

REFERÊNCIAS

- ¹ "The Systematic Identification of Organic Compounds", R. L. Shriner, R. C. Fuson e D. Y. Curtin, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1956, p. 206-11.
- ² Tabelas para caracterização em D. Y. Dewey e N. F. Witt, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 12, 459 (1940); 14, 648 (1942).

- ³ "Recent Advances in Isocyanate Chemistry¹", R. G. Arnold, J. A. Nelson, e J. J. Verbanc, *Chem. Revs.*, 57, 47 (1957).
- ⁴ "The Hydroxamic Acids", H. L. Yale, *Chem. Revs.*, 33, 209 (1943).
- ⁵ C. R. Hauser e W. B. Renfrow, "Benzohydroxamic Acid", em "Organic Synthesis" Vol. 2, p. 67-8, John Wiley and Sons Inc., New York, (1943).

ARTIGO

O QUE É A CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

C. H. Collins, J. F. Manfredi, A. L. P. Valente,
A. L. M. Murta* e H. M. McNair**

*Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas,
13100 Campinas, SP*

(Recebido em 20/09/82)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência é, possivelmente, entre as técnicas de separação, a que mais tem se desenvolvido. Conseqüentemente, tem despertado o interesse de muitos laboratórios, originando a necessidade de se discutirem as suas vantagens e desvantagens. A um nível introdutório, este é o objetivo deste artigo.

A cromatografia é um método físico de separação, com o qual misturas complexas são fracionadas pela distribuição entre duas fases: uma móvel e outra estacionária. A fase estacionária pode ser acondicionada (empacotada) em colunas, ou disposta sobre superfícies planas. Desta forma, caracterizam-se duas técnicas gerais de cromatografia: as de Cromatografia em Coluna e as de Cromatografia Planar

(Fig. 1). Na Cromatografia Planar, que se subdivide em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia em Papel (CP), só se utilizam fases móveis líquidas. Nas técnicas de coluna podem ser usadas fases móveis líquidas ou gasosas, estabelecendo-se duas classes gerais: a Cromatografia Líquida (CL) e a Cromatografia Gasosa (CG). Estas duas classes ainda recebem subclassificações, de acordo com a natureza da fase estacionária empregada. Na categoria de Cromatografia Gasosa temos a Cromatografia Gás-Sólido (CGS) e a Cromatografia Gás-Líquido (CGL). Entre os métodos de Cromatografia Líquida em coluna existem cinco tipos, definidos pelos diferentes tipos de fase estacionária: Cromatografia Líquido-Sólido (CLS) ou

CRITÉRIO

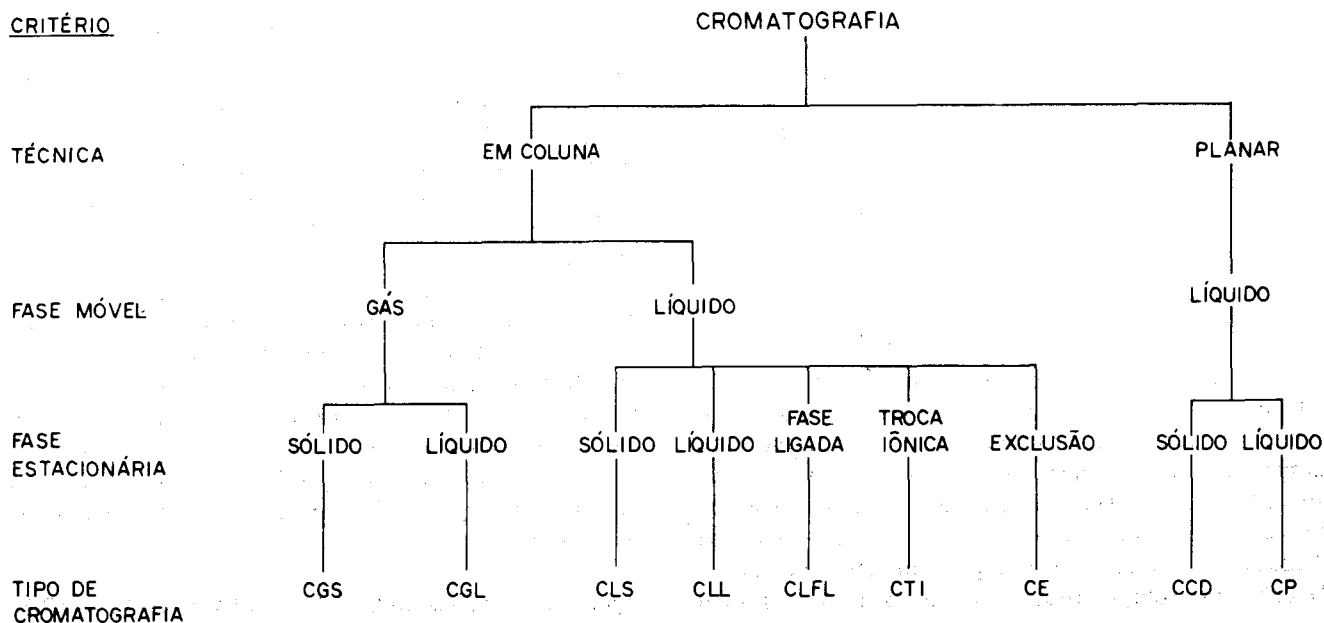


Fig. 1 - Classificação dos métodos cromatográficos.

Cromatografia por Adsorção; Cromatografia Líquido-Líquido (CLL) ou Cromatografia por Partição; Cromatografia Líquida com Fase Ligada (CLFL); Cromatografia por Troca Iônica (CTI) e Cromatografia por Exclusão (CE), comumente subdividida em Cromatografia por Filtração em Gel (CFG) e por Permeação em Gel (CPG).

A Cromatografia Líquida em coluna também se divide em dois grupos, de acordo com a técnica: a Cromatografia Líquida clássica, ou normal, feita em colunas de vidro, sob pressão atmosférica, e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), cujas características fundamentais são aqui relacionadas. Um tratamento aprofundado de cada uma dessas características pode ser encontrado na bibliografia indicada ao final.

VANTAGENS E DESVANTAGENS DA CLAE

Uma das vantagens da CLAE é que as separações podem ser realizadas em poucos minutos, com o auxílio de uma coluna de alta resolução e uma bomba de alta pressão, a qual possibilita fluxo rápido da fase móvel através da coluna.

Uma segunda vantagem relevante é a possibilidade de análises de misturas complexas com alta resolução, desde que não exista a preocupação com o tempo de análise. Um bom exemplo de análise deste tipo é o fracionamento de uma amostra bruta de urina em mais de 200 componentes individuais, obtidos pela aplicação da técnica de troca iônica e eluição com gradiente.

A CLAE permite a coleta dos componentes de uma amostra em frações separadas para tratamentos posteriores (cromatografia preparativa), por meio de sistemas diversos, desde frascos ou tubos de ensaio, operados manualmente junto à saída do detector, até coletores de frações totalmente automatizados.

Quanto ao aspecto quantitativo os métodos da CLAE possibilitam a obtenção de muitas informações. As análises quantitativas são de fácil execução e grande exatidão, sendo comum à maioria dos métodos de CLAE erros relativos inferiores a um por cento.

Com relação à sensibilidade, é possível a utilização de detectores que permitem medidas de 10^{-9} g (ng) de amostra. Análises ao nível de 10^{-12} g (pg) já foram obtidas, com o emprego de detectores especiais.

Outra vantagem da CLAE é a sua versatilidade. Ela pode ser aplicada a uma grande variedade de tipos de amostras, sejam elas orgânicas ou inorgânicas (massas moleculares desde a ordem de 18 u.m.a. até 6 milhões de u.m.a. já foram processadas). As amostras podem ser líquidas ou sólidas, iônicas ou covalentes; os gases são as únicas amostras de difícil processamento.

A última grande vantagem é a disponibilidade de sistemas automatizados. Existem sistemas comerciais que, automaticamente, injetam uma amostra, realizam a separação, imprimem os tempos de retenção dos picos e integram as suas áreas. Estes sistemas podem regenerar suas condições iniciais de operação para, em seguida, injetar nova amostra. Esta automação é conseguida com o uso de microprocessadores conjugados ao sistema cromatográfico, o que viabiliza: a) a identificação das espécies pela

comparação dos tempos de retenção medidos com tempos de retenção padrão armazenados em memória; b) o cálculo das concentrações das espécies por meio das áreas dos seus picos, o que se consegue com a aplicação de técnicas de calibração.

Quanto às limitações da CLAE, a instrumentação para ela é cara e representa um investimento bastante substancial para muitos laboratórios. O preço dos sistemas mais comuns situa-se na faixa de US\$ 5 000 a US\$ 20 000; os sistemas mais sofisticados, que utilizam vários detectores e que são completamente automatizados, atingem a casa dos US\$ 35 000. Os custos elevados das fases móveis e estacionárias e a reposição periódica de componentes sofisticados, constituem despesa contínua e, de forma alguma, desprezível.

Também existem limitações quanto aos detectores: ainda não se dispõe de um detector que seja, simultaneamente, universal e sensível. O detector por índice de refração é universal, porque responde a todos os compostos, mas sua sensibilidade é limitada. O detector por ultravioleta é sensível, mas é seletivo, porque só acusa os compostos que absorvem radiação na faixa em questão.

A grande experiência necessária para se obter o máximo de benefício de um sistema de CLAE (geralmente são necessários de seis a doze meses de prática para um operador ser considerado apto) pode se constituir num fator muito negativo, se o laboratório não estiver estruturado para evitar substituições frequentes do operador.

ALGUMAS APLICAÇÕES DA CLAE (Dados originários do laboratório de H. M. McNair, do Virginia Polytechnic Institute).

A Fig. 2 mostra o cromatograma de um óleo lubrificante novo e o de um óleo usado. Com o uso prolongado ocorrem decomposições e recombinações, originando-se compostos de massa molecular elevada no óleo usado, o qual deixa de ter o desempenho de quando novo, implicando em maior desgaste do maquinário. Uma análise desse óleo por CLAE pode mostrar o seu estado de conservação, controlar suas condições de uso e indicar quando ele deve ser trocado. Neste caso foi utilizada a Cromatografia de Exclusão (Permeação em Gel), na qual os compostos de massa molecular elevada eluem primeiro, e os

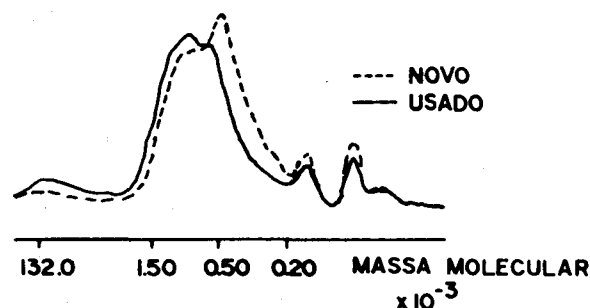


Fig. 2 - Análises de óleos lubrificantes por Cromatografia por Exclusão. Detector: índice de refração; Fase Estacionária: seqüência de ISE-100, ISE-500 e ISE-1000; Fase Móvel: tetraidrofurano; Fluxo: 1,5 ml/min.

de baixa massa molecular, por último. Este tipo de controle de qualidade pode ser aplicado a óleos, tintas, adesivos, ou polímeros.

Outro exemplo interessante de controle de qualidade refere-se ao estado de conservação dos comprimidos de aspirina colocados à venda. Na Fig. 3 estão os resultados de análises cromatográficas realizadas com este propósito. À esquerda está o resultado da análise de um comprimido novo: só um pico é visível. À direita está o cromatograma de um comprimido de aspirina mais velho, onde aparece o pico de um produto de decomposição, o ácido salicílico, responsável pelos efeitos tóxicos colaterais freqüentemente associados à ação do medicamento. O teor de ácido salicílico aceitável na aspirina vendida é regulamentado e o seu controle pode ser feito de forma simples e rápida, monitorando-se a composição (ou a decomposição) dos comprimidos, por meio da CLAE.

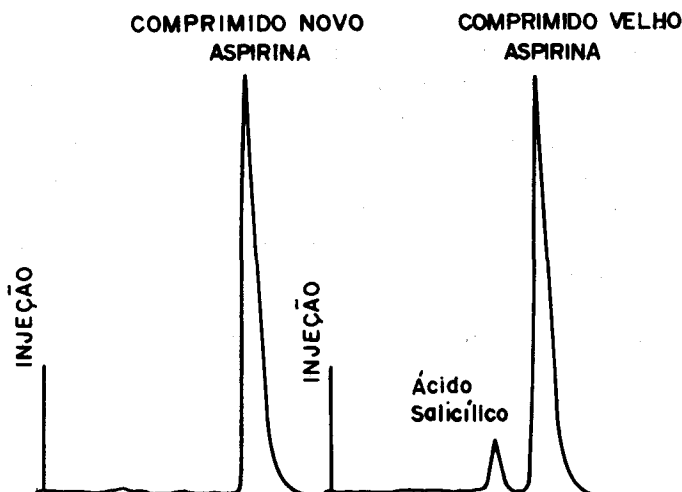


Fig. 3 - Análises de comprimidos de aspirina por CLAE em Fase Reversa. Detector: espectrofotometria a 254 nm; Fase Estacionária: RP-18, 250x4 mm; Fase Móvel: metanol-água (40-60 v/v); Fluxo: 1,0 ml/min.

As aflatoxinas são compostos extremamente tóxicos, encontrados em sementes de amendoim, trigo, milho e outros grãos cultivados. Essas substâncias são produzidas por fungos, sendo nocivas à saúde quando em concentração superior a 20 ppb. Sua determinação quantitativa, a nível de traços, é de importância fundamental no controle desses grãos para consumo humano. A Fig. 4 mostra uma separação rápida de uma aflatoxina de uma amostra de creme de amendoim, onde o pico correspondente à aflatoxina B-1 representa 12 ng da mesma.

Uma aplicação muito difundida da CLAE é na análise de traços de matéria orgânica na água, como é o caso do fenol, mostrado na Fig. 5. Dez μ l de água são injetados e o pico do fenol indica sua presença na proporção de 1 ppm (50 ng). É necessário detectar quantidades da ordem de ng de fenol, de forma a possibilitar o controle da qualidade da água, o que pode ser feito, de forma rápida e sensível, pela CLAE.

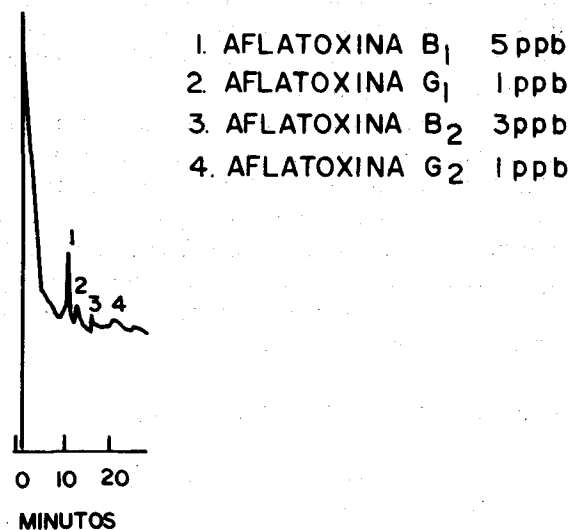


Fig. 4 - Análise de creme de amendoim contaminado com aflatoxinas por CLAE em Fase Normal. Detector: fluorescência excitada a 356 nm; Fase Estacionária: sílica gel, 250 x 2,1 mm; Fase Móvel: diclorometano-clorofórmio (60-40 v/v); Fluxo: 0,8 ml/min.

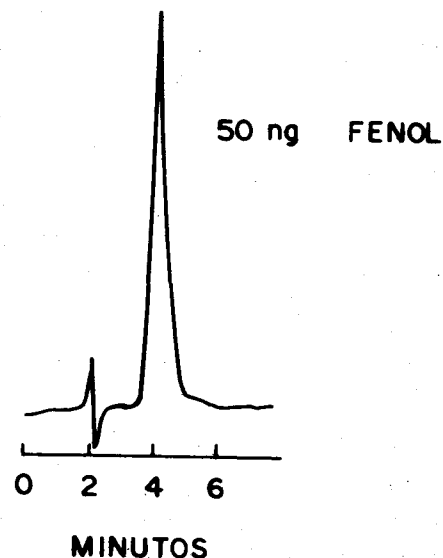


Fig. 5 - Análise de fenol na água por CLAE em Fase Reversa. Detector: espectrofotometria a 254 nm; Fase Estacionária: RP-18, 250 x 4 mm; Fase Móvel: acetonitrila-água (40-60 v/v); Fluxo: 1,0 ml/min.

CONCLUSÃO

A CLAE apresenta, entre seus aspectos positivos, alta resolução e boa sensibilidade (ng e pg), é aplicável a grande variedade de amostras e desenvolveu-se de modo a oferecer muitas opções de automação. Enfim, é uma técnica moderna e sofisticada.

O longo tempo necessário para a habilitação de operadores é apontado como uma desvantagem da CLAE. Outra é seu custo, considerando-se tanto o de equipamento quanto o operacional. Quanto às dificuldades de treinamento, elas são consequência da versatilidade da técnica. Relativamente aos custos, eles tendem a diminuir, tanto pela difusão do uso da CLAE, quanto pelo desenvolvimento tecnológico das indústrias do ramo. Os esforços existentes

no sentido de tornar economicamente acessíveis os sofisticados equipamentos da CLAE deverão torná-la, num futuro próximo, uma técnica de procura generalizada, principalmente pelos laboratórios que tradicionalmente utilizam a Cromatografia Gasosa, uma vez que a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência pode ser aplicada aos sistemas que não podem ser processados por Cromatografia Gasosa.

* Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná

** Department of Chemistry, Virginia Polytechnic Institute and State University

Bibliografia

L. R. Snyder e J. J. Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2ª edição, John Wiley & Sons, New York, 1979.

E. L. Johnson e R. Stevenson, "Basic Liquid Chromatography", Varian, Palo Alto, 1978.

H. M. McNair e H. B. Esquivel, "Cromatografia Líquida de Alta Presión", 2ª edição, Organización de los Estados Americanos, Washington, 1980.

ARTIGO

A QUÍMICA E PROPRIEDADES DO ÍON COBALTICINIUM

John E. Sheats e Gregory Hlatky

Departamento de Química,
Rider College, Lawrenceville, NJ, USA

Sonia M. de Oliveira

Instituto de Química, UNICAMP

(Recebido em 27/11/81)

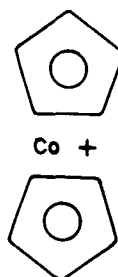
Enquanto as propriedades químicas do ferroceno foram investigadas extensivamente e milhares de derivados de ferroceno substituídos foram preparados¹, a química do íon cobalticinium recebeu muito pouca atenção. Neste artigo, discutimos a química e as propriedades do íon cobalticinium e seus derivados substituídos, comparados quando possível com o comportamento dos ferrocenos análogos^{1a}.

PROPRIEDADES

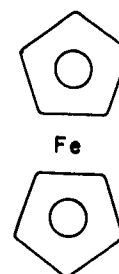
O íon cobalticinium¹ e o ferroceno², são compostos isoeletrônicos do tipo sanduíche com 18 elétrons^{2,3}. Ambos possuem a estrutura D_{5d} , mas a distância entre os anéis do íon cobalticinium é 3,28 Å, cerca de 0,04 Å menor que no ferroceno⁴. Sais de cobalticinium são amarelos, cristalinos, estáveis ao ar e fundem com decomposição entre 250-350°. Sais formados com ânions pequenos como os haletos são muito solúveis em água e insolúveis em solventes

orgânicos, enquanto sais com ânions grandes (PF_6^- ou $B(C_6H_5)_4^-$) são completamente insolúveis em água, mas altamente solúveis em solventes apróticos polares.

O íon Fe(II) central nos derivados do ferroceno, pode ser oxidado a Fe(III) pelo oxigênio da atmosfera, ácido



1



2