

Glossário de Termos Cromatográficos

Apresentação

A partir deste número o *Scientia Chromatographica* inicia a publicação de um glossário de termos cromatográficos e afins, em língua portuguesa. Em números subsequentes do periódico novos termos serão inseridos abordando, inclusive, símbolos e outros elementos ortográficos utilizados na área. A variedade de nomes em português para a mesma situação (ex: o termo inglês *Gas Chromatography* é grafado em português como Cromatografia Gasosa, Cromatografia em Fase Gasosa, Cromatografia com Gás, Cromatografia de Gás e até Cromatografia em Fase de Vapor, dentre outros termos) dificulta uma escolha da expressão correta, especialmente para aqueles vindos de outras áreas de atuação. Assim, a principal intenção deste glossário é servir como um primeiro contato do leitor com o jargão da área, servindo como uma introdução à nomenclatura e simbologia na área de cromatografia e técnicas relacionadas. Sempre que possível procurou-se seguir a recomendação da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), órgão reconhecido internacionalmente como referência em nomenclatura na área de química. Em algumas poucas situações nas quais as sugestões da IUPAC não são seguidas internacionalmente, procurou-se utilizar a nomenclatura e/ou simbologia mais comum.

Considerando-se que a cromatografia é uma área bastante abrangente, hoje sub-dividida em várias vertentes, as quais por sua vez possuem novas sub-divisões, torna-se difícil juntar todo o trabalho no espaço de um número de periódico. Daí a opção por introduzir-se o assunto em vários números, permitindo uma atualização frequente dos temas abordados. Sugestões de outros termos, comentários e críticas serão muito bem recebidos visando aprimorar o glossário

Editor

Termos e Definições na área de cromatografia

1. Cromatografia

A **Cromatografia** é uma técnica de separação geralmente utilizada na análise de misturas complexas (vários compostos) como gasolina, pesticidas em frutas, hormônios em carne, antioxidantes em vinho, drogas no sangue e muitas outras.

A Cromatografia foi proposta como técnica analítica pelo botânico russo Mikhael Tswett há pouco mais de 100 anos; desde então tem sido aplicada em praticamente todas as áreas do conhecimento humano onde a análise de espécies químicas é necessária.

A separação em Cromatografia é baseada na partição (distribuição) dos compostos entre duas fases: uma permanece imóvel durante o processo, sendo denominada **fase estacionária**, e a outra passa (percola) através dela, sendo chamada **fase móvel**. Dependendo estado físico da fase móvel (líquido, gás, fluido supercrítico) e composição química e mecanismo de atuação da fase estacionária (troca iônica, adsorção, etc.) existem várias formas de classificação das técnicas cromatográficas.

2. Tipos de Cromatografia (Classificação das Técnicas Cromatográficas)

A classificação mais comumente utilizada para as técnicas cromatográficas leva em consideração o estado físico da fase móvel: se for um gás a técnica é

denominada **cromatografia gasosa** (GC, do inglês “Gas Chromatography”), se um líquido será **cromatografia líquida** (LC, do inglês “Liquid Chromatography”) e se for um fluido no estado supercrítico será **cromatografia com fluido supercrítico** (SFC, de “Supercritical Fluid Chromatography”).

Outra classificação bastante empregada baseia-se em como a fase estacionária é arranjada: se dentro de um tubo, a técnica é denominada **cromatografia em coluna**; se em uma superfície plana (vidro, metal, papel, etc.) a técnica é denominada **cromatografia planar**.

3. Cromatografia Gasosa

A Cromatografia Gasosa (GC, CG ou HRGC) é uma técnica cromatográfica que emprega um gás como **fase móvel**. A **fase estacionária** pode ser um material sólido (como sílica, alumina, carvão ativo e outros) ou um líquido distribuído de forma uniforme na superfície de um sólido. No primeiro caso a técnica é denominada cromatografia gás-sólido (GSC), enquanto que a última tem sido designada cromatografia gás-líquido (GLC).

Em português, a cromatografia gasosa (em inglês “*Gas Chromatography*”, GC) tem recebido diversas traduções, incluindo: cromatografia em fase gasosa, cromatografia com gás, cromatografia a gás, cromatografia de gás, cromatografia em fase vapor e outras.

Uma das formas mais populares de cromatografia gasosa no momento é a denominada **cromatografia gasosa de alta resolução (HRGC)** na qual a fase estacionária é depositada diretamente na parede interna de um tubo capilar – daí o nome também de **colunas tubulares abertas**.

4. Cromatografia Líquida

A Cromatografia Líquida (LC, CL ou HPLC) é uma técnica cromatográfica que emprega um líquido como **fase móvel**. A **fase estacionária** pode ser um material sólido (como sílica, alumina, carvão ativo e outros) ou um líquido distribuído de forma uniforme na superfície de um sólido. No primeiro caso a técnica é denominada cromatografia líquido-sólido (LSC), enquanto que a última tem sido designada cromatografia líquido-líquido(LLC).

Em português, a cromatografia líquida (em inglês *“Liquid Chromatography”*, LC) tem recebido diversas traduções, incluindo: cromatografia em fase líquida, cromatografia com líquido, cromatografia a líquido, cromatografia de líquido, cromatografia em fase líquida e outras.

Mudanças em vários aspectos desta técnica, ocorridas com sua evolução, conduziram à **Cromatografia Líquida Moderna (HPLC ou CLAE)**.

5. Cromatografia com Fluido Supercrítico (SFC)

A Cromatografia com Fluido Supercrítico é uma técnica de separação que emprega um **fluido no estado supercrítico** como fase móvel. A coluna empregada nesta técnica pode ser similar às tubulares abertas empregadas em **HRGC** ou empacotadas como as de **HPLC**. Uma das grandes vantagens desta técnica é a possibilidade de utilizar-se como fase móvel substâncias não poluentes como CO₂, um apelo da chamada *“Green Chemistry”* (Química Verde).

Uma das principais aplicações atuais desta técnica é na separação de fármacos, especialmente quirais (separação de isômeros ópticos).

6. Cromatografia em Coluna

Em **cromatografia líquida** a fase estacionária pode ser colocada dentro de um tubo (coluna) ou em uma superfície plana (vidro, metal, papel e outros materiais). Em função desta diferenciação a cromatografia líquida passou a ser classificada como cromatografia em coluna (fase estacionária dentro do tubo) ou **cromatografia planar** (fase estacionária em superfície plana). Na cromatografia gasosa e na cromatografia com fluido supercrítico apenas a modalidade em coluna tem sido utilizada.

A cromatografia em coluna é uma modalidade de cromatografia na qual a fase estacionária é colocada dentro de um tubo, usualmente cilíndrico, muitas vezes denominado de coluna (na verdade, a coluna é

constituída pelo tubo, a fase estacionária, conectores, e outros elementos).

O tubo, dentro do qual a fase estacionária é colocada formando então a coluna, pode ser feito de vidro, metal (aço, cobre, alumínio e outros), polímeros (teflon, peek, etc.) ou de sílica fundida, sendo o último o material mais utilizado atualmente em **cromatografia gasosa**. Quando o interesse da análise é apenas separar e quantificar os compostos, a técnica é denominada **cromatografia em escala analítica** (ou seja, o interesse é apenas em analisar os compostos); quando o objetivo é separar os compostos para posterior uso (seja para identificação por outra técnica; determinação da atividade biológica; avaliação para outras aplicações) a técnica é denominada **cromatografia em escala preparativa**.

7. Cromatografia em Escala Analítica

Dependendo do emprego posterior do material separado pela cromatografia em coluna, a mesma pode ser dividida em escala analítica ou **escala preparativa**.

A cromatografia em escala analítica é aquela na qual o interesse maior é na separação e/ou quantificação dos compostos, ou seja, na qual se pretende isolar um composto do outro, identificar e quantificar (usualmente através de um registro gráfico denominado cromatograma). Após esta etapa, geralmente o material analisado é descartado.

Apesar de em algumas aplicações muito específicas a cromatografia gasosa poder ser também

utilizada em escala preparativa, geralmente a mesma é utilizada praticamente apenas em escala analítica.

8. Cromatografia em Escala Preparativa e Semi-Preparativa

Dependendo do emprego posterior do material separado pela cromatografia em coluna, a mesma pode ser dividida em **escala analítica** ou escala preparativa.

A cromatografia em escala preparativa é aquela na qual o interesse maior é, além da separação e/ou quantificação dos compostos, coletar-se as frações contendo os compostos para posterior uso. Este uso poderá ser a confirmação da identidade de um composto (por exemplo por ressonância magnética nuclear –NMR), determinação da atividade biológica de um ou mais constituintes da fração; verificação da utilização de uma fração isolada (por exemplo, como catalisador); purificação de um fármaco através do isolamento das impurezas (ex. insulina) e outras.

A cromatografia em escala preparativa é executada em colunas de comprimento e diâmetro interno maiores que a analítica, uma vez que o objetivo usualmente é isolar grandes quantidades do(s) composto(s) de interesse. Estas colunas podem chegar a vários metros de comprimento e valores superiores a um metro para o diâmetro interno.

Atualmente a técnica que mais emprega colunas preparativas é a cromatografia líquida. O diâmetro interno das colunas preparativas usualmente possui valores superiores a 10 cm, enquanto que as colunas

analíticas possuem diâmetro interno de no máximo 4,6mm. Portanto, existe uma pequena faixa na qual o diâmetro interno da coluna é superior à das analíticas e inferior à das preparativas. Esta faixa intermediária é usualmente denominada de coluna semi-preparativa, e sua maior utilização tem sido para o desenvolvimento e otimização de separações cujos resultados são, posteriormente, transferidos para a escala preparativa (escalamento ou *scale up*).

9. Cromatografia Planar

A **cromatografia planar** é sub-dividida em cromatografia em camada delgada (também chamada de capa fina) cujo símbolo é TLC (do inglês “*Thin-Layer Chromatography*”) e cromatografia em papel, PC (de “*Paper Chromatography*”).

A cromatografia planar foi muito empregada no passado nas áreas de toxicologia, análise de corantes e determinação de metais. Uma forma mais atual desta técnica é denominada HPTLC (“*High Performance Thin-Layer Chromatography*” – Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência). Na HPTLC emprega-se como fase estacionária partículas de diâmetro muito reduzido e que propicia atingir-se eficiência muito superior à obtida em TLC. Esta técnica, HPTLC, é uma versão instrumental e mais moderna da TLC clássica.

A forma mais utilizada de cromatografia atualmente é a **cromatografia em coluna**, sendo as mais importantes a **HRGC** e a **HPLC**.

10. HRGC

Na forma original de cromatografia gasosa (proposta por A. J. P. Martin em 1952), a fase estacionária era geralmente constituída de partículas sólidas (adsorventes) ou então de um suporte sólido sobre o qual uma substância líquida de baixa volatilidade era depositada. Estas partículas geralmente possuíam diâmetros superiores a 60 μm , e os tubos empregados diâmetros internos iguais ou superiores a 4 mm. Este conjunto, associado à baixa qualidade dos equipamentos da época (circuitos eletrônicos lentos, inexistência ainda do computador pessoal no laboratório, fases líquidas e suportes inapropriados) faziam com que a eficiência global do sistema fosse ruim. No final da década de 1960, Marcel Golay desenvolveu uma alternativa a estas colunas depositando um filme fino da fase estacionária diretamente na parede interna de um tubo capilar. Golay, demonstrou tanto na teoria quanto na prática que o uso de tubos de diâmetro interno menor (capilar) e o depósito da fase estacionária na parede interna do tubo, aumentavam em muito a eficiência e, portanto, a resolução das colunas. Estas colunas rapidamente se popularizaram com diferentes nomes dentre os quais: Colunas Capilares (devido ao pequeno diâmetro interno do tubo, usualmente inferior a 0,5 mm), Colunas WCOT (do inglês “*Wall Coated Open Tubular*”, ou seja, tubulares abertos com a parede recoberta) ou HRGC (“*High Resolution Gas Chromatography*”, Cromatografia Gasosa de Alta Resolução).

11. HPLC

Conforme concebido inicialmente por Tswett no início do século passado, a cromatografia era praticada de forma muito simples, colocando um material sólido (fase estacionária) dentro de um tubo de vidro aberto nas duas extremidades (Coluna) e aplicando a amostra em uma delas. Nesta época Tswett estudava a separação de pigmentos presentes em extratos de plantas. A seguir, passava através da amostra um líquido (fase móvel) e os corantes se separavam formando manchas coloridas. As manchas eram isoladas umas das outras e analisadas posteriormente. Este procedimento era tedioso, pouco quantitativo e demorado. Ao longo da evolução da cromatografia líquida, várias inovações foram sendo adicionadas, sendo uma delas a passagem contínua de fase móvel dentro da coluna. Esta técnica é denominada eluição, e a fase móvel é chamada de eluente. Outra inovação importante ocorreu na década de 1960 com a diminuição significativa do tamanho das partículas empregadas como fase estacionária (geralmente baseadas em sílica ou óxido de silício), aumentando a eficiência das colunas. Empregando partículas menores a resistência à passagem da fase móvel ficou crítica e a técnica muito lenta. A alternativa foi empregar-se uma bomba para pressurizar e empurrar a fase móvel através da coluna, ao invés do uso apenas da pressão gravitacional. Como neste caso a coluna precisava ser fechada nas duas extremidades, isto facilitou o emprego de uma válvula para introdução de pequenas quantidades de amostra em uma extremidade (chamada válvula de

injeção) e de um espectrofotômetro com uma cela em fluxo do outro (denominada detector). Assim, pequenas quantidades de amostras (tipicamente 20 – 50 µL) eram introduzidas na coluna contendo partículas pequenas (tipicamente menores que 10 µm) e os compostos eluídos pela fase móvel eram detectados em um fotômetro ou espectrofotômetro e um cromatograma era desenhado em um papel de um registrador potenciométrico. Para diferenciar esta técnica da cromatografia “clássica” foi cunhado o termo HPLC (“*High Pressure Liquid Chromatography*”, ou seja, Cromatografia Líquida de Alta Pressão). Uma vez que rapidamente verificou-se que a pressão não era um componente importante na separação mas sim uma necessidade para empurrar-se a fase móvel através das partículas pequenas (e que continuava a diminuir em tamanho e aumentar a pressão necessária para passar a fase móvel através delas), decidiu-se manter a sigla HPLC porém mudar o significado para “*High Performance Liquid Chromatography*”. Outra expressão proposta por Horvath para descrever esta técnica e diferenciá-la da cromatografia líquida “clássica” foi Cromatografia Líquida Moderna (“*Modern Liquid Chromatography*”).

12. CLAE

O termo CLAE em cromatografia significa “Cromatografia Líquida de Alta Eficiência”, uma tradução livre para HPLC. O significado original de HPLC era “*High Pressure Liquid Chromatography*”, posteriormente foi modificado para “*High Performance*

Liquid Chromatography” para manter a mesma sigla. Como usualmente não se mede desempenho em Cromatografia Líquida, ao ser cunhado o nome em português preferiu-se o uso de CLAE, uma vez que a eficiência de uma coluna pode ser medida através do número de pratos (N) ou da altura do pico de um composto (H).

13. U-HPLC

O termo U-HPLC (Ultra-High Pressure Liquid Chromatography ou Ultra-High Performance Liquid Chromatography) foi criado para distinguir a HPLC normal (que utiliza pressões de até aproximadamente 600 bars) de uma nova forma da mesma técnica que utiliza pressões superiores a estas, ou seja, acima de 600 bars. Este limite não é impositivo mas apenas uma referencia que auxilia na diferenciação entre as duas técnicas (HPLC x U-HPLC). A necessidade do uso de pressões superiores surgiu a partir da diminuição do tamanho das partículas empregadas como fase estacionária em U-HPLC: menores que 2 μm (sub-2 como usualmente são denominadas) ao invés de 3 a 5 μm como utilizado em HPLC. A diminuição do tamanho das partículas em U-HPLC resultou não apenas em um aumento na pressão do sistema mas também na necessidade de modificação nas bombas, injetores, detectores e outros componentes do cromatógrafo para poderem operar em pressões mais elevadas. Assim, para que se obtenha o melhor resultado possibilitado por essas colunas de elevada eficiência e que permitem análises rápidas, típicas da

U-HPLC, é necessário o uso de equipamentos de uma nova geração, adequados para utilização em pressões acima de 600 bars.

14. Colunas superficialmente porosas

As colunas superficialmente porosas, também denominadas de “*core-shell*”, “*solid-core*” e outros nomes, são colunas cuja fase estacionária apresenta uma parte interna rígida (na versão original para cromatografia gasosa utilizava-se bolinhas de vidro para tal, funcionando como suporte para a fase estacionária) sobre a qual é depositada uma camada porosa que será a fase estacionária. Utilizadas largamente em cromatografia gasosa desde a década de 1960, tornaram-se populares no início do século XXI pelo fato de exigirem baixas pressões, nas versões utilizadas até o momento, permitindo que possam ser utilizadas em equipamentos convencionais de HPLC. Desta forma, permitem obter-se boa eficiência sem necessidade de equipamentos que trabalham em pressões superiores a 600 bars, típicas da U-HPLC.

15. Fluido Supercrítico (SF)

O estado crítico pode ser visto de uma forma simplificada como um estado físico no qual uma substância encontra-se a uma determinada pressão (P) e temperatura (T) entre o estado líquido e gasoso. Este conjunto P_c e T_c varia para cada substância (por exemplo, para CO_2 a $P_c = 73 \text{ atm}$ e $T_c = 43^\circ \text{ C}$). Iniciando-se com uma substância no estado gasoso à pressão e temperatura ambientes (ex. CO_2), um

aumento na pressão do sistema deve juntar mais as moléculas de forma a ir condensando-as em direção ao estado líquido. Entretanto, se a temperatura for mantida em valor apropriado, a substância não chegará ao estado líquido uma vez que a temperatura tende a afastar as moléculas, enquanto que a pressão tende a juntá-las.

Em determinado conjunto de temperatura e pressão, denominados Temperatura Crítica (T_c) e Pressão Crítica (P_c), a substância encontra-se no estado crítico, cujas propriedades são intermediárias entre o estado gasoso e líquido. Mantendo-se a temperatura e a pressão (ambos) acima do estado crítico, a substância estará no estado supercrítico.

Em se tratando de um fluido a substância é denominada Fluido Supercrítico (S.F. – “*Supercritical Fluid*”).

16. Colunas empacotadas (ou recheadas)

O termo coluna empacotada (do inglês “*packed column*”) em cromatografia é empregado para descrever o tipo de coluna na qual a fase estacionária é constituída por partículas sólidas (regulares ou não no tamanho e forma) ou por um filme polimérico depositado na superfície de partículas sólidas (então denominadas suporte) as quais são colocadas dentro de um tubo de forma a preenchê-lo por completo. O processo de colocar as partículas dentro do tubo para preenchê-lo, é denominado empacotamento, sendo empregado tanto em cromatografia líquida quanto

em cromatografia gasosa. Às vezes estas colunas são também denominadas colunas recheadas.

Comparadas com as colunas denominadas **tubulares abertas**, as colunas empacotadas usualmente possuem menor eficiência; requerem o uso de mais fase estacionária, móvel e amostra; produzem mais descartes (“lixo”); são mais difíceis de serem acopladas a outras técnicas como espectrometria de massas (MS), ressonância nuclear magnética (NMR) e outras.

17. Colunas tubulares abertas

As duas formas mais populares de colunas em cromatografia são as denominadas empacotadas (ou recheadas) e as tubulares abertas. As colunas empacotadas são aquelas nas quais o tubo utilizado para preparo da coluna é totalmente preenchido (empacotado ou recheado) com a fase estacionária. As colunas tubulares abertas são aquelas nas quais a fase estacionária é depositada na parede interna do tubo, usualmente como um filme de um polímero estável, à (**WCOT**) ou na forma de uma camada porosa (**PLOT**). As colunas do tipo WCOT são mais eficientes que as PLOT e estas mais do que as **colunas empacotadas**.

18. Colunas capilares

A primeira forma de cromatografia a se desenvolver foi a **cromatografia líquida**, na qual eram utilizadas colunas empacotadas em escala hoje denominada preparativa ou semi-preparativa. As colunas eram usualmente preparadas em tubos de

vidro de diâmetro interno superior a 2 cm, contendo uma torneira na extremidade, similares a uma bureta. Com o surgimento da **cromatografia gasosa**, colunas de diâmetros internos menores – usualmente inferiores a 4 mm – se tornaram rapidamente populares. Enquanto que em cromatografia líquida tradicional o diâmetro do tubo apresenta pequeno efeito da eficiência das colunas, em cromatografia gasosa a diminuição do diâmetro do tubo provoca um aumento significativo da qualidade das mesmas. Quando esta diminuição do diâmetro interno da coluna é acompanhada do depósito da fase estacionária diretamente na parede do tubo (**WCOT**), colunas muito eficientes denominadas de **tubulares abertas** ou **HRGC** são obtidas. Pelo fato dos tubos terem dimensões capilares (diâmetro interno inferior a 0,5 mm ou 500 µm) estas colunas têm sido também denominadas de colunas capilares. Portanto, a denominação capilar refere-se mais à pequena dimensão do tubo, e não à **eficiência** ou **resolução** da coluna.

O emprego de colunas capilares em cromatografia líquida até presente é muito menos comum do que em cromatografia gasosa, antevendo-se uma expansão nesta área para o futuro próximo.

19. Cromatografia Multidimensional (MDC)

A **Cromatografia Multidimensional (MDC)** é uma forma de cromatografia na qual emprega-se dois ou mais meios de separação – geralmente duas ou mais colunas, usualmente de diferentes mecanismos

de separação, em sequência, na mesma análise. Na forma mais simples e comum, utiliza-se entre as duas colunas um dispositivo (por exemplo, uma válvula) para transferir parte ou o total dos picos separados na primeira coluna para a segunda. Em geral esse arranjo é utilizado quando se pretende aumentar a eficiência e/ou a seletividade da separação, notadamente na análise de amostras complexas. Esta forma de cromatografia é popular há mais de 50 anos, empregando duas colunas de cromatografia gasosa em série. Na sua forma mais tradicional, frações isoladas na primeira coluna são transferidas para uma segunda através do auxílio de uma válvula (geralmente denominada válvula de comuta ou “*switching valve*”) ou de um dispositivo sem válvulas denominado “*Dean’s switching system*”. Em ambos os casos alguns, (poucos) picos são selecionados do efluente da primeira coluna e transferidos para a segunda coluna, com a ajuda da fase móvel, para uma melhor a separação. Dependendo de alguns detalhes experimentais a cromatografia multidimensional tem sido referida como **cromatografia multidimensional clássica** ou simplesmente multidimensional – aquela na qual alguns poucos picos da amostra (ou parte deles) são transferidos de uma coluna para outra – ou, então, como **cromatografia multidimensional abrangente** na qual toda a amostra é transferida primeira coluna para ser analisada na segunda coluna.

20. Cromatografia Bidimensional (2D)

A **cromatografia bidimensional (2D ou 2-D)** é uma forma de cromatografia multidimensional na qual

são utilizadas duas separações consecutivas, geralmente empregando duas colunas, usualmente de diferentes mecanismos (ou seja, mecanismos ortogonais). Este conceito pode ser empregado em qualquer forma de cromatografia como, por exemplo, duas colunas de cromatografia líquida (2D-LC) ou duas de gasosa (2D-GC) em série. Pode também ser empregado em outros tipos de montagem como cromatografia em camada delgada bidimensional (2D-TLC), na qual a corrida cromatográfica ocorre em uma dimensão com o emprego de uma fase móvel, a placa é girada 180° e submetida a uma outra fase móvel, gerando uma nova separação. Portanto, a cromatografia bidimensional não requer o uso de duas colunas, podendo ser em uma superfície plana e com uma única fase estacionária (neste caso a mudança é na fase móvel e não na estacionária). Esta foi a primeira forma de cromatografia bidimensional a ser desenvolvida, ou seja, a 2D-TLC.

21. Cromatografia Abrangente

A **cromatografia bidimensional** emprega dois meios de separação (colunas - ou troca de fase móvel como na cromatografia planar). O uso deste arranjo em cromatografia gasosa tem sido denominado cromatografia gasosa bidimensional (2D-GC) e representado por GC-GC e em cromatografia líquida dá origem a cromatografia líquida bidimensional (2D-LC) representada por LC-LC. Pode também combinar dois modos diferentes como na cromatografia líquida acoplada a cromatografia gasosa, LC-GC, na qual uma fração da amostra eluída da primeira coluna é

transferida, através de válvula, para a segunda coluna para uma outra separação. Notar que nesta forma de cromatografia utiliza-se um ífem entre os símbolos das duas técnicas, e representa que apenas parte da amostra é transferida de uma dimensão ou coluna para a outra.

Mais recentemente um novo arranjo foi desenvolvido no qual cada pico eluído da primeira coluna é segmentado e, através de uma interface apropriada, denominada modulador, os segmentos de cada pico são transferidos para uma segunda coluna e reanalisados. Para diferenciar da forma clássica de bidimensional na qual apenas parte da amostra é transferida de um meio para outro, esta técnica foi denominada de cromatografia abrangente (*comprehensive chromatography*). Da maneira como foi originalmente concebida, esta forma de cromatografia estabelecia o uso de duas colunas ortogonais – empregando mecanismos de separação distintos – e a exigência de que toda a amostra fosse transferida da primeira coluna para a segunda. Atualmente já se verifica na literatura o uso de colunas não ortogonais, porém com diferentes fases móveis, em cromatografia líquida, assim como a transferência de apenas parte – ainda que geralmente a maior – da fração eluída da primeira coluna para a segunda.

Para diferenciar o enfoque abrangente do não abrangente, no caso da **cromatografia abrangente** utiliza-se “x” entre o símbolo das duas técnicas. Assim, LCxLC significa cromatografia líquida bidimensional abrangente, enquanto que GCxGC representa um arranjo do tipo cromatografia gasosa bidimensional abrangente.

22. Cromatografia em linha

O termo cromatografia em linha (*on-line chromatography*) tem sido utilizado para descrever sistemas cromatográficos nos quais mais de uma coluna é utilizada, sendo as mesmas unidas ou acopladas de tal forma que a amostra passa pela primeira e depois parte dela é encaminhada para a segunda coluna para um novo processo de separação. Em geral uma válvula colocada entre as colunas efetua a transferência da amostra, ou parte dela, de uma coluna para outra, de forma automatizada. Neste enfoque não se coleta o efluente de uma coluna para posteriormente introduzi-lo na segunda coluna: a transferência de uma coluna para outra é feita de maneira automatizada – usualmente através de uma válvula de transferência ou comutação (*transfer valve* ou *switching valve*). Assim, em um arranjo típico pode-se utilizar duas colunas de cromatografia líquida on-line sendo a primeira uma coluna operando no modo fase reversa

e a segunda no modo quiral. A amostra – por exemplo plasma contendo um fármaco quiral – é introduzida na primeira coluna (C-18) e quando chegar o tempo de retenção do composto de interesse nesta coluna o pico é transferido, através de uma válvula, para a coluna quiral. Isto evita a entrada de interferentes na coluna quiral que iriam reduzir a vida útil da coluna, além de poderem interferir na separação cromatográfica. Deve ser observado que não é necessário que os dois meios de separação sejam formados por colunas de alta eficiência (de HPLC ou de HRGC): pode-se usar uma coluna de extração do tipo RAM, MIP ou outro tipo como primeiro estágio da separação, e uma coluna analítica do tipo C-18 no segundo estágio. Outra possibilidade é a utilização de um sistema de extração em fase sólida (SPE) no primeiro estágio da separação, seguido de uma coluna analítica do tipo C-18 no segundo, formando um sistema SPE-LC em linha (on-line).

Sugestões de leitura:

- [1] Lanças, F.M. “Cromatografia Líquida Moderna”, Editora Átomo, 2009.
- [2] Lanças, F.M. “Cromatografia em Fase Gasosa”, Acta Editora, 1993.
- [3] Lanças, F.M., “Fundamentos da Cromatografia Gasosa”, Editora Átomo, 2017.