

CROMATOGRAFIA LÍQUIDA OU CROMATOGRAFIA COM GÁS?

Antônio L. M. Murta*, Carol H. Collins, Kenneth E. Collins e Harold M. McNair**

Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas
13100 Campinas, SP, Brasil

(Recebido em 26/02/1981)

Em muitas discussões sobre cromatografia, esta pergunta é feita, indicando uma generalizada falta de conhecimento sobre estas duas técnicas analíticas.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Cromatografia com Gás (CG) raramente concorrem entre si. A confusão existe por causa da terminologia comum: ambos são métodos cromatográficos, separam e detectam substâncias, tem injetores, colunas, detectores, registradores com cromatogramas, fases estacionárias, fases móveis, etc.

Uma comparação resumida entre as duas técnicas está apresentada na Tabela 1, cujos fatores serão discutidos mais detalhadamente a seguir.

1. Princípio

Uma amostra para ser analisada por Cromatografia com Gás, deve ser volátil ou volatilizável através de derivados. A pressão de vapor da amostra (ou derivado) deve ser da ordem de 60 Torr, para ser arrastada através da coluna. A amostra deverá ser estável na temperatura de análise; caso contrário irá se decompor no sistema cromatográfico.

Para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, os componentes da amostra deverão ser solúveis na fase móvel e interagir diferentemente com a fase estacionária. A fase móvel também interage com a amostra e isto aumenta muito a versatilidade da CLAE. Como contraste, a fase móvel em CG é inerte e não influencia na separação. Em muitas separações por CG há necessidade de se recorrer à programação de temperatura, para se obter uma separação adequada. Por outro lado, em CLAE, em vez de eluição isocrática, se pode promover eluição com gradiente da fase móvel, isto é, muda-se uma característica da fase móvel (pH, polaridade, força iônica) com o tempo.

A flexibilidade na escolha de uma fase estacionária, que pode ser quimicamente ligada ao suporte, um adsorvente sólido, um trocador de íons ou um material que separa por exclusão, enfatizam a grande versatilidade e o imenso número de aplicações da CLAE.

2. Tipo de Amostra

Gases, líquidos e alguns sólidos, com peso molecular de 2 a 600 podem ser analisados facilmente por CG, porém existem casos de análises de amostras com pesos moleculares até 1200.

FATOR	CG	CLAE
Requisitos para amostra.	Amostra ou derivado volátil, termicamente estável na temperatura de operação do sistema cromatográfico.	Amostra deve ser solúvel na fase móvel.
Tipo de amostras.	Gases, líquidos e sólidos. PM 2 a 600 (até 1200 em certos casos).	Líquidos e sólidos, iônicos ou covalentes. PM 32 até 4.000.000.
Quantidades mínimas detectáveis.	10^{-12} g*	10^{-9} g**
Tempo de análise	Minutos até poucas horas.	Minutos até muitas horas.
Pratos teóricos	2.000 – 300.000.	500 – 25.000.
Capacidade preparativa	Pobre. Razoável em certos casos usando-se múltiplas injeções.	Boa, com facilidade de coleção e capacidade de automatização.
Capacidade analítica	Excelente. Separação de amostras com até 200 componentes.	Excelente. Detecção mais seletiva. Separação de até 50 compostos numa amostra.
Tempo de treinamento para um Químico se tornar proficiente	3 meses	6 meses

* Detector de ionização de chama ou de captura eletrônica.

** Detector de UV fixo.

Tabela 1 – Comparação entre Cromatografia com Gás (CG) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)^{3,6,7}.

Líquidos e sólidos, orgânicos e inorgânicos, iônicos e covalentes, podem ser analisados por CLAE. Moléculas com pesos moleculares 32 à 4.000.000 têm sido separadas. No entanto, para cada tipo de amostra deve-se encontrar uma fase estacionária adequada. Normalmente as fases estacionárias quimicamente ligadas ou as de sílica gel limitam o peso molecular a 1000-1500 enquanto que as destinadas à cromatografia de exclusão se estendem até a 4.000.000.

As colunas de troca iônica que separam cátions ou ânions aplicam-se à análise bem como à concentração de espécies.

* Depto. de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Pr.
** Dept. of Chemistry, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA.

A separação por pares iônicos, usando-se colunas com fase reversa quimicamente ligada tem ampliado as aplicações da CLAE, para separação de misturas que nenhuma outra técnica havia conseguido^{1,2}.

Somente nos últimos cinco anos, o enorme potencial oferecido por novas fases estacionárias, como micropartículas, com fase reversa quimicamente ligada, usando-se eluição com gradiente e por métodos especiais como a formação de pares iônicos, tornou-se possível a separação de amostras de compostos tais como corantes polares, drogas básicas e seus metabólitos, em amostras complexas como sangue, alimentos e solo.

Na Figura 1 apresentamos alguns cromatogramas que mostram um melhor desempenho analítico de uma técnica em relação à outra. Na Figura 2 tem-se cromatogramas de misturas que só poderão ser analisadas por uma das técnicas.

3. Quantidades Mínimas Detectáveis

Existem mais de 100 detectores descritos para uso em cromatografia. Porém entre os mais usados em CG, tem-se o detector de ionização de chama e o de captura eletrônica, que podem detectar 10^{-10} até 10^{-12} g.

Os detectores mais usados em CLAE são o de índice de refração que tem limite de detecção de 10^{-6} g enquanto o limite para a detecção espectrofotométrica de comprimento de onda fixo é 10^{-9} g para compostos com absorvidade extremamente alta.

Com o desenvolvimento de novos detectores, como o espectrofotômetro de comprimento de onda variável a até 190 nm, fluorômetros com ativação por laser, acoplamento direto com o espectrômetro de massa, isso somado à capacidade de derivatização em linha, elevou muito a sensibilidade e a seletividade de CLAE para a análise de traços de substâncias.

Na Tabela 2 apresentamos uma comparação dos detectores mais comuns usados nas duas técnicas.

4. Tempo de Análise

Este é um dos fatores que dificultam a comparação. Porém, baseando-se em experiências atuais, é possível afirmar que ambas as técnicas são rápidas e uma análise geralmente termina em poucos minutos.

As análises por CG consideradas longas podem se estender até uma hora e as por CLAE são de algumas horas ou até dias.

5. Eficiência e Seletividade da Coluna

Para uma comparação adequada seria necessário um estudo da eficiência da coluna (N = número de pratos teóricos) e seletividade (α = razão entre os coeficientes de partição). Colunas para CG, do tipo de recheio (ou empacotado) podem gerar de 2000-10000 pratos teóricos. Colunas capilares com até 100 metros de comprimento podem gerar até 300.000 pratos teóricos³.

Em CLAE, a medida de pratos teóricos é seriamente influenciada pela pressão e pelo tempo de análise.

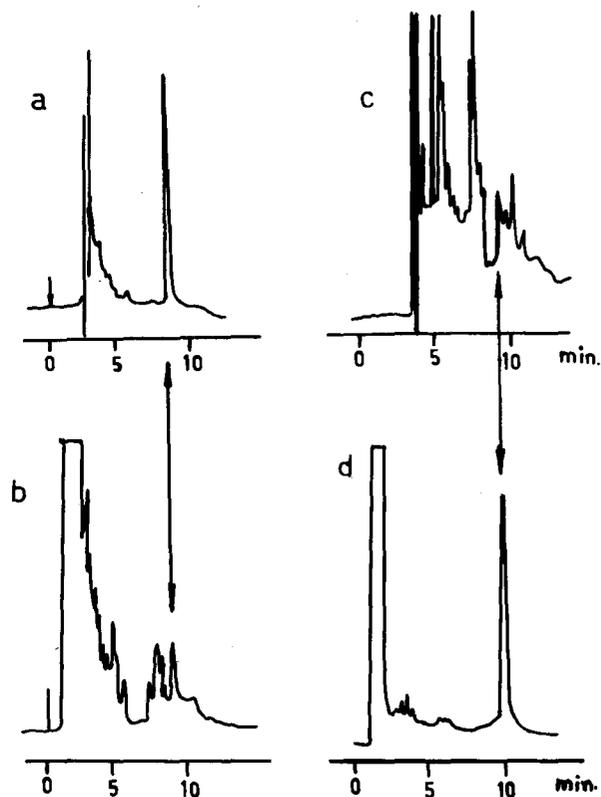


Fig. 1 - Cromatogramas mostrando um maior desempenho de um método em relação ao outro:

- a) 0,5 ppm de benzoil-propetila em milho CLAE-UV (254 nm).
- b) Idem, em CG - Captura Eletrônica.
- c) 0,5 ppm de Terbicina em milho CLAE-UV (254 nm).
- d) Idem, em CG - Captura Eletrônica.

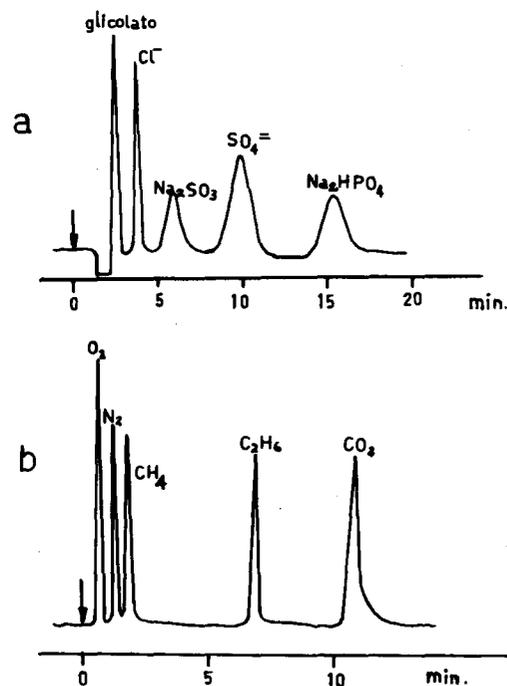


Fig. 2 - Separações de misturas que só poderão ser analisadas por uma das técnicas:

- a) CLAE-detector: condutiv(metro).
- b) CG-detector: condutividade térmica.

Tipicamente com uma vazão de 0,5 ml/min o limite é 25.000 pratos teóricos, mas com outras condições pode-se obter com as colunas comuns até 100.000⁴. Em um caso especial, foi observado⁵ 656.000 pratos teóricos em CLAE, com partículas de 20 μm^5 .

Para se otimizar uma separação, isto é, obter um tempo mínimo para uma boa separação, existem tabelas que apresentam N em função do diâmetro da partícula, pressão e tempo de análise⁶.

6. Capacidade Analítica e Preparativa

A CG é uma excelente técnica analítica, porém muito limitada na capacidade preparativa. Por outro lado a CLAE além de oferecer uma ampla possibilidade analítica, também é usada preparativamente. Colunas analíticas podem facilmente receber até 10 miligramas de amostra e ser usada na obtenção de espécies puras. A coleta das frações é fácil e eficiente, podendo ser totalmente automatizada.

7. Preço

O preço de um cromatógrafo líquido é geralmente de duas a três vezes maior do que o de um cromatógrafo de gás. As colunas para CLAE são de modo geral 10 vezes mais caras do que as colunas para CG e os solventes usados pela CLAE como fase móvel, também custam muito caro.

8. Conclusões

A CG e a CLAE normalmente não são concorrentes, mas se complementam, porque geralmente analisam diferentes tipos de amostras.

Nos casos em que ambas as técnicas podem analisar as mesmas amostras, prefere-se usar a CG, pois apresenta algumas vantagens, além de possuir alta sensibilidade, resolução adequada, rapidez nas análises e um custo operacional mais baixo.

O alto custo das fases móveis para CLAE (solventes com alto grau de pureza), geralmente importados, impõe que se purifique o disponível no mercado nacional, através de técnicas muitas vezes laboriosas.

Isto tudo, aliado ao alto custo do equipamento e da necessidade de um operador capacitado, indica uma maior preferência pela CG.

Por outro lado, para grandes quantidades ou para substâncias iônicas, para as orgânicas não voláteis, termo-lábeis, ou de alto peso molecular, a CLAE é a única alternativa.

Futuramente a CLAE deverá ser muito mais popular no Brasil, com muitos cromatógrafos líquidos funcionando ao lado dos cromatógrafos de gás.

Agradecimento

Os autores agradecem à FAPESP, CNPq e ao projeto PNUD/UNESCO pelos auxílios financeiros recebidos.

a) CLAE				
Detector	Seletividade	Sensibilidade	Faixa de linearidade	Quantidade mínima detectável (gramas)
Índice de Refração	Universal	3×10^{-9} g/s	10^4	10^{-6}
UV (fixo)	Seletivo	10^{-11} g/s	10^5	10^{-9}
UV (variável)	Seletivo	2×10^{-11} g/s	10^5	10^{-9}
Fluorescência (laser)	Muito Seletivo	10^{-14} g/s	10^4	10^{-12}
Radioatividade	P/compostos Radioativos	20-50 cpm no detector (qualquer volume).	10^6	—
Eletroquímico	Seletivo	10^{-9} g/s	10^6	10^{-9}
Infravermelho	Seletivo	10^{-7} g/s	10^4	—
Condutivímetro	Seletivo	10^{-9} g/s	10^6	10^{-8}

a) CG				
Detector	Seletividade	Sensibilidade	Faixa de linearidade	Quantidade mínima detectável (gramas)
Condutividade Térmica	Universal	6×10^{-10} g/s	10^4	10^{-5}
Ionização de chama	Compostos Orgânicos	9×10^{-13} g/s	10^7	2×10^{-11}
Captura Eletrônica	Espécies que capturam elétrons	2×10^{-14} g/s	10^2	2×10^{-13}
Álcali-P	Compostos fosforados	4×10^{-14} g/s	10^3	2×10^{-12}
Álcali-N	Compostos nitrogenados	7×10^{-12} g/s	10^3	2×10^{-10}
Fotoionização	Compostos com potencial de ionização < 10,2 e V.	—	10^7	2×10^{-12}

Tabela 2 — Comparação dos detectores mais comuns^{3,6,7}.

Antonio L.M. Murta agradece à CAPES pela bolsa de estudos e à Universidade Federal do Paraná pela concessão da licença de afastamento.

¹J. H. Knox e J. J. Jurand, *J. Chromatogr.*, 110, 103 (1975).

²R. Gloor e E. Johnson, *J. Chromatogr. Sci.*, 15, 413 (1977).

³H. M. McNair e E. J. Bonelli, "Basic Gas Chromatography", Varian Instrument Division, Palo Alto, California (1969).

⁴P. A. Bristow, *J. Chromatogr.*, 131, 57 (1977).

⁵R. P. W. Scott e P. Kucera, *J. Chromatogr.*, 1969, 51 (1979).

⁶L. R. Snyder e J. J. Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography", 2ª Edição, John Wiley & Sons Inc., New York (1979).

⁷B. Karger, L. R. Snyder e C. Horvath, "Introduction to Separation Science," John Wiley & Sons, N. York, 1973.