

**UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO**

**DIEGO ROMEIRO GUARIDO**

**MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS DE ANÁLISE:  
CROMATOGRAFIA GASOSA**

BAURU  
2009

**DIEGO ROMEIRO GUARIDO**

**MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS DE ANÁLISE:  
CROMATOGRAFIA GASOSA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química, sob orientação da Profa. Dra. Márcia Aparecida Zeferino Garcia.

BAURU  
2009

G915m

Guarido, Diego Romeiro

Métodos cromatográficos de análise:  
cromatografia gasosa / Diego Romeiro Guarido --  
2009.  
47f.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Aparecida  
Zeferino Garcia.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em  
Química) - Universidade Sagrado Coração - Bauru -  
SP.

1. Análises. 2. Instrumentos. 3. Metodologia  
I. Garcia, Márcia Aparecida Zeferino. II. Título.

**DIEGO ROMEIRO GUARIDO**

**MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS DE ANÁLISE:  
CROMATOGRAFIA GASOSA**

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao Centro de Ciências Exatas e Naturais Aplicadas, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química.

Sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Márcia Aparecida Zeferino Garcia.

Bancada examinadora:

-----

Ms Beatriz Antoniassi Tavares

Universidade Sagrado Coração

-----

Esp. Alessandra Bizan de Oliveira Stetner

Universidade Sagrado Coração

Data: 15/12/2009

Dedico este trabalho aos meus pais Antonio Roque Guarido, Maria Elea Romeiro Guarido, minha namorada Mariéli Artioli Diegoli, minha irmã Bruna Carolina Romeiro Guarido, meu cunhado Glauco Evangelista dos Santos, por me dar força para vencer mais essa etapa de minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

- Agradeço a Deus acima de tudo;
- Agradeço aos meus familiares, parentes, e a minha namorada, que quando o cansaço veio a tona me deram força para continuar a lutar e buscar meu objetivo final;
- Agradeço a minha orientadora Professora Dra. Márcia Aparecida Zeferino;
- Agradeço a todos os professores que passaram para mim um pouco dos seus conhecimentos.

*“É melhor tentar e falhar do que  
preocupar-se e ver a vida passar. É melhor tentar, ainda que  
em vão, que sentar-se fazendo nada até o final”*

*M. Luther King*

## RESUMO

Atualmente a cromatografia é o método mais utilizado pelos químicos orgânicos para separar compostos, é também o método mais utilizado em pesquisas para o desenvolvimento de novos instrumentos para compor o cromatografo, sempre visando melhor desempenho durante análise e obtendo uma melhor performance do cromatógrafo cada dia melhor, e com isso resultados cada vez mais confiáveis. Cromatografia é uma técnica utilizada para a separação dos componentes de uma mistura. A separação cromatográfica é baseada na distribuição dos componentes entre uma fase estacionária e uma fase móvel. Esta separação resulta das diferenças de velocidade dos componentes arrastados pela fase móvel devido às diferentes interações com a fase estacionária. Os principais métodos cromatográficos são: cromatografia em papel, cromatografia de camada delgada, cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A seleção do método a ser empregado depende do material a ser utilizado. O objetivo deste estudo bibliográfico sobre cromatografia, métodos e instrumentos é mostrar os tipos de cromatografia existentes, qual a utilização de cada um desses métodos, dando ênfase em cromatografia gasosa, mostrando também os instrumentos que compõem um cromatógrafo e seu funcionamento.

**Palavras-chave:** Cromatografia, Cromatografia Gasosa, CLAE.



## ABSTRACT

Chromatography is an analytical method for the separation of mixture components. The chromatographic separation is based on the different partition of the components to be separated between the mobile phase and the stationary phase. The principal chromatographic forms are: paper chromatography, thin layer chromatography, gas liquid chromatography and high performance liquid chromatography (HPLC). The chromatographic form is selected in accordance to the material to be analysed. The objective of this bibliographical study on chromatography, methods and instruments is to show the existing types of chromatography, which the use of each one of these methods, giving emphasis in gaseous chromatography, also showing the instruments that compose a chromatograph showing its functioning. Currently the chromatography is the method most used for organic chemistries to separate its composites, therefore that it is the method more used in research for the development of new instruments to compose the chromatograph, always aiming at performance during its more good it analyzes and getting a performance of the chromatograph each better day, and with this its more trustworthy results each time.

**Keywords:** chromatography, gas liquid chromatography, HPLC.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Separação dos pigmentos da folha de um vegetal.....	14
<b>Figura 2</b> - Processos de separação de misturas.....	14
<b>Figura 3</b> - Mecanismo de separação por adsorção e absorção.....	15
<b>Figura 4</b> - Cromatografia com fase normal e fase reversa, polaridade dos solutos $A>B>C$ .....	16
<b>Figura 5</b> - Mecanismo de separação por troca iônica (troca aniônica).....	17
<b>Figura 6</b> - Tipos de cromatografia.....	18
<b>Figura 7 a)</b> - Cromatografia em papel.....	19
<b>Figura 7 b)</b> - Cromatografia em papel.....	19
<b>Figura 8</b> - Cromatografia em camada delgada.....	20
<b>Figura 9</b> - Cromatografia líquida clássica de coluna.....	21
<b>Figura 10</b> - Válvula de injeção de um cromatógrafo.....	22
<b>Figura 11</b> - Colunas cromatográficas para CLAE.....	23
<b>Figura 12</b> - Cromatogramas obtidos por CLAE de amostras de (a) margarina e (b) maionese. Condições: fase móvel acetonitrila: água (7:3 v/v), fluxo 1ml/min, detector de fluorescência, coluna $C_{18}$ , (24cmx 4,6mm d.i), com partículas de 5 mm.....	24
<b>Figura 13</b> - Fluxograma para cromatografia líquida de alta eficiência.....	24
<b>Figura 14</b> - Cromatógrafo líquido de alta eficiência.....	25
<b>Figura 15</b> - Cromatógrafo gasoso.....	26
<b>Figura 16</b> - Interior de uma coluna cromatográfica.....	26
<b>Figura 17</b> - Separação dentro da coluna.....	28
<b>Figura 18 a)</b> - Coluna capilar para cromatografia gasosa.....	29
<b>Figura 18 b)</b> - Coluna capilar para cromatografia gasosa.....	30
<b>Figura 19</b> - Coluna empacotada.....	31
<b>Figura 20</b> - Cromatograma ilustrando tempo de retenção.....	31

<b>Figura 21</b> - Tempo de retenção ajustado.....	32
<b>Figura 22</b> - Medida e cálculo do fator de assimetria do pico.....	34
<b>Figura 23</b> - Micro - Seringa para cromatografia.....	35
<b>Figura 24</b> - Sistema de instrumentação para injeção da amostra.....	36
<b>Figura 25</b> - Injetor automático isolado e acoplado ao cromatografo gasoso.....	36
<b>Figura 26</b> - Cilindros de gás de arraste.....	37
<b>Figura 27</b> - Alimentação do gás de arraste.....	38
<b>Figura 28</b> - Detector de condutividade térmica.....	40
<b>Figura 29</b> - Detector de ionização de chama.....	41
<b>Figura 30</b> - Detector de captura de elétrons.....	43
<b>Figura 31</b> - Detector termiônico ou de chama alcalina.....	44
<b>Figura 32</b> - Detector fotométrico de chama.....	45

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1 CLASSIFICAÇÃO DOS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	17
1.1.1 Cromatografia em papel.....	18
1.1.2 Cromatografia de camada delgada.....	19
1.1.3 Cromatografia líquida clássica.....	20
1.1.4 Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE (HPLC).....	21
<b>2. CROMATOGRAFIA GASOSA</b> .....	25
2.1 COLUNA DE CROMATOGRAFIA GASOSA.....	28
2.1.1 Coluna capilar.....	29
2.1.2 Coluna empacotada .....	30
2.1.3 Avaliação de colunas.....	31
2.2 SISTEMA DE INJEÇÃO DA AMOSTRA.....	35
2.3 GÁS DE ARRASTE.....	37
2.4 SISTEMA DE DETECÇÃO .....	38
2.4.1 Detector por condutividade térmica – TCD .....	39
2.4.2 Detector por ionização de chama - FID .....	40
2.4.3 Detector de captura de elétrons .....	42
2.4.4 Detector termiônico – Detector de chama alcalina .....	43
2.4.5 Detector fotométrico de chama .....	45
<b>3. CONCLUSÃO</b> .....	46
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47

## 1. INTRODUÇÃO

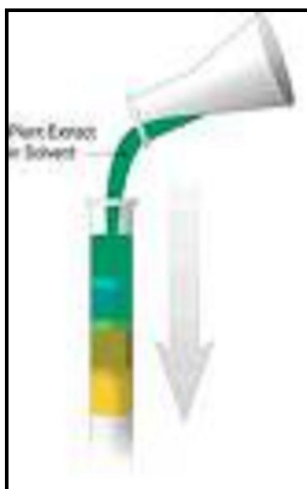
A cromatografia constitui-se atualmente em um conjunto de técnicas de separação com forte caráter interdisciplinar. Em suas diferentes formas tem encontrado aplicações em praticamente todas as áreas do conhecimento nas quais a análise qualitativa e ou quantitativa de espécies químicas deva ser realizada. As aplicações da técnica envolvem muitas áreas distintas, incluindo:

- Química Analítica, Orgânica, Inorgânica e Físico-Química;
- Bioquímica;
- Geoquímica;
- Segurança;
- Química Forense;
- Toxicologia;
- Ciências do espaço;
- Alimentos;
- Meio Ambiente;
- Controle de Qualidade.

“A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária” (DEGANI, 1998 ).

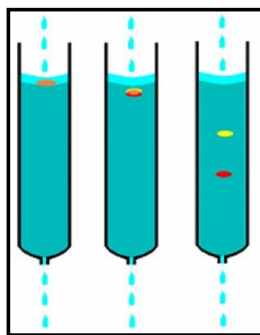
Atualmente existem muitos métodos analíticos que conseguem dar várias respostas em algumas análises, mas a cromatografia sem via de dúvidas é uma dos melhores métodos analíticos que existe na atualidade, pelo fato da cromatografia conseguir separar, qualificar e quantificar o seu analito. Os químicos orgânicos estão cada vez mais investindo em pesquisas usando a cromatografia, pois esta técnica evoluiu muito rapidamente a partir da década 50 e 60, e hoje é um método usado no mundo inteiro.

A cromatografia foi descoberta por um botânico russo chamado Michael Semenovich Tswett, em 1900, que descobriu essa metodologia depois de fazer uma experiência com uma bureta empacotada com carbonato de cálcio, para poder separar os pigmentos de uma folha de um vegetal, esse pigmento foi arrastado por um solvente orgânico, criando no carbonato de cálcio bandas coloridas. Esta técnica recebeu o nome de análise cromatográfica. A nomenclatura *cromatografia* tem um significado que é *Chroma*, do grego cor e *grafein*, grafia. A figura 1 mostra separação dos pigmentos da folha de um vegetal.



**Figura 1**- Separação dos pigmentos da folha de um vegetal  
(Fonte: [http:// hplcbrasil.blogspot.com/2008\\_10\\_01\\_archive.htm](http://hplcbrasil.blogspot.com/2008_10_01_archive.htm))

A figura 2 mostra o processo de separação de misturas, que acontece pela passagem de uma mistura através de duas fases: uma estacionária (fixa) e outra móvel. A grande variabilidade de combinações entre a fase móvel e estacionária faz com que a cromatografia tenha uma série de técnicas diferenciadas.



**Figura 2** - Processos de separação de misturas  
(Fonte: [http://www.jornallivre.com.br/images\\_enviadas/tudo-sobre-a-cromatografiacro-.jpg](http://www.jornallivre.com.br/images_enviadas/tudo-sobre-a-cromatografiacro-.jpg))

Dentro do método analítico cromatográfico existem quatro tipos de cromatografia: cromatografia líquida, cromatografia gasosa, cromatografia de camada fina ou planar e cromatografia em papel, e cada método tem a sua forma de separação. O que elas possuem em comum é a propriedade de fracionar uma mistura complexa de substâncias usando a diferença de características química entre os componentes da mistura, o que faz com que eles interajam diferencialmente com uma fase estacionária (FE) e com uma fase móvel (FM). A interação dos componentes da mistura (soluto) com estas duas fases é influenciado por diferentes forças intermoleculares, incluindo iônica, bipolar, apolar, e específicos efeitos de afinidade e solubilidade. De acordo com o modo de separação tem-se uma adsorção, partição (absorção), troca iônica, afinidade e exclusão, sendo que as interações mais frequentes entre o soluto e a fase estacionária são a adsorção, a partição e a troca iônica (ZEFERINO,2001).

Na cromatografia de adsorção, duas substâncias são ligadas por uma interface onde não ocorre solubilização. A fase estacionária é sólida e a fase móvel pode ser líquida ou gasosa. Baseia-se nas atrações eletrostáticas ou dipolares da superfície da fase estacionária pelas moléculas da substância a separar.

Na cromatografia de partição a fase estacionária é líquida. Este processo é baseado na diferente solubilidade dos componentes da mistura nas duas fases líquidas. A figura 3 mostra uma comparação com a interação por adsorção e partição (absorção).

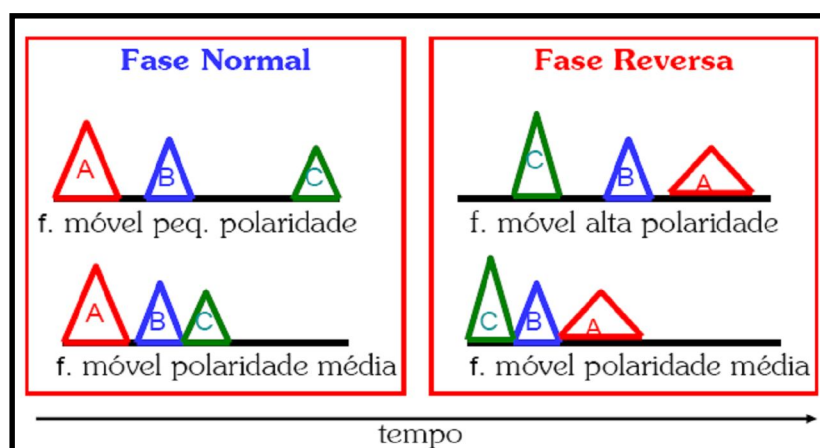


**Figura 3** – Mecanismo de separação por adsorção e absorção.  
(Fonte: Introdução a Métodos Cromatográficos, Carol H. Collins, Gilberto L. Braga, Pierina S. Bonato)

Tendo em conta as polaridades relativas das fases móveis e estacionária, a cromatografia de partição é dividida em duas categorias:

- Cromatografia de fase normal
- Cromatografia de fase reversa

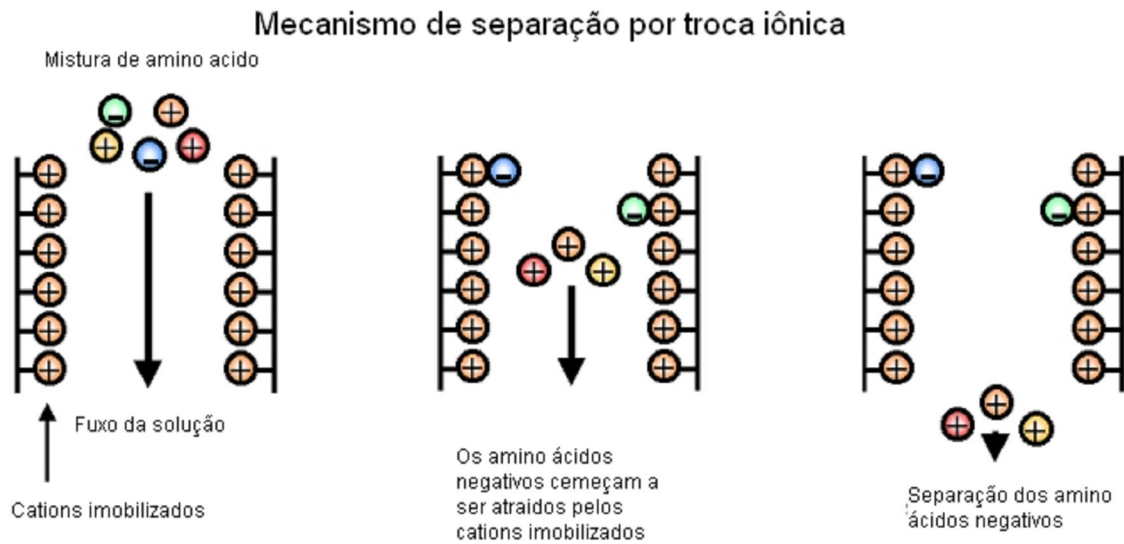
No início por tradição, na cromatografia líquida, a fase estacionária era polar (água, metanol). Por razões históricas essa cromatografia é referida como cromatografia de fase normal. A cromatografia de fase reversa é uma cromatografia de partição líquido – líquido na qual a fase estacionária é mais apolar que a fase móvel (COLLINS, 1993). A figura 4 mostra o comportamento da cromatografia com fase normal comparada com a fase reversa.



**Figura 4** – Cromatografia com fase normal e fase reversa polaridade dos solutos  $A > B > C$ .  
(Fonte: Zeferino. M.A.- Determinação de pesticidas em amostras biológicas por CLAE com injeção direta da amostra)

Na cromatografia de troca iônica a fase estacionária é altamente carregada, sendo que os componentes com cargas de sinais contrários a estas são seletivamente adsorvidos da fase móvel. Os componentes adsorvidos podem ser subsequentemente eluídos, por deslocamento com outros íons, com o mesmo tipo de carga, porém com maior força de interação com a fase estacionária. A figura 5 mostra o mecanismo de separação por troca iônica.





**Figura 5** - Mecanismo de separação por troca iônica (troca aniônica)  
 (Fonte: [http://www.zampbioworld.org/material/biochemistry/biochem054/ion\\_exch.jpg](http://www.zampbioworld.org/material/biochemistry/biochem054/ion_exch.jpg))

## 1.1 CLASSIFICAÇÃO DOS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

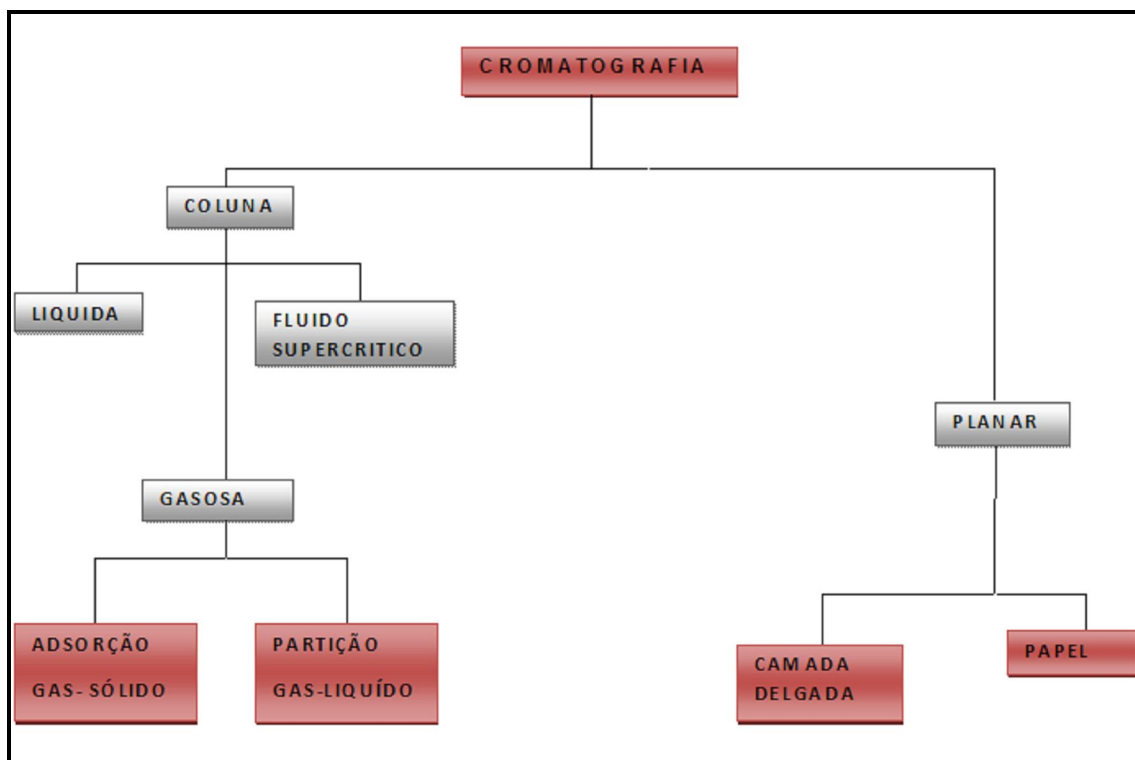
Os critérios de classificação dos métodos cromatográficos variam de autor para autor, os métodos mais comuns são:

- Cromatografia em coluna onde a reação ocorre dentro de um tubo de vidro ou metal.
- Cromatografia planar onde geralmente uma placa de vidro ou metal impregnada com fase estacionária ou então uma folha de papel de filtro embebida com um solvente apropriado.

Dependendo da fase móvel que você utilizada a cromatografia em coluna pode ser classificada em três grupos:

- Cromatografia líquida, quando a fase móvel for um líquido.
- Cromatografia gasosa, quando a fase móvel for um gás.
- Cromatografia com fluidos supercríticos, quando a fase móvel for um gás ou líquido no estado super crítico.

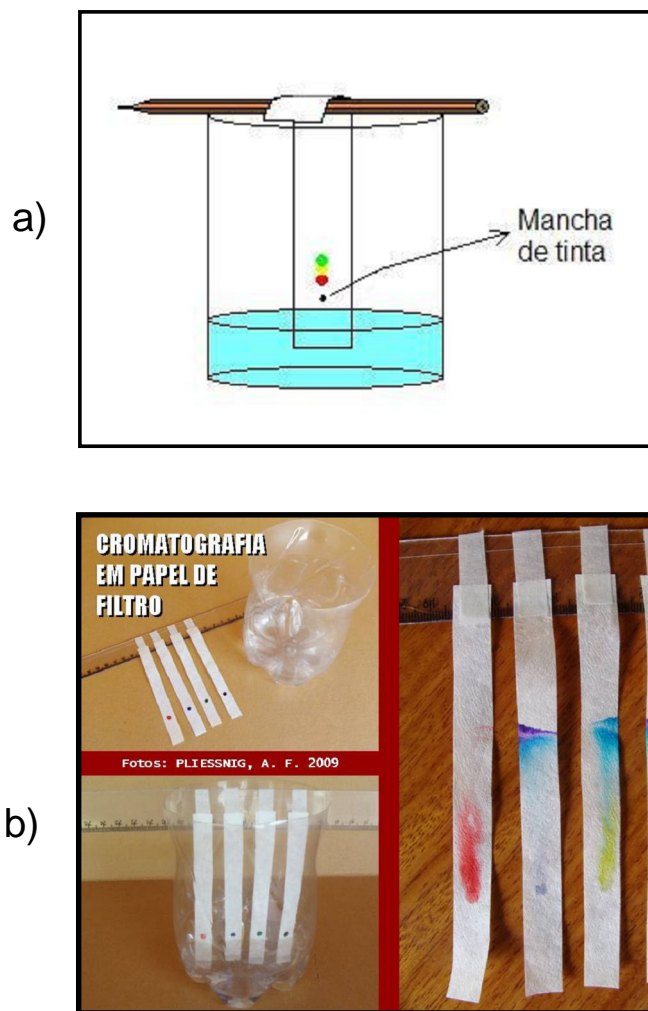
A figura 6 mostra um esquema com os tipos de cromatografia conforme a fase móvel e a fase estacionária.



**Figura 6** – Tipos de cromatografia  
(Fonte: Lanças, 1993)

### 1.1.1 Cromatografia em Papel

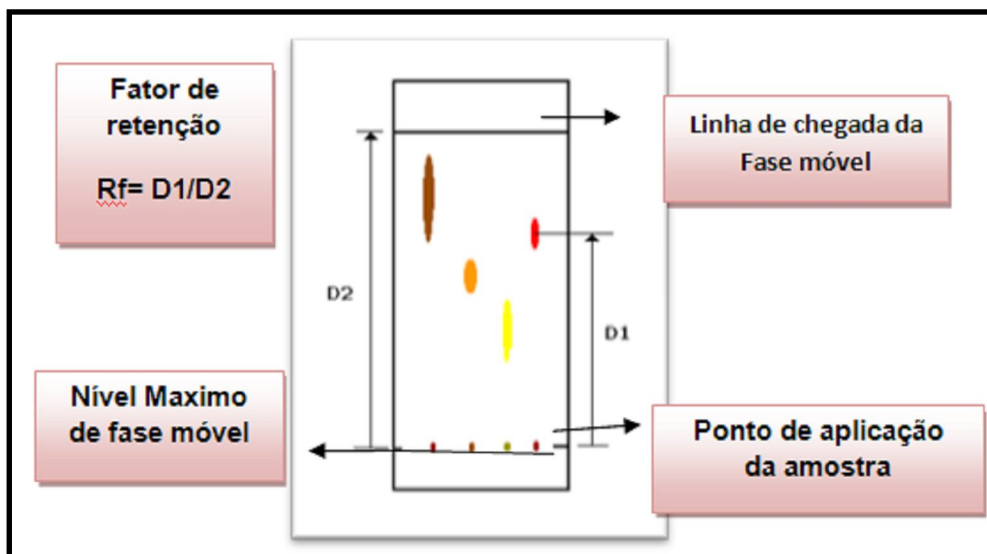
Cromatografia em papel é uma técnica de partição líquido-líquido, estando um deles fixado em um suporte sólido. Baseia-se na diferença de solubilidade das substâncias, sendo geralmente a água um dos líquidos, a partição ocorre devido a presença de água em celulose, esse método é mais utilizado para separação de compostos polares. As figuras 7a e 7b mostram, respectivamente, uma cromatografia em papel com tinta, realizada em uma cuba de vidro e com material alternativo, garrafa PET, para ser aplicado no ensino médio.



**Figura 7-** Figura A e B cromatografia em papel  
(Fonte: [http://portaldoprofessor.mec.gov.br/storage/discovirtual/aulas/1664/imagens/cromatografia\\_fotos.jpg](http://portaldoprofessor.mec.gov.br/storage/discovirtual/aulas/1664/imagens/cromatografia_fotos.jpg))

### 1.1.2 Cromatografia de camada delgada

Na cromatografia planar de camada delgada, a fase estacionária é suportada sobre uma placa plana. Nesse caso, a fase móvel desloca-se através da fase estacionária por ação da capilaridade ou sob a influência da gravidade. Útil em separação de compostos polares. Encontra-se bastante difundida devido à sua facilidade experimental e ao seu baixo custo. É uma técnica de adsorção líquido-sólido. A separação ocorre pela diferença de afinidade dos compostos de uma mistura pela fase estacionária. A figura 8 mostra uma cromatografia em camada delgada.



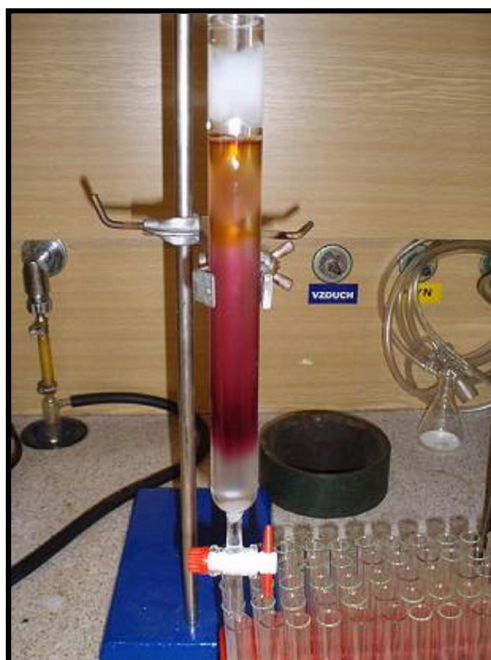
**Figura 8** – Cromatografia em camada delgada.

(Fonte: [http://server2.iq.ufrj.br/~joab/iqb201/tutorial/cromatografia/cromatografia\\_em\\_papel.html](http://server2.iq.ufrj.br/~joab/iqb201/tutorial/cromatografia/cromatografia_em_papel.html))

### 1.1.3 Cromatografia líquida clássica

A cromatografia líquida clássica é uma técnica muito utilizada para isolamento de produtos naturais e purificação de produtos de reações químicas. Na fase estacionária é utilizado um adsorvente como sílica, celulose ou alumina, que servem simplesmente como um suporte da fase estacionária. Suportes quimicamente modificados também estão sendo muito utilizados, sendo o processo de separação misto. O suporte é fixado em tubos de vidro de vários diâmetros, que contenha uma torneira na sua extremidade. A fase móvel (líquida) movimenta-se continuamente através da coluna contendo a fase estacionária (sólido). O soluto interage com a fase estacionária e móvel por adsorção, partição, exclusão molecular, ou troca iônica.

A cromatografia líquida tem a necessidade extrema de que sua amostra solubilize na fase móvel, e que possa ter uma possível interação com a fase estacionária. A espécie química a ser analisada sofre uma grande influência da fase estacionária, e ao mesmo tempo as propriedades desta são continuamente influenciadas pela fase móvel. A figura 9 mostra uma cromatografia líquida de coluna (CIOLA, 1973).



**Figura 9** – Cromatografia líquida clássica de coluna  
(Fonte: <http://madeincarla.files.wordpress.com/2007/11/coluna.jpg>)

#### **1.1.4 Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE (HPLC)**

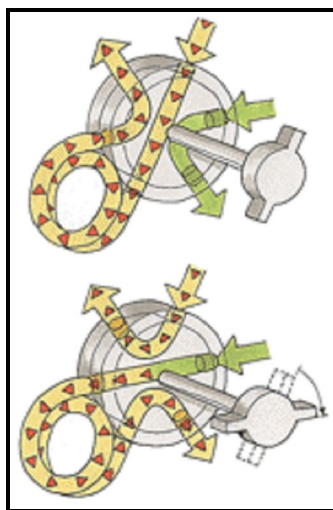
A CLAE utiliza uma pressão alta para forçar a passagem do solvente pelas colunas contendo partículas muito finas que proporcionam separações muito eficientes. O avanço desse método analítico foi o desenvolvimento e a utilização de suportes com partículas diminutas responsáveis pela alta eficiência, com isso o uso de bombas de alta pressão é necessário para que ocorra a eluição da fase móvel (CIOLA, 2003).

A bomba deve proporcionar ao sistema vazão contínua sem pulsos com alta reprodutibilidade, possibilitando a eluição da fase móvel a um fluxo adequado. Todas as bombas para cromatógrafo de alta resolução apresentam as mesmas características como pressão de 500 atm e vazão que varia de 0,005 a 5ml/min.

As válvulas de injeção usadas possuem uma alça de amostragem para a introdução da amostra com uma seringa e duas posições, uma para o preenchimento da alça e outra para sua liberação para a coluna. Existem alças de diversos volumes, sendo utilizadas geralmente alças na faixa de 2,0 - 50  $\mu$ L para injeções analíticas e 2 a 10 mL para preparativas. O sistema de injeção ocorre

através de válvulas especiais, que injetam sua amostra com precisão e exatidão.

Para fazer a análise cromatográfica são necessários no mínimo 2 microlitros de seu analito. A válvula deve ter uma rotação rápida, pois se demorar em rotacionar ocorre um aumento de pressão, parando o sistema. A figura 10 mostra uma válvula de injeção.



**Figura 10** – Válvula de injeção de um cromatógrafo

(Fonte: [http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal\\_gaschrom](http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal_gaschrom))

A análise por CLAE é efetuada dentro de uma coluna de metal que é preparada para suportar uma pressão de 500 atm. Existe na CLAE dois tipos de colunas, sendo uma chamada de coluna analítica e a outra coluna preparativa.

A coluna analítica é usada para fazer análise de pequena quantidade de material, e também é usada para qualificar e quantificar uma amostra. A fase estacionária fica impregnada dentro da coluna, e geralmente é constituída de sílica ou seus derivados com granulometria de 3,5,7 ou 10 micra. A queda de pressão que acontece dentro da coluna devido a mesma ser extremamente empacotada.

Coluna preparativa é uma coluna de uso industrial, por isso seu tamanho varia muito e dependendo do processo ela pode chegar até 4 metros de comprimento, com isso ela pode aguentar centenas de atm. Sua fase estacionária é constituída de sílica com granulometria entre 7 a 10 micra e é utilizada em indústrias farmacêuticas, indústria bélicas, e interesses científicos. A figura 11 mostra tipos de coluna de cromatografia líquida de alta eficiência.



**Figura 11** - Colunas cromatográficas para CLAE  
(Fonte: <http://quiprona.wordpress.com/2009/05/21/separacoes-por-hplc-i-cuidados>)

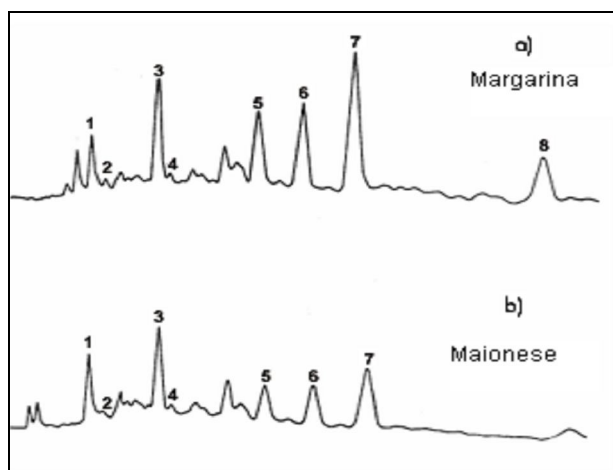
Existem vários tipos de detector, só cabe ao analista saber o tipo de detector a ser usado. O detector do HPLC vai ser o que vai detectar a chegada de um composto, também podemos dizer que ele é: “os olhos do cromatógrafo”, conseguindo converter mudanças de concentração na fase móvel. Os detectores usados em HPLC são:

- Espectrofotômetros UV/VIS;
- Eletroquímico;
- Índice de refração;
- Fluorescência;
- Condutividade.

Para escolha de um detector ideal para sua análise devemos optar para aquele que tem a melhor sensibilidade, melhor seletividade, precisão, exatidão, inexatidão. a) Sensibilidade é aquele que consegue capturar um maior sinal produzido por uma unidade de concentração. b) Seletividade consegue separar um composto do outro com maior facilidade, dando picos melhores. c) Precisão é quando se faz repetibilidade do composto e o valor tem um desvio muito pequeno. d) Exatidão quando comparado os picos com padrão utilizado fica próximo ao padrão verdadeiro.

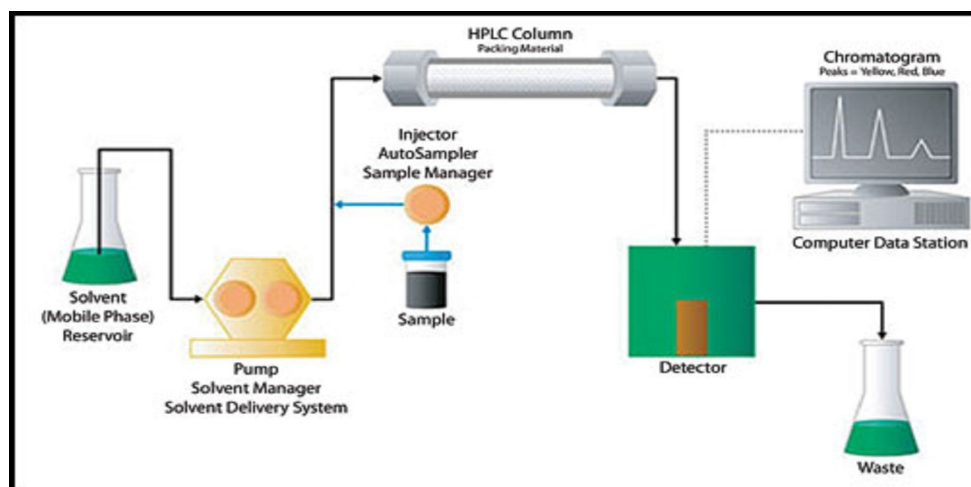
A CLAE tem sido utilizada em várias áreas da ciência, no acompanhamento de sínteses, em análises de pesticidas, feromônios, no isolamento de produtos

naturais e sintéticos e na produção e controle de qualidade de medicamentos, dentre tantas outras aplicações. A figura 12 mostra um gráfico de cromatografia líquida de alta eficiência, na parte a) é a separação da margarina e na parte b) separação da maionese.



**Figura 12** Cromatogramas obtidos por CLAE de amostras de (a) margarina e (b) maionese. Condições: fase móvel acetonitrila: água (7:3 v/v), fluxo 1 ml/min, detector de fluorescência, coluna  $C_{18}$ , (24cmx 4,6mm d.i.) com partículas de 5 mm. (Fonte: <http://www.scielo.br/scielo>)

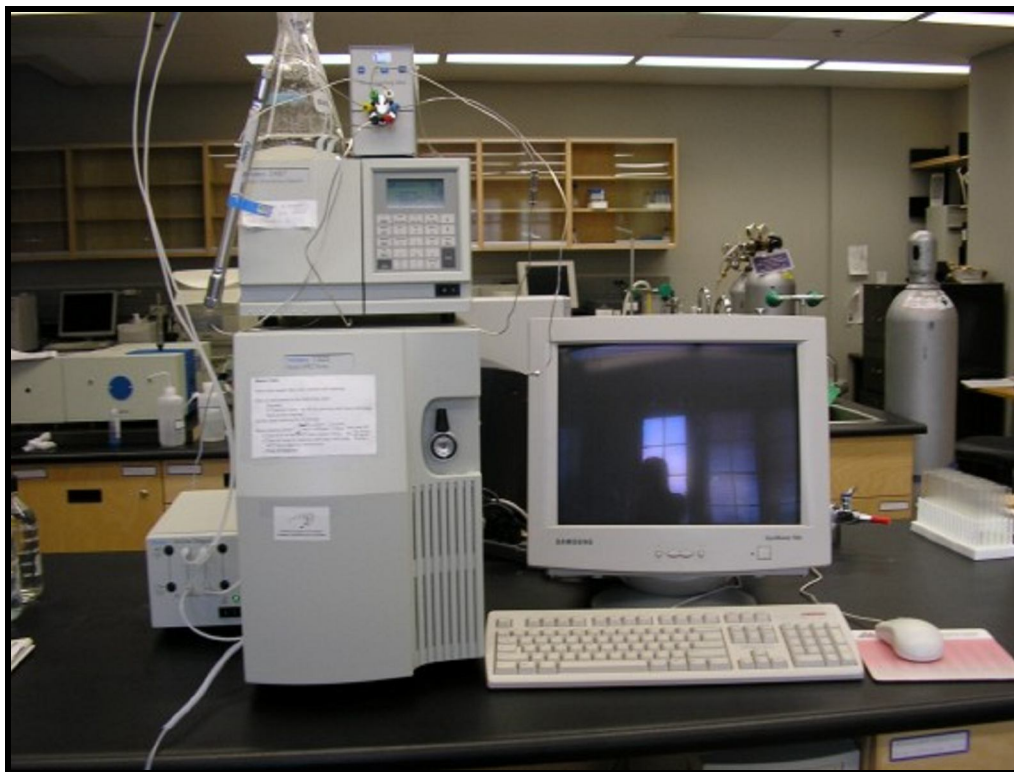
A figura 13 mostra um fluxograma do equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência.



**Figura 13** – Fluxograma para cromatografia líquida de alta eficiência (Fonte: [http://www.comsol.com/shared/images/stories/waters\\_corp\\_hplc\\_systems/html/figure2.jpg](http://www.comsol.com/shared/images/stories/waters_corp_hplc_systems/html/figure2.jpg))



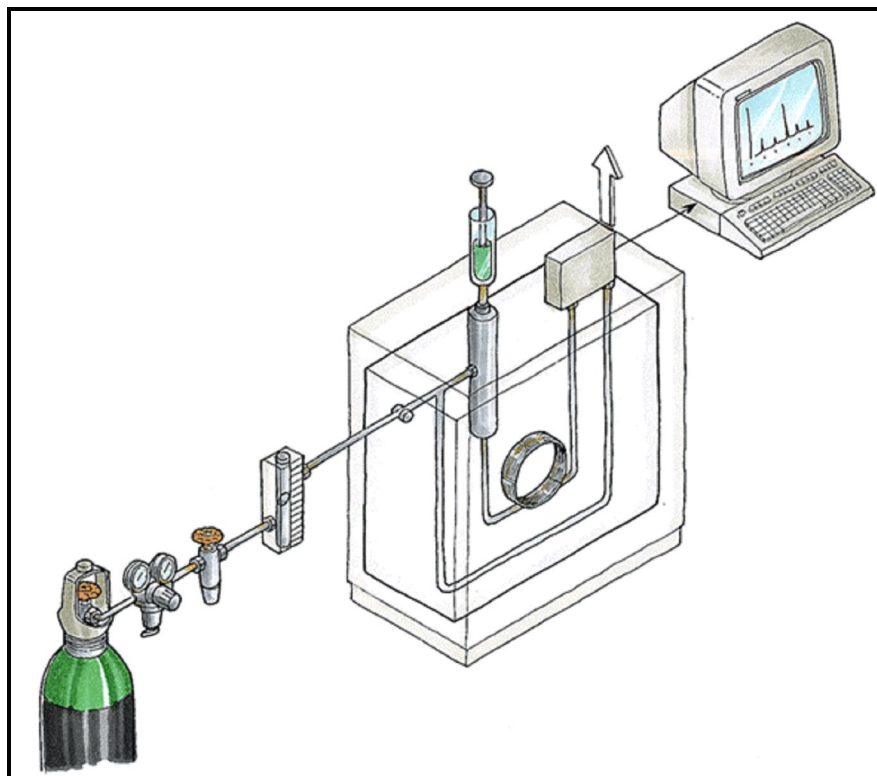
A figura 14 mostra a foto de um cromatografo de cromatografia líquida de alta eficiência.



**Figura 14** – Cromatografo líquido de alta eficiência  
(Fonte: <http://www.biochem.uwo.ca/BICF/BICF-instrumentation.html>)

## 2. CROMATOGRAFIA GASOSA

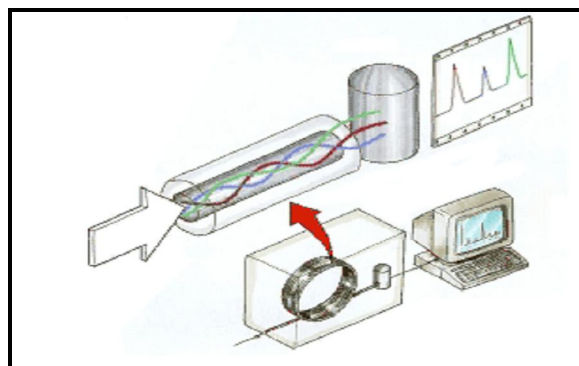
A cromatografia gasosa é uma das mais importantes técnicas analíticas disponíveis atualmente. Na cromatografia gasosa a amostra é transportada por uma corrente de gás através de uma coluna empacotada com um sólido recoberta com uma película de um líquido. Devido a sua simplicidade, sensibilidade e efetividade para separar os componentes de misturas, a cromatografia de gás é uma das ferramentas mais importantes para separação e identificação de compostos orgânicos voláteis. A figura 15 mostra um esquema simples de um cromatografo gasoso.



**Figura 15** – Cromatógrafo gasoso

(Fonte: [http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal\\_gaschrom](http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal_gaschrom))

Dentro da cromatografia gasosa o processo físico de separação divide a amostra em componentes individuais. Para ocorrer essa separação temos que ter uma fase móvel gasosa e a outra fase estacionária líquida ou sólida. A figura 16 ilustra a separação dos analitos no interior de uma coluna cromatográfica.



**Figura 16** – Interior de uma coluna cromatográfica

(Fonte: [http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal\\_gaschrom](http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal_gaschrom))

O gás de arraste que serve para arrastar as moléculas dentro da coluna, tem que ser um gás inerte, ou seja, esse gás não pode reagir em hipótese alguma com seu analito. Primeiramente deve-se introduzir a mistura de prova ou amostra em uma corrente de gás inerte, normalmente hidrogênio, hélio, nitrogênio ou argônio, que atuarão como gás de arrastre. A escolha do gás de arrastre depende do tipo de detector que é utilizado e dos componentes a determinar (CIOLA, 1973).

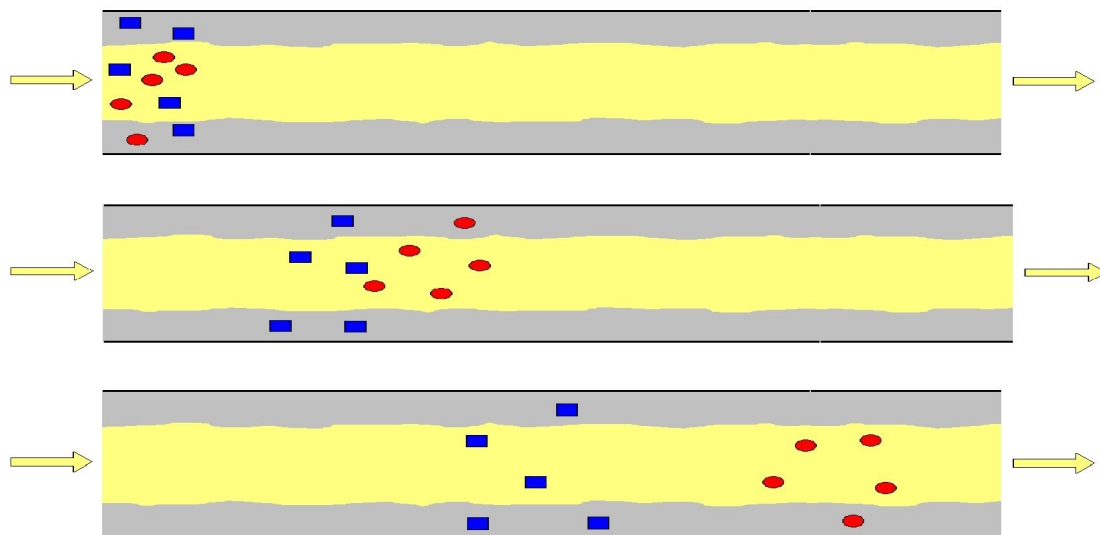
As amostras líquidas vaporizam-se antes da injeção no gás de arrastre. O fluxo de gás passa pela coluna empacotada através da qual os componentes da amostra se deslocam a velocidades influenciadas pelo grau de interação de cada componente com a fase estacionária não volátil. As substâncias que têm a maior interação com a fase estacionária são retidas por mais tempo e, por tanto, separadas daquelas de menor interação. À medida que as substâncias eluem da coluna podem ser quantificadas por um detector e/ou tomadas para outra análise (LANÇAS, 1993).

A cromatografia gasosa classifica-se, de acordo com a natureza da fase estacionária, em cromatografia gás-sólido (CGS) e cromatografia gás-líquido (CGL). A fase estacionária pode ser um sólido (CGS) ou um líquido imobilizado sobre um suporte inerte (CGL), sendo que a CGL é a mais versátil e seletiva forma de cromatografia a gás, devido à grande diversidade de fases líquidas disponíveis.

Na cromatografia gás líquido a fase estacionária é uma película delgada, a qual recobre um sólido inerte denominado suporte. A separação ocorre quando as moléculas entram na coluna, e a molécula que apresenta maior solubilidade seletiva com a fase estacionária, permanece mais tempo dentro da coluna ocorrendo assim a separação da molécula (LANÇAS, 1993).

Na cromatografia gás sólido, a fase estacionária é um sólido que adsorverá as moléculas. Sendo assim, a molécula que tiver maior interação com a fase estacionária, deve demorar mais para percolar a coluna analítica e terá um maior tempo de retenção dentro da coluna, em seguida as moléculas são identificadas pelo detector.

A figura 17 vai mostra como a amostra vai separar-se dentro da coluna, sendo que os pontos vermelhos tendo uma maior interação com a fase móvel.



**Figura 17-** Separação dentro da coluna  
(Fonte: [www.sofiltro.com.br/imagens/home/gases4.jpg](http://www.sofiltro.com.br/imagens/home/gases4.jpg))

## 2.1 COLUNA DE CROMATOGRAFIA GASOSA

A escolha da coluna apropriada é uma das etapas mais importantes no processo cromatográfico, uma vez que é nela que a separação desejada irá ocorrer. Atualmente para a escolha de uma coluna cromatográfica é bem complexa pois a busca de uma coluna ideal não se limita aquela que simplesmente separa os componentes em estudo, mas sim aquela que além de separar, consiga separar em um espaço de tempo curto, picos simétricos, reproduzíveis, linha de base estável e condições ótimas de operação (LANÇAS,1993).

A coluna cromatográfica é um tubo longo que tem a fase estacionária, e essa coluna pode ser de vários tipos de materiais, sendo que este material não pode interagir com o analito a ser analisado.

Existem dois tipos de coluna para cromatografia gasosa:

- Coluna capilar;
- Coluna empacotada.

### 2.1.1 Coluna capilar

As colunas para cromatografia gasosa nas quais o suporte sólido é recoberto por uma fina camada de fase líquida, sendo que este conjunto é acondicionado de forma bastante coesa em um tubo cromatográfico.

Ao usar uma coluna longa e de diâmetro interno estreito Lanças conseguiu um caminho aberto sem restrições, para o gás de arraste e as moléculas da amostra ao longo do tubo da coluna. Uma vez que agora a fase líquida é distribuída na forma de um filme fino o qual recobre a parede interna da coluna, a difusão das moléculas dentro e fora desta fase será muito maior do que no caso da coluna empacotada (LANÇAS, 1993).

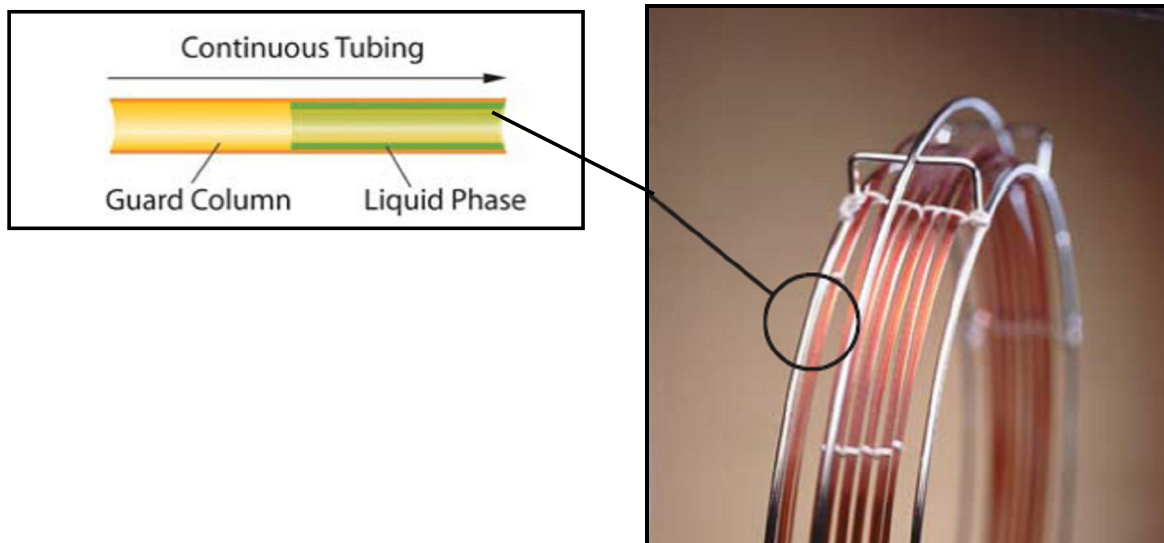
A grande maioria das análises é realizadas em colunas capilares estreitas e compridas, feitas de sílica fundida e recoberta com poliimida, para suportar e proteger a coluna da umidade atmosférica. As colunas capilares oferecem maior resolução, menores tempos de análises e maior sensibilidade (HARRIS, 2008).

A figura 18 mostra a) coluna cromatográfica, e mostra também b) interior da coluna capilar, para cromatografia gasosa.

a) Coluna capilar



## b) Interior da coluna capilar

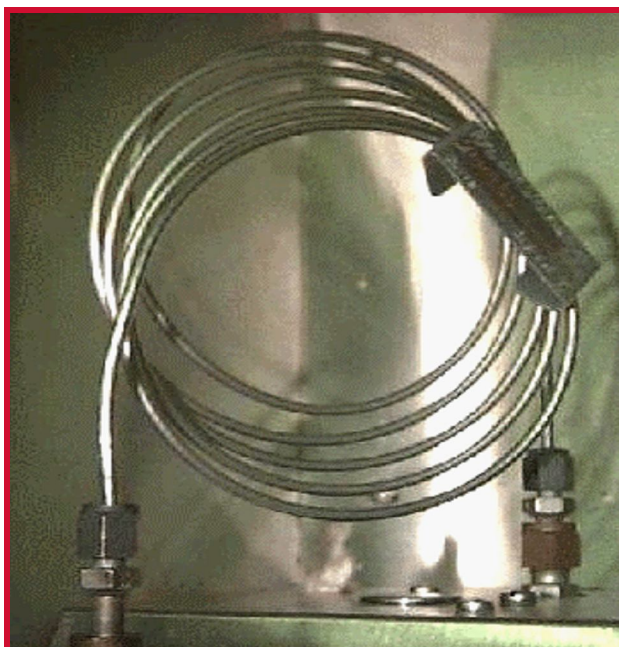


**Figura 18** - Colunas capilar para cromatografia gasosa  
 (Fonte: [http://www.frankelanalitica.com.br/restek\\_coluna\\_gc.html](http://www.frankelanalitica.com.br/restek_coluna_gc.html))

### 2.1.2 Coluna empacotada

Em cromatografia gás-sólido a fase estacionária é um sólido acondicionado dentro de uma coluna; a separação dos componentes presentes na amostra em estudo dependerá da adsorção seletiva nas partículas do suporte. Esta técnica tem sido mais largamente utilizada na análise de gases e compostos de baixo ponto de ebulição. Apesar disto, em diversos casos, especialmente na análise de poluentes ao nível de traços, o uso de adsorventes tem mostrado melhores resultados que aqueles obtidos empregando-se cromatografia gás - líquido (partição) (LANÇAS, 1993).

As colunas empacotadas contem partículas finas de um suporte sólido recoberto com fase estacionária líquida não volátil, ou o próprio sólido pode ser a fase estacionária, as colunas empacotadas possuem uma maior capacidade de amostra, produzindo entretanto picos mais largos, tempo de tensão maiores e menores resolução (Harris, 2008).

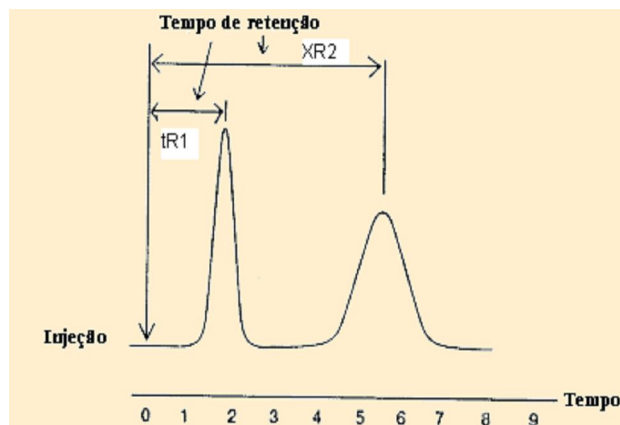


**Figura 19** - Coluna empacotada  
(Fonte: [www.cromacon.com.br/images/img\\_cg\\_acess.jpg](http://www.cromacon.com.br/images/img_cg_acess.jpg))

### 2.1.3 Avaliação de colunas

Todas as colunas adquiridas prontas ou preparadas pelo usuário devem ser avaliadas antes de serem usadas, tanto em análises de rotina como em pesquisa.

Esta avaliação é feita através da análise dos parâmetros cromatográficos, que podem ser calculados com os dados experimentais obtidos em um cromatograma típico, após a injeção de amostras conhecidas como mostra a figura 20.

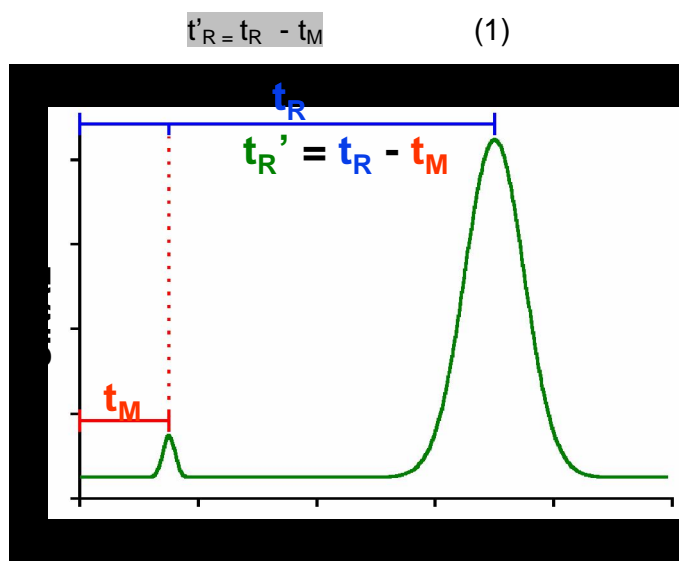


**Figura 20** – Cromatograma ilustrando tempo de retenção  
(Fonte: <http://www.cepis.org.pe/tutorial1/p/monimedi/index.html>)



O tempo de retenção de um soluto,  $t_{R1}$  é o tempo gasto desde o momento da injeção até a saída do máximo do pico. O tempo de retenção de um soluto não retido,  $t_{M1}$  é o tempo gasto por ele para percorrer todo o sistema cromatográfico desde a injeção até a saída da coluna. Estes valores são obtidos diretamente do cromatograma quando o sistema possui um integrador eletrônico (COLLINS, 1997).

O tempo de retenção ajustado,  $t'_R$ , é o tempo real que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária, calculado pela expressão (1). A figura 21 mostra o tempo  $t_R$  no cromatograma.



**Figura 21** – Tempo de retenção ajustado.  
(Fonte: Naves,H.J 1980).

Onde:  $t_R$  – Tempo de retenção ,  $t_M$  – Tempo mínimo de retenção de um composto que não interaja com a fase estacionária e  $t'_R$  – Tempo de retenção ajustado.

O fator de retenção  $K$ , diz respeito a retenção do soluto e é determinado pela razão dos tempos em que as moléculas do soluto ficam retidas na fase estacionária e percorrendo a coluna na fase móvel , de acordo com a expressão (2):

$$K = (t_R - t_M) / t_M = t'_R / t_M \quad (2)$$

Os valores de  $K$  devem variar entre 2 e 10 para dois componentes . Valores maiores que 10 significam uma forte interação do soluto com a fase estacionária e, conseqüentemente, um longo tempo de análise. Por outro lado, valores de  $K$



menores que 2 implicam em pouca interação com a fase estacionária, o que pode ser prejudicial à análise (ZEFERINO, 2001).

A resolução,  $R_s$ , é a medida quantitativa do grau de separação entre dois picos adjacentes e pode ser calculada de acordo com a expressão (3):

$$R_s = 2[(t_{R2} - t_{R1}) / (W_{b1} + W_{b2})] = 1,177 [(t_{R2} - t_{R1}) / (W_{h1} + W_{h2})] \quad (3)$$

Onde:

$t_{R1}$  e  $t_{R2}$  = tempo de retenção de dois picos adjacentes;

$W_{b1}$  e  $W_{b2}$  = largura dos picos na base em unidade de tempo;

$W_{h1}$  e  $W_{h2}$  = largura dos picos a meia altura, em unidades de tempo.

Valores de  $R_s = 1$  tem-se 98% de separação;  $R_s = 1,25$  tem-se 99,5% de separação e  $R_s$  maior ou igual a 1,5 são considerados ideais, com 100% de separação, ou seja, as duas substâncias têm uma separação até a linha básica; fato importante em análises quantitativas, pois a medida exata da área depende da resolução total das substâncias envolvidas (COLLINS, 2006).

Outro parâmetro cromatográfico relacionado com a separação de dois picos adjacentes é o fator de separação,  $\alpha$ , que é calculado pela razão entre os respectivos fatores de retenção,  $K_2$  (analito mais retido) e  $K_1$  (analito menos retido) que são, por sua vez, relacionados aos tempos de retenção ajustados conforme a expressão (4).

$$\alpha = K_2 / K_1 = t'_{R2} / t'_{R1} \quad (4)$$

O fator de separação mede a seletividade de um sistema cromatográfico. Assim, quanto mais seletivamente a fase estacionária reter o segundo componente que está sendo analisado, maior será o fator de separação. Se  $\alpha = 1$ , não existem diferenças termodinâmicas entre os dois componentes em um dado sistema e eles não podem ser separados. Entretanto, quando  $\alpha > 1$  não significa que os picos estão totalmente separados, porque eles podem ser largos e estarem parcialmente sobrepostos. Consequentemente, não somente com valores elevados de  $\alpha$  se

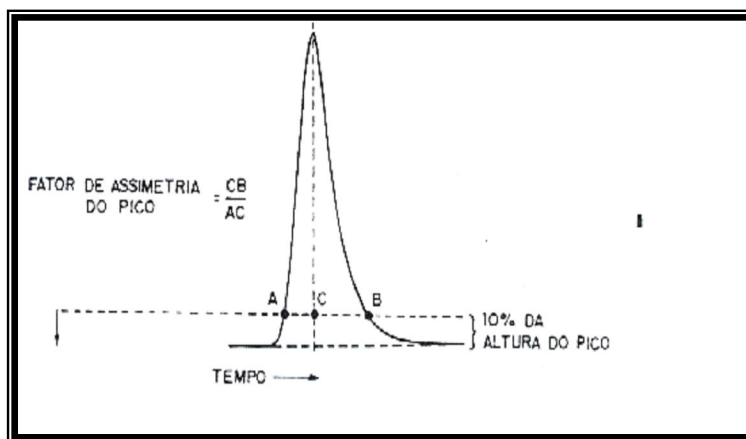
conseguir separação, é necessário também que os picos estejam estreitos (COLLINS, 1997).

Um dos parâmetros utilizados para avaliar a eficiência de uma coluna é o número de pratos,  $N$ . Um prato é equivalente a uma etapa onde se atinge um equilíbrio termodinâmico entre a fase móvel, a fase estacionária, e o analito que está sendo analisado e é calculado pela equação (5) (CIOLA, 1973).

$$N = 16 (t_R / W_b)^2 = 5,545(t_R / W_h)^2 \quad (5)$$

No cromatograma, a eficiência é observada através do formato do pico. Quanto mais estreito for o pico cromatográfico, maior a eficiência da coluna na análise do analito em estudo. Este conceito de número de pratos somente é válido para cromatogramas obtidos isotermicamente e em condições isocráticas, e ele é calculado a partir do cromatograma da figura 22 (CIOLA, 1973).

A expressão 5 só é válida para picos simétricos. Para bandas assimétricas aumentam-se os erros no cálculo de  $N$  e a eficiência não pode ser expressa por este valor. É necessário então, calcular o fator de assimetria do pico,  $A_s$ , medido a 10% da altura do pico como mostra a figura 22. O valor de  $A_s$  ideal deve ficar no intervalo de 0,9 a 1,2. Valores de até 1,6 são aceitáveis, porém valores maiores que estes devem ser evitados e as colunas descartadas, indicando problemas na sua preparação (ZEFERINO, 2001).

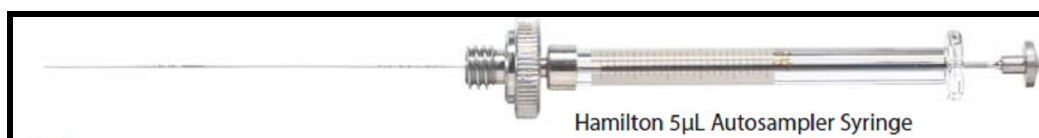


**Figura 22** – Medida e cálculo do fator de assimetria do pico.  
(Fonte: Lanças, 1993)

## 2.2 SISTEMA DE INJEÇÃO DA AMOSTRA

A injeção da amostra deve ser feita de tal maneira que se obtenha uma banda única e estreita, sendo que falhas nas técnicas de injeção podem causar assimetria nos picos. A quantidade de amostra injetada não deve ultrapassar a capacidade da coluna, determinada pela quantidade de fase estacionária. Deve também ser reproduzível para tornar possível a análise quantitativa. A eficiência de uma coluna é influenciada pelo volume de amostra injetada; uma diminuição no volume da amostra influencia os tempos de retenção. Assim, picos com assimetria frontal terão um maior tempo de retenção à medida em que o volume da amostra injetada aumenta: o inverso ocorre para picos com caudas. O sistema de injeção deve ser aquecido em uma temperatura suficiente para que ocorra a vaporização de toda a amostra (BONATO, 1997).

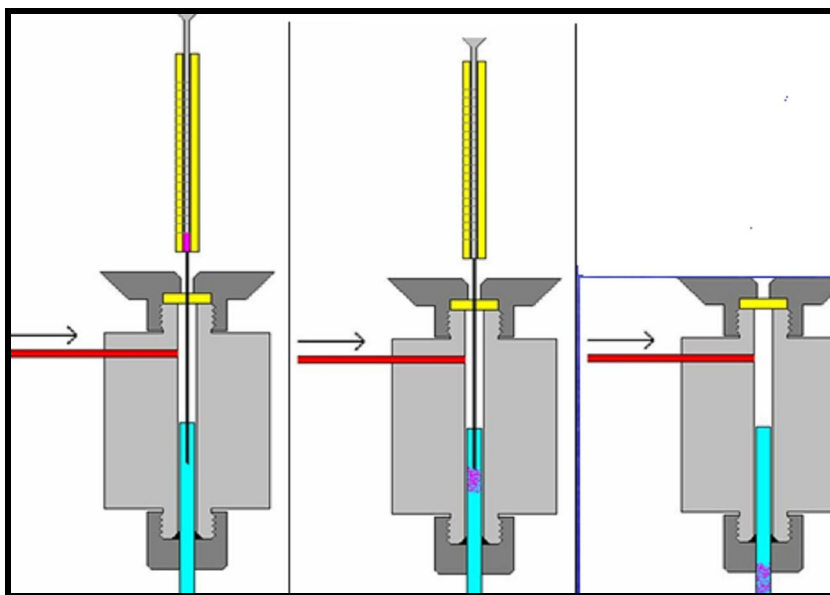
Uma boa técnica para injeção de uma amostra líquida em análise cromatografia, é por meio de uma micro seringa. Depois de limpar a seringa várias vezes com solvente, fazemos uma sequência de admissões na seringa: inicialmente ar, depois solventes, novamente ar, então a amostra e finalmente mais ar. Quando a agulha é inserida através de um septo de borracha para dentro da entrada de injeção do cromatógrafo, que esta aquecida, a amostra não evapora imediatamente, pois não há nenhuma amostra na agulha. Se houvesse amostra na agulha, os componentes mais voláteis evaporariam antes da amostra ser injetada. A bolha de ar atrás da amostra na seringa evita que a amostra e os solventes se misturem. O solvente retira qualquer amostra que possa estar retida na agulha e a bolha final de ar expelle todo solvente da agulha. Muitos sistemas automáticos de introdução de amostra propiciam esta injeção em forma de “sanduíche” (Harris, 2008). A figura 23 ilustra um micro seringa para cromatógrafo gasosa.



**Figura 23** - Micro - Seringa para cromatografia

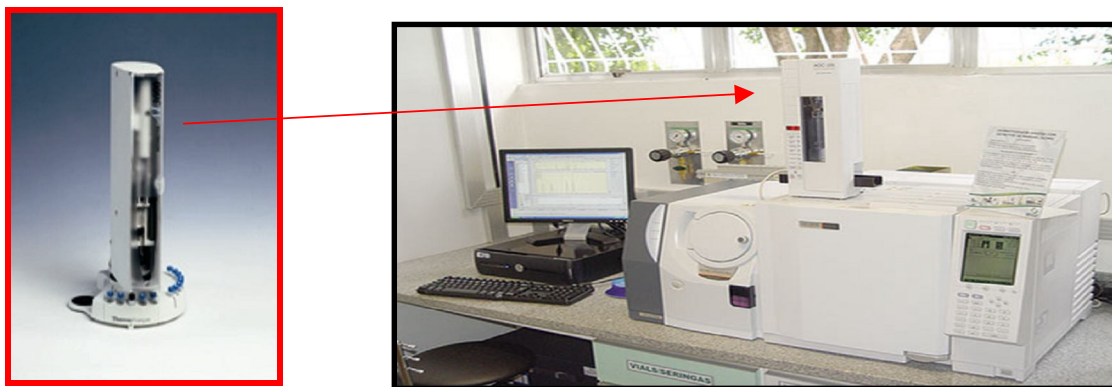
(Fonte: <http://portuguese.alibaba.com/product-gs/micro-sample-syringe-260572130.html>)

A figura 24 explica passo a passo como fazer a injeção de uma amostra em um cromatografo gasoso, Ponta da agulha da microseringa é introduzida no início da coluna, amostra injectada é vaporizada instantaneamente no início da coluna, "Plug" de vapor de amostra forçado pelo gás de arraste a fluir pela coluna, volume injectado depende da coluna, do detector e do estado físico da amostra.



**Figura 24** - Sistema de instrumentação para injeção da amostra  
(Fonte: <http://portuguese.alibaba.com/product-gs/micro-sample-syringe-260572130.html>)

Na figura 25 esta mostrando uma nova tecnologia em injeção de amostra é um injetor automático, esse equipamento consegue fazer todas as injeções sempre no mesmo volume e na mesma velocidade.



**Figura 25** - Injetor automático isolado e acoplado ao cromatografo gasoso  
(Fonte: [http://www.ibtec.org.br/site/content/internas/index.php?request=tamp\\_one&group=2&session=Laborat%](http://www.ibtec.org.br/site/content/internas/index.php?request=tamp_one&group=2&session=Laborat%))

## 2.3 GÁS DE ARRASTE

A função do gás de arraste é levar a amostra injetada ao detector passando pela coluna onde a separação vai ocorrer.

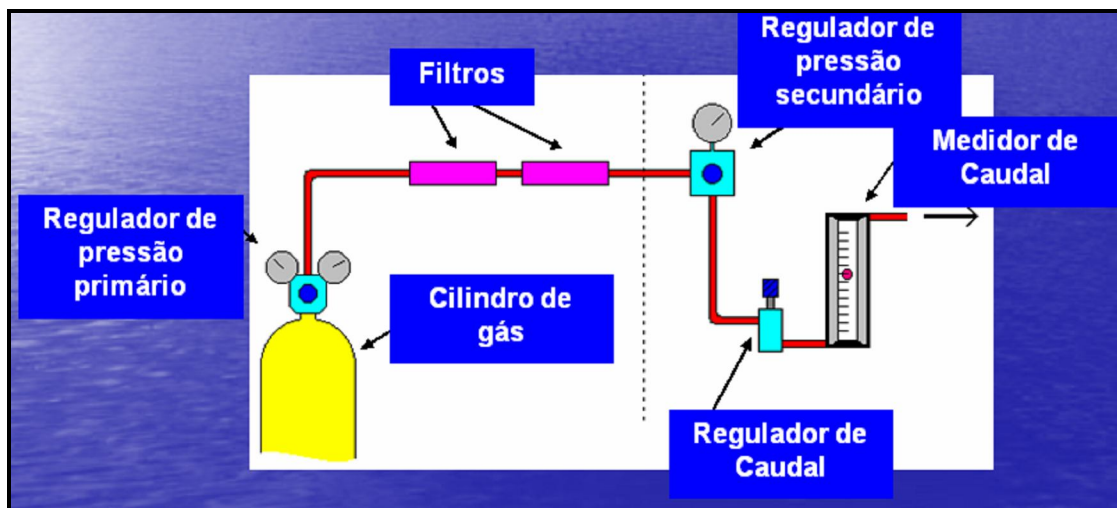
O gás de arraste tem que ser um gás inerte, ou seja, um gás que não vai reagir com seu analito, e que só vai ter o papel de fazer com que sua substância percorra toda a coluna e chegue no detector. O gás mais utilizado em cromatografia é o Hélio, sendo compatível com a maioria dos detectores. Para um detector de ionização de chama, o Nitrogênio permite um limite de detecção menor que o He. Existem alguns problemas em se usar o hidrogênio, ele pode reagir cataliticamente com compostos insaturados na superfície metálica e não pode ser usado com um detector de espectrometria de massa, pois o hidrogênio não seja usado como gás de arraste, é que ele forma misturas explosivas com o ar quando sua concentração é superior a 4% em volume (HARRIS, 2008). A figura 26 mostra tipos diferentes de cilindros de gases.



**Figura 26** - Cilindros de gás de arraste

(Fonte: [http://img.alibaba.com/photo/262326960/GB5099\\_Standard\\_Gas\\_Cylinder.jpg](http://img.alibaba.com/photo/262326960/GB5099_Standard_Gas_Cylinder.jpg))

A figura 27 mostra um sistema completo de alimentação do gás de arraste para um cromatografo gasoso.



**Figura 27-** Alimentação do gás de arraste

(Fonte: <http://in3.dem.ist.utl.pt/labcombustion/EMEEcourse/presentations/pres3.pps>)

## 2.4 SISTEMA DE DETECÇÃO

A função do detector em um sistema cromatográfico é acusar a presença e medir a quantidade de componentes no efluente da coluna. De acordo com a forma de resposta os detectores podem ser classificados em integrais ou diferenciais. Os detectores diferenciais medem a diferença instantânea na composição do efluente da coluna, enquanto que os integrais medem a quantidade acumulada do componente da amostra que chega ao detector. Os detectores podem ser sensíveis à concentração ou à massa de um dado analito. Os detectores sensíveis à massa apresentam resposta proporcional à quantidade do componente que chega ao detector por unidade de tempo, enquanto que os sensíveis à concentração apresentam resposta proporcional à concentração de um componente da amostra na fase móvel.

Com relação à seletividade, os detectores podem ser universais, seletivos ou específicos. Os detectores universais respondem a todos os compostos presentes no efluente da coluna, com exceção da fase móvel, os seletivos respondem a um determinado grupo de componentes presentes na fase móvel, enquanto que os específicos respondem a um único componente ou a um número limitado de componentes de características químicas similares(LANÇAS,1993).

O detector deve ser escolhido de acordo com que você irá analisar, também deve ter algumas características muito importantes, como sensibilidade elevada,

baixo nível de ruídos, tempo de resposta excelente ampla faixa de linearidade, e que consiga captar uma quantidade mínima de composto, pois cada detector tem um composto químico que tem a maior afinidade com o composto, e também deve se analisar a seletividade, sensibilidade, ruído, quantidade mínima de detecção, e sua faixa linear. Os detectores que a seguir vão ser mostrados são: condutividade térmica, ionização de chama, captura eletrônica, termiônico e fotométrico de chama.

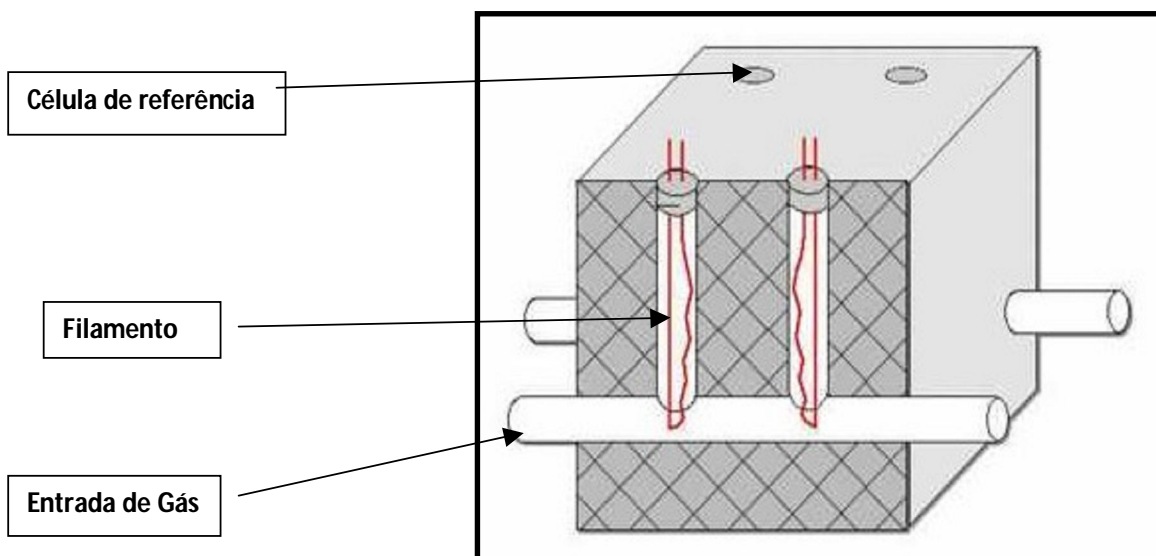
#### **2.4.1 Detector por condutividade térmica - TCD**

São detectores de respostas universais, respondem na presença de todos os compostos orgânicos sensíveis à concentração. Seu funcionamento baseia-se no princípio de que um corpo quente perde calor a uma velocidade que depende da composição dos gases que o circundam. Assim, a velocidade de perda de calor pode ser usada como uma medida de composição do gás.

Neste detector, o corpo quente é um conjunto de filamentos de metal (platina, tungstênio, níquel) dentro de um bloco metálico. A linha de gases é montada de forma que somente o gás de arraste passe por uma das celas contendo os filamentos, enquanto que o efluente da coluna passa pela outra. Os filamentos aquecidos, são ligados formando uma ponte de Wheatstone, e perdem calor de maneira constante quando somente o gás de arraste passa pelas duas celas. Essa perda de calor gera um sinal constante que é registrado na forma de linha de base. Quando há moléculas da amostra saindo da coluna junto com o gás de arraste, ocorre a perda de calor pelo filamento nesta cela, em uma velocidade menor, gerando um sinal (BONATO, 1997).

No passado, os detectores de condutividade térmica eram provavelmente os mais utilizados em cromatografia gasosa, pois são simples e universal e ainda respondem a todos os analitos. Infelizmente, a condutividade térmica não é suficientemente sensível para detectar quantidades diminutas do analito eluído de colunas capilares com menos que 0,53 mm de diâmetro. Os detectores de condutividade térmica continuam a serem usados em colunas com 0,53 mm de diâmetro e em colunas empacotadas. É comum dividirmos o gás de arraste em dois fluxos, um através da coluna analítica e outro através de uma coluna de referência. Cada fluxo passa por um filamento diferente, ou alternadamente por um único filamento. A resistência do filamento da amostra é medida em relação a do filamento

da referência, a coluna de referência diminui a diferença do fluxo quando a temperatura varia. A sensibilidade aumenta com o quadrado da corrente do filamento. No entanto, a corrente máxima recomendada não deve ser ultrapassada a fim de evitar a queima do filamento. O filamento nunca deve permanecer ligado quando o gás de arraste não estiver ligado (HARRIS, 2008). A figura 28 ilustra um detector de condutividade térmica.



**Figura 28** – Detector de condutividade térmica  
(Fonte: Bonato, 1997)

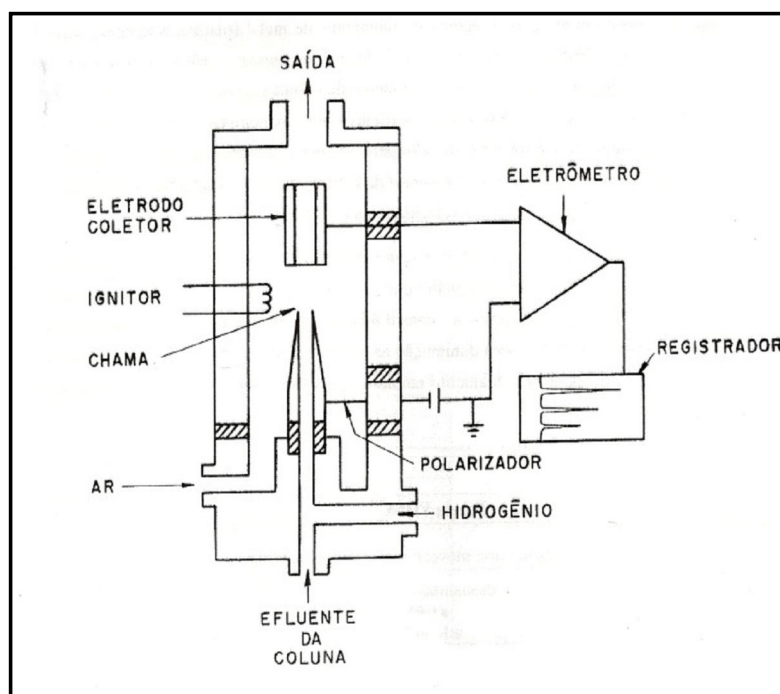
#### 2.4.2 Detector por ionização de chama - FID

Esse detector é bastante popular devido a alta sensibilidade e resposta quase universal, apesar de responder a propriedade do soluto; é sensível ao fluxo de massa passando por ele em um determinado tempo. O gás de arraste chega ao detector e uma chama produzida pela combustão de ar e hidrogênio queima e ioniza algumas das moléculas presentes nesta corrente gasosa, impurezas presentes no gás de arraste, produtos originados das sangrias da coluna e septo. Quando moléculas da amostra presentes no gás de arraste chegam ao detector, elas são queimadas na chama, ocorre a formação de íons, que são coletados para um eletrodo. A quantidade de íons formados quando a amostra está presente no gás eluente é muito maior que a quantidade formada quando somente o gás de arraste



está sendo queimado. A corrente gerada é convertida em voltagem, amplificada e captada pelo registrador (BONATO, 1997).

No detector de ionização de chama o eluato é queimado em uma mistura de Hidrogênio e ar. Os átomos de carbono (exceto aqueles provenientes de carbonilas ou carboxilas) produzem radicais CH, que acredita formarem íons de  $\text{CHO}^*$  e elétrons na chama. Apenas 1 em cerca de 100000 átomos de carbono produz um íon, mas a produção de íons é proporcional ao número de átomos de carbono suscetíveis que entram na chama. Na ausência de analito, aproximadamente  $10^{-14}$  ampéres fluem entre a extremidade do queimador e do coletor, que é mantido de +200 a 300 V em relação à extremidade do queimador. Os analitos eluídos produzem uma corrente de aproximadamente  $10^{-12}$  ampéres, que é convertida em diferença de potencial, amplificada, filtrada para remoção de ruídos de alta frequência e, finalmente, convertida em sinal digital (HARRIS, 2008). A figura 29 explica todos os componentes do detector por ionização de chama.

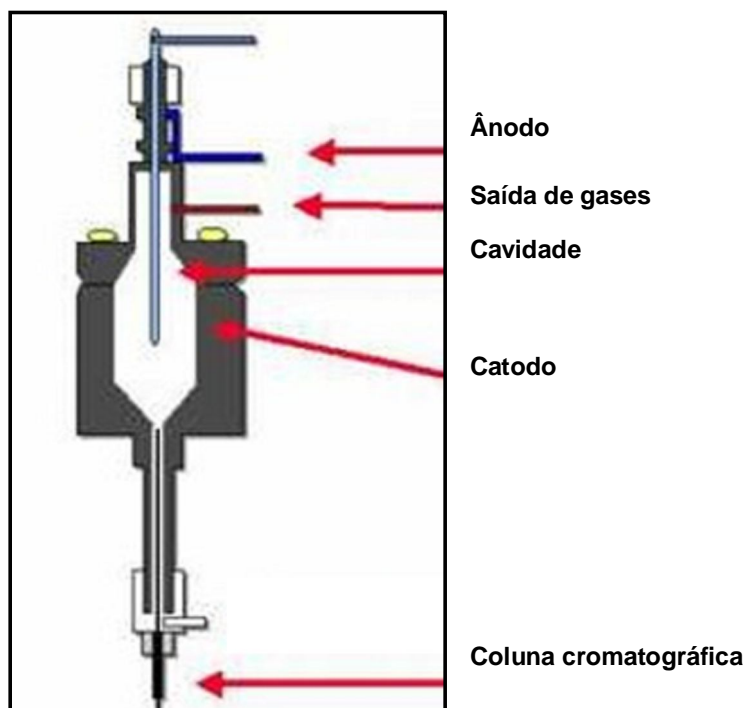


**Figura 29:** Detector de ionização de chama  
(Fonte : Bonato, 1997)

### 2.4.3 Detector de captura de elétrons

Este detector é seletivo, respondendo muito bem a halogênios orgânicos conjugados, nitrilas, nitratos e organometálicos. É praticamente insensível a hidrocarbonetos, alcoóis e cetonas. A sensibilidade seletiva à haletos faz com este detector seja particularmente útil na análise de pesticidas clorados. Quando o gás de arraste ( $N_2$ ) passa pelo detector, é ionizada por partículas beta emitidas por fontes de  $^3H$  ou  $^{63}Ni$ . Os elétrons produzidos neste processo são coletados em um anodo, gerando uma corrente que é amplificada por um eletrômetro, resultando na linha de base. Moléculas eluindo da coluna, capazes de capturar elétrons, diminuem esta corrente, gerando um sinal proporcional a sua concentração (BONATO, 1997).

A maioria dos outros detectores conhecidos, diferentes dos de ionização de chama e condutividade térmica, respondem somente a certas classes de analito. O detector de captura de elétrons é sensível a moléculas que contenham halogênios, carbonilas conjugadas, nitrilas, nitrocompostos e compostos organometálicos, mas é relativamente insensível a hidrocarbonetos, alcoóis e cetonas. O gás de arraste ou o gás complementar deve ser o  $N_2$  ou a mistura de 5% de metano em argônio. A umidade diminui a sensibilidade. O gás que entra no detector é ionizado por elétrons de alta energia ("raios beta") emitidos de uma lâmina que contém o isótopo radioativo  $^{63}Ni$ . Os elétrons formados dessa maneira são atraídos para o anodo, produzindo uma pequena corrente estável. Quando as moléculas do analito, com uma alta afinidade por elétrons, entram no detector, elas capturam alguns dos elétrons. De modo a manter a corrente elétrica constante, o detector responde variando a frequência dos pulsos de potencial elétrico entre o anodo e o catodo. O detector de captura de elétrons é extremamente sensível, com um limite de detecção comparável com os detectores por espectrometria de massa com monitoramento seletivo de íons (HARRIS, 2008). A figura 30 ilustra um detector por captura de elétrons.



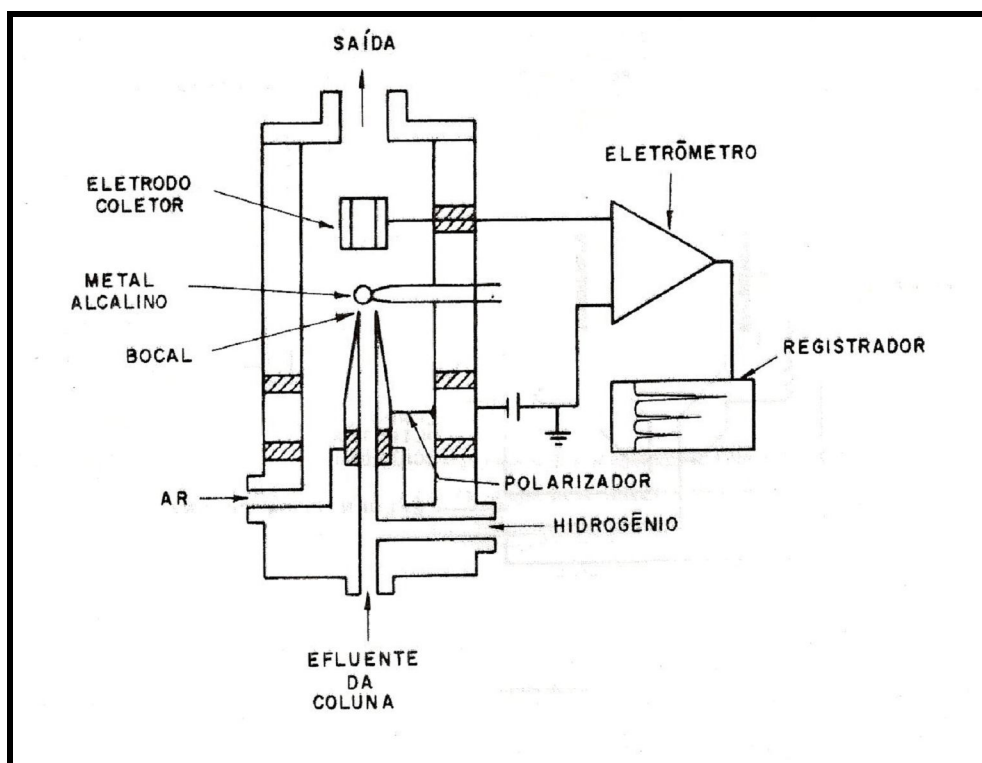
**Figura 30** - Detector por captura de elétrons  
(Fonte: Bonato, 1997)

#### 2.4.4 Detector termiônico – Detector de chama alcalina

Os detectores termiônicos são detectores por ionização em chama, onde utilizam-se sais de metais alcalinos em um plasma pela aplicação de um potencial elétrico adequado em um fluxo de ar e hidrogênio. Nestes detectores existe uma pérola de um sal de metal alcalino (brometo de céσιο ou sulfato de rubídio), eletricamente aquecido e colocado entre o queimador e o eletrodo coletor. A fonte é mantida em um potencial negativo para evitar a perda dos íons do metal alcalino, e para anular a resposta do detector no modo de ionização de chama. Na região de pérola existe a chama ou um plasma suportados pelo fluxo de ar e hidrogênio. A ação catalítica do metal alcalino em composto contendo nitrogênio ou fósforo forma íons com carga negativa, que são coletados no anodo (eletrodo coletor) para produzir uma corrente (BONATO, 1997).

O detector termiônico é um detector de ionização, onde, pela adição de um sal de metal alcalino (o rubídio) na chama, observa-se um incremento na resposta do detector para certos elementos, tais como fósforo, nitrogênio, enxofre, boro, como também para alguns metais, por exemplo, estanho, antimônio, arsênio e chumbo. A seletividade da resposta do detector é dependente da chama, da temperatura e da

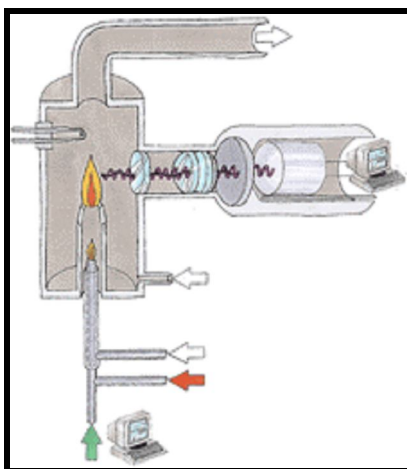
composição do sal. Medidas precisas dos gases da chama são essenciais para a sensibilidade do detector. Esse detector é muito utilizado em análises ambientais e biomédicas para detecção de resíduos de pesticidas e drogas, onde alta sensibilidade e seletividade são parâmetros necessários. A seletividade do TSD se deve ao fato que somente íons procedentes da ionização da amostra, com potencial igual ou menor que o potencial de ionização dos átomos de rubídio, contribuirão para corrente elétrica (BONATO ,1997). A figura 31 explica todos os componentes dos detector termiônico.



**Figura 31-** Detector termiônico ou de chama alcalina  
(Fonte: Bonato,1997)

### 2.4.5 Detector fotométrico de chama

O detector fotométrico de chama (FPD) permite medições sensíveis e seletivas de enxofre volátil, compostos de fósforo chumbo e ferro. O princípio de detecção é a formação de espécies de enxofre excitado ( $S_2^*$ ) e  $HOP^*$  em uma chama. Quando o eluato passa pela chama ar- $H_2$ , como no detector por ionização de chama os átomos excitados emitem luz característica. Um tubo fotomultiplicador mede a emissão de quimiluminescência característica dessas espécies. O filtro óptico pode ser trocado para permitir ao fotomultiplicador visualizar luz de 394 nm para a medição de enxofre ou 526 nm para fósforo. A resposta do detector ao fósforo é linear, ao passo que a resposta ao enxofre depende da concentração. Normalmente utiliza-se ( $N_2$ ) como gás de arrastre. A figura 32 mostra um detector fotométrico de chama.



**Figura 32:** Detector fotométrico de chama

(Fonte: [http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal\\_gaschrom](http://www.linde.com/International/Web/LG/Br/like35lgspgbr.nsf/docbyalias/anal_gaschrom))

### 3. CONCLUSÃO

Na busca para desenvolver uma técnica que conseguisse a separação de compostos presentes em uma planta, Tswett descobriu a cromatografia uma das maiores técnicas aplicadas hoje em dia, sendo que atualmente este método é muito empregado na identificação e separação de muitos compostos orgânicos.

Assim, a cromatografia representa o mais relevante conjunto de técnicas analíticas disponíveis no momento para a análise de substâncias químicas nos mais diferentes ambientes e matrizes, principalmente na botânica, na indústria farmacêutica, na química forense e no monitoramento das reações de síntese.

A importância principal deste trabalho foi enfatizar a cromatografia gasosa, e mostrar os outros métodos de cromatografias existentes. Porém para uma análise quantitativa e qualitativa confiável a cromatografia precisa recorrer a outras técnicas, com espectrometria de massa, espectrometria por absorção de infravermelho.

Em um sistema de análise de substâncias químicas é muito importante assegurar que a técnica em prática funciona adequadamente dentro das condições necessárias, pois a análise cromatográfica de uma matriz que contenha mais do que uma substância química, em geral envolve muitas etapas de manipulação para o preparo das amostras, a fim de garantir a qualidade dos resultados obtidos.

Este trabalho apenas apresentou um estudo introdutório dos principais tipos de cromatografia atualmente disponível para análise instrumental, dos mais diferentes produtos que a cromatografia consegue analisar.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONATO, P. S. Cromatografia Gasosa. In: COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Org.); **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7. ed. Campinas: UNICAMP, 1997. p. 141-181.

CASTANHO, J. R. **Um processo de separação de substancia**. Disponível em: <<http://jacintocastanho.planetaclix.pt/cromatografia.htm>>. Acesso em: 22.mar.2009.

CIOLA, R. **Introdução à cromatografia em fase gasosa**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 1973. p. 231.

CIOLA, R. **Fundamentos Da Cromatografia A Líquido De Alto Desempenho**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2003. p. 192.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 5ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997.

COLLINS, C. H. . BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatográficos** Campinas: Editora da Unicamp, 2006. p.456

DEGANI, A.L.G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC fundamentados, estratégias e validação serie e apontamentos**. 1.ed. São Carlos: Editora, EdUfscar, 2001. p.77

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. p. 886.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia em Fase Gasosa**. 1. ed. São Carlos: Acta Eventos, 1993. v. 1. p. 240.

MARTIN, A. J. P. **Cromatografia**. São Paulo. Disponível em: <[www.Wikipédia.com.br/cromatografia](http://www.Wikipédia.com.br/cromatografia). 2009. 4p. >. Acesso em: 14 ago. 2009.

NEVES, H. J. C. **Introdução à prática da cromatografia gás líquido**. Lisboa: Serviço gráfico da Universidade Nova de Lisboa, 1980. p. 106.

ZEFERINO G. A. M., **Desenvolvimento de um método analítico para a determinação de pesticidas em amostras de fluídos biológicos por CLAE com injeção direta da amostra**, UNESP- Instituto de Química, Araraquara, 2001.