

Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente



Carin von Mühlen

Centro Universitário Feevale
Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas
Novo Hamburgo (RS)
Brasil
carin@feevale.br

Resumo

Quando uma amostra apresenta elevada complexidade e um grande número de isômeros, a identificação dos compostos presentes com base no tempo de retenção dos picos e nos espectros de massas obtidos gera muitas dúvidas ao analista, podendo ocorrer erros de identificação. A única maneira de confirmar a identificação de cada composto é a coinjeção de padrões autênticos, o que, muitas vezes, é economicamente e temporalmente inviável. Os índices de retenção são ferramentas importantes para minimizar os erros de identificação de compostos na cromatografia convencional. A introdução da cromatografia gasosa bidimensional abrangente na análise de amostras complexas foi um passo decisivo para aumentar a capacidade analítica das técnicas cromatográficas. Para muitas amostras, o aumento da resolução cromatográfica permitiu dobrar ou triplicar o número de picos identificados pela cromatografia gasosa convencional. Entretanto, a possibilidade de identificação correta dos compostos continua apresentando limitações, o que torna o uso de índices de retenção extremamente importante para essa técnica. No presente trabalho, serão abordadas as alternativas apresentadas na literatura para a utilização de índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente.

Palavras-chave

cromatografia gasosa bidimensional abrangente, LTPRI, RI, índice de retenção, Índice de Kovats.

Abstract

The identification of samples with elevated complexity and several isomers based on peaks retention times and mass spectra generates uncertainty to the analyst, occurring identification mistakes. The only way to confirm the identification of each compound is based on authentic standard co-injection, which in several cases is economically and temporally unachievable. Retention indexes are important tools to minimize misidentification of compounds in conventional chromatography. The introduction of comprehensive two-dimensional gas chromatography to analyze complex samples was a decisive step to increase the analytical capacity of chromatographic techniques. To several samples, the chromatographic resolution

Keywords

Comprehensive two-dimensional gas chromatography, LTPRI, RI, retention index, Kovats index.

increase was responsible to double or to triplicate the number of identified peaks comparing to conventional gas chromatographic analysis. On the other hand, there still limitations to the correct peak identification, which makes the use of retention index extremely important to this technique. In the present work, alternatives to use retention index in comprehensive two-dimensional gas chromatography will be discussed, based on a literature overview.

1. Introdução

O número de formas isoméricas e variabilidade de classes químicas presentes em amostras complexas, tais como óleos essenciais, torna a separação dos compostos por cromatografia gasosa convencional (1D-GC) muitas vezes inatingível. Somado a isso, a identificação baseada em similaridades de espectros de massas obtidos experimentalmente com uma biblioteca não pode ser realizada sem dúvidas quando os espectros obtidos são extremamente semelhantes entre os isômeros presentes em uma amostra¹. Devido à presença de estruturas similares, homogeneidade heteroatômica e graus de saturação similares, o uso de índices de retenção, (RI) como ferramentas auxiliares na identificação de compostos, é bastante usual, especialmente no campo de óleos essenciais¹⁻³ e toxicologia forense⁴ na busca por identificação de desconhecidos totais. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) tem sido amplamente empregada na análise de óleos essenciais, na busca de maiores resoluções entre os picos do que as obtidas em cromatografia convencional⁵⁻⁸. Esse aumento de resolução foi teoricamente previsto pela teoria de sobreposição estatística (*statistical-overlap theory*, SOT), e demonstrado por Davis e Samuel⁹. O princípio da GC×GC¹⁰⁻¹³ envolve uma coluna cromatográfica de dimensões convencionais acoplada a um modulador, onde o eluente da primeira dimensão é aprisionado e fracionado em pequenas porções, e está direcionado a uma segunda coluna cromatográfica. Essa segunda coluna (chamada de segunda dimensão) é uma coluna curta de cerca de 1 metro de comprimento, onde a separação cromatográfica ocorre rapidamente (escala de segundos), para que a coluna possa receber a próxima fração eluída. Nesse sistema, a capacidade de picos da coluna da primeira dimensão é multiplicada pela capacidade de picos da coluna da segunda dimensão, o que resulta na possibilidade de atingir resoluções significativamente maiores do que com um sistema monodimensional convencional. Somado a

isso, vários trabalhos apresentados na literatura tem demonstrado a retenção altamente estruturada em GC×GC¹⁴, gerando separações claras de diferentes classes químicas em amostras petroquímicas¹², e tempos de retenção na segunda dimensão extremamente reproduzíveis, dependendo do sistema utilizado, mesmo com métodos de injeção de amostra manuais¹⁴. Se o sistema cromatográfico for realmente ortogonal, a separação em cada dimensão pode ser tratada como independente, tendo apenas como pontos comuns o fato da temperatura de eluição na primeira dimensão ser a mesma temperatura de eluição isotérmica na segunda dimensão, e as vazões do gás de arraste nas duas dimensões estarem relacionadas¹⁴. Com isso, a posição de um pico no espaço de separação será definido como duas ordenadas separadas, podendo-se, conseqüentemente, considerar índices de retenção independentes nas duas dimensões¹⁴.

A informação analítica já acumulada ao longo da história em diversas bases de dados de índices de retenção existentes para a 1D-GC^{2,15} não pode ser simplesmente ignorada na GC×GC. Essa afirmação é acompanhada por um número significativo de publicações reportando diversos estudos associando a aplicação de índices de retenção com informações de GC×GC^{6,8,14,16-23}. Conforme será discutido no presente manuscrito, o emprego direto dos índices de retenção tradicionais em GC×GC pode ser realizado, apesar de apresentar algumas limitações. Outras alternativas estão sendo estudadas na literatura para aumentar a potencialidade do uso dessa ferramenta nas duas dimensões.

2. Índices de Retenção

Os índices de retenção mais utilizados são conhecidos como índices de Kovats e índices de retenção com programação linear de temperatura (*Linear Temperature Programmed Retention Indexes*, LTPRI).

O Índice de Kovats (KI)²⁴ foi introduzido em 1958 para ser utilizado em separações isotérmicas, e pode ser calculado empregando-se a equação 1:

$$KI = 100n + 100 \left(\frac{\log t'_{R(i)} - \log t'_{R(n)}}{\log t'_{R(n+1)} - \log t'_{R(n)}} \right) \quad (\text{eq.1})$$

Onde t'_R é o tempo de retenção ajustado (tempo de retenção do pico menos o tempo de eluição do pico de um composto não retido pela coluna cromatográfica).

i – analito

n – número de carbonos do padrão adjacente menos retido, e $n + 1$ é o número de carbonos do padrão adjacente mais retido.

A série de padrões de referência utilizados na primeira dimensão pode ser de alcanos, ésteres metílicos de ácidos graxos, álcoois ou outra série homóloga de interesse, dependendo da natureza da fase estacionária e dos analitos de interesse.

O LTPRI, como o nome descreve, é utilizado quando a corrida cromatográfica é realizada com programação linear de temperatura. Esse índice foi apresentado pela primeira vez por Van Den Dool e Kratz em 1963²⁵, e, por esse motivo, também é conhecido por índice de Van Den Dool e Kratz (eq. 2):

$$LTPRI = 100n + 100 \frac{t_{R(i)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}} \quad (\text{eq.2})$$

As diferenças entre as equações empregadas para o KI e o LTPRI estão na retirada da escala logarítmica e dos tempos de retenção ajustados no LTPRI.

Como exemplo de aplicação desses índices, para se determinar o índice de retenção do composto A no cromatograma ilustrado na **Figura 1**, uma mistura de n-alcanos de C8 a C22 foi adicionada à amostra, antes da análise por GC-FID (cromatógrafo gasoso com detector de ionização em chama). O pico do composto de interesse está assinalado com a letra A. Os tempos de retenção dos compostos próximos ao pico de interesse estão listados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Tempos de retenção dos picos da região de interesse no cromatograma da Figura 1.

Pico	t_R (s)
C 16	925
C 17	1135
C 18	1370
A	1005

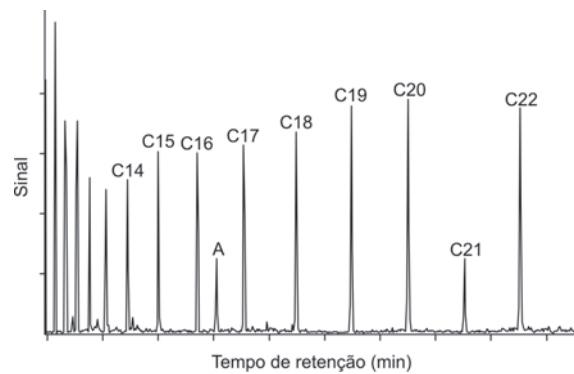


Figura 1. Cromatograma de uma amostra contendo o composto A fortificada com uma série homóloga de n-alcanos.

Como a análise foi realizada com programação linear de temperatura, o índice de retenção foi calculado com base na equação 2, atribuindo-se para n o valor 16 e para $n+1$, 17. Para $t_{R(i)}$, foi utilizado o tempo de retenção do pico A. O LTPRI obtido foi 1.638. Esse valor de índice de retenção pode ser comparado com índices de retenção tabelados. Quando a série homóloga utilizada é de n-alcanos, o valor de LTPRI 1.638 já explicita que o composto está eluindo entre C16 e C17, pelo valor 1.600, e os algarismos 38 indicam que o composto eluiu mais próximo do C16 do que do C17, em uma escala de 0 a 99.

3. Comparação direta dos índices de retenção monodimensionais

As primeiras tentativas de relacionar os índices de retenção monodimensionais com GC×GC em análises de óleos essenciais tiveram por base a comparação direta entre os índices de Van Den Dool e Kratz obtidos na primeira dimensão em uma separação GC×GC com aqueles obtidos nas separações 1D⁶. Essa estratégia foi adotada para extratos de Ginseng (Panax), usando o mesmo tipo de coluna e condições cromatográficas similares na primeira dimensão do sistema GC×GC e no sistema monodimensional. Nesse experimento, 13 compostos apresentaram índices de retenção comparáveis com uma base de dados 1D, usando-se uma janela de 7 unidades de RI para mais ou para menos. Entretanto, esse trabalho não apresentou coinjeção com padrões analíticos para confirmar a identidade dos compostos estudados.

Shellie and Marriott⁶ utilizaram a mesma abordagem como ferramenta auxiliar na identificação tentativa de 65 compostos em óleo essencial de gerânio (*Pelargonium graveolens*), entretanto, esse mesmo grupo de pesquisa desenvolveu posteriormente outras estratégias para a utilização de índices de retenção em GC×GC, que serão apresentadas nos próximos capítulos.

Von Muhlen *et al.*⁸ apresentaram o uso de referências de bases de dados ID combinadas com experimentos de índices de retenção usando GC×GC/TOFMS e uma série homóloga de n-alcenos como referência. Nesse trabalho, foi realizada uma co-injeção de n-alcenos com a amostra, e os valores de LTPRI foram calculados com base nos tempos de retenção dos máximos dos picos, sem subtração do tempo de retenção da segunda dimensão. Um gráfico foi construído colocando-se os índices obtidos para 30 padrões de compostos voláteis versus os índices apresentados na literatura para ID, obtendo-se uma relação linear. Essa estratégia foi adotada como ferramenta de apoio na identificação de compostos voláteis em amostras de óleo essencial de folhas de eucalipto (*E. dunnii*), juntamente com os valores de tempo de retenção na segunda dimensão.

4. Índices de retenção na segunda dimensão

Beens *et al.*¹⁶ utilizaram o LTPRI para as separações na primeira dimensão conforme os outros autores, porém consideraram as separações na segunda dimensão como diversas corridas isotérmicas rápidas, usando, portanto, os índices de Kovats na segunda dimensão. O primeiro paradigma dessa abordagem foi obter referências de retenção na segunda dimensão, uma vez que as separações são isotérmicas em um intervalo de tempo discreto em relação à primeira dimensão, o que impossibilita a utilização dos mesmos picos como referência. A principal dificuldade para a obtenção direta dos índices de retenção de Kovats para a separação na segunda dimensão é a obtenção das referências de retenção com séries homólogas de compostos padrão, em diferentes temperaturas, já que na primeira dimensão são utilizadas rampas de temperatura

programada. Para obter esses índices, Beens *et al.*¹⁶ injetaram n-alcenos continuamente no sistema, usando um injetor com programação de temperatura (PTV) em uma temperatura baixa, para que a liberação dos compostos na coluna cromatográfica fosse lenta e contínua. Por essa abordagem, foi possível obter várias retenções isovoláteis na segunda dimensão e construir curvas de isovolatilidade entre C9 e C13, conforme ilustrado na Figura 2.

Dessa maneira, se um pico estivesse localizado na posição P ilustrada na Figura 2, os alcenos C7 e C8 (n-heptano e n-octano) poderiam ser utilizados como referência de retenção na temperatura de eluição do composto, ou seja, utilizando os tempos de retenção da segunda dimensão obtidos quando o tempo de retenção da primeira dimensão das referências fosse igual ao tempo de retenção da primeira dimensão do composto P. Assim, os três picos teriam 18,3 min como tempo de retenção na primeira dimensão, e os tempos de retenção da segunda dimensão seriam, respectivamente, 0,73s, 1,20s e 1,9s para a referência C7, o composto P e a referência C8. Entretanto, para o cálculo do índice de Kovats é necessário o tempo morto. Para a obtenção do tempo morto Beens *et al.*¹⁶ apresentaram três estratégias. A primeira estratégia foi a utilização o cálculo da pressão de vapor dos n-alcenos a diferentes temperaturas para se chegar aos fatores de retenção, uma vez que estes diminuem com o aumento da temperatura. Foi então construído um gráfico relacionando fatores de retenção com a temperatura e, por extrapolação, chegou-se ao valor do tempo morto de 0,5s. A segunda estratégia foi a extrapolação das curvas isovoláteis experimentalmente obtidas (Figura 2), chegando-se ao valor de 0,44s. Na terceira estratégia, o gás de arraste foi contaminado com uma pequena quantidade de metano. Na época, os autores estavam utilizando o modulador térmico de varredura, que não possui sistema criogênico, portanto, não era capaz de modular metano, bem como nenhum dos moduladores existentes atualmente. Entretanto, os autores observaram uma pequena variação na intensidade do pico, suficiente para determinar-se o tempo morto de 0,66s. Independentemente da estratégia adotada, foi possível obter todas as informações necessárias para o cálculo de índices de Kovats na segunda dimensão.

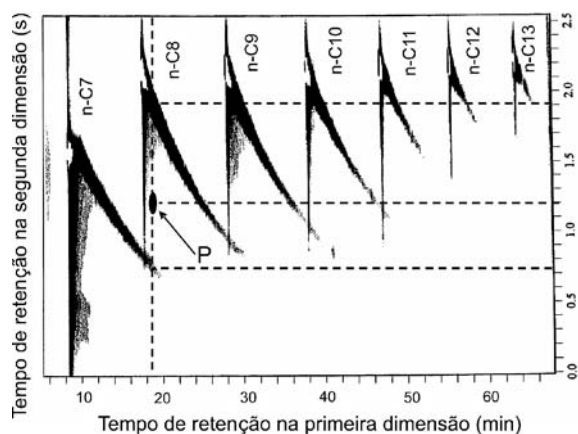


Figura 2. Linhas de isovolatilidade obtidas por injeção contínua de n-alcenos, e um pico de um composto hipotético P. Modificada de Beens *et al*¹⁶.

Com esse trabalho, foram apresentados, pela primeira vez, resultados teóricos e experimentais para prever a posição de picos na primeira e na segunda dimensão em GC×GC, além da obtenção dos índices de retenção nas duas dimensões. Entretanto, como pode ser observado na Figura 2, apenas uma fração do espaço de separação apresentou picos de referência, de tal forma que a faixa de compostos que eluem na segunda dimensão entre os compostos de referência ficaria muito estreita, limitando a aplicação a compostos que estejam dentro dessa faixa. De fato, essa estratégia foi aplicada apenas para uma mistura de 12 n-alcenos.

Vendeuvre *et al*¹⁷ aplicaram uma metodologia similar como referência para identificar hidrocarbonetos em uma amostra mais complexa: querosene. Uma das conclusões apresentadas foi que a precisão nessa metodologia não foi satisfatória para identificação de compostos individuais em amostras complexas, uma vez que isômeros de uma banda contínua apresentam índices de retenção muito próximos, levando a identificações incorretas utilizando apenas os índices na primeira e na segunda dimensão como referência.

Várias estratégias foram desenvolvidas posteriormente por diversos autores^{14, 20, 23, 26}, usando os princípios apresentados por Bees *et al*¹⁶. Western e Marriott¹⁴ utilizaram injeções repetitivas, em intervalos de tempo constantes de misturas de padrões de referência, usando injetores *split/splitless* convencionais. Essa estratégia permitiu um melhor

uso do espaço de separação, para que uma faixa maior de compostos fosse englobada nessa região. Para prever o tempo morto na segunda dimensão para o cálculo do RI, também foi discutido o uso da extrapolação das curvas isovoláteis, relacionando-se o logaritmo do tempo de retenção ajustado da segunda dimensão elevado ao quadrado, versus o número de carbonos. Essa extrapolação resultou em uma relação linear, de onde foi possível estimar um tempo de retenção na segunda dimensão para um composto sem carbonos (C0), ou seja, o tempo morto na segunda dimensão. As curvas isovoláteis foram obtidas com misturas de n-alcenos (C12 à C22), usando fluxo de gás constante. Outras séries homólogas foram utilizadas para aumentar a faixa de retenção na segunda dimensão, tais como 2-metilcetonas (C11 à C19) e ésteres metílicos de ácidos graxos (*fatty acid methyl esters*, FAME) saturados na faixa de C14 à C20. Os mesmos autores apresentaram em 2003²⁶ melhorias nesse procedimento, usando séries homólogas de compostos ainda mais polares, tais como ácidos carboxílicos e álcoois. Além disso, para expandir a faixa de retenção na segunda dimensão, foram realizadas extrapolações matemáticas das curvas experimentalmente obtidas, com resultados promissores. Uma das limitações apresentadas pelos autores para as injeções sequenciais foi a presença dos picos de solvente ao longo de todo o cromatograma, que coeluíam com picos importantes.

Zhu *et al*²⁰ utilizaram a mesma estratégia adotada por Western e Marriott^{14, 26}, porém com o uso de pressão constante ao invés de fluxo constante. A pressão constante foi escolhida porque é comumente adotada para colunas mais longas, devido à limitação dos sistemas em manter pressões mais altas no injetor a fim de regular o fluxo constante. Com a pressão constante, o tempo morto não será o mesmo para todas as temperaturas. Por essa razão, os autores apresentaram uma equação matemática para calcular o tempo morto na segunda dimensão, tendo por base os valores de pressão, temperatura, viscosidade da fase móvel e dimensões das colunas. Também sugeriram a conversão matemática de índices de retenção obtidos por GC×GC em diferentes temperaturas de coluna, apresentando precisões na faixa de uma unidade de índice de retenção. Essa estratégia foi aplicada a uma amostra de óleo essencial de cigarro, e para caracterizar compostos voláteis em uma amostra de licor chinês Moutai²¹. A

segunda aplicação foi realizada com dois conjuntos distintos de colunas, entretanto, os índices de retenção obtidos não foram apresentados na tabela de picos experimental.

Pang *at al*²³ usaram n-alcenos e FAME saturados como séries homólogas para gerar curvas isovoláteis expandidas com um conjunto de colunas apolar x polar. Nesse trabalho, foi utilizado o método de injeção contínua apresentado por Western e Marriott¹⁴, usando pressão constante de gás de arraste e os cálculos de tempo morto na segunda dimensão apresentados por Zhu *at al*²⁰. Essa metodologia foi aplicada para voláteis desconhecidos em extratos de folhas de tabaco usando sistemas GC×GC-FID.

Buscando superar as limitações oriundas da presença de picos de solventes no cromatograma, Bieri e Marriott¹⁹ propuseram o uso de Microextração em Fase Sólida (*Solid-Phase Micro Extraction*, SPME) para realizar a introdução sequencial dos padrões no sistema cromatográfico livre de picos de solvente. Somado a isso, os autores modificaram o sistema GC×GC para dividir o eluente da primeira coluna entre duas colunas distintas na segunda dimensão, para aumentar as possibilidades de identificação com base nas informações de retenção. Uma coluna polar foi usada na primeira dimensão (SolGel-Wax), com uma série homóloga de n-álcoois

(C6-C20, C22) para o cálculo de LTPRI, e na segunda dimensão foi usada uma coluna apolar (BPX5) e outra de média polaridade (BP10), com n-alcenos (C9-C20) como referência para os cálculos de KI. Um cromatograma gerado dessa forma está ilustrado na **Figura 3**.

Uma mistura contendo 25 padrões de fragrâncias foi utilizada como mistura teste, entre as curvas isovoláteis obtidas, conforme ilustra um dos cromatogramas com as curvas isovoláteis na **Figura 4**.

Apesar desse método apresentar uma faixa estendida de aplicação devido ao uso de duas colunas na segunda dimensão e injeção livre de solventes, foram discutidas as mesmas limitações apresentadas previamente: alguns compostos da mistura eluíram fora das regiões das curvas isovoláteis, além disso, picos fora de ciclo não puderam ser determinados.

Com base nisso, outra estratégia foi desenvolvida: o espaço de separação foi expandido além do período de modulação, rodando múltiplas análises com rampas de temperatura extremamente rápidas, seguidas de patamares isotérmicos. Com essa estratégia, os tempos de retenção da segunda dimensão foram extrapolados para séries homólogas subsequentes, além dos valores que a injeção dessas séries poderia atingir com alguma precisão. Mesmo usando períodos de modulação de 5s, foi possível

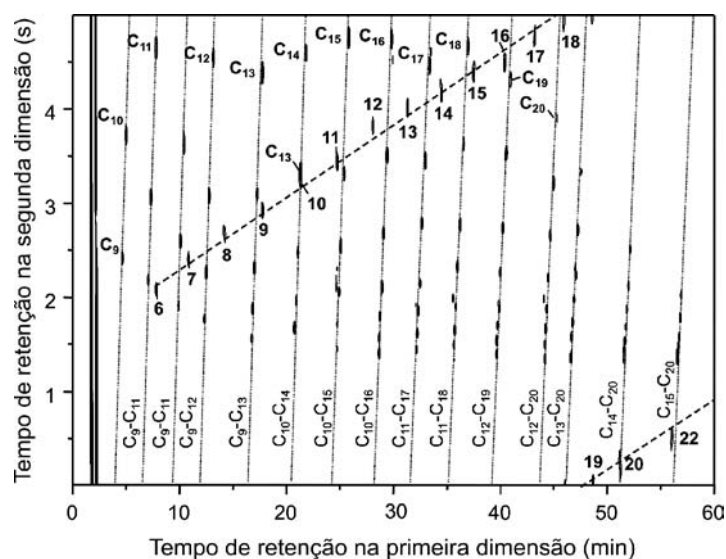


Figura 3. Diagrama de contorno gerado para a injeção sequencial de n-alcenos (linhas cheias) e alcoóis (linhas pontilhadas) usando uma coluna polar na primeira dimensão e uma coluna apolar na segunda dimensão. Cópia autorizada de Bieri e Marriott¹⁹.

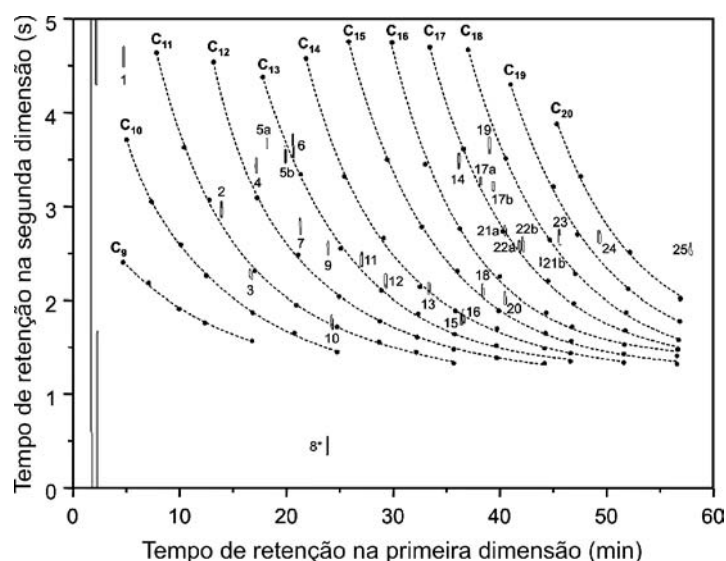


Figura 4. Curvas isovoláteis obtidas com base no cromatograma apresentado na Figura 3, para uma amostra de alergênicos, cópia autorizada de Bieri e Marriott¹⁹.

obter experimentalmente curvas isovoláteis com tempos de retenção de até 11s, permitindo a interpolação de picos fora de ciclo. Para a primeira dimensão, foi utilizado o cálculo do LTPRI já mencionado anteriormente. A comparação entre valores de LTPRI calculados, usando apenas uma coluna 1D e com a coluna 2D acoplada, demonstrou desvios de até 14 unidades de LTPRI. Os autores destacaram que a precisão dos índices obtidos dessa forma é menor do que a obtida com índices de retenção monodimensionais, devido à pobre retenção dos compostos na segunda dimensão, o que resulta em um espaço de separação pequeno entre os alcanos de referência consecutivos, dificultando a interpolação da retenção dos compostos de interesse.

Por essa razão, Bieri e Marriott²⁷ propuseram um sistema duplo de injeção para introduzir os alcanos diretamente na segunda dimensão, usando um segundo injetor no cromatógrafo e uma lacuna de retenção até o modulador, onde uma peça em Y foi utilizada para unir a primeira dimensão com a lacuna de retenção, e distribuir os eluentes entre duas colunas. Uma das colunas passou pelo modulador para gerar o sinal dos picos modulados. A outra coluna foi conectada diretamente a um segundo detector, para gerar os índices de retenção da primeira dimensão independentes da segunda dimensão, conforme ilustrado na Figura 5.

Com esse sistema, os valores de LTPRI obtidos na primeira dimensão após o tubo oco para diferentes condições de temperatura e conjuntos de colunas apresentaram variações inferiores do que uma unidade de RI, porém, quando foram medidos após a coluna da segunda dimensão, foram obtidas variações de até 17 unidades de índice.

Para a segunda dimensão, foi realizada uma injeção de alcanos no primeiro injetor, e injeções sucessivas no segundo injetor sem solvente, através de um sistema de SPME (microextração em fase

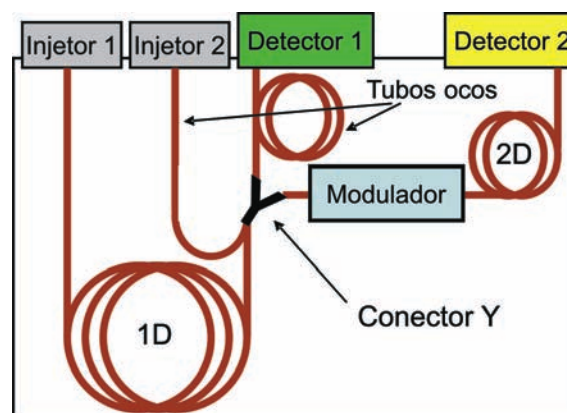


Figura 5. Sistema GCxGC alterado para obter índices de retenção independentes na primeira e na segunda dimensões proposto por Bieri e Marriott²⁷.

sólida). Como o segundo injetor está quase que diretamente conectado no modulador, os analitos foram introduzidos na segunda dimensão quase que imediatamente. Com esse sistema, foi possível obter mais compostos de referência em cada região, permitindo extrapolar o tempo de retenção para as referências que não estavam presentes, e cobrir grande parte do espaço de separação. Essa estratégia aumentou a área coberta com referências, porém, os compostos que eluíram antes do alcano menos retido na segunda dimensão, nesse caso C11, não apresentaram referências na região. Essa região poderia ser coberta com o uso de moduladores criogênicos que utilizam nitrogênio líquido, pois alguns modelos comercialmente disponíveis chegam a modular butano. Dessa forma, a região poderia ser estendida até C4, o que ampliaria a zona com referências para compostos menos retidos na segunda dimensão.

Seeley e Seeley²² propuseram um modelo matemático para prever tempos de retenção em GC×GC com base em índices de retenção 1D. De acordo com os autores, esse modelo apresentou resultados ligeiramente menos precisos (precisão do tempo de retenção relativo na segunda dimensão de 10%) do que os modelos anteriores (5%¹⁶, 10%¹⁷ e 2%¹⁸). Entretanto, com esse modelo foi possível prever os tempos de retenção relativos na segunda dimensão sem as curvas isovoláteis. O modelo foi testado para 139 compostos voláteis, apresentando resultados consistentes. Nesse trabalho, não foram apresentados resultados de teste desse modelo para amostras reais. Recentemente, Seeley *et al*²⁸ utilizaram um outro modelo usando parâmetros de solvatação e informações físico-químicas sobre os compostos e características das colunas cromatográficas, como o modelo utilizado por Arey *et al*²⁹ para prever a posição de hidrocarbonetos no espaço de separação em GC×GC. Entretanto, Seeley *et al*²⁸ utilizaram este modelo para prever índices de retenção para os compostos na primeira e na segunda dimensão. O modelo foi testado para 54 compostos em 4 combinações diferentes de fases estacionárias. Os desvios entre a posição calculada dos picos e o tempo de retenção experimental ficaram na ordem de 1% para a primeira dimensão e 5% para a segunda dimensão. Os autores apresentaram como principais limitações do modelo, a existência de poucos dados tabelados sobre os compostos químicos, o que limita muito a faixa de aplicação para diversos compostos, além do modelo não levar totalmente em consideração as mudanças na ordem de retenção em função da temperatura.

5. Conclusões

Os estudos apresentados demonstraram algumas opções e direções para o uso de índices de retenção como ferramenta no auxílio da identificação de picos, associando-se as informações obtidas na primeira e na segunda dimensão em separações cromatográficas realizadas por GC×GC. As alternativas apresentadas até o momento traçam diferentes possibilidades com maiores intervenções matemáticas ou analíticas, dependendo da estratégia adotada. O modelo de retenção com base nos parâmetros de solvatação e nas propriedades dos analitos pode vir a ser uma ferramenta muito importante para a construção de bases de dados e softwares para a identificação de compostos. Por outro lado, a obtenção de curvas de isovolatilidade é, hoje, a ferramenta que permite associar as informações já existentes em bases monodimensionais, com as retenções obtidas nas duas dimensões em GC×GC, com relativa exatidão analítica. Uma alternativa mais simplista e rápida é a comparação direta dos índices obtidos na primeira dimensão com as bases de dados monodimensionais, através de uma relação gráfica.

Entretanto, ainda existe um grande caminho a ser percorrido no sentido de desenvolver modelos de fácil utilização, ou integrados a softwares e bases de dados para índices de retenção na segunda dimensão.

6. Referências Bibliográficas

1. David, F. & Sandra, P., *J. Chromatogr. A*, 1152 (2007) 54-69.
2. Adams, R. P. *Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy*. Academic Press, INC., New York, 1989.
3. Ruther, J., *J. Chromatogr. A*, 890 (2000) 313-319.
4. Zeeuw, R. A., Franke, J. P., Maurer, H. H. & Pflieger, K., In *Report XVIII of the DFG Commission for Clinical-Toxicological Analysis Special Issue of the TIAF Bulletin*, ed. T. I. A. o. F. Toxicologists. VCH.
5. Dimandja, J. M. D., Stanfill, S. B., Grainger, J. & Patterson Jr, D. G., *J. High Resol. Chromatogr.*, 23 (2000) 208-214.
6. Shellie, R. & Marriott, P. J., *Analyst*, 128 (2003) 879-883.
7. Zhu, S., Lu, X., Dong, L., Xing, J., Su, X., Kong, H., Xu, G. & Wu, C., *Anal. Chim. Acta*, 545 (2005) 224-231.
8. Von Muhlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B. & Marriott, P. J., *J. Chromatogr. A* 1200 (2008) 34-42.
9. Davis, J. M. & Samuel, C., *J. High Resol. Chromatogr.*, 23 (2000) 235-244.

10. Marriott, P. J. & Shellie, R., *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 21 (2002) 573-583.
11. Ong, R. C. Y. & Marriott, P. J., *J. Chromatogr. Sci.*, 40 (2002) 276-291.
12. von Mühlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B. & Marriott, P. J., *Quím. Nova*, 29 (2006) 765-775.
13. von Muhlen, C., Zini, C. A., Caramão, E. B. & Marriott, P. J., *Quím. Nova*, 30 (2007) 682-687.
14. Western, R. J. & Marriott, P. J., *J. Sep. Sci.*, 25 (2002) 832-838.
15. Castello, G., *J. Chromatogr. A*, 842 (1999) 51-64.
16. Beens, J., Tijssen, R. & Blomberg, J., *J. Chromatogr. A*, 822 (1998) 233-251.
17. Vendevre, C., Bertocini, F., Thiébaud, D., Martin, M. & Hennion, M. C., *J. Sep. Sci.*, 28 (2005) 1129-1136.
18. Lu, X., Kong, H. W., Li, H. F., Ma, C. F., Tian, J. & Xu, G. W., *J. Chromatogr. A*, 1086 (2005) 175-184.
19. Bieri, S. & Marriott, P. J., *Anal. Chem.*, 78 (2006) 8089-8097.
20. Zhu, S., Lu, X., Qiu, Y., Pang, T., Kong, H., Wu, C. & Xu, G., *J. Chromatogr. A*, 1150 (2007) 28-36.
21. Zhu, S., Lu, X., Ji, K., Guo, K., Li, Y., Wu, C. & Xu, G., *Anal. Chim. Acta*, 597 (2007) 340-348.
22. Seeley, J. V. & Seeley, S. K., *J. Chromatogr. A*, 1172 (2007) 72-83.
23. Pang, T., Zhu, S., Lu, X. & Xu, G., *J. Sep. Sci.*, 30 (2007) 868-874.
24. Kovats, E., *Helvetica Chim. Acta* (1958) 1915-1932.
25. van Den Dool, H. & Kratz, P. D., *J. Chromatogr. A*, 11 (1963) 463-471.
26. Western, R. J. & Marriott, P. J., *J. Chromatogr. A*, 1019 (2003) 3-14.
27. Bieri, S. & Marriott, P. J., *Anal. Chem.*, 80 (2008) 760-768.
28. Seeley, J. V., Libby, E. M., Edwards, K. A. H. & Seeley, S. K., *J. Chromatogr. A*, 1216 (2009) 1650-1657.
29. Arey, J. S., Nelson, R. K., Xu, L. & Reddy, C. M., *Anal. Chem.*, 77 (2005) 7172-7182.