

## Informações Gerais – Regras de uso

### Eluente:

Realizar a limpeza da coluna 30 minutos antes e depois da análise. (IMPRESINDÍVEL!). Começar a análise somente se a linha base estiver constante. Se for necessário, fazer a limpeza da coluna por mais tempo.

A preparação do eluente deve utilizar H<sub>2</sub>O deionizada coletada próxima da análise pois se ela fica muito tempo parada extrai íons do vidro.

O eluente de carbonato, bicarbonato e acetona vai apresentar condutividade em torno de 14 µS/cm +/-2. Este eluente é ideal para análise de ânions, na coluna metrosep A Supp 4 – 250/4.0 mm. Se quiser utilizar outro é necessário se atentar a faixa de pH da coluna que vai de 2 a 12.

A preparação do eluente influi no valor da condutividade da linha base que deve ficar em torno de 14 e no tempo de retenção dos íons. O eluente deve ser bem preparado e agitado. Após a adição dos 2% de acetona levar o eluente para o **ultrassom por no mínimo 30 min.**

O eluente deve ser trocado a cada 2 meses, caso não seja utilizado totalmente. Os 2% de acetona no eluente é para manter isento de bactéria e fungo. O eluente com acetona limpa a coluna e previne o crescimento de bactéria e de fungo dentro dos capilares e da coluna.

No recipiente do eluente existe uma mistura de hidróxido de sódio e óxido de cálcio para absorver o CO<sub>2</sub> produzido pelo eluente.

### Amostra:

A amostra deve ser filtrada com um filtro de 0,22 ou 0,45 micro. Pode-se usar um microfiltro para cromatografia descartável. Para amostras ambientais é necessário no mínimo um tempo de filtração de 3 a 4 horas. O ideal é realizar a filtração alguns dias (2 a 3) próximos a data de análise.

A curva de calibração deve estar numa faixa de concentração de 0,5 à 100 mg/L. Dependendo do ânion pode se pegar intervalos abaixo disso, mas é necessário se fazer testes.

A soma das concentrações de todos os ânions não deve ultrapassar 800 mg/L porque senão ocorre variação no sinal do resultado. Não tem problema de ultrapassar 800 mg/L, isso só impossibilita de fazer a quantificação corretamente e será necessário mais tempo de eluente para limpar a coluna.

O volume mínimo de amostra para preencher todo o caminho das 6 vias é de 2 a 3 mL. O caminho que amostra preenche na via de 20 microlitros. Quando você puxa na seringa 2 a 3 mL, você lava este caminho umas 50 vezes mais ou menos.

### Coluna:

Cada usuário deverá trazer sua própria coluna, que deverá ser acoplada ao equipamento, ambientada com o eluente e supressor correto. A coluna deste equipamento é de amônio quaternário. Ela possui carga positiva nos átomos de nitrogênio que atraem os ânions que passam na coluna. A coluna é de pike e aguenta baixas pressões.

É necessário o uso da pré-coluna no sistema, já que ela evita que os possíveis contaminantes entrem em contato com a coluna direto, aumentando a vida útil da coluna.

Durante a análise a pressão deve ficar em torno de 7 a 9 Mpa, indicando que não está ocorrendo nenhum tipo de vazamento.

Se houver uma queda de pressão avaliar se não há bolhas no sistema, principalmente no capilar do eluente. Se houver um aumento da pressão, avaliar se não há o entupimento dos capilares do sistema.

A velocidade de vazão na coluna deve ser de 0,2 à 1,5 mL/min, idealmente em 1,5 mL/min. Em vazões muito grandes provocam a degradação da coluna (em torno de 2 mL/min).

A ordem de eluição dos ânions é:

- fluoreto, cloreto, brometo, nitrito, nitrato, fosfato, sulfato e oxalato.

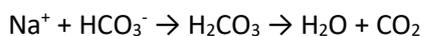
Depende da carga e do tamanho de cada ânion. Sai 1º os íons menores e de menor carga.

O aumento da concentração dos ânions na amostra, aumenta a força do eluente e conseqüentemente diminui o tempo de retenção.

Todas as corridas devem ser realizadas em no mínimo 15 min. Durante esses 15 min os ânions mais comuns em amostras (até o sulfato) são eluidos e, com isso, evita-se uma possível contaminação da coluna pela concentração desses ânions.

#### **Supressor químico:**

O supressor químico reduz a condutividade de fundo do eluente de 400 µS/cm para 14 µS/cm. Ele faz a troca do íon Na<sup>+</sup> por H<sup>+</sup> formando uma espécie neutra como descrita na equação baixo:



Se a condutividade do sistema subir para valores próximos a 400 µS/cm, o supressor não está funcionando como deveria. Verificar a solução do ácido, bem como sua concentração, e os capilares do supressor.

#### **Detector:**

O detector de condutividade é sensível a variação de temperatura e por isso a sala deve estar climatizada e a porta do equipamento fechada para fazer a análise.

#### **Programação no equipamento:**

Na bomba peristáltica o valor é -3 porque a bomba foi colocada ao contrário.

Em Main Program é realizada a programação do equipamento de acordo com as etapas descritas abaixo:

- Ligar supressor químico
- Ligar válvula de 6 vias (injetor)
- Colocar na posição de injetar e esperar 1 minuto para inserir a amostra
- Registrar o sinal após 1 minuto para começar ver o cromatograma.

### **Resultados:**

O pico para baixo no cromatograma é da água da amostra que saí primeiro da coluna e diminui a condutividade. Pode-se formar inicialmente um pico para cima quando se trabalha com concentrações elevadas de íons.

Com um tempo de retenção muito grande (maior que 22 minutos) os picos vão se alargando e sua quantificação não é precisa, mas isso deve ser analisado para cada caso. O ideal é antecipar a saída dos íons para isso não ocorrer. Pode-se para isso aumentar a força do eluente, aumentar a velocidade de fluxo, etc.

Quando os picos do cromatograma saem juntos o que podemos fazer para separar eles é diminuir o fluxo ou diminuir a concentração do eluente.

A quantificação é feita com base na área do pico. Pode-se utilizar a altura do pico, mas a área apresenta melhores resultados.