

Análise de resíduos contaminados com creosoto por cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC). Uma nova ferramenta analítica para amostras ambientais complexas

Eduardo. P. Mateus¹, Jytka Zrostlíková², Alexandra B. Ribeiro^{1*}, Philip Marriott³, Marco D. R. Gomes da Silva^{4*}

Eduardo. P. Mateus¹, Alexandra B. Ribeiro¹

¹ CENSE - Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa - Campus da Caparica, 2829-516 Caparica Portugal

Jytka Zrostlíková²

² LECO Instrumente Pilsen – Application Laboratory Prague - Sokolovská 219, 190 00 Prague 9 República Checa

Philip Marriott³

³ ACROSS, Department of Applied Chemistry, RMIT University - GPO Box 2476V Melbourne Victoria 3001 Australia

Marco D. R. Gomes da Silva⁴

⁴ REQUIMTE - Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa Campus da Caparica, 2829-516 Caparica Portugal

Resumo

Neste trabalho, efetuou-se a separação e a identificação dos compostos orgânicos voláteis contidos em madeira tratada com creosoto após extração por purga e armadilha à temperatura ambiente. Foi utilizada a técnica de cromatografia gás-líquido bidimensional abrangente (GC×GC), aliada a analisador de massa de tempo de voo (ToF-MS). Demonstrou-se, neste trabalho, a potencialidade da utilização da técnica de GC×GC na separação e deconvolução espectral dos analitos, conduzindo a identificações mais seguras e a tentativas de identificações mais sustentadas de compostos desconhecidos.

Palavras-chave

Cromatografia gasosa bidimensional abrangente; creosoto

Abstract

In this work the separation and identification of volatile organic compounds contained in creosote-treated wood was performed after extraction by purge and trap at room temperature. Comprehensive two dimensional gas chromatography (GC × GC) technique hyphenated with a time of flight (ToF-MS) mass analyzer was used. This study demonstrated the capabilities of using GC × GC separation together with the spectral deconvolution of the analytes, leading to better secure peak identifications, and to more sustained tentative identifications of unknown compounds.

Keywords

Comprehensive two dimensional gas chromatography; creosote

1 Introdução

A análise de compostos em matrizes ambientais e biológicas origina frequentemente cromatogramas complexos, constituídos por dezenas de picos que, em condições ideais devem ser separados. No entanto, o desafio que se coloca ao analista perante uma análise dessa natureza não se limita apenas ao problema da capacidade cromatográfica, mas prende-se ainda às semelhanças, quer estruturais quer das propriedades físico-químicas, que muitos dos componentes dessas misturas poderão apresentar. Tais fatos são os principais responsáveis pelas dificuldades de separação encontradas, que se traduzem nas conhecidas e muito frequentes coeluições. Essas coeluições são muitas vezes impossíveis de se detectarem e identificarem por meio de cromatografia-gás líquido de alta resolução-deteção por ionização em chama (GC-FID – “flame ionisation detector”) e, em vários casos, mesmo por cromatografia-gás líquido unidimensional-espectrometria de massa (1D-GC/MS), em que, apesar do uso de complexos processos de desconvolução, muitas das coeluições poderão permanecer invisíveis para o operador. Um problema adicional resulta ainda da vastíssima gama de concentrações em que muitos dos compostos se encontram presentes nas variadas matrizes. Consequentemente os componentes presentes em quantidades vestigiais podem nunca vir a ser detectados, se coeluirem com compostos de concentração mais elevada, não sendo raro que compostos presentes numa concentração reduzida constituam os compostos ativos de interesse do ponto de vista biológico e/ou toxicológico para uma dada matriz. Quando se pretende efetuar a separação e a identificação analíticas em amostras complexas, como as matrizes ambientais, é importante considerar, além da técnica de separação, a adequação da fase estacionária em que essa separação poderá ter um resultado mais eficaz, e ainda instrumentação analítica (por exemplo, seleção do sistema de injeção) e sistemas de deteção (1).

Apesar do crescimento da aplicação da cromatografia líquida/espectrometria de massa (LC/MS), a GC/MS é, ainda hoje, a técnica hifenada

mais utilizada para fins de caracterização de matrizes ambientais e monitorização/identificação dos seus componentes/contaminantes. Porém, apesar do contínuo desenvolvimento dos equipamentos, técnicas e métodos analíticos, uma separação total de todos os constituintes da mistura é ainda hoje, com frequência, prática e fisicamente inalcançável devido à complexidade das amostras a serem analisadas (elevado número de componentes, suas semelhanças estruturais, formas isoméricas e gamas largas de concentração dos analitos). Podem-se esperar, portanto, semelhanças entre índices de retenção lineares de muitos dos analitos, independente da fase estacionária utilizada, levando à sua coeluição. O surgimento de novas técnicas de análise que maximizam a separação dos analitos constituiu sempre uma evolução que pode ser exemplificada pela cromatografia capilar, como progressão natural da cromatografia de empacotamento, ou do surgimento das cromatografias gás-líquido em fases múltiplas, por acoplamento de colunas (MP-GC), multidimensional (MD-GC) e abrangente (GC×GC), como extensão da cromatografia gás-líquido unidimensional. Qualquer um desses avanços teve como propósito conseguir mais “espaço cromatográfico” para se alcançar a adequada separação de todos os analitos presentes nas amostras (2,3). Esta pretensão é, na prática, para separações realizadas em sistemas de uma dimensão limitada física e estatisticamente pelo número máximo de pratos teóricos de uma coluna (4-6). Assim, a capacidade de uma coluna capilar padrão (50 m × 0,25 mm, $d_f = 0,25 \mu\text{m}$) poderá ser estimada pela equação 1.

$$n = \frac{\sqrt{N}}{4R} \cdot \ln\left(\frac{t_2}{t_1}\right) + 1 \quad (1)$$

Na equação 1 (4) em, que n é o fator de capacidade da coluna, N é o número de pratos teóricos efetivos da coluna, R é a resolução, e t_2 e t_1 são a janela de retenção considerada se $R = 1$ e, admitindo que t_2/t_1 é 10, sabendo que o tempo típico para um componente que não é retido em uma coluna de 50 m

é de 100 s, esta coluna consegue potencialmente separar, em 60 minutos e em condições ideais, 260 compostos (note-se que, nessas condições, o primeiro pico a ser eluído, sem perturbação do solvente, tem pelo menos um k – fator de capacidade – de 3 e, logo, um tempo de retenção de 400 s) (6-8).

Essa limitação da cromatografia unidimensional é ainda mais evidente caso se aplique a teoria estatística da sobreposição de componentes (*statistical theory of overlap* - STO) (3,6,9,11). Na equação 1, o fator de capacidade (n) de uma coluna constitui apenas o número máximo dos constituintes de uma amostra que o sistema cromatográfico poderá hipoteticamente separar. Estatisticamente, esse valor é manifestamente reduzido considerando que os analitos estarão de forma aleatória, e não de forma discreta, distribuídos ao longo do cromatograma final. Devido à elevadíssima complexidade de determinadas amostras, será inevitável a coeluição de alguns dos componentes. A utilização da STO (equação 2) permitiu mostrar como, numa análise cromatográfica, o número de picos separados (S) está relacionado com o fator de capacidade (n) da coluna e com o número total dos componentes (m) presentes na amostra (3,6,9):

$$S = m \exp \left(- \frac{2m}{n} \right) \quad (2)$$

A designação P traduz a probabilidade que um dado componente tem de se apresentar no cromatograma final como um pico individual que é igual a

$$P = \exp \left(- \frac{2m}{n} \right) \quad (3)$$

A aplicação dessa expressão conduz à necessidade teórica de se utilizarem colunas com capacidade para 290 analitos, de forma a garantir a

separação de metade dos componentes presentes em amostras com 100 analitos (6). Fica assim clara a limitação da cromatografia unidimensional, apesar do seu poder de separação, admitindo sempre condições ideais, ou seja, inexistência de caudas nos picos cromatográficos (“*tailing*”), ruído do sistema e diferentes magnitudes de concentração dos analitos, o que a STO não prevê (3).

Outro problema que se coloca na análise de amostras complexas surge quando um determinado composto apresenta várias formas isoméricas possíveis. Nessa situação, é de se esperar a obtenção de uma forte semelhança de espectros de massa e índices de retenção lineares para compostos distintos, o que dificultará seriamente o trabalho da identificação. A obtenção de espectros de elevada qualidade exige que o operador assegure que nenhuma coeluição ocorra, e mesmo assim, a análise dos espectros obtidos deve ser prudente e rigorosa.

A disponibilização comercial de bibliotecas de espectros cada vez mais completas e específicas associadas a melhores algoritmos de cálculo permitiram que a GC/MS seja atualmente a técnica mais difundida na identificação de compostos numa grande variedade de matrizes. No entanto, são muitos os compostos não descritos nas bibliotecas comercialmente disponíveis, ou cujos espectros foram obtidos em condições diferentes, sendo, por isso, aconselhável cada laboratório construir a sua própria biblioteca de acordo com as condições do equipamento e tipo de detector de massa que utiliza. A conjugação desses dados espectrais com índices de retenção lineares obtidos para colunas de polaridades diferentes constitui 1D-GC/MS, um instrumento muito valioso na identificação de compostos (11,12). Os espectrómetros de massa são geralmente classificados com base nos seus analisadores de massa, sendo os instrumentos de GC/MS mais comumente usados os quadropolos e os de aprisionamento de íons (“*ion-trap*”), seguidos dos de setor magnético. Recentemente têm conquistado adeptos os GC/MS com analisador de massa de tempo de voo (“*time-of-flight*”, GC/ToF-MS). Nas aplicações em GC, o processo pelo qual a informação espectral é obtida, em relação ao eixo do tempo, pode ser classificada em “processos de varredura” e “processos

de vetor”. Os instrumentos de setor magnético, quadropolo e aprisionamento de íons são instrumentos de varredura que produzem espectros de massa medindo sequencialmente a intensidade de cada m/z individual no intervalo de massas selecionado. Os analisadores de tempo de voo são baseados no fato de que, após a aceleração uniforme na fonte iônica, os íons alcançarão o detector numa razão inversamente proporcional à sua massa, sendo instrumentos equipados com detectores multicanais que medem a intensidade de todos os fragmentos m/z , no intervalo de massas selecionado, simultaneamente, sem necessidade de varredura. A introdução do ToF-MS permitiu a obtenção de espectros de massa que, independente da região do pico, mantêm-se em perfil constante durante toda a sua eluição (13) devido à eliminação dos efeitos de distorção dos espectros de massa coletados em analisadores de massa de varredura, consequência da eluição dinâmica dos analitos. Devido à sua elevada taxa de extração de íons, que pode gerar até 500 espectros por segundo, e à detecção simultânea de todos os íons, que garante a ausência de deformação espectral ao longo do pico, o ToF-MS permite, mesmo em perfis de coeluição, a utilização, com sucesso, de algoritmos de deconvolução espectral e de detecção de picos e, assim, a possibilidade de introduzir uma verdadeira resolução espectral (14). Estes algoritmos permitem resolver, com precisão, cada um dos compostos presentes na amostra em análise, mas, apesar disso, a variável operador é ainda mais importante do que foi anteriormente no sentido de providenciar uma correcta utilização dessa potente ferramenta. O ToF-MS, permitindo uma maior velocidade de aquisição de dados, potencializou finalmente a utilização de “*fast*” GC (GC em modo rápido) como metodologia analítica para amostras complexas em rotina e abriu as portas à utilização de um novo modo de cromatografia multidimensional, chamada cromatografia abrangente bidimensional (GC×GC) (14). Um processo cromatográfico é considerado “abrangente” se respeitar as seguintes condições: a transferência quantitativa e qualitativa de toda a amostra a se analisar da primeira para a segunda coluna cromatográfica, e o princípio da ortogonalidade, isto é, a independência total da separação entre os dois

sistemas separativos (16). Um exaustivo artigo de Cláudia A. Zini (16) detalha com muita clareza essa técnica, estando bem explicitadas outras referências relativas a GC×GC e, por isso, aconselha-se a leitura desse trabalho. O resultado final da experiência de GC×GC é não só um aumento da sensibilidade, dada a focalização sucessiva a que os analitos estão submetidos, como também um poderoso sistema de resolução, permitindo separar e identificar compostos de matrizes complexas sem prejuízo do tempo de análise (17,18).

O creosoto (CAS # 8001-58-9) é um produto utilizado principalmente como preservador de madeira sujeita a condições atmosféricas (postes telefônicos, de eletricidade, de vedações e, principalmente, em dormente (19,20)). É uma mistura complexa, constituída por hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), fenóis e compostos heterocíclicos em nitrogênio, enxofre e/ou oxigênio (NSO), na qual dos 10.000 estimados, apenas perto de 300 se encontram identificados (21). A maior parte dos compostos identificados têm sido classificados como tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos e, conseqüentemente, relacionados com efeitos nefastos na saúde humana. Os resíduos de madeira tratada com creosoto estão classificados pela União Europeia como resíduos perigosos (22), sendo o seu destino final um problema ambiental. Essa situação tem tornado atrativo o estudo e o desenvolvimento de metodologias de descontaminação, em particular daquelas que possam promover a reutilização e a reciclagem da madeira contaminada. Entre as novas metodologias, encontra-se o processo eletrocínético (EK) que utiliza “a corrente eléctrica como agente de limpeza” (23). O processo baseia-se na ação de um campo elétrico que promove o transporte de espécies poluentes de uma matriz a ser descontaminada para os eletrodos, dos quais podem ser removidas.

Neste, trabalho as técnicas de 1D-GC/ToF-MS e de GC×GC/ToF-MS foram aplicadas na caracterização de compostos voláteis de madeira tratada com creosoto e na monitorização da descontaminação, por eletrorremoção, de resíduos de madeira creosotada, a qual chegou ao fim do seu ciclo de vida.

2 Materiais e métodos

2.1. Madeira tratada com creosoto

O estudo descrito foi efectuado utilizando amostras provenientes de travessas de madeira de *Pinus pinaster Ait.*, tratadas com creosoto. As amostras foram recolhidas na estação da Pampilhosa e pertenciam a travessas com 20 anos de utilização nas linhas de estradas de ferro. As travessas foram tratadas originalmente na unidade de preservação de madeira de estradas de ferro do Entroncamento. A formulação e a classificação original do creosoto são desconhecidas, bem como o seu processo de impregnação.

2.2. Reagentes

Mistura de PAHs (acenafteno, acenaftileno, antraceno, benz[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, benzo[a]pireno, criseneno, dibenz[a,h]antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno[1,2,3-cd]pireno, 1-metilnaftaleno, 2-metilnaftaleno, naftaleno, fenantreno e pireno) foi obtida em Supelco, Bellefonte, PA, EUA; padrões de terpenos, quinolina e isoquinolina (Sigma–Aldrich, Steinheim, Alemanha), e uma mistura de hidrocarbonetos de C8 até C27 (AccuStandard, New Haven, CT, USA) foram utilizados para auxiliar o processo de identificação.

2.3. Voláteis de creosoto – amostragem por ‘headspace’

Travessas de madeira tratada com creosoto foram cortadas de maneira a resultarem aparas. Uma amostra composta de 10 g de aparas de madeira (amostra obtida de corte transversal contendo superfície, parte central e arestas) foi pesada e colocada dentro de um frasco de vidro com um volume de 250 mL, e conectou-se a uma fonte de nitrogênio (fluxo a 100 mL/min), sendo os voláteis purgados e capturados por um período de 2 horas à temperatura ambiente para um tubo com adsorvente (Porapak Q - 117 mg, SKC, Eighty Four, PA, EUA). Os voláteis foram eluídos do tubo de Porapak Q com 1 mL de solução de pentano:éter dietílico (1/1, v/v). O extrato final foi concentrado a 0.5 mL utilizando um microevaporador concentrativo Kunderna-Danish

(Supelco, Bellefonte, PA, EUA).

2.4 Processo eletrodialítico.

Os ensaios foram conduzidos em uma célula laboratorial de remediação eletrodialítica, segundo o método descrito pormenorizadamente na dissertação de A. Ribeiro (24).

A travessa foi moída, e 50 g da serragem resultante, após ela ter sido saturada com água destilada, foram colocadas no interior da célula eletrocinética laboratorial. A amostra foi submetida ao processo eletrodialítico durante 15 dias, a uma densidade de corrente constante de 0.2 mA/cm² e a um fluxo eletrolítico aberto de 0.5 mL/min. As soluções do católito e do anólito foram recolhidas a cada 24 ou 48 horas, e os analitos obtidos por extração por fase sólida (SPE), utilizando ENVI-18 Disks. Os extratos resultantes foram, após concentração a 1.0 mL, analisados por GC/MS.

2.5 GC-FID

O sistema consistiu em um cromatógrafo gasoso HP 6890 (Agilent Technologies, Burwood, Australia) equipado com um FID. A coluna analítica foi uma BPX5 (30 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm de espessura de filme (d_f); SGE International, Ringwood, Australia). A programação de temperatura iniciou-se com 35 °C (1 min), depois aumentou até 170 °C a 20 °C/min (manteve-se 5 min a 170 °C), depois até 290 °C a 2 °C/min e se manteve nessa temperatura por 20 min. Foram injetados 1 µL de amostra em modo *splitless* (sem divisão). A temperatura do detector e injetor foi de 300 °C.

2.6 GC×GC/ToF-MS

Esse sistema consistiu em um cromatógrafo gasoso HP 6890 (Agilent Technologies, Burwood, Australia) e um espectrômetro de massa de tempo de voo (ToF-MS) Pegasus II (LECO, St. Joseph, MI, EUA). O ToF-MS operou a uma taxa de aquisição de 100 Hz, utilizando um intervalo de massas m/z de 45–600 e uma voltagem da placa de multicanal de 1700V; o MS operou no modo de ionização eletrônica (EI) a 70 eV. Os cromatogramas de ionização total (TIC) foram processados utilizando o software automático de

processamento de dados ChromaToF™. Tal sistema foi equipado com um sistema criogênico de modulação longitudinal (LMCS), operando com um período de modulação de 6 s a -20 °C. Aproximadamente 1 µL de volume de amostra foi injectado a 300 °C num injetor com divisão/sem divisão (S/SL split/splitless) no modo de pulso de SL (tempo de purga 1 min, fluxo da purga 50 mL/min, fluxo total de 51 mL/min, pressão do pulso de 50 psi durante 1 min). Após 2 min, a razão de divisão foi ajustada a 1:20. Utilizou-se um par de colunas com uma coluna na 1ª dimensão BPX5 (30m×0.25mm i.d., 0.25 µm de espessura de filme (d_f); SGE International, Ringwood, Australia) acoplada diretamente a uma coluna na 2ª dimensão BPX50 (1.0m×0.15mm i.d., 0.15µm d_f, SGE International, Ringwood, Austrália). A temperatura inicial do forno foi ajustada em 60 °C (mantido por 0.2 min) e depois aumentou até 170 °C a 20 °C/min (manteve-se por 5 min a 170 °C), depois até 290 °C a 2 °C/min e se manteve nessa temperatura por 20 min. A linha de transferência foi ajustada a 350 °C, e a fonte a 200 °C. Foi utilizado hélio como gás de arraste a fluxo constante de 1.0 mL/min. Utilizou-se uma coluna de sílica desativada na interface de 0.50m × 0.1mm i.d., localizada a 0.21 m dentro da linha de transferência e a 0.29 m dentro do forno.

2.7 PTV-GC×GC-NPD

As injeções que utilizaram vaporização a temperatura programada (PTV – *programed temperature vaporization*) foram efetuadas por meio de um injetor de elevado desempenho Optic 3 (ATAS GL International, Veldhoven, Holanda) que estava conectado em série com um sistema CombiPAL Focus (CTC Analytics AG, Zwingen, Suíça) e um Agilent 6890 GC (Agilent Technologies, Burwood, Australia). Para efetuar as análises de GC×GC, o cromatógrafo foi equipado com um sistema criogênico longitudinalmente modulado (LMCS) da Chromatography Concepts (Doncaster, Australia). Utilizou-se o software ChemStation da Agilent para instruir o controlador eletrônico do modulador para iniciar a modulação em um tempo definido. O sistema CombiPALFocus e o injetor Optic 3 foram controlados por um software Cycle Composer, versão 1.5.2, e ATAS Evolution Workstation, versão

1.2, respectivamente. Na 1ª dimensão do sistema de GC×GC, foi usada uma coluna BPX5 (5% de fenil em polidimetilssiloxano), de 30m × 0.25mm i.d., 0.25µm d_f, SGE International, Ringwood, Australia), e na 2ª dimensão, uma coluna BPX50 (50% de fenil em polidimetilssiloxano), de 0.5m×0.15mm i.d., 0.25µm d_f, SGE International, Ringwood, Australia). As injeções de volume de 1 µL foram efetuadas com uma rampa de temperatura do injetor de 35 a 280 °C a 16°C/s. Após 1 min de *splitless*, a razão de partição foi ajustada a 1:100 e, após 2 min, a 1:20. Durante a injeção, o gás de arraste hidrogênio foi ajustado a um fluxo de 3.0 mL/min e, após esse tempo, a 1.0 mL/min. O temperatura do forno foi programada de 35 °C (mantida durante 1 min) até 170 °C a 20 °C/min (mantida por 5 min), seguida de uma rampa de até 290 °C a 2 °C/min e aí mantendo-se durante 20 min. Os fluxos do detector NPD (Agilent) foram hidrogênio a 2.2 mL/min (gás de arraste + *make-up*), ar a 70.0 mL/min e N₂, como *make-up*, a 5.0 mL/min. Utilizou-se um *offset* a 30 pA. O detector operou a 325 °C com uma taxa de aquisição de dados de 50 Hz. O período de modulação do GC×GC foi de 4 s a uma temperatura de -20 °C de 4 a 88 min. Os dados de GC×GC foram transformados por meio de um programa desenvolvido no laboratório, e os diagramas de contorno obtidos pelo Transform software (Fortner Research, Virginia, EUA).

2.8 Célula eletrocinética laboratorial

As experiências foram efetuadas em uma célula eletrocinética laboratorial desenvolvida na Technical University of Denmark (25) e que está descrita em detalhe em (24). As condições operacionais estão descritas em (27).

3 Resultados e discussão

3.1 Fração volátil em aparas de madeira impregnadas com creosoto

A fração volátil de amostra composta de traves de madeira tratadas com creosoto foi extraída por purga e armadilha (*purge and trap* – P&T), sendo os analitos recolhidos por extração com uma mistura de pentano/éter dietílico 1:1 (v/v). O extrato

foi analisado por 1DGC-FID (numa coluna DB5) e GC×GC/ToF-MS (num conjunto de coluna BPX5/BPX50) de acordo com as condições indicadas na seção de materiais e métodos. Esse conjunto de colunas foi escolhido em detrimento de BPX5/BPX20, uma vez que neste segundo caso, apesar da boa resolução cromatográfica obtida, o efeito de pico fora de ciclo (“wrap-around”) é muito acentuado. Como se observa da **Figura 1A**, o cromatograma de 1DGC-FID apresenta-se complexo, embora reflita apenas a fração volátil da amostra. A mesma amostra submetida a GC×GC/ToF-MS, representada na **Figura 1B**, permite verificar, como era de se esperar, um aumento do sinal para a maioria dos compostos, num fator de 5-10, devido ao efeito da modulação à qual os diferentes picos são submetidos (período

de modulação de 6 s) durante o processo de eluição da primeira para a segunda coluna do sistema. Tal observação permite confirmar uma das vantagens mais evidentes da técnica de GC×GC, independente do sistema de detecção utilizado, como a técnica analítica adequada para análise de amostra, em geral de elevada complexidade, bem como, neste caso particular, na detecção de compostos que se encontram em concentrações ao nível vestigial. O efeito de focalização, obtido na zona de armadilha criogênica do LMCS, e que é proporcionado pela modulação, constitui igualmente um processo conservador de massa, já que a transferência da amostra da 1ª para a 2ª coluna é quantitativa. Essa focalização reduz a largura do pico e, conseqüentemente, aumenta a razão sinal/ruído (S/N).

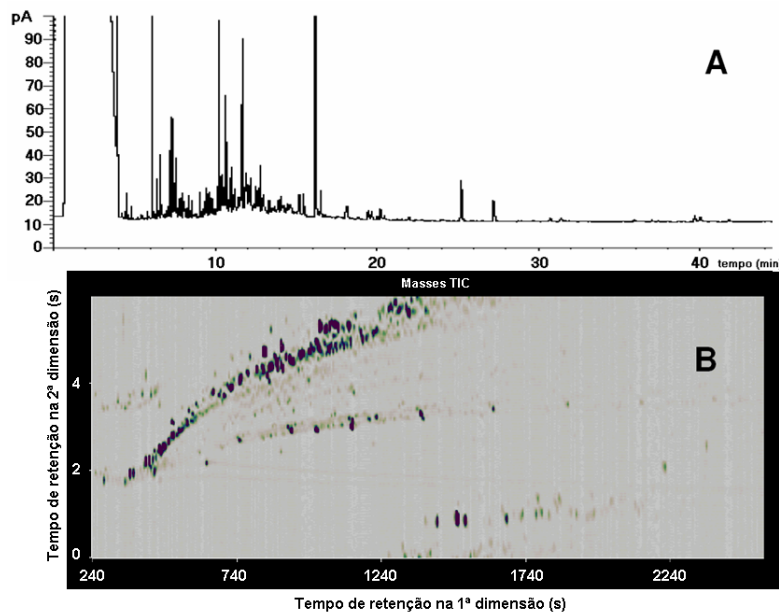


Figura 1. (A) Cromatograma de 1D-GC-FID da fração volátil de creosoto. (B) Diagrama de contornos obtido após GC×GC/ToF-MS da mesma amostra. Condições de amostragem e cromatográficas, ver Materiais de métodos.

No âmbito deste trabalho foi utilizado o software de processamento ChromaToF. Aqui, o número máximo de picos a serem processados foi de 4000 (com uma razão de S/N > 100). A tabela resultante forneceu 4000 compostos, muitos deles com atribuições incorretas (múltiplas entradas para

o mesmo composto eluindo em diferentes tempos de retenção, mas ao qual era atribuída a mesma identificação; analitos modulados em dois picos na segunda dimensão ou picos largos na segunda dimensão, reconhecidos pelo software como sendo dois picos individuais). Nessas circunstâncias,

e retirados os falsos positivos, resultaram 2500 compostos. Desses, aproximadamente 300 foram considerados (tentativamente) identificados, uma vez que apresentavam uma relativa correspondência com os compostos presentes na biblioteca de espectros NIST98 MS superior a 850. Entre eles, 300 compostos são de vários grupos funcionais, destacando-se fundamentalmente os hidrocarbonetos

poliaromáticos, fenóis, derivados benzênicos, hidrocarbonetos e ainda compostos heterocíclicos contendo átomos de nitrogênio, enxofre e/ou oxigênio.

A **figura 2**, mostra de forma esquemática num diagrama bidimensional as famílias funcionais dos compostos identificados.

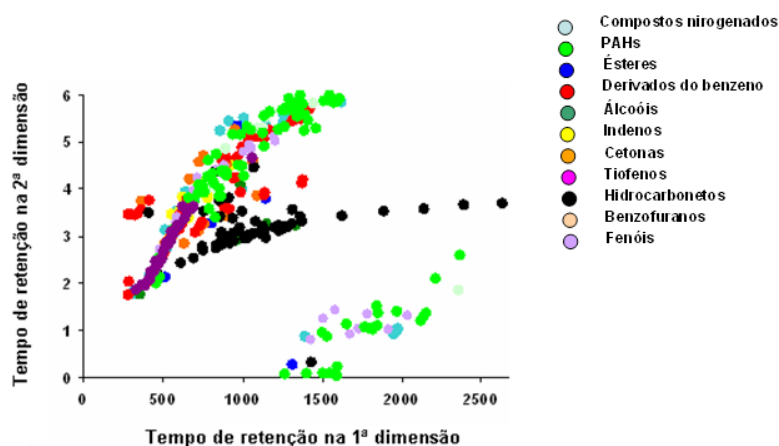


Figura 2. Diagrama bidimensional das famílias dos compostos identificados por GCxGC/ToF-MS.

A detecção e posterior identificação por GCxGC/ToF-MS dos compostos nitrogenados foi

possível utilizando GCxGC-NPD. A **Figura 3** ilustra o diagrama de contorno obtido para este caso.

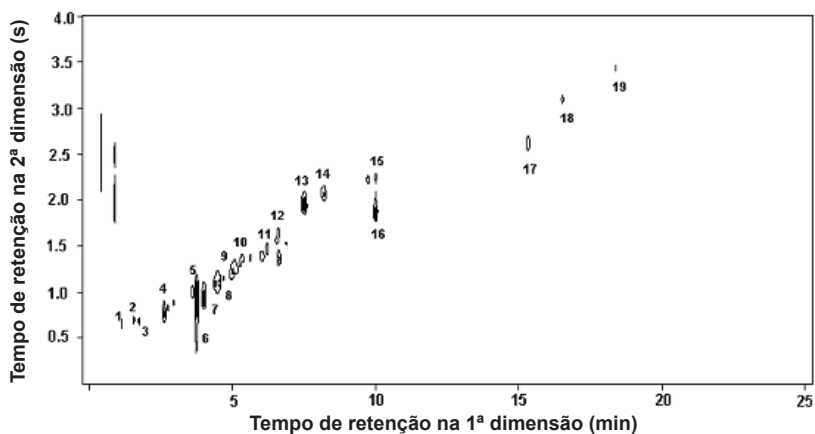


Figura 3. Diagrama de contornos obtido após GCxGC-NPD. Ver as condições analíticas no texto.

Estes resultados são particularmente significativos, uma vez que a classe dos compostos nitrogenados são considerados por muitos autores como sendo altamente tóxicos, mesmo a baixas concentrações e capazes de efeitos genotóxicos e teratogênicos com impacto ambiental, o que poderá, em alguns casos, exceder aqueles conhecidos para os seus análogos PAHs (28-30).

Utilizando GC×GC, a probabilidade de se obterem espectros limpos para posterior identificação por comparação com a biblioteca de espectros é virtualmente elevada, comparada com sistemas 1D-GC. Além disso, a complexidade das amostras não permite uma identificação aceitável para compostos vestigiais quando se utiliza um sistema unidimensional. Adicionalmente, o fato de, na 1ª dimensão, ocorrer uma separação de acordo com os pontos de ebulição (coluna BPX5) e, na 2ª dimensão,

a separação decorrer da polaridade (BPX50), permitiu ainda considerar ambas as características físicas como auxiliares no processo de identificação.

Uma das características importantes do ToF-MS consiste na aplicação dos algoritmos e deconvolução espectral e de detecção de picos (“*mass spectral deconvolution*” e “*peak find*”). Apesar da simetria de muitos picos, os algoritmos são capazes de reconhecer variações mínimas em espectros sobrepostos, detectar a coeluição de vários compostos e assim proceder à sua separação. A deconvolução espectral, executada pelo algoritmo, permite identificar todos os constituintes desse pico, como se ilustra, por exemplo, na **Figura 4**. Caso se adicione a essa característica, resolução espectral, o elevado poder separativo obtido por GC×GC, obtém-se uma técnica poderosíssima na detecção e identificação de compostos em matrizes complexas.

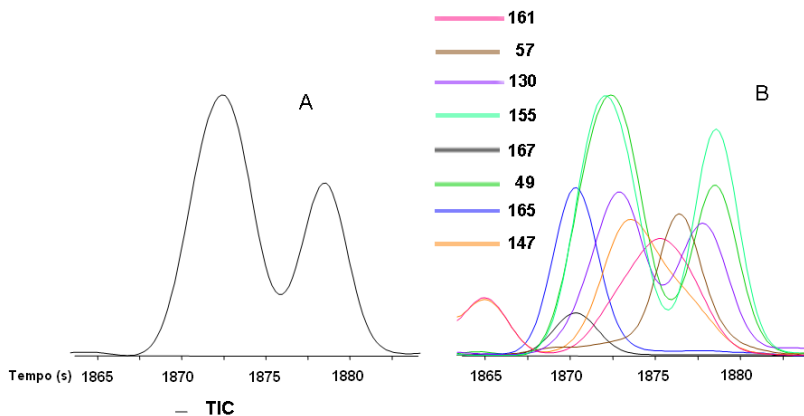


Figura 4. Exemplo da deconvolução espectral obtida numa janela de retenção de 1865 a 1882 segundos. (A) representa o cromatograma de ionização total (TIC) e (B) representa o cromatograma deconvolucionado nos fragmentos diagnósticos (indicados a cores) dos compostos que coeluem sob o mesmo pico.

3.2 Tratamento por eletroremediação de amostras impregnadas com creosoto: caracterização das frações por GC×GC-ToF-MS

Os resíduos de madeira (tratada) com creosoto foram tratados pelo processo eletrocinético e as soluções do ânodo e do cátodo foram extraídas em fase sólida (SPE) e analisadas por GC×GC/ToF-MS. A análise qualitativa dos diagramas de contornos obtidos para cada uma das soluções dos eletrodos, **Figura 5**, foi efetuada utilizando o software ChromaToF.

Verificou-se, após proceder à identificação dos compostos mais representativos em cada uma das soluções e utilizando a metodologia anteriormente descrita para o caso dos compostos voláteis, que os PAHs, os fenóis e a maioria dos heterocíclicos N, S e/ou O se deslocam na célula eletrocinética na direção do compartimento do ânodo. Porém, os azarenos (heterociclos nitrogenados) movem-se na célula na direção do cátodo, sendo encontrados no extrato da solução do católito. Os PAHs encontram-se na

solução do anólito em concentrações baixas em oposição às concentrações elevadas encontradas nos extratos de madeira tratada. Os compostos fenólicos do creosoto deslocam-se na direção do compartimento do ânodo, onde são encontrados em concentrações elevadas.

Dado o elevadíssimo número de compostos

detectados, não é possível apresentar uma tabela exaustiva dos constituintes de cada uma das frações. No entanto, assumindo uma razão $S/N > 50$, foram detectados aproximadamente 300 compostos na solução do cátodo e 500 compostos na solução do ânodo, sendo que 76 foram detectados em ambas as soluções, eventualmente devido a efeitos de difusão.

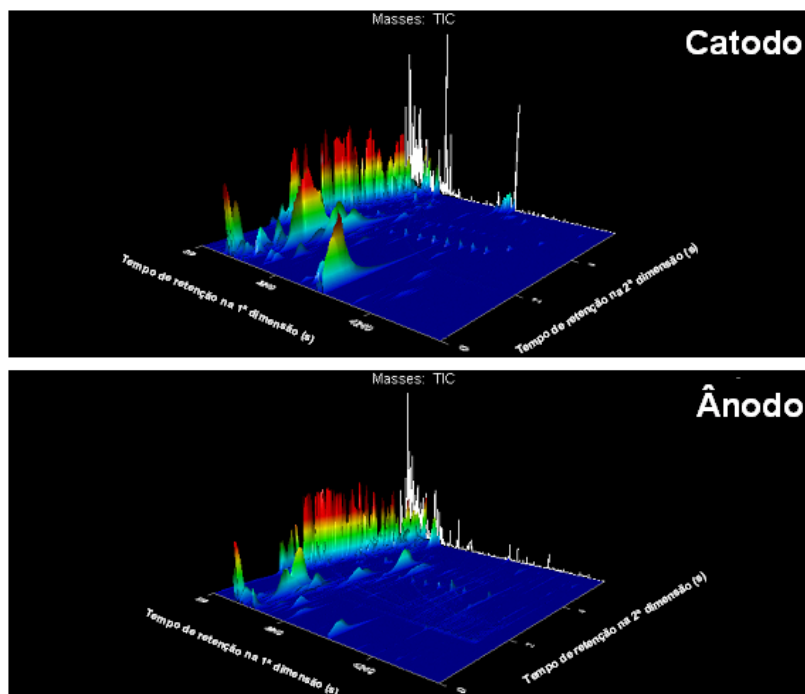


Figura 5. Representação 3D após GC×GC/ToF-MS, ilustrando a composição no católito e anólito. Condições analíticas, ver no texto.

Esse resultado permite observar que a eficiência do processo eletrocinético, como método de remediação de madeira tratada com creosoto nas condições experimentais utilizadas, está relacionada com a solubilidade dos diferentes componentes do creosoto. Os fenóis e os compostos heterocíclicos mais solúveis são removidos eficientemente. Por outro lado, a remoção de PAHs, nas condições experimentais usadas, especialmente aqueles com mais de 4 anéis (os mais tóxicos), não foi eficiente. Essa técnica pode ainda ser otimizada por ajuste do pH das soluções de eletrólito ou pela utilização de agentes químicos que aumentem a solubilização

dos compostos a serem removidos, trabalho esse atualmente em desenvolvimento.

A remoção de compostos tóxicos como azarenos e fenóis, ao diminuir a toxicidade da matriz original, constitui um avanço significativo em processos de remediação, pois pode viabilizar, com maior sucesso, um passo complementar e talvez mais efetivo de biodegradação.

4 Conclusões

Com a utilização do GC/ToF-MS, foi possível uma

resolução espectral tal, que permitiu, em casos de coeluição, a obtenção de espectros viáveis, passíveis de serem utilizados para identificação. A utilização de GC×GC permitiu incrementar a separação analítica dos componentes das amostras em estudo. A sua hifenação com ToF-MS reuniu as duas vantagens, resolução espectral e maximização separativa, resultando numa poderosíssima ferramenta para a caracterização de matrizes complexas.

5 Agradecimentos

Os autores desejam agradecer ao Eng.º Rui Rocha da LECO Instrumentos S.A. e à LECO Corporation por todo o apoio logístico prestado e pelo acesso ao sistema Pegasus 4D. Os autores desejam expressar os seus agradecimentos ao Eng.º Dario Reimão pelo fornecimento dos resíduos de madeira tratada com creosoto.

Referências Bibliográficas

- Sandra, P., Proot, M., Diricks, G. and David, F. (1987) Considerations on the selection of capillary columns for essential oil analysis. In Sandra, P. and Bicchi, C., (eds.), *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Dr. Alfred Huethig Verlag, Heidelberg, pp.29-84.
- David, F. and Sandra, P. (1987) Possibilities of multidimensional gas chromatography in essential oil analysis. In Sandra, P. and Bicchi, C. (eds) *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Dr. Alfred Huethig Verlag, Heidelberg, pp 387-428.
- Bertsch, W. (1999) Two-Dimensional gas chromatography. Concepts, instrumentation, and applications - Part 1: Fundamentals, conventional two-dimensional gas chromatography, selected applications. *Journal of High Resolution Chromatography*, **22**, 647-665.
- Grushka, E. (1970) Chromatographic peak capacity and the factors influencing it. *Analytical Chemistry*, **42**, 1142-1147.
- Chaves das Neves, H. J. and Costa Freitas, A. M., (1996) *Introdução à Cromatografia Gás-Líquido de Alta Resolução*, 1ª edição, Dias de Sousa Lda. Lisboa.
- Bartle, K.D. (2002). In Mondello, L., Lewis, A.C. and Bartle, K.D. (eds) *Multidimensional Chromatography*, John Wiley & Sons Ltd., pp. 3-15.
- Grob Jr, K., Grob, G. and Grob, K. (1978) Comprehensive, standardized quality test for glass capillary columns. *Journal of Chromatography*, **156**, 1-20.
- Grob, K., Grob, G. and Grob Jr., K. (1981) Testing capillary gas chromatographic columns. *Journal of Chromatography*, **219**, 13-20.
- Davis, J.M. and Giddings, J.C. (1983) Statistical theory of component overlap in multicomponent chromatograms. *Analytical Chemistry*, **55**, 418-424.
- Martin, M., Herman, D.P. and Guiochon, G. (1986) Probability distributions of the number of chromatographically resolved peaks and resolvable components in mixtures. *Analytical Chemistry*, **58**, 2200-2207.
- Shibamoto, T. (1987) Retention indices in essential oil analysis. In Sandra, P. and Bicchi, C. (eds), *Capillary Gas Chromatography in essential oil analysis*, Dr. Alfred Huethig Verlag, New York, pp. 259-274.
- Vernin, G., Petitjean, M., Metzger, J., Fraisse, D., Suon, K.N. and Scharff, C. (1987) Gas chromatography-mass spectrometry of essential oils. Part I: Computer matching techniques. In Sandra, P. and Bicchi, C., (eds.), *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Dr. Alfred Huethig Verlag, Heidelberg, pp. 287-328.
- Cardeal, Z.L., Gomes da Silva, M.D.R. and Marriott, P.J. (2006) Comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometric analysis of pepper volatiles *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **20**, 2823-2836.
- Holland J.F. and Gardner, B.D. (2002) The advantages of GC-TOFMS for flavor and fragrance analysis. In Marsili, R. (ed), *Flavor, Fragrance and Odor Analysis*. Marcel Dekker, pp. 107-138.
- Schoenmakers, P., Marriott, P. and Beens, J. (2003) Nomenclature and conventions in comprehensive multidimensional chromatography. *LC•GC Europe*, **16**, 335-339.
- Zini, C.A. (2009) Cromatografia Gasosa Bidimensional. *Scientia Chromatographica*, **1**, 31-49.
- Marriott, P. and Shellie, R. (2002) Principles and applications of comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Trends in Analytical Chemistry*, **21**, 573-583.
- Dallüge, J., Beens, J. and Brinkman, A.Th. (2003) Comprehensive two-dimensional gas chromatography: A powerful and versatile analytical tool. *Journal of Chromatography A*, **1000**, 69-108.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Wood Creosote, Coal Tar Creosote, Coal Tar, Coal Tar Pitch, and Coal Tar Pitch Volatiles, US Department of Health and Human Service, Public Health Service, Atlanta, GA, 2002.
- Murphy, B.L. and Brown, J. (2005) Environmental Forensics Aspects of PAHs from Wood Treatment with Creosote Compounds. *Environmental Forensics*, **6**, 151-159.
- Mateus, E.P., Gomes da Silva, M.D.R., Ribeiro, A.B. and Marriott, P.J. (2008) Qualitative mass spectrometric analysis of the volatile fraction of creosote-treated

- railway wood sleepers by using comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1178**, 215-222.
22. Official Journal of the European Communities L 381, December 31, 1994, p. 1.
23. Acar, Y.B. and A.N. Alshwabkeh, (1993) Principles of Electrokinetic Remediation. *Environmental Science and Technology*, **27**, 2638-2647.
24. A.B. Ribeiro (1998) Use of electrodialytic remediation technique for removal of selected heavy metals and metalloids from soils. Ph.D. Thesis, Technical University of Denmark, Denmark.
25. Ottosen, L.M and Hansen, H.K (1992) In: Internal report, Fysisk-Kemisk Institut & Institut for Geologi og Geoteknik; Technical University of Denmark, Denmark (em inglês).
26. L.M. Ottosen (1995) Electrodialytic remediation. Application to soils polluted from wood preservation. Ph.D. Thesis, Technical University of Denmark, Denmark.
27. Mateus, E.P., Zrostlíková, J., Gomes da Silva, M.D.R., Ribeiro, A.B. and Marriott, P. (2010) Electrokinetic removal of creosote from treated timber waste: a comprehensive gas chromatographic view. *Journal of Applied Electrochemistry*, doi: 10.1007/s10800-010-0089-7.
29. Adams, J. and Giam, C.S. (1984) Polynuclear azaarenes in wood preservative wastewater. *Environmental Science and Technology*, **18**, 391-394.
30. Adams, J., Atlas, E.L. and Giam, C.S. (1982) Ultratrace determination of vapor-phase nitrogen heterocyclic bases in ambient air. *Analytical Chemistry*, **54**, 1515-1518.
31. Padm, T.V., Hale, R.C. and Roberts, M.H. (1998) Toxicity of water-soluble fractions derived from whole creosote and creosote-contaminated sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17**, 1606-1610.