

Preparo de amostras para especiação química

Marcos Yassuo Kamogawa

Especiação?



2

**GUIDELINES FOR TERMS RELATED TO CHEMICAL
SPECIATION AND FRACTIONATION OF ELEMENTS.
DEFINITIONS, STRUCTURAL ASPECTS, AND
METHODOLOGICAL APPROACHES**

(IUPAC Recommendations 2000)

Prepared for publication by
DOUGLAS M. TEMPLETON¹, FREEK ARIESE², RITA CORNELIS^{3*},
LARS-GÖRAN DANIELSSON⁴, HERBERT MUNTAU⁵,
HERMAN P. VAN LEEUWEN⁶, AND RYSZARD LOBIŃSKI⁷

3

Espécies químicas

- Forma específica de um elemento definido como a composição isotópica, estado eletrônico ou estado de oxidação e/ou complexos ou estruturas moleculares
- Composição isotópica – ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb , ^{208}Pb
- Estados de oxidação – Cr(VI) , Cr(III) , CrO_4^{2-}
- Compostos inorgânicos e complexos – Ni_3S_2 , NiO , Ni^0 , NiSO_4 , NiCO_3 , hidrólise M(OH)_n
- Complexos orgânicos – $[\text{ML}]^n$
- Compostos organometálicos – CH_3Hg^+ , metilcobalamina
- Compostos Macromoléculares e complexos – proteínas, ácidos húmicos e fúvicos.

4

Especação

- Distribuição de um elemento entre espécies químicas definidas em um sistema

Ex: “A toxicidade do arsênio depende fortemente de sua especificação”

- Especificação sinônimo de distribuição da espécie

5

Análise de Especação

- Atividades de análise de identificação e/ou medição de quantidades de uma ou mais espécies químicas individuais em uma amostra
- Técnicas de separação – HPLC, CG, eletroforese, etc.
- Técnicas de detecção – ICP-MS, AAS, ICP OES, INAA, etc.
- Técnicas de identificação – RMN, MALDI-TOFMS, etc.

6

Fracionamento

- Processo de classificação de uma substância ou grupo de analitos em uma determinada amostra, de acordo com as propriedades físicas (e.g. tamanho, solubilidade) ou químicas (e.g. a ligação, reatividade).
- Propriedades químicas - tamanho, a solubilidade, a afinidade, carga e hidrofobicidade.
- Propriedades físicas - filtração, cromatografia de exclusão de tamanho
- Especiação complementar - cobre orgânico e inorgânico
- Disponível ou livre

7

Analitos

- Molécula de interesse
- Espécie conhecidas e desconhecidas
- Estabilidade das espécies

8

Áreas de interesse

- Avaliar a toxicidade;
- Avaliar a bio-disponibilidade;
- Avaliar o transporte;
- Avaliar as propriedades físico-químicas

9

Aspectos Estruturais

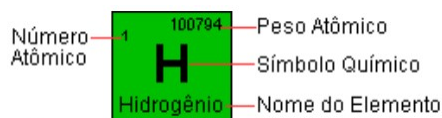
Aspectos Estruturais da Especiação

- Composição isotópica – ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb , ^{208}Pb
- Estados de oxidação – Cr(VI) , Cr(III) , CrO_4^{2-}
- Compostos inorgânicos e complexos – Ni_3S_2 , NiO , Ni^0 , NiSO_4 , NiCO_3 , hidrólise M(OH)_n
- Complexos orgânicos – $[\text{ML}]^n$
- Compostos organometálicos – CH_3Hg^+ , metilcobalamina
- Compostos Macromoléculares e complexos – proteínas, ácidos húmicos e fúvicos.

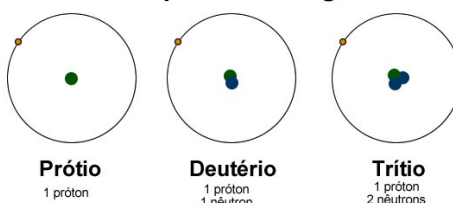
11

Composição isotópica

- Os **isótopos** são átomos do mesmo elemento químico com números de massa (A) diferentes e números atômicos (Z) iguais. A diferença se encontra no número de nêutrons.



Isótopos do Hidrogênio



12

Isótopos

Elem. or Isot.	Natural Abundance (Atom %)	Atomic Mass or Weight
^1H		1.00794(7)
^1H	99.9885(70)	1.007825032
^2H	0.0115(70)	2.014101778
^3H		3.016049278
^4H		4.0278
^5H		5.0353
^6H		6.0449
^7H		7.053

Elem. or Isot.	Natural Abundance (Atom %)	Atomic Mass or Weight
^{14}N		14.0067(2)
^{10}N		10.0417
^{11}N		11.02609
^{12}N		12.018613
^{13}N		13.0057386
^{14}N	99.636(20)	14.003074005
^{15}N	0.364(20)	15.00010898
^{16}N		16.006102
^{17}N		17.00845

13

Determinação de espécies com diferentes isótopos

- O espectrômetro de massas é um instrumento que separa íons, positivos ou negativos, produzidos a partir de átomos ou moléculas, quer sejam das mais simples às mais complexas, de acordo com a razão massa/carga (q/m).

Analizador de massas

Setor magnético

Quadrupolo

Ion Trap

Tempo de voo

Transformada de Fourier

Métodos de ionização

Impacto de elétrons

Ionização química

Dessorção de campo

Bombardeamento de átomos rápidos

Dessorção por plasma

Dessorção por laser

Termospray

Eletrospray

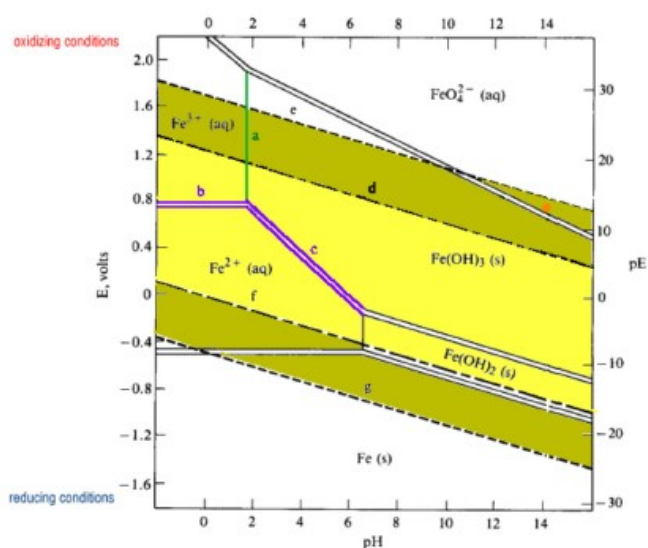
14

Estados de oxidação

Elemento	Configuração Eletrônica	Estados de oxidação
Sc	$3d^14s^2$	(III)
Ti	$3d^24s^2$	(II), (III), (IV)
V	$3d^34s^2$	(II), (III), (IV), (V)
Cr	$3d^54s^1$	(II), (III), (IV), (V), (VI)
Mn	$3d^54s^2$	(II), (III), (IV), (V), (VI), (VII)
Fe	$3d^64s^2$	(II), (III), (IV), (VI)
Co	$3d^74s^2$	(I), (II), (III)
Ni	$3d^84s^2$	(II)
Cu	$3d^{10}4s^1$	(I), (II), (III)
Zn	$3d^{10}4s^2$	(II)

15

Diagramas pE x pH



16

<http://www.wou.edu/las/phisci/ch412/pourbaix.htm>

Determinação de espécies com diferentes estados de oxidação

- Técnicas eletroquímicas
- Técnicas de separação
 - Cromatografia
 - Eletroforese
- Técnicas espectrofotométricas
- Volumetria

17

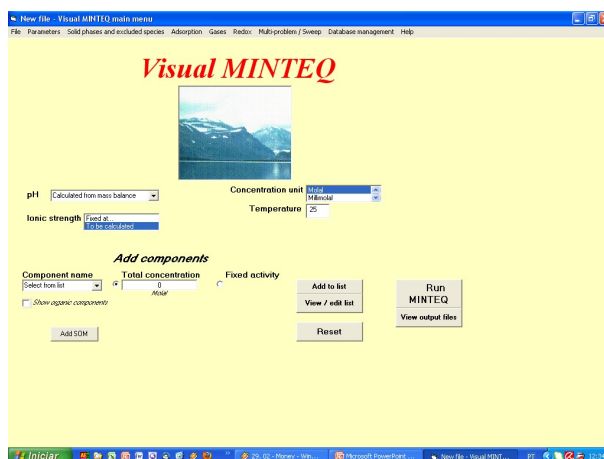
Compostos Inorgânicos e complexos

- Íons grandes com carga pequena contribuem favoravelmente para o processo de dissolução.
- Íons pequenos com cargas elevadas a dissolução é desfavorável.
- O efeito de carga é mais importante do que o tamanho.

Ânion	Raio /pm	Ânion	Raio/pm
OH ⁻	119	I ⁻	216
F ⁻	136	ClO ₄ ⁻	226
HCO ₃ ⁻	142	CO ₃ ²⁻	164
NO ₃ ⁻	165	SO ₄ ²⁻	244
Cl ⁻	181	CrO ₄ ²⁻	300
Br ⁻	195	PO ₄ ³⁻	300
SH ⁻	200	SiO ₄ ⁴⁻	290

18

Ferramentas - Cálculos teóricos



19

Aplicações

- Cálculo de espécies químicas inorgânicas e complexas em água;
- Avaliação do efeito de dissolução e precipitação de fases sólidas em água;
- Investigar espécies em equilíbrio de pares redox comuns;
- Simular a mudança da composição química durante uma titulação;
- Estimar a adsorção de íons as superfícies (-OH) e a complexação com a matéria orgânica usando modelos de matemáticos.

20

Exemplos

- Determinação da espécie química
 - Ex.: fosfato
 - Ex.: Cádmio
 - Ex.: Dissolução de Carbonatos

21

Determinação de espécies inorgânicas e complexos

- Técnicas de separação
 - Cromatografia
 - Eletroforese
- Técnicas eletroquímicas
- Técnicas espectroquímicas
- Estratégias de derivatização e separação

22

Compostos organometálicos e complexos

- Compostos de arsênio
 - As (III), As(V) são tóxicos; As-metilados pouco tóxicos e As-betaína não tóxico.
- Compostos de mercúrio
 - Hg inorgânico são menos tóxicos que as espécies metiladas

23

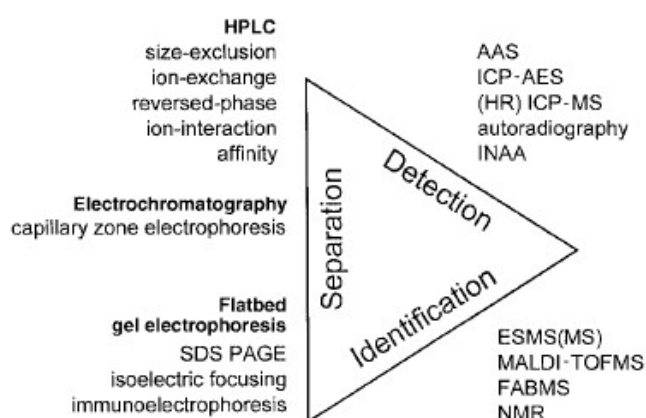
Determinação de espécies inorgânicas e complexos

- Técnicas de separação
 - Cromatografia
 - Eletroforese
- Técnicas eletroquímicas
- Técnicas espectroquímicas
- Estratégias de derivatização e separação

24

Abordagens metodológicas para análise de especiação

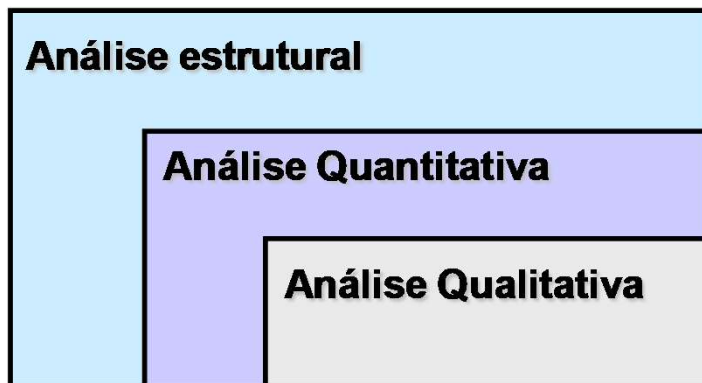
Abordagens metodológicas para análise de especiação



Szpunar J., Bio-inorganic speciation analysis by hyphenated techniques, Analyst, 125, 963-988, 2000.

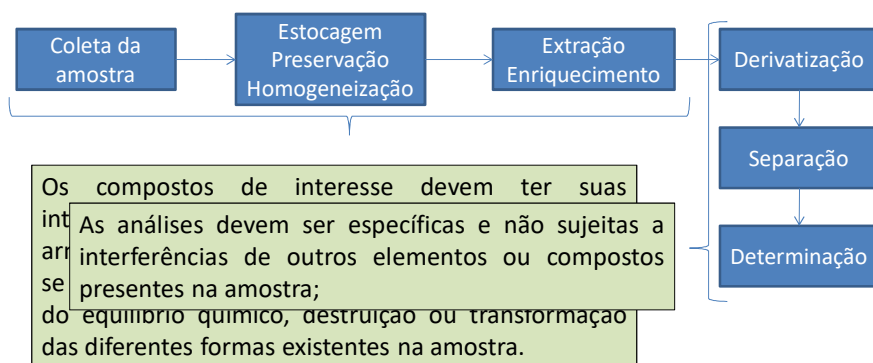
26

Abordagens metodológicas para análise de especiação



27

Sequência analítica de preparo de amostra para especiação analítica



28

Amostragem, Armazenamento e pré-tratamento da amostra

- Amostragem: Deve considerar: oxidação-redução, teor de água ou ar, profundidade e outros.
- Armazenamento: Evitar quando possível; utilizar frascos escuros (plástico ou vidro), reduzir a temperaturas com refrigeração ou congelamento; quando possível não utilizar conservantes.
- Pré-tratamento: Secagem empregando baixas temperaturas (liofilização ou secagem química); Homogeneização com moinhos criogênicos.

29

Clinical Chemistry 45:11
1988–1997 (1999)

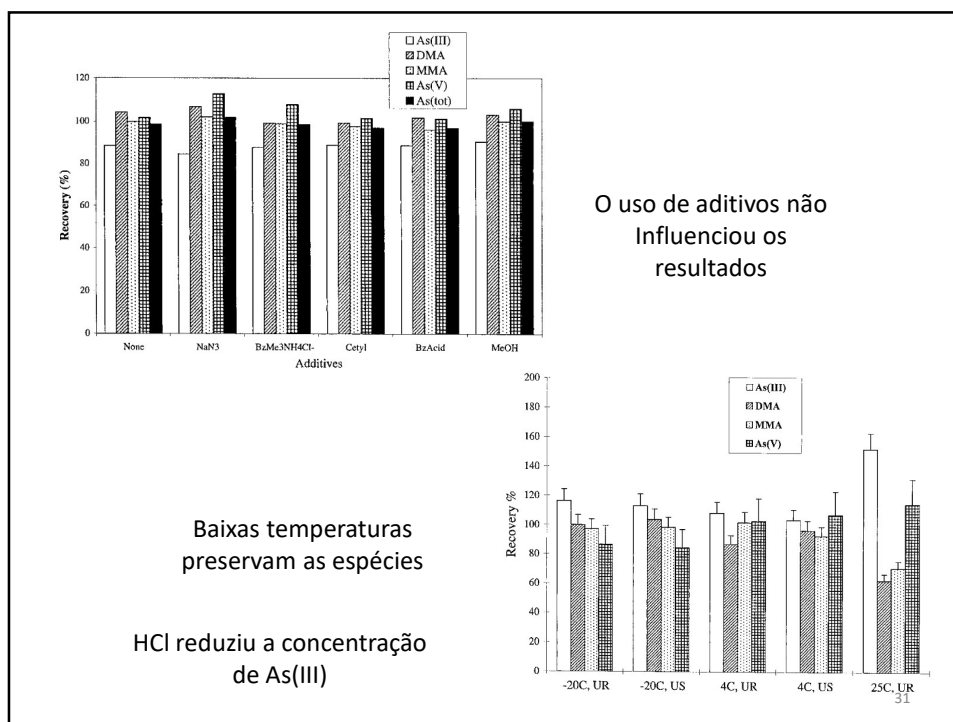
Drug Monitoring and
Toxicology

Sample Preparation and Storage Can Change Arsenic Speciation in Human Urine

JÖRG FELDMANN,¹ VIVIAN W.-M. LAI,² WILLIAM R. CULLEN,² MINGSHENG MA,³ XIUFEN LU,³
and X. CHRIS LE^{3*}

- Amostras de Urinas dopadas com As(III), As(V), MMA, DMA, AsB
- Tempo de armazenamento de 1, 2, 4 e 8 meses
- Frascos de polietileno
- Temperatura de -20°C, 4°C e 25°C
- Conservantes: HCl 0,1 mol L⁻¹, azida sódica, ácido benzóico, cloreto de Benziltrimetilamonio, cloreto cetilpiridinium.
- Determinação por HPLC – ICP-MS

30



Trends
Trends in Analytical Chemistry, Vol. 29, No. 10, 2010

Preservation of inorganic arsenic species in environmental water samples for reliable speciation analysis

A. Ramesh Kumar, P. Riyazuddin

$$\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{HO}-\text{As}-\text{OH} \\ \text{Arsenite(As}^{\text{III}}\text{)} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{OH}-\text{As}-\text{CH}_3 \\ \text{MMA}^{\text{III}} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_3 \\ \text{DMA}^{\text{III}} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{HO}-\text{As}-\text{HO} \\ \text{Arsenate(As}^{\text{V}}\text{)} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{OH}-\text{As}-\text{CH}_3 \\ || \\ \text{O} \\ \text{MMA}^{\text{V}} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{H}_3\text{C}-\text{As}-\text{CH}_3 \\ || \\ \text{O} \\ \text{DMA}^{\text{V}} \end{array}$$

- Amostra de água natural
- Filtragem e refrigeração
- Adição de HCl e EDTA como estabilizante
- Frascos escuros para evitar a fotooxidação do Fe.

32

Isolamento e enriquecimento do analito de amostras sólidas

- Procedimentos abordados na disciplina (ICP MS)
- Métodos de extração
 - Variação da polaridade do solvente;
 - Acidificação da amostra para aumentar a recuperação do analito;
 - Uso de agentes quelantes;
 - Assistidos ou não por MW, US, temperatura e pressão.

33

Extração por Solvente

- Método simples, robusto, pode ser utilizado com amostras não filtradas;
- Desvantagem o baixo fator de preconcentração (1:50 a 1:250) e o longo tempo de preparo.
- Algumas espécies organometálicas necessitam de uma etapa de derivatização para ser extraída por solventes orgânicos.



34

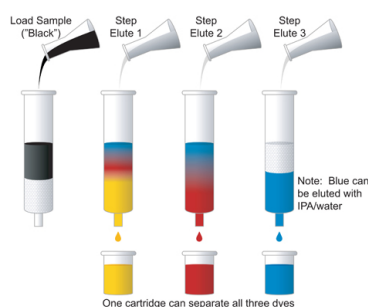
Derivatização

- **Derivatização** é a técnica usada na química para transformar um composto químico em outro produto, alterando propriedades como reatividade, solubilidade, ponto de fusão e ebulição e outros. Esta nova propriedade pode ser usada para quantificação ou separação.
- Ex.: Hidretos voláteis usando tetraborato de sódio; etil derivados usando tetraetilborato; uso do reagente de Grignard para adição de grupos alquil ou aril;

35

Extração em Fase Sólida

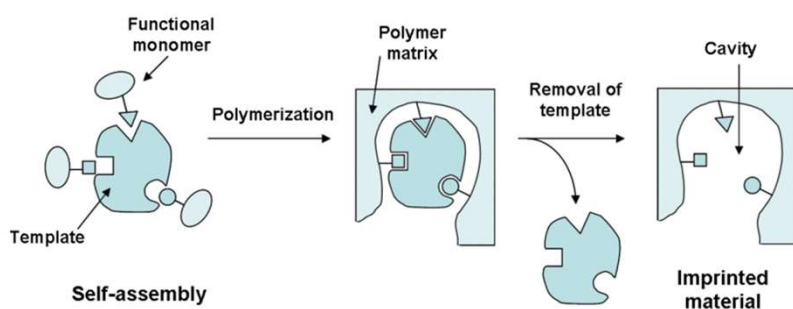
- Partição do soluto entre duas fases;
- Acoplamentos on-line, pequeno consumo de solvente, fácil uso e pode ser usado para armazenar as espécies amostradas.
- Adsorção, quelação, troca iônica, par iônico.



36

Extração em Fase Sólida Molecularmente impressa

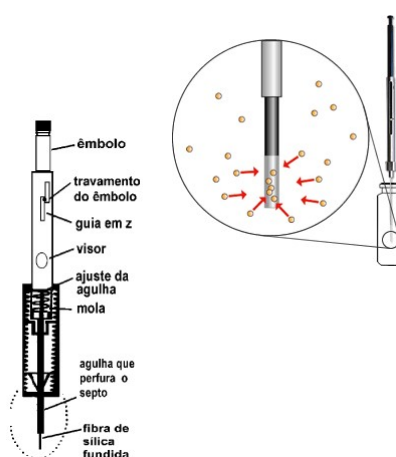
- Seletividade, reconhecimento específico de uma molécula;
- Acoplamentos on-line, pequeno consumo de solvente, fácil uso e pode ser reutilizado após eluição;
- Permite a diferenciação de subprodutos.



37

Microextração em Fase Sólida

- SPME baseia-se no equilíbrio da partição do analito e fase estacionária polimérica.
- Combina a extração e a preconcentração em uma única etapa. Pode ser diretamente introduzido no CG.



<http://www.scielo.br/img/fbpe/qn/v24n2/4275f1.gif>

38

Microextração em Fase Sólida

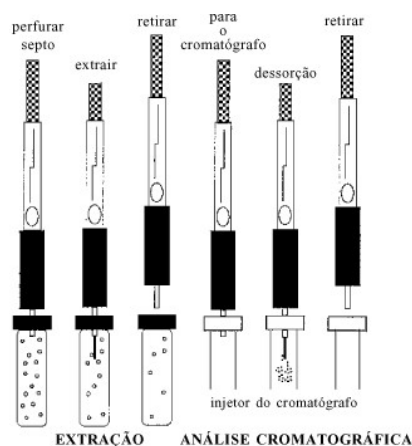
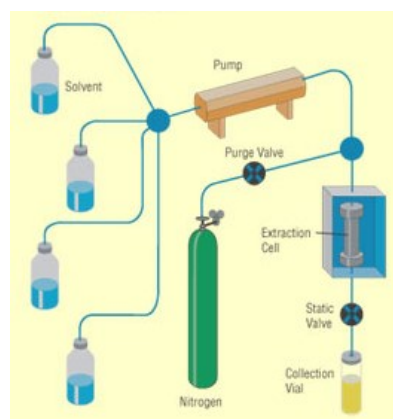


Figura 4. Uso do amostrador de SPME para o processo de extração e o de dessorção do material extraído para análise por CG.

39

Extração com Líquido Pressurizado

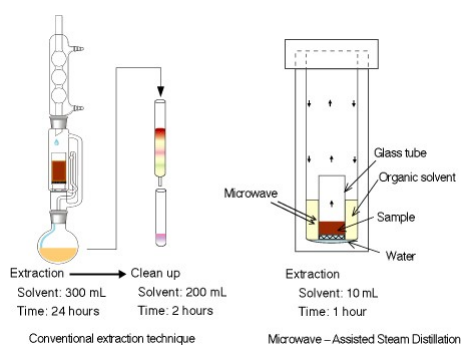
- Baseado no aumento da temperatura, acelerando a cinética de extração;
- Reduz o tempo de extração;
- Utilizado para extração de micropoluentes como pesticidas, PAH, PCB, dioxinas, etc.;
- Pode ser acoplado ao cromatógrafo;



40

Extração Assistida por Micro-ondas

- Procedimento rápido, sem afetar a ligação carbono metal.
- Pode ser utilizado em uma configuração on-line, hifenados a cromatógrafos;



41

Extração Assistida por ondas ultrassônicas

- Acelera o processo de mistura e extração dos elementos;
- Simples, rápido e de baixo custo;



Figura: Dário dos Santos Junior - V workshop de preparo de amostras, 2004.

42

Extração por Fluido Super Crítico

- Extração utilizando CO₂ no estado de fluido supercrítico;
- Reduz o consumo e a exposição aos solventes orgânicos;
- Baixa eficiência na extração de compostos iônicos o com polaridade elevada;
- Necessária etapas de derivatização.

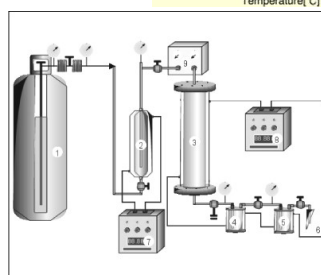
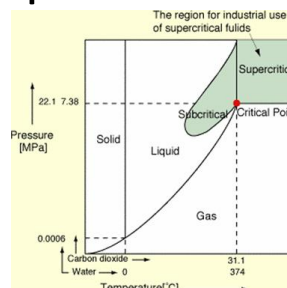


Figure 1: SFE unit

43

Preparation of Soil and Sediment Samples for Determination of Organometallic Compounds

A. Dubiella-Jackowska^{1*}, A. Wasik¹, A. Przyjazny², J. Namieśnik¹

Polish J. of Environ. Stud. Vol. 16, No. 2 (2007), 159-176

Mercury	Lead	Tin	Selenium	Arsenic
Me ₂ Hg, Et ₂ Hg, Pr ₂ Hg	Me ₂ Pb, Me ₂ EtPb, Me ₂ Et ₂ Pb, MeEt ₂ Pb, Et ₂ Pb	BuMe ₂ Sn, Bu ₂ Me ₂ Sn, Bu ₂ MeSn, Bu ₂ Sn	Me ₂ Se ₂ , Me ₂ Se, Et ₂ Se, Et ₂ Se ₂ , SeC(NH ₂) ₂	MeAsO(OH) ₂ , Me ₂ AsOOH, Me ₂ AsO
MeHg ⁺ , EtHg ⁺ , PhHg ⁺	Me ₂ Pb ²⁺ , Et ₂ Pb ²⁺ , Me ₂ Pb ⁺ , Et ₂ Pb ⁺	BuSn ³⁺ , Bu ₂ Sn ²⁺ , Bu ₂ Sn ⁺ , PhSn ³⁺ , Ph ₂ Sn ²⁺ , Ph ₂ Sn ⁺ , Ph ₃ Sn ⁺ , Et ₂ Sn ⁺ , MeSn ³⁺ , Me ₂ Sn ²⁺ , Me ₂ Sn ⁺	Me ₃ Se ⁺	Me ₂ AsCH ₂ COOH ⁺ , Me ₂ As ⁺

Me₃Pb⁺,
Et₃Pb⁺,
Me₂Pb²⁺,
Et₂Pb²⁺



5 g de solo + 5 mL H₂O + 10 mL tampão fosfato (pH 9,0)
Extraído 3 vezes com 5 mL de hexano/benzeno (1:1) + 1 mL TMDTC. Combine os extratos, secar com Na₂SO₄ e evapore com nitrogênio.
Determinação por HPLC
Me₃Pb⁺(83%), Et₃Pb⁺ (83%), Me₂Pb²⁺(73%), Et₂Pb²⁺(74%)

44

MMA, DMA,
AsB, AsC



Extração assistida por micro-ondas da amostra, derivatização com NaBH₄, AsB e AsC decomposto com Persulfato de potássio.
HPLC –HG – AAS

MeHg⁺,
Me₃Pb⁺,
BuSn³⁺,
Bu₂Sn²⁺,
Bu₃Sn⁺



Microextração em fase sólida (SPME), fibra de vidro, tempo de extração de 1,5 a 2 horas, modo de extração Headspace, derivatização tetraetilenoborato de sódio/tampão acetato pH 5,3. Determinação por ICP-MS.

45