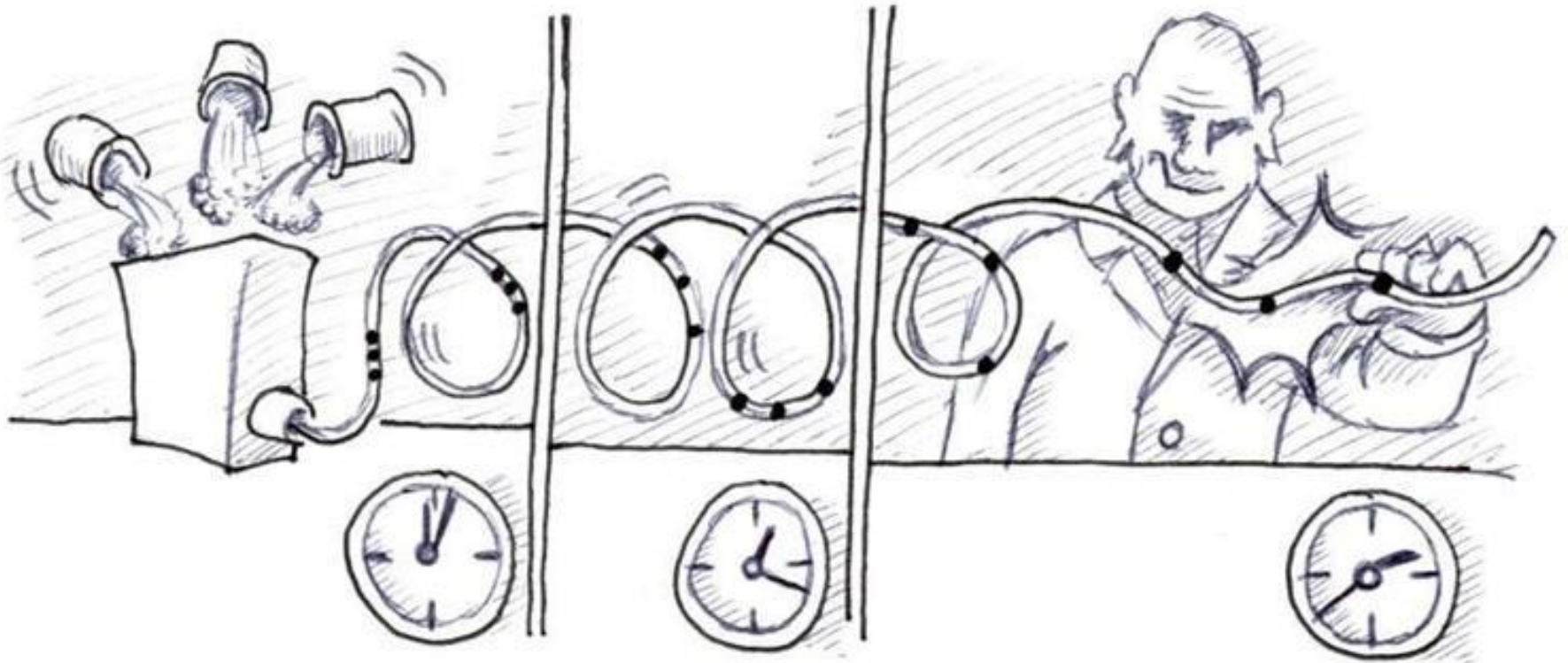


CROMATOGRAFIAS PRESSURIZADAS

Cromatografia Gasosa

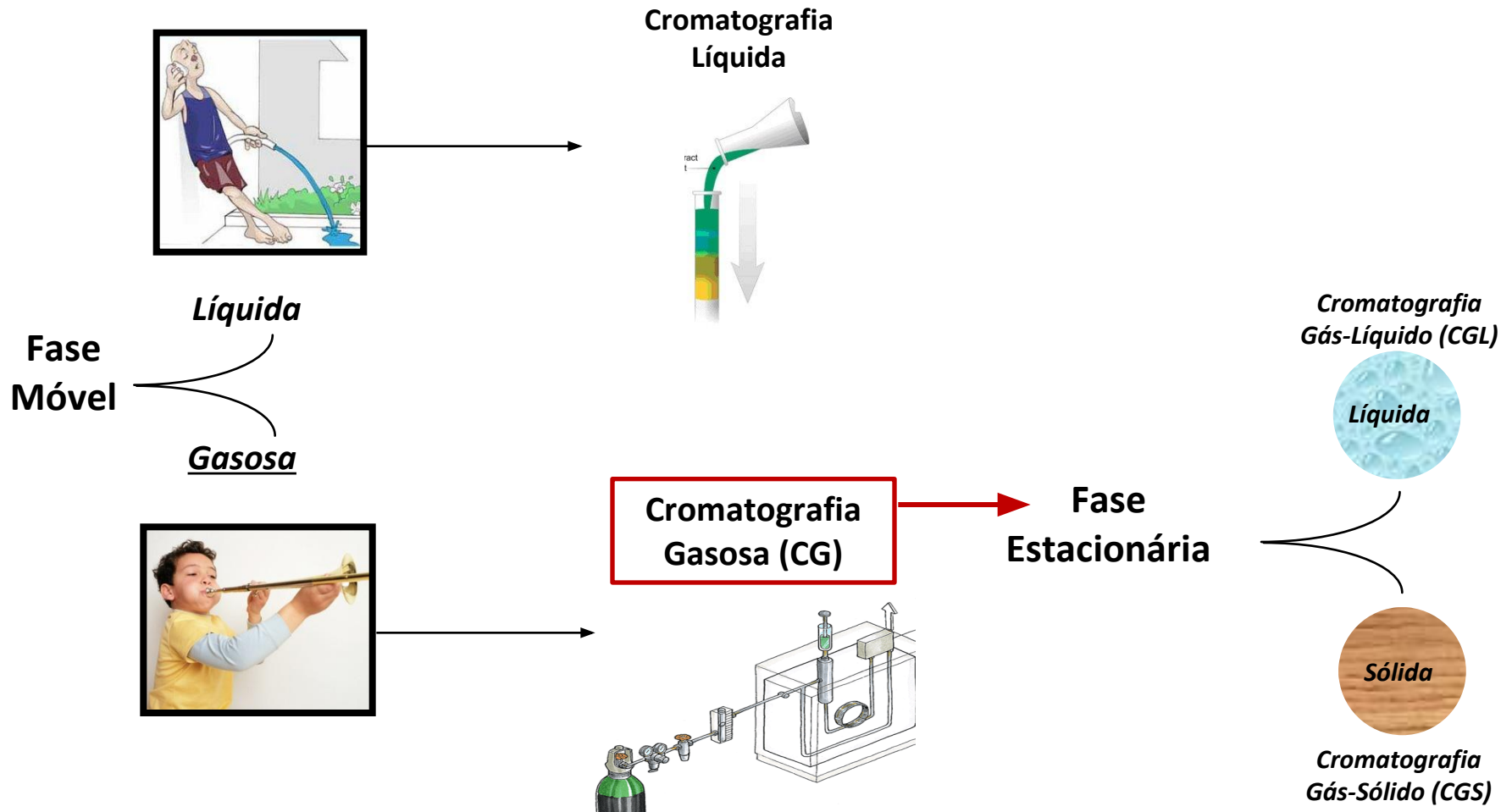
Michelle Barcellos

Cromatografia gasosa - CG

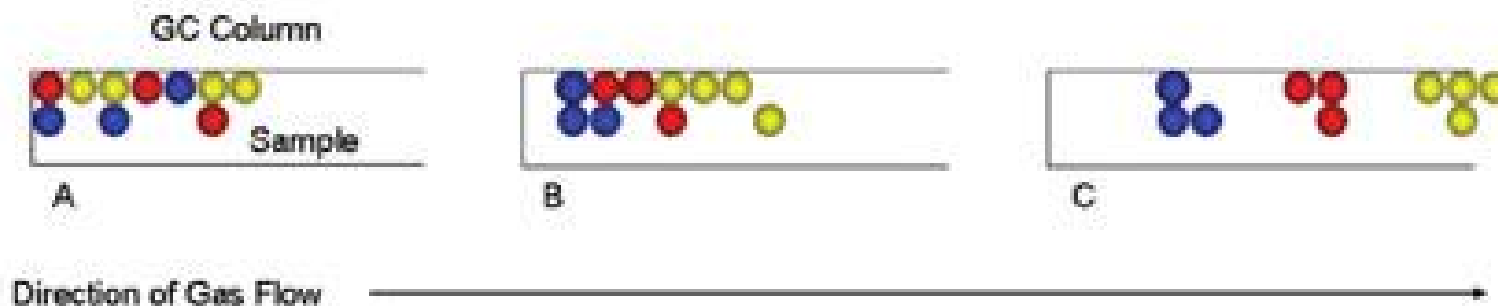


Porque cromatografia GASOSA?

Modalidades e Classificação



Característica dos analitos



Misturas de analitos

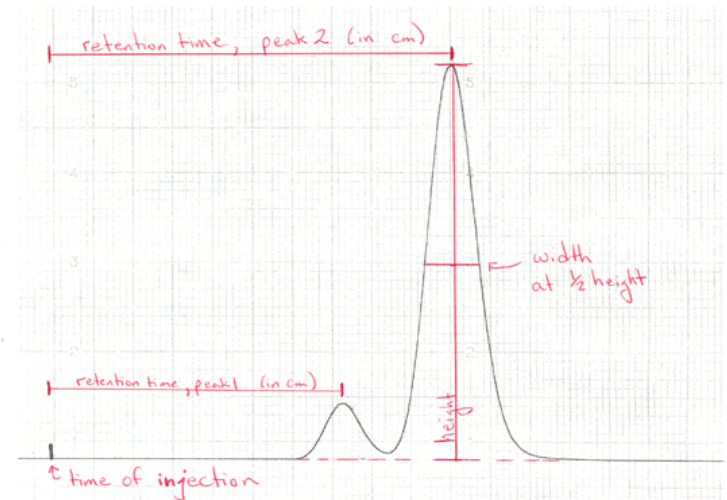
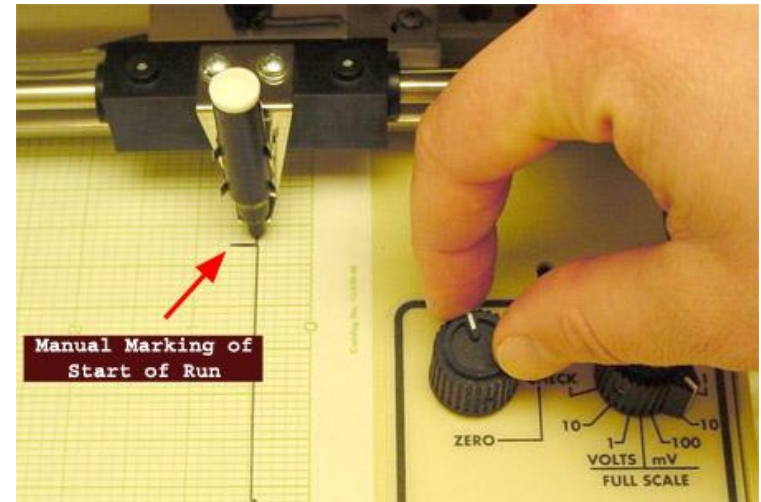
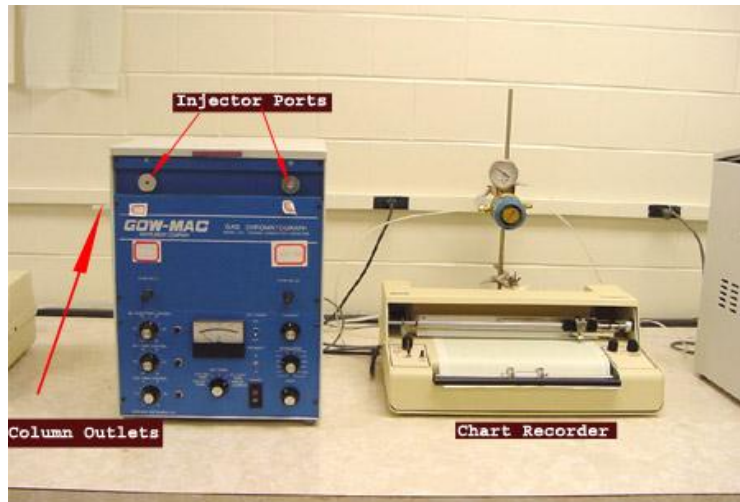
VOLÁTEIS

(evaporáveis)

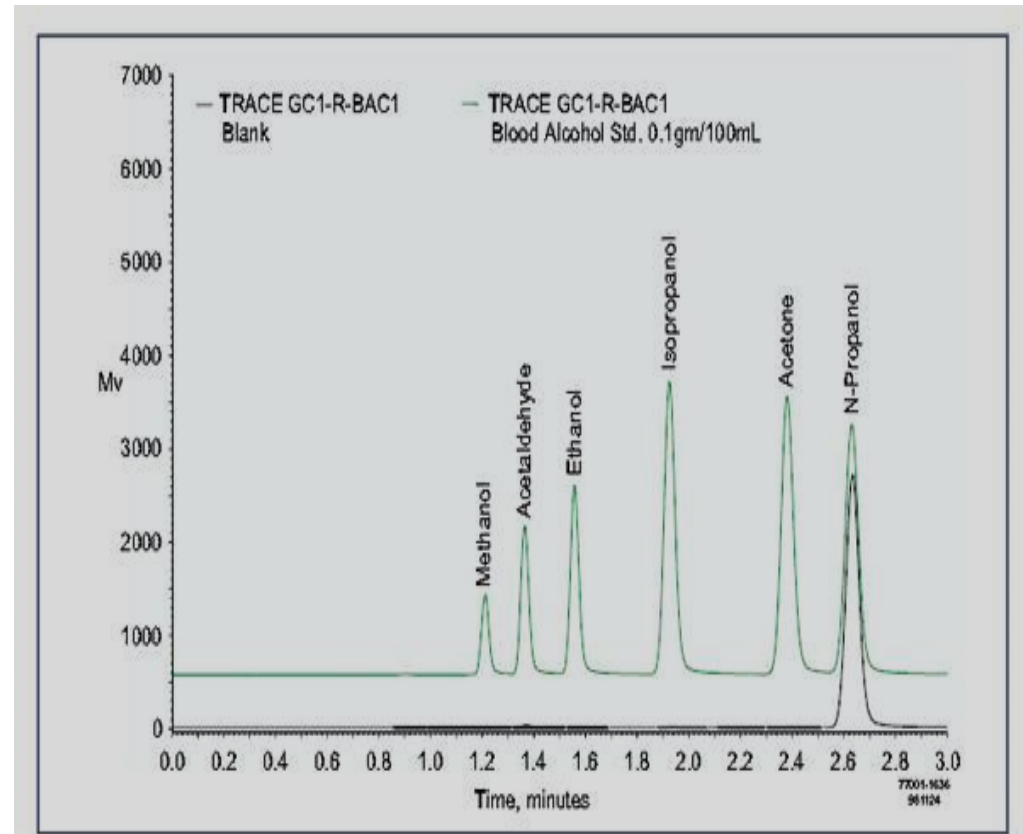


**Separação e análise de misturas de substâncias
termicamente estáveis e ponto de ebulição inferior a 300°C**

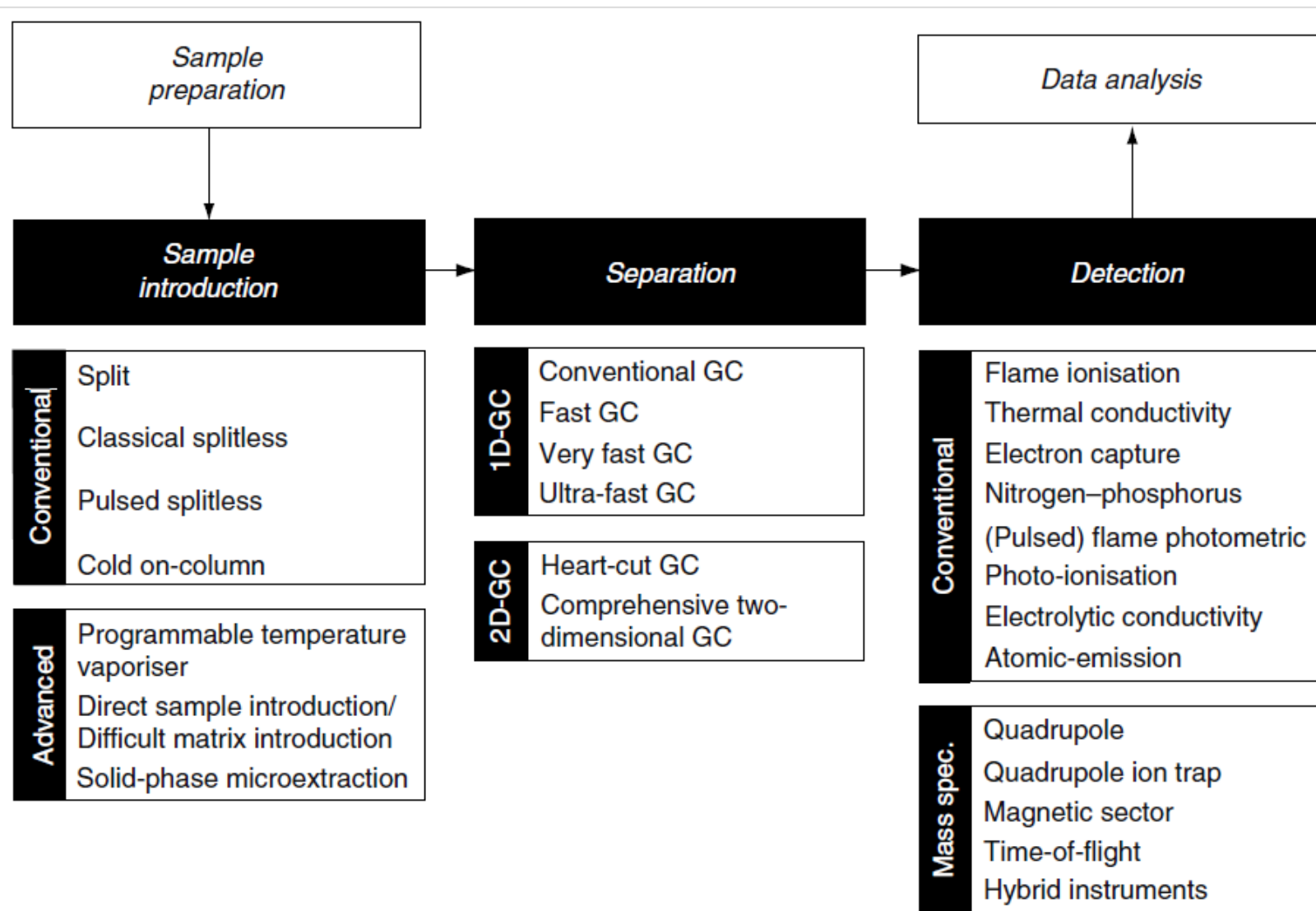
Cromatógrafo a gás



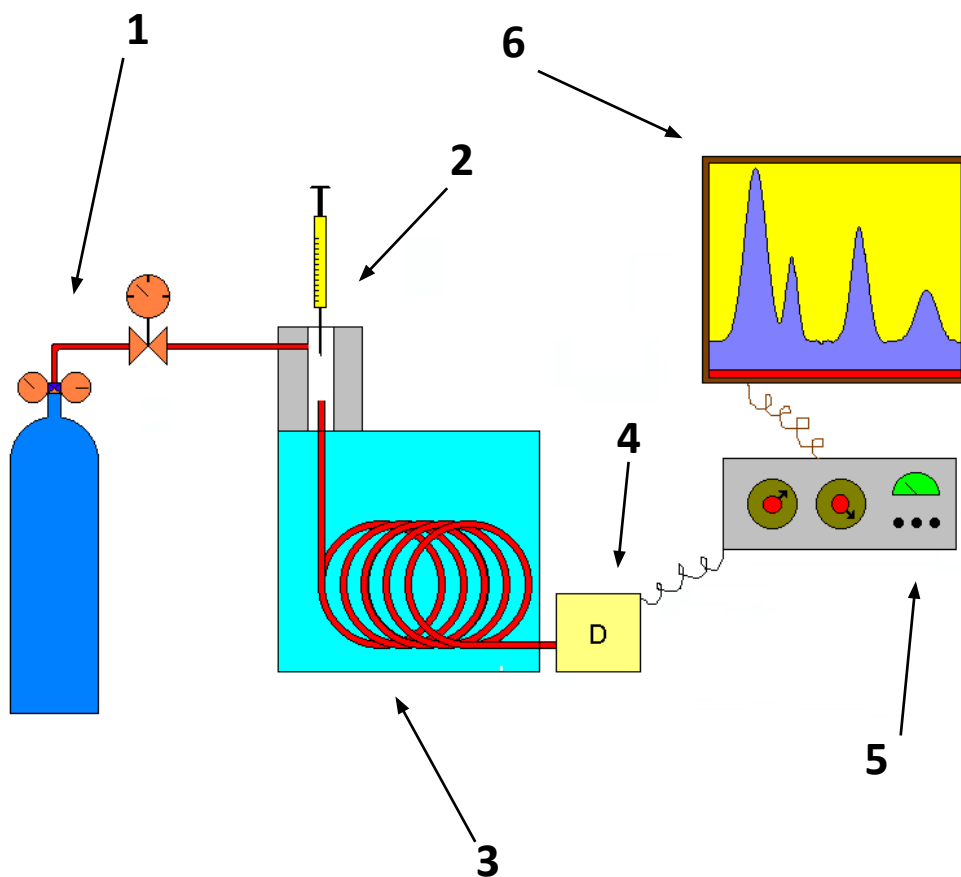
Cromatógrafo a gás



Cromatógrafo a gás



Cromatógrafo a gás



1 - Reservatório 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).

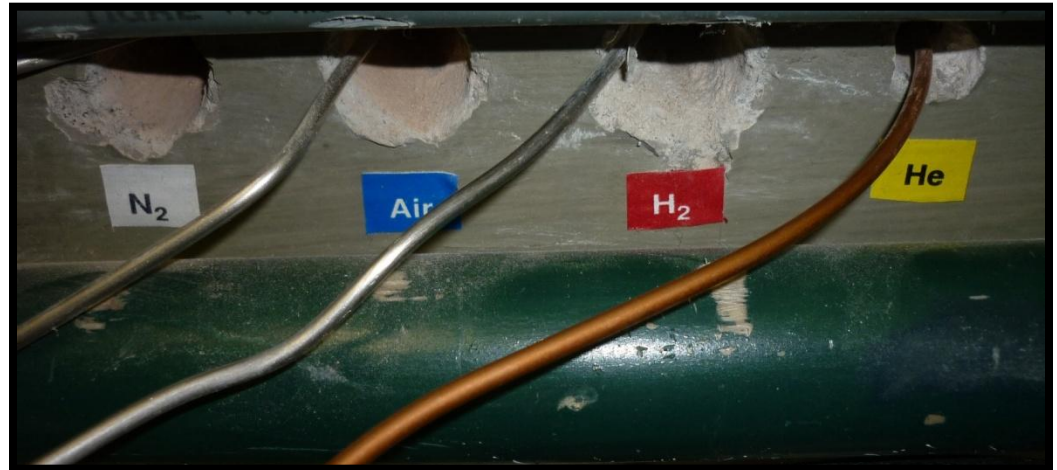
Sistema de gases

Gases e manômetros



Sistema de gases

Cilindros e linhas de gases



Tubos e Conexões
Aço Inox ou Cobre

Sistema de gases

Características dos gases

Fase Móvel → **GÁS DE ARRASTE**

NÃO interage com a amostra, apenas a “carrega” através da coluna.

Requisitos básicos:

INERTE → Não reagir com amostra, F. E. ou superfícies do instrumento.

PURO → Isento de impurezas que possam degradar a fase estacionária.

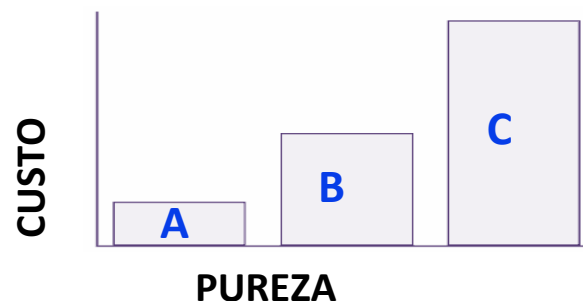
Sistema de gases

Custo vs. pureza dos gases

A = 99,995 %

B = 99,999 %

C = 99,9999 %



Impurezas típicas em gases e seus efeitos:

$\text{H}_2\text{O}, \text{O}_2$ {
- hidrolisa/ oxida fases estacionárias
- incompatíveis com DCE

Hidrocarbonetos {
- ruído no sinal de DIC

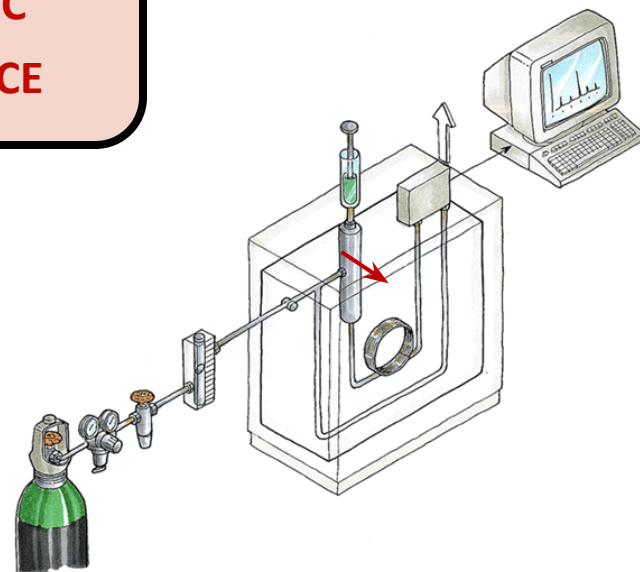
Sistema de gases

Seleção do Gás de Arraste

Compatibilidade com o detector

He , H ₂	→	DCT
N ₂ , H ₂	→	DIC
N ₂ , Ar + 5% CH ₄	→	DCE

Estes gases fluem por todo o sistema cromatográfico.



Injetores

Funções e parâmetros de injeção

Inserir amostra no cromatógrafo;

Vaporizar a amostra;

Misturar com o gás de arraste;

Conduzir amostra até a coluna.

Temperatura do injetor

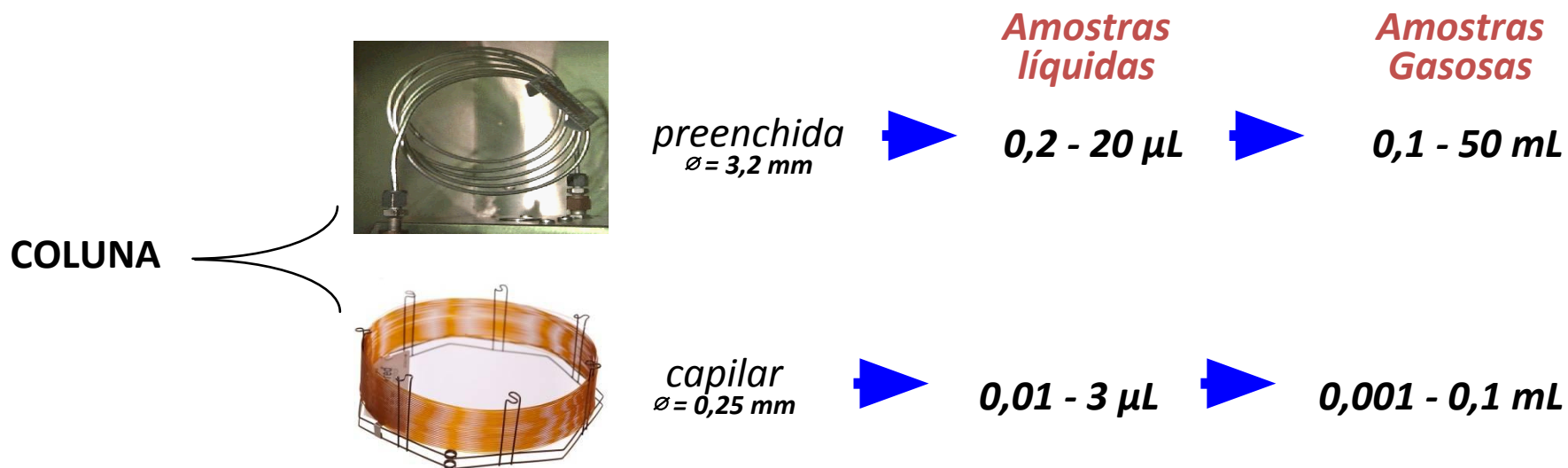
Elevada para vaporização imediata da amostra porém sem decomposição.

$T_{inj} \rightarrow 50^{\circ}\text{C}$ acima do P. E. do componente menos volátil.

Injetores

Parâmetros de injeção

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

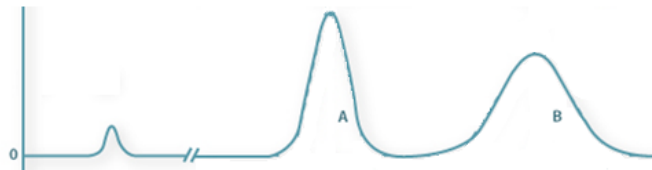
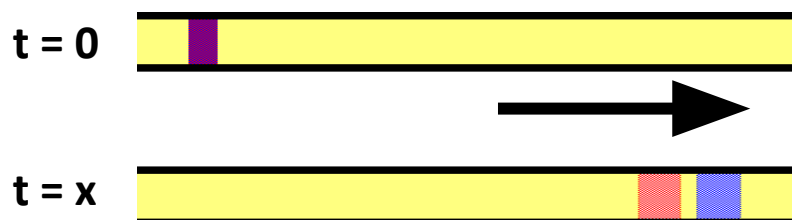


Injetores

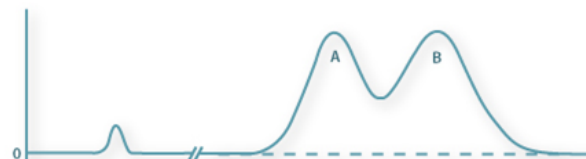
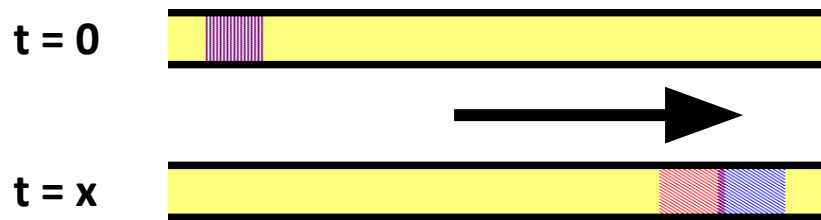
Parâmetros de injeção

A introdução da amostra na coluna cromatográfica deve ser ***INSTANTÂNEA***.

Injeção instantânea

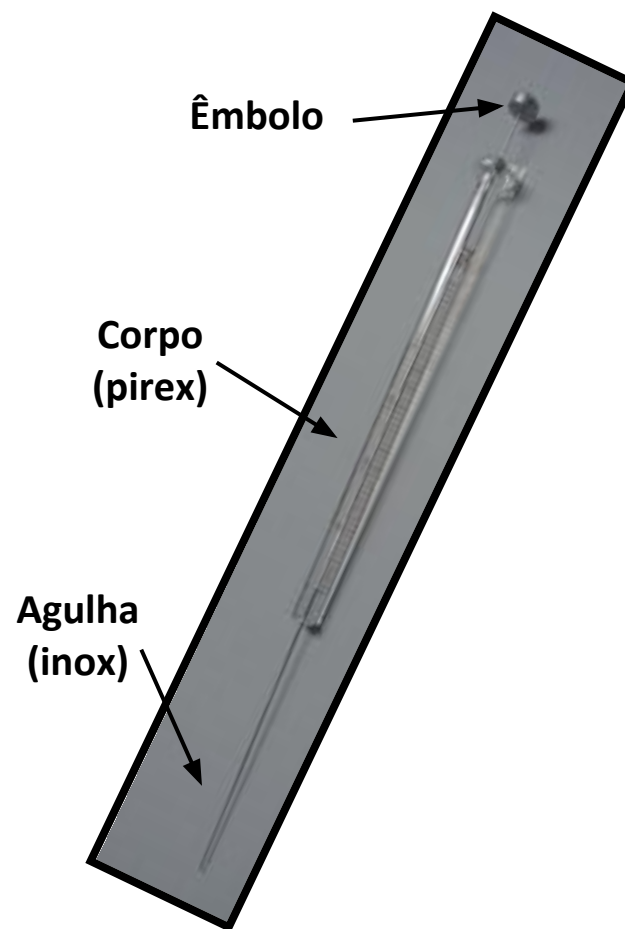


Injeção lenta



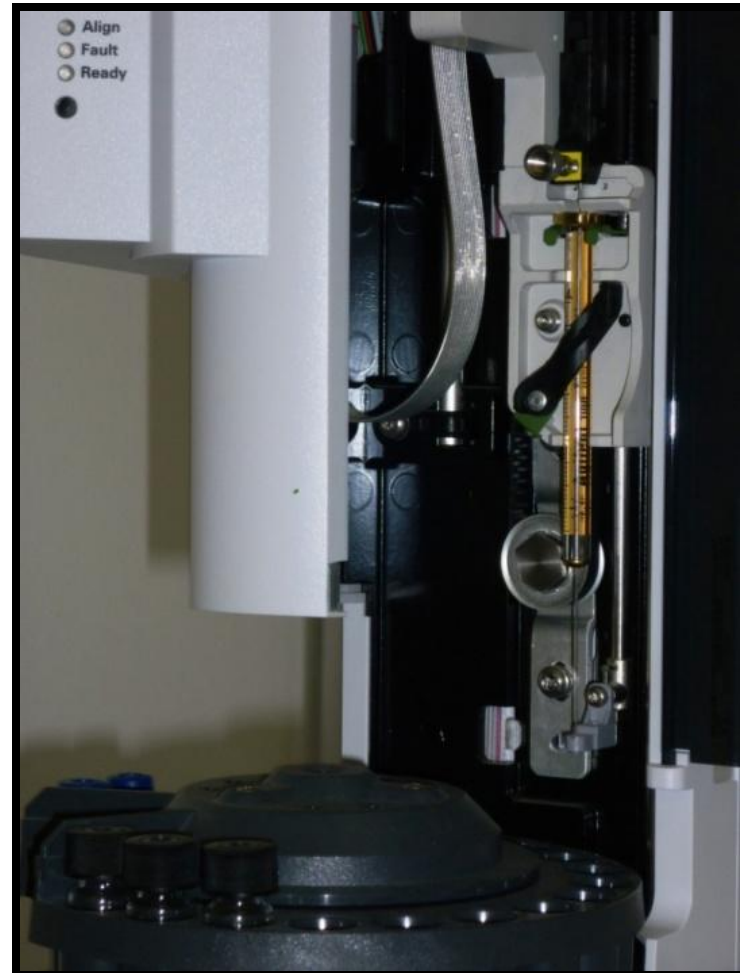
Injetores

Injeção manual e Microseringas



Injetores

Injeção automática e Acessórios



Tipos de Injetores

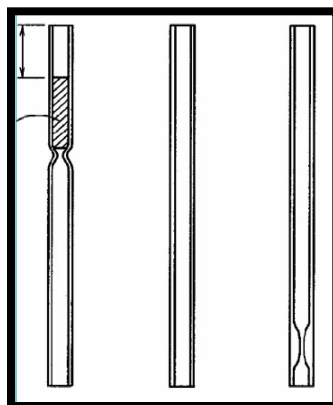
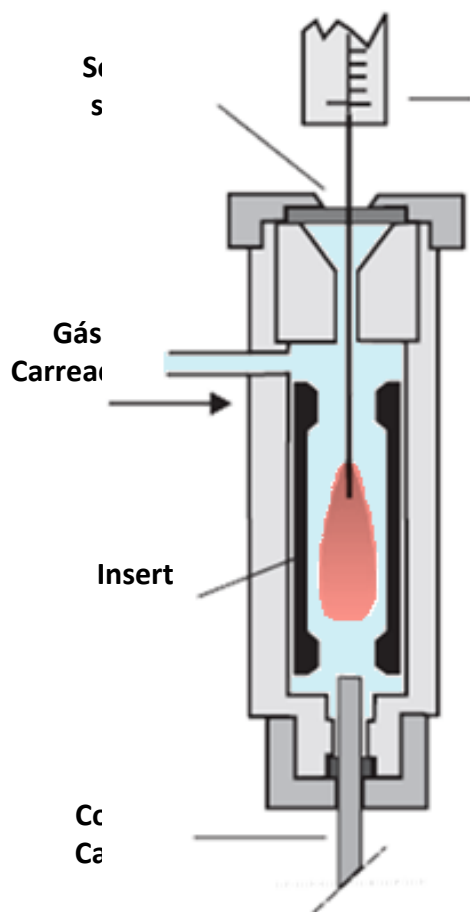
Injetor de Vaporização Direta

Colunas empacotadas e megabore
Taxa de fluxo de 10 mL/min

Aquecimento do injetor:

Temperatura média de ebulição dos analitos

Calor uniforme via haste de vidro (liner)



Elimina contato entre amostra
e o metal do injetor

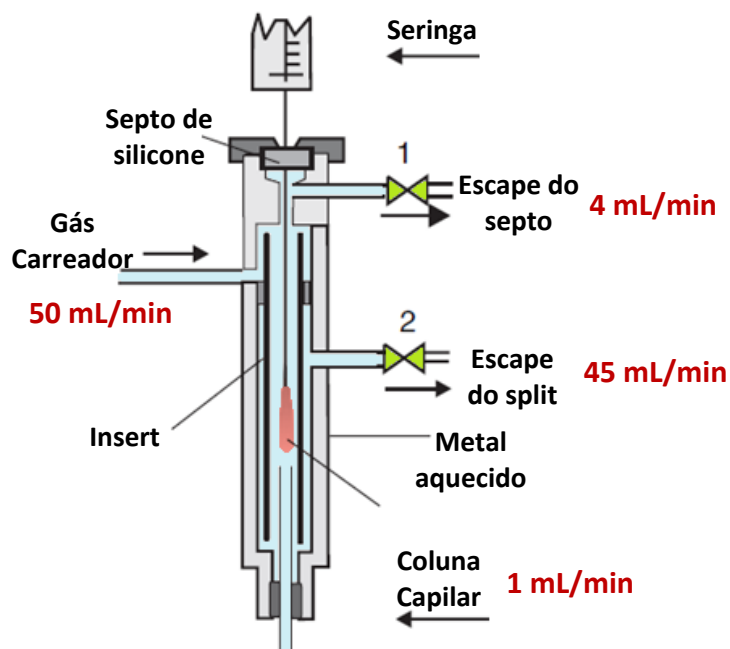
Injetores

Injetor Split/Splitless

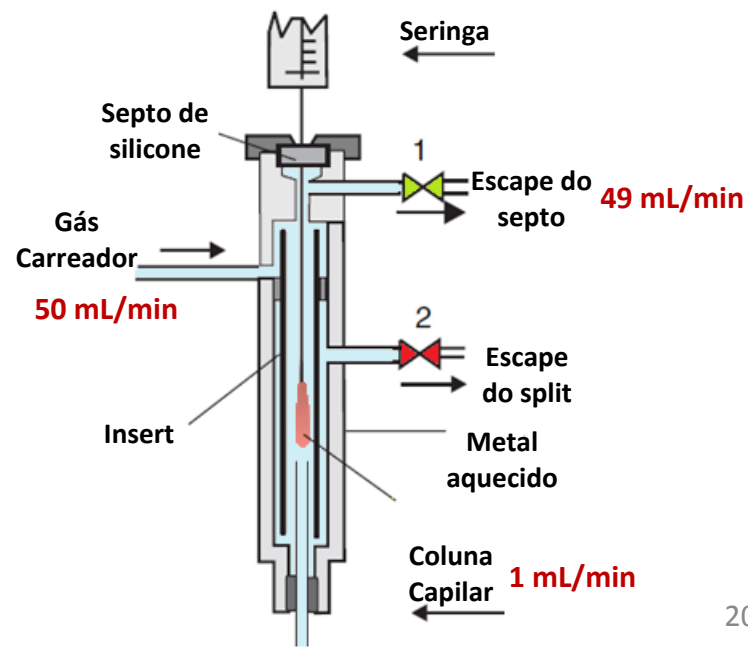
Colunas capilares

Possível Saturação

Modo Split – Com divisão



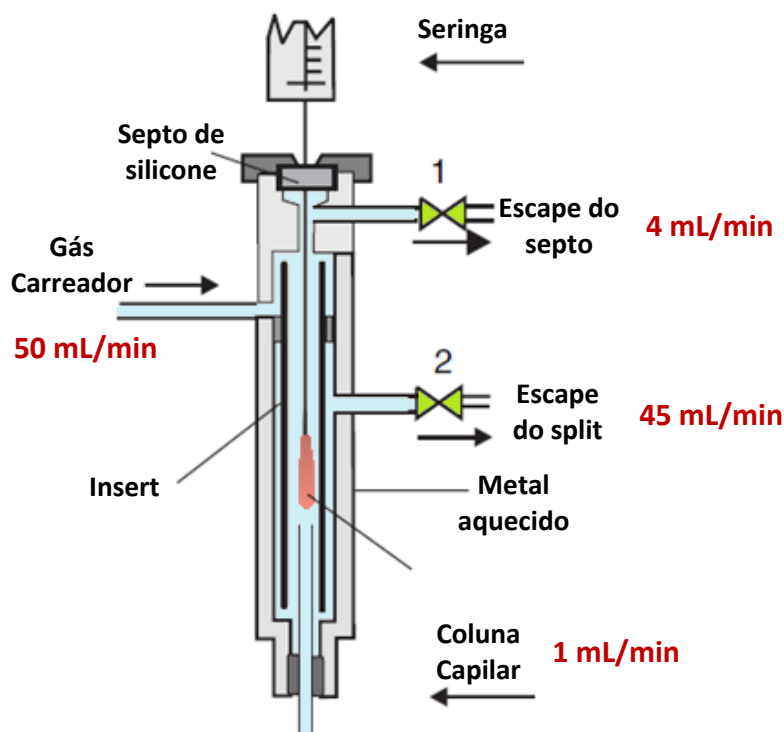
Modo Splitless – Sem divisão



Injetores

Injetor Split/Splitless

Modo Split – Com divisão



→ Injeção de parte do volume de amostra (0,1-2 μ L);

→ Injeção no bloco aquecido gera escape dos analitos mais voláteis;

→ Não é uma técnica adequada para análise de traços.

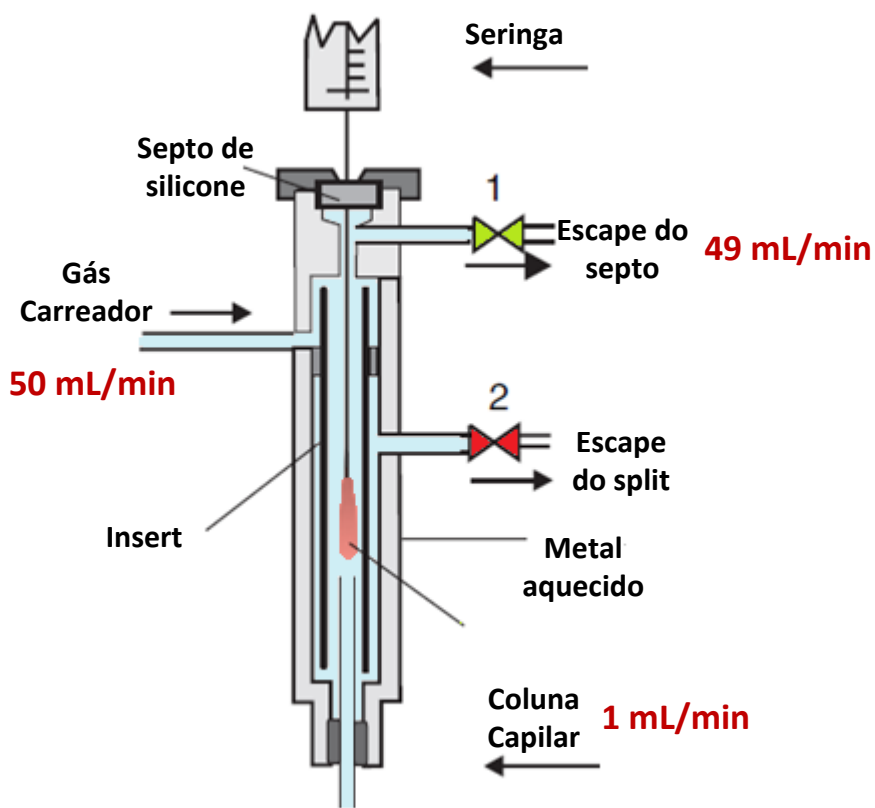
$$\text{Razão de divisão} = \frac{\text{Fluxo do escape do Split}}{\text{Fluxo da coluna}} = \frac{45}{1}$$

Faixa 1:20 e 1:500

Injetores

Injetor Split/Splitless

Modo Splitless – Sem divisão



→ Injeção de volume de amostra
< 1 μ L devido expansão térmica;

→ Injeção de até 75% do volume do insert
(150 – 1000 μ L);

→ Técnica adequada para análise de traços e
compostos semi-voláteis;

! Split aberto após introduzir a amostra para
saída do solvente pode promover escape dos
menos voláteis.

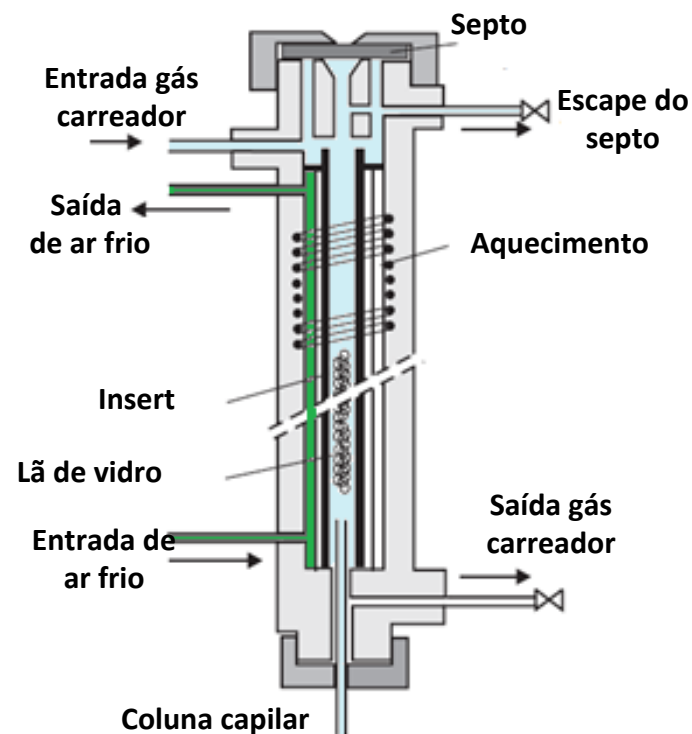
Injetores

Injetor com vaporização de temperatura programada PTV

Vantagens combinadas

Gradiente de temperatura
Similar à vaporização direto no injetor

Divisão de fluxo
Similar ao injetor split/splitless



Colunas

Função e localização

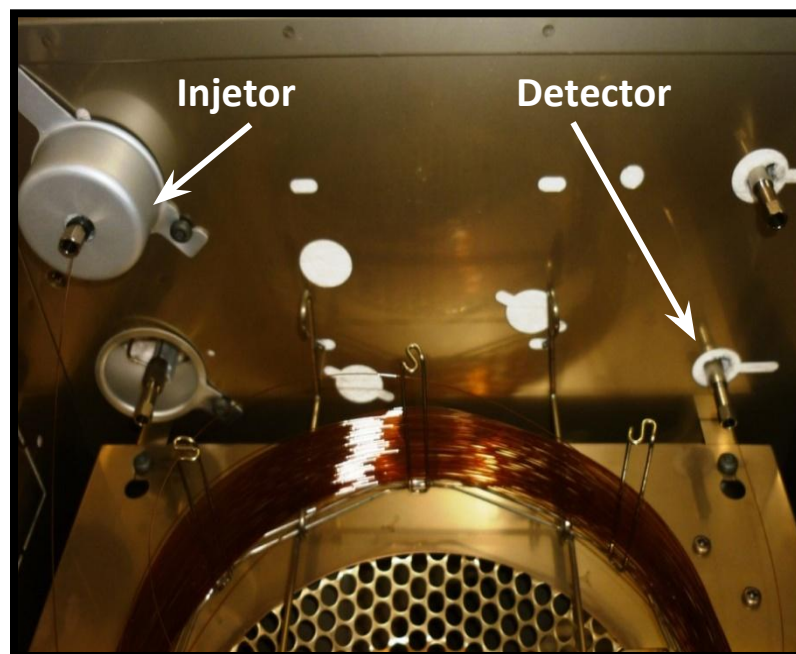
Promover interação diferenciada para separação dos analitos da amostra.

Forno para coluna



Capacidade: Duas colunas
Temperatura: $> 400^{\circ}\text{C}$
Controle: $0,1^{\circ}\text{C}$

Encaixes da coluna



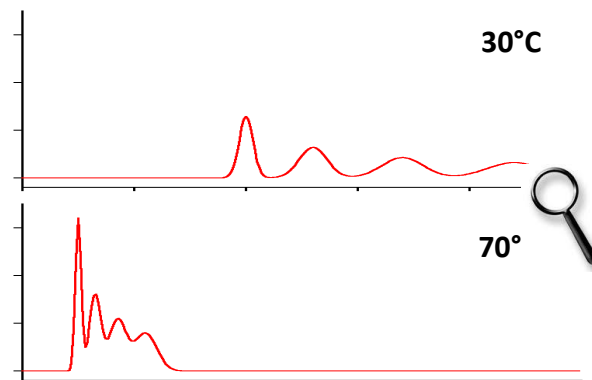
Colunas

Temperatura da coluna

O tempo do analito na coluna cromatográfica depende:

Interação entre analito e fase estacionária

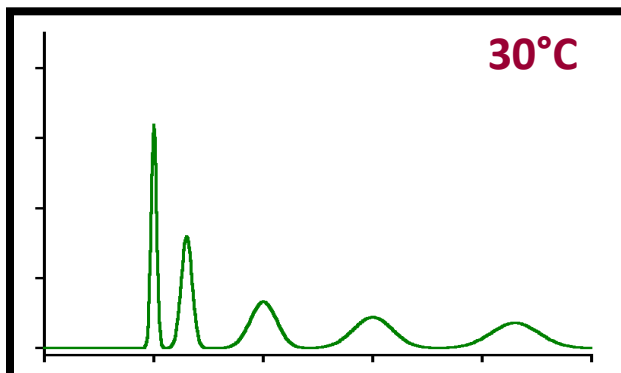
Pressão de vapor (p^0) do analito



Colunas

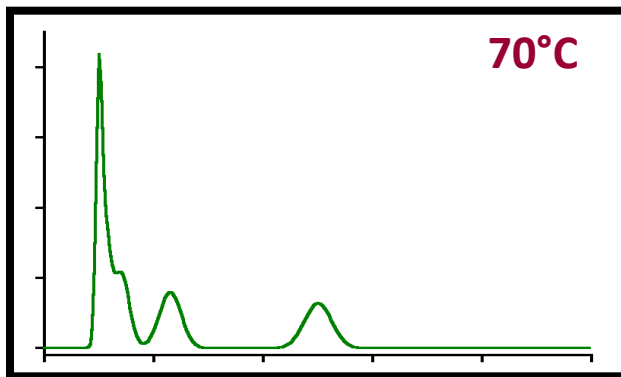
Temperatura da coluna

Misturas complexas quando separadas **isotermicamente**



Muito voláteis: saem separados e sensíveis

Pouco voláteis: interagem muito com FE e se difundem



Muito voláteis: quase não interagem coeluem

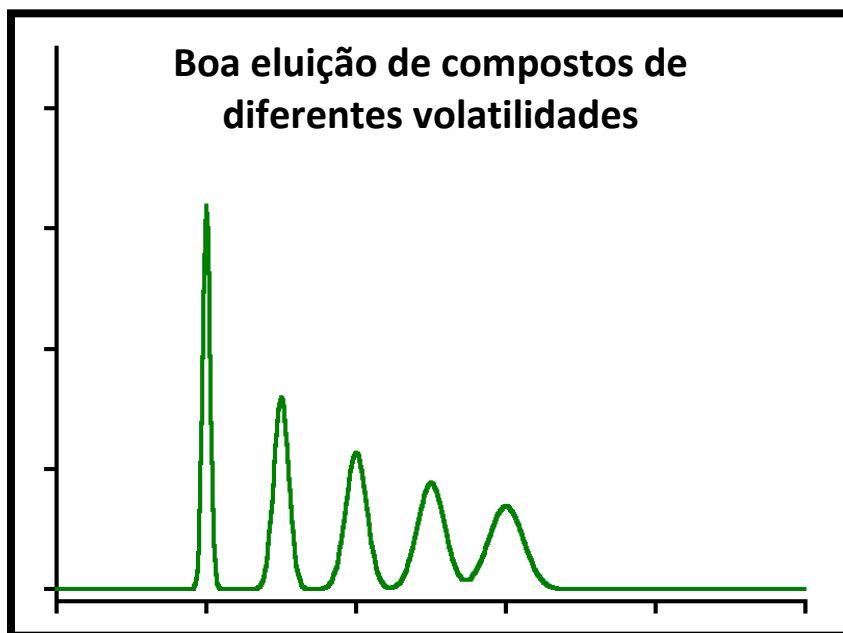
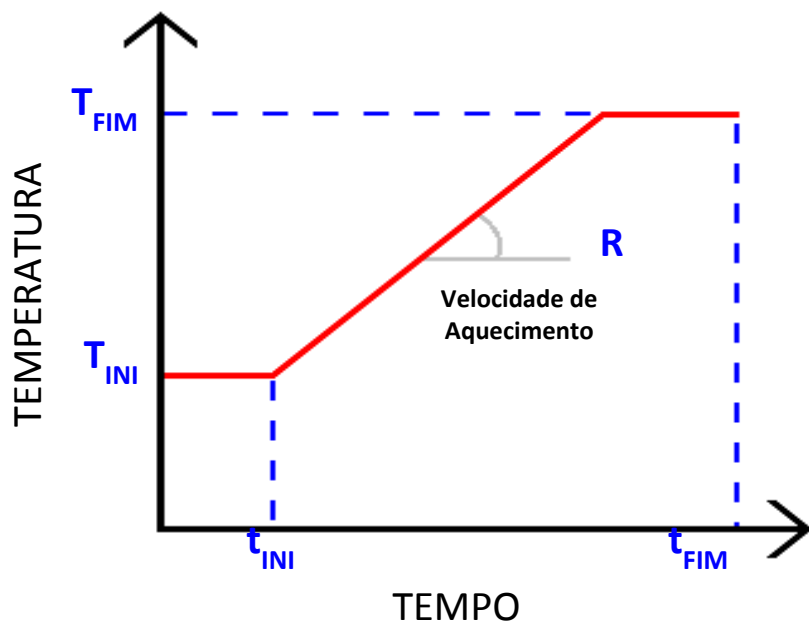
Pouco voláteis: interagem menos com FE e tem baixa difusão.

Colunas

Programação Linear de Temperatura na coluna

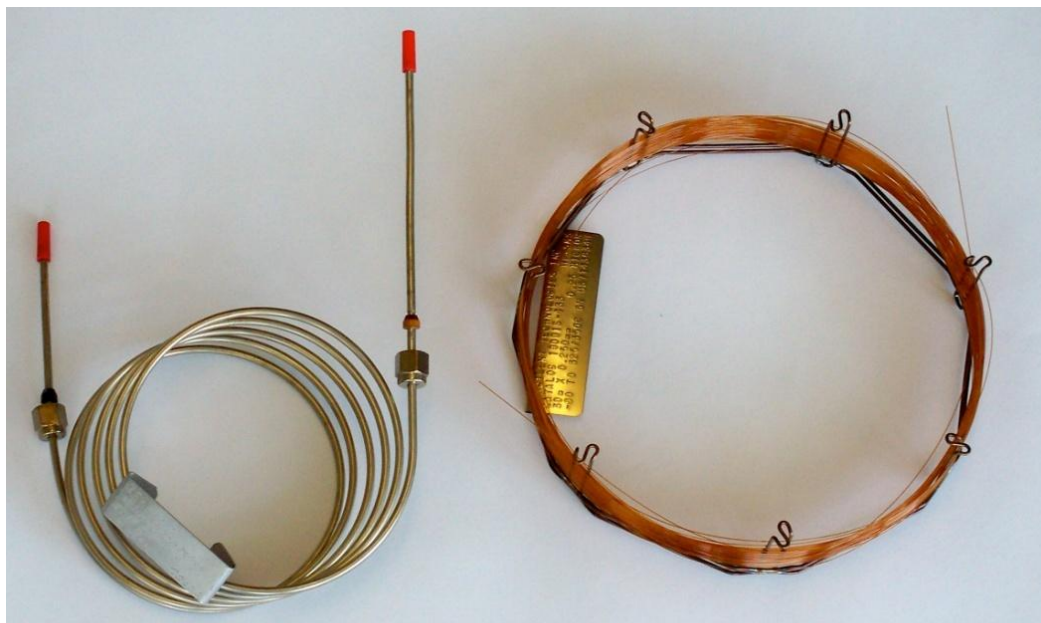


A temperatura do forno pode ser variada linearmente durante separação



Colunas

Tipos de coluna

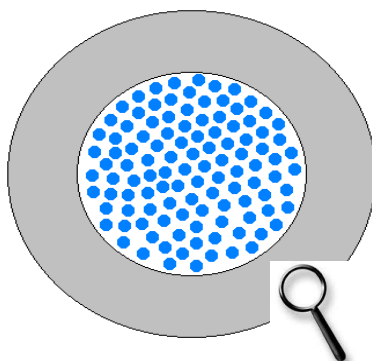


EMPACOTADA

Preenchida com F.E.

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

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



CAPILAR

Recobrimento interno com
filme fino de F.E.

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

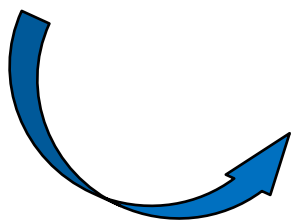
$\varnothing = 0,1 \text{ a } 0,5 \text{ mm}$



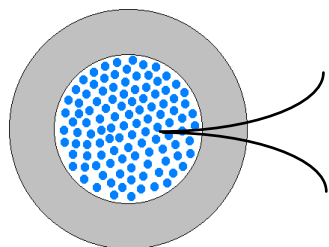
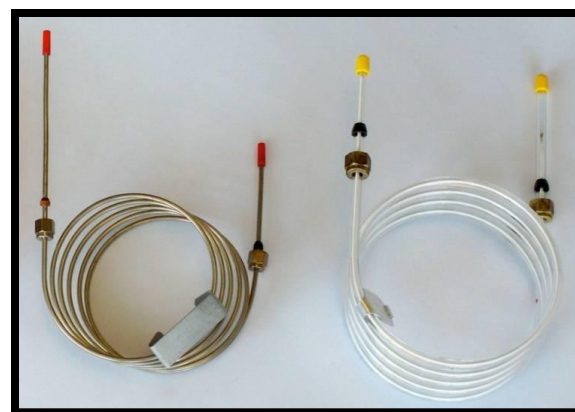
Colunas

Colunas empacotadas (preenchidas)

Tubo inerte recheado com FE

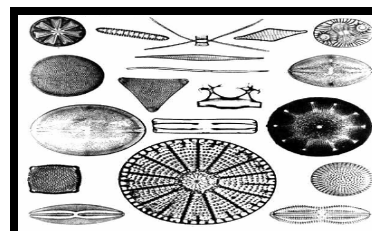


$L = 0,5 \text{ m a } 5 \text{ m}$
 $\varnothing = 3 \text{ a } 6 \text{ mm}$



Sólida granulada

Líquida depositada sobre
suporte sólido



TERRA DIATOMÁCEA

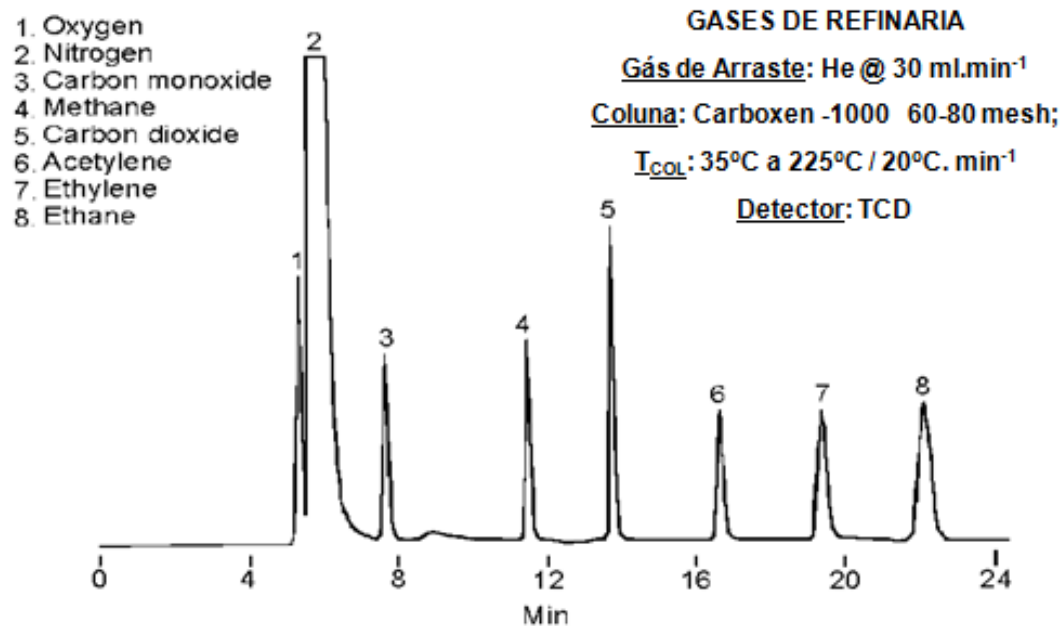
Esqueletos fósseis de
algas microscópicas
(SiO_2 + óxidos metálicos)

Colunas

Colunas empacotadas (preenchidas)

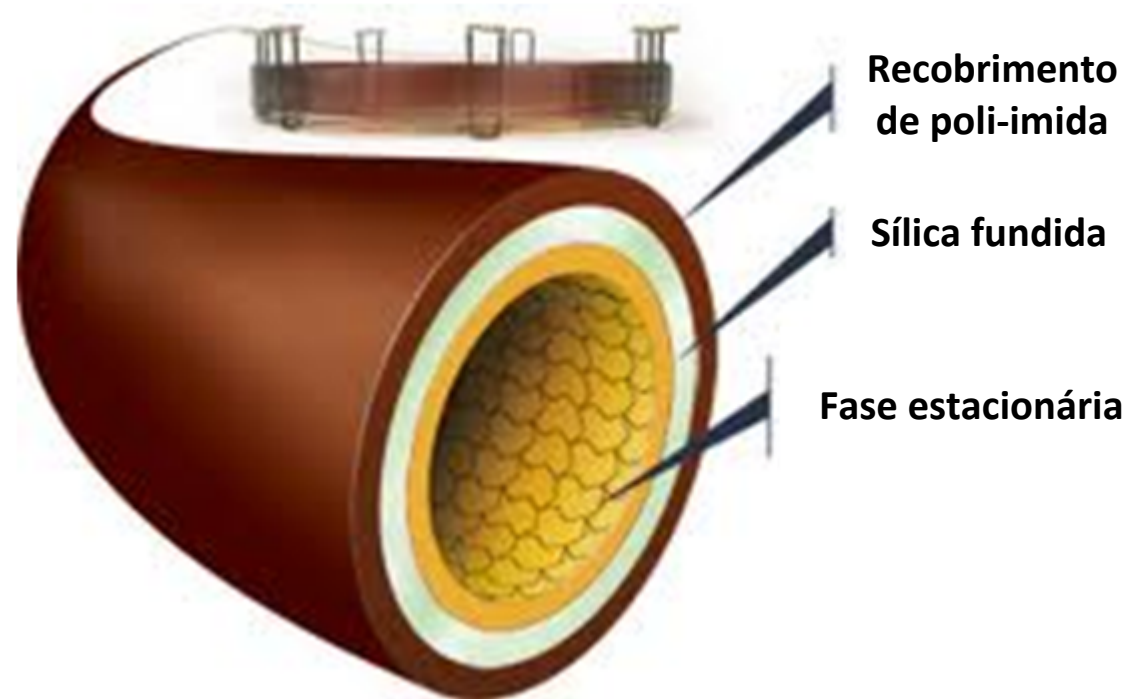
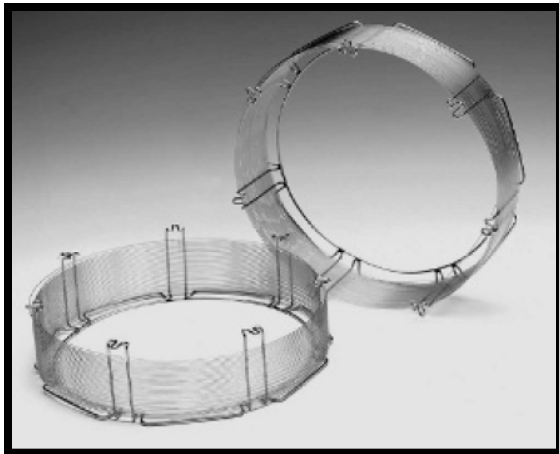
Principais Aplicações

Gases fixos
Compostos leves
Séries homólogas



Colunas

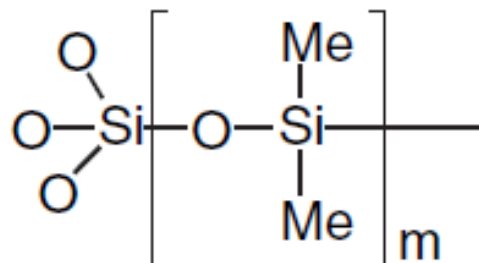
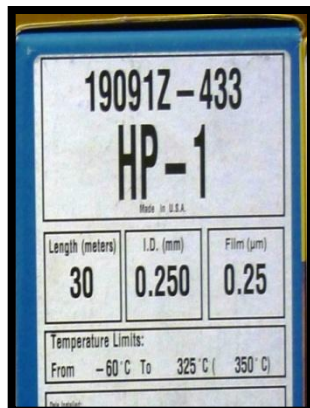
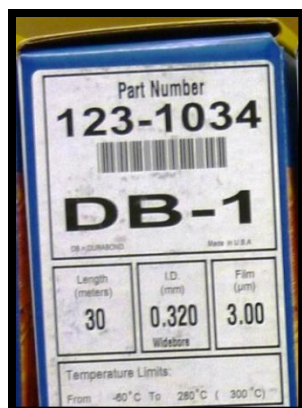
Colunas capilares



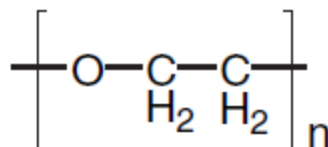
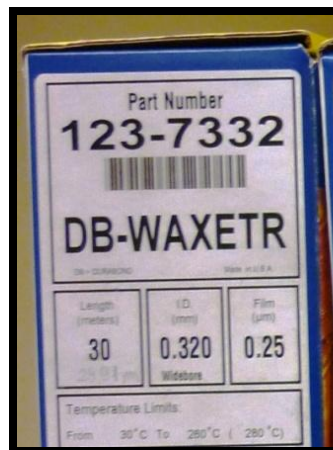
Colunas

Fases estacionárias líquidas suportadas

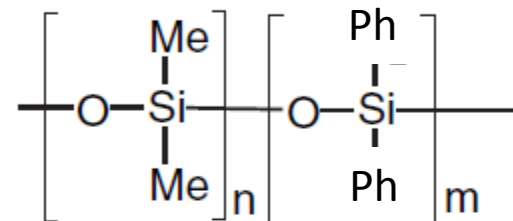
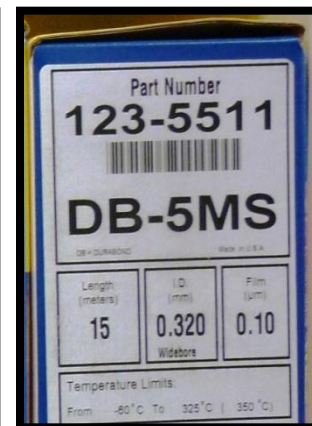
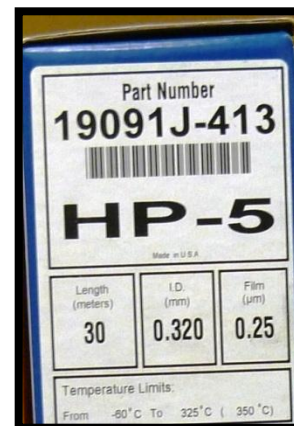
Dimetilpolisiloxano



Polietilenoglicol



5% Fenil + Metilpolisiloxano



$n = 95\%$ e $m = 5\%$

Colunas

Fases estacionárias líquidas suportadas

TABLE 7.3

Characterization of Stationary Phases Used in GC Analysis

Polarity	Phase Composition	Commercial Description
Nonpolar	100% Dimethylpolysiloxane	DB-1, DB-1 ms, HP-1, HP-1 ms, Ultra 1, DB-1ht, Equity-1, SPB-1, AT-1, AT-1MS, Optima 1, Optima-1 ms, BP-1, VF-1MS, CP Sil 5 CB, CP Sil 5 CB MS, ZB-1, 007-1, Elite-1, Rxi-1 ms, Rtx-1, Rtx-1MS
	5% Diphenyl-95% dimethylpolysiloxane	DB-5, HP-5, DB-5 ms, HP-5 ms, Ultra 2, DB-5ht, Equity-5, SPB-5, AT-5, AT-5MS, Optima 5, Optima-5 ms, BP-5, BPX-5, VF-5MS, CP Sil 8 CB, CP Sil 8 CB MS, ZB-5, 007-2, PE-2, Rxi-5 ms, Rtx-5, Rtx-5 ms, Rtx-5Sil MS
	20% Diphenyl-80% dimethylpolysiloxane	Rtx-20, SPB-20, At-20, 007-7
	6% Cyanopropyl-phenyl-94% dimethylpolysiloxane	DB-1301, HP-1301, Rtx-1301, SPB-1301, AT-624, Optima 1301, 007-1301
Moderately polar	35% Diphenyl-65% dimethylpolysiloxane	DB-35, HP-35, DB-35 ms, Rtx-35, Rtx-35MS, SPB-35, AT-35, AT-35MS, BPX-35, VF-35MS, ZB-35, 007-11, PE-11
	50% Diphenyl-50% dimethylpolysiloxane	DB-17, DB-17 ms, HP-50+, DB-17ht, Rtx-17, VF-17MS, SPB-50, AT-50, AT-50MS, Optima 17, BPX-50, CP Sil 24 CB, ZB-50, 007-17, PE-17
	14% Cyanopropyl-phenyl-86% dimethylpolysiloxane	DB-1701, HP-1701, SPB-1701, AT-1701, Optima 1701, BP-10, CP Sil 19 CB, ZB-1701, 007-1701, PE-1701
	50% Cyanopropyl-phenyl-50% dimethylpolysiloxane	DB-23, DB-225, DB-225 ms, Rtx-225, AT-225, Optima 225, BP-225, CP Sil 43 CB, 007-225, PE-225
Polar	Polyethylene glycol	DB-WAX, HP-INNOWax, Rtx-WAX, Stabilwax, Supelcowax-10, AT-Wax, Optima WAX, BP-20, CP Wax 52 CB, ZB-WAX, 007-CW, PE-CW
Highly polar	70% Cyanopropyl-phenyl-30% dimethylpolysiloxane	BPX-70
	100% Cyanopropylsiloxane	SP-2340

Colunas

Fases estacionárias líquidas suportadas

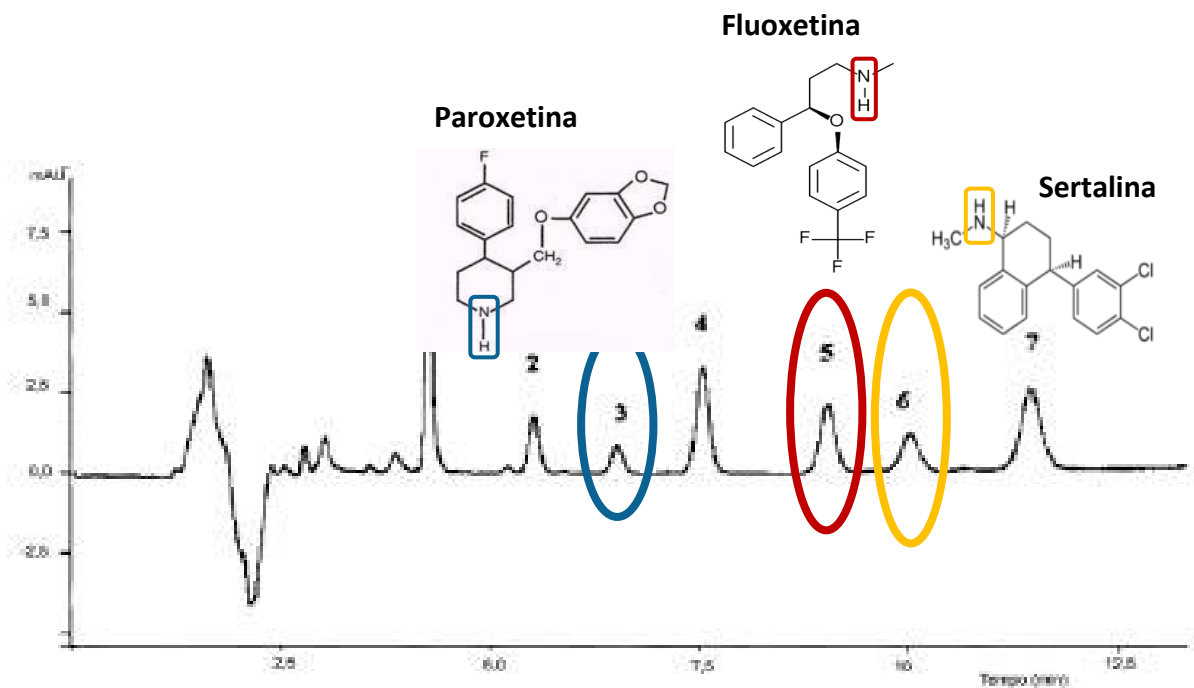
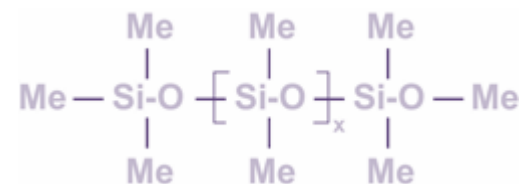
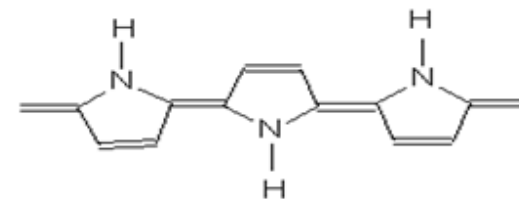


Figura 3. Cromatograma referente à análise SBSE/LC com o recobrimento PDMS/poli(pirrol) em amostra de plasma enriquecido com os antidepressivos na concentração de 300 ng mL⁻¹: 1 - mirtazapina, 2 - citalopram, 3 - paroxetina, 4 - duloxetina, 5 - fluoxetina, 6 - sertralina e 7 - clomipramina (padrão interno)

Coluna pouco polar



PDMS



polipirrol

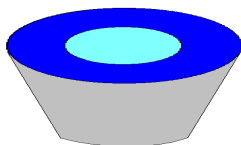
Colunas

Fases estacionárias quirais

Isômeros óticos ➡ Propriedades semelhantes

Separação em *F.E. opticamente ativas* → F.
E. Quirais

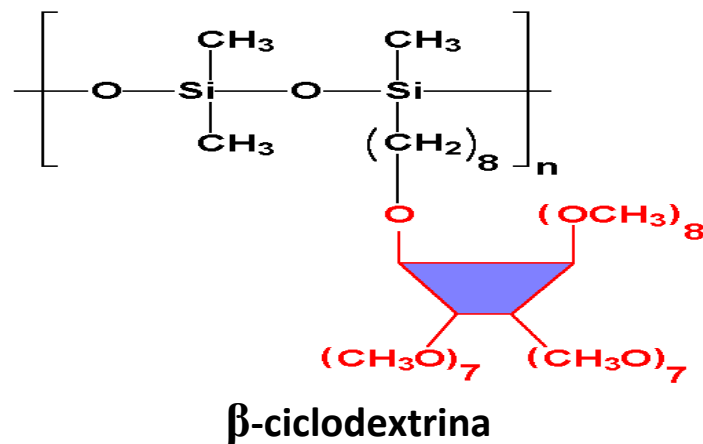
Derivados de ciclodextrinas alquiladas



Ligadas a cadeias de polisiloxano:

Favorável como F.E. líquida (viscosidade baixa, estabilidade)

Podem ser quimicamente imobilizadas nas colunas



Colunas

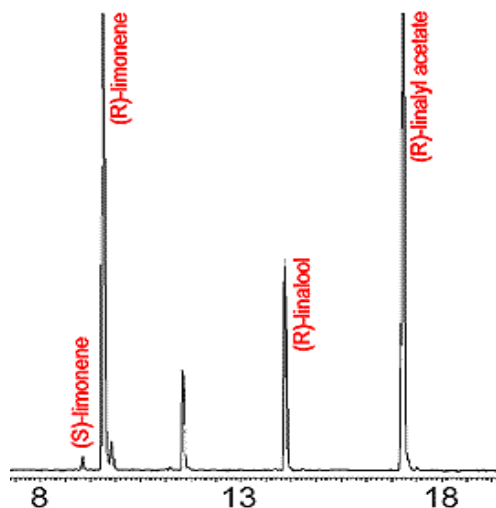
Aplicações Fases estacionárias quirais

Fármacos

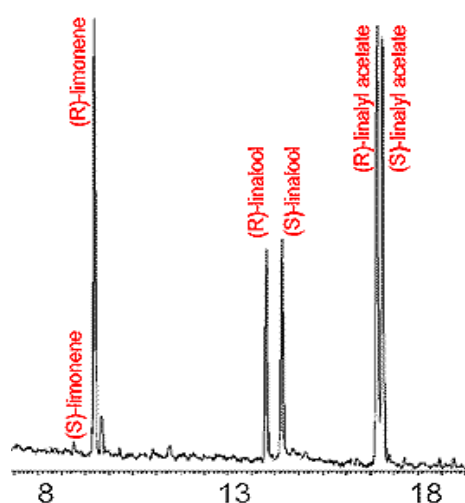
Em geral somente um dos isômeros óticos têm atividade farmacológica

Produtos biológicos

Naturais (oticamente puras) vs. Sintéticos (misturas racêmicas)



Óleo essencial natural



Essência artificial

Aroma de bergamota aroma natural vs artificial

Coluna: Rt- β DEX

Gás de Arraste: He @ 80 cm.min⁻¹

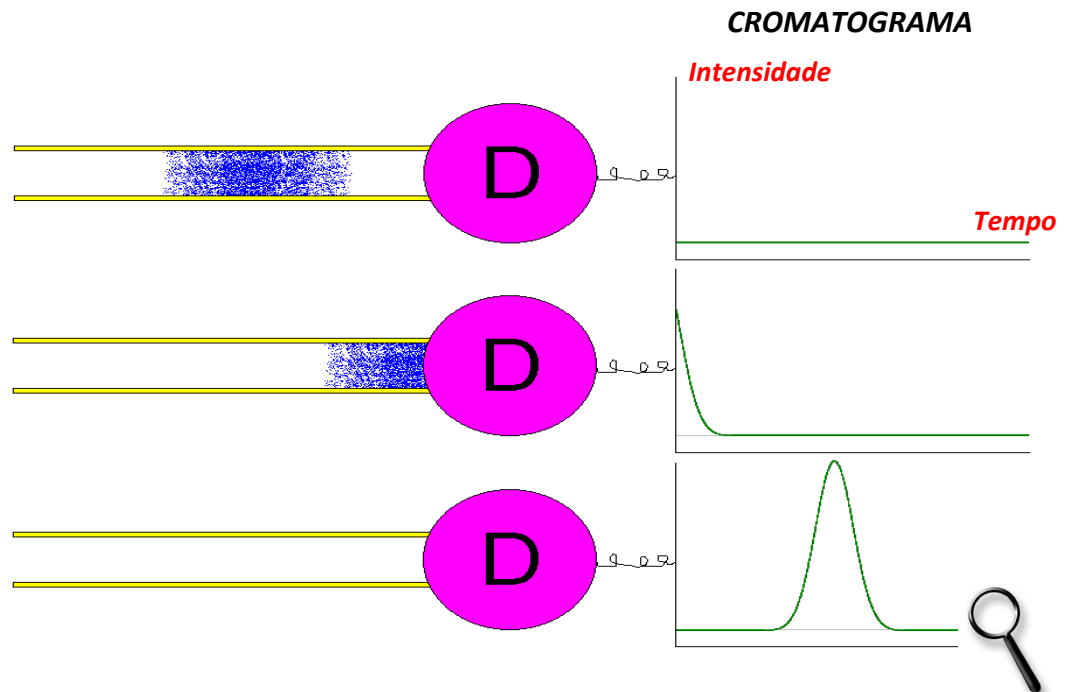
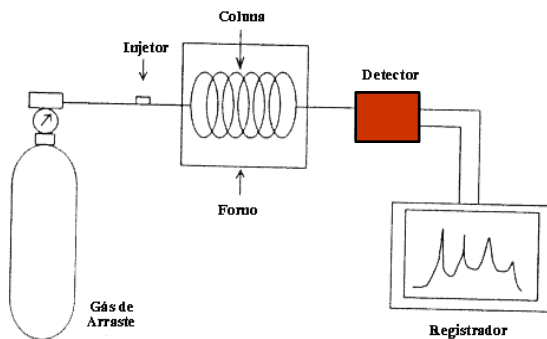
T_{COL}: 1 min a 40°C / 4°C min⁻¹ / 200°C

Detector: MS

Detectores

Conceitos básicos

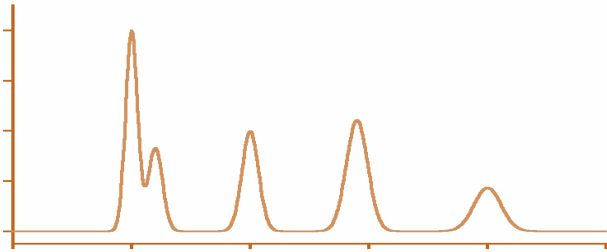
Dispositivos que examinam continuamente a amostra, gerando sinal na passagem de substâncias que não o gás de arraste



Cada analito separado forma um PICO no cromatograma.

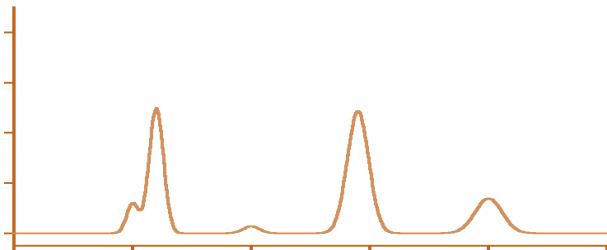
Detectores

Classificação dos detectores



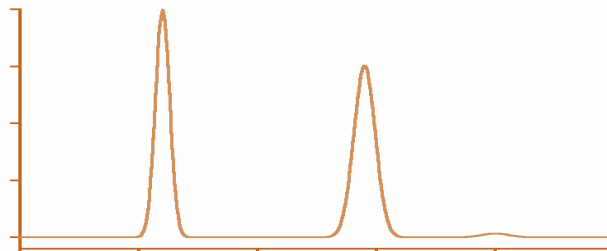
UNIVERSAIS:

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

Tipos de detectores

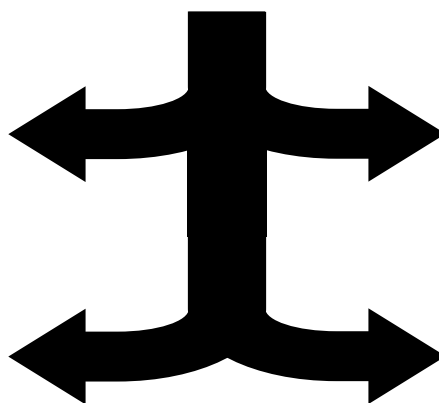
~ 60 detectores já usados em CG

~ 15 equipam cromatógrafos comerciais

4 respondem pela maior parte das aplicações

DCT TCD
Detector por Condutividade
Térmica

DCE ECD
Detector por Captura de
Elétrons



DIC FID
Detector por Ionização
em Chama

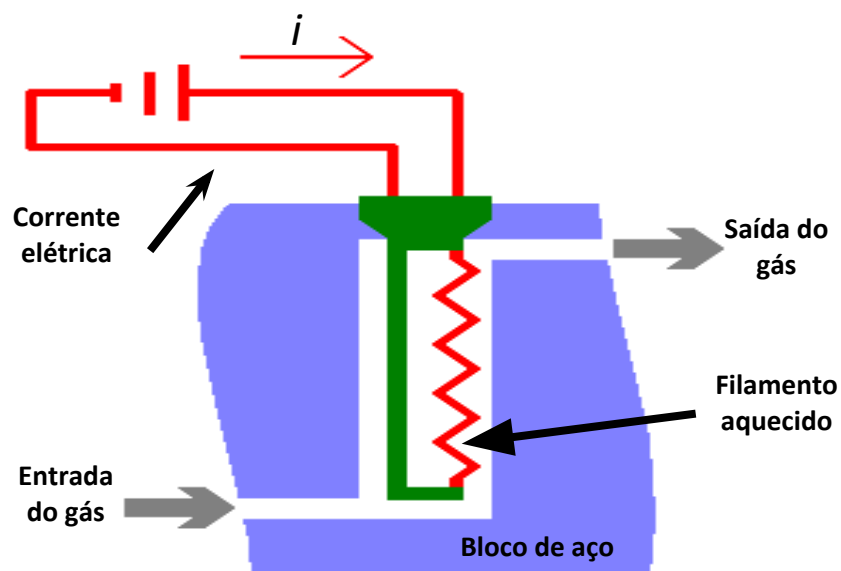
EM MS
Detector
Espectrômetro de
Massas

Detectores

Detector por Condutividade Térmica - DCT

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

Cela de Detecção



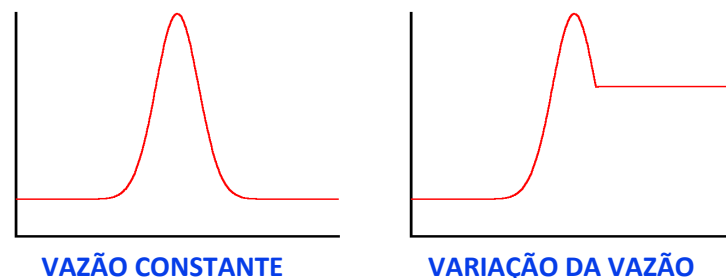
Características

Seletividade: UNIVERSAL

Sensibilidade: pg a ng (10^{-12} - 10^{-9} g)

Vazão do gás de arraste:

Sinal de condução térmica proporcional teor de analito no volume de gás da cela.

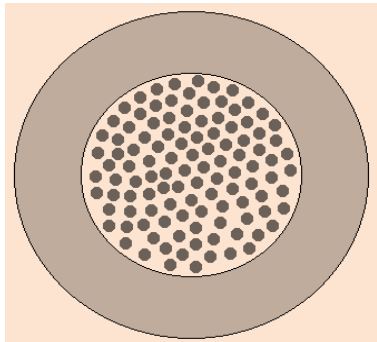


Detector não-destrutivo, pode ser usado em CG preparativa ou detecção sequencial.

Detectores

Aplicações do DCT

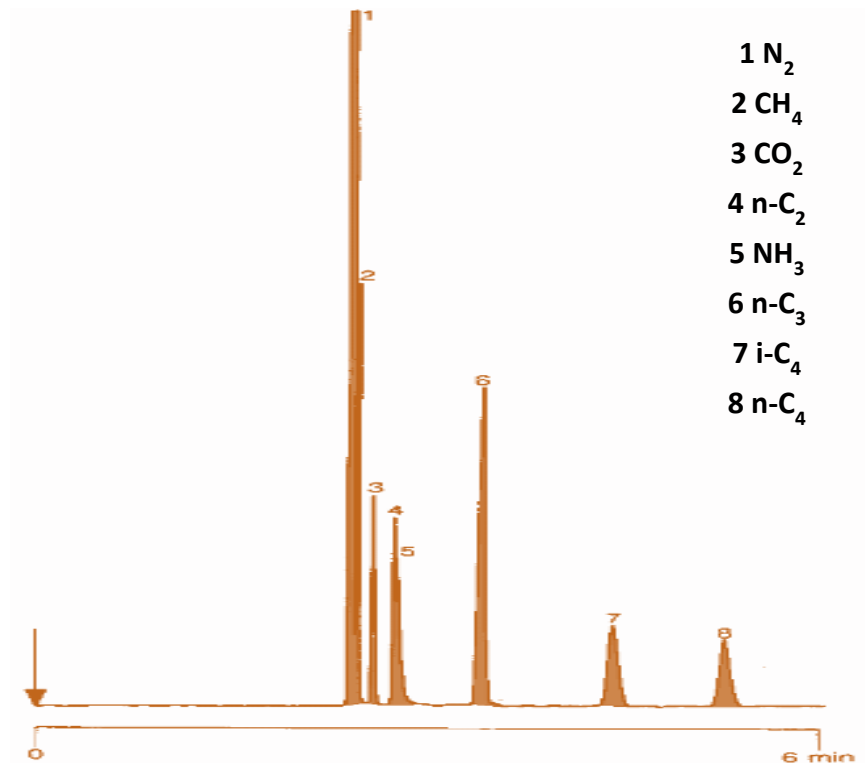
Separação de Gases Fixos e Hidrocarbonetos



Coluna preenchida

$T_{\text{col}}: 40^{\circ}\text{C}$

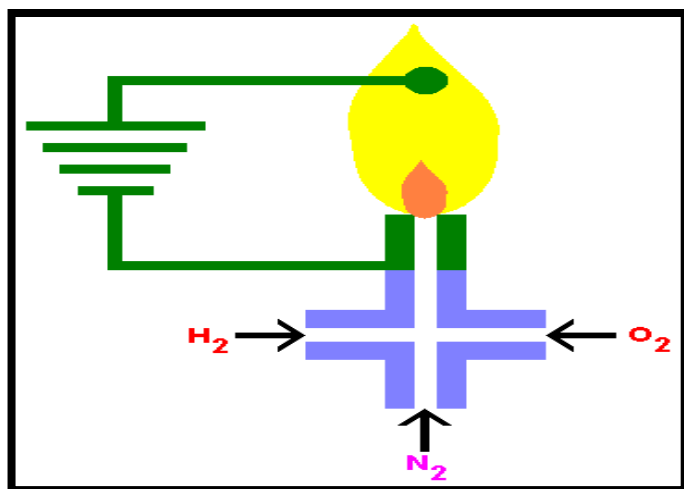
Gás de Arraste: He @ $3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$



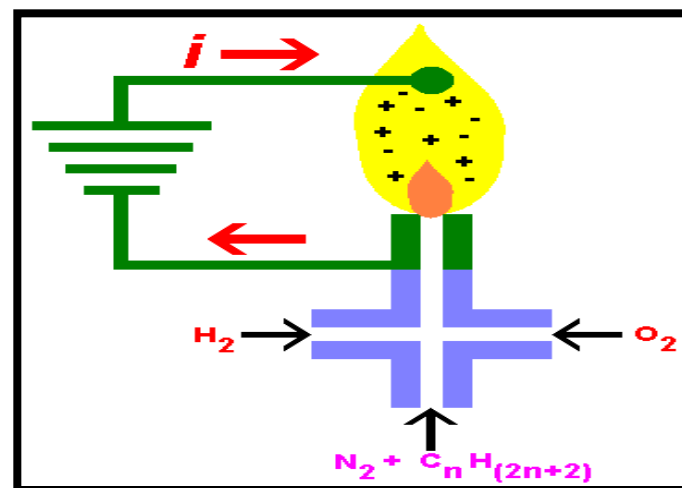
Detectores

Detector por Ionização em Chama - DIC

Formação de íons na queima do analito em chama de hidrogênio e oxigênio



O gás de arraste sai da coluna e queima com H_2 e O_2 sem formar íons e conduzir corrente elétrica.



Quando o **analito orgânico** chega ao detector, é queimado, forma íons e conduz corrente elétrica

Detectores

Características operacionais do DIC

Seletividade:

“Universal orgânico” Seletivo para ligações C-H

Sensibilidade: pg a ng (10^{-12} - 10^{-9} g)

Analitos que NÃO respondem ao DIC:

Gases nobres

H₂, O₂, N₂

CO, CO₂, CS₂

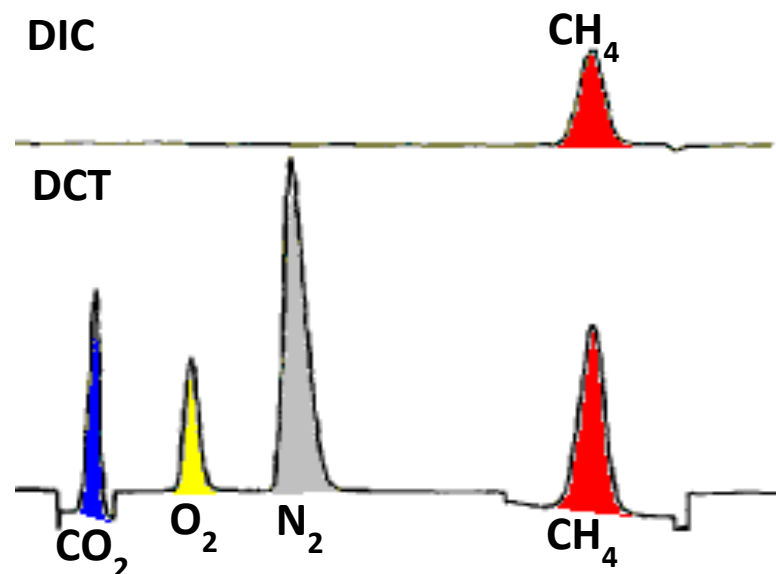
CCl₄,

NH₃, N_xO_y

SiX₄ (X = halogênio)

H₂O

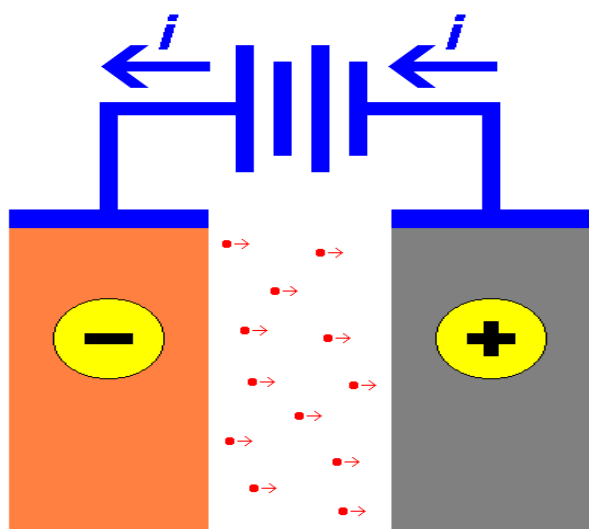
HCOOH, HCHO *



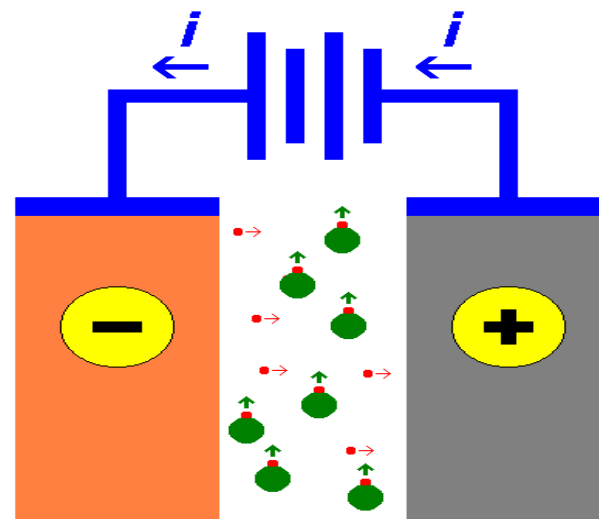
Detectores

Detector por captura de elétrons - DCE

Supressão do fluxo de elétrons por analitos eletrofílicos



Corrente contínua de elétrons do **anôdo**
(fonte β -emissora) para o **cátodo**.



Analitos eletrofílicos absorvem elétrons
suprimindo a corrente elétrica.

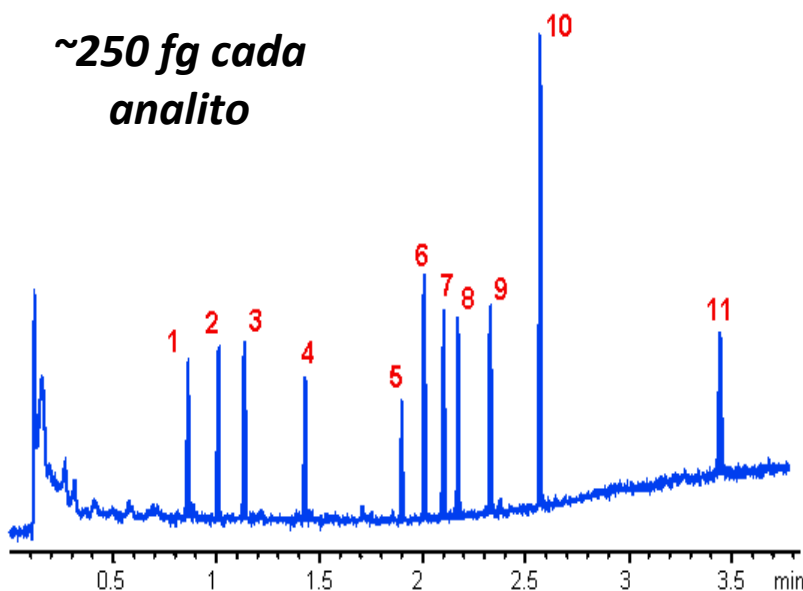
Detectores

Características operacionais do DCE

Seletividade: Compostos eletrofílicos

Sensibilidade_(organoclorados): fg a pg (10^{-15} - 10^{-12})

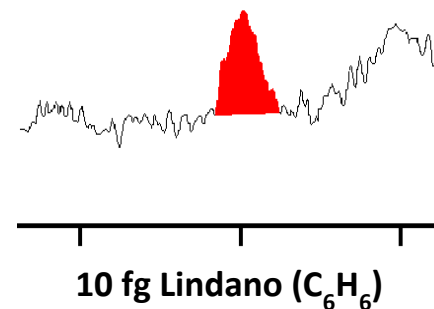
*~250 fg cada
analito*



PESTICIDAS

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

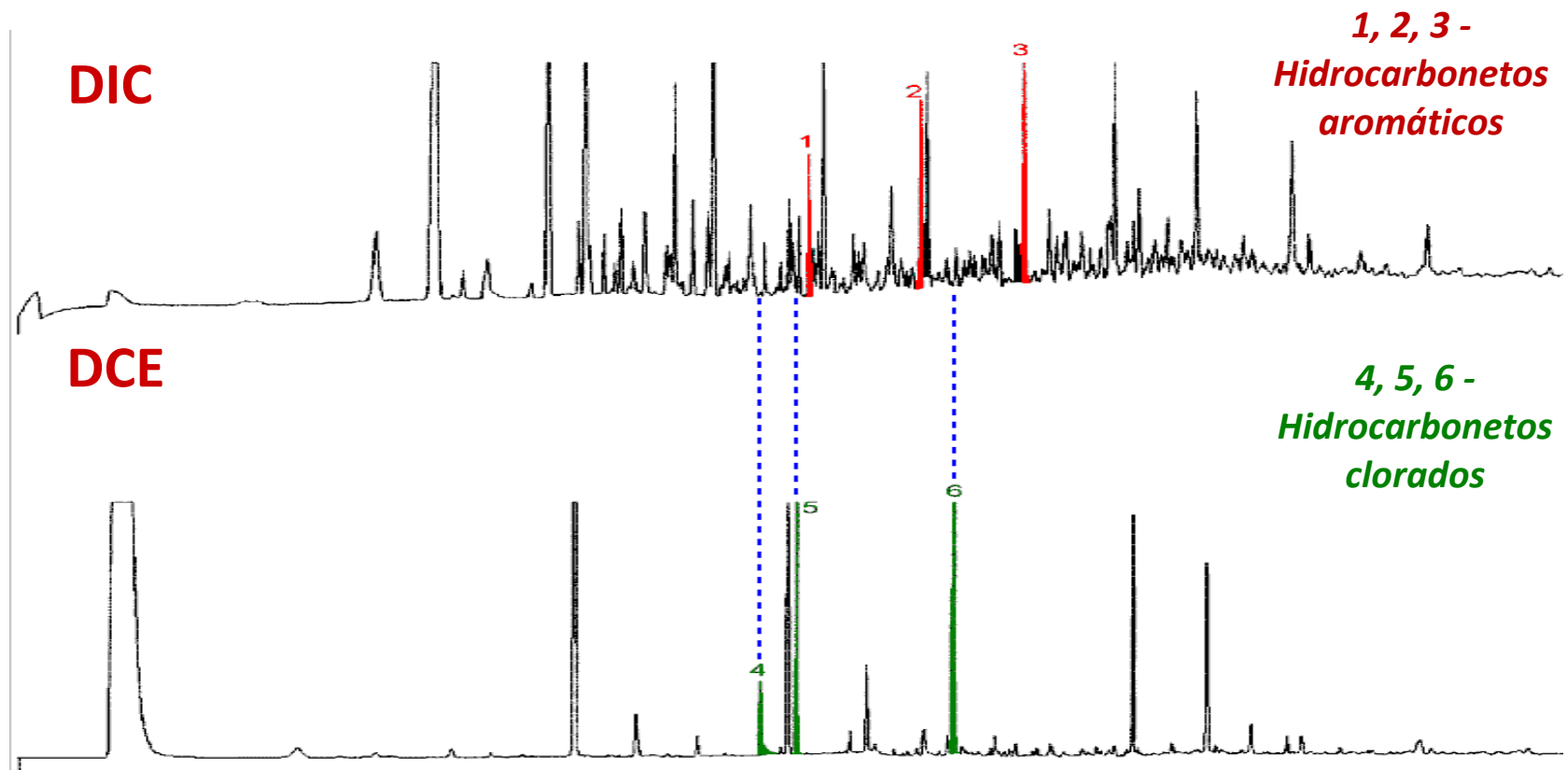
**Detector preferencial em
análises de traços de
organoalogenados.**



Detectores

Aplicações do DCE

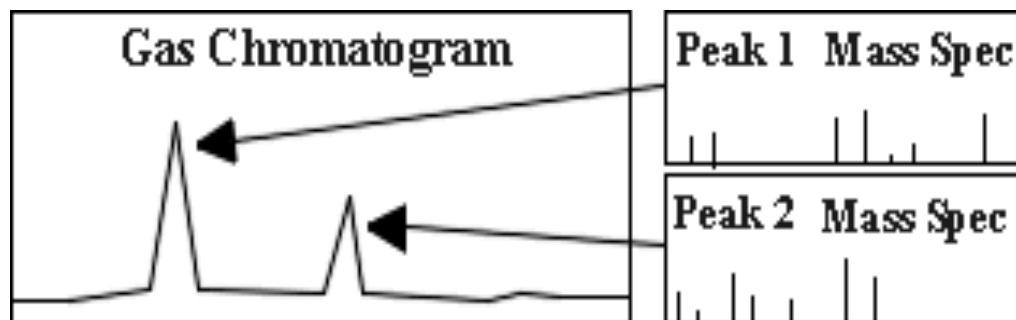
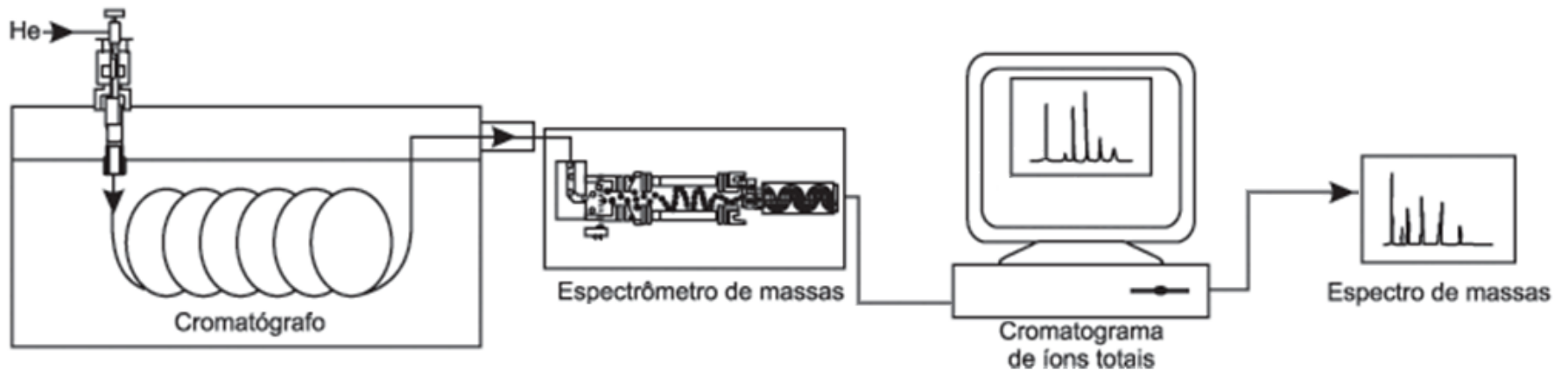
Contaminantes em ar atmosférico



Detectores

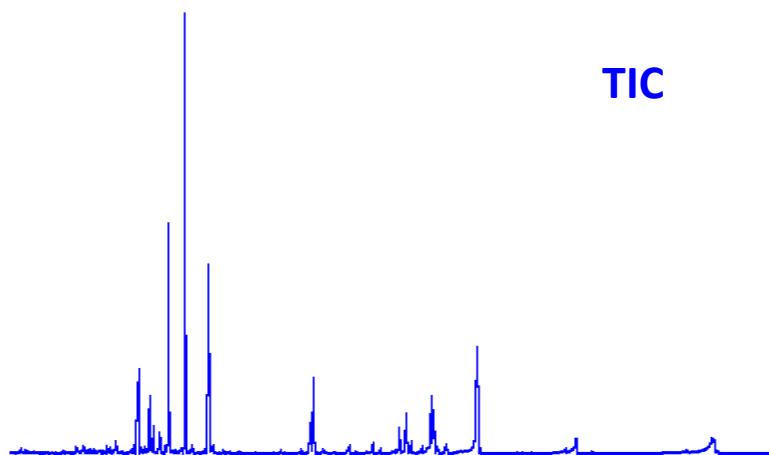
Detector de Espectrômetro de Massas - MS

Detecção Sequencial ou “Tandem”



Detectores

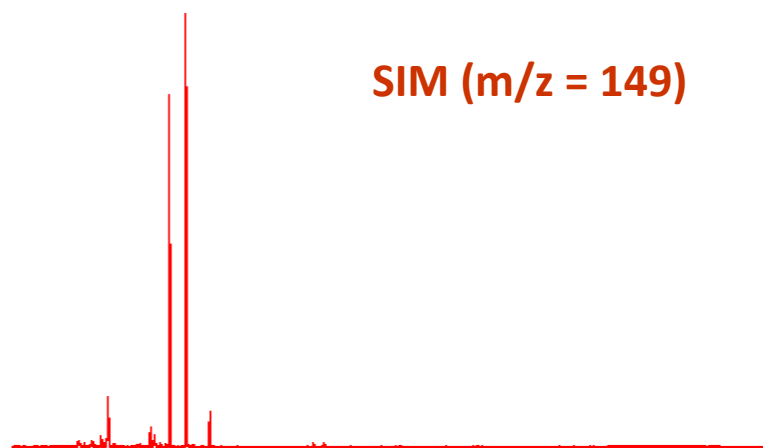
Cromatogramas → modo TIC vs SIM



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

Picos correspondentes a todas substâncias eluídas.

Seletividade: Universal



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

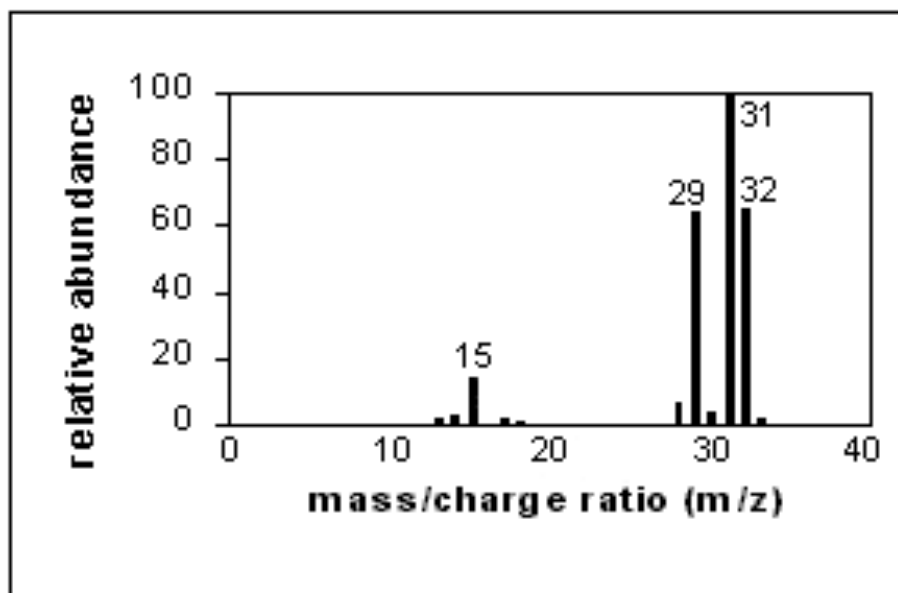
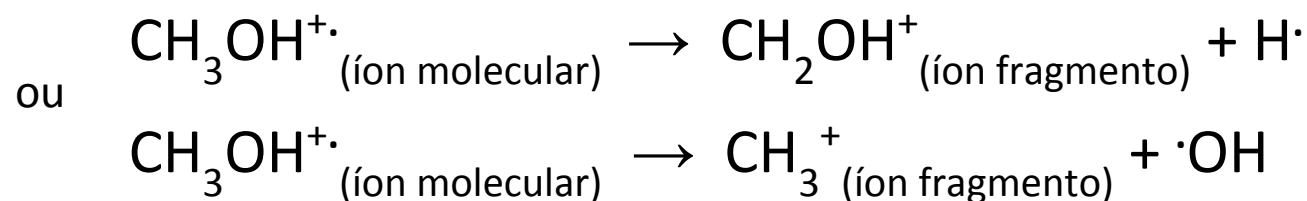
Cromatograma de fragmentos de massa específica.

Seletividade: Massa escolhida

Maior Sensibilidade

Detectores

Detector de Espectrômetro de Massas - MS



ions	m/z	
$\text{CH}_3\text{OH}^{+\cdot}$	32	Íon molecular
$\text{H}_2\text{C}=\text{OH}^+$	31	Pico base
$\text{HC}\equiv\text{O}^+$	29	Picos filhos
H_3C^+	15	

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.