

Francisco R. Aquino Neto*

Instituto de Química - UFRJ-C.T.- Bloco A - Sala 607 - Ilha do Fundão - Cidade Universitária - 21949-900 - Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 13/12/94; aceito em 19/10/95

HRGC.12. PEAK DISTORTIONS IN HRGC.1. MAIN REASONS. Factors affecting band broadening in conventional and High Resolution Gas Chromatography are presented in an experimental approach. Major causes of resolution loss are described and placed within an easily identifiable framework. This allows GC users to overcome usual practical problems related to peak distortion, which would hinder the adequate separation of sample constituents.

Keywords: high resolution gas chromatography; band broadening; resolution enhancement; peak distortion.

1. INTRODUÇÃO

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação baseada na distribuição relativa de substâncias presentes em misturas, entre uma fase móvel gasosa e outra estacionária (na maioria dos casos líquida). Essa separação, além do isolamento dos componentes da mistura para diversas finalidades, permite, com a instrumentação disponível, realizar análises quali- e quantitativas. O sucesso dessas análises depende intrinsecamente da qualidade da separação. Em cromatografia, a separação física de dois conjuntos de moléculas de substâncias diferentes é expressa pela Resolução (cromatográfica), R_s (equação 1, figura 1).

$$R_s = 2 \cdot \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{w_{b1} + w_{b2}} = 2 \cdot \frac{\Delta t_R}{w_{b1} + w_{b2}} \quad (1)$$

onde:

t_{R1} = tempo de retenção da substância 1 no sistema cromatográfico.
 t_{R2} = tempo de retenção da substância 2 no sistema cromatográfico.
 w_{b1} = largura da base da curva de distribuição da substância 1.
 w_{b2} = largura da base da curva de distribuição da substância 2.
 O t_R também pode ser expresso por $t_R = t'_R + t_M$ (t'_R , tempo de retenção ajustado, que caracteriza a permanência da substância na fase estacionária; t_M , tempo de retenção de fase móvel, que caracteriza a permanência da substância nesta fase).

2. ASPECTOS DOS PICOS EM PROCESSOS CROMATOGRÁFICOS

O aumento da retenção, produz uma melhor discriminação entre substâncias diferentes, mas o maior tempo de residência no sistema favorece o espalhamento das moléculas, aumentando consequentemente as larguras dos picos (por exemplo a largura da base, w_b). O objetivo do analista é, pois, buscar condições de trabalho que maximizem t_R e minimizem o aumento de w_b .

Por outro lado, deve-se evitar o excesso de resolução, que

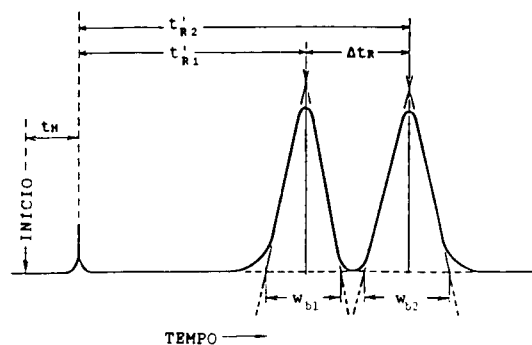


Figura 1. Cromatograma típico ilustrando a determinação da resolução (R_s); N. B. As unidades de t_R e w_b devem ser as mesmas; podendo ser de comprimento, quando medidas no cromatograma. Quando o t_R apresentar unidade de tempo, por exemplo, medido por integrador, caso w_b seja medida como comprimento (e) no cromatograma, convertê-la neste caso para tempo (t), empregando a velocidade do papel (v), pois, $t = e.v$.

aumenta o tempo de análise, sem melhorar a qualidade da identificação ou quantificação.

Em cromatografia gasosa o alargamento dos picos ocorre basicamente pela difusão das moléculas de substrato na fase gasosa e em menor monta, na fase líquida. Na cromatografia gasosa convencional (CG) a estrutura interna das colunas é tal, que esse alargamento é muito pronunciado (figura 2a). Já na CG de alta resolução (CGAR), o emprego de colunas capilares sem recheio e a deposição de filmes delgados e uniformes na superfície interna do capilar, faz com que os fenômenos de dispersão sejam minimizados (figura 2b).

O processo cromatográfico usual apresenta, basicamente, dois aspectos para os picos cromatográficos; tomando como exemplo a análise de uma série homóloga de hidrocarbonetos (figura 3), vê-se claramente que durante a programação do aquecimento do forno de colunas, os picos tem Δt_R e w_b (figura 3, região A), semelhantes, enquanto que na análise em isoterma os Δt_R e w_b aumentam exponencialmente (figura 3, região B). Esse formato padrão é modulado pelos fenômenos decorrentes da afinidade do soluto pela fase estacionária e pela modificação das propriedades físico-químicas da fase móvel, devido à presença do substrato que está sendo cromatografado. A partição do soluto entre as fases gasosa e líquida é função, também, da sua pressão de vapor e da temperatura e pressão no

* E-mail: radler@iq.ufrj.br

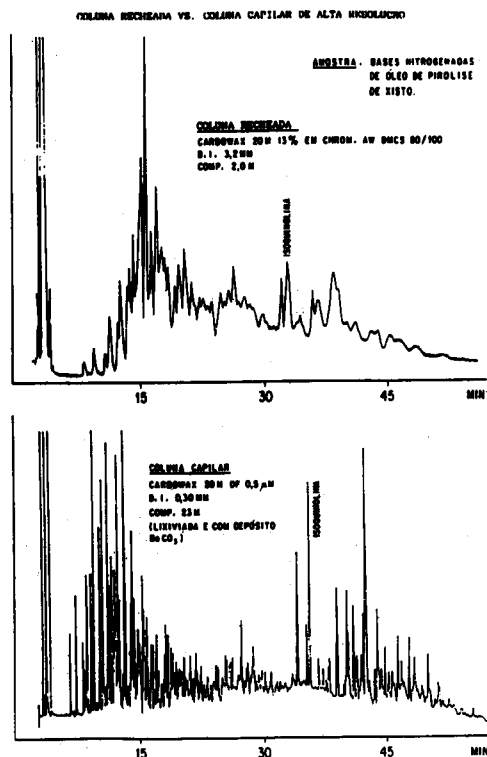


Figura 2. Análise de mistura de bases nitrogenadas obtidas por arraste por vapor, à partir do óleo de pirólise do xisto de Irati. A. Cromatografia Gasosa (Convencional), CG; B. Cromatografia Gasosa de Alta Resolução, CGAR.

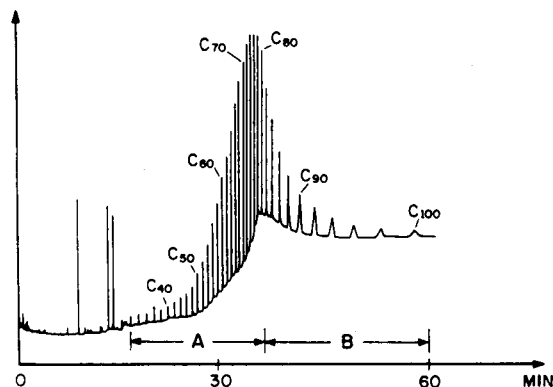


Figura 3. Análise de série homogênea de hidrocarbonetos (Poliétileno; Poliwax 1000) de fórmula $C_{2n}H_{4n+2}$. Coluna capilar de sílica de alta temperatura de Silaren 30 (30% fenildimetilsiloxana) 0,1mm, 0,25mm D. I., 8m; lacuna de retenção de 2m tratada com HMDS/DPTMDS 1:1 a 400°C/12h. Gas carreador H_2 , 3,3ml/min. Programação de temperatura 40°C (3 min), 10°C/min até 420°C; Região A - Eluição durante o aquecimento de forno; Região B - Eluição na isoterma final.

sistema cromatográfico. Essas variáveis influem na velocidade pontual de deslocamento das moléculas através da coluna, que por sua vez define processos de compressão e espalhamento das mesmas¹. Por outro lado, como ilustrado na figura 3, o aspecto superficial dos picos pode ser aproximado a uma gaussiana, quando não ocorrerem influências excepcionalmente marcantes.

3. DEFORMAÇÕES MARCANTES DE PICOS EM CROMATOGRAFIA GASOSA (CG E CGAR)

Na CG, a dificuldade em desativar adequadamente o interior da coluna, produz centros ativos que por sua distribuição

não uniforme, provocam *retenção diferenciada* em moléculas do mesmo substrato. Esse fenômeno resulta na formação de cauda nos picos (figura 4.a, picos 4, 5 e 6). A introdução de grandes quantidades de substrato, provoca a chamada *sobrecarga da fase (estacionária)*. De forma extremamente simplificada, poder-se-ia imaginar que a quantidade excessiva de soluto provocaria associação entre as suas moléculas. Isso provocaria

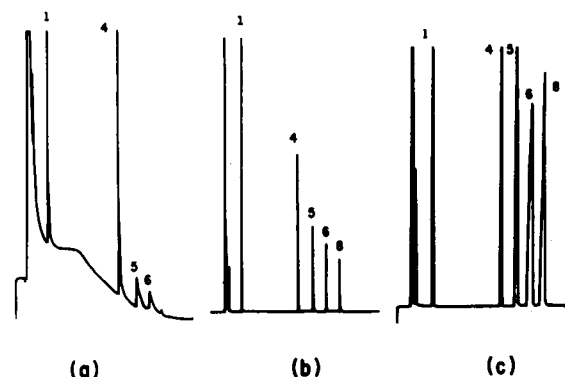


Figura 4. Cromatograma de uma solução em diclorometano, de fenóis típicos de alcatrão de madeira². Coluna de vidro Duran-50, 30m, 0,30mm D.I., 0,25mm de SE-54; 2m lacuna de retenção desativada com DPTMDS. Gás carreador H_2 , 50cm/s. Programação de temperatura 40°C (3min), 12°C/min a 180°C; a) Análises de traços, adsorção com formação de cauda; b) Picos não deformados; c) Fase estacionária sobrecarregada; Identificação dos picos: Tolueno(1), 2,6-dimetilfenol(4), catecol(5), resorcinol(6) e pirogalol(8).

maior concentração de soluto. As moléculas que estivessem à frente dessa região seriam retidas apenas pela interação com a fase estacionária, caminhando mais rapidamente que o "máximo" do pico. Esse comportamento resultaria em picos com "caudas frontais", também chamadas "trombas" ou "barrigas" (figura 4.c, picos 5, 6 e 8).

A excelente inércia na CGAR, faz com que sejam raros os casos de cauda provocados pela atividade. Por outro lado, a pequena quantidade de fase estacionária, faz com que ela se sature facilmente, em especial se o substrato não tiver afinidade pela fase estacionária. A figura 4² ilustra esses fenômenos, bem como o gráfico da figura 5². A figura 4a mostra que as moléculas mais polares (8, 6 e 5) são mais afetadas pela atividade da coluna. Já o fenol estericamente impedido(4) e o tolueno(1) são menos afetados. Com o aumento da quantidade de amostra injetada (figura 4.b), os centros ativos são saturados, obtendo-se picos simétricos para todos os componentes da amostra. A figura 4c ilustra o fenômeno de sobrecarga, quando a capacidade de solubilização da fase é excedida. Observe-se que sendo a fase estacionária apolar (SE-54/5% fenil,1-2% vinil,metilpolisiloxana) os compostos mais polares são os mais afetados (6 e 8). Na figura 5 pode-se observar esse efeito de forma semi-quantitativa. É importante notar que nas quantidades extremas, mesmo o tolueno (1) tem o pico deformado, embora sua largura permaneça inalterada numa faixa considerável de massa (2 a 200ng). Maiores detalhes na interpretação desses dados podem ser obtidos na referência original².

4. DEFORMAÇÕES DE PICOS EM CGAR PROVOCADAS PELA INTRODUÇÃO DE AMOSTRA

Na CG, a quantidade de fase estacionária presente na coluna, permite a injeção de até 10ul de amostra pura. Já na CGAR, a simples injeção de 0,1ul de um composto puro pode exceder a capacidade de solubilização da pequena quantidade de fase presente (veja, p.ex., comparação entre as características das colunas recheadas convencionais e as de alta resolução³). Por

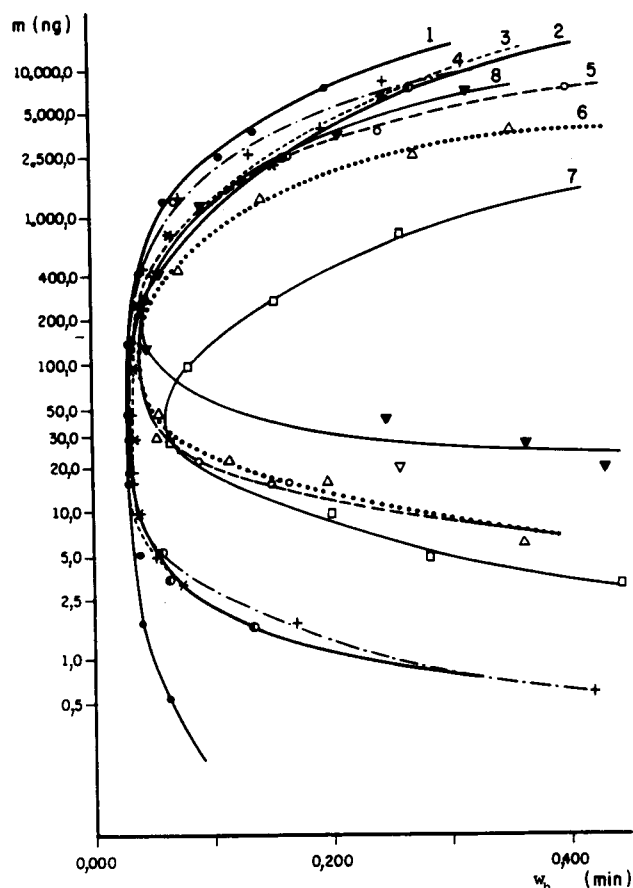


Figura 5. Quantidade absoluta injetada versus largura a meia altura, para tolueno(1) e fenóis²: fenol(2), o-cresol(3), 2,6-dimetilfenol(4), catecol(5), resorcinol(6), hidroquinona(7) e pirogalol(8). Cromatogramas típicos na figura 4.

esse motivo, desenvolveu-se a injeção com divisão de fluxo⁴ que permite dividir a amostra, deixando que apenas uma pequena fração penetre na coluna. Nessa modalidade de injeção, apenas em casos particulares (envolvendo taxas de divisão baixas e temperatura da coluna < p.e. do solvente da amostra) podem vir a ocorrer deformações de picos, sendo, portanto, a mais empregada. Em certos casos a injeção com divisão de fluxo não é recomendável (p. ex., análise de amostras diluídas, ou com substâncias muito pouco voláteis)⁴. Nestes casos a injeção sem divisão de fluxo, ou na coluna a frio, são empregadas.

Em geral, elas envolvem a deposição da amostra no estado líquido, no interior do capilar⁴. Para que essa fase líquida não se misture com a fase estacionária, é imperativo o uso de lacunas de retenção⁵. As lacunas tem duas funções primordiais: permitir a focalização dos substratos no início do sistema de separação, garantindo a qualidade da resolução⁶ e proteger a fase estacionária da deposição de resíduos não voláteis presentes na amostra^{7,8}. Essas duas modalidades de injeção favorecem o alargamento dos picos, ocorrendo em certos casos deformações dramáticas. Há muitos efeitos que podem vir a contribuir para a dispersão da banda inicial de amostra. Em vários casos, na introdução da solução de amostra há dispersão dos solutos de forma aleatória. Nesses casos, as moléculas de um dado componente da amostra, poderiam se depositar em regiões diferentes da coluna cromatográfica. Dessa forma, esses blocos isolados iriam se deslocar pela coluna mantendo essa diferença espacial. Isso resultaria em vários picos obtidos para uma mesma substância, ou outras deformações não previstas pela teoria cromatográfica. É preciso lembrar que o processo cromatográfico só é capaz de dispersar mais a distribuição das moléculas introduzidas na coluna. Não há como, durante a cromatografia propriamente dita, reverter um quadro de dispersão.

É, portanto, essencial para o desempenho do sistema, que se garanta uma distribuição inicial com os substratos bem focalizados^{6,8}. Esse objetivo só pode ser atingido com um conhecimento detalhado da constituição, da dinâmica e das variáveis envolvidas na introdução de amostra no cromatógrafo e na sua transferência para o interior do capilar. Pela sua diversidade e complexidade, esses aspectos são abordados em outra publicação⁶.

5. REFERÊNCIAS

1. Guiochon, G.; Guillemin, C. L.; *Quantitative gas chromatography*; Elsevier; Amsterdam, 1988; 797p.
2. Stuckenbruck, P.; Aquino Neto, F. R.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1990**, *13*, 210.
3. Aquino Neto, F. R.; *Quím. Nova* **1995**, *18*, 65.
4. Cardoso, J. N.; Aquino Neto, F. R.; *Quím. Nova* **1989**, *12*, 13.
5. Aquino Neto, F. R.; Cardoso, J. N.; *Quím. Nova* **1992**, *15*, 224.
6. Aquino Neto, F. R.; Cardoso, J. N.; *Quím. Nova* **1996**, (enviado).
7. Castro, I. M.; Aquino Neto, F. R.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1990**, *13*, 302.
8. Grob Jr., K.; *On-column injection in capillary gas chromatography. Basic technique, retention gaps, solvent effects*; Huthig Verlag, Heidelberg, 1987; 591p.