

Este exemplar corresponde à redação final da Tese defendida por Priscila de Almeida Leone e Aprovado pela Comissão Julgadora no dia 29/02/88.

Campinas, 14 de março de 1988.


Carol Hollingworth Collins

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANÁLISES POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA
EFICIÊNCIA DE COMPOSTOS PERALOGENADOS DO
TIPO $C_XBR_YCL_Z$ ($X = 1$ OU 2 ; $Y+Z = 4$ OU 6)

Tese de Mestrado

PRISCILA DE ALMEIDA LEONE

ORIENTADORA: PROFA DRA CAROL HOLLINGWORTH COLLINS

1988

U. E. C. A. M. P.
BIBLIOTECA CENTRAL

À minha mãe, por sua compreensão e apoio,
sempre presentes nos momentos difíceis;
pela força interior que sempre me transmiti
tiu, incentivando-me a prosseguir.

AGRADECIMENTOS

- . À Profa. Dra. CAROL HOLLINGWORTH COLLINS, pela eficiente orientação e apoio durante todo o trabalho, pela amizade e rica convivência.
- . À Profa. Dra. INÊS JOEKES, pelos preciosos momentos de reflexão, pelo incentivo e pelo exemplo.
- . Ao CNPq, FAPESP e CAPES pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.
- . À MARIA APARECIDA FERNANDES DE LIMA (Cida), pelo grande apoio no início do trabalho e pelas sugestões, discussões, amizade e cooperação durante todo o tempo.
- . Ao Prof. BERTRAN, pelas ricas sugestões, discussões e pela amizade.
- . Ao Prof. PIRES, pelo grande interesse, atenção, apoio e amizade.
- . Ao Prof. KENNETH COLLINS, pelo interesse, pelas sugestões e pelo importante apoio nos trabalhos de laboratório.
- . Ao Prof. Dr. FRANCISCO REIS e Profa. Dra. ANITA J. MARSAIOLI pelo auxílio prestado nas análises por CG/detector seletivo de massas.
- . À MARTHA, pelas boas discussões, pela cooperação e pela amizade.
- . Aos Professores do Bloco, JOÃO CARLOS, WALTER MARTINS e ISABEL JARDIM, pela colaboração e amizade.
- . Aos funcionários JOÃZINHO, ARLINDO, FONTANA, EGLE, JOYCE, ZELINDA, BETH e HELENA, pelo importante auxílio técnico.
- . Ao pessoal do grupo COLLINS², pela agradável convivência e amizade.
- . Ao Instituto de Química, aos professores e funcionários.
- . A TODAS AS PESSOAS, que, de alguma maneira, contribuíram para que este trabalho se realizasse.

ÍNDICE

	PÁGINA
LISTA DE CÓDIGOS	vi
RESUMO	001
ABSTRACT	002
CAPÍTULO 1	
1.1. Introdução	003
1.2. Análises Cromatográficas de Compostos Peralogenados	005
1.3. Objetivos	010
CAPÍTULO 2	
A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) como método de análise	011
2.1. A Teoria da Separação	016
2.2. Eficiência e Resolução no Sistema de CLAE	018
2.3. O Equipamento usado em CLAE	027
2.4. Fases Estacionárias e Fases Móveis para CLAE	031
2.5. Detectores para CLAE	035
CAPÍTULO 3	
Processos Fotoquímicos	038
3.1. Estados Eletrônicos das Moléculas	039
3.2. Processos de Desativação	040
3.3. Fotoquímica de Compostos Orgânicos Halogenados ...	041
CAPÍTULO 4	
Experimental	046
4.1. Solventes Empregados como fase móvel para CLAE ...	046
4.2. Reagentes Empregados	046
4.3. Colunas Empregadas para CLAE	047
4.4. Instrumentação	048

4.5. Purificação dos Reagentes e Preparação dos padrões	049
4.6. Preparação e Avaliação de Colunas para CLAE	055
4.7. Otimização das Condições de Análise para Separação de Padrões	057
4.8. Preparação de Peralogenados não Disponíveis	058
4.9. Separação dos Produtos de Fotólise	061
CAPÍTULO 5	
Resultados e Discussões	063
5.1. Preparação e Avaliação de Colunas Cromatográficas para CLAE	063
5.2. Otimização das condições de Análise para a Separa- ção de Compostos Peralogenados	069
5.3. Análises de produtos de radiólise de $\text{CBr}_4/\text{CCl}_4$ através da CLAE	094
5.4. Síntese Fotoquímica de Compostos Peralogenados ..	101
CAPÍTULO 6	
Conclusões	113
APÊNDICE I	115
APÊNDICE II	117
BIBLIOGRAFIA	119

LISTA DE CODIGOS

As= Fator de Assimetria

C₁= Composto contendo um átomo de carbono

C₂= Composto contendo dois átomos de carbono

CG= Cromatografia Gasosa

CGAR= Cromatografia Gasosa de Alta Resolução

CG/EM= Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa

CL= Cromatografia Líquida

CLAE= Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLFL= Cromatografia Líquida com Fase Ligada

cpm= Contagens por minuto

D_m = Razão de Distribuição das Massas

d.i.= Diâmetro interno

EM= Espectrometria de Massa ou Espectro de Massa

FE= Fase Estacionária

FID= Detector por Ionização em Chama

FM= Fase Móvel

FN= Fase Normal

FR= Fase Reversa

h= Altura Equivalente a um Prato Teórico

HOPr= Ácido propanóico

IV= Infra-vermelho

MeOH= Metanol

M/Z= Massa sobre carga

n= Número de Pratos Teóricos ou Eficiência

P.A.= Reagente para análise

p.e.= Ponto de ebulição

p.f.= Ponto de fusão

PS-DVB= Poliestireno-divinil-benzeno

R_s = Resolução

t_M = Tempo de retenção de um soluto não retido pela FE

t_R = Tempo de retenção de um soluto

t'_R = Tempo de retenção ajustado

T_z = Número de Separação ou Trennzahl

UV= Ultra-violeta

VMAP= Lâmpada de Vapor de Mercúrio de Alta Pressão

V/V= Volume a volume

λ = Comprimento de onda

RESUMO

Título: Análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Compostos Peralogenados do Tipo $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ ou 2 ; $y + z = 4$ ou 6)

Autora: Priscila de Almeida Leone

Orientadora: Profa. Dra. Carol Hollingworth Collins

Instituição: Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas - Cx. Postal 6154 - Campinas
São Paulo - CEP 13.081

Um método de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi desenvolvido para a separação da série de compostos peralogenados do tipo $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ ou 2 ; $y + z = 4$ ou 6).

A grande vantagem de se utilizar a CLAE para análises destes compostos, em relação à Cromatografia Gasosa (CG), é que, apesar de sua menor sensibilidade, a separação é feita a temperatura ambiente, evitando, assim, decomposições que, possivelmente, ocorrem em análises por CG.

Foram feitos estudos sobre tipos de coluna, fases estacionárias (FEs) e fases móveis (FMs), determinando as eficiências (n), resoluções (R_s), números de separação (T_z) e outros parâmetros resultantes.

Colunas recheadas com FE do tipo reversa, FMs polares, como MeOH/H₂O e detecção por absorbância no UV mostraram-se como sistema de melhor desempenho.

A otimização das condições de análise para a separação foi feita com misturas de compostos padrões [CCl₄, CBrCl₃, CBr₂Cl₂, CBr₄, C₂Cl₄, C₂Br₄, C₂Br₆, C₂Br₂Cl₄ (1,2-dibromo-tetracloroetano) e C₂Cl₆].

Devido às grandes diferenças de polaridades entre os compostos separados, as melhores composições de FM, para cada grupo (C₁, C₂ insaturados e C₂ saturados) foram diferentes.

Foram observadas inversões nos tempos de retenção ($t_{R,s}$) de alguns compostos à medida que a polaridade da FM foi sendo modificada. Deste fato pode-se concluir que o uso de gradiente de eluição poderia não levar aos resultados esperados, para estas separações.

Previsões de separação foram feitas através do número de separação para os compostos não disponíveis.

Amostras resultantes da radiólise de soluções de CBr₄ em CCl₄, que produziram alguns peralogenados identificados por CG/EM, foram analisadas por CLAE, confirmando a previsão da separação feita para os compostos C₁.

Para preparar alguns compostos C₂, foram feitas reações de fotólise de peraleto, produzindo alguns C₂ saturados ainda não disponíveis, cuja identificação foi feita por interpolação dos $t_{R,s}$. Confirmações foram obtidas por CG com detector seletivo de massas.

Conclui-se que a análise completa dos compostos $C_xBr_yCl_z$ pode ser realizada por CLAE, empregando uma única FE e duas (ou três) diferentes composições de FM (misturas MeOH/H₂O), fazendo separações dos compostos individuais em duas corridas.

ABSTRACT

Title: Analysis by High Performance Liquid Chromatography of Perhalogenated Compounds of the Series $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ or 2 ; $y + z = 4$ or 6)

Author: Priscila de Almeida Leone

Supervisor: Profa. Dra. Carol Hollingworth Collins

Institution : Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas - Cx. Postal 6154 - Campinas
São Paulo- CEP 13.081

An analytical method using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was developed in order to separate halogenated compounds of the series $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ or 2 ; $y + z = 4$ or 6).

In spite of its lower sensitivity, a great advantage of HPLC for the analysis of these compounds is that the separation is carried out at room temperature, thus avoiding possible decompositions during the GC analysis.

Studies of type of column, stationary phase (SP) and mobile phase (MP) were carried out and the efficiencies (n), resolutions (R_s), separation numbers (T_z) and other parameters were determined.

Reversed phase columns, polar MP, such as MeOH/H₂O and UV detection were shown to give good performance.

Optimization of the analytical conditions for the separations was carried out by means of standard compound mixtures containing CCl₄, CBrCl₃, CBr₂Cl₂, CBr₄, C₂Cl₄, C₂Br₄, C₂Br₆, C₂Br₂Cl₄ and C₂Cl₆.

Due to the great difference of polarity among the separated compounds, the better MP composition was different for each group (C₁, unsaturated C₂ and saturated C₂).

Reversions in retention times (t_R) were observed for some compounds as the MP polarity varied. From this fact it may be concluded that using gradient elution might not lead to better results for these separations.

Provisions of separations for unavailable compounds were made from the separation numbers.

Radiolysis of CBr₄ in CCl₄ solutions afforded some perhalogenated compounds, which were identified by GC/MS. These samples were analysed by HPLC, confirming the foreseen separation for C₁ compounds.

In order to prepare some C₂ compounds, photolysis reactions of perhalides were carried out. Identification of compounds for which no standard was available was made by interpolation of t_R the results being confirmed by GC coupled to a mass selective detector.

It is concluded that the complete analysis of $C_xBr_yCl_z$ compounds can be made by HPLC, using a single SP and two (or three) different MP compositions (MeOH/H₂O mixtures) making the separation of compounds in two runs.

CAPÍTULO 1

1.1. Introdução

A literatura contém diversos trabalhos que tratam de sistemas onde reações radicalares entre peraletoes são induzidas por raios γ , nêutrons, fôtons ou calor, tais como: radiólise de CCl_4 , de $\text{CBr}_4(\text{s})$, de C_2Cl_6 e de CCl_4/Br_2 ou fotólise de CBr_4 em presença de CCl_4 .

Uma revisão bibliográfica dos trabalhos mais relevantes sobre este assunto pode ser encontrada em recente trabalho publicado no Instituto de Química - UNICAMP [1].

No estudo destas reações, muitos compostos peralogenados foram identificados como produtos, por diferentes autores. Em trabalho sobre radiólise de soluções de CBr_4 em CCl_4 foram encontrados compostos tais como: CBrCl_3 , C_2Cl_4 , C_2BrCl_3 , CBr_2Cl_2 , $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_2$ e C_2Br_4 [1]. Em trabalho similar, foram identificados outros peralogenados como: $\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$ e C_2BrCl_5 [2]. Reações de termólise também produziram diversos peralogenados [1].

Como na maioria dos trabalhos, a análise destes peralogenados é feita por Cromatografia Gasosa (CG), é possível que muitos dos produtos sofram decomposição térmica durante as análises, principalmente os de dois átomos de carbono (C_2) saturados e ricos em bromo. Também é possível que alguns dos compostos identificados sejam produtos destas decomposições.

Sendo assim, o presente trabalho surgiu da necessidade de se identificar e quantificar todos os possíveis produtos de reações de radiólise ou termólise de soluções de CBr_4 em CCl_4 , que vêm sendo pesquisadas pelo grupo de Cromatografia/Radioquímica, deste Instituto [1, 3, 4, 5].

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), por efetuar análises a temperatura ambiente, apresentou-se como uma técnica promissora na análise destes compostos peralogenados, especialmente destes mais instáveis, polibromados.

Apesar das vantagens apresentadas pela CLAE na análise deste tipo de compostos, pouco se tem encontrado na literatura a respeito de análise de peralogenados por CLAE. As principais referências utilizadas foram trabalhos realizados no próprio grupo de Cromatografia/Radioquímica do Instituto de Química - UNICAMP [3,4].

Uma extensiva revisão bibliográfica foi feita sobre o assunto e, no entanto, não foi encontrado nenhum trabalho que tratasse da análise de mais de um peralogenado simultaneamente. A maior parte dos trabalhos encontrados trata da análise quantitativa de C_2Cl_4 ou C_2Cl_6 e estão, freqüentemente relacionados com poluentes de águas naturais. Porém, os sistemas cromatográficos utilizados nestes trabalhos são bastante similares aos usados pelo grupo de Cromatografia/Radioquímica: fase móvel polar e fase estacionária apolar quimicamente ligada.

Como a principal motivação para a realização deste trabalho estava nas investigações sobre os produtos peralogenados C_2 saturados, foi feita também uma revisão bibliográfica para verificação da viabilidade de se analisar estes compostos por CG e da possibilidade de decomposição dos mesmos, nas condições de análise. Uma completa revisão bibliográfica, de 1962 a 1983, sobre análise de peralogenados por CG, incluindo condições de análise e finalidade, já foi feita e encontra-se em trabalho publicado por Valente [5].

Estudando estes trabalhos, nota-se que poucos tratam de uma análise completa de peralogenados e em alguns, apesar de sugerida a presença de perbromados, não há uma confirmação sobre a viabilidade de se analisar por CG estes peralogenados pouco estáveis sem sofrerem decomposição.

Também em análises por CLAE, a separação completa dos vários peralogenados simultaneamente ainda não foi conseguida.

1.2 - Análises Cromatográficas de Compostos Peralogenados.

Compostos do tipo $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ ou 2 ; $y + z = 4$ ou 6) em misturas já foram analisados tanto por CG como por CLAE.

Peralogenados como C_2Cl_6 , C_2Cl_4 e CCl_4 são freqüentemente encontrados em análises de traços de poluentes em águas e ar por CG [24, 25]. Menos comuns, mas igualmente indesejáveis como poluentes de água são : $CBrCl_3$, CBr_4 [26] e C_2BrCl_5 [27], analisados por CG. Porém são raras as publicações que tratam da análise de vários peralogenados simultaneamente. Compostos peralogenados, inclusive polibromados, já foram analisados simultaneamente por CG no trabalho de Šístek e colaboradores [2]. Os compostos $CBrCl_3$, CBr_2Cl_2 , CBr_3Cl , C_2Cl_6 , C_2BrCl_5 , $C_2Br_2Cl_4$, $C_2Br_3Cl_3$, $C_2Br_4Cl_2$ e C_2Br_5Cl foram sugeridos como produtos da radiólise de soluções de CBr_4 em CCl_4 . O tempo de retenção (t_R) dos compostos foi dado em termos de retenção relativa, o que dificultou a atribuição dos picos aos respectivos compostos no cromatograma, uma vez que os autores se omitiram de fazê-lo. Apesar de citada, a presença do composto C_2Br_6 nos cromatogramas apresentados não foi observada. Pelo fato de não existirem na literatura outros trabalhos que tratem da análise de C_2Br_6 por CG, pode-se supor que a presença deste composto, sugerida nas tabelas, mas não confirmada nos cromatogramas, foi implicada por extrapolação dos t_R s e não efetivamente observada.

Em trabalho realizado por Murta [4], o C_2Br_6 aparece como um dos componentes analisados por CG. Porém, não foi feita uma comprovação definitiva da identidade do pico com t_R atribuído ao C_2Br_6 .

Diversos compostos peralogenados como $CBrCl_3$, C_2Cl_4 , CBr_2Cl_2 , C_2BrCl_3 , CBr_3Cl , $C_2Br_2Cl_2$, C_2Cl_6 e C_2Br_4 foram encontrados como produtos de radiólise e termólise de soluções diluídas de CBr_4 em CCl_4 , através de análises por CG, em trabalho recentemente realizado por Bértran [1]. O cromatograma da Fig. 2.11 ilustra a separação conseguida na análise desta mistura. Pode-se notar que nenhum composto polibromado de dois carbonos saturados foi encontrado como produto, em contraste ao trabalho de Šístek. Os compostos para os quais não havia padrões disponíveis foram identificados por interpolação dos t_{Rs} , baseado no método de identificação de compostos pelo Índice de Retenção ou Índice de Kovats [28] (Apêndice II). Também no trabalho de Valente [5], este método de identificação de compostos foi empregado, com bons resultados.

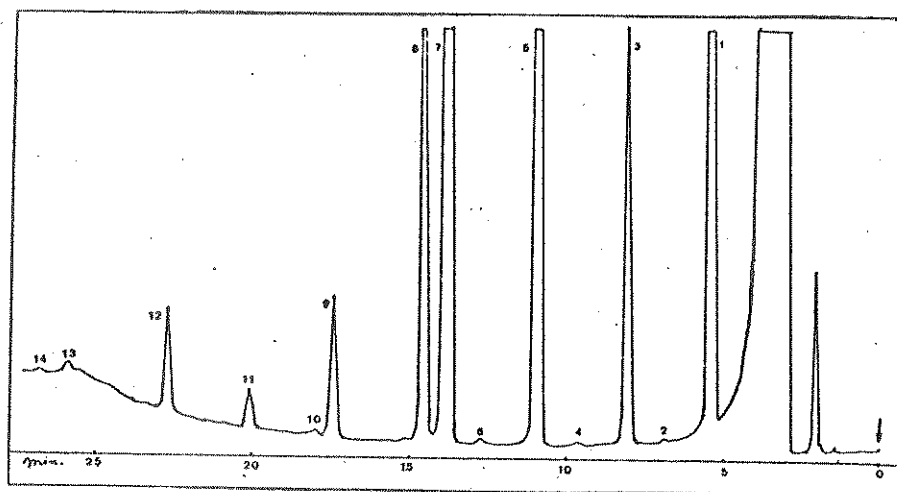


Figura 2.11. - Análise por CG de amostra CBr_4/CCl_4 irradiada com 160 kGy[1]. Coluna de vidro de 1,8 m x 2 mm, recheada com 20% de SP 2100+ 0,1% de Carbowax 1500/Supelcopot 100-120; FM: $N_2/H_2/Ar$ 30:30; Vazão: 300 mL/min; detector: FID 200°C; injetor: 150°C; programação: 40 a 180°C a 4°C/min; Vol. inj. = 1,8 μ L.

1. $CBrCl_3$; 2. C_2Cl_4 ; 3. CBr_2Cl_2 ; 4. C_2BrCl_3 ; 5. CBr_3Cl ; 6. $C_2Br_2Cl_2$; 7. CBr_4 ; 8. C_2Cl_6 ; 9. C_2Br_4 .

Assim como na CG, também na CLAE, o Índice de Retenção, I , pode ser usado como uma ferramenta na identificação de compostos e muitos estudos sobre o assunto vêm sendo feitos, com o uso de diferentes padrões (Apêndice II).

O relacionamento do I com a razão de distribuição das massas, D_m , foi estudado por diversos autores [29, 30], que também observaram a linearidade entre o $\log D_m$ e o número de carbonos em séries homólogas. Smith e colaboradores [31] observaram que as variações do I com as mudanças nas condições de análise são muito menores do que as variações de D_m , mas tanto o eluente como a FE são importantes na reprodutibilidade dos dados, quando se trabalha com I ou D_m .

Schwartz e Firestone [32], ao estudarem a radiólise de CBr_2Cl_2 , encontraram diversos peralogenados como produtos: CCl_4 , $CBrCl_3$, C_2Cl_4 e $C_2Br_2Cl_4$. Foi sugerida a presença de quatro outros produtos: CBr_3Cl , CBr_4 , C_2BrCl_5 e $C_2Br_3Cl_3$, mas não foi confirmada, provavelmente devido à falta destes padrões, nem sempre fáceis de serem obtidos puros. Contudo, o método usado na análise desta série de peralogenados não foi especificado.

As análises de peralogenados por CLAE são muito menos frequentes na literatura e, de fato, nenhuma, que tratasse da análise simultânea de muitos peralogenados, foi encontrada. Mas, em qualquer que seja a análise de peralogenados, as condições cromatográficas são sempre similares.

Na análise de C_2Cl_4 , Fankel e Slad [33] empregaram colunas de dimensões 4 x 250 mm, recheadas com sílica gel quimicamente ligada a grupos octadecil (C-18) e FM, MeOH/H₂O 93:07, com detecção por absorvância no UV a 230 nm. Já Kummert e colaboradores [34] fizeram detecção do mesmo composto a 208 nm, eluído com MeOH/H₂O em diferentes

composições, variando de 50:50 até 70:30 (isocráticas), em coluna com FE similar. Para análises de C_2Cl_6 , Konemann e colaboradores [35], empregaram a FM MeOH/H₂O 70:30 e o mesmo tipo de FE.

No já citado trabalho de Murta [4], a CG e a CLAE foram usadas como técnicas complementares de análise. Várias colunas de CLAE foram testadas, sendo que as de fase reversa quimicamente ligada, como octadecil-silano-ODS, utilizando MeOH/H₂O (70:30) como FM, apresentaram as melhores separações, como mostra a Fig. 2.12 [4].

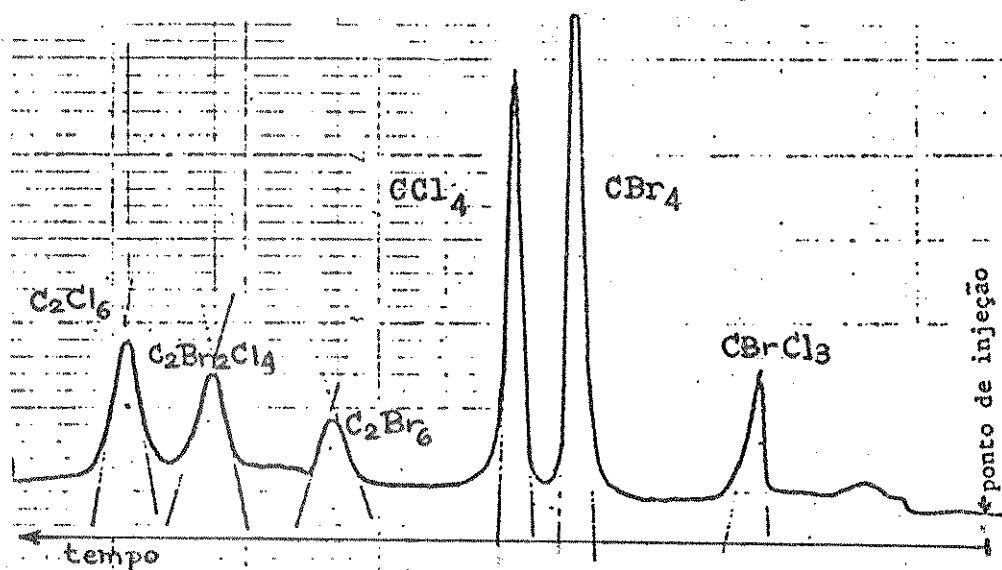


Figura 2.12. - Análise por CLAE de uma mistura de peralogenados [4], contendo: CBr_4 , $CBrCl_3$, CCl_4 , C_2Br_6 , $C_2Br_2Cl_4$ e C_2Cl_6 [4]. Coluna de 250 x 10 mm, recheada com Vydac-RP¹⁸ 18 (10 μ m); FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 2 mL/min; vol. inj.: 100 μ L; detecção: 220nm

Em vários trabalhos que vêm sendo realizados pelo grupo de Cromatografia/Radioquímica, diversas colunas já foram testadas para a separação de peralogenados, como por exemplo, uma de 4 x 240 mm, recheada com Lichrosorb RP-8, de 10 μ m de diâmetro médio de partículas e eluída com acetonitrila/água (45:55) para misturas de CCl_4 , CBr_4 , $CBrCl_3$, CBr_2Cl_2 , C_2Br_4 , C_2Cl_4 , C_2Br_6 , $C_2Br_2Cl_4$ e C_2Cl_6 . A separação foi boa para $C_2Br_2Cl_4/C_2Cl_6$ e para C_2Br_4 , mas não resolveu o C_2Br_6 nem os compostos C_1 , mesmo em condições ótimas (Fig. 2.13) [53].

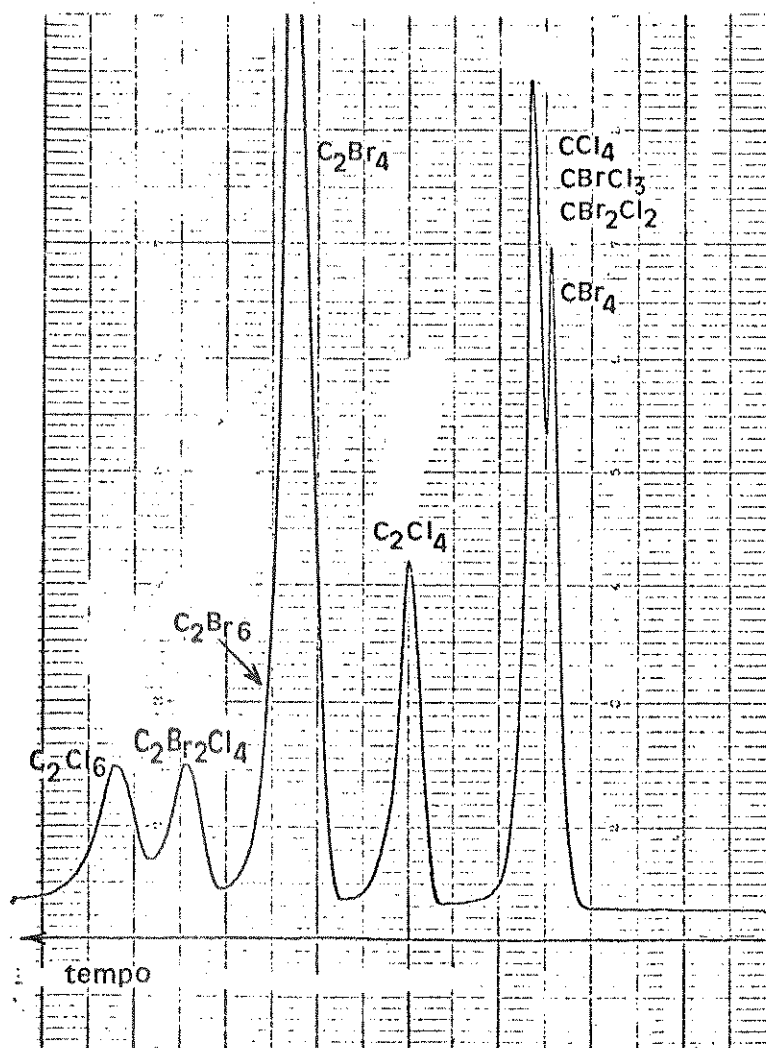


Figura 2.13. - Análise por CLAE de mistura padrão de peralogenados [53], contendo: CBr_4 , CBr_2Cl_2 , $CBrCl_3$, CCl_4 , C_2Cl_4 , C_2Br_4 , C_2Br_6 , $C_2Br_2Cl_4$ e C_2Cl_6 . Coluna de 240 x 4 mm, com Lichrosorb RP-8 (10 μm); FM: CH_3CN/H_2O 45:55; Vazão da FM: 0,5 mL/min; vol. inj.: 20 μL ; detecção: 254 nm.

1.3. - Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi a otimização da separação do maior número possível de compostos orgânicos halogenados, saturados e insaturados, não hidrogenados, do tipo $C_x Br_y Cl_z$ ($x = 1$ ou 2 ; $y+z = 4$ ou 6) através da CLAE.

Para que este objetivo pudesse ser atingido, foram feitos estudos sobre:

- O tipo de coluna, incluindo dimensões, fases estacionárias (FE), tamanho de partículas de recheio e as eficiências, resoluções, números de separação e demais parâmetros resultantes
- A fase móvel (FM) e suas melhores proporções
- O sistema de detecção, considerando-se a sensibilidade dos compostos separados
- As condições de análise, como vazão da FM e volume do amostrador, considerando-se o tempo de análise e a dispersão da banda cromatográfica.

Como já se encontravam disponíveis no laboratório, amostras resultantes de radiólise de soluções de CBr_4 em CCl_4 , contendo alguns peraletois, cujas identidades já haviam sido confirmadas por CG/EM, estas foram usadas como fonte de padrões para a análise de uma determinada série homóloga.

Como não se dispunha de todos os padrões de peralogenados C_2 , foram sintetizados, através de reações de fotólise, alguns destes, que viriam a completar esta série homóloga.

CAPÍTULO 2

A Cromatografia Líquida da Alta Eficiência (CLAE) como método de Análise

Cromatografia, de um modo geral, é o nome dado ao método físico de separação baseado na migração diferencial dos componentes de uma mistura entre duas fases: a estacionária (sólida ou líquida) e a móvel (líquida ou gasosa).

A origem da Cromatografia Líquida (CL), como método de separação, data de 1906, quando Tswett [6], usando uma coluna de gesso, isolou pigmentos clorofilados de plantas. Mas já em 1893-97, aplicações desta técnica foram feitas para fracionamento de petróleo.

Desde sua origem até a década de 60, nenhum avanço significativo, em termos de eficiência, havia sido conseguido na CL. Entretanto, no final desta década, um novo ramo da cromatografia surgiu para revolucionar a técnica: a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Empregando fase estacionária (FE) de partículas com pequeno diâmetro (3 a 10 μm), a CLAE opera a altas pressões - de 300 a 500 bar (1 bar = 10^5 Pa)* - devido à perda de carga na coluna. O resultado é uma análise rápida e de grande eficiência, que a coloca em vantagem com relação às outras técnicas de CL.

Um resumo dos diferentes tipos de cromatografia, classificados de acordo com o tipo de FE e fase móvel (FM), pode ser encontrado na Fig. 2.1.

* A unidade SI para pressão é Pa (equivalente a N.m^{-2}), que é mais conveniente para baixas pressões. Para pressões maiores que a atmosférica, a unidade bar torna-se mais conveniente.

Sobre a Cromatografia Gasosa (CG), poderosa e rápida na análise de misturas complexas, a CLAE apresenta vantagens como:

- fazer análises a temperatura ambiente (ou termostatzadas de acordo com o interesse), o que elimina problemas de decomposição de compostos pouco estáveis a altas temperaturas, que compreendem grande parte dos compostos orgânicos.
- facilidade de recuperação da amostra para outros fins analíticos.
- facilidade de acoplamento e automação para técnicas de reação pós-coluna.
- resolução de misturas difíceis, favorecida por interações seletivas da amostra com as duas fases cromatográficas (a FM e a FE) e não com apenas uma, como no caso da CG.

Outras comparações entre as duas técnicas podem ser encontradas na Tab. 2.1.

Os detectores para CG são geralmente mais sensíveis que os para CLAE, porém, são pouco convenientes à recuperação dos componentes isolados. Alguns detectores para CG e CLAE são comparados na Tab. 2.2.

Diversos sistemas de detecção, com boa sensibilidade, têm sido desenvolvidos para a CLAE, facilitando a automação, tanto na forma analítica como preparativa. Os detectores de radioatividade, acoplados ao sistema de CLAE, têm sido muitos úteis nos casos onde há problemas de sensibilidade.

A CL encontra sua maior aplicação na separação de compostos com massa molecular alta, como macromoléculas biológicas ou produtos naturais. O intervalo ótimo de aplicação de algumas técnicas cromatográficas, de acordo com a massa molecular dos componentes da amostra é ilustrado na Fig. 2.2. [7].

TABELA 2.1 - Comparação entre Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia Líquida da Alta Eficiência (CLAE) [8].

Fator	CG	CLAE
Requisitos para a amostra	Volátil ou derivado volátil, termicamente estável na temperatura de operação do sistema cromatográfico	Deve ser solúvel na fase móvel
Tipo de amostra	gases, líquidos e sólidos PM de 2 a 600 (ou até 1.200 em certos casos)	líquidos e sólidos, iônicos ou covalentes. PM de 32 até 4.000.000
Quantidade mínima Detectável	10^{-12} g *	10^{-9} g **
Tempo de Análise	minutos até poucas horas	minutos até muitas horas
Pratos Teóricos	2.000 - 300.000	500 - 25.000
Capacidade Preparativa	Pobre. Razoável em certos casos, fazendo-se múltiplas injeções	Boa, com facilidade de coleção e capacidade de automação
Capacidade Analítica	Excelente. Separação de amostras com até 200 componentes	Excelente. Detecção mais seletiva. Separação de até 50 componentes por amostra

* Detector por ionização em chama ou por captura de elétrons

** Detector por absorbância no UV, com comprimento de onda fixo.

TABELA 2.2. - Comparação entre os detectores mais comuns para Cromatografia Gasosa (CG) e para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) [9]

A) <u>CG</u>				
Detector	Seletividade	Sensibilidade (g/s)	Faixa de Linearidade	Quantidade mínima Detectável
Condutividade Térmica	Universal	6×10^{-10}	10^4	10^{-5} g
Ionização em Chama	Compostos orgânicos	9×10^{-13}	10^7	2×10^{-11} g
Captura de Elétrons	Espécies que capturam elétrons	2×10^{-14}	10^2	2×10^{-13} g
Fotoionização	Compostos com potencial de ionização < 10,2 eV	-	10^7	2×10^{-12} g
Termoiônico	Compostos fosforados e nitrogenados	P = 5×10^{-14} N = 1×10^{-13}	$10^4 - 10^5$	P = 2×10^{-12} g N = 2×10^{-10} g
Fotométrico de Chama	Compostos fosforados e de enxofre	P = 5×10^{-13} S = 5×10^{-12}	P = 10^4 S = 500 (linear) 10^3 (log)	$10^{-10} - 10^{-11}$ g
B) <u>CLAE</u>				
Índice de Refração	Universal	3×10^{-9}	10^4	2×10^{-7} g/mL
Espectrofotométrico UV/visível	Compostos que absorvam luz UV/visível	10^{-11}	10^5	10^{-9} g/mL
Fluorescência (laser)	Compostos que emitam fluorescência após excitação com luz	10^{-14}	10^3	10^{-18} g/mL
Espectrofotométrico IV	Compostos que absorvam luz na região do IV	10^{-7}	10^4	10^{-6} g/mL
Condutividade elétrica	Compostos iônicos	10^{-9}	10^4	10^{-8} g/mL
Eletroquímico (eletrodo de Hg gotejante)	Compostos iônicos	10^{-9}	10^6	10^{-12} g/mL
Radioatividade	Compostos radioativos	20-50cpm	10^6	-

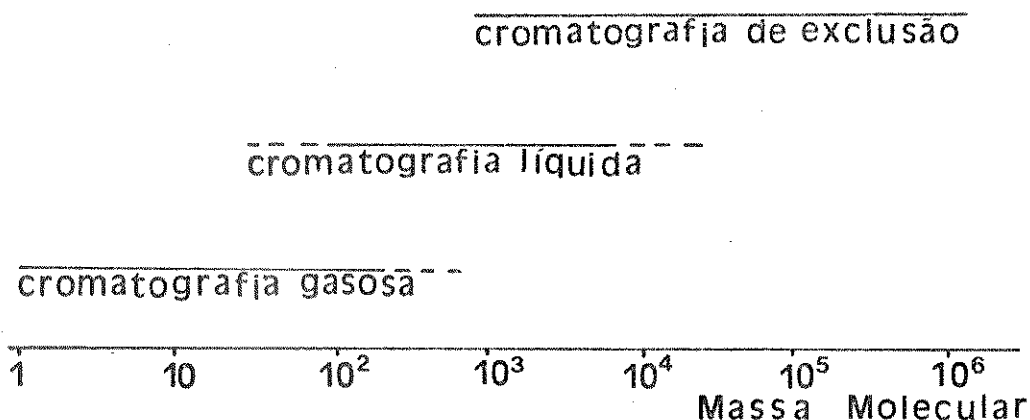


Figura 2.2. - Extensão de aplicação das técnicas cromatográficas [7].

2.1. A Teoria da Separação.

Existem dois tipos de fenômeno físico na separação cromatográfica: a adsorção e a partição. No primeiro caso, os componentes da amostra são adsorvidos seletivamente na FE. Ocorre uma competição entre as moléculas da amostra e as moléculas da FM pelos sítios ativos do adsorvente. É o que ocorre na cromatografia líquido-sólido. Quando a FE é um líquido que recobre um suporte (cromatografia líquido-líquido), o fenômeno que ocorre é a partição. Na cromatografia líquida, que usa como FE um polímero orgânico quimicamente ligado ao suporte, ocorrem ambos os mecanismos: partição, pelos grupos orgânicos e adsorção, devido aos sítios não desativados do suporte.

Em qualquer um dos casos, a separação dos componentes de uma mistura em CL deve-se a sua distribuição diferencial entre a FE e a FM.



A Razão de Distribuição das Massas, D_m , é dada como:

$$D_m = \left(\frac{[X_E]}{[X_M]} \right) \left(\frac{V_E}{V_M} \right) = \frac{n_E}{n_M} \quad (I),$$

que expressa a razão entre o número de moles da amostra, X , na FE (n_E) e na FM (n_M).

Também pode ser definido um coeficiente de Distribuição (ou de retenção), K_D , que relaciona a concentração do soluto na FE e na FM e dependerá da concentração de cada fase:

$$K_D = \frac{[X_E]}{[X_M]} \quad (\text{II})$$

Esta distribuição relativa de X entre as duas fases é determinada por interações intermoleculares de uma molécula de X com moléculas das FM e FE, como ilustra a Fig. 2.3.[10].

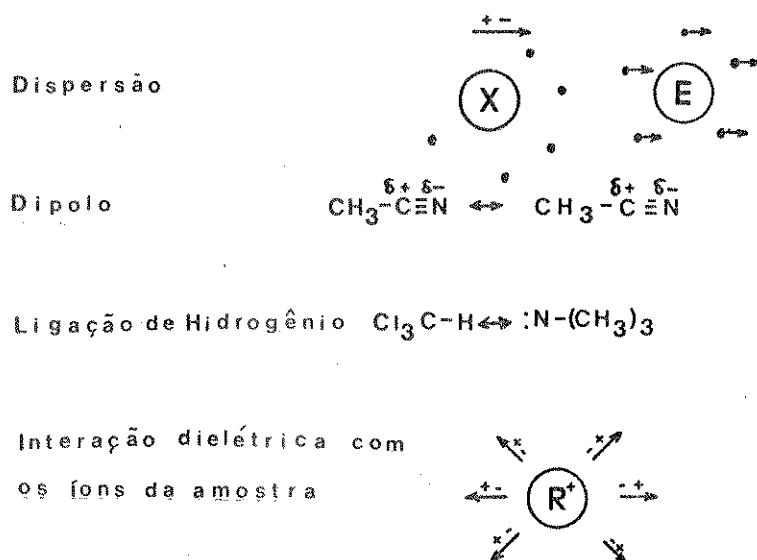


Figura 2.3. - As quatro interações que resultarão na interação total das moléculas de FM e FE com moléculas da amostra.

Quando estas interações são mais fortes em uma fase do que na outra, a concentração de X na fase correspondente será maior. É o que ocorre, por exemplo, quando os vários componentes da amostra, por terem maior interação com a FM, migram rapidamente na coluna. Neste caso, a FM parece ser muito forte e, para que haja equilíbrios suficientes para ocorrer separação, é preciso usar uma FM mais fraca, que

pode ser escolhida dentro da série eluotrópica (Tab. 2.3). É importante notar que o sentido de "força da FM" varia de acordo com a FE usada, isto é, a força da FM aumenta com a polaridade no caso de fase normal (tanto por partição como por adsorção) enquanto que na fase reversa, a força da FM diminui com o aumento da polaridade [11].

A polaridade de um composto é dada pela habilidade que suas moléculas têm de interagir fortemente através das forças intermoleculares (dispersão, dipolo, ligação de hidrogênio, interação dielétrica), seja com um solvente, seja com a FE. A polaridade, portanto, determina a distribuição de X entre a FM e a FE.

Uma escala quantitativa da polaridade de solventes pode ser estabelecida através do parâmetro de solubilidade de Hildebrand, δ (Apêndice I).

2.2. - Eficiência e Resolução no Sistema de CLAE

A Razão de Distribuição das Massas, D_m também pode ser expressa em termos de tempo de retenção:

$$D_m = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t'_R}{t_M} \quad (\text{III}),$$

onde t_R é o tempo de retenção do soluto, t_M , o tempo de retenção de um soluto não retido pela FE e t'_R é o tempo de retenção ajustado para o soluto retido, representando o tempo que ele permanece na FE.

Valores ideais de D_m variam entre 1 e 10, sendo que valores grandes de D_m significam soluto muito tempo retido e longo tempo de análise e D_m pequeno indica soluto pouco retido, que pode prejudicar a análise.

Uma maneira de se avaliar a eficiência de uma coluna usada num

TABELA 2.3. - Série Eluotrópica com diversos solventes úteis como fase móvel para cromatografia líquida [9]

	Fluoralcanos
	n-Pentano
	Isoctano
	Éter de Petróleo
	n-Decano
	Cicloexano
	Ciclopentano
	Diisobutileno
	Isopentano
	Dissulfeto de Carbono
	Tetracloreto de Carbono
	Cloreto de Amila
	Xileno
	Éter isopropílico
	Tolueno
	Clorobenzeno
	Benzeno
	Éter Etílico
	Sulfeto de Etila
	Clorofórmio
	Cloreto de Metileno
	Metil isobutil-cetona
	Tetraidrofurano
	Dicloreto de etileno
	Metil-etil-cetona
	1-nitropropano
	Acetona
	Dioxano
	Acetato de Etila
	Acetato de Metila
	Álcool Amílico
	Anilina
	Dietil-amina
	Nitrometano
	Acetonitrila
	Piridina
	Isopropanol
	n-Propanol
Polaridade	Etanol/ tanol
	Etileno-glicol
	Ácido Acético
	Água

sistema de CLAE é através do cálculo do número de pratos teóricos, n , definidos por:

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \quad \text{ou} \quad n = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_h} \right)^2 \quad (\text{IV}),$$

onde W_b é a largura do pico na linha de base e W_h , a largura do pico a meia altura.

Outra maneira de se avaliar a eficiência é pela altura equivalente a um prato teórico, h , que é um parâmetro adequado para comparar diferentes colunas, pois já considera o comprimento das mesmas.

$$h = \frac{L}{n} \quad (\text{V}),$$

onde L é o comprimento da coluna.

Alguns autores adotam certos valores limites para a eficiência de coluna, em termos de número de pratos por metro, de acordo com o tipo e diâmetro das partículas da FE e sua finalidade. Abaixo deste limite, a coluna dever ser descartada (ou refeita), pois sua eficiência é inferior ao valor médio que se conseguiria obter com uma coluna similar. A tabela 2.4. mostra os valores limites da eficiência, de acordo com o tipo de FE [12].

Em alguns casos, o cálculo de n e h , para avaliação de colunas para CLAE, pode não refletir, de maneira fiel a eficiência destas colunas, principalmente quando se trata de picos assimétricos, com cada. As equações normalmente usadas para avaliação de colunas (eqs. IV e V) são válidas somente para picos simétricos. Uma maneira simples de se verificar a confiabilidade dos cálculos de n ou h é calcular o "fator de assimetria do pico", como mostra a Fig. 2.4.

TABELA 2.4. - Eficiências Típicas de Colunas Recheadas, Comercialmente Disponíveis.

Tipo	Eficiência Mínima (pratos/m)
<u>Fase Reversa</u>	
Pelicular (35 μm)	1.000
Porosa (10 μm)	12.000-20.000
(5 μm)	35.000-45.000
(3 μm)	80.000-100.000
<u>Troca Iônica</u>	
Pelicular (35 μm)	1.000
Porosa (10 μm)	
aniônica	10.000
catiônica	15.000
sílica	15.000
<u>Fase Normal</u> (adsorvente)	
Pelicular (35-45 μm)	2.000-5.000
Porosa (10 μm)	24.000
(5 μm)	40.000
<u>Exclusão</u>	
Polímeros (10 μm)	9.000

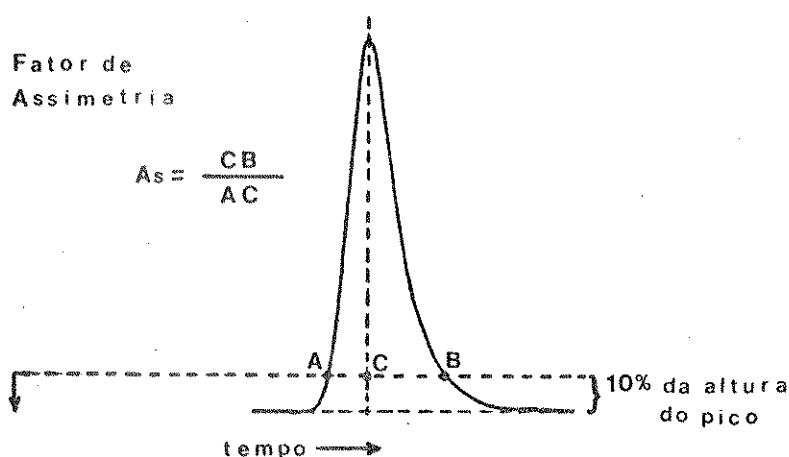


Figura 2.4. - Medida do Fator de Assimetria, A_s , de um pico, tomada a 10% da altura [11].

Quando este valor excede 1,2 para um pico, o valor de n aparente da coluna está muito alto [11]. À medida que a assimetria do pico aumenta, aumentam também os erros positivos no cálculo de n , o que pode ser confirmado confrontando dois métodos de cálculo, um manual (da tangente ao pico) e outro computadorizado.

Uma boa regra geral é, portanto, evitar colunas (ou sistemas de cromatografia líquida) que dão $A_s > 1,2$.

A habilidade de uma coluna em reproduzir a separação de dois compostos é função termodinâmica do sistema e pode ser quantificada em termos do fator de seletividade, α , definido como:

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{D_{m2}}{D_{m1}} = \frac{K_{D2}}{K_{D1}} \quad (VI),$$

onde t'_{R1} e t'_{R2} são os tempos de retenção ajustados para dois picos adjacentes.

Uma boa seletividade, que leva também a uma boa separação, tem valor numérico em torno de 1,2.

A medida da separação entre dois picos adjacentes é a resolução, R_s , a qual é resultado da combinação de variáveis como α , D_m e n .

$$R_s = \frac{1}{4} \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \sqrt{n} \frac{D_m}{(1 + D_m)} \quad (\text{VII})$$

O controle quantitativo da resolução pode ser baseado na otimização destas variáveis [13]. A primeira tentativa é aumentar D_m , alterando a força da FM (FMs mais fracas possibilitam maior eficiência da FE no caso de FR) ou usando eluição com gradiente. Só em último caso troca-se a FE (menores diâmetros de partículas, dp , possibilitam maiores interações da amostra com a FE). A eficiência do sistema, n , relaciona-se com o comprimento da coluna (eq. V) e pode-se considerar que ao dobrar o comprimento da coluna, n duplica (mantendo-se h constante) e a resolução também aumenta. A diminuição do dp também resulta em aumento de n , que por sua vez, resulta em picos mais delgados e as alturas sofrem variações consideráveis, porém o tempo de análise pode aumentar muito. O aumento de α acarreta em deslocamento de um pico em relação ao outro e produz grande aumento de R_s , que pode ser conseguido variando-se a composição da FM, o pH e a FE.

A otimização dos valores de D_m , n e α , para uma mistura complexa é geralmente difícil e envolve muitas tentativas.

Na separação de picos cromatográficos por CG, a otimização de variáveis foi conseguida por Morgan e Deming [14] com o uso de métodos matemáticos e estatísticos (Quimiometria) com realização de pequeno número de experimentos.

A resolução também pode ser expressa em termos de t_R e W_b , que são parâmetros experimentais facilmente obtidos do cromatograma.

$$R_s = 2 \left(\frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{b2} + W_{b1}} \right) \quad (\text{VIII})$$

Em muitos casos, torna-se mais conveniente usar a W_h para cálculo de R_s , principalmente no caso de picos assimétricos ou de linha

de base irregular, onde poderiam ser cometidos muitos erros quando da medida manual da tangente aos picos.

$$R_s = 1,177 \left(\frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{h2} + W_{h1}} \right) \quad (IX)$$

O valor ideal de R_s dependerá da finalidade da análise. Assim, $R_s = 0,8$ pode ser suficiente para uma análise qualitativa, mas daria um erro maior que 10% em uma análise quantitativa. Outro fator que afeta o valor ideal da resolução é a concentração dos dois componentes com t_R s próximos. A Fig. 2.5 mostra a relação entre valores de R_s e a concentração de duas bandas adjacentes.

A eficiência de uma coluna pode ser determinada através de outros fatores, além do comprimento e d_p , descritos pela equação de Van Deemter:

$$h = A + \frac{B}{u} + C u + D u \quad (X),$$

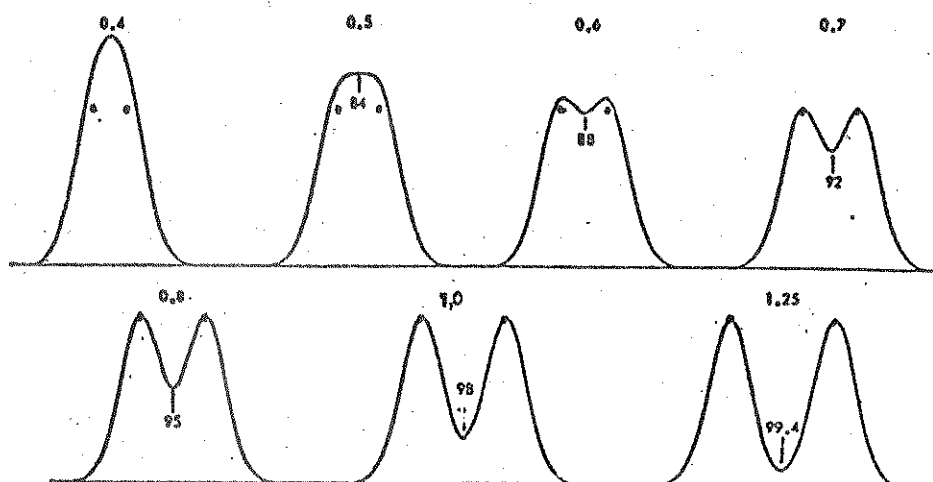
onde u é a velocidade linear da FM.

O termo A é a contribuição devido à difusão turbilhonar, resultados dos diferentes caminhos percorridos pelas moléculas do soluto e que causa alargamento do pico. Este termo pode ser reduzido usando-se partículas uniformes e com pequenos diâmetros e colunas uniformemente recheadas.

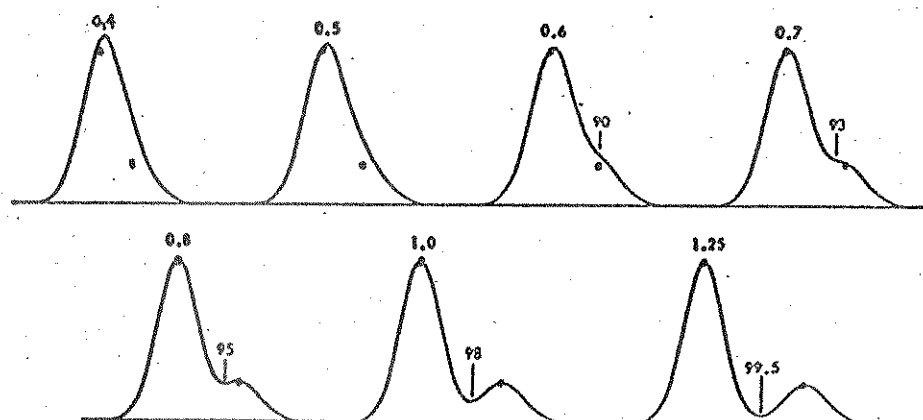
O termo B está relacionado com a difusão longitudinal, resultado do movimento das partículas de soluto, em todas as direções e pode ser minimizado empregando-se altas velocidades lineares da FM. Este termo é mais importante na CG que na CLAE, pois o coeficiente de difusão no líquido é muito menor do que no gás.

O termo C relaciona o aumento da largura das bandas com a transferência de massa do soluto para a FE. Uma baixa velocidade li

Curvas Padrões de Resolução para Razão 1:1 de duas bandas cromatograficas



Curvas Padrões de Resolução para Razão 4:1



Curvas Padrões de Resolução para Razão 16:1

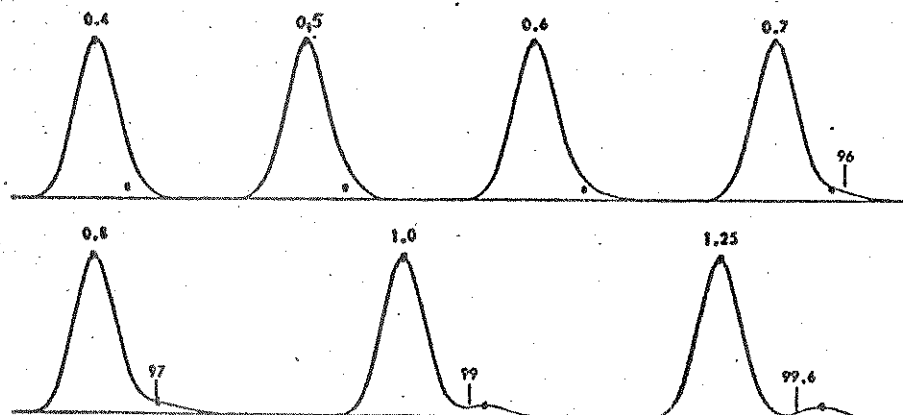


Figura 2.5. – Curvas Padrões de Resolução para duas bandas com diferentes razões de concentração [15]. Os números acima das bandas referem-se à Resolução. As setas indicam o ponto que dará bandas de igual pureza e os números acima ou abaixo das setas referem-se à pureza de cada uma das duas bandas resultantes.

near da FM em coluna com uniformidade de enchimento e com fina camada de filme líquido de FE sobre o suporte, são fatores que minimizam o termo C.

O termo D relaciona o alargamento das bandas com a transferência de massa do soluto para a FM. Fatores como tamanho e forma das colunas, diâmetros das partículas, velocidade linear da FM e o coeficiente de difusão do soluto na FM podem ser modificados para reduzir o termo D.

Uma curva típica da equação de Van Deemter é ilustrada na Fig.2.6 [16]. O aspecto, mais importante, do ponto de vista prático, na in-

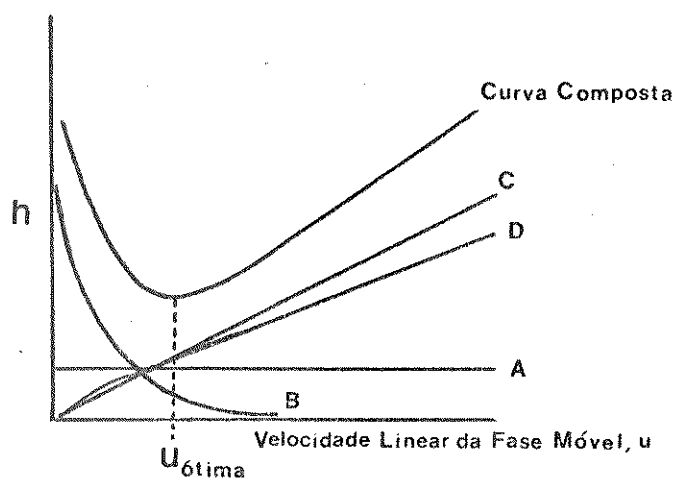


Figura 2.6. - Curva da equação de Van Deemter mostrando as contribuições dos vários termos e a velocidade ótima [16]

terpretação desta curva é que existe uma vazão (F) ótima, que é diretamente relacionada com a velocidade linear da FM, u , para a qual a eficiência do sistema será máxima (menor valor de h). Em geral, a F ótima possui valores muito pequenos e prefere-se trabalhar com vazões maiores, para reduzir o tempo de análise. Torna-se, por isso, conveniente que a parte ascendente da curva seja pouco inclinada, para que se tenha boa eficiência, mesmo com vazões maiores.

Alguns autores utilizam ainda outro método para cálculo da eficiência de separação de uma coluna [17]. Este método, frequentemente usado em CGAR, calcula o número de separação, ou número de Trennzahl [18].

$$T_z = \frac{t_R(x+1) - t_R(x)}{W_h(x+1) + W_h(x)} - 1 \quad (XI)$$

O número de Trennzahl, T_z , representa o número de picos que poderiam ser colocados, se desejado, entre o C_x e C_{x+1} , sendo os C , compostos com características similares. Esta equação já foi verificada e funciona muito bem para séries homólogas de n -parafinas, assim como para outras séries homólogas.

2.3. - O Equipamento usado em CLAE

A diferença básica entre a Cromatografia Líquida Clássica e a CLAE está no tamanho das partículas empregadas no enchimento da coluna. Na primeira, as partículas possuem grandes diâmetros, da ordem de 75 a 250 μm , requerendo apenas a força da gravidade para operação, mas resultando em eficiência e resoluções baixas, com tempo de análise elevado. Já na CLAE, que emprega partículas menores, de 3 μm ou, em trabalhos mais recentes, de até 1 μm de diâmetro médio, são requeridas altas pressões para operação, em torno de 300 bar, mas que resultam em colunas de grande eficiência e resolução, com menor tempo de análise.

Devido à alta pressão de operação, a CLAE necessita de equipamento especial, que a cada dia tem seus recursos ampliados e modernizados.

Um esquema simplificado de um cromatógrafo a líquido, empre-

gando duas bombas para impulsionar a FM é ilustrado na Fig. 2.7.

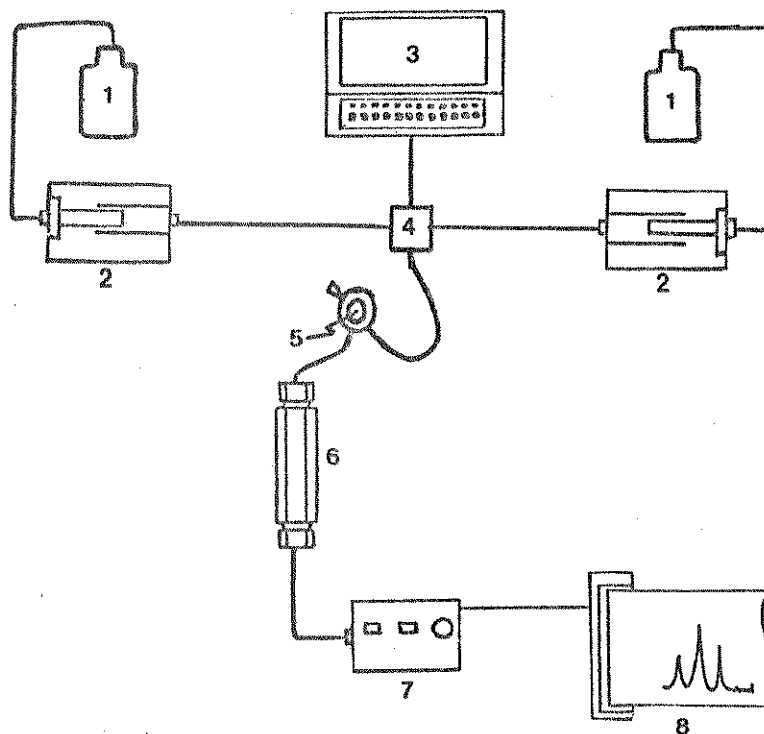


Figura 2.7. - Esquema de um Cromatógrafo a Líquido

1. reservatório para solvente
2. bombas para impulsionar a FM pela coluna
3. programador de FM
4. misturador de solventes
5. válvula de injeção da amostra
6. coluna analítica
7. detector/sistema de detecção
8. registrador/integrador eletrônico

Existem sistemas mais simples, onde a FM é impulsionada por apenas uma bomba, havendo necessidade de misturar os solventes para a FM (quando esta é uma mistura) fora do sistema. Este tipo de equipamento funciona muito bem em condições isocráticas, mas pode ser uma limitação quando se quer trabalhar com gradiente de eluição. Por outro lado, existem sistemas cromatográficos que podem misturar e impulsionar até quatro solventes simultaneamente.

As colunas, tubos e conectores para CLAE são geralmente de aço inox, para resistir às pressões e garantir a inatividade do sistema em reagir com a amostra.

O sistema de injeção da amostra num equipamento de alta eficiência é de grande importância para a reprodutividade das análises. Os sistemas mais freqüentemente usados em CLAE são os de válvula de injeção, com amostradores de volumes definidos e que podem ser substituídos, dependendo da conveniência. O esquema de uma válvula de injeção simples, com dois estágios, é mostrado na Fig. 2.8. No entanto, existem válvulas com até 10 pontos de injeção, com sistema de retro-fluxo, para limpeza do amostrador.

As juntas, tubos e conectores após o injetor, devem ter o menor volume possível, para reduzir ao máximo as dispersões extra-coluna e, assim, serem compatíveis com um sistema de alta resolução e eficiência. Também o amostrador deve ter o menor volume possível, para minimizar estas dispersões.

O alargamento da banda devido à dispersão extra-coluna pode ser calculado matematicamente e é resultado da contribuição de diversos fatores como: volume da amostra injetada, tempo da injeção, dimensões dos tubos e conectores e do volume da cela do detector [12, 19]. Existem valores limites para cada um destes fatores, acima

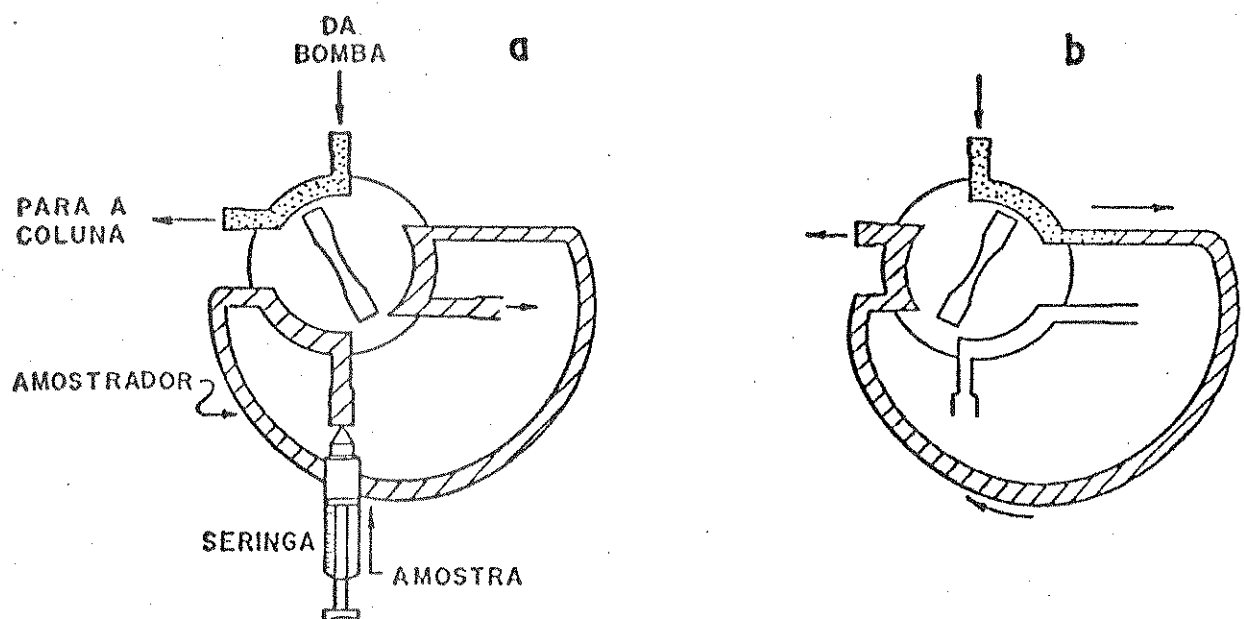


Figura 2.8. - Válvula de amostragem para CLAE [9]. a: posição para carregar; b: posição para injetar

dos quais, o alargamento da banda será excessivo e prejudicará a eficiência global do sistema, independentemente da coluna. O efeito do volume da cela do detector no aumento de dispersão da banda cromatográfica é ilustrado na Fig. 2.9. [20]

Para superar problemas como o da dispersão, em sistemas de CLAE, estão sendo desenvolvidas técnicas que empregam colunas com micro-diâmetros internos, sendo encontradas com o nome de Cromatografia Líquida de Baixa Dispersão. As colunas empregadas podem ser recheadas (com d.i de 0,2 a 2 mm), capilares recheadas (com d.i de

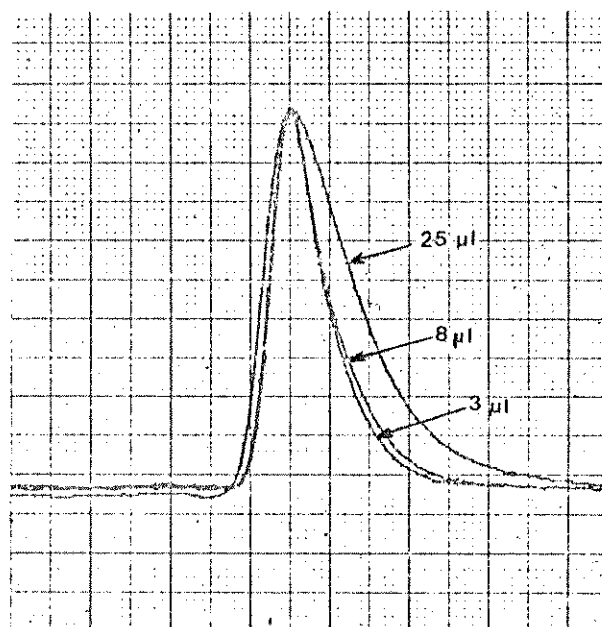


Figura 2.9. - Efeito do volume da cela do detector no aumento da dispersão da banda cromatográfica [20]. Coluna 250 x 4,6 mm; soluto: benzeno; FM: tetraidrofurano; vazão da FM: 1 mL/min; volume da cela: 25,8 e 3 μ L.

40 a 80 μ m) ou capilares abertas (com d.i de 15 a 30 μ m), sendo que os fatores de dispersão extra-coluna, nestes casos, são ainda mais críticos e devem ser muito bem controlados.

2.4. - Fases Estacionárias e Fases Móveis para CLAE

O tipo de FE empregada nas colunas define o tipo de cromatografia: se forem utilizadas FEs polares, com FM apolar, a técnica é chamada CLAE com fase normal; se fases apolares forem empregadas, com FM polar, tem-se a CLAE com fase reserva. A escolha do tipo de CLAE a ser empregada, dependerá das características da amostra.

Como indicado na Fig. 2.1, as FEs podem ser sólidas, líquidas

ou líquidas ligadas ao sólido e originam, respectivamente, a cromatografia líquido-líquido (CLL) e a cromatografia líquida com fase ligada (CLFL).

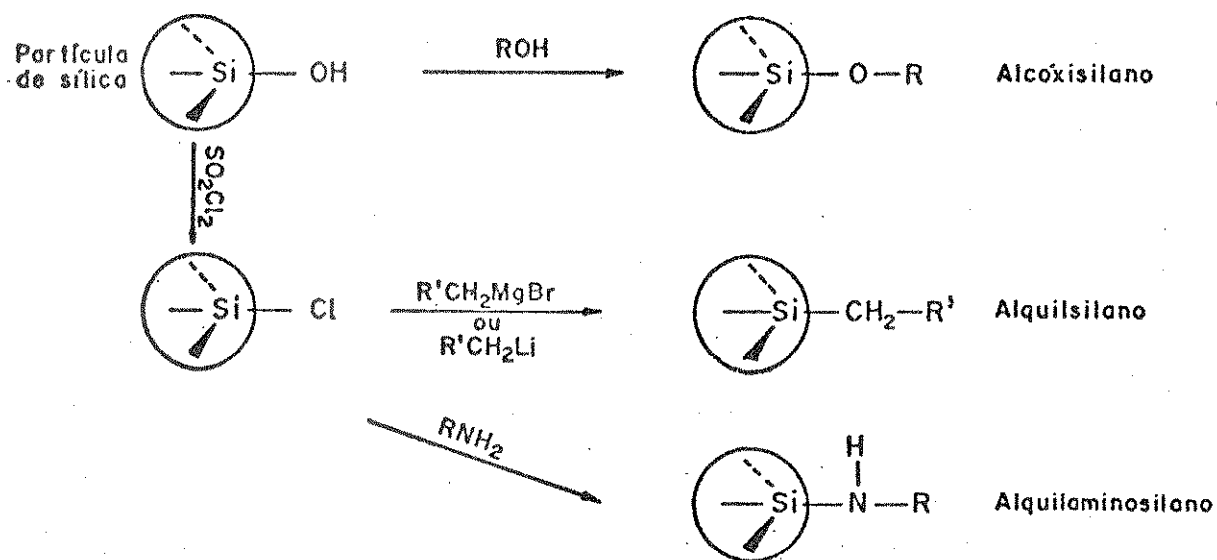
Na CLS, a FE pode ser polar (sílica gel, esferas de vidro poroso, alumina) ou apolar (por exemplo polímeros de PS-DVB) sendo adequada para amostras de massa molecular intermediária, pouco voláteis (massa molecular > 1000), e tende a exibir uma seletividade mais alta entre certos tipos de isômeros do que outros métodos de CL. Ela também distingue entre compostos de diferentes tipos e número de grupos funcionais, mas ignora diferenças em substituintes alquil ou massa molecular de compostos [10].

A CLL apresenta características importantes como a versatilidade para vários tipos de amostra, reprodutibilidade quando do enchimento da coluna, velocidade de separação, estabilidade do soluto dentro da coluna e sensibilidade com alta precisão, porém há a grande desvantagem da solubilidade da FE na FM líquida.

Para minimizar os problemas de solubilização da FE na FM, foi idealizada a CLFL, que utiliza um líquido como FE, sendo quimicamente ligado ao suporte. Esta ligação química elimina o problema da solubilidade da FE na FM. A CLFL pode ser com fase normal (FE polar) ou com fase reversa (FE apolar), sendo esta última mais usada atualmente.

O suporte geralmente usado é sílica (ou a base de sílica), que produz colunas eficientes e estáveis, mesmo a altas pressões. Algumas reações para se produzir fase ligada são ilustradas na Fig.2.10 [16].

Além das colunas e equipamentos, a FM também cumpre um papel crítico na maximização do desempenho da cromatografia líquida, sendo importante a seleção correta da FM para uma dada separação.



• 33 •

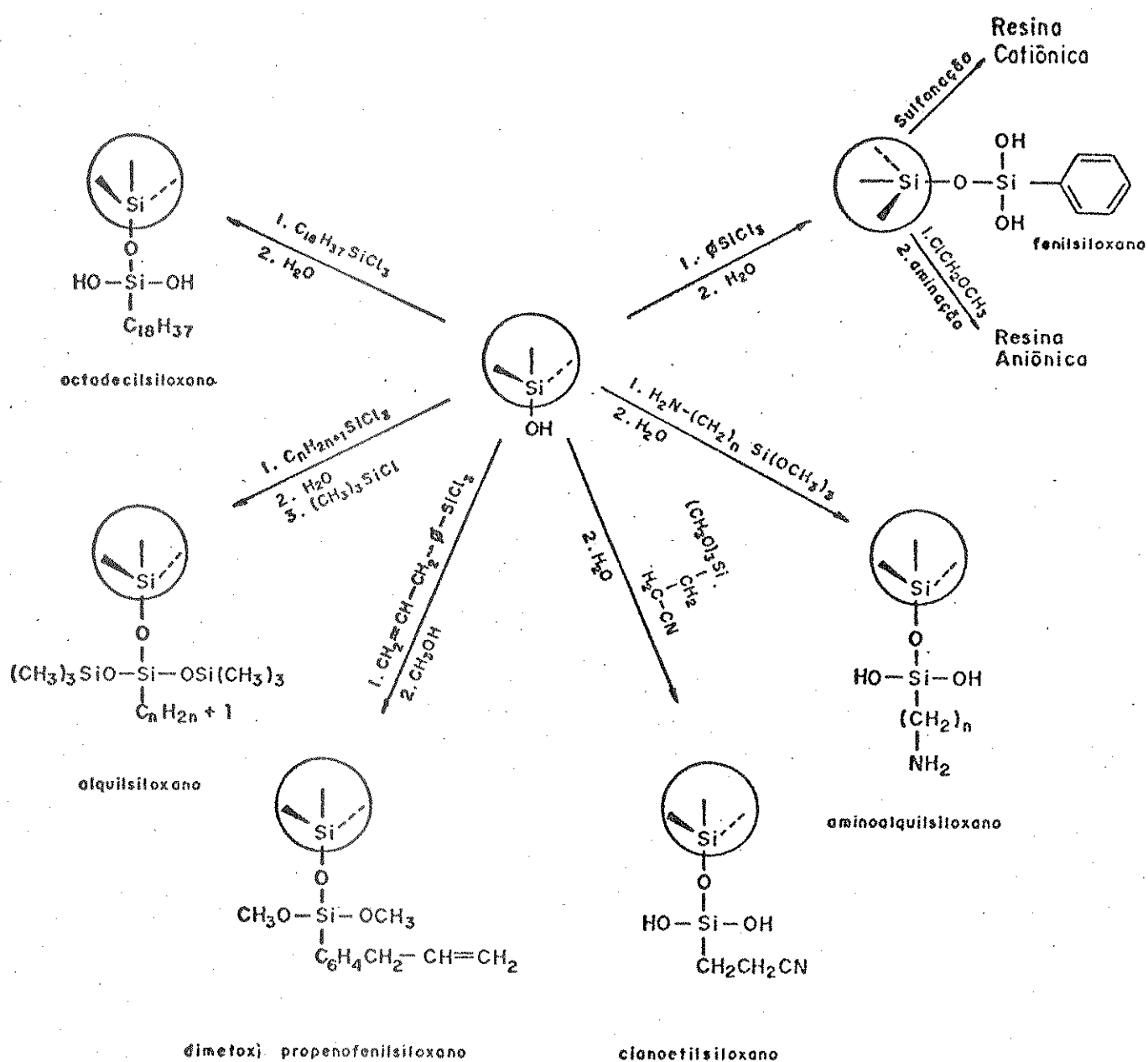


Figura 2.10. - Preparação de fases estacionárias quimicamente ligadas [16].

Dois aspectos podem ser considerados: o prático e o da maximização da resolução. Por aspectos práticos entende-se os fatores que determinam se um sistema é viável ou não a uma dada aplicação. A maximização da resolução refere-se ao ato de adequar a separação da amostra dentro de um tempo razoável. Requisitos práticos para a FM incluem: (1) estabilidade frente a FE e a coluna; (2) compatibilidade com o detector; (3) solvência adequada da amostra e (4) não interferência na recuperação da amostra.

A FM também não deve resultar em alterações irreversíveis na coluna. Alguns detectores de cromatografia líquida não podem ser usados com todas as FMs, particularmente aquelas cuja composição muda com o tempo (gradiente).

O efeito da FM na resolução de uma amostra é melhor discutido em termos da equação geral de resolução (eq. VII).

A resolução de duas bandas adjacentes é determinada pelo fator de seletividade, α , o número de pratos teóricos da coluna, n , e a razão de distribuição das massas, D_m . Em outras palavras, a resolução está relacionada com a seletividade de separação, eficiência da coluna e velocidade média de migração da banda. A FM tem um efeito importante em cada um desses três fatores: n varia com a viscosidade do líquido, enquanto α , e D_m são funções de propriedades termodinâmicas do líquido. A variação da velocidade média de migração da banda com a composição da FM depende da "força do solvente" [10].

A viscosidade da FM influi na permeabilidade da coluna bem como nas variáveis n e h . Uma FM viscosa aumenta h por reduzir os coeficientes de difusão da amostra e a velocidade de transferência de massa e reduz também a permeabilidade da coluna, requerendo maior pressão na coluna para uma dada vazão de FM. Por outro lado,

FMs com viscosidade muito baixas devem ser evitadas em CLAE, como pentano ou éter etílico, devido a seus pontos de ebulição muito baixos, o que provoca a formação de bolhas na coluna e no detector.

As FMs para CLAE devem ser de alta pureza e quando o sistema de detecção é por UV, estes não devem apresentar grupos cromóforos que absorvam luz UV. Elas também não devem conter compostos que fiquem adsorvidos irreversivelmente na coluna, comprometendo sua eficiência futura.

Outro aspecto importante da FM, principalmente para a realidade brasileira, é o seu custo, que deve ser o mais baixo possível.

Um resumo com as FEs mais usadas em CLAE e as FMs mais adequadas em cada caso, pode ser encontrado na Tab. 2.5 [21].

2.5. - Detectores para CLAE

Paralelamente ao grande desenvolvimento que a CLAE tem tido nos últimos 20 anos, detectores para CLAE têm sido amplamente estudados e aprimorados, expandindo seus limites de sensibilidade e buscando a universalidade na detecção. Diversas publicações vêm sendo feitas sobre o assunto e bons exemplos são as de Poole e Schuette [12] e Vickrey [22].

De maneira geral, um detector para CLAE é colocado na saída da coluna para fazer: a) ou medidas diferenciais de uma propriedade do líquido eluído (amostra mais FM); b) ou medidas de uma propriedade da amostra que não é apresentada pela FM; c) ou ainda medidas da amostra, após eliminação da FM.

As características desejáveis de um detector para CLAE são:

TABELA 2.5. - Fases Estacionárias e Fases Móveis mais usadas em CLAE
(modificações da Ref. [21]).

Tipo		Fase Estacionária	Grupo Funcional de Superfície	Fases Móveis Comuns	Aplicações Típicas	
Adsorção		Sílica Gel	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \\ -\text{Si}-\text{O}-\text{Si}- \\ \quad \end{array}$	hexano, clorofórmio, isopropanol	Éteres, ésteres, porfirinas, micotoxinas, vitaminas lipo solúveis	
		Alumina	$\begin{array}{c} \quad \\ -\text{Al}-\text{O}-\text{Al}- \\ \quad \end{array}$	hexano, clorofórmio, isopropanol	Aminas	
Partição	Fase Normal	Fases Ligadas	Amino	- NH ₂	hexano, clorofórmio, isopropanol	açúcar, esteróides, nitro-compostos.
			Ciano	- CN		amino-ácidos, nitro compostos.
			Diol	Gliciloxi-etil metoxi-silano	água, Na ₂ HPO ₄ 0,1 M	Proteínas, peptídeo surfactantes aquosos
	Fase Reversa		RP-2	Dimetilsilano	água, acetonitrila e metanol	aminas, fenóis, vitaminas hidro-solúveis. catecolaminas, óleos essenciais, esteróides. analgésicos, ftalatos aromáticos polinucleares.
			RP-8 C-8	Octilsilano		
RP-18 ODS		Octadecilsilano				
Troca Iônica	Troca catiônica forte	Ácido Sulfônico	Na ₂ HPO ₄ 0,01-0,1M	vitaminas hidro-solúveis, purinas, aminoácidos, nucleosídeos nucleotídeos Corantes de alimentos carboidratos		
	Troca aniônica forte	Amina quaternária	Na ₂ HPO ₄ 0,01-0,1M			
	Troca aniônica fraca	-NH ₂	H ₃ PO ₄ 0,01-0,05M			
Exclusão/Permeação em Gel	Gel aquoso	Divinil-benzeno sulfonatado	água	proteínas, açúcar, peptídeos		
	Gel orgânico	Divinil-benzeno	clorofórmio, tetraidrofurano	polímeros, borracha		
	Sílica com poro controlado	Sílica-gel	tetraidrofurano, álcoois, água	polímeros, compostos biológicos		
	Vidro com poro controlado	Vidro poroso	tetraidrofurano, álcoois, água	compostos biológicos		

- alta sensibilidade, com baixa quantidade mínima detectável
- resposta rápida a todos os solutos
- linearidade numa grande faixa de concentração
- insensibilidade a variações da temperatura e da vazão da FM
- não contribuir para o alargamento das bandas, tendo o menor volume possível
- ser de simples operação
- ter custo acessível
- não destruir os componentes da amostra

Até o momento, não se conseguiu desenvolver um detector que satisfaga a todos estes requisitos analíticos. Alguns detectores, por serem muito específicos, reúnem poucas destas características desejáveis. Já outros, mais universais, chegam a atingir a maior parte destes requisitos (ver tabela 2.2-B, pág. 10).

Detectores óticos são os mais usados, pois são pouco sensíveis à mudança da vazão da FM. Dentre eles estão os de absorbância e fluorescência no UV/visível, com comprimento de onda variável, que podem chegar a cobrir a faixa de 190 a 800 nm [9].

Outros detectores como os de índice de refração e os eletroquímicos são também empregados, porém são de menor sensibilidade, se bem que os novos detectores eletroquímicos são bastante sensíveis e podem ser muito úteis na detecção de compostos halogenados e peralogenados.

Os detectores de radioatividade operam com baixas quantidades mínimas detectáveis, têm grande faixa de resposta e são insensíveis a troca de solventes na FM, podendo, assim, serem usados com gradiente de eluição. Porém, são específicos para compostos radiomarcados, sendo, às vezes necessária a adição de um coquetel de cintilação.

O espectrômetro de massa ou mesmo o detector seletivo de massa, acoplado ao cromatógrafo a líquido, torna este sistema um poderosíssimo instrumento de análise, tanto qualitativa como quantitativa. A superação das grandes limitações impostas pela interface entre as duas técnicas, com relação à distribuição da amostra na FM, tem sido alvo de inúmeras pesquisas e grandes avanços já foram conseguidos neste sentido. Uma interessante revisão sobre este assunto pode ser encontrada em recente trabalho publicado por Covey e colaboradores [23].

CAPÍTULO 3

Processos Fotoquímicos

Existem diferentes maneiras pelas quais as moléculas de uma determinada substância podem ser excitadas, dependendo da energia fornecida. Se a energia for $\leq 0,01$ eV ($\lambda \geq 100 \mu\text{m}$), a excitação será a nível rotacional, que requer a mais baixa quantidade de energia e não provoca mudanças químicas. Fornecendo energia entre 0,1 e 0,5 eV (λ entre 10 e 5 μm), ocorrerão mudanças a nível vibracional, que já requerem maior quantidade de energia, mas não provocam mudanças químicas. Se a quantidade de energia for ainda maior, entre 1,0 e 10 eV (λ entre 1 e 0,1 μm), vários elétrons serão promovidos a estados excitados indo para orbitais de maiores energias (mudanças a nível eletrônico). As reações fotoquímicas ocorrem a partir destes estados eletronicamente excitados das moléculas [36]. Os estados eletronicamente excitados contêm ainda os subníveis vibracionais que, por sua vez, contêm os subníveis rotacionais.

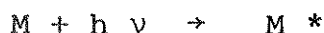
Quando quantidades de energia muito grandes são fornecidas ($E \geq 10$ eV e $\lambda < 0,1 \mu\text{m}$), poderá ocorrer ionização ou dissociação, com formação de espécies químicas diferentes.

Um processo fotoquímico é, portanto, uma reação química que ocorre somente sob a influência de determinado tipo de energia, ou seja, sob a influência da luz. Não se trata de reações catalisadas pela luz, pois um catalisador é recuperado no final do processo e a luz é absorvida e não recuperada.

O comprimento de onda da radiação luminosa no processo fotoquímico é limitado na faixa que compreende o infra-vermelho (IV) próximo, o visível e o ultra-violeta (UV) próximo (de 1.000 nm no IV até

100 nm no UV) e a luz pode ser considerada como constituída por fótons individuais de energia dada por $E = h \nu$ [36].

A primeira interação que ocorre no processo fotoquímico é de um fóton com uma molécula, gerando uma molécula no estado excitado, com diferentes propriedades físicas e químicas.



Todas as reações que não se iniciam por este processo são chamadas "reações de escuro".

Após o processo ter-se iniciado, com absorção do fóton pela molécula M, a molécula M^* , na etapa seguinte reagirá com uma outra molécula, formando outro produto:



Esta etapa é chamada um "processo primário". Se o produto P vier a reagir com outras moléculas ainda, ocorrerá um "processo secundário".

3.1. - Estados Eletrônicos das Moléculas

Quando uma molécula está no estado fundamental (por exemplo, a de hidrogênio) seus elétrons encontram-se num orbital σ (ligante). Ao serem excitados, um dos elétrons poderá ocupar um orbital de maior energia que, neste caso, será σ^* (anti-ligante). Na desexcitação ($\sigma^* \rightarrow \sigma$), um fóton de luz, de mesma frequência do absorvido será emitido. Se a molécula possuir ligações duplas ou triplas, uma ou duas poderão ser ligações π , o que poderá resultar, quando da excitação, em processos $\pi \rightarrow \pi^*$, ou ainda $n \rightarrow \pi^*$ ou $n \rightarrow \sigma^*$, onde n é o nível não ligante (se a molécula possui elétrons não ligantes).

Os elétrons de uma molécula no estado fundamental encontram-se sempre num orbital com seus spins anti-paralelos. Quando um desses elétrons vai para um orbital vazio, de maior energia, os dois elétrons ficam ocupando, sozinhos, cada um, um orbital, o que possibilita que eles tenham seus spins paralelos ou anti-paralelos. Estes estados são chamados de "triplete" e de "singlete" (Fig. 3.1).

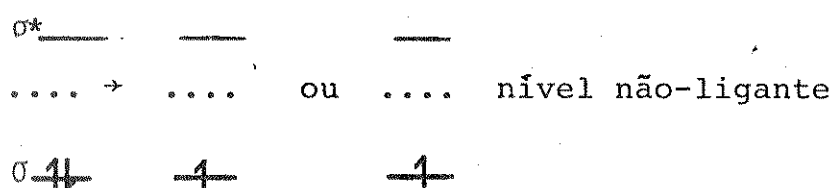
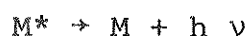


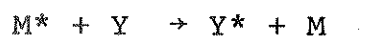
Figura 3.1. - Os estados excitados singlete e triplete

3.2. - Processos de Desativação

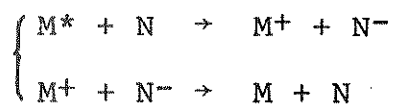
Normalmente, a molécula excitada decairá para o seu estado fundamental com emissão de luz ($h\nu$):



Entretanto, existem muitos processos de desativação que não envolvem emissão de radiação. Se, por exemplo, uma molécula M^* encontrar uma Y que pode ser excitada a Y^* , de energia menor que M^* , ocorrerá, então, transferência de energia:



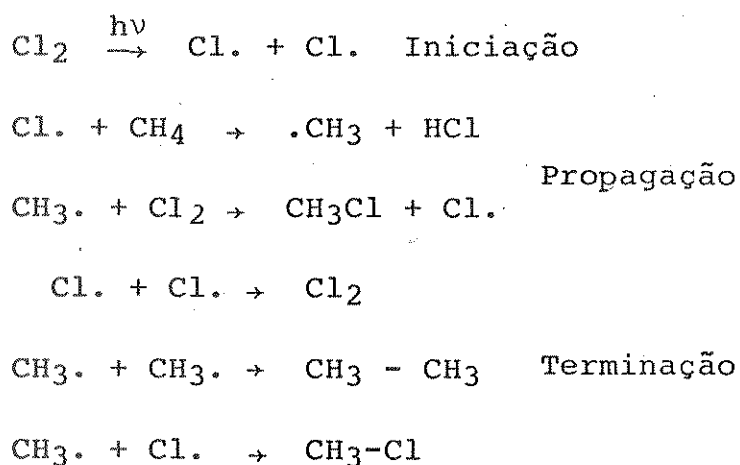
Existem ainda outros tipos de desativação:



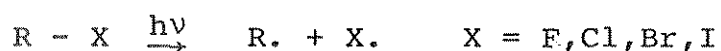
3.3. - Fotoquímica de Compostos Orgânicos Halogenados

Os orbitais moleculares não preenchidos de mais baixa energia, nos haloalcanos, são formados a partir da sobreposição de um orbital híbrido sp^3 do átomo de carbono e de um orbital p do átomo de halogênio (X); eles são do tipo σ^* e são $C \leftrightarrow X$ anti-ligantes. Nas transições eletrônicas de mais baixa energia, elétrons p não ligantes do átomo de halogênio são excitados ao orbital σ^* e as transições são do tipo $n \rightarrow \sigma^*$. A absorção de energia de determinado comprimento de onda resulta, desse modo, na pronta fotodissociação das ligações C-X, com eficiência quântica quase igual à unidade [37].

Muitas moléculas simples dissociam-se em fase gasosa. Isto é resultado do enfraquecimento das ligações σ nos estados $\sigma - \sigma^*$. Um exemplo típico é o das ligações de moléculas de cloro, que ocorre a 400 nm [38]. Se esta dissociação ocorrer na presença de alcanos, um processo em cadeia poderá ser iniciado [39]:



Os derivados orgânicos halogenados possuem ligações fracas que provocam pontos de dissociação seletivo, mesmo em moléculas grandes [36]:

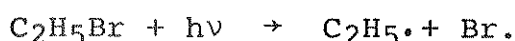
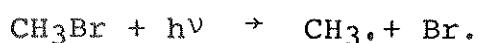


As ligações C-I são particularmente fracas, seguidas das C-Br, C-Cl e por último as C-F. As entalpias médias de rompimento destas ligações simples são: C-I = 240 kJ/mol; C-Br = 276 kJ/mol; C-Cl = 328 kJ/mol e C-F = 441 kJ/mol [40].

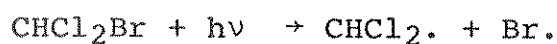
Estas ligações C-X nos haloalcanos serão sempre mais suscetíveis ao rompimento (com exceção da C-F) do que a ligação C-H, cuja entalpia média de rompimento é 413 kJ/mol.

Zeelenberg [41] observou esta tendência estudando a fotólise de compostos bromados (RBr), cujos produtos foram resultado da formação de radicais R. e Br.

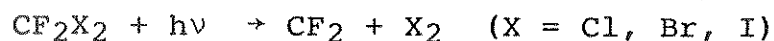
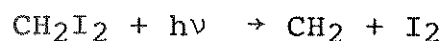
Outros exemplos são a fotólise de CH₃X (X = I ou Br) e de C₂H₅Br, que ocorrem a 254 nm [42].



Quando há mais de um tipo de halogênio na molécula, a fotólise provocará o rompimento da ligação mais fraca [42].

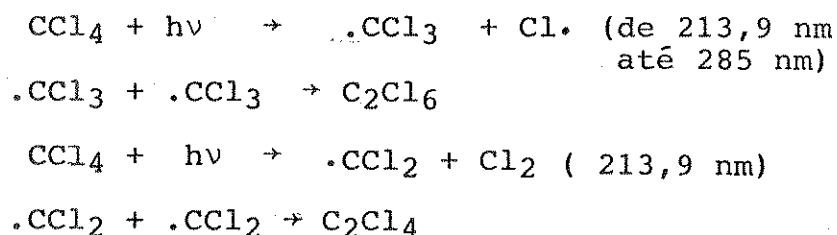


Fornecendo maior quantidade de energia, poderá ocorrer a eliminação de molécula de halogênio [42].



Rebbert e Ausloos [43], ao fotolisarem CCl₄ com diferentes comprimentos de onda (λ), observaram uma distribuição de produtos que variava de acordo com o tipo de energia fornecida, sendo mais comuns: Cl₂, C₂Cl₄ e C₂Cl₆, analisados por CG. A presença de radicais

como CCl_3 e CCl_2 , dependendo do λ utilizado, levou-os a propor diferentes mecanismos de ruptura do CCl_4 :



A formação do radical CCl_2 pode ter ainda outra origem, se a energia fornecida for maior. Hauteclouque [44] investigando a fotólise do CCl_4 , constatou que a 163,3 nm, havia a eliminação de dois átomos de Cl e a formação do radical CCl_2 :



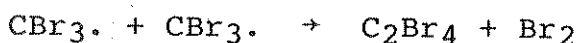
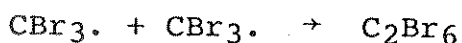
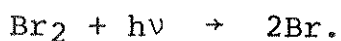
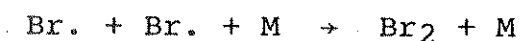
Existe ainda mais uma possibilidade de fragmentação do CCl_4 , quando submetido a fotólise:



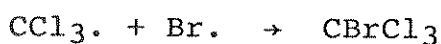
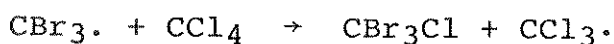
A evidência da formação do radical CCl foi feita por Davis e colaboradores [45] ao obterem como produto da fotólise de CCl_4 em presença de Br_2 , o CBr_3Cl , produzido via radical CCl .

Outros autores [46] também já observaram a formação deste tipo de radical, como CF , CCl e CBr , provenientes de diversas moléculas geradoras.

Hauteclouque e Nguyen [47], ao fotolisarem CBr_4 puro e em soluções de CBr_4 em CCl_4 , com luz de comprimentos de onda maiores que 280 nm, observaram a formação de diferentes produtos. Quando o CBr_4 puro foi fotolisado entre 140 e 275°C, os produtos obtidos foram C_2Br_6 , Br_2 e C_2Br_4 , cujo mecanismo proposto foi:



Já na fotólise do CBr_4 , em presença de CCl_4 , os produtos obtidos foram C_2Br_6 , Br_2 , CBr_2Cl_2 , CBr_3Cl e CBrCl_3 , sugerindo mais duas alternativas para os mecanismos de reação:



A formação do C_2Br_6 e Br_2 , por dois diferentes mecanismos, já havia sido verificado por Seely e Willard [48], em sistemas de fotólise onde o CBr_4 , puro ou em soluções de CCl_4 , aquecido a 95°C , foi irradiado com luz de comprimentos de onda entre 410 e 450 nm.

Como foi visto, a fotólise de polihalometanos pode levar aos mais diversos radicais, dependendo da molécula de origem, constituindo-se interessante rota de síntese de muitos compostos peralogenados, seja pela diversificação das ligações C-X, seja pela formação de ligações C-C.

Na fotólise de soluções de C_2Br_6 em CCl_4 , na presença de Br_2 ou Cl_2 , Taugbøl e Dahl [49] constataram, através de contagem por cintilação de bromo marcado, a tendência na ruptura das ligações C-Br, que possibilitou a formação de diferentes produtos peralogenados, indicados pela presença de ligações C-C, C-Br e C-Cl.

Síntese fotoquímica do C_2BrCl_5 e também de outros peralogenados já citados, já foram visualizadas por diversos autores.

Um exemplo é a formação do C_2BrCl_5 , além de CCl_4 , Br_2 , CBr_2Cl_2 , CBr_3Cl e C_2Cl_6 , que foi verificada, através de CG (exceto o Br_2 , que foi feita espectrofotometricamente), por Young e Willard [50], a partir da fotólise de $CBrCl_3$ gasoso.

O outro exemplo de síntese do C_2BrCl_5 , porém sob condições bem mais drásticas de fotólise, é o trabalho de Higuchi e colaboradores [51], no qual soluções de C_2HCl_5 e Br_2 em CCl_4 foram irradiadas por uma semana para a obtenção do produto C_2BrCl_5 , além de HBr , determinados por atividade de radiobromo.

CAPÍTULO 4

4. EXPERIMENTAL

4.1. Solventes empregados como fase móvel (FM) para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

	Procedência/Fabricante
- Água destilada e desionizada pelo processo Nanopure	Barnsted
- Acetonitrila Lichrosolv para cromatografia	Merck
- Metanol Lichrosolv para cromatografia	Merck
- Metanol para análise	Merck

4.2. Reagentes Empregados

	Propriedade Física [52]	Fabricante
- Acetona para análise	p.e.= 56,2°C	Merck
- Ácido propiônico (RP - reagente puro)	p.f.= -20,8°C; p.e.=141°C	Carlo Erba
- Benzeno para análise	p.e.= 80,1°C	Merck
- Benzonitrila (RP)	p.e.= 205°C	Carlo Erba
- CCl ₄ para UV	p.f.= -23°C; p.e.=76,54°C	Reagen Spectra
- CCl ₄ para análise	-	Merck
- CBrCl ₃ (grau "practical").	p.f.=5,65°C; p.e.=104,7°C	Eastman
- CBr ₂ Cl ₂	p.f.=22°C; p.e.=150,2°C	Alfa Products
- CBr ₄	p.f.=90-91°C; p.e.=189-190°C	ICN Pharmaceutical

- C_2Br_4	p.f.= 56,5°C	
	p.e.= 226-227°C	ICN Pharmaceutical
- C_2Br_6	p.f.= 200-210°C (decompõe)	
	p.e.= - (decompõe)	K & K Laboratories
- $C_2Br_2Cl_4$ (1,2-di-bromotetra cloro-etano)	p.f.= 220-22°C (*)	Aldrich
- C_2Cl_4 (reagente extra puro)	p.f.= -19°C; p.e.=121°C	Merck
- C_2Cl_6 (RP)	p.f.= 186-187°C (*);	
	p.e.= 186°C	Carlo Erba
- Naftaleno (RP)	p.f.= 80,55°C;	
	p.e.= 218°C	Carlo Erba
- Tolueno para análise	p.f.= -95°C;	
	p.e.= 110,6-114,5°C	Merck
- Argônio Comercial	p.e.= -185,7°C	White Martins
- Cloro Comercial	p.e.= -34,6°C	White Martins
- Bromo	p.f.= -7,2°C;	
	p.e.= 58,8°C	Carlo Erba
- $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$	-	CAQ-Casa da Química Soc. Ltda.
- Na_2SO_3 para análise	-	Merck

4.3. Colunas empregadas para CLAE

Coluna 1 - 124 x 4,6 mm, recheada, na UNICAMP, com partículas Vydac C-18, de 10 µm de diâmetro médio,

Coluna 2 - 250 x 4,6 mm, recheada, na UNICAMP, com partículas Vydac C-18, de 10 µm de diâmetro médio.

(*) Propriedade física fornecida pelo fabricante.

Coluna 3 - 100 x 4,6 mm, recheada, na UNICAMP, com partículas esféricas Spherisorb RP-18, de 5 μ m de diâmetro médio.

Coluna 4 - 125 x 4,6 mm, recheada, com partículas Lichrosorb RP-18, de 5 μ m de diâmetro médio, fabricada pela Merck.

Coluna 5 - 250 x 4,6 mm, recheada com partículas Ultrasphere ODS, de 5 μ m de diâmetro médio, fabricada pela Alltech.

4.4. Instrumentação.

- Bomba de alta pressão para o recheio de colunas usadas em CLAE - Shandon Southern Products Ltd.
- Ultra-som Sonifier B-12 - Branson Power Company
- Bomba tipo pistão, para vazões de 0,1 até 9,9 mL/min, Altex Modelo 110 - Altex Scientific Inc.
- Detector por absorbância no ultra-violeta/visível, com comprimento de onda variável, modelo Spectroflow 770, com volume de cela de 8 μ L - Schoeffel Instruments.
- Registrador modelo DSRG - Sargent Welch Scientific Company
- Registrador modelo RB-102 - Equipamentos Científicos do Brasil Ind. Com. Ltda.
- Lâmpada de Vapor de Mercúrio de Alta Pressão de 125W-HPL-N-Philips
- Injetor, com amostrador de volume variável (10, 20 e 100 μ L) modelo 7010 Rheodyne Inc.
- Sistema Waters/Millipore para CLAE consistindo de:
 - . Bomba tipo pistão, modelo 510, para vazões de 0,1 até 9,9 mL/min.
 - . Detector por absorbância no UV/visível com comprimento de onda variável e volume da cela de 14 μ L, Lambda max - modelo 481.

- . Integrador / Data module, modelo 740.
- . Injetor com amostrador de volume variável (5,10,20 e 50 μ L), modelo 7125 (Rheodyne).
- Sistema Hewlett-Packard consistindo de:
 - . Cromatógrafo a gás, modelo 5890
 - . Detector Seletivo de Massa, modelo 5970
 - . Sistema de Vídeo, modelo 300
 - . Sistema de Micro-computador, modelo 9133, com Ploter modelo 7475A

4.5. Purificação dos Reagentes e Preparação dos Padrões.

Os solventes usados como FM para CLAE não foram submetidos a nenhum tratamento prévio; foram apenas desgaseificados através do equipamento de ultra-som, por 15 minutos, antes de serem empregados. Os espectros de absorbância no UV destes solventes são mostrados nas figuras 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4.

Como o grau de pureza (de rótulo) dos compostos peralogenados era muito variado, foram feitos testes preliminares para verificar a necessidade ou não de uma purificação. Cada composto foi injetado no sistema de CLAE para se verificar a presença de impurezas em quantidade significativa. Como não as apresentassem, os peralogenados, com exceção do C_2Br_6 , foram empregados sem nenhum tratamento prévio. O C_2Br_6 apresentava-se visivelmente impuro, de tonalidade marrom. Foi, então, purificado através de sublimação a vácuo (Figura 4.5), ao abrigo da luz, produzindo C_2Br_6 puro, na forma de cristais brancos, que foram guardados também ao abrigo da luz.

Outros métodos de purificação, como recristalização em etanol, foram testados, porém, sem sucesso. A sublimação a vácuo, no entanto, mostrou-se o método mais eficiente.

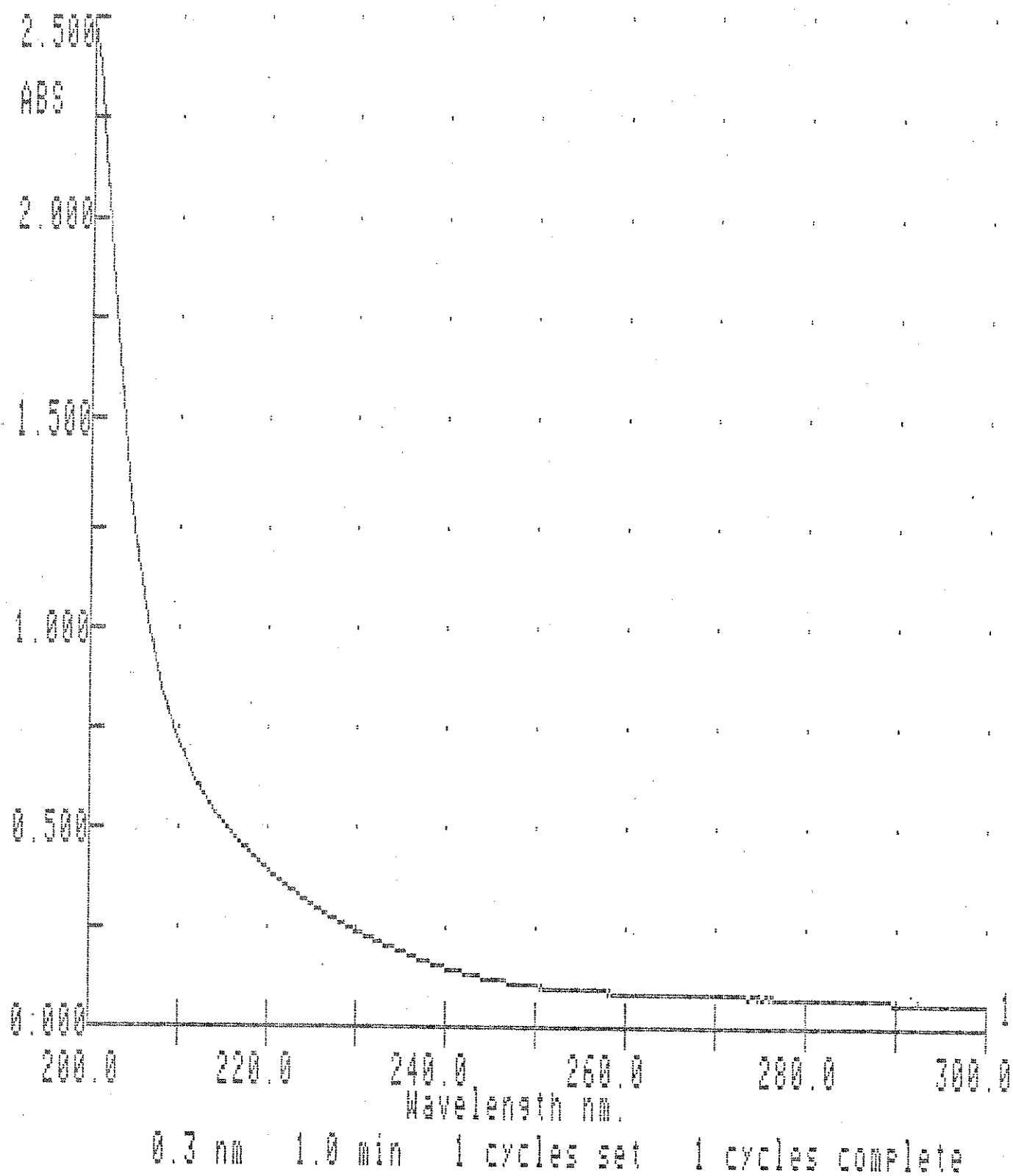


Figura 4.1. - Espectro de Absorbância no UV do metanol P.A. Merck

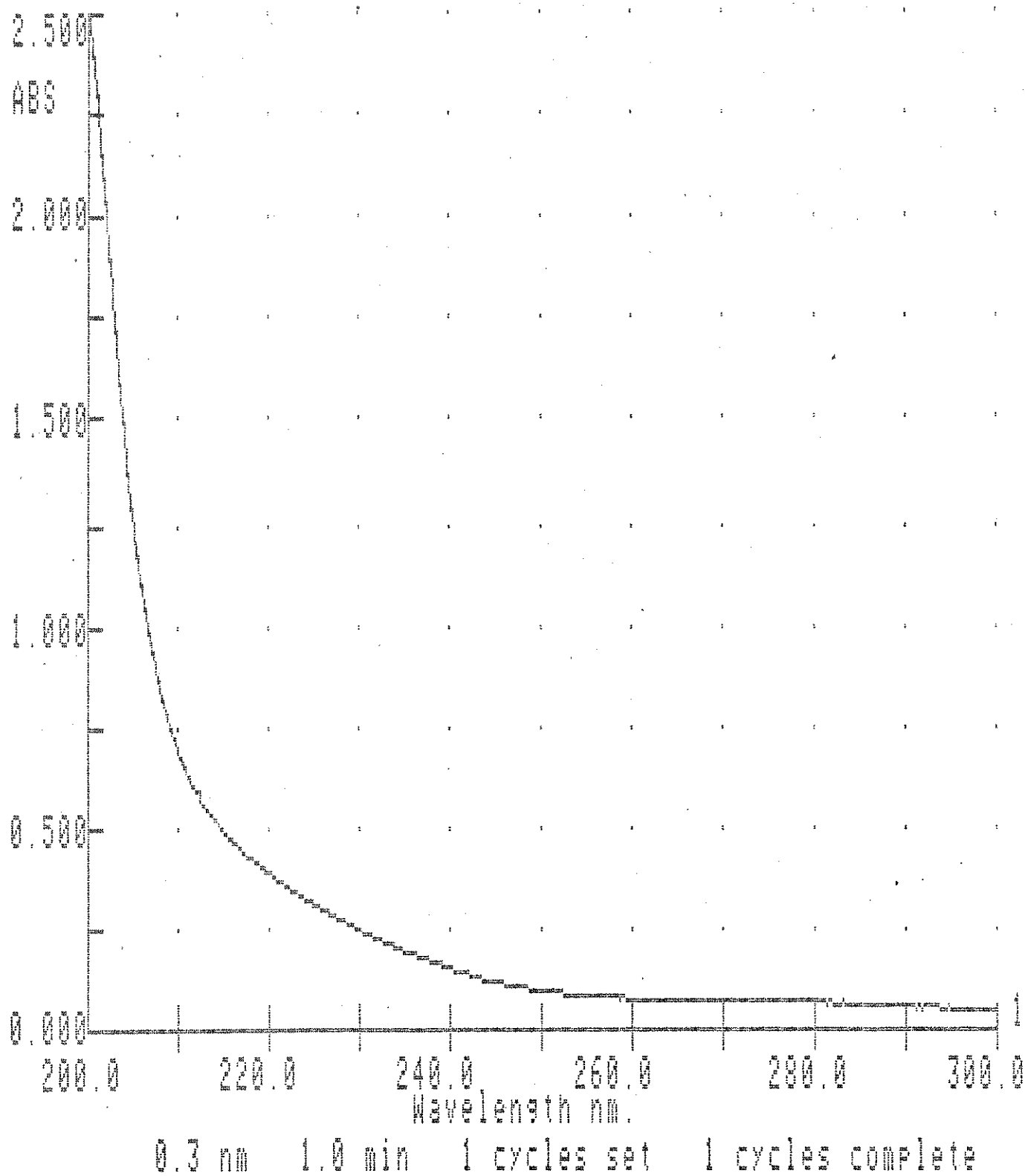


Figura 4.2. - Espectro de Absorbância no UV do metanol Lichrosolv Merck

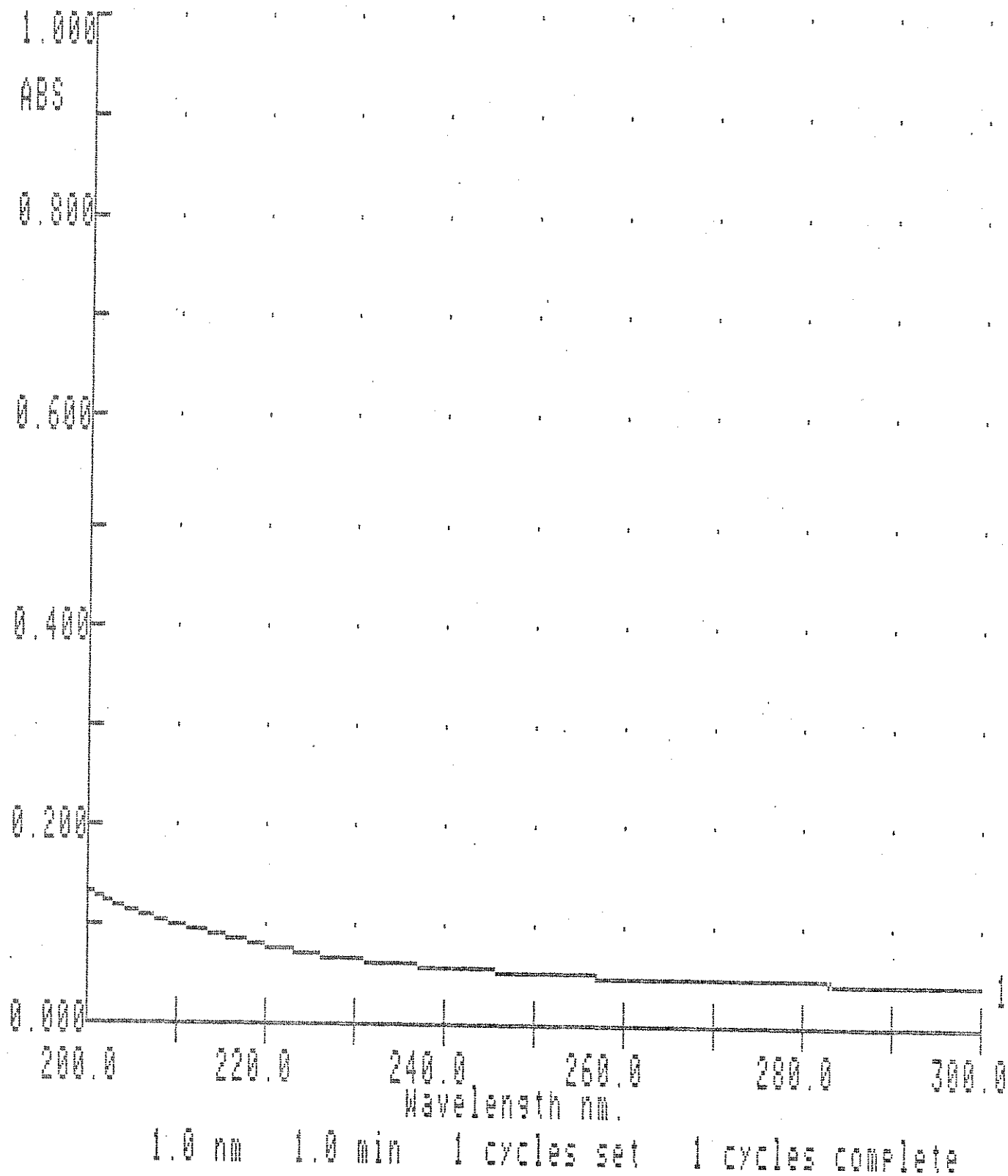


Figura 4.3. - Espectro de Absorbância no UV da Acetonitrila
Lichrosolv Merck.

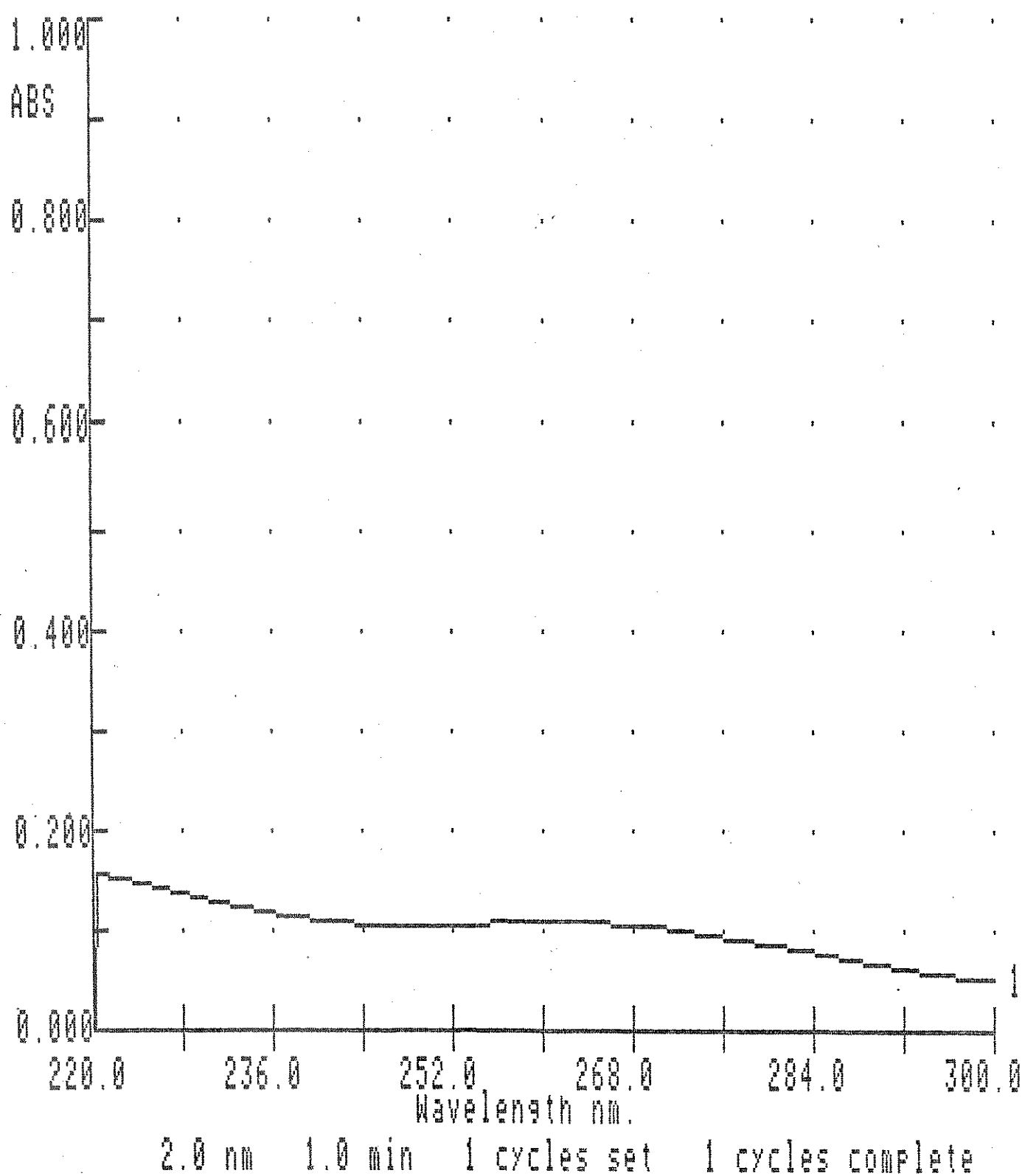


Figura 4.4. - Espectro de absorvância no UV da fase móvel MeOH/
H₂O 50:50 v/v.

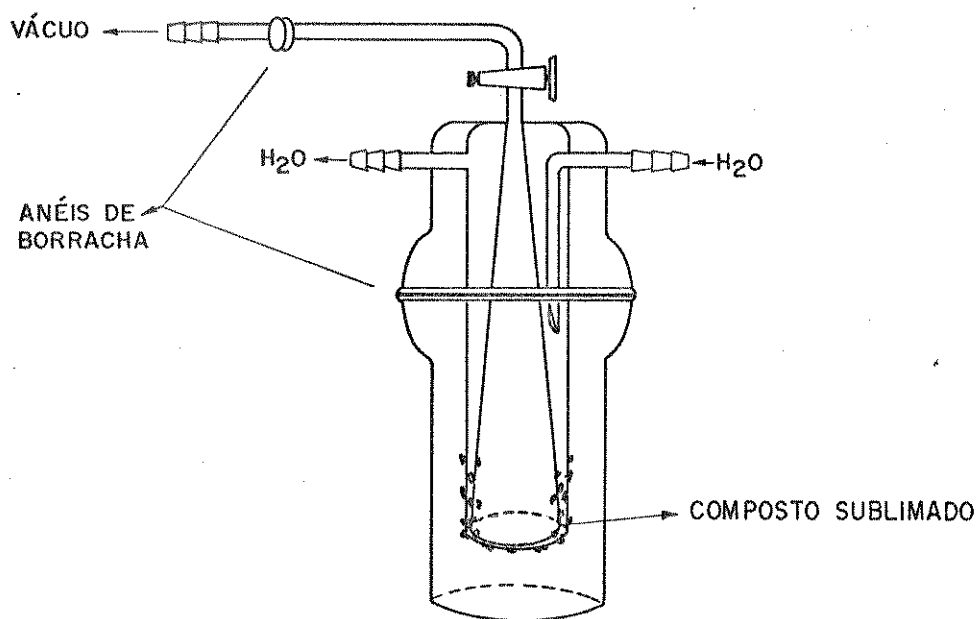


Figura 4.5. - Sublimador a vácuo, com refrigeração a água; o aquecimento da base pode ser feito com banho de glicerina.

As soluções dos compostos peralogenados padrões foram preparadas inicialmente em concentrações que variaram de acordo com o tipo de composto (Tabela 4.1), de maneira que a altura de seu pico cromatográfico atingisse de 50 a 90% da escala do registrador, com o detector em 0,4 U.A. (Unidades de Absorbância). Cada composto foi dissolvido em metanol (MeOH) e filtrado em filtro Millipore, sendo guardado ao abrigo da luz.

Os compostos usados para teste de eficiência das colunas também foram preparados em concentrações que permitissem picos de altura 80-90% da escala no cromatograma, com detector em 0,4 U.A.

TABELA 4.1. - Quantidade mínima detectável para compostos peralogenados [4]; FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 2mL/min; detecção: 220 nm; sensibilidade de detecção: 0,01 U.A. para deflexão de toda a escala do registrador.

Composto	CCl ₄	CBrCl ₃	CBr ₄	C ₂ Cl ₄	C ₂ Br ₆	C ₂ Br ₂ Cl ₄	C ₂ Cl ₆
quantidade mínima de- tectável (µg/µL)	2x10 ⁻²	10 ⁻³	2x10 ⁻³	10 ⁻⁴	1,5x10 ⁻³	2x10 ⁻³	5x10 ⁻³

4.6. - Preparação e Avaliação de Colunas para CLAE.

As colunas 1,2 e 3 foram preparadas no laboratório, sendo a 3 preparada por de Lima [53].

O equipamento utilizado no enchimento das colunas para CLAE é esquematizado na figura 4.6.

Antes do enchimento, as colunas foram limpas, passando um limpador de cachimbo pelo seu interior e, depois água destilada e, em seguida, metanol.

O procedimento usado para o enchimento das colunas foi o seguinte:

- A fase estacionária (FE) foi suspensa em MeOH e agitada no ultra-som por cerca de 10 minutos e imediatamente colocada no reservatório de material de recheio.

- Foram conectadas a coluna e uma pré-coluna de 45 x 4,6 mm ao

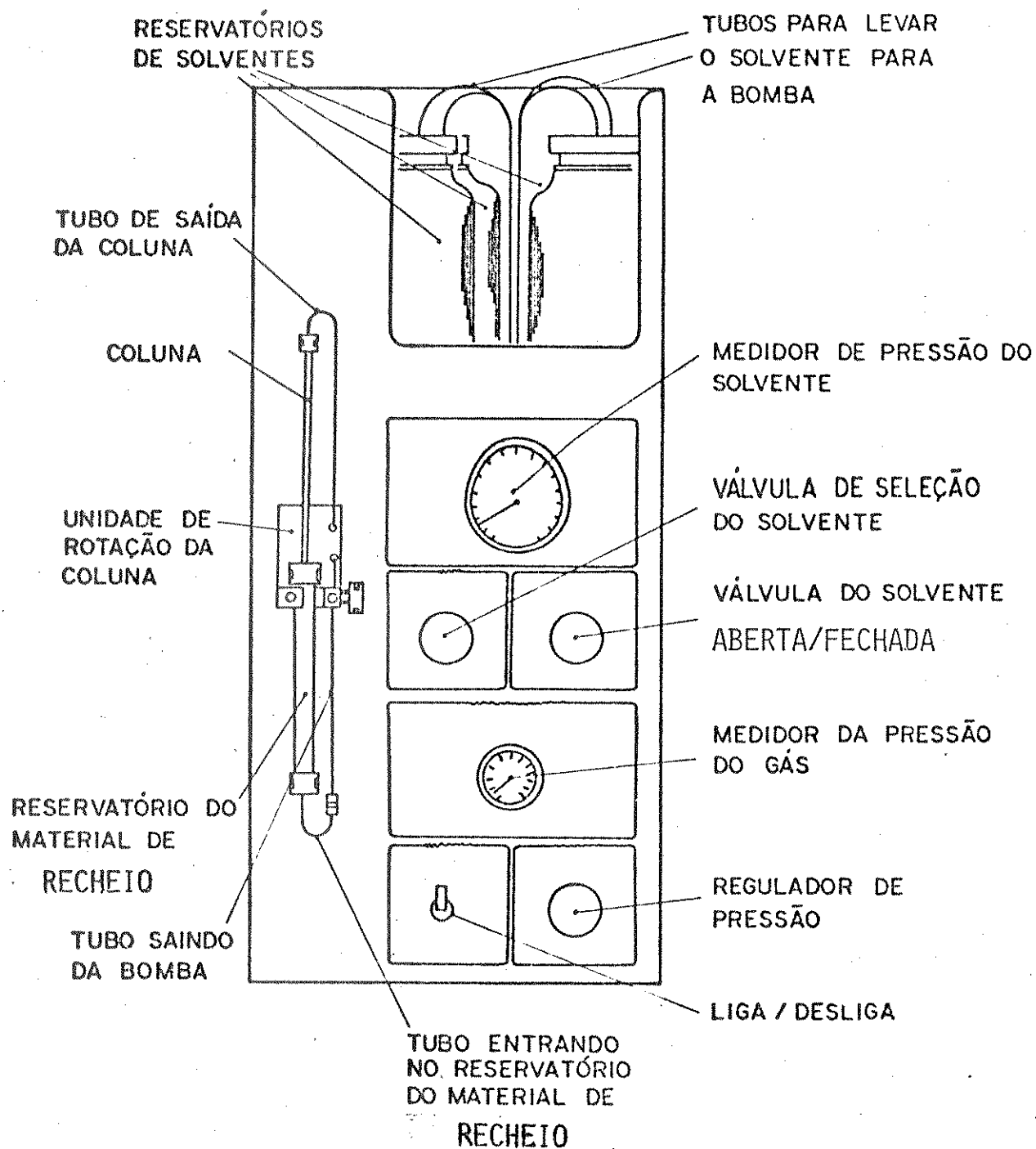


Figura 4.6. - Esquema da bomba de alta pressão para o enchimento de colunas para CLAE.

reservatório e foi iniciado o bombeamento, deixando-se bombear 7 minutos em um sentido e depois mais 7 minutos no outro sentido.

A pressão empregada no enchimento foi de aproximadamente 400 bar, variando com as dimensões das colunas. O solvente usado no bombeamento foi uma mistura de MeOH/H₂O 70:30. Outros solventes também podem ser usados, como metanol puro, dependendo da FM que será usada depois.

Antes de serem usadas, as colunas foram estabilizadas, deixando-se eluir a FM (MeOH/H₂O 70:30) durante 3 horas, com vazão de 1,0 mL/min. Após a estabilização (linha de base constante), foram feitos testes para verificar a eficiência da coluna (cálculo de n , A_s). Compostos como naftaleno, benzeno, tolueno, benzonitrila e acetona foram usados para os testes, sendo detectados por absorbância no UV a 254 ou 220 nm, em diferentes experimentos.

4.7. Otimização das Condições de Análise para Separação dos Padrões.

O trabalho de otimização das condições de análise, para a resolução do maior número possível de peralogenados, foi iniciado partindo-se de condições experimentais já desenvolvidas em outros trabalhos correlatos [53], [3] e [4].

A FM escolhida inicialmente foi MeOH/H₂O 70:30, com vazão variando de 0,1 até 2 mL/min, com detecção por absorbância no UV a 220 nm e a separação feita na coluna 1.

Cada um dos nove compostos disponíveis (CCl₄, CBrCl₃, CBr₂Cl₂, CBr₄, C₂Br₄, C₂Cl₄, C₂Br₆, C₂Br₂Cl₄ e C₂Cl₆) foi injetado individualmente para a verificação do seu tempo de retenção. A partir daí, foram preparadas misturas sintéticas com os compostos com tempos de retenção mais próximos, como os C₁ (compostos com um átomo de carbono), os C₂

saturados e os C_2 insaturados.

A composição da FM foi sendo modificada até que se tornasse a melhor composição possível para a separação de determinada mistura.

Na tentativa de se modificar a força da FM para conseguir melhor separação, foi adicionado ácido propiônico (HOPr) à mistura de soluventes, na proporção de MeOH/H₂O/HOPr 49:49: 2.

Devido à grande absorbância da FM, as análises com esta FM foram feitas a 230 nm.

Após terem sido esgotadas as tentativas de separação para uma dada mistura com determinada FM, outra mistura de solventes para FM foi testada: CH₃CN/H₂O, cujas etapas de otimização foram análogas às aquelas usando MeOH/H₂O.

Esgotadas as possibilidades de separação com uma determinada coluna, após tentativas de diversas FMs, uma outra coluna foi testada. De maneira similar procedeu-se com as diversas colunas empregadas, até que a melhor condição de análise fosse alcançada.

4.8. Preparação de Peralogenados não disponíveis.

Alguns peralogenados não disponíveis comercialmente, foram preparados através da fotólise do C_2Br_6 em presença de Cl_2 , usando CCl_4 como solvente.

Foi usado CCl_4 com grau de pureza espectroscópico e purificado da seguinte maneira [1]: a 300 ml de CCl_4 , foram adicionadas gotas de Br_2 líquido, até a solução ficar corada; esta solução foi exposta à luz solar difusa (próxima à janela do laboratório) por cerca de uma hora; foi, então, lavada com aproximadamente 100 mL de Na_2SO_3 1 M, por duas vezes, com igual volume e depois três vezes com água destilada (100 mL cada vez), deixando-se secar sobre Na_2SO_4 anidro e filtrada; foi destilada normalmente, desprezando-se a cabeça e o final da

destilação e recolhendo-se o destilado sobre peneira molecular 5A, para armazenar. Foram recuperados cerca de 250 mL.

Como o cloro comercial empregado encontrava-se úmido, foi preciso purificá-lo, antes de ser usado. O esquema da purificação do Cl_2 , já com o frasco reacional (ampola) e o sistema de descarte do excesso de Cl_2 é mostrado na Figura 4.7 [55].

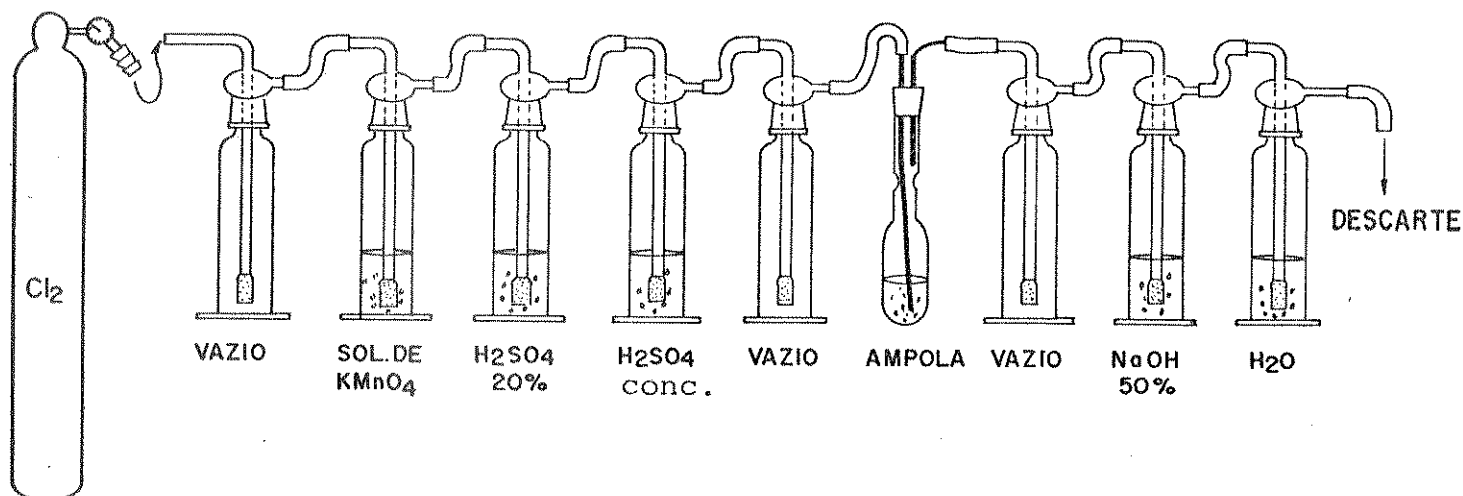


Figura 4.7. - Esquema para a purificação e borbulhamento do Cl_2 na solução reacional (ampola) e sua neutralização para o descarte. As conexões são feitas de tubos de tygon e o tubo para borbulhamento do Cl_2 na ampola, de teflon.

A solução da ampola foi preparada do seguinte modo: cerca de 20 mL de CCl_4 purificado foram desgaseificados ao ultra-som por 15 minutos; com 15 mL, foi preparada uma solução a 0,3% de C_2Br_6 , também purificado; esta solução foi colocada em ampola previamente lavada com solução de alcolato ($\text{KOH} + \text{Etanol}$) e água destilada, através de um funil de haste longa.

A ampola foi levada para o sistema esquematizado na Figura 4.7 e seu conteúdo foi saturado com Argônio, para eliminação de possíveis resíduos de gases. Em seguida, o Cl_2 foi borbuhlado por cerca de 10

minutos, até que a solução adquirisse cor amarelo forte. Durante o borbulhamento, a solução foi mantida ao abrigo da luz, para garantir a reprodutibilidade da fotólise.

A ampola foi, então, selada e levada para o sistema de fotólise.

Duas variações foram feitas nestes experimentos: a concentração da solução de C_2Br_6 em CCl_4 e a selagem das ampolas. Foi preparada uma solução saturada de C_2Br_6 em CCl_4 (aproximadamente 2%) para se conseguir maior quantidade de produto. Como se suspeitasse que a selagem da ampola, feita por maçarico, ocasionasse decomposição do reagente, este procedimento foi substituído pela simples vedação da ampola, com rolha adequada.

A lâmpada VMAP empregada possui um espectro de emissão de 248 a 690 nm [54], possuindo refrigeração a água e um filtro de solução de $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$. Diferentes ensaios foram feitos, variando-se a distância da fonte e também o tempo de exposição, com a finalidade de se obter maior quantidade de novos peralogenados ($C_2Br_3Cl_3$ e C_2BrCl_5): por 10 min. a 15 cm da fonte; 20 min. a 10 cm e 30 min. a 10 cm. Durante a fotólise, as soluções foram agitadas.

Para a eliminação do excesso de Cl_2 e do Br_2 formado durante a fotólise, vários métodos de redução foram testados. O uso de sulfito de sódio (Na_2SO_3 0,1M) como agente redutor, foi eficiente para a redução do Cl_2 e do Br_2 , mas também provocou a redução do C_2Br_6 a C_2Br_4 , pela eliminação de Br_2 . Este procedimento foi evitado, pois poderia provocar também a redução de outros compostos C_2 saturados que fossem produzidos.

Uma redução menos drástica foi testada, utilizando uma seringa como coluna, contendo $K_4Fe(CN)_6$, fazendo a solução da ampola passar através desta. Este procedimento também levou à formação de C_2 insa-

turado (produto de eliminação de Br_2) em menor quantidade, mas não pode ser adotado.

Algumas FEs para cromatografia gasosa também foram usadas com o fim de reter os halogênios por adsorção, passando a solução da ampola através de uma coluna feita com uma pipeta Pasteur e recheada com estas FEs. As FEs óleo de silicone com 10% QF em Chromosorb P, óleo de silicone com 5% OV-101 em Chromosorb W-AW e a 10% Carbowax 400 em Chromosorb W foram testadas sem sucesso. Com a FE polar 30% FFAP sobre Anaprep ABS foi possível reter o Br_2 , mas boa parte do C_2Br_6 também ficou retida e ainda uma pequena quantidade de C_2Br_4 foi observada no cromatograma.

O método de eliminação dos halogênios mais eficientes foi o da simples evaporação: a solução da ampola foi colocada em frasco aberto, ao abrigo da luz e deixada dentro da capela por cerca de 48 horas. Após este período, eliminaram-se os halogênios e obtiveram-se os produtos secos, pois o solvente CCl_4 também foi eliminado. Os produtos sólidos foram então dissolvidos em metanol e analisados.

Para a confirmação das fórmulas moleculares dos produtos de fotólise, estes foram dissolvidos em acetona e analisados por Cromatografia Gasosa com detector seletivo de massas.

4.9. Separação dos Produtos de Fotólise.

Como será visto no Capítulo 5, as composições de FM para resolver os diferentes compostos ou grupos de compostos C_1 , C_2 insaturados e C_2 saturados, são diferentes, variando as proporções de acordo com a coluna.

Como não houvessem disponíveis duas bombas para se fazer um gra-

diente de eluição e, assim, analisar todos os produtos com uma única injeção, para a separação dos produtos de fotólise, foi necessário encontrar uma composição de FM que, ao menos, indicasse a presença dos diferentes compostos ou grupo de compostos possivelmente formados.

As primeiras análises foram feitas com a coluna 1, sendo a FM MeOH/H₂O 50%. Com a coluna 5, foi usada a FM MeOH/H₂O 63:37, sistema que se mostrou mais adequado que os anteriores.

CAPÍTULO 5

Resultados e Discussões

Para uma melhor organização dos resultados obtidos e para facilitar sua discussão, o trabalho foi dividido em quatro partes: 1) preparação e avaliação de colunas cromatográficas para a separação e análise de compostos peralogenados; 2) otimização das condições de análise para a separação de misturas de peralogenados; 3) análise de amostras produzidas por radiólise de soluções diluídas de CBr_4 em CCl_4 e 4) síntese de alguns peralogenados não disponíveis através de fotólise de soluções de C_2Br_6 em CCl_4 , em presença de Cl_2 .

5.1. Preparação e Avaliação de Colunas Cromatográficas para CLAE.

A CLAE tem sido usada na separação de compostos peralogenados em trabalhos recentemente realizados no grupo de Cromatografia/Radioquímica do Instituto de Química - UNICAMP [3,4,53], nos quais o uso de fase reversa como fase estacionária (FE), de fase móvel (FM) polar e de detecção por absorbância no UV mostraram-se adequadas.

Várias colunas (especificadas na seção 4.3), recheadas com fase reversa quimicamente ligada ao suporte de sílica, de diversos tipos, foram testadas.

O composto escolhido para o teste de avaliação das colunas de 1 a 4 foi o naftaleno. Nos testes da coluna 5, o composto teste usado pelo fabricante foi o tolueno, mas também foram feitos testes usando naftaleno. O ideal seria que se usasse um composto teste de mesmas características da amostra, ou até a própria amostra. Porém, é bas-

tante comum o uso de compostos ou mistura de compostos, diferentes da amostra, para este tipo de avaliação, mesmo porque, numa mesma análise, pode-se trabalhar com compostos de características bem distintas e polaridades muito diferentes. O naftaleno tem sido usado para este fim [4,53] por apresentar propriedades físico-químicas e termodinâmicas adequadas como massa molecular elevada, estabilidade química e grande solubilidade na maioria das FMs.

É comum também se usar, na avaliação de colunas, misturas contendo compostos de diferentes polaridades como: acetona, benzonitrila, benzeno, tolueno e naftaleno ou acetofenona, nitrobenzeno e tolueno. Existem misturas já prontas, comercialmente disponíveis. A maioria dos fabricantes de colunas utilizam misturas deste tipo para avaliação de suas colunas, dando o valor da eficiência em função de determinado componente da mistura.

Para o cálculo de n (eficiência dada em nº de pratos teóricos) e de outros parâmetros, as medidas dos picos foram feitas manualmente e para que fossem confiáveis, todos os cromatogramas foram feitos em triplicata (3 injeções) e calculada a média. Também aumentar a velocidade do papel, de forma que a largura do pico a meia altura (w_h) tenha pelo menos 1 cm, é um recurso que ajuda a minimizar os erros nas medidas manuais.

Na avaliação de colunas, todas as condições de análise devem ser especificadas e mantidas, para efeito de comparações, para que sejam válidas. Modificações da composição da FM, da vazão da FM, dos compostos teste e do sistema cromatográfico causam variações dos valores de n .

A Tab. 5.1 apresenta o resultado da avaliação da coluna 5 com os valores de n , n/m (eficiência por metro de coluna), h (altura

equivalente a um prato teórico) e As (assimetria) para dois compostos diferentes e em diferentes sistemas cromatográficos.

TABELA 5.1 - Resultado da Avaliação da Coluna 5. Condições de Análise: FM MeOH/H₂O 65:35; vazão FM:0,7 mL/min

Sistema Cromatográfico	Waters/Millipore (detecção: 254 nm)		Altex/Schoeffel (detecção: 220 nm)	
Composto teste	Tolueno	Naftaleno	Tolueno	Naftaleno
n	19.017	19.193	14.067	16.393
n/m	76.068	76.772	56.267	65.572
h (µm)	13,2	13,0	17,8	15,3
As	0,89	0,97	0,74	0,97

Na Tab. 5.2 podem ser encontradas as avaliações de alguns parâmetros de avaliação para a coluna 5, onde apenas a composição da FM foi modificada.

A variação dos parâmetros de avaliação da coluna 5 com a modificação da vazão da FM pode ser vista na Tab. 5.3.

TABELA 5.2. - Resultado da Avaliação da Coluna 5. Condições de Análise: Sistema Cromatográfico: Altex/Schoeffel; Composto teste: naftaleno; Vazão da FM: 1,0 mL/min

FM MeOH/H ₂ O	65:35	70:30
n	16.440	13.350
n/m	65.760	53.400
h (µm)	15,2	18,7
As	0,85	0,93

TABELA 5.3. Resultado da Avaliação da Coluna 5. Condições de Análise:
Sistema Cromatográfico: Waters/Millipore; FM:MeOH/H₂O
65:35; composto teste: naftaleno; detecção: 254 nm.

vazão (mL/min)	0,1	0,5	0,7
n	11.750	16.730	18.460
n/m	47.000	66.915	73.850
h (µm)	21,3	14,9	13,5
As	1,2	1,0	0,86

Como pode ser visto, os valores de eficiência dependem de todas as condições de análise, que foram padronizadas em: FM MeOH/H₂O 70:30, vazão da FM 1 mL/min e naftaleno como composto teste, para as avaliações de colunas realizadas.

A Tab. 5.4 mostra o resultado dos testes de eficiência e assimetria das colunas avaliadas. Pode-se notar a grande perda de eficiência destas colunas, do 1º para o 2º teste. Isto é consequência de fatores como uso, tempo de armazenamento ou até armazenamento inadequado. Colunas guardadas por longos períodos de tempo podem apresentar perda de eficiência, mas isto pode ser minimizado guardando-as umedecidas com solvente. O próprio uso da coluna acarreta, com o tempo, em perda de eficiência. Mas, sem dúvida, o principal fator na obtenção de colunas com boa eficiência é a uniformidade do enchimento. Vazamentos ou interrupções durante o enchimento podem levar a sérios prejuízos da eficiência da coluna.

TABELA 5.4 - Resultado da Avaliação de Colunas. Condições de análise:
FM:MeOH/H₂O 70:30; Vazão da FM: 1,0 mL/min

Coluna nº	n (1º teste)	n (2º teste)	n/m (1º teste)	n/m (2º teste)	As (2º teste)
1	2.728	1.774	22.000	14.307	1,10
2	4.528	2.616	18.112	10.464	1,20
3	6.160 ^a	4.292	61.600 ^a	42.920	1,04
4	-	3.861	-	30.890	1,59
5 ^b	19.380 ^c	11.387	77.520 ^c	45.548	0,75

n = eficiência dada em nº de pratos teóricos

n/m = nº de pratos teóricos por metro de coluna

O 1º teste foi feito logo após o enchimento e o 2º, após diferentes períodos de armazenamento

a Teste feito pela autora da Ref. [53]

b O composto usado para avaliação desta coluna foi o tolueno. Para as demais colunas (1 a 4) o composto teste foi o n-ftaleno.

c Teste feito pelo fabricante

A coluna 1 foi preparada e, após 4 meses de uso e 1 mês de armazenamento a seco, apresentou perda de eficiência, o que não impediu que continuasse a ser utilizada, pois ainda se apresentava dentro dos limites aceitáveis de n/m (Tab. 2.4).

A coluna 2 foi preparada e em seguida armazenada a seco, por 2 meses, o que comprometeu muito sua eficiência, ficando abaixo do limite médio aceitável para sua categoria. Ela foi então refeita, porém, o resultado obtido no seu enchimento foi ainda pior (4.643 pratos/m contra 10.464 pratos/m anteriormente) porque houve vazamen

to, durante o enchimento. O cromatograma obtido no teste desta coluna, cujo pico aparece com muita cauda (grande assimetria) é mostrado na Fig. 5.1.

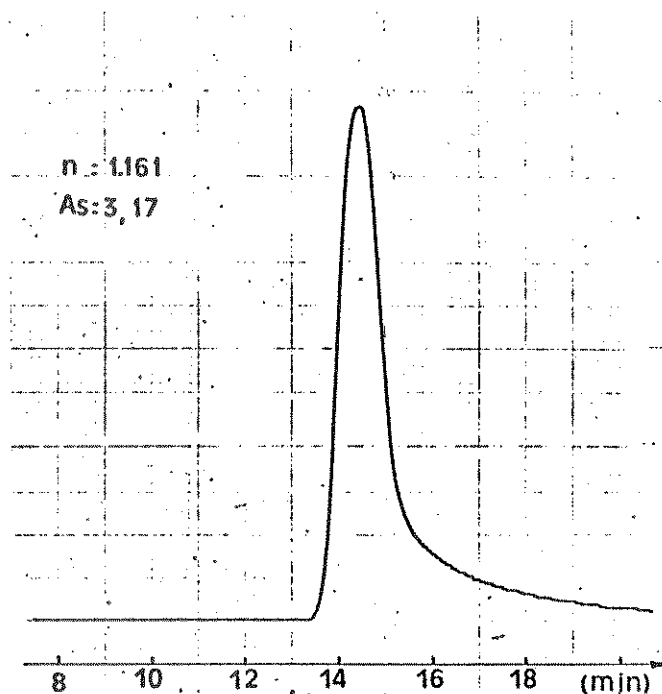


Figura 5.1. - Avaliação da Coluna 2, cuja eficiência foi prejudicada devido a vazamentos durante o enchimento. A assimetria é acentuada. Solute: naftaleno; FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 0,5 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm; Sistema Cromatográfico: Altex/Schoeffel.

A coluna 3, apesar de ter sido bastante usada e armazenada por dois anos, ainda apresentou eficiência muito boa e assimetria (As) bem reduzida.

A coluna 4, que havia sido armazenada, apresentou eficiência abaixo do limite aceitável e assimetria $> 1,2$ e foi, por isso, descartada.

Quando a coluna 5 foi adquirida, sua eficiência era muito superior à média e mesmo após 8 anos, entre uso e estocagem, sua eficiência ainda continua muito boa (Fig. 5.2)

Nos trabalhos de separação das misturas de peralogenados, foram usadas, portanto, somente as colunas 1, 3 e 5, cujos valores de n e As estavam dentro dos limites aceitáveis.

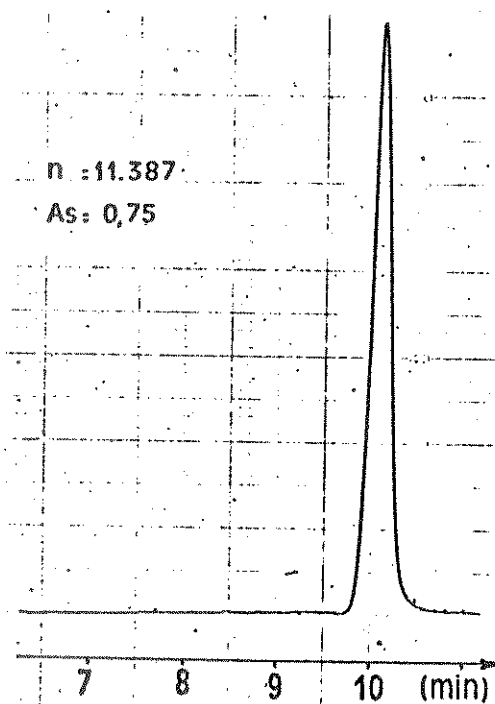


Figura 5.2. - Avaliação da Coluna 5, cuja eficiência manteve-se elevada, apesar do longo período armazenada e do uso. O pico do tolueno é fino e com pouca assimetria. FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 µL; detecção: 220 nm; Sistema Cromatográfico: Altex/Schoeffel.

5.2. - Otimização das Condições de Análise para a Separação de Compostos Peralogenados.

O metanol P.A. Merck foi usado como um dos solventes para a FM, sem nenhum tratamento prévio. Embora muitos profissionais da área só aceitem reagentes Lichrosolv em sistemas de CLAE, o metanol P.A. Merck foi usado sem grandes problemas de absorbância no UV no comprimento de onda (λ) empregado (Fig. 4.1), e além de já estar disponível no laboratório, seu custo é menor. O custo é um fator importante na escolha dos solventes e, sempre que possível, deve-se procurar usar os solventes mais baratos, desde que não comprometam a análise.

Para a detecção dos compostos peralogenados, o λ escolhido corresponde ao máximo de absorção dos mesmos no UV (220 nm), no qual a FM ainda não absorve significativamente. O espectro de alguns destes compostos pode ser visto na Fig. 5.3.

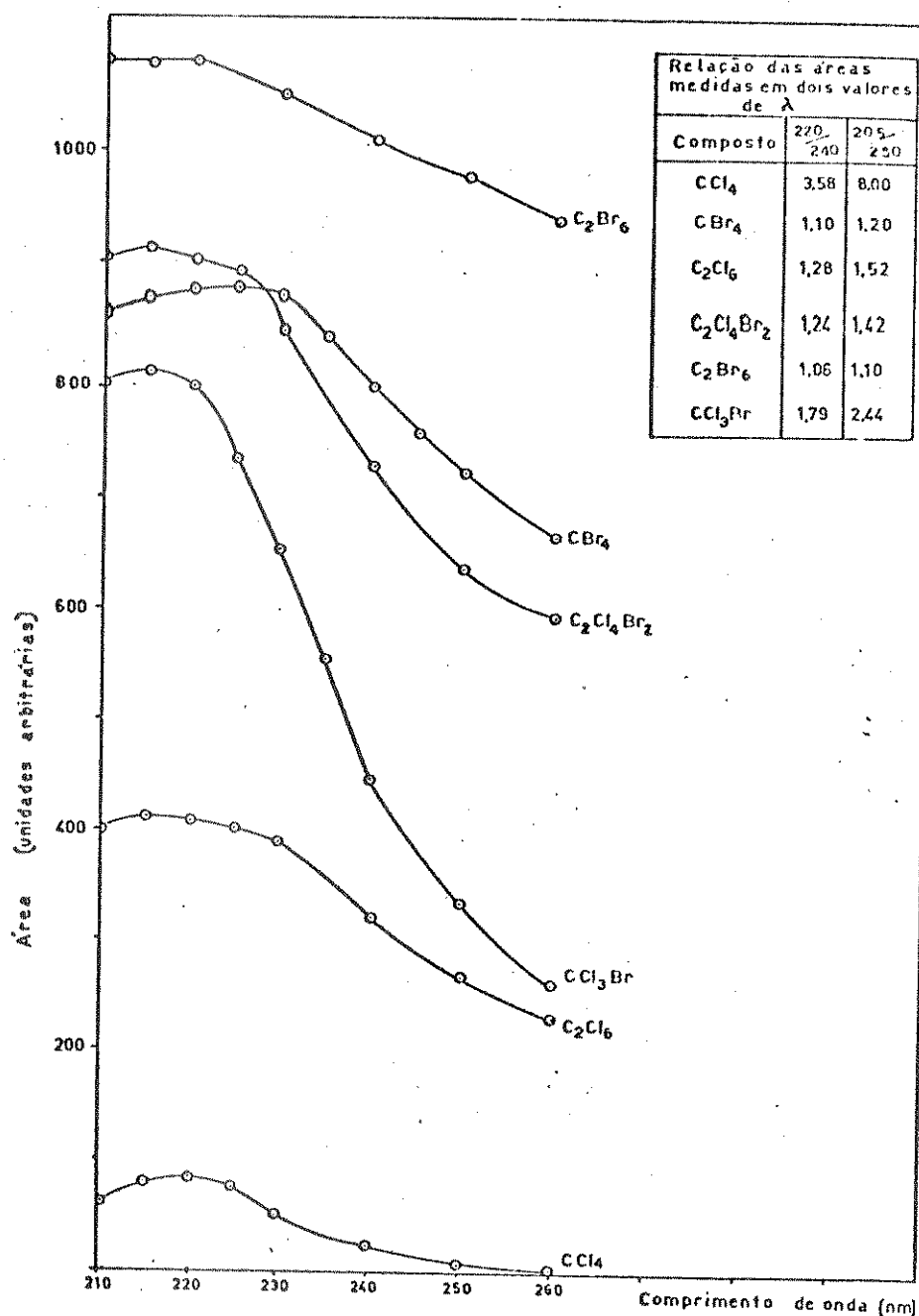


Figura 5.3. - Resposta relativa do detector por absorbância no UV para alguns compostos peralogenados [4]. Coluna: 250 x 10 mm, com Vydac RP 18 (10 μm); FM: MeOH/H₂O 70:30; concentração de cada composto em metanol: 0,1 mg/mL; Sistema Cromatográfico: Altex/Schoeffel.

Para a otimização da vazão da FM, foram realizados testes em diferentes vazões, obtendo-se uma curva de $h \times F$, onde F = vazão em mL/min [53]. Os resultados encontram-se na Tab. 5.5 e Fig. 5.4.

TABELA 5.5. - Relação entre Vazão da FM, F e h . Condições de Análise:
FM:MeOH/H₂O 90:10; composto teste :naftaleno; Sistema Cromatográfico: Altex/Schoeffel; detecção: 220 nm ;
Coluna 1

F (mL/min)	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1
h (μ m)	59,4	58,9	55,3	43,7	53,0	52,7

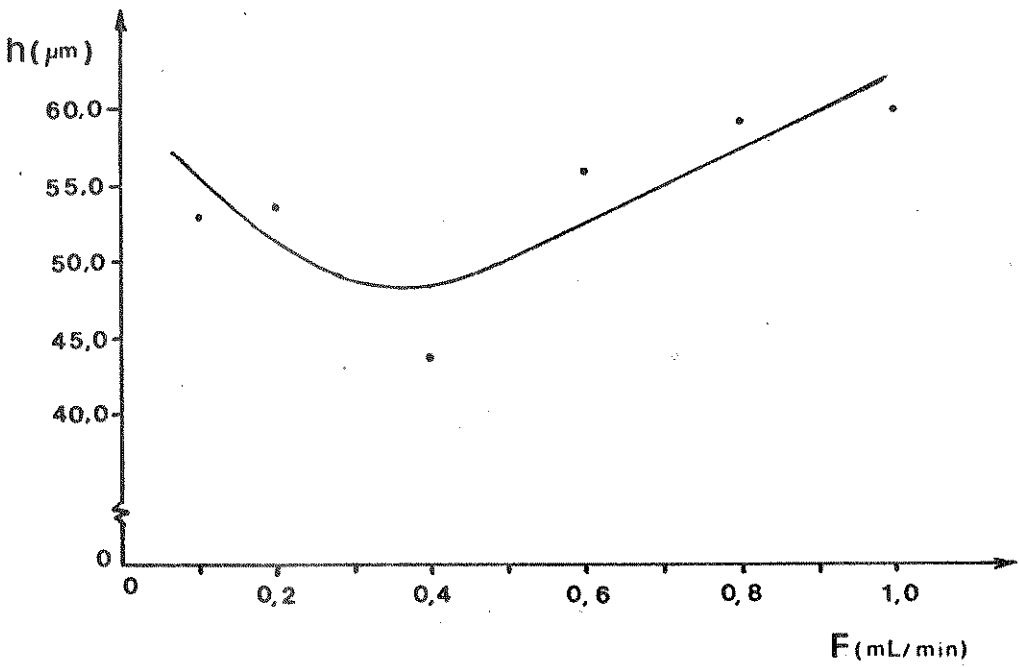


Figura 5.4. - Curva de $h \times F$ para a Coluna 1. Soluto: naftaleno; FM: MeOH/H₂O 90:10; detecção: 220 nm; Sistema Cromatográfico: Altex/Schoeffel.

Os valores obtidos de h não variavam muito de vazão para vazão e, por isso, apesar de a F ótima estar em torno de 0,4 mL/min (mínimo da curva da equação de Van Deemter), foi preferível usar vazões maiores para se ter análises mais rápidas, uma vez que a eficiência da separação não seria reduzida significativamente.

Esta mesma idéia foi aplicada às outras composições de FM, para que se pudesse ter análises um pouco mais rápidas. Isto é muito importante no caso de FMs mais viscosas (por exemplo com maior porcentagem de água) que levam a análises muito demoradas.

O trabalho de otimização da separação de compostos peralogenados foi iniciado, procurando reproduzir a melhor separação conseguida até o momento (Fig. 2.12, pag. 36, [4]), empregando a coluna nº 1, no sistema cromatográfico Altex/Schoeffel* e a FM MeOH/H₂O 70:30. O cromatograma obtido nesta primeira tentativa é mostrado na Fig. 5.5., onde pode-se notar a resolução praticamente nula dos compostos C₁, se comparado com a Fig. 2.12. Já a separação dos C₂ saturados não foi tão ruim, considerando-se que no cromatograma da Fig. 2.12. os C₂ insaturados não estavam presentes. Não houve separação dos compostos C₂ insaturados, que eluíram intercalando-se entre os C₂ saturados. Com base nisso, tornou-se claro que diferentes condições de análise seriam requeridas para as separações dos diferentes compostos, que apresentavam interações bem distintas com a FE e a FM.

Para agilizar a otimização da separação, os compostos foram divididos em três blocos: os C₁, os C₂ insaturados e os C₂ saturados. Para cada um dos blocos, a composição da FM foi variada, até que se conseguisse a melhor separação possível.

* Todas as análises dos compostos peralogenados foram feitas no sistema cromatográfico Altex/Shoeffel

A Tab. 5.6 resume os resultados conseguidos de melhor composição de FM para a separação de cada bloco de compostos separados na coluna 1.

A Fig. 5.6 mostra o cromatograma de uma mistura de compostos C₁. É importante notar a inversão nos t_Rs que ocorre para estes compostos quando aumenta-se a polaridade da FM (de 70:30 para 22:78), comparando-se com a Fig. 5.5.

TABELA 5.6. - Melhor composição de FM para os diferentes compostos separados na coluna 1.

compostos separados	composição de FM
CCl ₄ , CBrCl ₃ , CBr ₂ Cl ₂ e CBr ₄	MeOH/H ₂ O 22:78
C ₂ Cl ₄ e C ₂ Br ₄	MeOH/H ₂ O 35:65
C ₂ Br ₆ , C ₂ Br ₂ Cl ₄ e C ₂ Cl ₆	MeOH/H ₂ O 70:30

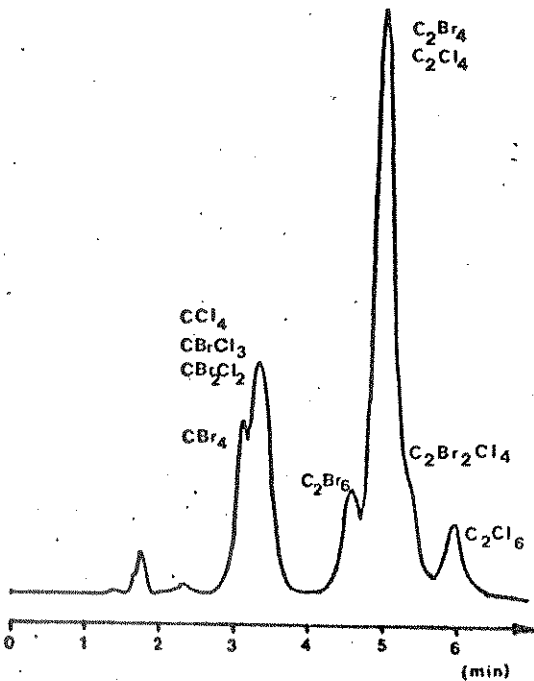


Figura 5.5. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação dos peralogenados CBr₄, CBr₂Cl₂, CBrCl₃, CCl₄, C₂Cl₄, C₂Br₄, C₂Br₆, C₂Br₂Cl₄ e C₂Cl₆ (solução em MeOH). FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 0,4 mL/min; vol. inj.: 10 µL; detecção: 220 nm

Aumentando-se ainda mais a quantidade de água na FM, aumenta-se a separação dos picos, mas a sensibilidade é prejudicada. Isto ocorre devido à diminuição da solubilidade destes compostos na FM, além do efeito de alargamento da banda devido ao aumento no tempo de retenção.

Tendo em vista os objetivos do trabalho de analisar o maior número possível de peralogenados de fórmula molecular $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ ou 2 ; $y + z = 4$ ou 6), a otimização da separação de cada grupo de compostos foi feita de maneira a possibilitar a separação inclusive de compostos ainda não disponíveis. Esta previsão de separação foi feita através do número de separação (número de Trennzahl) T_z , uma vez que a resolução, R_s , relaciona-se diretamente com T_z , pois $T_z = (R_s/1,177) - 1$ (Eqs IX e XI da Sec. 2.2, pags 19 e 22).

Como pode ser observada na Fig. 5.6, a separação entre os compostos CBr_2Cl_2 e CBr_4 é tal, que permitiria a colocação de mais um composto entre eles, pois $T_z = 1,37$. Este composto poderia ser o CBr_3Cl , do qual ainda não se dispõe, mas que foi encontrado em grande quantidade como produto de radiólise do CBr_4 em CCl_4 [1].

Nesta análise, assim como nas análises dos grupos de compostos subsequentes foi estabelecido um compromisso entre encontrar uma composição de FM tal que, além de separar suficientemente os componentes da mistura ($R_s \geq 1,25$), ainda permitisse obter um T_z adequado, já prevendo a resolução de compostos ainda não disponíveis como padrões e manter a sensibilidade de detecção razoavelmente boa, devido ao aumento da quantidade de água na FM.

O problema de concentração poderia ser resolvido injetando-se um volume maior de amostra, que poderia ser feito trocando-se o amostrador por outro de maior volume (100 μ L, por exemplo). Esta

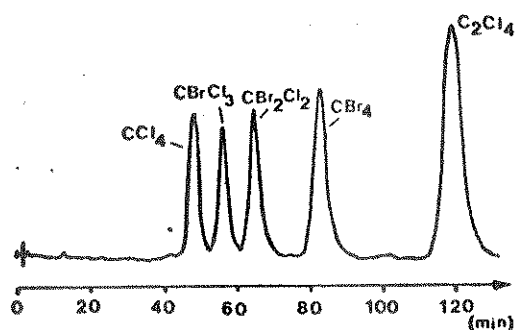


Figura 5.6. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação dos peralogenados C_1 (CBr_4 , CBr_2Cl_2 , $CBrCl_3$ e CCl_4). FM: MeOH/ H_2O 22:78; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

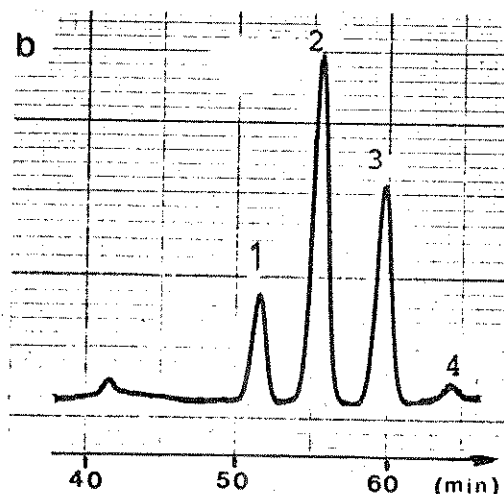
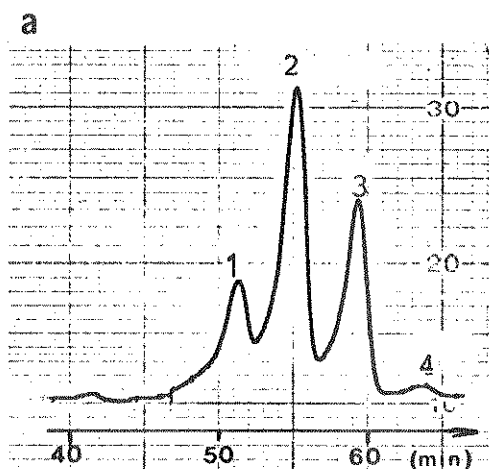


Figura 5.7. - Efeito da dispersão devido ao volume do amostrador. Cromatogramas obtidos com a coluna 5. Soluto: peralogenados; FM: MeOH/ H_2O 63:37; vazão da FM: 0,9 mL/min; detecção: 220 nm; volume injetado: a = 100 μ L; b = 20 μ L

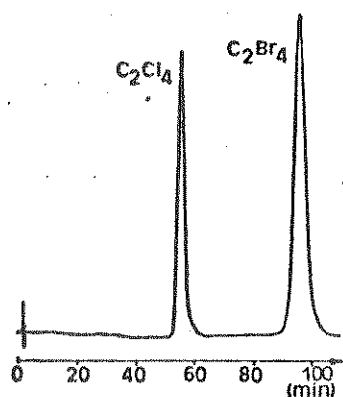


Figura 5.8. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação de C_2Br_4/C_2Cl_4 . FM: MeOH/ H_2O 35:65; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

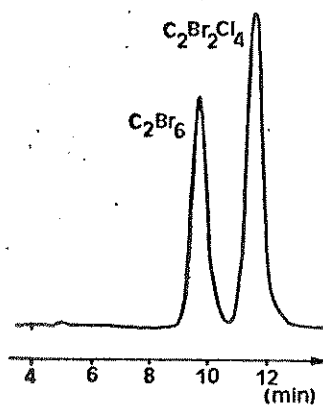


Figura 5.9. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação de C_2Br_6 , $C_2Br_2Cl_4$. FM: MeOH/ H_2O 70:30; vazão da FM: 0,5 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

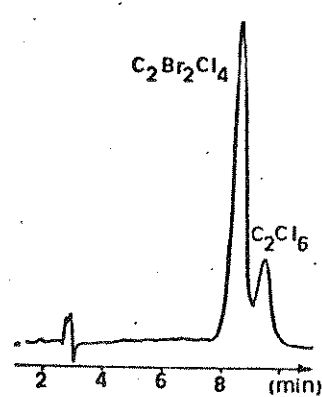


Figura 5.10. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação de $C_2Br_2Cl_4/C_2Cl_6$. FM: MeOH/ H_2O 70:30; vazão da FM: 0,5 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm

medida, no entanto, poderia originar outros problemas: a saturação da coluna, que acarreta em perda de eficiência e o alargamento da banda, com perda de resolução. Isto é bem ilustrado na Fig. 5.7.

A resolução do 2º grupo foi otimizada da mesma maneira (resolução versus sensibilidade de detecção) e, para a melhor composição de FM (MeOH/H₂O 35:65), foi encontrado $T_z = 4,70$ (Fig. 5.8).

Considerando a possibilidade de separação de compostos com fórmula molecular intermediária aos compostos C₂Cl₄/C₂Br₄, a separação obtida foi suficiente para separar os três compostos possíveis (C₂BrCl₃, C₂Br₂Cl₂ e C₂Br₃Cl), não disponíveis, pois $T_z > 3$.

O 3º grupo de compostos foi dividido em dois subgrupos para otimização de sua separação: C₂Br₆/C₂Br₂Cl₄ e C₂Br₂Cl₄/C₂Cl₆. Na separação dos dois primeiros compostos, mesmo com a FM otimizada MeOH/H₂O 70:30, o T_z conseguido foi de 0,64. Os compostos com t_R intermediários aos dois compostos seriam: C₂Br₅Cl, C₂Br₄Cl₂ e C₂Br₃Cl₃. Para conseguir a separação de todos eles, seria preciso $T_z > 3$, o que não foi possível com esta coluna e FM (Fig. 5.9).

Para a separação do 2º subgrupo (C₂Br₂Cl₄/C₂Cl₆), seria preciso obter um $T_z > 1$, o que também não foi possível obter neste sistema cromatográfico. A resolução destes compostos não foi boa ($R_s = 1,06$), não permitindo a resolução do composto intermediário C₂BrCl₅ (Fig. 5.10), se estivesse presente.

Na tentativa de melhorar estas separações através da modificação da força da FM, foi adicionado a ela ácido propiônico (ou propanóico) a 2%. Os resultados obtidos não foram melhores que os já conseguidos e, além disso, houve perda de sensibilidade, pois a adição do ácido aumentou a absorbância pela FM (Fig. 5.11), sendo, por isso, necessário usar λ maior na detecção ($\lambda = 230$ nm), onde a

absorbância dos compostos já é bem menor (Fig. 5.3).

O próximo passo na tentativa de melhorar a separação, ainda com a mesma coluna, foi o uso de outra FM. Foi escolhida a acetonitrila, já empregada por outros autores [3,4,53], que foi misturada à água, da mesma maneira que o metanol. Para que não houvesse problema de absorbância pela FM, foi empregada acetonitrila Lichrosolv Merck (Fig. 4.3). No entanto, os resultados conseguidos não foram mais satisfatórios que os já obtidos com metanol, o que pode ser notado na separação dos compostos $C_2Br_6/C_2Br_2Cl_4$ na Fig. 5.12 comparada com a Fig. 5.9 ou ainda Fig. 5.13 versus Fig. 5.10.

A acetonitrila, com este grau de pureza, é um reagente muito caro, sendo conveniente que os resultados obtidos com seu uso sejam muito melhores, de modo a compensar os custos. Por estas razões, a mistura MeOH/H₂O foi mantida, ao longo dos experimentos, como a FM mais adequada para estas análises.

Esgotadas as possibilidades de separação com a coluna 1, outra coluna foi testada. Para se obter melhor resolução, com maior eficiência, a coluna precisaria ter, ou maior comprimento (coluna 2), ou menor diâmetro de partículas (coluna 3). Como a coluna 2 não pode ser usada, foi empregada a coluna 3 que, por ser mais eficiente, trouxe bons resultados.

A quantidade de água na FM necessária para se obter a mesma separação, avaliada em termos de Tz, foi menor com esta coluna 3, o que significou ganho de sensibilidade, menor gasto de reagentes na preparação das soluções de peralogenados e menores tempos de análise (FM menos viscosa).

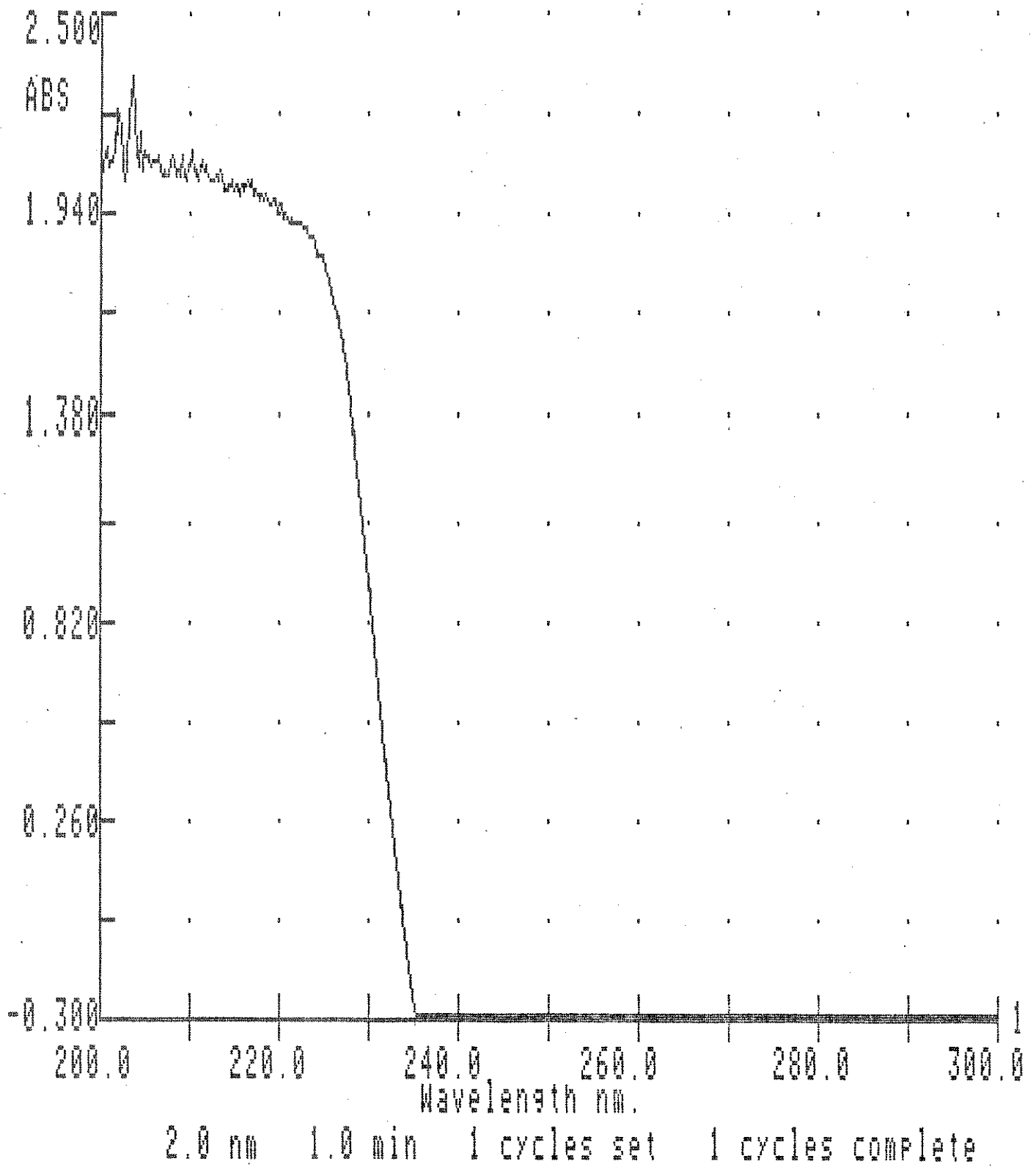


Figura 5.11. - Espectro de absorbância no UV da fase móvel: MeOH/
H₂O/HOPr 49:49:2 (metanol Merck)

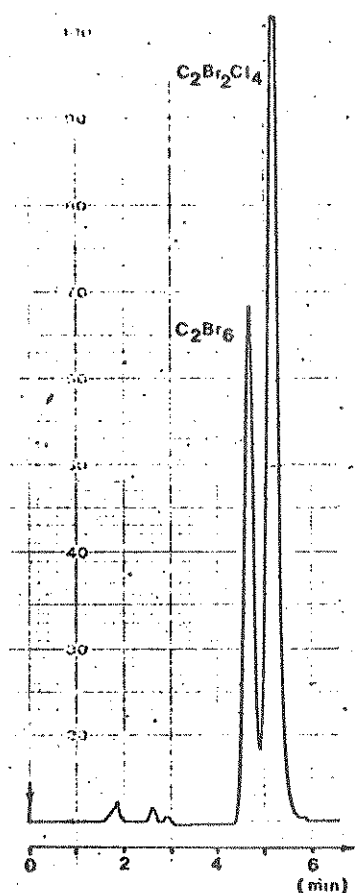


Figura 5.12. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação de $C_2Br_6/C_2Br_2Cl_4$. FM: CH_3CN/H_2O 70:30; vazão da FM: 0,5 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm

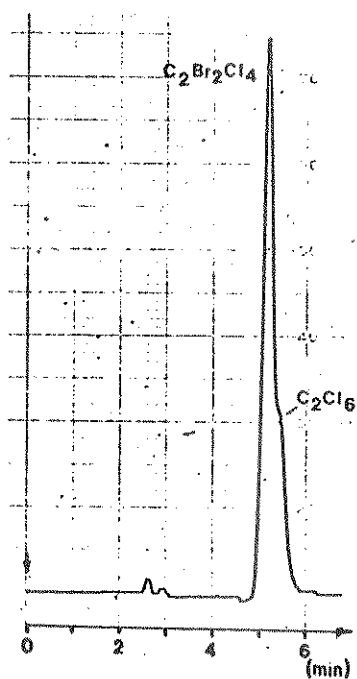


Figura 5.13. - Cromatograma obtido com a coluna 1 na separação de $C_2Br_2Cl_4/C_2Cl_6$. FM: CH_3CN/H_2O 70:30; vazão da FM: 0,5 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

A Tab. 5.7 resume os resultados conseguidos na separação dos padrões em termos de T_z e a melhor composição de FM correspondente.

TABELA 5.7. - Melhor composição de FM para os diferentes compostos separados com a coluna 3 e seus valores de T_z .

Compostos separados	Composição de FM (MeOH/H ₂ O)	T_z
CCl ₄ , CBrCl ₃ , CBr ₂ Cl ₂ e CBr ₄	30:70	1,08 ^a
C ₂ Cl ₄ e C ₂ Br ₄	40:60	3,39
C ₂ Br ₆ e C ₂ Br ₂ Cl ₄	60:40	1,24
C ₂ Br ₂ Cl ₄ e C ₂ Cl ₆	70:30	0,30

^a calculado para a separação CBr₂Cl₂/CBr₄

Ao serem comparadas as colunas 1 e 3, além dos valores numéricos mais positivos apresentados pela coluna 3, em termos de separação, o tempo gasto na análise foi bastante reduzido. Os cromatogramas obtidos nestas separações são mostrados nas Figs. 5.14 a 5.17.

Apesar destes resultados, a resolução necessária para a separação de todos os possíveis C₂ saturados não foi alcançada. Para se conseguir a separação adequada, uma coluna bem mais eficiente seria necessária e deveria ter maior comprimento ou menor diâmetro de partículas. Como não houvesse partículas menores que 5 µm disponíveis no laboratório para o enchimento de uma outra coluna, a coluna 5, que se encontrava pronta, foi testada.

Foi surpreendente constatar que esta coluna, após 8 anos de sua fabricação, ainda estivesse em tão boas condições, com tão alta eficiência.

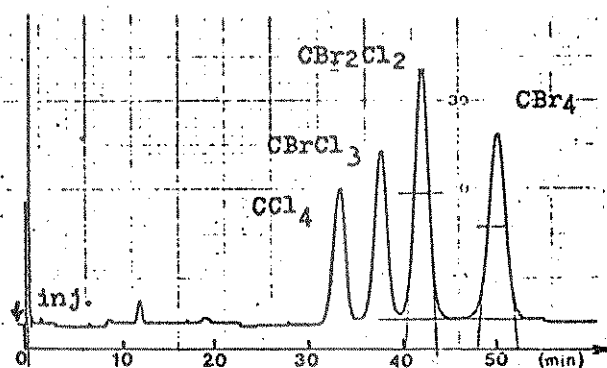


Figura 5.14. - Cromatograma obtido com a coluna 3 na separação da mistura CCl_4 , CBrCl_3 , CBr_2Cl_2 e CBr_4 . FM: MeOH/ H_2O 30:70; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm

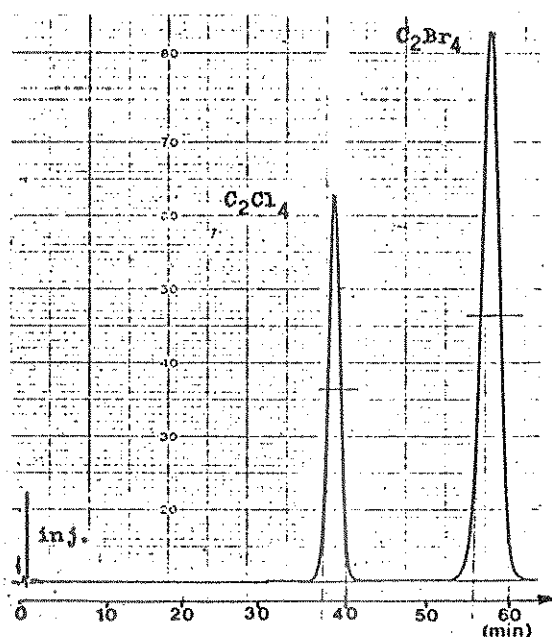


Figura 5.15. - Cromatograma obtido com a coluna 3 na separação da mistura $\text{C}_2\text{Cl}_4/\text{C}_2\text{Br}_4$. FM: MeOH/ H_2O 40:60; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm

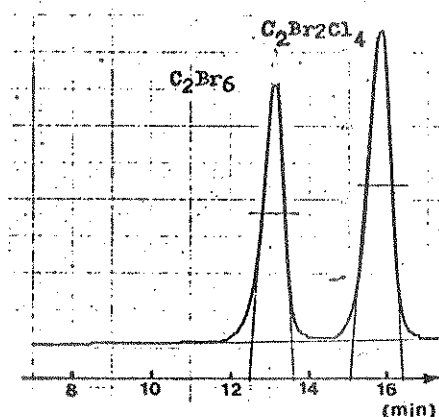


Figura 5.16. - Cromatograma obtido com coluna 3 na separação $\text{C}_2\text{Br}_6/\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4$. FM: MeOH/ H_2O 60:40; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm.

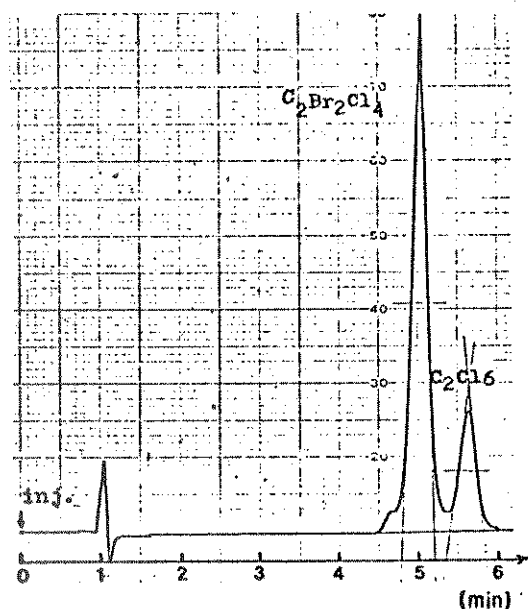


Figura 5.17. - Cromatograma obtido com a coluna 3 na separação $C_2Br_2Cl_4/C_2Cl_6$. FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

Um teste preliminar foi feito, injetando-se uma mistura contendo os nove compostos peralogenados padrões e eluindo-se com FM MeOH/H₂O 70:30. Todos os compostos puderam ser separados simultaneamente, inclusive a separação mais difícil, até o momento ($C_2Br_2Cl_4/C_2Cl_6$) foi conseguida e com $T_z = 2,39$. Porém, com esta composição de FM, os compostos C_2 insaturados eluem intercalando-se com os compostos C_2 saturados, o que não é de nenhum interesse nestas análises (Fig. 5.18).

Aumentando-se ou diminuindo-se a quantidade de MeOH na FM, isto é, alterando-se a força da FM, mais inversões na eluição dos compostos ocorrem, o que mostra a seqüência de cromatogramas das Figs. 5.18 a 5.22. A Tab. 5.8 resume os resultados conseguidos nestas separações.

O primeiro conjunto de compostos (os C_1) apresentou melhor se

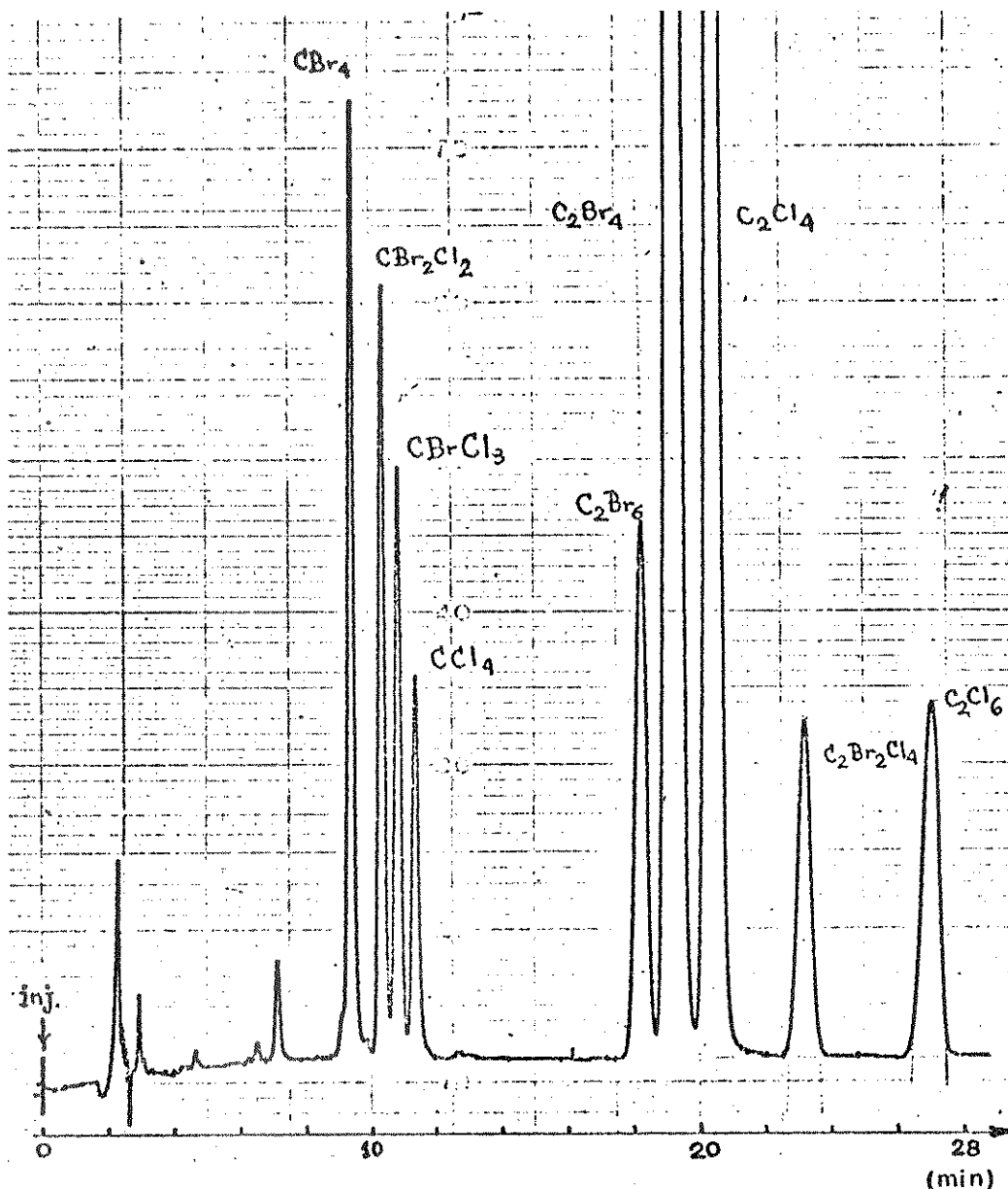


Figura 5.18. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura dos peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 70:30; vazão da FM: 1,0 mL/min, vol. inj.: 10 μ L, detecção: 220 nm.

paração com FM menos polar (MeOH/H₂O 80:20), tendo sua separação prejudicada a medida que se aumentava a quantidade de água na FM, pois a ordem de eluição foi invertida em relação às análises anteriores (colunas 1 e 2). Se a quantidade de água na FM for ainda mais aumentada, ocorrerá a inversão na eluição destes compostos, como já foi visto em análises feitas em outras colunas (Figs. 5.6 e 5.14).

Para que ocorra eluição separadamente dos dois grupos, sem sobreposição, os C₂ insaturados e os C₂ saturados, a polaridade da FM deve ser maior, sendo que os C₂ insaturados começam a ter uma resolução aceitável a partir de MeOH/H₂O 60:40.

O 1º subgrupo do 3º conjunto de compostos (C₂Br₆/C₂Br₂Cl₄)

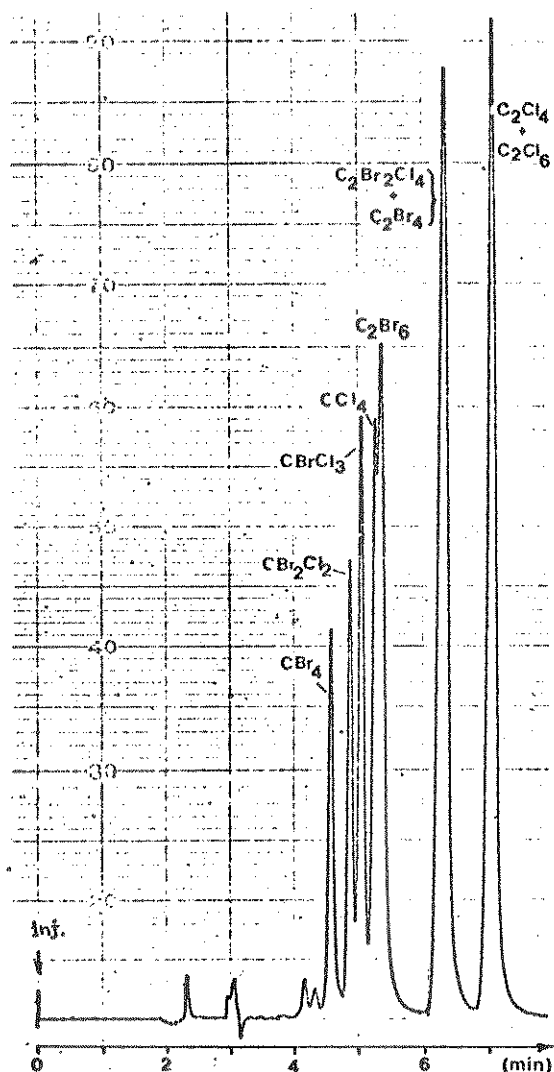


Figura 5.19. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 90:10; vazão da FM: 0,8 mL/min; vol. inj.: 10 µL; detecção: 220 nm.

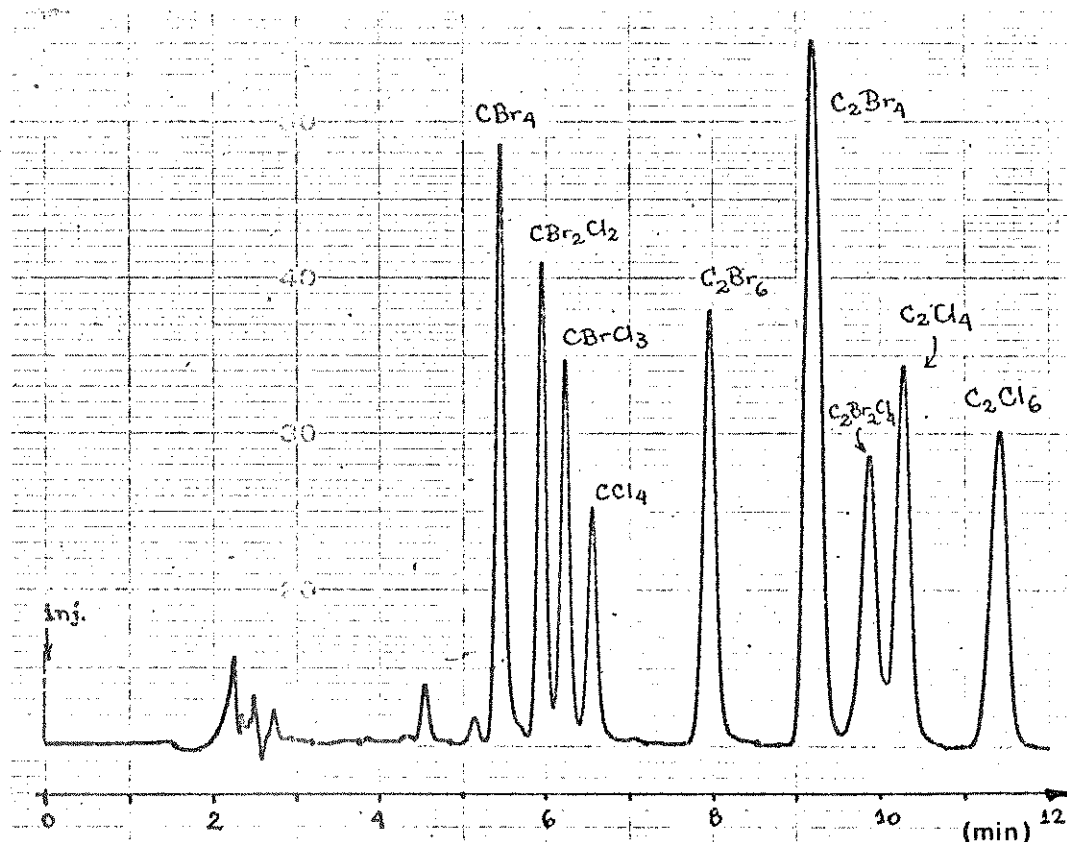


Figura 5.20. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 80:20; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 µL; detecção: 220 nm.

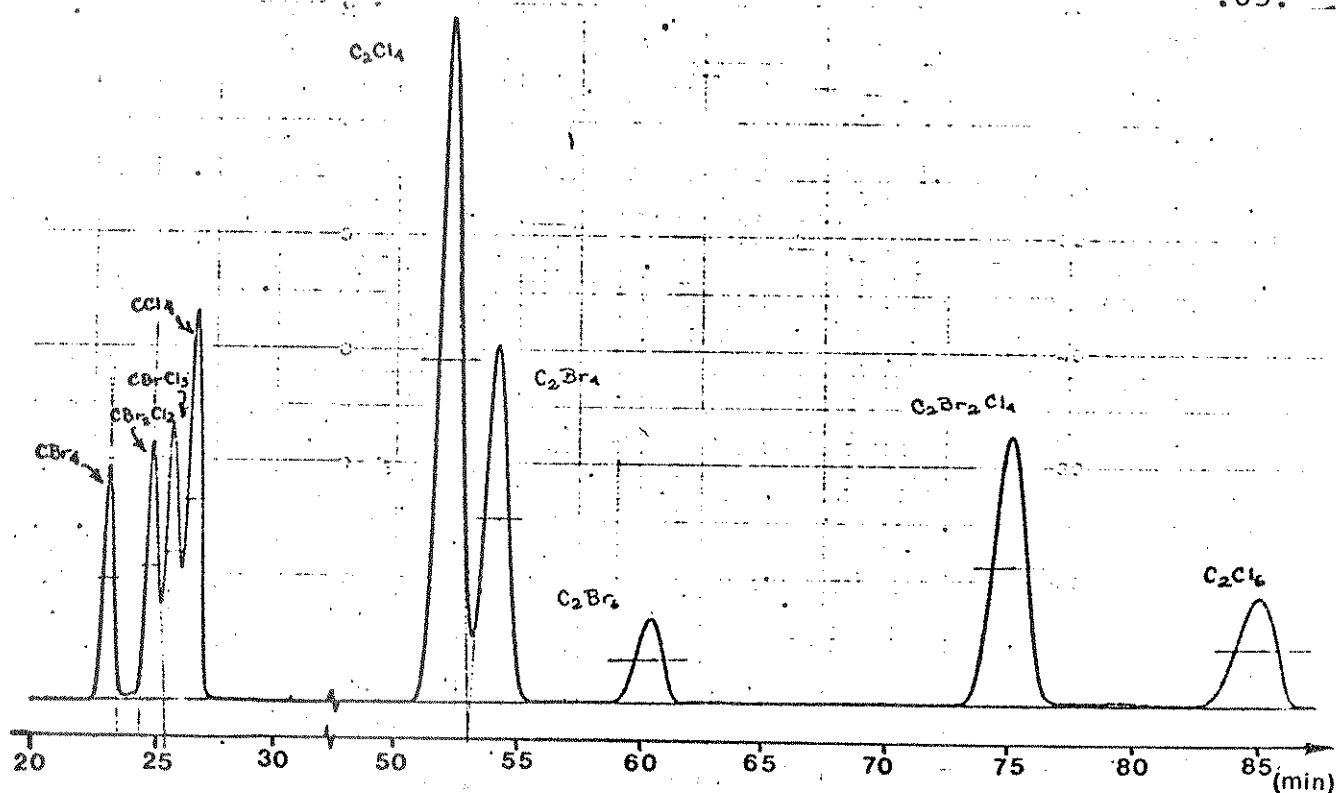


Figura 5.21. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 60:40; vazão da FM: 0,8 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

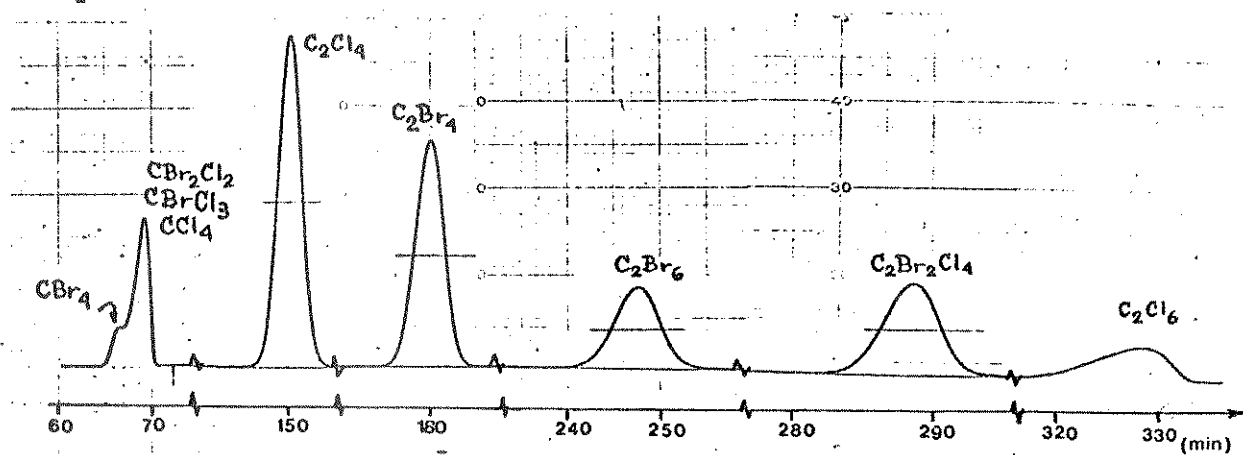


Figura 5.22. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 50:50; vazão da FM: 0,7 mL/min; vol. inj.: 10 μ L, detecção: 220 nm.

também apresentou boa separação (sem sobreposição com os C₂ insaturados) com FM polar, em torno de 60:40. Já o 2º subgrupo (C₂Br₂Cl₄/C₂Cl₆) apresentou separação suficiente em MeOH/H₂O 70:30.

Facé aos resultados obtidos, fica claro que a separação dos 3 conjuntos de compostos, com resolução adequada, usando uma única composição de FM seria muito difícil, sendo que, para que o 1º grupo fosse resolvido, a FM deveria conter quantidade de MeOH superior a 60%, pois T_z entre CBr₄ e CBr₂Cl₂ precisa ser maior que 1. Porém, para que o 3º grupo fosse resolvido, a quantidade de MeOH na FM deveria ser menor que 70%.

Como não se dispusesse de um sistema de gradiente de eluição, a separação dos 3 grupos foi idealizada em duas etapas, resolvendo a separação de dois grupos, com duas diferentes composição de FM. Buscou-se, então, a FM mais adequada para a resolução de dois grupos simultaneamente, considerando-se a sensibilidade de detecção e o tempo de análise.

A Tab. 5.9 expressa as separações conseguidas para os C₁ e C₂ saturados, com composições de FM intermediárias (Figs. 5.23 a 5.25).

Na avaliação da separação dos C₁, foram usados dois parâmetros: T_z e R_s . T_z foi usado para avaliar a possibilidade de separação dos compostos não disponíveis e R_s , para avaliação da separação dos compostos presentes.

A FM MeOH/H₂O 63:37 apresentou-se como a melhor composição de FM para separar simultaneamente os grupos 1 e 3 de peralogenados, com os valores de T_z adequados e ainda com boa resolução para os C₁ padrões e foi empregada nas análises posteriores, usando a coluna 5.

TABELA 5.8. - Resultado obtido na separação dos compostos peralogenados, na coluna 5, com diferentes composições de FM.

Compostos separados	Resoluções (Rs) obtidas com FM MeOH/H ₂ O				
	50:50	60:40	70:30	80:20	90:10
CBr ₄ /CBr ₂ Cl ₂	-	1,90	2,60	2,57	2,06
CBr ₂ Cl ₂ /CBrCl ₃	-	0,82	1,37	1,48	1,47
CBrCl ₃ /CCl ₄	-	0,87	1,44	1,61	-
C ₂ Cl ₄ /C ₂ Br ₄	5,29	1,13	-	-	-
C ₂ Br ₆ /C ₂ Br ₂ Cl ₄	4,81	6,36	-	-	-
C ₂ Br ₂ Cl ₄ /C ₂ Cl ₆	-	3,90	3,99	-	-

Como o principal alvo das investigações sobre os produtos de radiólise ou termólise de CBr₄ em CCl₄ era os compostos C₂ saturados, os compostos C₂ insaturados, possíveis produtos de decomposição, não precisariam ser completamente resolvidos, mas a sua simples visualização já seria suficiente. Nestas análises, caso se quisesse boa separação destes compostos, a composição de FM ideal estaria entre 50:50 e 55:45 (MeOH/H₂O). A análise destes compostos na coluna 5, com composição de FM desta ordem, são extremamente demoradas (ver Fig. 5.22) devido à alta viscosidade da FM, que provoca grande aumento de pressão na bomba, impedindo que a vazão da FM seja empregada em valores razoáveis (em torno de 1,0 mL/min). Isto dificultou as análises, sendo que foi preferível trabalhar com FMs menos polares, mesmo que com perda de resolução, para se ter análises menos demoradas (menores valores de D_m).

TABELA 5.9. - Resultados obtidos na separação dos compostos C₁ e C₂ saturados, na coluna 5, com diferentes composições de FM.

Compostos separados	Separação (T _Z ou R _S) obtidos com FM MeOH/H ₂ O		
	65:35	63:37	62,5 : 37,5
CBr ₄ /CBr ₂ Cl ₂	T _Z = 1,22	T _Z = 1,10	T _Z = 0,73
CBr ₂ Cl ₂ /CBrCl ₃	R _S = 1,26	R _S = 1,12	R _S = 0,95
CBrCl ₃ /CCl ₄	R _S = 1,27	R _S = 1,15	R _S = 0,94
C ₂ Br ₆ /C ₂ Br ₂ Cl ₄	-	T _Z = 4,75	T _Z = 4,34
C ₂ Br ₂ Cl ₄ /C ₂ Cl ₆	T _Z = 2,49	T _Z = 2,02	T _Z = 1,95

Um resumo dos melhores resultados conseguidos com as três colunas, tendo em vista a separação do maior número possível de peralogenados, considerando os valores de T_Z e R_S pode ser encontrado na Tab.5.10. Os valores de α (fator de seletividade) encontrados para a maioria das separações, foram em torno de 1,20, o que significa que, em geral, as separações foram boas e o sistema apresentou boa seletividade, com tempos de análise razoáveis, principalmente para a coluna 5.

Os valores de D_m, calculados para os compostos separados na coluna 5 (Tab. 5.11), mostram que as separações conseguidas para os compostos C₁ foram bem razoáveis, resultado de interações adequadas, tanto com a FM como com a FE (D_m entre 1 e 10). Nas separações dos compostos C₂ saturados, os valores de D_m já foram bem maiores, o que demonstra a forte interação destes compostos com a FE, provocando análises mais demoradas. Os valores de D_m, neste caso, poderiam ser diminuídos usando-se uma FM menos polar, mas isto certamente

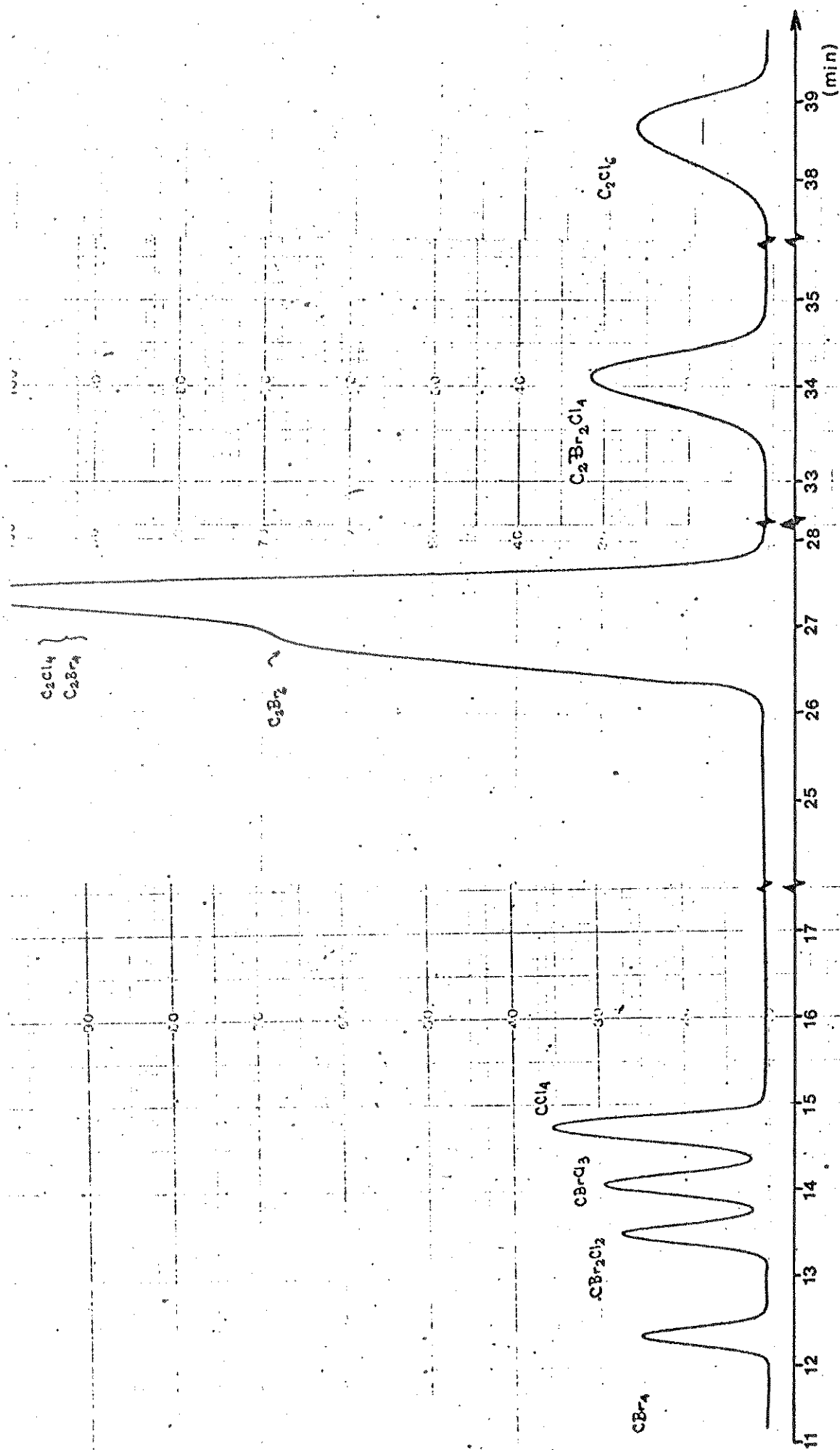


Figura 5.23. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 65:35; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

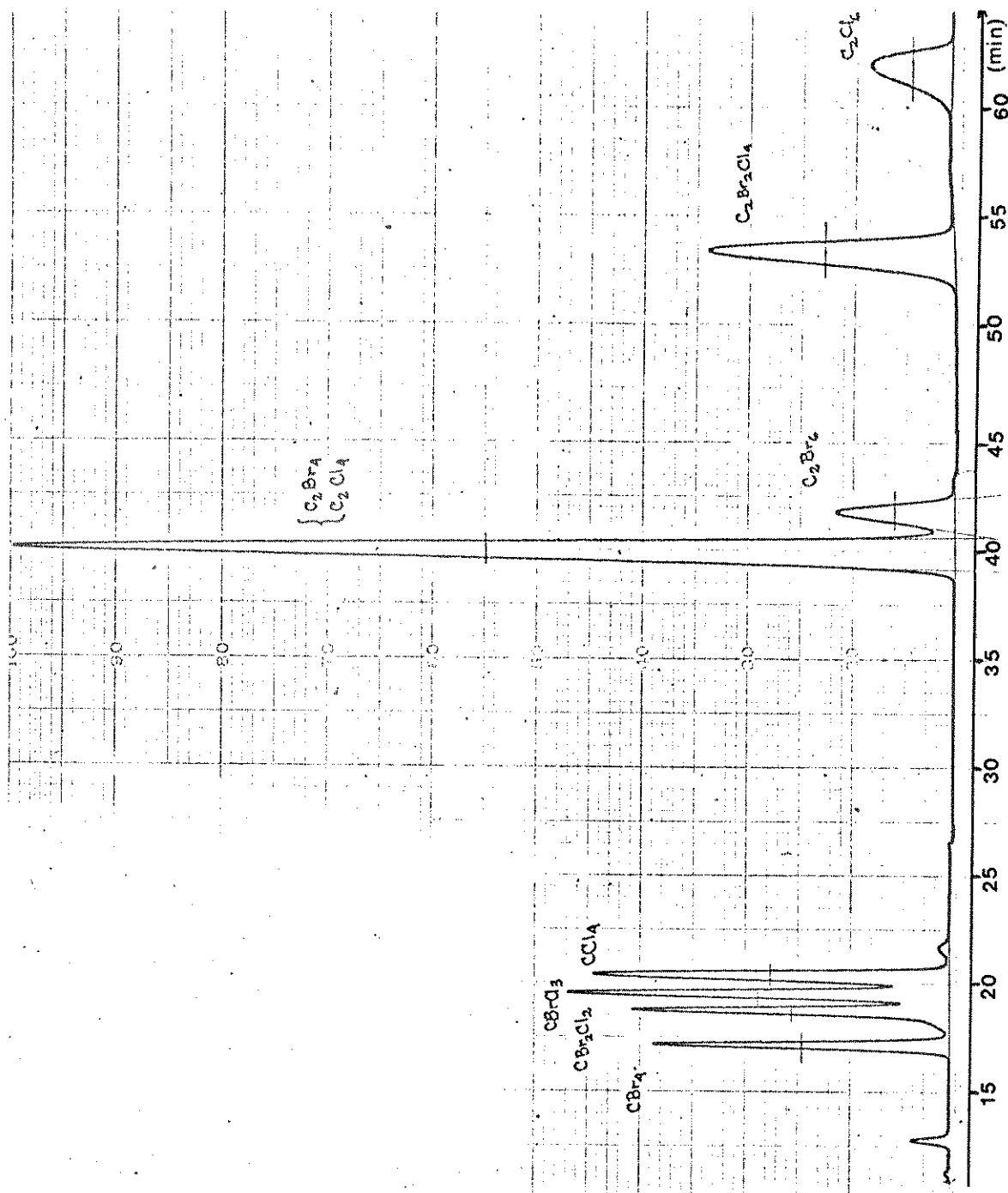


Figura 5.24. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões. FM: MeOH/H₂O 63:37; vazão da FM: 0,9 mL/min; vol. inj.: 10 µL, detecção: 220 nm.

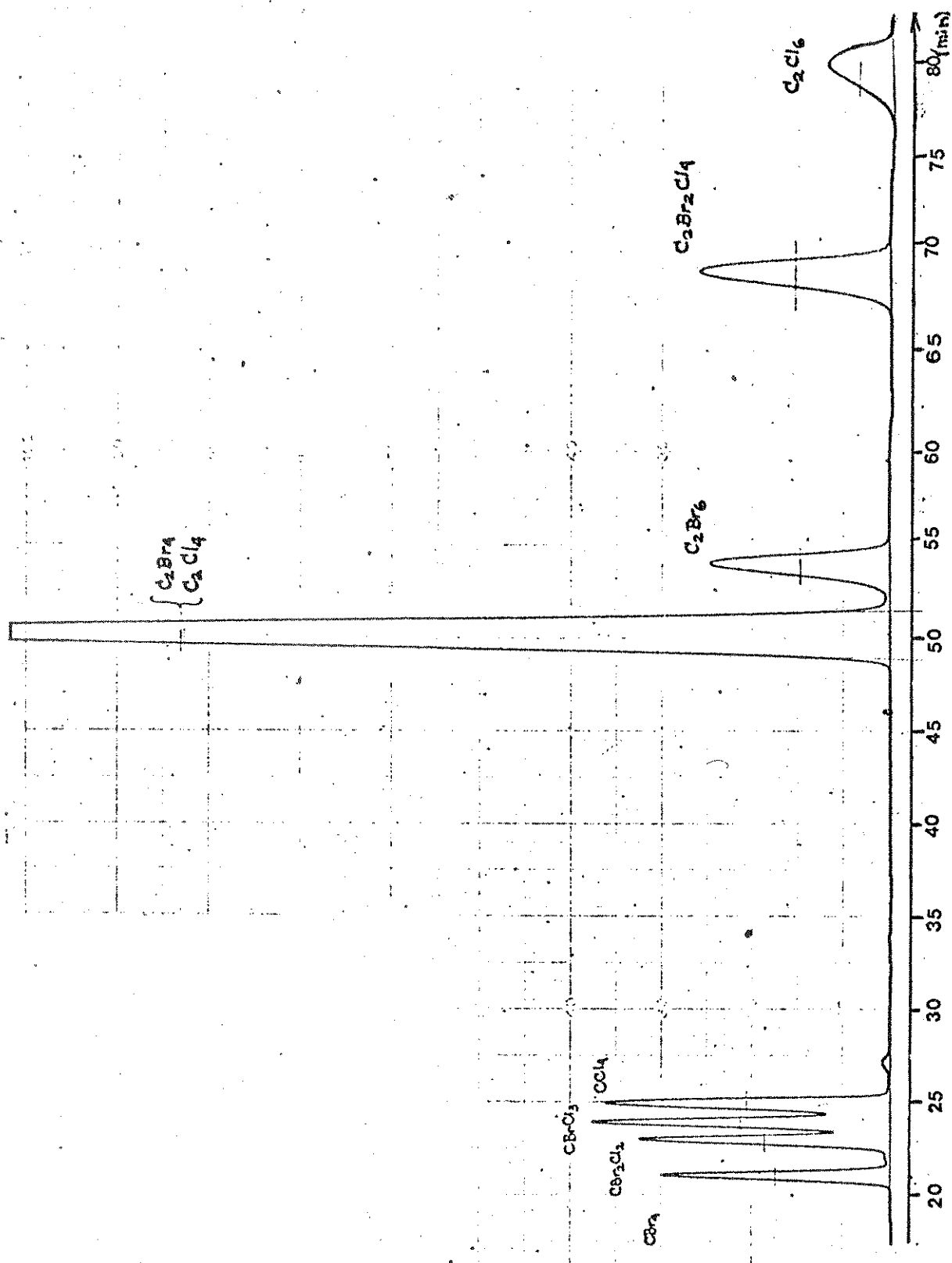


Figura 5.25. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na separação da mistura de peralogenados padrões 91.
 FM: MeOH/H₂O 62,5:37,5; vazão da FM: 0,9 mL/min; vol. inj.: 10 µl; detecção: 220 nm.

TABELA 5.10. - Resultados da Otimização da Separação dos Compostos Peralogenados com as Colunas 1, 3 e 5.

Compostos separados		CCl ₄ /CBrCl ₃	CBrCl ₃ /CBr ₂ Cl ₂	CBr ₂ Cl ₂ /CBr ₄	C ₂ Cl ₄ /C ₂ Br ₄	C ₂ Br ₆ /C ₂ Br ₂ Cl ₄	C ₂ Br ₂ Cl ₄ /C ₂ Cl ₆
Composição da FM MeOH/H ₂ O		22:78	22:78	22:78	35:65	70:30	70:30
Separação (T _Z ou R _S)		R _S = 1,55	R _S = 1,72	T _Z = 1,37	T _Z = 4,70	T _Z = 0,64	T _Z < 0
Seletividade (α)		α = 1,16	α = 1,17	α = 1,30	α = 1,75	α = 1,28	α = 1,16
Composição da FM MeOH/H ₂ O		30:70	30:70	30:70	40:60	60:40	70:30
Separação (T _Z ou R _S)		R _S = 1,48	R _S = 1,60	T _Z = 1,08	T _Z = 3,39	T _Z = 1,24	T _Z = 0,30
Seletividade (α)		α = 1,12	α = 1,13	α = 1,19	α = 1,52	α = 1,22	α = 1,15
Composição da FM MeOH/H ₂ O		63:37	63:37	63:37	50:50	63:37	63:37
Separação (T _Z ou R _S)		R _S = 1,15	R _S = 1,12	T _Z = 1,10	T _Z = 3,49	T _Z = 4,75	T _Z = 2,02
Seletividade (α)		α = 1,05	α = 1,05	α = 1,11	α = 1,20	α = 1,29	α = 1,17

prejudicaria as separações dos compostos C_1 . Menos razoáveis foram as separações dos C_2 insaturados, cujos valores de D_m foram muito altos. Como no caso dos C_2 saturados, isto ocorre para que a separação de outros compostos (os C_2 saturados) possa ocorrer, sem haver sobreposições com os primeiros.

TABELA 5.11. - Valores de D_m (razão de distribuição das massas) obtidos para separações na coluna 5.

Compostos Separados	D_m	Compostos Separados	D_m
CBr_4	6,41	C_2Cl_4	49,33
CBr_2Cl_2	7,10	C_2Br_4	59,13
$CBrCl_3$	7,43	C_2Br_6	16,98
CCl_4	7,81	$C_2Br_2Cl_4$	21,98
		C_2Cl_6	25,70

A FM utilizada foi MeOH/H₂O 63:37, com excessão da separação C_2Cl_4/C_2Br_4 que foi feita a 50:50.

Os cálculos feitos para as determinações de α e D_m envolveram a medida de t_M (tempo de retenção de um soluto não retido pela FE). O soluto usado na medida de t_M foi o próprio solvente das amostras, o metanol, que também compõe a FM. O t_M empregado foi apenas operacional, pois o metanol não é o soluto ideal para estas determinações. Existem solutos mais adequados para as medidas de t_M . Entretanto, muitos solutos são usados indiscriminadamente, gerando muita controvérsia sobre o assunto. O método da linearização de séries homólogas para o cálculo de t_M (ou V_M - volume morto) é um dos que melhores re-

sultados traz, porém é muito trabalhoso [56]. Solutos bastante recomendados para este fim incluem isômeros isotopicamente marcados de moléculas do eluente, tais como análogos deuterados da água, metanol ou acetonitrila, sais inorgânicos ou compostos orgânicos como citosina, N-N-dimetilformamida, uréia, acetona e uracila [57]. Marcadores (soluto) como acetona apresentam interações com a FE, mas são ainda melhores que marcadores carregados. Uracila é bastante conveniente em fase reversa e facilmente detectável em 254 nm [58]. Nitrometano é também conveniente nestes sistemas, porém a FM deve conter apenas metanol ou acetonitrila puros [57]. O uso de D₂O é muito adequado em fase reversa e FMs aquosas, porém sua detecção deve ser feita por índice de refração [58]. Tendo em vista as dificuldades em se obter um t_M verdadeiro e a praticidade em se usar o próprio metanol, julgou-se suficiente usar esta estimativa de t_M .

5.3. - Análises de produtos de radiólise de CBr₄/CCl₄ através da CLAE.

Amostras produzidas pela radiólise de soluções diluídas de CBr₄ em CCl₄, feitas por Bertran [1] e que se encontravam já disponíveis no laboratório, foram analisadas através da CLAE, nas condições de análise desenvolvidas para a separação destes produtos (seção 5.2).

As amostras foram preparadas a 3% de CBr₄, seladas sob vácuo e irradiadas com diferentes doses:

Amostra	dose (kGy)
1	1,0
2	2,5
3	30,0
4	50,0

As amostras foram analisadas por CG[1] e posteriormente estocadas a 77K, até serem analisadas por CLAE.

Os cromatogramas referentes a estas análises são mostrados nas Figs. 5.26 a 5.29, respectivamente.

Amostras similares a estas já foram analisadas através da CG/EM [1] e revelaram a presença de grandes quantidades de CBr_3Cl e CBrCl_3 , além de CBr_2Cl_2 , C_2Br_4 e C_2Cl_6 , contendo ainda CBr_4 e CCl_4 .

Os resultados obtidos pela CLAE mostraram a presença de apenas três compostos, dois dos quais foram identificados, por adição de padrão, como sendo CBr_4 e CCl_4 . Comparando com os cromatogramas obtidos por Bertran (Fig. 5.30), nota-se a ausência de sinais para CBrCl_3 ou CBr_2Cl_2 , sendo que a adição destes padrões à amostra produziu dois novos picos. A ausência destes compostos é provavelmente relacionada com o método usado para eliminar o excesso de CCl_4 , que foi a evaporação, pois estes compostos são bastante voláteis. O pico entre CBr_4 e CCl_4 (Figs. 5.26 a 5.29) foi atribuído ao CBr_3Cl , composto identificado inicialmente [1] por correlação de sua retenção relativa como composto contendo três bromos e posteriormente confirmado nos produtos de radiólise por CG/EM [1].

Pela correlação obtida por CLAE para o t_R do CBr_3Cl através do gráfico de $\log D_m$ versus. nº de cloros no composto, sua identificação se confirma. O valor do $\log D_m$ previsto pela linha reta:

$$\log D_m = a (\text{nº de cloros}) + b$$

$$a = 0,0178 \quad b = 0,8242 \quad r = 0,9985$$

é igual a 0,8419, sendo o valor observado 0,8420 (Fig. 5.31).

Nenhum composto peralogenado C_2 foi observado, nem saturado, nem insaturado. Provavelmente, a sensibilidade do sistema de detecção usado não foi suficiente para detectar estes compostos que se en

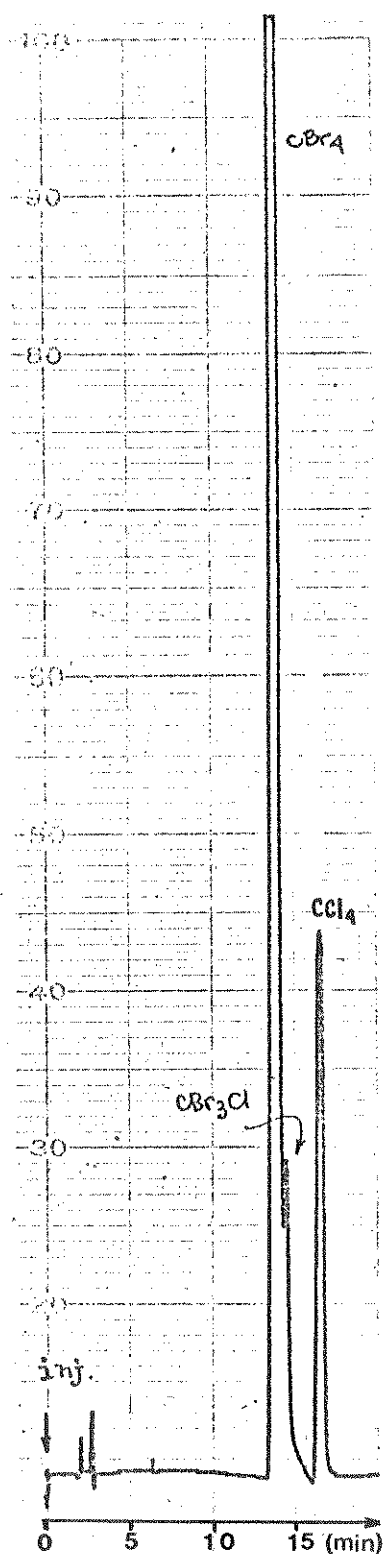


Figura 5.26. - Cromatograma obtido com a coluna 5, na análise da amostra produzida pela radiólise, com 1 kGy, de CBr_4 em CCl_4 . FM: MeOH/ H_2O 65:35; vazão da FM: $1,0^2$ mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm.

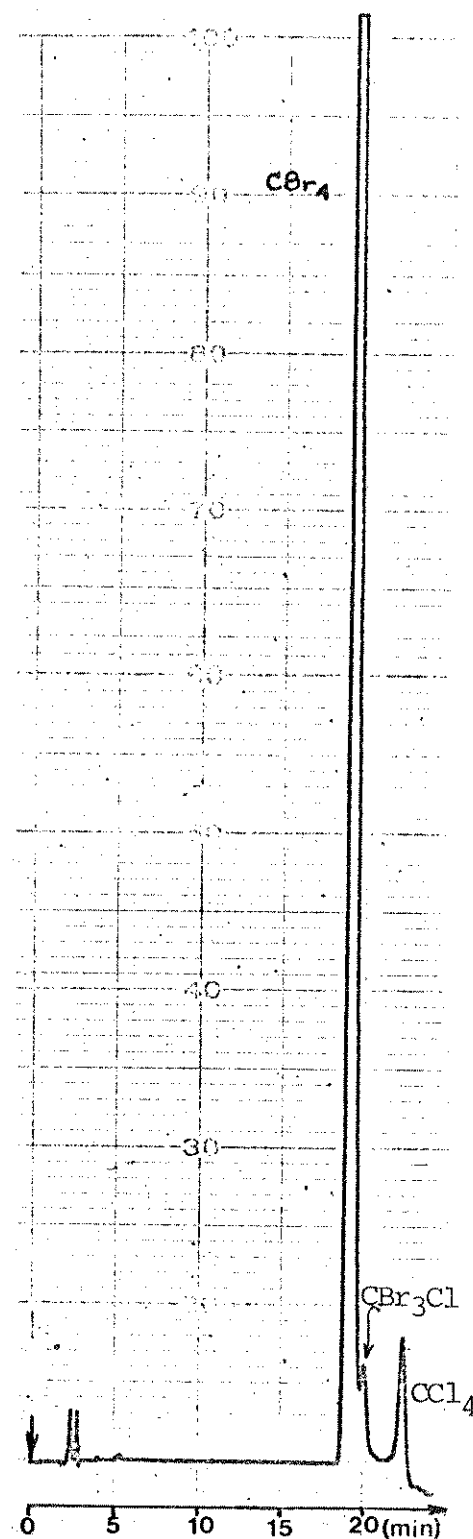


Figura 5.27. - Cromatograma obtido com a coluna 5, na análise da amostra produzida pela radiólise com 2,5 kGy, de CBr_4 em CCl_4 . FM: MeOH/ H_2O 63:37; vazão da FM: $0,9^2$ mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm.

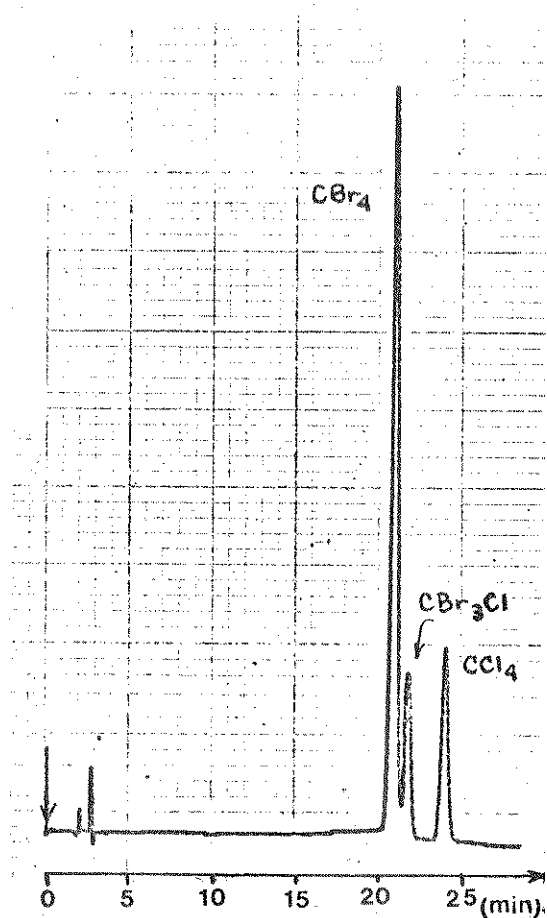


Figura 5.28. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na análise da amostra obtida pela radiólise, com 30 kGy, de CBr_4 em CCl_4 . FM: $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 63/37; vazão da FM: 0,9 mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm

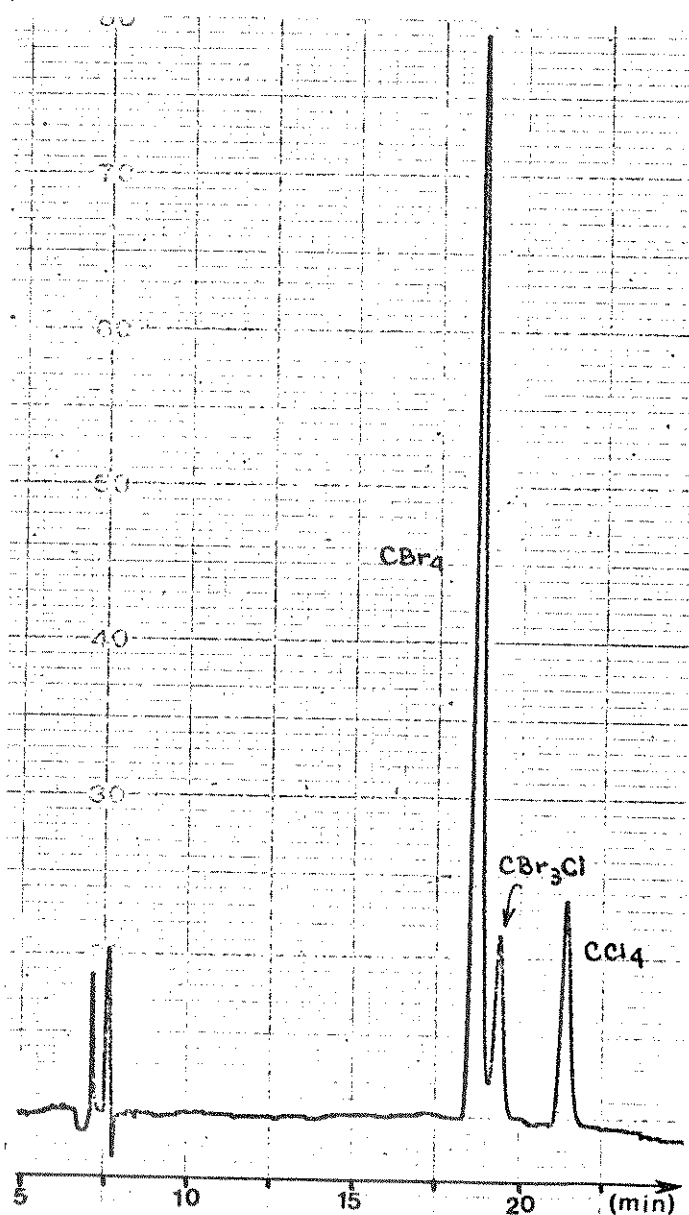


Figura 5.29. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na análise da amostra obtida pela radiólise, com 50 kGy de CBr_4 em CCl_4 . FM: $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ 65:35; vazão da FM: 1,0 mL/min; vol. inj.: 10 μL ; detecção: 220 nm.

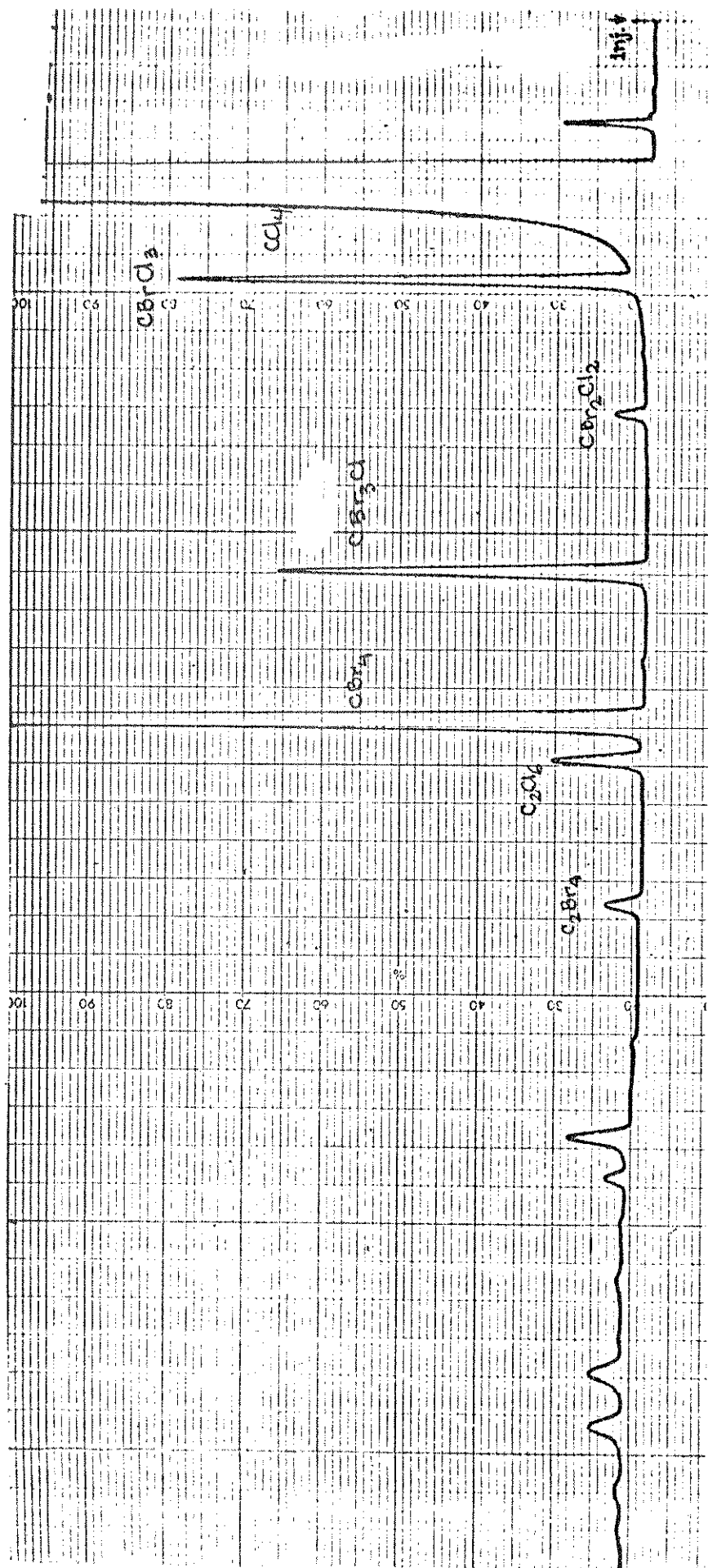
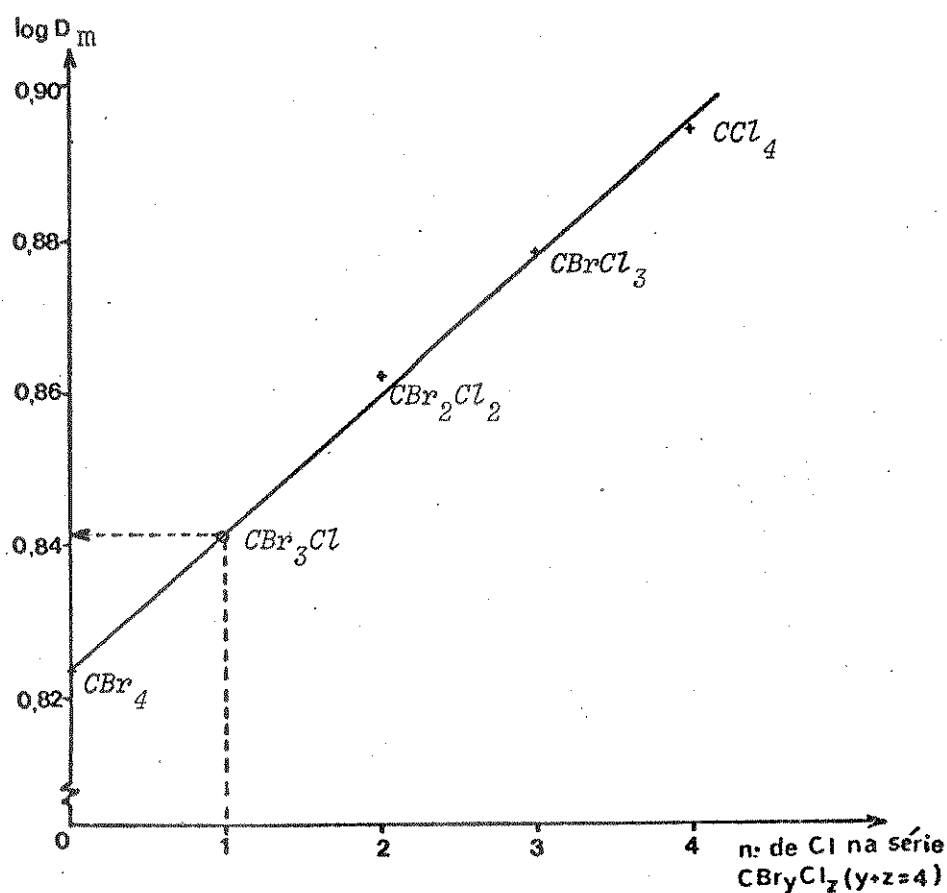


Figura 5.30. - Cromatograma obtido por CG na análise da amostra obtida pela radiólise, com 30 kGy, de CBr_4 em CCl_4 (mesma amostra analisada por CLAE da Fig. 5.28) feito por Bertran [1]. Coluna de vidro de 1,8 m x 2 mm, recheada com 20% de SP 2100 + 0,1% de Carbowax 1500/Supelco-pot 100-120; FM: $N_2/H_2/Ar$ 30:30; Vazão: 300 mL/min; Detector: FID 200°C; Injetor: 150°C; Programação: 40 a 180°C a 4°C/min; Vol.inj.: 1,8 μ L



$\log D_m$	nº cloros
0,823	0
0,842	1
0,862	2
0,878	3
0,894	4

Figura 5.31. - Identificação do CBr_3Cl através da correlação do t_R pela curva $\log D_m \times$ nº cloros na série $CBr_yCl_z (y+z=4)$. O t_R pelo cromatograma (Fig. 5.32) foi 19,57 min e o t_R interpolado, 19,56 min.

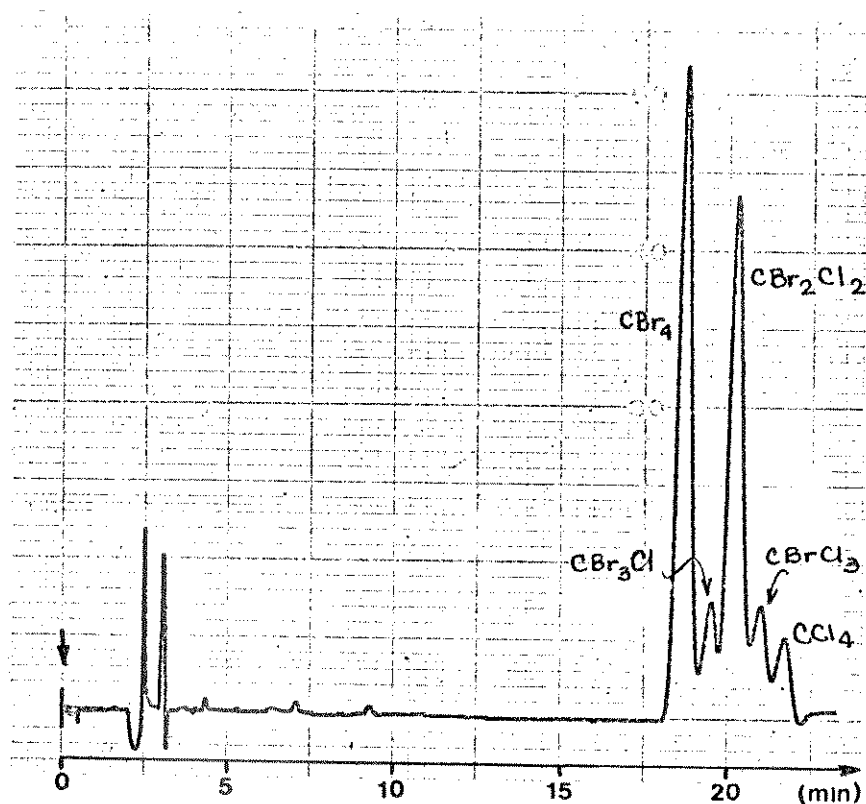


Figura 5.32. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na análise da mistura padrão de C_1 (amostra de CBr_4 em CCl_4 , irradiada com 50 kGy + CBr_2Cl_2 + $CBrCl_3$). FM: MeOH/ H_2O 63:37; vazão da FM: 0,8 mL/min; Vol. inj.: 10 μ L; detecção: 220 nm.

contram em concentrações muito baixas, em relação ao CBr_4 ou CCl_4 (Fig 5.30). O detector usado em CLAE foi por absorbância no UV, que é bem menos sensível que os detectores por fotoionização ou por ionização em chama, usados nas análises por CG. Outro fator a ser considerado é o das doses fornecidas para as amostras analisadas por CLAE, que foram menores do que as usadas nas análises por CG/EM, fator este diretamente relacionado com a quantidade de produtos formados.

A amostra 4, submetida à maior dose de radiação (50 kGy) das disponíveis (Fig. 5.29), foram adicionados dois padrões: CBr_2Cl_2 e CBrCl_3 . A amostra resultante constituiu-se, então, numa mistura padrão, contendo os cinco peralogenados C_1 possíveis. Esta mistura foi analisada nas condições otimizadas anteriormente (Seção 5.2) para se obter uma confirmação sobre a previsão da separação feita.

Como pode ser visto na Fig. 5.32, a resolução da amostra contendo os cinco compostos C_1 foi bastante prejudicada e muito inferior àquela conseguida para os padrões (Fig. 5.24). As resoluções 0,92; 0,82; 0,84 e 0,74 para os compostos, em ordem de eluição, foram muito baixas e poderiam originar muito erro, quando se fizesse análise quantitativa. Entretanto, para uma análise qualitativa, para simples identificação, estes valores de resolução ainda são aceitáveis.

O fator tempo de uso para esta coluna parece ter sido muito significativo na perda de sua eficiência, que, como consequência, prejudicou as separações e a resolução.

Também as concentrações dos componentes da mistura dos cinco C_1 estavam muito diferentes entre si, o que prejudicou a visualização da separação, devido às sobreposições dos picos mais pronunciadas.

Num caso como este, de deterioração da coluna durante os

experimentos, marcada pela perda de eficiência, algumas alternativas são possíveis: a confecção de uma nova coluna com idênticas características, o uso de uma outra composição de FM, mais adequada para as separações dos componentes com resolução prejudicada, sem contudo diminuir muito a resolução dos compostos com separação já otimizadas ou a análise dos três grupos separadamente, com as composições de FM mais adequadas para cada um dos grupos, como já feito para as análises nas colunas 1 e 3 ou o recondicionamento da mesma coluna.

5.4. - Síntese Fotoquímica de Compostos Peralogenados.

De maneira geral, os compostos peralogenados, principalmente os saturados e ricos em bromo, são bastante instáveis, tanto em presença de luz como de calor, o que pode ser verificado pela coloração amarela que adquirem, após algum tempo em solução, devido à eliminação de Br_2 . Como consequência, são compostos difíceis de serem encontrados no comércio e alguns, como $\text{C}_2\text{Br}_5\text{Cl}$, $\text{C}_2\text{Br}_4\text{Cl}_2$ ou $\text{C}_2\text{Br}_3\text{Cl}_3$, nem mesmo constam de catálogos como K & K, Merck ou Aldrich.

No entanto, quando o que se deseja são misturas de peralogenados, como homólogos em série, estas podem ser facilmente obtidas por reações fotoquímicas, a partir de substratos adequados. A pronta fotodissociação de ligações C-X (X = halogênio) e X_2 , gerando radicais diversos, resulta em diferentes distribuições de produtos, dependendo das condições de fotólise.

A fotólise de soluções diluídas (0,3%) de C_2Br_6 , em presença de Cl_2 , usando CCl_4 como solvente, sob luz UV de uma lâmpada de Vapor de Mercúrio de Alta Pressão (VMAP), produziu misturas de compostos do tipo $\text{C}_2\text{Br}_y\text{Cl}_z$ ($y+z=6$), variando entre $\text{C}_2\text{Br}_3\text{Cl}_3$ até C_2Cl_6 , em

diferentes quantidades, dependendo do tempo de exposição. Alguns destes produtos tiveram suas estruturas confirmadas através de análises por CG/detector de massa, comprovando, assim, a previsão de separação da série homóloga.

As soluções para fotólise foram preparadas em baixas concentrações devido à pequena solubilidade do C_2Br_6 em CCl_4 . Não foi tentado outro solvente, primeiro porque não seria conveniente a interferência devido à geração de outros radicais provenientes de outros elementos e, depois, porque o CCl_4 , mesmo sendo fotolisado, geraria radicais comuns ao meio, não interferindo nos resultados esperados.

A quantidade de Cl_2 adicionado à solução foi controlada pelo tempo de borbulhamento e coloração da solução final, para que as misturas a serem fotolisadas pudessem ser reprodutíveis. Não foi feito um controle mais quantitativo da adição de Cl_2 , se bem que sua quantidade pode ser facilmente estimada através da sua solubilidade em CCl_4 . A $20^\circ C$ e 1 bar de pressão, cada grama de CCl_4 pode dissolver até 0,0825g de Cl_2 [59]. Considerando que a temperatura no laboratório, durante o período de trabalho, foi de aproximadamente $20^\circ C$ e a pressão, de aproximadamente 1 bar, pode-se adotar esta concentração de cloro como a máxima concentração que se poderia obter.

A lâmpada usada na fotólise (VMAP) tem espectro de emissão praticamente contínuo, indo de 248 até 690 nm, sem a emissão de 254 nm [54]. Esta faixa de espectro de emissão é o resultado de um espectro filtrado, tanto pela espessa parede de vidro como também pela solução de $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ que recobre o vidro.

A velocidade de emissão é da ordem de 10^{14} - 10^{15} fótons/s, sendo que poucos minutos são suficientes para produzir resultados desejáveis.

Apesar de todos os cuidados tomados durante a preparação das ampolas, com relação à luz, os resultados obtidos para a solução de referência (submetida à mesma sequência de processos da amostra, exceto a fotólise) mostraram que houve decomposição do C_2Br_6 , formando produto de eliminação de bromo, o C_2Br_4 . Como o C_2Br_6 é bastante sensível à luz, é provável que esta decomposição tenha sido causada pela luz da chama do maçarico, durante a selagem das ampolas. Outra possibilidade seria que, através do contato entre os reagentes já se iniciasse uma reação, antes mesmo de se submeter à fotólise.

De qualquer modo, a partir daí, as ampolas foram fechadas apenas com uma rolha adequada e não mais seladas com maçarico. Este procedimento reduziu bastante a quantidade de produto C_2 insaturado, porém não eliminou completamente este tipo de decomposição. No entanto, é provável que a origem deste produto de decomposição esteja no próprio padrão, que, com o tempo, começa a apresentar este tipo de reação.

Após a fotólise, produtos como Br_2 e o excesso de Cl_2 e CCl_4 foram eliminados através de evaporação, sob ventilação (capela), ao abrigo da luz. O uso de vácuo, como já foi usado por Bonato[3], pode acelerar o processo de evaporação, mas pode também provocar a perda de material, visto que os produtos são voláteis. A eliminação de CCl_4 foi muito conveniente, pois evitou que a coluna ficasse saturada, prejudicando a análise.

Não foi feito um estudo mais quantitativo destes processos de fotólise porque o interesse, na verdade era a obtenção de soluções contendo misturas de compostos peralogenados e em concentrações aproximadamente iguais. Para isso, os experimentos foram feitos de maneira que pudessem ser apenas reprodutíveis.

Diversos experimentos, sob diferentes condições, foram feitos a fim de se obter uma distribuição uniforme de produtos. Soluções a 0,3% de C_2Br_6 em CCl_4 foram fotolisadas a 10 cm da fonte por 20 min. (Fig. 5.33) e por 30 min (Fig. 5.34). Também soluções a 2% foram fotolisadas, a igual distância, por 30 min (Fig. 5.35). As soluções mais diluídas produziram melhores distribuições de produtos, resultando, principalmente, em compostos clorados, sendo o C_2Br_6 quase que totalmente consumido. Em soluções mais concentradas, os produtos mais ricos em bromos predominaram, não havendo formação do C_2Cl_6 e ainda com uma considerável quantidade de C_2Br_6 restando após a fotólise.

Os compostos para os quais havia padrões disponíveis, como $C_2Br_2Cl_4$ e C_2Cl_6 , foram identificados através de seus t_R s, pelo método de adição de padrão. Uma confirmação também foi obtida através de análise dos produtos de fotólise por CG/detector seletivo de massas (DSM). A Fig. 5.36 indica o cromatograma obtido, registrando a corrente total dos íons produzidos na fragmentação. As Figs. 5.37 a 5.40 mostram os espectros de massa correspondentes aos picos com t_R s de 9,440 min, 11,138 min e 13,675 min.

A fragmentação de compostos halogenados é bem característica devido às contribuições isotópicas dos halogênios presentes, sendo também o pico do íon molecular e seus subseqüentes, com massas maiores alternadas, muito importantes na sua identificação [60]. No entanto, compostos peralogenados apresentam o íon molecular muito pouco intenso, muitas vezes imperceptível, sendo identificados, principalmente, por seus fragmentos que formam séries distintas de multipletes [61] e também rearranjos característicos [62]. Um importante fragmento deste tipo de compostos é o íon $X_2C = X^+$, muito útil na

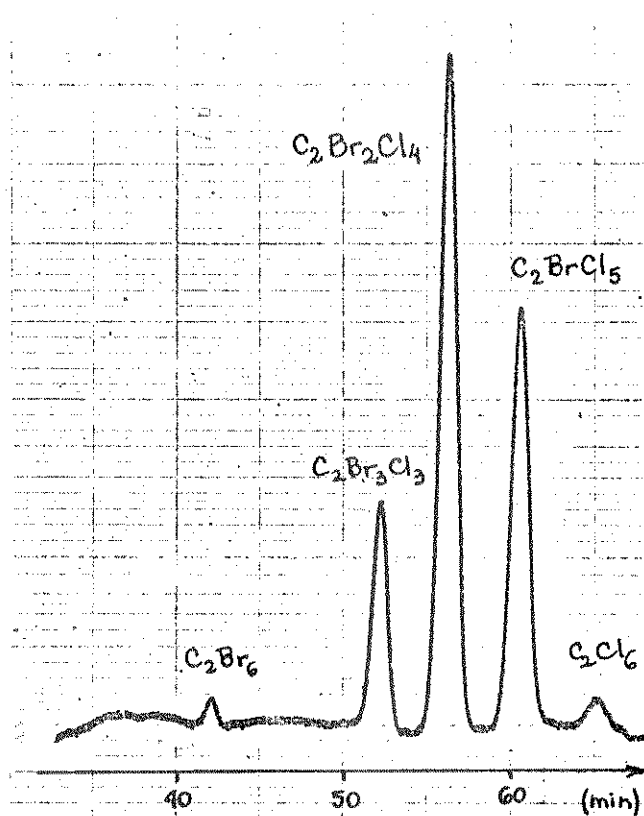


Figura 5.33. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na análise dos produtos de fotólise de C_2Br_6/Cl_2 em CCl_4 , por 20 min, a 10 cm da fonte, (solução a 0,3%). FM: MeOH/ H_2O 63:37; vazão da FM: 0,8 mL/min; vol. inj.: 20 μ L; detecção: 220 nm.

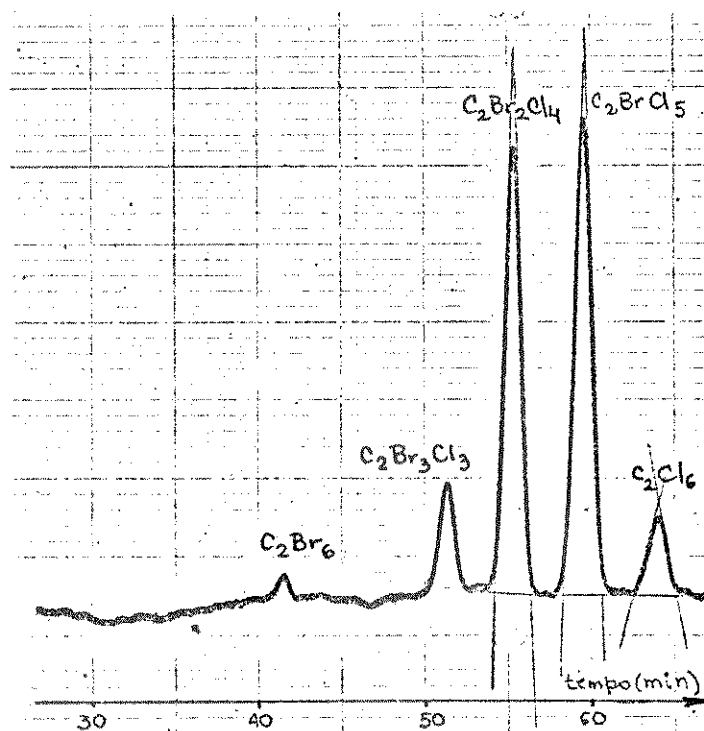


Figura 5.34. - Cromatograma obtido com a coluna 5 na análise dos produtos de fotólise de C_2Br_6/Cl_2 em CCl_4 , por 30 min, a 10 cm da fonte (solução a 0,3%). FM: MeOH/ H_2O 63:37; vazão da FM: 0,9 mL/min; vol. inj.: 20 μ L; detecção: 220 nm.

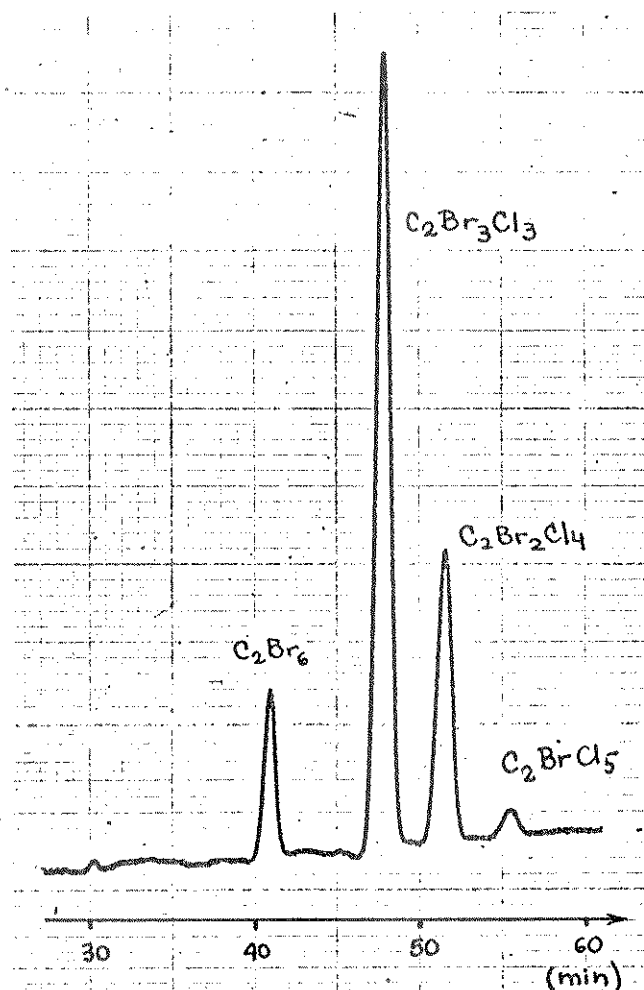


Figura 5.35. – Cromatograma obtido com a coluna 5 na análise dos produtos de fotólise de C_2Br_6/Cl_2 em CCl_4 , por 30 min, a 10 cm da fonte (solução a 2%). FM: MeOH/ H_2O 63:37; vazão da FM: 0,9 mL/min; vol. inj.: 20 μ L; detecção: 220 nm.

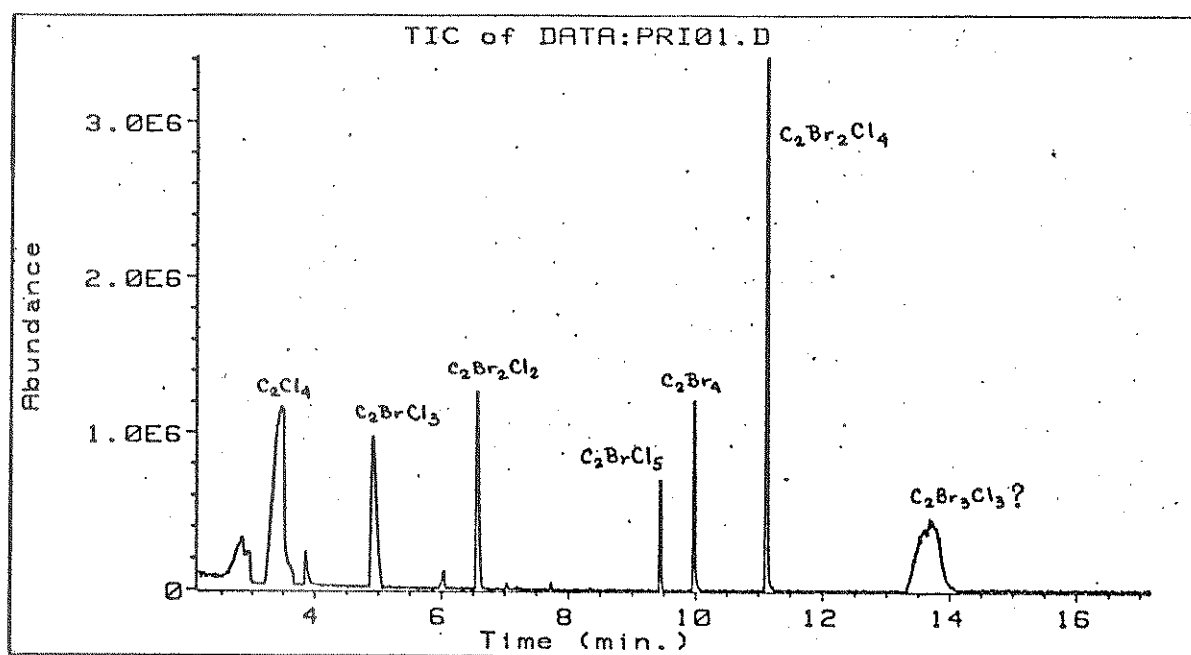
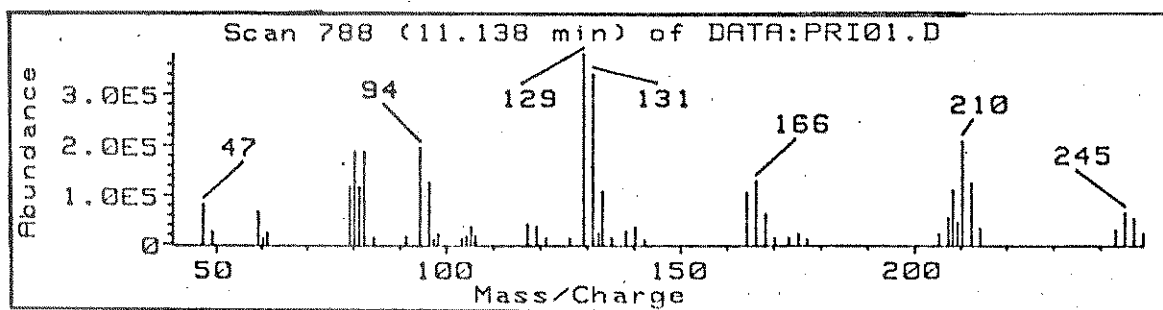


Figura 5.36. – Cromatograma obtido por CG na análise dos produtos de fotólise do C_2Br_6/Cl_2 em CCl_4 , por 30 min, a 10 cm da fonte (solução a 2%). Coluna capilar de sílica fundida de 25 x 0,2 mm x 0,33 μ m (filme a 5% de fenilmetilsilicone); FM: H_2 ; vazão da FM: 60 mL/min; detector seletivo de massas (corrente iônica total); injetor: 300°C; programação: 40 a 140°C a 10°C/min; vol. inj.: 0,4 μ L



.107.

Figura 5.37. - Espectro de massa do $C_2Br_2Cl_4$, correspondente ao pico $t_R = 11,138$ min do cromatograma da Fig. 5.36

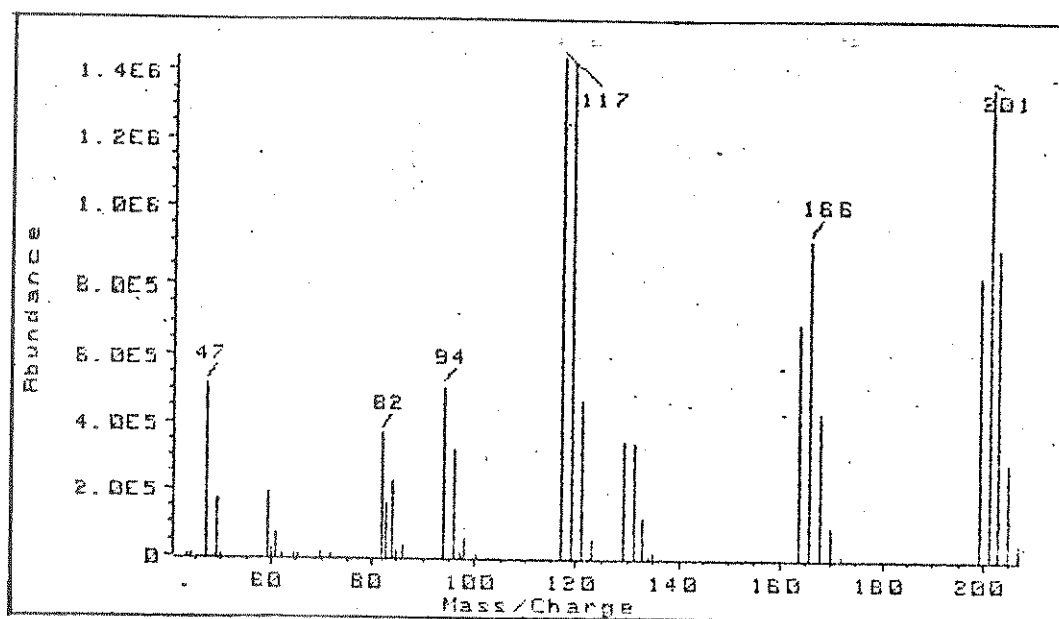


Figura 5.38. - Espectro de massa do C_2Cl_6 padrão

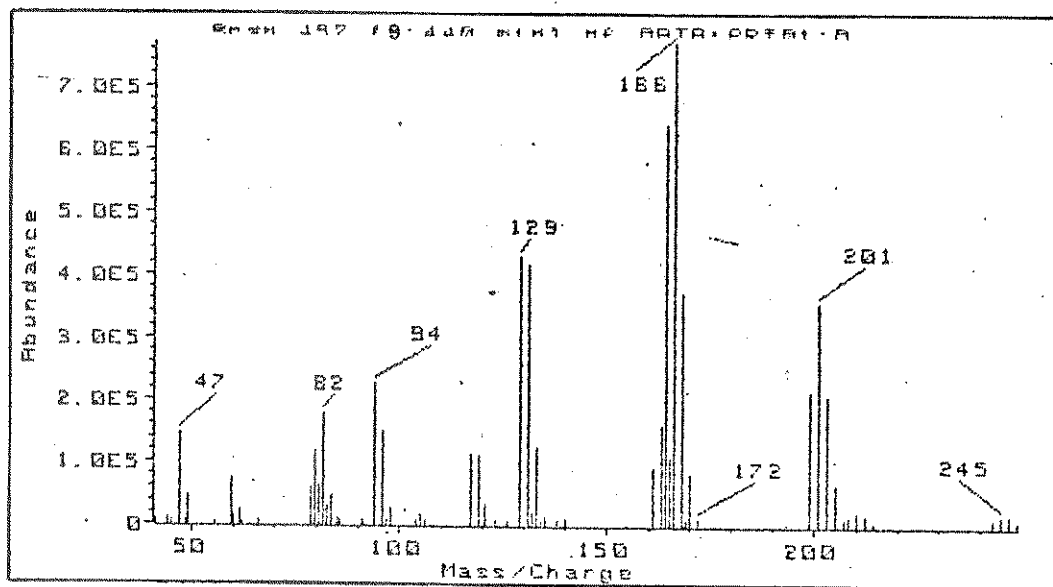


Figura 5.39. - Espectro de massa do C_2BrCl_5 , correspondente ao pico com $t_R = 9,440$ min do cromatograma da Fig. 5.36

identificação dos produtos.

Os fragmentos $C_2BrCl_4^+$, $C_2BrCl_3^+$, $C_2Cl_4^+$, $C_2Cl_3^+$ e Br^+ , de massas 245, 210, 166, 129 e 79 (respectivamente), característicos do $C_2Br_2Cl_4$, podem ser observados na Fig. 5.37. A confirmação da identidade do C_2BrCl_5 é indicada pelos fragmentos $C_2Cl_5^+$ e Br^+ de massas 201 e 79, diferindo do espectro do C_2Cl_6 (Fig. 5.8) pela presença do íon Br^+ (M/Z 79/81), ausente neste último. Os dados relativos à abundância dos fragmentos do espectro da Fig. 5.39 podem ser vistos na Fig. 5.41.

Não foi possível obter uma confirmação da fórmula molecular do $C_2Br_3Cl_3$ por este método, pois os dados do espectro de massa (Fig. 5.40) não correspondem ao esperado, dificultado ainda pelo fato deste composto ter sofrido decomposição nas condições de análise, além da possibilidade de se tratar de uma mistura de isômeros. A suspeita de decomposição em análises por CG (Fig. 5.36) foi baseada no fato de que na análise por CLAE desta mesma mistura (Fig. 5.35) nenhum composto C_2 insaturado foi identificado (t_R previsto entre 37 e 40 min) enquanto que na análise por CG vários C_2 insaturados foram observados (Figs. 5.42 a 5.45). A origem dos C_2 insaturados observados na CG é, provavelmente, a decomposição térmica na injeção ou durante a análise dos compostos C_2 saturados, dotados de maior nº de átomos de bromo. O pico observado na CG (Fig. 5.36) com t_R de 13,675 min e com EM (Fig. 5.40), cujos principais fragmentos são, $C_2Br_2Cl_2^+$ ($M/Z = 256$), $C_2BrCl_2^+$ ($M/Z = 175$), HBr^+ ($M/Z = 80/82$) e Br^+ ($M/Z = 79/81$), indica que, provavelmente, trata-se de um conjunto de compostos.

A identificação do pico com t_R de 51,38 min na Fig. 5.34 foi feita por interpolação. A Fig 5.46 mostra o gráfico de $\log D_m$ versus

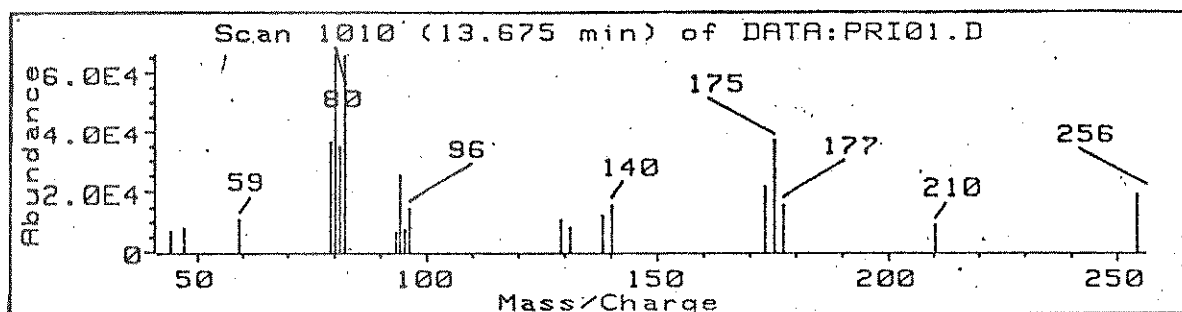


Figura 5.40. - Espectro de massa correspondente ao pico com $t_R = 13,675$ min no cromatograma da Fig. 5.36

Scan 457 (9.440 min) of DATA:PRI01.D

m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
41.00	7573	82.95	29368	125.95	5152	170.00	79720
44.00	10548	83.95	46464	129.05	427584	172.10	8222
45.00	5459	85.05	8359	131.05	413952	199.05	213760
47.00	145088	85.95	6012	132.15	18448	201.05	354688
48.10	7720	91.00	7826	133.05	124000	203.05	206912
49.00	44976	94.00	224448	134.05	7805	205.05	64872
55.15	3287	96.00	146688	135.05	13195	207.05	10693
59.05	73288	97.10	8781	137.95	6804	208.05	11543
59.95	12874	98.00	26128	139.95	9824	210.05	20176
61.05	21656	104.10	6248	161.00	90064	212.05	15122
61.95	4353	105.00	15413	163.00	157376	214.05	4462
65.55	5737	106.00	7657	164.00	636736	243.00	8222
78.95	59640	117.00	113392	165.10	105680	245.00	17232
79.95	116824	119.00	108880	166.00	769600	247.00	15413
80.95	60784	120.90	32032	168.00	370432	249.00	6601
81.95	175872	123.00	5865	169.10	14203		

Figura 5.41. - Abundâncias relativas dos íons referentes ao espectro de massa do C_2BrCl_5 da Fig. 5.39.

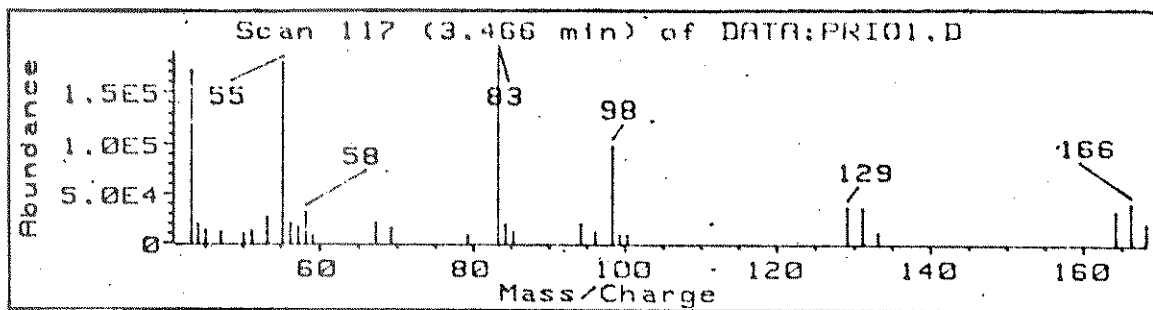


Figura 5.42. - Espectro de massa do C_2Cl_4 , correspondente ao pico com $t_R = 3,466$ min no cromatograma da Fig. 5.36.

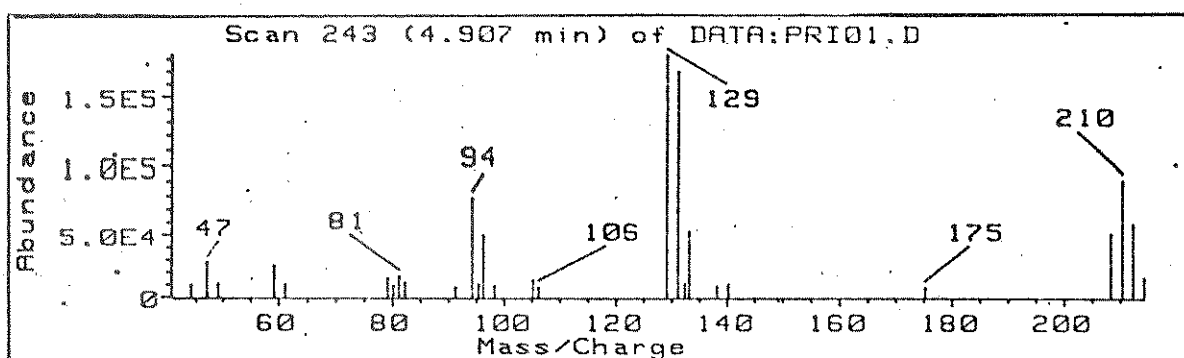


Figura 5.43. - Espectro de massa do C_2BrCl_3 , correspondente ao pico com $t_R = 4,907$ min no cromatograma da Fig. 5.36.

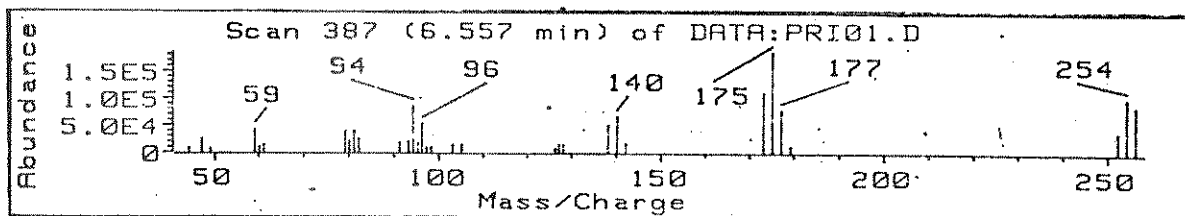


Figura 5.44. - Espectro de massa do $C_2Br_2Cl_2$, correspondente ao pico com $t_R = 6,557$ min no cromatograma da Fig. 5.36.

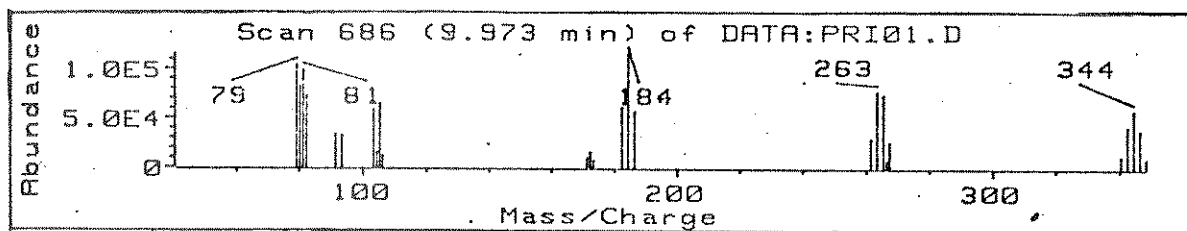


Figura 5.45. - Espectro de massa do C_2Br_4 , correspondente ao pico com $t_R = 9,973$ min no cromatograma da Fig. 5.36.

o nº de cloros para os C₂ saturados. Para este gráfico, o composto C₂BrCl₅ foi considerado um padrão, pois sua identificação já foi feita através do EM. Utilizando os compostos padrões, uma linha reta é obtida, descrita por:

$$\log D_m = a (\text{nº de Cloros}) + b, \text{ com}$$

$$a = 0,03289, \quad b = 1,2592 \text{ e } r = 0,9994$$

Os valores de $\log D_m$ e t_R obtidos na correlação para o C₂Br₃Cl₃ (Fig. 5.46) com nº de Cloros = 3 (t_R = 51,52 min) corresponde, com menos de 1% de desvio, ao valor medido no cromatograma (t_R = 51,38 min), o que prova a validade deste método de identificação desta série de peralogenados.

As resoluções obtidas na separação destes compostos foram muito boas [$R_s(\text{C}_2\text{Br}_3\text{Cl}_3/\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4) = 1,71$; $R_s(\text{C}_2\text{Br}_2\text{Cl}_4/\text{C}_2\text{BrCl}_5) = 1,75$ e $R_s(\text{C}_2\text{BrCl}_5/\text{C}_2\text{Cl}_6) = 1,95$], sendo todos os compostos resolvidos na linha de base (Fig. 5.34). Com isto, fica confirmada a previsão de separação feita anteriormente para estas separações através de padrões, com o uso do nº de separação, Tz, sendo extensível para outros compostos para os quais não há padrões disponíveis.

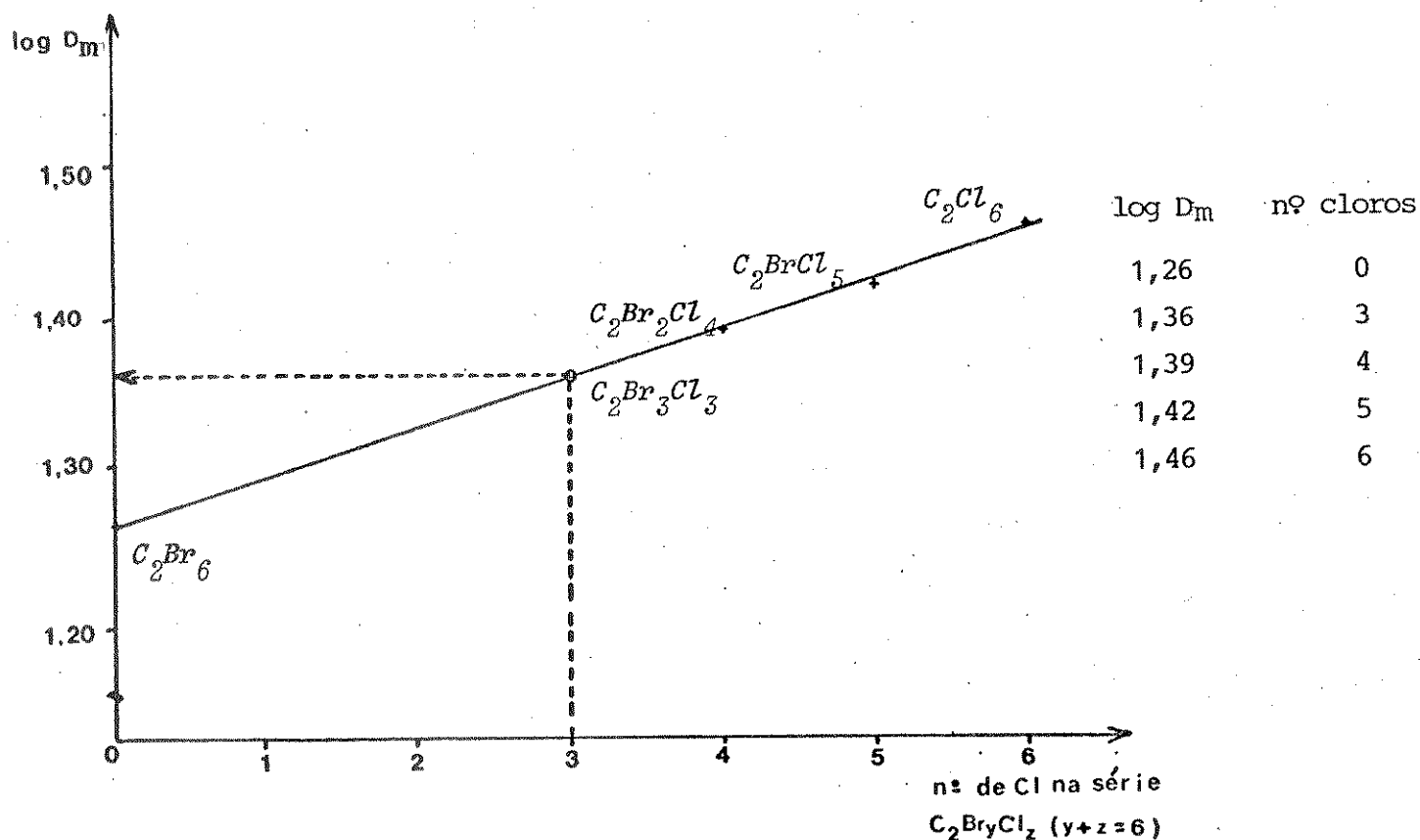


Figura 5.46. - Identificação do $C_2Br_3Cl_3$ através da correlação do t_R pela curva $\log D_m \times$ nº de cloros na série $C_2Br_yCl_z$ ($y+z = 6$). O t_R obtido no cromatograma (Fig. 5.34) foi 51,38 min e o t_R interpolado, 51,52 min.

CAPÍTULO 6

Conclusões

A análise completa de compostos peralogenados do tipo $C_xBr_yCl_z$ ($x = 1$ ou 2 ; $y + z = 4$ ou 6) pode ser realizada por CLAE empregando uma única fase estacionária (FE), do tipo reversa e fase móvel (FM) polar, consistindo de misturas $MeOH/H_2O$, em diferentes composições.

Devido à grande diferença de polaridade entre os compostos, que por isso foram divididos em três grupos (C_1 , C_2 insaturados e C_2 saturados), foi necessário o emprego de duas (ou até três, em colunas menos eficientes) composições diferentes de FM, para se ter sucesso na separação de todos os possíveis compostos.

O uso de gradiente de eluição para estas separações poderá não levar a resultados esperados, uma vez que inversões nos tempos de retenção (t_R) de compostos C_1 e C_2 insaturados ocorrem à medida que a polaridade de FM é modificada (comparar Figs. 5.18 a 5.22).

A fotólise de soluções de C_2Br_6/CCl_4 em presença de Cl_2 , por sua praticidade, constitui-se num método muito útil para os propósitos de obtenção de misturas de peralogenados que podem ser usados como padrões para integração de séries homólogas de peralogenados.

O método da interpolação dos t_R s em uma dada série homóloga mostrou-se de grande validade na identificação de compostos C_1 e C_2 saturados, sendo também aplicável na identificação de outros compostos peralogenados para os quais ainda não se dispõe de padrões.

O método de análise por CLAE de compostos peralogenados, produtos de reações de radiólise e/ou termólise de soluções de CBr_4 foi desenvolvido. Entretanto, para que seja aplicável, maior aperfeiçoamento

mento no sistema de detecção se faz necessário.

O uso de sistemas de detecção mais sensíveis como o detector de radioatividade para compostos radiomarcados, são alternativas viáveis e que podem trazer bons resultados, também o emprego de microcolunas para CLAE pode aumentar bastante a sensibilidade de detecção do sistema empregado, pois necessitam menores quantidades de amostras e os componentes da mistura são eluídos em bandas mais estreitas.

Outra alternativa para se melhorar a sensibilidade de detecção seria o uso de detecção fotométrica indireta sobre a qual muitos estudos vêm sendo feitos atualmente [63], sendo bastante úteis nos casos de amostras com baixa absorção no UV.

O uso contínuo das colunas para CLAE pode levar, em alguns casos, a sérios prejuízos da eficiência das mesmas, sendo recomendável que se faça avaliações de eficiência periodicamente, no caso de trabalhos contínuos com a mesma coluna, considerando que simples recondiç^o namentos são sempre mais práticos do que a preparação de uma nova coluna.

APÊNDICE I

O parâmetro de solubilidade de Hildebrand, δ , define uma escala quantitativa de polaridades de solventes, com os seguintes itens [11]:

- I) parâmetro de solubilidade calculado a partir do ponto de ebulição
- II) parâmetro de dispersão
- III) parâmetro de orientação (polar)
- IV) parâmetro de próton-aceptor
- V) parâmetro de próton-doador
- VI) viscosidade (cP, 20°C)

De acordo com esta teoria, de distribuição de uma molécula de amostra, X, entre a FM e a FE é dada pelos parâmetros de solubilidade de X (δ_X), E (δ_E), M (δ_M) e o volume molal de X ($V \bar{X}$):

$$\log \frac{X_E}{X_M} = \frac{V \bar{X} [(\delta_X - \delta_M)^2 - (\delta_E - \delta_X)^2]}{2,3 RT}$$

onde R é a constante dos gases e T, a temperatura em Kelvin.

Quando o parâmetro de solubilidade de X (δ_X) está no meio, entre os da FM e da FE ($\delta_X - \delta_M = \delta_E - \delta_X$), X será distribuído igualmente entre as fases e se $V_E = V_M$, $D_m = 1$. Aumentando o parâmetro de solubilidade do solvente, δ_M , (isto é, diminuindo $\delta_X - \delta_M$), diminui $\frac{[X_E]}{[X_M]}$ e D_m e vice-versa para diminuição de δ_M .

O parâmetro de Hildebrand, δ , pode ser desmembrado em quatro tipos de interações: δ_d , interações de dispersão; δ_o , interações de dipolo; δ_a , interações de hidrogênio, refletindo a habilidade do solvente em funcionar como doador de prótons e δ_b , interações de hidrogê

nio, refletindo a habilidade do solvente em funcionar como acceptor de prótons.

Todos estes fatores refletirão no δ , que, por sua vez, determinará a polaridade do solvente.

APÊNDICE II

Índice de Retenção (Índice de Kovats) [28]

O conceito de índice de retenção foi introduzido por Wehrli e Kovats [64], para auxiliar na confirmação de estruturas moleculares.

Este método foi originalmente aplicado usando uma série de n-alcanos como referência, ao invés de apenas um composto (por exemplo, n-nonano) como no método de retenção relativa.

Por definição, o índice de retenção, I , é o número que relaciona o volume de retenção ajustado de um composto A com o volume de retenção ajustado das n-parafinas. A cada n-parafina é atribuído um índice de 100 vezes o seu número de carbonos. O valor do índice do componente A é obtido por interpolação logarítmica:

$$I = 100 n + 100 \frac{[\log V'_R(A) - \log V'_R(n)]}{[\log V'_R(N) - \log V'_R(n)]},$$

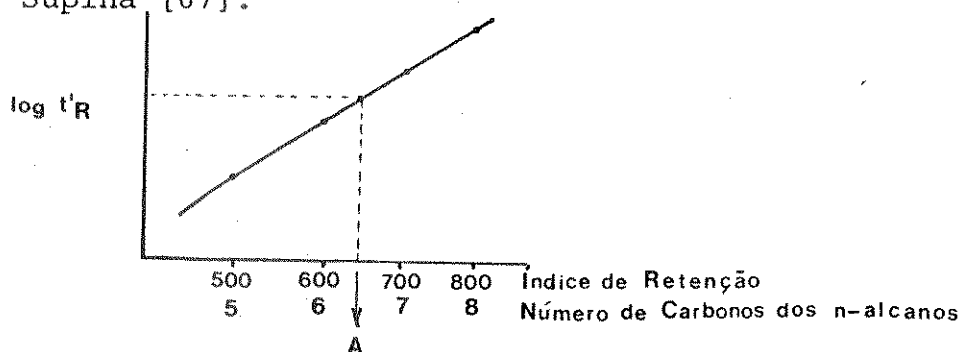
onde n e N são as n-parafinas, menor e maior, respectivamente, mais próximas à substância A e V'_R é o volume de retenção ajustado.

Outra maneira de expressar I é relacioná-lo com o tempo de retenção ajustado, t'_R .

$$I = 100 n + 100 \frac{[\log t'_R(A) - \log t'_R(n)]}{[\log t'_R(N) - \log t'_R(n)]}$$

O valor de I , para um composto desconhecido, A, pode ser obtido através de um gráfico de $\log t'_R$ versus o número de carbonos vezes 100 (Figura abaixo). Para isto, é necessário que o composto A e três n-alcanos, pelo menos um com t_R menor que A e pelo menos um com t_R maior do que A, sejam injetados na coluna, nas mesmas condições experimentais, para que seja reprodutível.

O índice de retenção, I , é também bastante usado para classsi_ficação de fases estacionárias para CG. A comparação dos diferentes valores I , para uma determinada série de padrões, obtidos em diferen_ tes colunas, auxiliará na obtenção de escalas de polaridade para es- tas fases estacionárias como as de Mc Reynolds [65] , Rohrschreider [66] ou Supina [67].



Curva do logarítimo do tempo de retenção ajustado versus o índice de retenção, I . O valor de I para o composto desco- nhecido, A , é obtido através da curva, conhecendo-se $t'_R(A)$.

Os padrões normalmente usados na construção das curvas para obtenção de I , na CLAE não são n-alcanos como na CG, provavelmente por problemas de detecção. Compostos freqüentemente usados em CLAE, para este fim, são as cetonas e dois exemplos são: alquil-aril-ceto_ nas [30, 31] e 2-ceto-alcanos[29].

BIBLIOGRAFIA

- [1] Bertran, C.A.; "Radiólise de Soluções Diluídas de CBr_4 em CCl_4 a 0°C : Comparação com a Termólise a Várias Temperaturas" *Tese de Doutorado*, UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1987.
- [2] a. Šístek, I.; Urban, J.; Skřecný; "Radiolysis of Halogenated Hydrocarbons, Part. I". *Ceskoslovenska Akademie Věd, Report ÚJV 2552, Řež, 1970.*
- b. Šístek, I.; Urban, J.; "Radiolysis of Halogenated Hydrocarbons, Part II". *Ceskoslovenska Akademie Věd, Report ÚJV, 2562. Řež, 1971.*
- [3] Bonato, P.S.; "Determinação da Distribuição de Radioatividade nos Produtos Resultantes da Irradiação de Tetrabrometano com Nêutrons, usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência como Método de Análise" *Tese de Mestrado*, UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1983.
- [4] Murta, A.L.M.; "Análises Cromatográficas de Misturas de Compostos $\text{C}_x\text{Cl}_y\text{Br}_z$ ($x = 1$ e 2) Ativos ou sem Atividade" *Tese de Doutorado*, UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1982.
- [5] Valente, A.L.P.; "Desenvolvimento e Avaliação de Métodos Cromatográficos para Compostos do Tipo $\text{C}_x\text{Cl}_y\text{Br}_z\text{H}_n$ " *Tese de Doutorado*, UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1984.
- [6] Tswett, M.; *Ber. Deutch. Botan. Gesell.*, 24 (1906) 316.
- [7] Engelhardt, H.; "High Performance Liquid Chromatography - Chemical Laboratory Practice", Springer - Verlag, Berlin, 1979.
- [8] Murta, A.L.M.; Collins, C.H.; Collins, K.E.; Mc Nair, H.M.; *Quím. Nova*, 4 (1981) 92.

- [9] Collins, C.H.; Braga, G.L.; "Introdução a Métodos Cromatográficos", 2ª Ed., Editora da UNICAMP, Campinas, 1987.
- [10] Snyder, L.R.; "Modern Practice of Liquid Chromatography", John Wiley & Sons, New York, 1971.
- [11] Snyder, L.R.; Kirkland, J.J.; "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1979.
- [12] Poole, C.F.; Schuette, S.A.; "Contemporary Practice of Chromatography", Elsevier, Amsterdam 1984.
- [13] Manfredi, J.F.; Collins, C.H.; Valente, A.L.P.; *Quím. Nova*, 7 (1984) 132.
- [14] Morgan, S.L.; Deming, S.N.; *J. Chromatogr.*, 112 (1975) 267.
- [15] Snyder, L.R.; *J. Chromatogr. Sci.*, 10 (1972) 364.
- [16] Braithwaite, A.; Smith, F.J.; "Chromatographic Methods", Chapman and Hall, London, 1985.
- [17] Jennings, W.; "Gas Chromatography with Glass Capillary Columns", 2nd Ed., Academic Press, New York, 1980.
- [18] Kaiser, R.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 189 (1961) 1.
- [19] Scott, R.P.W.; "Small Bore Liquid Chromatography Columns: Their Properties and Uses", John Wiley & Sons, New York, 1984.
- [20] Scott, R.P.W.; Kucera, P.; *J. Chromatogr.*, 169 (1979) 51.
- [21] Yost, R.W.; Ettre, L.S.; Conlon, R.D.; "Practical Liquid Chromatography", Perkin-Elmer Corp., Norwalk, 1980.
- [22] Vickrey, T.M.; "Liquid Chromatography Detectors", Chromatographic Science Series, Vol. 23, Marcel Dekker Inc., New York, 1983.

- [23] Covey, T.R.; Lee, E.D.; Bruins, A.P.; Henion, J.D.; *Anal. Chem.*, 58 (1986) 1451A.
- [24] Class, Th.; Ballschmiter, K.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 325 (1986) 17.
- [25] Otson, R.; Williams, D.T.; *Anal. Chem.*, 54 (1982) 942.
- [26] Yasuhara, A.; Morita, M.; Fuwa, K.; *J. Chromatogr.*, 328 (1985) 35.
- [27] Fielding, M.; Gibson, T.M.; James, H.A.; Mc Loughling, K.; Steel, C.P.; *Tech. Rep. - Water Res. Cent.*, TR 159, 1981.
- [28] Grob, R.L.; "Modern Practice of Gas Chromatography", 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1985.
- [29] Baker, J.K.; Ma, C.-Y.; *J. Chromatogr.*, 169 (1979) 107.
- [30] Smith, R.M.; *J. Chromatogr.*, 236 (1982) 313.
- [31] Smith, R.M.; Hurdley, T.G.; Gill, R.; Moffat, A.C.; *Chromatographia*, 19 (1984) 401.
- [32] Schwartz, L.L.; Firestone, R.F.; "Radiolysis of dibromodichloromethane and the ⁶⁰Co γ-ray induced exchange between CCl₂Br₂ and Br₂", U.S. At., Energy Comm. Report. TID-16579, Washington, D.C., 1962; C.A.: 59:10909g (1962).
- [33] Fankel, R.; Slad, I.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 313 (1982) 47.
- [34] Kummert, R.; Molnar, E.K.; Giger, W.; *Anal. Chem.*, 50 (1978) 1637.
- [35] Konemann, H.; Zelle, R.; Busser, F.; Hammers, W.E.; *J. Chromatogr.*, 178 (1979) 559.
- [36] Suppan, P.; "Principles of Photochemistry", The Chemical Society, London, 1972.

- [37] Noyes, W.A.; Hammond, G.S.; Pitts Jr., J.N.; "Advances in Photochemistry", vol. 2, John Wiley & Sons, New York, 1964.
- [38] Noller, C.R.; "Química de Los Compuestos Orgánicos", 2ª Ed., Editorial Medico Quirurgico, Buenos Aires, 1968.
- [39] Morrison, R.T.; Boyd, R.N.; "Organic Chemistry", 3rd Ed., Allyn & Bacon, Boston, 1973.
- [40] Moore, W.J.; "Físico-Química", vol. 1, 4ª Ed., Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 1976.
- [41] Zeelenberg, A.P.; *Nature*, 181 (1958) 42.
- [42] Calvert, J.G.; Pitts Jr., J.N.; "Photochemistry", John Wiley & Sons, New York, 1966.
- [43] Rebertus, R.E.; Ausloos, P.J.; *J. Photochem.*, 6 (1976/77) 265.
- [44] Hauteclouque, S.; *J. Photochem.*, 9 (1978) 385.
- [45] Davis, D.D.; Schmidt, J.F.; Neely, C.M.; Hanrahan, R.J.; *J. Phys. Chem.*, 79 (1975) 11.
- [46] Turro, N.J.; Hammond, G.S.; Pitts Jr., J.N.; Valente Jr., D.; "Annual Survey of Photochemistry", vol. 1, John Wiley & Sons, New York, 1967.
- [47] Hauteclouque, S.; Nguyen, T.M.N.; *C. R. Acad. Sc. Paris Serie C*, 273 (1971) 569.
- [48] Seely Jr., L.B.; Willard, J.E.; *J. Am. Chem. Soc.*, 69 (1947) 2061.
- [49] Taubøll, K.; Dahl, J.B.; *Acta Chem. Scand.*, 11 (1957) 1790.
- [50] Young, A.H.; Willard, J.E.; *J. Phys. Chem.*, 66 (1962) 271.
- [51] Higuchi, T.; Endow, N.; Willard, J.E.; *J. Am. Chem. Soc.*, 71 (1949) 365.

- [52] Weast, R.C.; "Handbook of Chemistry and Physics", 58th Ed., The Chemical Rubber Co., Cleveland, 1977/78.
- [53] de Lima, M.A.F.; "Desenvolvimento e Aplicação de Colunas para CLAE e Micro-CLAE", *Exame de Qualificação para o Doutorado*, UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1987.
- [54] De Paoli, M.-A.; Rodrigues, C.F.; *Quím. Nova*, 1 (1) (1978) 16.
- [55] de Azevedo, M.B.M.; "Reatividade de 3-fenil-2H-azarinas-2-acrilatos com Amidinas", *Tese de Mestrado*, UNICAMP, Instituto de Química, Campinas, 1987.
- [56] Krstulović, A.N.; Colin, H., Guiochon, G.; *Anal. Chem.*, 54 (1982) 2438.
- [57] Engelhardt, H.; Müller, H.; Dreyer, B.; *Chromatographia*, 19 (1984) 240.
- [58] Sadek, P.C.; Carr, P.W.; Bowers, L.D.; *LC Mag.*, 3 (1985) 590.
- [59] Taylor, N.W.; Hildebrand, J.H.; *J. Am. Chem. Soc.*, 45 (1923) 682
- [60] Simon, P.C.S.; "Tables of Spectral Data of Structure Determination of Organic Compounds", Springer-Verlag, Berlin, 1983.
- [61] Silverstein, R.M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.C.; "Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos", 3ª Ed., Guanabara, Rio de Janeiro, 1979.
- [62] McLafferty, F.W.; "Interpretation of Mass Spectra", 2nd Ed., W.A. Benjamin, Inc., London, 1973.
- [63] Takeuchi, T.; Ishii, D.; *J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Comm.*, 10 (1987) 571.
- [64] Wehrli, A.; Kovats, E.; *Helv. Chem. Acta*, 42 (1959) 2709

- [65] McReynolds, W.O.; *J. Chromatogr. Sci*, 8 (1970) 685.
- [66] Rohrschreider, L.; *J. Chromatogr.*, 17 (1965) 1; 22 (1966) 6.
- [67] Supina, W.R.; Rose, L.P.; *J. Chromatogr. Sci*, 8 (1970) 214.