

CGAR.10. AVALIAÇÃO E RECUPERAÇÃO DE COLUNAS CAPILARES DE ALTA RESOLUÇÃO UTILIZADAS NA ANÁLISE DE FRAÇÕES DERIVADAS DE ALCATRÃO VEGETAL

S. M. A. Corrêa, S. D. C. T. Barbosa, F. R. de Aquino Neto e R. B. Coelho

Departamento de Química Orgânica - Instituto de Química - UFRJ - Ilha do Fundão - CT - Bloco A - Sala 607 - 21945 - Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 25/11/91; cópia revisada em 30/1/92

During routine use in the analysis of wood tar components, immobilized SE-54 capillary columns lose their initial characteristics and, in many cases, they must be discarded. A recuperation treatment has been developed to extend the lifetime of these columns, which consists of rinsing the column with 5 volumes of hexane and 10 volumes of a 10% solution of methanol in dichloromethane or 5 volumes of hexane, 5 volumes of dichloromethane and 5 volumes of acetone.

Keywords: Capillary gas chromatography; wood tar analysis; capillary column evaluation.

INTRODUÇÃO

No presente trabalho efetuou-se o acompanhamento do desempenho de colunas capilares de alta resolução com fase estacionária SE-54, durante o seu uso diário no laboratório em análises de frações derivadas de alcatrão vegetal, através de um teste desenvolvido por GROB¹⁻³. Esse teste fornece, num pequeno espaço de tempo, as características cromatográficas relevantes de uma coluna capilar, demonstrando a capacidade de adsorção, comportamento frente a ácidos e/ou bases, espessura de filme de fase estacionária (df) e eficiência de separação que é dada pelo número de separação Trennzahl (TZ)¹⁻³. Os valores de TZ e \overline{TZ} são obtidos através das fórmulas:

$$TZ = \frac{\Delta t_R}{Wh_A + Wh_B} - 1$$

Onde: Δt_R - diferença do tempo de retenção dos ésteres.
Wh - largura a meia altura do pico de referência.

$$\overline{TZ} = \frac{TZ_{E10/11} + TZ_{E11/12}}{2}$$

E₁₀, E₁₁, E₁₂: Veja legenda da figura 5.

Devido ao uso contínuo, essas colunas capilares apresentam alterações que podem vir a inviabilizar a sua utilização, principalmente, em análises de amostras complexas, como é o caso do alcatrão vegetal que tem uma composição aproximada de 13% de derivados fenólicos, 4% de ácidos carboxílicos, 8% de compostos cíclicos de 5 membros, 9% de guaiaicóis, 22% de siringóis e 44% de outros^{4,5}, onde cerca de 30% desse alcatrão são constituídos de material não volátil nas condições de análise. Sabe-se, que compostos fenólicos são difíceis de serem analisados devido à sua tendência de formar picos com caudas quando estão presentes como traços e picos muito largos quando em grande quantidade⁶; esse comportamento aumenta a importância da qualidade da coluna cromatográfica na obtenção de separações adequadas.

Desenvolveu-se, então, um procedimento corretivo no sentido de prolongar a vida útil das colunas SE-54 utilizadas.

PARTE EXPERIMENTAL

I - Características das Colunas:

Preparadas no laboratório segundo técnica adaptada de Grob^{7,8}.

Coluna I - Número: 150490 e Coluna II - Número: 170490 fase estacionária SE-54, compr. total: 20m, compr. de lacuna: 2m, D.I.: 0,3mm,df:0,33 μ m, lixívia: 170°C/12h, desidratação: 300°C/2h, silanização (HMDS e DFTMDS): 1:1 v/v 400°C/12h, imobilização: Solução de SE-54 em pentano/diclorometano (1:1) acrescida de 0,4% de peróxido de dicumila⁸. Após recobrimento - 160°C/1h - 180°C/1h.

II - Material Utilizado:

- Cromatógrafo à gás, Hewlett Packard, modelo HP-5890, acoplado com detector por ionização em chama (FID).
- Registrador, Equipamentos Científicos do Brasil, modelo RB201.
- Integrador, Hewlett Packard, modelo 3390A.
- Seringa Hamilton de 10 μ l com divisão em 0,1 μ l.
- Seringa B-D Yale Tuberculina de 1 ml.
- Gases: nitrogênio UP e hidrogênio UP.

III - Características da Amostra de Alcatrão Vegetal de *Eucalyptus citriodora*

- Soluções de amostra em acetona na concentração de 10g/l.
- As soluções preparadas contém cerca de 3 μ g/ μ l de material não volátil.
- As análises por CGAR foram efetuadas com injeções de 1 μ l da solução sem divisão e com divisão de fluxo^{9,10}.

IV - Procedimento Experimental:

1 - Técnica de Lavagem da Coluna:

A operação de lavagem da coluna só pode ser efetuada quando a fase for imobilizada. Visa à simples remoção de depósitos distribuídos ao longo do capilar e é levada a efeito através da circulação de solventes pela coluna (figura 1), em direção oposta ao fluxo normal do gás carreador (à temperatura ambiente).

2 - Técnica de Lavagem da Lacuna de Retenção:

Lacuna removível: Remover a lacuna e fazer o teste de Grob. Se necessário, tratar a coluna como no item IV-1.
Lacuna permanente: Lavar a lacuna com seringa segundo a figura 2. Conectar ao capilar, através de um tubo de plástico, a saída do gás N₂. Dessa forma, há uma pressão cons-

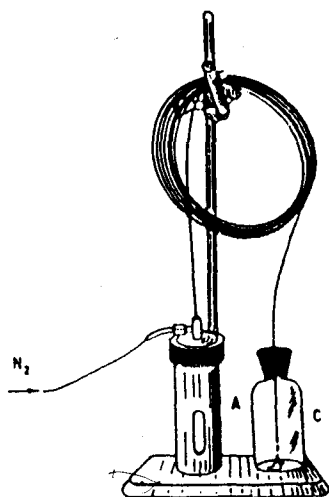


Figura 1. Sistema para circulação do solvente pela coluna capilar. A - Frasco pneumático para introdução de solvente no capilar. O capilar é mergulhado no conteúdo de solvente do frasco. O solvente é deslocado para o interior do capilar por pressão de nitrogênio. C - Frasco para recolhimento do solvente.

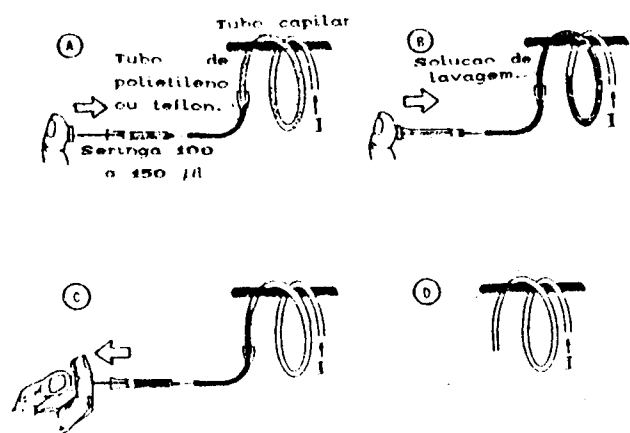


Figura 2. Operações de lavagem de lacuna de retenção de colunas capilares. Cada solvente é introduzido 4 a 5 vezes no capilar, segundo a seqüência A a C. As impurezas solúveis são removidas para a seringa (C) e deixa-se passar gás (D) até a evaporação completa do solvente. I - $\pm 0,1$ bar de N_2 ou ar purificado.

Tabela I. Seqüência de utilização e tratamento das colunas.

Coluna	n° de injeções/ Sistema de lavagem	Tipo de injeção/ Tratamento após lavagem	Quantidade de não voláteis (μg)*	Teste de Grob		Conclusão
				TZ	Fig.	
I	-	-	-	28,9	5a	recém-preparada
I	16	Sem divisão	48	-	5b	ruim
I	S _I	Condicionamento 300°C/1h	-	27,6	6	recuperada
I	15	Sem divisão	45	-	7a	ruim
I	S _{II}	Condicionamento 300°1h	-	27,3	7b	recuperada
II	-	-	-	27,2	8a	recém-preparada
II	40	Com divisão	0	-	-	-
II	13	Sem divisão	18	-	8b	ruim
II	S _{II}	Condicionamento 300°/1h	-	26,3	9	recuperada

* Quantidade estimada de substâncias não voláteis efetivamente introduzidas no capilar.

tante no sistema e pode-se introduzir o solvente até o ponto desejado e retirá-lo várias vezes de maneira contínua e muito precisa. Em seguida fazer o teste de Grob. Se necessário, tratar a coluna como no item IV-1.

3 - Sistemas de Solventes Empregados:

S_I: 5 volumes de hexano e 10 volumes de metanol a 10% em diclorometano.

S_{II}: 5 volumes de hexano, 5 volumes de diclorometano e 5 volumes de acetona.

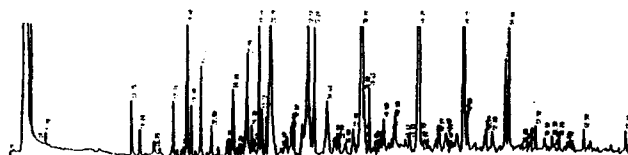


Figura 3. Cromatograma de uma amostra de alcatrão vegetal. N.B.: Coluna com excelente perfil de Teste de Grob.

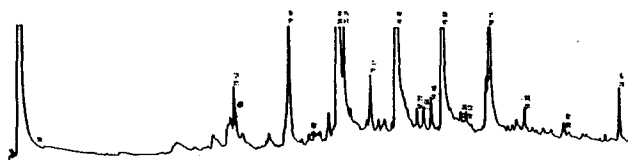


Figura 4. Cromatograma de uma amostra de alcatrão vegetal. N.B.: Coluna com um perfil de Teste de Grob indicando forte adsorção com formação de picos deformados e com cauda.

4 - Teste de Grob¹⁻³:

A mistura-teste foi desenvolvida por Grob, sua composição apresenta componentes ácidos, básicos, neutros, hidroxilados e carbonilados, selecionados de modo a permitir a avaliação da interação da coluna com diferentes grupos funcionais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram feitas injeções com divisão de fluxo em CGAR para análise de frações de alcatrão vegetal separadas por cromatografia em camada delgada e, com o uso contínuo, as colunas perdiam a eficiência de separação.

A comparação do cromatograma da figura 3, que é típico

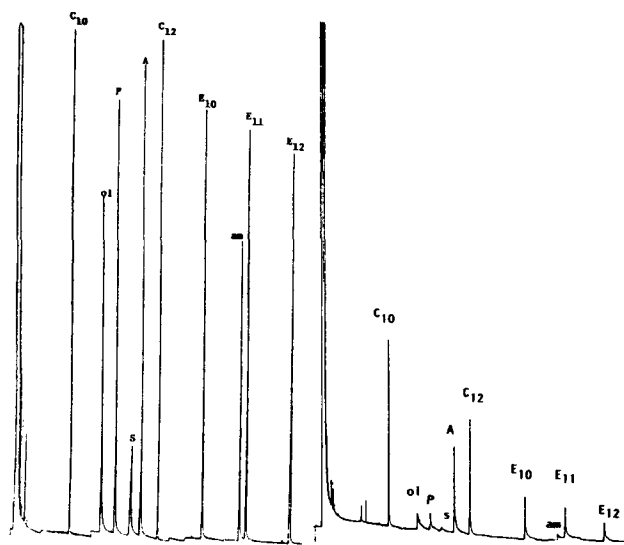


Figura 5. a) Teste inicial, feito antes da utilização.
b) Teste após 16 injeções, sem divisão de fluxo, de alcatrão vegetal. C10- decano; ol- 1-octanol; P- 2,6-dimetilfenol; S- ácido 2-etilhexanóico; A- 2,6-dimetilanilina; C12- dodecano; E10- decanoato de metila; am-diciclohexil - amina; E11- undecanoato de metila; E12- decanoato de metila.

de uma amostra de alcatrão, obtido em uma coluna com boa resolução, com o cromatograma da figura 4, referente à injeção dessa amostra na mesma coluna com baixa resolução devido ao acúmulo de matriz, evidencia a necessidade de uma coluna de boa qualidade para a análise desse tipo de amostra.

Sendo assim, foram efetuadas recuperações através de lavagens das lacunas de retenção utilizando hexano, diclorometano e acetona como seqüência de solventes.

Levando-se em conta as concentrações das amostras e volumes injetados temos que, no presente caso, 30 injeções com divisão de fluxo equivalem à introdução de 5µg de material não volátil no capilar (veja experimental). Segundo estudos anteriores^{11,12}, essa quantidade seria suficiente para inviabilizar a utilização de uma coluna capilar. Sendo assim, foi feita

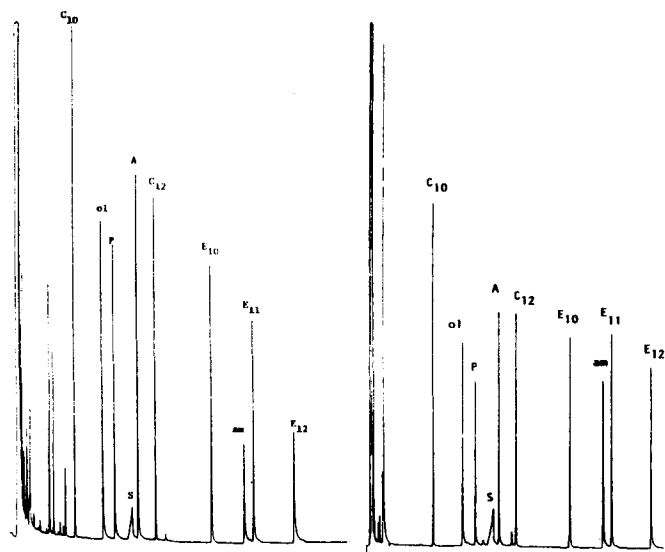


Figura 7. a) Teste após 15 injeções de alcatrão vegetal.
b) Teste após lavagem com hexano, diclorometano e acetona. Veja figura 5 para significado das abreviações.

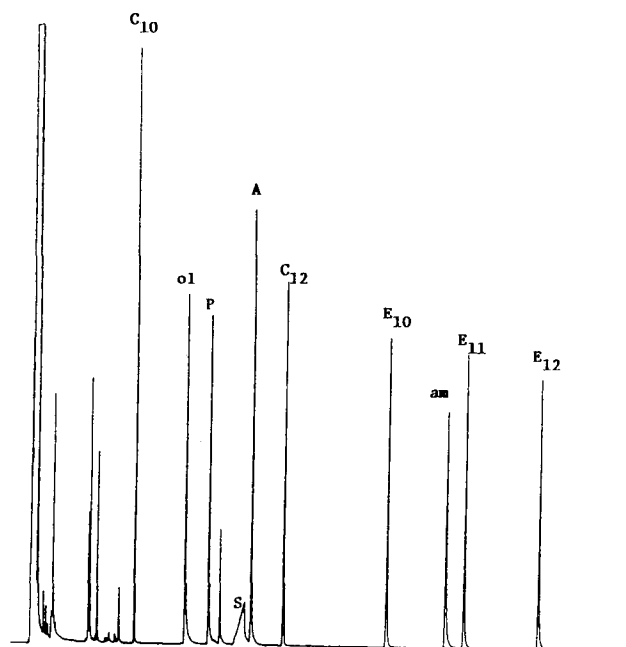


Figura 6. Teste de Grob efetuado após a lavagem com hexano e metanol a 10% em diclorometano. Veja figura 5, para significado das abreviações.

uma lavagem de lacuna a cada 10 injeções no sentido de preservar o desempenho das colunas.

Após 5 lavagens das lacunas, não se conseguiu mais recuperar as características iniciais das colunas. Sendo assim, decidiu-se efetuar a lavagem total das colunas, de acordo com a seqüência experimental descrita na tabela I.

Após o número indicado de injeções que, dependendo da modalidade, introduzem uma certa massa de componentes não voláteis no capilar, lava-se a coluna com o sistema de solventes indicado (veja experimental).

A coluna I foi lavada com S_I, após terem sido feitas 16 injeções de alcatrão vegetal. As figuras 5a ($\overline{TZ} = 28,9$) e 5b ilustram a perda de qualidade, nitidamente recuperada após a lavagem (figura 6 - $\overline{TZ} = 27,6$). Depois do uso em mais 15 análises de alcatrão vegetal, testou-se outro sistema de solventes, o S_{II}, onde obteve-se o teste da figura 7b ($\overline{TZ} = 27,3$), demonstrando que ambos os sistemas são adequados para recuperar uma coluna capilar de SE-54.

Para demonstrar a versatilidade do método de tratamento, além do alcatrão vegetal, empregou-se esse tipo de coluna para análises de outras misturas complexas. Assim, foram efetuadas 40 injeções com divisão de fluxo de amostras de áci-

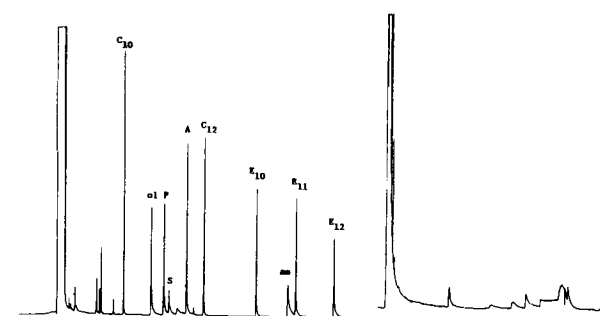


Figura 8. a) Teste inicial, feito antes da utilização.
b) Teste após 40 injeções com divisão de fluxo e 13 sem divisão de fluxo. Veja figura 5 para significado das abreviações.

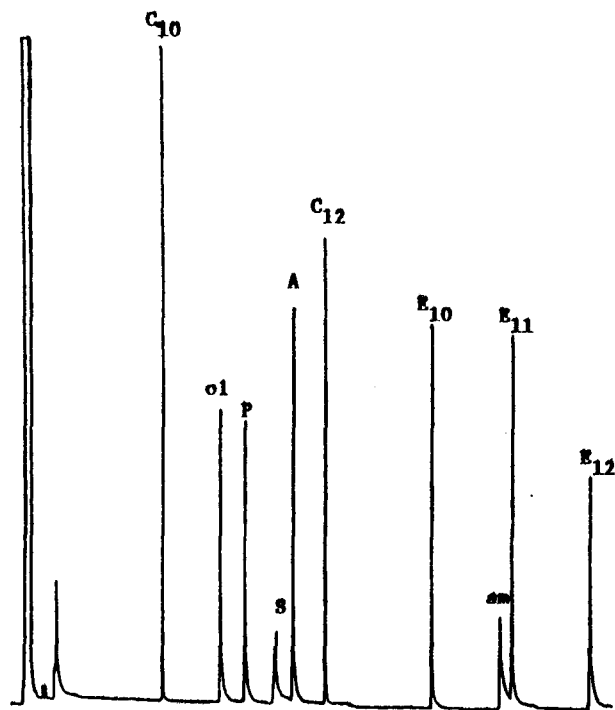


Figura 9. Teste de Grob efetuado após a lavagem com hexano, diclorometano e acetona. Veja figura 5 para significado das abreviações.

dos carboxílicos extraídos de sedimentos do rio Amazonas, 7 de alcatrão vegetal e 6 para determinação de resíduos de anabolizantes em urina humana, sem divisão de fluxo. As figuras 8a ($\overline{TZ} = 27,2$) e 8b ilustram a perda da qualidade da coluna.

A seguir, foi efetuada a lavagem da coluna com S_{II} obtendo-se o teste da figura 9 ($\overline{TZ} = 26,3$), onde pode-se observar a recuperação quase perfeita, pois, dentre todos os picos, apenas a 2,6-dimetilanilina eluiu com 80% de sua altura inicial.

Apesar de ter havido ligeira redução dos \overline{TZ} médios, os valores obtidos são perfeitamente aceitáveis e caracterizam a manutenção das boas características de análise da coluna.

CONCLUSÃO

É possível recuperar as propriedades iniciais de uma coluna cromatográfica com fase imobilizada, embora esse seja um procedimento delicado e dependa da natureza das amostras analisadas e modo de operação da coluna.

Tanto a lavagem com diclorometano/10% de metanol como com diclorometano e acetona se mostrou adequada para as situações estudadas.

REFERÊNCIAS

- Grob, K.Jr.; Grob, G.; Grob, K.; *J.Chromatogr.* (1978), **156**, 1.
- Grob, K.; Grob, G.; Grob, K.Jr.; *J.Chromatogr.* (1981), **219**, 13.
- Cardoso, J.N.; Aquino Neto, F.R.; *Quím. Nova* (1986), **9**, 58.
- Stuckenbruck, P.; Aquino Neto, F.R.; Carazza, F.; *An. Enc. Carboquim.* (1989), **2**, 3.
- Stuckenbruck, P.; *Tese de Mestrado*, Rio de Janeiro, UFRJ, IQ. (1990).
- Stuckenbruck, P.; Aquino Neto, F.R.; *J. High Resol. Chromatogr.* (1990), **13**, 210.
- Grob, K.; Grob, G.; Blum, W.; Walther, W.C.; *J. Chromatogr.* (1982), **244**, 197.
- Grob, K.; "Making and manipulating capillary columns for gas chromatography", Heidelberg, Dr. Alfred Hüthig Verlag, (1986), 232.
- Grob, K.; "On-column injection in capillary gas chromatography", Heidelberg, Dr. Alfred Hüthig Verlag (1987).
- Cardoso, J.N.; Aquino Neto, F.R.; *Quím. Nova* (1989), **12**, 13.
- Castro, I.M.; Aquino Neto, F.R.; *J.High Resol. Chromatogr.* (1990), **13**, 302.
- Aquino Neto, F.R.; Cardoso, J.N.; *Quím. Nova* (1992), **15**, 224.