

# Scientia Chromatographica

Revista Trimestral do Instituto Internacional  
de Cromatografia

2008 | Volume 0 | Número 0



## Editor

Fernando M. Lanças – USP

## Editores Associados

Elina B. Caramão – UFRGS – RS  
Carol H. Collins – UNICAMP – SP  
Álvaro J. Santos Neto – UNIFENAS – MG  
Igor R. Olivares – USP/IQSC – SP  
Vitor Hugo P. Paces – USP/IQSC – SP  
Maria E. Queiroz – USP/FFCLRP – SP  
Elena Stashenko – UIS – Colômbia  
Cláudia Zini – UFRGS – RS

## Corpo Editorial Consultivo

Daniel Armstrong – EUA  
Dietrich von Bauer – Chile  
Fábio Augusto – Brasil  
Fátima Dutra – Brasil  
Frank Svec – EUA  
Harold McNair – EUA  
Humberto Gómez – México  
Isabel Jardim S. Fontes – Brasil  
Jailson B. de Andrade – Brasil  
Janusz Pawliszyn – Canadá  
K. Jinno – Japão  
Luigi Mondello – Itália  
Marcos Eberlin – Brasil  
Marina Tavares – Brasil  
Milos Novotny – EUA  
Milton Lee – EUA  
Norberto Peporine – Brasil  
Phillip Marriott – Austrália  
Pierina Bonato – Brasil  
Quézia Cass – Brasil  
Renato Zanella – Brasil

## Endereço da Revista

[revista@scientiachromatographica.com](mailto:revista@scientiachromatographica.com)

## Editoração Eletrônica

Fabio Cyrino Mortari

## Capa

Ivan Grilo

# Apresentação do periódico

## Instituto Internacional de Cromatografia – IIC

O Instituto Internacional de Cromatografia (IIC) é parte da Associação Internacional de Cromatografia (AIC), juridicamente constituída como uma entidade privada sem fins lucrativos. O principal objetivo do IIC é o desenvolvimento, aplicação e promoção da cromatografia e de técnicas associadas, em todas as suas formas, com o intuito de promover, com suas ações, o bem-estar do ser humano.

As principais áreas de atuação do IIC são:

- pesquisa e desenvolvimento na área de instrumentação analítica;
- desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias analíticas;
- treinamento de pessoas nos diversos níveis (cursos de curta e longa duração, especialização, cursos não presenciais, *in company* etc.), de iniciantes a avançados;
- promoção de eventos como congressos, simpósios, workshops;
- elaboração e divulgação de material didático como livros, periódicos, newsletter e similares;
- consultoria, para órgãos públicos e privados, nas áreas de cromatografia e técnicas associadas, assim como em questões de gestão de qualidade nesta área.

Para atingir seus objetivos, o IIC possui uma equipe própria de pesquisadores, instalações independentes (inclusive laboratórios de pesquisa), projetos em andamento com diversos órgãos de fomento, incluindo a FAPESP e o MCT (Ministério da Ciência e Tecnologia), além de empresas privadas.

Dentro de seu escopo de atuação, e após anos de estudos, o *Instituto Internacional de Cromatografia (IIC)* definiu os detalhes do primeiro periódico científico da América Latina dedicado, exclusivamente, à Cromatografia e Técnicas Relacionadas.

Neste instante, você tem em mãos o volume zero, número zero, do periódico *Scientia Chromatographica*, no qual apresentamos o formato e seus principais objetivos, assim como a linha editorial e os principais assuntos a serem abordados nos próximos volumes. A periodicidade será trimestral para o ano de 2009, podendo ser modificada com o tempo. Esperamos poder contar com seu interesse no periódico, cuja assinatura anual pode ser efetuada pelo endereço informado em nosso expediente.

Trabalhamos com muita dedicação e prazer na elaboração deste periódico, esperamos que você goste e nos envie suas sugestões para o aperfeiçoamento do mesmo.



# Sumário

<b>Editorial</b> .....	7	
Fernando M. Lanças		
<b>Cromatografia - Espectrometria de Massas</b> .....	9	
Elena Evgenievna Stashenko		
<b>Cromatografia Gasosa (GC)</b> .....	10	
Elina B. Caramão e Cláudia Zini		
<b>Cromatografia Líquida (LC)</b> .....	11	
Fernando M. Lanças		
<b>Preparo de Amostras</b> .....	12	
Maria Eugênia Costa Queiroz		
<b>Qualidade em Cromatografia (Quali)</b> .....	13	
Igor R. B. Olivares e Vitor Hugo P. Paces		
<b>Pilares da Cromatografia</b> .....	14	
Carol H. Collins		
<b>Troubleshooting (TS)</b> .....	15	
Álvaro José dos Santos Neto		
<b>Artigo de Revisão</b>		
Avanços recentes e tendências futuras		
das técnicas de separação: uma visão pessoal.....		17
Fernando M. Lanças		
<b>Eventos</b>		
Calendário Geral.....		45
Instituto Internacional de Cromatografia .....		51
<b>Bookstore</b> .....	55	



# Editorial

Fernando M. Lanças

Editor

O surgimento de um novo periódico é sempre fruto do trabalho de uma equipe de pessoas interessadas em divulgar o conhecimento adquirido, para que outras possam utilizá-lo em suas atividades. Não poderia ser diferente neste caso, cujo primeiro estudo visando sua implementação data de exatamente dez anos. Assim como a Cromatografia e Técnicas Relacionadas amadureceram bastante na última década, o projeto do periódico também sofreu modificações, adaptações, adequações, até atingir um estágio que julgamos ser adequado para a sua divulgação. A Cromatografia, neste momento, possui um leque de aplicações bastante amplo, formando uma área bastante definida dentro das Técnicas de Separação, com um Simpósio Nacional bem estabelecido (SIMCRO, Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins) e um Congresso Latino-Americano (COLACRO, Congresso Latino-Americano de Cromatografia) de grande repercussão internacional. Entretanto, ainda não existe um periódico que congregue os interesses dos cromatografistas em língua portuguesa, o que explica a escolha desta língua para este periódico. Mesmo sabendo que a escolha deste idioma pode limitar o alcance geográfico da divulgação do mesmo, preferimos privilegiar o leitor da língua portuguesa e espanhola (que, usualmente, não encontra dificuldades na leitura de textos científicos em português) em função da existência de periódicos nesta área em outros idiomas.

A intenção do periódico é ter um escopo bastante amplo na área de Cromatografia e Técnicas Relacionadas, de maneira a abranger os diferentes interesses dos cromatografistas.

Neste contexto, entendemos por técnicas relacionadas todas aquelas que possam estar vinculadas à Cromatografia ou que influenciem na separação cromatográfica, abrangendo (mas não a limitando):

- Técnicas cromatográficas em todas as suas formas (líquida, gasosa, fluido supercrítico), seus modos (planar – TLC, PC –, coluna), suas variações (acopladas ou não, com fluidez realçada, unificada, abrangente) e suas dimensões (capilares, analíticas, preparativas etc.);
- Técnicas relacionadas, tais como as que utilizam aplicação de voltagem baixas, médias ou elevadas (eletroforese capilar em todas as suas formas, Cromatografia eletroforética micelar, eletrocromatografia e variações);
- Técnicas hífenadas que utilizem a Cromatografia como forma de separação (HPLC-AAS, HPLC-ICP e outras);

- Técnicas de preparo de amostras para análise cromatográfica (extração líquido-líquido, SPE, SPME, SBSE e outras);
- Técnicas de identificação e quantificação de picos cromatográficos em GC|MS, LC|MS|MS, GC|AES, SFC|MS, e outras;
- Técnicas multidimensionais (*column switching*, abrangente e outras);
- Assuntos teóricos e educacionais de interesse da área.

O objetivo principal do periódico é manter o leitor atualizado, na área de Cromatografia e Técnicas Relacionadas, abordando assuntos práticos e teóricos de interesse geral da área.

Os artigos publicados neste periódico envolverão, inicialmente, assuntos focalizados na forma de seções, tratando de assuntos específicos (LC, GC, Preparo de Amostras, Qualidade e outras), assim como seções mais informativas como Calendário|Agenda, Novidades da área, Livros e assuntos relacionados (“Bookstore”) e assuntos gerais de interesse da área.

Nas páginas a seguir, apresentamos os Editores Associados do periódico, que responderão pelas colunas sob sua responsabilidade, com breve descrição de suas principais áreas de atuação, assim como do que pretendem abordar em suas colunas ou seções. As demais, mais informativas, são de responsabilidade do Editor e do Corpo Editorial.

Sugestões visando o aprimoramento do periódico serão muito bem recebidas.





Editora

**Elena Evgenievna Stashenko**

Universidad Industrial de Santander  
Chromatography Laboratory, Building 45  
Carrera 27, Calle 9, Bucaramanga  
Colombia  
elenastashenko@gmail.com

## Cromatografia - Espectrometria de Massas

É difícil imaginar um laboratório moderno de Química sem um sistema GC-MS. A espectrometria de massas existe há cerca de um século, a cromatografia gasosa apareceu há mais de meio século e o acoplamento com sucesso, robustez e praticidade destas duas técnicas data do final dos anos 70. De acordo com o sistema de busca de dados Scopus (Elsevier) cerca de 800 artigos científicos foram publicados, em 1988, relatando o uso de GC-MS. Quase vinte anos depois, este número cresceu cinco vezes, para cerca de 4.000 publicações em 2007! Existem muitas e diversas aplicações para a GC-MS, incluindo a Química, Bioquímica, Agricultura, Ambiental, Toxicologia, Farmacologia, Medicina, Engenharia Química e muitas outras, com um uso contínuo e inovativo da técnica GC-MS. Caracterização na área petroquímica, controle do doping, detecção de traços de dioxinas em alimentos, a distinção entre ácidos graxos *cis* e *trans* em gorduras, não seriam possíveis sem GC-MS. A capacidade incrível de separar ng-pg de amostras de misturas com mais

de 300 componentes e identificá-los, de acordo com o padrão de fragmentação das moléculas em fase gasosa, é um feito difícil de ser comparado com outra técnica. A cromatografia gasosa-espectrometria de massas é um dos casamentos mais felizes no mundo da Química Analítica.

Mais recentemente, o acoplamento entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massas (LC-MS) vem sendo desenvolvido, porém a passos mais lentos e com mais dificuldades do que o acoplamento GC-MS. Entretanto, essa técnica – principalmente no formato LC-MS-MS – tornou-se uma ferramenta indispensável quando a amostra não é propícia para ser analisada via GC-MS.

Esta coluna focalizará diferentes aspectos das formas de acoplamento entre cromatografia-espectrometria de massas (GC-MS, LC-MS, LC-MS-MS e outros), enfatizando aspectos práticos que poderão ser de interesse do leitor usuário destas técnicas.

### Sobre a Editora

*Elena Stashenko é Doutora em Química pela Universitet Druzbi Narodov, Moscow, URSS. É Laureate Full Professor na Universidade Industrial de Santander, Colômbia, onde é, também, Diretora do Centro de Biomoléculas e do Research Center of Excellence (CENIVAM). Dentre seus interesses, na área de pesquisa, estão a aplicação de GC/MS nas áreas de alimentos, forense, meio ambiente e petroquímica, além do uso de catalisadores a base de zeólita na oxidação de metabólitos secundários. Investiga a extração, análise e modificação química de extratos vegetais, assim como a peroxidação lipídica e avaliação da capacidade anti-oxidante *in vitro*, dentre outras linhas de interesse.*



Editoras

**Elina B. Caramão e Cláudia Zini**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Química  
91501-970 - Porto Alegre, RS  
Brasil

## Cromatografia Gasosa (GC)

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação, identificação e quantificação extremamente versátil e poderosa que se encontra inserida nas mais variadas áreas do conhecimento, tanto na academia, como na indústria, sendo empregada em pesquisa e desenvolvimento, bem como em controle de qualidade. Essa técnica se beneficia do uso de diversos detectores seletivos e também universais, o que propicia eficiência, qualidade e sensibilidade em análises qualitativas e quantitativas, ampliando imensamente o seu escopo de aplicações.

O objetivo desta seção da revista *Scientia Chromatographica* é trazer informações sobre o estado da arte da cromatografia gasosa, como uma técnica que, tendo atingido sua maturidade, ainda se encontra em franco desenvolvimento e aplicação. Nossa abordagem incluirá a inserção da cromatografia gasosa em métodos analíticos multidimensionais, suas novas aplicações, usos já consolidados desta técnica, dentre outras inovações relacionadas a ela.

### Sobre as Editoras

A Professora *Elina Bastos Caramão* é graduada em Química e Mestre em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Doutora em Química (Físico-Química) pela Universidade de São Paulo. É pesquisadora IC do CNPq. Atualmente, é Professora Associada nível I do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, tem experiência na área de Química, com ênfase em Química Analítica, atuando, principalmente, nos seguintes temas: cromatografia gasosa, GC-MS, espectrometria de massas, petróleo, biodiesel e GCxGC.

A Professora *Cláudia Alcaraz Zini* é graduada e Mestre em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Doutora parte pela University of Waterloo e parte pela UFRGS. Atualmente, é Professora Adjunta no Instituto de Química da UFRGS. Tem experiência na área de Química Analítica, atuando, principalmente, nos seguintes temas: cromatografia gasosa bidimensional abrangente, óleos essenciais, processos de extração e separação, petróleo, além de ter atuado em gerenciamento ambiental.



Editor

**Fernando M. Lanças**

Universidade de São Paulo  
 Instituto de Química de São Carlos  
 13560-970 – São Carlos (SP)  
 Brasil  
 flancas@iqsc.usp.br

## Cromatografia Líquida (LC)

A coluna de Cromatografia Líquida (LC) irá abordar os mais diversos problemas que a envolvem, incluindo (mas não restrito a):

1. Discussão sobre as recentes inovações quanto ao uso de fases estacionárias e móveis não convencionais (exemplo: fases móveis 100% aquosas ou 100% orgânicas em cromatografia líquida em fase reversa);
2. Apresentação dos avanços recentes e tendências na instrumentação para cromatografia líquida e técnicas relacionadas;
3. Avaliação de erros comumente cometidos por cromatografistas em diferentes estágios das análises;
4. *Troubleshooting* focalizando a manutenção preventiva dos equipamentos, assim como a detecção e reparo de pequenos problemas instrumentais;
5. Discussão a respeito do preparo de fases móveis (exemplo: tampões) e como influenciam na separação;
6. Otimização das separações com a adequação dos parâmetros experimentais;
7. Inovações a respeito do acoplamento da cromatografia com outras técnicas, como a espectrometria de massas e outras;
8. Assuntos relacionados a questões de qualidade, específicos da área;
9. Acoplamento entre colunas de LC;
10. Otimização do tempo de análise, consumo de solvente e de amostra, aumento da seletividade e da sensibilidade, e outros parâmetros, por técnicas como U-HPLC, LC capilar e nano, LC abrangente e multidimensional, “fast”-LC e outras;
11. Outros assuntos de interesse dos usuários da técnica.

### Sobre o Editor

*Fernando M. Lanças* é Doutor em Química pela UNICAMP, Livre-docente e Professor Titular pela USP-IQSC. Foi Professor visitante no Virginia Tech (EUA), por dois anos, junto ao grupo do Prof. Harold McNair na área de Cromatografia, e por um ano, na Universidade de Cornell, com o grupo do Prof. Jack Henion, na área de Espectrometria de Massas, em Tandem (LC-MS-MS e CE-MS-MS). Atualmente, é Professor Titular do IQSC-USP, onde fundou e coordena o Grupo de Cromatografia (CROMA). Orientou mais de cem teses de Pós-graduação, publicou mais de 250 trabalhos científicos, é membro do Conselho Editorial de cerca de dez periódicos e assessor de dezenas de outros. Foi o fundador do CROMA-IQSC/USP, COLACRO, SIMCRO, e IIC, do qual, atualmente, é Presidente.



Editor

**Maria Eugênia Costa Queiroz**

Universidade de São Paulo  
 FFCLRP-USP – Av. Bandeirantes, 3900, Monte Alegre  
 14040-901, Ribeirão Preto – SP  
 Brasil.  
 mariaeqn@ffclrp.usp.br

## Preparo de Amostras

As amostras, principalmente as complexas, apresentam interferentes que podem co-eluir com os solutos, durante a separação cromatográfica, ou adsorverem de forma irreversível junto à coluna analítica, diminuindo seu tempo de vida útil e modificando a retenção dos solutos.

O pré-tratamento da amostra tem sido uma das principais etapas nas análises cromatográficas, para aumentar a sensibilidade e seletividade analítica do método cromatográfico, pela remoção dos interferentes da amostra e concentração dos solutos, quase sempre presentes em níveis de traços.

Com o objetivo de padronizar os métodos analíticos mais seletivos, com menores limites de quantificação e em menor tempo de análises; a

Química Analítica moderna tem sido direcionada para a hifenação de técnicas, minaturização dos sistemas analíticos, minimização do consumo de solvente orgânico e do volume da amostra.

Neste contexto, avanços no pré-tratamento das amostras, tais como: a microextração em fase sólida, extração sortiva em barra de agitação, microdiálise, automação das análises, amostragem *on site* ou *in vivo*, emprego de fases extratoras mais seletivas (imunossorventes e polímeros impressos molecularmente) ou de fases biocompatíveis (acesso restrito), dentre outros tópicos serão discutidos em artigos de revisão ou em artigos sobre resultados originais de pesquisa em diferentes áreas: ambiental, farmacêutica, forense, alimentos, produtos naturais etc.

### Sobre o Editor

*Maria Eugênia Costa Queiroz* é Mestre e Doutora em Química (Química Analítica) pela Universidade de São Paulo, Pós-doutora em Química Analítica pela Universidade de São Paulo e pela University of Waterloo (Ontário, Canadá). Atualmente, é professora doutora do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Química Analítica, com ênfase em Instrumentação Analítica e Métodos Cromatográficos, atuando, principalmente, nos seguintes temas: padronização de métodos cromatográficos para análise de fármacos em fluidos biológicos, técnicas miniaturizadas de preparo de amostras, desenvolvimento de fases extratoras, automação de sistemas analíticos e validação analítica.



Editores

**Igor R. B. Olivares e Vitor Hugo P. Paces**

Universidade de São Paulo  
 Instituto de Química de São Carlos  
 13560-970 – São Carlos (SP)  
 Brasil  
 igorolivares@iqsc.usp.br  
 vitorusp@uol.com.br

## Qualidade em Cromatografia (Quali)

O objetivo da seção de Qualidade é apresentar os diferentes focos da qualidade, especialidade de seus editores, abordando quatro tópicos principais:

1. Aplicação, avaliação e discussão dos diferentes sistemas de qualidade para laboratórios: neste tópico serão levantados todos os aspectos relacionados aos Sistemas de Gestão de Qualidade aplicados aos laboratórios.
2. Apresentação e discussão sobre legislações voltadas a laboratórios ou áreas específicas.
3. Reconhecimento formal de laboratórios.
4. Discussão, desenvolvimento, apresentação e aplicação de ferramentas para os sistemas de gestão de qualidade, destacando-se a validação de metodologias e cálculos de incertezas.

### Sobre os Editores

*Igor Renato Bertoni Olivares* é graduado em Química pela PUC-Campinas, Mestre em Ambiente e Saneamento pela UNICAMP e Doutor em Ciências (Química Analítica) pela USP. Na área de qualidade, trabalhou durante mais de oito anos no departamento da qualidade na Magneti Marelli (empresa do grupo FIAT) com implantação, auditoria e treinamento de diferentes normas de gestão como: ISO9001; QS9000; TS16949; ISO14001; ISO/IEC 17025. Atualmente, é professor do Instituto de Química de São Carlos/USP, onde também atua na área de qualidade, oferecendo suporte técnico ao sistema de qualidade do laboratório de Cromatografia (respondendo, atualmente, como Gerente da Qualidade). Como Diretor Administrativo do Instituto Internacional de Cromatografia (I.I.C.) também ministra diferentes cursos em Qualidade e Cromatografia.

*Vitor Hugo Polizel Paces* é Bacharelado em Química pela Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Mestre e Doutor em Ciências (Química Analítica) pela Universidade de São Paulo. Atualmente, é professor da Universidade de São Paulo onde ministra as disciplinas de ênfase em sistemas de gestão de qualidade, dentre elas destacam-se as disciplinas de Boas Práticas de Laboratório (BPL) e ferramentas da qualidade (incluindo validação de metodologias). É diretor executivo da Fundação de Apoio à Física e à Química e responsável pela qualidade - Laboratório de Cromatografia (CROMA) da Universidade de São Paulo. É autor do livro *Guia prático do seu computador*.



Editora

**Carol H. Collins**

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química

13560-970 – São Carlos (SP)

Brasil

flancas@iqsc.usp.br

## Pilares da Cromatografia

Os métodos de Separação foram empregados durante quase toda a história da humanidade. Atividades como remoção de contaminantes por filtração grosseria ou de excesso de sal por troca iônica (obviamente, não com este nome!) são descritas na Bíblia e foram necessárias para a sobrevivência do homem. Outros métodos de separação, como destilação e extração por solvente, foram empregados pelos alquimistas. Os químicos também desenvolveram e aperfeiçoaram métodos de separação úteis para seus estudos, principalmente, desenvolvendo técnicas aplicáveis. Um bom exemplo é a descrição, em 1848, do uso de zeólitos naturais para remover

amônia da urina de vacas, permitindo o uso desta “água recuperada” em culturas de plantas. Outras separações, baseadas em adsorção, também aconteceram no século XIX. Mas, foi no século XX que diversos métodos de separação realmente começaram a influenciar as ciências, especialmente a Química. O destaque, no início deste século, é para o russo Michael Tswett que introduziu a palavra ‘cromatografia’ ao mundo da ciência.

Esses e muitos outros aspectos da parte histórica de Cromatografia e das separações em geral estão compreendidos entres os assuntos a serem abordados na seção intitulada *Pilares de Cromatografia*.

### Sobre a Editora

*Carol H. Collins* é graduada pela Bates College e Doutora em Físico-Química Orgânica pela Iowa State University of Science and Technology. Atualmente, é Professora Titular colaboradora da Universidade Estadual de Campinas. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Química Analítica, atuando, principalmente, em separações cromatográficas, com destaque para a cromatografia líquida de alta eficiência, preparação de fases estacionárias e suas aplicações.



Editor

**Álvaro José dos Santos Neto**

Universidade Federal de Alfenas  
Departamento de Ciências Exatas.  
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro  
37130-000 - Alfenas, MG –  
Brasil  
alvaro.santosneto@unifal-mg.edu.br

## Troubleshooting (TS)

O atual estágio de desenvolvimento apresentado pelas técnicas cromatográficas e correlatas tem permitido sua ampla utilização. Desta forma, o leque de usuários de técnicas de separação cresce vertiginosamente em diversas áreas científicas, tecnológicas e industriais. Além do número de usuários ser crescente, estes se tornam mais heterogêneos à medida que a Cromatografia vai sendo difundida. Atualmente, profissionais com diversas formações (químicos, farmacêuticos, engenheiros químicos, biólogos, biomédicos, biotecnologistas etc.) podem se deparar com a necessidade de realizar análises cromatográficas, porém, raramente, esses profissionais possuem um treinamento adequado na área.

Diante desse contexto, a coluna *Troubleshooting em Cromatografia e técnicas relacionadas* tem por finalidade: apresentar a

discussão e resolução de problemas comuns aos usuários de técnicas cromatográficas e relacionadas (cromatografia líquida, gasosa e com fluido supercrítico; seus acoplamentos com técnicas complementares de detecção – exemplo: espectrometria de massas – e técnicas empregadas no preparo de suas amostras); esclarecer dúvidas quanto à melhor e mais racional utilização e manuseio dos instrumentos, acessórios e demais componentes que façam parte dos sistemas cromatográficos de análise; bem como fornecer subsídios para que os profissionais da área desenvolvam uma visão mais completa acerca das peculiaridades que envolvem as técnicas de separação e correlatas mais utilizadas.

A coluna trará regularmente publicações do seu editor responsável ou textos produzidos por colaboradores convidados para contribuir com assuntos pertinentes ao seu escopo.

### Sobre o Editor

*Álvaro José dos Santos Neto* é graduado em Farmácia-Bioquímica pela UNIFAL-MG, Doutor em Ciências (Química Analítica) pelo Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo (IQSC-USP) com estágio sandwich na Universidade de Uppsala, Suécia e Pós-doutor também pelo IQSC-USP (2008). É Professor Adjunto I da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) (antiga EFOA) no Departamento de Ciências Exatas, área de Química Analítica. Atua na área bioanalítica, com ênfase no desenvolvimento de estratégias modernas para o preparo e análise de amostras biológicas contendo fármacos, toxicantes e outros compostos de interesse farmacêutico/biomédico.





## ARTIGO DE REVISÃO

# Avanços Recentes e Tendências Futuras das Técnicas de Separação: uma visão pessoal

Fernando M. Lanças

Universidade de São Paulo  
Instituto de Química de São Carlos  
13560-970 – São Carlos (SP)  
Brasil  
flancas@iqsc.usp.br

## Resumo

O objetivo de uma análise química é a obtenção de dados qualitativos e/ou quantitativos a respeito de um ou mais componentes de uma amostra. Quando a técnica analítica escolhida é a cromatografia, o procedimento analítico pode ser dividido em 3 etapas: pré-cromatográfica, cromatográfica e pós-cromatográfica. A etapa pré-cromatográfica envolve a amostragem, o transporte da amostra até o laboratório de análise, e a etapa de preparo da amostra. Técnicas como LLE, SPE, SFE, ASE, SPME e outras são empregadas nesta etapa. A etapa cromatográfica visa a separação do analito de seus principais contaminantes, gerando os dados necessários para a identificação e/ou quantificação. Técnicas como HPLC-UV, GC-ECD, LC/MS/MS, GC/MS e outras são frequentemente empregadas. A etapa pós cromatográfica visa tratar os dados qualitativos e quantitativos obtidos.

No presente artigo, uma revisão crítica a respeito destas 3 etapas envolvidas em uma análise cromatográfica incluindo os fundamentos teóricos, a instrumentação, vantagens e limitações, e aplicações das principais técnicas, é apresentada e discutida criticamente, do ponto de vista do autor.

## Conteúdo

1. Introdução
2. Técnicas de Amostragem
3. Técnicas de Preparo de Amostras
  - 3.1. Extração Líquido-Líquido (LLE)
  - 3.2. Extração Líquido-Sólido
  - 3.3. Extração com Fluidos Pressurizados
  - 3.4. Técnicas Miniaturizadas de Extração
4. Limpeza (“Clean-up”) da Amostra
  - 4.1. Cromatografia Líquida em Coluna Aberta em baixa pressão
  - 4.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC ou CLAE)
  - 4.3. Cromatografia Líquida Multidimensional
  - 4.4. Outros enfoques para a limpeza de amostras
5. Análise Qualitativa e Quantitativa: o papel da Cromatografia e Técnicas Afim
  - 5.1. As Técnicas Cromatográficas
  - 5.2. Análise Qualitativa
  - 5.3. Análise Quantitativa
6. Tendências na área de Cromatografia e Técnicas Associadas
  - 6.1. Preparo de Amostras
  - 6.2. Miniaturização das colunas cromatográficas
  - 6.3. Análise rápidas
  - 6.4. Cromatografia multidimensional
7. Conclusões
8. Referencias

## Abstract

The main goal when performing a chemical analysis is to obtain qualitative as well as quantitative information about one or more components of a sample. When the analytical technique of choice is chromatography, the analytical procedure might be divided into three steps: (1) pre-chromatographic step; (2) chromatography; (3) post-chromatographic step. The pre-chromatographic step usually involves either the sample generation or collection (sampling), transport to the laboratory, and sample preparation that usually involves several procedures such as extraction, clean up, derivatization, pH adjustment, and so on. Several analytical techniques are used in this step, including LLE, SPE, SFE, ASE, SPME, SBSE, among others. The chromatographic step aims the separation of the analyte(s) from its natural contaminants, as well as from the interfering species generated during the sample processing. Techniques such as HPLC-UV, GC-ECD, LC/MS/MS, GC/MS are frequently used for this purpose. Post chromatographic step aims to treat the qualitative and quantitative data generated through the use of a proper chromatographic detector, doing all the required calculation, comparison with chromatographic data bank (retention indexes), spectral libraries (UV and MS spectra). A proper selection of the best approach for each step, as well as its correct performance under an appropriate quality assurance system, will assure the quality of the generated results.

In the present paper, a critical review with respect to the 3 described steps involved in a typical qualitative/quantitative analysis using chromatographic methods, including theoretical background, instrumentation, advantages and limitations, and applications of the main techniques is presented and discussed.

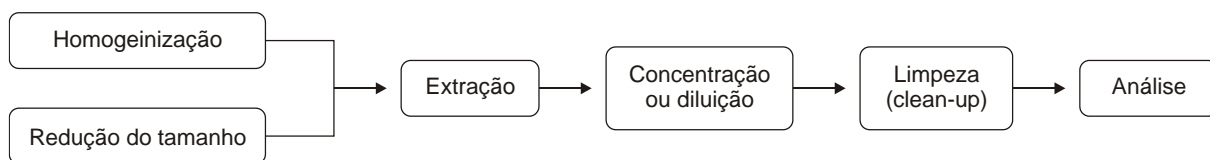
## 1. Introdução

A segunda metade do século XX observou um avanço sem precedentes nas técnicas de separação, devido aos novos desafios gerados pelo aumento da população mundial e a demanda por serviços a partir do incremento tecnológico marcante do período Pós-Guerra. Contrariamente às exigências anteriores a este período, quase sempre razoavelmente atendidas por métodos físicos simples de análise como, por exemplo, gravimetria, a complexidade dos problemas ambientais, de saúde, alimentação, energia, e muitos outros, passou a exigir técnicas de análise mais complexas. Esta necessidade trouxe a exigência de técnicas mais rápidas, eficientes e, principalmente, capazes de serem automatizadas através de instrumentos complexos indisponíveis até a década de 1950. A popularização dos computadores, graças aos preços tornados mais acessíveis, possibilitou o desenvolvimento de equipamentos totalmente comandados por um computador pessoal de grande capacidade de processar dados e armazená-los, a um custo o qual

é hoje apenas uma pequena fração do custo da maioria dos equipamentos que ele comanda.

A complexidade analítica não é reservada apenas à área de instrumentação: métodos mais elaborados (muitas vezes mais de um método usado para a mesma análise) tem que ser desenvolvidos e ou adaptados a esta nova realidade, além de passarem por etapas extensas de validação antes do uso para que os dados sejam reconhecidos pelas agências governamentais as quais regulamentam a aceitação de resultados de análises químicas. No caso particular de métodos analíticos para emprego na área de Saúde Humana, as exigências quanto à validação das metodologias são enormes, variando de um país para outro e, muitas vezes, de um órgão para outro dentro do mesmo país.

Na análise de compostos-alvo (“*target compounds*”) presentes em matrizes consideradas complexas como alimentos, ambientais, e fluidos biológicos, regra geral o objetivo é analisar um ou alguns compostos em uma matriz na qual está presente em concentrações muito baixas (geralmente referida como análise de traços). Nestes casos, usualmente é necessário, empregar



**Figura 1.** Diagrama esquemático das principais etapas envolvidas na análise química de amostras complexas.

uma série de etapas, incluindo: extração do analito da amostra, sua purificação para eliminação de potenciais contaminantes e interferentes, os quais podem comprometer o resultado analítico, separação empregando técnicas de separação de alta resolução (HRGC, HPLC, CE e outros) e detecção por técnicas ainda mais complexas como, por exemplo, a espectrometria de massas<sup>1</sup>.

A Figura 1 exemplifica um quadro típico das várias etapas necessárias para a realização de uma análise típica de um composto presente em baixas concentrações em matrizes complexas.

O procedimento pré-analítico inicia-se já no delineamento do planejamento do procedimento a ser utilizado, prevendo todas as etapas pelas quais a amostra deverá passar. Uma vez estabelecido o protocolo do estudo, a amostragem é usualmente a primeira etapa do procedimento experimental. Ela visa a seleção de alguns componentes de um universo, o qual possa representá-lo com a máxima fidelidade possível. Por exemplo, no caso de um pomar contaminado com pesticidas, na prática seria impossível analisar-se todos os frutos possivelmente contaminados.

A *amostragem* serve para assegurar que as frutas a serem avaliadas, neste exemplo, representam de maneira fidedigna o pomar como um todo. No caso de amostras de alimentos, por exemplo, o *Codex Alimentarius* recomenda vários guias (“guidelines”) para a amostragem de frutas e vegetais. Regra geral, após a amostragem a parte selecionada para a análise é encaminhada para o laboratório de análise – quase sempre longe do local onde a amostragem ocorreu. Assim, o transporte e armazenagem são de extrema importância para assegurar a integridade

da amostra a ser analisada. Raramente a amostra já se encontra em uma forma apropriada para a análise, requerendo que as substâncias de interesse sejam removidas da matriz original (por exemplo, para análise de hormônios em frango é necessário inicialmente remover-se o hormônio da matriz para depois efetuar-se a análise instrumental – por exemplo, através de HRGC). Esta etapa é denominada preparo da amostra.

O *preparo da amostra* tem como principal objetivo isolar o(s) componente(s) de interesse de outros compostos presentes na matriz os quais poderão interferir posteriormente na determinação analítica. Muitas vezes esta etapa é também denominada de extração mas, em muitos casos, não é necessária uma etapa de extração para que o analito possa ser avaliado por uma técnica instrumental. Após o isolamento dos compostos de interesse da matriz, pode ser necessária uma etapa complementar de limpeza (“*clean up*”) da amostra, particularmente em se tratando de análises complexas.

A *limpeza da amostra* (“*clean up*”) é quase sempre empregada na análise de amostras ambientais, fluidos biológicos, alimentos e similares pois, devido a grande quantidade de compostos presentes nestas matrizes, invariavelmente a técnica de extração não será suficiente para gerar um extrato isento de contaminantes. Muitas vezes nesta etapa muda-se o solvente original de extração para evitar problemas posteriores com detectores de cromatografia, por exemplo, ou efetua-se a concentração dos compostos de interesse pela redução do volume de solvente. Assim, esta etapa complementa a anterior visando a preparação da amostra o mais isento possível de

compostos químicos os quais possam interferir na técnica instrumental de análise. Alguns autores incluem o “clean up” como uma forma de preparo da amostra, outros não. O importante é entender o papel de cada uma delas. Após esta etapa, a amostra está pronta para a análise instrumental.

A *análise instrumental*, neste caso *cromatografia*, visa a determinação da identidade (análise qualitativa) e da quantidade (análise quantitativa) do composto presente inicialmente na amostra em análise. As técnicas mais utilizadas para esta finalidade são a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida (LC), acopladas a técnicas apropriadas de detecção. Outras técnicas como eletroforese capilar (CE), cromatografia com fluido supercrítico (SFC), e outras, também tem sido utilizadas, porém em menor escala. A identificação dos componentes isolados é geralmente feita através do acoplamento entre a técnica cromatográfica de separação e uma técnica de identificação, como a espectrometria de massas (MS). A quantificação é efetuada avaliando-se a área ou a altura dos picos gerados no cromatograma, através de softwares dedicados a esta finalidade.

Neste volume inaugural do periódico *Scientia Chromatographica*, cujo objetivo é exatamente discutir estas técnicas de preparo de amostra, separação (LC, GC, SFC e outras) e identificação (Espectrometria de Massas, dentre outras), este trabalho visa apresentar, de forma crítica e atual, segundo o ponto de vista do autor, os recentes avanços na área e as tendências futuras. Esses assuntos serão ampliados e discutidos em detalhes nos futuros volumes do periódico em questão, através das várias sessões dedicadas às etapas pré-cromatográficas, diferentes técnicas de separação e etapas pós-cromatografia.

## 2. Técnicas de Amostragem

A amostragem é, invariavelmente, considerada uma das etapas mais críticas do procedimento analítico, uma vez que a seleção incorreta do material a ser analisado inviabiliza

qualquer tentativa de correção posterior do problema<sup>2</sup>. Deve ser lembrado que a amostragem visa o isolamento de uma quantidade muito pequena de uma amostra a qual faz parte de um universo muito maior (exemplo: alguns litros de água para representar a condição de um rio inteiro!!!). Neste caso, o material orgânico presente na água varia de ponto a ponto tanto na extensão quanto na profundidade, dificultando sobremaneira o projeto de amostragem. Além disso, pelo fato do rio ser um sistema dinâmico e não estático, o momento da amostragem também é importante, o que requer o registro também do momento da amostragem para futuras correlações. De forma análoga, a amostragem de sedimentos de rio é uma etapa igualmente complexa e difícil, ampliada pelo fato de poucos guias internacionais a este respeito (diferentemente de água e solo). Apesar dos esforços da Comunidade Européia em normatizar as técnicas de amostragem de solo, pouco avanço foi atingido na prática<sup>3-5</sup>. Em qualquer caso, e independentemente da matriz e das substâncias de interesse, a análise de matrizes complexas – especialmente as naturais como ambiental, alimentos e fluidos biológicos – deve ser precedida de um plano de amostragem, preferencialmente validado.

Todo o planejamento, execução, interpretação de resultados, e redação dos relatórios de análise deverão estar dentro de um sistema de qualidade compatível com sua finalidade<sup>6</sup>.

## 3. Técnicas de Preparo de Amostras

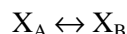
Após a etapa de amostragem, a parte isolada a qual agora deveria ser denominada sub-amostra mas que, na prática, continua sendo denominada amostra, deveria idealmente ir diretamente para a análise instrumental, o que raramente é feito. Isso deve-se ao fato de que em geral o produto da amostragem contém contaminantes próprios da matriz, além de outros agregados durante o processo ou transporte (por exemplo, é comum recebermos no laboratório amostras de batata, para

análise de resíduos de pesticidas, contendo terra). A sub-amostra, contendo os compostos de interesse e os contaminantes, e doravante denominada amostra por simplicidade e por refletir a nomenclatura efetivamente utilizada nos laboratórios de análise, deverá então ser transformada para outra forma mais apropriada para a análise. No caso de análise de fármacos em fluidos biológicos, por exemplo, a presença de proteínas e outras macromoléculas, assim como de outras substâncias menores, pode interferir, de diferentes maneiras, na análise. Deve ser lembrado que estas matrizes contêm centenas de compostos químicos, a maioria em concentração superior à do fármaco, o que dificulta ainda mais sua determinação qualitativa e quantitativa. Muitas vezes existe ainda a necessidade de converter-se uma substância da forma na qual se encontra para outra mais amena para a análise (devido a problemas de estabilidade térmica, falta de volatilidade, ausência de grupos funcionais adequados para detecção espectroscópica e outras), através de procedimentos de derivatização. Este conjunto de ações, usualmente denominado genericamente de preparo de amostras, envolve diversas etapas no laboratório, das quais a mais importante e complexa é, sem dúvida, a etapa de extração. Em muitos casos atualmente, a etapa de extração pode ser combinada com a concentração dos analitos, derivatização e outros procedimentos, em uma única etapa para o preparo da amostra. Existem várias técnicas de extração, dependendo do estado físico, químico e da complexidade da amostra e dos compostos a serem extraídos, sendo as principais discutidas a seguir.

### 3.1. Extração Líquido-Líquido (LLE)

Na extração líquido-líquido (LLE, “*liquid-liquid extraction*”) duas fases imiscíveis são empregadas: uma fase A, a qual contém o soluto de interesse X, e uma fase B a qual será colocada em contacto com ela. Desta forma, ocorrerá uma distribuição do soluto X entre as duas fases, após o que o componente X poderá ser submetido a outro processo de extração ou encaminhado para a análise por HPLC.

De acordo com a teoria geral do equilíbrio químico, para um processo reversível



A constante de equilíbrio pode ser expressa pela lei de distribuição de Nernst como

$$K_D = \frac{[X]_B}{[X]_A}$$

onde  $K_D$  é a constante de equilíbrio,  $[X]_B$  a concentração de X na fase B (numerador da expressão), e  $[X]_A$  a concentração de X na fase A.

A situação experimental ideal seria aquela na qual o equilíbrio fosse altamente favorecido no sentido da transferência de X para a fase B, ou seja, que o valor de  $K_D$  fosse elevado. Valores pequenos de  $K_D$  indicam que o processo é desfavorecido e que a transferência de X para a fase B ocorrerá em pequena extensão. Esta equação possui 3 restrições principais, as quais são usualmente observadas para extração de solutos a serem analisados por LC: (1) a concentração de X deve ser bastante baixa em A e em B; (2) a forma molecular de X deve ser a mesma nas duas fases; (3) as duas fases devem ser imiscíveis.

Dependendo da forma com a qual as duas fases são colocadas em contacto, três modos principais de extração são possíveis: batelada, contínua, e em contra-corrente.

#### 3.1.1. Extração em batelada

Na extração em *batelada*, um líquido contendo o soluto dissolvido é agitado com um segundo líquido imiscível, em um recipiente fechado, até que o equilíbrio seja estabelecido. As duas fases são colocadas em repouso e, então, separadas mecanicamente para que a fase contendo o soluto de interesse seja usada em outras operações (outras extrações, ou a análise instrumental). Este procedimento é usualmente realizado com um simples funil de separação

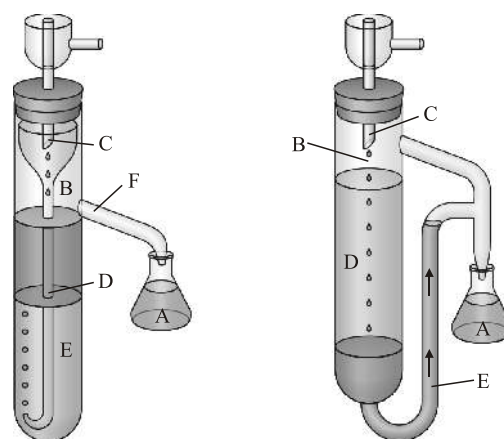
A extração em batelada é uma forma de extração líquido-líquido bastante utilizada em laboratórios analíticos. Apresenta como principais vantagens a simplicidade, pequeno

investimento na aquisição dos dispositivos de vidro necessários para a extração, recuperação boa do soluto se o experimento for bem projetado e executado, e requer pequena especialização do operador. Como principais desvantagens estão o grande volume de solventes tóxicos utilizados e a exposição do operador ao contato com seus vapores; tempo de extração geralmente longo para que uma boa transferência do soluto ocorra de uma fase para a outra; dificuldade em informatizar a técnica; baixa seletividade. Um grande esforço foi dispendido na última década com a intenção de contornar estas dificuldades, com algum sucesso. O desenvolvimento de micro dispositivos em chips, e de dispositivos robóticos<sup>7-10</sup> para LLE, sugere que a miniaturização desta técnica poderá, em breve, provocar o ressurgimento de seu uso em larga escala.

### 3.1.2. Extração contínua

Nesta forma de extração um líquido é passado continuamente, de forma dinâmica, através de (ou sobre) um líquido estacionário o qual contém a amostra, até que todo o componente desejado seja removido. As duas fases são separadas fisicamente, e a que contém o constituinte de interesse usada para outras operações. Uma vez que o líquido extrator passa através ou sobre o material rapidamente, provavelmente na extração contínua não seja estabelecido um equilíbrio. Entretanto, como o processo de extração continua por um tempo prolongado (geralmente várias horas) todo o componente de interesse pode ser extraído. Quando o valor de  $K_D$  for muito pequeno para o analito de interesse ( $K_D < 1$ ) e consideravelmente diferente do valor de  $K_D$  dos outros componentes da amostra, muitas extrações em batelada deverão ser necessárias para a remoção do componente de interesse da amostra.

O projeto do equipamento utilizado na extração contínua deve levar em conta se o solvente a ser adicionado à amostra (solvente extrator) é mais leve ou mais pesado do que a solução contendo os solutos de interesse (Figura 2).



Extrator para uso com solventes mais leves que a água

Extrator para uso com solventes mais pesados que a água

**Figura 2.** Exemplo de equipamentos empregados em extração contínua.

O extrator apresentado na Figura 2a é empregado quando o soluto extrator é *mais leve* do que a solução contendo a amostra. O solvente é colocado no frasco (A), e aquecido fazendo com que os vapores passem para o topo do tubo central (B), condensando no condensador (C). As gotas do condensado caem através do funil de aste longa (D) para o fundo da solução a ser extraída. As gotas do extratante sobem pela solução, extraíndo à medida em que se movem, até alcançar a superfície. Quando o nível do líquido extratante no tubo central atinge o braço lateral (F), o extratante volta para o frasco de destilação (A). O processo é então repetido.

A Figura 2b mostra um esquema de um extrator empregado quando o solvente de extração é *mais denso* do que a solução que contém a amostra. O solvente extrator é colocado no frasco de destilação (A) e aquecido; os vapores passam para a parte superior do tubo diretamente na superfície da solução a ser extraída (D) e, por serem mais densas, as gotículas atravessam a solução até o fundo, extraíndo à medida em que descem. A pressão hidrostática forçará o extratante através do

braço lateral (E) e de volta para o frasco de destilação. O processo é então repetido até que todo o soluto de interesse tenha sido removido.

Processos de extração contínua são, usualmente, bastante demorados (horas até dias). A vantagem desta técnica é que solutos com valores de  $K_D$  pequenos, os quais dificilmente seriam extraídos por processos de batelada, podem ser removidos da amostra através de uma extração contínua.

### 3.2. Extração Líquido-Sólido

Existem várias técnicas analíticas empregadas na extração dos compostos de interesse em matrizes sólidas e semi-sólidas, desde simples e baratas (porém com vários inconvenientes) como a extração com solvente sob agitação, até bastante sofisticadas como as técnicas que empregam solventes pressurizados.

Na prática atual, as técnicas mais empregadas para este tipo de amostra empregam solventes líquidos ou um fluido pressurizado (SFE, ASE, SWE e outras). Dentre as técnicas que empregam solventes líquidos a Extração Soxhlet (Sox) e a Extração em Fase Sólida (SPE) são as mais utilizadas.

#### 3.2.1. Extração Soxhlet

A *Extração Soxhlet*, ou alguma de suas variações, foi uma das técnicas de extração mais empregadas para amostras sólidas na segunda metade do século XX. O equipamento utilizado nesta técnica é relativamente simples (Figura 3), o que auxiliou na sua popularização.

O sólido a ser extraído é, geralmente, pulverizado e colocado em um cartucho feito de papel de filtro ou de algodão (E), no centro da câmara (A). O solvente extrator é aquecido no frasco (B) e os seus vapores sobem através do braço lateral (C) até o condensador (D) onde é liquefeito. O líquido permanece nesta câmara aumentando de volume e extraíndo o sólido até que o nível de líquido atinja o topo do braço lateral (F). Neste ponto, a pressão hidrostática dentro da câmara faz com que o solvente seja sifonado de volta ao frasco de destilação. Este processo continua até que todo o soluto tenha

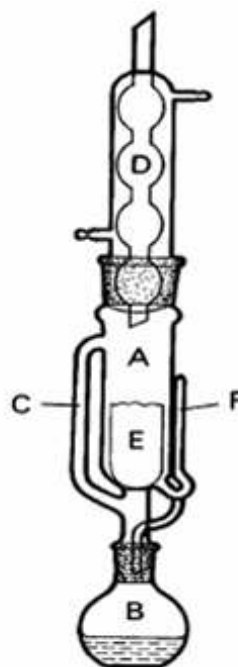


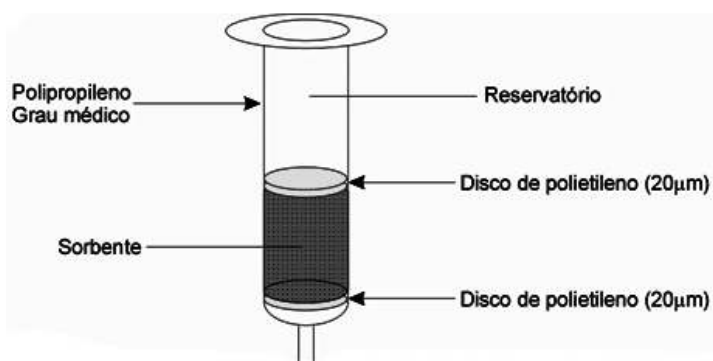
Figura 3. Extrator Soxhlet.

sido removido do sólido. Trata-se, portanto, de uma extração contínua do tipo líquido-sólido.

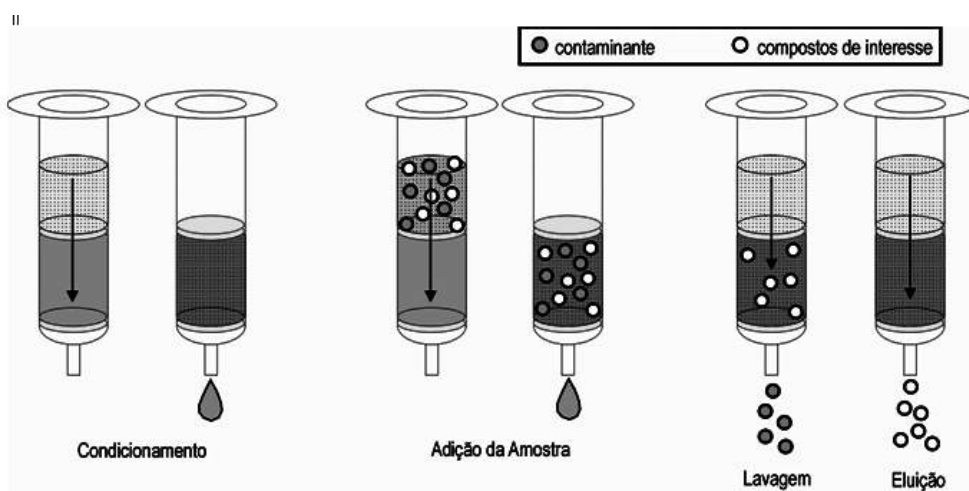
A maior limitação desta técnica é o tempo necessário para obter-se um bom rendimento de extração, usualmente muitas horas ou até dias, o que tem feito com que novas técnicas mais rápidas e automatizadas venham sendo desenvolvidas com a intenção de substituí-la. Em meados da década de 70, uma nova técnica foi introduzida, denominada Extração em Fase Sólida SFE (“*Solid Phase Extracion*”).

#### 3.2.2. Extração em Fase Sólida (SPE)

A *Extração em Fase Sólida (SPE)* é uma técnica de separação líquido-sólido, baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão, também conhecida como cromatografia líquida clássica. Do ponto de vista prático, a SPE, na sua forma mais simples e conhecida, comporta-se como uma cromatografia líquida empregando-se uma pequena coluna aberta, usualmente denominada cartucho de extração, a qual contém a fase sólida (denominada



**Figura 4.** Ilustração de um cartucho típico empregado em Extração em Fase Sólida (SPE).



**Figura 5.** Principais etapas empregadas em SPE visando o isolamento de um composto (ou classe de compostos).

fase estacionária em cromatografia). A solução contendo o analito de interesse é colocada no topo superior do cartucho e aspirada com pequeno vácuo ou pressionada levemente com uma seringa ou gás, de forma a penetrar no cartucho. Após toda a fase líquida haver sido drenada, o analito retido no cartucho é eluído com um pequeno volume de solvente de forma a coletar-se o analito em uma concentração já apropriada para análise. A Figura 4 ilustra um exemplo típico de um cartucho para extração em fase sólida, enquanto que a Figura 5 mostra as principais etapas envolvidas na SPE quando o objetivo é isolar um composto (ou uma classe) presente em uma amostra complexa.

Dentre os principais modos de operação em SPE destacam-se<sup>11</sup>:

### Concentração ou Enriquecimento

O objetivo principal é passar-se, através do cartucho, um grande volume de amostra de forma a aprisionar-se somente o analito, deixando passar o solvente e interferentes. Em etapa seguinte, elui-se o analito de interesse com pequena quantidade de solvente, de forma que o analito coletado estará bastante mais concentrado que na amostra original. Este tipo de procedimento é muito comum na análise de amostras de interesse em química ambiental, nas quais usualmente o analito de interesse encontra-se extremamente diluído (exemplo: micropoluentes em água potável) e sua determinação direta por cromatografia é difícil ou inviável. Após a etapa de concentração, a amostra



estará em um nível de concentração apropriado para ser analisada diretamente por uma técnica analítica de interesse.

### **Isolamento do Analito (“Clean-up”)**

Neste caso o objetivo principal não é o de concentrar a amostra mas sim isolar o analito de interesse dos interferentes da matriz. A amostra original pode já ser concentrada o suficiente para a análise por uma técnica apropriada, mas os constituintes da matriz poderão interferir no processo de análise. Um exemplo bastante típico de aplicação do “clean-up” é na análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Uma vez tratar-se de uma matriz muito complexa, com centenas de compostos químicos presentes, é necessário isolar-se o pesticida dos outros componentes presentes no extrato, antes da medida analítica. Deve ser observado que os dois procedimentos apresentados não são mutuamente excludentes, de forma que pode-se desejar efetuar a concentração do analito e o “clean-up” da amostra em um mesmo procedimento de extração em fase sólida.

### **Isolamento da Matriz**

Neste procedimento o objetivo é reter na fase sólida os interferentes da matriz, ao invés do analito de interesse (o qual passa direto com o solvente da amostra). O analito é coletado em um frasco para a análise e os interferentes são retidos no cartucho o qual é descartado. Este procedimento é usualmente utilizado para “clean-up” e não para a concentração de amostras.

### **Estocagem de Amostra**

Este caso é bastante empregado para a análise de amostras as quais se encontram em local distante do laboratório analítico. Um exemplo típico é a análise de água de rio/lago/mar, localizados longe do laboratório que desenvolve o estudo. Neste caso, os cartuchos são transportados até a fonte de água e procede-se à primeira etapa da análise no local, a qual consiste em passar-se a água através do cartucho, de forma a reter-se os analitos

de interesse. Após esta etapa, o cartucho contendo o analito de interesse é armazenado em baixas temperaturas e transportado até o laboratório analítico. Uma das principais vantagens deste procedimento é evitar-se o transporte de grandes volumes de amostra quando várias amostras forem analisadas, assim como na análise de compostos lábeis e/ou voláteis. É importante efetuar-se um estudo preliminar para conhecer-se a estabilidade do analito de interesse no cartucho a ser empregado (tempo de estocagem, temperatura, natureza do cartucho, etc.).

Os mecanismos de separação em SPE são os mesmos da cromatografia líquida; como conseqüência, as fases sólidas empregadas em SPE são as mesmas empregadas em cromatografia líquida de baixa pressão. A escolha da fase sólida apropriada depende da natureza do analito de interesse e da matriz na qual ele se encontra. Os principais mecanismos atualmente em uso em SPE são: adsorção; partição (fase normal e fase reversa); troca iônica; exclusão por tamanho.

Estes mecanismos estão associados a processos químicos e físicos que atuam durante a separação. Dentre as principais forças químicas atuantes entre as moléculas do analito e do sorbente (fase sólida) destacam-se as forças iônicas; ligações de hidrogênio, interações do tipo dipolo-dipolo; dipolo-dipolo induzido; dipolo induzido – dipolo induzido (forças de dispersão).

### **3.2.3. Seleção do Formato em SPE**

O formato mais popular em SPE é o de cartucho. Para tal, usualmente emprega-se o corpo de uma seringa plástica (polipropileno) dentro do qual o material de empacotamento fica retido entre dois discos (“frits”) de polietileno. A parte inferior do cartucho é afunilada e apresenta uma extensão a qual encaixa em dispositivos para efetuar-se vácuo de diferentes fabricantes. Existem também cartuchos com o corpo de vidro ou teflon, usados na tentativa de evitar-se a presença de materiais extraídos do cartucho de polipropileno. De forma análoga, existem “frits” feitos de aço inox, titânio e polipropileno. Estes

cuidados são particularmente importantes nos casos do uso de amostras muito diluídas e detectores seletivos e sensíveis como captura de elétrons e espectrometria de massas.

A Figura 6 ilustra alguns formatos empregados em SPE. Além destes formatos, outras possibilidades desenvolvidas em vários laboratórios estão sendo comercializadas, algumas com sucesso.

O formato mais popular em SPE continua sendo, de longe, o tipo cartucho, seguido dos discos. Entretanto, vários outros formatos têm surgido recentemente com o intuito de melhorar o desempenho da SPE, principalmente facilitando a

automação, diminuindo o tempo de análise, permitindo custos mais baixos por análise, maior flexibilidade, etc. Uma destas variações consiste em utilizar-se uma mistura de cartucho com disco (Figura 7). Neste caso, o disco é colocado dentro de um cartucho de SPE, e o procedimento de análise é similar aquele usado para discos. A principal vantagem deste sistema é permitir o uso dos dispositivos e de sistemas de automação empregados para os cartuchos convencionais de SPE.

Outro formato, particularmente interessante quando análises rápidas são desejadas, uma vez que permite fluxos bastante elevados, é o uso de um cartucho empacotado com uma camada fina de partículas (mas mesmas usadas em SPE convencional). Assim, teremos uma situação similar à anterior (Figura 7a), porém com partículas ao invés de disco (Figura 7b).

Um dos mais recentes formatos, de grande utilidade para indústrias farmacêuticas e de biotecnologia, é o de placas contendo 96 (ou mais) reservatórios (Figura 7c). Cada reservatório contém uma coluna de SPE na forma de um disco com uma camada fina de empacotamento. Este

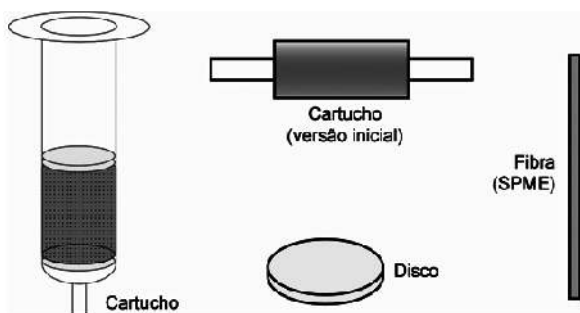


Figura 6. Formatos empregados em SPE.

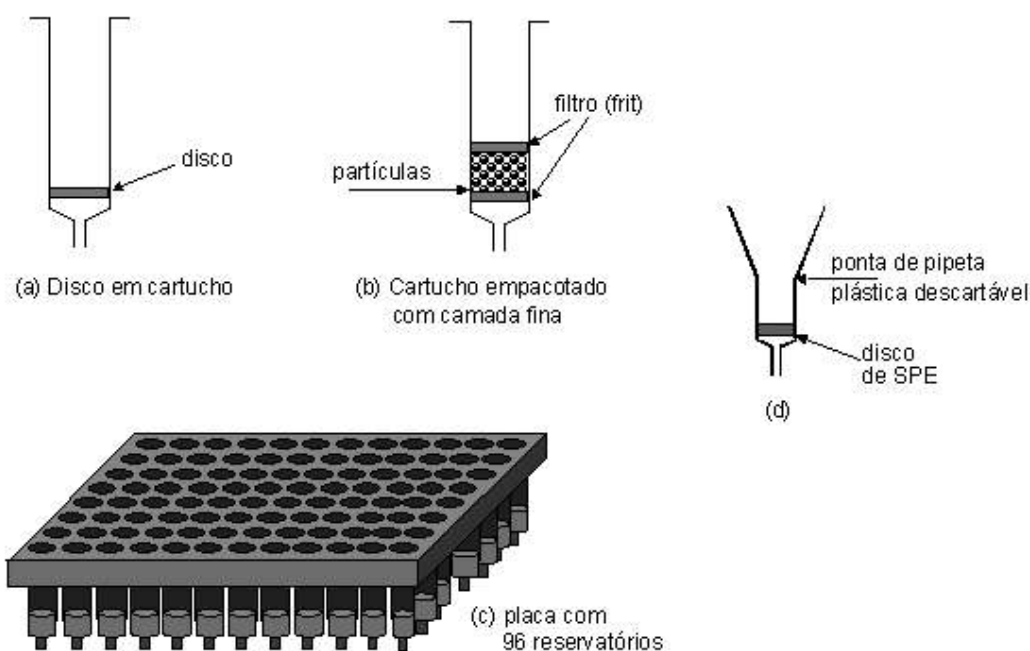


Figura 7. Formatos alternativos de SPE.

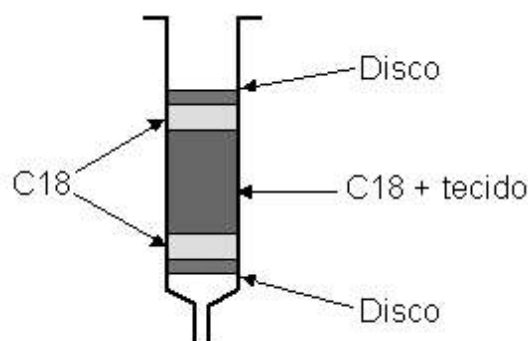
arranjo permite a análise de um número grande de amostras, simultaneamente, sendo de particular utilidade em laboratórios onde a análise rotineira de muitas amostras é praticada. Uma das inconveniências neste caso é a maior facilidade com que ocorre contaminação usando este formato. A proximidade entre os reservatórios faz com que qualquer vazamento em um deles facilmente contaminará o outro. Isto pode ocorrer devido a vários motivos, tais como o bloqueio de um dos reservatórios, usando um dispositivo de vácuo, e a conseqüente contaminação de reservatórios vizinho. Outra fonte comum de contaminação é a base da placa .

Quando um número menor de amostras deve ser processado, uma boa alternativa foi recentemente introduzida pela empresa Ansys Diagnostics. Ela consiste em usar-se pontas empregadas em pipetas volumétricas digitais contendo um disco de SPE (Figura 7d). A principal vantagem deste sistema é o fato de dificultar contaminação, uma vez que as pontas da pipeta são descartáveis. Outra vantagem é permitir o fluxo bi-direcional do solvente (para cima ou para baixo) e dispensar o uso de dispositivo de vácuo. O surgimento de outras empresas comercializando este formato poderá dar margem a uma ampliação na oferta deste tipo de SPE, a custos mais acessíveis.

### 3.2.4. SPE empregando Dispersão em Matrizes Sólidas

A técnica denominada Dispersão em Matriz Sólida (“*Matrix Solid-Phase Dispersion*”) usa um suporte sólido, geralmente contendo uma fase quimicamente ligada (ex: C-18), atuando como um abrasivo para produzir uma ruptura na arquitetura da amostra, facilitando o processo de extração. A amostra sofre dispersão na superfície do material suporte - fase quimicamente ligada, formando uma nova fase mista o que proporciona o isolamento de analitos presentes em várias matrizes<sup>12</sup>. A técnica foi empregada pela primeira vez em 1989 por Barker e colaboradores com o intuito de isolar resíduos de drogas em tecidos. Denominada originalmente dispersão em fase sólida<sup>13</sup>, na prática

ela consistia em uma modificação da SPE para aceitar amostras sólidas e semi-sólidas tais como matrizes biológicas. Barker empregou um cartucho vazio de SPE, sendo que a amostra de tecido era previamente homogeneizada com C-18, uma fase sólida muito empregada em SPE. Após transferir a mistura para o cartucho, a eluição era feita como em SPE. A Figura 8 ilustra o arranjo original utilizado por Barker<sup>13</sup>.



**Figura 8.** Esquema do arranjo original utilizado por Barker para a dispersão em fase sólida [25].

Nesta técnica, o suporte possui várias funções. Em primeiro lugar age como um abrasivo que promove a ruptura da arquitetura geral da amostra. Em segundo lugar, quando uma fase lipofílica do tipo C-18 é empregada ela age como um solvente o qual ajuda na ruptura das membranas celulares. Em terceiro lugar, o material misturado ainda pode ser usado como empacotamento de uma coluna e pode ser eluído sequencialmente com solvente<sup>12</sup>. Esta técnica tem encontrado várias aplicações, principalmente na análise de amostras biológicas<sup>14,15</sup>.

Na prática, este processo pode ser dividido em duas etapas, sendo que a primeira consiste no preparo do cartucho contendo a amostra e a segunda na eluição dos analitos de interesse. A fase sólida (exemplo: C-18) é pesada e transferida para um recipiente adequado para posterior trituração (a). A amostra (exemplo: tecido animal) é adicionada à fase sólida (b) e ambos são triturados (c) até uma pasta

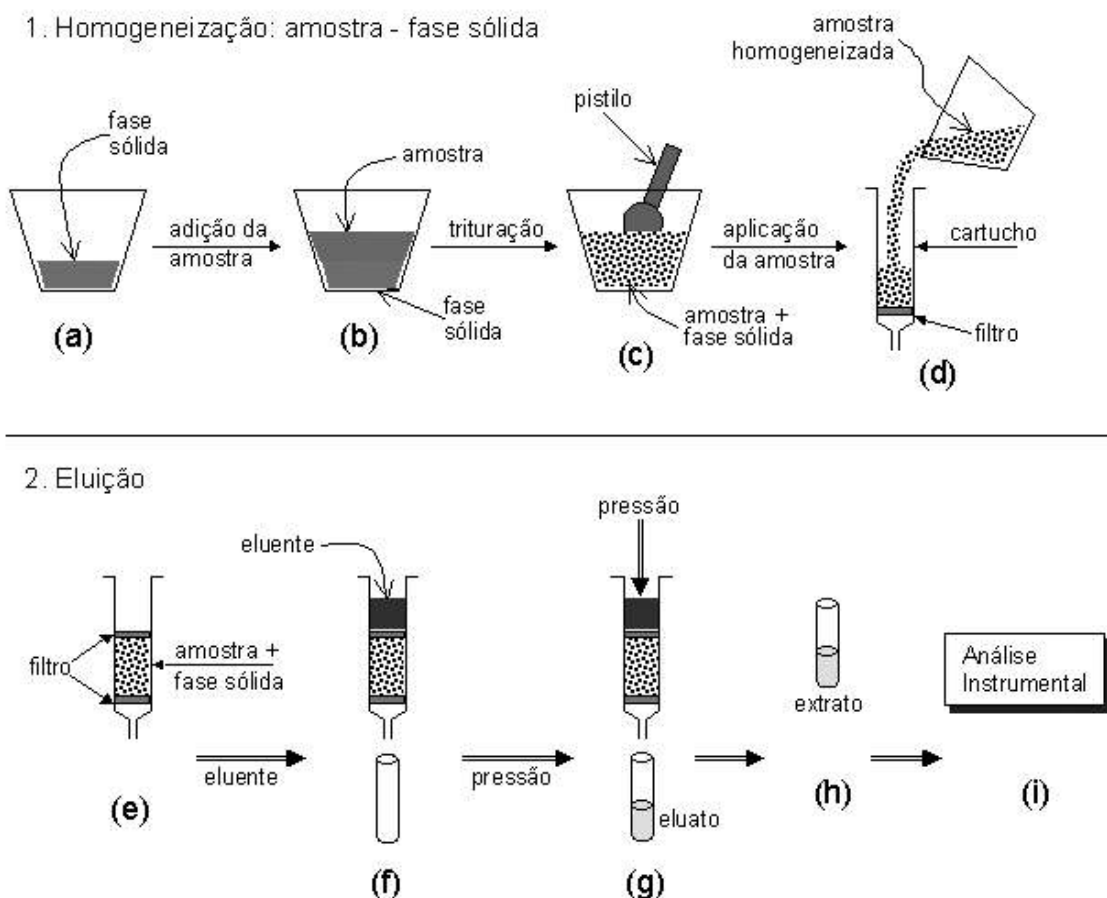


Figura 9. Etapas envolvidas no processo de Dispersão em Fase Sólida.

homogênea ser obtida (30 – 60 seg. tipicamente). Este sistema irá conter a amostra distribuída uniformemente sobre a superfície da fase sólida, como demonstrado através de microscopia eletrônica de varredura<sup>12</sup>. A amostra é então colocada no cartucho (d) previamente contendo um filtro (frita) sobre o qual coloca-se (e) então outro filtro (frita). A seguir adiciona-se o solvente (f) e procede-se a eluição com auxílio de uma pequena pressão (g) para diminuir o tempo de extração. O extrato obtido poderá ser analisado diretamente, caso já esteja na forma, pureza e concentração adequados, ou sofrer outras operações como centrifugação, filtração, derivatização, concn- tração, dependendo da técnica analítica à ser empregada.

A Figura 9 ilustra as etapas envolvidas na processo de dispersão em fase sólida.

Apesar de ser uma técnica relativamente nova, várias aplicações da Dispersão em Fase Sólida podem ser encontradas na literatura, ilustrando o crescimento do interesse pela técnica. Uma de suas grande aplicações, no momento, é como uma das etapas mais importantes em um enfoque para a análise de multi-resíduos de pesticidas em alimentos denominado QUECHERS (“**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged, **S**afe”, ou seja, Rápido, Fácil, Barato, Efetivo, Robusto e Seguro)<sup>16</sup>.

### 3.3. Extração com Fluidos Pressurizados

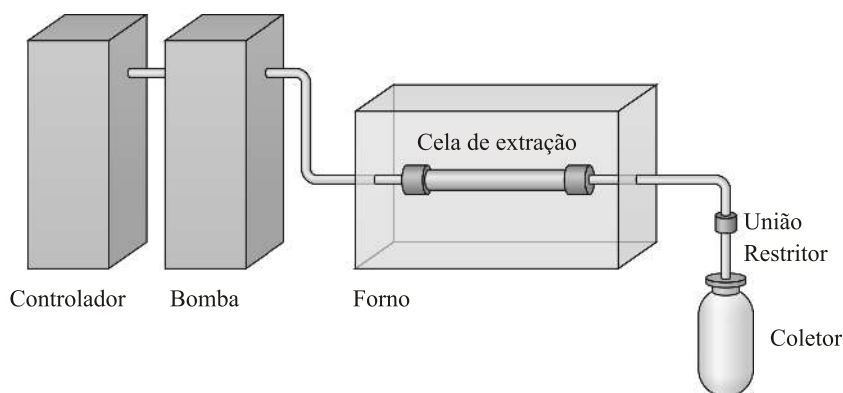
As técnicas de extração empregando fluidos pressurizados tiveram como principal objetivo a eliminação (ou, pelo menos, a diminuição) do emprego de grandes volumes de solventes orgânicos tóxicos, comuns em LLE. O termo

extração com fluidos pressurizados ou extração com solventes pressurizados (“*pressurized solvent extraction*”, PSE) tem sido empregado para englobar as várias técnicas de extração as quais utilizam solventes em pressões superiores à ambiente ( $> 1\text{atm}$ ). Estas técnicas têm sido empregadas para a análise de amostras sólidas (alimentos, solos, polímeros) e, em menor escala, semi-sólidos como sedimento de rio (e, muito raramente, líquidos). As técnicas mais empregadas em PSE são a extração com fluido supercrítico (SFE), extração com solvente sub-crítico (sub-SFE) e a extração acelerada com solventes (ASE). Apesar de apresentarem características próprias de cada técnica, elas possuem vários pontos em comum. Com pequenas diferenças, devido às características individuais de cada técnica, o esquema da Figura 10. pode englobar os principais componentes de qualquer sistema para PSE.

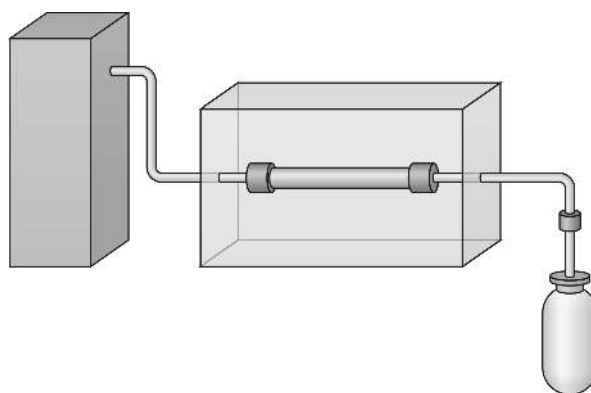
O solvente (líquido, fluido sub-crítico ou fluido supercrítico), armazenado no reservatório (A), é bombeado através do sistema (B) de pressurização em direção à cela de extração (D) a qual contém a amostra. A pressão é monitorada pela válvula (C) e a temperatura pelo forno (E) onde a cela de extração é instalada. Um restritor na saída do sistema (F) assegura a pressão interna do sistema, sendo o extrato obtido ao passar por ele direcionado para o sistema de coleta (G), o qual pode ser um frasco vazio, um frasco com um solvente apropriado, o injetor de um cromatógrafo, ou outro dispositivo de interesse.

### 3.3.1. Extração com Fluido Supercrítico (SFE)

Um *fluido supercrítico* é uma substância química cuja temperatura e pressão se encontram, ambas, acima de seu estado crítico<sup>17-20</sup>. Esta característica confere aos fluidos supercríticos propriedades diferentes dos gases e líquidos, as quais podem ser utilizadas com diversas vantagens na área de extração. Os fluidos supercríticos apresentam elevado poder de solvatação, servindo como excelentes solventes, ao mesmo tempo em que sua elevada difusividade permite fácil penetração em matrizes complexas, auxiliando na remoção dos solutos de interesse. Apesar de que nas décadas de 80 e 90 vários solventes foram avaliados para atuarem como solventes em SFE (incluindo alcanos leves, alcoóis, SF<sub>6</sub>, freons, amônia e vários outros), a maioria dos estudos atuais empregam o dióxido de carbono, CO<sub>2</sub>. Isto se deve ao conjunto favorável de propriedades as quais incluem baixa toxicidade, facilidades de ser produzido e purificado, e condições relativamente brandas para atingir o estado crítico ( $T_c = 43^\circ\text{C}$  e  $P_c = 73\text{ bar}$ ). Devido às características ambientalmente corretas, o CO<sub>2</sub> no estado supercrítico é considerado um “solvente verde” - dentro da grande ênfase atual denominada “*Green Chemistry*” Química Verde-, ou seja, um solvente o qual não traz problemas ao meio ambiente. Uma das limitações do uso de CO<sub>2</sub> é sua baixa polaridade, o que dificulta a extração de solutos semi-polares e polares. Existem duas formas



**Figura 10.** Esquema genérico de um sistema para Extração com Fluido Pressurizado (PSE).



**Figura 11.** Esquema simplificado das principais partes de um extrator para SFE (note a semelhança com os componentes da Figura 10).

principais para contornar esta limitação: (1) o uso de pressões elevadas, bastante acima da crítica; (2) adição de modificadores orgânicos, os quais são solventes polares agregados ao  $\text{CO}_2$  em pequenas concentrações (geralmente 1-5 % v/v).

A instrumentação típica empregada em SFE é apresentada de forma simplificada na Figura 11.

A amostra é colocada dentro da cela de extração, a qual é lacrada e instalada no forno previamente aquecido à temperatura desejada. O  $\text{CO}_2$  é pressurizado pela bomba em direção à cela de extração; após a remoção da amostra, os componentes de interesse são coletados em um dispositivo apropriado, geralmente um frasco contendo um solvente.

A SFE é uma técnica de grande utilização principalmente nas áreas de alimentos, combustíveis, saúde e meio ambiente<sup>21-32</sup>. Uma vantagem desta técnica é a facilidade com a qual pode ser acoplada em linha com técnicas cromatográficas de análise, permitindo acoplamentos em linha do tipo SFE-GC, SFE-LC, sFE-CE e outros<sup>33-35</sup>.

### 3.3.2. Extração Acelerada com Solventes (ASE)

Esta técnica é bastante similar à SFE, porém usualmente emprega um solvente orgânico pressurizado, não necessariamente no estado supercrítico, ao invés de  $\text{CO}_2$ . Os mais utilizados são solventes líquidos, como o metanol, tolueno ou acetona, abaixo das condições críticas, porém em

pressões suficientemente elevadas para assegurar que estará no estado líquido durante a extração. Esta técnica tem sido empregada principalmente na extração de substâncias presentes em matrizes sólidas, tais como solos e polímeros<sup>36-38</sup>, apresentando vantagens sobre seus concorrentes como a extração Soxhlet (maior tempo de extração) e a líquido-líquido, realizada em frascos agitados (maior volume de solvente extrator). Além disso, a escolha apropriada da temperatura e da pressão do solvente permite uma extração seletiva de apenas determinados compostos de interesse. A ASE tem sido também empregada com sucesso na extração de matrizes semi-sólidas como sedimentos e similares<sup>39</sup>.

### 3.3.3. Extração com Fluido Sub-Crítico (sub-SFE)

O *fluido sub-crítico* é um solvente cuja temperatura e/ou pressão estão abaixo do ponto crítico. Dentre os vários fluidos avaliados para uso como solvente extrator, o que apresenta melhores resultados é a água, dando origem a uma técnica denominada extração com água sub-crítica (SWE, “*subcritical water extraction*”). Esta técnica é similar à SFE e ASE, sendo ambientalmente correta pela total exclusão do uso de solventes orgânicos. A seletividade do solvente é escolhida através da pressão e da temperatura, podendo variar desde um caráter apolar até semi-polar. Apesar de ser um solvente polar nas condições normais de temperatura e pressão, aumentando a

temperatura e mantendo-se a pressão o suficiente para evitar uma mudança para o estado de vapor, a constante dielétrica da água muda de 80 (a 25°C) para 27 (a 25°C). Portanto, sua “polaridade” pode ser selecionada através da escolha das condições de temperatura e pressão<sup>40</sup>. Na prática, devido ao aumento do poder de corrosão da água com a temperatura, as condições empregadas estão sempre abaixo das condições críticas para este solvente (PC= 220 bar; Tc= 374°C).

O maior emprego da SWE tem sido na análise de poluentes orgânicos em matrizes ambientais, porém pode ser empregada, na maioria dos casos, em amostras analisadas por SFE e ASE.

### 3. 4. Técnicas Miniaturizadas de Extração

#### 3.4.1. Micro Extração em Fase Sólida (SPME)

A Extração em Fase Sólida (SPE), descrita anteriormente, é uma técnica bastante vantajosa de extração quando comparada aos métodos clássicos, tais como Extração Líquido-Líquido e extração Soxhlet, principalmente no referente à economia de tempo e de solvente. Entretanto, ainda apresenta alguns problemas os quais deverão ser eliminados para sua aceitação maior. Um deles refere-se à etapa de desorção do analito aprisionado no cartucho de SPE: ou emprega-se volumes razoáveis de solvente (quantidade bastante inferiores às empregadas em LLE e Soxhlet, mas ainda consideráveis) ou emprega-se a desorção térmica a qual requer um equipamento especial, geralmente de elevado custo. Outro problema da SPE tem sido a grande variabilidade da qualidade dos adsorventes de um fabricante para outro. Assim, a mudança de marca de fabricante, mesmo empregando o mesmo tipo de fase estacionária (ex. C-18) geralmente ocasionará na necessidade de adaptações nos volumes de solventes para que o método funcione adequadamente. Ou seja, esta mudança geralmente requer uma validação do método com todas as suas conseqüências (principalmente econômicas e de tempo). Assim, é altamente desejado o aparecimento de métodos os quais possam contornar estes problemas. Uma opção

recentemente desenvolvida com tal finalidade é a micro extração em fase sólida (SPME).

A *Micro Extração em Fase Sólida (SPME)* é uma técnica relativamente simples do ponto de vista instrumental. Na sua forma original, baseia-se na absorção dos analitos por uma fibra de sílica modificada quimicamente, com posterior desorção térmica dos analitos em um cromatógrafo a gás<sup>41,42</sup>. Nesta versão, o sistema SPME foi construído a partir de uma seringa convencional para cromatografia, marca Hamilton, modelo 7000, contendo uma fibra de sílica em seu interior.

A microseringa é usada para introduzir a fibra no injetor do cromatógrafo a gás, e protegê-la enquanto não estiver em uso. Antes de colocar a fibra dentro do êmbolo, uma gota de cola do tipo epoxi é colocada na fibra a qual é deixada endurecer. Isto irá manter a fibra na posição adequada na seringa. O comprimento ideal da fibra varia dependendo principalmente do injetor do cromatógrafo a ser empregado; valores ao redor de 10 cm são típicos. O diâmetro da fibra também pode variar, sendo utilizado nos experimentos iniciais um diâmetro externo de 170 microns, e a fibra não oca. Nos experimentos realizados no início da década de 90, ainda durante o desenvolvimento da técnica, Pawliszyn<sup>43</sup> investigou o uso da poliimida que reveste a sílica fundida como um meio de concentração de analitos, e comparou o desempenho com a sílica sem nenhum revestimento externo. Estudou as diferentes variáveis que influenciam o processo de extração, incluindo o tempo de exposição da solução a ser analisada à fibra; a linearidade da técnica; a reprodutibilidade; seletividade e interferentes. Este autor propôs que em SPME não ocorre uma extração exaustiva, mas sim um equilíbrio entre a fase aquosa (as aplicações apresentadas referem-se à determinação de analitos em água) e a fase orgânica estacionária.

Pawliszyn<sup>43</sup> mostrou haver uma relação linear entre a quantidade sorvida na fase estacionária e a concentração na amostra. Apesar de originalmente desenvolvida para a análise de micropoluentes orgânicos em água, a SPME tem

encontrado aplicação em vários campos como na análise de aromas e flavorizantes em frutas; voláteis no ar; medicamentos em urina e muitas outras aplicações. Um livro recente ilustra as aplicações da SPME em vários campos de interesse<sup>44</sup>. A técnica ainda continua em fase de desenvolvimento, apesar de já estar disponível comercialmente.

Os dois principais modos de operação em SPME são a extração direta e a extração via headspace (Figura 12). No modo extração direta (Figura 12a) o revestimento da fibra é inserido diretamente na amostra e os analitos são transportados da amostra para a fase extratante. Para acelerar o processo emprega-se agitação mecânica para transportar os analitos do meio da solução para a vizinhança da fibra. Para amostras gasosas, a convecção natural do ar é suficiente para facilitar o rápido equilíbrio. Para matrizes aquosas, técnicas mais eficientes de agitação tais como agitação mecânica ou sonicação são necessárias. No modo headspace (Figura 12b), os analitos necessitam ser transportados através da barreira de ar antes de atingirem o revestimento da fibra.

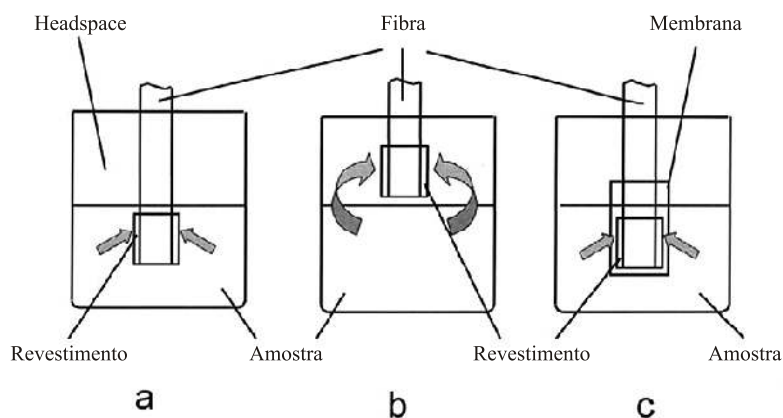
Esta modificação serve, principalmente, para proteger a fibra de possíveis danos provocados por interferentes de elevada massa molecular, ou baixa volatilidade presente nas amostras, tais como materiais húmicos (amostras ambientais) e proteínas (amostras biológicas). Este modo de extração permite mudanças na matriz como, por exemplo, no pH, sem danos na

fibra. A quantidade de analito extraído na fibra (utilizando-se o mesmo frasco de amostra) no equilíbrio, será a mesma empregando-se o modo direto ou headspace, desde que o volume de headspace e de amostra sejam iguais. Isto ocorre pelo fato de que a concentração no equilíbrio é independente da localização da fibra no sistema amostra/headspace. Se estas condições não forem observadas, uma diferença significativa entre os modos direto e headspace será observada para analitos bastante voláteis. Por outro lado, a cinética de extração será bastante dependente do modo de extração selecionado.

O número de parâmetros experimentais a serem otimizados e controlados em SPME é bastante superior aos do SPE e LLE. Dentre os principais fatores experimentais que afetam a eficiência de extração encontram-se<sup>11</sup>: escolha do revestimento da fibra; temperatura da extração; tempo da extração; pH; velocidade de agitação; força iônica.

#### Desorção dos analitos retidos em SPME para análise por LC

Quando o objetivo é utilizar a SPME como técnica de preparo de amostra para análise por GC, a desorção do analito retido na fibra é feita de maneira simples, inserindo-se a mesma no injetor aquecido do cromatógrafo. Ocorrerá desorção térmica e os analitos serão direcionados para a coluna com a ajuda do gás de arraste. Para LC a situação infelizmente é bem



**Figura 12.** Principais modos de operação em SPME.



mais complexa, existindo dois modos principais de dessorção: fora de linha (“*off-line*”) e em linha (“*on-line*”). No sistema fora de linha, após a etapa de extração a fibra é inserida em um frasco contendo um solvente apropriado e os analitos são solubilizados e posteriormente injetados no cromatógrafo para análise. No sistema em linha após a extração a fibra é introduzida em uma interface a qual é conectada a coluna de LC. Um solvente passa através de uma válvula e lava a fibra, provocando dessorção dos analitos os quais são direcionados pelo solvente para a coluna de LC e analisados. Lanças e colaboradores desenvolveram várias interfaces para o acoplamento em linha SPME-LC<sup>45</sup>, inclusive empregando sinergisticamente dessorção com solvente e aquecimento para aumentar o rendimento da extração<sup>46</sup>.

Alguns pesquisadores e agências que regulamentam o uso de agentes tóxicos e alimentos ainda apresentam ressalvas à técnica, julgando-a semi-quantitativa e não quantitativa, o que poderia impedir de torna-se, por exemplo, um método oficial da US-EPA ou US-FDA. Considerando-se o imenso interesse que a SPME tem despertado recentemente, pode-se esperar um grande avanço na mesma nos próximos anos tanto do ponto de vista fundamental, na instrumentação (maior automação e novas fases estacionárias) e aplicações.

### “*In-tube*” SPME

Uma variação do acoplamento SPME-LC, denominada *in-tube SPME* foi desenvolvida para a microextração e pré-concentração de solutos menos voláteis e/ou termicamente instáveis. Um capilar de sílica fundida, com a superfície interna revestida com a fase extratora (quimicamente ligada) funcionando como um dispositivo para SPME, é acoplado em linha com o sistema LC, permitindo a automação do processo de extração, maior precisão do método analítico e menor tempo de análise.

No caso de análise de amostras biológicas através do sistema *in-tube SPME*, estas são injetadas praticamente no seu estado fisiológico, diminuindo a exposição dos analistas aos fluidos biológicos e minimizando perdas do soluto durante o processo de extração. Todo o soluto extraído é introduzido na coluna analítica, aumentando a sensibilidade do método analítico<sup>47</sup>.

### 3.4.2. Extração Sortiva em Barras de Agitação

A extração sortiva em barra de agitação (SBSE), introduzida no final da década passada por Baltussen et al.<sup>48</sup>, baseia-se nos princípios estabelecidos para SPME, ou seja, equilíbrio de partição. Uma barra de agitação magnética (10 a 20 mm de comprimento) revestida com 25-125  $\mu\text{L}$  (0,3-1,0 mm espessura) de polidimetilsiloxano (PDMS) tem sido utilizada nas SBSEs.

O mecanismo de extração dos solutos na fase PDMS é baseado na absorção. Este processo de retenção é mais fraco, quando comparado com a adsorção (fibras mistas SPME), o que permite rápida dessorção térmica dos solutos em temperaturas medianas. O equilíbrio de partição ou capacidade de retenção de um determinado soluto em PDMS, não é influenciado pela presença dos interferentes da matriz ou de outros solutos, o que resulta em métodos analíticos com ampla faixa de linearidade.

A SBSE é controlada pelo coeficiente de partição dos solutos entre as fases, PDMS e aquosa. O coeficiente de partição tem sido correlacionado com o coeficiente de distribuição octanol-água ( $K_{o/w}$ ). Embora não totalmente correto, o  $K_{o/w}$  tem sido utilizado para estimar a eficiência do processo SBSE para um determinado soluto<sup>49,50</sup>.

Para as análises SBSE/LC de compostos termolábeis ou de elevada massa molar, o processo de dessorção SBSE tem sido realizado através da inserção da barra SBSE em um micro tubo contendo alguns  $\mu\text{L}$  de um solvente líquido. Geralmente emprega-se como solvente de dessorção, neste caso, a própria fase móvel ou

um solvente orgânico, podendo ocorrer com agitação magnética ou em banho de ultra-som, e com ou sem controle da temperatura. Poucas referências bibliográficas descrevem a técnica SBSE/LC empregando o processo de dessorção em fase líquida.

Lanças e colaboradores recentemente desenvolveram uma interface similar àquela desenvolvida para SPME/LC para emprego em SBSE/LC<sup>51</sup>.

Os métodos cromatográficos empregando técnicas miniaturizadas de preparo de amostras descritos na literatura apresentam alta sensibilidade, seletividade, linearidade, exatidão e precisão, de acordo com critérios internacionais de validação analítica. Estes métodos têm sido aplicados para determinações de diversos solutos em diferentes áreas, tais como: ambiental, farmacêutica, forense, alimentos, clínico, dentre outras.

### 3.4.3. Extração Dinâmica em Fase Sólida (SPDE)

Apesar de que a SPME e SBSE são as técnicas miniaturizadas mais empregadas no momento para o preparo de amostras para análise cromatográfica, outras surgiram recentemente e serão discutidas a seguir.

A Extração Dinâmica em Fase Sólida, SPDE (“*Solid Phase Dynamic Extraction*”) emprega um sistema muito similar ao da SPME, porém com o agente extrator sendo colocado na parede interna do tubo ao invés da parede externa

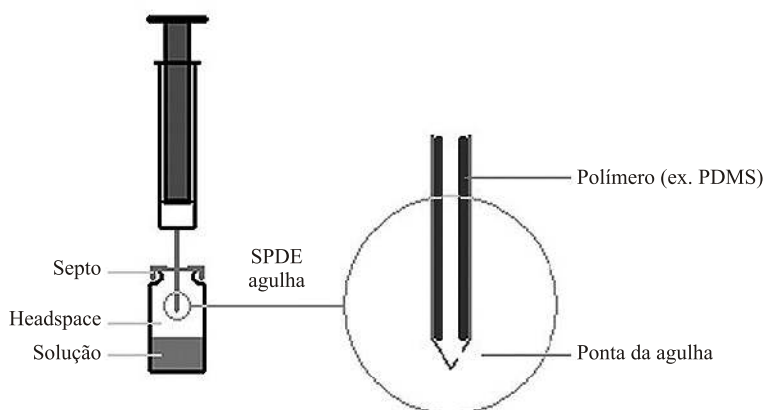
como em SPME. Utiliza uma seringa comum de cromatografia, dentro da qual a fibra de SPDE é mantida como em SPME. A exposição da fibra, técnicas de dessorção e demais aspectos práticos da técnica são similares à SPME; um diagrama esquemático da mesma pode ser visto na Figura 13.

A seringa contendo a fibra com o revestimento (sorvente) na parede interna é inserida na amostra, e os analitos extraídos. A dessorção pode ser efetuada com aquecimento, ou solventes, como nas outras técnicas miniaturizadas.

A empresa que comercializa o sistema para SPDE efetuou várias comparações com a SPME, tentando demonstrar a superioridade desta técnica. Bicchi e colaboradores em estudo comparativo ressalta os pontos positivos da SPDE<sup>52</sup>. Até o presente quase todas as publicações nesta técnica são da empresa a qual comercializa os produtos para a mesma, e de grupos de pesquisa ligados a ela. Espera-se que mais trabalhos sejam publicados no futuro próximo, para que as vantagens e limitações da mesma fiquem melhor conhecidas.

### 3.4.4. Micro Extração por Sorvente Empacotado (MEPS)

A Micro Extração por Sorvente Empacotado, MEPS (“*Micro Extraction by Packed Sorbent*”) emprega uma seringa contendo uma agulha, na forma de um pequeno cartucho, contendo um sorvente. Na prática, é uma versão miniaturizada da SPE, empregando ao invés de



**Figura 13.** Extração Dinâmica em Fase Sólida (SPDE).

cartuchos plásticos ou de vidro, discos ou outros formatos, uma agulha empacotada com a fase sólida. As etapas empregadas para o preparo de amostra por esta técnica são similares aos descritos para SPE, e os sorventes empregados são basicamente os mesmos.

Abdel-Rehim publicou recentemente resultados comparando a MEPS com SPE e SPME, ressaltando as características destas técnicas, e destacando os aspectos da MEPS os quais considera favoráveis à técnica<sup>53</sup>. A Tabela 1 resume alguns dos principais fatores envolvidos nestas técnicas.

**Tabela 1.** Comparação entre MEPS, SPME e SPE, de acordo com Abdel-Rehim (53).

Fator	MEPS	SPE	SPME
Quantidade de sorvente	0,5-2 mg	50-2.000 mg	Espessura 150 mm
Preparo da amostra	1-2 min	10-15 min	10-40 min
Reutilização	1-2 min	Nenhuma	50-70 extrações
Recuperação	Boa	Boa	Baixa
Sensibilidade	Boa	Boa	Boa

### 3.4.5. Microextração em Fase Líquida (LPME)

Uma alternativa às técnicas miniaturizadas descritas anteriormente foi desenvolvida por Pedersen-Bjergaard e Rasmussen<sup>54</sup> empregando uma fibra oca. Denominada Microextração em Fase Líquida, LPME (*“liquid phase microextraction”*), utiliza uma fibra oca constituída por uma membrana capilar porosa e hidrofóbica, cujos poros são impregnados com um solvente extrator orgânico e o seu lúmen é preenchido com um volume muito pequeno (microlitros) de uma fase aceptora. A fase aceptora (solvente orgânico) não entrando em contacto direto com a fase doadora (matriz aquosa)

Permite o uso de agitação durante o processo de extração, como empregado em SPME e SBSE.

Esta técnica foi motivo de recente revisão na língua portuguesa<sup>55</sup>, a qual descreve os fundamentos da técnica, parâmetros a serem otimizados na prática (praticamente os mesmos da SPME e SBSE) e aplicações.

## 4. Limpeza (“Clean-up”) da Amostra

A etapa de extração não assegura que o composto de interesse presente no extrato possa ser diretamente introduzido em um cromatógrafo para análise. Usualmente, uma vez que as técnicas de extração não são seletivas, outros compostos além dos de interesse usualmente estarão presentes no extrato, podendo interferir na análise cromatográfica. A solução mais utilizada para este problema é efetuar-se o *“clean-up”* do extrato, o que pode ser efetuado por várias técnicas dependendo das características dos compostos de interesse, da matriz e dos contaminantes que se quer excluir do extrato. Dentre as principais opções as mais empregadas atualmente são a cromatografia líquida, além da extração em fase sólida (SPE), e a extração líquido-líquido (LLE) já discutidas anteriormente.

### 4.1. Cromatografia Líquida em Coluna Aberta em baixa pressão

Apesar de muito antiga quanto à concepção, a cromatografia líquida clássica ainda é amplamente empregada no *“clean-up”* de extratos produzidos por diferentes técnicas, em especial na análise de produtos naturais e resíduos de pesticidas em alimentos. É uma técnica muito simples a qual pode ser conduzida em uma bureta contendo uma torneira para controlar o fluxo da fase móvel, dentro da qual coloca-se uma material sólido como sílica, alumina, florisil, trocadores de íons e outros, para funcionar como fase estacionária. A amostra é introduzida na coluna e os componentes do extrato que não forem de interesse usualmente são eliminados com solventes apropriados, deixando a amostra limpa destes componentes (*“clean-up”*). Os compostos de interesse, retidos na fase estacionária, são depois eluídos com solventes apropriados e estarão prontos para injeção em um cromatógrafo líquido ou gasoso. Uma vez que neste tipo de coluna emprega-se partículas de diâmetro relativamente grandes (usualmente maiores que 40 microns), neste procedimento não se objetiva a separação de compostos individuais mas uma diminuição da complexidade do extrato para a análise cromatográfica. Uma desvantagem importante desta técnica

é o tempo necessário para o “*clean-up*”, usualmente várias horas, além do emprego de grandes volumes de solventes tóxicos. Esta ainda é uma das técnicas mais populares para esta finalidade devido a sua simplicidade, baixo custo operacional e pequeno investimento em equipamento.

#### 4.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC ou CLAE)

Na prática a diferença entre alta, média e baixa pressão não é facilmente determinada. Assim, quando uma eficiência maior no processo é desejada, usualmente diminui-se o tamanho das partículas da fase estacionária, o que acarreta um aumento da pressão na coluna. Isto requer o uso de pressões maiores (usualmente com ajuda de uma bomba) para que a análise possa ocorrer em uma escala de tempo razoável. Todas as formas de cromatografia líquida, inclusive em pressões elevadas, têm sido empregadas para o “*clean up*” de amostras. A principal vantagem do uso de partículas menores (e, como consequência, pressões mais elevadas) é a maior eficiência da separação, e o uso de equipamentos controlados por computadores, facilitando a automação total da análise. A contra-partida é o custo mais elevado tanto na aquisição da instrumentação quanto operacional para as técnicas que empregam pressões mais elevadas.

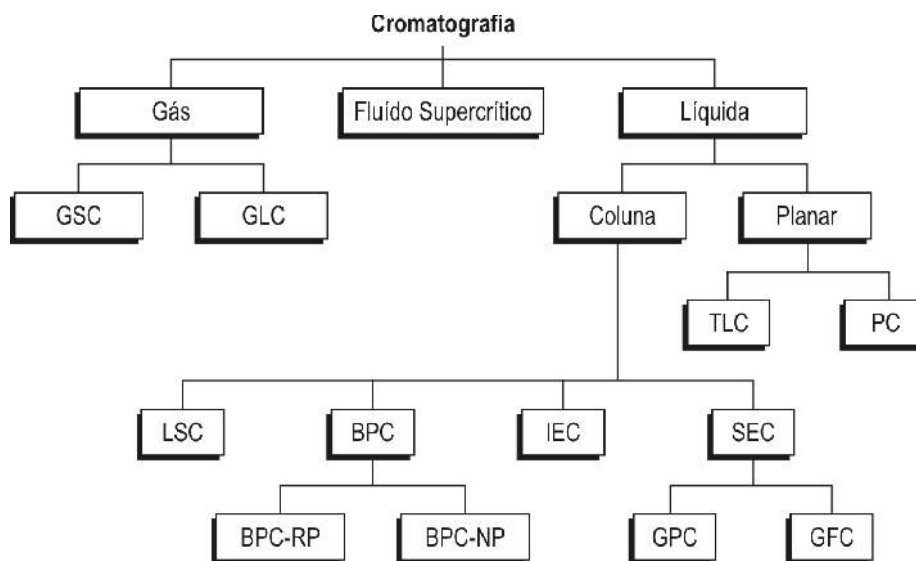
#### 4.3. Cromatografia Líquida Multidimensional

Em função da maior eficiência, as colunas de menor tamanho, com partículas menores e fechadas nas duas extremidades, podem ser mais facilmente acopladas em linha (“*on-line*”) com outra(s) coluna(s), permitindo um arranjo instrumental bastante versátil e poderoso usualmente denominado cromatografia líquida multidimensional. Neste caso, duas ou mais colunas operando com distintos mecanismos de separação podem ser acopladas umas às outras de forma a aumentar a seletividade e a eficiência da separação. Geralmente a primeira coluna é empregada para uma pré-separação, ou como um

“*clean-up*”, enquanto que a segunda é a que efetivamente realiza a análise. No exemplo de amostras de alimentos, a primeira coluna pode operar no modo exclusão por tamanho e a segunda em fase reversa, por exemplo. A amostra é introduzida na primeira coluna e as macromoléculas e outros interferentes são eliminados da coluna, enquanto que os compostos de interesse são retidos. A seguir uma fase móvel apropriada, com o auxílio de uma válvula de comutação de coluna, remove os compostos de interesse da primeira coluna e os transfere para a segunda, onde a análise ocorre. Um enfoque similar pode ser utilizado para limpeza de amostras de fluidos biológicos contendo um fármaco de interesse, compostos quirais em diferentes matrizes (neste caso usualmente a segunda coluna é uma coluna quiral) e várias outras aplicações. Este tipo de enfoque tem ganho bastante adeptos na última década, devendo tornar-se um importante enfoque na limpeza de amostras complexas.

#### 4.4. Outros enfoques para a limpeza de amostras

Além das técnicas discutidas, existem várias outras empregadas para o “*clean-up*” de amostras já discutidas neste trabalho, incluindo a LLE, SPE, SFE, ASE e outras. Algumas destas técnicas, como a SPME, permitem efetuar-se extração, “*clean-up*” e concentração (enriquecimento) em uma única etapa, enquanto que outras como a SPE efetuam especificamente a limpeza da amostra. Algumas técnicas permitem o acoplamento em linha (“*on-line*”) com uma técnica cromatográfica, facilitando a automação total da análise. Neste caso, o extrato é direcionado da extração diretamente para a técnica cromatográfica ou similar, sem etapas intermediárias. Um dos trabalhos pioneiros nesta área foi efetuado no laboratório do autor deste trabalho, através do acoplamento em SFE e eletroforese capilar para a extração, concentração e análise de amostras complexas<sup>56</sup>. Este tipo de enfoque deverá tornar-se mais popular no futuro próximo.



**Figura 14.** Classificação das técnicas cromatográficas de acordo com a natureza física da fase móvel.

## 5. Análise Qualitativa e Quantitativa: O papel da Cromatografia e Técnicas Afim

### 5.1. Técnicas Cromatográficas

Estando os compostos de interesse em uma forma química apropriada para sua determinação qualitativa e/ou quantitativa por uma técnica instrumental, além de isentos de interferentes (ou de grande parte deles, no caso de amostras complexas), e em uma concentração apropriada, a última etapa do procedimento analítico será a identificação e a quantificação. Dois enfoques mais comuns são: (1) a análise de compostos conhecidos (“*target*”), usualmente empregado em laboratórios de rotina; e (2) a análise de desconhecidos, usualmente um desafio maior uma vez que a determinação quantitativa dependerá antes da identificação dos compostos de interesse. Dentre um largo espectro de técnicas instrumentais disponíveis, as cromatográficas e relacionadas (eletroforese capilar, por exemplo) têm um papel de destaque devido à velocidade de análise, eficiência, possibilidade de processar várias amostras através de amostradores automáticos,

facilidade na quantificação, e automação total do procedimento, dentre outros recursos. Neste artigo o enfoque será direcionado para o uso das técnicas cromatográficas de análise.

As técnicas cromatográficas admitem várias classificações, a depender do enfoque do autor<sup>57</sup>. A classificação mais popular no momento, de acordo com a natureza física da fase móvel é apresentada na Figura 14.

Apesar de seu desenvolvimento no início do século XX, as técnicas cromatográficas tiveram uma grande aceitação como técnica analítica principalmente após o desenvolvimento da Cromatografia Gasosa (GC) durante a década de 50, e da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) no final da década de 60 e início da década de 70. A Cromatografia com Fluido Supercrítico teve seu desenvolvimento somente na década de 80, com a comercialização dos primeiros equipamentos.

A *Cromatografia Gasosa* (GC) é considerada hoje uma técnica madura, empregada principalmente na análise de compostos voláteis, de polaridade baixa e média, e termicamente estáveis nas temperaturas empregadas nas análises. Seu uso pode extrapolar estas condições, mediante

prévias etapas de transformação química (por exemplo, derivatização de ácidos; pirólise de polímeros; complexação de metais e outras operações). O desenvolvimento das colunas tubulares abertas (geralmente referidas como capilares), proporcionou o aparecimento de colunas de vários metros de comprimento, o que aumentou muito a eficiência quando comparadas com as colunas empacotadas (ou recheadas). Além disso, por terem a parte central vazia (um filme fino é depositado na parede interna) estas colunas oferecem pequena resistência à passagem do gás de arraste, permitindo o uso de colunas de até centenas de metros de comprimento. Devido à enorme eficiência destas colunas (centenas de milhares de pratos), o que leva a uma alta resolução pois  $N$  é um fator importante na resolução, seu emprego tem motivado o nome de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (HRGC) para a técnica.

A *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência* (HPLC) teve seu desenvolvimento favorecido pelo interesse nas análises de compostos os quais não eram amenos à GC. As primeiras dificuldades encontradas com o uso de partículas relativamente grandes ( $dp > 20$  microns), adaptadas da LC clássica, foram rapidamente contornadas com o desenvolvimento de novas fases com partículas menores, mais homogêneas e com menor conteúdo de metais, principalmente sílica de novas gerações. O desenvolvimento das fases quimicamente ligadas ampliou ainda mais o espectro das aplicações da técnica, em especial as fases reversas baseadas em grupos octadecil (C-18) e octil (C-8) quimicamente ligadas à sílica<sup>58</sup>. O desenvolvimento de partículas menores, as quais melhoraram a eficiência das colunas, trouxe um novo desafio: o aumento significativo da pressão na coluna, e a exigência de novos desenvolvimentos instrumentais para a nova realidade.

A *Cromatografia com Fluido Supercrítico* (SFC) é a mais jovem das técnicas cromatográficas a receber atenção em larga escala. Apesar de seu desenvolvimento na década de 80 haver sido bastante promissor, sua ampla utilização ainda não se confirmou, tendo alguns

nichos especializados como na análise de fármacos (em especial enantiômeros), polímeros, e detergentes. Inicialmente oferecida em duas versões, uma utilizando colunas empacotadas com partículas, similares as de HPLC, e outra empregando colunas capilares tubulares abertas, similares às de HRGC, apenas a primeira persiste comercialmente. Considerando o grande destaque que a “Química Verde” (“*Green Chemistry*”), possui atualmente, e o fato da SFC utilizar principalmente  $CO_2$  como fase móvel, considerado um “solvente” ambientalmente correto, é previsível que seu desenvolvimento na próxima década seja acelerado.

## 5.2. Análise Qualitativa

Uma vez sendo os compostos de interesse isolados de seus contaminantes e interferentes, por uma das técnicas descritas, o efluente da coluna é direcionado para algum tipo de sensor (detector) para que suas propriedades sejam utilizadas na identificação do mesmo. Durante muitos anos a maior propriedade empregada na análise qualitativa era o tempo de retenção do composto, ou seja, o tempo que ele passa na coluna cromatográfica. Associado com algum tipo de seletividade dos detectores (por exemplo o captura de elétrons para organoclorados, o de fluorescência para hidrocarbonetos aromáticos), o tempo de retenção servia como indicativo da presença de um composto na amostra. O aumento da complexidade dos problemas analíticos, o interesse em analisar-se compostos em concentrações mais baixas, a necessidade de melhor conhecimento de propriedades de fármacos em amostras biológicas e outros fatores, começaram a dificultar o uso somente do tempo de retenção para esta determinação. Mesmo empregando diversos artifícios como índices de retenção, técnicas quimiométricas e outros, assim como detectores mais seletivos como ECD, NPD e PDA, o fato é que diferentes compostos podem ter o mesmo tempo de retenção em dadas condições experimentais, dificultando a identificação dos picos, especialmente em amostras complexas e

desconhecidas. O desenvolvimento de detectores mais elaborados, os quais podem fornecer também informações estruturais – em especial detectores espectrométricos como espectrometria de massas – trouxe um grande avanço neste campo.

O desenvolvimento do acoplamento entre cromatografia gasosa de alta resolução e espectrometria de massas (HRGC/MS) sem a necessidade de interfaces, e a redução do preço do equipamento, ampliou em muito o uso desta técnica na determinação de compostos voláteis e semi-voláteis. Apesar do acoplamento entre cromatografia líquida e MS ainda não haver atingido a simplicidade e a maturidade da GC/MS, o desenvolvimento de interfaces que operam a pressão ambiente (API), especialmente o Electrospray (ESI) e a Ionização Química a Pressão Ambiente (APCI), trouxeram novo alento à área<sup>58</sup>. Um reforço considerável foi a ampliação da oferta de diferentes analisadores, o “coração” do espectrômetro de massas. Além dos quadrupolos e “ion traps”, populares desde a década de 1970 com o surgimento dos detectores seletivos de massas (MSD), o “revival” dos analisadores do tipo ToF (“Time-of-Flight”) ampliou as possibilidades do uso de MS com maior resolução, a preços razoáveis. O surgimento do GC-ToF e LC-ToF possibilitou uma melhoria considerável na identificação dos picos cromatográficos. Analisadores ainda mais poderosos, como os baseados em ressonância de íons em um ciclotron (FT-ICR) ainda são pouco utilizados acoplados a cromatógrafos, devido ao elevado custo desta tecnologia, recentemente sendo comercializada.

Em algumas áreas, tais como na análise de fármacos e drogas veterinárias em matrizes biológicas, em química forense e proteômica, o uso de mais de um estágio de ionização deu origem aos sistemas em “*tandem*” ou MS/MS, cujo acoplamento tanto com LC quanto com HRGC se mostraram de grande auxílio na análise qualitativa (GC/MS/MS e LC/MS/MS). Sistemas híbridos, empregando uma combinação de diferentes analisadores, (como, por exemplo, o Q-ToF – um sistema com dois analisadores de massas em tandem sendo um deles do tipo

quadrupolo e o outro tempo de voo) permitem o emprego das características distintas dos analisadores de forma a obter-se uma montagem adequada para a aplicação de interesse. Outras técnicas espectroscópicas tais como infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e ressonância magnética nuclear (NMR) também têm sido acopladas com sucesso a técnicas cromatográficas, devendo ampliar seu escopo de uso na próxima década.

### 5.3. Análise Quantitativa

O advento dos computadores pessoais a um custo razoável, praticamente eliminou o uso de registradores potenciométricos e integradores eletrônicos dos laboratórios de cromatografia. Além da aquisição de dados, o computador contendo um software apropriado é capaz de processar os dados, efetuar cálculos, elaborar gráficos de calibração e imprimir relatórios contendo os dados. É também empregado no comando de praticamente todas as funções do cromatógrafo, desde a introdução da amostra até as condições da coluna, fase móvel, temperatura do detector e outros parâmetros experimentais. Adicionalmente, o computador comanda os detectores como um espectrômetro de massas, gerando espectros, comparação com bibliotecas de dados, tempos de retenção e outras facilidades. Outros programas como pacotes quimiométricos podem ser integrados como o software principal, ampliando o escopo de uso do sistema. Uma das etapas críticas na análise quantitativa, via cromatografia, é o estabelecimento de gráficos de calibração empregando padrões analíticos de identidade e pureza bem conhecidos. Um software apropriado atualmente já contém várias funções para a construção destes gráficos, permitindo o uso de técnicas de quantificação baseadas no uso de padrão interno, padrão externo ou adição padrão. A escolha da técnica depende do analito, da matriz e, principalmente, do objetivo do trabalho. Por exemplo, para registro de produtos em órgãos governamentais, as exigências daquele órgão devem ser seguidas para que o resultado seja aceito pelo órgão para a finalidade que se propõe.

## 6. Tendências na área de Cromatografia e Técnicas Associadas

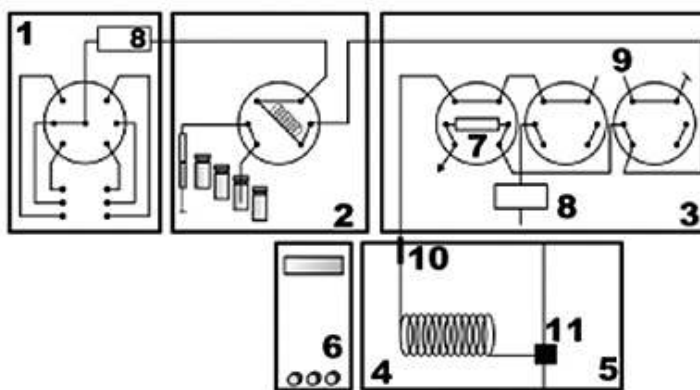
### 6.1. Preparo de Amostras

Uma das etapas mais críticas no preparo de amostras, em especial amostras complexas de origem vegetal ou animal, é o isolamento dos compostos de interesse da matriz original (“extração”). Apesar de que as técnicas clássicas como extração líquido-líquido e extração líquido-sólido continuam a serem utilizadas (e provavelmente ainda serão por muitos anos), a substituição destas por técnicas que minimizam o uso de solventes orgânicos, como a SPE, e técnicas empregando fluidos pressurizados, vem ocorrendo gradativamente. O grande apelo ambiental observado na última década deverá conduzir para técnicas ainda mais radicais nas quais estes solventes são completamente eliminados, incluindo a SPME, SBSE e similares. Havendo surgido inicialmente com poucos tipos de fibras, hoje a SPME já oferece um grande número de possibilidades tanto para uso em GC quanto em HPLC. A SBSE ainda é limitada pela comercialização de apenas barras de PDMS comercialmente, porém vários outros materiais têm sido empregados em diferentes laboratórios através de barras construídas no próprio grupo de pesquisa<sup>59,60</sup>. Espera-se uma ampliação na oferta de fibras para SPME e barras para SBSE, para uma maior aceitação destas

técnicas em diferentes áreas de aplicação. O surgimento de interfaces para acoplar estas técnicas com HPLC, e amostradores automáticos para técnicas miniaturizadas de preparo de amostra, sugerem uma ampliação de seu escopo de aplicações para os próximos anos.

Outro fator importante tem sido o desenvolvimento e aprimoramento de sistemas os quais permitem integrar, em um só equipamento, o preparo de amostra, concentração, e introdução de uma alíquota no cromatógrafo de forma totalmente automatizada. Exemplo deste tipo de enfoque é apresentado na Figura 15.

A amostra é introduzida em um cartucho de SPE através de um amostrador automático; os analitos são isolados de contaminantes e concentrados no cartucho sendo, posteriormente, desorvidos com um solvente apropriado. Uma porção deste extrato é transferida automaticamente para o injetor de um cromatógrafo, o qual permite a injeção de grande quantidade de amostra (até várias centenas de microlitros). Cada composto separado tem seu espectro de massas determinado, e a análise qualitativa e quantitativa é desenvolvida de acordo com o protocolo do método analítico carregado no computador do sistema. Este acoplamento exemplificado pode ser simplificado como SPE-(LVI)GC-MS. Apesar de seu grande potencial, este tipo de sistema não tem sido ainda amplamente explorado, possivelmente devido ao custo ainda elevado.

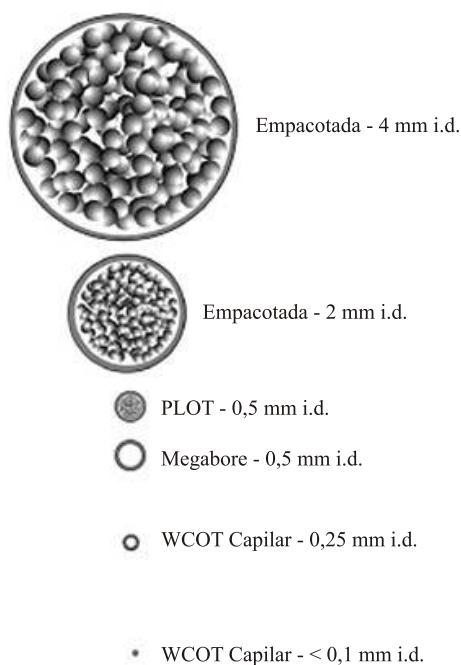


**Figura 15.** Diagrama esquemático de um acoplamento SPE-GC/MS.



## 6.2. Miniaturização das colunas cromatográficas

A miniaturização das colunas cromatográficas não traz como principal benefício economia de espaço, como poderia parecer a primeira vista. Na verdade, um dos principais benefícios da miniaturização é a economia de solventes (em LC uma coluna capilar consome entre 200 e 1.000 vezes menos solvente do que as convencionais de diâmetro interno igual a 4,0 mm) e de amostra (em uma coluna capilar de LC injeta-se alguns nanolitros de amostra contra vários microlitros na convencional). Além disso, várias técnicas espectrométricas, a exemplo da espectrometria de massas, em várias circunstâncias são mais facilmente acopladas à cromatografia quando são empregadas colunas capilares. O uso de velocidades de fluxos (vazão) menores também melhora a detecção quando detectores dependentes da concentração (como UV-VIS) são empregados, devido à menor diluição dos solutos na fase móvel.

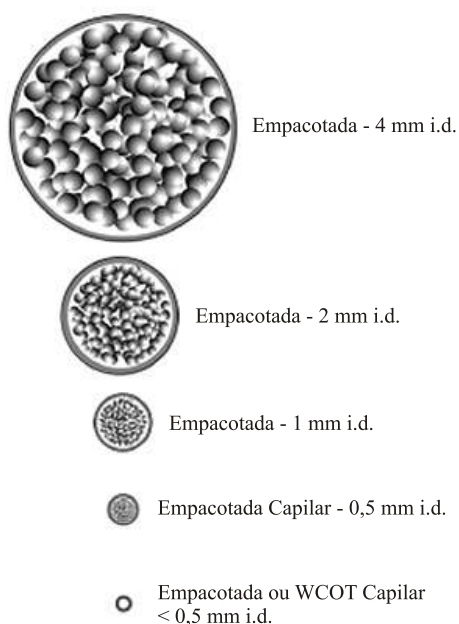


**Figura 16.** Comparação (em escala) entre o diâmetro interno das principais colunas empregadas em Cromatografia Gasosa.

A Figura 16 mostra uma comparação em escala entre os principais diâmetros de colunas empregadas em Cromatografia Gasosa nos últimos anos, desde as convencionais de diâmetro interno ao redor de 4 mm até as capilares com d.i 0,1 mm.

Nota-se na figura uma enorme diminuição no diâmetro da coluna, a qual acarreta menor diminuição na quantidade de amostra e de fase móvel. Uma situação análoga é verificada em Cromatografia Líquida, indo das colunas tradicionais de 4 mm de d.i. , ainda bastante utilizadas, até as capilares (Figura 17). Entretanto, a miniaturização em LC é ainda bastante lenta, apesar de oferecer ainda mais benefícios do que em GC. Somente recentemente as empresas fabricantes de equipamento começaram a desenvolver equipamentos projetados especificamente para LC capilar.

Nesta área de miniaturização em cromatografia e técnicas relacionadas, um recente desenvolvimento o qual merece atenção é na área de microchips utilizados para a fabricação de dispositivos para as diversas técnicas de separação. Estes dispositivos aparentemente deverão ter nichos específicos tais como em situações onde pequeno



**Figura 17.** Comparação (em escala) entre o diâmetro interno das principais colunas empregadas em Cromatografia Líquida Analítica (HPLC).

espaço é importante (naves espaciais), análises específicas, análise em campo e outras. Entretanto, ainda será necessário um desenvolvimento bastante grande para que as mesmas venham a substituir o formato atual destas técnicas na análise de amostras complexas (fluidos biológicos), matrizes difíceis (como sedimento de rio, extratos de plantas) e situações nas quais centenas de compostos precisam ser separados com elevada eficiência (derivados de petróleo, lipídeos em amostras naturais). No momento, uma situação intermediária entre os dois extremos, com a diminuição da dimensão das colunas e equipamentos, parece ser mais vantajosa, especialmente enquanto os microchips ainda estão sendo aperfeiçoados com o uso de novos materiais e técnicas de preparo. A próxima década elucidará esta questão.

### 6.3. Análise rápidas

Existem situações práticas nas quais a eficiência não é o fator preponderante mas sim a rapidez da análise como no caso da fabricação em escala industrial de um composto, bem conhecido, cujo setor de controle de qualidade precisa dar resposta rápida para o setor de produção. Neste caso, tanto empregando HRGC, HPLC ou SFC, a alternativa é a miniaturização. Em HRGC, a diminuição no diâmetro interno do tubo possibilita um aumento acentuado na eficiência (N); como consequência, colunas de menor comprimento podem ser utilizadas sem perda considerável da resolução cromatográfica. Em muitos casos, colunas de 5 metros de comprimento com um diâmetro interno igual a 100 microns ou menos, poderão ser suficientes para conseguir separações adequadas em menos de um minuto. Em LC, a melhor alternativa é a diminuição do tamanho das partículas para aumentar-se a eficiência, o que possibilita diminuir o comprimento da coluna e o tempo de análise. Apesar de 5 microns ser hoje o tamanho padrão das partículas empregadas em LC, colunas de 1,5 a 3,5 microns tendem a se tornar mais utilizadas na próxima década. Pelo fato destas análises

rápidas exigirem repostas mais rápidas dos equipamentos, e a diminuição do tamanho das partículas aumentar as pressões no sistema, as empresas de equipamentos tem se adequando a esta nova forma de obter-se análises rápidas, usualmente referidas como U-HPLC (“*ultra high pressure liquid chromatography*”). Diferentes empresas têm apresentado várias soluções (em muitos casos adaptações nos cromatógrafos convencionais para operarem em pressões mais elevadas), com diferentes nomes. Uma alternativa a este enfoque é o uso de colunas monolíticas, nas quais ao invés de partículas a coluna contém um monolito. Como a permeabilidade destas colunas é bastante grande, fluxos (vazões) maiores são empregadas sem sacrifício da eficiência, permitindo análises rápidas (61,62). A oferta comercial de colunas monolíticas ainda é limitada, e os novos avanços nesta área deverão trazer novas propostas na próxima década.

### 6.4. Cromatografia multidimensional

Na sua forma mais simples e tradicional, a cromatografia multidimensional emprega duas colunas (GC, LC ou uma de LC e outra de GC) sendo a primeira usualmente uma coluna “genérica” (como OV-1 em GC e C-18 em LC) e a segunda uma coluna “seletiva” (ex. uma coluna quiral). A amostra é introduzida na primeira coluna e ao chegar o tempo de retenção do composto de interesse (exemplo, dois enantiômeros) a amostra é transferida da primeira para a segunda coluna através de uma válvula. Assim, a primeira coluna neste exemplo serve como “clean up” para a amostra, eliminando compostos que poderiam deteriorar a coluna quiral se fossem nela introduzidos. Este tipo de enfoque é muito empregado na análise de amostras complexas como resíduos e contaminantes em alimentos e de fármacos em fluidos biológicos<sup>63</sup>. Na área petroquímica tem sido empregado há anos para fracionar amostras complexas através do uso de duas ou mais colunas<sup>64</sup>.

Uma das limitações desta técnica é a transferência de apenas parte da amostra através da

válvula, o que vem sendo solucionado com o uso da cromatografia abrangente (“comprehensive”). Neste caso, usualmente emprega-se uma coluna de maior comprimento como a primeira coluna e uma mais rápida e menor como a segunda. O pico é amostrado várias vezes na primeira coluna e as frações são transferidas para a segunda coluna, através de um modulador (GC), ou válvula (LC) para uma análise rápida. Um software apropriado permite o tratamento dos dados e geração de gráficos bi e tri-dimensionais, possibilitando a obtenção de muitas informações a respeito da amostra, de interpretação. O acoplamento com espectrometria de massas é simples, e tem sido realizado com sucesso gerando sistemas do tipo (GCxGC)-MS; (LCxLC)-MS, (SFCxSFC)-MS e outros. Este enfoque é ainda recente, e bastante promissor para a análise de amostras complexas<sup>65-68</sup>.

## 7. Conclusões

A Complexidade Dos Problemas Analíticos A Serem Solucionados Nos Próximos Anos (Matrizes Mais Complexas, Compostos Em Concentrações Mais Baixas, Aumento Na Seletividade E Outros) Requer Ferramentas Cada Vez Mais Sofisticadas. Desde A Amostragem, Preparo Da Amostra, Isolamento Dos Solutos De Interesse Até O Processamento Dos Dados E Geração Dos Relatórios, Muitas Etapas São Neces- Sárias.

Uma das tendências atuais na área é a miniaturização de todas as etapas, objetivando a minimização (ou eliminação) do uso de solventes orgânicos no preparo de amostra (SPME, SBSE e outras), diminuição da quantidade de amostra, possibilitando análises menos evasivas em seres humanos e animais (HRGC, micro-LC, c-SFC), e o acoplamento a técnicas espectroscópicas as quais fornecem informações para a identificação dos compostos de interesse (LC/NMR, GC/MS/MS, LC-PDA, LC/MS/MS).

A integração “on-line” entre preparo de amostra, “clean up” e separação cromatográfica com um detector seletivo é a solução ideal, sempre que possível (ex: SPE-GC/MS), eliminando os vários inconvenientes existentes durante as etapas de transferência do analito em um método analítico complexo.

O uso de dispositivos micro-fabricados apresentou uma evolução importante nos últimos 10 anos, mas parece ainda bastante distante dos laboratórios analíticos de rotina. Tudo indica que na próxima década deverá ocupar um espaço maior dentro da instrumentação analítica, em especial na denominada bio-analítica. Enquanto isso, a minia- turização das técnicas de preparo de amostra (SPME, SBSE, LPMS e MEPS, dentre outras), das colunas cromatográficas, e dos detectores (ex. MS), particularmente se acoplados em linha (on-line), parece ser uma tendência na área a qual deverá demorar muitas décadas para ser totalmente substituída.

Na perspectiva do autor, o horizonte da análise química para as próximas décadas parece cada vez mais amplo e propício para os usuários das técnicas cromatográficas e afim.

## 8. Referências Bibliográficas

1. Lanças, F.M., *J.Braz. Chem. Soc.* 14,183(2003).
2. Poole, C. F.; Poole, S. K.; *Chromatography Today*, Elsevier: Amsterdam, 1995.
3. Sastre, J.; Vidal, M.; Rauret, G.; Sauras, T.; *Sci. Total Environ.* 2001, 264, 141.
4. Muntau, H.; Rehnert, A., Desaulles, A.; Wagner, G., Theocharopoulos, S.; Quevaullier, Ph.; *Sci. Total Environ.* 2001, 264, 27.
5. Theocharopoulos, S.; Wagner, G.; Sprengart, J.; Mohr, M., -E.; Desaulles, A.; Muntau, H.; Christou, M.; Quevaullier, P.; *Sci. Total Environ.* 2001, 264, 51.
6. Olivares, I., *Gestão da Qualidade em Laboratórios*, Editora Átomo, 2006.
7. Miyaguchi H, Tokeshi M, Kikutani Y, Hibara A, Inoue H, Kitamori T, *J. Chromatogr. A* 1129, 105 (2006).
8. Ooe K et. Alii., *J. Nucl. Radiochem. Sci.* 8,59 (2007).
9. Cai ZX, Fang Q, Chen HW, Fang ZL, *Anal. Chim. Acta* 18, 556 (2006).
10. Okuko Y. et alii, *Chem. Eng. Sci.* 63, 4070 (2008).
11. Lanças, F.M., “Extração em Fase Sólida”, Ed. Rima, 2005.
12. Baker AS, McDowell B, Charkhian B, Hsheh LC, *J. AOAC* 73, 22 (1990)
13. Long AR, Hsieh LC, Malbrough CR, Short CR, Barker SA *J. AOAC* 73, 860 (1990)
14. Boyd D, O’Keefe, Smyth MR, *Analyst* 119, 1467 (1994).
15. Boyd D, O’Keefe, Smyth MR, *Anal. Proc.* 32,301 (1995).
16. Anastasiades, M, Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Shenck, F.J., *J. AOC Int.* 86, 412 (2003).
17. Lanças, F. M.; Pereira, D. M.; *Energy Sources* 1999, 8, 74.

18. Lanças, F. M.; Queiroz, M. E. C.; Silva, I. C. E.; *Chromatographia* 1995, 40, 421.
19. Sargenti, S. R.; Lanças, F. M.; *J. Chromatogr.* 1994, 667, 213.
20. Lee, M.L.; Markides, K.E., *Analytical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, Chromatography Conferences, Inc.: Provo, Utah, 1990.*
21. Lanças, F. M.; Matta, M. R.; Hayasida, L. J.; Carrilho, E. C.; *J. High Resol. Chromatogr.* 1991, 14, 633.
22. Lanças, F. M., Martins, B. S., Matta, M. H. R.; *J. High Resol. Chromatogr.* 1990, 13, 838.
23. Lanças, F. M.; Rissato, S. R.; Mozeto, A. A.; *J. High Resol. Chromatogr.* 1996, 19, 564.
24. Lanças, F. M. In *Multidimensional Chromatographic Techniques*; Mondelli, L.; Bartle, K., eds., J. Wiley & Sons: New York, 2002, ch. 6.
25. Maraschini, M.; Sugui, J. A.; Wood, K. V.; Fontana, J. F.; Lanças, F. M.; *Biotechnol. Lett.* 2001, 23, 77.
26. Lanças, F. M.; Martinis, B. S.; *J. Environ. Sci. Health* 2000, B35, 539.
27. Lanças, F. M.; Rissato, S.; *J. Microcol. Sep.* 1998, 10, 473.
28. Lanças, F. M.; Barbirato, M. A.; Galhiane, M. S., Rissato, S. R.; *J. High Resol. Chromatogr.* 1997, 20, 369.
29. Sargenti, S. R.; Lanças, F. M.; *J. Microcol. Sep.* 1998, 10, 123.
30. Sargenti, S. R.; Lanças, F. M.; *J. Chromatogr. Sci.* 1998, 36, 169.
31. Lanças, F. M.; Barbirato, M. A.; Galhiane, M. S.; Rissato, S. R.; *Chromatographia* 1996, 42, 547.
32. Assis, L. M.; Lanças, F. M.; *J. Microcol. Sep.* 1999, 11, 501.
33. Lanças, F. M. In *Dekker Encyclopedia of Chromatography*; Cazes, J. , ed., Marcel Dekker: New York, 2000.
34. Pinto, J. S. S.; Lanças, F. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* 2001, 12, 192.
35. Pinto, J. S. S.; *Dissertação de Mestrado, Instituto de Química de São Carlos-Universidade de São Paulo, Brazil, 1998.*
36. Fitzpatrick, L. J.; Dean, J. R.; *J. Chromatogr. A* 2001, 918, 429.
37. Boselli, E.; Velazco, V.; Caboni, M. F.; Lercker, G.; *J. Chromatogr. A* 2001, 917, 239.
38. Shen, J., Shao, X., *anal. Bioanal. Chem.* 383, 1003 (2005).
39. D. Li, S. Wonjoon, O. Jaeryoung, Y. Fang., *Chin. J. Anal. Chem.* 34, 633 (2006).
40. Hawthorne, S. B; Yang, Y.; Miller, D. J.; *Anal. Chem.* 1994, 66, 2912.
41. Pawliszyn, J., *Solid Phase Microextraction. Theory and Practice, Wiley-VCH: New York, 1997.*
42. Oueiroz, M.E.C., Lanças, F.M., *LCGC North America* 22, 970 (2004).
43. Arthur, C.L., Pawliszyn, J., *Anal. Chem.* 62 (1990).
44. Pawliszyn, J., *Applications of Solid Phase Microextraction , RSC Chromatography Monographs: Cambridge, 1999.*
45. Rodrigues, J.C., Neto, A.J., Fernandes, C., Alves, C., Contadori, A.S., Lanças, F.M., *J. Chromatogr. A* 1105, 208 (2006).
46. Fernandes, C , Neto, A.J., Rodrigues, J.C, Alves, C., Lanças, F.M., *J. chromatogr.B* 847, 217 (2007).
47. Silva, B.J.G., Lanças, F.M., Queiroz, M.E.C., *J. Cromatogr.B* 862, 181(2008).
48. Baltussen, E.; Sandra, P.; David, F.; Cramers, C. A.; *J. Microcol. Sep.* 1999, 11, 737.
49. David, F, Tienpont, B. , Sandra, P., *LCGC North America*, 21, 108 (2003).
50. David, F., Sandra, P., *J. Chromatogr. A*, 1152, 54 (2007).
51. Lanças, F.M., Queiroz, M.E.C., Olivares, I., Grossi, P., *J. Sep. Sci.* "in press" (2008).
52. Bicchi, C., Iori, C., Rubiolo P., Sandra P., *J. Agric.Food. Chem.* 50,449 (2002).
53. Abdel-Rehim, M. J. *Chromatogr. B*, 801, 317 (2004).
54. Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K.E., *anal. Chem.* 71, 2650 (1999).
55. Oliveira, A.R.M., Magalhães, I.R.S., Santana, F.J.M., Bonato, P.S., *Quim. Nova* 31,637 (2008).
56. Lanças, F. M.; Ruggiero, M. A.; *J. Microcol. Sep.* 2000, 12, 61.
57. Lanças, F.M., *Cromatografia em Fase Gasosa, Acta Ed,* 1993.
58. Lanças, F.M., *Cromatografia Líquida Moderna, Editora Átomo,* 2008
59. Grossi, P., Olivares, I., Lanças, F.M., *J. Sep. Sci.* "in press" (2008).
60. Svec, F., Huber, CG, *Anal.Chem.* 78,2100 (2006).
61. Hilder, E.F., Svec, F., Fréchet, JMS, *J. Chromatogr. A.* 1053, 101 (2004).
62. Santos-Neto, AJ, Markides, KE, Sjoberg, PJR, Bergquist, J., Lanças, FM, *Anal. Chem.* 79,6359 (2007).
63. Santos-Neto AJ, Fernandes C, Rodrigues JC, Alves C, Lanças FM, *J. Sep. Sci.* 31,78 (2008).
64. Santos-Neto AJ, Rodrigues JC, Fernandes C, Titato GM, Alves C, Lanças FM, *J.Chromatogr.A* 1105, 71 (2006).
65. Mondello, L., Tranchida PQ, Stanek V., Jandera P, Dugo G, Dugo P, *J.Chromatogr. A* 1086,91 (2005).
66. Tranchida PQ, Donato P, Dugo P, Dugo G, Mondello, L., *Trends in Anal. Chem.* 26,191 (2007).
67. Marriott PJ, Kinghorn RM, *J. Chromatogr. A.* 866, 203 (2000).
68. Mühlen, C., Zini, CA, Caramão EB, Marriott PJ, *Quim. Nova,* 30,682 (2007).

# Calendário Geral

Este departamento tem como objetivo divulgar eventos da área de Cromatografia e Técnicas Relacionadas, tanto no Brasil quanto em outros países.

## 2008

### Outubro

Evento: **COLACRO XII & SIMCRO 2008**  
Data: 28 – 30  
Local: Centro de Convenções de Florianópolis, SC.  
Informações: [info@colacro.org](mailto:info@colacro.org); [www.colacro.org](http://www.colacro.org)

### Novembro

Evento: **III Seminário sobre Contaminantes em Alimentos**  
Data: 13, 14  
Local: Itai, Campinas  
Informações: [eventos@ital.sp.gov.br](mailto:eventos@ital.sp.gov.br)

Evento: **25th Montreaux Symposium**  
Data: 12-14  
Local: Montreaux, Switzerland  
Informações: <http://www.iaec.ch/lcms-montreaux.html>

Evento: **8th Asia-Pacific International Symposium on Microscale Separations and Analysis**  
Data: 2-5  
Local: Kaohsiung, Taiwan  
Informações: <http://www.tl.ntu.edu.tw/apce2008/>

## Dezembro

Evento: **33rd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separation and Related Techniques (HPLC 2008)**  
Data: 2-5  
Local: Kyoto, Japan  
Informações: <http://anchem.mc.kyoto-u.ac.jp/hplc2008kyoto/index.html>

Evento: **I Encontro Nacional de Química Forense**  
Data: 10-13  
Local: FFCLRP-USP, Ribeirão Preto (SP)  
Informações: <http://sites.ffclrp.usp.br/enqfor/>

Evento: **I Encontro Brasileiro sobre Especialização Química**  
Data: 14-17  
Local: São Pedro, SP  
Informações: <http://www.espeqbrasil.iqm.unicamp.br/apresentacao.html>

## 2009

### Janeiro

Evento: **Arab Lab, Expo 2009**  
Data: 10-13  
Local: Dubai, United Arab Emirates  
Informações: <http://www.arablab.com/>

Evento: **IFPAC-09 Annual Meeting**  
Data: 25-28  
Local: Baltimore, MD, USA  
Informações: <http://www.ifpac.com/>

Evento: **22<sup>nd</sup> Conference of the Australian & New Zealand Society for Mass Spectrometry ( ANZSMS 22)**  
Data: 27-30  
Local: Sidney, Australia  
Informações: <http://www.mmb.usyd.edu.au/ANZSMS22/>

## Fevereiro

Evento: **3ª. Escola de Química Verde**  
Data: 1-6  
Local: Instituto de Química, USP (São Paulo)  
Informações: [www.usp.br/quimicaverde](http://www.usp.br/quimicaverde)

Evento: **23rd. International Symposium on Microscale Bioseparations**  
Data: 1-5  
Local: San Francisco, CA, USA  
Informações: <http://www.casss.org/>

## Março

Evento: **60<sup>th</sup> Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy ( Pittcon 2009)**  
Data: 8-13  
Local: Chicago, IL, USA

## Abril

Evento: **2º. Simpósio Nacional sobre Biocombustível**  
Data: 16 e 17  
Local: UFPE, Recife  
Informações: <http://www.abq.org.br/biocom/>

## Maió:

Evento: **XXXVIII Reunião Anual da SBBq**  
Data: 16 a 19  
Local: Hotel Monte Real Resort, Águas de Lindóia (SP)  
Informações: <http://www.sbbq.org.br/v2/>

Evento: **33rd International Symposium on Capillary Chromatography & Electrophoresis**  
Data: 17-23  
Local: Portland, OR, USA  
Informações: <http://www.casss.org/>

## Junho

Evento: **57th ASMS Conference on Mass Spectrometry**  
Data: 31, Maio – 4 Junho  
Local: Philadelphia, PA  
Informações: <http://www.asms.org/>

## Agosto

Evento: **Ninth International Symposium on Mass Spectrometry in the Health and Life Sciences: Molecular and Cellular Proteomics**  
Data: 23-27  
Local: San Francisco, CA, USA  
Informações: <http://donatello.ucsf.edu/symposium/>

Evento: **18th International Mass Spectrometry Conference**  
Data: 30 Agosto – 4 Setembro  
Local: Bremen, Germany  
Informações: <http://www.imsc-bremen-2009.de/>

## Setembro

Evento: **6<sup>th</sup>. Symposium on the Practical Applications of Mass Spectrometry (Mass Spec 2009)**  
Data: 15-17  
Local: Philadelphia, USA  
Informações: <http://www.casss.org/>

Evento: **32<sup>nd</sup>. International Ion Chromatography Symposium**  
Data: 19-23  
Local: Malahide, Ireland  
Informações: <http://www.casss.org/>



2010

Evento: **XIII COLACRO**  
Local: **Chile**  
Informações: [www.colacro.org](http://www.colacro.org)

Evento: **Simpósio Brasileiro de Cromatografia e  
Técnicas Afim (SIMCRO 2010)**  
Informações: [www.simcro.org](http://www.simcro.org); [info@simcro.org](mailto:info@simcro.org)





# Instituto Internacional de Cromatografia

O Instituto Internacional de Cromatografia (IIC) é parte da Associação Internacional de Cromatografia, entidade de direito privado, sem fins lucrativos.

Entre outros eventos, o IIC apresenta cursos de aprimoramento/formação/atualização dos usuários das técnicas cromatográficas e afins (preparo de amostras, espectrometria de massa, gestão da qualidade, dentre outras), tanto do ponto de vista teórico quanto prático. Em vez de apenas ensinar como operar um equipamento específico (dar o peixe) o IIC ensina a técnica (ensina a pescar).

Os cursos são ministrados pelos coordenadores, auxiliados por uma equipe técnica e científica altamente qualificada, constituída de docentes pós-graduados, nos melhores centros do país na área, e pós-graduandos. Na época em que cada curso for oferecido, uma relação dos instrutores será disponibilizada no website do IIC.

Conheça um pouco mais sobre o IIC: [www.iicweb.org](http://www.iicweb.org)

## Calendário IIC - 2009

### Fevereiro

---

#### **Gestão de Qualidade**

Teoria – 2 dias.

#### **Validação de Métodos Cromatográficas**

Teoria – 2 dias.

### Março

---

#### **Cromatografia Gasosa Básica**

Teoria e Prática – 3 dias.

#### **Cromatografia Gasosa Moderna**

Teoria e Prática – 3 dias.

## Abril

---

### **Cromatografia Líquida Básica**

Teoria e Prática – 3 dias.

### **Cromatografia Líquida Moderna**

Teoria e Prática – 3 dias.

## Maio

---

### **Avanços Recentes e Tendências Futuras em HPLC**

Teoria – 2 dias.

### **Avanços Recentes e Tendências Futuras em GC**

Teoria – 2 dias.

## Junho

---

### **Recentes Tendências na Análise de Fármacos de uso Humano e Veterinário em Fluidos Biológicos e Tecidos**

Teoria e Prática – 3 dias.

### **Análise Cromatográfica de Biodiesel: ANP 42, ABNT e outros**

Teoria e Prática – 2 dias.

## Agosto

---

### **Acoplamento entre Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (GC/MS).**

Teoria e Prática – 3 dias.

### **Acoplamento entre Cromatografia Líquida e Espectrometria de Massas: LC/MS e LC/MS/MS**

Teoria e Prática – 3 dias.

## Setembro

---

### **O Sistema ISO 17025**

2 dias

### **Boas Práticas de Laboratório (BPL)**

2 dias.

### **Emprego das Ferramentas de Informática no Laboratório de Química**

1 dia.

## Outubro

---

**Espectrometria de Massas. Fundamentos, Instrumentação e Aplicações**  
Teoria e Prática – 3 dias.

**Técnicas Modernas de Preparo de Amostra**  
Teoria e Prática – 3 dias.

## Novembro

---

**Gestão de Qualidade**  
2 dias.

**Validação de Métodos Cromatográficas**  
2 dias.

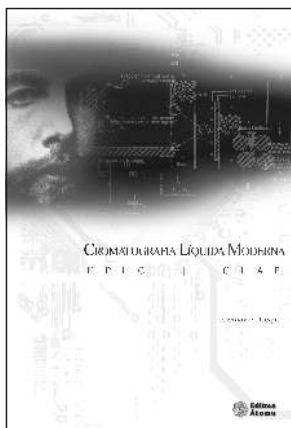
**Qualificação de Instrumentos Analíticos (AIQ) e  
Validação de Sistemas Computadorizados**  
1 dia.



# Bookstore

O *Bookstore* divulgará o material de informação e formação, incluindo livros, filmes, slides, material didático de cursos e outras formas de divulgação da área. Alguns desses materiais poderão ser adquiridos no IIC pelo website [www.iicweb.or/bookstore](http://www.iicweb.or/bookstore).

## LANÇAMENTO



### Cromatografia Líquida Moderna

*Fernando M. Lanças*

O livro em publicação pela Editora Átomo, a ser disponibilizado ao público em janeiro de 2009, aborda de forma simples e didática, os principais assuntos relacionados à Cromatografia Líquida Moderna (HPLC ou CLAE), desde a Teoria, Instrumentação, Colunas, Detectores, até aspectos da Validação, Preparo da Amostra e Análise Quantitativa.

O IIC recomenda este livro para todos os interessados em iniciar-se ou atualizar-se nesta técnica.

[www.atomoalinea.com.br](http://www.atomoalinea.com.br)