

Francisco Radler de Aquino Neto

Instituto de Química/UFRJ - Centro de Tecnologia, Bloco A, Sala 607 - Ilha do Fundão - Cidade Universitária
21949-900 - Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 20/12/93; aceito em 15/9/94

High Resolution Gas Chromatography (HRGC) is shown to be the most promising analytical technique for trace and for residue analysis. It's main attributes are: inertness; ability to receive large quantities of diluted samples; high resolution; easy connection to selective detectors, multidimensional systems, robotics and lab automation; in addition to the fact that, contrary to spectroscopy, resolution enhancement results in higher sensitivity.

Keywords: trace analysis; residue analysis; high resolution gas chromatography.

O grande desafio da Química Analítica é a caracterização de substâncias presentes em misturas, ou a caracterização de misturas de contaminantes presentes na substância de interesse.

Em geral, a Química Orgânica que lida com pequenas quantidades de substâncias presentes em um meio qualquer (matriz), é chamada de *Química de resíduos*. Resíduos seriam, portanto:

- substâncias (em geral orgânicas) adicionadas a um meio qualquer
- ou resultantes da alteração dessas pelo próprio meio em geral presentes em pequena quantidade. Quando essas quantidades estão na faixa de 100 /ml a 1 /l, é usual chamar a análise desses materiais de *análise de traços*. Um termo mais abrangente seria *análise de resíduos*.

As dificuldades analíticas derivam:

- de sua baixa concentração
- de suas reatividade e associatividade
- do desconhecimento das suas rotas de alteração

Aplicações importantes seriam no controle de qualidade:

- ambiental
- ocupacional
- alimentar
- farmacológico
- toxicológico

Esses setores estão iminentemente associados ao bem-estar social. Portanto, a ética é indispensável na análise de resíduos, resultando numa química para a vida e não contra a vida.

A título de exemplo, podem ser relacionadas algumas aplicações da análise de resíduos, abordadas pelo LADETEC do IQ-UFRJ, tais como: geoquímica orgânica molecular, prospecção geoquímica de petróleo, petroquímica, química fina, química ambiental e ocupacional, química do alcatrão de madeira, controle de alimentos, controle "anti-doping", química forense, farmacologia-toxicologia.

Há três tipos principais de sistemas onde ocorrem resíduos e que são de interesse técnico-científico e sócio-econômico:

- matriz complexa com distribuição complexa de resíduos
- matriz complexa com poucos resíduos
- matriz simples com muitos resíduos

A análise desses sistemas depende de:

- *Separação física* dos constituintes da amostra (os próprios resíduos e os componentes da matriz), visando isolar substâncias para submeter a outras análises com a finalidade de identificá-las (ou utilizá-las);

- *Separação conceitual* visando isolar propriedades intrínsecas das substâncias presentes na amostra, para fins de identificação.

Do ponto de vista analítico, em ambos os casos, a separação visa, tão somente, a eliminação de interferentes ao processo de caracterização (quali- e/ou quantitativa).

As técnicas usuais de separação e análise são:

- Cromatografias, em especial a Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR);
- Eletroforese, em especial Eletroforese Capilar de Alta Resolução (ECAR) e Cromatografia Eletrocínética Micelar Capilar (Eletroforese Micelar Capilar);
- Espectrometria de Massa (EM);
- Espectrometria de Massas em Tandem (EM-EM);
- Associação dessas técnicas.

A **Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (CGAR)**, pode ser definida como a CG em colunas capilares atuais.

Do ponto de vista estrutural, as colunas capilares são tubos de diâmetro interno capilar (0,1 a 0,5mm), recobertos internamente com a fase estacionária.

O conceito "atual" envolve ainda os seguintes critérios: capilar com no máximo 0,32mm D.I., constituído de vidros de diversas composições (borossilicato, sílica fundida), submetido a diversos tratamentos internos (desativação, compatibilização com a fase estacionária, imobilização); a coluna resultante está sujeita a testes de desempenho e é passível de regeneração.

A figura 1 ilustra o aspecto de análises equivalentes efetuadas em CG e CGAR. A necessidade de se abandonar o uso de colunas convencionais fica patente no texto abaixo retirado de pronunciamento de Marcel J. E. Golay em 1987 e publicado no *J. High. Resol. Chromatogr.*, (1988) 11, 6.

"... My third error in chromatography was not to have fully appreciated the third big virtue of the packed column. This virtue is that the packed column constitutes a fine example, a perfect model, a very good blueprint, for just that which we should by all means avoid doing."

A tabela 1 fornece elementos para derrubar o mito de que a possibilidade de receber maiores quantidades de substrato, tornam a CG convencional capaz de ter menores limites de detecção e, portanto, mais recomendável para análise de traços. Analisando a tabela 1 podemos afirmar que:

- a) Embora, em geral, a quantidade absoluta de cada componente introduzido na coluna seja 200 vezes menor na CGAR, a relação

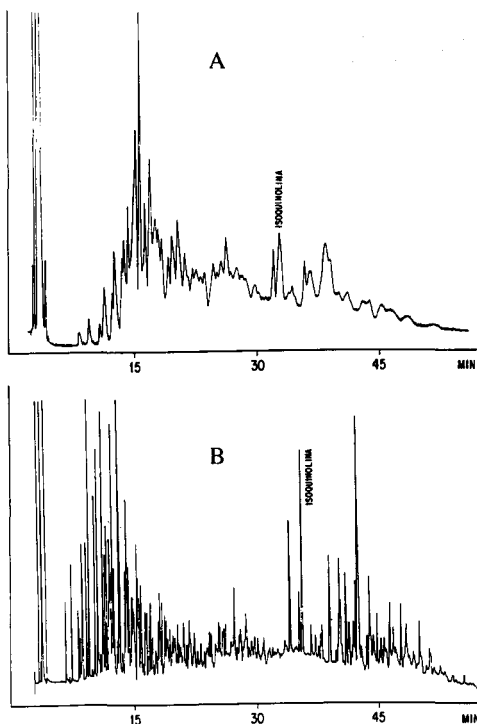


Figura 1. Análise de bases nitrogenadas de óleo de pirólise de xisto. A. Coluna recheada, CARBOWAX 20M 13% sobre Chromosorb A W DMCS 80 a 100 mesh; D.I. 3,2mm; comprimento 2,0m. B. Coluna capilar de alta resolução, CARBOWAX 20M, df 0,5um, D.I. 0,30mm, comprimento 23m (capilar lixiviado com HCl seguido de depósito de carbonato de bário).

signal: ruído é 100 vezes maior para ela. Assim, nominalmente, a CGAR seria apenas 2 vezes menos sensível que a CG.

- b) A maior inércia da CGAR permite que quantidades diminutas de resíduos passem através da coluna sem alteração, contrariamente a CG convencional. Isso também colaborou para que moléculas ditas suscetíveis a decomposição pudessem ser

analisadas por CGAR; ao invés de CLAE. Além disso, garante maior estabilidade da fase e temperaturas mais elevadas de análise (até 420°C), permitindo análise de substâncias de M.M. até 1500u.

- c) Técnicas de focalização de amostra e eliminação de solvente permitem que a quantidade de solução de amostra injetada varie de 10^{-3} a 10^3 ul para a CGAR; o "recorde" é de 20×10^3 ul^{1,2}!

É importante realçar, que contrariamente às espectroscopias, a CGAR, ao buscar aumento de resolução e seletividade, promove um aumento na sensibilidade!

Como dito anteriormente, o grande problema da análise de resíduos é a sua separação de possíveis interferentes. Mesmo com as técnicas disponíveis de pré-tratamento de amostras ("clean-up"), é grande o número de substâncias presentes na fração a ser introduzida no cromatógrafo. Dessa forma, a qualidade da separação cromatográfica é essencial para permitir a identificação e quantificação de resíduos. São muitos os fatores que influenciam a separação cromatográfica. A otimização desses fatores procura evitar a dispersão da substância, na busca da minimização do alargamento do pico na cromatografia, aumentando, conseqüentemente, a resolução.

O controle de um grupo importante de fatores de alargamento depende da focalização da amostra após introdução na coluna cromatográfica. Isso depende da técnica de injeção empregada e, na maioria dos casos, do uso de lacunas de retenção (tabela 2)^{3,4}. Essas podem estar associadas à própria coluna ou a ela serem conectadas, sendo intercambiáveis (tabela 3)^{3,4}.

A lacuna também atua como uma pré-coluna de proteção para a fase estacionária. Se houver uma quantidade excessiva de material não volatilizável depositado na lacuna, ela poderá perder a capacidade de promover a focalização da banda inicial de amostra⁵.

Como dito anteriormente, um artifício interessante na análise de traços, é a "separação conceitual". Uma das formas de fazê-la é utilizar detectores seletivos que apenas "vejam" os resíduos que nos interessam⁵ (tabela 4).

A análise de resíduos em geral tem finalidade forense⁶ e, portanto, deve obedecer a critérios de qualidade (grau de certeza) aceitáveis em tribunais⁷ (tabela 5). O grau de certeza obtido pela CGAR e a principal técnica dela derivada (CGAR-EM) estão mostrados na tabela 6.

Tabela 1. Cromatografia convencional (colunas recheadas) versus cromatografia gasosa em colunas capilares de alta resolução (CGAR).

CARACTERÍSTICAS	COLUNA	
	RECHEADA	CAPILAR
Comprimento em m	1,5-6(32)*	5 - 50(100)*
D.I. em mm	2-4 (32,2)*	0,1- 0,32
Vazão F.M. em ml/min	10-60	0,5- 15
Perda de carga em psi	10-40	3 - 40
Quantidade de amostra	10ug/pico	50ng/pico
Quantidade relativa de amostra	(1	: 1/200)
Quantidade relativa de fase estacionária	100-1000	: 1
df em um	1-10	0,05-1,0(5)*
Gás de arraste	N ₂ , He(H ₂)**	H ₂ (He)**
N/m (D.I. em mm)	2500(2)	3000(0,25)
S/N Razão sinal/ruído	1	: 100
Inércia	—	Excelente
Faixa de introdução de amostra na coluna em ul	10 ⁻¹ a 10	10 ⁻³ a 10 ³

* Casos extremos não usuais

** Menos usuais.

Tabela 2. Lacuna de retenção ("Retention Gap").

NATUREZA:	Capilar tratado internamente e não recoberto com fase estacionária (F.E.); diâmetro interno > d _c
FUNÇÕES:	<ul style="list-style-type: none"> • Câmara de vaporização da amostra. • Quando a T < p.e. solvente, permite a focalização da amostra • "Pré-coluna" no caso de amostras com contaminates de baixa volatilidade.
DISPOSIÇÃO:	<ul style="list-style-type: none"> • No início da coluna cromatográfica propriamente dita e conectada ao injetor: <ul style="list-style-type: none"> - inserida no tubo que contém a F.E. - adaptável à coluna por meio de conexões pneumáticas.
CARACTERÍSTICAS:	<ul style="list-style-type: none"> • Inerte quimicamente • k < 10.k fase estacionária • u (velocidade absoluta do gás carreador na lacuna) < u coluna
APLICAÇÃO:	<ul style="list-style-type: none"> • Focalização da banda inicial de amostra em condições do "Efeito do Solvente" nas injeções na coluna e sem divisão de fluxo. • Proteção da fase estacionária contra contaminantes de baixa volatilidade.

Tabela 3. Vantagens do uso de lacunas intercambiáveis (não solidárias às colunas)

- Tratamento da superfície interna otimizado em relação à amostra; pode ser diferente da coluna.
- Diâmetro interno variável em função do volume de amostra.
- Comprimento variável da lacuna.
- Permite troca da entrada da coluna caso haja contaminação.
- Redução do alargamento de banda no tempo (injeção sem divisão) e no espaço (injeções com divisão e na coluna) através da captura pelo solvente ou captura a frio. Além disso, permite focalização adicional por captura a frio na fase estacionária e por encharcamento da fase.

Tabela 4. Detectores para cromatografia gasosa.**"Universal"**

- Detector por ionização em chama
- Detector por condutividade térmica

"Seletivos"

- Detector fotométrico de chama (S,P)
- Detector por captura de elétrons
- Detector por fotoionização
- Detector por ionização em chama alcalina (N,P)
- Detector termoiônico (N,P)
- Detector por plasma induzido por microondas (detector por emissão atômica)
- Detector por emissão em chama

"Técnicas Hifenadas"

- Detector seletivo de massas ou acoplamento CG-Espectrômetro de Massas (CG-EM)
- Detector por (Espectroscopia no) Infravermelho com transformada de Fourier (CG-IVTF).

Tabela 5. Grau de certeza na identificação*. Tolerância aceitável para incerteza.

TOLERÂNCIA	UTILIZAÇÃO DOS RESULTADOS
1 : 10 ² -10 ³	Em "indicação" de positivo
1 : 10 ⁵	Em causas judiciais envolvendo transgressões econômicas
1 : 10 ⁶	Em causas judiciais envolvendo processos criminais

* Pode ser definido "a priori" através de considerações estatísticas.

Tabela 6. Grau de certeza na identificação. Confiabilidade (estatística) de técnicas de identificação.

TÉCNICA INCERTEZA	CONCEITO
CGAR	Supondo isolamento eficiente de 200 substâncias por cromatograma 10 ²
EM	Supondo fragmentação de interesse na faixa de m/z 180 a 480 com 3 razões entre 4 fragmentos relevantes para substâncias de interesse $\frac{300!}{3!(300-3)!} \approx 10^6$
CGAR-EM	Combinação dos critérios acima $\frac{300!}{3!(300-3)!} \approx 10^8$

CONCLUSÃO

A CGAR é a técnica por excelência para análise de traços por possibilitar simultaneamente alta resolução, seletividade e sensibilidade.

Sua viabilização, no entanto, exige interesse dos analistas em:

- compreender os mecanismos de injeção e focalização da banda inicial^{1,2,3,4};
- aprofundar-se no conhecimento dos fundamentos do processo cromatográfico, em especial aqueles responsáveis pelo alargamento dos picos^{1,2,3,4};
- lutar contra o imobilismo e validar⁸, em CGAR, métodos consagrados em CG e mesmo em CLAE.

REFERÊNCIAS

- Grob, K.; *On-line coupled LC-GC*; Heidelberg, Hüthig, 1991. 462p.
- Grob, K.; Schmarr, H. -G.; Mosandl, A.; *J. High Resol. Chromatogr.* (1989), **12**, 375.
- Cardoso, J. N.; Aquino Neto, F. R.; *Quím. Nova.* (1989), **12**, 13.
- Aquino Neto, F. R.; Cardoso, J. N.; *Quím. Nova.* (1992), **15**, 224.
- Castro, I. M.; Aquino Neto, F. R.; *J. High Resol. Chromatogr.* (1990) **13**, 302.
- Hoy, D. W.; Finnigan, R. F.; Nee, T.; Shults, T. F.; Butler, T. J.; *J. Amer. Medical Assoc.* (1987), **258**, 504.
- Ruig, W. G.; Dijkstra, G.; Stephany, R.W.; *Anal. Chim. Acta.* (1989), **223**, 277.
- Silvis, P. H.; *LC-GC*, (1992), **10**, 368.