

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO DE
ELETROFORESE CAPILAR COM
DETECÇÃO POR CONDUTIVIDADE SEM CONTATO
PARA A SEPARAÇÃO DE ÍONS INORGÂNICOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Cristiane Spengler

**Santa Maria, RS, Brasil
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO DE
ELETROFORESE CAPILAR COM
DETECÇÃO POR CONDUTIVIDADE SEM CONTATO
PARA A SEPARAÇÃO DE ÍONS INORGÂNICOS**

por

Cristiane Spengler

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química.**

Orientador: Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO DE
ELETROFORESE CAPILAR COM
DETECÇÃO POR CONDUTIVIDADE SEM CONTATO
PARA A SEPARAÇÃO DE ÍONS INORGÂNICOS**

elaborada por
Cristiane Spengler

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Leandro Machado de Carvalho, Dr.
(Presidente/Orientador)

José Alberto Fracassi da Silva, Dr. (UNICAMP)

Carmem Dickow Cardoso, Dra. (UFSM)

Santa Maria, 16 de março de 2009.

Dedico este trabalho

*exclusivamente ao meu amor, **Heron**, pelo
companheirismo, carinho, paciência, dedicação,
compreensão, força e por todos os ensinamentos e
conselhos inigualáveis e inesquecíveis,
à minha mãe, **Dulce**, por todo o apoio nessa longa e
difícil trajetória e, primordialmente, pelos esforços
imensuráveis em proporcionar-me oportunidades que
não teve chances de ter,
à minha irmã, **Fabiane**, pela compreensão ao
longo dessa batalha e
Em memória de meu pai, **Geraldo**, que nunca imaginou
que sua filha fosse chegar tão longe!*

Obrigada por tudo! Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho, pela orientação, sabedoria, paciência, disposição na realização deste trabalho e por todas as contribuições à minha formação pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento e à Prof^a. Dr^a. Denise Bohrer do Nascimento pela amizade e pelo esclarecimento de dúvidas pertinentes ao desenvolvimento deste trabalho.

A todos os colegas e amigos do laboratório pelo incentivo, apoio, conselhos, força e momentos de descontração vividos ao longo deste período em que trabalhamos juntos.

Um agradecimento muito especial a todas as pessoas que conheci na UNICAMP, pelo ótimo ambiente de trabalho que proporcionaram e também pelas horas de descontração. Ao amigo Marcos Viero Guterres por ter me hospedado no seu humilde apartamento em Campinas.

Ao Prof. José Alberto Fracassi da Silva pela orientação na Universidade Estadual de Campinas, pelas frutíferas discussões, pela experiência transmitida e eventuais colaborações.

À minha amiga Graziela L. Uhlmann e aos meus familiares que não conviveram comigo durante esta etapa de minha vida, mas que compreenderam as poucas visitas e sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

Ao pessoal e professores das academias de Santa Maria e de Campinas que me ajudaram a me livrar do estresse diário.

A todos os funcionários e professores que colaboraram indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Um agradecimento especial ao Engenheiro eletricitista Luciano Schirmer pelo indispensável suporte técnico.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade oferecida de realizar o curso de mestrado.

À FAPERGS, pelo financiamento deste projeto através do programa PROAPP (processo nº 0410870).

Ao CNPq, pela bolsa de mestrado concedida, sem a qual esse trabalho não seria realizado.

À CAPES, pela oportunidade da realização do projeto de cooperação na UNICAMP através do programa PROCAD (projeto nº 098/2007).

“A Deus pela minha existência e por ter me acompanhado e me dado forças.”

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

DESENVOLVIMENTO DE EQUIPAMENTO DE ELETROFORESE CAPILAR COM DETECÇÃO POR CONDUTIVIDADE SEM CONTATO PARA A SEPARAÇÃO DE ÍONS INORGÂNICOS

AUTORA: CRISTIANE SPENGLER

ORIENTADOR: PROF. DR. LEANDRO MACHADO DE CARVALHO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 16 de Março de 2009.

Este trabalho descreve a construção e avaliação de um sistema de eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (CE-C⁴D) para sua aplicação em eletroforese capilar de zona (CZE). A detecção por C⁴D é baseada em protótipos previamente descritos na literatura. Para o equipamento construído foram desenvolvidos um sistema de injeção de amostra por gravidade e um sistema de controle de temperatura por aquecimento, além de estar equipado com 2 amostradores acoplados ao sistema eletroforético, possuindo assim um grau de automação maior em relação aos outros sistemas já existentes. Todos os componentes do sistema são operados através de uma interface via computador, incluindo os amostradores que permitem a manipulação de soluções de forma completamente automatizada. O controle dos componentes do sistema eletroforético e a aquisição de dados foram feitos mediante um *software* escrito em linguagem Delphi 7.0.

Após a sua montagem e configuração, o desempenho do sistema eletroforético foi inicialmente testado de acordo com metodologias previamente descritas na literatura para a separação de Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II). Os resultados obtidos estão de acordo com os encontrados na literatura e indicam o desempenho adequado do sistema CE-C⁴D construído em laboratório.

O sistema desenvolvido foi empregado no desenvolvimento de um método eletroforético para a determinação simultânea dos cátions metálicos Zn(II), Cr(III), Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II) e Tl(I) em amostras de água. A separação dos 8 cátions foi investigada em eletrólitos de trabalho contendo ácido

2-N-morfolinoetanossulfônico (MES) e histidina (His) com diferentes composições. O uso de agentes complexantes e de solventes orgânicos como aditivos também foi avaliado. A melhor condição possibilitou a determinação dos 8 cátions em uma única corrida após 15 minutos utilizando a solução de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v) como eletrólito de trabalho, 10 kV como potencial de separação, com o detector C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}. O sistema CE–C⁴D construído demonstrou ser altamente reprodutível para análises eletroforéticas de cátions metálicos, o qual forneceu valores de desvio padrão relativo entre 2,6 e 9,2% para os tempos de migração de todos os cátions estudados. Limites de detecção calculados para os 8 cátions entre 1,69 e 22,17 μmol L⁻¹ permitem a aplicação da metodologia para determinações em amostras reais empregando o sistema eletroforético desenvolvido.

Palavras-chave: eletroforese capilar; detecção condutométrica sem contato; cátions

ABSTRACT

Master Dissertation in Chemistry
Post-Graduate in Chemistry
Universidade Federal de Santa Maria

DEVELOPMENT OF A CAPILLARY ELECTROPHORESIS SYSTEM WITH CONTACTLESS CONDUCTIVITY DETECTION (C⁴D) FOR THE SEPARATION OF INORGANIC IONS

AUTHOR: CRISTIANE SPENGLER
ADVISOR: PROF. DR. LEANDRO MACHADO DE CARVALHO
Santa Maria, March 16th, 2009.

This work describes the development and evaluation of a home-made capillary electrophoresis (CE) system based on the capacitively coupled contactless conductivity detection (C⁴D) for the application in capillary zone electrophoresis (CZE). The C⁴D detection is based on prototypes previously described in the literature. The equipment constructed has a hydrodynamic injection system (gravity), a temperature control system based on the heating of the system and it is equipped with two carousels for the sample changing. The electrophoretic system developed in this work has a high automation degree in relation to other existing CE systems. All the components of the CE system are operated by a computer interface, including the sample changers that allow the manipulation of solutions in a fully automated way. The control of the components of the CE system and the data acquisition were made by using a software, which was developed in a Delphi 7.0 language.

After the construction and configuration of the CE system, the performance was initially evaluated by applying some methods previously described in the literature for the separation of Na(I), K(I), Ca(II) and Mg(II). The results are in agreement with the literature and show the proper performance of the home-made CE–C⁴D system.

The developed system was used for the simultaneous determination of the metallic species Zn(II), Cr(III), Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II) and Tl(I) in different samples. The separation of 8 cations was investigated by using working electrolytes containing 2-[N-morpholino]ethanesulfonic acid (MES) and histidine (His) at different compositions. The use of complexing agents and an organic solvents as additives was

also evaluated. The optimized conditions enabled the determination of 8 cations in a single run after 15 minutes using a solution containing 20 mmol L⁻¹ MES/His (pH 5.0) and 5% MeOH (v/v) as working electrolyte, 10 kV as separation potential and the C⁴D detector operating at 600 kHz and 2 V_{pp}. The constructed CE-C⁴D system was shown to be very reproducible for electrophoretic analysis of metallic cations, with relative standard deviations (RSD) for the migration times of all the studied cations ranging from 2.6 to 9.2%. The detection limits calculated for the 8 cations ranged from 1.69 to 22.17 μmol L⁻¹, which allows the application of the methodology for determinations in real samples using the developed electrophoretic system.

Keywords: capillary electrophoresis; contactless conductivity detection; cations

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Capilar utilizado em CE exibindo seu formato 30
- Figura 2** – Desenho esquemático dos componentes básicos de um sistema eletroforético 32
- Figura 3** – Forças atuantes em um íon e sua esfera iônica durante a migração eletroforética. *Adaptado de TAVARES, 1996.* 33
- Figura 4** – Modelo para a interface capilar/solução: (A) Dupla camada elétrica criada pela superfície do capilar carregada negativamente e pelos cátions que se encontram próximos. PC refere-se ao plano de cisalhamento; (B) A predominância de cátions na parte difusa da dupla camada produz um fluxo eletrosmótico (EOF) na direção do cátodo sob ação de um campo elétrico 36
- Figura 5** – Perfil do fluxo: (a) eletrosmótico (CE) e (b) laminar (HPLC) 37
- Figura 6** – Seqüência de eventos na separação por CZE: (A) A amostra é injetada entre o eletrólito de trabalho; (B) As zonas dos analitos (A, B, C) presentes na amostra separam-se e deslocam-se em direção ao detector com velocidades distintas; (C) Detecção dos analitos e obtenção de um eletroferograma. 39
- Figura 7** – Evolução do número de publicações com detecção condutométrica sem contato em função do ano. Os dados foram extraídos do banco de dados da *ISI Web of Knowledge* usando as seguintes palavras-chave: *contactless conductivity detection* ou *contactless conductivity detector* ou *oscillometric detector* em 20/01/2009..... 51
- Figura 8** – Representação em diagramas de blocos do equipamento de eletroforese capilar construído em laboratório 58

Figura 9 – Foto do equipamento de CE–C⁴D construído..... 61

Figura 10 – 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) gabinete de acrílico para aplicação de vácuo, (g) borracha sintética para vedação. As setas bilaterais representam os movimentos realizados por cada componente das peças projetadas 62

Figura 11 – Desenho esquemático de uma injeção hidrodinâmica por gravidade... 64

Figura 12 – Desenho esquemático do projeto inicial do carrossel contendo 10 posições 67

Figura 13 – Desenho esquemático do copo suporte construído para acomodar o *vial*..... 68

Figura 14 – Diagrama de blocos do detector oscilométrico construído 69

Figura 15 – Fotos do detector C⁴D construído. A placa do circuito impresso (A) foi instalada dentro de uma caixa metálica (B). Na foto (A) podem-se visualizar os eletrodos e (B) mostra a presença do capilar passando entre os eletrodos dentro da caixa metálica fechada 70

Figura 16 – Esquema do circuito elétrico do detector..... 72

Figura 17 – (A) Visualização da tela principal do *software* desenvolvido mostrando um eletroferograma e (B) a janela para controle dos dois amostradores. 75

Figura 18 – Desenho esquemático da configuração dos eletrodos para C⁴D. Os eletrodos e1 e e2 indicam os eletrodos para excitação e registro do sinal resultante, respectivamente. *Adaptado de KUBÁN & HAUSER, 2008*..... 79

Figura 19 – A propagação do sinal é feita por diversos caminhos: transmissão (1) direta entre os eletrodos, (2) pela parede do capilar, (3) pela camada externa de poliimida que recobre o capilar e (4) pela solução que preenche o interior do capilar 80

Figura 20 – Circuito equivalente para a C⁴D em termos (A) das capacitâncias dos eletrodos (C_1 e C_2) e (B) da capacitância da parede do canal (C_P). C_0 corresponde à capacitância intereletrodos 81

Figura 21 – Eletroferograma de uma amostra sintética de 1 mg L⁻¹ de K(I), Ca(II), Na(I), Mg(II) em eletrólito de trabalho MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0), com aplicação de 15kV 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: 10 cm por 30 s 84

Figura 22 – Tempo de migração (t_m) em função do (A) pH de MES/His 20 mmol L⁻¹ e da (B) concentração (mmol L⁻¹) de MES/His em pH 5,0. Condições: Potencial de separação: 15 kV; Capilar: sílica fundida, 75 μm, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 20 cm por 60 s. Amostra: Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II), todos na concentração de 4 mg L⁻¹. Os valores de RSD do t_m dos picos dos cátions ($n = 3$) variaram entre 1,6 e 2,8% 87

Figura 23 – Tempo de migração (t_m) em função da altura de pico (h_{pico}) obtidos a partir da variação da concentração (mmol L⁻¹) de MES/His em pH 5,0. Outras condições estão na Figura 22..... 89

Figura 24 – Tempo de migração (t_m) em função do potencial (E) de separação aplicado (kV) para o eletrólito de trabalho MES/His 30 mmol L⁻¹ (pH 5). Outras condições na Figura 22. Amostra sintética: 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) 90

Figura 25 – Eletroferogramas de uma mistura de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II), Ni(II), Mn(II) e Hg(II) na concentração de 50 µmol L⁻¹. Eletrólitos de trabalho empregados: (A) MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), (B) MES/His 30 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e HIBA 1 mmol L⁻¹, (C) HLac/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,25) e MeOH 10% (v/v) e (D) HIBA/His 10 mmol L⁻¹ (pH 4,85) e MeOH 10% (v/v). Outras condições: Potencial de separação: 10 kV para (A) e (B), 15 kV para (C) e (D); 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: 20 cm por 60 s 93

Figura 26 – Injeção hidrodinâmica por gravidade com diferentes alturas (cm) por 60 s em função das áreas dos picos dos metais de uma amostra sintética de 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (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. 94

Figura 27 – Variação da frequência (kHz) de operação do detector em função das áreas dos picos dos metais de uma amostra sintética de 2 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (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 95

Figura 28 – Eletroferograma de uma amostra sintética de 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \text{ }\mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s 97

Figura 29 – Eletroferograma de uma amostra de NaCl $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \text{ }\mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s 102

Figura 30 – Eletroferograma de uma amostra de água de diálise contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 10% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \text{ }\mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s 104

Figura 31 – Eletroferograma de uma amostra de água mineral contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 10% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \text{ }\mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s 105

Figura 32 – Eletroferogramas de uma amostra de (A) fertilizante foliar (Dimicron nitrozinc; fator de diluição: 1000 vezes) e (B) amostra do item A contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de

trabalho de MES/His 20 mmol 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..... 107

Figura 33 – Foto do equipamento de CE–C⁴D utilizado na UNICAMP 109

Figura 34 – Fotos demonstrando (A) a seringa conectada ao *vial* 1 durante a etapa de lavagem do capilar (aplicando pressão negativa no *vial* 1) e (B) a conexão entre a bomba de aquário e o *vial* 1 empregada durante as etapas de injeção hidrodinâmica por pressão e análise eletroforética no equipamento de CE–C⁴D utilizado na UNICAMP..... 112

Figura 35 – Eletroferograma de uma amostra sintética obtido com a aplicação do método proposto no equipamento utilizado na UNICAMP. Amostra sintética: 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II); Eletrólito de trabalho: MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v); Potencial de separação dos metais: 10 kV; Capilar: sílica fundida, 75 µm, 50 cm, 40 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 26,5 ± 0,5°C; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s 114

Figura 36 –Eletroferogramas obtido com a aplicação do método proposto no (A) equipamento desenvolvido na UFSM e (B) no equipamento desenvolvido na UNICAMP. Outras informações do item (A) encontram-se na Figura 27. (B) Eletroferograma de uma amostra sintética de 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 8 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, 75 µm, 56 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 26,5 ± 0,5°C; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s... 116

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Raio iônico hidratado r_i (em cm) de alguns cátions inorgânicos 35
- Tabela 2** – Limites de detecção (LOD) típicos para cátions metálicos nos sistemas de detecção utilizados em eletroforese capilar 41
- Tabela 3** – Valores de tempos de migração e respectivos desvios padrão, limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) para os cátions K(I), Ca(II), Na(I), Mg(II) ($n = 5$). Outras condições estão na Figura 21 85
- Tabela 4** – Valores dos tempos de migração e áreas e respectivos erros relativos percentuais obtidos de uma amostra sintética de 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) injetada e analisada em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s 98
- Tabela 5** – Valores dos LODs, LOQs e da faixa linear de concentração ($n = 5$) para os cátions Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s 100
- Tabela 6** – Parâmetros comparativos dos componentes dos dois equipamentos CE– C^4D utilizados neste trabalho 110
- Tabela 7** – Valores dos tempos de migração e áreas e respectivos erros relativos percentuais obtidos de uma amostra sintética de 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II),

Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) injetada e analisada em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 8 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, 75 µm, 56 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 26,5 ± 0,5°C; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s 117

Tabela 8 – Comparação dos valores de LODs e LOQs (*n* = 5) para os cátions Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) obtidos no sistema CE–C⁴D da UFSM e no sistema CE–C⁴D da UNICAMP. As condições experimentais utilizadas para a aplicação do método proposto em cada equipamento foram descritas anteriormente na página 115..... 118

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

AC	corrente alternada
AD	detecção amperométrica
A/D	analógica/digital
AO	amplificadores operacionais
CD	detecção condutométrica
C⁴D	detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (<i>capacitively coupled contactless conductivity detection</i>)
CE	eletroforese capilar (<i>capillary electrophoresis</i>)
CEC	eletrocromatografia capilar
CE-C⁴D	eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente
CE-ED	eletroforese capilar com detecção eletroquímica
CGE	eletroforese capilar em gel
CZE	eletroforese capilar de zona
CZE-C⁴D	eletroforese capilar de zona com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente
DCE	dupla camada elétrica
d. e.	diâmetro externo
d. i.	diâmetro interno
ED	detecção eletroquímica
EOF	fluxo eletrosmótico (<i>electroosmotic flow</i>)
FAT	fonte de alta tensão
HIBA	ácido 2-hidroxiisobutírico
His	histidina base livre
HLac	ácido láctico
HPCE	eletroforese capilar de alta eficiência
HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência
IC	cromatografia iônica
IEC	cromatografia de troca iônica

IEF	focalização isoelétrica
ITP	isotacoforese
LOD	limite de detecção
LOQ	limite de quantificação
MEKC	cromatografia micelar eletrocínica
MES	ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico
MeOH	metanol
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPA	amplificador operacional
PC	plano de cisalhamento
PD	detecção potenciométrica
RSD	desvio padrão relativo
RSR	relação sinal ruído
SIG	sistema de injeção por gravidade
SIP	sistema de injeção por pressão
t-ITP	isotacoforese transiente
UV	ultra-violeta
UV-Vis	refere-se à região do espectro eletromagnético compreendida entre o ultravioleta e o visível
VD	detecção voltamétrica
V_{dc}	tensão contínua obtida na saída do seguidor de tensão (ponto TP1)
V_{pp}	tensão de pico-a-pico do sinal senoidal aplicado ao eletrodo

LISTA DE SÍMBOLOS

A	área do eletrodo
B	susceptância
c_i	concentrações de todas as espécies carregadas
C	capacitância
C_o	capacitância intereletrodos (relativa à transmissão externa do sinal aplicado)
C_p	capacitância da parede do capilar (na região dos eletrodos)
e	carga elementar
e1	eletrodo de excitação
e2	eletrodo receptor
E	campo elétrico
f	freqüência de operação
F_{atrito}	força de atrito
$F_{\text{elétrica}}$	força elétrica
$F_{\text{relaxação}}$	forças de relaxação
$F_{\text{retardamento}}$	forças de retardamento
g	aceleração da gravidade
G	condutância de uma solução
h	altura alcançada pelo injetor
K	constante da célula
l	distância entre os eletrodos
L	comprimento total do capilar
L_{ef}	comprimento efetivo do capilar
N	número de pratos (eficiência)
r	raio do capilar

r_i	raio iônico hidratado da partícula
R	resolução
R_s	resistência da solução que preenche o capilar
t_d	tempo de descida
t_i	tempo de injeção
t_m	tempo de migração
t_s	tempo de subida
v_a	velocidade aparente dos íons
v_{eo}	velocidade do fluxo de solvente
v_i	velocidade da partícula
V_{inj}	volume de amostra injetada por gravidade
V	potencial elétrico aplicado
W_i	largura do pico para o analito
$W_{1/2}$	largura à meia altura do pico
X_c	reatância capacitiva
X_o	reatância capacitiva referente à transmissão direta do sinal aplicado
X_p	reatância capacitiva da parede do capilar
Y	admitância
Z	impedância
z_i	carga da partícula
ϵ	constante dielétrica
ζ	potencial zeta
η	viscosidade da solução
κ	condutividade da solução
λ_i	condutividade molar das espécies iônicas
λ_o	condutâncias equivalentes limites das espécies iônicas
μ_{ef}	mobilidade efetiva

μ_{eo}	mobilidade do fluxo eletrosmótico
μ_i	mobilidade iônica
ρ	densidade da solução
ω	freqüência angular ($2\pi f$)
Ψ	perfil de potencial
Δp	gradiente de pressão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	26
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
2.1 Eletroforese capilar (CE).....	28
2.1.1 Introdução à técnica	28
2.1.2 Breve histórico da CE	29
2.1.3 Princípios teóricos da CE	30
2.1.4 Separação de metais por eletroforese capilar de zona (CZE)	38
2.1.5 Detecção de metais em CE	40
2.1.6 Detecção eletroquímica em CE	42
2.1.6.1 Detecção condutométrica em CE	43
2.1.6.1.1 Eletroforese capilar de zona com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (CZE-C ⁴ D)	46
2.2 Toxicidade e efeitos dos metais “estudados” na saúde humana.....	51
2.2.1 Cádmio	52
2.2.2 Chumbo	53
2.2.3 Cobalto	53
2.2.4 Cobre.....	54
2.2.5 Cromo.....	54
2.2.6 Níquel	55
2.2.7 Tálho.....	56
2.2.8 Zinco.....	56
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
3.1 Instrumentação	57
3.1.1 Visão geral do equipamento de CE-C ⁴ D construído	57
3.1.2 Descrição do equipamento de CE-C ⁴ D construído	62
3.1.2.1 Injeção da amostra	63
3.1.2.2 Lavagem do capilar e aplicação da tensão.....	65
3.1.2.3 Controle de temperatura.....	66
3.1.2.4 Amostradores.....	66
3.1.2.5 Construção do detector condutométrico sem contato (C ⁴ D).....	69
3.1.2.6 Instrumentação: componentes do sistema de detecção	71
3.1.2.6.1 Gerador de funções	71
3.1.2.6.2 Circuito eletrônico	71

3.1.2.6.3 Fonte de alimentação e fonte de alta tensão	73
3.1.2.6.4 Interface de aquisição.....	73
3.1.2.7 <i>Software</i> de aquisição de dados	74
3.2 Reagentes e Soluções.....	76
3.3 Controle de contaminação externa	76
3.4 Procedimentos analíticos	77
3.4.1 Eletrólitos de trabalho e amostras	77
3.4.2 Condicionamento dos capilares.....	77
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
4.1 Funcionamento do detector condutométrico sem contato (C⁴D).....	79
4.2 Avaliação do equipamento construído	83
4.2.1 Separação simultânea de K(I), Ca(II), Na(I) e Mg(II) por CZE–C ⁴ D	84
4.3 Separação simultânea de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) por CZE–C⁴D	86
4.3.1 Efeito do pH de MES/His na separação	86
4.3.2 Efeito da concentração de MES/His na separação.....	88
4.3.3 Otimização do potencial de separação.....	89
4.3.4 Avaliação de diferentes composições de eletrólitos de trabalho.....	90
4.3.5 Efeito da altura e do tempo de injeção da amostra.....	94
4.3.6 Efeito da frequência e amplitude na relação sinal/ruído	95
4.3.7 Avaliação dos parâmetros de detecção de metais de transição no equipamento construído.....	96
4.4 Aplicações analíticas.....	101
4.4.1 Amostras com alta concentração salina	101
4.4.2 Amostras com baixa concentração salina.....	103
4.4.3 Análise de nutrientes e contaminantes em fertilizantes	105
4.5 Estudo comparativo com outro sistema CE–C⁴D desenvolvido	108
5 CONCLUSÕES	120
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a determinação de elementos tóxicos como cádmio, chumbo, cromo e tálio tem se tornado muito importante do ponto de vista ambiental e clínico, pois o aumento da atividade industrial tem gradualmente mobilizado muitos destes elementos da crosta terrestre aumentando sua concentração em muitos ambientes naturais [KLAASSEN *et al.*, 1996].

Existem muitas espécies químicas, presentes em sistemas naturais e biológicos, que em baixas concentrações apresentam caráter tóxico ou essencial ao ser humano. Neste contexto, a química analítica tem um importante campo de aplicação na área clínica porque pode contribuir com metodologias que auxiliem na identificação e quantificação de elementos traço.

A eletroforese capilar (CE) tem sido muito empregada como método analítico para a separação de cátions metálicos em diversos tipos de amostras. O princípio de separação da CE se baseia 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 principal vantagem da CE em relação às outras técnicas de separação é a maior eficiência e resolução obtidas em um tempo menor de análise, baixo consumo de reagentes e amostras, simplicidade do equipamento utilizado e alto grau de automação [JAGER & TAVARES, 2001].

Devido à pequena quantidade de material introduzida no capilar, o desenvolvimento de sistemas de detecção continua em destaque ainda hoje, após aproximadamente três décadas desde a sua introdução no formato atual [MIKKERS *et al.*, 1979; JORGENSON & LUKACS, 1981]. Os sistemas de detecção em CE seguem, *a priori*, os mesmos esquemas utilizados em cromatografia líquida, sendo classificados basicamente em métodos ópticos, eletroquímicos, além de métodos acoplados [FRACASSI DA SILVA, 2003]. Atualmente, os métodos de detecção mais difundidos em CE são a absorção no UV-Vis e a fluorescência.

Desde a sua introdução, a detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (CE-C⁴D) tem demonstrado ser uma boa alternativa para a determinação de íons pequenos separados por eletroforese capilar de zona (CZE), principalmente devido à sua universalidade e ao fato de, em condições normais, oferecer sensibilidade superior à detecção indireta por absorção no UV, com a

vantagem adicional de não requerer a abertura de janelas no capilar, aumentando a sua durabilidade e facilitando a sua utilização [KUBÁN & HAUSER, 2008]. A CE-C⁴D possibilita a determinação rápida e simultânea de íons metálicos com limites de detecção da ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$ [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002; BÖCKEL *et al.*, 2005]. Além disso, a CE-C⁴D é vantajosa em comparação a outros métodos analíticos de separação principalmente em relação à simplicidade instrumental e aos baixos custos envolvidos na construção e manutenção do equipamento.

Atualmente, uma tendência atual em grupos de pesquisa é a construção de sistemas de CE-C⁴D em laboratório. Isto se deve ao fato dos custos de um equipamento construído serem significativamente menores em relação aos equipamentos comercialmente disponíveis. Além disso, a construção destes sistemas em laboratórios de pesquisa tem contribuído significativamente para o desenvolvimento da instrumentação e de métodos analíticos para CE.

Este trabalho descreve a construção de um sistema CE-C⁴D com manipulação de soluções completamente automatizada empregando dois carrosséis de amostragem acoplados ao sistema. A detecção por C⁴D é baseada nos protótipos descritos na literatura [FRACASSI DA SILVA, 2001; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002; BÖCKEL *et al.*, 2005]. Além do sistema de detecção, desenvolvido um *software* genérico em linguagem Delphi versão 7.0 para controle e aquisição de dados do sistema CE-C⁴D. Neste trabalho, sabendo da dificuldade de se obter uma separação satisfatória de metais de transição devido à semelhança pronunciada dos valores de condutância equivalente, o equipamento construído foi utilizado no desenvolvimento de um novo método para a análise simultânea dos cátions metálicos Zn(II), Cr(III), Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II) e Tl(I) em amostras de matrizes distintas. Uma solução contendo a mistura MES/His e metanol como aditivo foi empregada como eletrólito de trabalho, sendo eficaz na separação e determinação dos 8 cátions em amostras reais empregando o sistema eletroforético desenvolvido.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Eletroforese capilar (CE)

2.1.1 Introdução à técnica

O fenômeno de eletromigração originado quando uma diferença de potencial é aplicada a uma solução contendo eletrólito causando a separação de partículas carregadas já é conhecido a mais de 100 anos.

A eletroforese capilar, ou CE, é uma técnica relativamente jovem usada para separar uma variedade de compostos, a qual se baseia 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.

Dentre as técnicas de eletromigração em capilares, a CE é a modalidade mais utilizada, devido à facilidade de implementação e otimização das condições de análise. A importância da CE na análise de misturas complexas decorre da sua alta eficiência de separação, baixo consumo de reagentes e amostras, tempos de análise reduzidos, simplicidade do equipamento utilizado e alto grau de automação. Além disso, várias classes de compostos em diferentes matrizes podem ser analisadas – desde íons inorgânicos pequenos até macromoléculas, portadores ou não-portadores de cargas [TAVARES, 1996; TAVARES, 1997]. Atualmente, possui um amplo leque de aplicações, sobretudo na química, bioquímica, biologia molecular, genética, análises clínicas e medicina. Como exemplo, pode-se citar a análise conhecida como “teste do pezinho”, onde se busca detectar precocemente certas substâncias no sangue que indicam uma doença do metabolismo chamada fenilcetonúria. Há também disponível ampla literatura que descreve métodos de análise por CE [WEINBERGER, 1993; BAKER, 1995; LI, 1992; KOK, 2000], incluindo alguns artigos de revisão em Língua Portuguesa que envolvem fundamentos das técnicas eletroforéticas de separação [TAVARES, 1996; TAVARES, 1997; COLOMBARA *et al.*, 1997; JAGER & TAVARES, 2001].

2.1.2 Breve histórico da CE

A eletroforese foi primeiramente introduzida em 1937, por Tiselius [TISELIUS, 1937], no estudo de proteínas do soro sanguíneo humano. Neste trabalho, visualizou a potencialidade da eletroforese como uma técnica de separação ao colocar uma mistura de proteínas em um tubo preenchido com uma solução tampão e nela aplicando um campo elétrico. Verificou assim que os componentes da amostra migraram com direção e velocidade determinadas pela carga e tamanho das espécies. Por este trabalho pioneiro, Tiselius recebeu o prêmio Nobel em 1948. Desde então, a eletroforese tem sido largamente empregada como uma técnica de separação para biomoléculas.

Em 1967, Hjérten [HJÉRTEN, 1967] publicou o primeiro artigo sobre análise de cátions em CE (separação de Bi(II) e Cu(II) com ácido láctico como agente complexante). Neste trabalho, Hjérten conseguiu minimizar o efeito de convecção causado pela geração de calor devido à passagem de corrente elétrica através da solução, empregando um tubo de quartzo, em rotação, com dimensões de 300 μm de diâmetro interno (d. i.) e 36 cm de comprimento, utilizando detecção ultra-violeta (UV). Desde então, disseminou-se o uso de capilares com d. i. cada vez menor, o que permitiu aumentar a intensidade do campo elétrico sem necessidade de rotação do capilar [WEINBERGER, 2000]. Em outro trabalho, Mikkers e colaboradores [MIKKERS *et al.*, 1979] separaram uma mistura de 16 ânions, em cerca de 10 minutos, por eletroforese de zona, em capilares de Teflon de diâmetro pequeno (200 μm), empregando detecção por condutividade e UV.

O surgimento da CE, em uma configuração essencialmente como a que conhecemos nos dias de hoje, foi em 1981 com a publicação de um artigo de Jorgenson e Lukacs [JORGENSON & LUKACS, 1981]. Para as separações eletroforéticas, foram utilizados capilares de quartzo amorfo com 75 μm de d. i., o que minimizou o alargamento de zona (largura dos picos no eletroferograma), além de possuir melhores propriedades ópticas para a detecção. Jorgenson também esclareceu a teoria, descreveu as relações entre os parâmetros operacionais e qualidade de separação, e demonstrou o potencial da eletroforese capilar de alta eficiência (HPCE) como uma técnica analítica.

A partir de 1983, o número de artigos envolvendo aspectos instrumentais e aplicações da CE cresceu vertiginosamente. Merece destaque também a introdução,

em 1984, da cromatografia micelar eletrocinética (MEKC) por Terabe e colaboradores [TERABE *et al.*, 1984], que possibilitou a separação de compostos neutros por CE. O que se seguiu, como processo natural, foram contribuições no sentido do aprimoramento instrumental da técnica e aplicações aos mais variados tipos de substâncias e matrizes e, em 1987, seria lançado o primeiro equipamento comercial de CE.

Nos últimos anos, a CE está bem estabelecida como técnica analítica de separação. Ela vem sendo utilizada como uma alternativa bastante atraente para a análise de uma variedade de solutos de importância ambiental, biomédica, clínica e industrial. Atualmente, a CE possui uma ampla aceitação no âmbito acadêmico, tendo também demonstrado surpreendente desenvolvimento no meio industrial. No Brasil, esta técnica é ainda muito pouco difundida, apesar da excelência de seu desempenho analítico, da diversidade de suas aplicações e da simplicidade e relativo baixo custo dos insumos necessários para análise. O rápido avanço da CE decorreu principalmente da variedade dos modos de separação que podem ser efetuados em uma única coluna e da diversidade dos compostos passíveis de análise em cada modalidade [TAVARES, 1997].

2.1.3 Princípios teóricos da CE

Um aspecto interessante a ser considerado na CE é a simplicidade da instrumentação. O principal componente no aparato necessário para a realização de uma separação por CE é um tubo cujas dimensões são da ordem de micrometros. Pelo fato de possuir pequenas dimensões, é denominado capilar, emprestando assim seu nome à técnica. Seu formato está ilustrado na Figura 1.

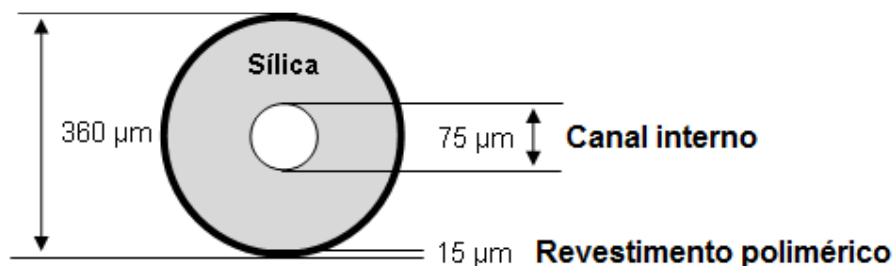


Figura 1 – Capilar utilizado em CE exibindo seu formato.

Tipicamente, o capilar é utilizado com um comprimento de 50 cm e um diâmetro interno de 50 μm ou 75 μm . É formado por uma camada de sílica fundida (uma forma pura de dióxido de silício amorfo) de 127,5 μm de espessura (conforme a figura acima) cuja função, além de constituir o tubo em si, é de promover um isolamento elétrico entre seu interior e exterior. Existe ainda uma cobertura externa de 15 μm composta por um material polimérico (p. ex. poliimida) cuja principal função é a de dar proteção contra choques mecânicos.

O capilar é o palco onde acontecem os fenômenos que fundamentam a técnica e que serão apresentados e discutidos mais adiante.

A Figura 2 mostra os componentes necessários para uma montagem básica de um sistema eletroforético, que são os seguintes:

- Uma fonte de alta tensão (FAT): usada para propiciar o alto campo elétrico ao longo do capilar;
- Um capilar de sílica fundida: preenchido com um eletrólito de trabalho e mergulhado em dois reservatórios contendo o eletrólito;
- Dois eletrodos de platina (Pt): para conexão com a FAT;
- Um detector apropriado;
- Um sistema de aquisição e tratamento de dados.

Além dos itens descritos acima, também são necessários: um isolamento do sistema, que assegure a segurança do analista; um ambiente termostaticado, para se ter um controle de temperatura dentro do sistema; e um dispositivo que permita a introdução da amostra no capilar.

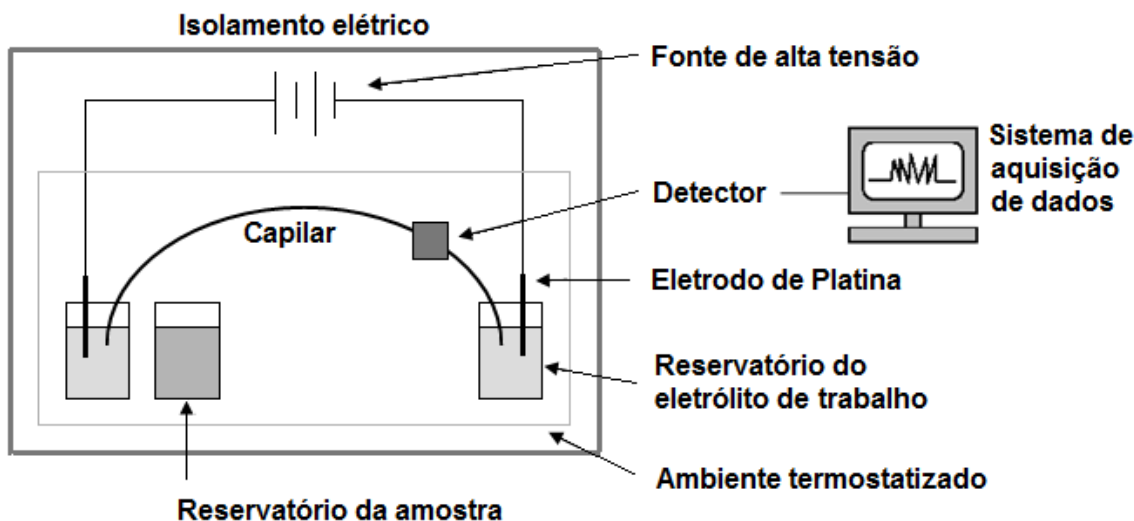


Figura 2 – Desenho esquemático dos componentes básicos de um sistema eletroforético.

O fenômeno de eletroforese é definido como a migração de partículas carregadas em uma solução sob a influência de um campo elétrico. Diferentes partículas com cargas e/ou tamanhos diferentes migram com velocidades diferentes: este é o princípio básico de todos os métodos eletroforéticos de separação [KOK, 2000].

A força elétrica ($F_{elétrica}$) exercida em uma partícula i em solução é dada por um produto envolvendo a carga da partícula (z_i), a carga elementar ($e = 1,602 \times 10^{-19}$ C) e o campo elétrico aplicado ($E = V\text{ cm}^{-1}$) na solução:

$$F_{elétrica} = z_i e E \quad (1)$$

É claro que a direção da força é ao eletrodo com carga oposta ao da partícula. Sob a influência da força eletrostática a partícula carregada é acelerada e começa a migrar. Em solução, seu movimento é então retardado pela força de atrito (F_{atrito}), que aumenta proporcionalmente com a velocidade v da partícula. Para uma partícula esférica a força de atrito é dada pela equação de Stokes:

$$F_{atrito} = 6\pi\eta r_i v_i \quad (2)$$

onde η é a viscosidade da solução ($\text{g cm}^2 \text{s}^{-1}$) e r_i o raio iônico hidratado da partícula (cm).

Além das duas forças descritas anteriormente, durante a migração de um íon e de sua esfera iônica, sob influência de um campo elétrico, também atuam forças de retardamento ($F_{\text{retardamento}}$) e de relaxação ($F_{\text{relaxação}}$), como ilustrado na Figura 3. Estas estão associadas à presença da esfera iônica, e, portanto, são mais difíceis de quantificar. O retardamento aparece porque a esfera iônica possui carga oposta à do íon e, conseqüentemente, tende a migrar em direção oposta. A relaxação se relaciona à tendência da esfera iônica em se redistribuir simetricamente ao redor do íon. Entretanto, como o íon está em movimento constante, existe um tempo finito para a esfera iônica se rearranjar. O resultado é um alongamento da esfera iônica em relação à posição central do íon [TAVARES, 1996].

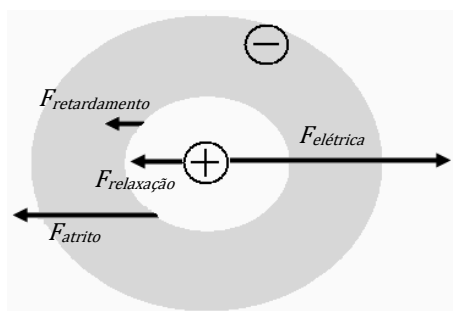


Figura 3 – Forças atuantes em um íon e sua esfera iônica durante a migração eletroforética. Adaptado de TAVARES, 1996.

Depois de um tempo de aceleração (muito pequeno) a resultante de forças (elétrica e atrito) é nula e a partícula então se move com uma velocidade constante através da solução:

$$v_i = \frac{z_i e E}{6\pi\eta r_i} \quad (3)$$

É bom perceber que sob condições normais em CE, as velocidades de migração típicas são na ordem de alguns milímetros por segundo. Para uma

comparação mais fácil de dados experimentais obtidos, a mobilidade iônica μ_i tem sido definida como:

$$\mu_i = \frac{v_i}{E} \quad (4)$$

A dimensão de mobilidade é $\text{cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$. Das equações acima segue que a mobilidade de uma partícula esférica pode ser escrita como:

$$\mu_i = \frac{z_i e}{6\pi\eta r_i} \quad (5)$$

Fica claro que, em CE, diferentes íons podem ser separados quando estes diferem tanto na carga (z_i) ou no raio (r_i), ou melhor, quando existir diferença na relação carga/tamanho. É bom ressaltar que, em solução, r_i é o raio do íon hidratado, pois um íon em uma solução aquosa está cercado por moléculas de água fortemente ligadas cujos dipolos elétricos são atraídos para o íon carregado eletricamente. A Tabela 1 mostra os valores dos raios iônicos hidratados de alguns cátions inorgânicos, calculados a partir dos valores de condutâncias equivalentes limites das espécies iônicas (λ_0), conforme a equação abaixo [BAKER, 1995]:

$$r_i = \frac{8,19 \times 10^7 z_i}{\lambda_0} \quad (6)$$

Analisando a Tabela 1, percebe-se que a mobilidade de um íon Ca(II) é mais elevada do que do íon Ni(II), pelo fato de se ligarem um número menor de moléculas de água. E também quanto maior a carga do íon, maior será a sua atração por moléculas de água (por exemplo, Ni(II) > Na(I)).

Tabela 1 – Raio iônico hidratado r_i (em cm) de alguns cátions inorgânicos.

Cátion	$10^8 r_i$	Cátion	$10^8 r_i$	Cátion	$10^8 r_i$
Na(I)	1,624	Cu(II)	3,000	Mg(II)	3,088
Pb(II)	2,297	Cd(II)	3,039	Co(II)	3,150
Ca(II)	2,750	Zn(II)	3,046	Ni(II)	3,244

A parede interna de um capilar de sílica fundida é revestida com grupos silanol (Si–OH), os quais apresentam um caráter ácido. Em contato com o meio aquoso, alguns desses grupos são ionizados, e com a ionização, a superfície do capilar se torna negativamente carregada (Si–O⁻), visualizado na Figura 4 (B). O aparecimento destas cargas na superfície do capilar é balanceado pela interação eletrostática de cátions da solução, causando o aparecimento da dupla camada elétrica (DCE). O modelo combinado da DCE, de Gouy-Chapman-Stern-Grahame, prevê uma camada compacta imóvel onde os cátions estão fortemente adsorvidos, adjacente à superfície negativa, que neutraliza parcialmente a carga negativa, mas segundo este modelo a presença de moléculas de solvente e mesmo de ânions da solução também é plausível. Na medida em que a distância da superfície aumenta, a interação dos cátions da solução vai se tornando mais fraca, dando origem à região difusa da DCE. A distribuição dos cátions segue o mesmo perfil de potencial (Ψ) exibido ao longo da DCE. A Figura 4 (A) ilustra a estrutura da DCE segundo este modelo [TAVARES, 1996; HARRIS, 2001].

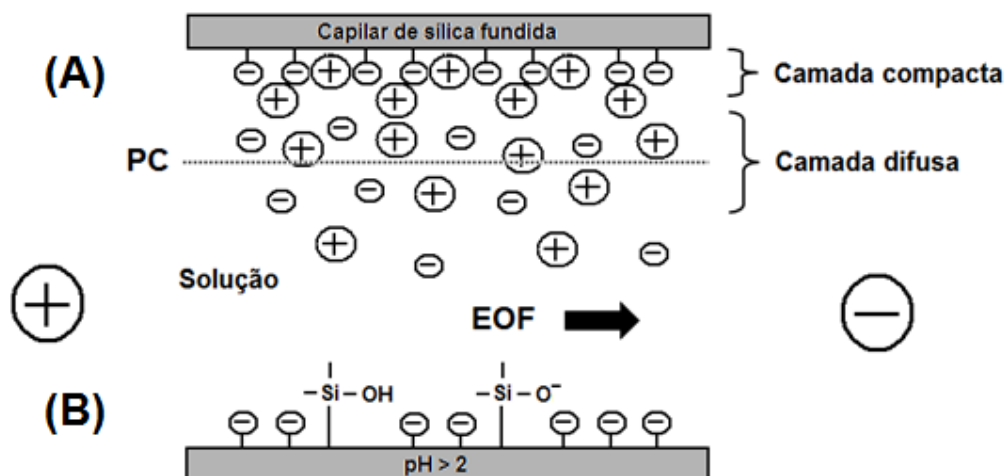


Figura 4 – Modelo para a interface capilar/solução: (A) Dupla camada elétrica criada pela superfície do capilar carregada negativamente e pelos cátions que se encontram próximos. PC refere-se ao plano de cisalhamento; (B) A predominância de cátions na parte difusa da dupla camada produz um fluxo eletrosmótico (EOF) na direção do cátodo sob ação de um campo elétrico.

Quando um campo elétrico é estabelecido ao longo do capilar, há a movimentação dos cátions da solução em direção ao cátodo, e dos ânions em direção ao ânodo. Como as cargas negativas da superfície do capilar não se movimentam, ocorre uma redução drástica na velocidade de migração dos cátions eletrostaticamente a elas ligados. Por outro lado, os cátions da camada difusa, fracamente ligados, também migram em direção ao cátodo, arrastando consigo as moléculas neutras do solvente. A movimentação das moléculas de solvente com relação a uma superfície carregada sob ação de um campo elétrico denomina-se eletroosmose.

Um fenômeno importante que acompanha a eletroforese é a geração do fluxo eletrosmótico, que resulta das interações entre a parede do capilar e o eletrólito de trabalho. A velocidade do fluxo de solvente (v_{eo}), ou EOF, é proporcional ao campo elétrico aplicado:

$$v_{eo} = \mu_{eo} E \quad (7)$$

onde μ_{eo} é a constante de proporcionalidade denominada de mobilidade do fluxo eletrosmótico.

A mobilidade do fluxo depende de fatores como a constante dielétrica (ϵ) e a viscosidade (η) da solução, e do potencial definido no plano de cisalhamento na região difusa, ou potencial zeta (ζ):

$$\mu_{eo} = \frac{\zeta \epsilon}{4\pi\eta} \quad (8)$$

O fluxo eletrosmótico dentro do capilar em CE é caracterizado por um perfil radial constante, que não induz a dispersão das bandas e garante a alta eficiência da separação eletroforética, como ilustrado na Figura 5, em comparação com técnicas que utilizam pressão para movimentar a solução, como ocorre em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Neste último caso o perfil do fluxo é laminar, favorecendo a dispersão radial das bandas.

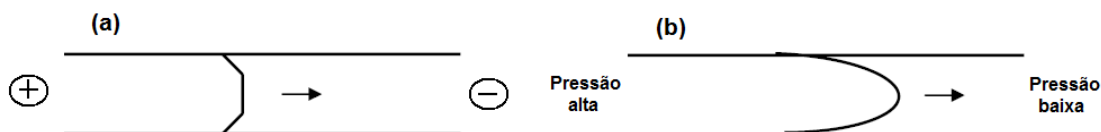


Figura 5 – Perfil do fluxo: (a) eletrosmótico (CE) e (b) laminar (HPLC).

Devido à presença do EOF, a velocidade aparente (v_a) dos íons deve ser vetorialmente somada à velocidade do fluxo:

$$v_a = (\mu_{ef} + \mu_{eo}) E \quad (9)$$

É possível determinar o tempo de migração (t_m), ou seja, o tempo que o íon leva para alcançar o detector a partir do ponto de injeção, utilizando as informações de mobilidade e parâmetros operacionais:

$$t_m = \frac{L_{ef} L}{(\mu_{ef} + \mu_{eo}) V} \quad (10)$$

onde L_{ef} é a distância do ponto de injeção até o detector, L é o comprimento total do capilar e V é o potencial aplicado.

A existência de EOF tem importantes implicações na CE, pois contribui para a automação da técnica, permitindo a introdução da amostra e detecção diretamente no capilar. Além disso, o EOF é responsável pela condução dos solutos no interior do capilar, sem distinção de carga, em direção ao detector, o que possibilita a análise simultânea de cátions, ânions e espécies neutras.

2.1.4 Separação de metais por eletroforese capilar de zona (CZE)

A CE pode ser considerada como um nome coletivo para um número de diferentes modos de separação eletroforética. Dentre as modalidades conhecidas de separação mediadas por campo elétrico [TAVARES, 1997], utilizou-se neste trabalho a eletroforese capilar de zona (CZE). Outros modos de separação existem, chamados eletroforese capilar em gel (CGE), cromatografia micelar eletrocínética (MEKC), isotacoforese (ITP), focalização isoeletrica (IEF) e eletrocromatografia capilar (CEC). Explicações detalhadas sobre estes modos de separação podem ser encontradas na bibliografia da área [KUHN, 1993; TAVARES, 1996; TAVARES, 1997].

A CZE é um dos modos de separação mais utilizados na prática, provavelmente em razão da facilidade de sua implementação e otimização das condições experimentais. Em CZE, o capilar é preenchido com um eletrólito de trabalho, geralmente com características tamponantes, e a amostra é introduzida neste meio como uma banda de pequena espessura, como visualizado na Figura 6 (A). Com a aplicação do potencial, e devido às diferenças na mobilidade efetiva (μ_{ef}) entre os diferentes componentes da amostra, estes se separam em zonas distintas (A, B, C), conforme ilustrado na Figura 6 (B). Em CZE, após a separação, as fronteiras móveis são sempre definidas entre as zonas dos analitos e do eletrólito de trabalho. Não existe restrição de mobilidade entre os analitos e o co-íon do eletrólito de trabalho, mas a sua relação é determinante do formato dos picos obtidos, além de influenciar a sensibilidade em determinados sistemas de detecção [FRACASSI DA SILVA, 2001].

O registro do sinal do detector é denominado eletroferograma (Figura 6 (C)), onde no eixo das abscissas está o tempo decorrido na análise (geralmente em minutos) e no eixo das ordenadas está o sinal dos analitos que passaram pela zona de detecção. Em um eletroferograma, a altura ou área do pico detectado relata a concentração de um composto em questão na solução da amostra.

A separação de cátions metálicos por CZE é geralmente realizada sob condições normais de fluxo eletrosmótico (em direção ao cátodo) e polaridade, onde a amostra é injetada na extremidade anódica do capilar e detectada na extremidade catódica. Nestas condições, análises rápidas de metais alcalinos, alcalino-terrosos, metais de transição e de transição interna são realizadas com boa eficiência de separação.

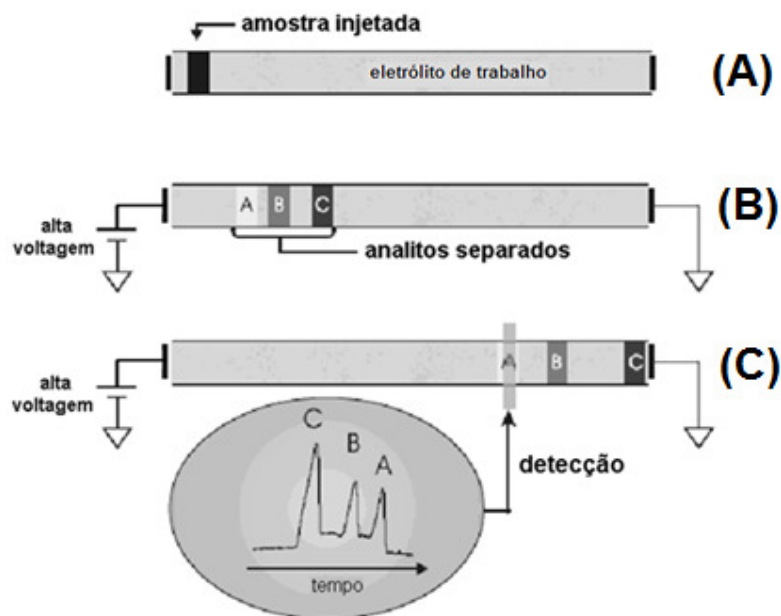


Figura 6 – Seqüência de eventos na separação por CZE: (A) A amostra é injetada entre o eletrólito de trabalho; (B) As zonas dos analitos (A, B, C) presentes na amostra separam-se e deslocam-se em direção ao detector com velocidades distintas; (C) Detecção dos analitos e obtenção de um eletroferograma.

A partir das informações obtidas nos eletroferogramas, a resolução (R) e a eficiência da separação (N) podem ser calculadas através das equações 11 e 12, respectivamente.

$$R_{2,1} = 2 \left(\frac{t_{m2} - t_{m1}}{W_1 + W_2} \right) \quad (11)$$

$$N = 5,54 \left(\frac{t_m}{W_{1/2}} \right)^2 \quad (12)$$

onde t_{mi} e W_i são, respectivamente, o tempo de migração e a largura do pico para o analito i , e $W_{1/2}$ é a largura à meia altura do pico.

2.1.5 Detecção de metais em CE

Os métodos de detecção em CE são similares aos adotados em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Em todos os casos, devido ao reduzido diâmetro interno do capilar, a célula de detecção possui um volume muito inferior aos utilizados em HPLC, o que cria a necessidade de sistemas de detecção bastante sensíveis. De fato, vários esforços têm sido conduzidos no sentido do aprimoramento destes sistemas e no desenvolvimento de estratégias de aumento dos limites de detecção (LOD) [ALBIN *et al.*, 1993].

Os métodos de detecção são classificados em:

- (1) Ópticos – absorção de radiação no UV–Vis ou infravermelho, fluorescência, Raman, quimiluminescência e absorbância termo-óptica;
- (2) Eletroquímicos – amperométricos, potenciométricos, voltamétricos, condutométricos e oscilométricos (ou condutométricos sem contato);
- (3) Acoplados – sistemas acoplados à espectrometria de massa, espectrometria de emissão por plasma indutivamente acoplado, fotometria de chama e ressonância magnética nuclear;
- (4) Outros – métodos de detecção menos comuns como o radiométrico e de vibração induzida por *laser*.

Em CE, os LOD obtidos normalmente expressam a sensibilidade característica do método empregado. Além disso, é comum em CE referir-se à quantidade mínima de material que se pode detectar (em mols) em detrimento ao LOD expresso em concentração. Isto é devido aos baixos volumes empregados em CE. A Tabela 2 [JAGER & TAVARES, 2001] mostra os valores de LOD para cátions metálicos analisados em sistemas de detecção utilizados em CE.

Tabela 2 – Limites de detecção (LOD) típicos para cátions metálicos nos sistemas de detecção utilizados em eletroforese capilar.

Modo de detecção	LOD (mol L⁻¹) para cátions
Absorção	
Direta	$10^{-6} - 10^{-7}$
Indireta	$10^{-6} - 10^{-7}$
Fluorescência	
Direta (<i>laser</i>)	$10^{-6} - 10^{-7}$
Indireta	10^{-6}
Condutividade	$10^{-7} - 10^{-9}$
Amperometria	$10^{-6} - 10^{-7}$
ICP-MS	$10^{-8} - 10^{-10}$
Lentes térmicas	10^{-8}

Analisando a tabela acima se pode notar que, no caso da detecção de cátions metálicos em CE, o sistema de detecção condutométrico apresenta uma sensibilidade maior que o sistema de detecção por absorção no UV-Vis. Contudo, o modo de detecção mais empregado, até o momento, na separação de cátions por CZE é a detecção UV-Vis (direta ou indireta) [TAVARES, 1997; JAGER & TAVARES, 2001]. Este tipo de detecção requer, na maioria das vezes, o uso de espécies absorventes no eletrólito de trabalho para a detecção indireta, uma vez que cátions metálicos não apresentam absorção na região do espectro UV-Vis. A principal desvantagem da detecção UV para a determinação de cátions metálicos

em CZE é a sua baixa sensibilidade, devido ao pequeno diâmetro interno do capilar de sílica que serve como caminho ótico para a medida fotométrica.

Além da absorção UV–Vis, a detecção indireta por fluorescência também pode ser empregada na separação de cátions metálicos por CZE. A detecção por fluorescência direta, na maioria dos casos, necessita da derivatização dos íons metálicos para produzir sinal detectável. Da mesma maneira que na detecção indireta por absorção, a detecção indireta de fluorescência, utilizando-se um eletrólito com propriedades fluorescentes, também pode ser realizada para cátions metálicos [JAGER & TAVARES, 2001].

Apesar da detecção óptica (absorção e fluorescência) ser a mais comumente utilizada em CE, nos últimos anos, as técnicas eletroquímicas de detecção têm encontrado um grande campo de atuação.

2.1.6 Detecção eletroquímica em CE

Após aproximadamente 20 anos de desenvolvimento sobre os sistemas de detecção eletroquímica (ED) em CE, hoje conta-se com uma grande variedade de montagens de detectores, e as grandes dificuldades no posicionamento do eletrodo e interferência do campo elétrico de separação foram praticamente solucionadas. Com as modalidades de técnicas eletroanalíticas disponíveis, praticamente todas as classes de compostos podem ser analisadas por CE–ED, sendo que na maioria dos casos com ótima sensibilidade, o que viabiliza aplicações em diferentes ambientes e matrizes.

A detecção amperométrica (AD) é um método sensível e apresenta boa seletividade, na qual são passíveis de análise todas as espécies eletroativas no potencial de trabalho selecionado. Da mesma forma, a detecção potenciométrica (PD) responde somente a uma restrita classe de compostos. Tais técnicas seletivas (PD e AD) têm sido utilizadas na determinação e eliminação de interferentes previamente separados por CE. Além disso, a detecção voltamétrica (VD) possibilita a caracterização eletroquímica dos picos obtidos, fornecendo informações importantes na diferenciação dos analitos separados. Por outro lado, na detecção condutométrica (CD), como a corrente medida é uma propriedade da solução analisada, nenhuma seletividade é encontrada neste tipo de detecção, o que pode

ser interessante do ponto de vista de detecção universal, sendo uma vantagem quando aplicada a técnicas de separação [FRACASSI DA SILVA, 2003].

2.1.6.1 Detecção condutométrica em CE

Desde a sua introdução, a detecção condutométrica (CD) tem demonstrado ser uma boa alternativa para a determinação de íons pequenos separados por CZE [FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2003]. Isto é devido à sua universalidade para a determinação de espécies carregadas e ao fato da detecção por absorção no UV-Vis não ser ideal para detecção sensível de íons pequenos [KUBÁN & HAUSER, 2008].

A CD é, em princípio, um método de detecção universal desde que os analitos forneçam uma diferença de condutividade mensurável em relação ao eletrólito. A condutância de uma solução (G) é dependente da área do eletrodo (A), da distância entre os eletrodos (l), das concentrações (c_i) de todas as espécies carregadas e de sua condutividade molar (λ_i), de acordo com a Equação 13:

$$G = \frac{A}{l} \sum \lambda_i c_i \quad (13)$$

Este tipo de detecção pode ser conduzido por dois modos diferentes: (i) modo com contato e; (ii) modo sem contato. No modo convencional (com contato), os eletrodos são posicionados diretamente em contato com a solução, fato que pode gerar alguns problemas na presença de um campo elétrico, como é o caso das separações eletroforéticas. Dentre os possíveis problemas, destaca-se a formação de bolhas causadas pela eletrólise e também a degradação do eletrodo. Além disso, a presença de um campo elétrico requer uma proteção adequada do circuito eletrônico do detector para eliminar possíveis interferências elétricas. No modo sem contato, os eletrodos são posicionados do lado externo de um microcanal ou de um capilar (sem contato com a solução), prevenindo os problemas relacionados ao modo com contato [VANDERVEER *et al.*, 2004].

A CD empregada em CE teve como origem trabalhos aplicados à isotacoforese (ITP), há cerca de 30 anos [VAN DER STEEN *et al.*, 1972]. O método envolve, na sua versão mais simplificada, a aplicação de um sinal senoidal, da ordem de milhares de Hertz, a dois microeletrodos de platina posicionados adequadamente sobre o capilar. A corrente alternada que flui pelos eletrodos relaciona-se com as dimensões da célula condutométrica e com a condutância da solução entre os eletrodos e, conseqüentemente, com a composição iônica da solução analisada [FRACASSI DA SILVA, 2003].

No trabalho publicado por Steen e colaboradores [VAN DER STEEN *et al.*, 1972] foram utilizados capilares de 0,45 mm (d. i.) onde dois cilindros metálicos foram perfeitamente acoplados ao capilar. Subseqüentemente, os eletrodos foram conectados a um condutivímetro convencional.

Em 1979, em um trabalho de fundamental importância para a técnica de CE, Mikkers e colaboradores [MIKKERS *et al.*, 1979] utilizaram um detector baseado na medida do potencial desenvolvido entre dois eletrodos inseridos no capilar. Isto é, de fato, uma medida indireta da condutividade do meio eletrólito entre os eletrodos, uma vez que o campo elétrico que recai sobre as zonas é proporcional à sua resistência elétrica. Neste trabalho pioneiro, foi demonstrada a separação de diversos ânions orgânicos e inorgânicos em capilar de poli(tetrafluoretileno) de 200 µm (d. i.).

Durante as décadas de 80 e 90 do século XX, muitos trabalhos foram publicados abordando aspectos teóricos, construção e aplicações de detectores condutométricos em CE. Um breve histórico da maioria destes trabalhos está relatada em um artigo que fala sobre a detecção eletroquímica em CE [FRACASSI DA SILVA, 2003].

Um grande número de compostos iônicos tem sido separado e analisado usando CZE com CD, principalmente após o lançamento no mercado de aparelhos comerciais munidos de CD [HABER, *et al.*, 1996; JONES *et al.*, 1996]. A determinação do fluxo eletrosmótico [WANDERS *et al.*, 1993] e o estudo dos seus modificadores [GOVINDARAJU *et al.*, 1997], bem como a determinação da mobilidade de monoaminas [FU & LUCY, 1998] e a previsão do formato de picos [GEBAUER *et al.*, 1997], têm sido conduzidas com o auxílio deste tipo de detecção.

Uma grande variedade de amostras tem sido analisadas, como pode ser demonstrado na determinação de ânions em matrizes ambientais [VALSECCHI *et*

al., 1997; KANIANSKY *et al.*, 1996; ROSSO & BOSSLE, 1998; HISSNER *et al.*, 1999], bebidas [KLAMPFL & KATZMAYR, 1998; KLAMPFL *et al.*, 1998; KLAMPFL, 1999], banhos para eletrodeposição [KLAMPFL *et al.*, 1998; KLAMPFL *et al.*, 1999] e peróxido de hidrogênio [MEISSNER *et al.*, 1998], íons inorgânicos em amostras de fluido pulmonar [GOVINDARAJU *et al.*, 1997], cátions em túbulos renais de ratos *in vivo* [STOCKING *et al.*, 1999]. Além disso, surfactantes têm sido separados e detectados indiretamente [GALLAGHER & DANIELSON, 1997; GALLAGHER *et al.*, 1998]. Particularmente interessante é a análise de traços por CE com CD. Kaniansky e colaboradores [KANIANSKY *et al.*, 1994] empregaram o acoplamento das técnicas de ITP e CZE na determinação de ânions como micro-constituintes em água de chuva. Haber e colaboradores utilizaram a isotacoforese transiente (t-ITP) para pré-concentração de ânions presentes em água de reatores nucleares [HABER *et al.*, 1998]. Utilizando adição de padrão, foram obtidos ótimo limite de detecção e boa reprodutibilidade, mesmo para injeção eletrocínica de amostra.

Considerações teóricas sobre o sistema de detecção condutométrica foram conduzidas por Katzmayer e colaboradores [KATZMAYR *et al.*, 1999] a respeito da otimização do tampão de trabalho para CD em CE. Os autores encontraram que as diferenças de condutância e a relação sinal-ruído são dependentes não somente das diferenças de mobilidade entre o analito e o co-íon do tampão, mas também do contra-íon utilizado. Lucy e Wu [LUCY & WU, 1998] consideraram os aspectos de calibração e de sensibilidade obtida para detecção direta e indireta para detecção condutométrica em CE.

A sensibilidade da CD em CZE está diretamente ligada à diferença de condutividade entre o eletrólito de trabalho e a zona do soluto que migra pelo capilar, ou mais precisamente, à diferença de mobilidade entre o contra-íon do eletrólito de trabalho e o íon analisado. Se a zona analisada possuir condutividade maior que o eletrólito de trabalho, então um pico positivo é registrado e a detecção é denominada direta. Se o contrário ocorrer, a zona possuir condutividade menor que o eletrólito, um pico negativo é registrado e a detecção é dita indireta. Portanto, o emprego de eletrólitos de trabalho de baixa condutividade é de fundamental importância possibilitando a detecção de íons metálicos com limites de detecção inferiores aos alcançados na detecção UV-Vis [FRACASSI DA SILVA, 2003].

2.1.6.1.1 Eletroforese capilar de zona com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (CZE-C⁴D)

A detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (C⁴D, *capacitively coupled contactless conductivity detection*), ou detecção oscilométrica, tem recebido atenção nos últimos anos como alternativa à detecção condutométrica convencional. Isto se deve ao alto custo dos instrumentos que empregam a detecção da condutividade pelo contato direto dos eletrodos com a amostra, uma vez que a sua construção requer modificações no sistema e geometria complicadas.

Na C⁴D, ao aplicar um sinal senoidal a um dos eletrodos, uma corrente alternada pode ser acoplada capacitivamente no eletrólito de trabalho e registrada no segundo eletrodo de medida [PUMERA, 2007; KUBÁN & HAUSER, 2008]. Isso é possível, porque os eletrodos formam capacitores com a solução eletrolítica utilizada. Estes capacitores são caracterizados pela impedância, X_c , também conhecida como reatância capacitiva, a qual é inversamente dependente da capacitância, C , que é calculada pela Equação 14:

$$X_c = \frac{1}{\omega C} \quad (14)$$

sendo que C representa a capacitância, e ω é dado por $(2\pi f)$.

Como observado na Equação 14, quanto maior a frequência de trabalho, menor a reatância capacitiva ou impedância que um capacitor oferece ao fluxo de carga, permitindo que as variações de condutividade da solução no interior do microcanal sejam observadas mesmo com os eletrodos posicionados do lado externo do capilar de separação.

No modo sem contato, o princípio de funcionamento não é fundamentalmente diferente da detecção condutométrica convencional (com contato). Em ambos os casos, os experimentos são conduzidos com sinais alternados de modo a garantir que as correntes medidas sejam provenientes da concentração e condutividade molar das espécies iônicas presentes na solução [KUBÁN & HAUSER, 2008], como demonstrado na Equação 13.

Devido à presença de uma camada isolante no modo sem contato, as capacitâncias são muito menores do que as capacitâncias da dupla camada dos eletrodos sem o isolamento elétrico. Deste modo, a frequência de trabalho precisa ser significativamente maior no modo sem contato [KUBÁN & HAUSER, 2008].

A CZE com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (CZE-C⁴D) possibilita a determinação rápida e simultânea de metais com limites de detecção da ordem de $\mu\text{mol L}^{-1}$ [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002; BÖCKEL *et al.*, 2005]. Em condições normais, a C⁴D oferece sensibilidade superior à detecção indireta por absorção no UV, com a vantagem adicional de não requerer a abertura de janelas no capilar, aumentando a sua durabilidade e facilitando a sua utilização [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; FRACASSI DA SILVA, 2001]. Além disso, a CZE-C⁴D é vantajosa em comparação a outros métodos analíticos de separação principalmente em relação aos baixos custos envolvidos na construção e manutenção do equipamento.

A C⁴D, consistindo em um arranjo radial, foi aplicada às técnicas de eletromigração no início dos anos 1980 para a determinação isotacoforética de ânions orgânicos e inorgânicos [GAS *et al.*, 1980; VACÍK *et al.*, 1985].

Em 1998, Zemann e colaboradores [ZEMANN *et al.*, 1998] e Fracassi da Silva e do Lago [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998] propuseram, de forma independente, a utilização da C⁴D como método de detecção para CE. 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. Os eletrodos foram confeccionados de dois tubos metálicos que foram cortados de uma agulha de seringa [ZEMANN *et al.*, 1998], ou formados diretamente na superfície do capilar pintando duas faixas com cola de prata condutora [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998]. Um espaço entre os eletrodos (*gap*) de poucos milímetros de comprimento (2 mm [ZEMANN *et al.*, 1998] e 1 mm [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998]) define o volume de detecção. Os protótipos construídos operam a 20 ou 40 kHz e 600 kHz, respectivamente. Como cada eletrodo forma um capacitor com a solução do eletrólito dentro do capilar, é possível passar uma voltagem alternada de alta frequência através da célula.

A simplicidade do formato da célula e do circuito atraiu a atenção de vários grupos de pesquisa e aperfeiçoamentos da célula de detecção axial têm sido publicados desde sua introdução, assim como uma ampla faixa de aplicações. C⁴D

tem sido empregada principalmente para analisar cátions e ânions inorgânicos [FRACASSI DA SILVA, 2003; MAYRHOFER *et al.*, 1999; MASÁR *et al.*, 1999; TANYANYIWA & HAUSER, 2002], assim como alguns compostos orgânicos [MUZIKÁR *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003; TANYANYIWA *et al.*, 2003; COUFAL *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, 2007], ambos em CE convencional e também em microchip [TANYANYIWA & HAUSER, 2002; WANG *et al.*, 2003]. Uma aplicação interessante de C⁴D é a detecção simultânea de cátions e ânions pela injeção em ambos lados do capilar enquanto o detector é posicionado no meio do mesmo [ZEMANN, 2002; KUBÁN *et al.*, 2002; UNTERHOLZNER *et al.*, 2002]. Recentemente, C⁴D tem também sido hifenada a outros sistemas analíticos, como exemplo a injeção em fluxo acoplada com CE-C⁴D [KUBÁN *et al.*, 2004]. Adicionalmente, no campo da separação, C⁴D também tem sido aplicada a HPLC [ALDER *et al.*, 1984; PAL *et al.*, 1988] e ITP [GAS *et al.*, 1980; VASÍK *et al.*, 1985].

Fracassi da Silva e do Lago [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998] em seu primeiro trabalho demonstraram que a frequência de operação tem um efeito pronunciado no sinal. Tuma e colaboradores [TUMA *et al.*, 2002] estudaram a influência da frequência, o comprimento do eletrodo e a distância dos eletrodos, e encontraram que eletrodos pequenos e frequências mais altas devem ser usados para se ter uma melhor sensibilidade. Zemann e colaboradores [ZEMANN *et al.*, 1998] e Kubán e colaboradores [KUBÁN *et al.*, 2002] encontraram que o comprimento do eletrodo não tem efeito significativo na eficiência da separação, intensidade do sinal e aparência dos eletroferogramas. Tanyanyiwa e colaboradores [TANYANYIWA *et al.*, 2002] propuseram uma excitação de célula em várias centenas de volts para melhorar a razão sinal-ruído. A otimização do sistema CE-C⁴D foi descrita por Fracassi da Silva e colaboradores [FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002] que construíram uma versão miniaturizada de C⁴D, e sugeriram que o uso de uma voltagem de excitação consideravelmente mais baixa de 2 V resultou no mesmo limite de detecção como o comumente usado de 20 V. A influência do diâmetro interno do capilar na resposta do detector foi considerada por Mayrhofer e colaboradores [MAYRHOFER *et al.*, 1999]. Kaniansky e colaboradores [KANIANSKY *et al.*, 1999] avaliaram alguns parâmetros do C⁴D proposto, como a característica de resposta, o ruído branco e sensibilidade. Fracassi da Silva e do Lago [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 2000] utilizaram detecção oscilométrica na detecção de alcoóis alifáticos separados por cromatografia micelar eletrocinética (MEKC)

demonstrando, pela primeira vez, a possibilidade de detecção condutométrica de espécies não iônicas, sem a necessidade de qualquer tipo de modificação na molécula.

A separação de metais alcalinos, alcalino-terrosos e de transição por eletroforese capilar de zona com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (CZE-C⁴D) já foi relatada na literatura [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; BÖCKEL *et al.*, 2005; ZEMANN *et al.*, 1998; TANYANYIWA & HAUSER, 2002; TAN *et al.*, 2005]. Na grande maioria destes trabalhos, soluções tampão contendo uma mistura de ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico (MES) e histidina (His) em pH entre 4,9 e 6,1 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 2-hidroxiisobutírico, ácido láctico, ácido málico e ácido tartárico para alterar as mobilidades eletroforéticas dos íons metálicos [FRACASSI DA SILVA, 2001; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002; JAGER & TAVARES, 2001; KUBAN *et al.*, 2002; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2003; MAYRHOFER *et al.*, 1999], além de solventes orgânicos como metanol para melhorar a resolução dos sinais no eletroferograma [FRACASSI DA SILVA, 2001; FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; ZEMANN *et al.*, 1998; JAGER & TAVARES, 2001; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2003]. Um exemplo da separação de alguns metais de transição por CZE-C⁴D é a separação de Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) empregando MES/His 10 mmol L⁻¹ (pH 4,9) e AcN 15% (v/v) [TAN *et al.*, 2005].

Vale ressaltar que os sistemas CE-C⁴D desenvolvidos por Fracassi da Silva e do Lago foram totalmente construídos em laboratório, sendo os primeiros sistemas CE-C⁴D desenvolvidos no Brasil. Desde então, a construção de sistemas deste tipo é uma alternativa muito interessante para laboratórios de pesquisa que estejam interessados no desenvolvimento da instrumentação e de métodos para CE, já que os custos destes foram significativamente menores em relação aos equipamentos comerciais.

Seguindo esta tendência, Böckel e colaboradores [BÖCKEL *et al.*, 2005] também construíram outro equipamento com sistema CE-C⁴D no Brasil. Este último está equipado com sistemas automáticos de injeção da amostra e de controle de temperatura do capilar. A aquisição do sinal do detector empregando um potenciostato permitiu o tratamento dos dados através do programa próprio deste

equipamento. Na separação de cátions e ânions inorgânicos em misturas, o equipamento construído reproduziu os resultados conhecidos da literatura, apresentando repetibilidade nos tempos de migração e boa resolução dos picos no eletroferograma.

Dado o alto potencial do detector de condutividade sem contato, um bom entendimento dos seus princípios de funcionamento é imprescindível. Diversas revisões sobre o assunto têm sido publicadas na literatura com o objetivo de dar ao leitor uma visão atualizada sobre a detecção por condutividade sem contato com arranjo axial em CE. Primeiramente, foram publicadas revisões sobre os métodos eletroquímicos de detecção em CE incluindo apenas discussões breves sobre o sistema C⁴D [WEINBERGER, 1993; BAKER, 1995; POLESELLO & VALSECCHI, 1999; FRITZ, 2000]. Em língua portuguesa, existe uma única revisão que relata sobre o assunto anterior [FRACASSI DA SILVA, 2003]. Revisões as quais enfocam especialmente a detecção por condutividade sem contato em CE, somente a partir de 2001 começaram a ser publicadas [ZEMANN, 2001; TANYANYIWA *et al.*, 2002; ZEMANN, 2003; KUBÁN & HAUSER, 2004; GUIJT *et al.*, 2004; BRITO-NETO *et al.*, 2005; SOLINOVÁ & VASICKA, 2006; KUBÁN & HAUSER, 2008].

As vantagens mencionadas ao sistema de detecção oscilométrica refletem diretamente no número de publicações inseridas no banco de dados da *ISI Web of Knowledge*. Como pode ser visualizado na Figura 7, há um constante aumento no número de publicações referentes ao método de detecção oscilométrico desde 1998. A pesquisa foi realizada com as seguintes palavras-chaves: *contactless conductivity detection or contactless conductivity detector or oscillometric detector*.

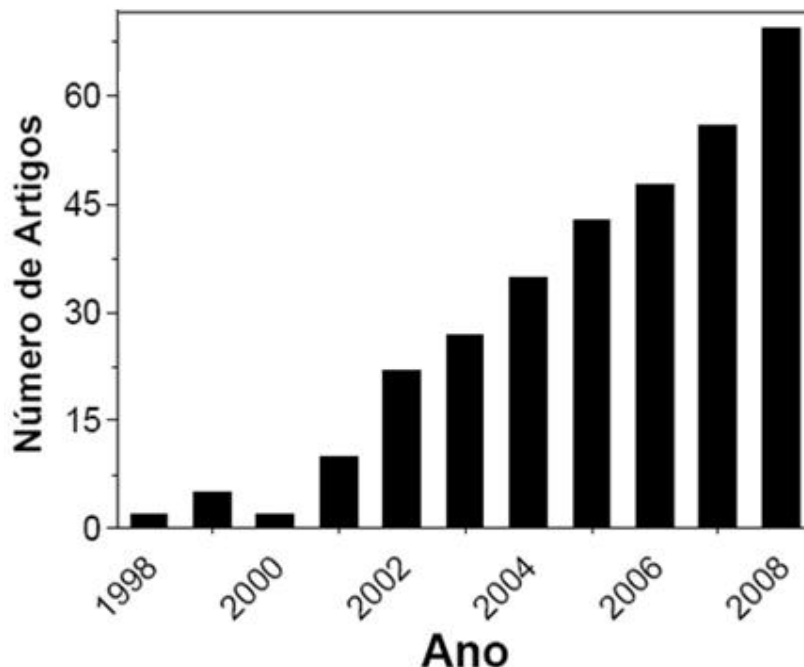


Figura 7 – Evolução do número de publicações com detecção condutométrica sem contato em função do ano. Os dados foram extraídos do banco de dados da *ISI Web of Knowledge* usando as seguintes palavras-chave: *contactless conductivity detection* ou *contactless conductivity detector* ou *oscillometric detector* em 20/01/2009.

2.2 Toxicidade e efeitos dos metais “estudados” na saúde humana

Todas as formas de vida são afetadas pela presença de metais dependendo da dose e da forma química. Muitos metais são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, desde as bactérias até mesmo o ser humano, mas eles são requeridos em baixas concentrações.

A classificação biológica dos metais tem sido baseada somente na toxicidade: 1) elementos essenciais: sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio; 2) micro-contaminantes ambientais: arsênio, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungstênio; e 3) elementos essenciais e simultaneamente micro-contaminantes: cromo, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel [METAIS PESADOS E SEUS EFEITOS].

No organismo dos seres humanos, os elementos traço podem ser divididos em essenciais e não-essenciais. Os primeiros são fundamentais para o

desenvolvimento e a manutenção da vida, devido à sua participação em diversos processos bioquímicos. Sua deficiência ou ausência na dieta ocasiona patologias carenciais. Por outro lado, o excesso destes elementos pode causar efeitos tóxicos ao organismo. Para alguns deles, a diferença entre a concentração considerada tóxica e essencial é muito pequena. Um metal pode atuar na atividade biológica de outro metal aumentando ou diminuindo sua toxicidade [WYNGAARDEN *et al.*, 1993; SAVORY & WILLS, 1992].

Os elementos não essenciais são aqueles que não participam do metabolismo humano e podem gerar sérios danos à saúde. A toxicidade de um metal ou composto metálico está relacionada diretamente aos níveis de concentração máximas toleradas num organismo. Estes elementos podem reagir com as proteínas, DNA, RNA e outras substâncias, afetando os processos metabólicos, resultando em mudanças fisiológicas. A contaminação devido a metais pode resultar em mudanças irreversíveis ou então em mudanças que podem ser revertidas pela remoção da exposição ao metal [ONAGA, 1996; FAVARON, 2005].

Os efeitos toxicológicos de contaminantes variam de uma espécie para outra. Segue abaixo uma breve descrição da toxicidade e de alguns efeitos benéficos que metais como Cd, Pb, Co, Cr, Cu, Ni, Tl e Zn podem oferecer ao homem.

2.2.1 Cádmio

O cádmio (Cd) é tóxico para os seres humanos e animais. Intoxicações leves por cádmio podem causar: salivação, fadiga, perda de peso, fraqueza muscular e disfunção sexual. Níveis moderadamente altos de cádmio, entre 4 a 8 $\mu\text{g L}^{-1}$, podem causar hipertensão, ao passo que níveis muito elevados podem causar hipotensão. Este metal afeta os rins, pulmões, testículos, paredes arteriais, ossos e interfere com muitos sistemas enzimáticos. [BIBLIOTECA DE INTOXICAÇÕES]. A sua concentração na água, solo, ar e alimentos varia consideravelmente, dependendo dos depósitos naturais e poluição ambiental [LARINI, 1987].

2.2.2 Chumbo

É um elemento não essencial, na maioria das vezes pode ser acumulado no organismo. A OMS estabelece uma ingestão semanal provisória tolerável de 3 mg por peso corpóreo de chumbo (Pb). A absorção varia com a idade e é afetada por diferentes formas com as quais o Pb se encontra. Enquanto em adultos a absorção de Pb é de aproximadamente 10%, para crianças esse valor é de 50%. Níveis baixos de Pb afetam a capacidade do organismo para utilizar cálcio, magnésio, zinco e outros minerais. A intoxicação por Pb pode causar inicialmente falta de apetite, gosto metálico na boca, desconforto muscular, mal estar, dor de cabeça e cólicas abdominais fortes [ONAGA, 1996; FAVARON, 2005]. O Pb absorvido é excretado principalmente através da urina e fezes, nos valores de 25 e 10%, respectivamente, durante as primeiras 24 horas. O nível de Pb no cabelo é um excelente indicador de sobrecarga de chumbo no organismo [LARINI, 1987]. A ocorrência de Pb em água potável pode ser resultado de contaminações da fonte de abastecimento. A maioria dos manifestos de toxicidade decorre de exposição ambiental e/ou industrial e pelos alimentos contaminados [FAVARON, 2005].

2.2.3 Cobalto

O cobalto (Co) é um elemento químico, além de ser essencial, presente na vitamina B₁₂. Para a população em geral, a dieta representa a principal fonte de exposição ao Co, sendo que os produtos de origem animal são boas fontes de vitamina B₁₂. A deficiência de vitamina B₁₂ causa fadiga crônica, falta de resistência física, perda de sensibilidade, depressão mental, parestesia, anemia ou macrocitose. Do ponto de vista ocupacional, as principais vias de exposição são a respiratória e a dérmica. Uma vez absorvido, pelo trato gastrintestinal ou respiratório, o Co é excretado principalmente pela urina, em proporção de aproximadamente 80%, e em torno de 15% através das fezes. Os efeitos tóxicos observados nas exposições a diferentes compostos de Co são mais pronunciados nos pulmões, na forma de asma brônquica e fibrose. A água potável é uma das fontes de exposição ao Co, podendo conter uma concentração de 0,1 – 5 µg L⁻¹ do elemento [ALVES & ROSA, 2003].

2.2.4 Cobre

O cobre (Cu) também é considerado um mineral essencial que tem como função a síntese de hemoglobina e o desenvolvimento de tecidos. Sua deficiência pode causar perda de peso, anemia e deficiência na formação de ossos e cartilagens. A ingestão máxima diária de Cu estabelecido pela OMS é de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ para uma pessoa adulta. A maior parte de ingestão é obtida pela dieta alimentar onde a presença de aminoácidos e citratos aumenta esta absorção. Fibras alimentares e metais como Fe, Zn, Cd e Pb inibem a sua absorção [ONAGA, 1996]. A absorção de Cu no organismo ocorre no trato intestinal (40 a 70%), embora como o Zn, a absorção dependa da quantidade ingerida. Após a absorção o Cu passa rapidamente para a circulação sanguínea e se deposita no fígado, nos músculos e nos tecidos cerebrais. Em geral, o Cu não é considerado um metal acumulativo no organismo. Entretanto, uma ingestão excessiva pode causar fadiga, dores musculares e nas juntas, anemia, problemas hepáticos e renais [ONAGA, 1996; FAVARON, 2005]. A intoxicação por Cu pode ocorrer devido à contaminação deste metal na água.

2.2.5 Cromo

Cromo (Cr) pode aparecer em solução na forma de Cr(III) e Cr(VI). As propriedades destas duas espécies diferem consideravelmente: Cr(VI) é tóxico devido principalmente pela facilidade com que penetra na pele, assim, é considerado como um forte agente carcinogênico, enquanto que Cr(III) é um elemento traço essencial ao funcionamento do nosso organismo na manutenção do metabolismo de lipídios, glicose e proteínas. Porém, quando em excesso se torna tóxico. Muitas vezes, a determinação das duas espécies de Cr é realizada separadamente [BIBLIOTECA DE INTOXICAÇÕES]. A intoxicação de Cr devido à contaminação alimentar é rara, já a intoxicação industrial por Cr causa dermatites alérgicas, úlceras na pele e carcinomas. As taxas elevadas de Cr são associadas a lesões vasculares com aumento dos quadros de hemorragias e trombozes cerebrais [SAVORY & WILLS, 1992; BIBLIOTECA DE INTOXICAÇÕES]. Além dos compostos de Cr, o

cromo metálico e ligas também são encontrados no ambiente de trabalho. A absorção de Cr por via cutânea depende do tipo de composto, de sua concentração e do tempo de contato. O Cr absorvido permanece por longo tempo retido na junção dermo-epidérmica e no estrato superior da mesoderme. A maior parte do Cr é eliminada através da urina, sendo excretada após as primeiras horas de exposição. Os compostos de Cr produzem efeitos cutâneos, nasais, bronco-pulmonares, renais, gastrointestinais e carcinogênicos. [METAIS PESADOS E SEUS EFEITOS].

2.2.6 Níquel

O níquel (Ni) em quantidades pequenas tem sido classificado como um elemento importante ao organismo humano. Em doses elevadas é tóxico podendo causar: 1) irritação gastrointestinal com náuseas, vômitos e diminuição do apetite; 2) alterações neurológicas: dor de cabeça, vertigem; alterações musculares: fraqueza muscular; 3) alterações cardíacas: palpitações; 4) alergia: dermatite, rinite crônica, asma e outros estados alérgicos. O Ni inibe a ação da enzima superóxido dismutase que participa no processo de metabolização dos radicais livres. O excesso de Ni pode chegar a ter conseqüências graves como necrose e carcinoma do fígado e câncer de pulmão. Algumas fontes de contaminação de Ni são: 1) alimentos: chocolate, gordura hidrogenada, nozes, feijão, ervilha seca e cereais; 2) cigarro: cada cigarro contém de 2 a 6 mg de Ni (as pessoas que fumam ou convivem com a fumaça do cigarro geralmente apresentam taxas aumentadas de Ni); 3) baterias de níquel e cádmio; 4) petróleo e indústrias petroquímicas; 5) processos metalúrgicos de refinamento de Ni; 6) panelas de inox podem liberar Ni durante o cozimento de alimentos ácidos como o tomate. O tratamento consiste de eliminação da fonte de contaminação, aumento da ingestão de fibras e suplementação com selênio, zinco, L-cisteína, D,L-metionina e terapia anti-oxidante [BIBLIOTECA DE INTOXICAÇÕES].

2.2.7 Tálíó

O tálíó (Tl) é um elemento não essencial ao organismo humano. É tóxico, pois, dentro do corpo humano, os íons de tálíó "se fazem passar" por potássio (elemento essencial para o organismo) e se instalam nas células, cujo funcionamento é prejudicado. Isso ocorre principalmente no sistema nervoso: o resultado é insônia, depressão profunda e desejo de morrer. Os efeitos do envenenamento por tálíó são perda dos cabelos e danos nos nervos periféricos. O Tl também ataca os testículos e o coração, e causa paralisia muscular. A dose letal de Tl é de 800 mg [BIBLIOTECA DE INTOXICAÇÕES].

2.2.8 Zinco

O zinco (Zn) é considerado um elemento essencial ao ser humano. O Zn tem um importante papel na síntese e metabolismo de proteínas, ácidos nucléicos e na divisão celular. A sua deficiência influencia no crescimento, no desenvolvimento ósseo, na integridade da pele e na função dos órgãos reprodutores [ONAGA, 1996]. Para um homem adulto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabelece uma ingestão máxima diária de 10 a 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ deste metal. Entre 20 e 30% do Zn ingerido é absorvido pelo duodeno, sendo que esta proporção pode variar dependendo da quantidade de Zn, proteína e cálcio presente na dieta alimentar. A absorção deste metal é sensivelmente diminuída com a idade. O Zn tende a ser menos tóxico do que outros metais pesados e a diferença entre ele estar no nível essencial ou tóxico é grande. No entanto, há evidências de que o excesso de Zn complexa-se com a albumina e os sintomas de envenenamento por Zn(II) geralmente são caracterizados por vômitos, desidratação, náusea, dor de estômago, letargia e descoordenação muscular [FAVARON, 2005].

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

Os reagentes sólidos foram pesados em uma balança analítica (Sartorius, Goettingen, Alemanha) com quatro casas de precisão.

A água, primeiramente destilada e deionizada, foi purificada em um sistema de purificação de água Milli-Q Millipore (resistência elétrica de 18,2 M Ω).

As medidas do pH foram realizadas em pHmetro digital (Hanna, São Paulo, Brasil) usando um eletrodo de vidro combinado.

As soluções do eletrólito de trabalho foram filtradas usando um filtro de acetato de celulose de membrana 0,45 μm (Sartorius, Alemanha), em um sistema sob vácuo.

As soluções do eletrólito de trabalho filtradas foram sonicadas, durante 30 min, em um ultra-som (Unique, São Paulo, Brasi).

3.1.1 Visão geral do equipamento de CE-C⁴D construído

59

O equipamento de eletroforese capilar (CE-C⁴D) utilizado neste trabalho foi construído tomando como referência alguns trabalhos publicados na literatura [FRACASSI DA SILVA, 2001; FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002; ZEMANN *et al.*, 1998; BÖCKEL *et al.*, 2005].

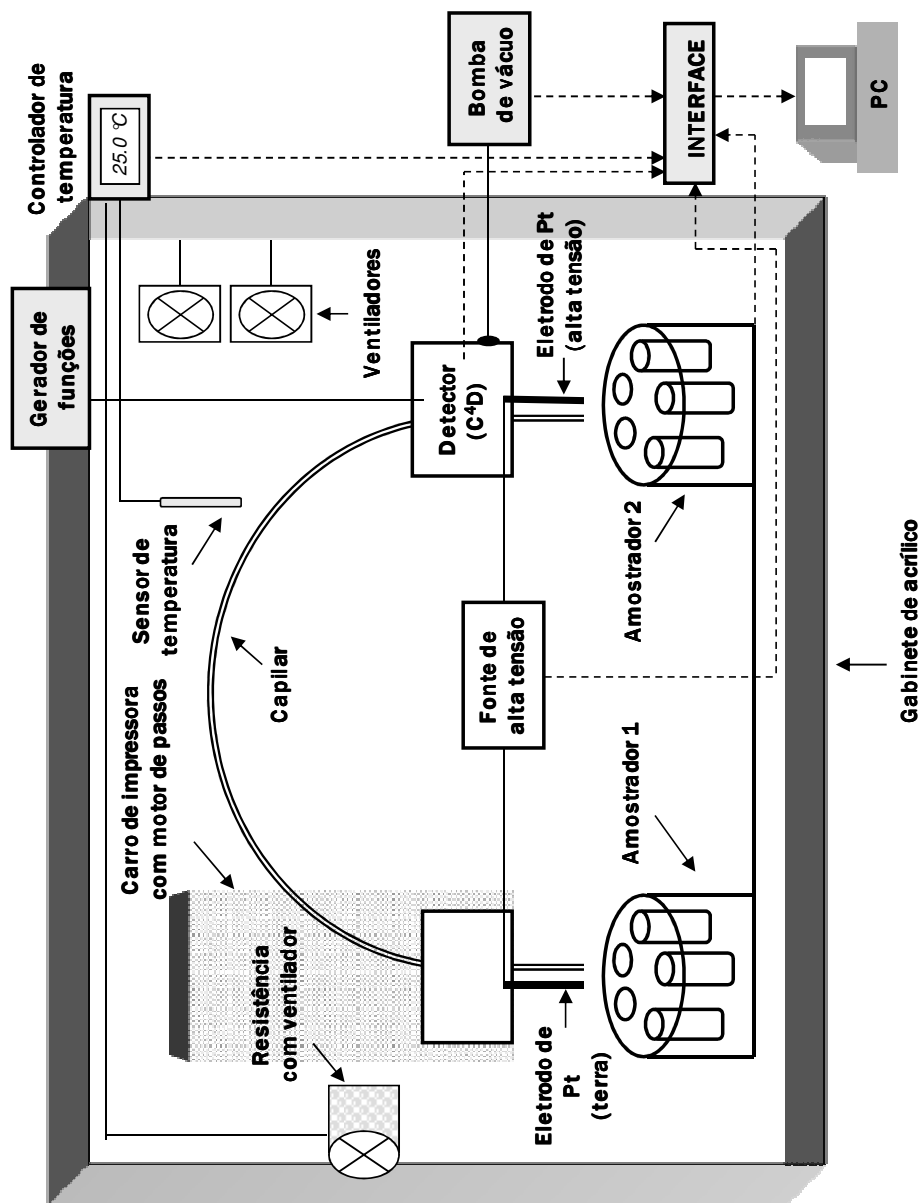


Figura 8 – Representação em diagramas de blocos do equipamento de eletroforese capilar construído em laboratório.

Este equipamento (Figura 8 e Figura 9) 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 Primatec;
- 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;
- Três fontes de alimentação: uma fonte de tensão 24 Vdc (modelo LRI S-100-24 – Entrada 115 VAC 1,9 A / 230 VAC 0,8 A 50/60 Hz – Saída +24 V 4,5 A);
- Uma fonte simétrica de ± 12 Vdc para alimentação do detector condutométrico (1 A por saída – Entrada 110 V);
- 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 desenvolvido em laboratório;
- Um capilar de sílica fundida de 75 μm de diâmetro interno e 360 μm de diâmetro externo (Microtube);
- 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.

O equipamento de CE-C⁴D construído será descrito em delhades nas próximas páginas.

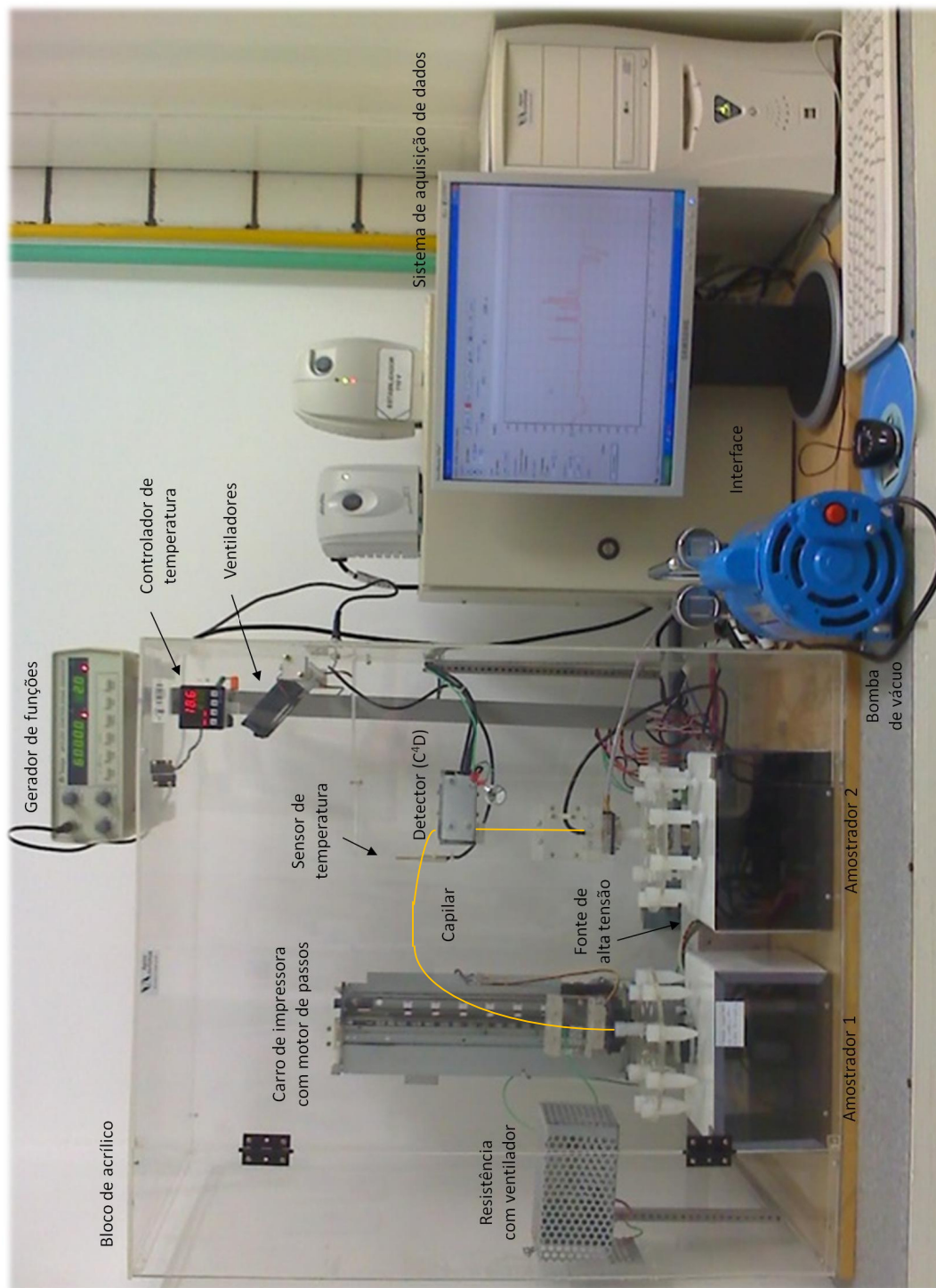


Figura 9 – Foto do equipamento de CE-C⁴D construído.

3.1.2 Descrição do equipamento de CE-C⁴D construído

O equipamento foi montado em um gabinete de acrílico com dimensões de 70 x 80 x 50 cm. O gabinete de acrílico (transparente) possibilita a termostatização do ambiente interno do sistema eletroforético e o trabalho seguro do analista. A fonte de alta tensão (FAT) aplica uma diferença de potencial (de até ± 30 kV) entre o cátodo e o ânodo (eletrodos de 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 10 mostra as duas extremidades do equipamento contendo duas peças projetadas para a injeção da amostra, a lavagem do capilar e a troca de soluções para a análise eletroforética.

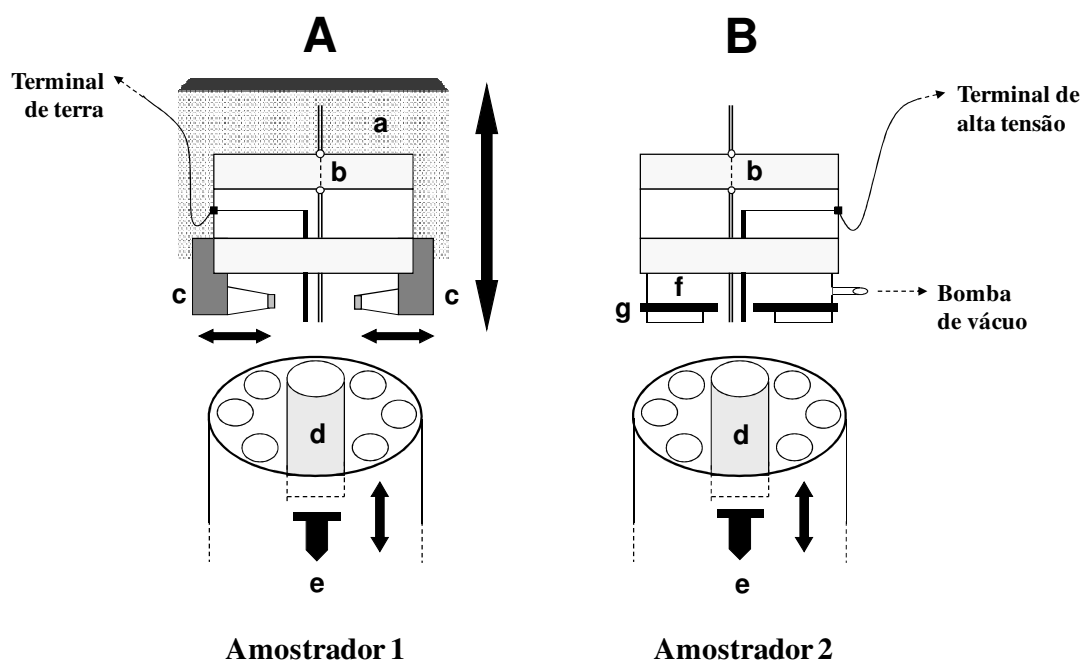


Figura 10 – Representação esquemática das peças confeccionadas para o equipamento de eletroforese capilar para (A) injeção hidrodinâmica da amostra e (B) lavagem do capilar e aplicação de tensão: (a) carro de impressora com motor de passos, (b) guias de silicone para o capilar, (c) garra manipuladora, (d) reservatório da solução, (e) braço eletromecânico, (f) gabinete de acrílico para aplicação de vácuo, (g) borracha sintética para vedação. As setas bilaterais representam os movimentos realizados por cada componente das peças projetadas.

Acima das peças mostradas na Figura 10 (A) e (B), 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.

3.1.2.1 Injeção da amostra

No equipamento de CE-C⁴D foi implementado o sistema de injeção por gravidade (SIG) (Figura 11), onde um dos reservatórios é elevado em relação ao outro (h) e a amostra é introduzida por sifonagem. Este procedimento é também denominado injeção hidrodinâmica por gravidade. O volume de amostra injetada (v_{inj}) por gravidade é determinado por:

$$v_{inj} = \frac{\rho g h \pi r^4 t_i}{8 \eta L} \quad (15)$$

onde, ρ é a densidade da solução (kg m^{-3}), g é a aceleração da gravidade (m s^{-2}), h é a altura alcançada pelo injetor (m), r é o raio do capilar (m), t_i é o tempo de injeção (s), η é a viscosidade da solução ($\text{N s m}^{-1} = \text{Pa s}$) e L é o comprimento do capilar (m). É bom ressaltar que o produto de $\rho g h$ equivale a Δp , conhecido como gradiente de pressão ($\text{Pa} = \text{N m}^{-2}$).

Os tempos gastos pelo injetor para atingir a altura h e depois retornar à posição inicial são denominados tempo de subida (t_s) e descida (t_d), respectivamente. Estes tempos devem ser somados ao tempo de injeção (t_i) no cálculo da quantidade de amostra injetada:

$$t_T = 0,5t_s + t_i + 0,5t_d \quad (16)$$

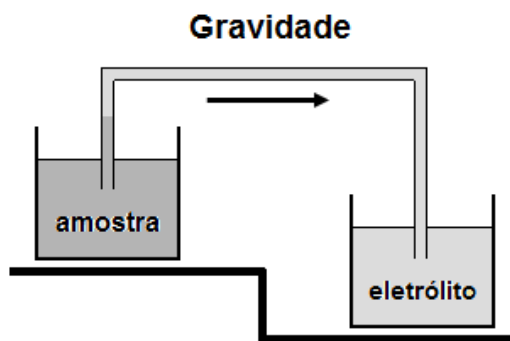


Figura 11 – Desenho esquemático de uma injeção hidrodinâmica por gravidade.

Na Figura 10 (A), referente ao lado esquerdo do equipamento, 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). O eletrodo de platina desta extremidade é conectado ao terminal de terra da fonte de alta tensão. O *vial* contendo a solução da amostra é colocado dentro do reservatório (d).

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 capilar, eletrodo e reservatório é mantido nesta posição durante a análise eletroforética sob aplicação de tensão. Para a injeção da amostra, o reservatório é preso pela garra manipuladora (comandada pela placa da interface) e o conjunto todo é elevado até uma determinada altura pelo carro da impressora (a). Este conjunto permanece um determinado tempo na altura selecionada (que pode ser de até 28 cm) e depois retorna à posição inicial.

A movimentação do conjunto é realizada por um mecanismo de impressora jato de tinta adaptado para o sistema de injeção de amostras. O acionamento é por 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.

O sistema de injeção de amostras é composto por:

- Mecanismo de impressora: Epson Stylus Color 600, adaptado para o sistema de injeção;
- Driver de motor de passos: Modelo DMP-02 (Rizzi & Silveira Ltda);
- Chave de fim de curso;
- Garra manipuladora: LG-KT Little Grip Kit (Labsis) com servomotor Hitech HS-422;
- Placa controladora: Modelo DL100-CP (Rizzi & Silveira Ltda.) com *firmware* em linguagem C desenvolvido para controle do servomotor.

3.1.2.2 Lavagem do capilar e aplicação da tensão

Do lado direito do equipamento, ilustrado pela Figura 10 (B), 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 FAT. 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.

O sistema de lavagem utiliza bomba de vácuo para aplicação de pressão negativa de -600 mmHg no capilar (lado do detector). A bomba de vácuo é acionada apenas para a lavagem do capilar com solução de hidróxido de sódio, água ou eletrólito de trabalho. O acionamento da bomba de vácuo é feito por controladora comandada pela placa da interface. 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.

3.1.2.3 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 equipamento dispõe de um sistema de aquecimento.

Desta forma, o sistema de controle do equipamento acionará a resistência colocada na lateral do gabinete 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 da temperatura fixada no controlador. Os ventiladores posicionados na parte superior do gabinete 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. Assim, o sistema de controle estabiliza a temperatura interna do sistema eletroforético em relação à temperatura externa do gabinete 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 colaboradores [BÖCKEL *et al.*, 2005] utilizando uma lâmpada e um ventilador para o aquecimento do sistema e a circulação de ar.

3.1.2.4 Amostradores

Os dois amostradores (Figura 10) construídos para o sistema, um para o lado da injeção de amostras e o outro para o lado da detecção, são constituídos basicamente de duas 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 (Figura 12) 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.

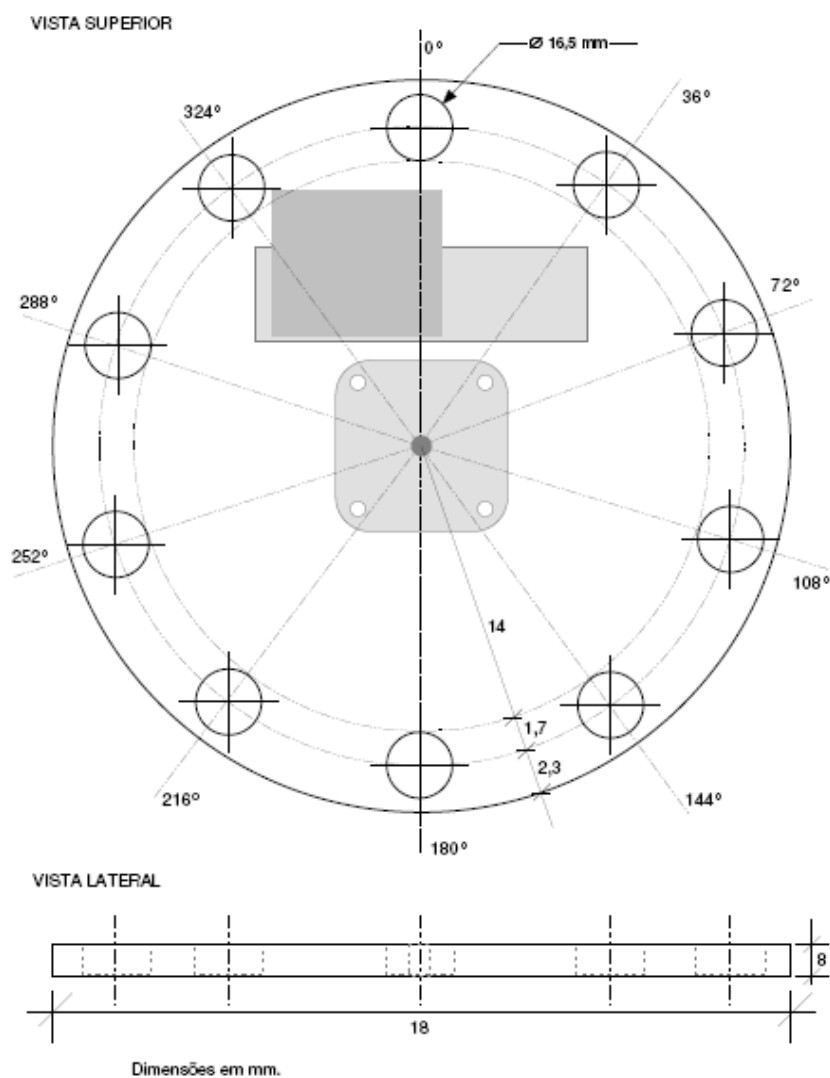


Figura 12 – Desenho esquemático do projeto inicial do carrossel contendo 10 posições.

Para cada posição do carrossel foi construído um reservatório usinado em *nylon* (Figura 13) para acomodação do reservatório da amostra (*via*). 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.

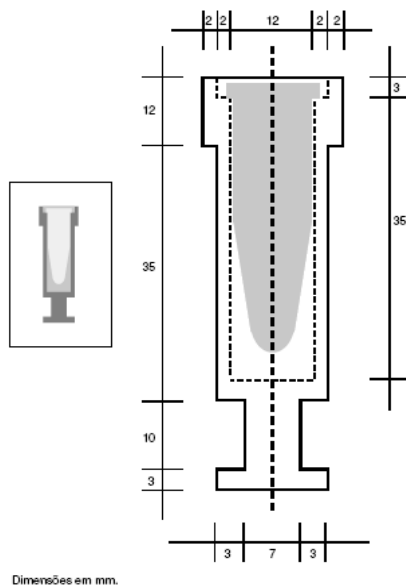


Figura 13 – Desenho esquemático do copo suporte construído para acomodar o *vial*.

O mecanismo de elevação do reservatório foi construído usando-se um dispositivo eletromecânico de trava elétrica de porta de automóvel, sendo o acionamento adaptado para funcionar com 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, em linguagem desenvolvida para controle de servomotor e comunicação com o computador via interface RS-232.

3.1.2.5 Construção do detector condutométrico sem contato (C⁴D)

A construção do detector oscilométrico está fundamentada no trabalho publicado por Fracassi da Silva e colaboradores [FRACASSI DA SILVA *et al.*, 2002], com alterações propostas por Böckel e colaboradores [BÖCKEL *et al.*, 2005]. O detector construído trata-se de detector de condutividade em que os eletrodos não têm a necessidade de entrar em contato com a solução, por ser empregada

freqüência superior à empregada em condutímetro convencionais (60 a 1000 Hz), por isso também designada de oscilometria. A Figura 14 mostra de maneira esquemática os detalhes da célula de detecção.

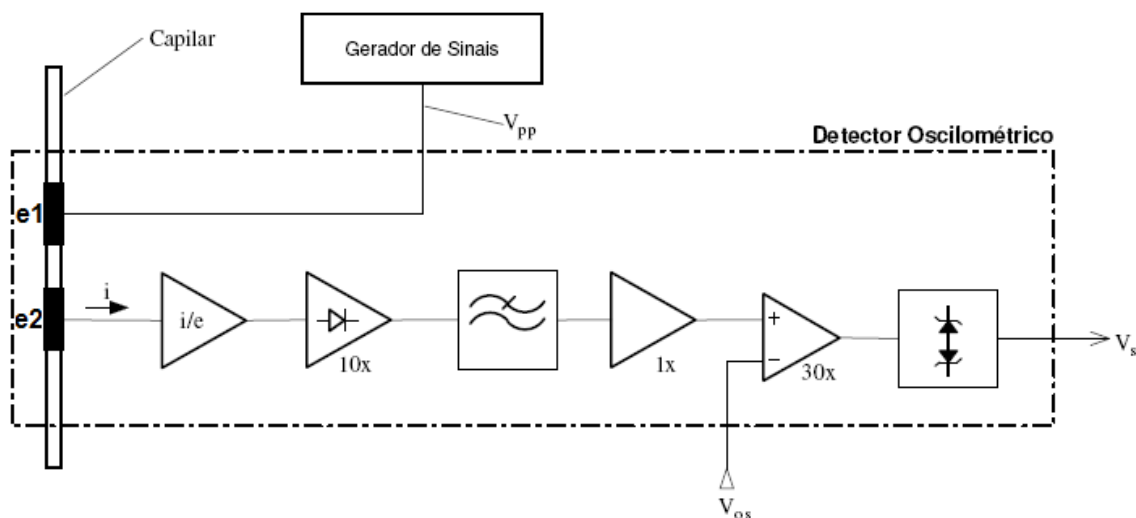


Figura 14 – Diagrama de blocos do detector oscilométrico construído.

Como apresentado na Figura 14, a detecção é composta dos seguintes estágios: um sinal senoidal de freqüência da ordem de centenas de kHz é aplicado, através de um gerador de funções, ao eletrodo de excitação da célula de detecção (e1). Ao se aplicar este sinal, a corrente flui pelo dispositivo sendo capturada pelo eletrodo e2, refletindo todos os possíveis caminhos percorridos pelo sinal. Após a transformação do sinal de corrente em tensão, pelo conversor i/e , segue-se a retificação do sinal efetuado por um circuito retificador com amplificação de $10x$. O sinal resultante é filtrado por um filtro passa-baixas e amplificado por um *buffer* (ganho unitário) antes de passar pela etapa de correção da linha de base com amplificação de $30x$, possuindo também um circuito de proteção para a entrada da placa de interface (*clumper*). O sinal analógico é então enviado para uma interface analógica/digital (A/D) para aquisição de dados. A placa do circuito impresso foi instalada dentro de uma caixa metálica ligada ao potencial de terra para garantir a blindagem eletromagnética, minimizando a captação de ruído (Figura 15).

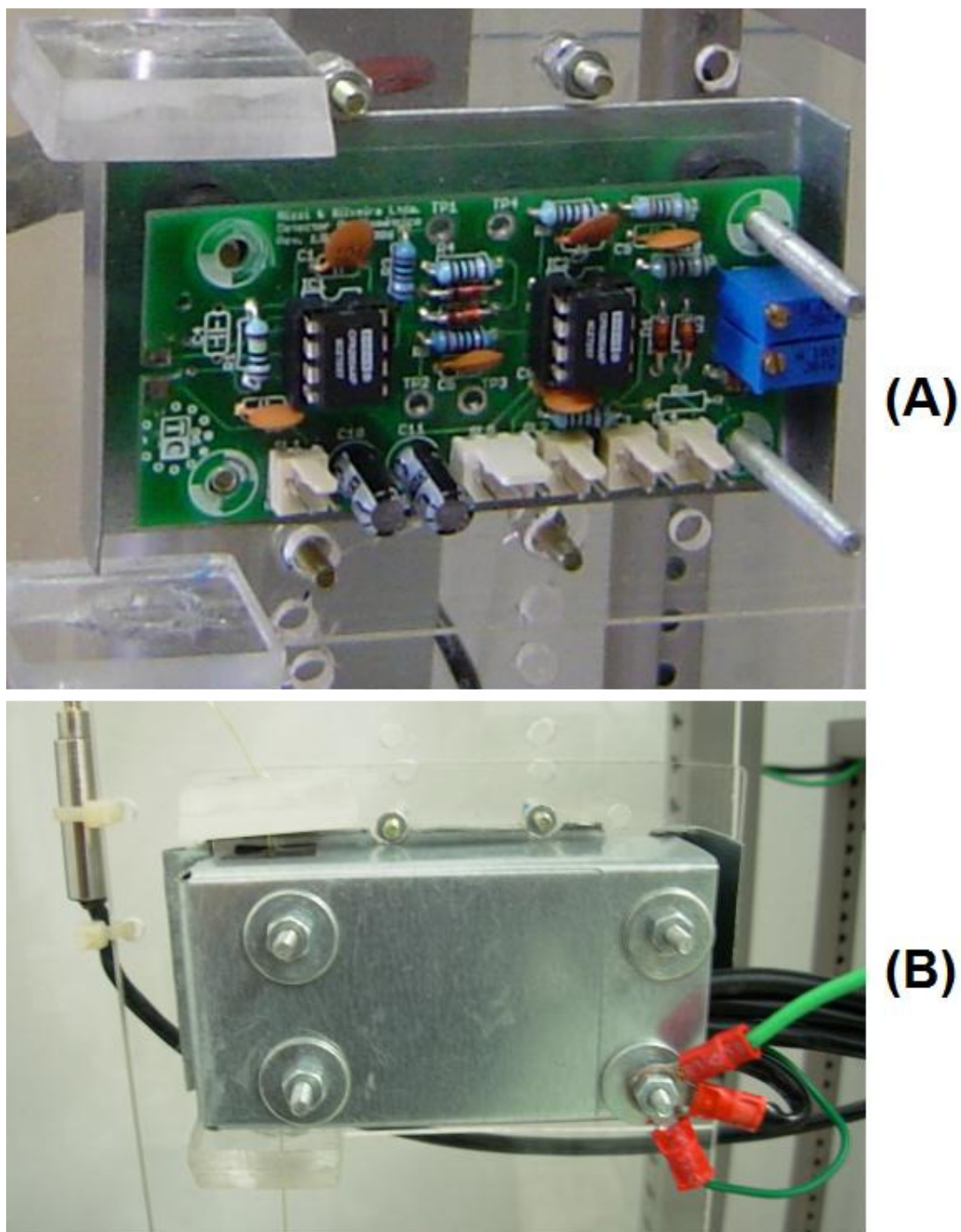


Figura 15 – Fotos do detector C^4D construído. A placa do circuito impresso (A) foi instalada dentro de uma caixa metálica (B). Na foto (A) podem-se visualizar os eletrodos e (B) mostra a presença do capilar passando entre os eletrodos dentro da caixa metálica fechada.

Em torno do capilar foram construídos dois eletrodos cilíndricos usando fio de *wire-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 μm que serve como molde, resultando em um tubo de alguns milímetros com diâmetro interno suficiente para passar o capilar com diâmetro externo de 360 μm . 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 amplificado (V) e processado é enviado ao *software* através da placa de interface conectada ao computador. A interface utilizada no sistema cumpre a função de receber o sinal oriundo do detector (V) e de operar os componentes do sistema via computador.

3.1.2.6 Instrumentação: componentes do sistema de detecção

A instrumentação do sistema envolve um gerador de funções, os circuitos dos detectores, uma fonte para alimentação eletrônica e uma interface para aquisição de dados.

3.1.2.6.1 Gerador de funções

O sinal de excitação para o circuito oscilométrico foi gerado a partir de um gerador de funções MFG-4202 (Minipa, São Paulo, SP). O gerador é capaz de gerar formas de onda senoidal, quadrada e triangular na faixa de frequência de 0,2 Hz a 2 MHz, com ajuste de amplitude (1–20 V) e simetria da onda. A impedância de saída do gerador é de 50 Ω .

3.1.2.6.2 Circuito eletrônico

O circuito do detector é mostrado na próxima página.

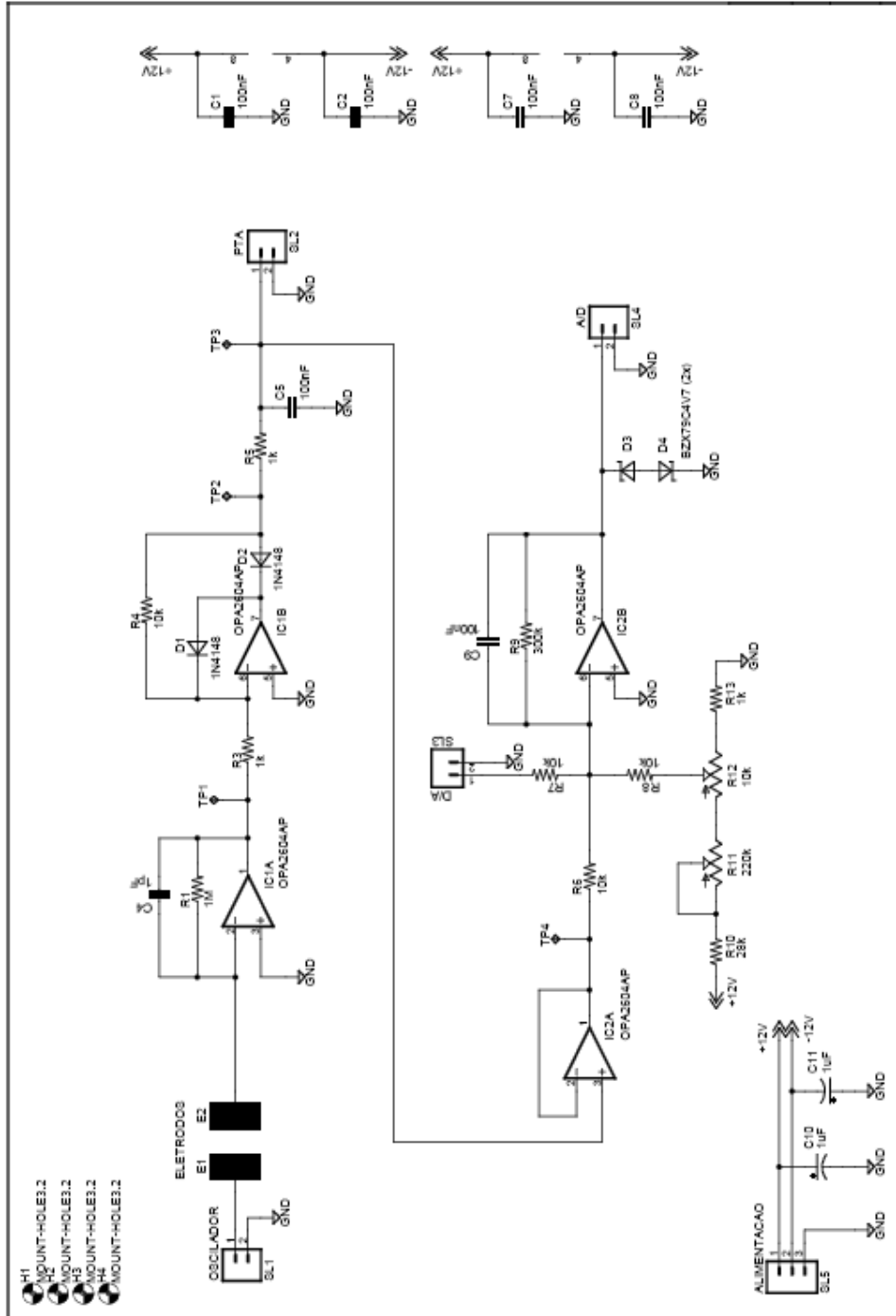


Figura 16 – Esquema do circuito elétrico do detector.

Um cuidado especial foi tomado na escolha dos amplificadores operacionais (AO), especialmente nos estágios de conversão corrente/tensão e retificador. Principais parâmetros considerados: (i) corrente de polarização (para medição de correntes da ordem de 100 pA, a corrente de polarização do AO não pode passar de alguns pico-ampères); (ii) baixo ruído; (iii) alto ganho; (iv) banda passante larga (*bandwidth*) e (v) baixo tempo de subida (*slew rate*).

Considerando os parâmetros acima, foi selecionado um modelo de AO adequado ao circuito: OPA2604AP (Texas Instruments). Os resistores utilizados no circuito são todos de precisão (1%). A alimentação do circuito é proveniente de fonte simétrica ± 12 Vdc.

O projeto do *layout* da placa de circuito impresso também precisou de alguns cuidados, em especial: (i) conexões curtas desde o eletrodo até o ponto de entrada do AO; (ii) isolamento da entrada do AO dos altos gradientes de tensão ao redor da placa usando uma trilha de baixa impedância (*guard trace*) e; (iii) aterramento da placa (*bottom layer* usado como plano de terra).

3.1.2.6.3 Fonte de alimentação e fonte de alta tensão

A alimentação do circuito eletrônico do equipamento foi feita através de uma fonte simétrica comercial com ± 12 V. A fonte de alta tensão utilizada é bipolar, modelo ARM-30 da marca Bertan (Spellman, New York, USA), com capacidade de aplicação de potencial de até ± 30 kV.

3.1.2.6.4 Interface de aquisição

A interface entre o *software* do computador e o equipamento é através da placa multifuncional Advantech PCI-1711. Com relação à automação do sistema, a interface 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).

3.1.2.7 *Software* de aquisição de dados

O *software* de aquisição foi escrito em linguagem Delphi 7.0 de modo a permitir a operação automatizada do sistema eletroforético através do computador. O *software* controla e exibe, em tempo real, o sinal do detector e a corrente gerada no interior do microcanal do capilar devido à aplicação de um campo elétrico, além da temperatura do sistema eletroforético durante a separação. Parâmetros de injeção de amostra (altura e tempo de elevação do carro de impressora), acionamento (abre/fecha) da garra manipuladora do sistema de injeção, acionamento (liga/desliga) da bomba de vácuo, separação eletroforética (polaridade da fonte e potencial da FAT), ajuste da linha de base, escala de leitura e controle dos amostradores podem ser facilmente alterados de acordo com a necessidade requerida. A Figura 17 (A) apresenta uma imagem da tela principal do programa, sendo que a Figura 17 (B) mostra a janela para o controle da posição dos *vials* nos dois amostradores (chamados de injeção e detecção) e o acionamento (sobe/desce) dos braços eletromecânicos para elevação dos reservatórios. A planilha dos dados a serem gerados é arquivada em extensão .dat, a qual permite uma fácil importação dos dados em um *software* gráfico, como o Origin™.

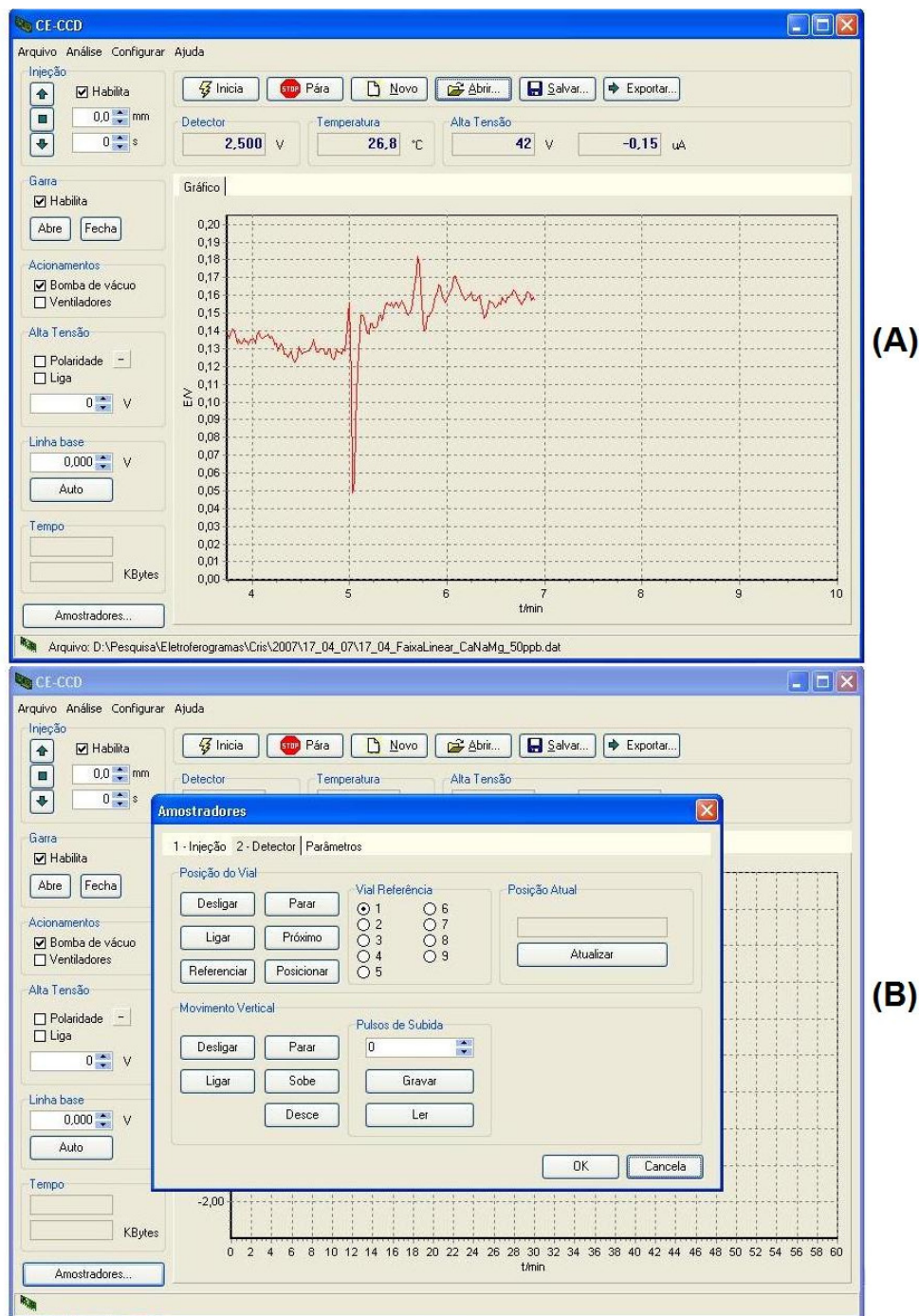


Figura 17 – (A) Visualização da tela principal do *software* desenvolvido mostrando um eletroferograma e (B) a janela para controle dos dois amostradores.

3.2 Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com água, destilada, deionizada e purificada (Milli-Q, Millipore, Bedford, USA), com resistência elétrica de 18,2 MΩ. Todos reagentes utilizados foram de grau analítico.

As soluções estoque para análise dos cátions foram preparadas nas concentrações de 1 g L⁻¹ e 0,1 mol L⁻¹ a partir de ZnSO₄.7H₂O, NiCl₂.6H₂O, 3CdSO₄.8H₂O, ambos de procedência Merck, HgCl₂, Pb(NO₃)₂, Cr(NO₃)₃.9H₂O, da Vetec, Co(NO₃)₂.6H₂O, da Nuclear, TlNO₃, da Aldrich, MnSO₄.H₂O, da Quimex e CuSO₄.5H₂O, da Reagen. As amostras sintéticas dos cátions foram preparadas pela mistura e diluição das soluções estoque (1 g L⁻¹ ou 0,1 mol L⁻¹).

As soluções estoque do eletrólito de trabalho foram preparadas nas concentrações de 0,1 mol L⁻¹ de ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico (MES), da Merck, histidina base livre (His), da Sardi, ácido 2-hidroxiisobutírico (HIBA), da Sigma-Aldrich, ácido láctico (HLac), da Riedel-de Haën, éter coroa 18-coroa-6, ácido tartárico, ambos da Merck, ácido málico, da Vetec, e de ácido cítrico, da Nuclear. As soluções foram armazenadas a 4 °C e ao abrigo da luz. Os reagentes metanol (MeOH), acetonitrila e ácido nítrico HNO₃, ambos foram de procedência Merck.

3.3 Controle de contaminação externa

Para garantir superfícies livres de contaminação, fez-se o uso de material plástico para armazenar as soluções utilizadas neste estudo. Os recipientes foram deixados em contato com uma solução 10% de HNO₃ em etanol (v/v) por, no mínimo, 48 horas, sendo posteriormente lavados abundantemente com água ultra-pura.

Os recipientes de vidro foram deixados em contato com uma solução detergente Extran 1% por, no mínimo, 24 horas e após lavados com água ultra-pura para garantir uma superfície livre de contaminação orgânica e, para uma descontaminação mais eficiente, a vidraria foi deixada em solução de 1% HNO₃ em água (v/v) por, no mínimo, 24 horas, sendo posteriormente lavadas com água ultra-pura em abundância.

3.4 Procedimentos analíticos

3.4.1 Eletrólitos de trabalho e amostras

As soluções do eletrólito de trabalho foram preparadas diariamente pela diluição das soluções estoque. Em seguida, o valor do pH da solução do eletrólito de trabalho preparada foi ajustado com HNO_3 . Na seqüência, a solução do eletrólito com o seu pH ajustado foi filtrada em membrana de $0,45 \mu\text{m}$. Finalmente, as soluções filtradas foram sonicadas durante 30 min antes do seu emprego no sistema da CE.

As amostras sintéticas foram preparadas pela mistura e diluição das soluções estoque.

Todas as soluções de amostras foram previamente filtradas e sonicadas antes de serem injetadas no capilar. As amostras testadas neste trabalho foram: concentrado salino (Farmarin, SP, Brasil), água do mar real (Capão da Canoa, RS, Brasil) e sintética ($\text{NaCl } 0,6 \text{ mol L}^{-1}$), fluido hidrotermal (Campo Logatchev (cadeias meso-atlânticas), Localização geográfica: $14^\circ 45' \text{ N}$ e $44^\circ 58' \text{ W}$), água de diálise (osmose reversa), água mineral (Fonte Ijuí, RS, Brasil) e fertilizante foliar (Dimicron nitrozinc).

3.4.2 Condicionamento dos capilares

Antes da sua utilização, o condicionamento dos capilares de sílica fundida (Microtube) de $75 \mu\text{m}$ 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, $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por 15 min, água purificada por 10 min e, finalmente, solução do eletrólito de trabalho por 30 min, seguido da aplicação do potencial de separação até a estabilização da linha base do sinal do detector. Entre as injeções da 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 foi lavado com água ultra-pura por 15 min. Naturalmente, estes períodos

podem ser reprogramados conforme a conveniência [FRACASSI DA SILVA, 2001; BÖCKEL *et al.*, 2005].

O comprimento dos capilares foi de 68 cm e o detector foi posicionado a 12 cm do final do capilar. Outras condições experimentais utilizadas estão descritas no capítulo 4.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Funcionamento do detector condutométrico sem contato (C⁴D)

Basicamente, a célula de C⁴D é composta por dois eletrodos que são posicionados na parede externa do capilar de separação, como demonstrado na Figura 18.

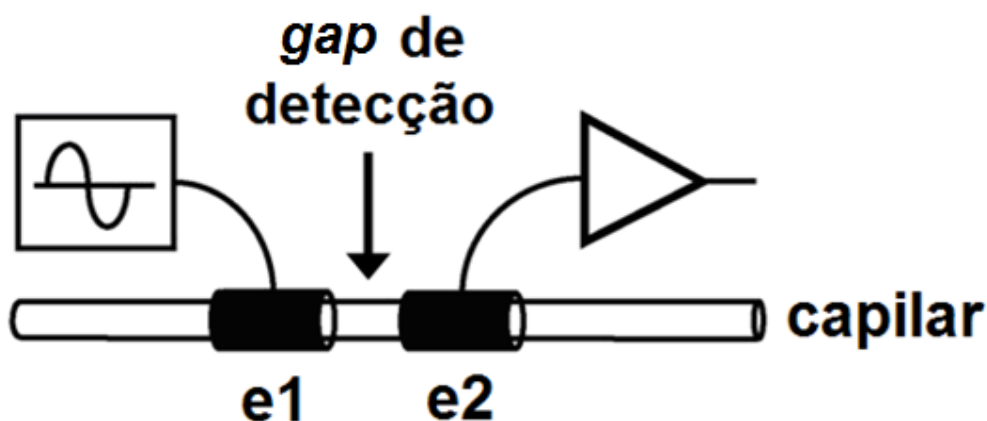


Figura 18 – Desenho esquemático da configuração dos eletrodos para C⁴D. Os eletrodos e1 e e2 indicam os eletrodos para excitação e registro do sinal resultante, respectivamente. *Adaptado de KUBÁN & HAUSER, 2008.*

O sinal senoidal de corrente alternada (AC) de alta frequência proveniente do gerador de funções é aplicado a um dos eletrodos (e1) e o outro (e2) é ligado ao conversor i/e, bem como aos amplificadores operacionais (AO). O eletrólito de corrida no *gap* de detecção entre os eletrodos exibe uma resistência R que diminui com a passagem de uma zona de um soluto iônico, devido ao aumento da condutividade da solução neste ponto. A corrente resultante que flui através da célula, devido à aplicação de um sinal senoidal de alta frequência entre os eletrodos, reflete todos os caminhos percorridos pelo sinal (Figura 19) e é convertida em um sinal de voltagem, retificada e amplificada. Isto é possível, pois 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.

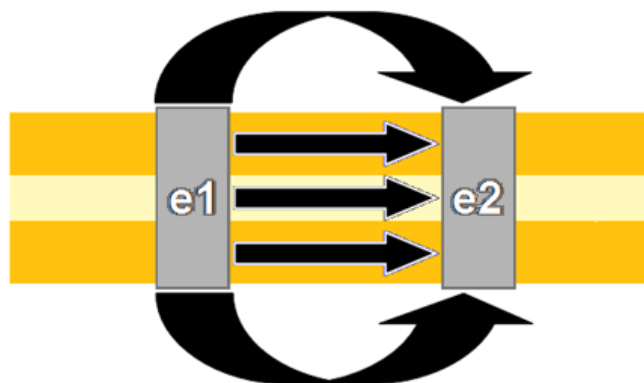


Figura 19 – A propagação do sinal é feita por diversos caminhos: transmissão (1) direta entre os eletrodos, (2) pela parede do capilar, (3) pela camada externa de poliimida que recobre o capilar e (4) pela solução que preenche o interior do capilar. Adaptado de FRACASSI DA SILVA, 2001.

O surgimento de uma corrente elétrica mesmo sem contato com a solução pode ser entendido através da análise do circuito elétrico apresentado na Figura 20. Este circuito, visualizado na Figura 20 (A), consiste de um capacitor para cada eletrodo (C_1 e C_2) e um resistor formado pela solução eletrolítica (R_S) dentro do canal ou no capilar [KUBÁN & HAUSER, 2008]. Como pode ser observado no circuito equivalente, existe uma outra capacitância, denominada capacitância intereletrodos (C_o) (também conhecida como capacitância de fuga), referente à transmissão de sinal entre os próprios eletrodos. Esta capacitância é indesejada, pois permite um fluxo de corrente contribuindo para a intensidade do sinal absoluto da linha de base que, conseqüentemente, afeta negativamente os limites de detecção. Na prática, o efeito desta capacitância pode ser minimizado usando um plano de terra ou otimizando a frequência de trabalho [KUBÁN & HAUSER, 2008; BRITO-NETO *et al.*, 2005]. As capacitâncias C_1 e C_2 podem ser substituídas pela capacitância equivalente, C_P , a qual se refere à capacitância da parede do capilar na região dos eletrodos. Com essa substituição, o circuito equivalente pode ser simplificado, como mostrado na Figura 20 (B).

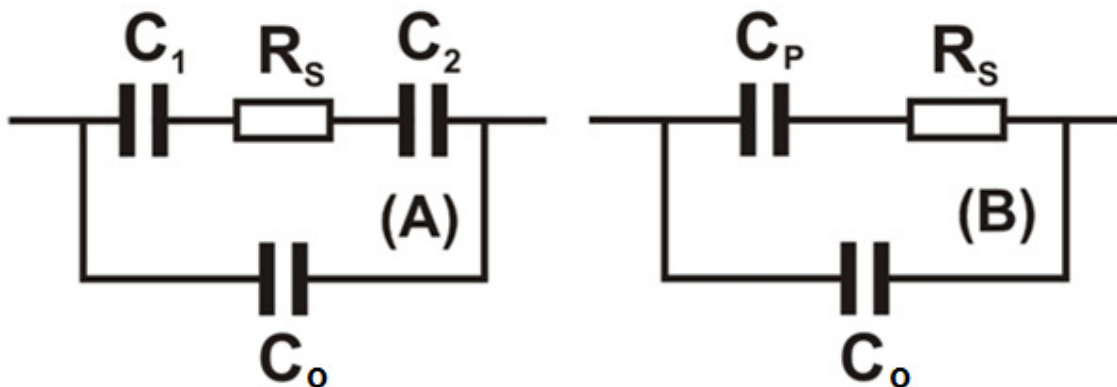


Figura 20 – Circuito equivalente para a C^4D em termos (A) das capacitâncias dos eletrodos (C_1 e C_2) e (B) da capacitância da parede do capilar (C_p). C_o corresponde à capacitância intereletrodos.

Analisando-se o circuito da Figura 20 (B), nota-se que:

- (1) Quando freqüências baixas são aplicadas ao circuito, as reatâncias capacitivas, X_o e X_p , tornam-se elevadas, o que faz com que o circuito se resuma ao circuito $R_s C_p$ série. Em circuito RC em série, se aplicarmos um potencial contínuo ou alternado de freqüência baixa (dependente do valor da capacitância do capacitor) não ocorre condução significativa, e o valor da resistência passa a ser irrelevante.
- (2) Por outro lado, com o aumento da freqüência aplicada, as reatâncias capacitivas assumem valores cada vez menores, quando o comportamento passa a ser do circuito $R_s C_o$ paralelo. Para freqüências muito elevadas, a passagem de corrente pelo elemento capacitivo é tão favorecida que a resistência passa a ser novamente irrelevante para a determinação da corrente que percorre o circuito.

Conclusão: existe uma freqüência ótima de trabalho, onde a resistência da solução é relevante e pode ser determinada através da corrente que flui entre os eletrodos [FRACASSI DA SILVA, 2001].

A resposta analítica do detector condutométrico sem contato depende basicamente da diferença de condutividade entre os analitos e o eletrólito utilizado [BRITO-NETO *et al.*, 2005]. Dessa maneira, dependendo da magnitude da condutividade do meio, é possível obter sinais positivos e/ou negativos para as espécies analisadas. Portanto, a escolha do eletrólito em C^4D é importante não só para possibilitar a separação, mas também está diretamente relacionada com a sensibilidade obtida na determinação de cada analito.

A idéia básica dos sistemas de C⁴D é aplicar um sinal AC com amplitude constante e medir a corrente que flui pela célula de detecção. Desprezando os efeitos da capacitância intereletrodos (C_o), a resposta do detector pode ser explicada em termos do módulo da admitância |Y|, como apresentado na Equação 17 [BRITO-NETO *et al.*, 2005]:

$$| Y | = \frac{1}{\sqrt{\left(\frac{K}{\kappa}\right) + \frac{1}{4\pi^2 f^2 C_P^2}}} \quad (17)$$

em que K representa a constante da célula, κ é a condutividade, f é a frequência de operação e C_P é a capacitância da parede do capilar (na região dos eletrodos), cuja magnitude pode ser calculada pela relação $C_1 C_2 / (C_1 + C_2)$.

Um estudo interessante demonstrou que a admitância varia linearmente com a condutividade quando uma frequência de 5 MHz é aplicada. No entanto esta linearidade não é observada para frequências de 50 ou 500 kHz. Uma interpretação simplificada dos estudos teóricos apresentados pelos autores é que, para baixas condutividades, a admitância da célula é essencialmente uma função da condutividade da solução. Por outro lado, para altas condutividades, a sensibilidade da condutividade da solução é praticamente perdida, pois a admitância é determinada pelas capacitâncias da parede do capilar na região dos eletrodos (C_P) [BRITO-NETO *et al.*, 2005].

Como mencionado anteriormente, a corrente medida pelo circuito eletrônico reflete a impedância total do sistema [FRACASSI DA SILVA, 2001]. A impedância (Z), por sua vez, é a combinação das reatâncias capacitivas da parede do microcanal do capilar (X_P), intereletrodos (X_o) e a resistência da solução (R_s), e é melhor expressa em termos do inverso da impedância complexa: a admitância complexa (Y):

$$Y = G + jB = \frac{R_s}{R_s^2 + X_P^2} + j \frac{R_s^2 + X_P(X_o + X_P)}{X_o(R_s^2 + X_P^2)} \quad (18)$$

A parte real da admitância é chamada de condutância (G), e não deve ser confundida com a condutância da solução no interior do canal. À parte imaginária, dá-se o nome de susceptância (B). O módulo da admitância, que é proporcional à corrente medida, é dado por:

$$| Y | = \frac{\sqrt{R_S^2 X_O^2 + [R_S^2 + X_P(X_O + X_P)]^2}}{X_O(R_S^2 + X_P^2)} \quad (19)$$

Ao trabalhar com valores fixos de frequência de operação, mantendo a geometria da célula de C⁴D e ignorando as variações de capacitância (ou mais corretamente de constante dielétrica) influenciadas pela temperatura, as variações na admitância Y serão devidas às variações de condutividade na solução [FRACASSI DA SILVA, 2001].

4.2 Avaliação do equipamento construído

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 [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; ZEMANN *et al.*, 1998; BÖCKEL *et al.*, 2005].

4.2.1 Separação simultânea de K(I), Ca(II), Na(I) e Mg(II) por CZE–C⁴D

Na detecção condutométrica em CE de íons inorgânicos comuns, a maioria dos artigos publicados empregam uma mistura de MES/His como eletrólito de trabalho. A característica dos tampões selecionados afeta grandemente a sensibilidade de resposta de C⁴D, já que o princípio básico de C⁴D baseia-se na diferença entre a zona da amostra e a linha de base do eletrólito. A utilização desta mistura de MES/His é devida não só às suas características tamponantes, mas também pelo fato de ambos possuírem baixa condutividade. His é uma base orgânica e é favorável como co-íon, pois sua baixa mobilidade fornece picos positivos para todos os metais alcalinos e alcalinos terrosos. MES é um ácido

orgânico e mostra fraca interação com estes metais e, conseqüentemente, a separação é determinada principalmente por suas mobilidades em meio aquoso.

A Figura 21 ilustra a separação eletroforética dos metais K(I), Ca(II), Na(I) e Mg(II) que foi feita pela aplicação de um potencial de 15 kV, com o detector C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}, e utilizando uma solução tampão de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) como eletrólito de trabalho. Além disso, neste eletroferograma visualiza-se a ocorrência de um pico negativo que precede o pico do íon K(I). Este pico negativo, chamado de pico do sistema, pode estar relacionado à vacância do H⁺ pelo fato da solução do eletrólito possuir íons H⁺ provenientes da solução de HNO₃ que foi usada para ajustar o valor do pH do eletrólito de 6,1 para 5,0.

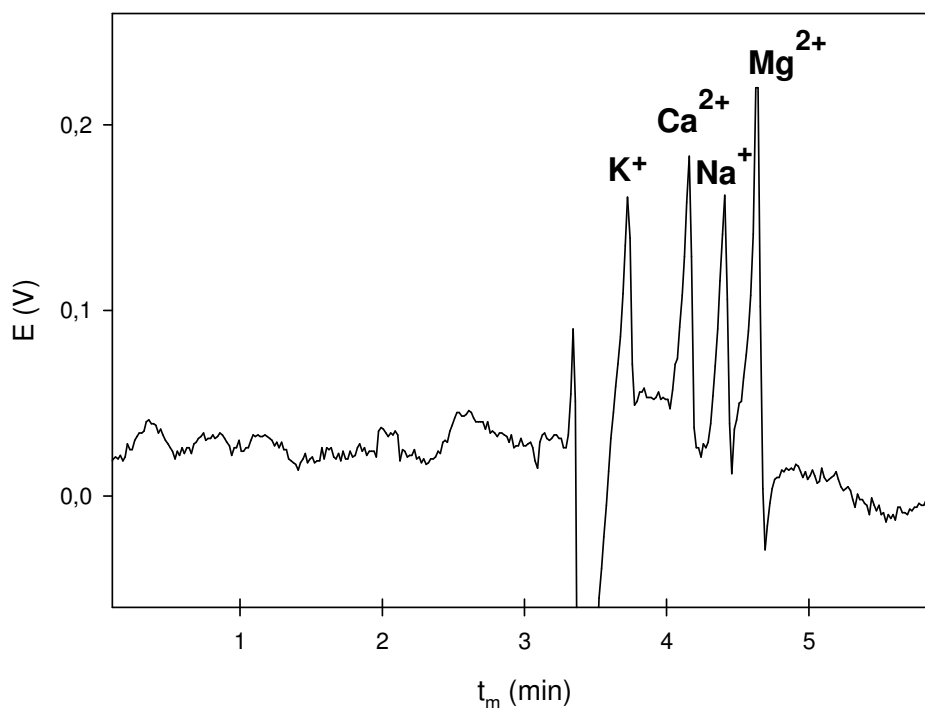


Figura 21 – Eletroferograma de uma amostra sintética de 1 mg L⁻¹ de K(I), Ca(II), Na(I), Mg(II) em eletrólito de trabalho MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0), com aplicação de 15 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, 75 μ m, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 25°C; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 10 cm por 30 s.

A repetibilidade do sistema foi avaliada pela injeção seqüencial (injeção hidrodinâmica por gravidade a 10 cm por 30 s) de uma solução aquosa contendo

uma mistura destes quatro metais na concentração de 4 mg L^{-1} (cada). Os tempos de migração (t_m) para os quatro picos foram medidos para cinco injeções sucessivas e seus respectivos valores de desvio padrão estão listados na Tabela 3. Os coeficientes de variação calculados apresentam valores entre 6,73 e 9,19% para os t_m dos quatro metais.

O limite de detecção (LOD) para os cátions foi calculado pela equação $3\sigma_B/b$, na qual o valor de b foi obtido da inclinação da curva analítica, contendo 5 pontos ($n = 5$), e σ_B foi obtido do desvio padrão da linha base ($n = 10$). O limite de quantificação (LOQ) foi calculado a partir de $10\sigma_B/b$. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de tempos de migração e respectivos desvios padrão, limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) para os cátions K(I), Ca(II), Na(I), Mg(II) ($n = 5$). Outras condições estão na Figura 21.

Parâmetros	K(I)	Ca(II)	Na(I)	Mg(II)
Tempo de migração (t_m / min)	3,71	4,22	4,35	4,55
Desvio padrão do t_m (min)	$\pm 0,25$	$\pm 0,30$	$\pm 0,40$	$\pm 0,29$
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1,90	1,54	1,84	1,36
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	5,70	4,62	5,49	4,08

Estes resultados estão de acordo os encontrados na literatura [FRACASSI DA SILVA & DO LAGO, 1998; ZEMANN *et al.*, 1998; BÖCKEL *et al.*, 2005], ou seja, há uma boa definição e resolução dos picos para os cátions, indicando o desempenho adequado do sistema CE-C⁴D construído em laboratório. Nesta tabela também estão descritos os valores de limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) calculados para os quatro cátions citados em água pura.

4.3 Separação simultânea de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) por CZE–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.

4.3.1 Efeito do pH de MES/His na separação

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 Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) foi investigada em diferentes valores de pH do tampão MES/His 20 mmol L⁻¹. Com o ajuste do pH do meio tamponante é possível mudar as ionizações de muitos íons, mudando assim suas razões carga/raio hidratado e, portanto, suas mobilidades eletroforéticas.

Os resultados obtidos para os oito cátions em valores de pH entre 5,0 a 6,1 encontram-se na Figura 22 (A) e mostraram que a variação deste modifica significativamente os t_m obtidos. Por exemplo, em valores de pH 5,0 e 5,5 o íon Ni(II) 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 Ni(II) 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 20 mmol 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.

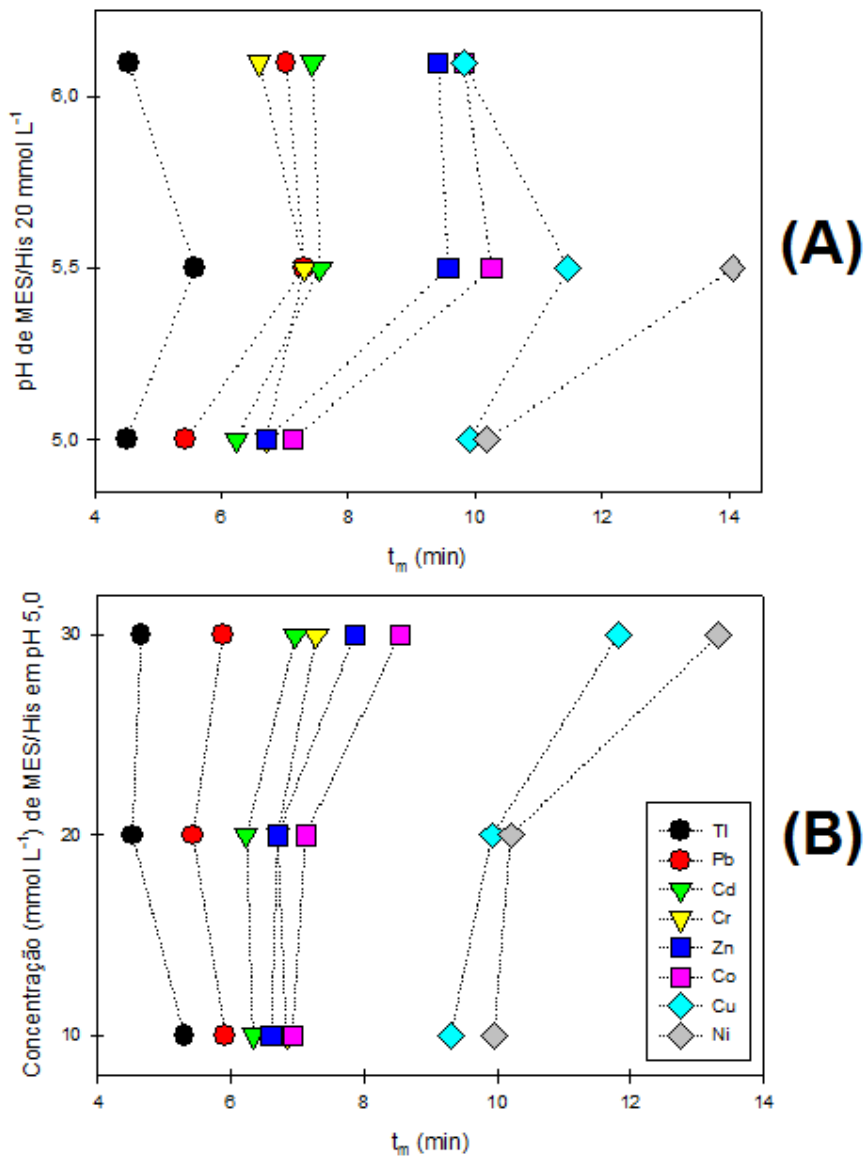


Figura 22 – Tempo de migração (t_m) em função do (A) pH de MES/His 20 mmol L⁻¹ e da (B) concentração (mmol L⁻¹) de MES/His em pH 5,0. Condições: Potencial de separação: 15 kV; Capilar: sílica fundida, 75 μ m, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 20 cm por 60 s. Amostra: Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II), todos na concentração de 4 mg L⁻¹. Os valores de RSD do t_m dos picos dos cátions ($n = 3$) variaram entre 1,6 e 2,8%.

4.3.2 Efeito da concentração de MES/His na separação

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 Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) com a concentração de MES/His em pH 5,0 foi investigada na faixa de concentração de 10 a 50 mmol L⁻¹.

Pelos resultados obtidos (Figura 22 (B) mostrada anteriormente) observou-se que o aumento da concentração do eletrólito de trabalho de 10 para 30 mmol L⁻¹ leva a uma melhora significativa na separação dos picos dos oito cátions, apesar do tempo de análise ser maior. Isto ocorre devido ao fato de que o aumento da concentração do eletrólito provoca uma diminuição no EOF, obtendo-se assim t_m com valores maiores para os cátions no eletroferograma.

Por outro lado, analisando a Figura 23 percebe-se que a altura da maioria 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 subseqüentes de otimização da separação dos cátions foram realizados comparativamente para eletrólitos de MES/His nas concentrações 20 e 30 mmol L⁻¹ (ambos em pH 5,0).

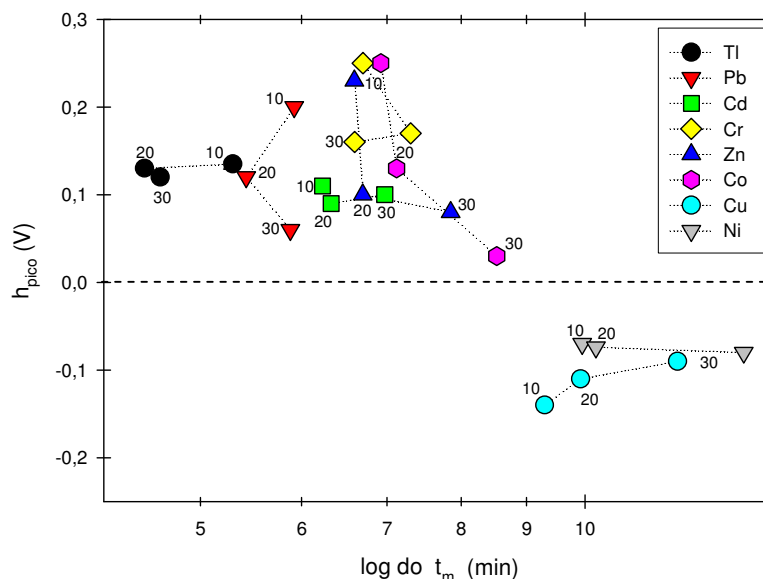


Figura 23 – Tempo de migração (t_m) em função da altura de pico (h_{pico}) obtidos a partir da variação da concentração (mmol L^{-1}) de MES/His em pH 5,0. Outras condições estão na Figura 22.

4.3.3 Otimização do potencial de separação

A taxa de migração de uma molécula carregada é proporcional ao campo elétrico aplicado. Aumentando-se o potencial aplicado aumentará a taxa de migração das moléculas e também aumentará o EOF, diminuindo assim o tempo de análise, além de aumentar a eficiência. Sabendo disso, para tentar melhorar a resolução entre os picos, variou-se também o valor do potencial de separação aplicado pelo detector. Visualizando-se a Figura 24 percebe-se que quanto maior o potencial aplicado menor será o tempo de análise, já que os cátions migram mais rapidamente pelo capilar até o detector.

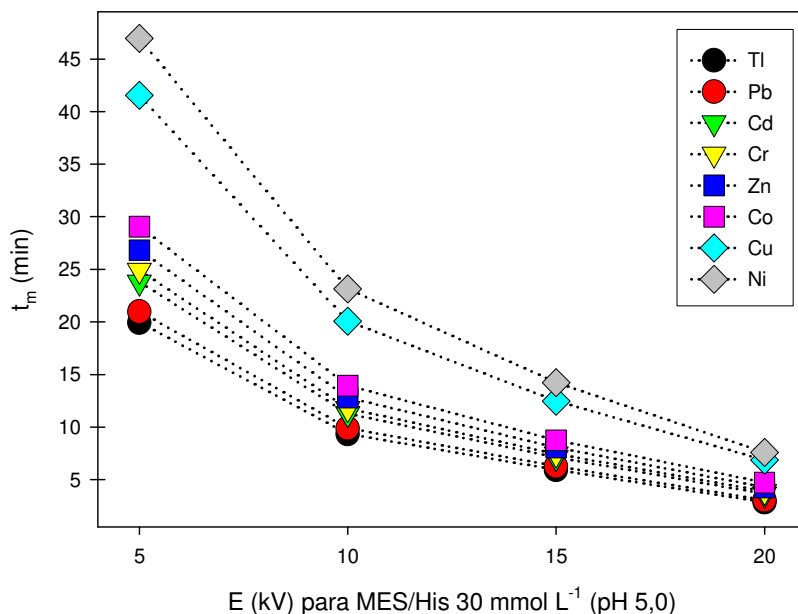


Figura 24 – Tempo de migração (t_m) em função do potencial (E) de separação aplicado (kV) para o eletrólito de trabalho MES/His 30 mmol L⁻¹ (pH 5). Outras condições na Figura 22. Amostra sintética: 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II).

No caso do eletrólito de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) obteve-se um comportamento semelhante ao obtido com MES/His 30 mmol L⁻¹ (pH 5,0) (Figura 24). Entretanto os valores dos t_m obtidos foram menores devido ao EOF ser maior quando são empregadas concentrações menores de eletrólito. Apesar de se saber que o processo de difusão é maior quando um baixo valor de potencial é aplicado, na prática foi observado que o potencial de 10 kV forneceu uma melhor separação eletroforética dos picos quando comparado a 15 kV, pelo fato de ter aumentado os t_m dos cátions.

4.3.4 Avaliação de diferentes composições de eletrólitos de trabalho

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, ou mais precisamente, à diferença de mobilidade entre o contra-íon do eletrólito de

trabalho e o íon analisado. Além disso, na grande maioria dos casos, a separação baseada apenas na diferença de mobilidade em solução aquosa é inviável, sendo necessário o uso de algum aditivo adequado, o qual é adicionado ao eletrólito a fim de melhorar a separação eletroforética dos cátions em estudo. Portanto, a separação dos metais foi investigada em eletrólitos de trabalho com diferentes composições. Para avaliar a capacidade de separação dos eletrólitos testados, uma amostra padrão contendo $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II), Ni(II), Mn(II) e Hg(II) foi injetada e analisada.

Primeiramente, foi adicionado metanol (MeOH) aos eletrólitos de MES/His nas concentrações de 20 e 30 mmol L^{-1} (pH 5,0). Comparando os eletroferogramas obtidos com estes eletrólitos, uma separação eficiente e sensível foi conseguida com MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), ilustrado na Figura 25 (A). O uso do solvente orgânico proporcionou melhora na resolução dos picos, pois 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 um agente complexante, ácido 2-hidroxiisobutírico (HIBA), também foi testada, e o seu resultado pode ser visualizado na Figura 25 (B). O complexante promoveu a modificação da mobilidade eletroforética de alguns cátions devido à formação de um complexo metálico de tamanho e carga diferentes daquele do cátion livre. Entretanto, comparando-se os eletroferogramas (A) e (B) da Figura 25, percebe-se que, para quase todos os cátions, a separação eletroforética que forneceu uma sensibilidade maior foi obtida com o eletrólito contendo MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v).

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 encontram-se na Figura 25 (C) e (D). Com o eletrólito HLac/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,25) e MeOH 10% (v/v) significativas modificações no comportamento eletroforético de alguns cátions foram verificadas. Por exemplo, picos negativos foram registrados para Zn(II) e Co(II), pois suas zonas passaram a possuir condutividades menores que o eletrólito utilizado.

Por outro lado, a separação com o eletrólito HIBA/His 10 mmol L^{-1} (pH 4,85) e MeOH 10% (v/v), visualizada na Figura 25 (D), foi a menos eficiente devido à baixa resolução entre os picos, ocorrendo também algumas co-migrações.

A adição de éter 18-coroa-6 como agente complexante ao eletrólito de trabalho MES/His 20 mmol 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.

O fato dos diferentes eletrólitos testados possuírem diferentes condutividades residuais refletiu diretamente na sensibilidade do sistema de detecção, como observado nos resultados obtidos na Figura 25. Como exemplo a ser citado, o cátion Tl(I) apresentou uma sensibilidade menor na condição de separação empregada no item (A) da Figura 25 quando comparada as outras três condições testadas.

Na Figura 25, a presença de outros cátions, tais como Mn(II) e Hg(II), também pode ser visualizada. Primeiramente, pretendia-se incluí-los na otimização de separação dos cátions metálicos em estudo. Entretanto, devido às mobilidades eletroforéticas do Pb(II) e do Mn(II) serem muito parecidas, estes dois sempre comigravam nas condições do sistema que proporcionou a melhor separação e a maior sensibilidade para a maioria dos cátions em estudo, representado na Figura 25 (A). Já o cátion Hg(II) apresentou pouca sensibilidade em todas as condições de separação testadas. Por estes motivos citados anteriormente e sabendo que a toxicidade do Pb(II) é maior que a do Mn(II), os estudos prosseguiram sem a presença dos cátions Mn(II) e Hg(II).

Por fim, pela comparação dos quatro eletroferogramas apresentados na Figura 25, pode-se concluir que o eletrólito de trabalho contendo MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v) forneceu a melhor condição para a separação simultânea de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em água pura.

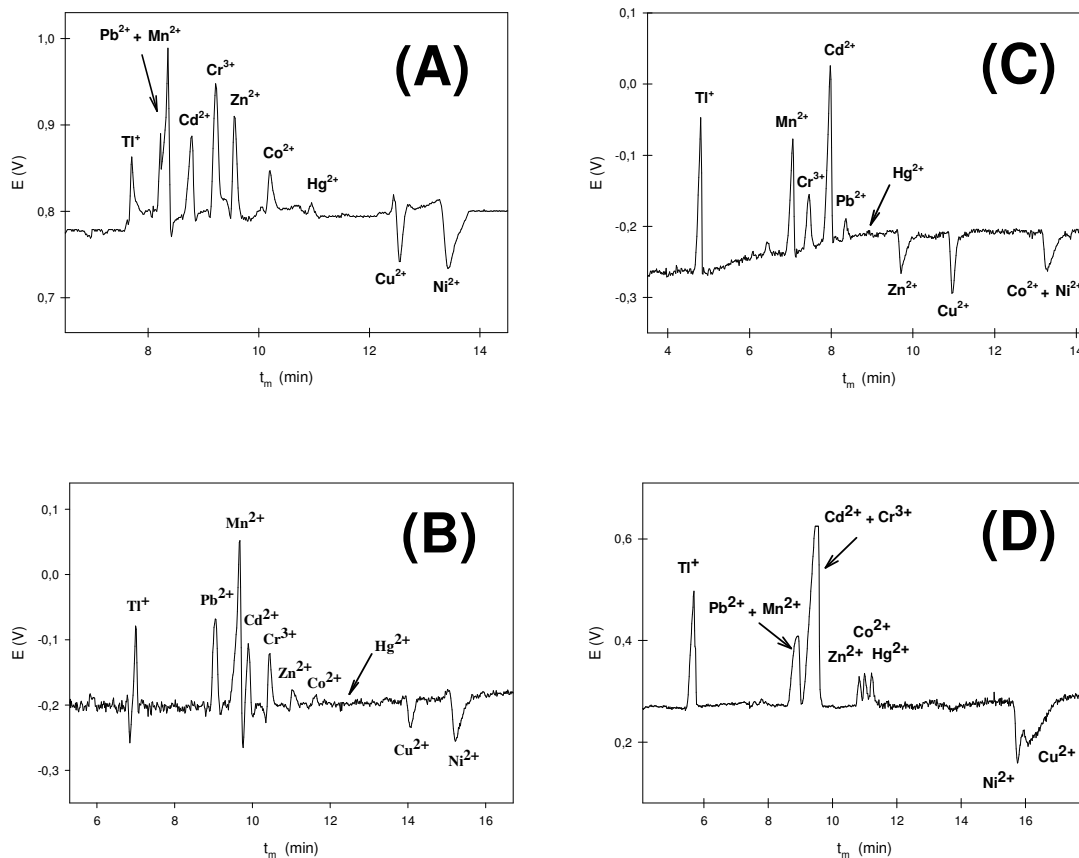


Figura 25 – Electroferogramas de uma mistura de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II), Ni(II), Mn(II) e Hg(II) na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Eletrólitos de trabalho empregados: (A) MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), (B) MES/His 30 mmol L^{-1} (pH 5,0) e HIBA 1 mmol L^{-1} , (C) HLaC/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,25) e MeOH 10% (v/v) e (D) HIBA/His 10 mmol L^{-1} (pH 4,85) e MeOH 10% (v/v). Outras condições: Potencial de separação: 10 kV para (A) e (B), 15 kV para (C) e (D); Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e 2 V_{pp} ; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 20 cm por 60 s.

4.3.5 Efeito da altura e do tempo de injeção da amostra

O valor da área do pico detectado indica o volume de amostra introduzido no capilar que depende da altura e do tempo utilizados durante a injeção hidrodinâmica por gravidade. Na Figura 26 percebe-se que a sensibilidade de detecção aumentou consideravelmente quando um dos lados do capilar foi elevado 28 cm em relação ao outro, introduzindo assim uma maior quantidade de amostra no capilar quando comparado às alturas de 10 e 20 cm.

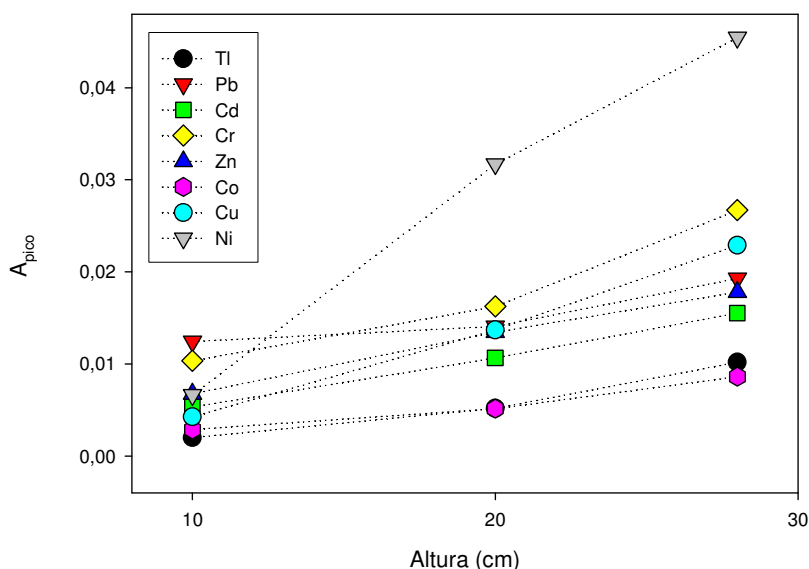


Figura 26 – Injeção hidrodinâmica por gravidade com diferentes alturas (cm) por 60 s em função das áreas dos picos dos metais de uma amostra sintética de 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C .

O tempo pelo qual um dos lados do capilar permanece elevado também influencia diretamente na quantidade de amostra injetada no capilar. Mantendo-se constante a altura de 28 cm foram comparados os tempos de injeção de 30, 60 e 90 segundos. O tempo de 90 s forneceu pouca resolução entre os picos, devido ao efeito da difusão ser maior para longos tempos de injeção. Por outro lado, um tempo menor como 30 s, forneceu picos com áreas bem menores. Desta forma, dentre as

condições de injeção testadas a que forneceu uma maior sensibilidade dos picos dos metais foi de 28 cm por 60 s.

4.3.6 Efeito da frequência e amplitude na relação sinal/ruído

Para tentar melhorar a sensibilidade de detecção dos metais foi variado o valor da frequência de operação do detector durante a separação eletroforética. Os resultados obtidos com a variação da frequência podem ser visualizados na Figura 27, e dão o exemplo de como a impedância da célula oscilométrica é dependente da frequência de operação, devido a influencia na corrente medida pelo circuito eletrônico. Comparando-se as frequências de 550 e 600 kHz percebe-se que, para a maioria dos cátions, não se obteve grandes mudanças nos valores das áreas dos seus picos. Entretanto, 650 kHz forneceu uma área do pico menor para alguns metais.

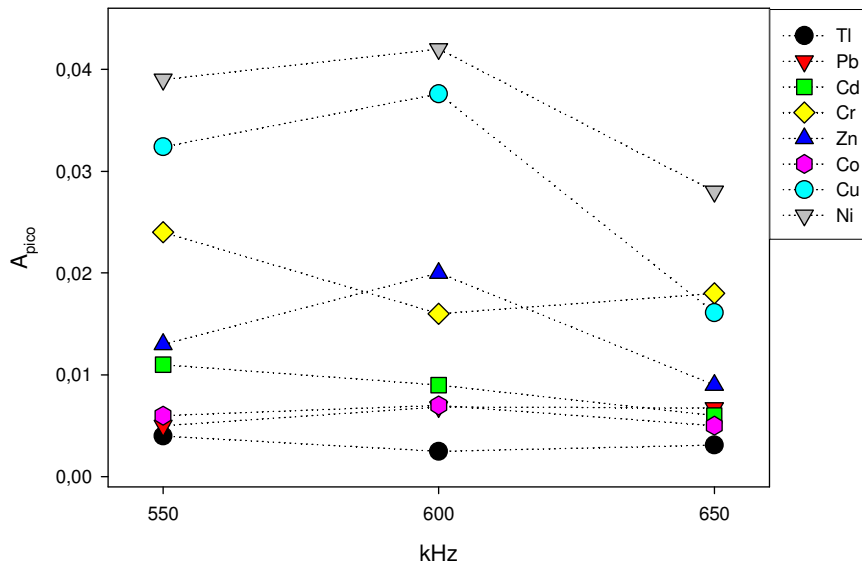


Figura 27 – Variação da frequência (kHz) de operação do detector em função das áreas dos picos dos metais de uma amostra sintética de 2 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em $2 V_{pp}$; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s.

O fato da resposta do sistema de detecção também depender da amplitude do sinal aplicado, este valor também foi variado a fim de se obter uma sensibilidade de detecção melhor. Entretanto, neste estudo da variação da voltagem de excitação, somente foram obtidos picos eletroforéticos aplicando-se 2 V_{pp} . Já os outros valores de amplitude testados forneceram eletroferogramas com um ruído da linha base muito alto, não permitindo assim a detecção dos metais. Com isto, os estudos de otimização prosseguiram mantendo-se os valores de excitação da onda senoidal em 600 kHz e 2 V_{pp} .

4.3.7 Avaliação dos parâmetros de detecção de metais de transição no equipamento construído

O método proposto foi avaliado para a determinação simultânea de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em solução aquosa. A Figura 28 ilustra a separação eletroforética dos oito metais que foi feita pela aplicação de um potencial de 10 kV, com o detector C^4D operando em 600 kHz e 2 V_{pp} , e utilizando MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v) como eletrólito de trabalho.

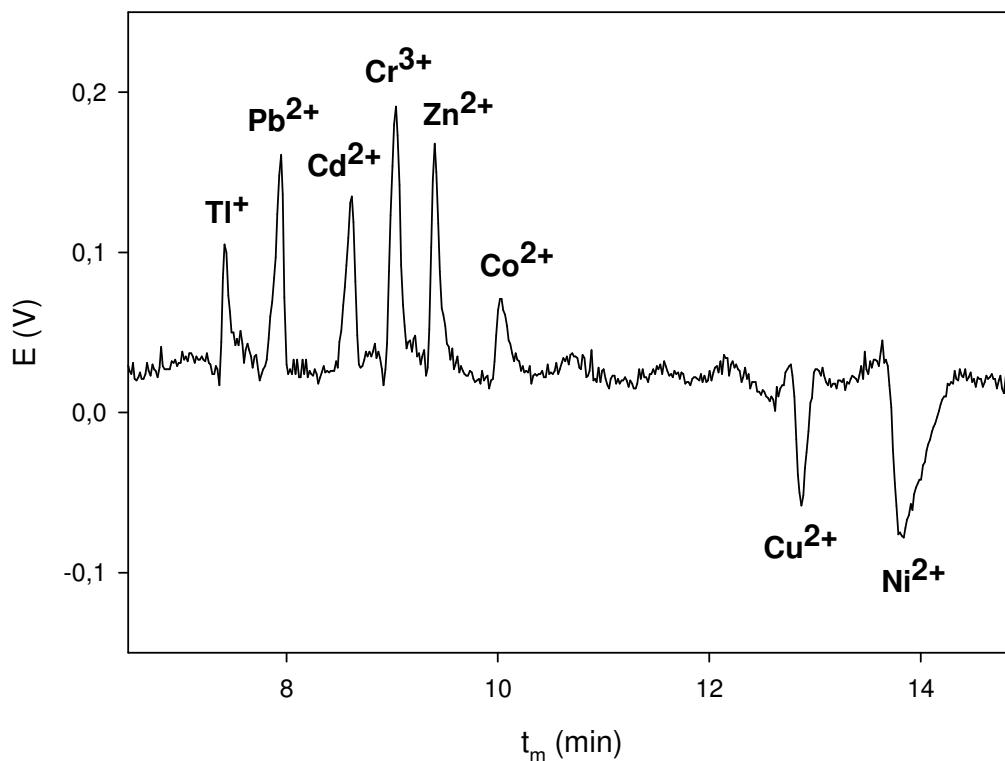


Figura 28 – Eletroferograma de uma amostra sintética de 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D 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 seqüencial (injeção hidrodinâmica por gravidade a 28 cm por 60 s) de uma solução aquosa contendo uma mistura de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) na concentração de 4 mg L^{-1} . Os tempos de migração para os oito picos foram medidos para cinco injeções sucessivas e seus respectivos valores de desvio padrão estão listados na Tabela 4. Os coeficientes de variação calculados apresentam valores médios de 2,8% para os tempos de migração dos metais.

Tabela 4 – Valores dos tempos de migração e áreas e respectivos erros relativos percentuais obtidos de uma amostra sintética de 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Cu(II) e Ni(II) injetada e analisada em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (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.

Parâmetros	Tl(I)	Pb(II)	Cd(II)	Cr(III)	Zn(II)	Co(II)	Cu(II)	Ni(II)
Tempo de migração (t _m) (min)	7,64	7,83	8,68	9,12	9,43	10,09	12,93	13,77
Desvio padrão do t _m (n = 5)	± 0,21	± 0,23	± 0,25	± 0,25	± 0,29	± 0,27	± 0,38	± 0,47
RSD ^a (%) do t _m	± 2,7	± 2,9	± 2,8	± 2,7	± 3,0	± 2,6	± 2,9	± 3,4
Área média (A)	0,0042	0,0049	0,0140	0,0200	0,0114	0,0013	0,0162	0,0305
Desvio padrão da A (n = 5)	± 0,0001	± 0,0001	± 0,0003	± 0,0009	± 0,0003	± 0,0003	± 0,0004	± 0,0009
RSD ^a (%) da A	± 2,3	± 2,0	± 2,1	± 4,5	± 4,0	± 4,1	± 2,4	± 2,9

^a RSD = Desvio padrão relativo.

O limite de detecção (LOD) para os cátions foi calculado pela equação $3\sigma_B/b$, na qual o valor de b foi obtido da inclinação da curva analítica, contendo 5 pontos ($n = 5$), e σ_B foi obtido do desvio padrão da linha base ($n = 10$). O limite de quantificação (LOQ) foi calculado a partir de $10\sigma_B/b$. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 5.

O *software* Origin™ versão 7.5 foi utilizado para integrar e analisar os dados obtidos. O valor da área dos picos forneceu uma resposta linear para todos os cátions nas faixas de concentração ($n = 5$) listadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores dos LODs, LOQs e da faixa linear de concentração ($n = 5$) para os cátions Ti(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (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.

Parâmetros	Ti(I)	Pb(II)	Cd(II)	Cr(III)	Zn(II)	Co(II)	Cu(II)	Ni(II)
LOD (µmol L ⁻¹)	5,08	1,69	3,52	5,93	5,16	22,17	8,43	3,28
LOQ (µmol L ⁻¹)	16,91	5,62	11,72	19,74	17,02	73,82	28,07	10,92
Faixa de trabalho linear (µmol L ⁻¹)	17–280	6–300	12–280	20–350	17–280	74–300	28–320	11–350

4.4 Aplicações analíticas

Com a construção do equipamento de CE-C⁴D, tornou-se possível o desenvolvimento de diversas aplicações analíticas. A partir das condições otimizadas para a determinação simultânea dos cátions metálicos Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) no equipamento construído, um outro estudo envolveu a análise destes metais em matrizes variadas, tais como amostras salinas (água do mar real e sintética (NaCl 0,6 mol L⁻¹), fluido hidrotermal e concentrado salino comercial), água de diálise, água mineral, além de um fertilizante foliar líquido.

4.4.1 Amostras com alta concentração salina

Várias amostras apresentam alta concentração de íons sódio, como soluções utilizadas em hemodiálise, água do mar e fluido hidrotermal. O controle destas amostras requer a análise de diversas substâncias presentes em baixas concentrações. Neste trabalho, diluições destas amostras foram testadas inicialmente. Entretanto, não foram testados fatores de diluição muito grandes, devido ao fato dos metais em estudo se apresentarem normalmente em concentrações baixas nestas amostras. Nos eletroferogramas obtidos das amostras diluídas, picos eletroforéticos dos cátions não foram identificados após o pico dos íons Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II) em excesso. Entretanto, quando estas amostras diluídas foram contaminadas com os metais de interesse, os eletroferogramas apresentaram picos de Co(II), Cu(II) e Ni(II), devido ao fato das zonas destes metais migrarem após a larga banda do excesso dos íons Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II). Notou-se também que, devido à presença da alta concentração do meio salino, o tempo de migração destes três metais aumentou em relação ao meio aquoso normal (baixa concentração salina). Já os outros metais Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III) e Zn(II) migraram juntamente com o meio salino (banda dos íons Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II)) e, por isso, suas separações não foram possíveis. Este comportamento descrito pode ser visualizado na Figura 29, que mostra o eletroferograma de uma amostra sintética de água do mar contendo sódio na concentração de 0,06 mol L⁻¹ contaminada com os metais de interesse e utilizando MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) com 5% (v/v) de

MeOH como eletrólito de trabalho. Para as outras amostras salinas aqui citadas, foram obtidos eletroferogramas com comportamento semelhante ao ilustrado nesta Figura 29.

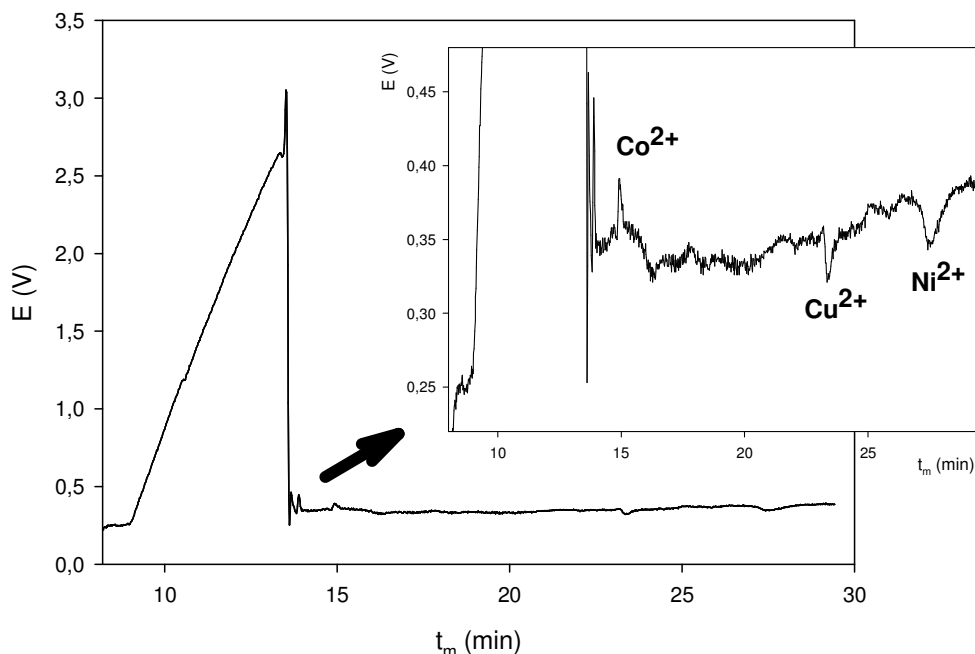


Figura 29 – Eletroferograma de uma amostra de NaCl $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \text{ }\mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e 2 V_{pp} ; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s.

A partir dos resultados obtidos, empregando-se as condições experimentais do método proposto neste trabalho, pode-se concluir que a dificuldade encontrada na separação dos oito cátions de interesse é causada pela concentração relativamente alta dos íons Na(I), K(I), Ca(II) e Mg(II) presentes nas amostras salinas testadas. Além disso, estes íons apresentaram valores de mobilidade iônica próxima a dos cátions em estudo, o que inviabilizou a separação dos cátions em estudo. Adicionalmente, a sobreposição de sinais no eletroferograma e o alargamento das bandas dos cátions em altas concentrações, causado pela dispersão eletroforética, diminuiu significativamente a resolução e visualização dos cátions em menor concentração, sendo necessários estudos de otimização posteriores com novos

eletrólitos de trabalho. Sendo assim, foram testados outras composições do eletrólito de trabalho MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v). Os testes envolveram o uso de concentrações maiores de MeOH, além do uso do solvente orgânico acetonitrila e da adição individual de diferentes agentes complexantes a este eletrólito. Foram testados os complexantes HIBA, éter 18-coroa-6, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico e ácido cítrico, ambos na concentração de 1 mmol L⁻¹. Contudo, para todos os eletrólitos testados a alta concentração salina das amostras continuou interferindo significativamente na determinação dos metais em estudo, já que a presença do pico interferente continuou presente em todos os eletroferogramas.

4.4.2 Amostras com baixa concentração salina

Devido ao fato das diversas condições testadas anteriormente não serem capazes de possibilitar a determinação dos metais em estudo nas amostras com alta concentração salina, resolveu-se investigar outros tipos de amostras, que contêm uma menor interferência salina. Além disso, para a análise destas outras amostras (água de diálise e água mineral) foi utilizado um aumento da concentração de MeOH para 10% (v/v) na solução do eletrólito de trabalho com o objetivo de tentar aumentar a resolução entre os picos interferentes e os picos dos metais em estudo.

A água para diálise é uma água tratada pelo método de osmose reversa, a qual é empregada diretamente no tratamento dialítico. Sabendo-se que a qualidade da água tratada utilizada na preparação de solução para diálise fornecida ao paciente deve ser a melhor possível [PORTARIA DO MINISTÉRIO DA SAÚDE], a análise dos oito cátions estudados é interessante a fim de se avaliar uma possível contaminação desta água. A injeção da amostra de água de diálise forneceu um eletroferograma contendo apenas um pico referente ao cátion Na(I) com tempo de migração de 12 min. Analisando-se o tamanho deste pico no eletroferograma da Figura 30, percebe-se que este contaminante na amostra está em uma concentração consideravelmente menor em relação às amostras salinas citadas anteriormente. Quando esta mesma amostra de água de diálise foi contaminada com os metais Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II), o pico de contaminação do Na(I) não interferiu na análise dos oito metais, como visualizado na Figura 30.

Percebe-se também nesta figura que o tempo de análise teve um considerável aumento devido à solução do eletrólito de trabalho empregada para esta análise possuir uma viscosidade maior.

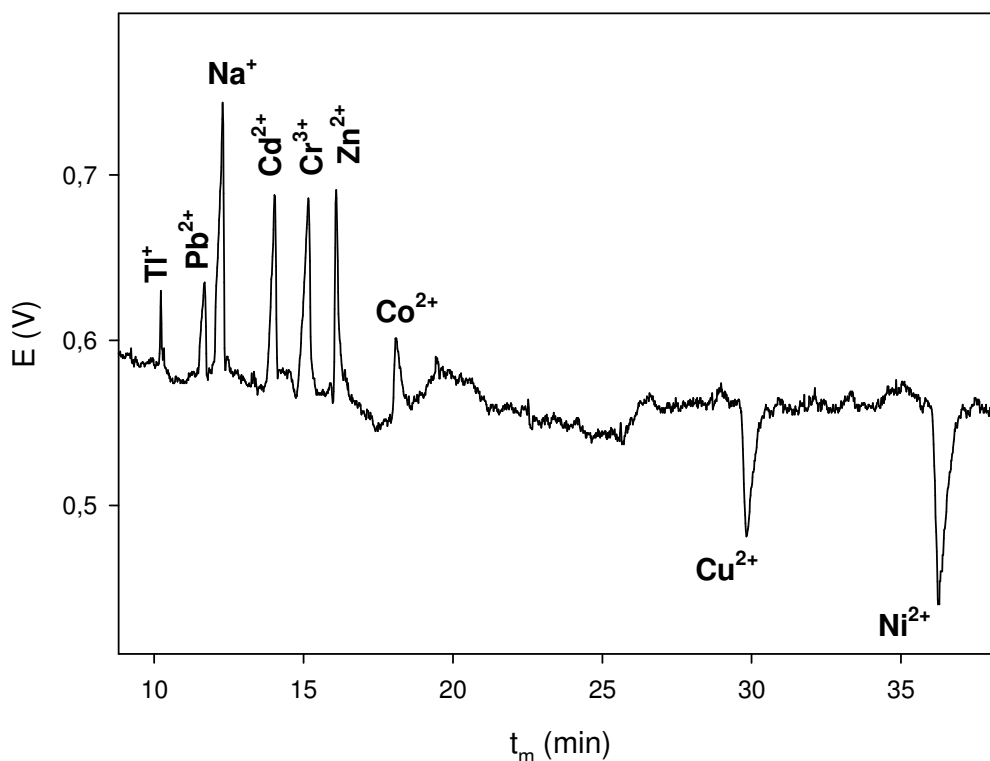


Figura 30 – Eletroferograma de uma amostra de água de diálise contaminada com 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 10% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, 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.

Na Figura 31 está o eletroferograma da análise de uma amostra de água mineral contaminada com os oito metais estudados, no qual se observa a presença de íons K(I), além da co-migração dos cátions Na(I), Ca(II) e Mg(II) com os metais Tl(I), Pb(II) e Cd(II), respectivamente. Sendo assim, as condições experimentais empregadas na análise desta amostra não proporcionaram uma separação satisfatória, pelo fato dos quatro contaminantes presentes nesta amostra possuírem valores de mobilidade iônica próximos a dos cátions estudados.

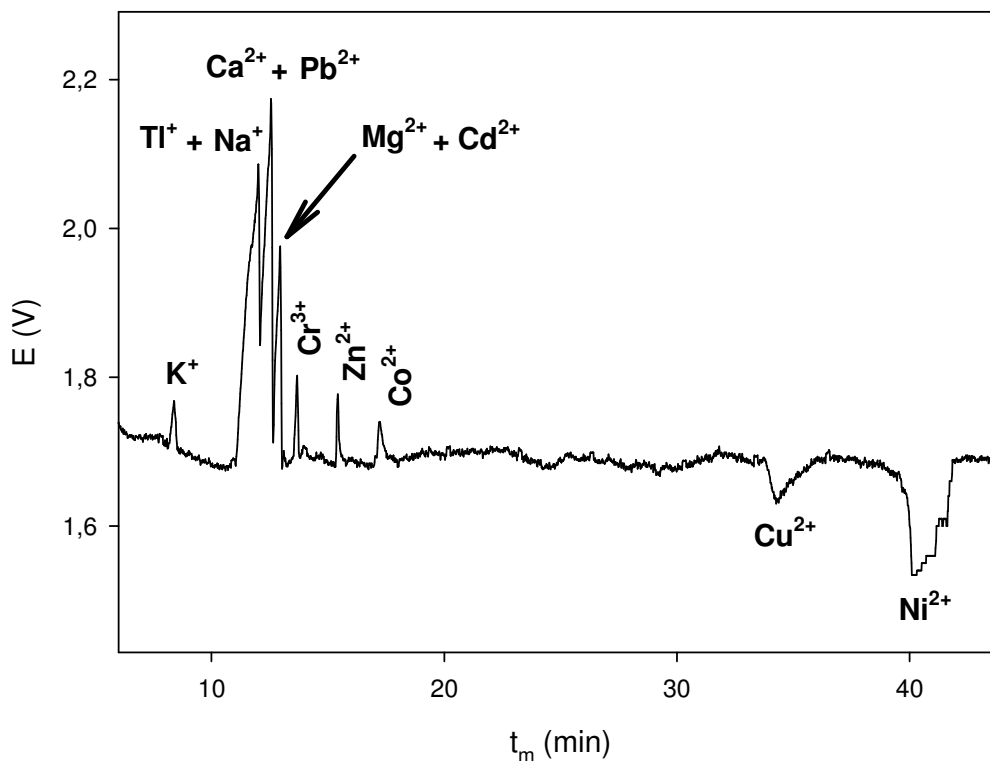


Figura 31 – Electroferograma de uma amostra de água mineral contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I) , Pb(II) , Cd(II) , Cr(III) , Zn(II) , Co(II) , Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de $\text{MES/His } 20 \text{ mmol L}^{-1}$ ($\text{pH } 5,0$) e $\text{MeOH } 10\%$ (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm , 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e 2 V_{pp} ; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s .

4.4.3 Análise de nutrientes e contaminantes em fertilizantes

O fertilizante foliar analisado (Dimicron nitrozinc) é um fertilizante líquido que contém na sua composição nitrogênio, associado aos micronutrientes B, Cu, Mn e Zn, sendo especialmente desenvolvido para gramíneas. Esta combinação quimicamente balanceada de micronutrientes, juntamente com o nitrogênio, possibilita às plantas a expressão de seu potencial produtivo [FERTILIZANTE FOLIAR].

Neste trabalho, a amostra de fertilizante foliar foi testada a fim de analisar seus nutrientes e contaminantes. Nesta amostra, os nutrientes estão em maior

concentração e os contaminantes estão em concentração relativamente menor. Na Figura 32 (A) encontra-se o eletroferograma da amostra de fertilizante foliar diluída 1000 vezes, na qual são visualizados os nutrientes $\text{NH}_4(\text{I})$, $\text{K}(\text{I})$, $\text{Na}(\text{I})$, $\text{Ca}(\text{II})$, $\text{Mn}(\text{II})$, $\text{Zn}(\text{II})$ e $\text{Cu}(\text{II})$. É importante salientar aqui que a co-migração dos íons $\text{NH}_4(\text{I})$ e $\text{K}(\text{I})$ poderia ser resolvida pela adição de éter coroa ao eletrólito de trabalho, como já descrito anteriormente.

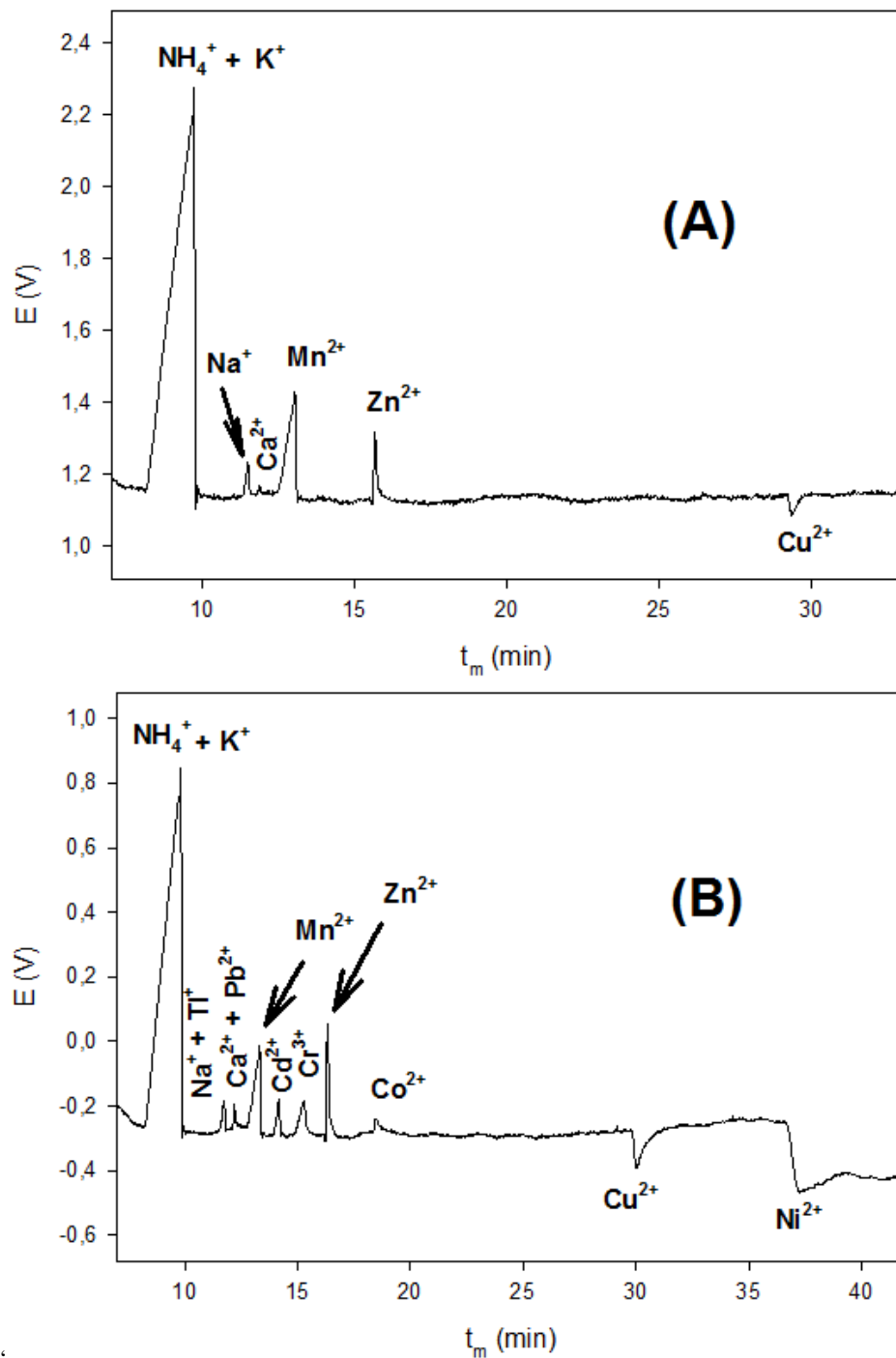


Figura 32 – Eletroferogramas de uma amostra de (A) fertilizante foliar (Dimicron nitrozínco; fator de diluição: 1000 vezes) e (B) amostra do item A contaminada com 4 mg L^{-1} de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 10% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 68 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e 2 V_{pp} ; Temperatura: 25°C ; Injeção hidrodinâmica por gravidade: 28 cm por 60 s.

Recentemente, a legislação do Ministério da Agricultura no Brasil exige a análise de Cd(II), Pb(II) e Cr(II) como contaminantes em amostras de fertilizantes. A simulação da contaminação da amostra de fertilizante pelos oito metais estudados também foi realizada e pode ser vista na Figura 32 (B). Neste eletroferograma ocorreram algumas co-migrações devido à interferência dos nutrientes presentes na matriz desta amostra, demonstrando que a aplicação desta metodologia neste tipo de amostra precisa ser ainda otimizada.

4.5 Estudo comparativo com outro sistema CE-C⁴D desenvolvido

Para avaliar a sensibilidade e a reprodutibilidade do método proposto desenvolvido no sistema CE-C⁴D construído na UFSM, um outro estudo envolveu a aplicação deste método para a determinação simultânea dos oito cátions metálicos, apresentado anteriormente neste trabalho, em outro sistema CE-C⁴D. Este outro equipamento utilizado para efetuar a comparação de resultados foi construído por Fracassi da Silva e colaboradores no Instituto de Química da UNICAMP.

O equipamento de eletroforese capilar (CE-C⁴D) utilizado na UNICAMP pode ser visualizado esquematicamente na Figura 33.

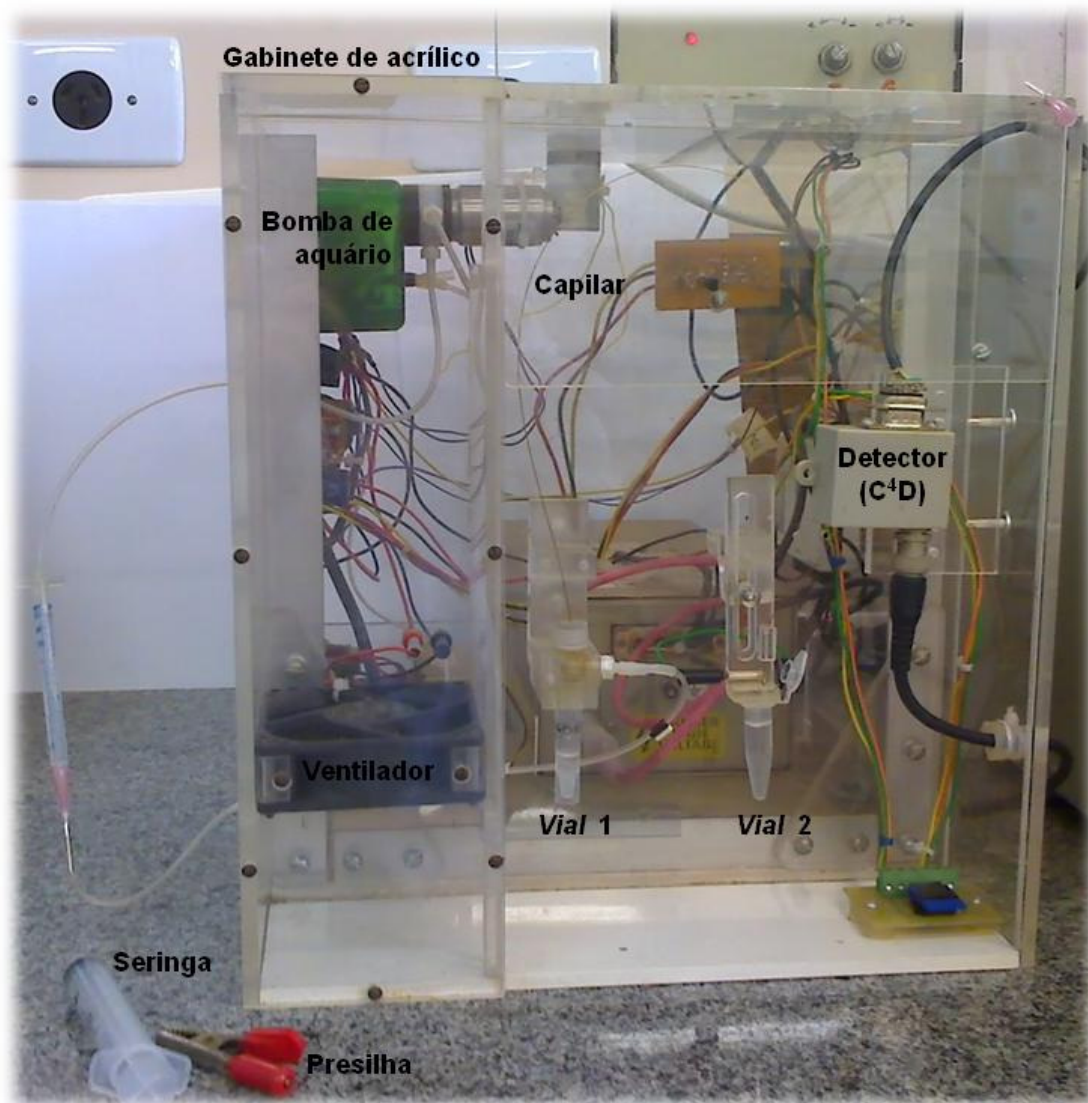


Figura 33 – Foto do equipamento de CE-C⁴D utilizado na UNICAMP.

Este equipamento possui alguns componentes do sistema eletroforético que são diferentes dos empregados no equipamento construído e utilizado neste trabalho. A Tabela 6 descreve os componentes diferenciais entre os dois equipamentos.

Tabela 6 – Parâmetros comparativos dos componentes dos dois equipamentos CE–C⁴D utilizados neste trabalho.

Parâmetros	Equipamentos CE–C ⁴ D	
	UFSM	UNICAMP
Dimensões do gabinete de acrílico	70 x 80 x 50 cm	30 x 30 x 30 cm
Fornecedor do capilar de sílica fundida (d.i. 75 µm, d.e. 360 µm)	Microtube	Agilent
Comprimento total do capilar	68 cm	56 cm
Comprimento efetivo do capilar	46 cm	46 cm
Lavagem do capilar (aplicação de pressão negativa)	bomba de vácuo (no lado da detecção)	seringa (no lado da injeção)
Sistema de injeção hidrodinâmica	SIG ^a	SIP ^b
Sistema responsável pela injeção	carro de impressora	bomba de aquário
Sistema de troca de <i>vials</i>	amostradores automáticos	Manual
Sistema de controle de temperatura	possui circulação de ar com termopar	não possui
Detector	caixa que pode ser aberta	caixa fechada
Interface	PCI–1711	NI USB–6009
<i>Software</i> desenvolvido em linguagem	Delphi 7.0	LabVIEW 7.1

^a SIG = Sistema de injeção por gravidade.

^b SIP = Sistema de injeção por pressão.

Pela comparação das fotos dos dois equipamentos CE-C⁴D (Figuras 9 e 33) percebe-se que as dimensões dos gabinetes de acrílico são diferentes. O sistema eletroforético do equipamento desenvolvido na UNICAMP é bem menor quando comparado ao desenvolvido na UFSM. Outro diferencial é o fato de o equipamento utilizado na UNICAMP não possui um sistema de controle de temperatura. Para a circulação do ar pelo interior do sistema eletroforético, este equipamento possui uma ventoinha, a qual permanece ligada o tempo todo durante as separações eletroforéticas. Pelo fato de não possuir um sistema de controle de temperatura, a temperatura do sistema durante a análise eletroforética oscila em torno da temperatura do ambiente externo do gabinete de acrílico, o que não garante a estabilização da temperatura em um valor fixo.

Já a lavagem do capilar no equipamento desenvolvido na UNICAMP é feita pela redução da pressão do reservatório da amostra (*vial* 1 – lado da injeção). A redução da pressão é conseguida pela movimentação de um êmbolo de uma seringa feito de forma manual. A seringa é conectada ao reservatório através de tubulações e conexões próprias para a sua utilização em sistemas de pressão, como visualizado na Figura 34 (A). Inicialmente, a seringa repousa na posição de menor volume, de modo que nesta posição a pressão sobre o reservatório é igual à pressão ambiente. Quando o êmbolo é puxado manualmente para trás e preso com o auxílio de uma presilha, ocorre o aumento do volume acoplado à tubulação e, conseqüentemente, ocorre redução da pressão sobre o reservatório. Com o êmbolo nesta posição, a lavagem do capilar é efetuada. Ao término do tempo de lavagem, retira-se a presilha e o êmbolo volta para a sua posição inicial, restabelecendo a pressão atmosférica no reservatório.

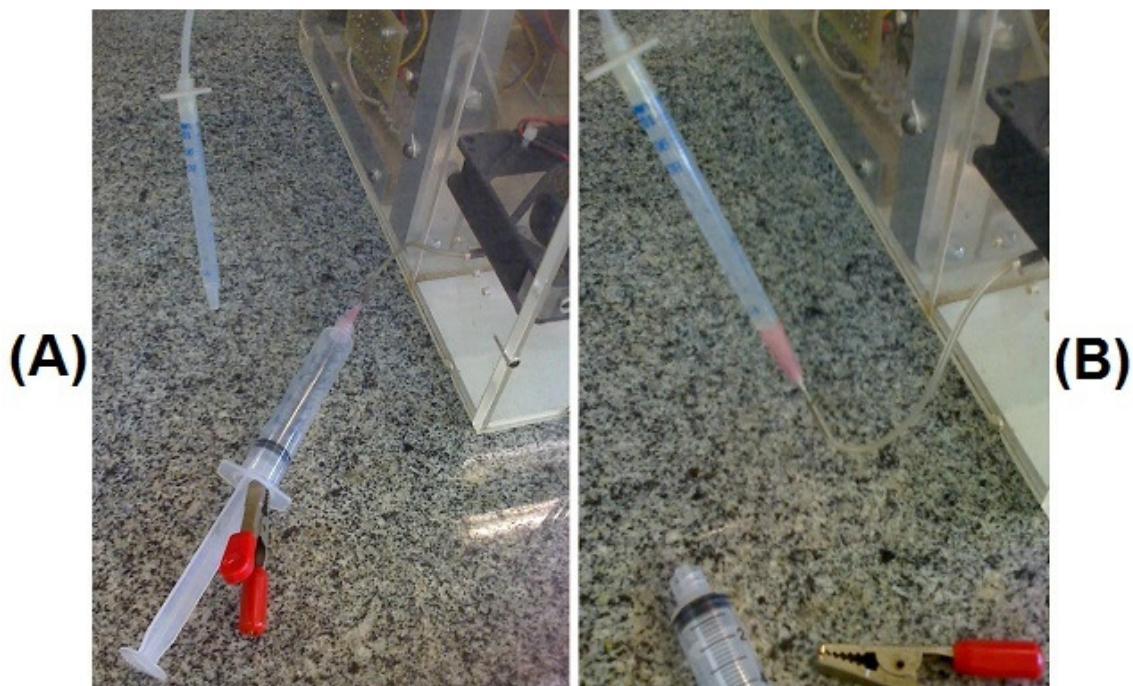


Figura 34 – Fotos demonstrando (A) a seringa conectada ao *vial* 1 durante a etapa de lavagem do capilar (aplicando pressão negativa no *vial* 1) e (B) a conexão entre a bomba de aquário e o *vial* 1 empregada durante as etapas de injeção hidrodinâmica por pressão e análise eletroforética no equipamento de CE-C⁴D utilizado na UNICAMP.

O equipamento desenvolvido na UNICAMP possui um sistema de injeção por pressão (SIP), sendo diferente do sistema de injeção por gravidade (SIG) empregado no equipamento desenvolvido na UFSM. Vale ressaltar que em ambos os equipamentos também se pode utilizar o sistema de injeção eletrocinética, além do modo de injeção hidrodinâmica.

O sistema de injeção hidrodinâmica empregado no equipamento desenvolvido na UNICAMP baseia-se no aumento da pressão do reservatório da amostra (*vial* 1). O aumento da pressão é conseguido pelo acionamento de um motor de bomba de aquário acoplado ao sistema. Para isto, o sistema deve estar conectado conforme ilustrado na Figura 34 (B). O dispositivo aplica uma pressão constante de 11 kPa e permite a escolha do tempo de amostragem conforme a necessidade (alguns segundos).

Em relação aos detectores oscilométricos dos equipamentos, pode-se dizer que cada um foi construído com materiais com características diferentes. No detector desenvolvido na UFSM, a placa de circuito está instalada dentro de uma

caixa metálica ligada ao potencial de terra para garantir a blindagem eletromagnética. Para se efetuar o procedimento de troca de capilar, a caixa metálica deve ser aberta, retirando-se a sua parte frontal. A passagem de um capilar com diâmetro externo (d. e.) de 360 μm por dentro dos dois eletrodos fixados sobre a placa é facilitada. Além disso, a agulha, que serviu como molde para a confecção dos eletrodos, foi de 450 μm , o que deixa um espaço livre de 90 μm para passar o capilar por dentro dos eletrodos.

Por outro lado, o detector oscilométrico do equipamento da UNICAMP é composto por uma caixa de plástico fechada ligada ao potencial de terra. A caixa possui internamente um revestimento de cobre que garante a blindagem eletromagnética, além de ser preenchida com polidimetilsiloxano (PDMS) que é um isolante térmico. Neste detector foi utilizada uma agulha de 400 μm como molde para a confecção dos eletrodos, o que deixa um espaço livre de 40 μm para passar o capilar por dentro dos eletrodos. O procedimento de troca do capilar, neste caso, é um pouco mais difícil pelo fato da caixa do detector (fechada) possuir um septo de PDMS, que serve como uma guia para o capilar passar por dentro da caixa entre os dois eletrodos, o qual é um pouco justo de mais.

Apesar dos sistemas de lavagem empregados nos dois equipamentos serem diferentes, as condições do procedimento de lavagem do capilar (soluções e duração de tempo) foram mantidas as mesmas empregados no equipamento desenvolvido na UFSM, descritas no capítulo 3.

Para que a condição de injeção empregadas no equipamento desenvolvido na UNICAMP fosse semelhante ao empregado na UFSM, foi utilizado um tempo grande de injeção (10 s). Entretanto, é difícil fazer com que as condições de injeção sejam exatamente iguais pelo fato de serem sistemas distintos.

Primeiramente, testou-se o método proposto neste trabalho utilizando as condições que são geralmente empregadas no equipamento desenvolvido na UNICAMP, por exemplo, um capilar de 50 cm. Entretanto, para este comprimento de capilar o tamanho efetivo é menor (40 cm) quando comparado ao utilizado no equipamento desenvolvido na UFSM (46 cm). Empregando esta condição, o eletroferograma obtido apresentou duas co-migrações. A Figura 35 mostra que além destas co-migrações, para $\text{Ti(II)} + \text{Pb(II)}$ e $\text{Cd(II)} + \text{Cr(III)}$, o capilar de 50 cm forneceu um tempo de análise em torno de 8 min, ou seja, relativamente menor ao obtido nos experimentos no equipamento utilizado na UFSM (15 min). Este fato

decorreu devido ao potencial de 10 kV aplicado neste capilar, de comprimento total menor, fornecer um campo elétrico maior ao longo do capilar quando comparado às condições experimentais empregadas no equipamento utilizado na UFSM. É por este motivo que o tempo de migração dos analitos foi menor, já que os cátions migraram mais rapidamente pelo capilar até o detector, como visualizado na Figura 35.

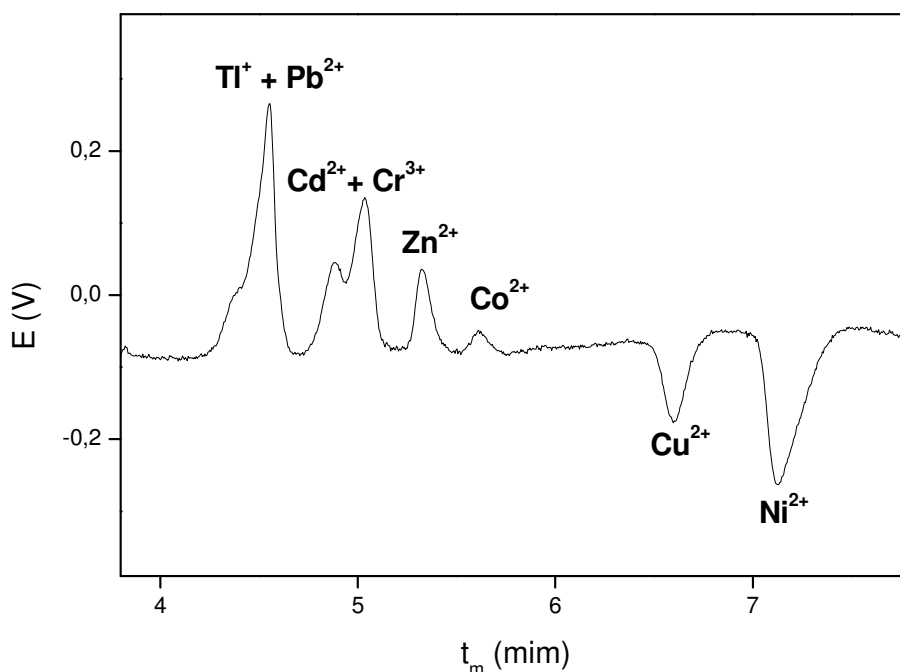


Figura 35 – Eletroferograma de uma amostra sintética obtido com a aplicação do método proposto no equipamento utilizado na UNICAMP. Amostra sintética: 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II); Eletrólito de trabalho: MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v); Potencial de separação dos metais: 10 kV; Capilar: sílica fundida, 75 μm, 50 cm, 40 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 26,5 ± 0,5°C; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s.

Sendo assim, os experimentos efetuados no equipamento desenvolvido na UNICAMP prosseguiram utilizando-se um capilar de 56 cm, o qual também forneceu 46 cm de tamanho efetivo até o detector (idêntico ao utilizado no equipamento desenvolvido na UFSM).

Além disso, pelo fato de se utilizar um tamanho de capilar diferente daquele utilizado na UFSM, calculou-se o valor do potencial de separação para que o campo

elétrico (E) aplicado ao longo do capilar fosse igual nos dois sistemas. O valor do E ao longo do capilar é obtido dividindo-se o valor do potencial de separação (em V) pelo comprimento total do capilar (em cm). Para que o E ao longo do capilar de 56 cm utilizado no equipamento desenvolvido na UNICAMP também fosse de 147 V cm^{-1} , foi aplicado um potencial de 8 kV para a separação dos oito metais.

Finalmente, o método foi avaliado com as condições descritas anteriormente. Para um melhor entendimento, a seguir são citadas as diferentes condições experimentais utilizadas para a aplicação do método proposto nos dois equipamentos CE-C⁴D utilizados neste trabalho:

- **Equipamento desenvolvido na UFSM:** Eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 10 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 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.
- **Equipamento desenvolvido na UNICAMP:** Eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 8 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 56 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: $26,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s.

A Figura 36 (B) demonstra a separação eletroforética obtida no equipamento desenvolvido na UNICAMP, empregando as condições descritas acima. Para efeito de comparação, foi colocado ao lado da Figura 36 (B) o eletroferograma da Figura 28, aqui representado pela Figura 36 (A), mostrando a separação eletroforética obtida nos equipamentos desenvolvidos na UFSM e na UNICAMP. Os valores dos tempos de migração, áreas dos picos e seus respectivos desvios padrão estão descritos na Tabela 7.

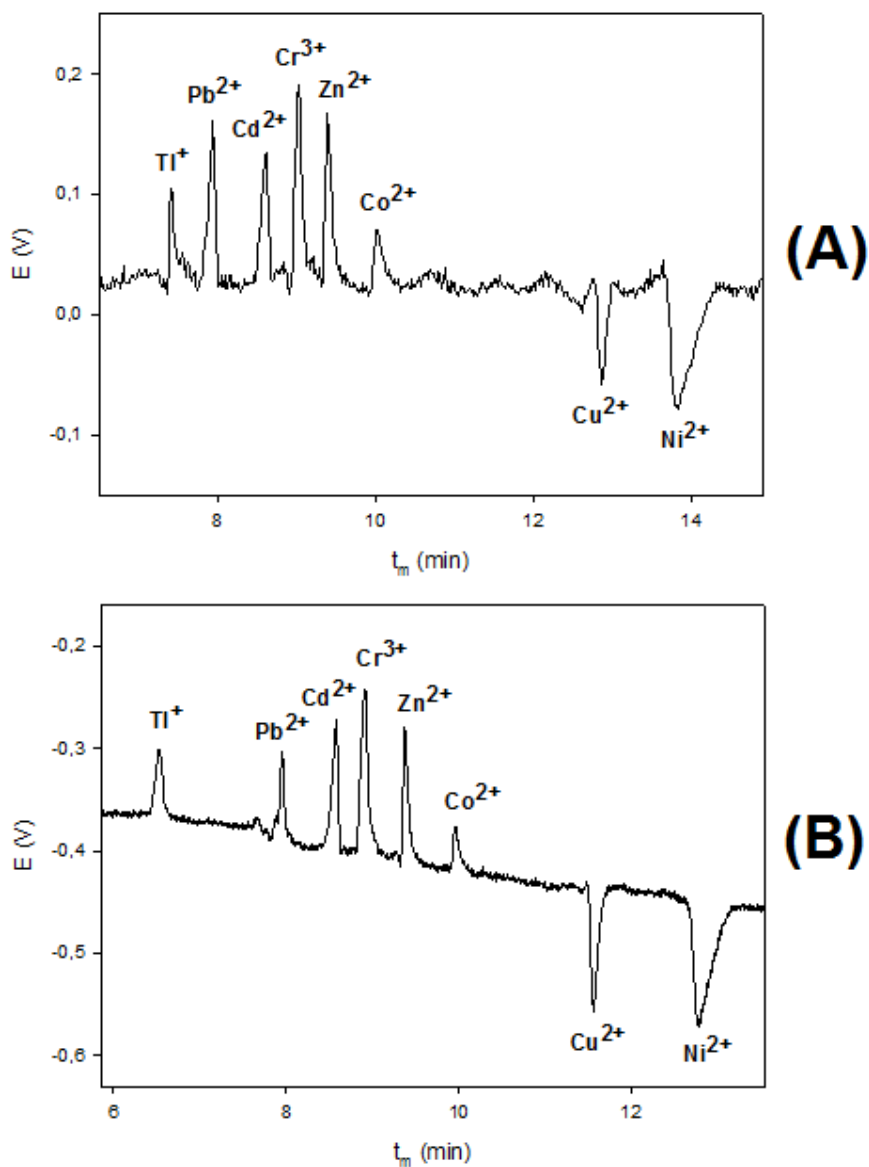


Figura 36 – Eletroferogramas obtidos com a aplicação do método proposto no (A) equipamento desenvolvido na UFSM e (B) no equipamento desenvolvido na UNICAMP. Outras informações do item (A) encontram-se na Figura 28. (B) Eletroferograma de uma amostra sintética de 4 mg L^{-1} de $Tl(I)$, $Pb(II)$, $Cd(II)$, $Cr(III)$, $Zn(II)$, $Co(II)$, $Cu(II)$ e $Ni(II)$ em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L^{-1} (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 8 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, $75 \mu\text{m}$, 56 cm, 46 cm até o detector; Detector: C^4D operando em 600 kHz e $2 V_{pp}$; Temperatura: $26,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s.

Tabela 7 – Valores dos tempos de migração e áreas e respectivos erros relativos percentuais obtidos de uma amostra sintética de 4 mg L⁻¹ de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Cu(II) e Ni(II) injetada e analisada em eletrólito de trabalho de MES/His 20 mmol L⁻¹ (pH 5,0) e MeOH 5% (v/v), com aplicação de 8 kV para a separação dos metais. Capilar: sílica fundida, 75 µm, 56 cm, 46 cm até o detector; Detector: C⁴D operando em 600 kHz e 2 V_{pp}; Temperatura: 26,5 ± 0,5°C; Injeção hidrodinâmica por pressão: 11 kPa por 10 s.

Equipamento CE-C⁴D desenvolvido na UNICAMP

Parâmetros	Tl(I)	Pb(II)	Cd(II)	Cr(III)	Zn(II)	Co(II)	Cu(II)	Ni(II)
Tempo de migração (t _m) (min)	6,48	7,96	8,52	8,84	9,38	9,93	11,73	12,87
Desvio padrão do t _m (n = 5)	± 0,04	± 0,05	± 0,07	± 0,07	± 0,08	± 0,09	± 0,12	± 0,18
RSD ^a (%) do t _m	± 0,73	± 0,88	± 0,18	± 0,86	± 0,98	± 1,06	± 2,90	± 1,34
Área média (A)	0,0056	0,0041	0,0094	0,0129	0,0081	0,0032	0,0165	0,0234
Desvio padrão da A (n = 5)	± 0,0002	± 0,0002	± 0,0003	± 0,0006	± 0,0004	± 0,0002	± 0,0005	± 0,0008
RSD ^a (%) da A	± 3,5	± 4,8	± 3,2	± 4,6	± 4,9	± 6,2	± 3,0	± 3,4

^a RSD = Desvio padrão relativo.

Os valores de LOD e LOQ foram calculados e encontram-se na Tabela 8. Também a partir desta tabela podem-se comparar os valores obtidos depois da aplicação do método proposto nos dois equipamentos utilizados para a realização deste trabalho.

Tabela 8 – Comparação dos valores de LODs e LOQs ($n = 5$) para os cátions Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II) obtidos no sistema CE–C⁴D da UFSM e no sistema CE–C⁴D da UNICAMP. As condições experimentais utilizadas para a aplicação do método proposto em cada equipamento foram descritas anteriormente na página 115.

Metal analisado	Equipamentos CE–C ⁴ D			
	UFSM		UNICAMP	
	LOD (µmol L ⁻¹)	LOQ (µmol L ⁻¹)	LOD (µmol L ⁻¹)	LOQ (µmol L ⁻¹)
Tl(I)	5,08	16,91	4,25	14,17
Pb(II)	1,69	5,62	5,83	19,44
Cd(II)	3,52	11,72	11,03	36,73
Cr(III)	5,93	19,74	15,57	51,87
Zn(II)	5,16	17,02	11,77	39,20
Co(II)	22,17	73,82	9,84	32,77
Cu(II)	8,43	28,07	6,13	20,43
Ni(II)	3,28	10,92	9,03	30,06

A comparação dos valores de LODs e LOQs obtidos nos dois equipamentos utilizados neste trabalho mostra que as sensibilidades são comparáveis em ambos os equipamentos, estando praticamente na mesma ordem de grandeza. De fato, a

automação da etapa de injeção é responsável por considerável aumento na reprodutibilidade das análises, já que neste trabalho verificou-se que o desvio padrão relativo das áreas dos picos obtidos foi menor com a injeção automatizada do equipamento desenvolvido na UFSM em relação à injeção manual do equipamento desenvolvido na UNICAMP. Estes valores encontram-se nas Tabelas 4 e 7, respectivamente.

Adicionalmente, o sistema de controle da temperatura do capilar durante a análise eletroforética presente no equipamento desenvolvido na UFSM também pode ter contribuído para a reprodutibilidade do método proposto neste equipamento.

A partir dos estudos de comparação realizados neste trabalho, percebeu-se a importância de se reproduzir exatamente o comprimento do capilar, desde o ponto de injeção até o detector, utilizado para a separação. Como discutido anteriormente, a utilização de um capilar com tamanho menor resultou em uma análise mais rápida, porém com a desvantagem de fornecer uma menor separação entre os cátions.

Por fim, o comparativo realizado entre os dois equipamentos utilizados neste trabalho foi válido pelo fato de ter demonstrado que o detector construído na UFSM possui uma sensibilidade comparável a outros equipamentos de CE-C⁴D. Além disso, pode-se afirmar que o método proposto neste trabalho possui uma boa reprodutibilidade podendo ser empregado em outros equipamentos de CE-C⁴D para a determinação simultânea de Tl(I), Pb(II), Cd(II), Cr(III), Zn(II), Co(II), Cu(II) e Ni(II).

5 CONCLUSÕES

1) Devido a sua versatilidade, simplicidade do equipamento de eletroforese e o baixo custo de seus componentes em relação a outros equipamentos analíticos, a construção do sistema CZE-C⁴D em laboratório tornou-se possível, com a vantagem sobre os equipamentos comerciais de permitir modificações e adaptações. Após algum tempo do uso rotineiro do equipamento, algumas modificações foram efetuadas em relação ao projeto inicial, permitindo o aprimoramento do sistema.

2) 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 de condutividade sem contato foi construído de acordo com protótipos previamente descritos na literatura.

3) Pelo fato do sistema CZE-C⁴D ser interfaceado ao microcomputador, o equipamento construído possui um alto grau de automação, o que facilita o seu manuseio. Tais características permitem dizer que o equipamento construído deixa pouco a desejar em comparação com os equipamentos comerciais.

4) A utilização do equipamento é simplificada, principalmente em relação a etapa de troca do capilar, pelo fato de não necessitar qualquer tipo de modificação permanente no capilar, como abertura de janela para detecção UV-Vis ou perfuração e adesão de eletrodos, o que garante a rapidez na montagem do sistema.

5) O detector de condutividade sem contato 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(I), K(I), Ca(II) e Mg(II) e entre 2,60 e 3,4% para Zn(II), Cr(III), Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II) e Tl(I).

6) Ficou demonstrada neste trabalho que a utilização da CZE com C⁴D envolveu aspectos originais do ponto de vista da metodologia analítica para a

separação e a determinação simultânea dos metais Tl(I), Zn(II), Cr(III), Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II) e Tl(I) em solução aquosa. No estudo da otimização ficou comprovado a dificuldade de se conseguir a separação eletroforética completa dos cátions estudados. Este fato decorreu devido a estes metais de transição possuírem valores de relação carga/massa muito parecidos, possuindo, assim, valores de mobilidades eletroforéticas semelhantes, o que geralmente contribui para as co-migrações acontecerem.

7) O método eletroforético desenvolvido foi empregado na otimização da separação dos cátions metálicos Zn(II), Cr(III), Pb(II), Cd(II), Co(II), Cu(II), Ni(II) e Tl(I) em amostras de água. O eletrólito de trabalho composto pelo tampão MES/His 20 mmol 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 µmol L⁻¹ permitem a aplicação da metodologia para determinações em amostras reais empregando o sistema eletroforético desenvolvido.

8) Neste trabalho ficou clara a dificuldade no desenvolvimento de um método de análise para amostras reais quando existe a presença de um cátion em concentração muito elevada em comparação aos outros cátions de interesse. O alargamento da banda do cátion em alta concentração diminuiu significativamente a resolução e visualização dos cátions em menor concentração, o que sugeriu estudos de otimização, buscando novos eletrólitos. Entretanto, não foram encontradas condições que possibilitassem a separação dos cátions de interesse dos íons interferentes presentes nas amostras testadas.

9) Os resultados obtidos com a aplicação do método proposto neste trabalho em outro equipamento de CE-C⁴D (construído por Fracassi da Silva e colaboradores no Instituto de Química da UNICAMP) demonstraram que o equipamento desenvolvido na UFSM possui uma sensibilidade comparável a este outro equipamento de CE-C⁴D, além de provar que o método proposto para a determinação simultânea de oito cátions metálicos possui uma boa reprodutibilidade podendo ser reproduzido em outros sistemas CE-C⁴D.

10) A construção do sistema CZE-C⁴D possibilitou não somente o desenvolvimento dos estudos apresentados neste trabalho, como também promoveu

a melhoria da infra-estrutura analítica dos grupos de pesquisa em Química Analítica da UFSM pela introdução de uma nova técnica de separação. De fato, aulas demonstrativas do seu funcionamento foram introduzidas na disciplina de Análise Instrumental para os alunos de graduação do curso de química, além de alunos de pós-graduação da disciplina de Eletroforese Capilar e de Métodos Cromatográficos do programa de pós-graduação em química e programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas.

11) Adicionalmente, os custos do equipamento construído foram significativamente menores em relação aos equipamentos comercialmente disponíveis no Brasil, na maioria das vezes importados de firmas norte-americanas e européias a custos elevados.

12) Como perspectivas, a instrumentação construída e os estudos aqui iniciados, devem servir de base para o desenvolvimento de novos projetos nesta área, além das inúmeras aplicações que podem se servir deste sistema de separação e detecção. Cabe ressaltar que estas não são apenas perspectivas futuras, pois algumas idéias como a análise de espécies orgânicas, tais como fármacos (anfetamínicos) e polifenóis com detecção direta e indireta, já estão em desenvolvimento em novos projetos de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBIN, M.; GROSSMAN, P. D.; MORIN, S. E. Sensitivity enhancement for capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 65, p. 489A-497, 1993.

ALDER, J. F.; FIELDEN, P. R.; CLARK, A. J. Simultaneous conductivity and permittivity detector with a single cell for liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 56, n. 6, p. 985-988, 1984.

ANVISA, Resolução RDC n. 154 de 15 de junho de 2004, Brasília, 2004.

PORTARIA DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, Portaria n. 82/GM de 3 de janeiro 2000, Brasília, 2000.

BAKER, D. R. **Capillary Electrophoresis**, New York, NY, John Wiley & Sons, 1995.

BIBLIOTECA DE INTOXICAÇÕES. Disponível em: <<http://www.medicinacomplementar.com.br>>. Acesso em: 25 mar. 2008.

BÖCKEL, W. J.; MARTINI, E. M. A.; SANTOS, D.; PIATNICKI, C. M. S. Um equipamento de eletroforese capilar com detecção condutométrica construído em laboratório. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1106-1110, 2005.

BRASIL, Portaria n. 518 de 25 de março de 2004, Brasília, 2004.

BRITO-NETO, J. G.; DA SILVA, J. A. F.; BLANES, L.; DO LAGO, C. L. Understanding capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary and microchip electrophoresis. Part 1. Fundamentals. **Electroanalysis**, v. 17, n. 13, p. 1198-1206, 2005.

BRITO-NETO, J. G.; DA SILVA, J. A. F.; BLANES, L.; DO LAGO, C. L. Understanding capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary and microchip electrophoresis. Part 2. Peak shape, stray capacitance, noise, and actual electronics. **Electroanalysis**, v. 17, n. 13, p. 1207-1214, 2005.

CAMILLERI, P. **Capillary electrophoresis: theory and practice**, 2^a ed., Herts, UK, Ed. CRC Press, 1998, cap. 3, p. 94.

CARVALHO, A. Z.; DA SILVA, J. A. F.; DO LAGO, C. L. Determination of mono- and disaccharides by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. **Electrophoresis**, v. 24, n. 12-13, p. 2138-2143, 2003.

CHEN, Z.; LI, Q.; LI, O.; ZHOU, X.; LAN, Y.; WEI, Y.; MO, J. A thin cover glass chip for contactless conductivity detection in microchip capillary electrophoresis. **Talanta**, v. 71, n. 5, p. 1944-1950, 2007.

COLOMBARA, R.; TAVARES, M. F. M.; MASSARO, S. Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 512-518, 1997.

COLTRO, W. K. T. **Detecção condutométrica sem contato: uma nova ferramenta para monitoramento de interações biomoleculares em microssistemas analíticos**, Tese (Doutor em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

COUFAL, P.; ZUSKA, J.; VAN DE GOOR, T.; SMITH, B.; GAS, B. Separation of twenty underivatized essential amino acids by capillary zone electrophoresis with contactless conductivity detection. **Electrophoresis**, v. 24, n. 4, p. 671-677, 2003.

CROMATOGRAFIA IÔNICA. Disponível em: <<http://www.portal.ufpa.br/>>. Acesso em: 07 dez. 2008.

FAVARON, R. **Desenvolvimento de métodos voltamétricos para a determinação de Zn, Cu, Pb, Ni, Sn e Cr em águas de efluentes de indústrias de galvanoplastia**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

FERTILIZANTE FOLIAR. Disponível em: <<http://www.dimicron.com.br>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

FRACASSI DA SILVA, J. A. **Detecção condutométrica sem contato (oscilométrica) para eletroforese capilar de zona e cromatografia micelar eletrocínética**, Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

FRACASSI DA SILVA, J. A. Detecção eletroquímica em eletroforese capilar. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 56-64, 2003.

FRACASSI DA SILVA, J. A.; DO LAGO, C. L. An oscilometric detector for capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 20, p. 4339-4343, 1998.

FRACASSI DA SILVA, J. A.; DO LAGO, C. L. **Conductivity detection of aliphatic alcohols in micellar electrokinetic chromatography using an oscillometric detector.** **Electrophoresis**, v. 21, n. 7, p. 1405-1408, 2000.

FRACASSI DA SILVA, J. A.; GUZMAN, N.; DO LAGO, C. L. Contactless conductivity detection and optimization of the input-signal amplitude and frequency. **Journal of Chromatography A**, v. 942, p. 249-258, 2002.

FRACASSI DA SILVA, J. A.; RICELLI, N. L.; CARVALHO, A. Z.; DO LAGO, C. L. Improved separation of IA and IIA metal cations in matrices with high sodium concentration by capillary electrophoresis with contactless conductometric detection. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 14, p. 265-268, 2003.

FRITZ, J. S. Recent developments in the separation of inorganic and small organic ions by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 884, p. 261-275, 2000.

FU, S.; LUCY, C. A. Prediction of electrophoretic mobilities. 1. Monoamines. **Analytical Chemistry**, v. 70, p. 173-181, 1998.

GALLAGHER, P. A.; DANIELSON, N. D. Capillary electrophoresis of cationic and anionic surfactants with indirect conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 781, p. 533-540, 1997.

GALLAGHER, P. A.; OERTEL, C. M.; DANIELSON, N. D. Spliced capillaries for use in capillary electrophoresis with conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 817, p. 31-39, 1998.

GAS, B.; DEMJANENKO, M.; VACÍK, J. High-frequency contactless conductivity detection in isotachopheresis. **Journal of Chromatography A**, v. 192, n. 2, p. 253-257, 1980.

GEBAUER, P.; CASLAVSKA, J.; THORMANN, W.; BOCEK, P. Prediction of zone patterns in capillary zone electrophoresis with conductivity detection Concept of the zone conductivity diagram. **Journal of Chromatography A**, v. 772, p. 63-71, 1997.

GOVINDARAJU, K.; AHMED, A.; LLOYD, D. K. Electroosmotic flow mobilities in open and packed capillaries with spermine and other amine flow modifiers. **Journal of Chromatography A**, v. 768, p. 3-8, 1997.

GOVINDARAJU, K.; COWLEY, E. A.; EIDELMAN, D. H.; LLOYD, D. K. Microanalysis of lung airway surface fluid by capillary electrophoresis with conductivity detection. **Analytica Chemistry**, v. 69, n. 14, p. 2793-2797, 1997.

GUIJT, R. M.; EVENHUIS, C. J.; MACKA, M.; HADDAD, P. R. Conductivity detection for conventional and miniaturised capillary electrophoresis systems. **Electrophoresis**, v. 25, n. 23-24, p. 4032-4057, 2004.

HABER, C.; JONES, W. R.; SOGLIA, J.; SURVE, M. A.; MCGLYNN, M.; CAPLAN, A.; REINECK, J. R.; KRSTANOVIC, C.; **Journal of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology**, v. 3, p. 1-11, 1996.

HABER, C.; VANSANUN, R. J.; JONES, W. R. Quantitative analysis of anions at ppb/ppt levels with capillary electrophoresis and conductivity detection: enhancement of system linearity and precision using an internal standard. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 11, p. 2261-2267, 1998.

HARRIS, D.C. **Química Analítica Quantitativa**, 5. ed., Rio de Janeiro, RJ, Ed. LTC, 2001, cap. 26, p. 643-660.

HISSNER, F.; MATTUSCH, J.; HEINIG, K. Quantitative determination of sulfur-containing anions in complex matrices with capillary electrophoresis and conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 848, p. 503-513, 1999.

HJÉRTEN, S. Free zone electrophoresis. **Chromatographic Reviews**, v. 19, n. 2, p. 122-219, 1967.

IBAMA, Resolução n. 357 de 17 de março de 2005, Brasília, 2005.

JAGER, A. V.; TAVARES, M. F. M. Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar: fundamentos e aplicações. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 363-373, 2001.

JONES, W. R.; SOGLIA, J.; MCGLYNN, M.; HABER, C.; REINECK, J.; KRSTANOVIC, C. Capillary ion electrophoresis with conductivity detection. **American Laboratory**, v. 28, n. 5, p. 25-30, 1996.

JORGENSON, J. W.; LUKACS, K. Zone electrophoresis in open tubular glass capillaries. **Analytical Chemistry**, v. 53, n. 8, p. 1298-1302, 1981.

KANIANSKY, D.; ZELENSKÁ, V.; BALUCHOVÁ, D. **Capillary zone electrophoresis of inorganic anions with conductivity detection. Electrophoresis**, v. 17, n. 12, p. 1890-1897, 1996.

KANIANSKY, D.; ZELENSKÁ, V.; MASÁR, M.; IVÁNYI, F.; GAZDÍKOVÁ, S. Contactless conductivity detection in capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 844, p. 349-359, 1999.

KANIANSKY, D.; ZELENSKÝ, I.; HYBENOVÁ, A.; ONUSKA, F. I. Determination of chloride, nitrate, sulfate, nitrite, fluoride, and phosphate by online coupled capillary isotachopheresis-capillary zone electrophoresis with conductivity detection. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 23, p. 4258-4264, 1994.

KATZMAYR, M. U.; KLAMPFL, C. W.; BUCHBERGER, W. Optimization of conductivity detection of low-molecular-mass anions in capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 850, p. 355-362, 1999.

KLAASSEN, C.; CASARETT; DOULL'S, **Toxicology – The Basic Science of Poison**, 5. ed. USA, 1996.

KLAMPFL, C. W. Analysis of Organic Acids and Inorganic Anions in Different Types of Beer Using Capillary Zone Electrophoresis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, n. 3, p. 987-990, 1999.

KLAMPFL, C. W.; KATZMAYR, M. U. Determination of low-molecular-mass anionic compounds in beverage samples using capillary zone electrophoresis with simultaneous indirect ultraviolet and conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 822, p. 117-123, 1998.

KLAMPFL, C. W.; KATZMAYR, M. U.; BUCHBERGER, W. **Separation of inorganic and organic anions by capillary zone electrophoresis with simultaneous indirect UV and conductivity detection. Electrophoresis**, v. 19, n. 14, p. 2459-2464, 1998.

KLAMPFL, C. W.; KATZMAYR, M. U.; BUCHBERGER, W.; BASENER, N. A fast and reliable method for the determination of anionic impurities and neutralization agents in electrodiplcoats using capillary zone electrophoresis with conductivity detection. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 22, n. 5, p. 297-299, 1999.

KLAMPFL, C. W.; KATZMAYR, M. U.; BUCHBERGER, W.; BASENER, N. Determination of low-molecular-mass ionic compounds in electrodeposition coatings by capillary electrophoresis with conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 804, p. 357-362, 1998.

KOK, W. **Capillary Electrophoresis: Instrumentation and operation**, Amsterdam, The Netherlands, Chromatographia Supplement, vol. 51, Vieweg, 2000.

KUBÁN, P.; HAUSER, P. C. A review of the recent achievements in capacitively coupled contactless conductivity detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 607, p. 15-29, 2008.

KUBÁN, P.; HAUSER, P. C. Contactless conductivity detection in capillary electrophoresis: a review. **Electroanalysis**, v. 16, n. 24, p. 2009-2021, 2004.

KUBÁN, P.; HAUSER, P. C. Fundamental aspects of contactless conductivity detection for capillary electrophoresis. Part I: frequency behavior and cell geometry. **Electrophoresis**, v. 25, p. 3387-3397, 2004.

KUBÁN, P.; HAUSER, P. C. Fundamental aspects of contactless conductivity detection for capillary electrophoresis. Part II: signal-to-noise ratio and stray capacitance. **Electrophoresis**, v. 25, p. 3398-3405, 2004.

KUBAN, P.; KARLBERG, B.; KUBAN, P.; KUBAN, V. Application of a contactless conductometric detector for the simultaneous determination of small anions and cations by capillary electrophoresis with dual-opposite end injection. **Journal of Chromatography A**, v. 964, p. 227- 241, 2002.

KUBÁN, P.; KUBÁN, P.; HAUSER, P. C.; KUBÁN, V. A flow injection-capillary electrophoresis system with high-voltage contactless conductivity detection for automated dual opposite end injection. **Electrophoresis**, v. 25, p. 35-42, 2004.

KUBÁN, P.; KUBÁN, P.; KUBAN, V. Rapid speciation of Se(IV) and Se(VI) by flow injection-capillary electrophoresis system with contactless conductivity detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 378, p. 378-382, 2004.

KUBAN, P.; KUBAN, P.; KUBAN, V. Simultaneous determination of inorganic and organic anions, alkali, alkaline earth and transition metal cations by capillary electrophoresis with contactless conductometric detection. **Electrophoresis**, v. 23, n. 21, p. 3725-3734, 2002.

KUBÁN, P.; REINHARDT, M.; MULLER, B.; HAUSER, P. C. On-site simultaneous determination of anions and cations in drainage water using a flow injection-capillary electrophoresis system with contactless conductivity detection. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 6, p. 169-174, 2004.

KUHN, R.; HOFFSTETER-KUHN, S. **Capillary electrophoresis: principles and practice**, Berlin Heidelberg, Alemanha, Ed. Springer-Verlag, 1993.

LARINI, L. **Toxicologia**, São Paulo, SPm Manole, 1987, p.135-143.

LI, S. F. Y. **Capillary Electrophoresis – Principles, practice and applications**, Amsterdam, The Netherlands, Journal of Chromatography Library, vol. 52, Elsevier Science B. V., 1992.

LUCY, C. A.; WU, Q. **Characteristics and Calibration of Conductivity Detection in Capillary Electrophoresis. Journal of Chromatography Science**, v. 36, n. 1, p. 33-36, 1998.

MASÁR, M.; BODOR, R.; KANIANSKY, D. Separations of inorganic anions based on their complexations with α -cyclodextrin by capillary zone electrophoresis with contactless conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 834, p. 179-188, 1999.

MAYRHOFER, K.; ZEMANN, A. J.; SCHNELL, E.; BONN, G. K. Capillary electrophoresis and contactless conductivity detection of ions narrow inner diameter capillaries. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 17, p. 3828-3833, 1999.

MEISSNER, TH.; EISENBEISS, F.; JASTORFF, B. Capillary zone electrophoresis and ion chromatography in the low $\mu\text{g/l}$ range applied to the determination of anions in hydrogen peroxide. **Journal of Chromatography A**, v. 829, p. 351-357, 1998.

METAIS PESADOS E SEUS EFEITOS. Disponível em: <<http://www.mundodoquímico.hpg.com.br>>. Acesso em: 25 mar. 2008.

MIKKERS, F. E. P.; EVERAERTS, F. M.; VERHEGGEN, TH. P. E. M. High performance zone electrophoresis. **Journal of Chromatography**, v. 169, p. 11-20, 1979.

MUZIKÁR, J.; VAN DE GOOR, T.; GAS, B.; KENNDLER, E. Extension of the application range of UV-absorbing organic solvents in capillary electrophoresis by the use of a contactless conductivity detector. **Journal of Chromatography A**, v. 924, p. 147-154, 2001.

ONAGA, H. **Métodos de pré-concentração para determinação simultânea de Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Hg e Pb por fluorescência de raios-X**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

PAL, F.; PUNGOR, E.; KOVATS, E. Oscillometric detector for ion chromatography. A note on detection limit and detector sensitivity. **Analytical Chemistry**, v. 60, n. 20, 2254-2258, 1988.

POLESELLO, S.; VALSECCHI, S. M. Electrochemical detection in the capillary electrophoresis analysis of inorganic compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 834, p. 103-116, 1999.

PUMERA, M. Contactless conductivity detection for microfluidics: designs and applications. **Talanta**, v. 74, n. 3, p. 358-364, 2007.

ROSSO, T. E.; BOSSLE, P. C. Capillary ion electrophoresis screening of nerve agent degradation products in environmental samples using conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 824, p. 125-134, 1998.

SAVORY, J., WILLS, M.R. Trace metals: essential nutrients or toxins. **Clinical Chemistry**, v. 38, n. 8, p. 1565-1573, 1992.

SMALL, H.; STEVENS, T. S.; BAUMAN, W. C. Novel ion exchange chromatography method using conductimetric detection. **Analytical Chemistry**, v. 47, p. 1802-1809, 1975.

SOLINOVÁ, V.; VASICKA, J. Recent applications of conductivity detection in capillary and chip electrophoresis. **Journal of Separation Science**, v. 29, p. 1743-1762, 2006.

STOCKING, C. J.; SLATER, J. M.; UNWIN, R.; WALTER, S.; FOLKERD, E. An automated technique for the simultaneous determination of cations in nanoliter volumes. **Kidney International**, v. 56, p. 338-343, 1999.

TAN, F.; YAN, B.; GUAN, Y. Determination of heavy metal ions by capillary electrophoresis with conductivity detection after field-amplified sample injection. **Analytical Sciences**, v. 21, p. 955-958, 2005.

TANYANYIWA, J.; GALLIKER, B.; SCHWARZ, M. A.; HAUSER, P. C. Improved capacitively coupled conductivity detector for capillary electrophoresis. **Analyst**, v. 127, p. 214-218, 2002.

TANYANYIWA, J.; HAUSER, P. C. High-voltage capacitively coupled contactless conductivity detection for microchip capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 24, p. 6378-6382, 2002.

TANYANYIWA, J.; HAUSER, P. C. High-voltage contactless conductivity detection of metal ions in capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 23, n. 21, p. 3781-3783, 2002.

TANYANYIWA, J.; SCHWEIZER, K.; HAUSER, P. C. High-voltage contactless conductivity detection of underivatized amino acids in capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 24, n. 12-13, p. 2119-2124, 2003.

TANYANYIWA, J.; LEUTHARDT, S.; HAUSER, P. C. Conductimetric and potentiometric detection in conventional and microchip capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 23, n. 21, p. 3659-3666, 2002.

TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 173-181, 1996.

TAVARES, M. F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 493-510, 1997.

TERABE, S.; OTSUKA, K.; ICHIKAWA, K.; TSUCHIYA, A.; ANDO, T. Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries. **Analytical Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 111-113, 1984.

TISELIUS, A. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixture. **Transactions of the Faraday Society**, v. 33, p. 524-531, 1937.

TUMA, P.; OPEKAR, F.; STULIK, K. A contactless conductivity detector for capillary electrophoresis: Effects of the detection cell geometry on the detector performance. **Electrophoresis**, v. 23, n. 21, p. 3718-3724, 2002.

UNTERHOLZNER, V.; MACKA, M.; HADDAD, P. R.; ZEMANN, A. Simultaneous separation of inorganic anions and cations using capillary electrophoresis with a movable contactless conductivity detector. **Analyst**, v. 127, n. 6, p. 715-718, 2002.

VACÍK, J.; ZUSKA, J.; MUSELASOVÁ, I. Improvement of the performance of a highfrequency contactless conductivity detector for isotachophoresis. **Journal of Chromatography**, v. 320, n. 1, p.233-239, 1985.

VALSECCHI, S.; TARTARI, G.; POLESELLO, S. Determination of anions in rainwater by capillary electrophoresis with conductivity detection. **Journal of Chromatography A**, v. 760, n. 2, p. 326-332, 1997.

VAN DER STEEN, C.; EVERAERTS, F. M.; VERHEGGEN, TH. P. E. M.; POULIS, J. A. A.c. conductivity measurements in isotachophoresis. **Analytica Chimica Acta**, v. 59, n. 2, p. 298-301, 1972.

VANDERVEER, W. R.; PASAS-FARMER, S. A.; FISCHER, D. J.; FRANKENFELD, C. N.; LUNTE, S. M. Recent developements in electrochemical detection for microchip electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 25, n. 21, p. 3528-3549, 2004.

VASÍK, J.; ZUSKA, J.; MUSELASOVÁ, I. Improvement of the performance of a high-frequency contactless conductivity detector for isotachophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 320, p. 233-240, 1985.

WANDERS, B. J.; VAN DE GOOR, T. A. A. M.; EVERAERTS, F. M. On-line measurement of electroosmosis in capillary electrophoresis using a conductivity cell. **Journal of Chromatography A**, v. 652, p. 291-294, 1993.

WANG, J.; CHEN, G.; Jr. MUCK, A. Movable contactless-conductivity detector for microchip capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 17, p. 4475-4479, 2003.

WANG, L.-S.; ZHANG, S.-F.; DANG, Z.; LIU, X.-X.; HUANG, X.-J.; XIAO, M.-W.; CHEN, Z. G. Running buffers for determination of chromium(VI)/(III), cobalt(II) and zinc(II) in complex matrices by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. **Talanta**, v. 72, p. 1342-1347, 2007.

WEINBERGER, R. **Practical Capillary Electrophoresis**, Califórnia, EUA, Ed. Academic Press, 2000, p. 11.

WEINBERGER, R. **Practical Capillary Electrophoresis**, San Diego, CA, Academic Press, 1993.

WYNGAARDEN, J., SMITH, L., BENNET, J. **Tratado de Medicina Interna**, 19^a ed., Rio de Janeiro, RJ, Ed. G. Koogan, 1993.

ZEMANN, A. J. Capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 24, n. 12-13, p. 2125-2137, 2003.

ZEMANN, A. J. Conductivity detection in capillary electrophoresis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 6+7, p. 346-354, 2001.

ZEMANN, A. J.; SCHNELL, E.; VOLGGER, D.; BONN, G. K. Contactless conductivity detection for capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 7, p. 563-567, 1998.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)