

CROMATOGRAFIA GASOSA (GC)

Cromatografia Gasosa Bidimensional

Cláudia Alcaraz Zini

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Instituto de Química
LAAO, Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica
91501-970 – Porto Alegre (RS)
Brasil.
cazini@iq.ufrgs.br

Resumo

Este artigo apresenta uma visão geral da cromatografia gasosa bidimensional, ilustrando diferenças e semelhanças entre a cromatografia gasosa bidimensional de frações parciais ou de “heartcut” (GC-GC) e a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). Uma abordagem simplificada do histórico da cromatografia gasosa bidimensional, seus fundamentos teóricos e questões relacionadas à instrumentação, conjunto de colunas e detectores são apresentados. O uso da GC×GC tem se mostrado bastante conveniente para matrizes complexas como as provenientes da área da petroquímica, alimentos, aromas e fragrâncias, forense, ambiental etc. Quando comparada à GC-GC, seu potencial traduz-se em menor tempo de análise, maior capacidade de pico, maior sensibilidade e na obtenção de cromatogramas estruturados, permitindo uma investigação mais detalhada da complexidade das matrizes investigadas, especialmente quando associada a detector de espectrometria de massas por tempo-de-voo.

Palavras-chave

Cromatografia gasosa bidimensional abrangente, Cromatografia gasosa bidimensional de frações parciais ou de “heartcut”.

Abstract

This article presents an overview of two-dimensional gas chromatography, pointing to similarities and differences between heartcut (GC-GC) and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC). A simplified approach of the history of two-dimensional gas chromatography, its theoretical basis and issues related to instrumentation, columns sets, modulators and detectors are presented. GC×GC has been regarded as a convenient technique for complex matrices, such as petrochemicals, food and beverage, flavour and fragrance, environmental samples, forensic samples, etc. A comparison of both two-dimensional techniques shows that GC×GC provides shorter analysis times, higher peak capacity, sensitivity and chromatographic structure, allowing a deeper investigation of the complexity of investigated matrices, especially when associated with time-of-flight mass spectrometry.

Keywords

Comprehensive two-dimensional gas chromatography, heartcut two-dimensional gas chromatography

1. Introdução

A cromatografia gasosa (GC, “gas chromatography”) é uma técnica que atingiu sua maturidade e oferece alta capacidade de separação, tendo sua eficiência complementada por detectores, hardware e software adequados para sua aplicação em diferentes áreas. Não obstante, amostras como petróleo e derivados, aromas naturais, alimentos e amostras ambientais são, frequentemente, muito complexas para que se possa atingir a separação de seus componentes em uma só fase estacionária. Em amostras provenientes de matrizes como perfumes, óleos essenciais ou bebidas alcoólicas o problema pode ser exacerbado, nos casos em que o componente que contribui para o aroma ou sabor encontra-se em quantidades traço. Nesses casos, a coeluição desses traços com compostos que se encontram em grandes quantidades na amostra representa um problema real para detecção, identificação e quantificação desses compostos de interesse. O emprego de detectores específicos pode auxiliar, contudo, a obtenção de um espectro de massas sem qualquer interferência para um determinado analito continua sendo um desafio.

A resolução (R_s) em cromatografia é descrita como:

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{1+k} \right) \quad (\text{eq.1})$$

Onde N é o número de pratos teóricos, α é o fator de separação de um dado par de solutos que descreve a seletividade da fase estacionária e k é o fator de retenção do soluto mais retido¹.

Uma forma comum de se buscar uma melhor resolução é empregar uma coluna cromatográfica mais longa, contudo, este aumento no comprimento da coluna deve ser significativo pois R_s depende da raiz quadrada de N . Esta estratégia tem como consequência um indesejável aumento do tempo de análise, podendo resultar também em alargamento de picos e, conseqüentemente, em limites de detecção mais altos. Em uma coluna de 450 m, com mais de 1,3 milhões de pratos efetivos, foi

possível separar 970 componentes de uma amostra de gasolina em aproximadamente 11 horas de análise. Apesar de toda a capacidade dessa coluna, ela ainda se mostrou insuficiente para separar todos os componentes dessa amostra². Outra estratégia empregada é diminuir o diâmetro da coluna. A associação de pequenos diâmetros de coluna com elevadas vazões de gás de arraste e rápido aquecimento do forno tornou possível o emprego da cromatografia gasosa rápida (“fast GC”)³. O uso da “fast GC”, geralmente, resulta em um cromatograma equivalente em um tempo reduzido; não obstante, essa abordagem raramente oferece ganhos à separação cromatográfica^{4,5}. Assim, uma maneira mais eficiente de melhorar a resolução é alterar o valor do fator de separação. Isso pode ser alcançado através de cromatografia gasosa multidimensional, usando-se fases estacionárias distintas.

As técnicas de separação multidimensional são definidas por duas condições: (1) os componentes da amostra são sujeitos a dois ou mais processos de separação (mecanismos), que são independentes ou quase independentes um do outro e (2) os componentes permanecem separados até o final do processo⁶⁻⁸. Os primeiros experimentos que envolveram cromatografia multidimensional foram reportados por Consden e colaboradores e a maior parte do trabalho foi realizada no modo planar, em que a amostra é eluída em duas dimensões, uma perpendicular a outra⁸. O foco deste trabalho, no entanto, restringe-se à cromatografia gasosa bidimensional. Na cromatografia gasosa bidimensional de frações parciais ou de “heartcut” ou com “heartcutting” (GC-GC), apenas algumas partes do efluente da primeira dimensão são introduzidas na segunda dimensão. Por outro lado, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é assim designada, pois todo o efluente da primeira dimensão, ou uma parte suficientemente representativa do mesmo, é introduzida na segunda dimensão, mantendo-se as características da separação ocorrida na primeira dimensão⁹.

2. Histórico

A primeira tentativa de utilizar uma separação bidimensional foi realizada por Simmons e Snyder em 1958¹⁰. Este e outros trabalhos mais antigos de GC-GC empregavam sistemas à base de válvulas para conectar as duas colunas e fracionar o efluente da primeira coluna, transferindo-o para a segunda. Alguns problemas estavam associados a esses sistemas, como por exemplo atividade catalítica de partes metálicas das mesmas e alargamento de banda devido ao volume morto e à sorção de componentes nas superfícies das válvulas.

Em 1968, Deans introduziu um novo dispositivo para a transferência das frações, chamado inversor de Deans (“Deans switch”) que não utiliza válvulas, mas sim um balanço pneumático de pressão¹¹. A concepção do sistema proposto tornou claras as desvantagens das conexões à válvula, mas também apresentou desafios relativos à estabilização da pressão do gás de arraste no sistema. Posteriormente, vários instrumentos comerciais baseados no princípio de Deans foram introduzidos no mercado. Gordon e colaboradores publicaram uma revisão em que abordaram vários desses sistemas utilizados para a análise de amostras complexas¹². O funcionamento dos mesmos era adequado para o fracionamento de amostras complexas, mas a sua operação se mostrava ainda bastante complexa e manual, o que os tornou pouco práticos para serem incorporados à rotina dos laboratórios de cromatografia. O problema central consistia na dificuldade técnica de reproduzirem-se os tempos de retenção e, conseqüentemente, os cortes das frações desejadas. Atualmente, esses problemas podem ser resolvidos através do uso de dispositivos eletrônicos que controlam fluxo e pressão¹³. Avanços significativos também ocorreram no que se refere à desativação do aço inoxidável das válvulas empregadas em sistemas GC-GC, as quais tiveram seus volumes reduzidos. Entretanto, os dados e discussões apresentados pela literatura científica a respeito dos méritos e deméritos dos sistemas do tipo inversor de Deans ou daqueles que empregam válvulas são

inconclusivos e cada desafio analítico deve ser avaliado dentro do seu próprio contexto para a escolha do sistema mais conveniente⁸.

Nas duas décadas anteriores ao surgimento da GC×GC, pouco progresso foi observado na área da cromatografia gasosa bidimensional no que diz respeito à instrumentação e ao desenvolvimento de técnicas, quando comparado a outras áreas da cromatografia. Entre as muitas razões para isso, destaca-se o crescente uso de cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas (GC/MS, MS, “mass spectrometry”), aliado a softwares de gerenciamento que tornaram a operação do GC/MS (especialmente os de bancada) uma tarefa simples, mesmo para analistas pouco afeitos aos aspectos mais intrincados da cromatografia. Além disso, o uso de um detector que pode ser empregado como detector universal e seletivo auxilia imensamente em situações nas quais não se consegue obter a separação cromatográfica dos analitos. Bertsch destaca três áreas principais de aplicação da GC-GC: petroquímica, a área ambiental e de alimentos, especialmente no que tange à quantificação de substâncias quirais⁸.

Em 1991, nasceu a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) através da contribuição genial do professor John Phillips e seu grupo de pesquisa¹⁴. Apesar dos poucos anos de vida da técnica GC×GC, esta já tem experimentado várias fases de desenvolvimento. Em um momento inicial, houve certa resistência à aceitação da GC×GC, o que levou a um lento desenvolvimento nos primeiros anos. Alguns fatores que contribuíram para isso podem ser citados, como a fragilidade das primeiras interfaces, informações sobre os analitos fornecidas apenas pelo uso de detectores de ionização em chama (FID, “flame ionization detector”), o grande número de dados gerados por esta técnica a cada análise e a dificuldade de tratamento manual dos mesmos. Inicialmente, os princípios, a teoria básica e a instrumentação necessária para o emprego da técnica foram discutidos. Logo a seguir, a interface das duas colunas cromatográficas tornou-se o tópico mais importante e algumas aplicações foram

reportadas. Contudo, até o final da década de 1990, o uso da técnica foi bastante restrito, mas ao final da mesma os moduladores em uso já se mostravam mais robustos e confiáveis. A maior parte dessas aplicações estava relacionada à petroquímica e fez uso de detectores de ionização em chama. Essas etapas de desenvolvimento da técnica são reportadas em artigos de revisão^{8,15-21}. Nos anos que se seguiram, o progresso experimentado pela GC×GC pode ser visto em aplicações da mesma a diversas áreas, além da petroquímica²²⁻²⁴, como análises de alimentos e matrizes ambientais. Isso foi amplamente demonstrado por Dallüge e colaboradores em publicação que cobriu mais de 100 artigos científicos até o ano de 2002²⁴. A espectrometria de massas por tempo de voo (TOFMS, “time-of-flight mass spectrometry”) tem se tornado a opção preferencial de sistema de detecção, sendo as estratégias de identificação e de quantificação de analitos também um dos focos da atenção dos pesquisadores nessa área^{25,26}. Três anos depois, mais 150 artigos que discutiam a técnica e seu uso foram publicados e no ano passado outro trabalho de revisão sobre as aplicações da GC×GC menciona a publicação de aproximadamente 80 artigos entre 2007 e 2008^{19,27-30}. Este rápido aumento no número de publicações mostra o sucesso da aplicação da GC×GC às mais variadas matrizes complexas. Entretanto, o uso generalizado da GC×GC ainda não é uma realidade entre os usuários de cromatografia gasosa. Pode-se apontar algumas razões para isso, entre elas o alto custo dos equipamentos, a complexidade dos métodos GC×GC quando comparados aos de 1D-GC, o lento desenvolvimento de softwares que proporcionem uma interpretação mais fácil dos dados GC×GC e o grande volume de dados gerados pela técnica para amostras complexas³¹.

3. Fundamentos

Existem várias teorias diferentes para uma descrição exata do processo cromatográfico que envolve a separação de componentes individuais de misturas complexas. Dentre elas, destaca-se o modelo estatístico de sobreposição de

componente (SMO, “statistical model of component overlap”) de Giddings, o qual foi posteriormente estendido por vários estudos realizados por Davis e seu grupo de pesquisa³². Outras abordagens podem ser citadas como a que está baseada na teoria da informação³³ e a que emprega funções de entropia³⁴. Contudo, a apresentação das mesmas em profundidade encontra-se fora do escopo desta revisão, visto que implicam grande complexidade de tratamento matemático, tornando sua total compreensão e aplicação mais adequadas para trabalhos relacionados especificamente à teoria da cromatografia. Neste texto nos restringiremos a uma interpretação simplificada dos fenômenos cromatográficos envolvidos na cromatografia bidimensional. Um ponto forte da SMO é que a compreensão de seus conceitos e das soluções dela derivadas é relativamente fácil, embora seu tratamento matemático seja bastante complexo. Uma de suas falhas principais reside na dificuldade de interpretação de picos distorcidos e distúrbios cromatográficos, incluindo ruído. Entretanto, diversas melhorias têm sido feitas nesta teoria, as quais foram testadas usando-se simulação computacional e amostra reais³⁵. A SMO explica as causas fundamentais da sobreposição de picos e sugere soluções para esses fenômenos. Depreende-se da SMO que, para amostras complexas, é necessária uma capacidade de pico muito grande ou a amostra deve sofrer um pré-tratamento antes da análise cromatográfica para que seja possível reduzir o número de picos a serem separados. Entretanto, esses métodos de pré-tratamento são trabalhosos e tediosos, especialmente quando todos os componentes da amostra são de interesse. Anteriormente, já demonstramos que o aumento do comprimento da coluna não é a melhor estratégia para melhorar a capacidade de pico do sistema, contudo, reduzir o diâmetro interno da mesma pode resultar em melhor resolução. Um efeito adverso desse procedimento é um aumento de pressão no sistema, o qual pode limitar o comprimento da coluna a ser usada³⁶. Um exemplo ilustrativo é o do emprego de uma coluna de 60 m e 0,15 mm de diâmetro interno para a separação de uma mistura complexa de

bifenilas cloradas, o qual não resultou na separação total dos 209 congêneros³⁷. Em uma situação como esta, a utilização da cromatografia gasosa multidimensional pode ser uma solução¹⁹. A literatura científica apresenta várias opções para utilização de GC-GC e algumas destas estão indicadas na Figura 1. As diversas aplicações e o potencial desta técnica também estão reportados na literatura científica^{8,38}.

A Figura 1A apresenta a GC-GC convencional, na qual frações discretas do efluente são desviadas para a coluna secundária. Nesse arranjo, diferentes cortes do efluente podem se misturar na segunda coluna, impedindo uma correlação clara dos

componentes separados na primeira e segunda dimensões. Uma maneira de contornar esse problema é a utilização de armadilhas criogênicas, que atuam como pontos de armazenagem de cortes de efluente da primeira dimensão (Figura 1B). A liberação das bandas cromatográficas de cada armadilha criogênica é feita de modo que os cromatogramas gerados na segunda coluna possam ser diretamente relacionados a um corte específico de efluente da primeira dimensão. Para a identificação completa dos componentes de uma amostra complexa pode ser necessário o emprego de uma coluna secundária dedicada para cada fração (Figura 1C). Colunas acopladas em série também

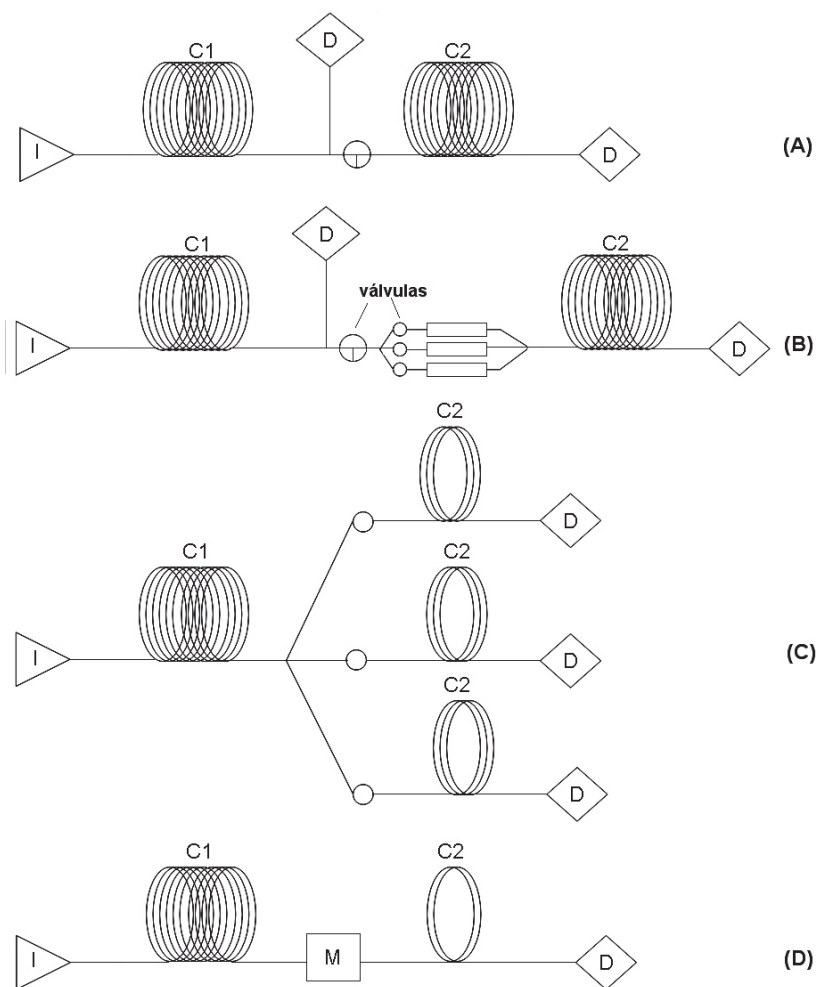


Figura 1. Representação simplificada de alguns arranjos básicos em 2D-GC. (A) GC-GC convencional; (B) GC-GC com três armadilhas criogênicas; (C) GC-GC com três colunas em paralelo e seus respectivos detectores; (D) GCxGC. (adaptado de Bertsch⁸). I: injetor; C: coluna; D: detector; M: modulador.

podem ser empregadas, contudo este tipo de acoplamento não propicia uma separação bidimensional, pois se assemelha ao emprego de uma coluna do mesmo comprimento, cuja fase estacionária seria um misto das fases das duas colunas empregadas⁸. Neste caso, o que se observa é que os analitos separados na primeira coluna podem recombinar-se na segunda; ou pode ocorrer uma inversão na ordem de eluição dos mesmos. Isso destruiria a separação alcançada na primeira dimensão, violando uma das condições para uma análise bidimensional. A principal limitação da GC-GC é que ela permite que, no máximo, algumas pequenas frações eluídas da primeira dimensão sejam transferidas para a segunda coluna. Este tipo de abordagem é conveniente quando se pretende analisar um (ou alguns) composto(s) alvo. Por outro lado, quando é necessária a análise de uma amostra como um todo, a GC-GC se torna muito demorada e complicada. Gordon e colaboradores demonstraram que foi possível analisar 23 cortes do efluente da primeira dimensão de óleo essencial de tabaco em um total de 48 h de uso do equipamento. Não obstante, não foi possível manter a separação obtida na primeira dimensão, visto que o tamanho dos cortes de efluente foi relativamente grande³⁹. Tal fato está de acordo com o modelo estatístico de sobreposição de componente, que prevê que o aumento da região de corte (“heartcut”) do efluente da primeira dimensão pode resultar em perda da separação obtida na primeira coluna. Uma aplicação desse modelo a aromas e fragrâncias mostrou que a separação raramente se completa na segunda dimensão nos casos em que cortes da primeira dimensão, que contenham 10 ou mais picos, são transferidos para a segunda coluna⁴⁰.

Uma abordagem mais rápida e eficiente para a total caracterização de amostras complexas é a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). Nesta, as frações do efluente da primeira coluna são focadas pelo modulador e transferidas para a coluna secundária, que é uma coluna curta que proporciona rápida eluição (Figura 1D)³⁰. Uma descrição mais detalhada desta técnica encontra-se no item 4.

Quando se trata de separação de misturas complexas, a atenção deve ser focada preferencialmente no número total de zonas de picos separáveis ao invés de focá-la na resolução de pares de picos. Neste caso, emprega-se um parâmetro distinto, que é a capacidade de pico, n_c . O conceito de capacidade de pico foi introduzido por Giddings em 1967 e implica o número máximo de compostos que podem ser colocados lado a lado em um espaço de separação (cromatograma) com uma dada resolução em um determinado intervalo de tempo^{41,42}.

$$n_c = \frac{L}{\omega R_s} \quad (\text{eq.2})$$

Onde L é o comprimento da coluna cromatográfica, ω é a largura do pico na sua base e R_s é a resolução.

A capacidade de pico teórica de um sistema equivale à soma das capacidades de pico individuais de cada coluna. Caso sejam efetuados vários cortes do efluente, a contribuição de cada análise na coluna secundária deve ser considerada. Assim, a capacidade de pico total, n_{tot} , de um sistema GC-GC é dada por:

$$n_{c_{tot}} \cong \sum n_{c_i} = m \times \bar{n}_c \quad (\text{eq.3})$$

Onde n_i representa a capacidade de pico de cada coluna individual ou estágios de separação; m é o número de colunas empregado e \bar{n}_c é a capacidade de pico média das colunas.

Para um sistema GC×GC, a capacidade de pico é aproximadamente o produto das capacidades de pico das colunas individuais:

$$n_{c_{tot}} \cong n_{c^1D} \times n_{c^2D} \quad (\text{eq.4})$$

A Figura 2 traz uma representação das capacidades teóricas de pico para uma única coluna (Figura 2A), para um sistema bidimensional de “heartcut” com duas colunas na segunda dimensão (Figura 2B) e para um sistema bidimensional abrangente⁷. A ilustração da Figura 2 juntamente com a equação 4 deixam claro que a capacidade de pico de um sistema GC×GC é maior do que a de qualquer outro arranjo bidimensional. Contudo, este potencial máximo só pode ser atingido quando não há

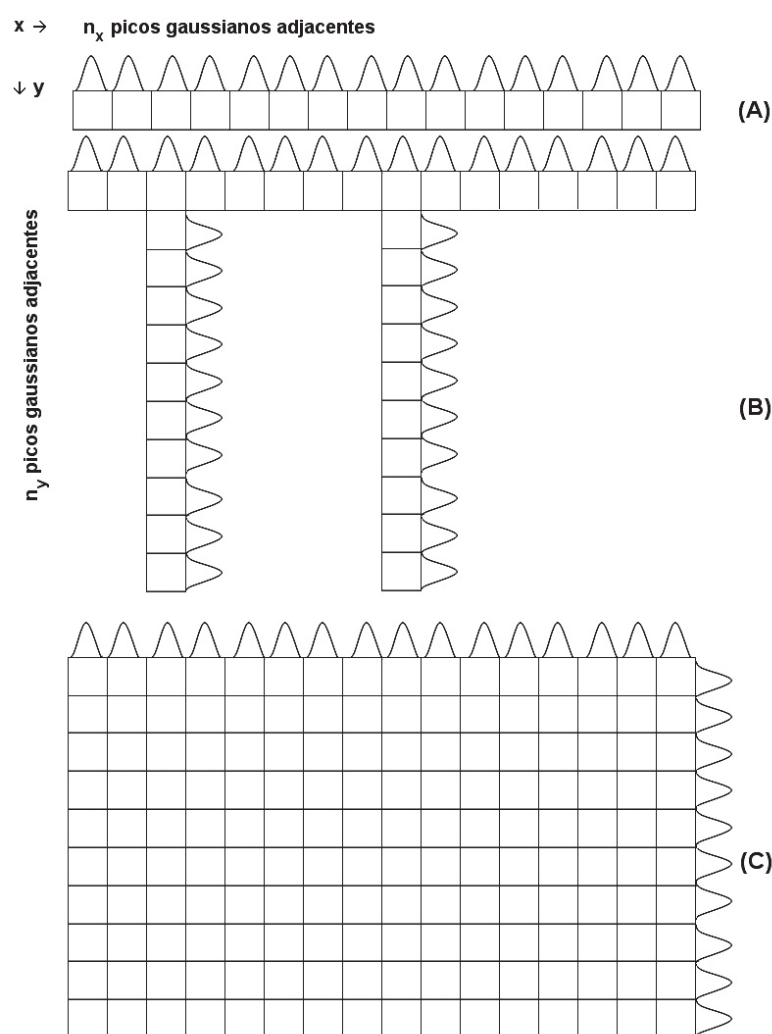


Figura 2. Ilustração representativa de capacidades teóricas de pico: (A) 1D-GC; (B) GC-GC convencional com duas transferências independentes de frações do efluente da primeira coluna; (C) GC×GC. (adaptado de Giddings⁷)

perdas de resolução no processo de transferência da banda cromatográfica e quando não existe correlação entre os dois mecanismos de separação. Na prática, $n_{c_{tot}}$ será sempre menor do que o máximo possível. De acordo com considerações estatísticas, a capacidade de pico de um sistema de separação bidimensional (2D-GC) é utilizada com menor eficiência do que a de um sistema monodimensional (1D-GC), pois, naquele caso, a superposição de picos pode ocorrer nas duas dimensões. Não obstante esta baixa eficiência, os sistemas GC×GC oferecem maiores capacidades de pico e, eventualmente, pode-se inclusive sacrificar parcialmente a eficiência de separação na segunda dimensão

para encurtar o tempo de análise⁴³. Quando a saturação da primeira coluna é baixa e a segunda coluna apresenta uma alta capacidade de pico, a probabilidade de obter-se uma separação completa dos analitos é maior^{7,44}.

4. Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente

Da mesma forma que a GC-GC, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) também é caracterizada pelo uso de duas colunas, cujos mecanismos são independentes ou quase independentes um do outro (ortogonais), sendo preservada a separação

de cada coluna individual até o final do processo²¹. No caso da GC×GC, a primeira coluna apresenta dimensões convencionais e a outra é mais curta (do tipo de coluna usada em cromatografia rápida), havendo um modulador entre elas. A modulação é a chave do processo de GC×GC. O sistema de modulação entre as duas colunas promove a amostragem da banda cromatográfica que elui da primeira dimensão (¹D), sendo esta banda direcionada para uma rápida separação na segunda dimensão (²D)¹⁷. A Figura 3A apresenta um esquema representativo de um sistema GC×GC e a Figura 3B ilustra um processo de modulação.

Inicialmente, a amostra é submetida à separação na primeira coluna, após ter sido injetada no pórtilo aquecido do injetor. O efluente da primeira coluna ingressa no modulador, o qual coleta material por um período pré-determinado (Figura 3B1). Nessa Figura, um modulador do tipo criogênico de duplo jato foi escolhido para ilustrar o processo de modulação. Assim, quando o modulador é acionado (Figura 3B1), um jato de gás nitrogênio refrigerado ou de dióxido de carbono líquido é

projetado sobre uma pequena área do modulador. Durante certo período, a banda cromatográfica sofre um efeito de compressão/estreitamento devido à ação da baixa temperatura do fluido refrigerante, de forma que os analitos são concentrados neste local da coluna. Em um momento seguinte, a incidência de fluido criogênico sobre o capilar cessa e o modulador libera a banda cromatográfica anteriormente amostrada e focalizada criogenicamente, de forma que esta é introduzida na segunda coluna como um pulso cromatográfico curto (Figura 3B2). Essa liberação pode ocorrer pela incidência de um jato quente na mesma região onde anteriormente foi projetado o jato de fluido criogênico, ou simplesmente pela ausência de jato frio e transferência de calor do ar no interior do cromatógrafo para o capilar. O processo de amostragem de uma nova fração que elui da ¹D (o efluente da primeira dimensão elui continuamente) começa a ocorrer, enquanto a fração anteriormente amostrada é submetida à separação na coluna da segunda dimensão. Este processo de amostragem, focalização e liberação da banda cromatográfica para a segunda coluna

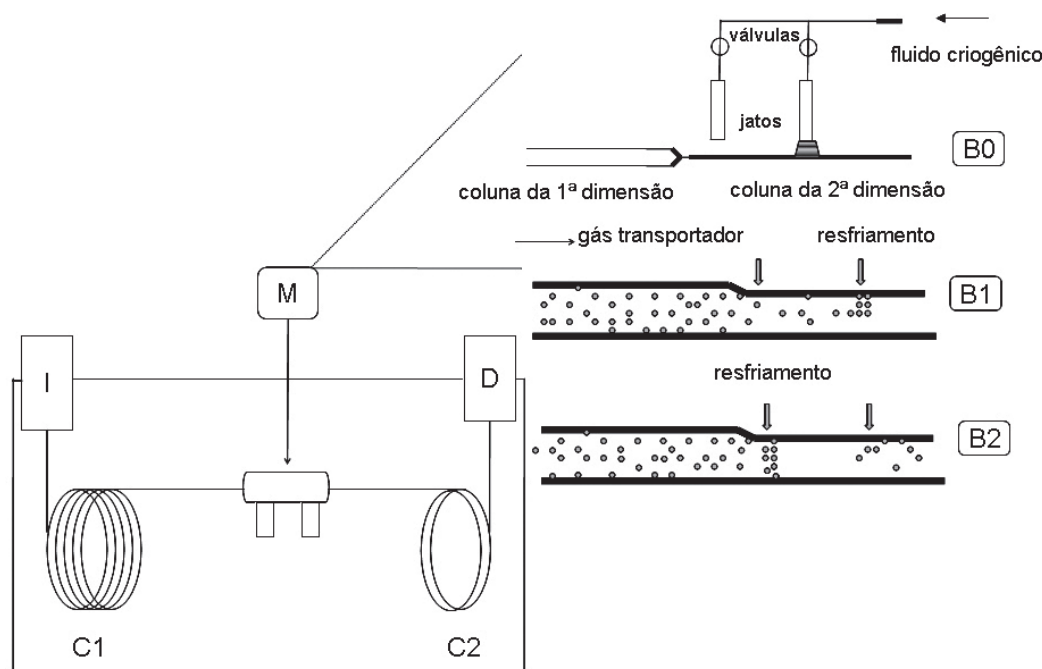


Figura 3. Esquema representativo de um sistema GC×GC e ilustração do processo criogênico de modulação com duplo jato. I: injetor; D: Detector; M: modulador; C1: coluna da primeira dimensão; C2: coluna da segunda dimensão (adaptado de Dallüge e colaboradores²⁴).

ocorre durante toda a análise em um sistema GC×GC. O tempo de um ciclo completo de modulação corresponde ao período de modulação (P_M). A separação na segunda dimensão ocorre de forma independente daquela em processo na primeira coluna e o período de duração de cada análise na segunda dimensão é igual ao período de modulação. Ao final, o material que elui da segunda coluna passa pelo detector, de onde se obtém uma série de cromatogramas curtos de segunda dimensão. Neste processo, todo o efluente da primeira coluna é transferido para a segunda e, por isso, a técnica é chamada de “abrangente”, sendo que as análises da primeira e segunda dimensão se processam simultaneamente e o tempo total de análise equivale ao tempo empregado para uma análise monodimensional. Explicações pertinentes à nomenclatura da área de GC×GC na língua portuguesa, bem como de alguns conceitos, podem ser encontradas em artigo recentemente publicado⁴⁵.

Para que a separação da primeira dimensão seja mantida, as frações amostradas pelo modulador não devem ser maiores do que $\frac{1}{4}$ da largura dos picos cromatográficos naquela dimensão^{46,47}. A largura dos picos cromatográficos na 1D é, tipicamente, de 5 a 30 s e, portanto, deve-se ter 3 a 4 modulações por pico. Consequentemente, os tempos de análise na 2D serão curtos, da ordem de 2 a 8 s, o que torna a 2D uma separação essencialmente isotérmica. Em contraponto, os tempos de retenção na 1D correspondem à duração de uma análise convencional em cromatografia monodimensional (1D-GC), de 30 a 120 min.

A primeira dimensão (1D) consiste tipicamente em uma coluna de 15 a 30 m, com 0,25 a 0,32 mm de diâmetro interno (1d_c) e 0,1 a 1 μm de espessura de fase estacionária (1d_f). Para a segunda coluna (2D), as dimensões típicas são 0,5 a 2 m de comprimento, 0,1 a 0,18 mm de diâmetro interno (2d_c) e 0,1 μm de espessura de filme (2d_f). Geralmente, a coluna da 1D é apolar e a da 2D é polar. Esse arranjo é chamado de conjunto convencional de colunas. Nos casos em que uma coluna polar é empregada na 1D e uma apolar na 2D , o conjunto de colunas é designado

como inverso. As duas colunas podem estar no mesmo forno ou a segunda coluna pode estar localizada dentro de um segundo forno, o que possibilita maior flexibilidade no controle da temperatura desta. A velocidade de aquecimento para a primeira coluna é geralmente baixa (1 a 5°C min^{-1}), a fim de que seja possível atingir-se um período de modulação que proporcione três a quatro modulações por pico da 1D , de forma a não prejudicar, posteriormente, a separação realizada na primeira coluna. Se a largura dos picos da 1D é, por exemplo, 18 s, o período de modulação não deve ser maior do que 6 s ^{19,47}. Na 2D , a largura na base dos picos será tipicamente de 50 a 600 ms, o que exigirá frequência de aquisição de dados de no mínimo 50 a 100 Hz por parte dos detectores empregados⁴⁸⁻⁵⁰.

A Figura 4 indica como ocorre o processo de aquisição de dados durante uma análise por GC×GC e apresenta também algumas das formas de visualização dos resultados. O resultado de uma análise de GC×GC é um grande número de cromatogramas curtos obtidos nas análises da segunda dimensão (etapa 1. Modulação). No exemplo da Figura 4, um pico largo, composto de três componentes não separados na 1D , passa pelo processo de modulação e obtém-se um cromatograma bruto correspondente ao somatório de todos os cromatogramas obtidos na 2D . A transformação dos dados brutos em um cromatograma bidimensional (1t_R vs. 2t_R) é realizada através de software (etapa 2. Transformação). O registro desses cromatogramas, associado ao período de modulação e ao tempo de início do processo de modulação permite que sejam construídos gráficos tridimensionais com o sinal do detector, o tempo de retenção na 1D (1t_R) e o tempo de retenção (2t_R) na 2D . A visualização dos resultados na Figura 4 (etapa 3. Visualização) pode ser verificada no cromatograma tridimensional. A projeção dos picos do diagrama tridimensional no plano formado pelos eixos correspondentes a 1t_R e 2t_R gera diagramas bidimensionais como o diagrama de cores ou de contorno. No diagrama de cores, estas mostram a intensidade do sinal cromatográfico e no diagrama de contorno, cada linha representa uma intensidade específica do sinal cromatográfico e o somatório de várias linhas

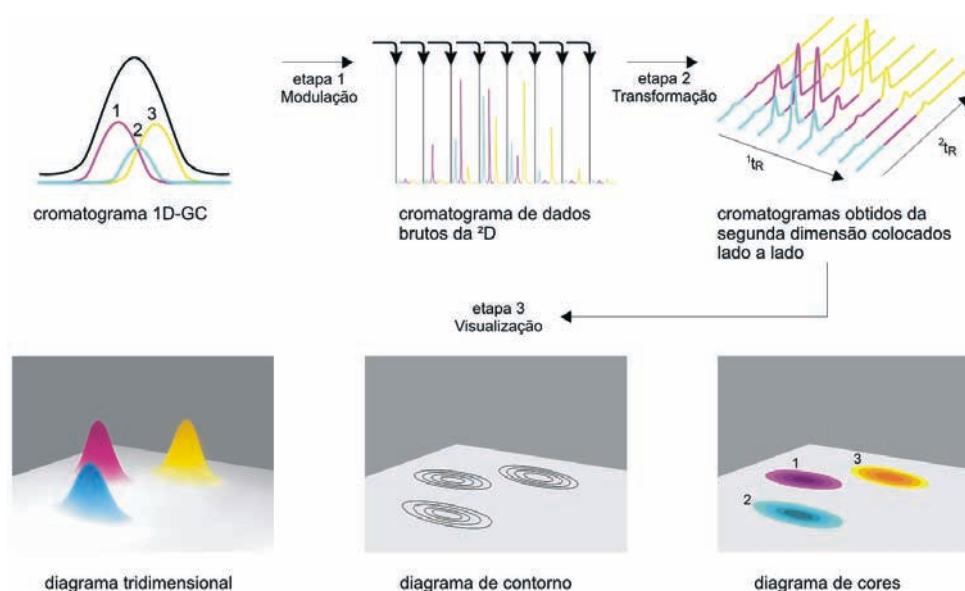


Figura 4. Ilustração esquemática do processo de geração e visualização dos cromatogramas em GC×GC (adaptado de Dallüge e colaboradores²⁴).

apresenta-se como curvas de nível monocromáticas. A Figura 4 também ilustra com clareza o estreitamento das bandas cromatográficas devido à ação do modulador. Esse fenômeno resulta em picos mais intensos e estreitos, que aumentam a relação sinal/ruído e, portanto, a detectabilidade.

Algumas das características e vantagens da GC×GC relativamente à 1D-GC e à GC-GC no que tange a amostras e/ou matrizes complexas são: (a) aumento da capacidade de pico, o qual implica a melhora da separação cromatográfica entre os analitos e também entre analitos e interferentes da matriz²¹; (b) aumento da detectabilidade devido ao estreitamento das bandas cromatográficas decorrente do processo de modulação; (c) toda a amostra é submetida aos dois processos de separação; (d) o tempo para completar o processo de separação nas duas colunas é o mesmo necessário para a análise da amostra na primeira dimensão; (e) a estruturação de cromatogramas obtidos por GC×GC pode auxiliar na identificação de componentes desconhecidos e facilitar na identificação de compostos pertencentes a determinadas classes químicas. A estrutura cromatográfica também pode ser uma ferramenta na identificação de amostras através da análise da impressão digital

de amostras consideradas padrão (“fingerprinting”), isto é, comparação de cromatogramas de amostras desconhecidas com outros de amostras padrão; (f) cada componente analisado por GC×GC apresenta dois tempos de retenção, o que confere maior confiabilidade na identificação dos compostos do que a 1D-GC proporciona. Disso tudo, depreende-se que a quantidade de informação obtida sobre os constituintes de amostras complexas quando se utiliza GC×GC é bem maior do que aquela alcançada pelo uso da GC-GC, sendo o tempo de análise reduzido.

A literatura científica é pródiga em artigos de revisão sobre a técnica de GC×GC, alguns deles focados nos conceitos básicos, nos desenvolvimentos instrumentais, tratamento teórico, tratamento de dados, quimiometria e detectores. Além desses, as aplicações nas mais diversas áreas têm sido reportadas na literatura científica: petroquímica, forense, ambiental, alimentos, óleos e graxas, aromas e fragrâncias, óleos essenciais etc.^{4,8,15-19,21,22,24-30,38,50-56}. O leitor interessado em investigar em maior profundidade alguns dos tópicos mencionados neste artigo pode dirigir-se a alguma dessas fontes.

4.1. Moduladores

O modulador é considerado o coração de um sistema GC×GC. A introdução de um modulador entre as duas colunas faz com que o efluente da ¹D seja introduzido na ²D periodicamente, preservando-se a separação alcançada na ¹D. Existem dois tipos básicos de interfaces: os moduladores térmicos e os moduladores à base de válvulas. Os térmicos se dividem em dois grupos: aqueles baseados em aquecimento e os criogênicos⁵⁰.

O primeiro modulador é da categoria dos moduladores térmicos e foi introduzido por John Philips em 1991. Esse pesquisador empregou um segmento do início da segunda coluna, que continha uma fase estacionária mais espessa, recoberto com uma camada de tinta à base de ouro, que podia ser aquecido através de um circuito elétrico. O ingresso de uma banda cromatográfica no segmento onde o filme era mais espesso resultava na interação dos analitos com a fase estacionária e na redução da velocidade desses analitos, de maneira que ocorresse um efeito de concentração e conseqüente estreitamento desta banda. A passagem de corrente elétrica por este segmento do capilar provocava rápido aquecimento e a remobilização da banda cromatográfica concentrada para a fase móvel, de forma que a mesma era transferida para a segunda coluna. A interrupção da corrente elétrica através do referido segmento capilar (modulador) dava início ao processo de amostragem de uma nova banda cromatográfica¹⁴. Durante o intervalo de tempo em que o modulador se encontrava aquecido, ocorria passagem de quaisquer compostos através desse segmento do capilar, sem que houvesse a focalização dos mesmos, e isso resultava em alargamento das bandas que eram introduzidas na segunda dimensão. Esse problema foi contornado com o modulador térmico de desorção de dois estágios (“two stage thermal desorption modulator”), nos quais o segmento capilar em que ocorre a modulação é operado em dois estágios. No primeiro estágio, os analitos que eluem da primeira coluna são sorvidos no segmento inicial do modulador – segmento a₁ – (1º estágio na Figura 5A). Quando

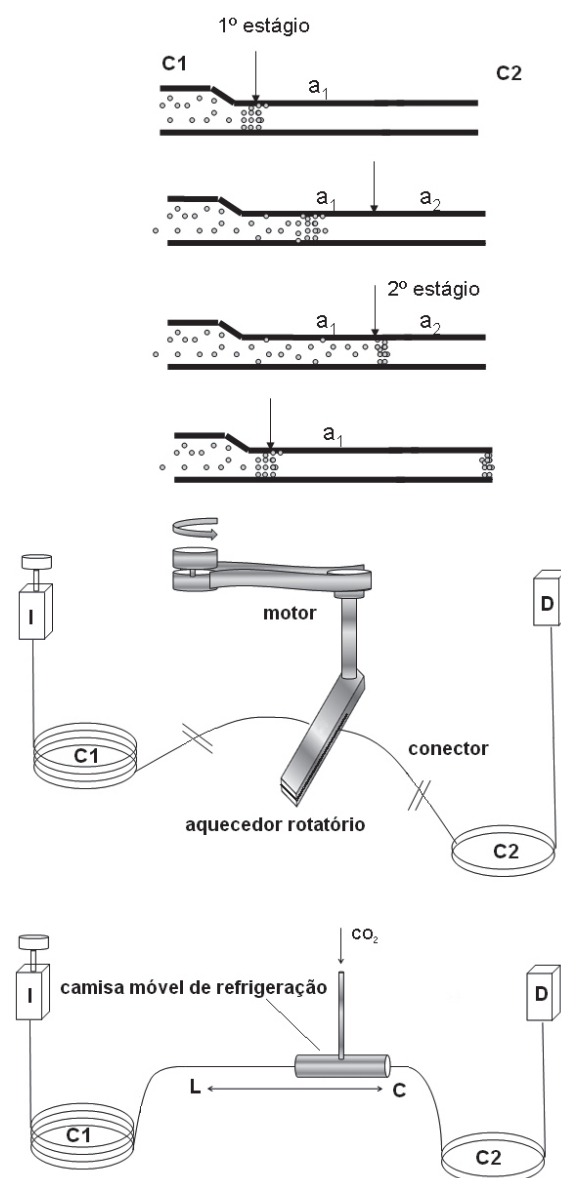


Figura 5. Desenho esquemático de três tipos de moduladores: (A) modulador térmico de desorção de dois estágios. As flechas representam o período em que o setor indicado não está sendo aquecido. a₁: primeiro segmento do modulador; a₂: segundo segmento do modulador (B) modulador térmico de varredura ou “Sweeper” (modificado de Philips e colaboradores⁵⁷) (C) sistema criogênico longitudinalmente modulado, LMCS (adaptado de Marriott e colaboradores⁹²) C: posição do modulador no qual ocorre a concentração dos analitos; L: posição do modulador em que ocorre a liberação dos analitos; C1: coluna da primeira dimensão; C2: coluna da segunda dimensão; I: injetor; D: detector.

este primeiro setor do modulador é aquecido, o conteúdo que havia sido retido nele é liberado para o segundo setor do modulador – segmento a_2 . Quaisquer outros materiais que eluem da primeira coluna, enquanto o setor a_1 está aquecido, passam através deste sem serem retidos. Todo este material é concentrado no setor a_2 (2º estágio na Figura 5A) até o momento em que esse setor também é aquecido, introduzindo-se a banda cromatográfica focalizada na coluna da segunda dimensão. As flechas na Figura 5A representam o período em que o setor designado não está sendo aquecido. Simultaneamente, o setor a_1 já resfriado inicia novamente o processo de sorção dos analitos que eluem da primeira coluna. O fato de um dos setores do modulador atuar como concentrador da banda cromatográfica, enquanto o outro libera a passagem dos analitos por aquecimento faz com que não ocorra escape indesejado de componentes, de forma a minimizar efeitos de alargamento de banda. Este tipo de interface apresentou problemas quanto à reprodutibilidade do recobrimento do capilar e, além disso, esse modulador se mostrou frágil para o tipo de operação proposta⁹. Contudo, o emprego desta interface foi um ponto de partida para o desenvolvimento de outros moduladores, tendo demonstrado que a GC×GC era possível⁵⁰.

A primeira versão comercial de modulador (Figura 5B) – modulador térmico de varredura (“thermal sweeper modulator” ou “Sweeper”) – baseia-se no conceito anteriormente explanado. Um capilar conectado entre as duas colunas, contendo uma fase estacionária mais espessa, promove o estreitamento da banda cromatográfica, enquanto o movimento rotatório de um aquecedor desorve continuamente os analitos ao longo desse capilar, introduzindo-os na segunda dimensão⁵⁷. A dificuldade em concentrar bandas cromatográficas de analitos voláteis nas temperaturas do forno cromatográfico é a principal desvantagem desse modulador. Além disso, o movimento do aquecedor muito próximo ao capilar e uma instalação não muito simples também são desvantagens desta interface.

Philip Marriott desenvolveu um modulador criogênico denominado sistema criogênico

longitudinalmente modulado (LMCS, “longitudinally modulated cryogenic system”), que se encontra representado no diagrama da Figura 5C. Uma camisa de refrigeração feita de aço é resfriada pela passagem de dióxido de carbono líquido e se movimenta verticalmente sobre um trilho instalado no interior do cromatógrafo, atuando como uma armadilha criogênica. A camisa envolve a parte inicial da segunda coluna e fica na extremidade inferior do trilho, resfriando aquele setor da 2^D (posição C – coleta ou amostragem). Neste ponto, a baixa temperatura proporcionada pela camisa promove a coleta e concentração da banda cromatográfica por resfriamento e/ou partição, de acordo com as propriedades físico-químicas dos analitos. A seguir, a camisa se move rapidamente para cima (posição L - liberação) e o setor anteriormente resfriado é aquecido pelo ar quente do forno, liberando rapidamente a banda cromatográfica anteriormente amostrada e concentrada. O local da 2^D para onde a camisa se moveu passa a sofrer a ação do fluido criogênico e ocorre estreitamento da banda cromatográfica nesta nova posição. Posteriormente, a camisa retorna à posição inicial, liberando a banda cromatográfica reconcentrada para a segunda coluna, enquanto uma nova banda cromatográfica é amostrada/concentrada na posição inferior da 2^D , completando o ciclo de modulação. O LMCS representou um avanço relativamente aos moduladores existentes, entretanto, o resfriamento indireto com dióxido de carbono líquido pode não ser suficiente para que sejam retidos compostos muito voláteis. Uma vantagem desse modulador em relação aos seus antecessores é que, na etapa de liberação da banda cromatográfica, não é necessário aquecimento, pois a temperatura no interior do forno é suficiente para provocar a remobilização dos analitos para a fase móvel. O emprego deste tipo de interface se mostrou confiável e a mesma tem sido usada por vários anos por diversos pesquisadores.

Posteriormente, outros moduladores criogênicos que não apresentam partes móveis na sua configuração foram idealizados. O funcionamento desse tipo de modulador emprega jatos de fluido criogênico e está ilustrado na Figura 3B. Os jatos resfriadores podem ser de

dióxido de carbono líquido ou com gás nitrogênio resfriado por nitrogênio líquido e o número de jatos pode variar entre quatro (dois jatos frios para coleta e dois jatos quentes para remobilização da banda cromatográfica)⁵⁸, dois⁵⁹ ou um⁶⁰. A utilização de dióxido de carbono líquido é bem mais simples do que a do nitrogênio líquido, contudo o resfriamento proporcionado pelo dióxido de carbono não é suficiente para amostrar e concentrar analitos muito voláteis. A ausência de partes móveis nestes moduladores é a sua principal vantagem. A eficiência de algumas dessas interfaces foi testada para uma mistura de *n*-alcanos, alcanos clorados, bifenilas policloradas e hidrocarbonetos poliaromáticos policíclicos, verificando-se que os moduladores investigados mostraram-se adequados para análise de compostos de alto ponto de ebulição⁶¹. Entretanto, quando o objetivo é a análise de compostos muito voláteis (pontos de ebulição abaixo do hexano), é necessário empregar gás nitrogênio resfriado, sob pena de perda desses compostos³⁰.

As primeiras tentativas de emprego de válvulas diversoras com comando eletrônico e pneumático foram feitas por Bruckner e colaboradores⁶². Este tipo de modulador proporciona a transferência de apenas uma parte do efluente da primeira dimensão, e, conseqüentemente, confere menor sensibilidade ao método¹⁸. Esta limitação foi parcialmente contornada por Seeley e colaboradores, através de uma nova configuração, em que a amostra é fisicamente comprimida antes de ser transferida para a segunda coluna, resultando na transferência de 80 % do efluente da primeira coluna⁴⁶. A compressão da banda cromatográfica proporciona um aumento de sensibilidade, mas esse aumento não se iguala àquele alcançado através do uso de moduladores criogênicos. Duas grandes vantagens dos moduladores à válvula são que os mesmos dispensam o custo adicional dos líquidos criogênicos e são convenientes para análise de compostos voláteis, sem que ocorram perdas. Eles também resultam em análises rápidas na ²D (1 s ou menos) devido aos curtos intervalos de tempo de alteração de fluxo propiciados pelas válvulas, gerando bandas estreitas na segunda dimensão. Entretanto, a principal desvantagem quanto ao

uso das válvulas no interior de um cromatógrafo é que estas não podem ser aquecidas a temperaturas que permitam que compostos menos voláteis passem através das mesmas sem ficarem sorvidos. Outro modulador proposto por Seeley e colaboradores, que emprega duas alças de amostragem e um sistema pneumático de controle, procura contornar esta limitação, de forma que a válvula pode ser colocada fora do cromatógrafo. O efluente coletado por uma das alças de amostragem é encaminhado para a segunda dimensão, permitindo que, durante esta transferência, a fração seguinte de efluente da ¹D seja coletada pela outra alça de amostragem para posterior transferência. Assim, todo o efluente da primeira dimensão é transferido para a segunda. Entretanto, na medida em que fluxos ou o período de modulação são alterados, as dimensões das alças de amostragem também devem ser modificadas, o que torna este sistema bastante inflexível e trabalhoso no que tange à sua operação⁵⁰.

Atualmente, os moduladores criogênicos são os mais empregados, entretanto, não existe um único modelo de modulador que seja considerado o melhor para todas as aplicações. A escolha de um modulador depende da natureza das amostras e dos analitos a serem investigados. Por exemplo, compostos extremamente voláteis contidos em amostras de ar ambiente poderiam ser submetidos com sucesso à modulação criogênica com nitrogênio líquido, contudo um modulador térmico de varredura não seria uma boa escolha para este tipo de analito, pois haveria perdas durante as análises.

4.2. Colunas e Ortogonalidade

Em princípio, qualquer fase estacionária pode ser empregada na primeira dimensão de um sistema GC×GC. Contudo, as fases apolares são geralmente as mais empregadas, visto que existem dados disponíveis na literatura sobre o comportamento de um grande número de compostos neste tipo de fase em 1D-GC. Idealmente, as duas fases estacionárias devem proporcionar mecanismos de separação diferentes, independentes um do outro (ortogonais), a fim de que se alcance o melhor

resultado ao final do processo cromatográfico⁶³. Assim, se na primeira dimensão for empregada uma coluna apolar, os componentes serão separados de acordo com sua volatilidade. Neste caso, o leque de possibilidades para a escolha da fase estacionária da segunda dimensão inclui colunas polares ou medianamente polares, cuja seletividade se baseia primordialmente em interações do tipo $\pi - \pi$, pontes de hidrogênio, efeitos estéricos etc. Entretanto, mesmo que o mecanismo predominante para todas essas outras fases estacionárias não seja a volatilidade, este parâmetro também contribui para a separação dos compostos. Assim, a condição de ortogonalidade não poderia ser alcançada, pois existe uma relação entre os mecanismos das duas colunas. Não obstante, como as análises de cada fração individual proveniente da ¹D, na segunda dimensão, são rápidas, elas podem ser consideradas como isotérmicas, onde não há a contribuição da volatilidade dos compostos no processo de separação. Isso significa que apenas as interações específicas características da coluna polar predominarão como mecanismo de separação na ²D e teremos, portanto, um sistema

ortogonal. Um dos principais benefícios das separações ortogonais é a obtenção de um cromatograma no qual os analitos se agrupam em bandas ou *clusters* no espaço de separação, de acordo com suas estruturas moleculares, efeito este chamado de estrutura cromatográfica. Este fenômeno de estruturação cromatográfica é uma ferramenta valiosa para identificação de compostos desconhecidos ou para sua classificação dentro de algum grupamento químico, visto que compostos cujas propriedades físico-químicas são semelhantes se localizam em regiões próximas no espaço de separação. Um caso particular de estrutura cromatográfica é o efeito telhado, o qual definido como o agrupamento de uma classe de compostos quimicamente relacionados em um espaço de separação, o qual se repete quando o número de carbonos desses compostos aumenta ou diminui, de forma a causar uma impressão de “telhado” no gráfico bidimensional. Este tipo de estrutura cromatográfica pode ser facilmente observada em análises de derivados de petróleo^{45,54,64}. Um outro exemplo de estruturação cromatográfica pode ser observado na Figura 6.

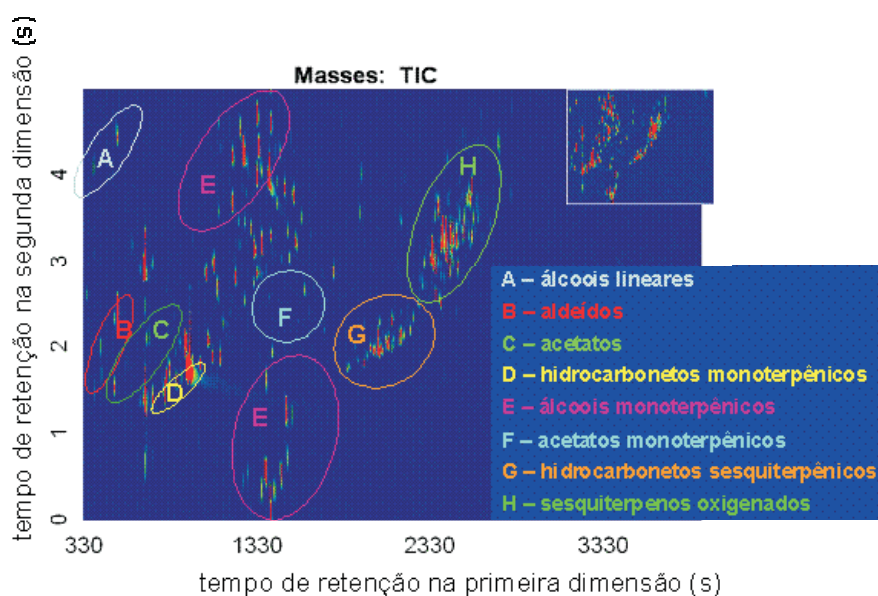


Figura 6. Diagrama de cores obtido em um GCxGC/TOF-MS para óleo essencial de *Eucalyptus dunnii*, mostrando a distribuição das diferentes classes de compostos em diferentes regiões do espaço de separação. Conjunto de colunas: na ¹D BPX5 fase (5% phenyl polysilphenylene-siloxane) 30 m × 0,25 mm (¹d_c), 0,25 μm (¹d_p) e na ²D uma BP20 (Wax) fase (polyethylene glycol) 1,5m × 0,1mm (²d_c), 0,1 μm (¹d_p). (A) álcoois lineares; (B) aldeídos; (C) acetatos; (D) hidrocarbonetos monoterpênicos; (E) álcoois monoterpênicos; (F) acetatos monoterpênicos; (G) hidrocarbonetos sesquiterpênicos; (H) sesquiterpenos oxigenados⁵⁵.

Nessa figura é possível verificar oito regiões no diagrama de cores do óleo essencial de *Eucalyptus dunnii*, em que ocorre o agrupamento de compostos por semelhanças estruturais. Como exemplo, pode-se observar o posicionamento dos sesquiterpenos oxigenados na região H, que eluem em longos tempos de retenção tanto na ¹D, como na ²D, visto que são compostos menos voláteis e mais polares do que os demais⁵⁵. Entretanto, um conjunto de colunas que satisfaz a condição de ortogonalidade não resulta automaticamente em diagramas estruturados. Duas condições precisam ser cumpridas: (a) a amostra deve conter um grande número de compostos estruturalmente assemelhados (isômeros, homólogos ou congêneros) e (b) a segunda coluna deve ser escolhida de acordo com as propriedades físico-químicas dos analitos. Assim, a ortogonalidade não é um fim em si mesma. O importante é que o espaço de separação seja utilizado ao máximo e que se verifique uma estrutura cromatográfica na distribuição dos analitos⁶⁵. A despeito de várias aplicações de sistemas ortogonais⁶⁶⁻⁶⁸, um exemplo interessante e bem-sucedido de não ortogonalidade envolve a análise de uma amostra de óleo diesel tanto em um conjunto de colunas convencional (apolar x polar), como em um conjunto de colunas inverso (polar x medianamente polar). Os vários grupos de compostos (alcanos, mono-aromáticos, di-aromáticos) foram separados nos dois conjuntos de colunas e apresentaram estrutura cromatográfica em ambos os casos, sendo que no conjunto inverso, a ordem de eluição foi obviamente, diversa daquela observada no conjunto convencional⁶⁹. Trabalhos posteriores mostraram que maiores vantagens são obtidas na configuração inversa, quando a amostra em estudo contém compostos polares^{65,70-72}. Entretanto, cabe observar que o uso de fases estacionárias cujo mecanismo de separação é semelhante pode resultar em uma separação que é essencialmente monodimensional e os analitos estarão dispostos ao longo de uma diagonal no plano 2D. O uso do espaço de separação, neste caso, é mínimo. Este fenômeno foi verificado na

prática por Ryan e colaboradores⁶⁶ em um estudo feito com dez compostos teste, no qual várias fases estacionárias foram testadas e foi predito teoricamente por Giddings⁶⁵.

Um fenômeno que pode perturbar a distribuição ordenada de compostos assemelhados em grupamentos no espaço 2D é a ocorrência de picos fora de ciclo (“wraparound peaks”). Um pico fora de ciclo corresponde a um composto cujo tempo de retenção na segunda coluna é maior do que o período de modulação. Consequentemente, esse pico irá eluir na ²D em um tempo de retenção aparente que será inferior ao tempo de retenção real. O tempo de retenção aparente é uma informação fornecida pelo diagrama bidimensional. O valor real do seu tempo de retenção será o somatório do tempo de retenção aparente e do tempo que ele permaneceu dentro da segunda coluna (número de ciclos de modulação x período de modulação). Os picos fora de ciclo podem ser um problema quando coeluem com outros componentes de interesse ou com interferentes. Pelo fato de eluírem em um tempo de retenção aparente diferente do tempo de retenção real, podem influenciar negativamente a estrutura cromatográfica. Entretanto, quando os picos fora de ciclo não influenciam na estrutura cromatográfica e eluem em uma região do espaço de separação que não está ocupada por nenhum outro componente, não existe qualquer problema quanto à sua ocorrência. Nestes casos, eles podem contribuir para o bom aproveitamento do espaço de separação. Uma explicação mais detalhada sobre picos fora de ciclo pode ser encontrada em outros trabalhos científicos^{24,45}.

Outro aspecto importante da escolha de conjuntos de colunas para a aplicação da GC×GC a amostras complexas reais é, não somente a separação entre os analitos ou entre grupos de analitos, mas sim a separação de compostos de interesse dos interferentes da matriz. Em alguns casos, mesmo quando o número de analitos é pequeno, a GC×GC pode apresentar grande vantagem analítica na separação de componentes de interferentes da matriz. Um exemplo disso pode ser visto no emprego das colunas DB5-ms e DB17-ms a um extrato de sedimento de rio

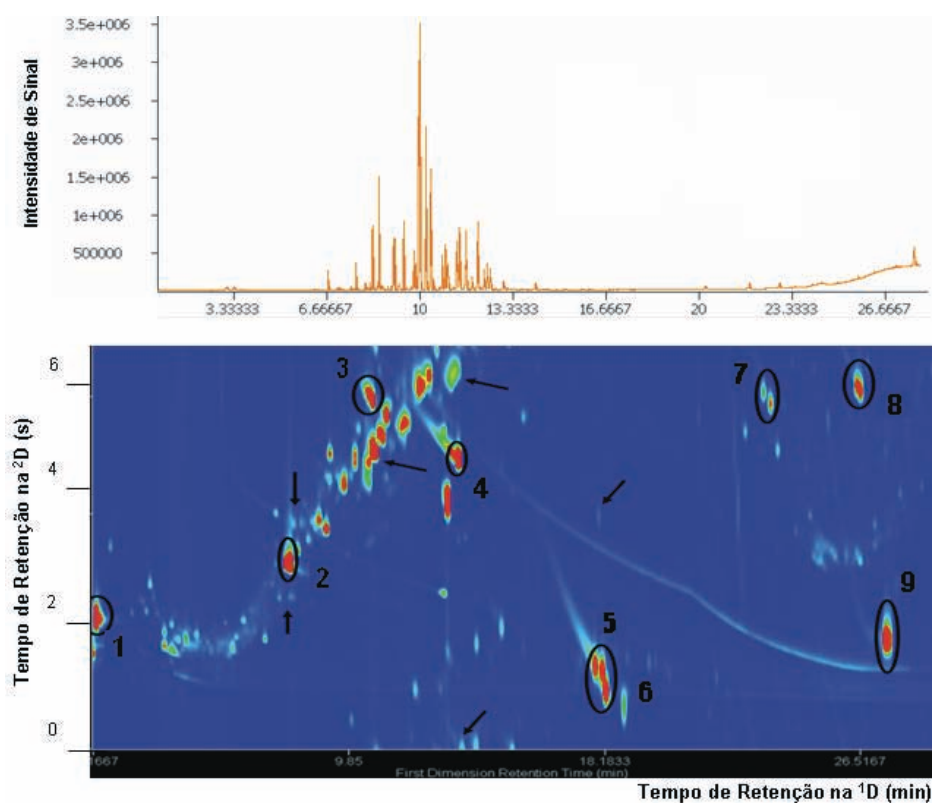


Figura 7. Diagrama de cores de extrato de sedimento de rio enriquecido com oito agrotóxicos 1: triclorofom; 2: tricloroguaiacol; 3: propanil; 4: fipronil; 5: propiconazol I e II; 6: trifloxistrobina; 7: permetrina *cis* e *trans*; 8: difenoconazol I e II; 9: azoxistrobina. Conjunto de colunas empregado em um GC×GC-μECD: DB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm e DB-17ms (1,70 m x 0,18 mm x 0,18 μm). As flechas indicam os locais no espaço de separação, onde haveria coeluição entre os analitos e interferentes da matriz.

enriquecido com nove agrotóxicos comumente empregados na orizicultura. A Figura 7 apresenta claramente a coeluição de interferentes da matriz com os agrotóxicos tricloroguaiacol, propanil, fipronil, propiconazol I e II, caso fosse empregada apenas a 1D-GC.

4.3. Detectores

As bandas cromatográficas são de 10 a 50 vezes mais estreitas na segunda dimensão do que em 1D-GC, resultando em larguras de pico da ordem de 100 ms ou menos, o que requer uma alta velocidade de aquisição de dados. Essa velocidade de aquisição de dados depende do processo físico-químico envolvido na detecção e também dos sistemas eletrônicos de conversão de sinal, que devem ser compatíveis com as exigências do sistema GC×GC⁷³.

O detector de ionização em chama (FID) apresenta uma posição especial como detector em GC×GC, pois seu volume interno é desprezível e sua frequência de aquisição varia de 50 a 200 Hz⁷³, tendo sido o primeiro detector a ser utilizado em GC×GC¹⁴. Ele é empregado para fins quantitativos⁷⁴ associado ou não a GC×GC/MS⁷⁵ ou GC×GC/TOFMS⁷⁶. Este detector também pode ser usado para identificação de picos, devido ao posicionamento de um determinado componente no espaço de separação relativamente a outros grupos químicos distribuídos no diagrama 2D²⁶.

O micro detector de captura de elétrons (μ-ECD, “micro electron capture detector”) é uma miniaturização do ECD, o qual teve seu *design* alterado, tornando-se mais compatível para uso em GC×GC. Dentre as várias

características do novo modelo, algumas podem ser destacadas: menor volume na zona de detecção (150 μ L), maior sensibilidade, anodo isolado, “liner” removível e frequência de aquisição de dados de 5 a 50 Hz⁷⁷. Esse detector tem sido usado com sucesso na análise de compostos organohalogenados por GC \times GC, sendo recomendável operá-lo com altos fluxos de gás de “makeup” e frequências de aquisição de 50 Hz^{61,78}. Em um estudo realizado para avaliação de seis diferentes moduladores e três μ -ECD, concluiu-se que, apesar do pequeno volume interno do detector, ainda se observa alargamento de banda comparativamente ao FID. Os altos fluxos de gás de “makeup” podem provocar um efeito de diluição no sinal, reduzindo a intensidade do mesmo. Essas constatações mostram que, embora o μ -ECD seja uma ótima alternativa para análise de organohalogenados por GC \times GC, ainda há melhorias a serem feitas para aprimorar sua eficiência⁶¹.

Alguns outros detectores seletivos têm sido utilizados em GC \times GC, como por exemplo o detector de quimioluminescência de enxofre (SCD, “sulphur chemiluminescence detector”)^{79,80}, detector de quimioluminescência de nitrogênio (NCD, “nitrogen chemiluminescence detector”)^{81,82}, detector de nitrogênio e fósforo (NPD, “nitrogen phosphorous detector”)^{83,84}, e inclusive o detector de emissão atômica (AED, “atomic emission detection”)⁸⁵. Uma descrição mais abrangente sobre FID e detectores seletivos usados em GC \times GC pode ser consultada para um maior detalhamento sobre este assunto²⁶.

O uso de um detector de espectrometria de massas, que possibilita a obtenção de informações estruturais para a identificação dos muitos compostos separados por GC \times GC, é indispensável. A frequência de aquisição de um espectrômetro de massas por tempo-de-voe vai de 50 Hz a 500 Hz (resolução unitária), o que o torna o detector ideal para a investigação de informações estruturais sobre os compostos, proporcionando a construção dos picos rápidos da segunda dimensão. Além disso, pode-se empregar software comercial (como por exemplo o ChromaTOF da Leco) que possibilita

a deconvolução de picos sobrepostos e a localização de determinados íons de interesse, bem como a apresentação de cromatogramas 2D de corrente iônica total (TIC, “total ion current”) e de cromatogramas 2D de íon extraído. Entretanto, os arquivos adquiridos nestes equipamentos para amostras complexas são grandes e o tratamento de dados é uma tarefa complexa e demorada^{48,86}.

A dificuldade de uso dos detectores de espectrometria de massas quadrupolares (qMS, “quadrupole mass spectrometer”) reside na baixa velocidade de varredura desses equipamentos (~20 Hz), o que resulta em três a cinco pontos de leitura ao longo dos picos da segunda dimensão, comprometendo seriamente a qualidade dos processos de quantificação e identificação. O emprego do modo de monitoramento de íon seletivo (SIM, “selective ion monitoring”) permite uma frequência de varredura de aproximadamente 30 Hz, o que leva a um número maior de pontos de leitura ao longo dos picos da segunda dimensão (cinco a seis pontos)⁸⁷.

Atualmente, existem três detectores comerciais quadrupolares de espectrometria de massas de varredura rápida (rapid scanning qMS, “rapid scanning quadrupole mass spectrometer”): Clarus 500 da Perkin Elmer, QP2010 da Shimadzu e Trace DSQ da Thermo Electron Corporation. Trabalhos publicados indicam eficiência semelhante para esses três equipamentos, sendo esta ligeiramente superior à do qMS convencional⁸⁸⁻⁹¹. Em suma, o qMS de varredura rápida é uma alternativa útil para aplicações cujo intervalo de massas restringe-se a uma faixa entre 100 e 300 Da. Quando a faixa de massas dos compostos de interesse vai além disso, é necessário empregar TOFMS³⁰. Recentemente, Mondello e colaboradores publicaram um artigo de revisão sobre o uso de GC \times GC/MS²⁵.

Existem várias abordagens para o processo de quantificação em GC \times GC. A mais comum é semelhante à empregada em 1D-GC, exceto que, ao invés de efetivar-se a integração de um pico para um único analito, existem muitos picos para cada analito. Para calcular a área total de um composto, os picos em cada cromatograma da segunda

dimensão são integrados separadamente e suas áreas são somadas. Beens e colaboradores introduziram técnicas para quantificação de dados em GC×GC⁷³. As abordagens quimiométricas têm se mostrado uma estratégia extremamente promissora, entretanto a discussão deste assunto não é algo simples por causa da complexidade matemática envolvida, distante do dia-a-dia da maior parte dos profissionais que trabalha com cromatografia. As duas principais técnicas empregadas para deconvolução e/ou quantificação em GC×GC estão baseadas na análise dos fatores paralelos (PARAFAC, “parallel factor analysis”). Adachour apresenta uma discussão sobre este assunto em recente artigo de revisão, no qual conclui que a aplicação do PARAFAC ainda encontra-se em estágio de desenvolvimento e no âmbito dos quimiometristas³⁰.

Referências Bibliográficas

1. D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, *Princípios de Análise Instrumental*. Editora Bookman, 2002.
2. T.A. Berger, *Chromatographia* 42 (1996) 63.
3. E. Matisova, M. Dömötöröová, *J. Chromatogr. A* 1000 (2003) 199–221.
4. R. Shellie, P.J. Marriott, *Flavour Fragr. J.* 18 (2003) 179.
5. C.A. Cramers, H.-G. Janssen, M.M.v. Deursen, P.A. Leclercq, *J. Chromatogr. A* 856 (1999) 315–329.
6. J.C. Giddings, *Anal. Chem.* 56 (1984) 1258A.
7. J.C. Giddings, *J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Communications* 10 (1987) 319.
8. W. Bertsch, *J. High Resol. Chromatogr.* 22 (1999) 647.
9. Z. Liu, S.R. Sirimanne, D.G.P. Jr., L.L. Needham, *Analytical Chemistry* 66 (1994) 3086.
10. M.C. Simmons, L.R. Snyder, *Anal. Chem.* 30 (1958) 32.
11. D.R. Deans, *Chromatographia* 1 (1968) 18.
12. B.M. Gordon, C.E. Rix, M.F. Borgerding, *J. Chromatogr. Sci.* 23 (1985) 51.
13. K. MacNamara, R. Leardi, A. Hoffmann, *LC-GC N. Am.* 22 (2004) 166.
14. Z. Liu, J.B. Philips, *J. Chromatogr. Sci.* 29 (1991) 227.
15. W. Bertsch, *J. High Resol. Chromatogr.* 23 (2000) 167–181.
16. R.C.Y. Ong, P.J. Marriott, *J. Chromatogr. Sci.* 40 (2002) 276.
17. P.J. Marriott, R. Shellie, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 573.
18. M. Pursch, K. Sun, B. Winniford, H. Cortes, A. Weber, T. McCabe, J. Luong, *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 356.
19. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.T. Brinkman, *Trends Anal. Chem.* 25 (2006) 438.
20. J. Beens, U.A.T. Brinkman, *Trends Anal. Chem.* 19 (2000) 260.
21. J.B. Phillips, J. Beens, *J. Chromatogr. A* 856 (1999) 331.
22. R.B. Gaines, G.S. Frysinger, M.S. Hendrick-Smith, J.D. Stuart, *Environ. Sci. & Technol.* 33 (1999) 2106.
23. P.J. Schoenmakers, J.L.M.M. Oomen, J. Blomberg, W. Genuit, G.v. Velzen, *J. Chromatogr. A* 892 (2000) 29.
24. J. Dallüge, J. Beens, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1000 (2003) 69.
25. L. Mondello, P.Q. Tranchida, P. Dugo, G. Dugo, *Mass Spectrometry Reviews* 27 (2008) 101.
26. C. vonMühlen, W. Khummueng, C.A. Zini, E.B. Caramão, P.J. Marriott, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 1909.
27. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.T. Brinkman, *Trends Anal. Chem.* 25 (2006) 540.
28. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.T. Brinkman, *Trends Anal. Chem.* 1125 (2006) 234.
29. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.T. Brinkman, *Trends Anal. Chem.* 25 (2006) 821.
30. M. Adahchour, J. Beens, U.A.T. Brinkmann, *J. Chromatogr. A* 1186 (2008) 67.
31. P.J. Marriott, T. Massil, H. Hügel, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 1273–1284.
32. J.M. Davis, J.C. Giddings, *Anal. Chem.* 55 (1983) 418.
33. P.J. Slonecker, X. Li, T.H. Ridgway, J.G. Dorsey, *Anal. Chem.* 68 (1996) 682.
34. F. Dondi, A. Bassi, A. Cavazzini, M.C. Pietrogrande, *Anal. Chem.* 70 (1998) 766.
35. K. Rowe, D. Bowlin, M. Zou, J.M. Davis, *Anal. Chem.* 67 (1995) 2994.
36. J.d. Boer, Q.T. Dao, *J. High Resolut. Chromatogr.* 12 (1989) 755.
37. J.d. Boer, Q.T. Dao, R. Dortmund, *J. High Resolut. Chromatogr.* 15 (1992) 249.
38. H.J. de Geus, J. Boer, U.A.T. Brinkman, *Trends Anal. Chem.* 15 (1996) 168.
39. B.M. Gordon, M.S. Uhrig, M.F. Borderging, H.L. Chung, W.M. Coleman, J.F. Elder, J.A. Giles, D.S. Moore, C.E. Rix, E.L. White, *J. Chromatogr. Science* 26 (1988) 174.
40. C. Samuel, J.M. Davis, *Anal. Chem.* 74 (2002) 2293.
41. J.C. Giddings, *Anal. Chem.* 39 (1967) 1027.
42. J.C. Giddings, *Unified Separation Science*, John Wiley & Sons, New York, 1991.
43. J.M. Davis, *Anal. Chem.* 63 (1991) 2141.

44. M. Peters, J.M. Davis, *American Lab.* 30 (1998) 32C.
45. C. vonMühlen, C.A. Zini, E.B. Caramão, P.J. Marriott, *Quim. Nova* 30 (2007) 682.
46. J.V. Seeley, F. Kramp, C.J. Hicks, *J. Chromatogr. A* 962 (2002) 21–27.
47. R.E. Murphy, M.R. Schure, J.P. Foley, *Anal. Chem.* 70 (1998) 1585.
48. J. Dallüge, R.J.J. Vreuls, J. Beens, U.A.T. Brinkman, *J. Sep. Sci.* 25 (2002) 201.
49. A.L. Lee, A.C. Lewis, K.D. Bartle, J.B. McQuaid, P.J. Marriott, *J. Microcol. Sep.* 12 (2000) 187.
50. T. Gorecki, J. Harynuk, O. Panic, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 359.
51. S.E. Reichenbach, M. Ni, V. Kottapalli, A. Visvanathan, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 71 (2004) 107.
52. J.B. Phillips, J. Xu, *J. Chromatogr. A* 703 (1995) 327.
53. J. Beens, U.A.T. Brinkman, *The Analyst* 130 (2005) 123.
54. C. vonMühlen, C.A. Zini, E.B. Caramão, P.J. Marriott, *Quim. Nova* 29 (2006) 765.
55. C. vonMühlen, C.A. Zini, E.B. Caramão, P.J. Marriott, *J. Chromatogr. A* 1200 (2008) 34–42.
56. P.J. Marriott, P. Haglund, O.C.Y. Ong, *Clin. Chim. Acta* 328 (2003) 1.
57. J.B. Phillips, R.B. Gaines, J. Blomberg, F.W.M.v.d. Wielen, J.-M. Dimandja, V. Green, J. Granger, D. Patterson, L. Racovalis, H.-J.d. Geus, J.d. Boer, P. Haglund, J. Lipsky, V. Sinha, J. Edward B. Ledford, *J. High Resol. Chromatogr.* 22 (1999) 3.
58. J. Edward B. Ledford, in *Riva del Garda*, 2000.
59. J. Beens, M. Adahchour, R.J.J. Vreuls, K.v. Altena, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 919 (2001) 127.
60. M. Adahchour, J. Beens, U.A.T. Brinkman, *The Analyst* 128 (2003) 213.
61. E.M. Kristenson, P. Korytár, C. Danielsson, M. Kallio, M. Brandt, J. Mäkelä, R.J.J. Vreuls, J. Beens, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1019 (2003) 65.
62. C.A. Bruckner, B.J. Prazen, R.E. Synovec, *Anal. Chem.* 70 (1998) 2796.
63. C.J. Venkatramani, J. Xu, J.B. Phillips, *Anal. Chem.* 68 (1996) 1486.
64. J. Beens, J. Blomberg, P.J. Schoenmakers, *J. High Resol. Chromatogr.* 23 (2000) 182.
65. J.C. Giddings, *J. Chromatogr. A* 703 (1995) 3.
66. D. Ryan, P. Morrison, P. Marriot, *J. Chromatogr. A* 1071 (2005) 47.
67. P. Korytar, P.E.G. Leonards, J.d. Boer, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1086 (2005) 29.
68. P. Korytár, C. Danielsson, P.E.G. Leonards, P. Haglund, J. Boer, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1038 (2004) 189.
69. M. Adahchour, J. Beens, R.J.J. Vreuls, A.M. Batenburg, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1054 (2004) 47.
70. R. Mayadunne, T.-T. Nguyen, P.J. Marriott, *Anal. Bioanal. Chem.* 382 (2005) 836.
71. D. Ryan, R. Shellie, P. Tranchida, A. Casilli, L. Mondello, P. Marriott, *J. Chromatogr. A* 1054 (2004) 57.
72. T.C. Tran, G.A. Logan, E. Grosjean, J. Harynuk, D. Ryan, P. Marriott, *Org. Geochem.* 37 (2006) 1190–1194.
73. J. Beens, H. Boelens, R. Tijssen, J. Blomberg, *J. High Resol. Chromatogr.* 21 (1998) 47.
74. C.G. Fraga, B.J. Prazen, R.E. Synovec, *J. High Resol. Chromatogr.* 23 (2000) 215–224.
75. M. Kallio, T. Hyötyläinen, M. Lehtonen, M. Jussila, K. Hartonen, M. Shimmo, M.-L. Riekkola, *J. Chromatogr. A* 1019 (2003) 251.
76. S. Zhu, L. X. L. Dong, J. Xing, *J. Chromatogr. A* 1086 (2005) 107.
77. M.S. Klee, M.D. Williams, I. Chang, J.J. Murphy, *J. High Resolut. Chromatogr.* 22 (1999) 24.
78. P. Korytár, P.E.G. Leonards, J.d. Boer, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 958 (2002) 203.
79. F.C.-Y. Wang, W.K. Robbins, F.P.D. Sanzo, F.C. McElroy, *J. Chromatogr. Sci.* 41 (2003) 519.
80. R. Hua, J. Wang, H. Kong, J. Liu, X. Lu, G. Xu, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 691.
81. F.C.-Y. Wang, W.K. Robbins, M.A. Greaney, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 468.
82. F. Adam, F. Bertoncini, N. Brodusch, E. Durand, D. Thiébaud, D. Espinat, M.-C. Hennion, *J. Chromatogr. A* 1148 (2007) 55–64.
83. C. vonMühlen, E.C. Oliveira, P.D. Morrison, C.A. Zini, E.B. Caramão, P.J. Marriott, *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 3223.
84. D. Ryan, P. Watkins, J. Smith, M. Allen, P. Marriott, *J. Sep. Sci.* 28 (2005) 1075.
85. L.L.P. vanStee, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1019 (2003) 89.
86. J. Dallüge, L.L.P.v. Stee, X. Xu, J. Williams, J. Beens, R.J.J. Vreuls, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 974 (2002) 169.
87. C. Debonneville, A. Chaintreau, *J. Chromatogr. A* 1027 (2004) 109.
88. C. Cordero, C. Bicchi, D. Joulain, P. Rubiolo, *J. Chromatogr. A* 1150 (2007) 37.
89. H.V.D. Weghe, G. Vanermen, J. Gemoets, R. Lookman, D. Bertels, *J. Chromatogr. A* 1137 (2006) 91.
90. M. Adahchour, M. Brandt, H.-U. Baier, R.J.J. Vreuls, A.M. Batenburg, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1067 (2005) 245.
91. P. Korytár, J. Parera, P.E.G. Leonards, J.d. Boer, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1067 (2005) 255.
92. P.J. Marriott, R.M. Kinghorn, *Anal. Chem.* 69 (1997) 2582.