

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Química

TESE DE DOUTORADO

1982

ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS DE MISTURAS DE
COMPOSTOS DE FÓRMULA $C_xCl_yBr_z$ ($X=1$ E 2),
ATIVOS OU SEM ATIVIDADE

ANTONIO LEMMI M. MURTA

ORIENTADOR: Professor Dr. Kenneth Elmer Collins.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL



COORDENAÇÃO DOS CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO

UNICAMP AUTORIZAÇÃO PARA QUE A UNICAMP POSSA FORNECER, A PREÇO DE CUSTO, CÓPIAS DA TESE A INTERESSADOS

Nome do Aluno: ANTONIO LEMMI MADUREIRA MURTA

Nº de Identificação: 805030

Endereço para Correspondência: Instituto de Química- UNICAMP

Curso: Doutorado em Química Analítica

Nome do Orientador: Prof.Dr. Kenneth Elmer Collins

Título da Dissertação ou Tese: ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS DE MISTURAS DE COMPOSTOS DE FÓRMULA $C_x Cl_y Br_z$ (X = 1 E 2)ATIVOS OU SEM ATIVIDADE

Data proposta para a Defesa: 28/04/82

(O Aluno deverá assinar um dos 3 itens abaixo)

1) Autorizo a Universidade Estadual de Campinas a partir desta data, a fornecer, a preço de custo, cópias de minha Dissertação ou Tese a interessados.

04/03/82

Data

assinatura do aluno

2) Autorizo a Universidade Estadual de Campinas, a fornecer, a partir de dois anos após esta data, a preço de custo, cópias de minha Dissertação ou Tese a interessados.

1/1

Data

assinatura do aluno

3) Solicito que a Universidade Estadual de Campinas me consulte, dois anos após esta data, quanto à minha autorização para o fornecimento de cópias de minha Dissertação ou Tese, a preço de custo, a interessados.

1/1

Data

assinatura do aluno

Prof. Dr. Kenneth Elmer Collins

À Regina Célia, minha esposa amada, ao Alexandre, Eduardo, Gustavo e Guilherme, meus filhos queridos, que abdicaram do conforto e tranquilidade do nosso lar para me acompanharem nas viagens e mudanças, dando-me apoio e coragem nos momentos difíceis desta jornada. Também àqueles familiares que nos estimularam e apoiaram durante todo este tempo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Kenneth E. Collins, pela dedicada orientação deste trabalho e pela amizade.

Ao Professor Dr. Harold M. McNair, pelo apoio, amizade e orientação na realização dos cursos na Virginia Polytechnic Institute and State University.

À Professora Dra. Carol H. Collins, pelas discussões e colaborações.

Aos colegas da Disciplina de Análise Orgânica do Departamento de Química da UFPr; pelo incentivo e por assumirem as minhas responsabilidades durante a minha ausência.

Aos colegas, professores e funcionários do Instituto de Química da UNICAMP, especialmente aos colegas do grupo de Radioquímica, pela cooperação e amizade.

À Universidade Federal do Paraná, especialmente ao Professor Dr. Milton Giovannoni, que proporcionou a impressão deste trabalho, além de ter demonstrado amizade e estímulo nos momentos difíceis desta jornada.

Ao Professor Dr. Rodolfo G. Berg, pelo incentivo, pelo auxílio na confecção de colunas de fase reversa e pelos solventes doados.

Ao Professor Walter Kugler, pela confecção dos desenhos e revisão parcial do manuscrito.

À Rhodia Indústrias Químicas, Laboratório de Pesquisas, pelo auxílio na confecção de colunas de sílica para CLAE.

Ao Professor Dilermando Brito Filho, por ceder o sistema Finnigan de Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa.

Ao Professor Dr. James McChesney, pela confecção de espectros de massa.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), pela irradiação das amostras no seu reator nuclear.

Ao Centro de Energia Nuclear Aplicada a Agronomia (CENA), pela irradiação de amostras na sua fonte de cobalto-60.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelas bolsas e passagens concedidas.

SUMÁRIO

| | PÁGINA |
|--|--------|
| LISTA DE TABELAS..... | ix |
| LISTA DE FIGURAS..... | x |
| LISTA DE APÊNDICES..... | xv |
| RESUMO | xvi |
| ABSTRACT..... | xviii |
| | |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 1 |
| | |
| 1.1 <u>PARA MÉTODOS RADIOQUÍMICOS.....</u> | 1 |
| 1.1.1 <u>Desenvolvimento da química das radiações.....</u> | 1 |
| 1.1.2 <u>Efeitos químicos nas transformações nucleares.....</u> | 4 |
| 1.1.3 <u>Efeitos físicos nas transformações nucleares..</u> | 8 |
| 1.2 <u>PARA MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....</u> | 15 |
| 1.2.1 <u>Cromatografia gasosa.....</u> | 16 |
| 1.2.1.1 <u>Cromatografia gás-sólido.....</u> | 17 |
| 1.2.1.2 <u>Cromatografia gás-líquido.....</u> | 17 |
| 1.2.1.3 <u>Teoria da Separação.....</u> | 19 |
| 1.2.1.4 <u>Colunas para cromatografia gasosa.....</u> | 29 |
| 1.2.1.5 <u>Fase móvel.....</u> | 34 |
| 1.2.1.6 <u>Sistemas de detecção.....</u> | 35 |
| 1.2.2 <u>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....</u> | 51 |
| 1.2.2.1 <u>Conceitos básicos.....</u> | 51 |
| 1.2.2.2 <u>Cromatografia líquido-sólido (CLS).....</u> | 57 |
| 1.2.2.3 <u>Cromatografia líquido-líquido</u> | 60 |
| 1.2.2.4 <u>Desenvolvimento do processo cromatográfico:</u> <u>otimização das variáveis.....</u> | 64 |
| 1.2.2.5 <u>Detectores para CLAE.....</u> | 69 |
| 1.2.3 <u>Análise qualitativa.....</u> | 72 |
| 1.2.4 <u>Análise quantitativa.....</u> | 73 |

| | PÁGINA |
|---------|---|
| 2 | OBJETIVOS E PLANEJAMENTO 76 |
| 2.1 | OBJETIVOS..... 76 |
| 2.2 | PLANEJAMENTO 77 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS..... 78 |
| 3.1 | PRODUTOS QUÍMICOS..... 78 |
| 3.2 | PURIFICAÇÃO DOS PRODUTOS QUÍMICOS..... 78 |
| 3.3 | SÍNTESE DE MISTURAS DE COMPOSTOS PER-HALOGENA- DOS..... 81 |
| 3.4 | INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA..... 82 |
| 3.4.1 | <u>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE</u> 82 |
| 3.4.1.1 | Equipamento..... 82 |
| 3.4.1.2 | Colunas para cromatografia líquida de alta efi- ciência..... 84 |
| 3.4.2 | <u>Cromatografia Gasosa -CG</u> 84 |
| 3.4.2.1 | Equipamento 84 |
| 3.4.2.2 | Colunas para cromatografia gasosa..... 87 |
| 3.4.3 | <u>Espectrometria no ultravioleta</u> 87 |
| 3.4.4 | <u>Cromatografia Gasosa/Espectrometria de massa - CG/EM</u> 87 |
| 3.4.5 | <u>Sistemas de contagem de radiações</u> 89 |
| 3.5 | SISTEMAS DE IRRADIAÇÃO..... 89 |
| 3.5.1 | <u>Irradiação com luz ultravioleta</u> 89 |
| 3.5.2 | <u>Irradiação com raios gama</u> 89 |
| 3.5.3 | <u>Irradiação com nêutrons térmicos</u> 91 |
| 3.6 | LIMPEZA DOS FRASCOS DE REAÇÃO..... 91 |
| 3.7 | AMPOLAGEM DOS REAGENTES..... 92 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 93 |
| 4.1 | CROMATOGRAFIA GASOSA - CG..... 93 |
| 4.1.1 | <u>Colunas para cromatografia gasosa</u> 94 |
| 4.1.2 | <u>Comparação entre os sistemas de detecção</u> 102 |
| 4.1.3 | <u>Sensibilidade do sistema de cromatografia gasosa: concentração mínima detectável - CMD</u> 109 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 4.1.4 | <u>Influência da vazão da fase móvel na sensibilidade do detector de fotoionização e na eficiência das colunas.....</u> | 109 |
| 4.1.5 | <u>Cromatografia gasosa preparativa</u> | 110 |
| 4.2 | CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA-CLAE | 112 |
| 4.2.1 | <u>Preparo e ativação das colunas de CLAE.....</u> | 113 |
| 4.2.2 | <u>Avaliação da eficiência das colunas: otimização do processo.....</u> | 114 |
| 4.2.3 | <u>Sistemas de detecção para CLAE.....</u> | 118 |
| 4.2.4 | <u>Sensibilidade de detecção do sistema de CLAE: concentração mínima detectável.....</u> | 121 |
| 4.3 | ESPECTROMETRIA DE MASSA DOS COMPOSTOS PER-HALOGENADOS..... | 122 |
| 5 | APLICAÇÕES: AMOSTRAS SEM ATIVIDADE | 125 |
| 5.1 | ANÁLISE DE UMA MISTURA PADRÃO..... | 125 |
| 5.2 | ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE CBr_4 EM CCl_4 (FRAÇÃO MOLAR 0,01) COM LUZ ULTRAVIOLETA, POR CROMATOGRAFIA GASOSA..... | 130 |
| 5.3 | ANÁLISE QUALITATIVA DA MISTURA DE COMPOSTOS PER-HALOGENADOS OBTIDA POR REAÇÃO TERMOQUÍMICA ENTRE CBr_4 E CCl_4 , NA PRESENÇA DE ALUMÍNIO..... | 133 |
| 5.4 | IRRADIAÇÃO DE SOLUÇÕES CBr_4 EM CCl_4 com raios GAMA..... | 137 |
| 6. | APLICAÇÕES: AMOSTRAS RADIOATIVAS..... | 152 |
| 6.1 | ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DE CBr_4 (NO ESTADO SÓLIDO) POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - CLAE..... | 152 |
| 6.2 | ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DE SOLUÇÕES DE CBr_4 em CCl_4 COM NÊUTRONS TÉRMICOS.. | 154 |

| | | |
|-----|---|-----|
| 6.3 | ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DO $C_2Cl_4Br_2$ (NO ESTADO SÓLIDO) COM NÊUTRONS TER- MICOS..... | 162 |
| 6.4 | REAÇÕES DE TROCA NO SISTEMA CROMATOGRÁFICO... | 165 |
| 7 | SUMÁRIO DOS MÉTODOS DE ANÁLISE..... | 167 |
| 8 | CONCLUSÃO..... | 172 |
| 9 | PERSPECTIVAS FUTURAS..... | 175 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 176 |
| | APÊNDICES..... | 186 |

LISTA DE TABELAS

| TABELA | | PÁGINA |
|--------|---|--------|
| 1.1 | Fatores extra-coluna que influem em n..... | 25 |
| 1.2 | Equações usadas em cromatografia | 56 |
| 4.1 | Parâmetros obtidos para as colunas de cromatografia gasosa - CG | 95 |
| 4.2 | Concentração mínima detectável para os detectores de ionização de chama e de fotoionização..... | 109 |
| 4.3 | Parâmetros cromatográficos obtidos para várias colunas, para compostos per-halogenados..... | 115 |
| 6.1 | Rendimentos das espécies radioativas separadas por CG..... | 159 |
| 6.2 | Rendimentos das espécies radioativas separadas por CLAE..... | 159 |
| 6.3 | Condições analíticas para as experiências de reações de troca..... | 166 |

LISTA DE FIGURAS

| FIGURA | | PÁGINA |
|--------|--|--------|
| 1.1 | Espectro do bromo-82, medido em escala de 2MeV. | 3 |
| 1.2 | Decaimento do bromo | 11 |
| 1.3 | Diagrama dos métodos cromatográficos | 18 |
| 1.4 | Esquema de um cromatógrafo gasoso | 18 |
| 1.5 | Representação esquemática de uma coluna cromato- gráfica | 19 |
| 1.6 | Cromatograma típico | 20 |
| 1.7 | Variação da eficiência de uma coluna com a vazão da fase móvel | 27 |
| 1.8 | Efeito dos caminhos múltiplos | 28 |
| 1.9 | Quantidade mínima detectável | 37 |
| 1.10 | Efeito da vazão de nitrogênio e de ar na sensi- bilidade do detector de ionização de chama | 40 |
| 1.11 | Esquema de um sistema CG-EM | 43 |
| 1.12 | Separador do tipo "Jato" com dois estágios | 44 |
| 1.13 | Câmara de íons e analisador do tipo quadrupolo | 46 |
| 1.14 | Espectros do benzoato de n-propila obtidos em vários espectrômetros | 48 |
| 1.15 | Comparação entre os sistemas manuais e automáti- cos de identificação estrutural por espectrome- tria de massa | 50 |
| 1.16 | Esquema de um sistema de CLAE | 52 |
| 1.17 | Reações usadas no preparo de fases estacionárias quimicamente ligadas | 62 |
| 1.18 | Otimização de uma separação cromatográfica | 67 |
| 3.1 | Sistema de sublimação | 80 |
| 3.2 | Esquema do sistema de acoplamento do detector de fotoionização com a coluna | 86 |
| 3.3 | Métodos de contagens de radiação gama | 90 |

| FIGURA | PÁGINA |
|--------|---|
| 4.1 | Cromatogramas obtidos por CG para obtenção dos parâmetros da tabela 4.1..... 96-101 |
| 4.2 | Exemplo de sangramento da fase estacionária, com programação de temperatura..... 103 |
| 4.3 | Cromatograma com detecção simultânea de uma mistura de compostos per-halogenados, por ionização de chama por fotoionização; respostas relativas dos detectores..... 104 |
| 4.4 | Respostas dos detectores de ionização de chama e de fotoionização..... 106-107 |
| 4.5 | Variação da sensibilidade do detector de fotoionização com o tempo..... 108 |
| 4.6 | Influência da vazão da fase móvel na sensibilidade do detector de fotoionização..... 111 |
| 4.7 | Influência da vazão da fase móvel na eficiência da coluna..... 111 |
| 4.8 | Coletor de frações para CG..... 112 |
| 4.9 | Cromatogramas obtidos por CLAE correspondentes aos dados da Tabela 4.4..... 116 |
| 4.10 | Detecção simultânea de mistura de compostos per-halogenados por ultravioleta (239 nm) e por índice de refração..... 119 |
| 4.11 | Resposta do detector de ultravioleta aos compostos per-halogenados..... 120 |
| 4.12 | Espectro de massa do CCl_3Br 124 |
| 5.1 | Cromatogramas obtidos por CLAE, da mistura padrão, para se obter a resposta relativa do detector de ultravioleta em dois comprimentos de onda..... 127 |
| 5.2 | Cromatogramas obtidos por CG da mistura padrão, para se obter a resposta relativa em dois detectores (ligados em série)..... 128 |
| 5.3 | Cromatograma correspondente a injeção de CBr_4 em CCl_4 antes da irradiação com luz ultravioleta .. 131 |
| 5.4 | Cromatograma correspondente a injeção de CBr_4 em CCl_4 depois de irradiação com luz ultravioleta durante 4 horas..... 132 |

| | | |
|------|---|-----|
| 5.5 | Cromatograma correspondente a injeção de solução concentrada de CBr_4 em CCl_4 (50%) e irradiada com luz ultravioleta..... | 134 |
| 5.6 | Cromatograma correspondente a CLAE preparativa dos produtos da reação termoquímica entre CBr_4 e CCl_4 na presença de alumínio..... | 135 |
| 5.7 | Cromatogramas correspondentes às frações obtidas por cromatografia preparativa, condições idênticas às da Figura 5.5..... | 136 |
| 5.8 | Cromatograma obtido por CLAE da mistura de reação da seção 5.3, mostrando a influência da pureza da fase móvel na eficiência da coluna..... | 138 |
| 5.9 | Cromatogramas mostrando o consumo de CBr_4 e a formação de produtos com a dose de radiação gama..... | 140 |
| 5.10 | Cromatogramas mostrando a formação de produtos com a dose de radiação gama..... | 141 |
| 5.11 | Consumo de CBr_4 na reação. Detecção por fotoionização..... | 142 |
| 5.12 | Gráfico de $\log \left(- \frac{dc}{dt} \right)$ versus $\log C$, para determinação da ordem da reação..... | 144 |
| 5.13 | Formação de C_2Br_6 . Detecção por fotoionização. | 145 |
| 5.14 | Formação do CBr_2Cl_2 . Detecção por fotoionização. | 146 |
| 5.15 | Formação do C_2Cl_6 . Detecção por ionização de chama..... | 147 |
| 5.16 | Formação do CCl_3Br . Detecção por ionização de chama..... | 148 |
| 5.17 | Formação do C_2Br_4 . Detecção por fotoionização. | 149 |
| 5.18 | Formação do C_2Cl_4 . Detecção por fotoionização. | 150 |
| 5.19 | Formação do CBr_3Cl . Detecção por fotoionização. | 151 |
| 6.1 | Cromatograma obtido por CLAE de CBr_4 irradiado, no reator nuclear..... | 153 |
| 6.2 | Cromatograma obtido por CLAE de CBr_4 irradiado no reator..... | 155 |
| 6.3 | Cromatograma obtido por CG de solução de CBr_4 em CCl_4 (100mg/ml) irradiado com nêutrons térmicos..... | 157 |

| FIGURA | PÁGINA |
|--------|--|
| 6.4 | Decaimento das espécies separadas por CG..... 158 |
| 6.5 | Radiocromatograma obtido por CLAE de solução de CBr_4 em CCl_4 irradiada com nêutrons térmicos. 160 |
| 6.6 | Decaimento das espécies separadas por CLAE..... 161 |
| 6.7 | Cromatograma obtido por CLAE dos produtos da irradiação de $C_2Cl_4Br_2$ com nêutrons térmicos... 163 |
| 6.8 | Cromatograma obtido por CG dos produtos da irradiação de $C_2Cl_4Br_2$ com nêutrons térmicos..... 164 |
| 7.1 | Sumário dos métodos de análise..... 168 |
| A.1 | Altura do pico cromatográfico..... 199 |
| A.2 | Área de um pico cromatográfico obtida multiplicando-se a altura pela largura à meia altura... 199 |
| A.3 | Curva de calibração absoluta para o CBr_4 por CG. 201 |
| A.4 | Curva de calibração absoluta para o C_2Br_6 por CG..... 202 |
| A.5 | Curva de calibração para o CCl_3Br por CG..... 203 |
| A.6 | Curva de calibração absoluta para o C_2Cl_6 por CG..... 204 |
| A.7 | Curva de calibração absoluta para o $C_2Cl_4Br_2$ por CLAE..... 205 |
| A.8 | Cromatograma da água usada como fase móvel para CLAE..... 209 |
| A.9 | Metanol purificado pelo grupo de Análise Orgânica da UFPr por métodos físicos e químicos.... 210 |
| A.10 | Metanol UVASOL; para espectroscopia..... 211 |
| A.11 | Metanol Merck (p.a) purificado por métodos físicos (colunas de absorção e destilação) e passado por coluna de fase reversa..... 212 |
| A.12 | Metanol Merck (p.a), somente destilado..... 213 |
| A.13 | Metanol Carlo Erba, purificado por métodos físicos (colunas de absorção e destilação) e passado por colunas de fase reversa..... 214 |
| A.14 | Metanol LiChrosorb para CLAE..... 215 |
| A.15 | Espectros no ultravioleta do metanol UVASOL e da água para CLAE..... 217 |
| A.16 | Espectro no ultravioleta do metanol LiChrosolv. 218 |

| | | |
|------|---|-----|
| A.17 | Espectro no ultravioleta dos metanóis: a - metanol UVASOL; b - metanol Merck purificado por métodos físicos e químicos; c - metanol Carlo Erba purificado por métodos físicos e químicos. | 219 |
| A.18 | Espectro do metanol Merck (p.a) purificado por métodos físicos (colunas de absorção e destilação) e por coluna de fase reversa..... | 220 |
| A.19 | Multipletes obtidos teoricamente, para moléculas que contêm isótopos de cloro e de bromo | 222 |
| A.20 | Espectro de massa do CBr_4 | 223 |
| A.21 | Espectro de massa do CCL_3Br | 224 |
| A.22 | Espectro de massa do CCL_2Br_2 | 225 |
| A.23 | Espectro de massa do $CCLBr_3$ | 226 |
| A.24 | Espectro de massa do CCL_4 | 227 |
| A.25 | Espectro de massa do C_2Cl_6 | 228 |
| A.26 | Espectro de massa do C_2Cl_4 | 229 |
| A.27 | Espectro de massa do C_2Br_6 | 230 |
| A.28 | Espectro de massa do $C_2Cl_4Br_2$ | 231 |
| A.29 | Para relação de áreas de 1/1..... | 232 |
| A.30 | Para relação de áreas de 2/1..... | 232 |
| A.31 | Para relação de áreas de 4/1..... | 232 |
| A.32 | Para relação de áreas de 8/1..... | 233 |
| A.33 | Separação em função de R_s e da relação de área entre os picos..... | 233 |
| A.34 | Valores de α tais que os valores de t_R do primeiro pico e os valores de t_0 são os mesmos para todas as situações..... | 234 |

LISTA DE APÊNDICES

| APÊNDICE | | PÁGINA |
|----------|--|--------|
| 1 | Constantes de McReynolds | 187 |
| 2 | Características dos gases usados como fase mó- vel..... | 189 |
| 3 | Potenciais de ionização de átomos e molécu- las | 190 |
| 4 | Guia para a escolha do método de separação por CLAE..... | 194 |
| 5 | Força do solvente ϵ^0 (sílica)..... | 194 |
| 6 | Comparação entre diversos detectores para CLAE | 197 |
| 7 | Análise Quantitativa..... | 198 |
| 8 | Compostos que produzem pouca ou nenhuma res- posta no detector de ionização de chama..... | 206 |
| 9 | Comparação entre diversos detectores para CG | 207 |
| 10 | Cromatogramas dos Solventes | 208 |
| 11 | Espectros no ultravioleta dos metanóis e da água, usados como fase móvel em CLAE..... | 216 |
| 12 | Espectros de massa de compostos per-halogen- dos..... | 221 |
| 13 | Valores de resolução (Rs) para várias relações entre áreas dos picos | 232 |

RESUMO

Este trabalho trata do desenvolvimento de métodos analíticos para misturas de compostos com fórmula $C_xCl_yBr_z$ ($x=1$ e 2), radioativos ou sem atividade. Para isto foram estabelecidos os métodos instrumentais, as condições experimentais, as quantidades mínimas detectáveis e as limitações de cada processo.

Através da Cromatografia Gasosa (CG), obteve-se a separação e detecção dos compostos CCl_4 , CCl_3Br , CCl_2Br_2 , $CClBr_3$, CBr_4 , C_2Cl_6 , $C_2Cl_4Br_2$, C_2Br_6 , C_2Cl_4 e C_2Br_4 . Todavia foi constatada a indicação da decomposição do $C_2Cl_4Br_2$ no sistema cromatográfico, o que impôs limitações a essa técnica.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) utilizando colunas com fase estacionária quimicamente ligada (fase reversa), além de separar parcialmente a maioria dos compostos com um átomo de carbono, apresentou boa separação dos compostos com dois carbonos, à temperatura ambiente e sem serem constatados quaisquer indícios de decomposição..

As respostas relativas dos compostos per-halogenados estudados, em dois detectores de Cromatografia Gasosa (fotoionização e ionização de chama), possibilitaram a análise qualitativa, pois os valores obtidos eram peculiares a cada composto.

As respostas relativas em dois comprimentos de onda no ultravioleta para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

forneceram também importantes subsídios para a análise qualitativa.

A espectrometria de massa deu espectros característicos e a abundância isotópica dos fragmentos muito ajudou na confirmação estrutural.

A cromatografia preparativa possibilitou a coleta dos componentes radioativos separados, mesmo os com baixa atividade, e os decaimentos das espécies puderam ser observados.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, por ter maior capacidade de amostragem do que a Cromatografia Gasosa, mostrou ser o método ideal para o estudo de misturas de compostos radioativos com baixa atividade e em baixas concentrações, como as produzidas nas irradiações com nêutrons térmicos.

As aplicações analíticas apresentadas neste trabalho abriram várias perspectivas de pesquisa na área da fotoquímica e da química das radiações de compostos per halogenados.

ABSTRACT

This thesis deals with the development of analytical methods for compounds with formula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1 \text{ \& } 2$), either radioactive or not. Instrumental methods were established, as well as experimental conditions, minimum detectable quantities and the limitations of each process.

The separation and detection of CCl_4 , CCl_3Br , CCl_2Br_2 , $CClBr_3$, CBr_4 , C_2Cl_6 , C_2Br_6 , $C_2Cl_4Br_2$, C_2Cl_4 and C_2Br_4 was achieved through Gas Chromatography. However, there was suspicion of decomposition of $C_2Cl_4Br_2$ into the chromatographic system and this imposes limitations to applications of this technique.

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using bonded phase columns (reversed phase), besides partially separating the C-1 compounds, presented excellent separations for the C-2 species at room temperature and without any suspicion of sample decomposition.

The different relative responses for the per-halogenated compounds studied in two GC detectors (foto-ionization and flame ionization) made possible the qualitative analysis, since the obtained data were peculiar to each compound.

The relative response in two wavelengths in the ultraviolet, for HPLC, also furnished important information for qualitative analysis.

• Mass Spectrometry, which gave the characteristic spectra and isotopic abundance information about the fragments containing halogen atoms, helped in the structural confirmations.

• Preparative scale chromatography made possible the collection of separated radioactive compounds, even those with low levels of activity, and the decay could be followed, so that quantitative measurements of the labelled species could be made.

Analytical applications which were included in this project suggest several new research directions in the areas of photochemistry and radiation chemistry of per-halogenated compounds.

1. INTRODUÇÃO

1.1 PARA MÉTODOS RADIOQUÍMICOS

Esta secção se propõe apresentar os princípios dos processos radioquímicos.

1.1.1 Desenvolvimento da química das radiações

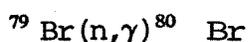
A Química das Radiações teve sua origem com a descoberta dos raios X por Röntgen em 1895 e da radioatividade por Becquerel em 1896. Pode ser definida como o estudo dos efeitos químicos produzidos num sistema, pela absorção de radiação ionizante (1). Incluídos nesta definição estão os efeitos químicos produzidos por radiações emitidas por núcleos radioativos (partículas alfa, beta e gama), por partículas carregadas de alta energia (elétrons, prótons, dêuterons, etc.) e por radiação eletromagnética de alta frequência (raios X com comprimentos de onda menores que 250 Å e energias maiores que 50eV). Uma reação química pode também ser iniciada por radiação eletromagnética com comprimentos de onda longos, na região do ultravioleta e visível, apesar de que, neste caso, a ionização não ocorre e a reação se dá via estados eletrônicos vibracionais e rotacionais excitados. As reações destas espécies excitadas dão origem ao campo da fotoquímica.

A principal diferença entre a química das radiações e a fotoquímica está na energia da radiação que inicia a reação. Em fotoquímica, cada fóton excita somente uma molécula e é possível ser produzido um único estado excitado, bem definido.

O estudo da probabilidade de reação em função da energia, para radiações monocromáticas no ultravioleta, é mais simples do que para os outros métodos de ativação, pois a energia das espécies é conhecida. No entanto, o número de espécies e a faixa de energia à qual as espécies são produzidas são limitados pelo espectro de absorção (2-4).

Os efeitos químicos que acompanham as transformações nucleares, como os efeitos originados por ativação nuclear ou por decaimento radioativo apresentam um extenso campo de estudos. Mas o que realmente expande este campo é a existência de métodos convenientes para a ativação das espécies, sem aquecimento dos reagentes. Isto possibilita a observação de reações de átomos com alta velocidade, com substâncias termo-lábeis.

Os nêutrons térmicos, usados para a ativação das amostras no presente trabalho, possuem energia da ordem de 0,025 eV à temperatura ambiente. São capturados pelos núcleos dos átomos de ^{79}Br e ^{80}Br , dando origem a isótopos nuclearmente excitados que decaem, transferindo sua energia através de emissão de fótons ou de ionização das moléculas às quais estão ligados. Geralmente o núcleo, formado num estado excitado, volta ao estado fundamental através de emissão de um ou mais raios gama, e a reação pode ser escrita:



As radiações gama são radiações eletromagnéticas de origem nuclear, com comprimentos de onda na região de 3×10^{-9} a 3×10^{-11} cm ou com energias de 40keV a 40MeV, respectivamente.

Os raios gama emitidos por isótopos radioativos são geralmente monoenergéticos ou podem ter um pequeno número de valores discretos da energia, como, por exemplo, o bromo-82, que produz fótons gama com energias de 0,554 até 1,475 MeV (Figura 1.1).

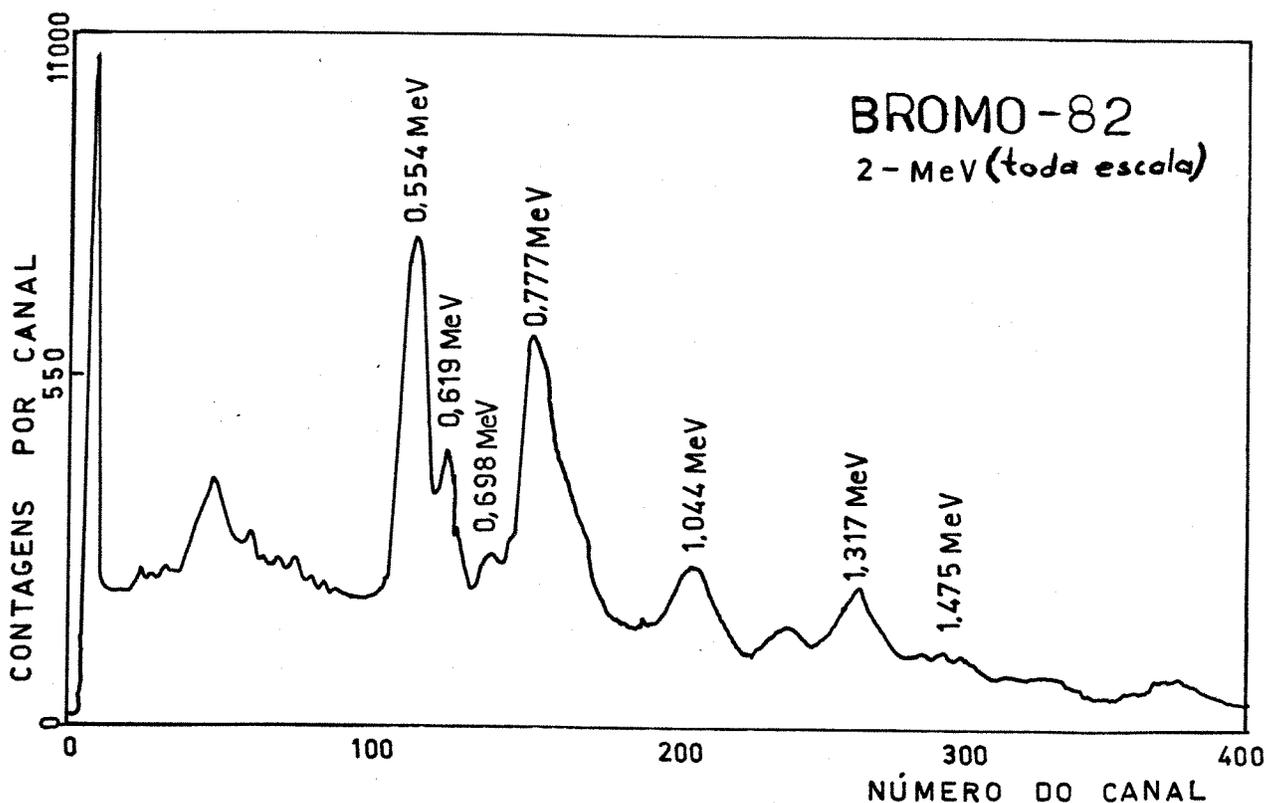
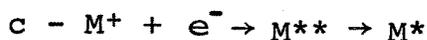
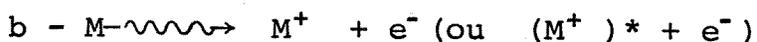


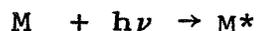
Figura 1.1 - Espectro do bromo-82, medido em escala de 2MeV. Equipamento: Analisador multicanal Northern Econ II.

Os raios gama, geralmente, tendem a dissipar a maior parte de sua energia através de uma única interação com a matéria (1).

As radiações ionizantes podem produzir moléculas excitadas (M^*) direta ou indiretamente, pela neutralização dos íons formados:



A absorção de radiações no ultravioleta e no visível pode ser representada por:



onde, h é a constante de Planck e ν a frequência da radiação. Portanto, estes e outros processos podem gerar espécies excitadas.

As interações de partículas ou radiações eletromagnéticas com a matéria podem produzir alterações estruturais, e este fato dá origem ao fascinante campo da radiólise e fotólise, respectivamente.

1.1.2 Efeitos químicos nas transformações nucleares

As reações nucleares liberam grandes quantidades de energia, podendo produzir espécies muito energéticas, que,

quando reagem, podem formar vários produtos. Tais energias são geralmente muito maiores do que as energias empregadas nas reações químicas.

Os produtos das reações nucleares são energeticamente excitados em todos os níveis possíveis, translacionalmente ou eletronicamente, e são de modo geral ionizados. Estes estados excitados geram colisões e causam danos ao sistema onde a partícula tem sua trajetória. Pode haver um instante tal, que a partícula num estado excitado reage com uma molécula do meio, como consequência da colisão, ficando quimicamente ligada.

Os estudos dos efeitos químicos nas transformações nucleares foram iniciados por Szilard & Chalmers em 1934 (5), e mostraram que átomos radioativos deixam a molécula-mãe, como consequência de uma ativação nuclear, e passam para uma forma tal que podem ser separados da forma inicial.

Posteriormente Amaldi et alii (6) concluíram que a ruptura de ligações químicas resulta da emissão de fótons-gama na desexcitação do núcleo.

Investigações de reações entre halogênios ativados nuclearmente e haletos de alquila demonstraram que o processo de ativação poderia também resultar na formação de ligação carbono-halogênio (7).

Desde 1944, mais de 300 trabalhos foram publicados sobre os efeitos de transformações nucleares em sistemas orgânicos. Existem muitos artigos de revisão sobre espécies ativadas no estado gasoso e em sistemas orgânicos condensados, como os feitos por Willard (8-11), Wolfgang (12,13), Maddock & Wolfgang (14), Filatov (15,16), Campbell (17), Wolf (18) e Urch (19,20).

Reações no estado sólido foram examinadas por Walton (21), Muller (22) e Harbottle (23).

Várias teorias e modelos foram apresentados como tentativa de explicar os mecanismos de reações com halogênios, como o modelo da "Bola de Bilhar" de Libby e outros modelos (25-29).

Libby (24), baseando-se no fato de que halogênios produzidos por processos nucleares poderiam ser usados no estudo de reações químicas de espécies com alta energia cinética, aplicou o termo "Química dos Átomos Quentes" a este campo de estudos.

A energia de recuo de átomos de halogênio, gerada num processo (n, γ), varia de dezenas até a centenas de eV. Alguns átomos podem reagir quimicamente com moléculas do meio em que se encontram, na primeira colisão. O estado químico dos átomos de recuo, os quais sofreram reação nuclear, é de grande importância.

Depois de uma reação (n, γ), alguns átomos podem permanecer num estado metaestável, o qual depois de um processo de conversão interna os torna carregados. O aumento de carga se dá depois que o átomo deixa a molécula-mãe. A maior parte da energia de excitação do núcleo, depois da reação nuclear, é dissipada através de emissão de fótons-gama com energias de 1 até 3 MeV. O restante da energia é dissipada em transições de baixa energia, acompanhadas de conversão interna (30).

A energia de recuo de um átomo quente, como consequência de emissão de fóton-gama de alta energia, é transferida ao átomo que se desprende da molécula-mãe e se torna quimicamente estabilizado. Isto se dá numa distância de alguns

diâmetros moleculares do local de ativação, em menos de 10^{-13} segundos, depois da captura do nêutron. As meias-vidas das transições com baixas energias, como a emissão de elétrons de conversão produzidos pelo processo Auger, situam-se na faixa de 10^{-12} a 10^{-5} segundos. Por isso, o aumento de carga deve ocorrer muito depois que o átomo quente é conduzido a um estado termal, no qual permanece por tempo suficiente, quimicamente estabilizado (31). Isto implica que estados nucleares metaestáveis em átomos quentes venham ter vidas suficientemente longas, de modo que não possa ocorrer ativação nuclear por conversão interna e radiação Auger, até que o átomo perca sua energia inicial de recuo. Se uma carga +2 (ou mais) é adquirida enquanto o átomo está ligado quimicamente, ela é capaz de produzir a desintegração da molécula por forças Coulômbicas, mesmo na ausência de energia de recuo (32,33).

A química de átomos quentes deve então prever a dupla possibilidade de introdução de átomos radioativos numa molécula. A primeira, como resultado do recuo, devido a fótons-gama de alta energia, e a segunda, como resultado de conversão eletrônica e captura eletrônica devido a fótons-gama de baixa energia e a posterior formação de carga no átomo.

Os produtos das transformações nucleares têm geralmente grande energia cinética, carga elétrica ou ambos. O átomo de recuo se torna radioativo pelo mesmo processo que lhe confere alta energia. Como consequência, é possível distingui-lo de outro no sistema e estudar o seu comportamento químico em função de parâmetros físicos. O trabalho de Szilard & Chalmers em 1934 (5), estudando a reação nuclear

$^{127}\text{I}(n,\gamma)^{128}\text{I}$, deu início ao uso de processos nucleares para tais estudos e foi posteriormente expandido para processos (γ,n) , $(n,2n)$, (d,p) , $(T.I)$, etc.

1.1.3 Efeitos físicos nas transformações nucleares

A captura de um nêutron térmico por um núcleo produz geralmente uma espécie nuclear com energia de excitação da ordem de 5 a 10 MeV (34).

O nêutron incidente, que possui baixa energia cinética, inicialmente não exerce efeito no estado químico do átomo cujo núcleo o absorveu. Todavia, a maior parte da energia de excitação é rapidamente dissipada através da emissão de um ou mais fótons-gama (6,35).

Pela Lei da Conservação do Momento, cada gama emitido produz um impulso ao núcleo emissor, o qual recua com uma energia $\underline{E_r}$. Esta energia varia de zero até o máximo de $(537 E_r^2/M)$, onde $\underline{E_r}$ é a energia do raio gama emitido ou a energia de ligação do nêutron, em MeV, e \underline{M} é a massa atômica do átomo ativado, em unidades de massa atômica (36).

Quando um núcleo de ^{127}I captura um nêutron, a energia de ligação de 6,8 MeV liberada na forma de um único fóton-gama dá ao núcleo de ^{128}I cerca de 182 eV de energia translacional (37). Para espécies de bromo produzidos da mesma forma os valores são semelhantes (31).

No entanto, muitos fótons-gama são emitidos de modo aleatório, em todas as direções, quase que simultaneamente (38,39). Isto implica em cancelamento de momento de recuo do

núcleo e dá origem a um espectro de energias de recuo, variando de zero (cancelamento total) até o máximo, na emissão de um único fóton. A distribuição provável da energia de recuo obtida por um átomo, como resultado de processos nucleares, tem sido discutida (39-42).

Cobble & Boyd (42) mostraram que não há evidência de acentuada correlação angular na emissão de raios gama por isótopos de bromo.

Assim, o cancelamento de momentos não reduziria significativamente a probabilidade de ruptura de ligações químicas (43,44).

Como resultado de uma ativação nuclear, um nuclídeo pode passar para um estado nuclear metaestável. No decaimento deste estado para o estado fundamental (T.I.) o átomo se torna ativado novamente, adquirindo carga elétrica (positiva) e energia de excitação eletrônica como resultado de conversão interna, captura de nêutron, emissão de raios gama e de elétrons Auger (45).

Os dois processos, (n,γ) e Transição Isométrica (T.I.), apesar de terem mecanismos diferentes, transferem energia cinética para os átomos-produto. Porém o processo (n,γ) é dependente do composto original, pois nele um átomo obtém energia cinética devido ao recuo, com a emissão de raios gama pelo núcleo excitado.

Átomos de halogênio, ativados pelo processo (n,γ) , são formados com altas energias, geralmente excedendo as energias necessárias para a reação química.

Um átomo pode obter neutralização parcial por um processo de transferência de carga, atraindo elétrons de outros

átomos na molécula. Isto traz como conseqüência a formação de carga positiva em alguns ou até em todos os átomos, que se repelem com forças consideráveis. A distribuição de energia, resultante de tais forças Coulômbicas, depende da distribuição de carga dos íons produzidos pela Cascata Auger, da distância que separa os átomos na molécula e das massas relativas dos átomos (46).

A Transição Isomérica $^{80}\text{Br}^m(\text{T.I})^{80}\text{Br}^g$ é conhecida por produzir $^{80}\text{Br}^g$ com elevada carga positiva, como conseqüência de conversão interna e emissão eletrônica Auger (46). Os íons $^{80}\text{Br}^g$ formados na T.I. não recebem quantidade significativa de energia de recuo, como conseqüência da emissão de raios gama de baixa energia ou elétrons Auger, mas eles podem ser ejetados da molécula-mãe com apreciável energia cinética, devido à repulsão Coulômbica, se uma distribuição de carga na molécula ocorrer antes da dissociação resultante da perda de elétrons de ligação (47-49). Portanto, a reação de qualquer dos dois isótopos naturais do bromo com nêutrons térmicos pode produzir núcleos metaestáveis, os quais decaem por transição isomérica (T.I.) e emissão de raios X (conversão interna).

No esquema da Figura 1.2 tem-se as formas de decaimento do bromo, com os valores das energias dos raios gama emitidos e os tempos de meia-vida das transições.

Nos últimos anos inúmeros pesquisadores têm estudado as reações nucleares envolvendo compostos de bromo. Talvez seja pela facilidade de serem irradiados com nêutrons térmicos, e pelo desafio de serem elucidados os complicados mecanismos das reações, cujos resultados apresentados são muitas vezes conflitantes. Isto é devido à recente descoberta da

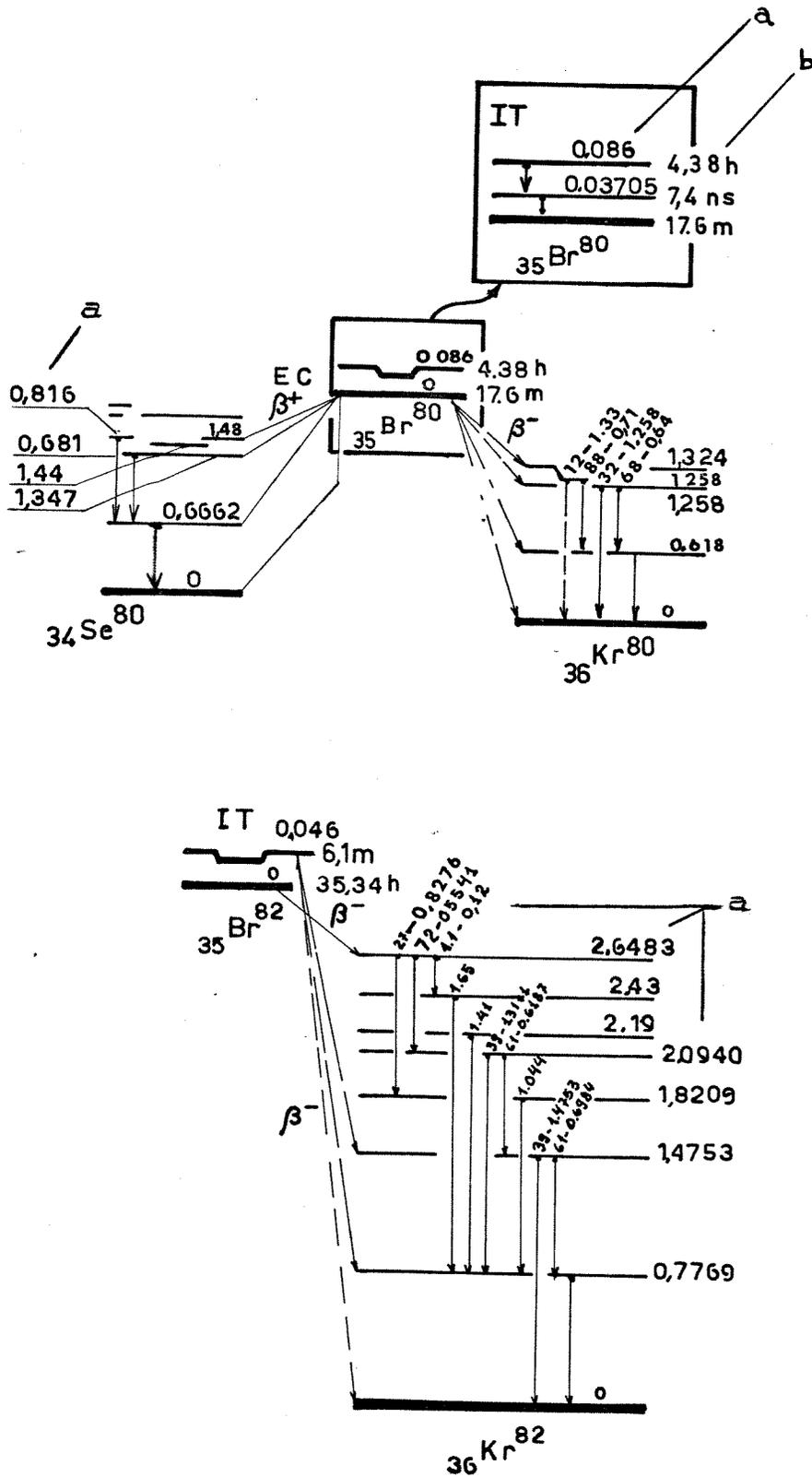


Figura 1.2 - Decaimento do bromo (56).

- a) energia das transições (M eV);
 b) meia-vida.

transição isomérica do $^{82}\text{Br}^m$ que era desconhecida até 1965 (50,51) e também pelas limitações analíticas, pois muitos compostos são termo-lábeis ou produzem reações de troca nas colunas cromatográficas (52).

Pensava-se que a química do ^{82}Br resultante de ativação nuclear fosse somente do tipo recuo (n,γ). A presença de um estado transitório, com meia-vida da ordem de nanosegundo, também complicou a compreensão das reações do $^{80}\text{Br}^m$ ($t_{1/2} = 4,4$ h) iniciada por transição isomérica.

Carlson & White (53) afirmaram que se um átomo A numa molécula RA passa por uma transição isomérica, a maior parte da energia é liberada em forma de Raios X e convertida internamente.

A emissão de elétrons Auger faz com que A se torne altamente carregado, e se estiver ligado a R a carga se distribui por toda a molécula, causando a sua decomposição imediata (54). Os fragmentos carregados se repelem e adquirem alta energia translacional, na ordem de 10 a 100 eV (55).

Para distinguir as reações químicas devido ao recuo de átomos de bromo gerados pelo processo (n,γ), das induzidas por transição isomérica, é necessário estudar os átomos de $^{80}\text{Br}^g$ que são produzidos diretamente do ^{79}Br . Isto exige irradiações intensas e análises rápidas. Todavia um método experimental mais fácil seria medir a atividade do $^{80}\text{Br}^m$ depois que todo o $^{80}\text{Br}^g$ inicial tivesse decaído, porém os resultados poderiam complicar-se devido ao aparecimento de $^{80}\text{Br}^g$ oriundo do decaimento do $^{80}\text{Br}^m$ (56).

Milman e colaboradores (57, 58) estudaram os efeitos da irradiação de bromoetano com nêutrons térmicos, para elucidar as diferenças químicas entre $^{80}\text{Br}^m$ (assumindo ser simplesmente espécies de recuo) e $^{82}\text{Br}g$ (assumindo ser ativada por conversão interna oriunda de transição isomérica). Experimentalmente os seus resultados confirmaram os de Gilroy, Miller e Shaw (59), onde o $^{82}\text{Br}g$ teve maior facilidade de substituição de H, enquanto que o $^{80}\text{Br}^m$ favoreceu o ataque a ligações C-C e C-Br.

Mia, Shaw (60) e Cole (61) discutiram de modo detalhado as prováveis reações de $^{80}\text{Br}^m$ e $^{82}\text{Br}g$ em iodeto de etila, e mostraram variações de rendimento de produtos marcados com a adição de bromo.

Collins (62), estudando soluções de bromo em tetracloreto de carbono, notou um decréscimo do rendimento de bromotriclorometano, com o aumento da concentração de bromo. Por outro lado, observou um aumento rápido do rendimento do dibromodiclorometano. O rendimento orgânico total, no entanto, cresceu com a concentração de bromo, confirmando os resultados de Mia, Shaw e Cole.

Collins, Robinson e Collins (63) concluíram que não havia brometo orgânico proveniente unicamente de eventos de recuo, quando estudaram reações envolvendo soluções de bromo-tetracloreto de carbono. Assim, a ausência de ligações C-Br poderia significar que as únicas reações quentes com rendimentos significativos eram as de formação de moléculas do tipo Br-Cl. Isto porém não se aplica necessariamente a sistemas com outros solventes.

Merrigan, Ellgren e Rack (64) concluíram que a irradiação com nêutrons térmicos gerava espécies de recuo de $^{80}\text{Br}^m$ e

$^{82}\text{Br}^m$ e que aparentemente não havia diferença no comportamento químico dessas espécies. Os produtos marcados com $^{80}\text{Br}^m$ eram detectados diretamente, enquanto que as moléculas marcadas com $^{82}\text{Br}^m$ se decompunham quando ocorria a transição isomérica. A conversão interna dos raios X e os processos Auger, posteriormente, conduziam à formação de muitos fragmentos carregados.

No entanto, apesar de terem sido encontradas variações nos rendimentos dos produtos marcados, a distribuição dos produtos era semelhante para o $^{80}\text{Br}^m$ e $^{82}\text{Br}^g$. Isto fez com que Kazanjian & Libby (65) concluíssem que a formação dos produtos era devida a átomos quentes, se a partícula original fosse produzida por processos (n, γ) ou T.I.

Merrigan, Nicholas, Rack (66) e Geissler & Willard (67) enfatizaram a importância da formação de espécies carregadas, como resultado de conversão interna de raios X. Suas idéias divergiram quando envolviam a conversão de raios X.

Kazanjian & Libby sugeriram a completa formação de $^{80}\text{Br}^m$ (T.I.) $^{80}\text{Br}^g$ e a neutralização das espécies durante a dissipação da energia de recuo, antes de combinarem quimicamente (65).

Geissler & Willard (67) concluíram que alguma excitação nuclear residual poderia permanecer na espécie de recuo depois que ela formasse um composto químico. A emissão posterior de raios X devida à conversão interna conduziria à formação de carga e conseqüentemente à fragmentação. Isto não aconteceria em espécies nucleares diferentes, pois estas teriam graus de excitação e estrutura nuclear peculiares. Os produtos químicos marcados, que fossem observados no final, teriam a sua formação dependente de reações em regiões localizadas na estrutura. Os rendimentos finais dos produtos mostraram diferenças devido às

diferentes energias de decaimento de $^{80}\text{Br}^m$ e $^{82}\text{Br}^m$, pois é sabido que a radiação gama pode aumentar os rendimentos orgânicos (68).

No entanto, Fonseca e colaboradores (69), comparando efeitos (n,γ) , (T.I.) e efeitos de radiólise, concluíram que a autoradiólise não pode explicar as relações entre os rendimentos dos produtos que são observados nas reações de recuo do bromo.

Na fase líquida, uma comparação de rendimentos entre as transições isoméricas $^{80}\text{Br}^m(\text{T.I.}) \rightarrow ^{80}\text{Br}g$ e $^{82}\text{Br}^m(\text{T.I.}) \rightarrow ^{82}\text{Br}g$ em CCl_4 não mostrou diferença (70). Por outro lado, estudos mais detalhados em fase gasosa mostraram rendimentos mais altos para o processo envolvendo o $^{82}\text{Br}^m$. Isto se deve, provavelmente, ao decaimento do $^{80}\text{Br}^m$, em dois estágios, com estado intermediário de meia-vida da ordem de nanosegundo. O primeiro estágio formaria uma grande variedade de moléculas e o segundo, com decaimento por conversão interna, causaria fragmentação (70).

Quando o átomo ou radical ligado ao $^{80}\text{Br}^m$ é $\underline{\text{H}}$ ou alquila e ao $^{82}\text{Br}^m$ é bromo, proveniente de $\text{Br}-^{82}\text{Br}^m$, as energias de recuo são provavelmente diferentes (72).

Como podemos notar, a química do bromo "quente" é muito complexa e pouco conhecida, existindo muitos mecanismos inexplicados ou que não estão em concordância (63, 73-75).

Futuramente, com o desenvolvimento de novos métodos analíticos, muito há de ser feito para a compreensão desse importante ramo da Química dos Átomos Quentes.

1.2 PARA MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Esta seção se propõe apresentar os princípios dos processos cromatográficos.

Depois de transferir a maior parte do excesso de energia e carga elétrica para o meio, os átomos quentes obtêm um estado estável numa grande variedade de formas químicas.

As informações qualitativas e quantitativas sobre essas espécies químicas são as mais importantes fontes de dados para a interpretação da química e dos mecanismos das reações que as originaram.

Os métodos radioquímicos de análise, depois de irradiação ou desintegração de um núcleo excitado, são de fundamental importância devido à sua extrema sensibilidade na detecção das espécies radiomarcadas.

Na fotólise de compostos halogenados, principalmente de bromo, vários produtos também são formados, geralmente em quantidades muito pequenas, requerendo para isso um sensível sistema de detecção das espécies não radioativas.

A cromatografia gasosa tem mostrado ser uma excelente opção para as investigações dos produtos gerados na radiólise, na fotólise e na química dos átomos quentes de compostos halogenados (62, 76-89). Essa técnica permite simultaneamente a separação, a purificação em alguns casos e a identificação de quantidades extremamente pequenas de espécies químicas nos estados sólido, líquido, desde que vaporizável, e gasoso.

Evans & Willard (84), em 1956, separaram e detectaram quantidades na ordem de 10^{-13} g de CH_3 ^{82}Br de uma mistura de produtos obtidos na irradiação de brometo de propila.

Além da sensibilidade, a cromatografia gasosa possibilita

análises rápidas, o que é um fator muito importante para o estudo de isótopos de meia-vida curta, como os de bromo.

A cromatografia líquida de alta eficiência ainda não foi usada nesse campo de aplicações, mas deverá complementar futuramente muitas informações obtidas por cromatografia gasosa. Isto é devido à grande eficiência das colunas, à sensibilidade dos detectores, à capacidade de operação em temperatura ambiente e à capacidade de injeção de quantidades maiores de amostras radioativas, em escala preparativa, para maior sensibilidade na contagem das partículas emitidas.

1.2.1 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa foi introduzida em 1952 por James & Martin, quando publicaram o seu trabalho clássico descrevendo a partição líquido-gás na separação de ácidos alifáticos (90).

A potencialidade do método se tornou aparente aos químicos quase que imediatamente, e intensas pesquisas se delinearam em muitas áreas da ciência. No entanto, somente quatro anos depois dos trabalhos pioneiros de 1952 é que seu uso em radioquímica foi reconhecido (84).

A cromatografia pode ser definida como um método físico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma das quais é estacionária e de grande área, e a outra um fluido que percola através da primeira (91-92).

A cromatografia gasosa emprega como fase móvel um gás quimicamente inerte em relação à fase estacionária e em relação aos constituintes da amostra. Divide-se em duas principais categorias:

1.2.1.1 Cromatografia gás-sólido

A fase estacionária é um sólido de grande superfície, como carvões ativos, com áreas de 600 a 3.000 m²/g, sílica-gel, com áreas que podem chegar a mais de 500 m²/g, polímeros porosos do tipo estireno-divinilbenzeno interligados (Porapak), etc.

O princípio de separação é baseado nas propriedades de adsorção da fase estacionária.

1.2.1.2 Cromatografia gás-líquido

A fase estacionária é um líquido muito pouco volátil, distribuído sobre a superfície de um suporte sólido inerte. O princípio da separação é baseado na partição da amostra entre a fase móvel e a fase estacionária.

A cromatografia gás-líquido é a mais usada em CG, graças ao grande número de fases estacionárias disponíveis comercialmente, abrangendo a maioria das aplicações.

Na Figura 1.3 tem-se um diagrama dos métodos cromatográficos, inclusive daqueles desenvolvidos recentemente, e na Figura 1.4 tem-se um esquema de um cromatógrafo gasoso.

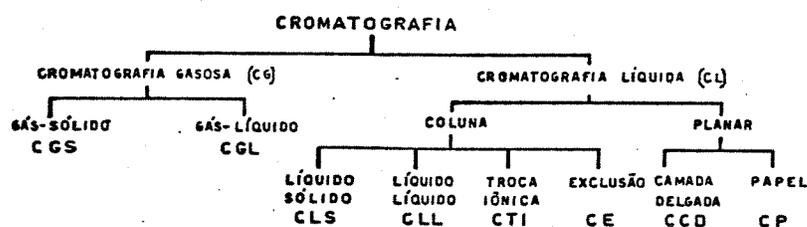


Figura 1.3 - Diagrama dos métodos cromatográficos.

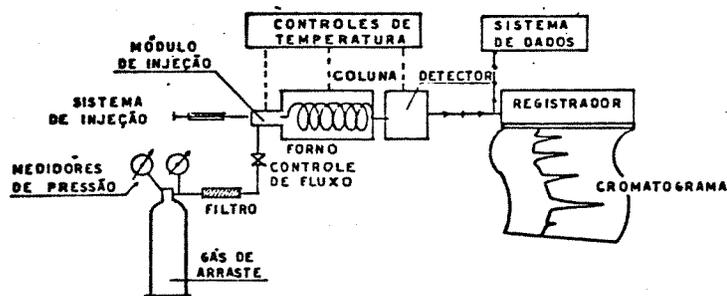


Figura 1.4 - Esquema de um cromatógrafo gasoso.

1.2.1.3 Teoria da Separação

Quando uma amostra contendo uma mistura de componentes é injetada no sistema, as moléculas do gás de arraste levam os componentes através da coluna. As moléculas tendem a se difundir na película líquida da fase estacionária, e este processo é denominado partição (93).

Quando uma fase líquida com propriedades adequadas e uma coluna com comprimento suficiente são usadas, o processo de partição entre as fases gasosa e líquida resulta numa situação tal que cada componente da amostra é eluído numa mistura binária com o gás de arraste (Figura 1.5.).

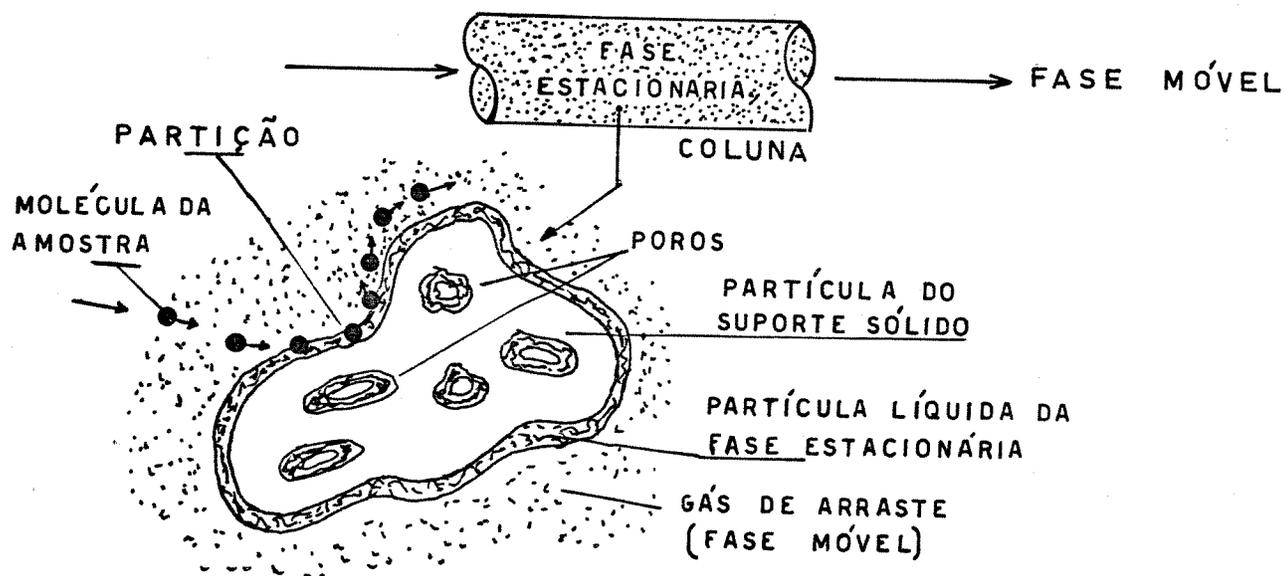


Figura 1.5 - Representação esquemática de uma coluna cromatográfica.

A relação entre t'_R e t_0 é denominada fator de capacidade k , isto é:

$$t'_R / t_0 = k$$

Muitas vezes, principalmente em cromatografia líquida, o fator k aparece designado por k' .

A teoria original da cromatografia gasosa (90) visualizava a coluna como sendo constituída de pequenos segmentos, nos quais era estabelecido um equilíbrio entre as duas fases, caracterizado pela relação entre as concentrações do soluto.

Na realidade, devido à natureza dinâmica da cromatografia, tal equilíbrio não pode ser estabelecido em qualquer parte da coluna, e a inexistência deste é a maior causa do alargamento dos picos. Todavia, a posição do ponto máximo do pico é relacionada com o equilíbrio, o qual seria completo se o fluxo cessasse. Este equilíbrio pode ser caracterizado pela constante de equilíbrio, que é denominada coeficiente de partição, K . Por definição, é a relação entre a concentração do componente X na fase líquida e a concentração deste componente na fase gasosa. O coeficiente de partição é um parâmetro fundamental para um determinado componente e depende somente da fase estacionária e da temperatura. Assim, se forem preparadas várias colunas com dimensões diferentes e com a mesma fase estacionária, à mesma temperatura e com a mesma amostra, o coeficiente de partição seria idêntico para todas as colunas.

O coeficiente de partição pode ser relacionado com o fator de capacidade como:

$K = k\beta$, onde β é denominado razão de fases, pois é a relação

entre os volumes das fases gasosas e líquidas no interior da coluna. O valor de k pode também ser expresso como sendo a relação entre a massa do componente X na fase líquida (ω_L) e a massa deste componente na fase gasosa (ω_G), isto é:

$$k = \omega_L / \omega_G$$

Tanto a razão de fases, como o fator de capacidade, são características de uma coluna cromatográfica. Todavia, o seu produto (K) é independente da coluna, isto é, comparando-se duas colunas, se β for maior numa das colunas, o valor de k deve ser menor e vice-versa.

Na prática, o valor de k é o que realmente deve ser conhecido, pois para se conseguir uma determinada separação, o que importa, entre outros fatores, é a posição relativa dos picos, que é expressa em termos de k . Em geral, quanto menor o valor de k , mais difícil será de se conseguir uma separação. No entanto, a quantidade de amostra que pode ser injetada numa coluna, sem sobrecarregá-la, depende da quantidade de fase estacionária líquida que, por sua vez, depende da relação de fases β . Uma maior quantidade de fase líquida implica em menor valor de β e maior k , porém um grande volume de fase líquida pode resultar numa película muito espessa o que é indesejável no processo de partição (94).

A relação entre os fatores de capacidade possibilita o cancelamento de muitos parâmetros inerentes à coluna, sendo por isso freqüentemente usada.

$$K_2 / K_1 = k_2 / k_1 = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = (V_R - V_0)_2 / (V_R - V_0)_1 = \alpha$$

Onde α é denominado fator de separação ou retenção relativa e é um importante parâmetro cromatográfico. Para uma determinada fase líquida e temperatura, o valor de α é idêntico para várias colunas, e independente do seu tipo ou dimensão.

Por analogia com outros processos de distribuição, a eficiência de uma coluna cromatográfica é medida em termos do número de pratos teóricos n (95). O valor de n é obtido diretamente do cromatograma, por uma relação derivada da teoria da probabilidade (96,97):

$$n = (t_R/\sigma)^2 = 16 (t_R/t_w)^2$$

onde σ é o desvio padrão. O valor de n é aproximadamente constante para picos próximos no cromatograma, desde que as condições analíticas sejam constantes, isto é, para uma determinada coluna, fase móvel, fluxo e temperatura. Obviamente, n depende do comprimento da coluna, e para se expressar a eficiência de uma coluna, independentemente do comprimento, criou-se o termo "altura equivalente a um prato teórico", H :

$$H = L/n, \text{ onde } L \text{ é o comprimento da coluna.}$$

Portanto H é uma medida da eficiência da coluna, isto é, a capacidade relativa de uma coluna dar origem a picos delgados (com pequenos t_w) e bem separados, e depende da posição do pico ou mais especificamente do fator de capacidade, k , do componente.

Às vezes é interessante expressar a eficiência de uma coluna em função do número efetivo de pratos teóricos, n_{ef} , que é calculado considerando-se o tempo de retenção ajustado.

$$n_{ef} = 16(t'_R / t_w)^2 = 5,54 (t'_R/t_{wh})^2$$

onde t_{wh} é a largura do pico à meia altura.

O número efetivo de pratos teóricos depende, entre outros fatores, do valor de k e pode ser representado em função deste fator:

$$n_{ef} = n (k/(k + 1))^2$$

O objetivo de qualquer processo cromatográfico é obter uma separação adequada dos componentes de uma amostra, no menor tempo possível. Para se conseguir esse objetivo, deve-se procurar uma maneira qualitativa de avaliar os diversos parâmetros cromatográficos. Isto pode ser feito através da maximização da resolução, R_s . A resolução pode ser definida como sendo a relação entre a distância de dois picos e a média de suas larguras (95):

$$R_s = \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{\frac{1}{2}(t_{w1} + t_{w2})}$$

Para um valor de $R_s=1$, a resolução é razoável, pois somente 2% de um pico sobrepõem o outro. Valores maiores de R_s implicam em melhor separação. Esta equação dá uma noção qualitativa da separação, porém não pode ser usada para a otimização ou controle da separação. Para isto, é necessário

saber como R_s varia com parâmetros experimentais, tais como: tipo de coluna, temperatura de análise, coeficiente de partição e grau em que os picos são separados.

Foi desenvolvida uma equação para a resolução contendo vários fatores diretamente relacionados com variáveis experimentais e que podem ser obtidos de um cromatograma (92).

$$R_s = (1/4)(\alpha - 1) \sqrt{n} (k'/1 + k')$$

Como a medida da resolução é geralmente feita para dois picos próximos, o valor de k deve ser o valor médio dos fatores de capacidade, representado na equação por k' .

É desejável maximizar n (ou minimizar H), através do ajuste dos parâmetros cromatográficos, para se conseguir uma desejada resolução R_s . Para isto, é importante considerar inicialmente a simetria dos picos, pois picos simétricos indicam que a coluna e o equipamento funcionam adequadamente, em relação à separação. Picos assimétricos podem indicar a existência de fatores relacionados com a coluna ou extra-coluna, que aumentam t_R ou t_W (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 - Fatores extra-coluna que influem em n .

| FATORES | t_R | t_W |
|---|-------|-------|
| Volume excessivo no módulo de injeção | + | ++ |
| Volume excessivo de amostra injetada | + | ++ |
| Vaporização lenta da amostra | ++ | +++ |
| Volume excessivo do detector | + | +++ |
| Resposta lenta do detector | + | ++ |
| Volume excessivo nas conexões da coluna | + | ++ |

Existem dois tipos de assimetria: assimetria anterior (primeira metade do pico) e assimetria posterior (segunda metade do pico).

A assimetria anterior é observada em amostras com pressões de vapor muito baixas, que condensam no módulo de injeção ou na parte anterior da coluna. Geralmente possuem tempos de retenção muito longos.

A assimetria posterior, denominada cauda, é geralmente produzida por adsorção do componente na superfície do suporte da fase estacionária ou nas paredes do tubo da coluna. Pode também ser originada pelo efeito de mistura nas regiões externas à coluna, denominadas "volume morto" do sistema. Nos equipamentos modernos o volume morto é minimizado ao ponto de não influir na resolução. Muitas vezes os operadores introduzem volume morto, através de conexões impróprias na coluna.

O uso de colunas de vidro sinalizado, para a eliminação dos pontos ativos na superfície, reduz a zero os efeitos de adsorção.

Estes efeitos foram bastante estudados por Van Deemter e colaboradores (98) e Jones (99) há quase duas décadas.

Três fatores podem contribuir para o alargamento dos picos:

- efeito de caminhos múltiplos (A);
- difusão molecular (B);
- resistência à transferência de massa (C).

Baseando-se nestes fatores, uma equação foi desenvolvida (98), cuja forma simplificada é:

$$H = A + B/\mu + C\mu$$

onde μ é a velocidade linear do gás de arraste e é dado pela relação entre o comprimento da coluna e o tempo de residência de uma substância não retida (t_0).

Pode-se observar que esta é uma equação com três termos que se somam. Cada um exerce a sua contribuição na separação.

Uma expansão desta equação mostra com mais detalhes a dependência de H em função de vários parâmetros, tais como diâmetro das partículas do suporte sólido, coeficiente de difusão da amostra no gás de arraste, irregularidades no empacotamento, espessura da película de fase estacionária e outros. (98-100)

Como pode ser visto na Figura 1.7, há um valor ideal, para a velocidade linear do gás de arraste. Na prática, muitas vezes é conveniente perder um pouco na resolução e ganhar no tempo de análise, operando-se o sistema com uma vazão um pouco maior que a ideal.

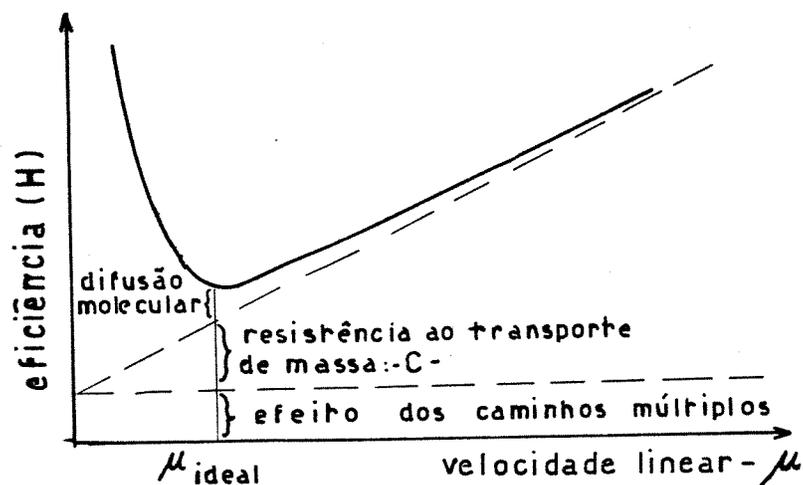


Figura 1.7 - Variação da eficiência de uma coluna com a vazão da fase móvel.

O primeiro termo da equação, termo A, traduz os diversos caminhos possíveis que uma determinada molécula pode percorrer no interior da coluna, acarretando tempos de residência diferentes para uma mesma substância, colaborando para o alargamento dos picos. Este efeito é influenciado pelo tamanho das partículas que constituem o empacotamento, pela sua forma, pelo modo como é feito o empacotamento e pelo diâmetro da coluna. (Figura 1.8)

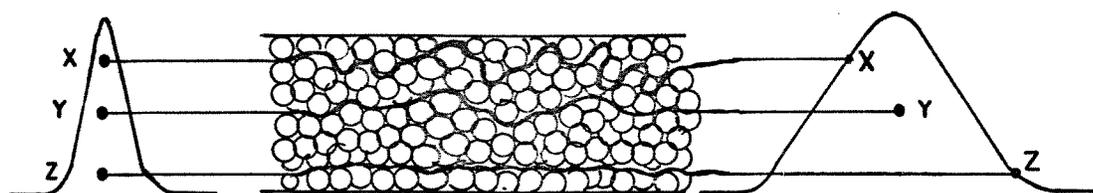


Figura 1.8 - Efeito dos caminhos múltiplos.

O uso de partículas de pequenos diâmetros é uma forma de minimizar A. No entanto pequenos diâmetros conduzem a grande perda de carga na coluna e a empacotamentos não uniformes (101), implicando em limitação quanto ao diâmetro das partículas.

O segundo termo, B, é proporcional ao coeficiente de difusão de amostra no gás de arraste. O valor deste coeficiente pode ser reduzido, aumentando-se a densidade do gás, quer pelo aumento do peso molecular ou pelo aumento da pressão. No entanto, exigências do equipamento, facilidade de adquirir gases no mercado nacional, custo, etc. limitam a escolha a poucos gases.

O terceiro termo, \underline{C} , representa o alargamento de picos, resultante da resistência ao transporte de massa na fase líquida. Observando-se o gráfico da Figura 2.5, pode-se notar que o termo \underline{C} varia linearmente com a velocidade do gás de arraste, contribuindo com uma constante no valor de \underline{H} . Para velocidades muito grandes, o termo \underline{C} , devido à resistência ao transporte de massa, predomina, como é de se esperar.

Para obter as condições de otimização, diferencia-se a equação obtendo-se o mínimo da função:

$$\frac{dH}{d\mu} = -\frac{B}{\mu^2} + C = 0 \text{ e } \mu = (B/C)^{1/2}$$

Substituindo-se na equação geral:

$$H_{\min} = A + 2C (B/C)^{1/2} = A + 2 (BC)^{1/2}$$

Nota-se então, pelo valor $H_{\min} = A + 2(BC)^{1/2}$, que a eficiência depende fundamentalmente do termo \underline{A} , que é função do diâmetro das partículas e da homogeneidade do empacotamento.

1.2.1.4 Colunas para cromatografia gasosa

A coluna é um dos componentes mais importantes de um cromatógrafo, pois ela é a responsável pela separação das substâncias constituintes da amostra.

As colunas cromatográficas podem ser de dois tipos: capilares e empacotadas. Trataremos apenas de colunas empacotadas, ou de recheio, que são constituídas de um tubo me-

tálico, de vidro ou de plástico, preenchido com a fase estacionária, onde será promovida a separação.

As colunas analíticas têm geralmente diâmetros de 2 a 5 mm e comprimentos de 1 a 10 metros. As preparativas têm diâmetros internos de 5mm a 10cm e até 10 metros de comprimento.

Para cromatografia gás-sólido, várias substâncias têm sido usadas para adsorver seletivamente os componentes de uma amostra. Materiais do tipo carvão grafitizado, comercializados como Carbopack (102), são bastante usados atualmente. Outros materiais muito comuns são os polímeros porosos, alumina, sílica gel e peneira molecular, sendo que este último separa por exclusão.

Quando estes materiais são impregnados com determinadas substâncias, denominadas "modificadores de superfície", a sua capacidade de separação pode se tornar maior que a do material original (103-105).

Uma excelente comparação entre os desempenhos de diversos materiais usados em cromatografia gás-sólido foi apresentado por Vidal-Majar e colaboradores (106), estudando a retenção de clorofluoroalcanos.

Na cromatografia gás-líquido, o sucesso de uma separação depende da escolha da fase líquida que recobre o suporte sólido.

Devem-se considerar os seguintes fatores na seleção de uma fase estacionária líquida:

- forças de interação soluto-solvente, isto é, propriedades das soluções, tais como: polaridade, interações químicas, pontes de hidrogênio e outras forças de coesão;

- limitação de temperatura, pois a fase líquida deve ter baixa volatilidade (pressão de vapor menor de 0,1mm Hg na temperatura de operação), e ser estável quimicamente nas temperaturas de análise;

- possibilidade de reações irreversíveis na coluna, pois deve ser compatível quimicamente com os componentes da amostra, inclusive com eventuais impurezas injetadas.

Existem constantes cromatográficas que podem ser de grande auxílio na escolha de uma fase líquida. São as constantes de Rohrschneider (107) e McReynolds (108). O sistema da escolha é baseado no uso de índices de retenção, descrito detalhadamente por Kovats (109). O índice de retenção I indica a posição de um composto no cromatograma, em relação a hidrocarbonetos saturados de cadeia linear (n-parafinas). Por definição, I para o hexano vale 600, para o nonano vale 900 e para C_nH_{2n+2} vale $100n$, para qualquer coluna ou condição experimental.

O índice de retenção para um determinado composto pode ser obtido em uma coluna apolar e em uma coluna polar, e sua diferença pode ser calculada

$$\Delta I = I_{\text{polar}} - I_{\text{apolar}}$$

Esta diferença (ΔI) é proporcional à polaridade da coluna.

Rohrschneider (107) concluiu que a polaridade de uma coluna varia também com a substância a ser analisada. Para isto, determinou os valores de ΔI para benzeno, etanol, metilacetona, nitrometano e piridina e usou esqualano como fase estacionária apolar.

Para se caracterizar um grupo de fases líquidas é necessário somente determinar os índices de retenção para os referidos compostos numa coluna de esqualano e depois nas colunas a serem caracterizadas. Todas as determinações devem ser feitas em idênticas condições experimentais e usados 20% de fase líquida em Chromosorb WAW 80/100 mesh.

As constantes de McReynolds, obtidas de modo similar às de Rohrschneider, são as mais usadas nas avaliações de fases estacionárias, e são apresentadas pelos fabricantes e distribuidores (110-111).

McReynolds classificou mais de 400 compostos em 77 fases líquidas diferentes (108,112). Os valores obtidos são aproximadamente 100 vezes maiores do que os valores apresentados por Rohrschneider. Ao examinar os valores das constantes de McReynolds numa tabela (Apêndice 1) obtém-se uma orientação quanto à polaridade da fase estacionária ou quanto à sua capacidade de retenção das espécies químicas em que a tabela foi baseada (113).

Supina (114) apresentou uma análise muito interessante sobre o uso das constantes de Rohrschneider, mostrando a seletividade de várias colunas e previsões dos valores destas constantes, baseadas em tratamento matemático.

O suporte da fase líquida ou suporte sólido também desempenha um importante papel no processo de separação. Primeiro, porque influi diretamente na eficiência da coluna, isto é, na largura do pico (efeito dos caminhos múltiplos). Segundo, porque se interagir fortemente com algum componente da amostra, produz cauda no pico. Este fenômeno é causado por sítios ativos na superfície do suporte, geralmente como con-

seqüência de interações do tipo pontes de hidrogênio. A minimização da cauda pode ser feita através da modificação da superfície do suporte, da seguinte maneira:

- eliminando-se os sítios ativos através da lavagem do suporte com ácido ou base. Isto remove impurezas minerais da superfície, assim como micropartículas (denominadas "finos").

- Modificando-se a superfície através de reações com agentes silanizantes.

- Usando-se fases líquidas que possuem grupos funcionais polares, que interagem com a superfície ativa, neutralizando parcialmente seu efeito adsortivo.

Além de ser inerte, o suporte sólido deve ter grande área, estabilidade mecânica, térmica, e oferecer baixa perda de carga. No entanto, sabe-se que as substâncias que possuem grande área exibem atividades de adsorção.

Os materiais do tipo terras diatomáceas são verdadeiras micro-esponjas e apresentam grandes áreas. São provenientes de esqueletos de diatomitas, que são algas microscópicas, unicelulares, formadas principalmente de sílica amorfa e contendo óxidos metálicos como impurezas. Estes materiais são os mais usados como suportes de fase estacionária e são comercializados com os nomes de "Chromosorb", "Diatoport", "Supelcort", "Anakron", "Celite", etc.

A resistência mecânica é outro fator importante, pois no processo de empacotamento ou mesmo no manuseio e transporte, as partículas podem quebrar-se dando origem aos "finos", que acarretam sítios ativos e grande perda de carga na coluna, diminuindo a sua eficiência.

Os polímeros porosos como o "Porapak", foram primeiramente usados por Hollis (115) e são amplamente usados na separação de gases inorgânicos e hidrocarbonetos leves e na análise de poluentes atmosféricos. As microesferas do polímero funcionam simultaneamente como fase estacionária e como suporte sólido. As moléculas da amostra interagem diretamente com a superfície do polímero amorfo, e por isso a natureza do polímero determina as propriedades da coluna. Por não existir fase estacionária líquida, estes polímeros apresentam muita consistência nos dados de retenção, principalmente quando se trabalha com programação de temperatura.

1.2.1.5 Fase móvel

A fase móvel é também denominada gás de arraste, e por ser um constituinte que participa no processo de separação e de detecção, é muito importante no sistema cromatográfico.

Na cromatografia gás-líquido, o gás de arraste é considerado inerte e serve apenas para transportar a amostra através do sistema.

Na cromatografia gás-sólido, o gás de arraste pode competir com os componentes da amostra, na interação com os sítios ativos da fase estacionária, e pode influenciar diretamente na separação (91).

Geralmente, devem-se considerar os seguintes fatores, na escolha de um gás de arraste:

- Ser inerte, para não interagir com os componentes da amostra.
- Ser de fácil aquisição, a preço acessível e com alto teor de pureza.

- Ser compatível com o sistema de detecção.

Os gases mais usados são: hélio, hidrogênio, argônio, nitrogênio e CO_2 .

O hélio apresenta muitas vantagens: é inerte, pode ser encontrado com alto teor de pureza e é compatível com os detectores, porém tem alto custo. O hidrogênio pode ser facilmente adquirido no mercado nacional a baixo preço e com alto teor de pureza, porém oferece um grande perigo no seu manuseio e não é totalmente inerte, apresentando possibilidade de reagir com componentes da amostra e até com partes de certos detectores, como os termístores. O nitrogênio é inerte, barato, compatível com muitos detectores, pode ser encontrado com alto teor de pureza, e é por isso o mais usado em nosso país.

No Apêndice 2 tem-se as características dos gases mais usados.

O efeito das impurezas do gás de arraste na estabilidade e na resposta do detector pode ser muito acentuado, e aumenta com a sensibilidade da análise. A concentração de impurezas na coluna pode resultar na alteração dos tempos de retenção, principalmente em cromatografia gás-sólido.

A velocidade da fase móvel, como já se viu pela equação de Van Deemter, também influi na eficiência de uma coluna e deve ser estabelecida com certo cuidado para o maior desempenho do sistema.

1.2.1.6 Sistemas de detecção

Os sistemas de detecção das substâncias separadas pela coluna cromatográfica podem ser classificados em detectores integrais e diferenciais.

Os primeiros dão resposta proporcional à massa total do componente eluído. O cromatograma produzido compõe-se de uma série de degraus onde a distância entre os níveis é proporcional à massa total do componente.

Os detectores diferenciais dão resposta proporcional à concentração ou vazão do componente eluído. O cromatograma neste caso se constitui de uma série de picos, cada pico correspondente a um composto diferente. Estes detectores são os mais usados devido à sua sensibilidade e praticidade na operação.

As propriedades e características de vários detectores usados em cromatografia gasosa foram discutidas por Dimbat e colaboradores (116), Driscoll (117) e outros (90-93) e estão mostradas resumidamente no Apêndice 9.

É difícil fazer uma comparação entre os diversos tipos de detectores, pois a maioria difere entre si no princípio de funcionamento. Todavia, os requisitos gerais para um detector devem ser:

- detectar todas das substâncias eluídas na coluna
- alta sensibilidade
- rapidez na resposta
- baixo ruído
- grande faixa linear de resposta
- simplicidade de operação
- baixo custo
- robustez
- insensível a pequenas variações na vazão e temperatura
- não destrutivo, para possibilitar a coleta de frações eluídas (preparativa).

Um detector que reúna todas estas qualidades ainda não foi desenvolvido; no entanto, muitos preenchem a maioria dos requisitos para um determinado propósito.

Existem casos, em que se deseja especificidade do detector, e para isto a seletividade é fator positivo.

A sensibilidade de um detector pode ser definida em termos da quantidade mínima detectável da substância que se deseja medir, e é dada por Q/t_w , onde Q é a quantidade mínima detectável e $Q = 2N$, onde N é o ruído da linha de base, conforme a Figura 1.9.

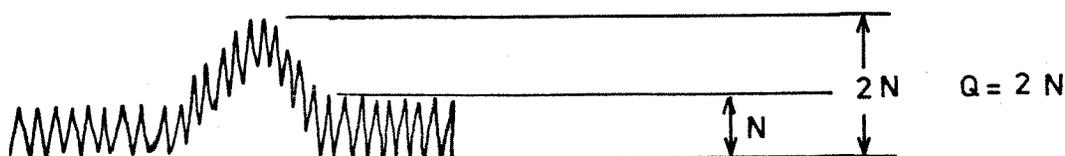


Figura 1.9 - Quantidade mínima detectável

O sinal de um detector, que é alimentado num registrador, pode ser ampliado eletronicamente, tanto quanto se queira. Porém, o ruído eletrônico, proveniente do sistema cromatográfico e dos componentes eletrônicos, é também ampliado, podendo ultrapassar o próprio sinal gerado pelo detector. Por isso há um limite de ampliação ou uma concentração mínima da amostra a ser detectada.

Na maioria dos detectores, a resposta é função da estrutura química do composto, e pode ser definida como a quantidade de sinal gerada por certa quantidade de amostra. Isto

pode ser obtido dividindo-se a área do pico pela massa do componente que deu origem ao pico (95).

Existem vários sistemas de medida de áreas, que apresentamos no Apêndice 7.

A faixa de linearidade de um detector é definida (95) como a relação entre a maior e a menor concentração, na qual o detector é linear. Os valores de linearidade variam de detector para detector.

O detector mais comumente usado é o de condutividade térmica, que, apesar de ter sido pouco usado no presente trabalho, merece uma breve discussão.

O princípio de funcionamento baseia-se na capacidade de um corpo quente dissipar calor, numa razão que depende da composição do gás que o circunda. Esta capacidade, ou mais especificamente a velocidade de transporte de calor pelo gás, é uma forma de medir a sua composição. O elemento sensor pode ser um filamento aquecido (de tungstênio ou ligas deste) ou um termistor (semicondutores feitos de óxidos metálicos).

O calor é dissipado por condução, quando as moléculas do gás colidem com o filamento aquecido e têm sua energia cinética aumentada. Quanto maior o número de colisões por unidade de tempo, maior será a dissipação. As diferenças na condutividade térmica de gases são baseadas na mobilidade ou velocidade na qual as moléculas do gás se difundem, e essa velocidade é função do peso molecular. Isto implica que quanto menor a molécula, maior é a sua velocidade e a sua capacidade de conduzir calor, ou condutividade térmica. O hélio e o hidrogênio possuem altas condutividades térmicas.

A corrente elétrica passando pelo filamento vai aquecê-lo, e o gás de arraste continuamente dissipa o seu calor. Se somente flui o gás de arraste, a dissipação é constante e tem-se uma linha de base uniforme no cromatograma. Quando um componente é eluído, a mistura com o gás de arraste altera a condutividade térmica do sistema que flui, o filamento se aquece e a sua resistência elétrica é alterada. Isto provoca um desequilíbrio numa ponte de Wheatstone onde se localiza o filamento, e o sinal aparece como um pico, no papel do registrador. Este detector é de simples operação, não é destrutivo, responde a tudo que elui da coluna, porém não apresenta alta sensibilidade.

O detector de ionização de chama é um detector de alta sensibilidade, porém é seletivo. Este fato é muitas vezes benéfico, pois pode fornecer importantes informações para a análise qualitativa. Além de ser destrutivo, o que dificulta a cromatografia preparativa, utiliza vários gases para a sua operação. Hidrogênio e ar são usados para a manutenção da chama, além do gás de arraste.

Este detector foi inventado pelos ingleses McWilliam e Dewar (118-119), que se basearam na emissão de elétrons por moléculas orgânicas e inorgânicas, devido à energia térmica de uma chama de hidrogênio. O eluído da coluna é misturado com hidrogênio e queimado com o oxigênio do ar num maçarico. Os íons e elétrons formados na chama, ao se aproximarem de um eletrodo, propiciam a passagem de uma corrente elétrica entre o maçarico e o eletrodo, onde há uma diferença de potencial. A corrente elétrica é ampliada através de um amplificador eletrométrico (eletrômetro) e registrada.

A maioria dos compostos orgânicos e alguns gases inorgânicos dão resposta neste sistema, com exceção dos apresentados no Apêndice 8.

Os mecanismos da produção dos íons na chama foram explicados por Sternberg e colaboradores (120).

É muito importante a relação de vazão entre os gases que entram na região da chama, principalmente a relação hidrogênio/gás de arraste, pois determina a sua temperatura e conseqüentemente a eficiência da ionização. Condon e colaboradores (121) determinaram que a relação ótima é 1. A relação entre ar/gás de arraste deve variar de 8 a 10, porém a vazão de ar nunca deve exceder a 400 mL/min (122). Um excesso de ar conduz a turbulência na região da chama, o que conseqüentemente resulta em ruído. Baixa vazão de ar acarreta um decréscimo de sensibilidade (Figura 1.10).

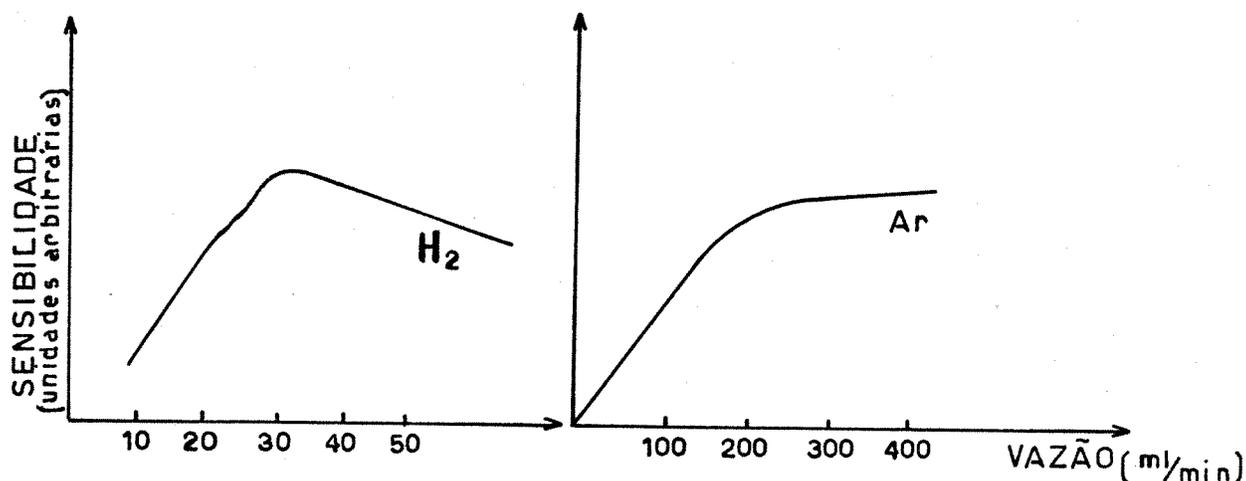
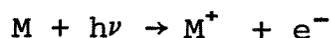


Figura 1.10 - Efeito da vazão de hidrogênio e de ar na sensibilidade do detector de ionização de chama.

A sensibilidade deste detector é proporcional ao número de átomos de carbono da espécie, principalmente para uma série homóloga.

Outro detector que atualmente tem sido muito usado é o detector de fotoionização. Este sistema de detecção é relativamente novo, pois o primeiro instrumento disponível comercialmente foi introduzido em 1976, pela HNU Inc. (123).

O detector de fotoionização utiliza o princípio da absorção de um fóton por uma molécula e sua conseqüente ionização, conforme a reação:



onde M é a molécula ionizável e $h\nu$ é um fóton com energia maior ou igual ao potencial de ionização da molécula. Os íons resultantes da fotoionização sofrem neutralização nos eletrodos, onde existe uma diferença de potencial. Conseqüentemente uma corrente elétrica proporcional à concentração da espécie ionizada é gerada e ampliada por um eletrômetro.

Para a fotoionização, é usada uma lâmpada que emite radiação no ultravioleta, correspondente à linha alfa do hidrogênio, em 121,6nm, isto é, com energia de 10,2 eV. Os fótons passam através de uma janela de fluoreto de magnésio e vão à câmara de ionização onde flui o eluído da coluna cromatográfica.

Este detector responde com muito baixa sensibilidade, ou não responde, a substâncias cujos potenciais de ionização excedam a 10,2 eV (Apêndice 3).

Certas moléculas produzem picos negativos devido à captura de

elétrons por heteroátomos, e este efeito é denominado "quenching" (124).

A extrema sensibilidade deste detector já foi comprovada em vários trabalhos (124-129). Driscoll e colaboradores (124,126) apresentaram uma comparação de sensibilidade e desempenho entre este detector e o de ionização de chama, e concluíram que o detector de fotoionização é 35 vezes mais sensível para compostos aromáticos e 7 vezes para alcanos.

Os parâmetros instrumentais que afetam a sensibilidade do detector de fotoionização são:

- intensidade da lâmpada;
- vedação do sistema de detecção;
- limpeza do bulbo ou invólucro da lâmpada;
- limpeza dos eletrodos;
- limpeza da janela de fluoreto de magnésio;
- fluxo de gás através de detector;
- temperatura de detector.

Finalmente, outro sistema de detecção que está sendo amplamente usado nos sistemas cromatográficos é o espectrômetro de massa, que, além de detectar as substâncias eluídas da coluna, fornece importantes informações para a elucidação das suas estruturas.

O espectrômetro de massa é geralmente integrado ao cromatógrafo através de uma interface, e a este sistema se dá o nome de CG/EM (Figura 1.11).

Os primeiros sistemas deste tipo foram desenvolvidos por Gohlke em 1957 (132,133), que usou um espectrômetro de massa para monitorar o eluído de uma coluna, em paralelo com um detector de condutividade térmica.

Antes do desenvolvimento dos sistemas CG/EM era muito difícil a realização de análise qualitativa de uma mistura complexa de compostos orgânicos. Necessitava-se de quantidades razoáveis de amostra (muitos miligramas) e muito tempo de trabalho. Hoje pode-se submeter uma mistura de menos de 1 miligrama, contendo muitos componentes, em baixas concentrações (menos que 0,1%) a um sistema CG/EM e em pouco tempo pode-se obter a identificação da maioria, senão de todos os componentes (134).

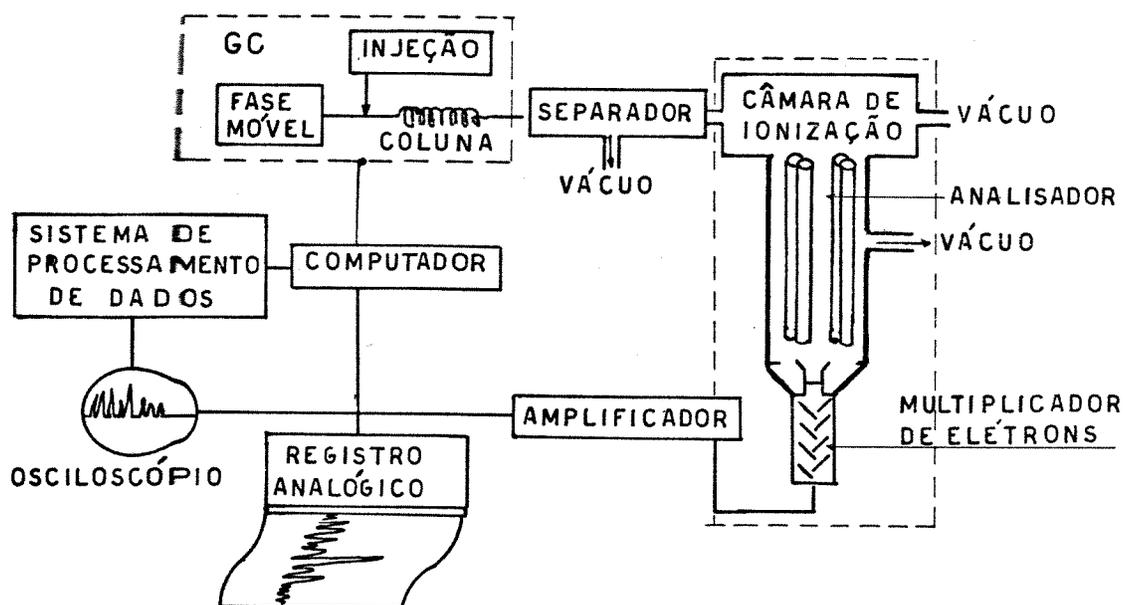


Figura 1.11 - Esquema de um sistema CG/EM.

O eluído do cromatógrafo vai para o separador ou interface, onde os componentes da amostra são separados do gás de arraste. A interface tem duplo propósito: eliminar o gás de

arraste e reduzir a pressão de saída do cromatógrafo ao nível desejado para a câmara de ionização.

Os separadores ou interfaces mais usados são os do tipo "jato" e foram inicialmente reportados na literatura em 1964 (142,143). O seu princípio de funcionamento é baseado nas diferentes velocidades de difusão das substâncias eluídas da coluna, na região de estrangulamento do tubo separador, causando um fracionamento da mistura gasosa (144,145) (Figura 1.12)

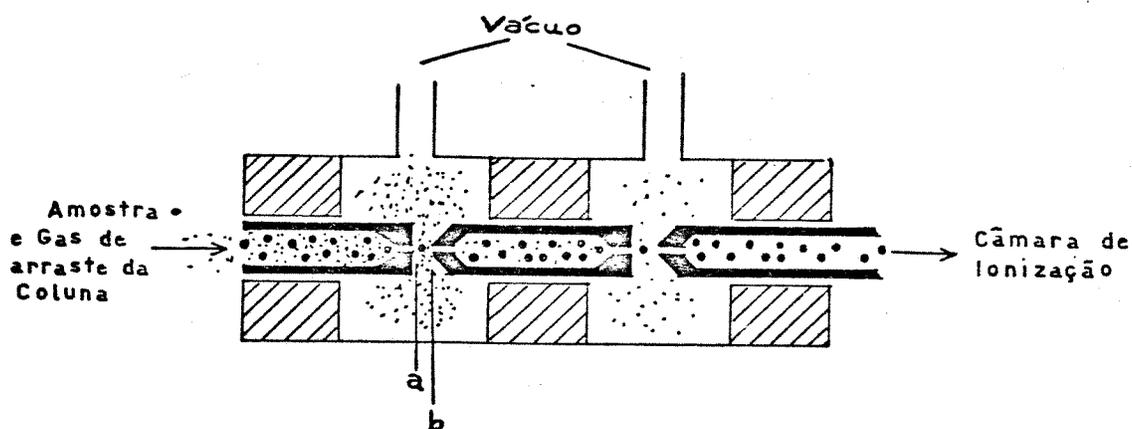


Figura 1.12 - Separador do tipo "jato" com dois estágios (142).

O eluído gasoso do cromatógrafo, ao passar através de um orifício estrangulado (a), se expande rapidamente numa região com vácuo (b). Isto causa um gradiente de pressão no interior do fluido. O efeito de separação ocorre se existirem condições tais que os componentes mais pesados fiquem no meio e os mais leves na periferia do jato. A difusão para cada componente é função do peso molecular, e por isso o hélio é geralmente usado como gás de arraste (134).

O hélio é eliminado pelo sistema de vácuo e a mistura enriquecida com o componente eluído vai para a câmara de ionização.

Ryhage (142) estudou com detalhes a influência de vários parâmetros no efeito da separação, assim como o número de estágios que pode possuir um destes sistemas.

Bonelli e colaboradores (146) desenvolveram um separador de um estágio, de vidro, para ser usado com substâncias termolábeis e que se decompõem em contato com metais. Este separador é usado atualmente nos sistemas Finnigan e Hewlett-Packard.

A ionização das moléculas provenientes do separador pode ser feita através de vários processos, entre os quais o impacto eletrônico, a ionização química e os processos de desorção (147) (Figura 1.13).

O método do impacto eletrônico é o mais popular e acompanha a quase totalidade de espectrômetros, graças a sua estabilidade, facilidade de operação, precisão no controle do feixe de elétrons, alta eficiência de ionização e custo.

Os elétrons são emitidos de um filamento aquecido (cátodo) e acelerados por um eletrodo (ânodo) que mede sua intensidade (correntes elétricas de 50 a 250 microamperes são usadas). A voltagem de aceleração dos elétrons ou a energia de ionização é variada pela mudança do potencial entre o filamento e as paredes da câmara de ionização.

A interação entre o feixe de elétrons e as moléculas orgânicas resulta numa transferência de energia de 10 a 20 eV, que é suficiente para causar ionização e, na maioria dos casos, a decomposição em fragmentos iônicos menores. O con-

junto de fragmentos iônicos, inclusive o íon molecular, se existir, é acelerado através de fendas para o analisador, que é onde os fragmentos são separados. O feixe de íons é então focalizado e os fragmentos separados de acordo com a relação entre sua massa e carga (m/e). Como a maioria dos íons tem carga unitária, a separação é considerada pela massa do fragmento. Existem vários tipos de analisadores, como os de única focalização, de duplo foco, do tipo "time of flight" e os quadrupolos. No sistema de foco único, a deflexão dos íons é feita por um campo magnético. No de duplo foco, usa-se geralmente um campo eletrostático e em seguida um campo magnético. O sistema "time of flight" separa os íons conforme a velocidade que adquirem depois de acelerados. O tempo gasto para um íon atravessar um determinado caminho é função da sua massa e pode ser determinado com alta precisão.

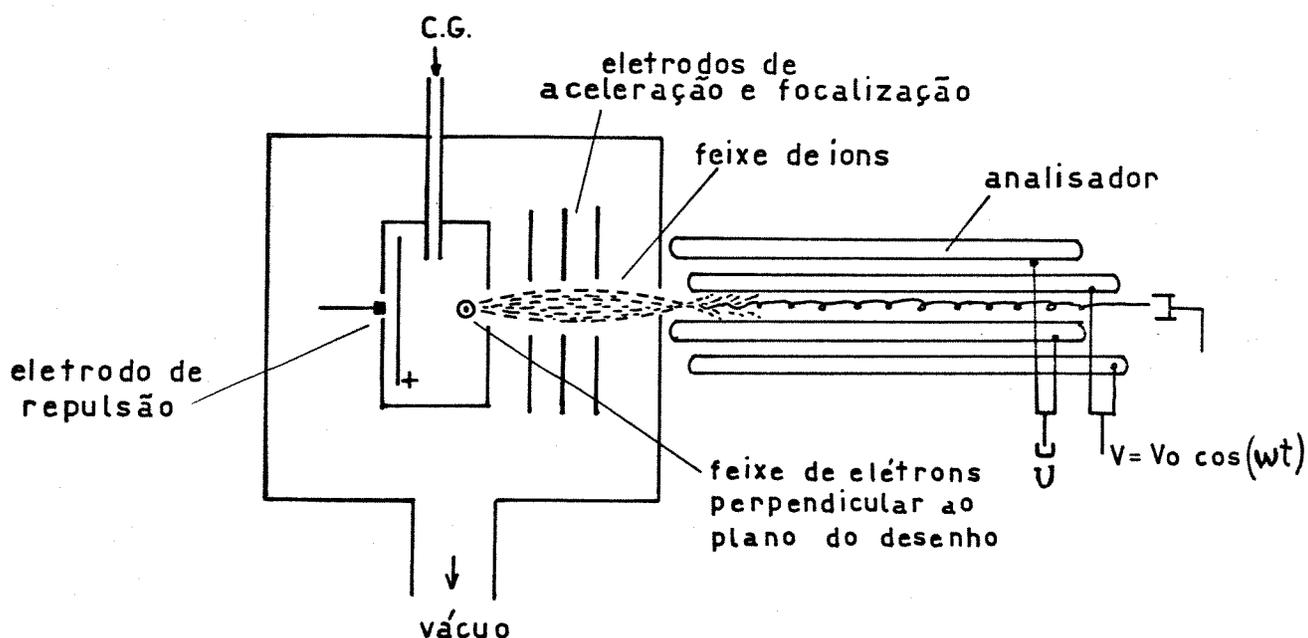


Figura 1.13 - Câmara de Íons e analisador do tipo quadrupolo.

No entanto, o analisador mais usado em CG/EM é o sistema quadrupolo (147,148). Este sistema consiste de quatro bastões paralelos com secção hiperbólica ou cilíndrica, onde é aplicado um campo eletrostático com frequência das ondas de rádio (radiofrequência). Os cilindros opostos são conectados eletricamente, conforme a Figura 2.11. É aplicado; em pólos opostos, um componente de voltagem contínua U e um componente $V = V_0 \cos (wt)$ onde $w = 2 \pi f$ e f a frequência. A diferença de potencial entre os dois conjuntos de bastões é $U \pm V_0 \cos (wt)$. Na prática a relação U/V deve ser menor que 1 ou então todos os íons são coletados nos pólos negativos (134).

Como consequência do campo elétrico oscilante, um íon positivo entrando na região do quadrupolo deve oscilar entre os eletrodos adjacentes, de polaridades opostas. Para um valor específico da frequência, íons de um único valor de massa sofrem uma oscilação constante e estável entre os eletrodos. Íons de menores ou maiores valores de massas oscilam com amplitudes crescentes até colidirem com os eletrodos, sendo neutralizados e retirados do sistema pelas bombas de vácuo.

Dentro do campo do quadrupolo não há forças na direção longitudinal, de forma que um íon com uma oscilação estável continua com a sua velocidade original até o detector.

Na Figura 1.14 tem-se uma comparação de espectros do benzoato de propila obtido nos diversos tipos de espectrômetros. Observa-se que a diferença entre os espectros é mínima.

A detecção dos íons separados pelo analisador é feita por multiplicadoras de elétrons ou por chapas fotográficas. As multiplicadoras de elétrons produzem uma amplificação de corrente com ganho de 10^3 a 10^8 e muito baixo ruído (148).

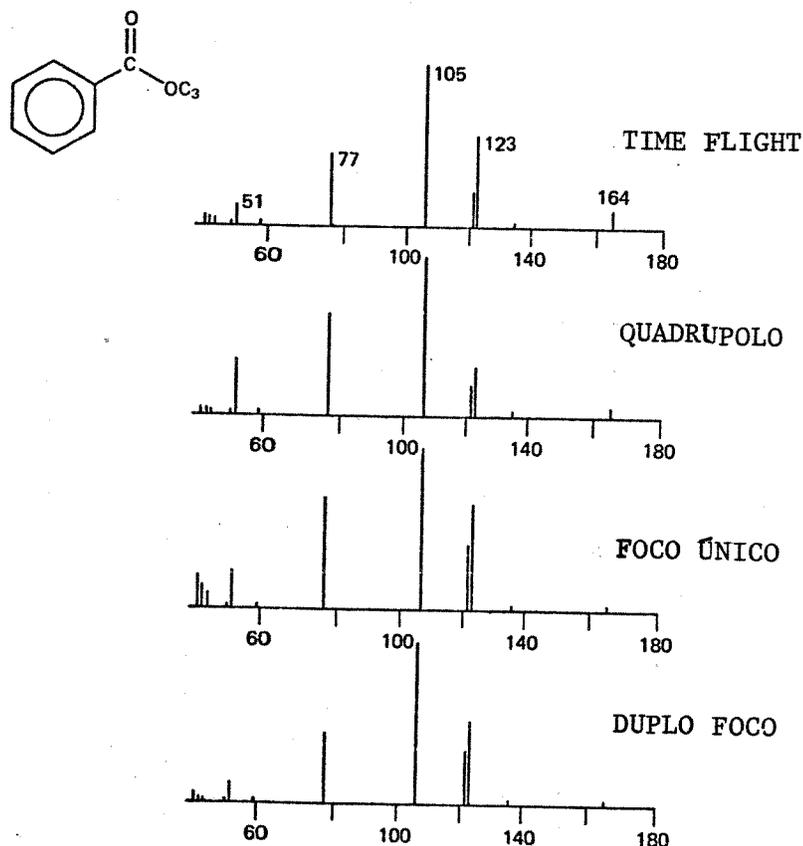


Figura 1.14 - Espectros do benzoato de n-propila obtidos em vários espectrômetros (134).

O sinal da multiplicadora de elétrons, depois de devidamente processado, é apresentado na forma de um diagrama de barras, de tabelas ou simplesmente na forma de picos.

O espectro de massa, apresentado através de um diagrama de barras, é traçado por um sistema computerizado e apresenta os valores m/e calibrados, em função das abundâncias relativas dos fragmentos.

Os espectros obtidos por um registrador oscilográfico, na forma de picos, não têm escala calibrada e por isso necessita-se de uma contagem manual e comparação com espectros de

padrões, cujos picos têm valores de m/e conhecidos.

Quando um espectrômetro de massa é usado como detector de um cromatógrafo, pode-se registrar o cromatograma por vários métodos, dependendo do grau de sofisticação do sistema. Geralmente a medida da corrente iônica total é o método mais usado, e é feita através de um sistema de eletrodos coletores de íons, colocados antes dos analisadores, que interceptam de 0 a 100% dos íons acelerados em direção ao analisador (149).

Quando se deseja muito alta sensibilidade, principalmente na análise de traços, se faz a monitoração da corrente devida a um único fragmento, geralmente um íon peculiar ou o mais abundante. Isto evita interferências do sinal gerado pelo gás de arraste ou impurezas. Existem sistemas que podem realizar a monitoração de mais de um fragmento, e são denominados "monitoração de íons múltiplos", que possibilitam o registro do sinal devido a até oito fragmentos diferentes, sendo de grande utilidade em análise quantitativa (150).

Os computadores e os microprocessadores têm desempenhado nos últimos anos um papel de fundamental importância para os sistemas CG/EM, não só para o controle do sistema, mas principalmente para o processamento e a apresentação dos resultados. Vários trabalhos marcaram o uso de computadores em sistemas cromatográficos (151,157-160), e futuramente a maioria ou até todos os equipamentos analíticos serão controlados por microprocessadores.

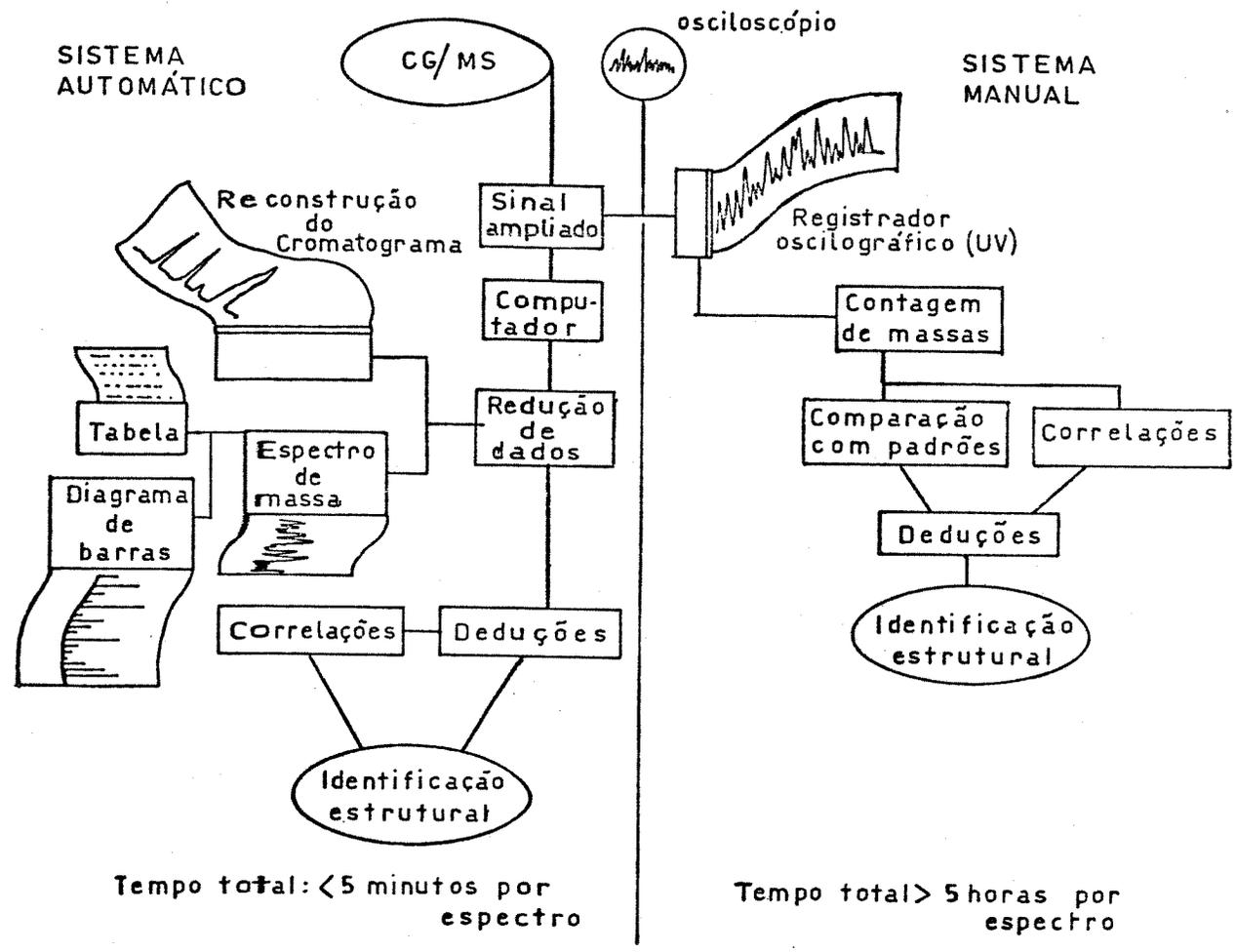


Figura 1.15 - Comparação entre os sistemas manuais e automáticos de identificação estrutural por espectrometria de massa.

1.2.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

1.2.2.1 Conceitos básicos

A cromatografia líquida teve sua origem em 1903, quando Tswett descreveu a separação de pigmentos clorofilados de plantas numa coluna de gesso (161).

Até o início da década de 60 nenhum avanço foi conseguido na cromatografia líquida, em termos de resolução, para complementar e até sobrepor, na maioria dos casos, a cromatografia gasosa. No entanto, no final desta década, um novo ramo da cromatografia mostrou grande esperança em revolucionar esta fabulosa técnica analítica — denominado cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A diferença entre a CLAE e a cromatografia líquida clássica está no equipamento usado ou, mais especificamente, na coluna.

As colunas para a cromatografia clássica operam com pressões baixas, pois os materiais de empacotamento oferecem baixa perda de carga, por serem constituídos de partículas de grande diâmetro (60-200 mesh). Isto conduz a baixas eficiências nas separações e a análises muitas vezes demoradas.

As colunas para CLAE possuem fases estacionárias com partículas de pequeno diâmetro (5-10 μm). Isto requer operação com altas pressões, (300 kg/cm^2), acarretando grande eficiência e análises rápidas.

Os detectores modernos oferecem muita sensibilidade e os sistemas permitem total automatização tanto analiticamente quanto na forma preparativa.

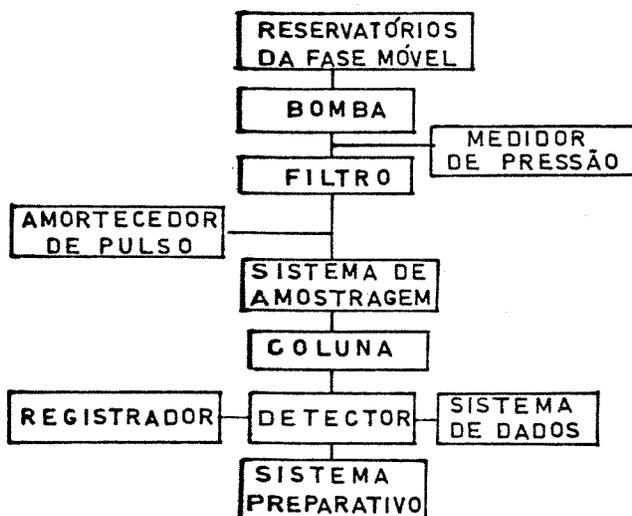


Figura 1.16 - Esquema de um sistema de CLAE.

Os componentes básicos de um sistema de CLAE são (Figura 1.16) :

- bomba, para propelir a fase móvel;
- sistema de amostragem, para a introdução da amostra no sistema;
- coluna, que contém a fase estacionária;
- detector, que indica a eluição dos componentes da amostra;
- registrador, que apresenta a resposta do detector, através do cromatograma;
- sistema de processamento de dados, às vezes denominado microprocessador, que processa os dados fornecidos pelo detector e também controla o sistema cromatográfico;
- sistema preparativo, para coletar os componentes eluídos.

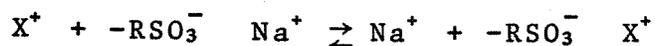
Existem quatro processos cromatográficos, usados para retenção das moléculas da amostra por CLAE: líquido-líquido, líquido-sólido, troca-iônica e exclusão.

O processo líquido-líquido, ou cromatografia de partição, envolve uma fase estacionária líquida recobrando um suporte inerte e de grande área. A fase líquida pode ser mecânica ou quimicamente ligada ao suporte, porém nos sistemas atuais quase que só fases quimicamente ligadas são usadas, e, por isso, vamos abordar somente este caso.

Baseando-se nas polaridades relativas das fases móveis e estacionárias, tem-se a cromatografia líquido-líquido com fase normal e com fase reversa. Com fase normal, o suporte sólido tem em sua superfície fase estacionária polar, e a fase móvel é apolar. Para fase reversa tem-se o oposto, isto é, fase estacionária apolar e fase móvel polar.

O processo líquido-sólido ou cromatografia de adsorção, envolve partículas de grande área, e a retenção ocorre por adsorção na superfície da fase estacionária.

Na cromatografia por troca iônica, a fase estacionária contém grupos iônicos fixos, quimicamente ligados à estrutura de um polímero ou à sílica, tais como R-SO_3^- , com contra-íons de carga oposta, como Na^+ . Os contra-íons estão normalmente presentes na fase móvel na forma de um sal, como NaCl . As moléculas iônicas da amostra são retidas por troca-iônica:



Finalmente, em cromatografia de exclusão (cromatografia em gel), o material de empacotamento é poroso, e a exclusão

se dá por tamanho de molécula. Moléculas muito grandes não penetram nos poros e são excluídas enquanto que as pequenas podem penetrar e são retardadas no processo. Assim, são eluídas primeiramente as substâncias cujas moléculas são maiores, o contrário do que ocorre nos outros processos.

As colunas constituem a parte mais importante em todo processo cromatográfico e, graças aos fantásticos avanços na tecnologia de fabricação, a CLAE é a técnica-analítica que mais rapidamente cresce nos dias atuais (162-163).

O número de fases estacionárias do tipo micropartículas para cromatografia líquido-sólido disponíveis comercialmente em 1980 dobrou em relação a 1977, e o número de materiais para fases quimicamente ligadas triplicou (164).

O processo de retenção em CLAE é diferente do processo para cromatografia gasosa, pois nesta a fase móvel é um gás inerte, que não exerce interação com as moléculas da amostra, e sua participação no processo é meramente como um fluido de transporte.

O estudo das colunas usadas em cromatografia gasosa forneceu dados e informações muito importantes para o desenvolvimento das colunas para CLAE. Porém os mecanismos de separação em CLAE são muito mais complicados. Em CLAE, a fase móvel, muitas vezes impropriamente chamada de solvente, desempenha um papel de fundamental importância no processo de separação, pois interage fortemente com a superfície da fase estacionária e com as moléculas da amostra. Qualquer mudança na fase móvel acarreta mudança no processo de separação. A complexidade do processo traz como consequência melhores separações, muitas vezes impossíveis por CG.

A estratégia para planejar um sistema de CLAE, com o objetivo de conseguir uma determinada separação, pode ser baseada em vários fatores, como:

- natureza da amostra;
- tipo de separação (seletividades) desejada;
- conveniência experimental;
- experiência com o método.

Baseando-se nestas considerações, Snyder & Kirkland (165) apresentaram um esquema para a escolha do melhor método de separação de uma determinada mistura, e que apresentamos no Apêndice 4.

Uma vez selecionado o método cromatográfico a ser usado, deve-se procurar otimizar o processo de separação, através de alterações das variáveis cromatográficas.

O objetivo geral em qualquer sistema cromatográfico é obter uma separação adequada dos componentes da amostra, e a forma qualitativa para isto é a medida da resolução.

As relações entre os parâmetros cromatográficos estão resumidos na Tabela 1.2...

Tabela 1.2 - Equações usadas em cromatografia.

| Nº | EQUAÇÃO | SIGNIFICADO DOS TERMOS |
|----|--|--|
| 1 | $t_R = t_o (1 + k')$ | t_R = tempo de retenção. t_o = tempo de residência de substância não retida pela fase estacionária. |
| 2 | $k' = \frac{t_R - t_o}{t_o}$ | k' = fator de capacidade. |
| 3 | $V_R = t_R \cdot F$ | V_R = Volume de retenção. F = Vazão de fase móvel. |
| 4 | $n = 16 \left(\frac{t_R}{t_w} \right)^2$ | n = número de pratos teóricos. t_w = largura do pico. |
| 5 | $n = L/H$ | L = comprimento da coluna. H = altura equivalente a um prato teórico. |
| 6 | $R_s = \frac{t_{R1} - t_{R2}}{\frac{1}{2} (t_{R1} + t_{R2})}$ | R_s = resolução. t_{R1} e t_{R2} = t_R dos componentes 1 e 2. |
| 7 | $R_s = \frac{1}{4} (\alpha - 1) \sqrt{n} \left(\frac{k'}{1+k'} \right)$ | α = fator de separação. |

1.2.2.2 Cromatografia líquido-sólido (CLS)

Os materiais de empacotamento das colunas para cromatografia líquido-sólido (CLS) são denominados adsorventes e são descritos em função da sua composição química (sílica, alumina, carvão ativo, etc.), área e geometria das partículas (diâmetro, porosas e peliculares, irregulares ou esféricas, etc.). Estes materiais são geralmente classificados dentro de duas categorias (162):

1) microesferas (30 a 40 μm), com camada porosa ou peliculares;

2) micropartículas (5 a 10 μm) totalmente porosas.

Podem ainda ser sólidos rígidos, géis rígidos e géis moles, partículas esféricas ou irregulares.

Na maioria das separações analíticas, empregam-se micropartículas totalmente porosas de sílica ou de alumina, com diâmetros na faixa de 5 a 10 μm . Os processos de retenção para estes adsorventes são similares, sendo retidas com maior intensidade as substâncias mais polares.

As colunas de sílica são mais usadas do que as de alumina, possivelmente por permitirem injeções de maiores quantidades de amostra, por serem mais inertes quimicamente, pela disponibilidade em maior número de formas cromatograficamente usáveis e pelo maior número de referências na literatura descrevendo as suas características e aplicações (168).

Os compostos básicos são mais retidos em sílica, ao passo que compostos ácidos são mais retidos em alumina básica, algumas vezes até adsorvidos irreversivelmente. Compostos que produzem reações, catalisadas por ácidos ou bases,

devem ser separados em alumina ou sílica, respectivamente (165).

Na caracterização de um adsorvente, deve-se considerar a sua área, o diâmetro médio de poro e o conteúdo de água (168-171). A área da fase estacionária em todo processo cromatográfico é de primordial importância e influi diretamente no valor de k' e na resolução. A maioria das sílicas porosas possuem áreas que podem ultrapassar a 400 m²/g. Valores maiores conduzem a poros extremamente pequenos e conseqüentemente a menor eficiência no transporte de massa. Áreas muito pequenas conduzem a baixa capacidade de amostra (e a decréscimo na sensibilidade de detecção).

O conteúdo de água na superfície do adsorvente desempenha um importante papel no processo de separação, e pode ser controlado pela fase móvel.

Para o desenvolvimento do sistema analítico, a fase móvel representa a principal variável, e suas características, como a energia de adsorção por unidade de área ξ° e a constante dielétrica ξ , devem ser consideradas.

Geralmente se inicia com dois solventes com valores de ξ° bem diferentes e se alteram as suas proporções até que a fase móvel possua a força ideal para os valores desejados de k' .

Quando se deseja alterar o fator de separação α em CLS, deve-se manter a força da fase móvel constante (ξ° constante) e substituir um dos solventes. Praticamente isto pode ser feito através de ábacos como o do Apêndice 5. Diversas combinações de solventes podem conduzir a seletividades diferentes e ao valor desejado de α (173). A adição de pequenas quanti-

dades de água ou compostos polares à fase móvel é usada como alternativa para melhorar a seletividade. Estes compostos modificadores da força do solvente podem ser adsorvidos nos sítios ativos, desativando a fase estacionária e conduzindo a separações melhores, pois a eficiência é aumentada com a diminuição das caudas causadas por estes sítios ativos. No entanto, na prática, é difícil a avaliação da quantidade de água que deve ser adicionada à fase móvel. Quando se muda de uma fase móvel para outra, o conteúdo de água na coluna é alterado e depende do caráter higroscópico dos solventes usados.

Por isso recomenda-se usar fases móveis denominadas isohídricas, que são fases móveis que possuem a mesma porcentagem de saturação com água e são intercambiáveis, sem alterar o conteúdo de água do adsorvente. Isto significa que quando uma segunda fase isohídrica é usada, o adsorvente não ganha e nem perde água para a fase móvel (174).

O uso de modificadores orgânicos em lugar de água tem sido recomendado para certas análises. Geralmente fases móveis com 50% de saturação com água, juntamente com solventes imiscíveis (modificadores), são usadas quando o valor de ξ° para a fase móvel for maior do que 0,1 (174).

O volume de amostra é também importante e, para sistemas analíticos em CLS, deve ser menor do que um terço do volume da fase móvel gasto para eluir o primeiro pico de interesse do cromatograma, a não ser que a amostra esteja dissolvida em um solvente mais fraco do que a fase móvel (175). Outro critério seria considerar o limite de 1 mg de amostra por grama de fase estacionária, para colunas de sílica totalmente porosa e 0,2 mg/g para sílica pelicular e alumina (175).

Um problema que é comum em CLS é o decréscimo de k' com o número de análises, em consequência da retenção irreversível de compostos polares, injetados como impurezas. Neste caso, deve-se proceder à regeneração da coluna, isto é, da eluição de todo material acumulado com o passar do tempo. Para isto, devem-se passar pela coluna, na seqüência indicada, os seguintes solventes: 10 Vc de diclorometano, 20 Vc de metanol e 20 Vc de água, onde Vc é o volume da coluna (176). No caso de suspeita de presença de componentes ácidos e básicos, deve-se adicionar ao metanol ou à água um pouco de piridina e ácido acético, respectivamente. Em seguida, a coluna deve ser condicionada com a fase móvel a ser usada na análise, para remover o excesso de água e metanol. Para isto, usa-se 20 Vc de metanol, 20 Vc de diclorometano e 20 Vc de hexano ou heptano, nesta ordem. Quando a fase contiver modificadores, a seguinte seqüência pode ser usada: 20 Vc de éter etílico, com certo grau de saturação em água, e 20 Vc da fase móvel (176).

A eficiência na regeneração pode ser verificada pela reprodutividade dos t_R , depois de várias injeções de um padrão (com $k' > 1$) a cada 5 a 10 Vc.

1.2.2.3 Cromatografia líquido-líquido

A cromatografia líquido-líquido clássica, como descrita por Martin & Synge em 1941, emprega fases estacionárias líquidas mecanicamente ligadas à superfície de um suporte sólido. As moléculas da amostra são distribuídas entre os dois

líquidos imiscíveis, sendo um deles a fase móvel e o outro a fase estacionária.

Neste sistema, quando necessário, a fase estacionária pode ser renovada, sem o reempacotamento da coluna, pela passagem da fase líquida dissolvida em um solvente, através do suporte sólido. Isto possibilita uma fácil descontaminação e uma vida mais longa para a coluna.

No entanto, as fases quimicamente ligadas são as mais usadas atualmente, apesar do pequeno número disponível. A grande vantagem das fases quimicamente ligadas está na sua estabilidade, pois devido a estarem covalentemente ligadas, dificilmente são removidas do suporte, acarretando vida longa para a coluna.

A cromatografia com fase reversa quimicamente ligada encontra sua aplicação na separação de misturas apolares e emprega fases móveis polares. Por isso veio a denominação de fase reversa, pois a fase estacionária é apolar e a fase móvel é polar, o inverso da cromatografia de adsorção. As fases estacionárias usadas em cromatografia com fase reversa podem também ser usadas na separação de espécies iônicas, através da cromatografia com pares iônicos (177).

Os materiais de empacotamento podem ser preparados por vários métodos, através de reações da fase líquida com o suporte sólido. Grande parte das fases estacionárias são constituídas de um suporte de sílica, uniforme e finamente dividido e da fase estacionária ligada covalentemente com os grupos silanol (Si-OH) (Figura 1.17).

As sílicas totalmente hidrolizadas possuem uma concentração de aproximadamente 8 micromoles de grupos silanol

por metro quadrado de superfície, mas no máximo 4,5 micromoles por metro quadrado podem reagir. O restante dos grupos Si-OH, apesar de blindados pelos radicais ligados, apresentam atividade de adsorção e podem causar caudas nos picos de componentes polares (178).

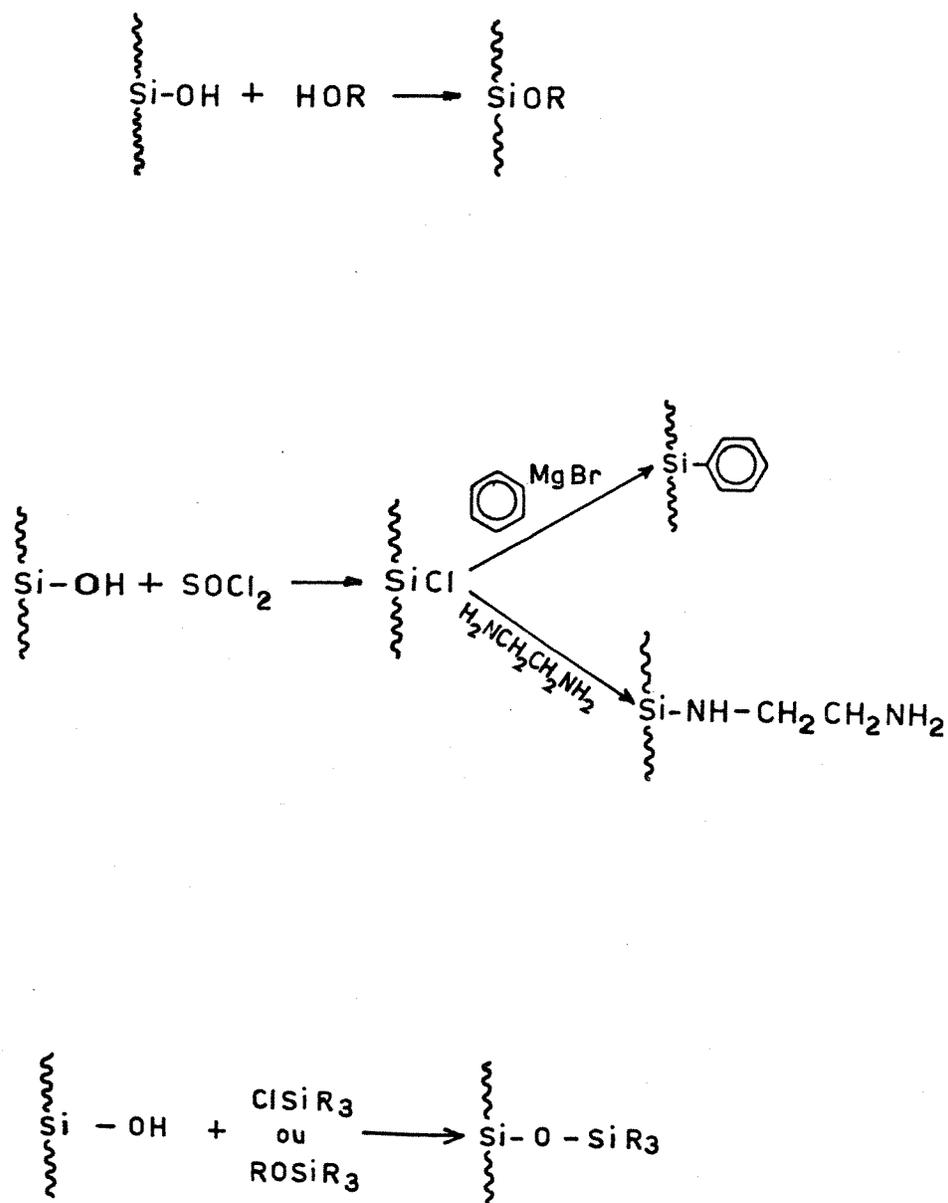


Figura 1.17 - Reações usadas no preparo de fases estacionárias quimicamente ligadas.

Os éteres são sensíveis à hidrólise e à temperatura, e por isso não podem ser usados com fases móveis que contêm água ou álcoois, o que impõe grande limitação ao seu uso.

Os materiais formados por ligações sílica-carbono ou sílica-nitrogênio produzem baixa concentração orgânica na superfície da sílica, e freqüentemente deixam resíduos indesejáveis (179-180).

Os materiais mais usados atualmente são os siloxanos, que são hidroliticamente estáveis na faixa de pH de 2 a 8,5 e a temperaturas de até 80°C, e são disponíveis com suportes peliculares ou totalmente porosos (164).

Um grande número de grupos funcionais pode, em princípio, ser ligado aos grupos silanol do suporte. No entanto, poucos são usados pelos fabricantes, e os mais comuns são o octil (C₈), o octadecil (C₁₈), o fenil, o alquilamina, o alquilnitrila e o ciano. Estes materiais oferecem uma grande faixa de polaridade e a combinação com a força da fase móvel, que pode ser ajustada pelo operador, dá grande potencial de separação a esta técnica cromatográfica (181).

A CLL com fase normal quimicamente ligada produz resultados semelhantes à cromatografia líquido-sólido, com as vantagens de serem minimizados os efeitos de cauda nos picos devido à adsorção, de não necessitar um controle rigoroso do conteúdo de água na fase móvel, de se conseguir um rápido equilíbrio da coluna, o que acarreta maior facilidade na operação com gradiente, e da compatibilidade com muitos solventes.

Os solventes mais comuns para constituírem a fase móvel em cromatografia com fase normal são os hidrocarbonetos (por exemplo, hexano e heptano) e diclorometano.

A seletividade para a fase reversa é obviamente diferente do que para a fase normal. A ordem de eluição é relacionada com o aumento da natureza hidrofóbica dos componentes da amostra e pode ser considerada o inverso da ordem de eluição para a fase normal. Isto significa que componentes que eluem rapidamente com fase normal e são mal separados, vão eluir num tempo muito longo com fase reversa (k' grande) e conseqüentemente a separação pode ser mais fácil.

As fases móveis usadas para fase reversa são misturas de solventes orgânicos com água, como metanol-água, tetrahidrofurano-água e acetonitrila-água.

O mecanismo de retenção em cromatografia com fase quimicamente ligada não foi até agora perfeitamente estabelecido. Existem várias proposições e dentre elas a de Horvath e colaboradores parece ser a mais convincente (182). Eles propõem que as moléculas da amostra interajam na superfície definida pela parte orgânica ligada ao suporte, que exista difusão e partição das moléculas entre o material ligado à sílica e a fase móvel, e, para o caso de adsorção, que as moléculas da amostra e da fase móvel exerçam uma competição por um lugar na superfície orgânica (182).

1.2.2.4 Desenvolvimento do processo cromatográfico: otimização das variáveis

Depois de escolhida a coluna cromatográfica, deve-se proceder à otimização dos parâmetros que governam a separação dos componentes de uma amostra.

Alguns autores apresentaram interessantes trabalhos sobre formas práticas para a otimização das variáveis de um processo cromatográfico, tanto analiticamente como em preparativa (183-186).

O desenvolvimento do método cromatográfico pode ser realizado na seguinte ordem:

- 1 - seleciona-se o processo adequado para o tipo de amostra, conforme esquema do Apêndice 4;
- 2 - selecionam-se as condições experimentais iniciais e obtém-se o cromatograma;
- 3 - procede-se a mudanças em parâmetros cromatográficos para uma melhor separação;
- 4 - estabelecem-se condições para a obtenção da resolução desejada, isto é, procede-se à otimização dos parâmetros cromatográficos;
- 5 - se necessário, resolvem-se problemas especiais;
- 6 - caso não se consiga atingir o objetivo, procede-se à escolha de outro processo, pelo item 1.

As informações relativas à amostra são de muita utilidade nos procedimentos iniciais, pois a separação de substâncias conhecidas é muito mais fácil do que quando nada se sabe a respeito da amostra.

Para proceder à otimização das variáveis cromatográficas, deve-se avaliar quantitativamente estas, através do cromatograma, em termos da resolução desejada para um conjunto de picos. O controle da resolução vai depender fundamentalmente do número de componentes da amostra e de como eles foram separados nas tentativas iniciais.

O controle quantitativo da resolução pode ser baseado na otimização das variáveis da equação fundamental:

$$R_s = \frac{(1/4) (\alpha-1) \sqrt{n}}{a} \frac{(k'/1+k')}{c}$$

onde k' é o valor médio dos fatores de capacidade para os picos.

A variação do primeiro termo (a) em função de α acarreta o deslocamento de um pico em relação ao outro e produz um grande aumento de R_s . O tempo de análise e as alturas dos picos não sofrem considerável alteração.

A variação de n (b) resulta em picos mais delgados e as alturas sofrem alterações consideráveis.

Qualquer alteração em (c), função de k' , implica em grandes mudanças na separação.

Na Figura 1.18 tem-se exemplos de picos onde se deve procurar aumentar a resolução. Os picos com k' pequeno ($k' \leq 1$) devem ser aumentados para a faixa ótima, isto é, $1 \leq k' \leq 10$ (idealmente $k' = 5$), pois R_s aumenta muito com pequeno aumento do valor de k' (165). A partir deste ponto o aumento de R_s se dá em menor proporção. Para valores de $k' > 10$, os picos se tornam excessivamente largos e o tempo de análise muito longo.

Snyder & Kirkland (165) observaram que os valores de k' são controlados através da força da fase móvel. Outros autores (186), depois de um extenso tratamento matemático para separação de séries homólogas, mostraram o efeito da força e da velocidade da fase móvel, sendo que esta afeta pouco o valor de n e conseqüentemente de R_s .

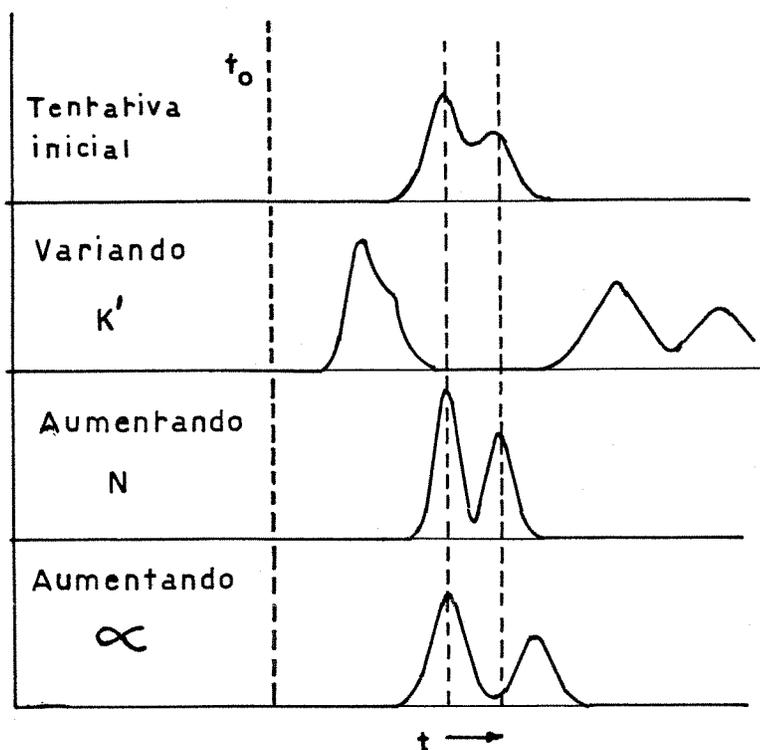


Figura 1.18 - Otimização de uma separação cromatográfica.

Para se proceder a um aumento de k' usam-se fases móveis fracas, e para uma diminuição, fases fortes. A variação da força da fase móvel é feita pela variação da concentração dos seus componentes ou pela substituição destes. Se a força da fase móvel for constante durante toda a análise, tem-se um sistema isocrático e se existir variação desta força com o tempo, tem-se um sistema gradiente. Quando se usa um sistema isocrático, deve-se proceder a várias alterações na concentração da fase móvel, até a obtenção do valor ideal de k' (187). Uma exceção a este caso é a cromatografia de exclusão, onde a migração independe da composição da fase móvel e somente a mudança da fase estacionária altera os valores de k' .

A vazão da fase móvel também pode ser variada, até que k' se situe entre 3 e 5 (188).

Para misturas complexas, devem-se obter os valores desejados de k' e da resolução pretendida, para um grupo de picos, sem desfavorecer a separação de outros. Em caso contrário, a operação isocrática pode não satisfazer a separação total e a operação gradiente deve ser tentada. Para isto as condições são mudadas durante a separação, de forma que k' vai sendo otimizado durante a análise.

O efeito de n está diretamente ligado ao tempo de análise, comprimento da coluna e pressão (189). Como as colunas não podem ser aumentadas ou diminuídas, um procedimento prático para a sua otimização seria a conexão de duas ou mais colunas em série. Convém mencionar que neste caso pode ser introduzido volume morto através da conexão, o que conduz à diminuição da resolução.

Efetuando variações em cada parâmetro e mantendo os outros fixos, pode-se conseguir a separação desejada num tempo de análise aceitável (188-190).

O aumento de α influi muito na resolução e geralmente conduz à diminuição do tempo da análise. No entanto, as variações de α são empíricas e dependem de várias tentativas experimentais. Quando o seu valor é tal que $1,0 < \alpha < 1,1$, isto é, o termo $(\alpha - 1)$ varia de $0 < (\alpha - 1) < 0,1$, existe possibilidade de se conseguir boa separação. O aumento de α pode ser feito através da modificação da fase móvel, da troca de solventes (ou do pH, em casos particulares), da mudança da fase estacionária e da temperatura da coluna. No entanto, antes de se proceder a qualquer alteração, deve-se obter o valor ideal de k' como já foi descrito.

Valores da força do solvente são freqüentemente encontrados na literatura e podem dar uma idéia na sua seleção (165-167).

A mudança da fase estacionária implica na mudança de coluna, o que deve ser considerado a última tentativa.

A variação da temperatura implica na variação da viscosidade da fase móvel e conseqüentemente na vazão e na pressão, mas é uma alternativa que pode ser útil. Deve ser sempre obedecido o limite de temperatura da operação da fase estacionária, que é especificado pelos fabricantes.

A otimização dos valores de k' , n e α para uma mistura complexa é geralmente difícil e envolve muitas tentativas. Existem várias rotinas sistemáticas que possibilitam a seleção das condições ideais (187-195). Assim, para cada caso, o entendimento dos princípios cromatográficos, as observações empíricas feitas nas primeiras tentativas de separação e os dados obtidos da literatura são os fatores usados na otimização das variáveis cromatográficas.

1.2.2.5 Detectores para CLAE

Muitos detectores têm sido usados na saída das colunas, para detectar os componentes eluídos. Até agora não se conseguiu desenvolver um detector que satisfaça a todos os requisitos analíticos.

As características desejáveis de um detector para a CLAE são:

- ter alta sensibilidade;
- responder a todas as substâncias;
- ser linear numa grande faixa de concentrações;
- não ser afetado por variações na temperatura e na vazão da fase móvel;
- não contribuir para o alargamento dos picos (ter o menor volume possível);
- ser de simples operação;
- ter um custo acessível;
- não destruir os componentes da amostra;
- ter resposta rápida.

Geralmente os detectores disponíveis satisfazem à maioria dos requisitos.

Para substâncias que diferem muito em suas propriedades físicas e químicas, pode ser necessário o uso de mais de um detector, simultaneamente, de modo a garantir que cada componente seja detectado adequadamente.

Os detectores óticos são os mais usados e dentre eles, estão os de índice de refração, de absorbância e fluorescência no visível e no ultravioleta. Outros detectores, como os eletroquímicos, de ionização de chama, absorção atômica, de espectrometria de massa e infravermelho, apesar de serem usados em muitos casos, ainda se encontram em fase de desenvolvimento.

Um detector é classificado como seletivo se sua resposta difere com a estrutura molecular dos componentes da amostra.

Os detectores de absorbância e fluorescência são sele-

tivos e de grande sensibilidade, enquanto que os índices de refração, apesar de responderem a um maior número de substâncias, têm muito baixa sensibilidade.

Uma característica muito importante na seleção de um detector para CLAE é a compatibilidade com eluição gradiente, e isto é possível quando o detector é insensível à variação da composição da fase móvel. Os detectores de absorvância e fluorescência geralmente satisfazem a este requisito, mas o detector de índice de refração raramente pode fazê-lo.

A sensibilidade absoluta em unidades de absorvância de um detector espectrofotométrico compara o sinal gerado \underline{S} com o ruído \underline{N} , de modo que a relação S/N seja maior ou igual a 2 (183).

A sensibilidade relativa é a mínima quantidade ou concentração da amostra, na qual se obtém a relação $S/N \geq 2$, obtida de modo análogo ao reportado para CG.

A quantidade mínima detectável - QMD - não é uma característica do detector, pois os detectores usados em CLAE são dependentes da concentração e por isso são melhor caracterizados pela concentração mínima detectável -CMD-. A QMD é igual ao produto da CMD pelo volume de fase móvel usado para eluir o componente. Este último mede o grau de diluição do componente na fase móvel antes de entrar no detector. Esta diluição ou alargamento de pico é uma função do fluxo e do processo cromatográfico na coluna. Então a CMD caracteriza o detector e a QMD o sistema cromatográfico (166,183).

No Apêndice 6 tem-se uma comparação de diversos detectores comercialmente disponíveis.

1.2.3 Análise qualitativa

A identificação dos componentes separados e detectados pelo sistema cromatográfico pode ser feita pela utilização de parâmetros Cromatográficos ou pelo uso de técnicas auxiliares.

O tempo de retenção de uma substância (t_R) é uma característica desta substância, apesar de que duas ou mais substâncias podem ter o mesmo t_R , quando o sistema cromatográfico é operado em idênticas condições.

A adição de um padrão puro à mistura, e o conseqüente aumento da área de pico cuja identidade se procura obter, é um subsídio a mais na elucidação final.

A resposta relativa a um determinado composto, em dois detectores (CG e CLAE) ou em dois comprimentos de onda diferentes, é uma característica conclusiva, na maioria dos casos.

O uso de um equipamento que identifica a substância, conectado diretamente ao sistema cromatográfico, é desejável, pois isto independeria do manuseio de amostra. Este sistema deve medir certa propriedade específica de cada substância, para que seja relacionada com dados da literatura ou com padrões.

Dos equipamentos usados, o espectrômetro de massa é o que mais possibilidades pode oferecer em termos de riqueza de informações analíticas, apesar do custo alto e das limitações quanto à fase móvel. No entanto, além de poder fornecer o peso molecular, a análise elementar, e muitas vezes a estrutura, através do estudo do mecanismo da fragmentação, utiliza quantidades muito pequenas de amostra.

O sistema CLAE/espectrômetro de massa vem sendo motivo de muitas pesquisas, visando principalmente sobrepor às limitações impostas pela interface, que separa a amostra da fase móvel.

Vários sistemas são comercializados atualmente (196-197). O sistema Finnigan, por exemplo, usa uma fita metálica para transportar o eluente do cromatógrafo até a câmara de ionização. Neste trajeto a fase móvel é evaporada com o uso de radiação no infravermelho e por um sistema de vácuo. Os componentes da amostra são então aquecidos e vaporizados na câmara de ionização (198).

Atualmente, com o desenvolvimento dos microprocessadores, a análise por espectrometria no infravermelho (CLAE/IV) (199) tem despertado muito interesse e é atualmente o segundo método mais usado, depois da espectrometria de massa. Esta técnica pode oferecer importantes informações qualitativas a às vezes até elucidar a estrutura do composto incôgnita, pela comparação dos espectros da amostra com um padrão.

Todavia, a CLAE/Espectrometria de Massa e CLAE/infravermelho estão em desenvolvimento e ainda muito há de ser feito para que estas técnicas sejam potencialmente instrumentos de análise qualitativa acessíveis em muitos laboratórios.

1.2.4 Análise quantitativa

A capacidade de realizar análise quantitativa dos componentes de uma mistura por CLAE e por CG é uma das características mais importantes destas técnicas.

A CLAE e a CG podem ser usadas para ensaios de alta precisão dos componentes de uma amostra, mesmo em muito baixas concentrações e para misturas complexas. Em condições ideais de operação, pode-se obter desvio padrão de $\pm 0,25\%$ e sensibilidade de detecção na ordem de partes por bilhão (ppb) (200) .

Uma vantagem que a CLAE tem em relação à CG é no manuseio da amostra, pois em CLAE geralmente se injeta a amostra tal como ela é, ao passo que em CG muitas amostras necessitam de purificação e derivatização dos componentes para se tornarem voláteis, prejudicando a precisão dos resultados.

Às vezes a amostra deve ser diluída na fase móvel, antes de sua injeção (CLAE) e a sua perfeita dissolução é muito importante. Em alguns casos se procede a uma filtração ou centrifugação antes da injeção, o que ocasiona alguma perda, contribuindo para os erros finais. Quando não é possível dissolver os componentes da amostra na fase móvel, o solvente usado deverá ser miscível com esta, e volumes de amostra relativamente grandes devem ser injetados (≥ 25 microlitros) .

As injeções por meio de válvulas oferecem maior precisão do que por seringas e dependem menos da habilidade do operador.

O sistema cromatográfico em si não deve contribuir significativamente para erros, pois deve-se evitar a decomposição da amostra e tentar obter boa resolução através das colunas. No entanto, se os picos de interesse apresentarem caudas, há necessidade de troca de coluna, pois os erros podem ser apreciáveis.

Vários tipos de erros podem acontecer decorrentes do sistema de detecção e dependem de parâmetros fundamentais, tais como: estabilidade do detector, linearidade e sensibilidade constante.

Mas, realmente, a grande fonte de erros está na medida das áreas dos picos. Os sistemas eletrônicos denominados integradores minimizam muito as possibilidades de erros, pois possuem programas para correção de linha de base e para calcular áreas de picos mal separados e com caudas, além de realizarem as operações de cálculos.

Os métodos manuais para medida de áreas dos picos e as técnicas de cálculos se encontram descritos no Apêndice 7.

Para análise de traços, a CLAE é uma técnica muito poderosa. Primeiramente pela grande variedade de detectores, que permite alta sensibilidade. Segundo, pela eficiência das colunas, que permite separação de misturas complexas. Finalmente, porque a CLAE não requer, na maioria dos casos, purificação da amostra. Um excelente texto sobre análise de traços foi recentemente editado pelo National Bureau of Standards (Estados Unidos) (201) e apresenta técnicas de amostragem, análise qualitativa e quantitativa, tratamentos estatísticos de dados e procedimentos analíticos especiais, tanto por CLAE como por CG.

2 - OBJETIVOS E PLANEJAMENTOS

Para a realização deste trabalho de pesquisa, fixaram-se alguns objetivos e a partir deles planejaram-se as experiências.

2.1 OBJETIVOS

a - Separação de misturas de substâncias de fórmula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1$ e/ou 2) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com resolução maior do que $1,0$, para fins analíticos e preparativos.

b - Separação de misturas de substâncias de fórmula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1$ e/ou 2) por cromatografia gasosa CG, com resolução maior do que $1,0$, para fins analíticos e preparativos.

c - Desenvolvimento de métodos cromatográficos de identificação de compostos de fórmula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1$ e/ou 2).

d - Identificação de compostos de fórmula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1$ e/ou 2) por espectrometria de massa.

e - Estudo da decomposição dos compostos de fórmula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1$ e/ou 2) no sistema cromatográfico.

f - Avaliação dos aspectos quantitativos da radioatividade de amostras de fórmula $C_x Cl_y Br_z$ ($x = 1$ e/ou 2) separadas por cromatografia gasosa líquida de alta eficiência.

g - Aplicações dos métodos desenvolvidos.

2.2 PLANEJAMENTO

O trabalho foi planejado para ser realizado em cinco etapas:

- a - montagem do equipamento analítico. Avaliação dos sistemas;
- b - sínteses de misturas de compostos per-halogenados;
- c - desenvolvimento dos métodos analíticos;
- d - irradiações com luz ultravioleta, raios gama e nêutrons térmicos;
- e - análise dos produtos das irradiações.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PRODUTOS QUÍMICOS

Os produtos químicos usados neste trabalho, estão relacionados com o nome do fabricante, especificação e/ou grau de pureza.

R = grau reagente
P.A. = para análise
E = para espectroscopia
C = para cromatografia

| | |
|-----------------------|--|
| CBr_4 | Eastman Kodak, 1314, R |
| C_2Br_6 | K & K Lab., 30739, P.A. |
| C_2Cl_6 | Carlo Erba, 340207, R |
| $C_2Cl_4Br_2$ | Aldrich, 13,339-6, R |
| CCl_4 | Carlo Erba, 434683, E |
| CCl_3Br | Eastman Kodak, 5995, R |
| C_2Cl_4 | Eastman Kodak, 5743, R |
| Metanol | Merck, 6009, P.A. |
| Metanol - UVASOL | Merck, 6002, E |
| Metanol - LiChrosolv | Merck, 6007, C |
| Metanol | Purificado pelo grupo de análise orgânica da UFPR. |
| Isopropanol | Merck, 9634, P.A. |
| Acetonitrila | Carlo Erba, 401215, E |
| Tetrahidrofurano-THF | Merck, 8114, P.A. |
| Diclorometano | Carlo Erba, 463023, E |
| Hexano | Merck, 4372, E |
| Heptano | Merck, 4366, E |
| Carvão ativo, pó | Baker, 1560 |
| Peneira molecular 4 A | Alpha Inorganics, 87955 |

| | |
|---|-----------------------------|
| Peneira molecular 5 A | Alpha Inorganics, 87965 |
| Lã de vidro. | Supelco, 2-0411, C |
| Bromo. | Baker, 9760, P.A. |
| Silicagel, 70/230 mesh. | Merck, 7734, C |
| Alumina Básica. | Merck, 1085, C |
| LiChrosorb SI-60, 10um, C-18 | Merck, 9334, C |
| LiChrosorb SI-60, 10um, sílica. | Merck, 9387, C |
| LiChrosorb SI-60, 5um, sílica. | Merck, 9388, C |
| Nitrogênio. | Oxigênio do Brasil, 99,5% |
| Alumínio em pó. | Riedel-De Haen, 11008, P.A. |
| 20% SP 2100/0, 1% Carbowax 1500 em. . . . | Supelco, 1-1821, C |
| Supelcort 100/120 mesh | |

3.2 PURIFICAÇÃO DOS PRODUTOS QUÍMICOS

Alguns dos produtos químicos usados neste trabalho foram purificados e os métodos usados para purificação serão descritos a seguir:

Tetracloroeto de Carbono - 500 mL de CCl_4 de grau espectrométrico foram deixados sob ação do sol por 4 horas, com aproximadamente 2,0 g de bromo, e depois submetidos a lavagens com porções de 100 mL de solução 0,1 N de Na_2SO_3 em água, para a eliminação do bromo residual e de materiais solúveis. Depois foram lavados 5 vezes com porções de 100 mL de água destilada e deionizada. O CCl_4 obtido desta forma, depois de destilado não apresentou picos de impurezas, quando analisado por cromatografia gasosa.

CBr_4 , C_2Br_6 e $\text{C}_2\text{Cl}_4\text{Br}_2$ - foram purificados por sublimação. Utilizou-se o sistema da Figura 3.1, onde o material a

ser sublimado foi colocado no tubo de vidro sob fluxo de nitrogênio. Depois de retirado o tubo de teflon onde fluía o nitrogênio, a extremidade do tubo de sublimação foi ligada a um sistema de vácuo ($0,02 \text{ kg/cm}^2$), e se procedeu ao aquecimento em banho de areia. Para o CBr_4 utilizou-se 80°C e para o C_2Br_6 e $\text{C}_2\text{C}_2\text{Br}_2$, 120°C . Todo o sistema foi protegido contra a incidência de luz.

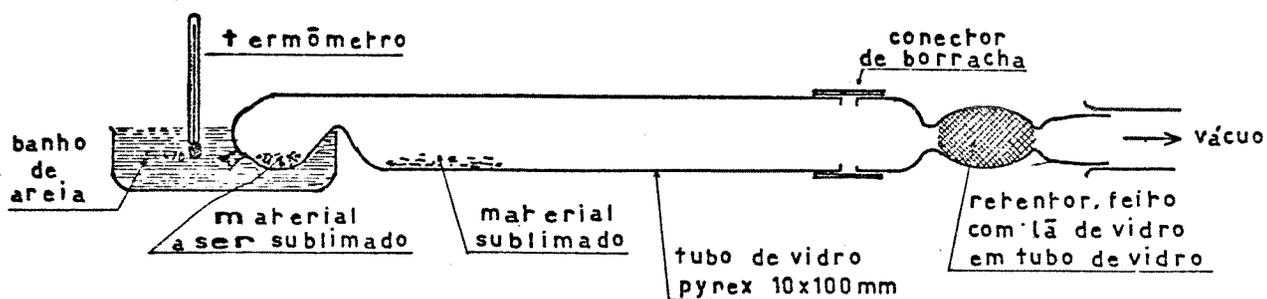


Figura 3.1 - Sistema de sublimação.

Tetrahidrofurano - THF - O peróxido presente nos frascos de THF foi retido em coluna de alumina básica, previamente ativada a 200°C por 5 horas. Para assegurar a inexistência de peróxido no eluído, reagiu-se 5 gotas deste com 2 mL de solução 1 M de NaI em água. O escurecimento da solução indicava peróxido e conseqüentemente a ineficiência da coluna, que devia ser reativada.

Em seguida procedeu-se à destilação a 66°C , para a eliminação do agente antioxidante BHT (2,6-isobutil-4-metilfenol), que tem ponto de fusão de 265°C e absorve fortemente no ultravioleta. Quando se suspeitava de presença de traços de

água, adicionavam-se pequenos pedaços de sódio metálico, sob agitação e com bastante cuidado.

Metanol - purificado a partir de metanol Merck (p.a.), que foi destilado, passando através de colunas de carvão ativo, sílica gel e alumina básica, e destilado novamente. Utilizou-se também metanol purificado por vários métodos químicos e físicos, pelo grupo de Análise Orgânica da Universidade Federal do Paraná (202).

Água - A água usada como fase móvel foi purificada em várias etapas. Inicialmente, procedeu-se à destilação de água de torneira, que foi em seguida deionizada e destilada novamente. Esta água foi passada por coluna cromatográfica, de fase reversa (Vydac RP-18, 30-44um, 350x 4 mm), com fluxo de 3 mL por minuto. Foram rejeitados os primeiros 30 mL e coletado aproximadamente 1 litro do restante. A água assim obtida não absorveu em 220 nm e o cromatograma obtido por CG não acusou a presença de contaminantes.

3.3 SÍNTESE DE MISTURAS DE COMPOSTOS PER-HALOGENADOS

Com base em experiências preliminares, estabeleceram-se as seguintes proporções dos reagentes:

1,6 g de CBr_4 , sublimado previamente;

1,2 g de alumínio em pó;

25 mL de CCl_4 ;

2 g de peneira molecular 4A.

O CBr_4 foi dissolvido em CCl_4 e passado por uma coluna de 20x1 cm contendo peneira molecular, para remoção de traços de água. O eluído foi coletado num balão de 50 mL onde havia um fluxo de 1 mL/minuto de nitrogênio. Foi adicionado o alumínio e colocado sob agitação durante 2 horas a 80°C em banho de glicerina. O tubo onde fluía o nitrogênio foi removido logo após a adição do alumínio. Foi usada uma coluna de destilação fracionada tipo Vigreux, para refluxo, com saída aberta à atmosfera. Obteve-se como produto um líquido escuro, usado como teste nas aplicações dos métodos analíticos (Seção 5.3).

3.4 INSTRUMENTAÇÃO ANALÍTICA

Por terem sido usadas diversas técnicas instrumentais, esta seção tratará de cada uma separadamente.

3.4.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE -

3.4.1.1 Equipamento

O sistema usado em CLAE constou de um equipamento com módulos de vários fabricantes, assim sendo:

a - Bomba, tipo pistão, Altex modelo 110.

Altex Scientific Inc.

Divisão da Beckman Instruments

1780 Fourth Street, Berkeley - California 94710

USA

- b - Programador de solventes, Master modelo 1601.
Laboratory Data Control
Divisão da Milton Roy Co.
Riviera Beach, Florida
USA
- c - Misturador de solventes, Master modelo 1000.
Laboratory Data Control
- d - Detector de ultravioleta, de comprimento de onda variável, modelo Spectroflow 770.
Schoeffel Instruments
Divisão da Kratos Inc.
74 Booker Street
Westwood, N.J. 07675
USA
- e - Detector de índice de refração Varian, modelo 400.
Varian Instruments
611 Hansen Way D-070
Palo Alto - California 94303
USA
- f - Registrador potenciométrico ECB, modelo RB-101
Equipamentos Científicos do Brasil Ltda.
São Paulo - SP.
- g - Válvula de injeção de amostras, modelo 70-10
Rheodyne Inc.
6815 So. Santa Rosa Ave.
Cotati - California 94928
USA

3.4.1.2 Colunas para cromatografia líquida de alta eficiência

| Nº | FASE ESTACIONÁRIA | DIÂMETRO DE PARTÍCULAS (μm) | DIMENSÕES (mm) |
|----------------|---|--|----------------|
| 1 ^a | Vydac RP-18 (fase reversa) octadecilsilano | 10 | 250 x 10 |
| 2 ^a | Vydac RP-18 (fase reversa) octadecilsilano | 30-44 | 350 x 4 |
| 3 ^a | LiChrosorb SI-60 (sílica) | 10 | 250 x 4 |
| 4 ^a | LiChrosorb SI-60 (sílica) | 5 | 250 x 4 |
| 5 ^a | Alox T (alumina) | 10 | 250 x 3 |
| 6 ^b | LiChrosorb RP-18 (fase reversa) octadecilsilano | 10 | 250 x 6 |
| 7 ^b | LiChrosorb SI-60 (sílica) | 5 | 250 x 9 |

a - colunas pré-fabricadas.

b - colunas empacotadas durante o trabalho.

3.4.2 Cromatografia Gasosa - CG

3.4.2.1 Equipamento

Foram usados 4 sistemas:

1º Sistema

Cromatógrafo de gás, modelo CG 370, com detector de ionização de chama.

Instrumentos Científicos CG Ltda.

Rua Domingos de Morais 2423

São Paulo - SP

2º Sistema

Este sistema modular constou de módulos de diferentes

fabricantes. O forno foi da Varian, modelo Moduline 1400, com módulo de injeção e programador de temperatura. O detector foi de fotoionização, modelo PI-5202 da HNU, conectado à coluna através de uma linha de transferência conforme o esquema da Figura 3.2.

HNU Systems Inc.

30 Ossipee Road

Newton, Ma 02164

USA

O registrador usado neste sistema foi da ECB modelo RB-102.

ECB - Equipamentos Científicos do Brasil Ltda.

São Paulo - SP

3º Sistema

Cromatógrafo de gás modelo 700, com detector de condutividade térmica, da F&M Scientific.

F&M Scientific Inc.

Divisão da Hewlett - Packard Co.

1301 Page Mill Road

Palo Alto - California 94304

USA

4º Sistema

Constou dos dois primeiros sistemas acima descritos, sendo que a saída do detector de fotoionização foi ligada à entrada do detector de ionização de chama por meio de um tubo capilar de aço inoxidável de 40 cm de comprimento.

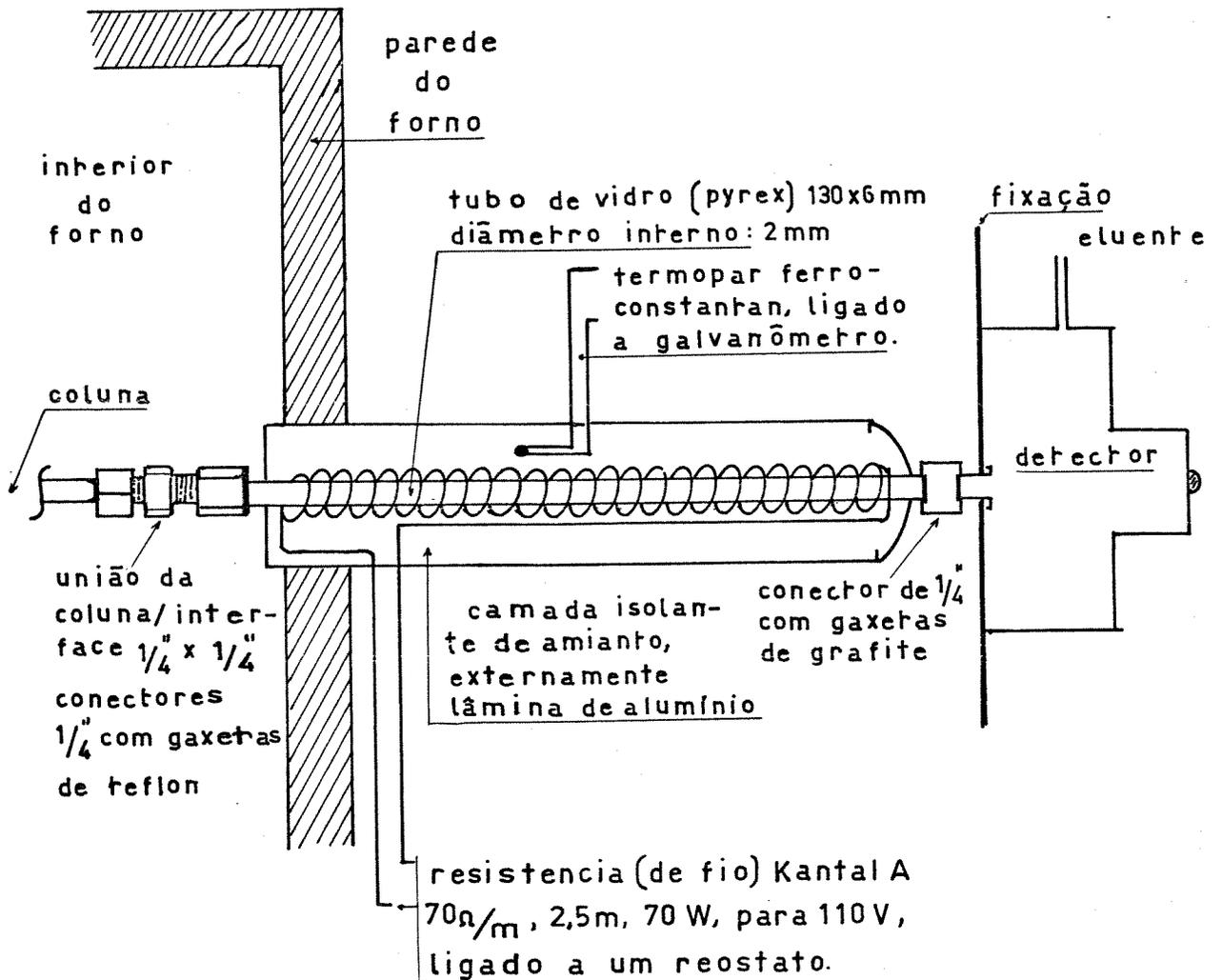


Figura 3.2 - Esquema do sistema de acoplamento do detector de fotoionização com a coluna.

3.4.2.2 Colunas para cromatografia gasosa

| Nº | FASE ESTACIONÁRIA | GRANULOMETRIA DO SUPORTE (mesh) | MATERIAL DO TUBO | DIÂMETRO INTERNO (mm) | COMPRI-MENTO (m) |
|----------------|---|---------------------------------|------------------|-----------------------|------------------|
| 1 ^a | Porapak Q | 80/100 | aço | 2 | 3 |
| 2 ^a | 3% OV-17 em Chromosorb WAW-DMCS | 80/100 | vidro | 3 | 2 |
| 3 ^a | 10% SE-30 em Chromosorb WAW-DMCS | 80/100 | vidro | 2 | 3 |
| 4 ^a | 5% OV-210 em Diatoport S | 80/100 | vidro | 2 | 2 |
| 5 ^a | 10% DC-200 em Diatoport S | 80/100 | vidro | 2 | 2 |
| 6 ^b | 20% SP-2100/0,1% Carbowax 1500 em Supelcort | 100/120 | vidro | 2 | 3 |
| 7 ^b | 20% SP-2100/0,1% Carbowax 1500 em Supelcort | 100/120 | vidro | 2 | 1,5 |

a - Colunas pré-fabricadas.

b - Colunas empacotadas durante o trabalho.

3.4.3 Espectrometria no ultravioleta

Foi empregado um equipamento Zeiss UV-visível, modelo PMQ-II, para a obtenção dos espectros das fases móveis usadas em CLAE. As medidas foram feitas em cela de quartzo com percurso ótico de 1 cm e comprimentos de onda variáveis de 200 a 280 nm.

3.4.4 Cromatografia Gasosa/Espectrometria de massa - CG/EM

Foram utilizados dois sistemas para identificação dos componentes das misturas separadas cromatograficamente ou de

padrões injetados isoladamente.

O primeiro sistema, Finnigan modelo 4000, da Escola de Farmácia da Universidade de Mississippi-USA, constituído de um cromatógrafo gasoso Finnigan, modelo 9500, acoplado a um espectrômetro de massa com analisador do tipo quadrupolo. Este equipamento possuía um sistema de processamento de dados, e os espectros de massa foram apresentados na forma de diagrama de barras, com escala de massas calibrada em valores de m/e . A corrente iônica total possibilitou a reconstrução dos cromatogramas. A coluna usada foi de vidro, 180 x 0,2 cm, com 10% de OV-17 em Chromosorb WAW-DMCS, 100/120 mesh. A temperatura do forno do cromatógrafo foi programada para 50 a 150°C a 4°C/minuto. A energia de ionização foi de 70 eV.

O segundo sistema, Finnigan modelo 3000D, semelhante ao anterior, do Departamento de Toxicologia da Polícia Civil do Estado do Paraná, não possuía o sistema de processamento de dados, e os espectros de massa foram apresentados na forma de picos, por um registrador oscilográfico. Neste caso, houve necessidade de injeção de padrões para a calibração dos valores de m/e . Os cromatogramas foram obtidos num registrador potenciométrico, através da corrente iônica total. A coluna foi de vidro, 200 x 0,2 cm, com 20% de SP 2100/0,1% de Carbowax 1500 em Supelcort 100/120 mesh. A temperatura do forno do cromatógrafo foi programada para 60 a 140°C a 4°C por minuto.

O gás de arraste usado foi o hélio, a 25 mL/minuto. Além de CG/EM, utilizou-se este sistema para injeções de amostras sólidas e líquidas, diretamente na câmara de íons, através de pontas de prova ou amostradores fornecidos pelo fabricante. Para as amostras sólidas, procedeu-se ao aquecimento

programado na ponta de prova, da temperatura ambiente até 100°C.

3.4.5 Sistemas de contagem de radiações

Conforme o diagrama da Figura 3.3, foram utilizados quatro sistemas para a contagem das radiações pelos radioisótopos do bromo.

3.5 SISTEMAS DE IRRADIAÇÃO

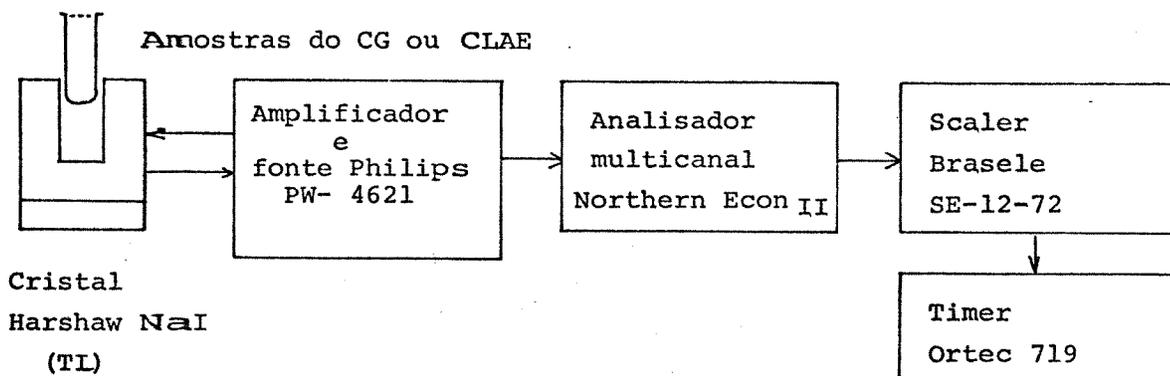
3.5.1 Irradiação com luz ultravioleta

Utilizou-se uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão, Philips modelo HPL-N de 125 W, da qual se extraiu o bulbo externo. As amostras, em ampolas de quartzo de 1 mL, seladas a vácuo, foram colocadas a 30 cm da fonte de radiação.

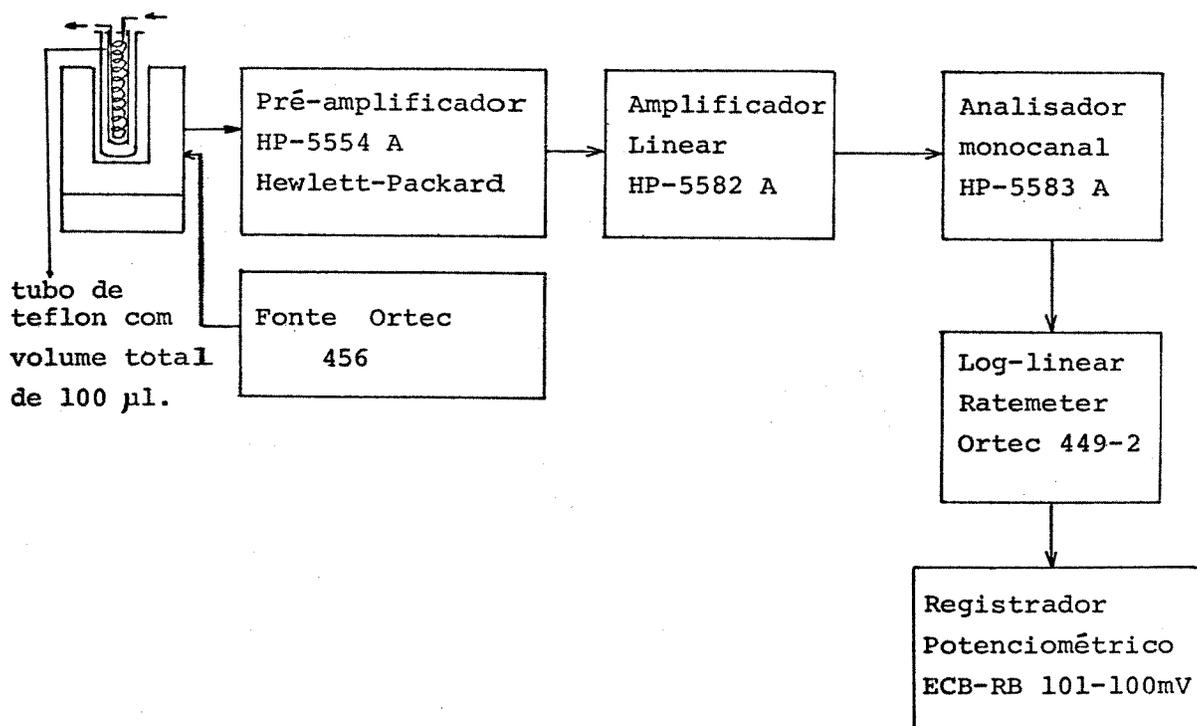
3.5.2 Irradiação com raios gama

Empregou-se a fonte de radiação gama do cobalto-60 do CENA-Centro de Energia Nuclear Aplicada à Agronomia, da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queirós, em Piracicaba-SP. As amostras foram irradiadas em ampolas de vidro "pyrex" com capacidade de 1 mL. As doses de radiação foram variadas,

1. Sistema modular



2. Sistema de monitoração do eluido da coluna cromatográfica.



3. Espectrômetro para radiações gama, Philips, contendo componentes similares aos do sistema 2, porém integrados em um só módulo.

4. Espectrômetro de cintilação líquida Philips, usado para contagens das radiações Cerenkov.

Figura 3.3 - Métodos de contagens de radiação gama.

usando-se informações de calibração fornecidas pelos operadores e variando-se os tempos de exposição. A temperatura de irradiação foi de 0°C.

3.5.3 Irradiação com nêutrons térmicos

As irradiações com nêutrons térmicos foram feitas no reator nuclear do IPEN-USP - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares situado no campus da Universidade de São Paulo em São Paulo-SP — , operando com potência de 2 MW, com fluxo neutrônico de $2 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Os tempos de irradiação foram de 100 e de 600 segundos. A introdução das amostras no núcleo do reator foi feita através de um sistema pneumático. As ampolas contendo as amostras (geralmente 6) foram devidamente acomodadas em um tubo de polietileno (coelho), utilizando-se espuma plástica como amortecedor de choque, para evitar a quebra de ampolas.

3.6 LIMPEZA DOS FRASCOS DE REAÇÃO

Todas as ampolas usadas nas irradiações foram primeiramente lavadas com mistura sulfocrômica e enxaguadas várias vezes com água destilada e deionizada. Depois de secas, foram lavadas com pequena porção de CCl_4 e secas novamente em estufa. As ampolas usadas nas irradiações com nêutrons térmicos foram ainda lavadas duas vezes com ácido nítrico concentrado. Depois de enxaguadas várias vezes com água desti-

lada, foram lavadas com solução aquosa de hidróxido de amônio a 10%, enxaguadas várias vezes com água destilada e deionizada e secas em estufa a 200°C.

3.7 AMPOLAGEM DOS REAGENTES

Os reagentes foram introduzidos nas ampolas sob fluxo de nitrogênio. Antes de se retirar o tubo de teflon usado para fluir o nitrogênio, as ampolas foram imersas em nitrogênio líquido e os reagentes congelados. As ampolas foram então fechadas, sob vácuo, rapidamente, de modo a não permitir que os reagentes sofressem fusão antes de ser retirado o maçarico. Este procedimento evitou o aquecimento e excesso da luz da chama, minimizando a decomposição térmica e fotoquímica dos reagentes, que são mais estáveis no estado sólido e a baixa temperatura. Além disto, este procedimento evitou a presença de ar e de humidade, que poderiam interferir nas reações.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentadas separadamente as várias etapas para o desenvolvimento dos métodos de análise de misturas de compostos per-halogenados, contendo ou não átomos de bromo radioativo. Também serão discutidas várias aplicações para confirmar a eficiência dos métodos.

4.1 CROMATOGRAFIA GASOSA - CG

Na literatura existem poucos trabalhos referentes à análise de compostos per-halogenados e, na maioria deles, os autores usaram colunas metálicas, suportes sólidos com grande atividade (como firebrick), detectores de condutividade térmica com superfície metálica exposta ao contato direto com os compostos, e módulos de injeção metálicos, aquecidos (64,203). Possivelmente esses fatores contribuíram para a decomposição das espécies separadas e para reações de troca nas colunas.

Neste trabalho procurou-se minimizar esses efeitos, usando-se colunas de vidro silanizado, suportes de fase estacionária também silanizados e sistema de injeção diretamente na coluna, sem que houvesse contato entre a amostra e o metal aquecido. Os detectores usados possuíam pequeno volume morto e a ligação com a coluna foi feita com tubo capi-

lar de vidro. Na ligação entre os detectores de fotoionização e de ionização de chama empregou-se um tubo capilar de aço, no qual o tempo de residência das substâncias eluídas foi muito pequeno (aproximadamente de 0,1 segundo).

4.1.1 Colunas para cromatografia gasosa

Considerando que as amostras analisadas eram constituídas de misturas de compostos apolares ou pouco polares, perhalogenados (contendo cloro e bromo), com um ou dois átomos de carbono, procuraram-se colunas de média e de pequena polaridade. Para isto, baseou-se nas constantes de McReynolds, que forneceram uma boa indicação da polaridade da fase estacionária.

Na Tabela 4.1 há alguns parâmetros das colunas usadas neste trabalho, e nas Figuras 4.1 (4.1.1 a 4.1.6), os cromatogramas correspondentes. Para a obtenção dos dados desta tabela, as separações foram otimizadas através de alterações na vazão da fase móvel e na temperatura da coluna. Pode-se notar as colunas 3 e 5, que são de metil-silicone, possuem características semelhantes, considerando-se os valores das constantes de McReynolds. No entanto, quando se procedeu às injeções das misturas dos compostos perhalogenados, observou-se uma grande variação nos tempos de retenção, provavelmente devido às diferentes eficiências, consequência da qualidade do empacotamento e do material usado para isto. A adição de polietilenoglicol (carbowax 1500) ao metil-silicone (SP-2100), em baixa proporção (0,1%), deu à coluna nº 2 características melhores para separação destes compostos. Pode-se observar que as colunas nº 2 e nº 3 separaram o CBr_4 e

Tabela 4.1 - Parâmetros obtidos para as colunas de cromatografia gasosa - CG.

| FIGURA ^f | COLUNA | $n^{\circ}/H(\text{cm})$ c,e | Constantes de McReynolds (108) | | | | | | Valores de K' ^c | | | | | |
|---------------------|--|------------------------------|--------------------------------|--------------|-----------------------|------------------------|---------------|-----------------|----------------------------|------------------|-------------------------------|--------------------------------|--|--|
| | | | Benzeno X | Butanol Y | 2-penta- nona Z | Nitro- propano U | Piridina S | CC ₄ | CC ₃ Br | CBr ₄ | C ₂ C ₆ | C ₂ Br ₆ | | |
| 4.1.1 | 3% - OV-17 ^a | 3970/0,05 | 119 | 158 | 162 | 243 | 202 | 2 | 4 | 16 | 13 | 20 | | |
| 4.1.2 | 20% - SP-2100/0,1% carbowax 1500 ^b | 13800/0,015 | - | - | - | - | - | - | 10,7 | 35,3 | 52,3 | 78,0 | | |
| 4.1.3 | 10% - SE-30 ^a | 4490/0,04 | 15 | 53 | 44 | 64 | 41 | 0,50 | 5,6 | 11,6 | 12,5 | 18,2 | | |
| 4.1.4 | 5% - OV-210 ^b | 506/0,25 | 146 | 238 | 358 | 468 | 310 | 2,0 | 2,5 | 4,8 | 5,7 | 8,8 | | |
| 4.1.5 | 10% - DC-200 ^a | 1128/0,18 | 16 | 57 | 45 | 66 | 43 | 0,35 | 1,6 | 4,8 | 5,0 | 9,3 | | |
| 4.1.6 | 10% - OV-17 ^d | 4320/0,04 | 119 | 158 | 162 | 243 | 202 | 4,2 | 9,9 | 27,5 | 24,5 | - | | |

a - Colunas pré-fabricadas.

b - Colunas empacotadas no laboratório.

c - Números extraídos dos cromatogramas (Figuras 4.1.1 até 4.1.6).

d - Coluna empacotada pelo grupo do Prof. James McChesney da Universidade de Mississippi, USA.

e - Estes números foram obtidos para o CBr₄ em condições otimizadas.

f - Figura cujo cromatograma forneceu os dados para o cálculo dos K'.

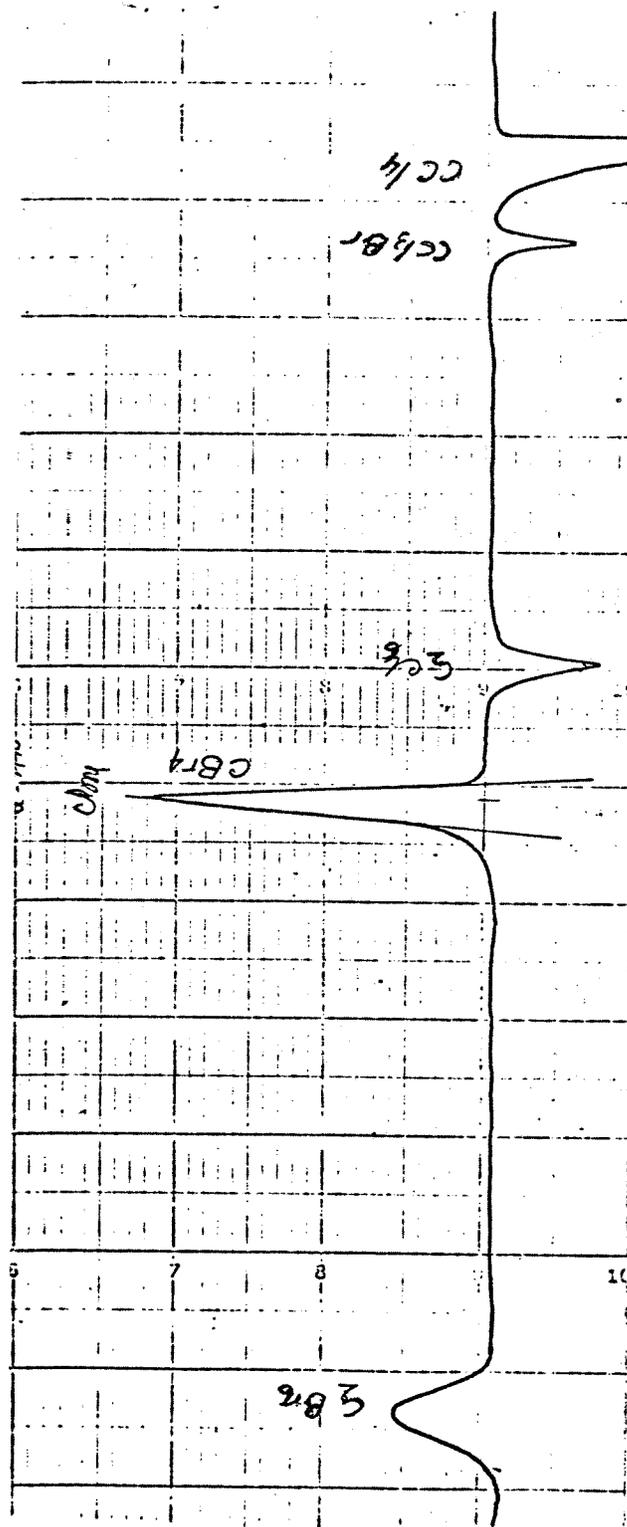


Figura 4.1 - Cromatogramas obtidos por CG para obtenção dos parâmetros da tabela 4.1.

4.1.1 - Coluna: OV-17. Temperatura da coluna: programada de 50 a 140°C a 6°C/minuto. Fase móvel: nitrogênio a 30 mL/minuto. Detector: fotoionização.

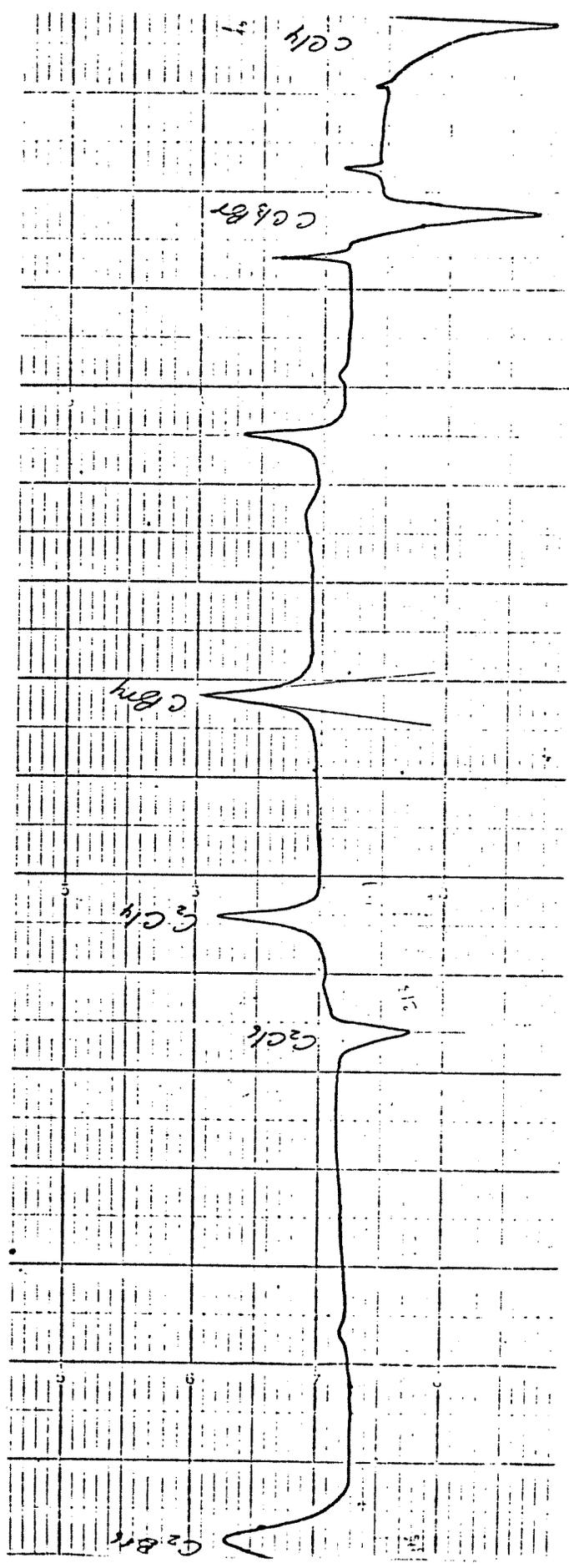


Figura 4.1.2 - Coluna: SP-2100/carbowax 1500. Temperatura da coluna: programada de 60 a 140° C a 6° C/minuto. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto. Detector: fotoionização.

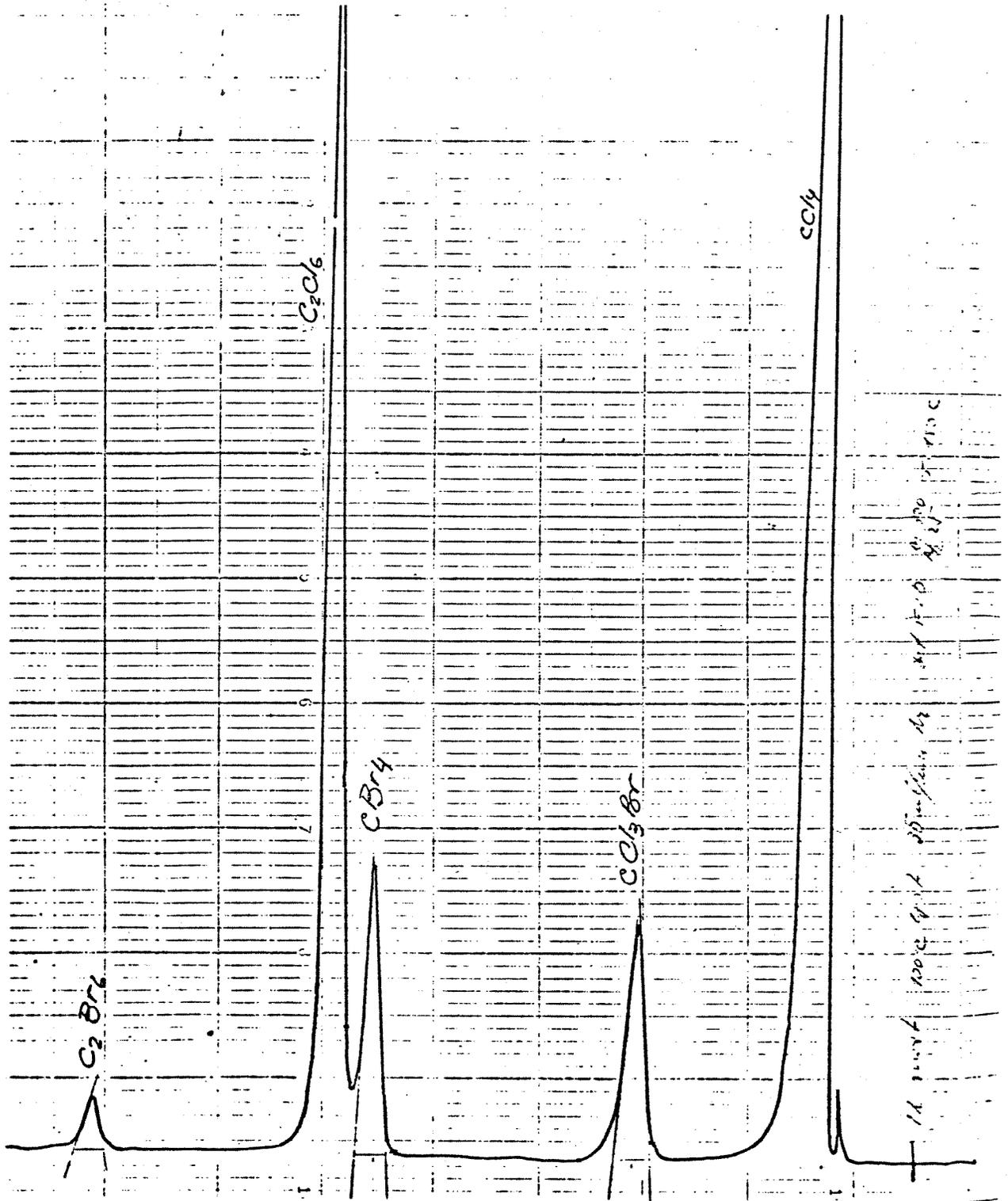


Figura 4.1.3 - Coluna: SE-30. Temperatura da coluna: isotérmica a 100°C
 Fase móvel: nitrogênio a 35 mL/minuto. Detector: ionização de chama.

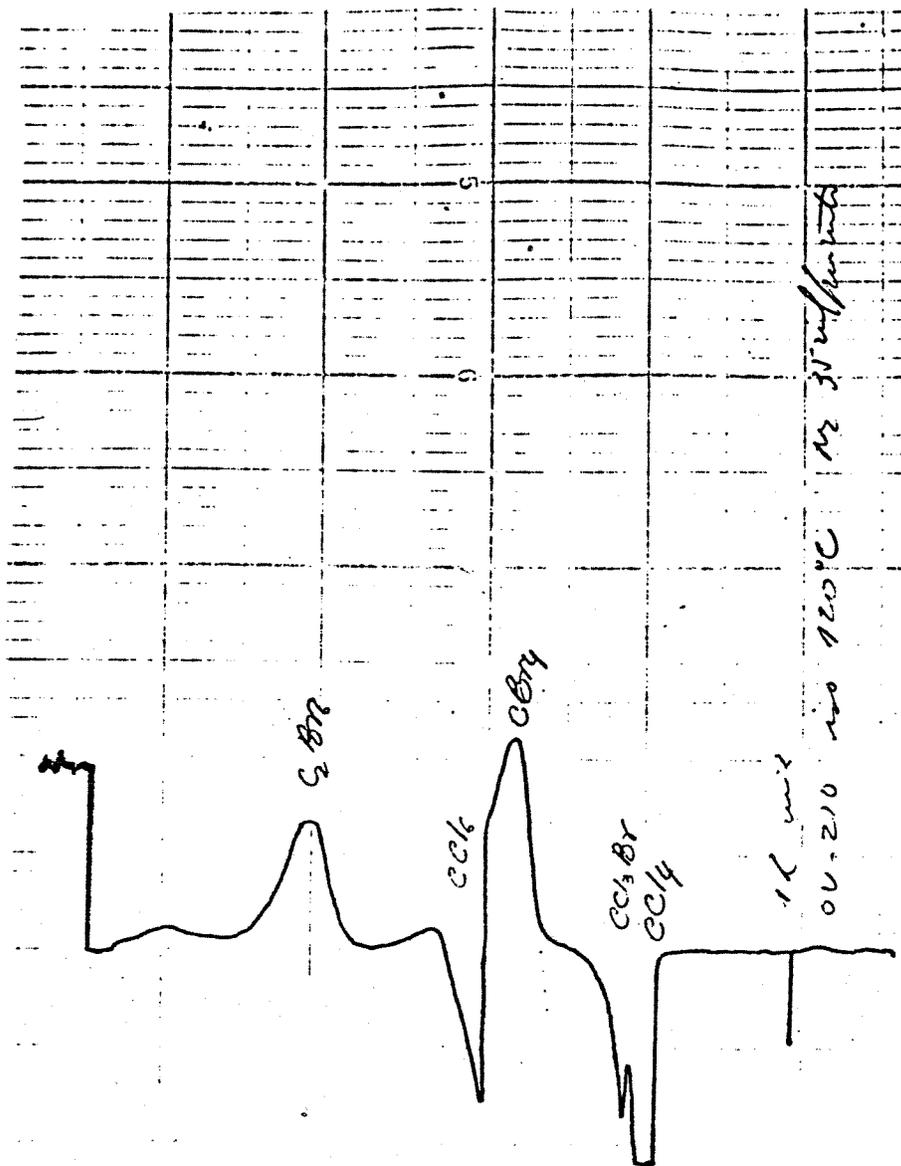


Figura 4.1.4 - Coluna OV-210. Temperatura da coluna: 120°C. Fase móvel: nitrogênio a 35 mL/minuto. Detector: fotoionização.

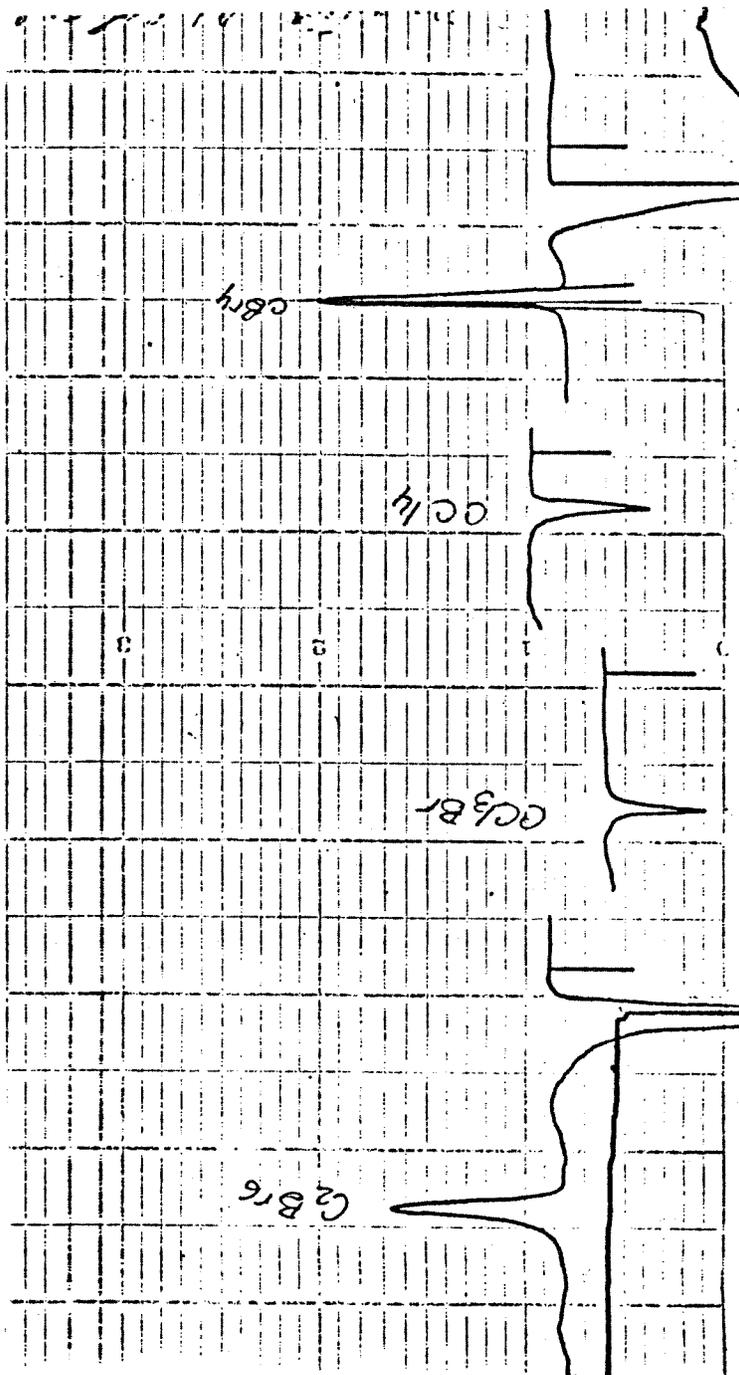


Figura 4.1.5 - Coluna: DC-200. Temperatura da coluna: isotérmica a 100° C. Fase móvel: nitrogênio a 30 mL/minuto. Detector: fotoionização.

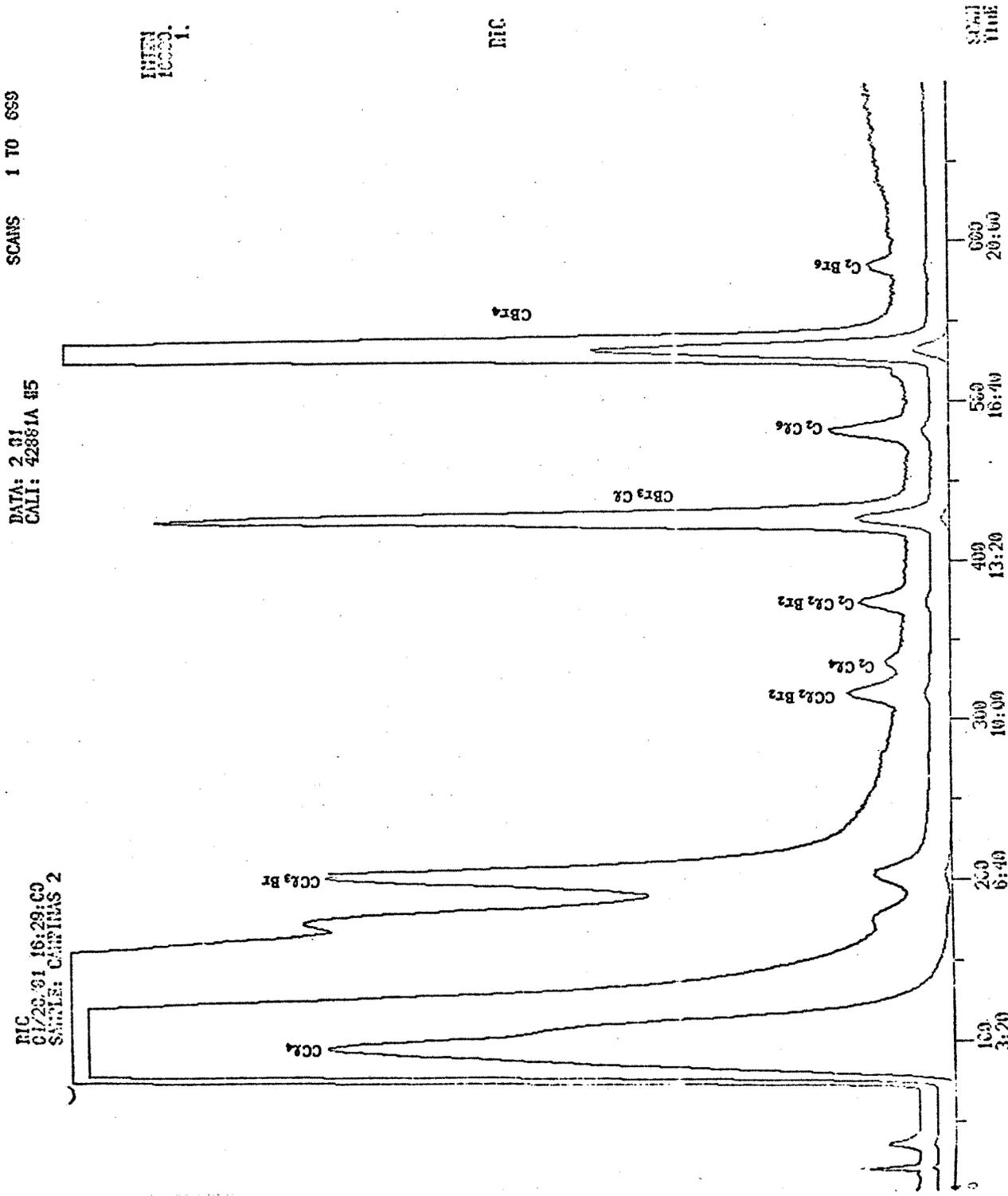


Figura 4.1.6 - Cromatograma de uma mistura de compostos per-halogenados obtida por CG/EM. Coluna 10% OV-17, programada de 50 a 140°C a 6°C /minuto. Fase móvel: hélio a 25 mL/minuto.

o C_2Cl_6 , com coeficientes de separação $\alpha \geq 1,1$, possibilitando inclusive injeções de maiores quantidades de amostra, para fins preparativos.

A coluna de OV-210 foi a que apresentou a pior seletividade, apesar de ter permitido análises mais rápidas.

As condições analíticas foram escolhidas em função das características das colunas. A coluna de SE-30 apresentou um sangramento com a programação de temperatura, que foi detectado com muita intensidade pelo detector de fotoionização. Isto ocasionou um grande deslocamento da linha de base, o que exigiu operação isotérmica (Figura 4.2).

O mesmo ocorreu com a coluna de OV-210. As colunas de OV-17 e Porapak apresentaram muito pequeno sangramento e por isso uma programação de 60 a 150°C foi usada. A coluna de SP 2100/Carbowax 1500 praticamente não apresentou deslocamento da linha de base, quando se usou programação de 60 a 140°C a 6°C/minuto.

4.1.2 Comparação entre os sistemas de detecção

Os sistemas de detecção usados em CG apresentaram muita diferença de sensibilidade. Isto foi devido aos seus princípios de funcionamento, que, apesar de serem de ionização, diferem no processo de ionizar as moléculas.

As respostas relativas dos dois detectores são características de cada composto e por isso foram usados em análise qualitativa.

Observou-se, como mostra a Figura 4.3, que o detector

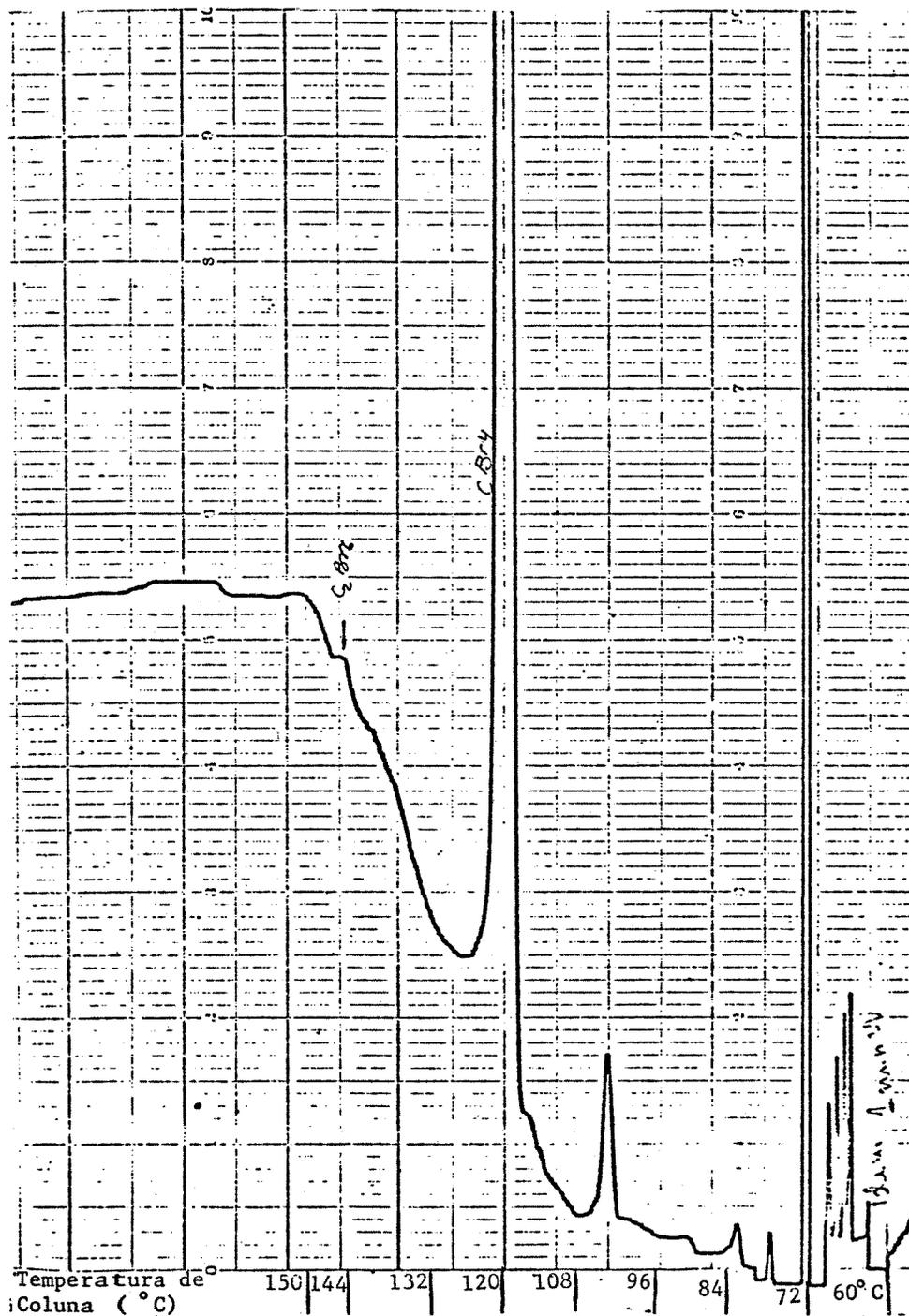
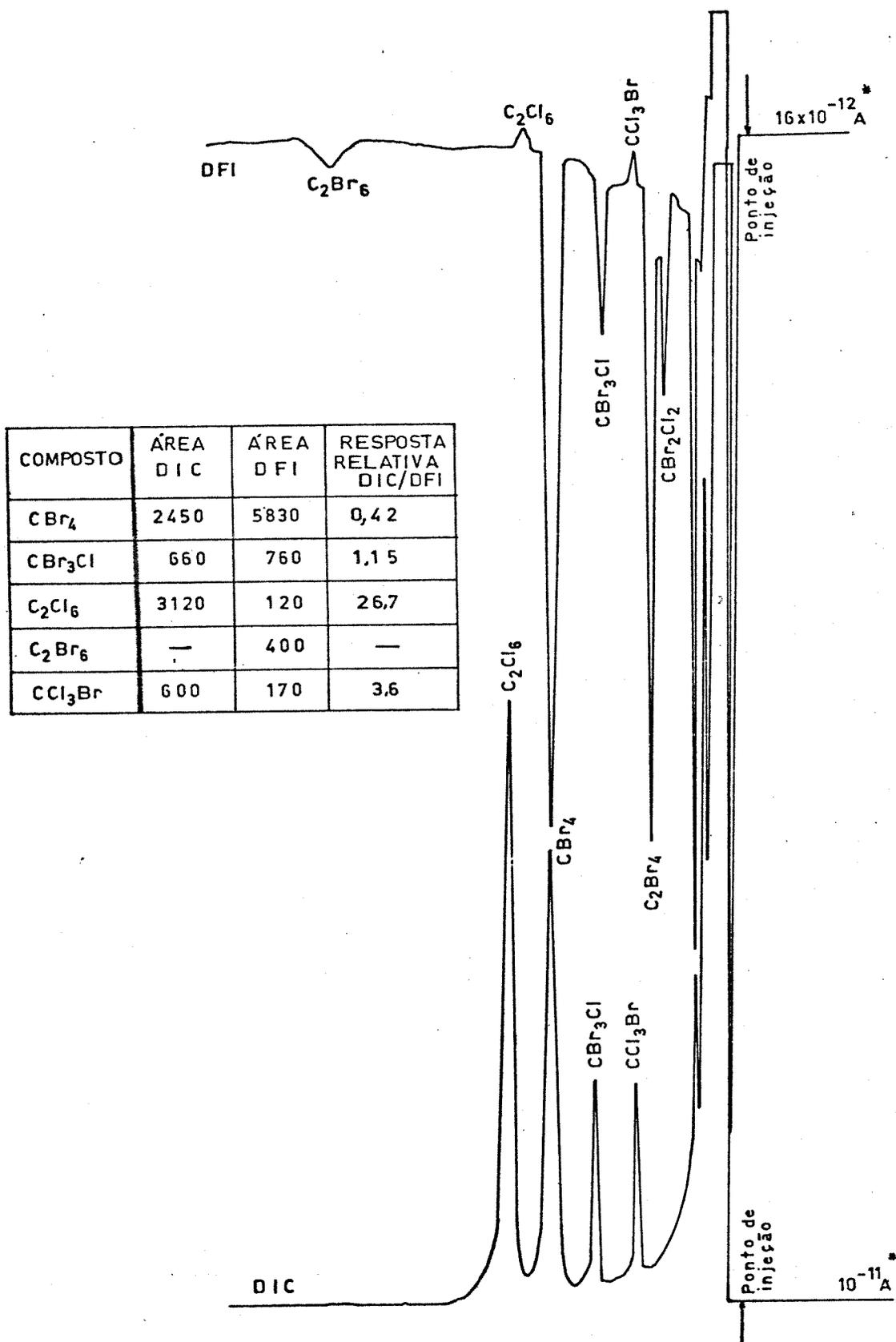


Figura 4.2 - Exemplo de sangramento da fase estacionária, com programação de temperatura. Coluna: 10% SE-30. Temperatura da coluna: programada de 60 a 150°C a 6°C/minuto. Amostra: CBr₄ em CCl₄ (0,1%) irradiada com luz ultravioleta por 1 minuto. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto. Detector: fotoionização.



* para deflexão de toda a escala.

Figura 4.3 - Cromatograma com detecção simultânea de uma mistura de compostos per-halogenados, por ionização de chama e por fotoionização; respostas relativas dos detectores. Coluna: SE-30 a 100°C. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto.

de fotoionização era aproximadamente duas vezes mais sensível do que o de ionização de chama, para o CBr_4 . Para o C_2Br_6 a sensibilidade foi ainda maior, pois nada foi detectado no detector de ionização de chama, nos níveis de concentração da amostra injetada. A sensibilidade do detector de ionização de chama aumentou com o aumento do número de átomos de cloro na molécula, e o de fotoionização diminuiu até tornar-se negativa pelo efeito "quenching" (Figura 4.4).

Foi observada, também uma queda na sensibilidade do detector de fotoionização em função do tempo de operação (Figura 4.5). Este fato foi provavelmente devido a dois fatores. Primeiro, à opacidade da janela de fluoreto de magnésio, que atenuou a radiação ultravioleta que ioniza as moléculas. Isto foi devido à constante deposição do material eluído da coluna, que pode ter sido do material injetado ou do sangramento da coluna. Este fato foi agravado quando se injetou Br_2 , e a sensibilidade caiu muito mais. A limpeza da janela com pasta abrasiva, fornecida pelo fabricante, deu ao sistema a sensibilidade original.

Segundo, pelo envelhecimento da lâmpada de ultravioleta, que apesar de o fazer em muito menor escala, provocou uma diminuição na sensibilidade do sistema. Conseqüentemente, as respostas relativas aos dois detectores também variaram com o tempo, com o número de injeções e com o tipo de amostras injetadas. Isto implicou na necessidade constante de se fazerem calibrações antes das análises qualitativas e quantitativas e limpezas periódicas nas janelas de fluoreto de magnésio.

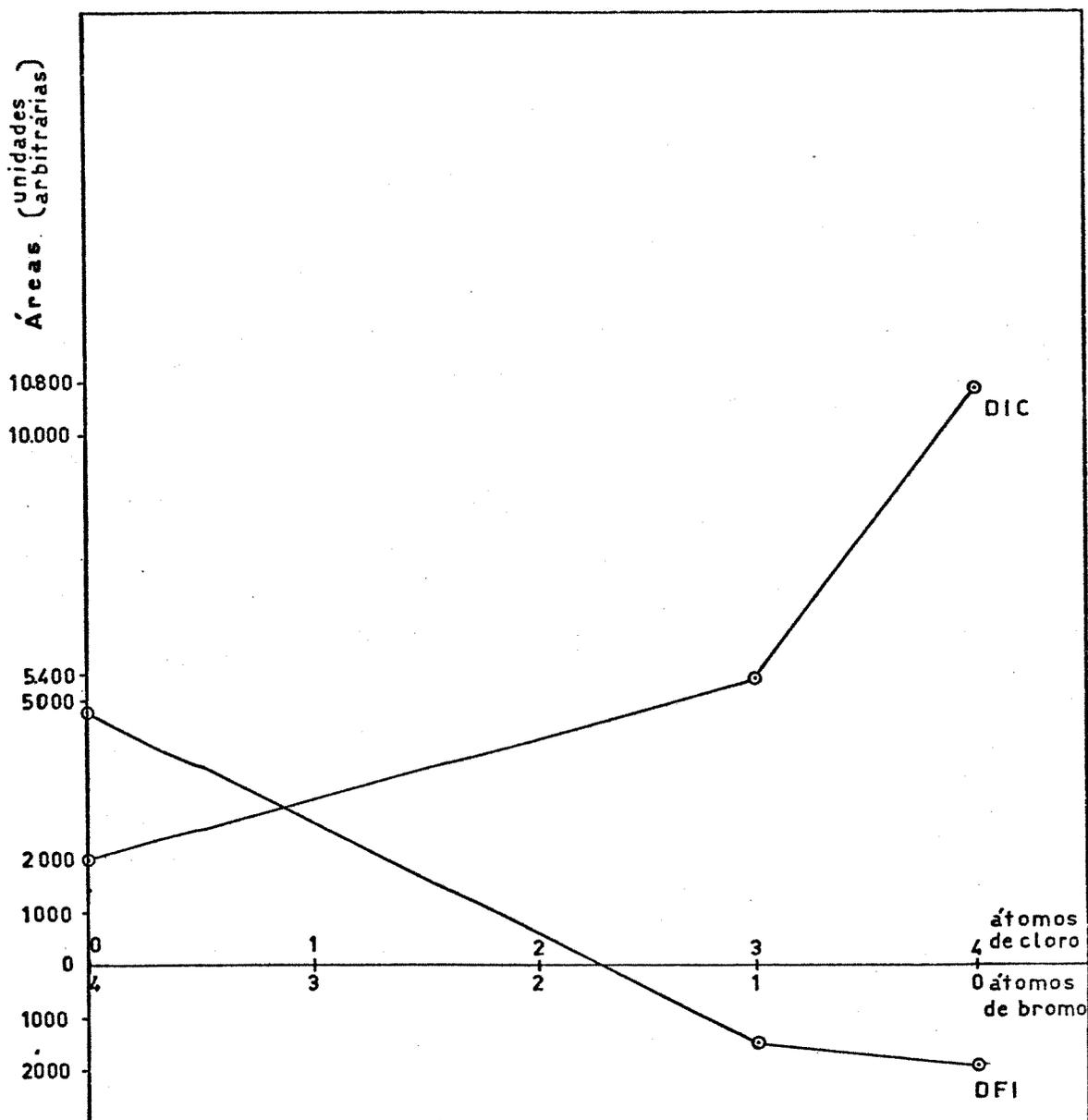


Figura 4.4 - Respostas dos detectores de ionização de chama e de fotoionização. Padrões injetados ($100 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) de: CCl_4 em CCl_3Br ; CCl_3Br em CCl_4 ; CBr_4 em CCl_4 ; C_2Br_6 em CCl_4 ; $\text{C}_2\text{Cl}_4\text{Br}_2$ em CCl_4 ; $\text{C}_2\text{Cl}_4\text{Br}_2$ em CCl_4 . Volume injetado: $2 \mu\text{L}$. Coluna: SE-30 a 100°C .

4.4.1 - Compostos com um átomo de carbono.

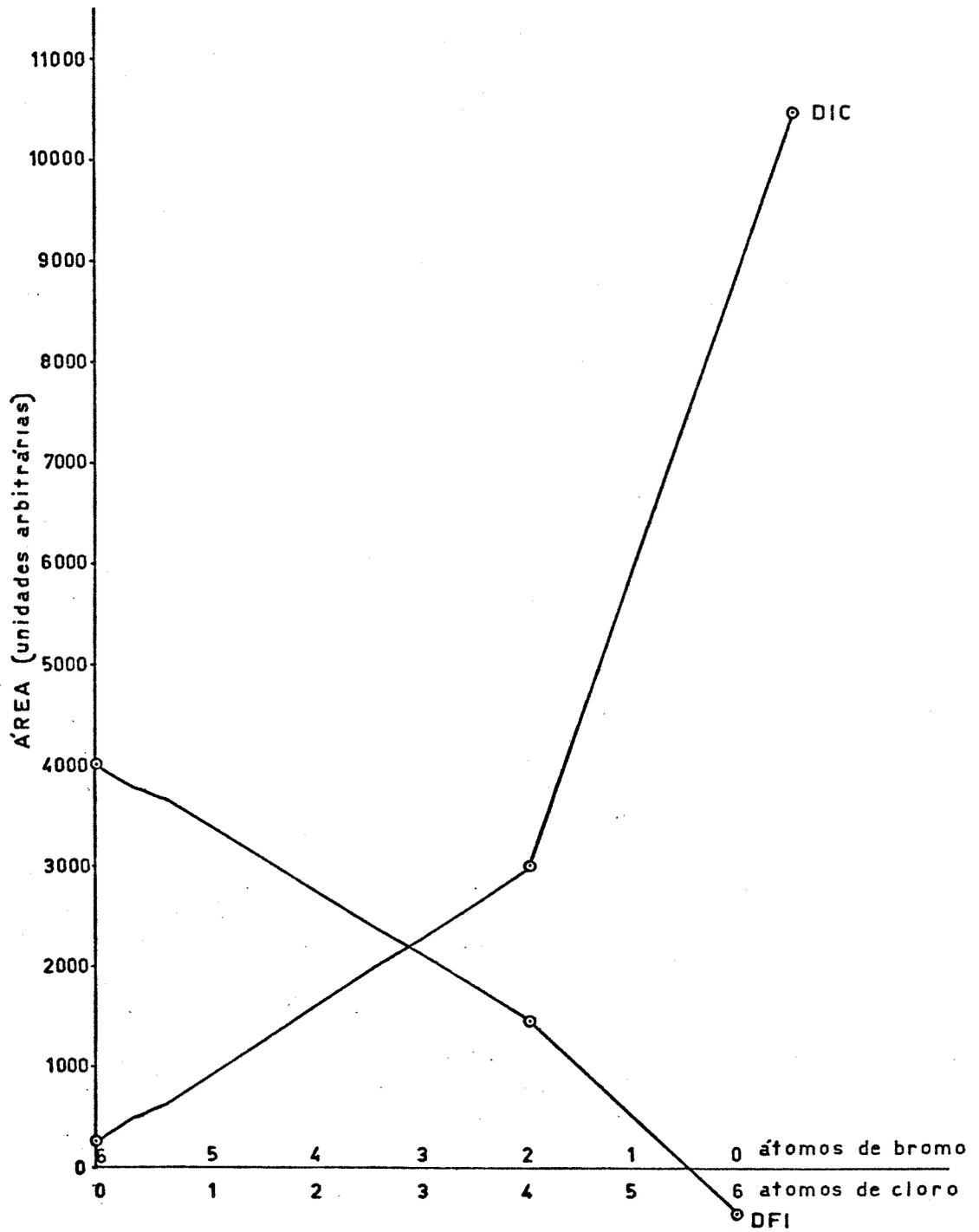


Figura 4.4.2 - Compostos com dois átomos de carbono.

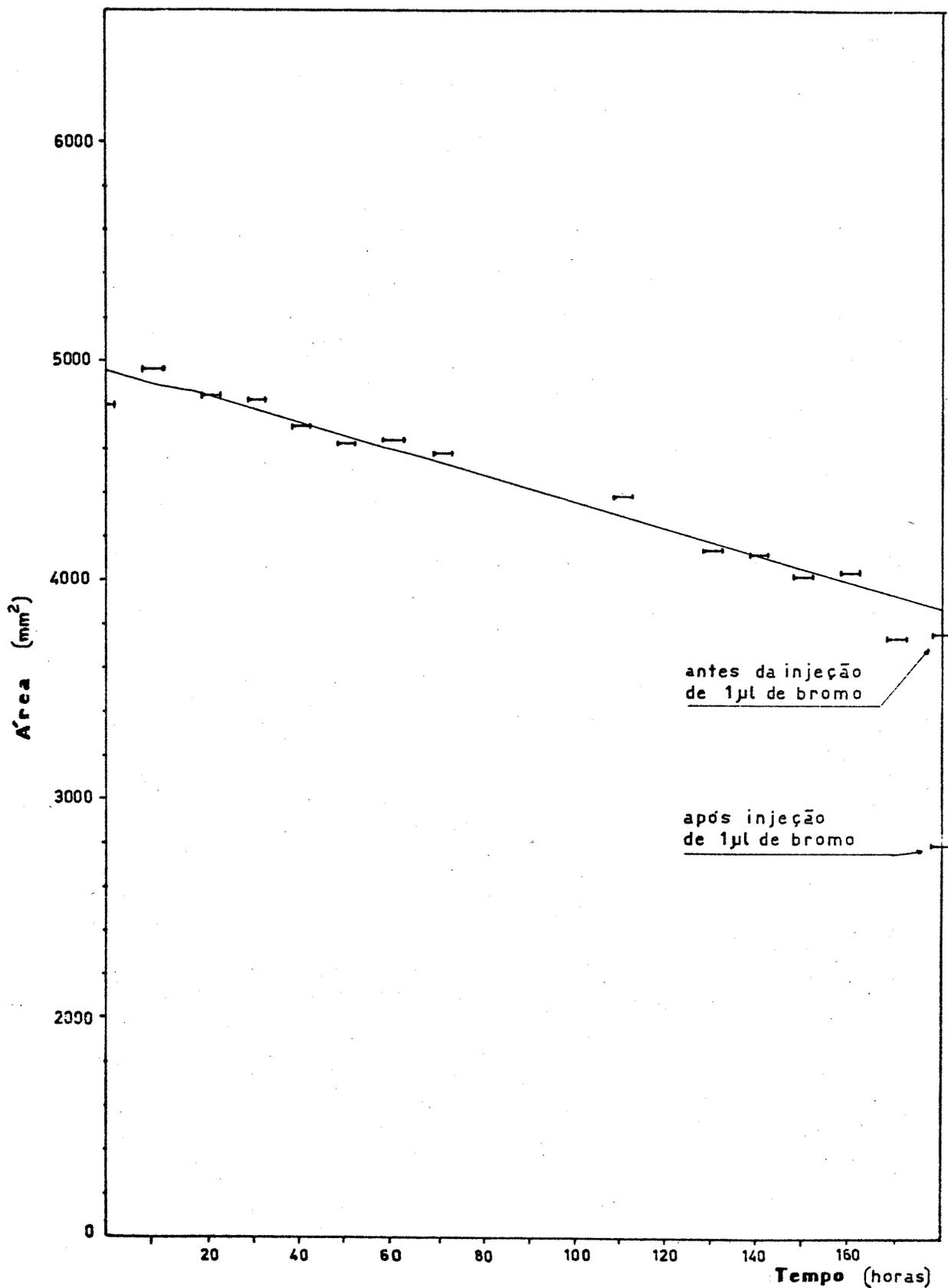


Figura 4.5 - Variação da sensibilidade do detector de fotoionização com o tempo. Amostra injetada: CBr_4 em CCl_4 ($100 \mu\text{g}/\mu\text{L}$). Coluna: SE-30 a 100°C . Fase móvel: N_2 a $25 \text{ mL}/\text{minuto}$. Volume injetado: $2 \mu\text{L}$. Sensibilidade: 4×10^{-11} ampères para deflexão de toda a escala.

4.1.3 Sensibilidade do sistema de cromatografia gasosa: concentração mínima detectável - CMD

Os sistemas de detecção usados mostraram ter muita sensibilidade para os compostos per-halogenados. Na Tabela 4.2 tem-se os dados experimentais obtidos para vários desses compostos, através de injeções de soluções-padrão, com operação dos dois detectores em série e com a máxima sensibilidade (10^{-12} ampères para deflexão de toda a escala do registrador). As áreas foram tais que a relação sinal/ruído foi maior do que 2.

Tabela 4.2 - Concentração mínima detectável para os detectores de ionização de chama e de fotoionização.

Coluna: SE-30 a 100°C

Gás de arraste: nitrogênio a 25 mL/minuto.

Volume injetado: $2\mu\text{L}$.

| DETECTOR | CONCENTRAÇÃO EM $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ | | | | | | |
|----------|---|-------------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| | CCl_4 | CCl_3Br | CBr_4 | C_2Cl_6 | C_2Br_6 | $\text{C}_2\text{Cl}_4\text{Br}_2$ | C_2Cl_4 |
| DIC | 10^{-4} | 5×10^{-3} | 2×10^{-4} | 10^{-4} | 10^{-4} | 10^{-4} | 10^{-4} |
| DFI | 10^{-3} | 2×10^{-2} | 10^{-4} | 10^{-3} | 10^{-5} | 10^{-4} | 5×10^{-4} |

4.1.4 Influência da vazão da fase móvel na sensibilidade do detector de fotoionização e na eficiência das colunas

O detector de fotoionização detecta a concentração do componente eluído da coluna na unidade de tempo e, por isso, para vazões menores a sensibilidade é maior. Isto foi com-

provado pela variação da área do pico do CBr_4 com a mudança da vazão da fase móvel (Figura 4.6). Uma vazão pequena seria desejável, porém a eficiência de uma coluna cromatográfica também varia com a vazão da fase móvel, e na análise de misturas complexas e de difícil separação, a eficiência é muitas vezes um fator primordial (Figura 4.7).

Na maioria das análises procurou-se a vazão que dava ao sistema a eficiência necessária para separar os componentes das misturas injetadas, e que foi de 25 mL/minuto, para a coluna de SP 2100/Carbowax 1500. Com esta vazão, a sensibilidade do detector foi suficiente para detectar os compostos eluídos, mesmo em baixas concentrações.

4.1.5 Cromatografia gasosa preparativa

O material radioativo, eluído de uma coluna cromatográfica, deve ser coletado mesmo quando não se quer proceder a testes posteriores à análise. A coleta desse material deve ser a mais eficiente possível, pois, além de tóxico, é radioativo. Para isto, desenvolveu-se um sistema simples e de grande eficiência. Constou de um tubo de vidro pyrex de 6 mm de diâmetro interno e 5 cm de comprimento, onde uma extremidade foi estrangulada de modo a acoplar com a saída do detector através de um tubo de Tygon de 2x20 mm. Foi usada lã de vidro em ambas as extremidades e o tubo foi empacotado com uma mistura de carvão ativo e peneira molecular 5 A, em volumes iguais.

O sistema mostrou reter as frações radioativas eluídas

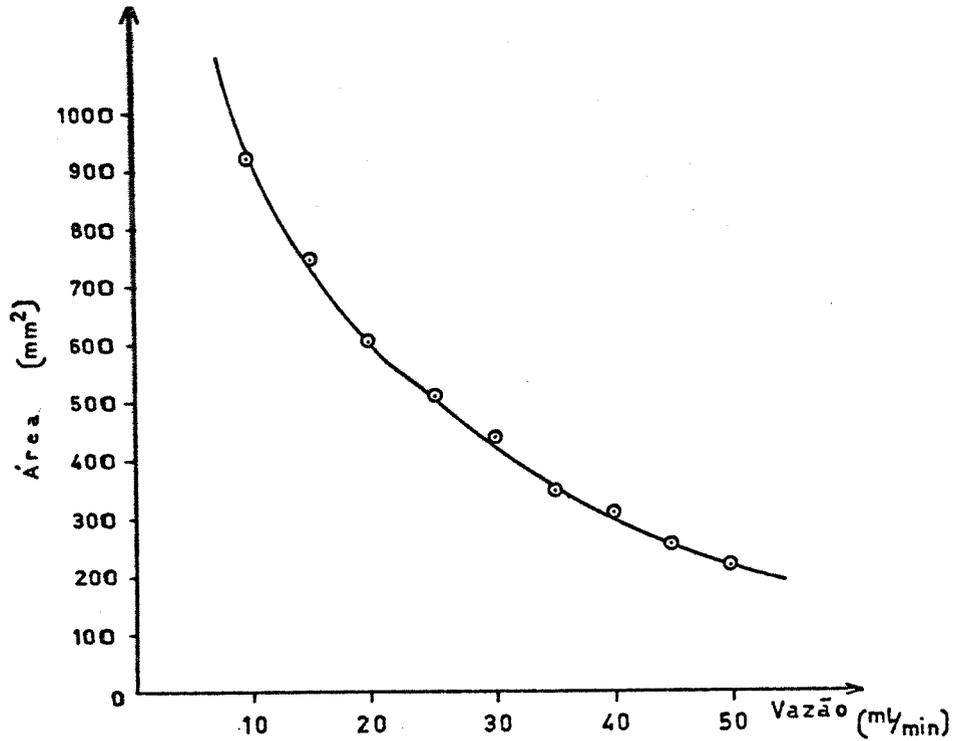


Figura 4.6 - Influência da vazão da fase móvel na sensibilidade do detector de fotoionização. Coluna: SE-30 a 100°C. Amostra injetada: CBr₄ em CCl₄ (100 µg/mL). Volume injetado: 2 µL.

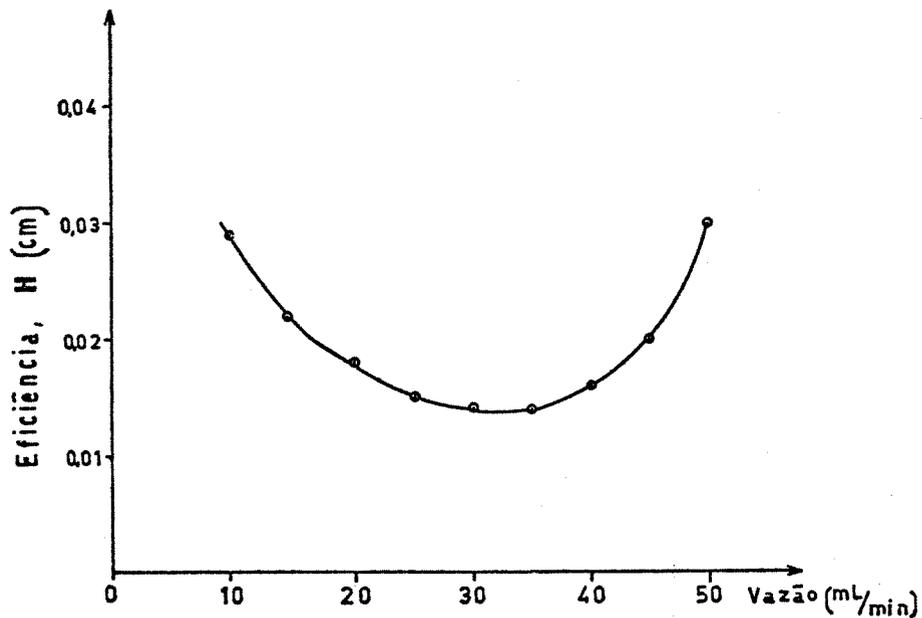


Figura 4.7 - Influência da vazão da fase móvel na eficiência da coluna. Coluna: SP 2100/carbowax 1500, programada de 60 a 140°C a 6°C/minuto. Amostra injetada: CBr₄ em CCl₄ (1%). Volume injetado: 2 µL. Detector: fotoionização.

da coluna logo no início do frasco coletor, conforme mostra a Figura 4.8. Observou-se também que o tubo de vidro não ficou impregnado com o material eluído, pois quando foi removido o material do frasco coletor o tubo não mostrou atividade, e toda a atividade estava na parte removida. A eluição do material retido no adsorvente, com CCl_4 (10 mL), mostrou também que a atividade foi totalmente extraída, indicando a facilidade da recuperação do material coletado.

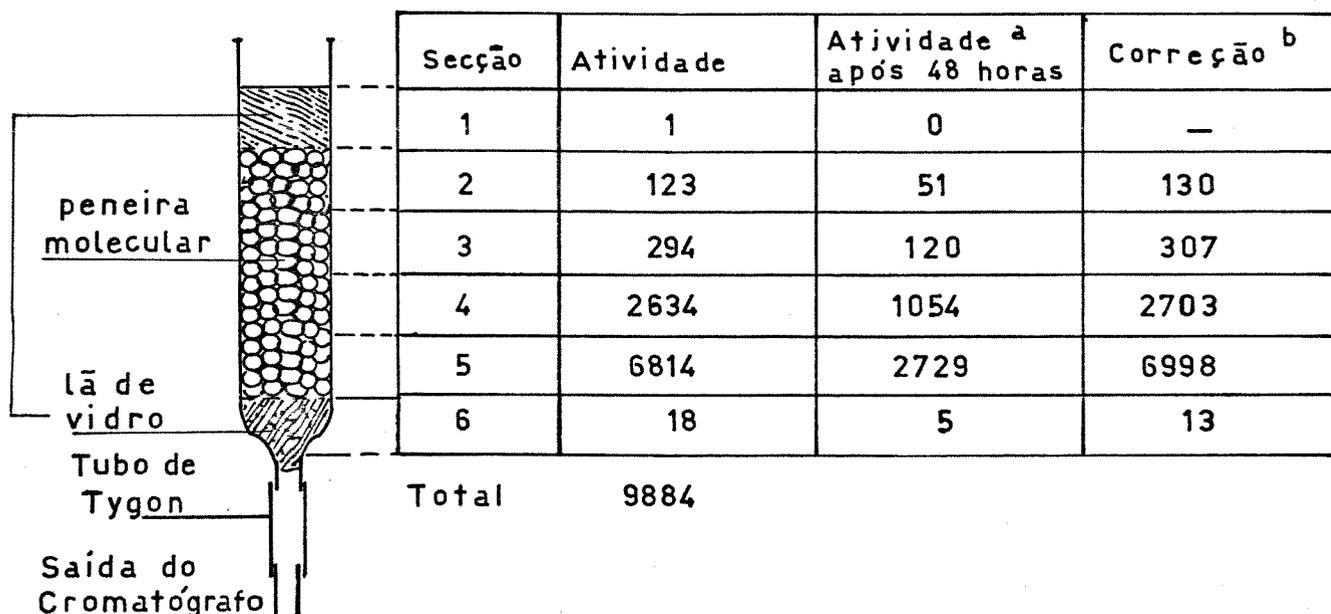


Figura 4.8 - Coletor de frações para CG. Dados para o pico do CBr_4 . Material injetado: CBr_4 irradiado ($100\mu\text{g CBr}_4/\text{mL CCl}_4$). Atividade injetada (padrão) em $2\mu\text{L}$: 9720^a

a - Atividade medida em contagens por minuto.

b - Correção da atividade para o decaimento que ocorreu entre a primeira e a segunda contagem.

4.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - CLAE

Devido à inexistência de dados na literatura, o desenvolvimento da separação dos compostos per-halogenados por CLAE,

mereceu uma atenção especial.

A escolha do processo de separação foi baseada no esquema do Apêndice 4. Duas possibilidades apresentaram-se inicialmente:

- a - Cromatografia líquido-sólido, com sílica ou alumina;
- b - Cromatografia líquido-líquido, com fase reversa, quimicamente ligada.

4.2.1 Preparo e ativação das colunas de CLAE

As colunas com LiChrosorb SI-60 (sílica) e Alox T (alumina) foram condicionadas, passando-se 100 mL de diclorometano e depois a fase móvel até obtenção de uma linha de base estável, operando-se o detector em 230 nm para hexano e em 254 nm para os demais solventes, usados como fase móvel. A coluna de Alox T, depois de condicionada dessa forma, foi retirada do sistema e colocada num forno a 150°C com fluxo de nitrogênio de 2 mL/minuto, durante 12 horas. Isso foi feito visando-se uma maior ativação da alumina. No entanto, não se constatou nenhuma diferença na seletividade dos compostos per-halogenados injetados antes e depois desses procedimentos.

A ativação das colunas para fase reversa foi feita através da passagem de 100 mL de metanol puro, para a remoção de compostos orgânicos retidos, e depois da fase móvel, até o equilíbrio.

A coluna de Vydac RP-18 estava contaminada e não apresentava a eficiência esperada. Quando foi aberta, observou-se

o acúmulo de material escuro em ambas as extremidades. Retiraram-se 3 cm de fase estacionária de cada extremidade e empacotou-se novamente a coluna, manualmente. Bombearam-se 60 mL de metanol a 6 mL/minuto (pressão de 100 kg/cm²) e abriram-se novamente os conectores terminais, para que fossem completados os espaços oriundos da acomodação das partículas. Repetiu-se a operação até que não se constatou mais volume morto nas extremidades da coluna. Esta operação foi repetida alguns dias depois e a eficiência da coluna permaneceu constante, indicando que a operação de recuperação conduziu a resultados satisfatórios.

4.2.2 Avaliação da eficiência das colunas: otimização do processo

Na Tabela 4.3 e na Figura 4.9, tem-se os resultados das injeções de misturas de substâncias per-halogenadas, em colunas diferentes, depois que o sistema cromatográfico foi otimizado. A coluna de fase reversa apresentou a melhor seletividade e eficiência. Na otimização do processo de separação, procurou-se variar a fase móvel e a sua vazão, para que os valores de K' de quaisquer componentes da mistura se situassem na faixa ideal, entre 1 e 10. Dessa forma conseguiram-se resultados muito bons e as seletividades desejadas ($\alpha > 1,1$), indicando possibilidade para a realização de cromatografia preparativa (vide Apêndice 13 para avaliação de valores de resolução e eficiência).

Foram empacotadas algumas colunas de fase reversa, com

Tabela 4.3 - Parâmetros cromatográficos obtidos para várias colunas, para compostos per-halogenados.

| COLUNA | FASE MÓVEL * | N/H(mm) | VALORES DE K' | | | | | | VALORES DE α /RS | | |
|-------------------------|--------------------------------|-----------|------------------|-----|------------------|--------------------------------|--|--------------------------------|------------------------------------|--|-----|
| | | | CBr ₄ | | CCl ₄ | C ₂ Br ₆ | C ₂ Cl ₄ Br ₂ | C ₂ Cl ₆ | CCl ₄ /CBr ₄ | C ₂ Cl ₆ /C ₂ Cl ₄ Br ₂ | |
| | | | 1,0 | 1,1 | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,1/1,2 | 1,0 | 1,0 |
| LiChrosorb 5 μ | hexano | 650/0,38 | 1,0 | 1,1 | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,1/1,2 | 1,0 |
| | heptano | 650/0,38 | 1,1 | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| LiChrosorb 10 μ | hexano | 550/0,45 | 1,0 | 1,0 | 1,3 | 1,3 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,0 | 1,0 |
| | heptano | 550/0,45 | 1,0 | 1,0 | 1,3 | 1,3 | 1,2 | 1,2 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Alox T 10 μ | hexano | 500/0,5 | 1,1 | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,0 | 1,0 |
| | heptano | 500/0,5 | 1,1 | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,2 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Vydac RP 18 10 μ | metanol/água 70/30 | 4160/0,06 | 4,7 | 5,7 | 7,9 | 9,6 | 9,6 | 10,8 | 1,22/9,75 | 1,13/6,76 | |
| | tetrahydrofurano/água 60/40 | 3600/0,07 | 4,1 | 4,8 | 5,2 | 6,4 | 6,4 | 6,6 | 1,17/7,1 | 1,03/1,5 | |
| | acetoneitrila/água 80/20 | 3100/0,08 | 3,7 | 4,0 | 4,2 | 4,9 | 4,9 | 5,1 | 1,08/3,3 | 1,04/1,78 | |

*As fases móveis apresentadas foram escolhidas depois de muitas experiências preliminares. Para fase reversa, as relações entre as quantidades dos solventes foram obtidas depois da otimização do processo de separação.

Os cromatogramas correspondentes às colunas de LiChrosorb e Alox T não foram anexados por apresentarem um só pico, quando se injetaram as misturas.

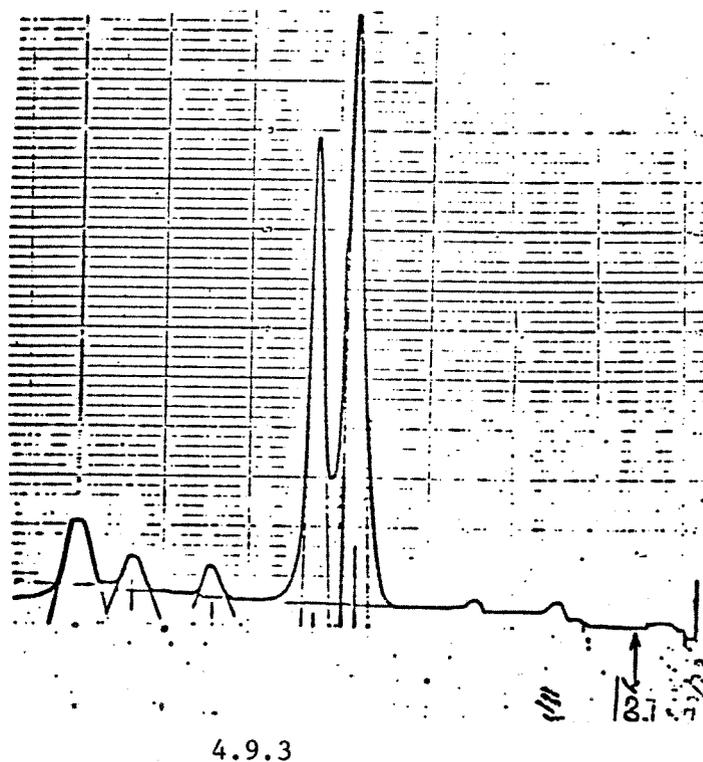
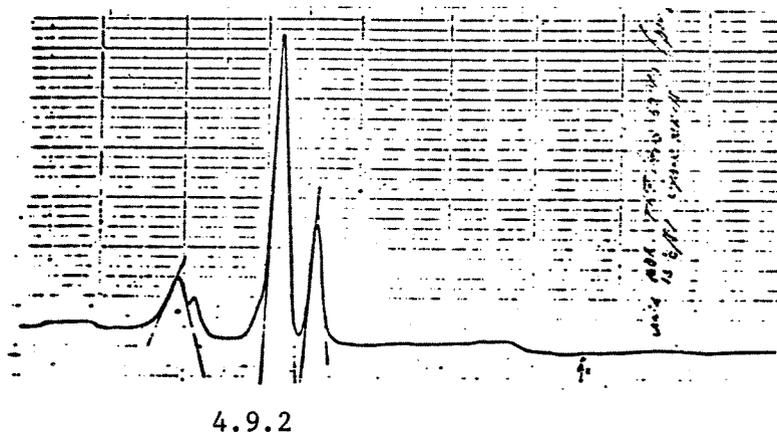
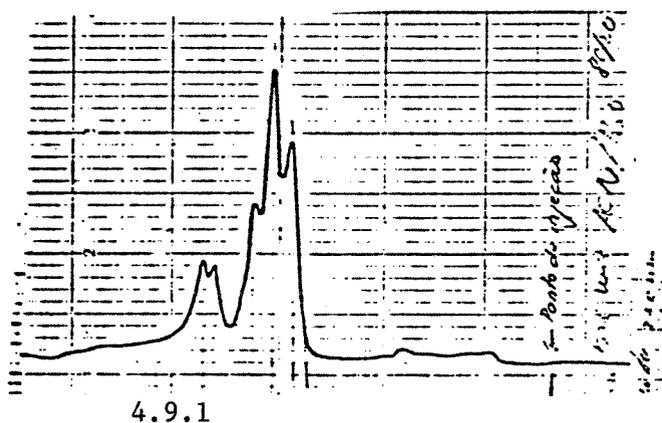


Figura 4.9 - Cromatogramas obtidos por CLAE correspondentes aos dados da Tabela 4.4. Coluna: VYDAC RP 18 - 10 μ . Detector: ultravioleta em 220 nm.

4.9.1 - Fase móvel: acetonitrila/água, 80/20 v/v.

4.9.2 - Fase móvel: tetrahydrofurano/água, 60/40 v/v.

4.9.3 - Fase móvel: metanol/água, 70/30 v/v.

o objetivo de conseguir maiores eficiências, porém as características foram semelhantes às das colunas pré-fabricadas.

Um fator que influenciou muito na obtenção das separações foi a pureza do metanol utilizado, pois a força do solvente atua diretamente nos valores de K' e de α . Quando se trabalhou com metanol Uvasol ou LiChrosolv, a seletividade foi aumentada substancialmente em relação ao metanol purificado somente por métodos físicos (Tabela 4.4).

A análise por CG dos quatro tipos de metanol mostrou que o que foi purificado por colunas e por destilação apresentou muitos picos. Isto não aconteceu com os demais (cromatogramas no Apêndice 10). O espectro no ultravioleta dos quatro tipos de metanol usados não mostrou diferenças sensíveis, e se fôssemos nos basear apenas nesse tipo de controle certamente não iríamos conseguir reprodutibilidade dos resultados (Apêndice 11).

Portanto, a pureza do solvente usado como fase móvel foi um fator muito importante no processo de separação e as impurezas transparentes ao ultravioleta modificaram a força do solvente, conduzindo a resultados não reprodutíveis.

Tabela 4.4 - Influência da pureza da fase móvel na seletividade.
 Coluna: Vydac RP-18, 300x10 mm
 Fase móvel: metanol/água, 70/30 v:v.
 Vazão: 2 mL/minuto

| TIPO DO METANOL | VALORES DE α | | |
|---|------------------------------------|--|--|
| | CBr ₄ /CCl ₄ | C ₂ Cl ₄ Br ₂ /C ₂ Br ₆ | C ₂ Cl ₆ /C ₂ Cl ₄ Br ₂ |
| Uvasol | 1,22 | 1,22 | 1,13 |
| LiChrosolv | 1,21 | 1,22 | 1,15 |
| Purificado por métodos químicos e físicos | 1,19 | 1,23 | 1,12 |
| Purificado por colunas de adsorção e destilação | 1,10 | 1,09 | 1,12 |

4.2.3 Sistemas de detecção para CLAE

Foram usados inicialmente os detectores de ultravioleta e de índice de refração. Este apresentou baixa sensibilidade aos compostos per-halogenados, possivelmente porque as concentrações destas substâncias, nas amostras analisadas, eram muito baixas. Para se ter uma idéia da diferença de sensibilidade entre os dois detectores, apresentamos o cromatograma da Figura 4.10, com os dois detectores ligados em série. O detector de ultravioleta estava atenuado e poderia ter sido usado com a sua sensibilidade aumentada de 10 vezes, enquanto o de índice de refração estava com a sua máxima sensibilidade.

Para a escolha do comprimento de onda ideal, para o sistema de detecção por absorção no ultravioleta, procedeu-se a injeções de 100 μ L de solução com concentração de 0,1mg/mL de cada componente em metanol, variando-se o comprimento de onda de 5 em 5 nm, entre 210 e 260 nm. As áreas foram medidas por base à meia altura (método descrito no Apêndice 7) e cada injeção foi repetida considerando-se o valor médio das alturas para o cálculo das áreas. As variações foram menores que 3%.

Os valores de $\lambda_{\text{máx}}$ crescem para hidrocarbonetos halogenados na ordem $\text{Cl} < \text{Br} < \text{I}$ e os valores de ξ também aumentam nesta ordem (204). Para os compostos per-halogenados estudados, dissolvidos na fase móvel (metanol/água 70/30 v:v), observou-se uma grande variação de absorbância com a estrutura, para um mesmo comprimento de onda (Figura 4.11). Para o C_2Cl_6 em 220 nm, obteve-se uma área de 410 mm^2 enquanto que para o CCl_4

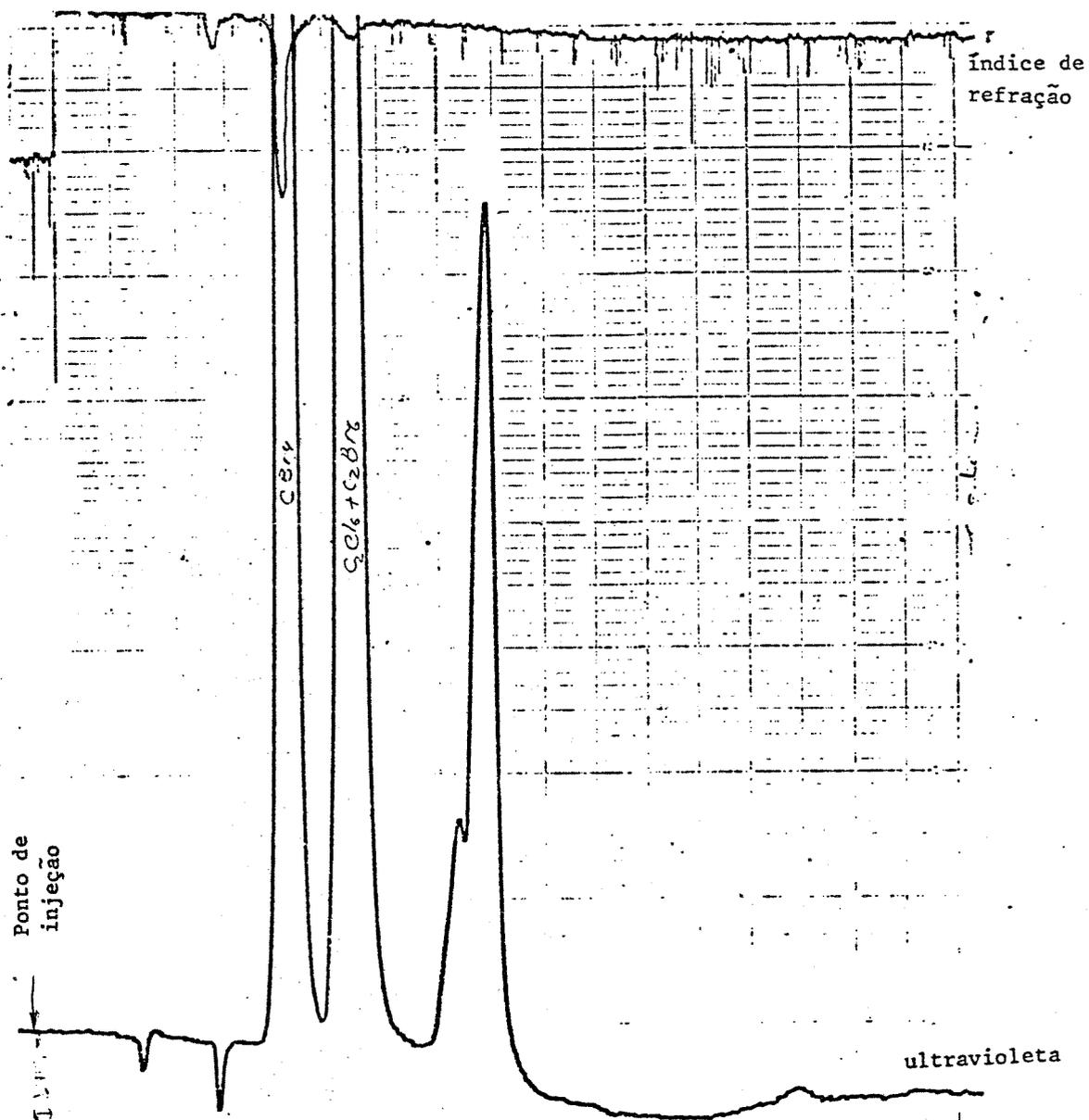


Figura 4.10 - Detecção simultânea de mistura de compostos per-halogenados por ultravioleta (230 nm) e por índice de refração. Coluna: VYDAC RP 18. Fase móvel: metanol/água, 70/30 v/v (metanol purificado por colunas de adsorção e destilação). Vazão da fase móvel: 2,5 mL/minuto.

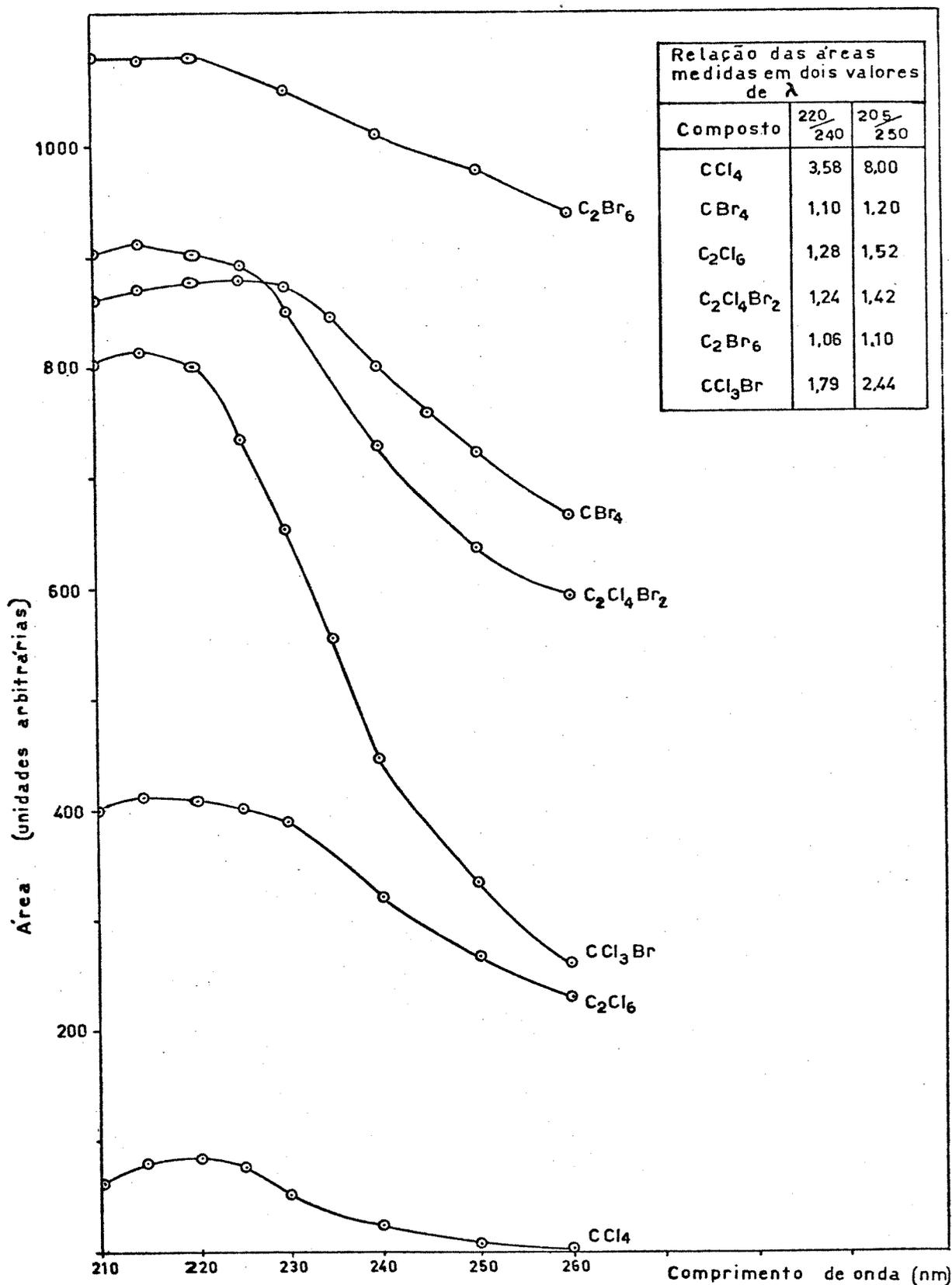


Figura 4.11 - Resposta do detector de ultravioleta aos compostos perhalogenados. Coluna: VYDAC, RP 18 (fase reversa). Fase móvel: metanol/água, 70/30 V/V; Concentração de cada composto em metanol: 0,1 mg/mL.

foi de apenas 86 mm². A substituição dos átomos de cloro por átomos de bromo também provocou uma significativa mudança na absorbância, pois para o C₂Br₆ a área foi de 1080 mm², isto é, mais que o dobro do que para o C₂Cl₆. Devemos salientar que as massas injetadas e as condições analíticas foram as mesmas. Observou-se, no entanto, que todos os compostos analisados apresentaram um valor de $\lambda_{\text{máx}}$ próximo de 220 nm, e por isso este valor foi escolhido para os estudos posteriores. Para os valores de λ inferiores a 220 nm, a fase móvel, mesmo com metanol Uvasol ou LiChrosolv, passou a absorver e a sensibilidade do sistema diminuiu. Para valores maiores do que 220 nm, os compostos em solução, principalmente os clorados, absorveram menos e a sensibilidade também diminuiu.

4.2.4 Sensibilidade de detecção do sistema de CLAE: concentração mínima detectável

Apesar de ser menos sensível do que os sistemas de detecção da cromatografia gasosa, o detector de ultravioleta para CLAE foi muito sensível para compostos per-halogenados. Na Tabela 4.5 tem-se os resultados experimentais obtidos para alguns destes compostos em solução em metanol. A fase móvel foi metanol/água, 70/30 v:v, sendo o metanol da marca UVASOL. A concentração mínima detectada foi tal, que a relação sinal/ruído foi maior do que 2, na maior sensibilidade do detector (0,01 unidades de absorbância) e em 220 nm.

Tabela 4.5 - Concentração mínima detectável para compostos per-halogenados. Detector: UV em 220 nm. Fluxo da fase móvel: 2 mL/min. Sensibilidade de detecção: 0,01 unidades de absorvância, para deflexão de toda a escala do registrador.

| COMPOSTO | CCl ₄ | CCl ₃ Br | CBr ₄ | C ₂ Cl ₆ | C ₂ Br ₆ | C ₂ Cl ₄ Br ₂ | C ₂ Cl ₄ |
|--|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|--------------------------------|
| Concentração mínima detectável (μg/μL) | 2x10 ⁻² | 10 ⁻³ | 2x10 ⁻³ | 5x10 ⁻³ | 1,5x10 ⁻³ | 2x10 ⁻³ | 10 ⁻⁴ |

4.3 ESPECTROMETRIA DE MASSA DOS COMPOSTOS PER-HALOGENADOS

Os espectros de massa desses compostos foram bastante característicos e de fácil interpretação. Os mecanismos de fragmentação envolveram apenas rupturas de ligações halogênio-carbono, sem rearranjos complicados, como podem ocorrer em várias outras moléculas orgânicas.

As abundâncias isotópicas e a grande diferença de massa entre o cloro e o bromo conduziram a espectros peculiares, com fragmentos facilmente identificáveis.

No Apêndice 12, tem-se os espectros de massa de substâncias-padrão e das amostras obtidas por CG/EM. Apresentamos adicionalmente os diagramas das abundâncias isotópicas obtidas teoricamente para os fragmentos com várias combinações de átomos de cloro e de bromo. Pode-se observar que as abundâncias isotópicas dos fragmentos identificados nos componentes das amostras coincidiram com as abundâncias isotópicas previstas. Por exemplo, no espectro do CCl₂Br₃, o fragmento CCl₂Br₂, originado da perda de bromo do íon molecular,

apresentou picos de massas 205, 207, 209 e 211 com abundâncias de 4:9:6:1, respectivamente, exatamente como previsto (Figura 4.12).

Baseando-se apenas nas fragmentações e nas abundâncias isotópicas foi possível comprovar a identidade dos picos cromatográficos, e estes resultados confirmaram as suposições originadas por respostas relativas dos detectores e tempos de retenção.

MASS SPECTRUM
 04/28/81 15:05:03 + 9:18
 SAMPLE: CARFINAS 1

DATA: 1 0279
 CALL: 42881A 65
 BASE M/E: 207
 RIC: 15372.

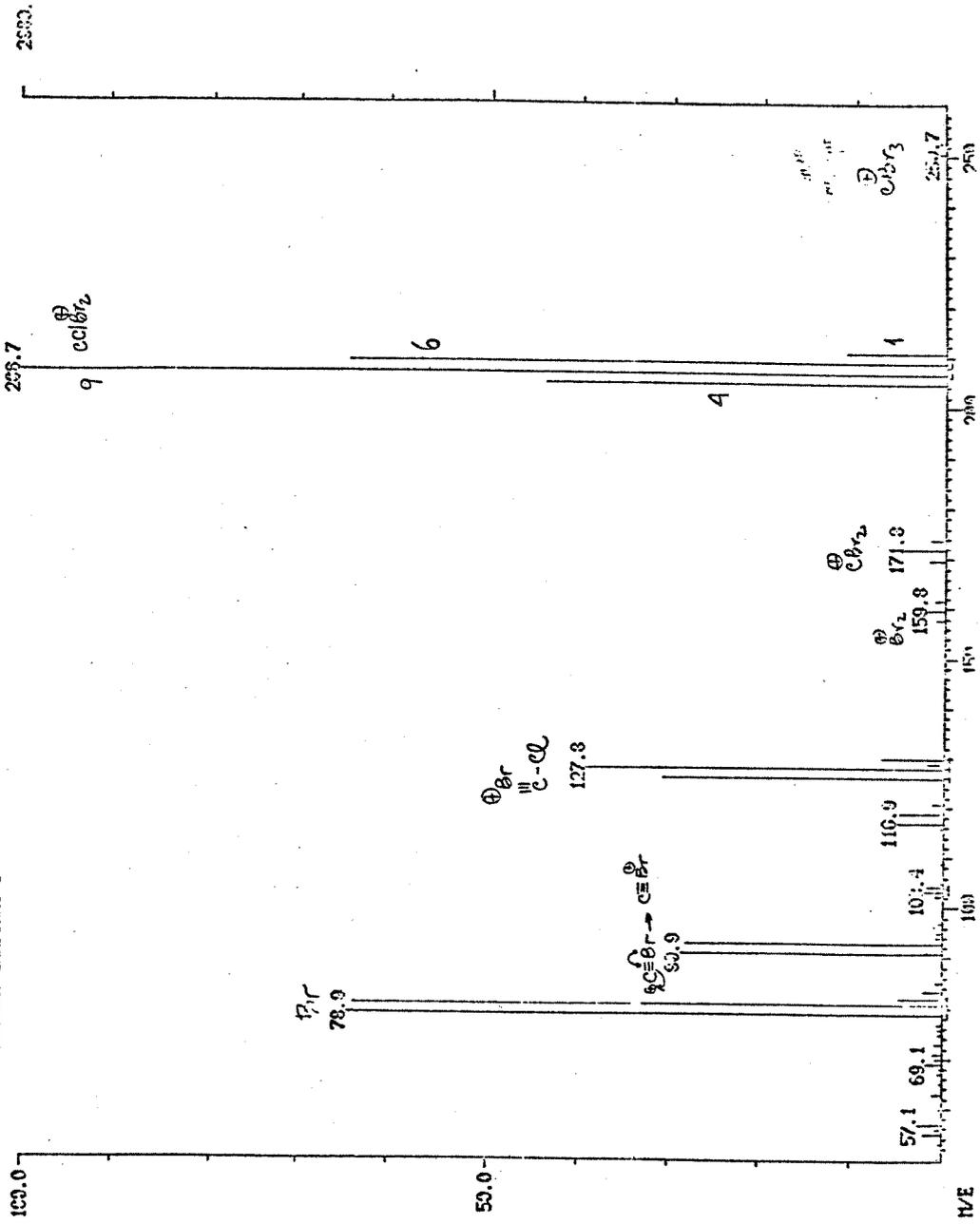


Figura 4.12 - Espectro de massa do CCl₃Br. Amostra: solução de CBr₄ em CCl₄ (0,1%) irradiada com nêutrons térmicos por 100 segundos (fluxo neutronic de 2x10¹² n.cm⁻²S⁻¹). Equipamento: Sistema Finnigan CG/EM. Coluna: 10% OV-17, programada de 50 a 150° C a 6° C/minuto. Fase móvel: hélio a 25 mL/minuto.

5 - APLICAÇÕES: AMOSTRAS SEM ATIVIDADE

Nesta seção serão apresentadas várias ilustrações e aplicações dos métodos analíticos desenvolvidos.

5.1 ANÁLISE DE UMA MISTURA PADRÃO

A primeira aplicação dos métodos desenvolvidos foi a análise qualitativa e quantitativa de uma mistura contendo: CCl_3Br , CBr_4 , C_2Cl_6 , $\text{C}_2\text{Cl}_4\text{Br}_2$ e C_2Br_6 , dissolvidos em CCl_4 (para CG) e em metanol (para CLAE).

Na Tabela 5.1 tem-se os resultados desta análise e nas Figuras 5.1 e 5.2 os cromatogramas.

Os cromatógrafos foram operados nas seguintes condições:

a - Cromatógrafo gasoso

Coluna: SP 2100/Carbowax 1500.

Temperatura da coluna: programada de 60 a 140°C a 6°C/minuto.

Detectores: de ionização de chama e de fotoionização.

Temperatura dos detectores: 150°C.

Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto.

Tabela 5.1 - Resultados da análise de uma mistura conhecida, para teste do sistema analítico

| COMPOSTO | t_r (mm) CG | | t_r (mm) CLAE | | RELAÇÃO DE ÁREAS DIC/DFI | | RELAÇÃO DE ÁREAS 220/240 mm | | CONCEN-TRAÇÃO MISTURA mg/ml | CONCEN-TRAÇÃO CG mg/ml | CONCEN-TRAÇÃO CLAE mg/ml |
|--|---------------|--------|-----------------|--------|--------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|------------------------|--------------------------|
| | Mistura | Padrão | Mistura | Padrão | Mistura | Padrão | Mistura | Padrão | | | |
| CCl ₄ | - | - | 68 | 68 | - | - | 3,30 | 3,50 | 20 | 19,0 | 19,0 |
| CCl ₃ Br | 43 | 42 | 33 | 32 | 5,70 | 5,80 | 1,70 | 1,80 | 8 | 7,5 | 7,5 |
| CBr ₄ | 141 | 140 | 61 | 60 | 0,58 | 0,52 | 1,10 | 1,12 | 30 | 31,0 | 29,0 |
| C ₂ Cl ₆ | 214 | 212 | 128 | 126 | 30,00 | 28,5 | 1,26 | 1,28 | 5 | 5,0 | 5,0 |
| C ₂ Cl ₄ Br ₂ | 195 | 193 | 115 | 113 | 9,42 | 9,49 | 1,19 | 1,20 | 3 | 3,0 | 3,0 |
| C ₂ Br ₆ | 319 | 317 | 96 | 95 | 0,20 | 0,25 | 1,06 | 1,08 | 50 | 51,0 | 48,0 |

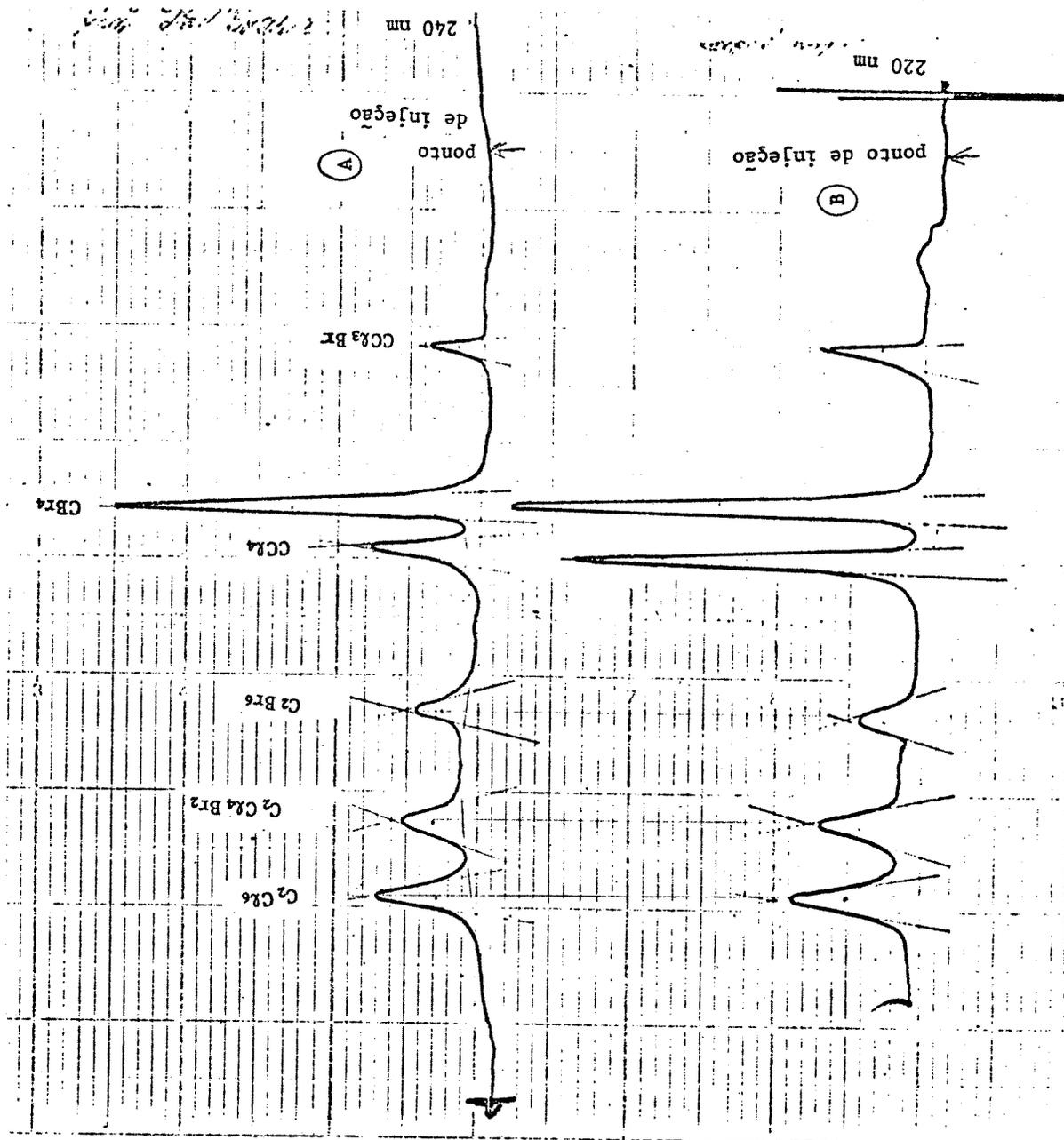


Figura 5.1 - Cromatogramas obtidos por CLAE, da mistura padrão, para se obter a resposta relativa do detector de ultravioleta em dois comprimentos de onda. A: detecção em 240 nm. B: detecção em 220 nm. Coluna: VYDAC-RP 18 (fase reversa). Fase móvel: metanol/água, 70/30 v/v. Vazão da fase móvel: 2 mL/minuto. Volume injetado: 100 μ L.

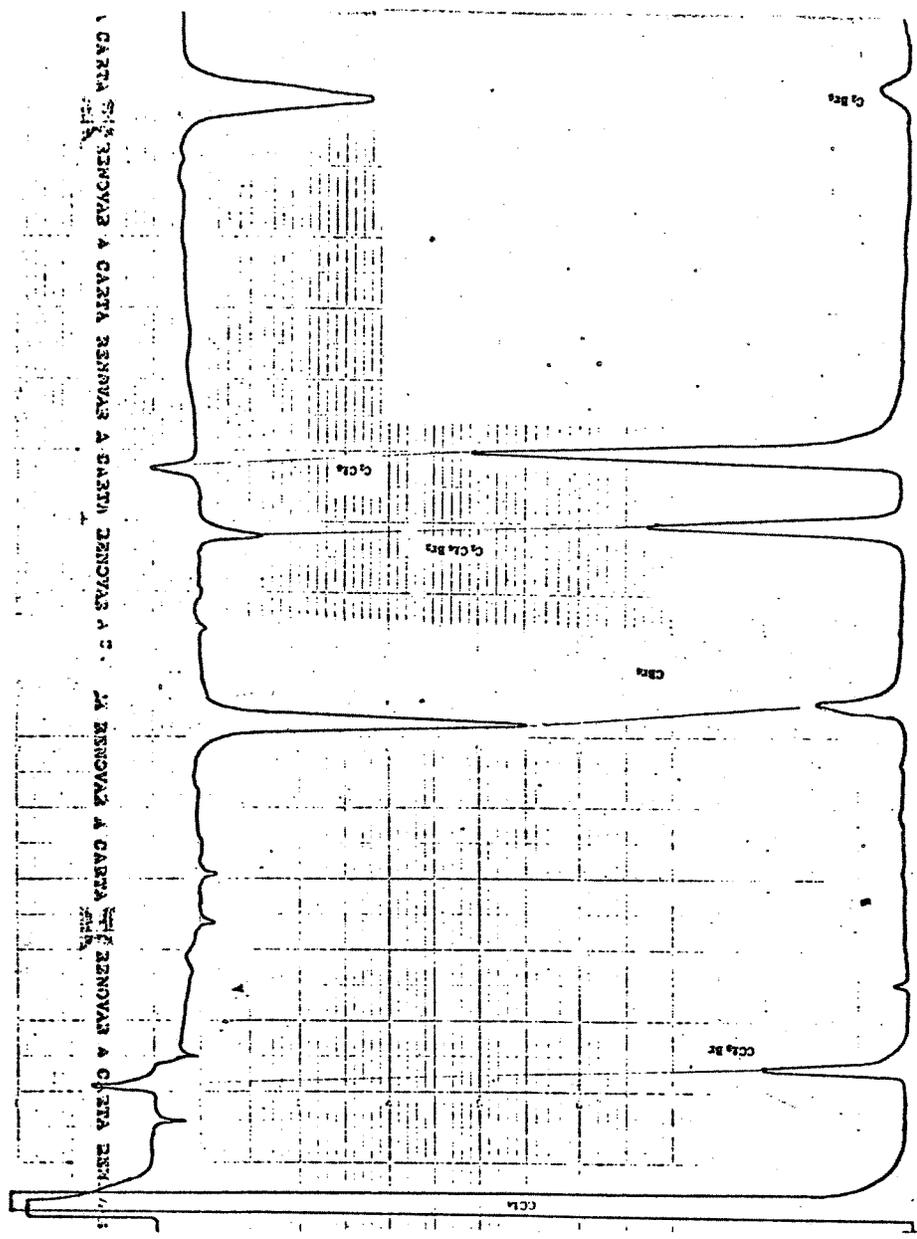


Figura 5.2 - Cromatogramas obtidos por CG da mistura padrão, para se obter a resposta relativa em dois detectores (ligados em série). A: Detector de fotoionização. B: Detector de ionização de chama. Coluna: SP. 2100/carbowax 1500 programada de 60 a 140°C a 6°C/minuto. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto. volume injetado: 2µL.

b - Cromatógrafo líquido

Coluna: Vydac RP-18 (Nº 1, item 3.4.1.2).

Fase móvel: metanol/água, 70/30, v/v.

Vazão da fase móvel: 2 mL/minuto.

Os tempos de retenção obtidos pelos dois sistemas cromatográficos (Figura 5.1) coincidiram com os dos padrões injetados isoladamente e as respostas relativas dos detectores foram conclusivas na identificação de cada componente. A análise quantitativa também mostrou boa precisão pelos dois métodos, quando se usou a técnica de base à meia altura para as medidas das áreas, e calibração absoluta para determinação de massas ou concentrações.

Pode-se observar que a relação de áreas em dois comprimentos de onda (CLAE) deve ser obtida com muito cuidado, pois os valores obtidos foram muito próximos. Para maior confiabilidade dos resultados, é necessário que se injetem quantidades aproximadamente iguais da amostra e dos padrões e que se use a mesma fase móvel, isto é, uma injeção após a outra.

Para CG os valores são bem diferentes e, apesar da fase móvel não interferir na detecção, é aconselhável que também se injete amostra e padrões, consecutivamente.

Esta foi a análise de uma mistura cujos componentes eram conhecidos qualitativa e quantitativamente.

As aplicações que se seguem são referentes à análise de misturas desconhecidas.

5.2 ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE CBr_4 EM CCl_4 (FRAÇÃO MOLAR 0,01) COM LUZ ULTRAVIOLETA, POR CROMATOGRAFIA GASOSA.

Nesta análise, procedeu-se à injeção no CG da solução antes da irradiação, para comprovar a pureza dos reagentes. Depois de irradiada com luz ultravioleta durante 4 horas, injetou-se novamente a mistura, mantendo-se as mesmas condições analíticas.

Os cromatogramas mostraram a formação de alguns produtos da reação. A comparação de tempos de retenção dos picos da mistura irradiada e dos picos de padrões injetados isoladamente forneceu as informações iniciais para a sua identificação. As respostas relativas nos detectores de ionização de chama e de fotoionização confirmaram a sua identidade. A análise quantitativa foi realizada logo depois de obtidas as curvas de calibração para o CBr_4 , C_2Cl_6 e C_2Br_6 , para se evitar variação da resposta do detector de fotoionização com o tempo.

Na Tabela 5.2 tem-se os resultados da análise e nas Figuras 5.3 e 5.4, os cromatogramas respectivos.

Tabela 5.2 - Análise de uma solução de CBr_4 em CCl_4 , irradiada com luz ultravioleta durante 4 horas.

Coluna: SE-30

Temperatura da coluna: 100°C , isotérmica.

Fase móvel: Nitrogênio a 25 mL/minuto.

| COMPOSTO | QUANTIDADE INICIAL $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ | QUANTIDADE FINAL $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ | RESPOSTA RELATIVA DIC/DFI |
|-------------------------|---|---|------------------------------|
| CBr_4 | 33 | 33 | 0,56 |
| C_2Cl_6 | 0 | 1,2 | 27 |
| C_2Br_6 | 0 | $0,1 \times 10^{-3}$ | - |
| C_2Cl_4 | 0 | 4 | 0,5 |
| CCl_3Br | 0 | não detectado | - |

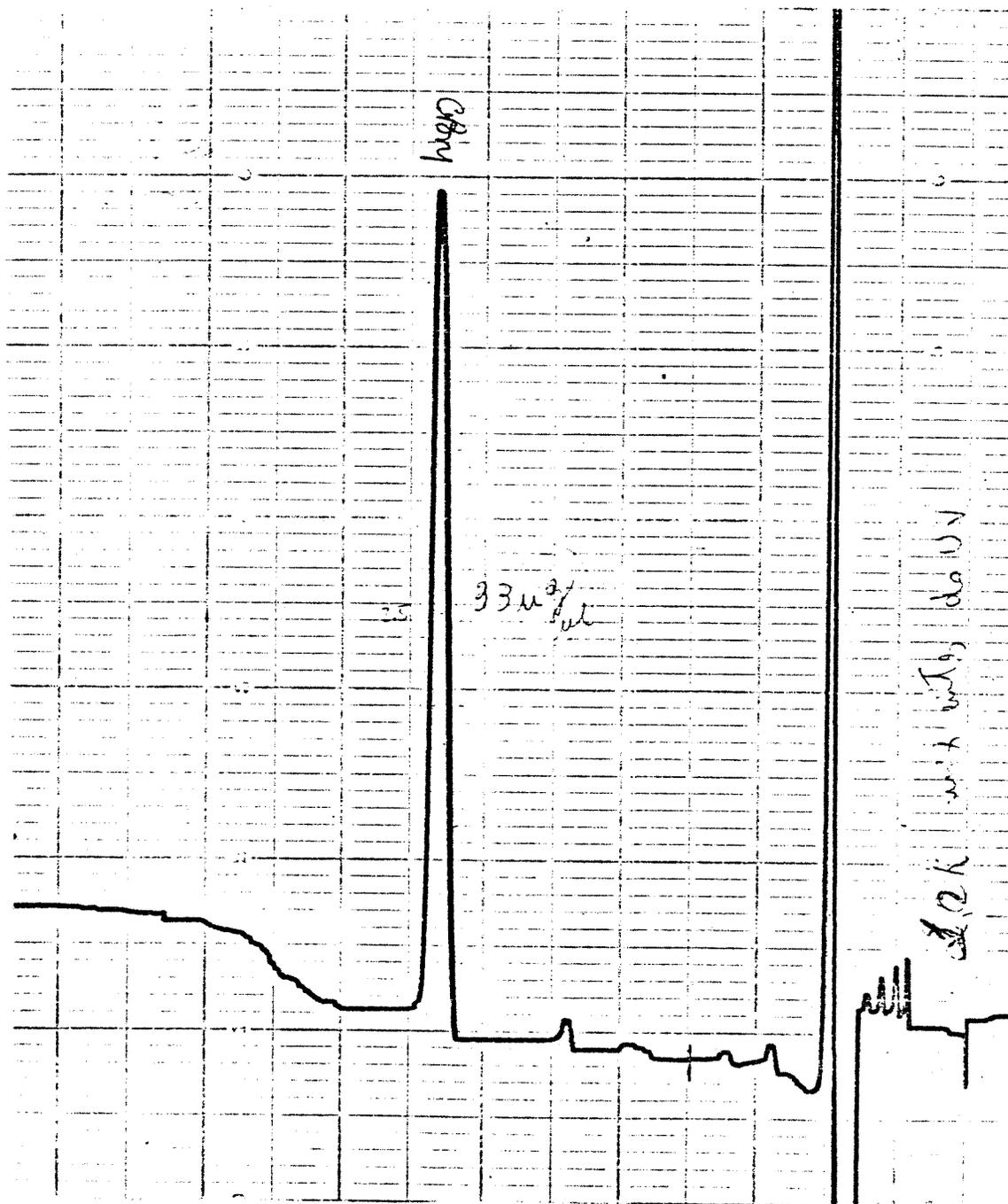


Figura 5.3 - Cromatograma correspondente a injeção de CBr_4 em CCl_4 antes da irradiação com luz ultravioleta. Coluna: SE-30. Temperatura da coluna: programada de 70 a 150°C a $8^\circ\text{C}/\text{minuto}$. Fase móvel: nitrogênio a $25\text{ mL}/\text{minuto}$. Detector: fotoionização.

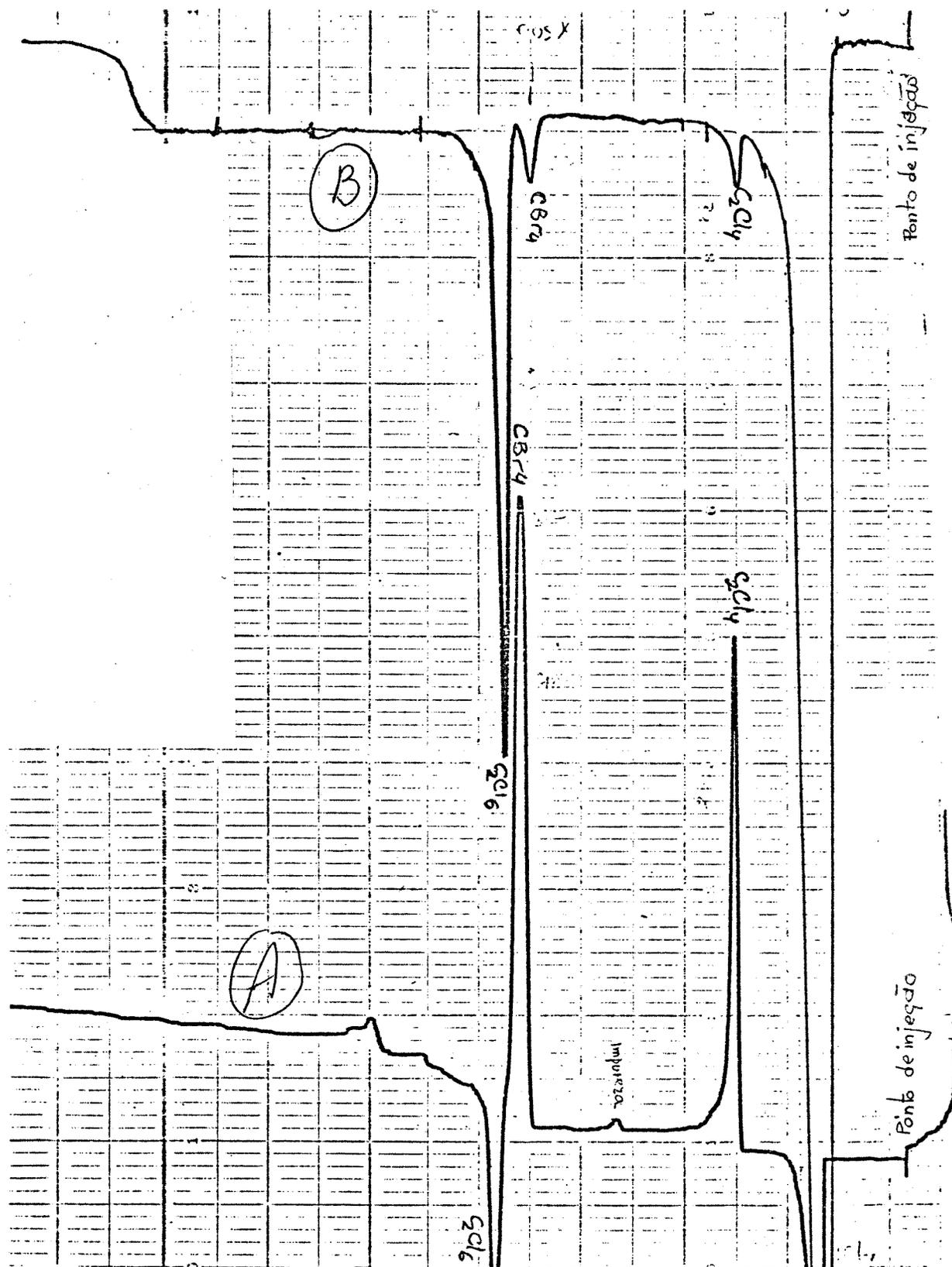


Figura 5.4 - Cromatograma correspondente a injeção de CBr_4 em CCl_4 depois de irradiação com luz ultravioleta durante 4 horas. Coluna: SE-30 programada de 70 a 150°C a 8°C/minuto. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto. Detecção: A-fotoionização, B-ionização de chama.

A formação de C_2Cl_4 como conseqüência da recombinação de dois radicais CCl_2 , formados na fotodecomposição do CCl_4 , já havia sido observada (205) e agora foi comprovada.

No entanto era de se esperar a detecção do produto da combinação do radical CCl_3 com espécies bromadas, dando CCl_3Br . É possível que o CCl_3Br não tenha sobrevivido até o momento da análise.

Por outro lado, a irradiação com luz ultravioleta de soluções concentradas de CBr_4 em CCl_4 (>50%) mostrou um pequeno pico de CCl_3Br (Figura 5.5), detectado logo após a irradiação.

5.3 ANÁLISE QUALITATIVA DA MISTURA DE COMPOSTOS PER-HALOGENADOS OBTIDA POR REAÇÃO TERMOQUÍMICA ENTRE CBr_4 E CCl_4 , NA PRESENÇA DE ALUMÍNIO.

Esta aplicação mostra a importância da pureza da fase móvel na separação por CLAE. O objetivo foi a identificação das frações coletadas do sistema de CLAE, através da cromatografia gasosa.

Os produtos da reação (2mL) (vide seção 3.3) foram parcialmente extraídos com 5mL de metanol. Cem microlitros da fração metanólica foram injetados no cromatógrafo líquido, com coluna de fase reversa (Vydac RP 18) e detectados por absorção no ultravioleta em 220 nm. Coletaram-se as frações de 6 injeções consecutivas, perfazendo volumes de 20, 12, 15 e 20 mL, para os picos de números 1, 2, 3 e 4, respectivamente (Figura 5.6). Cada fração foi novamente injetada em CLAE, para avaliar a eficiência da cromatografia preparativa (Figura 5.7).

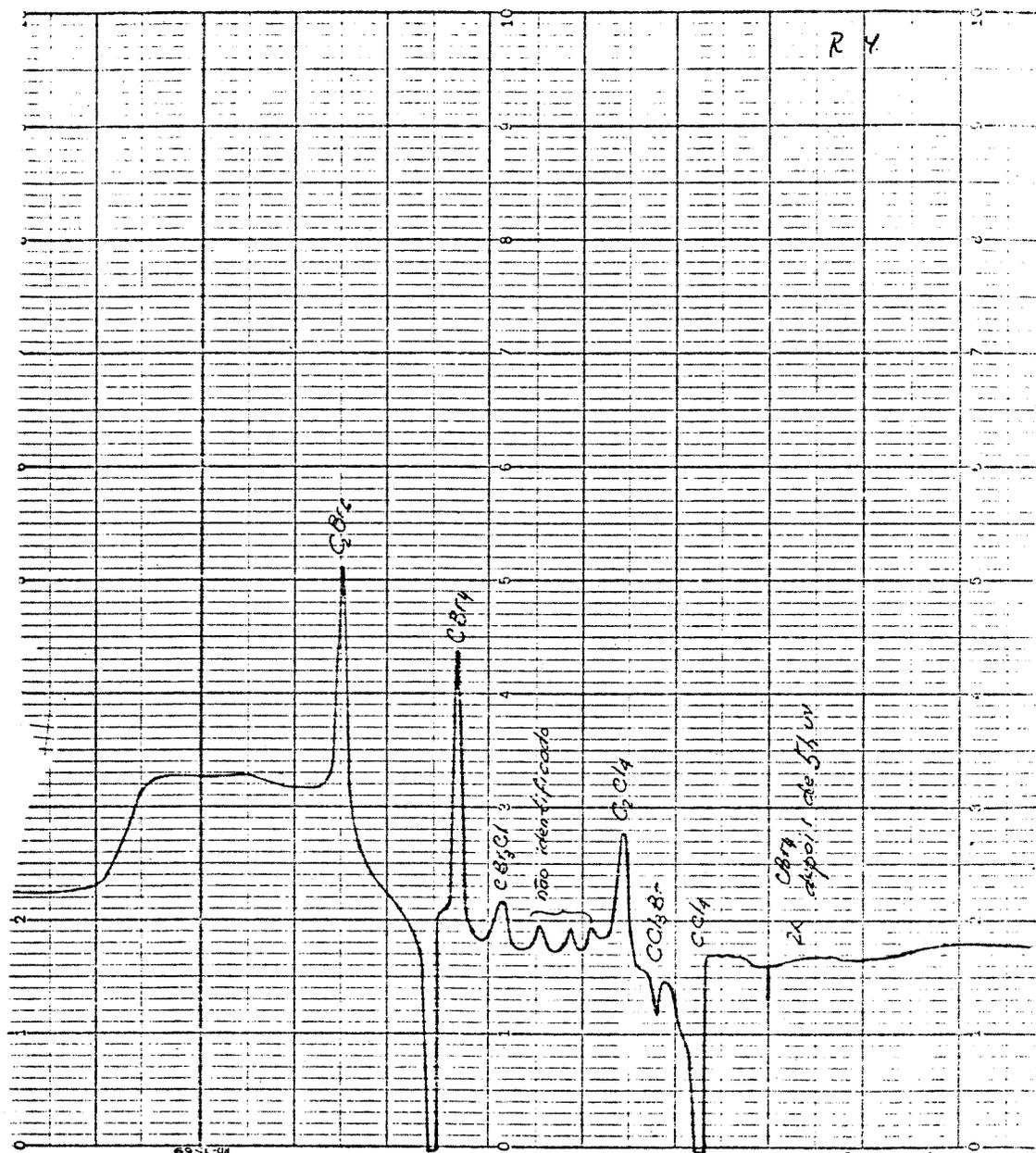


Figura 5.5 - Cromatograma correspondente a injeção de solução concentrada de CBr_4 em CCl_4 (50%) e irradiada com luz ultravioleta. Coluna: SE-30. Temperatura da coluna: programada de 70 a 140°C a 6° C/minuto. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto.

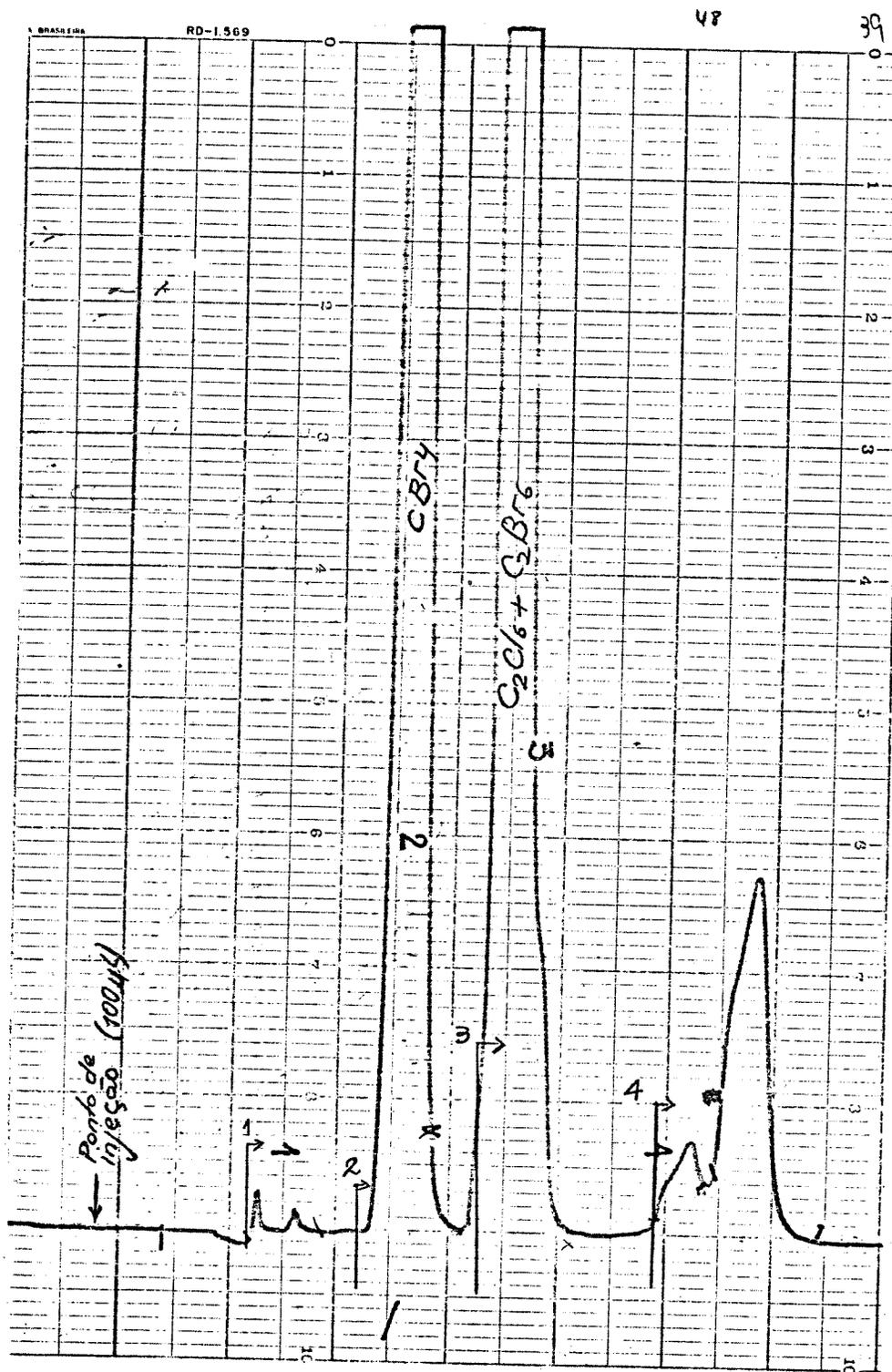


Figura 5.6 - Cromatograma correspondente a CLAE preparativa dos produtos da reação termoquímica entre CBr₄ e CCl₄ na presença de alumínio. As flexas indicam o ponto de início de coleta da fração. Coluna: Vydac RP-18. Fase móvel: metanol/água 75/25 v/v. Vazão da fase móvel: 2,5 mL/minuto. Volume injetado: 100 µL.

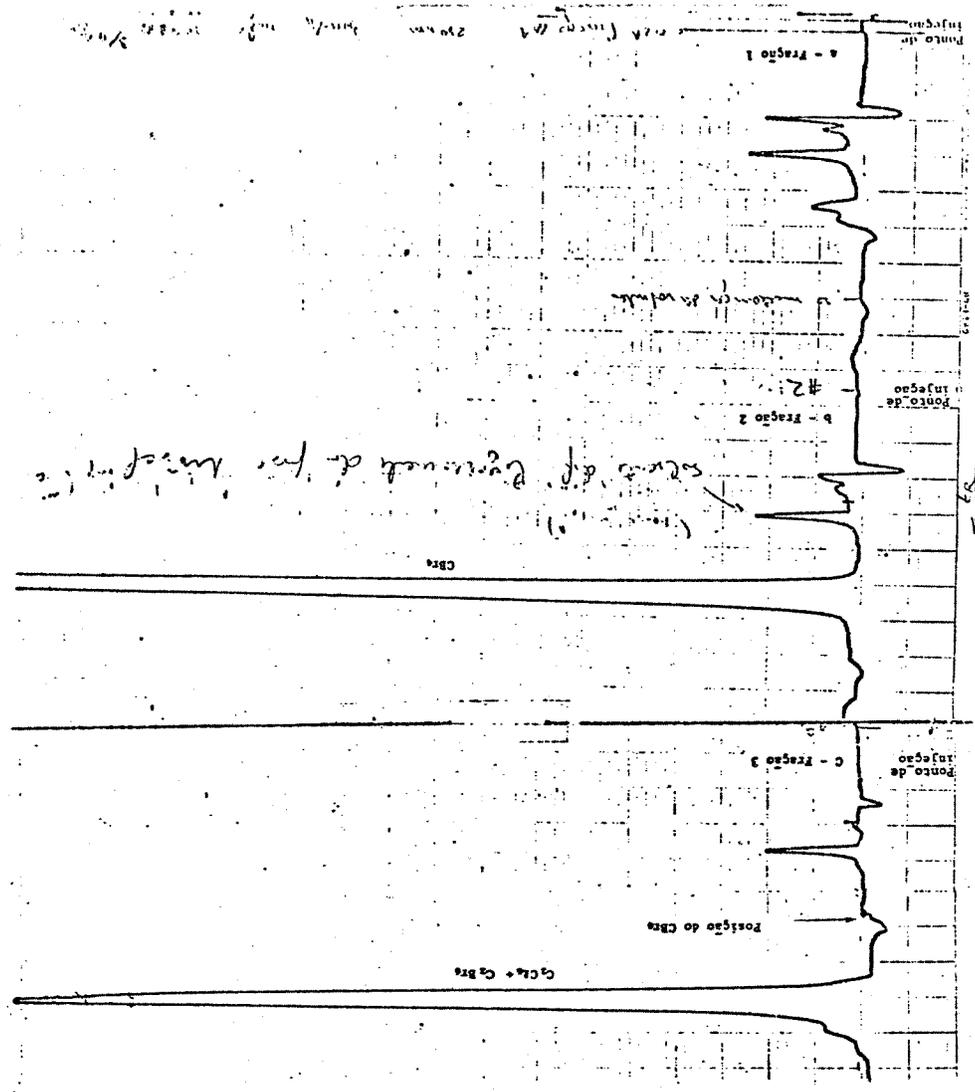


Figura 5.7 - Cromatogramas correspondentes às frações obtidas por cromatografia preparativa, condições idênticas às da Figura 5.5. A: Fração nº 1 - (vide cromatograma Figura 5.5). B: Fração nº 2. C: Fração nº 3.

Adicionaram-se 10 mL de água a cada fração, para diminuir a solubilidade dos compostos per-halogenados em solução, e extraiu-se com 3mL de CCl_4 . A injeção de $5\mu L$ do material extraído com CCl_4 , no cromatógrafo gasoso, revelou que o segundo pico (fração nº 2, Figura 5.6) era correspondente ao CBr_4 e o terceiro (fração nº 3, Figura 5.6) ao C_2Cl_6 e C_2Br_6 , que não foram separados por CLAE. A baixa eficiência da coluna usada em CLAE foi consequência de impurezas no metanol usado como fase móvel, e cujo espectro no ultravioleta mostrou transparência em 220 nm (veja Apêndice 11). No entanto a presença de contaminantes transparentes ao UV modificou a força da fase móvel. Quando se substituiu este metanol por outro passado por coluna de fase reversa, depois de purificado, a separação entre C_2Cl_6 e C_2Br_6 foi melhor (Figura 5.8).

Tentou-se extrair os componentes das frações 1 e 4, da fase móvel, que depois de injetados no cromatógrafo gasoso não foram detectados. Provavelmente eram traços de impurezas dos reagentes ou de produtos formados na reação, que absorveram fortemente no UV e que na extração foram diluídos ou não foram extraídos em quantidades detectáveis por CG.

5.4 IRRADIAÇÃO DE SOLUÇÕES DE CBr_4 EM CCl_4 COM RAIOS GAMA

Os fótons da radiação gama, por serem mais energéticos do que os da radiação ultravioleta, deram origem a um maior número de produtos de reação, quando se irradiaram soluções de CBr_4 em CCl_4 .

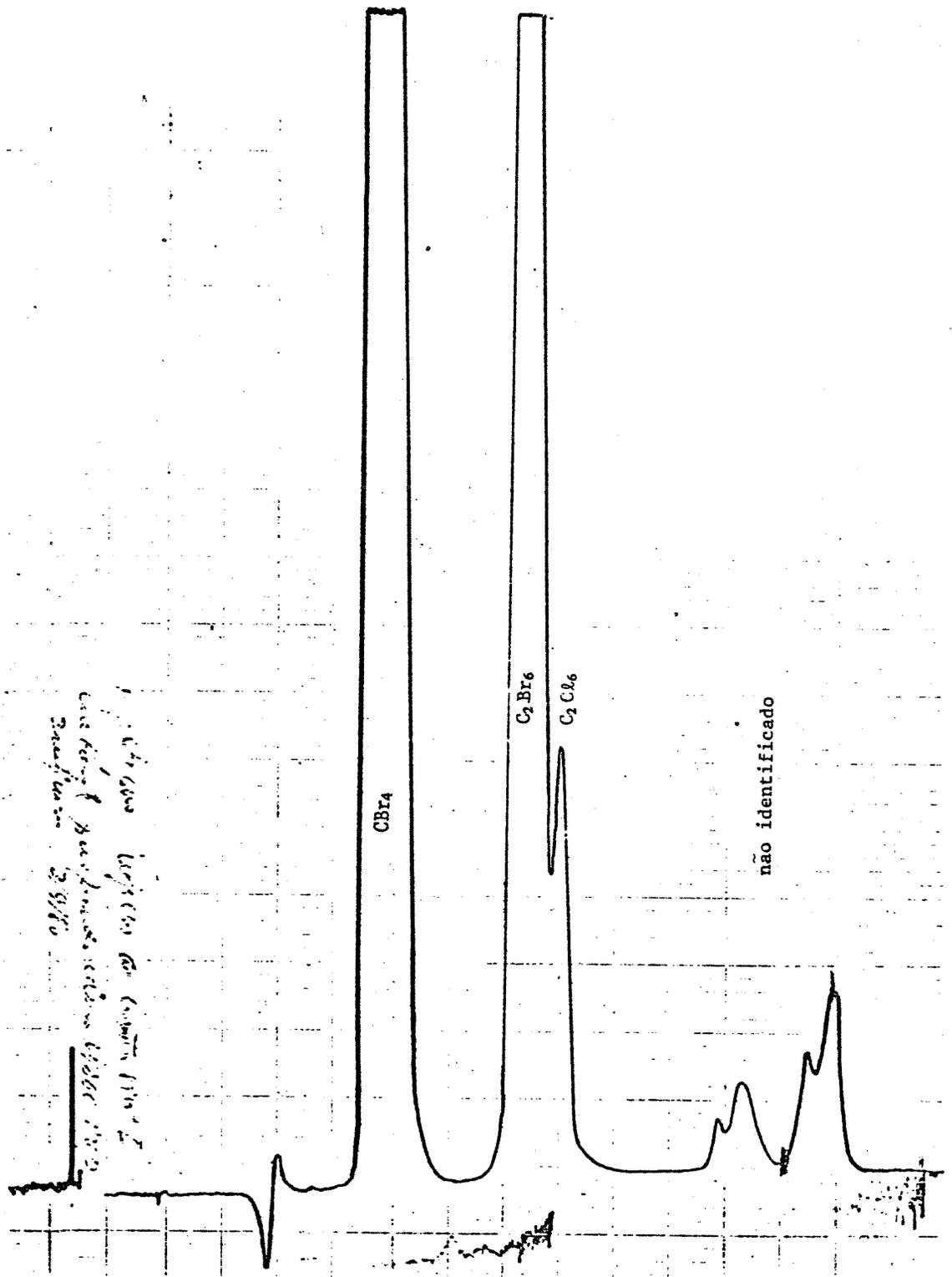


Figura 5.8 - Cromatograma obtido por CLAE da mistura de reação da seção 5.3, mostrando a influência da pureza da fase móvel na eficiência da coluna. Condições analíticas idênticas às de Figura 5.5, porém o metanol usado como fase móvel foi previamente passado por coluna de fase reversa.

As reações foram estudadas através da cromatografia gasosa, cujos cromatogramas possibilitaram acompanhar o consumo de CBr_4 e a formação dos produtos (Figuras 5.9 e 5.10). A identificação dos picos foi feita por comparação de tempos de retenção, por resposta relativa dos detectores de ionização de chama e de fotoionização e por CG/EM.

Amostras com concentrações de CBr_4 em CCl_4 de 1; 3,3; 10; 20 e 33 mg/mL foram irradiadas com doses de 0,1; 0,3; 1,0; 3,0 e 5,0 mega Rads de radiação gama. Cada amostra foi injetada 3 vezes e a média das áreas foi determinada.

As soluções estudadas eram muito diluídas e portanto a quantidade de CCl_4 foi considerada constante, comparada com a quantidade de CBr_4 .



Supondo-se inicialmente que esta reação possa ser de ordem superior, tem-se:

$$-d[\text{CBr}_4]/dt = k[\text{CBr}_4]^n$$

onde n é a ordem da reação, e k a constante de velocidade.

Então:

$$\log(-d[\text{CBr}_4]/dt) = \log k + n \log[\text{CBr}_4]$$

Se esta suposição for verdadeira, um gráfico de $\log(-d[\text{CBr}_4]/dt)$ versus $\log[\text{CBr}_4]$ daria uma reta, cujo coeficiente angular seria a ordem da reação. Para a obtenção dessas variáveis a partir dos cromatogramas, traçou-se a curva de consumo de CBr_4 com a dose de radiação, conforme mostra a figura (5.11).

Os valores dos coeficientes angulares das tangentes em

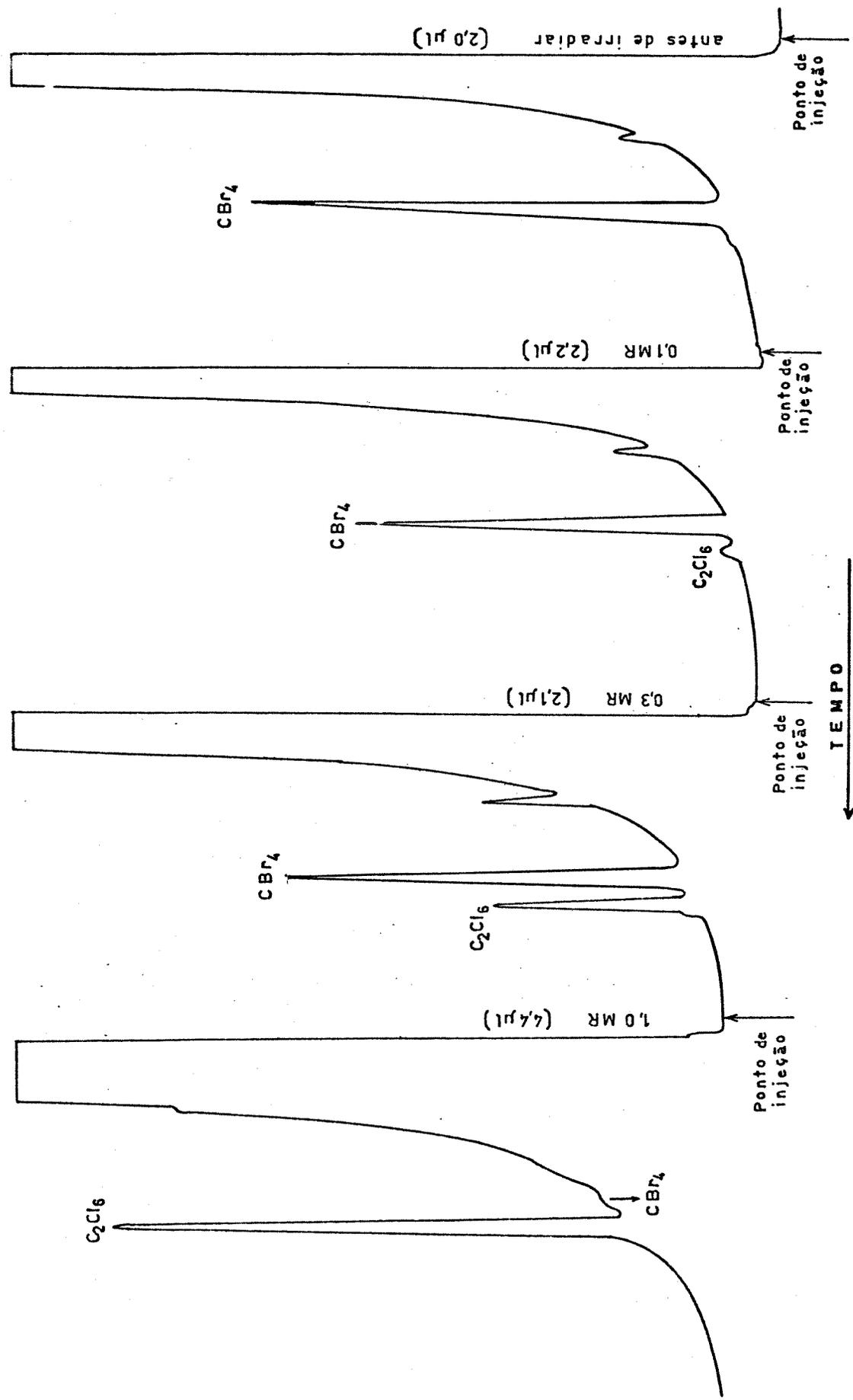


Figura 5.9 - Cromatogramas mostrando o consumo de CBr_4 e a formação de produtos com a dose de radiação gama. Coluna: SE-30, isotérmica a $100^\circ C$. Amostra: CBr_4 em CCl_4 (10 mg/mL). Volume injetado: 4 μL . Detector: ionização de chama.

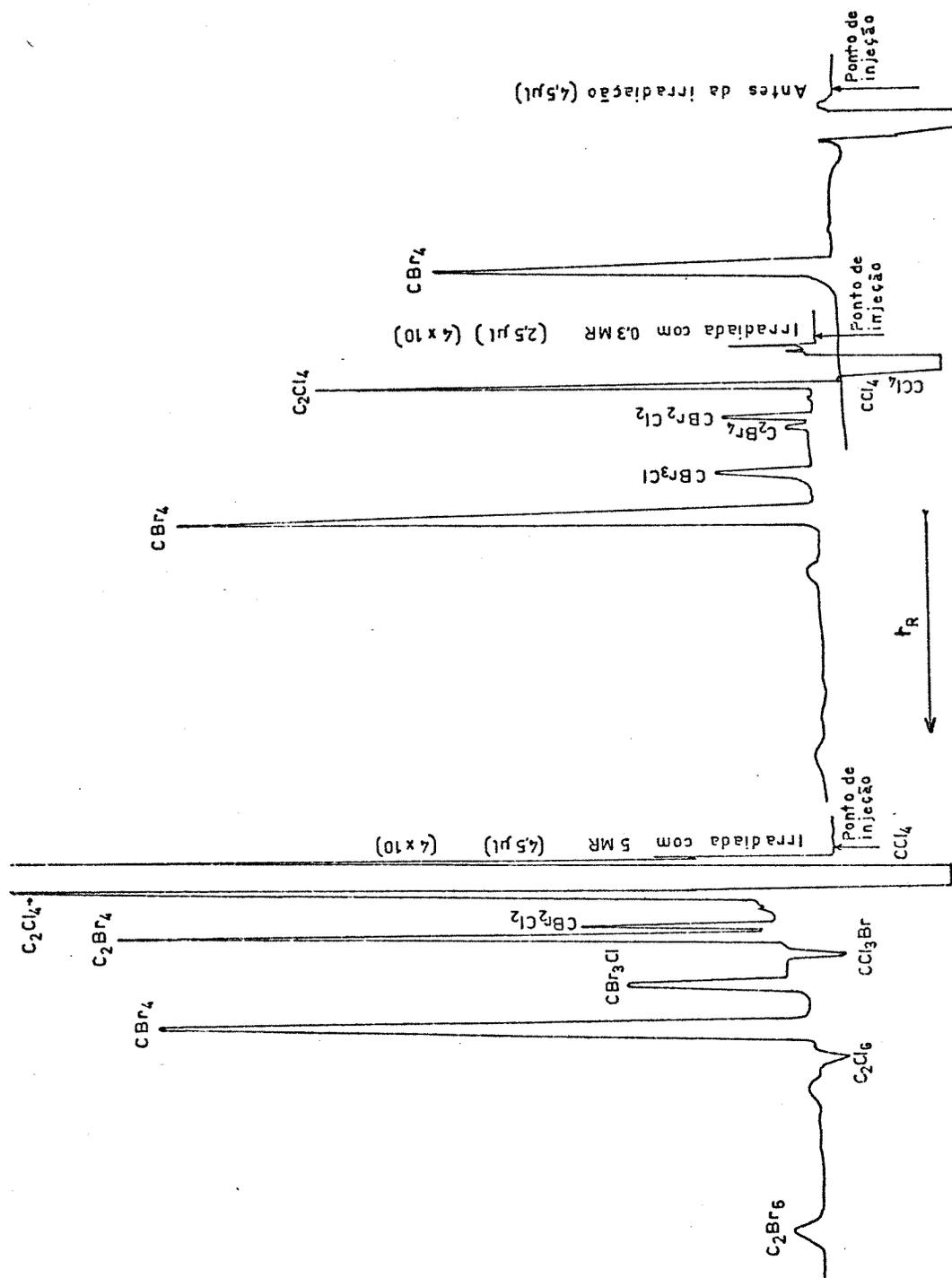


Figura 5.10 - Cromatogramas mostrando a formação de produtos com a dose de radiação gama. Coluna: SE-30, isotérmica a 100° C. Amostra CBr_4 em CCl_4 (10 mg/mL). Detector: fotoionização.

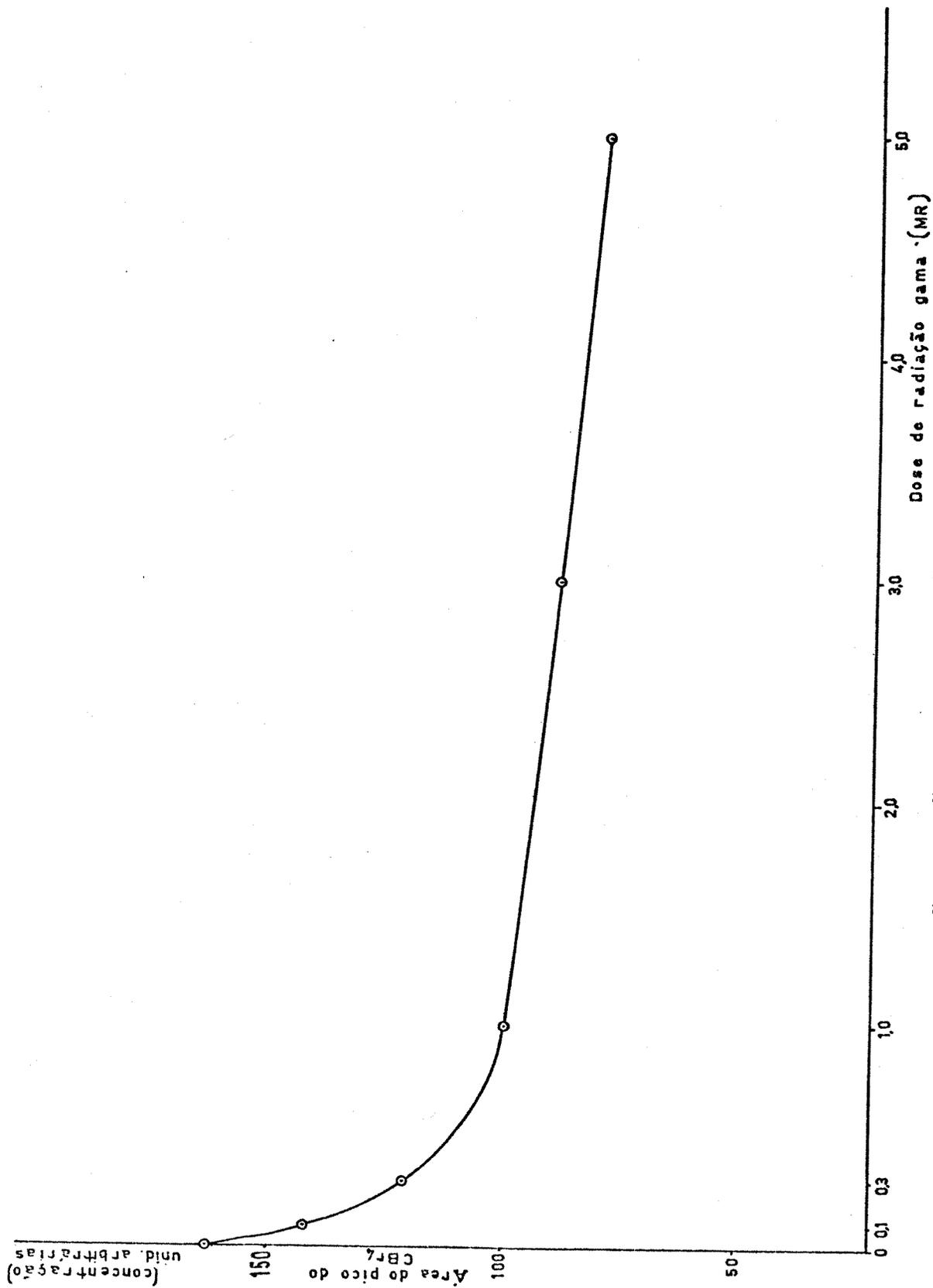


Figura 5.11 - Consumo de CBr₄ na reação. Detecção por fotoionização.

vários pontos desta curva seriam iguais a $-d[\text{CBr}_4]/dt$ e as ordenadas dos pontos de tangência seriam $\log[\text{CBr}_4]$.

Plotaram-se os logaritmos destes dados e obteve-se uma reta, como mostra a Figura 5.12. É interessante notar que os pontos desta reta estão alinhados, com um coeficiente de correlação igual a 0,987. A ordem da reação foi então obtida pelo coeficiente angular da reta, que foi de $5,987 = n = 6$.

Assim podemos supor que a reação do CBr_4 com o CCl_4 , ativada por radiação gama, tal que $(\text{CBr}_4) \ll (\text{CCl}_4)$, seja de sexta ordem com relação ao CBr_4 .

No entanto, observando a curva da Figura 5.11, pode-se notar que o consumo de CBr_4 é muito rápido no início da reação até tornar-se linear e lento no final. Aparentemente esses resultados podem ser interpretados como sendo consequência de pelo menos dois mecanismos ou processos diferentes e com pelo menos um mecanismo de ordem superior.

Analogamente pode-se supor que a formação dos produtos também seja consequência de mais de um processo ou mecanismo (Figuras 5.13 a 5.19). O processo de formação de C_2Br_4 , aparentemente, segue um mecanismo mais simples que os demais, pois a sua formação é realmente linear com o tempo de irradiação (Figura 5.17).

Esses resultados preliminares foram obtidos a título de aplicação dos métodos analíticos desenvolvidos e poderão fornecer subsídios e originar futuramente novas perspectivas de tese no grupo de radioquímica.

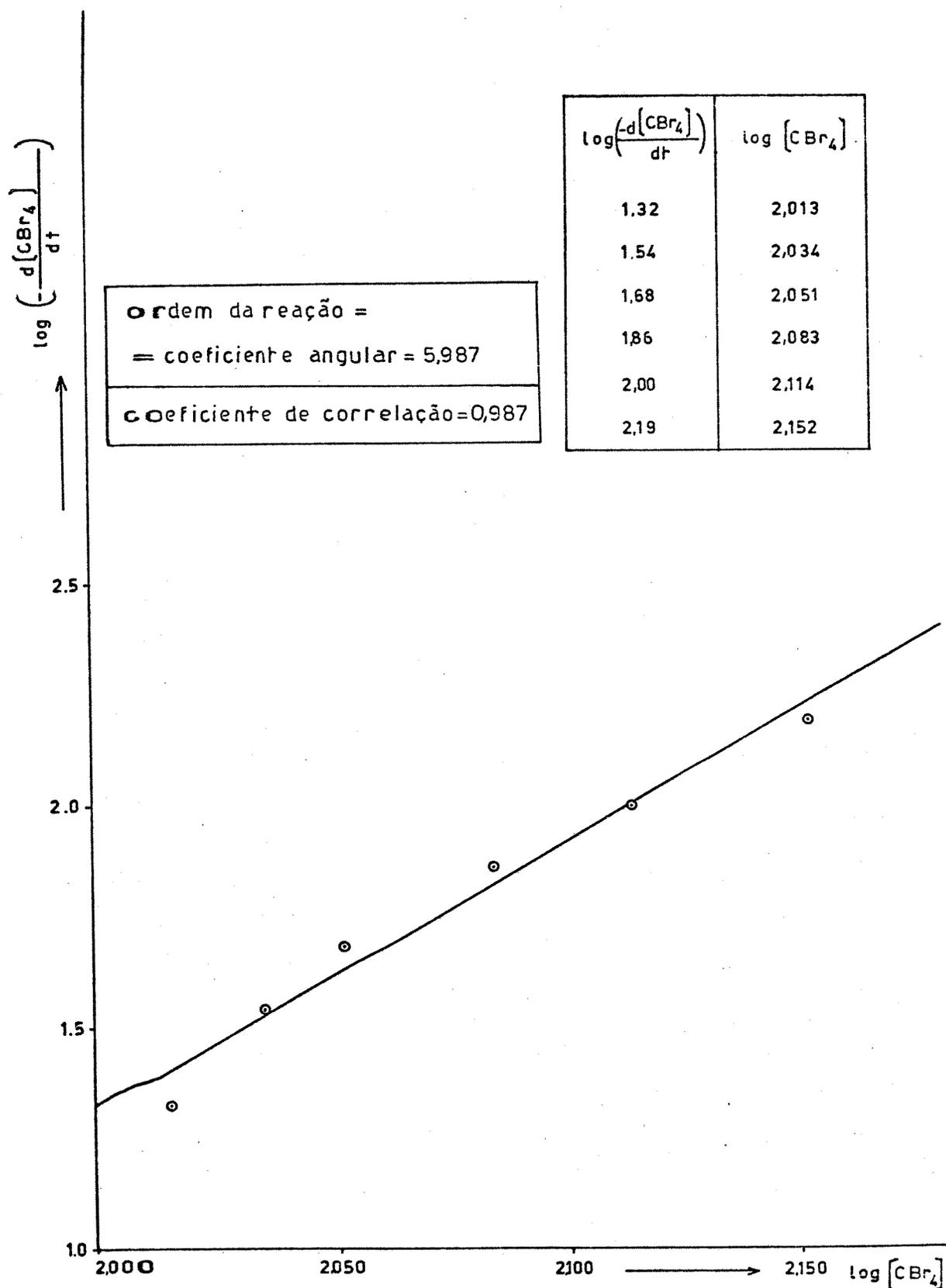


Figura 5.12 - Gráfico de $\log \left(-\frac{dc}{dt} \right)$ versus $\log C$, para determinação da ordem da reação.

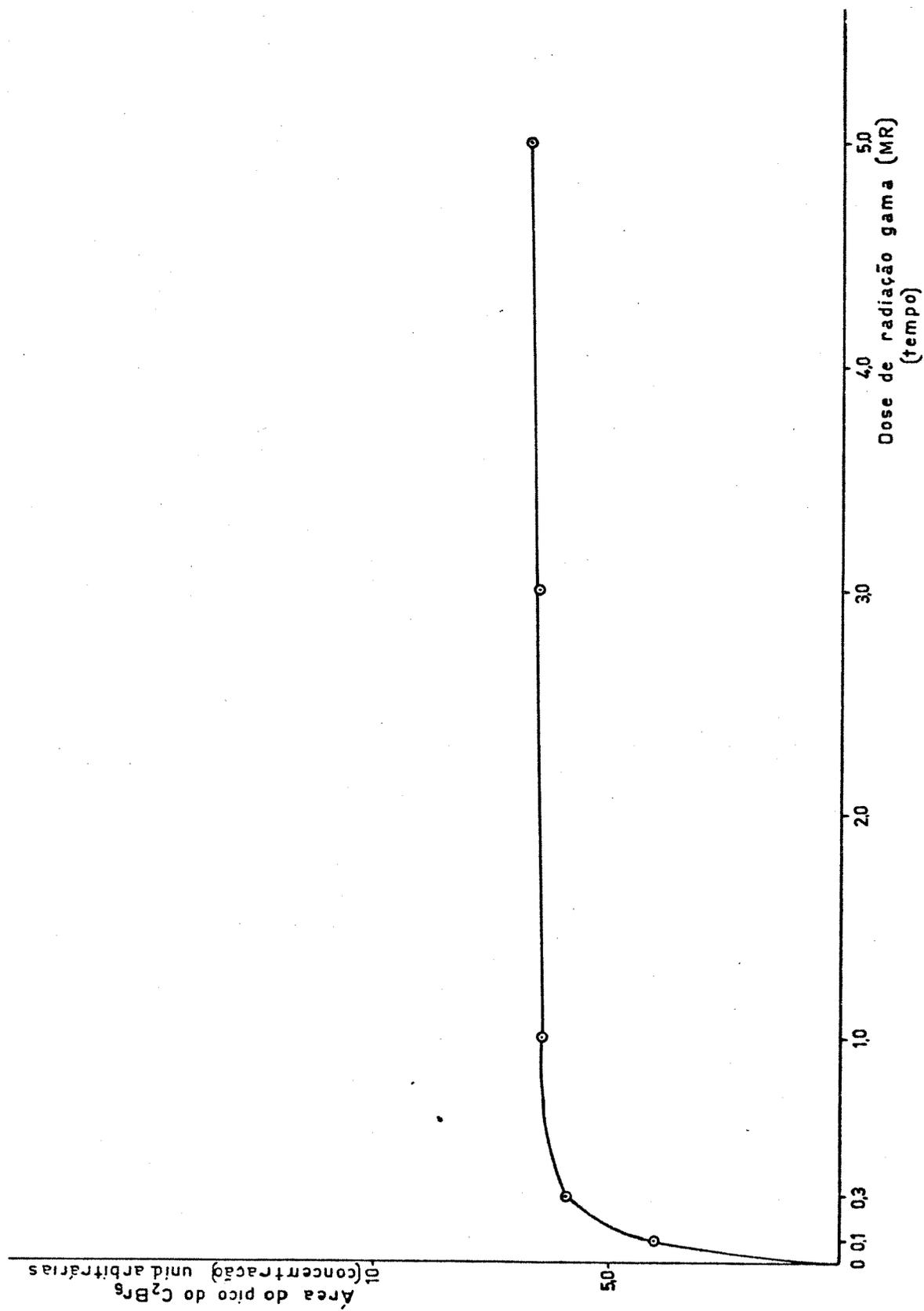


Figura 5.13 - Formação de C_2Br_6 . Detecção por fotoionização.

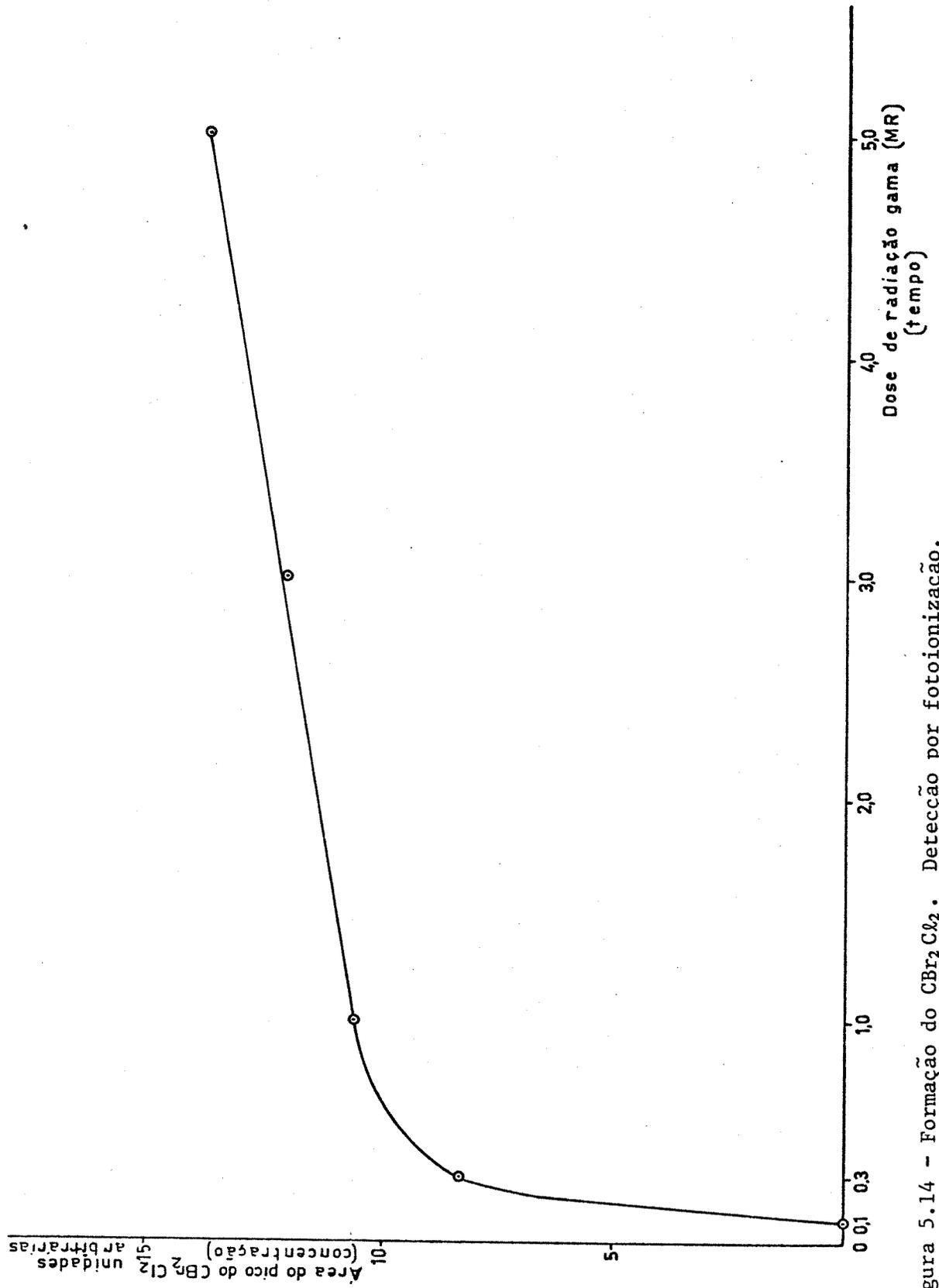


Figura 5.14 - Formação do CBr_2Cl_2 . Detecção por fotoionização.

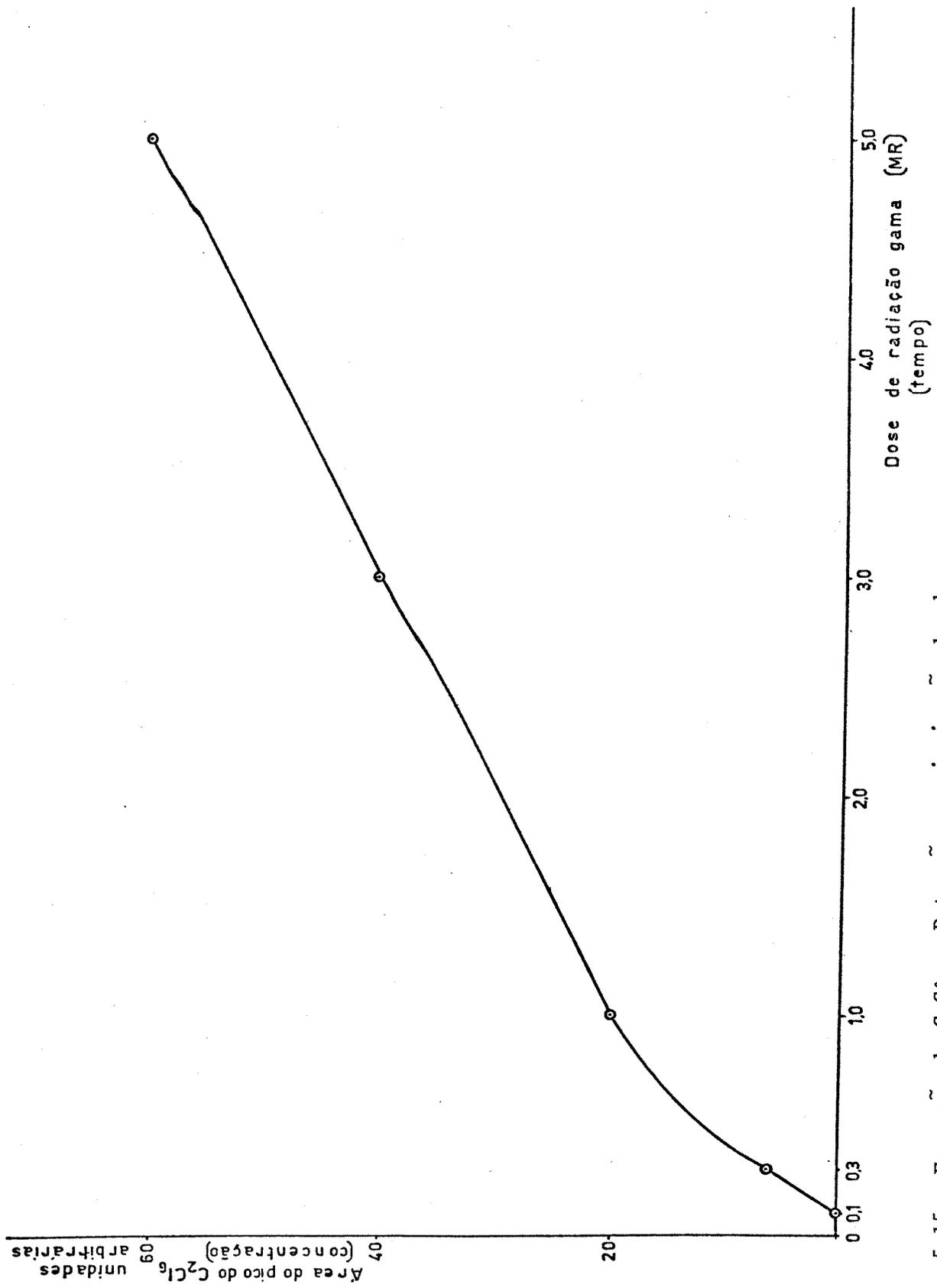


Figura 5.15 - Formação do C_2Cl_6 . Detecção por ionização de chama.

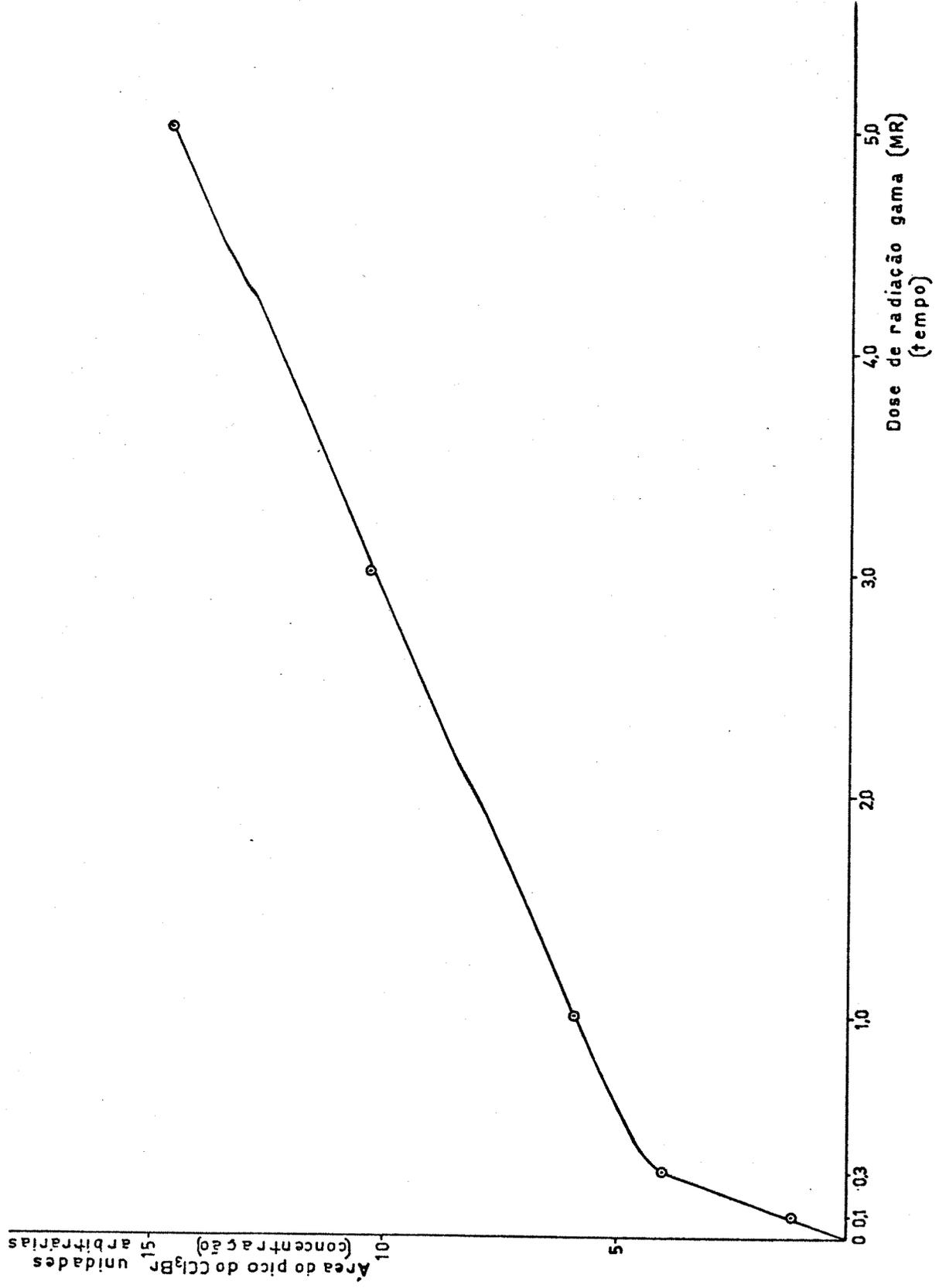


Figura 5.16 - Formação do CCl₃Br. Detecção por ionização de chama.

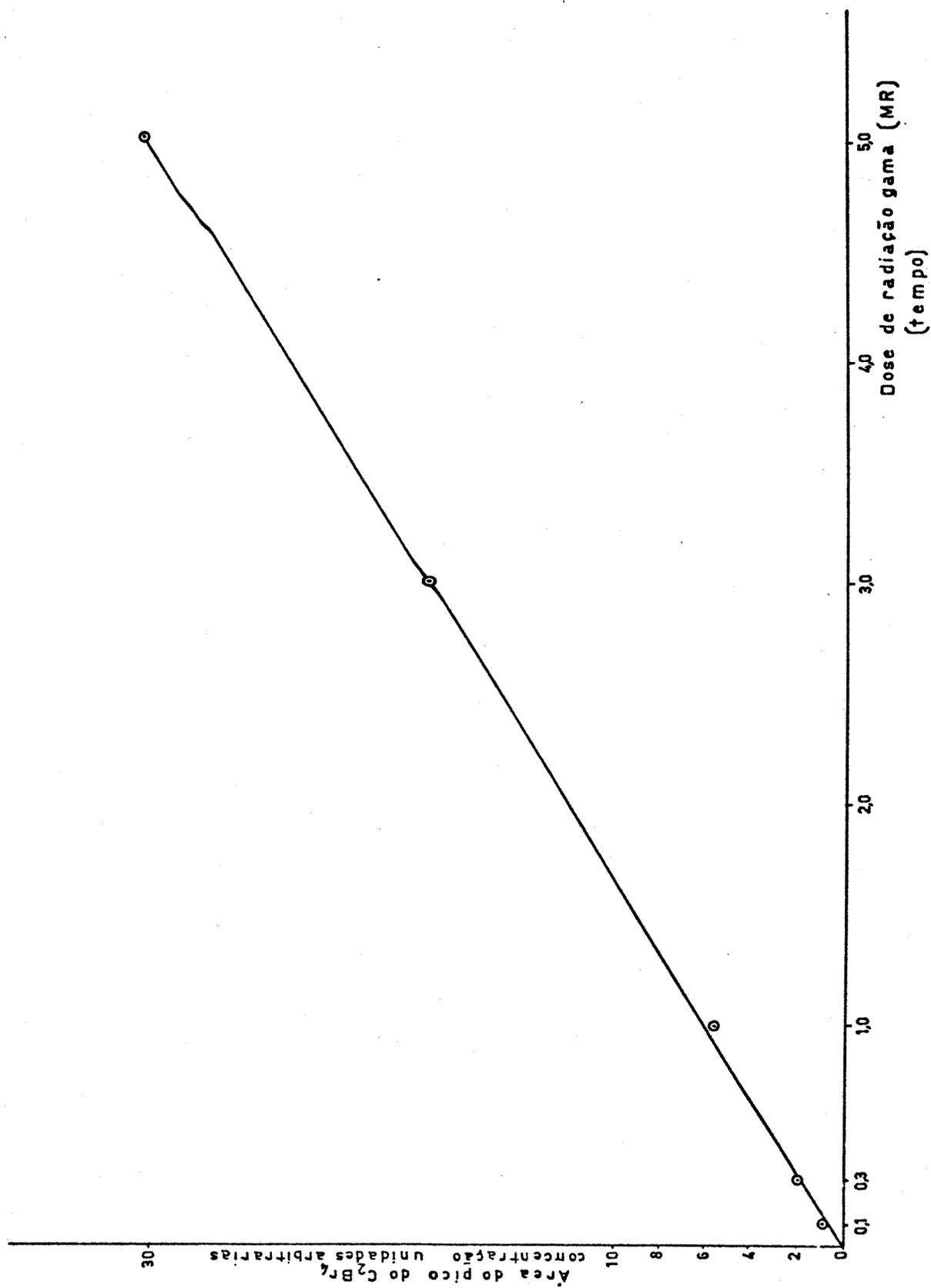


Figura 5.17 - Formação do C_2Br_4 . Detecção por fotoionização.

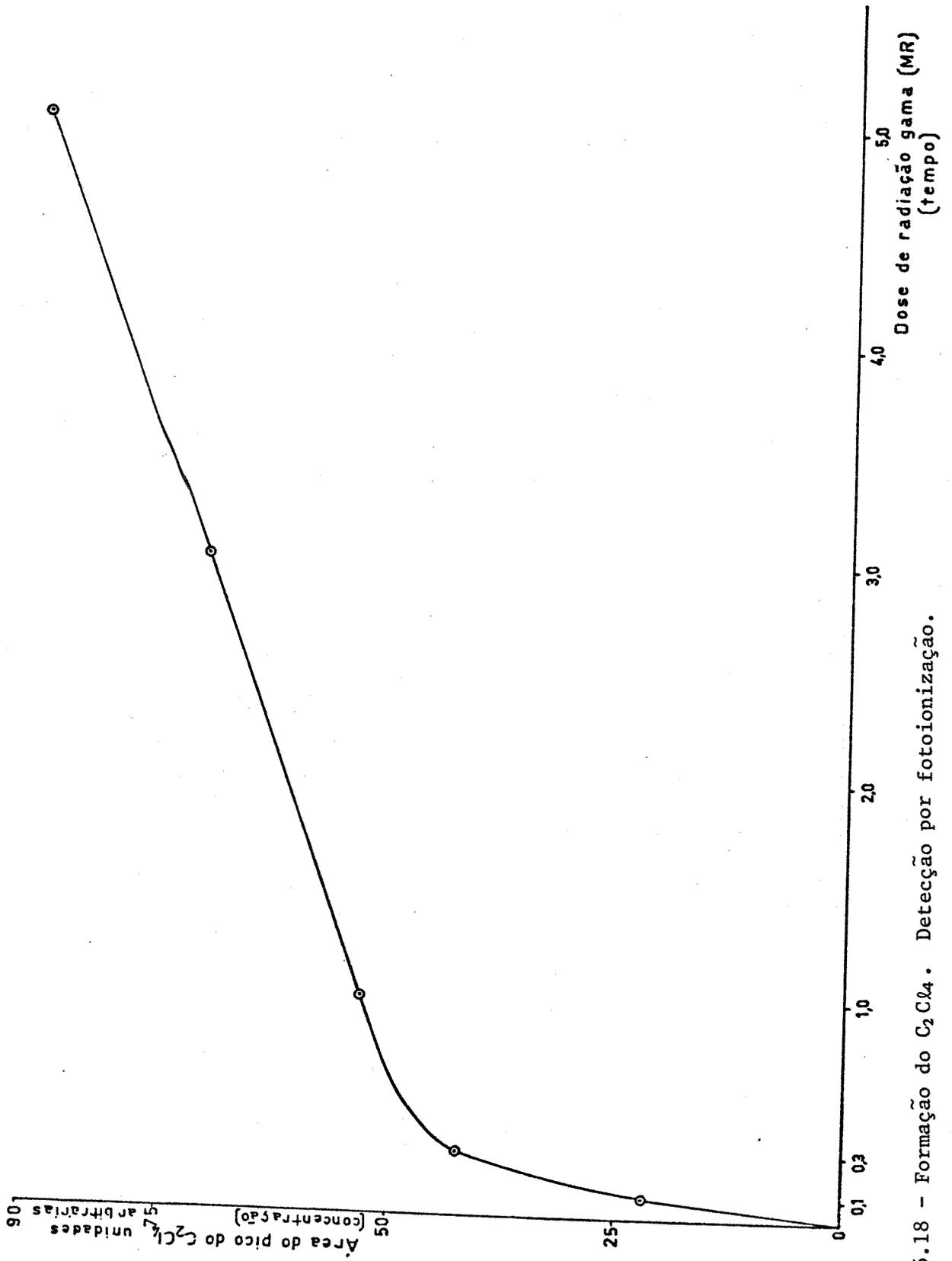


Figura 5.18 - Formação do C_2Cl_4 . Detecção por fotoionização.

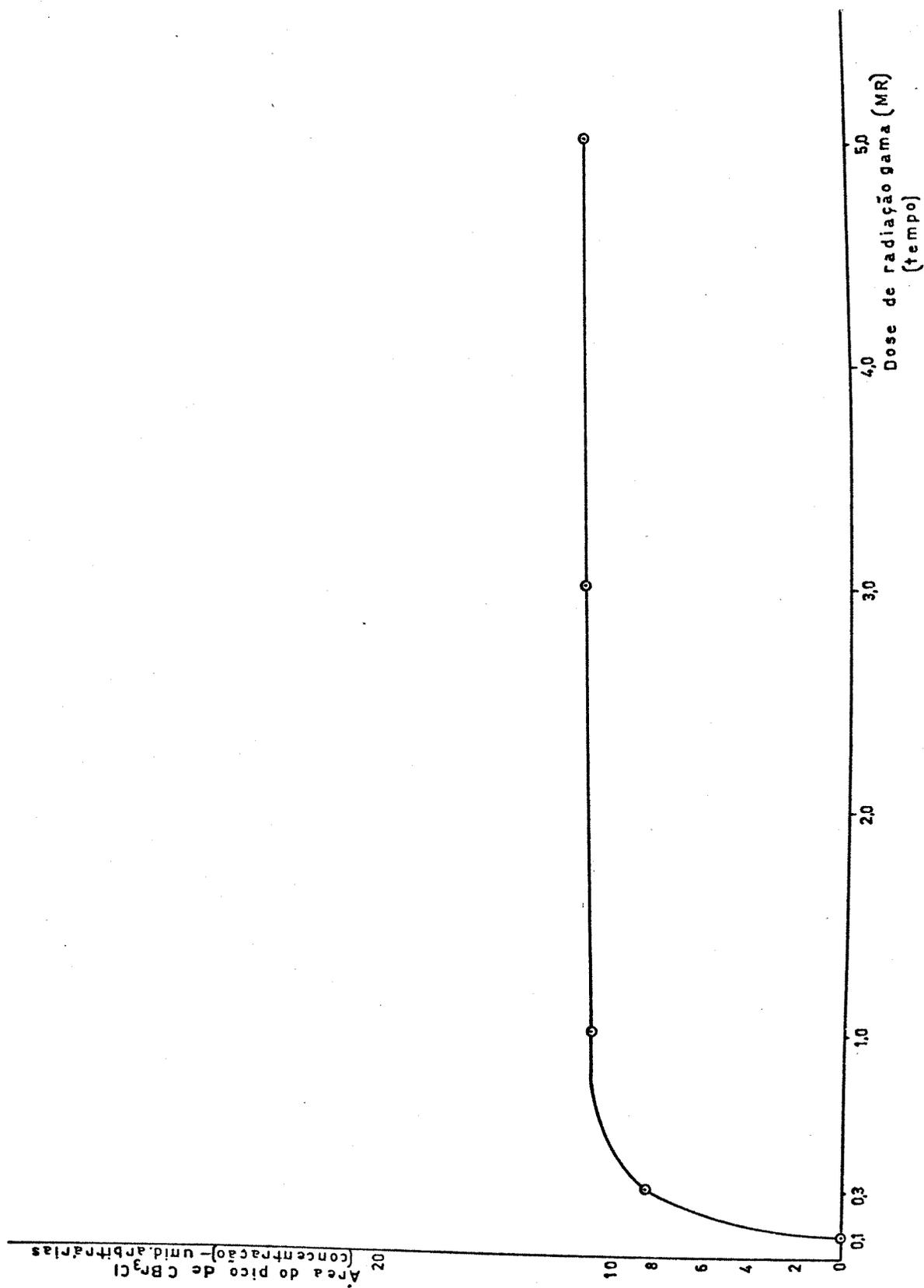


Figura 5.19 - Formação do CBr₃Cl. Detecção por fotoionização.

6 - APLICAÇÕES: AMOSTRAS RADIOATIVAS

Esta seção trata de aplicações dos métodos desenvolvidos no estudo dos produtos das irradiações de compostos perhalogenados, com nêutrons térmicos, no reator de IPEN (São Paulo).

6.1 ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DE CBr_4 (NO ESTADO SÓLIDO) POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - CLAE.

Várias amostras de CBr_4 no estado sólido, previamente purificadas por sublimação, foram irradiadas com nêutrons térmicos, com fluxo neutrônico de $2 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, durante 600 segundos e a 30°C .

Depois de irradiadas, foram diluídas em CCl_3Br e injetadas nos sistemas de CG e CLAE.

Na Figura 6.1 tem-se um cromatograma obtido por CLAE preparativa. Foram coletadas periodicamente 60 frações de 2 mL do material eluído do sistema cromatográfico; a atividade de cada fração foi medida num contador gama e traçada no próprio cromatograma, como pode ser visto pelos pontos interligados. A atividade relativa ao pico do C_2Br_6 foi de 7,13% da atividade total injetada e correspondeu a aproximadamente $5\mu\text{g}$ de C_2Br_6 injetados. Este valor foi estimado comparando-se a

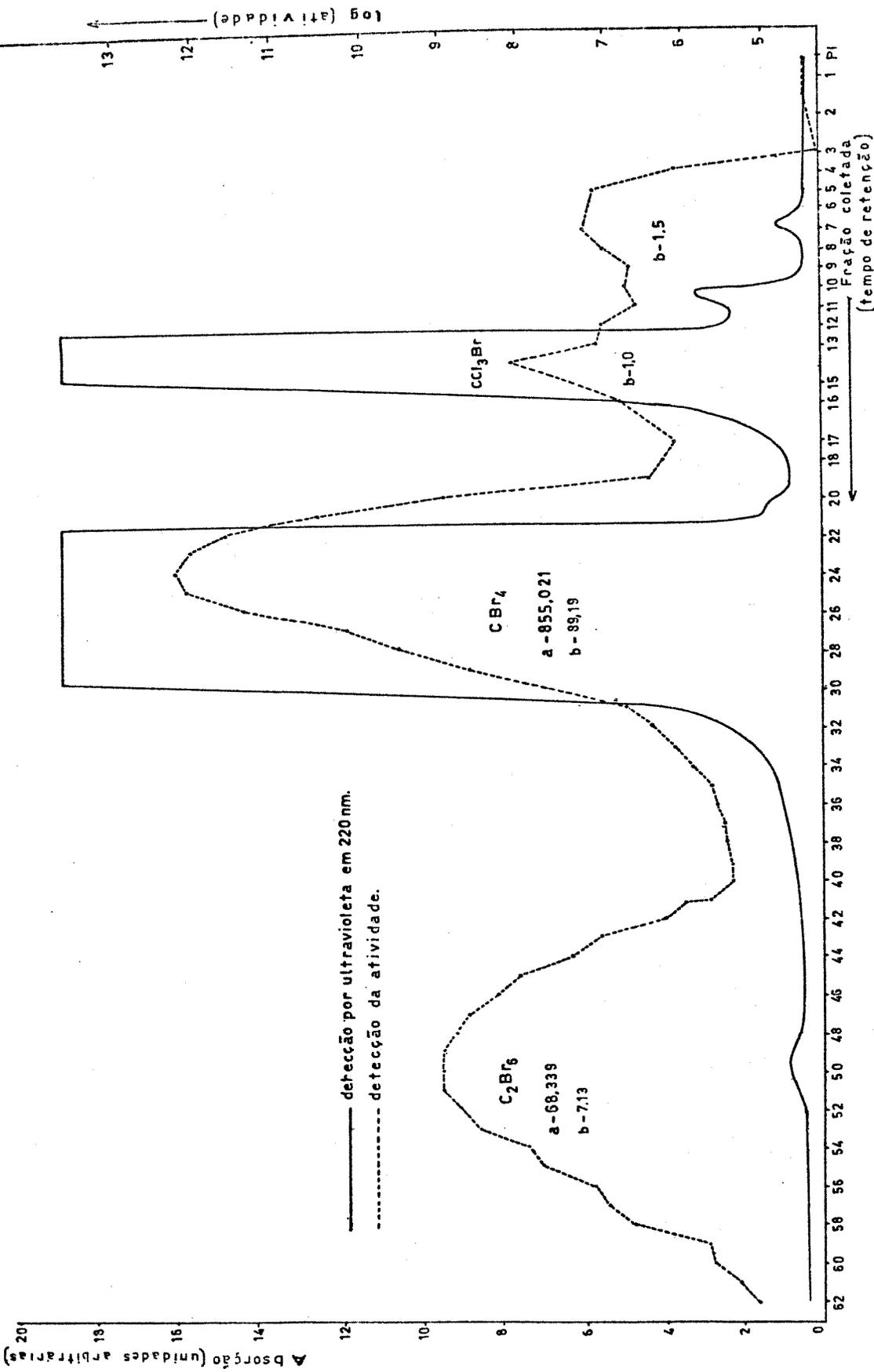


Figura 6.1 - Cromatograma obtido por CLAE de CBr₄ irradiado, no reator nuclear. a - atividade em contagens por minuto. b - % da atividade total injetada. Colunas: uma coluna de Vydac RP-18 em série com uma coluna de LiChrosorb C-18 (10 μ m). Fase móvel: metanol/água 70/30. Vazão da fase móvel 2 mL/minuto. Detecção por ultravioleta em 220 nm. Volume injetado: 100 μ L.

área do pico correspondente ao C_2Br_6 com a área de pico do C_2Br_6 de uma solução-padrão sem atividade contendo $0,1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, detectado por ultravioleta em 220 nm.

O alargamento dos picos se deve ao fato de terem sido usadas duas colunas em série, Vydac RP-18 e LiChrosorb C-18, conectadas através de um tubo capilar de aço de 40 cm de comprimento. Isto possivelmente introduziu volume morto no sistema. A razão de terem sido usadas duas colunas foi aumentar os valores de k' e conseqüentemente a capacidade da coluna, com relação às concentrações e volumes das amostras injetadas.

Outras soluções contendo CBr_4 irradiado no reator, em vários níveis de concentração, foram também injetadas e os resultados se reproduziram, como mostra a Figura 6.2, correspondente a uma amostra de CBr_4 , que depois da irradiação foi diluída em metanol (1%). Nesse nível de diluição o pico do C_2Br_6 não foi detectado por ultravioleta, mas a sua atividade foi medida e o seu valor situou-se próximo ao valor obtido para soluções concentradas.

6.2 ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DE SOLUÇÕES DE CBr_4 EM CCl_4 COM NÊUTRONS TÉRMICOS

Essas experiências têm como objetivo determinar os rendimentos de alguns produtos formados na irradiação e observar o decaimento das espécies radioativas separadas pelos métodos cromatográficos.

Várias amostras de soluções de CBr_4 em CCl_4 , com concentrações de 33, 100 e 330 mg/mL, foram irradiadas durante

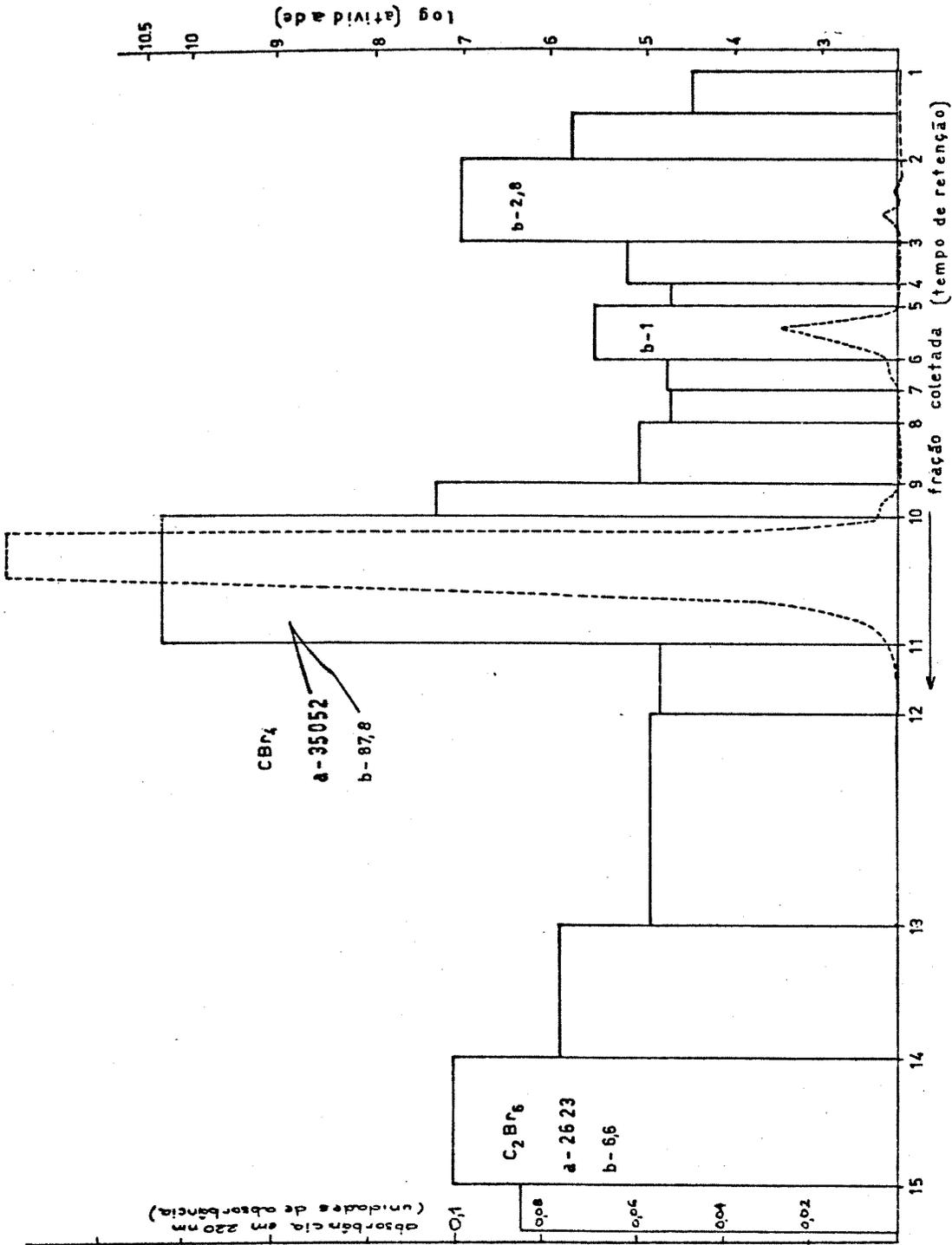


Figura 6.2 - Cromatograma obtido por CLAE, de CBr₄ irradiado no reator. a - atividade em contagens por minuto. b - % da atividade total injetada. Coluna: Vydac RP-18 em série com LiChrosorb C-18. Fase móvel: metanol/água 70/30. Vazão da fase móvel: 2 mL/minuto. Detecção: ultravioleta em 220 nm. Amostra dissolvida em metanol, solução saturada. Volume injetado: 100 µL.

100 segundos com nêutrons térmicos, com fluxo neutrônico de $2 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a 30°C . Como os resultados foram similares, vamos apresentar os obtidos com amostras de concentração de 100 mg/mL .

A injeção da mistura irradiada num cromatógrafo gasoso produziu vários picos (cromatograma da Figura 6.3). A cromatografia preparativa possibilitou a medida do decaimento de cada componente identificado no cromatograma, como mostra a Figura 6.4. Os rendimentos, baseados na atividade total injetada, estão representados na Tabela 6.1.

Observou-se que apesar de ter sido grande a quantidade de CBr_4 remanescente, como se vê pela área do pico correspondente (Figura 6.3), a sua atividade foi apenas 14,3% da atividade total injetada.

A atividade do C_2Br_6 foi de 2,6% e corresponde a uma massa injetada de aproximadamente $0,2 \mu\text{g}$, obtida por comparação de áreas com cromatogramas-padrão. O pico correspondente ao C_2Cl_6 formado na reação, mas sem atividade por já ter decaído, representa uma massa de aproximadamente $10 \mu\text{g}$, estimada de modo análogo ao modo usado para o C_2Br_6 .

Aproximadamente 1 mL da mesma amostra irradiada foi lavada com 1 mL de solução $0,1 \text{ N}$ de Na_2SO_3 para eliminação do bromo. Depois de lavada com água várias vezes, extraíram-se os compostos per-halogenados com 2 mL de metanol e injetaram-se $100 \mu\text{L}$ num sistema de CLAE, o qual possuía um sistema contínuo de contagens de radiações ligado à saída do detector de ultravioleta. O radiocromatograma obtido, como mostra a Figura 6.5, possui pelo menos 4 picos com atividade. As frações correspondentes foram coletadas e se procedeu à medida do decaimento das espécies, conforme a Figura 6.6.

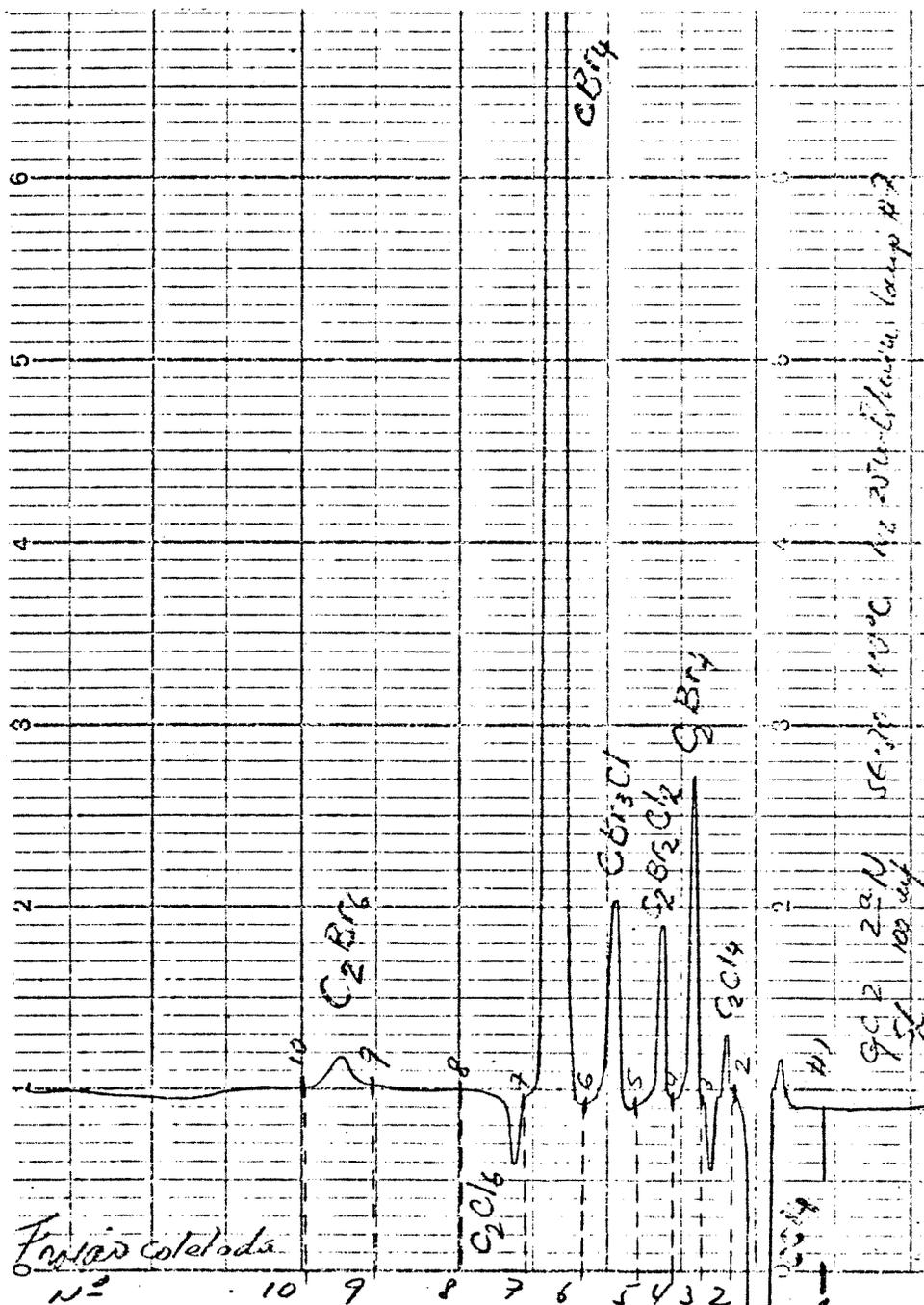


Figura 6.3 - Cromatograma obtido por CG de solução de CBr_4 em CCl_4 (100mg/ml) irradiado com nêutrons térmicos. Coluna: SE-30 a 100°C. Fase móvel: N_2 a 25 mL/minuto. Volume injetado: 5 μ L.

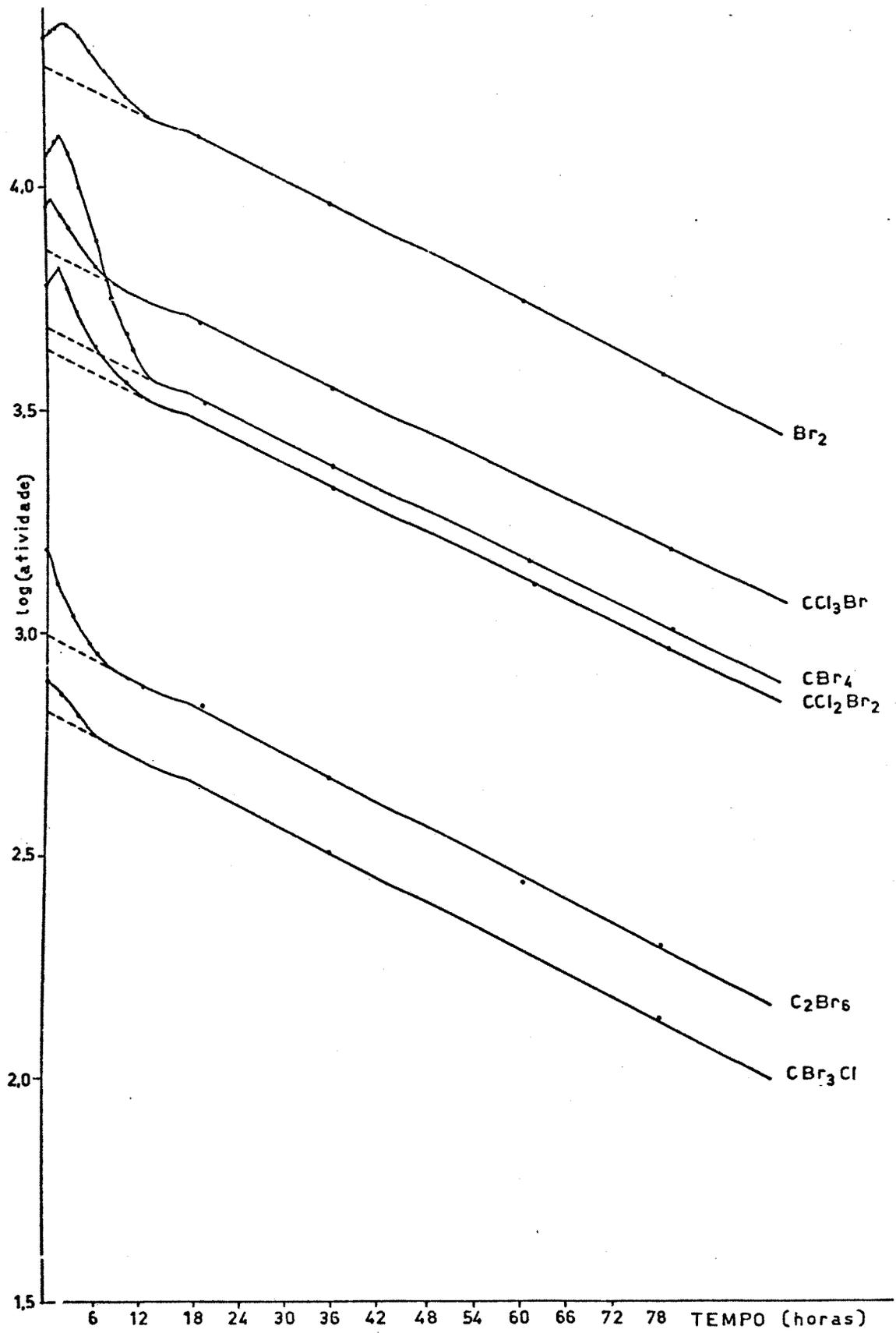


Figura 6.4 - Decaimento das espécies separadas por CG.

Tabela 6.1 - Rendimentos das espécies radioativas separadas por CG.

| Fração Coletada* | Atividade (cpm) | Atividade Total Injetada (%) | Composto | Massa Aproximada (μg) |
|------------------|-----------------|------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 9105 | 47,8 | Br ₂ | - |
| 2 | 3461 | 18,2 | CCl ₃ Br | - |
| 3 | 543 | 2,9 | C ₂ Br ₄ | - |
| 4 | 2068 | 10,9 | CCl ₂ Br ₂ | - |
| 5 | 322 | 1,7 | CClBr ₃ | - |
| 6 | 2357 | 12,4 | CBr ₄ | 200 |
| 7 | 368 | 1,9 | Cauda do CBr ₄ | - |
| 8 | 144 | 0,8 | | - |
| 9 | 485 | 2,6 | C ₂ Br ₆ | 0,2 |
| 10 | 195 | 1,0 | | |

* - Os pontos de coleta estão marcados no cromatograma da Figura 6.3.

Na Tabela 6.2 tem-se a representação da atividade devida ao ⁸²Br^g e a porcentagem de atividade de cada espécie em relação à atividade total injetada.

Tabela 6.2 - Rendimentos das espécies radioativas separadas por CLAE

| Fração Coletada* | Atividade (cpm) | Atividade Injetada (%) | Composto |
|------------------|-----------------|------------------------|---|
| 1 | 61 | - | - |
| 2 | 58 774 | 18,0 | CCl ₃ Br |
| 3 | 3 533 | 1,1 | b |
| 4 | 2 441 | 0,8 | b |
| 5 | 107 910 | 33,1 | CBr ₂ Cl ₂ |
| 6 | 118 457 | 36,3 | CBr ₄ |
| 7 | 24 922 | 7,6 | C ₂ Br ₆ |
| 8 | 10 200 | 3,1 | cauda do C ₂ Br ₆ |

* - Os pontos da coleta estão marcados no cromatograma da Figura 6.5.

b - Não identificado.

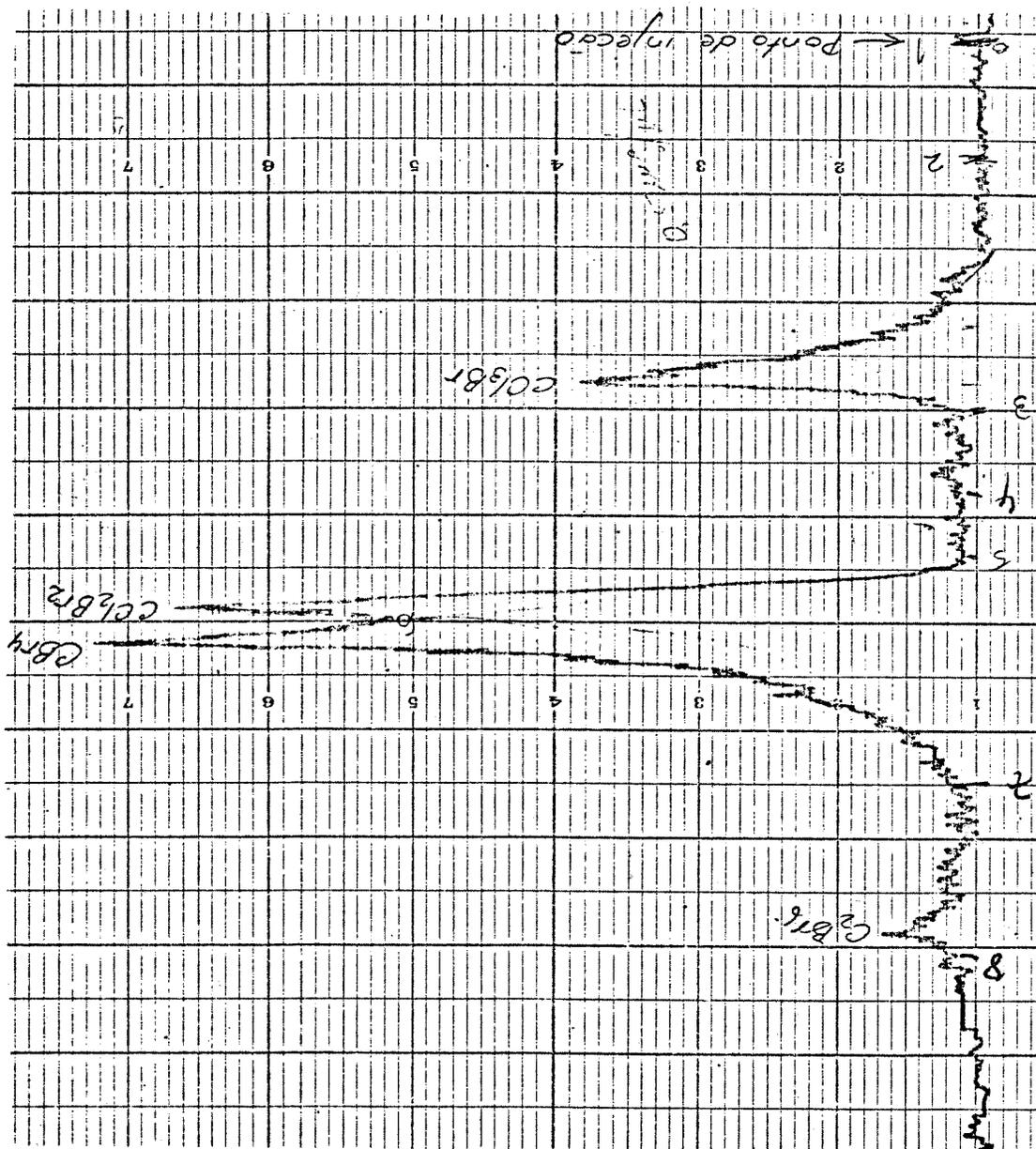


Figura 6.5 - Radiocromatograma obtido por CLAE de solução de CBr_4 em CCl_4 irradiada com nêutrons térmicos. Coluna: Vydac RP-18. Fase móvel: metanol/água 70/30. Vazão da fase móvel: 2 mL/minuto. Volume injetado: 100 μ L.

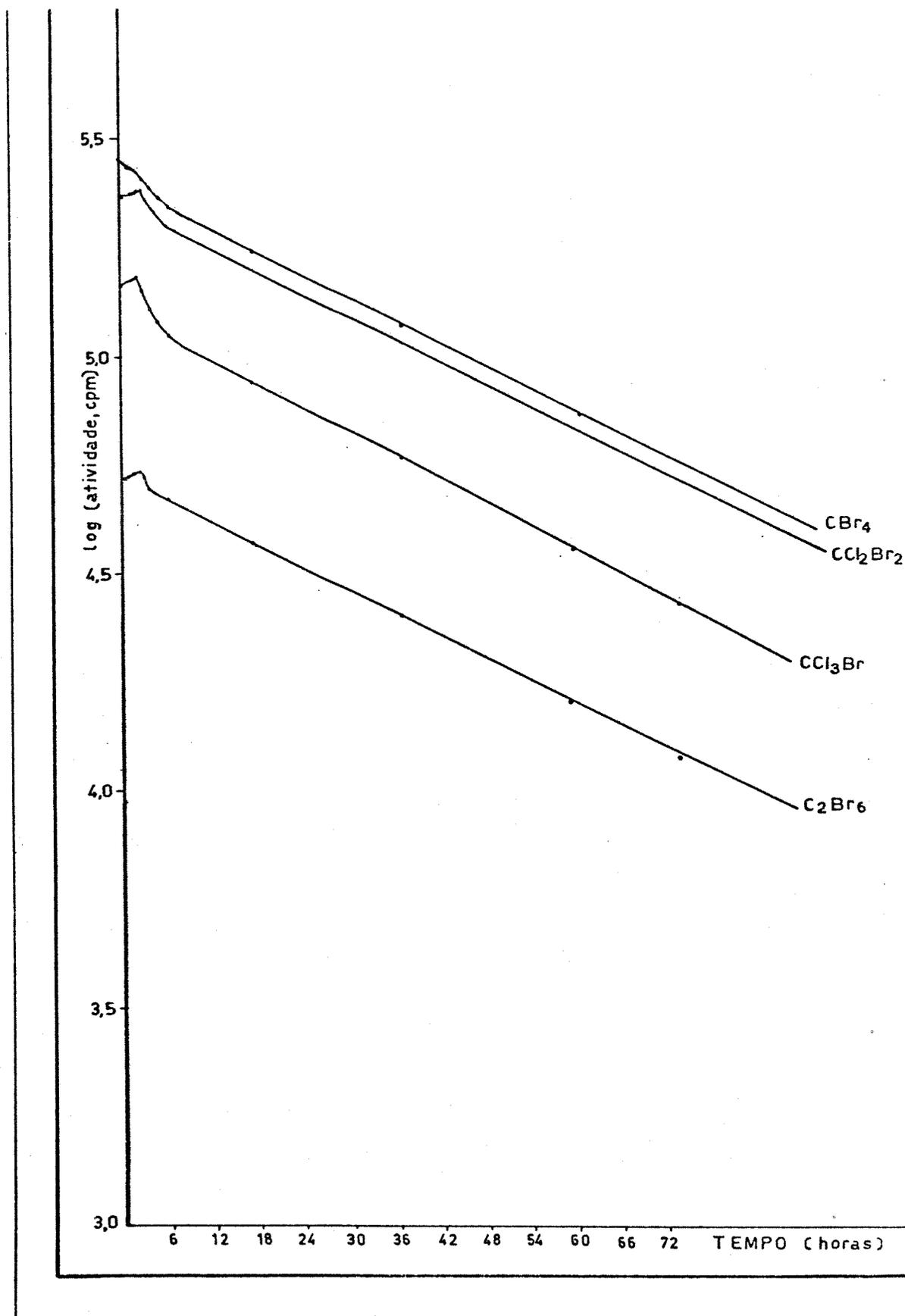


Figura 6.6 - Decaimento das espécies separadas por CLAE.

6.3 ANÁLISE DOS PRODUTOS DA IRRADIAÇÃO DO $C_2Cl_4Br_2$ (NO ESTADO SÓLIDO) COM NÊUTRONS TÉRMICOS

Uma ampola contendo $C_2Cl_4Br_2$ (cristais) foi irradiada com fluxo neutrônico de $2 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ durante 600 segundos e a 30°C . A amostra foi dissolvida em metanol (1 mg/mL aproximadamente), e 100 μL desta solução foram injetados no sistema de CLAE preparativa. A detecção por ultravioleta em 220 nm revelou a formação de poucos produtos, como mostra o cromatograma da Figura 6.7. O rendimento do $C_2Cl_4Br_2$, em termos da atividade total injetada, foi de 60,8%. Pode-se observar um pico próximo ao do $C_2Cl_4Br_2$, que não foi identificado e contribuiu com 26,8% da atividade total e que quase não deu resposta no ultravioleta.

O pico correspondente à fração 3 (*vide* cromatograma) não possuiu atividade e é devido ao C_2Cl_4 formado na irradiação. Por comparação de áreas com cromatogramas de misturas-padrão, a massa de C_2Cl_4 correspondente a esse pico foi de aproximadamente 0,1 μg (para 100 μg de $C_2Cl_4Br_2$ injetado).

Essa mesma amostra quando analisada por CG mostrou que se decompõe através do sistema cromatográfico, como mostra a Figura 6.8. Observou-se neste cromatograma uma variação da linha de base, característica de decomposição na coluna. O $C_2Cl_4Br_2$ foi a única espécie estudada neste trabalho que se decompõe no sistema de cromatografia gasosa, quando se injetam soluções concentradas.

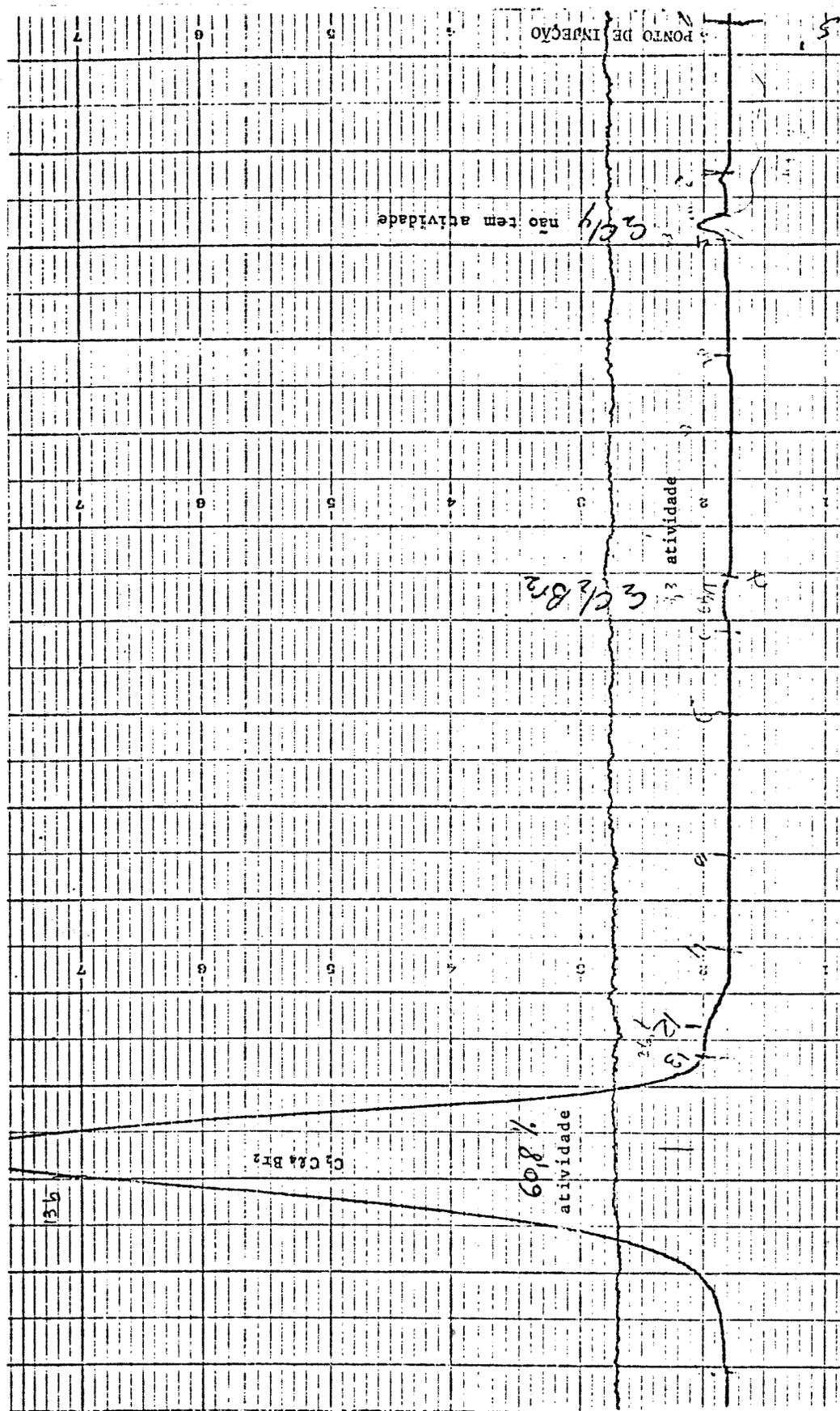


Figura 6.7 - Cromatograma obtido por CLAE dos produtos da irradiação de $C_2Cl_4Br_2$ com nêutrons térmicos. Coluna: Vydac RP-18 em série com LiChrosorb C-18. Fase móvel: metanol/água 70/30. Vazão da fase móvel: 2 mL/minuto. Volume injetado: 100 μ L.

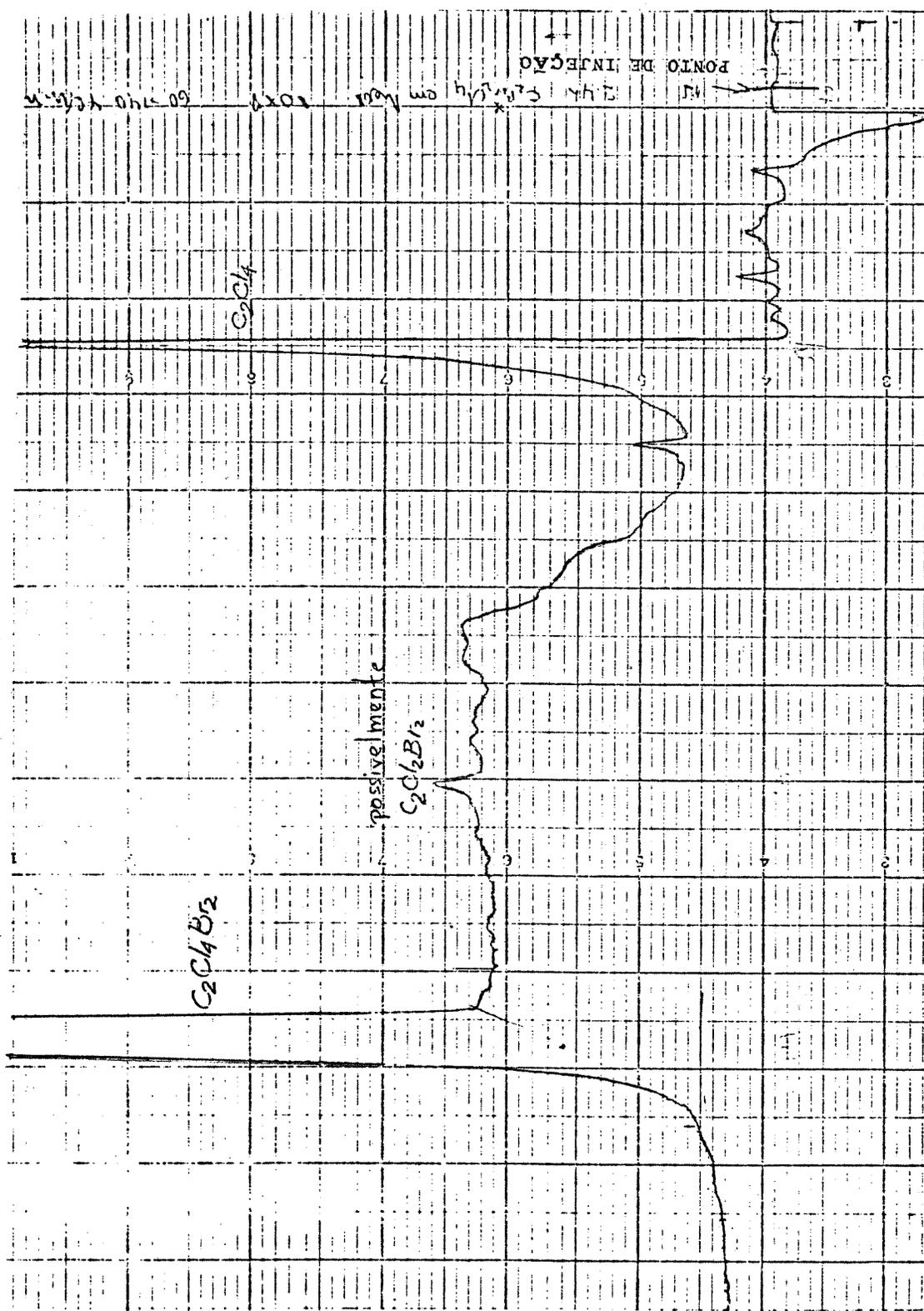


Figura 6.8 - Cromatograma obtido por CG dos produtos da irradiação de $C_2Cl_4Br_2$ com nêutrons térmicos. Coluna: SP 2100/carbowax 1500. Temperatura da coluna: 60 a 140°C a 6°C/minuto. Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto.

6.4 REAÇÕES DE TROCA NO SISTEMA CROMATOGRÁFICO

Estas experiências têm como objetivo testar a presença de reações de troca no sistema cromatográfico.

Inicialmente injetou-se no sistema de CLAE (*vide* Tabela 6.3 para condições analíticas) uma solução metanólica saturada de CBr_4 irradiado. Constatou-se que a atividade do CBr_4 foi de 87,8% e do C_2Br_6 de 6,6%, da atividade total injetada (*vide* cromatograma da Figura 6.2). Adicionaram-se aproximadamente 100 mg/mL de C_2Br_6 (carregador) a esta solução e injetou-se novamente, mantendo-se as mesmas condições analíticas. A atividade do CBr_4 desta vez foi de 86,5% e do C_2Br_6 de 6,2%. Apesar de ter aumentado muito nesta injeção o pico do C_2Br_6 (detecção em 220 nm), a sua atividade permaneceu aparentemente a mesma. Isto indica que provavelmente não houve reação de troca no sistema de CLAE, nos níveis detectáveis pelo sistema, considerando a eficiência de contagem do sistema.

Para o sistema de CG (*vide* Tabela 6.3 para condições analíticas) os resultados foram semelhantes.

Adicionalmente, injetaram-se no sistema de CG preparativo, 2 μL de bromo irradiado, com atividade de 170 793 contagens por minuto (cpm). Após a sua eluição e coleta do eluído do sistema cromatográfico, a atividade coletada foi de 171 862 cpm, indicando que aparentemente toda a atividade injetada saiu do sistema e foi coletada. No entanto, logo após a eluição do bromo, injetaram-se 5 μL de uma solução de CBr_4 em CCl_4 (20%) sem atividade, coletou-se o eluído correspondente a cada pico e mediu-se a atividade correspon-

dente, que foi de 423 e 526 cpm respectivamente. Considerando-se que o ruído de fundo (background) era de 362 cpm, pode-se suspeitar que neste caso tenha havido reação de troca, apesar de estes valores serem muito próximos do ruído de fundo.

Tabela 6.3 - Condições analíticas para as experiências de reações de troca.

| Técnica | Coluna | Temperatura | Fase Móvel | Vazão mL/minuto |
|---------|---|-----------------------------|-----------------------|--------------------|
| CG | SP 2100/Carbowax 1500 | 60 - 150° C a 6 C/minuto | nitrogênio | 2,5 |
| CLAE | Vydac RP-18 em série com LiChrosorb C-18 | 20° C | metanol/água 70:30 | 2,5 |

7 - SUMÁRIO DOS MÉTODOS DE ANÁLISE

As diversas etapas para a análise de amostras contendo misturas de compostos per-halogenados, com um, dois ou mais átomos de carbono, radioativos ou sem atividade, se encontram esquematizadas na Figura 7.1.

Abaixo serão apresentadas algumas sugestões e comentários sobre as etapas analíticas.

Geralmente antes de se analisar uma mistura de compostos per-halogenados, tem-se alguma informação sobre a sua origem, como por exemplo, quais os reagentes usados, se é produto da irradiação com nêutrons térmicos de um sólido puro, etc. É provável, inclusive, que se tenha indicação de possíveis substâncias que se vão formar ou até se estarão em níveis de traços ou em altas concentrações.

Estas informações quando existirem serão somadas às obtidas através de um ensaio preliminar, feito por CLAE, para se estabelecerem os métodos analíticos mais convenientes. Para este ensaio, utiliza-se uma coluna da fase reversa, com octadecilsilano (do tipo Vydac RP 18-350x9mm, pelicular) e como fase móvel uma mistura de metanol/água 70/30, v/v com vazão de 2 mL/minuto. Injetam-se inicialmente 10 μ L da amostra e utiliza-se detecção por absorção no ultravioleta em 220 nm. Nestas circunstâncias obtém-se um cromatograma que poderá informar sobre a constituição básica da amostra, isto é, se contém compostos com um, dois ou mais átomos de carbono.

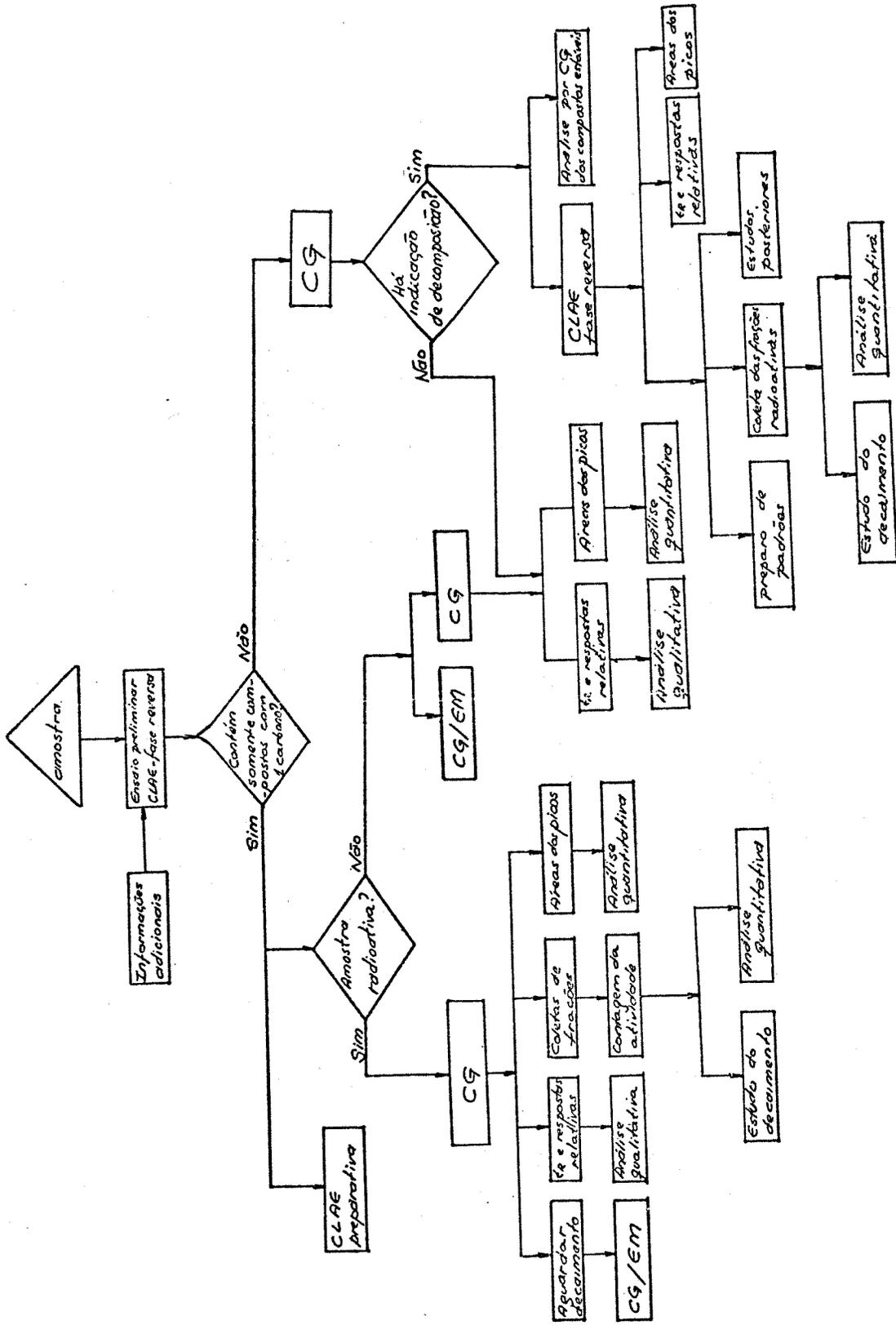


Figura 7.1 - Sumário dos métodos de análise.

Para amostras que contêm apenas misturas de compostos com um átomo de carbono (CCl_xBr_y), a Cromatografia Gasosa é a técnica analítica a ser usada. Esta técnica é rápida, muito sensível e separa todas as espécies sem que haja decomposição ou adsorção irreversível de nenhum componente no sistema. Para isto utiliza-se uma coluna de vidro de 200 x 0,2 cm com 20% de SP 2100/0,1% Carbowax 1500 em Supelcort 100/120 mesh, com temperatura programada de 60 a 140°C a 6°C/minuto. Obteve-se para uma destas colunas uma eficiência de 13.800 pratos/metro, para o CBr_4 .

Utilizando-se dois detectores em série, como o de fotoionização e de ionização de chama, pode-se realizar a análise qualitativa através das respostas relativas de cada substância nos dois detectores. Este é um parâmetro característico de cada espécie per-halogenada e varia muito de uma para outra, dirimindo dúvidas que possam surgir pela simples comparação dos tempos de retenção.

Na ausência de padrões para obter as respostas relativas, deve-se usar a Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa (CG/EM), e a fragmentação e a abundância isotópica podem levar a conclusiva identificação das espécies.

A análise quantitativa deve ser realizada através das medidas das áreas dos picos e de cálculos posteriores, ou por medidas das atividades das espécies radioativas, se existirem.

Para amostras radioativas, desenvolveu-se um frasco coletor de frações para CG, muito eficiente na coleta, constituído de um tubo de vidro de 50x6 mm, recheado com uma mistura de carvão ativo e peneira molecular 5 A (1/1) e que é conectado diretamente à saída do detector de fotoionização. Este

frasco pode ser posteriormente colocado dentro do poço de contagens ou o composto adsorvido poderá ser eluído com um solvente como o CCl_4 ou metanol, diretamente para um frasco de contagens (para cintilação líquida ou a radiação Cerenkov).

As amostras que contêm misturas de compostos com um, dois ou mais átomos de carbono podem ser analisados por CG ou por CLAE, dependendo dos ensaios já realizados.

A análise feita exclusivamente por CG só é viável se não for constatada a decomposição de nenhum composto no sistema cromatográfico. Por já ter sido observada a indicação de decomposição do $\text{C}_2\text{Cl}_4\text{Br}_2$, pode-se supor que outros compostos com dois ou mais átomos de carbono, que não foram estudados neste trabalho, possam também decompor-se. Os compostos C_2Cl_4 , C_2Br_4 , C_2Cl_6 , $\text{C}_2\text{Cl}_2\text{Br}_2$ e C_2Br_6 não mostraram sinais de decomposição no sistema de CG, podendo ser analisados por esta técnica. Todavia, a técnica indicada para a análise dos compostos com dois ou mais átomos de carbono é a CLAE, podendo a CG ser usada para complementar informações. Em CLAE os componentes da amostra não sofrem aquecimento e são separados em solução na fase móvel. A análise deve ser realizada com colunas de fase reversa (do tipo octadecil, como a Vydac RP 18) e a detecção por ultravioleta em 220 nm. Para a obtenção das respostas relativas, deve-se repetir cada injeção, realizando uma análise em 220 nm e a outra em 255 nm. A fase móvel deverá ser metanol/água, iniciando-se com 70/30, v/v e depois aumentando-se a porcentagem de água se houver necessidade de melhorar a separação. É de fundamental importância que os solventes sejam próprios para CLAE ou purificados convenientemente e que a coluna seja bastante eficiente para a melhor separação.

A eficiência da coluna usada neste trabalho foi de 16.640 pratos/metro para CBr_4 , com fase móvel metanol/água 70/30 v/v. É possível conseguir colunas mais eficientes do que esta, através dos fabricantes ou feitas no próprio laboratório.

A CLAE é a técnica ideal para a cromatografia preparativa, pois admite injeções de até 100 μL de amostras, permitindo a contagem mais precisa de frações radioativas com baixa atividade ou a coleta de maior quantidade dos compostos separados, com a finalidade de preparo e purificação de padrões obtidos por síntese.

8 - CONCLUSÕES

1 - Para a separação de uma mistura de compostos per-halogenados em seus componentes individuais, a Cromatografia Gasosa (CG) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) se complementaram.

A cromatografia Gasosa separou e detectou espécies per-halogenadas com um e com dois átomos de carbono. Estes últimos podem sofrer decomposição térmica na coluna, como foi observado para o $C_2Cl_4Br_2$. Por outro lado, não se detectou decomposição para o C_2Cl_6 e para o C_2Br_6 .

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência apresentou boa separação entre os compostos com dois átomos de carbono, sem ser constatada qualquer indicação de decomposição, pois nessa técnica as amostras foram analisadas à temperatura ambiente e em solução.

2 - Das várias colunas testadas em CLAE, as de fase reversa quimicamente ligada, com octadecilsilano-ODS-, utilizando-se metanol/água 70/30 v/v como fase móvel, apresentaram as melhores separações.

3 - A CLAE, por permitir injeções de grandes quantidades de amostras (até 100 μ L) em escala preparativa, com separações muito boas, possibilitou o estudo de espécies per-halogenadas radioativas com pouca atividade ou em concentrações muito baixas.

4 - A coluna de vidro silanizado, com fase estacionária SP 2100/Carbowax 1500 (CG), não apresentou sangramento detectável por fotoionização ou por ionização de chama, e por isso possibilitou a programação de temperatura, acarretando separações de todas as espécies estudadas com $\alpha > 1$ e podendo possivelmente separar outros compostos de fórmula

Observou-se, no entanto, indicação da existência de reações de troca de átomos de bromo radioativo entre moléculas, porém o nível de atividade medido foi muito baixo e próximo do ruído do sistema de contagem. Esta pequena atividade foi obtida de uma amostra injetada após a eluição de grande quantidade (2 μ L) de bromo radioativo, com intensa atividade, e é possível que a atividade detectada nas espécies carregadoras tenha sido conseqüência do arraste de traços de bromo adsorvido na coluna, pelos componentes da amostra. Outras experiências realizadas não mostraram reações de troca.

5 - O detector de fotoionização foi altamente sensível a compostos per-bromados, e o de ionização de chama, aos per-clorados. A sensibilidade destes dois detectores aumentou com o número de átomos de bromo e de cloro, respectivamente.

6 - O sistema de CG, possibilitando o uso de dois detectores em série, como o de fotoionização e de ionização de chama, ofereceu grande capacidade de identificação de compostos per-halogenados. Isto porque as respostas relativas são típicas de cada substância e variam muito de uma para outra.

O sistema de CLAE também pode ser usado para a identificação de substâncias per-halogenadas. As respostas relativas em dois comprimentos de onda diferentes, no ultra-

violeta, podem fornecer importantes subsídios para a elucidação estrutural.

7 - Os espectros de massa dos compostos per-halogenados foram características e a abundância isotópica dos halogênios conduziu a multipletes que deram informações sobre o seu número e sua posição na molécula.

9 - PERSPECTIVAS FUTURAS

Os métodos analíticos desenvolvidos e as aplicações apresentadas neste trabalho abriram novas perspectivas de pesquisas, e dentre elas podemos citar:

1 - Estudo dos mecanismos das reações entre CCl_4 e CBr_4 ativadas por radiações gama, radiações ultravioleta e nêutrons térmicos.

2 - Estudo da irradiação com nêutrons térmicos, de amostras sólidas de compostos per-halogenados, com 1, 2 ou mais átomos de carbono.

3 - Estudo da irradiação com nêutrons térmicos de compostos per-halogenados em solução.

4 - Síntese de compostos per-halogenados utilizando-se a CLAE preparativa para purificação das espécies.

5 - Uso de colunas capilares em CLAE para melhores separações de compostos per-halogenados com dois ou mais átomos de carbono.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Spinks A.J. e Woods R.J., An Introduction to Radiation Chemistry, John Wiley and Sons Inc., New York, N.Y., 1964.
- 2 - Harris, G.M. e Willard, J.E., J.Am.Chem.Soc., 76(1954) 4678.
- 3 - Carter, R.J., Hamill, W.H. e Williams, R.R., ibid, 77 (1955)6457.
- 4 - Calvert, J.G. e Pitts, J.N., Photochemistry, John Wiley and Sons Inc., New York, N.Y., 1966.
- 5 - Szilard, L. e Chalmers, T.A., Nature, 134(1934)462.
- 6 - Amaldi, E., Fermi, E., Pontecorvo, B., Rosetti, T. e Segre, E., Proc.Roy.Soc. (Londres), A 149(1935)522.
- 7 - Glueckauf, E. e Fay J.W.J., J.Chem.Soc., 390(1936)122.
- 8 - Willard, J.E., Chemical Effects of Nuclear Transformations, Vol.I, IAEA, Vienna, 1961, p.215.
- 9 - Willard, J.E., Ann.Rev.Nucl.Sci. 3 (1953) 193.
- 10 - Willard, J.E., Ann.Rev.Phys.Chem. 6(1955)141.
- 11 - Willard, J.E., Chemical Effects of Nuclear Transformations, Vol.I IAEA, Vienna, 1965. p.221,
- 12 - Wolfgang, R., Progress in Reaction Kinetics, Vol.3, G. Porter, ed., Pergamon Press, Oxford, 1965, p.99.
- 13 - Wolfgang, R., Ann.Rev.Phys.Chem., 16(1965)15.
- 14 - Maddock, A.G. e Wolfgang, R., Nuclear Chemistry, Vol.II, L. Yaffe, ed., Academic Press, New York, 1968, p.185.
- 15 - Filatov, E.S., Russ.Chem.Rev., 31(1962)382.
- 16 - Filatov, E.S., ibid, 34(1965)680.
- 17 - Campbell, I.G., Advan.Inorg.Chem.Radiochem., 5(1963)135.
- 18 - Wolf A.P., Advances in Physical Organic Chemistry, Vol.V, V.Gold, ed., Academic Press, New York, 1964, p.202.

- 19 - Urch, D.S., International Review of Science, Radiochemistry, Vol.8, Inorganic Chemistry, Series One, A.G. Maddock, ed., Butterworths, 1972, p.149.
- 20 - Urch, D.S., ibid, Series Two, 1975, p.49.
- 21 - Walton, G.N., Radiochim. Acta, 2(1964)201.
- 22 - Muller, H., Angew. Chem. (Int. Ed.), 6(1967)133.
- 23 - Harbottle, G., Ann.Rev.Nucl.Sci., 16(1966)89.
- 24 - Libby, W.F., J.Am.Chem.Soc., 69(1947)2523.
- 25 - Friedman, L. e Libby, W.F., J.Chem.Phys., 17(1949)647.
- 26 - Fox, M. e Libby, W.F., ibid., 20(1952)487.
- 27 - Milman, M., Radiochim.Acta, 2(1964)180.
- 28 - Mallison, J.H., Miller, G.E., Shaw P.F.D., ibid., 1(1963)177.
- 29 - Willard, J.E., Nucleonics, 19(1961)61.
- 30 - Thompson, J. e Miller, W., J.Chem.Phys., 38(1963)2477.
- 31 - Nicholas, J.B., Effect of Moderators on the isomeric transition induced reactions of iodine-130 and bromine-82 with methane and D-methane. Tese de doutorado, Universidade de Nebraska, USA, 1971, p.14.
- 32 - Wexler, S., J.Chem.Phys., 36(1962)1992.
- 33 - Carlson, T.A. e White, R.M., ibid., 38(1963)2930.
- 34 - Muller, H., Angew.Chem., Int.Ed., 6(1967)133.
- 35 - Muelhause, C.O., Phys.Rev. 79(1950)277.
- 36 - Friedlander, G. e Kennedy, J., Nuclear and Radiochemistry, 1ª ed., John Wiley and Sons Inc., New York, 1955, p.332.
- 37 - Friedlander, G., Kennedy, J. and Miller, J., Nuclear and Radiochemistry, 2ª ed., John Wiley and Sons Inc., New York, 1964, p.154.
- 38 - Snediker, D.K. e Miller, W.W., Radiochim. Acta, 10(1968)30.
- 39 - Hammermesh, B., Phys.Rev., 80(1950)415.
- 40 - Hsiung, C., Hsiung, H. e Gordus, A.A., J.Chem.Phys., 34(1961)535.
- 41 - Schweinlar, H.C., Advances in Physical Organic Chemistry, Vol.I, V.Gold, ed., Academic Press, New York, 1964, p.63.

- 42 - Cobble, J.W. e Boyd, G.E., J.Am.Chem.Soc., 74(1952)1282.
- 43 - Hsiung, C. e Gordus, A.A., J.Chem.Phys. 36(1962)947.
- 44 - Hsiung, C. e Gordus, A.A., ibid., 36(1962)954.
- 45 - Lederer, C.M., Hollander, J.M. e Pearlman, I., Table of Isotopes, John Wiley and Sons Inc., New York, 1967, p. 216.
- 46 - Wexler, S. e Davies, T.H., Phys.Rev., 88(1952)1203.
- 47 - Cooper, E., ibid., 61(1942)1.
- 48 - Magee, J.L. e Gurnee, E.F., J.Chem.Phys., 20(1952)894.
- 49 - Segre, E. e Helmholtz, A.C., Rev.Mod.Phys., 21(1949)271.
- 50 - Anders, O.U., Phys.Rev., 138B(1965)1.
- 51 - Emery, J.F., J.Inorg.Nucl.Chem., 27(1965)903.
- 52 - Miller, A.A. e Willard, J.E., J.Chem.Phys., 17(1949)168.
- 53 - Carlson, T.A. e White, R.M., Chemical Effects of Nuclear Transformations, Vol. I, IAEA, Vienna, p.23.
- 54 - Wexler, S., Chemical Effects of Nuclear Transformations, Vol. I, IEAE, Viena, 1961, p.115.
- 55 - Kazanjian, A.R. e Libby, W.F., J.Chem.Phys., 42(1965)2778.
- 56 - Urch, D.S., International Review of Science, Radiochemistry, Vol.8, Inorganic Chemistry, Series Ones, A.G.Maddock, ed., Butterworths, 1972, p.193.
- 57 - Milman, M., J.Chem.Phys. 64(1967)658.
- 58 - Abedinzadeh, Z., Radicella, R., Tanka, K. e Milman, M., Radiochim.Acta, 12(1969)4.
- 59 - Gilroy, T.E., Miller, G. e Shaw, P.F.D., J.Am.Chem.Soc., 86(1964)5033.
- 60 - Mia, M.D. e Shaw, P.F.D., Radiochim.Acta, 6(1966)172.
- 61 - Cole, A.J., Mia, M.D., Miller, G.E. e Shaw, P.F.D., ibid., 9(1968)194.
- 62 - Collins, C.H., Radiochemistry of Bromine-Carbon Tetrachloride Solutions, Report submetido ao A.A.U.W., Ed. Foundation, 1964.
- 63 - Collins, K.E., Robinson, G.D. e Collins, C.H., J.Phys.Chem., 76(1972)3331.
- 64 - Merrigan, J.A., Ellgren, W.K. e Rack, E.P., J.Chem.Phys., 44(1966)174.

- 65 - Kazanjian, A.R. e Libby, W.F., ibid., 42(1965)217.
- 66 - Merrigan, J.A., Nicholas, J.B. e Rack, E.P., Radiochim. Acta, 5(1966)217.
- 67 - Geissler, P.R. e Willard, J.E., J.Phys.Chem., 67(1963) 1675.
- 68 - Chien, J.C.W. e Willard, J.E., J.Am.Chem.Soc., 77(1955) 344 1.
- 69 - Fonseca, A.J.R., Fuller, K., Lathane, A. e Shaw, P.F.D., Radiochem.Radioanl.Lett., 2(1969)69.
- 70 - Iyer, R.M. e Willard, J.E., J.Am.Chem.Soc., 87(1965) 2494.
- 71 - Katzanos, N.A. e Stamouli, M.I., Radiochim.Acta, 7(1967) 126.
- 72 - Tachikawa, E., Bull.Chem.Soc.Jap., 43(1970)63.
- 73 - Saeki, M. e Tachikawa, E., Radiochim.Acta, 20(1973)27.
- 74 - Wexler, S. e Davies, T.H., J.Chem.Phys., 20(1952)1688.
- 75 - Evans, J.B., Quinlan, I.E., Willard, J.E., Ind.Eng.Chem., 50(1958)192.
- 76 - Merrigan, J.A., Nicholas, J.B. e Rack, E.P., Radiochim. Acta, 6(1966)94.
- 77 - Wolfgang, R. e Rowland, F.S., Anal.Chem., 30(1968)903.
- 78 - Lee, J.K., Lee, K.C., Musgrave, B., Tang, Y.N., Root, J.W. e Rowland, F.S., Ibid., 34(1962)741.
- 79 - Welch, M.J., Witnell, T. e Wolf, A.P., Chem.Instrum., 2(1969)177.
- 80 - Malcome-Lawes, D.J. e Urch, D.S., J.Chromatogr., 44(1969) 609.
- 81 - Lee, E.K.C. e Rowland, F.S., Anal.Chem., 36(1964)2181.
- 82 - Root, J.W., Lee, E.K.C. e Rowland, F.S., Science, 143(1964)676.
- 83 - Mahan, K.I., Weeks, R.W., Fee D. e Garland, J.K., Anal. Lett., 1(1968)933.
- 84 - Evans, J.B. e Willard, J.E., J.Am.Chem.Soc., 78(1956) 2908.
- 85 - Brinkman, G.A., Gerritsen, G.A.V. e Visser, J., Radiochim. Acta, 26(1979)153.

- 86 - Rebbert, R.E. e Ausloos, P.J., J.Photoch., 6(1976/77)265.
- 87 - Rebbert, R.E., ibid., 8(1978)363.
- 88 - Hauteclouque, S., ibid., 9(1978)385.
- 89 - Nesmeyanov, N., Borisov, E.A. e Zvara, I., Radiokhimia, 1
(1959)325.
- 90 - James, A.T. e Martin, A.J.P., Biochem. J., 50(1952)679.
- 91 - Ciola, R., Introdução à Cromatografia em Fase Gasosa,
Editora Blucher, São Paulo, 1973.
- 92 - Keulemans, A.I.M., Gas Chromatography, Reinhold Publ. Co.,
New York, 1957, p.2.
- 93 - Dal Nogare, S. e Juvet, Jr. R.S., Gas-Liquid Chromatography
Interscience Publ., New York, 1962
- 94 - Ettre, L.S., Introduction to Open Tubular Columns, Perkin
Elmer, Co., Norwalk Connecticut, 1978.
- 95 - McNair, H.M. e Bonelli, E.J., Basic Gas Chromatography,
Varian Instrument Division, Palo Alto, California, 1969.
- 96 - Desty, D.H., Vapor Phase Chromatography, Academic Press,
New York, 1957, p.xii.
- 97 - Martin, A.J.P. e Synge, R.L.M., Biochem.J., 35(1951)1358.
- 98 - Van Deemter, J.J., Zuiderweg, E.J. e Klinkenberg, A.,
Chem.Eng.Sci., 5(1957)271.
- 99 - Jones, W.L., Anal.Chem., 33(1961)829.
- 100 - Keulemans, A.I.M., Gas Chromatography, Reinhold Publ. Co.,
1957, New York, 1957, p.17.
- 101 - Klinkenberg, A. e Sjenitzer, F., Chem.Eng.Sci., 5(1956)258.
- 102 - Carbopack, Bulletin 738 C, Supelco, Inc., Bellafonte,
Pennsylvania, 1966.
- 103 - Bruner, F., Bertoni, G. e Ciccioli, P., J.Chromatogr.,
120(1976)307.
- 104 - Bruner, F., Cartoni, G.P. e Possanzini, M., Anal.Chem., 11
1969)1122.
- 105 - Di Corcia, A., Liberti, A. e Souperi, R., ibid., 45(1973)
1228.
- 106 - Vidal-Majar, C., Gannord, M.F., Benchah, F. e Guiochon, G.,
J.Chromatogr.Sci., 16(1978)190.
- 107 - Rohrschneider, L., J.Chromatogr., 22(1966)6.

- 108 - McReynolds, W.O., Gas chromatographic Data, Preston Tech. Abstracts Co., Evanston, Illinois, 1967.
- 109 - Kovats, E., Helv.Chim.Acta, 41(1958)1915.
- 110 - Supelco, Chromatography Supplies, Catalog 18, internacional, Bellafonte, Pennsylvania, 1981, p.64.
- 111 - Yancey, J.A., ed., Guide to Stationary Phases for Gas Chromatography, 12ª edição, Analabs Inc., North Haven, Connecticut, 1979.
- 112 - Mc Reynolds, W.O., J.Chromatogr.Science, 8(1970)685.
- 113 - Ettre, L.S., Chromatographia, 6(1973)489.
- 114 - Supina, W., "The Use of Rohrschneider Constants". Em: Recent Advances in Gas Chromatography, Dowsky I. e J.A. Perry, Ed., Marcel Dekker Inc., New York, 1971.
- 115 - Hollis, O.L., Anal.Chem., 38(1966)309.
- 116 - Dimbat, M.P.E., Porter, P.E. e Stross, F.H., Anal.Chem., 28(1956)290.
- 117 - Driscoll, J.N., J.Chromatogr., 134(1977)49.
- 118 - Mc William, I.G. e Dewar, R.A., Nature, 182(1958)1664.
- 119 - Mc William, I.G. e Dewar, R.A., Gas Chromatography, D.H. Desty, Editor, Academic Press, New York, 1958, p.142.
- 120 - Sternberg, J.C., Gallaway, W.S. e Jones, D.T.C., Gas Chromatography, Third International Symposium, Instrument Society of America, Academic Press, New York, 1962.
- 121 - Condon, R.D., Scholly, P.R. e Averill, W., Gas Chromatography, R.P.W. Scott, ed., Butterworths, Washington, D.C., 1960, p.30.
- 122 - Wiesniewsky, J., Hewlett-Packard Co., Avondale, Pennsylvania, Informações Pessoais.
- 123 - HNU Systems, Newton Upper Falls, Massachussets.
- 124 - Driscoll, J.N., J.Chromatogr. 134(1977)49.
- 125 - Murta, A.L.M., Strong III. F.C. e Collins, K.E., Química Nova 4(1981)42.
- 126 - Driscoll, J.N., Ford, F., Jaramilho, I.F., Becker, J.H., Hewitt, G., Marchall, J.K. e Onishuk, F., Amer. Lab., 10(1978)137.
- 127 - Driscoll, J.N. e Spaziani, F.F., Res. Dev., 27(1976)50.

- 128 - Jennings, W.G., Wyllie, S.G. e Alves, S., Chromatographia, 10 (1977)426.
- 129 - Langhorst, M.L., J.Chromatogr. Sci. 19(1981)98.
- 130 - Langhorst, M.L., e Nestruck, T.J., Anal. Chem. 51(1979) 2018.
- 131 - Manual de Instruções do Detector de Fotoionização, modelo PI-51-02, fabricado pela HNU Systems Inc., Newton Upper Falls, Massachussets, 1976.
- 132 - Gohlke, R.S., Anal.Chem. 31(1959)535.
- 133 - Holmes, J.C. e Morrell, F.A., Appl.Spec., 11(1957)86.
- 134 - McFadden, W., Techniques of Combined Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. Applications in Organic Analysis, John Wiley and Sons, New York, 1973, p.1-262.
- 135 - Lipsky, S.R., Horvath, C.G. e McMurray, W.J., Anal. Chem., 38 (1966)1585.
- 136 - Blumer, M., ibid. 40(1968)1590.
- 137 - Krueger, P.M. e Mc Closkey, J.A., ibid., 41(1969)1930.
- 138 - Black, D.R., Flath, R.A. e Teranishi, R., J.Chromatogr. Sci., 7(1969)284.
- 139 - McGrayson, M.A. e Wolf, C.J., Anal.Chem., 42(1970)426.
- 140 - Watson, J.T. e Bieman, K., ibid., 36(1964)1135.
- 141 - Watson, J.T. e Bieman, K., ibid., 37(1965)844.
- 142 - Ryhage, R., ibid., 36(1964)759.
- 143 - Stenhagen, E., Z.Anal.Chem., 205(1964)109.
- 144 - Reis, V.H. e Fenn, J.B., J.Chem.Phys., 39(1963)3240.
- 145 - Stern S.A., Watermann, P.C. e Sinclair, T.F., ibid., 33 (1960)805.
- 146 - Bonelli, E.J., Story, M.S. e Knight, J.B., Dynamic Mass Spectrometry, 2(1971)177, apud "Techniques of Combined CG/MS. Applications in Organic Analysis. Mc Fadden W., John Wiley, and Sons, New York, 1973, p.187.
- 147 - Roboz, J., Mass Spectrometry. Instrumentation and Techniques. John Wiley and Sons, New York, 1968, p.125.
- 148 - Lau, C.L., Topics in Organic Chemistry, A.L. Burlingame, ed., Interscience, New York, 1970, p.93.
- 149 - Mc Lafferty, F.W., Science, 151(1966)641.

- 150 - Watson, J.T., "A GC/MS-Computer System for On-Line Acquisition, Reduction and Display of Multiple Ion Detection Data in Prostaglandin Analysis." Em: Mc Fadden, W., Techniques of Combined Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Applications in Organic Analysis, John Wiley and Sons, New York. p.396.
- 151 - Merri tt Jr., C., Issenber, P., Bazinet, M.L., Green, B.N., Merren, T.O. e Murray, J.G., Anal. Chem., 37(1965)1037.
- 152 - Mc Murray, W.J., Green B.N. e Lipsky, S.R., ibid., 38(1966) 1194.
- 153 - Hites , R.A. e Biemann, K., ibid., 39(1967)965.
- 154 - Hites , R.A. e Biemann, K., ibid., 40(1968)1217.
- 155 - Smith , D.H., Olsen, R.W., Walls, F.C. e Burlingame, A.L., ibid., 43(1971)1796.
- 156 - Sweeley, C.C., Ray, B.D., Wood, W.I., Holland, J.F. e Kichevsky, M.I., ibid., 42(1970)1505.
- 157 - Reynolds, W.E., Bacon, V.A., Bridges, J.C., Coburn, T.C., Halpern, B., Lederberg, J., Levinthal, E.C., Steed, E. e Tucker, R.B., ibid., 42(1970)1122.
- 158 - Kwok, K.S., Venkataraghavan R., McLafferty, F.W., J.Amer. Chem. Soc., 95(1973)4185.
- 159 - Biemann, K., McMurry, W., Tetrahedron Lett., 11(1965)647.
- 160 - Mun, I.K., Venkataraghavan, R. e McLafferty, F.W., Anal. Chem., 53(1981)179.
- 161 - Tswett, M., Travl.Soc.Naturalistes Varisovic, 14(1903).
- 162 - Berg, R., Colunas para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Tese para o concurso de Professor Titular. Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná. 1978. p.138.
- 163 - McNair, H.M., Amer.Lab., 5(1980)33.
- 164 - Majors, R.E., J.Chromatogr.Sci., 18(1980)393.
- 165 - Snyder, L.R. e Kirkland, J.J., Introduction to Modern Liquid Chromatography. 2ª edição, John Wiley and Sons, New York, 1979.
- 166 - Johnson, E. e Stevenson, R., Basic Liquid Chromatography, Varian, Palo Alto, California, 1978. p.15.
- 167 - Yost, R.W., Ettre, L.S. e Conlon, R.D., Practical Liquid Chromatography. An Introduction. Perkin Elmer Co., Norwalk, Connecticut, 1980.

- 168 - Snyder, L.R., Principles of Adsorption Chromatography, Marcell-Dekker Inc., New York, 1968. p.30.
- 169 - Scott, R.P.W. e Kucera, P., J.Chromatogr.Sci., 13(1975)337.
- 170 - Bather, J.M. e Gray, R.A.C., J.Chromatogr., 122(1976)159.
- 171 - Rassi, Z.E., Gonnet, C. e Rocca, J.L., ibid., 125(1976)179.
- 172 - Saunders, D.L., Anal.Chem., 46(1974)470.
- 173 - Snyder, L.R. e Poppe, H., J.Chromatogr., 184(1980)363.
- 174 - Thomas, J.P., Brun, A. e Bounine, J.P., ibid., 139(1977)21.
- 175 - Karch, K., Sebastian I e Halasz I., ibid., 122(1976)3.
- 176 - Siouffi, A.M., Guillemonat, A. e Guiochon, G., ibid., 137(1977)35.
- 177 - Eksborg, S., Lagerstron, P.O., Modin, R. e Schill, G., Ibid., 83(1973)99.
- 178 - Unger, K.K., Becker, N. e Roumeliotis, P., ibid., 125(1976)115.
- 179 - Locke, D.C., Schemermund, J.T. e Banner, B., Anal.Chem., 44(1972)90.
- 180 - Magidman, P., Saunders, D.H., Barford, R.A., Olszewski, L. T. e Rothbart, H.L., ibid., 46(1974)834.
- 181 - Majors, R.E., Bonded Stationary Phases in Chromatography. Grushka E., ed., Ann Harbor Science Publ. Inc., Ann Harbor, Michigan, 1974.
- 182 - Horvath, C., Melander, W. e Molner I., J.Chromatogr., 125(1976)129.
- 183 - Bristow, P.A., LC in Practice, HETP Publishers, Wilmslow, Cheshire, Inghilterra, 1976.
- 184 - Berridge, J.C., J.Chromatogr., 202(1980)469.
- 185 - Glajch, J.L., Kirkland, J.J., Squire, K.M. e Minor, J.M., ibid., 199(1980)57.
- 186 - Colin, H., Guiochon, G. e Diez-Meza, J.C., Anal.Chem., 53(1981)146.
- 187 - Stewart, J.G. e Williams, P.A., J.Chromatogr., 198(1980)489.
- 188 - Snyder, L.R., J.Chromatogr.Sci., 15(1977)441.
- 189 - Grushka, E., Snyder, L.R. e Knox, J.H., ibid., 13(1975)25.
- 190 - Snyder, L.R., ibid., 10(1972)369.

- 191 - Rayney, M.L. e Purdy, W.C., Anal.Chim.Acta, 93(1977)211.
- 192 - Detaeverner, M.R., Dryon, L. e Massart, D.L., J.Chromatogr. 128 (1976)204.
- 193 - Dening, S.N. e Turoff, M.L.H., Anal.Chem., 50(1978)546.
- 194 - Parris, N.A., Amer.Lab., 6(1978)124.
- 195 - De Jong, A.W.J., Smith, J.C., Poppe, H. e Kraak, J.C., Anal.Proc., 17(1980)508.
- 196 - Finnigan Corporation, Sunnyvale, CA, 94086.
- 197 - Hewlett- Packard Co., Palo Alto, CA, 94304.
- 198 - McFadden, W.H., Bradford, D.C., Games, D.E. e Ganer, J.L., Amer.Lab., 9(1977)55.
- 199 - Nicolet Analytical Instruments, Madison Wisconsin, 53711.
- 200 - Snyder, L.R., Acc.Chem.Res., 3(1970)290.
- 201 - National Bureau of Standards Special Publication nº 519-
Superintendent of Documents, US Government Printing
Office, Washington, D.C., 1979.
- 202 - Berg, R.G., Murta, A.L.M. e Kugler, W. e Von Lisingen, U.
I.B., "Purificação de solventes para cromatografia lí-
quida de Alta Eficiência". Trabalho em fase de redação
para ser submetido à publicação .
- 203 - Chang, H.M. e Willard, J.E., J.Phys.Chem., 71(1967)3576.
- 204 - Cheng, K.L., Prather II, J.W., "Ultraviolet and Visible
Absorption Spectroscopy", in Instrumental Analysis ,
Bauer, H.H., Christian, G.D. e O'Reilly, J.E., ed.
Allyn and Bacon, Inc. Boston, 1978, p.160.
- 205 - Currie, J., Sidebotton, H. e Teddler, J., Int.J.Chem.Kinet.
6(1974)481.
- 206 - Castellan, G.W., Physical Chemistry, Addyson - Wesley
Publishers Co. 2nd ed., 1971 - Reading, Massachussets,
p.740.
- 207 - Murta, A.L.M., Collins, C.H., Collins, K.E. e McNair, H.
M., Cromatografia Líquida ou Cromatografia com gás?
submetido à publicação em "Química Nova".
- 208 - Snyder, L.R., J.Chromatogr.Sci., 10(1972)200.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Constantes de McReynolds (111)

(continua)

| FASE LÍQUIDA | BENZENO (x) | BUTANOL (y) | 2-PENTANONA (z) | NITRAPROPANO (u) | PIRIDINA (s) | 2-METIL-2-PENTANOL | 1-IODOBUTANO | 2-OCTINA | 1,4-DIOXANO |
|-------------------|-------------|-------------|-----------------|------------------|--------------|--------------------|--------------|----------|-------------|
| Esqualano | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nujol | 9 | 5 | 2 | 6 | 11 | 2 | 9 | 2 | 6 |
| Parafina Líquida | 11 | 6 | 2 | 7 | 13 | 2 | 12 | 2 | 9 |
| Apiezon L | 32 | 22 | 15 | 32 | 42 | 13 | 35 | 11 | 31 |
| SF 96 | 12 | 53 | 42 | 61 | 37 | 31 | 0 | 21 | 41 |
| SE 30 | 15 | 53 | 44 | 64 | 41 | 31 | 3 | 22 | 44 |
| OV-1 | 16 | 55 | 44 | 65 | 42 | 32 | 4 | 23 | 45 |
| SE 31 | 16 | 54 | 45 | 65 | 43 | 32 | 3 | 23 | 46 |
| SE 33 | 17 | 54 | 45 | 67 | 42 | 33 | 4 | 23 | 46 |
| Óleo de Silício M | 14 | 57 | 46 | 67 | 43 | 33 | 2 | 22 | 46 |
| DC 200 | 16 | 57 | 45 | 66 | 43 | 33 | 3 | 23 | 46 |
| OV-101 | 17 | 57 | 45 | 67 | 43 | 33 | 4 | 23 | 46 |
| DC 410 | 18 | 57 | 47 | 68 | 44 | 34 | 5 | 24 | 48 |
| SE 52 | 32 | 72 | 65 | 98 | 67 | 44 | 23 | 36 | 67 |
| SE 54 | 33 | 72 | 66 | 99 | 67 | 46 | 24 | 36 | 68 |
| DC 560 | 32 | 72 | 70 | 100 | 68 | 49 | 24 | 35 | 69 |
| OV-3 | 44 | 86 | 81 | 124 | 88 | 55 | 39 | 46 | 84 |
| OV-7 | 69 | 113 | 111 | 171 | 128 | 77 | 68 | 66 | 120 |
| DC 550 | 74 | 116 | 117 | 178 | 135 | 81 | 74 | 72 | 128 |
| OV-11 | 102 | 142 | 145 | 219 | 178 | 100 | 92 | 164 | 59 |
| DC 710 | 107 | 149 | 153 | 228 | 190 | 107 | 108 | 98 | 174 |
| Hallcomid M-18 | 79 | 268 | 130 | 222 | 146 | 202 | 82 | 48 | 106 |
| OV-17 | 119 | 158 | 162 | 243 | 202 | 112 | 119 | 105 | 184 |
| OV-22 | 160 | 188 | 191 | 283 | 133 | 152 | 132 | 118 | 99 |
| OV-25 | 178 | 204 | 208 | 305 | 280 | 144 | 169 | 147 | 251 |
| Tricresil Fosfato | 176 | 321 | 250 | 374 | 299 | 242 | 169 | 131 | 254 |
| SAIB | 172 | 330 | 251 | 378 | 295 | 264 | 147 | 128 | 276 |
| QF-1 | 144 | 233 | 355 | 463 | 305 | 203 | 136 | 53 | 280 |
| OV-210 | 146 | 238 | 358 | 468 | 310 | 206 | 139 | 56 | 283 |
| Igepal CO-630 | 192 | 381 | 253 | 382 | 344 | 277 | 172 | 136 | 288 |
| UCON 50-HB-2000 | 202 | 394 | 253 | 392 | 341 | 277 | 173 | 147 | 289 |
| XE 60 | 204 | 381 | 340 | 493 | 367 | 289 | 203 | 120 | 327 |
| OV-225 | 238 | 369 | 338 | 492 | 386 | 282 | 226 | 150 | 342 |
| Quadrol | 214 | 571 | 357 | 472 | 489 | 431 | 208 | 142 | 379 |
| Carbowax 20-M | 322 | 536 | 368 | 572 | 510 | 387 | 282 | 221 | 434 |
| Carbowax 20-M TPA | 321 | 537 | 367 | 573 | 520 | 387 | 281 | 220 | 435 |
| Carbowax 6000 | 322 | 540 | 369 | 577 | 512 | 390 | 282 | 222 | 437 |

Apêndice 1 - Constantes de McReynolds (111)

(conclusão)

| FASE LÍQUIDA | BENZENO (x) | BUTANOL (y) | 2-PENTANONA (z) | NITRAPROPANO (u) | PIRIDINA (s) | 2-METIL-2-PENTANOL | 1-IODOBUTANO | 2-OCTINA | 1,4-DIOXANO |
|-----------------|-------------|-------------|-----------------|------------------|--------------|--------------------|--------------|----------|-------------|
| FFAP | 340 | 580 | 397 | 602 | 627 | 423 | 298 | 228 | 473 |
| Carbowax 1500 | 347 | 607 | 418 | 626 | 589 | 449 | 306 | 240 | 493 |
| Reoplex 400 | 364 | 619 | 449 | 647 | 671 | 482 | 317 | 245 | 540 |
| Diglicerol | 371 | 826 | 560 | 676 | 854 | 608 | 245 | 141 | 724 |
| DEGS | 499 | 751 | 593 | 840 | 860 | 595 | 422 | 323 | 725 |
| THEED | 463 | 942 | 626 | 801 | 893 | 746 | 427 | 269 | 721 |
| EGS | 537 | 787 | 643 | 903 | 889 | 633 | 452 | 348 | 795 |
| TCEP | 593 | 857 | 752 | 1028 | 915 | 672 | 593 | 375 | 853 |

Apêndice 2 — Características dos gases usados como fase móvel.
(91, 93, 95).

| GÁS | FATOR B | η | λ | P.I. (eV) |
|-----------------|---------|--------|-----------|--------------|
| Hidrogênio | 0,30 | 0,695 | 39,60 | 15,426 |
| Nitrogênio | 0,11 | 0,756 | 5,68 | 15,580 |
| Argônio | 0,12 | 0,816 | 3,88 | 15,790 |
| Hélio | - | 0,647 | 33,60 | 15,860 |
| CO ₂ | 0,097 | 0,935 | 3,39 | 13,790 |
| Ar | - | 0,768 | - | - |

B: Difusão molecular (vide equação de Van Deemter, seção 2)

η : Viscosidade, centipoise

λ : Coeficiente de condutividade térmica (cal/cm.5 x 10⁵)

PI: Potencial de ionização, eV

Apêndice 3 — Potenciais de ionização de átomos e moléculas (131).

| ÁTOMO OU MOLECULA | POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (eV) | ÁTOMO OU MOLECULA | POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (eV) |
|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| H | 13,595 | I ₂ | 9,280 |
| C | 11,264 | HF | 15,770 |
| N | 14,540 | HCl | 12,740 |
| O | 13,614 | HBr | 11,620 |
| Si | 8,149 | HI | 10,380 |
| S | 10,357 | SO ₂ | 12,340 |
| F | 17,420 | CO ₂ | 13,790 |
| Cl | 13,010 | COS | 11,180 |
| Br | 11,840 | CS ₂ | 10,080 |
| I | 10,480 | N ₂ O | 12,900 |
| H ₂ | 15,426 | NO ₂ | 9,780 |
| N ₂ | 15,580 | O ₃ | 12,800 |
| O ₂ | 12,075 | H ₂ O | 12,590 |
| CO | 14,010 | H ₂ S | 10,460 |
| CN | 15,130 | H ₂ Se | 9,880 |
| NO | 9,250 | H ₂ Te | 9,140 |
| CH | 11,100 | HCN | 13,910 |
| OH | 13,180 | C ₂ N ₂ | 13,800 |
| F ₂ | 15,700 | NH ₃ | 10,150 |
| Cl ₂ | 11,480 | CH ₃ | 9,840 |
| Br ₂ | 10,550 | CH ₄ | 12,980 |

(continua)

| MOLECULA | POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (eV) |
|------------------------|-----------------------------|
| HCl | 12,740 |
| Cl ₂ | 11,480 |
| CH ₄ | 12,980 |
| Cloro de metila | 11,280 |
| Diclorometano | 11,350 |
| Triclorometano | 11,420 |
| Tetraclorometano | 11,470 |
| Cloro de etila | 10,980 |
| 1,2-dicloroetano | 11,120 |
| 1-cloropropano | 10,820 |
| 2-cloropropano | 10,780 |
| 1,2-dicloropropano | 10,870 |
| 1,3-dicloropropano | 10,850 |
| 1-clorobutano | 10,670 |
| 2-clorobutano | 10,650 |
| 1-cloro-2-metilpropano | 10,660 |
| 2-cloro-2-metilpropano | 10,610 |
| HBr | 11,620 |
| Br ₂ | 10,550 |
| Brometo de metila | 10,530 |
| Dibromometano | 10,490 |
| Tribromometano | 10,510 |
| CH ₂ BrCl | 10,770 |
| CHBr ₂ Cl | 10,590 |

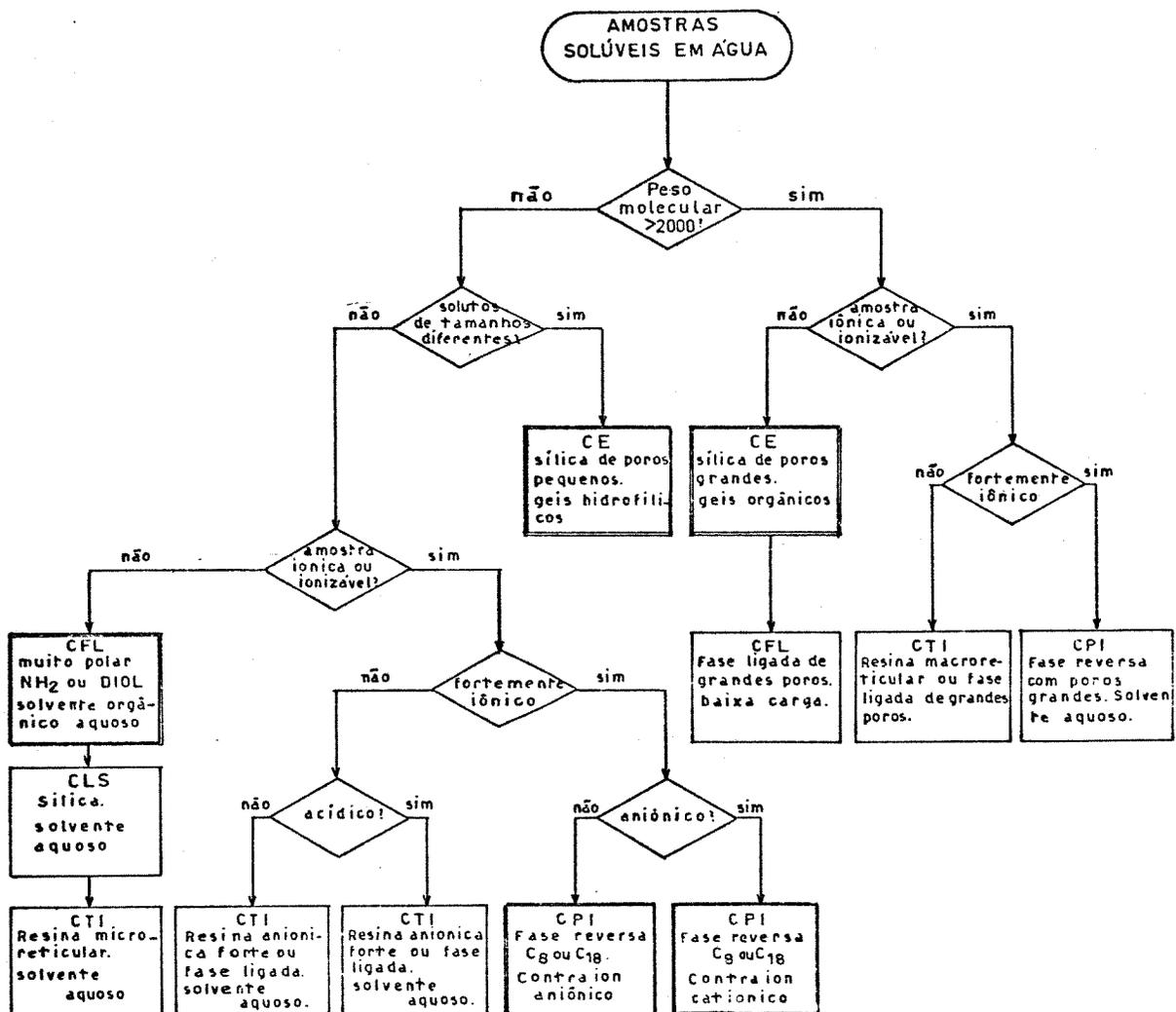
(continuação)

| MOLÉCULA | POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (eV) |
|------------------------|-----------------------------|
| Brometo de etila | 10,290 |
| 1,1-dibromoethane | 10,190 |
| 1-bromo-2-cloroetano | 10,630 |
| 1-bromopropano | 10,180 |
| 2-bromopropano | 10,075 |
| 1,3-dibromopropano | 10,070 |
| 1-bromobutano | 10,130 |
| 2-bromobutano | 9,980 |
| 1-bromo-2-metilpropano | 10,090 |
| 2-bromo-2-metilpropano | 9,890 |
| 1-bromopentano | 10,100 |
| HI | 10,380 |
| I ₂ | 9,280 |
| iodeto de metila | 9,540 |
| di-iodometano | 9,340 |
| iodeto de etila | 9,330 |
| 1-iodopropano | 9,260 |
| 2-iodopropano | 9,170 |
| 1-iodobutano | 9,210 |
| 2-iodobutano | 9,090 |
| 1-iodo-2-metilpropano | 9,180 |
| 2-iodo-2-metilpropano | 9,020 |
| 1-iodopentano | 9,190 |
| F ₂ | 15,700 |
| HF | 15,770 |

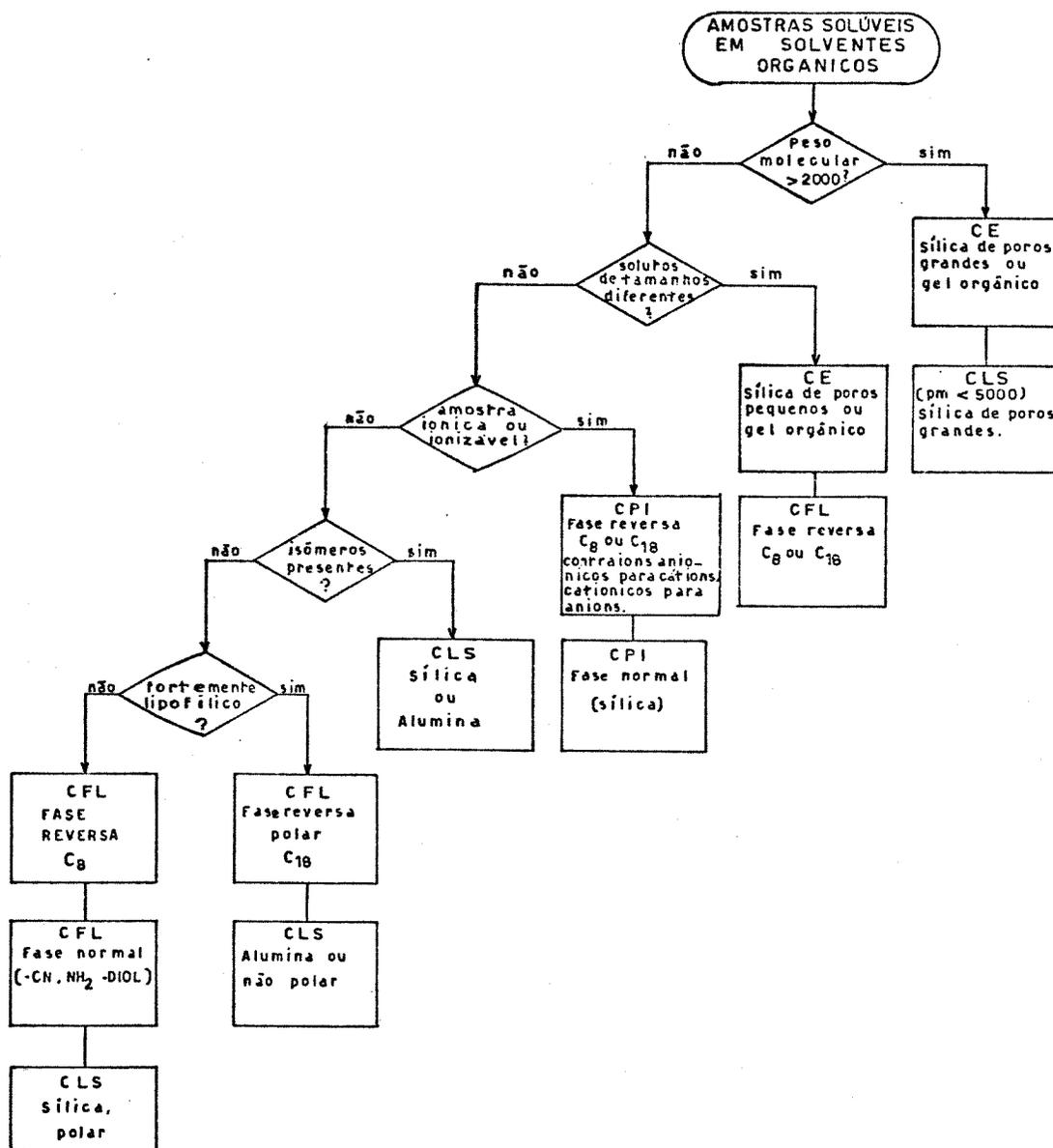
(Conclusão)

| MOLECULA | POTENCIAL DE IONIZAÇÃO (eV) |
|--|-----------------------------------|
| CFCℓ ₃ (Freon 11) | 11,770 |
| CF ₂ Cℓ ₂ (Freon 12) | 12,310 |
| CF ₃ Cℓ (Freon 13) | 12,910 |
| CHCℓF ₂ (Freon 22) | 12,450 |
| CFBr ₃ | 10,670 |
| CF ₂ Br ₂ | 11,070 |
| CH ₃ CF ₂ Cℓ (Genetron 101) | 11,980 |
| CFCℓ ₂ CF ₂ Cℓ | 11,990 |
| CF ₃ CCℓ ₃ (Freon 113) | 11,780 |
| CFHBrCH ₂ Br | 10,750 |
| CF ₂ BrCH ₂ Br | 10,830 |
| CF ₃ CH ₂ I | 10,000 |
| n-C ₃ F ₇ I | 10,360 |
| n-C ₃ F ₇ CH ₂ Cl | 11,840 |
| n-C ₃ F ₇ CH ₂ I | 9,960 |

Apêndice 4 - Guia para a escolha do método de separação por CLAE.

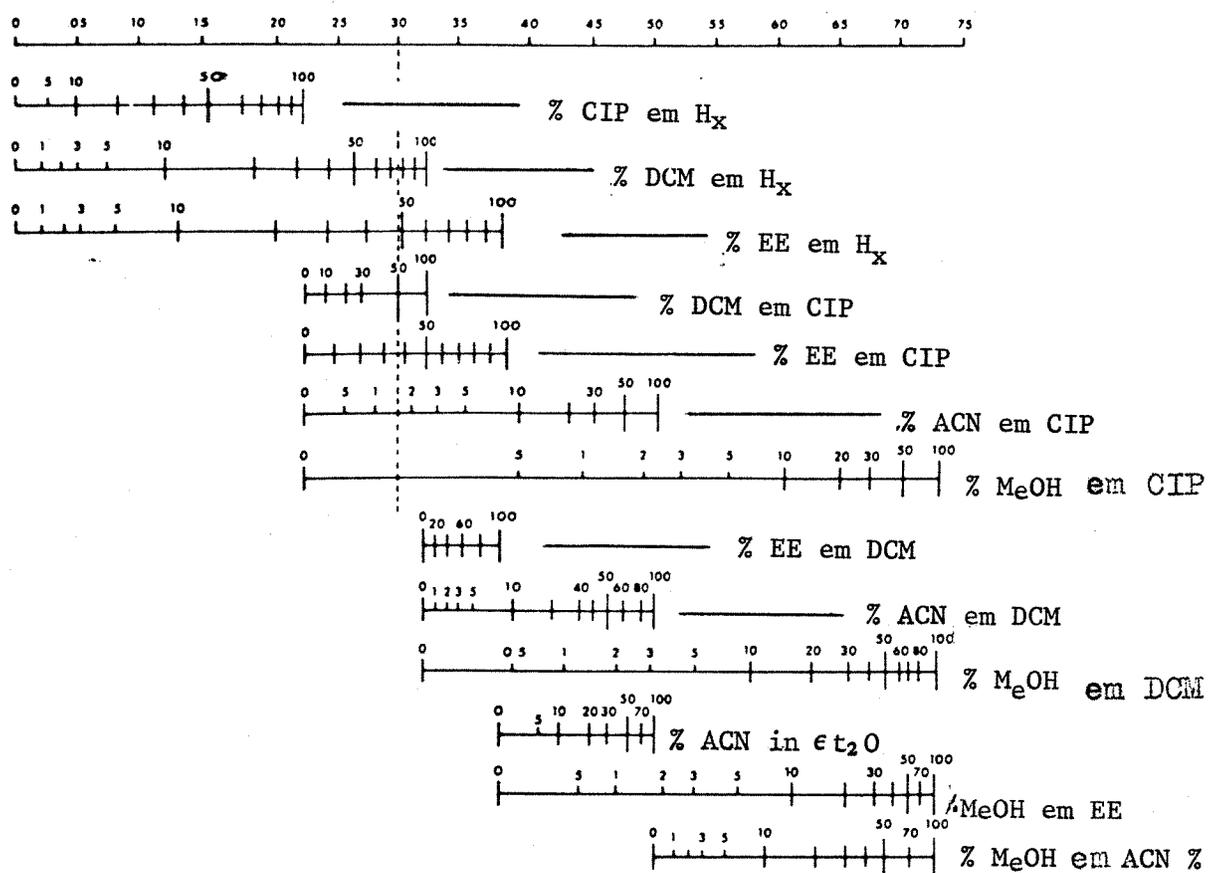


a) amostras solúveis em água.



b) amostras solúveis em solventes orgânicos.

Apêndice 5 - Força do solvente ϵ° (silica)



- H_x - Hexano
 CIP - Cloreto de isopropila
 DCM - Diclorometano
 EE - Éter etílico
 ACN - Acetonitrila
 MeOH - Metanol

Apêndice 6 - Comparação entre diversos detectores para CLAE(207).

| DETECTOR | SELETIVIDADE | SENSIBILIDADE | FAIXA DE LINEARIDADE | QUANTIDADE MÍNIMA DETECTÁVEL (g) |
|-----------------------|-------------------------|--|----------------------|----------------------------------|
| Índice de Refração | Universal | 3×10^{-9} g/s | 10^4 | 10^{-6} |
| UV (fixo) | Seletivo | 10^{-11} g/s | 10^5 | 10^{-9} |
| UV (variável) | Seletivo | 2×10^{-11} g/s | 10^5 | 10^{-9} |
| Fluorescência (laser) | Muito Seletivo | 10^{-14} g/s | 10^4 | 10^{-12} |
| Radioatividade | P/compostos Radioativos | 20-50 cpm no detector (qualquer volume). | 10^6 | - |
| Eletroquímico | Seletivo | 10^{-9} g/s | 10^6 | 10^{-9} |
| Infra-vermelho | Seletivo | 10^{-7} g/s | 10^4 | - |
| Condutivímetro | Seletivo | 10^{-9} g/s | 10^6 | 10^{-8} |

Apêndice 7 - Análise Quantitativa

Neste apêndice vamos descrever resumidamente as técnicas quantitativas usadas no presente trabalho.

7.1 FONTES DE ERROS

A precisão de uma análise cromatográfica é função da habilidade de definir e controlar as condições experimentais. Por isso é necessária uma grande atenção em todas as etapas da análise, desde a amostragem até os cálculos finais.

Existem duas fontes de erros relativas à amostra. A primeira refere-se ao material injetado, isto é, se ele representa a amostra a ser analisada. Muitas amostras são heterogêneas e a sua composição varia da superfície até o fundo dos frascos que as contêm. A segunda é relacionada com o destino da amostra, isto é, se a amostra injetada vai integralmente para o detector, se é vaporizada (CG), se reage, decompõe ou até fica adsorvida irreversivelmente no sistema cromatográfico.

Portanto, é importante que a amostra seja representativa, passe pelo sistema cromatográfico integralmente e seus componentes sejam detectados.

As outras fontes de erros são referentes ao sistema de detecção, registro e aos processos de cálculos usados. Cada uma pode contribuir com uma parcela e o erro final pode ser grande. Por isso devem-se minimizar os erros em cada etapa analítica.

7.2 MEDIDAS DOS PICOS CROMATOGRÁFICOS

Existem vários métodos para medir os picos de um cromatograma. Vamos apresentar apenas os métodos manuais, usados neste trabalho.

7.2.1 Alturas dos picos

A altura de um pico cromatográfico pode ser relacionada com a massa (concentração) do componente que lhe deu origem. É a distância da linha de base ao ponto máximo do pico. Em caso de desnível, considera-se como linha de base a linha que liga o início e o final do pico, como mostra a Figura 7.1.

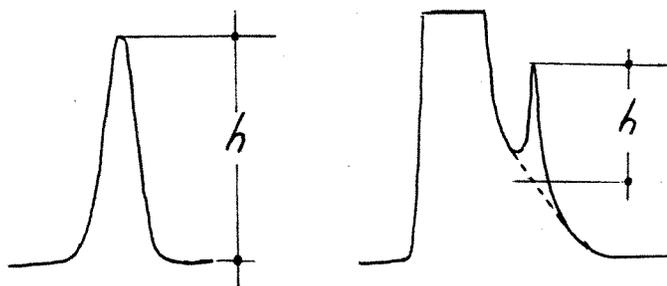


Figura A.1 Altura do pico cromatográfico

7.2.2 Altura multiplicada pela largura à meia altura

A maioria dos picos cromatográficos se assemelham a um triângulo, e a sua área pode ser determinada multiplicando-se a altura do pico pela largura à metade da altura (como mostra a Figura 7.2). Esta técnica é simples e pode dar uma precisão relativa de 2% (165).

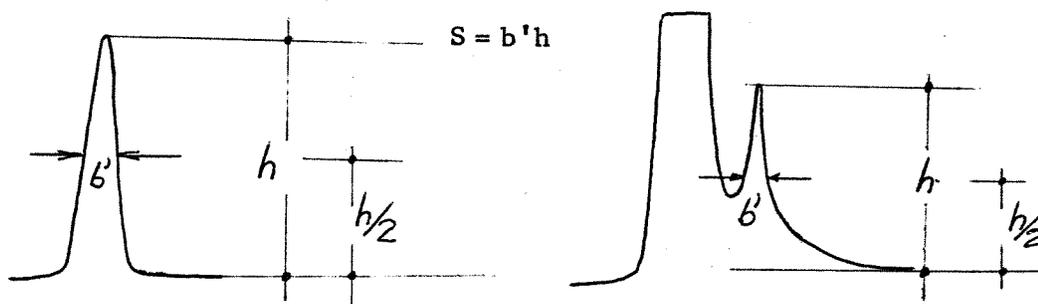


Figura A.2 Área de um pico cromatográfico obtida multiplicando-se a altura pela largura à meia altura.

7.2.3 Outros métodos

Existem vários métodos de medidas de áreas dos picos cromatográficos, manuais e instrumentais, e que estão descritos detalhadamente na literatura (91-95, 165-167).

7.3 ANÁLISE QUANTITATIVA POR CALIBRAÇÃO ABSOLUTA

Quantidades conhecidas de um composto puro (padrão) são injetadas no sistema cromatográfico, e as áreas dos picos são plotadas contra as massas obtendo-se uma reta que passa pela origem. A quantidade do composto correspondente na amostra desconhecida, injetada posteriormente, é medida por interpolação gráfica a partir da área do pico obtida do cromatograma.

A precisão deste método está relacionada com a precisão das injeções e medidas das áreas dos picos dos padrões que dão origem à curva de calibração. É importante que a sensibilidade do sistema de detecção se mantenha constante desde a injeção dos padrões até a detecção da amostra. Para o detector de fotoionização, as curvas de calibração devem ser refeitas periodicamente.

Nas Figuras 7.3 a 7.7, tem-se curvas de calibração típicas para vários compostos per-halogenados.

7.4 OUTROS MÉTODOS DE ANÁLISE QUANTITATIVA

Existem outros métodos de análise quantitativa, como o de normalização de áreas e de padronização interna, que são muito usados e estão descritos na literatura (91-95, 165-167).

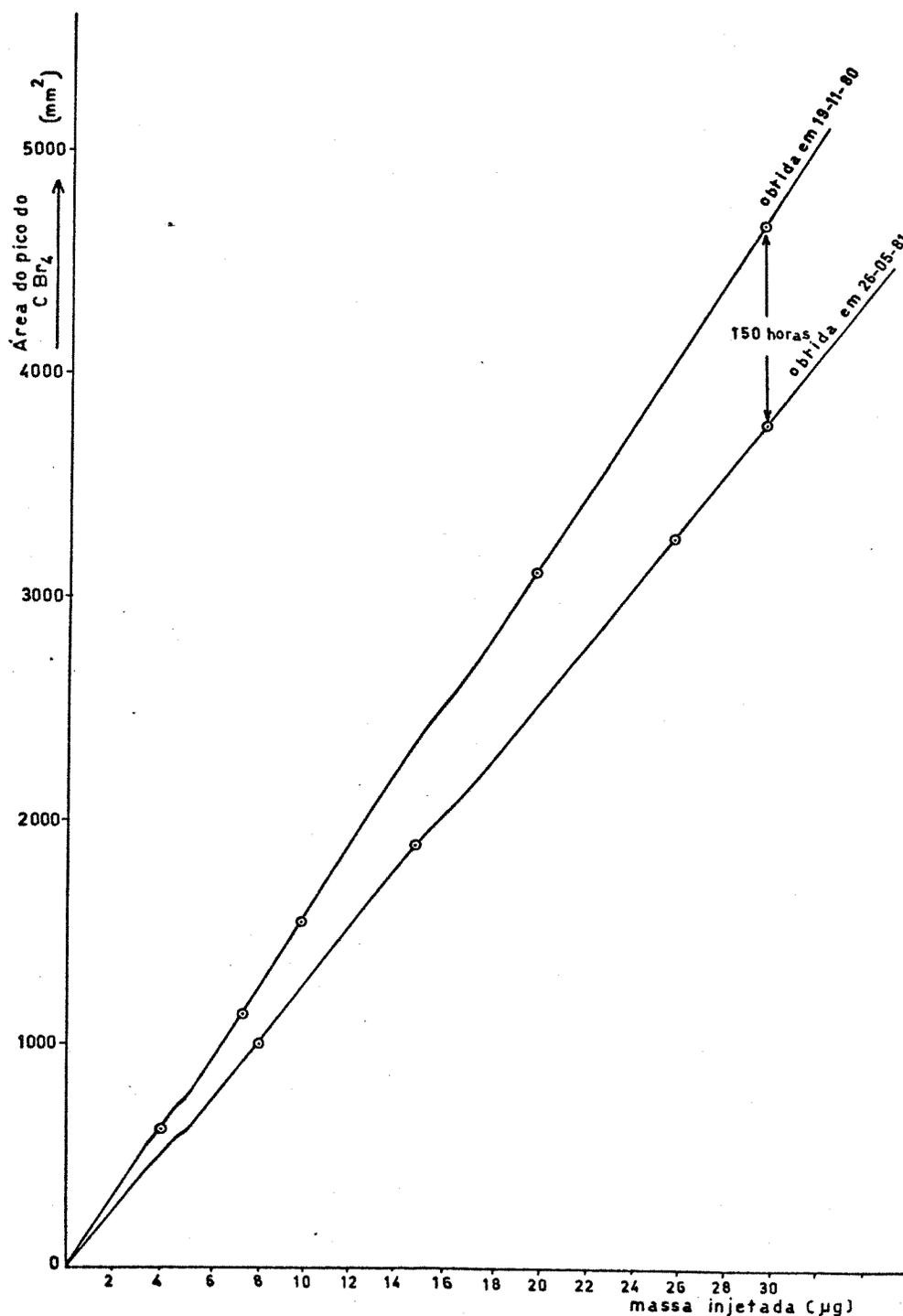


Figura A.3 - Curva de calibração absoluta para o CBr₄ por CG. Volume injetado: 2 µL (solução em CCl₄). Coluna: SE30 a 100°C. Detector: fotoionização. Sensibilidade: 10⁻¹² ampêres (toda escala). Tempo de uso do equipamento entre as duas curvas: 150 horas.

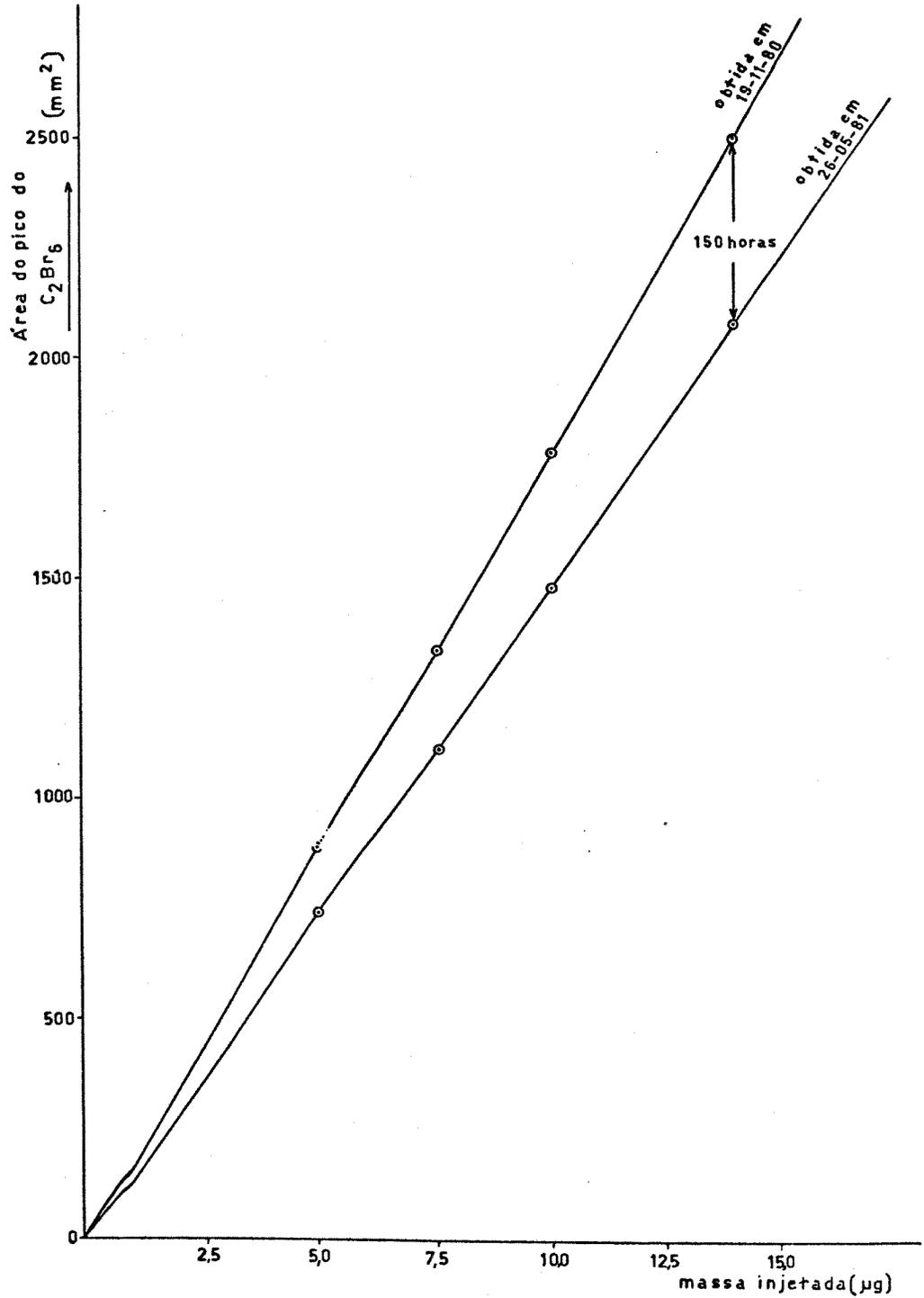


Figura A.4 - Curva de calibração absoluta para o C_2Br_6 por CG. Volume injetado: $2 \mu L$ (solução em CCl_4). Coluna: SE-30 a $100^\circ C$. Detector: fotoionização. Sensibilidade: 10^{-12} ampêres (toda escala). Tempo de uso do equipamento entre as duas curvas: 150 horas.

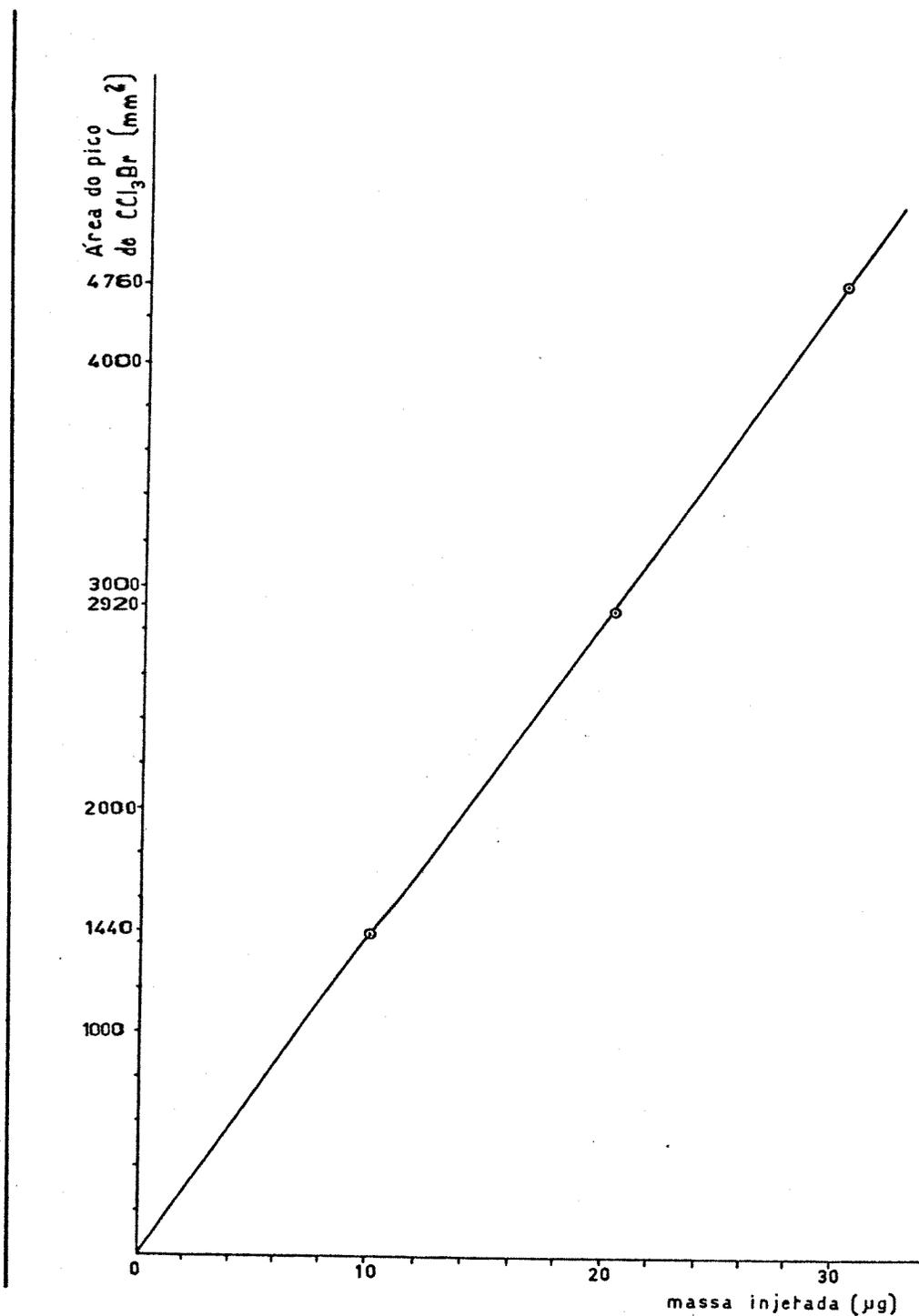


Figura A.5 - Curva de calibração para o CCl_3Br por CG. Volume injetado: $2 \mu\text{L}$ (solução em CCl_4). Coluna: SE-30 a 100°C . Detector: ionização de chama. Sensibilidade: 10^{-12} ampères (toda escala). Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto . Vazão do ar: 260 mL/minuto . Vazão do hidrogênio: 25 mL/minuto .

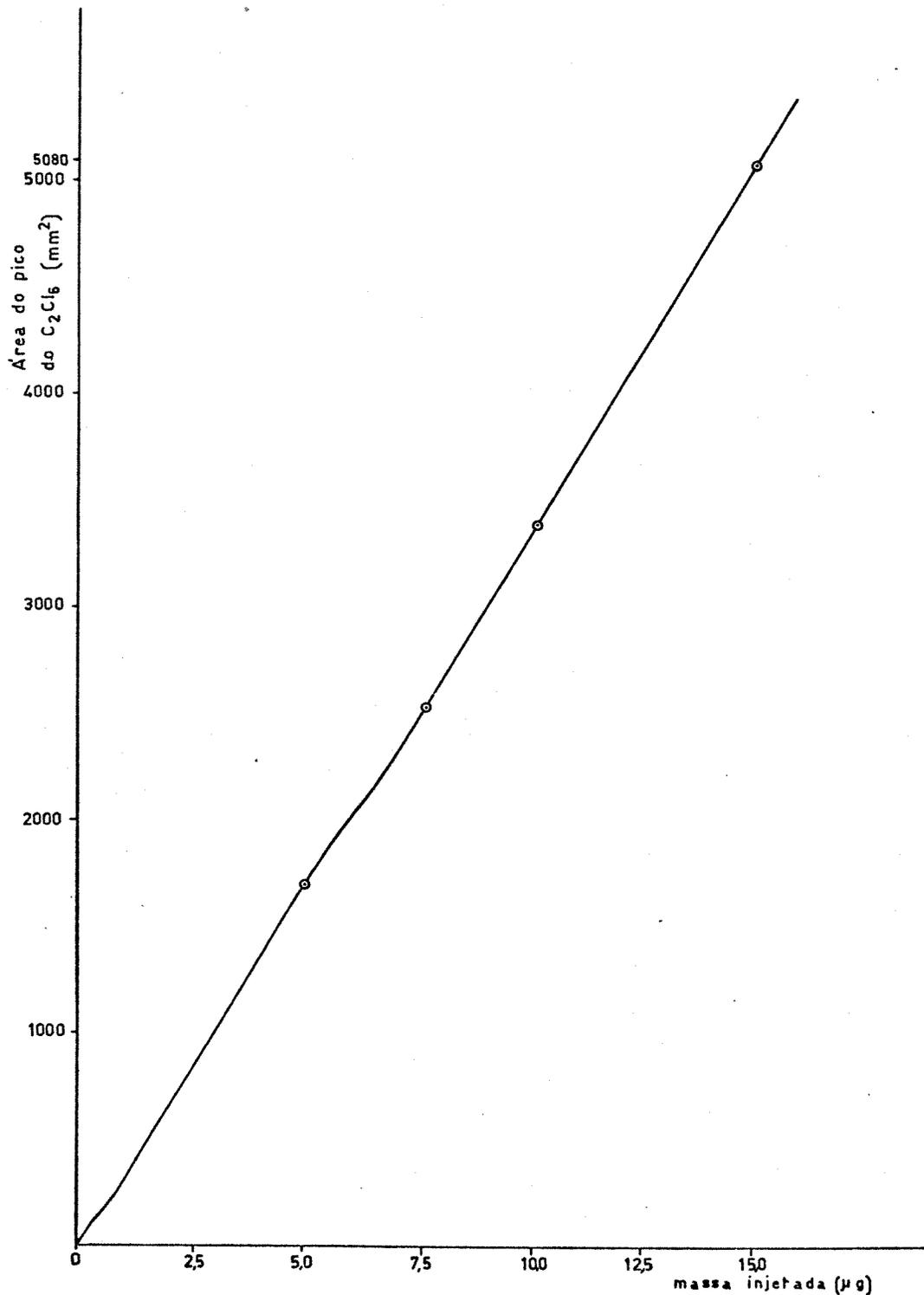


Figura A.6 - Curva de calibração absoluta para o C_2Cl_6 por CG. Volume injetado: 2 μL (solução em CCl_4). Coluna: SE-30 a 100°C. Detector: ionização de chama. Sensibilidade: 10^{-12} ampères (toda escala). Fase móvel: nitrogênio a 25 mL/minuto. Vazão do ar: 260 mL/minuto. Vazão do hidrogênio: 25 mL/minuto.

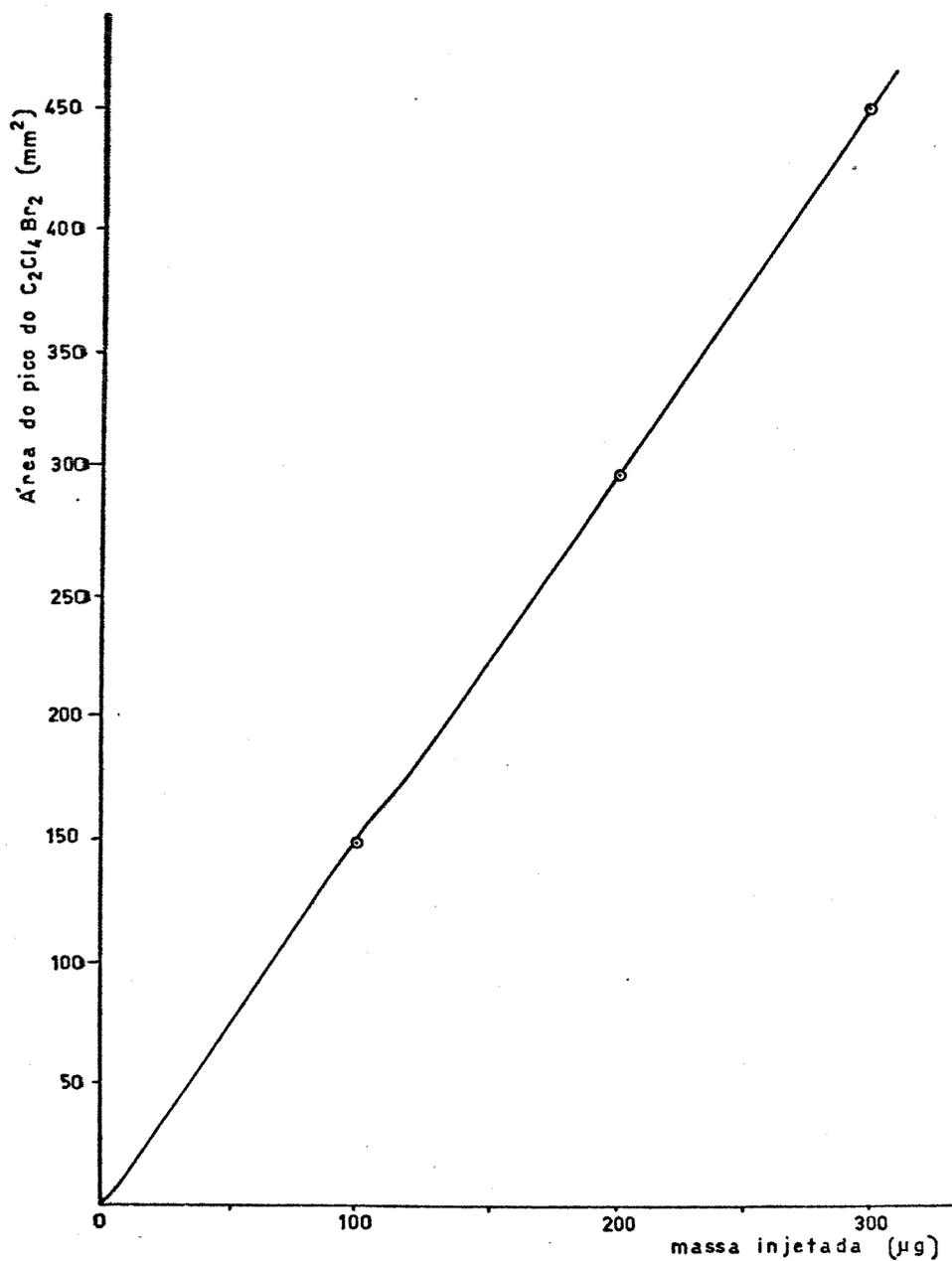


Figura A.7 - Curva de calibração absoluta para o $C_2Cl_4Br_2$ por CLAE. Volume injetado $100 \mu L$. Coluna: VYDAC RP 18. Fase móvel: metanol/água 70/30. Vazão da fase móvel: $2,5 \text{ mL/minuto}$. Detector: ultravioleta em 220 nm - $0,1 \text{ U.A.}$

Apêndice 8 - Compostos que produzem pouca ou nenhuma resposta no detector de ionização de chama.

| | | |
|----------------|------------------|--------------------|
| He | CS ₂ | NH ₃ |
| Ar | COS | CO |
| Kr | H ₂ S | CO ₂ |
| Ne | SO ₂ | H ₂ O |
| Xe | NO | SiCl ₄ |
| O ₂ | H ₂ O | SiHCl ₃ |
| N ₂ | NO ₂ | SiF ₄ |

Apêndice 9 - Comparação entre diversos detectores para CG (207).

| Detector | Seletividade | Sensibilidade | Faixa de Linearidade | Quantidade Mínima Detectável (g) |
|-----------------------|--|-------------------------|----------------------|----------------------------------|
| Condutividade térmica | Universal | 6×10^{-10} g/s | 10^4 | 10^{-5} |
| Ionização de chama | Compostos Orgânicos | 9×10^{-13} g/s | 10^7 | 2×10^{-11} |
| Captura eletrônica | Espécies que capturam elétrons | 2×10^{-14} g/s | 10^2 | 2×10^{-13} |
| Álcali-P | Compostos fosforados | 4×10^{-14} g/s | 10^3 | 2×10^{-12} |
| Álcali-N | Compostos nitrogenados | 7×10^{-12} g/s | 10^3 | 2×10^{-10} |
| Fotoionização | Compostos com potencial de ionização <10,2 eV. | - | 10^7 | 2×10^{-12} |

Apêndice 10 - Cromatogramas dos Solventes

Cromatogramas, obtidos por CG, dos metanóis e da água usados como fase móvel em CLAE.

Nesta seção temos os cromatogramas das fases móveis usadas em CLAE, obtidos nas mesmas condições analíticas experimentais.

Utilizou-se a coluna de SP 2100/Carbowax 1500, com temperatura programada de 70 a 140°C a 6°C/minuto. O detector foi de fotoionização operando com sensibilidade de 4×10^{-11} ampères para a deflexão de toda a escala de registro. Os picos devidos a impurezas não foram identificados.

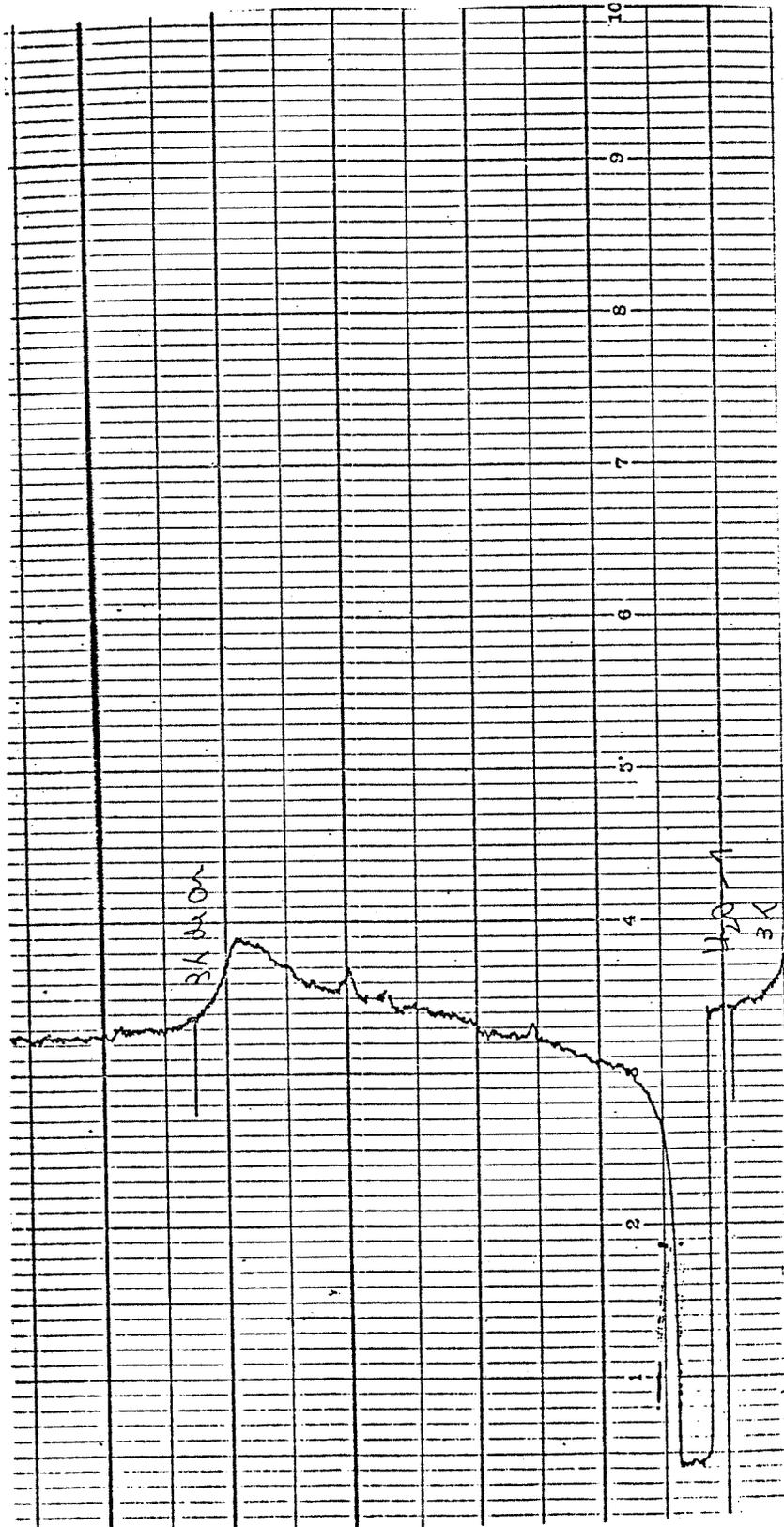


Figura A.8 - Cromatograma da água usada como fase móvel para CLAE.

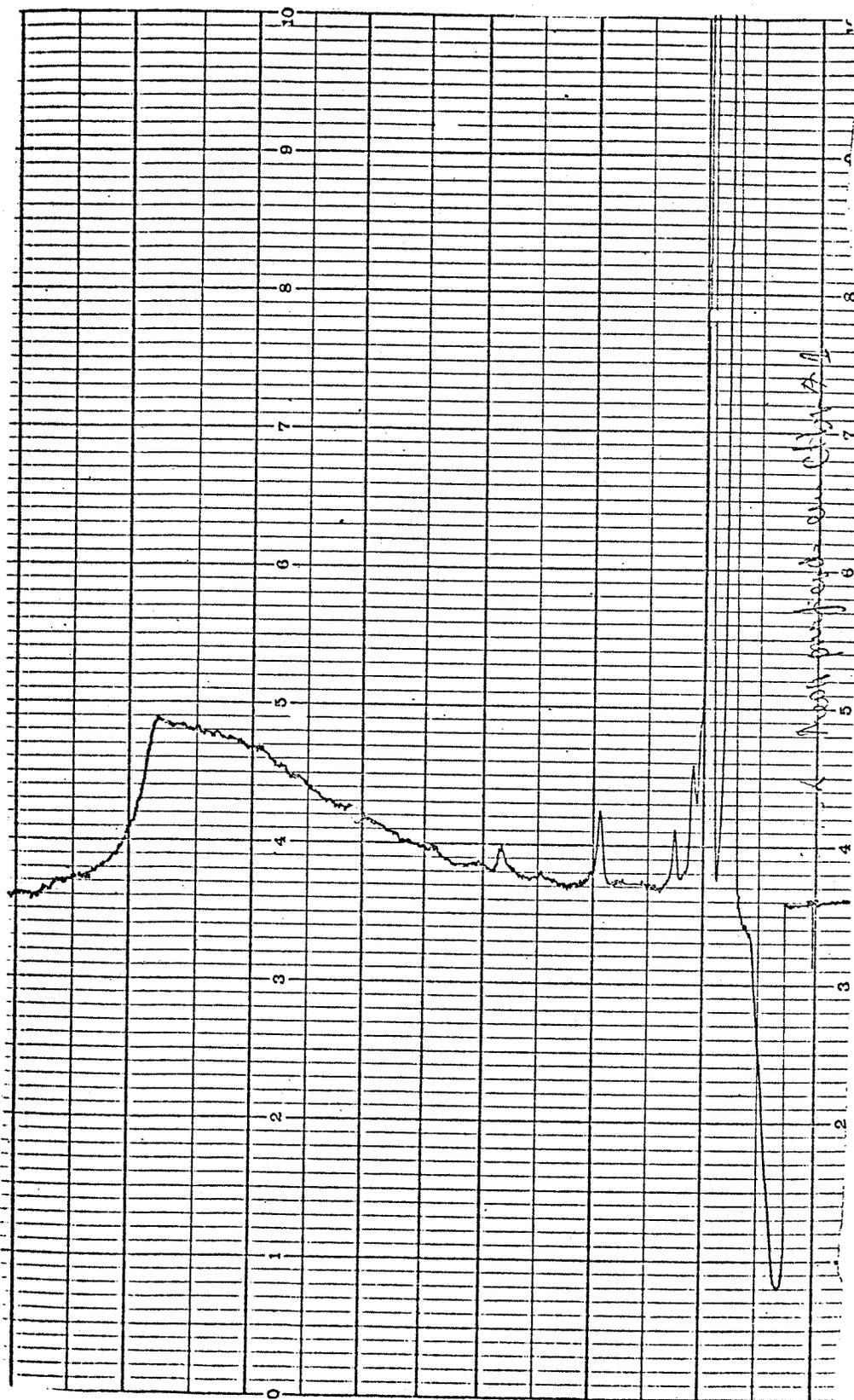


Figura A.9 - Metanol purificado pelo grupo de Análise Orgânica da UFPr por métodos físicos e químicos.

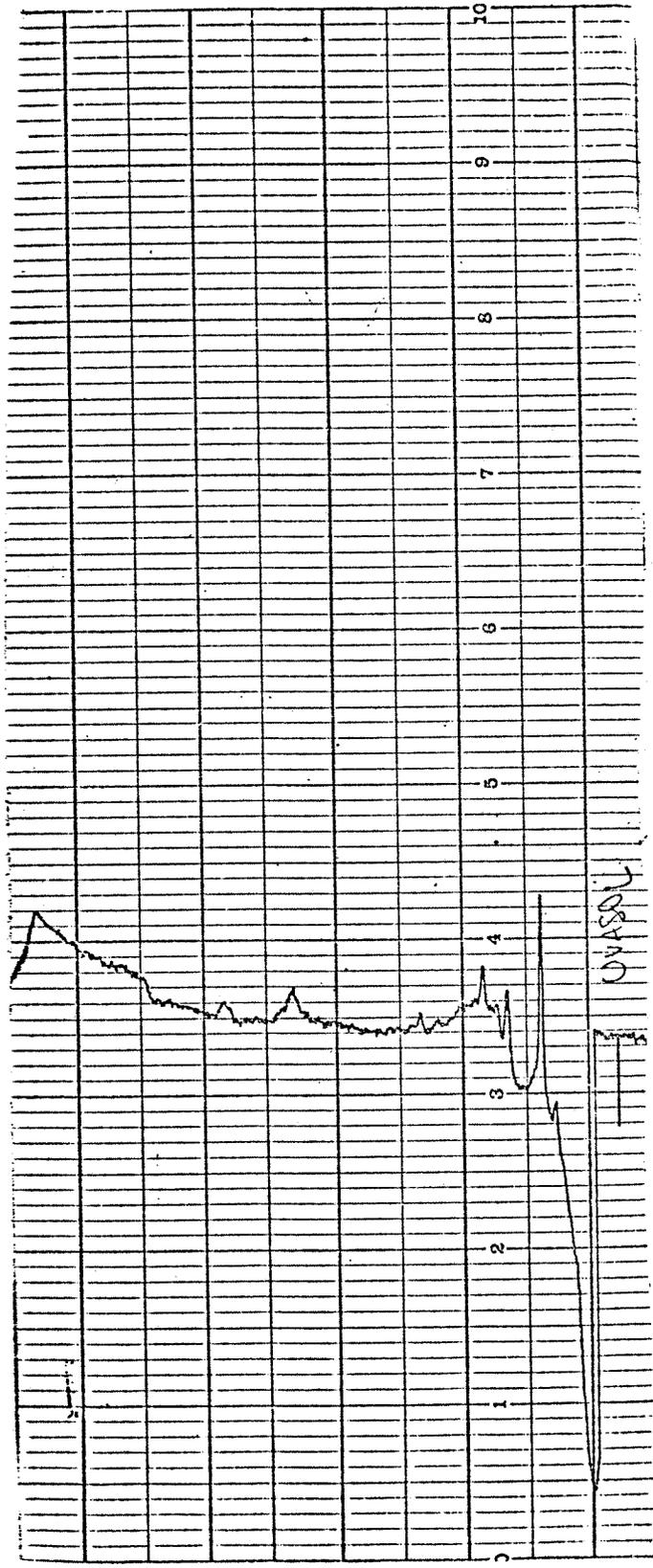


Figura A.10 - Metanol UVASOL, para espectroscopia.

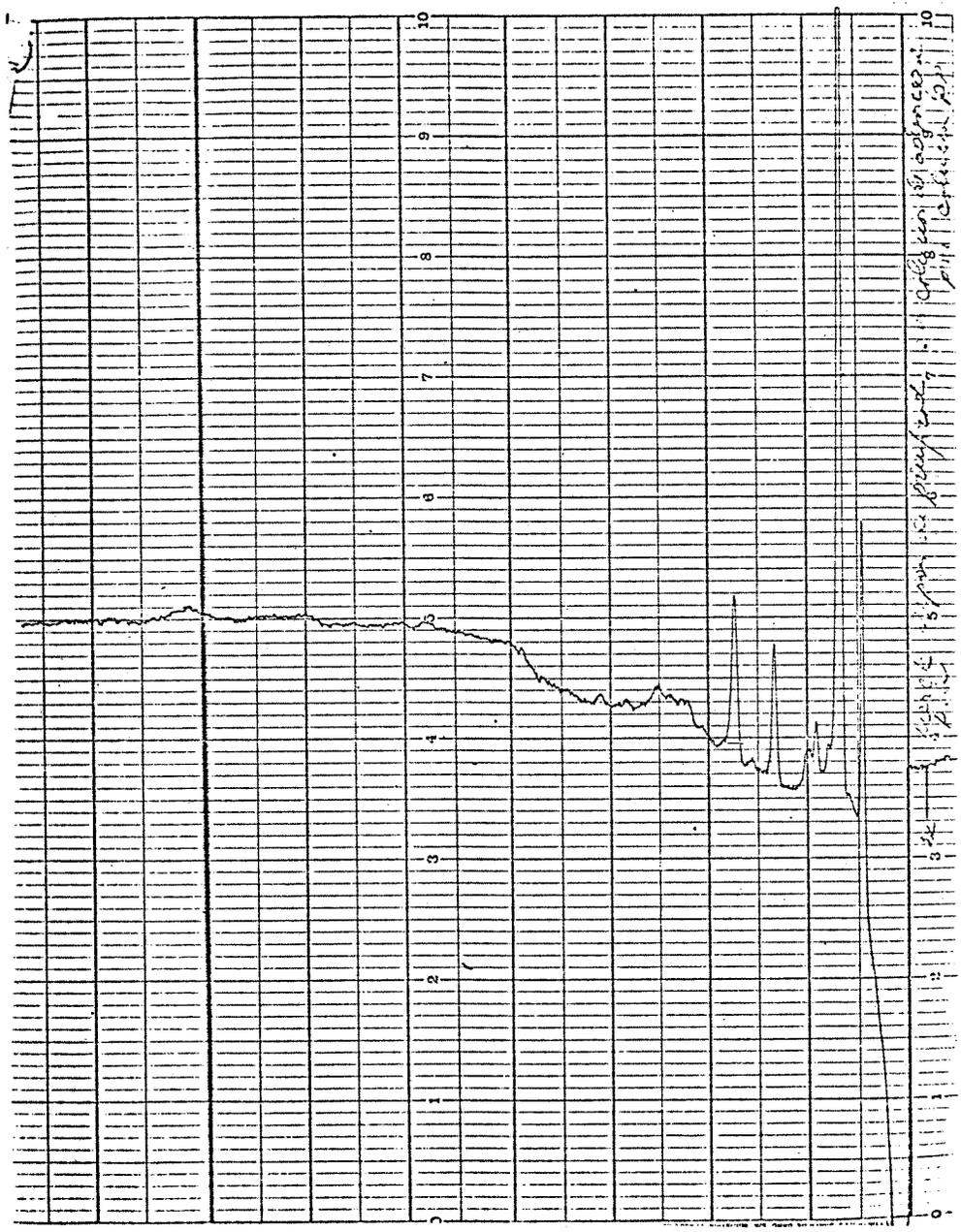


Figura A.11 - Metanol Merck (p.a) purificado por métodos físicos (colunas de absorção e destilação) e passado por coluna de fase reversa.

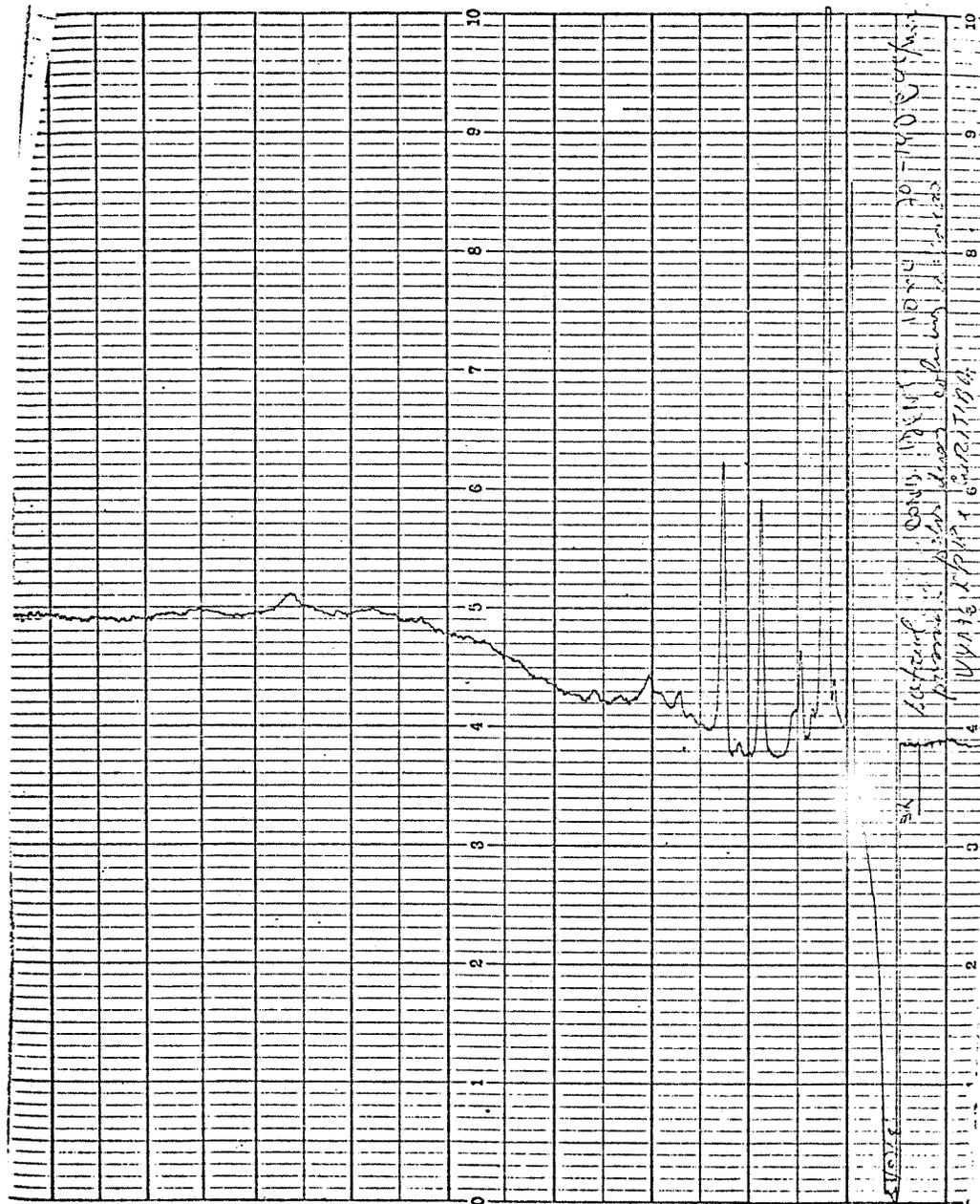


Figura A.13 - Metanol Carlo Erba, purificado por métodos físicos (colunas de absorção e destilação) e passado por colunas de fase reversa.

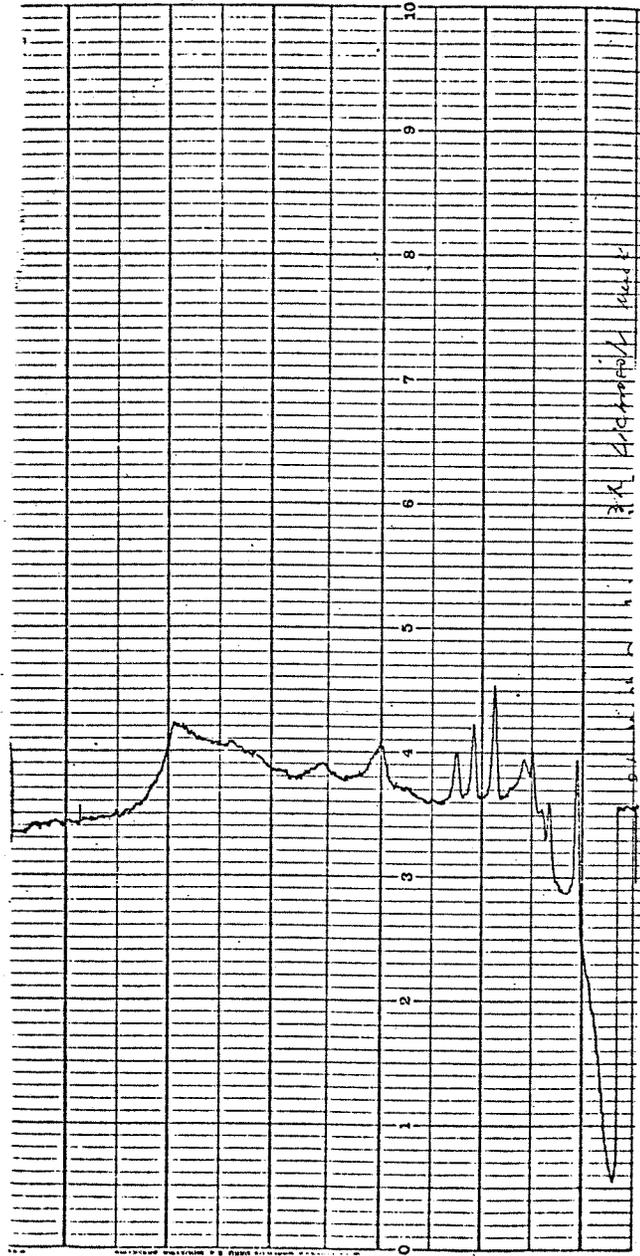


Figura A.14 - Metanol LiChrosorb para CLAE.

Apêndice 11 — Espectros no ultravioleta dos metanóis e da água, usados como fase móvel em CLAE.

Nesta seção temos os espectros no ultravioleta dos metanóis e da água usados como fase móvel em CLAE. As medidas foram feitas em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho ótico, usando-se como referência o ar. Em cada gráfico estão representados os comprimentos de onda e a sensibilidade em unidades de absorbância - U.A.

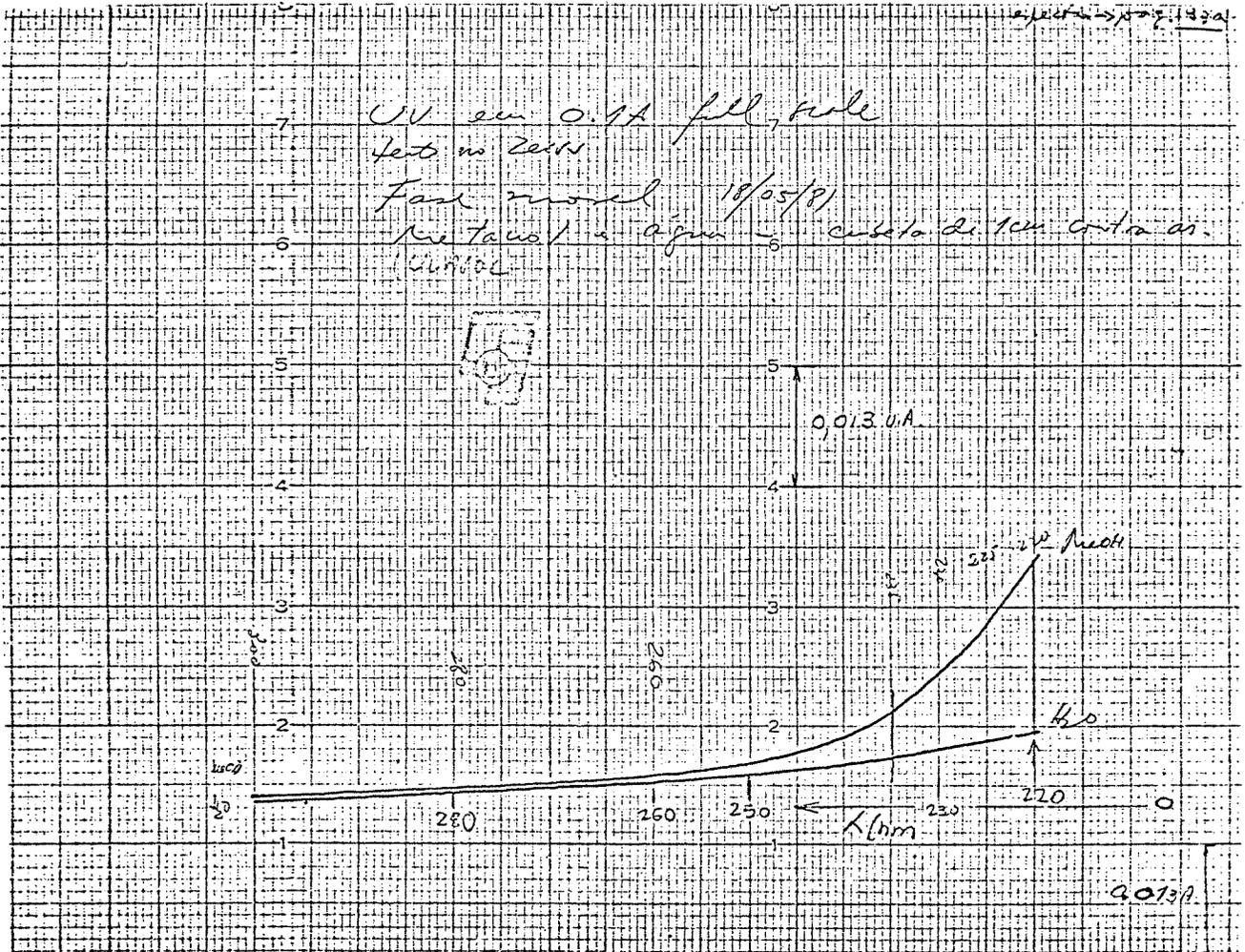


Figura A.15 - Espectros no ultravioleta do metanol UVASOL e da água para CLAE. Instrumento: Espectrofotômetro visível - UV, Zeiss PMQ - II.

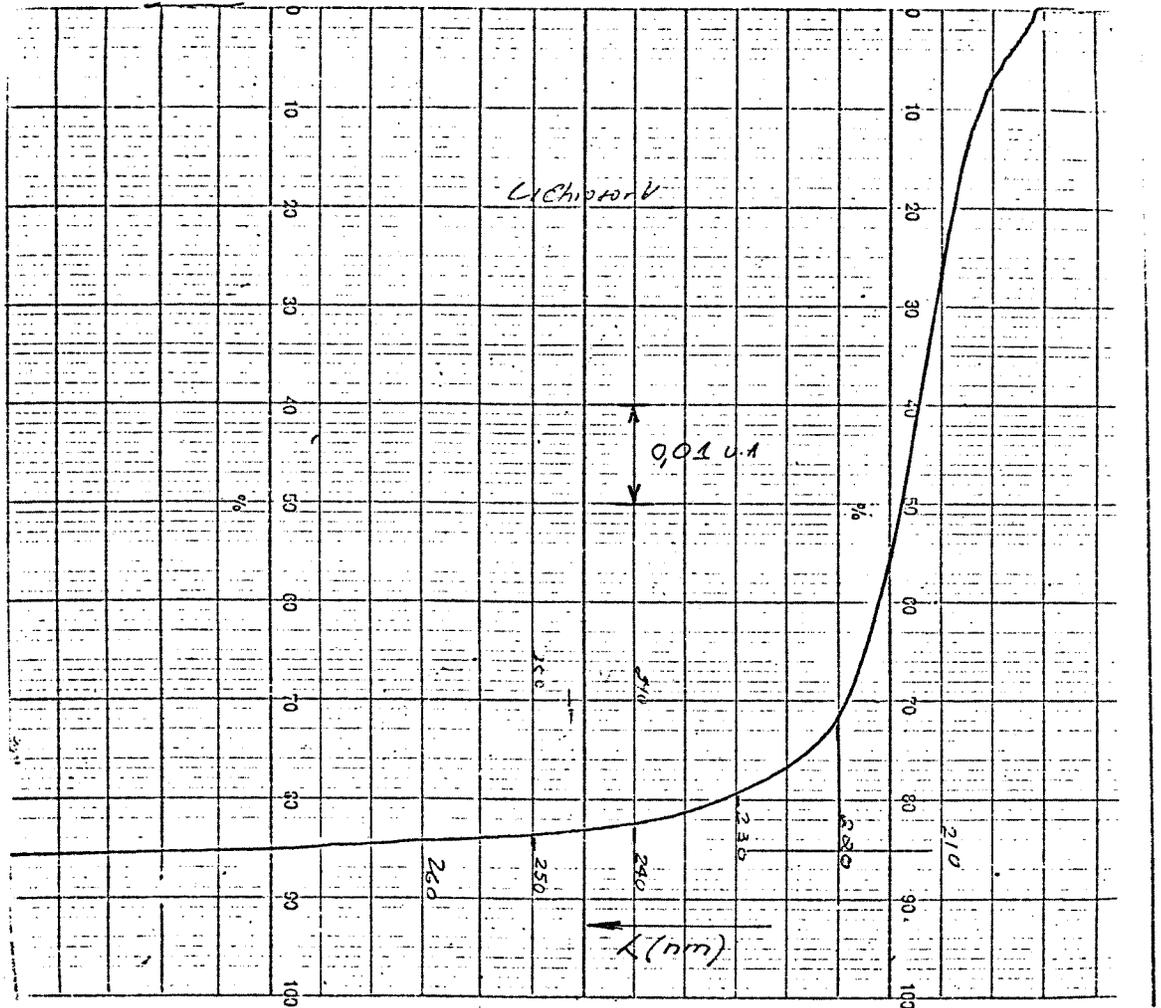


Figura A.16 - Espectro no ultravioleta do metanol LiChrosolv. Instrumento: Espectrofotômetro visível - UV, Zeiss PMQ - II.

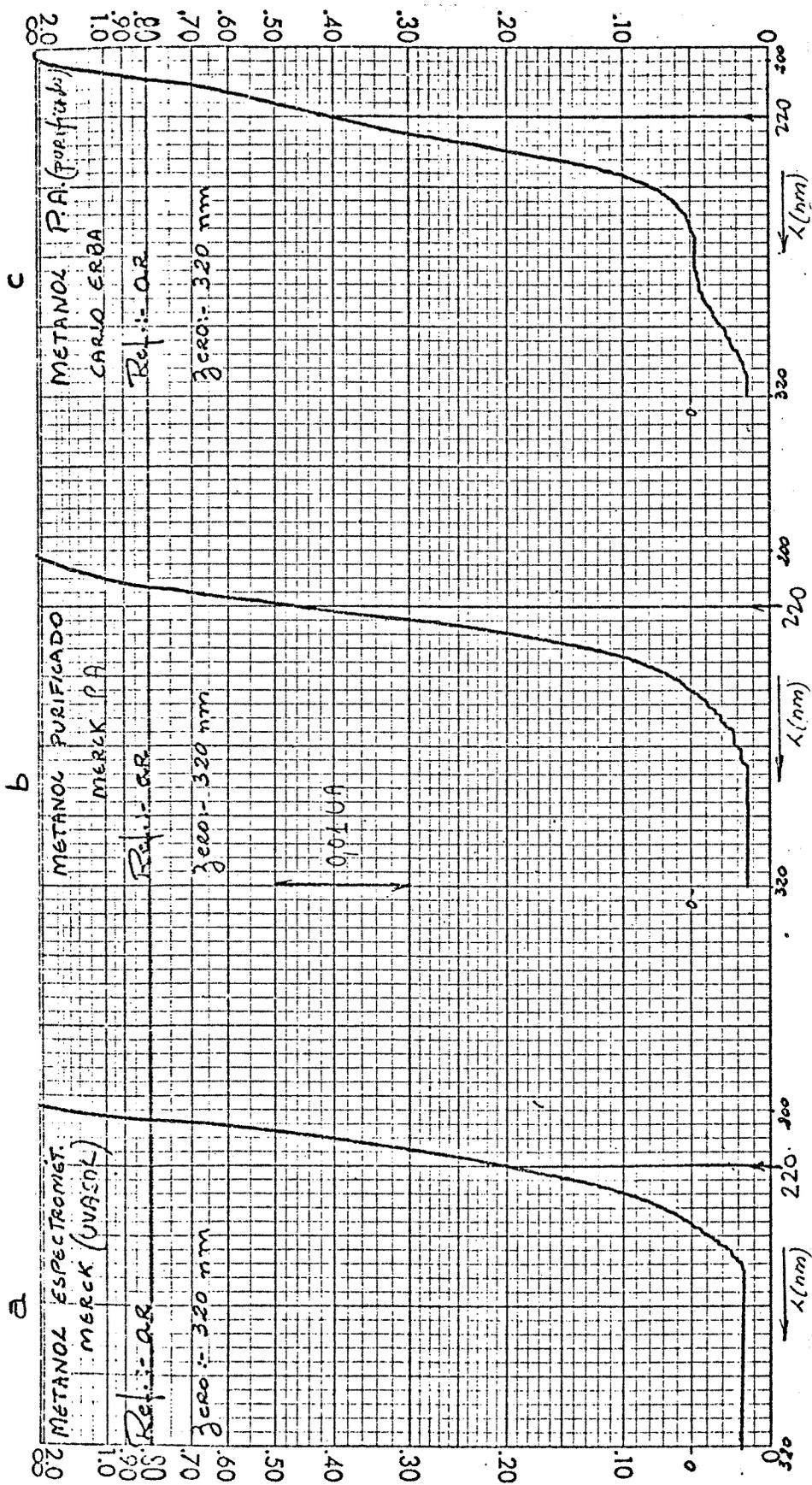


Figura A.17 - Espectro no ultravioleta dos metanóis: a - metanol UVASOL; b - metanol Merck purificado por métodos físicos e químicos; c - metanol Carlo Erba purificado por métodos físicos e químicos. Instrumento: Espectrofotômetro Beckman DB-G.

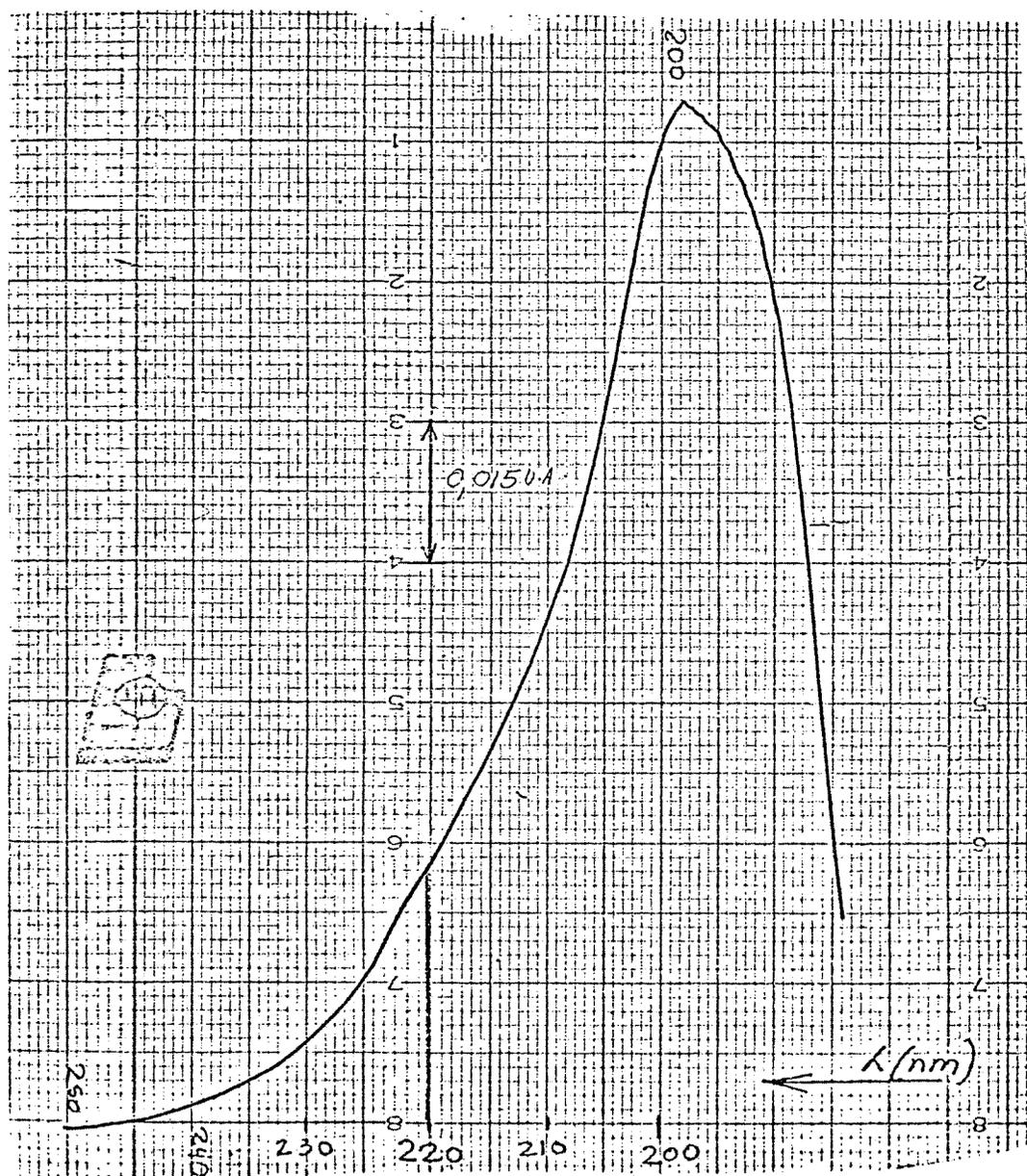


Figura A.18 - Espectro do metanol Merck (p.a) purificado por métodos físicos (colunas de absorção e destilação) e por coluna de fase reversa. Instrumento: Espectrofotômetro Zeiss PMQ - II.

Apêndice 12 - Espectros de massa de compostos per-halogenados

Os espectros com diagramas de barras foram obtidos por CG-EM do produto da irradiação do CBr_4 em CCl_4 , com nêutrons térmicos. Os espectros apresentados na forma de picos foram obtidos por injeção direta de padrões na câmara de ionização.

As prováveis fragmentações estão mostradas em cada espectro e destacam o valor de m/e do íon contendo os isótopos mais leves, isto é, $CCl^{284}Br_3$ indicando $C^{35}Cl^{79}Br_3$ com valor de m/e = 284.

A verificação do número e tipos de halogênicos em cada fragmento pode ser feita por comparação do multiplete correspondente ao fragmento, com multipletes obtidos teoricamente, como apresentado na próxima página. Como exemplo, podemos usar o multiplete com m/e 205, 207, 209, 211 e com abundâncias aproximadas de 4, 9, 6, 1, respectivamente, obtidas para o $CClBr_3$. A distribuição teórica é idêntica a esta e caracteriza dois átomos de cloro e um átomo de bromo no fragmento.

Condições experimentais:

a) Espectros das Figuras 12.2 até 12.7.

Instrumento: Finnigan modelo 4000 CG/EM.

Coluna: 5% OV-17 com temperatura programada de 50 a 140°C a 6°C/minuto.

Energia de ionização: 70 e V.

b) Espectro das Figuras 12.8 até 12.10.

Instrumento: Finnigan modelo 3000D CG/EM.

Coluna: 20% SP 2100/0,1% Carbowax 1500 com temperatura, programada de 50 a 140°C a 6°C/minuto.

Energia de ionização: 70 e V.

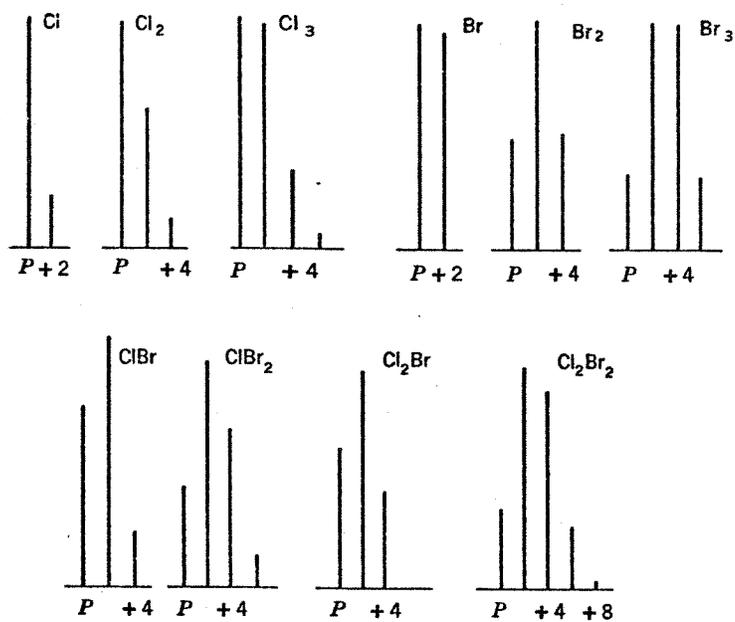


Figura A.19 - Multipletes obtidos teoricamente, para moléculas que contêm isótopos de cloro e de bromo (147).

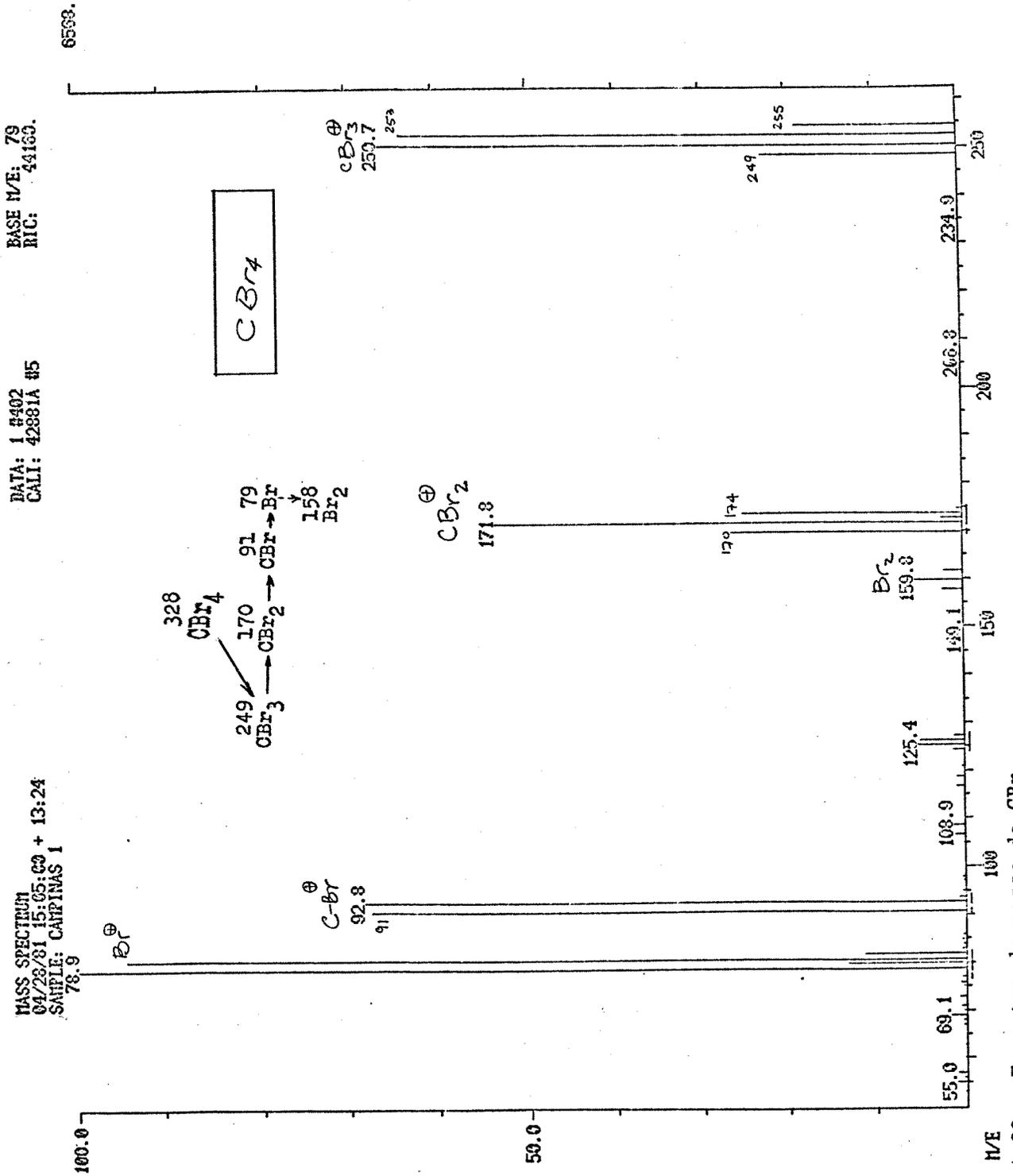


Figura A.20 - Espectro de massa do CBr₄.

MASS SPECTROMETER
04/28/81 15:53:00 + 8:44
SAMPLE: CARFINAS 1

CALL: 42881A #5

RIC: 5488

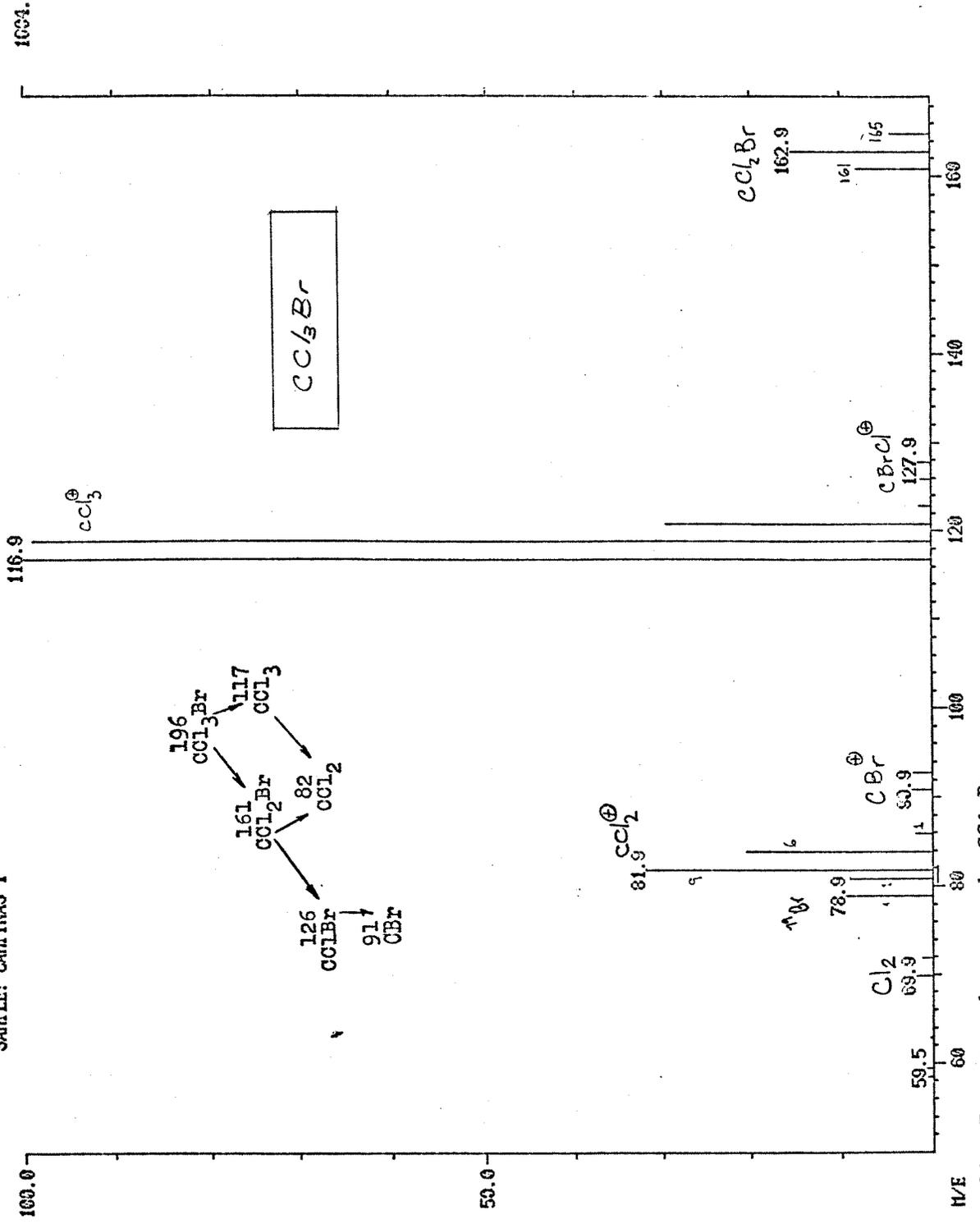


Figura A.21 - Espectro de massa do CCl_3Br .

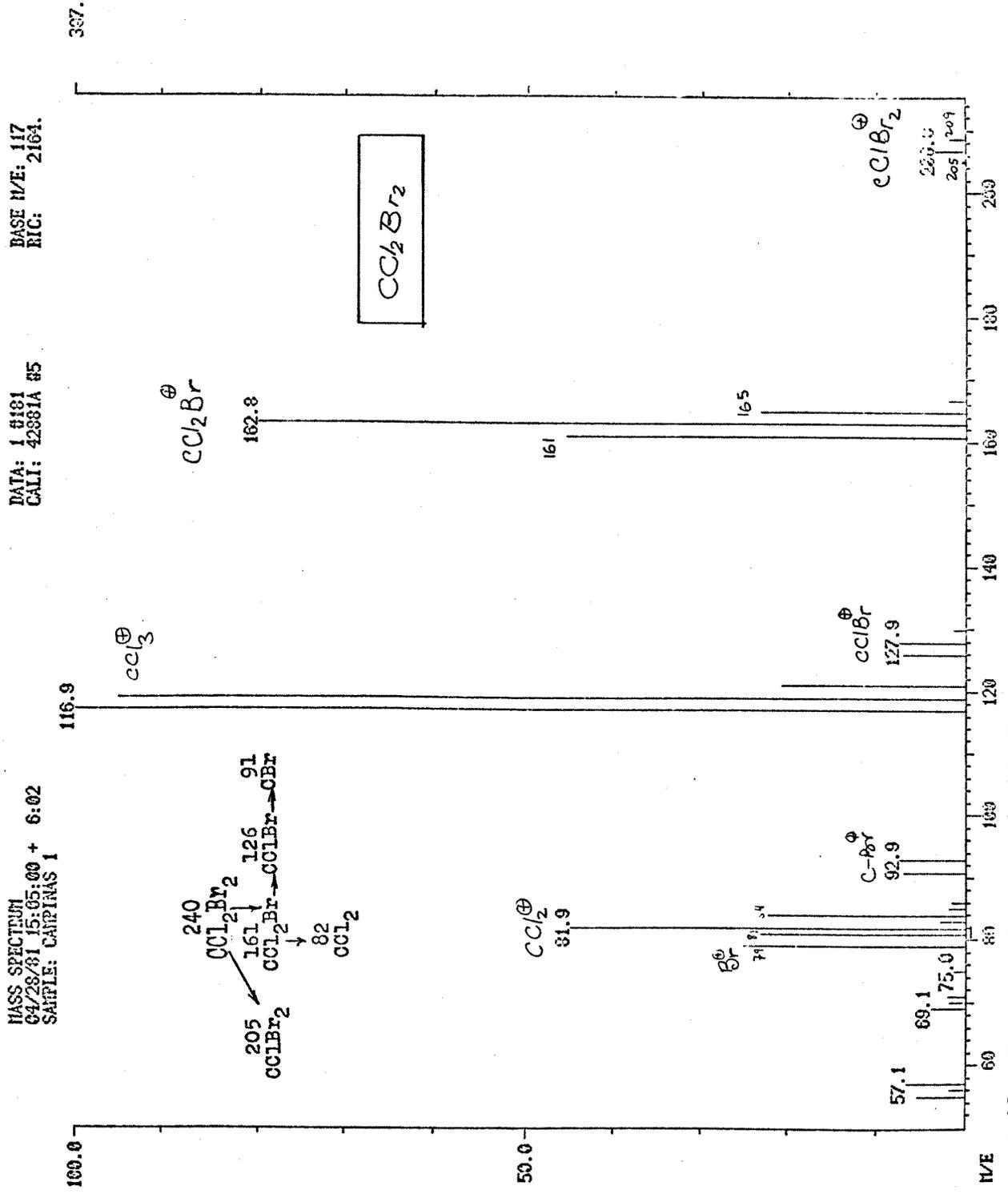


Figura A.22 - Espectro de massa do CCl₂Br₂.

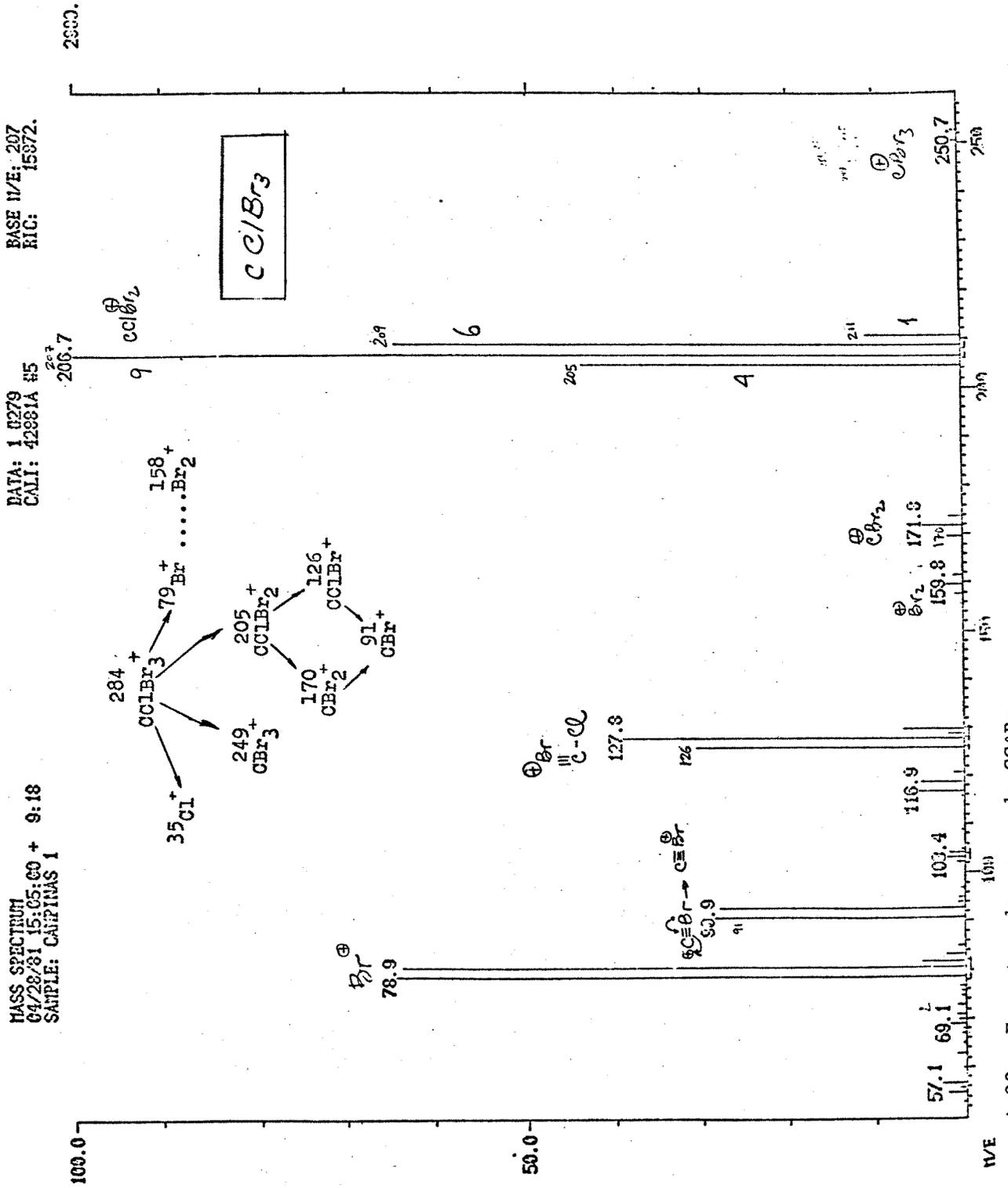


Figura A.23 - Espectro de massa do $CClBr_3$.

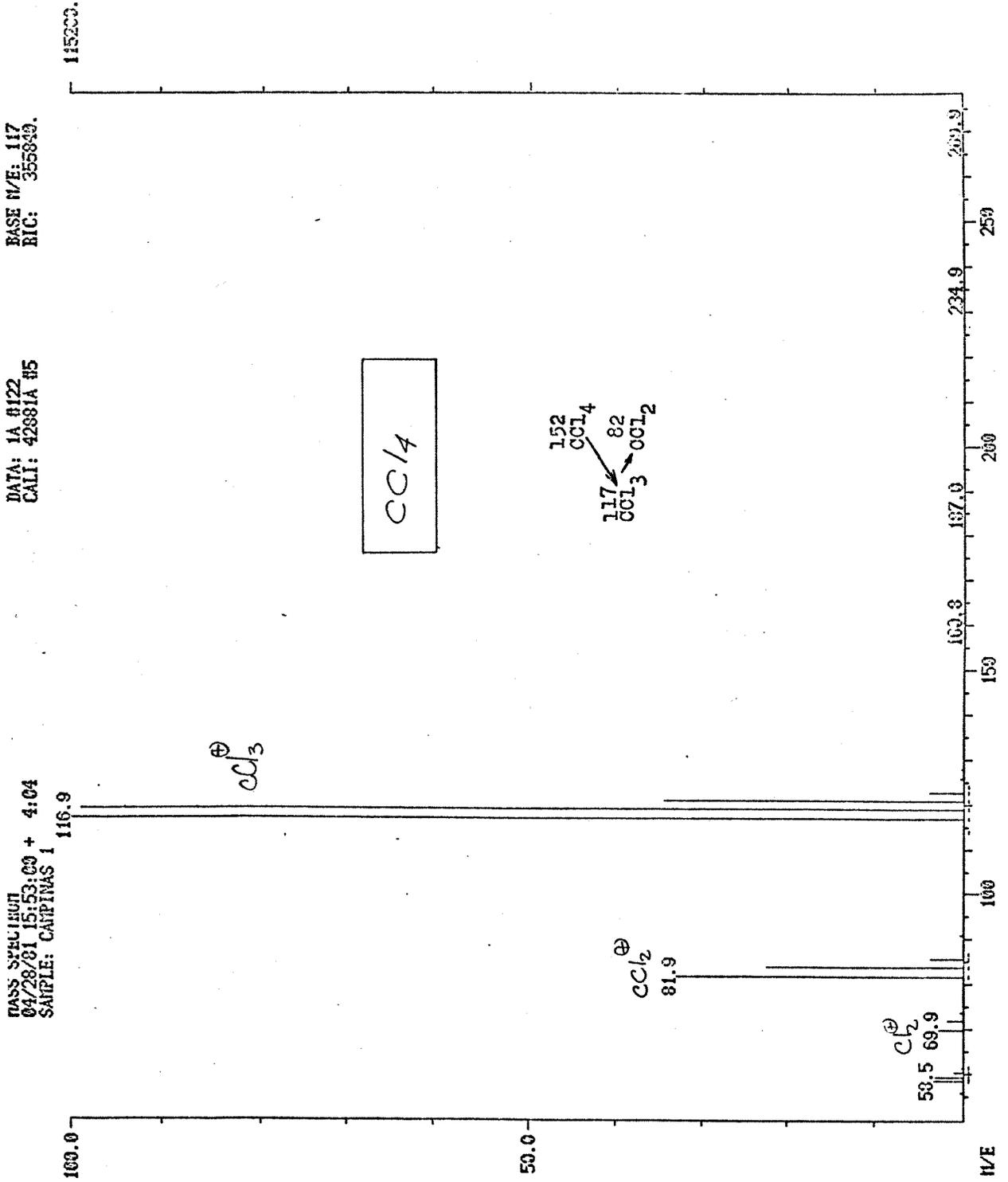


Figura A.24 - Espectro de massa do CCl_4 .

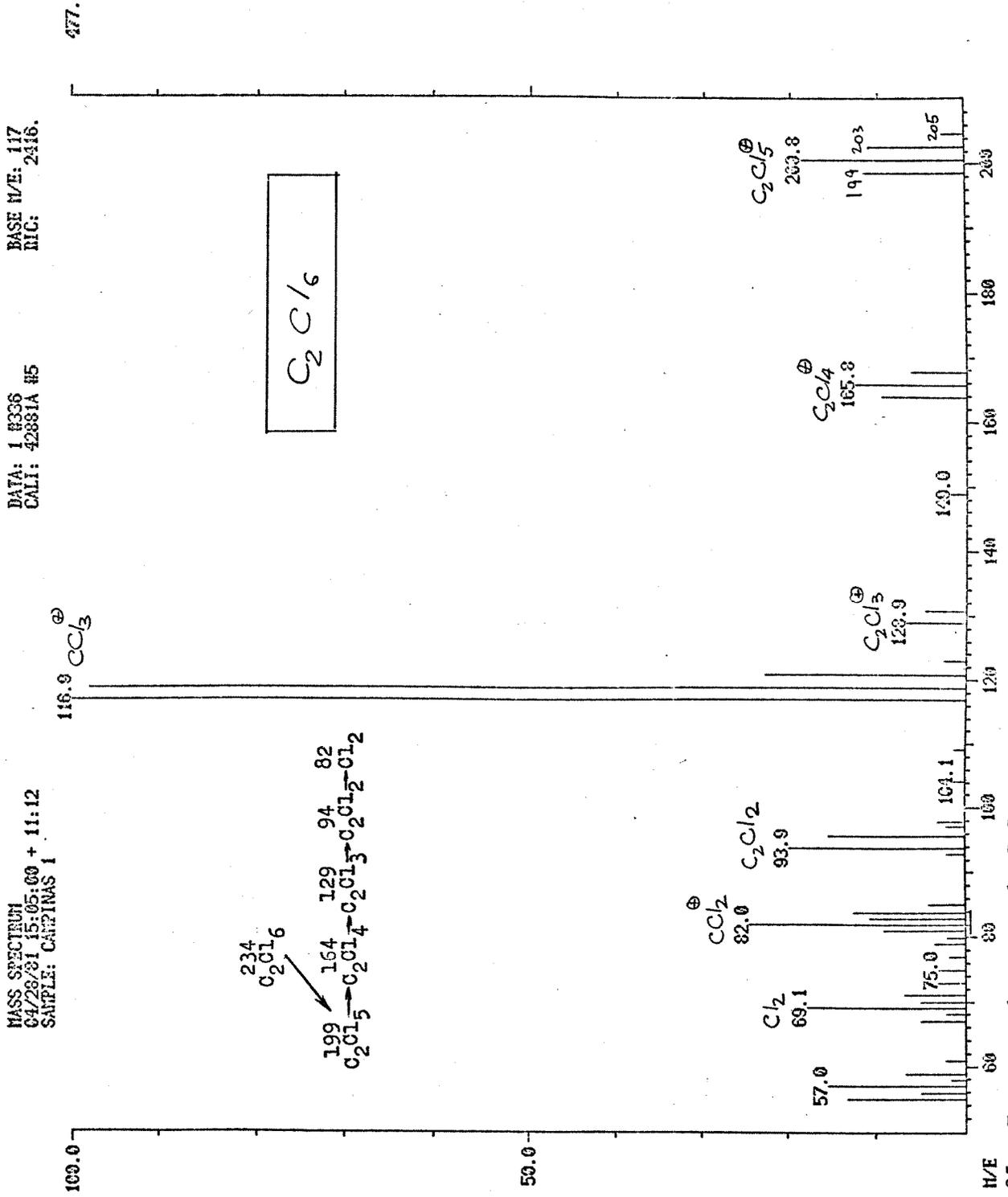


Figura A.25 - Espectro de massa do C_2Cl_6 .

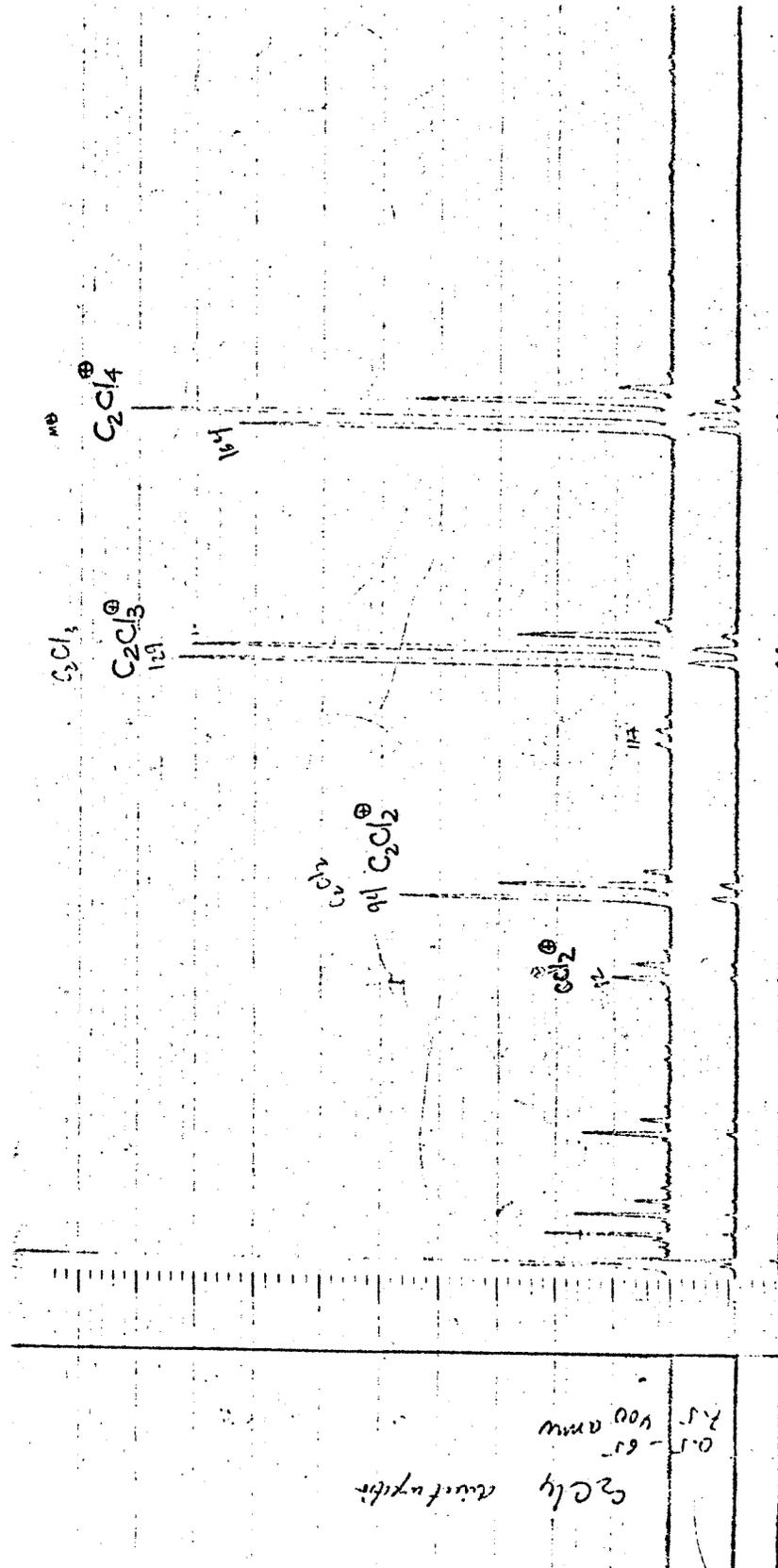


Figura A.26 - Espectro de massa do C_2Cl_4 .



Figura A.27 - Espectro de massa do C₂Br₆.

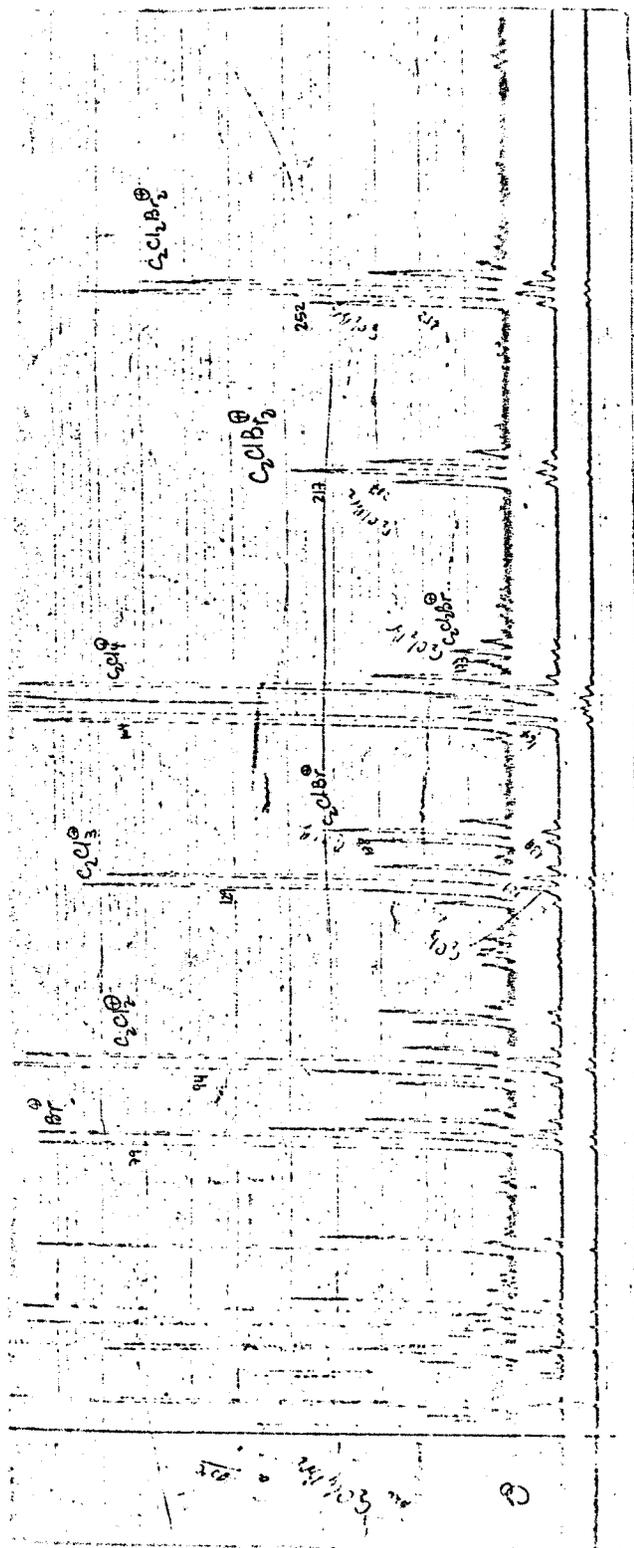


Figura A.28 - Espectro de massa do $C_2Cl_4Br_2$.

Apêndice 13 - Valores de resolução (R_s) para várias relações entre as áreas dos picos (208).

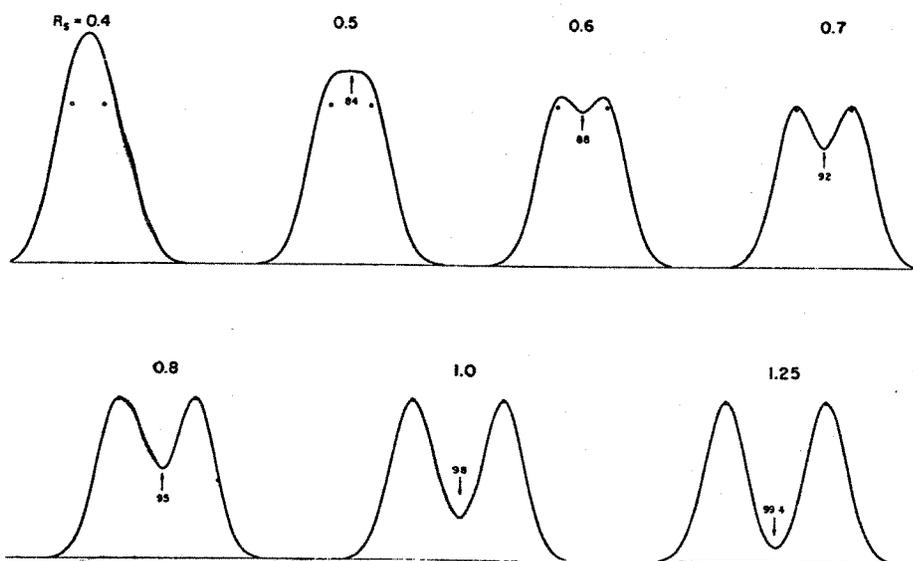


Figura A.29 - Para relação de áreas de 1/1.

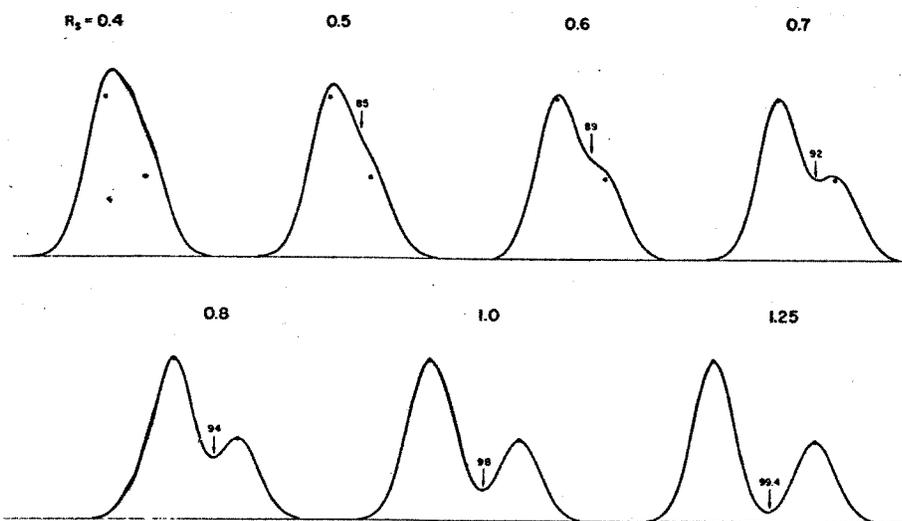


Figura A.30 - Para relação de áreas de 2/1.

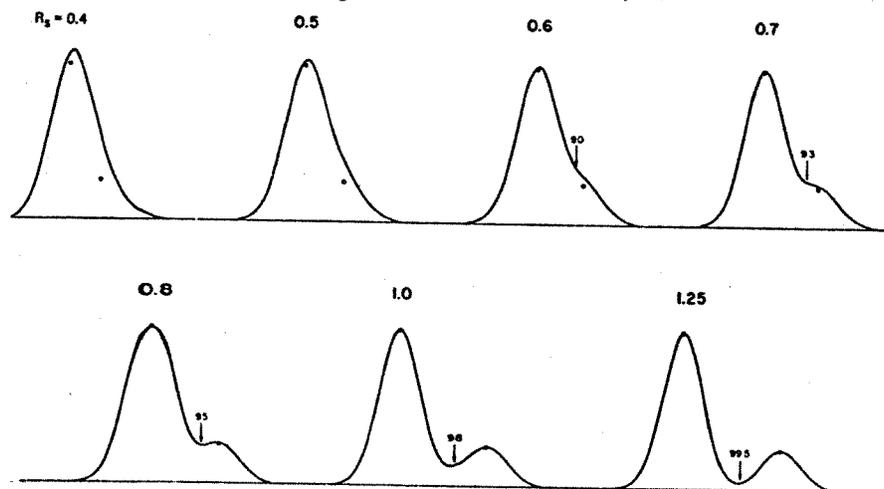


Figura A.31 - Para relação de áreas de 4/1.

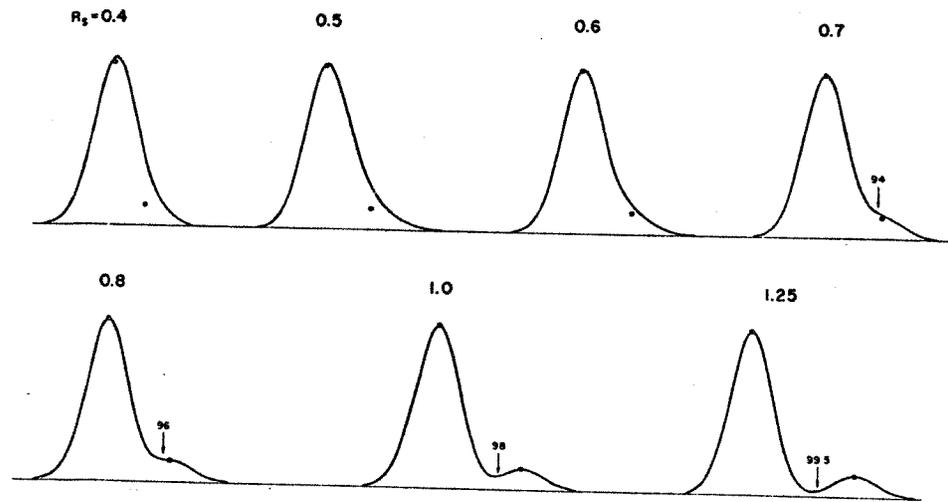


Figura A.32 - Para relação de área de 8/1.

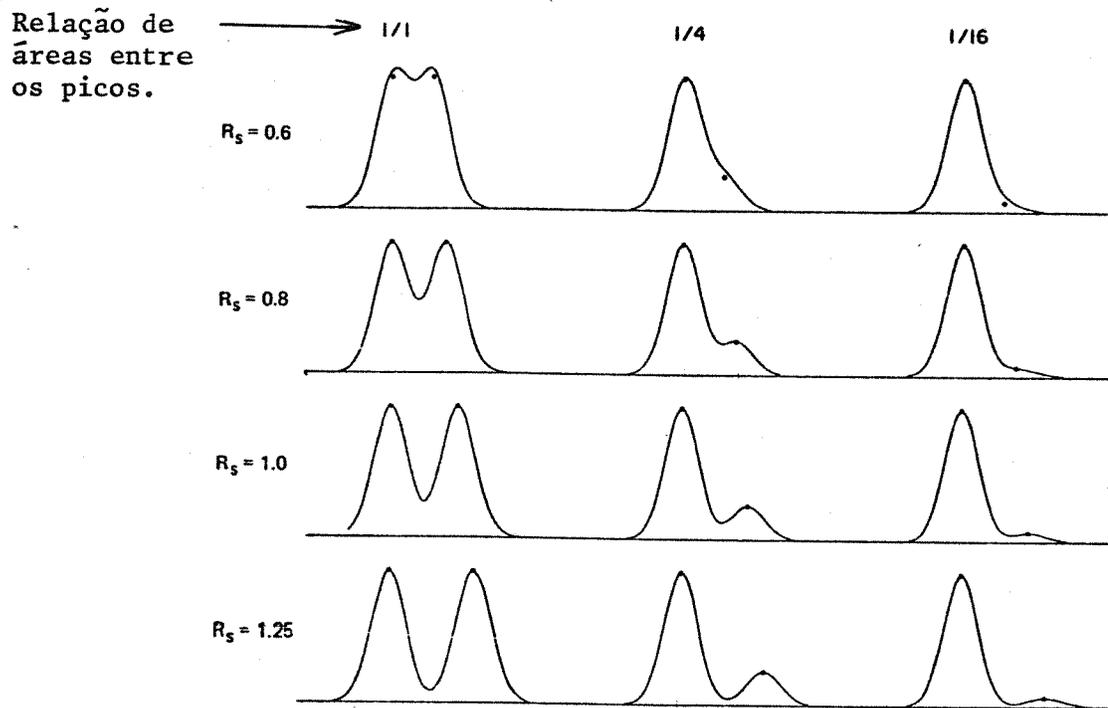


Figura A.33 - Separação em função de R_s e da relação de área entre os picos.

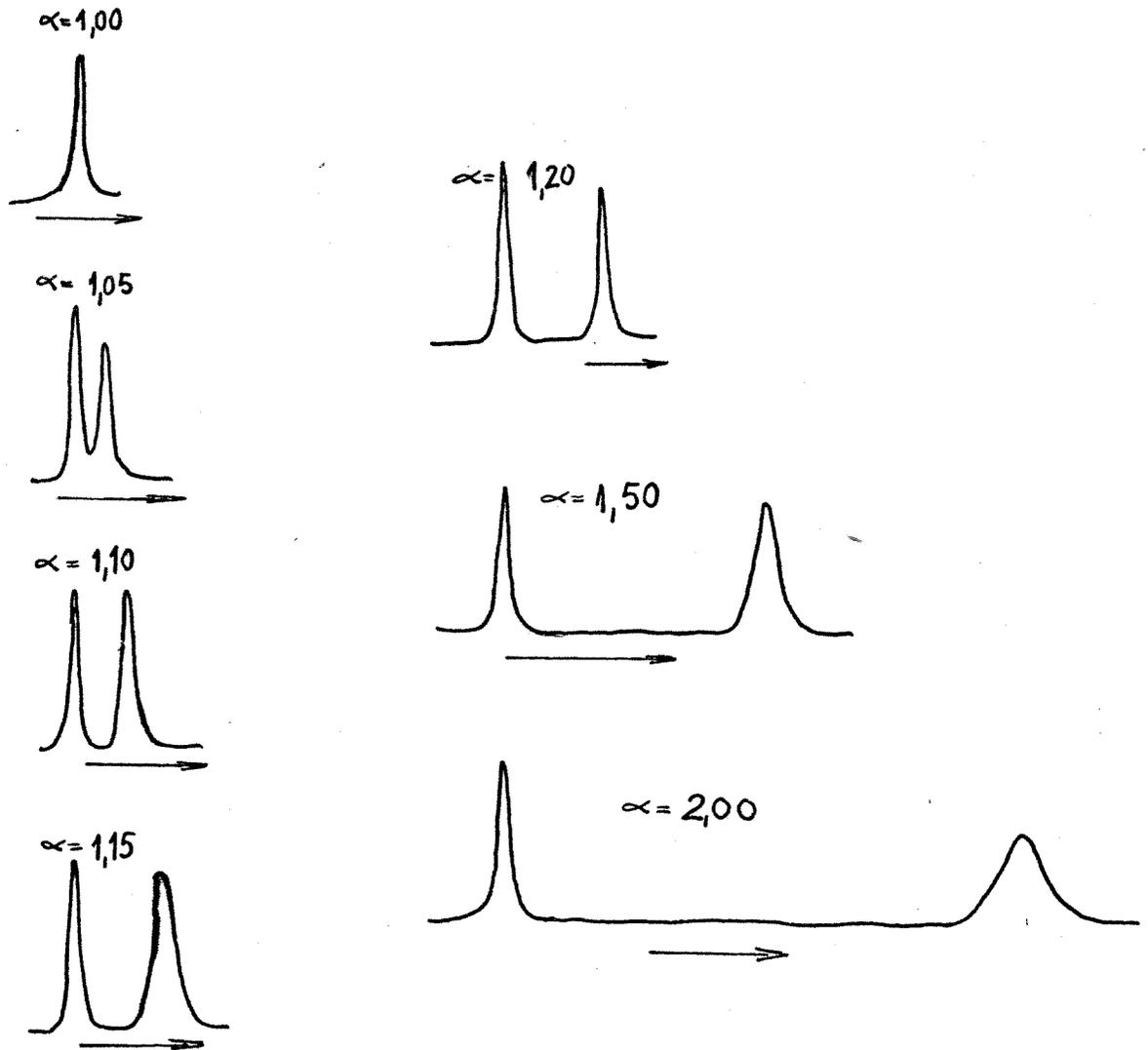


Figura A.34 - Valores de α tais que os valores de t_R do primeiro pico e os valores de t_0 são os mesmos para todas as situações.