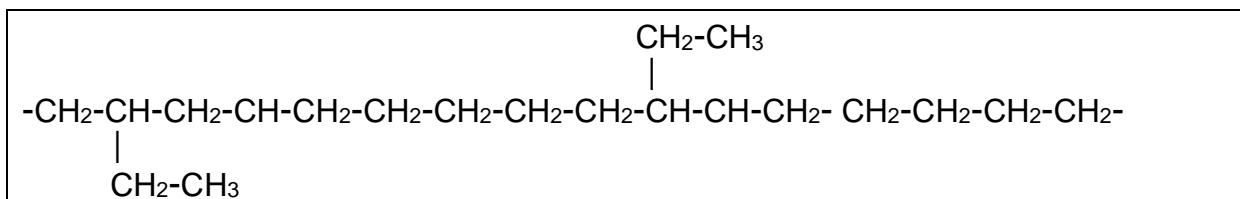


Figura 2. Fórmula estrutural do PEAD.

Ao ser utilizada uma maior quantidade de co-monômero (10% de 1-buteno, por exemplo) no processo à baixa pressão temos um produto de características intermediárias: baixa densidade, ligeiramente maior que no PEBD, e alta rigidez, um pouco inferior ao PEAD (Coutinho *et al*, 2003, Hanamoto, 2000). Esse produto originou o PEBDL (Figura 03).

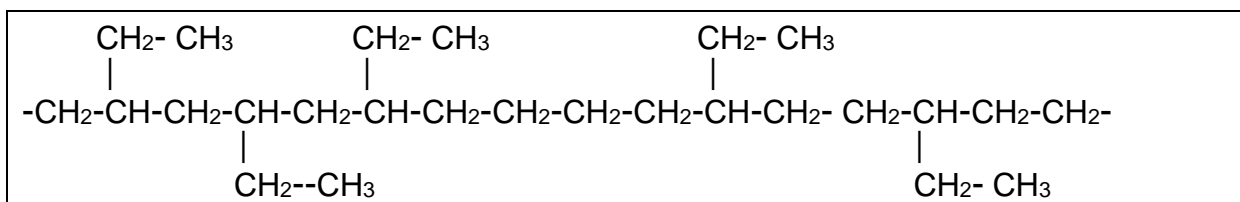


Figura 3. Fórmula estrutural do PEBDL.

Para o controle da qualidade do polietileno três ensaios são muito importantes e, por isso, são executados com maiores frequências. Estes são: a determinação da massa molar, a cristalinidade e o nível de aditivação. No presente trabalho será dado um enfoque especial ao nível de aditivação.

1.1.3 Uso de Aditivos em Polietilenos

Os aditivos são substâncias adicionadas ao polímero com a função de manter ou alterar propriedades e/ou para auxiliar no processamento do material em indústrias de transformação. Algumas funções dos aditivos são: neutralizar a acidez de resíduos de catalisadores na resina, permitir a passagem de ar entra as camadas de resina (anti-bloqueio), promover o deslizamento entre camadas de resina (Miles e Bristol, 1975).

Os métodos para a análise dos aditivos são variados, sendo que em alguns casos são disponibilizados mais de um procedimento para determinação de certos aditivos.

Uma classe de aditivos que merece atenção especial são os antioxidantes, que são utilizados para evitar a degradação do polímero durante o processamento e retardar o envelhecimento do produto acabado, cujo processo ocorre pela interação com o O₂ atmosférico, bem como pela ação da temperatura e da radiação U.V. No caso do aditivo ser empregado para evitar a degradação do polímero durante o processamento, ele é denominado de antioxidante secundário ou de sacrifício, e é consumido durante a transformação da resina em produto final. Quando o aditivo é inserido no processamento do polietileno para retardar o envelhecimento do produto final, passa a ser denominado de antioxidante primário e é consumido gradativamente conforme o uso, conservando o bom aspecto do produto final (Rodríguez *et al*, 2004).

Na planta de polietileno de baixa pressão da Braskem, situada no Pólo Petroquímico de Camaçari, BA, o aditivo empregado como antioxidante secundário é

o fosfito de tri(2,4-di-tercbutilfenil), o qual apresenta massa molar de 694 g e é também denominado como Irgafós 168. Quando este composto é oxidado leva à produção de fosfato de tri(2,4-di-tercbutilfenil) com massa molar de 710 g (Irgafós 168oxi). Nesta mesma planta é usado como antioxidante primário o Irganox 1076, cuja nomenclatura oficial é octadecil-3-(3,5-di-tercbutil-4-hidroxiifenil)-propionato, de massa molar de 531 g. Quando este sofre oxidação transforma-se em produtos ainda indeterminados.

Na literatura são citados vários métodos para a determinação destes compostos, como os baseados na medida da radiação absorvida na região do UV, espectroscopia no infravermelho, fluorescência, fosforescência e fluorescência de raios-X. Contudo, estes métodos sofrem de baixa especificidade. Outro problema para estas determinações é a recuperação destes aditivos em tempos curtos durante a extração (Rodríguez *et al*, 2004).

Na referida planta, o Irgafós 168 e seu subproduto são determinados por fluorescência de raios X, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG). O teor de Irganox 1076 é determinado empregando CG e CLAE. Para as determinações por técnicas cromatográficas, os analitos devem ser previamente extraídos do polímero.

1.2 Cromatografia Gasosa

Entre os métodos modernos de análise a cromatografia ocupa um lugar de destaque graças à incorporação prévia da etapa de separação, mesmo para

matrizes complexas, junto à etapa de identificação e/ou medida das espécies químicas de interesse (Lanças, 1993; Pereira e Aquino Neto, 2000).

O termo "cromatografia", e seus derivados, "cromatograma" e "método cromatográfico" são atribuídos ao botânico russo M. Tswet (1872-1919), que em 1906, os empregou para descrever suas experiências na separação dos componentes de extratos de folhas. Nesse estudo, a passagem de éter de petróleo (fase móvel) através de uma coluna de vidro preenchida com carbonato de cálcio (fase estacionária), à qual se adicionou o extrato, levou à separação dos componentes em faixas coloridas. Este é provavelmente o motivo pelo qual a técnica é conhecida como cromatografia (*chromo* = cor e *graphie* = escrita), podendo levar à errônea idéia de que o processo seja dependente da cor (Degani *et al*, 1998; Lanças e Mühler, 2004).

Em 1941, Martin e Synge publicaram um trabalho no qual descreveram a cromatografia por partição (cromatografia líquido-líquido), recebendo por isto o Prêmio Nobel em 1952. Martin também participou de outros desenvolvimentos, como seu trabalho com James, que atualizou a cromatografia gás-líquido (Lanças, 1993). Ao observar a relação de Prêmios Nobel, vemos que 12 trabalhos entre os premiados, no período de 1937 a 1972, tiveram um forte alicerce nas técnicas cromatográficas (Skoog *et al*, 2002).

A introdução de colunas capilares por Golay ampliou os poderes analíticos da cromatografia a gás (Accorsi *et al*, 2005). A partir da década 1960 esta técnica, bem como outras técnicas de análise, passaram por um processo de sofisticação com a incorporação de microcomputadores para monitorar parâmetros e efetuar os cálculos dos dados obtidos (Lanças, 1993; Valcárcel, 2000). Outro fator que merece destaque

na inflexão do crescimento das técnicas cromatográficas é o desenvolvimento de uma instrumentação moderna e própria que garante exatidão e precisão aos parâmetros experimentais (Lanças e Mühler, 2004; Skoog *et al*, 2002; Lanças, 1993).

Os métodos cromatográficos podem ser classificados de vários modos diferentes. Uma primeira pr oposta para classificação diz respeito ao meio onde as fases vão interagir. Na cromatografia em coluna, a fase estacionária é mantida dentro de uma coluna (tubo) por onde a fase móvel é forçada a passar sob pressão ou gravidade. Na cromatografia planar, a fase estacionária é suportada em uma superfície plana ou nos interstícios de um papel, e a fase móvel percorre a fase estacionaria por gravidade ou capilaridade. A segunda forma de classificação é mais básica e apóia-se nos tipos de fase móvel usada. Esta classificação pode ser subdividida de acordo com a fase estacionária ou com o tipo de equilíbrio existente (Deagni *et al*, 1998; Lanças, 1993; Skoog *et al*, 2002). A Tabela 1 exhibe uma classificação para as cromatografias em coluna.

Um dos problemas enfrentados pelos usuários da CG nas análises de amostras complexas é a baixa produtividade analítica, dada a necessidade de que todos componentes da mistura sejam eluídos para que uma nova análise seja executada. Caso algum componente permaneça retido na coluna, na injeção seguinte poderemos ter picos “fantasma”, os quais são, na verdade, componentes da amostra anteriormente injetada e que não foram convenientemente eluídos (Lanças, 1993). Este problema é mais evidente quando é requerida a determinação de poucos componentes da mistura e, estes, têm baixos tempos de retenção frente a outros componentes da matriz.

Tabela 1. Classificação dos métodos cromatográficos em coluna.

Classificação Geral	Método Específico	Fase Estacionária
Cromatografia Líquida <i>fase móvel: líquido</i>	Líquido-líquido ou partição.	Líquido adsorvido em um sólido.
	Líquido-líquido quimicamente ligado.	Espécies orgânicas ligadas a uma superfície sólida.
	Líquido-sólido ou adsorção.	Sólido
	Troca iônica.	Resina de troca iônica.
	Exclusão por tamanho.	Poros de sólido polimérico.
Cromatografia Gasosa <i>fase móvel: gás</i>	Gás-líquido.	Líquido adsorvido em um sólido.
	Gás- líquido quimicamente ligado.	Espécies orgânicas ligadas a uma superfície sólida.
	Gás-sólido	Sólido
Cromatografia com Fluido Supercrítico <i>fase móvel: fluido supercrítico</i>	Fluido supercrítico-líquido quimicamente ligado	Espécies orgânicas ligadas à superfície sólida.

1.3 Quimiometria

O termo Quimiometria foi proposto há mais de trinta anos para descrever as técnicas associadas às manipulações matemáticas, lógicas e estatísticas utilizadas para extrair informações químicas mediante a análise de dados analíticos. Uma definição para quimiometria, proposta por D. L. Massart (1997), diz que é “a disciplina química que utiliza Matemática, Estatística e/ou Lógica para desenhar ou selecionar procedimentos experimentais ótimos, proporcionar a máxima informação química relevante a partir da análise de dados químicos, e obter informações (conhecimentos) a partir de sistemas químicos”. Após a obtenção dos dados, o tratamento dos mesmos, empregando técnicas quimiométricas, permite aumentar a qualidade dos resultados, facilitar sua interpretação e fundamentar as conclusões com rigor. A quimiometria melhora o rendimento do processo analítico (Ramos e Álvarez-Coque, 2001).

O desenvolvimento da quimiometria foi tardio quando comparado com outras áreas do conhecimento. Por exemplo, as primeiras edições do periódico *Biometrics*

(biometria) datam de 1901, enquanto a circulação da primeira revista sobre quimiometria (*Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*) ocorreu apenas em 1986. O motivo deste desenvolvimento tardio pode ser explicado pela lenta evolução da instrumentação analítica. Até o início da década de 1960, por conta da instrumentação arcaica, o analista dispunha de poucos informações químicas e estas podiam ser facilmente manipuladas (Ramos e Álvarez-Coque, 2001).

A década seguinte foi de transição, com a crescente melhora da instrumentação analítica e o crescimento do número de informações químicas disponíveis. Desta forma, as informações não mais podiam ser tratadas manualmente. Nesta época ocorre a popularização das calculadoras (Ramos e Álvarez-Coque, 2001).

No início da década de 1980 ocorreu a popularização dos microcomputadores. Este fato associado à evolução da instrumentação elevou a quimiometria ao patamar de disciplina independente. Desde então vários programas e algoritmos têm sido usados para tratar dados gerados por técnicas de alto poder resolutivo. Muitas destas rotinas quimiométricas são incorporadas aos *softwares* dos equipamentos, e são aplicadas de forma rotineira.

A quimiometria cresceu com a necessidade de identificar relações escondidas em dados complexos e tornou-se ferramenta de técnicas que geram grande número de informações, como a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS), espectrometria de massa (MS) e na cromatografia a gás (GC) (Morris *et al*, 2003).

1.4 Produtividade em Laboratórios Industriais de Análise Química

Uma indústria sempre busca máxima produtividade como forma de maximizar sua lucratividade sem perda da qualidade dos produtos. Dentro deste contexto, ela é projetada para operar durante longos períodos, sem que haja interrupção da produção, e o produto final deve estar o máximo de tempo possível dentro dos limites das especificações definidas pela engenharia de produtos e/ou clientes finais. Portanto, é necessário haver um excelente serviço de manutenção à disposição dos operadores do processo para evitar paradas inesperadas (como por exemplo, pela quebra de equipamentos), bem como um laboratório de controle de qualidade projetado e equipado especificamente para atender as necessidades desta indústria.

A rotina de um laboratório de controle de qualidade de uma indústria tem algumas particularidades que o diferem de um laboratório de pesquisa ou de prestação de serviços. O primeiro critério que o destaca é relacionado à demanda, ou seja, mesmo que não exista uma grande variedade de matrizes e analitos em questão, certamente há um grande número de amostras a serem analisadas diariamente de diferentes etapas do processo produtivo. A palavra “diariamente”, aqui empregada, deve ser entendida ao pé da letra, pois muitas indústrias operam diuturnamente, durante os sete dias da semana, durante vários meses, com poucas paradas curtas eventuais e algumas paradas maiores previamente determinadas para a realização de manutenções preventivas nos equipamentos. Portanto, um laboratório de controle de qualidade de uma indústria realiza monitoramentos de forma ininterrupta. Ainda na fase de implantação de uma indústria, do processo produtivo surge a informação sobre quais determinações serão necessárias, a

freqüência destas determinações, quais as de ordem de segurança e as de qualidade. De posse destas informações, o químico, chefe do laboratório define a rotina analítica futura do seu laboratório, equipamentos necessários, a especificação e a quantidade de técnicos necessários para o pleno funcionamento do parque instrumental capazes de atender a todas as expectativas do setor de produção.

A segunda particularidade de laboratórios de controle de qualidade de empresas é a familiaridade e o conhecimento que o analista tem com as amostras e as determinações envolvidas. Um técnico quando vai trabalhar em um laboratório industrial não recebe treinamento apenas das determinações que ele ira realizar. Ele é exaustivamente treinado nas características e limites de especificação do produto final, nas etapas e particularidades do processo produtivo. Este treinamento faz com que o técnico tenha uma visão global dos impactos que as variações operacionais vão impor ao produto final. Normalmente, analistas e operadores de processo trabalham muito próximos, e as variações do processo muitas vezes chegam ao conhecimento do analista antes da amostra. Neste caso o analista recebe amostra com um grande conhecimento da história da mesma, o que faz com que sua percepção para possíveis problemas esteja mais aguçada.

Outro destaque é a rapidez exigida nestas determinações. Algumas análises são tão importantes para manter a segurança dos processos que suas medidas devem ser efetuadas em ciclos muito curtos e ininterruptos, às vezes são ciclos de poucos minutos. Outras determinações são realizadas para manter a qualidade da produção e são realizadas em ciclos maiores, de uma ou algumas horas. Se uma determinada propriedade do produto tem um ciclo de uma hora, por exemplo, as metodologias envolvidas, desde coleta da amostra até o envio do resultado final pelo

laboratório ao processo produtivo, devem ser realizadas em um tempo inferior à uma hora, para que o processo produtivo tenha consciência da realidade da propriedade e possa, se for necessário, realizar alguma manobra operacional para manter a propriedade nos limites de especificação do produto o mais rápido possível. Outro ponto importante é que na próxima determinação, realizada pelo laboratório, já tenha havido alguma modificação na propriedade, fruto da intervenção na operação.

Com a crescente demanda por qualidade imposta pela globalização, as freqüências de análises, para garantir as especificações do produto, estão aumentando. Esta afirmação está de acordo com as necessidades da Química Analítica moderna, que inclui maior sensibilidade e seletividade, metodologias com custos menores, automação analítica, uso crescente da quimiometria, entre outras características (Valcárcel, 2000). Essas necessidades buscam melhoria do produto final, maior segurança de processos industriais, desenvolvimento de novos produtos, proteção do consumidor, atendimento a legislação vigente, entre outros critérios (Mizaikoff *et al*, 2005). Com base neste contexto, o laboratório de controle de qualidade ganha uma enorme importância na indústria, com a visão sempre voltada para o aumento da produtividade analítica, mantendo máxima seletividade, exatidão e precisão.

2.0 OBJETIVOS

O presente trabalho propõe o desenvolvimento de procedimento analítico baseado no conceito de injeções consecutivas para aumentar a produtividade analítica na cromatografia a gás sem comprometer a qualidade dos resultados. O conceito envolvido no procedimento proposto é que durante uma eluição cromatográfica, em uma isoterma, os componentes de uma mistura desenvolvem movimento retilíneo uniforme (MRU) e que, sendo a posição do injetor e do detector fixas, o deslocamento dos diferentes componentes de uma amostra será o mesmo se a coluna cromatográfica apresentar dimensões fixas, como de fato ocorre. Então, quando se realiza uma segunda injeção cromatográfica de uma alíquota da amostra, antes do término da primeira, para amostras semelhantes, os componentes que são mais rapidamente eluídos pela coluna cromatográfica oriundos da segunda injeção irão “ultrapassar” os componentes mais lentos da primeira injeção. Se houver o cuidado de realizar a segunda injeção em um intervalo de tempo, tal que não permita que haja sobreposição de componentes de interesse com qualquer espécie no ponto de detecção, haverá a possibilidade de determinação dos constituintes das amostras, com ganho na produtividade analítica.

Como as ultrapassagens dos componentes de interesse devem ocorrer no interior da coluna cromatográfica. As outras espécies da mistura devem realizar livremente suas ultrapassagens. Para tanto será desenvolvido um algoritmo e um *software*, em linguagem QuickBasic 4.5, para viabilizar a determinação do intervalo de tempo ótimo entre as injeções consecutivas e prever quantas injeções poderão ser

executadas; incrementando, assim, a produtividade do processo de análise. Para averiguar a potencialidade da estratégia de injeções propostas serão usadas amostras oriundas da extração de polietileno para determinação dos aditivos Irgafós 168, Irgafós 168oxi e Irganox 1076.

3.0 EXPERIMENTAL

3.1. Equipamentos

As amostras de polietileno foram trituradas em moinho de facas ZM-100 da Retsh (Alemanha) e as alíquotas foram tomadas em balança analítica AT261 Mettler (Suíça). A extração foi realizada em um sistema de digestão assistido por microondas modelo MDS 810 (CEM, EUA). O banho de resfriamento modelo 9000 produzido pela Fisher Scientific (EUA) foi empregado para resfriar a amostra após a extração.

Os extratos eram então filtrados, com papel de filtro Whatman 41. Frascos, selador de frascos, selos de teflon 20 - ST3, lacre de alumínio 9301 - 0718 HP foram disponibilizados para acondicionar extrato em casos excepcionais.

As análises foram executadas em cromatógrafo a gás HP-5890 série II (Hewlett-Packard, Alemanha), equipado com injetor “split” e detector por ionização em chama, acoplado a um microcomputador HP-386/25 (Hewlett-Packard, Alemanha) dotado de software gerenciador HP-3365. A separação cromatográfica dos aditivos ocorreu em coluna cromatográfica CP-SIL-CB (Chrompack, Raritan, USA) com dimensões 25 m x 0,32 mm x 0,2 μ m. As amostras foram injetadas no cromatógrafo com uma microsseringa fornecida pela Hamilton (EUA) de 10 μ L.

3.2 Reagentes

Os antioxidantes Irganox 1076, Irgafós 168 e o Irgafós 168oxi foram utilizados para o preparo de padrões sintéticos. Estas substâncias foram fornecidas pela Ciba-Geygi (Brasil). Clorofórmio P.A. fornecido pela Merck (Alemanha) foi usado para a extração e o preparo das soluções de referência sintéticas.

Os gases usados no cromatógrafo foram o hidrogênio (99,999% de pureza), nitrogênio (99,999% de pureza) e ar sintético, todos fornecidos pela White Martins (Brasil).

3.3 Procedimentos

3.3.1 Preparo de Soluções de Referência

Solução estoque mista contendo os três analitos sob investigação (Irganox 1076, Irgafós 168 e Irgafós 168oxi), foi preparada em clorofórmio, em proporções próximas às encontradas nas amostras. Alíquotas da solução estoque foram tomadas para o preparo das soluções mistas de referência pela diluição apropriada da solução estoque com clorofórmio em balões volumétricos aferidos.

3.3.2 Determinação dos Aditivos em Polietilenos

Por razões de segredo industrial, detalhes sobre o processo de extração dos aditivos do polietileno não serão revelados. Adicionalmente, deve-se destacar que a

divulgação completa destas informações poderia fornecer à concorrência as concentrações reais dos aditivos na resina.

Portanto, neste trabalho, admitiremos que não haja variações no procedimento de extração e que esta é quantitativa. Dessa forma, os resultados subseqüentes estarão relacionados com estudos referentes apenas à determinação da exata concentração dos antioxidantes no extrato.

A amostra de polietileno granulada foi pulverizada (crepeada) em moinho de facas com tela com orifícios de diâmetro inferior a 0,2 mm. A extração dos aditivos foi realizada em sistema de digestão assistido por microondas, usando clorofórmio como solvente extrator. O tempo total de extração foi de 5 min.

Após a extração, o frasco foi levado para a estação de resfriamento por 5 min. Após esse intervalo de tempo, a solução resultante foi filtrada em funil de colo curto, e o filtrado coletado em frasco erlenmeyer de 125 mL. No caso de haver a necessidade de utilizar o extrato em análises posteriores num prazo superior a 6 h, este deve ser recolhido em frasco apropriado, selado com tampo de teflon e lacre de alumínio, e acondicionado sob refrigeração.

Uma alíquota de 1,5 μL do extrato foi tomada com auxílio de uma microsseringa, seguida de sua inserção no injetor do cromatógrafo a gás. Para estas determinações o cromatógrafo tinha as seguintes condições: injetor split (1:200) à 290°C; coluna cromatográfica com fluxo de gás de arraste 1,5 mL min^{-1} e temperatura a 290°C durante 19 min iniciais, após este tempo passa a 300°C, com rampa de 20°C min^{-1} , durante 30 min. O detector empregado na determinação foi o DIC a 300°C, com vazões de 30 mL min^{-1} de H_2 e 300 mL min^{-1} de ar sintético.

Após a primeira injeção feita no cromatógrafo e antes do seu término uma nova injeção é feita, em um tempo determinado pelo programa desenvolvido. As soluções de referência são injetadas seguindo a mesma lógica, de modo que ao final da rotina teremos a análise de mais de uma amostra em um tempo inferior ao somatório dos tempos das injeções individuais.

Após o término da análise, com auxílio do software HP-3365, os componentes são reconhecidos. O software é dotado de vários recursos que permitem uma melhor investigação do cromatograma, tais como a possibilidade de observação de zonas específicas do cromatograma, reintegrações, partição de picos, alteração de tempo de retenção, entre outros. Após uma minuciosa avaliação do cromatograma, as áreas dos picos dos analitos foram anotadas, usando a curva de trabalho específica para cada analito para a determinação das concentrações das espécies de interesse.

Na determinação em uso no laboratório da Braskem, as curvas dos analitos são construídas pela injeção de uma única das soluções mistas de referência preparadas e é assumido como um segundo ponto da curva, a origem dos eixos. Normalmente é selecionada como solução de referência a ser injetada no CG aquela cujas concentrações dos aditivos sejam as mais próximas àsquelas da resina em estudo. Em uma rotina normal de trabalho, a Braskem (Camaçari, Bahia, Brasil) adota que a injeção da solução de referência tem validade de 8 h. Caso outro analista deseje realizar a mesma determinação durante o período de validade da referência, outra curva deve ser construída.

Para a realização deste trabalho, foram feitas curvas com a injeção de seis soluções de referência com concentrações diferentes para a determinação das

espécies de interesse. Estas curvas foram construídas seguindo o conceito de injeções consecutivas proposto e tinham validade por 16 h para injeções feitas pelo mesmo analista. O aumento no tempo de validade da curva analítica é decorrência do maior número de pontos que a formam. Como consequência, as leves variações instrumentais e de injeção manual passam a ter menor influência.

O intervalo de tempo entre as injeções foi determinado pelo algoritmo desenvolvido. Também foi construída, para comparação, uma curva com seis pontos seguindo o modo tradicional, com injeções sendo feitas após o termino da corrida cromatográfica anterior.

3.4 Algoritmo Desenvolvido para Injeções Consecutivas

O cromatograma de uma amostra pode ser definido como a impressão digital desta amostra nas condições em que o experimento foi conduzido. Assim, mantidas as condições experimentais, as posições dos picos das espécies presentes na amostra (tempos de retenção) serão invariáveis, variando apenas a altura e a área dos picos, as quais são proporcionais à concentração dos analitos.

Ao considerar apenas o aspecto gráfico, se o início da aquisição de dados referentes a uma dada corrida cromatográfica realizada em condições isotérmicas, for iniciado antes da injeção da amostra, este cromatograma vai diferir dos habituais, pois todas as espécies presentes vão apresentar tempos de retenção superiores aos habituais. Este acréscimo no valor dos tempos de retenção será igual ao tempo transcorrido entre o início da aquisição de dados e a injeção, e será o mesmo para todas as espécies. Contudo, os intervalos absolutos de tempo entre os picos

característicos dos componentes da amostra em análise permanecerão constantes, mantendo assim a mesma impressão digital da amostra deslocada para a direita. Considerações similares podem ser feitas se a injeção da alíquota de uma amostra no CG ocorrer antes do início da aquisição de dados. Contudo, neste caso os tempos de retenção serão menores que os habituais.

Com base nestes critérios, foi desenvolvido um algoritmo que determina o menor tempo entre injeções consecutivas de uma mesma amostra que garanta que os picos dos componentes de interesse da mistura não sofram interferência de quaisquer outros componentes da injeção anterior e/ou posterior. A lógica do procedimento foi baseada no múltiplo translado da imagem de um cromatograma, de forma que não ocorressem sobreposições dos picos analitos com outros picos referentes a analitos ou a contaminantes. O programa também determina se outras injeções podem ser realizadas com esta mesma lógica, fornecendo um esboço do cromatograma final, realizado com as injeções nos tempos definidos pelo software.

Para tanto, o programa requer dos dados da impressão digital cromatográfica da amostra, tempos correspondentes ao início e término de todos os picos (analitos e contaminantes). Também é necessária a informação por parte do usuário sobre quais são os picos dos analitos.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Reações Químicas no Cromatógrafo

Um dos riscos associados ao emprego da estratégia de injeções consecutivas é a possibilidade de reações entre os componentes das amostras nas condições de separação em colunas cromatográfica. Contudo, pode-se afirmar que no caso de emprego da estratégia de injeções consecutivas de alíquotas de uma mesma amostra em sistema de cromatografia a gás, não há risco de interações entre as espécies. Caso a amostra apresente componentes que possam reagir entre si em condições de temperatura mais elevadas que a ambiente, poderia haver reação mesmo empregando o procedimento convencional de injeção (uma injeção por vez), visto que a reação poderia ocorrer já no injetor ou na superfície da coluna, durante os instantes iniciais.

Algumas espécies químicas necessitam de cuidados especiais para sua análise por CG, principalmente as biomoléculas, que apresentam elevada polaridade, baixa volatilidade e baixa estabilidade térmica, o que acarreta em dificuldades de eluição a baixas temperaturas. Estas restrições são contornadas com o uso da técnica de derivatização, que envolve a transformação química dos analitos em outras espécies com características mais favoráveis para sua determinação. Na cromatografia, em particular, o composto produzido deve (i) ser mais rapidamente eluído, (ii) apresentar maior resposta no sistema de detecção usado e/ou (iii) ser separado mais facilmente dos contaminantes.

Em técnicas cromatográficas, notadamente CLAE e eletroforéticas, a derivatização é usualmente empregada para a inserção de grupos cromóforos, visando a melhoria da resposta no sistema de detecção UV/Visível. Nestes casos a derivatização é realizada antes da coluna, como um pré-tratamento da amostra, ou após a coluna, na própria linha do sistema cromatográfico.

Na cromatografia gasosa a derivatização quase sempre é usada antes da injeção da amostra, para que os analitos sejam transformados em (i) substâncias de menor polaridade, (ii) mais voláteis, (iii) termicamente mais estáveis, ou, ainda, (iv) para atingir níveis de detecção apropriados. Algumas derivatizações são executadas no injetor, onde ligações químicas de componentes de alta massa molar podem ser rompidas para a determinação dos fragmentos.

Contudo, no final da década de 70 alguns artigos foram publicados onde a derivatização de analitos ocorriam no interior da coluna de CG. Em um trabalho pioneiro publicado em 1977, Kallos *et al* mostraram que o éter metil-clorometoxi, o qual é carcinogênico, poderia ser determinado em níveis de ppb pela derivatização no interior de uma coluna empacotada, na qual um dos componentes da fase estacionária era o reagente usado para a derivatização (2,4,6-triclorofenolato de sódio). O produto originado apresentava uma melhor resposta no detector utilizado – captura de elétrons. Nesse trabalho foi desenvolvido um sistema automático que integrava as etapas de derivatização, separação e detecção em um único equipamento.

Por outro lado, o amplo emprego de colunas capilares em substituição às colunas empacotadas nas análises por CG dificultou o desenvolvimento da técnica de derivatização em coluna, uma vez que as colunas capilares não apresentam a

mesma facilidade de inserção de substâncias específicas na fase estacionária. Por este motivo, a técnica de derivatização no interior da coluna cromatográfica deixou de ser explorada. Contudo, a aplicação da estratégia de injeções consecutivas poderá trazer à tona a discussão da combinação de reação química durante a separação dos componentes da amostra na coluna capilar. Para tanto, bastaria avaliar a possibilidade de injetar consecutivamente uma alíquota da amostra e do reagente para derivatização. Neste caso, a reação ocorreria durante a “ultrapassagem” do analito com o reagente específico no interior da coluna capilar.

4.2 Quimiometria na Análise Cromatográfica

Nas análises por cromatografia gasosa (CG) a busca por maiores produtividades sempre foi uma das metas, pois maior produtividade significa melhor eficiência do laboratório e redução de custos (Accorsi *et al*, 2005; Leardi *et al*, 2005). Em misturas complexas, a detecção e quantificação do analito podem ser prejudicadas pela alta probabilidade de interferência de outros componentes da mistura (Fraga, 2003). Por isso os métodos convencionais para CG para misturas complexas envolvem longas colunas, fases estacionárias específicas, fluxo de gás de araste entre 1 e 2 mL min⁻¹, além de baixas taxas de elevação da temperatura do forno. Todos esses fatores levam à morosidade das análises (Accorsi *et al*, 2005). Sistemas com pressão estável com múltiplas colunas têm sido desenvolvidos para melhorar a separação destes sistemas (Fraga *et al*, 2000; Synovec *et al*, 2003), porém o tempo de análise é maior que para os sistemas cromatográficos tradicionais (Synovec *et al*, 2003).

Muitos caminhos têm sido propostos para aumentar a frequência analítica, dentre eles podemos destacar: (i) a diminuição do diâmetro interno e do tamanho das colunas cromatográficas; (ii) menor espessura do filme da fase estacionária; (iii) aumento da vazão do gás de araste, (iv) programação de taxas mais elevadas de aquecimento (Leardi *et al*, 2005; Accorsi *et al*, 2005; Synovec *et al*, 2003; Borgerding e Current, 1999); e, (v) o emprego de novas fases estacionárias (Poole *et al*, 1999). Todas estas mudanças nos parâmetros podem levar a uma perda na resolução dos picos cromatográficos, com sobreposição entre eles (Accorsi *et al*, 2005). Recentemente técnicas quimiométricas têm sido empregadas para melhorar a avaliação de picos cromatográficos sobrepostos (Fraga, 2003; Synovec *et al*, 2001; Suliman e Soma, 2002).

A quimiometria causou maior impacto na Química Analítica que em outras áreas da química, não apenas pode-se tratar correta e rapidamente os numerosos dados obtidos, mas também pela proposição de novas metodologias. Como exemplo pode-se apresentar o uso da quimiometria para viabilizar as determinações em condições de baixa resolução e interferência de outras espécies químicas (Poppi *et al*, 2005). A técnica quimiométrica empregada para estas determinações é conhecida como calibração multivariada. Os vários métodos espectroscópicos vêm empregando os métodos quimiométricos, pois o calcanhar de Aquiles inerente à etapa de preparo de amostra, visando à separação de interferentes, pode, em certas condições, ser negligenciada. A calibração multivariada permite a modelagem dos interferentes junto ao(s) analito(s), substituindo a separação física ou química, por uma medida direta (Dinç *et al*, 2001). Baixo custo, redução do uso de reagentes, simplificação no preparo de amostras, diminuição da probabilidade de erros causados por

manipulação e, principalmente, rapidez na execução das análises são algumas das vantagens da aplicação de técnicas quimiométricas (Poppi *et al*, 2005).

Contudo, o que é a cromatografia, senão a separação física dos componentes de uma mistura, para posterior geração de sinais individuais para cada componente da mistura?

A partir do instante em que os especialistas em cromatografia assumiram esta realidade, várias publicações têm enfatizado o uso da quimiometria em determinações cromatográficas, como o artigo de Synovec *et al* (2003), no qual a total resolução dos picos não era obtida.

Um destaque deve ser dado para o método generalizado de aniquilação do posto, GRAM (do inglês Generalized Rank Annihilation Method) muito usado em determinações cromatográficas de alta velocidade e com baixa resolução. O método foi proposto em 1968 por Sanchez e Kowalski e apresenta solução algébrica. O método é baseado em modelo trilinear e na decomposição de dados em auto-vetores (Poppi *et al*, 2005; Reis e Ferreira, 1999). Pelo emprego deste procedimento muitas determinações cromatográficas de misturas complexas, algumas das quais envolvendo cromatografia bidimensional (CGxCG) têm sido realizadas com frequências analíticas cada vez maiores (Synovec *et al*, 2003; Fraga, 2003; Synovec *et al* 2000). O maior problema para o uso do método GRAM e de alguns outros métodos quimiométricos é a necessidade de exatidão nos tempos de retenção. Flutuações instrumentais podem levar a pequenos desvios nos tempos de retenção e, conseqüentemente, podem acarretar em erros. A aplicação do método de calibração de adição de padrão e o desenvolvimento algoritmos específicos têm

solucionado parcialmente este eventual problema em alguns sistemas (Synovec *et al*, 2000).

Análises quimiométricas também são empregadas sobre informações resultantes de análises cromatográficas em áreas que envolvam análise de dados em amostras complexas (Mortiz *et al*, 2005; Christensen *et al*, 2005; Synovec *et al*, 2005^a), caracterização de separações cromatográficas (Krupcik *et al*, 2005), classificação rápida de amostras (Synovec *et al*, 2005^b; Cordero *et al*, 2002; Varmuza *et al*, 2005; Pavon *et al*, 2004; Voncina *et al*, 2005; Jarde e Vilmin, 2003), avaliação da influência das condições operacionais (Heberger e Gorgenyi, 1999), classificação de fases estacionárias (Poole *et al*, 1999), interações entre componentes de uma mistura (Heberger *et al*, 2006).

O emprego de artifícios de lógica formal, parte integrante da quimiometria, em análises cromatográficas e nas análises químicas em geral ainda é bastante restrito. Até o presente a lógica esteve sempre associada à automação para identificação e/ou solução de picos e para a classificação de parâmetros. Neste contexto a automação associada à uma lógica processual além de liberar o especialista da rotina, permitindo-lhe focar em trabalhos intelectualmente de maior complexidade (Stillman e Hai, 1997), também permite a execução de tarefas simultâneas. Henion e colaboradores (2001) demonstraram que injeções seqüenciais puderam ser realizadas com uma sonda líquida múltipla, a qual aspirava seqüencialmente até oito alíquotas de amostras diferentes, executando a pré-concentração e reação, para posterior injeção das alíquotas de uma a uma, minimizando atrasos entre as injeções. Com esta técnica foi alcançada produtividade de 3700 amostras por dia ao

otimizar o intervalo de tempo entre as pré-concentrações e reações, minimizando a perda de tempo entre as injeções das alíquotas.

4.3 Avaliação do Desempenho do Algoritmo

A rotina desenvolvida na linguagem QuickBasic 4.5 buscou aumentar a produtividade em análises cromatográficas, valendo-se do recurso de injeções consecutivas, o que se dá transladando imagens da impressão digital cromatográfica de uma amostra teste.

Para executar o traslado das imagens dos cromatogramas, as informações são armazenadas em uma matriz diagonal, criando um lote de informações na base de tempo estipulada de 0,02 em 0,02 s e atribuindo os valores 1, 3 e 5 para linha de base, pico de contaminantes e pico de analitos, respectivamente. Desta forma, na diagonal principal da matriz eram encontrados os números 1, 5 e/ou 3. que compunham a diagonal principal da matriz. Os outros termos da matriz eram sempre zero. Esta matriz multiplica a matriz transladada, a qual difere da primeira apenas na origem dos dados da injeção. Para igualar o número de linhas e colunas das matrizes o número 1 é colocado na diagonal principal da matriz original e igual quantidade de linhas com o algarismo 1 na diagonal principal foi inserido no topo da matriz transladada. Após a construção das matrizes, estas eram multiplicadas. Foram determinados os valores permissíveis para o produto na diagonal da nova matriz:

$$1 \times 1 = 1 \quad 1 \times 5 = 5$$

$$1 \times 3 = 3 \quad 3 \times 3 = 9$$

Estes valores representam situações em que o final da eluição dos analitos só ocorre em instantes onde há linha de base de injeções anteriores. Em outras situações ocorre interferência nos picos dos analitos e, desta forma, eles seriam eluídos junto com componentes da amostra (contaminantes ou analitos). Quando este fato ocorre, o produto das matrizes gera valores inaceitáveis 15 (5 x 3) e 25(5 x 5), que representam a eluição de um dos analitos com um contaminante e a eluição de concomitante de analitos, respectivamente.

Caso isto ocorra, a próxima injeção é retardada em 0,02 s e a cada retardamento de 0,02 s uma nova linha é inserida ao final da matriz original e no topo da matriz transladada. Quando todos os valores dos produtos são permitidos, ou seja, quando todos os valores na diagonal principal da matriz resultante são ≤ 9 , o intervalo de tempo entre as duas primeiras injeções é informado ao usuário e é esboçado, no monitor, o cromatograma resultante daquelas injeções.

Dado as limitações operacionais, a primeira tentativa de retardamento entre injeções consecutivas é realizada após 40 s, pois este foi estabelecido como o intervalo de tempo necessário para realizar limpeza, ambientação da microsseringa, tomada da alíquota e inserção da alíquota no injetor. Assim, era garantido que a nova amostra não seria contaminada pela anterior. Este intervalo mínimo de tempo (40 s) foi mantido para quaisquer duas injeções consecutivas (primeira e segunda, , quarta e quinta, , nona e décima). Desta forma, na construção das matrizes original e transladada eram inseridas no mínimo 2.000 linhas com o número 1 nas respectivas diagonais principais.

A partir do estudo de viabilidade de uma terceira injeção consecutiva, sempre que na diagonal principal era encontrado o algarismo 9 na matriz produto, este era substituído pelo algarismo 3 nas n linhas da matriz e esta nova matriz era, então utilizada para ser multiplicada pela matriz original.

A lógica envolvida é exemplificada a seguir para um conjunto de dados hipotéticos. Na seqüência é apresentada a matriz $A(m \times m)$ com os dados originais.

Admitindo que a primeira tentativa de injeção tenha ocorrido 0,04 s após a injeção da primeira alíquota duas linhas e colunas devem ser inseridas a matriz inicial (matriz A), gerando as matrizes $A1(m+2 \times m+2)$ e $A2(m+2 \times m+2)$ apresentadas a seguir.

$$A = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{vmatrix}$$

Pode ser observado que, nesta primeira tentativa, um dos valores da diagonal principal da matriz A_p foi 15 (sublinhado), o que representaria a sobreposição do pico de um contaminante com um analito. Desta forma, uma nova tentativa para o início da segunda injeção foi efetuada 0,06 s após a primeira. Assim, a partir da matriz A ($m \times m$) são inseridas três linhas e três colunas, gerando as matrizes $\mathbf{B1}(m+3 \times m+3)$ e $\mathbf{B2}(m+3 \times m+3)$ apresentadas a seguir.

$$\mathbf{B1} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{B2} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \end{pmatrix}$$

O produto das matrizes $\mathbf{B1}$ e $\mathbf{B2}$ originou a matriz $\mathbf{Bp}(m+3 \times m+3)$.

$$\mathbf{B1x B2 = Bp} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \underline{9} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \end{pmatrix}$$

Nesta tentativa (matriz **Bp**) todos os valores foram permissíveis, indicando que a segunda injeção poderia ser efetuada 0,06 s após a primeira. O algoritmo permite o algarismo 9 na diagonal principal, pois este indica sobreposição de picos de contaminantes. Porém, a matriz **Bp** é renomeada como matriz **C**, após a substituição dos algarismos 9 por algarismos 3 (sublinhado).

$$\mathbf{C} = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 5 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \underline{3} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \end{pmatrix}$$

contaminantes em analitos) e 6 (interferência entre analitos). Para uma nova verificação, os valores 2 seriam transformados em 1.

Outra alternativa para exemplificação da estratégia, envolve um diagrama de cores primarias, magenta (linha de base), amarelo (contaminante) e azul (analito), como símbolos do cromatograma. Neste caso, ao fazer o translado dos cromatogramas haveria sobreposição de cores, como apresentado nos esquemas da Figura 9. Na Figura 9A é apresentado o primeiro translado dos cromatogramas, as cores primarias magenta (sobreposição de linha de base) e amarela (sobreposição de contaminantes) e as cores secundarias laranja (contaminantes e linha de base) e violeta (analito e linha de base) são permissíveis. Contudo as cores azul (sobreposição entre analitos) e verde (interferência de contaminante sobre analito) não são permitidas. Nesta figura observa-se cores (azul e verde) não permissíveis. Na Figura 9B pode ser observada a continuação do translado e, novamente, tem-se a ocorrência de cor não permitida (verde).

O translado continua até chegar ao ponto representado pela figura 9C, onde só existem cores permitidas (magenta, violeta, laranja e amarelo). Para haver a verificação de uma nova e possível terceira injeção é necessária a transformação das cores secundarias laranja e violeta nas cores primarias amarela e azul, respectivamente. Esse novo esquema de cores seria usado para averiguar o momento em que seria feita esta terceira injeção.

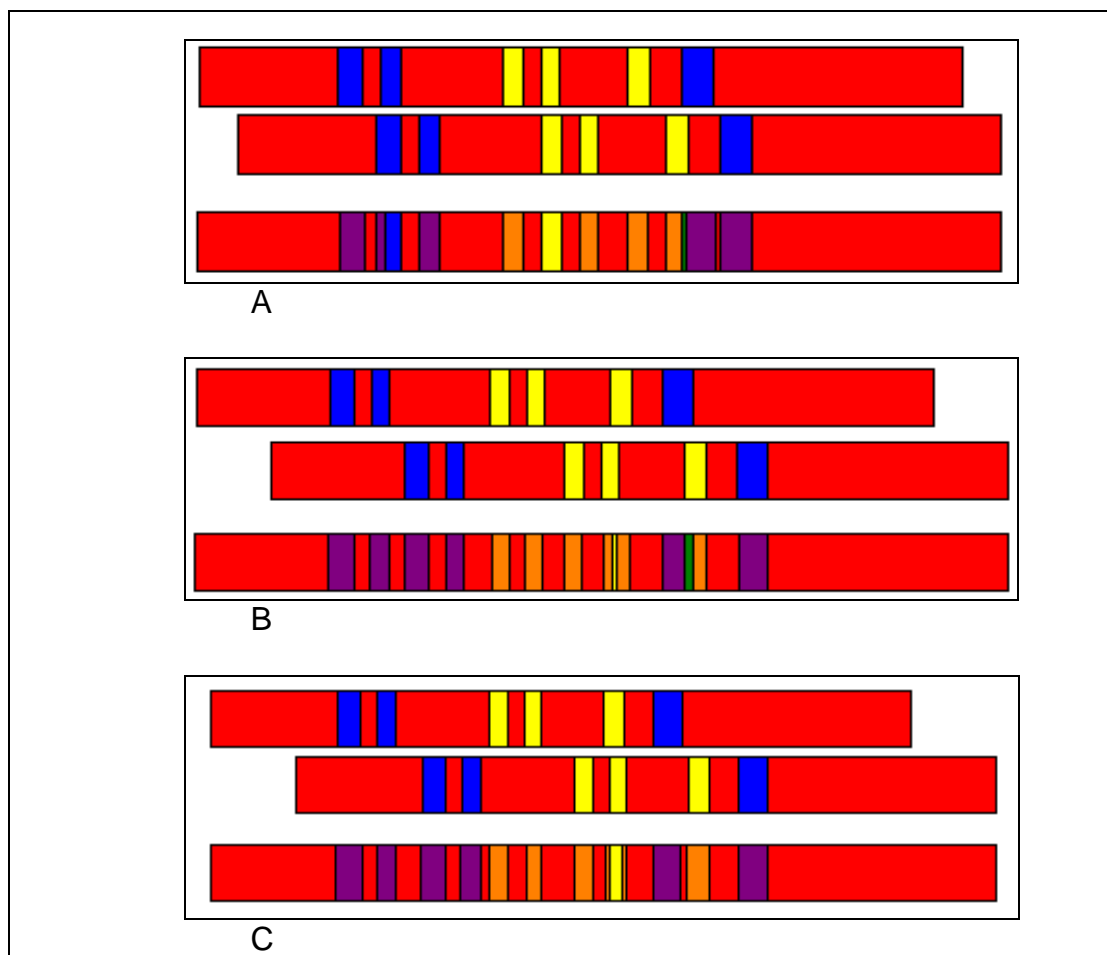


Figura 9. Representação da lógica do nível adequado de translação empregando cores permitidas (magenta, amarelo, laranja e violeta) e proibidas (azul e verde).

A rotina foi desenvolvida em linguagem Quick Basic 4.5 que, apesar de não possuir interface atraente para o usuário, como aquelas produzidas em linguagens objeto orientadas, e não permitir atalhos rápidos como softwares construídos na plataforma Windows ou Linux, é facilmente utilizável em qualquer máquina, mesmo nas mais antigas e simples, facilitando a montagem de um sistema dedicado. Neste contexto, o tamanho do arquivo da rotina desenvolvida, apresentada, em parte, no Anexo 2, foi igual a 3,32 kB demonstrando que não seria necessário processadores especiais para trabalhar com um programa tão simples como este. Esta linguagem

também possui precisão na base de tempo até centésimos de segundos, devido à operação em MS-DOS (do inglês, Microsoft Disk Operational System).

O uso desta ferramenta proporcionou aumento na produtividade, maior exatidão na determinação do intervalo de tempo entre as injeções e previa visualização do formato do cromatograma final.

4.4 Estratégia de Injeções Consecutivas em Padrões Sintéticos

Um limitante que deve ser levado em conta é que, nas análises cromatográficas, é usual que uma nova injeção seja feita após a eluição de todos os componentes da alíquota da amostra anteriormente injetada. Seguindo este paradigma, algumas determinações são rápidas, pois sistema foi otimizado para que o(s) analito(s) tenha(m) uma eluição rápida e seletiva. Contudo, em alguns sistemas, pode haver contaminantes de difícil eluição, originários da matriz, que necessitem de um maior tempo para serem eluídos, pois se não forem eluídos a probabilidade de aparecimento de picos “fantasmas” em injeções posteriores é grande (Lanças, 1999). Este aspecto faz com que a análise tenha uma baixa produtividade por ser lenta.

Uma abordagem que deve ser feita em relação aos componentes de eluição da cromatografia gasosa é sobre o tipo de movimento que eles desenvolvem. Nos instrumentos modernos, os fluxos dos gases são exatamente controlados e constantes. As colunas capilares atuais também apresentam boa uniformidade em relação a diâmetro interno, concentração e espessura da fase estacionária. Neste contexto, a única variável capaz de variar a velocidade dos componentes em separação cromatográfica gasosa é a temperatura a que eles estão submetidos. Os

aparelhos modernos têm um bom controle de temperatura, alguns chegam a precisão da ordem de $0,1^{\circ}\text{C}$. Se um sistema é conduzido em isoterma pode-se afirmar que todos os componentes desenvolvem MRU. Velocidade e tempo de retenção são grandezas inversas, os componentes de maior velocidade têm tempos de retenção menores, já os componentes de menor velocidade têm tempos de retenção maiores. Os componentes que possuem tempos de retenção próximos são eluídos próximos, se essas velocidades forem muito próximas eles podem gerar picos sobrepostos, dificultando a resolução cromatográfica.

Levando-se em conta que a variação do tempo de retenção de corrida para corrida é mínima, sendo causado por flutuações instrumentais, pode-se afirmar que as velocidades dos componentes também são constantes. Também deve ser levado em conta que com o desgaste da coluna cromatográfica, existe uma lenta variação dos tempos de retenção dos componentes, porém essa variação é pouca, não sendo perceptível no dia a dia. Os pequenos desvios instrumentais causam leve variação no tempo de retenção dos componentes. Contudo, estas pequenas variações no tempo de retenção não influenciam na correta detecção dos componentes. Assim, pode-se afirmar que as velocidades de eluição dos componentes são constantes em condições isotérmicas.

Dentro desta temática foi desenvolvido o conceito de injeções consecutivas, onde uma nova injeção é feita antes do término da anterior, com os componentes mais rápidos da nova injeção ultrapassando os mais lentos da injeção anterior. Deve-se tomar o cuidado para que esta ultrapassagem não ocorra no detector, pois neste caso haverá sobreposição de picos.

As primeiras tentativas de verificar a eficácia das injeções consecutivas foram feitas com um padrão sintético, em fevereiro de 2003, sem o auxílio do software. Os intervalos de tempo das injeções consecutivas eram determinados com translados manuais das impressões dos cromatogramas obtidos, em mesma escala. A Figura 10 apresenta os cromatogramas obtidos a partir destas tentativas. Na Figura 10A pode ser observado um cromatograma obtido empregando a metodologia convencional na injeção de uma solução do padrão misto sintético, enquanto que na Figura 10B é apresentado o cromatograma obtido na primeira tentativa real do emprego da metodologia das injeções consecutivas, com duas injeções do padrão sintético com retardamento de 1 min entre elas.

A partir da inspeção visual da Figura 10B, nota-se que há espaço para, pelo menos, mais uma injeção, pois o pico de Irg 168 de uma terceira injeção é estreito o suficiente para ser incluído entre o pico do Irg 168 da segunda injeção e do pico de Irg 1076 da primeira injeção com resolução satisfatória. Essa tentativa pode ser visualizada na Figura 10C, a qual foi realizada em intervalos de tempo de 0,95 min entre as três injeções.

Na Tabela 2 são apresentados os valores das áreas, áreas médias, desvios e desvios padrão das áreas dos picos dos analitos de interesse, obtidas a partir de injeção individual e injeções consecutivas. Os resultados obtidos empregando a metodologia convencional e a estratégia das injeções consecutivas apresentaram boa concordância, como pode ser observado pelos desvios padrão relativos inferiores a 1,3% para todos os analitos avaliados.

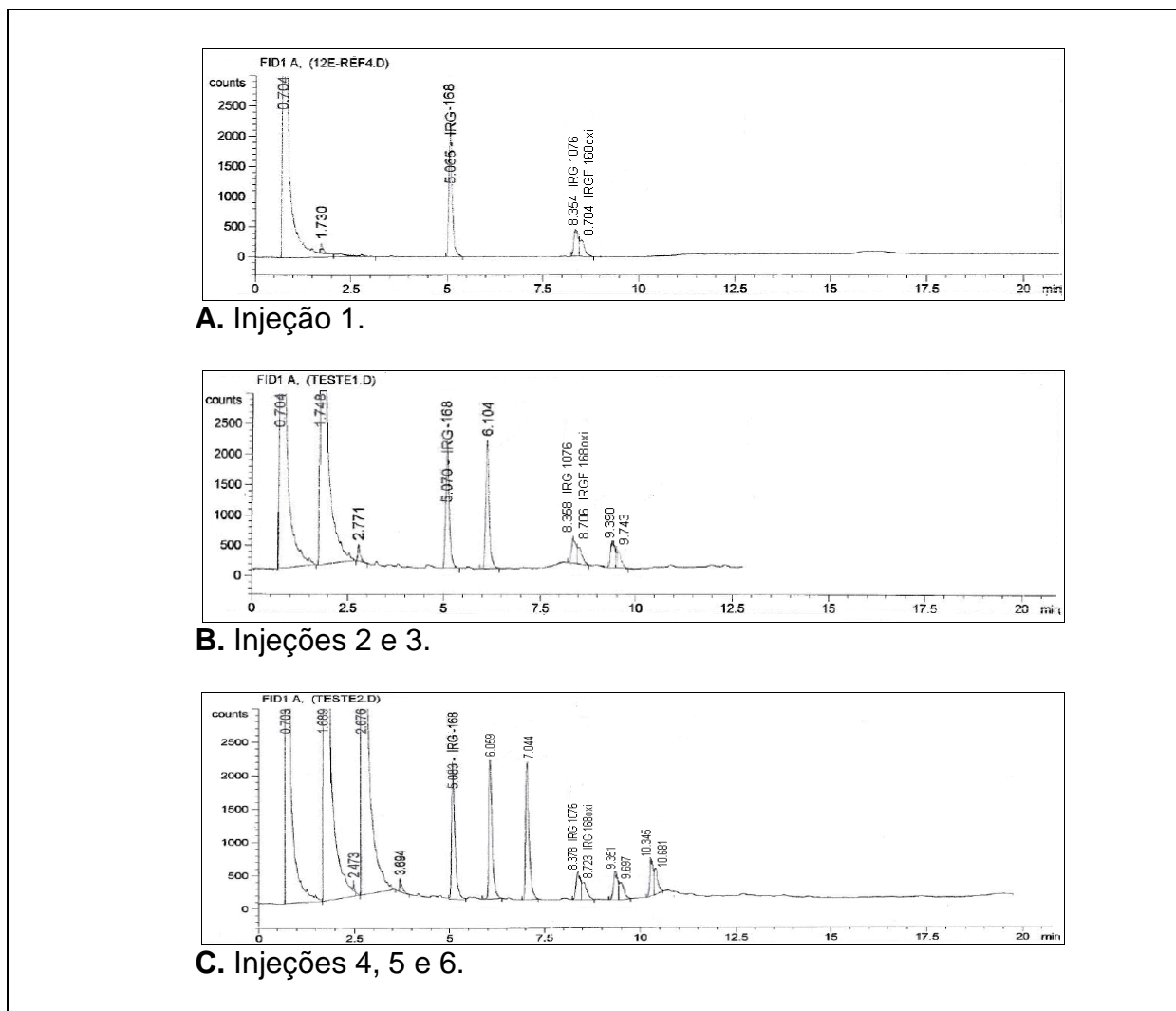


Figura 10. Cromatogramas das primeiras tentativas de emprego da estratégia das injeções consecutivas.

Uma avaliação minuciosa da Figura 10C indica que mais injeções consecutivas poderiam ser executadas em intervalos de tempo inferiores sem comprometer a resolução dos picos e garantindo o aumento da produtividade analítica. O translado manual das imagens dos cromatogramas possibilitaria a indicação do número máximo de injeções consecutivas e os intervalos de tempo entre as mesmas sem comprometer a resolução dos picos. Por outro lado, o processamento manual de imagens implicaria em longos períodos para avaliação visual, a necessidade de

treinamento de pessoal, além de imprecisões na determinação do número máximo de injeções e dos intervalos de tempo entre as mesmas.

Tabela 2. Tratamento das áreas das primeiras injeções consecutivas

Injeção	Área do Irg. 168	Área do Irg. 1076	Área do Irg. 168oxi
1	13066	3473	2426
2	12738	3461	2401
3	13154	3445	2425
4	12790	3440	2431
5	12882	3394	2381
6	12918	3384	2430
\bar{x}	12925	3433	2416
$\pm s$	159,6	36,1	20,3
RSD (%)	1,23	1,05	0,84

Dentro desse contexto, é pertinente o desenvolvimento de um software que simule o translado dos cromatogramas, determine o número máximo de injeções e o intervalo de tempo entre estas que resulte na obtenção de picos dos analitos com boa resolução, com conseqüente maximização da produtividade analítica sem perdas na qualidade dos resultados.

4.5 Aplicação

Na Figura 11 é apresentado um cromatograma CG de uma amostra de polietileno que foi submetida ao processo de extração com clorofórmio para a determinação dos teores dos aditivos de interesse. O tempo de retenção do analito

mais lento (Irg 168oxi) foi igual a 14,803 min. Assim, esta análise poderia ser realizada, com segurança, em 16 min. Contudo, seriam necessários cerca de 50 min por injeção, pois durante o processo de extração dos aditivos, também são extraídas outras espécies, que levam cerca de 50 min para serem totalmente eluídas da coluna. Pode-se lançar mão vários procedimentos para melhorar a produtividade analítica nestas determinações dos teores de aditivos, como (i) aumentar a temperatura do forno, (ii) uso de rampas de temperatura e (iii) substituição da coluna cromatográfica (Accorsi *et al*, 2005). Contudo a separação de dois analitos (Irg 1076 e Irg 168oxi) é muito crítica, e essas alternativas poderiam levar a uma sensível perda de resolução.

Para que o software desenvolvido simule as translações nos cromatogramas e localize eficientemente os intervalos de tempo entre injeções consecutivas que não acarretem em sobreposição dos picos dos analitos é necessária a definição do tempo de início e do término de cada pico cromatográfico.

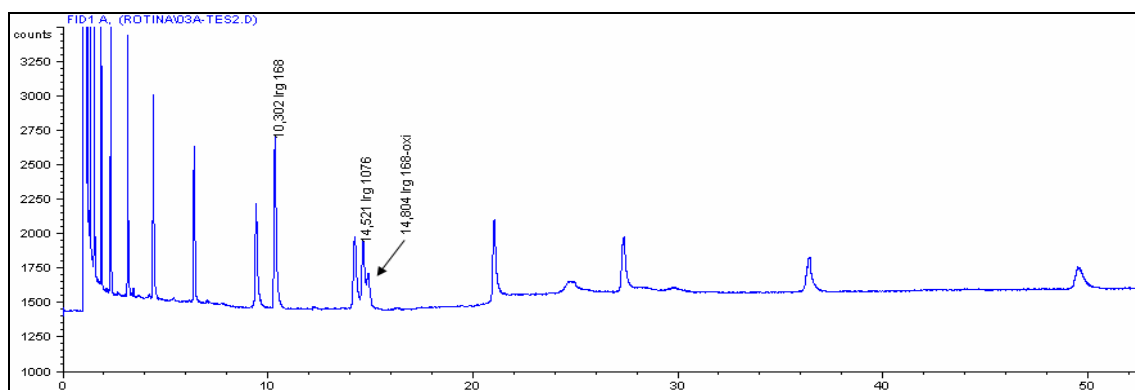


Figura 11. Cromatograma de amostra de Polietileno contendo Irg 168, Irg 1076 e Irg 168oxi.

Uma vez que as injeções manuais realizadas por um mesmo técnico nunca são efetuadas exatamente da mesma forma, mesmo as executadas por um técnico experiente, há uma leve variação no tempo retenção dos componentes de injeção

para injeção. A variação do tempo retenção quando são avaliados técnicos diferentes é ainda maior, pois cada um tem sua própria técnica de injeção, uns são mais lentos e outros mais rápidos. Essas variações somadas com as típicas oscilações instrumentais originam uma faixa de tempo de retenção para os componentes, bem como os tempos de início e término dos picos.

Buscando avaliar as flutuações dos tempos de retenção, de início e término de pico, foram injetadas trinta amostras típicas (semelhantes à apresentada na Figura 11) por três operadores diferentes. O emprego de resultados obtidos por diferentes analistas possibilitaria desenvolver uma estratégia de injeções consecutivas aplicável por qualquer um dos analistas do grupo avaliado.

A partir dos resultados obtidos, os tempos de início de pico utilizados pelo software foram definidos como o menor tempo de início de pico registrado, enquanto que o tempo de término de pico foi definido como o maior tempo de término de pico obtido. O uso de intervalos de confiança baseados em parâmetros estatísticos para definir os tempos de início e término de picos foi descartado por dois motivos. O primeiro é que a distribuição estatística pode ser multimodal, o que está relacionado com o emprego de resultados obtidos por diferentes analistas, uma vez que cada analista apresenta uma forma peculiar de injeção e uma distribuição estatística própria.

O outro motivo era a baixa resolução da separação do Irg 1076 e do Irg 168oxi, demonstrado na Figura 10. Portanto, não seria aceitável correr riscos de outra interferência que levasse a perdas na separação dos componentes. Neste sentido foi inferido que o intervalo de tempo entre o início e final de cada pico cromatográfico fosse o maior possível, melhorando a robustez da estratégia analítica.

Adicionalmente, o *software* desenvolvido necessita ser informado sobre quais picos correspondem aos analitos e quais são correspondentes aos outros constituintes da matriz. Os períodos que não correspondem aos picos foram considerados como linha base.

O *software* foi empregado para avaliar o intervalo de tempo necessário para realização do número máximo de injeções consecutivas, sendo que a execução do programa indicou que poderiam ser realizadas até três injeções consecutivas com retardamento de 1,45 min entre elas.

Nessas condições, curvas analíticas foram construídas com seis pontos, cobrindo toda faixa de concentração esperada para as espécies sob investigação, e seguindo a metodologia proposta com intervalo de tempo calculado pelo *software*. Nas Figuras 12 e 13 podem ser observados o cromatograma referente à injeção de três padrões sintéticos dos analitos estudados, empregando a estratégia das injeções consecutivas, e as curvas analíticas referentes às espécies interesse, respectivamente.

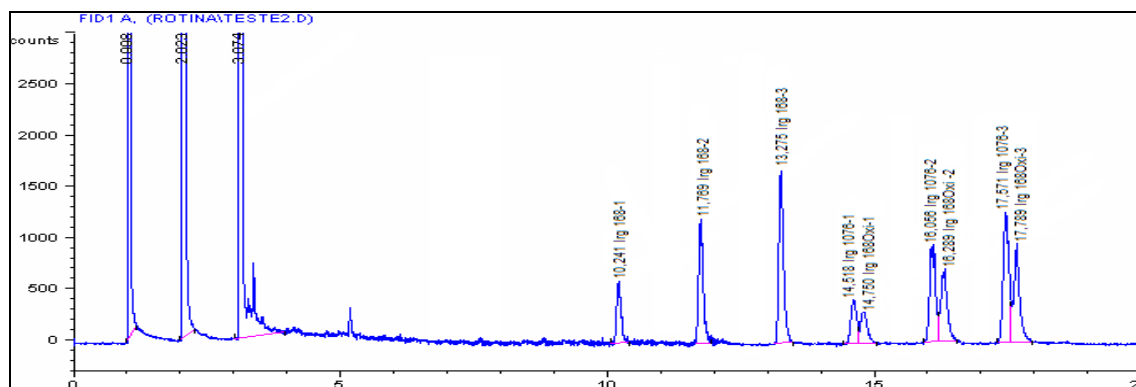


Figura 12. Cromatograma com três injeções consecutivas de padrões sintéticos.

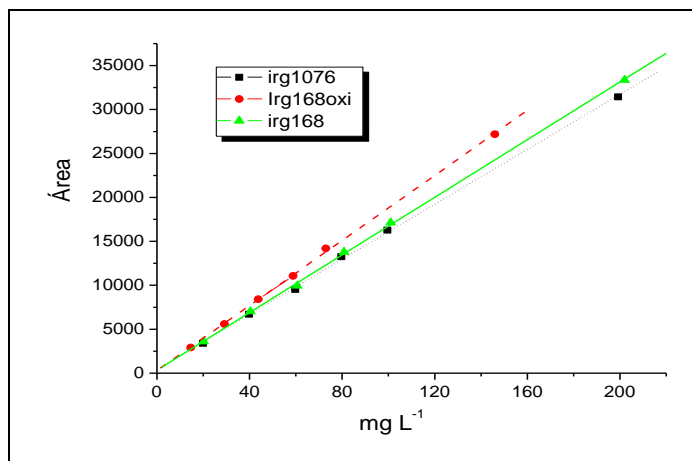


Figura 13. Curvas analíticas dos três analitos obtidas com injeções consecutivas.

Para efeito de comparação, uma curva com seis pontos foi construída com padrões sintéticos, fazendo injeções pelo método convencional (injeções individuais). As curvas obtidas com o conceito de injeções consecutivas para determinação dos analitos, apresentaram boas linearidades e regressões lineares compatíveis com as curvas obtidas pelo método tradicional. Abaixo, seguem os valores das curvas obtidas com as injeções convencionais e consecutivas (Tabela 3).

Tabela 3. Dados das curvas obtidas com injeções convencionais e consecutivas.

	Irgafós 168	Irganox 1076	Irgafós 168oxi
Coeficiente linear das curva com injeções convencionais.	386,72	679,64	955,33
Coeficiente linear das curva com injeções consecutivas.	329,39	450,28	304,21
Coeficiente angular das curva com injeções convencionais.	160,61	155,52	177,62
Coeficiente angular das curva com injeções consecutivas.	163,99	156,38	185,05
Regressão linear das injeções convencionais.	0,9997	0,9996	0,9998
Regressão linear das injeções consecutivas.	0,9998	0,9997	0,9997

Foram estudadas 45 amostras aleatórias de polietileno fornecidas pela Braskem, produzidas entre Junho de 2004 e Outubro de 2005. A Figura 14 mostra um dos cromatogramas resultantes da determinação de antioxidantes em três amostras diferentes de polietileno, seguindo a estratégia das injeções consecutivas.

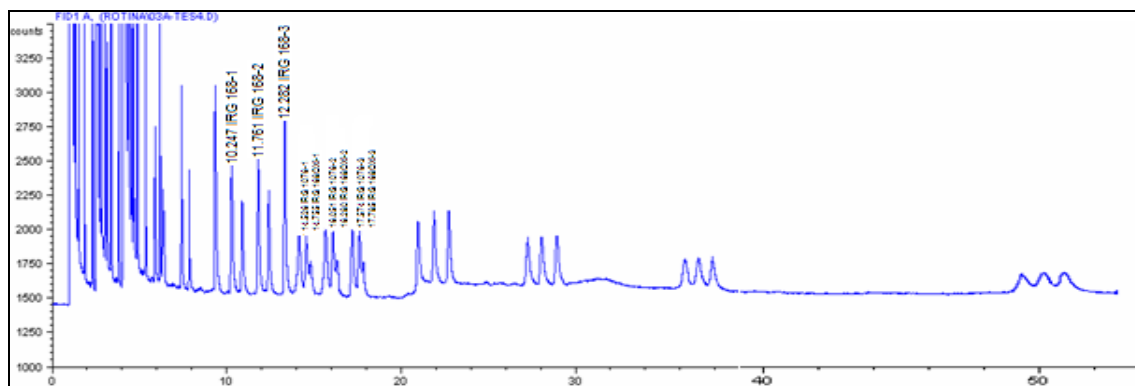


Figura 14. Cromatograma com injeção consecutiva de três amostras de antioxidantes em polietileno.

Para melhor visualização, na Figura 15 é apresentada a ampliação da área de interesse do cromatograma (Figura 14), onde estão contidos os picos referentes aos três analitos, com suas respectivas identificações e integrações.

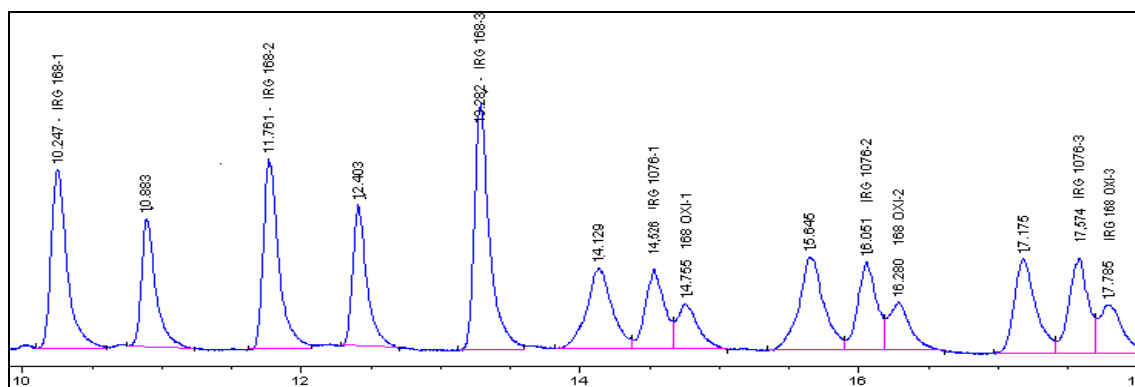


Figura 15. Ampliação da área do cromatograma da figura 11, onde estão os analitos de interesse.

Os resultados obtidos pelos técnicos da Braskem ao empregar a estratégia convencional para injeção das amostras foram definidos como referências para as determinações realizadas seguindo a estratégia das injeções consecutivas. Ainda, deve ser mencionado que as análises seguindo o conceito de Injeções consecutivas foram realizadas em dias diferentes. Os resultados de todas as determinações são apresentados na Tabela 4. Pela observação das diferenças entre os resultados obtidos ao empregar as estratégias convencional e consecutiva de injeções de amostras pôde ser notado que o comportamento do Irg1076 e Irg168 não eram significativamente diferentes (95% de confiabilidade). Para o aditivo Irg1076 foram observadas diferenças relativas máximas e mínimas de 5,0% e -4,9%, enquanto que para o Irg168 as diferenças máximas e mínimas não ultrapassaram a 4,9% e -4,7% respectivamente. O teste *t*-pareado revelou que não houve diferenças significativas para o intervalo de confiança de 95%, obtendo-se valores de *t* iguais a 0,871 e 1,426, respectivamente, sendo que o valor de *t* tabelado para 95% de confiabilidade e 44 graus de liberdade é igual a 2,02.

Por outro lado, o aditivo Igr168oxi apresentou diferenças máxima e mínima superiores a dos outros dois analitos (6,9% e -7,7%, respectivamente). Estas diferenças podem ser explicadas pela metrologia adotada pela Braskem, a qual adota como padrão nível de incerteza de $\pm 0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Assim, para os analitos mais concentrados, Irg1076 e Irg168, tem-se pelo menos três algarismos significativos para o cálculo das diferenças percentuais, pois as concentrações estão na ordem de dezenas de mg L^{-1} . Assim, sendo o Irg168oxi o analito em menor concentração, apresentando valores de concentração da ordem de unidades de mg L^{-1} e, seguindo o nível padrão de incerteza estabelecido pela empresa ($\pm 0,1 \text{ mg L}^{-1}$), as diferenças

são calculadas com dois algarismos significativos e resulta em maiores diferenças percentuais.

Tabela 4. Resultados das análises (concentrações) de aditivos pelo método convencional (normal) e pelo novo conceito de injeções consecutivas para 45 amostras de polietileno e as diferenças (%) entre os resultados obtidos pelas duas estratégias de injeção de amostra.

	Irg1076 normal (mg L ⁻¹)	Irg1076 consecutiva (mg L ⁻¹)	Dif% Irg1076	Irg168 normal (mg L ⁻¹)	Irg168 consecutiva (mg L ⁻¹)	Dif% Irg168	Irg168oxi Normal (mg L ⁻¹)	Irg168oxi consecutiva (mg L ⁻¹)	Dif% Irg168oxi
1	28,9	29,5	2,08%	115,0	120,2	4,52%	12,0	11,5	-4,17%
2	30,1	30,9	2,66%	84,2	85,0	0,95%	4,9	5,2	6,12%
3	32,5	32,0	-1,54%	85,1	82,8	-2,70%	6,8	6,4	-5,88%
4	38,8	36,9	-4,90%	50,1	48,2	-3,79%	2,5	2,6	4,00%
5	27,5	27,7	0,73%	117,8	120,9	2,63%	8,2	7,9	-3,66%
6	32,2	32,9	2,17%	45,0	47,2	4,89%	2,6	2,4	-7,69%
7	33,7	34,1	1,19%	48,3	47,9	-0,83%	3,4	3,6	5,88%
8	30,9	31,5	1,94%	112,8	117,3	3,99%	9,2	9,5	3,26%
9	31,9	31,8	-0,31%	102,0	105,6	3,53%	13,4	13,9	3,73%
10	40,5	38,8	-4,20%	52,1	50,8	-2,50%	3,7	3,9	5,41%
11	28,8	30,0	4,17%	78,2	80,1	2,43%	5,0	5,3	6,00%
12	35,4	36,1	1,98%	108,5	110,8	2,12%	10,8	10,3	-4,63%
13	32,9	31,3	-4,86%	40,1	41,2	2,74%	2,8	2,7	-3,57%
14	34,1	33,8	-0,88%	42,7	42,9	0,47%	2,8	2,8	0,00%
15	36,5	35,8	-1,92%	88,2	86,0	-2,49%	4,7	4,5	-4,26%
16	29,4	30,8	4,76%	36,2	37,2	2,76%	2,9	3,1	6,90%
17	30,1	28,8	-4,32%	74,9	72,9	-2,67%	10,3	10,0	-2,91%
18	38,7	39,9	3,10%	80,5	82,9	2,98%	8,4	8,0	-4,76%
19	34,6	35,5	2,60%	114,1	118,2	3,59%	7,9	8,3	5,06%
20	26,8	26,0	-2,99%	109,0	105,3	-3,39%	11,8	12,1	2,54%
21	29,9	30,4	1,67%	37,9	38,2	0,79%	3,4	3,6	5,88%
22	31,2	31,7	1,60%	118,9	120,4	1,26%	9,2	8,9	-3,26%
23	30,1	29,3	-2,66%	102,5	101,9	-0,59%	10,9	11,3	3,67%
24	31,5	32,8	4,13%	82,6	84,8	2,66%	7,5	7,8	4,00%
25	37,2	37,1	-0,27%	49,6	48,0	-3,23%	2,9	3,1	6,90%
26	29,1	28,8	-1,03%	110,4	109,0	-1,27%	13,2	12,7	-3,79%
27	29,4	30,8	4,76%	76,2	78,9	3,54%	9,4	9,8	4,26%
28	28,6	29,0	1,40%	115,2	114,0	-1,04%	7,2	7,6	5,56%
29	34,3	35,0	2,04%	80,5	82,5	2,48%	8,1	8,3	2,47%
30	34,2	33,9	-0,88%	78,4	77,5	-1,15%	10,4	10,1	-2,88%
31	33,8	35,5	5,03%	41,3	43,0	4,12%	3,1	2,9	-6,45%
32	34,2	34,8	1,75%	53,2	50,7	-4,70%	4,1	3,8	-7,32%
33	31,3	30,8	-1,60%	119,4	115,2	-3,52%	9,7	9,4	-3,09%
34	28,8	29,0	0,69%	113,8	114,6	0,70%	9,2	9,2	0,00%
35	27,6	28,2	2,17%	72,6	73,5	1,24%	5,8	6,1	5,17%
36	30,8	31,5	2,27%	38,9	39,3	1,03%	2,9	3,0	3,45%
37	40,1	39,1	-2,49%	118,7	117,0	-1,43%	9,7	9,6	-1,03%
38	41,8	42,8	2,39%	54,6	55,7	2,01%	3,8	4,0	5,26%
39	26,0	25,0	-3,85%	69,4	67,1	-3,31%	6,1	5,8	-4,92%
40	40,1	38,8	-3,24%	50,2	49,2	-1,99%	4,0	4,2	5,00%
41	28,6	30,0	4,90%	117,2	119,1	1,62%	10,8	11,1	2,78%
42	31,4	30,2	-3,82%	82,9	80,6	-2,77%	7,3	7,0	-4,11%
43	37,6	36,9	-1,86%	42,5	44,5	4,71%	3,2	3,4	6,25%
44	32,2	33,0	2,48%	109,5	113,4	3,56%	14,2	14,9	4,93%
45	35,9	37,1	3,34%	49,3	50,7	2,84%	3,5	3,6	2,86%

Contudo, a análise pelo teste do t -pareado demonstra que, também para este componente, não houve diferença significativa para o intervalo de 95% de confiança, tendo t igual a 0,717.

O ganho de produtividade obtido na determinação destas 45 amostras foi excepcional. Seguindo as condições convencionais de injeção de amostra, seriam necessárias cerca de 38 h para a análise das 45 amostras, sem levar em conta os períodos para recalibrações da curva analítica (a cada 8 h, seguindo rotina normal da Braskem). Com a nova metodologia proposta, estas mesmas amostras foram determinadas em aproximadamente 13,5 h.

5.0 CONCLUSÕES

A metodologia das injeções consecutivas foi desenvolvida e aplicada com sucesso em soluções de referência e em amostras de extrato de polietileno, ao garantir um aumento expressivo na produtividade das análises por cromatografia a gás. A metodologia proposta foi aplicada para determinação de aditivos antioxidantes (Irganox 1076, Irgafós 168 e Irgafós 168oxi) em polietileno, sendo que os resultados obtidos foram concordantes para 95% de confiabilidade com os adquiridos pelo procedimento convencional de injeção empregado pela Braskem, e o ganho de produtividade na determinação das 45 amostras analisadas é representado pelo tempo total de análise, o qual passou de 38 h, ao empregar a estratégia convencional de injeções, para 13,5 h, quando foi empregada a estratégia das injeções consecutivas. A metodologia demonstrou alta potencialidade de aplicação para laboratórios que realizam determinações em grandes lotes de amostras.

O *software* desenvolvido em linguagem Quick Basic 4.5 permitiu realizar simulações do procedimento proposto e determinar os intervalos de tempo mínimos entre as injeções consecutivas que não resultassem em sobreposições dos picos dos analitos com outros componentes (analitos ou contaminantes) de injeções anteriores e posteriores.

Nas 45 amostras estudadas não puderam ser observadas reações na coluna entre os analitos, ou entre analitos e contaminantes. Esta afirmação se deveu ao fato dos resultados obtidos ao empregar a estratégia das injeções consecutivas de

amostras não serem significativamente diferentes (95% de confiabilidade) aos obtidos pela estratégia convencional de injeção de amostra.

6.0 PERSPECTIVAS FUTURAS

O trabalho desenvolvido apresenta aplicabilidade para diferentes sistemas e processos de análise, sendo que para avaliar o desempenho da estratégia aqui proposta serão necessários estudos sistemáticos para averiguação da viabilidade.

Uma das possíveis aplicações seria relacionada às determinações com CG de analitos em outras matrizes. Outra possibilidade de alto interesse refere-se à realização de injeções de padrões e amostras numa mesma corrida cromatográfica, integrando as etapas de calibração e determinação.

O emprego da estratégia em outros tipos de análises cromatográficas (CLAE e cromatografia de íons) deverá ser avaliada. A implementação da metodologia de injeção proposta ao empregar sistema automático de injeção apresenta grande potencialidade, sendo que essa alternativa não foi implementada pelo fato do conjunto cromatógrafo/injetor automático disponível nas instalações da Braskem (Agilent 6890N e Agilent 7683, respectivamente) não possibilitar a realização de uma nova injeção sem que a corrida cromatográfica anterior tenha sido encerrada. O emprego de equipamentos de injeção automática e com programação mais flexível associados à metodologia proposta será avaliado futuramente.

Finalmente, a técnica de injeção consecutiva deve ser estudada em equipamentos totalmente automatizados, que trabalham na linha de processos. Nesses equipamentos, a alta produtividade analítica e a robustez são características importantes, neste sentido a técnica proposta deve melhorar o desempenho.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ACCORSI, A., MORRONE, B., RAFFI, G. B., VIOLANTE, F. S. High-speed capillary gas chromatography for determination of inhalation anesthetics, *Journal of Chromatography A*, 1071, 81–84, 2005.
- BORGERDING, A.J. e CURRENT, R.W., Rapid-Extraction High-Speed GC Analysis of Volatile Organic Compounds in Aqueous Samples *Analytical Chemistry*, 71, 3513-3518, 1999.
- BRONDNJAK-VONCINA, D., KODBA, Z.C. e NOVIC, M., Multivariate data analysis in classification of vegetable oils characterized by the content of fatty acids, *Chemometrics and intelligent Laboratory Systems*, 75, 31-43, 2005.
- BRYANT, C.H., ADAM, A.E. TAYLOR, D.R. e ROWE R.C., Using inductive logic programming to discover knowledge hidden in chemical data, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 36, 111-123, 1997.
- CHRISTENSEN, J.H., MORTENSEN, J. HANSEN, A.B. e ANDERSEN, O., Chromatographic preprocessing of GC–MS data for analysis of complex chemical mixtures, *Journal of Chromatography A*, 1062, 113–123, 2005.

-
- CORDERO, B. M., LORENZO, I.M., PAVÓN, J.L.P., LAESPADA, M.E.F. e PINTO, C.G., Detection of adulterants in olive oil by headspace–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 945, 221–230, 2002.

 - COUTINHO, F.M.B., MARIA, L.C.S. e MELLO, I.L., Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 13, 1, 1-13, 2003.

 - DEFFIEUX, A., COEVOET, D. e CRAMAIL, H., U.V./visible spectroscopic study of the rac-Et(Ind)₂ZrCl₂/MAO olefin polymerization catalytic system, investigation in toluene, *Macromol Chemical Physical*, 199, 1451-1457, 1998.

 - DEGANI, A.L.G., CASS, Q.B. e VIEIRA, P.C., Cromatografia: um breve ensaio, *Química Nova na Escola*, 7, 21-26, 1998.

 - DINÇ, E., BALEANU, D. e ONUR, F., Spectrophotometric multicomponent analysis of a mixture of metamizol, acetaminophen and caffeine in pharmaceutical formulations by two chemometric techniques, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26, 949-957, 2001.

 - FRAGA, C. G. Chemometric approach for the resolution and quantification of unresolved peaks in gas chromatography–selected-ion mass spectrometry data, *Journal of Chromatography A*, 1019, 31–42, 2003.

-
- GUSEV, A.I., ALNOUTI, Y., SRINIVASAN, K., WADDELL, D., BI, H. e KAVETSKAIA, O., Development and application of a new on-line SPE system combined with LC–MS/MS detection for high throughput direct analysis of pharmaceutical compounds in plasma, *Journal of Chromatography A*, 1080, 99–106, 2005.

 - HANAMOTO, L.S., Estudo da cinética de cristalização do polietileno linear de baixa densidade: influência da microestrutura, *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Campinas, 2000.

 - HÉBERGER, K. e GÖRGÉNYI, M., Principal component analysis of Kováts indices for carbonyl compounds in capillary gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, 845, 21–311, 1999.

 - HÉBERGER, K., MILCZEWSKA, K. e VOELKEL, A. Inverse gas chromatographic and chemometric tools for determination of interactions between the components of polymeric composition, *Analytica Chimica Acta* 559 221–226, 2006.

 - HENION, J.D., ONORATO, J.M., LEFEBVRE, P.M. e KIPLINGERT, J.P., Selected Reaction Monitoring LC-MS Determination of Idoxifene and Its Pyrrolidinone Metabolite in Human Plasma Using Robotic High-Throughput, Sequential Sample Injection, *Analytical Chemistry*, 73, 119-125, 2001.

-
- JARDE, E., VILMIN, F., MANSUY, L. e FAURE, P. PY-GC/AED and chemometric correlation to Characterize sewage sludges of different origins, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 71, 553-567, 2004.

 - KALLOS, G.J., ALBE, W.R. E SOLOLON, R.A., On-Column Reaction Gas Chromatography for Determination of Chloromethyl Methyl Ether at One Part-per-Billion Level in Ambient Air, *Analytical Chemistry*, 12, 1817-1820, 1977.

 - KRUPCIK, J., MÁJEK, P., HEVESIA, T., CHR´ETIEN , J.R. e ARMSTRONG, D.W. Chemometric studies of retention in capillary gas chromatographic separation of hydrocarbons in coupled columns, *Journal of Chromatography A*, 1068, 307–314 2005.

 - LANÇAS, F.M., *Cromatografia em Fase Gasosa*, ACTA, São Carlos, 1993.

 - LANÇAS, F.M. e MÜHLER, C., *Cromatografia unificada*, Química Nova, vol. 27, nº 5, 747-753, 2004.

 - LEARDI, R., NAMARA K. M. e SABUNETI, A., Fast GC analysis of major volatile compounds in distilled alcoholic beverages Optimization of injection and chromatographic conditions, *Analytica Chimica Acta* 542, 260–267,2005.

 - MANO, E.B. e MENDES, L.C., *Introdução a Polímeros*, Editora Edgard Blücher, São Paulo, 1999.

- MILES, D.C. e BRISTON, J.H., Tecnologia dos Polímeros, Editora Polígono S.A., São Paulo, 1975.
- MIZAIKOFF, B., MAHONY, J.O., NOLAN, K, e SMITH, M.R., Molecularly imprinted polymers-potential and challenges in analytical chemistry, *Analytica Chimica Acta*, 534, 31-39, 2005.
- MORITZ, T., JONSSON, P., JOHANSSON, A.I., GULLBERG, J., TRYGG, J., JIYE, A., GRUNG B., MARKLUND, S., SJOSTROM, M. e ANTTI, H., High-Throughput Data Analysis for Detecting and Identifying Differences between Samples in GC/MS-Based Metabolomic Analyses, *Analytical Chemistry*, 65, 2040-2047, 1993.
- MORRIS, R.E., JOHNSON, K. J. e ROSE-PEHRSSON, S.L., Monitoring Diesel Fuel Degradation by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy and Chemometric Analysis, *Energy & Fuels*, 18, 844-850, 2004.
- PAVÓN, J.L.P., PENA, A.G., PINTO, C.G. e CORDERO, B.M., Detection of soil by hydrocarbons using headspace-mass spectrometry and identification of compounds by headspace-fast gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1047, 101–109, 2004.

-
- POOLE, C.F., ABRAHAM, M.H. e POOLE, S. K., Classification of stationary phases and other materials by gas Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 842, 79–114, 1999.
 - POPPI, R.J., SENA, M.M. e TREVISAN, M.G., PARAFAC: uma ferramenta quimiométrica para tratamento de dados multidimensionais. Aplicação na determinação direta de fármacos em plasma humano por espectrofluorimetria, *Química Nova*, vol. 28, nº 5, 910-920, 2005.
 - PEREIRA, A.S. e AQUINO NETO, F.R., Estado da arte da cromatografia gasosa de alta resolução e alta temperatura, *Química Nova*, vol. 23, nº 3, 370-379, 2000.
 - RAMOS, G.R. e ÁLVAREZ-COQUE, M.C.G., *Quimiometria*. Editorial Síntesis S.A, Madri, Espanha, 2001.
 - REIS, M.M. e FERREIRA, M.M.C., Separação de espectros simulados e de luminescência total através do método generalizado de anulação posto (GRAM), *Química Nova*, vol. 22, nº 1, 11-17 1999.
 - RODRÍGUEZ, M.V.G., GARCIA, M.S.D., LÓPEZ, J.M.V., BOUZA R., ABAD, M.J. e SOTO E.G., Extraction and quantification of antioxidants from low-density polyethylene by microwave energy and liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 521,179–188, 2004.

- SKOOG, D.A., HOLLER, F.J. e NIEMAN, T.A., *Princípios de Análise Instrumental*. Bookman, Porto Alegre, 2002.

- STILLMAN, M.J. e HAI, D., Automatic of gas chromatography instruments. Part I. Automated peak identification in the chromatograms of standard test mistures, *Analytica Chimica Acta*, 354, 65-76, 1997.

- STILLMAN, M.J. e HAI, D., Automatic of gas chromatography instruments. Part II. A knowledge-based system for performance assessment, *Analytica Chimica Acta*, 354, 77-86, 1997.

- SULIMAN, F.E.O. e SOMA, Y., Identification of an artifact peak co-eluting with formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone derivative by GC-MS and chemometrics, *Microchemical Journal*, 72, 27–33, 2002.

- SYNOVEC, R.E., BRUCKNER, C.A. e FRAGA, C.G., Increasing the Number of Analyzable Peaks in Comprehensive Two-Dimensional Separations through Chemometrics, *Analytical Chemistry*, 73, 675-683, 2001.

- SYNOVEC, R.E., CAVELTI, M.A., GRATE, J.W., JOHNSON, K.J., HOPE, J.L. e PRAZEN, B.J., High-speed gas chromatographic separations with diaphragm valve-based injection and chemometric analysis as a gas chromatographic “sensor”, *Analytica Chimica Acta*, 490, 223-230, 2003.

-
- SYNOVEC, R.E., FRAGA, C.G. e PRAZEN, B.J., Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography and Chemometrics for the High-Speed Quantitative Analysis of Aromatic Isomers in a Jet Fuel Using the Standard Addition Method and an Objective Retention Time Alignment Algorithm, *Analytical Chemistry*, 72, 4154-4162, 2000.

 - SYNOVEC, R.E., HOPE, J.L., JOHNSON, K.J., PIERCE, K.M, e WRIGHT, B. W., Classification of gasoline data obtained by gas chromatography using a piecewise alignment algorithm combined with feature selection and principal component analysis, *Journal of Chromatography A*, 1096, 101–110, 2005^b.

 - SYNOVEC, R.E., HOPE, J.L., PRAZEN, B.J. e SINHA, A.E., Evaluation of the DotMap algorithm for locating analytes of interest based on mass spectral similarity in data collected using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1086 185–192, 2005^a.

 - VALCÁRCEL, M., Principles of analytical chemistry, Springer-Verlag. Berlin, Alemanha, 2000.

 - VARMUKA, K., MAKRISTATHIS, A., SCHWARZMEIER, J., SEIDLER, H. e MADER, R.M., Exploration of anthropological specimens by GC-MS and chemometrics, *Mass Spectrometry Reviews*, 24, 427-452, 2005.

- WALSILKOSKI, C.M., Caracterização do polietileno de baixa densidade através da técnica de análise dinâmico-mecânica e comparação com a análise por impedância dielétrica, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, 2002.

8.0 ANEXOS

8.1 Anexo 1. Programa Desenvolvido em Linguagem QuickBasic 4.5

Dados de entrada

```
PRINT "Numero de Picos das Especies de Interesse = ";
INPUT "", N.analitos
PRINT "Numero de Picos das Outras Especies = ";
INPUT "", N.interfere
PRINT : PRINT "Dados das especies de interesse": PRINT
FOR N = 1 TO N.analitos
    PRINT "Inicio do pico do analito "; N; " = ";
    INPUT "", ini.analito(N)
    PRINT "Fim do pico do analito "; N; " = ";
    INPUT "", fim.analito(N)
NEXT
PRINT : PRINT "Dados das outras especies": PRINT
FOR N = 1 TO N.interfere
    PRINT "Inicio do pico "; N; " = ";
    INPUT "", ini.interfere(N)
    PRINT "Fim do pico do analito "; N; " = ";
    INPUT "", fim.interfere(N)
NEXT
tempo.max = -1
FOR N = 1 TO N.analitos
    IF fim.analito(N) > tempo.max THEN tempo.max = fim.analito(N)
NEXT
FOR N = 1 TO N.analitos
    IF fim.interfere(N) > tempo.max THEN tempo.max = fim.interfere(N)
NEXT
tempo.max = (tempo.max) * 100
FOR t = 0 TO tempo.max + 5
    padrao(t) = 1
NEXT
FOR N = 1 TO N.analitos
    ini = ini.analito(N) * 100
    fim = fim.analito(N) * 100
    FOR t = ini TO fim
        padrao(t) = 5
    NEXT
NEXT
FOR N = 1 TO N.interfere
    ini = ini.interfere(N) * 100
    fim = fim.interfere(N) * 100
    FOR t = ini TO fim
        padrao(t) = 3
    NEXT
NEXT
FOR t = 0 TO tempo.max
    ew.padrao(t) = padrao(t)
NEXT
CLS
fator.graf.x = 640 / (tempo.max + 5)
```

```
PSET (0, 100)
FOR t = 0 TO tempo.max + 5
LINE -(fator.graf.x * t, (120 - (20 * padrao(t))))
NEXT
DO
  LOCATE 10, 1
  PRINT " A AMOSTRA A SER INJETADA E REPLICATA REAL (S/N)? ";
  INPUT "", resp$
  IF UCASE$(resp$) = "N" THEN
    inter.min = 35
    EXIT DO
  ELSEIF UCASE$(resp$) = "S" THEN
    inter.min = 70
    EXIT DO
  ELSE
    END IF
LOOP
PRINT
PRINT "QUANTAS REPLICATAS SERAO FEITAS? ";
INPUT "", N.rep
tempo.max = tempo.max + inter.min + 5
conta = 1
DO
  IF N.rep = 1 THEN EXIT DO
  conta = conta + 1
  DO
    'criando o vetor teste
    FOR t = 0 TO tempo.max
      IF t <= inter.min THEN
        teste(t) = 1
      ELSE
        teste(t) = ew.padrao(t - inter.min - 1)
      END IF
    NEXT
    FOR t = 0 TO tempo.max
      IF padrao(t) = 0 THEN padrao(t) = 1
      result(t) = padrao(t) * teste(t)
      IF result(t) > 10 THEN
        inter.min = inter.min + 1
        tempo.max = tempo.max + 1
        EXIT FOR
      ELSE
        IF t = tempo.max THEN
          LOCATE 13 + conta, 1
          PRINT "intervalo entre a injeção "; conta - 1; "e "; conta;
          " = "; inter.min
          IF UCASE$(resp$) = "N" THEN
            inter.min = 35
          ELSEIF UCASE$(resp$) = "S" THEN
            inter.min = 70
          ELSE
            END IF
          EXIT DO
        END IF
      END IF
    NEXT
  LOOP
```

```
FOR t = 0 TO tempo.max
  IF result(t) = 9 THEN result(t) = 3
  ew.padrao(t) = result(t)
NEXT
LOOP UNTIL conta = N.rep
fator.graf.x = 640 / (tempo.max)
PSET (0, 360)
FOR t = 0 TO tempo.max + 5
  LINE -(fator.graf.x * t, (360 - (20 * ew.padrao(t))))
NEXT
END
```

8.2 Anexo 2. Tempo de início e fim dos picos dos analitos avaliados e contaminantes, obtidos a partir de injeções executadas por três técnicos diferentes.

	Solvente		Oligômero 1		Oligômero 2		Oligômero 3		Irg 168		Irg 1076		Irg 168-oxi		Oligômero 5		
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	
Tec 1	1	0,805	3,217	4,310	4,427	6,235	6,463	9,320	9,573	10,197	10,401	14,055	14,412	14,759	15,198	20,895	21,251
Tec 1	2	0,810	3,223	4,318	4,430	6,231	6,447	9,312	9,527	10,189	10,340	14,057	14,324	14,734	15,158	20,907	21,217
Tec 1	3	0,809	3,234	4,031	4,401	6,226	6,430	9,296	9,571	10,213	10,430	14,082	14,417	14,745	15,204	20,882	21,233
Tec 1	4	0,792	3,200	4,311	4,463	6,216	6,407	9,301	9,578	10,158	10,380	14,045	14,343	14,719	15,181	20,774	21,230
Tec 1	5	0,815	3,227	4,323	4,420	6,230	6,437	9,302	9,573	10,169	10,403	14,048	14,427	14,737	15,182	20,797	21,243
Tec 1	6	0,822	3,256	4,325	4,400	6,217	6,467	9,301	9,557	10,164	10,397	14,055	13,027	14,729	15,203	20,791	21,237
Tec 1	7	0,816	3,216	4,314	4,423	6,209	6,427	9,293	9,543	10,166	10,381	14,033	14,411	14,716	15,141	20,886	21,208
Tec 2	8	0,797	3,236	4,331	4,400	6,217	6,437	9,307	9,576	10,186	10,407	14,057	14,397	14,714	15,140	20,863	21,219
Tec 2	9	0,782	3,236	4,102	4,407	6,225	6,443	9,322	9,587	10,202	10,418	14,092	14,454	14,761	15,212	20,901	21,227
Tec 2	10	0,791	3,221	4,313	4,421	6,232	6,457	9,293	9,563	10,196	10,404	14,043	14,468	14,749	15,166	20,887	21,213
Tec 2	11	0,799	3,225	4,303	4,417	6,227	6,463	9,283	9,553	10,189	10,397	14,044	14,393	14,752	15,184	20,903	21,206
Tec 2	12	0,808	3,213	4,313	4,407	6,220	6,420	9,293	9,537	10,204	10,403	14,032	14,433	14,742	15,184	20,803	21,264
Tec 2	13	0,804	3,237	4,327	4,403	6,221	6,450	9,301	9,553	10,167	10,394	14,012	14,425	14,749	15,202	20,905	21,217
Tec 2	14	0,804	3,212	4,322	4,413	6,212	6,447	9,287	9,570	10,158	10,408	14,015	14,441	14,740	15,146	20,895	21,243
Tec 3	15	0,811	3,233	4,333	4,425	6,238	6,460	9,334	9,593	10,221	10,447	14,086	14,423	14,783	15,224	20,910	21,234
Tec 3	16	0,825	3,215	4,336	4,407	6,223	6,447	9,297	9,573	10,191	10,397	14,039	14,434	14,762	15,207	20,835	21,243
Tec 3	17	0,823	3,263	4,334	4,427	6,217	6,457	9,309	9,567	10,193	10,410	14,041	14,419	14,744	15,187	20,909	21,237
Tec 3	18	0,819	3,221	4,345	4,407	6,239	6,473	9,307	9,577	10,198	10,416	14,077	14,425	14,771	15,197	20,887	21,237
Tec 3	19	0,821	3,239	4,339	4,437	6,233	6,457	9,280	9,577	10,190	10,453	14,079	14,413	14,773	15,188	20,953	21,382
Tec 3	20	0,808	3,206	4,315	4,403	6,216	6,437	9,283	9,608	10,193	10,412	14,037	14,396	14,754	15,182	20,915	21,258
Tec 3	21	0,817	3,254	4,333	4,425	6,229	6,467	9,314	9,573	10,212	10,407	14,049	14,425	14,774	15,200	20,914	21,230
Tec 3	22	0,824	3,224	4,323	4,430	6,213	6,457	9,273	9,583	10,207	10,413	14,059	14,436	14,770	15,212	20,847	21,243
Tec 3	23	0,807	3,223	4,331	4,443	6,242	6,430	9,315	9,575	10,207	10,401	14,061	14,416	14,779	15,192	20,922	21,250
Tec 3	24	0,801	3,238	4,327	4,423	6,218	6,463	9,318	9,587	10,208	10,437	14,071	14,447	14,767	15,249	20,880	21,242
Tec 3	25	0,826	3,265	4,338	4,413	6,239	6,483	9,348	9,576	10,225	10,423	14,098	14,421	14,789	15,210	20,936	21,277
Tec 3	26	0,829	3,223	4,316	4,392	6,251	6,447	9,355	9,567	10,220	10,403	14,074	14,408	14,762	15,171	20,917	21,247
Tec 3	27	0,807	3,216	4,310	4,410	6,240	6,450	9,331	9,563	10,193	10,431	14,067	14,444	14,775	15,197	20,913	21,245
Tec 3	28	0,809	3,209	4,313	4,413	6,236	6,433	9,323	9,567	10,224	10,392	14,058	14,413	14,771	15,208	20,947	21,224
Tec 3	29	0,806	3,237	4,319	4,433	6,207	6,463	9,311	9,557	10,217	10,425	14,052	14,418	14,767	15,156	20,909	21,274
Tec 3	30	0,800	3,218	4,307	4,411	5,201	6,457	9,318	9,562	10,176	10,379	14,023	14,425	14,749	15,189	20,853	21,243
Média		0,810	3,228	4,305	4,418	6,192	6,449	9,308	9,569	10,194	10,407	14,055	14,371	14,755	15,189	20,885	21,242
Máximo		0,829	3,265	4,345	4,463	6,251	6,483	9,355	9,608	10,225	10,453	14,098	14,468	14,789	15,249	20,953	21,382
Mínimo		0,782	3,200	4,031	4,392	5,201	6,407	9,273	9,527	10,158	10,340	14,012	13,027	14,714	15,140	20,774	21,206