

Pioneirismo em Cromatografia Gasosa: vocação do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IQ – UFRJ)

Francisco Radler de Aquino Neto
Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro
Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico
Cidade Universitária, CT Bloco A sala 607
Rio de Janeiro, RJ 21949-900 Brasil
Radler@iq.ufrj.br

Resumo

A evolução dos trabalhos em cromatografia gasosa realizados no Instituto de Química da UFRJ é apresentada para cada década. A partir dos trabalhos pioneiros do Prof. Claudio Costa Neto sobre aspectos fundamentais da então emergente CG, associados à filosofia e pragmatismo que inspiraram a concepção do Projeto Xistoquímica (PXQ), na década de 60, descortina-se a contribuição do IQ para o desenvolvimento e aplicação de uma das mais versáteis ferramentas analíticas de que dispõem os químicos. Os anos 70 vêm as aplicações pioneiras em geoquímica orgânica molecular e processos de pirólise e combustão. Da liderança nacional em trabalhos na fronteira da recém criada Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR), na década de 80, as atividades evoluíram para contribuições importantes na CG de alta temperatura e CG Quiral. Em paralelo com a evolução das técnicas e conceitos, aplicações pioneiras na análise de fluidos e tecidos biológicos, química do meio ambiente interno e externo, análises forenses, toxicológicas e de controle de dopagem no esporte, colocaram a CGAR à serviço da sociedade contemporânea. É importante destacar a evolução em paralelo do acoplamento da CG com a Espectrometria de Massas (CG-EM, CGAR-EM) uma dupla imbatível quando o problema é a análise de misturas complexas. Encerrando essa retrospectiva, uma visão das vertentes principais de atuação no novo milênio é apresentada.

1. OS ALICERCES: DÉCADAS DE 60 E 70 E O PROJETO XISTOQUÍMICA (PXQ)

A Cromatografia Gasosa (CG), técnica de análise que revolucionou a compreensão química da natureza, do homem e de sua interação, foi proposta em 1941 por A.J.P. Martin & R.L.M. Singe, mas demonstrada experimentalmente apenas em 1952 por A.T. James & A.J.P. Martin¹. Após o primeiro congresso internacional em 1957, essa técnica consolidou-se no início da década de 60¹. Nessa mesma época o Prof. Claudio Costa Neto,

antevendo seu potencial, realizava trabalhos pioneiros na Escola Nacional de Química da então Universidade do Brasil². Experimentos voltados para a demonstração de aspectos teóricos da técnica emergente, mereceram citação internacional, como as avaliações do efeito da pressão absoluta de trabalho e sua programação³, na resolução⁴, algo recentemente retomado pela comunidade internacional, com o advento da Cromatografia Supercrítica e da Cromatografia Gasosa de Alta Resolução e Alta Temperatura (CGAR-AT). As teses que se seguiram empregaram as técnicas de CG implantadas no laboratório, inclusive análises por CG empregando colunas capilares de aço inoxidável de 1/16", a grande sensação da época⁵. Diversas aplicações beneficiaram-se da técnica no final de década de 60 e na década de 70, como por exemplo, análise de gases de queima e pirólise⁶ e característicos de envelhecimento de transformadores elétricos⁷, produtos de pirólise (óleos de pirólise de xistos oleígenos)⁸, extratos de rochas^{9,10}, sedimentos, arenitos, turfas¹¹, ambientais, petróleo, xistos oleígenos¹². Inúmeros trabalhos sobre a CG e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) de hidrocarbonetos de xistos betuminosos foram realizados, mas infelizmente não publicados ou publicados tardiamente^{13,14,15,16,17,18,19,20}, sendo precedidos por publicações de trabalhos posteriores, de outros pesquisadores. Assim, infelizmente, a contribuição pioneira do Projeto Xistoquímica (PXQ, como se intitulava o grupo à época), para o desenvolvimento da CG-EM, teve impacto apenas local.

Afinal, em 1968, já estava em operação no PXQ um CG PE 881 acoplado a EM Hitachi Perkin Elmer RMU-6E, um dos sistemas mais modernos, mas mais difíceis de manter em operação rotineira^{21,22}. A esse seguiu-se um CG-EM Varian MAT 111, mais avançado e de operação simples²². Todos adquiridos sem o sistema de dados, com detectores oscilográficos em papel sensível ao ultravioleta²². O custo elevadíssimo do sistema de dados desses instrumentos, levou o Prof. Claudio Costa Neto a várias tentativas para desenvolver um sistema nacional. Essas tentativas embora infrutíferas na Universidade, incluindo sua inclusão no PRONAQ do CNPq, resultaram em sistema em plataforma da COBRA, S. A. administrando um CG-EM Varian MAT 112, no CENPES-PETROBRAS, mas de curta vida útil. Mesmo assim, a cultura de buscar aprimorar / desenvolver instrumentação, garantiu o funcionamento e atualização do parque de cromatógrafos a gás do IQ. Muito pouco desse esforço chegou a ser publicado^{23,24,25,26,27,28}.

2. DÉCADA DE 70: PIONEIRISMO EM CROMATOLOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

A fase anterior, onde o cromatógrafo a gás representava tão somente um sistema de introdução de amostras (injetor) para uma outra técnica (a Espectrometria de Massas), evoluiu para o uso da Espectrometria de Massas

para detecção e separação virtual, adicional, da CG. Um Cromatograma (chamado, na EM, de Cromatograma de Íons Totais, CIT, por ser um traçado da corrente iônica total detectada) apresenta picos coeluinto, separações precárias e nenhuma informação estrutural imediata, sobre os componentes presentes. Já a Fragmentografia de Massas, multiplicou a capacidade de separação da CG, ao permitir a “extração” de cromatogramas de íons característicos de famílias de substâncias que ocorriam em frações complexas. Na maioria dos casos é possível selecionar íons específicos de uma dada família de compostos e com isso obter um cromatograma limpo, contendo informação sobre a estrutura das substâncias separadas (ver exemplo no item 5.3).

Numa primeira fase (ver item 1) foi impossível realizar fragmentografias valendo-se da “separação virtual” pela ausência do sistema de dados, o que retardou a evolução dessa técnica no IQ-UFRJ.

A Fragmentografia de Massas surgiu com os trabalhos pioneiros de Wolfgang Seifert, que havia realizado fragmentografias “manuais”, em amostras de petróleo, já em 1972²⁹. Nesse período, no PXQ, tentava-se uma abordagem mais “cromatográfica”. Envolvia a síntese de homólogos de famílias de hidrocarbonetos³⁰, com o objetivo de mapear as famílias completas, por inter- e extrapolação, empregando gráficos (sabidamente lineares) de n°. de carbonos *versus* tempo de retenção³¹. Infelizmente a maioria, lógica, de hidrocarbonetos alvos, não se encontrava nas amostras de xistos betuminosos analisados e não foram analisados petróleos, na época.

O primeiro sistema realmente adaptado para as modernas técnicas de fragmentografia de massas foi instalado no IQ-UFRJ, somente em 1984, um cabeça de série da Hewlett Packard 5780 com o “potentíssimo” computador HP 1000 de 1Mb de memória³².

Essas ferramentas modernas permitiram o rápido desenvolvimento de análises de misturas complexas, levando a criação do LADETEC, por indução do PADCT, fase de testes, em 1984³³, além de várias outras iniciativas de uso intensivo da CG e CG-EM como demonstram, inclusive, outros capítulos do presente livro^{34,35}.

Enquanto a fragmentografia de massas não era instituída no PXQ, o enfoque do desenvolvimento da CG era o aumento da Resolução, com a elaboração de colunas mais eficientes e com menor sangria para uso nos CG-EM. Assim, óleo de bombas de vácuo (polioxifenilenos, Santovac 5TM), para o sistema de CG-EM, foram testados e colunas de até 32 m elaboradas. Algo que hoje é sabido não ser prático, ou vantajoso, mas à época representou uma tentativa pioneira de quebrar os limites das técnicas de análise de misturas complexas³⁶. Ainda em 1971, ao trazer o Prof. Purnell ao Brasil³⁷, foi efetuado um esforço para introduzir critérios alternativos de melhora de resolução, os “diagramas de janela”³⁸, por ele propostos, incluindo a ida de José Maria Vargas de Andrade para doutorado em seu laboratório³⁹. Na área de Geoquímica Orgânica Molecular, doutorado em Bristol⁴⁰, Inglaterra e pós-doutorado em Estrasburgo⁴¹, França, trouxeram para o país o estado da arte em CGAR-EM.

3. DÉCADA DE 80 E O PIONEIRISMO, NO BRASIL, NOS FUNDAMENTOS DA CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO (CGAR)

Em 1980, cursos na Suíça com o Prof. Kurt Grob e Sra. Gertrude (Trudy) Grob sobre o recém definido⁴² modo de preparo de colunas capilares de alta resolução⁴³, colocaram o país na fronteira dessa técnica. Implantada no IQ – UFRJ, de fato, em 1982, através de apoio do CNPq⁴⁴. Em 1981, foi elaborada a primeira adaptação de cromatógrafo a gás convencional, para alta resolução, no país⁴⁵. Desse modo o Brasil estava sintonizado com a essência da CGAR, muito antes que a “escola de pensamento cromatográfico” norte-americana reconhecesse seus méritos. O que levou mais de uma década e não tendo até os dias de hoje vencido a oposição de alguns “bolsões” mais tradicionalistas da CG americana.

A “fábrica” de colunas capilares de alta resolução⁴⁷ e o núcleo de desenvolvimento de técnicas^{48,49,50}, materiais^{26,27,28}, cursos⁵¹, material didático^{52,53,54,55,56} e de divulgação^{57,58} para CGAR, representados pelos Laboratório de Preparação de Colunas Capilares (LPCC), Laboratório de CGAR (LCGAR) e Laboratório de CG-EM (LABEM) do LADETEC disseminaram a técnica no país e alavancaram a pesquisa no IQ-UFRJ com enorme “lucratividade” colateral; isto é, foram preparadas colunas capilares de valor de mercado de mais de US\$ 250,000.00, para um investimento direto nas atividades do LPCC de US\$ 55,000.00. Durante a década de 80, os LPCC, LCGAR e LABEM do LADETEC, representaram o núcleo de análises do IQ – UFRJ, garantindo a produção científica, em especial da PGQO, com mais de 90 teses que empregaram esses instrumentos e facilidades.

3.1. Pioneirismo no Brasil, na Produção de Colunas Capilares de Alta Resolução e Lacunas de Retenção

A facilidade de preparo de colunas capilares de alta resolução, possibilitou a preparação de colunas a baixo custo para laboratórios da UFRJ, permitiu a elaboração de colunas específicas para certas aplicações (“taylor made”^{60,61}), além do desenvolvimento local de colunas com novas fases estacionárias^{62,63} e de colunas para aplicações especiais, como a CGAR-AT⁶⁴ e a CGAR quiral (CGAR-Q)⁶⁵. Essa facilidade para tratamento de capilares levou ao desenvolvimento, pela primeira vez no país, de colunas de sílica fundida com proteção de poliimida; um projeto com apoio da Petrobras e da ABC-Xtal de Campinas. Infelizmente, para a cia. produtora de fibra ótica, num mercado aquecido como o brasileiro, não houve economicidade que justificasse a produção das “fibras ocas” necessárias à produção das colunas. O “know how” obtido, no entanto, possibilitou dominar o tratamento de capilares de poliimida adquiridos dos produtores internacionais tradicionais, tanto para elaboração de colunas capilares, quanto das importantíssimas

“Lacunas de retenção”⁶⁶. O uso desse dispositivo tem sido insistentemente divulgado pelo grupo em publicações e cursos de extensão ministrados em Universidades e empresas por todo o país.

3.2. Pioneirismo na caracterização de famílias de biomarcadores em sedimentos e petróleo

A caracterização de novos biomarcadores através da síntese de padrões e sua coeluição em CGAR-EM é técnica consagrada na descoberta de novos esqueletos hidrocarbônicos e famílias de geolípídeos⁶⁷. Várias famílias de terpanos tricíclicos e triterpanos foram caracterizadas^{17,67,68,69,70,71,72}. Algumas empregando-se o artifício de sintetizar substâncias representativas dos possíveis geolípídeos e demonstrando sua presença através de coinjeção dos padrões com frações de extratos de materiais geológicos⁷² e elaboração de mecanismos de fragmentação em espectrometria de massas^{74,75,76}. Esses biomarcadores mostraram-se de importância na prospecção geoquímica de petróleo^{77,78}. O acoplamento da CGAR também foi desenvolvido para aplicações de alta massa molecular em EM-EM⁷⁹ e espectrometria de massas por razão isotópica de compostos individuais⁸⁰.

3.3. Pioneirismo na aplicação dos conceitos da Geoquímica Orgânica Molecular na Química de Produtos Naturais

A demonstração da enorme aplicação da CGAR na Química de Produtos Naturais (QPN), foi uma ação iniciada logo após a implantação da CGAR no IQ-UFRJ. Mas, para quebrar a tradição de uso da CL e da CLAE levou algum tempo. Isso ocorreu quando os exemplos do dinamismo decorrente do uso da CGAR na QPN e sua aplicação fácil e segura à moléculas, ditas termosensíveis, multiplicaram-se^{81,82,83,84,85,86}.

Muito mais potente é a abordagem da Geoquímica Orgânica Molecular (GOM) para definir alvos moleculares para caracterização estrutural e preparação de padrões para identificação de novas estruturas. Foi adaptada, com vantagem, para a Química de Produtos Naturais (QPN)⁸⁷. Um composto majoritário, uma vez isolado e identificado em um extrato, permite a elaboração de derivados, para uso como padrões de identificação. Nesse caso a via clássica é a coinjeção do padrão com misturas problema. Por exemplo, a própria fração de onde o majoritário foi isolado, permitindo a identificação de minoritários não isoláveis; ou outros extratos de interesse. Os alvos para síntese resultam de mapeamento por fragmentografia de massas, de compostos da mesma família daquele isolado (através de seu íon característico). A determinação da massa molecular via espectro de massas, permite definir a diferença de massa entre o padrão isolado e os demais membros da família. Essa diferença é facilmente relacionada à massa do

grupo funcional que diferencia ambas substâncias, tendo-se, assim, definido um alvo para síntese com margem de certeza acima de 95%. Em geral, as funções presentes no próprio padrão isolado, servem de ponto de partida para as modificações que conduzirão aos padrões almejados⁸⁷.

Por consequência, a fragmentografia de massas associada à informações botânicas, bioquímicas e de biossíntese, impulsionou enormemente a identificação de novas famílias de produtos naturais^{81,88,89}. Ainda resta quebrar a resistência dos químicos de produtos naturais mais tradicionais, que ainda vêm a CG (mesmo a CGAR) como técnica agressiva, que decompõe analitos, preferindo continuar com as colunas de CL, incompatíveis com a análise de componentes minoritários ou a CLAE (“HPLC”), de baixa resolução e poder de diagnóstico.

A Cromatografia Gasosa de Alta Resolução e Alta Temperatura (CGAR-AT) acoplada a Espectrometria de Massas, permitiu a identificação de várias famílias inéditas de produtos naturais (ver item 5.3).

4. DÉCADA DE 90: PIONEIRISMO NA APLICAÇÃO DA CGAR

4.1. Aplicação da CGAR ao diagnóstico da poluição ambiental, seu controle e remediação

Poluição do ar é uma das grandes preocupações do mundo moderno. Um indicador de poluição veicular e de certas indústrias é a presença de benzeno, tolueno e xilenos (BTX). A análise desses marcadores de poluição é muito simplificada se for aplicado um conceito “anti-cromatográfico”. Assim, ao invés de separar todos os hidrocarbonetos presentes na atmosfera poluída, faz-se a separação em coluna polar (p. ex., polietilenoglicol). Nessas condições os hidrocarbonetos não aromáticos saem no início do cromatograma, sendo fácil identificar e quantificar os BTX⁹⁰. Aplicações na localização da fonte poluente em Volta Redonda foram relevantes para que a FEEMA definisse as ações corretivas necessárias ao controle de emissões da unidade de recuperação de benzeno produzido na coqueificação.

A preocupação com queimadas na Amazônia, levou a busca de indicadores de queimadas. O mais interessante é o levoglicosano⁹¹, também aplicado à região canavieira de Campos dos Goytacazes, no Rio de Janeiro^{92,93}.

A Qualidade do Ar de Interiores (QAI) no Brasil, como ciência e aplicação iniciou-se no IQ-UFRJ, sendo que uma ferramenta essencial ao diagnóstico é a CGAR-EM de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) e Semi-Voláteis (COSVs)^{94,95,96,97,98,99}. Contribuindo, inclusive, para a legislação do setor^{100,101}.

Com relação a rejeitos urbanos e industriais, a bioremediação ou oxidação fotocatalítica, podem ser melhor estudadas pelo uso de CGAR-EM, na

caracterização de contaminantes e seus produtos do processo de remediação^{102,103,104}. A CGAR-AT aumenta consideravelmente o poder de diagnóstico de fontes poluidoras antropogênicas, dada a possibilidade de análise de agentes tensoativos e polímeros¹⁰⁵.

4.2. Aplicação da fragmentografia de massas na análise de fluidos e tecidos biológicos

O controle de dopagem no esporte¹⁰⁶ depende, ainda hoje, em 90%, de análises por CGAR-EM, CGAR-EM-EM (Espectrometria de Massas Acoplada a Espectrometria de Massas) por analisadores seqüenciais ou armadilha de íons ("ion trap detectors"), CGAR-EMAR (Espectrometria de Massas de Alta Resolução) e CGAR-EMRI (Espectrometria de Massas por Razão Isotópica) onde o efluente da coluna é queimado em forno e a razão $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ determinada em relação a um padrão internacional (PDB). Essa razão isotópica está ligada à composição isotópica das moléculas precursoras daquelas em análise e eventuais reações químicas ou metabólicas de transformação.

Várias publicações destacam a atuação do IQ-UFRJ no controle de dopagem^{107,108}. Essa atividade de cunho científico só pode se desenvolver caso haja rotina intensa de análises. Laboratórios para obterem o credenciamento do Comitê Olímpico Internacional (COI), precisam analisar um mínimo de 1500 amostras/ano¹⁰⁹. Essa atividade trouxe uma outra dimensão ao uso acadêmico da CGAR. Sua aplicação intensiva, dentro de parâmetros rígidos da qualidade, com implicações forenses e produzindo resultados a partir de uma população de composição variável. Essas características continuam fomentando uma produção científica diversificada, além de contribuir diretamente para a prevenção do abuso de drogas.

A similaridade da abordagem analítica permite aplicar as mesmas técnicas à área médica. Por exemplo, importante contribuição foi realizada para a monitorização de teores séricos de bussulfano (quimioterápico para ablação de células da medula óssea) empregado no condicionamento de pacientes com Leucemia Mielóide Crônica (LMC), a serem submetidos a Transplante de Medula Óssea (TMO). O sucesso do transplante depende de níveis séricos suficientemente elevados para uma eliminação completa das células leucêmicas, sem comprometer a sobrevivência do paciente devido a sobredosagem desse potente citotóxico¹¹⁰. Pacientes portadores de Mal de Fanconi e doenças similares, têm como tratamento a administração de anabolizantes, o que representa prática de risco, devido aos efeitos colaterais. Poder contar com métodos de análise de anabolizantes em soro, saliva e urina, contribui para o acompanhamento desses tratamentos¹¹¹.

4.3. Aplicação da fragmentografia de massas no controle da qualidade e pesquisas em alimentos

As áreas de aromas e de resíduos são aquelas que têm se beneficiado do maior poder de separação das colunas capilares de alta resolução. A composição de aroma de café^{112,113} em função do tratamento é um setor importante da industrialização desse importante produto de nossa pauta de exportações. Da mesma forma o controle de resíduos de anabolizantes no rebanho bovino brasileiro é indispensável para garantir sua qualidade e a superação de barreiras técnicas da Comunidade Européia^{108,114,115}. O impulso à indústria de mel e seus derivados (e.g., própolis) depende de um melhor controle da qualidade¹¹⁶. Além disso a valorização desses produtos depende de sua caracterização molecular^{117,118,119}. Seu potencial como fonte de novas estruturas com atividade farmacológica não pode ser desprezado¹²⁰.

5. O NOVO MILÊNIO

Quatro são as áreas de fronteira de atuação, no IQ-UFRJ, em instrumentação associada à CGAR: CGAR-AT, CGAR-Q, CGAR-EMRI e Metrologia Química. Dentre outras, as aplicações mais freqüentes estão centradas na Química de Produtos Naturais, Geoquímica Orgânica, Química ambiental, Química forense e área médica, além do controle de dopagem e do abuso de drogas.

5.1. Expansão das aplicações da Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR) e da CGAR de Alta Temperatura (CGAR-AT) para a Química de Produtos Naturais

A diversificação das aplicações descritas no item 3.3, prossegue. A intensificação do mapeamento de distribuições de flavonóides, ganhou impulso com a rapidez e resolução da CGAR¹²¹. O conhecimento detalhado da composição de metabólitos secundários em plantas e sua variação em função de fatores genéticos, ambientais, meteorológicos e individuais deverá sofrer impulso substancial. As dificuldades devido à complexidade desse sistema já começam a ser mapeadas^{122,123,124,125,126}. Efeitos sobre a doença de Chagas, de frações de própolis (Figura 1.), são promissores e a busca dos princípios ativos depende da CGAR para separação dessas misturas complexas¹²⁷.

5.2. Estudos recentes sobre o Meio Ambiente

O meio ambiente externo, no Brasil, sofre muito com os inúmeros incêndios provocados ou naturais. Seu mapeamento e diagnóstico de impacto exigem novas metodologias de análise. Estudos na Amazônia^{125,126}, e na região de Campos dos Goytacazes¹²⁸ continuam reunindo informações para fundamentar futuros estudos de campo. Na avaliação do ambiente interno¹²⁹, além dos escritórios, ambientes típicos¹³⁰ e mixtos¹³¹ têm sido avaliados.

5.3. Cromatografia Gasosa de Alta Resolução e Alta Temperatura (CGAR-AT)

A aplicação sistemática da CGAR-AT e seu acoplamento a Espectrometria de Massas (CGAR-AT-EM), permite um aumento na faixa de massa molecular dos analitos a serem caracterizados¹³². Esse aumento, de temperatura máxima de trabalho de 350°C a 400 – 450°C, representa um aumento de no mínimo 400 Da na faixa de massa molecular analisável^{133,134}. Mas em casos específicos essa massa molecular pode chegar facilmente a 2500 Da, como no caso da análise de ciclodextrinas substituídas^{135,136}. Assim sendo, criou-se uma nova ferramenta analítica para perscrutar uma faixa de massa molecular virtualmente desconsiderada pela química analítica atual, qual seja de 800 a 5000 Da^{133,134}. À parte os óbvios peptídeos e polissacarídeos, pouquíssimas moléculas haviam sido caracterizadas intactas nessa faixa de massa molecular. A aplicação sistemática dessa abordagem permitiu a descoberta de inúmeros compostos de “massa molecular alta” (em relação à CG). Aplicações em exploração de petróleo¹³⁷ prospecção geoquímica de petróleo¹³⁸ e Produtos Naturais¹³⁹ mostraram-se promissoras. Mas, foi na química de Produtos Naturais que uma nova janela foi aberta para desvendar a presença de um número cada vez maior de famílias de moléculas que têm passado despercebidas. Simplesmente não eram passíveis de análise pelos conceitos da CGAR e muito menos da CLAE. As classes que mais têm se destacado, são ésteres graxos de álcoois de cadeia longa¹²⁵ e triterpenóides^{118,139}, com exemplos importantes de diterpenóides⁸¹, tocoferóis¹²⁶, bem como álcoois e aldeídos graxos¹²⁵. Um futuro promissor se descortina para as aplicações de CGAR-AT¹³³, como, por exemplo a descoberta de novos princípios ativos em própolis¹⁴⁰ (Figura 2). Dímeros ou ésteres mistos de ácidos quínico¹⁴⁰, cafêico, ferúlico, etc., têm mostrado atividades biológicas importantes.

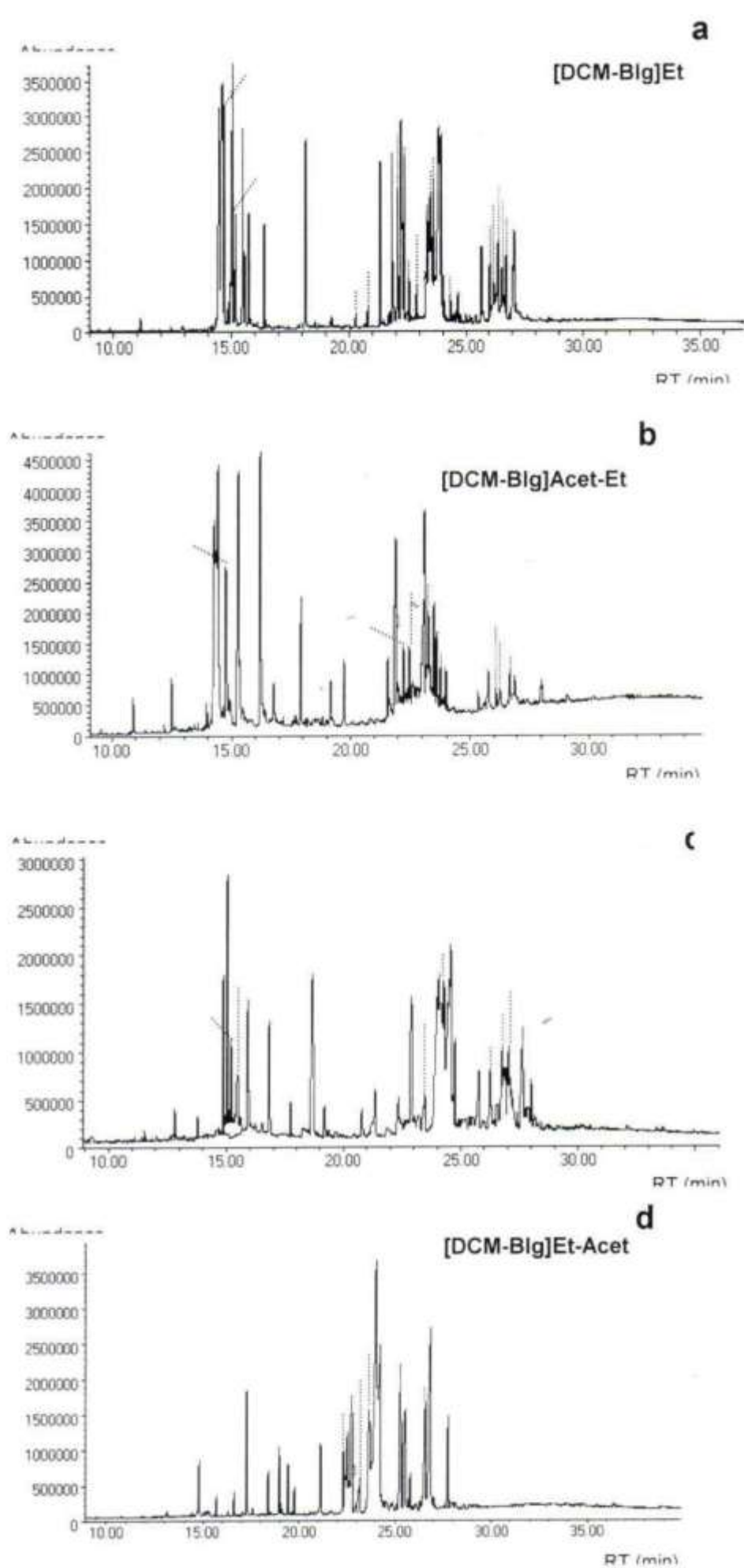


Figura 1. CGAR de frações de própolis avaliadas contra *tripanosoma cruzi*¹²⁷.

5.4. Aprimoramento e diversificação das aplicações da Cromatografia Gasosa de Alta Resolução na análise de fluidos e tecidos biológicos

Estudos visando reduzir os custos do controle de dopagem no esporte dependem da racionalização das triagens dos fármacos proibidos^{106,141}. A Figura 3 ilustra a possibilidade de aprimorar a razão sinal / ruído pelo uso de lacuna de retenção e obter resultados em CG-EM quadrupolar equivalentes em sensibilidade aos CG-EMAR¹⁴¹. Vários trabalhos encontram-se em andamento^{107,115,141,142,143}. Além dos desdobramentos já mencionados na clínica médica e oncologia, perspectivas abrem-se na avaliação de bioequivalência e biodisponibilidade de fármacos “in vivo” e “in vitro” em culturas de células.

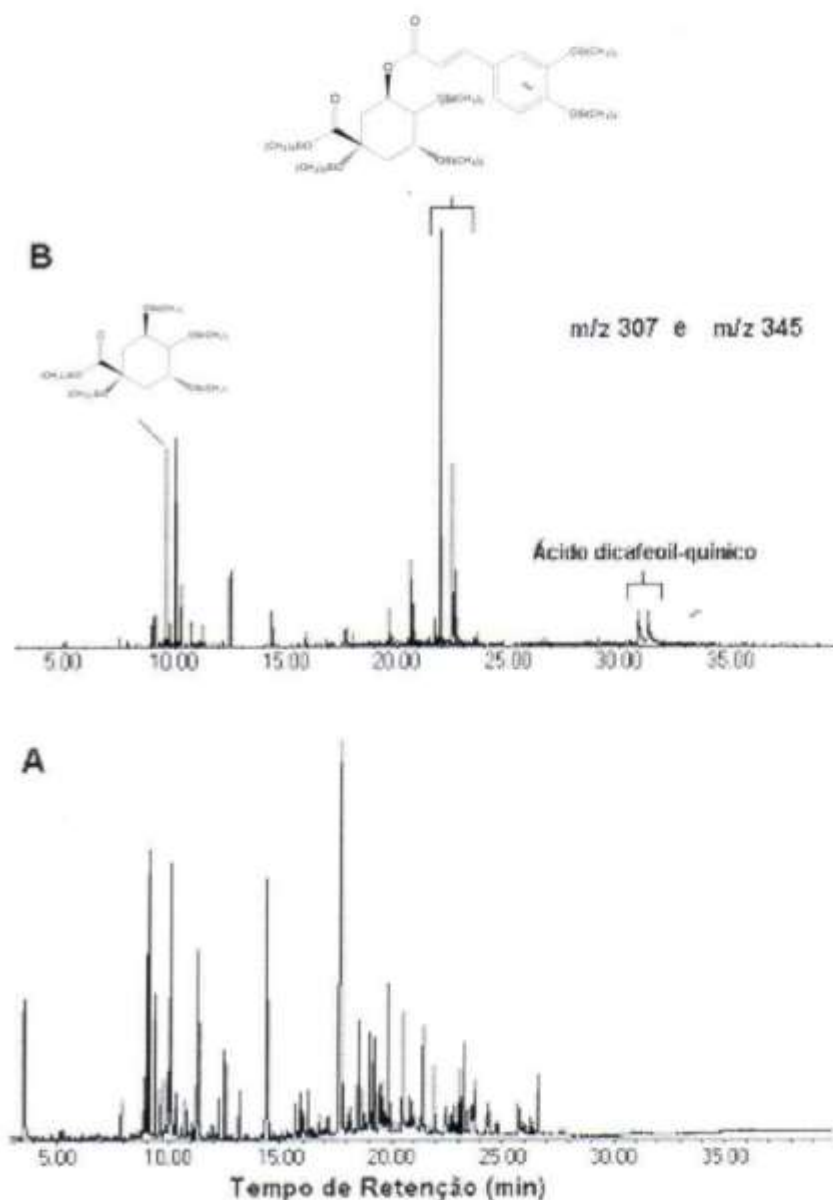


Figura 2. A) Cromatograma de ions totais de um extrato hidroalcoólico de própolis coletada no Estado do Rio de Janeiro. B) Fragmentograma dos ions m/z 307 e m/z 345, característicos do ácido quínico (t_R 9,6 min) e cafeoil derivados¹⁴⁰.

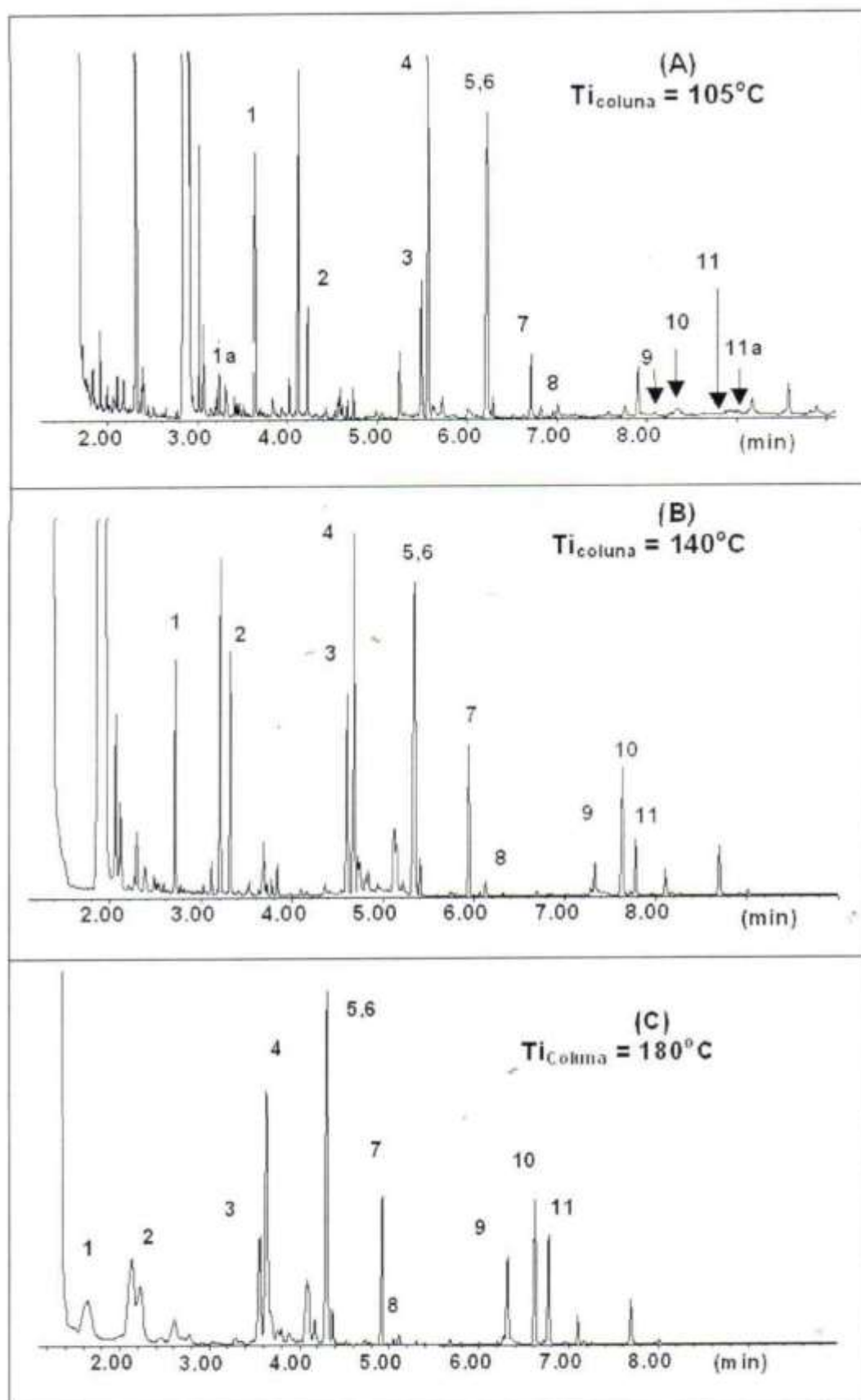


Figura 3. Cromatogramas de íons totais para urina fortificada com substâncias anabolizantes, para o controle de dopagem de atletas. Avaliação da temperatura inicial da coluna na focalização de amostra. Programação de temperatura: (a) $105^{\circ}C$, $40^{\circ}C/min$ to $200^{\circ}C$ e $15^{\circ}C/min$ até 300 (3 min), (b) $140^{\circ}C$, $40^{\circ}C/min$ até $200^{\circ}C$ e $15^{\circ}C/min$ até 300 (3 min) e (c) $180^{\circ}C$, $40^{\circ}C/min$ até $200^{\circ}C$ e $15^{\circ}C/min$ até 300 (3 min). (1) mabuterol, N-TMS,O-TMS; (1a) mabuterol-OTMS; (2) clenbuterol, N-TMS,O-TMS, (3) norandrosterona-bis-OTMS, (4) epimetendiol-bis-OTMS, (5,6) metiltestosterona-M1 e M2-bis-OTMS, (7) metiltestosterona-bis-TMS (ISTD), (8) oxandrolona, (9) estanozolol-bis-TMS, (10) 16- β -OH-furazabol-bis-OTMS, (11) 3'-OH-estanozolol-tris-TMS e (11a) 3'-OH-estanozolol-bis-TMS¹⁴¹.

Obs. à Figura 3: a ausência de focalização, devido à T_i elevada (180°C , (c)), resulta em alargamento dos picos, em especial os picos 1 a 6. A redução da temperatura para valor "ideal", 105°C , impede a derivatização complementar no injetor do cromatógrafo, com perda de sensibilidade (T_i 105°C , picos 9 a 11, (a)) e presença de analitos parcialmente derivatizados (picos 1a e 11a); (b) representa a temperatura de compromisso entre ambas situações¹⁴¹

5.5. Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Quiral (CGAR-Q)

A CGAR-Q, já demonstrou excelente potencial na resolução de enantiômeros bem como de distereoisômeros de difícil resolução em CGAR. As colunas mais promissoras são as de ciclodextrinas modificadas, mas os mecanismos de seleção quiral ainda são desconhecidos. Vários trabalhos encontram-se em andamento para compreender esse fenômeno^{144,145}, bem como para o apoio de estudos de sínteses quirais¹⁴⁶ (Figura 4) e estudo do comportamento das diferentes ciclodextrinas (α , β e γ) substituídas em utilização¹⁴⁷ (Figura 5).

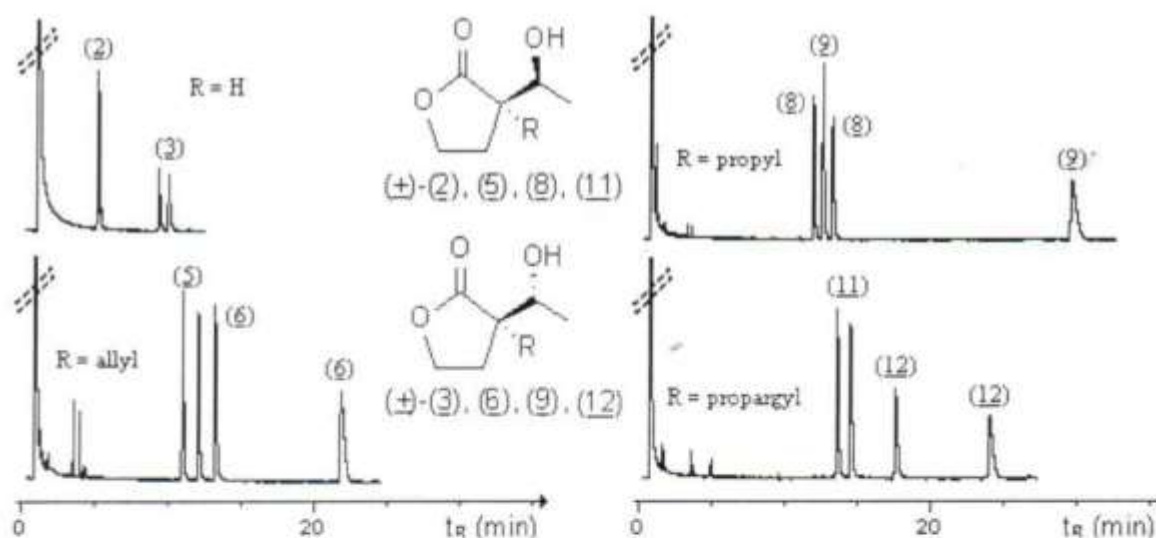


Figura 4. Cromatogramas típicos da separação dos estereoisômeros de 2-hidroxiacetil-2-alkil- γ -butirolactonas, a 115°C , em coluna de vidro ($20\text{m} \times 0,3\text{mm} \times 0,3\mu\text{m}$) de 10% de 2,3-di-O-metil-6-O-t-butildimetilsilil- β -ciclodextrina/SE-54, cuja a fase ciclodextrínica foi sintetizada e a coluna produzida no LPCC-LADETEC / IQ-UFRJ. Verifica-se a excelente separação dos enantiômeros, em tempo razoável, mesmo em cromatogramas não otimizados.¹⁴⁶

5.6. Metrologia Química em Cromatografia Gasosa

A instituição da Divisão de Metrologia Química no Inmetro, seguindo a tendência internacional de valorizar esse aspecto da Metrologia, essencial

para as relações comerciais, passa pelo desenvolvimento da Metrologia em cromatografia. Após o credenciamento do LADETEC / IQ – UFRJ, pela ISO-17.025, foi estabelecido um convênio que prevê a transferência de conhecimentos em Metrologia Química, quimiometria e métodos cromatográficos e espectrométricos, para a recém formada Divisão de Metrologia Química (Dquim) do Inmetro. Nesse aspecto, publicações do LADETEC e conjuntas com a Dquim deram início à capacitação de ambas as instituições^{148,149,150,151,152}.

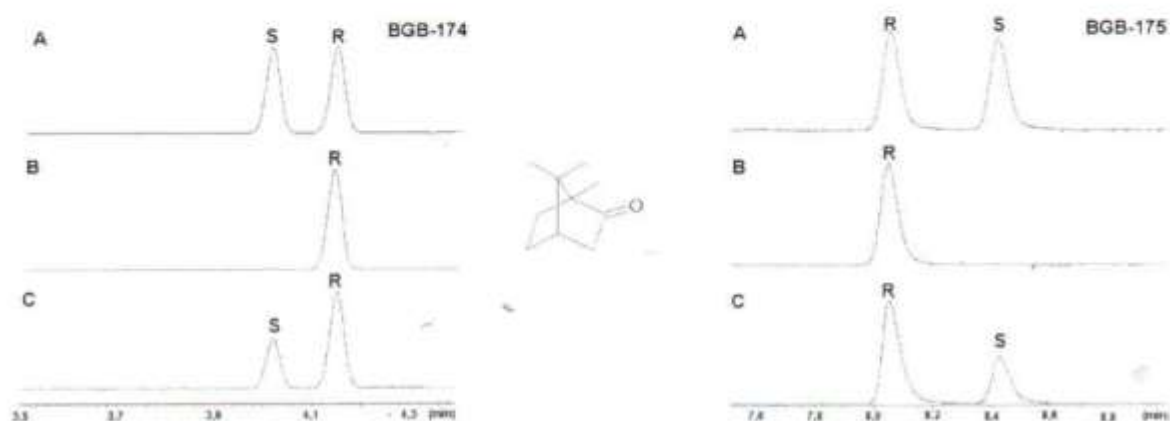


Figura 5. Cromatogramas representativos da inversão da ordem de eluição dos enantiômeros da cânfora em função da cavidade da ciclodextrina. BGB-174, 50% de 2,3-di-O-acetil-6-O-t-butildimetilsilil- β -ciclodextrina; BGB175, 50% de 2,3-di-O-acetil-6-O-t-butildimetilsilil- γ -ciclodextrina. A. (R,S)-(+/-)-cânfora; B. (R)-(+)-cânfora; C. co-injeção de (R,S)-(+/-)-cânfora e (R)-(+)-cânfora). A facilidade de obtenção e baixo custo da β -ciclodextrina popularizou essa fase, empregada em 98% das aplicações da literatura. O uso da γ -ciclodextrina começa a ficar mais popular e seletividades inesperadas têm ocorrido. Um complicador a mais na difícil tarefa de racionalizar os mecanismos de seleção quiral de ciclodextrinas substituídas. A modelagem da docagem nesses sistemas multipoliatômicos, parece ser uma abordagem promissora¹⁴⁷

6. AGRADECIMENTOS

A todos os que contribuíram para o desenvolvimento dessas técnicas no IQ – UFRJ, bem como sua disseminação e impacto na ciência e tecnologia nacionais.

Ao Prof. Cláudio Costa Neto, sem cuja genialidade e iniciativa, nada teria ocorrido.

Às agências e mecanismos de fomento, FAPERJ, BNDE, FINEP, CNPq, CAPES, PADCT; SNE-MET, MAPA e, em especial, às doações do Prof. K. Grob (ETH & EAWAG, Zurique, Suíça) e das FUJB, CBF, CSF, além do papel de destaque das sucessivas Direções do IQ e da UFRJ, permanentes incentivadores desse trabalho.

7. REFERÊNCIAS

- ⁰¹H. Purnell, *Gas Chromatography* (John Wiley & sons, New York, 1962)
- ^{02a}C. Costa Neto, J.T. Koffer, J.W. Alencar, *An. Acad. Bras. Ciências* **XIX** (1963)
- ^{02b}C. Costa Neto, J.T. Koffer, J.W. Alencar, *An. Acad. Bras. Ciências* **IV** (1963)
- ^{02c}C. Costa Neto, J.T. Koffer, J.W. Alencar, *J. Chromatogr.* **15**, 301 (1964)
- ^{02d}C. Costa Neto, J.T. Koffer, J.W. Alencar, *An. Acad. Bras. Ciências* **36**, 115 (1964)
- ^{02e}C. Costa Neto, *An. Acad. Bras. Ciências* **37**, 580-R (1965)
- ^{02f}C. Costa Neto, *An. Acad. Bras. Ciências* **38**, 574-R (1966)
- ^{02g}C. Costa Neto, H.T. Nakayama, J.M.V. Andrade, *An. Acad. Bras. Ciências* **38**, 383-R (1966)
- ⁰³R.G. Berg (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1970)
- ⁰⁴H.T. Nakayama (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1967)
- ⁰⁵J.M.V. Andrade (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1969)
- ⁰⁶C. Costa Neto, F.J.M. Concha, F.R. Aquino Neto, L.A. d'Avila, M.S. Araújo, L.R.N. Pinho, S.F. Carvalhaes, *An. Acad. Brasil. Ciências* **50**, 173 (1978)
- ⁰⁷F.R. Aquino Neto, F. R. e A.S. Mangrich, *J. Chromatogr. Science* **21**, 541 (1983)
- ⁰⁸J.N. Cardoso (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1969)
- ⁰⁹C. Costa Neto, A. Costa Neto, H.T. Nakayama, R.B. Alencastro, J.M.V. Andrade, *An. Acad. Bras. Ciências* **41**, 358 (1969)
- ¹⁰C. Costa Neto in *Anais das conferências do Simpósio sobre Ciência e Tecnologia do xisto* (Curitiba, Paraná, 1971) p. 137
- ¹¹J.N. Cardoso, I.T. Gabardo, F.R. Aquino Neto, L.M.P. Damasceno, *Rev. Bras. Geociências* **15**, 158 (1985)
- ¹²C. Costa Neto, J.M.V. Andrade, F.J.M. Concha, J.N. Cardoso, C.M.G. Coelho, F.R. Aquino Neto, W. Kienitz in *Livro de resumos do Simpósio sobre Ciência e Tecnologia do xisto* (Curitiba, Paraná, 1971)
- ¹³C. Costa Neto, J.N. Cardoso, *An. Acad. Bras. Ciências* **51**, 406 (1979)
- ¹⁴M.R.B. Loureiro (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1980)
- ¹⁵M.R.B. Loureiro, C. Costa Neto, *An. Acad. Bras. Ciências* **53**, 722 (1981)
- ¹⁶M.R.B. Loureiro, C. Costa Neto *An. Acad. Bras. Ciências* **54**: 87-96, 1982
- ¹⁷F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **7**, 79 (1984)
- ¹⁸J.N. Cardoso, E.G. Furtado, F.R. Aquino Neto, *An. Acad. Bras. Ciências* **60**, 409 (1988)
- ¹⁹M.I. Chicarelli, F.R. Aquino Neto, P. Albrecht, *Geochim Cosmochim. Acta* **52**, 1955 (1988)
- ²⁰R. Rodrigues, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso in *Geoquímica do Petróleo* (DIVEX/CENPES/PETROBRÁS. Rio de Janeiro, 1984), p. 157
- ²¹C. Costa Neto, S.F. Carvalhaes, L.A. d'Ávila, R.C.P. Pinto in *Livro de resumos do Simpósio sobre Ciência e Tecnologia do xisto* (Curitiba, Paraná, 1971)
- ²²F.R. Aquino Neto (Tese de D.Sc., Instituto de Química, da UFRJ, 1978)
- ²³G.A.G. Cidade, R.B. Coelho, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, *Rev. Quím. Ind.* **53**, 21 (1984)
- ²⁴F.R. Aquino Neto, J.N., *Rev. Quím. Ind.* **53**, 20 (1984)
- ²⁵F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, *Química Nova* **8**, 272 (1985)
- ²⁶L.M.P. Damasceno, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto in *Anais do I Seminário Nacional sobre manutenção de equipamentos para ensino e pesquisa (I SEMEP)*.(COPPE-UFRJ, Rio de Janeiro, 1987), p.420
- ²⁷N.F. Silva, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso in *Anais do I Seminário Nacional sobre manutenção de equipamentos para ensino e pesquisa (I SEMEP)*.(COPPE-UFRJ, Rio de Janeiro, 1987), p.423
- ²⁸R.B. Coelho, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso in *Anais do I Seminário Nacional sobre manutenção de equipamentos para ensino e pesquisa (I SEMEP)*.(COPPE-UFRJ, Rio de Janeiro, 1987), p.272
- ²⁹W.K. Seifert, E.J. Gallegos, R.M. Teeter, *J. Amer. Chem. Soc.* **94**, 5883 (1972)

- ³⁰F.R. Aquino Neto, S.F. Carvalhaes, L.A. d'Ávila, in *Monografias do Projeto Xistoquímica*, n. 4 (PXQ, IQ/UFRJ, Rio de Janeiro, 1978) 20p.
- ³¹S.F. Carvalhaes (Tese de D. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1979)
- ³²J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, R. Rodrigues, L.A. Trindade, *Org. Geochem.* **10**, 991 (1986)
- ³³F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, A.C.B. Silva, A. Manso, M. Tubino, W. Schimmelpfeng, *Rev. Quím. Ind.* **56**, 12 (1988)
- ³⁴M.R.B. Loureiro, este livro
- ³⁵M.C.L. Pinto, este livro
- ³⁶F.R. Aquino Neto, S.F. Carvalhaes, *Spectrum, J. Brasil. Ciências* **1**, 31 (1981)
- ³⁷J.H. Purnell Neto in *Anais das conferências do Simpósio sobre Ciência e Tecnologia do xisto* (Curitiba, Paraná, 1971), p. 167
- ³⁸M.R.B. Loureiro, F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **8**, 275 (1985)
- ³⁹J.M.V. Andrade (Ph. D. Thesis, University of Swansea, U.K., 1978)
- ⁴⁰J.N. Cardoso (Ph. D. Thesis, University of Bristol, U.K., 1976)
- ⁴¹F.R. Aquino Neto, J.M. Trendel, A. Restle, P. Albrecht, J. Connan in *Advan. Org. Geochem.* **1981**, p. 659 Pub. (1983)
- ⁴²K. Grob, *Rev. Quím. Ind.* **55**, 25 (1986)
- ⁴³K. Grob, *Rev. Quím. Ind.* **54**, 2 (1985)
- ⁴⁴F.R. Aquino Neto, *Indicadores geoquímicos moleculares*. Auxílio CNPq nº 411964/82, 1982.
- ⁴⁵F.R. Aquino Neto, *Preparação de colunas capilares para CGAR; deposição múltipla de carbonato de bário na preparação de colunas capilares polares*. Auxílio CNPq nº 402666/85, 1985.
- ⁴⁶E.G. Furtado, J.N. Cardoso, *J. Chromatogr. Sci.* **22**, 87 (1984)
- ⁴⁷Aquino Neto, F. R., Coelho, R. B., Cardoso, J. N. In *II Encontro Nacional de Química Analítica* (PUC, Rio de Janeiro, RJ, 1983)
- ⁴⁸I.M. Castro, F.R. Aquino Neto, *HRC* **13**, 302 (1990)
- ⁴⁹P. Stuckenbruck, F.R. Aquino Neto, *HRC* **13**, 210 (1990)
- ⁵⁰S.M.A. Correa, S.D.C.T. Barbosa, F.R. Aquino Neto, R.B. Coelho, *Química Nova* **15**, 291 (1992)
- ⁵¹F.R. Aquino Neto, *Apostila de CGAR*. 4ª edição (IQ-UFRJ, 2001)
- ⁵²C.H. Collins, F.R. Aquino Neto, J.R.P., *Química Nova* **11**, 443 (1988)
- ⁵³C.H. Collins, F.R. Aquino Neto, J.R.P. Silva, *Química Nova* **12**, 92 (1989)
- ⁵⁴F.R. Aquino Neto, D.S.S. Nunes, *Princípios básicos de cromatografia e técnicas afins* (Interciência, Rio de Janeiro, 2002)
- ⁵⁵F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **19**, 73 (1996)
- ⁵⁶A.S. Pereira, E.F. Silva, F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **19**, 600 (1996)
- ⁵⁷F.R. Aquino Neto, *Rev. Quím. Ind.* **57**, 26 (1989)
- ⁵⁸F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **18**, 65 (1995)
- ⁵⁹F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **18**, 597 (1995)
- ⁶⁰N.S. Resende, F.R. Aquino Neto, M. Schmal, J.N. Cardoso, *HRC & CC* **10**, 576 (1987)
- ⁶¹P. Stuckenbruck F.R. Aquino Neto, F. Carazza in *II Encontro de Carboquímica* (Salvador, 1989), p.3
- ⁶²S. P. Machado (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1989)
- ⁶³L.M.P. Damasceno (Tese de M. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 1992)
- ⁶⁴A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, *J. Chromatogr. Science* **38**, 369 (2000)
- ⁶⁵E.F. Silva, M.C.K.V. Ramos, F.R. Aquino Neto, *Química Nova* **19**, 473 (1996)
- ⁶⁶F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, *Química Nova* **15**, 224 (1992)
- ⁶⁷F.R. Aquino Neto, A. Restle, J. Connan, P. Albrecht, G. Ourisson, *Tetrahedron Letters* **23** 2027 (1982)
- ⁶⁸B.R.T. Simoneit, F.R. Aquino Neto, D.A. Azevedo, R.N. Leif, A.C. Pinto, P. Albrecht, *Naturwissenschaften* **77**, 380 (1990)
- ⁶⁹B.R.T. Simoneit, F.R. Aquino Neto, G.I. Jana, A.L. Burlingame, *J. Serb. Chem. Soc.* **61**, 973 (1996)

- ⁷⁰D.A. Azevedo, C.J. Andre Zinu, F.R. Aquino Neto, B.R.T. Simoneit, Org. Geochem. **32**, 443 (2001)
- ⁷¹D.A. Azevedo, F.R. Aquino Neto, B.R.T. Simoneit, Org. Geochem. **28**, 289 (1998)
- ⁷²D.A. Azevedo, F.R. Aquino Neto, B.R.T. Simoneit, A.C. Pinto, Org. Geochem. **18**, 9 (1992)
- ⁷³D.A. Azevedo, F.R. Aquino Neto, B.R.T. Simoneit, Org. Mass Spectrom. **25**, 475 (1990)
- ⁷⁴D.A. Azevedo, F.R. Aquino Neto, B.R.T. Simoneit, J. Mass Spectrom. **30**, 247 (1995)
- ⁷⁵D.A. Azevedo, F.R. Aquino Neto, B.R.T. Simoneit, Org. Geochem. **22**, 991 (1994)
- ⁷⁶M.A. McCaffrey, B.R.T. Simoneit, F.R. Aquino Neto, J.M. Moldowan, Org. Geochem. **21**, 481 (1994)
- ⁷⁷F.R. Aquino Neto, J. Triguís, D.A. Azevedo, R. Rodrigues, B.R.T. Simoneit, Org. Geochem. **18**, 791 (1992)
- ⁷⁸R. Rodrigues, L.A.F. Trindade, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, Org. Geochem. **13**, 707 (1988)
- ⁷⁹S.M.B. De Grande, M.R. Mello, F.R. Aquino Neto in *Proceedings of the 3rd Alago Meeting* (Manaus/AM, 1993), p. 37
- ⁸⁰B.R.T. Simoneit, M. Schoell, R.F. Dias, F.R. Aquino Neto, Geochim. Cosmochim. Acta **57**, 4205 (1993)
- ⁸¹R.L.O. Godoy, P.D.D.B. Lima, A.C. Pinto, F.R. Aquino Neto, Phytochemistry **28**, 642 (1989)
- ⁸²A.S. Pereira, A.C. Pinto, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, P.C. Vieira, P.C. J.B. Fernandes, M.F.G.F. Silva, C.C. Andrei, HRC **21**, 513 (1998)
- ⁸³A.S. Pereira, M.F.S. Ramos, E.S.C. Poças, P.C.M. Dias, E.P. Santos, J.F. Silva, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, Z. Naturforsch. **54**, 395 (1999)
- ⁸⁴A.S. Pereira, A.C.F. Amaral, R.A. Barnes, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, Phytochem. Analysis **10**, 254 (1999)
- ⁸⁵A.S. Pereira, M.A.A. Serrano, F.R. Aquino Neto, A.C. Pinto, D.F. Teixeira, B. Gilbert, J. Chromatogr. Sci. **38**, 174 (2000)
- ⁸⁶B. Bicalho, A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, A.C. Pinto, C.M. Rezende, J. Agricultural Food Chemistry **48**, 1167 (2000)
- ⁸⁷R.L.O. Godoy, F.R. Aquino Neto, A.C. Pinto in *Proceedings of the 8th International Symposium on Capillary Chromatography* (Huethig, Heidelberg, 1987), p. 636
- ⁸⁸A.S. Pereira, J.F.M. Silva, R. Kiltzke, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, Z. Naturforschung **54c**, 1115 (1999)
- ⁸⁹A.S. Pereira, S.A. Carbonell, F.R. Aquino Neto, A.C.F. Amaral, R.A. Barnes, J. Chromatogr. A **947**, 255 (2002)
- ⁹⁰A. Gioda, J.A. Sales, P.M.S. Cavalcanti, M.F. Maia, L.F.P.G. Maia, F.R. Aquino Neto in *Air Pollution VIII*, J.W.S. Longhurst, C.A. Brebia and H. Power, (editores) (WIT Press, Southampton, 2000), p. 593
- ⁹¹V.O. Elias, B.R.T. Simoneit, R.C. Cordeiro, B. Turcq, Geochim. Cosmochim. Acta **65** 267 (2001)
- ⁹²D.A. Azevedo, C.Y.M. Santos, F.R. Aquino Neto in *Proceedings 7th Latin-American Congress on Organic Geochemistry*, L.A. Trindade, A.C. Macedo, S.M. Barbanti (editors) 2000, p.111
- ⁹³D.A. Azevedo, C.Y.M. Santos, F.R. Aquino Neto, Atmospheric Environ. **36**, 2383 (2002)
- ⁹⁴F.R. Aquino Neto, Rev. BRASINDOOR **5**, 14 (2001)
- ⁹⁵L.S. Brickus, F.R. Aquino Neto, Química Nova **22**, 65 (1999)
- ⁹⁶A.H. Miguel, A.G. Allen, P.C. Vasconcellos, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso in *Proceedings of Indoor Air'93 v. 3*, p. 229
- ⁹⁷A.H. Miguel, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, P.C. Vasconcellos, A.S. Pereira, K.S.G. Marquez, Environ. Sci. & Technol. **29**, 338 (1995)
- ⁹⁸C.Y.M. Santos, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, Indoor + Built Environ. **6**, 168 (1997)
- ⁹⁹L.S. Brickus, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, Environ. Sci. & Technol. **32** 3485 (1998)
- ¹⁰⁰F.R. Aquino Neto, L.S.R. Brickus, Rev. Brasindoor **3**, 4 (1999)
- ¹⁰¹Ministério da Saúde Resolução 176 de 24/10/2000. *Padrões referenciais de qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.*

¹⁰²Victor Sérgio de Freitas Dias Moreira (Tese de M.Sc., Dept. Engenharia Bioquímica da EQ/UFRJ, 1999)

¹⁰³Lenise de Vasconcelos Fonseca Gonçalves (Tese D.Sc., PEQ – COPPE / UFRJ, 2003)

¹⁰⁴Eduardo Bessa Azevedo (Tese de D. Sc., COPPE/UFRJ, 2003)

¹⁰⁵

M. Castillo, D. Barceló, A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, Trends in Anal. Chem. **18**, 26 (1999)

¹⁰⁶F.R. Aquino Neto, Revista Brasileira de Medicina do Esporte **7**, 138 (2001)

¹⁰⁷L.M.P. Damasceno, R.M.A. Bento, L.N.L.F. Gomes, R. de La Torre, F.R. Aquino Neto in *Recent Advances in Doping Analysis 19th Cologne Workshop on Dope analysis 9*, W. Schaenzer, H. Geyer, A. Gotzman, U. Marek-Engelke (editors). (Sport and Buch Strauss, Köln, 2001), p. 253

¹⁰⁸B.F. Spisso, C.C. Lopes, M.A.S. Marques, F.R. Aquino Neto, J. Anal. Toxicol. **24**, 146 (1999)

¹⁰⁹World antidoping agency (2002) *The world antidoping code* (WADA, Montreal, 2002)

¹¹⁰Tania Maria Monteiro (Tese de D.Sc., Instituto de Química da UFRJ, 2000)

¹¹¹C.R. Cardoso, M.A.S. Marques, R.C. Caminha, M.C. Maioli, F.R. Aquino Neto, J. Chromatogr. B **775**, 1 (2002)

¹¹²C.A.B. De Maria, L.C. Trugo, F.R. Aquino Neto, R.F.A. Moreira, C.S. Alviano, Food Chemistry **55**, 203 (1996)

¹¹³C.A.B. De Maria, L.C. Trugo, F.R. Aquino Neto, R.F.A. Moreira, C.S. Alviano, J. Braz. Chem. Soc. **7**, 267 (1996)

¹¹⁴M.A.S. Marques, L.A. Lima, C.H.B. Bizarri, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, J. Anal. Toxicol. **22**, 367 (1998)

¹¹⁵Carlos Henrique Brasil Bizarri (Tese de M.Sc. Instituto de Química da UFRJ, 1998)

¹¹⁶A.S. Pereira, N. Norsell, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, J. Agricultural Food Chem. **48**, 5226 (2000)

¹¹⁷A.S. Pereira, B. Bicalho, F.R. Aquino Neto Apidologie (no prelo, 2002)

¹¹⁸A.S. Pereira, E.A. Nascimento, F.R. Aquino Neto, Z. Naturforsch. C. (no prelo, 2002).

¹¹⁹A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, Z. Naturforsch. C. (no prelo, 2002).

¹²⁰E. Prytyk, F.R. Aquino Neto, A.S. Pereira, A.P. Dantas, K. Salomão, S.L. Castro, V.S. Bankova, J. Entomology (no prelo, 2002).

¹²¹A. Branco, A.S. Pereira, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto, A.C. Pinto, R. Braz-Filho, Phytochemical Analysis **12**, 266 (2001)

¹²²A.S. Pereira, A.C.F. Amaral, M.A. Silva, F.R. Aquino Neto, Z. Naturforsch. **56c** 357 (2001)

¹²³A.S. Pereira, C.A.G. Camara, F.R. Aquino Neto, V. Bittrich, A.J. Marsaioli, Z. Naturforsch. C. (no prelo, 2002).

¹²⁴A.C. Siani, M.F.S. Ramos, A.I.F. Silva, M.R. Tappin, M.C.K.V. Ramos, F.R. Aquino Neto, J. Agricult. Food Chem. **50**, 3518 (2002)

¹²⁵D.S. Siqueira, A.S. Pereira, J.A. Cabral, C.A.C. Ferreira, F.R. Aquino Neto, Z. Naturforschung. **55c**, 175 (2000)

¹²⁶A.S. Pereira, D.S. Siqueira, V.O. Elias, B.R.T. Simoneit, J.A. Cabral, F.R. Aquino Neto, Phytochemistry (no prelo, 2002).

¹²⁷D.G. Machado, A.P. Dantas, K. Salomão, F.R. Aquino Neto, S.L. Castro, J. Nat. Prod. (no prelo, 2002).

¹²⁸C.Y.M. Santos, D.A. Azevedo, F.R. Aquino Neto, Atmospheric Environ. **36**, 3009 (2002)

¹²⁹A. Gioda, F.R. Aquino Neto, Cadernos de Saúde Pública da FIOCRUZ (no prelo, 2002)

¹³⁰A. Gioda, F.R. Aquino Neto, Brazil. Indoor + Built Environ. (no prelo, 2002)

¹³¹F.P. Carneiro, F.R. Aquino Neto in *Proceedings of Indoor Air '2002, The 9th Int. Conf. on Indoor Air Quality & Climate* (Monterey, CA, USA. CD-Rom, 2002)

¹³²A.S. Pereira, M.C. Padilha, F.R. Aquino Neto, J. Braz. Chem. Soc. (enviado)

¹³³A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, Trends in Anal. Chem. **18**, 126 (1999)

¹³⁴A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, Química Nova **23**, 370 (2000)

¹³⁵A.S. Pereira, EF. Silva, F.R. Aquino Neto in *Chromatography. Celebrating Michael Tswett 125th Birthday* (O. Kaiser, R.E. Kaiser, H. Gunz, W. Gunther, editors) (In Com., Dusseldorf, 1997), p. 65

- ¹³⁶A.S. Pereira, E.F. Silva, F.R. Aquino Neto, J. Chromatogr. Sci. **36**, 91 (1998)
- ¹³⁷F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, M.C.Z. Fernandes, C.A. Caetano, A.S. Pereira, A.L.C. Machado, HRC **17**, 259 (1994)
- ¹³⁸S.M.B. De Grande, F.R. Aquino Neto, M.R. Mello, Organic Geochemistry **20**, 1039 (1993)
- ¹³⁹S.A. Carbonell, F.R. Aquino Neto, J.N. Cardoso, A.S. Pereira, A.C.F. Amaral, R.A. Barnes, J. Chromatogr. Sci. **38**, 234 (2000)
- ¹⁴⁰A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto Analysis of quinic acid and its derivatives in Brazilian propolis by High temperature GC. J. Chromatogr. A (enviado).
- ¹⁴¹A. Huebernein, Marques, M.A.S., Pereira, A.S., F.R. Aquino Neto, J.Chromatogr. A (no prelo, 2002)
- ¹⁴²H.M.G. Pereira, M.A.S. Marques, F.R. Aquino Neto, Química Nova (no prelo, 2002)
- ¹⁴³H.M.G. Pereira, M.A.S. Marques, F.R. Aquino Neto, Rev. Bras. Med. Esporte (no prelo, 2002)
- ¹⁴⁴C.A. Fraga, E.F. Silva, M.C.K.V. Ramos, F.R. Aquino Neto, E.J. Barreiro, Chirality **9**, 321 (1997)
- ¹⁴⁵M.C.K.V. Ramos, E.F. Silva, F.R. Aquino Neto, E.P. Peçanha, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, Analytical Chemistry **72**, 3056 (2000)
- ¹⁴⁶L.H.P. Teixeira, M.C.B.V. Souza, M.C.K.V. Ramos, F.R. Aquino Neto, E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, Synthetic Commun. **32** 505 (2002)
- ¹⁴⁷M.C.K.V. Ramos (Tese de D. Sc., Instituto de Química da UFRJ, 2003)
- ¹⁴⁸M.C. Padilha, L.N.L.F. Gomes, P.F. Âguiar, J.R.R. Siqueira, F.R. Aquino Neto in *III Congresso Internacional de Metrologia em Química* (Curitiba, Paraná, Brasil. CD-Rom, 2002)
- ¹⁴⁹V. Souza, V.S. Cunha, F.R. Aquino Neto in *III Congresso Internacional de Metrologia em Química* (Curitiba, Paraná, Brasil. CD-Rom, 2002)
- ¹⁵⁰C.R. Cardoso, H.G.M. Pereira, R.C. Caminha, F.R. Aquino Neto, M.A.S. Marques in *III Congresso Internacional de Metrologia em Química* (Curitiba, Paraná, Brasil. CD-Rom, 2002)
- ¹⁵¹L.M.P. Damasceno, T.P. Cunha, P.F. Aguiar, F.R. Aquino Neto in *III Congresso Internacional de Metrologia em Química* (Curitiba, Paraná, Brasil. CD-Rom, 2002)
- ¹⁵²J.M. Rodrigues, V. Souza, F.R. Aquino Neto in *III Congresso Internacional de Metrologia em Química* (Curitiba, Paraná, Brasil. CD-Rom, 2002)