

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

ALANA CARINA KLEIN

**CROMATOGRAFIA IÔNICA COMO MÉTODO ANALÍTICO  
ALTERNATIVO PARA A ANÁLISE QUANTITATIVA DE ANALITOS**

Porto Alegre, 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

ALANA CARINA KLEIN

**CROMATOGRAFIA IÔNICA COMO MÉTODO ANALÍTICO  
ALTERNATIVO PARA A ANÁLISE QUANTITATIVA DE ANALITOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do curso de Química Industrial, como requisito parcial para obtenção do grau de Químico Industrial.

Prof. Tânia Mara Pizollato

Orientadora

Porto Alegre, 2010.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a toda minha família, em especial aos meus pais, Carlos e Inês, que estiveram presentes ao longo desta trajetória, sempre me orientando, me acolhendo e me incentivando a seguir adiante em busca de meus sonhos. E também por me entenderem nos momentos de ausência, principalmente nesta última etapa, no trabalho de conclusão de curso.

Agradeço, em especial, ao Adão, pelo amor e compreensão nos momentos de ausência.

Agradeço à minha orientadora, Tânia Mara Pizzolato, por estar presente e atenta durante toda a elaboração do meu trabalho de conclusão de curso.

E, finalmente, agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Instituto de Química, pelo ensino de elevada qualidade e infra-estrutura, que me proporcionaram uma formação acadêmica de excelente qualidade.

## LISTA DE ABREVIATURAS

1. CP – Cromatografia em Papel.....Figura 1
2. CCD – Cromatografia em Camada Delgada.....Figura 1
3. CGL – Cromatografia Gasosa-Líquida.....Figura 1
4. CGS – Cromatografia Gasosa-Sólida.....Figura 1
5. CGFL – Cromatografia Gasosa com Fase Ligada.....Figura 1
6. CSS – Cromatografia Sólida Supercrítica.....Figura 1
7. CSFL – Cromatografia Sólida em Fase Ligada.....Figura 1
8. CLL – Cromatografia Líquido-Líquido.....Figura 1
9. CLS – Cromatografia Líquido-Sólido.....Figura 1
10. CLFL – Cromatografia Líquida com Fase Ligada.....Figura 1
11. CTI – Cromatografia por Troca Iônica.....Figura 1

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	07
2. Revisão Bibliográfica	
2.1 Métodos Cromatográficos	
2.1.1 Introdução Geral.....	08
2.1.2 Classificação Geral.....	08
2.1.3 Termos Técnicos.....	10
2.1.4 Cromatografia Gasosa.....	11
2.1.5 Cromatografia Líquida.....	15
2.1.6 Comparação entre Cromatografia Líquida e Gasosa.....	19
2.2 Cromatografia Iônica	
2.2.1 Introdução.....	19
2.2.2 Histórico.....	20
2.2.3 Aplicações.....	20
2.2.4 Princípios Básicos.....	21
2.2.5 Capacidade do trocador de íons.....	23
2.2.6 Seletividade.....	23
3. Sistema de Controle de Qualidade atual da Salbego Laboratório Farmacêutico	
3.1 Introdução.....	24
3.2 Espectrofotômetro.....	24
3.3 Fotômetro de chama.....	26
3.4 Easylyte.....	27
4. Metodologia	
4.1 Introdução.....	28
4.2 Fase móvel.....	28
4.3 Coluna Analítica (Fase estacionária).....	29
4.4 Detectores	
4.4.1 Métodos Eletroquímicos.....	30
4.4.2 Detector Espectrométrico.....	31
5. Cromatografia Iônica para o sistema de Controle de Qualidade – Sugestão de melhoria.....	32
5.1 Ordem de eluição dos analitos.....	32
5.2 Concentração dos analitos.....	33

5.3 Comparação entre o sistema atual e a proposta de Cromatografia Iônica na determinação de analitos.....	36
5.3.1 Tempo de análise.....	36
5.3.2 Viabilidade econômica.....	37
5.3.3 Confiabilidade do sistema.....	39
5.4 Discussão de resultados.....	40
6. Conclusão.....	41
7. Referências Bibliográficas.....	42

## RESUMO

O presente trabalho está dividido em seis capítulos. O primeiro capítulo é uma introdução geral.

O segundo capítulo, chamado de Revisão Bibliográfica, fornece um panorama geral a respeito dos métodos cromatográficos existentes, dando uma ênfase maior à cromatografia líquida e à gasosa. Em um segundo momento, faz-se uma explanação detalhada a respeito do funcionamento da técnica adotada, a Cromatografia Iônica, em substituição ao sistema atual, que utiliza os equipamentos Espectrofotômetro, Easylyte e Fotômetro de Chama na determinação de analitos. Então, citam-se exemplos de aplicações desta técnica, seu desenvolvimento enquanto técnica analítica, princípios básicos e uma explicação geral relacionado aos trocadores iônicos.

No terceiro capítulo, chamado de Sistema de Controle de Qualidade atual da Salbego Laboratório Farmacêutico, faz-se uma explanação do sistema adotado pelo setor, assim como os equipamentos utilizados para as análises de controle de qualidade.

No quarto capítulo, define-se a Cromatografia Catiônica como proposta analítica, definindo variáveis adequadas para os analitos em questão, tais como: eluente, fase estacionária, assim como os sistemas de detecção necessários para a reprodutibilidade de resultados.

No quinto capítulo, apresenta-se como exemplo, um cromatograma para determinação dos mesmos cátions que são atualmente determinados no Controle de Qualidade para a produção do medicamento Concentrado Polieletrólítico para Tratamento da Hemodiálise. Além disso, apresenta-se, as curvas analíticas referentes a cada um dos cátions em estudo, assim como uma comparação entre os dois sistemas, em relação ao tempo de análise, a viabilidade econômica e a confiabilidade da técnica.

Por fim, tem-se uma conclusão a respeito da proposta, principalmente em relação a sua viabilidade.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, há uma grande preocupação por parte das indústrias químicas em atender as exigências de um mercado cada vez mais competitivo, buscando sempre qualidade e baixo custo para aquilo que é produzido. Em vista disso, o Controle de Qualidade de uma empresa torna-se um dos setores mais importantes, tendo em vista que este é o setor responsável pela qualidade do produto, recebendo então, cada vez mais investimento por parte dos empresários.

Dentro deste contexto, a Química Analítica ganha cada vez mais espaço, sendo ela a responsável por resultados precisos e confiáveis, que garantem se o produto está ou não dentro de especificações determinadas. A Cromatografia, por sua vez, atua como o método de separação e análise mais utilizado atualmente, determinando, quantitativamente, o que está presente na amostra.

Neste trabalho, será investigada a Cromatografia por Troca Iônica como método alternativo para a determinação de cátions presentes em amostras do Controle de Qualidade da Salbego Laboratório Farmacêutico, substituindo o método utilizado atualmente, que utiliza os equipamentos Easylyte, Espectrofotômetro e o Fotômetro de Chama na determinação destes analitos. O objetivo deste trabalho é a otimização do sistema atual, tendo em vista melhores resultados, em termos de confiabilidade, reprodutibilidade e tempo de análise.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Métodos Cromatográficos**

#### **2.1.1 Introdução Geral**

A cromatografia é uma ferramenta analítica que abrange um conjunto de métodos físico-químicos de separação com características básicas comuns. As separações cromatográficas envolvem, invariavelmente, o transporte dos componentes de uma mistura através de uma coluna (ou equivalente físico). Esta coluna contém uma fase estacionária, que pode ser líquida ou sólida, capaz de interagir com os componentes da mistura. O transporte dos componentes através desta fase estacionária está a cargo da fase móvel, que pode ser gasosa ou líquida.

A fase estacionária (FE) exerce um papel de retardamento seletivo com a fase móvel (FM), na medida em que retarda a passagem dos componentes da mistura, determinando diferentes velocidades efetivas para cada um dos componentes presentes na amostra. Em consequência desta migração diferencial, os vários componentes tendem a se agregar em diferentes bandas, distribuindo-se entre a FE e a FM.

O processo de passagem de um líquido ou de um gás por uma coluna cromatográfica é conhecido como eluição, enquanto o fluido que entra na coluna é o eluente, aquele que emerge ao final dela é o eluato.

#### **2.1.2 Classificação**

São vários os critérios usados para a classificação das diferentes modalidades de cromatografia, sendo mais comuns aqueles relacionados à técnica empregada, ao mecanismo de separação envolvido e aos diferentes tipos de fases utilizadas.

A forma física do sistema de cromatografia define a técnica geral: a fase estacionária pode ser colocada em um tubo cilíndrico ou disposta sobre uma superfície planar. Baseando-se nesta, a cromatografia pode ser subdividida em cromatografia em coluna e cromatografia planar. Na primeira, de acordo com o tamanho do diâmetro interno do tubo, têm-se as colunas preparativas (6-50 mm), analíticas (2-6 mm), com microdiâmetro (1-2 mm) e capilares ( $\leq 1$  mm). As colunas preparativas e analíticas sempre apresentam a fase estacionária na forma de partículas, e a fase ativa na separação pode ser um sólido ou um líquido, que tanto pode recobrir a superfície do sólido como estar quimicamente ligado a ele. As colunas com microdiâmetro e as colunas capilares também podem ser recheadas com a fase estacionária particulada, ou

podem possuir a fase estacionária sob a forma de um filme ou de partículas somente aderidas às paredes do tubo.

Considerando o estado físico da fase móvel, distingue-se a cromatografia gasosa, na qual a fase móvel é um gás inerte, a cromatografia líquida, na qual a fase móvel é um líquido que pode interagir com os solutos, participando da separação, e a cromatografia supercrítica, na qual se usa como fase móvel um vapor pressurizado, em temperatura e pressão acima de seu ponto crítico, com as vantagens de ter viscosidade menor que um líquido, mas mantendo as propriedades de interação com os solutos.

A cromatografia líquida em coluna divide-se em dois grupos: a cromatografia líquida “clássica”, feita em colunas de vidro, sob pressão atmosférica, com o fluxo da fase móvel devido à força da gravidade (por isso esta técnica é também chamada “cromatografia líquida por força da gravidade”); e a cromatografia líquida que normalmente utiliza colunas metálicas e pressões da fase móvel elevadas, obtidas com auxílio de uma bomba de elevada pressão (por isso, é, as vezes, chamada “cromatografia líquida de alta pressão”), que pode empurrar a fase móvel com vazão mais rápida, resultando em outro nome, “cromatografia líquida de alta velocidade”. A expressão inglesa atribuída a essa modalidade, *high-performance liquid chromatography*, tem sido traduzida literalmente por “cromatografia líquida de alto desempenho”, designada desta forma devido a sua elevada eficiência atingida na separação.

O estado físico da fase estacionária pode ser líquido ou sólido. O líquido pode estar simplesmente espalhado sobre um suporte sólido ou imobilizado sobre este. A imobilização pode envolver ligações químicas entre o líquido e o suporte, ou somente entre as cadeias do próprio líquido. Devido às vantagens de volatilidade e solubilidade reduzidas atribuídas às fases estacionárias contendo o líquido ativo na separação quimicamente imobilizado sobre o suporte, é comum considerar-se esta uma categoria distinta, ou seja, a cromatografia com fase ligada. Justifica-se essa distinção pelo fato de seu mecanismo de separação diferir com frequência dos mecanismos atribuídos às fases estacionárias líquidas ou sólidas<sup>1,2,34</sup>.

A figura a seguir mostra as classificações da cromatografia, segundo as formas físicas mais encontradas.

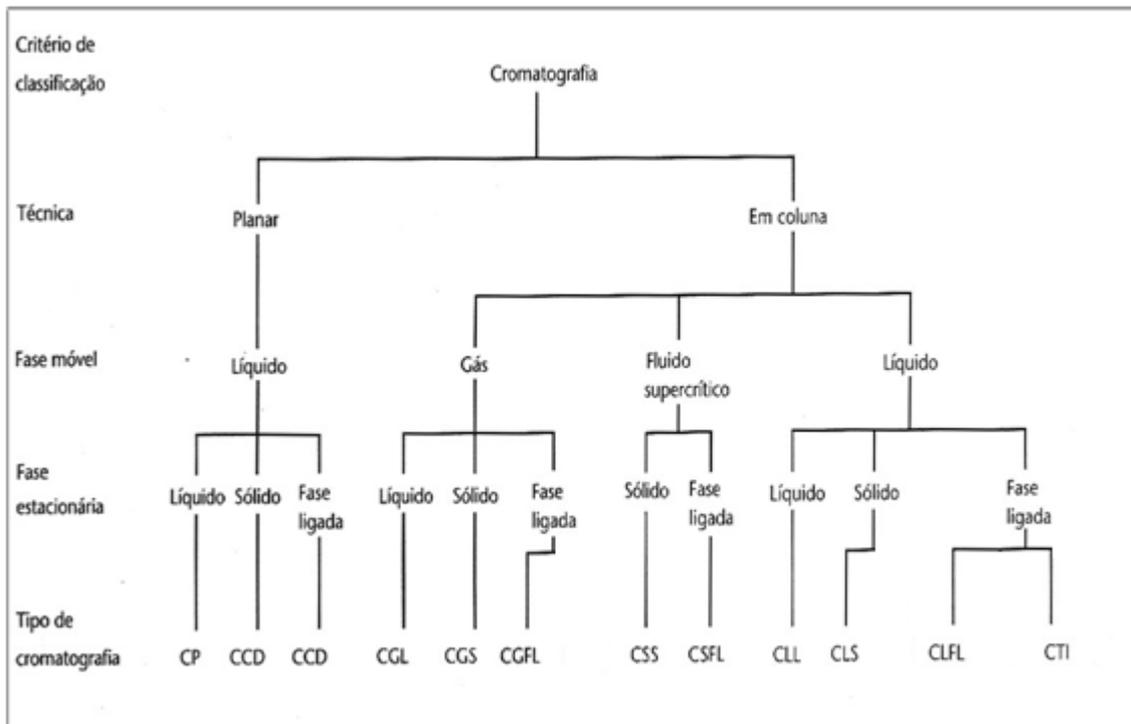


Figura 1. Classificação da cromatografia pelas formas físicas das fases móveis e estacionárias<sup>4</sup>.

### 2.1.3 Termos técnicos

A cromatografia tem aplicações qualitativas e quantitativas, obtidas por meio da análise do cromatograma depois de seu desenvolvimento, quer diretamente na superfície planar quer pelo sinal registrado após o eluato de uma coluna passar por um detector. Os métodos para obtenção de informações quantitativas são específicos para cada tipo de cromatografia.

A cromatografia em coluna procede com fluxo contínuo da fase móvel, até que todos os componentes tenham saído da coluna e sua presença seja detectada por um detector e indicada graficamente. Alternativamente, o eluato pode ser coletado em frações de volumes idênticos, suas concentrações medidas e o cromatograma construído, considerando-se o número do tubo de cada fração equivalente a uma unidade de tempo, expressa normalmente em minutos. Este tempo é chamado de tempo de retenção, o tempo gasto desde a injeção até a saída do ponto máximo do pico, impressa pelos dispositivos eletrônicos, frequentemente acoplados a sistemas automatizados<sup>4</sup>.

No cromatograma apresentado na figura abaixo, a linha de base representa a passagem da fase móvel apenas através do detector. Quando os componentes da amostra eluem, registram-se picos cujos perfis são proporcionais às concentrações respectivas. Denomina-se  $d_R$  a distância percorrida pelo analito desde o instante da injeção da amostra na coluna até o máximo do pico traçado, e  $d_M$  a distância desde a injeção até a eluição de um componente que não interage com a fase estacionária (um composto chamado de “não-retido”).

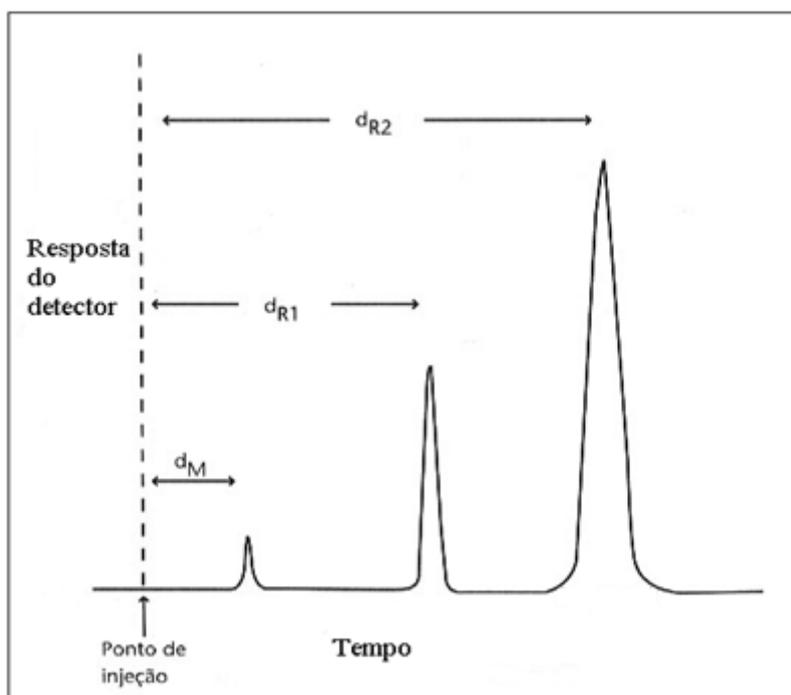


Figura 2. Cromatograma típico obtido por cromatografia em coluna.<sup>4</sup>

## 2.1.4 Cromatografia Gasosa

### 2.1.4.1 Introdução

A técnica de desenvolvimento usada em cromatografia gasosa é a eluição. Uma corrente de gás passa continuamente pela coluna e, quando a amostra vaporizada é introduzida rapidamente nessa corrente de gás, ela é arrastada através da coluna. As substâncias presentes na amostra, depois de separadas, chegam ao detector, que gera um sinal para um sistema de registro e tratamento de dados.

De acordo com o tipo de fase estacionária usada, a cromatografia gasosa pode ser classificada em cromatografia gás-sólido e cromatografia gás-líquido. Na cromatografia gás-sólido, a fase estacionária é um sólido com uma grande área superficial e a separação baseia-se em mecanismos de adsorção das substâncias nesse

sólido. É utilizada, principalmente, na análise de gases permanentes e compostos apolares de massa molar baixa. Na cromatografia gás-líquido, a fase estacionária é um líquido pouco volátil. A separação baseia-se em mecanismos de partição das substâncias entre a fase líquida e a fase gasosa. A sua utilização corresponde a cerca de 95% do total de aplicações.

#### 2.1.4.2 Funcionamento geral

O funcionamento geral de um cromatógrafo gasoso baseia-se no arraste da amostra pelo gás de arraste. Este gás, conhecido como fase móvel, carrega a amostra durante sua eluição pela coluna, chegando até o detector, onde é detectado e registrado pelo sistema em forma de um sinal. A figura a seguir representa de forma esquemática este funcionamento.

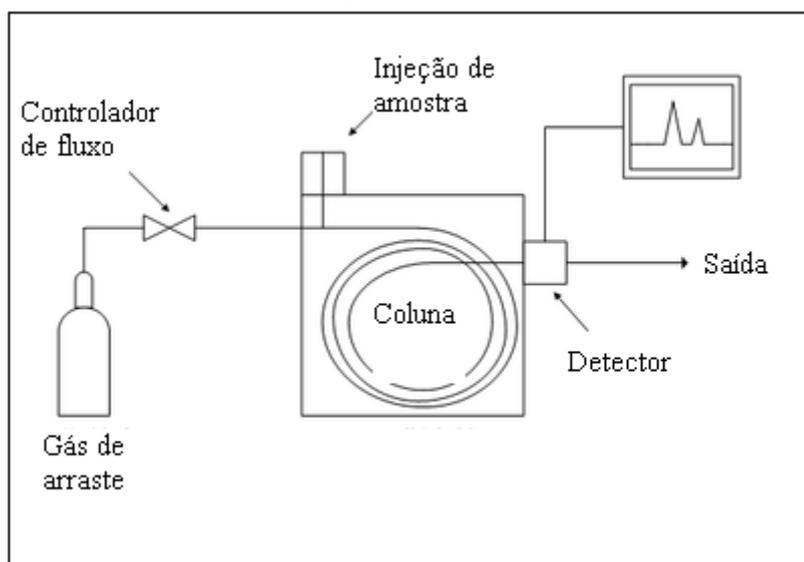


Figura 3. Esquema de funcionamento de um cromatógrafo a gás.<sup>4</sup>

#### 2.1.4.3 Coluna cromatográfica

A coluna cromatográfica é um tubo longo, contendo a fase estacionária. Esse tubo pode ser de cobre, aço inoxidável, alumínio, vidro, sílica fundida, entre outros. Idealmente, o material de construção da coluna não deve interagir com o recheio, nem com as substâncias presentes na amostra.

As colunas podem ser classificadas em colunas recheadas (analíticas) e capilares. As colunas recheadas são geralmente feitas de aço inoxidável ou de vidro, optando por colunas poliméricas (politetrafluoretileno) quando forem utilizadas para

análise de compostos corrosivos. O formato da coluna varia de acordo com o aparelho, sendo normalmente encontradas em espiral.

As colunas capilares foram introduzidas em 1958, sendo, atualmente, empregadas na grande maioria das aplicações. Dentre algumas vantagens da utilização deste tipo de coluna, pode-se citar: há um aumento significativo no número de pratos por coluna, pois a pressão é muito menor do que em colunas recheadas, então, o comprimento da coluna pode ser bem maior; existe a eliminação do alargamento de bandas, devido a irregularidade no enchimento, bem como análises mais rápidas, mesmo em baixas temperaturas.<sup>5,6</sup>

#### **2.1.4.4 Sistemas de detecção**

As substâncias presentes na amostra passam através da coluna, onde são separadas, e chegam ao sistema de detecção. É extremamente importante a escolha do detector ideal, que atenda as necessidades da amostra e certas características devem ser atendidas, como: seletividade (sendo o detector mais seletivo perante a substância analisada, melhor será sua separação e detecção), sensibilidade, ruído (são efeitos eletrônicos do sistema de detecção, que devem ser mínimos) e o sistema deve detectar a mínima presença de substância, para uma análise correta. Dentre os detectores existentes para a cromatografia gasosa, pode-se citar: por condutividade térmica, por ionização em chama e por captura de elétrons.

Os detectores por condutividade térmica são de resposta universal, isto é, não seletivos, baseando-se no princípio de que um corpo quente perde calor a uma velocidade que depende da composição dos gases que o circundam. Este corpo quente é um conjunto de filamentos metálicos (platina, tungstênio, níquel) dentro de um bloco metálico. O gás de arraste usado com este detector deve ter uma condutividade térmica elevada, isto é, massa molar pequena. Sendo a amostra geralmente constituída por moléculas de elevadas massas molares, provocando, então, uma diminuição da condutividade do gás. A perda de calor do filamento, provocada pela diminuição de condutividade, é medida para gerar um sinal.

Os detectores por ionização em chama são bastante populares devido aos seus níveis de detectabilidade e resposta quase universal. Seu funcionamento baseia-se na queima de moléculas presentes no gás de arraste por uma chama, formando íons, que são coletados por um eletrodo. A corrente gerada é amplificada e capturada e, então, convertida em voltagem.

Os detectores por captura de elétrons são detectores seletivos, respondendo a compostos orgânicos halogenados, aldeídos conjugados, nitrilas, nitratos e organometálicos. Seu funcionamento baseia-se na passagem do gás de arraste (N<sub>2</sub>) pelo detector, sendo ionizado por partículas beta emitidas por uma fonte de <sup>63</sup>Ni, produzindo elétrons, que são coletados em um ânodo. Então, moléculas eluindo da coluna, capazes de capturar elétrons, diminuem essa corrente de elétrons, gerando um sinal proporcional a sua concentração.<sup>7,8</sup>

#### 2.1.4.5 Cromatogramas

A seguir, são apresentados alguns exemplos de cromatogramas, obtidos a partir dos sistemas de detecção citados acima.

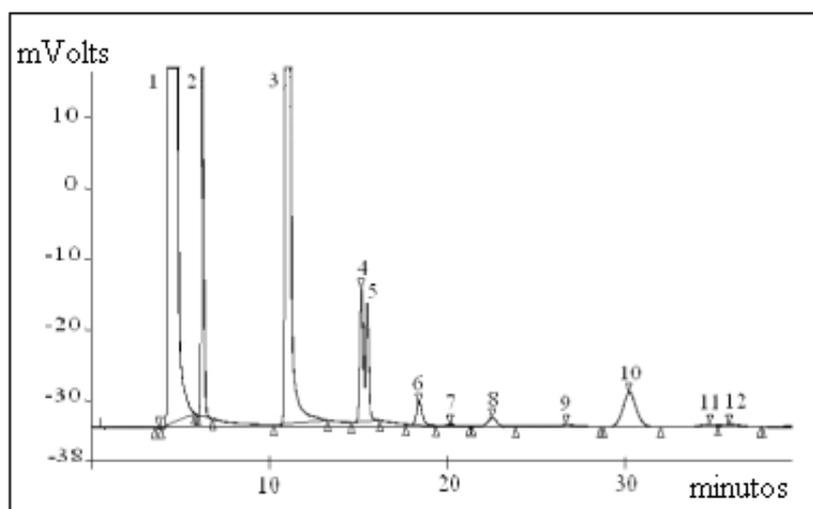


Figura 4. Cromatograma obtido para a análise do gás da FCC (gases oriundos dos processos de craqueamento catalítico em leito fluidizado), utilizando cromatógrafo SCD-DP, com coluna em tubo *sulfinert* de 2 m de comprimento e detector por ionização em chama.<sup>9</sup>

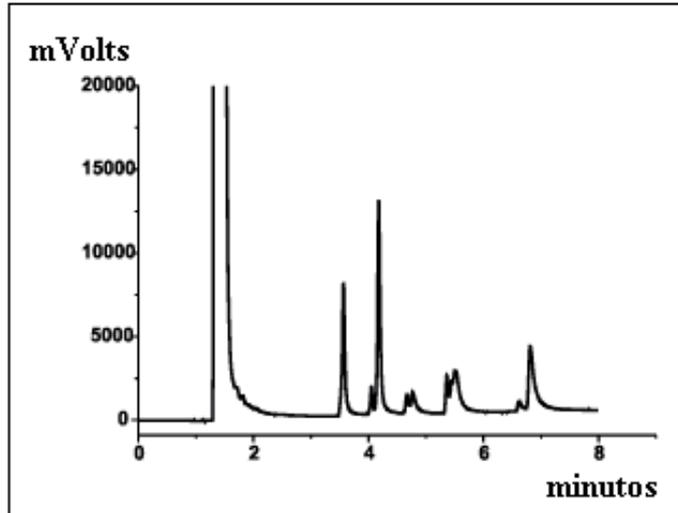


Figura 5. Cromatograma obtido para a análise e quantificação de piretróides em água, utilizado cromatógrafo Shimadzu GC 17 A, com detector por captura de elétrons e uma coluna capilar Agilent Technologies HP-5 de 30 cm de comprimento.<sup>10</sup>

## 2.1.5 Cromatografia Líquida

### 2.1.5.1 Introdução

A cromatografia líquida de alta eficiência é um importante membro de toda uma família de técnicas de separação, uma vez que consegue separar misturas que contêm um grande número de compostos similares. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande variedade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e detectabilidade.

Dentro da cromatografia líquida, existem diferentes mecanismos que governam as separações de misturas. De acordo com estes mecanismos, pode-se classificar a cromatografia líquida em: cromatografia por adsorção, cromatografia por partição, cromatografia com fase ligada, cromatografia líquida quiral, cromatografia por troca iônica, cromatografia por bioafinidade e cromatografia por exclusão.

### 2.1.5.2 Princípio geral de funcionamento

Existe uma ampla variedade de cromatógrafos líquidos que se diferenciam pelo custo, versatilidade e complexidade. Certas características devem ser avaliadas antes da aquisição de um equipamento, tais como: versatilidade (o equipamento deve ser capaz de analisar diferentes tipos de amostras e realizar um número máximo de

operações), rapidez na análise de amostras, estabilidade e detectabilidade (o equipamento deve gerar sinais apreciáveis, mesmo com pequenas quantidades de amostra).

Apesar do grande número de equipamentos existentes para cromatografia líquida, eles seguem uma linha de funcionamento, que é representada a seguir.

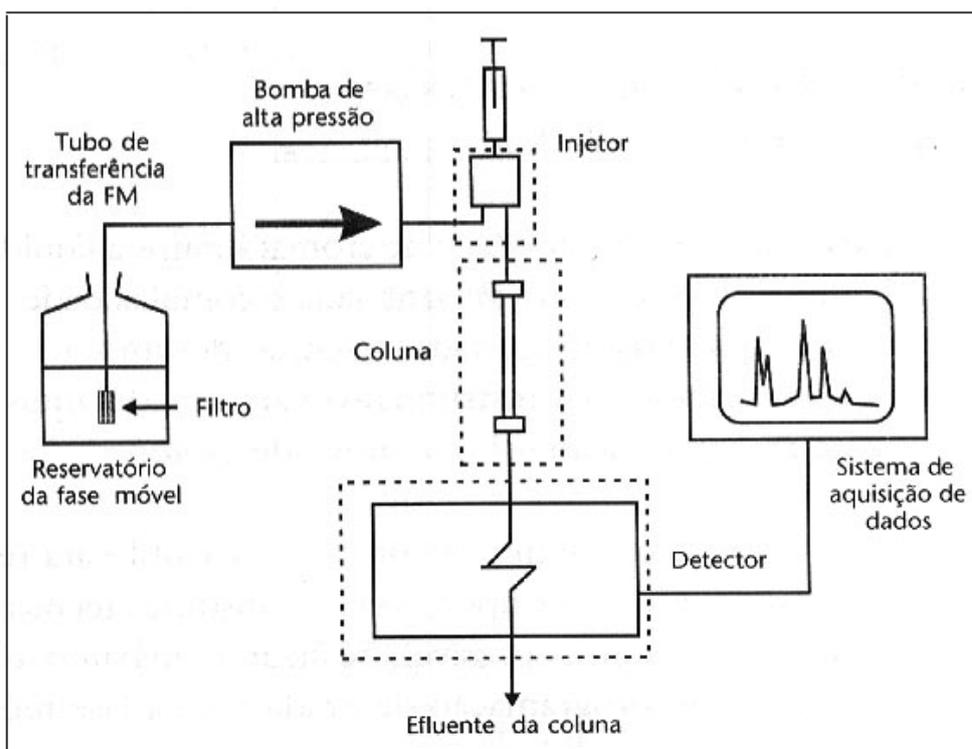


Figura 6. Esquema de um cromatógrafo líquido<sup>4</sup>.

Antes de injetar a amostra, a fase móvel é bombeada sob alta pressão e a uma vazão controlada até obter uma linha de base estável. Uma pequena quantidade de amostra é introduzida por meio de uma válvula de injeção, sendo arrastada pela fase móvel através da coluna. A FM, contendo os componentes da amostra, ao sair da coluna chega ao detector, que gera um sinal proporcional à concentração do soluto, que é enviado para um sistema de registro e tratamento de dados, produzindo um cromatograma.

### 2.1.5.3 Colunas cromatográficas

Em um cromatógrafo líquido, podem ser usados três tipos de colunas: a coluna de saturação, a coluna de separação e a coluna de guarda.

A coluna de saturação, também conhecida como pré-coluna, é colocada entre a bomba e o injetor e é utilizada para condicionar a fase móvel. Mas, com a utilização das fases quimicamente ligadas, não há necessidade de usar este tipo de coluna, cujo recheio é igual a de uma coluna de separação.

A coluna de guarda é colocada entre o injetor e a coluna de separação. Ela possui a finalidade de proteger a coluna de separação, aumentando seu tempo de uso, prevenindo que impurezas, como compostos fortemente retidos, contaminem a coluna de separação.

A coluna de separação é considerada o coração do sistema cromatográfico, que vez que é responsável pela separação dos componentes presentes na amostra. Elas são constituídas de um pedaço de tubo de material inerte, capaz de resistir às pressões que podem ser utilizadas. O aço inoxidável é o mais usado entre todos os materiais, e alguns tubos de plástico duro são encontrados para uso em determinações de traços de metais.

#### **2.1.5.4 Sistemas de detecção**

O detector mede, de forma contínua, alguma propriedade física ou físico-química da amostra, ou da solução que a contém, e envia um sinal para registro, geralmente diretamente proporcional à concentração da componente na amostra. Dentre os métodos existentes, pode-se dividi-los em detectores seletivos e não seletivos. Os detectores seletivos são os que respondem, diretamente, a uma mudança na propriedade física do analito, enquanto os detectores não seletivos reagem a uma alteração na propriedade física do íon eluente, causado pela eluição do íon analito.

Os métodos de detecção aplicados na cromatografia líquida são divididos em duas classes, os métodos eletroquímicos e os métodos espectrométricos. Detecções por condutometria e amperometria são ditos métodos eletroquímicos enquanto os métodos espectrométricos incluem detecção Fotométrica, Fluorescência e Índice de Refração. Na maioria dos casos, a escolha do método de detecção depende, principalmente, dos analitos a serem separados e do eluente escolhido.

Posteriormente, serão exemplificados alguns destes métodos, assim como suas aplicações.<sup>11,12</sup>

### 2.1.5.5 Cromatogramas

A seguir, são apresentados alguns exemplos de cromatogramas, obtidos a partir dos sistemas de detecção citados acima.

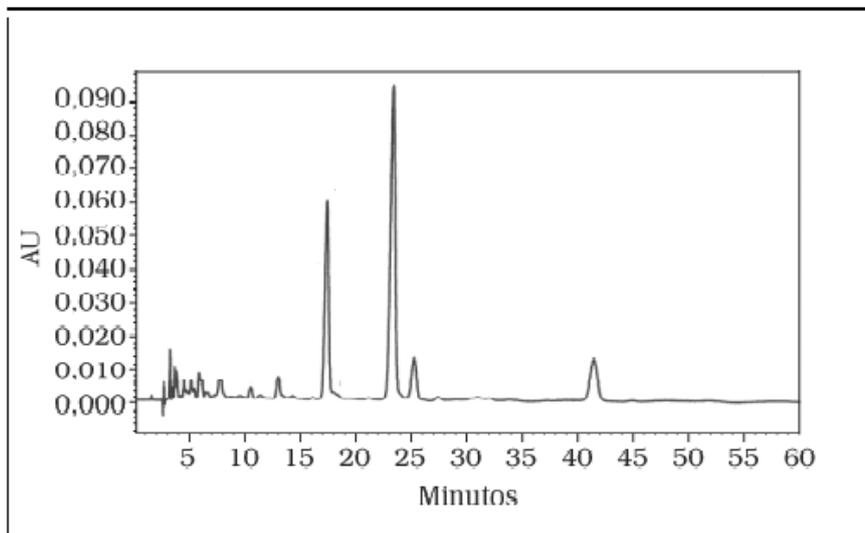


Figura 7. Cromatograma obtido por cromatografia líquida dos carotenóides presentes no mamão, utilizando uma coluna analítica monomérica C18, de comprimento de 150 mm.<sup>13</sup>

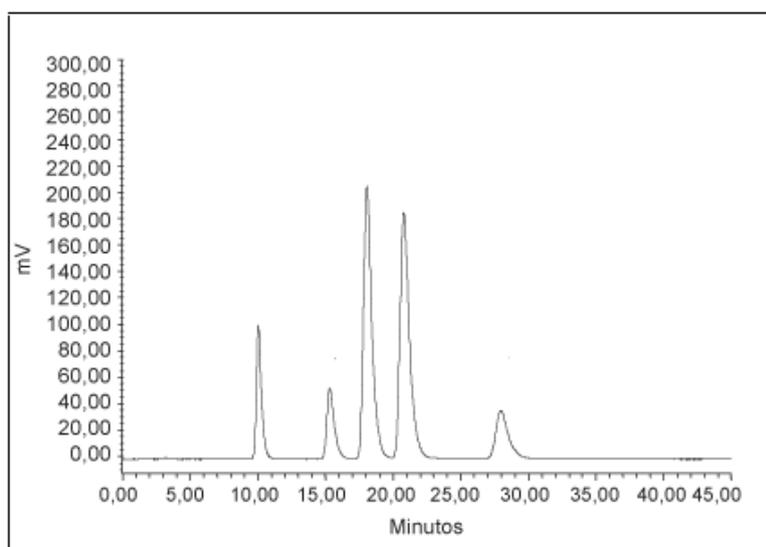


Figura 8. Cromatogramade hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes no guaraná em pó, utilizando cromatógrafo Walters com detecção por fluorescência e coluna C18.<sup>14</sup>

### **2.1.6 Comparação entre Cromatografia Gasosa e Cromatografia Líquida**

Em termos gerais, na cromatografia gasosa, é necessário que a amostra seja suficientemente volátil, a fim que possa passar através da coluna na forma de vapor, e estável termicamente, para não se decompor nas condições de separação. Pode-se aumentar a sua volatilidade, derivando os compostos ou aumentando a temperatura de trabalho, que tem seu limite em, aproximadamente 400 C. Por isso, somente os gases e cerca de 20% dos compostos orgânicos conhecidos podem ser analisados com este método.

Já na cromatografia líquida, a amostra deve ser solúvel na fase móvel, sendo considerado o método ideal para a separação de espécies iônicas ou macromoléculas de interesse biológico e produtos naturais lábeis, bem como uma imensa variedade de outros compostos de massa molar alta e estabilidade térmica baixa.

Em comparação com as duas técnicas cromatográficas, a cromatografia gasosa possui uma menor aplicação, mas possui menores tempos de análise, melhores limites de detecção e a instrumentação mais fácil de ser manuseada. Já a cromatografia líquida possui alta resolução, resultados quantitativos, boa detectabilidade, pecando apenas no fato de ser considerada uma técnica cara.

## **2.2 Cromatografia Iônica**

### **2.2.1 Introdução**

A cromatografia iônica encontra-se no grupo em que a fase estacionária é um sólido e a fase móvel é um líquido, sendo uma subdivisão do grupo conhecido como cromatografia líquida.

É uma técnica bastante difundida, tendo em vista a sua aplicabilidade em amostras que contenham íons, possuindo boa reprodutibilidade e confiabilidade. Nesta técnica cromatográfica, a fase estacionária possui trocadores iônicos (catiônicos ou aniônicos) formados a partir de polímeros de estireno divinil-benzeno ou de sílicas funcionalizadas.

### 2.2.2 Histórico

A extração de íons metálicos de soluções aquosas utilizando resinas de troca iônica é uma técnica que vem sendo utilizada com sucesso desde meados do século XIX. As primeiras observações, registradas na literatura, referentes a troca iônica, foram feitas por Way e por Thompson em 1850. Esses pesquisadores descobriram a capacidade dos solos de removerem íons  $\text{NH}_4^+$  de soluções que os atravessavam, substituindo-os por uma quantidade equivalente de íons  $\text{Ca}^{2+}$ . A partir destas observações, foram feitas várias tentativas visando produzir trocadores iônicos inorgânicos mais apropriados. As principais dificuldades encontradas estavam relacionadas basicamente com o acesso às espécies a serem trocadas no material utilizado como suporte. Isso refletia em uma baixa capacidade de troca, aliada à dificuldade na regeneração dos trocadores iônicos para sua reutilização. Apesar das dificuldades encontradas, a recompensa pelos esforços investidos foi conseguida com a aplicação do processo de troca iônica no tratamento da água.

Em 1917, a literatura registrou uma das primeiras tentativas de emprego do processo de troca iônica para resolver problemas analíticos na área da bioquímica. O trabalho desenvolvido por Folin e Bell relata a utilização do método para a determinação do teor de amônio na urina.

Por volta de 1935, começaram a ser produzidas resinas de troca iônica orgânicas muito mais eficientes que passaram a constituir um meio químico de valor extraordinário em processos analíticos.

O termo Cromatografia Iônica foi introduzido em 1975, pelos pesquisadores Small, Stevens e Baumann, abrangendo termos como troca iônica, exclusão iônica e cromatografia líquida de elevada performance (HPLC). Atualmente, a Cromatografia Iônica é o método dominante na determinação de ânions, ao invés de métodos de espectroscopia atômica, comumente utilizado para a determinação de cátions.<sup>15</sup>

### 2.2.3 Aplicações

A Cromatografia iônica apresenta muitas aplicações em várias áreas do conhecimento, em especial na Química, Biologia e Bioquímica, tanto na pesquisa quanto na indústria. Entre as aplicações gerais e mais rotineiras, pode-se citar a deionização da água e de muitos licores açucarados de frutos, bem como a despigmentação destes, sendo produzidas resinas poliméricas específicas para estes fins.

Em Química Analítica, a principal aplicação é na análise de cátions e ânions em águas ou soluções aquosas diluídas.

No campo da Biologia, a cromatografia por troca iônica encontra aplicação na separação de isoenzimas. Estas macromoléculas possuem massas moleculares próximas, sendo a separação baseada então, em processos de diferença de carga elétrica.

No campo da Bioquímica, esta técnica vem sendo intensamente utilizada em autoanalisadores de aminoácidos. O trabalho pioneiro de Spackman, Stein e Moore em 1958, no Instituto de Rockefeller em Nova York, conseguiu um esquema funcional de separação de aminoácidos, utilizando duas colunas de cromatografia, uma para aminoácidos neutros e ácidos e outra para aminoácidos básicos.<sup>16</sup>

#### **2.2.4 Princípios Básicos**

Na cromatografia iônica, o mecanismo que rege o processo de separação, é o da interação eletrostática entre os íons presentes na amostra e os contra-íons da FE que possui grupos com carga. Os grupos derivados do ácido sulfônico e do ácido carboxílico são utilizados para a troca de cátions, enquanto que os sais de amônio quaternário e aminas são utilizados como trocadores de ânions.

O processo de troca iônica ocorre na condição de equilíbrio, e a eficiência da separação destes íons depende fortemente da interação existente entre eles e os grupamentos funcionais da fase estacionária. A figura a seguir representa, de forma esquemática, o processo de troca catiônica e aniônica. Os íons da solução que está sendo analisada são representados pela letra A, enquanto os íons eluentes que competem com eles são representados pela letra E<sup>12</sup>.

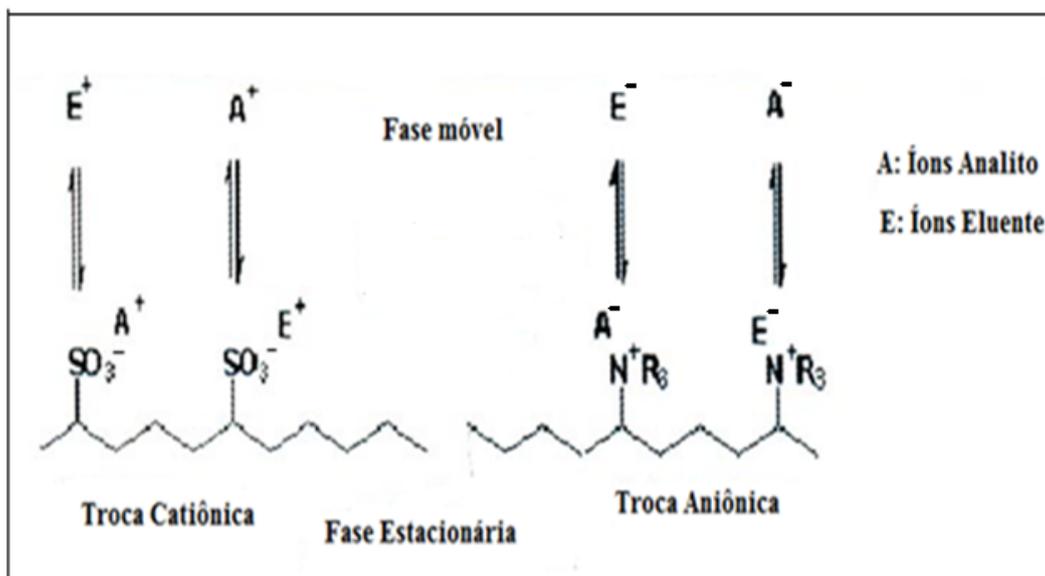


Figura 9. Esquema representando a eluição dos íons durante o processo cromatográfico<sup>12</sup>.

Em geral, o trocador de íons é um polímero complexo cuja carga elétrica é exatamente neutralizada pelas cargas dos contra-íons. Estes contra íons são cátions em um trocador de cátions e ânions em um trocador de ânions. A figura a seguir representa uma resina de troca catiônica típica, largamente utilizada. Ela é obtida pela copolimerização do estireno com uma pequena proporção de divinil-benzeno, seguida da sulfonação. Observa-se a presença de cátions  $H^+$  evidenciando o caráter ácido deste tipo de resina.

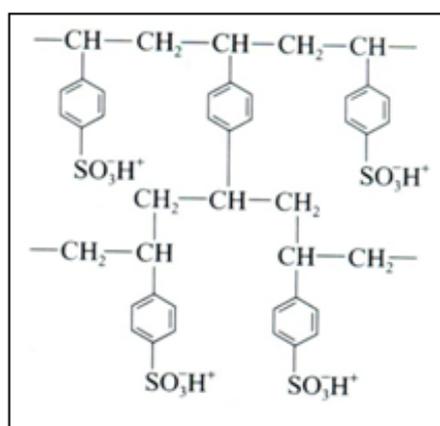


Figura 10. Representação de um trocador de cátions<sup>16</sup>.

Os trocadores de ânions são de caráter básico, devido a presença de bases fracas, como o grupamento amino. Um dos trocadores de ânions mais utilizados é preparado pela co-polimerização de estireno com um pouco de divinil-benzeno, seguida por cloro-metilação e reação com uma base como a trimetilamina. A figura abaixo representa a estrutura hipotética de uma resina de troca de ânions derivada de poliestireno.<sup>16</sup>

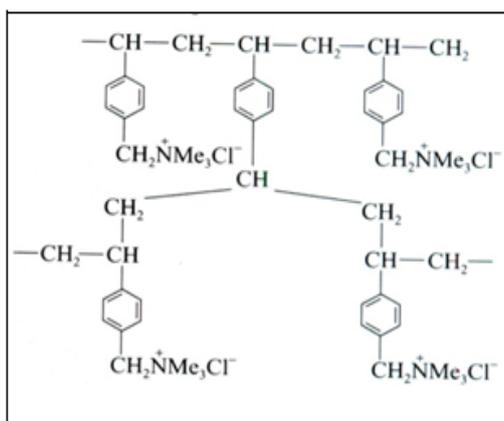


Figura 11. Representação de um trocador de ânions<sup>16</sup>.

### 2.2.5 Capacidade do trocador de íons

De uma maneira geral, a capacidade de um trocador é uma medida da quantidade de troca de íons que pode ocorrer entre a matriz e os íons presentes na fase móvel. Em resumo, a capacidade ideal é a quantidade de grupos carregados, ou potencialmente carregados, que podem ser trocados por grama de peso seco do trocador. Esta medida é expressa em meq/g ou meq/100 mL de suspensão de resina, sendo determinada por titulação.

A capacidade disponível, como o nome já indica, é a capacidade real do trocador, ou seja, é a capacidade ideal calculada considerando as condições de operação da coluna cromatográfica, entre as quais a força iônica, pH e a temperatura que o eluente está sendo introduzido.

### 2.2.6 Seletividade

O conhecimento da seletividade de determinado trocador iônico é muito importante no momento de sua escolha, pois, alguns trocadores podem ser seletivos

para determinados íons, mas, para outros, podem não ser, comprometendo a eficiência da técnica.

Embora este fator dependa muito das condições de operação da coluna, pode-se destacar: a seletividade de um trocador aumenta com o incremento do grau das ligações cruzadas da matriz; íons com carga elevada são ligados mais fortemente ao trocador que íons de carga baixa, nas mesmas concentrações; íons com a mesma carga, porém com diferentes tamanhos em solução, tem grau de afinidade diferentes. Este efeito se relaciona melhor com o poder de polarização do íon e seu grau de hidratação, sendo que a afinidade diminui com o aumento do raio do íon hidratado.<sup>17</sup>

### **3 SISTEMA DE CONTROLE DE QUALIDADE ATUAL DA SALBERGO LABORATÓRIO FARMACÊUTICO**

#### **3.1 Introdução**

O Controle de Qualidade da Salbego Laboratório Farmacêutico é o setor responsável pela qualidade dos produtos produzidos pela empresa, ou seja, tudo que é produzido deve ser analisado por este setor para que possa, posteriormente, ser vendido ao cliente. As amostras recebidas pelo Controle de Qualidade são pequenas frações dos lotes produzidos diariamente, conhecidos como Concentrado Polieletrólítico para Hemodiálise (CPHD). Este concentrado é uma solução aquosa de sais para utilização no tratamento de problemas renais. Dentre os componentes deste medicamento, pode-se citar: Cloreto de Sódio (NaCl), Cloreto de Potássio (KCl), Cloreto de Magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e Cloreto de Cálcio (CaCl<sub>2</sub>).

O sistema atual adotado pela empresa consiste na determinação quantitativa criteriosa com relação a estes íons, uma vez que concentrações diferentes do que as estabelecidas podem causar prejuízos à saúde dos pacientes. Assim sendo, o controle deste concentrado deve ser preciso, correto e de elevada confiabilidade.

Atualmente, o controle analítico é realizado utilizando-se Espectrofotômetro, Fotômetro de Chama e Easylyte. Com o Espectrofotômetro, através de leituras de Absorbância, obtêm-se a concentração do cátion Magnésio (Mg<sup>2+</sup>) presente na amostra, a partir de um comprimento de onda ( $\lambda$ ) definido. Utilizando o Fotômetro de Chama, obtêm-se a quantidade presente do cátion Sódio (Na<sup>+</sup>) e, a com o Easylyte determinam-se os valores de Sódio (Na<sup>+</sup>), Cálcio (Ca<sup>2+</sup>) e Potássio (K<sup>+</sup>) presentes na amostra. As

análises de sódio são realizadas em dois equipamentos para aumentar a confiabilidade dos resultados.

### **3.2 Espectrofotômetro**

O Espectrofotômetro é um aparelho amplamente utilizado em diversas áreas do conhecimento, como física, química, biologia, bioquímica e biologia molecular. O criador deste importante equipamento foi o químico americano Arnold O. Beckman, em 1940. A principal função do espectrofotômetro é medir e comparar a quantidade de luz (energia radiante) absorvida por uma determinada solução, sendo o resultado desta obtenção a identificação e determinação de substâncias presentes nas amostras que absorvem energia radiante, a partir da utilização de um padrão. Em resumo, o espectrofotômetro controla o comprimento de onda da luz incidente na amostra e indica a razão entre a intensidade da luz que incidiu e a luz que conseguiu, de fato, atravessar a amostra.

Em geral, um espectrofotômetro possui uma fonte estável de energia radiante (normalmente uma lâmpada incandescente), um seletor de faixa espectral (monocromatizadores como os prismas, que seleciona o comprimento de onda da luz que passa através da solução de teste), um recipiente para colocar a amostra a ser analisada (a amostra deve estar em recipientes apropriados como as cubetas e tubos de ensaio) e, um detector de radiação, que permite uma medida relativa da intensidade da luz. A base da espectrofotometria, portanto é passar um feixe de luz através da amostra é fazer a medição da intensidade da luz que atinge o detector. O espectrofotômetro compara quantitativamente a fração de luz que passa através de uma solução de referência e uma solução de teste. A figura a seguir representa, esquematicamente, o funcionamento deste aparelho.<sup>18</sup>

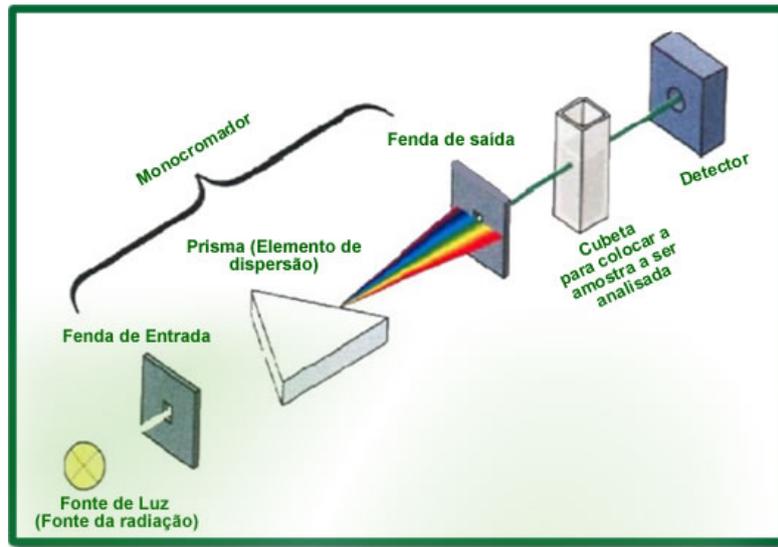


Figura 12. Esquema de funcionamento interno de um Espectrofotômetro.

O espectrofotômetro utilizado pelo Controle de Qualidade da empresa é da marca FEMTO, modelo 700 plus, representado pela figura abaixo. Utilizando este aparelho, faz-se leituras de absorvância, ou seja, leituras da quantidade de luz transmitida através da solução. A partir das absorvâncias lidas, para a solução amostra e para a solução padrão, obtêm-se a concentração de Magnésio presente na amostra.



Figura 13. Espectrofotômetro marca FEMTO, modelo 700 plus.<sup>18</sup>

### 3.3 Fotômetro de Chama

A Fotometria de Chama é a mais simples das técnicas analíticas baseadas em espectroscopia atômica. Neste aparelho, a amostra contendo íons metálicos é inserida em uma chama e analisada pela quantidade de radiação emitida pelas espécies atômicas ou iônicas excitadas. Os elementos, ao receberem energia de uma chama, geram espécies excitadas que, ao retornarem para o estado fundamental, liberam parte da energia recebida na forma de radiação, em comprimentos de onda característicos para cada elemento químico.

O fotômetro de chama utilizado é da marca CELM, modelo FC – 280, representado na figura abaixo. Este equipamento é, originalmente, utilizado para a detecção de íons Sódio ( $\text{Na}^+$ ), Potássio ( $\text{K}^+$ ) e Lítio ( $\text{Li}^+$ ).<sup>19</sup>

Antes da leitura das amostras, faz-se a calibração do aparelho, utilizando uma solução padrão.



Figura 14. Fotômetro de Chama, marca CELM, modelo FC – 280.<sup>19</sup>

### 3.4 Easylyte

O Easylyte é um analisador automatizado e controlado por microprocessadores capazes de detectar e quantificar íons como Sódio ( $\text{Na}^+$ ), Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Lítio ( $\text{Li}^+$ ), Potássio ( $\text{K}^+$ ) e Cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) presentes em amostras biológicas, como sangue, plasma,

soro e urina. Sua principal aplicação é na área médica, em laboratórios de análises clínicas.

Seu funcionamento é baseado na tecnologia de eletrodos íons seletivos, ou seja, existe um eletrodo para detecção de cada um dos íons presente na amostra. Existe, neste sistema, um eletrodo referência para os diferentes eletrodos presentes no equipamento, sendo conhecido como Eletrodo de Referência, que mantém seu potencial (voltagem) fixo e estável. Os eletrodos de íons seletivos consistem, basicamente, de uma pequena câmara, contendo um eletrodo inerte, envolto em um eletrólito, que se comunica com a solução a ser analisada por uma membrana, permitindo apenas a passagem do íon que será analisado. A concentração do íon é obtida a partir da relação logarítmica existente entre o potencial do eletrodo referência e o potencial do eletrodo seletivo.

O Easylyte utilizado é da marca Medica Corporation, modelo EasylyteNa/K/Ca/pH, conforme representação da figura abaixo. Para cada análise são consumidos 100 µL de amostra, em um intervalo de tempo de 60 segundos, possuindo limites de detecção entre 135 a 148 mEq/L para o cátion Sódio ( $\text{Na}^+$ ) e 3,50 a 5,30 mEq/L para o cátion Potássio ( $\text{K}^+$ ).<sup>20</sup>



Figura 15. Easylyte, utilizado para determinação dos teores de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>20</sup>

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Introdução

Tendo em vista o produto analisado pelo Controle de Qualidade, pode-se perceber que as análises feitas têm como objetivo a quantificação dos cátions presentes na amostra, que são os cátions Magnésio ( $Mg^{2+}$ ), Sódio ( $Na^+$ ), Cálcio ( $Ca^{2+}$ ) e Potássio ( $K^+$ ).

Para que o processo seja otimizado, tornando-o mais eficiente e reproduzível é importante que ele sofra modificações. O presente trabalho tem este como seu objetivo principal, sugerir a metodologia por cromatografia iônica, em específico a cromatografia catiônica, como alternativa às metodologias atualmente empregadas. O estudo será centrado em alguns aspectos importantes, como, por exemplo: a capacidade desta técnica em analisar todos os cátions simultaneamente, a análise de possíveis interferentes, considerando a matriz utilizada, o eluente e a fase estacionária utilizados.

#### 4.2 Fase móvel

A fase móvel em cromatografia Iônica pode ser constituída por soluções aquosas ácidas, básicas ou ainda por soluções tampão.

Na análise de cátions, soluções ácidas aquosas diluídas são as mais recomendadas, pois a troca iônica ocorrerá entre os cátions analitos e os cátions presentes na fase móvel, originados do ácido, que, por sua vez, são os contra-íons dos grupamentos funcionais da fase estacionária. Assim, pode-se considerar os ácidos minerais e os ácidos orgânicos como as possíveis escolhas na maioria dos casos. Os ácidos mais utilizados para esta finalidade são o clorídrico e o sulfúrico.

#### 4.3 Coluna Analítica (Fase Estacionária)

Encontra-se no mercado várias opções em termos de colunas analíticas para a cromatografia iônica. O quadro abaixo trás especificações de algumas destas colunas que podem ser empregadas para análise de cátions.

Tabela 1. Colunas existentes no mercado para análise de cátions.

Resina	Tipo de amostra ao qual se destina	Tamanho de partícula (mm)	Fluxo utilizado ( $mL\ cm^{-2}\ min^{-1}$ )	Pressão Máxima (MPa)
Amberlite IR-100	Grupo de Ítrio	0,074 – 0,088	1,2	

Dowex 50	Metais raros	0,044 – 0,055	1,0	
Dowex 50-X-12	Metais raros	0,035	1,0	
Zeokarb 215	Aminoácidos	0,25 – 0,36	2,4	
IonPac CS1	Metais alcalinos e alcalinos terrosos	0,002	3	5
IonPac CS2	Metais alcalinos e alcalinos terrosos	0,0015	3	10

#### 4.4 Detectores

Os principais detectores utilizados na cromatografia iônica são divididos em duas classes, os eletroquímicos (de condutividade e amperométrico) e o espectrométrico.

##### 4.4.1 Métodos Eletroquímicos

###### 4.4.1.1 Detecção por Condutividade

O detector de condutividade foi o primeiro a ser utilizado em Cromatografia Iônica, sendo ainda hoje o mais difundido.

A condutividade é a capacidade de uma espécie em conduzir corrente elétrica. Em termos matemáticos, a condutividade  $\kappa$  é determinada pela resistência  $R$  que uma solução produz entre dois eletrodos de área  $A$  e distância  $L$ .

$$\kappa = \frac{L}{A \times R}$$

Tendo conhecimento da condutividade, pode-se introduzir o conceito de condutividade equivalente, que relaciona a condutividade da solução com a concentração de um eletrólito em específico, como segue:

$$\Lambda = \frac{\kappa}{c}$$

Então, pode-se concluir que a condutividade de uma solução eletrolítica está relacionada com as condutividades equivalentes de cada um dos eletrólitos presentes em solução, como representado abaixo:

$$\kappa = c (\Lambda_{\text{anion}} + \Lambda_{\text{caton}})$$

De acordo com a lei de Kohlrausch's, a condutividade de uma solução diluída é proporcional a soma das condutividades equivalentes de todos os íons presentes relacionadas com suas respectivas concentrações, como mostrado na fórmula:

$$\kappa = \frac{\sum \Lambda c}{1000}$$

Onde:

$\kappa$  é a condutividade em S cm<sup>-1</sup>

$\Lambda$  é a condutividade equivalente expressa em S cm<sup>2</sup> (z mol)<sup>-1</sup>

$c$  é a concentração, em z mol L<sup>-1</sup> onde z é a carga do íon em questão.

O fator 1000 é originado do fato de que 1 Litro equivale a 1000 cm<sup>3</sup>.

Finalmente, a mudança de condutividade causada pelo íon analito é proporcional a concentração do eluato, como representado a seguir:

$$\Delta\kappa = \frac{(\Lambda_A - \Lambda_E) C_A}{1000}$$

onde A e E representam as condutividades equivalentes dos íons analito e eluente, respectivamente. Esta variação de condutividade indicada acima é a forma matemática de expressar a teoria existente por trás deste método. Em outras palavras, pode-se dizer que a condutividade do pico cromatográfico está relacionada diretamente com as condutividades equivalentes de ambos os íons, mostrando a não seletividade deste método.<sup>16</sup>

#### 4.4.1.2 Detector Amperométrico

Em princípio, o detector voltamétrico pode ser utilizado para todos os compostos que podem ser facilmente oxidados ou reduzidos. Entre eles, o detector amperométrico se destaca como o mais importante.

Neste detector, um potencial elétrico é aplicado entre um eletrodo de referência e um eletrodo de trabalho. Se existir, na solução analisada, um íon

eletroquimicamente ativo dentro deste intervalo de potencial elétrico, ele irá se reduzir ou se oxidar, e, então, uma corrente elétrica irá fluir entre estes eletrodos e este será o sinal medido por este detector.

O detector amperométrico é, em geral, bastante sensível, sendo sua taxa de conversão de cerca de 10%. Existem algumas exceções, como é o caso de poucos cátions,  $\text{Fe}^{3+}$  e do  $\text{Co}^{2+}$  e de alguns ânions, nitrito, nitrato, tiosulfato e halogênios, que possuem taxas mais elevadas de conversão. Devido a sua baixa conversão, suas aplicações são restritas, podendo citar a análise de açúcares por cromatografia aniônica e análises clínicas.

#### **4.4.2 Detector Espectrométrico (UV-Vis)**

O detector Espectrofotométrico (UV-VIS) utilizado em Cromatografia Iônica é recomendado para ânions como nitratos, brometos ou iodetos. Para os cátions, é utilizado para determinação de amônia e para quelatos de metais de transição.<sup>16</sup>

## **5 CROMATOGRAFIA IÔNICA PARA O SISTEMA DE CONTROLE DE QUALIDADE – SUGESTÃO DE MELHORIA**

Como já citado anteriormente, os íons a serem analisados nesta proposta são os cátions Sódio ( $\text{Na}^+$ ), Potássio ( $\text{K}^+$ ), Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ). Para a interpretação do cromatograma, é necessário o entendimento da ordem de eluição destes íons, assim como a obtenção de suas respectivas concentrações.

Para melhor visualização e entendimento do sistema proposto, é apresentado a seguir um cromatograma referente ao mesmo grupo de íons em estudo, para uma concentração de 10 ppm. Este cromatograma padrão foi obtido experimentalmente, em rotina de laboratório, pelo grupo de estudos orientado pela professora Tânia Mara Pizollato.

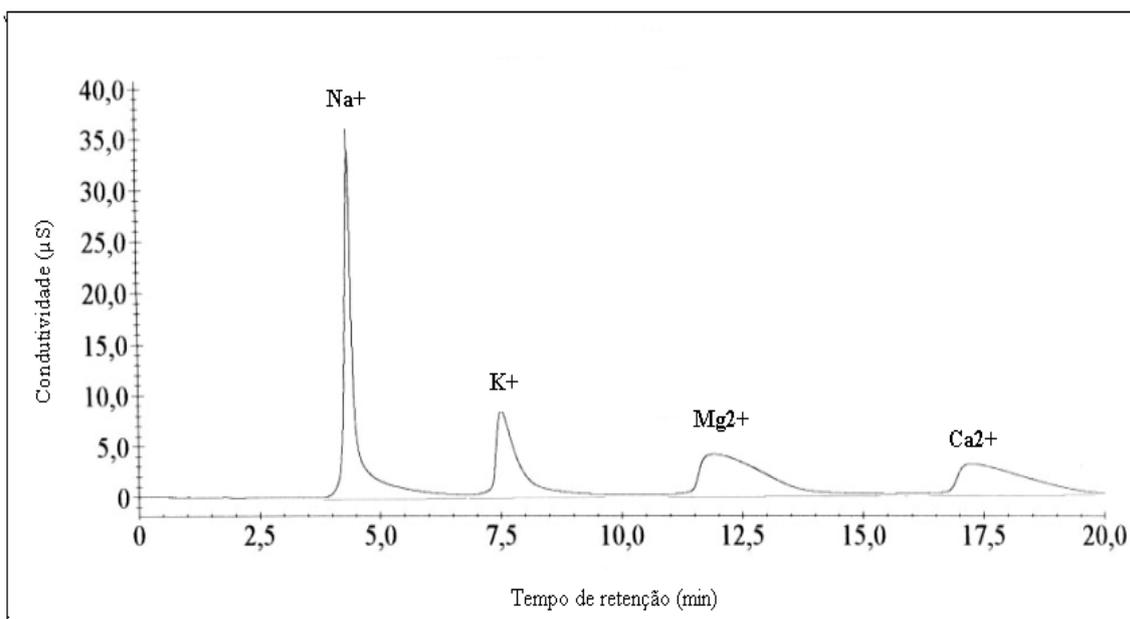


Figura 16. Cromatograma obtido para os íons Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>, na concentração de 10 ppm. Equipamento utilizado: Cromatógrafo iônico DX-120, utilizando como eluente o Ácido Metanosulfônico 15 mM e coluna IonPac CS14 4 mm.

### 5.1 Ordem de eluição dos analitos

Para elucidar o cromatograma obtido, é necessário, inicialmente, entender como ocorre a eluição dos componentes da mistura, e, principalmente, identificar os picos cromatográficos de acordo com seu respectivo íon. Para tanto, é importante observar os tempos de retenção de cada um dos íons.

Tempo de retenção é o tempo que o componente leva para ser eluído através da coluna cromatográfica. Este tempo é diferente para cada um dos íons presentes, e depende de vários fatores, como por exemplo, a resina utilizada, a vazão em que a eluição ocorre e também a composição da fase móvel, entre outros fatores.

Entre os metais alcalinos e os metais alcalinos terrosos, os cátions polivalentes são mais fortemente atraídos pela fase estacionária, possuem uma interação mais forte, tendo maiores tempos de retenção. Em outras palavras, eles são mais fortemente retidos pela coluna cromatográfica, sendo seus picos posicionados mais a direita do cromatograma. Então, os cátions Cálcio (Ca<sup>2+</sup>) e Magnésio (Mg<sup>2+</sup>) serão eluídos após os cátions Potássio (K<sup>+</sup>) e Sódio (Na<sup>+</sup>).

Analisando o grupo dos cátions alcalinos, sabe-se que a afinidade da resina com o cátion aumenta com o aumento da massa molar deste íon, ou seja, o cátion com maior

massa molar levará mais tempo para ser eluído através da coluna cromatográfica. Então, em posse da massa molar dos componentes, pode-se dizer que o cátion Sódio ( $\text{Na}^+$ ) elui antes do que o cátion Potássio ( $\text{K}^+$ ). A mesma regra vale para o grupo de cátions alcalinos terrosos, sendo o cátion Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) eluído antes do que o cátion Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

Seguindo o raciocínio proposto acima, pode-se dizer que a ordem de eluição dos cátions é: Sódio ( $\text{Na}^+$ ), Potássio ( $\text{K}^+$ ), Magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) e, por fim, o cátion Cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). É importante salientar que esta ordem é mantida constante, sendo a variação apenas na concentração destes cátions, dependendo da amostra analisada.<sup>21</sup>

## **5.2 Concentração dos analitos**

A concentração analítica para cada analito na amostra é a variável mais importante a ser determinada nesta proposta, sendo relacionada diretamente com a área do pico correspondente. De uma forma resumida, quanto maior a área do pico cromatográfico obtido, maior será sua concentração na amostra desconhecida.

Para esta determinação, é necessário, inicialmente, a obtenção de um cromatograma para cada uma das soluções padrões, construindo, em seguida, uma curva de calibração, para cada um dos cátions, como representada abaixo. Para a obtenção de uma curva analítica confiável, é necessário cinco pontos de concentração. A partir da equação de reta da curva analítica, faz-se uma relação direta com a área do pico da amostra de concentração desconhecida, obtendo, então, a concentração de cada analito em específico.

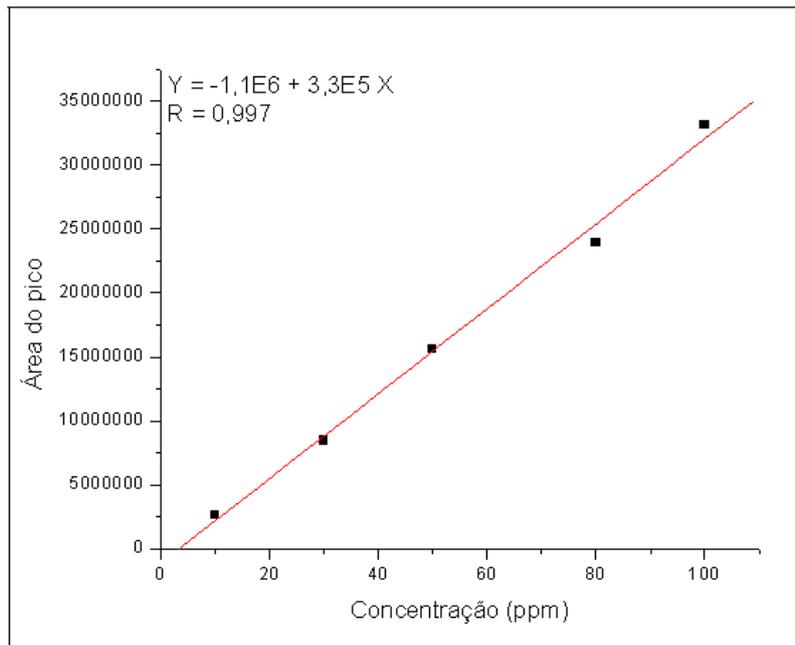


Figura 17. Curva analítica para o cátion Potássio (K<sup>+</sup>).

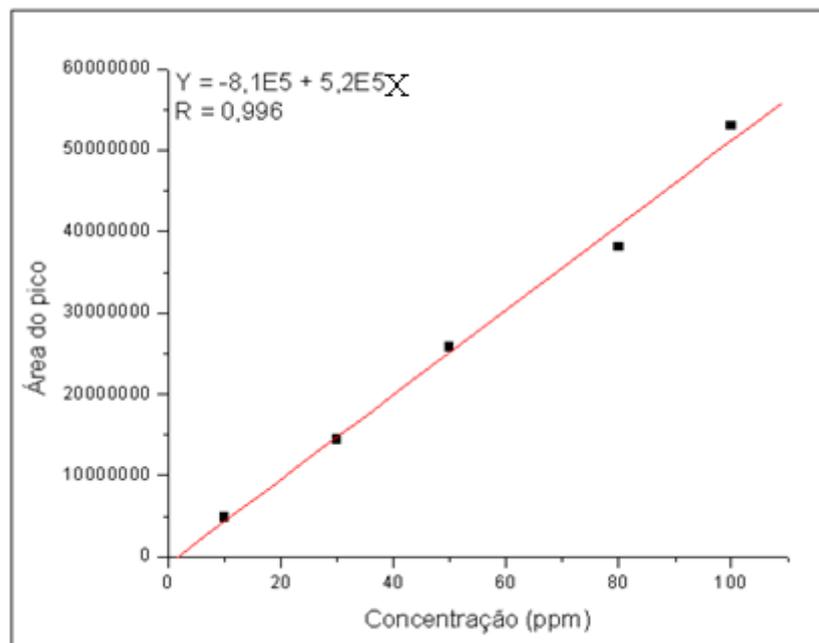


Figura 18. Curva analítica do cátion Sódio (Na<sup>+</sup>).

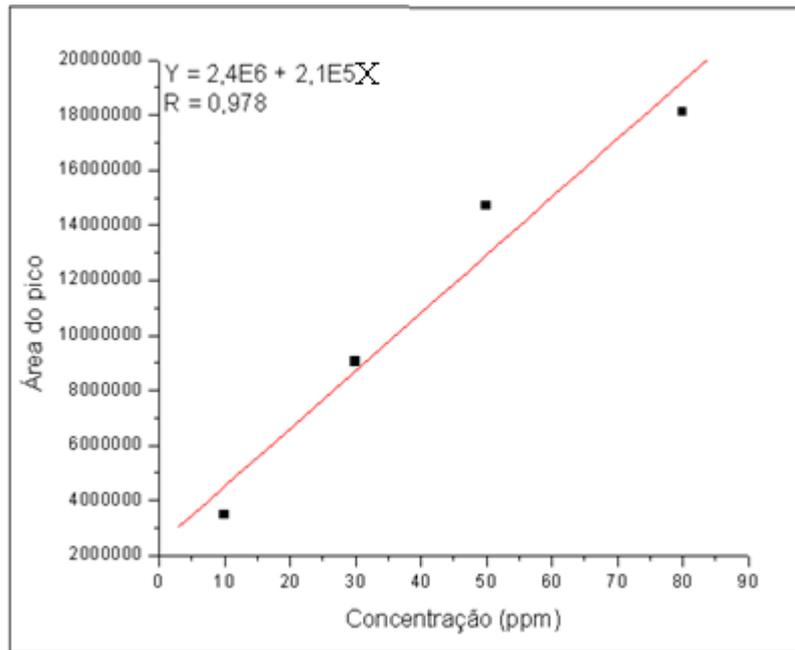


Figura 19. Curva analítica para o cátion Magnésio ( $Mg^{2+}$ ).

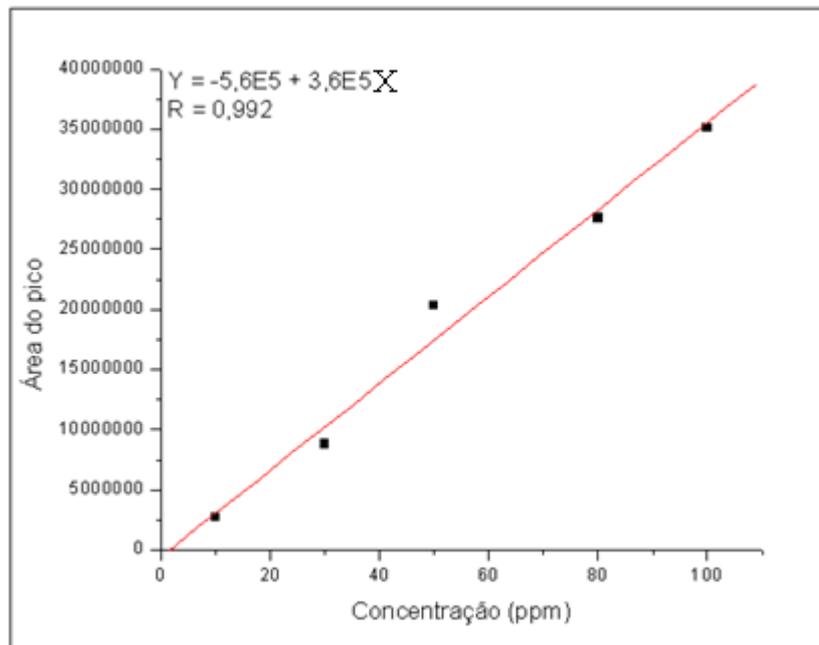


Figura 20. Curva analítica do cátion Cálcio ( $Ca^{2+}$ ).

Com relação ao coeficiente de correlação (R) sabe-se que, para  $R = 1$  tem-se uma correlação linear perfeita positiva entre as duas variáveis. Para as curvas analíticas

apresentadas, obtiveram-se valores de coeficiente de correlação muito próximos a 1, indicando, então, uma correlação linear quase perfeita entre a área do pico e a concentração de cada analito, em cada solução padrão analisada. Em outras palavras, o valor deste coeficiente mostra a confiabilidade e a validade de cada curva obtida, e, em geral, da técnica como um todo.

### **5.3 Comparação entre o sistema atual e a proposta de Cromatografia Iônica na determinação de analitos**

Apresentou-se, neste trabalho, os dois sistemas para análise dos cátions, o que é atualmente utilizado pelo Controle de Qualidade da Salbego Laboratório Farmacêutico e a proposta de Cromatografia Iônica. Em vista disso, pode-se fazer uma comparação entre estes dois sistemas, analisando itens como: tempo de análise, confiabilidade do método e custos operacionais.

#### **5.3.1 Tempo de análise**

Para o sistema atual, pode-se dizer que o tempo de análise é longo, na medida em que são utilizados três equipamentos para determinação da concentração de analitos. Assim, existe a necessidade de calibração destes equipamentos diariamente, o que leva um tempo maior do que poderia levar, enquanto outras atividades poderiam estar sendo exercidas dentro do setor. Em média, o tempo gasto para analisar todos os cátions em todas as amostras é de seis horas, sendo realizadas separadamente, para seis lotes do produto produzido diariamente. Então, leva-se, em média, uma hora para a análise de cada lote.

No caso da Cromatografia Iônica, para a obtenção de cada cromatograma é necessário um tempo médio de vinte minutos. E, para a obtenção da curva analítica, considera-se que cada solução padrão será analisada em triplicata, aumentando a confiabilidade dos resultados. Assim, para a construção da curva analítica tem-se, em média, um tempo de cinco horas. Então, considerando a curva analítica e cada um dos lotes diários, tem-se um total de sete horas de análise. Nesta proposta, considera-se que cada lote (amostra) será analisado uma única vez, e não em triplicata, seguindo as exigências da empresa. A curva analítica não é feita diariamente, mas, sim, a cada vez que é trocado o eluente. Considerando, nesta proposta, a utilização de uma garrafa de 1,5 L de eluente, constroem-se, então, a curva analítica a cada dois dias. Assim, tem-se,

no primeiro dia sete horas de análise diária, mas, no segundo dia, apenas duas horas de análise.

### 5.3.2 Viabilidade econômica

#### 5.3.2.1 Sistema atual

Para o sistema atual, os custos operacionais são: manutenção periódica dos equipamentos, reagentes e padrões.

Para o Espectrofotômetro, os custos são da aquisição de Magnésio Monoreagente (Magon), conhecido como reagente de cor e também de um padrão de Magnésio, sendo que a combinação de ambos cora a solução amostra, indicando a presença do cátion. Para cada análise na determinação de Magnésio, é utilizado 1 mL de Magnésio Monoreagente e 0,5 mL de padrão magnésio. Sendo seis lotes diários e mais a calibração, tem-se um consumo diário de 7mL de Magnésio Monoreagente e 4mL de padrão magnésio. Considerando um consumo mensal, 22 dias úteis, tem-se, aproximadamente 150mL de Magnésio Monoreagente e 88mL de padrão magnésio.

Para o Easylyte, os custos são da aquisição do Pacote de solução modular, considerado um acessório, que consiste em 800 mL de solução limpeza. Esta limpeza é realizada automaticamente pelo equipamento após a sua utilização, para limpeza e manutenção dos eletrodos, sendo substituído com uma frequência de, aproximadamente, duas vezes ao mês.

Os custos operacionais mensais relacionados ao sistema atual estão relacionados na tabela abaixo

Tabela 2. Custos operacionais do sistema atual.

<b>Equipamento</b>	<b>Acessório</b>	<b>Custo mensal aproximado</b>
Espectrofotômetro	Magnésio Monoreagente 150 mL	R\$ 62,00
	Padrão de Magnésio	R\$ 37,00
Easylyte	Pacote de solução modular	R\$ 997,00
	Eventuais manutenções	R\$109,60
	Total de custos mensais	R\$ 1.250,60

Em eventuais manutenções, considera-se um valor fixo de 10% sobre o valor total, tendo em vista possíveis troca de peças ou conserto de danificações.

### 5.3.2.2 Proposta

Para implementação da Cromatografia Iônica como método de determinação de analitos, um investimento inicial é indispensável, na medida em que é necessário a aquisição do equipamento para realização das análises, o cromatógrafo iônico. Estes custos iniciais estão relacionadas na tabela abaixo.

Tabela 3. Custos iniciais para implementação da proposta de análise de cátions por Cromatografia Iônica.

<b>Custos iniciais</b>	<b>Valor</b>
Cromatógrafo iônico DX-120	R\$50.336,00
Cilindro de Nitrogênio (N <sub>2</sub> ) de 8 m <sup>3</sup>	R\$293,76
Ácido Metasulfônico (500 mL)	R\$ 213,00
Total de custos iniciais	R\$50.842,76

O valor do cromatógrafo iônico foi obtido em dólar, \$ 28.600,00 e considerando sua cotação em R\$1,76, chega-se ao valor citado acima.

O cilindro de nitrogênio (N<sub>2</sub>) é acoplado ao equipamento. Considerando as análises realizadas diariamente, pode-se considerar que este cilindro terá vida útil de, aproximadamente, dois meses.

Custos iniciais relacionadas com vidrarias e padrões não estão incluídos, pois eles já são utilizados pelo setor.

Após a obtenção dos valores relacionados a implementação do sistema, deve-se analisar os custos mensais, como as eventuais manutenções, o custo relacionado às colunas utilizadas e também o custo do eluente e do cilindro de N<sub>2</sub>.

Para que os dados analíticos sejam confiáveis, é necessário fazer uma curva de calibração cada vez que a fase móvel é trocada. O reservatório do eluente, de um dos equipamentos mais simples de Cromatografia Iônica, tem uma capacidade de 2 L, mas não se utiliza o frasco com sua capacidade máxima. Em média, utiliza-se 1,5 L de eluente a cada recarga. Como o fluxo de eluente é de 1 mL/min, o consumo de eluente,

considerando o tempo de cada análise acrescido de 40% a mais para estabilização e intervalos entre as análises, será de 100 mL/h. Então, diariamente, têm-se um uso de, aproximadamente, 700 mL de eluente, sendo necessário uma garrafa de 1,5 L a cada dois dias. Considerando a concentração do eluente, 15 mM, sua massa molar e sua densidade, pode-se obter o valor de 1,46 mL de eluente utilizados a cada dois dias. Para o cálculo dos custos mensais, considera-se a utilização do eluente para as análises e também para a manutenção preventiva do cromatógrafo, que deve ser realizada ao final de cada semana, utilizando o eluente em uma concentração maior do que o utilizado para as análises rotineiras.

Com relação a manutenção das colunas analíticas e supressoras, deve-se observar a vida útil de cada uma delas. Sabe-se que a coluna supressora tem uma vida útil, de, aproximadamente, cinco anos, e, a coluna analítica, por sua vez, possui uma vida útil de, aproximadamente, dois anos. Através da empresa Dionex Brasil, considerando o custo da coluna e também os impostos inclusos, tem-se um valor de R\$6.514,20 para a coluna supressora e R\$1.100,00 para a coluna analítica IonPac AS14, 4mm.

Tabela 4. Custos operacionais mensais

<b>Acessórios</b>	<b>Custos mensais</b>
Coluna supressora	R\$108,57
Coluna analítica	R\$45,83
Cilindro de N <sub>2</sub>	R\$146,88
Ácido Metanosulfônico	R\$11,00
Eventuais manutenções	R\$31,23
<b>Total de custos mensais</b>	<b>R\$343,56</b>

Assim como para o sistema atual, nas manutenções, considera-se a troca eventual de peças do equipamento ou outro custo não registrado, fixando em 10% sobre o valor total mensal obtido.

### **5.3.3 Confiabilidade do sistema**

### **5.3.3.1 Sistema atual**

O sistema atual utilizado pelo setor apresenta alguns problemas, relacionados principalmente a confiança nos resultados obtidos.

O Easylyte, principal equipamento utilizado, é originalmente usado para análise de amostras biológicas, como citado anteriormente, ou seja, não é o equipamento adequado para a análise do tipo de amostra em questão. Para estas análises, segundo o fabricante, os resultados obtidos representam uma média da quantidade presente de determinada substância, ou seja, o valor não é preciso e exato, sendo alvo também de interferentes.

Com relação à fotometria de chama, a qualidade dos dados obtidos é considerada satisfatória.

### **5.3.3.2 Proposta**

A Cromatografia Iônica é um método de análise quantitativa de analitos bastante conhecido e consagrado, devido, principalmente, a sua elevada confiabilidade na obtenção de resultados.

Considerando o produto a ser analisado, um medicamento, torna-se de extrema importância o cuidado e a escolha do método empregado, e, a Cromatografia Iônica, além de ser um método analítico, de determinação precisa e exata, é específico para os elementos analisados, se encaixando nas necessidades do setor e também do paciente que utilizará o produto.

## **5.4 Discussão de resultados**

A partir dos resultados apresentados, pode-se fazer uma discussão a respeito, analisando as condições de implementação da técnica, suas vantagens e desvantagens, e, principalmente qual é a real viabilidade de sua implementação como método de análise e determinação de analitos.

Com relação ao tempo de análise, de forma comparativa entre os dois sistemas, pode-se dizer não há grandes discussões a serem feitas, na medida em que os dois sistemas apresentam, aproximadamente, o mesmo tempo de análise diário. Mas, considerando o tempo de análise semanal, tem-se um tempo menor de análise para a Cromatografia Iônica, pois a curva de calibração, que concentra a maior parte do tempo,

deve ser feita a cada dois dias, havendo, então, uma otimização no tempo final de análise.

Com relação a viabilidade econômica da proposta, pode-se dizer que, em um primeiro momento, tem-se um custo razoavelmente elevado de implementação, na medida em que o equipamento necessário para as análises deve ser adquirido, assim como os instrumentos e acessórios acoplados ao sistema como um todo, o que é esperado para qualquer nova técnica implementada. Mas, deve-se ter em mente, principalmente, os resultados a longo prazo, que são extremamente positivos, tanto em relação aos custos mensais, e principalmente, à confiabilidade da técnica empregada, tendo-se resultados com maior confiabilidade analítica. Com relação aos custos fixos mensais, a nova proposta apresenta um decréscimo de, aproximadamente, 34% em relação ao método empregado atualmente, o que, a longo prazo, representa uma economia para a empresa, representado uma grande diminuição nas despesas mensais com este setor.

O principal fator a ser apontado neste trabalho é com relação a confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados obtidos a partir da Cromatografia Iônica. Este método se aplica de forma coerente e específica para os analitos em questão, apresentando resultados mais precisos e confiáveis, como ilustrado na curva analítica apresentada.

## **6 CONCLUSÃO**

O presente trabalho teve, como objetivo principal, a otimização do processo de análise quantitativa de analitos utilizada pelo Controle de Qualidade. A proposta foi baseada na utilização da técnica de Cromatografia Iônica em substituição ao sistema atual, propondo definir variáveis adequadas para a realidade deste setor.

De uma forma geral, pode-se concluir que o trabalho atingiu seu principal objetivo, na medida em que fez uma explanação da técnica, definindo as principais variáveis necessárias para a implantação do novo sistema, assim como a apresentação de exemplos correspondentes à realidade, o que reforça a viabilidade do sistema proposto.

Para este setor, o principal parâmetro a ser definido é a concentração de analitos, e, por ser o setor responsável por esta determinação, é de extrema importância a confiabilidade no método utilizado para a geração de resultados, por parte dele e de toda a empresa, gerando, nos funcionários e nos clientes, maior satisfação e motivação.

Assim, pode-se concluir que esta meta foi atingida, na medida em que comprovou-se a eficiência do Cromatografia Catiônica enquanto técnica analítica, na análise e interpretação de resultados.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Química Analítica Quantitativa Elementar, 3º edição, 2001. Editora Edgard Blucher. Andrade, J. C. de; Godinho, O. E. S.; Baccan, N.
2. Análise Química Quantitativa, 7º edição, 2008. Editora LTC. Harris, Daniel C.
3. Análise Química Quantitativa, 6º edição, Editora LTC, 2002. Bassett, J.; Mendham.
4. Fundamentos de Cromatografia. H. Collins, C.; L. Braga, G.; S. Bonato, P. Editora UNICAMP, 2006.
5. Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho – HPLC, Editora Edgard Blucher, 2000.
6. Cromatografia: Princípios básicos e Técnicas afins, Editora Interciência, Rio de Janeiro, Brasil, 2003. Radler de Aquino Neto, F.; Souza Nunes, D. da Silva.
7. Introdução a métodos cromatográficos, Editora da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil, 1997. H. Collins, C.; L. Braga, G.; S. Bonato, P.
8. Cromatografia Líquida Moderna. Editora Átomo. Lancas, Fernando M.
9. Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) em guaraná em pó (*Paullinia cupana*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol.26 no.1, Campinas SP, Jan./Mar. 2006.

10. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por CG. Química Nova, vol.30 no.3, São Paulo, maio – junho de 2007.
11. Handbook of Ion Chromatography, 3ª edição, Volume 1, Alemanha, 2004. Weiss, J.
12. Handbook of Ion Chromatography, 3ª edição, Volume 2, Alemanha, 2004. Weiss, J.
13. Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) em guaraná em pó (*Paullinia cupana*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol.26 no.1, Campinas SP, Jan./Mar. 2006.
14. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por CG. Química Nova, vol.30 no.3, São Paulo, maio – junho de 2007.
15. Ion Exchange Separations in Analytical Chemistry, Goteborg, Suécia, 1963. Samuelson, O.
16. Monograph: Practical Ion Chromatography, An Introduction. Herisau, Suíça, 2001 – 2002. Eith, C.; Kolb M., Seubert, A.
17. Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho – HPLC, Editora Edgard Blucher, 2000.
18. <http://www.femto.com.br>
19. <http://www.mh-lab.com.br>

20. <http://www.tudolab.com.br>

21. <http://www.chromatography-online.org/>