

Experimento 3

Cromatografia em fase gasosa (GC: Gas Chromatography)

**Determinação da concentração de Metanol
e/ou Etanol em amostras de Biodiesel**

Profa Dra Maria Eugênia Queiroz Nassur

1. Introdução – Cromatografia em fase gasosa



GASES OU SUBSTÂNCIAS VOLATILIZÁVEIS

PONTOS DE EBULIÇÃO de até 300°C

TERMICAMENTE ESTÁVEIS

DEMAIS SUBSTÂNCIAS

REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO

(reações de alquilação, acetilação e sililação)

Esquema de um cromatógrafo a gás



- Hélio
- Nitrogênio
- Hidrogênio

Gás de arraste - Fase Móvel



Forno
Temperatura isotérmica ou
Programada

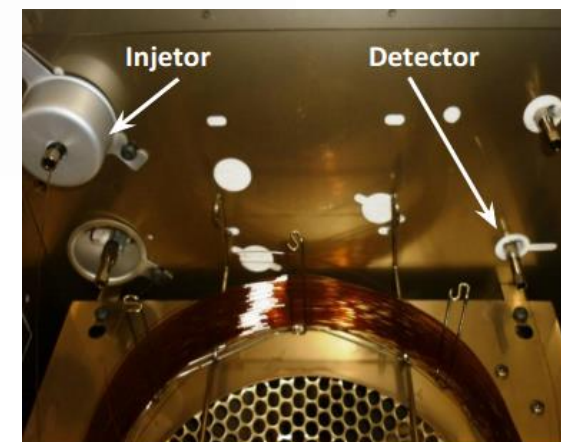
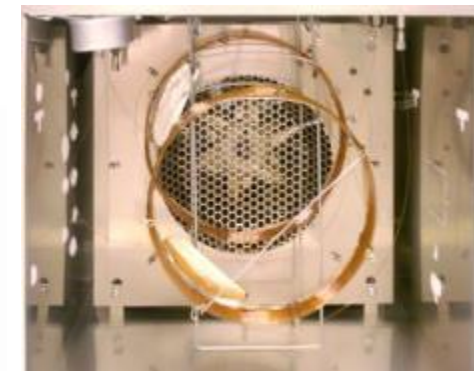
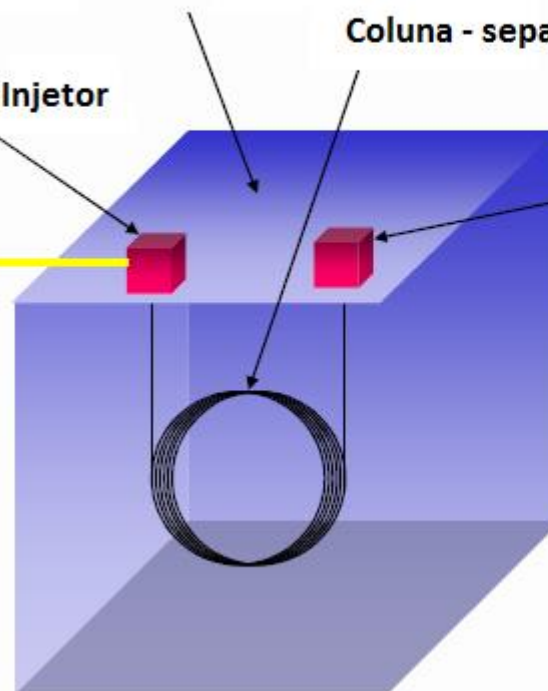
Injetor

Coluna - separação cromatográfica

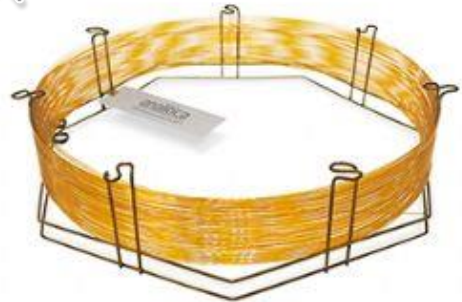
Detector

Sistema de
processamento
de dados

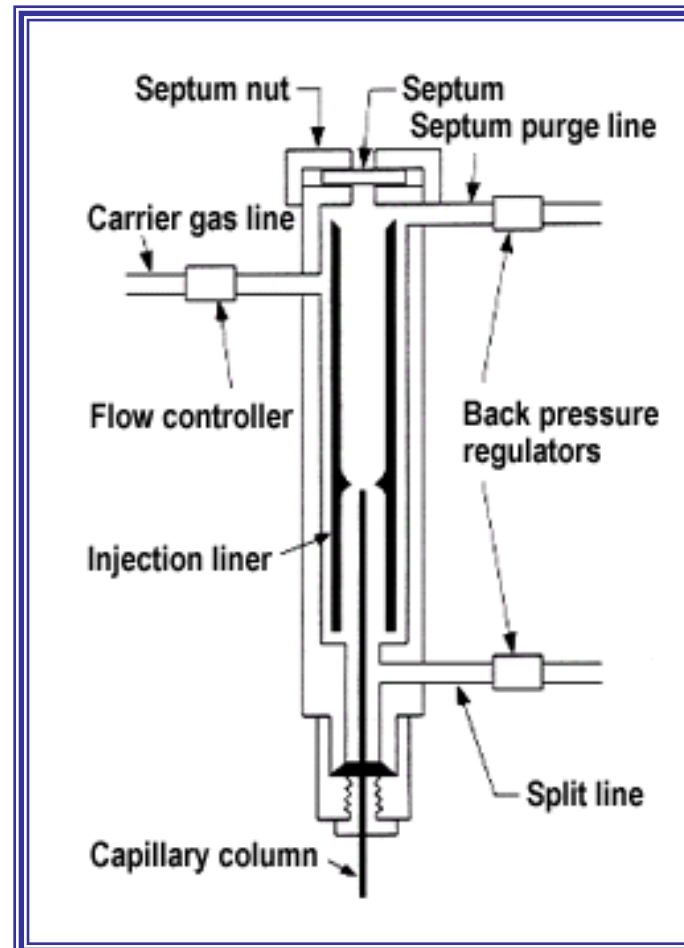
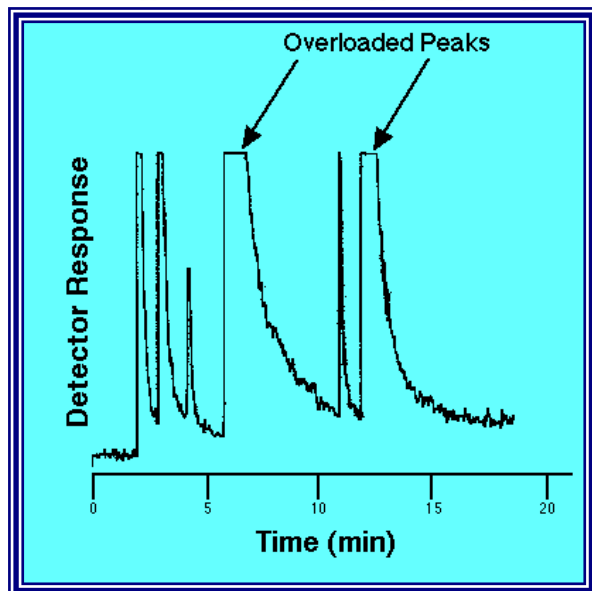
Regulador
de pressão
secundário



Injetor com divisor da amostra ("Split")



30 m x 0,25 mm x 1,0 μ m



Ambiente
inerte no injetor



Silicone (trocas periódicas)

PTFE
(politetrafluoretileno)

- Volume de injeção da amostra: 0,5 μ L (Split de 1:50)

Gás de arraste - detector



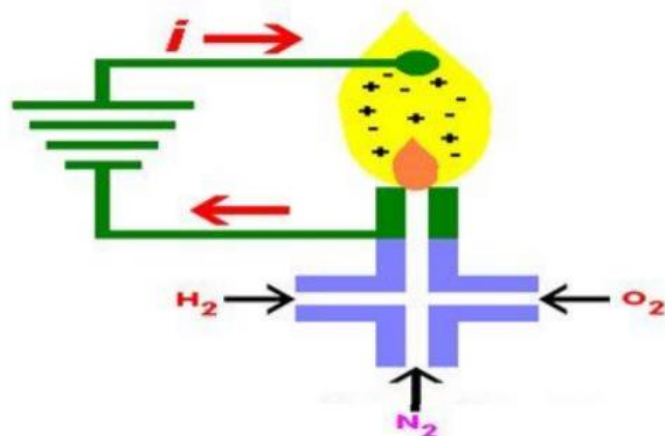
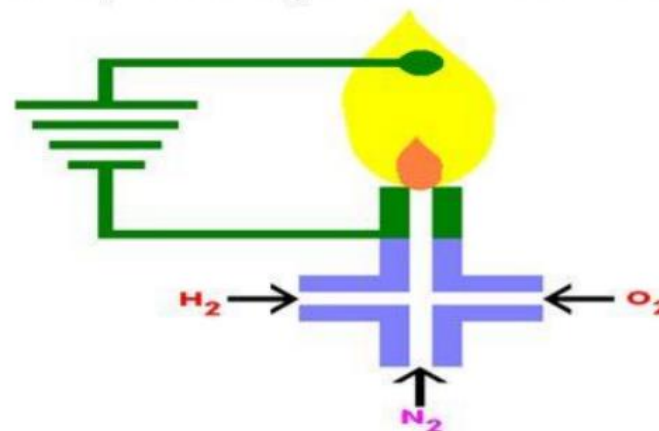
•Detector	Gás de arraste
•Condutividade térmica •(resposta universal)	Hélio, Hidrogênio
•Ionização de chama •(número de átomos C)	Hélio, N ₂
•Captura de elétrons •(compostos halogenados)	Nitrogênio
•Espectrômetro de massas	He

Detector de Ionização de chama



PRINCÍPIO Formação de íons quando um composto é queimado em uma chama de hidrogênio e oxigênio

O **efluente** da coluna é misturado com H_2 e O_2 e queimado. Como numa chama de $H_2 + O_2$ não existem íons, ela não conduz corrente elétrica.



Quando um **composto orgânico** elui, ele também é queimado. Como na sua queima são formados íons, a chama passa a conduzir corrente elétrica



2. Objetivo



- Determinação da concentração de metanol e/ou etanol em amostra de biodiesel utilizando-se à técnica de padronização interna por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama.

. Pela resolução ANP n.7 de 19/03/ 2008, o teor máximo permitido para álcool (metanol ou etanol), no biodiesel, é de 0,20% m/m.

Materiais e reagentes



Microseringa de 10 µL



6 Frascos de 1,5 mL



Micropipetas de 5-50 µL e
100-1000 µL



Solvente: 1-butanol anidro
(99,99%)



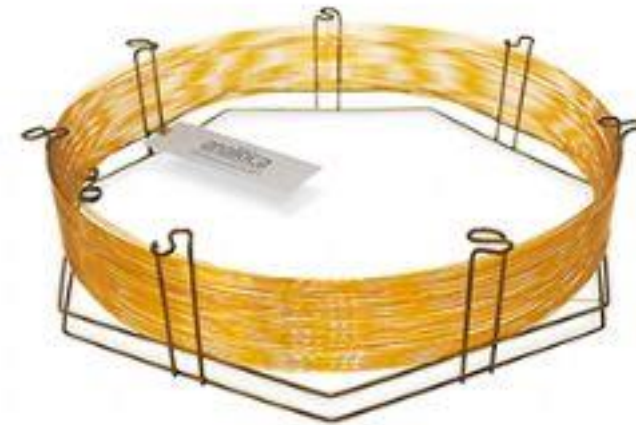
Padrões metanol e etanol (grau HPLC) *
Padrão interno terc-butanol (99%) *

- * Disponíveis na forma de soluções estoque, sendo:
- Solução estoque 1% metanol e etanol em 1-butanol (m/v)
 - Solução estoque 1% terc-butanol em 1-butanol (m/v)

Equipamento



Cromatógrafo a gás GC-2010 Shimadzu com amostrador automático e detector por ionização de chama (FID)



Coluna capilar de sílica fundida DB-1
(polidimetilsiloxano) Agilent J&W
Dimensões: 30 m x 0,25 mm x 1,0 μ m

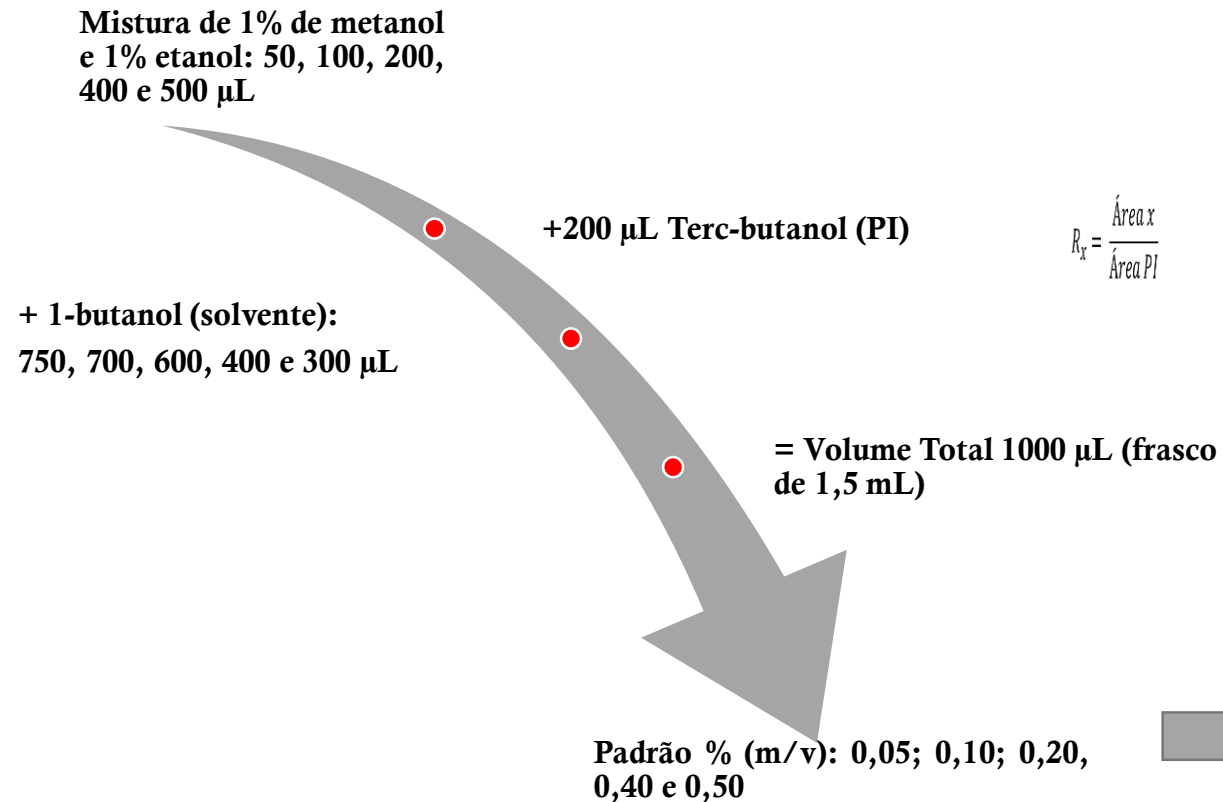
Condições cromatográficas

- Programação de temperatura da coluna: T inicial de 50 °C durante 4 minutos. Após, aquecendo a rampa de 50°C/min até 100 °C. Manter nesta temperatura por 2 minutos.
- Temperatura do injetor: 175 °C
- Temperatura do detector (FID): 260 °C
- Gás de arraste: nitrogênio
- Vazão de nitrogênio: 30 mL/min
- Vazão de hidrogênio: 30 mL/min
- Vazão de ar sintético: 300 mL/min
- Volume de injeção da amostra: 0,5 µL (Split de 1:50)

Metodologia

$$R_x = \frac{\text{Área } x}{\text{Área PI}}$$

- Preparo da Curva Analítica



$$R_x = \frac{\text{Área } x}{\text{Área PI}}$$

$$R_x = \frac{\text{Área } x}{\text{Área PI}}$$

- Obter as áreas dos picos de metanol e/ou etanol e terc-butanol (Padrão Interno). Calcular a razão das áreas utilizando a equação a seguir:

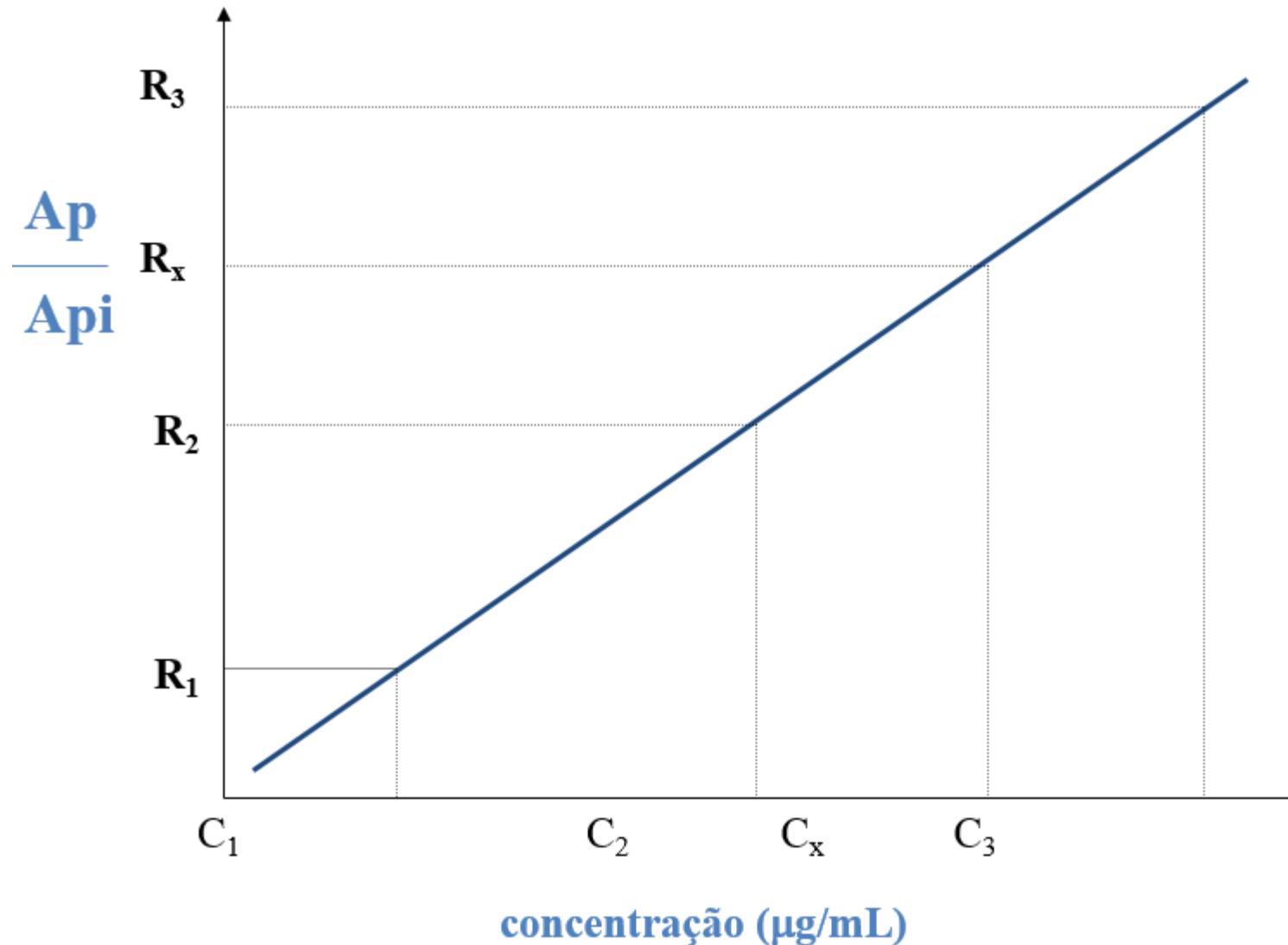
Onde: Rx é a razão de área do componente x

Área x é a área obtida do componente x

Área PI é a área obtida do padrão interno (terc-butanol)

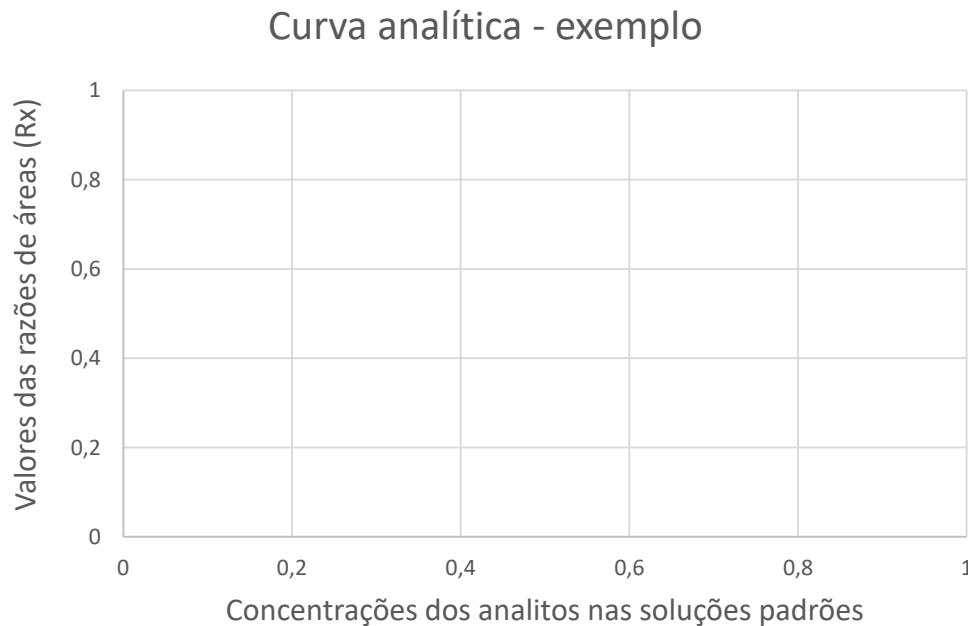
Injetar 0,5 µL cada solução padrão diluída no GC-FID

Curva analítica – Padrão Interno

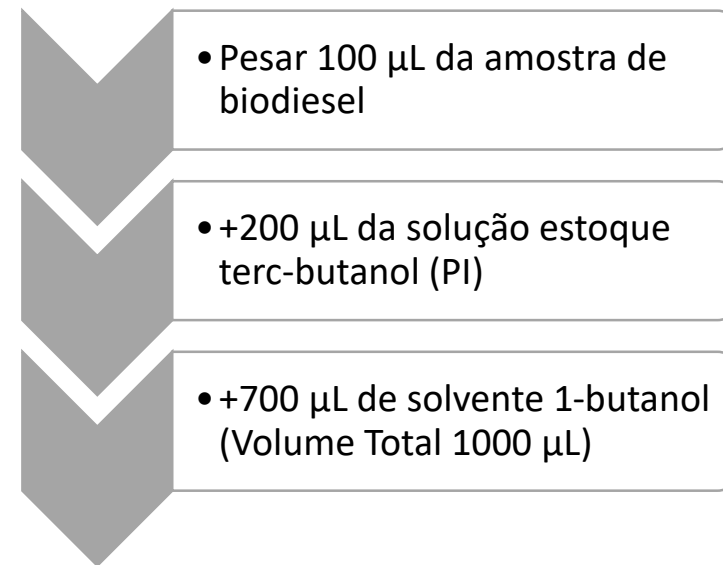


Metodologia

- Traçar as curvas analíticas (uma para o metanol e outra para o etanol), colocando no eixo das abcissas (x) as concentrações dos analitos nas soluções padrões e no eixo das ordenadas (y), os valores das razões de áreas (Rx).



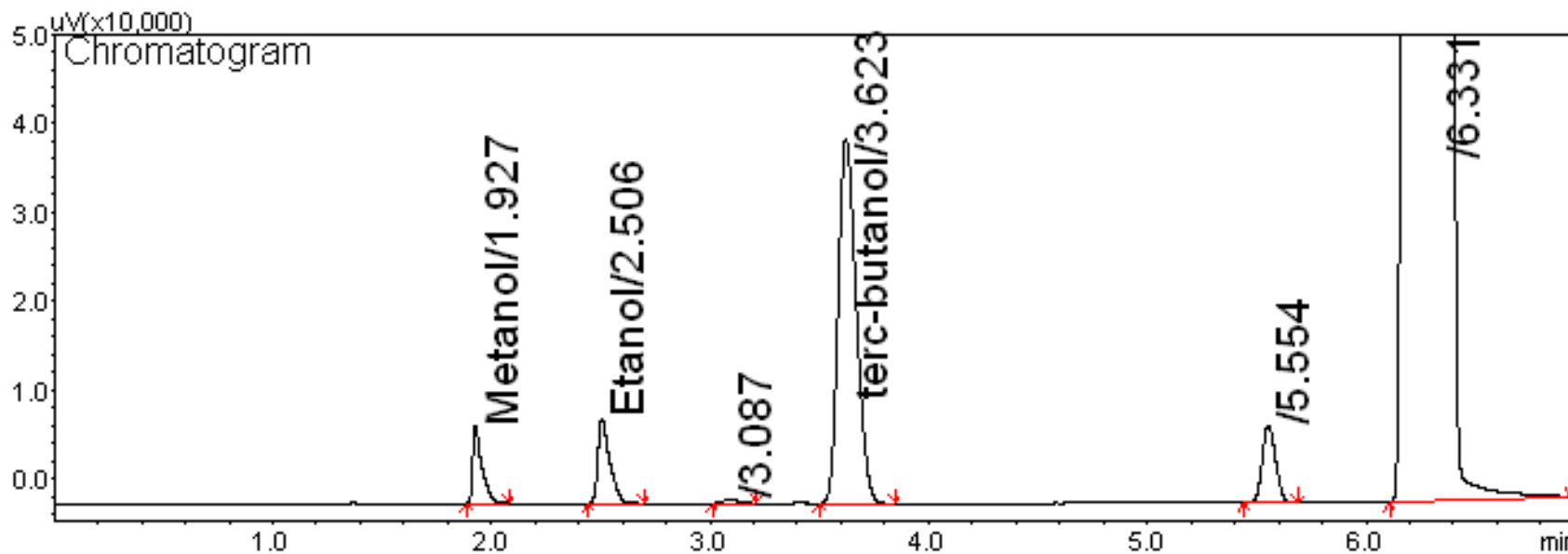
• Preparação da amostra



Injetar 0,5 μL da amostra de biodiesel com o padrão interno no GC-FID.

Resultados da aula experimental

O cromatograma a seguir foi obtido após injeção da solução padrão 0,05% (m/v, primeiro ponto da curva analítica). Os picos cromatográficos referentes ao metanol, etanol e terc-butanol estão indicados na figura, assim como os tempos de retenção.



Questão 1: Baseando-se nesse cromatograma, calcular os seguintes parâmetros cromatográficos: fator de retenção, resolução cromatográfica, número de pratos teóricos, altura equivalente a um prato teórico e retenção relativa (α) dos analitos.

$$t_M = 0,4 \text{ min}$$

Resultados da aula experimental

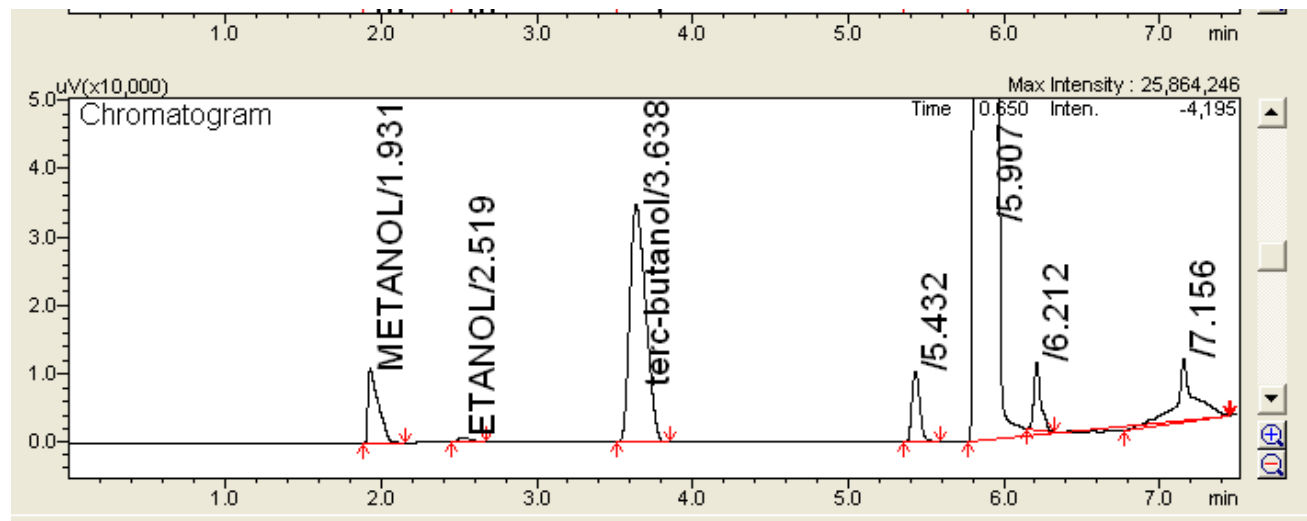
Após injeção de todas as soluções padrão da curva analítica, cromatogramas semelhantes ao apresentado anteriormente foram obtidos. No quadro abaixo tem-se os respectivos valores de área do pico cromatográfico para os analitos metanol e etanol e do padrão interno terc-butanol para cada uma das soluções padrão. Cada solução foi injeta em duplicada.

Composto	Área do ponto 1 (0,05% m/v)		Área do ponto 2 (0,1% m/v)		Área do ponto 3 (0,2% m/v)		Área do ponto 4 (0,4% m/v)		Área do ponto 5 (0,5% m/v)	
	Injeção 1	Injeção 2	Injeção 1	Injeção 2	Injeção 1	Injeção 2	Injeção 1	Injeção 2	Injeção 1	Injeção 2
Metanol	15563,60	35857,90	49832,50	69306,10	114358,80	133282,10	255411,90	284127,60	319638,90	352261,80
Etanol	19515,00	45441,10	63130,20	86420,60	145865,20	167152,30	323462,40	351853,20	405339,00	437724,90
Terc- butanol	143321,00	311828,20	269308,00	294229,30	268021,60	284610,90	273111,80	268464,90	283841,10	275465,70

Questão 2: Com base nesses dados, construir as curvas analítica (uma para o metanol e outra para o etanol), por padronização interna, para os analitos metanol e etanol. Considerar o valor médio entre as injeções de cada solução para a construção da curva.

Resultados da aula experimental

Duas amostras de biodiesel distintas foram injetadas no sistema GC-FID para a quantificação de etanol e metanol. As figuras a seguir representam os cromatogramas obtidos e os respectivos tempos de retenção (t_R)



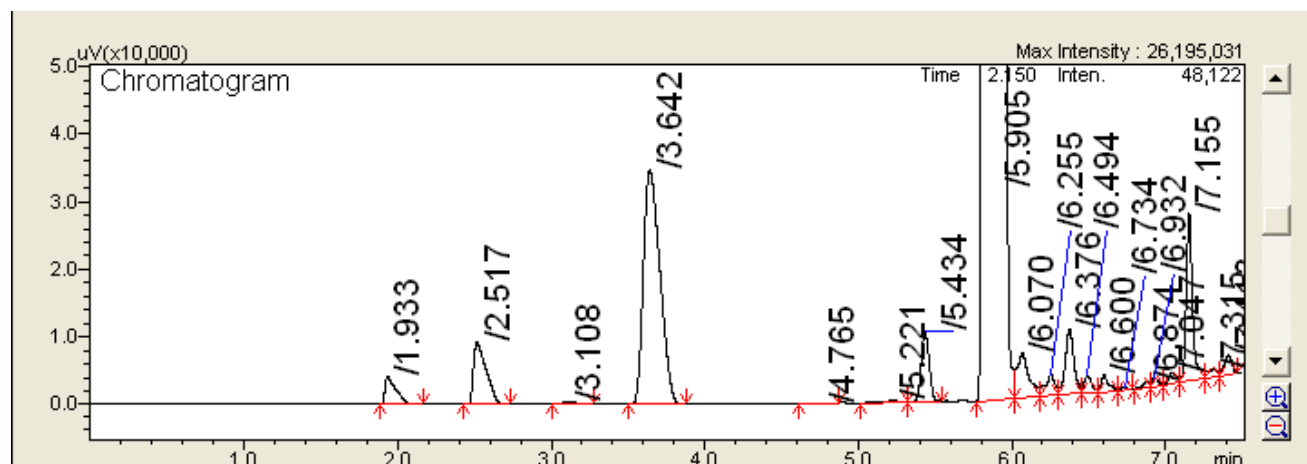
Cromatograma referente a injeção do Biodiesel 1

Massa de biodiesel pesada: 0,0915 (referente a 100 μ L)

t_R metanol: 1.931 min

t_R etanol: 2.519 min

t_R terc-butanol: 3.638 min



Cromatograma referente a injeção do Biodiesel 2

Massa de biodiesel pesada: 0,0924 g (referente a 100 μ L)

t_R metanol: 1.933 min

t_R etanol: 2.517 min

t_R terc-butanol: 3.642 min



Resultados da aula experimental

Cada amostra de biodiesel foi injetada em duplicada. O quadro a seguir apresenta os valores de área obtidos para cada analito e o padrão interno.

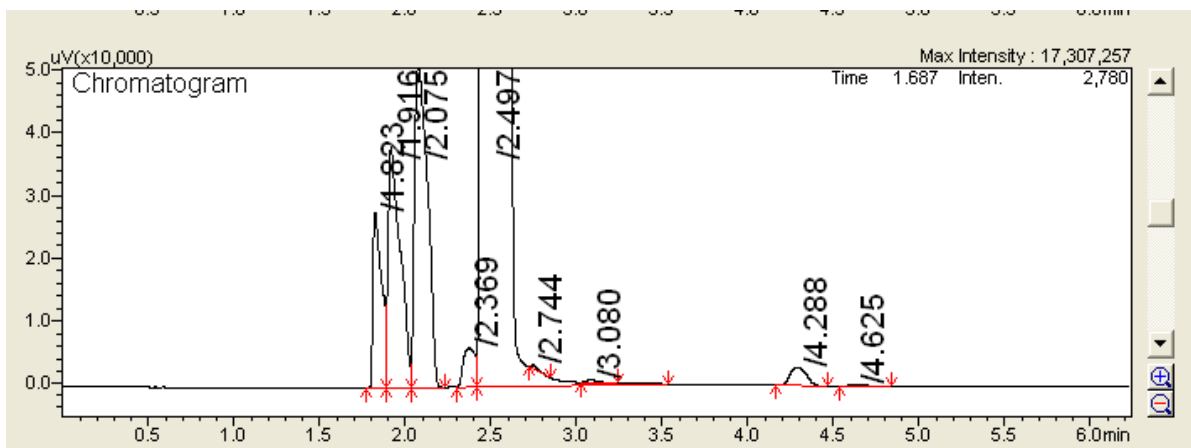
Composto	Áreas dos picos cromatográficos Biodiesel 1		Áreas dos picos cromatográficos Biodiesel 2	
	Injeção 1	Injeção 2	Injeção 1	Injeção 2
Metanol	52544,0	53513,9	22180,4	20618,3
Etanol	4929,2	4831,3	55096,8	52953,9
Terc-butanol	251846,8	259799,6	262912,8	287134,2

Questão 3: Com base nos valores de área apresentados, calcular a concentração de metanol e etanol nas amostras de biodiesel em % m/v e, fazendo uso das massas pesadas de biodiesel, em % m/m. Calcular a concentração para cada injeção individualmente e então obter a média de concentração para cada biodiesel. Discuta os valores obtidos. As amostras de biodiesel encontram-se em concordância com a legislação?

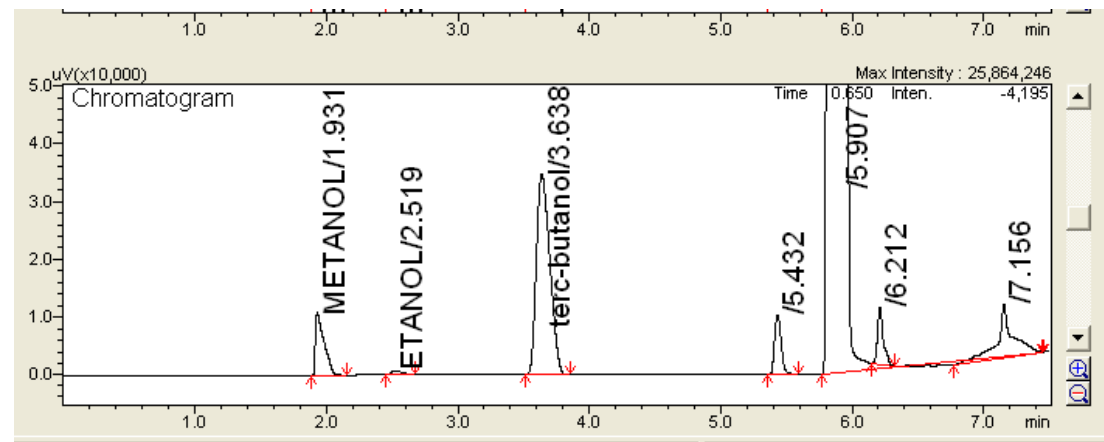
* Não calcular a média de concentrações entre os dois biodiesel. Lembre-se que são amostras diferentes!

Resultados da aula experimental

A fim de se avaliar a resolução cromatográfica em função da temperatura da coluna, os cromatogramas abaixo foram obtidos após injeção de solução dos padrões no modo isotérmico (temperatura constante) e com rampa de aquecimento (variação da temperatura com o tempo) modificada.



Cromatograma no modo isotérmico



**Cromatograma com temperatura programada modificada:
120 °C por 4 min, após, 50 °C/min até 200 °C**

Questão 4: Discutir a resolução cromatográfica em relação à variação de temperatura da coluna, no modo isotérmico e empregando a temperatura programada.