

Cromatografia Gasosa – CG

- Técnica cromatográfica empregada na separação de gases ou substâncias voláteis.
- A separação baseia-se na diferente distribuição das substâncias da amostra entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) em uma fase móvel (gasosa).
- A amostra é introduzida na coluna, que contém a FE, por meio de um sistema de injeção.
- Os componentes da mistura são vaporizados e, de acordo com suas propriedades, bem como as da FE, são retidos e eluidos através da coluna em tempos diferentes.

Cromatografia Gasosa – CG

➤ Com o uso de detectores adequados, é possível a realizar análises quantitativas com elevada sensibilidade, podendo atingir LD menores 10^{-12} g.



➤ Necessidade de pequenas quantidades de amostras.

➤ A CG possui um excelente poder de resolução, e possibilita a análise de dezenas de substâncias de uma mesma amostra

➤ Os componentes da mistura são vaporizados e, de acordo com suas propriedades, bem como as da FE, são retidos e eluidos através da coluna em tempos diferentes.

Cromatografia Gasosa – CG

➤ É uma técnica empregada na análise de substâncias voláteis e **TERMICAMENTE ESTÁVEIS**.



➤ Caso contrário, necessita-se de uma etapa de **DERIVATIZAÇÃO**.



➤ Formação de um derivado termicamente estável.

➤ A etapa de preparação de amostras antes da análise pode ser longa e complexa, além de possuir elevado custo. Esta etapa tem como objetivo a eliminação de interferentes.

Cromatografia Gasosa – CG

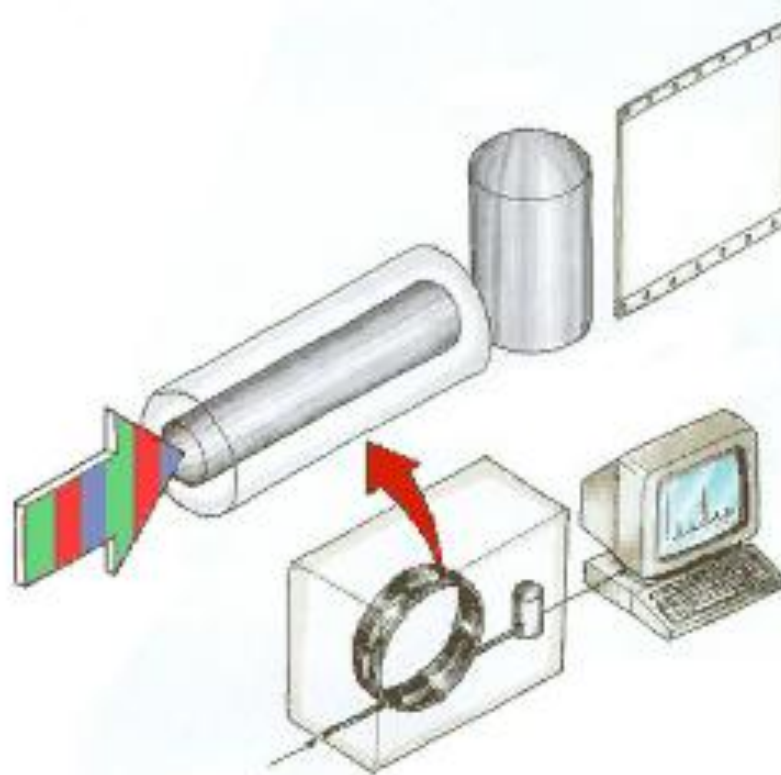
➤ Para análise qualitativa, requer técnicas auxiliares para identificação segura das substâncias presentes na amostra.

➤ Apresenta dificuldade de utilização como técnica preparativa.



➤ Necessário utilizar colunas recheadas com maior diâmetro interno, para permitir separações na faixa de microgramas a miligramas.

Cromatografia Gasosa



➤ **FM:**

➤ **Gás**

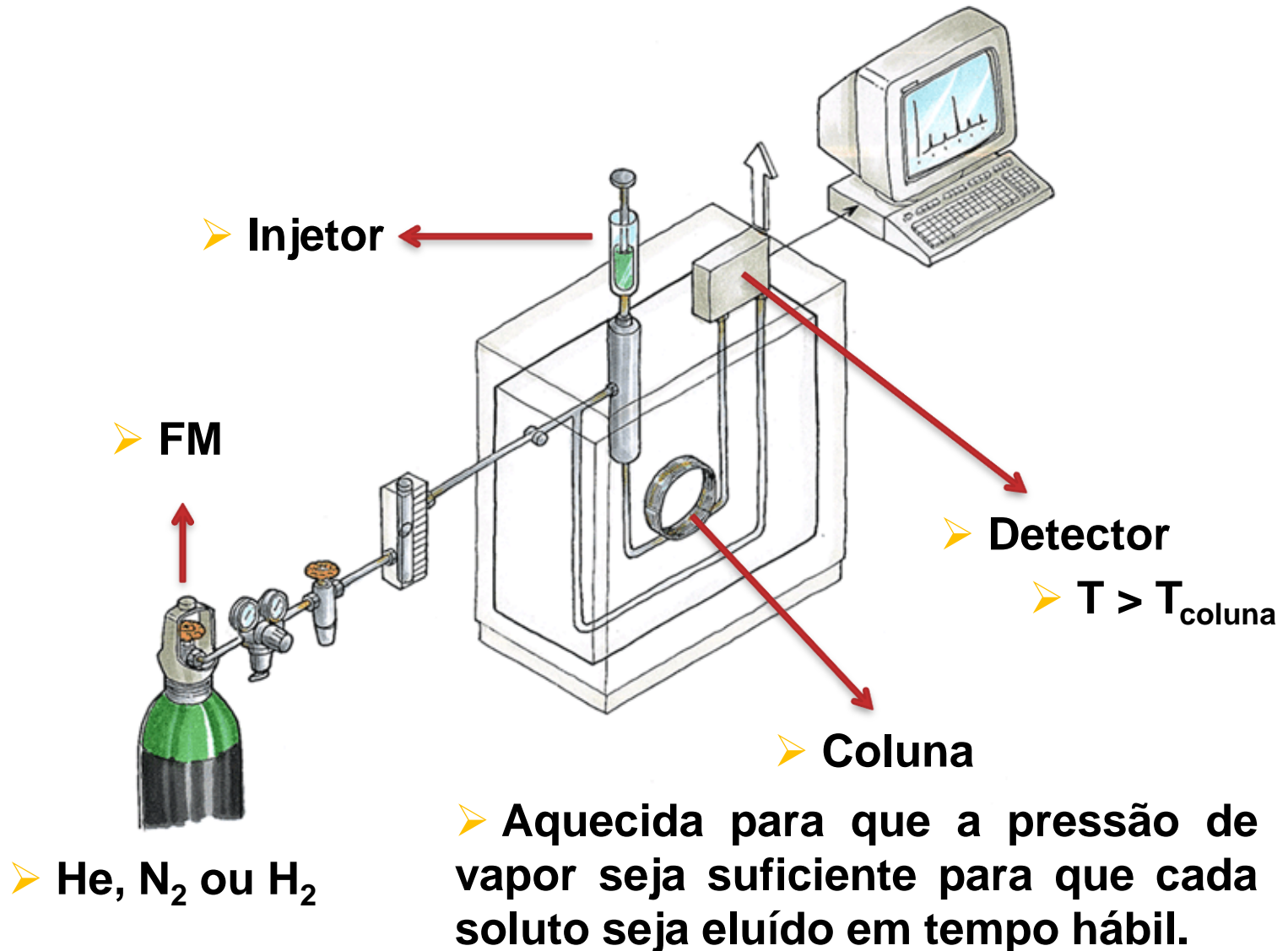
➤ **FE:**

➤ **Líquido volátil ou sólido**

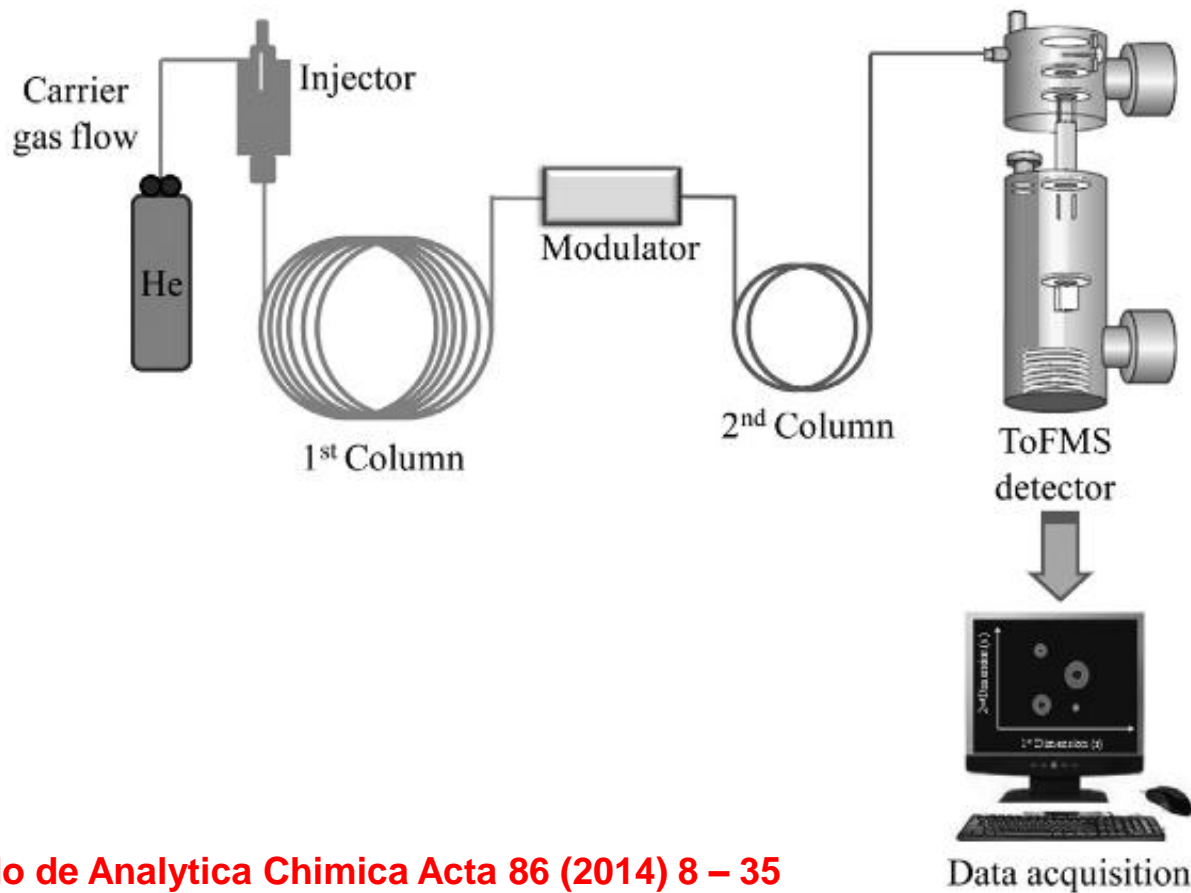
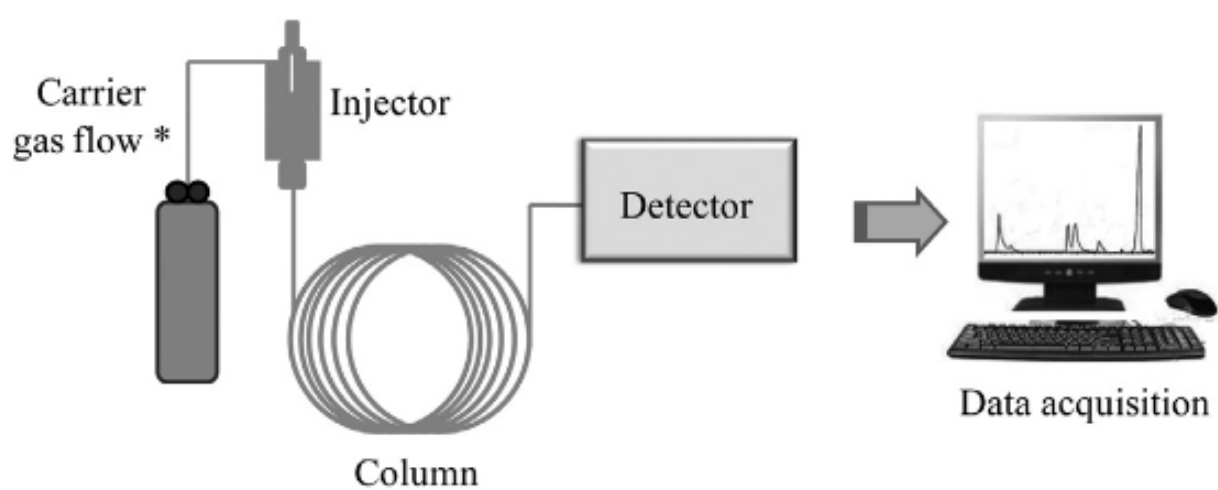
➤ **Analito:**

➤ **Gás ou líquidos voláteis**

Cromatografia Gasosa



Cromat. Gasosa



Fonte do Gás de Arraste

- A FM é um gás que promove um rápido equilíbrio entre ele e a FE.
- O gás empregado na FM fica confinado num cilindro, e serve para levar (arrastar) as substâncias presentes na amostra para fora da coluna, quando estas não estiverem interagindo com a FE.
- Os gases mais utilizados como FM são: He, N, H e Ar.
- Os gases de arraste NÃO devem interagir com o recheio da coluna. Além disso, devem ser baratos, disponíveis e compatíveis com o detector.

Fonte do Gás de Arraste

➤ Deve apresentar elevada pureza (> 99,999%).



➤ Aconselhável o uso de filtros contendo sílica gel ou peneira molecular, localizado entre o cilindro e o instrumento, para eliminar traços de água e hidrocarbonetos.

➤ Para eliminação do Oxigênio, que é mais difícil, existem filtros especiais.

➤ As impurezas não afetam significativamente a separação cromatográfica, mas sim a estabilidade e resposta dos detectores.



➤ Torna-se maior com menores LD.

Injeção

➤ Injeção instantânea

➤ $T = 0$



➤ $T = x$



➤ Injeção lenta


➤ $T = 0$



➤ $T = x$



Injeção

- Deve ser realizada de tal maneira que se obtenha uma banda única e estreita.
- A quantidade de amostra injetada é determinada pela quantidade de FE na coluna.
- A eficiência de uma coluna é influenciada pelo volume de amostra injetado.
 -  ➤ Uma diminuição no volume injetado proporciona um aumento na eficiência da coluna.
- Uma falha no sistema de injeção pode causar assimetria dos picos.

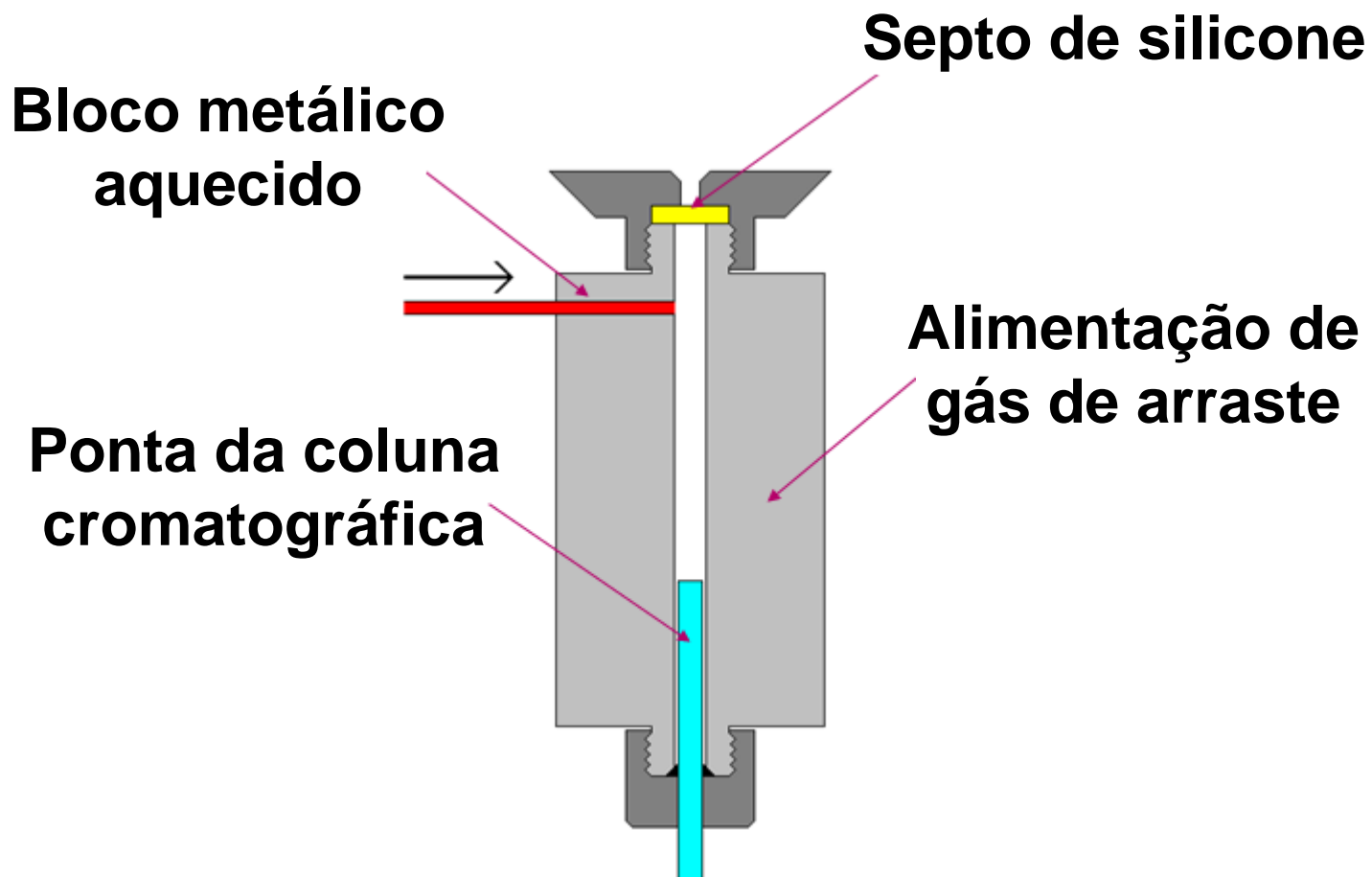
Injeção

- O sistema de injeção deve ser aquecido em uma temperatura suficiente para que ocorra a vaporização total da amostra, sem que ocorra sua decomposição.

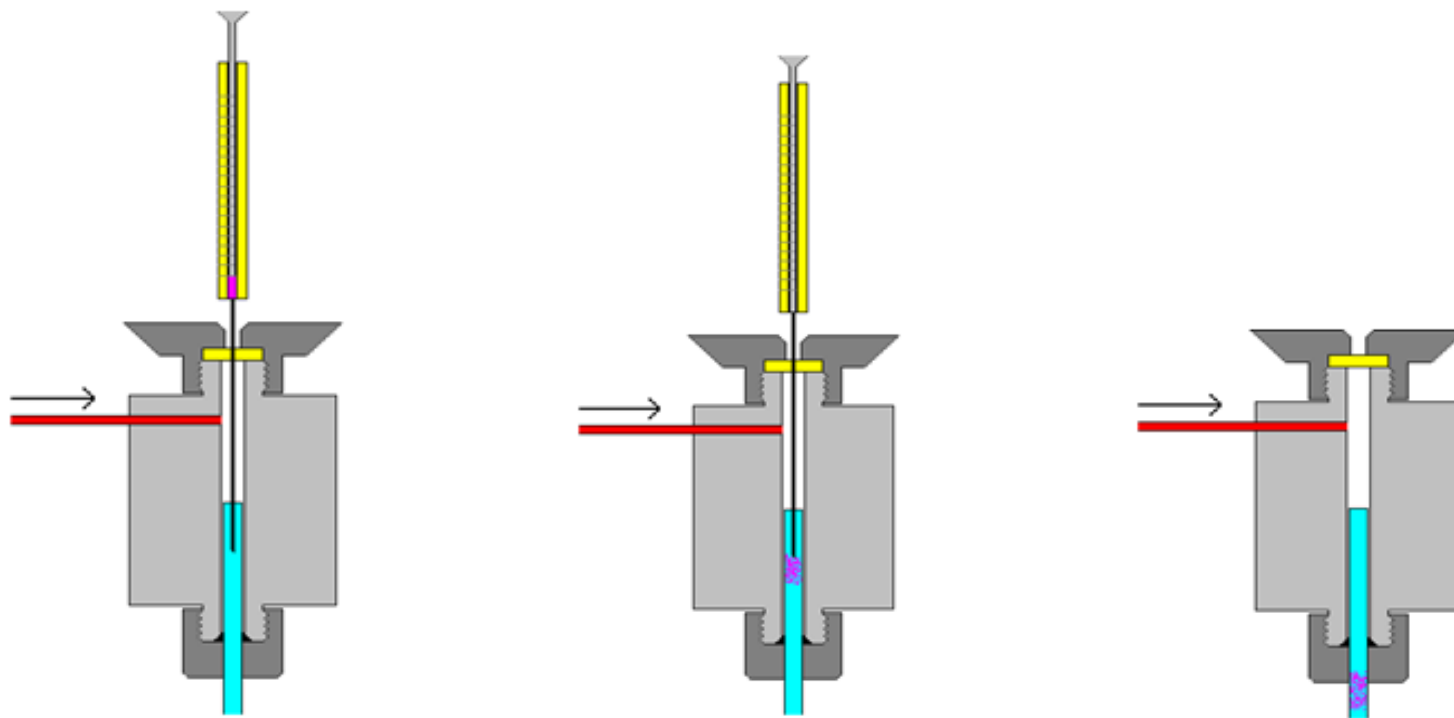


➤ $T_{\text{injeção}} = 20 \text{ a } 50 \text{ } ^\circ\text{C}$ acima da T_{coluna} .

Injetor “on column”

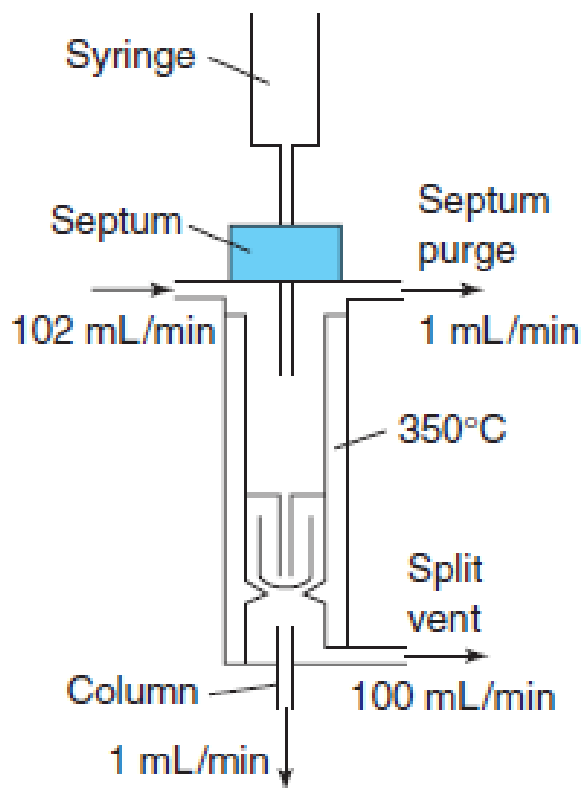


Injetor "on column"



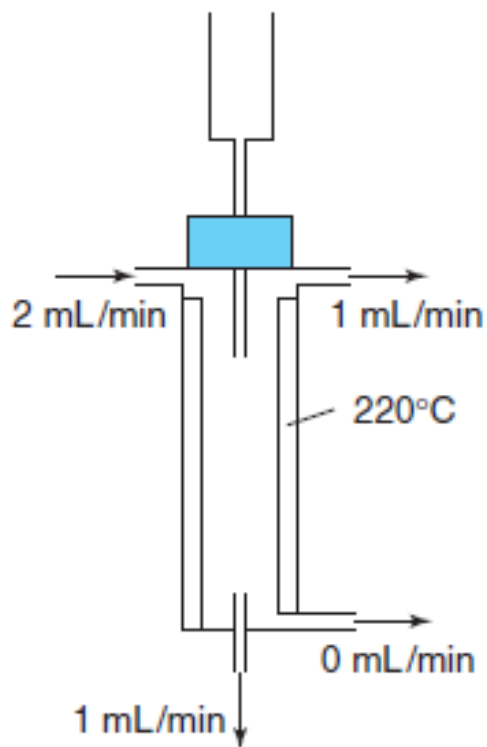
Injetor "SPLIT"

- Também chamado de INJEÇÃO COM DIVISÃO DE FLUXO.
- Injeta-se apenas 0,1 a 10% da amostra na coluna.
- Largamente empregada em métodos de rotina.



Injetor “SPLITLESS”

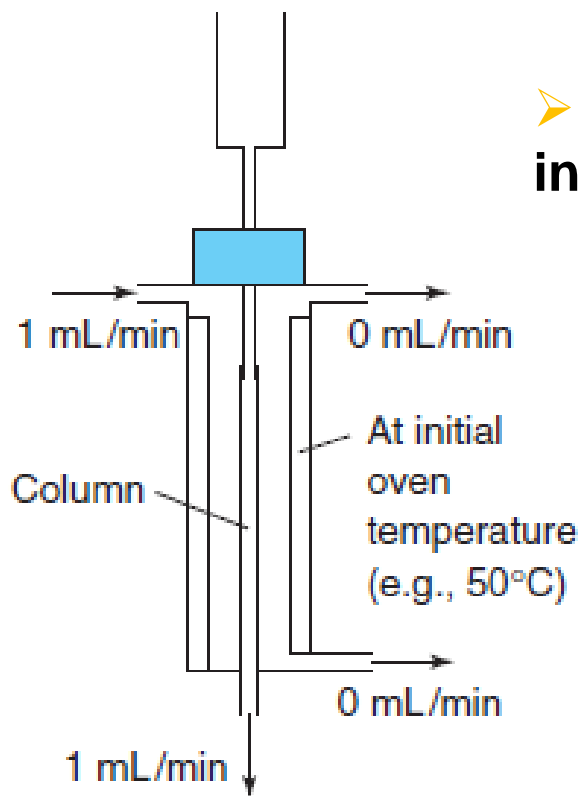
- Também chamado de INJEÇÃO SEM DIVISÃO DE FLUXO.
- Ideal para análises quantitativas e análises de traços.



- Dilui-se a amostra em um solvente com baixo PE e injeta a uma temperatura 40 °C abaixo deste ponto.
- Após condensação do solvente, a temperatura da coluna é aumentada e inicia-se a separação.
- Essa técnica é denominada **APRISIONAMENTO PELO SOLVENTE**.

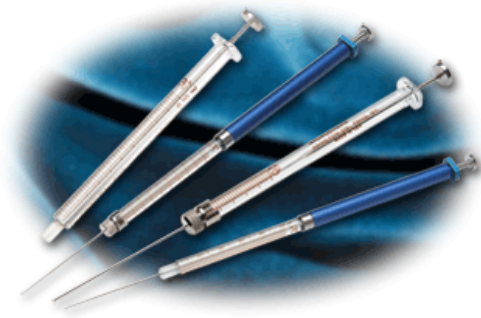
Injetor “ON-COLUMN”

- Também chamado de INJEÇÃO DIRETA NA COLUNA.
- Ideal para análises de espécies termicamente instáveis (acima dos PE).

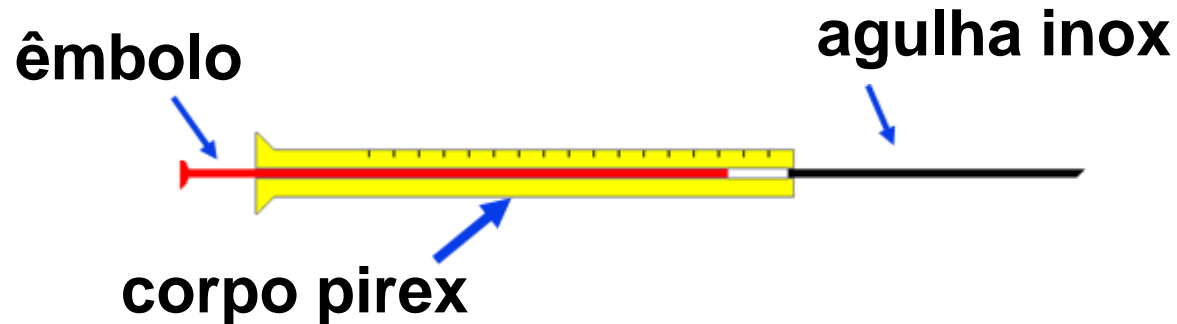


- A solução não passa através do injetor aquecido.

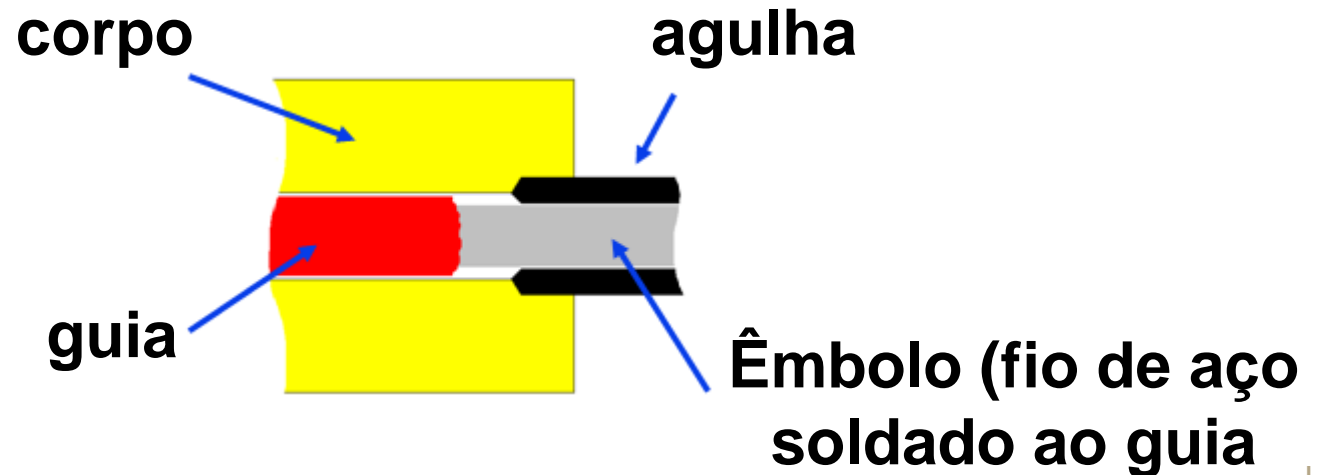
Microsseringas para Injeção



➤ Microsseringa de 10 μL



➤ Microsseringa de 1 μL



Colunas

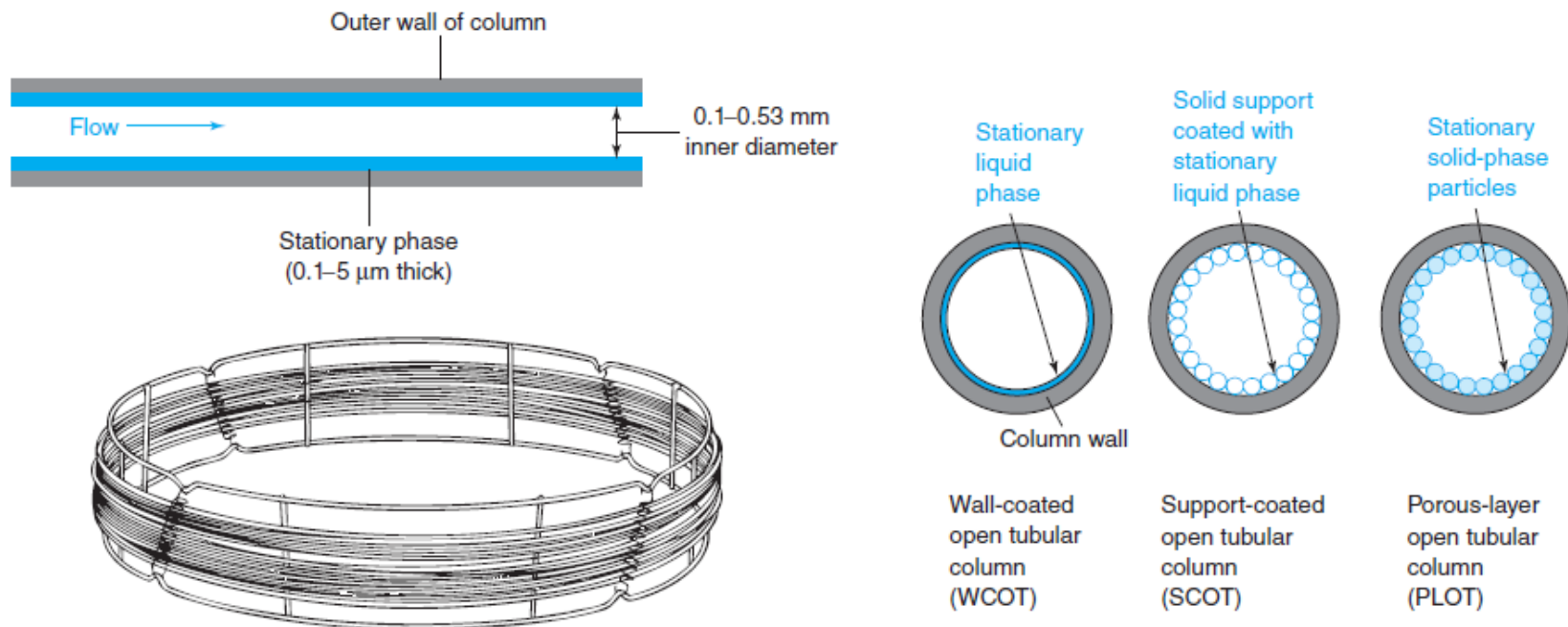
- É um tubo longo, contendo a fase estacionária.
- Este tubo pode ser de aço inoxidável, alumínio, vidro, sílica fundida, PTFE (politetrafluoretileno) e outros.
- O material empregado na construção das colunas não deve interagir com o recheio, tampouco com os componentes da amostra.
- As colunas são classificadas em **RECHADAS (ANALÍTICAS e REPARATIVAS)** e **CAPILARES**.

PARÂMETRO	COLUNA	
	RECHEADA ANALÍTICA	CAPILAR
Diâmetro interno (nm)	1 – 4	0,15 – 0,75
Comprimento (m)	1 – 3	10 – 100
Pratos por metro	2.400	3.000
Espessura do filme líquido (μm)	5	0,5 – 2
Granulometria das partículas (malha)	80 – 100	-----
Vazão média (mL/min)	20 – 60	1 – 5
Volume da amostra (μL)	0,2 – 20	0,001 – 0,5

TIPO DE COLUNA	VOLUMES DA AMOSTRA	
	GASES	LÍQUIDOS
Preparativa	0,05 – 1 L	0,02 – 1 mL
Analítica	0,5 – 50 mL	0,2 – 20 μL
Capilar	0,1 – 10 μL	0,001 – 0,5 μL

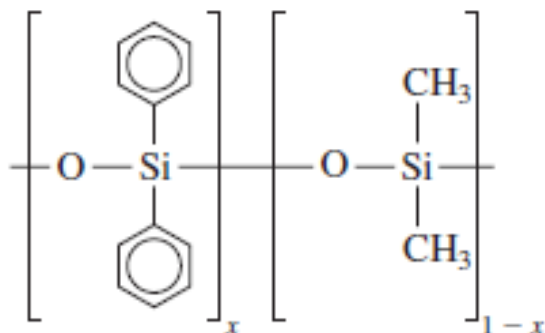
Colunas

- As colunas capilares contêm uma FE líquida ou sólida recobrando suas paredes internas.
- Geralmente são feitas de aço inoxidável, vidro ou sílica fundida, SiO_2 , com recobrimento de um material protetor (poliimida).

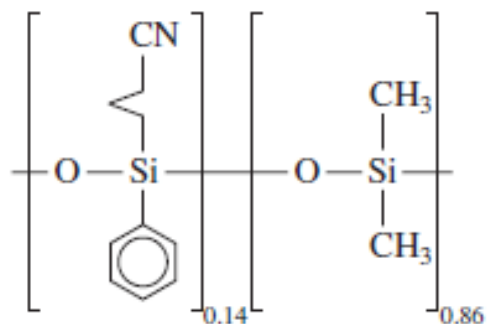


Colunas – FE comuns

Estrutura



(Difenil)_x(dimetil)_{1-x}
polissiloxano



(Cianopropifenil)_{0,14}
(dimetil)_{0,86}
polissiloxano

Polaridade

- X = 0 ➤ Apolar
- X = 0,05 ➤ Apolar
- X = 0,35 ➤ Intermediário
- X = 0,65 ➤ Intermediário

- Polaridade Intermediária ➤ -20 a 280 °C

Temperatura

- -60 a 360 °C
- -60 a 360 °C
- 0 a 300 °C
- 50 a 370 °C

Colunas – FE comuns

Estrutura



➤ Carbowax

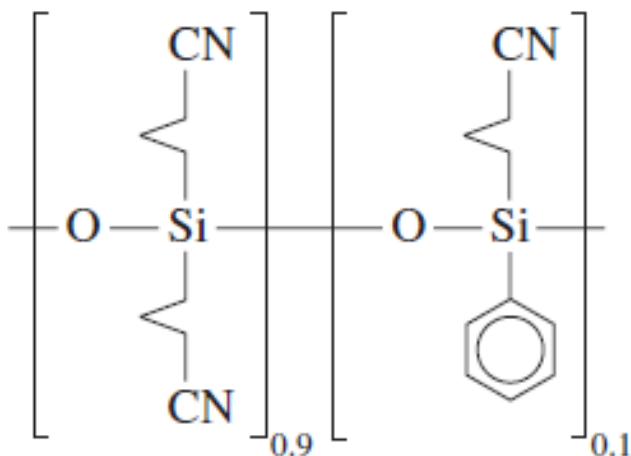
(poli)(etilenoglicol)

Polaridade

➤ Fortemente polar

Temperatura

➤ 40 a 250 °C



(Biscianopropil)_{0,9}
 (cianopropilfenil)_{0,1}
 polissiloxano

➤ Fortemente polar

➤ 0 a 275 °C

Colunas – FE comuns

➤ SEMELHANTE DISSOLVE SEMELHANTE

- Colunas apolares são melhores para separar espécies apolares.
- Colunas polares são melhores para separar espécies polares.
- Generalizando...
 - Quanto maior a pressão de vapor (maior volatilidade), menor é a polaridade de uma espécie.
- A formação de ligações de hidrogênio entre soluto e FE é a interação mais forte que causa a retenção.

Colunas – FE comuns

➤ ATUALMENTE ...

➤ A maior parte das análises empregam colunas apolares.

➤ Dimetilsiloxano.

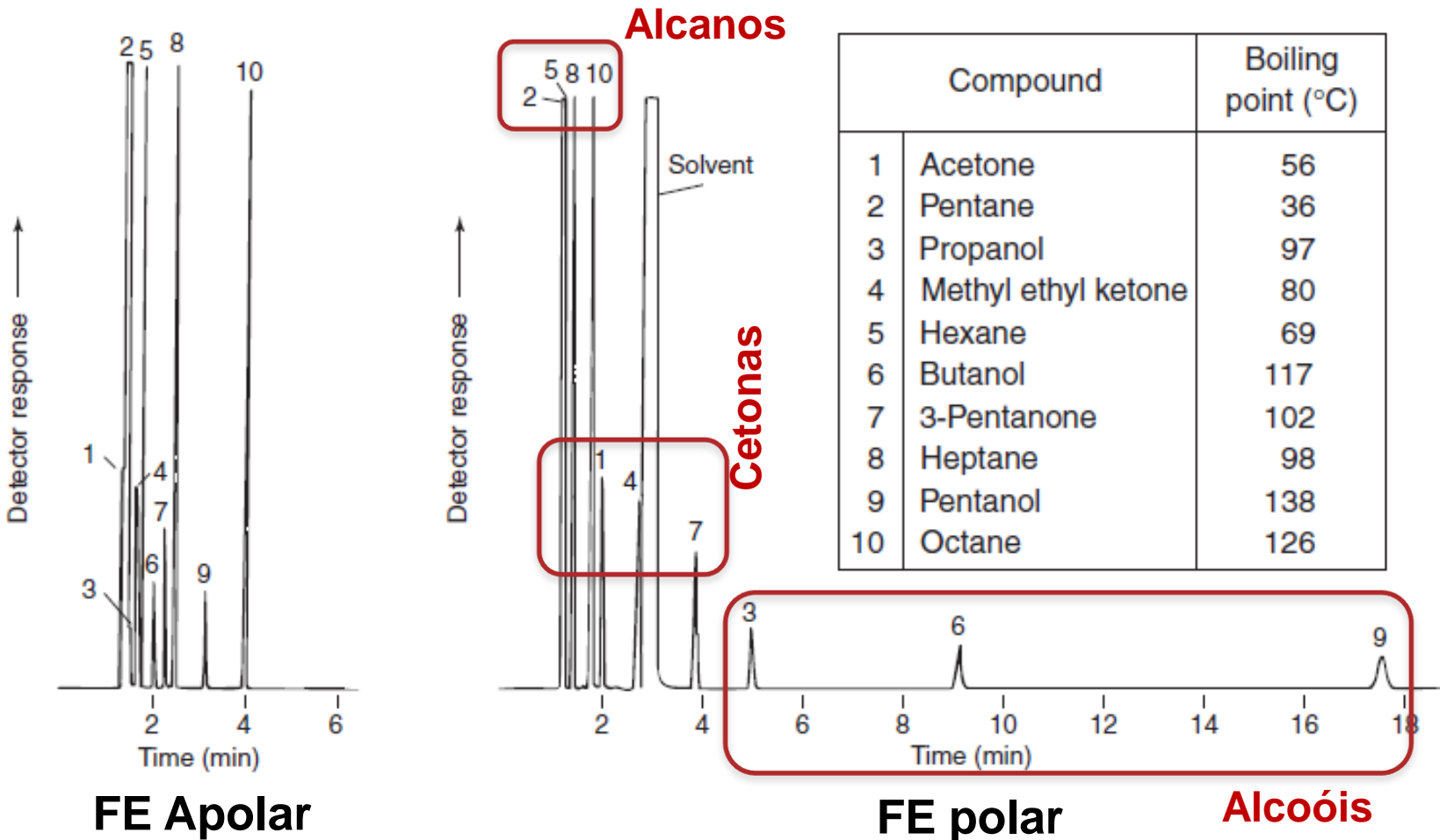
➤ Dimetilsiloxano com 5% de fenilsiloxano.

➤ Podem ser usadas em elevadas temperaturas e são bastante estáveis.

➤ A separação acontece em função da diferença nas volatilidades dos compostos analisados.

Colunas – FE comuns

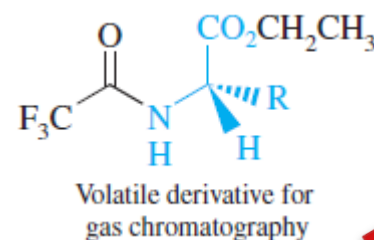
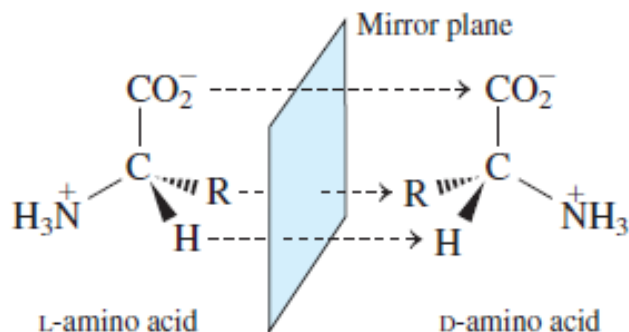
- Considere a separação dos compostos abaixo considerando uma FE apolar e uma FE polar.



Colunas – FE comuns

➤ Fase Estacionária Quiral

➤ Isômeros ópticos são compostos cuja estrutura são imagens especulares uma da outra. Sendo assim, não podem ser sobrepostas.

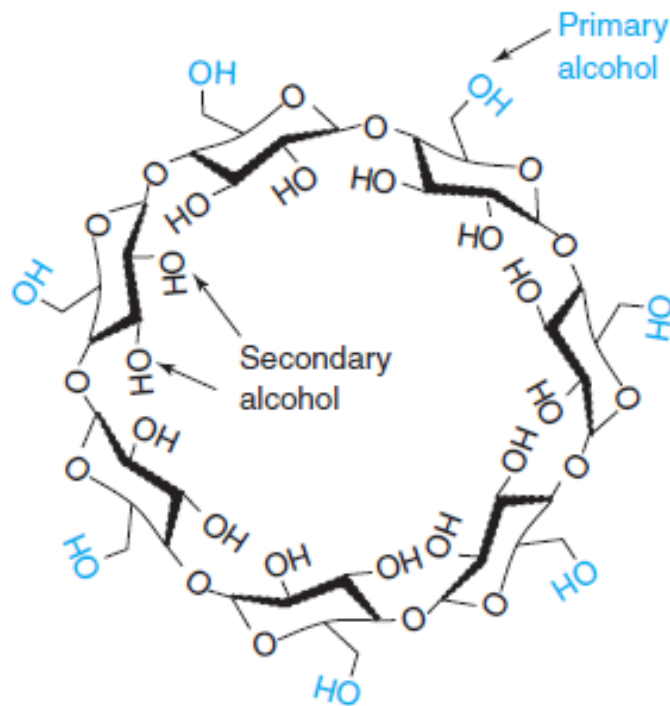


- Possuem pressão de vapor insuficiente para CG.
- Estes compostos podem ser separados por cromatografia contendo uma FE contendo apenas um isômero óptico quimicamente ligado.

Colunas – FE comuns

➤ Fase Estacionária Quiral

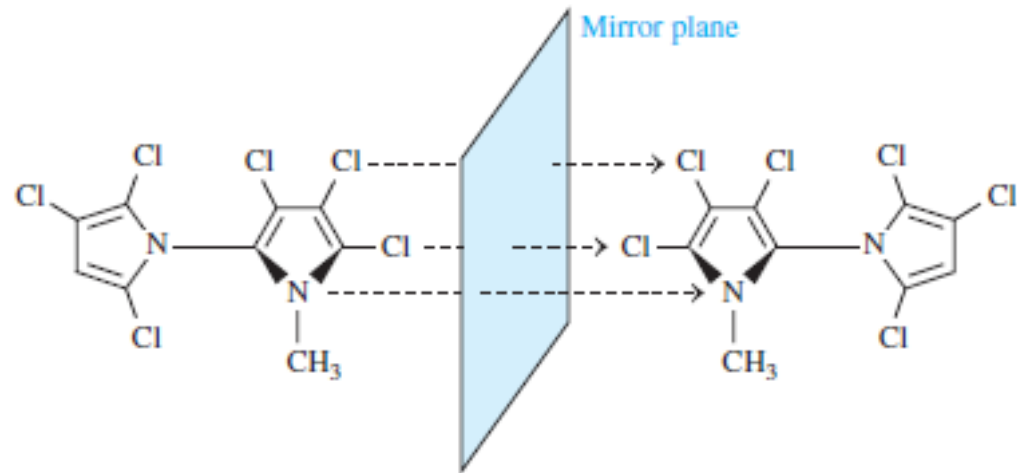
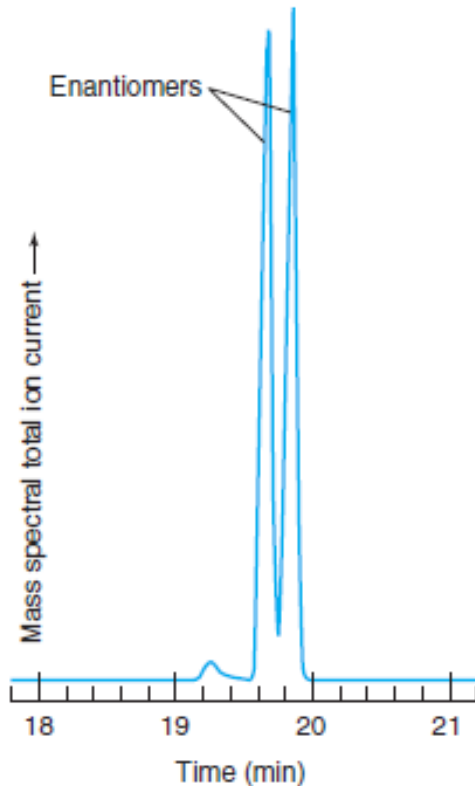
- As ciclodextrinas (açúcares cíclicos) estão ligadas à FE convencionais de polissiloxanos por meio de ligações covalentes.



β – ciclodextrina

Colunas – FE comuns

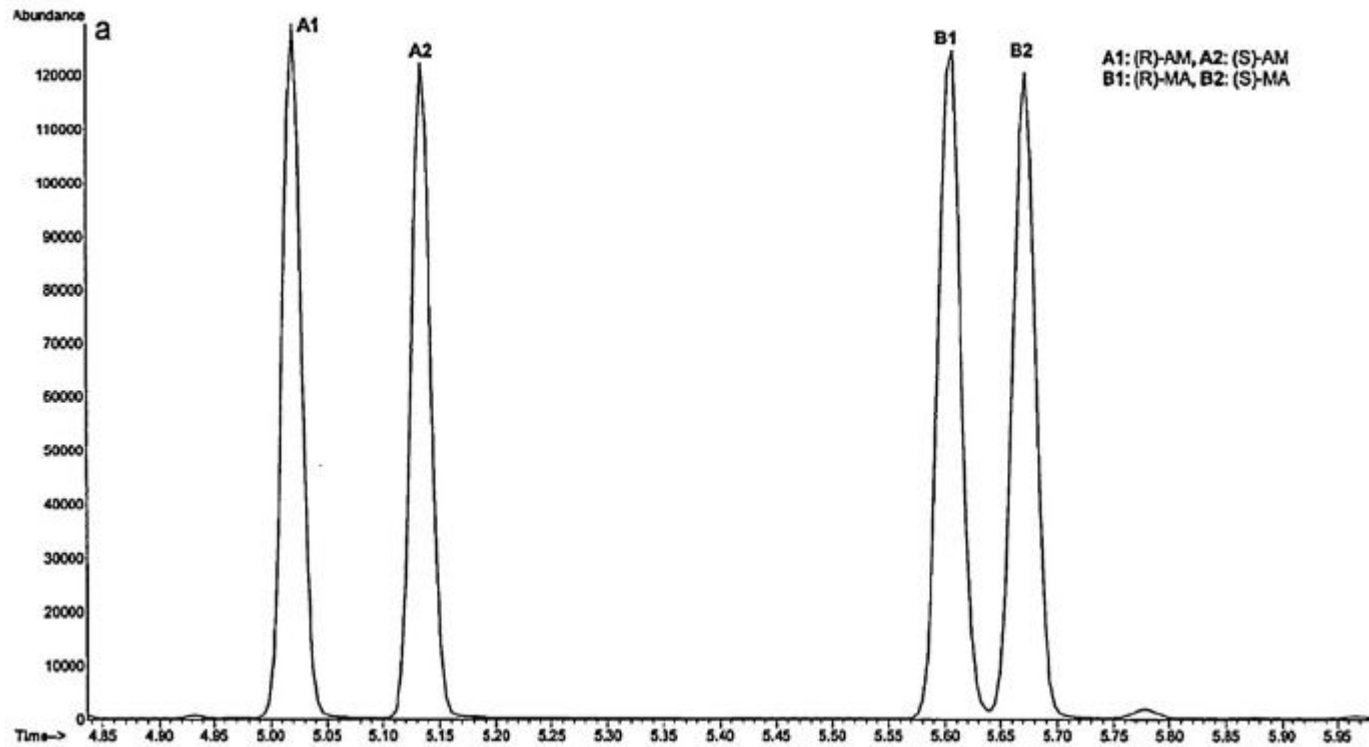
➤ Fase Estacionária Quiral



Chlorinated pesticide impurity. The two rings are perpendicular to each other. The mirror images are not superimposable, because there is no free rotation about the C—N bond between the rings.

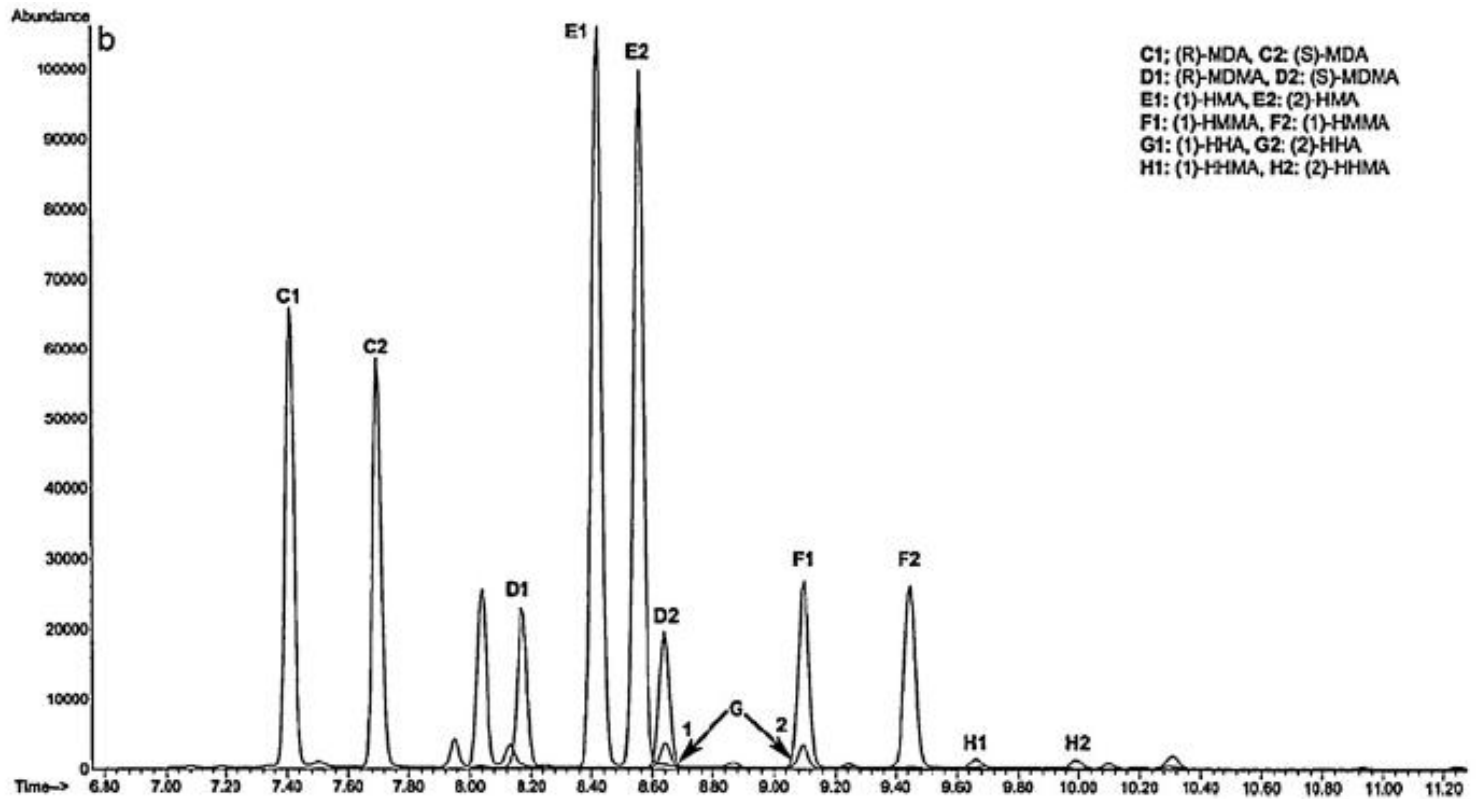
Programmed temperature (120°–200°C) chiral separation on a 0.25-mm × 25-m open tubular column with a 0.25- μ m-thick stationary phase containing 10 wt% fully methylated β -cyclodextrin chemically bonded to poly(dimethylsiloxane). [From W. Vetter and W. Jun, "Elucidation of a Polychlorinated Bipyrrole Structure Using Enantioselective GC," *Anal. Chem.* 2002, 74, 4287.]

Colunas – FE comuns



Extracted ion chromatograms of a GC-MS analysis after chiral derivatization with *R*-MTPCl of AM and MA

Colunas – FE comuns



Extracted ion chromatograms of a GC-MS analysis after chiral derivatization with R-MTPCl of MDA, MDMA, HMMA, HMA, DHMA, and DHA

Colunas – Temperatura

➤ A temperatura da coluna é um importante parâmetro, que deve ser rigorosamente controlado dentro de poucos décimos para quantificação com precisão.



➤ Por isso a coluna fica em um forno termostaticado.

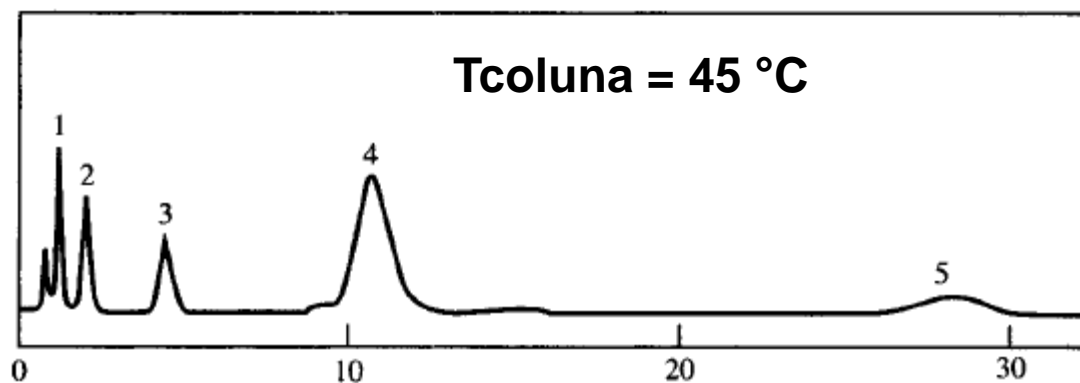
➤ A temperatura da coluna dependerá da TE do analito.

➤ A grosso modo, se a T_{coluna} é aproximadamente a $T_{\text{média}}$ da amostra, a eluição acontece em tempos de retenção razoáveis (2 a 30 minutos).

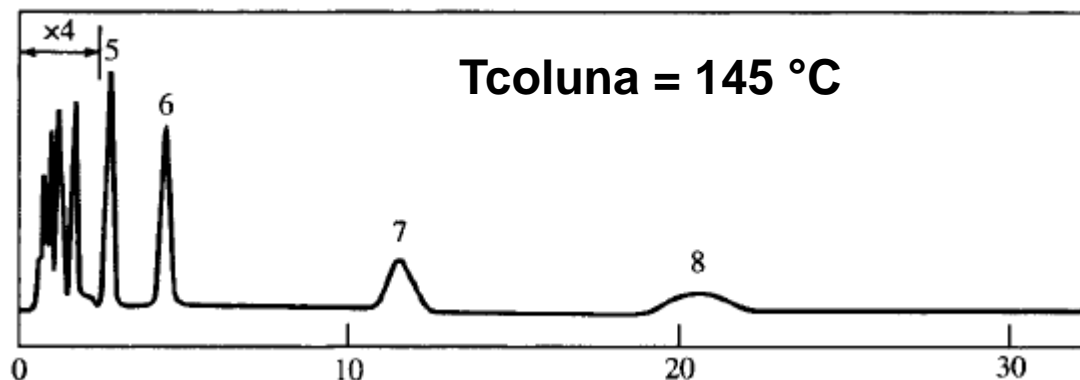
➤ O aumento da temperatura faz com que o tempo de retenção diminua. ENTRETANTO, proporciona uma perda de resolução.

Colunas – Temperatura

- Considere a separação de uma mistura com 9 espécies.



- Isotérmico a 45 °C



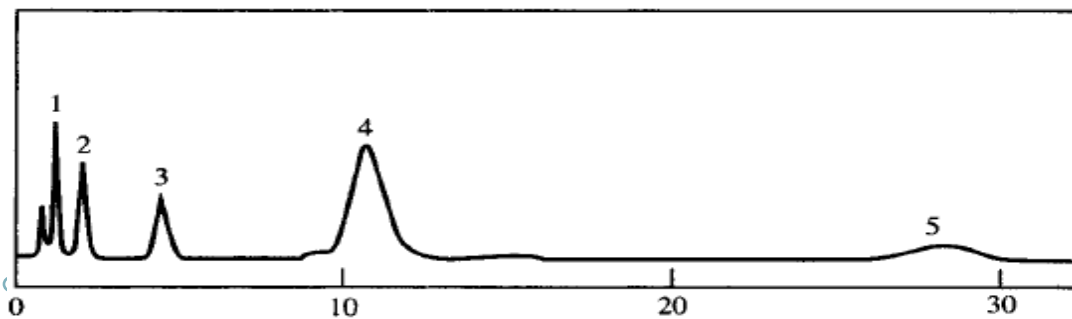
- Isotérmico a 145 °C

- As condições em que a temperatura é constantes são chamadas de **CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS**.

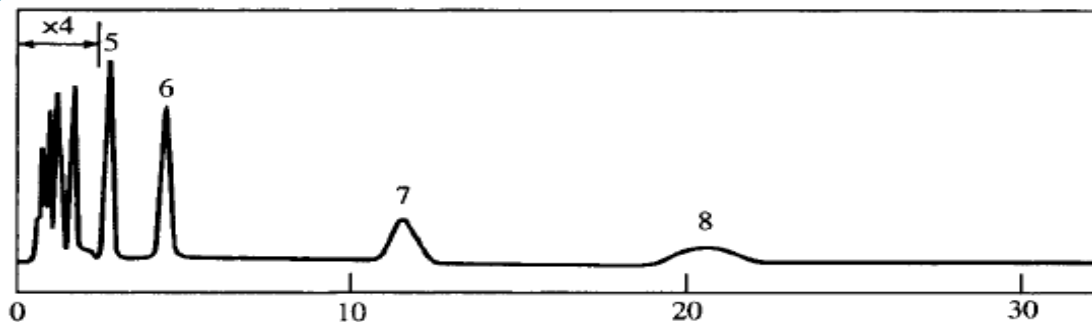
Colunas – Temperatura

- Observem no slide anterior que não houve a separação das 9 espécies em 30 minutos.
- É possível diminuir os tempos de retenção com uma **PROGRAMAÇÃO PROGRAMADA DE TEMPERATURA.**
- **PROGRAMAÇÃO PROGRAMADA DE TEMPERATURA**
 - É empregada na separação de compostos com ampla faixa de PE e polaridades.
 - Assim, no decorrer da separação, eleva-se a temperatura da coluna.

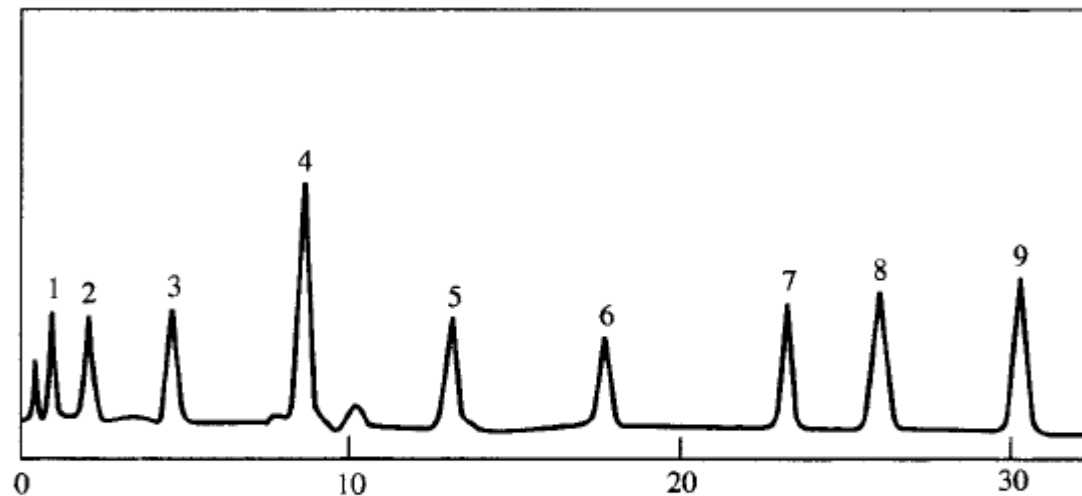
Cromat. Gasosa



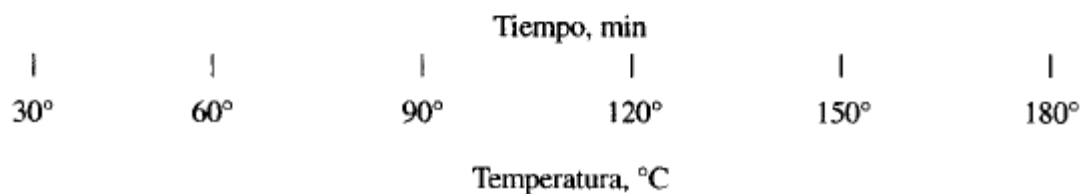
➤ Isotérmico a 45 °C



➤ Isotérmico a 145 °C



➤ Programado
de 30 °C a 180 °C



Colunas – Temperatura

➤ **Análise Isotérmica**

- **Preferível quando a amostra é constituída por compostos com pontos de ebulição próximos (diferença menor que 100 °C).**
- **Neste caso, a temperatura da coluna deve ser 20 a 50 °C abaixo do ponto de ebulição dos analitos.**

➤ **Programação de temperatura**

- **Para compostos que apresentam diferença de pontos de ebulição superiores a 100 °C.**
- **Inicia-se com uma temperatura entre 50 a 90 °C abaixo do PE da substância mais volátil e termina com uma temperatura acima do ponto de ebulição do composto mais menos volátil.**

Colunas – Temperatura

➤ Programação de temperatura

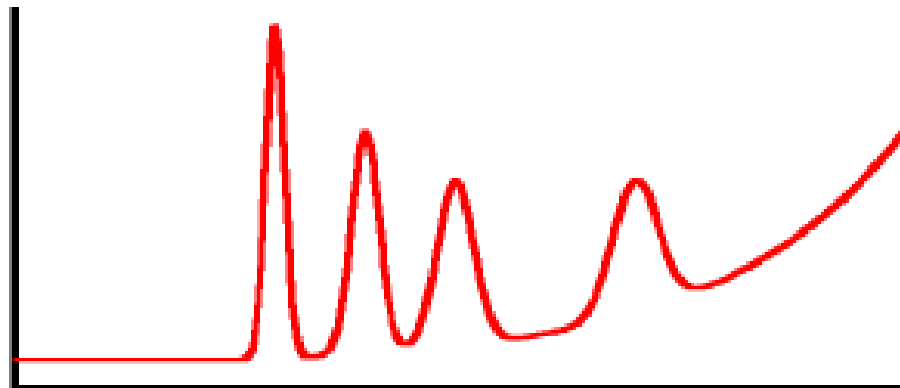
➤ Requer FE estáveis e com baixa sangria, além de gases de arraste com elevada pureza.



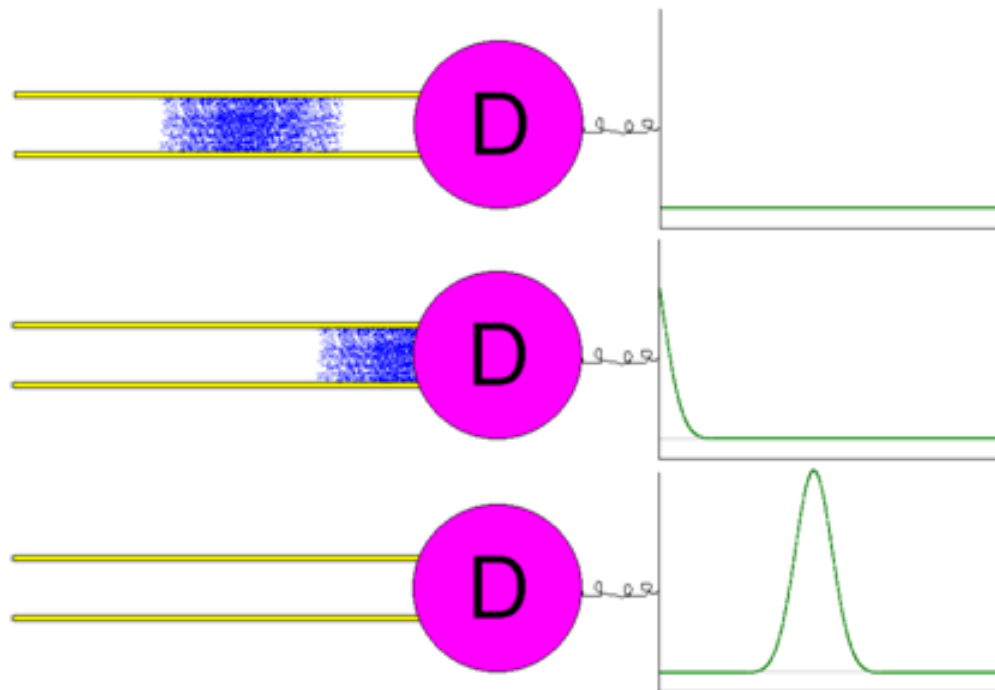
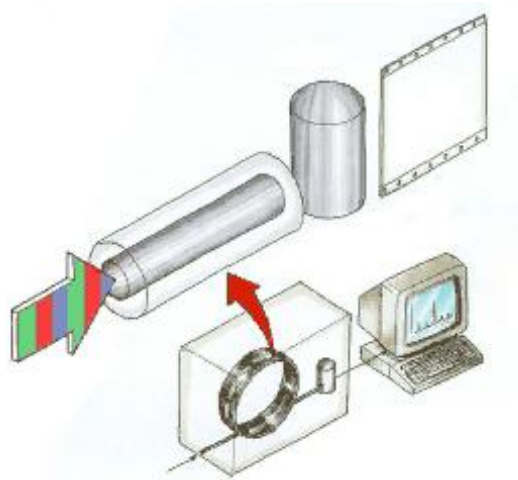
➤ As impurezas ficam retidas na coluna em temperaturas menores e, com o aumento da temperatura, são eluídas, resultando em picos “fantasmas” no cromatograma. .

Colunas – Temperatura

- A programação de temperatura ainda pode causar os seguintes problemas:
 - **Gás de arraste**
 - O aumento da temperatura promove o aumento da viscosidade do gás. Assim, a vazão é comprometida.
 - **Deriva (“Drift” da linha de base)**
 - O aumento da temperatura promove a volatilização da FE líquida.



Detectores

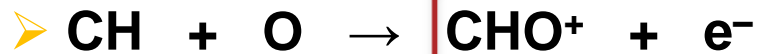


Detectores

➤ DETECTOR POR IONIZAÇÃO DE CHAMA (FID)

- O eluato é queimado em uma mistura de H₂ e ar.
- Os átomos de Carbono produzem radicais CH (exceto carbono de carbonilas e carboxilas).

➤ Na chama...



➤ Fluxo responsável pelo sinal analítico.

➤ Responde a HIDROCARBONETOS.

➤ Não responde a:

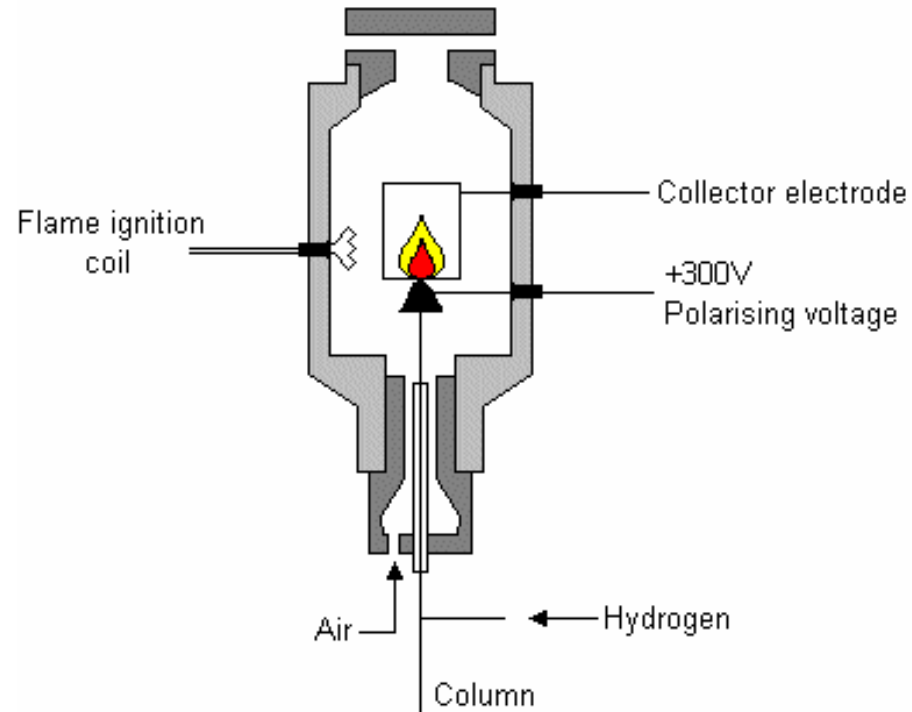
➤ H₂ ➤ He ➤ N₂ ➤ O₂ ➤ CO ➤ CO₂

➤ H₂O ➤ NH₃ ➤ NO ➤ H₂S ➤ SiF₄

Detectores

➤ DETECTOR POR IONIZAÇÃO DE CHAMA (FID)

The Flame Ionisation Detector



Detectores

➤ DETECTOR DE CONDUTIVIDADE TÉRMICA

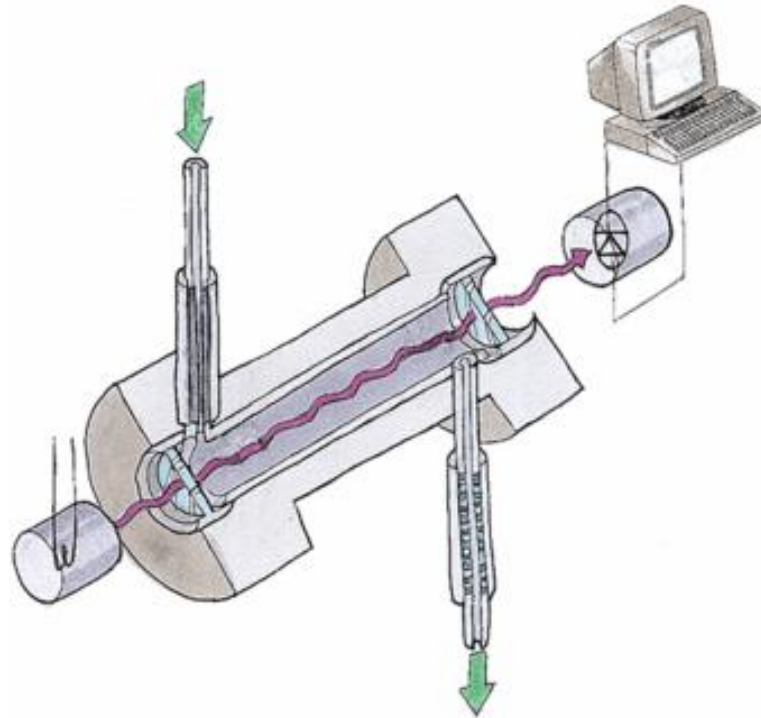
- Mede a capacidade da substância em transportar calor.
- O detector responde à mudanças na condutividade térmica. Neste sentido, as condutividades do soluto e do gás de arraste deve diferenciar o máximo possível.



- H₂ e He são os gases de arraste mais empregados, pois possuem as maiores condutividades térmicas.
- Responde a todas as substâncias, exceto ao gás de arraste.

Detectores

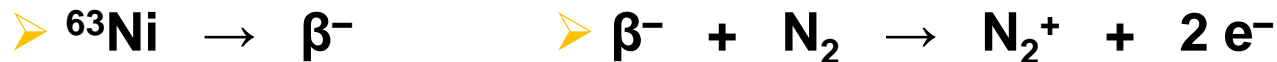
➤ DETECTOR DE CONDUTIVIDADE TÉRMICA



Detectores

➤ DETECTOR DE CAPTURA DE ELÉTRONS

- Ao entrar no detector, o gás de arraste é ionizado por elétrons de elevada energia (β).
- Os elétrons liberados são atraídos para o anodo, produzindo uma pequena corrente.



- Lento demais para chegar ao anodo.



Detectores

➤ DETECTOR DE CAPTURA DE ELÉTRONS

➤ Responde a:

➤ Halogênios ➤ C = O conjugados

➤ — C ≡ N ➤ NO₂

➤ Não responde a:

➤ Hidrocarbonetos

➤ Alcoóis ➤ Cetonas

➤ LD = 5 fg (5×10^{-15} g)



➤ Comparável ao Massas com monitoramento seletivo de íons.

➤ Gás de arraste: N₂ ou CH₄ 5% v/v em Ar.

Outros Detectores

➤ DETECTOR FOTOMÉTRICO DE CHAMA

- Mede a emissão óptica de P e S.

➤ DETECTOR DE CHAMA ALCALINA

- Também chamado de **DETECTOS DE FÓSFORO – NITROGÊNIO**
- Detector de ionização modificado, sensível a P e S.
- Íons como NO_2^- , CN^- e PO_2^- produzidos, geram um corrente quando entram em contato com uma pérola de vidro contendo Rb_2SO_4 .
- Bastante empregado na determinação de medicamentos.

Outros Detectores

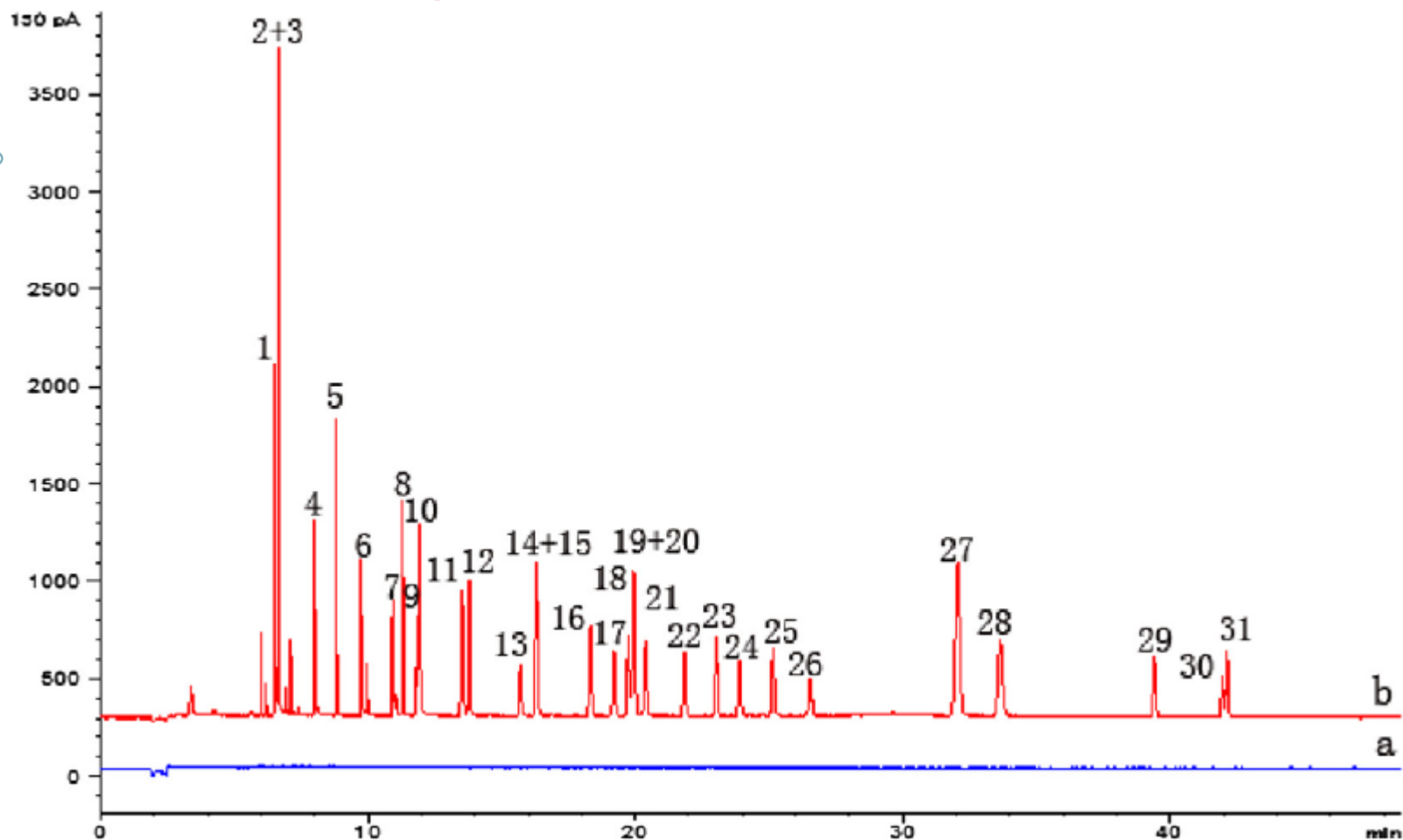


Fig. 2. GC-SPD chromatograms of blank sample (a) and standard solution (b). 1: methamidophos; 2+3: trichlorphon + dichlorovos; 4: acephate; 5: formothion; 6: omethoate; 7: monocrotophos; 8: phorate; 9: demeton; 10: dimethoate; 11: diazinon; 12: disulfoton; 13: phosphamidon; 14+15: parathion-methyl + chlorpyrifos-methyl; 16: fenitrothion; 17: malathion; 18: fenthion; 19+20: parathion + chlorpyrifos; 21: isocarbophos; 22: isofenphos-methyl; 23: quinalphos; 24: methidathion; 25: ditalimfos; 26: profenfos; 27: ethion; 28: triazophos; 29: phosmet; 30: azinphos-methyl; 31: phosalone.

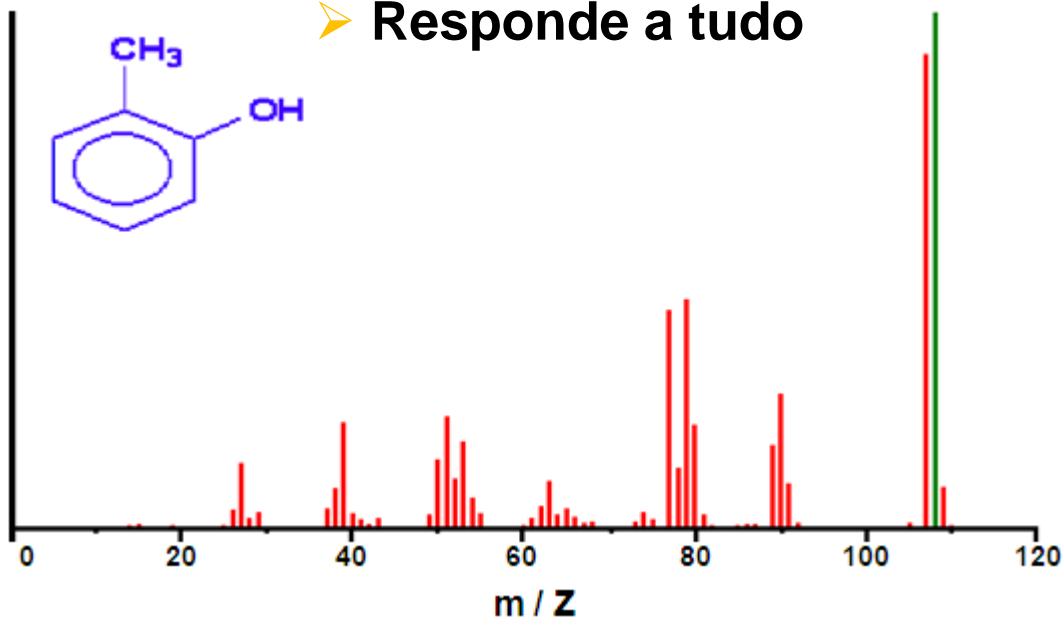
Outros Detectores

➤ DETECTOR DE QUIMIOLUMINESCÊNCIA DE “S”

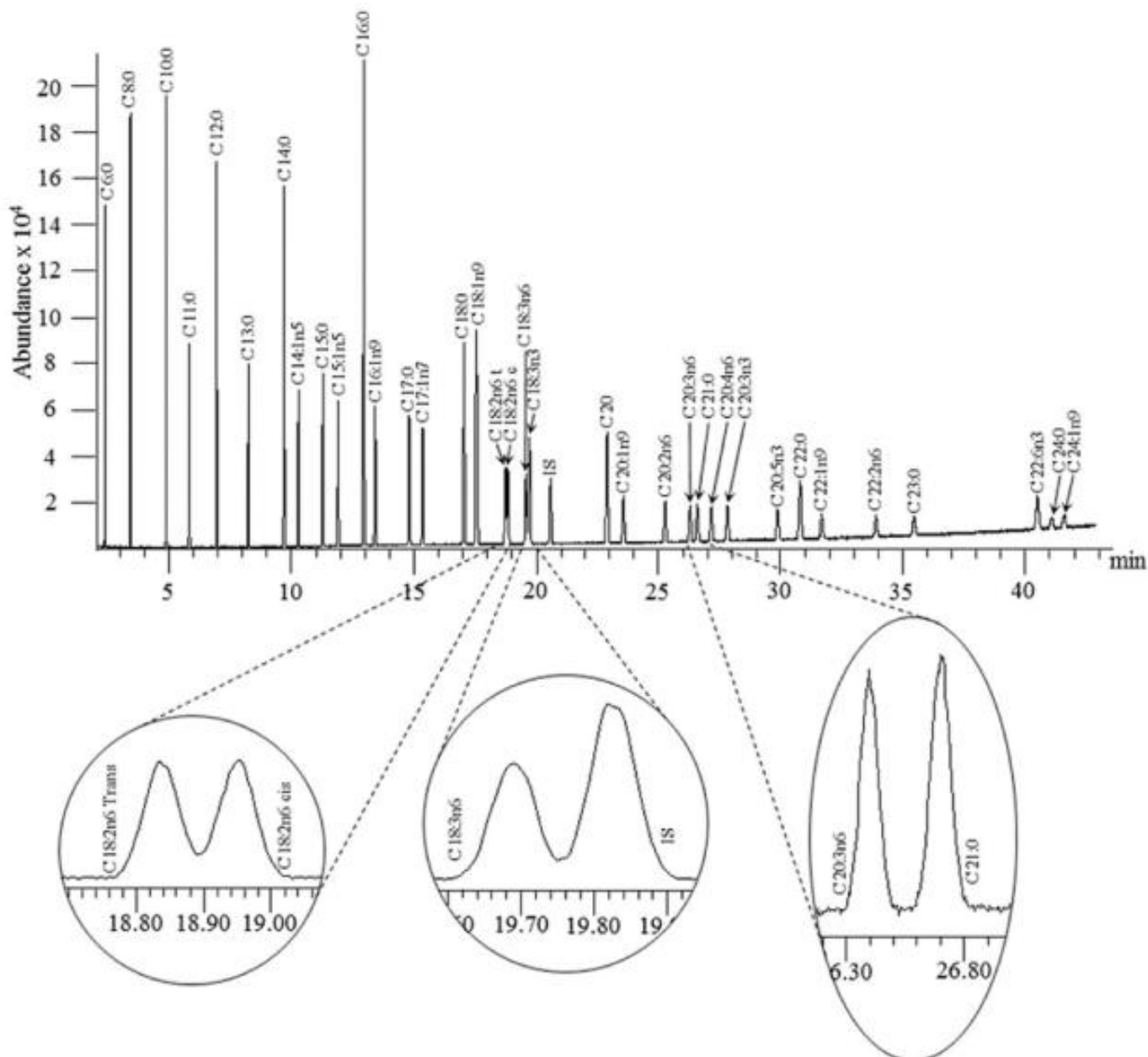
➤ Proveniente de um detector de ionização de chama com O_3 , que produz SO_2 em um estado excitado que emite luz.

➤ ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

➤ Responde a tudo



Cromat. Gasosa



Chemosphere 173 (2017) 116e123 – Quantification of fatty acids in the muscle of Antarctic fish *Trematomus bernacchii* by gas chromatography-mass spectrometry: Optimization of the analytical methodology

EXERCÍCIOS

➤ Uma mistura constituída dos componentes abaixo foram separadas por CG, empregando uma coluna de Carbowax (fortemente polar). Qual é a ordem de eluição através da coluna?

- 1: 1 – pentanol (PE = 138 °C)
- 2: 2 – hexanona (PE = 128 °C)
- 3: heptano (PE = 98 °C)
- 4: octano (PE = 126 °C)
- 5: nonano (PE = 151 °C)
- 6: decano (PE = 174 °C)

➤ Se fosse empregado um detector DIC, quais espécies forneceriam sinais?

➤ Se fosse empregado um detector DCE, quais espécies forneceriam sinais?

EXERCÍCIOS



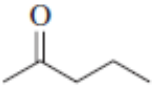
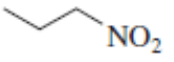

- Uma mistura contendo hexano ($\epsilon = 1,88$), heptano, octano, benzeno ($\epsilon = 2,3$), butanol e 2-pentanona foi separada por CG, empregando uma coluna de Carbowax (fortemente polar). Qual é a ordem de eluição através da coluna?
- Se fosse empregado um detector DIC, quais espécies forneceriam sinais?
- Se fosse empregado um detector DCE, quais espécies forneceriam sinais?

Índice de Retenção de Kovats

$$I = \left[n + (N - n) \frac{\log t'_{r(\text{desconhecido})} - \log t'_{r(n)}}{\log t'_{r(N)} - \log t'_{r(n)}} \right]$$

- n = nº de carbonos da menor cadeia.
- N = nº de carbonos da maior cadeia.

TABLE 23-3 Retention indexes for several compounds on common stationary phases

Phase	Retention index ^a				
	 Benzene b.p. 80°C	 Butanol b.p. 117°C	 2-Pentanone b.p. 102°C	 1-Nitropropane b.p. 132°C	 Pyridine b.p. 116°C
Poly(dimethylsiloxane)	657	648	670	708	737
(Diphenyl) _{0.05} (dimethyl) _{0.95} - polysiloxane	672	664	691	745	761
(Diphenyl) _{0.35} (dimethyl) _{0.65} - polysiloxane	754	717	777	871	879
(Cyanopropylphenyl) _{0.14} - (dimethyl) _{0.86} polysiloxane	726	773	784	880	852
(Diphenyl) _{0.65} (dimethyl) _{0.35} - polysiloxane	797	779	824	941	943
Poly(ethylene glycol)	956	1 142	987	1 217	1 185
(Biscyanopropyl) _{0.9} - (cyanopropylphenyl) _{0.1} - polysiloxane	1 061	1 232	1 174	1 409	1 331