

# Cromatografia de Íons

Marcos Alves  
mas@metrohm.com.br

# Roteiro

- ✓ Métodos de Separação
- ✓ Tipos de Cromatografia
- ✓ História da Cromatografia Iônica
- ✓ Características da Cromatografia Iônica
- ✓ Componentes do Sistema
- ✓ Detectores
- ✓ Informações do Cromatograma
- ✓ Cuidados para uma boa Análise
- ✓ Técnicas de Preparo de Amostra Inline
- ✓ Aplicações

# Métodos de Separação

# Métodos de Separação

## Definição de Mistura:

- ✓ Uma mistura é constituída por duas ou mais substâncias, sejam elas simples ou composta;
- ✓ Mistura homogênea (apenas uma fase);
- ✓ Mistura heterogênea (mais de uma fase);
- ✓ Mistura coloidais (partículas de uma fase dispersa em outra fase);

# Métodos de Separação

## Definição de Separação:

- ✓ Ato ou efeito de separar;
- ✓ Aquilo que separa;
- ✓ Partição, divisão,

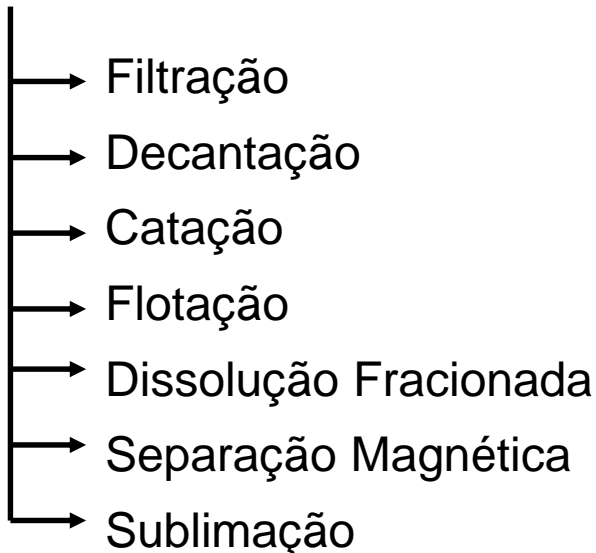
Sé é possível separar, deve haver métodos para realizar separações.

# Métodos de Separação

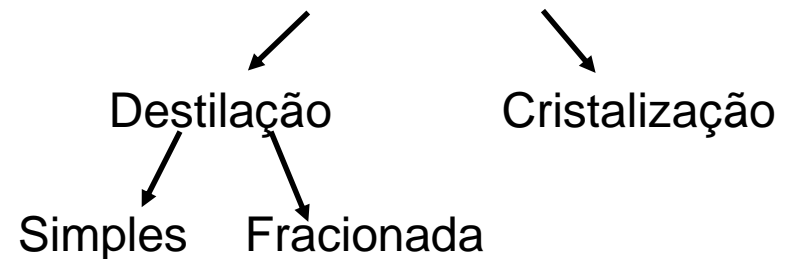
## Separação de misturas:

- ✓ A separação deve ser definida de acordo com o tipo de mistura;

### Mistura heterogênea



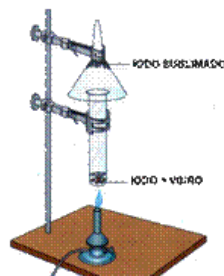
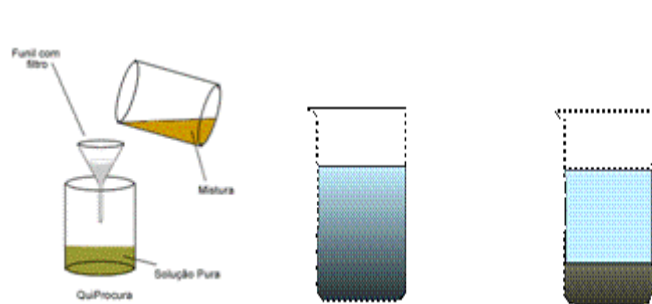
### Mistura homogênea



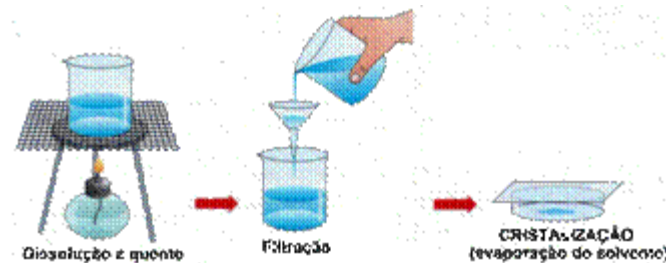
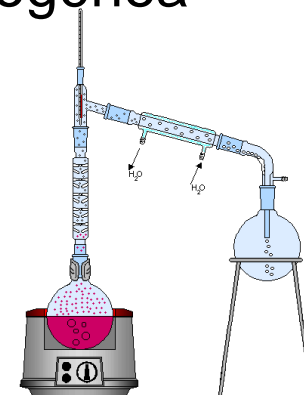
# Métodos de Separação

## Separação de misturas:

### Mistura heterogênea



### Mistura homogênea



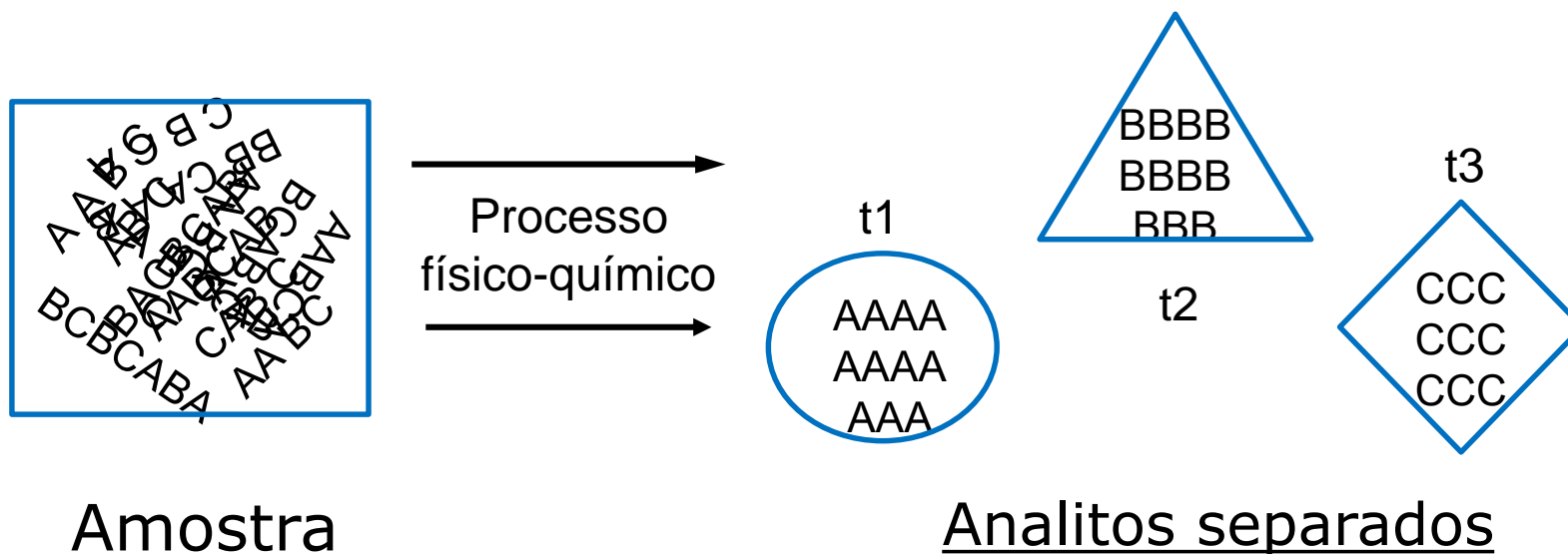
# Tipos de Cromatografía



# Tipos de Cromatografia

A Cromatografia é um termo geral que define:

- ✓ Método físico químico de separação dos componentes de uma mistura;
- ✓ Distribuição desses componentes em duas fases: uma **móvel** e outra **estacionária**;



# Tipos de Cromatografia

Forte interação  
Passagem lenta  
Longo tempo de retenção



Moderada interação  
Passagem moderada  
Intermediário tempo de retenção



Baixa interação  
Passagem rápida  
Curto tempo de retenção

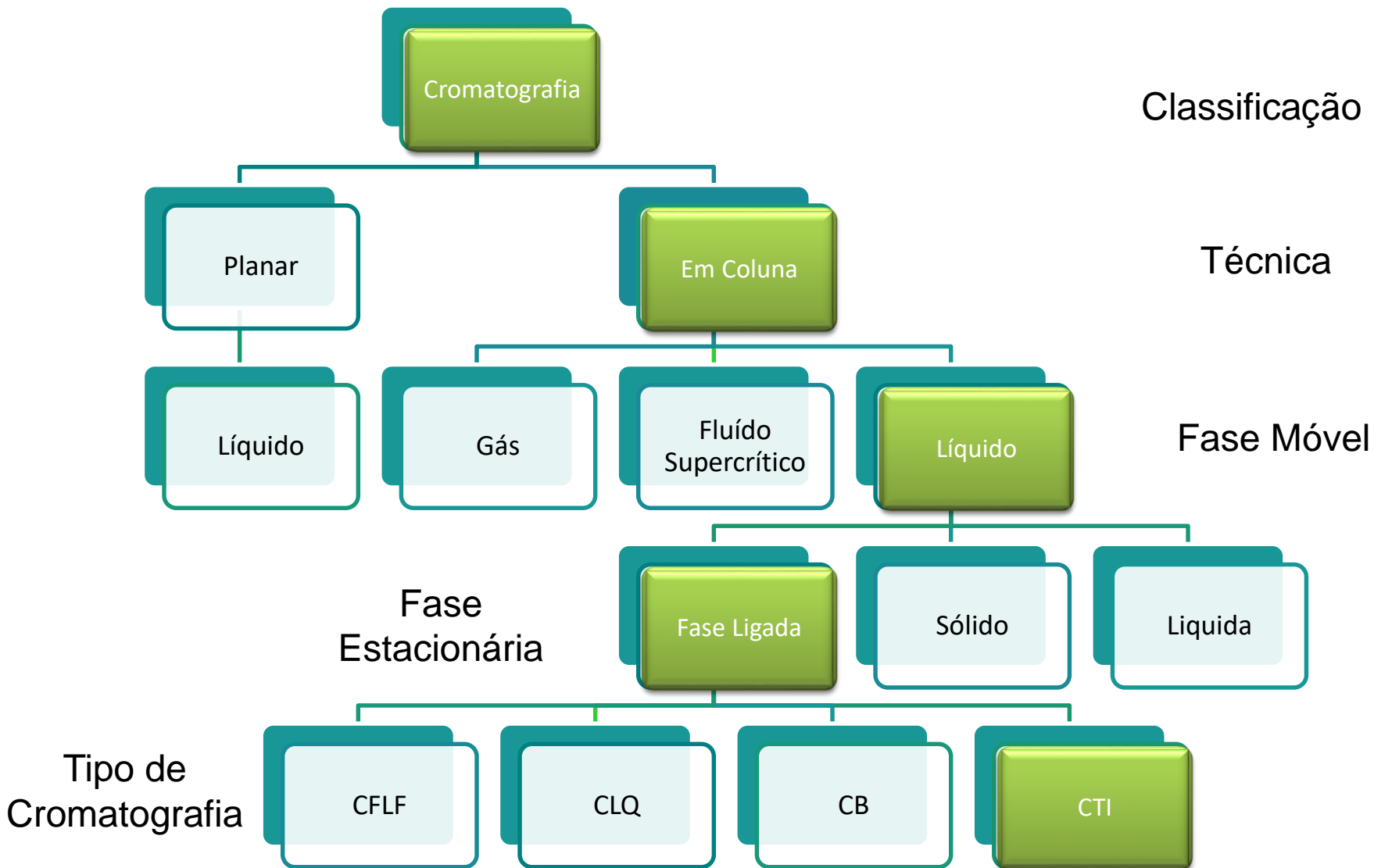


# Tipos de Cromatografia

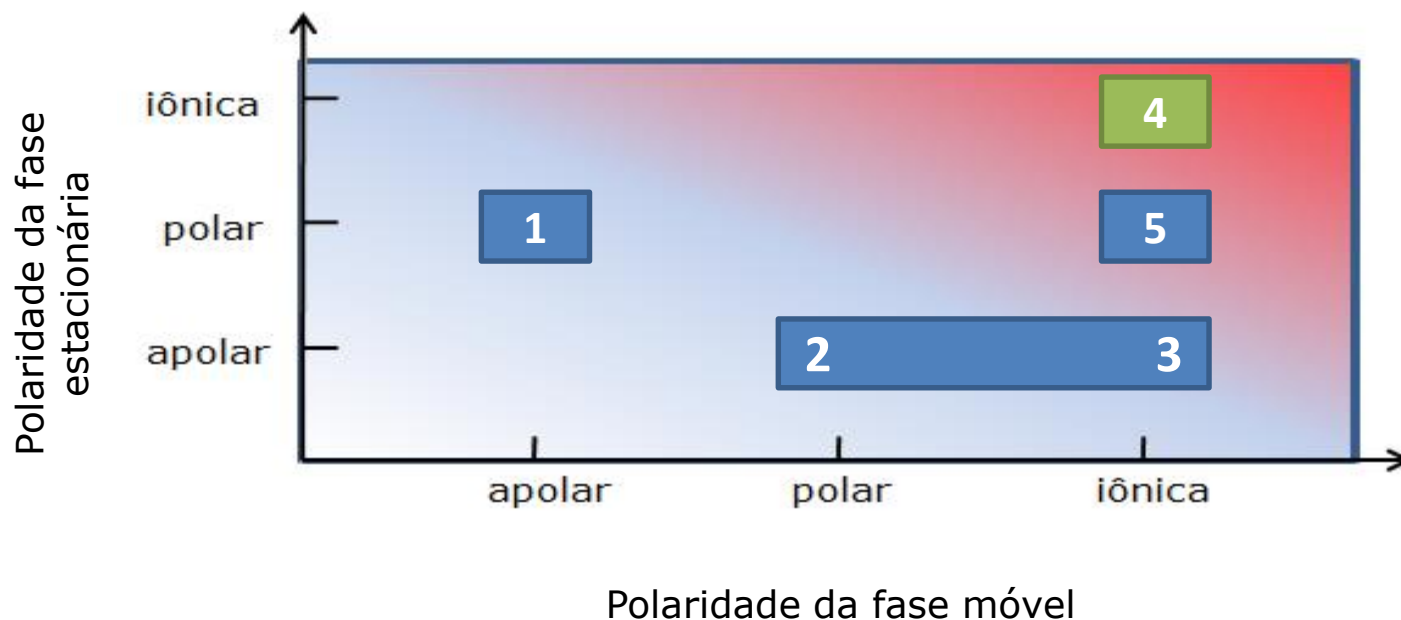
## Classificações da Cromatografia

- Existem vários critérios, mas o mais utilizado leva em conta a técnica empregada, ao mecanismos de separação envolvido e os diferentes tipos de fase (móveis e estacionária) utilizadas.
  - ✓ Forma física do sistema define a técnica;
    - ✓ Fase estacionária: superfície planar ou tubo cilíndrico.
  - ✓ Estado físico da fase móvel;
    - ✓ Gasosa, líquida e supercrítica.

# Tipos de Cromatografia



# Tipos de Cromatografia



Baseado na natureza das fases estacionária e móvel, a distinção entre os métodos é feita da seguinte maneira:

## Grupo 1: HPLC Tradicional;

- 1 Cromatografia de fase normal.
- 2 Cromatografia de fase reversa.

## Grupo 2: Cromatografia de Íons;

- 3 Cromatografia de par iônico.
- **4 Cromatografia de troca iônica.**
- 5 Cromatografia de exclusão iônica.

# Tipos de Cromatografia

|                               | HPLC  | IC                               |
|-------------------------------|---|----------------------------------|
| <b>Eluente</b>                | Mistura de solvente   | Solução iônica                   |
| <b>Modificador do eluente</b> | Sais ou ácidos  | Solventes ou compostos orgânicos |
| <b>Capilares</b>              | Metais  | PEEK / PTFE                      |
| <b>Detector principal</b>     | Espectrofotométrico (UV – Vis)                                  | Condutivímetro                   |
| <b>Analitos</b>               | Compostos orgânicos (pouco ou não iônicos)                      | Compostos inorgânicos (iônicos)  |
| <b>Mecanismo</b>              | Adsorção e dissolução (forças de Van-der-Waals dipolo - dipolo) | Troca iônica (equilíbrio iônico) |

# **Histórico da Cromatografia de Íons (CTI)**

# Histórico

O nome cromatografia deriva das palavras gregas,

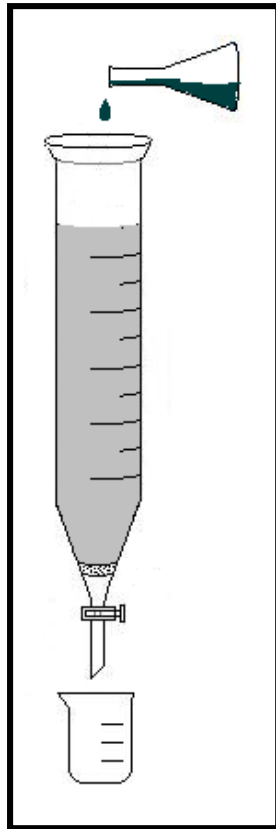
**Chroma** + *graphie* = **cor** + *escrita*

Os termos ou expressões “*cromatografia*”, “*cromatograma*” e “*método cromatográfico*” são atribuídos ao botânico russo Mikhael Tswett, que em 1906 publicou em dois trabalhos descrevendo suas experiências na separação de componentes de extrato de folhas.



# Histórico

## Experimento de Tswett



### **Amostra**

Extrato vegetal

### **Fase Móvel**

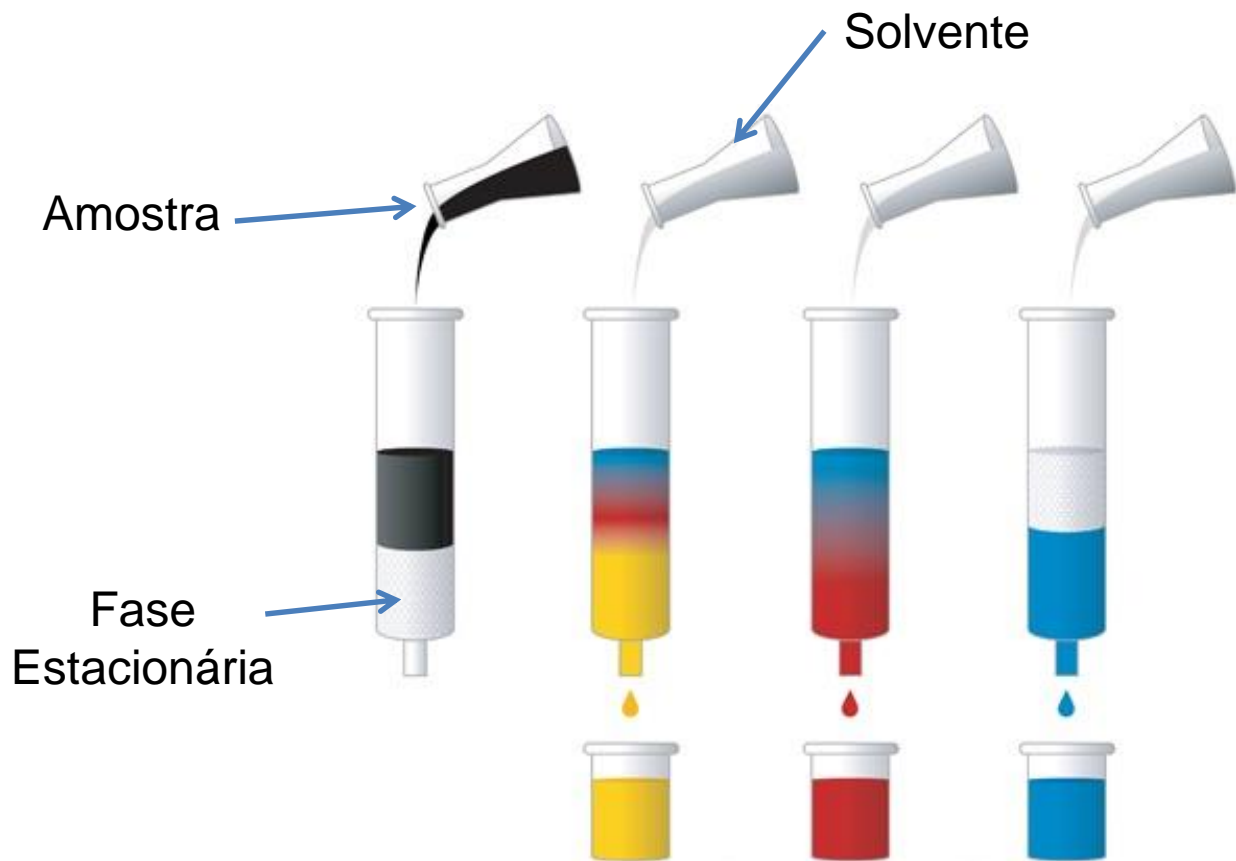
Éter de petróleo

### **Fase Estacionária**

$\text{CaCO}_3$

# Histórico

Mikhael Semyonovitch Tswett (1872-1919)



# Histórico CTI

A cromatografia de íons é a fusão de duas grandes áreas, a cromatografia e a troca iônica.

Pode-se dizer que a existem duas fases importantes:

## ❖ Antes da década de 70

1850 – Thomson e Way

1935 – Adams e Holmes

1942 - D'Alelio

1947 – MacBurney

1953 – Wheatan, Baumann

1957 – Corte, Meyer, Kunin et al.

1959 – Helfferich

## ❖ Pós década de 70

1870 – Small, Stevens e Baumann

1979 – Gjerde, Fritz, Schumeckler

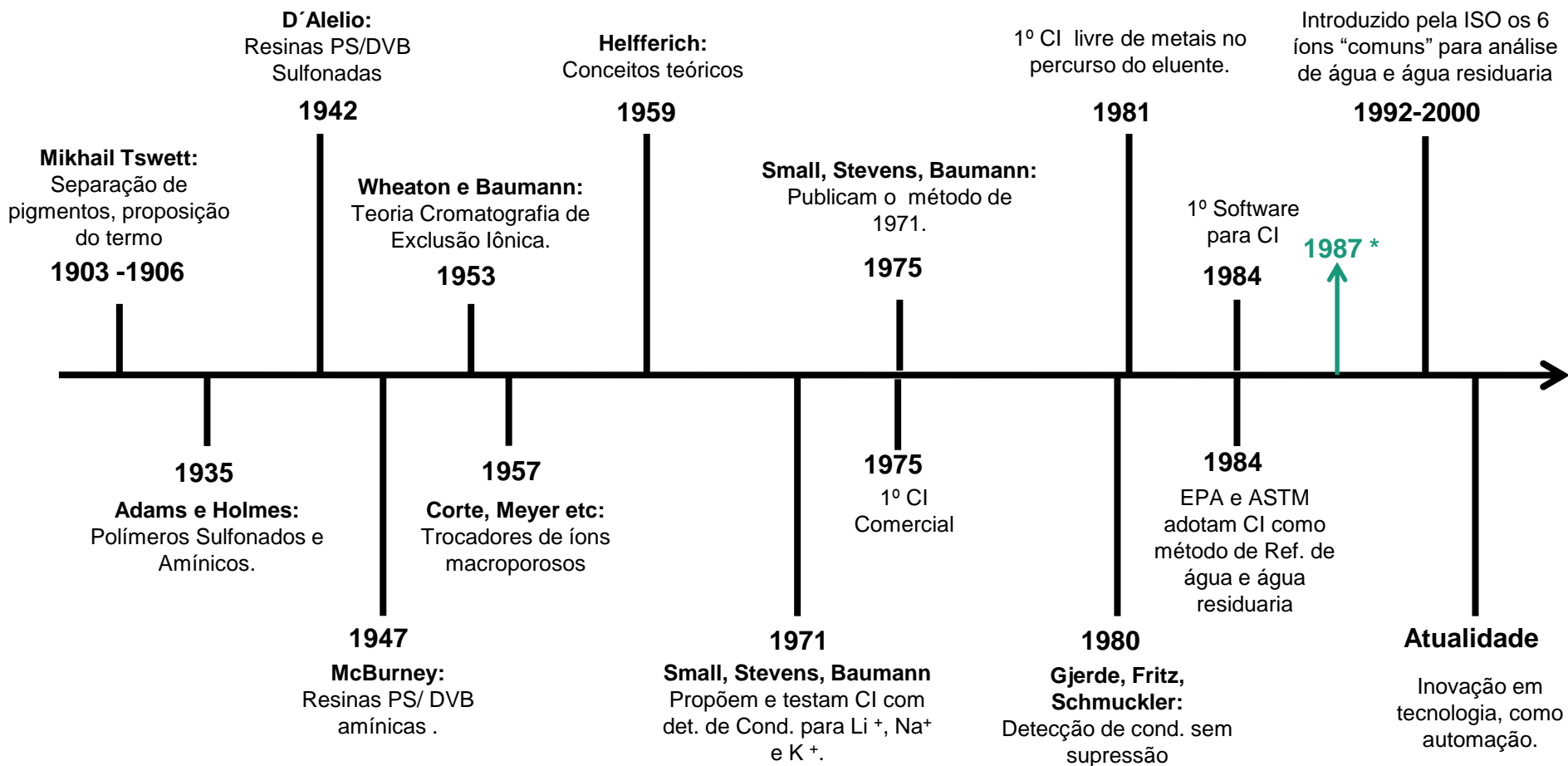
1942 – Waters, Bidlingmeier, Horvath

---

Troca iônica  
Cromatografia Líquida Clássica

CLAE - IC

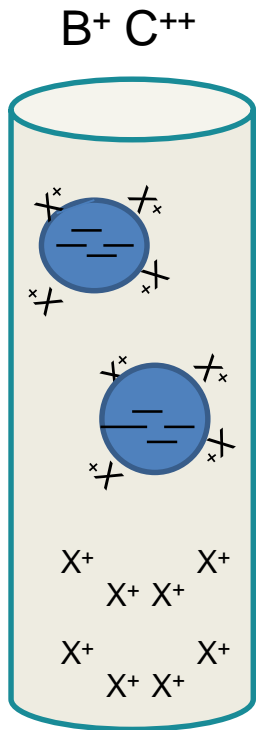
# Histórico CTI



1º Cromatografo lançado pela Metrohm

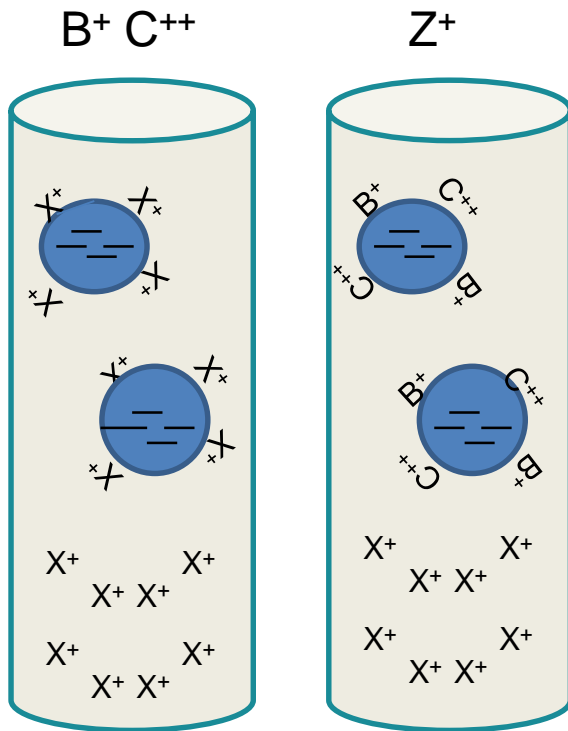
# História CTI

✓ Mecanismo de troca



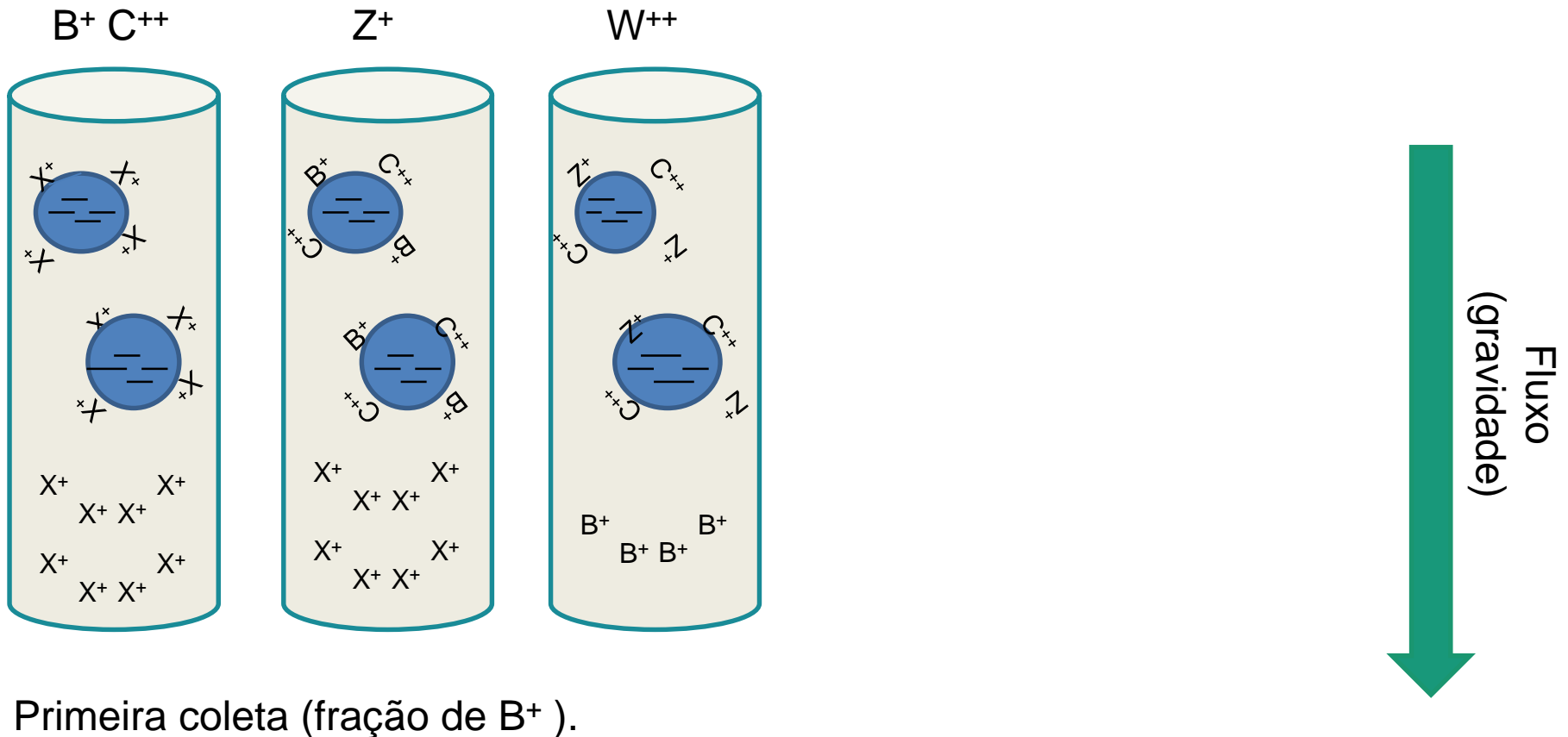
# História CTI

✓ Mecanismo de troca



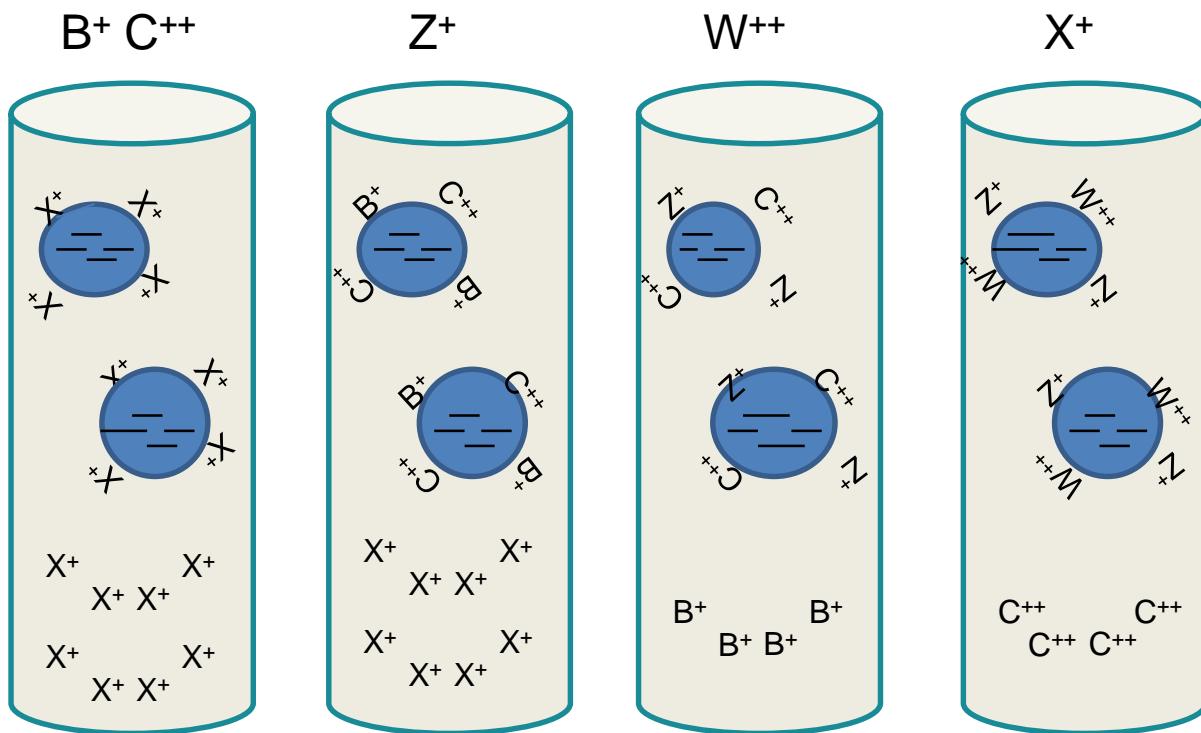
# História CTI

✓ Mecanismo de troca



# História CTI

✓ Mecanismo de troca



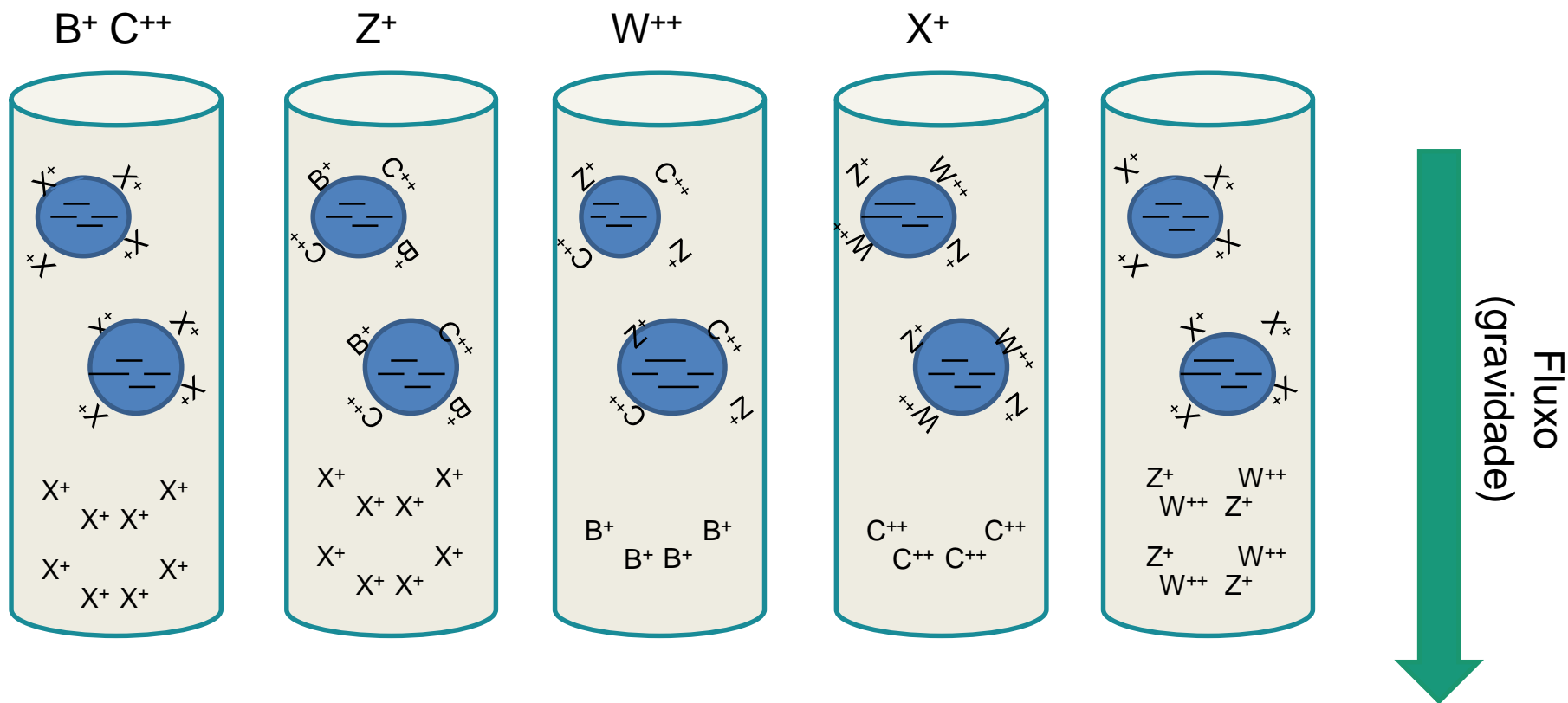
Segunda coleta (fração de  $C^{++}$  ).





# História CTI

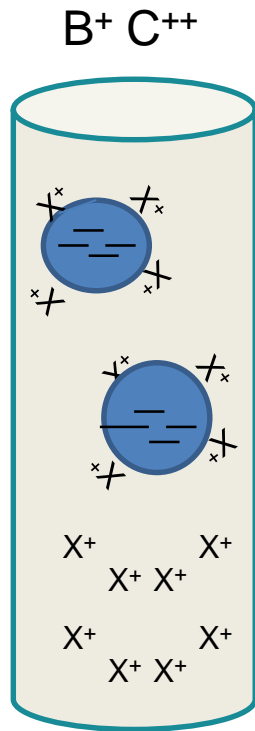
✓ Mecanismo de troca



Concentração elevada ou grandes volumes de eluente.

# História CTI

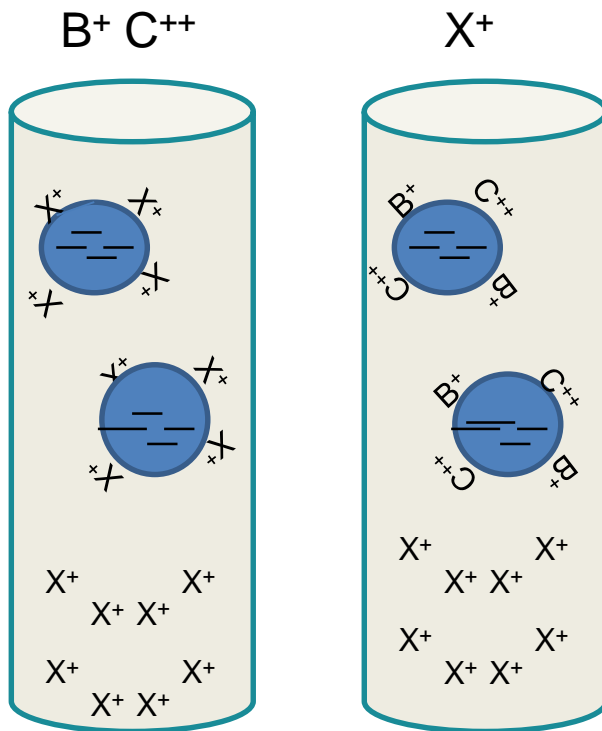
## ✓ Mecanismo de troca



Detector

# História CTI

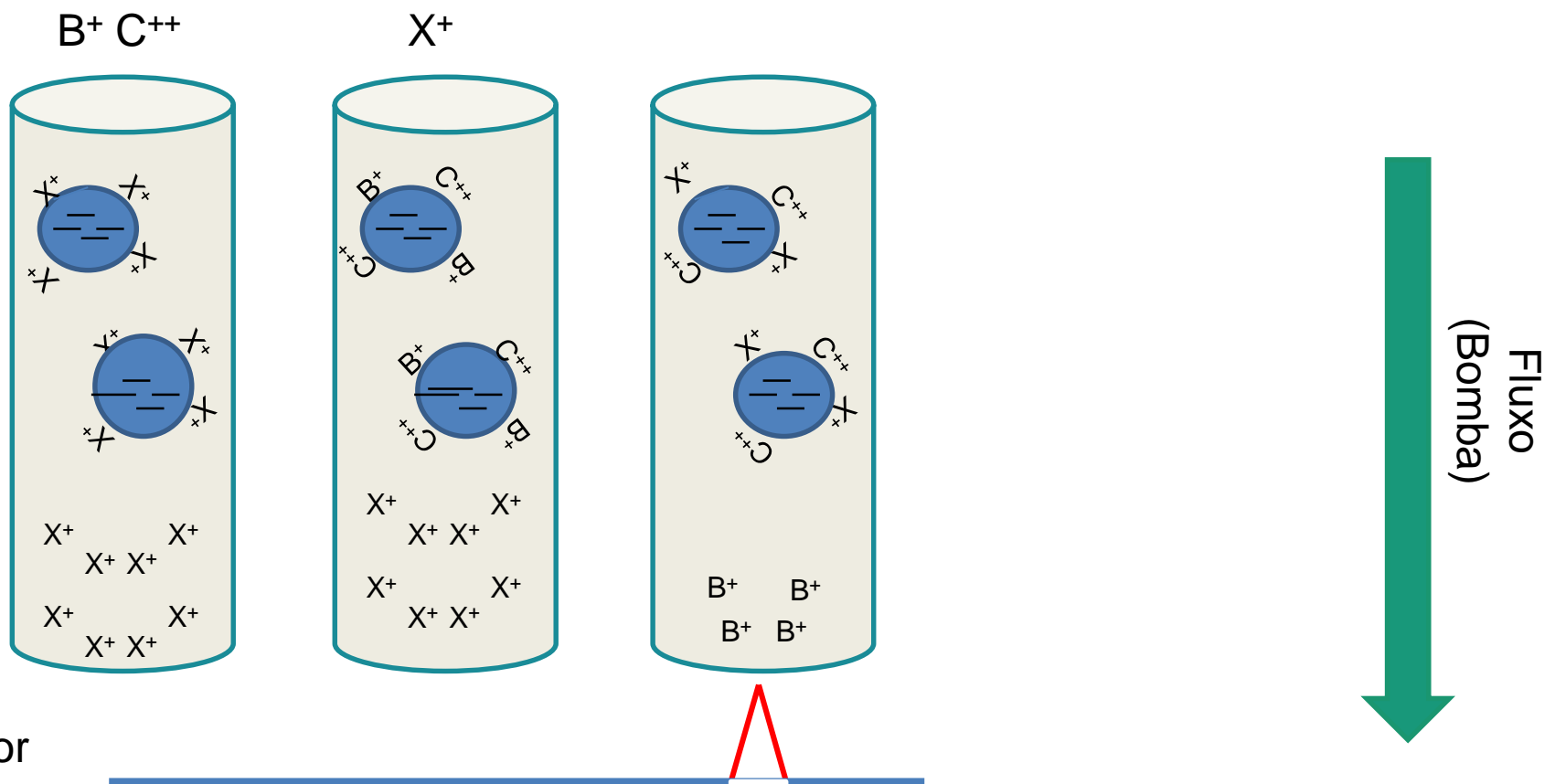
## ✓ Mecanismo de troca



Detector

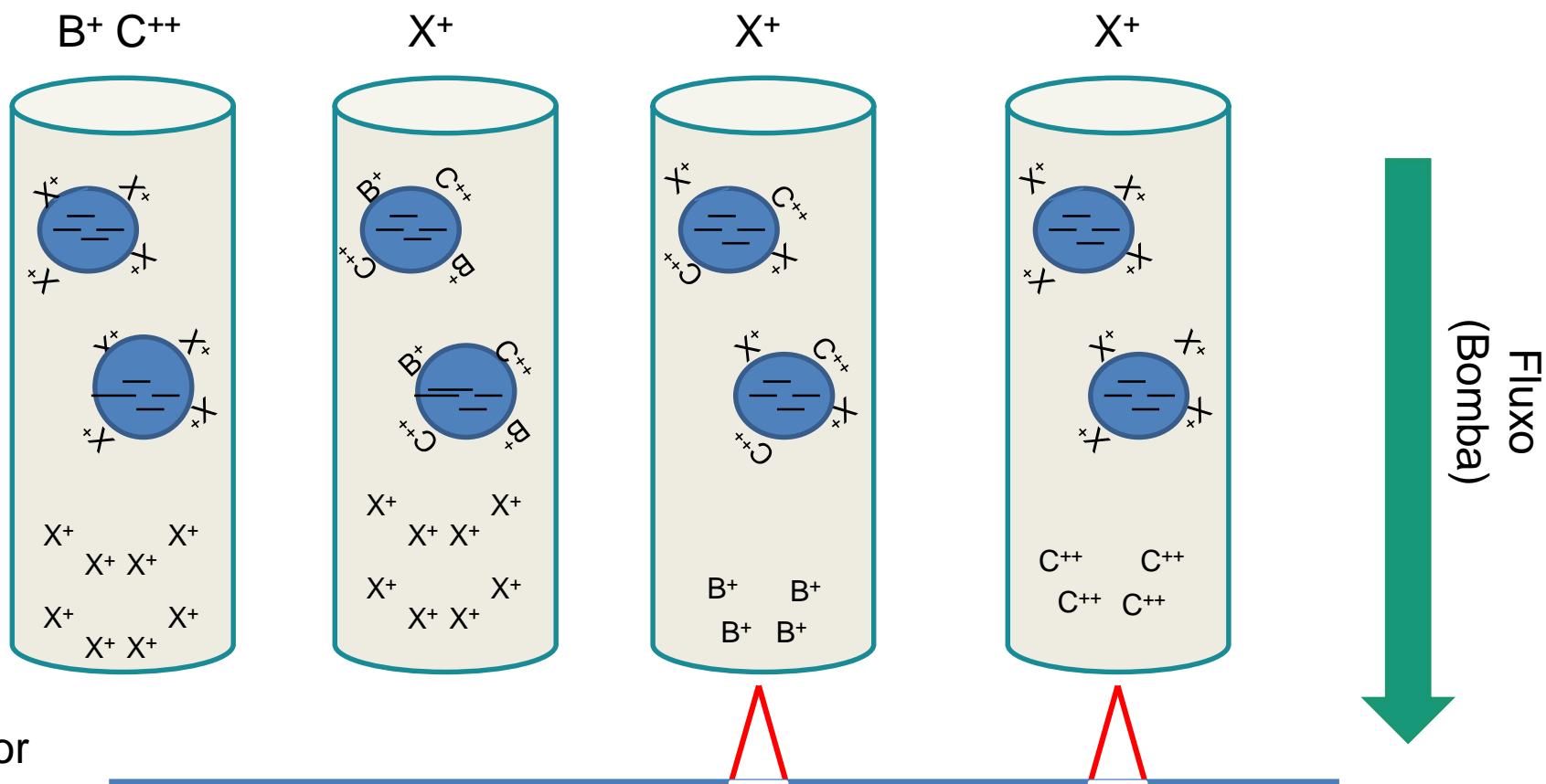
# História CTI

✓ Mecanismo de troca



# História CTI

## ✓ Mecanismo de troca



# História CTI

Primeira descrição do conceito para fazer colunas trocadoras de baixa capacidade (1971)

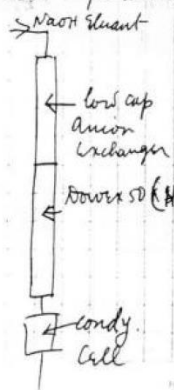
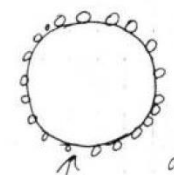
Some ideas on the extension of the above ideas to Anion separations.

The obvious means of extending this technique to Anion separations is to use a low capacity anion exchanger in the OH<sup>-</sup> form, on top of Dowex 50 (H<sup>+</sup>) and use NaOH as eluant with a conductivity cell as detector.

How to make a low capacity Anion exchanger?

suggestion: Prepare a very fine particle size (a latex if possible) anion exchanger and immobilise a layer of these particles on to the surface of a Cation exchanger by the virtue of their mutual tendency to agglomerate or clump

H Small 11/9/71

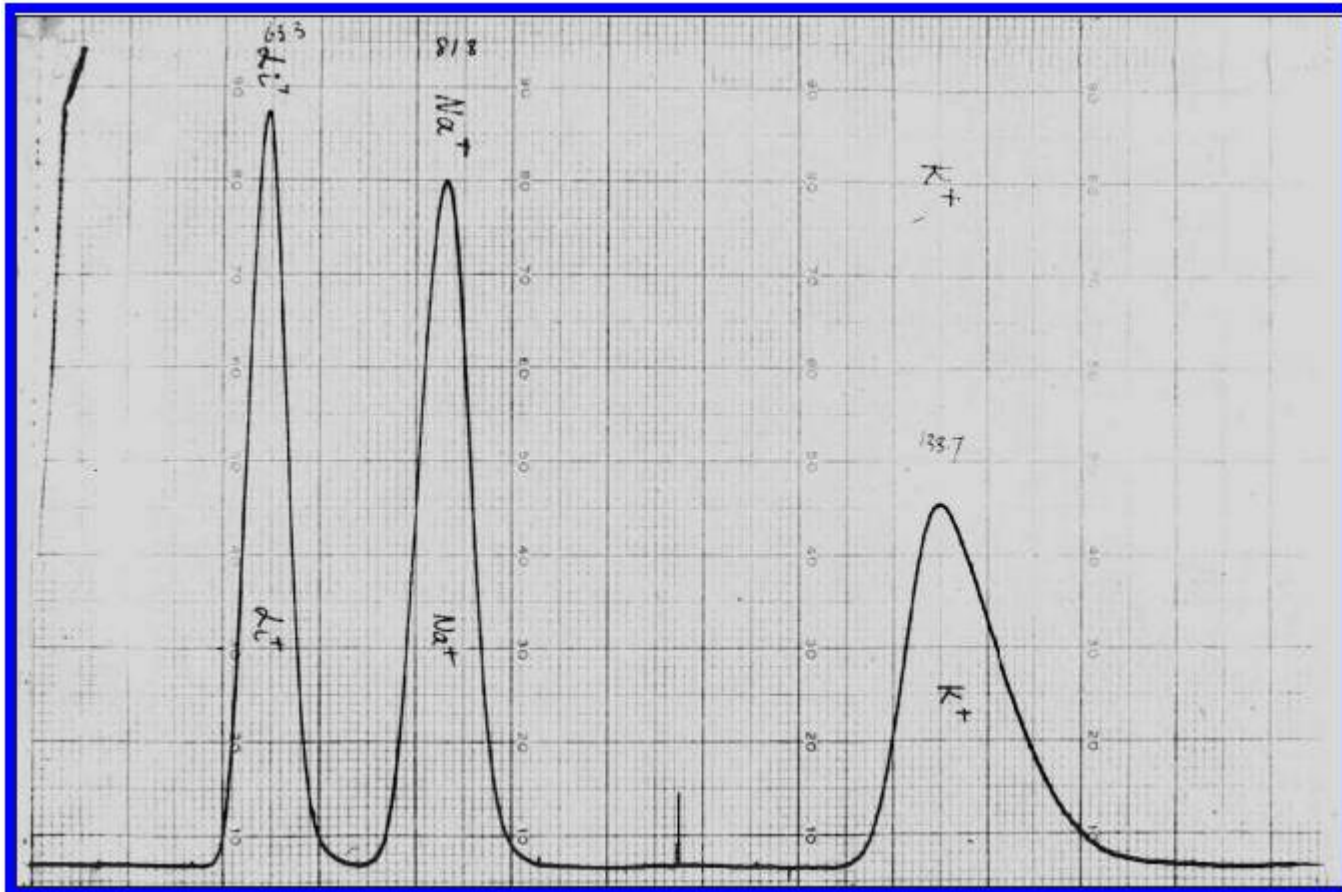
large ~~part~~ spheres might be Dowex 50 or a surface sulfonated copolymer - size of this sphere should be as small as possible to maximize chromatographic resolution. Small spheres are small particles of anion exchanger - possibly latex spheres.

Low Capacity Anion exchanger formed by "clumping" or agglomerating very small particle size anion exchanging particles on to the surface of a cation exchanger which might be Dowex 50 or maybe preferably ~~low cap~~ surface sulfonated copolymer.

Therefore asked Paul Hansen to prepare some DVB crosslinked vinyl benzyl chloride latex which we would subsequently react with trimethylamine to form a latex form of Dowex 1 type resin.

If the latex idea should not work out satisfactorily, we can try grinding some ion exchanger very fine and agglomerating these particles on to the cation exchanger

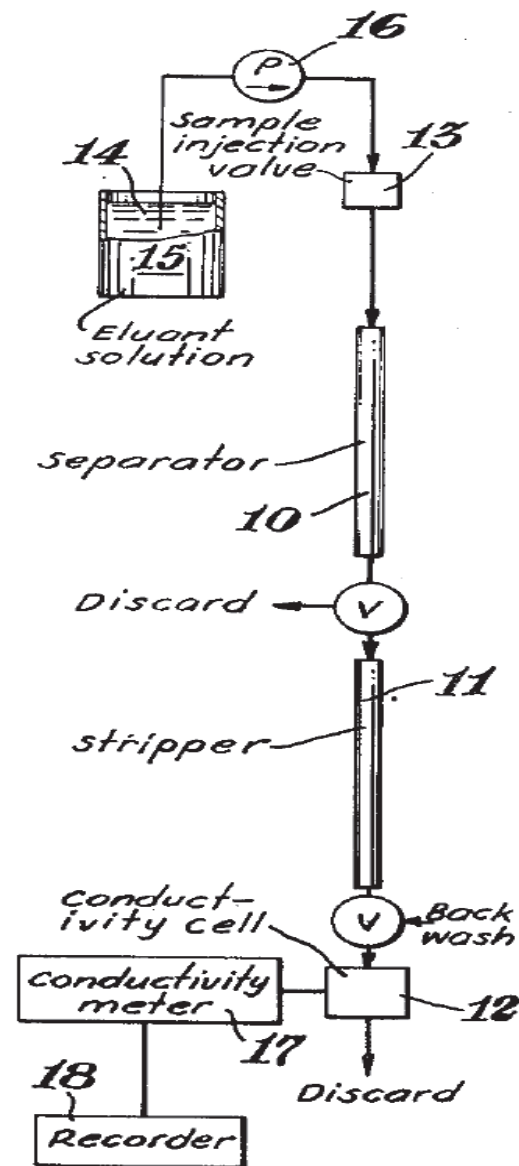
# História CTI



Primeira cromatograma de cátions: separação de 3 metais alcalinos e detecção por condutividade.

# História CTI

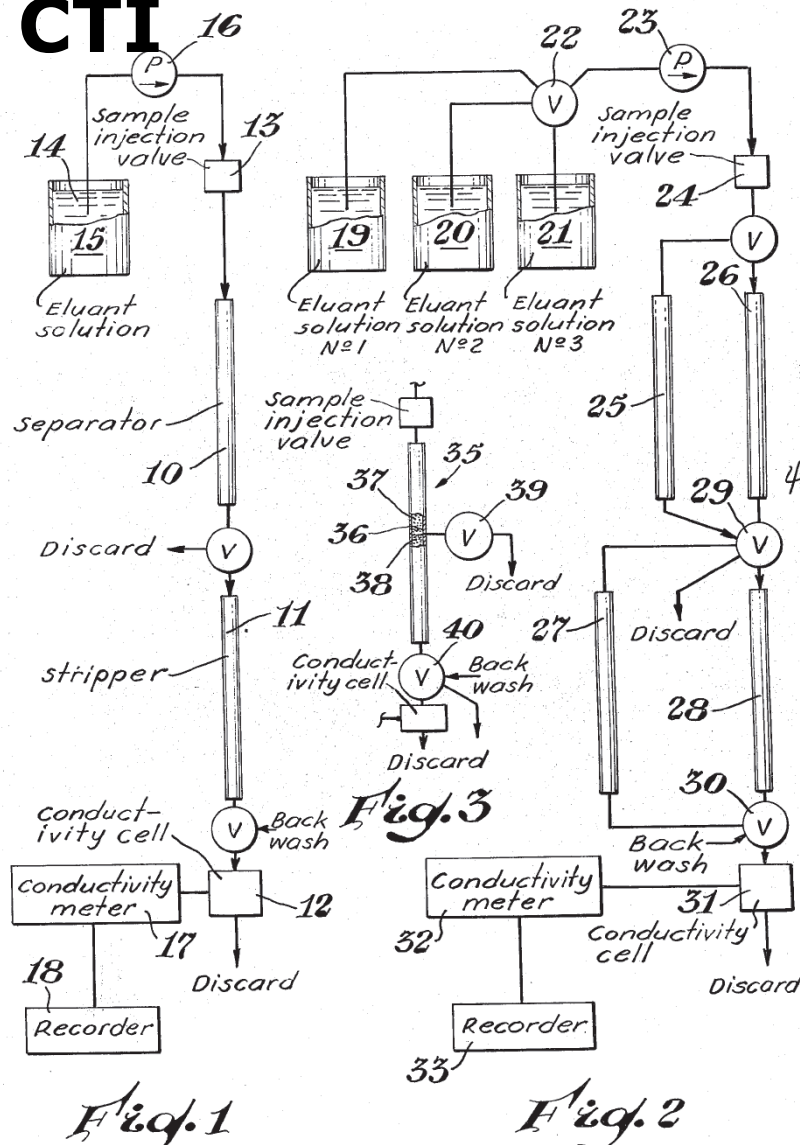
Patente do primeiro  
cromatografo de íons





# História CTI

Patente da variação do primeiro sistema de cromatografia de íons



# **Características da Cromatografia de Íons**

# Características IC

- ❖ Apesar de uma técnica nova, IC está bem estabelecida, considerada uma técnica madura:
  - ❖ ASTM (American Society for Testing and Materials) ;
  - ❖ AOAC (Association of Official Analytical Chemists);
  - ❖ USEPA (United States Environmental Protection Agency)
- ❖ Avanço nas técnicas de supressão ajudou a atingir baixas concentrações;
- ❖ Possibilidade do uso de vários detectores:
  - ❖ Condutividade;
  - ❖ UV/Vis;
  - ❖ Eletroquímicos;
  - ❖ Acoplamentos com espectrômetros de massa (MS) e ICP-MS

# Características IC

- ❖ O IC é usado para determinação de:
  - ❖ Ânions inorgânicos;
  - ❖ Cátions inorgânicos (alcalinos e alcalinos terrosos);
  - ❖ Metais de transição;
  - ❖ Ácidos carboxílicos de baixo peso molecular;
  - ❖ Organos Fosforados;
  - ❖ Complexo metálicos;
  
- ❖ Aplicável a vários tipos de amostra;
  - ❖ **Ambientais;**
  - ❖ Industrias petroquímicas;
  - ❖ Alimentos e bebidas;
  - ❖ Análises farmacêuticas e clínicas;

# Características IC

- ❖ A determinação de ânions utiliza uma variedade de métodos;
  - ❖ Espectroscopia tradicional;
  - ❖ Métodos químicos por via húmida:
    - ❖ Titulometria; Gravimetria, Turbidimetria (clássica ou instrumental)
  - ❖ Técnicas eletroquímicas
    - ❖ Íon seletivo. Titulação amperométrica;
  
- ❖ Uso de sistemas em fluxo (FIA) permite a automação de algumas técnicas;
  - ❖ Determinação de apenas um analito;
  - ❖ Mais de um analito aumenta a complexidade e custo;

# Características IC

❖ Métodos convencionas para análise de ânions em água potável;

| Analito  | Método Analítico Convencional     | Norma       |
|----------|-----------------------------------|-------------|
| Fluoreto | Íon Seletivo                      | USEPA 340.2 |
| Cloreto  | Titulação Potenciométrica         | APHA 407C   |
| Nitrito  | Reação com Sulfamida (FIA)        | USEPA 354   |
| Nitrato  | Redução em coluna de Cádmio (FIA) | USEPA 365.1 |
| Fosfato  | Reação com Ácido Ascórbico (FIA)  | USEPA 353.2 |
| Sulfato  | Turbidimetria                     | USEPA 375.1 |

# Características IC

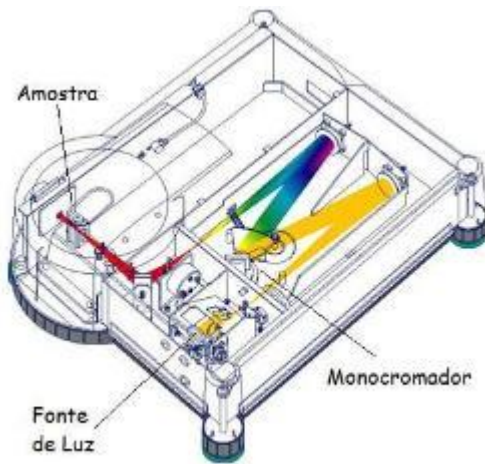
Fluoreto



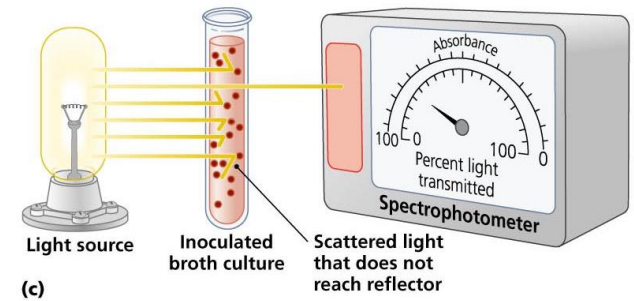
Cloreto



Nitrito, Nitrato e Fosfato



Sulfato



# Características IC

- ❖ A determinação de cátions é consolidada:
  - ❖ Métodos espectroscópicos;
    - ❖ AAS; ICPAES e ICPMS;
  - ❖ Métodos eletroquímicos
    - ❖ Polarografia e Voltametria;
  
- ❖ Métodos elementares;
  - ❖ Via de regra não permitem especificação ;
  - ❖ Equipamentos de elevado custo ou difícil operação.



# Características IC

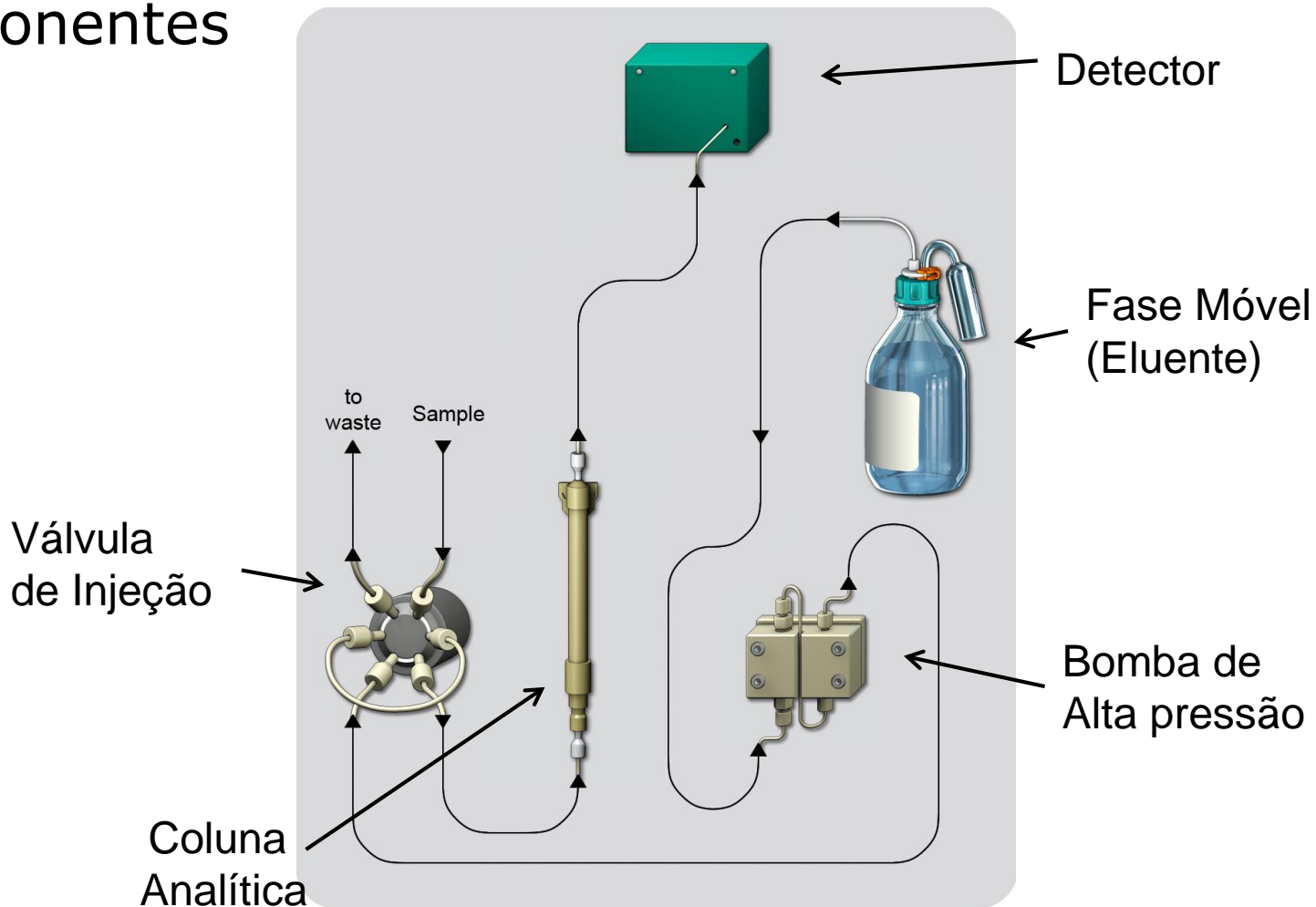
## ❖ Comparativo entre IC e Métodos Convencionais

|                         | IC        | Métodos Convencionais      |
|-------------------------|-----------|----------------------------|
| Volume de Amostra       | Baixo     | Alto                       |
| Tratamento da Amostra   | Filtração | Eliminação de Interferente |
| Tempo de Análise        | Baixo     | Elevado                    |
| Custo de Instrumentação | Moderado  | Baixo**                    |
| Custo da Análise        | Baixo     | Elevado                    |
| Reagente                | Poucos    | Muitos                     |

# **Componentes do Sistema Cromatográfico**

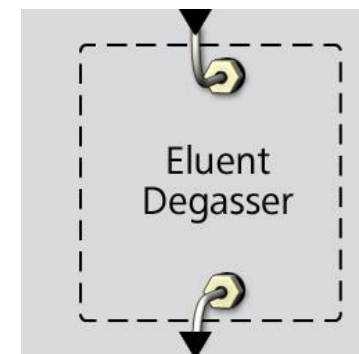
# Componentes do Sistema de Cromatográfico

## ✓ Componentes



# Fase Móvel - Eluente

- **Funções:**
  - Carregar a amostra;
  - Participar da separação;
- **Características Físico-Químicas:**
  - Miscibilidade;
  - Baixa Viscosidade;
  - Compatibilidade com os componentes do sistema: **Amostra → Coluna → Detector**
  - Isento de bolhas (*Degasser?*)



# Fase Móvel - Eluente

## Ânions:

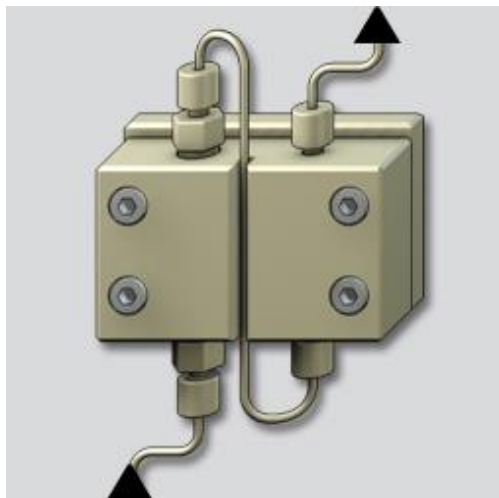
- ✓ Água;
- ✓ Ácido Ftálico;
- ✓ Hidróxido de Sódio;
- ✓ **Hidróxido de Potássio;**
- ✓ **Carbonato de sódio;**
- ✓ **Bicarbonato de sódio;**



## Cátions:

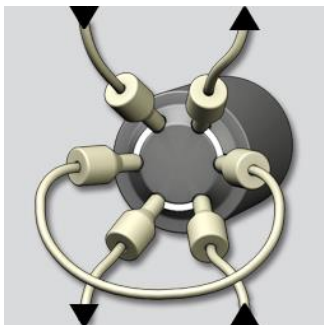
- ✓ **Ácido Nítrico;**
- ✓ **Ácido Dipicolínico;**
- ✓ Ácido Cítrico;
- ✓ Ácido Oxálico;
- ✓ Etileno Diamina;

# Bomba de alta pressão

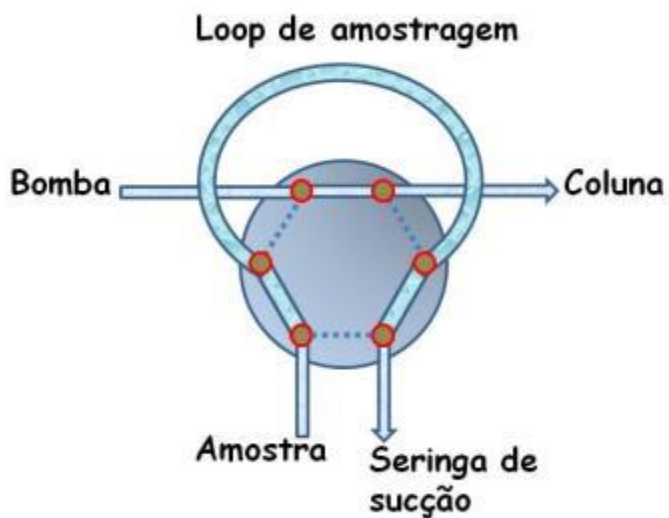
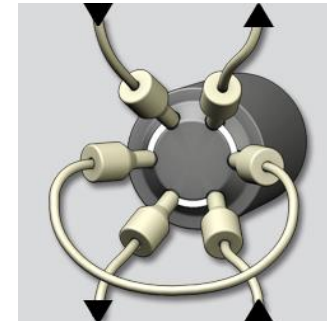


- **Função:**
  - Bombear o eluente → fluxo constante
- **Características:**
  - Fabricada em PEEK → Resistência → Inerte ao ataque de compostos iônicos
  - Duplo pistão: menor ruído
  - Válvula de Purga
- **Modos de Eluição:**
  - Isocrático ou Gradiente.

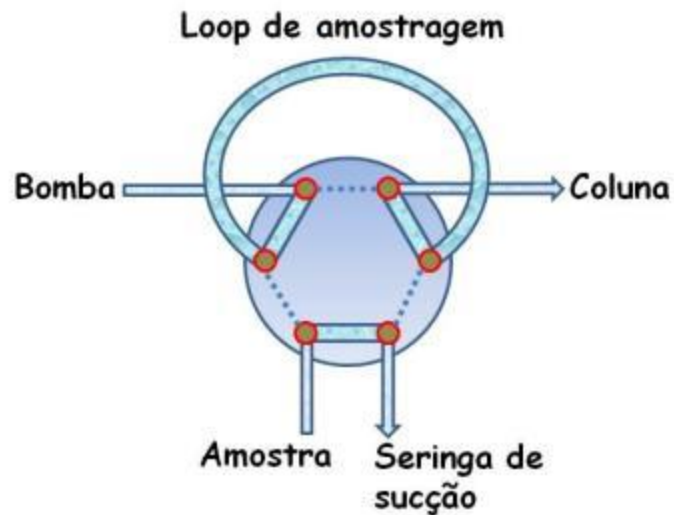
# Válvula de injeção



- **Válvula de 6 vias:**
  - 2 posições → Manual/Software
- **Loop :**
  - Alça de amostragem



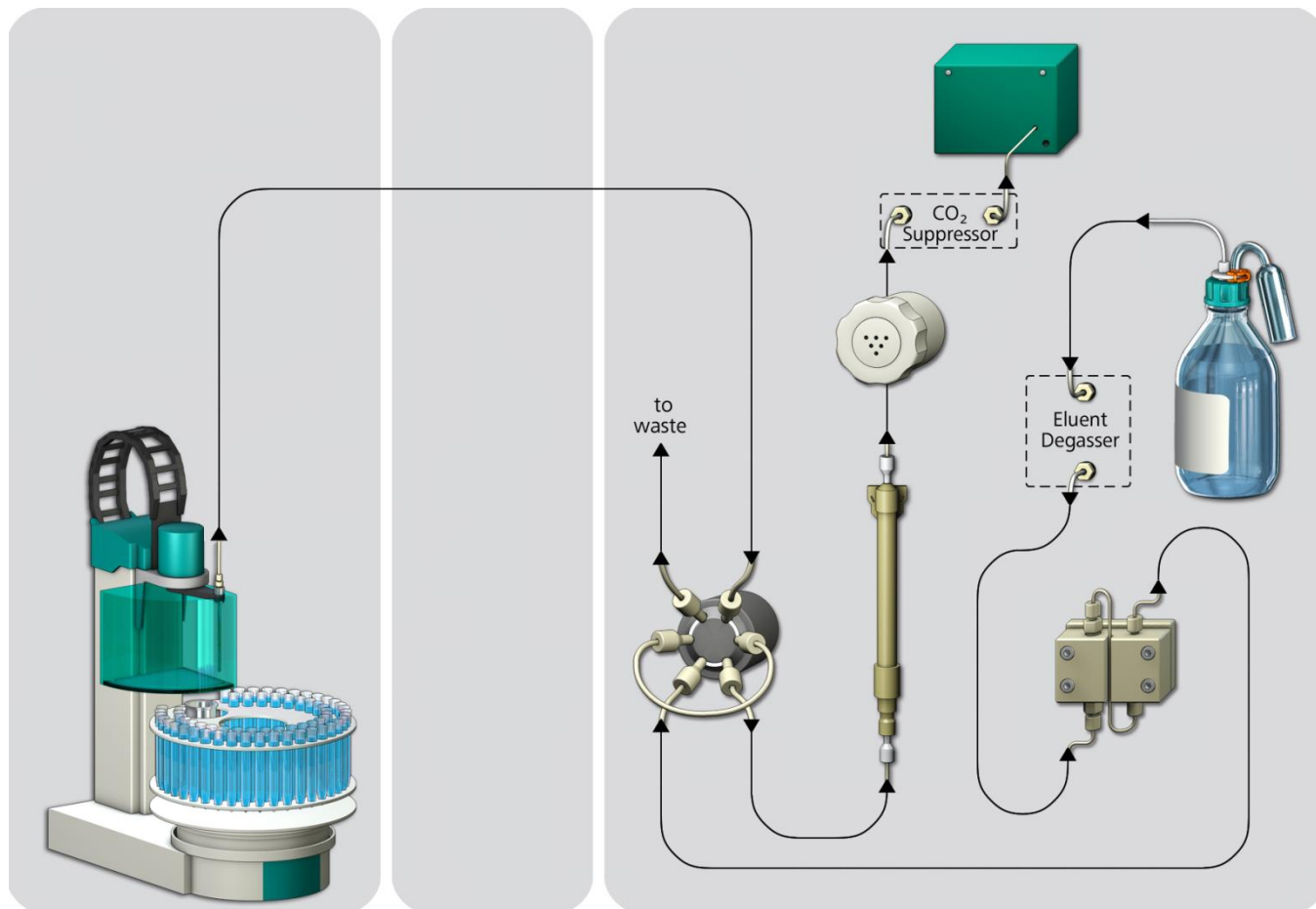
**Posição Fill**  
(Preenchimento do loop)



**Posição Inject**  
(Injeção da amostra)

# Válvula de injeção

## Injeção Automática





# Coluna ou Fase Estacionária



- **Pré-Coluna e Coluna de Guarda**
  - Evita contaminação da coluna;
  - Pré: mesmo material da coluna;
  - Coluna de guarda: material diferente → **RP 2 Guard**.

- **Coluna**

- Promove a separação dos íons;
- Formada por material polimérico compactado:
  - (PDVB/PS, SiO<sub>2</sub>, PMMA, Polivinil-álcool e outros)
- **Terminais positivos (+) ou negativos (-).**



# Coluna ou Fase estacionária

## ✓ Substrato ou Suporte:

- É um material poroso (sintético ou natural), inerte, insolúvel em água e solventes orgânicos e que podem apresentar ligações covalentes com grupos trocadores iônicos.
  
- Classificação quanto ao material:
  - Inorgânicos (naturais ou sintéticos);
  - Orgânicos (naturais ou sintéticos) mais eficientes por serem altamente polimerizáveis para obter ligações cruzadas;

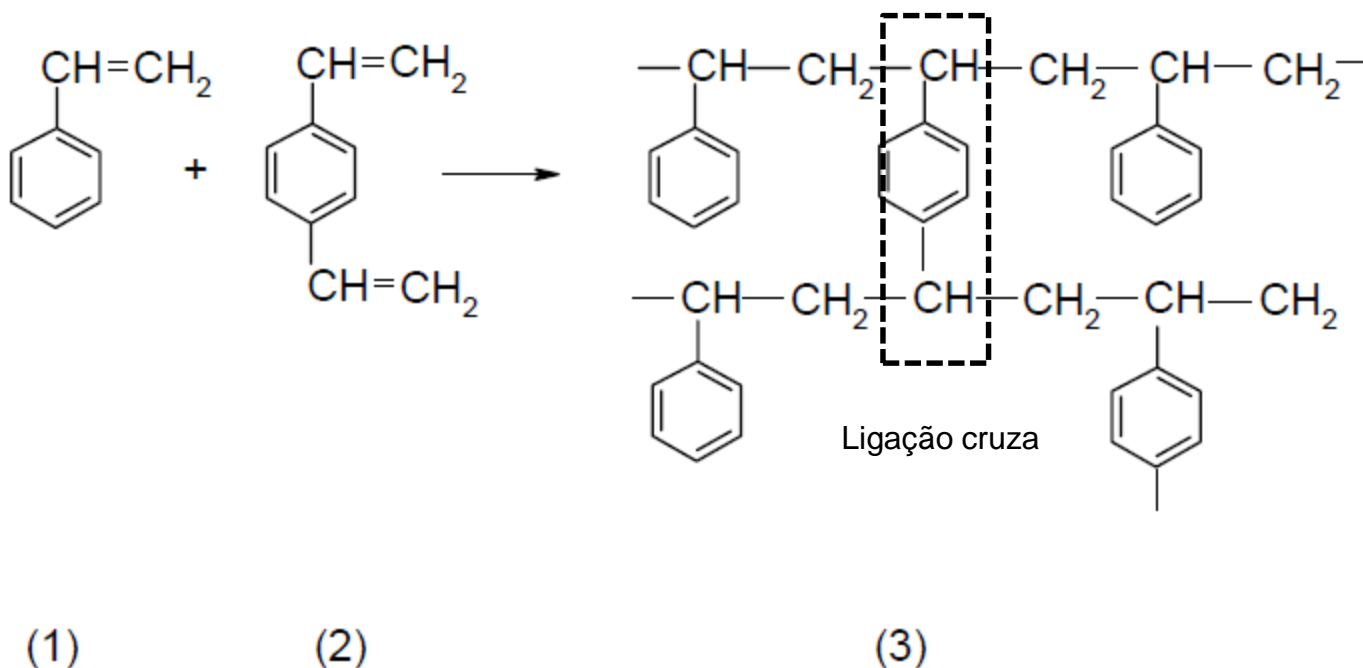
# Coluna ou Fase estacionária

## ✓ Substrato ou Suporte:

- Os materiais mais utilizados são os compostos orgânicos:
  - Estireno/Divinilbenzeno (PS/DVB);
  - Etilvinilbenzeno/ Divinilbenzeno (EVB/DVB);
  - Polimetacrilato (PMA);
  - Polivinil Álcool (PVA);
  - Sílica;

# Coluna ou Fase estacionária

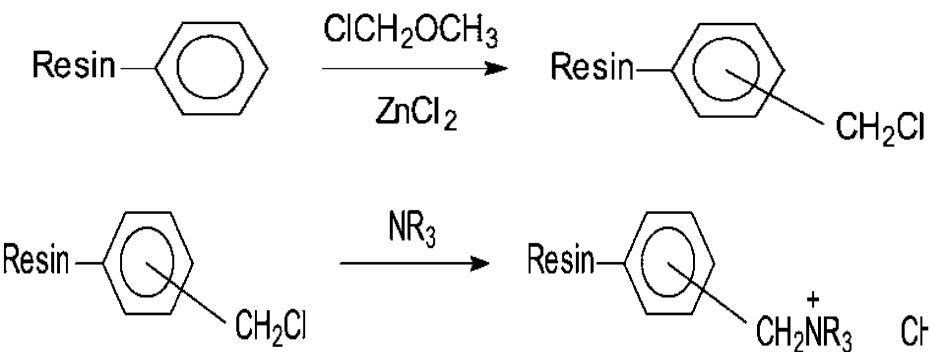
✓ Substrato ou Suporte:



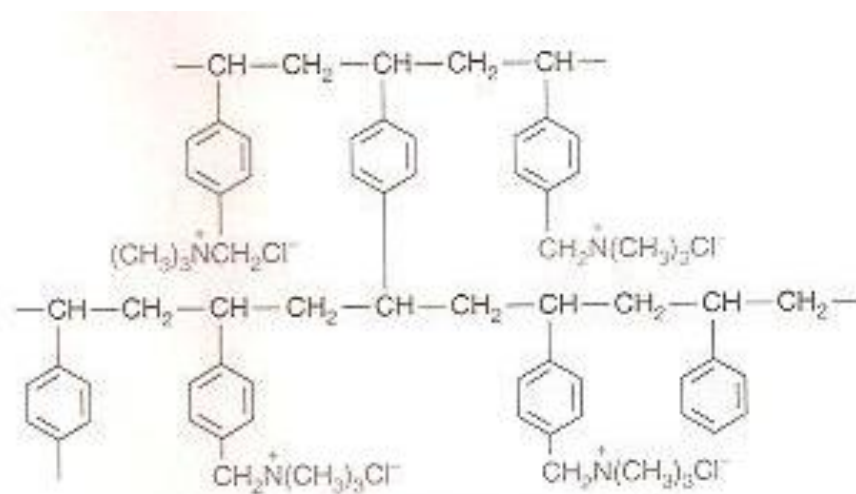
Reação do (1) estireno com (2) divinilbenzeno para produzir co-polímeros de (3) estireno/divinilbenzeno

# Coluna ou Fase estacionária

✓ Substrato ou Suporte:



Funcionalização da resina



Resina de troca aniônica fortemente básica

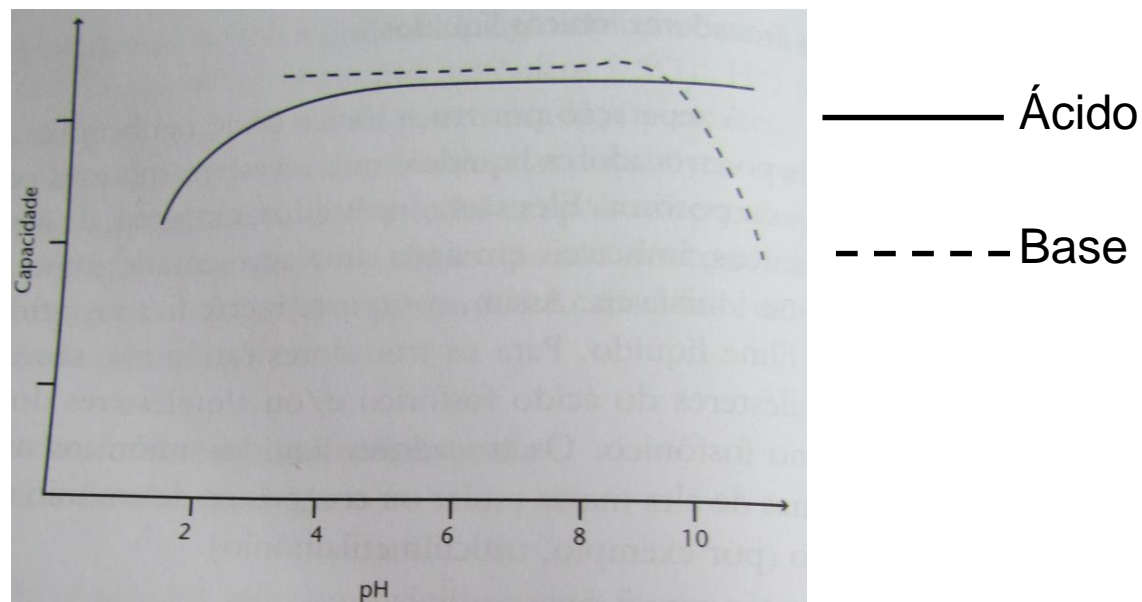
Resina funcionalizada

# Coluna ou Fase estacionária

✓ Grupo trocador

➤ Os grupos trocadores são classificados em:

- Trocadores iônicos fortes:
  - Proveniente de ácido e base forte.
  - Completamente ionizáveis em grande faixa de pH.

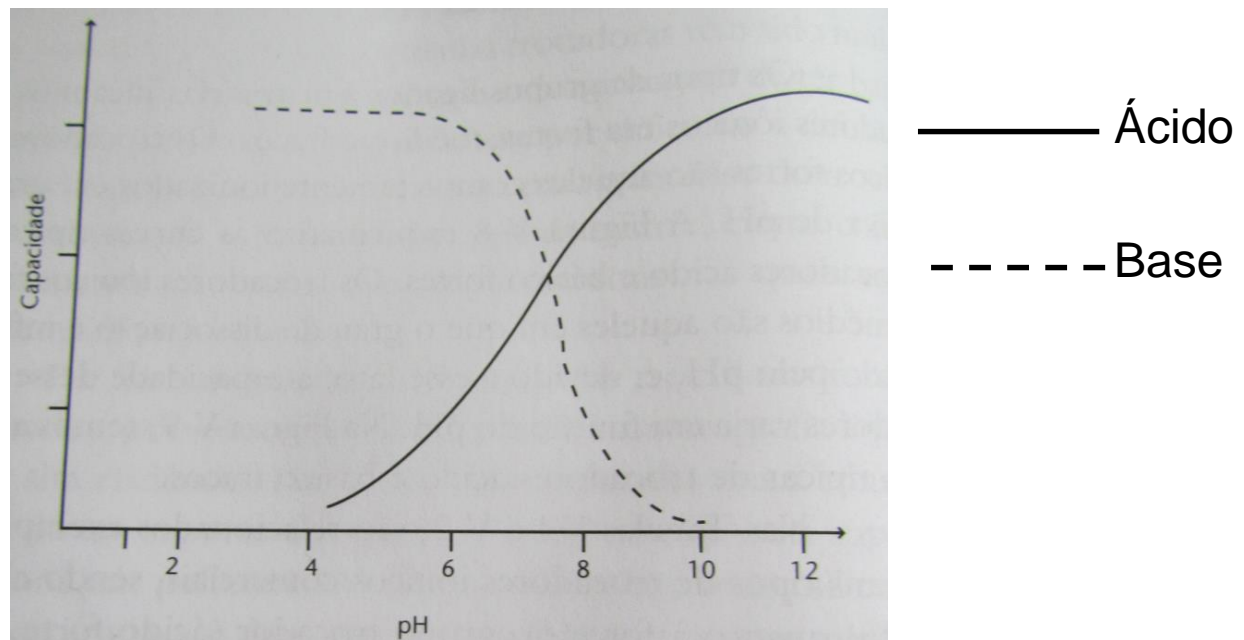


# Coluna ou Fase estacionária

✓ Grupo trocador

➤ Os grupos trocadores são classificados em:

- Trocadores iônicos fracos:
  - Proveniente de ácido e base fraca;
  - A ionização depende do pH;



# Coluna ou Fase Estacionária

## Exemplos de grupo trocadores:

| <b>Tipo de Trocador</b> | <b>Grupo Trocador Iônico</b> | <b>pH</b> |
|-------------------------|------------------------------|-----------|
| Cátions Forte           | Ácido Sulfônico              | 4 – 13    |
| Cátions Fracos          | Ácido Carboxílico            | 6 – 10    |
| Ânions Forte            | Amina Quaternária            | 2 – 12    |
| Ânions Fraco            | Amina Primária e Secundária  | 2 – 9     |



# Coluna ou Fase estacionária

## ✓ Propriedades dos trocadores

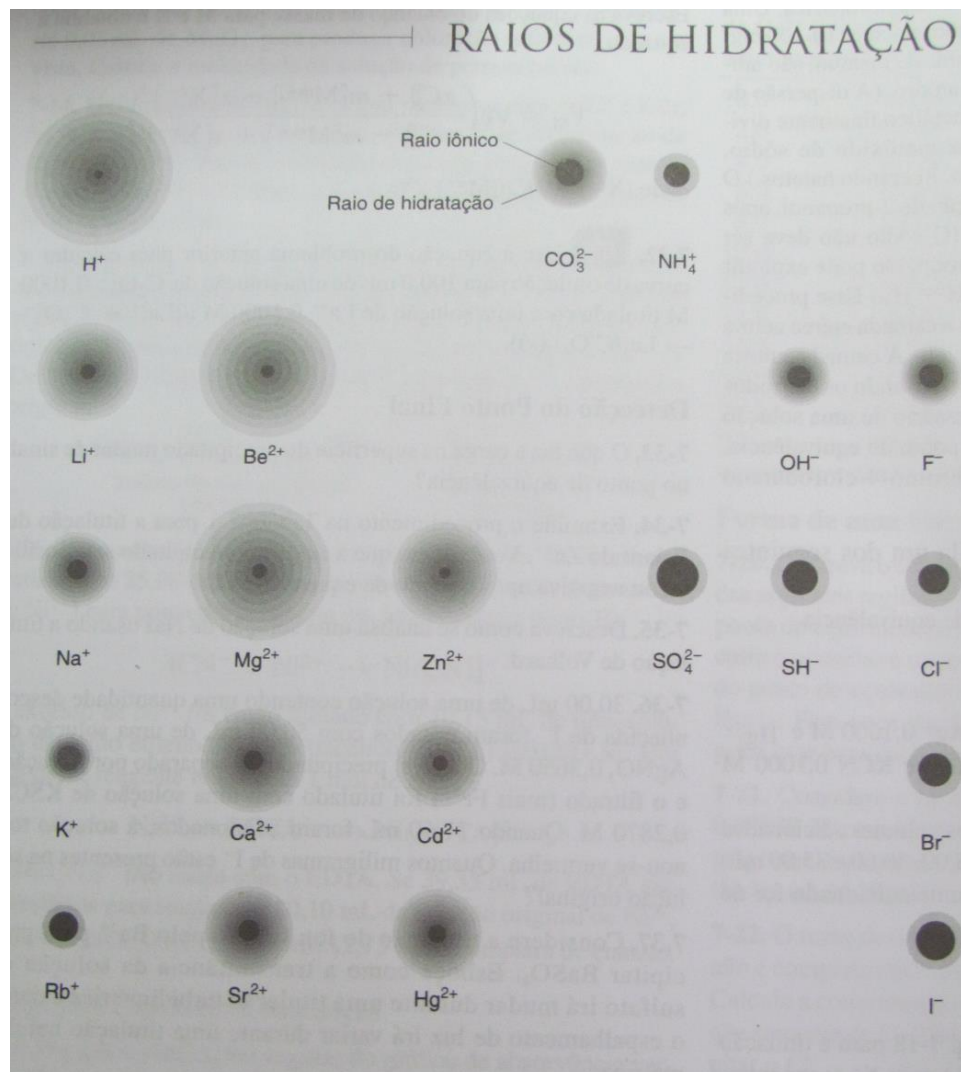
### ➤ Capacidade:

- É a quantidade que uma coluna têm de trocar íons;
- Expressa em meq g<sup>-1</sup> ou meq ml<sup>-1</sup>;
- Depende da força iônica, pH e temperatura.

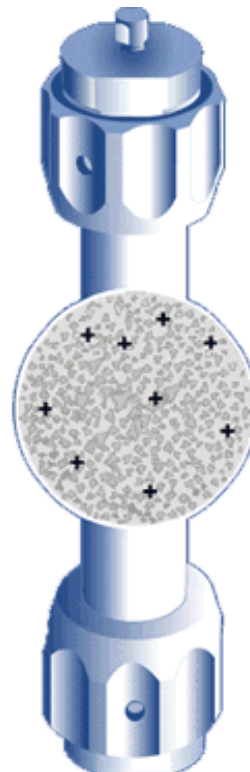
### ➤ Seletividade

- A seletividade aumenta com o incremento do grau de ligações cruzadas;
- Maior a carga, os íons serão mais fortemente ligados ao trocador;
- Íons com mesma carga, mas com diferentes tamanhos em solução, têm grau de afinidade diferente (raio de hidratação);

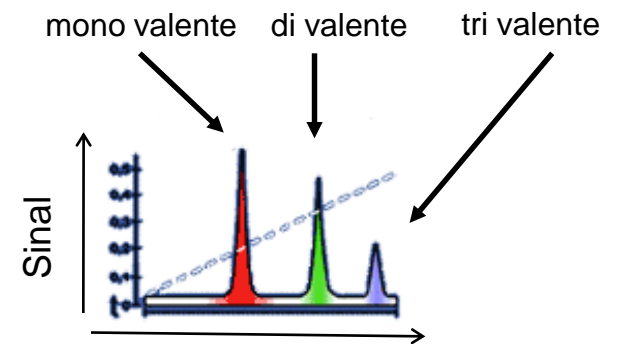
# Coluna ou Fase estacionária



# Troca Iônica



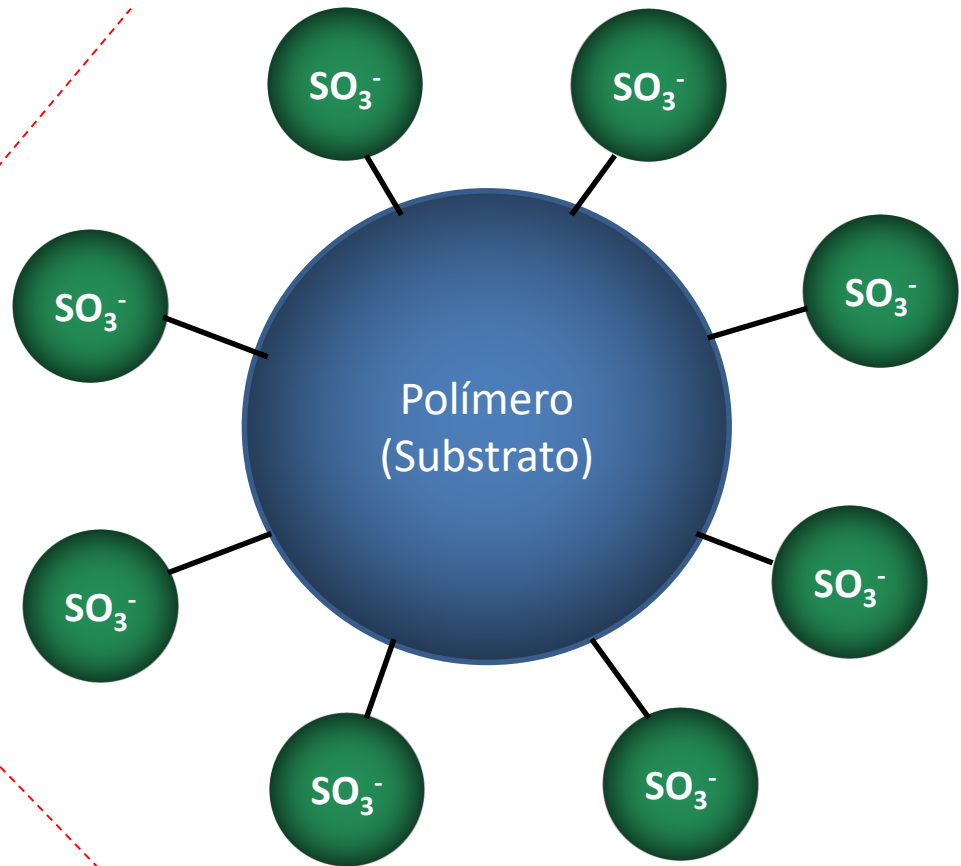
Coluna



Tempo de retenção  
cromatograma

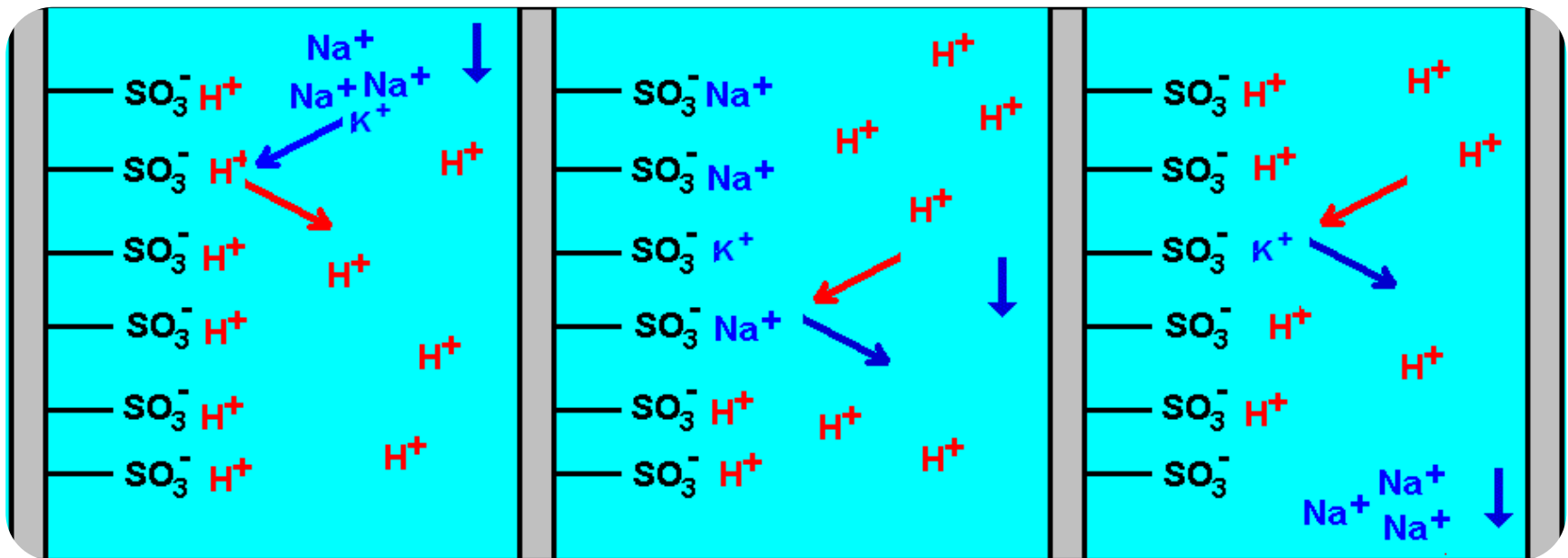
# Coluna ou Fase Estacionária

## Trocador Catiônico



# Reação de Troca Iônica

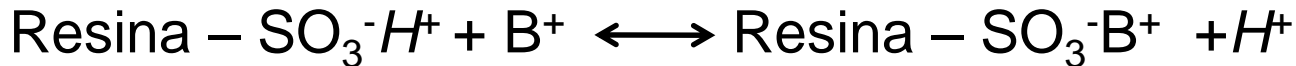
- Troca catiônica



Coluna com grupo sulfônico: separação de cátions por troca iônica

# Reação de Troca Iônica

- Troca catiônica



$$K = \frac{[B^+]_{FE} \times [H^+]_{FM}}{[H^+]_{FE} \times [B^+]_{FM}} \quad D_{B^+} = \frac{[B^+]_{FE}}{[B^+]_{FM}}$$

Onde:

$[B^+]_{FE,FM}$  = concentração dos íons na fase móvel e na fase estacionária;

$[H^+]_{FE,FM}$  = concentração dos íons na fase móvel e na fase estacionária;

$[B^+]$  = concentração dos íons da amostra;

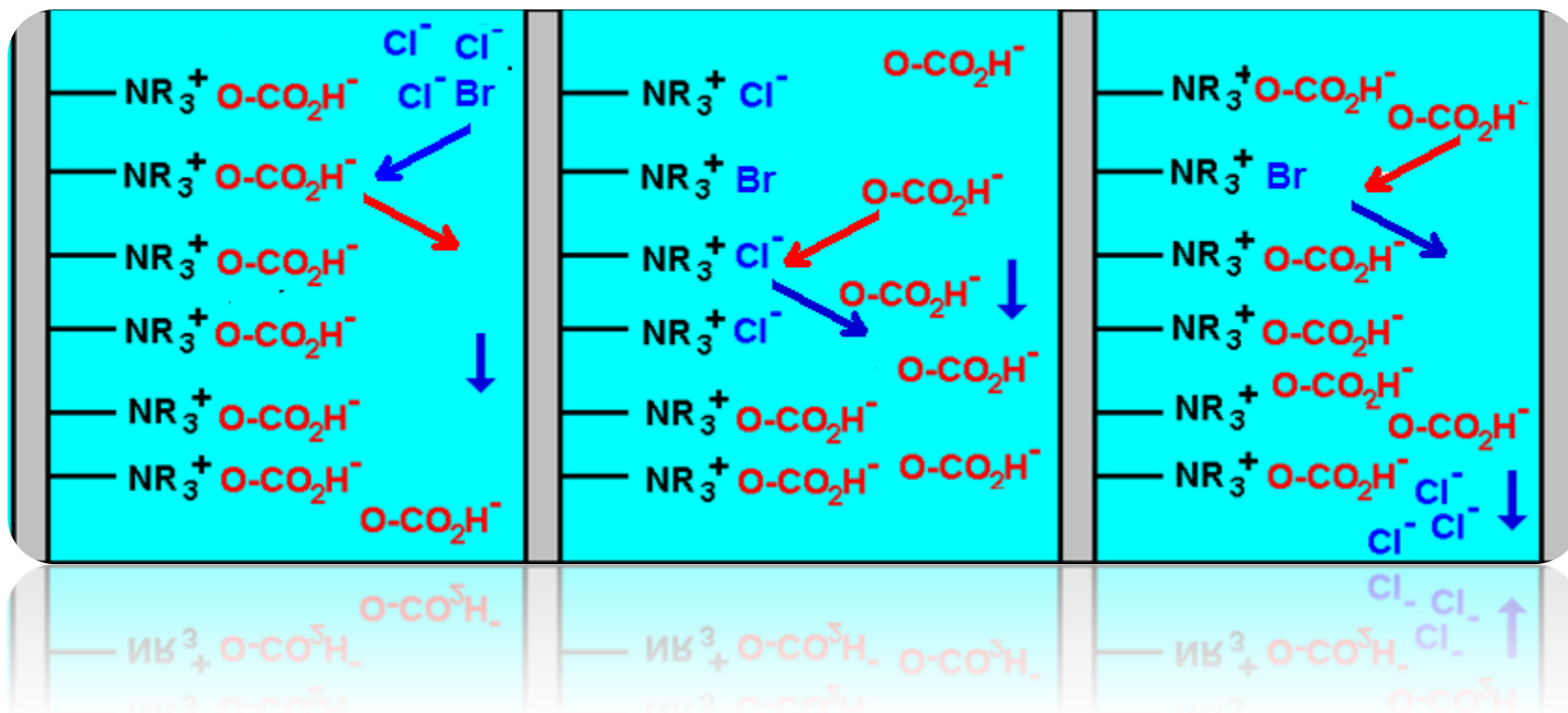
$[H^+]$  = concentração dos íons do eluente;

$D_{B^+}$  = Coeficiente de distribuição do íon da amostra nas duas fases.



# Reação de Troca Iônica

- Troca aniônica

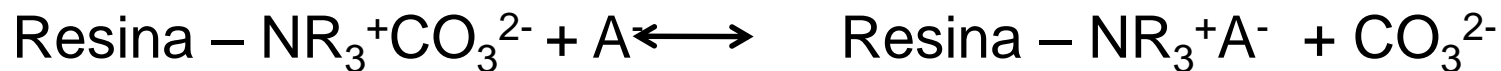


Coluna com grupo quaternário de amônio: separação de ânions por troca iônica



# Reação de Troca Iônica

- Troca aniônica



$$K = \frac{[A^-]_{FE} \times [CO_3^{2-}]_{FM}}{[CO_3^{2-}]_{FE} \times [A^-]_{FM}} \quad D_{A^-} = \frac{[A^-]_{FE}}{[A^-]_{FM}}$$

Onde:

$[A^-]_{E,M}$  = concentração dos íons na fase móvel e na fase estacionária;

$[CO_3^{2-}]_{E,M}$  = concentração dos íons na fase móvel e na fase estacionária;

$[A^-]$  = concentração dos íons da amostra;

$[CO_3^{2-}]$  = concentração dos íons do eluente;

$D_{B+}$  = Coeficiente de distribuição do íon da amostra nas duas fases.

# Reação de Exclusão Iônica

## ❖ Fase Móvel

- Os ânions são eluídos no volume morto (ou pico de injeção). Os ânions dos ácidos orgânicos são protonados pelo  $H^+$  do eluente. Esses ácidos estão pouco dissociado e possuem baixa polaridade.

## ❖ Fase Estacionária

- Forma-se uma membrana, conhecida como membrana de Donnan. Essa membrana é de baixa polaridade.

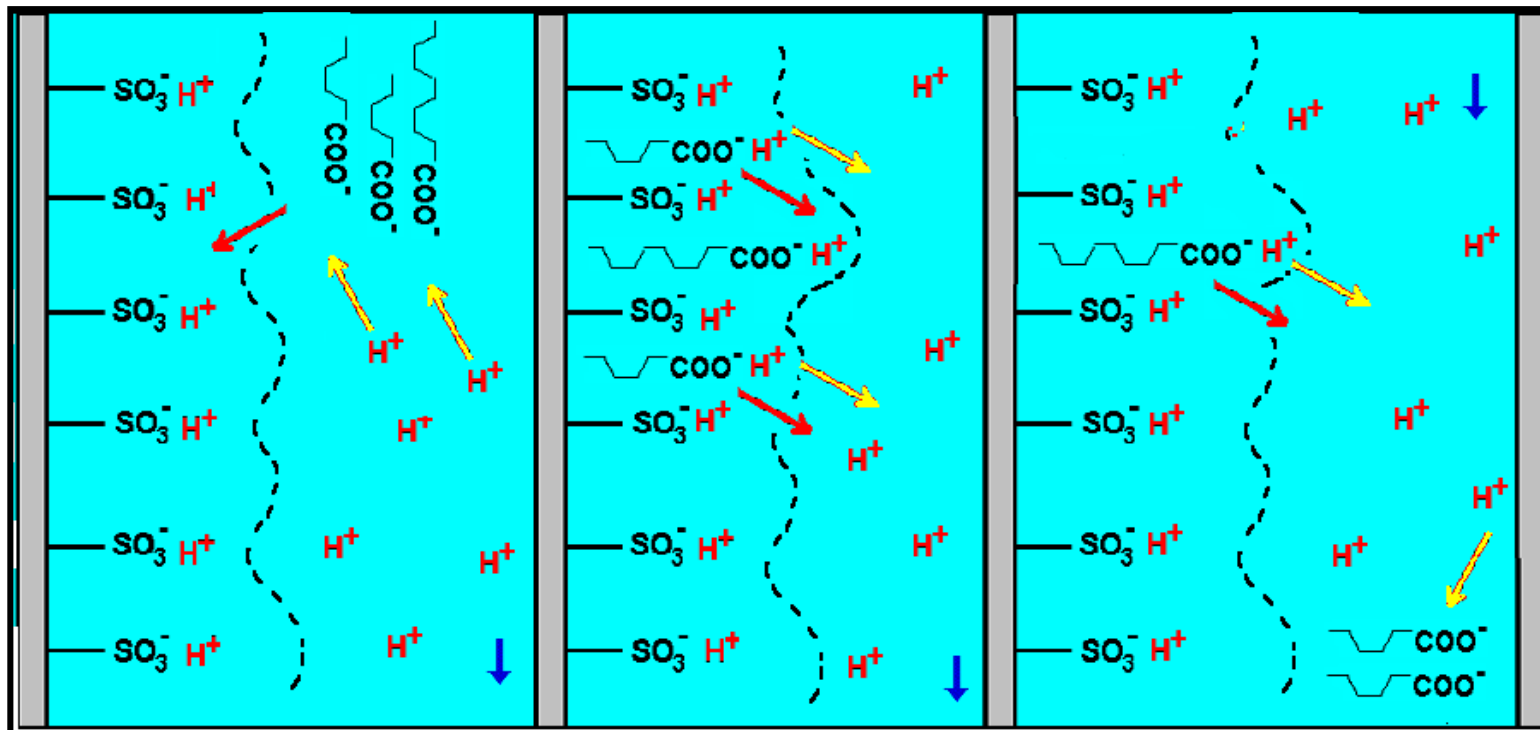
## ❖ Interação

- Se os ácidos orgânicos estão protonados, eles permanecem na membrana de Donnan. Ao se dissociarem, tornam-se iônicos e são excluídos da membrana.

# Coluna ou Fase Estacionária

## Exclusão Iônica: Mecanismo de Separação

Interação lipofílica entre o analito e a fase estacionária  
Separação depende da constante de dissociação das moléculas



Coluna com grupo sulfônico: separação de ácidos orgânicos por exclusão iônica

# Reação de Par Iônico

## ❖ Fase Móvel

- A fase movel é de alta polaridade (ex. acetonitrila or metanol/água).

## ❖ Fase Estacionária

- A fase estacionária (ex.  $C_{18}$ ) é de baixa polaridade (RP)

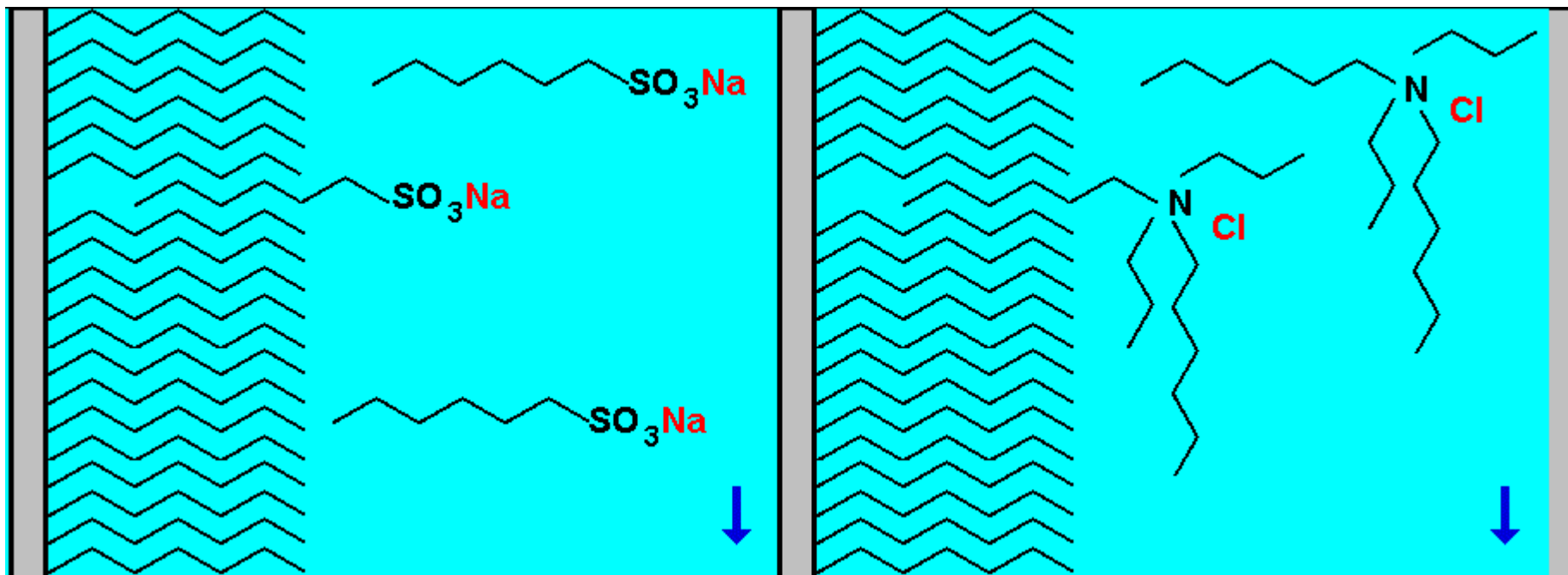
## ❖ Interação

- Cátions (ex.  $Na^+$ ) além do ânion lipofílico (ex. Ác. Sulfônico Alquilico) forma uma molécula não polar.
- Ânions (ex.  $Cl^-$ ) além do cátion lipofílico (e.g. Tetra Butil Amônio) forma uma molécula não polar.
- A cadeia lipofílica do modificardor interagem com a fase estacionária RP. Essa interessção leva a diferentes tempos de retenção, promovendo a separação

# Coluna ou Fase Estacionária

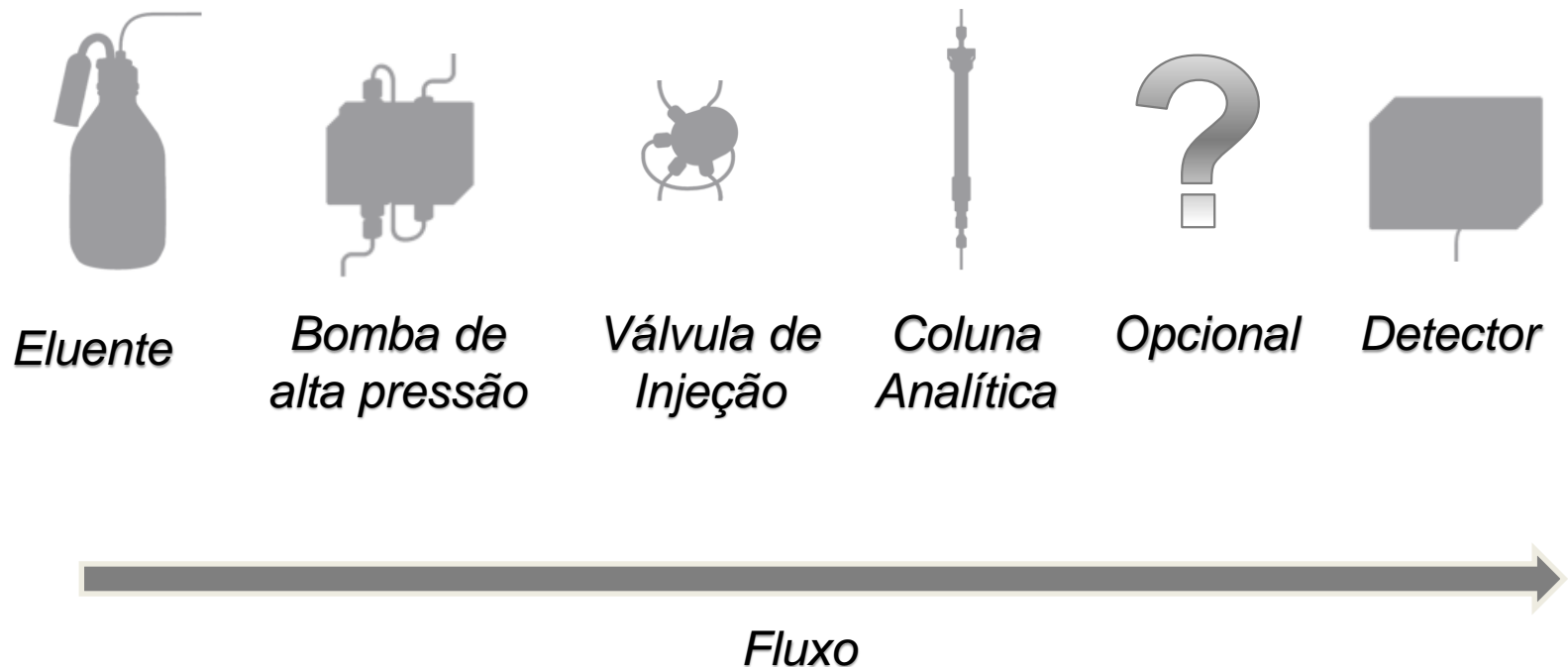
Par Iônico: mecanismo de separação de cátions e ânions

«RP» mecanismo de fase reversa  
Separação depende da polaridade da moléculas



# Sistema de Cromatografia de Troca Iônica

## ✓ Componentes



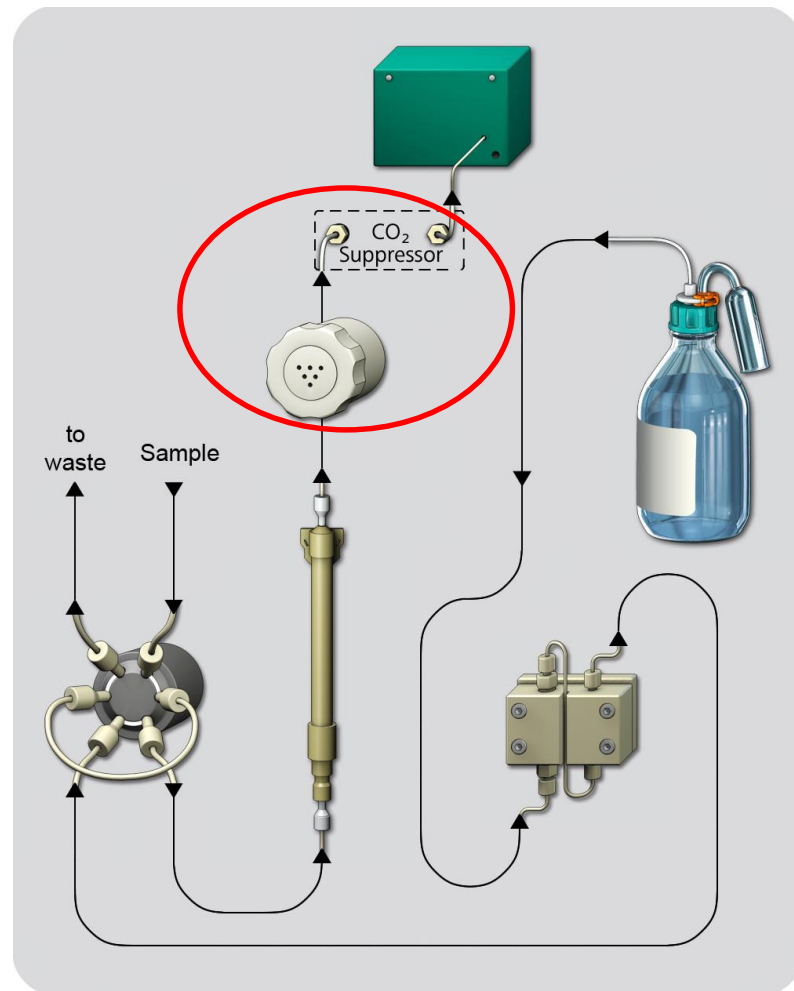
# Supressão Química

## ■ Ânions

- A detecção por condutividade não é seletiva, portanto qualquer espécie com carga gera um sinal.



Como enxergar a passagem dos analitos em concentrações tão baixas?



# Supressão Química

- **Função:**
  - Diminuir a linha de base, possibilitando a detecção em baixas concentrações;
  - Empregado em detecções de condutividade;
- **Tipo:**
  - 1971 – 1990:
    - Coluna empacotada;
    - Membrada de fibra oca;
    - Micro membrana;
  - 1990 – presente
    - **Eletrolítica a base de membrana;**
    - Mini supressores de coluna empacotada;
    - **Coluna empacotada com regeneração contínua;**
    - Reagente de fase sólida;



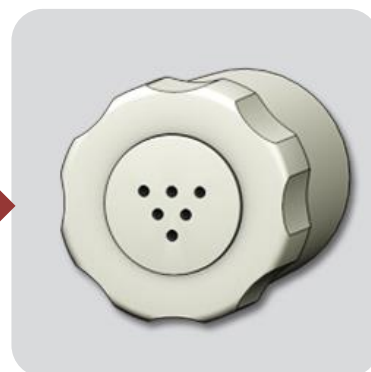
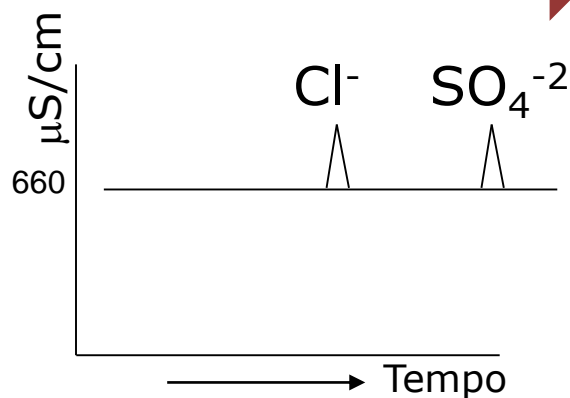
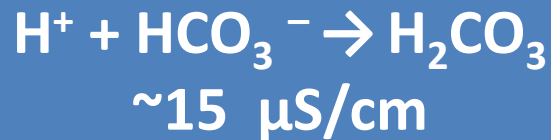
# Supressão Química

- Análise dos ânions Fluoreto, Cloreto e Sulfato:

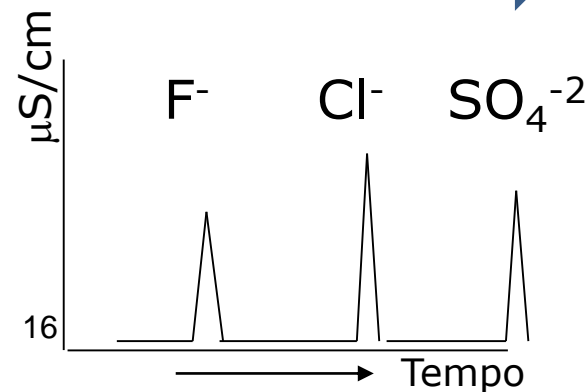
Sem Supressão

Sai Na<sup>+</sup>

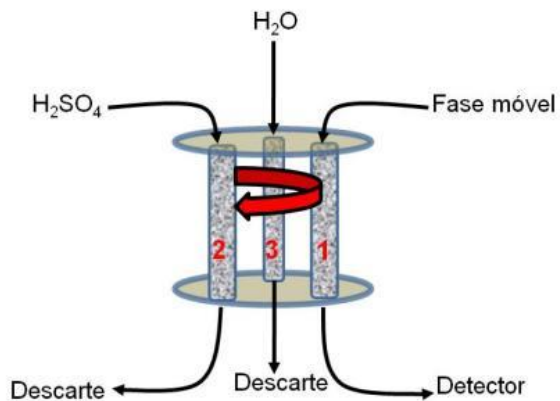
Com Supressão



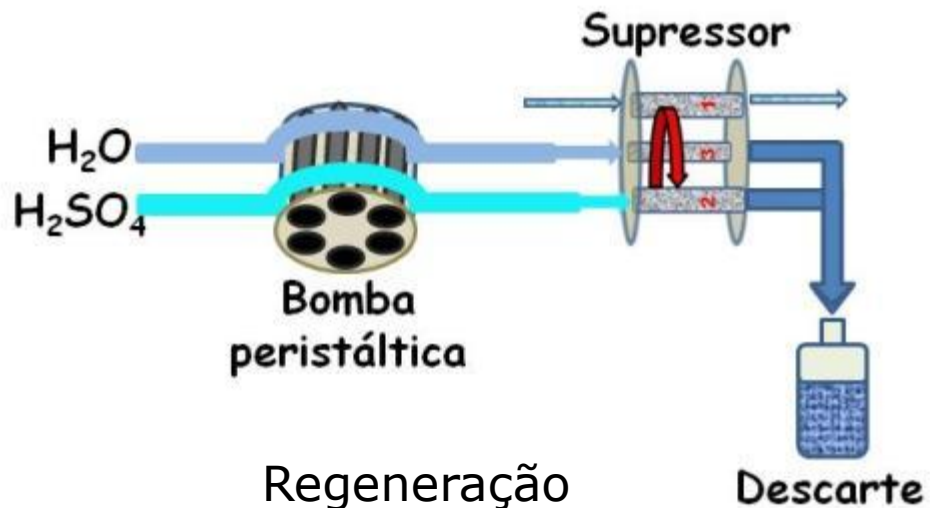
Entra H<sup>+</sup>



# Supressor químico



Supressão

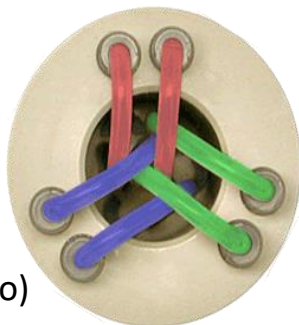


Regeneração

Descarte

2 Vermelho:  
Regeneração – H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

1 Azul: Eluente  
(ocorre a supressão)

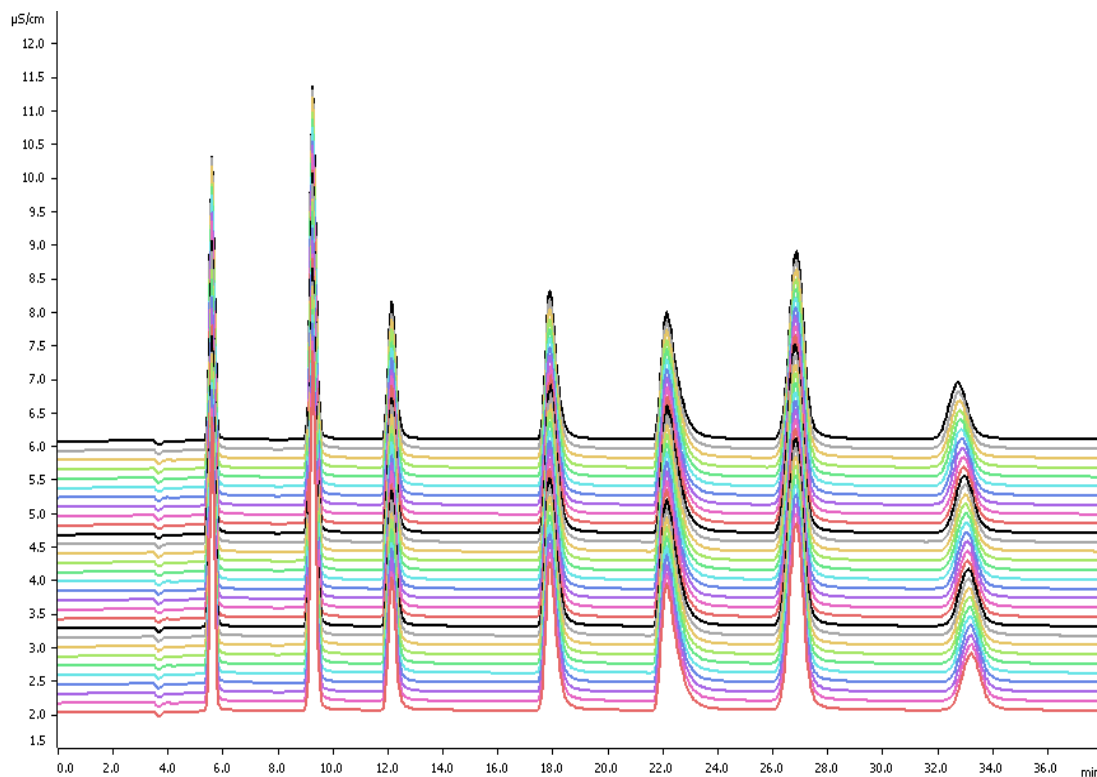


3 Verde:  
Limpeza - H<sub>2</sub>O



# Supressor químico

## Repetibilidade



Coluna:

Metrosep A Supp 16 – 250

Eluente:

7.5 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

0.7 mM NaOH

Temperatura da coluna: 30°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Loop: 20  $\mu\text{L}$

Injeções: 30

Espécies:

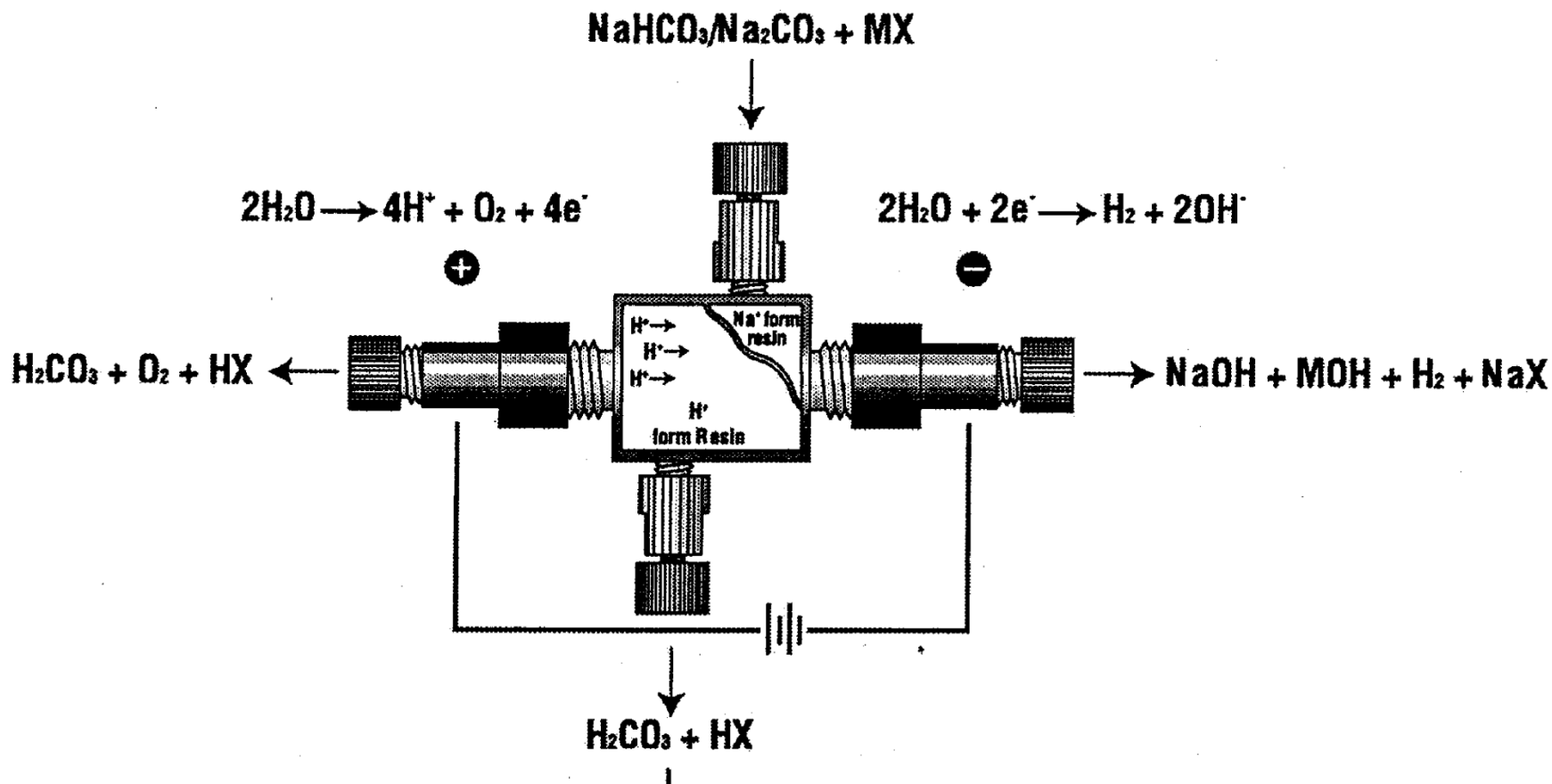
2 ppm fluoreto,

5 ppm cloreto, nitrito,

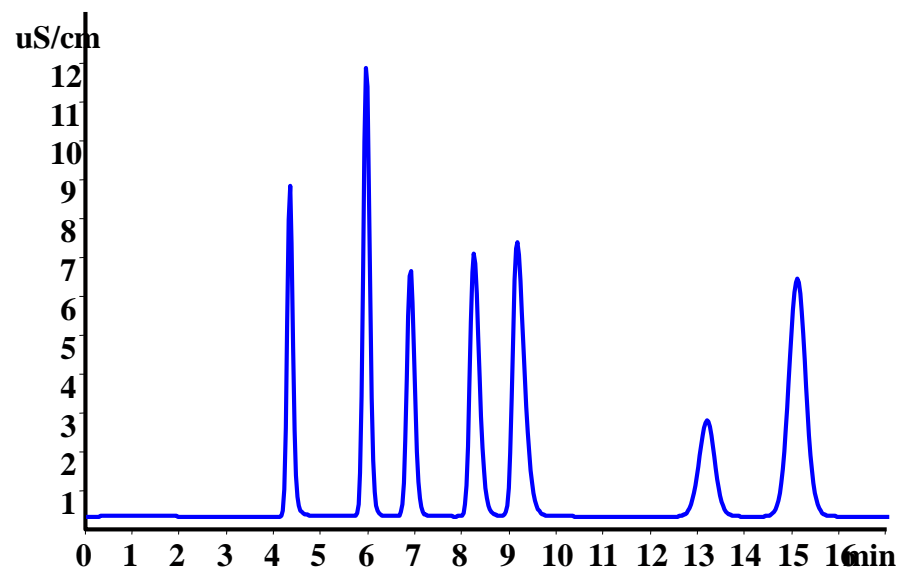
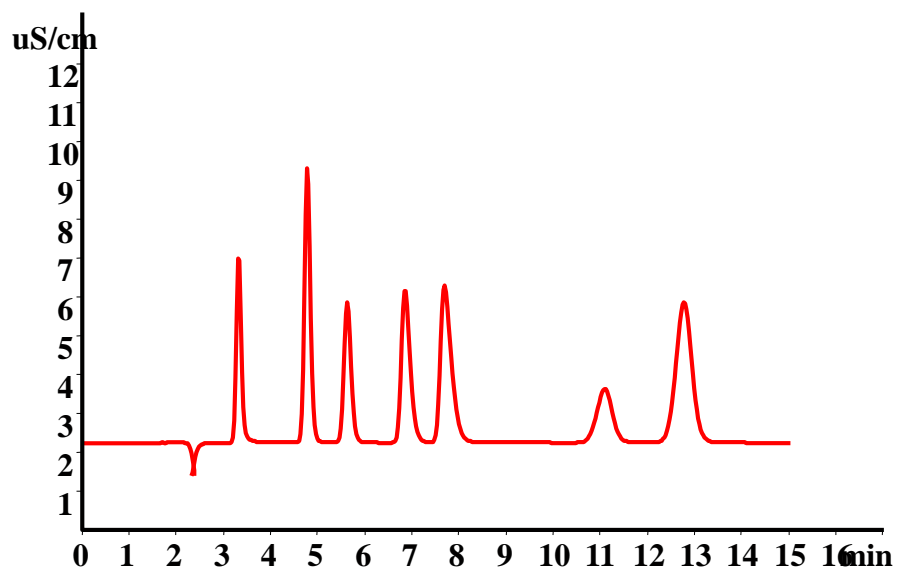
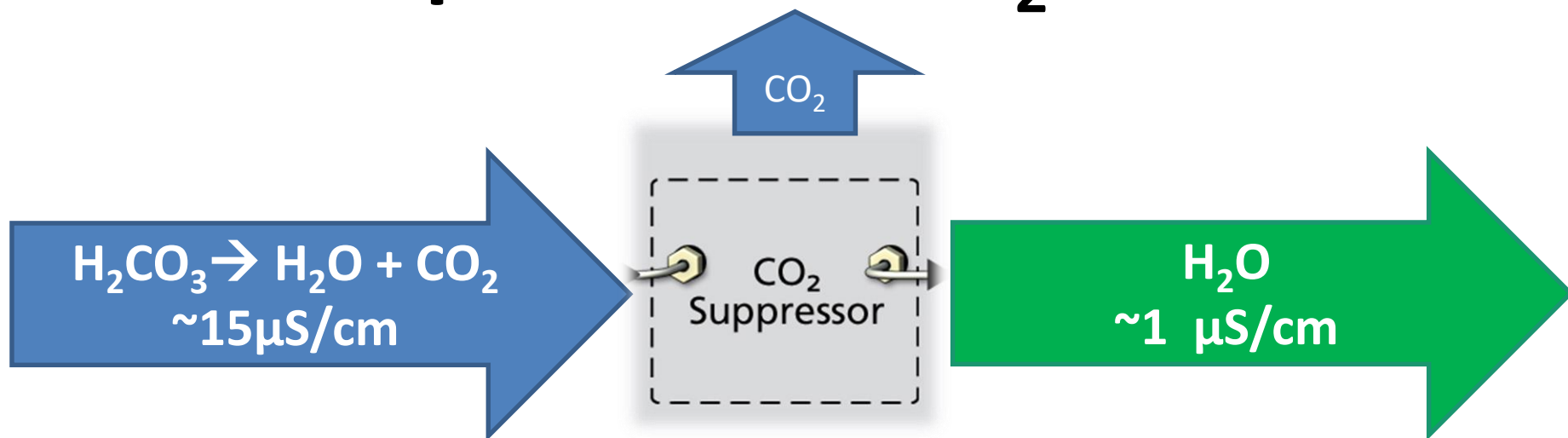
10 ppm brometo, nitrato,

sulfato, fosfato

# Supressor eletroquímico



# Supressão de CO<sub>2</sub> - MCS



# Detectores

# Tipos de Detecção

## ✓ Tipos de Detectores

**Podem ser divididos em dois grupos:**

### ❖ **Detecção eletroquímica:**

- Condutividade
- Amperométrica
  - Constante
  - Pulsada
- Potenciométrica

### ❖ **Detecção ótica:**

- Espectrofotométrica (UV/VIS)
  - Pós coluna
  - Indireta
- Fluorescência
- Índice de refração

# Detector Condutométrico

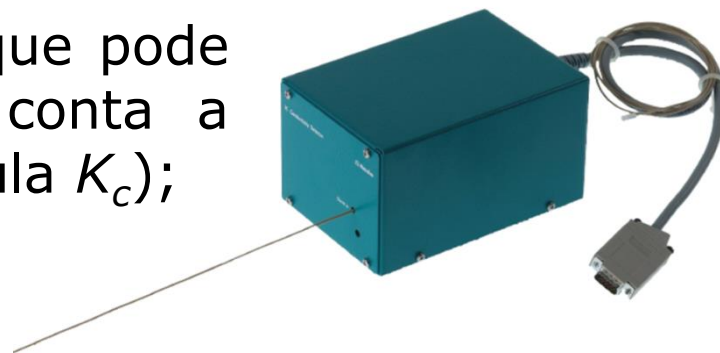
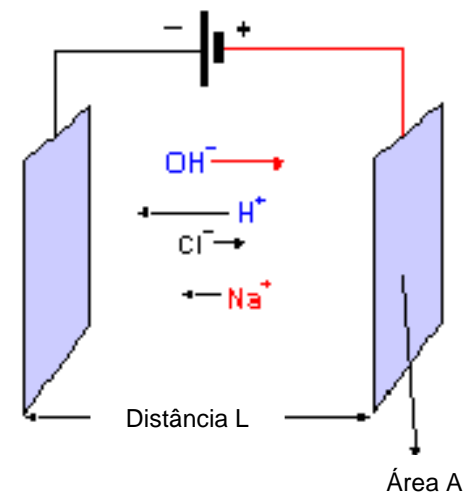
- Aplica-se uma tensão alternada ( $E$ ) nos eletrodos da célula;
- Mede-se a corrente na célula ( $i$ );
- A corrente é proporcional à Condutância ( $G$ );

$$G = \frac{1}{R} = \frac{i}{E}$$

$$K = \frac{1}{R} * K_c$$

- A condutividade  $C$  é a condutância que pode ser medida na célula, levando em conta a dimensão da mesma (constante da célula  $K_c$ );

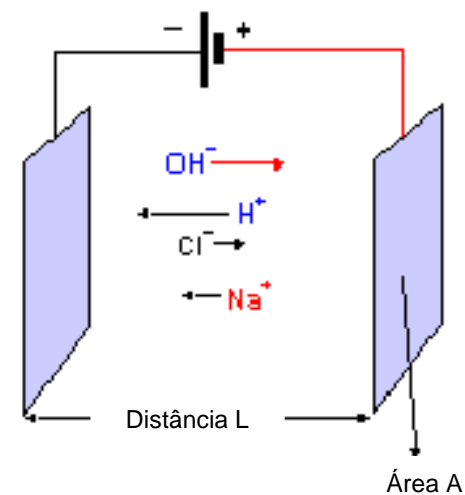
$$C = \frac{\sum \lambda_{mi} \times C_i}{1000}$$





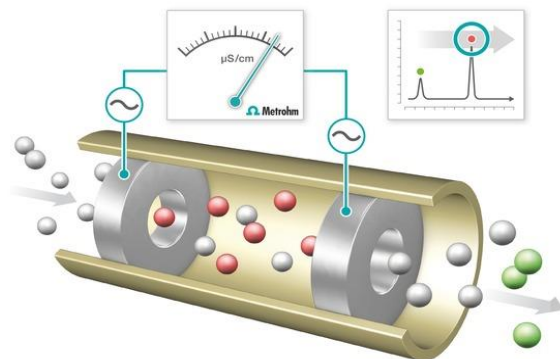
# Detector Condutométrico

- Medida da condutividade elétrica dos íons em solução
- Campo elétrico entre os eletrodos da célula em fluxo;
- Os íons migram neste campo elétrico (cátions para cátodo e ânions para o anodo);
- A resistência elétrica da solução é medida;
- A condutividade é o recíproco da resistência;

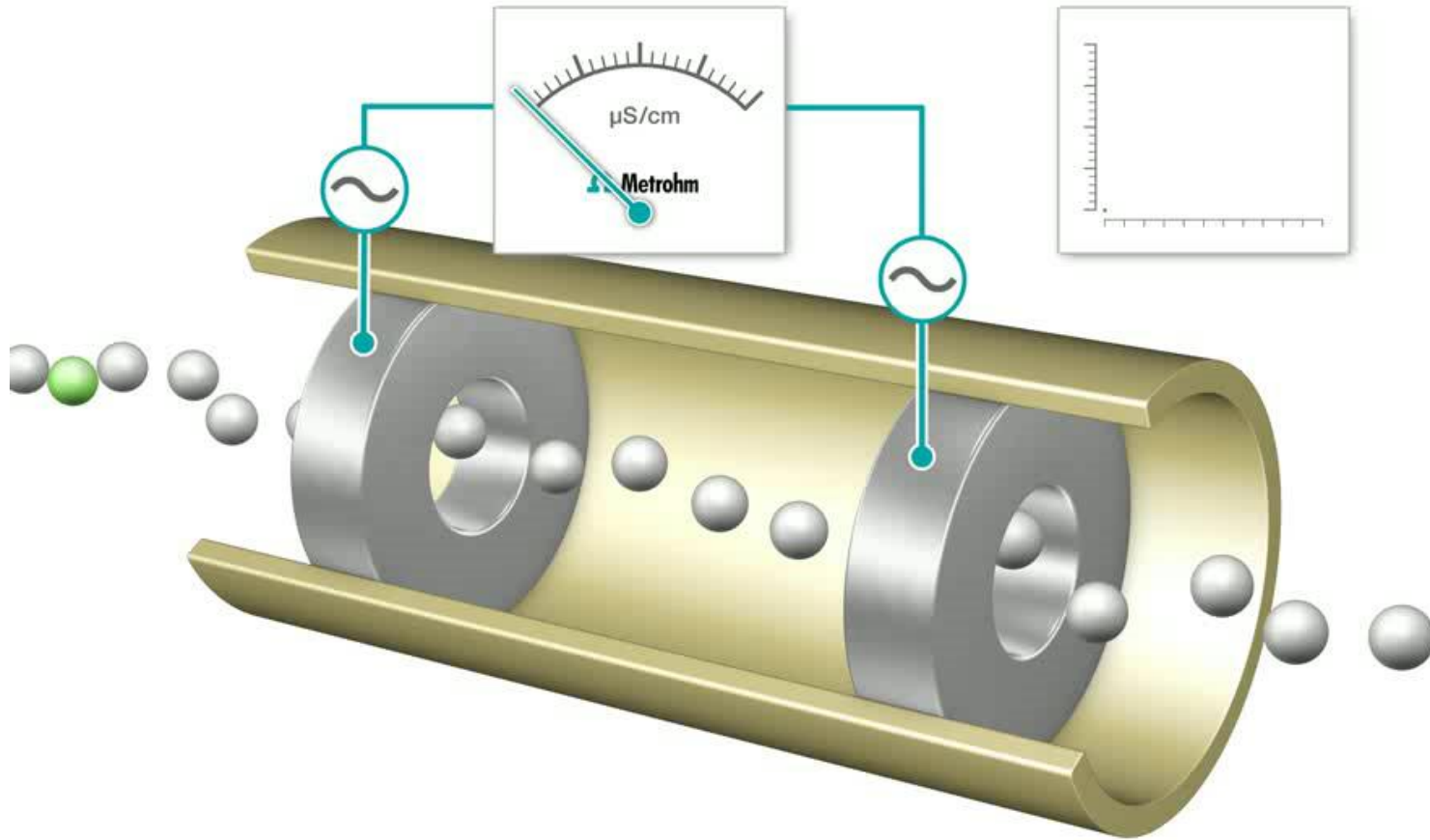


$$\kappa = \frac{1}{R} * K_c$$

**R** = resistência [Ω]  
**K<sub>c</sub>** = Const. da célula [1/cm]  
**κ** = condutividade específica [1/Ω or S]

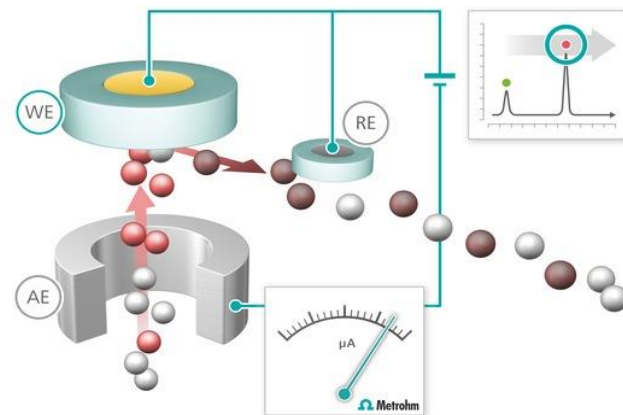


# Detector Condutométrico

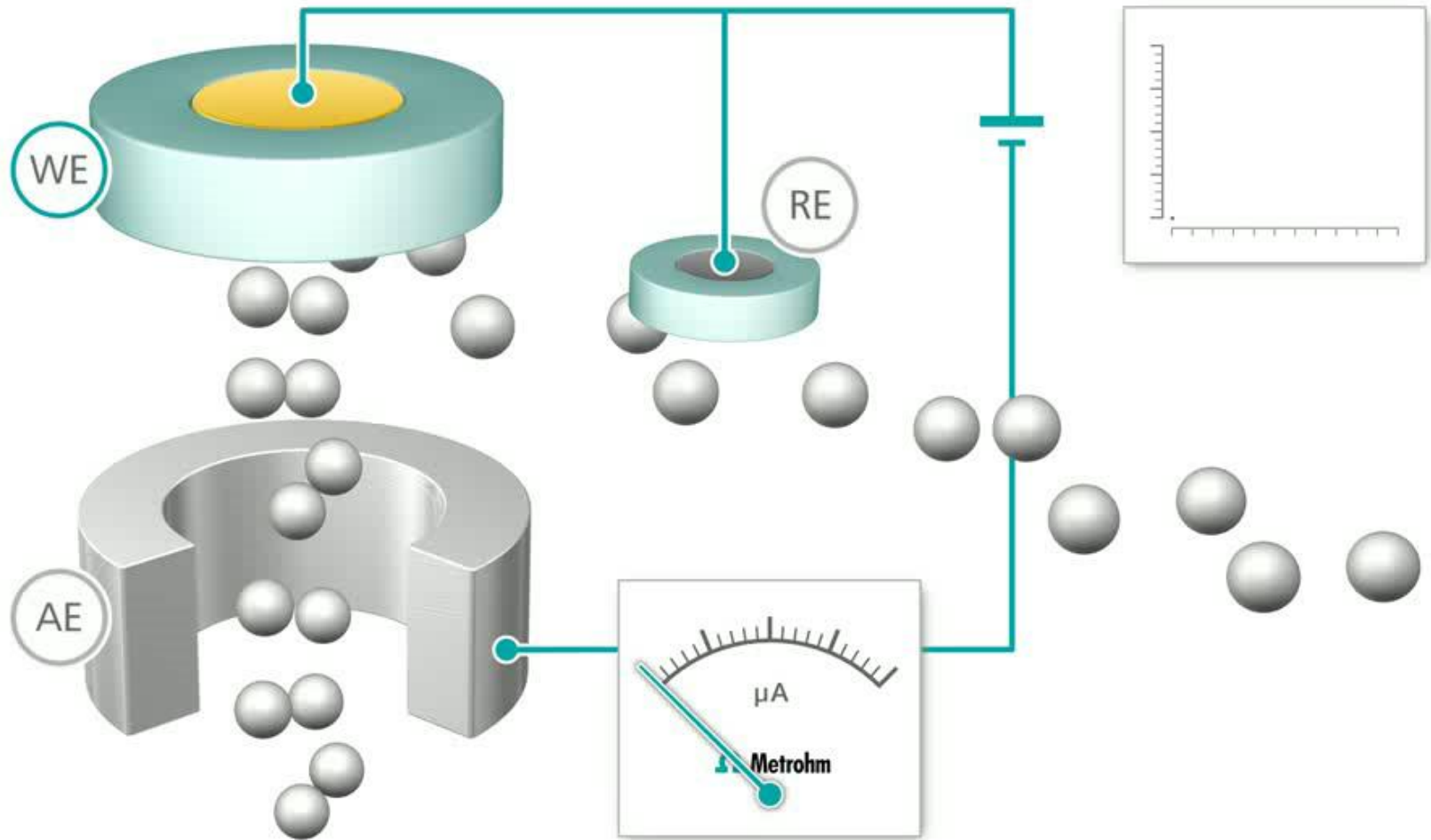


# Detector Amperométrico

- Sistema com três eletrodos (trabalho, auxiliar e referência);
- Aplicação de potencial capaz de oxidar ou reduzir um analito (eletroativo);
- Ocorre reação de oxi-redução que acontece sobre a superfície do eletrodo de trabalho;
- A transição de elétrons gera uma corrente que é medida;
- Larga variedade de materiais para eletrodo;
- Alta sensibilidade;
- Elevada seletividade;

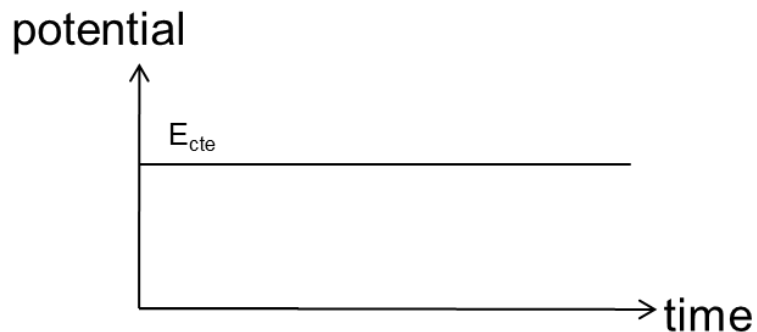


# Detector Amperométrico

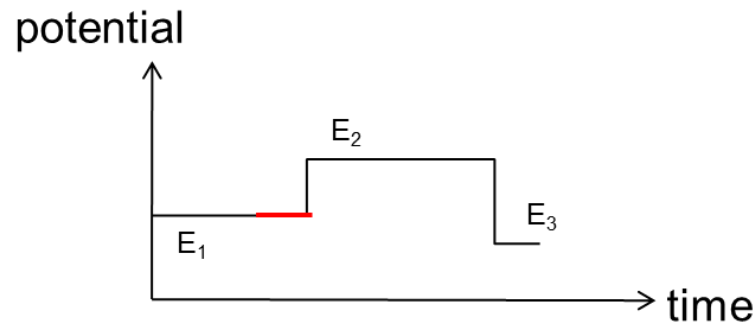


# Tipos de Amperometria

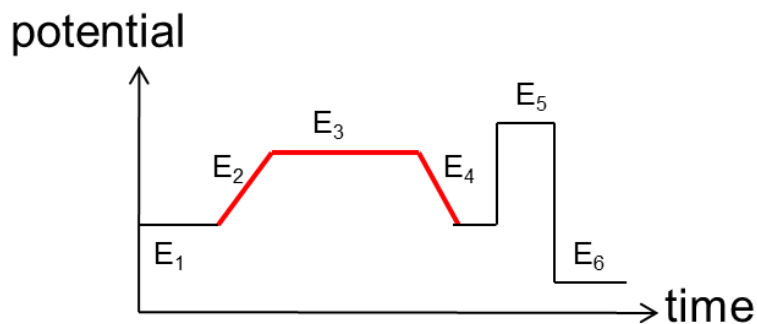
## ✓ Modalidades



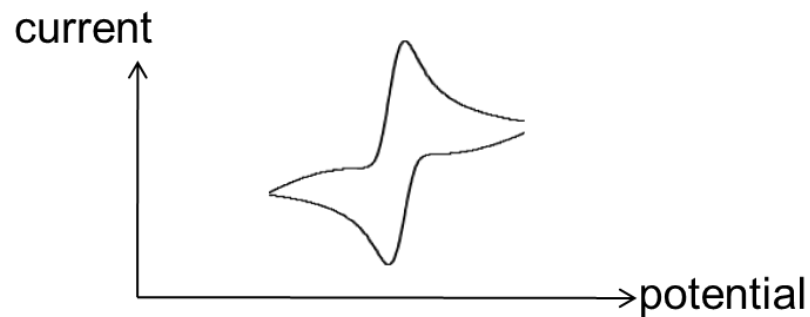
DC



PAD



**IPAD (= flexIPAD)**

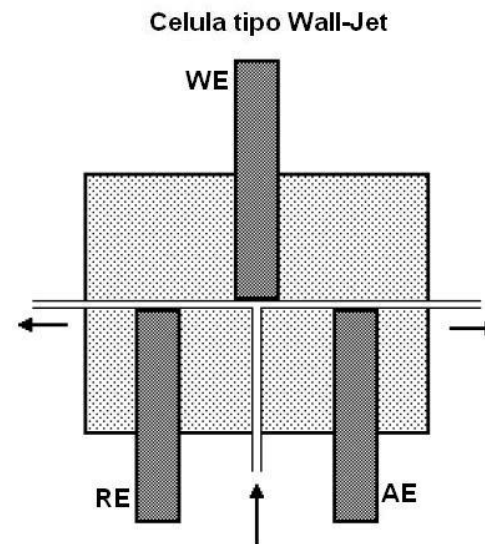
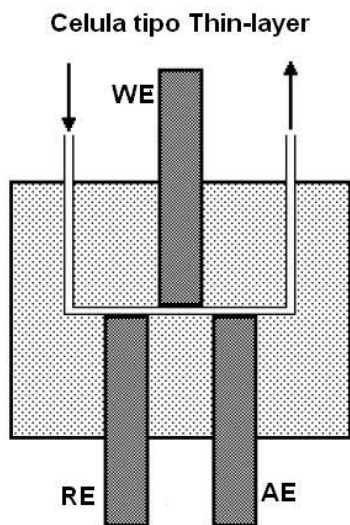


CV (= Scan)

# Tipos de Células Amperométricas

## Tipos de células amperométricas:

- Thin-layer
- Wall-jet



# Detector Amperométrico

## Eletrodos de trabalho

### Eletrodo de Au

- Potencial do eletrodo de trabalho:
- Meio alcalino:  $- 1.25 \text{ V} \leftrightarrow + 0.75 \text{ V}$   
Meio ácido:  $- 0.35 \text{ V} \leftrightarrow + 1.10 \text{ V}$
- Aplicações:
  - ✓ mono-, di-, oligo- e polissacarídeos
  - ✓ Açúcares
  - ✓ aminoácidos
  - ✓ antibióticos



# Detector Amperométrico

## Eletrodos de trabalho

### Eletrodo de GC

- Apenas modo DC
- Potencial do eletrodo de trabalho:  
Meio alcalino:  $- 1.50 \text{ V} \leftrightarrow + 0.60 \text{ V}$   
Meio ácido:  $- 0.80 \text{ V} \leftrightarrow + 1.30 \text{ V}$
- Aplicações:
  - ✓ catecolaminas, aminas aromáticas
  - ✓ ânions inorgânicos (nitrito, sulfeto ...)
  - ✓ fenóis
  - ✓ vitaminas
  - ✓ alguns aminoácidos





# Detector Amperométrico

## Eletrodos de trabalho

### Eletrodo de Pt

- Modos DC e PAD
- Potencial do eletrodo de trabalho:  
Meio alcalino:    - 0.90 V     $\leftrightarrow$     + 0.65 V  
Meio ácido:        - 0.20 V     $\leftrightarrow$     + 1.30 V
- Aplicações
  - ✓ álcoois e glicóis
  - ✓ peróxido de hidrogênio
  - ✓ hidrazina
  - ✓ arsenito, hipoclorito



# Detector Amperométrico

## Eletrodos de trabalho

### Eletrodo de Ag

- Modos DC e PAD
- Potencial do eletrodo de trabalho:  
Meio alcalino:  $- 1.20 \text{ V} \leftrightarrow + 0.10 \text{ V}$   
Meio ácido:  $- 0.55 \text{ V} \leftrightarrow + 0.40 \text{ V}$
- Aplicações:
  - ✓ haletos
  - ✓ cianeto, sulfeto
  - ✓ tiosulfato
  - ✓ farmacêutica



# Detector Espectrofotométrico (UV – Vis)

## Características

- Medida do sinal de absorbância  $A$
- A Absorbância  $A$  é linearmente proporcional a concentração  $c$  do analito (*Lei de Lambert – Beer*)
- UV: 190 – 400 nm, VIS: 400 – 900 nm
- A luminosidade chega até a célula através de espelhos
- Dispersão da luz por rede de difração
- Feixe de luz focado por uma fenda
- Analito absorve parte da luz incidente
- Detector de fotocélula ou arranjo de diodo.

## *Lei de Lambert - Beer*

$$A = -\log \frac{I_1}{I_0}$$

$$A = a * b * c$$

$A$  = Absorbância

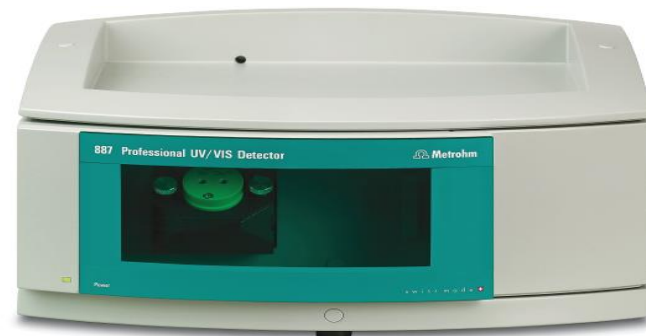
$a$  = absortividade molar

$b$  = comprimento da cubeta

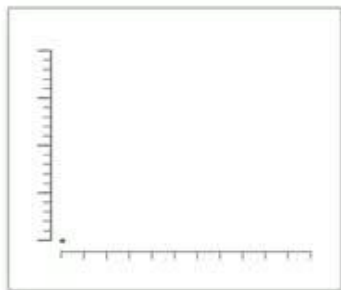
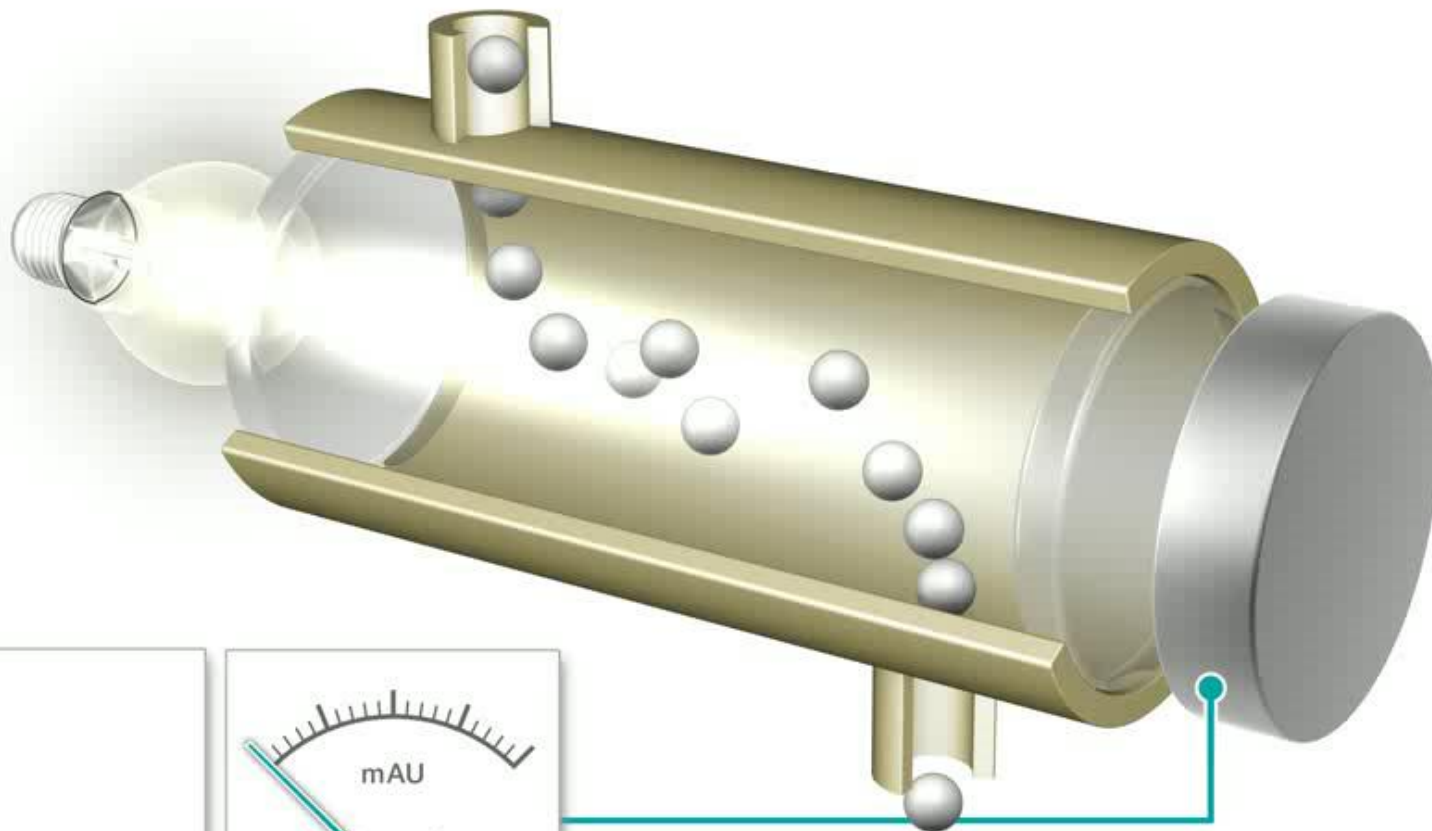
$c$  = concentração

$I_0$  = intensidade da luz incidente

$I_1$  = intensidade da luz que atravessa o meio



# Detector Espectrofotométrico (UV - Vis)

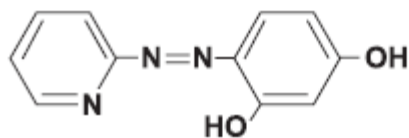


# Detector Espectrofotométrico (UV – Vis)

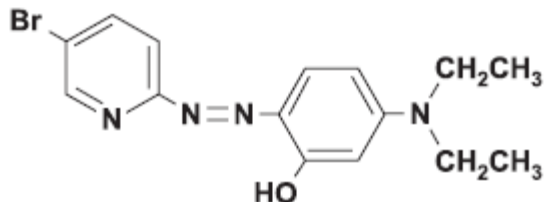
## ✓ Reação Pós Coluna

- Cromóforo = substância que possui elétrons capazes de absorver energia ou luz visível e excitar-se para emitir em diversas cores.

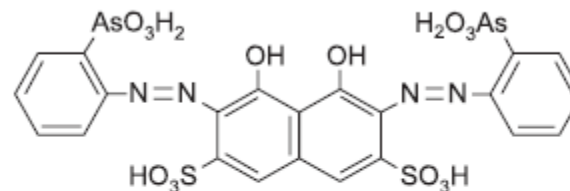
A.



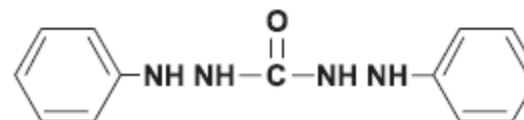
B.



C.



D.



(A) 4-(2-Piridilazo) Resorcinol

(B) 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-Dietilaminofenol

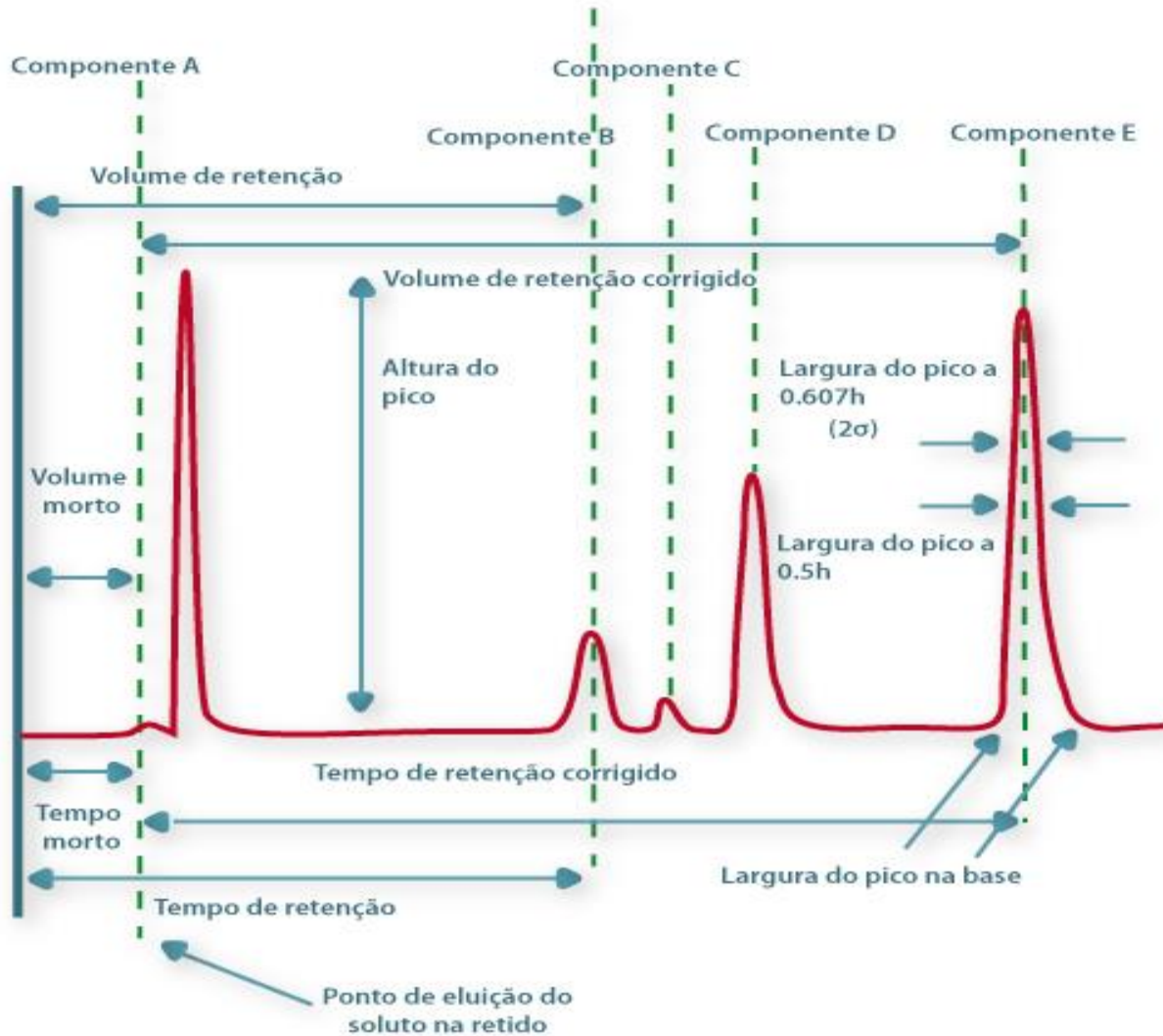
(C) Arsenazo III

(D) 1,5- Difenilcarbazida

# **Informações no cromatograma**

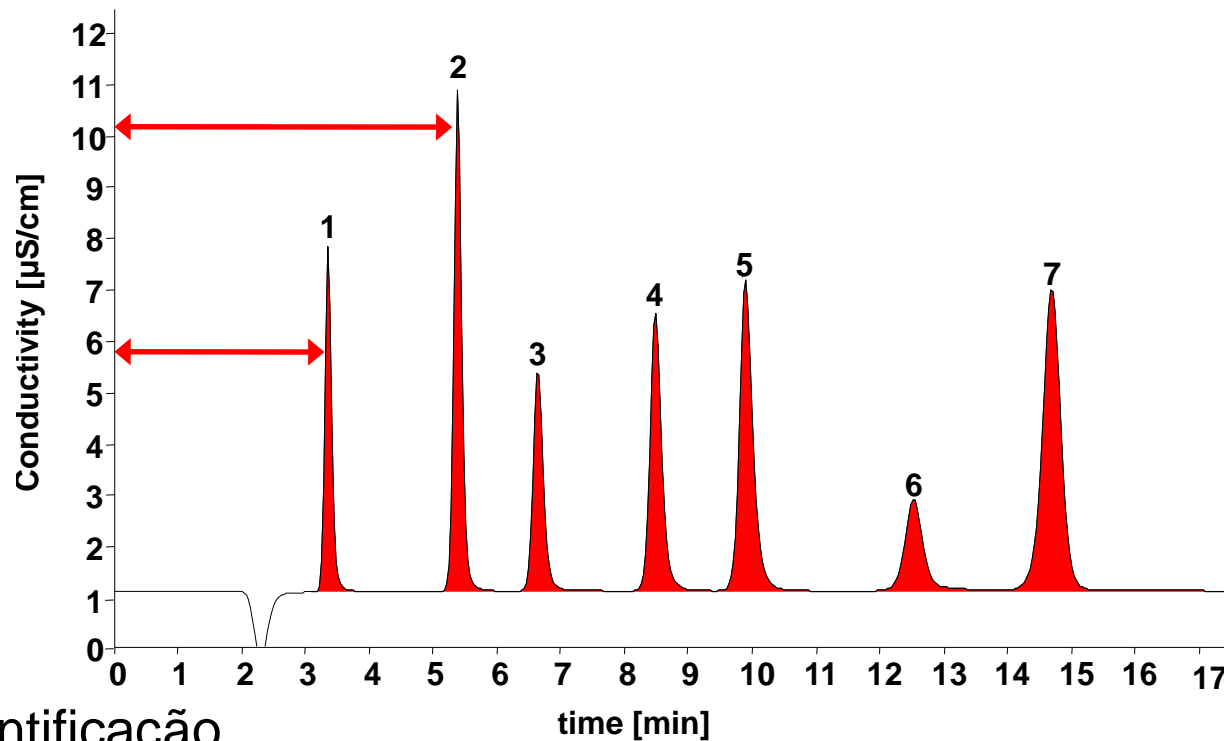
# Cromatograma

- Principais informações de um cromatograma:



# Cromatograma

- Principais informações de um cromatograma:

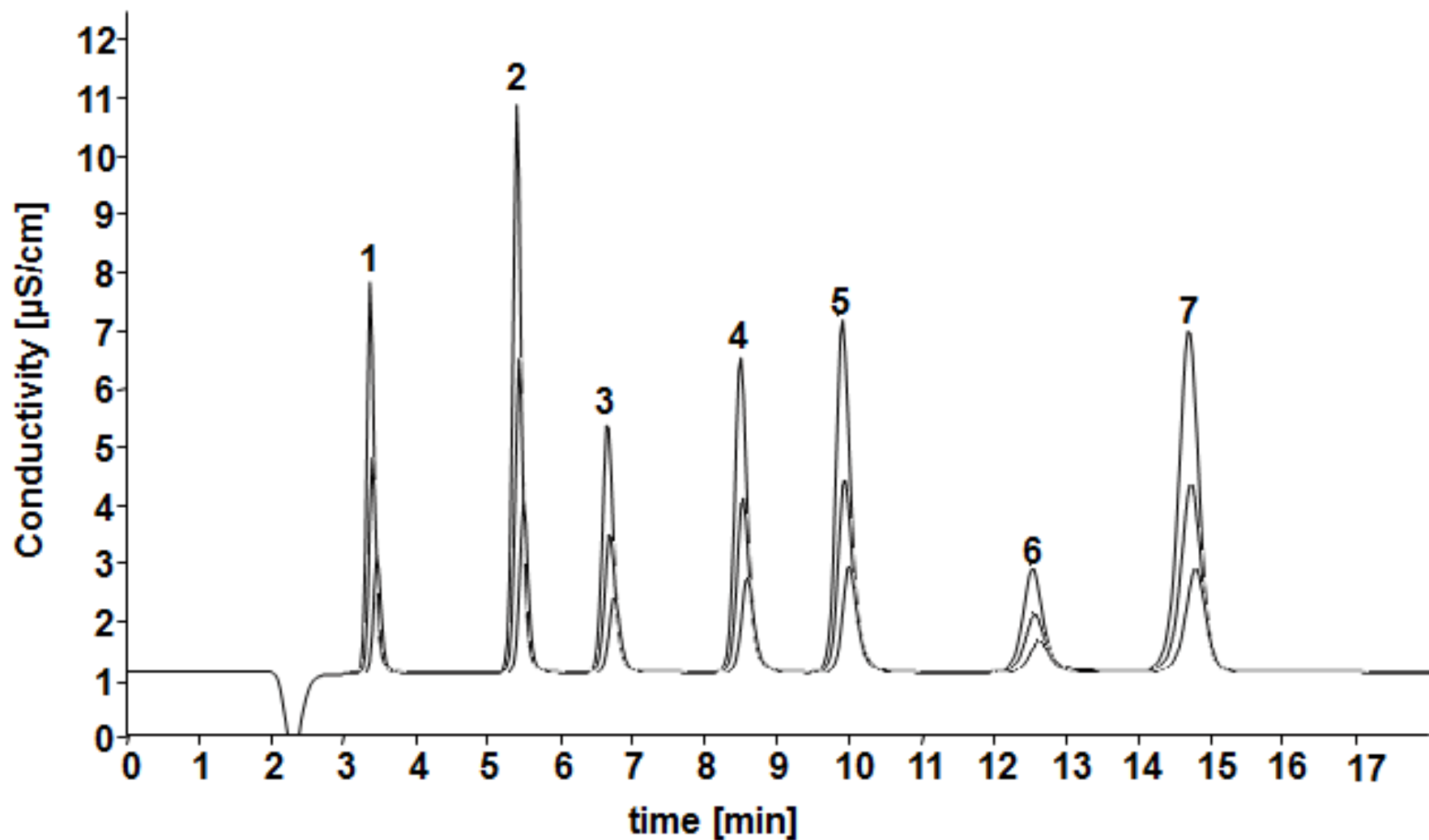


Tempo de Retenção  $\rightarrow$  Identificação

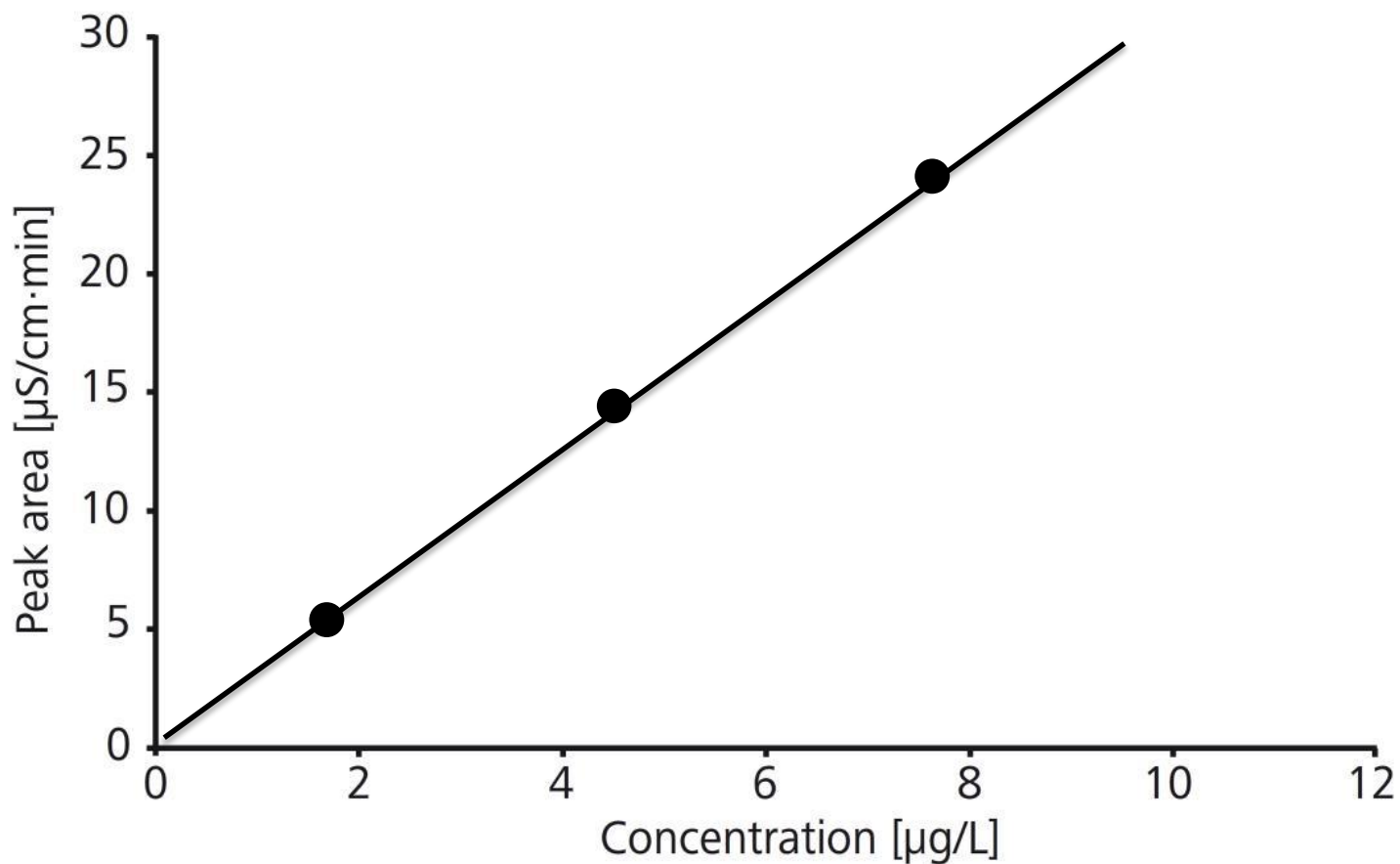
Área do Pico  $\rightarrow$  Quantificação



# Calibração



# Calibração



# Cuidados para boa análise

# Recomendações para Análise

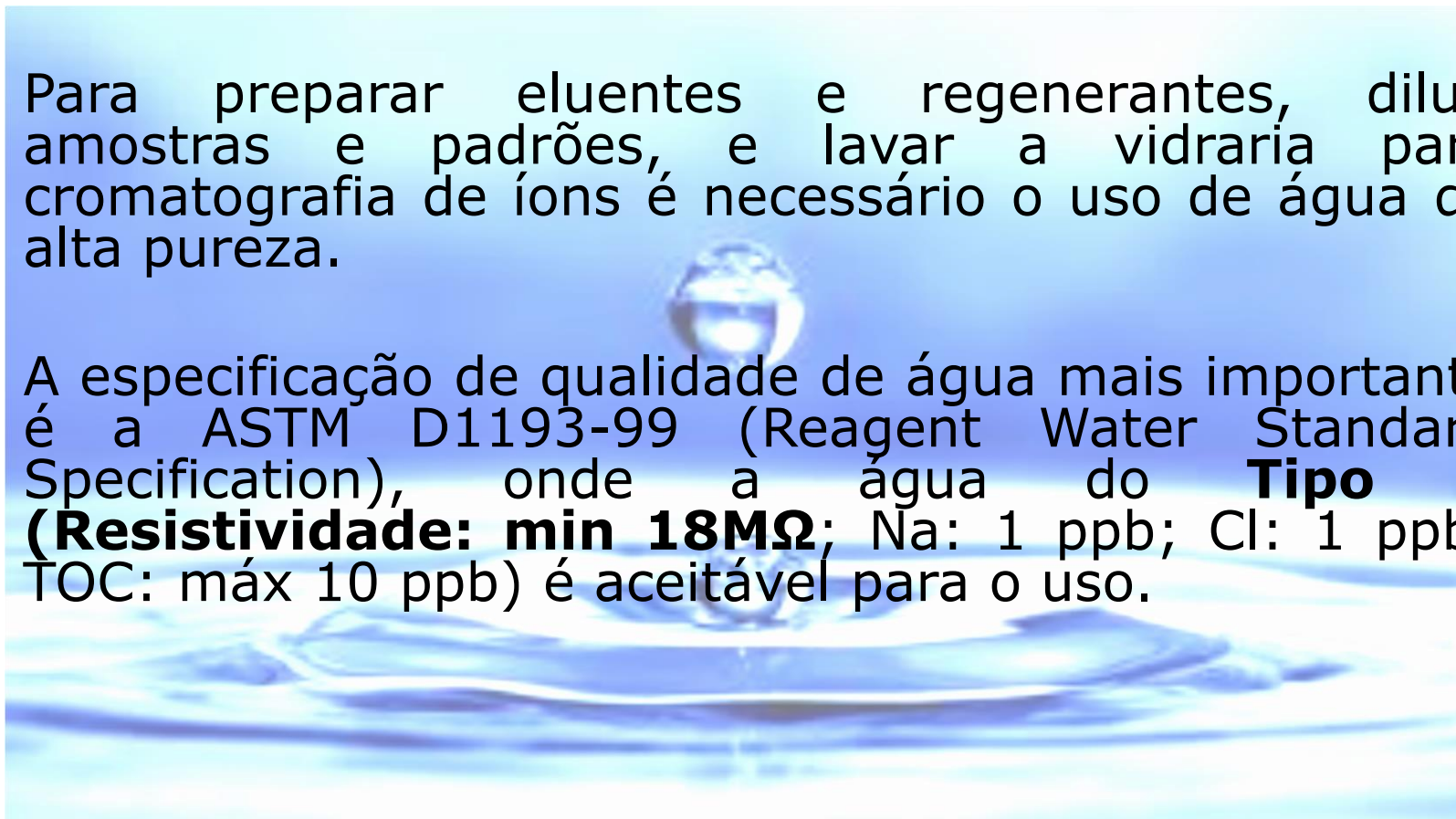
- **Antes de iniciar o trabalho é necessário ter consciência de que o equipamento é bastante sensível.**



- **Portanto alguns cuidados devem ser respeitados para a obtenção de bons resultados, redução de manutenção e elevação da vida útil do equipamento e consumíveis.**

# Recomendações para Análise

- Água
- Para preparar eluentes e regenerantes, diluir amostras e padrões, e lavar a vidraria para cromatografia de íons é necessário o uso de água de alta pureza.
- A especificação de qualidade de água mais importante é a ASTM D1193-99 (Reagent Water Standard Specification), onde a água do **Tipo I** (**Resistividade: min 18M $\Omega$** ; Na: 1 ppb; Cl: 1 ppb; TOC: máx 10 ppb) é aceitável para o uso.



# Recomendações para Análise

- **Reagentes**

- Ao comprar reagentes, dê preferência aos de alta qualidade e pureza. Interferentes presentes nos reagentes podem dar resultados falso ou ainda se concentrar na coluna provocando danos, muitas vezes difíceis de se reverter.



# Recomendações para Análise

- **Vidrarias e Ambiente de Trabalho**
  - Bom resultados em baixas concentrações requerem laboratório limpo e eliminação de fontes de vapores (**HCl, amônia, ac. acético e outros**) que são interferentes;
  - A vidraria deve ser muito bem lavada com várias porções de água ultrapura para eliminação de vestígios.



# **Técnicas de Preparo de Amostra Inline**



# Análise e Preparo de Amostra



Amostra real:

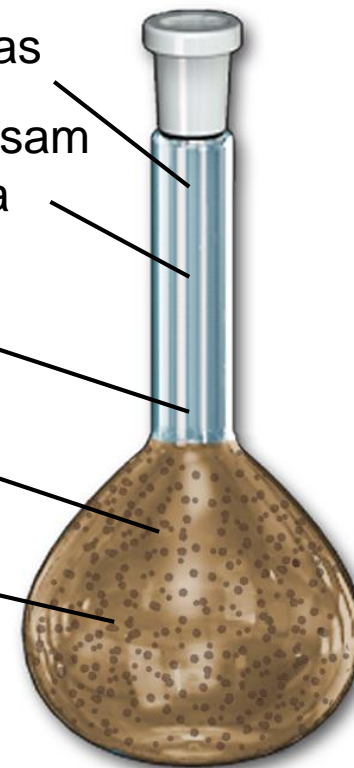
partícula/ proteínas

Matrizes que possam  
danificar a coluna

[ ] muito altas ou  
Muito baixas.

emulsões

pH extremo  
(p.e., 0 or 14)



# Análise e Preparo de Amostra

## ✓ Amostras

- As amostras devem ser filtradas ( $0,45\ \mu\text{m}$ ) para evitar entupimento e danos no sistema;
- Diluição de amostras concentradas para evitar danos na coluna.



# Análise e Preparo de Amostra

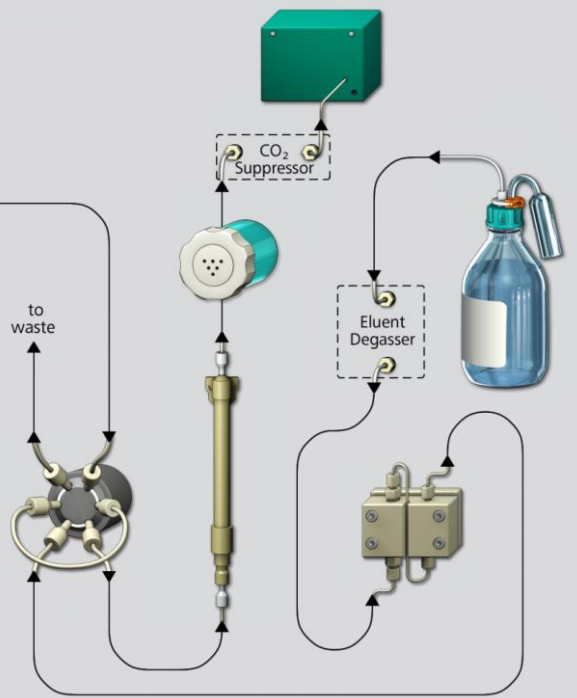
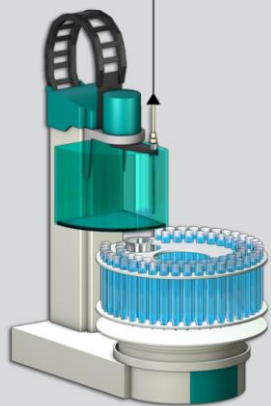
## ✓ Amostras

- Para um melhor desempenho, também podem ser efetuadas etapas com cartuchos especiais para remoção de certos compostos ou para neutralização.



# Análise e Preparo de Amostra

P  
A  
r  
m  
e  
o  
p  
s  
a  
r  
r  
o



*Ultrafiltração*

*Diálise*

**Extração**

*Eliminação de Matriz*

**Neutralização**

**Remoção de Cátions**

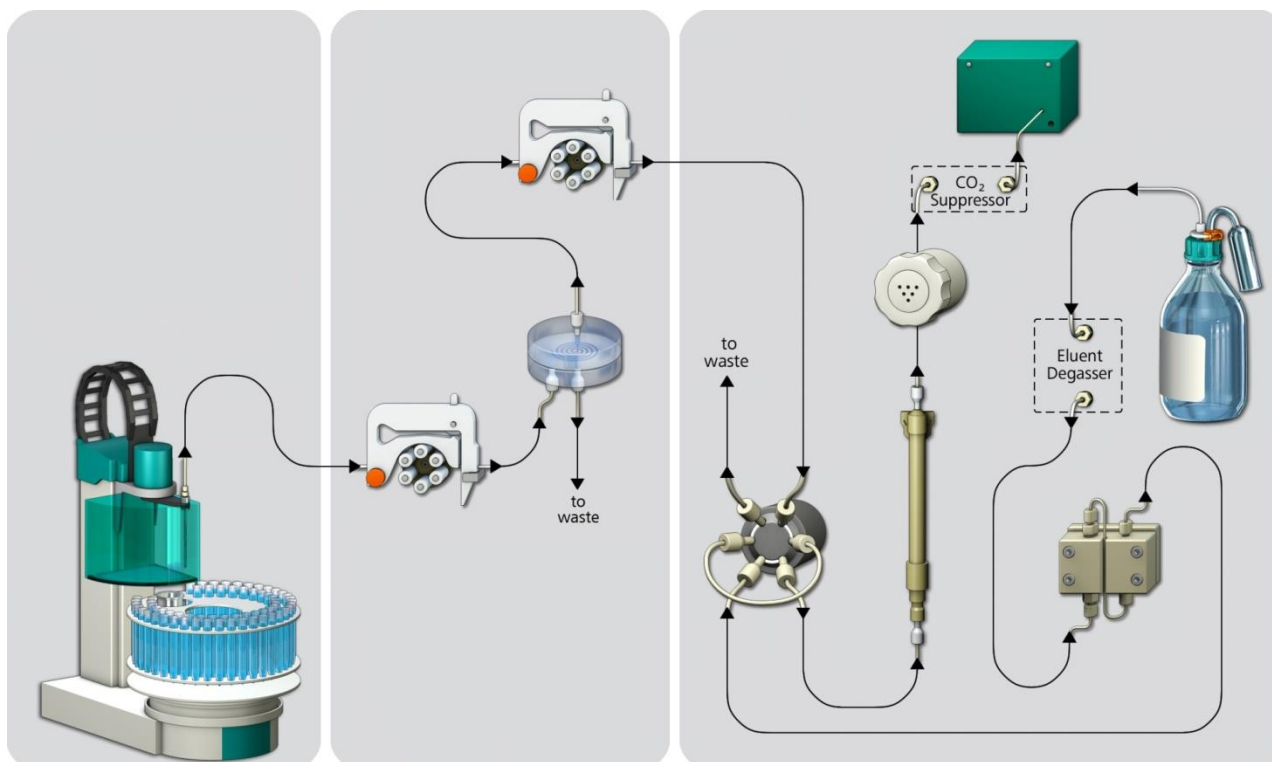
*Diluição*

*Loop Parcial*

*Pré-Concentração*

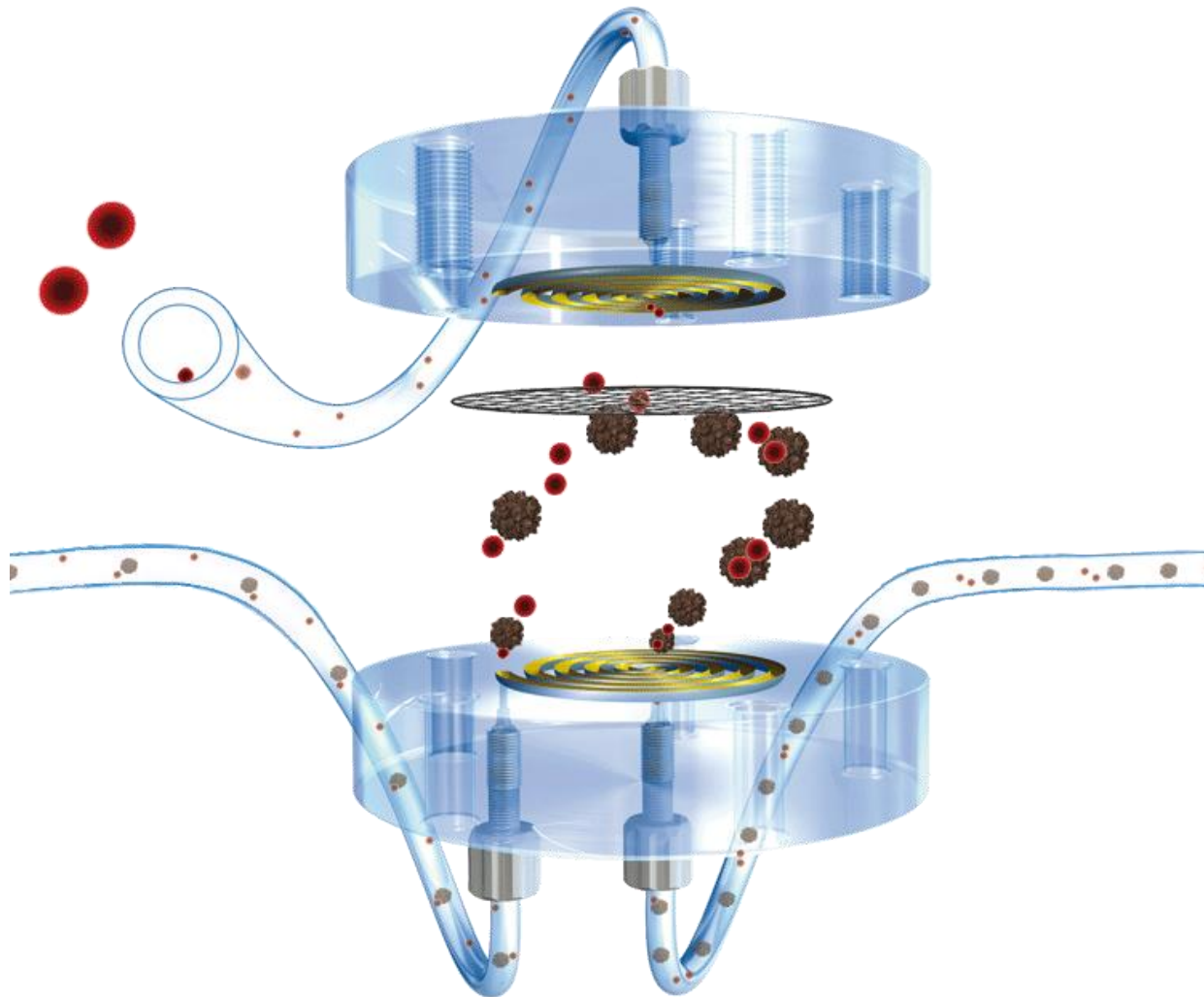
# Análise e Preparo de Amostra

## Ultra filtração: remoção de material particulado



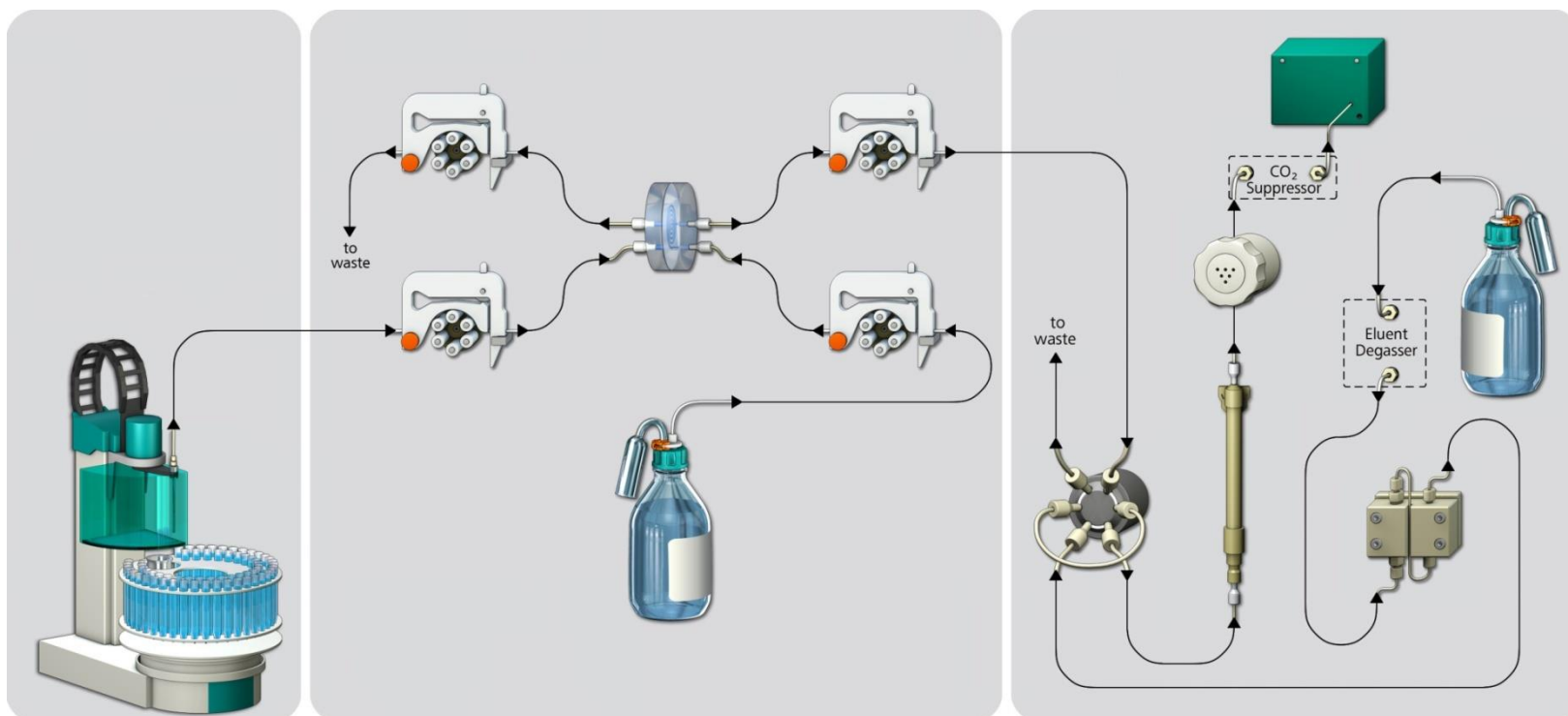
- Resíduo de plantas, algas, bactérias de amostras de águas, efluentes, soluções digeridas, sucos diluídos – 0,2 $\mu$ m.

# Ultra filtração



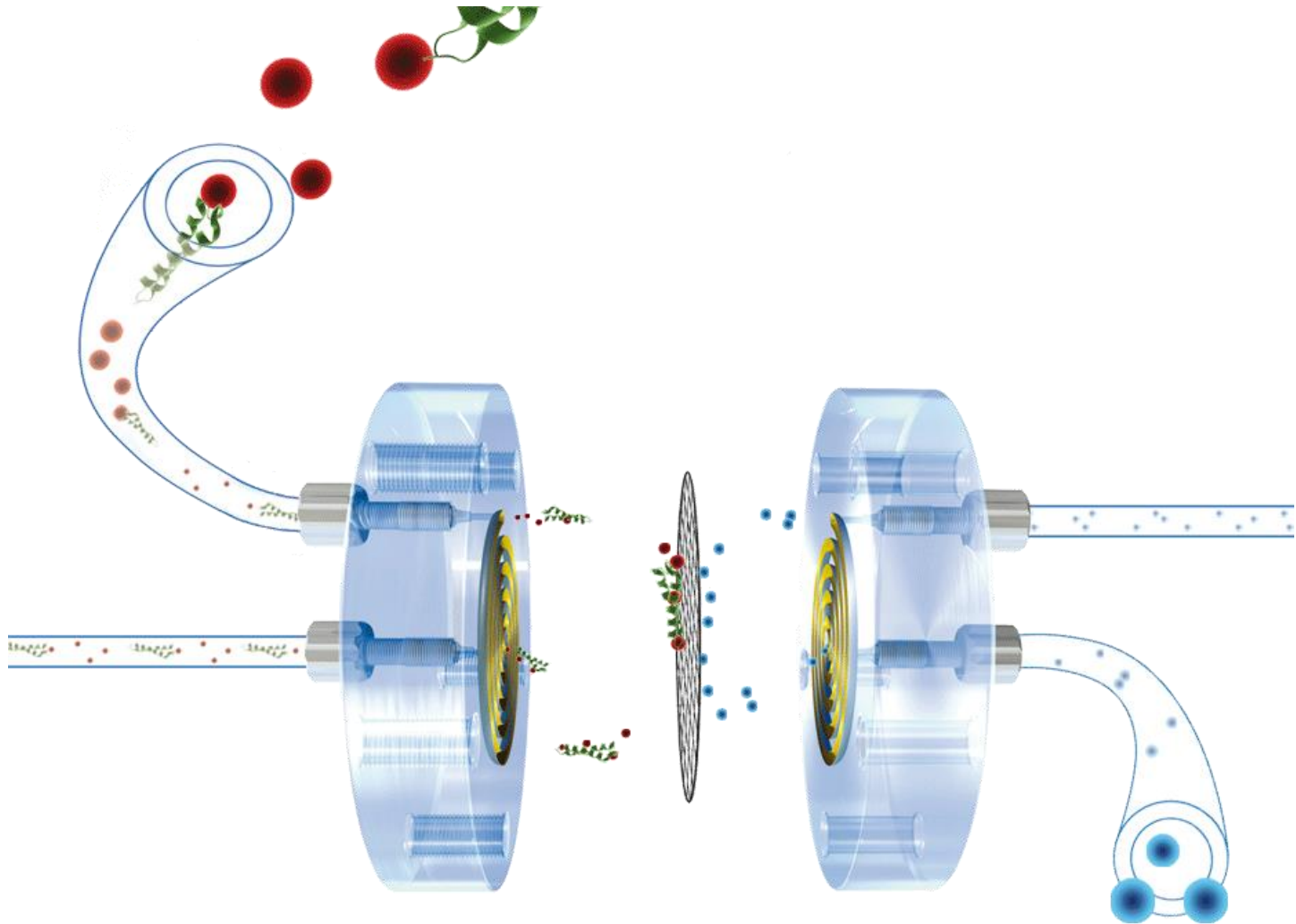
# Análise e Preparo de Amostra

## Diálise: Matrizes complexas com alto teor de orgânicos



- Remove óleo, partículas, proteínas de amostras com emulsões, amostras biológicas, efluentes, soluções fermentadas - 0,2µm, acetato de celulose.

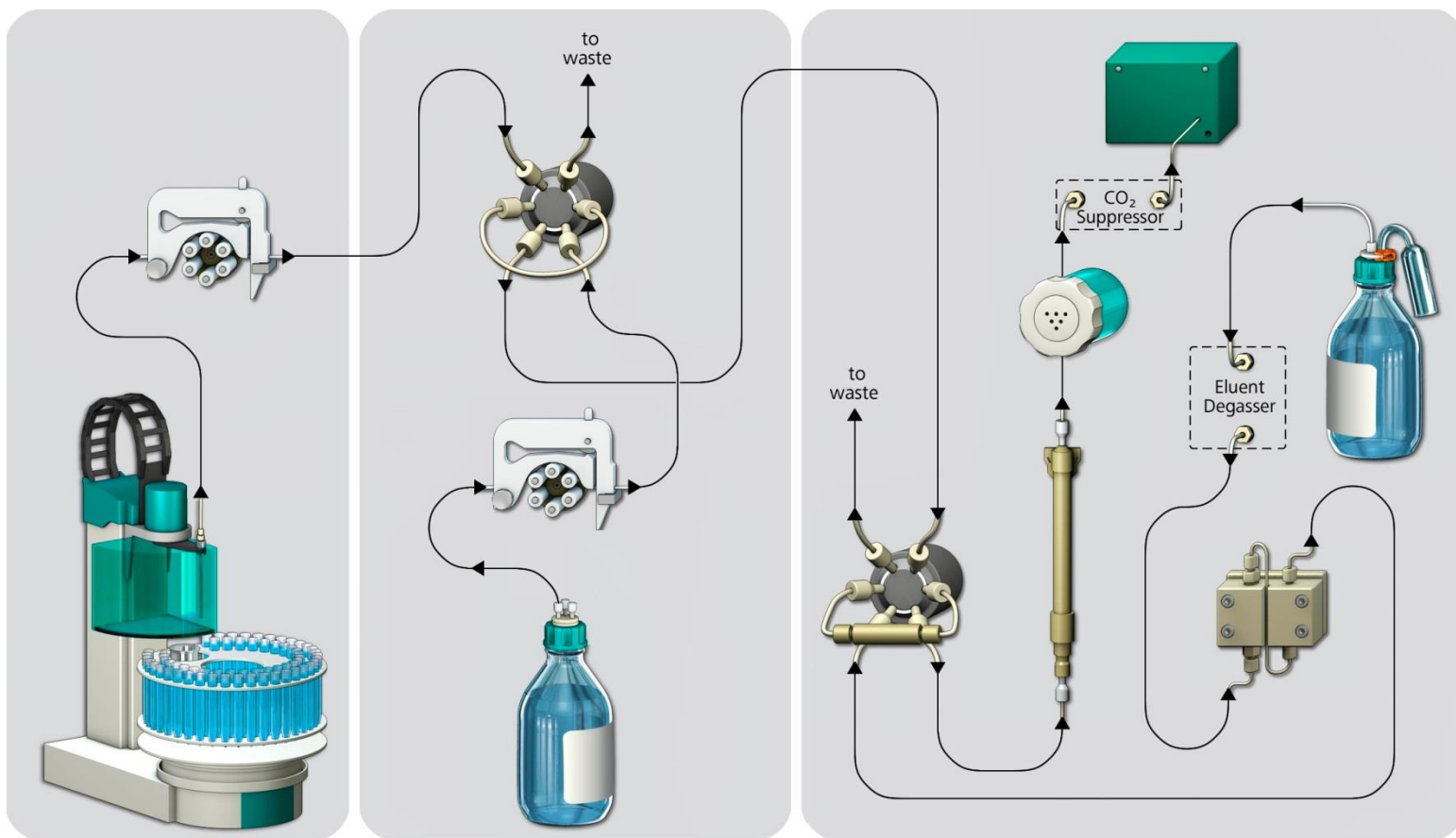
# Diálise





# Análise e Preparo de Amostra

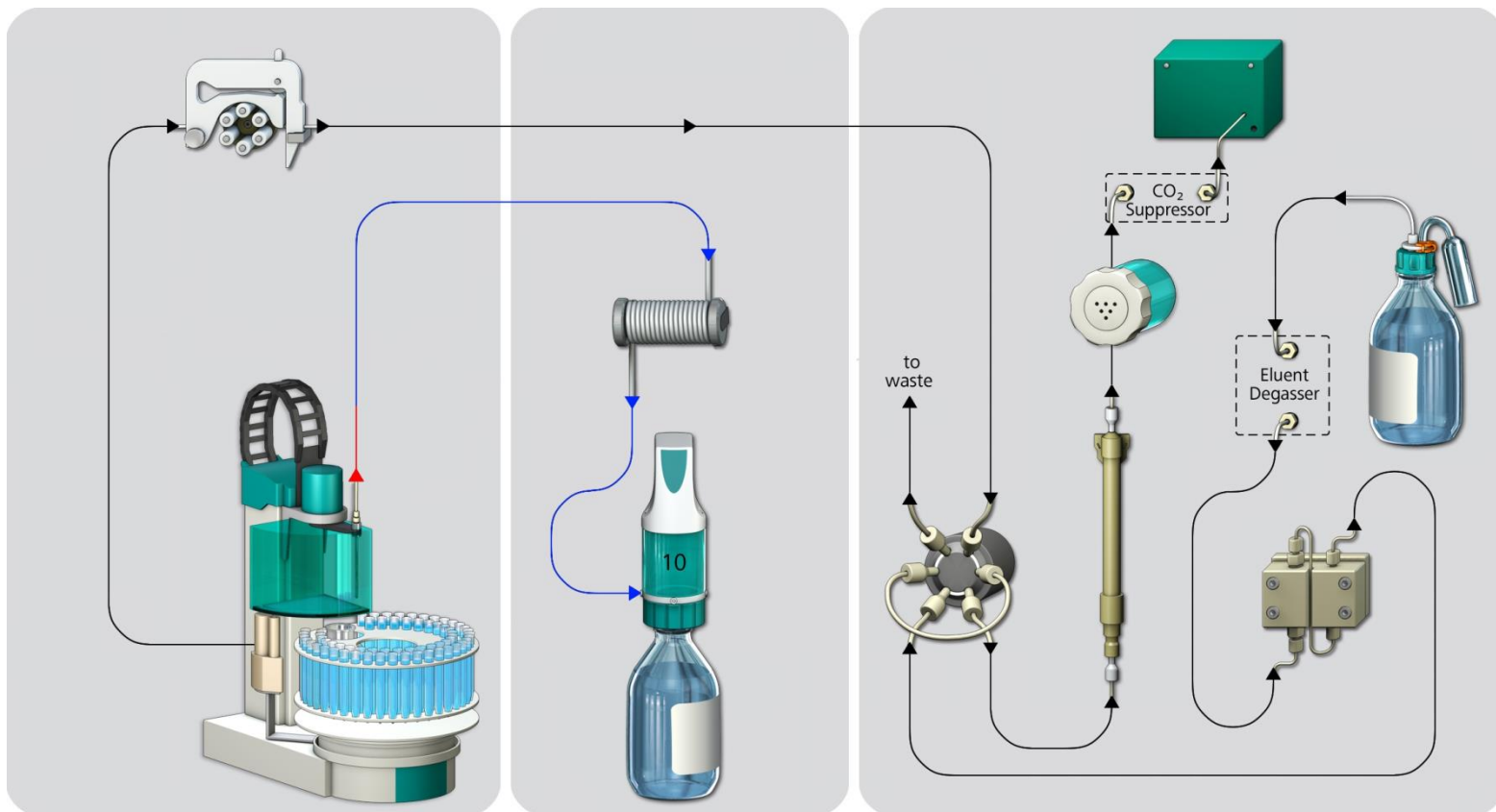
## Eliminação de Matriz



# Análise e Preparo de Amostra

## Diluição

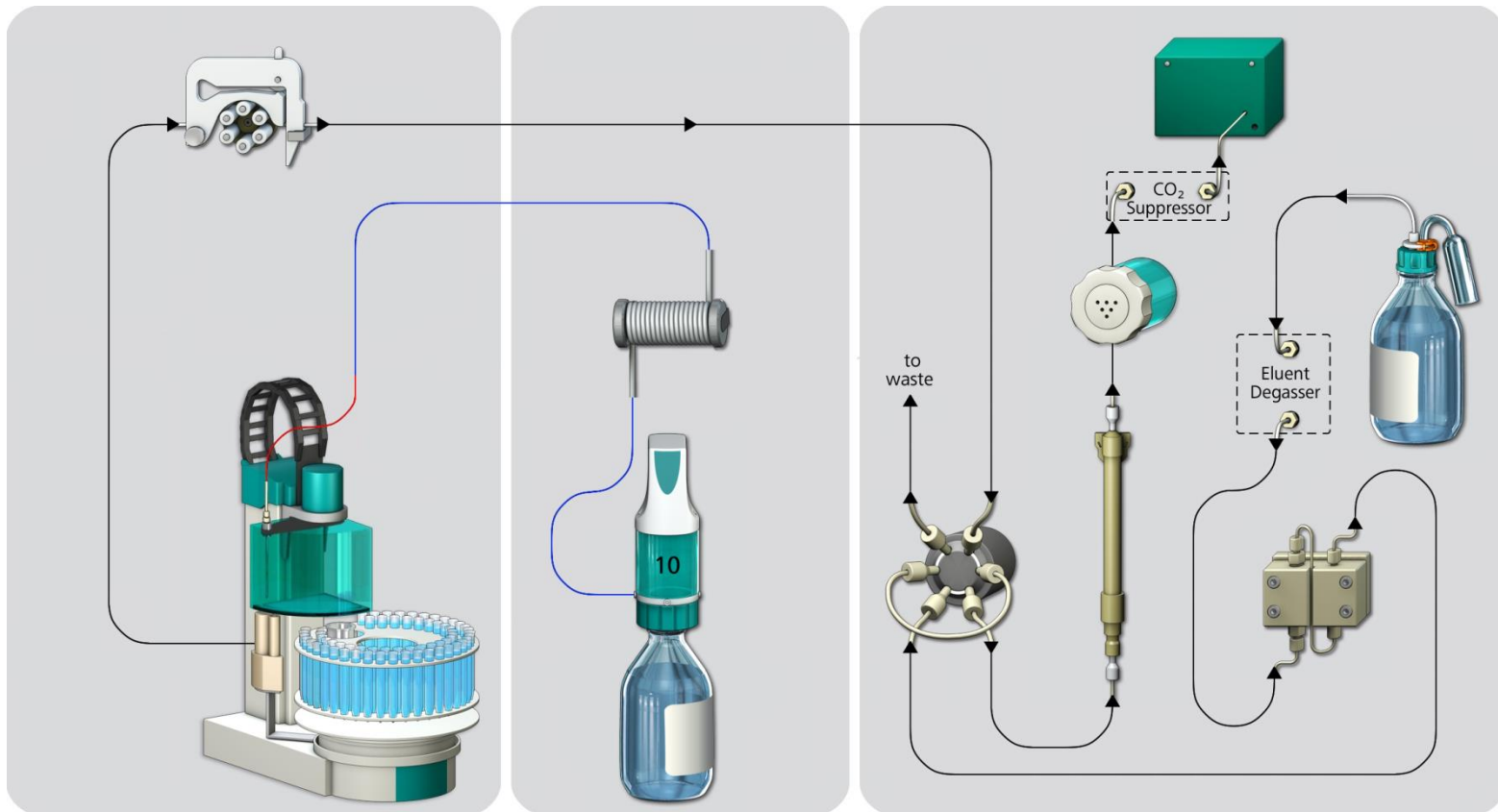
### Aspiração da Amostra



# Análise e Preparo de Amostra

## Diluição

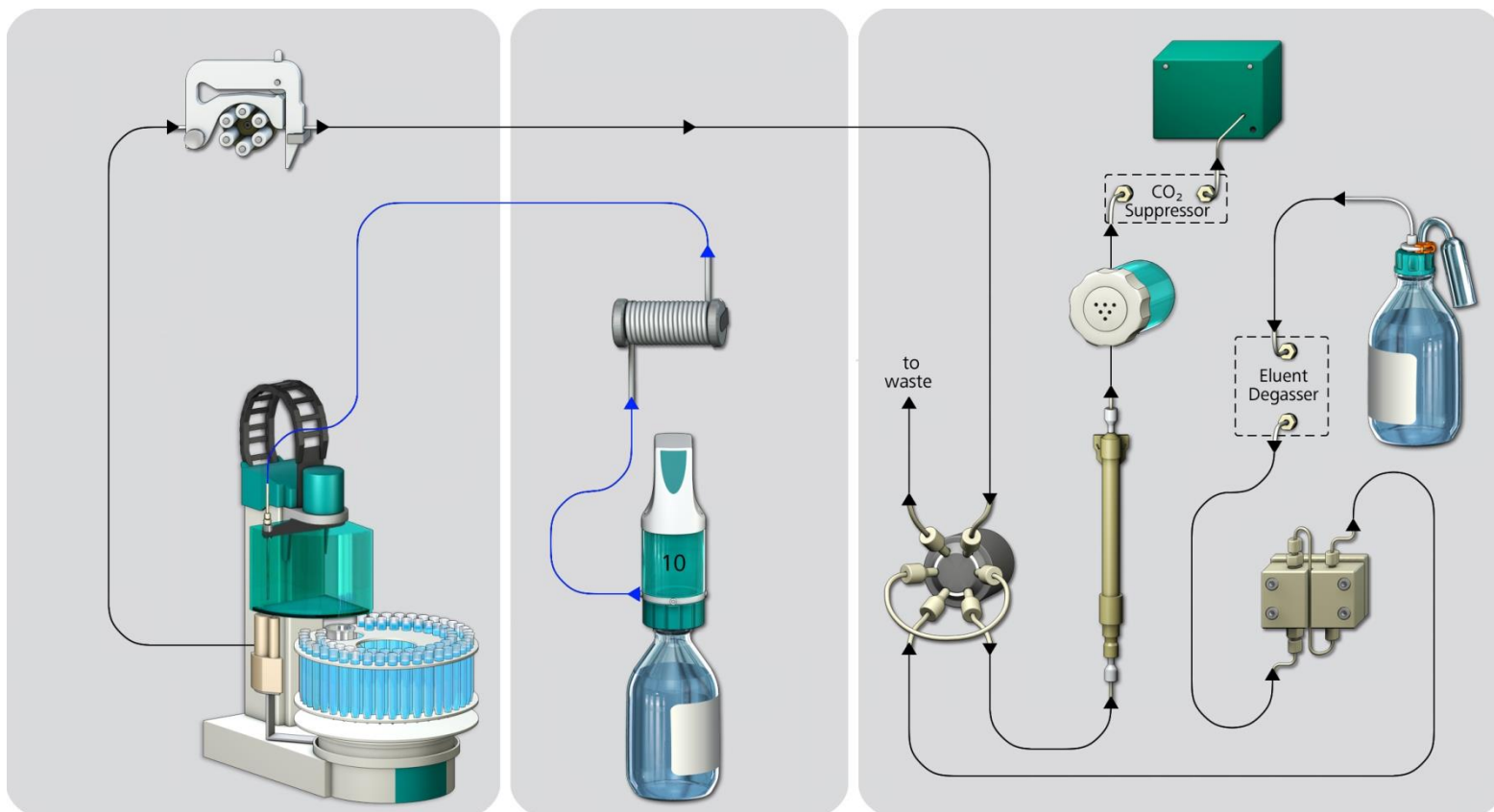
### Amostrador na Posição Externa



# Análise e Preparo de Amostra

## Diluição

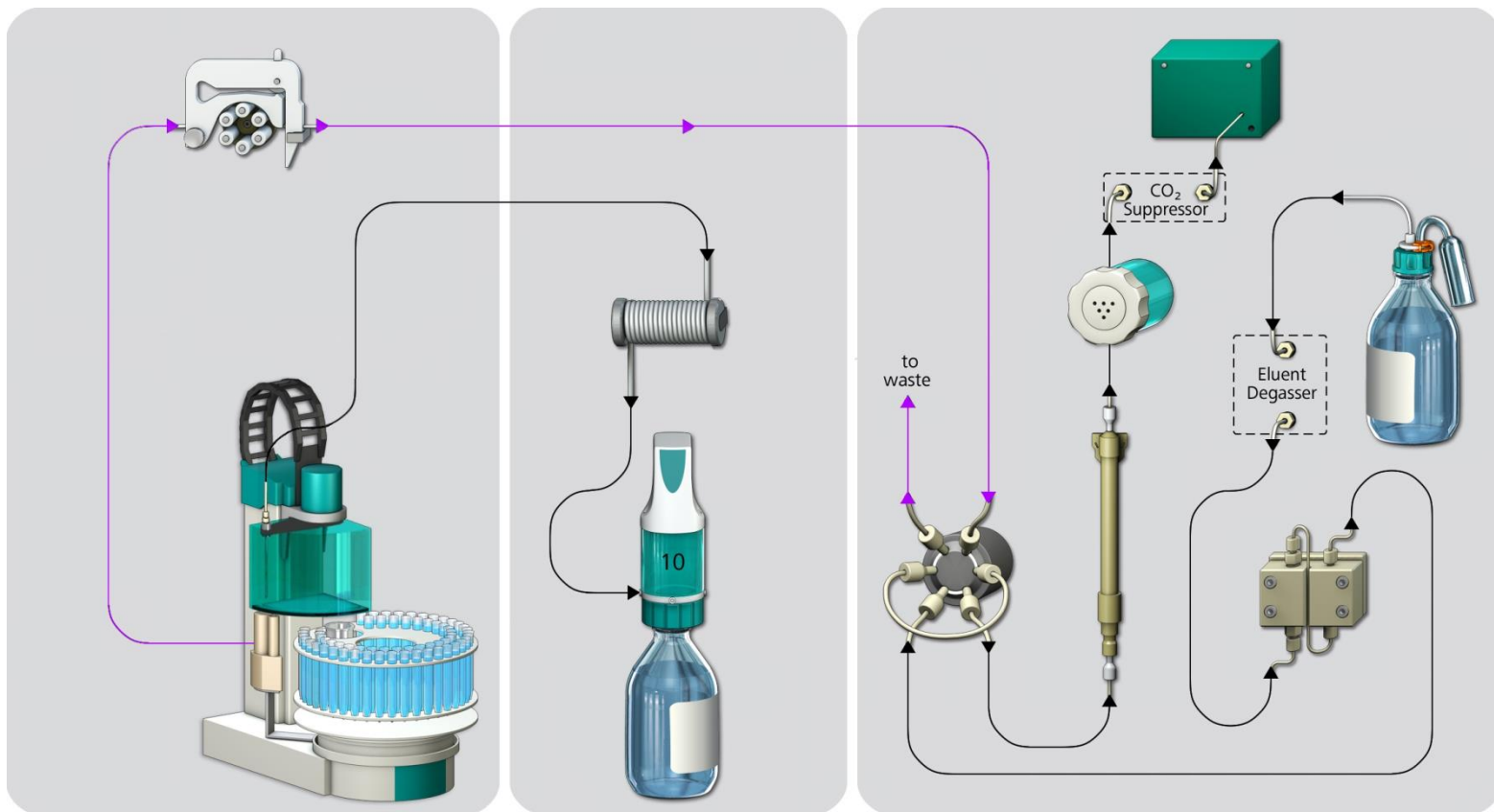
### Diluição e Mistura



# Análise e Preparo de Amostra

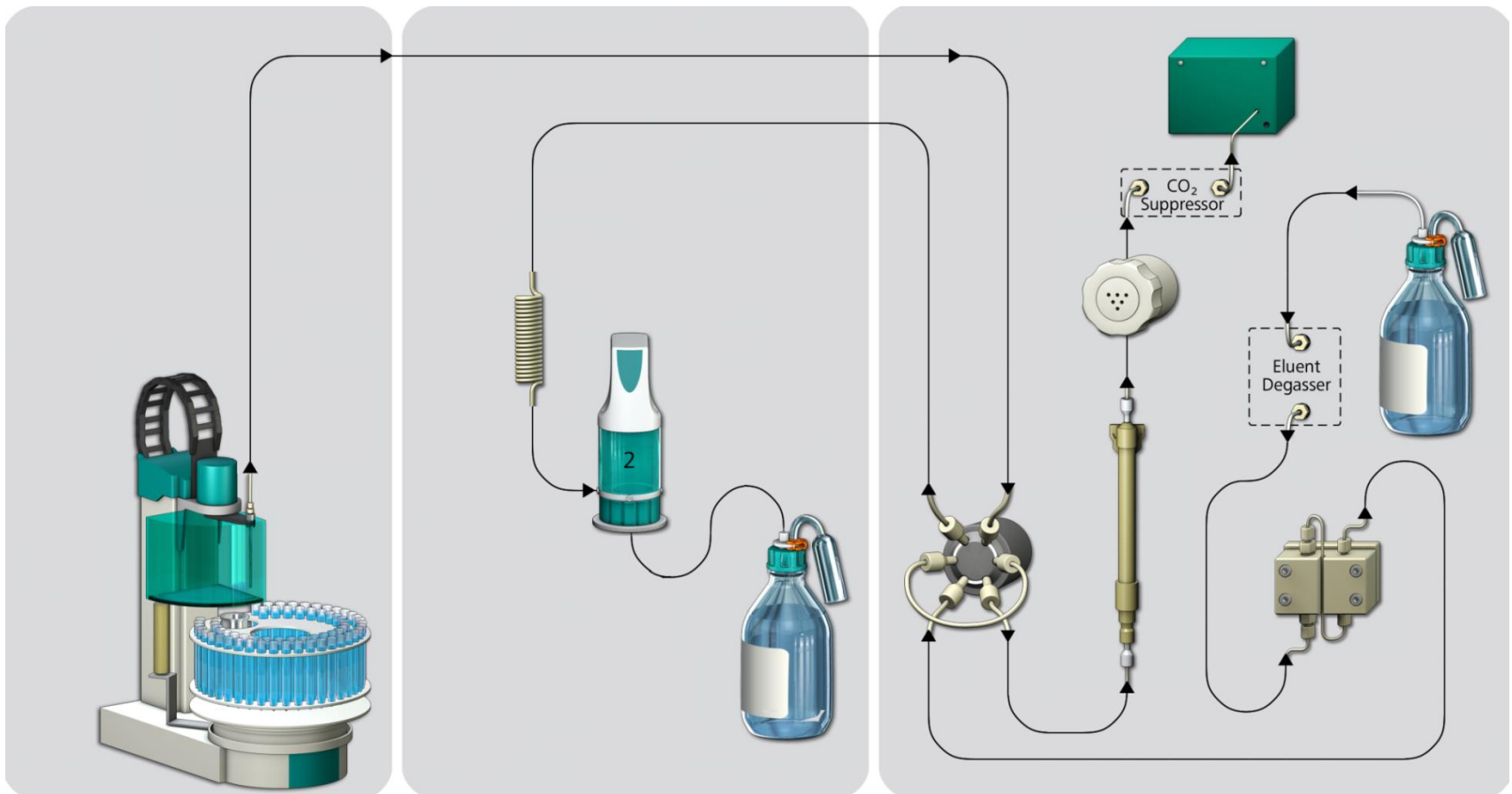
## Diluição

### Transferência da Amostra Diluída



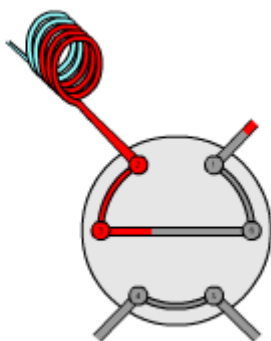
# Análise e Preparo de Amostra

## Loop Parcial



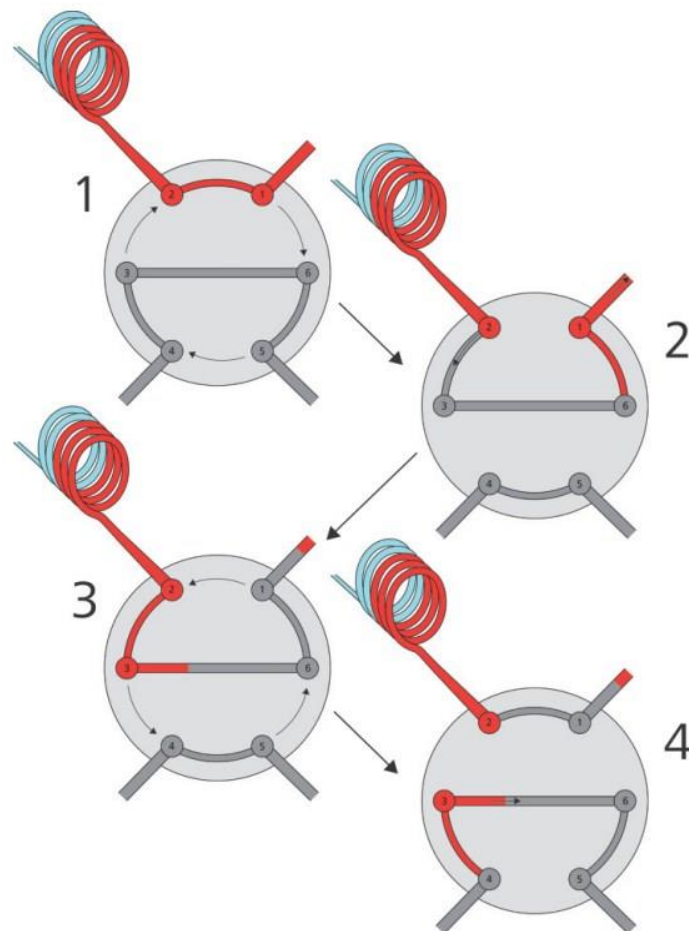
# Análise e Preparo de Amostra

## Loop Parcial



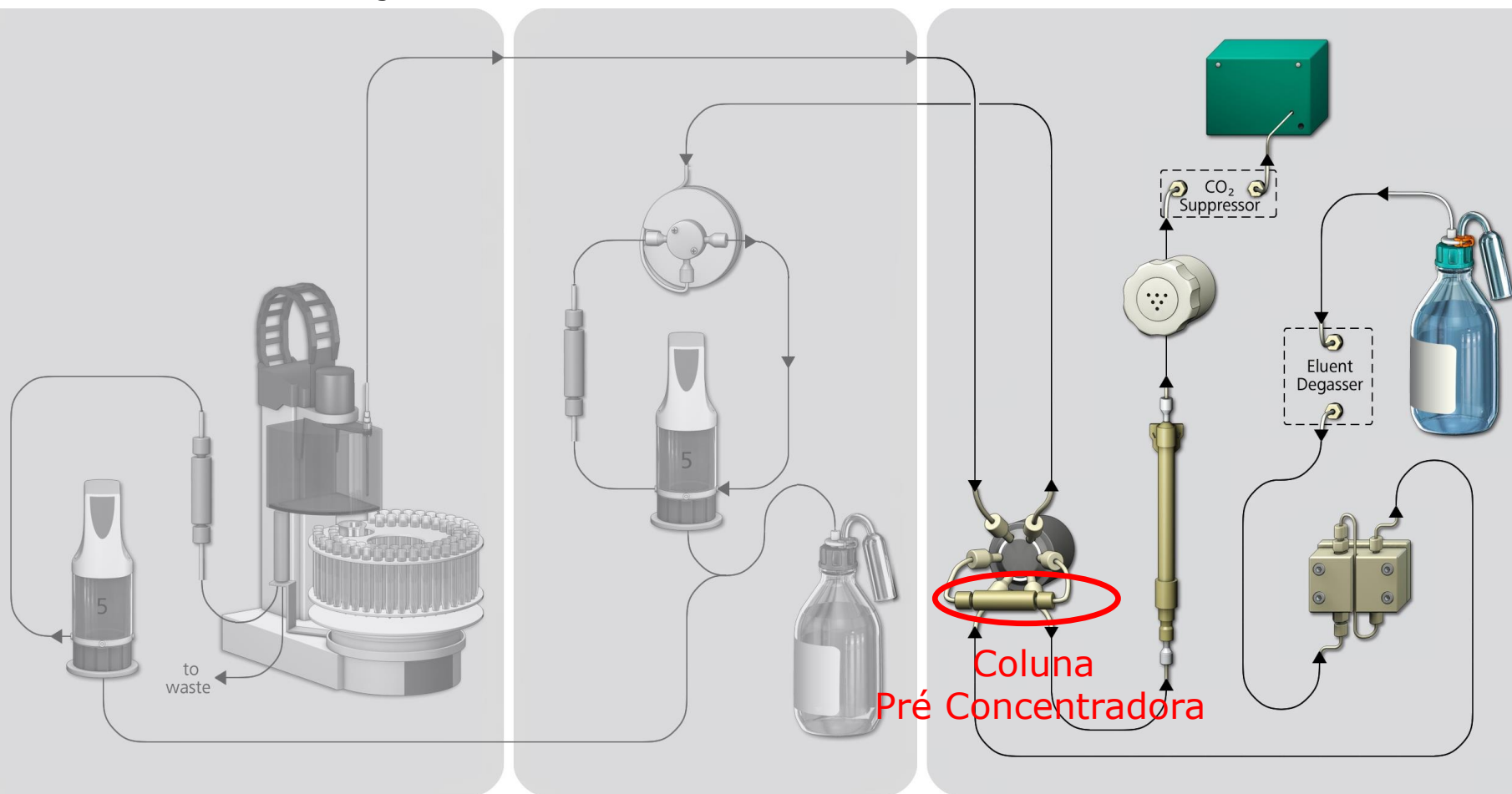
## Princípio de Funcionamento

- (1) Condicionamento do caminho da amostra e aspistação da amostra
- (2) Posição Fill da válvula
- (3) Dosagem exata do volume no Loop
- (4) Injeção do volume definido



# Análise e Preparo de Amostra

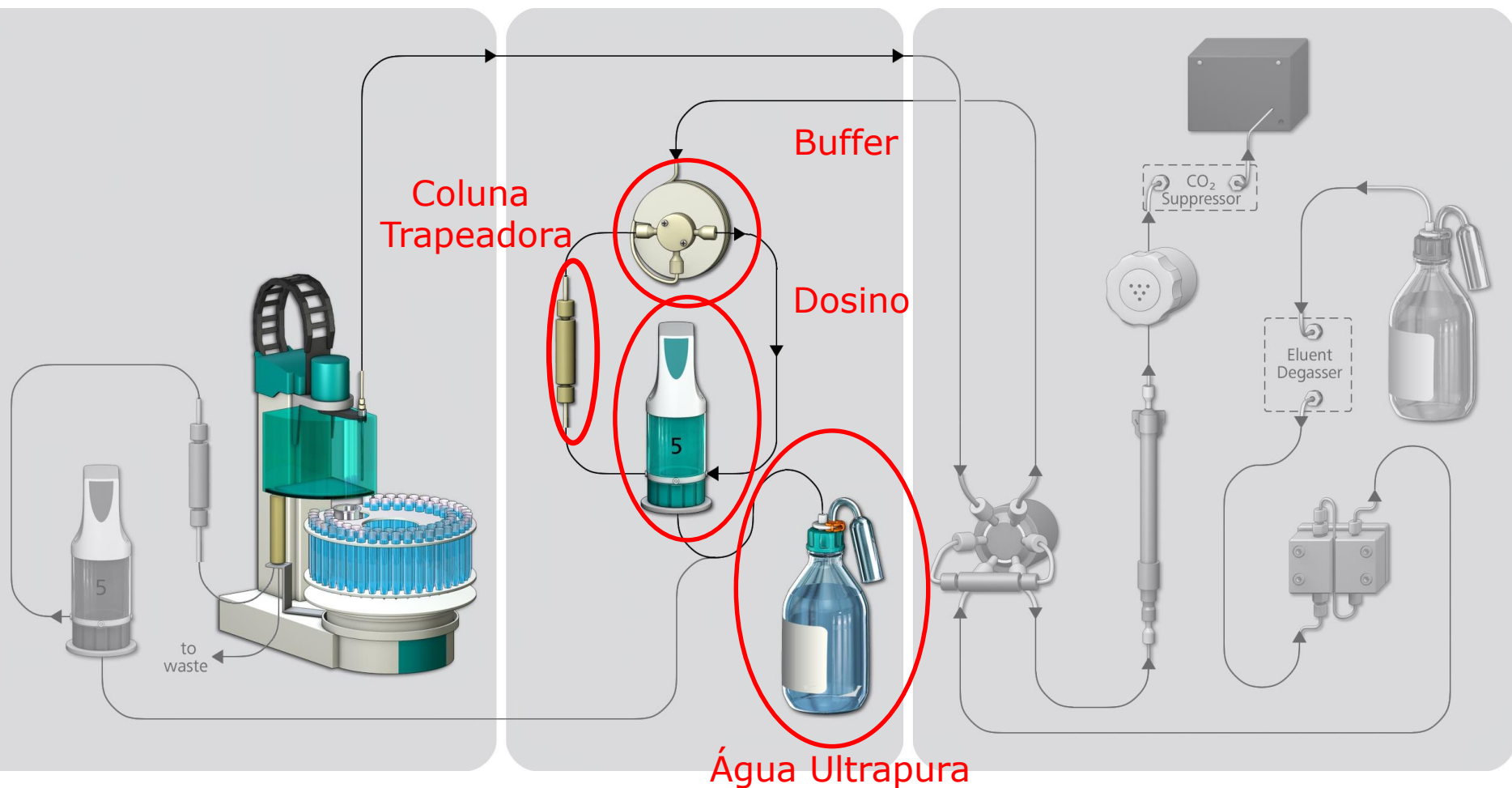
## Pré-Concentração





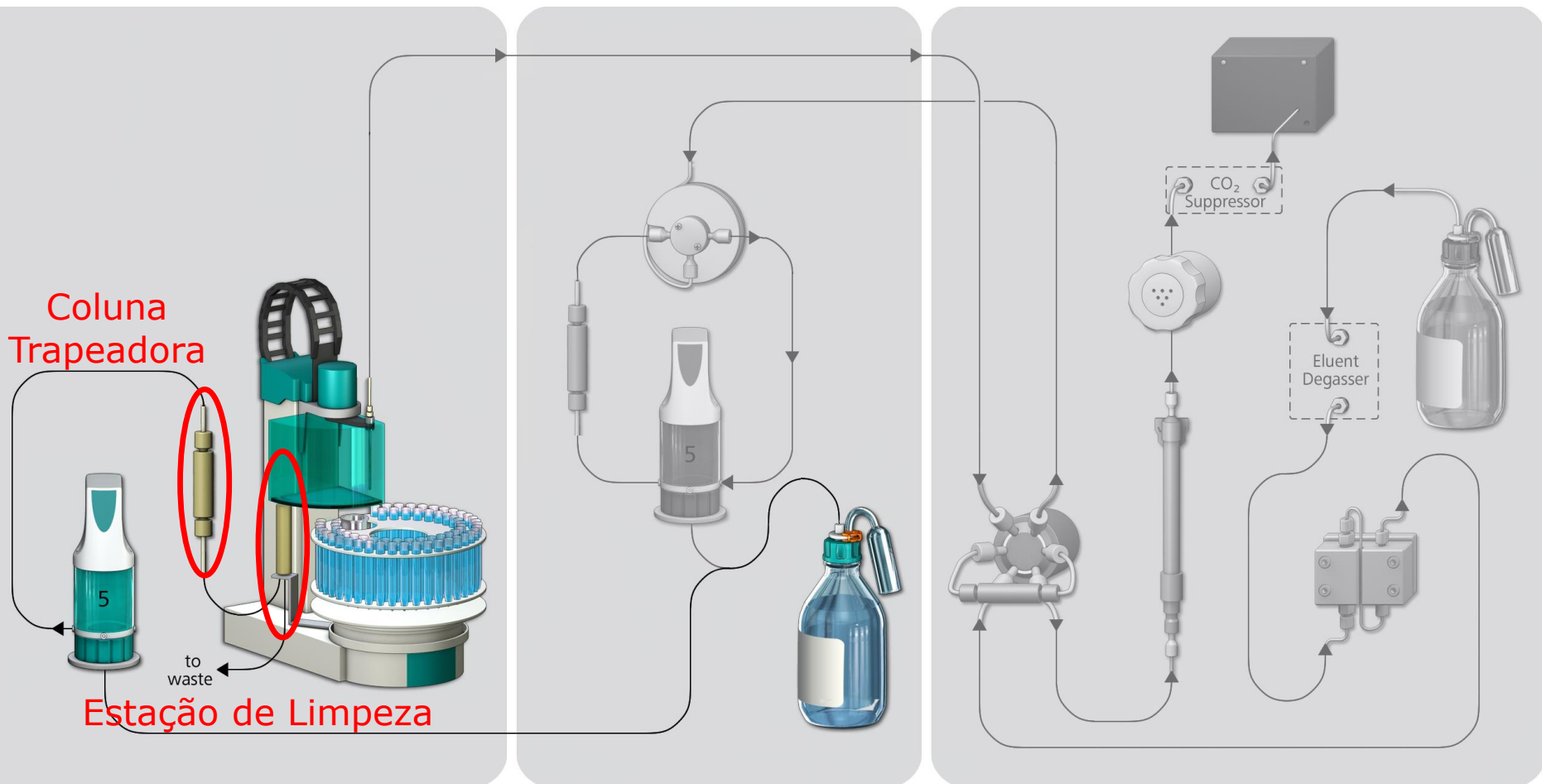
# Análise e Preparo de Amostra

## Pré-Concentração



# Análise e Preparo de Amostra

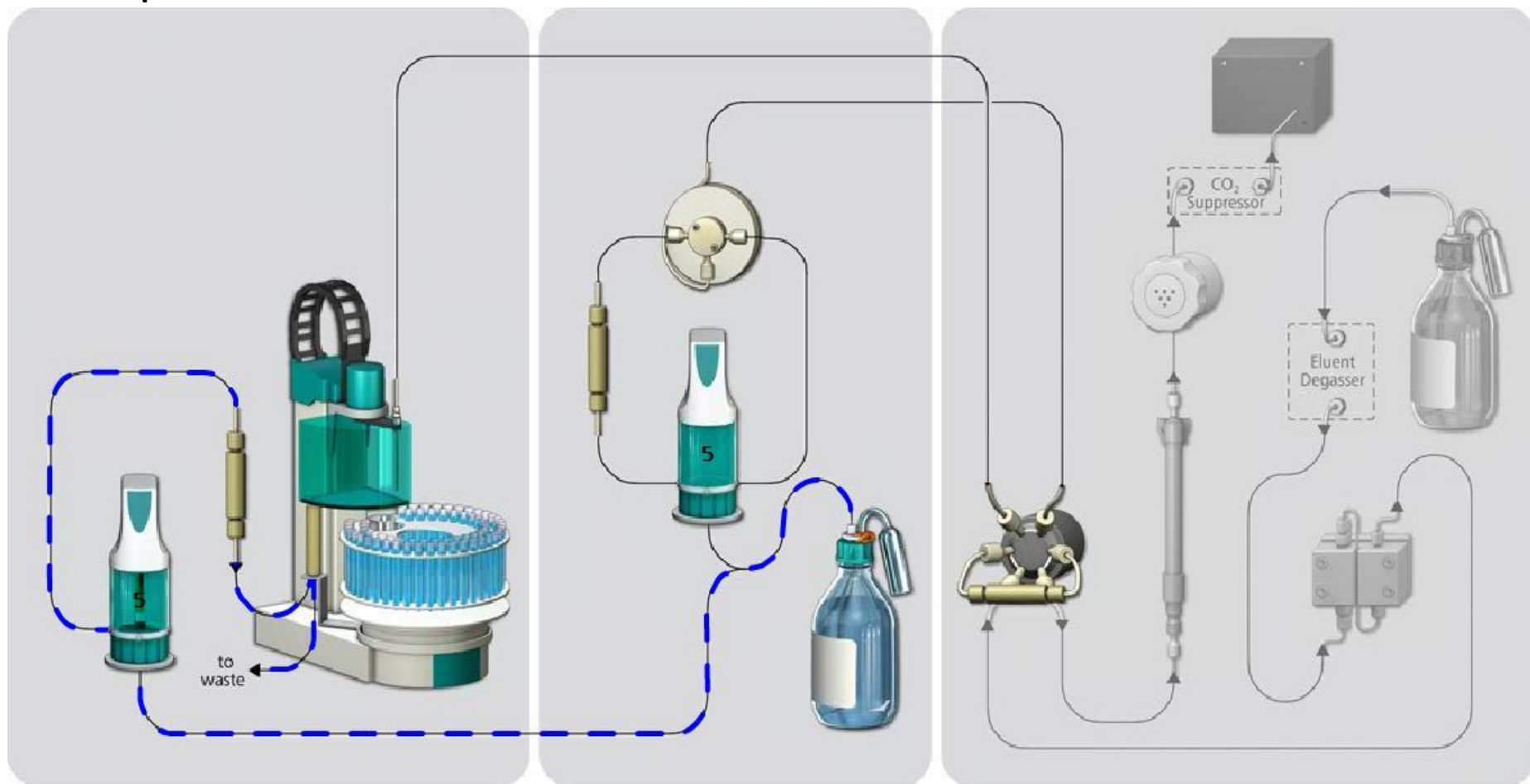
## Pré-Concentração



# Análise e Preparo de Amostra

Pré-Concentração

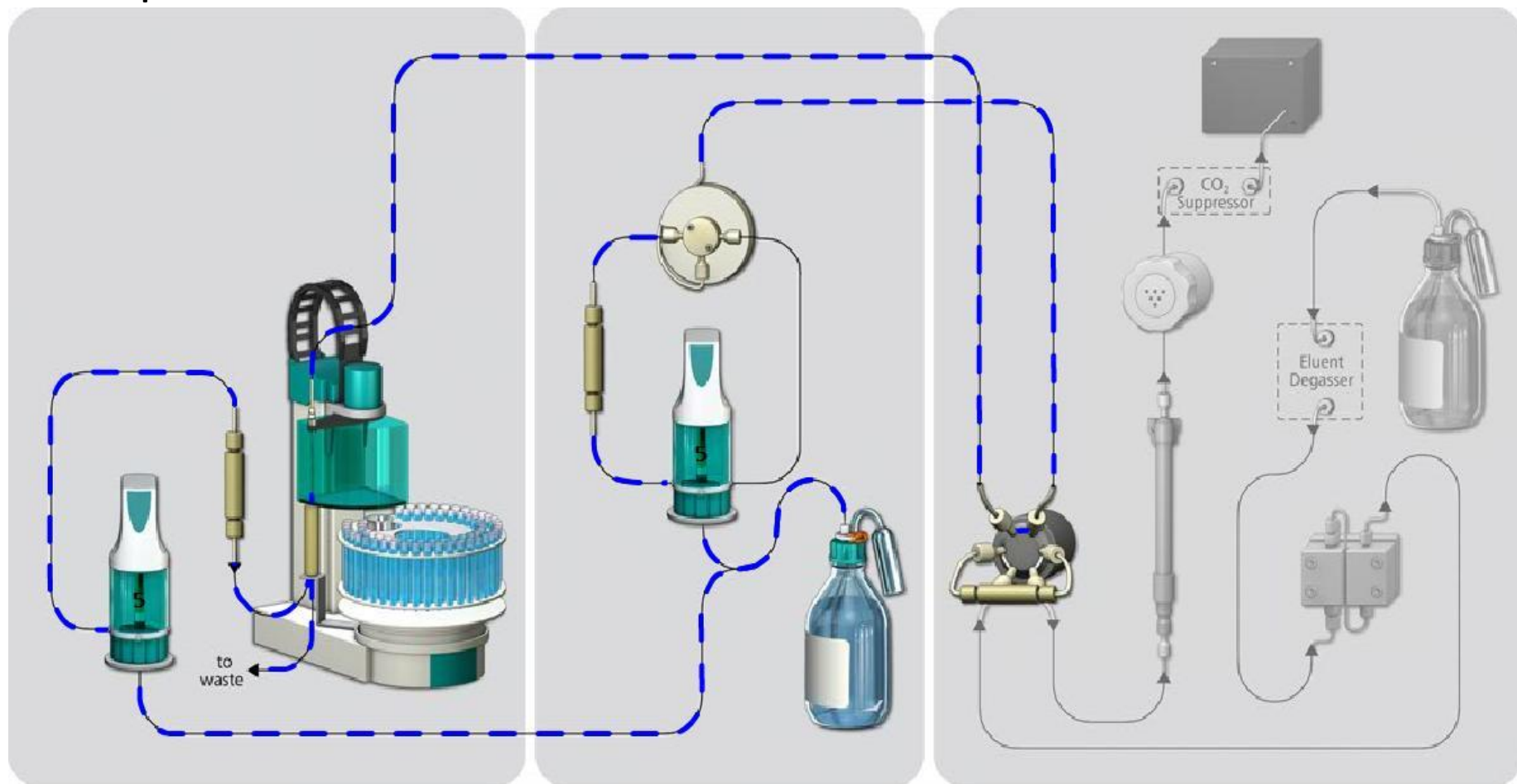
Limpeza



# Análise e Preparo de Amostra

Pré-Concentração

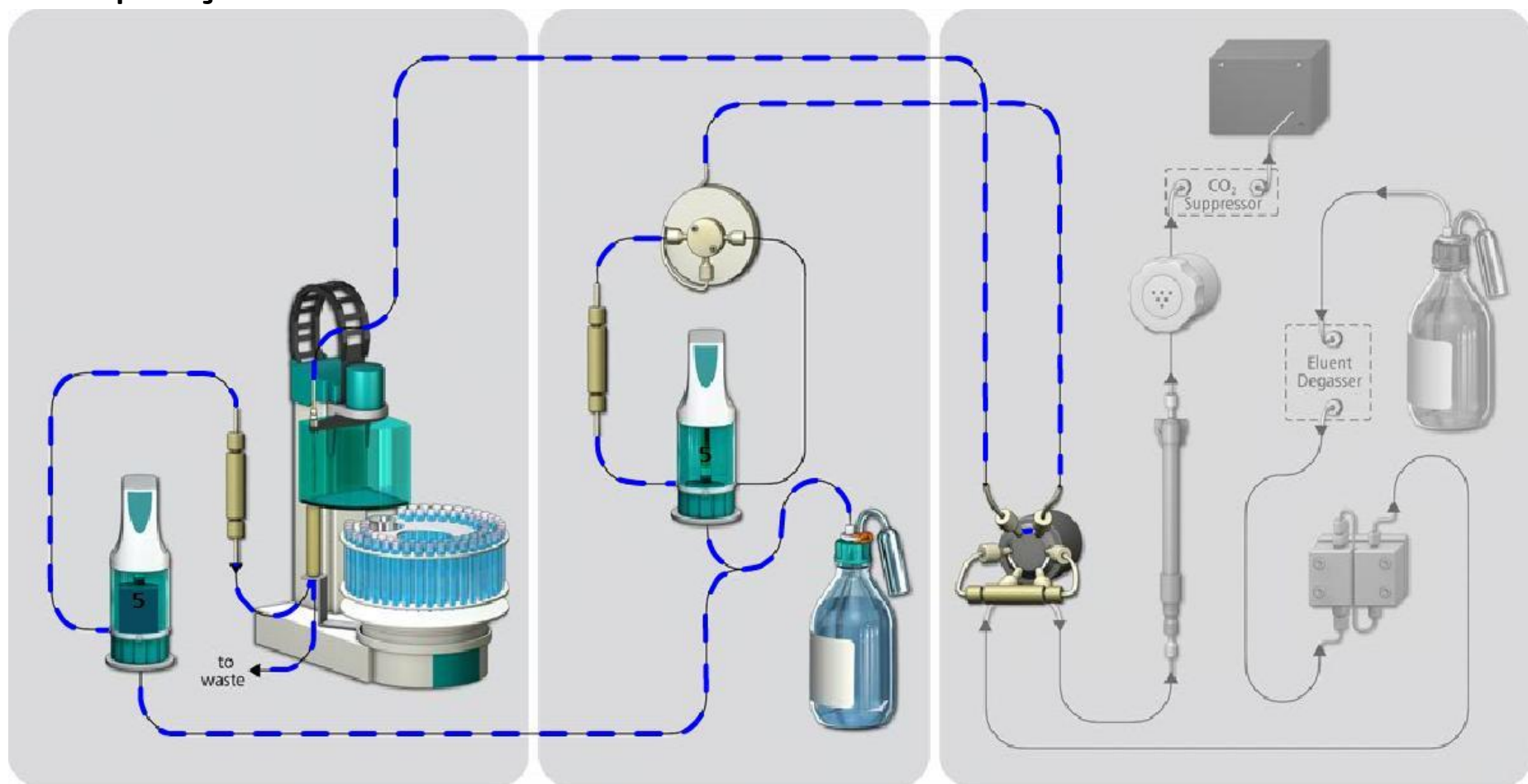
Limpeza



# Análise e Preparo de Amostra

## Pré-Concentração

Aspiração exata do volume de amostra volume

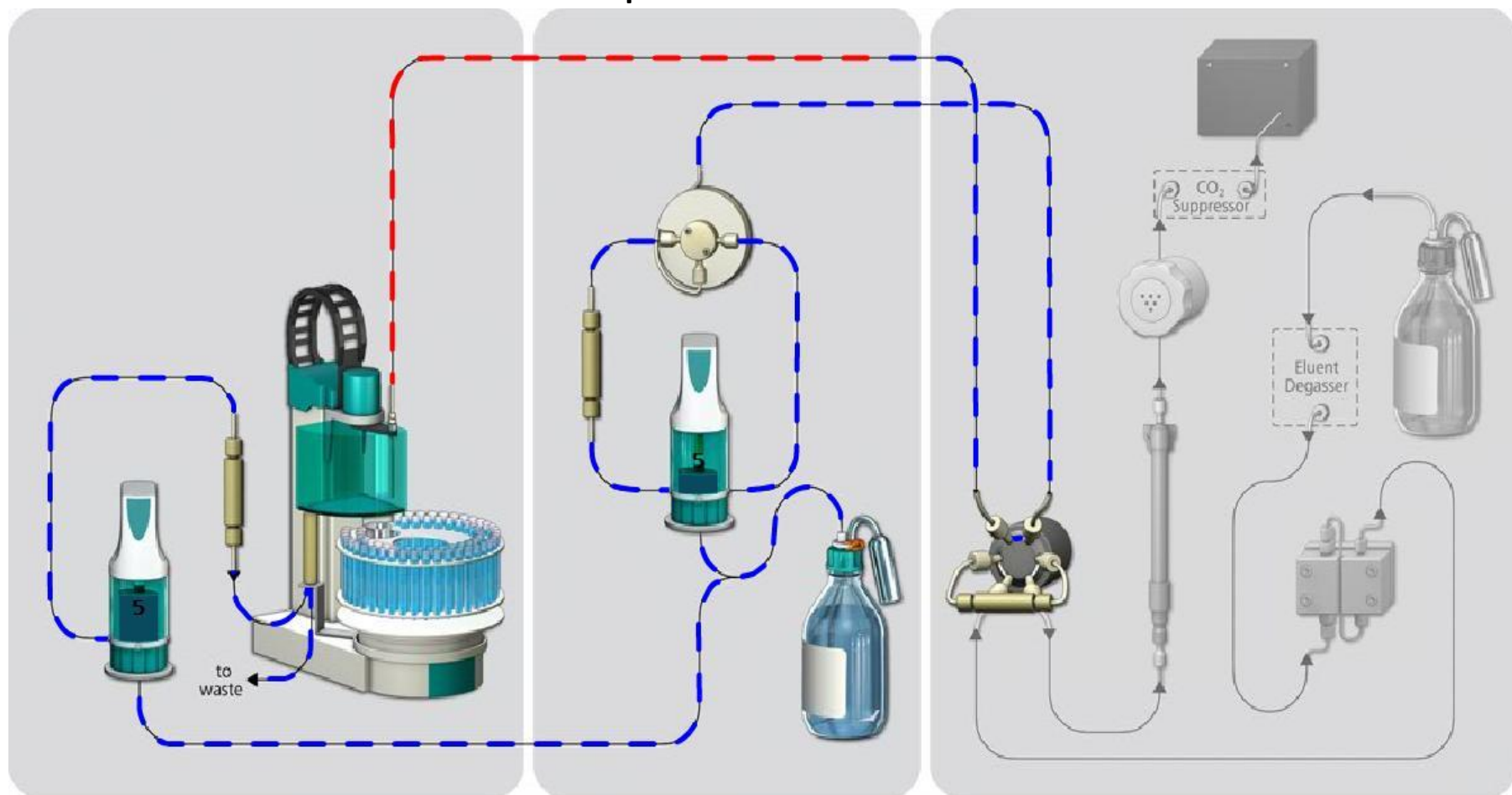




# Análise e Preparo de Amostra

## Pré-Concentração

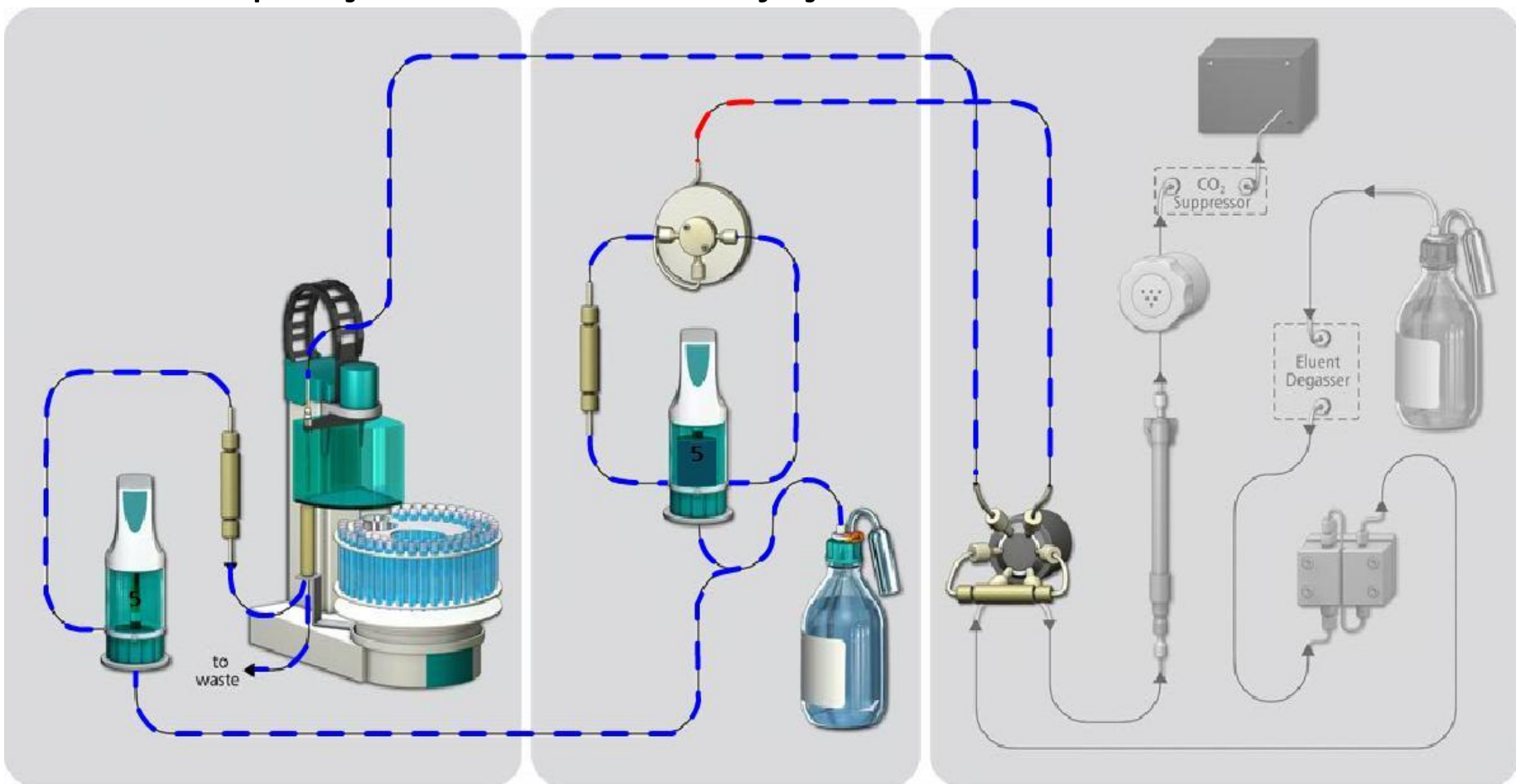
Transferência da amostra para o Buffer



# Análise e Preparo de Amostra

## Pré-Concentração

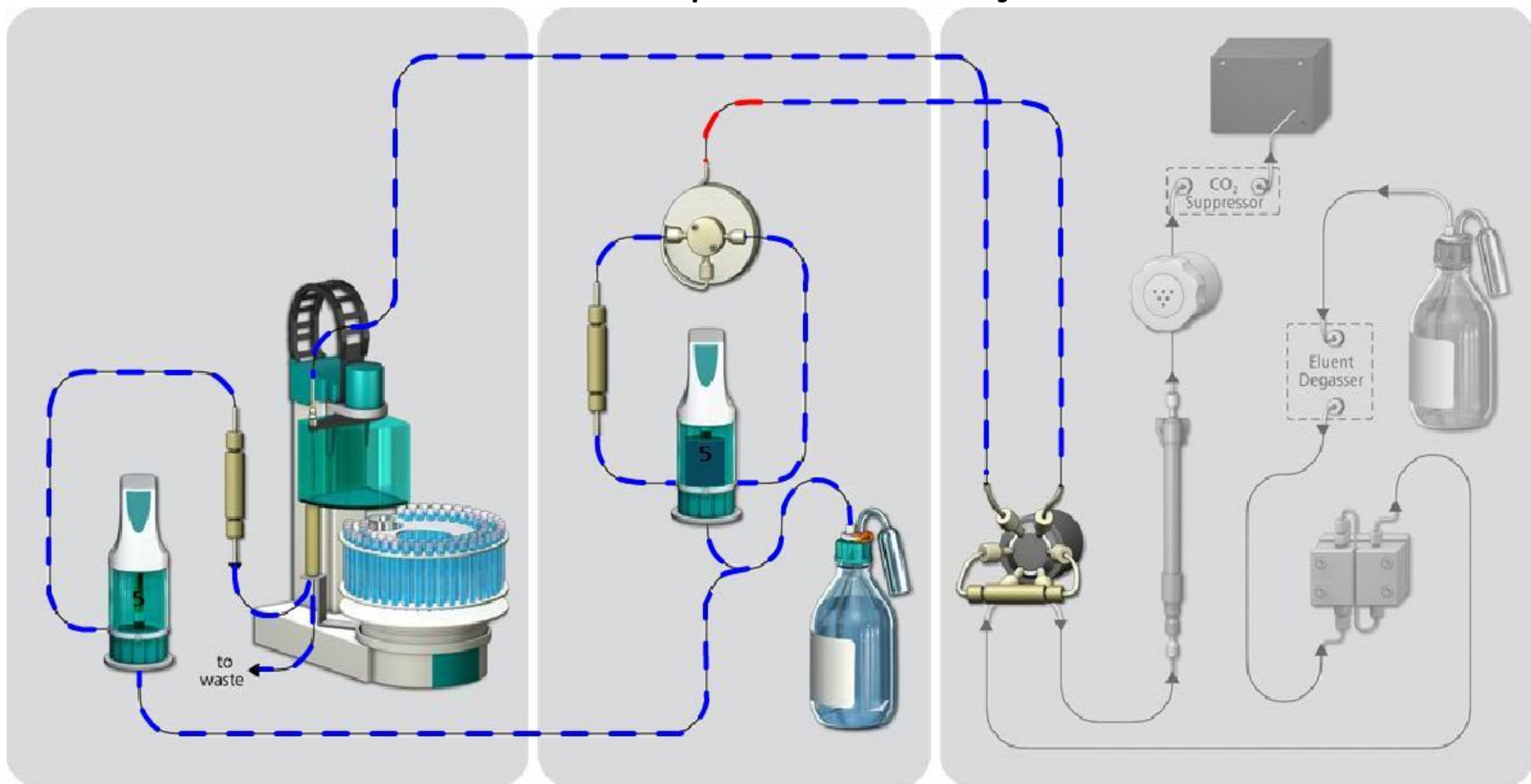
Troca da posição da válvula de injeção



# Análise e Preparo de Amostra

## Pré-Concentração

Preenchimento da coluna de pré-concentração

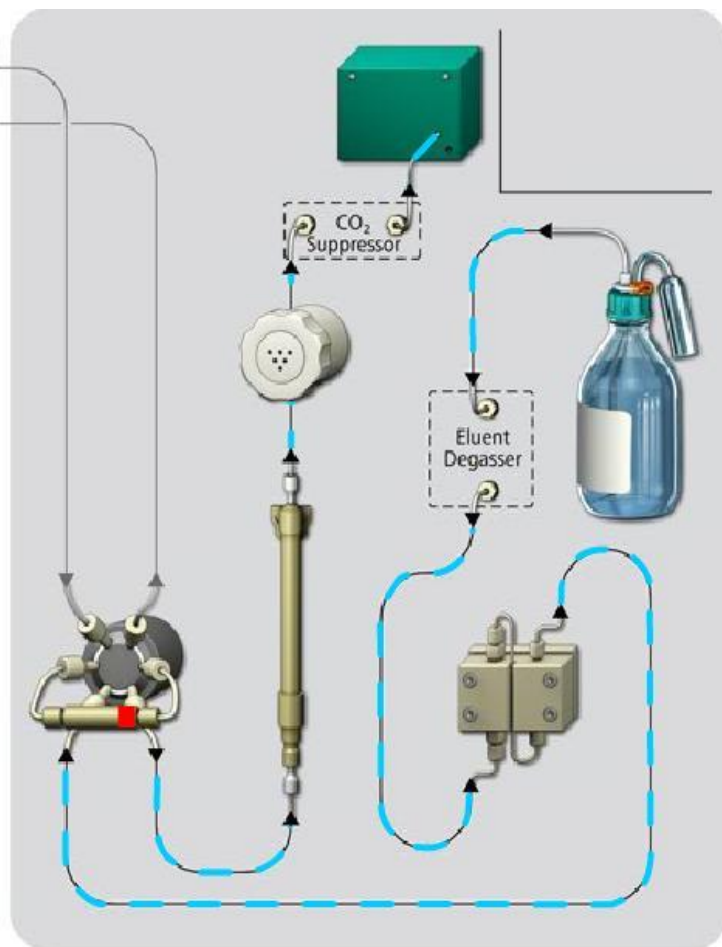
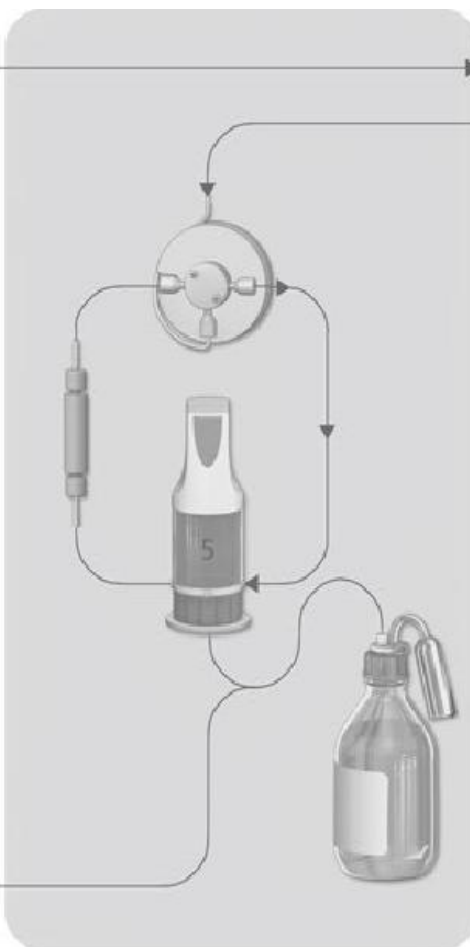
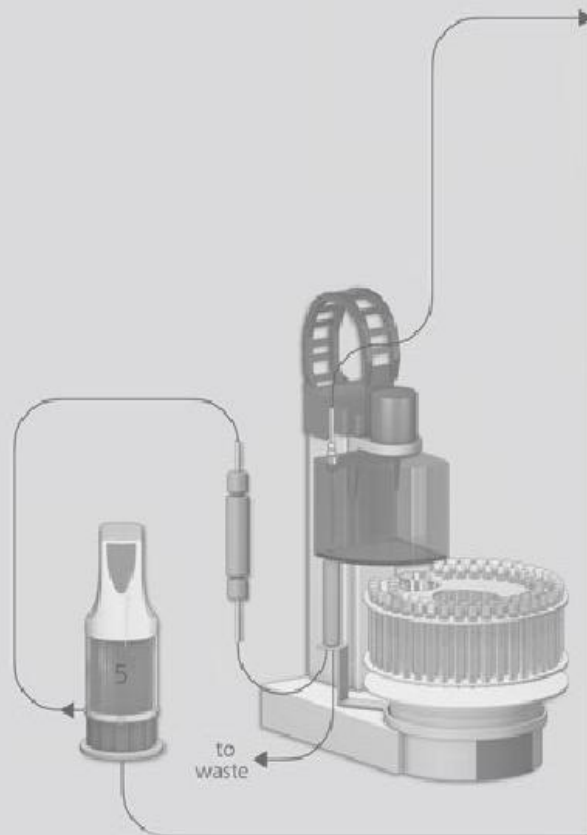




# Análise e Preparo de Amostra

## Pré-Concentração

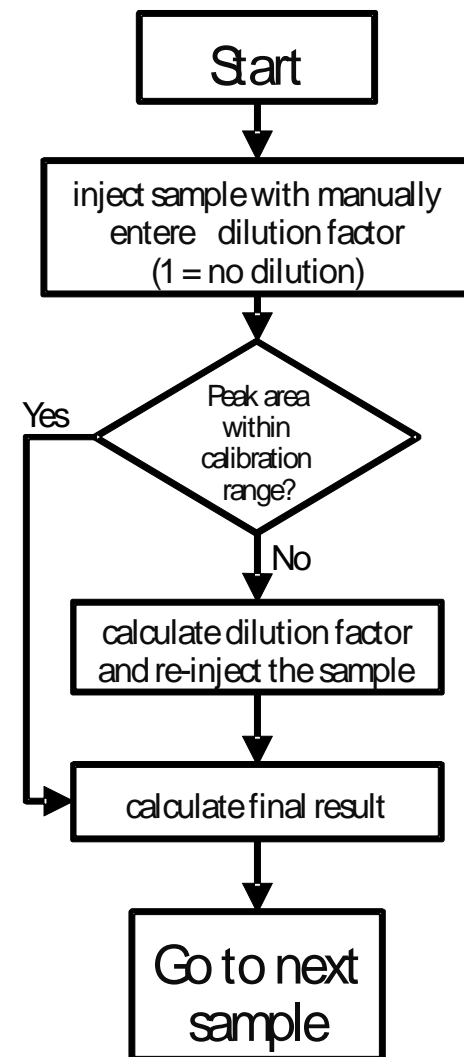
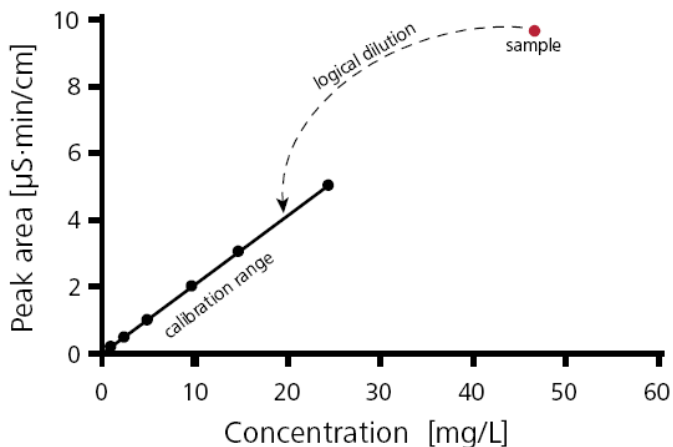
## Injeção e Separação



# Análise e Preparo de Amostra

## Decisão lógica

- Inicia a determinação
- O software verifica a área após análise
- Áreas da amostra menor que a área do padrão
  - ok, próxima amostra
- Área da amostra maior que a área do padrão mais concentrado
  - Reinjeta a amostra com o novo cálculo do fator de diluição



# Aplicações

# Segmentos

- Águas (potável, de rio, de chuva, do mar, ultrapura);
- Efluentes industriais/esgotos;
- Petroquímica;
- Alimentos e Bebidas (chocolates, extratos vegetais, leite, vodka, etc);
- Produtos farmacêuticos (micronutrientes, sol, hemodiálise);
- Soluções concentradas ( $\text{H}_2\text{O}_2$  30%, NaOH 50% HCl 18mol/L);
- Solventes orgânicos polares (álcool etílico, isopropílico, acetona);
- Fertilizantes e aditivos;
- Papel e Celulose.

# Segmentos

## Normas no Brasil para água potável e efluentes

Ministério da Saúde (Portaria 518 março 2004):

Tabela 3 e 5: Ânions e cátions em água potável

CONAMA 357:

Classe 1-4: Águas doces

Classe 5-6: Águas salgadas

Classe 7-8: Águas salobras

CETESB decreto 8468:

Artigo 18 Efluentes a serem lançados em cursos d`água

Artigo 19A Efluentes a serem lançados na rede de esgotos

# Segmentos

## Normas internacionais para água potável

Métodos EPA :

- 300.0 Ânions comuns em água potável
- 300.1 Oxi-haletos e ânions comuns em água potável
- 314.0 Perclorato em água potável
- 317.0 Bromato em água potável por PCR com o-dianisidina

Normas EN ISO :

- 10304 – 1...4      Qualidade da água
- 15061              Bromato em água potável

# Legislação para Águas e Efluentes

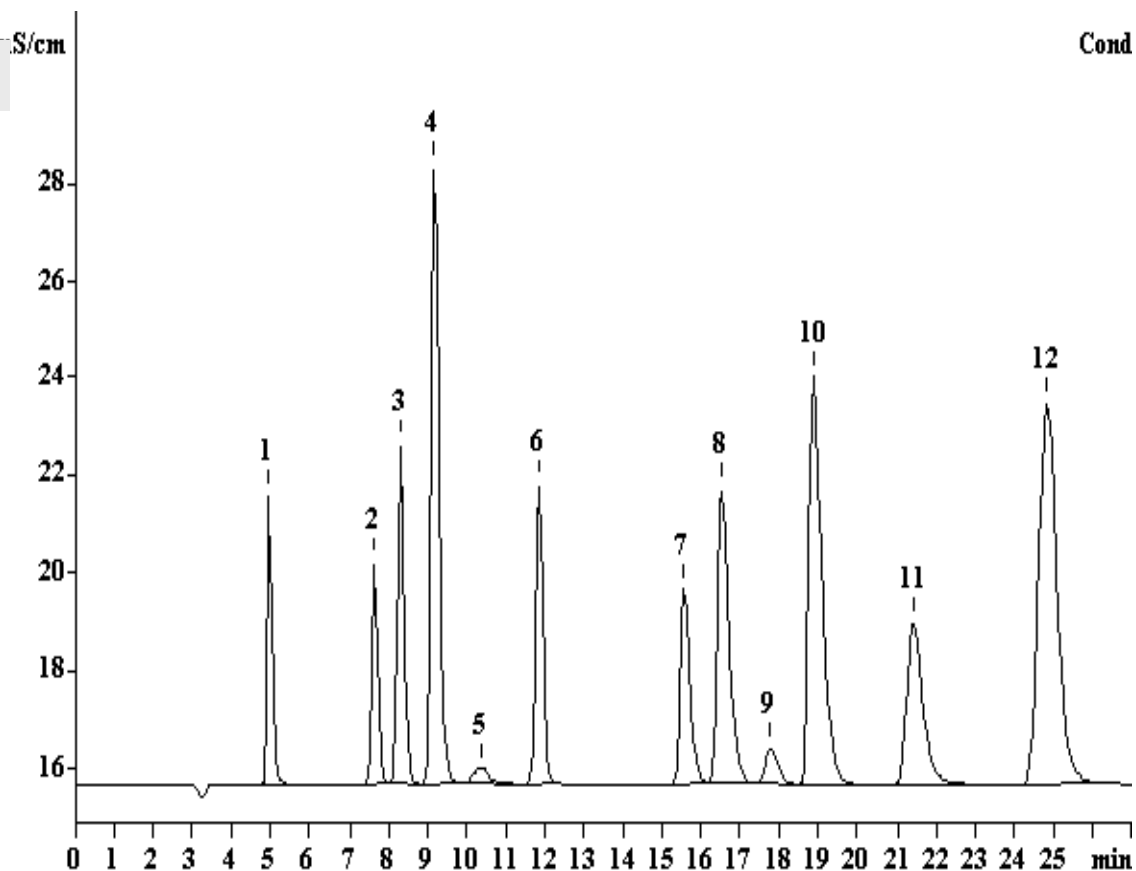
## EPA 300.1, oxihaletos

Metrosep A Supp 7 – 250

|   |           |       |
|---|-----------|-------|
| 1 | Fluoreto  | 2.08  |
| 2 | Clorito   | 10.00 |
| 3 | Bromato   | 20.00 |
| 4 | Cloreto   | 7.17  |
| 5 | Carbonato | n.q.  |
| 6 | Nitrito   | 10.00 |
| 7 | Brometo   | 10.00 |
| 8 | Clorato   | 20.00 |

ppm

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 3.6 mmol/L; 45 °C

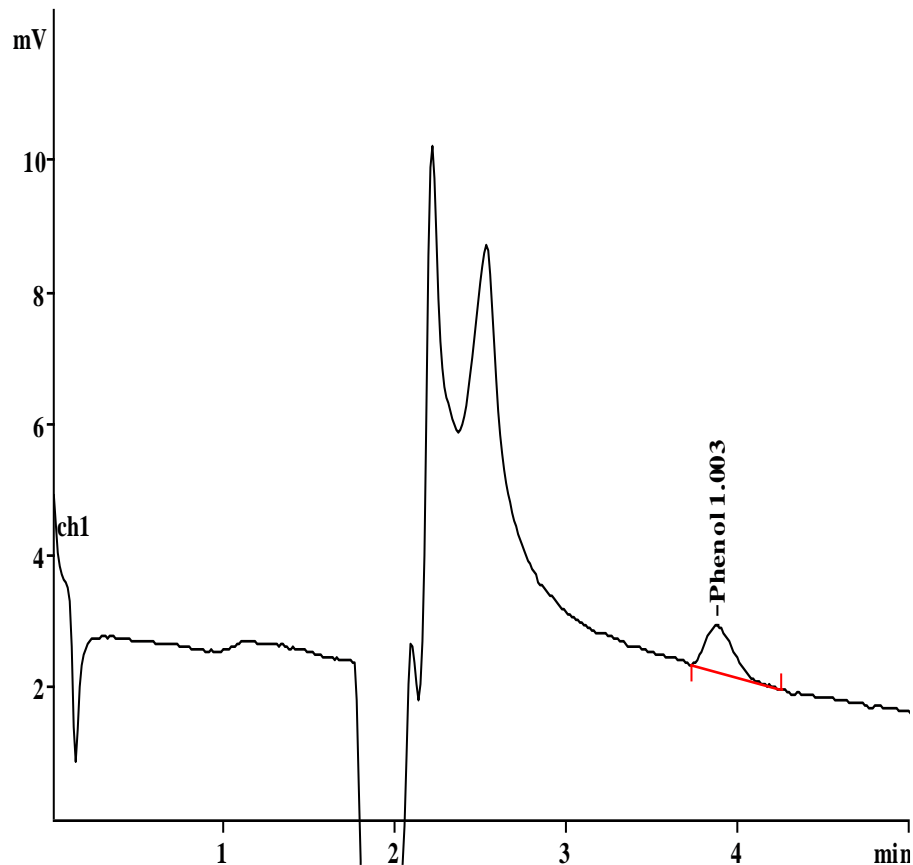


# Legislação para Águas e Efluentes

## Fenol em Efluentes

Limites de detecção – 0,1ppb

|   |       |             |
|---|-------|-------------|
| 1 | Fenol | 1.00<br>ppb |
|---|-------|-------------|





# Legislação para Águas e Efluentes

## Glifosato para Normas

Glifosato

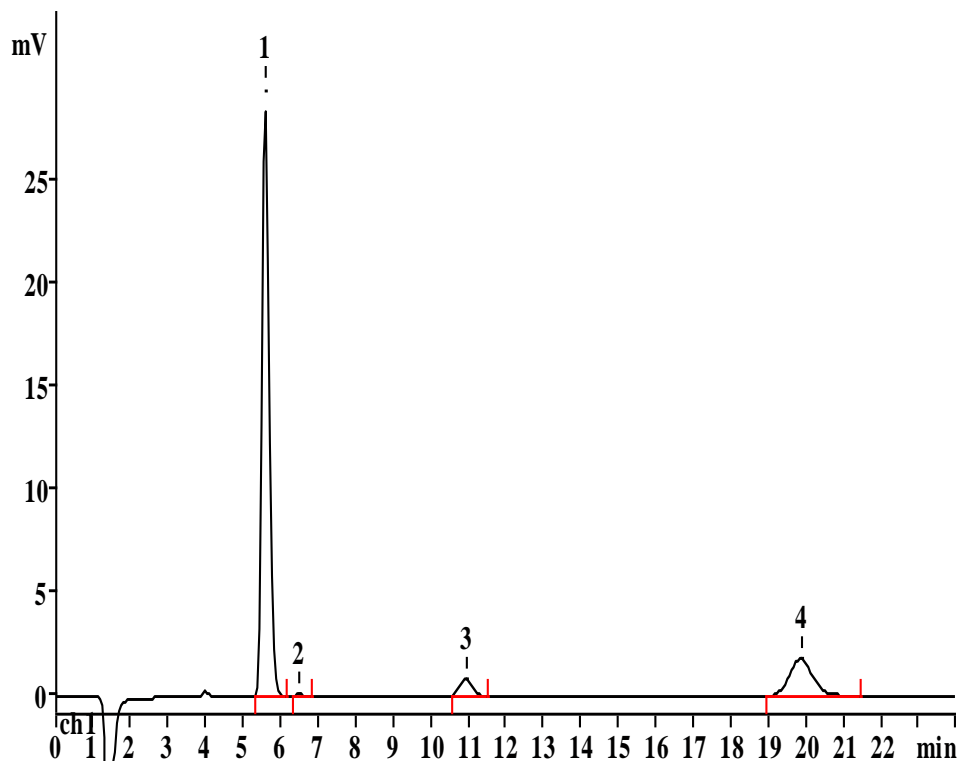
Metrosep A Supp 3 - 250

4 Glifosato 30

MSM

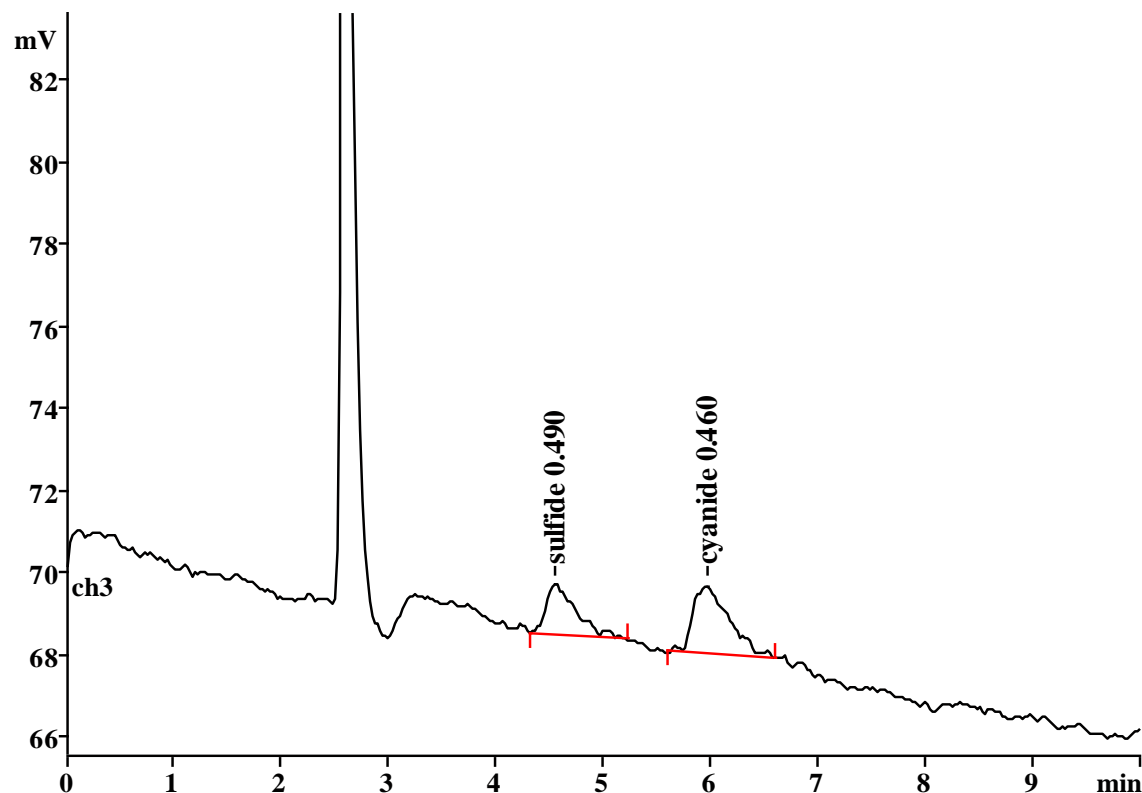
ppb

$\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$



# Legislação para Águas e Efluentes

## Detecção – CN<sup>-</sup>/S<sup>2-</sup>

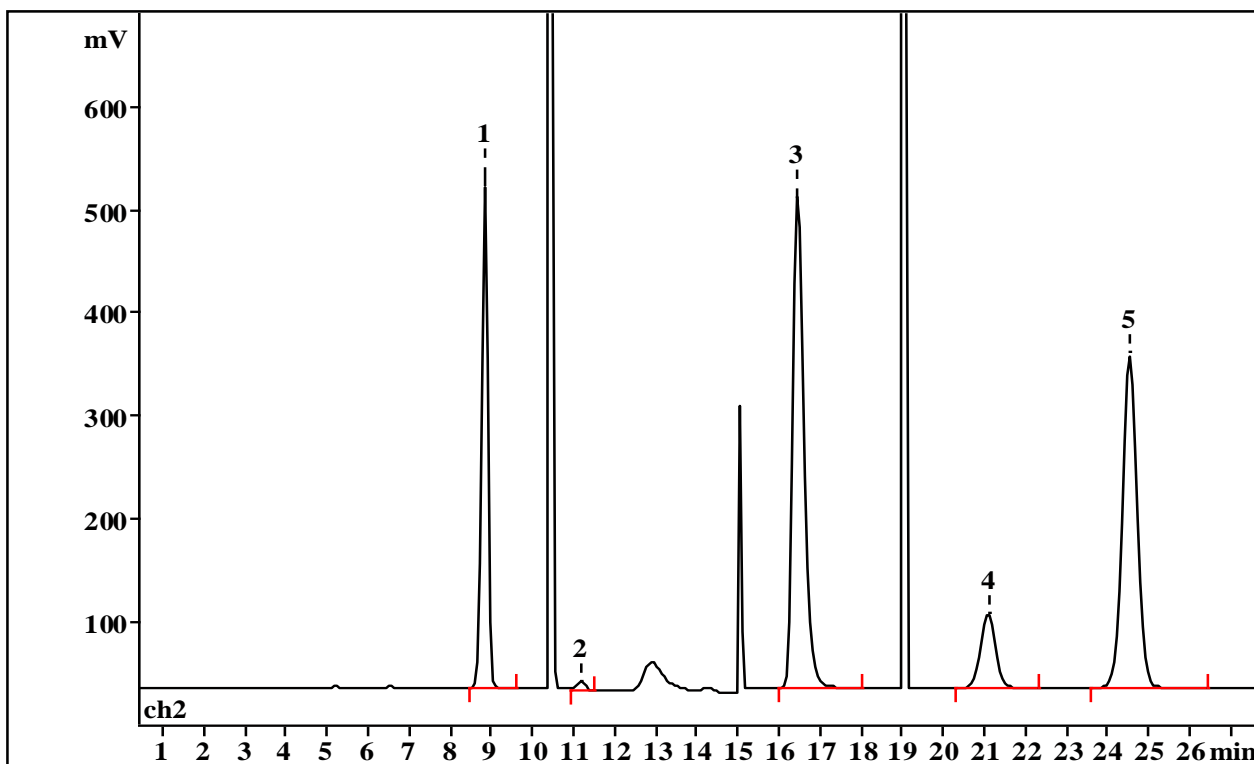


| Metrosep A Supp 10-100 |         |      |
|------------------------|---------|------|
| Água                   |         |      |
| Nº                     | Íon     | ppb  |
| 1                      | Sulfeto | 0.49 |
| 1                      | Cianeto | 0.46 |

Após Destilação Eluente: NaOH: 100 mmol/L

# Legislação para Águas e Efluentes

## Esgotos



| Metrosep A Supp 5-250 |         |       |
|-----------------------|---------|-------|
|                       | Ion     | [ppm] |
| 1                     | Clorito | 59.08 |
| 2                     | Nitrito | 0.04  |
| 3                     | Nitrato | 189.0 |
| 4                     | Fosfato | 5.59  |
| 5                     | Sulfato | 73.53 |

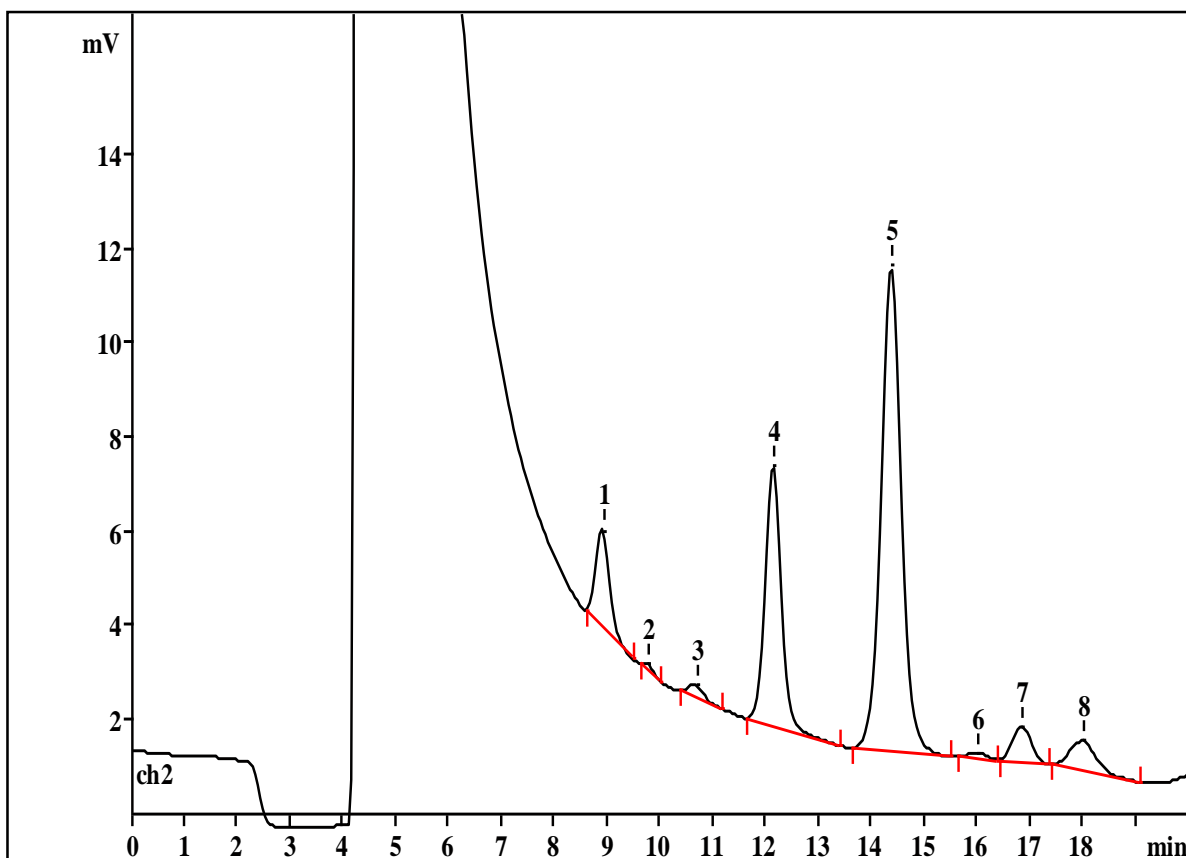
Eluente:  $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 1.0/3.2 mmol/L

# Petroquímica

- Ácidos orgânicos
- Ânions comuns
- Cátions
- Silicato
- Nitrito e nitrato
- Hidrazina
- Cianeto e sulfeto
- Fenol



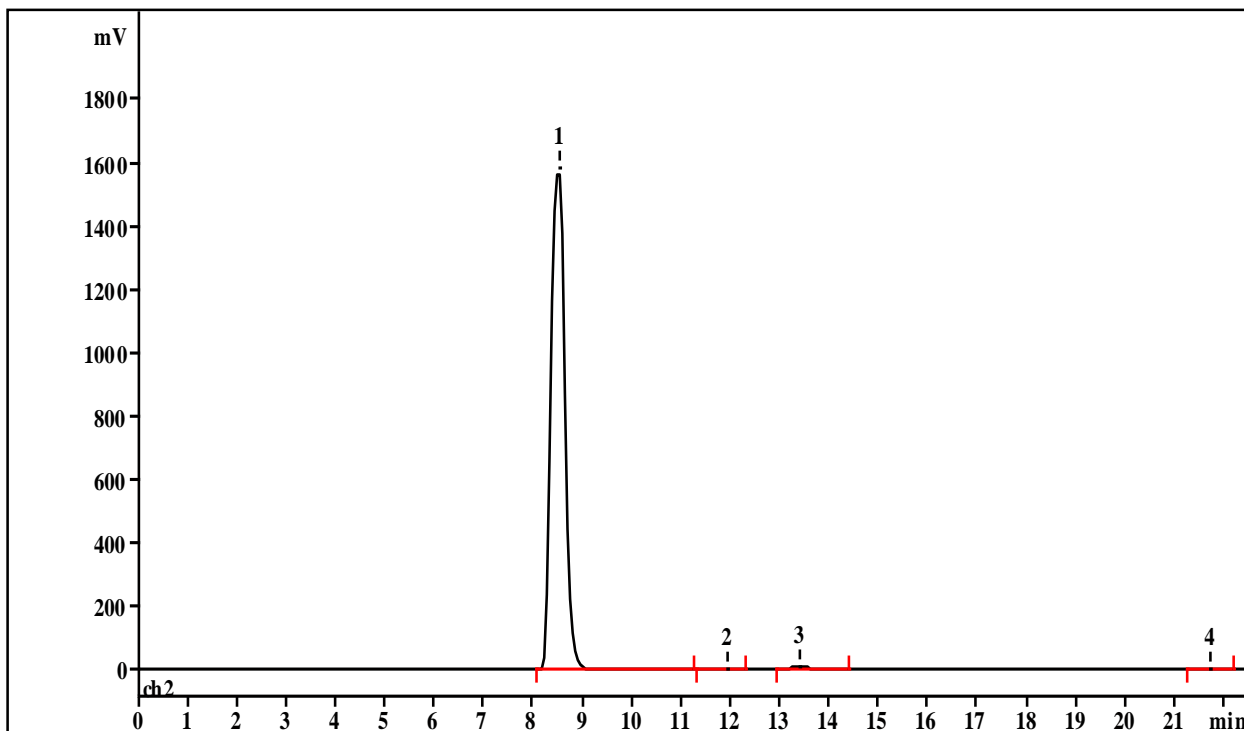
## Ácidos Orgânicos



| Organic Acids    |                 |        |
|------------------|-----------------|--------|
| Águas produzidas |                 |        |
| Nº               | Íon             | mg/L   |
| 1                | Lactato         | 128,72 |
| 2                | Formiato        | 1,518  |
| 4                | Acetato         | 150,07 |
| 5                | Propionato      | 440,09 |
| 7                | CO <sub>3</sub> | -      |
| 6                | Butirato        | 55,295 |

Ácido Perclórico / acetonitrila; 0,5 mM / 1%

## Ânions e água produzida

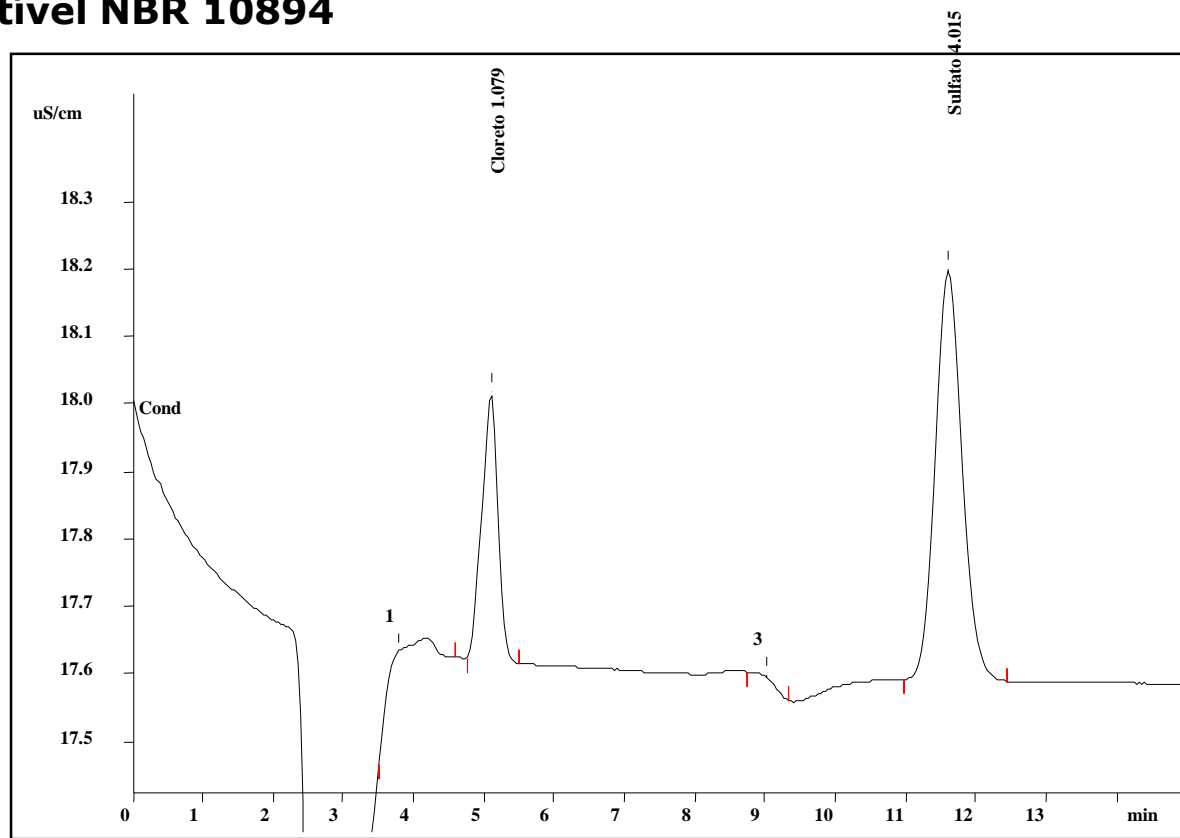


| A Supp 5 – 150   |           |       |
|------------------|-----------|-------|
| Águas produzidas |           |       |
| Nº               | Íon       | g/L   |
| 1                | Cloreto   | 61,3  |
| -                | Carbonato | -     |
| 3                | Brometo   | 0,501 |
| 4                | Sulfato   | 0,012 |

**NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 1,0 mM/3,2 mM**

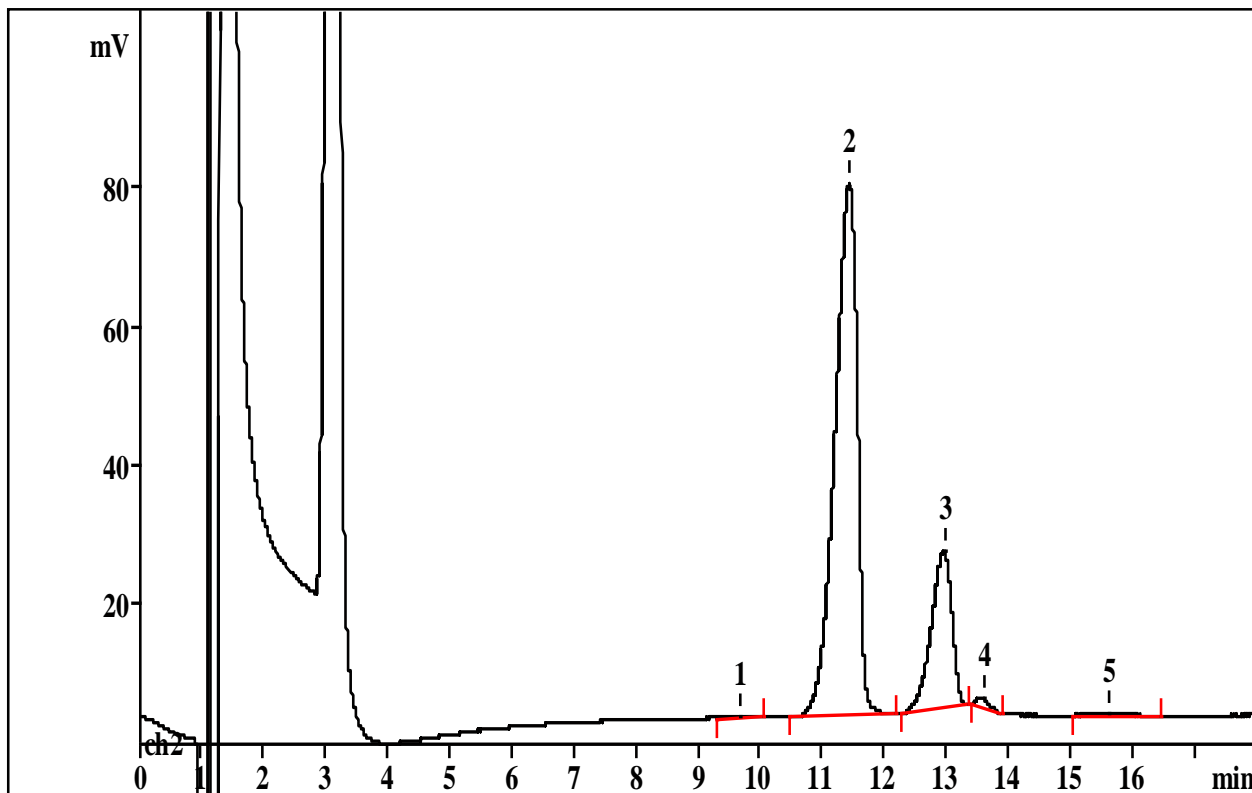
## Cloreto e Sulfato Álcool Combustível NBR 10894

| A Supp 5 – 150 |         |       |
|----------------|---------|-------|
| Álcool         |         |       |
| Nº             | Íon     | ppm   |
| 1              | Cloreto | 1,079 |
| 2              | Sulfato | 4,015 |



**NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 1,0 mM/3,2 mM**

Cátions divalentes e água produzida

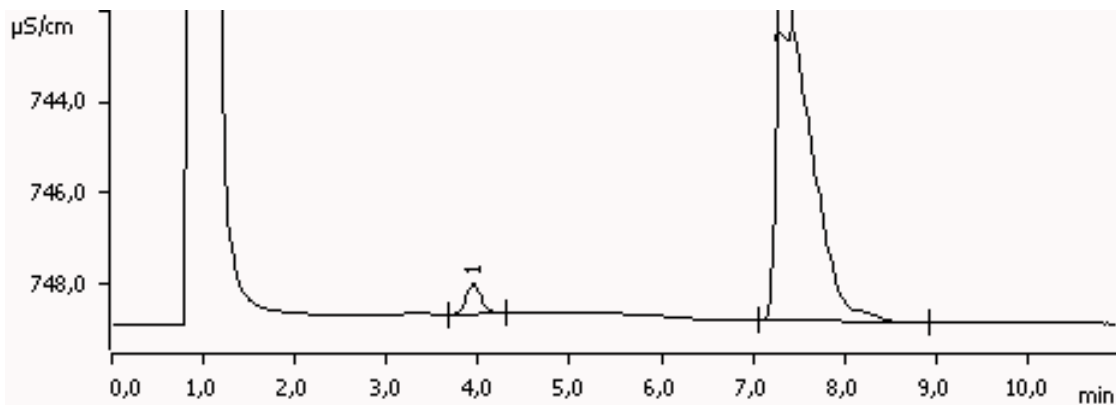


| Nucleosil 5 SA |           |        |
|----------------|-----------|--------|
|                | Ion       | ppm    |
| 1              | Ferro     | 7,518  |
| 2              | Cálcio    | 3651,4 |
| 3              | Magnésio  | 1389,0 |
| 4              | Estrôncio | NQ     |
| 5              | Bário     | 155,79 |

**Eluente: Ac oxálico/etilenodiamina/acet/Ac.Ascórbico :  
3.5mM/2.5mM /5%/3mM**



Silicato em água de caldeira



| PRPX 100 |                 |      |
|----------|-----------------|------|
|          | Ion             | ppm  |
| 1        | Silicato        | 46,8 |
| 2        | Pico de sistema | -    |

**Eluente: NaOH/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : 3.2mM/0.5mM**

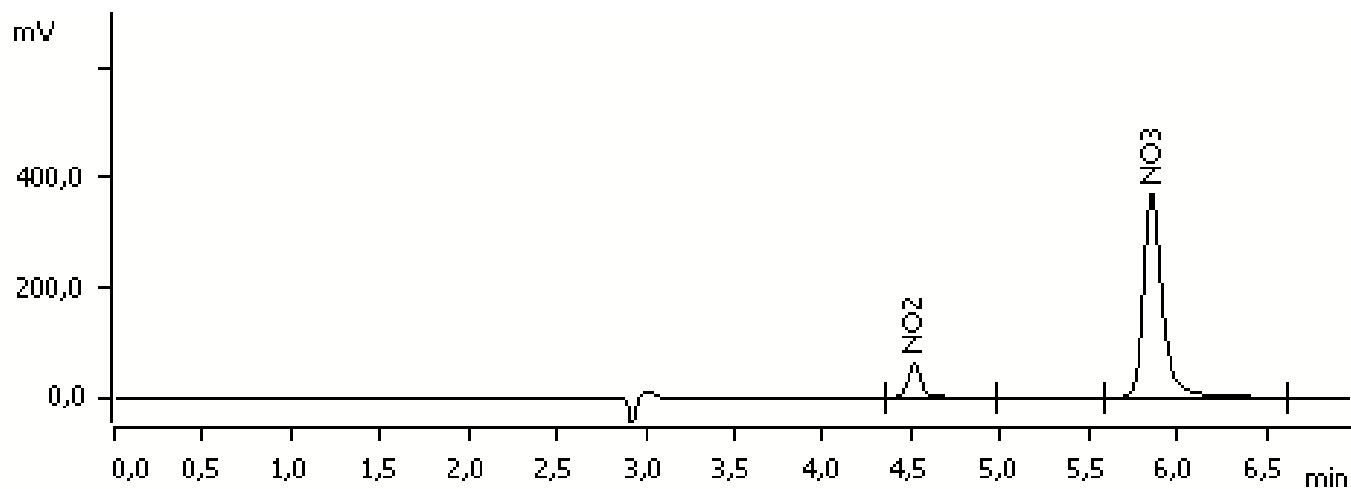
Nitrito e Nitrato em água do Mar

**Eluente: NaCl 10 g/L**

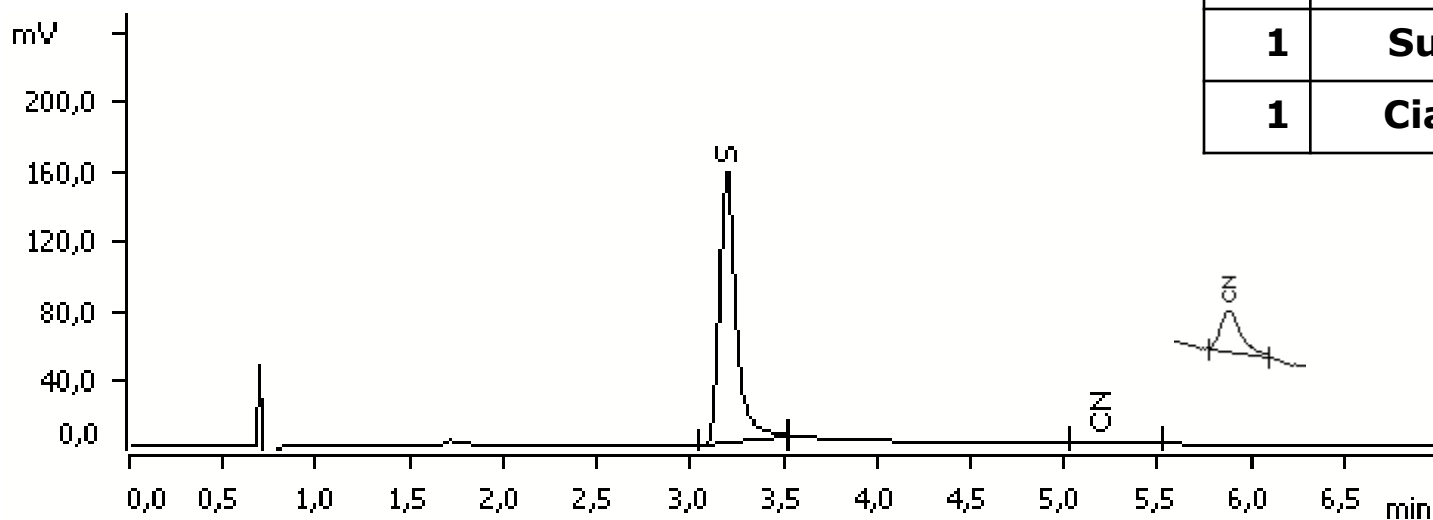
**Metrosep A Supp 5-250**

**Água do mar**

| No | Íon     | ppm |
|----|---------|-----|
| 1  | Nitrito | 1,5 |
| 1  | Nitrato | 15  |



Sulfeto e Cianeto em efluente



| Metrosep A Supp 10-100 |         |      |
|------------------------|---------|------|
| Água                   |         |      |
| No                     | Íon     | ppm  |
| 1                      | Sulfeto | 0,2  |
| 1                      | Cianeto | 0,02 |

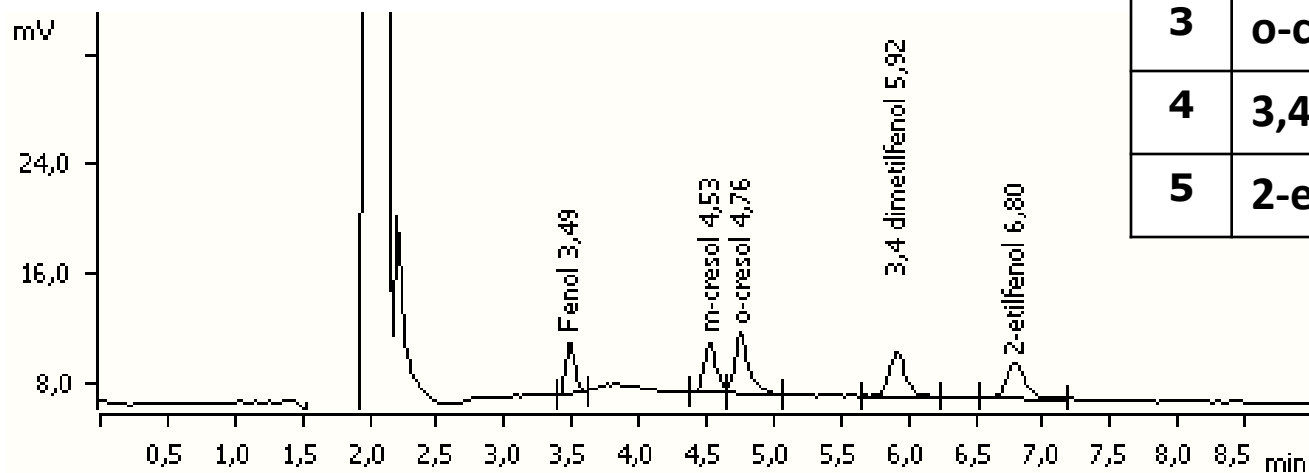
Ápos Destilação

Eluente: NaOH : 100 mM

## Fenóis em efluentes

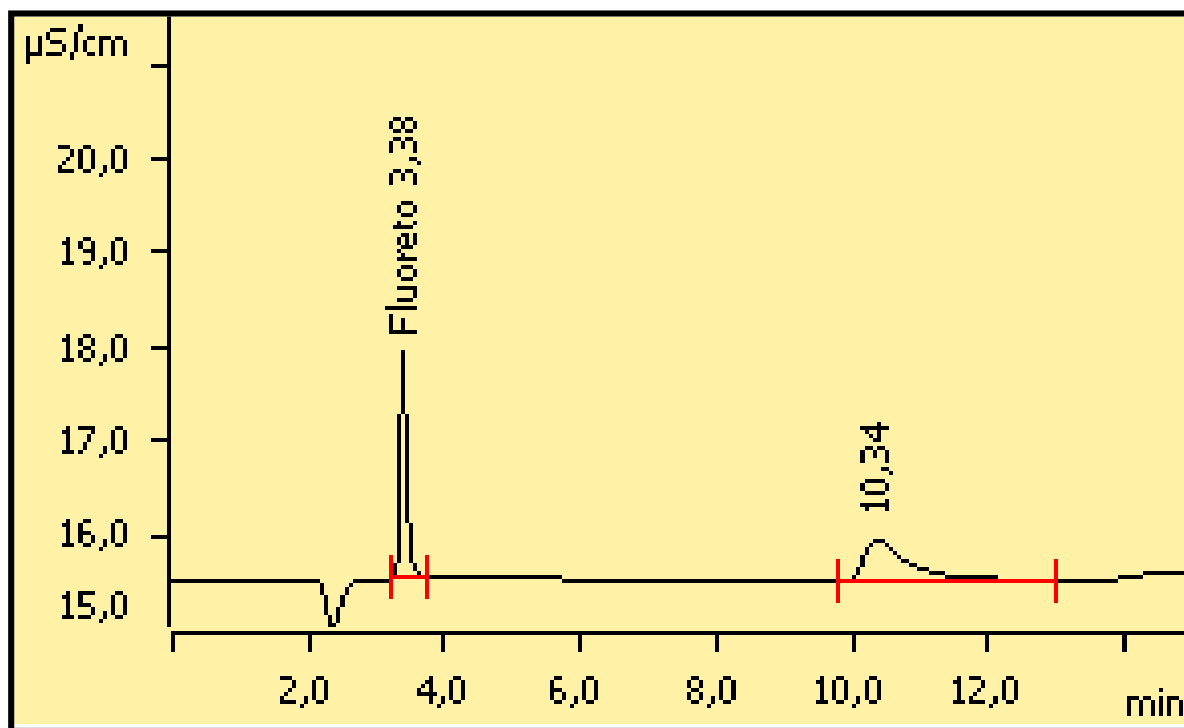
**Eluente:**  
**Nitrato de potássio + Ác. Sulfúrico + Metanol**

| Prontosil C18 AQ |             |       |
|------------------|-------------|-------|
|                  | Analito     | [ppm] |
| 1                | Fenol       | 0,002 |
| 2                | m-cresol    | 0,002 |
| 3                | o-cresol    | 0,002 |
| 4                | 3,4 DMF     | 0,002 |
| 5                | 2-etilfenol | 0,002 |



# Produtos Farmacêuticos

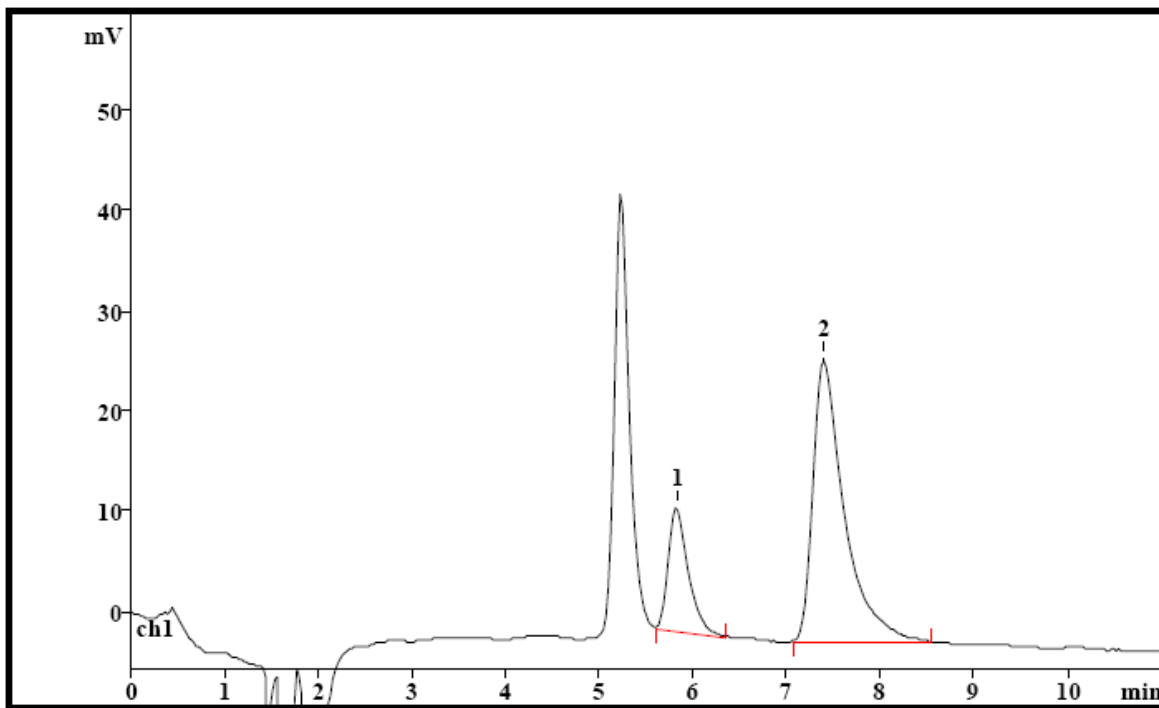
Fluoreto em enxaguante bucal.



Coluna: A Supp 5 - 150.  
Eluente:  $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 1,0/3,2 mmol/L

# Produtos Farmacêuticos

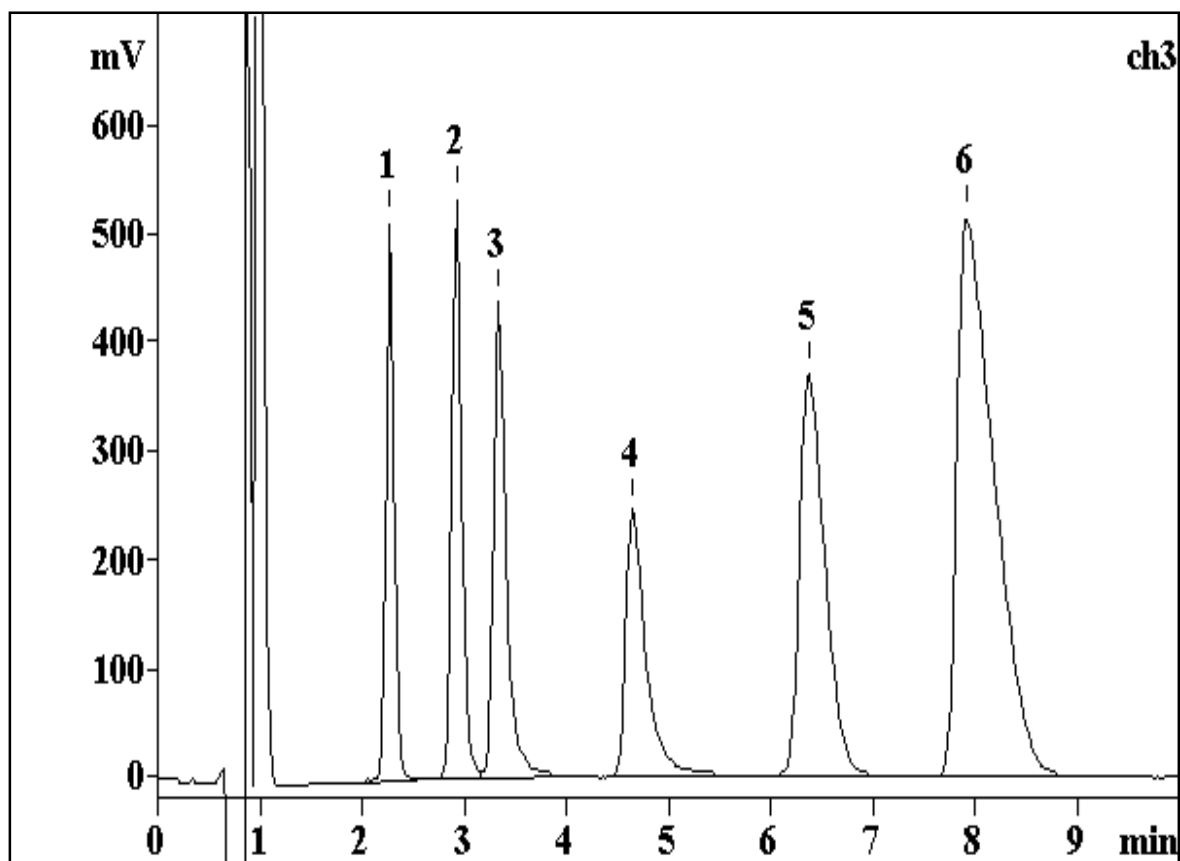
Zn e K em pasta de dente.



| C2-150                |     |       |
|-----------------------|-----|-------|
| 2.1mmol/L Ac. Oxálico |     |       |
| Nº                    | Íon | mg/L  |
| 1                     | Zn  | 8,466 |
| 2                     | K   | 24,71 |

# Produtos Farmacêuticos

Cátions em polivitamínicos.



| Nucleosil |          |      |
|-----------|----------|------|
| Padrão    |          |      |
| Nº        | Íon      | mg/L |
| 1         | Niquel   | 1,00 |
| 2         | Zinco    | 1,00 |
| 3         | Cobalto  | 1,00 |
| 4         | Ferro    | 5,00 |
| 5         | Cálcio   | 2,00 |
| 6         | Magnésio | 2,00 |

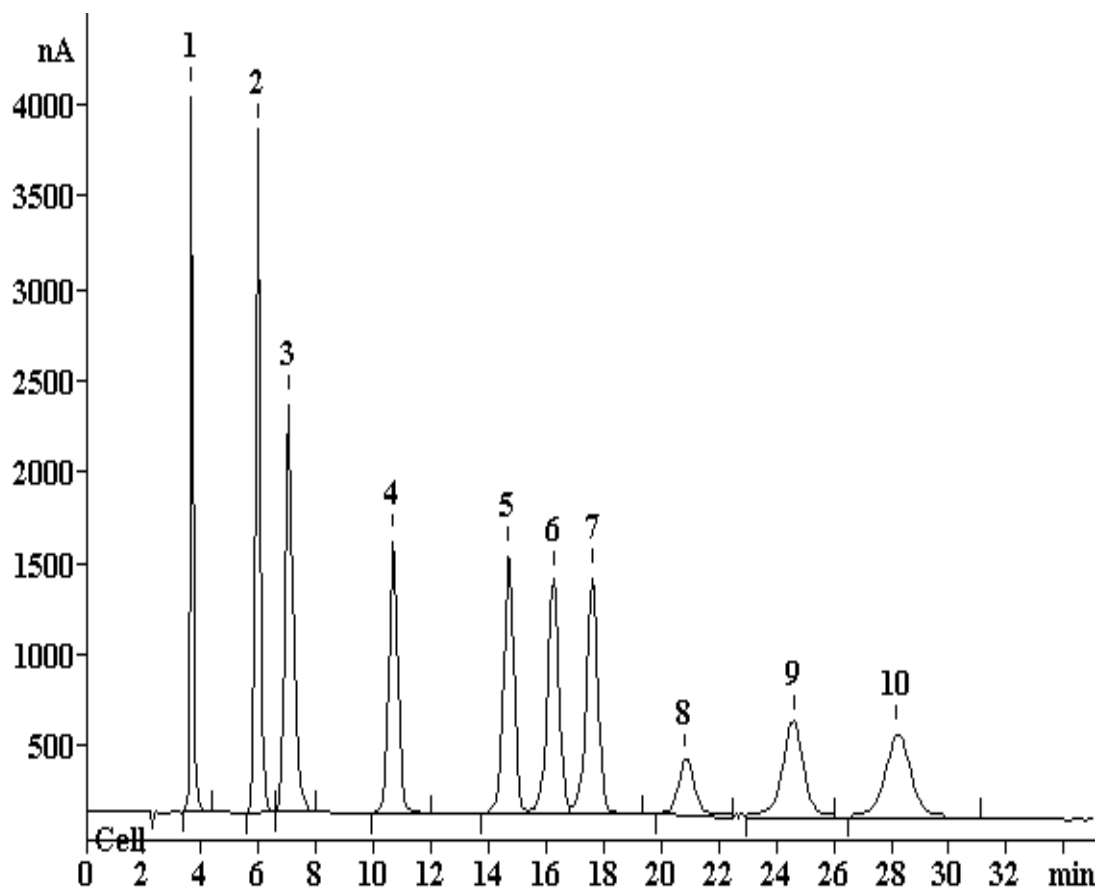
Ácido tartárico-/Cítrico/etilenodiamina/ - padrão

# Carboidratos e Aminoácidos

## Carboidratos.

| Metrosep Carb1 – 250 ppm |           |       |
|--------------------------|-----------|-------|
| 1                        | Inositol  | 5.00  |
| 2                        | Arabitol  | 10.00 |
| 3                        | Sorbitol  | 10.00 |
| 4                        | Fucose    | 10.00 |
| 5                        | Arabinose | 10.00 |
| 6                        | Glucose   | 10.00 |
| 7                        | Xylose    | 10.00 |
| 8                        | Fructose  | 10.00 |
| 9                        | Lactose   | 10.00 |
| 10                       | Sucrose   | 10.00 |

100 mmol/L NaOH





# Carboidratos e Aminoácidos

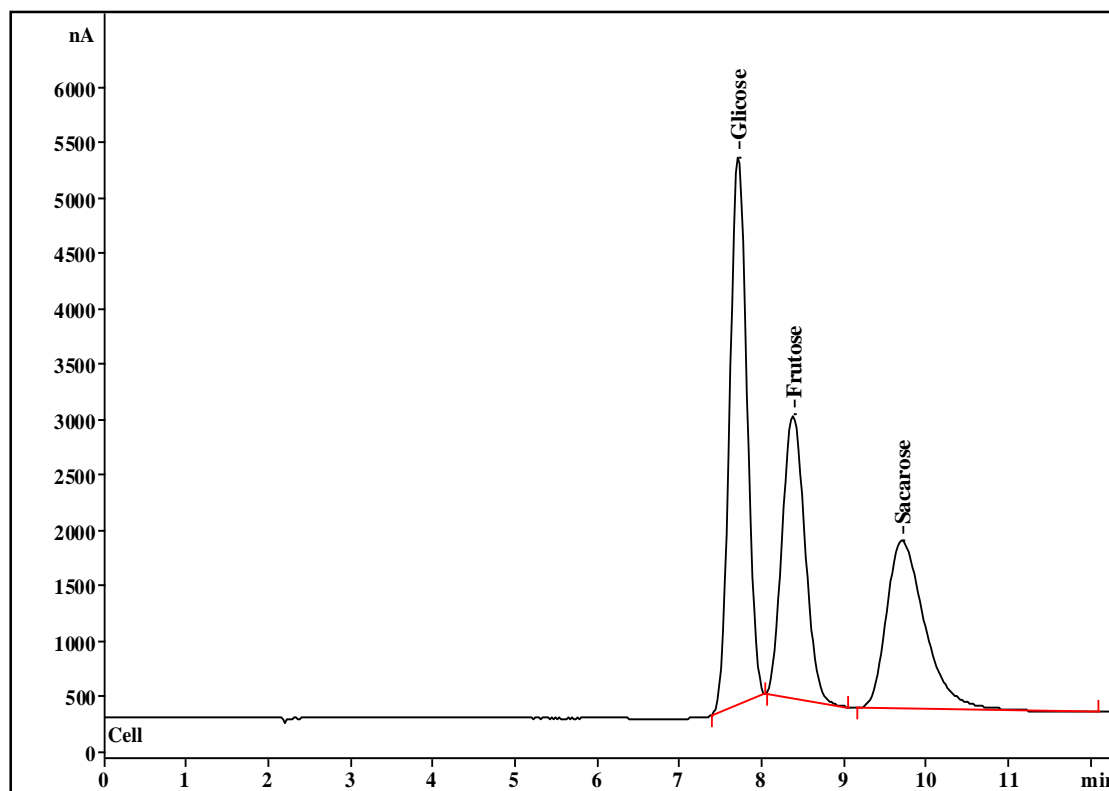
## USINAS

### Metrosep Carb – 150

|   |          |    |
|---|----------|----|
| 1 | Glicose  | 40 |
| 2 | Frutose  | 39 |
| 3 | Sacarose | 40 |

ppm

NaOH: 0,1 mol/L



# Carboidratos e Aminoácidos

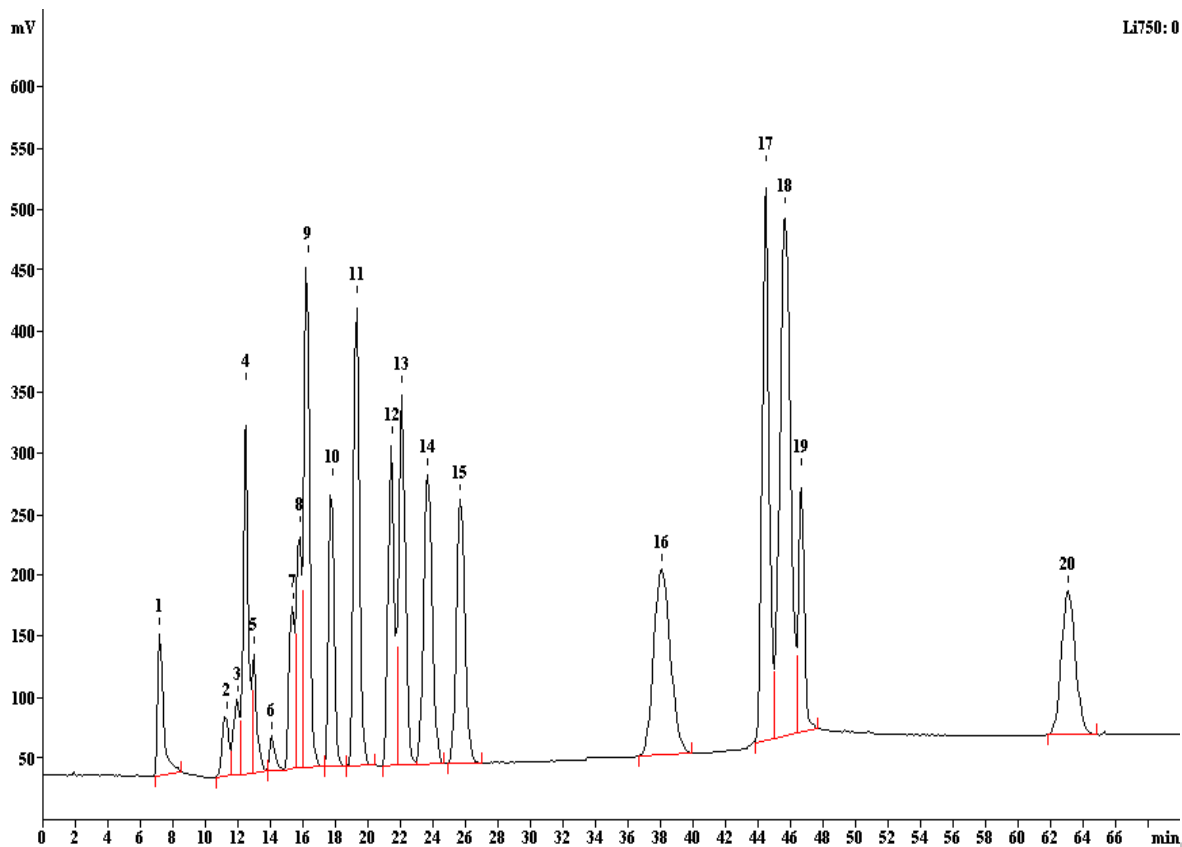
## Aminoácidos

### Metrosep Amino Acids 1 - 100/4.0

#### Metrosep Amino Acids 1 - 100/4.0

|    |               |        |
|----|---------------|--------|
| 1  | Aspartic acid | 0.5 mM |
| 2  | Threonine     | 0.5 mM |
| 3  | Serine        | 0.5 mM |
| 4  | Glutamine     | 0.5 mM |
| 5  | Asparagine    | 0.5 mM |
| 7  | Proline       | 5.0 mM |
| 8  | Glycine       | 0.2 mM |
| 9  | Alanine       | 0.5 mM |
| 10 | Valine        | 0.5 mM |

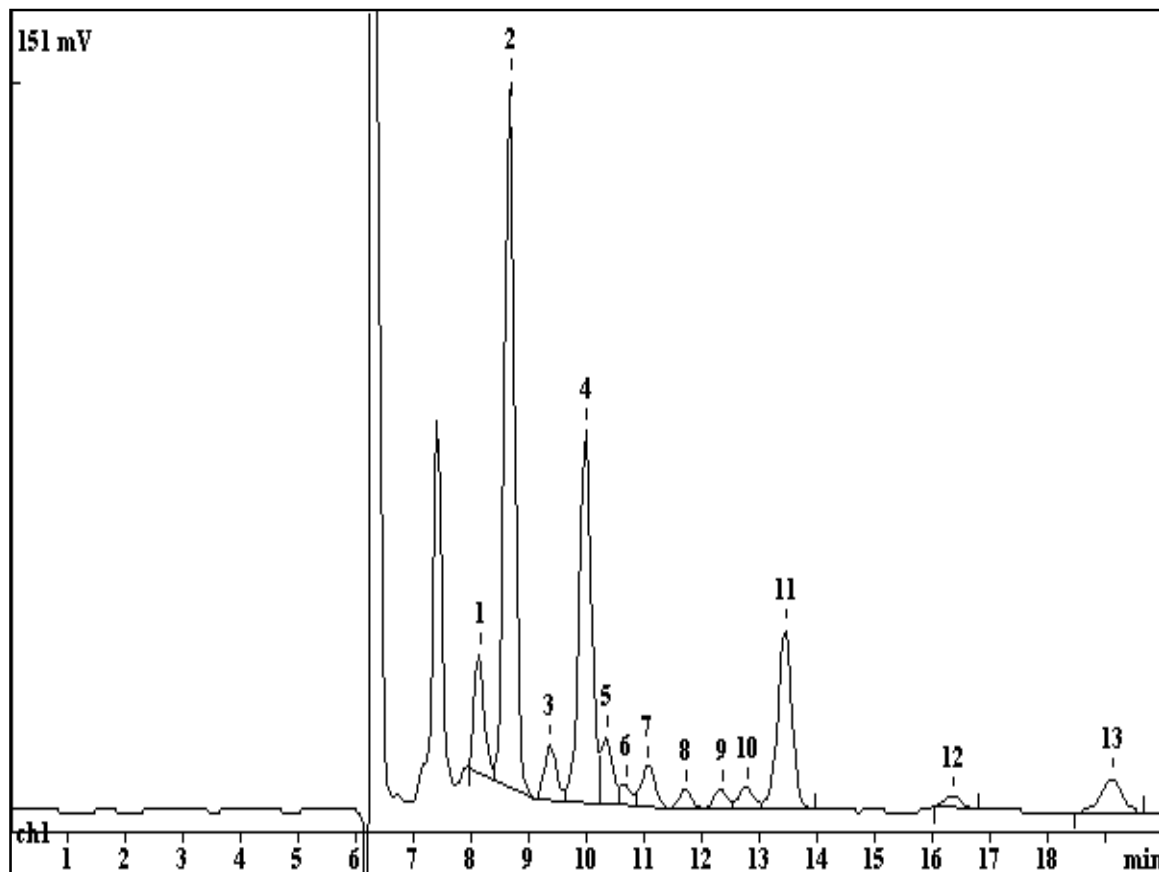
Li-citrate; A: 0.2 mol/L (pH 2.8),  
B: 1.4 mol/L (pH 7.5); 0.4 mL/min; 60°C;  
20 µL; VIS 570 nm; PCR with ninhydrin (N<sub>2</sub>  
purged), 120°C



# Alimentos e Bebidas

Vinho – Classificação

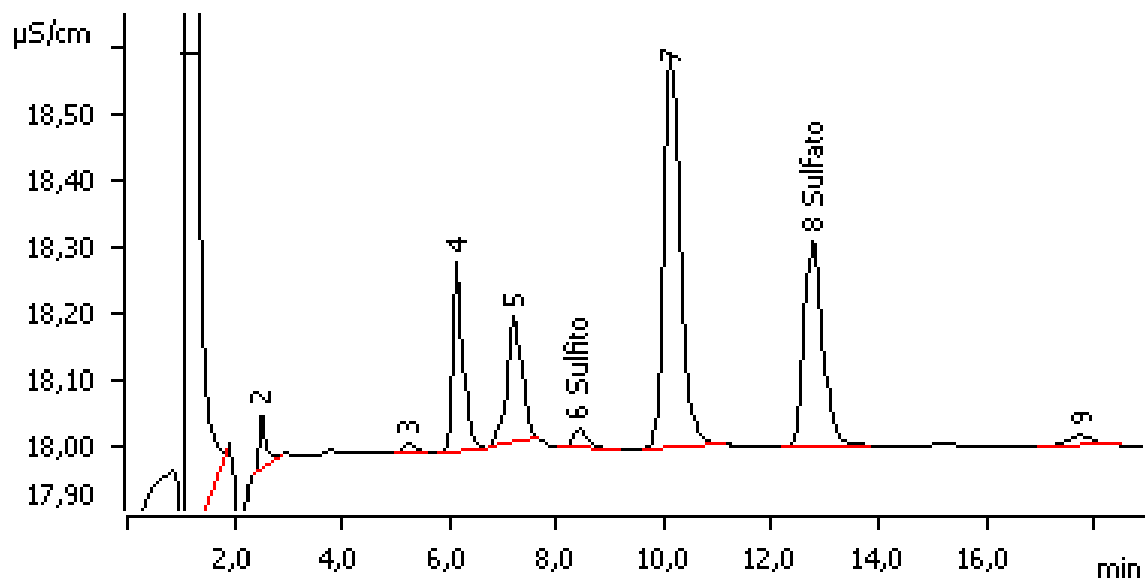
Temperos – controle de cheiro e sabor



| Organic Acids |           |      |
|---------------|-----------|------|
| Nº            | Íon       | mg/L |
| 1             | Citrato   | 50   |
| 2             | Tartarato | 1110 |
| 3             | Malato    | 220  |
| 4             | Succinato | 560  |
| 8             | Lactato   | 130  |
| 9             | Formiato  | NQ   |
| 11            | Acetato   | 510  |
| 12            | Carbonato | NQ   |
| 13            | Butirato  | NQ   |

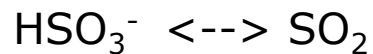
# Alimentos e Bebidas

## SO<sub>2</sub> em vinho Salton



| A Supp10 - 100 |         |       |
|----------------|---------|-------|
| Nº             | Íon     | mg/L  |
| 6              | Sulfito | 78,5  |
| 8              | Sulfato | 291,6 |

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> / NaHCO<sub>3</sub>



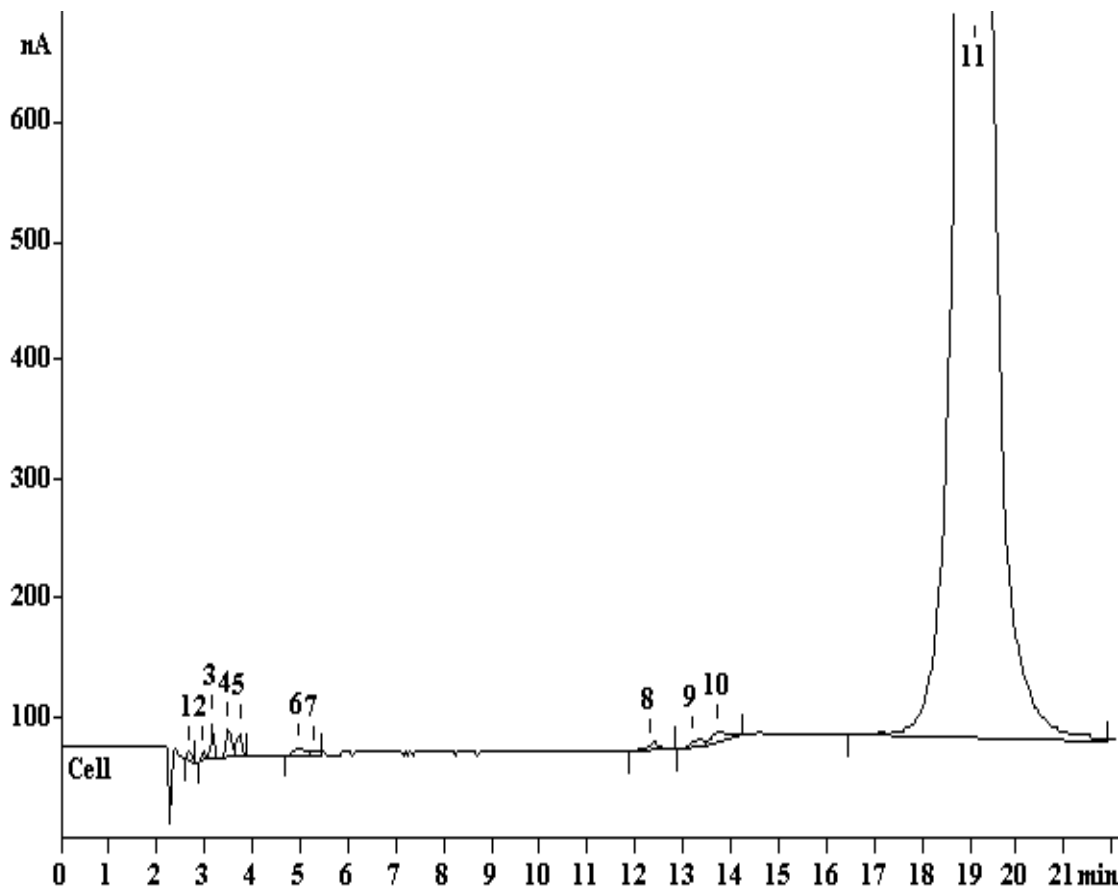
# Alimentos e Bebidas

Carboidratos em Leite, Café, Chá, Açúcares e Chocolate

Metrosep Carb 1 – 250  
ppm - Leite

|      |           |       |
|------|-----------|-------|
| 1- 3 | Glycerin  | 52    |
| 4    | Inositol  | 35    |
| 5    | Glycerin  | 28    |
| 6    | Xylitol   | 21    |
| 7    | Arabitol  | 6     |
| 8    | Arabinose | 51    |
| 9    | Mannose   | 47    |
| 10   | Glucose   | 53    |
| 11   | Lactose   | 35625 |

Diluição 1:1000, diálise  
100 mmol/L NaOH



**Muito obrigado  
pela atenção!**