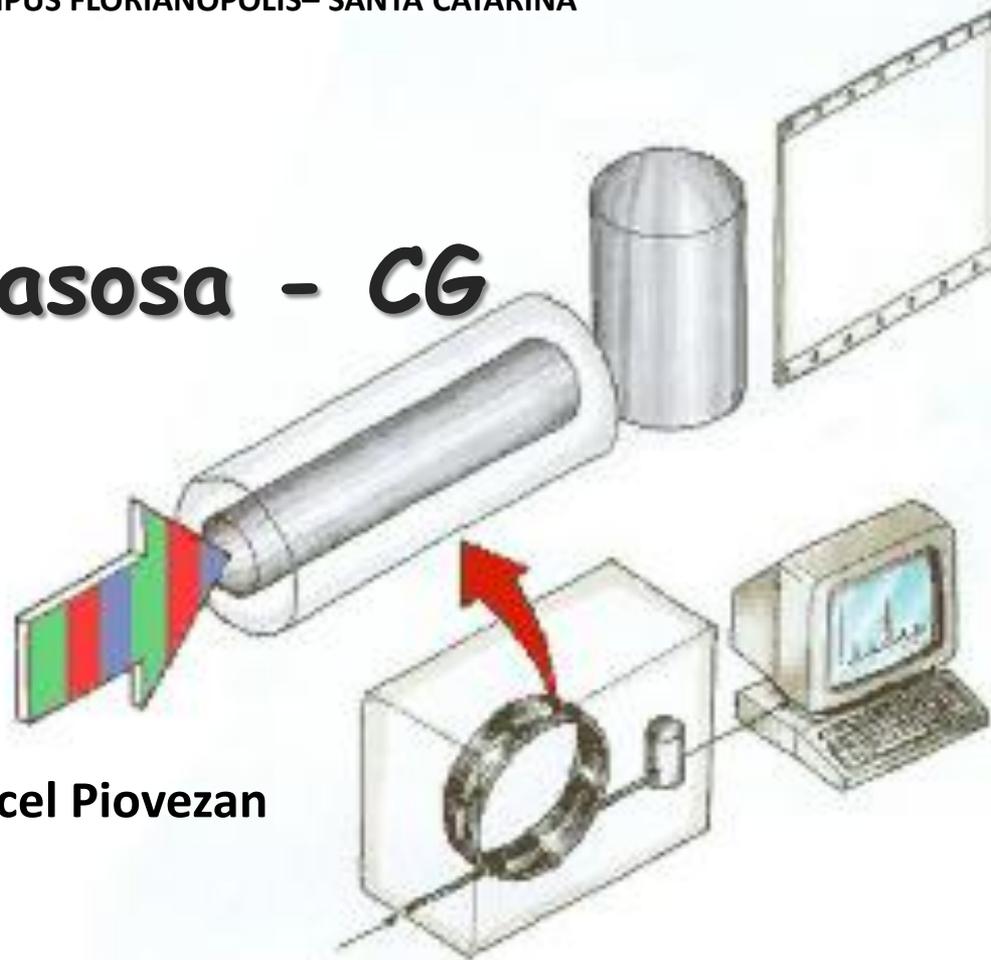


Cromatografia Gasosa - CG



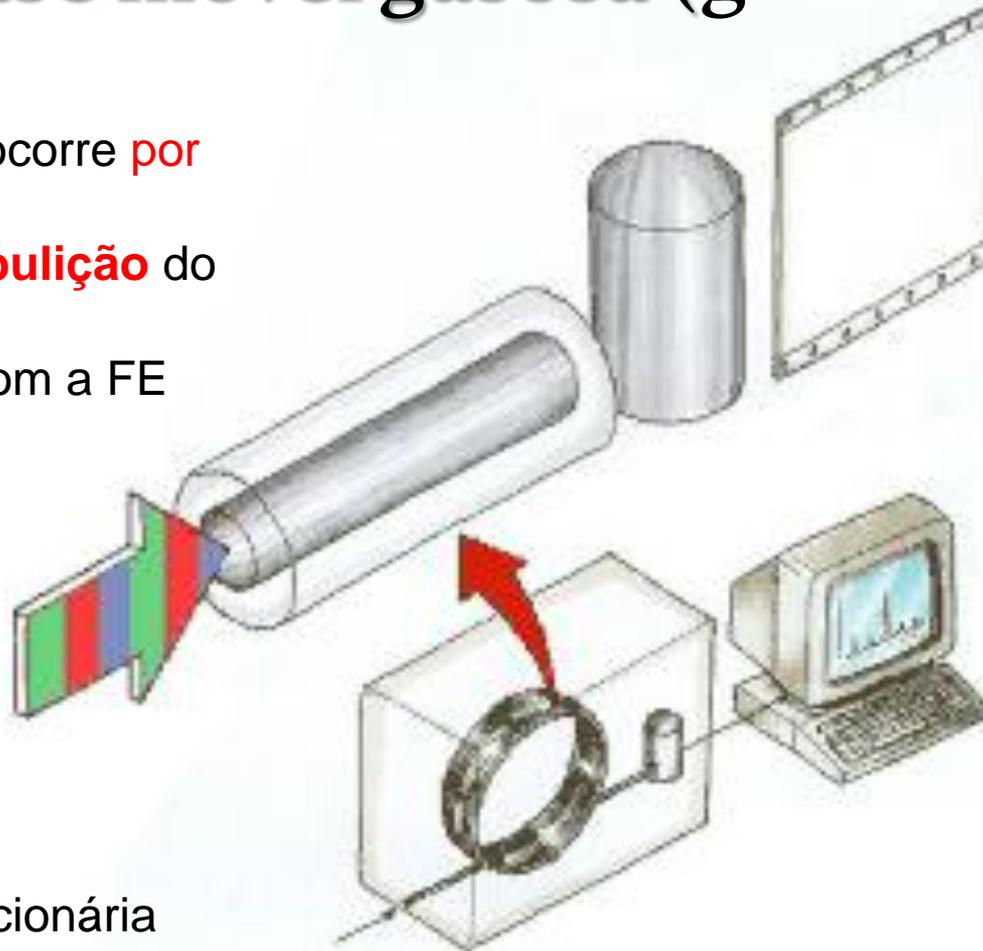
Prof. Marcel Piovezan

marcel.piovezan@ifsc.edu.br

UC: Análise Instrumental II

Na **cromatografia gasosa** o constituinte gasoso é transportado pela coluna por uma fase móvel gasosa (gás de arraste).

Separação ocorre **por** diferença de **Ponto de ebulição** do composto e **Interação** com a FE na coluna.



FE - fase estacionária

CLASSIFICAÇÃO

Técnica

Planar

Coluna

Fluído Supercrítico

Sól

Fase ligada

CSS

CSFL

FM

Líquido

Gás

Líquido

FE

Líq

Sól

Líq

Sól

Líq

Sól

Troca Iônica

Afinidade

Fase Ligada

Exclusão

Tipo de cromatografia

CP

CCD

CGL

CGS

CLL

CLS

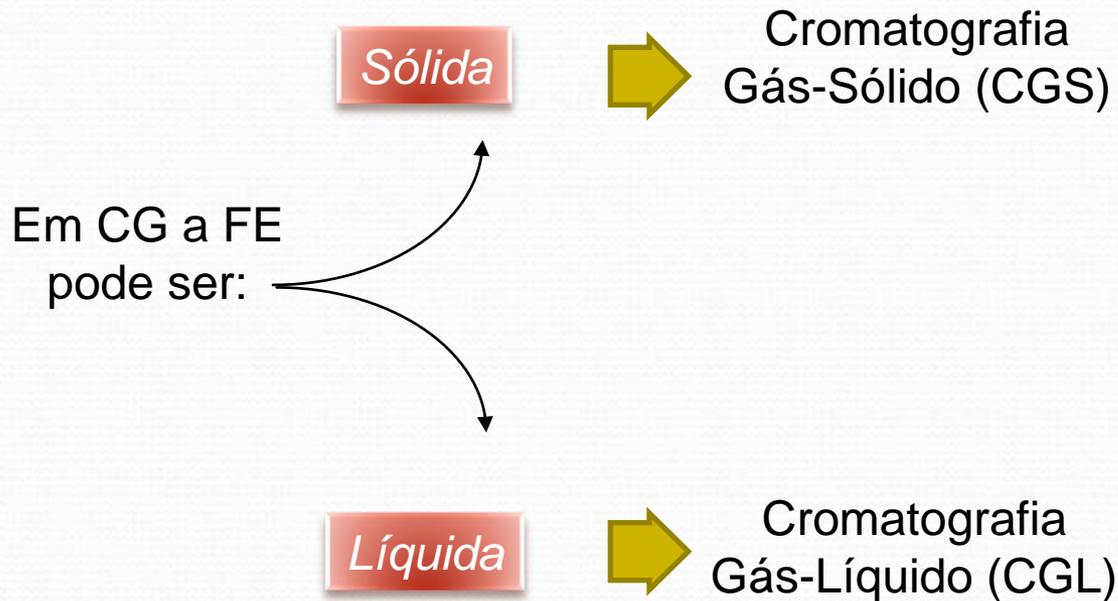
CTI

CB

CLFL

CE

FASE ESTACIONÁRIA PARA CG



Na **cromatografia gasosa por adsorção** o constituinte é **adsorvido diretamente nas partículas sólidas** da fase estacionária.

Na **cromatografia gasosa por partição** a fase estacionária é um **líquido não-volátil** cobrindo a parte interna da coluna ou fino suporte sólido.

CG - APLICABILIDADE

QUAIS MISTURAS PODEM SER SEPARADAS POR CG



(para uma substância qualquer poder ser “**arrastada**” por um fluxo de um gás ela deve se dissolver - pelo menos parcialmente - nesse gás)

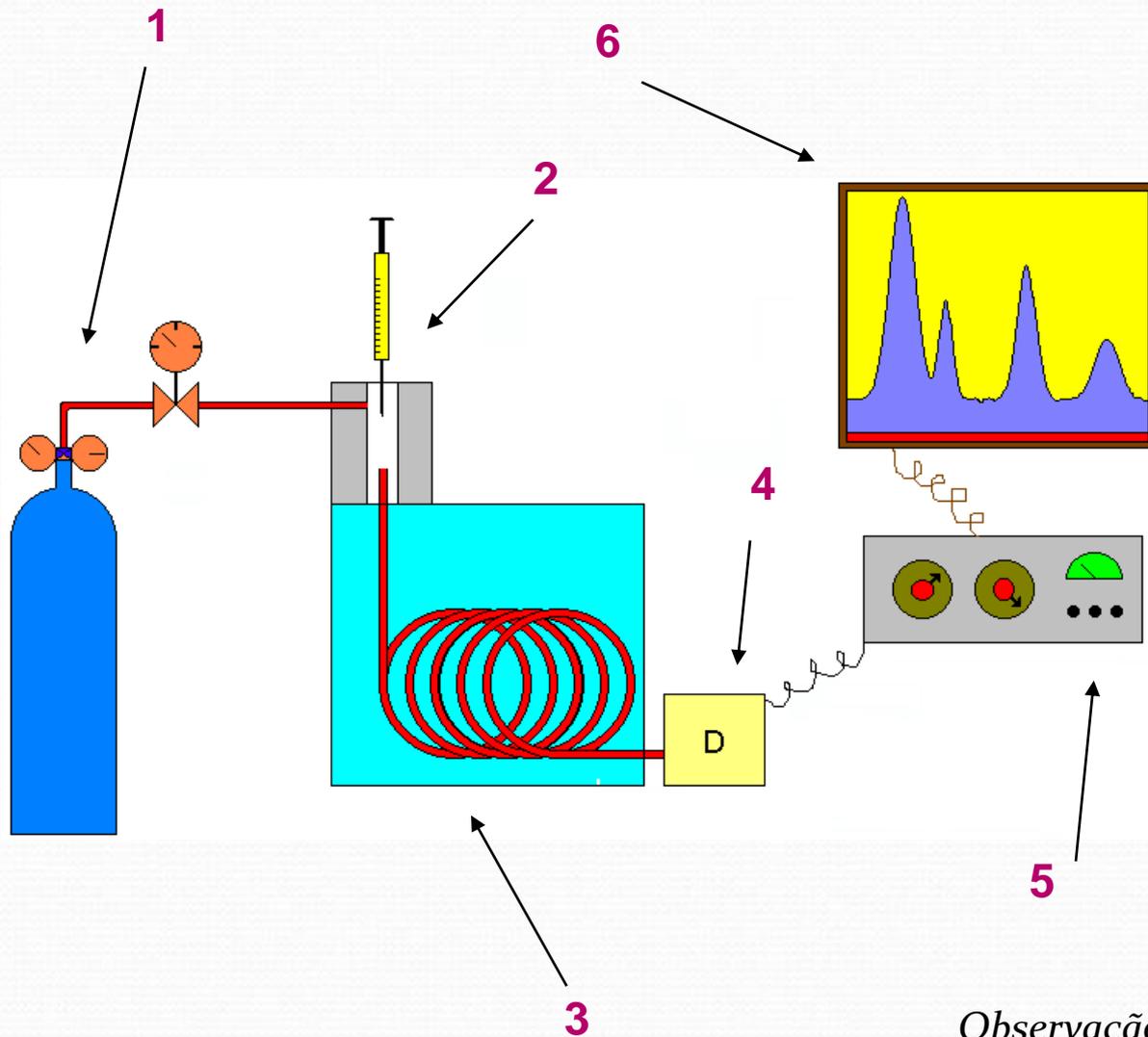


Misturas cujos constituintes sejam
VOLÁTEIS (=“evaporáveis”)

DE FORMA GERAL:

CG é aplicável para separação e análise de misturas cujos constituintes tenham **PONTOS DE EBULIÇÃO de até 300°C** e que termicamente estáveis.

CG - INSTRUMENTAÇÃO



1 - Cilindro de Gás e Controles de Vazão / Pressão.

2 - Injetor (Vaporizador) de Amostra.

3 - Coluna Cromatográfica e Forno da Coluna.

4 - Detector.

5 - Eletrônica de Tratamento (Amplificação) de Sinal.

6 - Registro de Sinal (Registrador ou Computador).

Observação: *em violeta*: temperatura controlada

CG – GÁS DE ARRASTE

Fase Móvel em CG: **NÃO** interage com a amostra - apenas a **carrega** através da coluna.

Assim é usualmente referida como **GÁS DE ARRASTE**



REQUISITOS



INERTE Não deve reagir com a amostra, fase estacionária ou superfícies do instrumento.

PURO Deve ser isento de impurezas que possam degradar a fase estacionária.

Impurezas típicas em gases e seus efeitos:

CG – GÁS DE ARRASTE

IMPUREZAS TÍPICAS EM GASES E SEUS EFEITOS



H_2O_2 : oxida/hidrolisa algumas FE incompatíveis com ECD

HIDROCARBONETOS: ruído no sinal de FID

COMPATÍVEL COM DETECTOR Cada detector demanda um gás de arraste específico para melhor funcionamento.

ECD – detector de captura de elétrons

FID – detector de ionização de chama

CG – GÁS DE ARRASTE

Seleção de Gases de Arraste em Função do Detector:

TCD

- He
- H₂

FID

- N₂
- H₂

ECD

- N₂ (SS)
- Ar + 5%
CH₄

TCD – detector de condutividade térmica

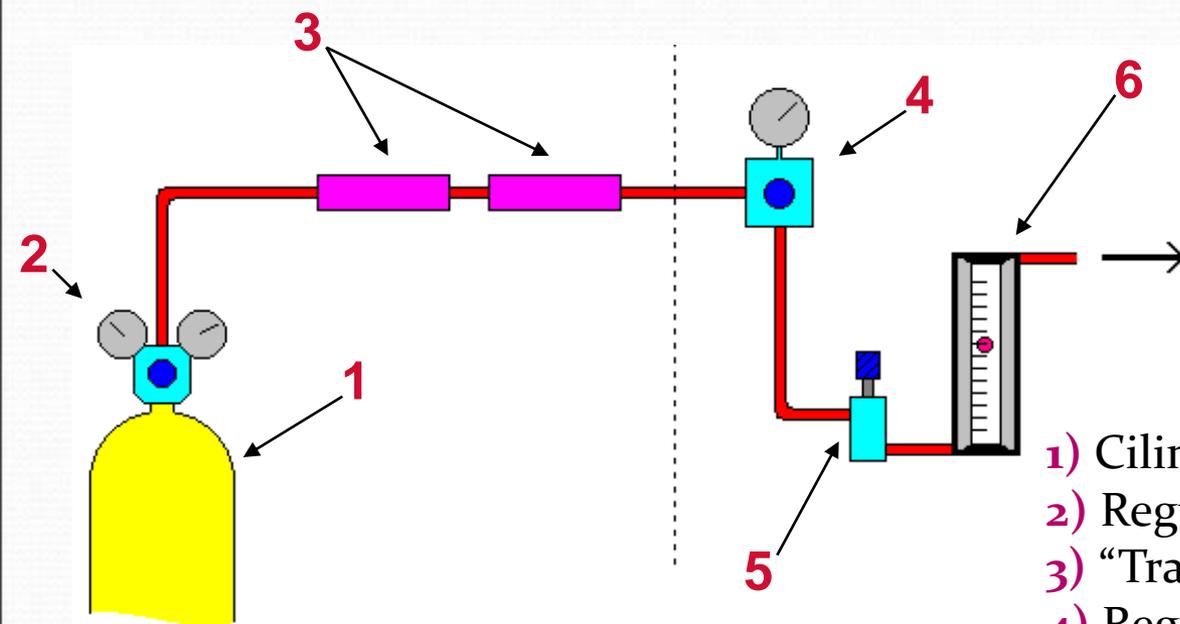
ECD – detector de captura de elétrons

FID – detector de ionização de chama

CG – GÁS DE ARRASTE

Componentes necessários à linha de gás:

- ✓ controladores de vazão / pressão de gás
- ✓ dispositivos para purificação de gás (“traps”)



- 1) Cilindro de Gás
- 2) Regulador de Pressão Primário
- 3) “Traps” para eliminar impurezas do gás
- 4) Regulador de Pressão Secundário
- 5) Regulador de Vazão (Controlador Diferencial de Fluxo)
- 6) Medidor de Vazão (Rotâmetro)

Nota: Tubos e Conexões: Aço Inox ou Cobre

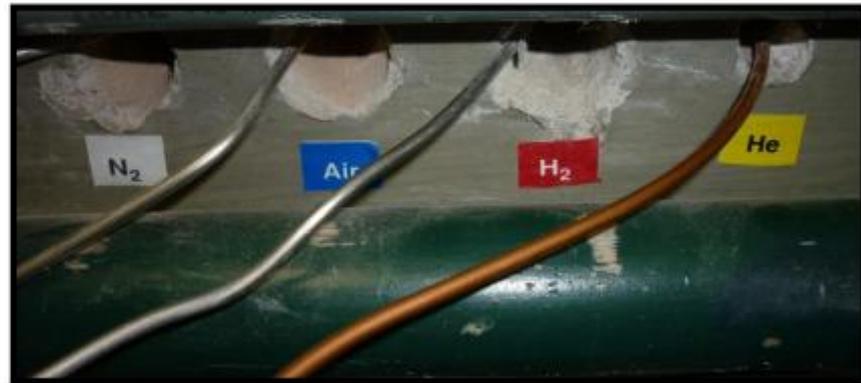
Sistema de gases

Gases e manômetros



Sistema de gases

Cilindros e linhas de gases

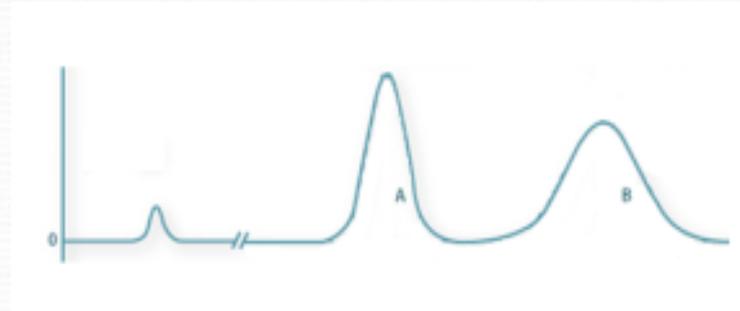
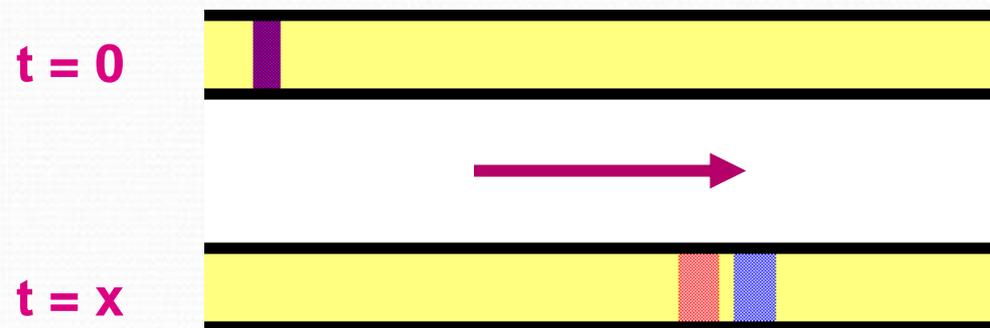


Tubos e Conexões
Aço Inox ou Cobre

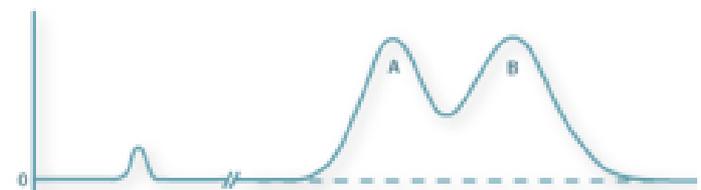
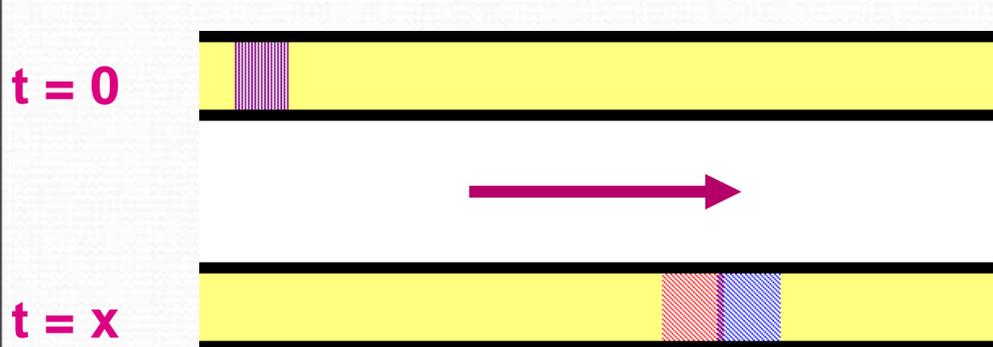
CG – DISPOSITIVOS DE INJEÇÃO

Os dispositivos para injeção (**INJETORES** ou **VAPORIZADORES**) devem prover meios de introdução *INSTANTÂNEA* da amostra na coluna cromatográfica

Injeção instantânea:

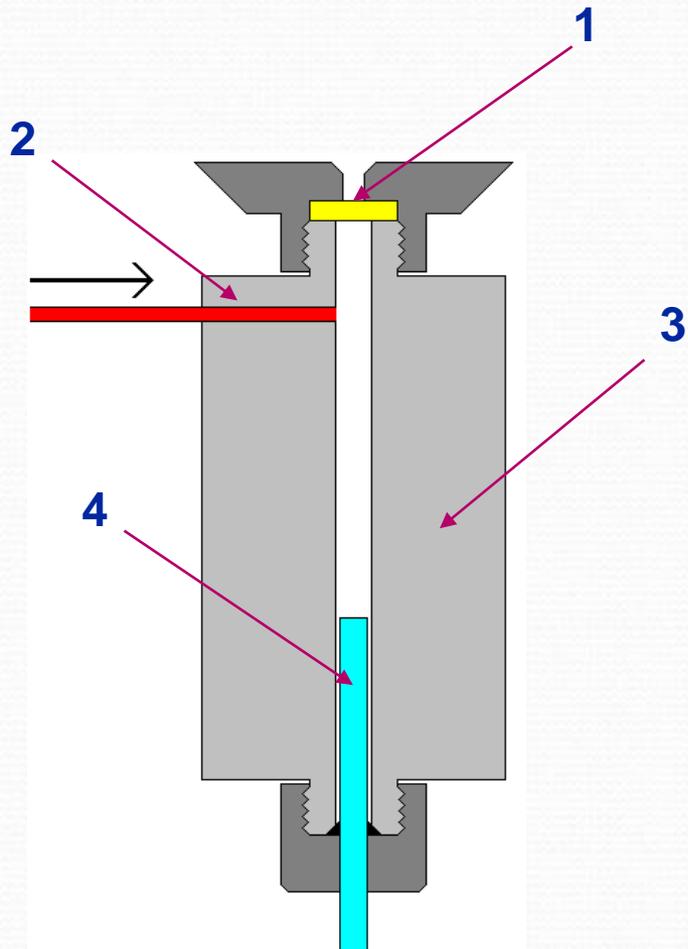


Injeção lenta:



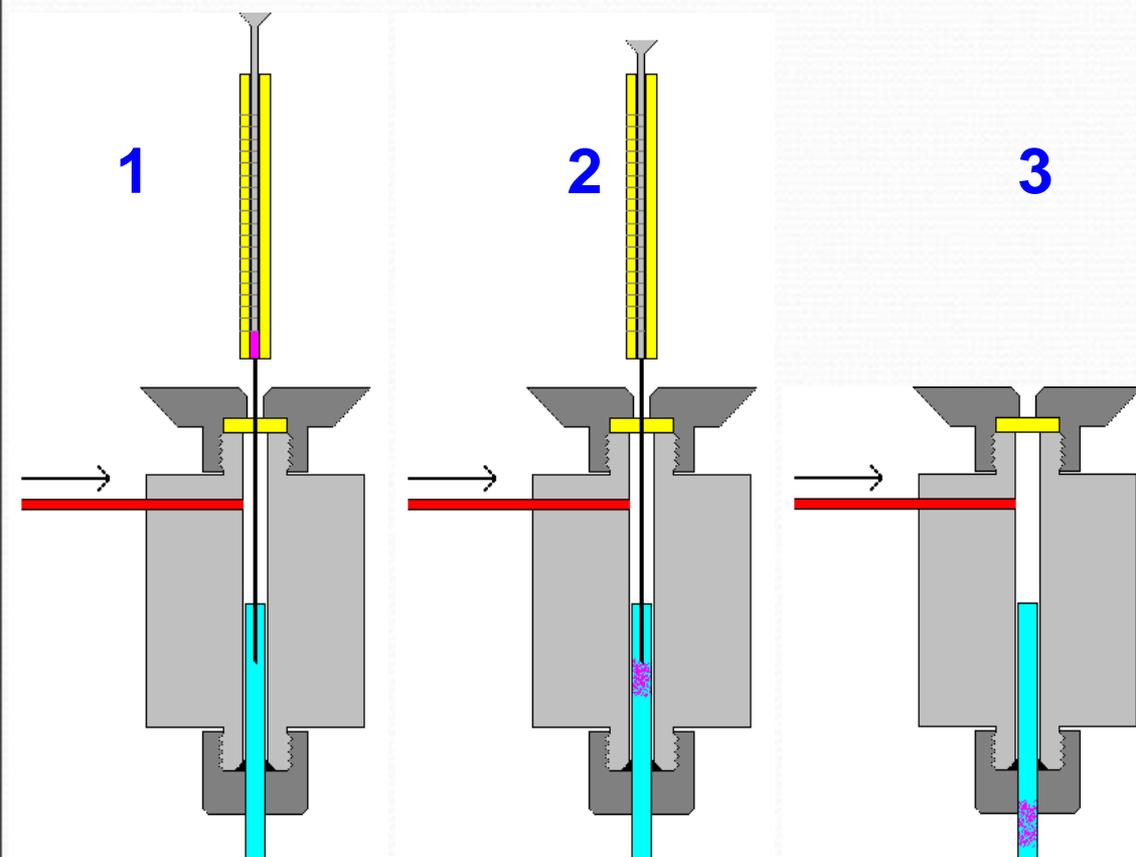
CG – DISPOSITIVOS DE INJEÇÃO

INJETOR “ON COLUMN” CONVENCIONAL



- 1 - Septo (silicone)
- 2 - Alimentação de gás de arraste
- 3 - Bloco metálico aquecido
- 4 - Ponta da coluna cromatográfica

CG – DISPOSITIVOS DE INJEÇÃO



INJEÇÃO "ON COLUMN" DE LÍQUIDOS

1 - Ponta da agulha da microseringa é introduzida no início da coluna.

2 - Amostra injetada e vaporizada instantaneamente no início da coluna.

3 - "Plug" de vapor de amostra forçado pelo gás de arraste a fluir pela coluna.

CG – PARÂMETROS DE INJEÇÃO

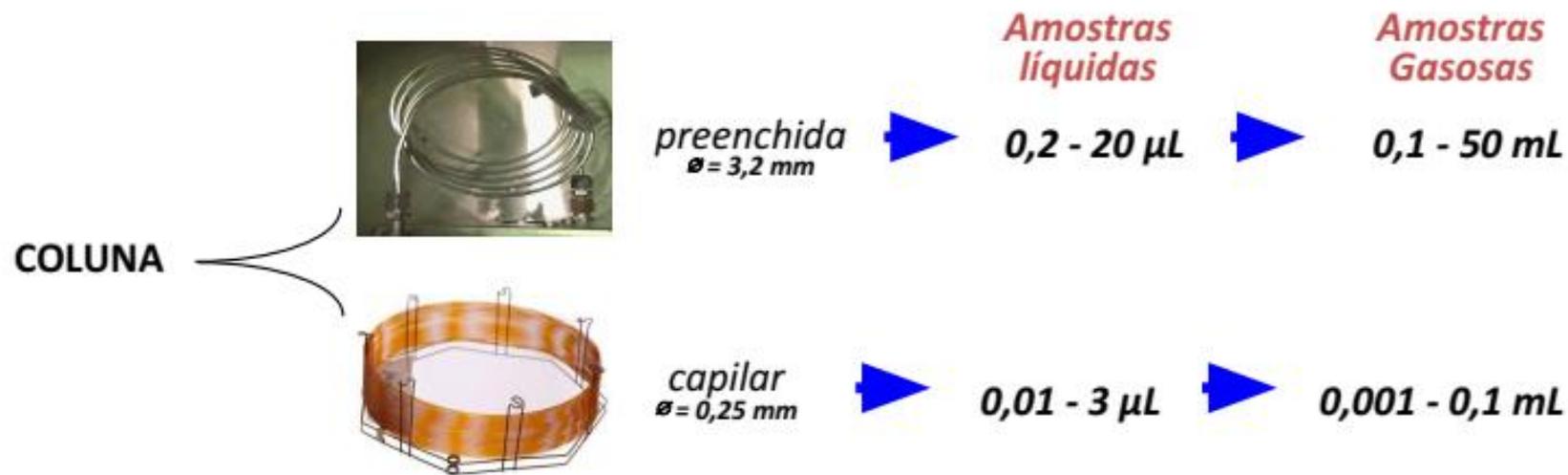
TEMPERATURA DO INJETOR Deve ser suficientemente elevada para que a **amostra vaporize-se imediatamente**, mas sem decomposição

Regra Geral: $T_{inj} = 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ acima da temperatura de ebulição do componente menos volátil

Injetores

Parâmetros de injeção

Volume injetado → Depende de coluna e do estado físico da amostra

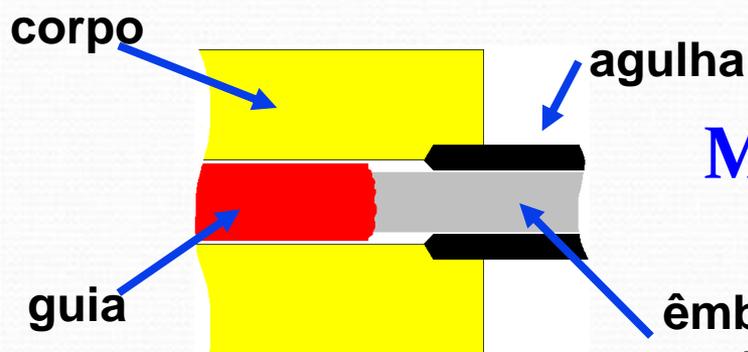
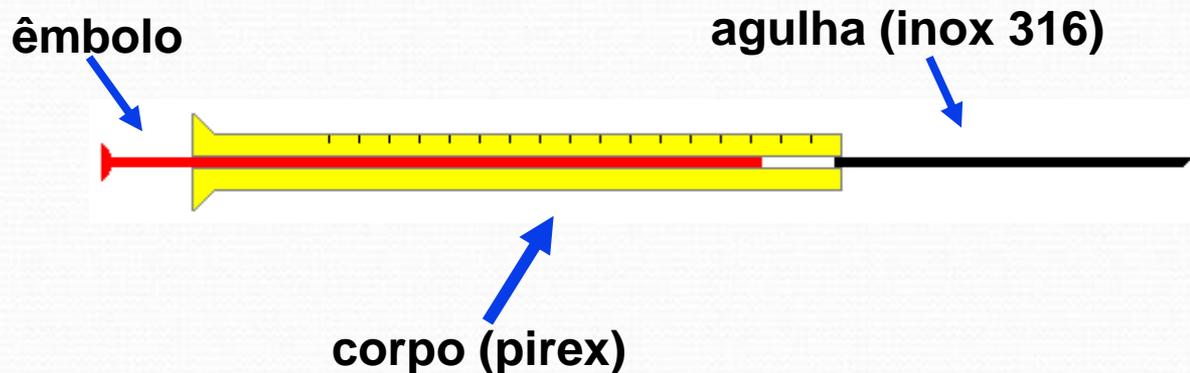


CG – PARÂMETROS DE INJEÇÃO

MICROSERINGAS PARA INJEÇÃO

LÍQUIDOS Capacidades típicas: 1 μL , 5 μL , 10 μL , 50 μL e 100 μL

Microseringa de 10 μL

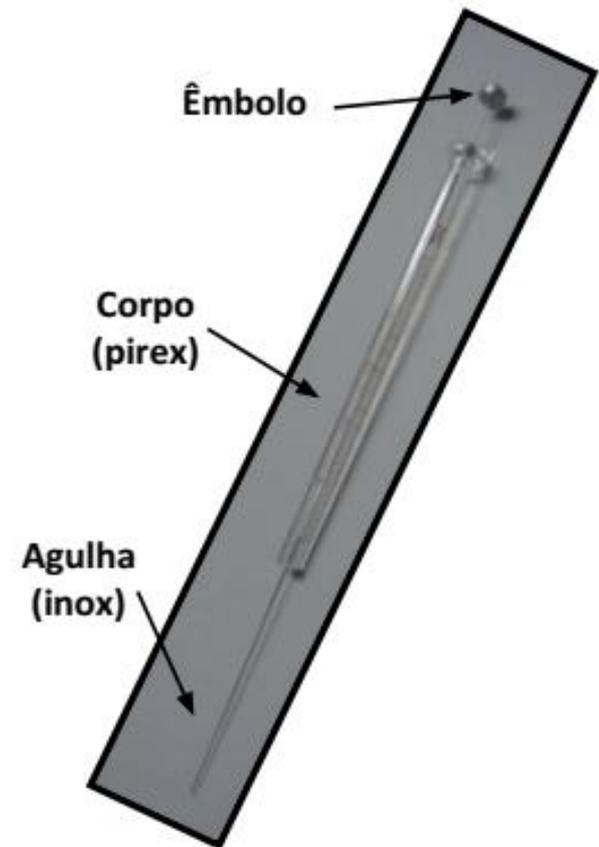


Microseringa de 1 μL (seção ampliada):

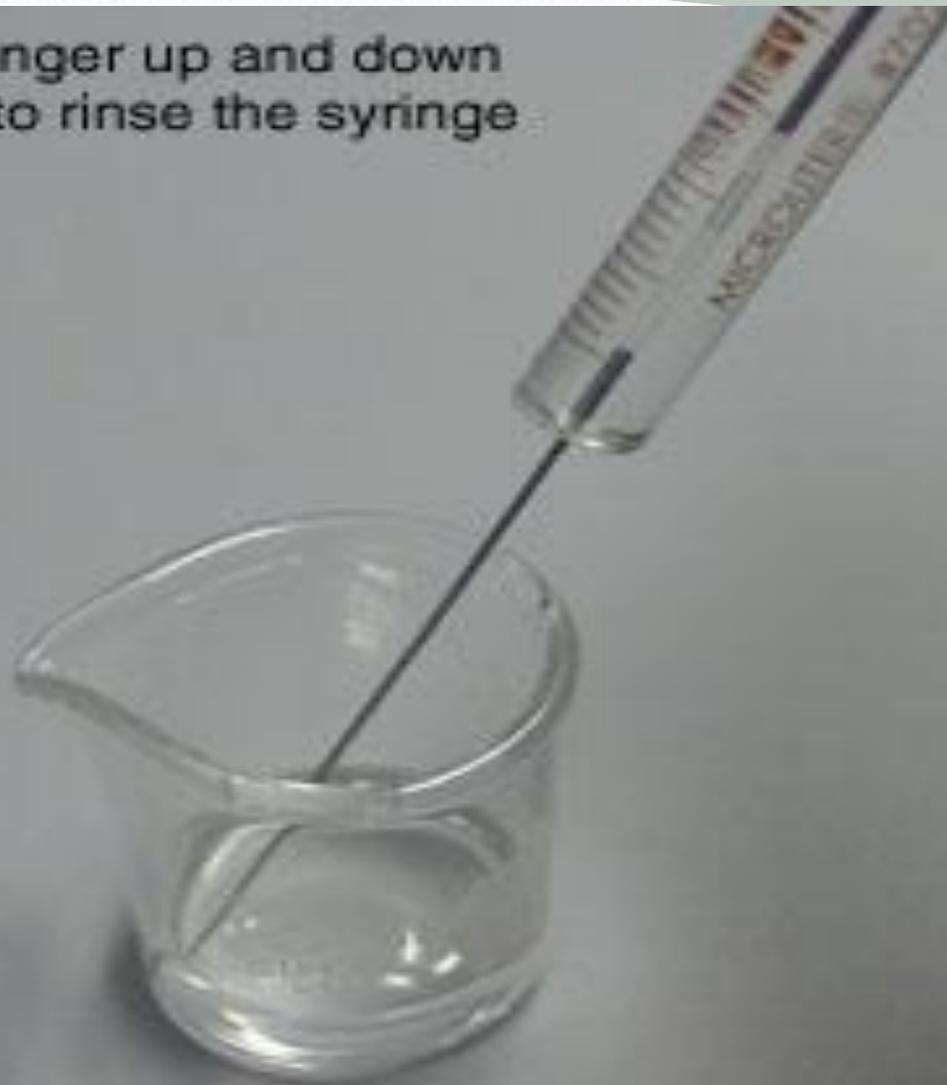
êmbolo (fio de aço soldado ao guia)

Injetores

Injeção manual e Microseringas



draw the plunger up and down
a few times to rinse the syringe



Injetores

Injeção automática e Acessórios



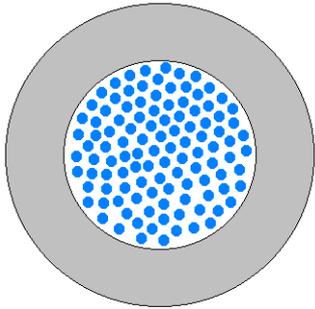
Injetores

Injeção automática e Acessórios



CG – COLUNAS

DEFINIÇÕES BÁSICAS



EMPACOTADA

$\varnothing = 3 \text{ a } 6 \text{ mm}$

$L = 0,5 \text{ m a } 5 \text{ m}$

Recheada com sólido pulverizado (FE sólida ou FE líquida depositada sobre as partículas do recheio)



CAPILAR

$\varnothing = 0,1 \text{ a } 0,5 \text{ mm}$

$L = 5 \text{ m a } 100 \text{ m}$

Paredes internas recobertas com um filme fino (fração de μm) de FE líquida ou sólida

CG – COLUNAS

Função e localização

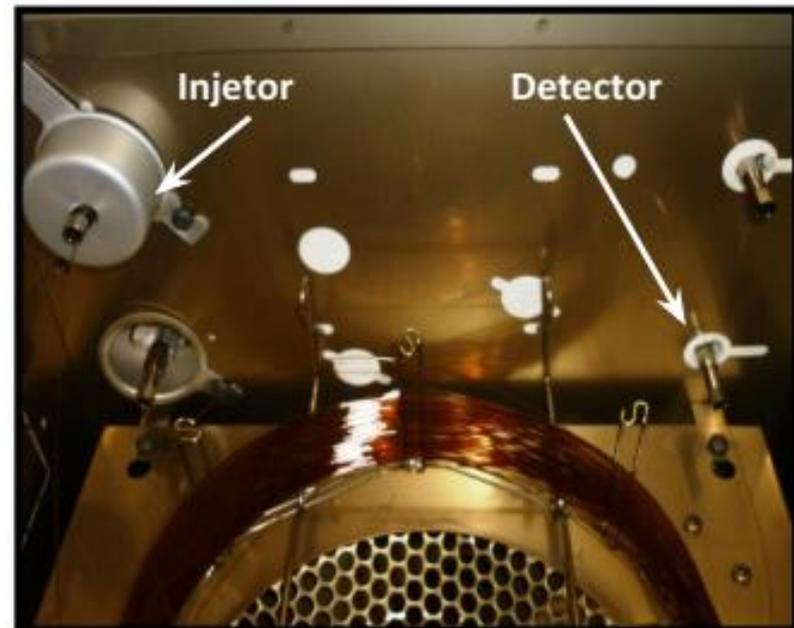
Promover interação diferenciada para separação dos analitos da amostra.

Forno para coluna



Capacidade: Duas colunas
Temperatura: > 400°C
Controle: 0,1°C

Encaixes da coluna



CG – COLUNAS

TEMPERATURA DA COLUNA

Além da interação com a FE, o tempo que um analito demora para percorrer a coluna depende de sua **PRESSÃO DE VAPOR (p°)**.

$$p^{\circ} = f \left\{ \begin{array}{l} \text{Estrutura química do analito} \\ \text{Temperatura da coluna} \end{array} \right.$$



Temperatura
da coluna



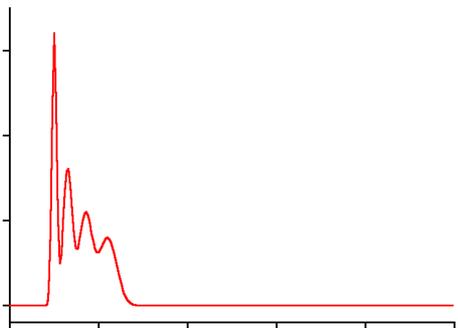
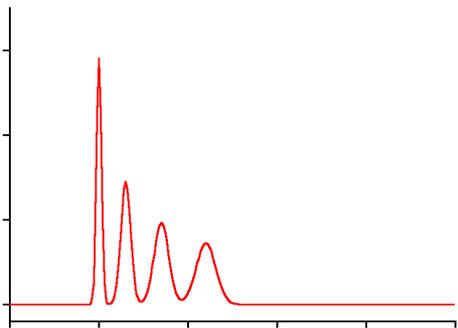
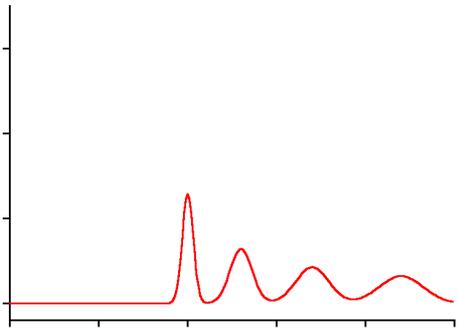
Pressão de
vapor



Velocidade de
migração

**Analito elui mais rapidamente
(MENOR RETENÇÃO)**

CG – COLUNAS



**CONTROLE CONFIÁVEL DA
TEMPERATURA DA COLUNA
É ESSENCIAL PARA OBTER
BOA SEPARAÇÃO EM CG**

TEMPERATURA
Do Forno da
COLUNA
Aumentando

CG – COLUNAS

FORNO DA COLUNA características desejáveis de um forno

AMPLA FAIXA DE TEMPERATURA DE USO Pelo menos de T_{ambiente} até 400°C . Sistemas criogênicos ($T < T_{\text{ambiente}}$) podem ser necessários em casos especiais.

TEMPERATURA INDEPENDENTE DOS DEMAIS MÓDULOS
Não deve ser afetado pela temperatura do injetor e detector.

TEMPERATURA UNIFORME EM SEU INTERIOR Sistemas de ventilação interna muito eficientes para manter a temperatura homogênea em todo forno.

CG – COLUNAS

FORNO DA COLUNA características desejáveis de um forno

FÁCIL ACESSO À COLUNA A operação de **troca de coluna** pode ser frequente.

AQUECIMENTO E ESFRIAMENTO RÁPIDO Importante tanto em análises de rotina e durante o desenvolvimento de metodologias analíticas novas.

TEMPERATURA ESTÁVEL E REPRODUTÍVEL

A temperatura deve ser mantida com **exatidão e precisão de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$** .

Em cromatógrafos modernos (depois de 1980), **o controle de temperatura do forno é totalmente operado por microprocessadores.**

CG – COLUNAS

PROGRAMAÇÃO LINEAR DE TEMPERATURA

Misturas complexas (constituintes com volatilidades muito diferentes) são separadas **ISOTERMICAMENTE**:

T_{COL} BAIXA:

- Componentes + voláteis são separados

- Componentes - voláteis demoram a eluir, saindo como picos mal definidos



CG – COLUNAS

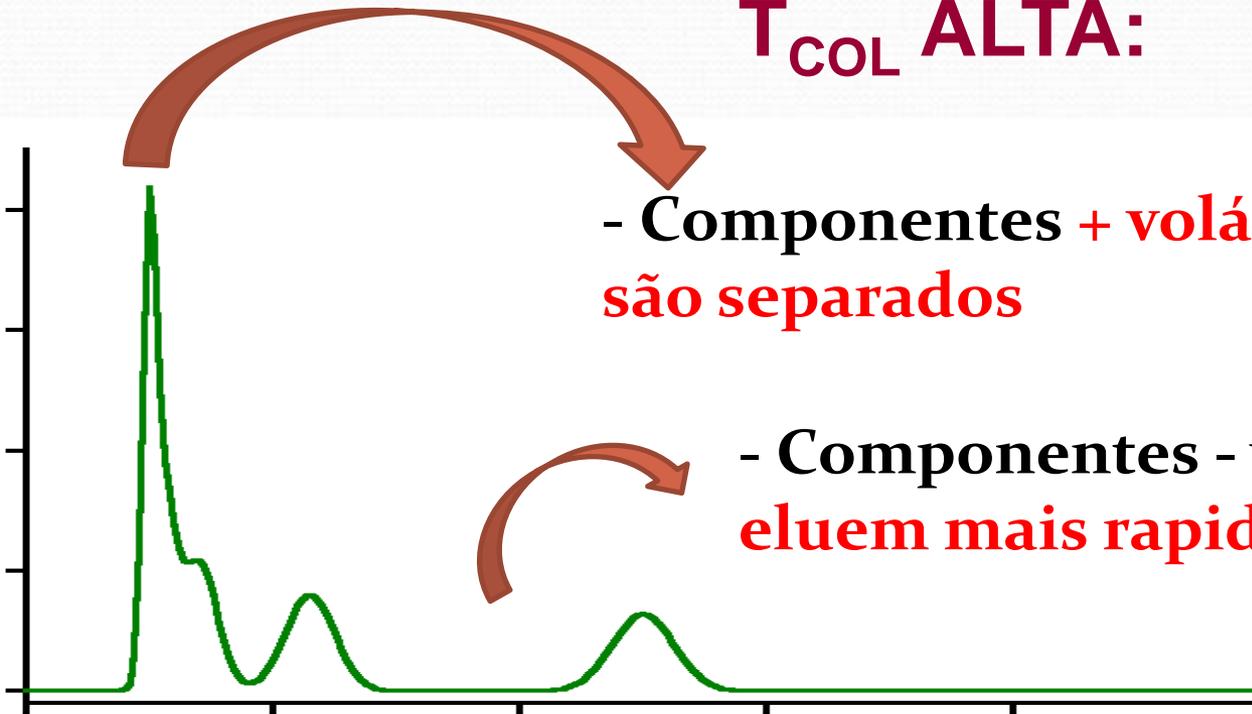
PROGRAMAÇÃO LINEAR DE TEMPERATURA

Misturas complexas (constituintes com volatilidades muito diferentes) são separadas **ISOTERMICAMENTE**:

T_{COL} ALTA:

- Componentes + voláteis **NÃO**
são separados

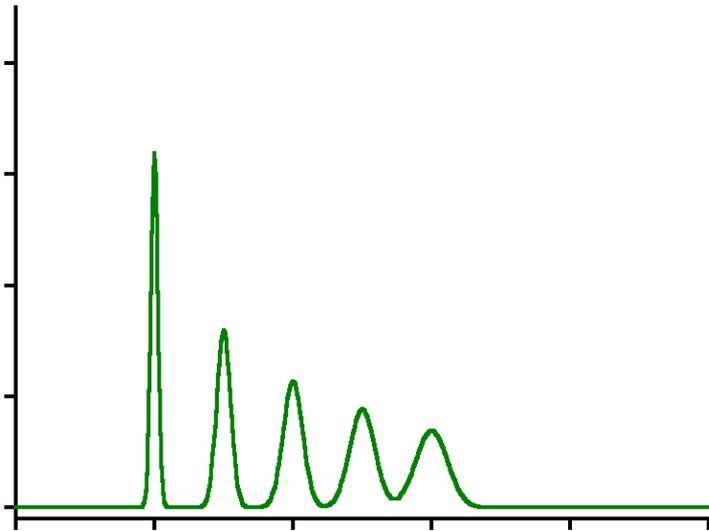
- Componentes - voláteis
eluem mais rapidamente



CG – COLUNAS

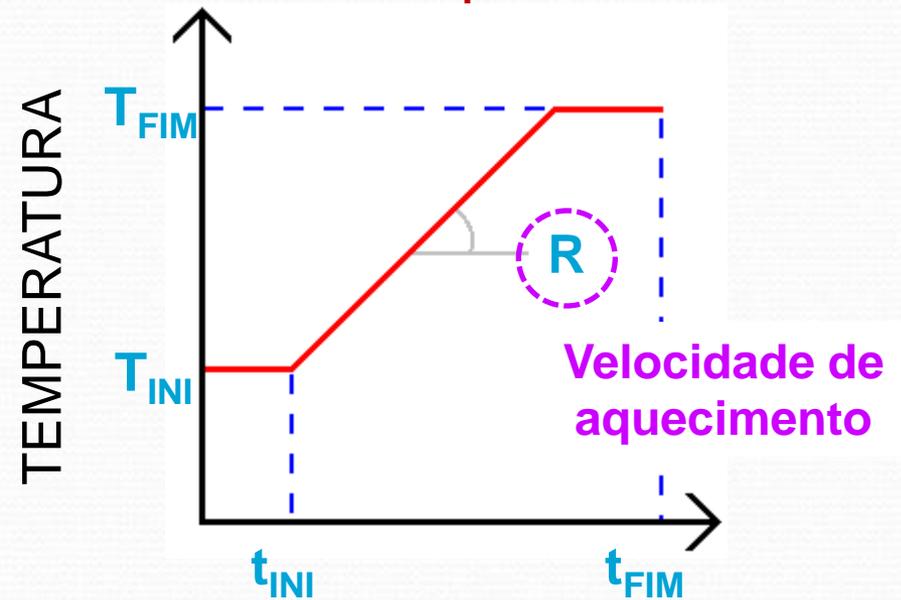
PROGRAMAÇÃO LINEAR DE TEMPERATURA (Rampa de Aquecimento)

A temperatura do forno pode ser variada linearmente durante a separação:



Consegue-se boa separação dos componentes da amostra em menor tempo

Parâmetros de uma programação de temperatura:



Tempo isotérmico inicial TEMPO Tempo final do programa

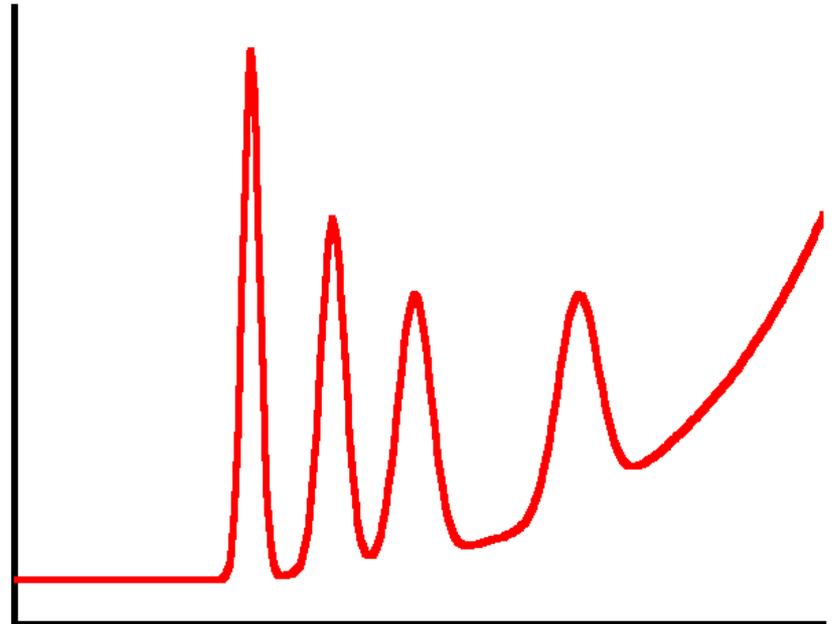
CG – COLUNAS

POSSÍVEIS PROBLEMAS ASSOCIADOS À PLT: PROGRAMAÇÃO LINEAR DE TEMPERATURA

VARIAÇÕES DE VAZÃO DO GÁS DE ARRASTE A viscosidade de um gás aumenta com a temperatura.

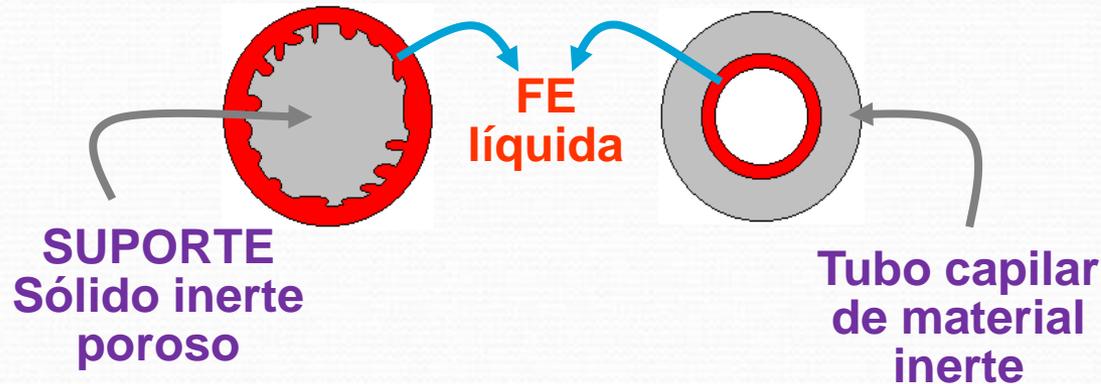
↑ Maior viscosidade ↓ Vazão

DERIVA (“DRIFT”) NA LINHA DE BASE Devido ao aumento de volatilização de FE líquida



F.E. CONCEITOS GERAIS

LÍQUIDOS Depositados sobre a superfície de: sólidos porosos inertes (colunas empacotadas) ou de tubos finos de materiais inertes (colunas capilares)



Para minimizar a perda de FE líquida por volatilização, normalmente ela é:



Entrecruzada: as cadeias poliméricas são quimicamente ligadas entre si



Quimicamente ligadas: as cadeias poliméricas são “presas” ao suporte por ligações químicas

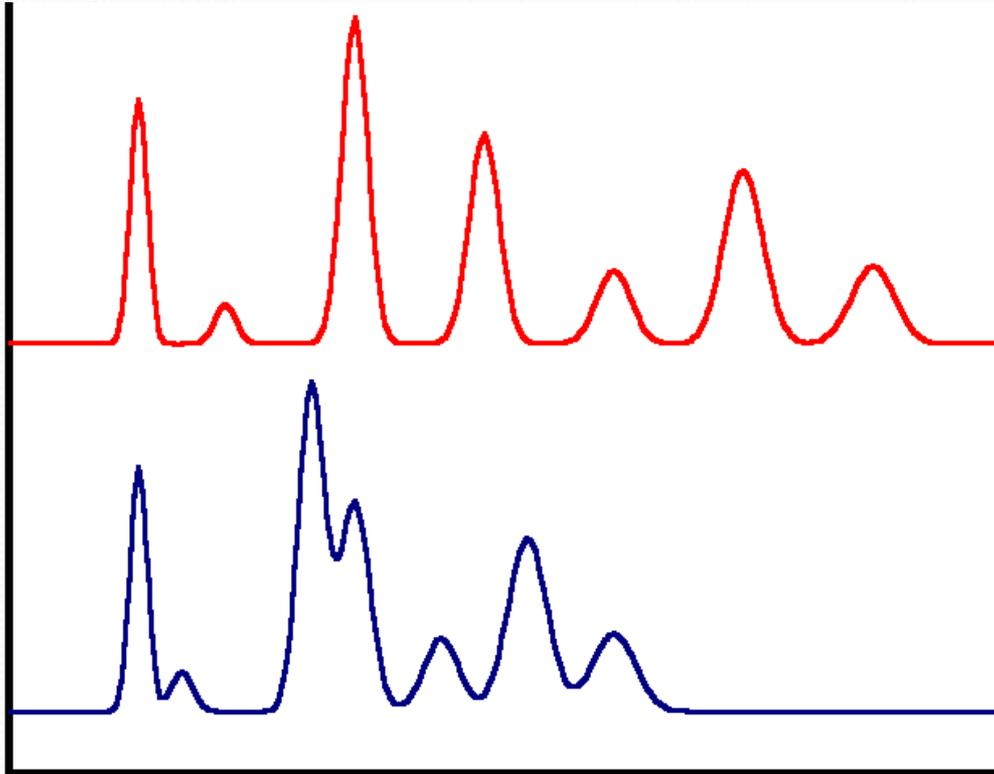
SÓLIDOS Colunas recheadas com material finamente granulado (empacotadas) ou depositado sobre a superfície interna do tubo (capilar)

FASES ESTACIONÁRIAS

Características de uma FE ideal



SELETIVA Deve interagir diferencialmente com os componentes da amostra.



FE Seletiva: separação adequada dos constituintes da amostra

FE pouco Seletiva: má resolução mesmo com coluna de boa eficiência

Regra geral: a FE deve ter características tanto quanto possível próximas das dos solutos a serem separados (polar, apolar, aromático ...)

FASES ESTACIONÁRIAS

Características de uma FE ideal



AMPLA FAIXA DE TEMPERATURAS DE USO Maior flexibilidade na otimização da separação.



BOA ESTABILIDADE QUÍMICA E TÉRMICA Maior durabilidade da coluna, não reage com componentes da amostra



POUCO VISCOSA Colunas mais eficientes (menor resistência à transferência do analito entre fases)

Colunas Recheadas

Definições Básicas

Tube de material inerte recheado com FE sólida granulada ou FE líquida depositada sobre suporte sólido.



Granulometria do recheio

MESH

60 - 80 mesh
80 - 100 mesh
100 - 120 mesh

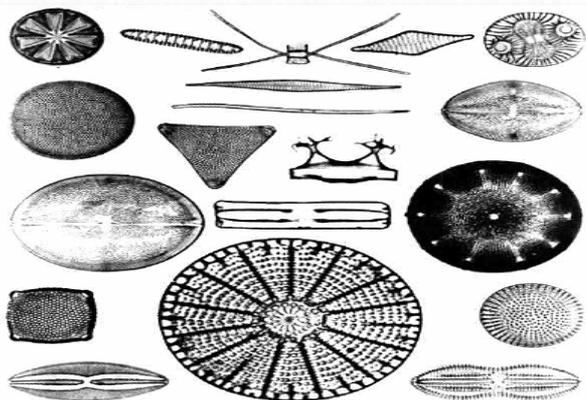
COLUNAS EMPACOTADAS

Suporte

A FE líquida deve ser disposta sobre um **SUPORTE** sólido

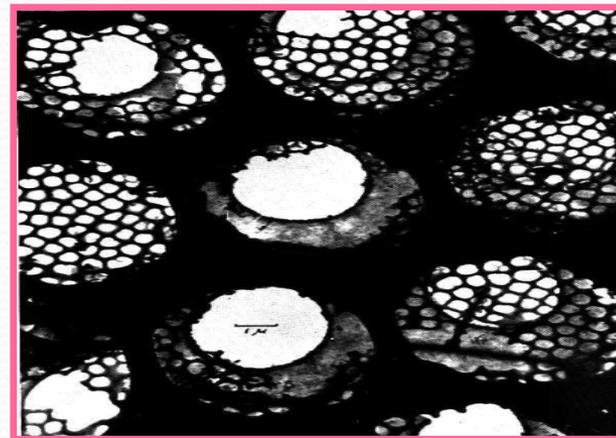
Área superficial entre 0,5 e 10 m².g⁻¹
Microporos regulares (~ 1 μm)
NÃO interagir com a amostra
Boa resistência mecânica

Uso quase universal: **TERRA DIATOMÁCEA**



Esqueletos fósseis (SiO₂ + óxidos metálicos) de algas microscópicas

secagem
calcinação
fusão com soda
lavagem com ácido
silanização



Chromosorb
Anachrom
Supelcoport

Colunas

Colunas empacotadas (preenchidas)

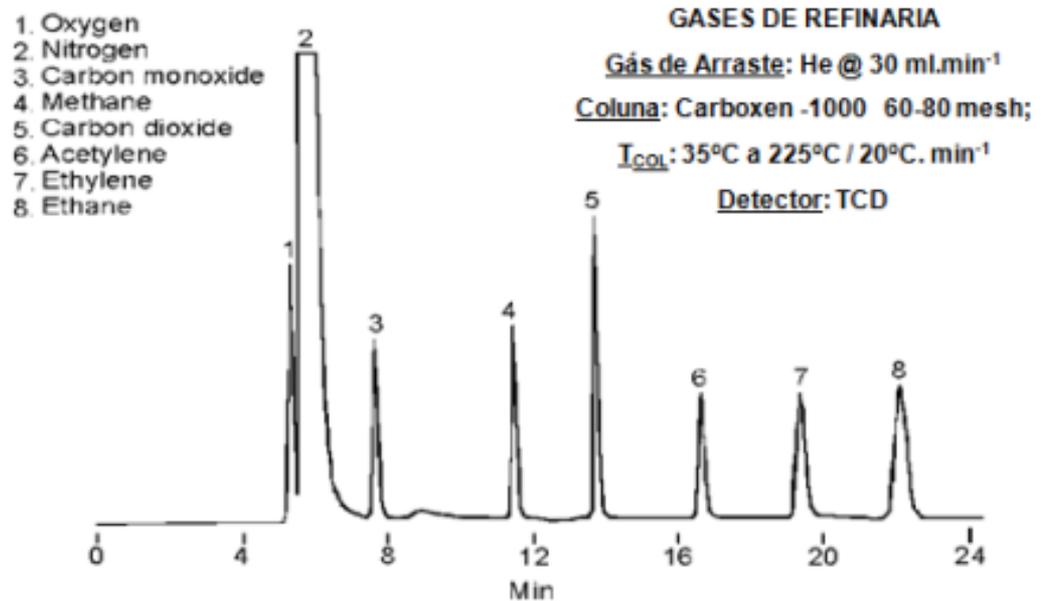
Principais Aplicações

Gases fixos
Compostos leves
Séries homólogas

Mais usados:

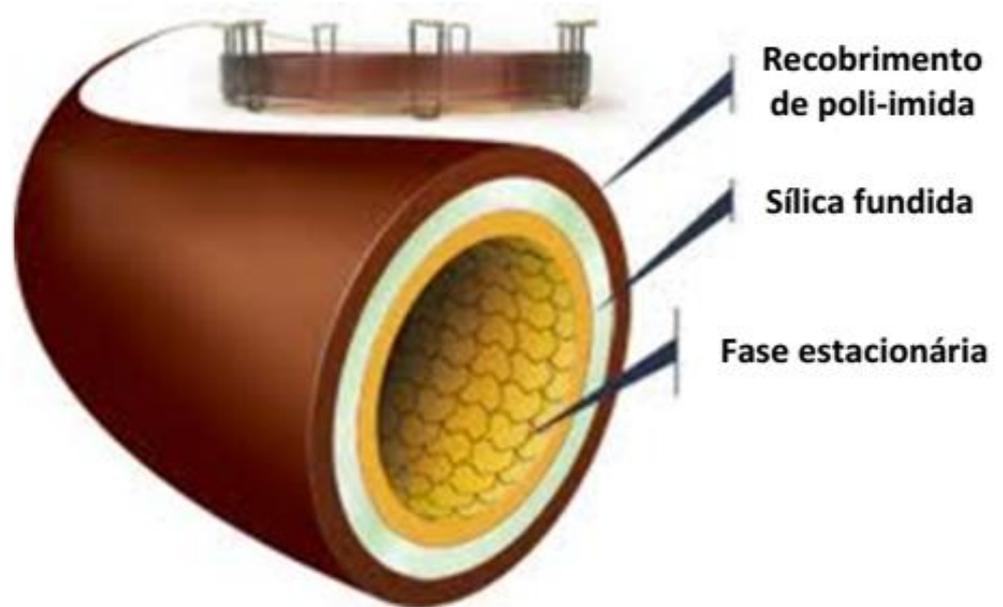
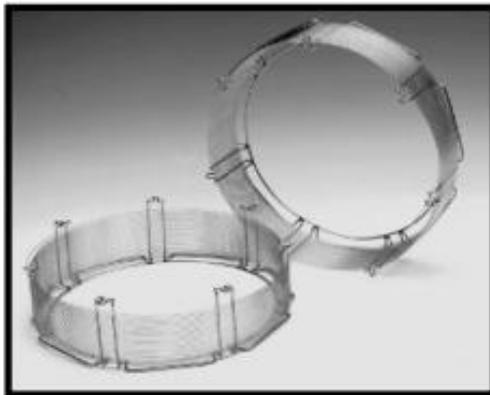
Polímeros Porosos Porapak (copolímero estireno-divi-nilbenzeno), Tenax (polióxido de difenileno)

Sólidos Inorgânicos Carboplot, Carboxen (carvões ativos grafitizados), Alumina, Peneira Molecular (argila microporosa)



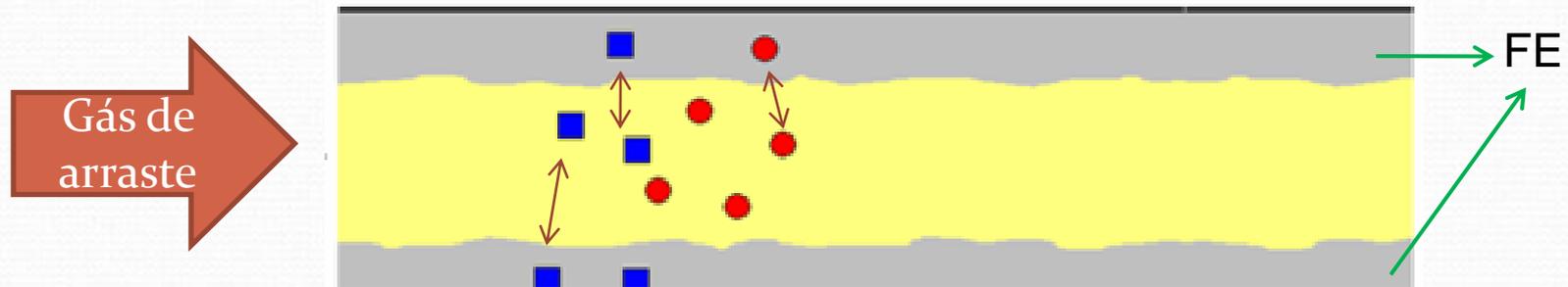
Colunas

Colunas capilares



FASES ESTACIONÁRIAS LÍQUIDAS

O fenômeno físico-químico responsável pela separação cromatográfica é o equilíbrio dinâmico entre o analito na fase móvel e na fase estacionária



Equilíbrio de partição entre A_{FM} e A_{FE}

O princípio “*semelhante dissolve semelhante*” pode ser aplicado.

Separação por ponto de ebulição

Lembrando!!!!

“Semelhante” refere-se à polaridade entre analito e FE

FASES ESTACIONÁRIAS

FE Líquidas

Características Gerais:

- Líquido imobilizado em uma coluna cromatográfica

Principais Aplicações:

- Separação de compostos orgânicos**
- Séries homólogas**

TIPOS DE FASE ESTACIONÁRIA

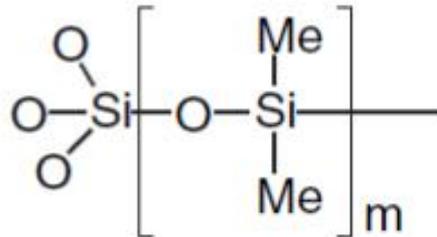
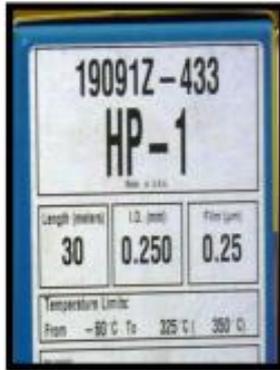
Fases estacionárias utilizadas:

- **Parafinas** – apolares
 - **Poliglicóis** – polares
 - **Poliésteres** – polares
- **Silicones** – cobrem ampla faixa de polaridade

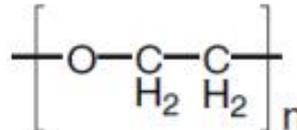
TIPOS DE FASE ESTACIONÁRIA

Fases estacionárias líquidas suportadas

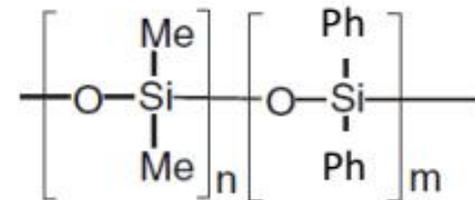
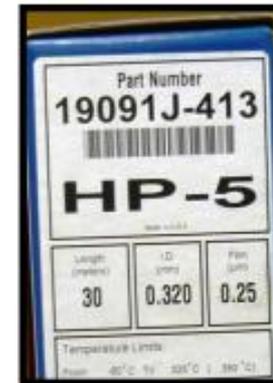
Dimetilpolisiloxano



Polietilenoglicol



5% Fenil + Metilpolisiloxano



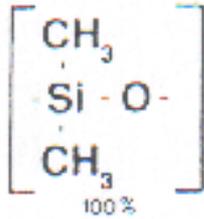
n = 95% e m = 5%

FASES ESTACIONÁRIAS SÓLIDAS MAIS COMUNS

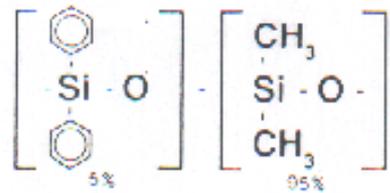
Estrutura química

Classificação

Aplicações



100 % dimetil siloxano

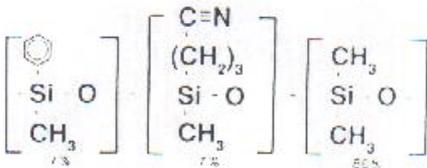


95 % dimetil,
5 % fenil

Não polar

Separação por ponto de ebulição (solventes, Derivados de petróleo e farmacêuticos).

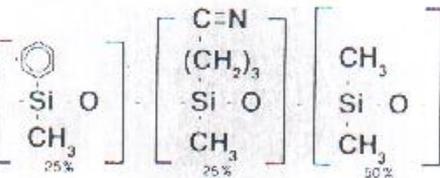
Separação por ponto de ebulição (aromáticos, Flavorizantes, hidrocarbonetos aromáticos).



86 % dimetil,
7 % fenil,
7 % cianopropil

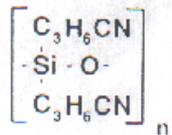
Polaridade intermediária

Pesticidas e Álcoois



50 % dimetil,
25 % fenil,
25 % cianopropil

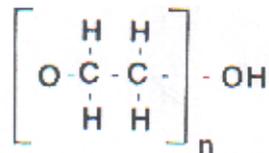
Triglicerídeos e éster de ftalato



100 % cianopropil

Polar

Éster metílico de ácido graxo,
Carboidratos

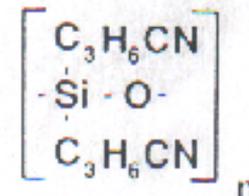


Polietilenoglicol

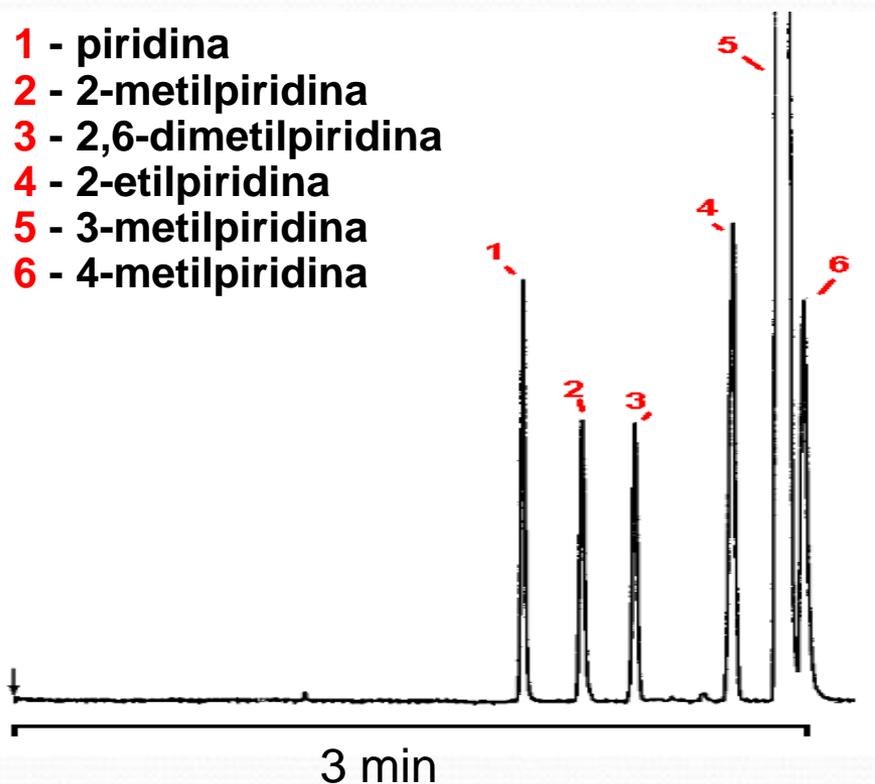
Aromas, metil éster de ácido graxo,
Ácidos e Aminas

FASES ESTACIONÁRIAS

FE Líquidas: Aplicações



Separação de piridinas - FE = 100 % Cianopropilsiloxano



Coluna: CP-Sil 43CB (10 m x 0,10 mm x 0,2 μm)

T_{COL}: 110°C (isotérmico)

Gás de Arraste: N₂ (16 cm min⁻¹)

Detector: FID

Amostra: 0,1 μL de solução 1-2% das piridinas em 3-metilpiridina

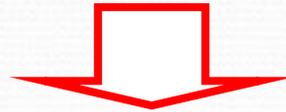
FASES ESTACIONÁRIAS

FE Quirais

Separação de isômeros óticos:

- ◇ **PRODUTOS BIOLÓGICOS** Distinção entre produtos de origem sintética e natural (natural = normalmente substâncias oticamente puras; sintético = muitas vezes são misturas racêmicas).
- ◇ **FÁRMACOS** Em muitos fármacos apenas um dos isômeros óticos têm atividade farmacológica.

Propriedades físico-químicas de isômeros óticos são MUITO SIMILARES



FE convencionais não interagem diferencialmente com isômeros óticos

*Separação de misturas de isômeros óticos só é possível com FE
oticamente ativas*

=

FE Quirais

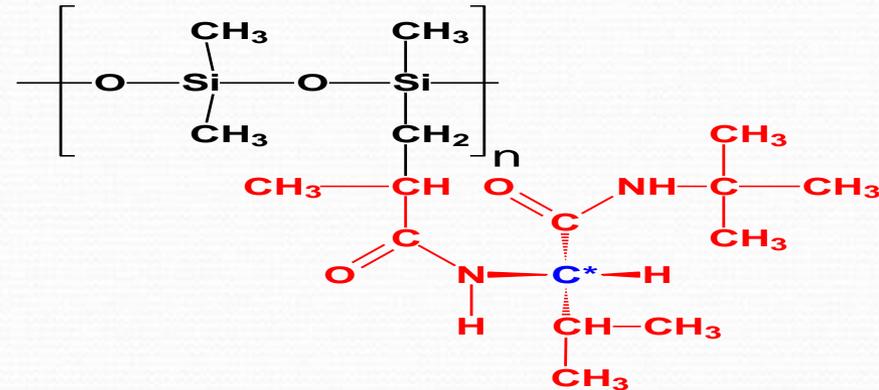
FASES ESTACIONÁRIAS

FE Quirais

FE opticamente ativas mais importantes:

Derivados de aminoácidos:

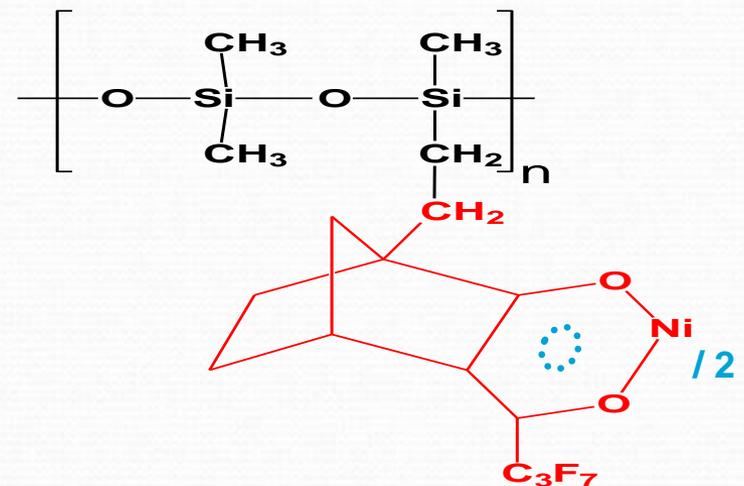
Misturas de compostos formadores de ligação de hidrogênio.



Chiralsil-Val

Organometálicos:

Separação de enantiômeros formadores de complexos.



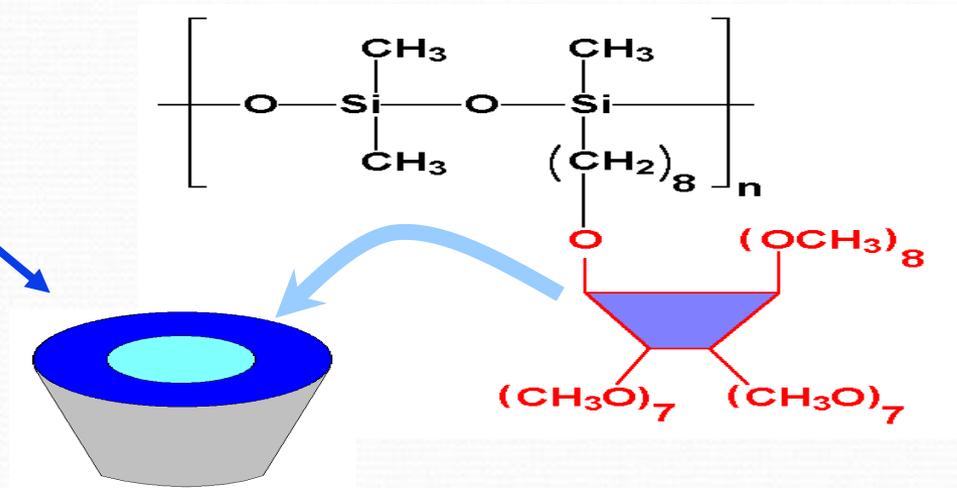
Chiralsil-Metal

FASES ESTACIONÁRIAS

FE Quirais

Derivados de ciclodextrinas alquiladas:

β -ciclodextrina:
oligosacarídeo cíclico
quiral



Chiralsil-Dex

- *Introduzidas em 1983*

- *Quando ligadas a cadeias de polisiloxano: uso extremamente favorável como FE líquida (viscosidade baixa, estabilidade ...)*

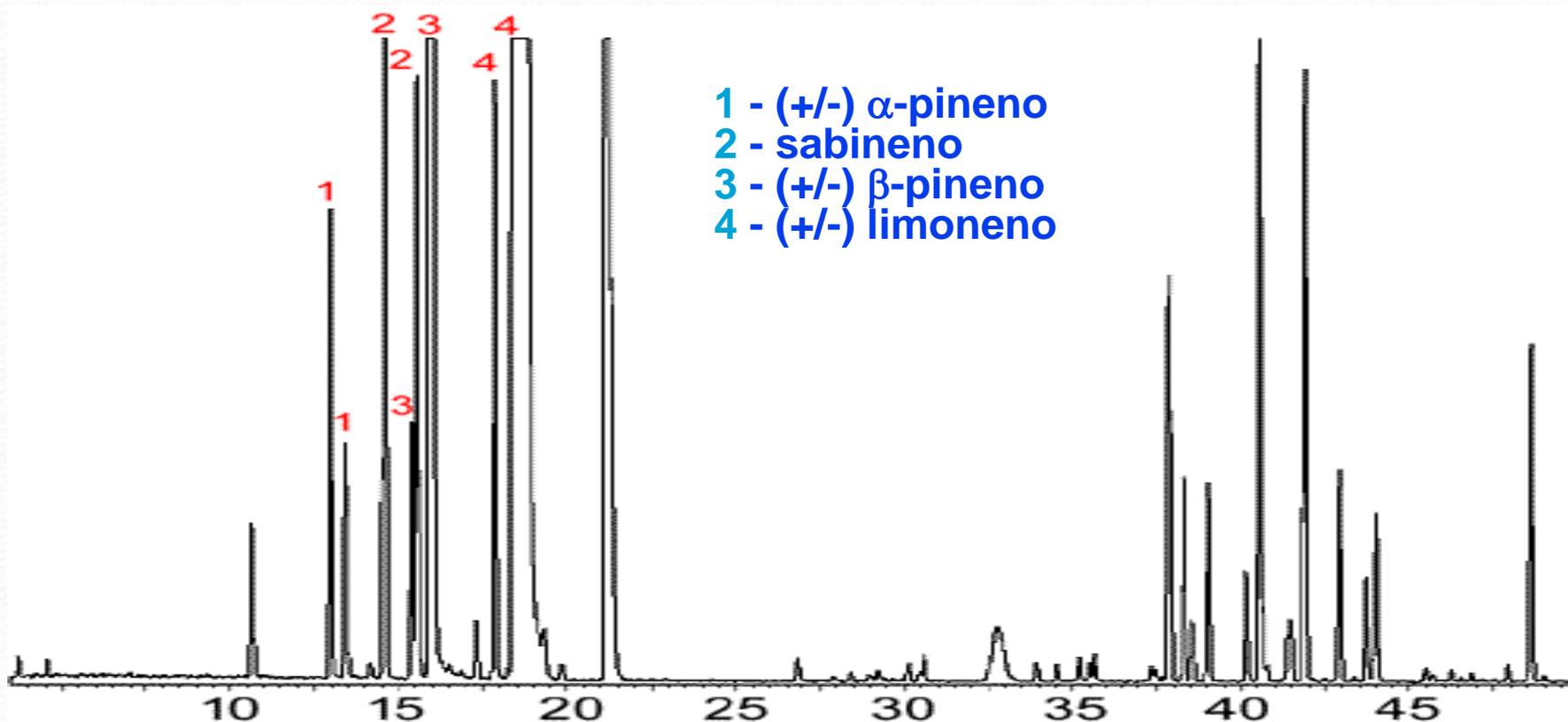
- *Podem ser quimicamente immobilizadas nas colunas*

- *Colunas disponíveis comercialmente*

FASES ESTACIONÁRIAS

FE Quirais: Aplicações

Óleo essencial artificial de limão: separação de terpenos primários



Coluna: Rt- β DEXsm (30 m x 0.32 mm x 0.25 μ m)

T_{COL}: 1 min a 40°C / 2°C min⁻¹ / 3 min a 200°C

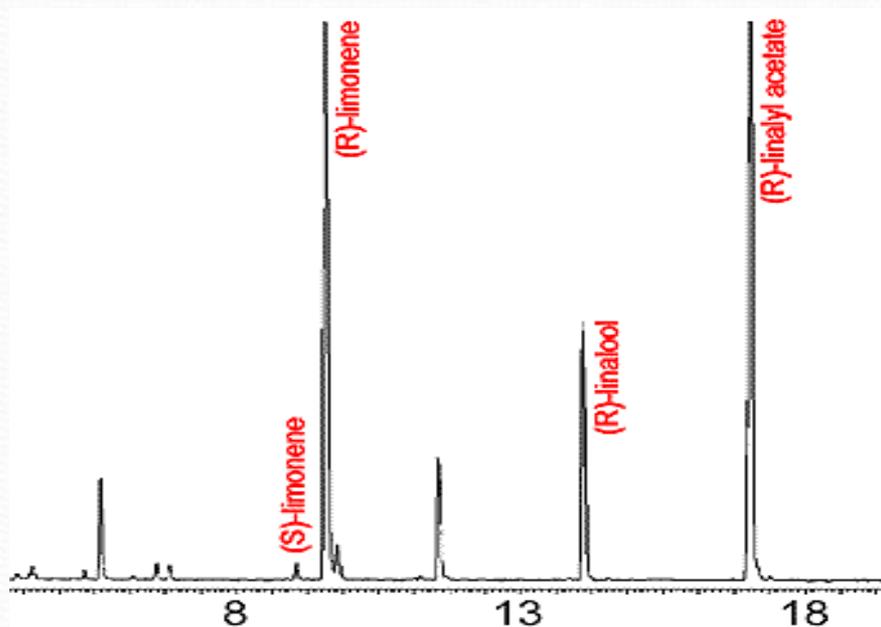
Gás de Arraste: H₂ (80 cm min⁻¹)

Detector: FID

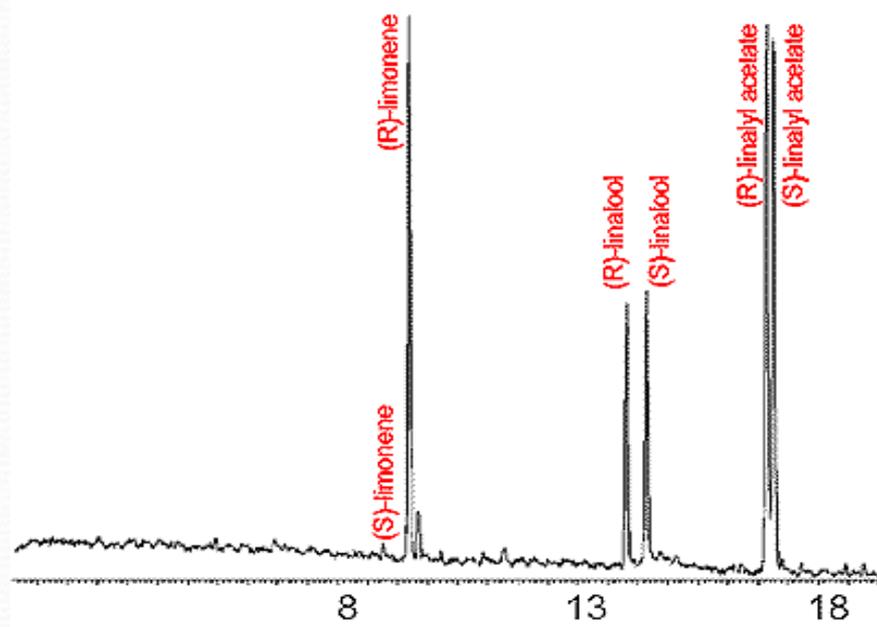
FASES ESTACIONÁRIAS

FE Quirais: Aplicações

Aroma de bergamota: distinção entre aroma natural e artificial



Óleo essencial natural



Essência artificial

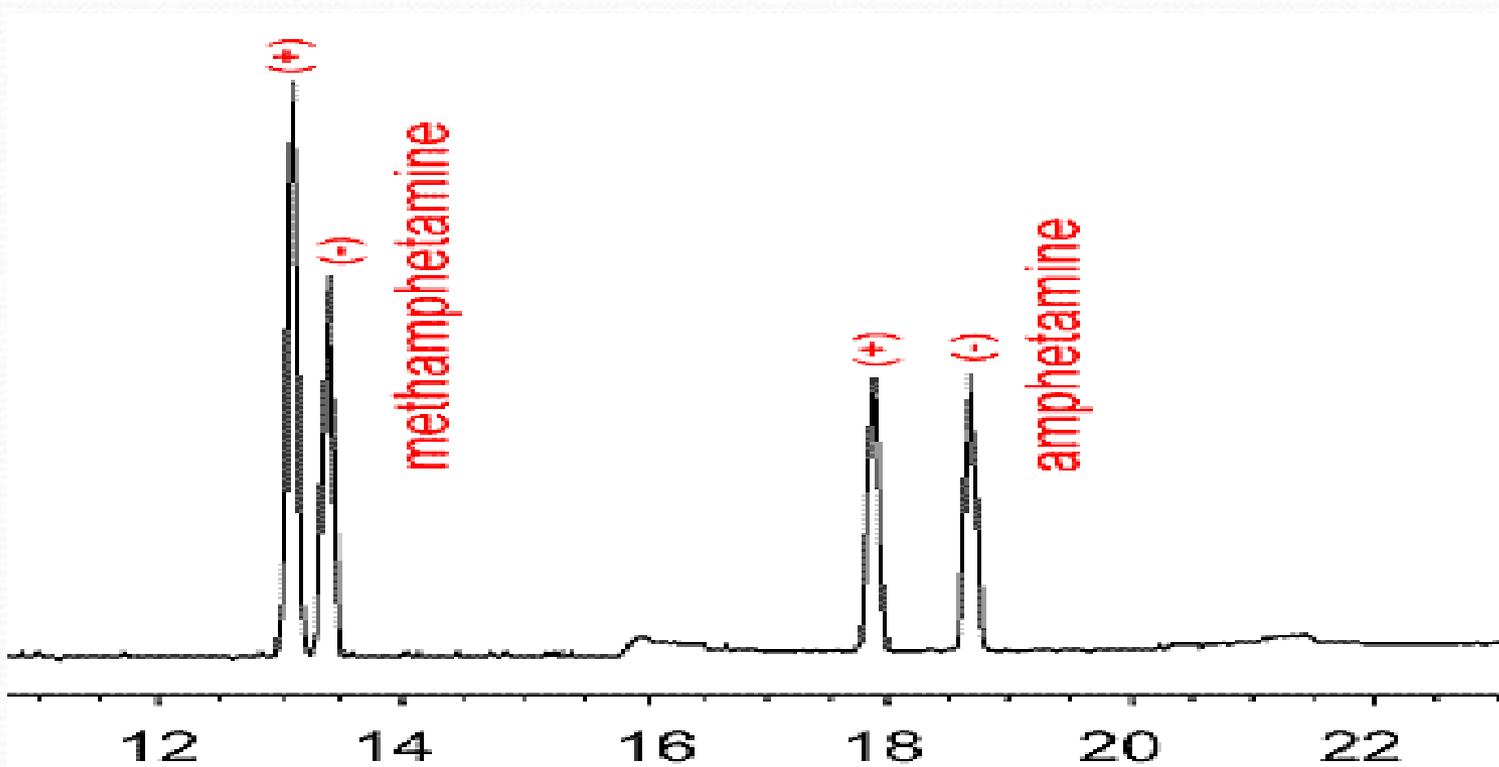
Coluna: Rt- β DEXse (30 m x 0.32 mm x 0.25 μ m)

T_{COL}: 1 min a 40°C / 4°C min⁻¹ / 200°C

Gás de Arraste: He (80 cm min⁻¹)

Detector: MS

Anfetaminas: resolução dos isômeros



Coluna: Rt- β DEXcst (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m)

T_{COL}: 1 min a 120°C / 1,5°C min⁻¹ / 3 min a 175°C

Gás de Arraste: He (25 cm min⁻¹)

Detector: MS

CARACTERÍSTICAS DAS COLUNAS

	CAPILARES	EMPACOTAMENTO
Diâmetro	0.10 a 0.50 mm	3 a 6 mm
Comprimento	5 a 100 m	0.5 a 5 m
Material	Vidro, aço	Vidro ou metal
Fase estacionária (FE)	É depositada como filme, aplicado diretamente às paredes do tubo	É depositada como filme, sobre partículas de um suporte adequado

	VANTAGENS	DESVANTAGENS
Empacotadas	<ul style="list-style-type: none"> • Mais econômica • Maior capacidade de carga • Maior quantidade de amostra 	<ul style="list-style-type: none"> • Se o material de enchimento não for colocado na coluna de forma compacta e uniforme, os espaços vazios resultantes funcionarão como câmaras de diluição da amostra. • Menor eficiência • Análise mais lenta
Capilares	<ul style="list-style-type: none"> • Maior comprimento (maior eficiência) • Separação de misturas complexas • Análise mais rápida • Maior separação 	<ul style="list-style-type: none"> • Capacidade de processamento da amostra inferior. Satura rapidamente. • Menor quantidade de amostra (técnicas de pré – concentração)

DETECTORES

Definições Gerais

Dispositivos que geram um sinal elétrico proporcional à quantidade eluida de um analito

~ 60 detectores já usados em CG

~ 15 equipam cromatógrafos comerciais

4 respondem pela maior parte das aplicações

DCT TCD
Detector por
Conductividade
Térmica

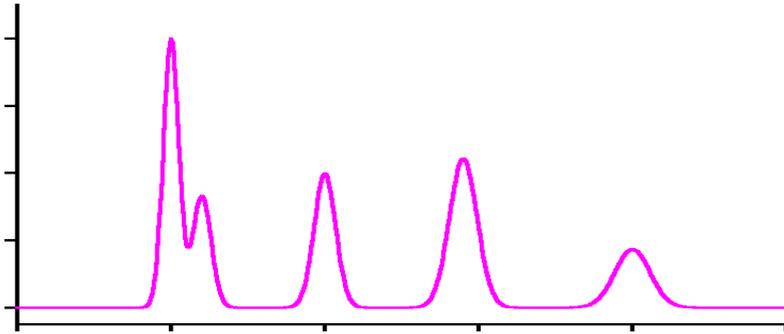
DCE ECD
Detector por
Captura de
Eletrons

DIC FID
Detector por
Ionização em
Chama

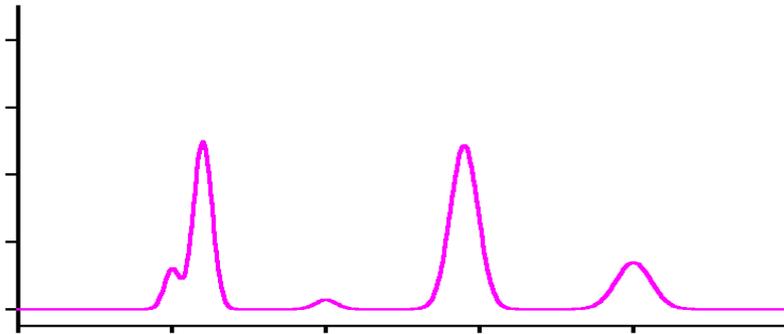
EM MS
Detector Es-
pectrométrico de
Massas

DETECTORES

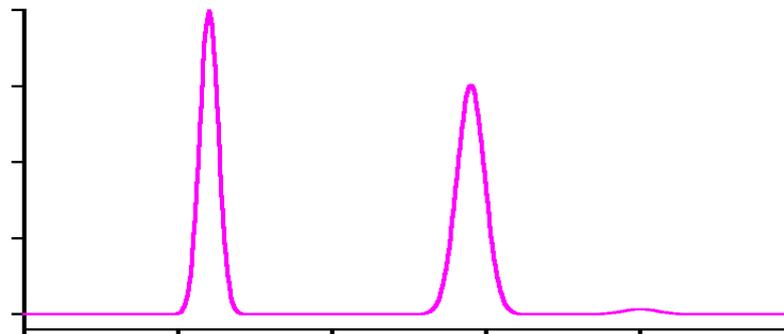
Classificação



UNIVERSAIS:
Geram sinal para qualquer
substância eluída.



SELETIVOS:
Detectam apenas substâncias
com determinada propriedade
físico-química.



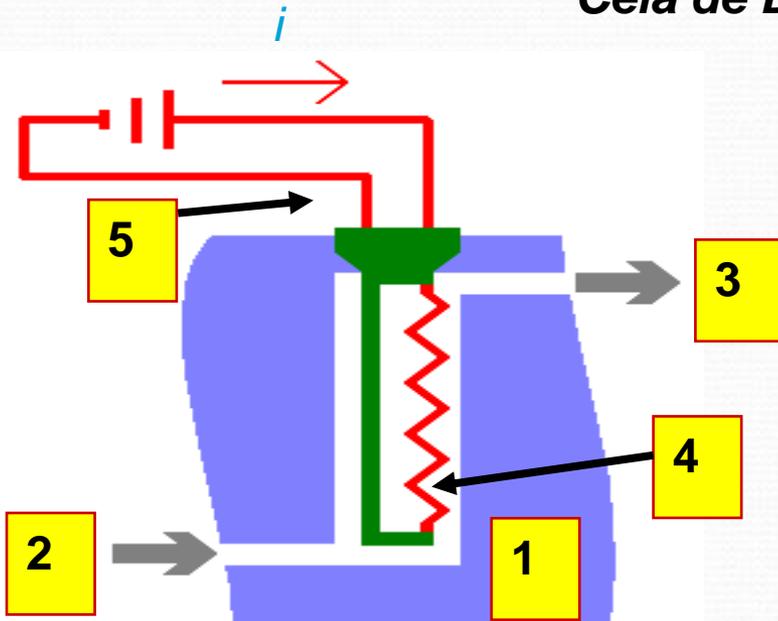
ESPECÍFICOS:
Detectam substâncias que
possuam determinado elemento
ou grupo funcional em suas
estruturas

DETECTORES

Detector por Condutividade Térmica

PRINCÍPIO Variação na condutividade térmica do gás quando da eluição de um analito.

Cela de Detecção do DCT:



- 1 Bloco metálico (aço)
- 2 Entrada de gás de arraste
- 3 Saída de gás de arraste
- 4 Filamento metálico aquecido
- 5 Alimentação de corrente elétrica para aquecimento do filamento

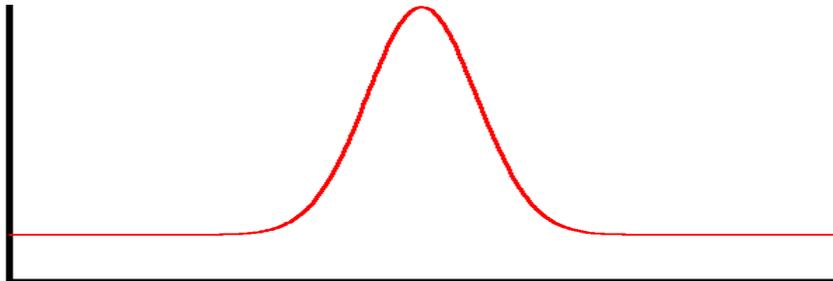
DETECTORES

Características Operacionais do DCT

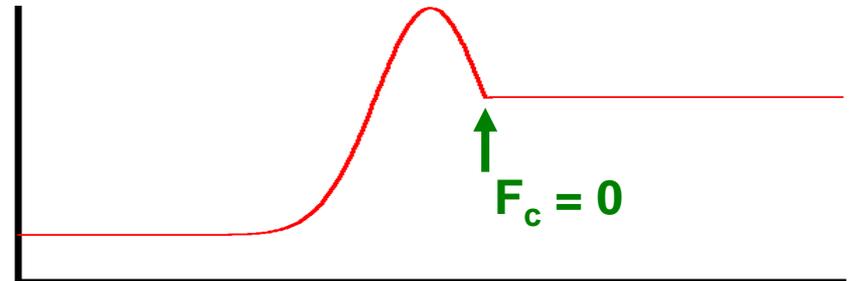
SELETIVIDADE *Observa-se sinal para qualquer substância eluida diferente do gás de arraste = UNIVERSAL*

SENSIBILIDADE / LINEARIDADE *Dependendo da configuração particular e do analito: QMD = 0,4 ng a 1 ng com linearidade de 10^4 (ng - dezenas de μg)*

VAZÃO DE GÁS DE ARRASTE *O sinal é proporcional à concentração do analito no gás de arraste que passa pela cela de amostra.*



**VAZÃO DE GÁS DE ARRASTE
CONSTANTE DURANTE A ELUIÇÃO**



**VARIAÇÃO DA VAZÃO DE GÁS DE
ARRASTE DURANTE A ELUIÇÃO**

Com DCT, a área dos picos cromatográficos é MUITO dependente da vazão do gás de arraste !!!

DETECTORES

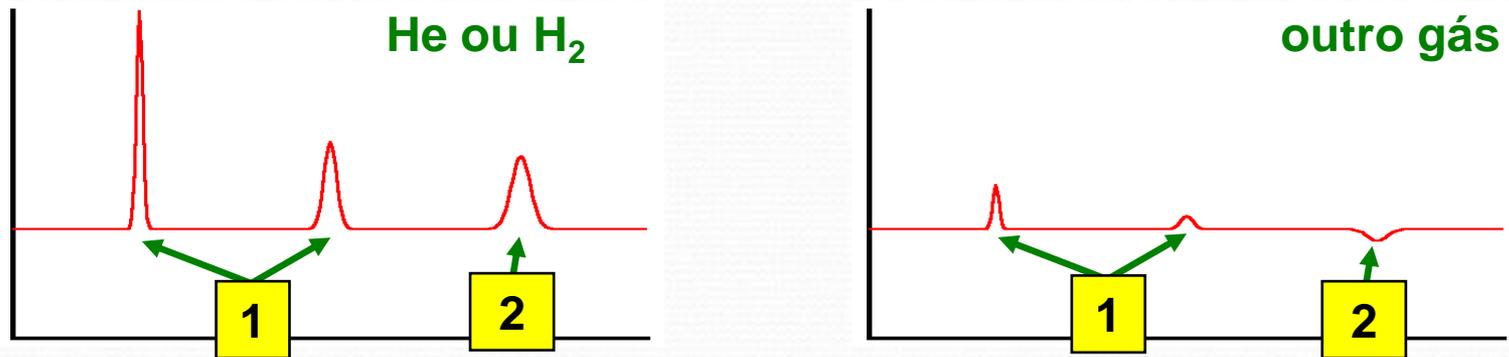
Características Operacionais do DCT

NATUREZA DO GÁS DE ARRASTE Quanto maior a diferença $\Delta\lambda$ entre a condutividade térmica do gás de arraste puro, λ_A , e do analito, λ_X , maior a resposta.

$$\Delta\lambda = \lambda_A - \lambda_X$$

QUANTO MENOR A MASSA MOLECULAR DO GÁS DE ARRASTE, MAIOR A RESPOSTA

Gás de arraste com DCT: He ou H₂



- 1 Usando He ou H₂ como gás de arraste, $\Delta\lambda$ é maximizado:
MAIOR RESPOSTA
- 2 Com outros gases, eventualmente $\lambda_X > \lambda_A$: **PICOS NEGATIVOS**

DETECTORES

Características Operacionais do DCT

FATORES DE RESPOSTA Quanto menor a condutividade térmica do analito, maior o sinal.

Os fatores de resposta dependem da condutividade térmica do analito



Quantidades iguais de substâncias diferentes geram picos cromatográficos com áreas diferentes !!!

$$\Delta\lambda = \lambda_A - \lambda_X$$



λ_X



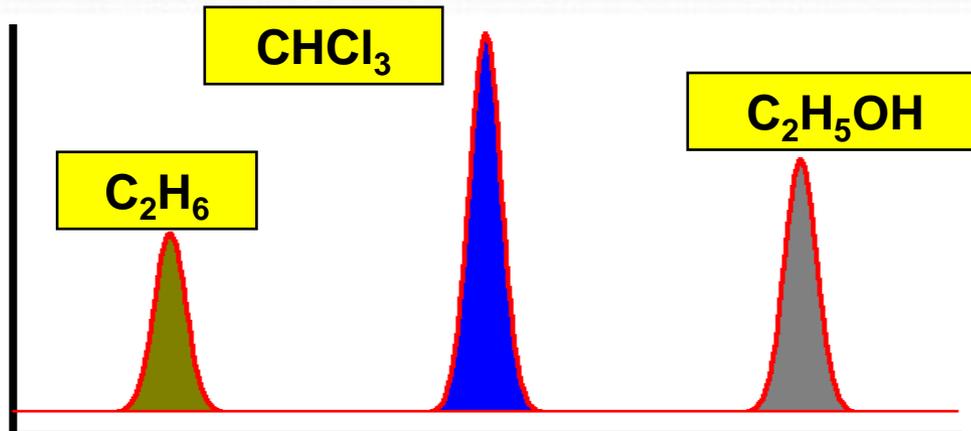
$\Delta\lambda$

Mistura de quantidades equimolares de:

Etano $\rightarrow \lambda = 17,5$

Clorofórmio $\rightarrow \lambda = 6,0$

Etanol $\rightarrow \lambda = 12,7$



DETECTORES

DCT: Aplicações

- 1) *Separação e quantificação de compostos que não geram sinal em outros detectores (gases nobres, gases fixos)*

Separação de Gases Fixos e Hidrocarbonetos:

Gás de Arraste: He em 3 mL min^{-1}

T_{COL} : 40°C Detector: DCT

1 N₂

2 CH₄

3 CO₂

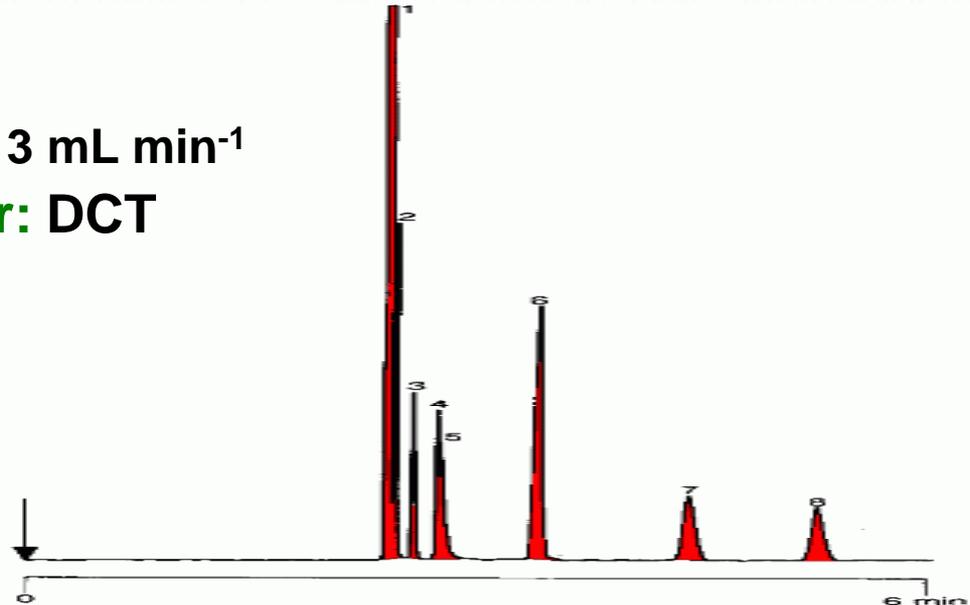
4 n-C₂

5 NH₃

6 n-C₃

7 i-C₄

8 n-C₄



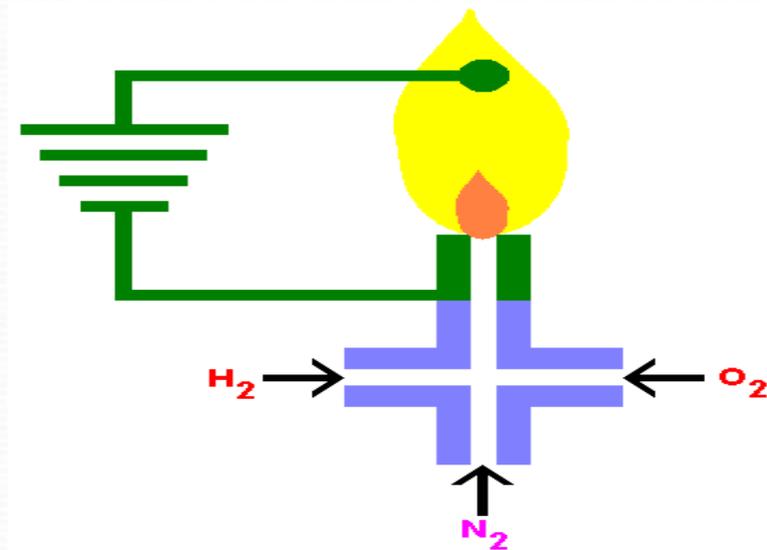
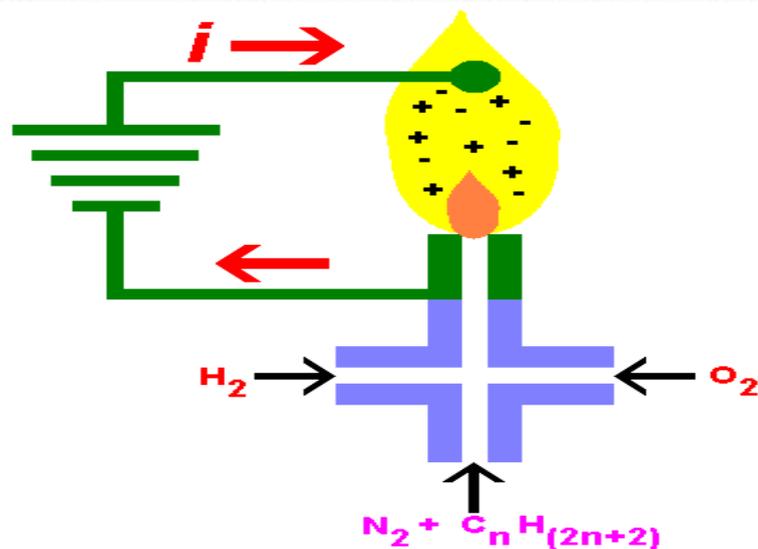
- 2) *Por ser um detector não-destrutivo, pode ser usado em CG preparativa ou detecção sequencial com dois detectores em “tandem”*

DETECTORES

Detector por Ionização em Chama - FID

PRINCÍPIO Formação de íons quando um composto é queimado em uma chama de hidrogênio e oxigênio

O **efluente** da coluna é misturado com H_2 e O_2 e queimado. Como numa chama de $H_2 + O_2$ não existem íons, ela não conduz corrente elétrica.



Quando um **composto orgânico** elui, ele também é queimado. Como na sua queima são formados íons, a chama passa a conduzir corrente elétrica

DETECTORES

Características Operacionais do FID

SELETIVIDADE *Seletivo para substâncias que contém ligações C-H em sua estrutura química.*

(como virtualmente todas as substâncias analisáveis por CG são orgânicas, na prática o FID é **UNIVERSAL**)

*Compostos que **NÃO** produzem resposta no FID:*

Gases nobres

H₂, O₂, N₂

CO, CO₂, CS₂

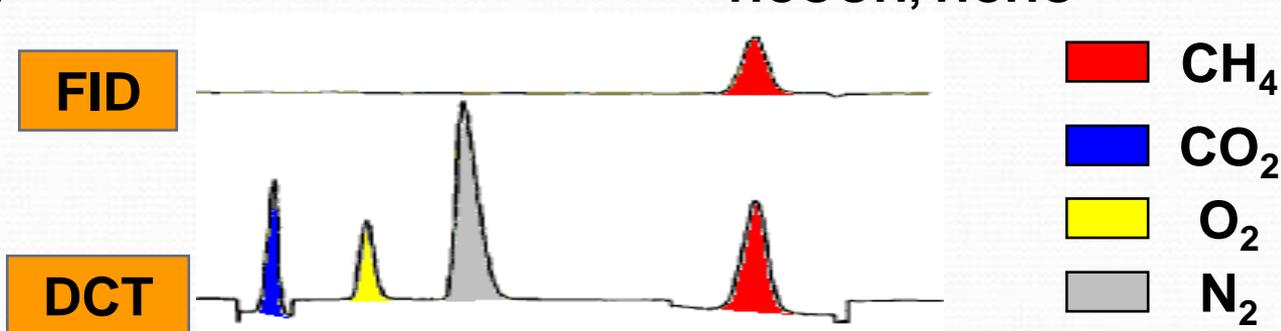
CCl₄,

NH₃, N_xO_y

SiX₄ (X = halogênio)

H₂O

HCOOH, HCHO *



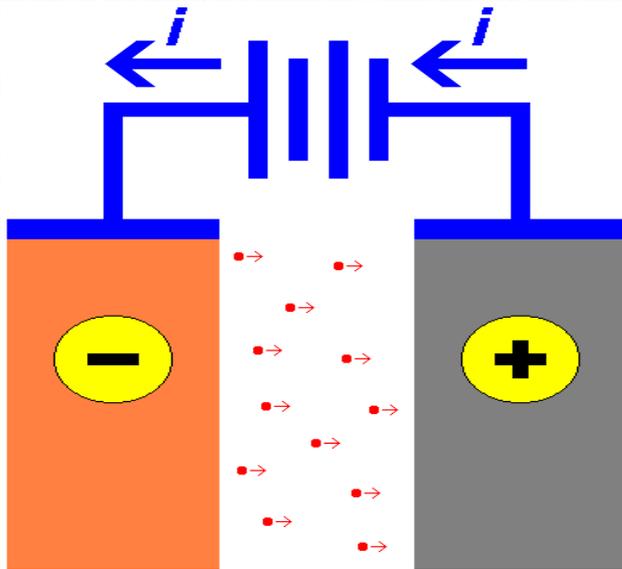
SENSIBILIDADE / LINEARIDADE QMD típicas = 10 pg a 100 pg com linearidade entre 10⁷ e 10⁸ (pg a mg)

DETECTORES

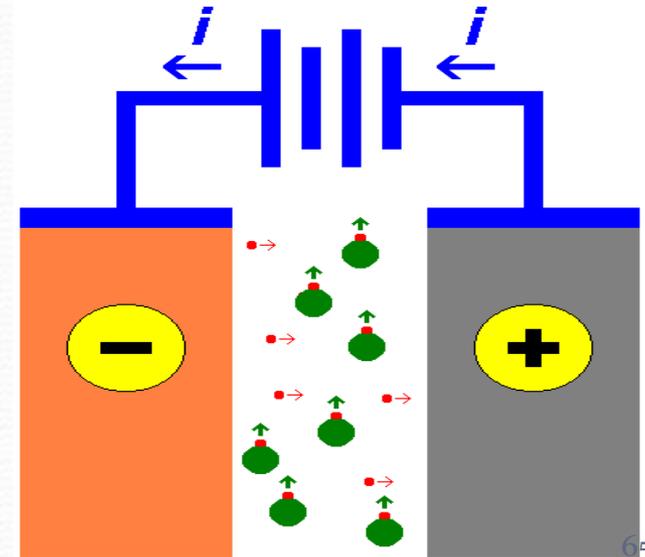
Detector por Captura de Elétrons- ECD

PRINCÍPIO Supressão de um fluxo de elétrons lentos (termais) causada pela sua absorção por espécies eletrofílicas

*Um fluxo contínuo de **elétrons** lentos é estabelecido entre um **anôdo** (fonte radioativa β -emissora) e um **cátodo**.*

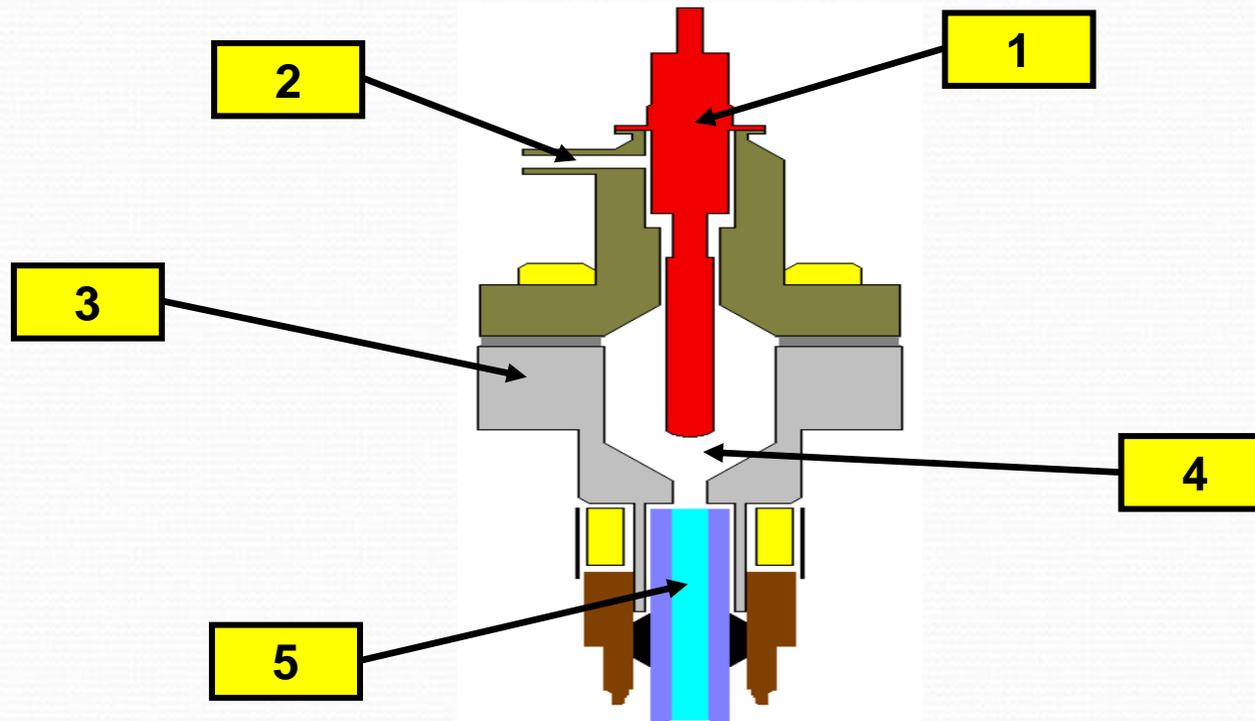


*Na passagem de uma **substância eletrofílica** alguns elétrons são absorvidos, resultando uma **supressão de corrente elétrica**.*



DETECTORES

Detector por Captura de Elétrons- ECD



1 *Anôdo (fonte radioativa β - emissora) (^{63}Ni ou trítio)*

2 *Saída de gases*

3 *Catodo*

4 *Cavidade*

5 *Coluna cromatográfica*

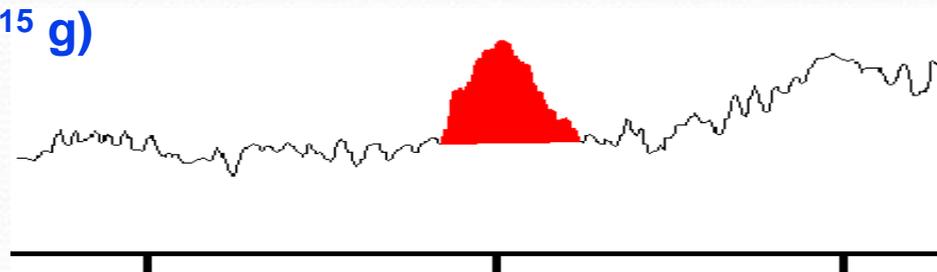
DETECTORES

Características Operacionais do DCE

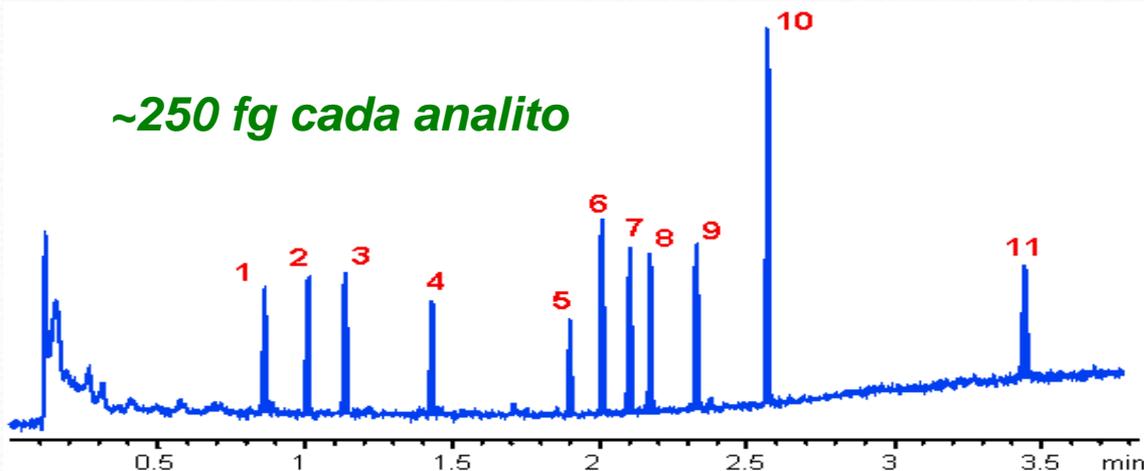
SENSIBILIDADE / LINEARIDADE QMD = 0,01 pg a 1 pg (**organoclorados**),
linearidade ~ 10^4 (pg a ng)

10 fg Lindano (C_6H_6)
 μ -ECD HP-6890

Fentograma = (10^{-15} g)



~250 fg cada analito



PESTICIDAS

- 1 tetracloro-m-xileno
- 2 α - BHC
- 3 Lindano
- 4 Heptachlor
- 5 Endosulfan
- 6 Dieldrin
- 7 Endrin
- 8 DDD
- 9 DDT
- 10 Metoxychlor
- 10 decaclorobifenila

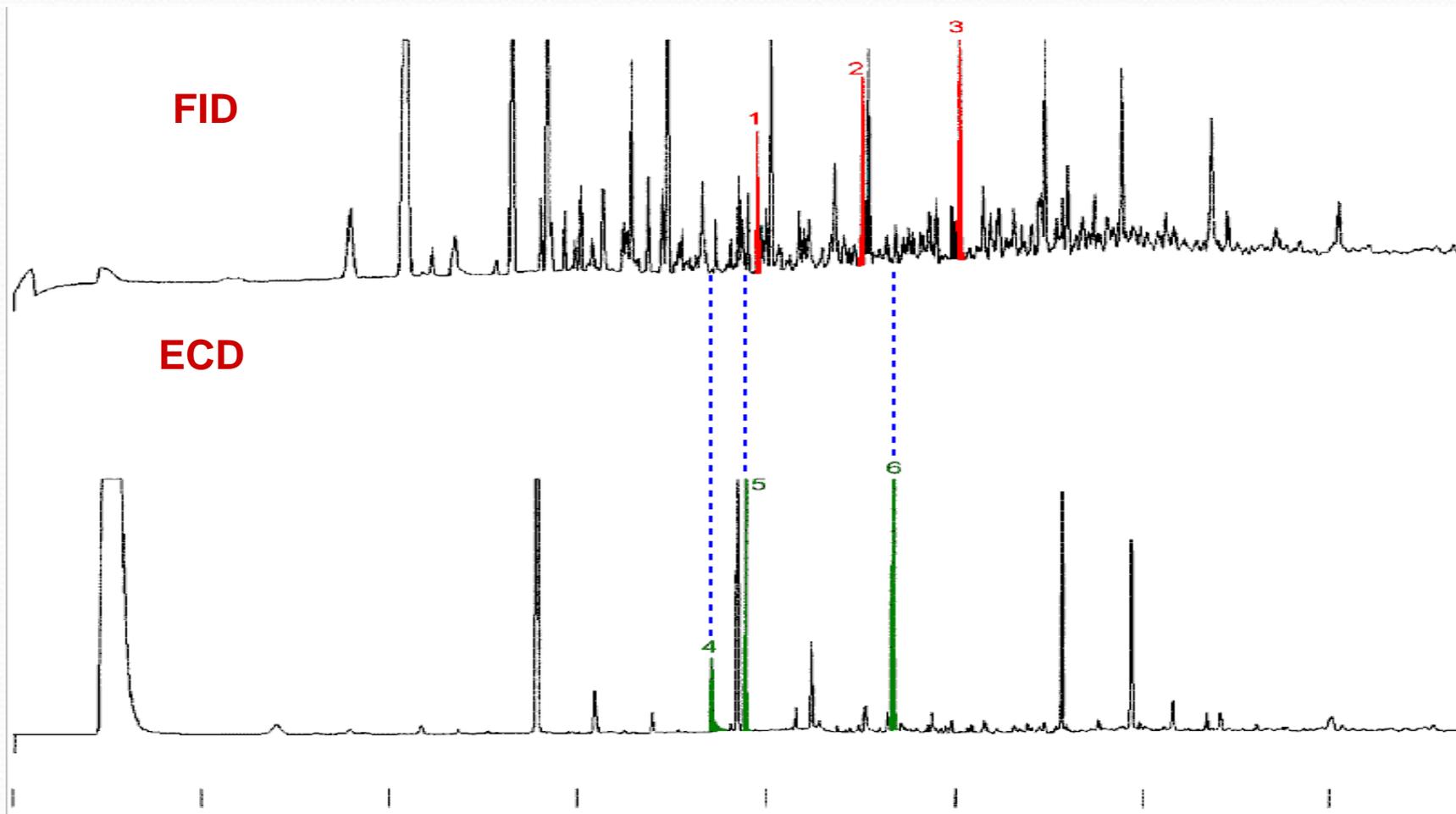
→ Não responde para álcool, aminas e HC

O DCE É O DETECTOR PREFERENCIAL PARA ANÁLISES DE TRAÇOS DE ORGANOALOGENADOS E SIMILARES

DETECTORES

Aplicações

Contaminantes em ar atmosférico - detecção paralela ECD + FID



1, 2, 3 - Hidrocarbonetos aromáticos

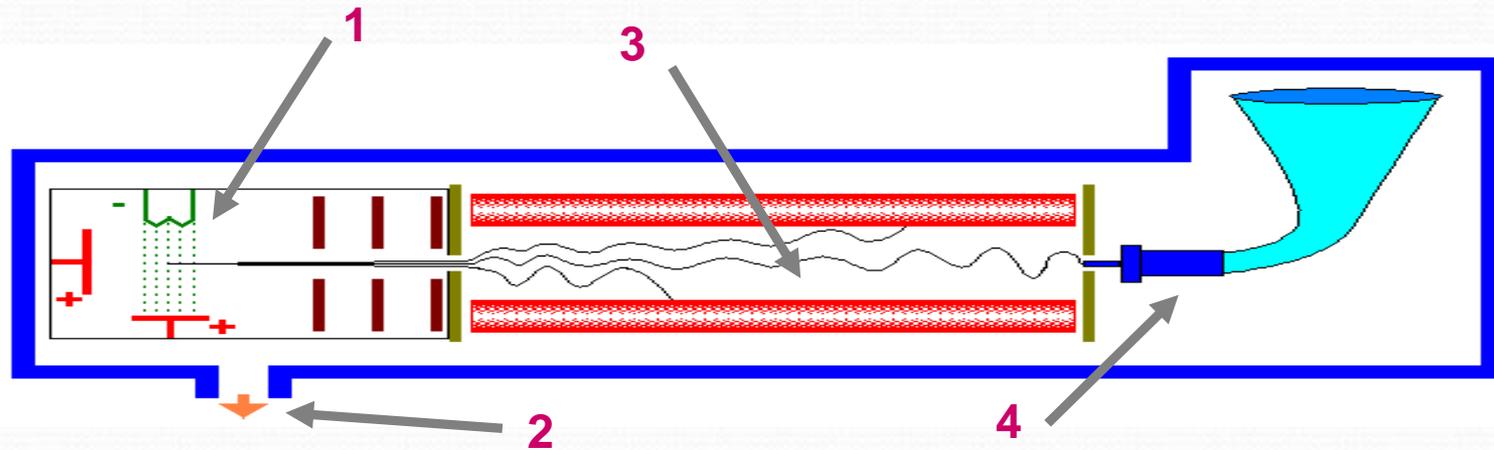
4, 5, 6 - Hidrocarbonetos clorados (organoclorado)

Espectrometria de massas - EM



ANÁLISE QUALITATIVA

Espectrômetro de Massas



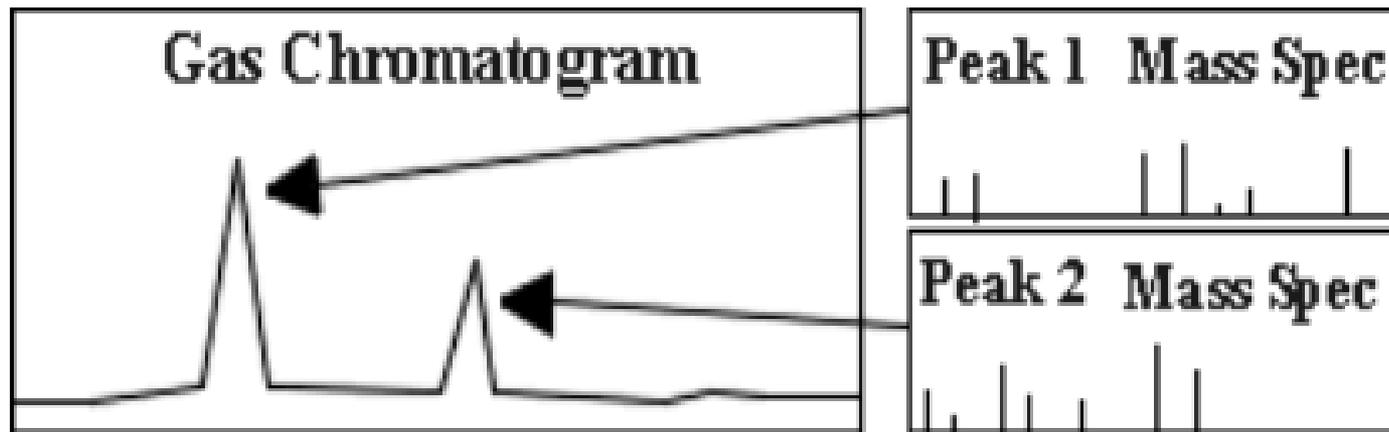
1 Câmara de Ionização Elétrons gerados por um filamento aquecido bombardeiam a amostra. Os fragmentos ionizados (carga +1) são repelidos pelo eletrodo positivo e conduzidos ao separador magnético.

2 Saída de Vácuo Todo o interior do MS deve estar sob alto vácuo (atm).

3 Separador Magnético A ação do campo magnético deixa apenas íons com determinada razão m/z atravessar esta área do equipamento.

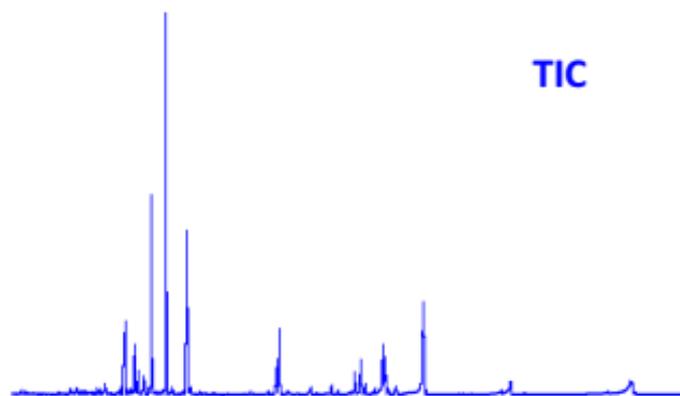
4 Detector Uma válvula fotomultiplicadora ou um fotodiodo gera um sinal elétrico proporcional ao número de íons que incide sobre o elemento.

Como saber que composto é o pico 1?



Detectores

Cromatogramas → modo TIC vs SIM

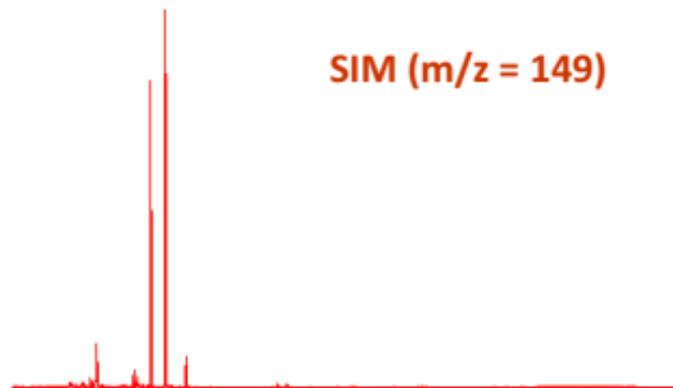


TIC

(TIC = *Total Ion Chromatogram*)
Cromatograma de íons totais

Picos correspondentes a todas substâncias eluídas.

Seletividade: Universal



SIM ($m/z = 149$)

(SIM = *Single Ion Monitoring*)
Monitoramento do íon selecionado

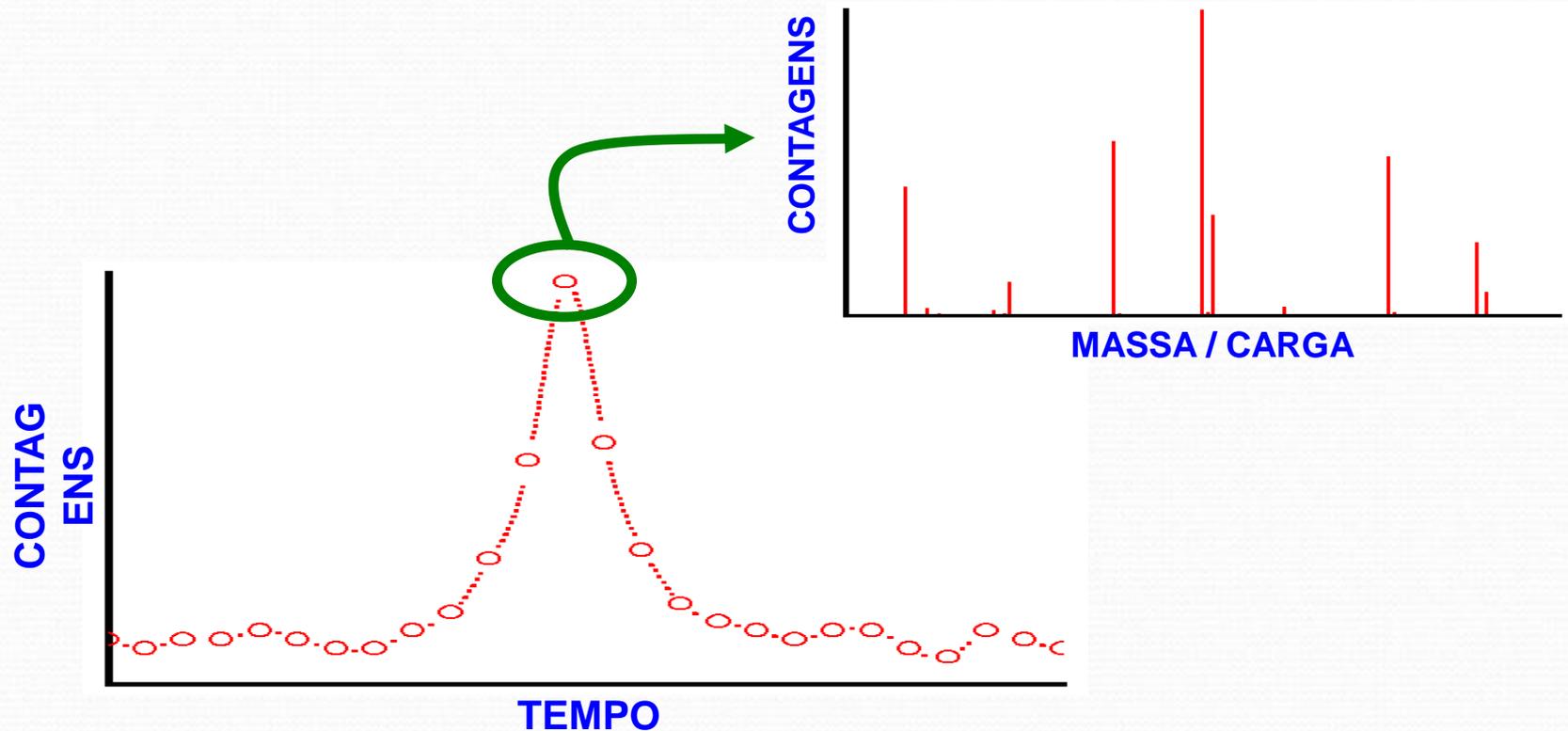
Cromatograma de fragmentos de massa específica.

Seletividade: Massa escolhida

Maior Sensibilidade

Identificação de Eluatos

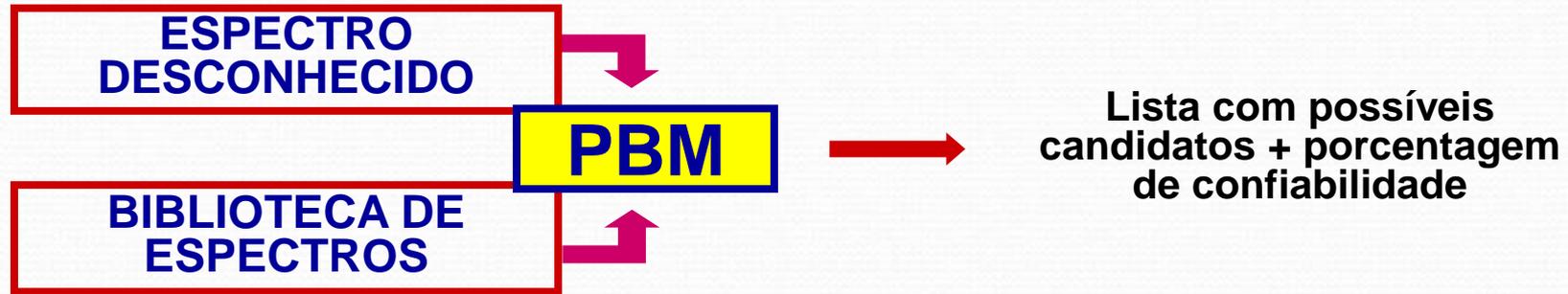
1 *Seleção manual ou automática do espectro de massa correspondente a um eluato.*



2 *Interpretação manual do espectro e / ou com-paração automática com biblioteca de espectros padrão do equipamento.*

Identificação de Eluatos

Busca automática em bibliotecas de espectros: comparação estatística (Probability Based Matching) ou Biblioteca NIST



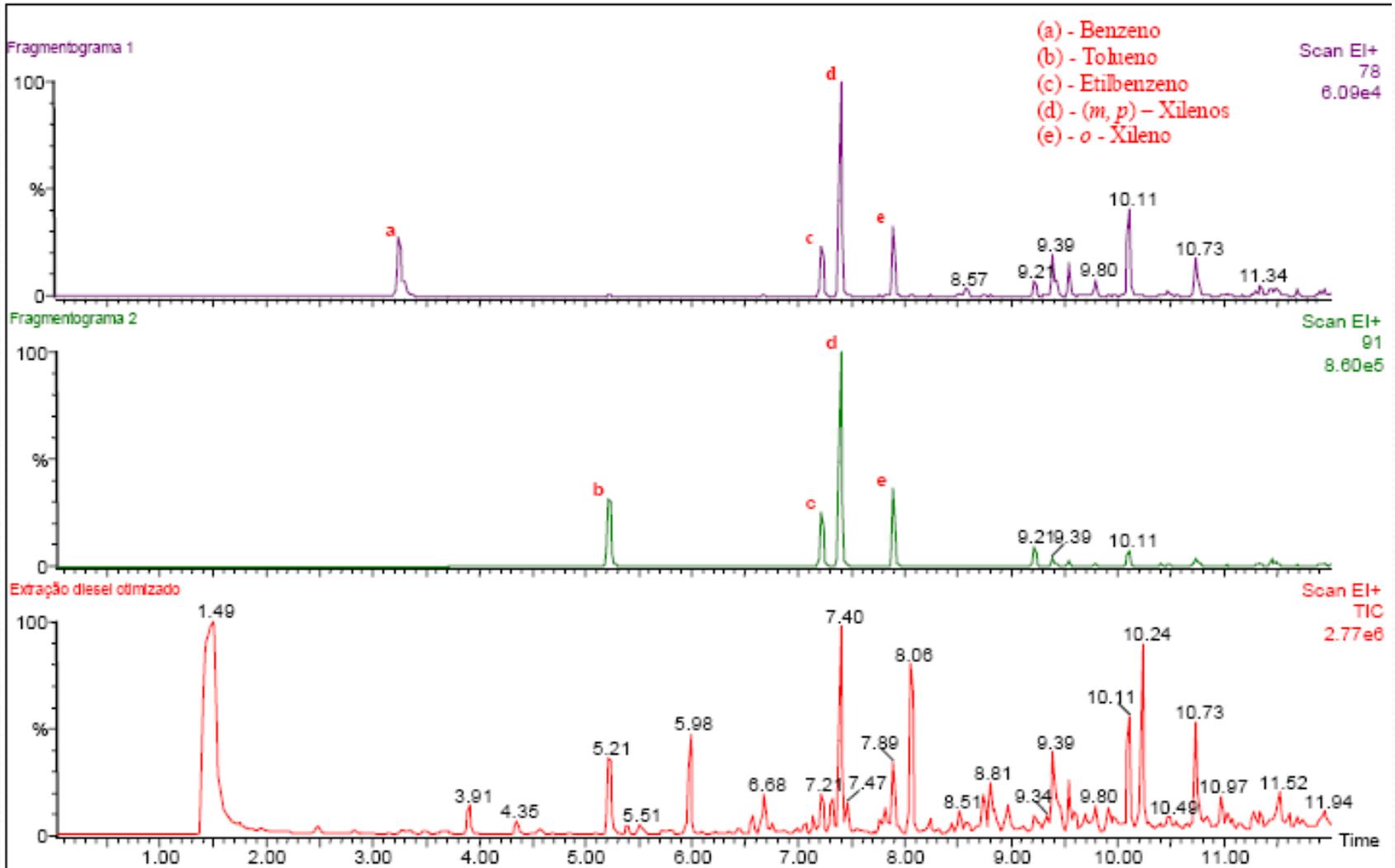
**PBM de um eluato
"desconhecido"
(1-dodeceno)**

#	NOME	FÓRM.	%
1	1-dodeceno	$C_{12}H_{24}$	99
2	1-dodecanol	$C_{12}H_{26}O$	91
3	ciclododecano	$C_{12}H_{24}$	91
4	2-dodeceno	$C_{12}H_{24}$	66
5	1-undeceno	$C_{11}H_{22}$	35
6	8-metil-3-undeceno	$C_{12}H_{24}$	32

LIMITAÇÕES:

- Identificação pouco confiável de espectros muito simples
- Limitada pelo tamanho da base de dados (NIST = 66.000 espectros)
- Diferenças entre espectros gerados por diversos MS

Cromatograma de íons total (TIC) e fragmentogramas (SIM)



**Como otimizar uma separação e identificar alguns
problemas
decorrentes em CG**

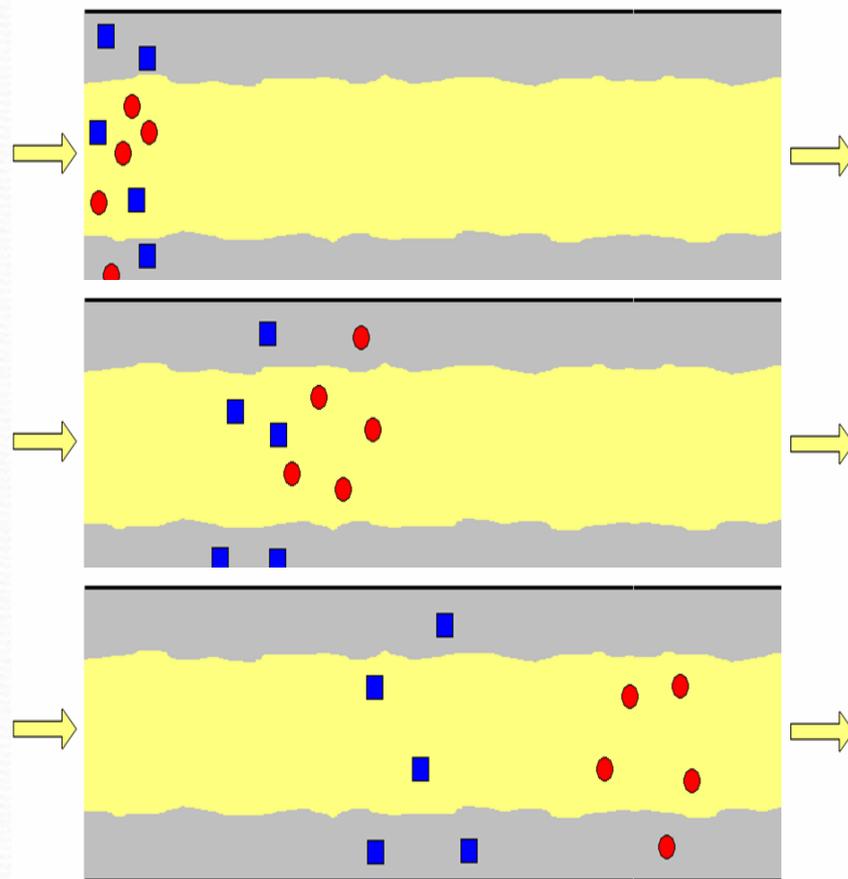
MECANISMO DE SEPARAÇÃO

Como ocorre a separação?

A amostra é injetada onde é estabelecido um equilíbrio dinâmico entre os analitos na fase gasosa e a fase estacionária.

Quanto maior a interação com a fase estacionária, maior será seu tempo de retenção na coluna.

A ordem de eluição dos analitos está ligada ao seu ponto de ebulição, quanto maior, antes elui da coluna.



PARÂMETROS DE OTIMIZAÇÃO EM CG

Qual (ais) analito (s) se deseja separar e analisar
(amostra)

Concentração esperada
(grande quantidade, nível traço)

(sobrecarga)

Técnica de pré – concentração

(SPE, SPME, Liq – Liq,
purge and trap)

Tipo de detector

(FID, ECD, MS)

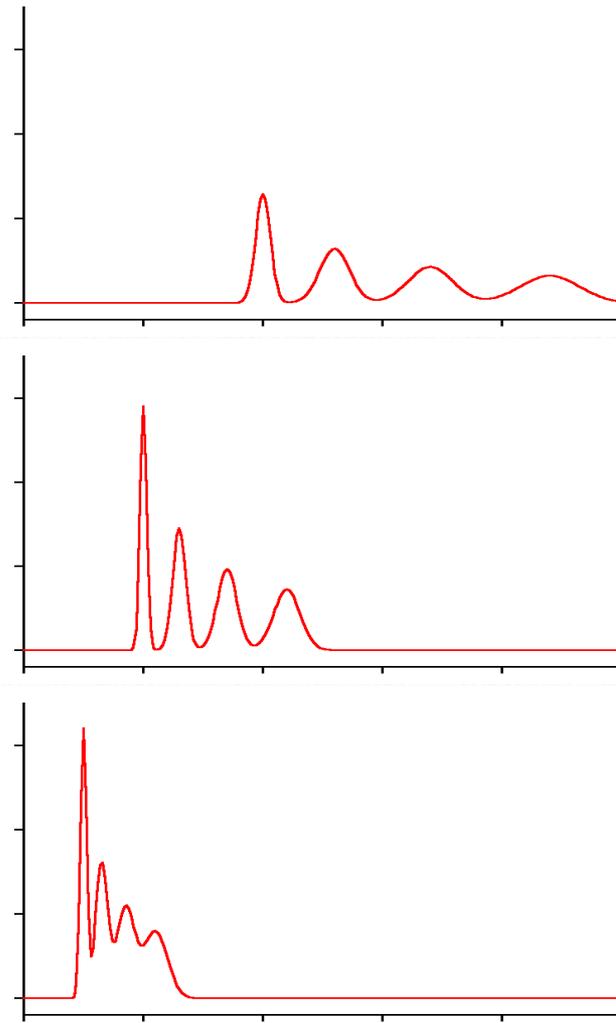
Temperatura do injetor

(Condensação)

Temperatura do forno

Temperatura da Coluna

TEMPERATURA DA COLUNA

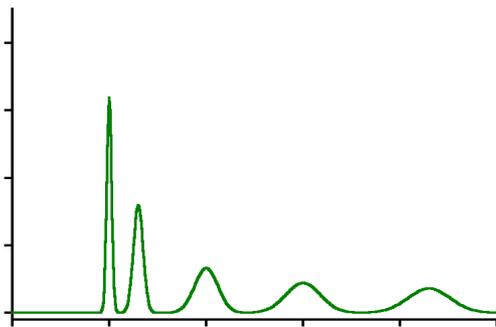


**CONTROLE CONFIÁVEL DA
TEMPERATURA DA COLUNA É
ESSENCIAL PARA OBTER BOA
SEPARAÇÃO EM CG**

Programação Linear de Temperatura

Misturas complexas (constituíntes com volatilidades muito diferentes)
separadas **ISOTERMICAMENTE**:

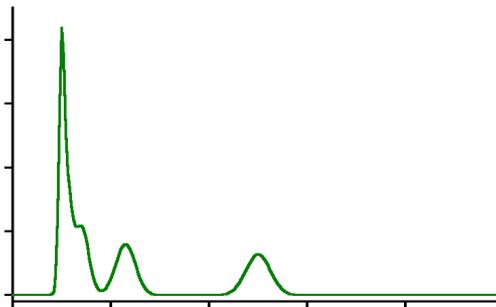
T_{COL} BAIXA:



- Componentes mais voláteis são separados

- Componentes menos voláteis demoram a eluir, saindo como picos mal definidos

T_{COL} ALTA:

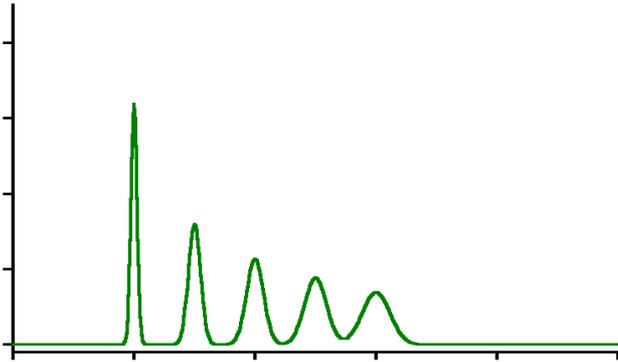


- Componentes mais voláteis não são separados

- Componentes menos voláteis eluem mais rapidamente

Programação Linear de Temperatura (Rampa de Aquecimento)

A temperatura do forno pode ser variada linearmente durante a separação:



Consegue-se boa separação dos componentes da amostra em menor tempo

Parâmetros de uma programação de temperatura:

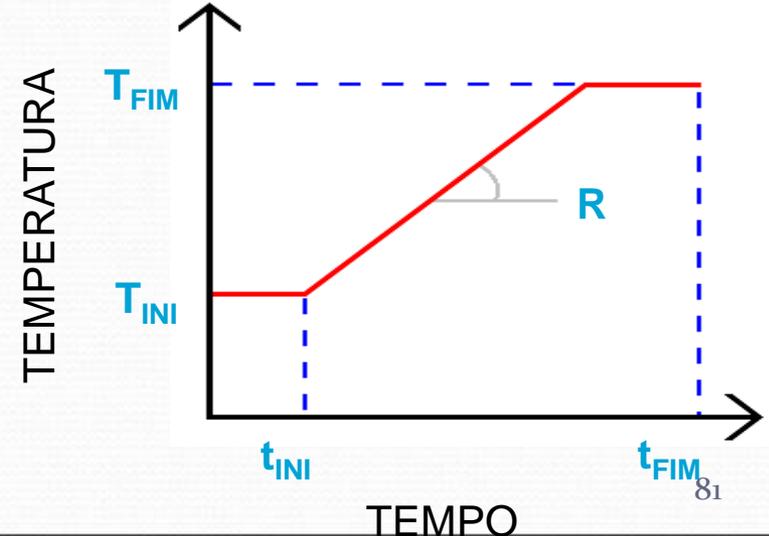
T_{INI} Temperatura Inicial

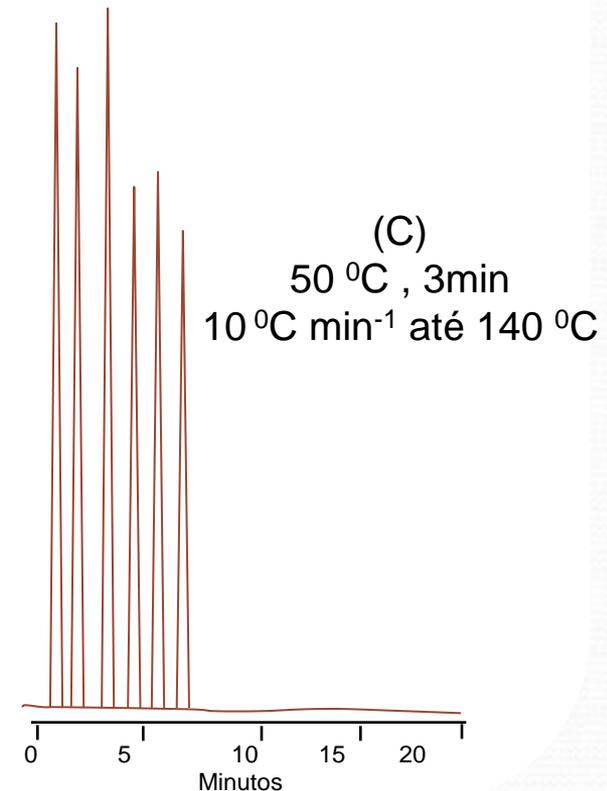
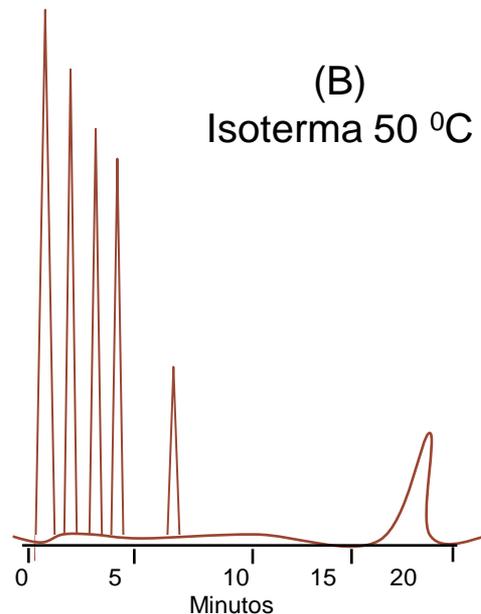
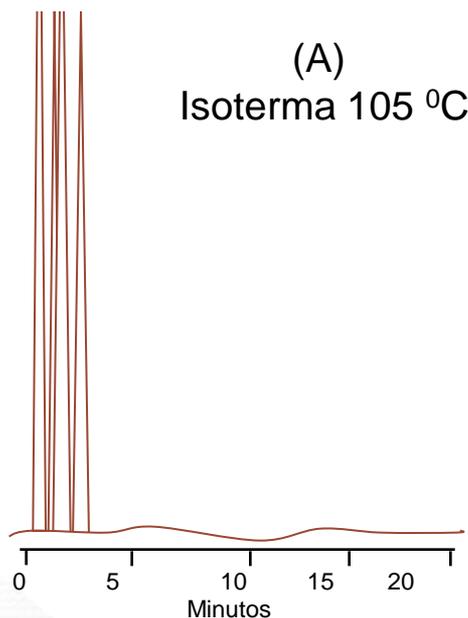
T_{FIM} Temperatura Final

t_{INI} Tempo Isotérmico Inicial

t_{FIM} Tempo Final do Programa

R Velocidade de Aquecimento





Comparação de isoterma e programação de temperatura. Mistura equimolar de etanol, 2-butanol, 2-metilpropanol, 1-butanol, 1-pentanol e 1-hexanol.



Figura A. Resolução pobre, com bom tempo da análise.

Solução:

**Temperatura muito baixa;
Coluna inadequada (FE)**

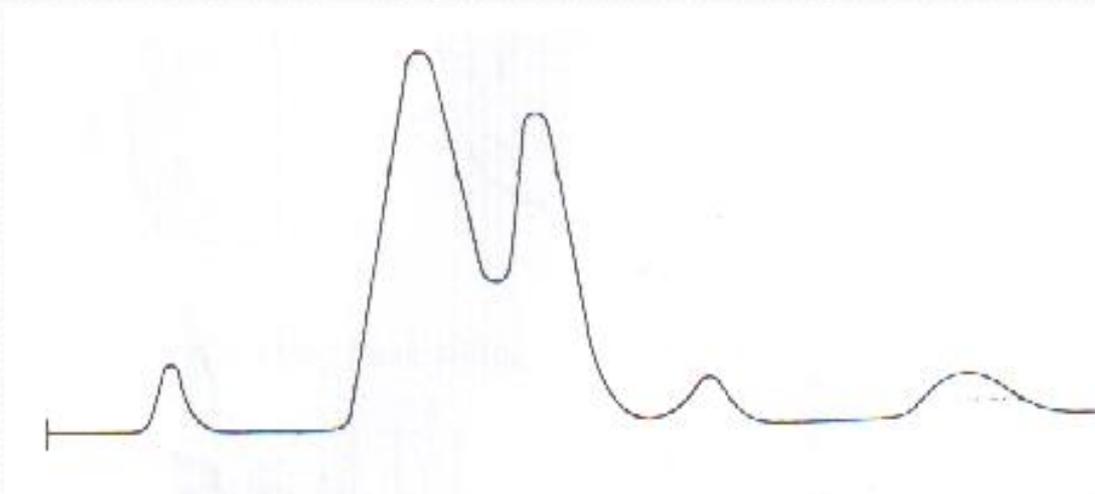
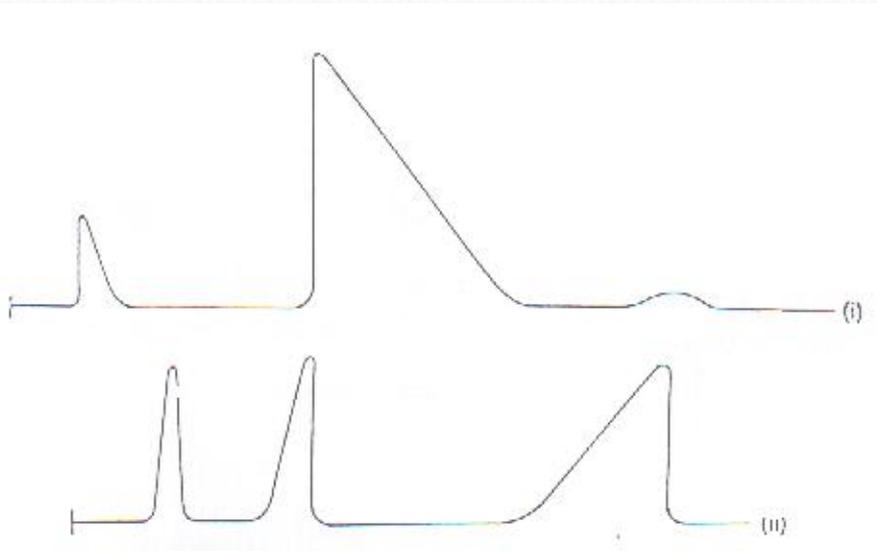


Figura B. Resolução inadequada, mas promissora

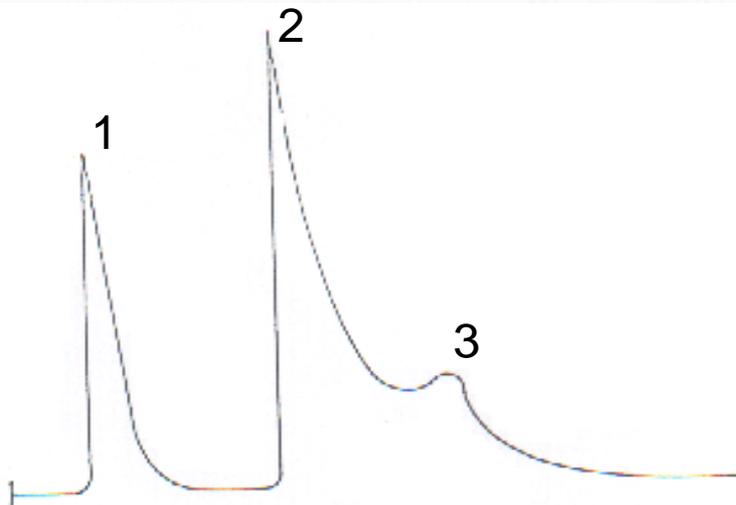
Solução:

Rampa de aquecimento



Solução:
(i) Formação de monocamada;
(ii) Sobrecarga do analito.

Figura C. Dois tipos de picos Assimétricos.



Solução:
(1) Vazamento do septo
(2) Contaminação da coluna, ou
deterioração da FE.

Figura D. Picos com cauda. Legenda: (1) Solvente; (2 e 3) analitos.

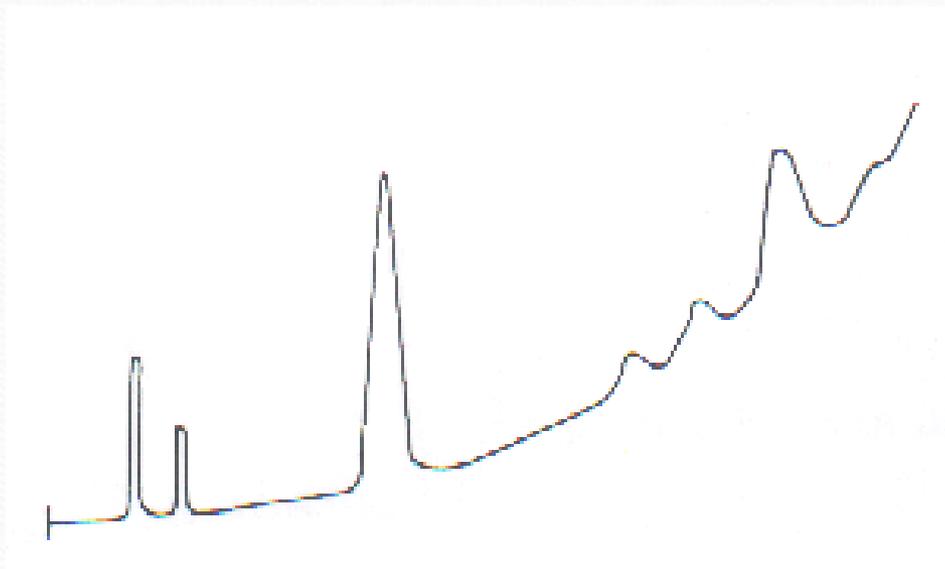
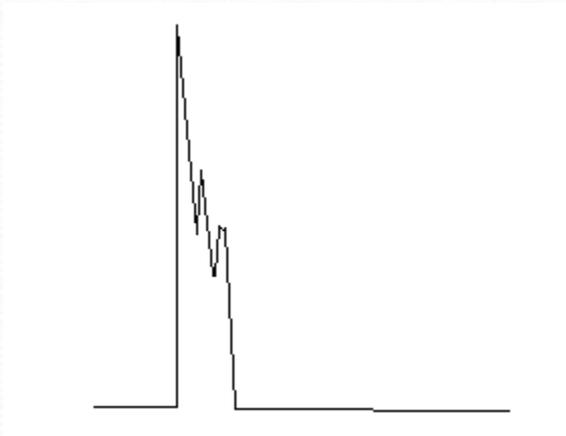


Figura E. Linha de base descontínua.

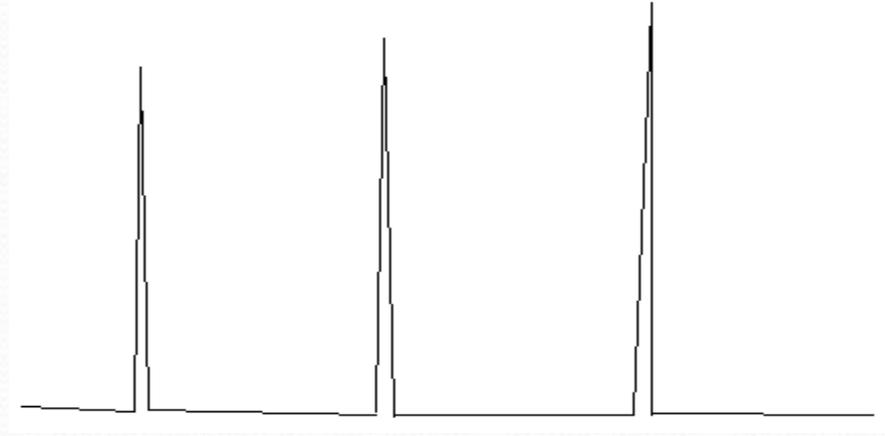
Solução:

**Sangramento da coluna ou
Impureza da amostra**

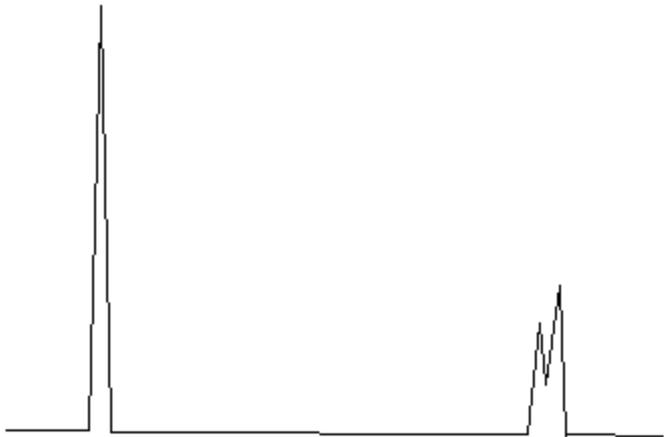
Exercícios : Sugira como otimizar estas separações



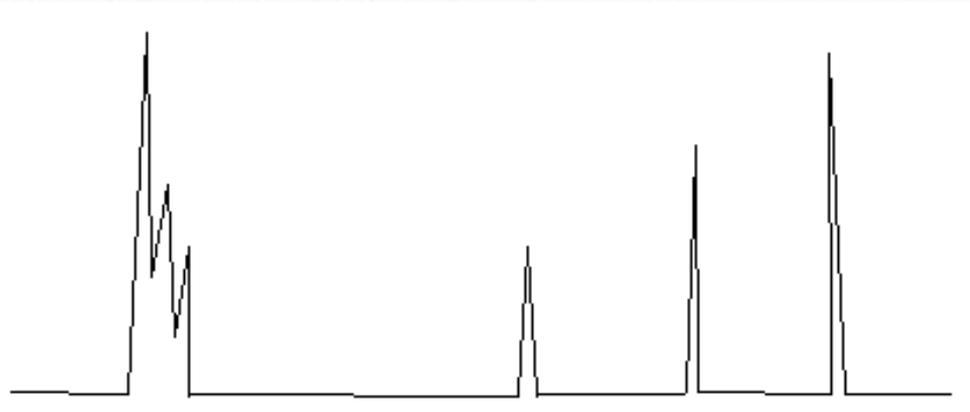
Co-eluição em tempo inferior à 2 min.



Ótima separação, mas longo tempo de análise.



Analitos mal resolvido em tempo longo de análise.



Analitos mal resolvido em tempo inferior a 3 minutos e longo tempo de análise.

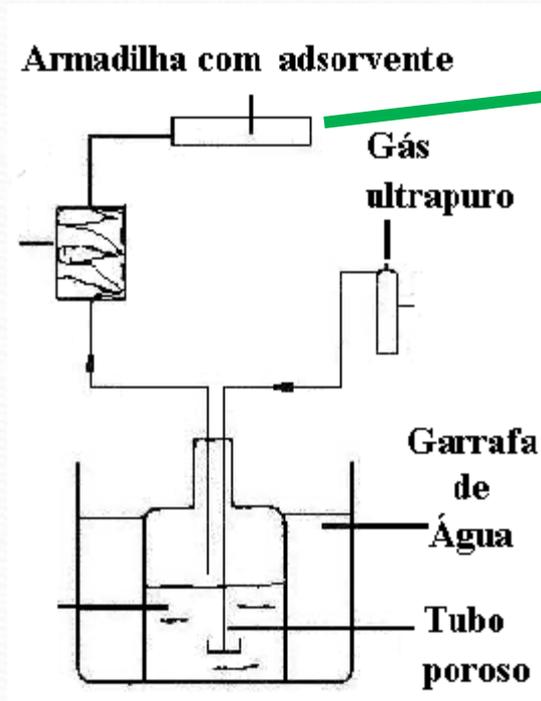
Referências

1. COLLINS, C.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1ª reimpressão.. Editora da UNICAMP - Campinas: Editora da UNICAMP, 2007.
2. SKOOG, D. A., WEST, D. N. **Fundamentos de Química Analítica**. Barcelona : Reverte, 1974.
3. SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis**. Philadelphia: Saunders College Publishing , c1998
4. ROUESSAC, F., ROUESSAC, A. **Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques**. Wiley, 2nd edition.

Técnica de pré concentração Purge and Trap

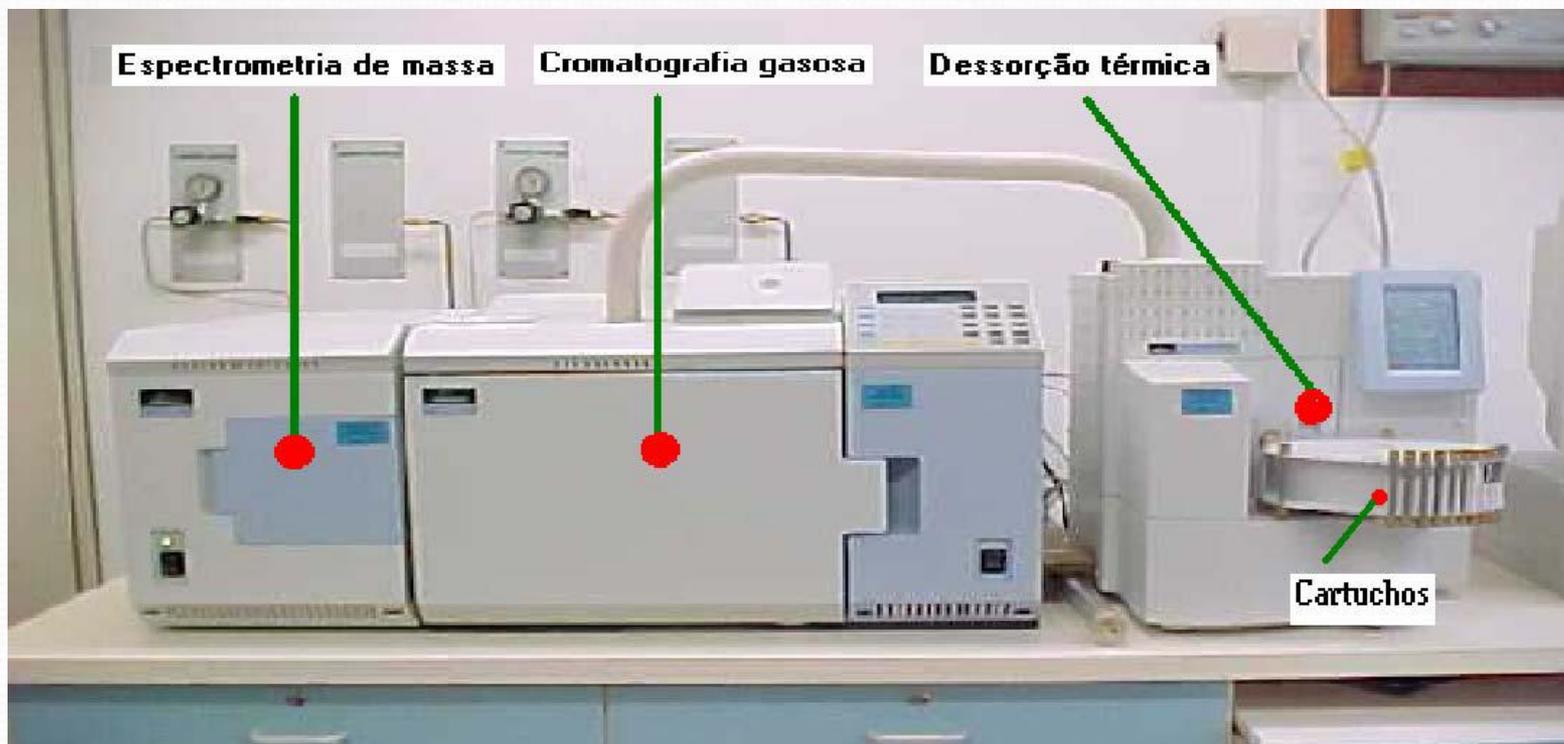
Também chamada de headspace dinâmico.

Extrai o analito volátil da amostra e o concentra (adsorve) em um suporte como carvão ativo ou polímero poroso.



Estudo de caso:

Extração de BTEX de amostras de diesel comercial utilizando Purge and Trap e determinação por CG – MS.



Condições do CG:

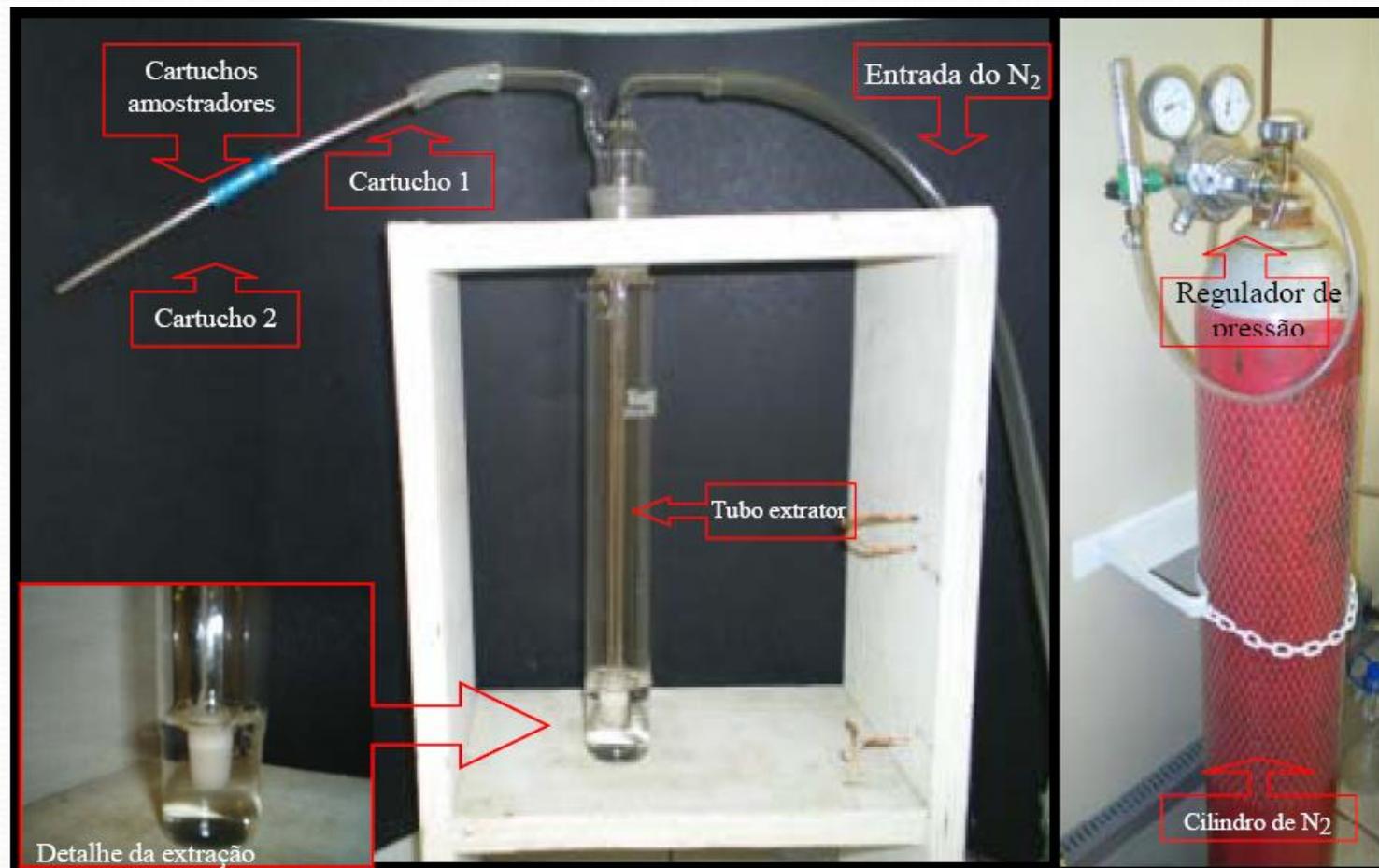
Programação do Forno	40 °C por 2 minutos, 8 °C/ min até 120 °C.
Detector	250 °C

- Coluna apolar de 5% fenil, 95% dimetilsiloxano
- Comprimento de 30 metros.

Condições do DTA:

Parâmetros					
Temperatura (°C)		Tempo (min)		Pneumática (mL min⁻¹)	
Válvula	200	Dessorção	10,0	Dessorção	100,0
Tubo	300	Trap hold	5,0	Inlet split	85,0
Trap High	250	Purga	1,0	Outlet split	60,0
Trap Low	-30			Fluxo coluna	1,33
Linha de transferência	260	Ciclo	20,0	Coluna	15,0 psi
Modo de operação do DTA			2 - Stg Desorb		

Sistema *purge and trap* utilizado



Parâmetros otimizados:

- Volume de amostra de diesel;
- Vazão do gás de purga (N₂);
- Tempo de amostragem.

Otimização univariada (fixa – se duas variáveis e varia a terceira)

Volume da amostra de diesel

Vazão do gás: 100 mL min^{-1} e Volume de gás: 1000 mL

Foram testados volumes de 15 mL até $2 \mu\text{L}$

Vazão do gás de purga

Volume de amostra: $2 \mu\text{L}$ Volume de gás: 1000 mL

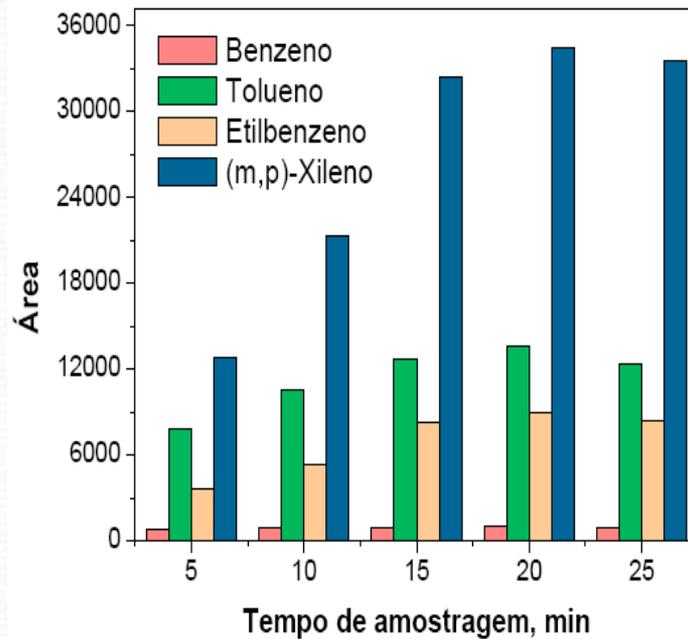
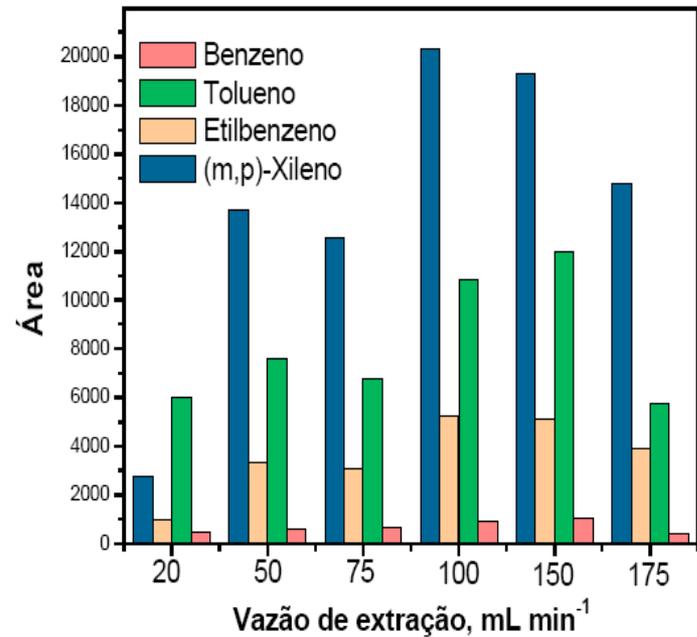
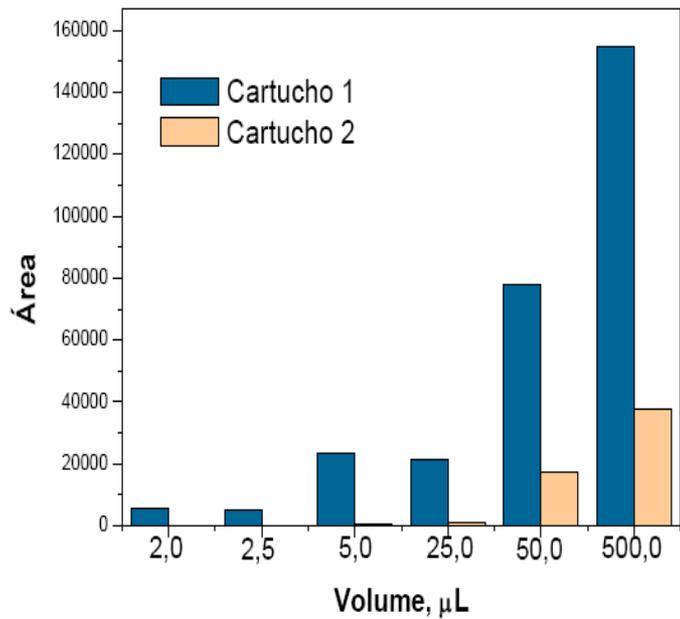
Foram testados vazões de $20 - 175 \text{ mL min}^{-1}$

Tempo de purga

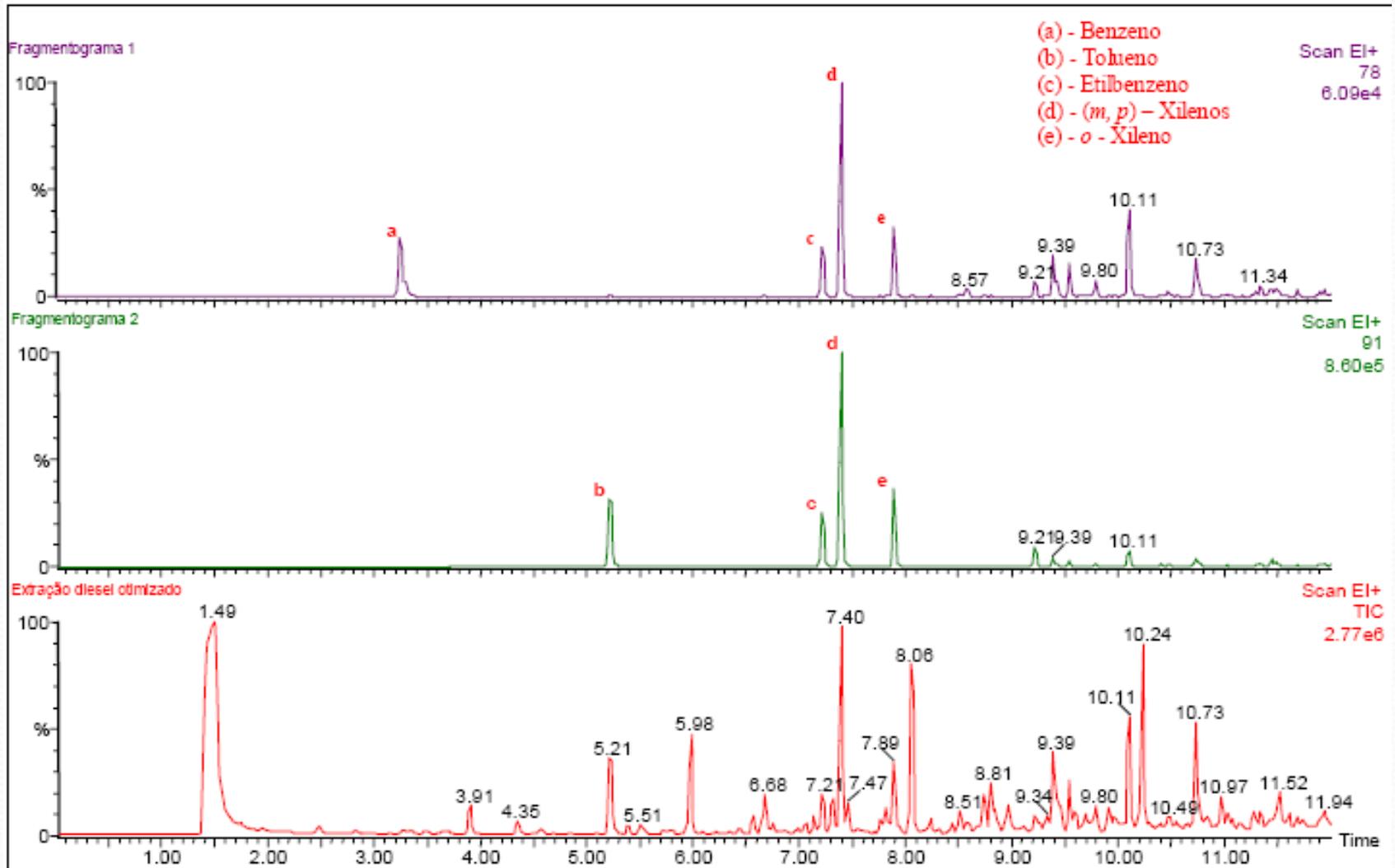
Volume de amostra: $2 \mu\text{L}$ Volume de gás: 150 mL min^{-1}

Foram testados tempos de $5 - 25 \text{ min}$

Final: Volume da amostra: $2 \mu\text{L}$;
Vazão do gás de purga: 150 mL min^{-1}
Tempo de purga: 20 min .



Cromatograma de íons total e fragmentogramas nas condições otimizadas



Aula experimental !!!!
Hoje às 13:30 h
Amanhã às 8:30 h

Local: Laboratório 209
Prof. Carasek

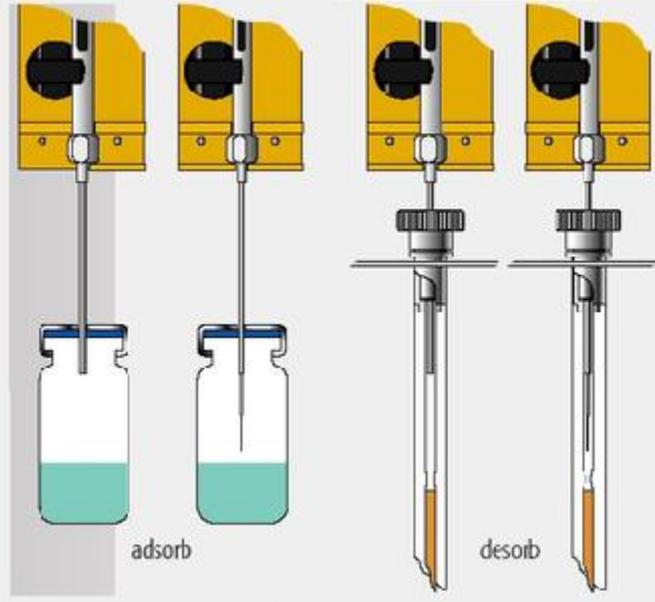
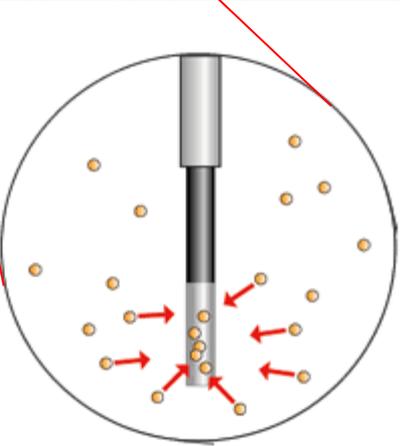
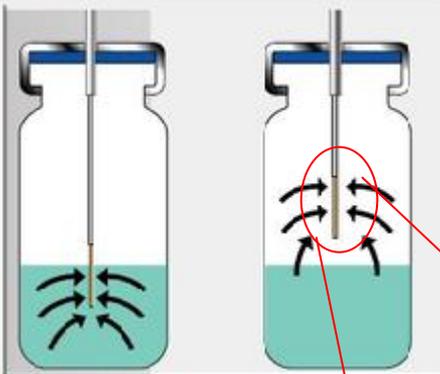


INTRODUÇÃO

Microextração em fase sólida - SPME

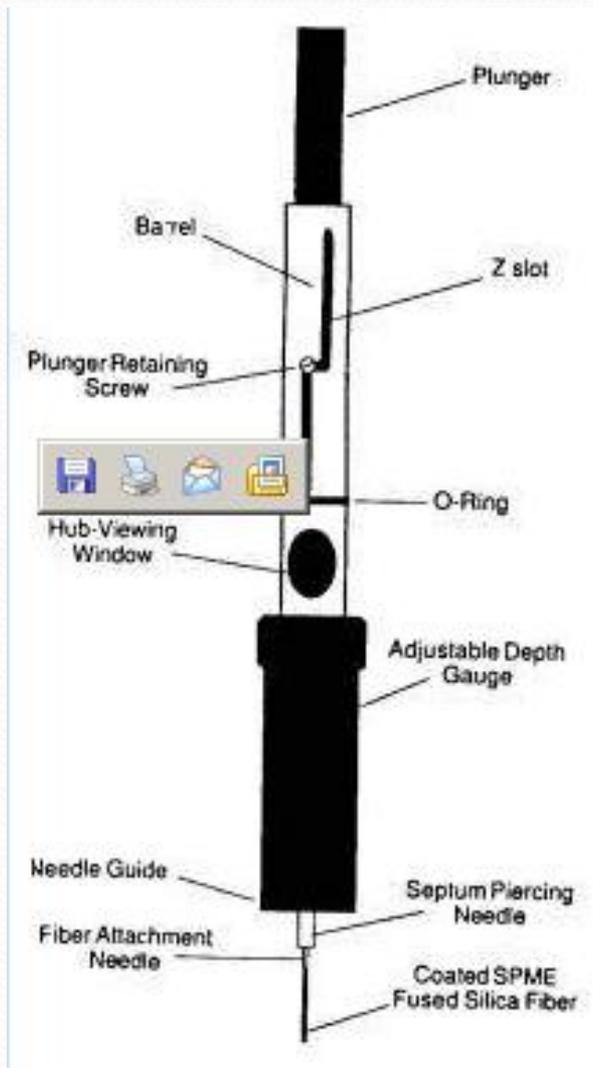
Líquido

Headspace



Adsorção na fibra

Desorção no CG



Aparato do SPME