

- Blucher, EDUSP, São Paulo, 1974, V. I, cap. 1.
- ³ A. Saytzeff, *Ann. Chem. Pharm.*, 144 (1867).
 - ⁴ *Time*, 115 (17), 40 (1980).
 - ⁵ H. H. Szmant, "The sulfur-oxygen bond". In: A. Senning, ed., *Sulfur in Organic and Inorganic Chemistry*. New York, Marcel Dekker, 1971, V. 1, cap. 5.
 - ⁶ H. Phillips, *J. Chem. Soc.*, 127, 2552 (1925).
 - ⁷ P. W. B. Harrison, J. Kenyon e H. Phillips, *J. Chem. Soc.*, 2079 (1926).
 - ⁸ E. V. Bell e G. M. Bennett, *J. Chem. Soc.*, 1798 (1927).
 - ⁹ K. Fries e W. Vogt, *Ber.*, 44, 756 (1911).
 - ¹⁰ E. V. Bell e G. M. Bennett, *J. Chem. Soc.*, 3189 (1928).
 - ¹¹ E. V. Bell e G. M. Bennett, *J. Chem. Soc.*, 15 (1929).
 - ¹² E. V. Bell e G. M. Bennett, *J. Chem. Soc.*, 1 (1930).
 - ¹³ G. M. Bennett e E. S. Statham, *J. Chem. Soc.*, 1684 (1931).
 - ¹⁴ H. Baw, G. M. Bennett e P. Dearn, *J. Chem. Soc.*, 680 (1934).
 - ¹⁵ M. M. Campos (coord.), *Química Orgânica*. Ed. Edgard Blucher, EDUSP, São Paulo, 1976, V. 2, cap. 15 e 20.
 - ¹⁶ V. M. Potapov, *Stereochemistry*. Versão para o inglês de A. Beknazarov, MIR Publishers, Moscow, 1979, cap. 1.
 - ¹⁷ M. Orchin e H. H. Jaffé, *J. Chem. Educ.*, 47, 247 (1970).
 - ¹⁸ C. D. Mickey, *J. Chem. Educ.*, 57, 442 (1980).
 - ¹⁹ C. R. Johnson e D. McCants, Jr., *J. Amer. Chem. Soc.*, 87, 5404 (1965).
 - ²⁰ H. M. M. Shearer, *J. Chem. Soc.*, 1394 (1959).
 - ²¹ F. Montanari e A. Negrini, *Gazz. Chim. Ital.*, 89, 1543 (1959).
 - ²² M. Cinquini, S. Colonna e F. Taddei, *Boll. Sci. Fac. Chim. Ind. Bologna*, 27, 231 (1969).
 - ²³ M. Cinquini e S. Colonna, *Int. J. Sulfur Chem.*, 8, 603 (1976).
 - ²⁴ H. Nieuwenhuys, *Oxideñ van dithia-alkanen, synthese en eigenschappen*. Tese de doutoramento, Rijksuniversiteit, Leiden, 1971.
 - ²⁵ H. Nieuwenhuys e R. Louw, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 839 (1973).
 - ²⁶ N. Kunieda, J. Nokami e M. Kinoshita, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 49, 256 (1976).
 - ²⁷ T. Svinning, F. Mo e T. Bruun, *Acta Cryst.*, B 32, 759 (1976).
 - ²⁸ G. Pelizzi, G. Michelon e M. Bonivento, *Cryst. Struct. Comm.*, 5, 617 (1976).
 - ²⁹ L. Cattalini, G. Michelon, G. Marangoni e G. Pelizzi, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 96 (1979).
 - ³⁰ G. Pelizzi, L. Coghi, G. Michelon e M. Bonivento, *Cryst. Struct. Comm.*, 5, 621 (1976).
 - ³¹ G. Pelizzi, G. Michelon, G. Annibale e L. Cattalini, *Cryst. Struct. Comm.*, 5, 625 (1976).
 - ³² G. Pelizzi, G. Michelon, G. Annibale e L. Cattalini, *Cryst. Struct. Comm.*, 5, 629 (1976).
 - ³³ C. A. Filgueiras, C. Celso, G. H. Coelho e B. F. G. Johnson, *Inorg. nucl. Chem. Lett.*, 17, 283 (1981).
 - ³⁴ C. A. Filgueiras, P. R. Holland, B. F. G. Johnson e P. Raithby, *Acta Cryst. B*, 38, 2684 (1982).
 - ³⁵ J. A. P. Holanda, *Observações sobre a coordenação de íons lantanídios (III) com 1,2-bis (metilsulfinil) etano*, Tese de doutoramento, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1978.
 - ³⁶ V. K. L. Osorio e E. Giesbrecht, *An. Acad. Brasil. Ciênc.*, 52, 695 (1980).
 - ³⁷ S. K. Madan, C. M. Hull e L. J. Herman, *Inorg. Chem.*, 7, 491 (1968).
 - ³⁸ J. G. H. duPreez, W. J. A. Steyn e A. J. Basson, *J. South African Chem. Inst.*, 21, 8 (1968).
 - ³⁹ R. Louw e H. Nieuwenhuys, *Chem. Commun.*, 1561 (1968).
 - ⁴⁰ W. Otting e F. A. Nurgebauer, *Chem. Ber.*, 95, 540 (1962).
 - ⁴¹ R. F. Bryan, F. A. Carey e R. W. Miller, *J. Org. Chem.*, 44, 1540 (1979).
 - ⁴² F. Taddei, *Boll. Sci. Fac. Chim. Ind. Bologna*, 26, 107 (1968).
 - ⁴³ A. L. Ternay, Jr., *Quart. Rep. Sulfur Chem.*, 3, 145 (1968).
 - ⁴⁴ G. D. Kent, *Coordination Chemistry of Dissulfoxides*. Tese de doutoramento, Colorado State University, Fort Collins, 1970.
 - ⁴⁵ E. L. Eliel, *J. Chem. Educ.*, 57, 52 (1980).
 - ⁴⁶ R. M. Silverstein e R. T. La Londe, *J. Chem. Educ.*, 57, 343 (1980).
 - ⁴⁷ J. S. Todd e G. Rhodes, *J. Chem. Educ.*, 59, 820 (1982).
 - ⁴⁸ J. L. Greene e P. B. Shevlin, *J. Chem. Soc. D*, 1092 (1971).

ARTIGO

CONCEITOS BÁSICOS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A. L. P. Valente, C. H. Collins, J. E. Manfredi

*Universidade Estadual de Campinas – Instituto de Química
C.P. 6154 – Campinas, SP, Brasil.*

(Recebido 10/01/83)

INTRODUÇÃO

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é a mais nova das técnicas cromatográficas. Os primeiros infor-

mes sobre ela surgiram entre 1967 e 1969^{1,2}, cerca de quinze anos depois das primeiras informações sobre Cromatografia Gasosa (CG), e este lapso de tempo justifica o fato de atualmente a CG ser mais conhecida que a CLAE. Contudo,

os esforços existentes no sentido de tornar economicamente acessíveis os sofisticados equipamentos da CLAE³ deverão torná-la, em futuro próximo, numa técnica de procura generalizada, dada a sua versatilidade e possibilidade de aplicação a sistemas que não podem ser processados por CG, como a separação de compostos não-voláteis ou instáveis nas temperaturas empregadas em CG.

HISTÓRICO DA CLAE

Grob⁴ descreve uma seqüência de publicações, a partir de 1834, que resume muito bem os desenvolvimentos mais marcantes na história da Cromatografia. Os trabalhos comentados rapidamente a seguir são alguns dos que ajudaram a definir essas linhas de desenvolvimento. (para maiores detalhes ver a revisão de Morhy⁵).

1834 – Runge⁶ usou pedaços de tecido e papel para testar misturas de corantes de extratos vegetais.

1903 – Tswett⁷ separou pigmentos vegetais em colunas de CaCO₃ em pó, por arraste com éter de petróleo. Até 1919 ele publicou artigos e um livro, descrevendo mais de uma centena de sólidos com propriedades adsorventes e as técnicas de separação desenvolvidas. A Tswett é devido o nome “Cromatografia”.

1931 – Kuhn e Lederer⁸ revisaram e desenvolveram as técnicas de Tswett para separar as xantofilas da gema de ovo. 1940 – Wilson⁹ publicou o primeiro tratamento teórico da Cromatografia.

1941 – Martin e Syngé¹⁰ publicaram trabalho no qual propõem as bases da Cromatografia por partição, e aplicaram o conceito de Altura Equivalente a Um Prato Teórico (AEPT) à Cromatografia. Anteviram o surgimento da CG. Por este trabalho receberam o Prêmio Nobel de 1952.

1944 – Consden, Gordon e Martin¹¹ desenvolveram a técnica moderna de Cromatografia em Papel (CP).

1952 – James e Martin¹² apresentaram os primeiros resultados experimentais obtidos a partir da utilização de um gás como meio de arraste.

1956 – van Deemter, Zwiderweg e Klinkenberg¹³ defini-

ram a relação entre AEPT e parâmetros operacionais da coluna cromatográfica (equação de van Deemter).

1968 – Foram publicados os primeiros trabalhos^{1,2} relatando resultados experimentais que comprovaram a possibilidade de se usar equipamentos que, operando com fase móvel líquida sob pressão, possibilitam análises de rapidez comparável à CG e resultados muito satisfatórios. Esta técnica foi denominada, sucessivamente, Cromatografia Líquida de Alta Velocidade, Cromatografia Líquida de Alta Pressão e, como é hoje conhecida, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência¹⁴, do inglês High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTAIS DA CLAE

As características mais notáveis da CLAE destacam-se quando da comparação desta técnica com a Cromatografia Líquida convencional. Rapidamente, pode-se dizer que ela exige equipamento sofisticado (e caro), produz resultados quantitativos excelentes, é rápida e baseia-se numa teoria muito similar à da CG, que se encontra em estágio avançado de desenvolvimento (para discussão minuciosa, ver (15)). Basicamente, um sistema para CLAE dispõe do equipamento representado na figura 1.

Num sistema ideal de CLAE a fase móvel (FM) deve ser bombeada sob pressão, que pode variar de 20 a 300 atm, para dentro da coluna. Para não sacrificar a eficiência, a velocidade da FM deve ser constante, o que torna crítico o projeto da bomba. As colunas não devem ser grandes, para evitar excessivas diferenças entre as pressões da FM na entrada e na saída da coluna. Como as colunas são pequenas, o material de empacotamento deve ter grande superfície e uniformidade, o que exige micro-partículas de 5 a 50µm de diâmetro, ou seja, da ordem de 10 vezes menores que as empregadas em CG¹⁶, tornando necessário o uso de técnicas especiais e complexas de empacotamento. A preferência geral é pelo uso de partículas de rigorosa uniformidade, as quais exigem métodos de tecnologia sofisticada para a sua

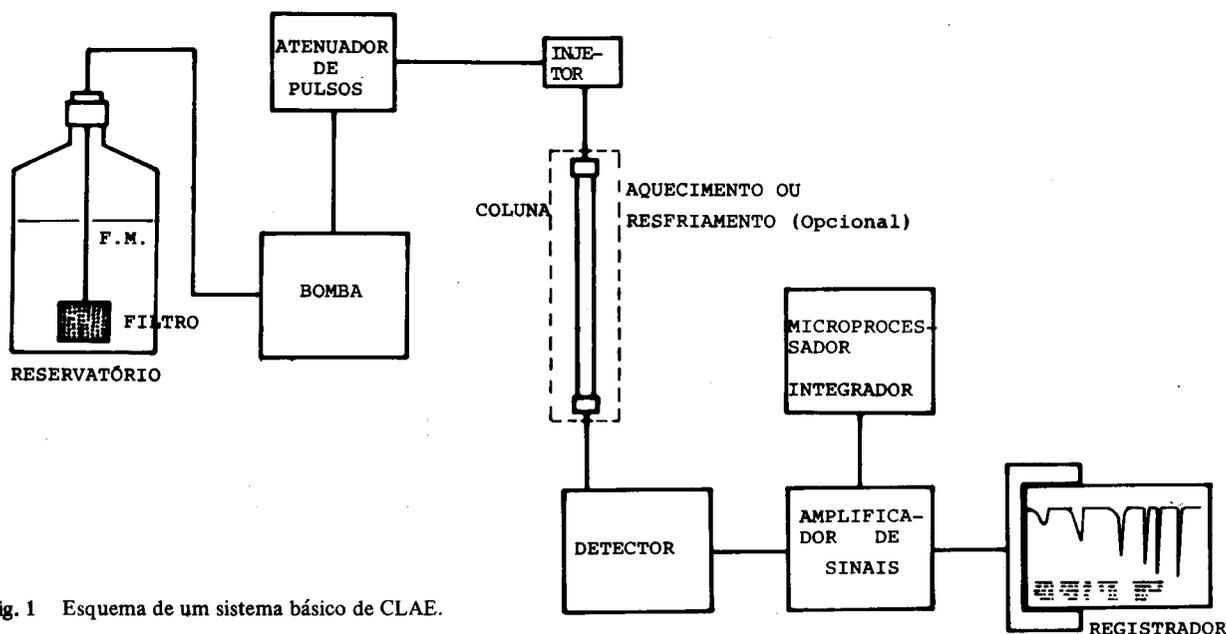


Fig. 1 Esquema de um sistema básico de CLAE.

fabricação. A amostra aplicada à coluna deve ser pequena (de 10 a 500 μ l¹⁷) para permitir boas resoluções, o que torna crítico o sistema de detecção. A aplicação da amostra é outro problema: é praticamente impossível injetar, com uma seringa, uma amostra num líquido que está a 30 atm na cabeça da coluna. Como esta pressão é quase o mínimo com que se trabalha em CLAE, é comum o uso de válvulas de injeção.

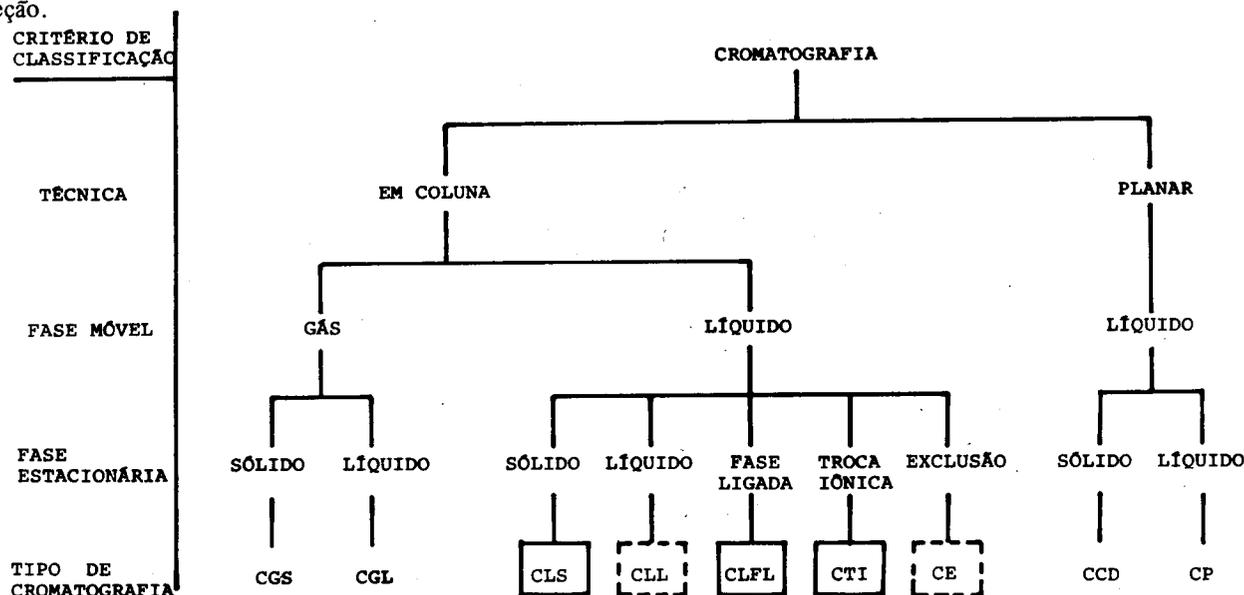


Fig. 2 As modalidades de Cromatografia. As modalidades CLS, CLFL, CTI são as mais usadas em CLAE, CLL e CE são pouco usadas.

Antes de passarmos para as discussões mais detalhadas, uma interpretação operacional do termo Eficiência é possível e necessária, para justificar o nome Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. A Eficiência de um sistema cromatográfico se traduz por picos agudos no cromatograma. Todos os sistemas de CLAE possuem esta característica, o que lhes assegura, invariavelmente, excelentes Resoluções (capacidade de separar componentes) porque a sobreposição de picos agudos é mais difícil que a de picos largos (para discussão detalhada da Resolução ver, p. ex. (15) e (19)).

Cromatografia Líquido-Líquido (CLL)

Emprega-se como fase estacionária (FE) um líquido depositado sobre um suporte sólido e inerte, finamente dividido, ou sobre a superfície interna de colunas capilares. A FM é sempre um líquido de baixa miscibilidade com a FE. Como o mecanismo de separação é o de partição entre os dois líquidos (FE e FM), ambos devem ser escolhidos em função da solubilidade da amostra em cada um deles. Conseqüentemente, serão miscíveis em alguma extensão, causando desgaste da coluna, uma vez que a passagem de alguns litros de FM removem, lentamente, a FE do suporte¹⁰. Embora existam técnicas para minimizar este problema, como a pré-saturação da FM com FE em pré-colunas, este sistema não tem uso geral, pois impede o uso da técnica de eluição com gradiente de polaridade da FM, extremamente útil em muitos casos¹⁷.

A CLL é subdividida em CLL em Fase Normal, quando a FM é apolar (p. ex. benzeno, n-hexano) e a FE é polar (p.

A título de ilustração, na figura 2 estão resumidas as modalidades da Cromatografia¹⁸, sendo que as indicadas em quadricúlos são as que constituem as variedades da CLAE.

As características gerais dessas modalidades da CLAE serão comentadas a seguir; os seus mecanismos de separação serão discutidos em artigo posterior.

ex. glicol), e CLL em Fase Reversa, quando é usada a FM polar e FE apolar.

Cromatografia Líquido-Sólido (CLS)

A FE é um sólido sob a forma de partículas de uniformidade variável, conforme a origem¹⁹. A FE pode ser polar, como a sílica, pérolas de vidro porosas ou alumina, ou apolar, como pérolas de polímeros orgânicos⁶. As FE mais modernas são pérolas com camada porosa (porous layer beads, PLB), também chamadas de peliculares, desenvolvidas a partir de 1967. A FM é um líquido, que pode ser polar, como etanol ou piridina, ou apolar, como hexano ou tetracloreto de carbono. Também podem ser usadas misturas de solventes, com polaridades ajustadas.

A CLS baseia-se num mecanismo de adsorção-desorção¹⁵ e pode ser subdividida em Adsorção em Fase Normal (FM apolar e FE polar) e Adsorção em Fase Reversa (FM polar e FE apolar). O uso da classificação CLS para os processos de adsorção já está consagrado, embora uma melhor designação pudesse ser Cromatografia de Adsorção Líquido-Sólido, pois existem outros modos de Cromatografia em que a FE é um sólido e a FM um líquido, como a Cromatografia de Troca Iônica e a de Exclusão, comentadas a seguir.

Cromatografia Líquida em Fase Ligada (CLFL)

A forma mais eficiente de evitar a lavagem da coluna pela FM (que limita o uso da CLL) foi desenvolvida por

Halasz e Sebastian em 1969²⁰, e consiste em ligar quimicamente a FE ao suporte. Esta técnica de preparação da coluna permitiu o surgimento da Cromatografia Líquida em Fase Ligada, como alternativa à CLL. Atualmente, a CLFL é a forma mais representativa de CL, por causa da possibilidade de se explorar o alcance de um mecanismo de separação que se baseia num compromisso entre adsorção e partição¹⁹, e que permite aplicações variadas. Além disto, as colunas não têm vida curta como as empregadas em CLL.

Cromatografia de Troca Iônica (CTI)

A FE mais comum é constituída de uma matriz rígida (resina) sob a forma de pérolas, geralmente derivadas de copolímeros de estireno e divinilbenzeno¹⁹, a qual são adicionados grupos funcionais ionizáveis. Assim são obtidas resinas catiônicas e aniônicas. A FE pode, também, ser constituída de uma película trocadora de íons depositada sobre pérolas de vidro¹⁹. Destas últimas, as mais estáveis são as quimicamente ligadas¹⁷. A FM é, geralmente, uma solução iônica com propriedades tamponantes, escolhida de forma a ser compatível com a FE usada, ou seja, se a FE retém cátions, a FM deve conter cátions capazes de substituí-los preferencialmente, promovendo sua separação.

A CTI baseia-se em mecanismo de separação predominantemente químico, com indícios experimentais de que diversos processos contribuem para o mecanismo global; por exemplo, a separação de algumas espécies com fases estacionárias ligadas à sílica é muito mais eficiente que a separação com resinas à base de poliestireno¹⁹.

A CTI pode ser classificada em Troca Catiônica, quando a FE tem sítios carregados negativamente e retém cátions, que serão deslocados pela FM, e Troca Aniônica, quando os sítios ativos da FE são carregados positivamente, retendo ânions. Existe, ainda, a técnica da Troca de Ligantes, em que os ligantes a serem separados complexam, diferencialmente, contra-íons metálicos ligados eletrostaticamente à resina¹⁷.

Cromatografia por Exclusão (CE)

A FE é um gel granuloso, com partículas de forma, tamanho e porosidade uniformes. Os géis utilizados podem ser rígidos¹⁷, feitos de vidro ou sílica, semi-rígidos¹⁹, derivados de poliestireno copolimerizado com divinilbenzeno, ou macios¹⁷, constituídos de dextrano. Os géis mais macios não são adequados para aplicação em CLAE, pois não suportam as pressões empregadas. O mecanismo detalhado da separação por exclusão é complexo¹⁷, embora o ideal seja muito simples: as moléculas são separadas porque as menores são capazes de penetrar nos poros da FE, ficando retidas em "zonas de calmaria" enquanto as maiores passam livremente entre os grânulos, acompanhando a FM, sendo que as de tamanho intermediário migram com velocidades variáveis entre estes dois extremos.

AS COLUNAS PARA CLAE

A superfície interna das colunas deve ser perfeitamente

polida, com o propósito de evitar a formação de canais estreitos, aos quais as partículas de suporte e FE não tenham acesso, propiciando tunelamento da FM e diminuindo a eficiência da separação. As colunas retas são preferíveis às em forma de U e às helicoidais, que perdem em eficiência, devido às características de fluxo hidrodinâmico da FM. As colunas normalmente empregadas em CLAE têm de 10 a 100 cm de comprimento, com capacidade de carga proporcional à área da secção transversal, o que faz com que o fluxo através da coluna seja proporcional à secção reta da mesma.

O empacotamento das colunas é feito com micro-partículas porosas (CLS), ou pela aplicação de uma película de FE sobre um suporte inerte (CLFL, CLL), que pode ser a própria superfície interna da coluna, ou um sólido microgranulado, usado como enchimento.

As colunas de CLAE são, via de regra, operadas à temperatura ambiente, havendo casos em que temperaturas superiores ou inferiores à ambiente são empregadas, com o propósito de melhorar a resolução.

A escolha de uma coluna deve recair sobre três parâmetros fundamentais: velocidade de separação, resolução e capacidade de processamento de amostra, sendo este último de importância decisiva nos casos em que se deseje efetuar testes ou tratamentos ulteriores com a amostra cromatografada.

O comprimento da coluna influi diretamente na velocidade de separação, condicionando a resolução (que é proporcional à raiz quadrada do comprimento¹⁹, enquanto o diâmetro interno se reflete na capacidade de processamento da amostra³). A quantidade de FE disponível (que depende da área superficial do suporte) e as interações FE-amostra-FM influem na quantidade de amostra que a coluna pode processar com boa resolução. O uso de suportes finamente divididos permite melhores resoluções, causando, por outro lado, retardamento do fluxo de FM, por oferecer caminhos mais estreitos à sua passagem, acarretando grande queda de pressão, que deve ser compensada pela bomba, de modo a se conseguir velocidade de operação conveniente. O uso de FE peliculada, aplicada ao longo da superfície interna da coluna, favorece o fluxo da FM, sendo a solução encontrada no caso de colunas capilares. Os suportes micro-granulados revestidos com películas de FE apresentam porosidade de profundidade reduzida para penetração da FM, fazendo com que este tipo de coluna ganhe em resolução, quando comparada à de macro-partículas.

A SEPARAÇÃO NA COLUNA: Uma interpretação simples.

Suponhamos que uma amostra constituída pelas moléculas X, Y e Z é injetada na coluna e que é adsorvida pela FE. Com a passagem da FM, X, Y e Z dividem-se entre a FM e a FE diferencialmente e a amostra é fracionada. Esta situação está representada na figura 3 onde estão esquematizados a FM em fluxo, uma partícula da FE sólida (*1) e uma molécula de cada soluto. No instante t_0 a FM ainda não retirou nada da amostra da FE. A partir de t_0 ocorrem

(*1) Para fins de exemplo hipotético, tanto faz imaginar a FE sólida, quanto a FE líquida como um filme sobre grânulos de um sólido.

interações e a molécula X é retirada. Então, dissolvida na FM, ela é arrastada para longe da partícula de FE (instante t_1). Desta forma são arrastadas Y (instante t_2) e Z (t_3). O fato das moléculas não serem arrastadas simultaneamente indica, ou que elas não se encontravam retidas com a mesma intensidade na FE, ou que elas não possuem a mesma afinidade pela FM, ou ambos (neste exemplo, a *ideal* é que as moléculas sejam adsorvidas pela FE com as intensidades relativas $Z > Y > X$ e que suas solubilidades na FM sejam $X > Y > Z$. Assim, somam-se os efeitos de adsorção com solubilidade para se conseguir a separação).

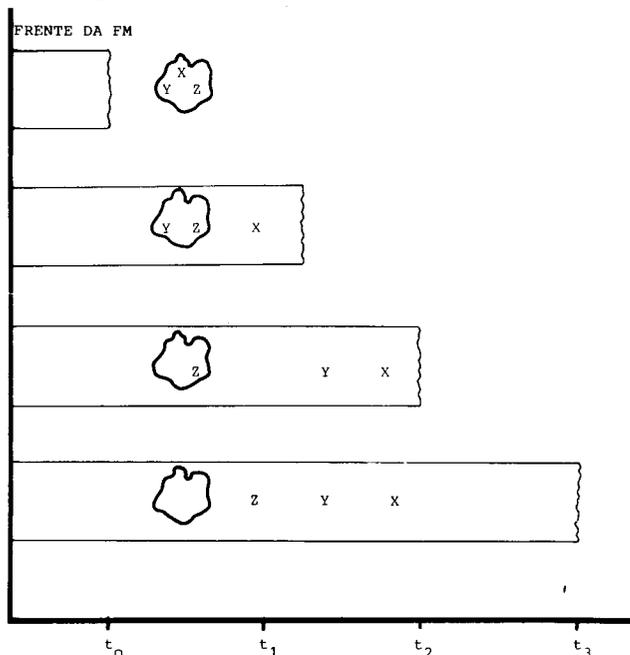


Fig. 3 Separação cromatográfica hipotética.

Depois de retiradas pela FM, X, Y e Z passam a se deslocar, *todas*, com a mesma velocidade μ_M da FM, até encontrarem outra partícula de FE. Como toda amostra tem muitas moléculas, toda coluna deve ter o maior número viável (*2) de partículas pois, assim, estatisticamente pode se prever que, *em média*, sempre que uma molécula de X encontra uma partícula de FE, as de Y e Z também o fazem (*3). Agora, como a intensidade de retenção das moléculas na FE é $Z > Y > X$, as moléculas tipo Z sofrerão maior retardamento, seguidas por Y e, depois, X. O resultado final é que as *velocidades médias* destas três espécies, dentro da coluna, serão diferentes (e todas menores que a velocidade da FM) e elas saem da coluna separadas.

Portanto, como a velocidade da FM é constante¹⁶ e as velocidades médias de X, Y e Z são diferentes, a ordem de saída destes solutos da coluna pode ser descrita pelos valores das razões, R, entre suas velocidades e a velocidade da FM. A razão R é denominada de Fator de Retardamento¹⁷ ou Retenção.¹⁵

$$R = \frac{\text{velocidade média da banda } i}{\text{velocidade média da FM}} = \frac{\bar{\mu}_i}{\bar{\mu}_M}$$

(*2) As melhores colunas são aquelas construídas com as menores partículas, pois num mesmo volume (de coluna) pode-se ter maior número de partículas da FE.

R é uma grandeza que tem nomes impróprios. Fator de Retardamento ou Retenção: é normal que se pense "quanto maior R, maior o retardamento e mais tempo decorre para a espécie sair da coluna". Mas o que ocorre é exatamente o inverso! (É um problema de definição).

Calcular as $\bar{\mu}_i$ e $\bar{\mu}_M$ não é um problema difícil. Contudo, por razões práticas, não se usam calcular e comparar R_i , de modo que esta grandeza, como se verá posteriormente, é substituída para fins de interpretação e definição dos resultados obtidos nas análises cromatográficas, por outras grandezas tão úteis quanto ela, porém mais práticas. Estas grandezas serão o objetivo das próximas páginas, porém, antes de discutí-las vamos analisar mais algumas figuras, que se referem à separação hipotética da figura 3.

Na figura 4A está representada a situação em que estariam as espécies X, Y e Z dentro da coluna, depois de decorrido um intervalo do tempo Δt_1 , a partir da injeção da amostra. Esta figura foi desenhada com o cuidado de se demonstrar que as moléculas de cada espécie estariam uniformemente distribuídas em determinadas regiões da coluna — uma consideração que é enfatizada pelos perfis gaussianos desenhados sobre cada mancha. Estas distribuições são devidas à improbabilidade de todas as moléculas de cada espécie terem, ao longo do percurso, a mesma velocidade de migração (*3).

Portanto, algumas moléculas migram com maior velocidade, outras com menor velocidade e a maior parte com velocidades próximas de $\bar{\mu}_i$. Na figura 4A também está claro que as moléculas que percorreram maior distância (as moléculas X) são as que ocupam maior porção da coluna.

As figuras 4B a 4E representam o que ocorre com as espécies quando migram toda a extensão da coluna, a forma como elas entram no detector e as respostas que se obtêm deste.

Na figura 4 destacamos nove aspectos:

(1) A banda do componente X entra no detector com o mesmo tipo de distribuição uniforme que tem dentro da coluna e o detector gera os sinais conforme a banda passa por ele. Estes sinais, depois de processados no amplificador (fig. 1), geram o cromatograma (fig. 4E). Note que se o volume do detector for inadequado, grande demais p. ex., a banda se altera dentro dele e o pico gerado não reflete a situação dentro da coluna.

(2) A forma do pico que é desenhado pelo registrador (fig. 4E): esta forma é reflexo dos inúmeros sinais emitidos pelo detector, cujas intensidades são proporcionais às quantidades do componente que atinge o detector por intervalo de tempo. (Observe que os perfis sobre o detector (fig. 4B-

(*3) O exemplo utilizado, representado pelas figuras 3 e 4A-E é bastante simplificado, por que representa a situação ideal de todas as moléculas percorrerem caminhos idênticos dentro da coluna, sofrerem o mesmo número de equilíbrios (interações) entre FE e FM e serem separadas devido a estes equilíbrios serem distintos para espécies diferentes. Um modelo mais completo envolveria uma discussão que está acima do nível de introdução a que se propõe este artigo. Esta discussão mais minuciosa pode ser estudada nas referências 4, 13, 15 e 19 — procure por "Equação de van Deemter".

D) *não* representam o cromatograma, mas os picos como eles são "vistos" pelo detector – a pinta preta no perfil da fig. 4B é uma molécula de X; ela também está na fig. 4E para mostrar que, no cromatograma, o pico é o inverso do perfil.

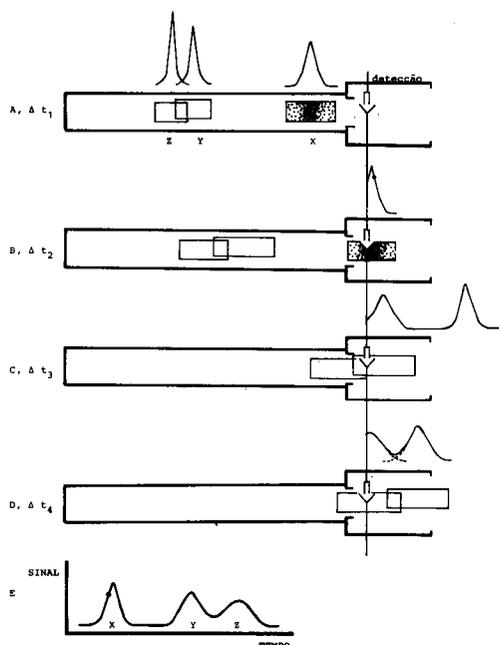


Fig. 4 A SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE 3 ESPÉCIES. A) Na coluna as espécies se distribuem segundo um perfil gaussiano. B) Os sinais do detector são proporcionais às quantidades de X por intervalo de tempo. C) A banda de Y é mais larga que a de X. D) Y e Z não são totalmente separados. E) O cromatograma parece ter os picos invertidos em relação à coluna – observe a orientação do eixo do tempo.

(3) Na fig. 4A, as bandas dos componentes Y e Z encontram-se parcialmente superpostas, indicando que até o instante t_1 elas não foram resolvidas pela coluna.

(4) As bandas se alargaram durante o percurso. Note que a banda do componente Z, mesmo sendo a mais estreita na fig. 4A, ao sair da coluna (fig. 4C) tem largura maior do que a largura correspondente da banda de X em Δt_2 . Portanto, os componentes mais lentos, depois de percorrerem toda a coluna, se encontrarão mais espalhados que os mais rápidos. A explicação é simples: apesar de X, Y e Z terem as mesmas probabilidades de interação com partículas da FE, quando todos percorrem a coluna inteira, Y e Z interagem mais intensamente com a FE e, por isto, necessitam maiores quantidades de FM para serem arrastados. Daí eles entrarão no detector mais espalhados.

(5) Na fig. 4B, o pico desenhado pelo registrador não está completo (X ainda está passando pelo detector), mas vai se completar antes do início da detecção de Y.

(6) O pico desenhado para a espécie Y (fig. 4C) é mais largo e mais chato do que o da espécie X, e ao pico de Z (4D) corresponde o maior espalhamento dos três.

(7) O pico de Y não vai se completar: as últimas frações de Y entrarão no detector misturados com as primeiras frações de Z. Portanto, durante certo intervalo de tempo, o

detector vai emitir sinais correspondentes à mistura Y/Z até que ele passe a detectar somente Z (fig. 4D).

(8) Na fig. 4E está esquematizado o cromatograma que seria obtido com esta amostra hipotética. Todos os picos têm a mesma área, o que, idealmente, sugere que X, Y e Z estavam presentes em quantidades equimolares (ver comentário (9b), abaixo). Os picos se alargam desde o componente de maior $\bar{\mu}_i$ até o de menor $\bar{\mu}_i$.

(9) Ainda que na fig. 4E se tenha procurado representar uma separação inadequada (de Y e Z) ela ainda é ideal, pois: (a) Sugere que os picos têm as mesmas áreas, o que é incomum nas amostras reais geralmente a intensidade do sinal do detector é diferente para iguais quantidades de compostos diferentes, ou seja, mesmos números de moles resultam em áreas diferentes.

(b) Só tem picos simétricos, enquanto que nos casos reais é comum que, pelo menos, os últimos picos apresentem caudas como na fig. 5.

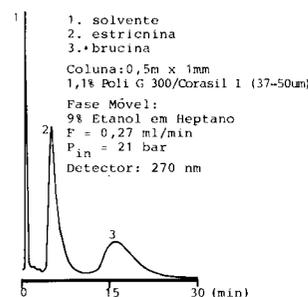


Fig. 5 Cromatograma real mostrando as caudas comuns aos picos mais tardios.

EFICIÊNCIA E SELETIVIDADE = RESOLUÇÃO

O objetivo fundamental na cromatografia é conseguir-se separações adequadas das espécies (que não se obtém com as espécies Y e Z do nosso exemplo). Quando isto ocorre diz-se que o sistema cromatográfico tem boa resolução para o par de picos considerado (X e Y do exemplo).

A resolução de um sistema cromatográfico é o resultado de um compromisso entre a sua Eficiência e a sua Seletividade. A Eficiência de um sistema cromatográfico é a sua capacidade de manter uma espécie, depois dela percorrer toda a coluna, concentrada numa zona estreita. Referindo-se ao nosso exemplo, figs. 4B e 4E, dizemos que o sistema cromatográfico (FM e FE) é mais eficiente com relação ao componente X, menos eficiente para Y e menos ainda para Z – note, na fig. 4E, que os picos se alargam na ordem X, Y, Z. Com relação à Seletividade, ela é muito boa para o par X-Y. Para o par Y-Z ela não é boa, de forma que as últimas frações de Y saem da coluna misturadas com um pouco de Z.

A Resolução (= Seletividade + Eficiência) será assunto tratado em artigo a ser publicado.

BIBLIOGRAFIA

- 1 J. F. K. Huber e J. A. R. J. Hulsman, Anal. Chim. Acta., 38, 305 (1967).
- 2 J. J. Kirkland, J. Chromatogr. Sci., 7, 7 (1969).

- ³ H. M. McNair e H. B., Esquivel, "Cromatografia Líquida de Alta Presion", O.E.A. Washington, 1980.
- ⁴ Robert L. Grob, ed., "Modern Practice of Gas Chromatography", Wiley, N.Y. 1977.
- ⁵ L. Morhy, *Ciênc. Cult.*, **28**, 1185-89 (1976).
- ⁶ F. F. Runge, *Ann. Phys. Chem.*, **17**, 31, 65 (1934); **18**, 32, 78 (1934); | citado em S. V. Heines, *J. Chem. Ed.*, **46**, 315 (1969) |.
- ⁷ M. Tswett, *Ber. deutsh. bot Ges.*, **24**, 316, 384 (1900); **25**, 71 (1907); | citado em S. V. Heines, *J. Chem. Ed.*, **46**, 315 (1969) |.
- ⁸ R. Kuhn e E. Lederer, *Natuwissenschaften*, **19**, 306 (1931).
- ⁹ J. N. Wilson, *J. Amer. Chem. Soc.*, **62**, 1583 (1940).
- ¹⁰ A. J. P. Martin e R. L. M. Synge, *Biochem. J.*, **35**, 1358 (1941).
- ¹¹ R. Consden, A. H. Gordon e A. J. P. Martin, *Biochem. J.*, **38**, 224 (1942).
- ¹² A. T. James e A. J. P. Martin, *Biochem. J.*, **50**, 679 (1952); *Analyst*, **77**, 915 (1952).
- ¹³ J. J. Van Deemter., F. J. Zwiderweg e A. Klimkemberg, *Chem. Eng. Sci.*, **5**, 271 (1956).
- ¹⁴ C. H. Collins, R. G. Berg, A. L. P. Valente, W. Kugler, e A. L. M. Murta, *Química Nova*, **5**, 115 (1982).
- ¹⁵ L. R. Snyder e J. J. Kirkland, "Introduction to Modern Chromatography", Wiley, N.Y., 1979.
- ¹⁶ J.N. Done, J. H. Knox e J. Loheac, "Applications of High-Speed Liquid Chromatography", Wiley, Londres, 1974.
- ¹⁷ R. J. Hamilton e P. A. Sewell, "Introduction to High Performance Liquid Chromatography", Chapman, Londres, 1977.
- ¹⁸ C. H. Collins, J. F. Manfredi, A. L. P. Valente, A. L. M. Murta e H. M. McNair, *Química Nova*, **6**, 46 (1983).
- ¹⁹ E. Johnson e B. Stevenson, "Basic Liquid Chromatography", Varian, Palo Alto, 1978.
- ²⁰ I. Halasz e I. Sebastian, *Angew. Chem. Internat. Edn.*, **8**, 453 (1969).

EDUCAÇÃO

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS DE UMA CELA UNITÁRIA – EXPERIÊNCIA DE QUÍMICA GERAL

Matthieu Tubino

*Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas,
CP 6154, 13100 Campinas, SP.*

(Recebido 26/02/81)

A difração de raios X é o método consagrado para se determinar o retículo cristalino de um composto e suas dimensões. Parte daí uma falsa idéia de que não se pode elaborar, neste assunto, experiências simples que pelo menos ofereçam alguns resultados sugestivos. O experimento a seguir explanado prova que isto não é verdade e que, através de um trabalho simples de laboratório, pode-se concluir, com certa margem de segurança, quanto ao retículo de um cristal, chegando-se, inclusive, a estimar as distâncias intermoleculares e os raios cristalográficos com boa aproximação.

Evidentemente, é necessário uma certa discussão acerca do assunto para que os alunos possam, a seguir, trabalhar com os resultados obtidos. Neste texto não iremos além do mínimo necessário, uma vez que se encontra amplo material em livros, inclusive de Química Geral.

No final do experimento, para o cálculo dos raios cristalográficos, aconselha-se a utilização do valor de densidade obtido da literatura, uma vez que a sua determinação, em laboratório de alunos, torna-se difícil pela higroscopicidade e alto custo de alguns dos compostos. Sugerimos, no entanto, também, outra via utilizando apenas os dados ob-

tidos no laboratório.

Consideramos muito importante que o aluno compare os seus dados experimentais com os da literatura pois, ao mesmo tempo em que se exercita no uso desta, desenvolve o espírito crítico quanto aos resultados obtidos num trabalho de laboratório.

A duração da experiência depende do número e do tipo de balanças disponíveis. A grosso modo estimou-se que, para cada aluno (ou grupo de alunos), utilizando-se balança de um prato com leitura digital, é necessária uma hora para trabalhar com um sal, segundo o procedimento abaixo. Em função disto pode-se organizar o laboratório de modo a tornar possível a realização da experiência dentro de um período de quatro horas (considerando a turma toda).

Nos nossos laboratórios de ensino esta experiência é oferecida utilizando provetas calibradas pelos próprios alunos na aula interior. Isto, no entanto, não melhora o resultado significativamente. Com este cuidado, no entanto, além do exercício de pesagem e do aprendizado de calibração, os alunos podem ter uma melhor estimativa do erro experimental.