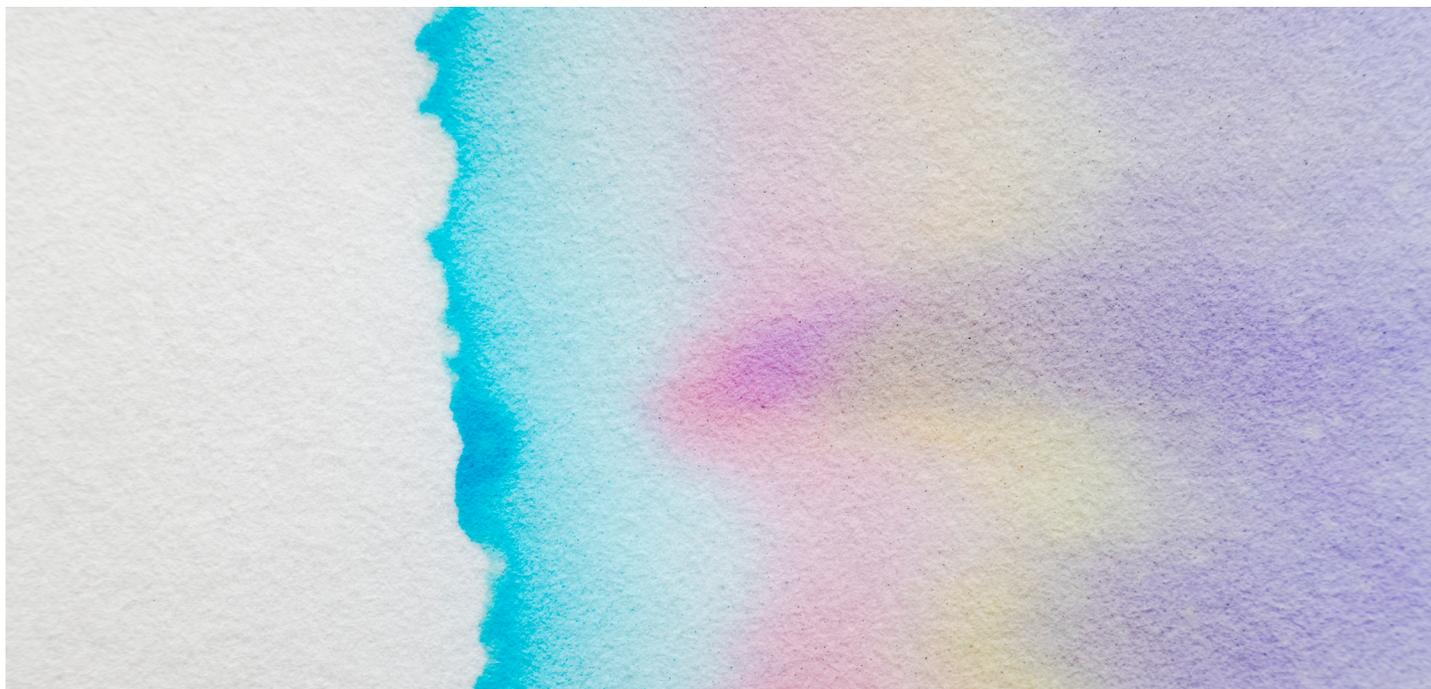




# Cromatografia

## Aspectos e Relevância Ambiental.

por João Paulo Ferreira e colaboradores - Orgânica Ambiental SP



### SEPARAR PARA COMPREENDER

Etimologicamente cromatografia consiste na união de duas palavras, cor e escrita. Curiosamente em química esse termo não indica uma escrita de cores de forma literal, mas a origem do nome indica o conceito e a percepção da técnica. A técnica consiste em promover a separação dos diversos compostos presentes em uma amostra para posterior análise, seja qualitativa ou quantitativa. A primeira observação da técnica foi obtida pela visualização de cores durante a separação de

pigmentos vegetais por Mikhail Tswett.

Conceitualmente, necessitamos de condições para empregarmos a técnica, sendo o ponto de partida a fase estacionária e a fase móvel.

A fase estacionária é o suporte sólido onde ocorrerá a separação de uma mistura e teremos assim a separação dos compostos presentes, enquanto a fase móvel funciona como material de arraste. Uma analogia seria um cano com areia, onde podemos forçar a passagem de água. A areia é a fase estacionária e a água a fase móvel. Se misturarmos algo na água, é possível

que com o tempo esse composto passe pelo cano e seja levado pela água, ou quem sabe, ele seja completamente retido pela areia. Em um laboratório, podemos substituir a areia por sílica, o cano por um tubo de vidro com torneira (bureta), e a água por uma mistura de solventes com ou sem água.

Ao longo do tempo, podemos ver em tempo real a separação de compostos caso sejam coloridos (Imagem 1).



Imagem 1. Exemplo de separação por cromatografia.

Pode parecer curioso, mas gases são fluidos assim como a água e portanto a mesma analogia e técnica como ser empregada.

Aqui utilizamos o termo cromatografia gasosa.

Faz sentido utilizarmos um gás como fase móvel e que seja inerte. Apesar de ser possível utilizarmos um tubo de vidro com areia para o emprego da técnica, existem caminhos mais práticos. A modernidade e o desenvolvimento científico trouxe avanços cromatográficos.

A CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) é um exemplo desse avanço, juntamente com equipamentos cromatográficos de UHPLC (cromatografia líquida de ultra eficiência - Ultra-High Performance Liquid Chromatography).

## COMPREENDER PARA OTIMIZAR

Ao compreendermos o conceito da técnica, conseguimos pensar em formas de facilitar um processo. Para um cano, areia e água, podemos pensar: E se escolhermos um ótima areia? Um cano pequeno ou grande, grosso ou fino?

Quem sabe uma água muito pura? Essas considerações são variáveis pertinentes para facilitar a separação de misturas. A mesma alusão pode ser feita em um equipamento. Colunas cromatográficas, solventes puros, tipos de fase estacionárias diferentes, pressão, fluxo, temperatura, são alguns exemplos de variáveis que podemos alterar para chegar a melhor condição para separar algo.

Agora imagine utilizar 2 ou mais solventes, quem sabe água e álcool no exemplo do cano com areia?

Para falarmos de solventes, necessitamos introduzir dois termos: fase orgânica e fase aquosa.

A fase orgânica consiste de solventes orgânicos: como acetona, metanol, hexano, entre outros, agora a fase aquosa dispensa apresentações consiste em água ou água com sais a fim de aumentar a polaridade da solução.

Quando falamos em uma fase aquosa e uma orgânica, devemos pensar que essas substâncias possuem interações físicoquímicas diferentes com nosso composto de interesse para detecção. A água (fase aquosa) terá mais interação com substâncias quimicamente semelhantes a ela (interações mais polares).



Imagem 2. Exemplo de um equipamento de cromatografia.

O mesmo ocorre com a fase orgânica para outras substâncias quimicamente semelhantes (interações mais apolares).

Temos aqui uma relação de interações, um “cabo de guerra”, que força as separações de moléculas a partir de suas afinidades.

Imagine só tentarmos tirar óleo da água e obtê-los separados.



Imagem 3. Exemplo de coluna para cromatografia de gases.

Difícilmente a água vai conseguir arrastar o óleo por um cano com areia, afinal água e óleo têm pouca interação.



Imagem 4. Exemplo de coluna para cromatografia de gases.

Agora, se adicionarmos algum solvente orgânico (fase orgânica), este vai conseguir interagir com o óleo e arrastá-lo pelo cano.

## OTIMIZAR PARA AUTENTICAR

Como comentado, o processo atual de separação de compostos ocorre em um cromatógrafo, sendo resumidamente um cromatógrafo líquido ou (LC - Liquid

chromatography) ou cromatógrafo gasoso.

Não necessitamos de um cano com areia, ainda bem. Para um GC, nosso “cano” agora será agora será fino e extenso, quase como um carretel de linha.

Já para o LC, estes “canos” lembram pequenos tubos (Imagem 4).

Chamamos todos eles de coluna cromatográfica. Durante o processo de separação dos compostos (corrida cromatográfica), a proporção destas duas fases pode variar com o tempo (gradiente - Imagem 5).

## CONDICIONAR PARA ANALISAR

Caso as fases se mantenham na proporção até o fim, temos uma eluição isocrática. A escolha depende das características intrínsecas de cada composto que deseja-se quantificar e para nossa tranquilidade, um cromatógrafo consegue automatizar as proporções de solventes utilizadas.

Algumas condições devem ser empregadas para uma separação de compostos e análise eficiente.

1. Pureza da fase móvel: Estabilidade da linha base de análise para supressão de ruídos a fim de se evitar falsos-positivos ou negativos, além de reduzir possíveis danos ao equipamento por entupimentos;

2. Emprego de compostos sanitizantes na água para desinfecção da linhas de fluxo do equipamento;

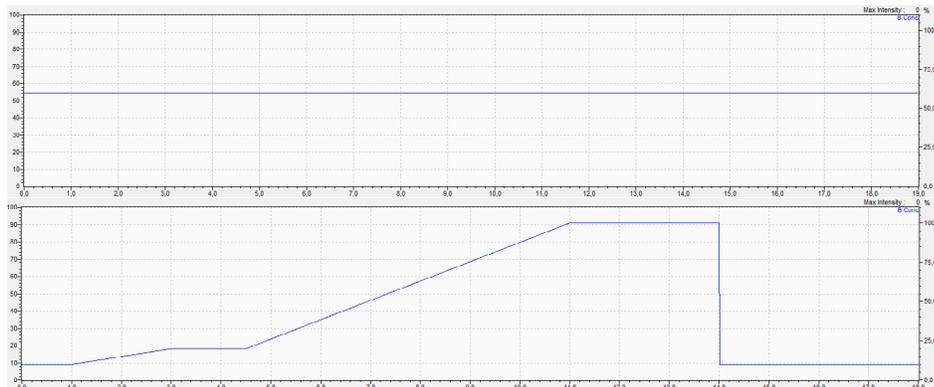


Imagem 5. Representação gráfica de uma eluição gradiente no LC.  
Superior: Eluição constante. Inferior: Eluição isocrática.

3. Desgaseificação de solventes, para homogeneidade de soluções e remoção de bolhas e uso de desgaseificadores no equipamento para preservação do equipamento e maior reprodutibilidade de resultados.

4. Avaliação da viscosidade da fase móvel: Maior viscosidade implica em maior necessidade de fluxo e pressão. Fases móveis viscosas intergarem mais com a fase estacionário por atrito e com isso dificultam o deslocamento de analitos no interior da coluna cromatográfica, prejudicando o tempo de análise e peças do equipamento.

## ANALISAR PARA COMPREENDER

Após uma análise, chegamos ao resultado para compreensão da matriz da amostra que analisamos. Pegue uma água de um rio, por exemplo, e pense na infinidade de compostos que podemos encontrar! A mesma coisa para um solo ou o ar.

Definitivamente não conseguimos analisar tudo, mas podemos

compreender a partir de pistas da investigação.

A gasolina está inegavelmente presente em nosso cotidiano. Podemos imaginar que a gasolina é apenas uma substância.

Posso te dizer que não é! Mas, melhor do que dizer é mostrar. Se ela não é uma única substância, então ela é uma mistura de substâncias. Que a cromatografia nos ajude nessa investigação.

Ao injetarmos a gasolina em um cromatógrafo, podemos esperar obter um resultado (espectro) parecido com a (Imagem 6).

Na imagem podemos identificar 16 compostos presentes na gasolina. Estes aparecem como picos.

Um composto que comumente é fornecido como sinônimo de gasolina é o n-octano (em vermelho). Octano remete a octanagem e para quem é um entusiasta de carros, deve conhecer esse termo empregado como sinônimo de eficiência da gasolina na combustão da gasolina.

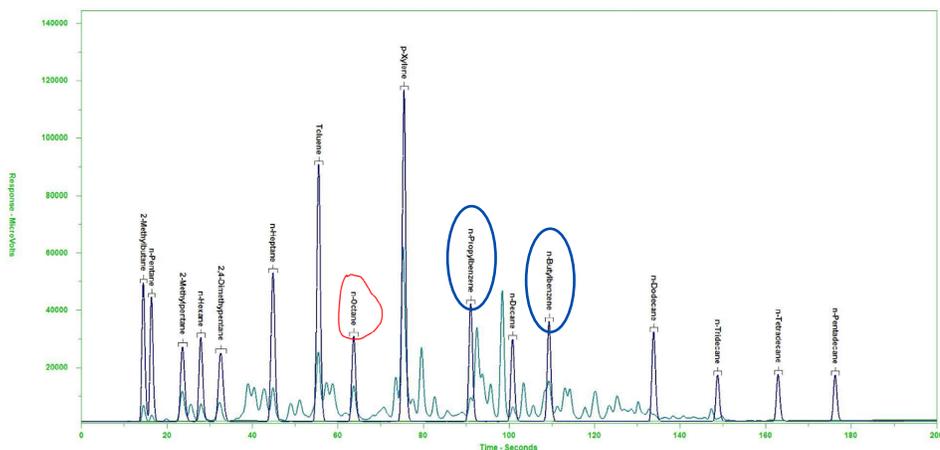


Imagem 6. Cromatografia da gasolina.

Outra mistura famosa é o BTEX, sigla para Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos. Estes são compostos com alta toxicidade e cancerígenos e também estão presentes na gasolina.

Neste cromatograma podemos ver a presença de Tolueno, xileno e benzenos (como propilbenzeno e butilbenzeno) por exemplo (em azul).

Voltemos a matriz da amostra. Pegue uma amostra de solo ou água e foque na busca desses picos apresentados. Se os encontrar, você concluiu que há derivados de petróleo nessa amostra e te garanto que não é uma boa notícia. Em virtude dos danos que estes podem causar, monitoramentos ambientais são necessários para a identificação e controle desses compostos na natureza e de muitos outros. Cada composto relevante possui seus valores orientadores por parte de agências regulatórias, como a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo).

A depender dos tipos de compostos esperados, diferentes métodos

referenciados podem ser empregados. Pode ser necessário uso de aditivos e misturas complexas de fases móveis, para garantir uma melhor eficiência de separações de picos e evitar a todo custo a co-eluição, ou seja, um pico colado em outro. Se isso ocorrer, será necessário injetar a amostra novamente, diluí-la ou quem sabe desenvolver um novo método com alterações das variáveis de injeção. Em resumo, um processo bem oneroso. A depender da

matriz, pode ser que não seja possível a separação nas faixas esperadas, sendo inviável o uso da pontual dessa técnica (Imagem 7).

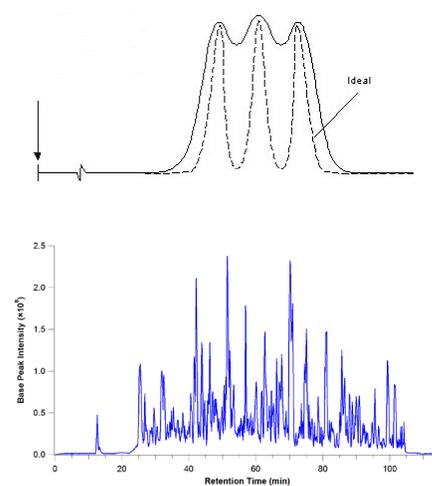


Imagem 7. Sobreposição de picos (três compostos aparecem como um único composto e picos muito próximos (difícil diferenciação de compostos). Exemplos de cromatogramas de maior dificuldade de análise

## ALS ENVIRONMENTAL

Após entendermos o conceito de cromatografia e sua aplicação,

HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS VOLÁTEIS							
Benzeno	71-43-2	-	0,002	0,02	0,08	0,2	5
Estireno	100-42-5	-	0,5	50	60	480	20
Etilbenzeno	100-41-4	-	0,03	0,2	0,6	1,4	300
Tolueno	108-88-3	-	0,9	5,6	14	80	700
Xilenos	1330-20-7	-	0,03	12	3,2	19	500
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS							
Antraceno	120-12-7	-	0,3	2300	4600	10000 <sup>(a)</sup>	900
Benzo(a)antraceno	56-55-3	-	0,2	1,6	7	22	0,4
benzo(b)fluoranteno	205-99-2	-	0,7	2	7,2	25	0,4
Benzo(k)fluoranteno	207-08-9	-	0,8	27	75	240	4,1
Benzo(g,h,i)pireno <sup>(3)</sup>	191-24-2	-	0,5	-	-	-	-
Benzo(a)pireno	50-32-8	-	0,1	0,2	0,8	2,7	0,7
Criseno	218-01-9	-	1,6	95	600	1600	41
Dibenzo(a,h)antraceno	53-70-3	-	0,2	0,3	0,8	2,9	0,04
Fenantreno <sup>(3,4)</sup>	85-01-8	-	3,6	15	40	95	140
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	193-39-5	-	0,4	3,4	8	30	0,4
Naftaleno	91-20-3	-	0,7	1,1	1,8	5,9	60

Tabela 1: Exemplos de valores orientadores para compostos - BTEX. Lista completa em: <https://cetesb.sp.gov.br/solo/wp-content/uploads/sites/18/2014/12/valores-orientadores-nov-2014.pdf>

podemos ter uma maior dimensão do que isso afeta na qualidade analítica. Cada composto é influenciado de forma diferente pela relação das fases utilizadas. Apesar de um mesmo equipamento cromatográfico poder identificar diversos compostos, cabe ao analista o desenvolvimento do método.

No cotidiano, a depender da matriz da amostra ou mesmo de interferentes, alterações podem ser necessárias e esse julgamento muitas vezes depende de uma análise crítica no momento do tratamento de dados.

Toda essa avaliação faz parte de nossa rotina quando efetuamos análises na ALS, onde colaboradores tem papel fundamental na implementação de processos e métodos, além da colaboração do desenvolvimento de conteúdos como estes. Buscamos compreender e entender alguns comportamentos, buscar soluções para maior eficiência de um método proposto, garantindo resultados em menor tempo de análise. Buscamos validar novos métodos e variações de metodologias a fim de sempre buscar uma melhor otimização de processos. Realizamos diversas análises de compostos que se encontram nos valores orientadores de agências regulatórias. Quaisquer dúvidas sobre as técnicas, métodos que utilizamos equais os nossos serviços analíticos, entrem em contato pelo canal a seguir: [ambiental.br@alsglobal.com](mailto:ambiental.br@alsglobal.com).



## Referências e Imagens

1. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100036>;
2. Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater - 24ª Edição ;
3. <https://www.teledyne-ai.com/markets-andapplications/measurements/boiling-range-distribution-of-gasoline-andgasoline-fractions>;
4. <https://www.scielo.br/j/esa/a/PVDVfk67h9PPYzhnD6MMwZm/>;
5. <https://academic-accelerator.com/encyclopedia/mass-chromatogram>;
6. [https://stock.adobe.com/br/contributor/208107427/alen? load\\_type=author&prev\\_url=detail](https://stock.adobe.com/br/contributor/208107427/alen? load_type=author&prev_url=detail);
7. [https://stock.adobe.com/br/contributor/208352577/elena? load\\_type=author&prev\\_url=detail](https://stock.adobe.com/br/contributor/208352577/elena? load_type=author&prev_url=detail);
8. [https://stock.adobe.com/br/contributor/210786371/%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D0%BB%D0%B7%D0%B0%D0%BA%D0%B8%D0%B5%D0%B2?load\\_type=author&prev\\_url=detail](https://stock.adobe.com/br/contributor/210786371/%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D0%BB%D0%B7%D0%B0%D0%BA%D0%B8%D0%B5%D0%B2?load_type=author&prev_url=detail);
9. [https://stock.adobe.com/br/contributor/210943388/s-singha? load\\_type=author&prev\\_url=detail](https://stock.adobe.com/br/contributor/210943388/s-singha? load_type=author&prev_url=detail);
10. <https://www.chromedia.org/>;
11. [https://br.freepik.com/fotos-gratis/fundo-de-cromatografia-esteticaabstrata-em-tom-pastel\\_17829744](https://br.freepik.com/fotos-gratis/fundo-de-cromatografia-esteticaabstrata-em-tom-pastel_17829744).

### UNIDADES DE ANÁLISES AMBIENTAIS

#### São Paulo

Rua Galatéia, 1824  
São Paulo  
+55 11 4082-4300

#### Rio de Janeiro

Rua General Argolo, 45  
Rio de Janeiro  
+55 21 3845-0629

#### Minas Gerais

Rua Clemente Aníbal Branco, 185  
Contagem  
+55 31 3045-8400

#### Bahia

Av. Santos Dumont, 7595  
Camaçari  
+55 71 3418-2555

### UNIDADES SATÉLITE

#### Maranhão

+55 31 3045 8400

#### Pará

+55 31 3045 8400

Para mais informações sobre estes e outros diversos parâmetros analisados em nossas unidades ambientais, entre em contato com Fabiana Imagawa, a Gerente Técnica da ALS Ambiental para a América Latina.

✉ [fabiana.imagawa@alsglobal.com](mailto:fabiana.imagawa@alsglobal.com)

A ALS fornece uma ampla gama de serviços de testes especializados que abrangem todas as etapas do ciclo de vida do seu projeto. Visite o site [alsglobal.com](http://alsglobal.com) para obter mais informações sobre nossos serviços e especialidades.

ALS right solutions. right partner. © Copyright 2023 ALS Limited. All rights reserved.

[alsglobal.com](http://alsglobal.com)