

O DESAFIO DE ANALISAR SOLUTOS BÁSICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA EM MODO REVERSO: ALGUMAS ALTERNATIVAS PARA MELHORAR AS SEPARAÇÕES

Endler Marcel Borges*

Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, CP 6121, 13083-970 Campinas - SP, Brasil

Karen Goraieb e Carol H. Collins

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13084-971 Campinas - SP, Brasil

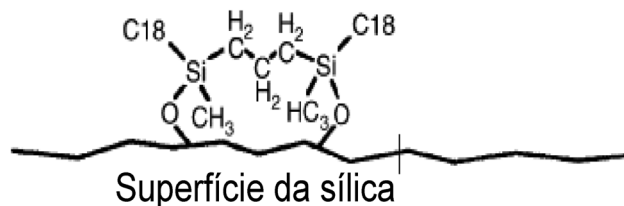


Figura 1S. Ilustração da ligação de um silano bidentado com a superfície da sílica. Adaptada da ref. 31

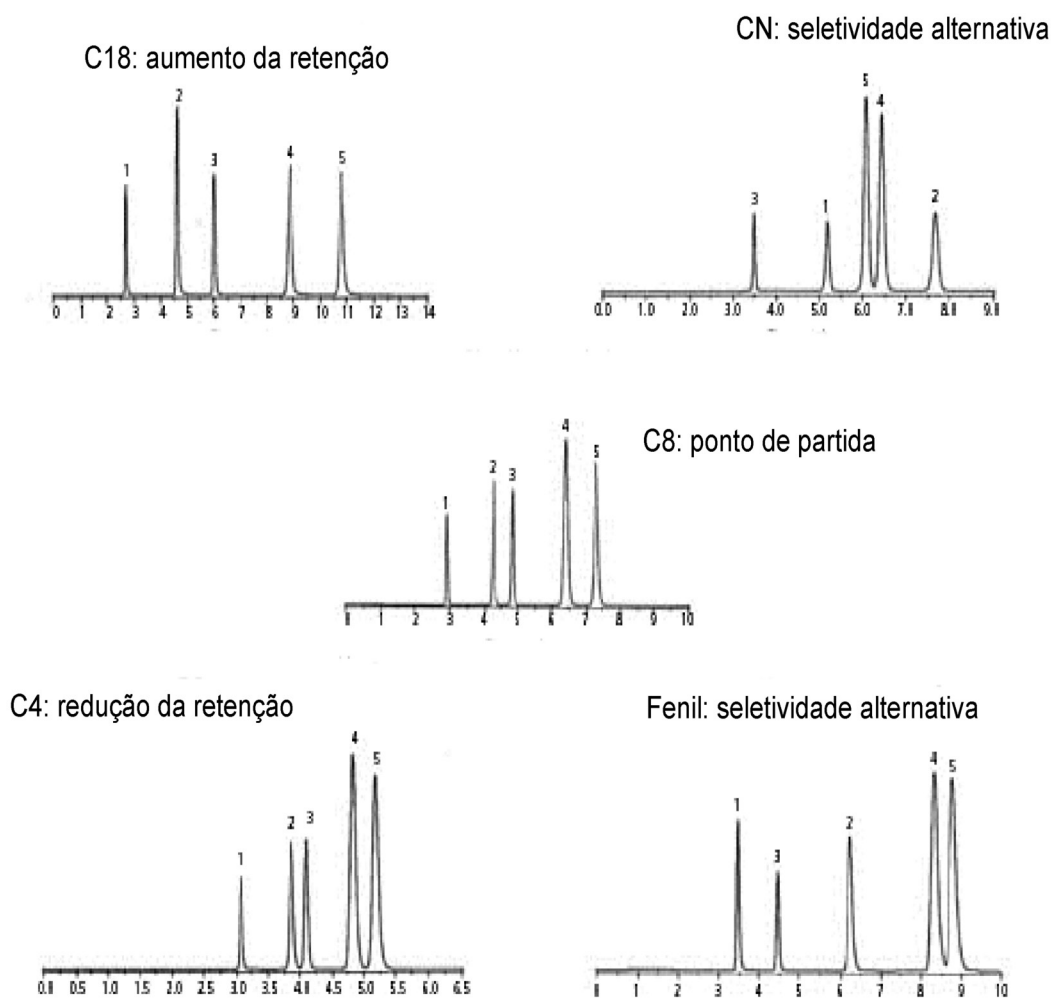


Figura 2S. Diferentes seletividades obtidas para uma mistura de compostos básicos com fases estacionárias preparadas com diferentes tipos de ligantes químicos sobre a mesma sílica. Colunas: 250 x 4,6 mm, dp 5 µm, todas da ACE. Fase móvel: metanol:tampão fosfato (pH 6; 25 mmol/L) 80:20 (v/v). Vazão: 1.5 mL/min. Identificação dos solutos: 1 = norefedrina; 2 = nortriptilina; 3 = tolueno; 4 = amitriptilina; 5 = imipramina. Adaptada da ref. 32

*e-mail: marcelborgesb@gmail.com

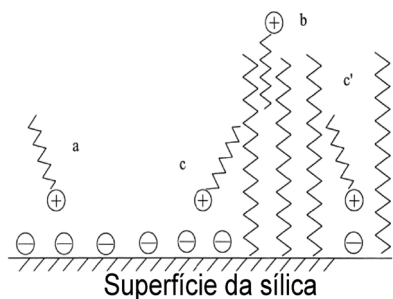


Figura 3S. Interações de solutos básicos com a superfície da sílica: a) interações iônicas; b) interações hidrofóbicas; c e c') interações hidrofóbicas e iônicas. Adaptada da ref. 28

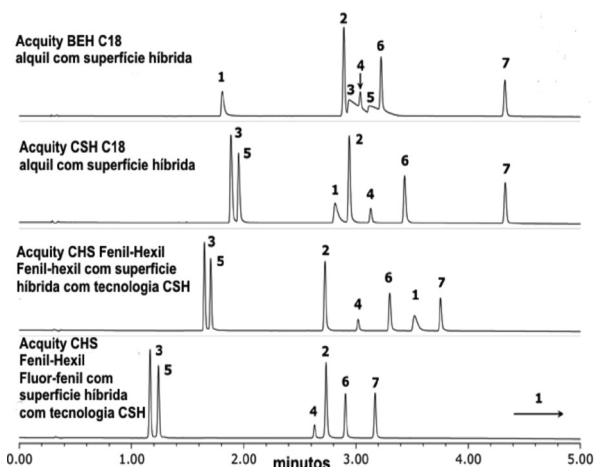


Figura 4S. Diferentes seletividades obtidas para uma mistura de compostos ácidos, básicos e neutros com três fases estacionárias preparadas com diferentes tipos de ligantes químicos sobre a mesma sílica e uma fase estacionária preparada com uma sílica híbrida. Colunas: 50 x 2,1 mm, diâmetro de partícula 1,7 μm . Fase móvel: A: ácido fórmico 0,1% e B acetonitrila, gradiente de 5 a 95% de B em 5 min. Vazão 0,5 mL/min. Temperatura 30 °C. Identificação dos solutos 1 = imipramina; 2 = amitriptilina; 3 = ácido 1-pireno sulfônico; 4 = flavona; 5 = fenoprofeno; 6 = diclofenaco; 7 = octanofenona. Adaptada da ref. 35

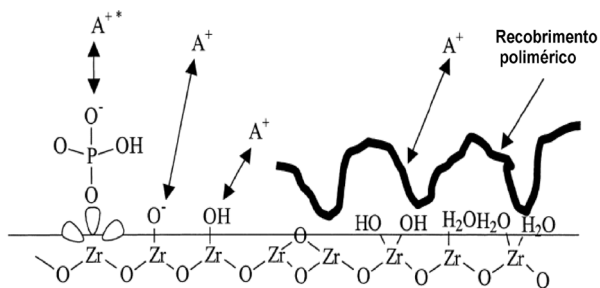


Figura 5S. Superfície de uma fase estacionária preparada pelo recobrimento polimérico do óxido de zircônio e as diversas interações que um soluto catiônico (A^+ , base protonada) pode realizar com os diversos "sítios" presentes nesta fase estacionária. Adaptada da ref. 28

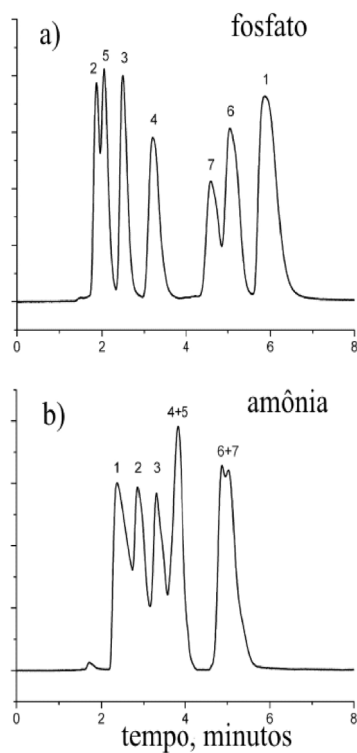


Figura 6S. Variação da seletividade em função do tipo de tampão utilizado: a) fosfato, b) amônia. Coluna XTerra MS C18 (150 x 4,6 mm, 5 μm). Fase móvel: metanol:tampão (pH 8; 10 mmol/L), 60:40 (v/v). Vazão: 1 mL/min. Temperatura: 25 °C. Identificação dos solutos: 1 = N,N-dimetilbenzilamina; 2 = 4-nitrofenol; 3 = 3-nitrofenol; 4 = 2-clorofenol; 5 = 2-nitrofenol; 6 = 2,4,6-trimetilpiridina; 7 = 3-bromofenol. Adaptada da ref. 64

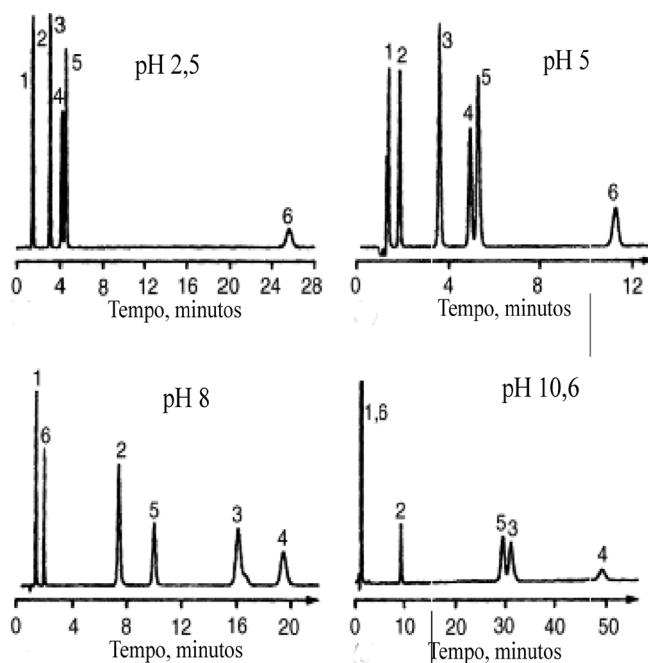


Figura 7S. Exemplo de como o pH da fase móvel pode alterar a seletividade na separação de uma mistura de solutos ácidos e básicos. Condições: Coluna XTerra MS C18 (150 x 3,9; 5 μm). Fase móvel: metanol:tampão fosfato 20 mmol/L. Vazão: 1,0 mL/min. Temperatura: 30 °C. O pH foi medido na fase aquosa antes da adição de tampão. Identificação dos solutos 1 = paracetamol; 2 = lidocaína; 3 = doxepina; 4 = imipramina; 5 = nortriptilina; 6 = ibuprofeno. Adaptada da ref. 42

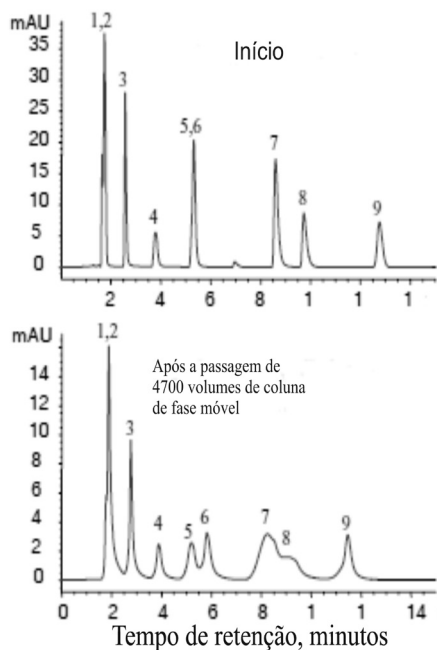


Figura 8S. Teste de estabilidade da fase estacionária Phenomenex Luna C18 (2) (19% de carbono): Fase móvel: 45:55 (v/v) acetonitrila-fosfato de potássio (pH10; 20 mmol/L). Vazão: 1,0 mL/min. Temperatura: 30 °C. Solutos: 1 = labetolol; 2 = atenolol; 3 = acebutolol; 4 = metoprolol; 5 = oxprenolol; 6 = quinidina; 7 = lidocaína; 8 = alprenolol; 9 = propranolol. Adaptada da ref. 49

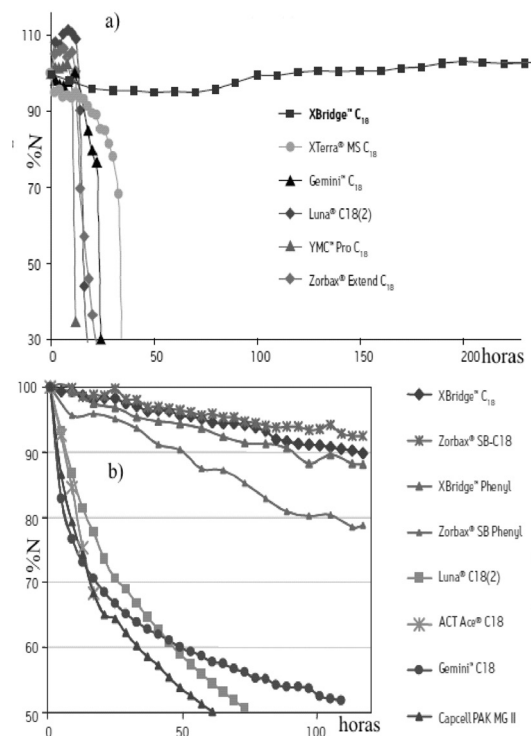


Figura 9S. Estabilidade de fases estacionárias medida como perda da eficiência em função da exposição da fase estacionária a uma fase móvel agressiva: a) estabilidade em fase móvel alcalina, medida em relação à perda da eficiência do acenafeteno após purga com trietilamina (pH 10; 50 mmol/L) a 50 °C a uma vazão de 2,0 mL/min; b) estabilidade em fase móvel ácida, medida como perda de eficiência do butilparabeno, purga com ácido trifluoroacético 1% a 80 °C a uma vazão de 1,4 mL/min. Adaptada da ref. 77

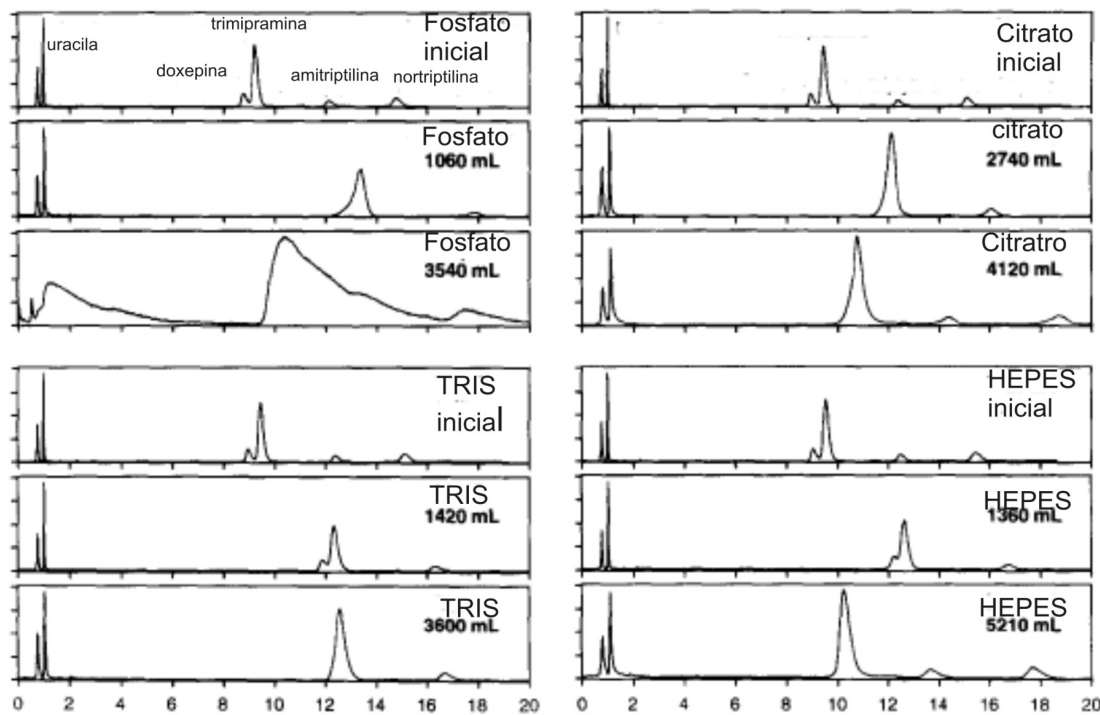


Figura 10S. Separações de antidepressivos tricíclicos. Efeito do tipo de tampão sobre a estabilidade da fase estacionária. Coluna Zorbax SB-CN, 150 × 4,6 mm. As colunas foram purgadas com fase móvel acetonitrila-tampão (pH 7; 250 mmol/L) 20:80 (v/v) a 60 °C, lavadas com 20 volumes de coluna de fase móvel: metanol-água 60:40 (v/v), re-equilibradas com 20 volumes de coluna de fase móvel acetonitrila-tampão fosfato (pH 7; 10 mmol/L) 60:40 (v/v) e avaliadas com a mesma fase móvel à temperatura de 40 °C; vazão 1 mL/min. Solutos testes: doxepina, trimipramina, amitriptilina e nortriptilina. Adaptada da ref. 74

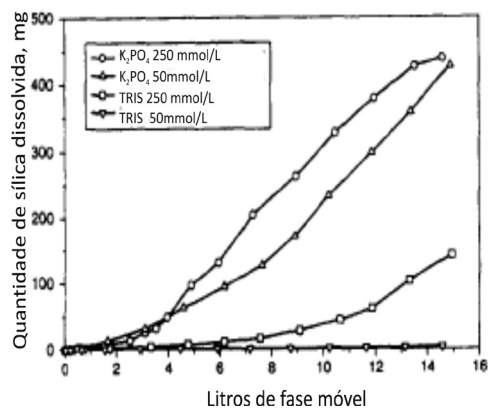


Figura 11S. Efeito da temperatura sobre a quantidade de sílica dissolvida (em mg), em função da passagem de fase móvel. Coluna: Zorbax Rx-C18, 150 x 4,6 mm. Fase móvel: acetonitrila-tampão fosfato (pH 7; 250 mmol/L) 20:80 (v/v). Vazão: 1,0 mL/min. Adaptada da ref. 74

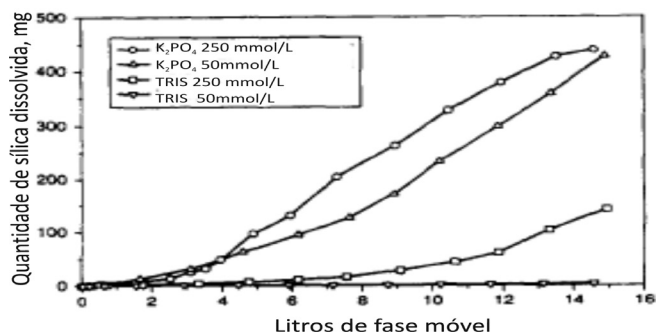


Figura 12S. Efeito da concentração e do tipo de tampão sobre a quantidade de sílica dissolvida (em mg) em função da passagem de fase móvel (em L). Coluna: Zorbax Rx-C18, 150 x 4,6 mm. Fase móvel: 20:80, v/v, acetonitrila-tampão a pH 7. Vazão: 1,0 mL/min. Temperatura: 60 °C. Adaptada da ref. 74

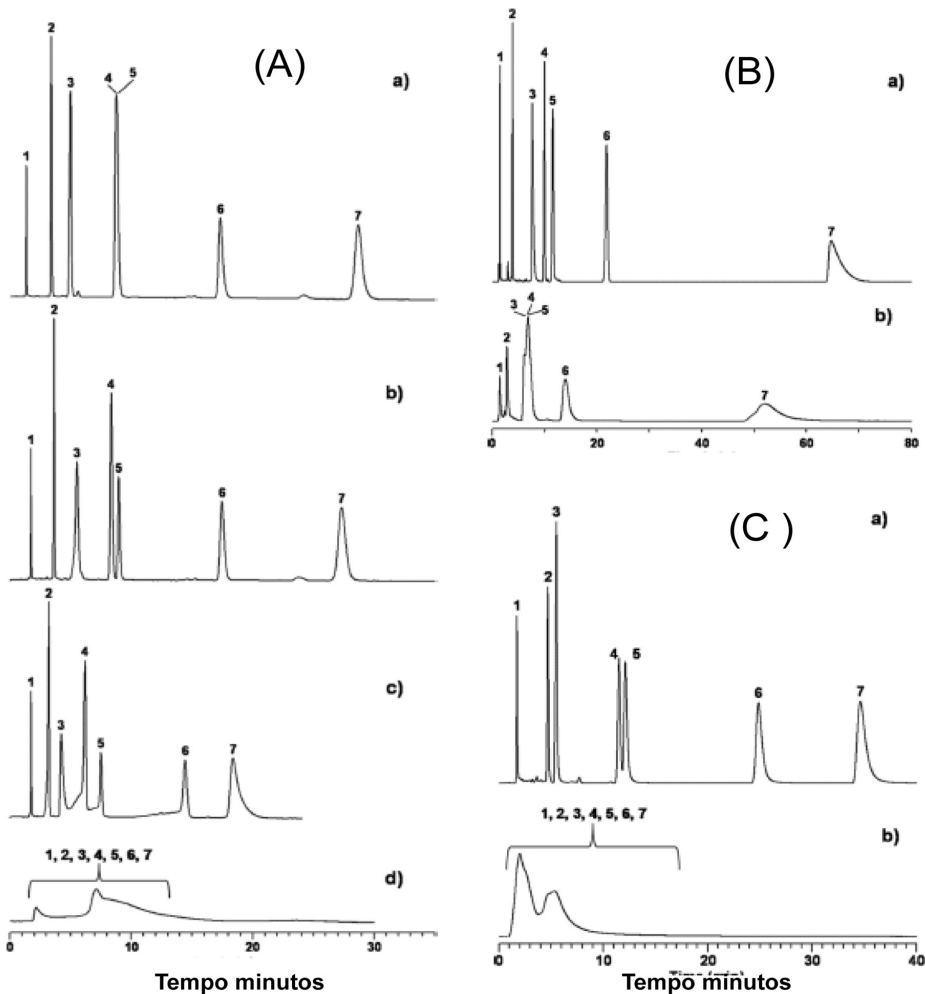


Figura 13S. Avaliação da estabilidade em condições extremamente agressivas das fases estacionárias (A) Gemini NX, (B) Gemini C18 e (C) Zorbax StableBond; (a) cromatograma obtido após o 1º ciclo com fase móvel neutra; (b) cromatograma obtido após o 5º ciclo com fase móvel neutra; (c) cromatograma obtido após o 5º ciclo com fase móvel ácida; (d) cromatograma obtido após o 5º ciclo com fase móvel alcalina. Os testes de estabilidade e a avaliação cromatográfica foram feitos a uma vazão de 1,0 mL/min. As colunas têm as mesmas dimensões, 150 x 4,6 mm. Solutos: 1 = di-hidroxiacetona; 2 = propilparabeno; 3 = propranolol; 4 = dipropilftalato; 5 = naftaleno; 6 = acenafteno; 7 = amitriptilina. Adaptada da ref. 73

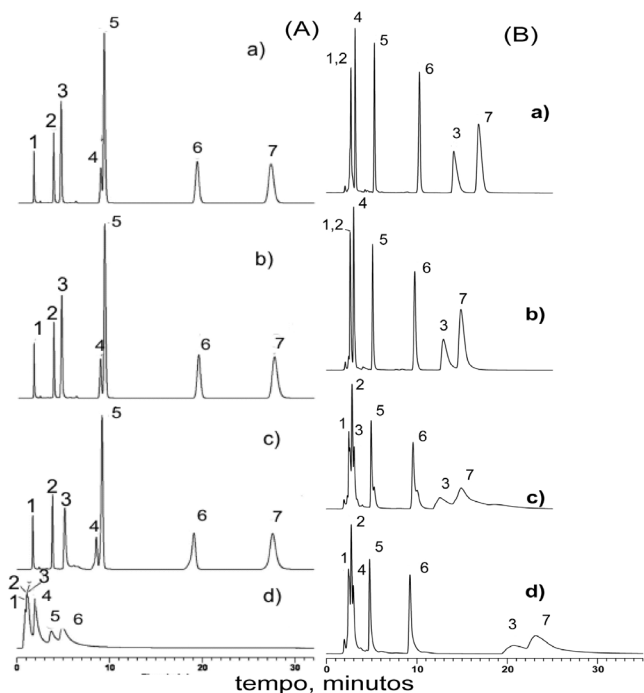


Figura 14S. Avaliação da estabilidade em condições extremamente agressivas das fases estacionárias (A) XBridge e (B) ZirChrom-PDB; (a) cromatograma obtido após o 1º ciclo com fase móvel neutra; (b) cromatograma obtido após o 5º ciclo com fase móvel neutra; (c) cromatograma obtido após o 5º ciclo com fase móvel ácida; (d) cromatograma obtido após o 5º ciclo com fase móvel alcalina. Os testes de estabilidade e a avaliação cromatográfica foram feitos a uma vazão de 1,0 mL/min para a coluna XBridge e 0,7 mL/min para a coluna ZirChrom-PDB. As colunas têm as mesmas dimensões, 150 x 4,6 mm. Solutos: 1 = di-hidroxiacetona; 2 = propilparabeno; 3 = propranolol; 4 = dipropilfthalato; 5 = naftaleno; 6 = acenafteno; 7 = amitriptilina. Adaptada da ref. 73

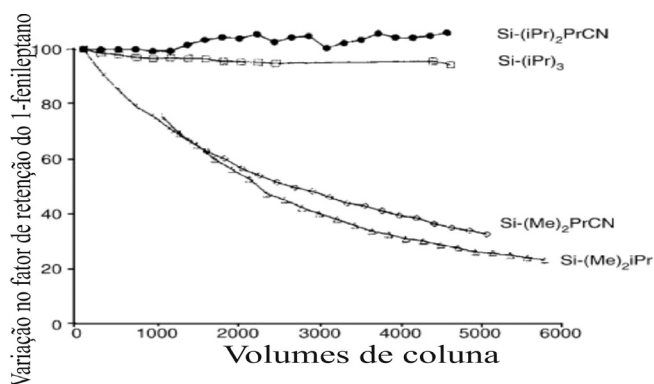


Figura 15S. Variação percentual do fator de retenção do 1-fenileptano em fases estacionárias preparadas com silanos com gupos laterais curtos (Me) e volumosos (iPr, isopropil). Fase móvel: 50:50 (v/v) acetonitrila-TFA 0,1%. Vazão: 1,0 mL/min. Temperatura: 50 °C. Adaptada da ref. 75

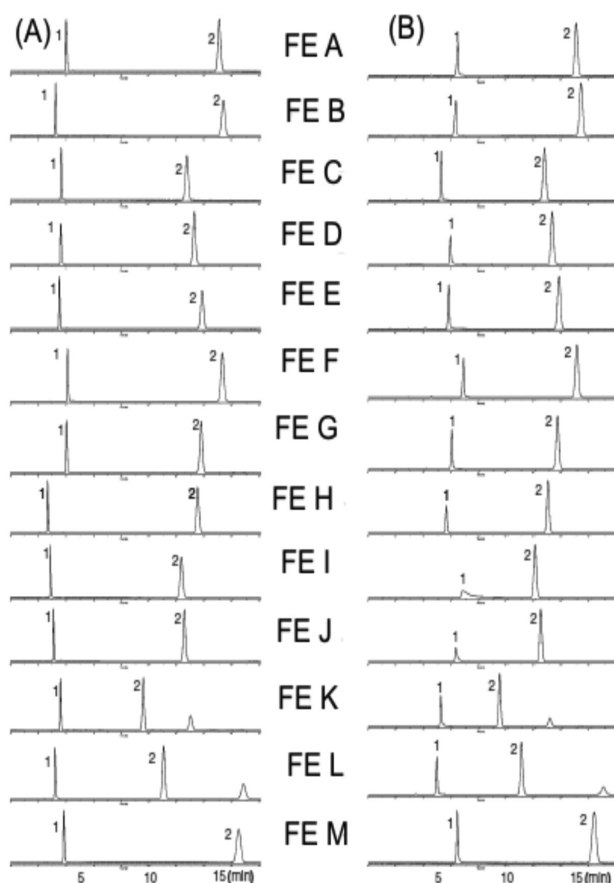


Figura 16S. Avaliação de 13 fases estacionárias com a mistura teste de Tanaka. Avaliação das propriedades de troca iônica em fase móvel ácida. Fase móvel: metanol:tampão fosfato (pH 2,7; 20 mmol/L) 30:70 (v/v). (A) Avaliação das propriedades de troca iônica em fase móvel neutra; (B) fase móvel: metanol:tampão fosfato (pH 7,6; 20 mmol/L) 30:70 (v/v). Colunas: 150 x 4,6 mm. Vazão: 1,0 mL/min. Temperatura: 40 °C. Identificação dos solutos: (1) = benzilamina; (2) = fenol. Identificação das fases estacionárias: FE A = Inertsil ODS-4 (GL Sciences); FE B = Inertsil ODS-3 (GL Sciences); FE C = L-Column2 ODS (Chemicals Evaluation and Research Institute, Tóquio, Japão); FE D = Capcell Pak C18 MGII (Shiseido, Tóquio, Japão); FE E = YMC-Pack Pro C18 (YMC, Tóquio, Japão); FE F = TSK-GEL ODS-100 V (Tosoh, Chunam, Japão); FE G = Atlantis T3 d18; FE H = Sunfire C18 (Waters, Milford, EUA); FE I = Symmetry C18 (Waters, Milford, EUA); FE J = Luna 5µ C18(2) (Phenomenex, Torrance, EUA); FE K = Hypersil GOLD (Thermo Scientific, Waltam, EUA); FE L = Zorbax Eclipse Plus C18 (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) e FE M = Platisil ODS (Dikma, Beijing, China). Adaptada da ref. 83

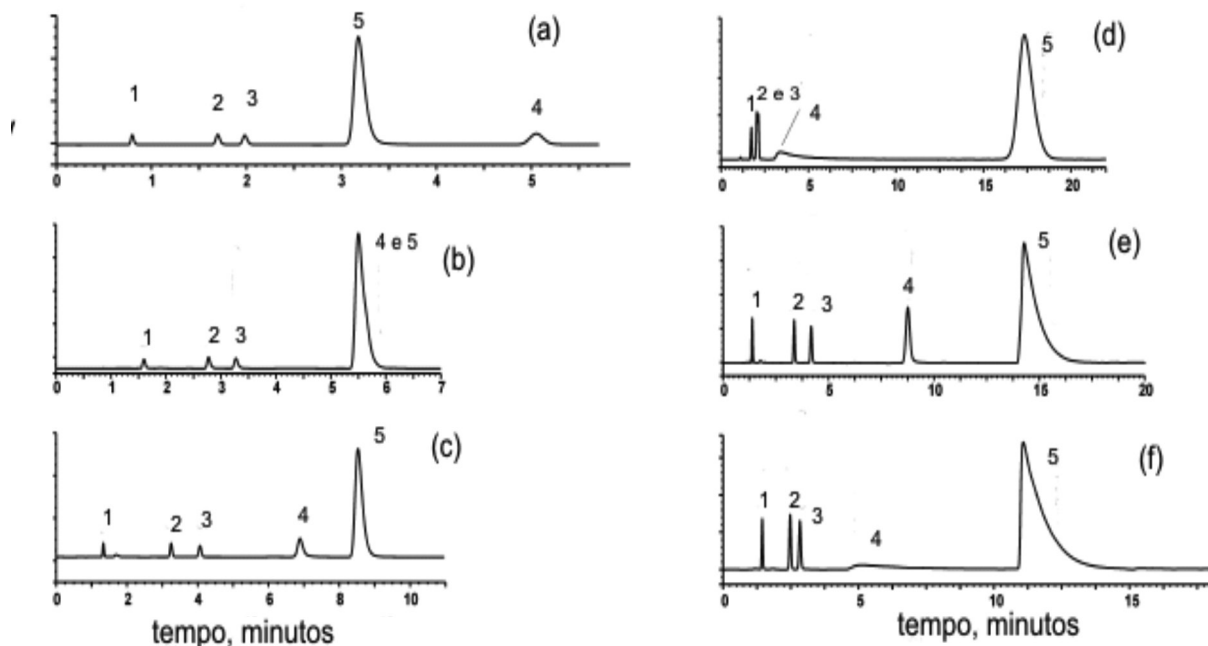


Figura 17S. Exemplos do teste SRM 870 com fases estacionárias com: (a) baixa atividade silanofílica e quantidades de metal na sílica em uma fase estacionária com grupo polar embutido, (b) moderada atividade silanofílica e quantidades de metal na sílica, (c) baixa atividade silanofílica e quantidades de metal na sílica, (d) moderada atividade moderada e altas quantidades de metal na sílica, (e) alta atividade silanofílica e moderada quantidade de metal na sílica e (f) alta atividade silanofílica e quantidades de metal na sílica. Fase móvel: 80:20 (v/v) metanol:tampão fosfato (pH 7; 20 mmol/L). Colunas de 150 x 4,6 mm. Vazão: 1,5 mL/mim. Temperatura: 23 °C. Identificação dos solutos: 1 = uracila; 2 = tolueno, 3 = etilbenzeno; 4 = quinizarina; 5 = amitriptilina. Adaptada da ref. 24

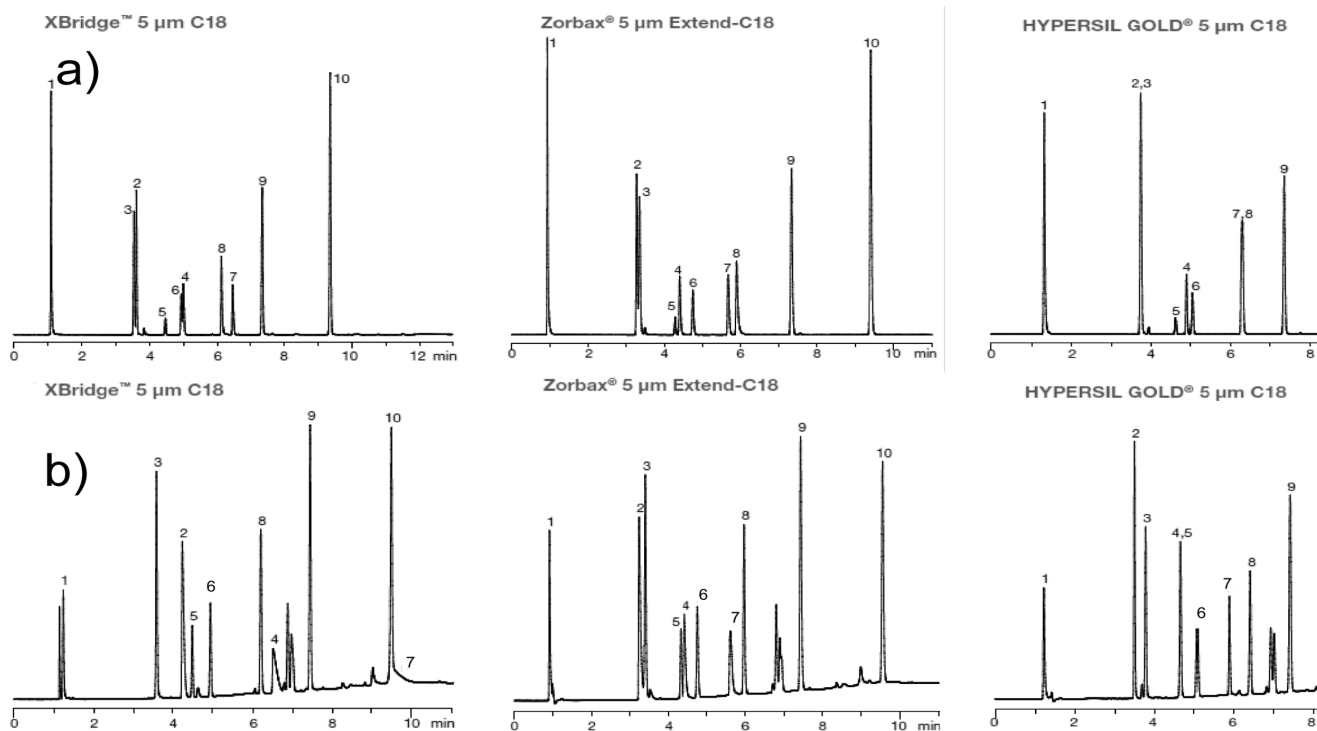


Figura 18S. Avaliação de uma mistura de solutos ácidos, básicos e neutros com três fases estacionárias C18. Vazão 1.5 mL/mim. Temperatura ambiente. Gradiente de 95 a 20% de A em 8 min, mantendo a 20% de A por 2 min, a) A: tampão fosfato (pH 2.5; 20 mmol/L) e B: acetonitrila. b) A ácido fórmico 0,1% e B ácido fórmico 0,1% em acetonitrila. Identificação dos solutos: 1 = piridina; 2 = quinidina; 3 = sulfatiazol; 4 = triprolidina; 5 = álcool benzílico 6 = fenol; 7 = nortriptilina; 8 = ácido 3-metil-4-nitrobenzóico 9 = metil-salicilaldeído; 10 = hexanofenona. Adaptada da ref. 45