



UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

CRISTIAN JOSÉ GIERTYAS

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS
PARA DETERMINAÇÃO DOS PRODUTOS DE OXIDAÇÃO DE ÁLCOOIS**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A. C. Simões

Tabuleiro dos Martins

57072-970 - Maceió – AL

CRISTIAN JOSÉ GIERTYAS

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS
PARA DETERMINAÇÃO DOS PRODUTOS DE OXIDAÇÃO DE ÁLCOOIS**

Tese de doutorado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do grau de Doutor em Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Janaína Heberle Bortoluzzi

Coorientadora: Prof. Dra. Rusiene Monteiro de Almeida

MACEIÓ

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- G454 Giertyas, Cristian José.
Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos para determinação dos produtos de oxidação de álcoois / Cristian José Giertyas. – 2020.
167 f. : il. color.
- Orientadora: Janáina Heberle Bortoluzzi.
Co-orientadora: Rusiene Monteiro de Almeida.
Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2020.
- Bibliografia: f. 138-148.
Anexos: f. 149-167.
1. Glicerol. 2. Álcool benzílico. 3. Nanopartículas metálicas - Ouro - Sílica. 4. Cromatografia gasosa. 5. Cromatografia líquida. 6. Análise espectral. 7. Absorção atômica. I. Título.

CDU: 543.544.3/.5



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

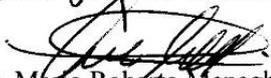
FOLHA DE APROVAÇÃO

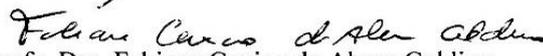
Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **CRISTIAN JOSÉ GIERTYAS** intitulada: **“Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos para a determinação dos produtos de oxidação de álcoois”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 21 de fevereiro de 2020, às 9h, na sala de aulas da Pós-Graduação do IQB/UFAL.

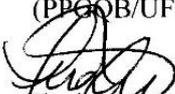
Comissão Examinadora:

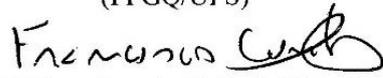

Prof. Dra. Janaina Heberle Bortoluzzi
(PPGQB/UFAL – Orientadora)


Prof. Dra. Rusiene Monteiro de Almeida
(PPGQB/UFAL – Coorientadora)


Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
(PPGQB/UFAL)


Prof. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino
(PPGQB/UFAL)


(Prof. Dra. Flaviana Cardoso Damasceno)
(PPGQ/UFS)


Prof. Dr. Francisco Antônio da Silva Cunha
(IQB/UFAL)

Aos meus pais, Eliseu e Maria E. Giertyas

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concebido a sabedoria, o discernimento e a compreensão para os pequenos e grandes adventos da vida.

Aos meus familiares: Mateus, Jéssica, Karine, João Vicente e Gleison.

A professora Dra. Janaína H. Bortoluzzi pela amizade e ensinamentos constantes em todo o processo de orientação científica desta tese, por toda a paciência e ajuda durante os 6 anos de pós-graduação.

A professora Dra. Rusiene M. de Almeida, pela amizade e coorientação científica desta tese.

Ao professor Mário R. Meneghetti e professora Simoni M.P. Meneghetti pela acolhida, junto ao Grupo de Catálise e Reatividade Química.

Aos colegas de laboratório, em especial, Victor, Débora, Filipe, Lucas, Jailton, Maysa e Letícia, pelos momentos de descontração e amizade.

Aos colegas do LINQA, pela amizade e contribuição neste trabalho, especialmente ao professor Josué.

Aos professores: Pedro, Aracelis, Daniela e Cintya pelos conselhos e amizade.

Ao Cássio da Shimadzu pelos treinamentos, conselhos e amizade.

Aos colegas de pós-graduação que fizeram parte desta caminhada: Mônica, Jhosi, Jailma, Nívea, Eid, Abner, Thatiane, Débora O., Bruna, Ícaro, Roberta, Daniela, Geovânia, Maria Janaína, Thatiele, Alexandra, Alessandra, Arthur, Kleyton, entre outros.

Aos meus amigos que me acolheram em Maceió em 2013 em especial: Larissa, Talma, Karly, Rosi, Araceli, Heway, Uadson, Marlon e Lúcio, o meu muito obrigado por todos os momentos.

Ao Aldi, e ao Márcio por toda ajuda disponibilizada nestes anos.

Aos colegas do grupo GCaR, pela contribuição e pela amizade.

Aos órgãos de fomento: CNPq, Capes, Finep, Fapeal e INCT-Catálise, pelo apoio financeiro para a execução desta tese.

RESUMO

O presente trabalho descreve o desenvolvimento e validação de metodologias analíticas baseadas em cromatografia para a identificação e quantificação de produtos obtidos na oxidação de álcoois. Para o estudo, catalisadores de ouro, suportados em sílica (AuNP/SiO₂) e na forma *core-shell* (AuNP@SiO₂), foram sintetizados e caracterizados para confirmação estrutural, morfológica e composição química. Em uma das etapas da caracterização dos catalisadores, para determinação do teor de ouro, foi proposta uma nova metodologia por espectrometria de absorção atômica em chama, baseada no preparo de amostras em meio ácido (diferentes estratégias, E1, E2, E3) com utilização de forno micro-ondas, capaz de diferenciar a maneira como a AuNP está na sílica. Com a aplicação da E2 (HNO₃:HCl+MW) e E3 (HNO₃:HCl:HF+MW) foi possível confirmar a localização das AuNP (suportadas ou na forma *core-shell*) resultados comprovados através da microscopia eletrônica de transmissão. Para a aplicação destes catalisadores nas reações de oxidação do álcool benzílico (modelo), foi desenvolvido e validado um método cromatográfico em coluna polar (método I). O sistema reacional foi avaliado através da aplicação de um planejamento experimental, em que foram avaliadas condições como: massa de catalisador, temperatura reacional e tempo de reação. A presença da base, carbonato de potássio (K₂CO₃), no sistema reacional foi avaliada de forma univariada aplicando diferentes catalisadores. Buscou-se também otimizar as condições reacionais, de forma a reduzir as quantidades de reagentes utilizados na reação, como diluição do sistema em água, necessitando de novos testes reacionais. Foram realizados testes com catalisador comercial à base de ouro e paládio (AuPd) como exemplo de outro sistema catalítico. Com as condições reacionais otimizadas, foi desenvolvido e validado outro método cromatográfico (método II) em coluna apolar, visto que no método I não é possível analisar amostras aquosas em função da instabilidade da fase estacionária polar, à base de polietilenoglicol, a qual sofre hidrólise. Os ensaios de validação comprovaram que ambas as metodologias analíticas propostas são precisas nos intervalos de concentração avaliados: método I (0,001 a 0,2 g mL⁻¹) e método II (0,0001 a 0,01 g mL⁻¹), atendendo os requisitos orientativos para validação. Ambos os métodos apresentaram tempo de análise ≤ 6 minutos, coeficientes de correlação variando de 0,9957 a 0,9999 e de recuperação no intervalo de 80,1 a 101,4%. Os métodos desenvolvidos foram robustos a variações instrumentais e a avaliação de reações de oxidação do álcool benzílico promovidas por diferentes catalisadores. Na terceira etapa do trabalho foi validada, uma metodologia baseada em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para determinação dos produtos de oxidação do glicerol. A metodologia mostrou-se seletiva na identificação de 07 compostos. Os catalisadores AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ foram aplicados em reações de oxidação do glicerol comprovando que a metodologia proposta foi eficiente na separação e identificação dos produtos independente da conversão e seletividade dos mesmos.

Palavras-chave: Glicerol, álcool benzílico, nanopartículas de ouro suportadas em sílica, nanopartículas de ouro na forma *core-shell* em sílica, cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência, espectrometria de absorção atômica em chama.

ABSTRACT

The present work describes the development and validation of analytical methodologies based on chromatography for the identification and quantification of products obtained in the oxidation of alcohols. For this study, gold catalysts, supported on silica (AuNP/SiO₂) and in the core-shell form (AuNP@SiO₂), were synthesized and characterized for structural, morphological and chemical composition confirmation. In one of the catalyst characterization steps, to determine the gold content, a new flame atomic absorption spectrometry methodology was proposed, based on the preparation of samples in acid medium (different strategies, E1, E2, E3) using microwave oven and capable of differentiating the way AuNP is in silica. With the application of E2 (HNO₃:HCl + MW) and E3 (HNO₃:HCl:HF + MW) it was possible to confirm the location of AuNP (supported or in the core-shell form), with results proven through transmission electron microscopy. For the application of these catalysts in the oxidation reactions of benzyl alcohol (model), a chromatographic method using a polar column (method I) was developed and validated. The reaction system was evaluated through the application of an experimental design, in which conditions such as catalyst mass, reaction temperature and reaction time were evaluated. The presence of a base, potassium carbonate (K₂CO₃), in the reaction system was evaluated univariately by applying different catalysts. In order to reduce the quantities of reagents used in the reaction, it was sought to optimize its conditions, such as dilution of the system in water, requiring new reaction tests. These tests were carried out with a commercial gold and palladium (AuPd) catalyst as an example of another catalytic system. After optimization of reaction conditions, another chromatographic method (method II) was developed and validated using a nonpolar column, since method I does not allow the analysis of aqueous samples due to the instability of the polar stationary phase, based on polyethylene glycol, which undergoes hydrolysis. The validation tests proved that both proposed methodologies are accurate in the concentration ranges evaluated: method I (0.001 to 0.2 g mL⁻¹) and method II (0.0001 to 0.01 g mL⁻¹), meeting the guidance requirements for validation. Both methods presented analysis time ≤ 6 minutes, correlation coefficients ranging from 0.9957 to 0.9999 and recovery in the range of 80.1 to 101.4%. The developed methods were robust to instrumental variations and to the evaluation of benzyl alcohol oxidation reactions promoted by different catalysts. In the third stage of the work, a methodology based on high performance liquid chromatography (HPLC) for the determination of glycerol oxidation products was validated. The methodology proved to be selective in the identification of 07 compounds. The AuNP/SiO₂ and AuNP@SiO₂ catalysts were applied in glycerol oxidation reactions, proving that the proposed methodology was efficient in the separation and identification of the products regardless of their conversion and selectivity.

Keyword: Glycerol, benzyl alcohol, gold nanoparticles supported on silica, gold nanoparticles in silica core-shell form, gas chromatography, high performance liquid chromatography, flame atomic absorption spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Planejamento Doehlert com duas variáveis X_1 e X_2 (com adição de novos experimentos).....	42
Figura 2- Doze princípios da Química Verde.....	49
Figura 3- Mecanismo de reação da oxidação do álcool benzílico com catalisador de ouro em meio básico.	53
Figura 4- Mecanismo de reação proposto para a reação de esterificação entre o álcool benzílico e o ácido benzoico.....	54
Figura 5- Rota de oxidação do glicerol com catalisadores de platina.	58
Figura 6- Espectro de UV-Vis característico das nanopartículas de ouro em sílica. .	68
Figura 7- Espectro de infravermelho dos catalisadores A- AuNP/SiO ₂ e B-AuNP@SiO ₂	69
Figura 8- Isoterma de adsorção e dessorção dos catalisadores A-AuNP/SiO ₂ e B-AuNP@SiO ₂	70
Figura 9- Espectro de difração de raios-x dos catalisadores A-AuNP/SiO ₂ e B-AuNP@SiO ₂	71
Figura 10- Análise termogravimétrica das amostras dos catalisadores de AuNPs A-AuNP/SiO ₂ e B-AuNP@SiO ₂	72
Figura 11- Micrografias dos catalisadores de A- AuNP/SiO ₂ e B- AuNP@SiO ₂	73
Figura 12- Curvas de calibração obtidas através do preparo de amostra realizado para os 3 estratégias de digestão em avaliação.	75
Figura 13- Imagens obtidas na avaliação dos sólidos: AuNP@SiO ₂ (A) antes e após (B) aplicação tratamento E2; e AuNP/SiO ₂ antes (C) e após (D) o tratamento com E2.	77

Figura 14- Espectros obtidos na avaliação dos sólidos: AuNP@SiO ₂ (A) antes e após (B) aplicação tratamento E2; e AuNP/SiO ₂ antes (C) e após (D) o tratamento com E2.	78
Figura 15- Estratégias e informações obtidas nos diferentes sistemas avaliados. ...	79
Figura 16- Micrografias obtidas por MET antes e após tratamento com HNO ₃ :HCl (E2). A– AuNP/SiO ₂ antes do tratamento e B após o tratamento. C- AuNP@SiO ₂ antes do tratamento e D após o tratamento com E2.	80
Figura 17- Sistema de reação para oxidação do álcool benzílico.	91
Figura 18- Cromatograma obtido da análise dos produtos de oxidação do álcool benzílico e tolueno.	93
Figura 19- Cromatograma obtido na avaliação da taxa de aquecimento.	94
Figura 20- Avaliação do fluxo para otimização do método cromatográfico.	95
Figura 21- Cromatograma obtido na análise dos padrões de oxidação do álcool benzílico com coluna de 5 metros.	96
Figura 22- Cromatograma dos padrões externos obtidos por GC-MS.	97
Figura 23- Curvas de calibração interna obtidas para os padrões analíticos, benzaldeído, álcool benzílico, ácido benzoico e benzilbenzoato, utilizando tolueno como padrão interno.	98
Figura 24- Matriz obtida para avaliação da otimização 2 ³ dos parâmetros utilizados na oxidação do álcool benzílico.	102
Figura 25- Diagrama de Pareto obtido na avaliação do planejamento fatorial 2 ³	103
Figura 26- Planejamento Doehlert com duas variáveis (tempo e temperatura) da reação de oxidação do álcool benzílico.	103
Figura 27- Matriz obtida para avaliação da otimização 2 ² dos parâmetros utilizados na oxidação do álcool benzílico.	104

Figura 28- Superfície de resposta obtida através do planejamento Doehlert para a otimização da temperatura e tempo da reação de oxidação do álcool benzílico.	104
Figura 29- Tempo de equilíbrio da temperatura utilizada nas reações realizadas com a matriz Doehlert.	106
Figura 30- Consumo de oxigênio na reação de oxidação do álcool benzílico.	108
Figura 31- Conversão do álcool benzílico em função da variação do tempo e da temperatura reacional.....	109
Figura 32- Conversão do álcool benzílico em função da variação da quantidade de base (K_2CO_3) na presença e ausência de catalisador.	110
Figura 33- Impregnação de base nas paredes do reator.	111
Figura 34- Conversão de álcool benzílico com catalisadores de Au e Pt na presença e ausência de base.	112
Figura 35- Cromatogramas obtidos nas análises da reação com o catalisador de AuPt 2,5%, na presença (A) e ausência (B) de K_2CO_3 . (1- tolueno, 2- benzaldeído e 3-álcool benzílico).....	113
Figura 36- Cromatograma obtido na análise dos produtos de oxidação do álcool benzílico utilizando coluna apolar.	115
Figura 37- Otimização do fluxo do gás de arraste no método II.	116
Figura 38- Otimização da taxa de aquecimento no método II.....	116
Figura 39- Cromatograma dos padrões obtidos por GC-MS.	117
Figura 40- Determinação da linearidade através da construção da curva analítica.	118
Figura 41- Cromatograma obtido na análise da reação de oxidação do álcool benzílico com catalisador de AuNP/SiO ₂	123
Figura 42- Cromatograma obtido na análise da reação de oxidação do álcool benzílico com catalisador de AuPt/MWNTC 7,4%.	123

Figura 43- Comparação das curvas de calibração obtidas na presença e ausência de matriz para o ácido fórmico pela avaliação da área do pico.	130
Figura 44- Cromatograma obtido a partir da análise de amostra da reação de oxidação do glicerol, aplicando o catalisador de AuNP/SiO ₂	135
Figura 45- Cromatograma obtido a partir da análise de amostra da reação de oxidação do glicerol, aplicando o catalisador de AuNP@SiO ₂	136
Figura 46- Cromatograma obtido a partir da análise de amostra da reação de oxidação do glicerol, aplicando o catalisador de AuNP/MWCNT.	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Matriz codificada obtida para um planejamento fatorial completo 2^3	41
Tabela 2- Valores de Horwitz em função da concentração.	45
Tabela 3-Técnicas de caracterização de catalisadores e propriedades observadas	52
Tabela 4- Reagentes utilizados no preparo das AuNPs.	62
Tabela 5- Programa para digestão das amostras de nanopartículas por radiação micro-ondas	66
Tabela 6- Área superficial, volume e diâmetro de poro obtidos nas diferentes sínteses do catalisador de nanopartículas de ouro suportadas em sílica.....	71
Tabela 7- Teor de ouro determinado nas nanopartículas por espectrometria de absorção atômica aplicando as diferentes estratégias (E) de preparo da amostra.	75
Tabela 8- Padrões e solventes utilizados no desenvolvimento dos métodos.	85
Tabela 9- Condições iniciais aplicadas no desenvolvimento do método I.	86
Tabela 10- Condições iniciais aplicadas no desenvolvimento do método II.....	86
Tabela 11- Condições aplicadas na determinação da seletividade do método I e II.	88
Tabela 12- Comparação do número de pratos teóricos das colunas testadas.	96
Tabela 13- Coeficientes de correlação e equações da reta obtidos nas curvas analíticas.	98
Tabela 14- Limite de detecção e limite de quantificação obtidos através da diluição de amostras e relação sinal/ruído.....	99
Tabela 15- Precisão do método I, avaliada através da precisão instrumental, precisão intra ensaio e precisão intermediária.	99

Tabela 16- Teste de recuperação com fortificação de amostra real em três diferentes níveis de concentração. (n=4).	100
Tabela 17- Robustez do método avaliada com base nos parâmetros cromatográficos estabelecidos pela relação área analito/área padrão interno (n=4).....	101
Tabela 18- Avaliação de parâmetros reacionais de forma univariada.	107
Tabela 19- Avaliação da influência da temperatura em reações de 3 horas.....	109
Tabela 20- Catalisadores a base de MWCNT aplicados no estudo da base*.....	113
Tabela 21- Otimização das reações utilizando catalisador comercial de AuPd.	114
Tabela 22- Coeficientes de correlação e equações da reta obtidos nas curvas analíticas do método II.	119
Tabela 23- Limite de detecção e limite de quantificação obtidos através da diluição de amostras e relação sinal/ruído.....	119
Tabela 24- Precisão do método II, avaliada através da precisão instrumental, precisão intra ensaio e precisão intermediária. (n=7).....	120
Tabela 25- Teste de recuperação do método II realizado através da fortificação de uma amostra real.	121
Tabela 26- Robustez do método avaliada através da variação do fluxo do gás de arraste e da taxa de aquecimento da coluna.	121
Tabela 27- Robustez do método avaliada através das reações de oxidação do álcool benzílico com diferentes catalisadores.	122
Tabela 28- Reagentes e procedência utilizados.....	128
Tabela 29- Teste F aplicado na seletividade do método através da avaliação das curvas de calibração na presença e ausência da matriz.....	131
Tabela 30- Precisão intra ensaio do método obtida no limite de quantificação (1,25 µg mL ⁻¹).....	132

Tabela 31- Precisão intermediária avaliada em diferentes dias no limite de quantificação.	133
Tabela 32- Avaliação da robustez do método em função da variação da área e altura do pico.....	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACB	Ácido Benzoico
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AuNP	Nanopartículas de ouro
AuNP/SiO ₂	Nanopartículas de ouro suportadas em sílica
AuNP@SiO ₂	Nanopartículas de ouro em sílica na forma <i>core-shell</i>
BET	Adsorção e dessorção de N ₂
BZ	Benzaldeído
BZB	Benzilbenzoato
CV	Coefficiente de variação
DPR	Desvio padrão relativo
DRX	Difração de Raio X
DTG	Termogravimetria diferencial
EPA	Agência de proteção ambiental, do inglês <i>Environmental Protection Agency</i>
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização em chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
FID	Detector ionização em chama, do inglês <i>Flame Ionization Detector</i>
FTIR	Espectroscopia na Região do Infravermelho Médio por Transformada de Fourier, do inglês <i>Fourier Transform Mid Infrared Spectroscopy</i>
GC	Cromatografia Gasosa, do inglês <i>Gas Chromatography</i>
GC/MS	Cromatografia gasosa - espectrômetro de massa, do inglês <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
GC-MS/MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas tandem, do inglês <i>Gas chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry</i>
HAuCl ₄	Ácido tetracloroáurico
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>

ICP-MS	Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	Organização Internacional de Normalização, do inglês <i>International Organization for Standardization</i>
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LC/MS/MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas tandem, do inglês <i>Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry</i>
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
m/z	Razão massa/carga
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MS	Detector de espectrometria de massas, do inglês <i>Mass Spectrometry</i>
MW	Micro-ondas
MWCNT	Nanotubos de carbono de parede múltipla, do inglês <i>Multi Wall Carbon Nanotubes</i>
NPAu	Nanopartícula de ouro
PTFE	Politetrafluoretileno
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
SPE	Extração em fase sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i>
TEMPO	N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina
TG	Termogravimetria
TGA	Análise termogravimétrica, do inglês <i>Thermal Gravimetric Analysis</i>
THF	Tetrahidrofurano
UV-VIS	Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

Seção I.....	33
1. INTRODUÇÃO	34
Seção II.....	36
2.1 OBJETIVO GERAL	37
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
Seção III.....	38
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	39
3.1 O desenvolvimento de metodologias	39
3.2 Parâmetros de desempenho analítico	43
3.2.1 Seletividade	43
3.2.2 Linearidade	44
3.2.3 Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)	44
3.2.4 Precisão	45
3.2.5 Exatidão	46
3.2.6 Robustez.....	47
3.3 Química Verde	48
3.4 Catalisadores à base de nanopartículas de ouro	50
3.5 Reações de oxidação do álcool benzílico	52
3.6 Oxidação do glicerol	56
Seção IV	60
4.1 Síntese dos catalisadores	61
4.1.1 Experimental.....	61
4.1.2 Equipamentos.....	61
4.1.3 Reagentes	62
4.1.4 Síntese de nanopartículas de ouro em sílica (AuNP/SiO ₂).....	62
4.1.5 Síntese de nanopartículas de ouro cobertas de sílica (AuNP@SiO ₂).....	63
4.2 Caracterização dos Catalisadores	64
4.2.1 Espectroscopia por absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis).....	64
4.2.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho Médio por Transformada de Fourier (FTIR)	64
4.2.3 Isoterma de adsorção e dessorção de N ₂ (BET).....	64
4.2.4 Difração de Raios-X (DRX)	64
4.2.5 Análise termogravimétrica (TGA)	65
4.2.6 Microscopia eletrônica de Transmissão (MET).....	65
4.2.7 Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES).....	65

4.2.8 Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)	66
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.3.1 Espectroscopia por absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis) .	68
4.3.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho Médio por Transformada de Fourier (FTIR)	69
4.3.3 Isoterma de adsorção e dessorção de N ₂ (BET).....	70
4.3.4 Difração de Raios-X (DRX)	71
4.3.5 Análise termogravimétrica (TGA)	72
4.3.6 Microscopia eletrônica de Transmissão (MET).....	73
4.3.7 Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES).....	74
4.3.8 Método proposto por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).....	74
4.4 Conclusões	80
Seção V	83
5.1 Desenvolvimento das metodologias analíticas por cromatografia gasosa	84
5.1.1 Experimental.....	84
5.1.2 Equipamentos.....	84
5.1.3 Reagentes	84
5.2 Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para os produtos da oxidação do álcool benzílico	85
5.3 Testes Catalíticos	90
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
5.4.1 Desenvolvimento e validação do método I (coluna polar)	93
5.4.2 Testes Catalíticos	101
5.4.3 Desenvolvimento e validação do método II (coluna apolar)	114
5.5 Conclusões	124
Seção VI	126
6.1 Aplicação dos catalisadores de AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ na reação de oxidação do glicerol	127
6.1.1 Experimental.....	127
6.1.2 Equipamentos.....	127
6.1.3 Reagentes	128
6.1.2 Preparo da fase móvel.....	128
6.1.3 Validação da metodologia por cromatografia líquida.....	128
6.1.4 Reação de oxidação do glicerol com diferentes catalisadores	129
6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	130
6.3 Conclusões	137

Seção VII	139
7. CONCLUSÕES GERAIS	140
REFERÊNCIAS	141
ANEXOS	152

Seção I

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento de novos processos industriais, novas metodologias são necessárias e frequentemente otimizadas para acompanhamento dos produtos formados. O presente trabalho descreve o desenvolvimento de metodologias analíticas para identificação e quantificação de produtos de oxidação de álcoois através de técnicas cromatográficas.

O álcool benzílico é um álcool muito utilizado como modelo em reações de oxidação, pois apresenta boa reatividade e seletividade formando poucos produtos, benzaldeído, benzilbenzoato e ácido benzoico. A técnica de cromatografia gasosa é a mais utilizada para identificar os produtos formados na oxidação do álcool benzílico, porém, os trabalhos relatados na literatura apresentam foco a condições reacionais, testes de novos catalisadores, não abordando otimização e validação de metodologias.

Os métodos desenvolvidos em cromatografia gasosa, a depender da coluna cromatográfica utilizada, podem ser aplicados a amostras de reações realizadas em meio aquoso. Como proposta deste trabalho, duas metodologias foram desenvolvidas e validadas, sendo uma delas aplicada de forma a atender os requisitos da química verde.

Outro álcool, de maior complexidade e de grande interesse em pesquisas científicas, é o glicerol produzido em grandes quantidades a partir do aumento da produção de biodiesel. A oxidação do glicerol é um exemplo de reação que permite sua transformação em uma série de produtos com as mais diversificadas aplicações, além de ser um produto oriundo do processamento de fontes de energias renováveis.

Os produtos de oxidação do glicerol por sua vez são identificados através do uso de cromatografia líquida de alta eficiência. Alguns trabalhos relatados na literatura apresentam possibilidades de identificação destes produtos utilizando detectores em série, ou até mesmo detectores considerados seletivos, como é o caso do espectrômetro de massas. O alto custo para manter estes equipamentos faz com que, novas alternativas sejam propostas para a identificação destes produtos como é o caso do uso de detectores universais como o detector de índice de refração.

Os produtos formados nas reações de oxidação do álcool benzílico e do glicerol são produtos que apresentam uma gama de aplicações, em diferentes áreas como indústria de cosméticos, alimentícia, química fina, tintas, além da indústria

farmacêutica a qual é responsável pelo maior consumo de produtos derivados do glicerol para síntese de novos fármacos, produzindo intermediários de alto valor comercial.

As reações de oxidação são realizadas através do uso de catalisadores, como é o caso dos catalisadores de ouro, mais especificamente nanopartículas de ouro suportadas em sílica (AuNP/SiO₂) e ou, na forma *core-shell* (AuNP@SiO₂). Uma das formas de caracterizar estes materiais é através do uso da técnica de microscopia eletrônica de transmissão (MET), a qual podemos inferir sobre a localização da nanopartícula de ouro (AuNP) na sílica. Neste trabalho, foi proposto um método alternativo baseado no preparo de amostra com a mistura de diferentes ácidos e utilização de forno micro-ondas, diferenciando a condição de suportado ou na forma *core-shell*, de maneira mais rápida e econômica, além de apresentar vantagem relacionada a quantificação do ouro nos catalisadores.

O desenvolvimento e a validação de metodologias apresentam um papel importante, uma vez que, a utilização de métodos validados fornece resultados confiáveis. Portanto neste trabalho foi proposto o desenvolvimento de 4 métodos, 1 método utilizando espectrometria de absorção atômica em chama para análise e quantificação das nanopartículas de ouro, 2 métodos baseados em cromatografia gasosa, método I e método II (método II aplicado a análise de amostras de reações aquosas) para determinação dos produtos de oxidação do álcool benzílico e 1 método baseado em cromatografia líquida de alta eficiência para determinação dos produtos obtidos na reação de oxidação do glicerol.

Seção II

OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolvimento de métodos cromatográficos para a identificação e quantificação de produtos da oxidação de álcoois.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e caracterizar catalisadores de sílica com nanopartículas de ouro;
- Desenvolver metodologia para quantificação de ouro presente nos catalisadores por espectrometria de absorção atômica;
- Desenvolver método de identificação e quantificação dos produtos da reação de oxidação do álcool benzílico por cromatografia gasosa (GC) utilizando coluna polar (método I) e coluna apolar (método II);
- Validar o método I e II através da avaliação de parâmetros como precisão, seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, quantificação, robustez, de acordo com as normas orientativas;
- Aplicar os catalisadores em reações de oxidação do álcool benzílico (modelo);
- Aplicar ensaios de validação para a metodologia desenvolvida por HPLC como precisão, seletividade e robustez, de acordo com as normas orientativas;
- Aplicar os catalisadores em reações de oxidação do glicerol;

Seção III

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O desenvolvimento de metodologias

O desenvolvimento de métodos e sua validação apresentam um grande papel na química analítica, uma vez que, muitos dos resultados apresentados são influenciados por uma série de fatores (amostra, analista, instrumento, reagentes, vidrarias entre outros), que por sua vez quando aplicados de forma inadequada fornecem dados ou resultados errôneos. Neste contexto, para garantir confiabilidade aos resultados fornecidos, laboratórios e instituições fornecedoras de serviços estabelecem uma série de protocolos que são aplicados com intuito de garantir resultados confiáveis e adequados à qualidade requerida (ALBANO e RAYA-RODRIGUES, 2009).

Muitos protocolos são desenvolvidos para que os processos sejam aplicados com maior rigor, e são direcionados por agências nacionais, como o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) e ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) ou internacionais como ISO (*International Organization for Standardization*, do inglês, Organização Internacional de Normalização) (ARAGÃO et al., 2009, ALMEIDA et al., 2011, e EL-GAWAD, 2016).

Uma das etapas necessárias para comprovar a qualidade do material ou serviço fornecido pelos laboratórios é a etapa de desenvolvimento e validação da metodologia que compreende todas e quaisquer etapas envolvidas desde amostragem até o resultado (OLIVEIRA e MENDES, 2010).

A cromatografia é uma técnica amplamente aplicada em diferentes áreas, como: alimentos (RAIMBAULT et al., 2019), medicamentos (ANSAR e MUDALIGE, 2020), análises de água (SCHWANZ, T. G. et al., 2019), derivados de petróleo (ZUSHI et al., 2019), determinação de drogas sintéticas (BOMBANA et al., 2020), na aplicação da química verde (GAMA et al., 2019), entre outros.

Em cromatografia a importância da validação dos métodos infere diretamente no resultado obtido, uma vez que é uma técnica de separação que depende de diversos parâmetros instrumentais para que a separação dos analíticos ocorra adequadamente. O desenvolvimento dos métodos cromatográficos compreende a escolha da fase estacionária adequada, além de parâmetros como temperatura da coluna, fluxo de fase móvel, polaridade e pH da fase móvel, entre outros, variando de

acordo com a classe de compostos a ser identificada em uma amostra (LANÇAS, 2017).

Uma das estratégias utilizadas no desenvolvimento dos métodos é a aplicação do planejamento fatorial, que é uma ferramenta que tem como objetivo verificar, dentre um número de variáveis, as que apresentam maior atividade sobre um efeito ou resposta. Esta ferramenta permite observar as interações entre as variáveis, prever resposta do sistema frente a uma condição não testada, conhecer o número de experimentos necessários para alcançar o objetivo e o mais importante, reduzir custos, resíduos e tempo (FILHO, 2015).

Experimentos são realizados para determinar variáveis experimentais e suas interações em um sistema. As variáveis que não são selecionadas para o estudo devem permanecer constantes em todo o experimento. Dependendo do número de variáveis, escolhe-se o planejamento que mais se adequa a resposta desejada, levando em consideração os efeitos principais e efeitos de segunda ordem que podem ser obtidos através de planejamento fatorial completo ou fracionário (TEÓFILO e FERREIRA, 2006).

Os planejamentos fatoriais completos podem ser denotados com a notação exponencial 2^k , onde k são fatores a serem investigados em dois níveis: um nível maior correspondente ao sinal positivo (+) e outro nível menor ao sinal negativo (-) (CUNICO et al., 2008). Este tipo de planejamento é aplicado para sistemas que apresentam um número reduzido de variáveis, no máximo 4.

O planejamento fatorial apresenta uma ampla aplicação em diversas áreas do conhecimento, como relatado por SILVA et al., 2010, onde os autores utilizaram planejamento fatorial para a determinação de fósforo em detergente em pó, por análise em fluxo. Os autores escolheram 3 fatores para essa determinação: volume do ácido sulfúrico (S), a concentração da solução de molibdato de amônio (M) e concentração da solução de ácido ascórbico (A). Com isso, foram necessários a realização de 8 experimentos em que $2^k = 2^3$, onde k é o número de variáveis (fatores) no estudo. O ponto central foi avaliado em 7 repetições, totalizando 15 experimentos. Estes dados geraram uma matriz de coeficientes apresentadas na Tabela 1, que foram avaliados através de softwares matemáticos. Os níveis superior e inferior dos fatores estudados foram, respectivamente, volume do ácido sulfúrico (S) 0,6(+) e 0,2(-) mL, concentração da solução de molibdato de amônio (M) 32(+) e 16(-) mmol L⁻¹ e da solução de ácido ascórbico (A) 340(+) e 60(-) mmol L⁻¹.

Tabela 1- Matriz codificada obtida para um planejamento fatorial completo 2³.

Experimento	A mmol L⁻¹	M mmol L⁻¹	S mL	Resposta (%)
1	60	16	0,2	89,8
2	340	16	0,2	91,4
3	60	32	0,2	94,9
4	340	32	0,2	87,1
5	60	16	0,6	88,5
6	340	16	0,6	79,1
7	60	32	0,6	85,3
8	340	32	0,6	85,8
PC*7	200	24	0,4	84,12

Fonte: Adaptado de Silva et al., 2010.

Com o tratamento dos dados, através do diagrama de pareto, os autores observaram que os parâmetros que mais influenciaram o preparo de amostras para a determinação de fósforo foi o volume de ácido sulfúrico utilizado, concentração da solução de ácido ascórbico e a interação entre os 3 fatores, o que indicou o desenvolvimento do método de forma multivariada. As 3 melhores condições foram as das reações 1, 2 e 3 e a escolhida foi a condição da reação 1 por apresentar menor volume de solventes utilizados no preparo de amostra.

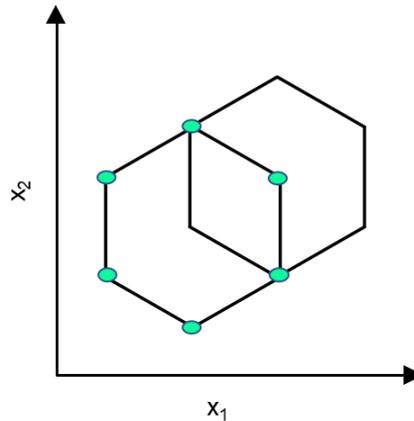
Para um número maior de fatores, utiliza-se o planejamento fatorial fracionário, onde é possível realizar uma triagem das variáveis através de um número de experimentos reduzidos.

Neste caso o número de experimentos é dado por $2^{k-p} + C$, onde k é o número de variáveis, C é o número de replicatas no ponto central e p é um número inteiro que indica o quão fracionado será o planejamento experimental. Quando o valor de p é zero, o planejamento é completo. As variáveis que se mostram estatisticamente significantes podem ser novamente submetidas a um novo planejamento fatorial, ou otimizadas através de alguma metodologia de superfície de resposta (FILHO, 2015).

A metodologia de superfície de resposta baseia-se na construção de modelos matemáticos empíricos que empregam funções polinomiais lineares ou quadráticas para descrever o sistema em estudo e dar condições de modelar ou deslocar o sistema para sua otimização (TEÓFILO e FERREIRA, 2006). Um dos planejamentos que pode ser utilizado é o planejamento Doehlert (Figura 1), onde os pontos da matriz

correspondem aos vértices de um hexágono, gerado de um simplex regular e em geral o número de pontos experimentais no planejamento é igual a: $2^k + k + C$, onde k é o número de fatores, e C é o número de experimentos no ponto central (T.SUDHA et al., 2017).

Figura 1- Planejamento Doehlert com duas variáveis X_1 e X_2 (com adição de novos experimentos).



Fonte: Adaptado de SUDHA et al., 2017.

Após o desenvolvimento do método, o mesmo deve ser validado de acordo com os métodos orientativos, onde uma série de parâmetros são avaliados. O bom desempenho de um método analítico depende de dois parâmetros: a qualidade das medidas instrumentais e a confiabilidade estatística dos resultados (RIBEIRO et al., 2008).

De acordo com o INMETRO DOQ-CGCRE-008 (2018), a validação é um instrumento pelo qual é comprovado, através de evidências objetivas, que os requisitos necessários para uma aplicação ou uso específico foram atendidos. Os parâmetros mais utilizados na validação de métodos cromatográficos são: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, faixa linear, robustez, limite de detecção e limite de quantificação. Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico e/ou figuras analíticas de mérito (VALDERRAMA et al., 2009).

3.2 Parâmetros de desempenho analítico

3.2.1 Seletividade

Para a avaliação dos parâmetros de desempenho analítico em cromatografia, a área ou altura do pico cromatográfico são parâmetros quantitativos fundamentais. O primeiro parâmetro de desempenho a ser avaliado é a seletividade do método, a qual depende do quanto a metodologia é indiferente à presença de interferentes da matriz na determinação do analito. Este parâmetro avalia o grau de interferência de outras espécies como outro ingrediente ativo, impurezas e produtos de degradação, assim como outros compostos de propriedades similares que possam estar presentes. Em cromatografia, este parâmetro tem como objetivo garantir que o pico obtido relacionado a resposta analítica seja exclusivamente do composto de interesse, ou seja, não ocorra coeluição (RIBANI et al., 2004).

A seletividade pode ser avaliada através da utilização de detectores modernos como é o caso da espectrometria de massas que compara o espectro do analito obtido na separação com o de um padrão analítico confirmando a identidade e pureza do analito. No trabalho relatado por ALEMAYEHU ASFAW et al., 2020, a seletividade da metodologia baseada em cromatografia, para determinação de solventes residuais em albumina foi determinada utilizando um detector de espectrometria de massas, através da verificação da separação dos analitos e a pureza dos picos.

A seletividade de um método também pode ser determinada através da adição de padrão em uma matriz isenta dos compostos de interesse e comparação das curvas analíticas (ALBANO e RAYA-RODRIGUEZ, 2009), ou ainda, avaliando a interferência da matriz, como relatado no trabalho de SCHWANZ et al., 2019, para a determinação de pesticidas em água por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS), onde a matriz sem padrões foi analisada com e sem a adição de padrão externo com intuito de comprovar que os picos obtidos na fortificação da matriz, são picos que correspondem aos padrões adicionados na fortificação.

3.2.2 Linearidade

A linearidade dos métodos analíticos quantitativos é medida pela capacidade do método em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra dentro de um intervalo especificado (ARAGÃO et al., 2009). Neste contexto, FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2019, desenvolveram e validaram um método cromatográfico para a determinação de opiáceos e cocaína em ossos humanos, adotando a razão entre a área dos padrões externos versus área do padrão interno para a construção da curva de calibração, que foi realizada em triplicata, a qual os autores consideraram a metodologia como sendo linear devido a obtenção do coeficiente de correlação superior a 0,9900. O coeficiente de correlação foi obtido através da equação da reta ($y = ax + b$) da curva analítica, onde os coeficientes a (coeficiente linear – intersecção com o eixo y , quando $x=0$) e b (inclinação da curva analítica = sensibilidade) foram estimados através do conjunto de medições em diferentes concentrações. A metodologia é considerada mais sensível, quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação de resposta, ou seja, maior inclinação (b).

O INMETRO (DOQ-CGCRE-008, 2018) recomenda um valor de coeficiente de correlação acima de 0,90 para certificação da linearidade da metodologia. Em uma técnica instrumental, a relação linear descrita pela equação $y=ax + b$, só é válida para um determinado intervalo de massa ou concentração do analito medido, que também pode ser denominado faixa linear, onde a concentração do analito e a resposta do instrumento são diretamente proporcionais (HARRIS, 2008).

3.2.3 Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

O LOD pode ser definido como a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental proposta, enquanto o LOQ é a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão do método (MARINHO e LEITE, 2010). Uma das formas de determinação do LOD e do LOQ, é através da relação sinal/ruído obtido na comparação dos sinais medidos de amostras em concentrações conhecidas do analito, sendo aceitável uma relação sinal/ruído de 3:1 na estimativa do LOD, enquanto o LOQ deve apresentar uma relação sinal ruído de 10:1, como mostra o trabalho desenvolvido por BOMBANA

et al., 2020 para determinação de anfetaminas no sangue por GC-MS, onde foram analisadas concentrações decrescentes do analito até estabelecer uma relação sinal/ruído distinguida com confiança. Esta forma de determinação só pode ser aplicada a técnicas que apresentem ruído na linha de base.

3.2.4 Precisão

A precisão de um método pode ser determinada através da avaliação de parâmetros como repetibilidade, precisão intra ensaio e precisão intermediária, sendo expressa pelo desvio padrão e coeficiente de variação (CV), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR). O valores de CV podem ser obtidos através da curva de Horwitz que leva em consideração a relação entre gramas do analito por grama de amostra (**C**) (LINSINGER e JOSEPHS, 2006) de acordo com a Equação 01. A Tabela 2 apresenta os valores de Horwitz obtidos para diferentes níveis de concentração.

$$CV(\%) = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad \text{Equação 01}$$

Tabela 2- Valores de Horwitz em função da concentração.

Razão de concentração	CV (%)
1 (100%)	2
10 ⁻¹	2,8
10 ⁻² (1%)	4
10 ⁻³	5,6
10 ⁻⁴	8
10 ⁻⁵	11
10 ⁻⁶ (ppm)	16
10 ⁻⁷	23
10 ⁻⁸	32
10 ⁻⁹ (ppb)	45

Fonte: Adaptado INMETRO, 2019.

LIPSITZ et al., 2010 na validação do método para a determinação do inibidor da Aurora A Cinase por HPLC-MS/MS avaliaram a precisão através da utilização de uma amostra real de plasma humano com a fortificação de padrões em diferentes concentrações as quais foram analisadas em quintuplicatas e com os resultados foram obtidos os valores de CV. No entanto, LIU et al., 2019, em seu trabalho para a determinação de impurezas genotóxicas de alquisulfonato por GC-MS em

medicamentos, avaliou a precisão através da medição de uma amostra em triplicata em diferentes dias com a determinação do CV, também conhecida como precisão intermediária. Este parâmetro indica o efeito das variações dentro do laboratório em diferentes dias, diferentes analistas e diferentes equipamentos (BERTOLDI et al., 2016).

Outro parâmetro que pode ser avaliado na precisão é a repetitividade, que avalia o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando em diferentes preparações, sendo denominado algumas vezes, precisão intra ensaio, podendo ser expressa através da estimativa do DPR (RIBANI et al., 2004). A repetibilidade do método pode ser avaliada através da análise de uma mesma amostra por um mesmo analista e instrumento (RIBEIRO et al., 2008).

3.2.5 Exatidão

A exatidão do método pode ser avaliada através do ensaio de recuperação onde as amostras são fortificadas com o analito em diferentes níveis de concentração. Este ensaio traduz a concordância dos valores experimentais com o valor verdadeiro. A recuperação é definida como a proporção da quantidade de substância de interesse, presente ou adicionada na proporção analítica do material teste, que pode ser extraída ou quantificada (PERIS-VICENTE et al., 2015). De acordo com o método internacional orientativo 8000B para separações cromatográficas determinadas, quando o intervalo de recuperação não é conhecido as variações de recuperação podem variar de 70 a 130% para $n=4$.

O valor de recuperação é obtido através da fórmula:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100$$

Onde: C_1 é a concentração do analito na amostra fortificada;

C_2 concentração do analito na amostra não fortificada;

C_3 é a concentração do analito adicionada a amostra fortificada.

A recuperação é determinada através da fortificação de uma amostra conhecida, a depender do intervalo de concentração utilizado na metodologia em

desenvolvimento, como apresentado no trabalho de SILVA et al., 2018, para a determinação de ésteres alquílicos por GC, onde as amostras contendo 0,1 g de biodiesel foram fortificadas em três níveis de concentração diferentes (0,03; 0,05 e 0,07 g) com padrão de biodiesel de soja metílico e analisadas em triplicata, onde o intervalo de recuperação obtido apresentou variação de 89,81 à 99,61%. GAO et al., 2020 determinaram a recuperação de bifenilos policlorados em amostras de chá por GC-MS/MS através da fortificação em diferentes níveis de concentração (2, 10, 50, e 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$) obtendo intervalos de recuperação de 71 a 117% com desvio padrão relativo de até 23%.

3.2.6 Robustez

A robustez de um método mede a sensibilidade que ele apresenta em relação a pequenas variações de seus valores otimizados. O método é considerado robusto quando não é afetado por pequenas alterações em seu sistema (OLIVEIRA e AGUIAR, 2009, INMETRO, DOQ-CGCRE-008 (2018). No trabalho proposto por PINTO et al., 2017, determinou-se butilacetilaminopropionato de etila em repelentes por HPLC. A robustez do método foi avaliada modificando-se a taxa de fluxo da fase móvel, composição e a temperatura da coluna. Os resultados obtidos com estas variações foram avaliados com o desvio padrão obtido na precisão do método (variação de até 5%), considerando a metodologia robusta.

A robustez em cromatografia gasosa pode ser avaliada através de parâmetros como: pH da amostra, temperatura do injetor, detector, fluxo do gás de arraste, voltagem do detector, como proposto no trabalho de SOUZA et al., 2012, na determinação de plastificantes em água potável por GC-MS, onde o preparo de amostras foi realizado com o uso de cartuchos de extração em fase sólida (SPE). Na avaliação da robustez foi observado que as condições que apresentaram maior influência foi o pH da amostra (no preparo de amostra, aplicando SPE), seguido pela voltagem do detector.

Com a aplicação do desenvolvimento e da validação de métodos analíticos em cromatografia é possível obter métodos mais precisos, uma vez que, com a aplicação da otimização, é possível obter uma melhor separação entre os compostos (resolução), um menor tempo de análise, além de quantificar compostos numa faixa

de concentração ampla permitindo identificar e quantificar compostos que estejam presentes em baixa concentração na amostra.

Os métodos cromatográficos podem ser aplicados na Química Verde, bem como na área de catálise, onde são utilizados para identificação de compostos oriundos de sistemas catalíticos provenientes da aplicação de fontes de energias renováveis (TANG, 2019; REY-RAAP et al. 2019), no estudo da síntese de novos produtos (HOAI et al. 2004; FAN et al. 2007) entre outros.

3.3 Química Verde

O conceito de Química Verde surgiu por volta dos anos 1990 quando a agência ambiental norte americana EPA (*“Environmental Protection Agency”*) lançou o programa: “Rotas sintéticas alternativas para a Prevenção da Poluição”. Programa este conhecido pelo seu intuito de financiar projetos de pesquisa que promovessem a prevenção da poluição em rotas sintéticas (LENARDÃO et al., 2003). Desde então, essa iniciativa foi amplamente divulgada, promovendo uma série de eventos e discussões que visam a ampliação e aplicação da Química Verde em nível mundial.

Segundo ANASTAS e EGHBALI, 2009, a Química Verde é definida como “Desenvolvimento de produtos químicos e processos que possam ser aplicados de forma a reduzir ou eliminar a geração de substâncias perigosas”. Para atender estes requisitos surgiram os 12 princípios da química verde que estão representados na Figura 2.

Figura 2- Doze princípios da Química Verde.



Fonte: Adaptado de LENARDÃO et al., 2003.

Destes 12 princípios, 05 estão associados a esta tese de doutorado. São eles: economia de átomos, solventes e auxiliares mais seguros, busca por eficiência energética, uso de fontes renováveis de matéria-prima e catálise.

A catálise, um dos 12 princípios da química verde, teve seus primeiros relatos por volta de 1793 quando DÉSORMES E CLEMENT promoveram a oxidação do dióxido de enxofre para obtenção do H_2SO_4 em uma câmara de chumbo utilizando NO_x como catalisador (JACSON, S.D, 1995). No Brasil os primeiros relatos da catálise são dos anos de 1960 e 1970 quando se iniciou a instalação de parques industriais de refino de petróleo e petroquímica. A OXITENO foi uma das pioneiras na produção de catalisadores no Brasil para a geração de hidrogênio e oxidação do etileno a óxido de etileno, outra empresa que se destaca é a BRASKEM que produz seus próprios catalisadores para as reações de polimerização, desidratação do etanol a etileno e sua conversão a polietileno (GUSMÃO-BERNADO et al., 2017).

A catálise é dividida em dois segmentos: catálise homogênea e catálise heterogênea. É definida como homogênea quando o catalisador e os reagentes se encontram em uma mesma fase, enquanto na heterogênea os reagentes e catalisadores se encontram em fases distintas e a reação ocorre na interface entre eles (COSTA, 2011). Este apresenta ampla aplicação em reações de polimerização, oxidação, e etc. (BELLER, et al., 2012).

Entre as reações de oxidação seletivas promovidas pela catálise estão as reações de oxidação de álcoois que são de extrema importância, uma vez que os

produtos obtidos neste tipo de reação (produtos carbonilados) são de grande interesse para a indústria farmacêutica e de plásticos (ZORZANELLI e MURI, 2014). Porém, as metodologias utilizadas em grande parte das reações de oxidação de álcoois, tanto na academia como na indústria, são metodologias que utilizam reagentes a base de cromo, gerando substâncias prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente (CHANDRASEKARAN e GANESH, 2014 e THAO et al., 2018).

Neste contexto, com intuito de aplicar os princípios da química verde, surgem metodologias para oxidação de álcoois que são consideradas promissoras em aplicações industriais no decorrer dos anos. Estas metodologias envolvem reações de oxidação de álcoois com os reagentes: TEMPO (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina)(LEI et al., 2006), hipoclorito de sódio (BIJUDAS et al., 2015), líquidos iônicos (FALL et al., 2010), micro-ondas (BOGDAL et al., 2003), biocatalisadores (KROUTIL et al., 2004; BRUMMUND et al., 2015) e oxigênio molecular (MALLAT e BAIKER, 2004). As reações de oxidação na presença de oxigênio molecular, quando associadas a materiais sólidos (catalisadores), são promissoras para a oxidação de álcoois uma vez que o oxigênio molecular atua como agente oxidante (JI et al., 2007; YASU-EDA et al., 2010; CHOUDHARY e DUMBRE, 2011; FENG et al., 2017).

3.4 Catalisadores à base de nanopartículas de ouro

Um catalisador que vem sendo muito estudado em reações de oxidação de álcoois em presença de oxigênio molecular é a base de nanopartículas de ouro (NPAu). O ouro em escala nanométrica já era utilizado a aproximadamente 4000 anos a.c., quando os alquimistas utilizavam elixir de ouro para promover o rejuvenescimento, além de diversas pinturas realizadas em vitrais de igrejas medievais que foram feitas à base de nanopartículas (FERREIRA e RANGEL, 2009).

Os catalisadores de Au tiveram seus estudos relacionados a sistemas catalíticos por volta de 1980 quando ainda era considerado um material com propriedades catalíticas inertes. HARUTA et al., (1987) mostraram que NPAu com tamanho inferior a 10 nm apresentavam reatividade frente a reação de oxidação do monóxido de carbono.

Com a divulgação deste estudo muitas pesquisas de grande interesse industrial foram desenvolvidas com a aplicação de NPAu como catalisador como é o caso da

reação de esterificação oxidativa da metacroleína em metacrilato de metila, hidrocloração do acetileno (CIRIMINNA et al., 2016), produção de H_2O_2 (EDWARDS et al., 2009), oxidação de hidrocarbonetos (HUGHES et al., 2005), oxidação seletiva de compostos orgânicos aplicados a indústria farmacêutica, química fina e alimentícia (PINA et al., 2012).

Neste contexto, para a aplicação de NPAu em reações catalíticas, é necessário fixá-las em outros materiais, com intuito de recuperá-las após as reações. A sílica é um dos materiais que possibilita essa recuperação, pois é um polímero formado por grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e grupos silanóis (Si-OH) em sua superfície (NASSAR et al., 2002). Ela é amplamente utilizada como suporte catalítico por ser um material que pode ser elaborado com várias características estruturais (amorfa, ordenada, alta ou baixa área superficial) além de possibilitar a introdução em sua superfície grupos funcionais orgânicos, conferindo a mesma múltiplas funcionalidades (NAM et al., 2012; HUIRACHE-ACUÑA et al. 2013).

Os catalisadores à base de NPAu podem ser obtidos através de diferentes metodologias como: método sol-gel, método de deposição-precipitação, método de co-precipitação, método de impregnação e o método de deposição química a vapor (BOND e THOMPSON, 1999; CORMA e GARCIA, 2008). A depender da metodologia utilizada para a síntese são obtidos catalisadores a base de NPAu suportadas na sílica ou na forma *core-shell* (caroço-casca).

Após a obtenção dos materiais catalíticos é necessário caracterizá-los, sendo que algumas das possíveis técnicas para tanto são apresentadas na Tabela 3. Com o uso destas técnicas pode-se inferir se as NPAu, podem estar suportadas ou encapsuladas em diferentes materiais, com destaque para a ampla utilização da sílica como material associado (CAVALIERE-JARICOT, et al., 2007; GUTIÉRREZ et al., 2011; ALSHAMMARI, 2019).

Tabela 3- Técnicas de caracterização de catalisadores e propriedades observadas.

<i>Técnicas</i>	<i>Propriedades caracterizadas</i>
Espectroscopia Uv-vis (UV-vis)	Formato e tamanho da partícula (esfera, bastões)
Difração de raios-X (DRX)	Estrutura do cristal
Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	Tamanho, forma e cristalinidade
Adsorção e dessorção de N ₂ (BET)	Área superficial, tamanho de poro, volume de poro, isoterma
Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES)	Composição química
Análise termogravimétrica (TGA)	Perda de massa
Espectroscopia na região do infravermelho médio por Transformada de Fourier (FTIR)	Grupos funcionais

Fonte: Adaptado de LEOFANTI et al., 1997 e LI, Y. SOMORJAI, G. A., 2010.

Das técnicas apresentadas na Tabela 3, as técnicas de microscopia eletrônica (microscopia eletrônica de transmissão, microscopia eletrônica de varredura, etc.) são as mais utilizadas, tanto para resolução estrutural quanto para mapeamento químico (TIRUVALAM, et al. 2011; ALLEN, et al. 2012 e VILLA, et al. 2016).

Por meio dessas técnicas, por exemplo, pode-se claramente diferenciar sistemas de nanopartículas de ouro suportadas em sílica (AuNP/SiO₂) ou do tipo *core-shell* (AuNP@SiO₂).

Para a quantificação do teor de ouro e outros metais, as técnicas analíticas mais aplicadas são as técnicas de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) (FABRICIUS, et al., 2014; LOW e ZHANG, 2012; SANDRONI e SMITH, 2002 e GARCIA et al., 2014).

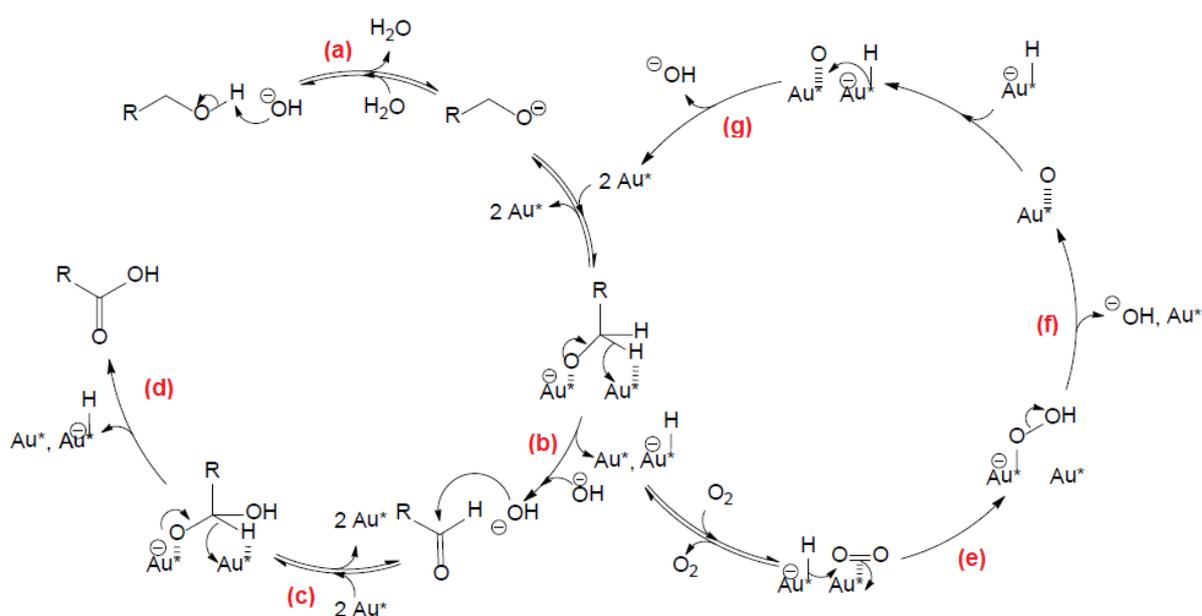
3.5 Reações de oxidação do álcool benzílico

O álcool benzílico é um álcool muito utilizado em pesquisas como modelo, pois apresenta boa reatividade e forma poucos produtos (HU et al., 2007). Os produtos obtidos em reações de oxidação do álcool benzílico são: benzaldeído, ácido benzoico e benzilbenzoato. Estes produtos apresentam ampla aplicação na indústria

farmacêutica, agroquímica (CHOUDHARY e DUMBRE, 2011; CHEN et al., 2010), química fina (WANG et al., 2011) e alimentícia (ADAMS et al., 2005).

A Figura 3 mostra o mecanismo de reação proposto por SKUPIEN et al., 2014, em condições básicas para a oxidação sequencial do álcool a aldeído e a ácido carboxílico. Os sítios ativos na superfície do ouro são indicados por Au^* . A linha tracejada no ciclo catalítico, representa a interação química das espécies com um sítio de adsorção da superfície do ouro.

Figura 3- Mecanismo de reação da oxidação do álcool benzílico com catalisador de ouro em meio básico.



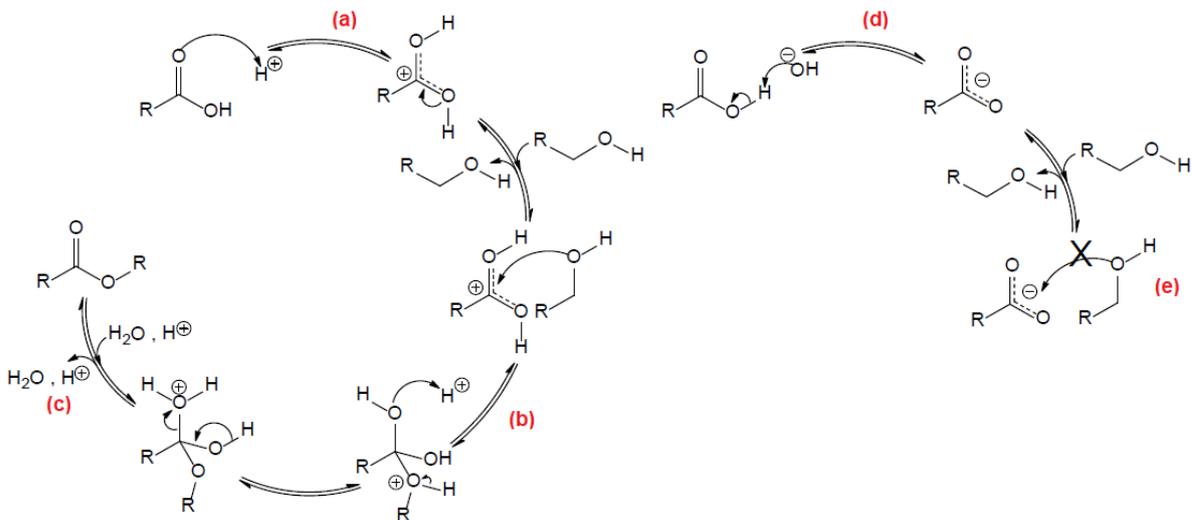
Fonte: Adaptado de SKUPIEN et al., 2014.

Como representado na Figura 3, no trabalho relatado por SKUPIEN et al., 2014, na primeira etapa de reação **(a)**, ocorre a desprotonação do álcool benzílico auxiliado pela presença de base no meio reacional. Na segunda etapa **(b)** ocorre a eliminação do hidreto β do álcool formando o benzaldeído ($R-CH=O$) ou ácido benzoico ($R-COOH$), etapa **(d)**. No entanto os autores relatam que as condições básicas podem aumentar a seletividade em relação ao ácido benzoico, favorecendo a conversão do aldeído no correspondente diol geminal, conforme descrito na etapa da reação **(c)** (o diol é mostrado como $R-CH(OH)O^-$ parcialmente desprotonado e adsorvido em Au^*). Paralelamente, o sítio ativo que contém o hidreto (Au^*-H^-) é regenerado pelo oxigênio molecular adsorvido por meio de um intermediário peróxido (etapa **(e)**) produzindo Au^* -

O-OH) ou via oxigênio dissociado do suporte do catalisador. Isso também regenera um OH^- (**etapas f e g**) e fecha o ciclo catalítico, como mostrado no lado direito da Figura 3.

O benzilbenzoato pode ser obtido através da reação de esterificação catalisada por ácido benzoico e o álcool, como mostra a Figura 4. Na primeira etapa (**a**) ocorre a protonação do oxigênio do grupo carbonila produzindo um carbocátion eletrofílico, na segunda etapa ocorre (**b**) o ataque nucleofílico do álcool e posterior desidratação (**c**) produzindo o éster correspondente (benzilbenzoato). Nesta etapa também pode ocorrer a desprotonação do ácido benzoico (**d**) por uma base, produzindo um ânion carboxilato; porém a reação do álcool benzílico através do ataque nucleofílico é desfavorecida (**e**).

Figura 4- Mecanismo de reação proposto para a reação de esterificação entre o álcool benzílico e o ácido benzoico.



Fonte: Adaptado de SKUPIEN et al., 2014.

Os produtos obtidos na reação de oxidação do álcool benzílico são analisados por cromatografia gasosa, porém, na maioria das vezes, os trabalhos relatados não apresentam detalhes de desenvolvimento e validação (CHOUHARY; JHA; JANA., 2007; MA et al., 2009; REDDY et al., 2019), como é o caso do trabalho desenvolvido por YANG et al. 2013, onde utilizou-se uma coluna DB-WAX para a identificação dos produtos da reação, com a programação de aquecimento da coluna em: 90 °C (1 min), aumento até 280 °C com uma taxa de 20 °C min⁻¹, totalizando 10,5 minutos de análise.

Como os trabalhos em catálise apresentam como foco principal a avaliação de novos catalisadores, propriedades catalíticas, condições reacionais, substratos aplicados, não é possível encontrar relatos de validação de métodos cromatográficos para a identificação destes produtos na área de catálise, tanto que a abordagem referente ao sistema de caracterização é sucinta fazendo jus apenas a técnica utilizada para a identificação dos produtos que são gerados.

Quando uma busca foi realizada nas plataformas de pesquisas (*ScienceDirect*, 02/01/2020), por métodos cromatográficos validados, fazendo referência a álcool benzílico, a maioria dos relatos é aplicado a área de saúde como por exemplo, o método relatado por KAZEMIFARD et al. 2003. Este foi validado para a determinação de benzaldeído proveniente do álcool benzílico usado como conservante em formulações injetáveis em GC-FID, utilizando uma coluna de fase apolar, contendo 100% de dimetilpolisiloxano com 25 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,5 μm . O fluxo do gás de arraste (hélio) foi de 4,5 mL min^{-1} , e a temperatura da coluna, injetor e detector foi de 160, 270 e 270 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. O método foi validado para a identificação do álcool benzílico e benzaldeído em um tempo total de análise de 5 minutos. A faixa de concentração do método foi de 0,5 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com limite de quantificação de 0,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Amostras reais foram fortificadas com concentrações conhecidas de benzaldeído em diferentes níveis de concentração e foram obtidos intervalos de recuperação em torno de 96,66%.

Outro método relatado em cromatografia gasosa para identificação do álcool benzílico foi o trabalho realizado por SEN et al., 2011, onde foi determinado o teor de álcool benzílico em suspensões injetáveis por GC-MS. O trabalho foi desenvolvido por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Na validação do trabalho foi utilizada uma coluna apolar contendo: 5% fenil-metilpolisiloxano, 30 m, com diâmetro interno de 0,32 mm e espessura de filme de 0,25 μm . O fluxo do gás de arraste (hélio) foi 1,0 mL min^{-1} , e a rampa de aquecimento da coluna iniciou em 50 $^{\circ}\text{C}$, onde permaneceu por 5 minutos, após aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir a temperatura de 180 $^{\circ}\text{C}$, totalizando um tempo de análise de 18 minutos. A faixa de trabalho estabelecida foi de 0,1 a 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A recuperação do álcool benzílico foi realizada através da fortificação de uma amostra real em diferentes níveis de concentração e foram obtidos valores de recuperação na faixa de 98,0 a 105,0%. A robustez do método foi avaliada através de variação de parâmetros como analistas,

volume de injeção e colunas cromatográficas de fases diferentes. A confirmação do álcool benzílico foi realizada através do espectro de massas obtido, comparado com o espectro de massas da biblioteca do equipamento.

Outro álcool que pode ser aplicado em reações de oxidação é o glicerol, que é um tri-álcool que apresenta uma boa funcionalização devido a presença dos grupos hidroxilas em sua estrutura, responsáveis pela sua solubilidade em água e natureza higroscópica (BEATRIZ et al., 2011).

3.6 Oxidação do glicerol

Com o surgimento da Química Verde novas alternativas foram propostas para a substituição dos derivados de petróleo, como é o caso dos biocombustíveis. Um exemplo é a produção de biodiesel, que pode ser obtido através de diferentes matérias primas renováveis como óleos e gorduras vegetais ou animais (PINTO et al., 2005; SUAREZ et al., 2007; AVAMI, 2012; MONTEIRO et al., 2018).

O processo de obtenção do biodiesel pode ser feito pela reação de esterificação e transesterificação, sendo a reação de transesterificação a mais utilizada. Nesta reação os triacilglicerídeos reagem com um álcool de cadeia curta, formando biodiesel (ésteres metílicos) e glicerol (DÍAZ-ÁLVAREZ e CADIerno, 2013; KING e WRIGHT, 2007).

Para cada 3 mols de ésteres metílicos, é gerado 1 mol de glicerol que equivale a 10% da massa total produzida durante o processo industrial. A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) divulgou em seu boletim uma produção de 770 mil m³ de biodiesel no mês de dezembro de 2019, ou seja, foram produzidos em torno de 77 mil m³ de glicerol.

Com o aumento da produção de biodiesel e conseqüente aumento da produção de glicerol, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com intuito de obter rotas químicas de transformação de glicerol (hidrogenólise, desidratação, esterificação, oligomerização, oxidação) (MONTEIRO et al., 2018), para obtenção de intermediários sintéticos, uma vez que, o glicerol é uma molécula altamente funcionalizada (BEATRIZ et al., 2011).

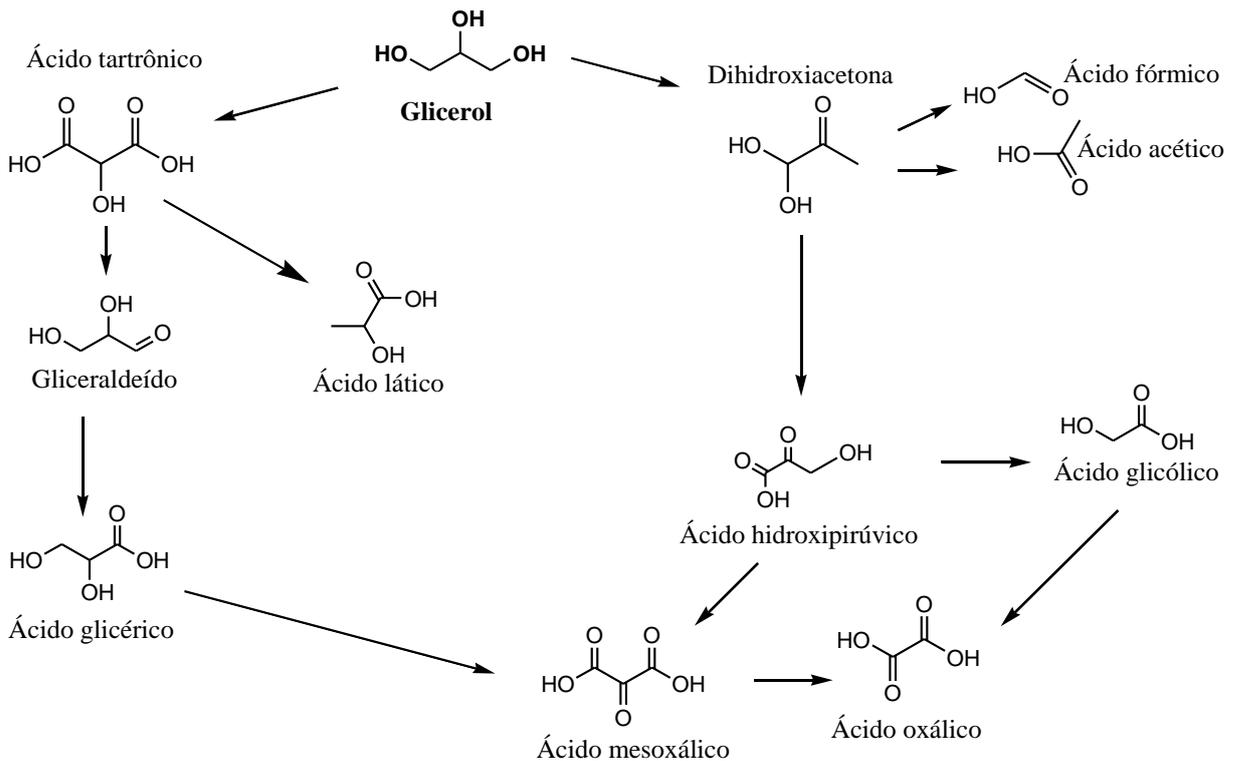
Pela rota de oxidação catalítica do glicerol é possível obter uma gama de produtos, através do uso de diferentes catalisadores e condições reacionais, sendo

possível sua orientação com intuito de obter seletividade a diferentes produtos que tenham valor econômico maior que o glicerol.

Diferentes catalisadores podem ser aplicados para promover a oxidação do glicerol como é o caso dos catalisadores à base de Pd (paládio), Pt (platina) e Au (ouro) que apresentam reatividade em oxidação de álcoois (KOROVCHENKO et al., 2007; SHELDON, 2015; DÍAZ et al., 2016).

A Figura 5 mostra uma rota com os possíveis produtos que podem ser obtidos na reação de oxidação do glicerol, utilizando nanopartículas de Pt como catalisador. Nesta rota, a oxidação dos álcoois primários do glicerol conduz à formação de ácido glicérico e ácido tartrônico, sendo o gliceraldeído um produto intermediário, gerado no processo de oxidação do glicerol à ácido glicérico. A oxidação dos álcoois secundários leva a produção de dihidroxiacetona, e a oxidação das funções primárias da dihidroxiacetona conduz à formação dos ácidos hidroxipirúvico e ácido mesoxálico, ambas moléculas que apresentam uma alta funcionalização. A oxidação dos produtos formados nesta rota leva a produção de ácido oxálico e ácido glicólico. A obtenção de produtos como ácido acético, ácido láctico e ácido fórmico é relatada em diferentes estudos com variados tipos de catalisadores e condições reacionais (SHEN et al., 2015; FENG et al., 2015).

Figura 5- Rota de oxidação do glicerol com catalisadores de platina.



Fonte: Adaptado de UMPIERRE e MACHADO 2013; SHEN et al., 2015 e FENG et al., 2015.

O método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), do inglês *High performance Liquid Chromatography*, é o mais utilizado para identificar e quantificar os produtos obtidos nas reações de oxidação do glicerol, uma vez que estas reações de oxidação são realizadas em meio aquoso (GARCIA et al., 2017; SÁNCHEZ et al., 2017). Alguns trabalhos são relatados e validados na literatura como é o caso do trabalho de BELTRÁN-PRIETO et al., 2013 que desenvolveram um método por HPLC utilizando dois detectores em série. A utilização dos dois detectores fez-se necessária devido a coeluição de alguns compostos. No método foram identificados 7 produtos da reação de oxidação do glicerol (ácido mesoxálico, ácido tartrônico, gliceraldeído, ácido glicérico, ácido glicólico e dihidroxiacetona) em 25 minutos, utilizando uma solução de H_2SO_4 como fase móvel.

IBÁÑEZ e BAUER, 2014 validaram um método para a identificação de ácidos orgânicos (ácido oxálico, ácido glicólico, ácido láctico entre outros) obtidos da hidrólise da biomassa através da técnica de HPLC/MS identificando 24 compostos em um tempo de análise de 12 minutos. Porém estes compostos apresentam coeluição, e só podem ser identificados utilizando um detector de espectrometria de massas.

GIERTYAS et al., 2016 desenvolveram e validaram parcialmente um método baseado em HPLC para identificação e quantificação de 7 compostos (ácido oxálico, ácido tartrônico, gliceraldeído, ácido glicólico, ácido láctico, ácido fórmico e ácido acético), que podem ser obtidos em reações de oxidação do glicerol. O tempo total de análise foi de 27 minutos com a utilização de uma coluna de troca iônica e uma solução de H_3PO_4 como fase móvel. Os autores utilizaram o detector de índice de refração para a identificação destes compostos.

Seção IV

ARTIGO I

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS
CATALISADORES DE NANOPARTÍCULAS DE OURO
EM SÍLICA

4.1 Síntese dos catalisadores

4.1.1 Experimental

Os experimentos e caracterizações do material foram desenvolvidos no grupo de pesquisa de Catálise e Reatividade Química (GCaR) no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), na Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

4.1.2 Equipamentos

- Agitador magnético IKA® C-MAG HS 7 (Alemanha)
- Agitador mecânico IKA® RW 20 Digital (Alemanha)
- Analisador B.E.T. (Brunauer, Emmett, Teller) Quantachrome Chembet (EUA)
- Analisador Termogravimétrico TGA SDT 650- Discovery/ TA Instruments (EUA)
- Balança analítica modelo AX 200 SHIMADZU (Japão), com resolução de 0,01 mg até 200 g
- Banho ultrassônico UNIQUE (Brasil)
- Espectrofotômetro de absorção atômica- AA7000 SHIMADZU (Japão)
- Espectrofotômetro de Absorção Atômica, modelo AA-7000 SHIMADZU (Japão)
- Espectrofotômetro de infravermelho por Transformada de Fourier modelo Nicolet IR 200 (EUA)
- Espectrofotômetro modelo Shimadzu UV-2600 (Japão)
- Estufa de secagem BIOPAR (Brasil)
- Forno micro-ondas modelo: Marca Milestone modelo ETHOS One (Itália)
- Freezer marca Consul (Brasil)
- Microscópio Eletrônico de Transmissão Tecnai G2 Spirit TWIN (EUA)
- Mufla de calcinação EDG Equipment (Brasil)
- Micropipetas KASVI (Brasil)
- Sistema de agitação Global Trade Technology (Brasil)

- Sistema de aquecimento composto por chapa de aquecimento modelo 752A da Fisaton (Brasil), com controle de temperatura e agitação
- Sistema de filtração MilliQ-Plus, Millipore® (EUA) composto por cilindro de pressurização, sistema SmartPak DQ3, lâmpada UV (185nm) tanque e sistema com filtro 0,22 μm , garantindo uma resistividade de 18,2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$

4.1.3 Reagentes

A Tabela 4 indica os reagentes utilizados no respectivo trabalho com a especificação da pureza e procedência.

Tabela 4- Reagentes utilizados no preparo das AuNPs.

Reagentes	Pureza	Marca/Origem
Ácido bórico (H_3BO_3)	PA	Labsynth/ Brasil
Ácido clorídrico	37%	Merck/Alemanha
Ácido fluorídrico	48%	SIGMA – ALDRICH/Brasil
Ácido nítrico	65%	Merck/Alemanha
Ácido tetracloroáurico tri hidratado ($\text{HAuCl}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	$\geq 99.9\%$	SIGMA – ALDRICH/Brasil
Água deionizada	18,2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$	MILLIPORE/EUA
Brometo de hexadecil trimetilamônio (CTAB)	$\geq 99\%$	Acros Organics/EUA
Citrato de Sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	PA	Labsynth/ Brasil
Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	PA	Dinâmica/Brasil
Fenolftaleína ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$)	PA	Labsynth/ Brasil
Hidróxido de amônio (NH_4OH)	$\geq 28\%$	Dinâmica/Brasil
Hidróxido de Sódio (NaOH)	$\geq 98\%$	Dinâmica/ Brasil
Isopropanol Grau HPLC ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)	$\geq 99.9\%$	TÉDIA/Brasil
Polivinilpirrolidona (PVP)	PA	SIGMA – ALDRICH/ Brasil
Tetraetilortossilicato (TEOS)	95%	Acros Organics/EUA

Fonte: Autor, 2020.

4.1.4 Síntese de nanopartículas de ouro em sílica (AuNP/SiO₂)

Para a síntese dos catalisadores de nanopartículas de ouro suportadas em sílica (AuNP/SiO₂) foi utilizada uma metodologia desenvolvida no GCaR por OLIVEIRA, L.C.F., 2011, adaptado da metodologia de síntese relatadas por HUH et al., 2003 e TREWYN et al., 2007. Inicialmente adicionou-se 600 mL de água deionizada em um béquer de *teflon* (PTFE) e aqueceu-se a 50 °C com agitação. Posteriormente foram adicionados 6,0 mL de NaOH 2,0 mol L⁻¹ e 0,4902 g de brometo de hexadecil trimetilamônio (CTAB). Após 15 minutos, foram adicionados 12 mL da solução de HAuCl₄.3H₂O (1%). Após homogeneização da solução foram adicionados

3,0 mL de tetraetilortossilicato (TEOS-95%), com o auxílio de uma seringa de vidro. A temperatura do sistema foi mantida a 50 °C durante 2 horas. O produto obtido na reação foi filtrado e lavado com água deionizada até a neutralização. O sólido obtido foi levado para secagem na estufa à 80 °C por 24 horas. Em seguida o material foi calcinado a temperatura de 550 °C durante 4 horas com uma taxa de aquecimento de 5 °C/min em atmosfera ambiente. Ao final obteve-se um sólido de coloração vermelha (0,2824g) com o teor de ouro teórico foi estimado em 2,09%.

4.1.5 Síntese de nanopartículas de ouro cobertas de sílica (AuNP@SiO₂)

Para a síntese de nanopartículas de ouro cobertas de sílica (AuNP@SiO₂) aplicou-se o protocolo experimental descrito por ARNAL et al., 2006 e FANG et al., 2011. Para a obtenção das AuNP foram adicionados 280 mL de água deionizada em um balão de reação de 500 mL e adicionou-se 7,5 mL de solução HAuCl₄.3H₂O. A solução permaneceu em aquecimento até entrar em ebulição. Em seguida, adicionou-se 4,2 mL de solução de citrato de sódio a 3% m/v até observar a mudança de coloração da solução passando de amarelo para vermelho escuro. A solução permaneceu aquecida (ebulição ± 100 °C) e em refluxo por 30 minutos. Ao final dos 30 minutos a solução foi retirada do sistema e permaneceu em repouso até atingir a temperatura ambiente. Após atingir a temperatura ambiente foi adicionado 1,0 mL de solução aquosa de PVP 12,8 g/L e o sistema foi mantido sob agitação por 24 horas. As AuNPs estabilizadas com PVP foram centrifugadas a 13500 rpm por 20 minutos e dispersas em água deionizada.

Na segunda etapa foram adicionados a um béquer 388 mL de isopropanol, 55 mL de água deionizada a qual continha as AuNPs e 10,6 mL de hidróxido de amônio. Em seguida determinou-se o pH da solução. Após a mistura foi gotejado 3,3 mL de TEOS sob vigorosa agitação, sendo gotejado 1,0 mL a cada 5 minutos na solução. A solução foi coberta com papel alumínio e permaneceu por 12 horas sob agitação. O produto foi coletado por centrifugação (13500 rpm/20 min) e depois lavado por três vezes com uma solução de etanol/água deionizada (1:1). O sobrenadante foi descartado e as Au_{PVP}@SiO₂ foram levadas a estufa para secagem. A amostra foi calcinada a 550 °C por 4 horas com uma taxa de aquecimento de 5 °C por minuto em

atmosfera ambiente. Ao final obteve-se um sólido de coloração vermelha (1,1227g) com o teor de ouro teórico foi estimado em 3,29%.

4.2 Caracterização dos Catalisadores

As técnicas e metodologias analíticas empregadas para caracterização dos catalisadores estão descritas a seguir:

4.2.1 Espectroscopia por absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis)

As análises de espectroscopia por absorção no UV-vis foram realizadas com a dissolução de pequena quantidade de catalisador (ponta espátula) em um *emperdor* onde foi adicionado uma solução de água/etanol (4:1) e homogeneizado. As leituras foram realizadas na faixa de 400 a 1000 nm utilizando cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. As análises foram realizadas com intuito de confirmar a formação das AuNPs no formato de esferas identificado através da banda de ressonância de plásmon característica de nanopartículas esféricas.

4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de adsorção na região do infravermelho foram obtidos num espectrofotômetro de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), usando como método KBr como agente dispersante. Os espectros foram obtidos na região de 400 a 4000 cm^{-1} . As análises tiveram como objetivo confirmar a formação da estrutura do catalisador.

4.2.3 Isoterma de adsorção e dessorção de N_2 (BET)

As amostras foram tratadas a 90 °C por 24 horas na estufa para remoção de umidade, em seguida 200 mg da amostra foram acondicionados a um pré-tratamento no equipamento onde a amostra permaneceu a 200 °C por uma hora sob vácuo.

4.2.4 Difração de raios X (DRX)

Os espectros de difração de raios X dos dois catalisadores sólidos, AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ foram obtidos colocando-se em torno de 300 mg da amostra no porta amostra. Em seguida iniciou-se a análise com ângulo inicial de $\theta=5$ e final de $\theta=100$ com variação de 2 °/min. As análises foram realizadas para obter a caracterização estrutural dos catalisadores e a cristalinidade, composição e polimorfismo da amostra.

4.2.5 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL min⁻¹, numa faixa de temperatura de 25-900 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹. Estas análises foram realizadas com intuito de verificar se a calcinação das amostras foi eficiente, além de avaliar a estabilidade térmica do catalisador.

4.2.6 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Para análise por microscopia eletrônica de transmissão foi adicionado aproximadamente 1 mg do catalisador em um frasco de plástico de 5 mL. Posteriormente adicionou-se 3 mL de uma solução 40% etanol/água. A solução foi homogeneizada em um agitador *vortex* por 3 minutos e levada para um banho ultrassônico onde permaneceu por 15 minutos. Finalizado o tempo, o *ependorf* permaneceu em repouso por 5 minutos em ambiente protegido de luz. Com auxílio de uma micropipeta uma alíquota de 10 µL foi retirada do meio do *ependorf* e transferida para um porta amostra. Este foi colocado dentro de outro *ependorf* devidamente etiquetado e levado a estufa para secagem a temperatura de 80 °C, onde permaneceu por 24 horas.

As análises por microscopia eletrônica de transmissão foram realizadas através de um Microscópio Eletrônico de Transmissão Tecnai G2 Spirit TWIN. As amostras foram tratadas através do programa Image J para a obtenção de informações acerca do tamanho das partículas.

4.2.7 Espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)

As amostras do catalisador foram analisadas por ICP-OES na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo. As amostras do catalisador

foram digeridas em sistema aberto utilizando uma mistura de água régia e ácido fluorídrico na proporção 1:1 sob aquecimento em bloco digestor. A análise foi realizada com intuito de determinar a quantidade de ouro presente no catalisador.

4.2.8 Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)

Os experimentos e caracterização para a determinação do teor de ouro nos catalisadores foram desenvolvidos com parceira do grupo de pesquisa Laboratório de Instrumentação e Desenvolvimento em Química Analítica (LINQA) coordenado pelo Prof. Dr. Josué Carinhanha. Todo material utilizado para os experimentos foram previamente descontaminados em solução de HNO₃ 10%(v/v) e secos em temperatura ambiente.

O teor de ouro para ambos os sistemas (suportado e na forma *core-shell*) foi determinado por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama com uma lâmpada de cátodo oco de ouro (242,8 nm) na central analítica do Instituto de Química e Biotecnologia. Para os testes iniciais de digestão no forno micro-ondas (MW) foi preparada uma síntese do catalisador na ausência do precursor de ouro, após a secagem o material foi calcinado durante 4 horas a temperatura de 550 °C com uma taxa de aquecimento de 5 °C min⁻¹. O protocolo de digestão foi baseado no trabalho de NIEMELÄ et al., 2012, com as condições representadas na Tabela 5.

Tabela 5- Programa para digestão das amostras de nanopartículas por radiação micro-ondas.

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
I	15*	1000	T.A. - 200
II	10**	1000	200

Fonte: Autor, 2019.

T.A. = temperatura ambiente // *tempo de rampa de aquecimento // **tempo de patamar

Neste procedimento foram medidos 50 mg do material obtido (SiO₂) em triplicata e os mesmos foram digeridos com HNO₃:HCl (1:3) variando o volume de HF em 0,5 e 1,0 mL. Ao término da digestão os vasos de reação foram resfriados a temperatura ambiente e o volume obtido foi diluído em água deionizada para 25 mL.

Para o desenvolvimento do trabalho, foram avaliadas três estratégias distintas para o preparo das amostras, por via úmida. Para avaliação dos sistemas reacionais foram utilizadas 50,0 mg das amostras de nanopartículas. Na estratégia 1 (E1), adicionou-se 10,0 mL de HNO_3 2,0 mol L^{-1} e aplicou-se o procedimento de extração, empregando-se 30 min de agitação a 600 rpm, seguidamente, as amostras foram filtradas em membranas de acetato de celulose (0,45 μm). Para as estratégias 2 (E2) e 3 (E3), o procedimento de mineralização foi efetuado em sistema de digestão fechado por micro-ondas (MW) de alta pressão, equipado com 10 rotores (SK-10), empregando-se misturas de ácidos concentrados HNO_3 e HCl (1:3) e HNO_3 , HCl e HF (1:3:0,5), respectivamente. Na estratégia 2 (E2), adicionou-se 2,0 mL de HNO_3 65% (m/m), 6,0 mL de HCl 37% (m/m) e 1,0 mL de água ultrapura (condutividade < 0,1 $\mu\text{S cm}^{-1}$). A estratégia 3 (E3), diferiu da E2 na adição de 1,0 mL HF 48% (m/m) em substituição a água. Após adição dos reagentes, os reatores foram devidamente fechados e o programa de aquecimento (Tabela 5) foi iniciado.

As digestões em sistema fechado e pressurizado foram realizadas em triplicata ($n = 3$) e para cada procedimento, três reatores continham soluções do branco analítico. Finalizada as etapas mencionadas (Tabela 5) os reatores foram mantidos sob ventilação por 20 min e posteriormente abertos, sendo o material digerido arrefecido a temperatura ambiente. As soluções resultantes, após digestão, para E2, foram filtradas (0,45 μm), para separar a sílica não dissolvida, e diluídas para 25,0 mL com água ultrapura. Nas amostras tratadas sob a E3, foi adicionado 0,50 g de H_3BO_3 , em todos os sistemas, com intuito de neutralizar o excesso de HF presente no meio de reacional. A acidez residual dos digeridos foi determinada por volumetria ácido-base, utilizando solução padronizada de hidróxido de sódio (0,0900 mol L^{-1}) e fenolftaleína 1,0% (m/v), como indicador químico. As curvas analíticas (1,0 a 25 mg L^{-1} , $n = 7$) para determinação do ouro foram construídas a partir do sal precursor de ouro ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) utilizado para a síntese das nanopartículas. Para cada estratégia (E1-E3) foi preparada uma curva analítica, considerando a composição e a concentração final da mistura dos ácidos. Para fins de comparação uma amostra de uma síntese de AuNP/SiO_2 analisada por ICP-OES na Universidade de São Paulo, foi digerida através da aplicação do sistema E3 e analisada na metodologia desenvolvida para comparação nos resultados do teor de ouro.

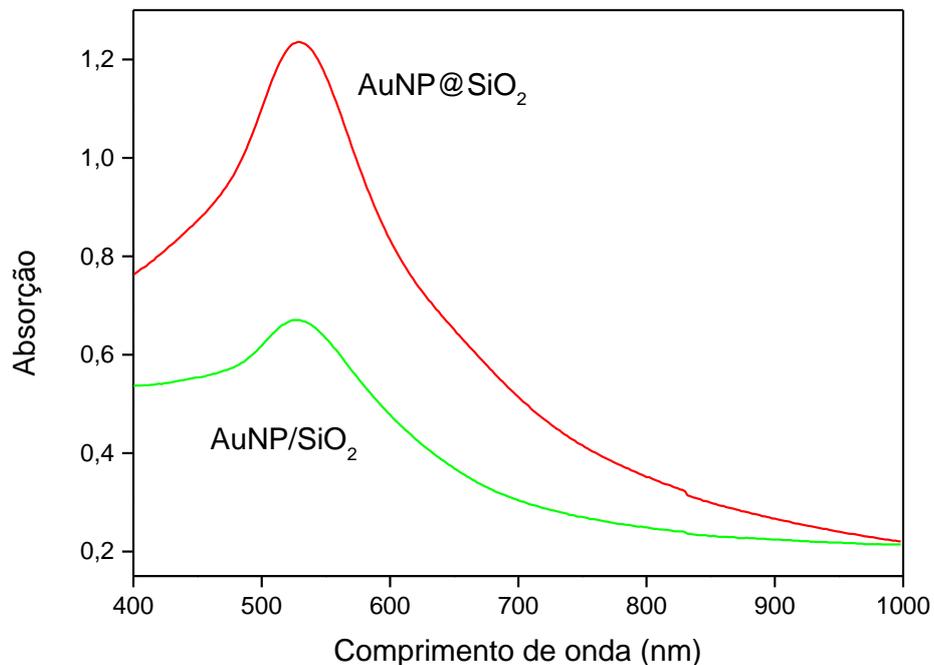
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As técnicas de caracterização dos catalisadores mostraram as propriedades dos materiais obtidos através das diferentes metodologias.

4.3.1 Espectroscopia por absorção na região do ultravioleta e visível (UV-vis)

A Figura 6 mostra os espectros de absorção no UV-Vis característico das AuNPs. No espectro obtido foi observada a banda de absorção de plásmon em torno de 520 nm típica da presença de AuNP no formato de esferas. Esta banda de absorção é relativa à oscilação coletiva dos elétrons da banda de condução promovida pelo campo elétrico da luz incidente na superfície das AuNP (EUSTIS e EL-SAYED, 2006; DANIEL e ASTRUC, 2004). É possível observar que a banda de absorção do catalisador na forma *core-shell* apresentou maior absorção de energia, quando comparado com AuNP/SiO₂ (2,09% ouro), possivelmente devido ao fato do catalisador AuNP@SiO₂ apresentar maior quantidade de AuNP (3,29%).

Figura 6- Espectro de UV-Vis característico das nanopartículas de ouro em sílica.



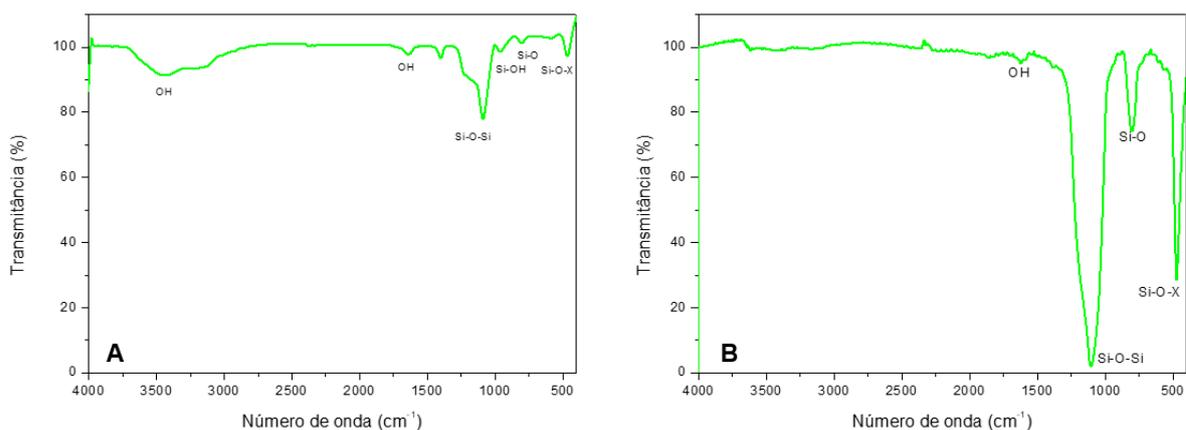
Fonte: Autor, 2019.

4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros obtidos na região do infravermelho mostram os grupos funcionais característicos dos catalisadores estudados **(A)**- AuNP/SiO₂ e **(B)**- AuNP@SiO₂, a Figura 7 mostra os espectros obtidos, onde é possível observar a presença de uma banda larga e de intensidade forte em ambos os espectros em torno de 1110 cm⁻¹ referente as vibrações de estiramento assimétricas (Si-O-Si), a banda em torno de 468 cm⁻¹ para ambos os catalisadores é atribuída a deformação plana da ligação X-O-X (sendo X= Si ou Au), em torno de 795 cm⁻¹ aparecem as bandas características da ligação (Si-O). Para o catalisador **(A)**- AuNP/SiO₂, foi observado uma banda de média intensidade em torno de 3450 cm⁻¹ referente ao estiramento dos grupos -OH presentes na estrutura da sílica. Estes dados corroboram com os trabalhos relatados na literatura para este tipo de material (CELEBI et al., 2016, COSTA et al., 2019).

Pelos espectros obtidos na análise de FTIR (Figura 7) é possível observar para o material **(A)**- AuNP/SiO₂ a presença da banda de estiramento referente aos grupos hidroxilas internos e externos na estrutura mesoporosa em 3450 cm⁻¹, já para o catalisador de **(B)**- AuNP@SiO₂ não há absorção nessa região, isso sugere que os grupos silanóis superficiais estão em menor quantidade sendo que parte já foram substituídos pelo ouro durante o processo de impregnação. O aumento da intensidade na banda em torno de 468 confirma essa informação, pois é referente ao estiramento assimétrico da ligação X-O-X (sendo X= Si ou Au), indicando assim menor índice de grupos -OH superficiais presentes na sílica.

Figura 7- Espectro de infravermelho dos catalisadores A- AuNP/SiO₂ e B-AuNP@SiO₂.



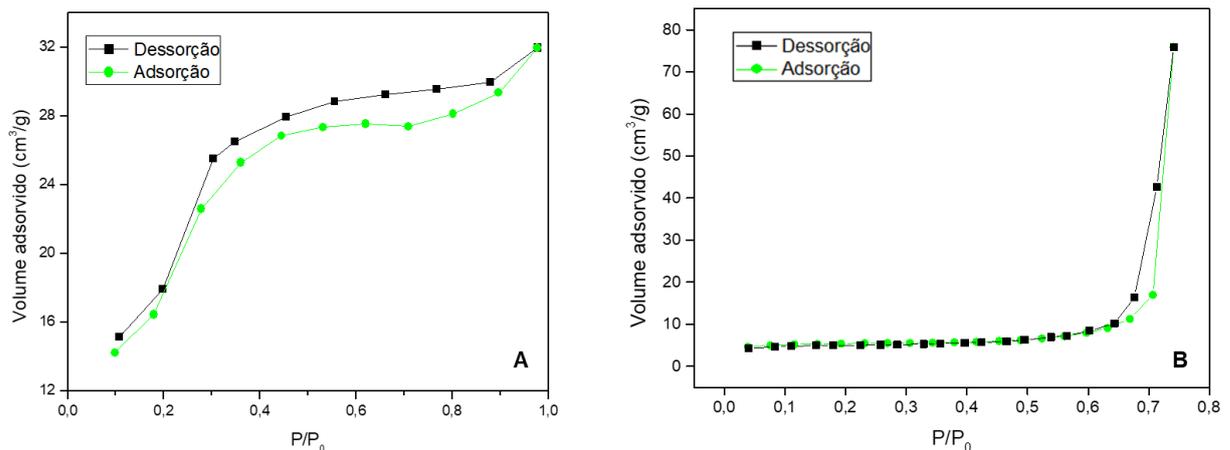
Fonte: Autor, 2019.

4.3.3 Isoterma de adsorção e dessorção de N₂ (BET)

A Figura 8 mostra as curvas de isoterma de adsorção e dessorção de nitrogênio dos catalisadores **A-AuNP/SiO₂** e **B-AuNP@SiO₂**. O material de **A-AuNP/SiO₂** apresentou uma isoterma do tipo IV, apresentando histerese tipo H1 conforme a classificação da IUPAC. Essa isoterma é característica de materiais mesoporosos com poros entre 20 e 500 Å (DONOHUE e ARANOVICH, 2008; MA et al., 2010). Já o catalisador composto por **B-AuNP@SiO₂** apresentou isoterma do tipo III, característico de materiais microporosos com poros menores que 20 Å.

Com estas análises foram determinadas também o volume de poro, diâmetro médio dos poros e área superficial dos catalisadores obtidos. Na Tabela 6 é possível observar as características dos materiais obtidos. As características do sólido A são semelhantes ao trabalho desenvolvido por HU et al., 2007, que obtiveram uma área superficial de 822,1 m² g⁻¹ para o catalisador contendo 1,5% de AuNP/SiO₂. Já para o sólido B, o menor valor de área superficial (16 m² g⁻¹) corrobora com os dados de FTIR em que há um menor número de grupos silanóis.

Figura 8- Isoterma de adsorção e dessorção dos catalisadores A-AuNP/SiO₂ e B-AuNP@SiO₂.



Fonte: Autor, 2018.

Tabela 6- Área superficial, volume e diâmetro de poro obtidos nas diferentes sínteses do catalisador de nanopartículas de ouro suportadas em sílica.

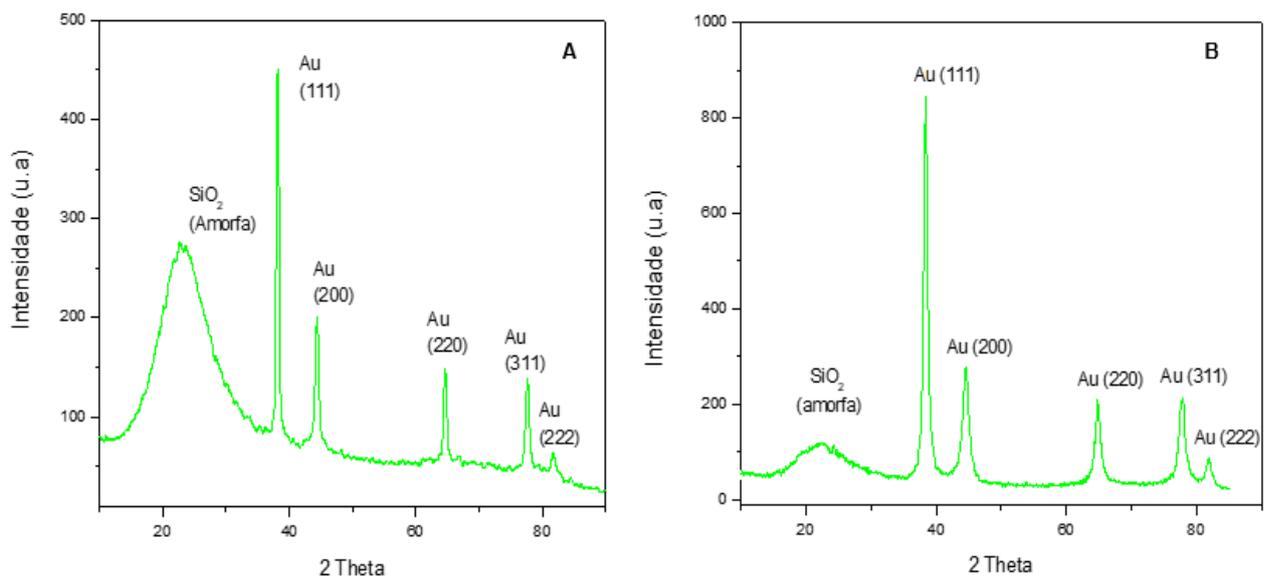
<i>Síntese</i>	<i>Área superficial (m²/g)</i>	<i>Volume poro (cm³/g)</i>	<i>Diâmetro poro (mm)</i>
AuNP/SiO ₂	943	0,15	3,24
AuNP@SiO ₂	16	0,12	2,58

Fonte: Autor, 2018.

4.3.4 Difração de raios x (DRX)

Nos espectros de DRX obtidos na análise dos catalisadores AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ representados na Figura 9, é possível observar picos cujos índices de Miller (111, 200, 220, 311, 222) são característicos do arranjo cúbico de face centrada do ouro, o que indica a cristalização do ouro, resultado este que corrobora com estudos já realizados para este tipo de material (HU et al., 2007; MA et al., 2009) de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS de número 04-0784 (CHEN et al., 2013).

Figura 9- Espectro de difração de raios x dos catalisadores A-AuNP/SiO₂ e B-AuNP@SiO₂.

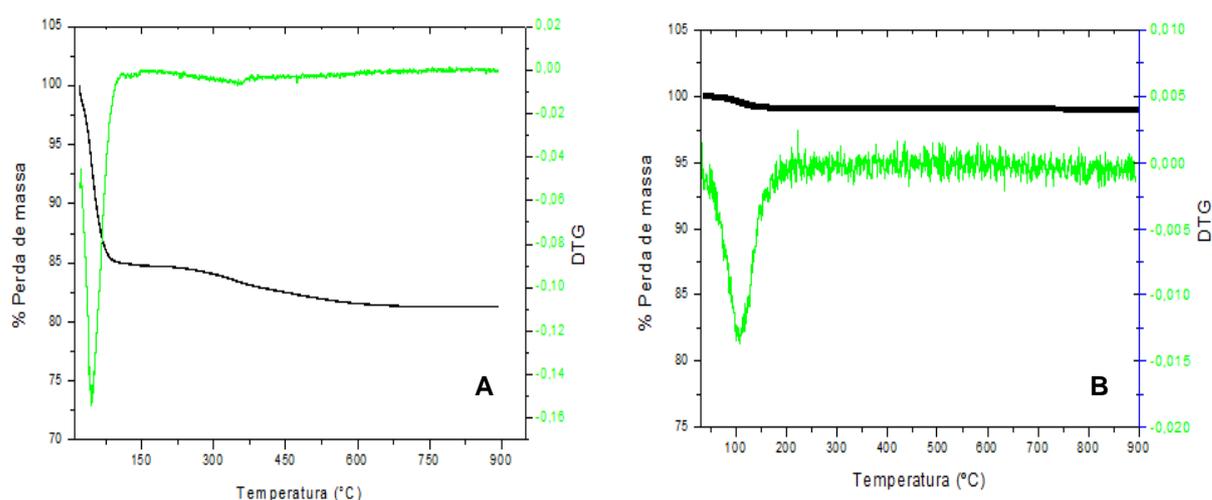


Fonte: Autor, 2018.

4.3.5 Análise termogravimétrica (TGA)

Através da análise termogravimétrica foi possível observar o comportamento térmico dos catalisadores de AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ quando submetido a uma rampa de aquecimento. Na Figura 10 (**A**-AuNP/SiO₂ e **B**-AuNP@SiO₂) estão demonstradas as análises termogravimétricas das amostras calcinadas a 550 °C por 4 horas. O termograma da análise **A**-AuNP/SiO₂ apresenta duas perdas de massa, uma perda de massa equivalente a 15,1% de caráter endotérmico entre 30 a 100 °C relacionada a eliminação da água absorvida presente na amostra e outra perda de 3,2% entre 200 a 750 °C referente ao carbono residual. Esta perda é semelhante a perda de massa encontrada por OLIVEIRA, L.C.F., 2011 que obteve uma perda 23,1% nas mesmas condições de síntese. Já o termograma da análise **B**-AuNP@SiO₂ apresenta duas perdas de massa, uma em torno de 0,9% de caráter endotérmico entre 30 a 100 °C relacionada a eliminação da água absorvida presente na amostra e outra perda de 0,2% entre 200 a 850 °C referente ao carbono residual e grupos silanóis

Figura 10- Análise termogravimétrica das amostras dos catalisadores de AuNPs A-AuNP/SiO₂ e B-AuNP@SiO₂.

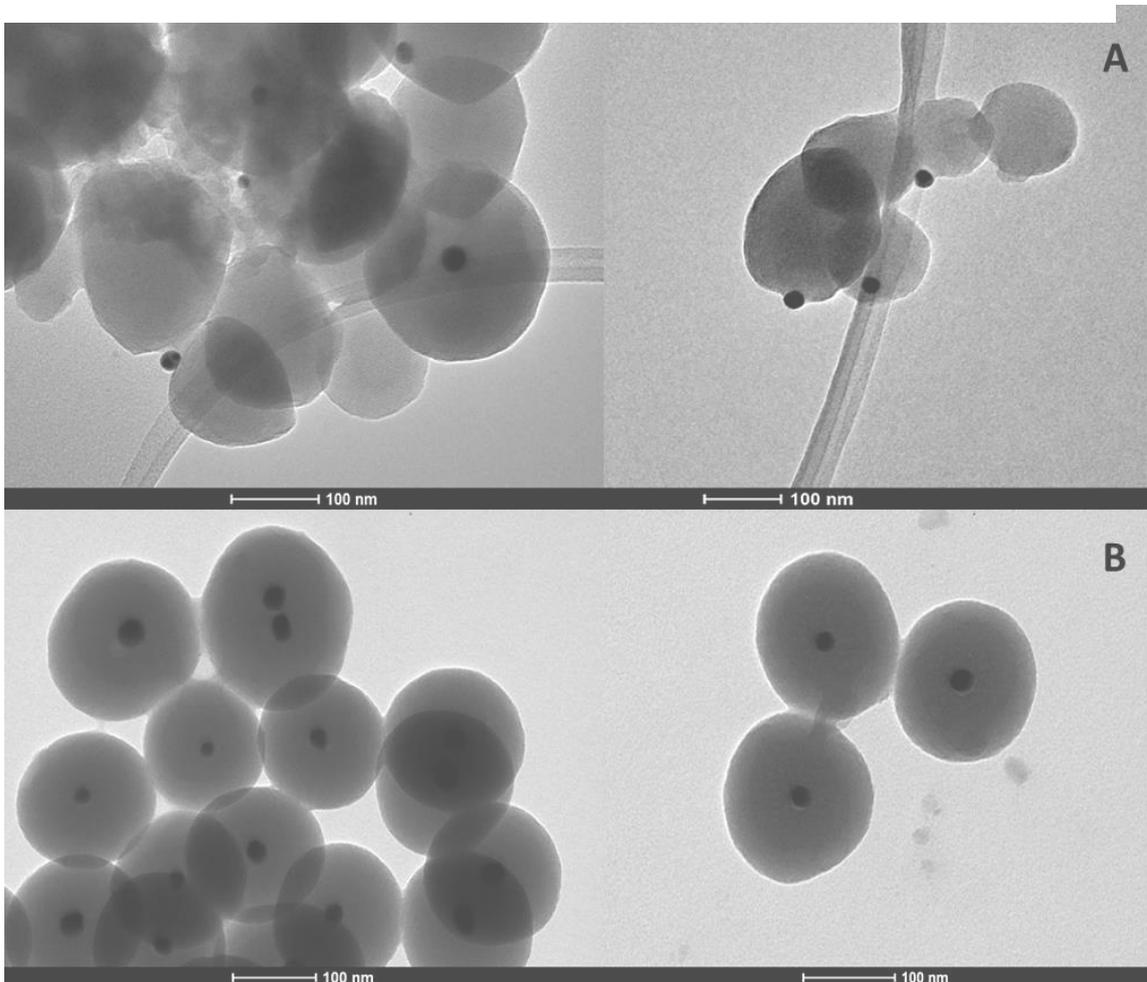


Fonte: Autor, 2018

4.3.6 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As imagens de MET na Figura 11, realizadas após a calcinação dos catalisadores mostram as nanopartículas estão suportadas nas partículas de sílica (**A**- AuNP/SiO₂) e na forma *core-shell* (**B**-AuNP@SiO₂). O tamanho médio das AuNPs foi estimado com auxílio do programa Image J. As AuNP/SiO₂ apresentam tamanho médio da ordem de 157 nm, sendo que as AuNPs apresentaram tamanho médio de 30 nm. No catalisador de AuNP@SiO₂ o tamanho médio obtido foi de 173 nm com as AuNPs no tamanho de 25 nm. Também foi possível observar que para síntese AuNP@SiO₂ foram obtidas partículas mais uniformes (esféricas) quando comparadas com a síntese AuNP/SiO₂.

Figura 11- Micrografias dos catalisadores de A- AuNP/SiO₂ e B- AuNP@SiO₂.



Fonte: Autor, 2018.

4.3.7 Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES)

O teor de Au obtido nas amostras do catalisador AuNP/SiO₂ determinado por ICP-OES realizada em duplicata foi de 1,82%. Esta análise foi realizada apenas para este catalisador com intuito de validar o método proposto por FAAS. De acordo com cálculos teóricos, a massa inicial de Au adicionada no sistema foi de 2,09%, portanto pode-se afirmar que ocorreram perdas na massa de Au durante o processo de síntese do catalisador.

4.3.8 Método proposto por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)

Na quantificação do teor de ouro por espectrometria de absorção atômica com chama os testes iniciais realizados com o material obtido (SiO₂), mostraram que ambos os volumes de HF testados (0,1 e 1,0 mL) solubilizam o material, fato este comprovado pela ausência de turbidez na solução final diluída em 25 mL de água deionizada. Para os estudos posteriores fixou-se o volume de HF para digestão em 1 mL com intuito de garantir total solubilidade ao material analisado.

Para a quantificação do teor de ouro total foram construídas três curvas analíticas de acordo com cada sistema, preparadas pelas misturas dos ácidos em cada estratégia de preparo da amostra. Para cada sistema foram obtidas as equações da reta e os coeficientes de correlação representados por:

$$E1 = 0,03336 (\pm 0,02235) CAu + 0,04824(\pm 0,00143), r = 0,9978$$

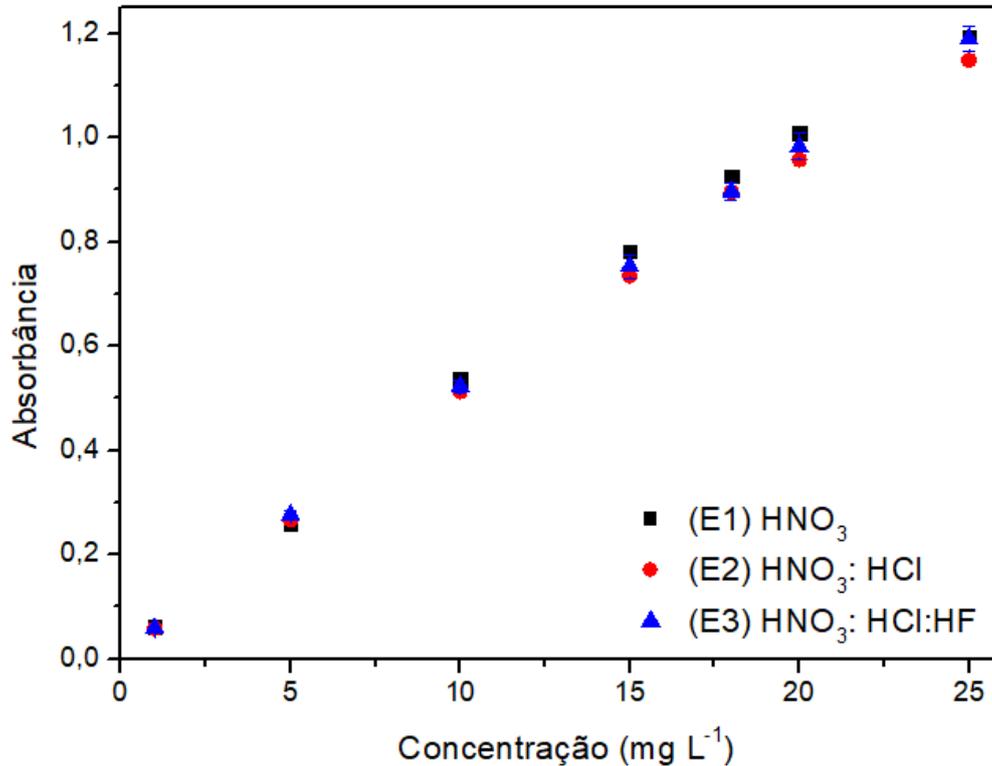
$$E2 = 0,03688 (\pm 0,01922) CAu + 0,04594(\pm 0,00123), r = 0,9982$$

$$E3 = 0,03515 (\pm 0,01396) CAu + 0,04718(\pm 0,00089), r = 0,9991$$

As curvas analíticas apresentaram coeficiente de correlação $\geq 0,9978$ indicando que existe relação linear, além de apresentaram sensibilidade semelhantes como mostra a Figura 12, nos diferentes sistemas (E1, E2 e E3) foi observado que não existe diferença significativa entre as curvas de acordo com os dados obtidos no ANOVA (Anexo A, pg. 150) a 95% de confiança ($F_{cal} = 0,008 < F_{crítico} = 3,5545$). Assim, optou-se por utilizar a curva em solução de HNO₃ 2 mol L⁻¹ para quantificação do ouro

em experimentos posteriores pelo fato de que esta estratégia utiliza apenas solução de HNO_3 , evitando também a utilização de outros ácidos como o HF.

Figura 12- Curvas de calibração obtidas através do preparo de amostra realizado para os 3 estratégias de digestão em avaliação.



Fonte: Autor, 2019.

A Tabela 7 apresenta a concentração de Au para cada uma das estratégias avaliadas, evidenciando-se que AuNP/SiO₂ apresentou menor teor de ouro médio (1,5% m/m) quando comparada com a AuNP@SiO₂ (2,7% m/m).

Tabela 7- Teor de ouro determinado nas nanopartículas por espectrometria de absorção atômica aplicando as diferentes estratégias (E) de preparo da amostra.

Amostra	Au / % (m/m)					
	AuNP/SiO ₂			AuNP@SiO ₂		
	E1	E2 (± 0,03)	E3 (± 0,07)	E1	E2	E3 (± 0,06)
A1	< LOD	1,56	1,51	< LOD	< LOD	2,65
A2	< LOD	1,56	1,43	< LOD	< LOD	2,74
A3	< LOD	1,62	1,57	< LOD	< LOD	2,75

Fonte: Autor, 2019. Estratégias (E): E1: HNO_3 2 mol L⁻¹ + 30 min de agitação a 600 rpm; E2: HNO_3 :HCl + MW; e E3: HNO_3 :HCl:HF + MW. LOD: 0,10 mg L⁻¹.

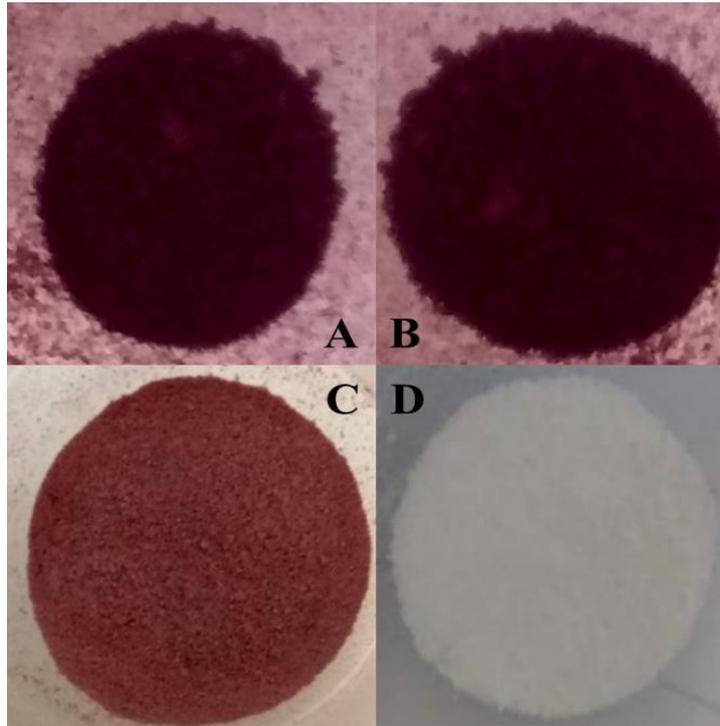
Para ambos os catalisadores (AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂) com a aplicação da E1 (HNO₃ 2 mol L⁻¹ + 30 min de agitação 600 rpm) não foi possível quantificar o ouro iônico (Au³⁺), o que indica a não existência de resquícios de ouro oxidado na estrutura da nanopartícula, e assim, evidenciando que o Au presente encontra-se preferencialmente reduzido (Au⁰) na superfície (AuNP/SiO₂) ou internalizado (AuNP@SiO₂).

Na digestão das amostras de AuNP@SiO₂ (Figura 13A) não foi possível quantificar o ouro pela E2 (HNO₃:HCl + MW- micro ondas), além disto, não foi observada a mudança de coloração do material sólido após filtração (Fig. 13B), constituindo um forte indicativo da presença das nanopartículas de ouro no interior do catalisador. De fato, através da comparação das imagens das amostras de AuNP@SiO₂ antes e após a digestão (Fig.13A e 13B, respectivamente) é possível observar que a condição proposta para a digestão não conseguiu extrair as nanopartículas de ouro presentes no interior da sílica.

Com o emprego da E2 (HNO₃:HCl + MW), usando água régia, foi possível quantificar o ouro apenas para a amostra AuNP/SiO₂, como previsto, uma vez que se encontra suportado na superfície da sílica. Após a digestão assistida por micro-ondas foi observado a presença de material no fundo do copo de digestão, este material foi removido por filtração e apresentou coloração branca (Fig. 13D) diferente da coloração inicial do catalisador contendo as nanopartículas de ouro (Fig. 13C).

Na comparação da amostra analisada por ICP-OES na USP foi obtido um teor de ouro de 1,82%, já na análise por espectrometria de absorção atômica em chama foi obtido um teor de ouro de 1,71%. Aplicando o teste t de *Student* foi observado que não existe diferença significativa entre as duas amostras.

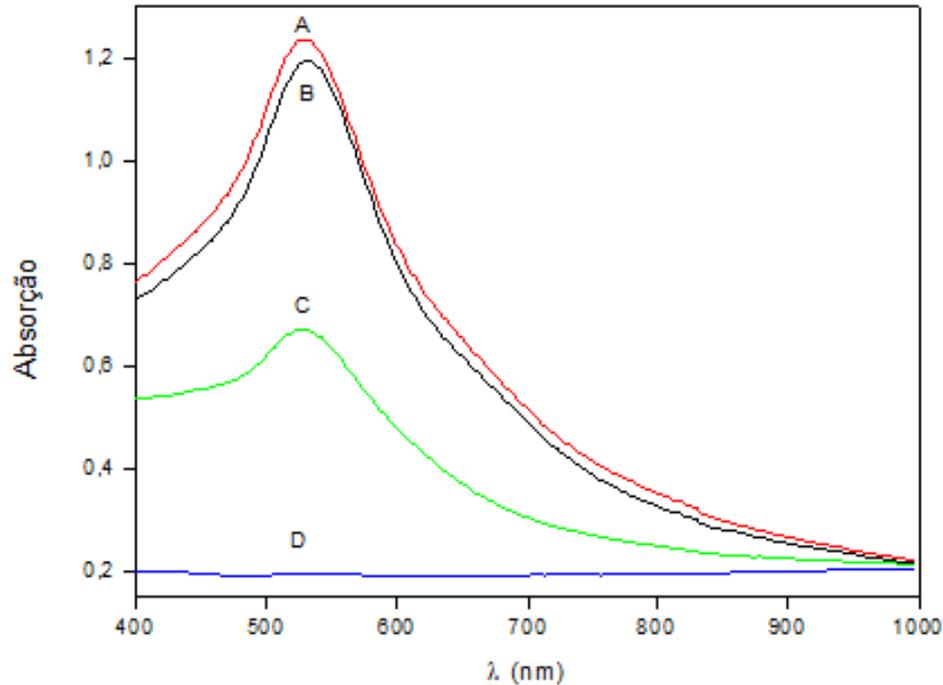
Figura 13- Imagens obtidas na avaliação dos sólidos: AuNP@SiO₂(A) antes e após (B) aplicação tratamento E2; e AuNP/SiO₂ antes (C) e após (D) o tratamento com E2.



Fonte: Autor, 2019.

Os sólidos AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ após aplicação da E2 foram secos e caracterizados por espectroscopia UV-vis no estado sólido conforme mostra os espectros obtidos para os sistemas avaliados (Figura 14). Nota-se que para as amostras de AuNP@SiO₂ a intensidade e o perfil da banda de absorção de plásmon de superfície em torno de 520 nm (antes e após a digestão), é similar e característico de nanopartículas de ouro no formato de esferas (TÖRNGREN, B. et al.,2014). Para a amostra AuNP/SiO₂ após o tratamento referente a E2 foi possível observar a ausência da banda de absorção de plásmon, indicando que todo ouro foi removido da superfície da amostra.

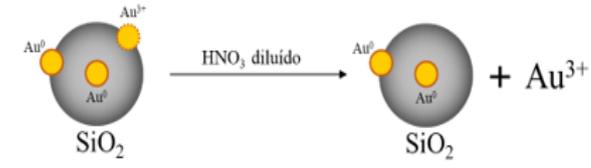
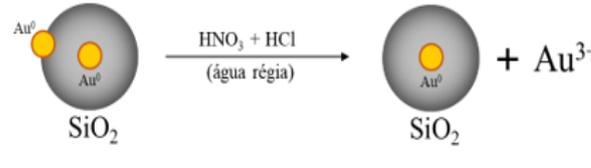
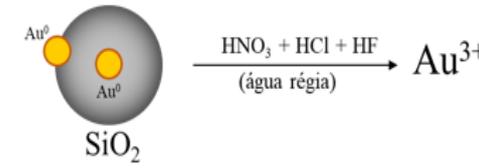
Figura 14- Espectros obtidos na avaliação dos sólidos: AuNP@SiO₂(A) antes e após (B) aplicação tratamento E2; e AuNP/SiO₂ antes (C) e após (D) o tratamento com E2.



Fonte: Autor, 2019.

Para E3 (HNO₃:HCl:HF + MW) o material foi completamente solubilizado após a digestão deixando o ouro reduzido disponível para quantificação, na forma de Au³⁺. Para a amostra AuNP/SiO₂ não foi observado diferença significativa aplicando teste t-pareado de *Student* (95% de confiança) entre o teor de Au (Tabela 7) aplicando a E2 e E3, uma vez, que o metal se encontra apenas na superfície. Contudo, para amostra AuNP@SiO₂, somente se quantificou o ouro, após o tratamento com a E3, confirmando que o metal está no interior protegido de sílica. Portanto, empregando diferentes estratégias de preparo de amostra em sistema úmido, foi possível caracterizar como o ouro está presente no nano material, assim como, realizar a quantificação do metal, como mostra a Figura 15.

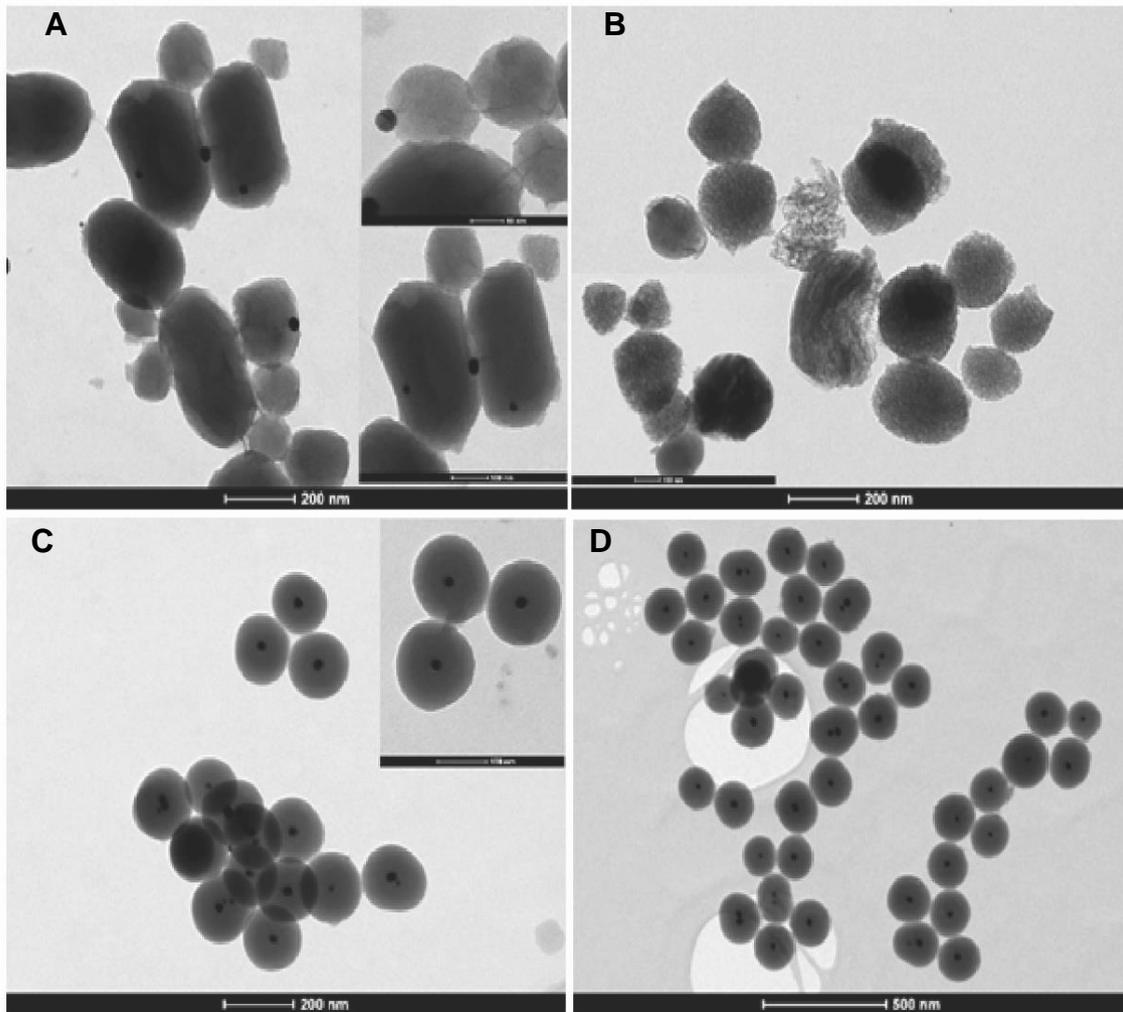
Figura 15- Estratégias e informações obtidas nos diferentes sistemas avaliados.

Estratégia	Composição	Informação obtida (Concentração de ouro)	Representação
E1	HNO ₃ diluído	Iônico	
E2	HNO ₃ + HCl (água régia)	Superficial	
E3	HNO ₃ + HCl (água régia) + HF	Total (superficial + core-shell)	

Fonte: Autor, 2019.

Adicionalmente, as amostras também foram caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) antes e após o tratamento com HNO₃:HCl (água régia), ou seja, E2. As micrografias apresentadas na Figura 16, indicam a presença das nanopartículas de ouro suportadas na sílica (AuNP/SiO₂) antes do tratamento (Fig.16A). Após o tratamento as micrografias mostraram que houve remoção das nanopartículas de ouro, também foi observado que o tratamento promoveu alteração na morfologia da sílica, pois há aumento da rugosidade da superfície e surgimento de possíveis nanoporos (Fig.16B). As Figuras 16C e 16D mostram que para a nanopartícula de ouro encapsulada em sílica (AuNP@SiO₂) não ocorreram mudanças estruturais, bem como é possível observar que as AuNPs estão distribuídas uniformemente no interior das nanopartículas de sílica.

Figura 16- Micrografias obtidas por MET antes e após tratamento com $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ (E2). A- AuNP/SiO₂ antes do tratamento e B após o tratamento. C- AuNP@SiO₂ antes do tratamento e D após o tratamento com E2.



Fonte: Autor, 2019.

4.4 Conclusões

A síntese dos catalisadores foi efetuada de forma satisfatória. Com as caracterizações foi possível observar que as propriedades de cada material sintetizado foram semelhantes, com diferentes metodologias de síntese. Observa-se a presença das AuNPs em ambos os materiais, em concentrações diferentes. O teor de Au na síntese do material de AuNP@SiO₂ foi maior que o AuNP/SiO₂. As imagens obtidas através do MET mostraram que as AuNP@SiO₂ apresentam um tamanho uniforme, além de terem maior presença de AuNPs.

No preparo de amostras por espectrometria de absorção atômica com chama concluiu-se através do teste ANOVA, que é possível quantificar o teor de ouro nos catalisadores utilizando uma curva analítica em solução de HNO_3 2 mol L^{-1} para aplicação de qualquer estratégia testada neste trabalho. Com a aplicação da E1 (HNO_3 2 mol L^{-1} + 30 min de agitação 600 rpm) foi possível afirmar que todo ouro adicionado para obtenção das nanopartículas foi reduzido ($\text{Au}^{3+} \rightarrow \text{Au}^0$). A combinação de E2 ($\text{HNO}_3:\text{HCl}$ + MW) e E3 ($\text{HNO}_3:\text{HCl}:\text{HF}$ + MW) confirmou o tipo nanopartícula sintetizada, ou seja, nanopartículas suportadas ou em forma de *core-shell*, e os resultados foram concordantes com as micrografias obtidas por MET e pela caracterização através da análise de UV-vis de sólido. Além disso, com a diferença entre E3 e E2 é possível determinar o teor de ouro presente na forma de *core-shell* em diferentes nanopartículas.

Artigo em submissão:

Characterization of Au in core/shell nanostructured materials: an alternative strategy based on sample preparation

Cristian José Giertyas^a, Victor Emanuel Santos Silva^a, Maria Janaína de Oliveira^b, Emerson dos Santos Freire^b, Josué Carinhanha Caldas Santos^b, Rusiene Monteiro de Almeida^a, Mario Roberto. Meneghetti^a, Janaína Heberle Bortoluzzi^a, ✉

^a Grupo de Catálise e Reatividade Química, Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Avenida Lourival de Melo Mota s/n, Campus A.C. Simões, 57072-900 Maceió, Alagoas, Brazil.

^b Laboratório de Instrumentação e Desenvolvimento em Química Analítica, Universidade Federal de Alagoas, Avenida Lourival de Melo Mota s/n, Campus A.C. Simões, 57072-900 Maceió, Alagoas, Brazil.

Seção V

ARTIGO II

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS
CROMATOGRÁFICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DOS PRODUTOS DA OXIDAÇÃO DO
ÁLCOOL BENZÍLICO

5.1 Desenvolvimento das metodologias analíticas por cromatografia gasosa

5.1.1 Experimental

Os experimentos foram desenvolvidos no grupo de pesquisa de Catálise e Reatividade Química (GCaR) no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), na Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

5.1.2 Equipamentos

- Cromatógrafo gasoso modelo GC-2010 da SHIMADZU (Japão), com injetor do tipo Split/Splitless, detector por ionização em chama (FID) injeção manual
- Cromatógrafo Gasoso Acoplado a espectrômetro de massas modelo GCMS-QP 2010 Plus da SHIMADZU (Japão)
- Balança analítica modelo AX 200 SHIMADZU (Japão), com resolução de 0,01 mg até 200 g
- Sistema de aquecimento composto por chapa de aquecimento modelo 752A da Fisaton (Brasil), com controle de temperatura e agitação
- Sistema de filtração MilliQ-Plus, Millipore® (EUA) composto por cilindro de pressurização, sistema SmartPak DQ3, lâmpada UV (185nm) tanque e sistema com filtro 0,22 μm , garantindo uma resistividade de 18,2 M Ω
- Reator Miniclave Inox- Buchi Ag/Switzerland (Suíça)
- Agitador de tubos Vórtex Global Trade Technology XH-CU (Brasil)
- Micropipetas KASVI (Brasil)
- Freezer marca Consul (Brasil)

5.1.3 Reagentes

A Tabela 8 indica os reagentes utilizados no respectivo trabalho com a especificação da pureza e procedência.

Tabela 8- Padrões e solventes utilizados no desenvolvimento dos métodos.

Reagente	Pureza	Origem/País
1,5-pentanediol		SIGMA – ALDRICH/Brasil
Ácido benzoico	≥ 99%	AK Scientific/EUA
Água deionizada	18,2 MΩ.cm	MILLIPORE/EUA
Álcool benzílico	≥ 99%	Dinâmica/Brasil
Benzaldeído	≥ 99%	SIGMA – ALDRICH/Brasil
Benzilbenzoato	≥ 99%	Oakwood Chemical
Carbonato de potássio	≥ 99,0 %	VETEC/Brasil
Hidróxido de sódio	≥ 98%	Dinâmica/Brasil
Tetrahidrofurano UV/HPLC	100%	Dinâmica/Brasil
Tolueno	≥ 99.5%	TÉDIA/Brasil

Fonte: Autor, 2018.

5.2 Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para os produtos da oxidação do álcool benzílico

Os produtos obtidos na reação foram analisados por cromatografia gasosa para sua identificação e determinação de seus respectivos rendimentos. Tolueno foi adicionado as amostras como padrão interno (**Método I**) e 1,5-pentanediol (**Método II**) e tetrahidrofurano (THF) como solvente. As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás com as condições representadas na Tabela 9 para os testes iniciais com o **método I**, e na Tabela 10 as condições aplicadas ao **método II**. Após o preparo dos padrões em THF e injeção no cromatógrafo determinou-se o tempo de retenção de cada composto em ambas as metodologias.

Tabela 9- Condições iniciais aplicadas no desenvolvimento do método I.

Método I	
Coluna	
Dimensões	13m x 0,25 mm D.I.
Fase líquida polietilenoglicol	Stabilwax®(RESTEK/EUA)
Espessura do filme	0,25 µm
Temperatura da coluna	
Temperatura inicial	60 °C - 1 min
Programa	40 °C/min até 240 °C – 2,0 min
Gás de arraste	Hidrogênio, UP
Fluxo do gás de arraste	2,5 mL min ⁻¹
Temperatura do injetor	250 °C
Volume de amostra injetado	0,5 µL
Razão de divisão	1:200
Detector	Ionização em chama
Temperatura do detector	250 °C

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 10- Condições iniciais aplicadas no desenvolvimento do método II.

Método II	
Coluna	
Dimensões	30m x 0,32 mm D.I.
Fase líquida polidimetilsiloxano	VF1MS (Varian®/EUA)
Espessura do filme	1,0 µm
Temperatura da coluna	
Temperatura inicial	90 °C - 1 min
Programa	40 °C/min até 170 °C – 0,5 min 80 °C/min até 300 °C – 1,10 min
Gás de arraste	Hidrogênio, UP
Fluxo do gás de arraste	2,3 mL min ⁻¹
Temperatura do injetor	250 °C
Volume de amostra injetado	0,5 µL
Razão de divisão	1:20
Detector	Ionização em chama
Temperatura do detector	300 °C

Fonte: Autor, 2019.

O **método I** foi otimizado através da variação de fluxo em 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mL min⁻¹ e variação de taxa de aquecimento da coluna nas temperaturas de 70, 80, 90 e 100 °C min⁻¹. Após a otimização do método testou-se outra coluna com as

mesmas especificações, porém com 5 metros de comprimento. O **método II** foi otimizado através da variação de fluxo em 2,2; 2,3; 2,4; 2,5; 2,6; e 2,7 mL min⁻¹ e taxa de aquecimento da coluna nas temperaturas de 30, 40 e 50 °C min⁻¹. As otimizações do **método II** foram realizadas em acordo com a resolução entre os picos de álcool benzílico e 1,5-pentanediol que apresentaram tempos de retenção mais próximos.

A determinação das concentrações das amostras foi realizada pelo método do fator de resposta do detector e padrão interno de acordo com a Equação 02:

$$\text{Concentração \%} = \frac{m_{PI} \times AX_S \times F_R}{A_{PI} \times m_S} \times 100 \quad \text{Equação 02}$$

Onde: F_R é o fator de resposta, m_{PI} é a massa do padrão interno (g); AX_S é a área de cada padrão externo a ser analisado (álcool benzílico, benzaldeído, ácido benzoico e benzilbenzoato); A_{PI} é a área do pico do padrão interno e m_S é a massa da amostra. O fator resposta F_R foi determinado todos os dias através da fórmula representada na Equação 03, utilizando os padrões externos e o padrão interno respectivo para cada método.

$$F_R = \frac{m_S \times A_{PI}}{A_S \times m_{PI}} \times 100 \quad \text{Equação 03}$$

A seletividade dos métodos foi avaliada através da injeção de uma amostra padrão no GC-MS com as condições apresentadas na Tabela 11. Os espectros obtidos para cada padrão foram comparados com os espectros da biblioteca do equipamento.

Tabela 11- Condições aplicadas na determinação da seletividade do método I e II.

Método GC-MS Seletividade	
Coluna	
Dimensões	60m x 0,25 mm D.I.
Fase líquida	100 % polidimetilsiloxano
OHIO VALLEY OV1 (EUA)	
Espessura do filme	0,25 µm
Temperatura da coluna	
Temperatura inicial	80 °C
Programa	10 °C/min até 160 °C 30 °C/min até 270 °C – 3,33 min
Gás de arraste	Hélio, UP
Fluxo do gás de arraste	M.I 3,0 mL min ⁻¹ M.II 2,0 mL min ⁻¹
Temperatura do injetor	240 °C
Volume de amostra injetado	0,5 µL
Razão de divisão	1:30
Detector	MS
Temperatura do detector	240 °C

Fonte: Autor, 2019.

A linearidade do **método I** foi avaliada construindo uma curva analítica em THF nas concentrações: 0,001; 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,12; 0,14; 0,16; 0,18 e 0,2 g mL⁻¹ que foram avaliadas em triplicata. **No método II** a linearidade foi avaliada através da construção da curva de calibração nas concentrações de 0,0001; 0,00025; 0,0005; 0,001; 0,0015; 0,002; 0,005; 0,008 e 0,01g mL⁻¹ avaliadas em duplicata.

As curvas analíticas foram obtidas a partir da razão entre as áreas de pico do padrão de interesse e a área do pico do padrão interno versus a concentração dos padrões (g mL⁻¹). O coeficiente de correlação linear (r) foi utilizado para avaliar a linearidade dos métodos.

Para a validação do **método I** foi utilizada uma amostra de reação contendo onde foi fortificada com os padrões de interesse e realizado os testes de recuperação. Com os valores obtidos aplicou-se o teste de Grubbs e determinou-se o desvio padrão e CV do conjunto de dados. O coeficiente de variação adotado para os ensaios foi obtido através da curva de Horwitz (Onde $\log C$ = gramas do analito/grama de amostra) de acordo com a Equação 04.

$$CV(\%) = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Equação 04

A precisão dos métodos foi avaliada através da precisão instrumental onde no **método I** preparou-se uma solução de 0,1 g mL⁻¹ (nível intermediário) com adição de padrão interno a partir de uma amostra obtida na reação de oxidação do álcool benzílico. A amostra real utilizada para todos os testes de validação do método I era composta por: 0,0018 g de benzaldeído, 0,0095 g de álcool benzílico, 0,0019 g de ácido benzoico e 0,0017 g de benzilbenzoato. No **método II** foram avaliados dois níveis de concentração menor e maior (0,0015 e 0,01 g mL⁻¹). As amostras foram analisadas 10 vezes.

A precisão intermediária foi realizada em dias diferentes, com outro analista, no **método I** através da injeção de uma solução 0,1 g mL⁻¹ com adição de padrão interno a partir de uma amostra real obtida na reação de oxidação do álcool benzílico 10 vezes. E no **método II** foram avaliados dois níveis de concentração menor e maior (0,0015 e 0,01 g mL⁻¹). As amostras foram analisadas 10 vezes.

A precisão intra ensaio no **método I** foi avaliada com a injeção de uma solução 0,1 g mL⁻¹ com adição de padrão interno a partir de uma amostra real obtida na reação de oxidação do álcool benzílico obtidas em 10 preparações. No **método II** foram avaliados dois níveis de concentração menor e maior (0,0015 e 0,01 g mL⁻¹) em 10 preparações.

A determinação do LOD foi determinada através da relação sinal/ruído onde uma amostra de concentração conhecida foi diluída sucessivamente até a razão sinal/ruído de 3:1 ser identificada. Para o LOQ foi estabelecido o primeiro ponto da curva de calibração de cada método.

Na recuperação dos métodos foram avaliados três níveis de concentração para o **método I** e no **método II** foram avaliados dois níveis. Os valores de recuperação foram obtidos através da Equação 05. As amostras fortificadas foram analisadas em quintuplicatas.

$$Recuperação (\%) = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100$$

Equação 05

Onde: C₁ é a concentração do analito na amostra fortificada;

C₂ concentração do analito na amostra não fortificada;

C_3 é a concentração do analito adicionada a amostra fortificada.

Para a robustez do método (parâmetro opcional de validação) foram avaliadas as variações do método em relação a pequenas modificações do método original. No **método I** foram avaliadas modificações no volume de injeção, fluxo de fase móvel, taxa de aquecimento da coluna, solvente de preparo de amostra, além de testes com diferentes catalisadores: AuNP/SiO₂, Au-2,5%Pt2,5%/MWNT(catalisador de ouro 2,5% e platina 2,5% suportados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas), Au-5,0%Pt5,0%/MWNT (catalisador de ouro 5,0% e platina 5,0% suportados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas) e Au-7,4%Pt7,4%/MWNT(catalisador de ouro 7,4% e platina 7,4% suportados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas).

No **método II** foram avaliados fluxo de fase móvel, taxa de aquecimento e a aplicação de 8 diferentes catalisadores: AuNP/SiO₂, AuNP@SiO₂, Au 5,0%Pt5,0%/MWNT (catalisador de ouro 5,0% e platina 5,0% suportados em nanotubos de carbono de paredes múltiplas), Au-2,5%Pt2,5%/MWNT, Au-7,4%Pt7,4%/MWNT, Pt2,5%/MWNT (catalisador de platina 2,5% suportado em nanotubos de carbono de paredes múltiplas) e Pt5,0%/MWNT (catalisador de platina 5,0% suportado em nanotubos de carbono de paredes múltiplas) utilizados no grupo de pesquisa.

5.3 Testes Catalíticos

O sistema representado na Figura 17 (reator, chapa de aquecimento com monitoramento da temperatura com uso de termômetro, banho de óleo) mantido o mesmo em todas as reações com intuito de minimizar erros operacionais.

Figura 17- Sistema de reação para oxidação do álcool benzílico.



Fonte: Autor, 2018.

Para os testes catalíticos iniciais, foram adicionados 10 mL de álcool benzílico e 50 ou 200 mg de catalisador (AuNP/SiO_2) em um reator do tipo autoclave de 50 mL. Em seguida, foi realizado teste de vazamento no reator com purga de ar sintético, onde a pressão do sistema foi monitorada por aproximadamente 4 minutos. Decorrido este tempo, o reator foi despressurizado e realizado vácuo no sistema. A conexão de oxigênio foi realizada no reator, adicionando oxigênio sob pressão de 5 bar em fluxo contínuo. O reator foi colocado sob aquecimento e agitação nas temperaturas estudadas através de um banho de óleo previamente aquecido. Ao término da reação, o reator foi resfriado em um banho de gelo e despressurizado. As amostras foram colocadas em um tubo *falcon* com capacidade de 15 mL e em seguida o catalisador foi separado por centrifugação a 5000 rpm por 10 minutos. Após a reação, as amostras foram guardadas em um freezer na temperatura de 4 °C.

Para maior controle do sistema reacional a reação de oxidação do álcool benzílico na ausência de base e catalisador foi repetida 5 vezes para determinar o erro da reação.

Na otimização da reação de oxidação do álcool benzílico, foi realizado um planejamento experimental completo 2^3 , onde foram avaliados: tempo de reação (1-3 horas), temperatura (120-150 °C) e quantidade de catalisador (50-200 mg), com a execução de um ponto central em duplicata. Este planejamento gerou um total de 10 experimentos. O planejamento de Doehlert foi realizado avaliando tempo e temperatura de reação. O tempo de reação foi avaliado em três níveis: 1, 3 e 5 horas e a temperatura foi avaliada em 5 níveis: 140, 150, 160, 170 e 180 °C. Este

planejamento gerou um total de 8 experimentos com a execução do ponto central em duplicata. No planejamento experimental optou-se por não utilizar a base (K_2CO_3) nas reações.

Com as melhores condições reacionais estabelecidas nos testes iniciais para o catalisador de AuNP/SiO₂, avaliou-se a presença de base no sistema reacional em diferentes proporções, uma vez que a presença de base promove uma melhoria nas conversões catalíticas. Definida as condições ideais de reação, o catalisador de Au-0,25%Pd-0,55% (comercial) foi escolhido para a otimização das condições estequiométricas da reação e utilização de água no sistema reacional.

As reações em meio aquoso, foram realizadas com diluições na quantidade de álcool benzílico, de acordo com sua solubilidade em água. Os testes foram executados mantendo a estequiometria da reação.

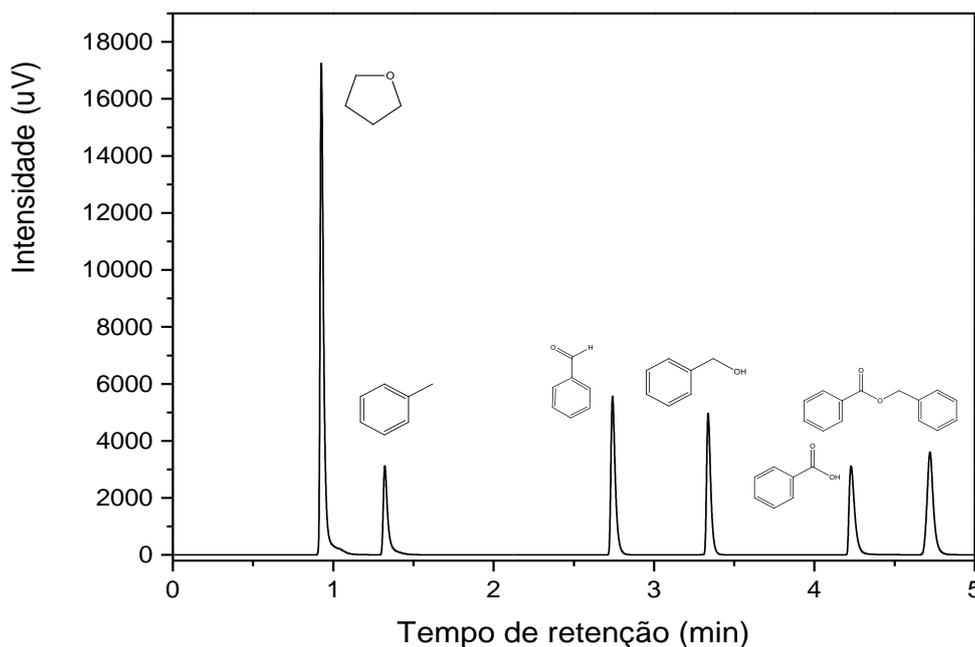
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1 Desenvolvimento e validação do método I (coluna polar)

Com a injeção dos padrões individuais na concentração de $0,01 \text{ g mL}^{-1}$ e determinação do tempo de retenção de cada padrão externo (benzaldeído - 2,74 min, álcool benzílico - 3,32 min, ácido benzoico - 4,22 min, benzilbenzoato - 4,71 min) e o padrão interno tolueno (1,32 min), foi obtido o cromatograma da mistura de todos os padrões externos e o padrão interno representado na Figura 18.

Para a otimização do método foi considerado o tempo de análise como requisito para obtenção das condições ideais, uma vez que, os compostos estão completamente separados apresentando valores de resolução acima do estabelecido ($\geq 1,50$) para identificação e quantificação.

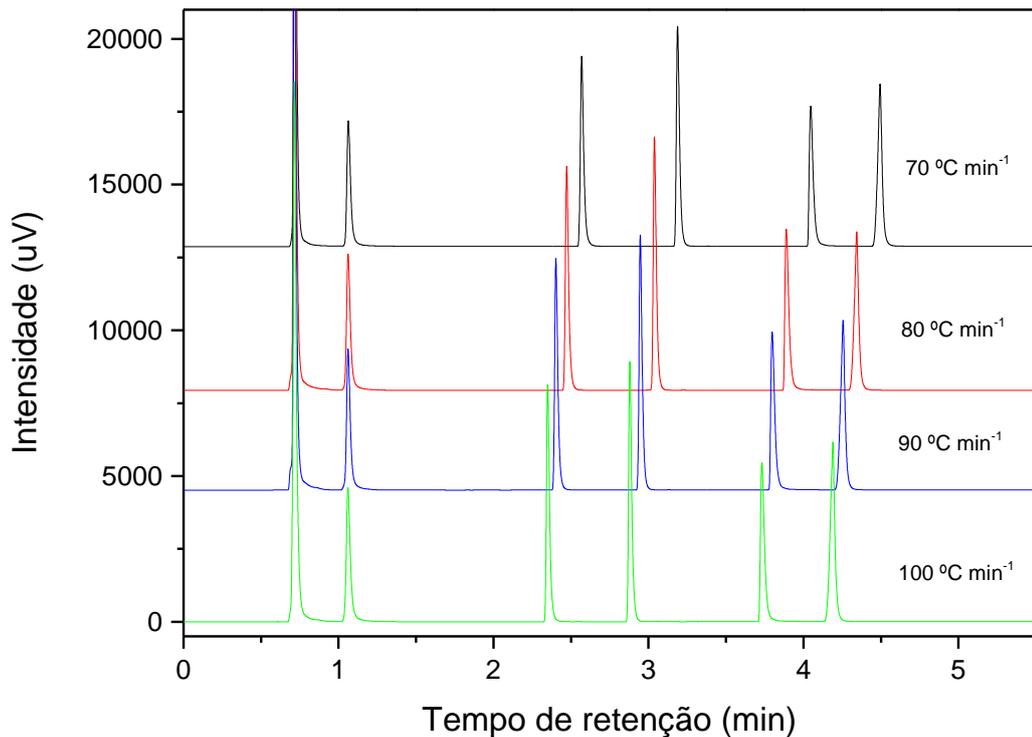
Figura 18- Cromatograma obtido da análise dos produtos de oxidação do álcool benzílico e tolueno.



Fonte: Autor, 2018.

Após a identificação dos tempos de retenção dos compostos a otimização do método iniciou-se com o estudo da taxa de aquecimento. A Figura 19 representa os cromatogramas obtidos com as alterações da taxa de aquecimento nas diferentes temperaturas avaliadas ($70, 80, 90$ e $100 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$).

Figura 19- Cromatograma obtido na avaliação da taxa de aquecimento.

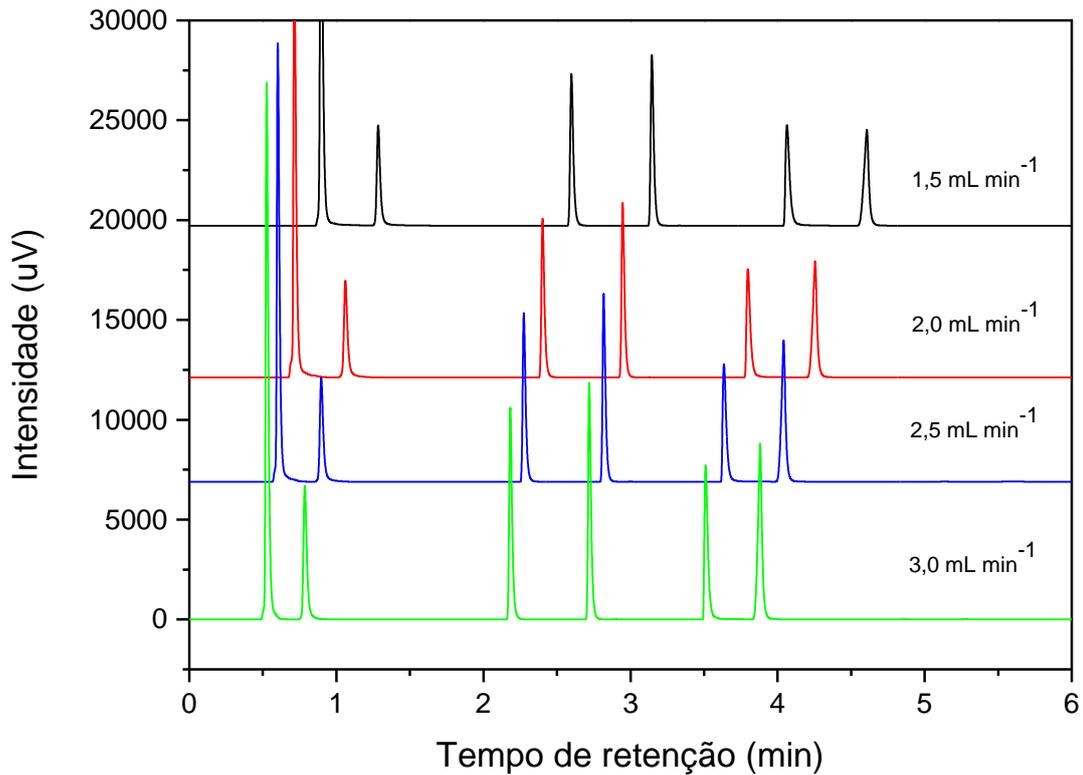


Fonte: Autor, 2019.

Como pode ser visto na Figura 19, é possível observar que o aumento da taxa de aquecimento promove uma diminuição do tempo de retenção dos compostos, logo do tempo de análise, portanto foi escolhida 100 °C min⁻¹ como taxa de aquecimento para dar andamento a otimização.

Na sequência, foi feito o estudo da variação do fluxo em diferentes níveis: 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mL min⁻¹. Os cromatogramas representados pela Figura 20 mostram que o aumento do fluxo promoveu uma redução do tempo de análise ainda maior, sem comprometer a separação dos compostos, portanto foi escolhido a taxa de 3,0 mL min⁻¹ para dar andamento ao estudo.

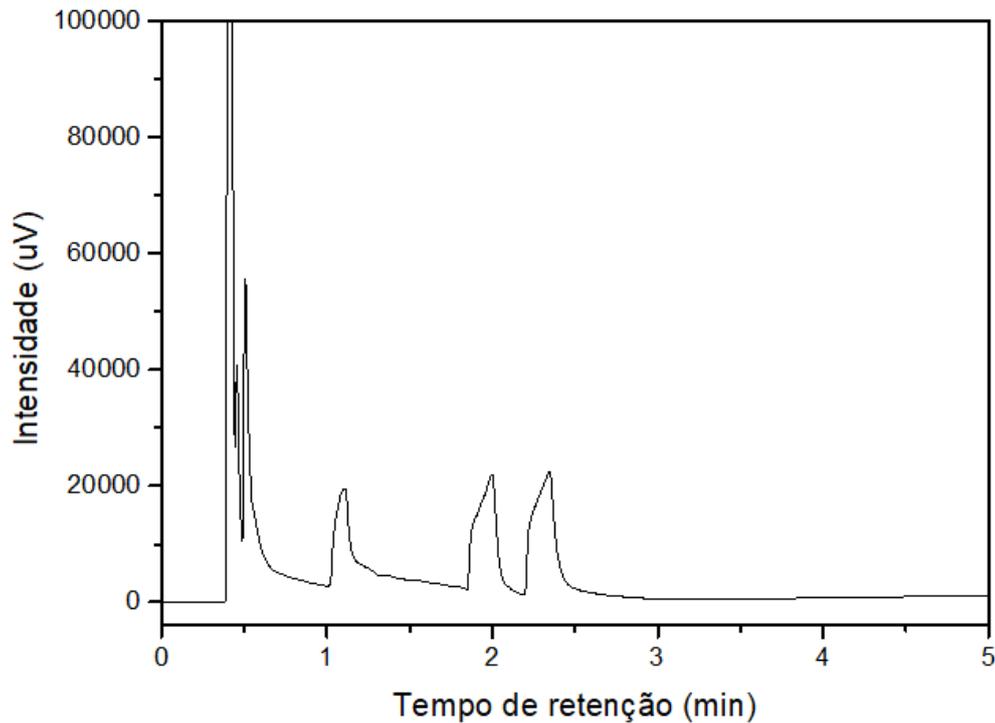
Figura 20- Avaliação do fluxo para otimização do método cromatográfico.



Fonte: Autor, 2019.

Na sequência foi feito um teste tentando diminuir o comprimento da coluna para 5 metros, porém, notou-se que a separação não foi eficiente quando comparado com a coluna de 13 metros, pois não houve a separação dos compostos conforme o cromatograma representado na Figura 20. Isto ocorreu devido a redução do número de pratos teóricos o que ocasionou picos largos com cauda frontal e baixa resolução entre os compostos como demonstrado na Figura 21 e na Tabela 12.

Figura 21- Cromatograma obtido na análise dos padrões de oxidação do álcool benzílico com coluna de 5 metros.



Fonte: Autor, 2019.

Tabela 12- Comparação do número de pratos teóricos das colunas testadas.

	Coluna 13 m	Coluna 5 m
<i>Pratos teóricos</i>		
<i>Tolueno</i>	5648,451	4456,937
<i>Benzaldeído</i>	57881,947	1830,356
<i>Álcool benzílico</i>	91147,398	745,862
<i>Ácido benzoico</i>	103405,073	946,421
<i>Benzilbenzoato</i>	111664,670	1174,444

Fonte: Autor, 2019.

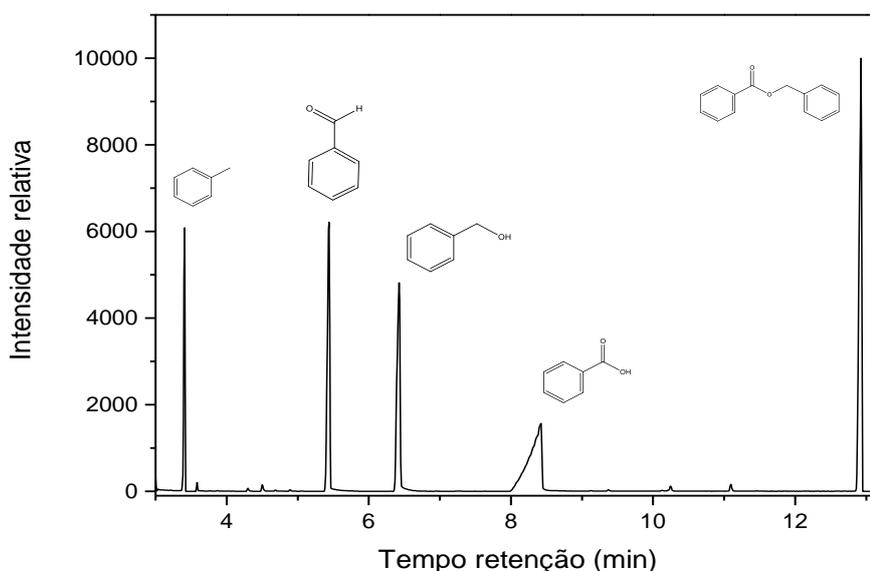
O número de pratos teóricos (n) foi calculado de acordo com a Equação 06:

$$n = 16(t_R|W_b)^2 \quad \text{Equação 06}$$

Onde: t_R é o tempo de retenção, e W_b a largura da base do pico.

Portanto optou-se por utilizar uma coluna de 12 metros e o método foi validado inicialmente com a determinação da seletividade que foi avaliada através do uso de um detector de espectrometria de massas, e posterior identificação dos compostos através dos seus respectivos espectros. Os espectros obtidos foram comparados com os espectros da biblioteca (Anexo B, pg. 151), do equipamento (NIST08–2008) obtendo similaridade $\geq 95\%$. Na Figura 22 é possível observar que o método proposto é seletivo, sendo possível identificar todos os compostos de interesse do método (tolueno, benzaldeído, álcool benzílico, ácido benzoico, benzilbenzoato).

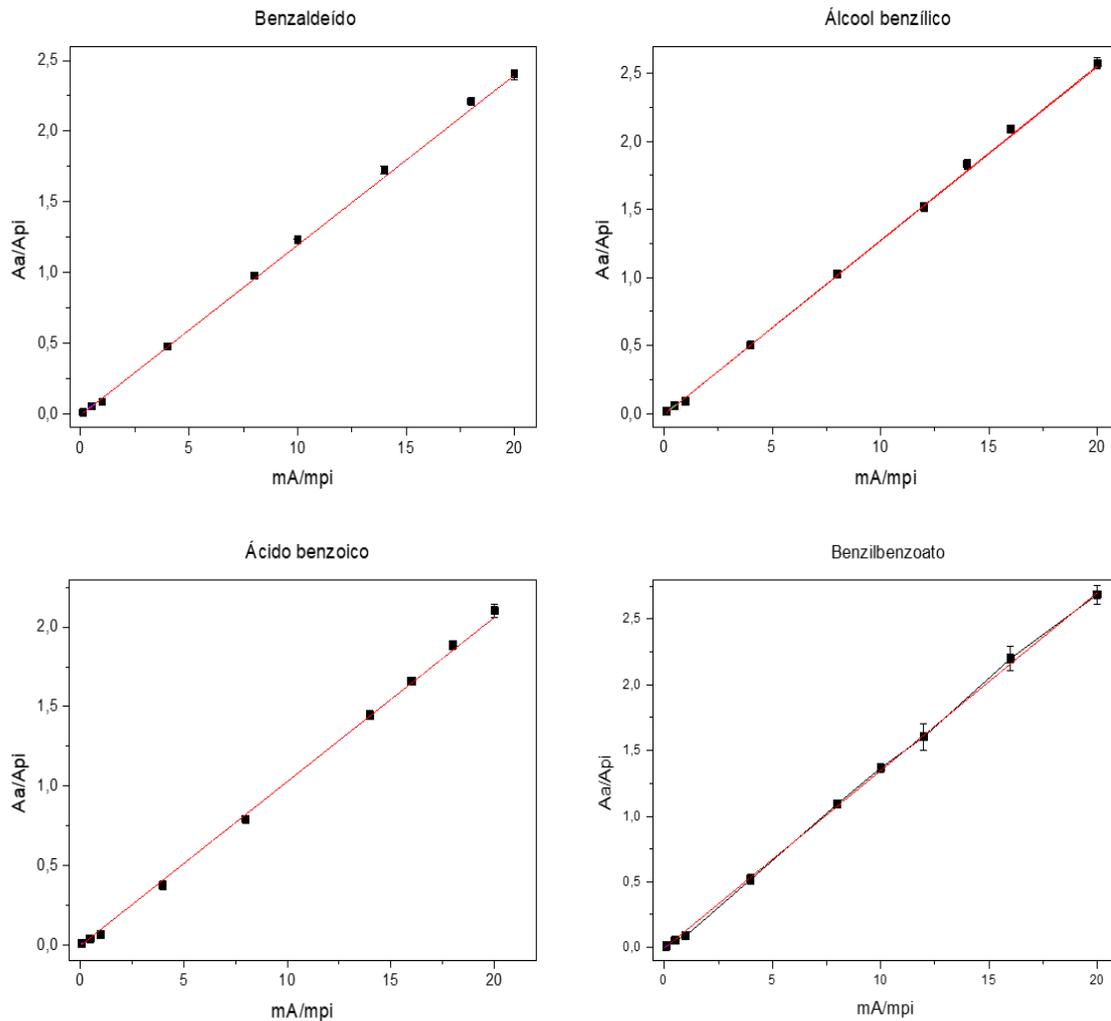
Figura 22- Cromatograma dos padrões externos obtidos por GC-MS.



Fonte: Autor, 2019.

Após a determinação da seletividade do método foram obtidas as curvas analíticas representadas na Figura 23. As curvas analíticas foram construídas no Origin 9.0[®] (ampliação no Anexo C, pg. 152), onde foram obtidas as equações da reta e os valores dos coeficientes de correlação linear para cada padrão analítico, conforme Tabela 13.

Figura 23- Curvas de calibração interna obtidas para os padrões analíticos, benzaldeído, álcool benzílico, ácido benzoico e benzilbenzoato, utilizando tolueno como padrão interno.



Fonte: Autor, 2018.

Tabela 13- Coeficientes de correlação e equações da reta obtidos nas curvas analíticas.

Padrões analíticos	r	Equação
Benzaldeído	0,9957	$y = -0,009 \pm 0,00436 + x(0,1203 \pm 0,00422)$
Álcool benzílico	0,9972	$y = -0,008 \pm 0,00565 + x(0,1277 \pm 0,00364)$
Ácido benzoico	0,9990	$y = -0,00763 \pm 0,00456 + x(0,10349 \pm 0,00175)$
Benzilbenzoato	0,9980	$y = -0,00643 \pm 0,00283 + x(0,13528 \pm 0,00321)$

Fonte: Autor, 2018.

A linearidade do método proposto apresentou valores de coeficientes de correlação “r” considerados bons (0,9957 a 0,9990) de acordo com a classificação do INMETRO DOQ-CGCRE-008 (2018) que afirma que quanto mais próximo de 1 o valor de “r” estiver maior a relação linear obtida.

Os limites de detecção (LOD) obtidos através da relação sinal/ruído, estão representados na Tabela 14 e estão na faixa de 0,00002 a 0,00005 g mL⁻¹. O LOQ foi determinado com base na menor concentração de calibração da curva analítica.

Tabela 14- Limite de detecção e limite de quantificação obtidos através da diluição de amostras e relação sinal/ruído.

Padrão	LOD (g mL⁻¹)	LOQ (g mL⁻¹)	Faixa linear (g mL⁻¹)
Benzaldeído	0,00002	0,001	0,001- 0,2
Álcool benzílico	0,00002	0,001	0,001 -0,2
Ácido benzoico	0,00005	0,001	0,001- 0,2
Benzilbenzoato	0,00002	0,001	0,001- 0,2

Fonte: Autor, 2018.

A Tabela 15 mostra os CV obtidos na determinação da precisão (precisão instrumental, precisão intra ensaio e precisão intermediária). Com os valores de área corrigida com o padrão interno, determinou-se o desvio padrão e coeficiente de variação do conjunto de dados.

Tabela 15- Precisão do método I, avaliada através da precisão instrumental, precisão intra ensaio e precisão intermediária.

Padrão	Precisão instrumental		Precisão intra-ensaio		Precisão intermediária	
	Desvio	CV%	Desvio	CV%	Desvio	CV %
Benzaldeído	0,0041	2,51	0,0061	3,65	0,0026	1,63
Álcool benzílico	0,0204	2,12	0,0218	3,25	0,0238	2,55
Ácido benzoico	0,0007	3,23	0,0008	3,51	0,0007	2,95
Benzilbenzoato	0,0001	2,50	0,0001	3,44	0,0001	1,85

Fonte: Autor, 2018.

Na precisão instrumental foram obtidos coeficientes de variação $\leq 3,23\%$, na precisão intra ensaio valores $\leq 3,65\%$ e na precisão intermediária $\leq 2,95\%$. Estes

resultados estão de acordo com os CV estabelecidos através da curva de Horwitz no intervalo de concentração avaliado. Conclui-se que a metodologia proposta é precisa, uma vez que os valores de desvio padrão e CV obtidos foram $\leq 3,65\%$ indicando que os parâmetros avaliados apresentam um conjunto de dados homogêneos.

A exatidão do método foi avaliada através da recuperação, ou seja, fortificação de uma amostra de reação da oxidação do álcool benzílico contendo: 0,0018 g de benzaldeído, 0,0095 g de álcool benzílico, 0,0019 g de ácido benzoico e 0,0017 g de benzilbenzoato em diferentes níveis (0,005; 0,06 e 0,18 g mL⁻¹). A Tabela 16 mostra os valores de recuperação obtidos após fortificação da amostra real. Foram obtidos valores de recuperação no intervalo de 80,07 a 101,41% para os diferentes níveis de fortificação. Para os intervalos de concentração trabalhados a faixa de recuperação varia de 97 a 103% conforme trabalho relatado por BRITO et al., 2003. Como podemos observar no menor nível de concentração os valores obtidos ficaram na faixa de 82,9%. Este valor é atribuído ao uso da amostra real no processo de recuperação, uma vez que a fortificação tende a simular condições reais, e o uso de solventes orgânicos no preparo da amostra pode influenciar diretamente no processo de recuperação, como mostrado no estudo de BRITO et al., 2003 e relatado na norma do INMETRO.

Tabela 16- Teste de recuperação com fortificação de amostra real em três diferentes níveis de concentração. (n=4).

Compostos	Conc. inicial (g mL ⁻¹)	Conc. Fortificada (g mL ⁻¹)	Recuperação %
Nível		0,005 g mL ⁻¹	
Benzaldeído	0,0018	0,0062	86,54
Álcool benzílico	0,0095	0,0136	83,62
Ácido benzoico	0,0019	0,0059	80,07
Benzilbenzoato	0,0017	0,0057	81,19
Nível		0,06 g mL ⁻¹	
Benzaldeído	0,0018	0,0597	96,49
Álcool benzílico	0,0095	0,0639	90,80
Ácido benzoico	0,0019	0,0583	93,96
Benzilbenzoato	0,0017	0,0567	91,75
Nível		0,18 g mL ⁻¹	
Benzaldeído	0,0018	0,1776	97,65
Álcool benzílico	0,0095	0,1920	101,41
Ácido benzoico	0,0019	0,1750	96,18
Benzilbenzoato	0,0017	0,1751	96,32

Fonte: Autor, 2018.

A robustez do método foi avaliada com alteração nos parâmetros cromatográficos iniciais de acordo com a Tabela 17. As condições utilizadas como padrão foram: volume de injeção de 0,5 μL , fluxo 3,0 mL min^{-1} , e taxa de aquecimento de 100 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$. As amostras foram analisadas em quadruplicata. O método mostrou-se robusto nas alterações propostas. Apenas o álcool benzílico apresentou pequena variação na taxa de aquecimento de 90 $^{\circ}\text{C}$ e na utilização do solvente metanol. A robustez também foi avaliada através da análise de diferentes reações, e os resultados estão apresentados na Figura 35 após otimização das condições reacionais.

Tabela 17- Robustez do método avaliada com base nos parâmetros cromatográficos estabelecidos pela relação área analito/área padrão interno (n=4)

Composto	Aa*/Api $\pm \sigma$	Condição Padrão	Volume injeção μL		Fluxo mL min^{-1}	Taxa aquecimento	Solventes	
			0,3	1,0		$^{\circ}\text{C min}^{-1}$	CH ₃ OH	CH ₃ H ₈ O
					90			
Benzaldeído	0,08	1,12	1,11	1,18	1,16	1,23	0,96	1,04
Álcool benzílico	0,12	1,32	1,35	1,47	1,55	1,60	0,92	1,22
Ácido benzoico	0,06	0,82	0,76	0,86	0,90	0,86	0,72	0,82
Benzilbenzoato	0,10	1,19	1,11	1,33	1,31	1,35	0,95	1,25

Fonte: Autor, 2018. Onde *: área amostra padrão externo.

5.4.2 Testes Catalíticos

Após o desenvolvimento e validação do método cromatográfico iniciou-se o estudo para a reação de oxidação do álcool benzílico utilizando parâmetros reacionais anteriormente testados por OLIVEIRA, L.C.F. 2011 e descritas na parte experimental.

O erro adotado para as conversões de álcool benzílico foi de $\pm 0,7\%$, e foi determinado através de 5 repetições da reação de oxidação executadas em dias diferentes. Essas reações foram realizadas nas seguintes condições: temperatura de 130 $^{\circ}\text{C}$, 3 horas, 10 mL de álcool benzílico, na ausência de base e catalisador.

Para a otimização das condições reacionais (tempo e temperatura) utilizou-se um planejamento experimental e os resultados estão apresentados na Figura 24. A

matriz obtida através do programa STATISTICA 10 (Figura 24) utilizou o teor (%) de conversão do álcool benzílico como resposta para a avaliação da otimização.

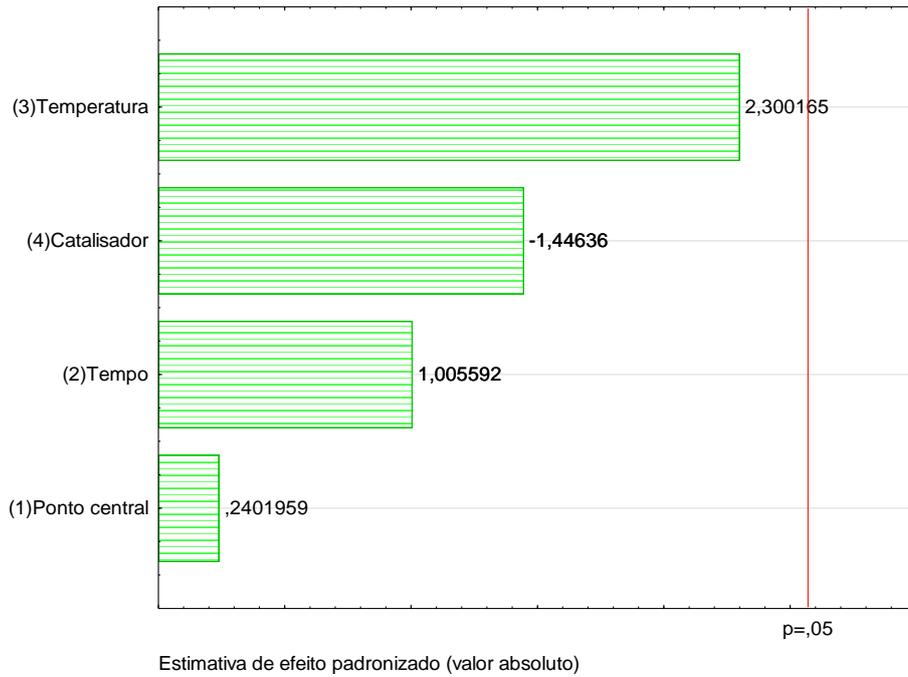
Figura 24- Matriz obtida para avaliação da otimização 2³ dos parâmetros utilizados na oxidação do álcool benzílico.

Standard Run	Design: 2 ^{**} (3-0) design (Spreadsheet2)				
	CenterPt	Tempo	Temperatura	Catalisador	% Conversão álcool benzílico
4	1	3,000000	150,0000	50,0000	19,77
1	1	1,000000	120,0000	50,0000	9,75
2	1	3,000000	120,0000	50,0000	24,24
10 (C)	0	2,000000	135,0000	125,0000	15,56
5	1	1,000000	120,0000	200,0000	8,75
6	1	3,000000	120,0000	200,0000	7,90
7	1	1,000000	150,0000	200,0000	18,46
8	1	3,000000	150,0000	200,0000	21,38
3	1	1,000000	150,0000	50,0000	22,55
9 (C)	0	2,000000	135,0000	125,0000	15,80

Fonte: Autor, 2018.

Analisando os dados obtidos na matriz (Figura 24) foi obtido o gráfico de Pareto referente aos fatores avaliados num intervalo de confiança de 95% (Figura 25). Como podemos observar na Figura 25, nenhum dos fatores avaliados apresentou influência significativa no intervalo de confiança estabelecido de 95% (linha vermelha), porém com os dados obtidos no diagrama de Pareto foi possível prever o comportamento do sistema reacional, o qual indica que: um possível aumento de temperatura e tempo de reação (valores positivos), uma redução da quantidade de catalisador (valor negativo) favorece a conversão do álcool benzílico.

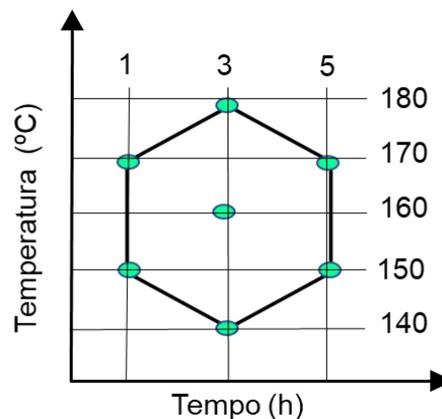
Figura 25- Diagrama de Pareto obtido na avaliação do planejamento fatorial 2³.



Fonte: Autor, 2018.

Optou-se então por fixar a menor quantidade de catalisador utilizada no estudo, ou seja, 50 mg, além de aplicar um planejamento Doehlert para avaliar de maneira mais eficiente a influência da temperatura e do tempo de reação. No planejamento Doehlert a temperatura foi avaliada em 5 níveis e o tempo de reação em 3 níveis, obtendo assim 6 experimentos mais o ponto central em duplicata como mostra a Figura 26.

Figura 26- Planejamento Doehlert com duas variáveis (tempo e temperatura) da reação de oxidação do álcool benzílico.



Fonte: Autor, 2018.

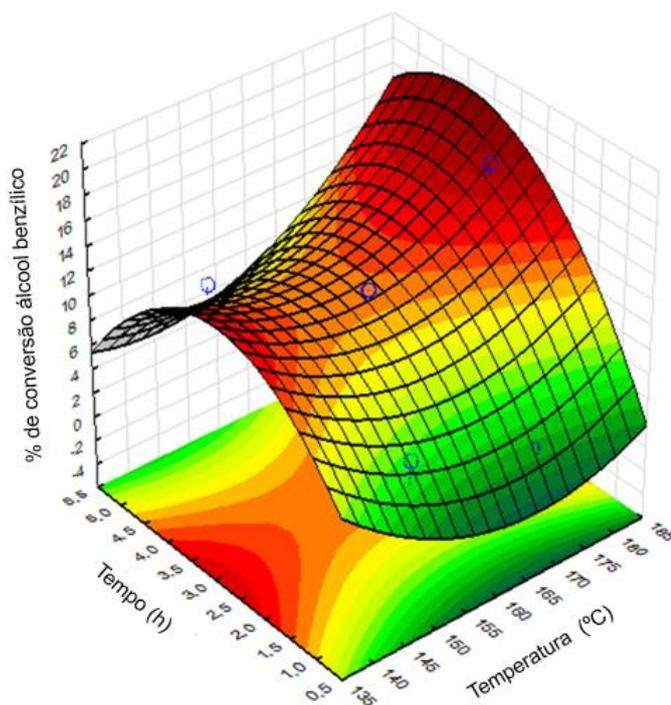
Com a análise das reações propostas neste planejamento foram obtidos os valores de conversão apresentados na Figura 27 e com estes valores foi obtida a superfície resposta apresentada na Figura 28.

Figura 27- Matriz obtida para avaliação da otimização 2² dos parâmetros utilizados na oxidação do álcool benzílico.

	1 Temperatura	2 Tempo	3 Conversão do álcool benzílico
1	140	3	13,52
2	150	1	4,42
3	150	5	19,41
4	160	3	4,27
5	170	1	2,5
6	170	5	12,33
7	180	3	19,28
8	160	3	4,27

Fonte: Autor, 2018.

Figura 28- Superfície de resposta obtida através do planejamento Doehlert para a otimização da temperatura e tempo da reação de oxidação do álcool benzílico.

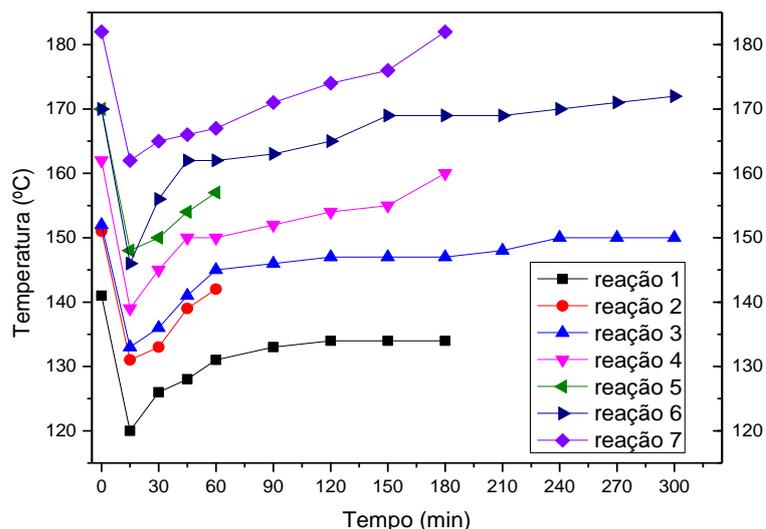


Fonte: Autor, 2018.

Pelo gráfico de superfície resposta (Figura 28) foi possível observar duas regiões (vermelhas) onde possivelmente a conversão do álcool benzílico seria mais acentuada. A primeira região na temperatura de 135 °C e 3 horas de reação com uma conversão próxima de 10 a 12% e a segunda região em temperaturas maiores, neste caso 185 °C e tempo reacional de 3 horas com conversão de aproximadamente 20%. Como o gráfico de superfície resposta (Figura 28) obteve duas possíveis regiões de maiores conversões não foi possível prever qual a melhor condição reacional uma vez que com um aumento excessivo de temperatura possivelmente ocorrerá a degradação do produto de partida e em temperaturas menores ocorrerá uma redução da conversão do álcool benzílico mostrada pelo diagrama de Pareto representado na Figura 25. Com estes resultados observou-se que para o planejamento fatorial completo e a matriz Doehlert não foram obtidos os resultados esperados para a reação de oxidação do álcool benzílico nas condições avaliadas. Neste contexto optou-se por realizar o restante do estudo da otimização de forma univariada.

Nas reações realizadas com a matriz Doehlert foi observado uma redução da temperatura inicial programada após a adição do reator de inox no banho de óleo e os resultados estão representados na Figura 29. Como pode ser observado, inicialmente ocorre uma diminuição da temperatura em aproximadamente 15 a 20 minutos de reação a temperatura do sistema aumenta. Para reações realizadas até a temperatura de 150 °C observou-se que o sistema entra em equilíbrio em 90 minutos, porém, em temperaturas mais altas este equilíbrio só é atingido acima de 180 minutos.

Figura 29- Tempo de equilíbrio da temperatura utilizada nas reações realizadas com a matriz Doehlert.



Fonte:Autor,2018.

Ainda relacionado as reações iniciais do planejamento experimental completo e da matriz Doehlert foi possível observar características do sistema reacional em estudo. Ao abrir o reator foi possível observar a primeira característica organoléptica associada ao odor de benzaldeído indicando a formação do composto no meio reacional. Outra característica observada foi a presença de uma coloração amarela na solução da reação, observado apenas em reações nas quais a conversão do álcool benzílico foi maior. Esta coloração é característica da oxidação do benzaldeído a ácido benzoico.

Outros estudos foram realizados para observar o comportamento de cada variável na reação de oxidação do álcool benzílico. Os dados deste estudo estão apresentados na Tabela 18.

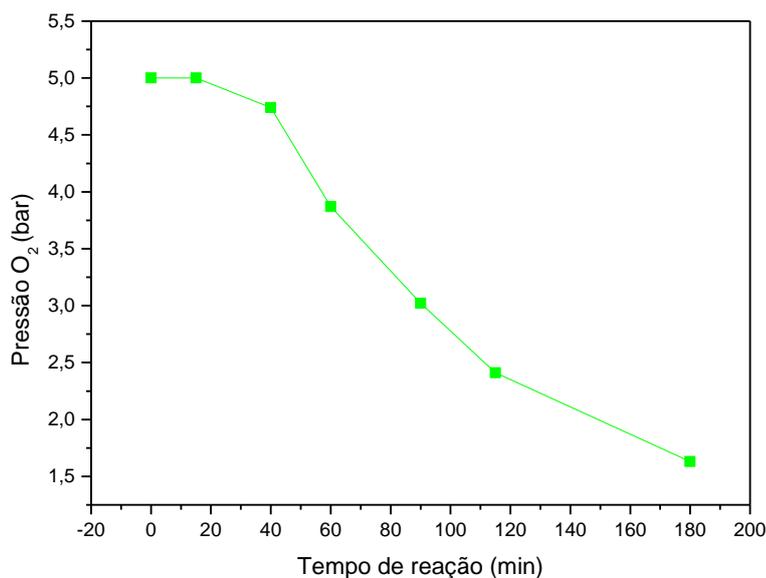
Tabela 18- Avaliação de parâmetros reacionais de forma univariada.

Reação	Catalisador (mg)	Oxigênio (bar)*	K ₂ CO ₃ (mg)	% de álcool convertido ± 0,7	seletividade (%)		
					BZ ¹	ACB ²	BZB ³
1	0	0	0	0	-	-	-
2	0	5	0	14,9	71,9	11,5	16,4
3	50	5	0	12,8	89,2	8,3	2,5
4	0	5	50	0	-	-	-

Fonte: Autor, 2018. Condições reacionais: 10 mL de substrato, 3 horas de reação, 130 °C. Alimentação de oxigênio contínua. ¹ Benzaldeído, ² Ácido Benzoico e ³ Benzilbenzoato.

A reação 1 foi realizada apenas com álcool benzílico e foi observado que a reação não ocorre, ao contrário da reação 2 que foi realizada na presença de 5 Bar de O₂, ou seja na ausência de base e catalisador foi obtida uma conversão do álcool benzílico equivalente a 14,9 ± 0,7 %, formando todos os produtos de oxidação. Quando se adicionou 50 mg do catalisador (reação 3) foi observado uma pequena redução na conversão do álcool benzílico, porém a seletividade a benzaldeído aumentou em 20%. Quando se adicionou 50 mg de K₂CO₃ (reação 4) ou seja, base, a reação não ocorreu.

Uma reação modelo (reação de 3 horas, 130 °C na ausência de catalisador e base) foi realizada para verificar o consumo de O₂ durante a reação. O reator foi alimentado com 5 bar de O₂ e em seguida as conexões de gás foram removidas do sistema. A Figura 30 mostra o consumo de oxigênio decrescente no decorrer do tempo de reação. Observou-se que em 3 horas de reação a quantidade de oxigênio pode chegar até 1,6 bar. Neste contexto optou-se por trabalhar com alimentação de O₂ contínua, visto que, para reações com tempo maior que 3 horas, 5 bar de O₂ não seriam suficientes.

Figura 30- Consumo de oxigênio na reação de oxidação do álcool benzílico.

Fonte: Autor, 2018.

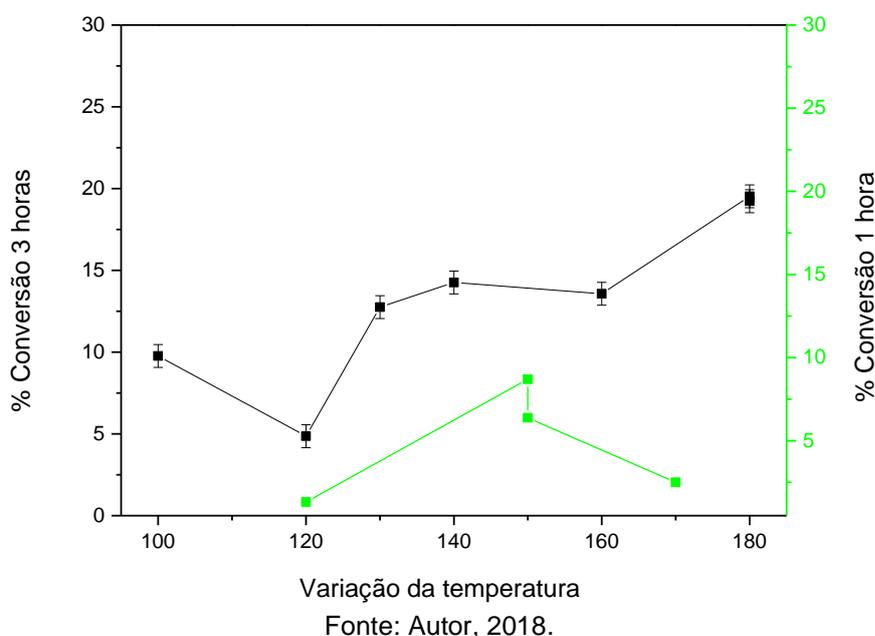
A avaliação da temperatura reacional foi realizada em dois tempos, 1 e 3 horas. O gráfico representado na Figura 31 mostra um aumento de conversão a partir de 130 °C em reações realizadas no tempo de 3 horas e para reações de 1 hora não foram obtidas conversões acima de 8,7%. Com o aumento da temperatura ocorre um aumento na conversão do álcool benzílico, porém a seletividade a benzaldeído diminui, e aumenta em termos de formação do ácido e benzoico como mostra a Tabela 19. Estes dados corroboram com estudo realizado por MIEDZIAK et al., 2011, que observaram este mesmo comportamento em função do aumento da temperatura no sistema reacional. Com este estudo, optou-se por trabalhar com a temperatura de 130 °C visto que, as conversões obtidas para as temperaturas avaliadas foram semelhantes, e pelo fato de que o aumento da temperatura pode ocasionar degradação do benzaldeído (179 °C).

Tabela 19- Avaliação da influência da temperatura em reações de 3 horas.

Reação	Temperatura °C	% de álcool convertido ± 0,7	seletividade (%)		
			BZ ¹	ACB ²	BZB ³
1	130	12,7	89,2	8,3	2,5
2	140	14,2	89,5	8,6	1,9
3	160	13,6	84,2	13,6	2,2

Fonte: Autor, 2018. Condições reacionais: 10 mL de substrato, 50 mg catalisador. Alimentação de oxigênio contínua.¹ Benzaldeído, ² Ácido Benzoico e ³ Benzilbenzoato.

Figura 31- Conversão do álcool benzílico em função da variação do tempo e da temperatura reacional.



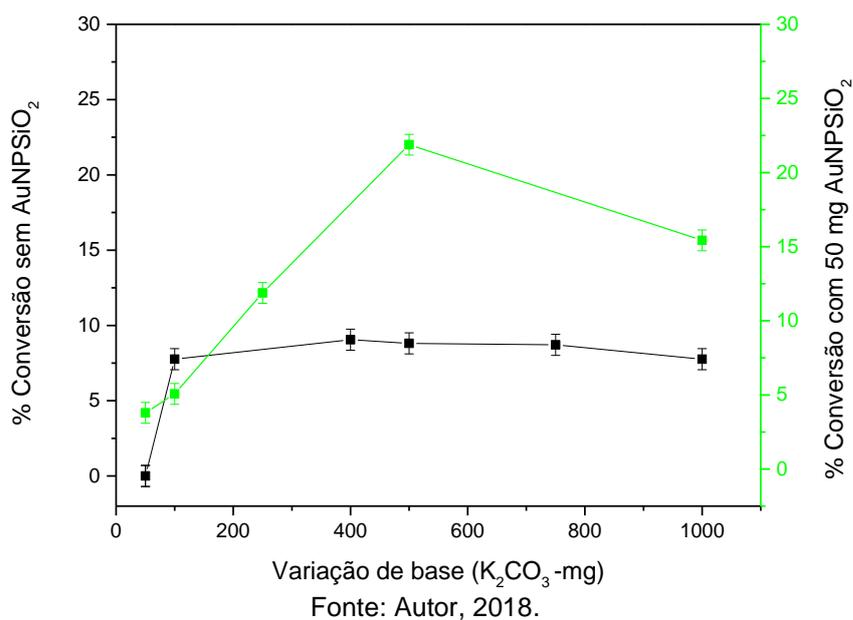
O estudo na presença de base foi realizado nas seguintes condições: 3 horas de reação, 5 bar de O₂, 130 °C e agitação. A influência da base foi estudada na presença e ausência do catalisador (AuNP/SiO₂) e os resultados de conversão do álcool benzílico estão representados na Figura 32.

Avaliando o gráfico da Figura 32 podemos observar que na ausência de catalisador as conversões do álcool benzílico ocorrem somente em quantidades de K₂CO₃ maiores que 100 mg e não apresenta variação significativa na conversão com aumento de 100 a 1000 mg de base. Na presença do catalisador é possível observar que ocorrem baixas conversões pequena quantidade de K₂CO₃ (50 e 100 mg). A maior

conversão de álcool benzílico com K_2CO_3 foi obtida quando a reação ocorreu na presença de 500 mg de base e com massas maiores que 500 mg diminuiu a conversão

As reações que apresentaram conversão na ausência do catalisador foram seletivas para a formação de benzaldeído (100%) e na reação com 500 mg de base e catalisador foram obtidos produtos como benzaldeído (78,4%) e benzilbenzoato (23,1%).

Figura 32- Conversão do álcool benzílico em função da variação da quantidade de base (K_2CO_3) na presença e ausência de catalisador.



Na presença de grandes quantidades (≥ 500 mg) de base foi possível observar a degradação do suporte catalítico fazendo com que ficasse impregnado juntamente com resquícios de base nas paredes do reator como mostram as imagens da Figura 33.

Figura 33- Impregnação de base nas paredes do reator.



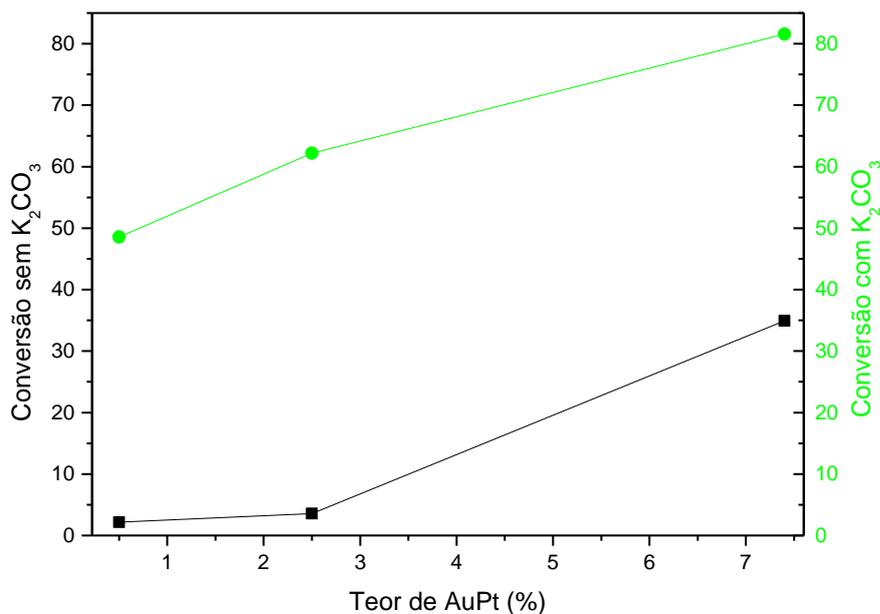
Fonte: Autor, 2018.

Estes resquícios também foram analisados por cromatografia gasosa com espectrometria de massas para comprovar que o material encontrado no reator era base e não ácido benzoico uma vez que, esta possibilidade fora levantada por DE OLIVEIRA, L.C.F., 2011. Na análise do material não foi identificada a presença de ácido benzoico.

Com os resultados obtidos no diagrama de pareto fixou-se a massa de catalisador em 50 mg uma vez que o parâmetro não apresentou influência significativa. Pelos resultados obtidos na superfície de resposta foram estabelecidos o tempo reacional de 3 horas e a temperatura de reação de 130 °C. Com o estudo da presença de base no meio reacional observou-se um aumento na conversão de álcool benzílico de até 22% quando se utilizou 500 mg de K_2CO_3 , contudo, apesar da reação ser favorecida com a adição de base, concentrações altas da mesma, podem levar a desativação (dissolução) do suporte catalítico uma vez que o mesmo é composto por sílica (SILVA et al.,2004).

Ainda no estudo da quantidade de base avaliou-se outros catalisadores com as condições reacionais estabelecidas. Foram testados catalisadores bimetálicos suportados em nanotubos de carbono de parede múltipla (MWCNT). Os catalisadores testados apresentavam teores de ouro e platina de 0,5; 2,5 e 7,4%. O gráfico representado na Figura 34 mostra a conversão do álcool benzílico, utilizando catalisadores de nanotubos de carbono na presença e ausência de base.

Figura 34- Conversão de álcool benzílico com catalisadores de Au e Pt na presença e ausência de base.



Fonte: Autor, 2019.

Com os dados obtidos na Figura 34 é possível observar que na ausência de base nos catalisadores com teor de AuPt abaixo de 2,5 % a conversão chega até 3,57%. Para o teor de 7,4% a conversão do álcool benzílico foi de 34,91%. Já na presença de base as conversões são maiores, chegando até 81,58% com seletividade para benzaldeído, conforme mostra a Tabela 20.

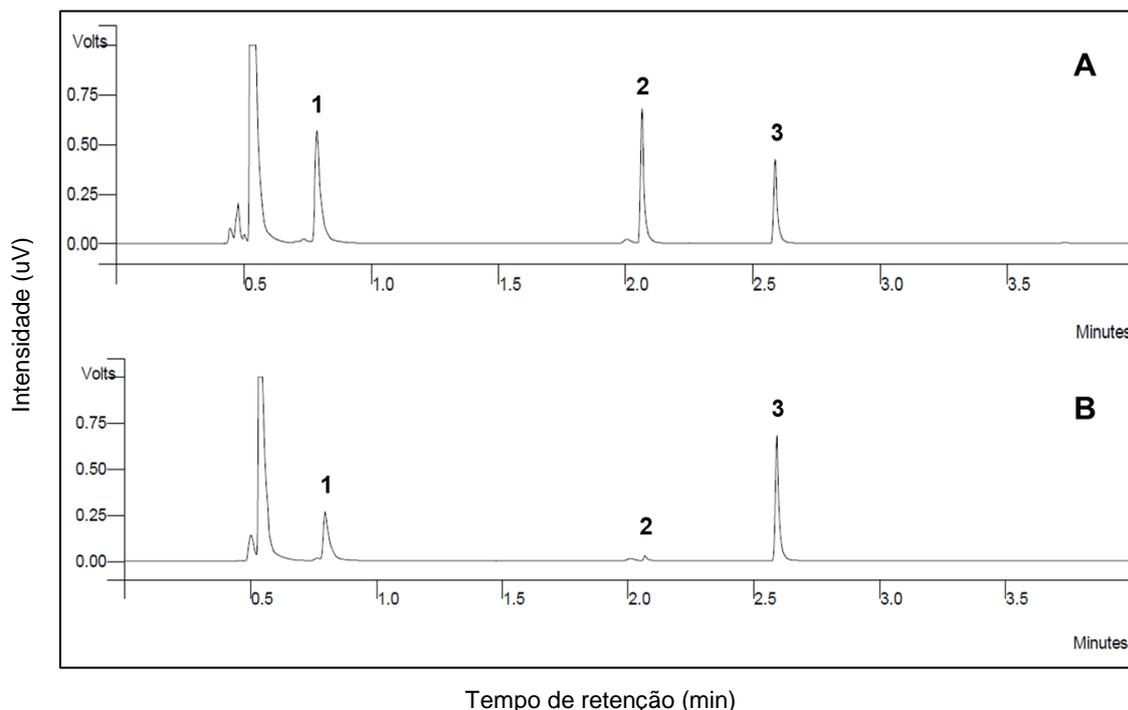
A Figura 35 mostra o cromatograma obtido na identificação dos compostos gerados com a aplicação destes catalisadores na reação de oxidação do álcool benzílico. É possível observar a separação e a identificação dos compostos obtidos em conversões altas (62,21% - Fig. 35- **A**) e em baixas conversões (3,57% Fig 35- **B**).

Tabela 20- Catalisadores a base de MWCNT aplicados no estudo da base*.

Catalisador MWCNT	massa (mg)	K ₂ CO ₃ (mg)	% de álcool convertido ± 0,7	seletividade (%)		
				BZ ¹	ACB ²	BZB ³
AuPt 0.5%	50	0	2,2	100	-	-
	50	500	48,5	100	-	-
AuPt 2.5%	50	0	3,6	100	-	-
	50	500	62,2	100	-	-
AuPt 7.4%	50	0	34,9	100	-	-
	50	500	81,6	99,4	-	0,6

Fonte: Autor, 2019. * Condições reacionais: 10 mL de substrato, 3 horas de reação, 130 °C, * Alimentação de oxigênio contínua 5 Bar. ¹ Benzaldeído, ² Ácido Benzoico e ³ Benzilbenzoato.

Figura 35- Cromatogramas obtidos nas análises da reação com o catalisador de AuPt 2,5%, na presença (A) e ausência (B) de K₂CO₃. (1- tolueno, 2- benzaldeído e 3-álcool benzílico).



Fonte: Autor, 2018.

Com o objetivo de otimizar as quantidades de reagentes utilizadas nas reações de oxidação do álcool benzílico foi escolhido um catalisador comercial a base de ouro (0,25%) e paládio (0,55%) o qual foi aplicado em reações aquosas. A Tabela 21

mostra as otimizações realizadas em meio aquoso mantendo a estequiometria dos reagentes: álcool benzílico:catalisador:base (21:1:1) m:m:m. Nota-se que houve uma diminuição de $\pm 9\%$ na conversão do álcool benzílico com a diminuição de 500 para 5 mg, portanto optou-se por realizar o teste com diferentes tipos de catalisadores utilizando essas condições reacionais, ou seja, meio aquoso, 0,1 mL de álcool benzílico em 9,9 mL de água, ou seja 1% v/v e 5 mg dos diferentes catalisadores.

Tabela 21- Otimização das reações utilizando catalisador comercial de AuPd.

Massa de álcool (mg)	K ₂ CO ₃ (mg)	Massa de catalisador (mg)	% convertido ($\pm 0,7$)
10400	500	500	89,0
416	20	20	73,3
104	5	5	81,0

Fonte: Autor, 2019.

Como a coluna utilizada até então para a análise dos produtos de oxidação do álcool benzílico é uma coluna polar a base de polietilenoglicol (Método I) a mesma não é adequada para análise de reações aquosas, devido interações da água com os sítios ativos da coluna ocasionando oxidação ou hidrólise da fase estacionária, comprometendo a eficiência da coluna. Neste contexto, foi desenvolvido e validado um novo método cromatográfico, utilizando uma coluna apolar VF-1MS (fase 100% dimetilpolisiloxano).

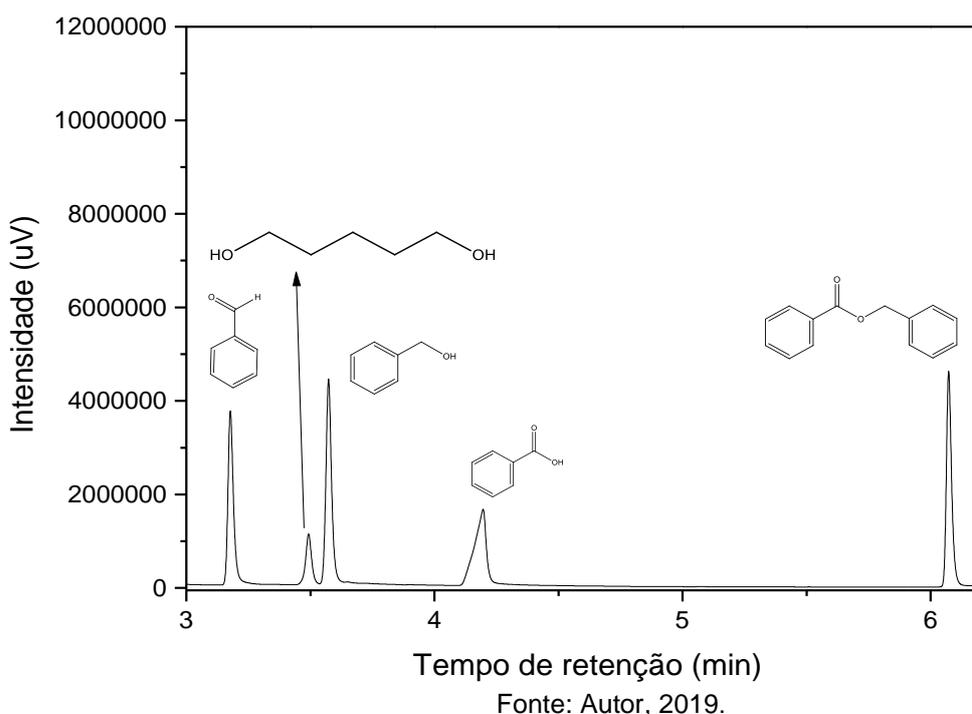
5.4.3 Desenvolvimento e validação do método II (coluna apolar)

Inicialmente foi feita a injeção dos padrões analíticos individuais na concentração de 0,01 g mL⁻¹ para a determinação do tempo de retenção dos analitos. Em função da troca de coluna de uma polar para apolar houve a necessidade da troca de padrão interno do tolueno para 1,5-pentanediol em função da coeluição apresentada com o uso do tolueno e benzaldeído.

A Figura 36 mostra o cromatograma obtido na análise da mistura dos padrões analíticos nas condições estabelecidas para a determinação da ordem de eluição dos compostos: (benzaldeído - 3,18 min, álcool benzílico - 3,57 min, ácido benzoico - 4,19

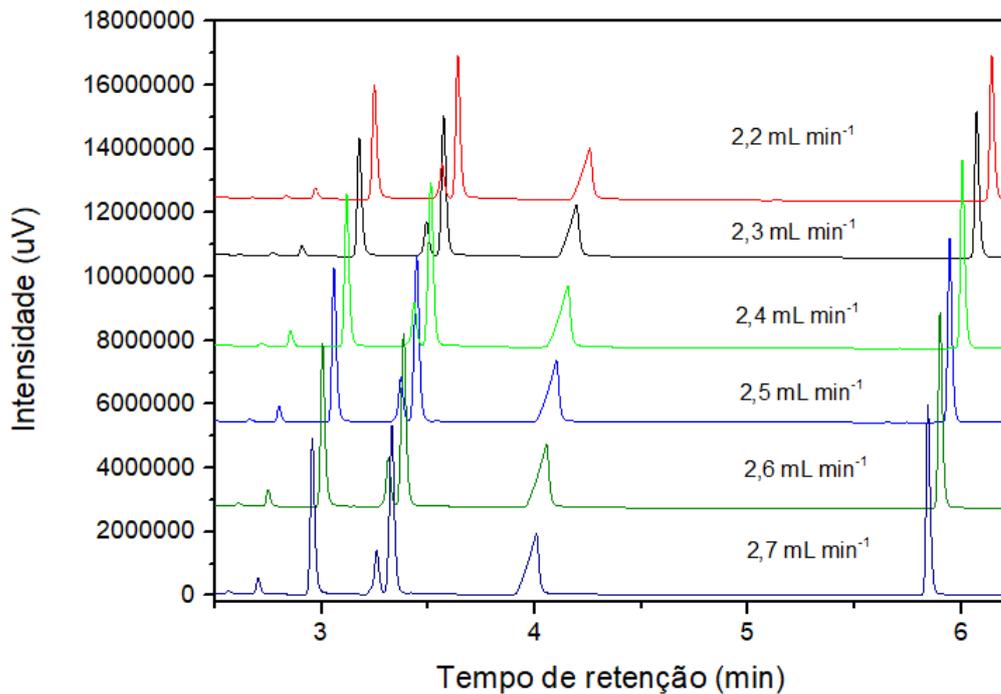
min, benzilbenzoato - 6,08 min) e o padrão interno 1,5-pentanediol (3,49 min). As otimizações do método (fluxo e taxa de aquecimento) foram realizadas de forma univariada considerando a resolução entre os picos referentes ao álcool benzílico e ao 1,5-pentanediol. A representação dos cromatogramas foi realizada com o início em 3 min eliminando apenas pico do solvente (tetrahydrofurano) para melhor visualização dos compostos de interesse.

Figura 36- Cromatograma obtido na análise dos produtos de oxidação do álcool benzílico utilizando coluna apolar.

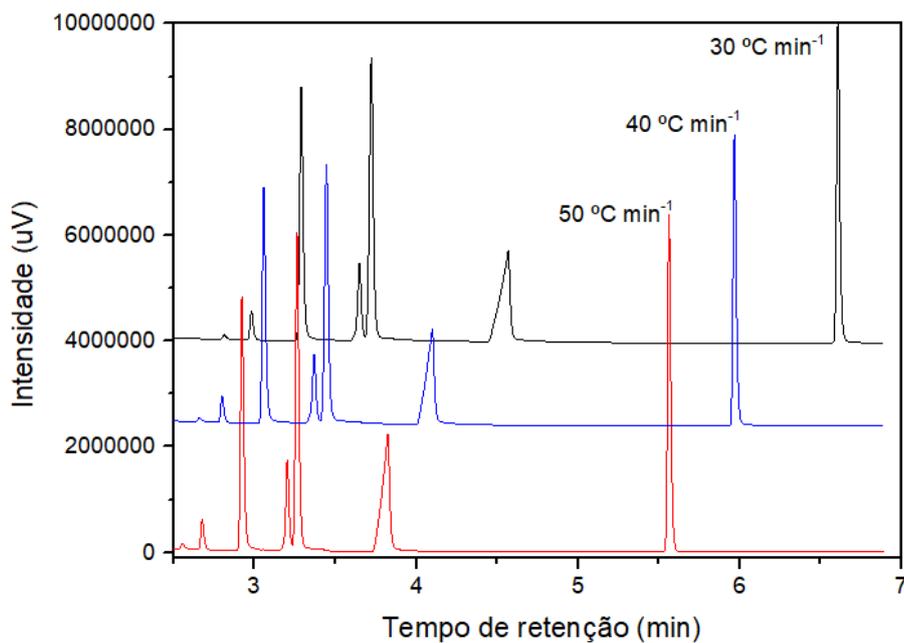


O primeiro parâmetro a ser otimizado foi o fluxo do gás de arraste, na Figura 37 estão representados os cromatogramas obtidos.

Com a variação do fluxo (Fig. 37), é possível observar que com o aumento do mesmo ocorre a diminuição do tempo de análise, contudo, a resolução entre o pico do álcool benzílico e do 1,5-pentanediol sofre pequena diminuição com o aumento do fluxo. O fluxo escolhido para dar andamento a otimização do método foi o fluxo de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ que apresentou uma resolução de 1,82 e um tempo de análise de aproximadamente 6 minutos. Com o fluxo estabelecido, otimizou-se a taxa de aquecimento da coluna, a qual está representada na Figura 38.

Figura 37- Otimização do fluxo do gás de arraste no método II.

Fonte: Autor, 2019.

Figura 38- Otimização da taxa de aquecimento no método II.

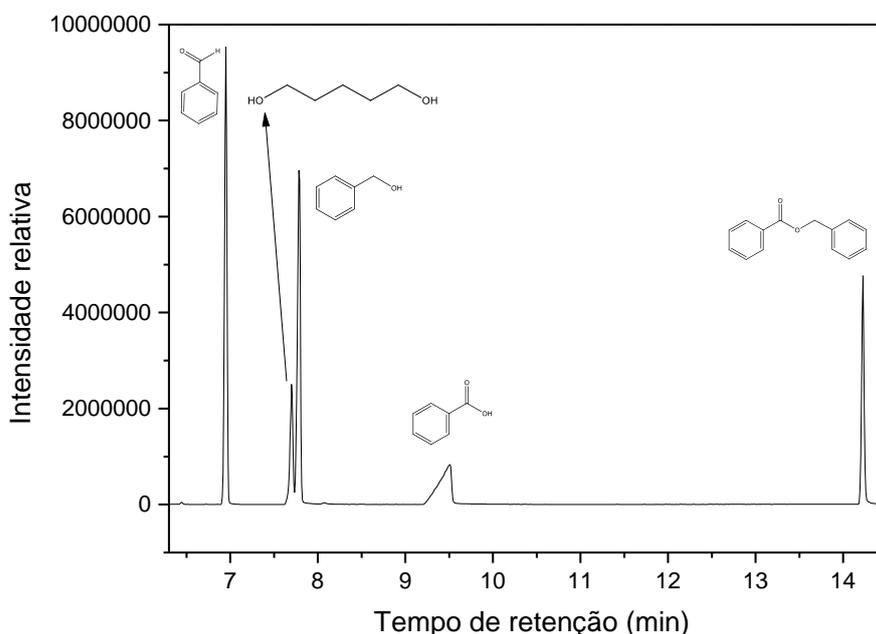
Fonte: Autor, 2019.

Com a taxa de aquecimento avaliada em 3 diferentes níveis e considerando a resolução entre o pico do álcool benzílico e do 1,5-pentandiol foi escolhido a taxa de

aquecimento de $40\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ que apresentou resolução de 1,83, na taxa de $50\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ observou-se uma diminuição da resolução (1,65), que também foi observada para a taxa de $30\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (1,78). Em taxas de aquecimento maiores ocorre uma diminuição do tempo de análise, porém a resolução entre o pico do álcool benzílico e do 1,5-pentanediol diminui.

Com as condições otimizadas, iniciou-se a validação do método através da determinação da seletividade por GC-MS com a comparação dos espectros de massas obtidos na avaliação dos padrões com a biblioteca NIST08-2008 do equipamento (Anexo B, pg. 150). O método mostrou-se seletivo, sendo possível identificar todos os compostos de interesse (benzaldeído, 1,5-pentanediol, álcool benzílico, ácido benzoico e benzilbenzoato) com valores de similaridade $\geq 96\%$ como mostra a Figura 39 que apresenta os cromatogramas obtidos na análise dos padrões externos, com o início da aquisição em 6, 2 min (referente ao corte do solvente).

Figura 39- Cromatograma dos padrões obtidos por GC-MS.

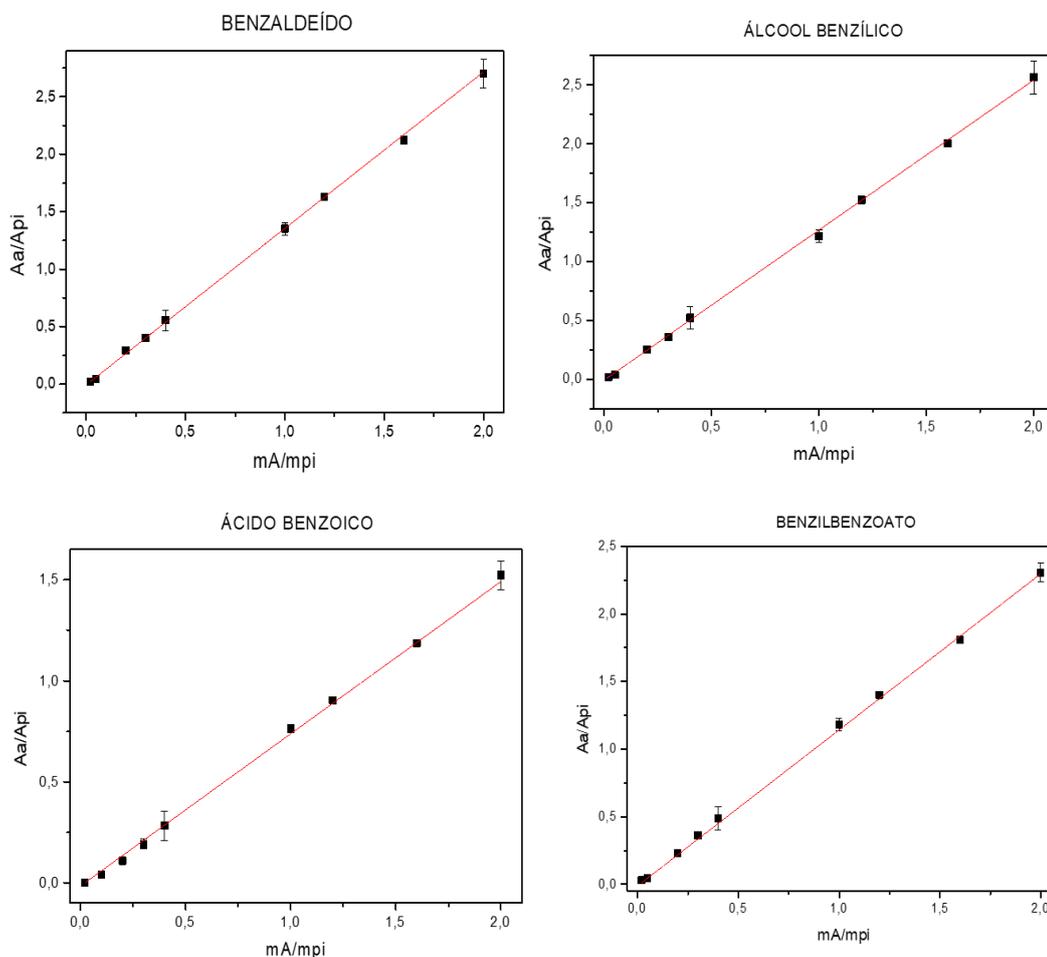


Fonte: Autor, 2019.

A curva analítica foi realizada em duplicata e os dados foram tratados em função da variação da área dos padrões em relação a área do padrão interno (1,5-pentanediol), do mesmo modo a massa dos padrões utilizados foi relacionada com a massa do padrão interno para a construção da curva de calibração. A Figura 40

apresenta as curvas analíticas obtidas na injeção dos padrões em duplicata. A linearidade do método foi definida através do coeficiente de correlação que mede o grau de correlação entre as duas variáveis aplicadas na construção da curva de calibração (ampliadas no Anexo D, pg. 154).

Figura 40- Determinação da linearidade através da construção da curva analítica.



Fonte: Autor, 2019.

Com as curvas analíticas obtidas foram determinadas as equações da reta correspondentes aos padrões de interesse e o coeficiente de correlação (r) apresentados na Tabela 22. Os valores de coeficiente de correlação obtidos indicam que a metodologia é linear uma vez que, foram obtidos valores $\geq 0,9984$ que indicam um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão (RIBANI et al., 2004).

Tabela 22- Coeficientes de correlação e equações da reta obtidos nas curvas analíticas do método II.

Padrões analíticos	r	Equação
Benzaldeído	0,9999	$y = -0,0074 \pm 0,0028 + x(1,36189 \pm 0,00493)$
Álcool benzílico	0,9999	$y = -0,00699 \pm 0,00089 + x(1,2749 \pm 0,00302)$
Ácido benzoico	0,9997	$y = -0,014 \pm 0,00064 + x(0,7570 \pm 0,00687)$
Benzilbenzoato	0,9984	$y = -0,011 \pm 0,00256 + x(1,1555 \pm 0,02459)$

Fonte: Autor, 2019.

Os limites de detecção obtidos através da relação sinal/ruído, estão representados na Tabela 23. No LOD foram obtidos valores na faixa de 0,00001 a 0,00005 g mL⁻¹ e o LOQ foi determinado com base na menor concentração da curva analítica.

Tabela 23- Limite de detecção e limite de quantificação obtidos através da diluição de amostras e relação sinal/ruído.

Padrão	LOD (g mL⁻¹)	LOQ (g mL⁻¹)	Faixa linear (g mL⁻¹)
Benzaldeído	0,00001	0,0001	0,0001- 0,01
Álcool benzílico	0,00001	0,0001	0,0001- 0,01
Ácido benzoico	0,00005	0,0001	0,0001- 0,01
Benzilbenzoato	0,00001	0,0001	0,0001- 0,01

Fonte: Autor, 2019.

A avaliação da precisão instrumental foi executada em dois níveis (0,0015 e 0,01 g mL⁻¹). A Tabela 24 mostra os CV obtidos na determinação da precisão (precisão instrumental, precisão intra ensaio e precisão intermediária). Os valores de área obtidos nestes ensaios foram corrigidos com o padrão interno, onde determinou-se o desvio padrão e coeficiente de variação do conjunto de dados.

Tabela 24- Precisão do método II, avaliada através da precisão instrumental, precisão intra ensaio e precisão intermediária. (n=7).

Padrão	Precisão instrumental		Precisão intra-ensaio		Precisão intermediária	
	Desvio	CV%	Desvio	CV%	Desvio	CV %
	0,0015 g mL⁻¹					
Benzaldeído	0,01	3,75	0,01	2,56	0,01	1,80
Álcool benzílico	0,01	3,77	0,01	4,52	0,01	1,36
Ácido benzoico	0,01	2,28	0,01	3,64	0,01	2,84
Benzilbenzoato	0,01	3,45	0,01	4,12	0,01	1,98
	0,01 g mL⁻¹					
Benzaldeído	0,02	1,15	0,04	2,60	0,03	1,76
Álcool benzílico	0,03	1,46	0,05	3,20	0,02	0,89
Ácido benzoico	0,01	0,68	0,03	2,76	0,02	1,46
Benzilbenzoato	0,01	0,64	0,04	2,70	0,04	2,65

Fonte: Autor, 2019.

Os resultados obtidos mostraram que para o nível de concentração de 0,0015 g mL⁻¹ foram obtidos valores de CV \leq 4,52%. Os valores mais altos foram obtidos na precisão intra-ensaio, a qual reflete o preparo da mesma amostra diversas vezes, contudo estes valores são considerados aceitáveis para o nível de concentração avaliado na curva de Horwitz que é de 5,32%. O mesmo foi observado para o nível de maior concentração (0,01 g mL⁻¹), onde os CV obtidos foram \leq 3,20% atendendo a curva de Horwitz para este nível (CV \leq 4%). Na precisão instrumental os valores de CV obtidos ficaram na faixa de 0,64 a 3,77% e a precisão intermediária avaliada através de analistas diferentes apresentou CV \leq 2,84%. Os dados obtidos mostram que a metodologia é precisa, indicando que os parâmetros avaliados apresentam um conjunto de dados homogêneos.

Na Tabela 25 estão representados os valores obtidos para o teste de recuperação através da fortificação de uma amostra real contendo 0,0010 g de benzaldeído, 0,0012 g de álcool benzílico e 0,003 g de benzilbenzoato, obtida na reação de oxidação do álcool benzílico.

Tabela 25- Teste de recuperação do método II realizado através da fortificação de uma amostra real.

Compostos	Conc. inicial (g mL ⁻¹)	Conc. Fortificada (g mL ⁻¹)	Recuperação %
Nível		0,0015 g mL ⁻¹	
Benzaldeído	0,0010	0,0024	96,43
Álcool benzílico	0,0012	0,0025	89,52
Ácido benzoico	0,0000	0,0014	94,95
Benzilbenzoato	0,0003	0,0018	94,10
Nível		0,008 g mL ⁻¹	
Benzaldeído	0,0010	0,0087	96,28
Álcool benzílico	0,0012	0,0086	92,22
Ácido benzoico	0,0000	0,0081	101,37
Benzilbenzoato	0,0003	0,0084	101,15

Fonte: Autor, 2019.

Os valores obtidos na recuperação, ou seja, na fortificação da amostra real nos diferentes níveis variaram de 89,52 a 101,37%. Estes valores mostraram-se adequados para os níveis de concentração avaliados (0,0015 g mL⁻¹ - 95 a 105% e 0,008 g mL⁻¹ - 97 a 103%) conforme a norma do INMETRO. Estes valores também estão de acordo com os critérios estabelecidos pelo trabalho de BRITO et al., 2003, em função da concentração do analito avaliada.

Os resultados obtidos na avaliação da robustez do método (Tabela 26), mostraram que o método é robusto para variações de fluxo e de taxa de aquecimento, nas condições propostas. As condições iniciais (condição padrão) avaliadas foram: fluxo 2,5 mL min⁻¹ e taxa de aquecimento de 40 °C min⁻¹.

Tabela 26- Robustez do método avaliada através da variação do fluxo do gás de arraste e da taxa de aquecimento da coluna.

Composto	Aa/Api ± σ	Condição Padrão	Fluxo mL min ⁻¹		Taxa de aquecimento °C	
			2,3	2,8	30	50
Benzaldeído	0,07	2,55	2,50	2,58	2,54	2,48
Álcool benzílico	0,05	2,46	2,48	2,48	2,46	2,45
Ácido benzoico	0,04	1,84	1,86	1,88	1,86	1,85
Benzilbenzoato	0,06	2,48	2,42	2,54	2,48	2,45

Fonte: Autor, 2019.

A robustez do método também foi avaliada através da aplicação da metodologia em reações de oxidação do álcool benzílico aplicando diferentes catalisadores. Como pode ser visto na Tabela 27 é possível identificar os compostos em diferentes níveis de conversão, ou seja, concentrações menores e concentrações maiores sem comprometer os parâmetros validados para a metodologia. Os cromatogramas obtidos nas análises das reações de oxidação do álcool benzílico utilizando diferentes catalisadores encontram-se no Anexo E, pg. 157).

Tabela 27- Robustez do método avaliada através das reações de oxidação do álcool benzílico com diferentes catalisadores.

Catalisador MWCNT	% de álcool convertido \pm 0,7	seletividade (%)		
		BZ ¹	ACB ²	BZB ³
AuNP/SiO ₂	20,5	90,9	-	9,0
AuPt 5.0 % (MWNTC)	96,9	80,0	18,9	1,1
AuPt 2.5% (MWNTC)	96,1	74,5	24,8	0,7
AuPt 7.4% (MWNTC)	99,3	53,6	45,6	0,8
Pt 2.5% (MWNTC)	67,5	96,5	2,5	0,8
Pt 5.0% (MWNTC)	71,2	98,6	-	1,4
AuNP@SiO ₂	40,3	83,6	5,2	11,2

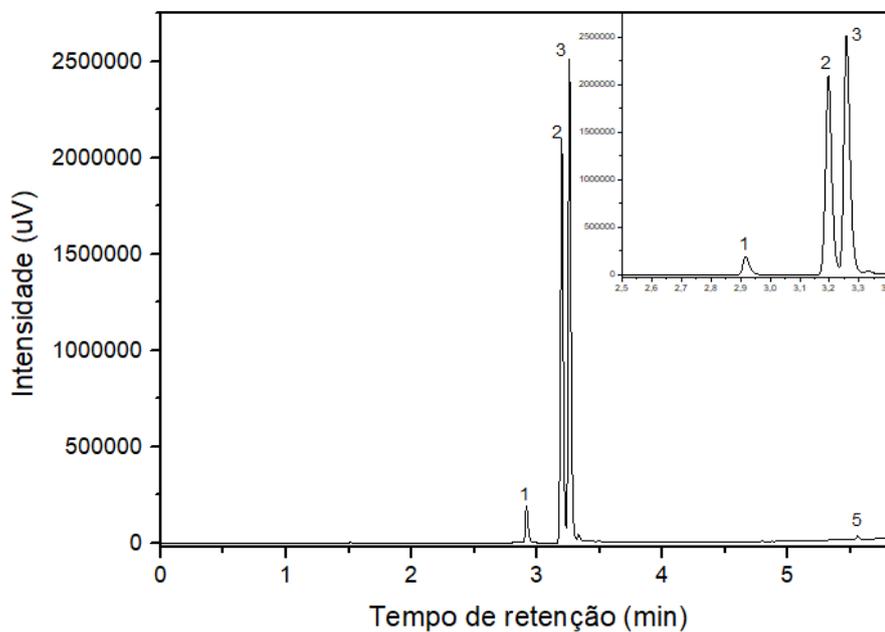
Fonte: Autor, 2019.

O cromatograma representado na Figura 41 para o catalisador de AuNP/SiO₂ mostra que é possível identificar os compostos obtidos na reação, mesmo quando houve baixa conversão do álcool benzílico 20,54%. A região ampliada mostra a separação entre o padrão interno e o álcool benzílico, ainda no cromatograma é possível observar a presença de benzilbenzoato em aproximadamente 5,5 minutos.

Na Figura 42, é apresentado o cromatograma obtido com a aplicação do catalisador de AuPt/MWNTC 7,4%, o qual apresentou uma conversão alta do álcool benzílico em torno de 99,27% formando os 3 produtos de oxidação do álcool benzílico (benzaldeído, ácido benzoico e benzilbenzoato) em diferentes proporções. É importante destacar que com a metodologia proposta (método II) foi possível quantificar os analitos (produtos formados) em diferentes níveis de concentração. As

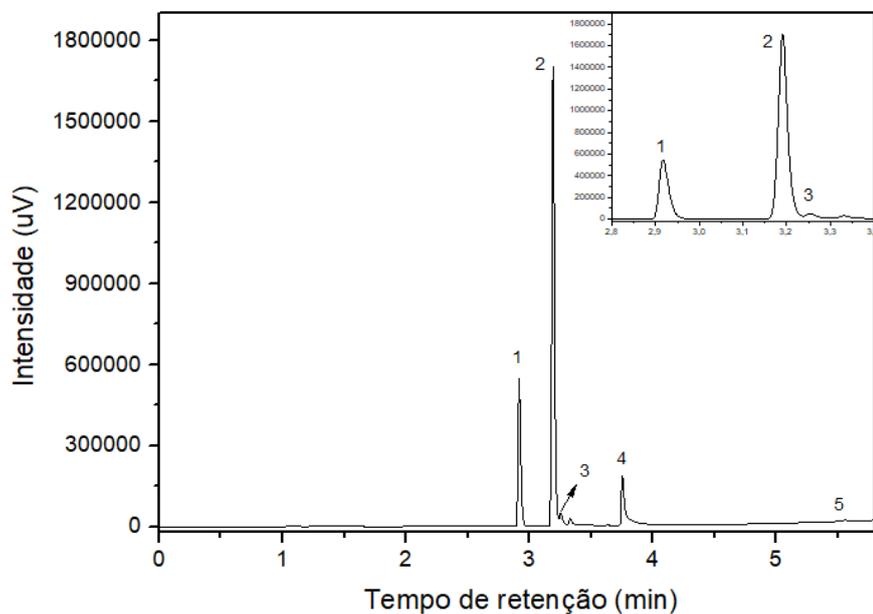
regiões ampliadas nos cromatogramas apresentados na Figura 41 e 42, correspondem ao benzaldeído, 1,5-pentanediol e álcool benzílico, respectivamente.

Figura 41- Cromatograma obtido na análise da reação de oxidação do álcool benzílico com catalisador de AuNP/SiO₂



Fonte: Autor, 2019.

Figura 42- Cromatograma obtido na análise da reação de oxidação do álcool benzílico com catalisador de AuPt/MWNTC 7,4%.



Fonte: Autor, 2019.

5.5 Conclusões

O método I desenvolvido em coluna polar de 13 m apresentou menor tempo de análise (4 minutos) quando comparado com o método II (6 minutos) desenvolvido em uma coluna apolar de 30 metros, porém o método II apresenta vantagem pelo fato de poder ser aplicado a amostras aquosas, conseqüentemente sendo mais aplicado para condições ambientalmente corretas, uma vez que possibilita a realização de reações diluídas, logo menor quantidade de reagentes é utilizada e conseqüentemente menor a geração de resíduos.

Ambos os métodos desenvolvidos apresentaram seletividade e linearidade nas faixas de concentração estabelecidas. O método I foi desenvolvido em uma faixa de trabalho maior (0,001 a 0,2 g mL⁻¹) comparado ao método II (0,0001 a 0,01 g mL⁻¹). As curvas analíticas de ambos os métodos mostraram uma linearidade próxima de 1, uma vez que os valores de coeficientes de correlação variaram de 0,9957 a 0,9999. As faixas de trabalho foram estabelecidas com base no LOQ do método e nas concentrações da curva de calibração.

Os dois métodos apresentaram precisão nos intervalos de concentração que foram avaliados. As taxas de recuperação para as metodologias variaram de 80,07 a 101,41 % estando de acordo com os guias orientativos e a norma do método 8000 C para separação cromatográfica. Os métodos são robustos a variações aplicadas, bem como na análise das reações promovidas com os diferentes catalisadores.

O catalisador AuNP/SiO₂ foi aplicado nas reações de oxidação do álcool benzílico, onde inicialmente testou-se um planejamento fatorial completo avaliando tempo, temperatura e quantidade de catalisador. Através do planejamento foi observado que os parâmetros em estudo não apresentaram influência significativa no intervalo de dados testados na reação de oxidação do álcool benzílico. Porém os dados obtidos indicaram tendências que foram comprovadas na bancada através de novos experimentos como é o caso do aumento da temperatura e redução de catalisador.

A presença de base favorece as conversões de álcool benzílico, porém quando adicionadas em excesso promovem a desativação do suporte catalítico. As otimizações das reações para redução do uso de reagentes e solventes foram obtidas

com êxito, justificando o desenvolvimento do método II utilizado para análise de amostras aquosas.

Seção VI

ARTIGO III

VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DA METODOLOGIA
ANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DOS
PRODUTOS DE OXIDAÇÃO DO GLICEROL

6.1 Aplicação dos catalisadores de AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ na reação de oxidação do glicerol

6.1.1 Experimental

Os experimentos foram desenvolvidos no grupo de pesquisa Catálise e Reatividade Química (GCaR) no Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), na Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

6.1.2 Equipamentos

- Balança analítica modelo AX 200 SHIMADZU (Japão), com resolução de 0,01 mg até 200 g
- Micropipetas KASVI (Brasil)
- Cromatógrafo líquido SHIMADZU (Japão) modelo CTO-20A, bomba isocrática com detector índice de refração RID-10A e sistema de injeção manual
- Sistema de filtração MilliQ-Plus, Millipore® (EUA) composto por cilindro de pressurização, sistema SmartPak DQ3, lâmpada UV (185nm) tanque e sistema com filtro 0,22 µm, garantindo uma resistividade de 18,2 MΩ
- Sistema Ultrassônico para desgaseificação da fase móvel da marca UNIQUE (Brasil) modelo UltraSonic Cleaner
- Sistema de filtração a vácuo composto por bomba a vácuo modelo WP611560 da MILLIPORE (EUA)
- Sistema para medição do pH KEM, Potenciometric Automatic Titrator AT-500N (EUA)
- Aparato de filtração de vidro da marca SUPELCO (EUA)
- Agitador de tubos vortex VX-38, Warmnest, (Brasil)
- Sistema de aquecimento composto por chapa de aquecimento modelo 752A da Fisaton (Brasil), com controle de temperatura e agitação
- Reator Miniclave Inox- Buchi Ag/Switzerland (Suíça)
- Coluna de troca iônica MetaCarb H Plus Varian® (EUA)

6.1.3 Reagentes

A Tabela 28 indica os reagentes utilizados no respectivo trabalho com a especificação da pureza e procedência.

Tabela 28- Reagentes e procedência utilizados.

Reagentes	Pureza	Origem/País
Ácido acético	≥ 99,7%	Sigma-Aldrich/Brasil
Ácido fórmico	≥ 85%	Sigma-Aldrich/Brasil
Ácido Fosfórico	≥ 85.0%	VETEC/Brasil
Ácido glicólico	≥ 98,0 %	Sigma-Aldrich/Brasil
Ácido láctico	≥ 85,5 %	Sigma-Aldrich/Brasil
Ácido oxálico	≥ 99,0 %	Sigma-Aldrich/Brasil
Ácido tartrônico	≥ 97%	Sigma-Aldrich/Brasil
Água deionizada	18,2 MΩ.cm	MILLIPORE/EUA
Gliceraldeído	≥ 90%	Sigma-Aldrich/Brasil
Glicerol	≥ 99,0 %	Sigma-Aldrich/Brasil

Fonte: Autor, 2019.

6.1.2 Preparo da fase móvel

A fase móvel foi preparada a partir do preparo de uma solução de H_3PO_4 0,01 mol L^{-1} pH de 2,24 com auxílio de um pHmetro devidamente calibrado. Após o preparo a fase móvel foi filtrada com um filtro de 0,45 μm de PVDF (difluoreto de polivinilideno) para remoção das partículas e impurezas em um sistema de vácuo. Após a filtração a fase móvel permaneceu em banho ultrassônico durante 1 hora para remoção das bolhas de ar.

As condições experimentais do cromatógrafo líquido foram: fluxo de 0,40 mL min^{-1} , temperatura do forno 40 °C, e temperatura do detector de 35 °C. As amostras foram previamente filtradas. As áreas e alturas obtidas nos cromatogramas foram tratadas através das curvas de calibração obtidas para os compostos.

6.1.3 Validação da metodologia por cromatografia líquida

A metodologia analítica utilizada foi parcialmente validada por GIERTYAS et al., 2016, porém, outros parâmetros adicionais foram validados neste trabalho como

a seletividade do método, que foi avaliada através do método da adição de padrão com intuito de verificar o efeito de matriz. Um branco de reação foi fortificado com os padrões e analisado para comparação com uma curva de calibração realizada na fase móvel em 6 níveis de concentração. As curvas foram comparadas através da aplicação do teste F para os desvios das inclinações.

A precisão intra ensaio foi avaliada através da injeção de 10 amostras preparadas individualmente no limite de quantificação do método ($1,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e a precisão intermediária foi avaliada através da análise da amostra contendo $1,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos padrões em diferentes dias. A robustez do método foi avaliada de forma univariada, com a avaliação dos parâmetros: fluxo, pH da fase móvel, temperatura da coluna e do detector.

6.1.4 Reação de oxidação do glicerol com diferentes catalisadores

A reação de oxidação do glicerol foi realizada em um reator de inox em banho de óleo com solução aquosa contendo NaOH ($0,8 \text{ mol L}^{-1}$) e glicerol ($0,4 \text{ mol L}^{-1}$). Os catalisadores de AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ foram utilizados com uma razão molar de Glicerol:NaOH: Au = 1:2:0,001, o reator foi pressurizado com oxigênio (5 bar) e a mistura reacional foi agitada durante 3 h à 130 ° C.

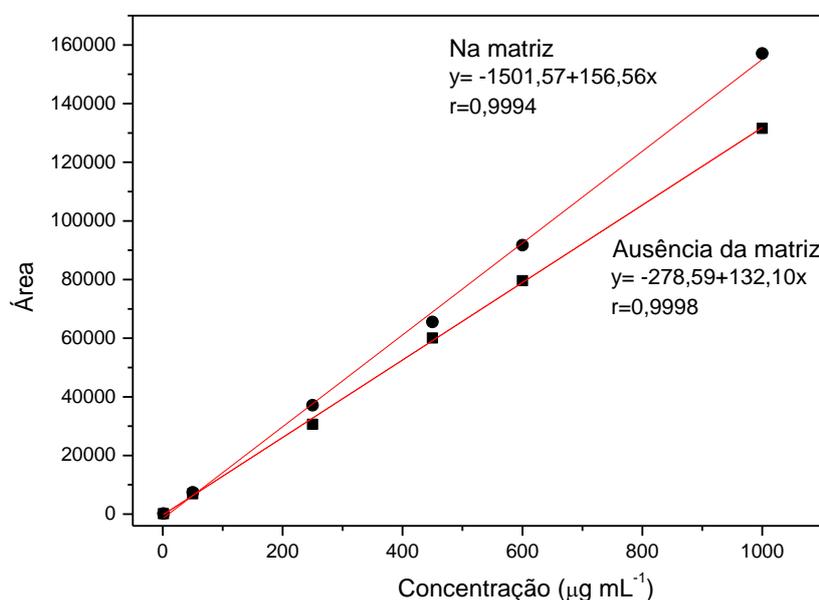
Para o catalisador de AuNP/MWCNT (obtido no grupo de pesquisa), a razão molar utilizada para reação foi: Glicerol:NaOH: Au (1:2:0,0009), nas condições previamente avaliadas (5 bar de oxigênio, 80 ° C e 1h).

Ao término da reação, o reator foi removido do banho de óleo, esperado a diminuição da temperatura, despressurizado. Em seguida, foi aberto para remoção do material que foi armazenado em um tubo falcon e centrifugado para separação do catalisador e posterior análise em HPLC.

6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da seletividade através da adição de padrão na matriz isenta mostrou que não existe diferença significativa entre as curvas analíticas obtidas na matriz, quando comparada com a curva analítica obtida na fase móvel. A Tabela 29 mostra os valores obtidos para o teste F que ficaram na faixa de 1,04 a 4,88 comprovando que a metodologia proposta é seletiva, visto que o valor de F tabelado (n-1) foi de 5,05. A Figura 43 apresenta a comparação das equações da reta para o ácido fórmico considerando a área do pico cromatográfico na presença e ausência da matriz.

Figura 43- Comparação das curvas de calibração obtidas na presença e ausência de matriz para o ácido fórmico pela avaliação da área do pico.



Fonte: Autor, 2019.

As outras comparações das curvas de calibração na presença e ausência de matriz para os compostos: ácido oxálico, ácido tartrônico, gliceraldeído, ácido glicólico, ácido láctico, glicerol, ácido fórmico e ácido acético estão representadas no (Anexo F, pg. 160).

Tabela 29- Teste F aplicado na seletividade do método através da avaliação das curvas de calibração na presença e ausência da matriz.

Composto		Ausência de matriz			Presença da matriz			F calculado ^c
		Equações de regressão linear	s ^a	r ^b	Equações de regressão linear	s ^a	r ^b	
Ácido oxálico	Área	y= -1950,21+119,9695x	2,8898	0,9988	y= -3339,66+143,2038x	2,9846	0,9978	1,07
	Altura	y= -19,6988+8,10726x	0,17403	0,9991	y= -350,577+8,17585x	0,3790	0,9894	4,74
Ácido tartrônico	Área	y= -79,869+76,953x	1,3124	0,9994	y= -2277,429+75,187x	2,8546	0,9971	4,73
	Altura	y=28,272+5,3947x	0,1131	0,9991	y= -169,8724+5,1701	0,1743	0,9977	2,38
Gliceraldeído	Área	y= 4030,799+370,3537x	9,7182	0,9986	y= 5201,502+377,3253x	9,5133	0,9987	1,04
	Altura	y= 209,1016+18,9097x	0,5128	0,9985	y=200,5275+18,52327x	0,3578	0,9993	2,05
Ácido glicólico	Área	y= -166,066+196,6105x	3,8877	0,9992	y= -2756,971+234,0531x	6,1691	0,9986	2,52
	Altura	y= 3,11109+10,5061x	0,2039	0,9993	y= -88,083+11,74928x	0,1080	0,9998	3,56
Ácido láctico	Área	y= -370,455+181,2158x	3,1744	0,9994	y= 592,665+278,9589x	7,0127	0,9991	4,88
	Altura	y= -12,6172+10,22167x	0,1755	0,9994	y= 18,12312+14,38653x	0,35364	0,9991	4,06
Glicerol	Área	y= -616,807+315,5698x	6,0510	0,9995	y= -1553,89+236,5751x	7,8059	0,9984	1,66
	Altura	y=-7,20599+16,4909x	0,2928	0,9994	y= -92,5633+12,08267x	0,2450	0,9992	1,43
Ácido fórmico	Área	y= -278,591+132,1032x	1,4823	0,9998	y=-1501,58+156,5527x	2,6654	0,9994	3,23
	Altura	y= 5,21406+6,38159x	0,0776	0,9997	y= -49,7984+6,95323x	0,0986	0,9996	1,61
Ácido acético	Área	y= -541,47+174,317x	1,6632	0,9998	y= -866,941+181,0304x	2,7546	0,9995	2,74
	Altura	y= 0,70147+7,51591x	0,0806	0,9998	y= -17,6694+7,40798x	0,0469	0,9999	2,95

Fonte: Autor, 2019.

s^a = desvio padrão da inclinação da curva analítica, r^b = coeficiente de correlação, F^c = razão entre a maior e a menor variação das curvas de inclinação (teste F).

Nos testes de precisão intra ensaio apresentados na Tabela 30 realizados na faixa de concentração do LOQ ($1,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram obtidos valores de CV $\leq 17,93\%$, estando de acordo com os dados da Trombeta de Horwitz para este nível de concentração.

Tabela 30- Precisão intra ensaio do método obtida no limite de quantificação ($1,25 \mu\text{g mL}^{-1}$).

<i>Composto</i>	<i>Área pico</i>		<i>Altura pico</i>	
	<i>Desvio</i>	<i>CV %</i>	<i>Desvio</i>	<i>CV %</i>
Ácido oxálico	0,10	14,92	0,21	14,58
Ácido tartrônico	0,26	8,40	0,20	8,32
Gliceraldeído	0,07	3,60	0,08	0,71
Ácido glicólico	0,12	11,43	0,09	3,64
Ácido láctico	0,72	16,81	0,65	12,25
Glicerol	0,11	4,66	0,16	1,45
Ácido fórmico	0,22	3,68	0,33	17,93
Ácido acético	0,45	3,77	0,28	3,45

Fonte: Autor, 2019.

A Tabela 31 mostra os valores obtidos na determinação da precisão intermediária em dias diferentes, obtidos no limite de quantificação do método. Os CV considerando a área e a altura do pico obtidos foram $\leq 19,36\%$. Esta variação ocorre

em função da baixa concentração do analito, contudo valores de $CV \leq 25\%$ indicam um conjunto de dados razoavelmente homogêneo em relação à média.

Tabela 31- Precisão intermediária avaliada em diferentes dias no limite de quantificação.

Composto	Área pico		Altura pico	
	Desvio	CV %	Desvio	CV %
Ácido oxálico	0,21	13,16	0,20	19,06
Ácido tartrônico	0,23	14,13	0,19	12,74
Gliceraldeído	0,16	8,89	0,16	11,33
Ácido glicólico	0,15	11,48	0,25	18,61
Ácido láctico	0,26	12,38	0,30	14,33
Glicerol	0,23	15,89	0,26	18,21
Ácido fórmico	0,32	19,36	0,13	8,43
Ácido acético	0,25	15,29	0,20	8,49

Fonte: Autor, 2019

Na Tabela 32 estão representados os valores obtidos na avaliação da robustez do método pela variação da área e da altura do pico. As maiores variações foram observadas com um aumento do pH de 2,24 para 2,34. As maiores variações foram observadas tanto na área quanto na altura dos compostos ácido tartrônico, glicerol e ácido fórmico. O método proposto é robusto em termos de variações no fluxo da fase móvel, na temperatura do detector e utilizando uma fase móvel com pH de 2,14.

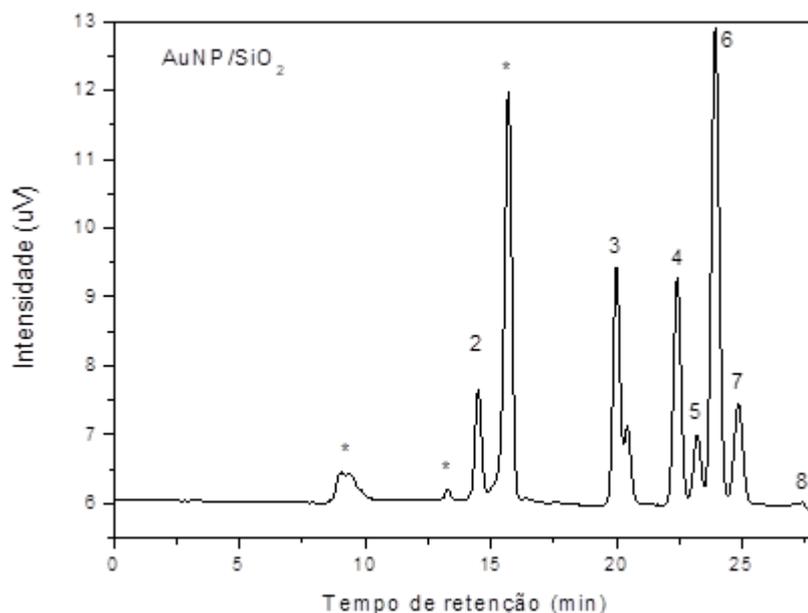
Para a avaliação do método em situações reais foram testados 3 diferentes catalisadores: AuNP/SiO₂, AuNP@SiO₂ e AuNP/MWCNT. A Figura 44 mostra o cromatograma obtido na análise da reação utilizando o catalisador de AuNP/SiO₂.

Tabela 32- Avaliação da robustez do método em função da variação da área e altura do pico.

Composto	Condição	Fluxo (mL min ⁻¹)			pH fase móvel			Temperatura coluna (°C)			Temperatura detector (°C)		
		padrão	0,32	0,38	padrão	2,14	2,34	padrão	35,0	45,0	padrão	30,0	40,0
Ácido oxálico	(área± 2097)	73662	77390	75803	59545	60017	60266	72506	73022	74602	67073	66149	65035
	(altura ± 264)	5102	5317	5125	4075	4529	4528	5269	5199	5310	3974	4425	4426
Ácido tartrônico	(área± 2135)	32121	34393	35175	27588	28371	22429	40444	36937	40765	31506	33193	31232
	(altura ± 148)	2286	2424	2331	1801	1913	1323	2677	2432	2565	1899	1982	1978
Gliceraldeído	(área± 10213)	175360	191026	186508	166110	182871	157650	177711	178630	179041	177118	180909	181460
	(altura ± 474)	8299	8417	8252	7317	8242	7524	8413	8397	8455	7807	8061	8123
Ácido glicólico	(área± 5644)	111741	113710	115667	95831	104453	97844	116894	106742	120029	102640	104503	102233
	(altura ± 268)	5433	5441	5346	4413	4826	4638	5595	5283	5611	4730	4740	4741
Ácido láctico	(área± 5091)	117971	125271	122371	76716	84862	81468	116578	111673	121721	80309	85161	83784
	(altura ± 254)	5786	5868	5713	3663	4039	4124	5774	5269	6103	3883	3970	3987
Glicerol	(área± 5420)	101560	103295	103265	65057	73383	41020	101455	92431	94836	70689	73071	71131
	(altura ± 241)	4870	4790	4756	3158	3524	2230	4929	4636	4714	3390	3436	3444
Ácido fórmico	(área± 3841)	71203	69206	72777	49206	53353	14870	75594	80411	68116	56252	54299	53701
	(altura ± 158)	3126	2897	3042	2232	2431	1154	3028	3182	2752	2509	2534	2418
Ácido acético	(área± 4747)	92755	89083	93749	74261	82410	78061	88849	93534	89690	81781	85269	82495
	(altura ± 177)	3488	3351	3391	2785	3062	2956	3446	3576	3417	3063	3110	3055

Fonte: Autor, 2019.

Figura 44- Cromatograma obtido a partir da análise de amostra da reação de oxidação do glicerol, aplicando o catalisador de AuNP/SiO₂.



Fonte: Autor, 2019.

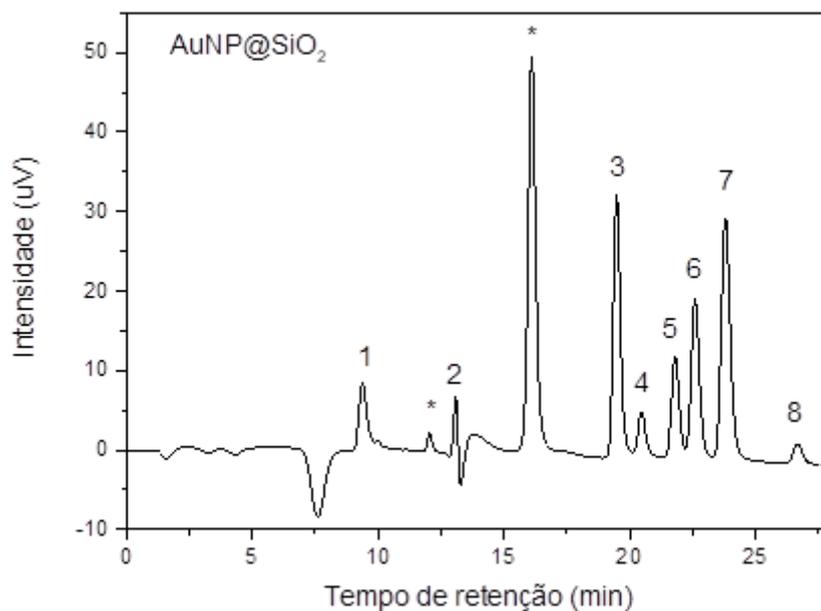
2- ácido tartrônico, 3- gliceraldeído, 4- ácido glicólico, 5- ácido láctico, 6- glicerol, 7- ácido fórmico, 8-ácido acético e * compostos desconhecidos.

Na reação com AuNP/SiO₂ (Fig. 44) foi obtida uma conversão do glicerol de 62,42% formando 5 produtos: ácido tartrônico: 17,8%, gliceraldeído: 18,3%, ácido glicólico 18,0%, ácido láctico 3,5% e ácido fórmico 14,8%. O ácido acético foi apenas identificado, estando abaixo do LOQ.

Com a aplicação do catalisador AuNP@SiO₂ foi obtida uma conversão um pouco maior, de 69,5% e foram formados mais compostos (7 produtos): ácido oxálico: 7,01%, ácido tartrônico: 1,52%, gliceraldeído: 25,3%, ácido glicólico 16,95%, ácido láctico 22,33%, ácido fórmico 7,56% e ácido acético 19,30% conforme mostra o cromatograma da Figura 45.

Para a aplicação do catalisador AuNP/MWCNT, Figura 46, a reação obteve uma conversão ainda maior de glicerol de 89,5%, formando 6 produtos: ácido oxálico: 2,2%, ácido tartrônico: 15,6%, gliceraldeído: 33,5%, ácido glicólico 12,7%, ácido láctico 8,6% e ácido fórmico 15,7%.

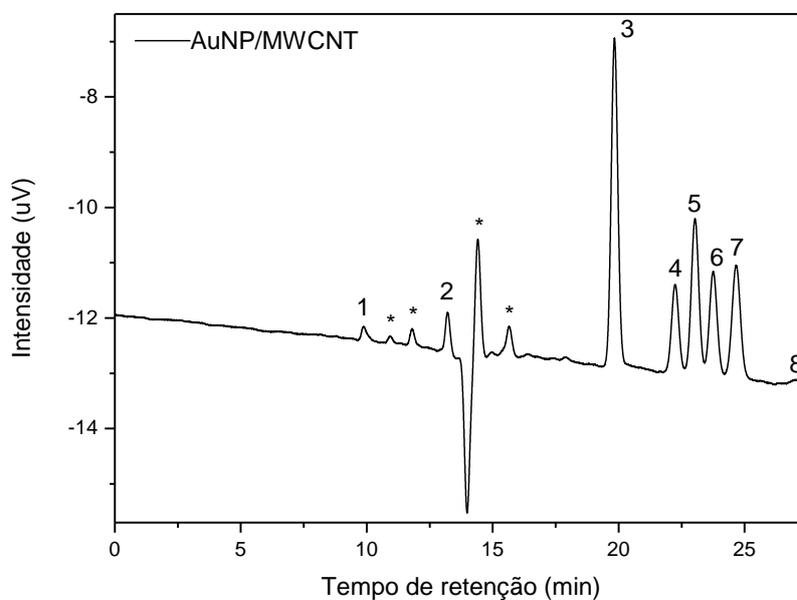
Figura 45- Cromatograma obtido a partir da análise de amostra da reação de oxidação do glicerol, aplicando o catalisador de AuNP@SiO₂.



Fonte: Autor, 2019.

1- ácido oxálico, 2- ácido tartrônico, 3- gliceraldeído, 4- ácido glicólico, 5- ácido láctico, 6- glicerol, 7- ácido fórmico, 8-ácido acético e * compostos desconhecidos.

Figura 46- Cromatograma obtido a partir da análise de amostra da reação de oxidação do glicerol, aplicando o catalisador de AuNP/MWCNT.



Fonte: Autor, 2019.

1- ácido oxálico, 2- ácido tartrônico, 3- gliceraldeído, 4- ácido glicólico, 5- ácido láctico, 6- glicerol, 7- ácido fórmico, 8-ácido acético e * compostos desconhecidos.

6.3 Conclusões

A metodologia analítica baseada em HPLC mostrou-se seletiva com a comparação das curvas obtidas através da adição de padrões. Os valores de CV obtidos no limite de quantificação para a precisão intra ensaio e precisão intermediária foram de 17,93 e 19,36% respectivamente, considerados satisfatórios para o nível de concentração avaliado ($1,25 \mu\text{g mL}^{-1}$). O método proposto é robusto para as alterações avaliadas com exceção para a utilização de fase móvel em valores de pH maiores (2,34) do que o estabelecido na metodologia (2,24). Através dos cromatogramas obtidos para as diferentes reações de oxidação do glicerol utilizando diferentes catalisadores foi possível observar a separação dos compostos avaliados nas diferentes conversões obtidas. O catalisador com maior conversão de glicerol foi o catalisador de AuNP/MWCNT, seguido por AuNP@SiO₂ e AuNP/SiO₂.

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422019004700729&script=sci_abstract

Quim. Nova, Vol. 42, No. 7, 729-735, 2019

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170391>

IMPROVEMENT OF AN ANALYTICAL METHOD BASED ON HPLC WITH REFRACTIVE INDEX DETECTION FOR THE ANALYSIS OF GLYCEROL OXIDATION PRODUCTS

Cristian J. Giertyas^a, Débora S. da Silva^a, Camila L. F. da Silva^b, Mario R. Meneghetti^a, Simoni M. Plentz Meneghetti^a, Ruziene M. de Almeida^a and Janaína H. Bortoluzzi^{a,*}

^aInstituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57072-970 Maceió – AL, Brasil

^bSecretaria Estadual de Educação do Estado do Paraná e Serviço Social do Comércio, 80240-900 Curitiba – PR, Brasil

Recebido em 08/03/2019; aceito em 03/07/2019; publicado na web em 29/07/2019

The optimized analytical methodology described herein is based on an ion exchange column and an H₃PO₄ solution (pH 2.24) as the mobile phase, with a flow rate of 0.4 mL min⁻¹ and refractive index detection (RID). On applying the methodology, it was possible to identify 7 products obtained from the oxidation of glycerol with an analysis time of 27 min. The developed method was validated through the evaluation of a series of analytical parameters. The results obtained were evaluated considering the peak area and peak height. The analytical curves showed a correlation coefficient of ≥ 0.986 . The coefficient of variation values obtained were $\leq 3.60\%$ for instrumental precision, $\leq 19.36\%$ for intermediate precision in LOQ (1.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and $\leq 17.93\%$ for repeatability in LOQ (1.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and different days. The limit of quantification established for all compounds was 1.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ obtained through the parameters of the analytical curve. The accuracy of the method showed recovery values of 85.6 to 112.3% for real fortified sample at 3 concentration levels. Two different samples of glycerol oxidation products were applied to the validated methodology; one obtained from AuNP/SiO₂ as catalyst (conversion of 62.42%), and other using AuNP/MWCNT (conversion of 89.5%).

Keywords: High-performance Liquid Chromatography; ion exchange column; glycerol oxidation; analytical methodologies; identification and quantification.

Seção VII
CONCLUSÃO GERAL

7. CONCLUSÕES GERAIS

A síntese e caracterização nas nanopartículas a base de AuNP/SiO₂ e AuNP@SiO₂ foi obtida com êxito. As caracterizações estruturais e morfológicas confirmaram a obtenção de catalisadores suportados ou na forma *core-shell*.

A metodologia proposta para a quantificação do ouro por espectrometria de absorção atômica em chama, mostrou-se adequada para determinar o teor em diferentes catalisadores com ouro e sílica, contudo, o preparo de amostra é um fator importante neste processo e mostrou-se eficiente para confirmar a localização do ouro nos catalisadores.

O método I foi desenvolvido e validado utilizando uma coluna polar para a análise dos produtos da reação de oxidação do álcool benzílico (modelo) e os resultados obtidos mostraram que o método é preciso para a faixa de trabalho proposta. Os parâmetros avaliados através dos guias orientativos apresentaram resultados condizentes com as concentrações avaliadas. No entanto, com essa metodologia só é possível avaliar reações que sejam realizadas utilizando álcool benzílico concentrado, não sendo possível avaliar reações aquosas.

O método II foi desenvolvido e validado utilizando uma coluna apolar, para que estudos da reação em fase aquosa fossem realizados. As otimizações das reações para fase aquosa, foram realizadas através do uso de um catalisador comercial a base de AuPd disponível no grupo de pesquisa. Com as condições reacionais otimizadas mantendo a estequiometria, novas reações foram propostas em meio aquoso aplicação de diversos catalisadores com intuito de comprovar a robustez do método, um dos parâmetros de validação.

Por fim, os catalisadores sintetizados e caracterizados neste trabalho foram aplicados na reação de oxidação do glicerol (molécula mais complexa e para isso utilizou-se um método de HPLC parcialmente validado no grupo. O método foi validado e mostrou-se robusto sendo aplicado a reações utilizando diferentes catalisadores.

REFERÊNCIAS

ADAMS, T.B.; COHEN, S.M.; DOULL, J.; et al. The FEMA GRAS assessment of benzyl derivatives used as flavor ingredients, **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 8, p. 1207–1240, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS-ANP. <http://www.anp.gov.br/producao-debiocombustiveis/biodiesel/informacoes-de-mercado> [acessado 10.08.18].

ALBANO, F.M.; RAYA-RODRIGUEZ, M.T. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais: guia prático**. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2009.

ALEMAYEHU ASFAW, A. et al. Development and validation of a thermal desorber gas chromatography method for determination of residual solvents in drug loaded albumin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 179, p. 113032, fev. 2020.

ALLEN, L. J. et al. Chemical mapping at atomic resolution using energy-dispersive x-ray spectroscopy. **MRS Bulletin**, v. 37, n. 1, p. 47–52, jan. 2012.

ALMEIDA, M. C. DE A. et al. Concentração de fenol em resíduos de laboratórios de análises clínicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 431–437, ago. 2011.

ALSHAMMARI. Heterogeneous Gold Catalysis: From Discovery to Applications. **Catalysts**, v. 9, n. 5, p. 402, 29 abr. 2019.

ANASTAS, Paul; EGHBALI, Nicolas, Green Chemistry: Principles and Practice, **Chem, Soc, Rev.**, v. 39, n. 1, p. 301–312, 2010.

ANSAR, S. M.; MUDALIGE, T. Characterization of doxorubicin liposomal formulations for size-based distribution of drug and excipients using asymmetric-flow field-flow fractionation (AF4) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 574, p. 118906, 25 jan. 2020.

ARAGAO, N. M. DE; ANDRADE, M. C. DA C. V. E J. B. DE. Validação de métodos cromatográficos de análise - um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2476–2481, 2009.

ARAGÃO, N. M. DE; VELOSO, M. C. DA C.; ANDRADE, J. B. DE. Validação de métodos cromatográficos de análise: um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da “Química Verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2476–2481, 2009.

ARNAL, P. M.; COMOTTI, M.; SCHÜTH, F. High-Temperature-Stable Catalysts by Hollow Sphere Encapsulation. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 48, p. 8224–8227, 11 dez. 2006.

AVAMI, Akram, A model for biodiesel supply chain: A case study in Iran, **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 6, p.4196–4203, 2012.

BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. Glicerol: Um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p.306-319, 2011.

BELLER, Matthias; RENKEN, Albert; SANTEN, R. A. Van (Orgs.). Catalysis: from principles to applications, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012.

BELTRÁN-PRIETO, J.C.; PECHA, J.; KAŠPÁRKOVÁ, V.; KOLOMAZNÍK, K. Development of an HPLC method for the determination of glycerol oxidation products, **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, 36:19, 2758-2773, 2013.

BERNARDO-GUSMÃO, K.; PERGHER, S. B. C.; SANTOS, E. N. DOS. UM PANORAMA DA CATÁLISE NO BRASIL NOS ÚLTIMOS 40 ANOS. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 650–655, jul. 2017.

BERTOLDI, F. C. et al. Validação de um método analítico rápido por CLAE-UV para determinação de cumarina em guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) confirmado com espectrometria de massas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 316–325, 2016.

BIJUDAS, K.; BASHPA, P.; BIBIN, V. P.; et al. Selective Synthesis of Benzaldehydes by Hypochlorite Oxidation of Benzyl Alcohols under Phase Transfer Catalysis. **Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis**, v. 10, n. 1, p.38–42, 2015.

BOGDAL, D.; LUKASIEWICZ, M.; PIELICHOWSKI, J.; et al. Microwave-assisted oxidation of alcohols using Magtrieve™, **Tetrahedron**, v. 59, n. 5, p.649–653, 2003.

BOMBANA, H. S. et al. Hollow-fibre liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometric determination of amphetamines in whole blood. **Journal of Chromatography B**, v. 1139, p. 121973, fev. 2020.

BOND, Geoffrey C.; THOMPSON, David T, Catalysis by Gold. **Catalysis Reviews**, v. 41, n. 3–4, p.319–388, 1999.

BRITO, N. M. et al. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS: ESTRATÉGIA E DISCUSSÃO. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, 31 dez. 2003.

BRUMMUND, Jan; SONKE, Theo; MÜLLER, Monika, Process Development for Biocatalytic Oxidations Applying Alcohol Dehydrogenases. **Organic Process Research & Development**, v. 19, n. 11, p.1590–1595, 2015.

CAVALIERE-JARICOT, S.; DARBANDI, M.; NANN, T. Au–silica nanoparticles by “reverse” synthesis of cores in hollow silica shells. **Chem. Commun.**, n. 20, p. 2031–2033, 2007.

CELEBI, M. et al. Palladium nanoparticles supported on amine-functionalized SiO₂ for the catalytic hexavalent chromium reduction. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 180, p. 53–64, 1 jan. 2016.

CHANDRASEKARAN, S.; GANESH, V. 7.10 Oxidation Adjacent to Oxygen of Alcohols by Chromium Reagents. In: KNOCHER, P. (Ed.). **Comprehensive Organic Synthesis II (Second Edition)**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 277–294.

CHEN, J. et al. One-pot synthesis of thermally stable gold@mesoporous silica *core-shell* nanospheres with catalytic activity. **Nano Research**, v. 6, n. 12, p. 871–879, dez. 2013.

CHEN, Yuanting; LIM, Huimin; TANG, Qinghu; et al. Solvent-free aerobic oxidation of benzyl alcohol over Pd monometallic and Au–Pd bimetallic catalysts supported on SBA-16 mesoporous molecular sieves. **Applied Catalysis A: General**, v. 380, n. 1–2, p.55–65, 2010.

CHOUHARY, V. R.; JHA, R.; JANA, P. Solvent-free selective oxidation of benzyl alcohol by molecular oxygen over uranium oxide supported nano-gold catalyst for the production of chlorine-free benzaldehyde. **Green Chemistry**, v. 9, n. 3, p. 267, 2007.

CHOUHARY, Vasant R.; DUMBRE, Deepa K. Solvent-free selective oxidation of primary alcohols-to-aldehydes and aldehydes-to-carboxylic acids by molecular oxygen over MgO-supported nano-gold catalyst. **Catalysis Communications**, v. 13, n. 1, p.82–86, 2011.

CIRIMINNA, Rosaria; FALLETTA, Ermelinda; DELLA PINA, Cristina; et al, Industrial Applications of Gold Catalysis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 55, n. 46, p.14210–14217, 2016.

CORMA, Avelino; GARCIA, Hermenegildo. Supported gold nanoparticles as catalysts for organic reactions, **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 9, p.2096, 2008.

COSTA, B. E. B. et al. Esterificação do ácido oleico utilizando aluminossilicato mesoporoso modificado com óxido de zircônio. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 24, n. 1, 2019.

COSTA, P. P. K. G. Catalisadores químicos utilizados na síntese de biodiesel. Embrapa Agroenergia, Brasília, 2011.

CUNICO, M. W. M. et al. PLANEJAMENTO FATORIAL: UMA FERRAMENTA ESTATÍSTICA VALIOSA PARA A DEFINIÇÃO DE PARÂMETROS EXPERIMENTAIS EMPREGADOS NA PESQUISA CIENTÍFICA. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 1, 2008.

DANIEL, Marie-Christine; ASTRUC, Didier, Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications Toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology. **Chem, Rev.**, v. 35, n. 16, p. 293-346, 2004.

DE OLIVEIRA, L.C.F, **SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO SUPORTADAS EM SÍLICA MESOPOROSA E AVALIAÇÃO DE SUAS PROPRIEDADES CATALÍTICAS FRENTE À REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DO ÁLCOOL BENZÍLICO**, 2011, Dissertação de mestrado (Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2011.

DÍAZ, José Antonio; SKRZYŃSKA, Elżbieta; GIRARDON, Jean-Sébastien; et al. Kinetic modeling of the quasi-homogeneous oxidation of glycerol over unsupported gold particles in the liquid phase: A new kinetic model for glycerol oxidation. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 1, p.72–79, 2016.

DÍAZ-ÁLVAREZ, A.; E.; CADIerno, V. Glycerol: A promising Green Solvent and Reducing Agent for Metal-Catalyzed Transfer Hydrogenation Reactions and Nanoparticles Formation. **Applied Sciences**, 3, p,55-69, 2013.

DONOHUE, M. D.; ARANOVICH, G.L. Adsorption Hysteresis in Porous Solids. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 205, n. 1, p.121–130, 1998.

EDWARDS, J. K.; SOLSONA, B.; N. E. N.; et al. Switching Off Hydrogen Peroxide Hydrogenation in the Direct Synthesis Process, **Science**. v. 323, n. 5917, p.1037–1041, 2009.

EL-GAWAD, H. A. Validation method of organochlorine pesticides residues in water using gas chromatography–quadruple mass. **Water Science**, v. 30, n. 2, p. 96–107, 1 out. 2016.

EUSTIS, Susie; EL-SAYED, Mostafa A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. **Chem, Soc, Rev.**, v. 35, n. 3, p.209–217, 2006.

FABRICIUS, A.-L. et al. ICP-MS-based characterization of inorganic nanoparticles—sample preparation and off-line fractionation strategies. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 2, p. 467–479, jan. 2014.

FALL, Alioune; SENE, Massene; GAYE, Mohamed; et al. Ionic liquid-supported TEMPO as catalyst in the oxidation of alcohols to aldehydes and ketones. **Tetrahedron Letters**, v. 51, n. 34, p.4501–4504, 2010.

FAN, G.-X. et al. Analysis of Liquefaction Product Oils from Fischer-Tropsch Synthesis Using Column Liquid Chromatography/Gas Chromatography. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 35, n. 8, p. 1092–1098, 1 ago. 2007.

FANG, X. et al. A cationic surfactant assisted selective etching strategy to hollow mesoporous silica spheres. **Nanoscale**, v. 3, n. 4, p. 1632, 2011.

FENG, Xue; LV. Panpan; SUN, Wei; et al. Reduced graphene oxide-supported Cu nanoparticles for the selective oxidation of benzyl alcohol to aldehyde with molecular oxygen. **Catalysis Communications**, v. 99, p.105–109, 2017.

FENG, Y, et al. Selectively catalytic oxidation of 1,2 propanediol to lactic, formic, and acetic acids over Ag nanoparticles under mild reaction conditions. **Journal of Catalysis**, 326, p.26–37, 2015.

FENG, Y.; YIN, H.; WANG, A.; XUE, W. Selectively catalytic oxidation of 1,2 propanediol to lactic, formic, and acetic acids over Ag nanoparticles under mild reaction conditions. **Journal of Catalysis**, 326, 26–37, 2015.

FERNANDEZ-LOPEZ, L. et al. Development and validation of a gas chromatography–mass spectrometry method for opiates and cocaine in human bone. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 164, p. 636–641, fev. 2019.

FERREIRA, Hadma Sousa; RANGEL, Maria do Carmo, Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p.1860–1870, 2009.

GAMA, M. R. et al. An overview of the Brazilian contributions to Green Analytical Chemistry. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 2019.

GAO, G. et al. Determination of polychlorinated biphenyls in tea using gas chromatography-tandem mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction. **Food Chemistry**, p. 126290, jan. 2020.

GARCIA, Amanda C.; BIRDJA, Yuvraj Y.; TREMILIOSI-FILHO, Germano; et al. Glycerol electro-oxidation on bismuth-modified platinum single crystals, **Journal of Catalysis**, v. 346, p.117–124, 2017.

GARCIA, M. A. S. et al. Determination of Metal Loading in Heterogeneous Catalyst by Slurry Sampling Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014.

GARCIA, M. A. S. et al. Determination of Metal Loading in Heterogeneous Catalyst by Slurry Sampling Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014.

GIERTYAS, C, J. **DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS PARA A DETERMINAÇÃO DOS PRODUTOS DE OXIDAÇÃO DO GLICEROL**, 2016, Dissertação de mestrado (Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2016.

GUTIÉRREZ, L.-F.; HAMOUDI, S.; BELKACEMI, K. Synthesis of Gold Catalysts Supported on Mesoporous Silica Materials: Recent Developments. **Catalysts**, v. 1, n. 1, p. 97–154, 2 dez. 2011.

HARRIS, Daniel C; BORDINHÃO, Jairo. *Análise química quantitativa*, Rio de Janeiro: LTC, 2008.

HARUTA, Masatake; KOBAYASHI, Tetsuhiko; SANO, Hiroshi; et al. Novel Gold Catalysts for the Oxidation of Carbon Monoxide at a Temperature far Below 0 °C. **Chemistry Letters**, v. 16, n. 2, p.405–408, 1987.

HOAI, P. M. et al. Dicarboxylic degradation products of nonylphenol polyethoxylates: synthesis and identification by gas chromatography–mass spectrometry using electron and chemical ionization modes. **Journal of Chromatography A**, v. 1061, n. 1, p. 115–121, 17 dez. 2004.

HU, Juncheng; CHEN, Lifang; ZHU, Kake; et al. Aerobic oxidation of alcohols catalyzed by gold nanoparticles confined in the walls of mesoporous silica. **Catalysis Today**, v. 122, n. 3–4, p.277–283, 2007.

HUGHES, Mathew D.; XU, Yi-Jun; JENKINS, Patrick; et al. Tunable gold catalysts for selective hydrocarbon oxidation under mild conditions. **Nature**, v. 437, n. 7062, p.1132–1135, 2005.

HUH, S. et al. Organic Functionalization and Morphology Control of Mesoporous Silicas via a Co-Condensation Synthesis Method. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 22, p. 4247–4256, nov. 2003.

HUIRACHE-ACUÑA, Rafael; NAVA, Rufino; PEZA-LEDESMA, Carmen; et al. SBA-15 Mesoporous Silica as Catalytic Support for Hydrodesulfurization Catalysts. **Review, Materials**, v. 6, n. 9, p.4139–4167, 2013.

IBÁÑEZ, Ana B; BAUER, Stefan. Analytical method for the determination of organic acids in dilute acid pretreated biomass hydrolysate by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 1, 2014. Disponível em: <<http://biotechnologyforbiofuels.biomedcentral.com/articles/10,1186/s13068-014-0145-3>>, Acesso em: 1 jan, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO); Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, 2018.

JI, Hong-Bing; WANG, Ting-Ting; ZHANG, Mei-Ying; et al. Green oxidation of alcohols by a reusable nickel catalyst in the presence of molecular oxygen. **Reaction Kinetics and Catalysis Letters**, v. 90, n. 2, p.251–257, 2007.

KAZEMIFARD, A. G. et al. Capillary gas chromatography determination of benzaldehyde arising from benzyl alcohol used as preservative in injectable formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, n. 4, p. 685–691, 26 mar. 2003.

KING, A, G.; WRIGHT, M, W, Rudolph. Diesel Meets the Soybean: “Greasing” the Wheels of Chemical Education, **Chemical Education Today**, 84 (2) p,202-206, 2007.

KOROVCHENKO, P., DONZE, C., GALLEZOT, P., BESSON, M. Oxidation of primary alcohols with air on carbon-supported platinum catalysts for the synthesis of aldehydes or acids. **Catalysis Today**, 121, 13–21, 2007.

KROUTIL, Wolfgang; MANG, Harald; EDEGGER, Klaus; et al. Biocatalytic Oxidation of Primary and Secondary Alcohols. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 346, n. 23, p.125–142, 2004.

LEI, Ming; HU, Rui-Jun; WANG, Yan-Guang. Mild and selective oxidation of alcohols to aldehydes and ketones using NaIO₄/TEMPO/NaBr system under acidic conditions. **Tetrahedron**, v. 62, n. 38, p.8928–8932, 2006.

LENARDÃO, Eder João; FREITAG, Rogério Antônio; DABDOUB, Miguel J.; et al. “Green Chemistry”: os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa, **Química Nova**, v. 26, n. 1, p.123–129, 2003.

LEOFANTI, G. et al. Catalyst characterization: characterization techniques. **Catalysis Today**, v. 34, n. 3–4, p. 307–327, fev. 1997.

LI, Y.; SOMORJAI, G. A. Nanoscale Advances in Catalysis and Energy Applications. **Nano Letters**, v. 10, n. 7, p. 2289–2295, 14 jul. 2010.

LINSINGER, T. P. J.; JOSEPHS, R. D. Limitations of the application of the Horwitz equation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, n. 11, p. 1125–1130, dez. 2006.

LIPSITZ, E. et al. A sensitive and selective liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for determination of MLN8237 in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 25, p. 2369–2373, set. 2010.

LIU, Z. et al. Development and validation of a sensitive method for alkyl sulfonate genotoxic impurities determination in drug substances using gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 168, p. 23–29, maio 2019.

LOW, F.; ZHANG, L. Microwave digestion for the quantification of inorganic elements in coal and coal ash using ICP-OES. **Talanta**, v. 101, p. 346–352, 15 nov. 2012.

MA, C. Y. et al. Catalytic oxidation of benzyl alcohol on Au or Au–Pd nanoparticles confined in mesoporous silica. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 92, n. 1–2, p. 202–208, out. 2009.

MA, Chun Yan; CHENG, Jie; WANG, Hai Lin; et al. Characteristics of Au/HMS catalysts for selective oxidation of benzyl alcohol to benzaldehyde, **Catalysis Today**, v. 158, n. 3–4, p.246–251, 2010.

MALLAT, Tamas; BAIKER, Alfons. Oxidation of Alcohols with Molecular Oxygen on Solid Catalysts, **Chemical Reviews**, v. 104, n. 6, p.3037–3058, 2004.

MARINHO, P. A.; LEITE, E. M. A. Quantification of LSD in illicit samples by high performance liquid chromatography. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 4, p. 695–703, dez. 2010.

Método 8000C - Separações cromatográficas determinadas. FID. 2003. Bellefonte, PA.

MIEDZIAK, Peter; SANKAR, Meenakshisundaram; DIMITRATOS, Nikolaos; et al. Oxidation of benzyl alcohol using supported gold–palladium nanoparticles, **Catalysis Today**, v. 164, n. 1, p.315–319, 2011.

MONTEIRO, Marcos Roberto; KUGELMEIER, Cristie Luis; PINHEIRO, Rafael Sanaiotte; et al. Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 88, p.109–122, 2018.

NAM, Kidon; LIM, Seongyop; KIM, Sang-Kyung; et al. Application of silica as a catalyst support at high concentrations of methanol for direct methanol fuel cells, *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 37, n. 5, p.4619–4626, 2012.

NASSAR, Eduardo José; MESSADDEQ, Younès; RIBEIRO, Sidney José Lima. Influência da catálise ácida e básica na preparação da sílica funcionalizada pelo método sol-gel. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p.27–31, 2002.

NIEMELÄ, M.; PITKÄÄHO, S.; OJALA, S.; et al. Microwave-assisted aqua regia digestion for determining platinum, palladium, rhodium and lead in catalyst materials. **Microchemical Journal**, v. 101, p.75–79, 2012.

OLIVEIRA, Carla A; MENDES, Maria E. Gestão da fase analítica do laboratório: como assegurar a qualidade na prática.1 ed. - Rio de Janeiro: ControlLab, 2010.

OLIVEIRA, E. C. DE; AGUIAR, P. F. DE. Comparação de diferentes abordagens para avaliação da incerteza na cromatografia gasosa do gás natural. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1655–1660, 2009.

PERIS-VICENTE, J.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Validation of Analytical Methods Based on Chromatographic Techniques: An Overview. In: PINO, V. et al. (Eds.). **Analytical Separation Science**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2015. p. 1757–1808.

PINA, Cristina Della; FALLETTA, Ermelinda; ROSSI, Michele. Update on selective oxidation using gold. **Chem, Soc, Rev.**, v. 41, n. 1, p.350–369, 2012.

PINTO, A.C. et al. Biodiesel: An Overview, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, p,1313-1330, 2005.

PINTO, I. C. et al. Development and validation of an analytical method using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to determine ethyl butylacetylaminopropionate in topical repellent formulations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 2, 2017.

RAIMBAULT, A.; NOIREAU, A.; WEST, C. Analysis of free amino acids with unified chromatography-mass spectrometry—application to food supplements. **Journal of Chromatography A**, p. 460772, 6 dez. 2019.

REDDY, V. G. et al. Highly dispersed cobalt oxide nanoparticles on manganese oxide nanotubes for aerobic oxidation of benzyl alcohol. **Catalysis Communications**, v. 130, p. 105763, out. 2019.

REY-RAAP, N. et al. Catalytic conversion of cellulose to sorbitol over Ru supported on biomass-derived carbon-based materials. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 256, p. 117826, 5 nov. 2019.

RIBANI, Marcelo; BOTTOLI, Carla Beatriz Grespan; COLLINS, Carol H. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p.771–780, 2004.

RIBEIRO, Fabiana Alves de Lima; FERREIRA, Márcia Miguel Castro; MORANO, Sandra Campilongo; et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariado. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p.164–171, 2008.

SÁNCHEZ, Bárbara S.; GROSS, Martín S.; QUERINI, Carlos A. Pt catalysts supported on ion exchange resins for selective glycerol oxidation, Effect of Au incorporation. **Catalysis Today**, v. 296, p.35–42, 2017.

SANDRONI, V.; SMITH, C. M. M. Microwave digestion of sludge, soil and sediment samples for metal analysis by inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 468, n. 2, p. 335–344, 18 set. 2002.

SCHWANZ, T. G. et al. Validation of a multi-residue method and estimation of measurement uncertainty of pesticides in drinking water using gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1585, p. 10–18, 25 jan. 2019.

SEN, I.; SHANDIL, A.; SHRIVASTAVA, V. S. Gas Chromatography-Mass spectrometric Determination of Benzyl alcohol in Injectable Suspensions. **Der Pharmacia Lettre**, v. 2, p. 218–225, 2011.

SHELDON, Roger A. Recent advances in green catalytic oxidations of alcohols in aqueous media. **Catalysis Today**, v. 247, p.4–13, 2015.

SHEN, Y., LI, Y., LIU, H. Base-free aerobic oxidation of glycerol onTiO₂-supported bimetallic Au–Pt catalysts. **Journal of Energy Chemistry**, 24, 669–673, 2015.

SILVA, F. et al. Determination of Alkyl Esters Content by Gas Chromatography: Validation of Method Based on Short Column and Response Factor. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2018.

SILVA, F. S. V. C. B. DA et al. Utilização de planejamento fatorial no preparo de amostras de detergente em pó para a determinação de fósforo por análise em fluxo. **Química Nova**, v. 33, n. 5, p. 1199–1203, 2010.

SOUZA, R. R. et al. Determination of plasticizers in drinking water using gas chromatography and mass spectrometry. **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1453–1458, 2012.

STATSOFT, INC, Programa computacional Estatística 10, EUA, 2011.

SUAREZ, P.A, Z, et al. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na Oleoquímica. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p.667-676, 2007.

T. SUDHA et al. Review of Experimental Design in Analytical Chemistry. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**.2017:7(08).

TANG, Z.; SU, J. Direct conversion of cellulose to 5-hydroxymethylfurfural (HMF) using an efficient and inexpensive boehmite catalyst. **Carbohydrate Research**, v. 481, p. 52–59, 15 jul. 2019.

TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 808–818, dez. 2001.

TEÓFILO, Reinaldo F.; FERREIRA, Márcia M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p.338–350, 2006.

THAO, N. T.; NHU, N. T.; LIN, K.-S. Liquid phase oxidation of benzyl alcohol to benzaldehyde over sepiolite loaded chromium oxide catalysts. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 83, p. 10–22, 1 fev. 2018.

TIRUVALAM, R. C. et al. Aberration corrected analytical electron microscopy studies of sol-immobilized Au + Pd, Au {Pd} and Pd{Au} catalysts used for benzyl alcohol oxidation and hydrogen peroxide production. **Faraday Discussions**, v. 152, p. 63, 2011.

TÖRNGREN, B. et al. Investigation of plasmonic gold–silica core–shell nanoparticle stability in dye-sensitized solar cell applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 427, p. 54–61, ago. 2014.

TREWYN, Brian G.; SLOWING, Igor I.; GIRI, Supratim; et al. Synthesis and Functionalization of a Mesoporous Silica Nanoparticle Based on the Sol–Gel Process and Applications in Controlled Release. **Accounts of Chemical Research**, v. 40, n. 9, p.846–853, 2007.

UMPIERRE, A, P.; MACHADO, F, Glycerochemistry and Glycerol Valorization, **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 1, 2013, Disponível em: <<http://www.gnresearch.org/doi/10,5935/1984-6835,20130010>>, Acesso em: 01 ago, 2018.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.

VILLA, A. et al. Characterisation of gold catalysts. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 18, p. 4953–4994, 2016.

WANG, Liang; ZHANG, Jian; MENG, Xiangju; et al. Superior catalytic properties in aerobic oxidation of alcohols over Au nanoparticles supported on layered double hydroxide. **Catalysis Today**, v. 175, n. 1, p.404–410, 2011.

YANG, X. et al. An effective Pd-promoted gold catalyst supported on mesoporous silica particles for the oxidation of benzyl alcohol. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 140–141, p. 419–425, ago. 2013.

YASU-EDA, Takashi; KITAMURA, Susumu; IKENAGA, Na-oki; et al. Selective oxidation of alcohols with molecular oxygen over Ru/CaO–ZrO₂ catalyst, **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 323, n. 1–2, p.7–15, 2010.

ZORZANELLI, Bruna C.; MURI, Estela M. F. Oxidação de Alcoóis em Química Verde. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 2, p.663–683, 2014.

ZUSHI, Y. et al. Comprehensive two-dimensional gas-chromatography-based property estimation to assess the fate and behavior of complex mixtures: A case study of vehicle engine oil. **Science of The Total Environment**, v. 669, p. 739–745, 15 jun. 2019.

ANEXOS

Anexo A- Avaliação das curvas analíticas foram avaliados através da análise de variância (ANOVA).

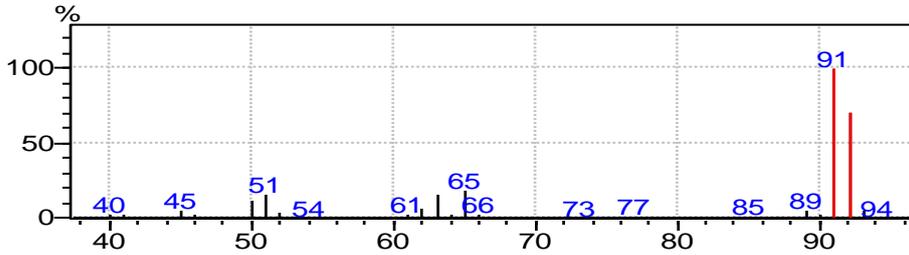
Anova: fator único

<i>RESUMO</i>					
Grupo	Contagem	Soma	Média	Variância	
HNO3	7	4,7677	0,6811	0,170491	
HNO3:HCl	7	4,5762	0,653743	0,154498	
HNO3:HCl:HF	7	4,6813	0,668757	0,162708	

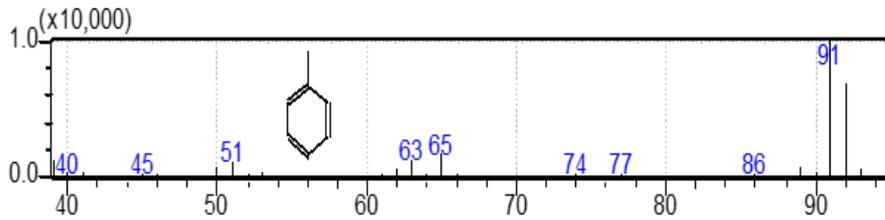
<i>ANOVA</i>						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,002628	2	0,001314	0,008082	0,991954	3,554557
Dentro dos grupos	2,92618	18	0,162566			
Total	2,928808	20				

Anexo B- Espectros de massas obtidos na determinação da seletividade do método I e II, comparado com espectros da Biblioteca NIST 08-2008.

Tolueno

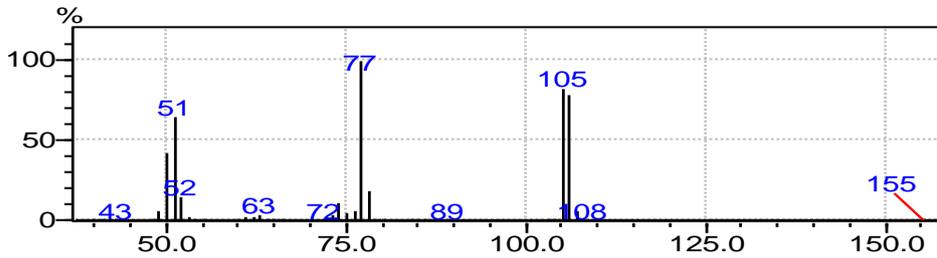


Obtido

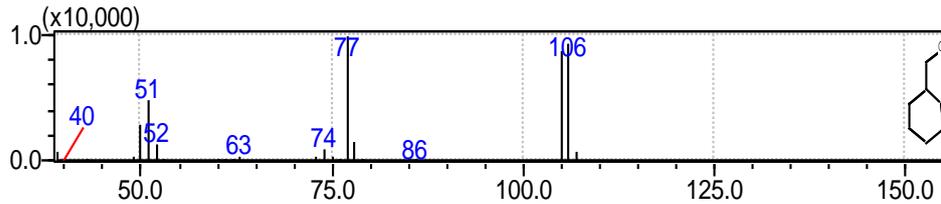


**Similaridade
97%**

Benzaldeído

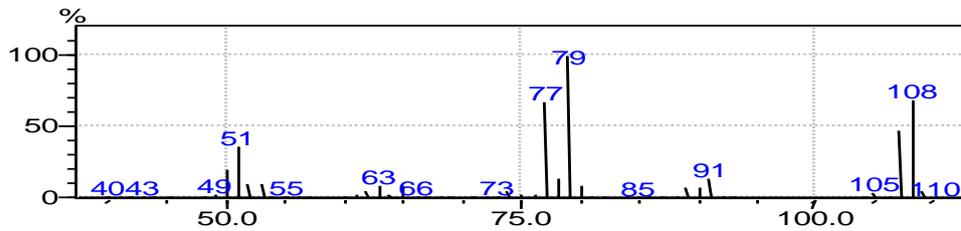


Obtido

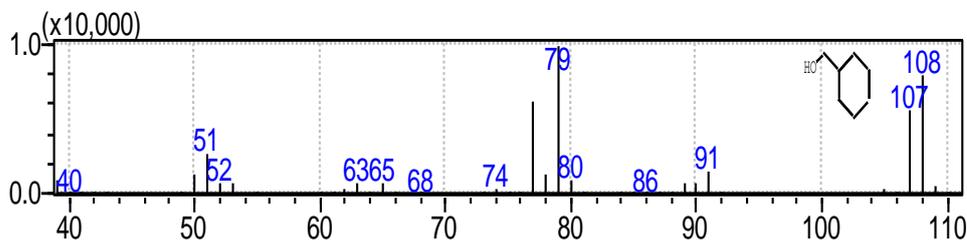


**Similaridade
96%**

Álcool benzílico

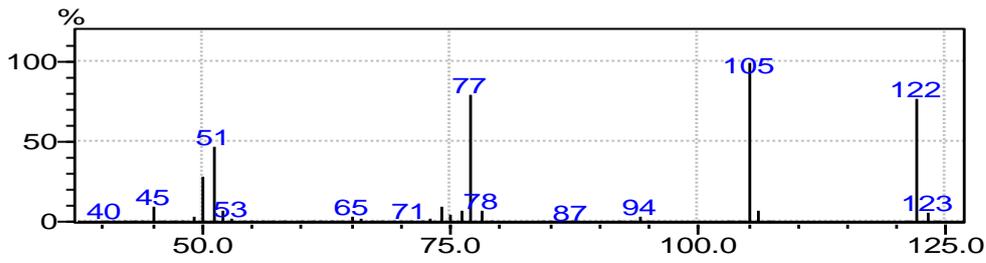


Obtido

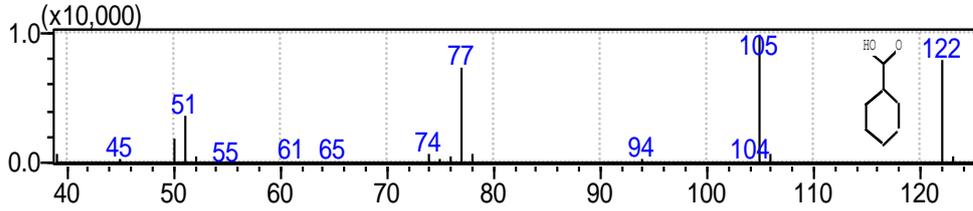


**Similaridade
97%**

Ácido benzoico

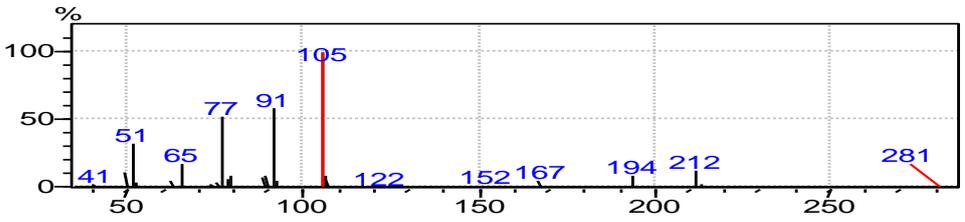


Obtido

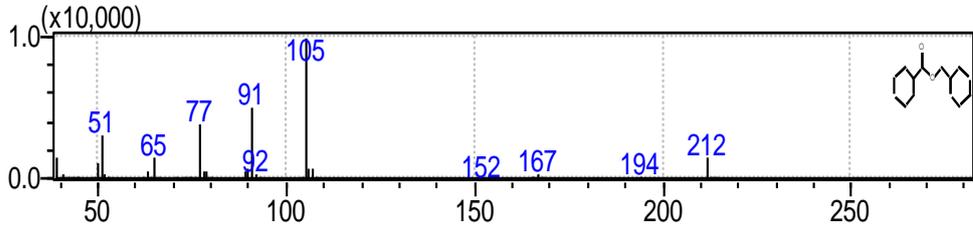


Similaridade 97%

Benzilbenzoato

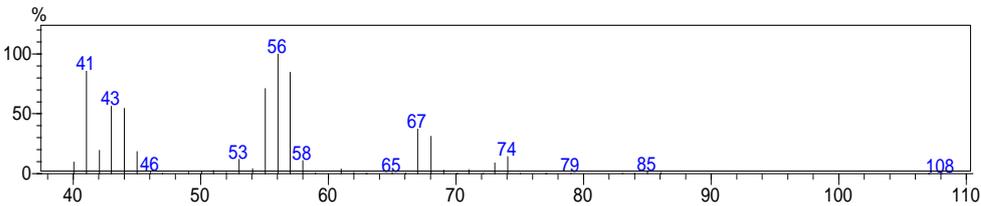


Obtido

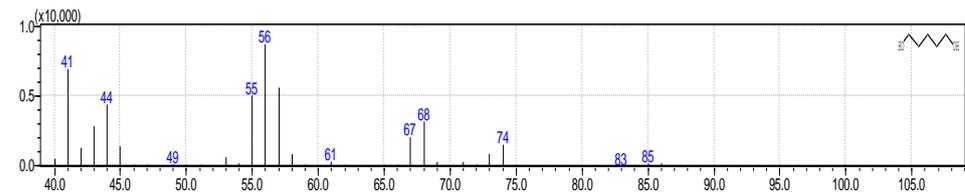


Similaridade 96%

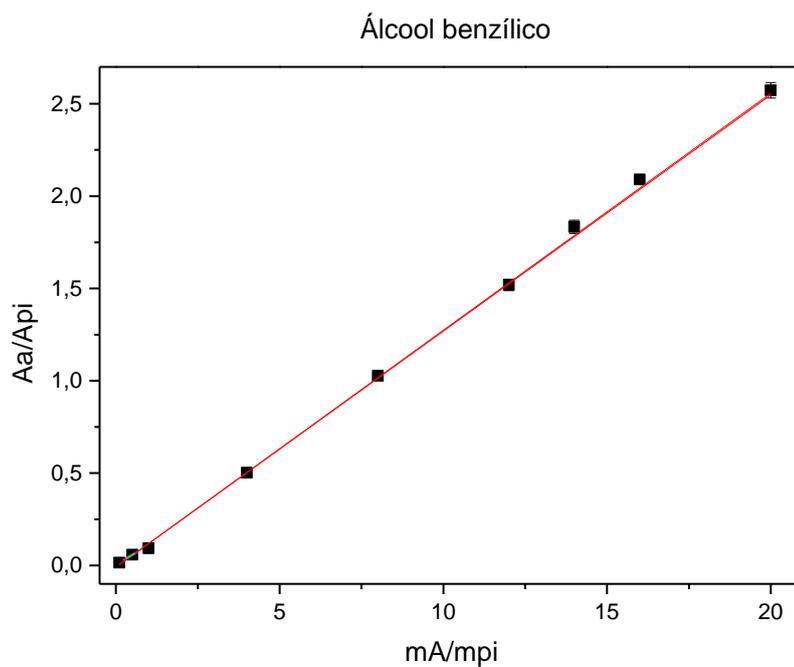
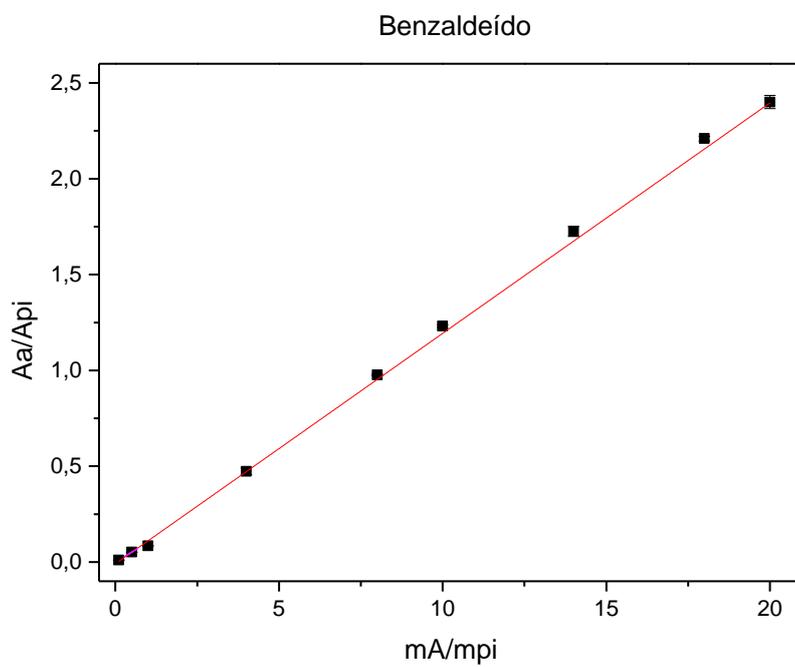
1,5-pentenediol



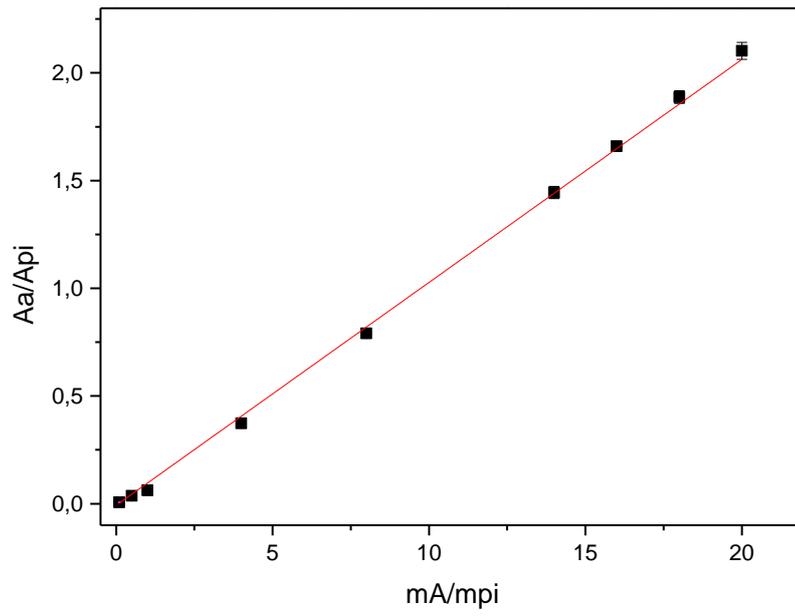
Obtido



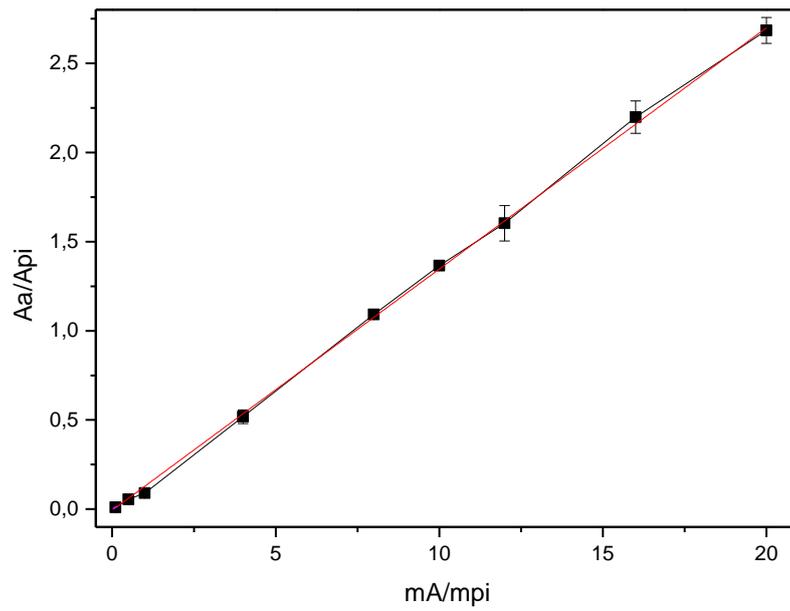
Similaridade 95%

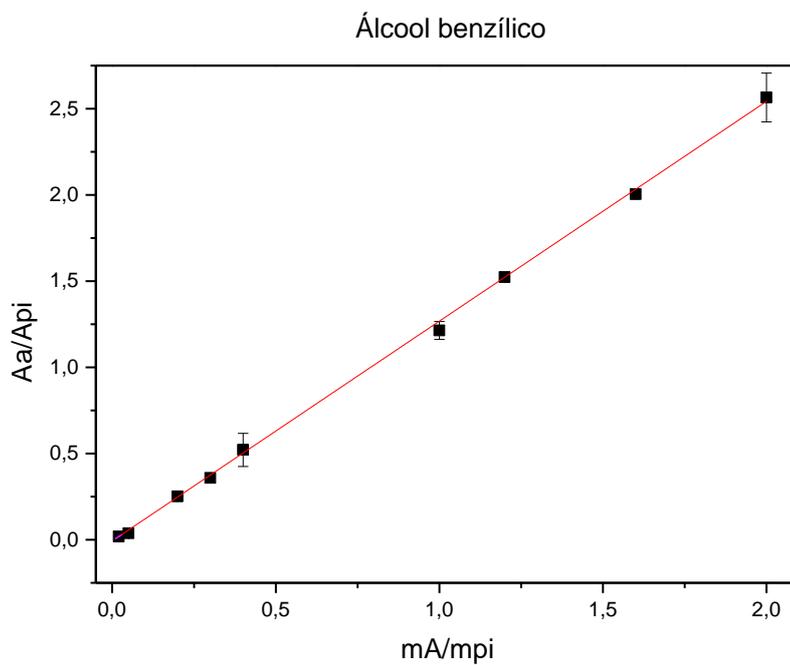
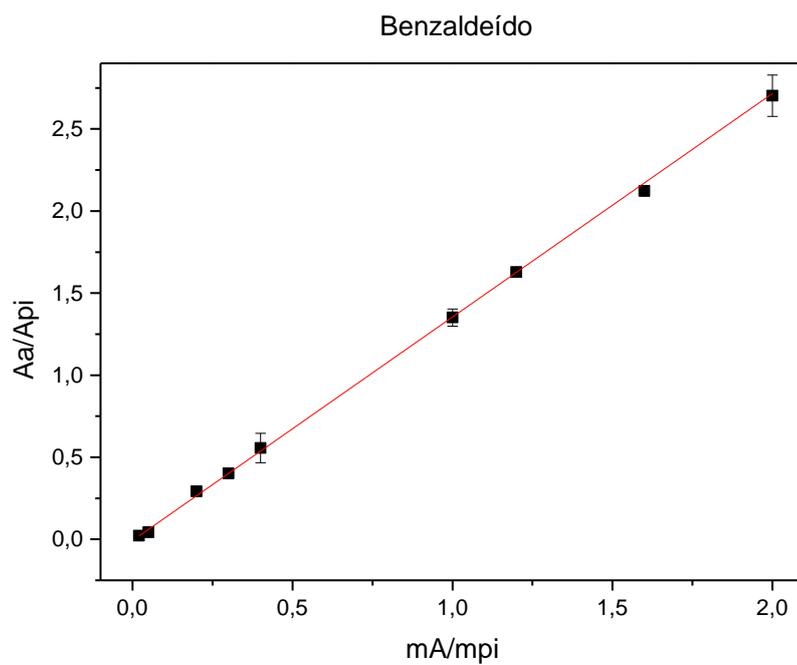
Anexo C- Curvas analíticas obtidas com método I.

Ácido benzoico

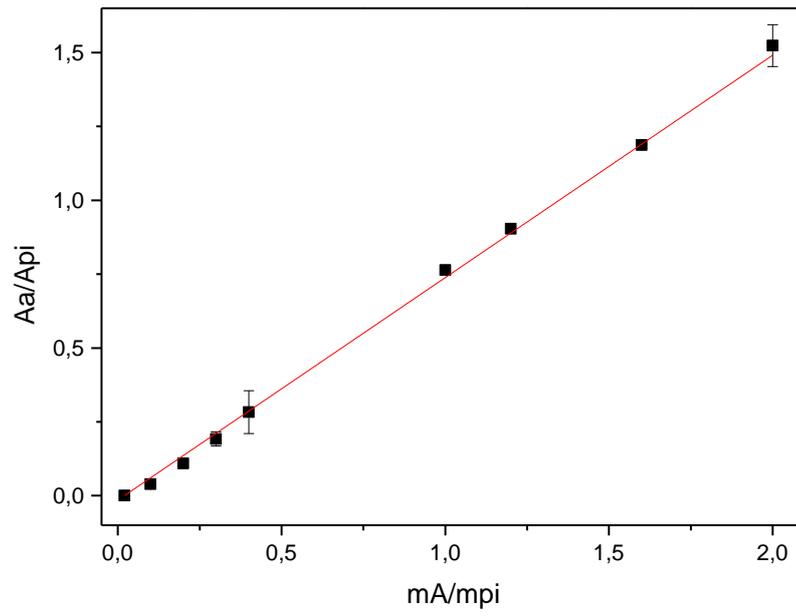


Benzilbenzoato

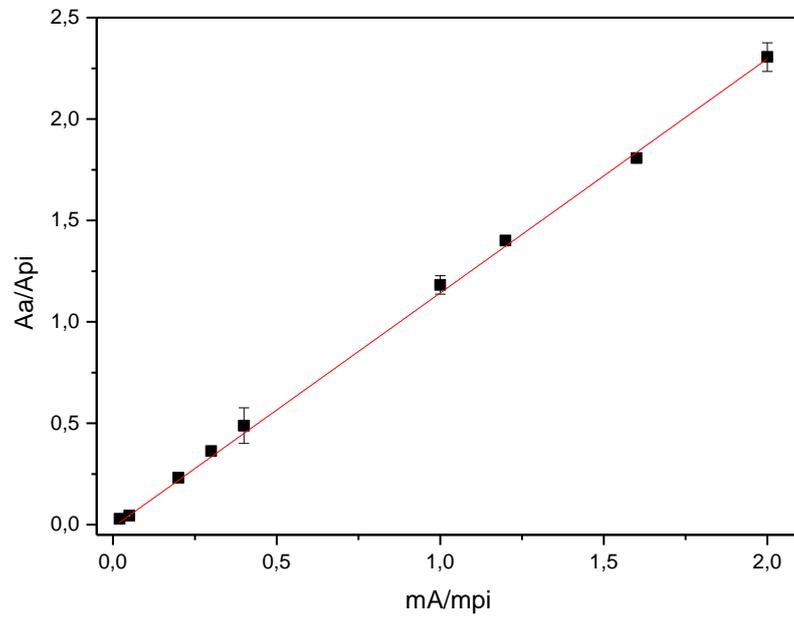


Anexo D- Curvas analíticas obtidas com método II.

Ácido benzoico

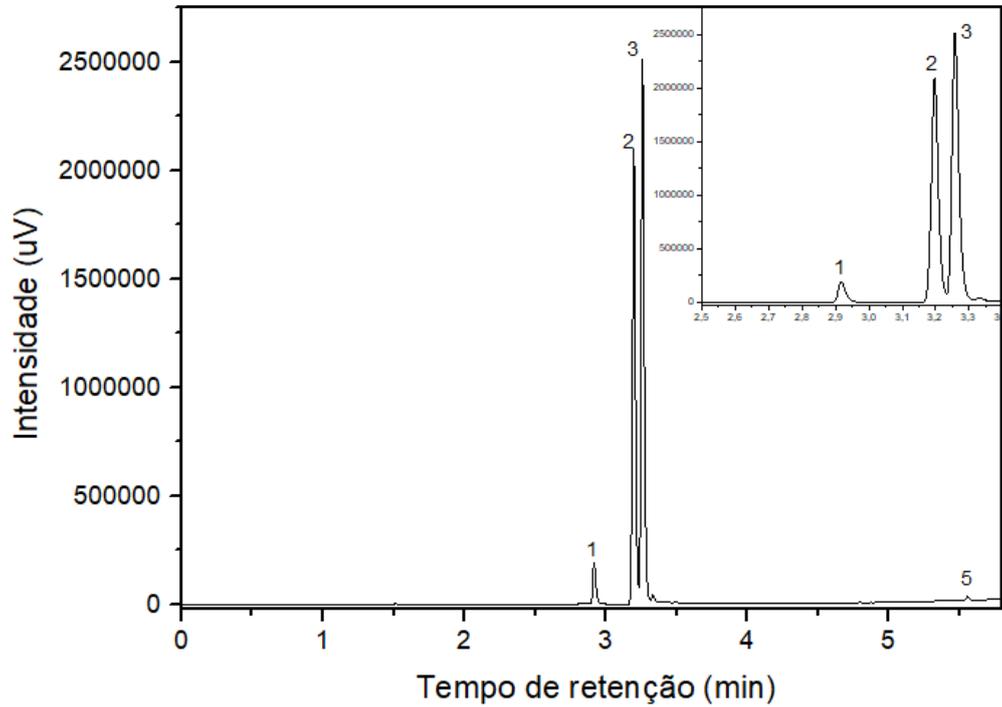


Benzaldeído

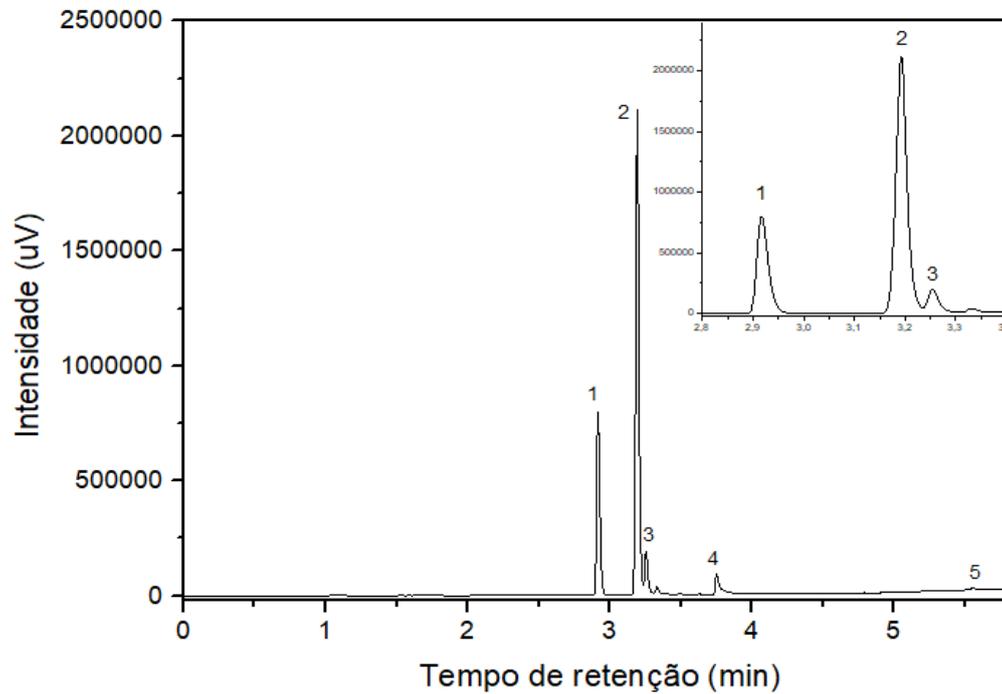


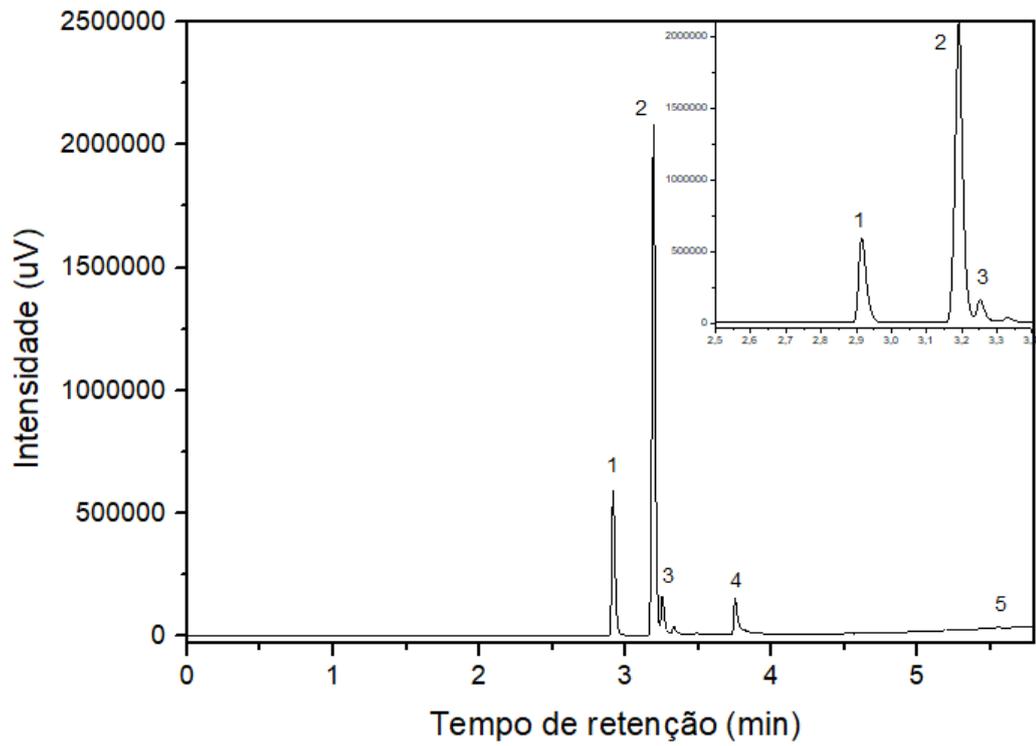
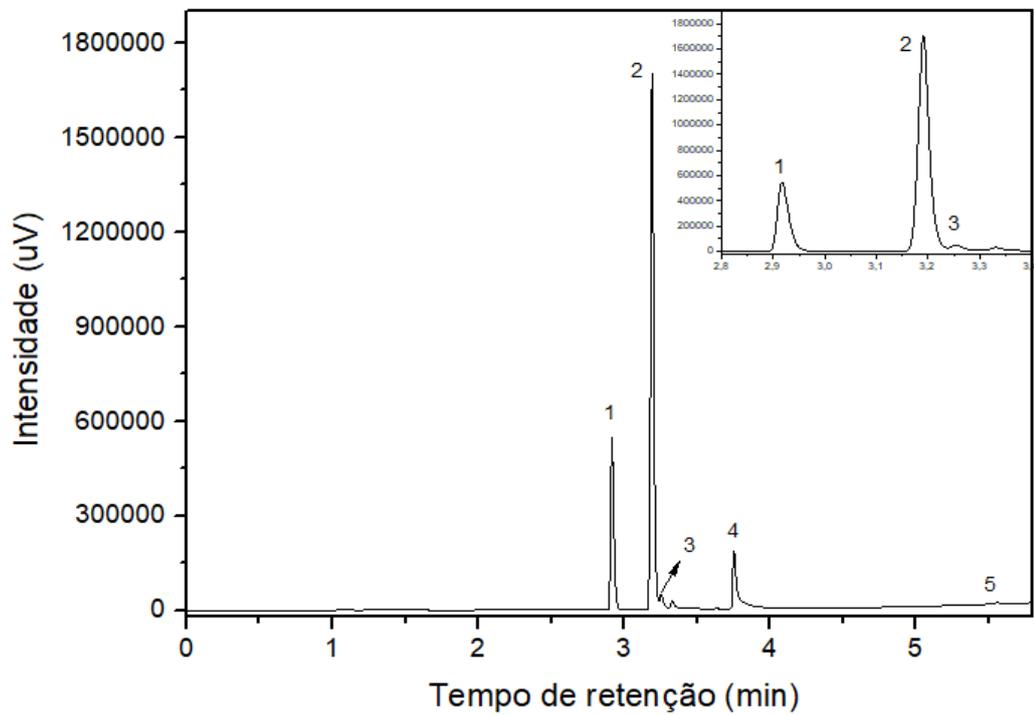
Anexo E- Cromatogramas obtidos na análise das reações de oxidação do álcool benzílico utilizando diferentes catalisadores para verificação da robustez do método II.

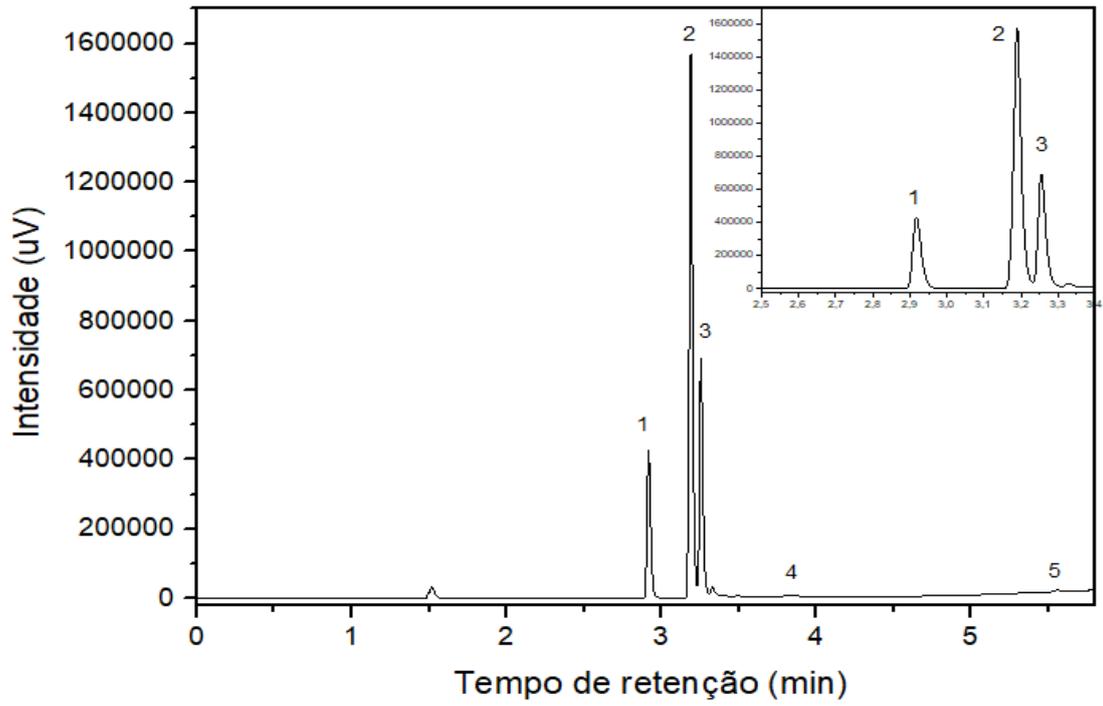
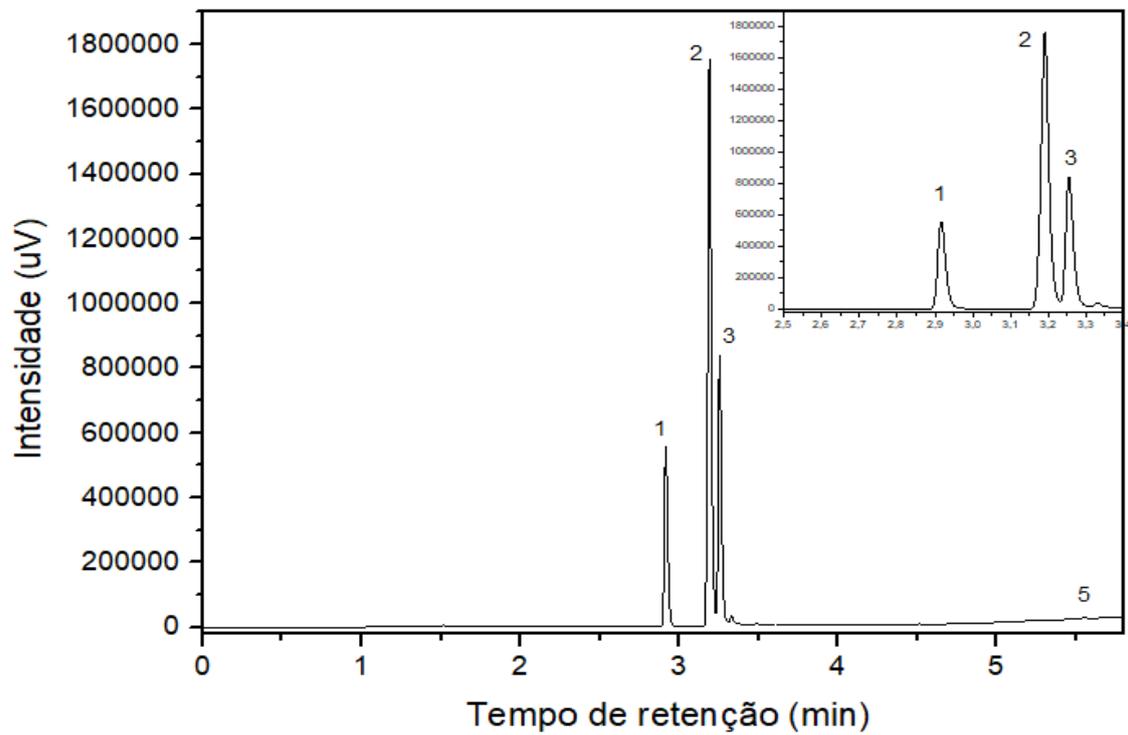
Cromatograma 1- AuNP/SiO₂

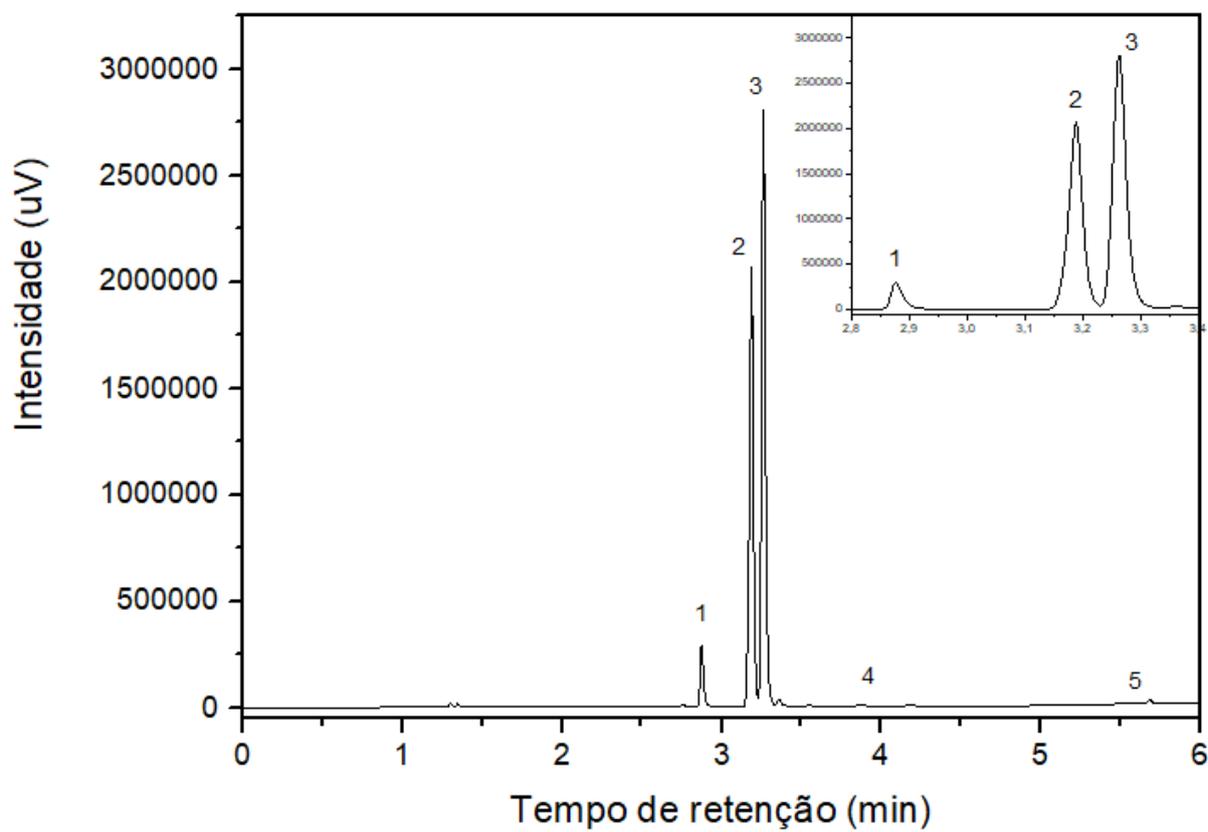


Cromatograma 2- AuPt 5.0 % (MWNTC)

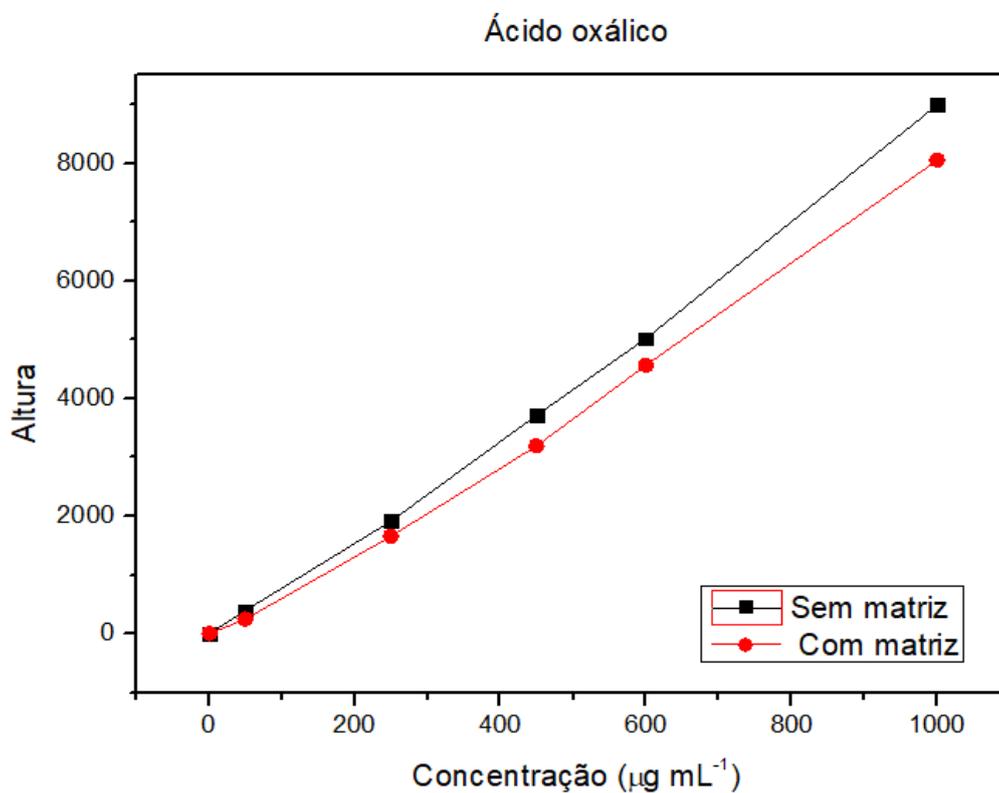
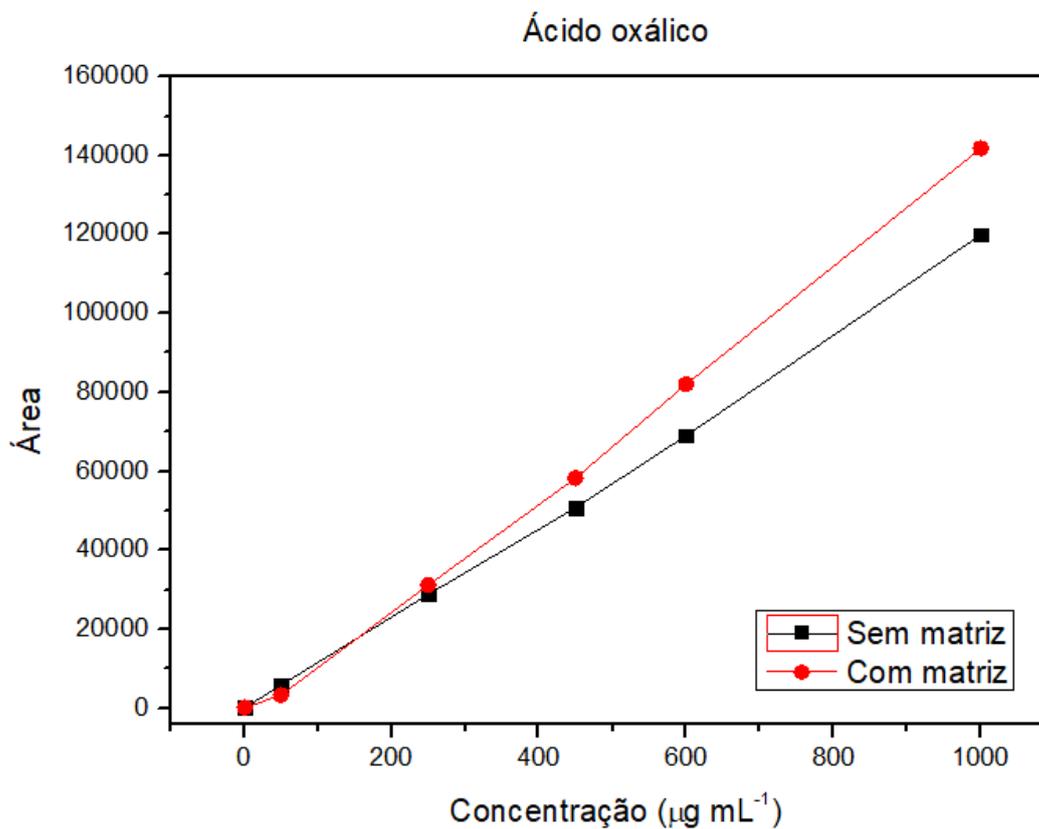


Cromatograma 3- AuPt 2.5 % (MWNTC)**Cromatograma 4- AuPt 7.4 % (MWNTC)**

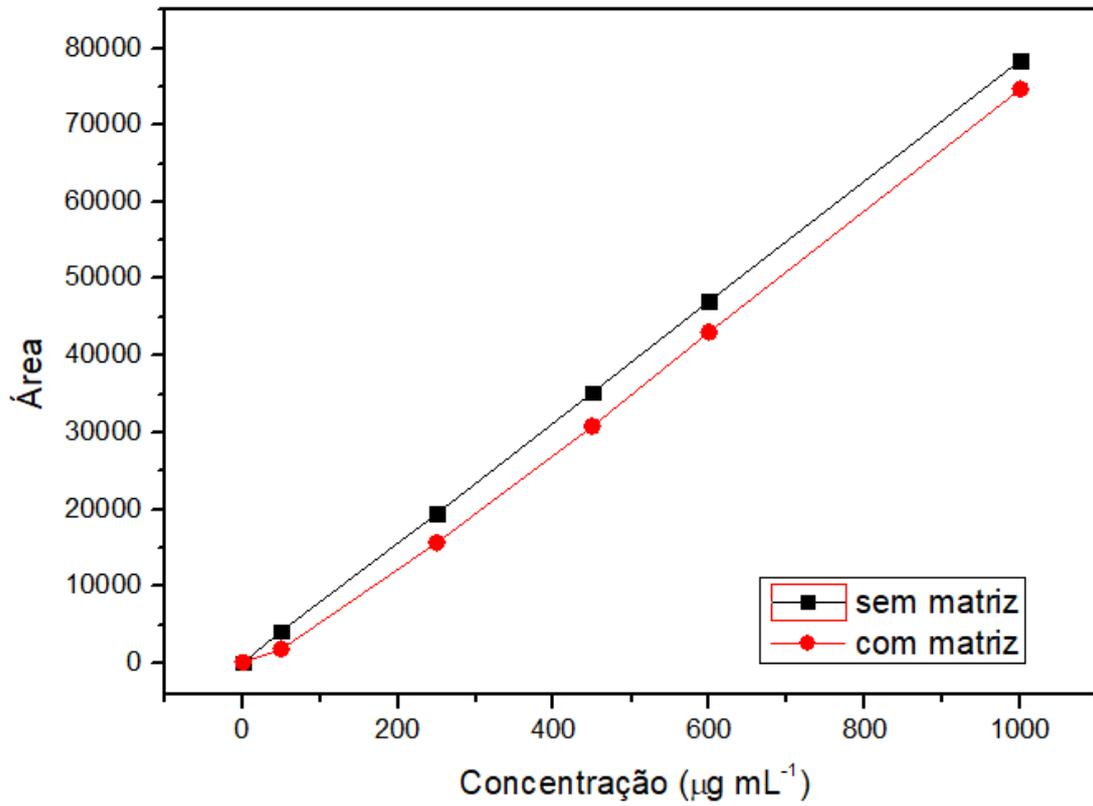
Cromatograma 5- Pt 2.5 % (MWNTC)**Cromatograma 6- Pt 5.0 % (MWNTC)**

Cromatograma 7- AuNP@SiO₂

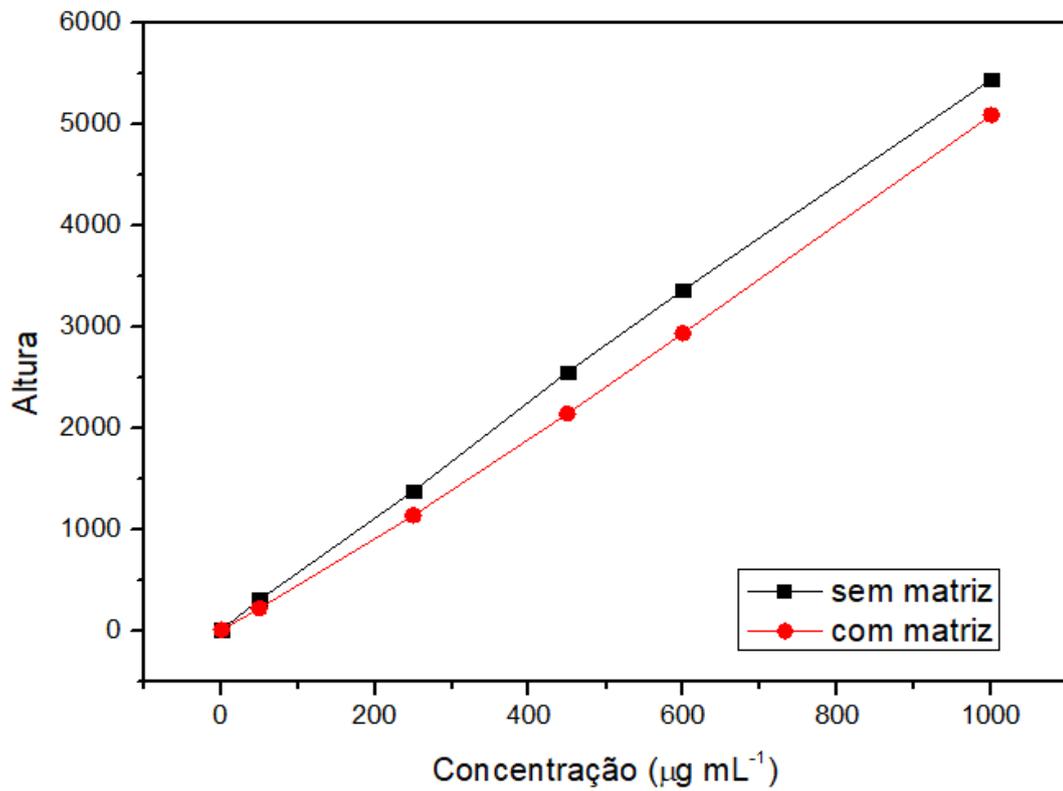
Anexo F- Comparação das curvas de calibração obtidas na presença e ausência de matriz.

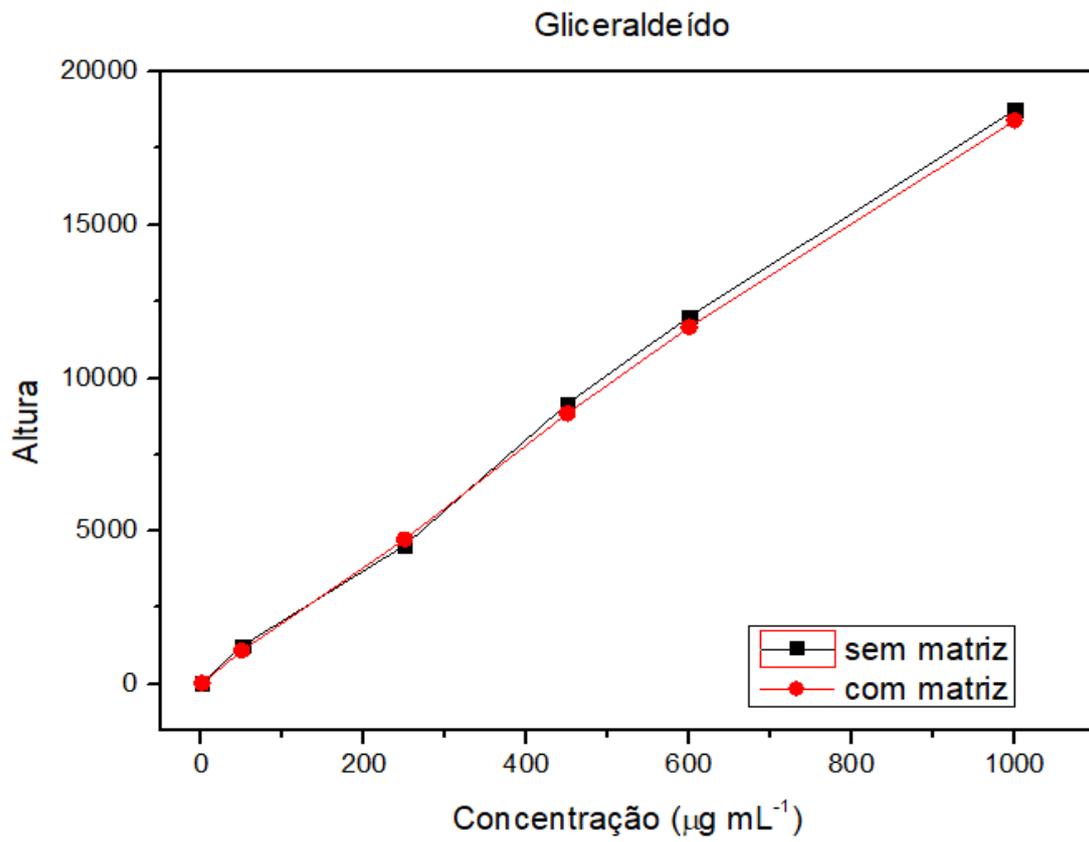
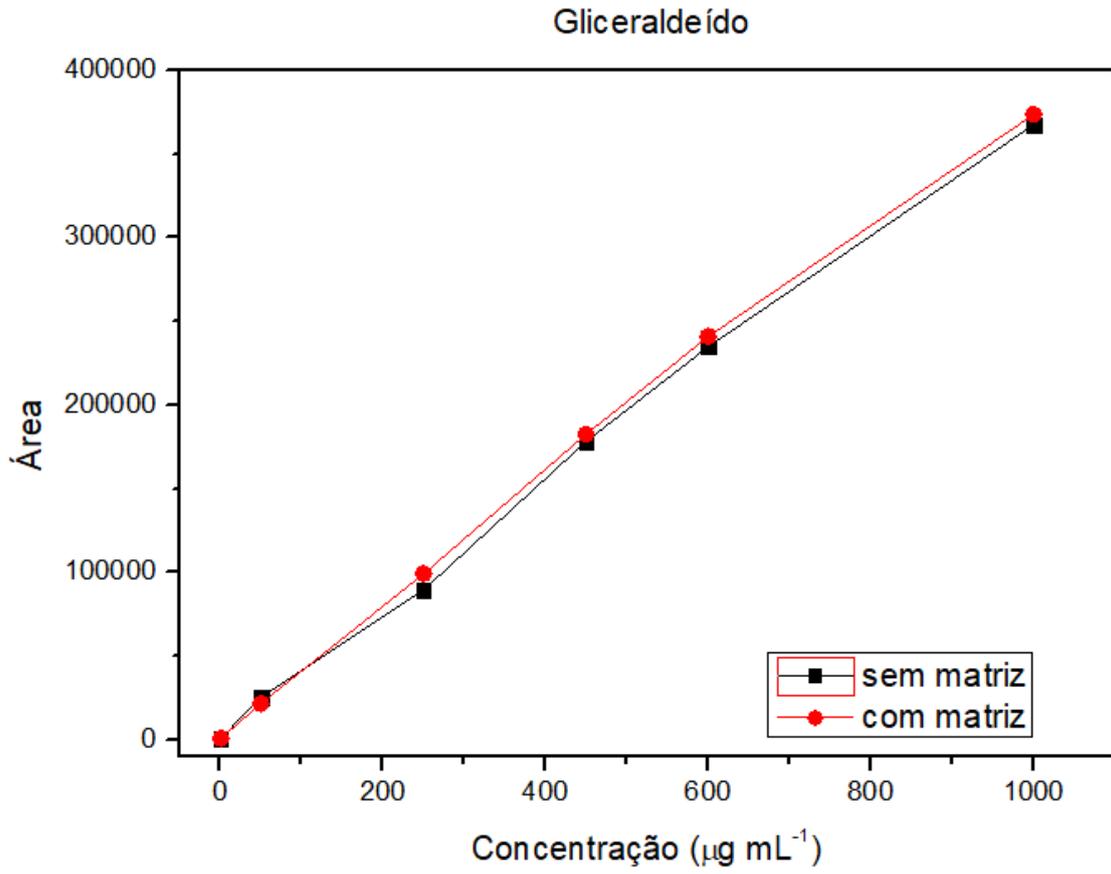


Ácido tartrônico

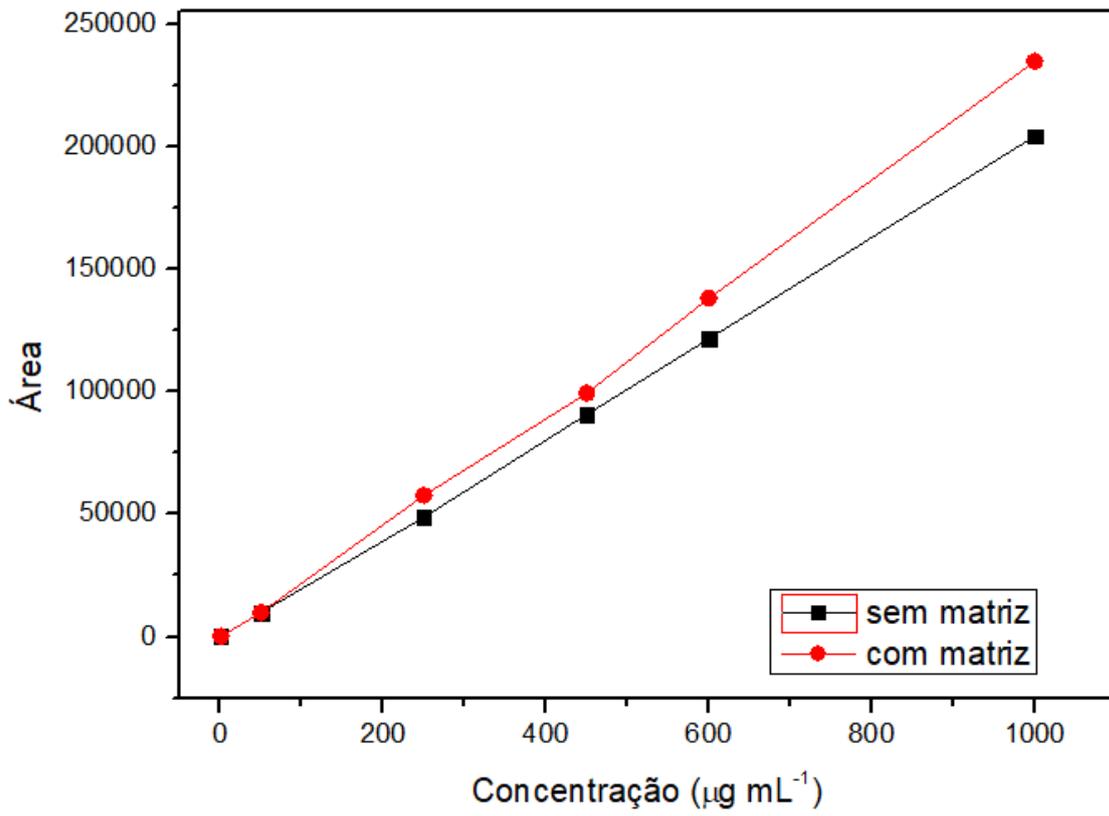


Ácido tartrônico

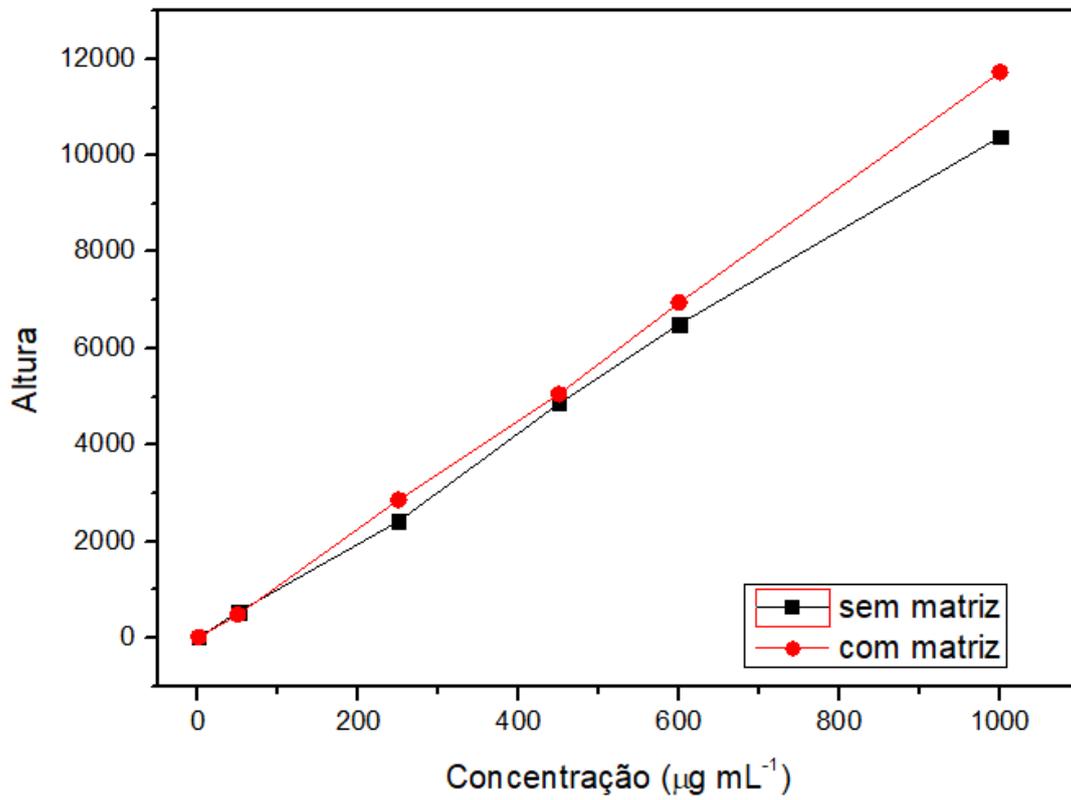




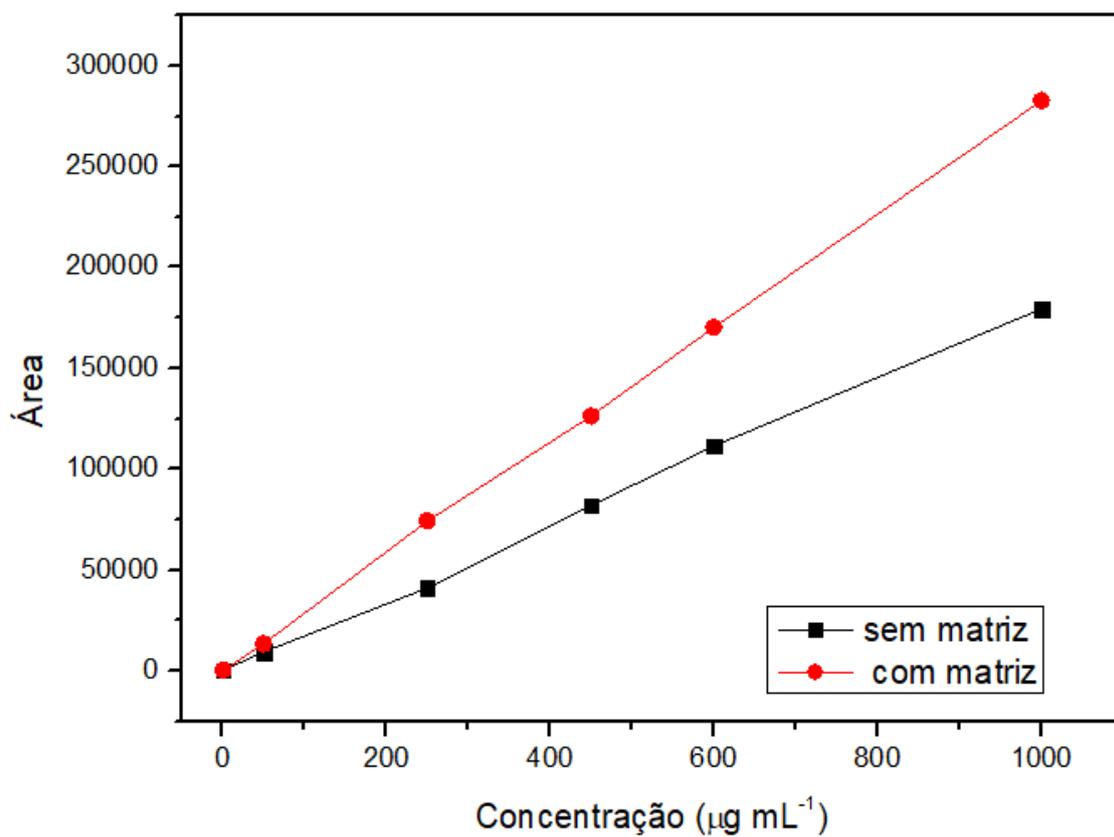
Ácido glicólico



Ácido glicólico



Ácido láctico



Ácido láctico

