

DETECÇÃO DE TRAÇOS: MAXIMIZANDO A RELAÇÃO SINAL RUÍDO PELA MINIMIZAÇÃO DO BACKGROUND (SINAL DE FUNDO) NOS SISTEMAS DE CROMATOGRAFIA A GÁS (GC) E CROMATOGRAFIA A GÁS ESPECTROSCOPIA DE MASSAS (GC/MS)

Introdução

Quase todos os laboratórios necessitam determinar baixos níveis com alta exatidão, isso é evidente. Adicionalmente, as análises devem ser feitas rapidamente e com baixos custos. Para conseguir essa produtividade e uma boa relação custo-eficiência, os sistemas analíticos devem trabalhar numa condição ótima e o background (sinal de fundo, ruído) deve ser mínimo.

O background (sinal de fundo) em qualquer sistema GC/MS, é a soma das contribuições que começam pelo gás de arraste, pela tubulação de gás, filtros de gases, sistema de injeção de amostra, pontas das colunas no detector e, em algumas vezes também, outras fontes que provocam alto background.

Há várias maneiras de reduzir o background do sistema, porém, a coluna pode ser também uma fonte significativa de alto background: Avanços na tecnologia produziram uma nova plataforma de colunas para GC, que apresentam um fator de sangramento quatro vezes menor comparado a outras marcas. O resultado final é um reduzido background provocado pela degradação da fase estacionária o que contribui para um baixo background no sistema de GC.

Essa linha introduzida recentemente, cobre fases estacionárias polares e não polares. O desenvolvimento dessa linha foi possível pela melhoria combinada nas tecnologias de estabilização de fase, produção de superfície adequada de sílica fundida e otimização de condicionamento. Os resultados e as aplicações serão mostrados adiante.

Porque um baixo background?

Nas análises químicas há um interesse crescente na determinação de baixos níveis. Isso podem ser impurezas num produto puro ou traços em matrizes ambientais como solo, água ou ar. A presença ou ausência de analitos é confirmada via análise qualitativa ou quantitativa. A cromatografia a gás é uma técnica analítica ideal pela rapidez, exatidão, relativa facilidade na implementação e historicamente tem se revelado uma técnica confiável.

Como a necessidade analítica é para baixos limites de detecção, o GC deve ser operado em uma condição ótima. Os limites de detecção dependem fortemente do nível de ruído na linha de base. A quantidade de ruído depende em geral, da contribuição do background do sistema de GC. Minimizando o ruído de fundo se obtêm várias vantagens:

Jaap de Zeeuw

Varian, Inc. Middelburg, The Netherlands

Correspondência:

Varian Ind. e Com. Ltda.

Av. Dr. Cardoso de Mello, 1644

CEP 04548-005. São Paulo. SP

Baixos limites de detecção e dados mais exatos. Com menos ruído os picos menores são determinados com melhor precisão.

Reduzida contaminação dos sistemas de detecção. A contaminação no sistema eventualmente será no final, onde está o detector e vai poluir justamente o detector. O resultado é maior background e mais manutenção. Isto pode ser testemunhado em detectores sensíveis, tais como MS bem como em detectores mais usuais como o FID. O background é freqüentemente provocado pela "queima" dos produtos de degradação do siloxano. No FID os siloxanos são convertidos a Dióxido de Silício (areia) que se deposita nos eletrodos. Como resultado os sistemas de detecção FID se tornam menos sensíveis e manutenção é requerida

Melhor espectro no espectroscópio de massa. Poucos fragmentos interferentes irão gerar melhor identificação ou semelhança com os espectros da biblioteca.

Tempos de partida mais rápidos. Menor sinal de fundo significa menor acumulação de impurezas resultando em tempos de partida mais rápidos.

Fontes de background no GC

Quando alto background é observado, freqüentemente a coluna é a causa do problema e condicionamento a alta temperatura ou a substituição da coluna é considerada. No entanto, o background também pode ser gerado por diferentes fontes. Para uma determinação exata a nível de traços nós necessitamos otimizar o sistema de GC completo. Há numerosas áreas para serem verificadas para minimizar o background no sistema de GC.

Gás de arraste

Qualquer contaminação no gás de arraste irá eventualmente refletir no final do sistema de GC. Nós podemos usar um gás de alta pureza, mas, se na troca do cilindro, a linha é aberta ou o

filtro de linha é substituído, uma considerável quantidade de ar (e impurezas) são introduzidas no sistema de gás. Isso pode tomar muito tempo para purgar as linhas de gás para remoção dessas impurezas. Em muitos projetos típicos de laboratório as linhas passam por filtros de gás e posteriormente são derivadas para vários GC's. Com esse tipo de projeto devido as muitas linhas e conexões o risco de contaminação existe.

Para reduzir o risco de contaminação, a recomendação é colocar o filtro imediatamente antes do cromatógrafo. Idealmente, cada cromatógrafo deve contar com sua bateria de filtros removendo oxigênio e água (veja Figura 1). Nós encontramos baixo background, com esses cuidados mesmo quando se opera a altas temperaturas. Os filtros de carvão para detectores tais como FID são altamente recomendados.



Figura 1

Linhas de gás

As linhas de gás devem ser feitas com tubos extremamente limpos: tubos de gás são extrudados usando óleos para facilitar a extrusão. O uso de tubos de metal não preparados para GC vão introduzir impurezas de hidrocarbonetos nos sistemas de gases. As impurezas de hidrocarbonetos não geram somente alto background mas também, são muito difíceis de serem removidas.

A amostra

Muitas o background e os picos fantasmas são gerados por contaminação da amostra. Mesmo com solventes puros podemos ver o background. A contaminação pode ocorrer quando a amostra é transferida para o frasco do amostrador automático. O frasco do amostrador é freqüentemente selado com tampas de borracha de silicone (ver Figura 2). A tampa freqüentemente libera plastificantes ou siloxanos para a amostra. Tipicamente, quando uma amostra é armazenada num frasco de amostrador e analisada algumas semanas depois, muitos picos extras são observados. O contato da amostra com a tampa do vial deve ser



Figura 2

evitado. Outra importante fonte de contaminação, pode ser o frasco de lavagem contido nos amostradores automáticos. O frasco de lavagem contém solvente para lavar a seringa, mas durante o uso extensivo do solvente o próprio resíduo da seringa contamina o solvente, contaminando a amostra que vai ser introduzida. Os frascos de lavagem devem ser limpos periodicamente e serem preenchidos com maior quantidade de solvente possível para diluir as impurezas.

O injetor e o septo

A maioria dos sistemas de injeção são baseados nos injetores split / splitless e a introdução da amostra feita com seringa via septo. O septo é provavelmente a maior fonte de background. Como o septo é feito de 100% de polidimetil siloxano (o mesmo material empregado na maioria das fases estacionárias) uma degradação desse material, produzira um produto parecido ao sangramento da fase estacionária. O septo vai liberar essa impureza continuamente e muitos sistemas possuem a opção de purga de septo para expulsar para fora do sistema, o sangramento do septo. Um dos grandes problemas pode ser partículas de septo arrancadas durante a injeção e que vão se depositar nos insersores (ver Figura 3). O insersor está sempre em alta temperatura resultando no sangramento continuo dos pedaços de septo, introduzindo na coluna um background no sistema de GC.

Vazamentos, oxigênio e umidade

A introdução de umidade e oxigênio podem causar alto background. Isso pode acontecer via vazamentos durante ou quando fazemos uma manutenção. A introdução de Oxigênio a temperaturas de até 150°C, normalmente não afeta o cromatógrafo. Acima de 150°C a presença de Oxigênio pode produzir danos. Resfriando o forno se conservará mais a coluna, mas tenha em mente que as pontas da coluna estão submetidas as altas temperaturas do injetor e detector. Uma vez que essas

a 325°C para uma coluna de 30m x 0,25mm x 0,25µm. A Figura 6, mostra a distribuição típica do sangramento desse produto bem como os valores obtidos em testes medidos para cinco colunas de marcas líderes.

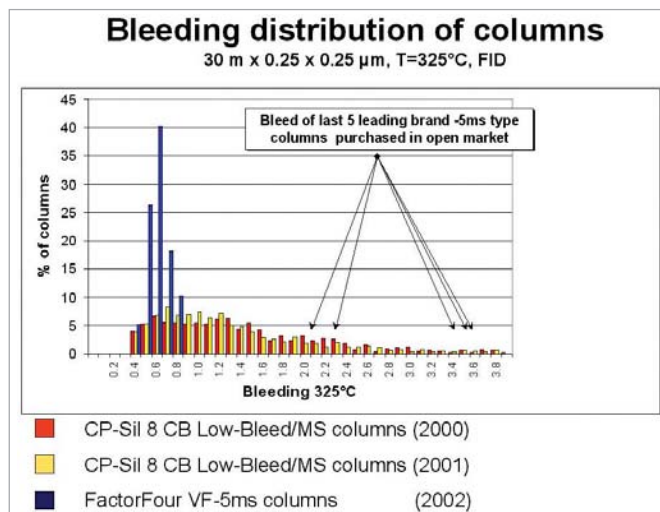


Figura 6

O baixo sangramento foi confirmado pela análise de hidrocarbonetos poliaromáticos. A relação sinal ruído da coluna VF-5ms é aproximadamente três vezes mais alto para os componentes que eluem em alta temperatura.

As fases novas são extremamente quimicamente inertes. A Figura 7, mostra a análise de uma mistura de fenóis livres na VF-5ms: os fenóis eluem como picos simétricos.

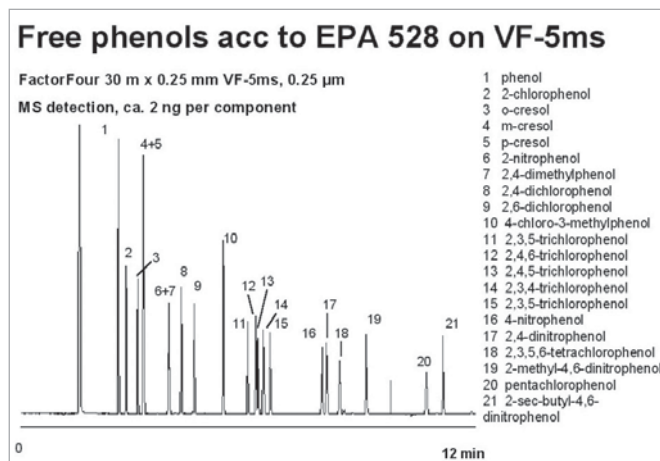


Figura 7

Algumas fases novas mais polares também foram introduzidas: pela extensão da porcentagem de grupos arílicos foi possível fazer uma fase com mesmo baixo sangramento de uma VF-5ms. Essa fase nova a VF-Xms, tem uma grande quantidade de grupos arílicos. Como resultado, a polaridade da VF-Xms é alta assim como a temperatura máxima de utilização. Tipicamente a VF-Xms pode ser usada isotermicamente a 340°C e (360°C programada) e tem especificação de < 2pA de sangramento num FID calibrado. A Figura 8, mostra mistura de

VF-Xms: Elution of polar compounds at 35°C

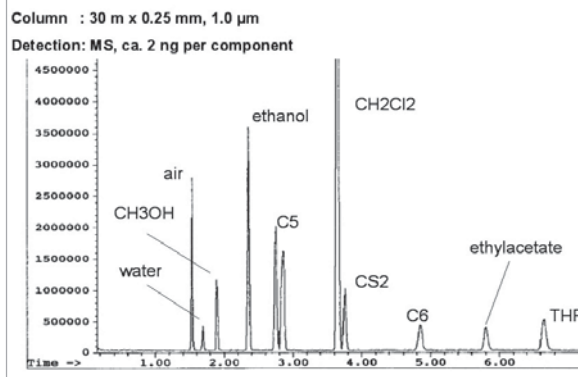


Figura 8

solvente polar incluindo água, metanol e etanol a 35°C. Esses componentes altamente polares eluem como picos simétricos demonstrando como a fase VF-Xms é quimicamente inerte.

Uma fase ciano polar foi preparada usando tecnologia similar e produziu um sangramento muito baixo. A fase polar VF-23ms pode ser usada até 260°C com detecção MS. Com FID podemos ir rotineiramente até 290°C. Essa fase é 100% imobilizada e pode permitir injeção direta e splitless bem como lavagem com solvente.

Adicionalmente, as fases VF-35ms, Vf-200ms e VF-17ms foram desenvolvidas aplicando a tecnologia Factor Four e observamos que essas colunas com baixo sangramento típico tiveram sua performance melhorada.

Especificações publicadas

Os resultados e a performance da coluna são critérios chaves para qualquer aplicação, porém, as especificações do produto podem ser um indicador chave da qualidade do produto e reprodutibilidade, especialmente na determinação de características de sangramento.

A nova serie de colunas Factor Four, são totalmente especificadas em termos de sangramento, eficiência, seletividade, inércia química e retenção. Essas especificações são publicadas, oferecidas para cada coluna, e podem e são usadas como benchmark para qualidade do produto e performance.

Conclusão

O background do sistema pode ser reduzido pela otimização das condições do sistema cromatográfico. Potenciais fontes de background devem ser localizadas e eliminadas. A introdução das fases Factor Four, trouxe o sangramento da coluna para um novo e ultra baixo nível sangramento, permitindo ao usuário final uma grande melhoria na capacidade de detecção para compostos a baixos níveis.