

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

PATRÍCIA BASTOS FURTADO

VALIDAÇÃO DO PARÂMETRO NITROGÊNIO AMONÍACAL PARA
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA POR CROMATOLOGRAFIA IÔNICA

Porto Alegre, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

PATRÍCIA BASTOS FURTADO

VALIDAÇÃO DO PARÂMETRO NITROGÊNIO AMONÍACAL PARA
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA POR CROMATOGRAFIA IÔNICA

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

Prof (a). Dr (a): Tânia Mara Pizzolato
Orientadora
Liliana Bitencourt Almeida (DMAE - Porto
Alegre)
Co-orientadora

Porto Alegre, 2012

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e meu irmão, agradeço por todo apoio, carinho, dedicação e paciência com as minhas constantes mudanças de humor. Vocês são minha base sólida, os grandes exemplos da minha vida.

À professora Tânia Mara Pizzolato, agradeço pela oportunidade de aprendizagem concedida e pela orientação dedicada e paciente.

À Liliana Bitencourt Almeida, por todo apoio, pelos ensinamentos e pela confiança depositada em mim. É um orgulho ter feito parte da sua equipe.

Aos meus colegas e amigos Carlos, Elisa, Fernando, Cristiano, Flávio, Izabelle e Luciana pela paciência, ensinamentos e grande apoio no desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus amigos de longa data por serem compreensivos com a minha ausência.

Aos meus grandes amigos Gabriela, Tatiane, Rafaela e Filipe, vocês foram os anjos da guarda da minha vida acadêmica, muito obrigada por tudo.

RESUMO

Devido às consequências causadas pelo processo de eutrofização, afetando a qualidade das águas, o monitoramento e controle de nitrogênio amoniacal e demais compostos responsáveis por esse processo tornou-se de extrema importância.

O método para análise de nitrogênio amoniacal por cromatografia de íons apresenta uma série de vantagens frente a métodos atualmente utilizados para determinação deste analito. A partir desta questão, neste trabalho foi realizada a validação da metodologia para análise de nitrogênio amoniacal em amostra de água por cromatografia iônica, no laboratório de cromatografia do Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre, visando à substituição dos métodos colorimétrico e titulométrico utilizados para análise desse parâmetro, com o objetivo de reduzir custos, tempo de análise, bem como os impactos ao meio ambiente.

O método apresentou resultados satisfatórios para todos os parâmetros de validação avaliados (linearidade, limite de detecção do método, limite de detecção do equipamento, limite de quantificação, exatidão, reprodutibilidade, repetitividade, seletividade e robustez) de acordo com o Guia Prático de Validação e Garantia da Qualidade de Ensaio Laboratoriais - Rede Metrológica- RS. Com relação ao custo por análise, o método por cromatografia iônica possui custo elevado (cerca de R\$ 26,00 por amostra) comparado aos demais métodos, mesmo assim usá-lo para substituir outras técnicas é viável, pois é um método prático, não utiliza reagentes tóxicos, não gera resíduos prejudiciais ao meio ambiente e a faixa de concentração do método é adequada para análise de nitrogênio amoniacal nas águas dessa região.

Palavras-chave: Nitrogênio amoniacal. Cromatografia de Íons. Qualidade de águas naturais.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Limites de detecção para nitrogênio amoniacal em diferentes métodos.	14
Tabela 2 - Reagentes utilizados para análise de nitrogênio amoniacal por CI	17
Tabela 3 - Soluções para a curva analítica.	18
Tabela 4 - Resultados obtidos na análise de seis curvas analíticas preparadas	21
Tabela 5 - Resultados obtidos para limites de quantificação e de detecção.	23
Tabela 6 - Resultados obtidos para exatidão do método.	24
Tabela 7 - Resultados obtidos para o parâmetro repetitividade do método.	25
Tabela 8 - Resultados obtidos para a seletividade do método.	27
Tabela 9 - Resultados obtidos para a robustez do método.	29
Tabela 10 - Custo de reagentes e consumíveis para análise de Nitrogênio Amoniacal por CI – Equipamento Dionex e Equipamento Metrohm.	31
Tabela 11 - Custo de reagentes para análise de Nitrogênio Amoniacal por método titulométrico e método colorimétrico.	32
Tabela 12 - Custos no tratamento de resíduos*	32

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema de operação de supressora química de troca aniônica e catiônica.	12
Figura 2 - Esquema de operação de supressora eletrolítica de troca aniônica.....	12
Figura 3 – Equipamento Dionex – DX500, utilizado para análise de cátions no laboratório da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia do DMAE.	16
Figura 4 – Equipamento Metrohm, utilizado para análise de ânions e cátions simultânea no laboratório da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia do DMAE.....	17
Figura 5 - Curva analítica obtida para determinação de Nitrogênio Amoniacal por CI.	22
Figura 6 – Gráfico do Perfil dos resíduos.....	22
Figura 7–Comparação da Linearidade × Seletividade para as matrizes água tratada e água bruta	28

LISTA DE ABREVIATURAS

DMAE - Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

pH - Potencial Hidrogeniônico

NH₃ - Amônia Livre

ASTM - do inglês, *American Society for Testing and Materials*

NBR- Norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas

ISO - do inglês, *International Organization for Standardization*

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

CI - Cromatografia Iônica

FE - Fase Estacionária

FQ - Físico-Química

UP - Ultrapura

LDE - Limite de Detecção do Equipamento

LDM - Limite de Detecção do Método

LQ - Limite de quantificação

AOAC - do inglês, *Association of Analytical Chemists*

CV - Coeficiente de Variação

EPA - do inglês, *Environmental Protection Agency*

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1	MÉTODOS CROMATOGRAFICOS DE ANÁLISE	10
2.2	CROMATOGRAFIA DE ÍONS.....	10
2.2.1	Detectores e Sistema de Supressão	11
2.2.2	Aplicações	13
2.3	MÉTODO TITULOMÉTRICO E MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONICAL EM ÁGUAS.....	13
2.4	VALIDAÇÃO.....	14
3.	OBJETIVO	15
4.	METODOLOGIA	16
4.1	INSTRUMENTAÇÃO.....	16
4.2	REAGENTES E PADRÕES	17
4.3	PREPARO DAS SOLUÇÕES.....	18
4.4	ANÁLISE	19
4.4.1	Equipamento Dionex.....	19
4.4.2	Equipamento Metrohm.....	19
4.5	ANÁLISE DE AMOSTRA REAL	19
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1	LINEARIDADE.....	20
5.2	SENSIBILIDADE DO MÉTODO – LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO, LIMITE DE DETECÇÃO DO EQUIPAMENTO (DIONEX) E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO.....	23
5.3	EXATIDÃO.....	24
5.3	PRECISÃO.....	25
5.3.1	Repetitividade.....	25
5.3.2	Reprodutibilidade.....	26
5.4	SELETIVIDADE.....	26
5.4.1	Matriz: Água tratada e água bruta.....	28
5.5	ROBUSTEZ.....	29
5.6	DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONICAL EM AMOSTRAS REAIS.....	30
6.	ANÁLISE DE CUSTOS.....	31
6.1	CUSTO DE ANÁLISE	31
6.2	CUSTOS NO TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....	32
7.	CONCLUSÃO	34

1. INTRODUÇÃO

Os compostos de nitrogênio são nutrientes essenciais para o desenvolvimento de processos biológicos. Podem ser encontrados em águas na forma de nitrito, nitrato, nitrogênio orgânico ou nitrogênio amoniacal. Atualmente, os esgotos sanitários constituem a principal fonte de nitrogênio amoniacal nas águas naturais, que pode ser liberado ao meio através da matéria orgânica e pela hidrólise da uréia.

O monitoramento quantitativo do nitrogênio amoniacal é extremamente importante, pois altas concentrações destes compostos no meio aquático implicam em sérios danos ambientais devido ao processo de eutrofização¹. Ao ser liberado nas águas, junto com os demais compostos de nitrogênio, provocam um enriquecimento do meio tornando-o mais fértil e podendo assim aumentar excessivamente o crescimento de algas e plantas aquáticas. Como consequência poderá ocorrer um aumento no consumo de oxigênio dissolvido na água tornando-o menos disponível e devido a isso causando a morte de peixes. O potencial hidrogeniônico (pH) elevado do meio desloca o equilíbrio químico transformando nitrogênio amoniacal em amônia livre (NH₃), que apresenta elevada toxicidade em meios aquáticos. O crescimento da população de algas também pode acarretar problemas no abastecimento de água, ocasionando um crescimento de vegetação, surgimento de maus odores que dificultarão o processo de tratamento da água (remoção das algas, da cor, do odor e do sabor) e tornando esse processo mais caro.

Atualmente o nitrogênio amoniacal é determinado por métodos físico-químicos de titulometria e colorimetria. Tais métodos apresentam uma série de desvantagens entre elas, a necessidade de destilação prévia (método titulométrico), baixa reprodutibilidade e o uso reagentes prejudiciais ao meio ambiente – reagente de nessler, a base de mercúrio (método colorimétrico).

A cromatografia iônica (CI) é um método analítico instrumental amplamente utilizado para a separação e quantificação de íons em amostras aquosas, que tem sido cada vez mais utilizado. Esta técnica utiliza colunas de troca iônica (tanto catiônica como aniônica) com excelente desempenho e sensibilidade. Esta técnica tem sido utilizada no laboratório de cromatografia do Departamento Municipal de Água e

¹ Processo de enriquecimento do meio aquático por nutrientes caracterizado pelo crescimento excessivo de algas e plantas aquáticas. Os principais nutrientes envolvidos são os compostos de nitrogênio e os compostos de fósforo.

Esgotos de Porto Alegre (DMAE) para análise de íons em águas superficiais e tratadas, com excelentes resultados. A CI apresenta uma série de vantagens frente aos métodos físico-químicos para análise de nitrogênio amoniacal, tais como o tempo de preparo da amostra, menor volume de amostra usada por análise, uso de reagentes que não são prejudiciais ao meio ambiente, alta sensibilidade e boa reprodutibilidade.

Dentro desse contexto, este trabalho tem como proposta tecnológica avaliar a viabilidade técnica e econômica da substituição do método de via úmida para determinação de nitrogênio amoniacal, atualmente utilizado, pelo método por cromatografia iônica. Desta forma, a metodologia proposta será validada com o objetivo de atender a resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), de 17 de março de 2005, e a Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde, de 12 de dezembro de 2011, e participar nas auditorias de órgãos credenciados permitindo que seja utilizada na rotina do laboratório da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia do DMAE, como método normatizado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MÉTODOS CROMATOGRAFICOS DE ANÁLISE

Os métodos cromatográficos de análise são métodos físico-químicos de separação dos componentes de uma mistura baseada na distribuição desses componentes em duas fases, uma que permanece estacionária e outra que se move através dela (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006, p. 17).

Quando a fase estacionária (FE) é mantida em um tubo cilíndrico temos a cromatografia em coluna e quando a FE é disposta em uma superfície plana temos a cromatografia planar.

Os métodos cromatográficos podem ser classificados de acordo com o estado físico da fase móvel, sendo um gás (cromatografia gasosa), um líquido (cromatografia líquida) ou um fluido supercrítico (cromatografia supercrítica).

Entre os métodos nos quais a fase móvel é um líquido temos a cromatografia líquido-líquido - por partição, cromatografia líquido-sólido - por adsorção, cromatografia por exclusão, cromatografia por afinidade, cromatografia quiral e cromatografia de íons - por troca iônica (SKOOG et al., 2006, p. 924).

2.2 CROMATOGRÁFIA DE ÍONS

A cromatografia iônica permite a separação e quantificação de íons empregando como fase móvel uma solução aquosa de um ácido, base, sais ou tampão, que flui através do sistema transportando os analitos de interesse, e, como fase estacionária uma coluna que contém um material sólido (polimérico ou a base de sílica modificada) com sítios ativos específicos. Na análise de cátions, (também denominada cromatografia de troca catiônica) a fase estacionária contém grupos de caráter ácido (SO_3H , CO_2H , OH , PO_4H_3). Na análise de ânions, (também denominada cromatografia de troca aniônica) a fase estacionária apresenta caráter básico ($-\text{CH}_2-\text{NR}_2$, $\text{CH}_2-\text{NR}_3^+$). (CIOLA, R. 1998), (AULER, L. M. L. A, 2006).

O mecanismo de separação envolvido é de natureza eletrostática, onde ocorre a adsorção reversível e diferencial dos íons da fase móvel pelo grupo trocador da matriz, de acordo com o grau de afinidade eletrostática entre os íons da fase móvel e os íons da matriz (COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., 2006, p. 104).

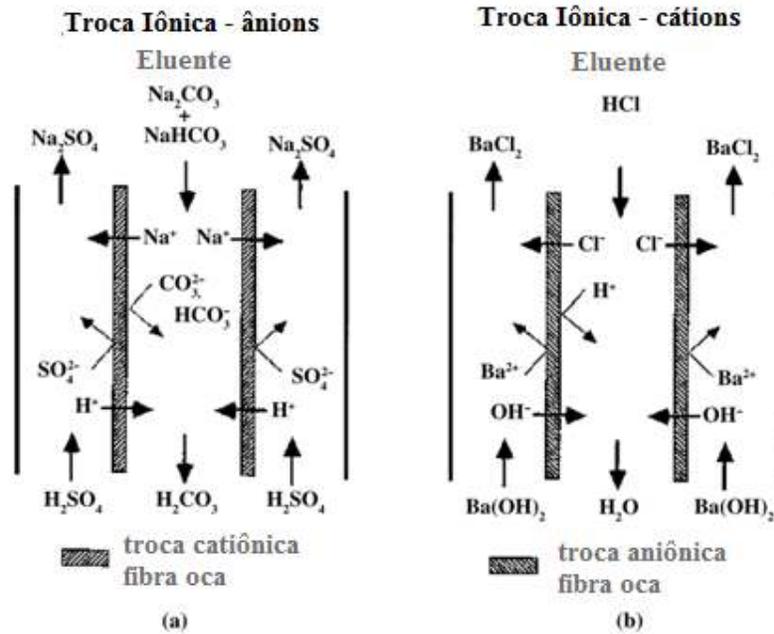
2.2.1 Detectores e Sistema de Supressão

Entre os principais tipos de detecção utilizados para a cromatografia de íons, está a detecção por condutividade elétrica, por amperometria, por fotometria e por fluorescência.

Detectores de condutividade elétrica são altamente sensíveis, respondem de forma previsível às alterações na concentração de íons, são de operação simples e baixo custo de construção e manutenção. (SKOOG ET AL, 2006, p. 937). Baseiam-se na medida da diferença de condutividade elétrica dos íons em solução quando aplicado um campo elétrico entre dois eletrodos em uma célula de fluxo. Apesar de muitas vantagens, o uso de detectores de condutividade necessita altas concentrações de eletrólito para que ocorra a eluição dos íons em um tempo plausível. Devido a isso, a condutividade dos componentes da solução eluente torna-se elevada tendendo a se sobrepôr à condutividade dos íons dos analitos diminuindo a sensibilidade do detector.

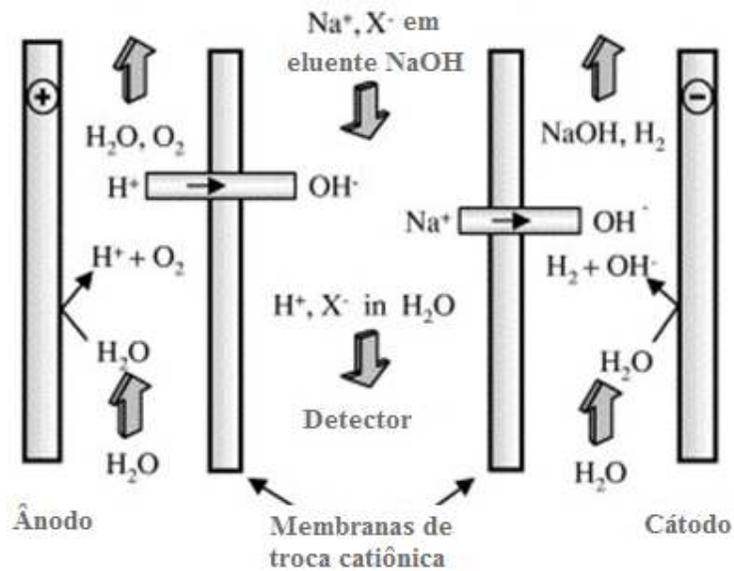
Com o objetivo de solucionar o problema da alta condutividade dos íons da solução eluente, um módulo de supressão (coluna supressora) faz parte do sistema. A coluna supressora é localizada entre a coluna analítica e o detector e tem a função de neutralizar, por troca iônica, os contra-íons de alta condutividade do eluente e os íons de baixa condutividade da membrana seletiva da coluna. Assim, a condutividade do eluente é reduzida e a resposta do analito é aumentada, tornando a sensibilidade e os limites de detecção melhores. A supressão pode ser eletrolítica (quando é aplicado um potencial elétrico para facilitar o transporte dos íons) ou química. Nas figuras 1 e 2 são apresentados esquemas de funcionamento de supressora química e eletrolítica, respectivamente.

Figura 1 – Esquema de operação de supressora química de troca aniônica e catiônica.



Fonte: P.R. HADDAD ET AL, 2003.

Figura 2 - Esquema de operação de supressora eletrolítica de troca aniônica.



Fonte: P.R. HADDAD ET AL, 2003.

2.2.2 Aplicações

O método de cromatografia iônica apresenta inúmeras aplicações tanto para análises em laboratórios de pesquisa quanto para análises de rotina. Têm sido muito utilizada para análises de ânions e cátions em amostras de água (potável, do mar, de rios, de lagos), resíduos aquosos domésticos, esgotos e efluentes industriais (Thomas et al).

No setor alimentício, é utilizada na análise de carboidratos em alimentos essenciais e não essenciais (Steinbach, A. e Wille, A.) e na análise de íons em bebidas – vodka, rum, licores, vinhos, entre outras – (Jackson, P. E.).

A técnica de cromatografia de íons também apresenta aplicações no setor farmacêutico (Michael et al), em cosméticos (Krol, J. et al), em fertilizantes (Laubli, M.), explosivos (Laubli, M.) e no setor petroquímico (Jackson, P. E).

2.3 MÉTODO TITULOMÉTRICO E MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIAICAL EM ÁGUAS

O método de ensaio para análise de nitrogênio amoniacal pelos métodos titulométrico e colorimétrico é estabelecido pela NBR 10560 – Águas: Determinação de Nitrogênio Amoniacal Métodos de Nesslerização, Fenato e Titulométrico (de dezembro de 1988) da ABNT.

Para concentrações superiores a 5 mg/L em N, utiliza-se o método titulométrico, em que a amostra é tratada com solução tampão de borato e posteriormente é destilada. Após, a porção destilada é tratada com ácido bórico para ser titulada. Em amostras cuja faixa de concentração situa-se entre 0,2 mg/L e 5 mg/L utiliza-se o método Nessler em que há combinação do reagente de Nessler (solução alcalina de tetraiodomercurato (II) de potássio preparada pelos analistas do laboratório da Equipe de Análises Físico-Químicas) com amônia formando uma solução coloidal que dependendo da intensidade da sua cor apresentará uma determinada concentração de nitrogênio amoniacal.

A tabela 1 apresenta os limites de detecção para análise de nitrogênio amoniacal para os métodos abordados.

Tabela 1 - Limites de detecção para nitrogênio amoniacal em diferentes métodos.

Método	LD (mg/L em N)	Fonte
Cromatografia iônica	0,015	ASTM D 6919 -09
Colorimétrico	0,020	NBR 10560-1988
Titulométrico	>5,00	NBR 10560-1988

2.4 VALIDAÇÃO

Validação é a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos. (ABNT NBR ISO/IEC 9000). A validação de um método analítico visa garantir que os laboratórios emitam resultados confiáveis, o que tem se tornado essencial atualmente devido aos níveis elevados de exigência para padrões de qualidade.

Se um método existente for modificado para atender aos requisitos específicos, ou um método totalmente novo for desenvolvido, o laboratório deve se assegurar de que as características de desempenho do método atendem aos requisitos para as operações analíticas pretendidas (INMETRO, junho 2007).

A validação de método utilizada no laboratório da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia do DMAE atende às exigências estabelecidas pela norma NBR ISO/IEC 17025 (de 31 de outubro de 2005), avaliando o método com base nos seguintes parâmetros: linearidade, limite de detecção do método, limite de detecção do equipamento, limite de quantificação, exatidão, reprodutibilidade, repetitividade, seletividade e robustez de acordo com o Guia Prático: Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais – Rede Metrológica/RS.

3. OBJETIVO

O objetivo deste projeto tecnológico é avaliar a viabilidade da determinação de nitrogênio amoniacal em amostra de água por cromatografia iônica, no laboratório de cromatografia do Departamento Municipal de Água e Esgoto de Porto Alegre, visando à substituição dos métodos colorimétrico e titulométrico utilizados para análise desse parâmetro, reduzindo o tempo de análise e os impactos ao meio ambiente.

4. METODOLOGIA

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados dois equipamentos: Cromatógrafo Iônico marca Dionex (modelo DX500), figura 3, com solução eluente de ácido sulfúrico 20 mM, coluna IonPac CS12A e utilizando supressão eletrolítica. O software utilizado foi *Peak Net 5.1*; e Cromatógrafo Iônico modular marca Metrohm (detector condutimétrico 732, bomba 709, centro de separação 733, interface 762, amostrador automático 788, unidade de válvula 812, supressora química 853, supressora de CO₂ 833), figura 4, com solução eluente de ácido oxálico 3,5mM, coluna Metrosep C2250, sem o uso de supressão para análise de cátions e utilizando software *IC Net 2.3 Metrodata - Metrohm*.

Figura 3 – Equipamento Dionex – DX500, utilizado para análise de cátions no laboratório da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia do DMAE.



Figura 4 – Equipamento Metrohm, utilizado para análise de ânions e cátions simultânea no laboratório da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia do DMAE.



4.2 REAGENTES E PADRÕES

Na tabela 2 são relacionados os reagentes utilizados para a análise e validação do parâmetro nitrogênio amoniacal por CI.

Tabela 2 - Reagentes utilizados para análise de nitrogênio amoniacal por CI

<i>Reagente</i>	<i>Marca</i>	<i>Lote</i>	<i>Validade</i>
Solução padrão de amônia, concentração 1000 mg/L	Qhemis High Purity	F10E375E	30/05/2011*
Solução padrão de amônia (NH ₄ -NH ₃)	Specsol	F12F0383G	08/2013
Ácido Sulfúrico PA	Vetec	1108388	10/2015
Ácido Oxálico	Synth	148629	05/11/2015
Metanol	Merk	I551811032	31/08/2013

* Padrão validado em outubro de 2012 – Validade de 1 ano.

4.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES

A água ultrapura (UP) foi obtida através de um sistema de osmose reversa (modelo Elix 05) e purificação de água marca Millipore (modelo Milli-Q Gradiente). As águas tratada e bruta utilizadas durante a validação foram coletadas na Estação de Tratamento de Água José Loureiro da Silva, Bairro: Menino Deus e foram filtradas com o auxílio de filtro (Sartorius – StediumBiotech), membrana filtrante de ester celulose de 0,22 μm e bomba à vácuo Velp Científica (modelo Scrubber).

No preparo de soluções foram utilizados balões volumétricos, balança analítica (Ohaus Corporation), pipetas graduadas, micropipetador (Brand – HandStep) e ponteiros de diferentes volumes.

Uma solução intermediária de 25 mg de N/L foi preparada adicionando-se 1,52 mL de solução padrão de amônia (concentração: 1000 mg L^{-1}) em um balão volumétrico de 50 mL e completando o volume com água UP. A partir dessa solução intermediária foram preparadas as curvas analíticas, que possuem doze níveis e uma faixa de concentração de 0,01 mg L^{-1} a 7,00 mg L^{-1} . A tabela 3 apresenta o volume utilizado de solução intermediária e as concentrações, para nitrogênio amoniacal, de cada ponto.

Tabela 3 - Soluções para a curva analítica.

Nível	Concentração de N amoniacal teórica (mg/L)	Volume* (mL)
1	0,01	0,02
2	0,03	0,06
3	0,05	0,10
4	0,10	0,20
5	0,15	0,30
6	0,30	0,60
7	0,50	1,00
8	0,70	1,40
9	1,00 (<i>target</i>)	2,00
10	3,00	6,00
11	5,00	10,00
12	7,00	14,00

* Volume de solução intermediária pipetado e elevado a 50 ml em balão volumétrico.

A solução intermediária utilizada durante a análise da seletividade foi fortificada (a 30 mg/L) devido à possibilidade das matrizes utilizadas não apresentarem nitrogênio amoniacal em sua composição. Para a fortificação, usou-se 1,82 mL de solução padrão de amônia (concentração: 1000 mg L⁻¹) e o volume de 50 mL, em balão volumétrico, foi completado com a matriz estabelecida.

4.4 ANÁLISE

4.4.1 Equipamento Dionex

As soluções preparadas e as amostras foram transferidas para frascos de capacidade de 10 mL do amostrador automático do equipamento CI para serem analisadas.

O tempo de análise, previamente estabelecido, foi de 20 minutos por injeção, o fluxo do eluente 1 mL/minuto, frequência de 5 Hz, com eluição no modo isocrático.

4.4.2 Equipamento Metrohm

As soluções preparadas e as amostras foram transferidas para frascos de capacidade de 15 mL do amostrador automático do equipamento CI Metrohm marca para serem analisadas.

O tempo de análise, previamente estabelecidos, foi de 20 minutos por injeção, com fluxo do eluente de 1 mL/minuto, pressão entre 0 – 35 MPa e eluição isocrática.

4.5 ANÁLISE DE AMOSTRA REAL

O DMAE monitora a qualidade da água em suas diversas etapas do tratamento, bem como, a água distribuída para a população. Na cromatografia iônica da Equipe de Análises Instrumentais em Cromatografia são analisados ânions, glifosato e nitrogênio amoniacal em água tratada (água que passou pelo processo de tratamento) e em água bruta (água natural: rios, lagos e etc) coletadas em pontos ao longo do Lago Guaíba, do delta do Jacuí, represa lombada do sabão, arroios de Porto Alegre entre outros. A coleta e

preservação de amostras são realizadas pela Equipe de Coleta e colaboradores devidamente capacitados. As amostras coletadas são armazenadas em frascos de plástico de 250 mL, devidamente identificados com a data e o local de coleta, que são transportados em caixas de isopor ou térmicas contendo frascos com gelo.

No laboratório, primeiramente é realizado um branco de laboratório, filtrando cerca de 150 mL de água UP através de uma membrana de 0,22 μm . Após, as amostras são filtradas utilizando membranas de 0,45 e 0,22 μm . Para avaliar a eficiência da curva analítica, é analisado um ponto da mesma, de concentração conhecida, denominado de *target* (tanto para as curvas de concentração baixa como alta). O ponto da curva escolhido para este trabalho de nitrogênio amoniacal refere-se ao nível 9 na curva de baixa concentração (ou seja, de 1 mg/L).

As amostras são colocadas nos respectivos frascos e estes dispostos no amostrador automático do equipamento para ser realizada a análise em uma curva de baixa concentração e em uma curva de alta concentração. As amostras filtradas remanescentes são armazenadas sob refrigeração (1,0 a 8,0 °C) em frascos de 250 mL, de plástico. Para nitrogênio amoniacal, recomenda-se que as análises sejam realizadas em até 48 horas após a coleta, devido a possibilidade de degradação do analito de NH_4^+ para NH_3 .

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

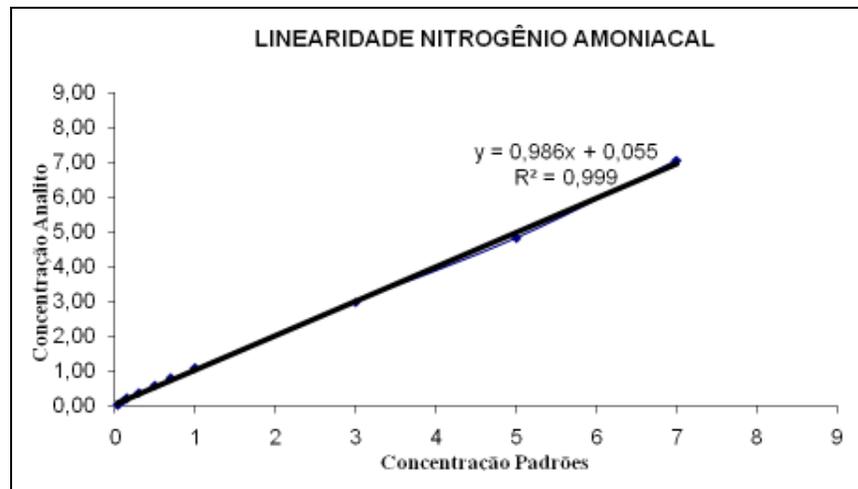
5.1 LINEARIDADE

Para avaliar a linearidade do método, foram preparadas seis curvas analíticas com diferentes concentrações de nitrogênio amoniacal (tabela 3). Na tabela 4 são apresentados os resultados obtidos. Na figura 5 é apresentada a curva analítica para nitrogênio amoniacal. A curva analítica foi obtida graficando-se a concentração teórica pela concentração nominal determinada a partir da injeção de seis soluções de cada ponto da curva. Portanto os pontos representam a média das seis soluções em cada ponto.

Tabela 4 - Resultados obtidos na análise de seis curvas analíticas preparadas

Níveis	Concentração teórica (mg/L)	1° curva (mg/L)	2° curva (mg/L)	3° curva (mg/L)	4° curva (mg/L)	5° curva (mg/L)	6° curva (mg/L)	Média	Resultado esperado	Erro resíduo	Desvio	Variância (s ²)
1	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,06	0,06	0,00521	0,00003
2	0,03	0,03	0,00	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,08	0,04	0,01618	0,00026
3	0,05	0,06	0,08	0,08	0,07	0,07	0,08	0,08	0,10	0,02	0,00804	0,00006
4	0,10	0,13	0,18	0,14	0,15	0,13	0,15	0,15	0,15	0,01	0,01966	0,00039
5	0,15	0,21	0,23	0,21	0,21	0,20	0,21	0,21	0,20	-0,01	0,01028	0,00011
6	0,30	0,37	0,40	0,38	0,38	0,37	0,38	0,38	0,35	-0,03	0,01351	0,00018
7	0,50	0,58	0,60	0,59	0,59	0,58	0,60	0,59	0,55	-0,04	0,00895	0,00008
8	0,70	0,79	0,81	0,79	0,79	0,77	0,78	0,79	0,75	-0,04	0,01232	0,00015
9	1,00	1,09	1,11	1,08	1,06	1,07	1,08	1,08	1,04	-0,04	0,01516	0,00023
10	3,00	2,86	4,09	2,73	2,71	2,76	2,75	2,98	3,01	0,03	0,54430	0,29627
11	5,00	4,48	5,20	4,25	5,02	5,05	5,02	4,84	4,99	0,15	0,37963	0,14412
12	7,00	7,37	7,23	6,89	6,96	7,02	6,94	7,07	6,96	-0,11	0,18835	0,03548

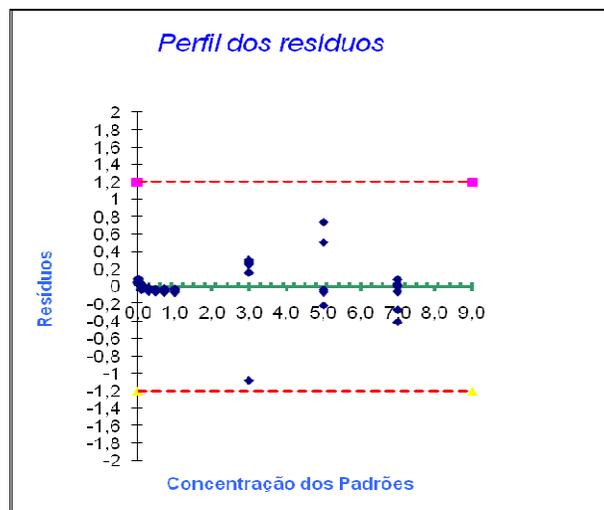
Figura 5 - Curva analítica obtida para determinação de Nitrogênio Amoniacal por CI.



A correlação linear obtida na figura 5 demonstra que o método proposto apresenta linearidade para a faixa de trabalho estabelecida, com $R^2 > 0,99$ e $r > 0,9$.

Na figura 6 é apresentado o gráfico do perfil de resíduos que demonstra que há ausência de tendências e erros sistemáticos ao longo da faixa estabelecida.

Figura 6 – Gráfico do Perfil dos resíduos.



5.2 SENSIBILIDADE DO MÉTODO – LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO, LIMITE DE DETECÇÃO DO EQUIPAMENTO (DIONEX) E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO.

Na tabela 4 são apresentados os resultados obtidos para os limites de determinação e detecção.

Tabela 5 - Resultados obtidos para limites de quantificação e de detecção.

Repetições	Dados		
	LDE	LDM	LQ
1	0,03	0,06	0,13
2	0,00	0,08	0,18
3	0,04	0,08	0,14
4	0,04	0,07	0,15
5	0,04	0,07	0,13
6	0,04	0,08	0,15
Média (mg/L)	0,04	0,08	0,15
Desvio	0,01618	0,00804	0,01966

Para a determinação do valor de LDE foi utilizada a equação (1), apresentada a baixo.

$$\mathbf{LDE = M + 3 * S (branco)} \quad (1)$$

onde, M é a média das concentrações obtidas para as 6 leituras do branco e S é o desvio padrão da média das leituras do branco.

Para a determinação do valor de LDM utilizou-se a equação (2), apresentada a baixo.

$$\mathbf{LDM = t * S + M} \quad (2)$$

onde, t para (n-1) = t tem-se que, t (6-1 =5) = 2,015; S é o desvio padrão da média das leituras e M é a média das leituras do branco com analito.

O LQ foi calculado a partir da equação (3), representada a baixo.

$$\mathbf{LQ = M + 10 * S (branco)} \quad (3)$$

onde, M é a média das leituras do branco com o analito e S o desvio padrão das médias das leituras.

Obteve-se:

LDE = 0,09 mg/L

LDM = 0,12 mg/L

LQ = 0,34 mg/L.

5.3 EXATIDÃO

Com o objetivo de avaliar a exatidão do método realizaram-se seis leituras de solução padrão de 1 mg/L (preparo da solução de acordo com o nível 9 da curva analítica). A exatidão foi determinada pela relação entre a concentração média experimental e a concentração teórica.

Na tabela 5 são apresentados os valores referentes às leituras do padrão de 1 mg/L.

Tabela 6 - Resultados obtidos para exatidão do método.

Valor teórico (mg/L)	Valor nominal do padrão de 1 mg/L (mg/L)
1,00	1,09
1,00	1,11
1,00	1,08
1,00	1,06
1,00	1,07
1,00	1,08
Média (mg/L)	1,08
Desvio	0,01516

De acordo com os dados do manual AOAC ("*Peer Verified Methods Program*") a média para valores de 1 ppm é de 80 a 110 % e o resultado encontrado foi de 108%. Logo, este método é exato.

5.3 PRECISÃO

5.3.1 Repetitividade

Para avaliar a repetitividade realizou-se seis leituras de padrões de 1 mg/L, onde o preparo das soluções foi realizado de acordo com o nível 9 da curva analítica por dois analistas diferentes.

Os resultados foram expressos com base no coeficiente de variação (CV), equação 4, e no coeficiente de variação máximo (CV Máximo), equação 5.

$$CV = S/M \quad (4)$$

onde, M é a concentração média e S o desvio padrão.

$$CV = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (5)$$

onde C é a concentração do analito (g/g)

Os resultados obtidos são apresentados na tabela 6.

Tabela 7 - Resultados obtidos para o parâmetro repetitividade do método.

Amostra	Analista	
	1 (mg/L)	2 (mg/L)
1	1,04	1,06
2	1,06	1,09
3	1,06	1,08
4	1,06	1,04
5	1,05	1,05
6	1,08	1,08
Média (mg/L)	1,06	1,07
Faixa (g/g)	1,06	1,07
Desvio	0,01329	0,01909
CV (%)	1,25594	1,79130
CV Máximo (%)	1,98254	1,97974

O teste de repetitividade, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2, apresentou CV menor do que o CV Máximo, logo a repetitividade para ambos analistas é satisfatória, sendo assim, a repetitividade do método é eficaz.

5.3.2 Reprodutibilidade

Foi realizado teste t (Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes) para determinar a reprodutibilidade do método utilizando dados da tabela 6. O resultado mostrou que o valor de **Stat t** (t calculado) foi de -0,79142 e o valor para t crítico bi-caudal foi de 2,22814.

Para que o método apresente reprodutibilidade é necessário que o valor de **Stat t** seja menor em módulo do que o valor de t crítico bi-caudal, o que foi observado para essa análise. Com 95% de confiança, conclui-se que os fatores analisados não possuem diferenças significativas.

Observou-se que o método proposto é preciso, pois apresenta repetitividade e reprodutibilidade aceitáveis.

5.4 SELETIVIDADE

Foram preparadas seis curvas com seis pontos de diferentes concentrações de nitrogênio amoniacal (referente aos níveis 5, 6, 7, 8, 9 e 10 da curva analítica) e como matriz utilizou-se água tratada e água bruta.

Os resultados obtidos foram comparados com os resultados para a curva analítica preparada sem a presença da matriz (curva linearidade).

Foi realizado teste F para avaliar a variância das curvas usando F tabelado = 5,05 (nº graus de liberdade = 5 e 95% de confiança) e calculando valor de F através da razão entre a média das variâncias da curva com matriz e a média das variâncias da curva sem matriz.

Os resultados são apresentados na tabela 7.

Tabela 8 - Resultados obtidos para a seletividade do método.

Concentração teórica mg/L	Média das concentrações nominais em água UP		CV%	Média das concentrações nominais com a matriz <i>água tratada</i>		CV%	Média das concentrações nominais com a matriz <i>água bruta</i>	
0,15	0,21		13,02	0,87		6,20	0,39	10,32
0,30	0,38		8,38	1,01		5,34	0,56	7,19
0,50	0,59		6,26	1,21		4,46	0,84	4,79
0,70	0,79		4,58	1,32		4,09	1,01	3,98
1,00	1,08		1,66	1,69		3,19	1,42	2,83
3,00	2,98		13,02	3,36		1,60	3,36	1,20
Média das variâncias	0,04950			0,05394			0,04024	

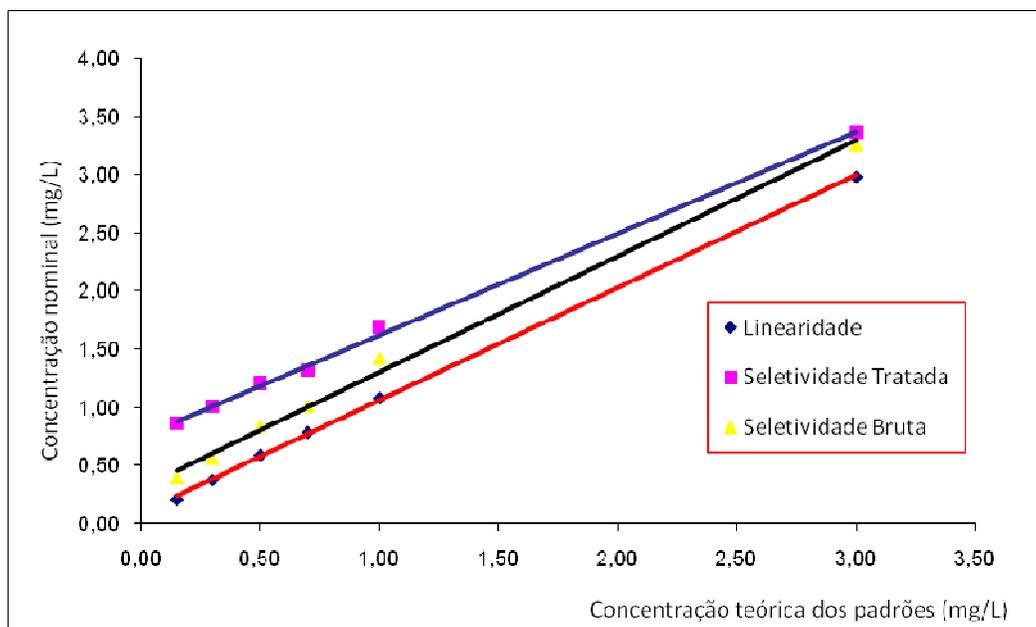
Cada média foi obtida a partir de seis leituras consecutivas.

5.4.1 Matriz: Água tratada e água bruta

Para a matriz água tratada, o valor de F encontrado foi de 1,08964. Como o valor de F calculado é menor que o valor de F tabelado ($1,08964 < 5,05$), observou-se que a precisão das duas curvas não possui diferenças significativas, sendo assim, o método é seletivo para matriz tratada.

Na figura 7 é apresentado o gráfico da relação Linearidade \times Seletividade.

Figura 7—Comparação da Linearidade \times Seletividade para as matrizes água tratada e água bruta



Para a água bruta, o valor de F encontrado foi de 0,81293. Como o valor de F calculado é menor que o valor de F tabelado ($0,81293 < 5,05$), observou-se que a precisão das duas curvas não possui diferenças significativas, sendo assim, o método também é seletivo para matriz bruta.

5.5 ROBUSTEZ

Foram coletadas 20 amostras de água tratada da torneira do laboratório e foram fortificadas em 1 mg/L. Dessas 20 amostras, 10 foram analisadas no mesmo dia (5 amostras no equipamento Dionex e 5 amostras no equipamento Metrohm) e 10 amostras foram analisadas 7 dias depois (sendo 5 amostras no equipamento Dionex e 5 amostras no equipamento Metrohm), essas foram conservadas sob refrigeração em frascos de polipropileno durante o período estabelecido em uma temperatura abaixo de 8°C. Na tabela 8 são apresentados os resultados obtidos na análise do parâmetro robustez.

Tabela 9 - Resultados obtidos para a robustez do método.

	Análise A		Análise B	
	Equipamento DIONEX	Equipamento METROHM	Equipamento DIONEX	Equipamento METROHM
Amostra 1	1,15	1,18	1,20	1,13
Amostra 2	1,15	1,18	1,20	1,13
Amostra 3	1,14	1,19	1,20	1,12
Amostra 4	1,13	1,19	1,20	1,12
Amostra 5	1,13	1,19	1,20	1,12
Média	1,14	1,19	1,20	1,12
Desvio Padrão	0,01000	0,00548	0,00000	0,00548
CV %	0,87719	0,84034	0,83333	0,89286

Análise A: análise realizada no dia da coleta.

Análise B: análise realizada uma semana após a coleta.

Com o objetivo de verificar o efeito dos fatores analisados (fator equipamento e fator tempo) foram realizadas as seguintes relações:

Fator Equipamento: $(\text{Média Dionex Análise A} + \text{Média Dionex Análise B})/2 - (\text{Média Metrohm Análise A} + \text{Média Metrohm Análise B})/2$

Fator Equipamento = $D_1 = 0,015$

Fator dia: $(\text{Média Dionex A} + \text{Média Metrohm A})/2 - (\text{Média Dionex B} + \text{Média Metrohm B})/2$

Fator Dia = $D_2 = 0,005$

Elevou-se os valores de D_1 e D_2 ao quadrado, obtendo:

$$D_1^2 = 0,000225$$

$$D_2^2 = 0,000025$$

Realizou-se o somatório de D^2 e em seguida a média dos valores.

$$\sum D^2 = 0,00025$$

Média dos desvios quadrados (M) = $0,000125$

Para efetuar o calculo do desvio da robustez usou-se a fórmula 6:

$$S_r = \sqrt{(2 \times M)} \quad (6)$$

onde, S_r é o desvio da robustez e M a média dos desvios quadrados.

Obeve-se $S_r = 0,0158114$.

Para avaliar se o método é robusto comparou-se o desvio da robustez com o desvio da reprodutibilidade. Se o desvio da robustez é inferior ao da reprodutibilidade pode-se afirmar que o método é robusto. Sabendo que S_r é $0,01581$ e

$D_{\text{reprodutibilidade}} = 0,01619$, temos que $S_r < D_{\text{reprodutibilidade}}$.

Concluiu-se que o método é robusto para a análise de nitrogênio amoniacal.

5.6 DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIAICAL EM AMOSTRAS REAIS

Realizou-se a análise por cromatografia de íons, equipamento Dionex, de uma amostra de água bruta, coletada pela Equipe de Coleta do DMAE no Lago Guaíba (ponto de captação de água bruta da ETA José Loureiro da Silva) e de uma amostra de água tratada, coletada no laboratório de cromatografia da mesma ETA com objetivo de avaliar o método frente a amostras reais. Ambas as amostras foram coletadas no mês de novembro.

A análise para água bruta obteve-se uma concentração de nitrogênio amoniacal de 1,03 mg/L . Em água tratada o analito não foi detectado.

6. ANÁLISE DE CUSTOS

6.1 CUSTO DE ANÁLISE

Nas tabelas 10 e 11 são apresentados os custos relacionados a reagentes e consumíveis para a análise de nitrogênio amoniacal, respectivamente por CI e pelos métodos colorimétrico e titulométrico.

Tabela 10 - Custo de reagentes e consumíveis para análise de Nitrogênio Amoniacal por CI – Equipamento Dionex e Equipamento Metrohm.

<i>Dionex</i>		<i>Metrohm</i>	
Material	Valor	Material	Valor
Padrão NH ₃ (125 mL)*	R\$ 126,00	Padrão NH ₃ (125 mL)*	R\$ 126,00
Cloreto de Amônio PA (1kg)	R\$ 88,00	Cloreto de Amônio PA (1 kg)*	R\$ 88,00
Ácido Sulfúrico 95% a 98% PA (1 L)	R\$ 61,00 / L	Ácido Oxálico PA (250g)	R\$ 62,50
Coluna CS12A	R\$ 4.609,00	Coluna C2 250	R\$ 5.500,00
Pré Coluna CG12A	R\$ 1.483,00	Pré Coluna C2 150	R\$ 1.243,00

* Somente um dos padrões é utilizado para a análise.

Para o equipamento Dionex, estimando que uma coluna analítica e uma pré-coluna têm vida útil de seis meses no laboratório teríamos por mês um gasto de R\$ 1.015,33. Em um mês utiliza-se cerca de 62,5 mL de solução padrão tendo um gasto de R\$ 63,00. Como a solução eluente de ácido sulfúrico apresenta baixa concentração usa-se em torno de 5,5 mL do ácido por mês, gerando um custo de R\$ 0,34. O gasto total seria de R\$ 1078,67 por mês. Porém, a cada mês temos uma média de 43 amostras a serem analisadas, sendo assim 1078,67/43 temos que por amostra é utilizado *R\$ 25,08*.

Adotando a mesma lógica para o equipamento Metrohm e sabendo que é utilizado cerca de 4,40 g de ácido oxálico por mês teríamos um custo por amostra de *R\$ 27,63*.

Tabela 11 - Custo de reagentes para análise de Nitrogênio Amoniacal por método titulométrico e método colorimétrico.

<i>Titulométrico</i>		<i>Colorimétrico</i>	
Material	Valor	Material	Valor
Vermelho de Metila (25 g)	R\$ 0,35/g	Iodeto de Mercúrio (100 g)	R\$ 3,12/g
Azul de metileno (100 g)	R\$ 0,58/g	Iodeto de Potássio (500 g)	R\$ 323,00/Kg
Ácido sulfúrico 95% a 98% PA (1 L)	R\$ 61,00/L	Hidróxido de Sódio (1 Kg)	R\$ 39,00/Kg
Ácido Bórico (1 Kg)	R\$ 18,00/Kg	Ácido Bórico (1 Kg)	R\$ 18,00/Kg
Tetraborato de Sódio* (1 Kg)	R\$ 0,04/g	Tetraborato de Sódio* (1 Kg)	R\$ 0,04/g
Tetraborato de Sódio Decahidratado* (1 Kg)	R\$172,00	Tetraborato de Sódio Decahidratado* (1 Kg)	R\$172,00

* Somente um dos reagentes é utilizado para a análise.

O custo para a lâmpada utilizada no espectrômetro de UV- Visível é R\$ 520,00 (pode ser utilizada por um longo período sem precisar de trocas, devido a isso seu custo não é muito significativo frente ao custo dos reagentes). O valor total dos custos de todos os reagentes envolvidos, considerando apenas o valor e a quantidade comprada, é de R\$ 870,25. Comparado com o custo envolvido para a análise por cromatografia de íons esse valor é significativamente inferior, visto que as colunas analíticas possuem custos elevados tornando a análise cara.

6.2 CUSTOS NO TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Tabela 12 - Custos no tratamento de resíduos*

<i>Serviço</i>	<i>Custo</i>
Tratamento de resíduo / L	R\$ 3,00
Licenciamentos	R\$ 3.000,00
Transporte e Coleta	R\$ 5.500,00

* Os valores apresentados são referentes à empresa contratada para tratamento de resíduos do DMAE.

Sabendo-se que há um gasto total de resíduos em cerca de 3190 L, o custo total relacionado é de R\$ 18.070,00. O custo por litro de resíduo gerado é R\$ 5,67.

Para análise de nitrogênio amoniacal pelos métodos FQ são produzidos cerca de 52 mL de resíduo, o que nos levaria a um gasto de R\$ 0,30 por análise (desconsiderando os custos relacionados a serviços administrativos e técnico realizado pelos servidores).

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos na avaliação dos parâmetros de validação estudados, pode-se validar o método proposto para determinação de nitrogênio amoniacal por cromatografia de íons, tendo como base na EPA 300.1 – *Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography* e na ASTM D 6919 – 09: *Determination of Dissolved Alkali and Alkaline Earth Cations and Ammonium in Water and Wastewater by Ion Chromatography*, adaptadas para análise de nitrogênio amoniacal. Pode-se concluir que o método é adequado para o uso proposto.

É indicado que a análise de nitrogênio amoniacal seja realizada em até 48 horas a partir da data de coleta, devido a degradação do analito e possíveis perdas na concentração. A avaliação da robustez do método foi realizada com uma diferença de tempo coleta-análise de sete dias e não foi observado mudanças significativas na concentração, demonstrando que para a amostra analisada (água tratada – estação de tratamento de água José Loureiro da Silva) não ocorreu degradação do analito.

Observou-se que a análise via cromatografia iônica apresentou custo elevado comparado ao custo de análise dos métodos colorimétrico e titulométrico. No entanto, o método por cromatografia iônica é mais prático, concede resposta rápida e necessita menor volume de amostra por análise.

Ao comparar a CI com o método titulométrico, embora este último apresente menor custo, não pode ser aplicado às análises da água dessa região, pois não apresentam resultados de amônia para a faixa de que o método titulométrico se propõe (Tabela 1)

Ao comparar a CI especificamente com o método colorimétrico, para baixas concentrações, observou-se uma vantagem significativa na questão ambiental, visto que por CI não há geração de resíduos prejudiciais ao meio ambiente e utilizando o método colorimétrico há a necessidade do uso do reativo de Nessler, reagente a base de mercúrio, tornando os procedimentos de análise perigosos para os analistas e gerando resíduos de alta toxicidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBANO, F. M.; RODRIGUEZ, M. T. R. **Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais: Guia Prático**. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2009. 136 p.
- BRAITHWAITE, A; SMITH, F. J. **Chromatographic Methods**. 5nd. Dordrecht: Kluwer Academic, 1999. 559 p.
- CIOLA, R. **Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho: HPLC**. 1ª ed. São Paulo: Afiliada, 1998. 179 p.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas – São Paulo: Editora Unicamp, 2006. 456 p.
- EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; RICE, E. W.; GREENBERG, A. E.; **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st edition. Washington, 2005. Method 4500 – NH₃ C
- EITH, C et al. **Práticas em Cromatografia de Íons: Uma introdução**. Herisau, Suíça: MetrohmLtda, 2006-07. 142 p.
- JACKSON, P. E. **Ion Chromatography in Environmental Analysis**. Encyclopedia of Analytical Chemistry. Estados Unidos: R. A. Meyers, 2000. p 2779-2801.
- SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8 ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006. 999 p.
- American Society for Testing and Materials (ASTM). D 6919 – 09: **Determination of Dissolved Alkali and Alkaline Earth Cations and Ammonium in Water and Wastewater by Ion Chromatography**. Estados Unidos, 2009.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 10560: Águas – Determinação de Nitrogênio Amoniacal: Métodos de Nesslerização, Fenato e Titulométrico**. Dezembro, 1988.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISSO/IEC 17025: Requisitos Gerais Para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração**. Rio de Janeiro, 2005.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 6023: Informação e Documentação – Referências – Documentação**. Rio de Janeiro, 2002.
- Ministério do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**. 17 de março de 2005.
- Ministério da Saúde. **Portaria nº 2914**. Brasília, 12 de dezembro de 2011.

- AULER, L. M. L. A. **Desenvolvimento de uma Nova Fase Estacionária para Cromatografia por Troca Iônica**. 2006. 145 f. Dissertação (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – São Paulo, 2006.
- DIONEX. Application Note 141. **Determination of Inorganic Cations and Ammonium in Environmental Waters by Ion Chromatography Using the IonPac CS16 Column**. 2001.
- HADDAD, P. R. et al. Developments in suppressor technology for inorganic ion analysis by ion chromatography using conductivity detection. **Journal of Chromatography A**. Tasmania, Australia. V. 1000, p. 725–742, 2003.
- KROL, J. et al. Ion Chromatography of Alkylamines and Alkanolamines Using conductivity detection. **Journal of Chromatography**, Amsterdam. V. 626, p. 165-170, 1992.
- MAIER, C. **Qualidade de Águas Superficiais e Tratamento de Águas Residuárias por Meio de Zonas de Raízes em Propriedades de Agricultores Familiares**. 2007. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – Rio Grande do Sul, 2007.
- MICHAEL, A.; KO, C. Y.; GUH, H. Y. Ion chromatography method and validation for the determination of sulfate and sulfamate ions in topiramate drug substance and finished product. **Journal of Chromatography B**. V.709, p. 166-172, 1998.
- RIBEIRO, A. L. C. **Implementação e Validação de Metodologia para Determinação Simultânea de Glifosato e AMPA (ácido aminometilfosfônico) em águas naturais por CI/Condutimetria**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde). Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, 2011.
- SANTOS, J.S. **Desenvolvimento e Otimização de Metodologias para a Determinação de Nitrogênio**. 2007. 102 f. Dissertação (Pós Graduação em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – Minas Gerais, 2007.
- STEINBACH, A.; WILLE, A. Determining Carbohydrates in Essential and Non-essential Foodstuffs using Ion Chromatography. **The Applications Book**. p 40-43, December, 2010.
- THOMAS, D. H.; REY, M.; JACKSON, P. E. Determination of inorganic cations and ammonium in environmental waters by ion chromatography with a high-capacity cation-exchange column. **Journal of Chromatography A**. V. 956, p. 181-186, 2002.