



USP - Universidade de São Paulo
ESALQ - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
LZT 0580/5862 – Análise e Composição de Alimentos

CROMATOGRAFIA GASOSA

APLICAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

Paulo César da Silva Santos
Solange Garcia Holschuch
Discentes

Prof. Dra. Carla Maris M. Bittar
Docente

Piracicaba, SP
Setembro, 2019

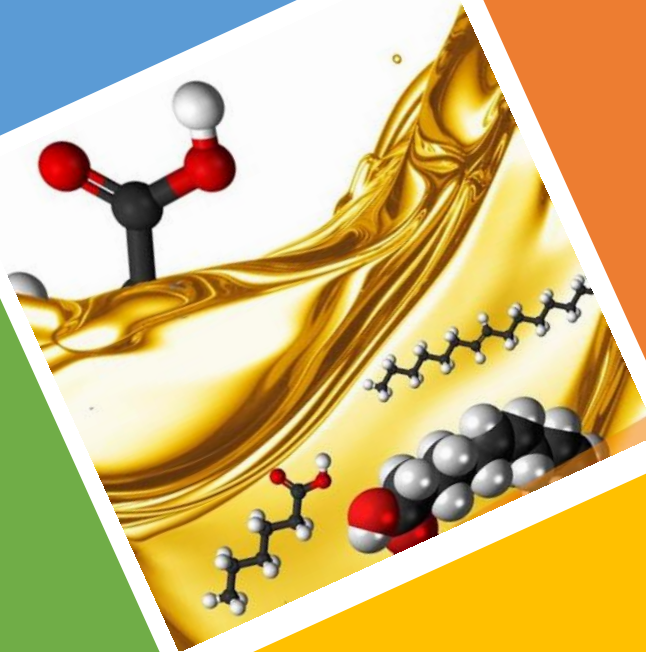
**Ácidos Graxos (AG):
Aplicação prática para
determinação deste
composto.**

1

Preparo prévio das Amostras

- Extração de lipídeos
- Transesterificação da fração lipídica

2



4

**Análise crítica sobre a
utilização da cromatografia
gasosa.**

3

Técnica de Cromatografia

- Cromatografia gasosa
- Instrumentação

Ácidos graxos

São compostos que apresentam cadeia de hidrocarbonetos com grupo carboxila, ligados à um glicerol.

NELSON e COX (2011)

Carboxyl
group



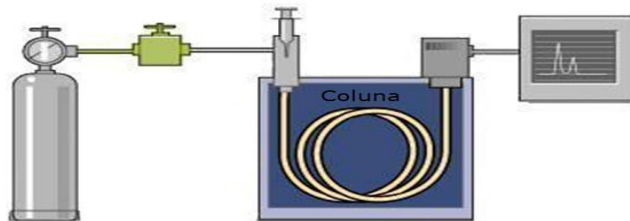
Hydrocarbon
chain



Ácidos graxos

Aplicação prática para sua determinação

- Analisar mistura / componentes e relações entre ambos;
- Identificar mistura / componentes com base de dados;
- Purificar componentes de interesse para outros estudos;
- Quantificar mistura / componentes em uma amostra.



Ácidos graxos

Aplicação prática para sua determinação



Extração de lipídeos: Bligh Dyer

Amostra / tecido

Homogeneizada em
clorofórmio/metanol/água

Água

Metanol/água

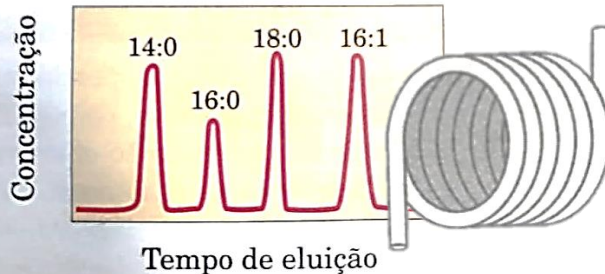
Clorofórmio

NaOH/metanol

Transesterificação
da fração lipídica

Ésteres graxos de
acil metil

Cromatografia gasosa





Cromatografia

Cromatografia envolve um grupo de métodos para **separar misturas** moleculares que dependem de afinidades diferenciais de solutos entre duas fases não miscíveis.

Quantitativa

Qualitativa

Cromatografia

1897-1903

David Talbot Day
Separação de HC do petróleo.

1903-1906

Mikhail Tswett
Separação de pigmentos;

1930

Kuhn e Lederer
Cromatografia em coluna.

1938

Izmailov e Shraiber
Cromatografia em papel.

1941-1952

Martin e Synge
Cromatografia líquida;
Princípios de fase gasosa.

1958

Egon Stahi
Cromatografia em camada delgada.

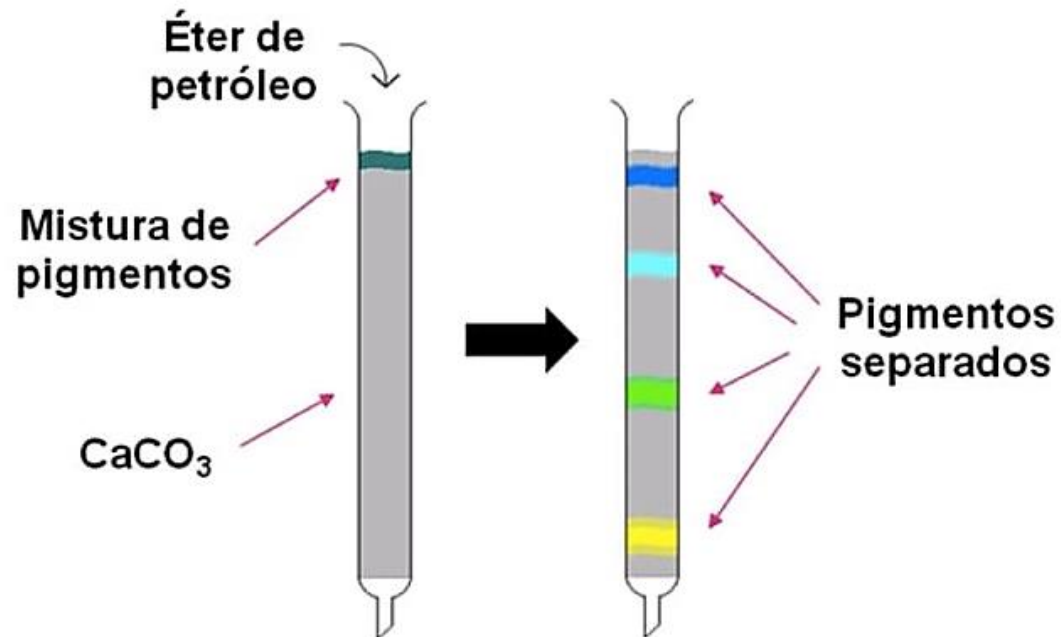


**Conceito histórico da cromatografia
(escrever em cores)**

Cromatografia

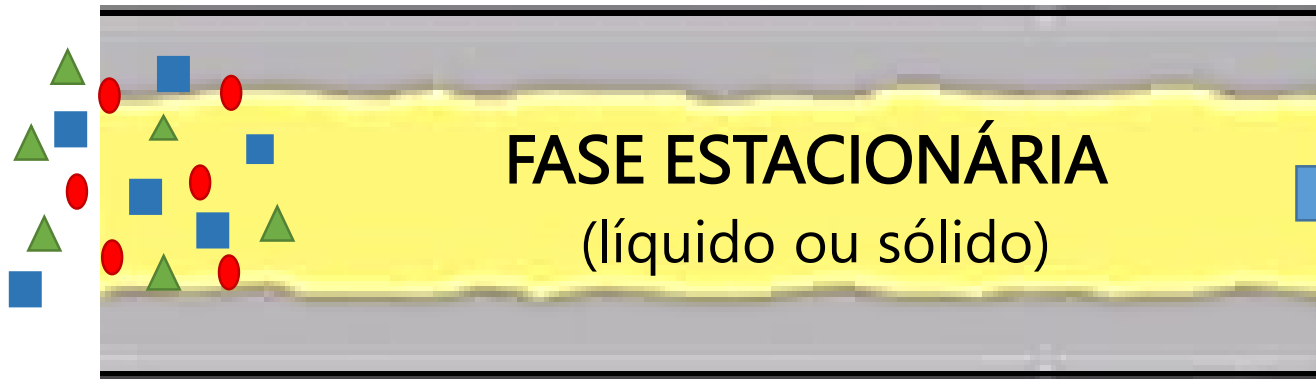
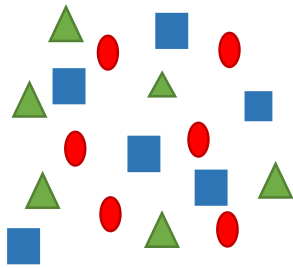
Princípio Básico

Separação de mistura por interação diferencial dos seus componentes entre uma **FASE ESTACIONÁRIA** (líquido ou sólido) e uma **FASE MÓVEL** (líquido ou gás).



Cromatografia

Amostra + FASE MÓVEL (líquido ou gás)



DETECTOR

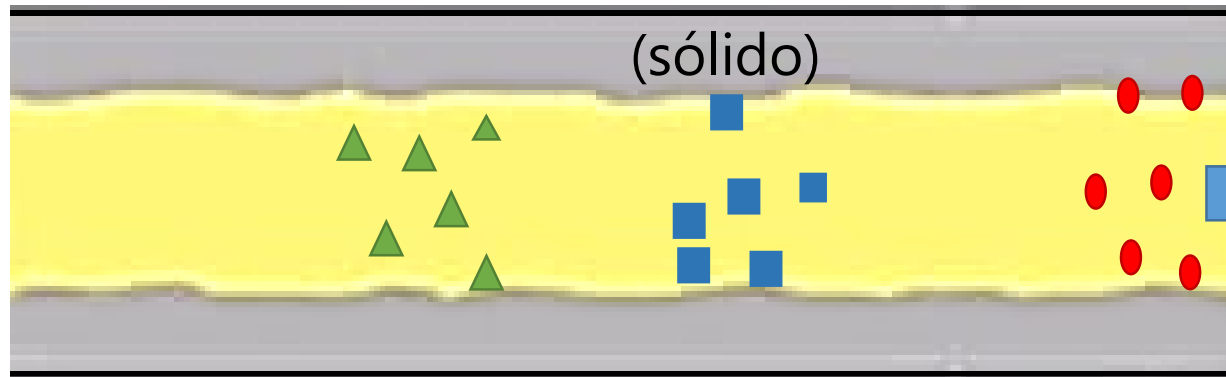


Cromatografia

Amostra + FASE MÓVEL (gás)

FASE ESTACIONÁRIA

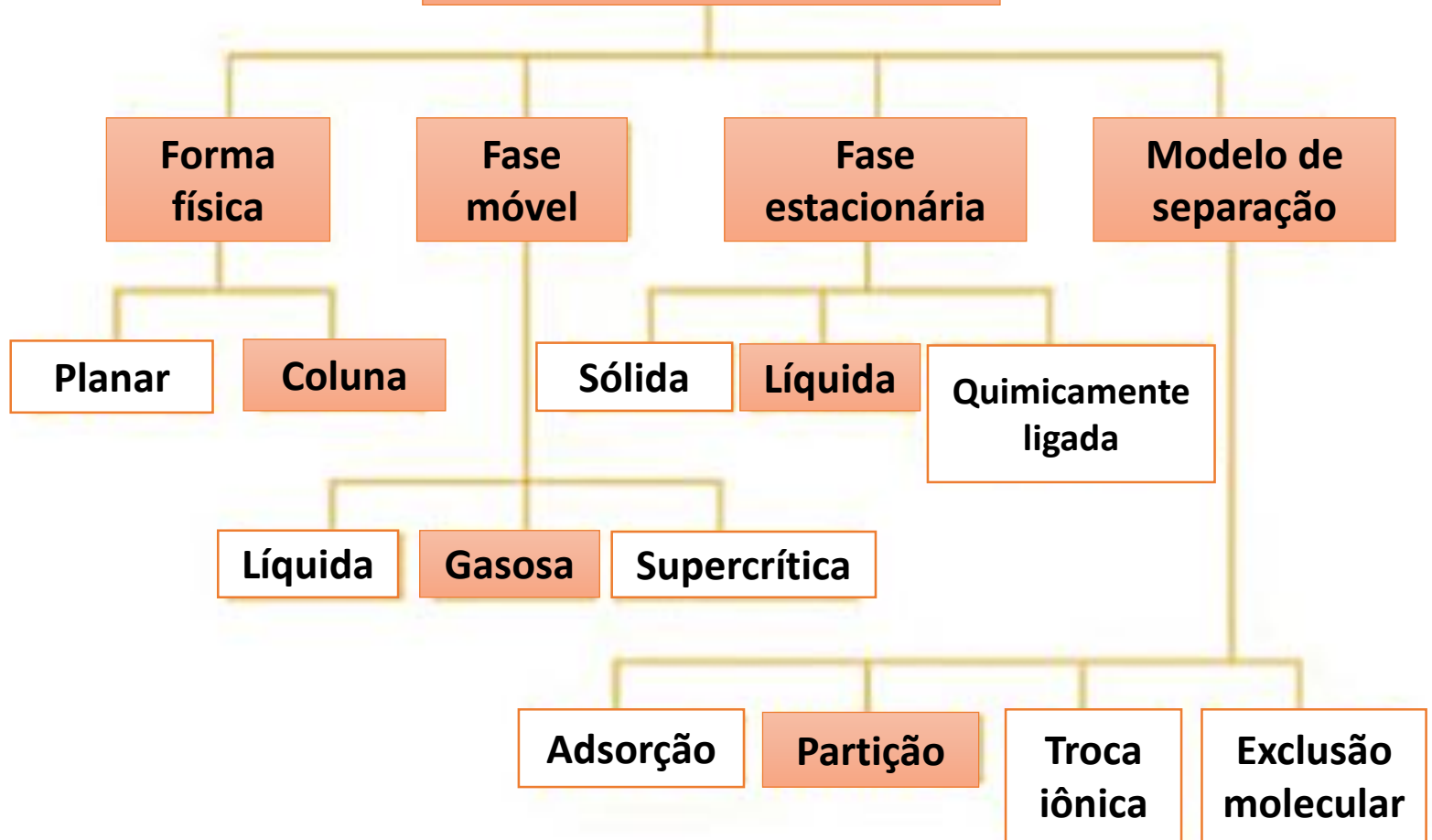
(sólido)



DETECTOR

Ácidos graxos →

CROMATOGRAFIA





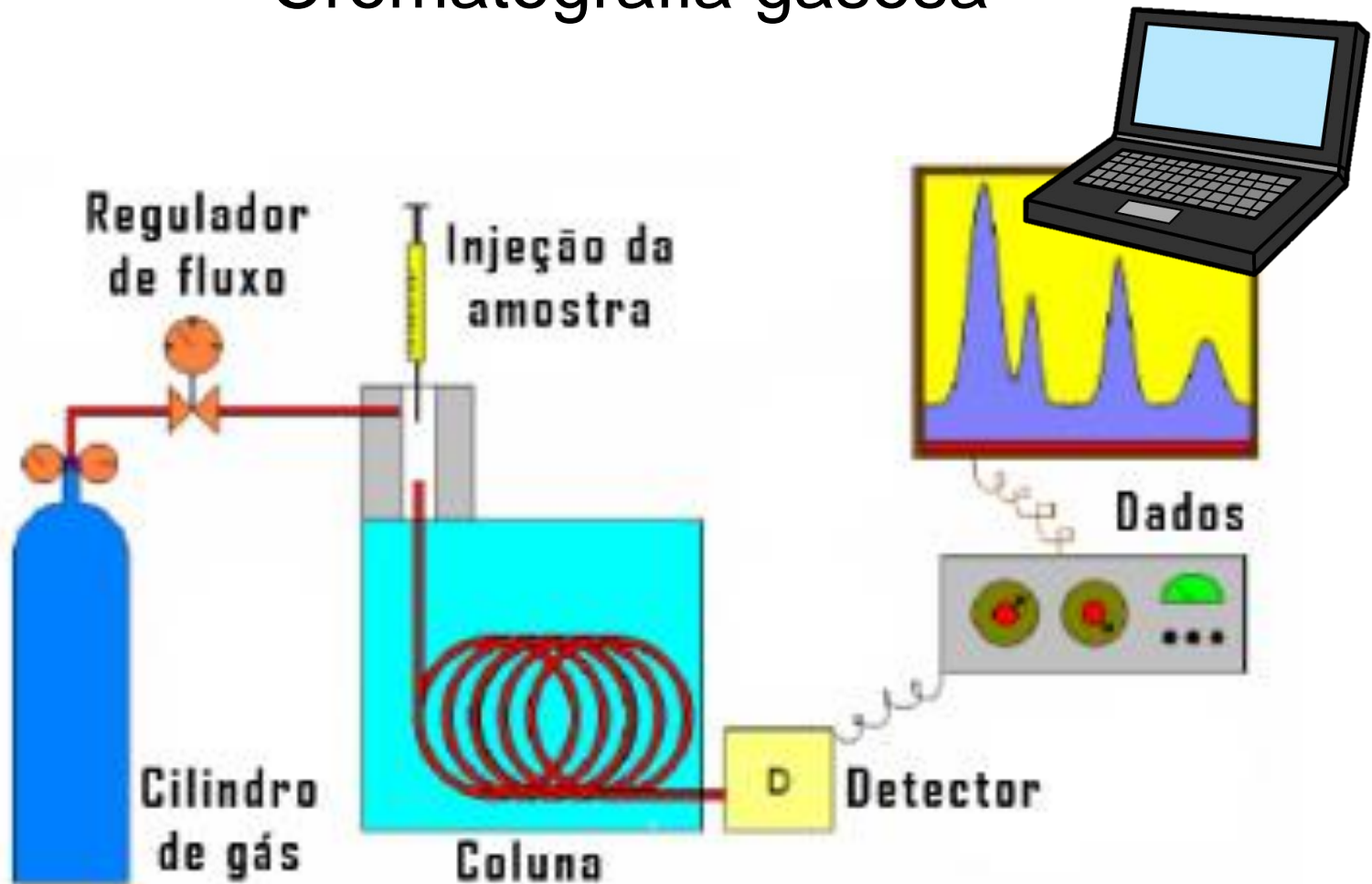
Cromatografia gasosa

É aplicável para separação e análise de misturas cujos constituintes tenham ponto de ebulição até 300°C e termicamente estáveis.



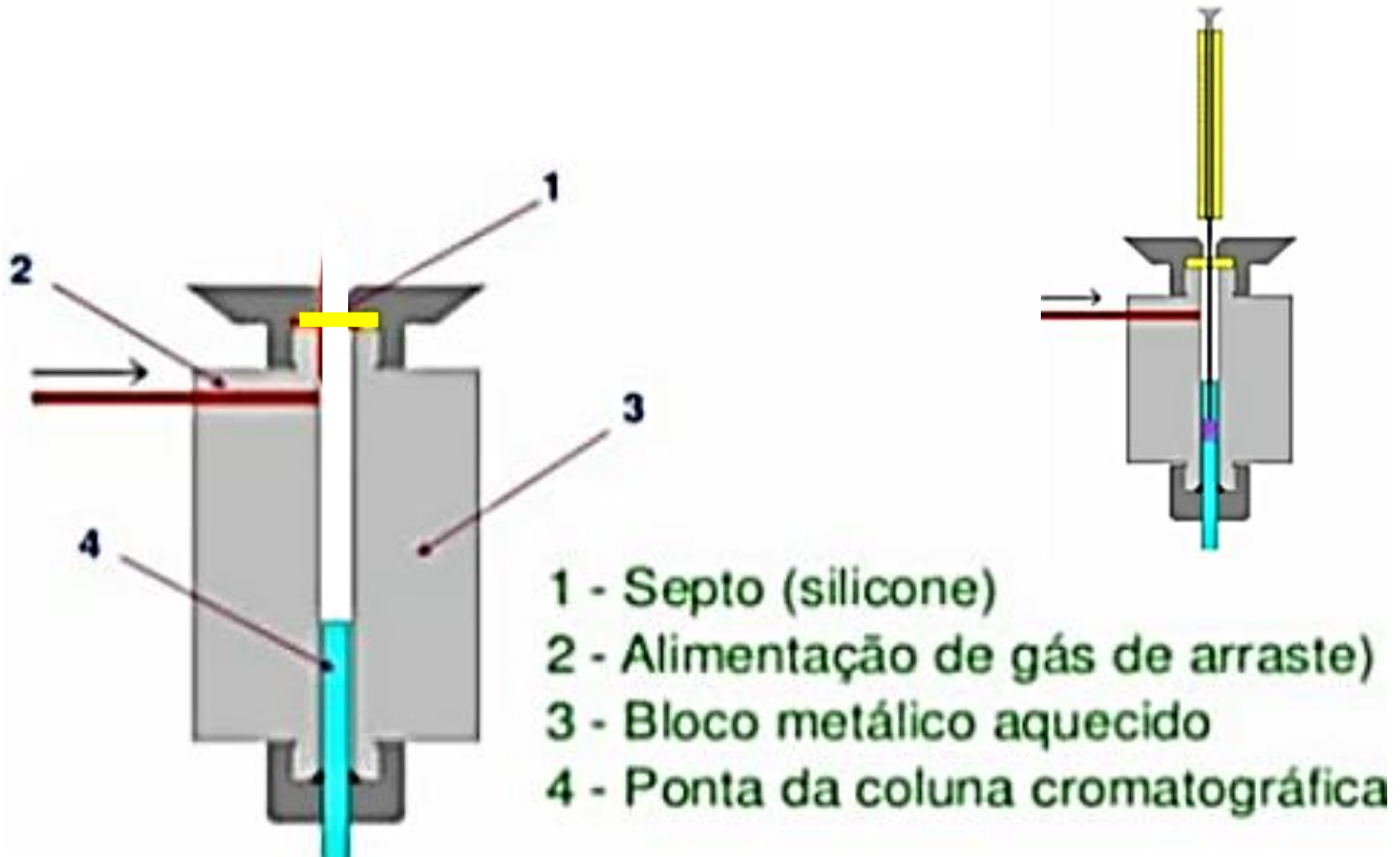
Instrumentação

Cromatografia gasosa



Instrumentação

Sistema de injeção da amostra

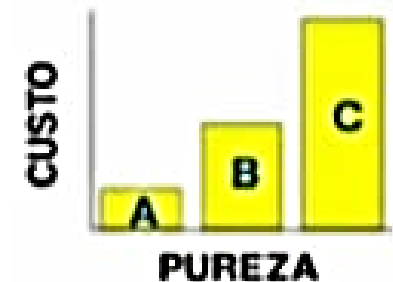


Gás de arraste

- Não interage com a amostra, apenas carrega pela coluna.
- Inerte
- Isento de impurezas que degradam a fase estacionária e compatível com o detector.

Exemplos de gases impróprios: O_2 e H_2O podem oxidar ou hidrolisar algumas fases estacionárias. Hidrocarbonetos podem gerar sinal em alguns detectors.

Gases mais usados: N_2 , He, H_2 e Ar



Característica da amostra

- **Tipo:** Líquida, gasosa ou sólida dissolvida em solvente adequado.
- O **volume e o tipo de injeção** vai variar de acordo com a coluna e estado físico da amostra.
- A **temperatura do injetor** deve ser suficientemente elevada para garantir que toda amostra se **vaporize imediatamente**, sem causar sua decomposição.

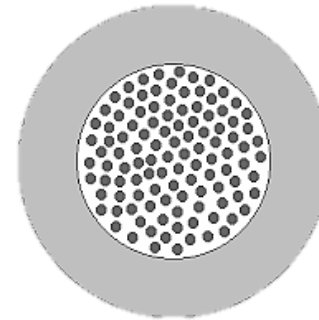
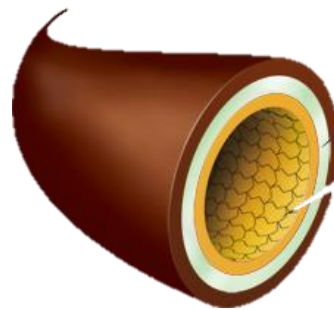
$$T_{\text{injetor}} = 50 \text{ }^{\circ}\text{C acima da } T_{\text{ebulição}} \text{ do componente menos volátil}$$

Instrumentação

Coluna cromatografica

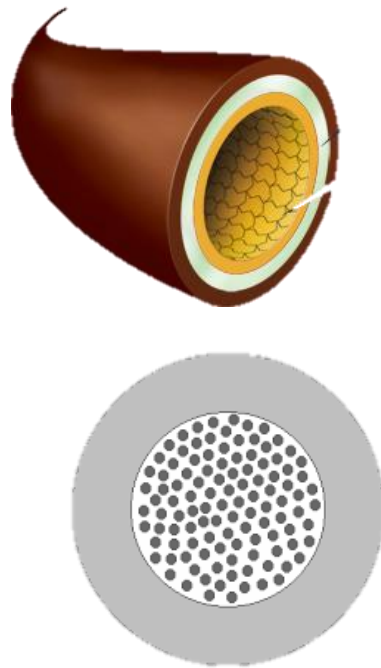
Coluna Empacotada: Recheada com um sólido pulverizado (FE líquida depositada sobre as partículas do recheio).

Coluna Capilar: Paredes internas recobertas com um filme fino.



Instrumentação

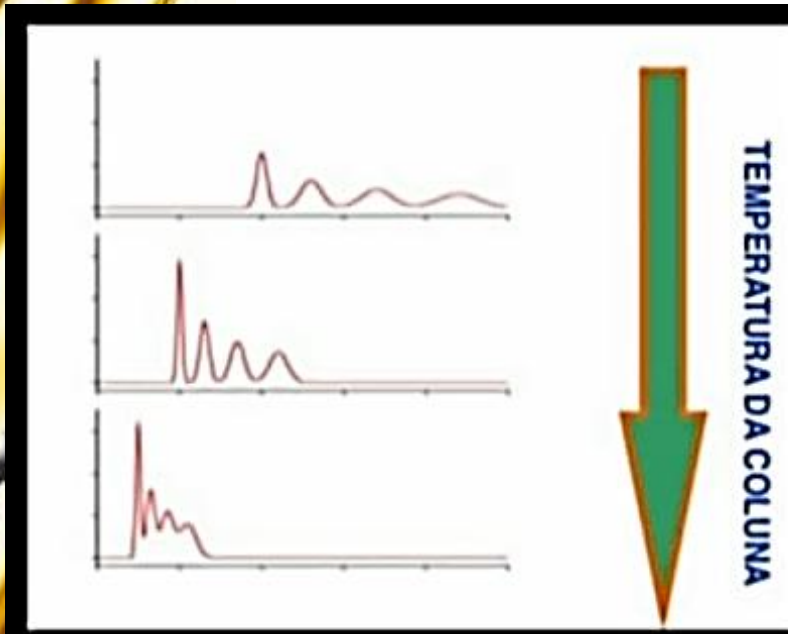
Coluna cromatografica



Material: Aço inoxidável, vidro, sílica fundida, Teflon.
Na forma de boninas (10 a 30 cm).

Instrumentação

Coluna cromatográfica - Forno



Instrumentação

Detectores

São dispositivos que examinam continuamente o material que sai da coluna, gerando o sinal para cada substância em relação ao tempo de retenção na coluna.

- **Universais:** Geram sinal para qualquer substância eluída.
- **Seletivos:** Detectam apenas substâncias com determinada propriedade físico-química.
- **Específicos:** Detectam substâncias que possuem determinado elemento ou grupo funcional em suas estruturas.

Vantagens da técnica



Rapidez



Alto poder de separação (muito específica)



Análise quantitativa



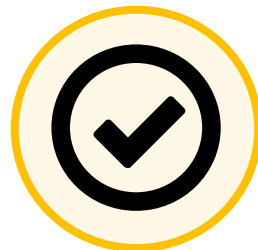
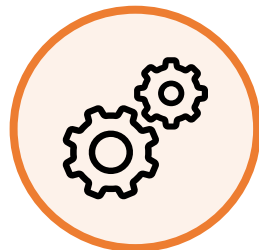
Alta sensibilidade (ppm - ppb)



Pequenas quantidade de amostras



Variedade de detector (especificidade)



Limitações da técnica



Amostras voláteis



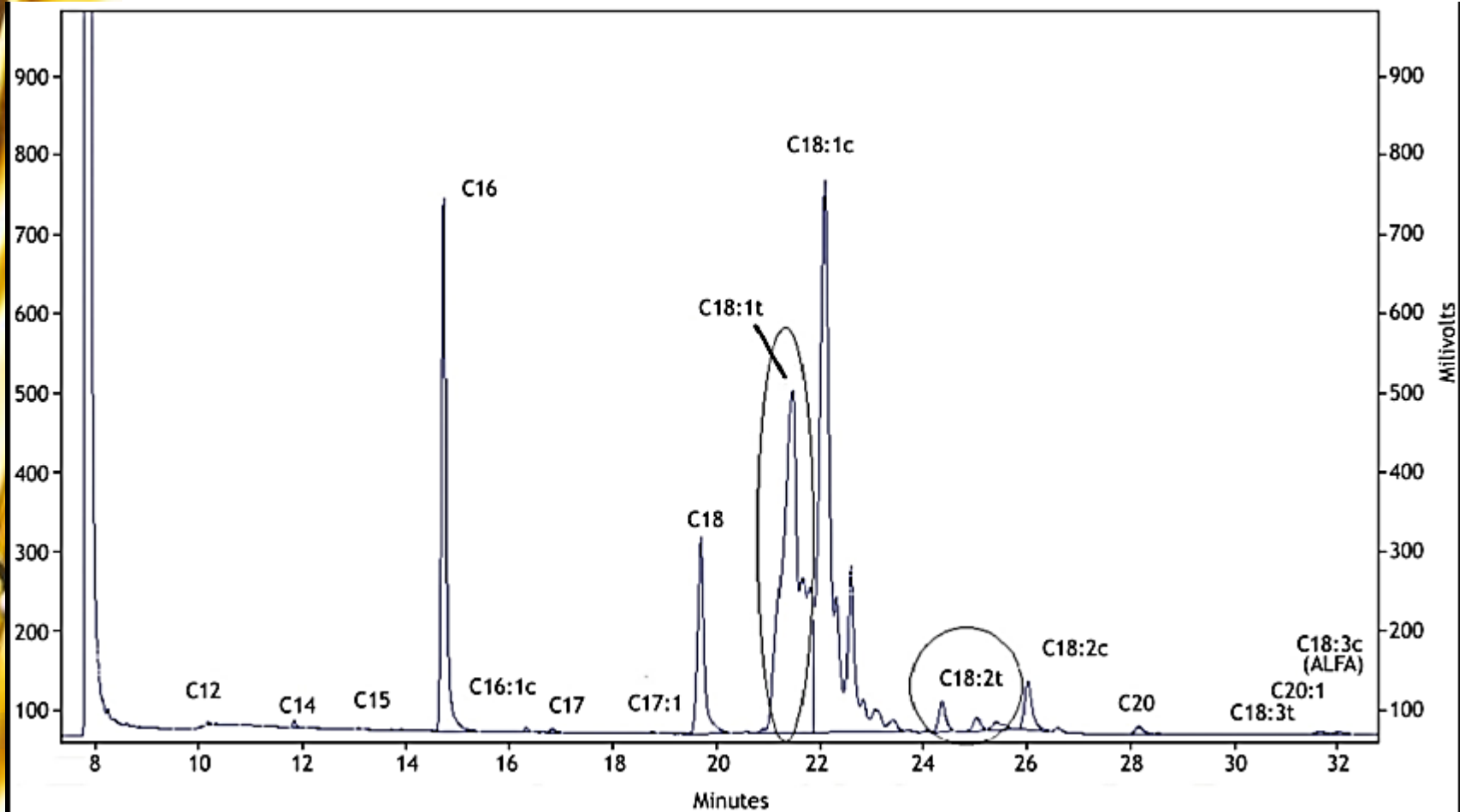
Compostos termicamente estáveis
(em ~ 300 °C)



Técnicas auxiliares para identificação



Cromatograma





Obrigado!!

Paulo César da Silva Santos
pcssantos@usp.br

Solange Garcia Holschuch
sol.holschuch@usp.br

