

DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE CÁTIOS EMPREGANDO ELETROFORESE CAPILAR COM DETECÇÃO CONDUTOMÉTRICA SEM CONTATO EM EQUIPAMENTO CONSTRUÍDO EM LABORATÓRIO

Leandro M. de Carvalho*, Cristiane Spengler, Ana Paula S. de Lima, Alice Raabe, Mariele Martini, Paulo C. do Nascimento e Denise Bohrer

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, CP 5051, 97110-970 Santa Maria - RS, Brasil

Recebido em 2/10/08; aceito em 3/4/09; publicado na web em 30/9/09

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CATIONS BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS WITH CONTACTLESS CONDUCTIVITY DETECTION PERFORMED IN A HOME-MADE EQUIPMENT. This work describes the development of a home-made capillary electrophoresis (CE) system based on the capacitively coupled contactless conductivity detection (C⁴D) for the separation of the metallic species Zn²⁺, Cr³⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺ e Ti⁴⁺. A background electrolyte composed of MES/Histidine 0,02 mol L⁻¹ (pH 5.0) was optimized for the separation of the metallic species by using organic solvents and complexing agents as additives. The system allowed the determination of the metallic species using MES/Histidine 0,02 mol L⁻¹ and methanol 5% (pH 5.0) as a background electrolyte, 15 kV separation voltage and hydrodynamic injection by gravity.

Keywords: capillary electrophoresis; contactless conductivity detection; cations.

INTRODUÇÃO

A eletroforese capilar (CE) tem sido muito empregada como método analítico para a separação de cátions metálicos em diversos tipos de amostras.¹ O princípio de separação da CE baseia-se na migração diferenciada de compostos neutros, iônicos ou ionizáveis, mediante a aplicação de um campo elétrico em uma coluna capilar contendo em seu interior uma solução de eletrólitos. A CE é um método de separação atraente na análise de misturas complexas devido às suas características de alta eficiência de separação, baixo consumo de reagentes e amostras, tempos de análise reduzidos, simplicidade do equipamento utilizado e alto grau de automação.² O trabalho pioneiro em CE para a análise de cátions metálicos foi publicado por Hjertén e colaboradores em 1967, descrevendo a separação de Bi³⁺ e Cu²⁺ utilizando ácido láctico como agente complexante no eletrólito de trabalho.³ A partir de 1983, houve um crescimento expressivo no número de artigos publicados envolvendo aspectos instrumentais e aplicações da CE, principalmente devido ao desenvolvimento rápido da instrumentação e, em parte, ao lançamento do primeiro equipamento comercial completo para CE em 1987.⁴

Nos últimos anos, a detecção condutométrica sem contato, ou detecção oscilométrica, tem recebido uma atenção especial como alternativa à detecção condutométrica convencional. Neste tipo de detecção, um sinal alternado de alta frequência, da ordem de centenas de kHz a dezenas de MHz, é aplicado entre os dois eletrodos na célula de detecção, medindo-se a corrente elétrica resultante que é função da condutividade da solução. Os eletrodos da célula condutométrica constituem um capacitor, enquanto a solução atua como uma resistência cujo valor depende da sua condutividade elétrica. Como a reatância capacitiva diminui com o aumento da frequência, a impedância do capilar é reduzida, permitindo que as variações de condutividade da solução no interior do capilar sejam observadas mesmo com os eletrodos posicionados do lado externo do capilar. A CE com detecção por condutividade sem contato possibilita a determinação rápida e simultânea de íons metálicos com limites de detecção da ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$.⁵⁻⁷ Além disso, ela é vantajosa em comparação a outros métodos analíticos de separação, principalmente em relação aos baixos custos envolvidos na construção e manutenção do equipamento.

A detecção condutométrica sem contato capacitivamente acoplada (C⁴D, *capacitively coupled contactless conductivity detection*), consistindo em um arranjo radial, foi aplicada às técnicas de eletromigração no início dos anos 1980 para a determinação isotacofórica de íons pequenos.⁸ Em 1998, Zemmann e colaboradores⁹ e da Silva e do Lago⁵ propuseram, de forma independente, a utilização da C⁴D como método de detecção para CE. Desde então, vários outros autores têm explorado este tipo de sistema de detecção na CE. Nesta configuração, a célula de C⁴D em arranjo axial é baseada em dois eletrodos tubulares, que circundam o capilar de separação e são posicionados lado a lado ao longo do eixo do capilar. Um espaço entre os eletrodos (*gap*) de poucos milímetros de comprimento^{5,9} (2 e 1 mm) define o volume de detecção. Como cada eletrodo forma um capacitor com a solução do eletrólito dentro do capilar, é possível passar uma voltagem de corrente alternada de alta frequência através da célula.

Os sistemas CE-C⁴D desenvolvidos por da Silva e do Lago⁵ foram totalmente construídos em laboratório, sendo os primeiros sistemas CE-C⁴D desenvolvidos no Brasil. Desde então, a construção de sistemas CE-C⁴D tem se tornado uma alternativa muito interessante para laboratórios de pesquisa que estejam interessados no desenvolvimento da instrumentação e de métodos analíticos para CE. Seguindo esta tendência, Böckel e colaboradores⁷ desenvolveram, em 2005, um outro sistema CE-C⁴D com algumas modificações no detector proposto por da Silva e do Lago⁵ e com aquisição de dados utilizando um potenciostato comercial.

A separação de metais alcalinos, alcalino-terrosos e de transição por CZE-C⁴D já foi relatada na literatura.^{5,7,9-12} Na grande maioria destes trabalhos, soluções tampão contendo uma mistura de ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico (MES) e histidina (His) em meio ácido são empregados como eletrólitos de trabalho, que mantêm a condutividade de fundo em níveis relativamente baixos. Geralmente, são adicionados ao eletrólito de trabalho agentes complexantes como éter coroa, ácido α -hidróxi-isobutírico (HIBA), ácido láctico (Hlac), ácido málico e ácido tartárico para alterar as mobilidades eletroforéticas dos íons metálicos,^{1,4,6,12-18} além de solventes orgânicos como metanol para melhorar a resolução dos sinais no eletroferograma.^{1,4,5,9,14}

Este trabalho descreve a construção de um sistema CE-C⁴D com manipulação de soluções completamente automatizada empregando dois carrosséis de amostras acoplados ao sistema. A detecção por C⁴D

*e-mail: leandrocarvalho@pq.cnpq.br

é baseada nos protótipos descritos na literatura.^{5,7} O sistema desenvolvido foi empregado na análise simultânea dos cátions metálicos Zn^{2+} , Cr^{3+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} e Tl^{+} em amostras de água.

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentação

O equipamento de eletroforese capilar construído e utilizado neste trabalho foi configurado com os seguintes equipamentos e componentes: uma fonte de alta tensão bipolar (0-30 kV) modelo ARM-30 da marca Bertan (Spellman, New York, USA); um gerador de funções de alta frequência da marca Minipa (modelo MFG-4202); um controlador de temperatura da marca Novus N110 com sensor de temperatura modelo Pt100; um sistema de injeção composto de um carro de impressão de uma impressora Epson Stylus Color 600, uma garra manipuladora LG-KT (Little Grip Kit – Labsis) com servomotor (Hitech HS-422) para o acionamento do carro de impressora e um *driver* de motor de passos modelo DMP-02; uma bomba de vácuo da marca Prismatec; uma resistência de aparelho secador de cabelo com um ventilador modelo DC 12V para circulação de ar quente no interior do equipamento; dois ventiladores modelo DC 12V e da marca Golden Cabo para circulação de ar no interior do equipamento; dois carrosséis trocadores de amostras contendo 9 reservatórios e um braço eletromecânico; 3 fontes de alimentação: uma fonte de tensão 24 Vdc (modelo LRI S-100-24 – Entrada 115 VAC 1,9A/230 VAC 0,8A 50/60 Hz – Saída +24 V 4,5A), uma fonte simétrica de ± 12 Vdc para alimentação do detector condutométrico (1 A por saída – Entrada 110 V) e uma fonte de 12 Vdc para alimentação do sistema de injeção (Entrada 110 VAC e Saída 12 Vdc 1 A); um detector de condutividade sem contato (C^4D) desenvolvido em laboratório; um capilar de sílica fundida de 75 μm de diâmetro interno e 360 μm de diâmetro externo (Microtube, São Paulo/SP, Brasil); dois eletrodos de platina de 1 mm de diâmetro conectados aos terminais de alta tensão e terra da fonte; dois reservatórios (*vial*) para soluções de 1 mL de capacidade cada, onde são imersos as extremidades do capilar e os eletrodos de platina; uma placa multifuncional modelo PCI-1711 (Advantech, DA&C Driver version 2.3) para interfaceamento do equipamento com o software do computador. A Figura 1 mostra de maneira esquemática a configuração do sistema eletroforético construído em laboratório.

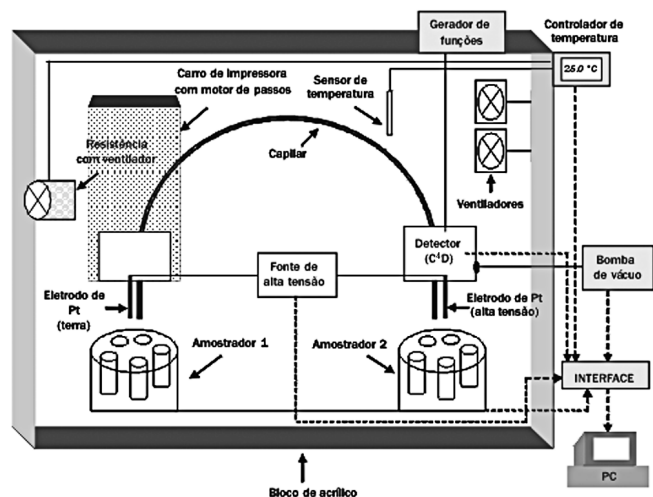


Figura 1. Representação em diagrama de blocos do equipamento de eletroforese capilar construído em laboratório

Descrição do equipamento

O equipamento foi montado em um bloco de acrílico com dimensões de 70 x 80 x 50 cm. O bloco de acrílico (transparente) possibilita a termostatização do ambiente interno do sistema eletroforético e o trabalho seguro do analista. A fonte de alta tensão aplica uma diferença de potencial (de até ± 30 kV) entre o cátodo e o ânodo (platina), ambos mergulhados na solução do eletrólito de trabalho juntamente com as extremidades do capilar. O comprimento total do capilar foi de 68 cm, sendo a distância entre o ponto de injeção e o detector de 46 cm. Com relação à operação básica do equipamento, a Figura 2 mostra as duas extremidades do equipamento contendo 2 peças projetadas para a injeção da amostra, a lavagem do capilar e a troca de soluções para a análise eletroforética. Acima das peças mostradas nas Figuras 2a e 2b, encontram-se as guias para o capilar (b) confeccionadas em acrílico e borracha de silicone. As guias possibilitam uma maior estabilização da posição do capilar de sílica durante o movimento de elevação da peça na injeção da amostra. Com relação à automação do sistema, a interface PCI-1711 utilizada desempenha a função de aquisição do sinal do detector (voltagem) e de operação de todos os componentes do sistema via *software* no computador. As seguintes funções do sistema eletroforético são controladas pela placa da interface: fonte de alta tensão (controle da tensão de saída, monitoramento da tensão e corrente aplicadas, controle de polaridade e habilitação da saída da fonte); bomba de vácuo (liga/desliga); garra manipuladora do sistema de injeção (abre/fecha); altura e tempo de elevação do carro de impressora (*driver* do motor de passo); controlador de temperatura; ventiladores de circulação de ar (liga/desliga); amostradores (*drivers* dos motores de passo). O *software* para operação automatizada do sistema eletroforético através do computador foi desenvolvido em linguagem Delphi 7.0.

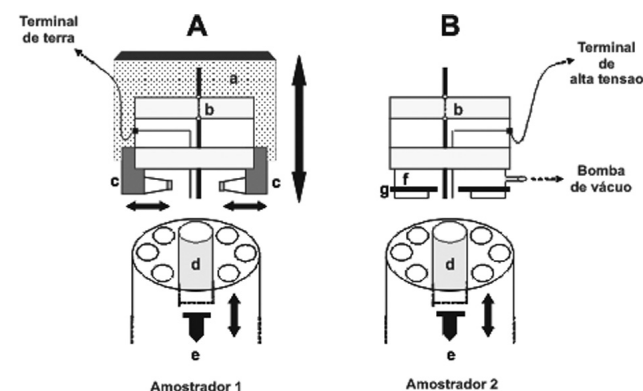


Figura 2. Representação esquemática das peças confeccionadas para o equipamento de eletroforese capilar para (A) injeção hidrodinâmica da amostra e (B) lavagem do capilar e aplicação de tensão: (a) carro de impressora com motor de passos, (b) guias de silicone para o capilar, (c) garra manipuladora, (d) reservatório da solução, (e) braço eletromecânico, (f) bloco de acrílico para aplicação de vácuo, (g) borracha sintética para vedação. As setas bilaterais representam os movimentos realizados por cada componente das peças projetadas

Injeção da amostra

Do lado esquerdo do equipamento (Figura 2A), pode-se ver o conjunto de peças projetadas para a injeção hidrodinâmica da amostra por elevação do reservatório contendo o capilar e o eletrodo de platina, bem como a garra manipuladora (c) que permite a fixação do reservatório (d) na exata altura onde se encontram o capilar e o eletrodo. O eletrodo de platina desta extremidade é conectado ao

terminal de terra da fonte de alta tensão. O reservatório contendo a solução conecta-se a esta peça e encontra o capilar e o eletrodo pela elevação do braço eletromecânico (e) do carrossel de amostragem. O conjunto todo tanto pode ser mantido nesta posição, quando da análise eletroforética sob aplicação de tensão, como pode ser elevado até uma altura de 28 cm pelo carro da impressora (a), quando da injeção da amostra. A elevação da peça para a injeção da amostra é acionada por um motor de passos com *driver* de acionamento. Para o retorno à posição inicial, foi instalada uma chave de fim de curso no sistema de injeção. A altura e o tempo de injeção são programados por *software* e os pulsos de subida são dados por saída de pulsos da placa de interface. O sistema de injeção é controlado por uma placa modelo DL 100-CP (Rizzi & Silveira Ltda., Santa Maria/RS, Brasil).

Lavagem do capilar e aplicação da tensão

Do lado direito do equipamento (Figura 2B), pode-se ver o conjunto de peças projetadas para a fixação do reservatório contendo o capilar e o eletrodo de platina, bem como o pequeno bloco de acrílico (f) vedado com borracha sintética (g) para a aplicação de vácuo. O reservatório contendo a solução (d) conecta-se a esta peça e encontra o capilar e o eletrodo pela elevação do braço eletromecânico (e) do carrossel. O eletrodo de platina desta extremidade é conectado ao terminal de tensão da fonte de alta tensão. A polaridade da fonte (+ ou -) é controlada através de saída digital. A habilitação da saída da fonte é ligada em série com um sensor magnético do tipo *reed switch* instalado na porta do equipamento. Este sensor só permite habilitar a fonte (fechamento do contato) com a porta do equipamento fechado, para evitar exposição do usuário aos altos potenciais empregados no equipamento. A bomba de vácuo é acionada apenas para a lavagem do capilar com água ou eletrólito de trabalho, empregando-se para isto uma pressão negativa de -600 mmHg. O acionamento da bomba de vácuo é feito por uma contatora (LG modelo GMC-6M) comandada pela placa de interface (PCI-1711). A bomba de vácuo é ligada através de *bornes* no interior do quadro de comando do equipamento, sendo sua alimentação independente da alimentação do equipamento.

Controle de temperatura

Para o controle da temperatura do capilar e da solução no seu interior durante a aplicação da alta tensão de separação, o sistema dispõe de um sistema de aquecimento. Desta forma, o sistema de controle do equipamento acionará a resistência colocada na lateral do bloco de acrílico e o ventilador posicionado atrás da resistência fará circular ar quente pelo sistema, toda vez que a temperatura diminuir em 0,1 °C a temperatura fixada no controlador. Os ventiladores posicionados na parte superior do bloco de acrílico auxiliam na circulação de ar e na estabilização da temperatura interna. O controlador de temperatura recebe o sinal do sensor de temperatura, indica a temperatura no painel (*display*), controla a temperatura através do acionamento da resistência de aquecimento e retransmite a temperatura para a placa de interface em sinal de 0 a 20 mA. Na entrada analógica da placa de interface foi instalado um resistor *shunt* de 270 Ω de precisão 1% para converter sinal de 0 a 20 mA em um sinal de 0 a 5,4 Vdc, compatível com a entrada analógica da placa. Desta forma, o sistema de controle estabiliza a temperatura interna do sistema eletroforético em relação à temperatura externa ao bloco de acrílico, a qual necessariamente deve ser sempre inferior à temperatura estabelecida do painel do controlador. A temperatura deve ser fixada em no mínimo 25 °C para viabilizar o controle de temperatura em todas as estações do ano. Um sistema de controle de temperatura semelhante a este foi descrito na literatura por Böckel e colaboradores⁵ utilizando uma lâmpada e um ventilador para o aquecimento do sistema e a circulação de ar.

Amostradores

Os dois amostradores (Figuras 2A e 2B) construídos para o sistema, um para o lado da injeção de amostras e o outro para o lado da detecção, são constituídos basicamente de 2 partes: um carrossel contendo reservatórios e um braço eletromecânico para a elevação do reservatório e a introdução do capilar e do eletrodo de platina na solução. O carrossel é composto por um disco de acrílico, simetricamente perfurado em 9 posições, o qual é acoplado diretamente ao eixo de um motor de passos. A posição do carrossel é determinada por um sensor ótico (Photonic, modelo PHCT 09/99) localizado próximo à borda do disco de acrílico. Em cada posição perfurada há um pino de referência, sendo a posição zero marcada com 2 pinos para diferenciação dos demais. Para cada posição do carrossel foi construído um reservatório usinado em *nylon* para acomodação do reservatório da amostra (*vial*). Este reservatório de *nylon* (suporte do *vial*) tem um formato adequado para que o conjunto possa ser elevado e puxado de volta pelo mecanismo elevador, retornando à posição inicial. O mecanismo de elevação do reservatório foi construído usando-se um dispositivo eletromecânico de trava elétrica de porta de automóvel. O motor de corrente contínua que aciona este dispositivo foi substituído por um motor de passos. A extensão máxima do movimento do braço é de aproximadamente 3 cm. Os *drivers* dos motores de passo dos dois amostradores são comandados por uma placa controladora DL 100-CP (Rizzi & Silveira Ltda., Santa Maria, Brasil), com *Software* desenvolvido em linguagem C. A comunicação da placa controladora com o computador é feita via interface RS-232.

Deteção condutométrica sem contato

A construção do detector de condutividade está fundamentada no trabalho publicado por da Silva e do Lago,⁶ com alterações propostas por Böckel e colaboradores.⁷ A Figura 3 mostra de maneira esquemática os detalhes da célula de detecção. A detecção é composta dos seguintes estágios: entrada do sinal de alta frequência, eletrodo de aplicação do sinal de alta frequência, eletrodo de detecção, conversor corrente/tensão, retificador com amplificação de 10x, filtro passa-baixas, *buffer* (ganho unitário), correção da linha de base com amplificação de 30x e circuito de proteção para a entrada da placa de interface (*clammer*). A placa foi instalada dentro de uma caixa metálica ligada ao potencial de terra para garantir a blindagem eletromagnética, minimizando a captação de ruído. Em torno do capilar foram construídos dois eletrodos cilíndricos usando fio de *wrapping* de 0,25 mm de diâmetro externo (código R30B-0100, OK Industries Inc. New York, USA). Um segmento de alguns centímetros deste fio foi enrolado, com o auxílio de ferramenta apropriada, em uma agulha descartável de 450 μ m que serve como molde, resultando em um tubo de alguns milímetros com diâmetro interno suficiente para passar o capilar com diâmetro externo de 360 μ m. Os eletrodos foram soldados diretamente na placa de circuito impresso. Os eletrodos foram confeccionados com comprimento de 2 mm e soldados na placa com uma separação (*gap* de detecção) de 1 mm. O sinal de onda senoidal de alta frequência proveniente do gerador de funções é aplicado a um dos eletrodos. O outro eletrodo é ligado ao conversor corrente/tensão e aos circuitos de amplificação e condicionamento do sinal (Figura 3). O sinal amplificado e condicionado (V_s) é enviado ao *software* através da placa de interface conectada ao computador. Dois modelos de amplificadores operacionais adequados ao circuito foram utilizados: OPA2604AP (Texas instruments) e AD823AN (Analog Devices). Os resistores empregados no circuito são todos de precisão de 1%. A alimentação do circuito é proveniente de uma fonte simétrica de ± 12 Vdc.

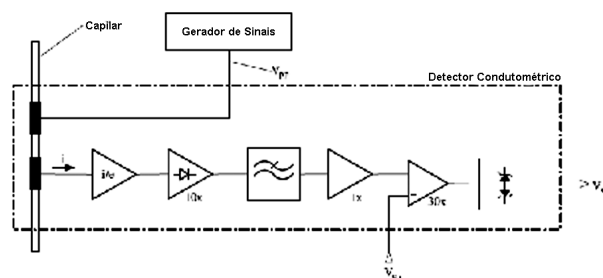


Figura 3. Representação esquemática do detector condutométrico construído para o equipamento de eletroforese capilar contendo capilar de sílica fundida, eletrodos e amplificadores operacionais

PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água, destilada, deionizada e purificada (Milli-Q, Millipore, Bedford, USA), com resistividade de 18,2 M Ω cm. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. As soluções estoque para análise dos cátions foram preparadas nas concentrações de 1 g L⁻¹ a partir de ZnSO₄·7H₂O (Merck), NiCl₂·6H₂O (Merck), CdSO₄·8H₂O (Merck), Pb(NO₃)₂ (Vetec), Cr(NO₃)₃·9H₂O (Vetec), Co(NO₃)₂·6H₂O (Nuclear), TiNO₃ (Aldrich) e CuSO₄·5H₂O (Reagen). As amostras sintéticas dos cátions foram preparadas pela mistura e diluição das soluções estoque. As soluções do eletrólito de trabalho foram preparadas diariamente pela diluição das soluções estoque de 0,1 mol L⁻¹ de ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico (MES – Merck), histidina base livre (His – Sardi), ácido 2-hidroxi-isobutírico (HIBA – Sigma-Aldrich), ácido láctico (HLac – Riedel-de Haën) e de éter 18-coroa-6 e metanol (MeOH), ambos da Merck. O valor do pH da solução do eletrólito de trabalho foi ajustado com HNO₃ (Merck). As soluções foram armazenadas a 4 °C e ao abrigo da luz.

As soluções do eletrólito de trabalho foram filtradas usando membrana de acetato de celulose 0,45 μ m (Sartorius) em sistema sob vácuo e, em seguida, sonicadas por 30 min.

Análise de cátions metálicos no sistema CE-C⁴D

O condicionamento do capilar de sílica fundida (75 μ m de diâmetro interno, 360 μ m de diâmetro externo e 68 cm de comprimento) foi feito em fluxo aplicando-se uma pressão de -600 mmHg na extremidade próxima ao detector. Primeiramente, empregou-se NaOH (Merck), na concentração 1 mol L⁻¹, durante 40 min, seguido de água purificada por 10 min, NaOH 0,1 mol L⁻¹ por 15 min, água purificada por 10 min e, finalmente, solução do eletrólito de trabalho por 30 min. O potencial de 15 kV foi aplicado até a estabilização da linha base. Entre as injeções das amostras, o capilar foi lavado com o eletrólito de trabalho durante 5 min mediante aplicação de vácuo, nas mesmas condições descritas acima. Ao final de um dia de trabalho, o capilar era lavado com água ultrapura por 15 min.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Separação simultânea de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ por CE-C⁴D

Após a sua montagem e configuração, o sistema CE-C⁴D foi testado de acordo com metodologias previamente descritas na literatura para a separação de metais alcalinos e alcalino-terrosos.^{5,7,9} A separação eletroforética dos metais Na⁺, K⁺, Ca²⁺

e Mg²⁺ foi feita pela aplicação de um potencial de 15 kV, com o detector C⁴D operando em 600 kHz e 2V_{pp} e utilizando-se uma solução tampão MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) como eletrólito de trabalho. A repetibilidade do sistema foi avaliada pela injeção sequencial (injeção hidrodinâmica por gravidade a 10 cm por 30 s) de uma solução aquosa contendo uma mistura de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ nas seguintes concentrações: 100 μ mol L⁻¹ para K⁺ e Ca²⁺ e 170 μ mol L⁻¹ para Na⁺ e Mg²⁺. Os tempos de migração (tm) para os quatro picos foram medidos para cinco injeções sucessivas e seus respectivos valores de desvio padrão estão listados na Tabela 1. Os coeficientes de variação calculados apresentam valores entre 6,73 e 9,19% para os tm. Estes resultados estão de acordo os encontrados na literatura;^{5,7,9} ou seja, há uma boa resolução e reprodutibilidade dos picos para os quatro cátions, indicando o desempenho adequado do sistema CE-C⁴D construído em laboratório. Nesta tabela também estão descritos os valores de limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) calculados para os quatro cátions citados.

Tabela 1. Valores de tempos de migração, limites de detecção e quantificação para os cátions K⁺, Ca²⁺, Na⁺ e Mg²⁺ (n = 5); Eletrólito de trabalho: MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0); Potencial de separação: -15 kV; Temperatura: 25 °C; Injeção hidrodinâmica (gravidade): 10 cm por 30 s; Capilar: sílica fundida de 68 cm com 46 cm até o detector (75 μ m diâmetro interno x 360 μ m diâmetro externo)

Parâmetros	K ⁺	Ca ²⁺	Na ⁺	Mg ²⁺
Tempo de migração (min)	3,71	4,22	4,35	4,55
Desvio padrão (min)	± 0,25	± 0,30	± 0,40	± 0,29
LOD (μ mol L ⁻¹)	1,90	1,54	1,84	1,36
LOQ (μ mol L ⁻¹)	5,70	4,62	5,49	4,08

Separação simultânea de Ti⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Cr³⁺, Zn²⁺, Co²⁺, Cu²⁺ e Ni²⁺ por CE-C⁴D

O sistema CE-C⁴D construído foi empregado também para a separação de cátions metálicos do grupo dos metais de transição. Devido às semelhanças nos valores de mobilidade eletroforética para alguns cátions deste grupo selecionado, a separação eletroforética envolve normalmente o uso de aditivos no eletrólito de trabalho, como complexantes e solventes orgânicos. Portanto, uma etapa subsequente do trabalho envolveu a aplicação do sistema construído na otimização da separação destes cátions por CZE.

Sabendo-se que o pH do eletrólito de trabalho é o parâmetro de separação mais importante em CE para influenciar na seletividade do sistema, a separação simultânea dos cátions Ti⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Cr³⁺, Zn²⁺, Co²⁺, Cu²⁺ e Ni²⁺ foi investigada em diferentes valores de pH do tampão MES/His 0,02 mol L⁻¹. Os resultados obtidos para os oito cátions em valores de pH entre 5,0 e 6,1 mostraram que a variação deste modifica significativamente os tempos de migração (tm) obtidos. Por exemplo, em valores de pH 5,0 e 5,5 o íon Ni²⁺ foi o último pico visualizado no eletroferograma, bem diferente do resultado encontrado em pH 6,1 no qual sua zona passa a sair junto com o *plug* da água e, desta forma, o seu pico não foi detectado. Isto ocorreu pelo fato de que em um valor de pH maior a concentração de íons Ni²⁺ livres é menor, já que nestas condições existe uma concentração maior desses íons na forma de hidróxido. Apesar da investigação do pH do eletrólito de trabalho nesta faixa descrita não fornecer uma separação completa dos oito cátions estudados, o eletrólito de trabalho MES/His 0,02 mol L⁻¹ em pH 5,0 foi escolhido para dar continuidade aos estudos de otimização, pelo fato de fornecer um tempo de análise em torno de 10 min.

Além do pH, a força iônica do eletrólito é um parâmetro importante que pode ser variado para melhorar a eficiência de separação, a resolução dos picos e a sensibilidade do sistema de detecção. A dependência dos tempos de migração dos cátions Ti^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} com a concentração de MES/His em pH 5,0 foi investigada na faixa de concentração de 0,01 a 0,05 mol L⁻¹. Aqui, observou-se que o aumento da concentração do eletrólito de trabalho de 0,01 para 0,03 mol L⁻¹ leva a uma melhora significativa na separação dos picos dos oito cátions, apesar do tempo de análise ser maior. Por outro lado, a altura dos picos diminuiu com o aumento da força iônica do eletrólito, devido à diminuição da relação sinal/ruído pelo aumento da condutividade basal. Portanto, os testes subsequentes de otimização da separação dos cátions foram realizados comparativamente para eletrólitos de MES/His nas concentrações 0,02 e 0,03 mol L⁻¹ (ambos em pH 5,0).

A sensibilidade da C⁴D em CZE está diretamente ligada à diferença de condutividade entre o eletrólito de trabalho e a zona do soluto que migra pelo capilar. Portanto, a separação dos cátions foi investigada também em eletrólitos de trabalho de diferentes composições. Para avaliar a capacidade de separação dos eletrólitos testados, uma amostra padrão contendo Ti^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} na concentração 50 µmol L⁻¹ (cada) foi analisada. Primeiramente, metanol (1 a 20% v/v) foi adicionado aos eletrólitos MES/His nas concentrações de 0,02 e 0,03 mol L⁻¹ (pH 5,0). Comparando-se os eletroferogramas obtidos com estes eletrólitos, uma separação eficiente dos oito cátions foi obtida com MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) contendo MeOH 5% (v/v) como aditivo. O solvente orgânico promoveu a modificação da viscosidade da solução do eletrólito de trabalho, o que ocasionou mudanças de mobilidade aparente e, portanto, na migração relativa dos cátions. A adição de agentes complexantes ao eletrólito de trabalho também foi investigada, onde se observou que o complexante ácido 2-hidroxibutírico (HIBA) promoveu o aumento nos tempos de migração de todos os cátions, exceto o Ti^+ . Entretanto, a sensibilidade na detecção (relação sinal/ruído) obtida com o eletrólito de trabalho MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) contendo HIBA 1 mmol L⁻¹ foi inferior àquela obtida com o eletrólito MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) contendo MeOH 5% (v/v) como aditivo. Outros testes envolveram a troca do ácido orgânico do eletrólito, MES, por ácido láctico (HLac) e HIBA. As melhores condições para a separação com estes eletrólitos foram obtidas para o eletrólito HLac/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,25) contendo MeOH 10% (v/v), onde significativas modificações no comportamento eletroforético dos cátions foram observadas. Aqui, picos negativos foram registrados para Zn^{2+} e Co^{2+} , pois suas zonas passaram a ter condutividades menores que a do eletrólito de trabalho, além do cátion Co^{2+} comigrar com o cátion Ni^{2+} . A separação com o eletrólito composto por HIBA/His 0,01 mol L⁻¹ (pH 4,85) e MeOH 10% (v/v) foi a menos eficiente de todas as investigadas devido à baixa resolução entre os picos obtidos para os pares $\text{Zn}^{2+}/\text{Co}^{2+}$ e $\text{Ni}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$, além das comigrações observadas para Cd^{2+} e Cr^{3+} . A adição de éter 18-coroa-6 como agente complexante ao eletrólito de trabalho MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v) também foi investigada. Entretanto, esta condição originou picos com alturas menores em relação aos outros eletrólitos investigados, além de apresentar baixa resolução entre os picos detectados. Pela comparação dos eletroferogramas obtidos para as misturas sintéticas dos cátions, observou-se que o eletrólito de trabalho contendo MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v) forneceu a melhor condição para a separação simultânea de Ti^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} utilizando-se um capilar de sílica fundida de 68 cm de comprimento (46 cm até o detector) e 75 µm de diâmetro interno, com boa resolução de picos e maior relação sinal/ruído para todos os cátions estudados. A separação eletroforética dos oito cátions sob condições otimizadas pode ser vista nas Figuras 4 e 5 em uma amostra sintética e uma amostra real de água de hemodiálise contaminada com os cátions. Como pode

ser observado, a determinação destas espécies é possível na presença de íons Na^+ presentes na água de hemodiálise.

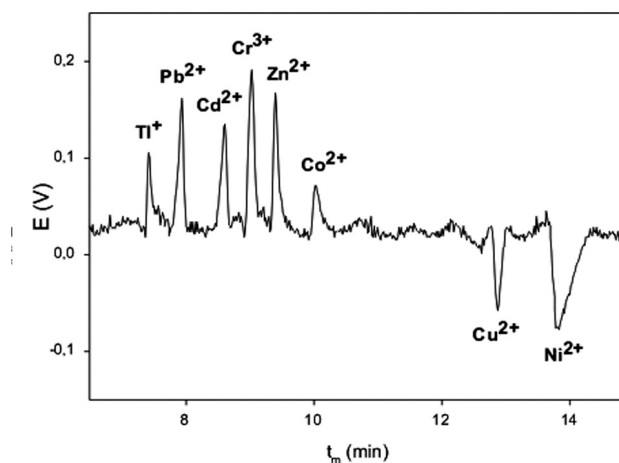


Figura 4. Eletroferograma de uma amostra sintética de 4 mg L⁻¹ de Ti(I) , Pb(II) , Cd(II) , Cr(III) , Zn(II) , Co(II) , Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida (75 x 360 µm) de 68 cm de comprimento com 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura de separação: 25 °C; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s

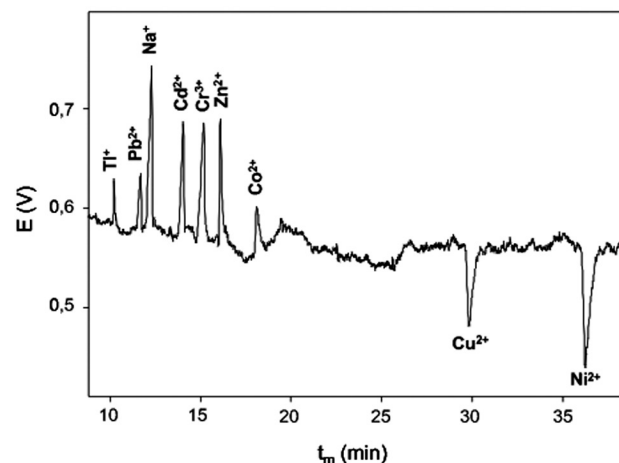


Figura 5. Eletroferograma de uma amostra de água de diálise contaminada com 4 mg L⁻¹ de Ti(I) , Pb(II) , Cd(II) , Cr(III) , Zn(II) , Co(II) , Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 0,02 mol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 10% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, 75 µm, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 25 °C; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s

A repetibilidade do sistema foi avaliada pela injeção sequencial (injeção hidrodinâmica por gravidade a 28 cm por 60 s) de uma solução aquosa contendo uma mistura de Ti^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Ni^{2+} na concentração 4 mg L⁻¹. Os tempos de migração para os oito cátions foram medidos para cinco injeções sucessivas e seus respectivos valores de desvio padrão estão listados na Tabela 2. Os coeficientes de variação calculados apresentam valores médios de 2,8% para os tempos de migração dos metais. O limite de detecção (LOD) para os cátions foi calculado a partir equação da curva analítica ($3\sigma_b/b$) após 10 medidas do branco. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 2. O valor da área dos picos obtidos na

Tabela 2. Figuras de mérito para a determinação simultânea ($n = 5$) dos cátions Ti^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} por CZE-CCD. Eletrolito de trabalho: MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v); Potencial de separação: -10 kV; Temperatura: 25 °C; Injeção hidrodinâmica (gravidade): 28 cm por 60 s; Capilar: sílica fundida de 68 cm com 46 cm até o detector (75 μm diâmetro interno x 360 μm diâmetro externo)

Parâmetros	Ti^+	Pb^{2+}	Cd^{2+}	Cr^{3+}	Zn^{2+}	Co^{2+}	Cu^{2+}	Ni^{2+}
Tempo de migração (min) ^a	7,64	7,83	8,68	9,12	9,43	10,09	12,93	13,77
Desvio padrão relativo (%)	2,7	2,9	2,8	2,7	3,0	2,6	2,9	3,4
Área média (V min) ^a	0,0042	0,0049	0,014	0,0200	0,0114	0,00130	0,0162	0,0305
Desvio padrão relativo (%)	2,3	2,0	2,1	4,5	4,0	4,1	2,4	2,9
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,08	1,69	3,52	5,93	5,16	22,17	8,43	3,28
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	16,91	5,62	11,72	19,74	17,02	73,82	28,07	10,92

^a $n = 5$

detecção condutométrica sem contato forneceu uma resposta linear para todos os cátions nas seguintes faixas de concentração ($n = 5$): 17–280 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Ti^+ e Zn^{2+} ; 12–280 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Cd^{2+} ; 74–300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Co^{2+} ; 6–300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Pb^{2+} ; 20–350 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Cr^{3+} ; 28–320 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Cu^{2+} e 11–350 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Ni^{2+} .

CONCLUSÕES

O sistema CE-C⁴D descrito neste trabalho emprega um sistema de manipulação de soluções completamente automatizado empregando dois carrosséis de amostras acoplados ao equipamento. Todos os componentes do sistema eletroforético são operados através de uma interface via computador, incluindo os dois amostradores projetados e acoplados ao sistema eletroforético. O detector condutométrico foi construído de acordo com protótipos previamente descritos na literatura e permite a detecção sensível de metais alcalinos, alcalino-terrosos e metais de transição. O sistema construído em laboratório apresenta boa reprodutibilidade para os tempos de migração dos metais estudados, com desvio padrão relativo (RSD) entre 6,3 e 9,2% para Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} e entre 2,60 e 3,4% para Zn^{2+} , Cr^{3+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} e Ti^+ . O método eletroforético desenvolvido foi empregado na otimização da separação dos cátions metálicos Zn^{2+} , Cr^{3+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} e Ti^+ em amostras de água. O eletrolito de trabalho composto pelo tampão MES/His 0,02 mol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v) possibilitou a separação simultânea dos cátions metálicos empregando um capilar de sílica fundida de 68 cm com 46 cm até o detector (75 μm diâmetro interno x 360 μm diâmetro externo) e um potencial de separação de -10 kV. Limites de detecção calculados para os oito cátions metálicos entre 1,69 e 22,17 $\mu\text{mol L}^{-1}$ permitem a aplicação da metodologia para determinações em amostras reais empregando o sistema eletroforético desenvolvido.

AGRADECIMENTOS

À FAPERGS (PROAPP processo 0410870), CNPq (processo 478215/2007-0), CAPES (PROBRAL 204/06) pelos auxílios e bol-

sas concedidas. Agradecimentos especiais são feitos ao Engenheiro eletricitista L. Schirmer pelo suporte técnico, à Dra. C. Piatnicki e ao Ms. W. Böckel do IQ-UFRGS pela valiosa troca de idéias na construção do equipamento.

REFERÊNCIAS

- Jager, A. V.; Tavares, M. F. M.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 363.
- Tavares, M. F. M.; *Quim. Nova* **1997**, *20*, 493.
- Hjertén, S.; *Chromatogr. Rev.* **1967**, *9*, 122.
- Da Silva, J. A. F.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2001.
- Da Silva, J. A. F.; Do Lago, C. L.; *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4339.
- Da Silva, J. A. F.; Guzman, N.; Do Lago, C. L.; *J. Chromatogr., A* **2002**, *942*, 249.
- Böckel, W. J.; Martini, E. M. A.; Santos, D.; Piatnicki, C. M. S.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 1106.
- Gas, B.; Demjanenko, M.; Vacík, J.; *J. Chromatogr., A* **1980**, *192*, 253.
- Zemann, A. J.; Schnell, E.; Volgger, D.; Bonn, G. K.; *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 563.
- Tanyanyiwa, J.; Hauser, P. C.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 6378.
- Johnston, S. E.; Fadgen, K. E.; Tolley, L. T.; Jorgenson, J. W.; *J. Chromatogr., A* **2005**, *1094*, 148.
- Tan, F.; Yan, B.; Guan, Y.; *Anal. Sci.* **2005**, *21*, 955.
- Kuban, P.; Karlberg, B.; Kuban, P.; Kuban, V.; *J. Chromatogr., A* **2002**, *964*, 227.
- Da Silva, J. A. F.; Ricelli, N. L.; Carvalho, A. Z.; Do Lago, C. L.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 265.
- Mayrhofer, K.; Zemann, A. J.; Schnell, E.; Bonn, G. K.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 3828.
- Tavares, M. F. M.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 173.
- Da Silva, J. A. F.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 56.
- Da Silva, J. A. F.; Coltro, W. K. T.; Carrilho, E.; Tavares, M. F. M.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 744.