AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

CROMATOGRAFIA DE ÍONS APLICADA NA ESPECIAÇÃO DE CRÔMIO HEXAVALENTE EM AMOSTRAS DE INTERESSE AMBIENTAL

MARIA NOGUEIRA MARQUES

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações.

Orientadora:
Dra. Maria Aparecida Faustino Pires

São Paulo
1999

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

CROMATOGRAFIA DE ÍONS APLICADA NA ESPECIAÇÃO DE CRÔMIO HEXAVALENTE EM AMOSTRAS DE INTERESSE AMBIENTAL

MARIA NOGUEIRA MARQUES

IPEN
BIBLIOTECA
REGISTRO
Nº 21799

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia de Materiais Nucleares.

Orientador:
Drª. Maria Aparecida Faustino Pires

SÃO PAULO

1999

À Deus e aos meus pais, que sempre estiveram comigo durante a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares.

À Dra. Maria Aparecida Faustino Pires, pela orientação atenta, pelo incentivo, compreensão e amizade ao longo de todo o trabalho.

À Dra. Elizabeth Sonoda Keiko Dantas, pelo apoio e suporte técnico, horas de discussão e amizade.

Aos membros da Divisão de Caracterização de Materiais, em especial as equipes do Laboratório Instrumental e Laboratório Analítico, por toda a ajuda durante as mais diversas fases deste trabalho e principalmente pela grande amizade.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro recebido durante este trabalho.

À minha mãe, Nair Nogueira Marques, pelo incentivo, apoio e compreensão.

Aos meus amigos e familiares que direta ou indiretamente muito colaboraram para a realização deste trabalho.

CROMATOGRAFIA DE ÍONS APLICADA NA ESPECIAÇÃO DE CRÔMIO HEXAVALENTE EM AMOSTRAS DE INTERESSE AMBIENTAL

Maria Nogueira Marques

RESUMO

Estudou-se a aplicação da cromatografia de íons (IC), com detecção condutimétrica, como técnica analítica para a especiação de crômio hexavalente em amostras ambientais.

Foram estudados e comparados diferentes sistemas supressores químicos utilizados em cromatografia de íons.

Estudou-se a variação do tempo de retenção da espécie de interesse em função da concentração do eluente carbonato e bicarbonato de sódio e da concentração de p-cianofenol.

Avaliou-se também o desempenho da separação frente a diversos interferentes com comportamento aniônico semelhante ao do íon cromato, como os oxiânions tungstato e molibdato e as espécies fluoreto, cloreto, nitrato e sulfato.

Para a eluição do Cr VI usou-se como agente complexante o p-cianofenol no eluente. Realizaram-se diversos experimentos nos quais a variável operacional foi a composição do eluente. Discute-se a otimização da separação analítica por meio dos diagramas do tipo janela, assim como também a linearidade e a reprodutibilidade dos resultados obtidos.

Estabeleceram-se as condições mais favoráveis para a determinação do Cr VI em termos de concentração de interferentes e concentração de eluente.

As características analíticas encontradas para a determinação do Cr VI,

trabalhando-se com 2,8mM $NaHCO_3$ / 2,2 mM Na_2CO_3 / 100mg.L^{-1} p-cianofenol, foram: fluxo do eluente de 1,50mL.min^{-1}, limite de detecção de 0,014 mg.L^{-1}, de determinação 0,033mg.L^{-1}, precisão para 0,05mg.L^{-1} de 14,7% e para 1,0mg.L^{-1} de 2,4%, coeficiente de correlação de regressão linear de 0,999.

A presença de crômio III não interfere na determinação do crômio VI. Altas concentrações do cloreto, fluoreto, nitrato e sulfato (> 400mg.L^{-1}) causam significante interferência na determinação do Cr VI.

O tempo de retenção obtido para o CrO_4^{2-} foi 6:50 minutos, não apresentando interferência das espécies WO_4^{2-} e MoO_4^{2-} cujo os tempos de retenção foram 4:10 e 4:40 minutos, respectivamente.

O estudo foi aplicado na determinação de crômio VI em amostras simuladas, efluentes galvânicos e amostras de água deionizada, água de abastecimento e água de rio, com bons resultados.

Como técnica comparativa, estudou-se também a determinação do Cr VI por espectrofotometria de absorção molecular associada a cromatografia de troca iônica. Propõe-se, também, um método rápido para a determinação de Cr VI em matriz de urânio.

THE ION CHROMATOGRAPHY METHOD APPLIED TO HEXAVALENT CHROMIUM SPECIATION FROM ENVIRONMENTAL SAMPLES

Maria Nogueira Marques

ABSTRACT

The present work concerns to ion chromatography (IC) with conductometric detection as analytical technique for speciation of dissolved hexavalent chromium in natural waters.

Different chemical suppressors systems used in ion chromatography were studied and compared.

The variation of the retention time of the interesting species was studied in function of the sodium carbonate and bicarbonate and p-cyanophenol concentration.

The performance of separation in relation to interfering elements were evaluated. The elements considered as interfering were those wich present similar behavior for specie chromate ion as oxianions tungstate and molybdate and common anions fluoride, chloride, nitrate and sulphate species.

The p-cyanophenol was used as complexing agent in eluent for the element studied. The optimization of the analytical separation was studied by means of the window diagrams. The linearity as well as the reproducibility of results are discussed. The more favourable conditions to the Cr VI determination were established in terms of the interferent concentration and eluent concentration.

The analytical characteristics evaluated, with 2.8mM $NaHCO_3$/2.2mM Na_2CO_3/100mg.L^{-1} p-cyanophenol as eluent, showed: a flow rate 1,50mL.min^{-1}, detection limit 0.014mg.L^{-1}, quantification limit 0.033mg.L^{-1}, precision 14,7% for 0.05 mg.L^{-1} and precision 2,4% for 1,0mg.L^{-1}, correlation coefficient of linear regression 0,999.

Relatively high concentration of Cr III does not interfere in the determination of hexavalent chromium. Fluoride, chloride, nitrate and sulphate (>400mg.L^{-1}) concentration cause a significant interferance in the Cr VI determination.

Elution of peak for the spesies tungstate, molybdate and chromate occurs at 4:10; 4:40 and 6:50 minute, respectively,

The analytical method was applied to the determination of Cr VI in galvanic efluent, deionizad water and natural waters, as well as in simulate samples.

Molecular absortion spectrophotometry associated at ion exchange chromatography also was studied as comparative technique for Cr VI determination. A fast method for determining Cr VI in uranium matrix is also proposed.

SUMÁRIO

RESUMO i
ABSTRACT iii

1. INTRODUÇÃO 1
   1.2. Objetivos 4

2. CRÔMIO – CONSIDERAÇÕES GERAIS 6
   2.1. Toxicidade 8
   2.2. Distribuição relativa das espécies de crômio nos solos, águas, efluentes e sedimentos 10
   2.3. Métodos analíticos e especiação 13
      2.3.1. Determinação de crômio em amostras ambientais 14
      2.3.2. Cromatografia de íons 17
      2.3.3. Espectrometria de absorção atômica 20
      2.3.4. Espectrometria de absorção molecular 22

3. PRINCÍPIOS BÁSICOS DA CROMATOGRAFIA DE ÍONS 25
   3.1. Introdução 25
   3.2. Parâmetros cromatográficos 26
      3.2.1. Parâmetros para a avaliação da separação 28
   3.3. Cromatografia de íons 30
   3.4. Fase estacionária 32
   3.5. Sistema supressor 35
   3.6. Coluna DIONEX – AS5 38
   3.7. Determinação do crômio por cromatografia de íons 38

4. PARTE EXPERIMENTAL 40
   4.1. Equipamentos 41
   4.2. Materiais e reagentes 41
   4.3. Padrões e soluções 42

4.3.1. Preparo das soluções – estoque e padrões 43
4.3.2. Preparo dos eluentes 44
4.3.3. Observações e cuidados especiais 46
4.4. Estudos de especiação do crômio VI utilizando cromatografia de íons com detecção condutimétrica 46
4.4.1. Estudo do tempo de retenção e altura do pico 47
4.4.2. Linearidade de resposta do sistema 48

5. SISTEMAS SUPRESSORES ALTERNATIVOS E ESTUDOS DOS INTERFERENTES 53
5.1. Sistemas supressores alternativos 53
5.1.1. Coluna de troca iônica com resina Dowex 50W – X12 53
5.1.2. Sistema supressor auto-regenerante com membrana semi-permeável 58
5.2. Substituição do equipamento 66
5.3. Efeito da variação dos parâmetros na determinação do crômio VI 67
5.3.1. Avaliação do comportamento do crômio III na determinação do crômio VI 69
5.4. Estudo de interferentes 70
5.4.1. Interferência dos ânions F^-, Cl^-, NO_3^- e SO_4^{2-} em várias concentrações 71
5.4.2. Interferência dos ânions MoO_4^{2-} e WO_4^{2-} 75

6. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CRÔMIO VI UTILIZANDO PRÉ-CONCENTRAÇÃO POR TROCA IÔNICA 83
6.1. Linearidade da curva analítica 84
6.2. Influência do pH na determinação de crômio por espectrometria de absorção molecular 85
6.3. Interferência do crômio III na determinação do crômio VI com difenilcarbazida 87
6.4. Estudo da pré-concentração do crômio VI utilizando resina de troca iônica 88
6.4.1. Preparação da coluna 90

6.4.2. Estudos de retenção e eluição do crômio VI 90
6.4.3. Reprodutibilidade 91

7. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES 94
7.1. Estudo da otimização da separação do CrO_4^{2-} do MoO_4^{2-} e do WO_4^{2-} 94
7.2. Interferentes 96
7.3. Comparação entre os sistemas de supressão 97
7.4. Linearidade, precisão, exatidão e respectivos limites de determinação e detecção 98
7.5. Comparação entre cromatografia de íons e espectrofotometria de absorção molecular 101

8. APLICAÇÕES DA METODOLOGIA 103
8.1. Aplicação da cromatografia de íons para determinação do Cr VI em amostras ambientais e efluentes industriais 103
8.1.1. Águas superficiais 104
8.1.2. Efluente galvânico 105
8.2. Determinação espectrofotométrica de crômio em compostos de urânio utilizando pré-separação da matriz por troca iônica 107
8.2.1. Interferência do urânio no espectro de absorção do complexo crômio-difenilcarbazida 110
8.2.2. Separação química da matriz utilizando troca iônica 112
8.2.3. Discussões e conclusões 113

9. COMENTÁRIOS FINAIS 115
9.1. Vantagens da cromatografia de íons 118
9.2. Sugestões para atividades futuras 118

APÊNDICE 1 – Normas ambientais vigentes no Brasil 119

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 130

6.4.2. Estudos de retenção e eluição do crômio VI 90
6.4.3. Reprodutibilidade 91

7. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES 94
7.1. Estudo da otimização da separação do CrO_4^{2-} do MoO_4^{2-} e do WO_4^{2-} 94
7.2. Interferentes 96
7.3. Comparação entre os sistemas de supressão 97
7.4. Linearidade, precisão, exatidão e respectivos limites de determinação e detecção 98
7.5. Comparação entre cromatografia de íons e espectrofotometria de absorção molecular 101

8. APLICAÇÕES DA METODOLOGIA 103
8.1. Aplicação da cromatografia de íons para determinação do Cr VI em amostras ambientais e efluentes industriais 103
8.1.1. Águas superficiais 104
8.1.2. Efluente galvânico 105
8.2. Determinação espectrofotométrica de crômio em compostos de urânio utilizando pré-separação da matriz por troca iônica 107
8.2.1. Interferência do urânio no espectro de absorção do complexo crômio-difenilcarbazida 110
8.2.2. Separação química da matriz utilizando troca iônica 112
8.2.3. Discussões e conclusões 113

9. COMENTÁRIOS FINAIS 115
9.1. Vantagens da cromatografia de íons 118
9.2. Sugestões para atividades futuras 118

APÊNDICE 1 – Normas ambientais vigentes no Brasil 119

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 130

ÍNDICE FIGURAS

FIGURA 2.1. Distribuição relativa das espécies de Cr VI em água..... 11

FIGURA 3.1. Métodos cromatográficos..... 27

FIGURA 3.2 Representação esquemática de um cromatograma..... 28

FIGURA 3.3. Fluxograma da configuração da técnica de cromatografia de íons com supressor de condutividade..... 33

FIGURA3.4. Estrutura de uma resina aniônica com partícula de látex..... 34

FIGURA 3.5. Estrutura de uma resina de troca catiônica de superfície sulfonada..... 35

FIGURA 3.6. Supressão auto-regenerante com membrana semi-permeável..... 36

FIGURA 3.7. Diagrama de um sistema cromatográfico utilizando o sistema de supressão auto-regenerante com controlador.. 37

FIGURA 4.1. a) Cromatograma de uma amostra de água deionizada
b) Cromatograma do cromato (concentração 2mg.L^{-1}) 48

FIGURA 4.2. Curva analítica do crômio VI . Faixa de concentração 0,02 – 0,20 mg. L^{-1} 50

FIGURA 4.3. Curva analítica do crômio VI. Faixa de concentração 0,20 – 8,00 mg. L^{-1}..... 51

FIGURA 4.4 Curva analítica do crômio VI. Faixa de concentração 8,00 – 20,00 mg. L^{-1}..... 52

FIGURA 5.1. Cromatograma de separação dos ânions F^-, Cl^-, NO_3^- e SO_4^{2-}, utilizando como sistema supressor uma coluna contendo resina Dowex 50W – X12..... 55

FIGURA 5.2. a) Curva analítica do íon fluoreto, utilizando como sistema supressor uma coluna contendo resina Dowex 50W – X12.. 56

FIGURA 5.2. b) Curva analítica do íon cloreto, utilizando como sistema supressor uma coluna contendo resina Dowex 50W – X12.. 56

FIGURA 5.2. c) Curva analítica do íon nitrato, utilizando como sistema supressor uma coluna contendo resina Dowex 50W – X12.. 57

FIGURA 5.2. d) Curva analítica do íon fluoreto, utilizando como sistema supressor uma coluna contendo resina Dowex 50W – X12.. 57

FIGURA 5.3. Cromatograma de separação dos ânions F^-, Cl^-, NO_3^- e SO_4^{2-}, utilizando o sistema supressor auto-regenerante..... 59

FIGURA 5.4. Curva analítica do íon sulfato, utilizando o sistema supressor auto-regenerante..... 60

FIGURA 5.5. Curva analítica do Cr VI, faixa de concentração de 0,20 – 1,00 $mg.L^{-1}$, utilizando o sistema supressor auto-regenerante..... 61

FIGURA 5.6. Curva analítica do Cr VI, faixa de concentração de 0,02 – 0,10 $mg.L^{-1}$, utilizando o sistema supressor auto-regenerante..... 62

FIGURA 5.7. Cromatograma de 0,02 $mg.L^{-1}$..... 65

FIGURA 5.8. Curva analítica do Cr VI, faixa de concentração de 0,10 – 1,00 $mg.L^{-1}$, utilizando o sistema supressor auto-regenerante..... 66

FIGURA 5.9. Variação do tempo de retenção do Cr VI em função da concentração de p-cianofenol..... 68

FIGURA 5.10. Variação do tempo de retenção do Cr VI em função da concentração do bicarbonato de sódio..... 69

FIGURA 5.11. Cromatograma de 1,0 mg Cr VI.L^{-1} com 1,2 mg $F^-.L^{-1}$, 1,6 mg $Cl^-.L^{-1}$, 12,0 mg $NO_3^-.L^{-1}$ 20,0 mg $SO_4^{2-}.L^{-1}$..... 73

FIGURA 5.12. Cromatograma de 1,0 mg Cr VI.L^{-1} com 3,0 mg $F^-.L^{-1}$, 4,0 mg $Cl^-.L^{-1}$, 30,0 mg $NO_3^-.L^{-1}$ 50,0 mg $SO_4^{2-}.L^{-1}$..... 74

FIGURA 5.13. Curva analítica do Mo VI por cromatografia de íons..... 76

FIGURA 5.14. Curva analítica do W VI por cromatografia de íons..... 77

FIGURA 5.15. Cromatograma de separação dos ânions CrO_4^{2-}, MoO_4^{2-} e WO_4^{2-}..... 78

FIGURA 5.16. Cromatograma de separação dos ânions CrO_4^{2-}, MoO_4^{2-} e WO_4^{2-} 79

FIGURA 5. 17. Cromatograma de separação dos ânions CrO_4^{2-}, MoO_4^{2-} e WO_4^{2-} 80

FIGURA 5.18. Cromatograma de separação dos ânions CrO_4^{2-}, MoO_4^{2-} e WO_4^{2-} 81

FIGURA 5.19. Cromatograma de separação dos ânions CrO_4^{2-}, MoO_4^{2-} e WO_4^{2-} 82

FIGURA 6. 1. Curva analítica do Cr VI, na forma de CrO_4^{2-}, por espectrofotometria de absorção molecular utilizando difenilcarbazida como agente complexante 85

FIGURA 6.2. Influência do pH na complexação Cr VI:DPC 86

FIGURA 6.3. Curva analítica do Cr VI - DPC, na presença de 50% (V/V) $(NH_4)_2SO_4$ / NH_4OH:água 89

FIGURA 6.4. Curva de eluição do Cr VI 91

FIGURA 7.1. Seletividade dos pares CrO_4^{2-}/MoO_4^{2-}, CrO_4^{2-}/WO_4^{2-} e MoO_4^{2-}/WO_4^{2-} 96

FIGURA 8.1. a) Eficiência da recuperação em função do pH
b) Predominância da espécie hidrolisada em função do pH. 111

FIGURA 8.2. Espectros de absorção do urânio e do Crômio VI na presença de difenilcarbazida 112

COMISSAO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP IPEN

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 2.1. Limite de detecção das técnicas comumente utilizadas na determinação do crômio total 24

TABELA 3.1. Características das colunas de troca aniônica DIONEX 38

TABELA 3.2. Aplicação da cromatografia de íons em amostras ambientais 39

TABELA 4.1. Repetibilidade do tempo de retenção e altura do pico do cromato 47

TABELA 5.1. Repetibilidade da altura do pico do sulfato por cromatografia do íons com sistema supressor auto-regenerante 58

TABELA 5.2. Repetibilidade do tempo de retenção e altura do pico do cromato por cromatografia de íons com sistema supresso auto-regenerante em diferentes concentrações 63

TABELA 5.3. Repetibilidade do tempo de retenção e altura do pico do cromato por cromatografia de íons, na concentração de 1,0mg $.L^{-1}$ de Cr VI 64

TABELA 5.4. Variação do tempo de retenção do Cr VI em função da concentração do p-cianofenol no eluente 67

TABELA 5.5. Variação do tempo de retenção do Cr VI em função da concentração de $NaHCO_3$ / Na_2CO_3 68

TABELA 5.6. Estudo da interferência do Cr III na determinação do Cr VI por cromatografia de íons 70

TABELA 5.7. Interferência dos ânions F^-, Cl^-, NO_3^- e SO_4^{2-} na determinação do Cr VI por cromatografia de íons 72

TABELA 6.1. Influência do pH na formação do complexo de Cr VI:DPC 86

TABELA 6.2. Comportamento do Cr III na presença de difenilcarbazida 87

TABELA 6.3. Determinação do Cr VI na presença de 0,20mg Cr III 87

TABELA 6.4. Reprodutibilidade da etapa de pré-concentração do Cr VI por troca iônica 92

TABELA 7.1. Estudo da separação do CrO_4^{2-} do MoO_4^{2-} e do WO_4^{2-}..... 95

TABELA 7.2. Análise estatística da curva analítica e sensibilidade no intervalo de 0,02 – 20,0 mg. L^{-1} de Cr VI..... 99

TABELA 7.3. Limite de determinação e detecção calculados por meio da equação de Nalimov..... 101

TABELA 7.4. Comparação da determinação do crômio por cromatografia de íons (IC), espectrofotometria de absorção molecular (MAS) e espectrometria de absorção atômica (AAS)..... 102

TABELA 8.1. Condições aplicadas, no cromatógrafo de íons DIONEX DX-120, para a determinação do Cr VI..... 103

TABELA 8.2. Determinação de crômio VI em amostras de água deionizada..... 104

TABELA 8.3. Estudo da reprodutibilidade na detecção do Cr VI em água tratada..... 105

TABELA 8.4. Determinação de Cr VI por cromatografia de íons em amostras ambientais e efluentes galvânicos..... 106

TABELA 8.5. Concentração máxima de diversos elementos conforme as especificações padrão C 753 – 88, C 776 – 89 da ASTM e a especificação do pó de U_3O_8 utilizado em placas do elemento combustível padrão do reator IEA – R1 do IPEN... 108

TABELA 8.6. Influência do Urânio na determinação direta do crômio por espectrofotometria..... 110

TABELA 8.7. Recuperação do crômio hexavalente após a separação do urânio por troca iônica..... 113

CROMATOGRAFIA DE ÍONS APLICADA NA ESPECIAÇÃO DE CRÔMIO HEXAVALENTE EM AMOSTRAS DE INTERESSE AMBIENTAL

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

As constantes agressões ao meio ambiente, originada pelo crescimento acelerado das áreas urbanas e parques industriais e a grande utilização de produtos agroquímicos e pesticidas nas áreas rurais, vem preocupando muito as organizações responsáveis pela preservação do meio ambiente.

Em conseqüência disso, a necessidade de se desenvolver métodos rápidos e precisos para a detecção de metais tóxicos e outros poluentes químicos, no meio ambiente, vem aumentando gradualmente.

Entre os ecossistemas, os aquáticos acabam de uma forma ou de outra, constituindo um receptáculo temporário ou final de uma grande variedade e quantidade de poluentes, sejam estes lançados ao ar, ao solo ou diretamente nos corpos de água. O risco que um agente químico impõe no ambiente aquático é avaliado através do julgamento científico da probabilidade dos danos que suas concentrações ambientais, conhecidas ou estimadas, possam causar.

Outro fator importante na avaliação de amostras ambientais, principalmente nas últimas décadas, é a especiação química pois, somente o conhecimento das espécies promove informações sobre a biodisponibilidade dos metais e sua toxicidade ou, o quanto estas são essenciais ao meio (MICHALKE, 1994).

Tanto a capacidade de atravessar as membranas biológicas e ser absorvido por organismos vivos quanto a toxicidade são propriedades de

espécies específicas, ou seja, são características da forma físico-química sob a qual o elemento estudado se encontra.

Um exemplo típico do exposto é o caso das espécies de crômio:

- a espécie trivalente é considerada um micronutriente, essencial ao homem, que atua no metabolismo da glicose, do colesterol e dos ácidos graxos (MERTZ,1969);

- a espécie hexavalente, por ser um oxidante forte, é considerada tóxica ao meio ambiente e a sistemas biológicos, apresenta efeitos crônicos a saúde provocando pneumonia química, ulcerações e perfuração no septo nasal, dermatites e câncer pulmonar, Instituto Nacional para Saúde e Segurança (NIOSH, 1973) (IARC, 1973; FRACHINI, et al., 1983).

Deste modo, a determinação da concentração total de um elemento químico, normalmente, não é suficiente para uma avaliação de seus efeitos sobre aquele meio, exigindo informações adicionais sob as várias formas físico-químicas presentes e suas concentrações, ou seja, conhecer a sua especiação físico-química (MOREIRA et al., 1996).

No estudo dos organismos vivos a especiação auxilia na investigação entre os elementos e os ligantes disponíveis como proteínas e compostos de baixo peso molecular, baseado na cinética e nos estudos metabólicos (MOREIRA et al., 1996).

FRIMMEL et al. (1994) discutem em seu trabalho a importância da especiação na análise de água e comentam a ausência desta nas normas e recomendações da qualidade da água. Os autores concluem que a especiação influencia alguns aspectos importantes do sistema aquático como: toxicidade, reações de complexação, solubilidade e biodisponibilidade.

URE (1990) define a especiação como a identificação e quantificação das diferentes espécies definidas, formas ou fases nas quais o elemento ocorre. O estudo da especiação de um determinado elemento leva a uma maior

compreensão dos fenômenos que ocorrem nos mais diversos campos de atividade industriais, legais, médicas e/ou toxicológicas(MOREIRA et al., 1996).

Muitas técnicas são empregadas na determinação de metais em amostras ambientais como a espectrometria de absorção atômica (AAS), a espectrometria de emissão atômica com plasma induzido (ICP-AES), a voltamétrica e outras. Porém, nenhuma destas técnicas permite a especiação direta, sendo geralmente aplicado métodos de separação e pré-concentração como co-precipitação, extração com solventes e troca iônica (LUND, 1990; RODARDS et al.,1991).

A técnica denominada cromatografia de íons (IC), desenvolvida por SMALL e STEVENS (1975), possibilitou a resolução de muitos problemas relacionados com a determinação de espécies iônicas em solução. Devido à sua resposta universal, essa técnica é ideal para avaliar espécies iônicas uma vez que combina a capacidade de separação da cromatografia de troca iônica com a detecção condutimétrica.

A cromatografia de íons é considerada uma técnica versátil, sensível e seletiva para separação e determinação de uma série de íons presentes em baixas concentrações, além de permitir a especiação de contaminantes ambientais. Devido a essas características a IC vem sendo aplicada para resolver uma série de problemas referentes à análise de íons nas várias áreas como: clínica, alimentícia, farmacêutica e ambiental. Nos anos 70 as primeiras publicações de trabalhos com IC descreveram aplicações ambientais (FRANKENBERGER Jr. et al., 1990).

Da implantação da técnica de cromatografia de íons, com sistema supressor tipo coluna e detecção condutométrica (1982) nos laboratórios do IPEN vários procedimentos analíticos foram desenvolvidos para a determinação de ânions, cátions e metais em diversos materiais utilizados na indústria nuclear, em materiais cerâmicos (PIRES et al., 1992), em solventes e reagentes químicos e industriais (PIRES, 1983), em amostras biológicas (HABER, 1984) e em matrizes ambientais (PIRES, 1993). Seguindo uma linha similar aplicou-se a cromatografia de íons sem supressão química para a determinação individual de terras raras e do ítrio em seus concentrados de terras e óxidos (PIRES, 1989). Em uma

comparação realizada entre a cromatografia de íons e a análise por ativação, na determinação de sódio e potássio em amostra biológica padrão, os métodos apresentaram-se igualmente precisos, exatos e estatisticamente iguais, sendo a cromatografia mais sensível (10^{-8}g Na^+) (HABER, 1984).

Em vista das características da técnica de cromatografia de íons, procurou-se neste trabalho, como principal objetivo, estabelecer as condições que favoreçam a separação de oxiânions, especialmente a espécie cromato (crômio hexavalente) e sua determinação.

O estudo está voltado para a determinação do crômio VI devido as razões já descritas.

Paralelamente, estudou-se a especiação do Cr VI utilizando-se colunas de troca iônica convencional e determinação espectrofotométrica após reação com 1,5-difenilcarbazida (STANDARD METHODS, 1989).

Neste trabalho procurou-se explorar as possibilidades oferecidas pela cromatografia de íons e aplicá-las a soluções de problemas ambientais. Estudou-se e comparou-se diferentes sistemas supressores aplicados à técnica.

1.2. OBJETIVOS

O principal objetivo desse trabalho é desenvolver uma metodologia para a determinação de crômio em amostras ambientais, visando a especiação deste, aplicando a técnica de cromatografia de íons com detecção condutimétrica e comparativamente a espectrofotometria de absorção molecular precedida por pré-concentração com troca iônica.

Este trabalho abrange vários tópicos experimentais:

- Verificar a linearidade de resposta do detetor, o limite de detecção e de determinação e a reprodutibilidade do tempo de retenção e da altura do

pico para a identificação e determinação do crômio hexavalente (CrO_4^{2-});

- Estudar a composição e concentração de eluentes para reduzir ou eliminar a interferência de oxiânions como molibdato (MoO_4^{2-}) e tungstato (WO_4^{2-}) e de ânions comuns como fluoreto (F^-), cloreto (Cl^-), nitrato (NO_3^-) e sulfato (SO_4^{2-});

- Avaliar sistemas supressores utilizados em cromatografia de íons, para diminuir o ruído da linha base (coluna supressora com resina de troca iônica de regeneração periódica e sistema com membranas semi-permeáveis auto-regenerante);

- Realizar estudos para a determinação do Cr VI por espectrofotometria de absorção molecular; utilizando metodologia proposta pelo Standard Methods;

- Avaliar a determinação espectrofotométrica de Cr VI com difenilcarbazida utilizando pré-concentração por troca iônica;

- Aplicar a metodologia para a especiação de crômio, em amostras de água natural e potável, proveniente de áreas de captação superficial de águas para abastecimento público, e de efluentes de processos e águas residuárias de uma indústria galvânica.

CAPÍTULO 2

2. CRÔMIO – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Certos metais em concentrações na ordem de ppb (<1,00$\mu g.g^{-1}$ ou mL^{-1}) fazem parte dos elementos essenciais à vida, porém, em concentrações maiores, podem ser prejudiciais. O crômio é um desses elementos, dependendo do estado de oxidação e da concentração pode ser considerado tóxico ou micro - nutriente. Amplamente distribuído na natureza, com massa atômica 51,996$g.mol^{-1}$, ponto de fusão 1.857 ^0C e ponto de ebulição 2.672 ^0C, ocorre nos estados de oxidação de Cr II a Cr VI, sendo que somente as formas trivalente e hexavalente tem significância biológica (CASSERET et al.,1991; HANDBOOK, 1993).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (1995) a concentração total de crômio em águas de abastecimento apresenta habitualmente valor inferior a 2 $\mu g.L^{-1}$, embora encontra-se registros com concentrações de até 120 $\mu g.L^{-1}$. Em geral os alimentos são a principal fonte de ingestão desse elemento.

Na natureza, uma das principais fontes de crômio é o minério cromita ($FeO.Cr_2O_3$), sendo os maiores produtores mundiais: a África do Sul, a União Soviética, a Turquia, a Albânia, as Filipinas, a Finlândia e a Índia.

Devido às suas propriedades mecânicas como dureza e resistência ao atrito e, às propriedades químicas como resistência a corrosão e ao desgaste, cerca de 70% do volume total do crômio produzido é utilizado na fabricação de ligas metálicas (ligas ferrosas e não ferrosas) e de estruturas para a construção civil.

O crômio, como cromato (CrO_4^{2-}), é muito usado na indústria devido às suas características. São consideradas fontes (controláveis) de crômio para o meio ambiente o refino de minérios, a produção de ferro - crômio, processos

refratários e químicos, queima de combustíveis fósseis e rejeitos de indústrias de acabamento metálicos, têxteis e curtumes.

Entre os principais produtos químicos industriais contendo crômio destacam-se:

- óxido de crômio III (Cr_2O_3), usado em galvanoplastia (cromações) e como oxidantes e em fitas magnéticas;
- cromato de cálcio, usado como pigmentos e inibidor da corrosão;
- cromato de chumbo, cromato de potássio e zinco, usado como pigmentos em tintas antioxidantes;
- cromato de potássio, usado na produção de pigmentos, preservação da madeira e processos fotomecânicos,
- cromato de sódio, usado na produção de pigmentos, na produção de ácido crômico e curtição de couros e como preservativos para madeira;

Estima-se que a taxa de emissão (LANTZY et al.,1979) para as fontes naturais e artificiais relativas ao crômio são de 58.000 $t.ano^{-1}$ e 94.000 $t.ano^{-1}$, respectivamente, apresentando um fator de interferência – IF (relação entre as emissões artificiais e naturais) de 1,6. Apesar de apresentar um enriquecimento, esse valor é significativamente baixo quando comparado a outros metais pesados como o cádmio (IF=19), zinco (IF=23), mercúrio (IF=275) e o chumbo (IF=345).

A concentração de crômio em alimentos triviais, água e ar é baixa, com estimativa de consumo de 5 - 115μg diárias (MICROMEDEX, 1998). A espécie trivalente não complexada é solúvel em meio ácido, como $Cr(H_2O)_6^{3+}$, e precipita na forma de hidróxido em soluções alcalinas (PANTSAR-KALLIO et al., 1996). A toxicidade relativa do crômio trivalente ao sistema biológico é baixa. Devido a sua cinética de troca de ligação ser lenta, esse torna-se parcialmente inerte ao meio.

2.1. TOXICIDADE

Toxicidade é a propriedade dos agentes tóxicos de promoverem efeitos nocivos às estruturas biológicas, através de interações físico-químicas. A toxicidade de qualquer substância depende da quantidade ingerida por um determinado organismo. A pele, os pulmões e o canal alimentar são as principais barreiras de separação entre os organismos superiores e o ambiente. As substâncias tóxicas precisam atravessar estas barreiras para serem absorvidas e exercer efeitos nocivos sobre o corpo. A utilização dos metais, para as diversas finalidades, exerce influência nos efeitos potenciais à saúde, através do transporte ambiental ou da contribuição antropogênica (ar, solo, água e alimento), e por alterações das espécies do elemento (MICROMEDEX, 1998; MERTZ, 1969).

A absorção de crômio pela via cutânea depende, fundamentalmente, do tipo de composto, de sua concentração e do tempo de contato com o tecido cutâneo. O crômio absorvido permanece por longo tempo retido na junção dermo-epidérmica (camada situada entre a pele e o tecido subcutâneo e o extrato superior da mesoderme).

Os cromatos solúveis são transportados pelas vias respiratórias e para o trato gastrointestinal por difusão simples. A via de adsorção é quase que exclusivamente a respiratória, sendo uma pequena parte adsorvida pela pele. Nos indivíduos expostos, os pulmões apresentam maiores concentrações que o baço, rins e fígado.

TEVES (1998) citou, em sua dissertação, que tanto a espécie trivalente como a hexavalente atravessam a barreira placentária. Após a absorção, o crômio é encontrado na forma trivalente sendo a maior parte do hexavalente eliminada através da urina (a meia-vida biológica é de 15 a 41 horas).

O crômio III, em baixas concentrações, é considerado essencial ao sistema biológico dos mamíferos, sendo um micronutriente, principalmente na manutenção de vários mecanismos metabólicos, como por exemplo na manutenção de um fator normal de tolerância da glicose. É um cofator da insulina e tem um papel nas atividades periféricas desse hormônio para a formação de um

complexo ternário com receptores de insulina. Atua também no metabolismo do colesterol e dos ácidos graxos (VOS, 1985; MERTZ, 1969; MICROMEDEX, 1998).

Em contraste, o Cr VI parece não ter função biológica benéfica aos organismos vivos. Ao contrario é altamente tóxico devido ao seu potencial de oxidação e sua fácil permeação nas membranas biológicas (MERTZ, 1969), usualmente assume-se que o Cr VI é quase que 100-1000 vezes mais tóxico que o Cr III. O câncer de trato respiratório em trabalhadores de indústria de pigmentação está associado a exposição de Cr VI. O Cr VI é corrosivo e causa ulceração e perfuração do septo nasal. Os compostos de Cr III possuem tolerância toxicológica maior, são menos irritantes e menos corrosivos(SILVA, 1991).

Com relação aos mecanismos de ação tóxica, as membranas biológicas são mais permeáveis ao Cr VI do que ao Cr III. A redução da espécie hexavalente para trivalente ocorre nas células hepáticas de ratos. A síndrome tóxica é caracterizada por: efeitos cutâneos, lesões nasais, efeitos bronco - pulmonares, efeitos gastrointestinais e efeitos carcinogênicos. Com relação aos compostos de Cr VI existem suficientes evidências de ação carcinogênica em humanos (pulmões), enquanto que o crômio metálico e compostos de Cr III não oferecem risco ao homem.

Quanto a relação dose - efeito tem-se que indivíduos expostos ao crômio em atividades com níveis ambientais de 0,06 a 2,8 mg Cr VI.m^{-3} apresentam irritação nasal. Um aumento de incidência de câncer pulmonar entre trabalhadores exercendo atividades na produção de pigmentos de crômio foi demostrado na Alemanha, na Noruega e nos Estados Unidos da América. Trabalhadores que desenvolveram câncer pulmonar estavam expostos a concentrações de compostos de crômio hidrossolúveis de 0,01 a 0,15 mg.m^{-3} , e de 0,1 a 0,58 mg Cr VI .m^{-3} de compostos não hidrossolúveis (TEVES, 1998).

"A ACGIH - USA (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists of United States)* adota a conotação de A_1 (carcinógeno confirmado ao

homem) para o minério cromita (cromato), e compostos hidrossolúveis e solúveis de Cr VI e conotação de A_4 (não carcinógeno ao homem) para o crômio metálico e o composto de Cr III. No Brasil, O Ministério do Trabalho na Norma Legal n^0 7 de 1983 (NR – anexo 11) estabelece como valor de referência para o crômio hexavalente na urina o valor de até 5μg Cr VI.g^{-1} creatinina e como IBMP (índice biológico máximo permitido) o valor de 30μg Cr VI.g^{-1} de creatinina". (TEVES, 1998).

2.2 DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE CRÔMIO NOS SOLOS, ÁGUAS, EFLUENTES E SEDIMENTOS

A capacidade de oxidação do Cr VI é uma função do pH. Dependendo do pH o crômio hexavalente existe preferencialmente como ácido crômico (H_2CrO_4) e seus sais, como íons hidrogênio cromato ($HCrO_4^-$) e íons cromato (CrO_4^{2-}). A forma H_2CrO_4 predomina em pH < 1, a espécie $HCrO_4^-$ entre 1 e 6, e a espécie CrO_4^{2-} em pH > 6. O poder de oxidação do Cr VI é uma função do pH, quanto menor o pH maior o seu poder de oxidação (DIONEX, 1987, 1990; ARAR et al., 1991).

Na Figura 2.1 tem-se a representação da distribuição relativa das espécies de Cr VI e, água em função do pH.

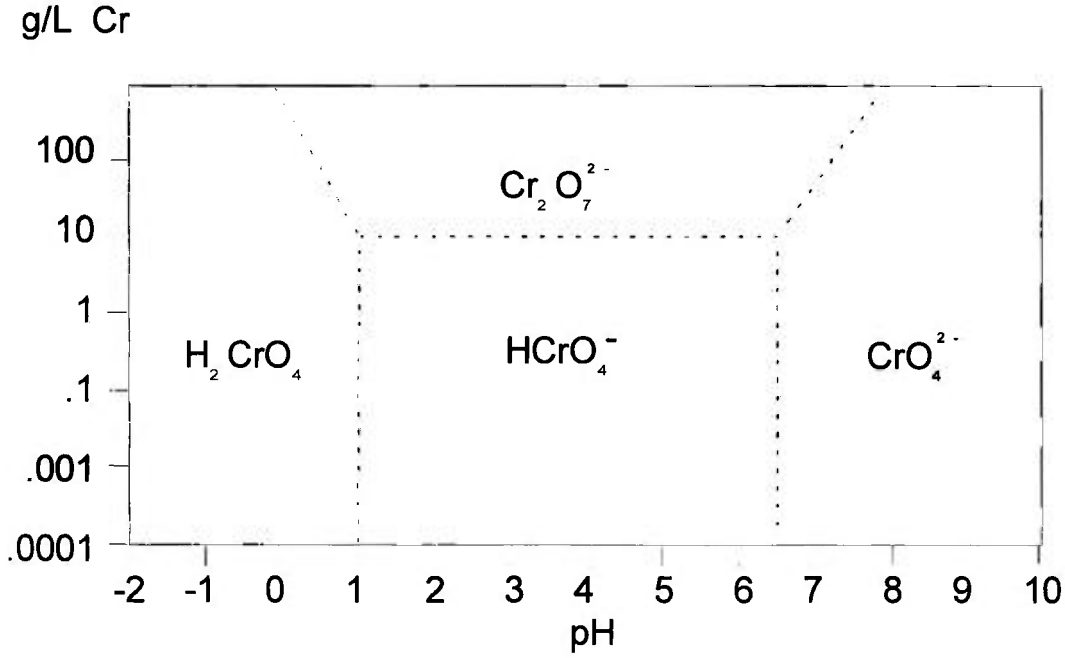

FiGURA 2.1- Distribuição Relativa das Espécies de Cr VI em água.
Fonte: DIONEX, 1990

O Cr III pode formar complexos inertes com uma grande variedade de ligantes orgânicos e inorgânicos. Emissões atmosféricas lançam em maior proporção o crômio no estado trivalente, atividade de eletrodeposição, tratamento de esgoto e outros focam principalmente o estado hexavalente.

No solo o crômio existe, preferencialmente na forma insolúvel com baixa mobilidade. A mobilidade da forma trivalente solúvel e do crômio hexavalente vai depender das características do solo, particularmente da presença de argila, ferro e orgânicos. O crômio trivalente solúvel e não adsorvido e os complexos hexavalente podem percolar pelo aqüífero. O potencial percolante de crômio hexavalente aumenta com o aumento do valor do pH do solo, enquanto o valor baixo do pH da chuva ácida aumenta a probabilidade de percolação dos compostos de Cr III solúveis. O crômio trivalente torna-se novamente solúvel em valores de pH maiores que 9. O teor de crômio total em solos muito básicos é de 5 a 40 vezes maior que em solos ácidos.

Certos solos com teores de 0,2 a 0,4 % de crômio total são tidos como inférteis. A maior concentração em plantas germinadas em solos contendo altas

concentrações de crômio ocorre na raiz, com pequenas frações retidas nas partes comestíveis acima do solo (MICROMEDEX, 1997).

O crômio dissolvido na água é depositado nos sedimentos e não volatiliza da superfície da água. A espécie trivalente pode ser adsorvida na argila com materiais orgânicos ou óxido de ferro em água. A espécie hexavalente é reduzida à forma trivalente por materiais orgânicos. Na atmosfera, pode estar presente na forma particulada uma vez que a forma gasosa é rara. A deposição úmida aumenta com o tamanho da partícula e decresce com a intensidade de precipitação.

Em água de rio bem aerada o Cr III tende a oxidar-se a Cr VI pois, em sistemas poluídos, com baixas concentrações de oxigênio, a redução do Cr VI a Cr III é favorecida, o Cr III é facilmente adsorvido por partículas suspensas enquanto que o Cr VI é fracamente adsorvido pelo meio.

O fato do Cr VI ser um oxidante forte, portanto prejudicial ao sistema biológico, requer a sua regulamentação para o meio ambiente. A Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 20/86 de 30/07/86 e a Lei Estadual de São Paulo nº 997 de 31/05/79, regulamentada pelo decreto nº 8.468, de 08/09/76 tratam os recursos hídricos por classes, diferenciando-as pelos padrões numéricos de emissão dos poluentes que podem ser lançados pelas indústrias. Com relação a emissão, os parâmetros atingem níveis de 0,1mg.L^{-1} para o Cr VI e 5,0mg.L^{-1} para crômio total. A Portaria nº 36 de 19/01/90 no que se refere ao padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano, determina como valor máximo permissível para o crômio total 0,05mg.L^{-1}. Em anexo a este trabalho estão descritas, resumidamente, as normas ambientais vigentes no Brasil.

Os membros da "Comunidade Econômica Européia" (EEC-European Economic Community) e da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1995) listam como concentração máxima admissível para o crômio total em água potável o valor de 0,05mg.L^{-1} (VERCOUTERE, 1996). Nos Estados Unidos da América, a Agência de Proteção do Meio Ambiente (Environmental Protection Agency – EPA,

1995) determina como meta o limite máximo de contaminação 0,1mg.L^{-1} de Cr VI para água potável.

Dada a carcinogenicidade do crômio VI quando se absorve por inalação e sua genotoxicidade, a OMS tem posto em dúvida o atual valor guia de 0,05mg.L^{-1}, porém, com os dados toxicológicos disponíveis ainda não se justifica um novo cálculo do valor. Em princípio, se considerou que deviam ser determinado a valores guias distintos para o crômio III e o crômio VI (OMS, 1995).

2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS E ESPECIAÇÃO

A determinação de elementos em amostras ambientais e principalmente sua especiação é dificultada por uma série de fatores como o efeito matriz, a presença de interferentes e por estes elementos se encontrarem em concentrações muito baixas, na sua grande maioria abaixo de parte por milhão (ppm). Outro fator importante é que um grande número de técnicas de detecção só quantificam e não especificam as espécies, tornando-se necessário o uso de técnicas para a separação.

A especiação de metais em matrizes ambientais, geológicas e biológicas tem particular importância no estudo da relação do metal com o meio ambiente, visto que os mecanismos de transporte dependem da forma físico-química em que se encontra o elemento. Medidas da concentração total de um nutriente ou elemento traço fornece pouca informação sobre a toxicidade, biodisponibilidade, bioacumulação e transporte geoquímico, uma vez que elementos essenciais existem em uma variedade de formas e sua assimilação pode variar.

FRIMMEL et al.(1994) descrevem sobre a importância de estudos de especiação em amostras de água, abordando os aspectos físicos, químicos e biológicos da especiação e sua aplicação no entendimento do funcionamento do ecossistema aquático.

2.3.1 DETERMINAÇÃO DE CRÔMIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

As técnicas instrumentais mais efetivas e comumente usadas para a determinação de crômio são: espectrometria de absorção atômica com forno de grafita (GFAAS) ou com chama (AAS) (MULLINS, 1984; VOS, 1985; ROEHL et al.,1990), espectrometria de absorção molecular (MAS) (ROEHL et al.,1990; FRITZ et al., 1972), espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma induzido (ICP-AES) (ROEHL et al.,1990), espectrometria de massas com fonte de plasma induzido (ICP-MS) (HENSHAW et al., 1989; URE, 1990), cromatografia de íons (IC) (DIONEX, 1987, 1990), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e métodos polarográficos, voltamétricos e potenciométricos (DOBNEY et al., 1994; BOUSSEMART et al., 1994).

Com exceção dos métodos polarográficos e cromatográficos, a maioria das técnicas instrumentais determinam as concentrações totais dos elementos não fornecendo informações sobre suas formas químicas. Além disso, poucas técnicas instrumentais para a análise elementar têm sensibilidade e seletividade para a determinação direta de espécies metálicas individuais em concentrações de traços.

As técnicas de voltametria são muito sensíveis, oferecendo uma sensibilidade da ordem de 10^{-9}M.

DOBNEY et al. (1994) determinam crômio por voltametria. O íon metálico é complexado com ácido dietilenotriaminopentaacético e o complexo é absorvido, pela corrente de fluxo, na superfície do eletrodo de vidro-carbono a qual foi recoberta com mercúrio. A redução do complexo na presença de nitrato produz cataliticamente um aumento na corrente de redução em –1,27V (Ag – AgCl). O limite de determinação obtido foi de 0,2ng.L^{-1} Cr VI (por 60s de deposição), com um desvio padrão relativo de 2-3% e um tempo de determinação menor que 3 min por amostra.

BOUSSEMART et al. (1994) determinaram crômio III em água do mar por meio de determinação voltamétrica após adsorção seletiva em partículas de sílica

ressuspendida. O Cr III adsorvido foi recuperado após oxidação a Cr VI em sistema se digestão por UV na presença de excesso de oxigênio. A concentração do crômio VI é determinada utilizando-se voltametria de redissolução catódica.

A análise de espécies químicas é particularmente aplicada a elementos traços onde as dificuldades analíticas estão relacionadas não só a escolha da técnica para medir a espécie individual mas também ao fato das concentrações dos elementos serem tão baixas que mesmo as determinações das concentrações totais são extremamente difíceis.

De um modo geral para se saber a forma química é necessário utilizar as técnicas instrumentais com outras operações analíticas como a extração com solvente, a cromatografia (de troca iônica, adsorsão, quelação), eletroforese, ultra-filtragem, diálise e outros (URE, 1990)

Processos de extração líquido-líquido são empregados para a diferenciação de traços de elementos em diferentes estados de oxidação. O Cr VI é seletivamente extraído, de amostras de águas naturais, com complexantes como o dietilcarbamato de amônia e pirrolidina-metilisobutilcetona (APDC-MIBK) permanecendo o Cr III em solução aquosa (MULLINS, 1984;ROEHL et al., 1990). O crômio total é obtido após a oxidação do Cr III a Cr VI com Ce IV. A determinação, após a extração, geralmente é feita por absorção atômica, diluição isotópica ou espectrometria de massa (STANDARD METHODS, 1989)

O Cr VI reage com ferron atribuindo ao clorofórmio uma coloração rosa, quando extraído com este em meio ácido. ARYA et al.(1994) utilizou este processo para determinação do crômio por espectrometria, medindo a absorbância em 510nm. O método obedece a lei de Beer na faixa de 5 a 70$\mu g.L^{-1}$ e não sofre interferência dos íons dos metais comuns. O desvio padrão relativo obtido foi de 2,78%.

CRANSTON et al.(1978) determinaram as espécies de crômio em amostras de água natural utilizando a pré-concentração com hidróxido de ferro em pH neutro. Neste método o Cr III é determinado pela precipitação com hidróxido de ferro trivalente [$Fe(OH)_3$] e o crômio total pela precipitação e redução

com hidróxido de ferro bivalente [$Fe(OH)_2$], sendo ambos analisados por AAS. O limite de detecção obtido foi de 0,02nM para uma faixa de concentração de 0,01-10nM tanto para o Cr III quanto para o Cr total.

Processos de co-precipitação também são utilizados. MULLINS (1984) separou Cr III de Cr VI por co-precipitação com óxido de ferro III hidratado e determinou ambos separadamente, após complexação e extração em sistema com dietilcarbamato de amônia e metil-isobutilcetona (APDC/MIBK), por AAS.

Processos utilizando a cromatografia de troca iônica (trocadores catiônicos ou aniônicos) também são aplicados para a pré - concentração e separação do Cr III e Cr VI (MARHOL, 1982; JOHNSON, 1990).

Os íons Cr III são fortemente adsorvidos em trocadores catiônicos fortes em meio ácido mineral diluído, sendo que a adsorção diminui rapidamente com o aumento da concentração do ácido. Os valores do coeficiente de distribuição para o Cr III, em meio ácido 0,1M são: 10^3 para o ácido clorídrico; $5x10^3$ para o ácido nítrico e $2x10^2$ para o ácido sulfúrico. Em concentrações maiores que 4,5M (em ácido clorídrico) dificilmente o Cr III será adsorvido, tanto em resina catiônica com aniônica (MARHOL, 1982).

O Cr III é fracamente adsorvido em trocadores aniônicos enquanto que o Cr VI apresenta elevada afinidade em meio ácido nítrico ou clorídrico diluído. O Cr VI também pode ser separado utilizando trocadores aniônicos em meio fortemente básico e solução com perclorato de sódio. São considerados eluentes satisfatórios soluções de carbonato de sódio 8-10% ou misturas carbonato/bicarbonato de sódio (FRITZ et al., 1972; MULOKOZI, 1972).

FRITZ et al.(1972) desenvolveram um método rápido, contínuo e de fácil automatização para a determinação de crômio total. O Cr III é oxidado a Cr VI com cério IV ou com persulfato. Em seguida o Cr VI é separado dos outros íons metálicos em uma coluna de troca iônica, eluído com uma solução de perclorato de sódio e determinado espectrofotometricamente com uma célula de fluxo contínuo.

MULOKOZI (1972) demonstrou que o Cr VI é quantitativamente retido em resinas aniônicas em meio alcalino, permitindo assim a separação deste de muitos elementos. Verificou também que o Cr VI pode ser quantitativamente removido da resina com solução de carbonato de sódio(Na_2CO_3) de 8 a 10 % ou mais satisfatoriamente com uma solução aquosa de hidrogênio carbonato de sódio($NaHCO_3$) e carbonato de sódio(Na_2CO_3).

JOHNSON (1990) separou e pré - concentrou o Cr VI e Cr III presentes em amostras de água natural utilizando colunas de troca iônica e determinação por GFAAS. A recuperação do Cr VI e Cr III foi de 97,86±1,31% e 102,36±1,25%, respectivamente. Os limites de detecção foram, respectivamente, 0,019 e 0,020$\mu g.L^{-1}$ para 200mL de amostra. O método é rápido e necessita de um mínimo de manuseio da amostra evitando problemas de contaminação.

2.3.2 CROMATOGRAFIA DE ÍONS

A especiação aplicando técnicas instrumentais diretas é possível utilizando-se a cromatografia de íons (NICKLESS, 1985; WEISS, 1988). ROEHL et al.(1990), realizaram um estudo no qual a cromatografia de íons foi acoplada a técnicas convencionais (AAS, ICP-AES, ICP-MS, etc.). O estudo permitiu a determinação simultânea de vários elementos com alta sensibilidade, possibilitando também a especiação.

Normalmente, o Cr VI é complexado em sistemas de reação pós-coluna, com difenilcarbazina (DPC) que absorve na faixa de 520-540 nm. A determinação do Cr VI com reação pós-coluna pode sofrer interferência de espécies como Fe III e Cu II ou de outras espécies, que reagem com a DPC, tais como molibdênio, vanádio e mercúrio. A presença de agentes redutores em soluções ácidas também interferem na detecção da espécie, pois essa é reduzida a Cr III. Agentes oxidantes, como os cloretos livres, que oxidam o Cr III a Cr VI também são sérios interferentes (ROEHL et al., 1990).

Em termos gerais, a cromatografia de íons inclui processos cromatográficos envolvendo diferentes mecanismos de separação ou combinação entre eles (troca iônica, exclusão de íons, partição, adsorsão par iônico e fase reversa) com alta velocidade e alta eficiência com o detetor "on line" permitindo a determinação de espécies iônicas.

A moderna cromatografia de íons foi inicialmente aplicada para separação e determinação de ânions utilizando como eluente (fase móvel) soluções aquosas de hidróxidos, carbonatos e carbonatos ácidos em um sistema de coluna de troca aniônica acoplada a uma coluna supressora, esta permitiu que a medida por condutividade fosse sensível e seletiva. Trabalhos posteriores aplicaram a cromatografia iônica para a determinação de cátions dispensando o sistema supressor.

FRANKENBERGER Jr et al. (1990) justificaram o rápido desenvolvimento da técnica de cromatografia de íons por sua vasta aplicação na área ambiental. Enfatizaram ainda a especiação de íons e fizeram uma revisão dos trabalhos publicados aplicando a cromatografia de íons em diferentes tipos de amostras ambientais (água de chuva, água subterrânea, água de superfície, rejeitos aquosos, água potável, amostras de neblina, gelo, neve, solos, sedimentos, esgotos, plantas, ar, sistemas de exaustão, aerossóis, fumaça de chaminé, fuligem aérea, óleo combustível e petróleo).

Pesquisadores da DIONEX (1987) aplicaram três diferentes métodos de separação e determinação do crômio III e VI em vários tipos de matrizes:

- O primeiro aborda a necessidade das indústrias em fazer uma especiação rápida e determinar Cr III e Cr VI em baixas concentrações, parte por bilhão (ppb). Este método utiliza a reação pós-coluna com um reagente complexante formando um complexo colorido. O Cr III é separado do Cr VI em uma coluna de troca iônica utilizando o ácido piridino dicarboxílico (PDCA) como eluente e agente complexante do Cr III e a difenilcarbazina (DPC) como agente complexante do Cr VI. A detecção espectrofotométrica é realizada utilizando-se um λ = 520nm.

- O segundo método descreve a determinação do crômio total, como Cr VI, contido em rejeitos aquosos industriais e extratos de rejeitos sólido, utilizando o procedimento de digestão e oxidação. Este método também utiliza a reação pós - coluna com DPC como complexante. O limite de detecção obtido foi de 5ppb.

- O terceiro método determina o Cr VI na forma de CrO_4^{2-}, por cromatografia de troca iônica com supressão química e detecção condutimétrica. O limite de detecção para o Cr VI foi de 500ppb.

Outro trabalho aplicando a técnica de cromatografia iônica (DIONEX, 1990) permite a detecção do Cr VI presente na concentração de ppb em matrizes de alta força iônica. Esta análise é específica para Cr VI e Cr total. O Cr VI é separado como CrO_4^{2-} em uma coluna aniônica (Ion Pac-AS7) usando uma solução tampão de sulfato de amônio e hidróxido de amônio como eluente. Após a separação o Cr VI reage com a DPC, que é oxidada a difenicarbazona e o Cr VI reduzido a Cr II. O Cr II é complexado pela difenilcarbazona e detectado por espectrometria em λ= 520 a 530nm. O tempo de análise é cerca de 5min. O método apresenta linearidade na resposta de detecção e limite de 1ppb, usando um volume de injeção fixo, loop, de 50μL.

ARAR et al. (1991), aplicaram a cromatografia de íons para a determinação do Cr VI dissolvido em água potável, subterrânea e efluentes industriais. As amostras aquosas foram filtradas em filtros de 0,45μm e o pH ajustado entre 9,0-9,5 com uma solução tampão. O volume de amostra injetado variou de 50 a 250μL. Uma coluna de guarda foi utilizada para remover os compostos orgânicos antes da separação do cromato na coluna separadora de troca aniônica. Após separação o crômio é complexado, com uma reação pós–coluna, com DPC e o complexo formado detectado em 530nm.

ROEHL et al.(1990) compararam o desempenho de dois diferentes tipos de detecção aplicando a cromatografia iônica para a separação do Cr VI. A cromatografia de íons acoplada ao ICP-MS foi comparado com a cromatografia de íons com reação pós-coluna e detecção espectrofotométrica. Tanto o limite de

detecção como a faixa de linearidade de resposta apresentaram-se similares para ambos os métodos de 1-2ppb e 2 - 40ppb, respectivamente.

SIRIRAKS et al. (1990) desenvolveram um novo método para a determinação de traços de metais de transição e terras raras. Utilizaram a cromatografia iônica de quelação para concentrar e separar estes elementos dos metais alcalinos e alcalino - terrosos bem como, dos outros componentes interferentes para então analisar as espécies de interesse por cromatografia de íons. A combinação da coluna de quelação com a cromatografia de íons permitiu determinar traços de elementos em matrizes complexas, que até então eram difíceis ou impossíveis de serem analisadas por cromatografia de íons ou por absorção atômica.

PANTSAR-KALLIO et al. (1996) descreveram um método utilizando o ICP-MS como um detetor seletivo da cromatografia iônica para a determinação das espécies do crômio em amostras de água. Utilizaram uma coluna de guarda catiônica e uma coluna separadora aniônica. Soluções de ácido nítrico foram usadas como eluentes. Os limites de detecção obtido para Cr III e Cr VI foram de 0,3 e 0,5 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente.

2.3.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Entre as técnicas instrumentais mais utilizadas para a determinação de crômio destaca-se a espectrometria de absorção atômica (RUBIO et al., 1992), por apresentar baixos limites de detecção e permitir a utilização de métodos de pré-concentração como: co-precipitação com hidróxido de ferro III; extração com MIBK após complexação com APDC (MULLINS, 1984); extração com 4-metil-penta 2-nona complexado com pentano 2,4-diona (JACKSON et al., 1980); co-precipitação com hidróxido de alumínio; pré-concentração com resina de troca iônica (CRANSTON et al., 1978) entre outros.

Esta técnica está fundamentada no fato que o átomo metálico no estado fundamental absorve energia em comprimentos de onda definidos e

característicos, que coincidem com as linhas do espectro de emissão do metal considerado. Uma vez que essa situação é instável, o átomo retornará imediatamente ao estado fundamental liberando energia. A energia absorvida é proporcional à concentração dos átomos[1].

O limite de detecção desta técnica varia de μg até ng dependendo do tipo de amostra, do equipamento e método de pré-concentração utilizado. Em alguns casos, utilizando-se forno de grafita e pré-concentração chega-se a detecção de pg (DAVIDSON et al., 1972).

Existe na literatura um número considerável de trabalhos sobre a determinação do crômio por espectrometria de absorção atômica (AAS) aplicada em amostras ambientais. (VOS, 1985; URE, 1990; MULLINS, 1984; RUBIO et al., 1992; PERKIN ELMER, 1973; CRANSTON et al., 1978; SILVA, 1991; JACKSON et al., 1980; DAVIDSON et al., 1972; BAFFI et al., 1992).

VOS (1985) utilizou um método simples e preciso para a separação e determinação do crômio hexavalente dissolvido em sistemas aquáticos. O Cr VI é quantitativamente co-precipitado com sulfato de chumbo e determinado por espectrometria de absorção atômica com forno de grafita (GFAAS) em 357,9 nm. A presença de Cr III não interfere, mesmo em quantidades relativamente altas. Concentrações elevadas de cloreto (> $6g.L^{-1}$) e de sulfato (>$800mg.L^{-1}$) causam um decréscimo na recuperação do crômio. O método apresentou-se eficiente quando aplicado a amostras de águas de rio e efluentes aquosos porém, quando aplicado a amostras de água do mar a recuperação Cr VI foi incompleta (83%) provavelmente devido a interferência do sulfato durante o processo de co-precipitação.

VOS (1985) também estudou a relação entre a mudança do estado de oxidação do crômio em função do tipo de na amostra e do tempo de estocagem.

MULLINS (1984) descreveu um procedimento para determinar as concentrações das espécies de crômio dissolvidas em água natural. O Cr III e Cr VI foram separados por co-precipitação utilizando o óxido de ferro III hidratado, e

[1] DANTA, E. S. K. Introdução à Absorção Atômica.

o crômio total foi determinado separadamente por conversão para Cr VI, extração com dietilcarbamato de amônia e metil-isobutilcetona (APDC-MIBK) e determinado por AAS. O limite de detecção obtido foi de 40ng.L^{-1}. O crômio dissolvido e não analisado pela separação e extração direta é calculado por diferença. A concentração de crômio total, nas amostras de água analisadas, foram relativamente altas (1-5μg.L^{-1}) sendo que a espécie predominante em todas as amostras foi o Cr VI com exceção de uma , onde predominou o crômio organicamente ligado.

RUBIO et al.(1992) realizaram um levantamento do estado da arte em relação a metodologia para a determinação de crômio em amostras ambientais e biológicas por espectroscopia de absorção atômica.

CESPÓN-ROMERO et al.(1996) determinaram crômio total e Cr III em água natural por AAS utilizando resina de troca iônica quelante e sistema de injeção de fluxo. A concentração de Cr VI foi calculada por diferença. O limite de detecção do crômio total e do Cr III foi de 0,2μg.L^{-1}. A precisão do método para o Cr III e crômio total foi de 1,2±5,9% e 1,2±5,7%, respectivamente.

2.3.4 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR

A análise colorimétrica é baseada na variação da cor de um sistema, com a modificação da concentração de uma determinada substância. A cor é provocada pela formação de um composto colorido, resultante da adição de um reagente apropriado, ou pode ser intrínseca a substância analisada. A intensidade da cor pode ser comparada com a que se obtém pelo tratamento idêntico de uma quantidade conhecida da substância (VOGEL, 1992).

Pequenas quantidades de crômio podem ser determinadas espectrofotometricamente em soluções alcalinas sob forma de cromato. São interferentes o urânio e o cério. O vanádio tem pequena influência. Mede-se a transmitância da solução a 365 – 370nm, ou com auxílio de um filtro com o máximo de transmissão na região violeta do espectro (VOGEL, 1992).

Um método mais sensível emprega a 1,5-difenilcarbazida [$CO(NH.NHC_6H_5)_2$] em solução ácida (aproximadamente 0,2 M). Este reagente forma um composto solúvel, de cor violeta, com os cromatos, apresentando uma absorbância máxima em 540nm (STANDARD METHODS,1989). O molibdênio, o vanádio, o mercúrio e o ferro interferem. Os permanganatos, se estiverem presentes, podem ser removidos pela ebulição com etanol. Se a razão entre o vanádio e o crômio não for maior que 10:1, podem ser conseguidos resultados quase corretos se a solução permanecer em repouso durante 10 -15 minutos depois da adição do reagente, pois o complexo do vanádio com a difenilcarbazida perde a cor com bastante rapidez. O vanadato pode ser separado do cromato pela adição de oxina à solução de extração, num pH próximo a 4, com clorofôrmio; o cromato fica na solução aquosa. O vanádio e o ferro podem ser precipitados pelo cupferron, em solução ácida, e assim separados do crômio III (SANDELL, 1959).

Existe um amplo leque de métodos e técnicas aplicados para a determinação do crômio total porém, as técnicas cromatográficas são as mais freqüentemente utilizadas para a especiação uma vez que acoplam técnicas de separação e determinação. A Tabela 2.1 apresenta o limite de detecção das técnicas mais utilizadas.

TABELA 2.1: Limites de detecção das técnicas comumente utilizadas na determinação do crômio total.

TÉCNICAS	LIMITE DE DETECÇÃO ($\mu g.mL^{-1}$)	REFERÊNCIAS
GFAAS	0,0003	OLIVEIRA[2]
AAS	0,003	OLIVEIRA[2]
ICP-AES	0,001	OLIVEIRA[2]
ICP-MS	0,0004	HENSHAW, 1989
IC*	0,092	MEHRA, 1989(b)
VOLTAMETRIA	0,002	DOBNEY, 1994

*com detecção condutimétrica-

[2] OLIVEIRA, E. Apostila do curso: Espectrometria de Plasma de Argônio Induzido, 1990. Instituto de Química – USP.

CAPÍTULO 3

3. PRINCÍPIOS BÁSICOS DA CROMATOGRAFIA DE ÍONS.

3.1. INTRODUÇÃO

Entre os métodos modernos de análise, a cromatografia ocupa um lugar de destaque devido a sua facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação das espécies químicas, por si mesma ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise (COLLINS et al., 1995).

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC-*International Union of Pure and Applied Chemistry*) cromatografia é definida como um método físico-químico de separação nos quais os componentes de uma mistura a ser separados são distribuídos entre duas fases. Uma das fase permanece estacionária enquanto a outra move-se através dela em uma direção definida. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciadas destes componentes. (BRAITHWAITE et al., 1996:32)

A classificação das diferentes modalidades de cromatografia depende de vários critérios, sendo os mais comuns relacionados à técnica empregada, ao mecanismo de separação e aos diferentes tipos de fases utilizadas (JOHNSON et al., 1978).

A forma física do sistema de cromatografia define a técnica geral, que pode ser em coluna ou planar. Considerando o estado físico da fase móvel, distingue-se a cromatografia gasosa, onde a fase móvel é um gás, a cromatografia líquida, onde a fase móvel é um líquido, e a cromatografia supercrítica, onde a fase móvel é um vapor super pressurizado, em temperatura acima de sua temperatura crítica.

A Figura 3.1 apresenta a classificação dos métodos cromatográficos (BRAITHWAITE et al., 1996:10).

3.2. PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS

A cromatografia é uma técnica de separação onde os componentes (soluto) de uma mistura são transportados por uma fase móvel sobre uma fase estacionária. A fase móvel pode ser um gás ou um líquido e a fase estacionária pode ser um filme líquido em uma superfície de material inerte ou uma superfície sólida. O soluto, fase móvel e fase estacionária formam um sistema terciário. Assim que o soluto é distribuído entre as duas fases, acontece interações entre o soluto e fase estacionária. A atração do soluto pela fase estacionária resulta no retardamento do movimento através do sistema cromatográfico. Cada componente é distribuído entre as duas fase com um equilíbrio definido pelo coeficiente de distribuição (ou coeficiente de partição, **K**). Quanto maior o valor de K maior a afinidade do componente com a fase estacionária (PIRES, 1989; COLLINS et al., 1995; LOUGH et al., 1995).

A velocidade de migração dos componentes no sistema cromatográfico depende: (a) da composição e propriedades da fase móvel; (b) tipo e propriedade da fase estacionária; (c) forças intermoleculares entre os componentes e as fases estacionárias e móvel; (d) temperatura.

A fase móvel na cromatografia gasosa é freqüentemente um gás de arraste cuja função é simplesmente transportar os componentes através da coluna. Os fatores de controle são a escolha da fase estacionária e a temperatura da coluna.

Em cromatografia líquida tanto a fase móvel quanto a fase estacionária influenciam no coeficiente de distribuição.

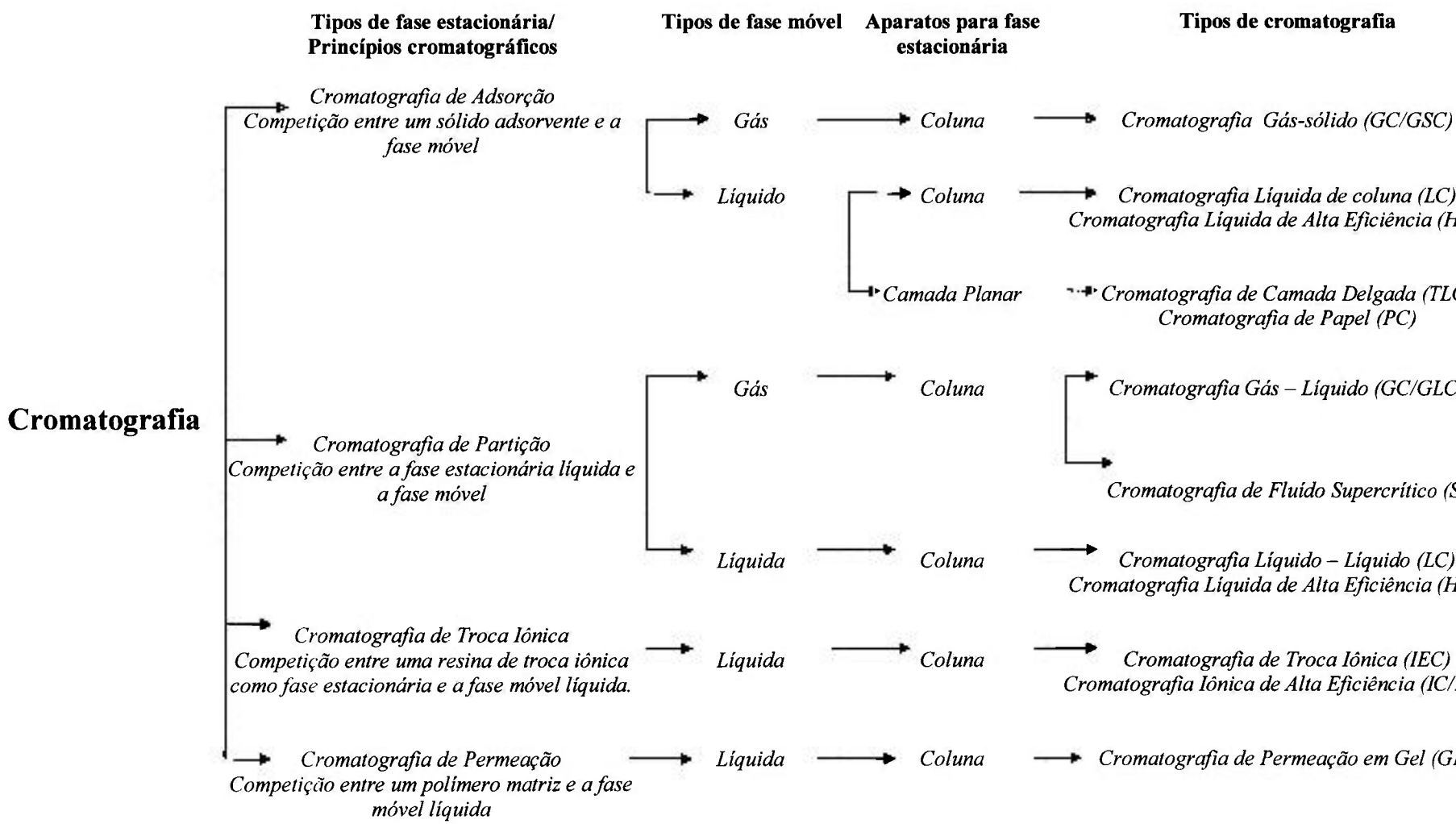

FIGURA3.1: Métodos Cromatográficos

Fonte: BRAITHWAITE et al., 1996:10.

3.2.1 PARÂMETROS PARA A AVALIAÇÃO DA SEPARAÇÃO

O objetivo da cromatografia é separar os componentes da amostra, de acordo com sua migração ao longo da fase estacionária, obtendo-se, na detecção, picos separados. A Figura 3.2. representa os parâmetros que caracterizam uma separação cromatográfica.

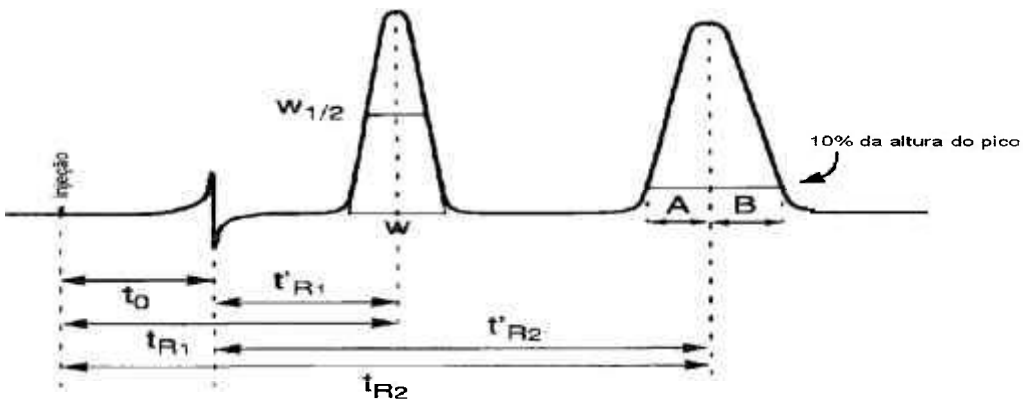

FIGURA 3.2.: Representação esquemática de um cromatograma.
Fonte: LOUGH et al., 1995.

Onde:

- **w**: largura do pico na base do cromatograma;
- **$w_{1/2}$**: largura do pico a meia altura;
- **t_0**: tempo morto. É o tempo necessário para um composto inerte migrar do início (injeção) ao fim da coluna (detetor), sem sofrer qualquer interação com a fase estacionária;
- **A** e **B**: simetria do pico (medida à 10% da altura do pico). O valor da relação A/B deve aproximar-se de 1;

- t_R: tempo de retenção: É o tempo gasto desde o ato de injeção até a saída do componente do sistema;

- t'_R: tempo de retenção ajustado. Definido como o tempo médio que um composto permanece retido na fase estacionária. Calcula-se pela diferença entre o tempo de retenção e o tempo morto.

$$t'_R = t_R - t_0 \quad (3.1)$$

A seguir serão sumarizados alguns dos termos básicos freqüentemente utilizados em cromatografia:

- k'; razão de distribuição das massas (ou, como era definido fator de capacidade ou retenção). É a razão molar do composto nas fases estacionária e móvel. O fator de capacidade mede quanto tempo um componente permanece retido na fase estacionária comparado com o tempo que passa migrando na fase móvel durante a corrida. O k' indica o grau de afinidade que a coluna e a fase móvel possuem para aquele componente. Quanto maior k' mais demorada é a análise. O valor de k' depende exclusivamente da fase estacionária utilizada e dos solventes empregados. Pode ser expresso de várias formas, destacando-se:

$$k' = (t_{R1} - t_0) / t_0 \quad (3.2)$$

- α: seletividade ou coeficiente/fator de separação. É a medida do potencial do sistema cromatográfico para separar dois componentes. Se α igual a uma unidade, os picos são incidentes, não ocorrendo separação. Sendo o valor de α igual a 1,3 tem-se que a coluna retêm 30 % mais um componente do que o outro. Quanto maior o valor de α, mais facilmente os componentes são separados, no entanto os valores entre 1,1 e 1,4 são recomendados.

$$\alpha = k_2/k_1 = (V_2 - V_0)/(V_1 - V_0) \quad (3.3)$$

- R_s: resolução. É calculada a partir da distância entre dois picos adjacentes dividida pela média das larguras de sua respectivas bases, w dos mesmos.

Quando o valor de R_s for igual ou maior que "1", os picos estão completamente separados. A resolução depende de três fatores importantes: coeficiente de separação, fator de capacidade e eficiência da coluna.

$$R_s = (t_{R2} - t_{R1}) / 0,5 (w_1 + w_2) \quad (3.4.)$$

- **N:** eficiência ou número de pratos teóricos. Caracteriza a eficiência da coluna, a qualidade do material que a preenche e o fenômeno de transferência de massas. Mede o alargamento do pico de um componente causado pelo sistema. Ao fatores que influenciam no número de pratos teóricos são: comprimento da coluna, diâmetro da partícula da fase estacionária, fluxo da fase móvel e temperatura da coluna. Um prato teórico pode ser considerado equivalente a uma etapa de equilíbrio entre as duas fases. Quanto maior o número de pratos, mais equilíbrios existirão, maior será a eficiência e, portanto, melhor a separação.

$$N = 16 (t_{R1} / W)^2 \quad \text{Ou} \quad N = 5,54 (t_{R1} / W_{½})^2 \quad (3.5)$$

- **H:** Altura equivalente a um prato teórico. Compara a eficiência de duas colunas de diferentes comprimentos.

$$H = L/N \quad (3.6)$$

Onde, L é o comprimento da coluna em cm.

3.3 CROMATOGRAFIA DE ÍONS

Cromatografia líquida, como descrito, é um nome genérico usado para descrever alguns processos cromatográficos cuja fase móvel é um líquido. A cromatografia líquida de alta eficiência é um tipo de cromatografia líquida que emprega pequenas colunas, recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões.

Cromatografia de íons (Ion Chromatograpy – IC) é um termo geral utilizado para as várias técnicas de cromatografia líquida de coluna, utilizada para a análise de compostos iônicos ou ionizáveis. Fundamenta-se no fenômeno da troca iônica. Dos diversos módulos de detecção existentes destaca-se o detetor condutimétrico(PIRES, 1992). Este tipo de detecção geralmente envolve dois tipos de sistema:

(a) Cromatografia de íons com coluna simples.

Nesse sistema, a coluna analítica é ligada diretamente à célula condutimétrica e exige-se, como pré requisito, que o trocador tenha baixa capacidade de troca (0,007 – 0,09 meq/g) para que o eluente também tenha baixa força iônica e baixa condutividade, permitindo que os analítos sejam detectados somente com supressão eletrônica do sinal de condutividade da linha de base.

(b) Cromatografia de íons com supressão química.

Para baixas concentrações iônicas a condutividade é uma função da concentração. Porém, seu emprego sempre foi limitado na análise por troca iônica devido a alta condutividade do eletrólito eluente, necessitando de uma supressão química.

Baseado em uma patente da "Dow Chemical", obtida em 1975, esse sistema consiste em um dispositivo supressor de interferentes que remove o sinal elétrico do eluente, possibilitando que os sinais dos íons de interesse na amostra fossem detectados, mesmo com eluentes de alta condutividade. Isso eliminou a barreira que impedia a análise de íons por via cromatográfica, possibilitando a análise de amostras com concentrações muito baixas.

A técnica geralmente utiliza uma coluna separadora e um sistema supressor em série. A coluna separadora é uma coluna cromatográfica na qual resolve-se a mistura, separando-se os íons. O sistema supressor é acoplado à coluna de separação. A função do sistema supressor é suprimir ou neutralizar o

eluente, reduzindo quimicamente a condutividade dos íons no eluente e, ao mesmo tempo, converter as espécies de interesse numa forma mais condutiva, como ácidos ou bases, que são então monitorados pela célula condutimétrica.

A vantagem da cromatografia de íons comparada a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é a estabilidade da fase estacionária empregada. O copolímero estireno - divinilbenzeno (S/DVB) usado como material suporte em IC tem elevada estabilidade aos ácidos e às bases fortes e é menos afetado por matrizes complexas do que o material à base de sílica utilizado em HPLC.

Um esquema da técnica para análise de cátions e outro para a ânions é apresentado na Figura 3.3.

3.4 FASE ESTACIONÁRIA

A seleção da fase estacionária, bem como dos parâmetros cromatográficos, determina a qualidade da análise. A alta eficiência de separação na cromatografia de íons é devido às propriedades das resinas de separação. Entre os materiais utilizados como suportes da fase estacionária encontram-se as de sílica de fase normal ou reversa (separação por polaridade) e materiais de troca iônica (resinas de troca iônica) preparadas de poliestireno divinilbenzeno (DVB).

A moderna cromatografia de troca iônica, normalmente, utiliza três diferentes tipos de resina: resinas poliméricas macroporosas (ou macro-reticular); resinas poliméricas superficialmente porosas e peliculares (catiônicas e/ou aniônicas) e, resinas microporosas com fases ligadas.

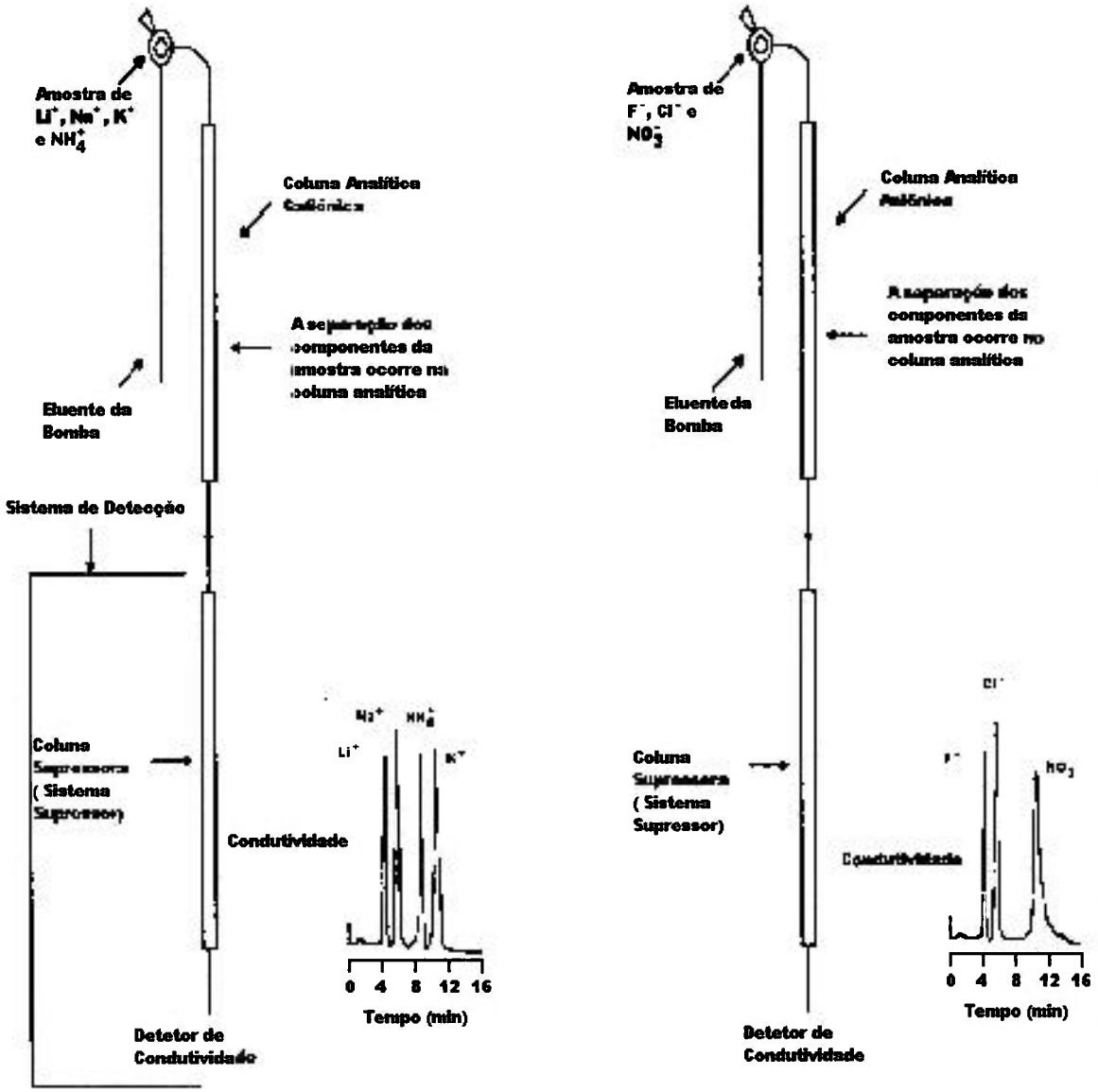

FIGURA 3.3.: Fluxograma da configuração da técnica de cromatografia de íons com supressor de condutividade.

As resinas de troca aniônica peliculares, também conhecidas como resinas de troca superficial ou de superfície modificada, são copolímeros de estireno e divinilbenzeno de superfície modificada, com tamanho de 40 a 60μm. São compostas de uma parte interna inerte, mecanicamente estável, recoberta por um

filme fino de grupo sulfônico (10 a 25μm) e partículas de látex totalmente aminadas com diâmetro de 0,1μm e grupo funcional de troca $-N^+ R_3$ (Figura.3.4). A difusão na resina é determinada pelo tamanho da partícula de látex e pelo grau da superfície sulfonada. O material apresentam boa estabilidade, podendo-se trabalhar num intervalo de pH de 0 a 14.

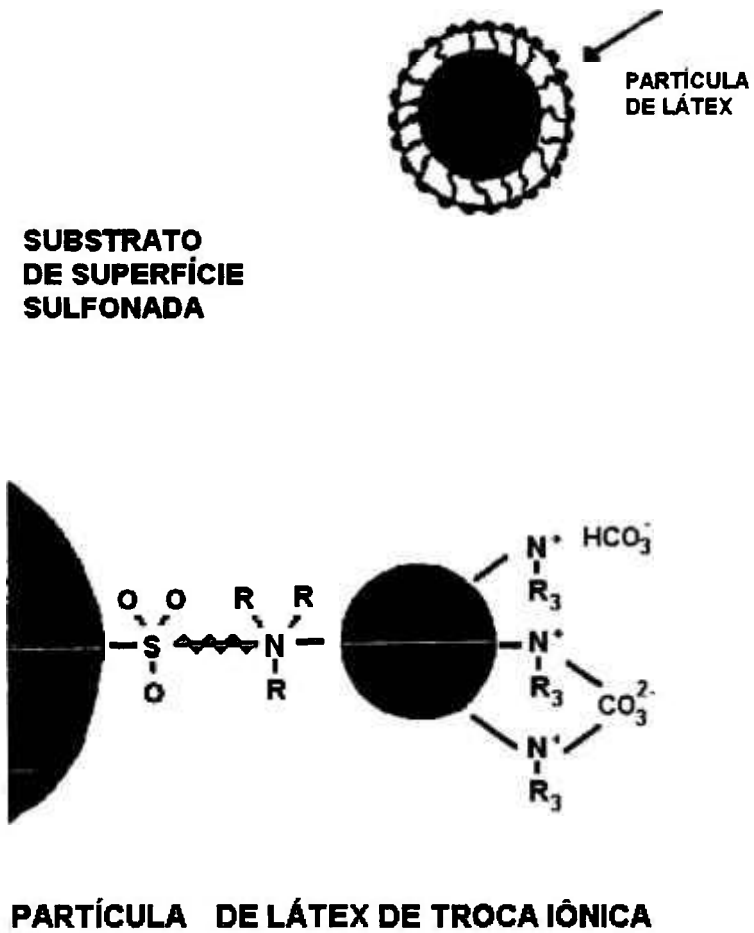

FIGURA 3.4 - Estrutura de uma resina aniônica com partícula de látex.
Fonte: PIRES, 1989

As resinas de troca catiônica peliculares possuem a mesma estrutura básica das resinas de troca aniônica peliculares, isto é, uma base inerte, mas com a superfície sulfonada para troca de cátions (Figura 3.5). Como a base da resina catiônica é fortemente hidrofóbica, a difusão de espécies altamente dissociadas e hidratadas na resina pode ser considerada desprezível. Dessa forma, os

caminhos de difusão são curtos e a eficiência é alta, quando comparada com a dos trocadores convencionais (PIRES, 1989).

Resinas macroporosas de superfície aminada ou sulfonada são trocadores aniônicos de utilizam XAD como base. São estáveis num intervalo de pH de 0 a 14 e análogas à resinas do tipo pelicular.

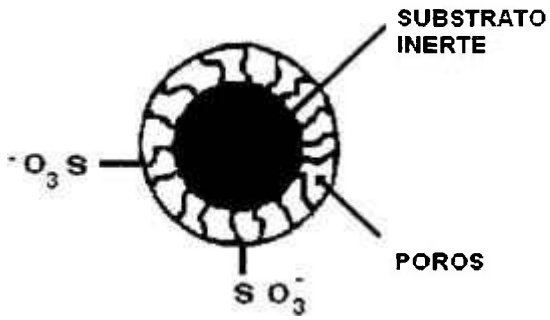

FIGURA 3.5.: Estrutura de uma resina de troca catiônica de superfície sulfonada.

Fonte: PIRES, 1989

3.5 SISTEMA SUPRESSOR

Os primeiros sistemas supressores foram colunas contendo resinas de troca iônica de alta capacidade de troca (3 – 5meq.g^{-1}) (PIRES, 1989). Esses sistemas, apesar de eficientes possuem a limitação da regeneração, limitando o número de amostras em função da capacidade de troca da resina.

Com o avanço das micro - membranas foram introduzidos supressores de membranas semi - permeáveis permitindo a utilização de sistemas de gradiente e com a vantagem de serem sistemas auto - regenerantes. Esse sistema apresenta a vantagem da auto-regeneração contínua, sem a necessidade de se interromper a analise para a regeneração, além de melhorar o limite de detecção, a capacidade dinâmica de supressão e possibilitando a utilização de alguns

solventes orgânicos. A Figura 3.6 apresenta alguns desses mecanismos de supressão.

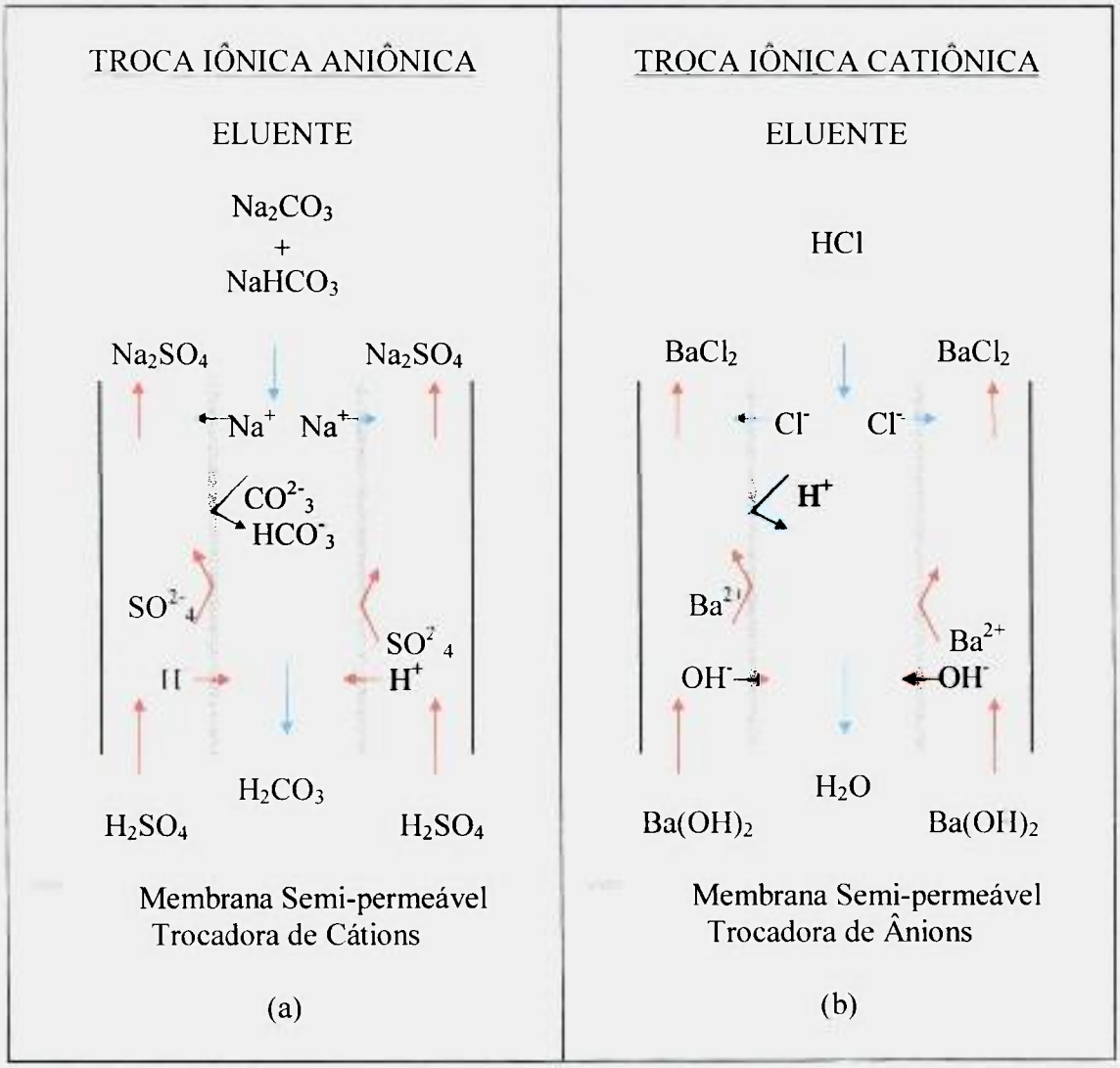

FIGURA 3.6.: Supressão auto-regenerantes com membrana semi-permeável

Fonte: DIONEX, 1992

O sistema ainda permite que seja acoplado um controlador de supressão eletrolítico, realizando a eletrólise do eluente ou da água, permitindo que este seja usado como regenerante. O supressor auto - regenerante aniônico necessita de uma alimentação constante de água na câmara regenerante. A água ao entrar no sistema sofre eletrólise formando hidrogênio (gás) e íons hidróxila na câmara

catódica. Os cátions em geral permeiam a membrana em direção do cátodo permitindo que os íons hidrônio se movam da câmara anódica até a câmara do eluente para neutralizar o íon hidroxila. Íons de sódio do eluente são atraídos pelo potencial elétrico para o cátodo, mantendo a neutralidade eletrônica no eletrodo com íons hidroxila (DIONEX, 1992). A Figura 3.7 apresenta uma representação esquemática desse sistema.

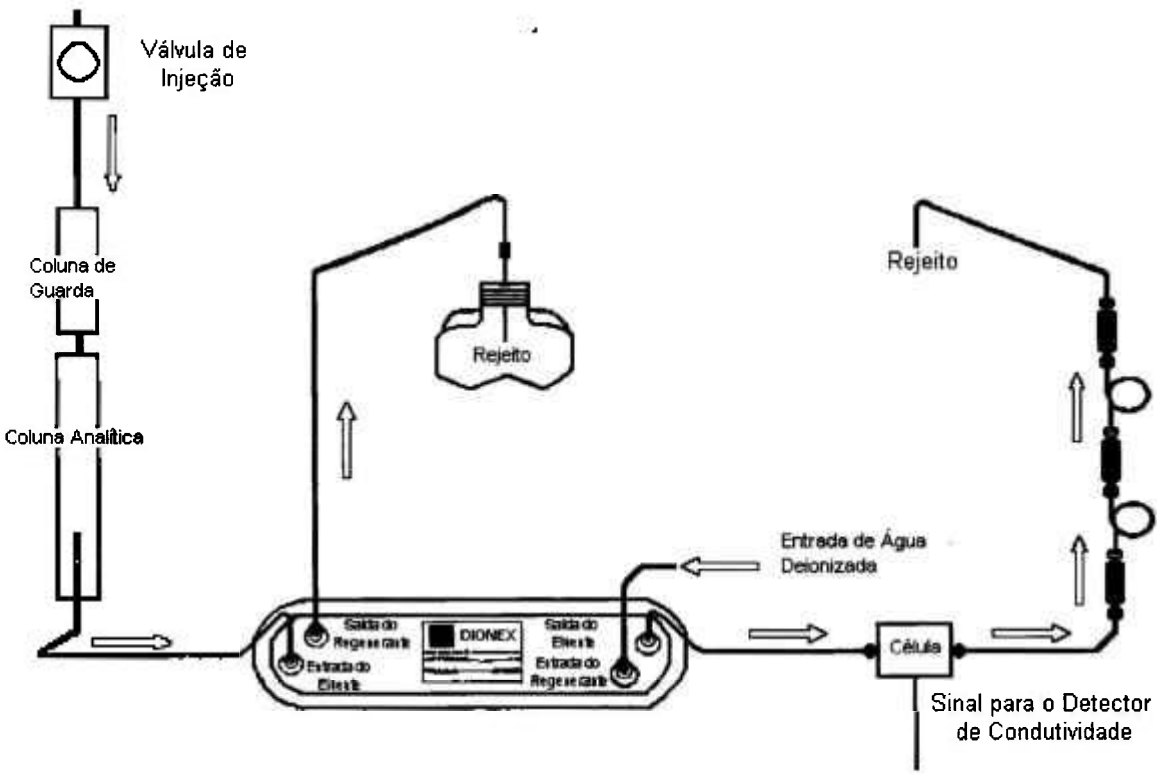

FIGURA 3.7.: Diagrama de um sistema cromatográfico utilizando o sistema de supressão auto-regenerante com controlador.

Fonte: DIONEX, 1992

3.6. COLUNA DIONEX HPIC-AS5

A coluna analítica utilizada neste trabalho foi uma coluna empacotada aniônica pelicular denominada HPIC-AS5, da DIONEX. Geralmente utilizada para a análise de ânions inorgânicos hidrofóbicos, pois os grupos funcionais das partículas de látex são menos hibrofóbicos. A seletividade das colunas é particularmente influenciadas pelas característica estruturais das resinas. A Tabela 3.1 apresenta as principais características de diferentes colunas utilizadas em cromatografia de íons.

TABELA 3.1.: Características das colunas de troca aniônica DIONEX.

COLUNA	TAMANHO DA PARTÍCULA DO MATERIAL	GRAU DE "CROSSLINKING"	TAMANHO DA PARTÍCULA DO LATEX	HIDROFOBICIDADE DO GRUPO FUNCIONAL
HPIC-AS1	25μm	5%	MÉDIA	MENOS
HPIC-AS2	25μm	5%	MÉDIA	MAIS
HPIC-AS3	25μm	2%	PEQUENA	MAIS
HPIC-AS4	15μm	3,5%	PEQUENA	MAIS
HPIC-AS5	15μm	1%	PEQUENA	MENOS
HPIC-AS6	10μm	5%	GRANDE	MAIS
HPIC-AS7	10μm	5%	GRANDE	MAIS

Fonte: WEISS, 1988

3.7. DETERMINAÇÃO DO CRÔMIO POR CROMATOGRAFIA DE ÍONS

Encontramos na literatura vários trabalhos aplicando a cromatografia de íons para a determinação de crômio em amostras de água, água residual e resíduos sólidos sendo que alguns destes métodos permitem a especiação do crômio (DIONEX, 1987, 1990; ARA et al., 1991). A Tabela 3.2 apresenta algumas das aplicações da cromatografia de íons na área ambiental.

TABELA 3.2: Aplicações da cromatografia de íons em amostras ambientais

AMOSTRA	ÍONS	COLUNA ANALÍTICA	ELUENTE	DETETOR	COMENTÁRIOS
Água residual[1]	CrVI e CrIII	Dionex-CS5	2,0mM PDCA 2,0mM $NaHPO_4$ 10mM NaI 50mM $CH_3CO_2NH_4$ 2,8mM LiOH	Vis. 520nm,	Reação pós-coluna LD - 5μg/L
Água natural[2]	MoO_4^{2-}, WO_4^{2-}	Dionex troca aniônica	6,0mM Na_2CO_3	Condutância	LD-1μg/L; DPR-15%; tempo de análise 17min
Água natural e industrial[3]	CrVI e CrIII	Dionex-CS2 e Dionex-AS7	7,5mM citrato de tri lítio	Corrente de plasma direta ou AAS	LD-1μg/L; especiação de elemento; tempo de análise < 6min
Solos e Esgotos[4]	CrO_4^{2-}, NO_3^-, SO_4^{2-}	Wescan base de resina (269-029)	5,0mM ác. p-Hidroxibenzóico (pH 8,5)	Condutância	Impurezas orgânicas removidas por extração da fase sólida; LD-92μg/L; DPR-1,98% (500μL); tempo de análise 16min
Solos[5]	MoO_4^{2-} Cl^- NO_3^-, PO_4^{2-} e SO_4^{2-}	Waters TKS gel IC-Pak Anion-I (26770)	5,0mM ác. p-Hidroxibenzóico (pH 8,5)	Condutância	LD-45μg/L; tempo de análise 15min; DPR-2,7% (500μ)
Solos e Plantas[6]	MoO_4^{2-} WO_4^{2-}	Cosmosil C_{18}	1,5mM Tiron, 30mM brometo de tetrabutilamônio	UV 295nm	Tempo de análise 11min; DPR2,4-4,5%
Aerosol[3]	Cr VI	Dionex AS5	0,5mM NaOH 7,0mM Na_2CO_3	Condutância	LD-1μg/mL; DPR-4,3%; tempo de análise 8min

OBS: LD = Limite de detecção; DPR = Desvio padrão relativo.

Fonte: FRANKENBERGER Jr. et al., 1990[3]; DIONEX, 1987[1]; MEHRA. et al., 1989(a)[5], 1989(b)[4]; FICKLIN, 1982[2];YAMADA et al., 1987[6].

CAPÍTULO 4

4. PARTE EXPERIMENTAL

Visando alcançar os objetivos:

a) Especiação do crômio hexavalente (separação e determinação) utilizando a cromatografia de íons com detecção condutimétrica.

b) Avaliação do sistema supressor utilizado em IC.

c) Especiação do crômio hexavalente (separação e determinação) utilizando resina de troca iônica e detecção espectrofotométrica UV-visível.

Dividiu-se os estudos experimentais em etapas distintas:

- Estabelecimento dos parâmetros cromatográficos quanto a separação e identificação do crômio hexavalente, como: linearidade da resposta do detetor, limite de detecção e determinação, reprodutibilidade do tempo de retenção e altura do pico;

- Estudo da composição e concentração de eluentes para reduzir ou eliminar a interferência de oxiânions como molibdato (MoO_4^{2-}) e tungstato (WO_4^{2-}) e de ânions comuns como fluoreto (F^-), cloreto (Cl^-), nitrato (NO_3^-) e sulfato (SO_4^{2-});

- Avaliar sistemas supressores utilizados em cromatografia de íons, para diminuir o ruído da linha base (coluna supressora com resina de troca iônica de regeneração periódica e sistema com membranas semi - permeáveis auto-regenerante);

- Realizar estudos de pré - concentração e separação do Cr VI utilizando coluna de troca iônica contendo uma resina aniônica forte seguida da determinação espectrofotométrica;

- Aplicar a metodologia estudada para a especiação de crômio em amostras de água natural e potável, proveniente de áreas de captação superficial de águas para abastecimento público, e de efluentes de processos e águas residuárias de uma indústria galvânica.

4.1 EQUIPAMENTOS

1. Cromatógrafo de íons - modelo 10 - Dionex, equipado com sistema supressor de colunas, detetor de condutividade e registrador; 1982 – 1996;
2. Cromatógrafo de íons - modelo DX-120 - Dionex, equipado com sistema supressor auto-regenerante, detetor de condutividade e integrador, Waters 746 – data module; 1996;
3. Condutivímetro, modelo CD-20 - Digimed;
4. Espectrofotômetro de Absorção Molecular, Feixe Duplo - modelo 356 - Perkin Elmer;
5. pHmetro - Modelo 330 – Orion, digital;
6. Sistema de purificação de água Milli-Q. Millipore;
7. Espectrofotômetro de absorção atômica, Perkin Elmer 5000.

4.2 MATERIAIS E REAGENTES

Todos os seguintes usados são de grau analítico:

- Cromato de potássio (K_2CrO_4), Merck;
- Padrão de Crômio III, 1 $g.L^{-1}$, Merck;
- Bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), Carlo Erba;
- Carbonato de sódio (Na_2CO_3), Merck;
- 4 – Cianoenol 95% (p – cianofenol), Aldrich;

- Ácido sulfúrico - 96%, Merck;
- Hidróxido de sódio (NaOH), Merck;
- Fluoreto de sódio (NaF), Merck;
- Cloreto de sódio (NaCl), Merck;
- Sulfato de sódio (Na_2SO_4), Merck;
- Nitrato de sódio ($NaNO_3$), P.A., Merck.
- Molibdato de sódio ($Na_2MoO_4.2H_2O$), Merck;
- Tungstato de sódio ($Na_2WO_4.2H_2O$), Merck;
- 1,5 - Difenilcarbazida, Aldrich;
- Acetona, Merck;
- Sulfato de amônio [$(NH_4)_2SO_4$], J. T. Baker;
- Hidróxido de amônio (NH_4OH), Merck;
- U_3O_8 , IPEN/CNEN-SP.
- Água ultra – pura, Milli-Q, condutividade < 1 $uS.cm^{-1}$;
- Resina de troca iônica Dowex 1x10, forma R-Cl;
- Resina de troca iônica Dowex 50W – X12, forma R-H.

4.3 PADRÕES E SOLUÇÕES

Todas as soluções-padrão e soluções-estoque e eluentes foram preparados com água deionizada (água deionizada ultra–pura com condutividade específica <1,0$\mu S.cm^{-1}$). Para a preparação das soluções-padrão as soluções-estoque foram diluídas nas concentrações desejadas. As soluções padrão menos concentradas foram preparadas diariamente por diluições sucessivas com água ultra–pura e guardadas em frascos de polietileno.

Todo o material (vidraria, material de polietileno) foi lavado com ácido nítrico, várias vezes com água destilada e por último com água deionizada ultra – pura.

4.3.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES - ESTOQUE E PADRÕES

- *Solução estoque de cromato,1g CrVI.L^{-1}:* Dissolver 0,37348g de K_2CrO_4 (previamente seco em estufa a 120^{0}C por 2 horas) com água deionizada, transferir para um balão volumétrico de 100mL e completar o volume com água.

- *Solução estoque de molibdato, 1g MoVI.L^{-1}:* Dissolver 0,2522g de $Na_2MoO_4.2H_2O$ (previamente seco em dessecador, na presença de ácido sulfúrico concentrado, por 24 horas) com água deionizada, transferir para um balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água. Para a preparação das soluções padrão a solução estoque foi diluída nas concentrações desejadas.

- *Solução estoque de tungstato, 1g W VI.L^{-1}:* Dissolver 0,1794g de $Na_2WO_4.2H_2O$ (previamente seco em dessecador, em presença de ácido sulfúrico concentrado, por 24 horas) com água deionizada, transferir para um balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água deionizada. Para a preparação das soluções padrão a solução estoque foi diluída nas concentrações desejadas.

- *Solução estoque de fluoreto, 1g F$^-$.L^{-1}:* Dissolver 0,2210g de NaF, previamente seco a 110^{0}C, em água deionizada, transferir para balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água.

- *Solução estoque de cloreto, 1g Cl$^-$.L^{-1}:* Dissolver 0,1648g de NaCl, previamente seco a 110^{0}C, em água deionizada, transferir para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água deionizada.

- *Solução estoque de sulfato, 1g SO_4^{2-}.L^{-1}:* Dissolver 0,1478g de Na_2SO_4, previamente seco a 110^{0}C, em água deionizada, transferir para balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água deionizada.

- *Solução estoque de nitrato, 1g $NO_3^-.L^{-1}$:* Dissolver 0,1371g de $NaNO_3$, previamente seco a 110^{0}C, em água deionizada, transferir para balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água deionizada.

- *Solução estoque de Cr III, 0,08g $Cr.L^{-1}$* (PERKIN ELMER, 1973): Pipetar 5mL da solução - estoque de crômio VI, adicionar 15mg de Na_2SO_3 e 0,5mL HNO_3, evaporar até secura, adicionar novamente 0,5mL de HNO_3, e evaporar. Dissolver o resíduo em 1mL de HNO_3 e completar o volume de 200mL em balão volumétrico com água deionizada.

- *Soluções padrão:* A partir das soluções - estoque preparou-se soluções - padrão contendo diferentes concentrações dos ânions e mistura destes.

- *Solução de 1,5-difenilcarbazida* (Reagente colorimétrico) (SANDELL, 1959; STANDARD METHODS, 1989): Dissolver 0,25g de difenilcarbazida em acetona. Transferir para um balão volumétrico de 50mL e completar o volume com acetona. Filtrar se necessário.

4.3.2 PREPARO DOS ELUENTES

Para os estudos de separação do crômio por cromatografia de íons utilizou-se: carbonato de sódio, bicarbonato de sódio e p-cianofenol.

Para os estudos de separação das espécies Cr III e Cr IV em sistema de colunas de troca iônica convencional utilizou-se sulfato de amônio e hidróxido de amônio.

Todos os eluentes foram preparados com água deionizada (< 1,0μS.cm^{-1}) e foram filtrados em papel de filtro $\leq$ 0,45μm. Os eluentes contendo o complexante orgânico (p-cianofenol) foram preparados a cada cinco dias para evitar o aparecimento de fungos.

1) 1,4mM $NaHCO_3$ / 1,1mM Na_2CO_3: Dissolver 0,1176g de $NaHCO_3$ e 0,1166g de Na_2CO_3 (previamente secos em estufa a 120^{0}C por 2 horas). Em seguida

transferir esta solução para um balão volumétrico de 1,0L e completar o volume com água deionizada.

2) 4,3mM $NaHCO_3$ / 3,4mM Na_2CO_3 / 100mg.L^{-1} de p-cianofenol: Dissolver 0,3612g de $NaHCO_3$ e 0,3604g de Na_2CO_3 (previamente seco em estufa a 120^{0}C por 2 horas), juntamente com 100mg de p-cianofenol com água deionizada. Em seguida transferir esta solução para um balão volumétrico de 1,0L e completar o volume com água deionizada.

3) 4,3mM $NaHCO_3$ / 3,4mM Na_2CO_3 / 80mg.L^{-1} de p-cianofenol: Dissolver 0,3612g de $NaHCO_3$ e 0,3604g de $NaCO_3$ (previamente seco em estufa a 120^{0}C por 2 horas), juntamente com 80 mg de p-cianofenol com água deionizada. Em seguida transferir esta solução para um balão volumétrico de 1,0L e completar o volume com água deionizada.

4) 3,4mM $NaHCO_3$ / 2,7mM Na_2CO_3 / 100mg.L^{-1} de p-cianofenol: Dissolver 0,2856g de $NaHCO_3$ e 0,2850g de Na_2CO_3 (previamente seco em estufa a 120^{0}C por 2 horas), juntamente com 100mg de p-cianofenol com água deionizada. Em seguida transferir esta solução para um balão volumétrico de 1,0L e completar o volume com água deionizada.

5) 2,8mM $NaHCO_3$ / 2,2mM Na_2CO_3 / 100mg.L^{-1} de p-cianofenol: Dissolver 0,2352g de $NaHCO_3$ e 0,2343g de Na_2CO_3 (previamente seco em estufa a 120^{0}C por 2 horas), juntamente com 100mg de p-cianofenol com água deionizada. Em seguida transferir esta solução para um balão volumétrico de 1,0L e completar o volume com água deionizada.

6) 2,5M $(NH_4)_2SO_4$ / 1,0M NH_4OH: Pesar 330g de sulfato de amônio, dissolver com água deionizada e adicionar 65mL de hidróxido de amônio concentrado. Após dissolução transferir a solução para um balão volumétrico de 1,0L, completar com água deionizada e estocar em frasco de vidro.

4.3.3 OBSERVAÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

A cromatografia de íons é uma técnica essencialmente aplicada para amostras aquosas dessa forma, para que se possa fazer uma análise sem prejudicar o funcionamento do sistema a amostra ou solução a ser injetada deverá estar isenta de material particulado (< 0,45μm).

4.4 ESTUDOS DE ESPECIAÇÃO DO CRÔMIO VI UTILIZANDO CROMATOGRAFIA DE ÍONS COM DETECÇÃO CONDUTIMÉTRICA

Eluentes complexantes têm sido amplamente aplicados em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) mostrando-se seletivos para ânions ou para cátions susceptíveis de serem medidos por condutividade.

Para estudar a separação do íon cromato usando-se a cromatografia de íons, utilizou-se como eluente ou fase móvel soluções alcalinas contendo carbonato e bicarbonato de sódio.

Utilizou-se uma coluna contendo resina menos hidrofóbica, de alta resistência, ION PAC AS5 e verificou-se que essa coluna tem ótima eficiência para cromato.

Os ânions hidrofóbicos, devido ao tamanho do seu raio, são fortemente adsorvidos pela fase estacionária, resultando em picos com caudas largas. Portanto, a hidrofobicidade do grupo funcional é um pré-requisito para a escolha da resina.

A coluna analítica ION PAC AS5 foi desenvolvida para analisar os ânions hidrofóbicos como os oxiânions, pois seus grupos funcionais são menos hidrofóbicos tornando possível a utilização da mistura $NaHCO_3$ e Na_2CO_3 como eluente. Para os ânions hidrofóbicos deve-se adicionar o p-cianofenol ao eluente. Este aditivo orgânico bloqueia os sítios de adsorsão na superfície da fase estacionária e reduz o problema da cauda no pico (WEISS, 1986).