

Princípios da Determinação de Íons em Amostras Ambientais por Eletroforese Capilar



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 179

Princípios da Determinação de Íons em Amostras Ambientais por Eletroforese Capilar

*Giuliano Marchi
Carlos Alberto Silva
Luiz Roberto Guimarães Guilherme
Adriana Marlene Moreno Pires
Mário César Guerreiro*

Embrapa Cerrados
Planaltina, DF
2007

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados

BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza

Caixa Postal 08223

CEP 73310-970 Planaltina, DF

Fone: (61) 3388-9898

Fax: (61) 3388-9879

<http://www.cpac.embrapa.br>

sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *José de Ribamar N. dos Anjos*

Secretário-Executivo: *Maria Edilva Nogueira*

Supervisão editorial: *Fernanda Vidigal Cabral de Miranda*

Revisão de texto: *Fernanda Vidigal Cabral de Miranda*

Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro*

Ilustrações: *Wellington Cavalcanti*

Editoração eletrônica: *Leila Sandra Gomes Alencar*

Capa: *Leila Sandra Gomes Alencar*

Impressão e acabamento: *Divino Batista de Sousa*

Jaime Arbués Carneiro

Impresso no Serviço Gráfico da Embrapa Cerrados

1ª edição

1ª impressão (2007): tiragem 100 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Cerrados

P957 Princípios da determinação de íons em amostras ambientais por eletroforese capilar / Giuliano Marchi ... [et al.]. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2007.
76 p. – (Documentos / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111 ; 179)

1. Análise química. 2. Micronutriente. 3. Pesticida. I. Marchi, Giuliano. Título. II. Série.

543.08 - CDD 21

© Embrapa 2007

Autores

Giuliano Marchi

Eng. Agrôn., D.Sc.

Pesquisador, Embrapa Cerrados

giuliano.marchi@cpac.embrapa.br

Carlos Alberto Silva

Eng. Agrôn., D.Sc.

Professor Adjunto do Departamento de Solos e
Nutrição de Plantas (DCS) da Universidade Federal
de Lavras (UFLA), Campus da UFLA, Caixa Postal
3037, CEP 37200-000, Lavras, MG

csilva@ufla.br

Luiz Roberto Guimarães Guilherme

Eng. Agrôn., Ph.D.

Professor Adjunto do DCS/UFLA

guilherm@ufla.br

Adriana Marlene Moreno Pires

Eng. Agrôn., D.Sc.

Pesquisadora, Embrapa Meio Ambiente,

Caixa Postal 69, CEP 13820-000, Jaguariúna, SP

adriana@cnpma.embrapa.br

Mário César Guerreiro

Quím., D.Sc.

Professor Adjunto do Departamento de Química da

UFLA, Caixa Postal 37, CEP 37200-000,

Lavras, MG

guerreiro@ufla.br

Apresentação

A evolução das técnicas para separação e detecção de compostos químicos ocorre a rápidos passos. Cada vez mais, os limites de detecção dos instrumentos são diminuídos, permitindo que substâncias perigosas como o perclorato, pesticidas e alguns elementos químicos sejam detectadas em concentrações muito baixas. Algumas dessas substâncias podem causar danos à saúde da população, mesmo em quantidades infinitamente pequenas ($< 4 \mu\text{g L}^{-1}$), e, apenas com o uso de instrumentos sensíveis o suficiente, é possível monitorar o ambiente em busca dessas substâncias.

A eletroforese capilar é uma técnica sensível, com alto poder de separação, que permite a análise simultânea de espécies de íons inorgânicos em vários estados de oxi-redução; de substâncias húmicas; de pesticidas; e de outras substâncias, com baixo custo operacional e alta eficiência.

Neste documento, são abordados os principais métodos utilizados em eletroforese capilar, a teoria, as aplicações e as informações importantes para se obter máxima precisão nas análises.

Roberto Teixeira Alves

Chefe-Geral da Embrapa Cerrados

Sumário

Introdução	9
Princípios envolvidos em eletroforese capilar	13
Métodos em EC	20
Eletroforese de zona capilar (EZC)	21
Eletroforese de zona capilar (EZC) contra-eletoosmótica	22
Eletroforese de zona capilar (EZC) co-eletoosmótica	23
Eletroforese de gel capilar (EGC):	25
Foco isoelétrico capilar (FIC)	26
Cromatografia capilar electrocinética micelar (CCEM)	27
Isotacoforese (ITF)	28
Eletrocromatografia capilar (ECC)	29
Detecção de Íons Inorgânicos	31
Detecção indireta: taxa de transferência e função reguladora de Kohlraush	36
Derivatização	37
Complexação in situ	39
Complexação pré-coluna	39

Escolha dos ligantes	41
Escolha do Tampão	44
Escolha do Cromóforo	47
Aplicações em EC	49
Aplicações	50
<i>Preparo das amostras</i>	50
<i>Determinação de cromo</i>	52
<i>Determinação de compostos de selênio</i>	53
<i>Determinação de compostos de arsênio</i>	55
<i>Determinação de pesticidas</i>	56
<i>Determinação de substâncias húmicas</i>	59
Precisão nas Análises	63
Considerações Finais	65
Referências	66
Abstract	75
Anexo 1. Lista de Abreviaturas	76

Princípios da Determinação de Íons em Amostras Ambientais por Eletroforese Capilar

Giuliano Marchi

Carlos Alberto Silva

Luiz Roberto Guimarães Guilherme

Adriana Marlene Moreno Pires

Mário César Guerreiro

Introdução

O uso de equipamentos com alta seletividade e cada vez mais sensíveis permite o desenvolvimento de novos materiais e tecnologias que incluem produtos fármacos, herbicidas, inseticidas, entre outros. Há também a possibilidade de se pesquisar a biodisponibilidade e a interação de elementos-traço e diversas substâncias químicas perigosas, presentes nos sistemas ambientais, que possam causar risco a seres humanos mesmo em quantidades diminutas.

A exposição humana a essas substâncias e a elementos-traço, presentes na água, ar, solo e alimentos, ao longo dos anos, pode causar aumento da incidência de doenças graves na população, como, por exemplo, o câncer.

Nestes dez últimos anos, equipamentos que detectam substâncias em níveis traço, em partes por bilhão ($\mu\text{g L}^{-1}$) ou menor, estão cada vez mais acessíveis tanto para pesquisa, como para monitoramento ambiental. A partir de então, muitas substâncias perigosas, como as carcinogênicas, presentes no ambiente em baixas concentrações, passaram a ser motivo de preocupação para os pesquisadores. Uma dessas substâncias é o perclorato, que, com a ingestão diária de água com concentrações acima

de $4 \mu\text{g L}^{-1}$, pode causar câncer na tireóide em humanos. O perclorato é usado desde 1970 como combustível para os propulsores que levam os foguetes ao espaço entre diversas outras aplicações. Seu uso poluiu águas subterrâneas na Califórnia, e o método de análise disponível, com limite de detecção de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, não era adequado para determinações ambientais. Apenas recentemente, em 1997, foi desenvolvido um método de análise de perclorato com limite de detecção de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e, com isso, foram mapeadas as águas contaminadas e não contaminadas em poços de abastecimento na proximidade dos campos aeroespaciais da Califórnia e de indústrias que utilizavam o perclorato em todo os EUA ([UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2002](#)).

No solo, a mobilidade de poluentes, substâncias orgânicas e nutrientes é controlada por um complexo sistema de reações químicas e por vários processos físicos e biológicos. Muitas dessas substâncias se encontram na forma iônica, livres em solução, ou complexadas com ligantes orgânicos e inorgânicos. Na fase sólida, podem estar retidas em sítios de troca ou específicos de óxidos, matéria orgânica e em estruturas de minerais primários e secundários.

Alguns elementos-traço largamente utilizados pela indústria normalmente não se encontram como íons livres ou em sua forma original no ambiente. Esses elementos ocorrem como parte de espécies químicas que são resultantes de uma série de processos naturais biogeoquímicos, associados ou não às interferências humanas. Isso significa que as diversas espécies de um mesmo elemento apresentam comportamentos diferenciados, o que pode comprometer a exatidão do método analítico durante sua determinação. É necessário fazer, portanto, além da determinação quantitativa total dos elementos presentes nas diferentes amostras, a identificação de cada espécie ([GERVASIO et al., 2003](#)).

As principais áreas de interesse da especiação envolvem o monitoramento da poluição de solos, ar, águas, sedimentos e biota por espécies organometálicas e inorgânicas tóxicas. Muitos estudos relacionados à biometilação de metais (especialmente mercúrio) e semimetais (arsênio e

selênio) têm sido feitos, uma vez que esses elementos podem apresentar um alto nível de toxidez, mesmo em níveis traço, dependendo do estado de oxidação em que se encontram ([GERVASIO et al., 2003](#)).

A especiação de elementos em amostras ambientais, como aqueles que possuem diferentes estados de oxidação, depende de equipamentos com baixos limites de detecção e capazes de separar as espécies. A eletroforese capilar (EC) possui a alta seletividade necessária para essas análises e pode ser acoplada a diversos detectores, dependendo da necessidade. Além disso, a EC pode separar vários tipos de moléculas encontradas no ambiente, como, por exemplo, produtos biológicos, fármacos, químicos e ambientais, como: proteínas, peptídeos, aminoácidos, ácidos nucleicos, DNA, células inteiras, íons inorgânicos, bases orgânicas, ácidos orgânicos, pesticidas, herbicidas, complexos de metais de transição, oxiácidos metálicos, surfactantes, fenóis, aminas alifáticas, ácidos sulfônicos aromáticos, corantes e explosivos.

A habilidade de se obter alta eficiência de separação pela aplicação de uma voltagem através de um capilar foi iniciada na década de 1980 ([LINHARDT; TOIDA, 2002](#)). As aplicações em EC eram voltadas para a separação de biomoléculas, tais como proteínas, peptídeos e ácidos nucleicos. A eletroforese era um método tradicional de análise, e o uso de EC era visto como uma extensão de sua metodologia. Ao longo do tempo, a EC foi se tornando uma alternativa e uma técnica de suporte para a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ([ALTRIA, 1999](#); [LIU et al., 1999](#)). Com o desenvolvimento da técnica do uso de capilares em eletroforese, percebeu-se que o calor gerado dentro do capilar era facilmente dissipado através das paredes do capilar. Essas propriedades de dissipação de calor permitiram o uso de voltagens mais elevadas para que se alcançassem mais rápidas separações.

Uma interessante analogia sobre EC e CLAE foi discutida em [Whatley \(1997\)](#). Neste artigo, é mencionado que o conceito de tempo de retenção (Tr), que é a medida do tempo decorrido entre a injeção de uma amostra e

a emergência de um pico analítico, em CLAE, é referido analogamente ao tempo de migração (T_m) da EC. O T_m , entretanto, difere do T_r em dois aspectos importantes. Primeiro, as amostras em EC não são, geralmente, retidas, permanecendo livres em solução. Isso pode parecer, à primeira vista, que pode não haver separação entre os compostos da amostra por não haver retenção seletiva. Segundo, as velocidades de migração desses compostos não retidos são diferentes. Esses compostos não retidos em CLAE movem-se todos à mesma velocidade, que é determinada pela taxa de fluxo. A EC, por sua vez, explora a tendência dos diferentes compostos a migrar a diferentes velocidades em um campo elétrico.

Em análises inorgânicas, os métodos de EC competem principalmente com a cromatografia iônica (CI). Em muitas aplicações, os métodos de CI podem ser realizados com sucesso por EC, com a vantagem de utilizar sua alta capacidade de separação e velocidade de análise ([JANOŠ, 1999](#)).

Há várias vantagens comerciais e de eficiência que a EC tem a oferecer sobre a CLAE. Entre elas estão incluídos: o reduzido tempo gasto para o desenvolvimento de métodos, proporcionado pela facilidade de mudança das condições operacionais; a alta eficiência na separação e análise de solutos que possuem limitações na absorção de raios UV. Entretanto, suas maiores desvantagens estão principalmente relacionadas ao instrumento, como a baixa precisão na injeção e na sensibilidade, quando comparado à CLAE ([ALTRIA, 1999](#); [JANOŠ, 1999](#)).

Os principais problemas encontrados no desenvolvimento inicial para a separação de cátions inorgânicos foram: a seletividade, em que a dificuldade era discriminar a mobilidade eletroforética de íons com condutâncias iônicas similares ou equivalentes, como o bismuto e o cobre, somente baseado em seus comportamentos migratórios; e a baixa sensibilidade do equipamento à detecção de íons inorgânicos, como o sulfato, que em sua maioria absorvem pouco na região do UV-Vis ([LIU et al., 1999](#)). A introdução da técnica de detecção indireta por UV fez com que o problema de sensibilidade da análise de íons metálicos fosse superado. A partir de então, as atenções se voltaram para a seletividade,

que é, segundo [Harakuwe e Haddad \(1999\)](#), a habilidade de uma técnica analítica de separar compostos analíticos. Em razão disso, os íons inorgânicos e seus complexos vêm sendo estudados por meio da combinação das técnicas de separação de alta performance e dos agentes de derivatização, que devem permitir boa seletividade e sensibilidade pela detecção indireta em UV.

Vários artigos relacionados à EC são publicados nos principais periódicos da área de química analítica e há, ainda, um periódico específico, o *Journal of Capillary Electrophoresis* (<http://www.iscpubs.com>). Também há muitas fontes de informação disponíveis na Internet relacionadas à EC, cujos endereços estão reunidos no sítio <http://www.ceandcec.com>.

A eletroforese não tem sido tipicamente aplicada para as análises de espécies neutras insolúveis em água, porém as técnicas cromatográficas são normalmente empregadas nessa área. O reconhecimento dessa limitação levou ao desenvolvimento da cromatografia micelar eletrocinética capilar, que é capaz de realizar tal separação. Além disso, a EC foi sendo desenvolvida a ponto de, atualmente, ser capaz de separar compostos neutros insolúveis com alta eficiência e rapidez ([ALTRIA, 1999](#)).

Nas aplicações para a análise de complexos metálicos, a eletroforese de zona capilar (EZC) é o modo de separação predominante em EC ([LIU et al., 1999](#)). A cromatografia capilar eletrocinética micelar (CCEM) também é bastante empregada, embora menos que a EZC. Conseqüentemente, a discussão a seguir será focalizada, principalmente, nos modos de separação por EZC. Ademais, esta revisão aborda a teoria da EC, os métodos de detecção, a derivatização e algumas aplicações.

Princípios envolvidos em eletroforese capilar

A eletroforese capilar, como o nome indica, é uma técnica eletroforética executada em um tubo capilar com diâmetro interno muito pequeno, usualmente de 20 μm a 150 μm e comprimento de 20 cm a 50 cm, que

permanece repleto de solução tamponada. A amostra é inserida para dentro do capilar no lado oposto ao do detector e caminha em sua direção, de modo que sua migração é conseguida por meio de um campo elétrico formado no interior do capilar. Os compostos presentes são separados por possuírem velocidades de migração diferentes, até que passam pela janela de detecção (Fig. 1)¹.

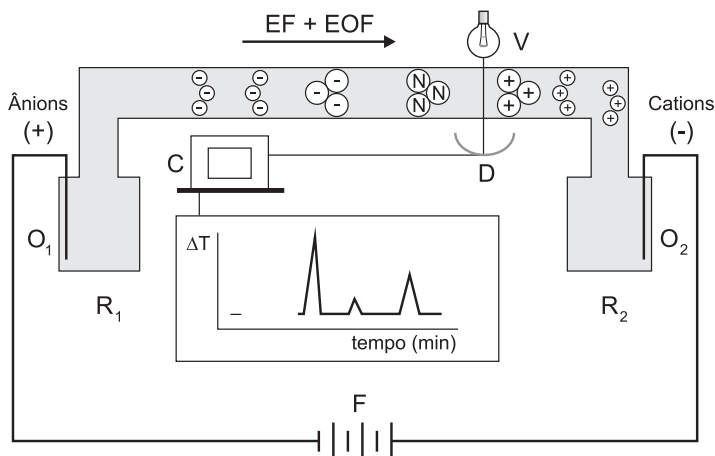


Fig. 1. Diagrama esquemático do sistema CE. R₁ e R₂ são os recipientes contendo solução eletrolítica onde se encontram os eletrodos (e₁ e e₂) conectados à fonte de potência (F). Os círculos brancos representam os íons, as áreas representam as massas, e os sinais negativos e positivos indicam as cargas. A detecção radial da absorção molecular é representada por uma fonte de radiação (V) e um detector (D) acoplado a um computador (C). No retângulo, é mostrado o registro temporal dos sinais ([GERVASIO et al., 2003](#)).

Na EC, além dos solutos, a solução tampão, normalmente, move-se através do capilar sob o efeito de um campo elétrico. Esse fenômeno é denominado fluxo eletrosmótico (FEO) ou eletro-endosmótico. Durante uma operação convencional, o FEO origina-se no ânodo e dirige-se ao cátodo em virtude da formação de uma dupla camada iônica na interface entre o capilar de sílica fundida e a solução nele contida.

¹ As técnicas utilizadas por EC estão descritas no item 3: *Métodos em EC*.

O volume de injeção normalmente usado é de 10 nL e 100 nL, sendo a técnica de injeção mais popular a hidrodinâmica, na qual o capilar é mergulhado dentro do frasco (um pequeno recipiente com tampa, usado especialmente para líquidos) contendo a amostra. O frasco é, então, pressurizado por um determinado tempo (25 a 500 mbar por 6 a 15 s), para que a solução seja forçada para dentro do capilar. Um procedimento de injeção menos popular é o de mergulhar o capilar junto com o eletrodo no frasco contendo a amostra e, em seguida, aplicar uma voltagem por um determinado tempo (3 a 10 kV por 5 a 30 s). Se a amostra está ionizada, com o uso da polaridade e da voltagem apropriadas, os íons irão migrar para dentro do capilar. Esse tipo de injeção é conhecido como amostragem eletrocinética (para uma detalhada discussão, ver [KRIVÁCSY et al., 1999](#)). Outros métodos comumente usados são: sistema de injeção de fluxo ([ARCE et al., 1997, 1999](#)), hidrostático ([SANTOYO et al., 2001](#)), eletromigração (SANTOYO et al., 2001), a vácuo, entre outros.

Quando uma corrente elétrica passa através de um capilar contendo um tampão eletroforético, é gerado calor. Quando a voltagem através de um capilar aumenta, a corrente dentro do capilar aumenta, gerando o calor de resistência, I (equação 1).

$$I \approx E K r^2, \quad (1)$$

em que E é a força do campo elétrico, K é a condutividade da solução e r é o raio do capilar. O calor é conhecido como calor de Joule. Quando esse calor aumenta, é produzido um gradiente de temperatura, ΔT , ao longo da seção do capilar dado pela equação 2.

$$\Delta T \approx E^2 K r^2 \quad (2)$$

Este gradiente ΔT causa diferentes zonas de migração no capilar e reduz a eficiência da separação eletroforética, causando o alargamento de picos. As equações 1 e 2, dessa forma, deixam claro que a redução no raio do

capilar, r , e a redução na condutividade do tampão, K , permitem o uso de um campo de elétrico, E , muito maior, o que diminui o tempo de análise significativamente. Um capilar de pequeno raio faz com que o calor produzido seja facilmente dissipado através de suas paredes.

Os capilares de sílica fundida tipicamente empregados em EC contêm grupos silanol (Si-OH; Fig. 2) que, em soluções com pH elevado, produzem uma superfície interna negativamente carregada (Si-O⁻; potencial zeta, ζ), responsável pelo fluxo eletrosmótico. Imediatamente adjacente à parede negativamente carregada do capilar, formam-se duas camadas: uma, chamada de dupla camada, de cátions fortemente atraídos, que se estabelecem nas paredes para preservar a eletroneutralidade do sistema; a outra, mais fracamente presa, é também de natureza catiônica.

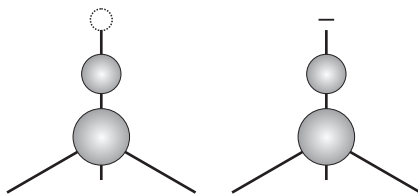


Fig. 2. Nesta ilustração, o Si (maior) está conectado a um oxigênio (menor) que, dependendo do pH do tampão adicionado ao capilar, se apresenta protonado, representado por um círculo pontilhado, ou ionizado, representado por um sinal negativo.

Quando é aplicado um gradiente de potencial de 50 kV m^{-1} , por exemplo, os cátions mais fracamente adsorvidos, com moléculas de água associadas, migram sobre a dupla camada, formando um fluxo de líquido no sentido do pólo negativo, o cátodo. Este fluxo, chamado de fluxo eletrosmótico (FEO) tem velocidade, v , dada pela equação 3.

$$v = \frac{\epsilon \zeta E}{\eta}, \quad (3)$$

em que ϵ é a permissividade da solução, ζ é o potencial zeta na parede do capilar, η é a viscosidade da solução e E , a força do campo elétrico. A mobilidade eletrosmótica, μ_{os} , por unidade de força de campo elétrico é dada pela equação 4.

$$\mu_{os} = \frac{\epsilon \zeta}{\eta} \quad (4)$$

O FEO arrasta moléculas neutras e mesmo moléculas negativamente carregadas para a extremidade catódica (Fig. 3). Fatores que afetam a densidade de cargas nas paredes do capilar, a espessura da dupla camada e a viscosidade da solução, afetam a intensidade do FEO. Dessa forma, o aumento da concentração eletrolítica e a adição de solventes orgânicos reduzem a espessura da dupla camada. A redução da carga superficial negativa pode ser efetuada pela adsorção ou ligação covalente de espécies neutras às paredes do capilar ou pela redução do pH, de modo que o excesso de cargas nas paredes do capilar seja ocupado por íons H^+ . Abaixo de pH 4, a ionização dos grupos silanol é pequena e, como consequência, o FEO é pequeno; acima de pH 9, os grupos silanol estão completamente ionizados e o FEO é intenso. A adição de sais de amônio quaternário ao eletrólito de corrida pode mudar a magnitude ou até mesmo a direção do FEO, além de influenciar a mobilidade dos compostos ([JANOŠ, 1999](#); [HSIEH et al., 2002](#)).

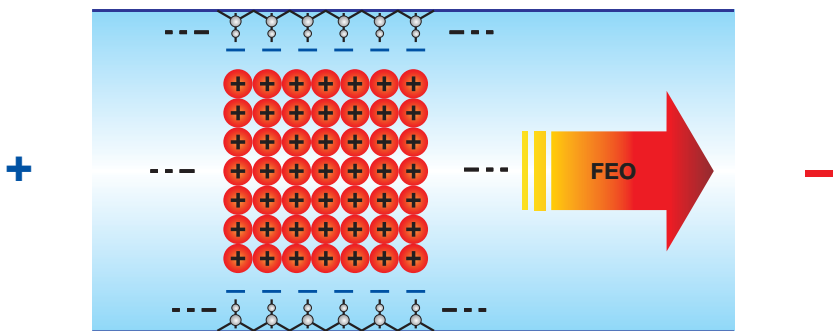


Fig. 3. Desenho esquemático do fluxo eletrosmótico (cátions) se movendo em direção ao ânodo (pólo negativo).

Os grupos silanóis presentes na superfície do capilar criam uma superfície carregada negativamente. Essa camada negativa na superfície atrai para sua proximidade as espécies carregadas positivamente da solução, formando uma camada positiva, a qual será mobilizada pela presença do campo elétrico. A atração dessa camada pelo cátodo arrasta a solução do interior da coluna, criando assim um fluxo com perfil reto, em contraste com o perfil parabólico (Fig. 4) que é criado em sistemas pressurizados como em CLAE ([GERVASIO et al., 2003](#)).

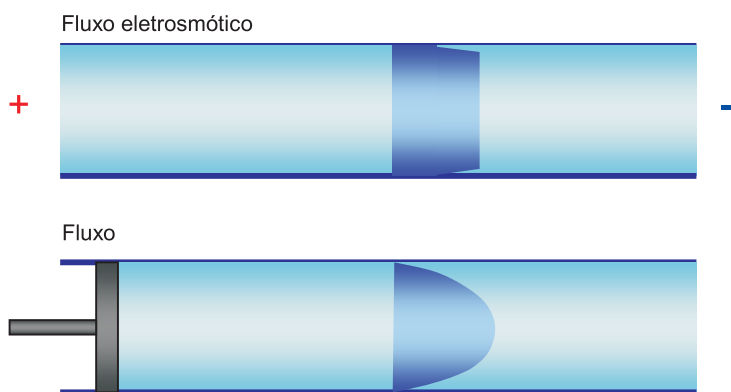


Fig. 4. Esquema do perfil de fluxo em um capilar em EC, perfil reto, acima, e em uma coluna em CLAE, perfil parabólico, abaixo.

O FEO proporciona duas grandes vantagens em relação à CLAE. A primeira delas é que cátions e ânions podem ser separados numa única análise. De outro modo, na ausência do fluxo eletrosmótico, seriam necessárias duas análises, uma com a polaridade negativa para a análise de cátions e a outra com a polaridade positiva para a análise de ânions, e as espécies neutras não se moveriam através do capilar. A outra vantagem é que os íons com razões carga/raio muito diferentes também podem ser analisados em um tempo relativamente curto por causa da magnitude do FEO.

A velocidade de migração dos íons para o eletrodo é governada pelo seu tamanho e número de cargas. Pequenas moléculas com um grande número de cargas irão se mover mais rapidamente que compostos

grandes ou menos carregados eletricamente. A velocidade de migração iônica é conhecida como mobilidade eletroforética. Para um objeto esférico, a relação da mobilidade, μ , e carga, q , é dado pela equação 5.

$$\mu = \frac{q}{f}, \quad (5)$$

Em que q é a carga molecular do íon e f é seu componente friccional (afeta o movimento dos íons em solução de acordo com a lei de Stokes). Seu componente friccional, f (equação 6), é o produto da viscosidade, η , do meio de separação e o raio da partícula carregada, r :

$$f = 6 \pi \eta r \quad (6)$$

A mobilidade efetiva, μ_e (equação 7) é, portanto, um parâmetro fundamental que pode ser aproximado pela teoria de Debye-Huckel-Henry ([SCHMITT-KOPPLIN et al., 1999](#); [LUCY, 1999](#)).

$$\mu_e = \frac{q}{6 \pi \eta r} \quad (7)$$

A força iônica e o pH do meio de separação, além de afetarem o FEO, como visto acima, afetam a carga dos analitos (JANOŠ, 1999). A mobilidade efetiva, μ_e , de ânions inorgânicos é, na EC, dependente da natureza e concentração de agentes complexantes adicionados ao eletrólito de corrida. Para isso, o tipo e a concentração dos solventes orgânicos usados variam amplamente, e sua escolha depende de seus efeitos na detecção, ruído na linha base, miscibilidade com o eletrólito de corrida etc. Álcoois alifáticos, acetonitrila e tetrahidrofurano têm sido amplamente utilizados como complexantes ([HADDAD et al., 1999](#)).

Há, como visto, diversas variáveis que podem afetar a mobilidade eletroforética. Propriedades dos analitos como tamanho e forma também afetam o coeficiente friccional, f , da molécula ([JANOŠ, 1999](#)). Além disso, as altas temperaturas ([Fig. 5](#)) dentro do capilar fazem com que a solução tampão se torne menos viscosa e os íons da amostra encontrem menor resistência à passagem através dela, aumentando, segundo a equação 5, a mobilidade eletrosmótica.

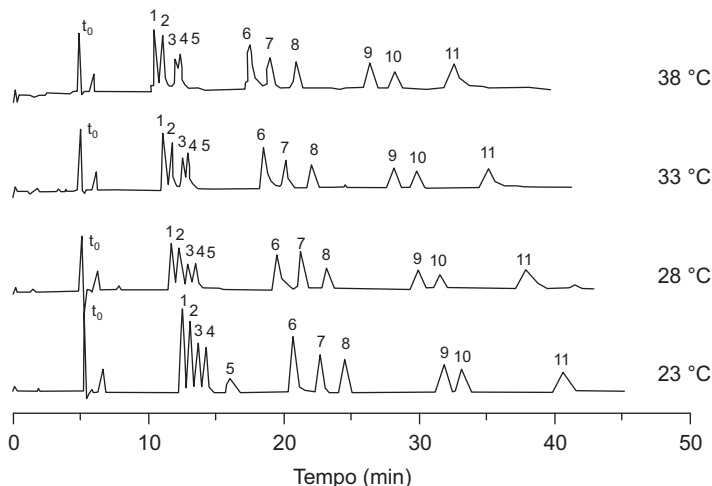


Fig. 5. Influência da temperatura na separação da fração ácido fúlvico do solo em uma coluna ODS 5 μ m, por ECC; fase móvel, 30 % ACN, tampão de fosfato 2 mM, pH 4,7; voltagem aplicada, 15 kV. Identificação: 1, 4-hidroxi-3-metoxiacetofenona; 2, 3,5-Dimetoxi-4-hidroxibenzaldeído; 3, 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona; 4, 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído; 5, 4-hidroxibenzaldeído; 6, 2-metoxifenol; 7, dimetoxibenzaldeído; 8, 3,4-dimetoxiacetofenona; 9, 3,4,5-trimetoxibenzaldeído; 10, 3,4,5-trimetoxiacetofenona; 11, 4-metoxiacetofenona (PING et al., 2003).

Métodos em EC

Os métodos comumente empregados em EC para a separação de íons inorgânicos são: eletroforese de zona capilar (EZC), o qual será discutido de forma mais profunda, e a cromatografia capilar eletrocínética micelar (CCEM). Entretanto, dependendo do objetivo da análise, pode-se usar, ainda, os seguintes métodos (Tabela 1): eletroforese de gel capilar (EGC), foco isoelétrico capilar (FIC) e a isotachoforese (ITF). Nos tópicos abaixo, faz-se uma breve descrição dos métodos mencionados.

Tabela 1. Seleção das técnicas de EC de acordo com a amostra a ser analisada¹.

Pequenos íons	Pequenas moléculas	Peptídeos	Proteínas	Oligonucleotídeos	DNA
EZC	EZC	EZC	EZC	EGC	EGC
ITF	CCEM	CCEM	EGC	CCEM	
	ITF	FIC	FIC		
		EGC	ITF		
		ITF			

¹Fonte: [Beckman Coulter \(1991\)](#).

Eletofórese de zona capilar (EZC)

A EZC é o modo de EC mais amplamente usado. É especialmente útil em determinações de ânions inorgânicos, sendo empregado em separações de solutos aniônicos e catiônicos em uma mesma análise. É essencialmente uma eletrofórese de “solução livre”, também, por isso, conhecida como eletrofórese capilar de solução livre. Na EZC, ânions e cátions, por apresentarem diferenças de mobilidade eletroforética entre si, migram em sentidos opostos, mas sempre se dirigem em sentido ao cátodo, porque a velocidade do fluxo eletrosmótico (FEO) é maior que a de migração dos analitos. Em uma análise típica, por exemplo, cátions chegam primeiro ao detector porque seu sentido de migração é o mesmo que o do FEO. Os solutos neutros chegam em seguida, mas eles não são separados uns dos outros, pois eles não possuem mobilidade em um campo elétrico e se movem com o FEO. Os ânions, por sua vez, chegam por último, pois sua migração é contrária ao FEO. Dessa forma, solutos que possuem diferentes mobilidades eletroforéticas irão migrar em zonas separadas. Eventualmente, os que possuem a mesma mobilidade eletroforética comigram em uma mesma zona. Essa é a origem do nome *zona*.

Na EZC, a separação é conduzida por um eletrólito de corrida. A mobilidade dos componentes dessa solução deve ser próxima à mobilidade dos analitos (JANOŠ, 1999). A discrepância entre esses valores causa picos assimétricos, o que é indesejável para a análise quantitativa. Segundo [Doble et al. \(2000\)](#) e [Zemman \(2001\)](#), a procura pelo eletrólito de corrida

adequado para a detecção indireta estará sempre comprometida com a mobilidade eletroforética dos compostos analíticos, com a concentração ótima, com o comprimento de onda de máxima absorção, com a absorção molar e com a carga. Na EZC, a mobilidade aparente, μ_{ap} , (equação 8) de um íon é a soma da mobilidade eletroforética, μ , inerente do composto e o FEO do capilar:

$$\mu_{ap} = \mu + FEO \quad (8)$$

Com base na discriminação do sentido, μ é oposta ou idêntica ao FEO. A EZC pode, todavia, ser dividida em duas subcategorias: (i) EZC contra eletrosmótica e (ii) EZC co-eletrosmótica ([LIU et al., 1999](#); [DOBLE et al., 2000](#)). Essas duas subcategorias são descritas nos tópicos abaixo.

A análise de íons como, por exemplo, nitrato e nitrito, pode ser realizada por EZC contra-eletrosmótica ([OKEMGBO et al., 1999](#)) ou co-eletrosmótica ([MELANSON; LUCY, 2000](#)). Deve-se salientar que, além de EZC contra e co-eletrosmótica, existe ainda a eletroforese capilar sem FEO (KANIANSKY et al., 1999; LIU et al., 1999).

Eletroforese de zona capilar (EZC) contra-eletrosmótica

Na maioria dos casos, os complexos metálicos mais freqüentes em EC são espécies aniônicas, e, desse modo, o sentido de μ desses complexos é oposto ao FEO. Complexos neutros podem também ser vistos como espécies aniônicas sem nenhuma carga negativa (migram em uma mesma zona com μ igual a do FEO). Para os complexos catiônicos, ocorre o contrário do que ocorre para complexos aniônicos (LIU et al., 1999). Conseqüentemente, a discussão da EZC contra e co-eletrosmótica será baseada apenas em espécies aniônicas.

A μ dos complexos metálicos é utilizada como força motriz para a separação. Segundo Liu et al. (1999), quando comparada à EZC co-eletrosmótica, a análise de ânions por EZC contra-eletrosmótica pode obter uma resolução mais próxima da ideal entre dois picos vizinhos, como descrito pelas equações 9 e 10.

$$\Delta t = t_2 - t_1 \quad (9)$$

$$\Delta t = \left(L_d \frac{L}{V} \right) \left[\frac{\mu^1 \mu^2}{(\mu_{os} + \mu^1)(FEO + \mu)} \right] \quad (10)$$

em que: Δt é a medida da diferença do tempo de migração entre dois picos vizinhos, t é o tempo de migração dos complexos metálicos, L é o comprimento total do capilar, L_d é o comprimento da entrada da amostra até o detector e V é a voltagem aplicada. Os símbolos 1 e 2 representam os picos vizinhos.

Em relação à equação 10, pode-se concluir que o sinal oposto de μ e FEO, em condições de EZC contra-eletoosmótica, irá aumentar o valor de Δt e, dessa forma, melhorar a resolução de separação.

Entretanto, há pequenos ânions inorgânicos que possuem alta mobilidade eletroforética em sentido oposto ao do FEO em um capilar não recoberto (de sílica fundida). Essa contra migração normalmente resulta em longos tempos de migração (T_m) e picos altamente difusos. Para tanto, o capilar pode ser recoberto para reverter a direção do FEO e a migração do soluto para o detector produzir separações rápidas e eficientes ([ALTRIA, 1999](#)) de forma que os ânions tenham mobilidade *co*-eletoosmótica.

Eletoforese de zona capilar (EZC) co-eletoosmótica

Para um sistema EZC co-eletoosmótico, o FEO deve ser efetivamente reverso. Muitas aproximações têm sido usadas para a reversão, tais como derivatização das paredes do capilar, aplicação de um potencial radial ao capilar e a adição de surfactantes catiônicos de longa cadeia. A adição de surfactantes catiônicos como compostos de sais de brometo de amônio quaternário, por exemplo, brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB), brometo de tetradeciltrimetilamônio (TTAB) ou brometo de dodeciltrimetilamônio (DTAB), é uma maneira conveniente para se reverter a direção do FEO,

sendo adotada pelos pesquisadores como a melhor escolha para a determinação de íons metálicos ([LIU et al., 1999](#); [DOBLE et al., 2000](#)).

[Vizioli \(2001a\)](#), separando os ânions cloreto, sulfato, nitrato, fluorato e carbonato, teve êxito com a EZC co-eletrósmótica, usando uma voltagem de 18 kV com polaridade invertida. Um alto valor de pH foi usado para que a mobilidade efetiva do sistema aumentasse. Nesse caso, o cromóforo, cromato de sódio, foi adicionado de CTAB para se inverter a direção do FEO de forma que se movimentasse na direção do ânodo, assim como os ânions analisados.

A concentração de surfactantes catiônicos no eletrólito de corrida pode influenciar a seletividade quando um par iônico é favorecido a altas concentrações do surfactante. Os efeitos de pares iônicos são mais pronunciados para ânions polares ou lipofílicos, mas outros ânions também podem sofrer mudanças desse tipo. A ordem reversa de migração entre nitrito e sulfato com o aumento da concentração de surfactante tem sido indicada como sendo uma associação iônica maior entre o sulfato e o surfactante, e o mesmo argumento tem sido usado para a mudança de seletividade entre cloreto e brometo a concentrações maiores que 0,6 mM de CTAB ou 0,5 mM de TTAB. Outro meio de se manipular a seletividade é misturando-se dois ou mais surfactantes juntos, entretanto, há algumas limitações práticas. O CTAB e TTAB são desvantajosos pela limitação da solubilidade e formação de associações iônicas insolúveis com os componentes do eletrólito de corrida. Além disso, a amplitude da faixa de pH pode ser limitada por causa da precipitação de compostos com o surfactante ([HADDAD et al., 1999](#)).

Enquanto surfactantes adicionados como modificadores dinâmicos das paredes do capilar são empregados para induzir a reversão do FEO ([Fig. 6](#)), o uso de um capilar recoberto pode ser considerado alternativamente como uma efetiva metodologia para se conseguir um sistema de EZC co-eletrósmótica com FEO zero (LIU et al., 1999).

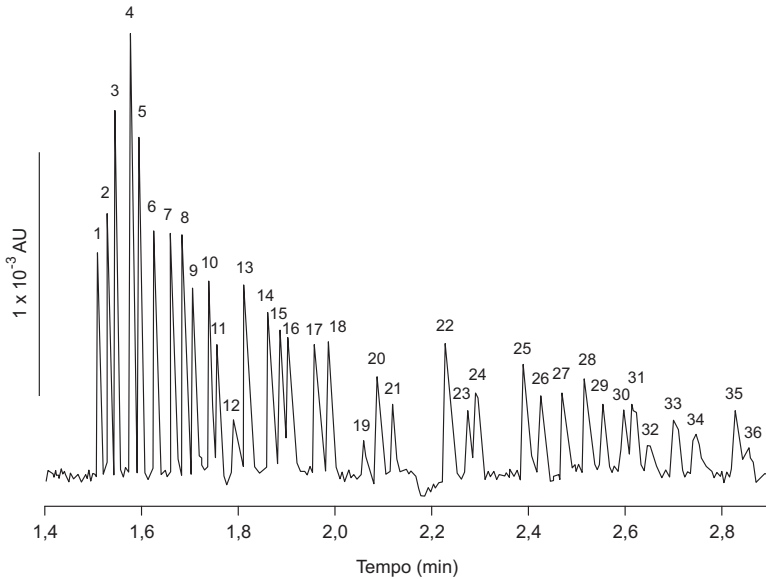


Fig. 6. Separação de ânions por EKC co-eletrósmótica, usando detecção por UV indireta. Condições: solução de fundo: 5 mM de cromato (cromóforo) e 0,5 mM de ânion-BT OFM Waters (surfactante) no pH 8,0. A injeção foi por eletromigração a 1 kV por 15 s. A voltagem de separação foi -30 kV e o comprimento de onda foi de 254 nm. Identificação dos solutos: 1, tiosulfato; 2, brometo; 3, cloreto; 4, sulfato; 5, nitrito; 6, nitrato; 7, molibdato; 8, azida (N_3^-); 9, tungstato; 10, monofluoroacetato; 11, clorato; 12, citrato; 13, fluoreto; 14, formato; 15, fosfato; 16, fosfito; 17, clorito; 18, glutarato; 19, *o*-ftalato; 20, galactarato; 21, carbonato; 22, acetato; 23, cloroacetato; 24, etanosulfonato; 25, propionato; 26, propanosulfonato; 27, DL-aspartato; 28, crotonato; 29, butirato; 30, butanosulfonato; 31, valerato; 32, benzoato; 33, L-glutamato; 34, pentanosulfonato; 35, D-gluconato e 36, D-galacturonato ([HARAKUWE](#); [HADDAD, 1999](#)).

Eletróforese de gel capilar (EGC):

A EGC é análoga à tradicional eletróforese de permeação em gel e é usada para as separações por tamanho de macromoléculas tais como oligonucleotídeos, fragmentos de DNA e proteínas ([Fig. 7](#)). A separação é realizada pelo enchimento do capilar com uma matriz tipo “peneira”, por exemplo, polímeros ligados em cruz, agarose ou mesmo soluções de polímeros lineares (poliacrilamida).

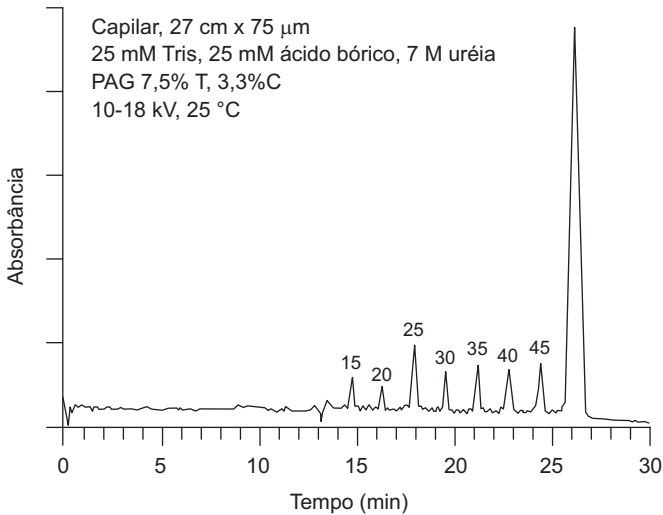


Fig. 7. EGC de um homopolímero sintético de timidina. Tampão, 25 mM Tris, 25 mM ácido bórico, 7 M uréia; gel de poliacrilamida, 7,5 % T, 3,3 % C. ([BECKMAN COULTER, 1991](#)).

Foco isoeletrico capilar (FIC)

O FIC é usado para separar moléculas biológicas, principalmente proteínas. O método é baseado nas diferenças entre o ponto isoeletrico (PI) dos solutos. A separação é realizada pelo enchimento do capilar com uma mistura de uma substância anfótera, fazendo-se, então, um gradiente de pH ao longo do capilar. Pela aplicação de um campo elétrico através do capilar com uma solução básica no cátodo e uma ácida no ânodo, os anfóteros e solutos migram até encontrarem a região onde suas cargas se tornam neutras ($\text{pH} = \text{PI}$). O anfótero e as zonas dos solutos permanecem em posições extremamente restritas, porque a difusão para uma zona de diferente pH resulta na geração de carga e, conseqüentemente, há uma volta à zona apropriada. O capilar deve ser recoberto internamente com metilcelulose ou poliacrilamida para suprimir o FEO. Após essa fase de "foco", a mobilização dos íons pode ser tanto catódica (Fig. 8) quanto anódica. Para isso, deve-se inserir, para a mobilização catódica, uma solução de hidróxido de sódio/cloreto de sódio no frasco catódico. Para mobilização anódica, adiciona-se cloreto de sódio ao frasco anódico. A

adição de sal modifica o pH no capilar quando a voltagem é aplicada. Com essa mudança, tanto proteínas, quanto os anfólitos vão migrar para o eletrodo no qual foi adicionado de sal.

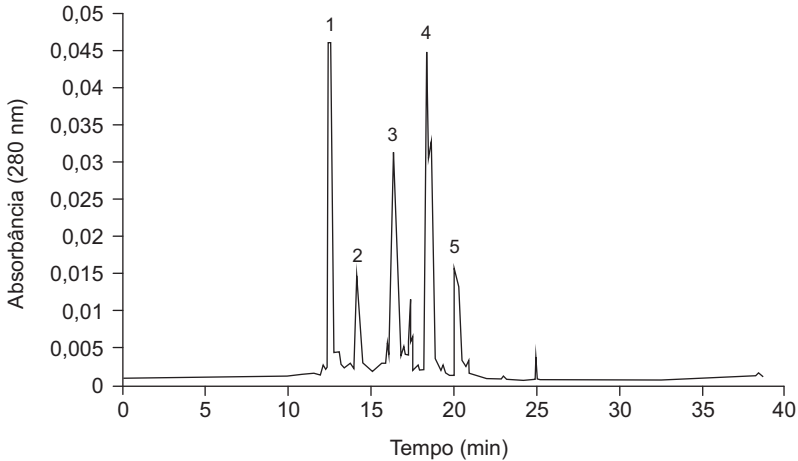


Fig. 8. Separação de uma mistura de proteínas por FIC. Limites de pH do anfólito, 3,5 a 10; frasco catódico, 50 mM de hidróxido de sódio; frasco anódico, 150 mM de ácido fosfórico; voltagem, 25 kV; mobilização (catódica), 50 mM de cloreto de sódio, 50 mM de hidróxido de sódio ([BECKMAN COULTER, 1991](#)).

Cromatografia capilar eletrocínética micelar (CCEM)

A CCEM é o único modo de EC que tem a capacidade de separar solutos neutros e carregados eletricamente ao mesmo tempo ([Fig. 9](#)). Na CCEM, são adicionados surfactantes iônicos em altas concentrações à fase móvel para a formação de micelas. As micelas formam estruturas tridimensionais em que as partes hidrofóbicas do surfactante ficam voltadas para o interior e a parte eletricamente carregada para o exterior da micela, formando agregados anfífilos. As moléculas mais hidrofóbicas irão se ligar à região hidrofóbica da micela do surfactante. A separação de solutos neutros é baseada na interação hidrofóbica dos solutos com a micela. Moléculas menos hidrofóbicas irão se ligar mais fracamente à micela. Quanto mais forte a interação, maior é a mobilidade dos solutos ligados à micela. A voltagem faz com que as micelas negativamente carregadas fluam mais lentamente que o

FEO. A seletividade da CCEM pode ser controlada pela escolha do surfactante e, também, pela adição de modificadores ao tampão. Mais detalhes sobre CCEM são discutidos em [Brumley et al. \(1994\)](#).

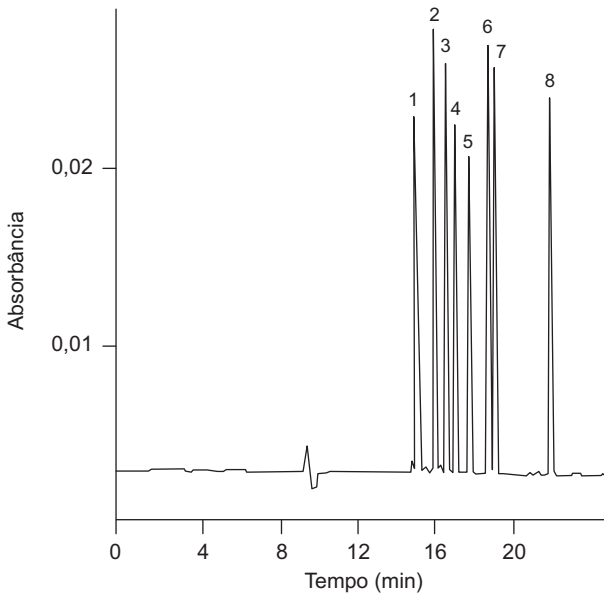


Fig. 9. Separação de corticosteróides por CCEM. Tampão, 100 mM colato de sódio, 100 mM borato, pH 8,45, 1, triamcinolone; 2, hidrocortisone; 3, betametasona; 4, acetato de hidrocortisone; 5, dexametasona; 6, acetonida triamcinolone; 7 acetanida fluocinolone; 8, flocinolone ([BECKMAN COULTER, 1991](#)).

Isotacoforese (ITF)

Como a FIC, a ITF não tem FEO e seu sistema tampão é heterogêneo, usando dois diferentes sistemas de tampão. Os solutos são “presos” entre eletrólitos (tampões) que conduzem (líder) e que são conduzidos (terminator), criando um equilíbrio no qual as zonas de solutos migram procurando a redução de sua mobilidade. Os solutos se separam em bandas da menor para a maior resistividade e não há tampão entre elas. Há dois aspectos que só são observados em ITF: um é que todos os solutos migram à mesma velocidade (isotaco = mesma velocidade), e o outro é que as amostras podem ser concentradas em muitas ordens de magnitude,

fazendo da ITF uma técnica útil para a análise de soluções diluídas. Como não há tampão entre as bandas, a linha do detector não volta à base (Fig. 10, gráfico de baixo), mas há uma reformulação da leitura em forma de picos feita por software (Fig. 10, gráfico de cima).

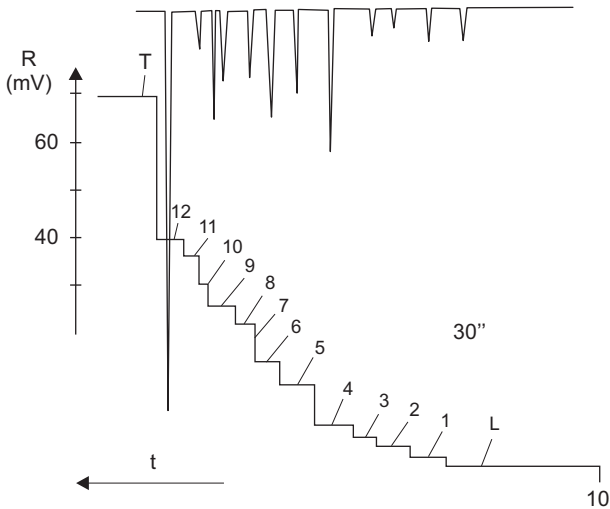


Fig. 10. ITF de uma mistura de ânions com detecção por condutividade. Capilar, 105 μm copolímero etileno-propileno fluorinado; líder, 10 mM ácido clorídrico titulado a pH 6 com histidina, 2 mM hidroxietilcelulose; terminator, 5 mM MES; corrente 10 μA . Detector: condutímetro (aumento de resistência); Líder (L), cloreto; 1, sulfato; 2, clorato; 3, cromato; 4, malonato; 5, adipato; 6, benzoato; 7, impureza; 8, acetato; 9, B-bromopropionato; 10, naftaleno-2-sulfonato; 11, glutamato; 12, enantato; Terminator (T), MES ([BECKMAN COULTER, 1991](#)).

Electrocromatografia capilar (ECC)

A ECC é a fusão da cromatografia líquida (CL) e da eletroforese capilar (EC). Na ECC, o capilar é empacotado com uma fase estacionária similar àquela usada em CL. Quando um campo elétrico é aplicado, o FEO migra através da coluna empacotada. Um perfil de velocidade uniforme é criado, o que minimiza a dispersão do pico ([Fig. 11](#)). A seletividade da separação (como em CL) depende da partição entre as fases estacionária e móvel. Isso permite alta eficiência de separação de compostos neutros com tempos de análise muito reduzidos.

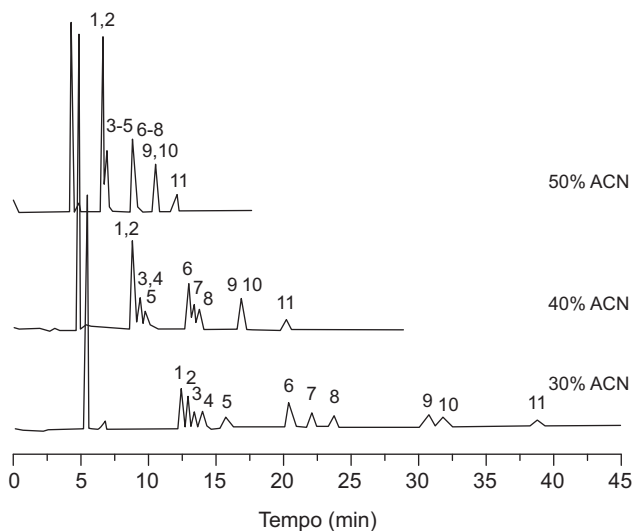


Fig. 11. Fração ácido fúlvico do solo analisada em ECC com uma coluna ODS, tampão acetato a 2 mM, pH 4,7; concentração de ACN (fase móvel) como indicado na figura; voltagem, 15 kV; temperatura da coluna, 23 °C. Separação na linha de base conseguida com 30 % de ACN. Identificação: 1, 4-hidroxi-3-metoxiacetofenona; 2, 3,5-Dimetoxi-4-hidroxibenzaldeído; 3, 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona; 4, 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído; 5, 4-hidroxibenzaldeído; 6, 2-metoxifenol; 7, dimetoxibenzaldeído; 8, 3,4-dimetoxiacetofenona; 9, 3,4,5-trimetoxi-benzaldeído; 10, 3,4,5-trimetoxiacetofenona; 11, 4-metoxiacetofenona (PING et al., 2003).

A EGC, ITF e FIC são métodos vastamente empregados para a separação de biomoléculas tais como proteínas, DNA, polissacarídeos e também usadas em aplicações ambientais mais específicas. Separações com EZC e CCEM podem ser utilizadas para uma ampla variedade de compostos analíticos de varias polaridades, desde ionizados (catiônicos ou aniônicos) a componentes neutros (MENZINGER et al., 2000). Todavia, o limite de detecção de cada um desses modos de EC depende dos compostos analíticos em questão, dos métodos de separação e dos detectores utilizados.

Detecção de Íons Inorgânicos

Para a detecção de íons metálicos, em geral, são usados tampões com baixo pH e capilares descobertos. Os limites de detecção, quando a detecção é indireta, são baixos o suficiente (mg L^{-1}) para a maioria das análises, mas podem ser consideravelmente melhorados usando-se injeção eletrocinética, caso a amostra tenha uma matriz de baixa condutividade ([ALTRIA, 1999](#)). Além disso, os limites de detecção podem ser muito mais baixos (ng L^{-1}) quando se acoplam detectores como espectrometria de massa com fonte de plasma (ICP-MS) ([Tabela 2](#)).

Os limites de detecção alcançados por Vizioli (2001b) com a injeção hidrodinâmica (0,5 psi por 10 s) para os cátions amônio, potássio, cálcio, sódio, magnésio e ferro foram: 0,1, 0,1, 0,03, 0,05, 0,04 e 0,08 mg L^{-1} , respectivamente e, por Vizioli (2001a), com a injeção eletrocinética (1 kV por 10 s) para os ânions cloreto, sulfato, nitrato, fluorato e carbonato foram: 0,2, 0,1, 0,5, 0,1 e 0,5 mg L^{-1} , respectivamente.

Os limites de detecção para detecção por UV indireta (equação 11) dependem do ruído da linha base (N_{BL}), da taxa de transferência (TT), que é o número de íons cromóforo deslocados por um íon analítico, da absorção molar do cromóforo (ϵ) e do comprimento do curso da célula de detecção (l) ([ALTRIA et al., 2001](#)):

$$\text{Limite de detecção} = \frac{N_{BL}}{TT \epsilon l} \quad (11)$$

Para que se possa entender como se processa a determinação dos íons metálicos e seus complexos, torna-se necessária a compreensão de como é forjada a detecção em EC.

A maior parte dos compostos analíticos como, por exemplo, a maioria dos íons inorgânicos, os ácidos e bases alifáticos e os açúcares não exibem absorção de luz suficiente para permitir a detecção fotométrica direta ([ALTRIA et al., 2001](#)). Dessa forma, outro meio deve ser utilizado para a detecção desses compostos. A forma de detecção mais popular é a detecção indireta.

Tabela 2. Compilação de diversos trabalhos envolvendo EC-ICP¹.

Analito	Matriz da amostra	Sistema de detecção	Eletrólito
Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺ , Sr ²⁺ , Cr ³⁺ ,	Solução de referência	ICP-AES ICP-MS	40 mmol L ⁻¹ de acetato de sódio (pH 8,2)
Cr ⁶⁺ , Sr ²⁺ , Sn ²⁺ , Co ²⁺ ,	Solução de referência	ICP-AES ICP-MS	60 mmol L ⁻¹ de cloreto de cálcio (pH 6,7)
As ³⁺ , As ⁵⁺ e Li ⁺	Solução de referência	ICP-AES ICP-MS	60 mmol L ⁻¹ de cloreto de cálcio (pH 6,7)
Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺ , K ⁺ , Y ³⁺ ,	Solução de referência	ICP-MS	13 e 2,7 mmol L ⁻¹ de cloreto de cálcio (pH 6,0)
Co ²⁺ e Li ⁺	Solução de referência	ICP-MS	13 e 2,7 mmol L ⁻¹ de cloreto de cálcio (pH 6,0)
La ³⁺ , Mn ²⁺ , Co ²⁺ e Ni ²⁺	Solução de referência	ICP-MS	20 mmol L ⁻¹ acetato de amônio (pH 7,0)
Cd ²⁺	Solução de referência de metalotioneína	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,1)
Cd ²⁺ e Fe ²⁺	Solução de referência de metalotioneína e Ferritina	ICP-MS	20 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,0)
Cd ²⁺	Solução de referência de metalotioneína	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,1)
Co ²⁺	Solução de referência de coenzima B ₁₂	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,1)
As orgânico e inorgânico	Solução de referência	ICP-MS	6 mmol L ⁻¹ ácido 2-hidroxiisobutírico (pH 4,3)
Cr ³⁺ , Cr ⁶⁺ e Cu ²⁺ - EDTA	Solução de referência	ICP-AES	4 mmol L ⁻¹ acetato de sódio (pH 7,2) 5 mmol L ⁻¹ HNO ₃
Cd ²⁺ e Zn ²⁺	Solução de referência de metalotioneína	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,0)
Cd ²⁺ e Zn ²⁺	Solução de referência de metalotioneína	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,0)
Ti ⁺ , Si ²⁺ , Pb ²⁺ , Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Cd ²⁺ , K ⁺ e Li ⁺	Solução de referência	ICP-MS	10 mmol L ⁻¹ nitrato de amônia e 5 mmol L ⁻¹ fenantrolina (pH 8,75)
Se ⁴⁺ , Se ⁶⁺ e As orgânico e inorgânico	Solução de referência	ICP-MS	2,3 mmol L ⁻¹ ácido piromelítico e 6,5 mmol L ⁻¹ hidróxido de sódio e 1,6 mmol L ⁻¹ trietanolamina e 0,75 mmol L ⁻¹ Hidróxido hexametônio (pH 7,7)
Cd ²⁺ e Zn ²⁺	Solução de referência	ICP-MS	20 mmol L ⁻¹ acetato de amônio (pH 7,8)
Cr ³⁺	Solução de referência	ICP-MS	4 mmol L ⁻¹ cloreto de lantânio (pH 3,0)

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Análito	Matriz da amostra	Sistema de detecção	Eletrólito
Cr ³⁺ e Cr ⁶⁺	Solução de referência	ICP-AES	2 mmol L ⁻¹ acetato de sódio (pH 5,0)
Ba ²⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Cr ³⁺ e Cd ²⁺	Solução de referência	ICP-MS	6,55 mmol L ⁻¹ ácido 2-hidroxiisobutírico e 5,0 mmol L ⁻¹ 4-metilbenzilamina
Cr ³⁺ e Cr ⁶⁺	Água de rio	ICP-MS	20 mmol L ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ · H ₂ O e 0,5 mmol L ⁻¹ TTAOH (pH 8,0)
Hg orgânico e inorgânico	Solução de referência	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ NaHCO ₃ /Na ₂ CO ₃ (pH 11) e 20 mmol L ⁻¹ SDS e 0,2% (m/v) L-cisteína
Hg orgânico e inorgânico	Material certificado de fígado de peixe e pâncreas de lagosta	ICP-MS	25 mmol L ⁻¹ cloreto de cálcio
As orgânico e inorgânico	Água mineral	Hg-ICP-MS	20 mmol L ⁻¹ C ₈ H ₅ KO ₄ e 20 mmol L ⁻¹ H ₃ BO ₃ (pH 9,03)
As orgânico e inorgânico e Se	Água mineral	Hg-ICP-MS	20 mmol L ⁻¹ C ₈ H ₅ KO ₄ e 20 mmol L ⁻¹ ácido bórico (pH 9,03)
As orgânico e inorgânico	Erva medicinal da China	Hg-ICP-MS	25 mmol L ⁻¹ Na ₂ HPO ₄ · H ₂ O (pH 6,5)
La ³⁺ , Ce ³⁺ , Nd ³⁺ , Sm ³⁺ , Cd ²⁺ , Tb ³⁺ , Dy ³⁺ , Ho ³⁺ , Er ³⁺ , Tm ³⁺ , Yb ³⁺ e Lu ³⁺	Solução de referência	ICP-MS	4 mmol L ⁻¹ ácido 2-hidroxiisobutírico
Cd ²⁺ e Zn ²⁺	Solução de referência de metalotioneína	ICP-MS	5 mmol L ⁻¹ acetato de amônio (pH 6,0)
Cd ²⁺ e Zn ²⁺	Solução de referência de metalotioneína e proteínas de bactérias	ICP-MS	50 mmol L ⁻¹ Tris (pH 9,0)

¹Fonte: [Gervasio et al. \(2003\)](#).

A detecção indireta é possível em todos os casos nos quais o eletrólito de corrida tem a propriedade de ser perceptível por um detector seletivo. A aproximação mais simples desse tipo é a detecção indireta por UV. Usando esse tipo de eletrólito de corrida, os componentes que não são absorvidos por UV em uma amostra serão detectados como picos negativos, porque haverá menos luz absorvida quando eles passarem pela célula do detector ([MEYER, 1993](#)).

A detecção indireta é conseguida com o uso de um co-íon (um íon com a mesma carga do íon analítico), chamado cromóforo, que é adicionado à solução eletrolítica de corrida. O deslocamento do co-íon pelo íon analítico leva a um decréscimo quantificável na absorbância do eletrólito de corrida ([DOBLE; HADDAD, 1999](#); [HADDAD et al., 1999](#); [ALTRIA et al., 2001](#)). Os agentes visualizadores (cromóforos) envolvem, por exemplo, sais de Cu^{II} , cromato, aminas aromáticas e compostos heterocíclicos ([PACÁKOVÁ et al., 1999](#)). Frequentemente, para a detecção de ânions inorgânicos com o uso de detecção UV indireta, usam-se ânions ativos em UV tais como cromato ftalato ou piridina ácido carboxílico ([ALTRIA, 1999](#)).

O uso de eletrólitos com base em cromato para a separação de pequenos ânions é vantajoso por sua alta absorção molar bem como por causa de sua alta mobilidade eletroforética ([KUBÁŇ et al., 1999b](#)). O'Reilly et al. (2001) relatam que, além da detecção indireta, a detecção direta e mista (direta e indireta) também têm sido empregadas apesar da universalidade da detecção indireta.

A detecção direta (UV-Vis) só é possível quando o ligante usado pela reação de complexação contiver um cromóforo. Vários íons metálicos como Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} e Cd^{2+} formam complexos com cianeto. Analogamente, Fe^{2+} e Fe^{3+} formam complexos com *o*-fenantrolina na presença de EDTA e Au^{3+} com cloreto que pode ser detectado espectrofotometricamente ([PACÁKOVÁ et al., 1999](#)).

A detecção direta é sugerida para a determinação de ânions inorgânicos traços, específicos em amostras contendo altas concentrações de outros

ânions, onde os compostos analíticos possuem absorção pela detecção em UV direta, mas os ânions matrizes não ([TIMERBAEV et al., 2000](#)).

Dentre as detecções fotométricas, destaca-se, ainda, a fluorescência indireta ([SANTOS et al., 2000](#); [LISTA et al., 2001](#)). Nesse modo de detecção, espécies fluorescentes, em vez de absorventes, são usadas como cromóforos. O deslocamento do fluoróforo pelo íon analisado leva a um decréscimo quantificável na fluorescência do eletrólito de corrida. As maiores vantagens desse método são que, tal qual a detecção indireta, é universal em sua aplicabilidade, mas é pelo menos uma ordem de magnitude mais sensível que aquela. Entretanto, há poucos fluoróforos disponíveis atualmente ([DOBLE; HADDAD, 1999](#)).

Além desses detectores, ainda existem o de condutividade ([TIMEBAEV; BUCHBERGER, 1999](#); [WILLIAMS; BOUCHER, 2000](#); [ZEMMAN, 2001](#)), o eletroquímico ([KAPPES; HAUSER, 1999](#); [TIMEBAEV; BUCHBERGER, 1999](#)), e de espectrometria de massa (EM) ([CAI; HENION, 1995](#); [TIMEBAEV; BUCHBERGER, 1999](#)), espectrometria de massa com fonte de plasma ([CASLOT et al., 1998](#); [CHAN; CHAN, 1999](#); [HOLDERBEKE et al., 1999](#); [DENG; CHAN, 2000](#); [GERVASIO et al., 2003](#); [PYRZYÒSKA, 2001](#)), radioativo e o de reação de pós-coluna (Tabela 3).

Tabela 3. Limites de detecção típicos para diversos detectores¹.

Detector	LD (mol L ⁻¹)
Absorção no UV-vis	10 ⁻⁵ – 10 ⁻⁸
Fluorescência direta (lâmpada)	10 ⁻⁷ – 10 ⁻⁹
Fluorescência induzida por laser	10 ⁻¹⁴ – 10 ⁻¹⁶
Amperometria	10 ⁻⁸ – 10 ⁻⁹
Raman	10 ⁻⁶ – 10 ⁻⁷
Espectrometria de massa	10 ⁻⁴ – 10 ⁻⁹
Índice de refração	10 ⁻⁵ – 10 ⁻⁶
Condutividade	10 ⁻⁵ – 10 ⁻⁶

¹Fonte: [Santos et al., 2000](#).

[Zemman \(2001\)](#) afirma que a detecção por condutividade tem muitas vantagens sobre a detecção indireta por UV para a análise de compostos inorgânicos, mas ainda há necessidade de muita melhora nesse equipamento, até que um bom sistema de detecção esteja disponível para os usuários, principalmente, quando se leva em consideração o preço.

Detecção indireta: taxa de transferência e função reguladora de Kohlraush

O grau de deslocamento do cromóforo (co-íon) pelos íons em análise é conhecido como taxa de transferência (TT). A TT é definida como o número de moles do cromóforo que é deslocado por um mol do íon analítico. Como a resposta do detector é proporcional à TT, um maior valor de TT resulta em uma maior área em um pico analítico. Em um nível intuitivo, pode-se esperar o deslocamento em base de equivalente por equivalente de maneira que, por exemplo, a TT entre um soluto com uma carga e um cromóforo com uma carga pode ser a unidade.

Conseqüentemente, as áreas dos picos para íons de mesma carga e a concentração poderiam ser as mesmas, permitindo a possibilidade teórica de calibração de cada componente sem a necessidade de curvas de calibração separadas. Entretanto, há uma relação não linear entre a área do pico e a mobilidade efetiva das espécies iônicas para uma amostra de composição equimolar. Esse comportamento pode ser explicado considerando-se o mecanismo de separação eletroforético para constituintes iônicos totalmente ionizados, o qual pode, aproximadamente, ser descrito pela função reguladora de Kohlraush (ω) (equação 12) ([DOBLE; HADDAD, 1999](#)):

(12)

Em que c_i , z_i e μ_i representam a concentração iônica, valores absolutos das cargas e os valores absolutos das mobilidades efetivas de todos os constituintes iônicos, respectivamente. Como conseqüência da função reguladora de Kohlraush, a mobilidade do cromóforo e suas propriedades

ópticas devem ser consideradas. Simplificadamente, os picos analíticos são formados pelo deslocamento dos co-íons, entretanto, a mobilidade dos íons analíticos e do co-íon deve ser próxima, para que não haja uma mínima “distorção” nos picos.

Derivatização

Para cátions metálicos, muitos dos quais possuem cargas idênticas e raios hidratados quase idênticos, as diferenças nas mobilidades iônicas, entre 40 (Li^+) a 80 (Rb^+) $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$, não são suficientes para prover uma boa separação (JANOŠ, 1999; HADDAD et al., 1999). A mobilidade de membros individuais dos principais grupos de íons metálicos, tais como os lantanídeos ou os metais de transição, são freqüentemente similares de modo que a separação dessas espécies poderia demandar uma eficiência extremamente alta. A solução para esse dilema é o uso de ligantes auxiliares, os quais introduzem equilíbrios secundários na separação por meio da formação de complexos com os íons metálicos, levando a uma substancial melhora na seletividade. Para espécies analíticas presentes, as quais estão em equilíbrio cinético entre as suas formas estáveis, a mobilidade efetiva do composto analítico é definida como a média ponderada de todas as mobilidades de cada uma das formas. Os íons metálicos são separados como espécies tanto parcialmente como totalmente complexadas com o ligante auxiliar (HADDAD et al., 1999).

Os agentes complexantes usados nesse tipo de separação são usualmente ácidos orgânicos fracos, sofrendo dissociação/protonação de acordo com as equações 13 e 14 (JANOŠ, 1999).



$$K_{Hi} = \frac{[H_i L^{i-y}]}{[H^+][H_{i-1} L^{i-y-1}]} \quad (14)$$

Em que K_{Hi} são as constantes de protonação. Como a quantidade de ligante ligada aos complexos é pequena em comparação com o total de ligante presente no eletrólito de corrida, a concentração total de ligantes C_L pode ser expressa pela equação 15 ([JANOŠ, 1999](#)).

$$C_L = \sum_{i=0}^Y [H_i L^{i-Y}] = [L^Y] \sum_{i=0}^Y K_{Hi} [H^+] \quad (15)$$

Os agentes complexantes mais comumente usados em separações de metais por EC são ácidos orgânicos simples, tais como fórmico ([VIZIOLI, 2001b](#)), acético, láctico, α -hidroxiisobutírico (HIBA) ([PANTSAR-KALLIO; MANNINEN, 1995](#); [VIZIOLI, 2001b](#)), oxálico, malônico, tartárico, succínico e cítrico. Entretanto, a adição de um ligante forte (di ou polivalente) irá se manifestar mais fortemente em EC que em CI por causa da formação (em muitos casos) de complexos aniônicos. Esses complexos não sofrem o processo de retenção de troca iônica em CI, mas podem contribuir significativamente para o processo de migração em EC. Portanto, agentes complexantes relativamente fracos são utilizados para um fino ajuste das condições operacionais em EC, enquanto o tartarato e o citrato, que são agentes complexantes mais fortes, são componentes típicos das fases móveis usadas em CI ([JANOŠ, 1999](#)).

Complexos ligantes inorgânicos, particularmente aqueles diferentes em carga e número de ligantes coordenados, podem usualmente ser separados sem ajustes especiais em uma composição eletrolítica que é um importante benefício para manter a distribuição original da amostra. Dessa forma, cátions complexados inertes, tais como íons cloroaquadromo (III) ou amino-complexos de cobalto (III) são separados usando um eletrólito ácido simples ([TIMERBAEV, 2000](#)).

O EDTA é conhecido por formar quelatos 1:1 com um grande número de cátions metálicos nos estados de oxidação II a IV. Os quelatos são usualmente não absorventes a comprimentos de onda maiores que 220 nm

e são estáveis em uma larga faixa de pH. Se o sal EDTA tetrasódio é usado para complexação com cátions de valência II e III, o quelato metal-EDTA possuirá uma carga líquida negativa e pode, dessa forma, ser separado em um modo de separação aniônica ([KUBÁŇ et al., 1999b](#)).

A derivatização de cátions inorgânicos com ligantes é realizada de duas formas:

- i) Complexação in situ, que é realizada dentro do capilar.
- ii) Complexação pré-coluna, em que os complexos metálicos são formados antes da injeção.

Complexação in situ

O método de complexação in situ requer uma rápida reação entre os íons metálicos e os ligantes dentro do capilar com a formação de complexos fracos ([LIU et al., 1999](#)). Esse método é efetuado adicionando-se um ligante ao eletrólito de corrida de forma que um rápido equilíbrio entre os metais livres e seus complexos seja estabelecido. Os complexos formados têm taxas de migração distintas por possuírem diferentes cargas e porcentagens de complexação (geralmente incompleta). Boas separações têm sido conseguidas com agentes complexantes, como os ácidos orgânicos: lático, succínico, malônico, tartárico e cítrico ([PACÁKOVÁ et al., 1999](#)). A complexação com α -HIBA é freqüentemente usada.

Os agentes complexantes devem ([PACÁKOVÁ et al., 1999](#)):

- i) Conter os grupos ligantes adequados (hidroxila e carboxila).
- ii) Absorver energia a comprimentos de onda diferentes do absorvidos pelos complexos formados.
- iii) Não interferir com o equilíbrio dos complexos.

Complexação pré-coluna

O método de complexação pré-coluna tem a vantagem de formar reações completas de complexação dos íons metálicos com os ligantes pelo uso de altas concentrações de ligantes. Como há um equilíbrio dinâmico entre íons metálicos, ligantes e os complexos formados, pode ocorrer, durante a eletroforese, uma dissociação dos complexos formados. Esse problema pode ser facilmente resolvido incorporando-se mais ligantes ao tampão ([LIU et al., 1999](#)).

O número de ligantes não afeta a separação, mas os componentes do tampão ou a competição entre os ligantes complexados a afetam. Os cálculos das mobilidades efetivas são mais complicados que no caso da complexação in situ, de forma que todo o equilíbrio deve ser incluído na predição da separação ([PACÁKOVÁ et al., 1999](#)).

Exemplos de complexação pré-coluna, de grande importância na avaliação toxicológica ambiental, são a determinação simultânea de Cr^{III} e Cr^{VI} e a especiação de alumínio, ilustradas respectivamente nas [Fig. 12](#) e [13](#).

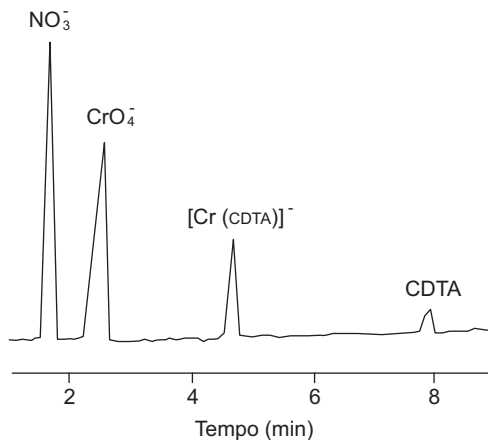


Fig. 12. Determinação simultânea de Cr (III) e Cr (VI). Eletrólito: 10 mmol/L tampão formato, pH 3; Capilar: sílica fundida, 50 cm x 75 mm; Voltagem: - 25 kV; Detecção direta: 214 nm; O pico do nitrato é resultante do sal de crômio (III) utilizado; CDTA (ácido 1,2 ciclohexanodiaminotetracético); ([JAGER; TAVARES, 2001](#)).

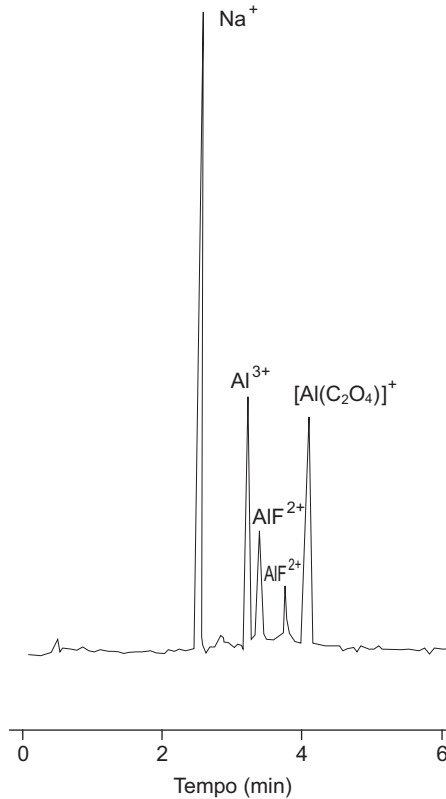


Fig. 13. Especificação de alumínio após reação de complexação com fluoreto e oxalato. Eletrólito: 5 mmol L⁻¹ imidazol, 1 mol L⁻¹ ácido sulfúrico, pH 3,5; Capilar: sílica fundida, 45 cm x 75 mm; Injeção: 10 s, 10 cm; Voltagem: 16 kV; Detecção indireta: 214 nm (a inversão da polaridade do detector permite a visualização de picos positivos); ([JAGER; TAVARES, 2001](#)).

Escolha dos ligantes

A influência do ligante selecionado para complexação com íons metálicos é, evidentemente, direta e efetiva na sensibilidade de detecção. Oligante com mais alta absorção molar tem um menor limite de detecção, de acordo com o método espectroscópico de medida descrito pela lei de Beer².

² Relação entre transmissão e concentração: a intensidade de um feixe de luz monocromática diminui exponencialmente com a concentração da substância absorvedora. Portanto, se a substância possui alto coeficiente de absorção molar, seu limite de detecção será mais baixo.

Subseqüentemente, a estabilidade do complexo pode também ser levada em conta como um fator importante. Isso determina a concentração de ligante adicionado ao tampão carreador. Uma alta concentração de ligante no tampão significa uma menor detecção do cromóforo e uma maior razão de sinal para ruído ([LIU et al., 1999](#)).

Na área de aplicação da EC, para se analisar os complexos metálicos, a seleção e a utilização de ligantes são, sem dúvida, a chave para se alcançar o resultado desejado. Um bom reagente de derivatização deve cumprir os requerimentos (LIU et al., 1999):

- i) Ser facilmente sintetizado e purificado para garantir sua pureza.
- ii) Deve formar complexos estáveis, sensíveis e em um simples estado com vários elementos sobre condições controladas.
- iii) O complexo formado deve permanecer estável no capilar durante a eletroforese.
- iv) Os comprimentos de onda de máxima absorção dos complexos investigados durante a eletroforese devem ser próximos uns dos outros e distantes do ligante para uma boa detecção.

Para se escolher ligantes de derivatização, é recomendada a pesquisa em tabelas produzidas por meio de resultados de separação, tanto de íons metálicos, como de seus complexos ou outras substâncias, obtidos na literatura, compilados de diversos autores. Pode-se encontrá-las em Liu et al. (1999) e em [Timebaev e Buchberger \(1999\)](#).

Os ligantes na Fig. 14 aparecem todos em posição diferente da dos complexos formados (posição 1). Os três primeiros ligantes (EDTA, HEDTA e DTPA) da [Fig.14](#) formaram dois diferentes complexos de Cr^{III} sob as condições de derivatização. Em contraste, apenas um pico do complexo de

Cr^{III} foi observado quando foram usados NTA e 2,6-PDCA (ácido 2,6-piridino-carboxílico). Entre os dois últimos ligantes, o complexo de Cr^{III} com 2,6-PDCA foi o que obteve maior absorção em UV.

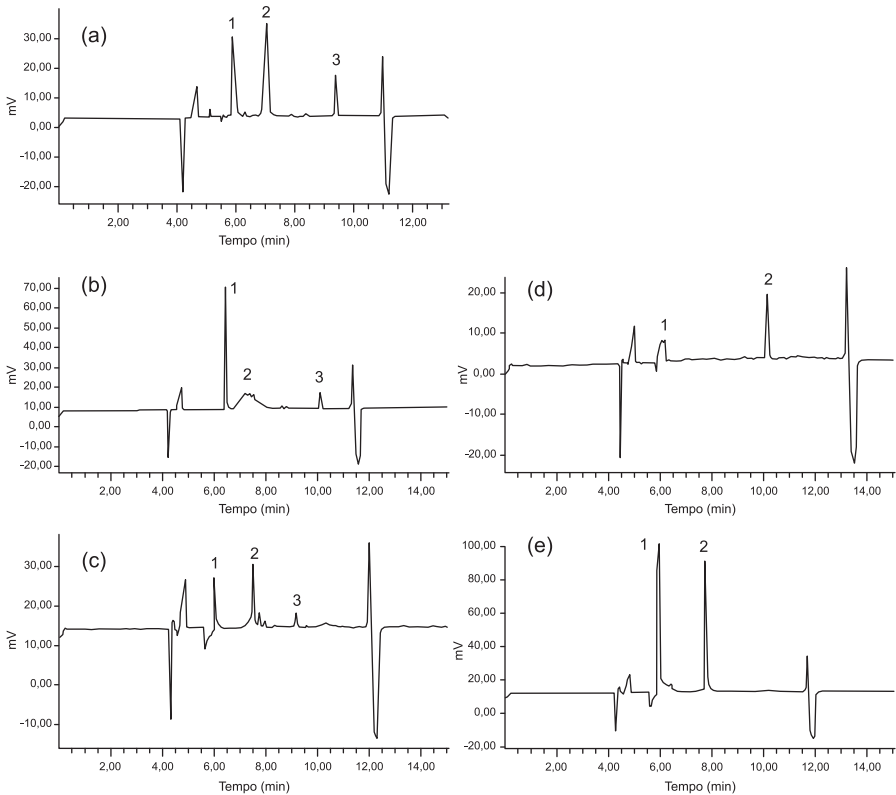


Fig. 14. Eletroferogramas de Cr^{III} complexado com vários ligantes. a) EDTA, b) HEDTA, c) DTPA, d) NTA, e) 2,6-PDCA. 1, ligante livre; 2, Complexo de Cr^{III} (I); 3, Complexo de Cr^{III} (II). 0,25 mM para Cr^{III} . Condições: capilar de sílica fundida de 80 cm x 50 mm; eletrólito, 25 mM de fosfato de sódio, 0,25 mM TTAB, 15 % (v/v) de acetonitrila a pH 6,4; potencial aplicado, 20 kV; injeção hidrostática, 30 s, detecção por UV a 185 nm. Temperatura do capilar, 25 °C (CHEN et al., 2001).

Escolha do Tampão

Quando se usa uma alta voltagem de separação, ocorre um fenômeno indesejável, porém inevitável, chamado de eletrólise do eletrólito. Como resultado, o pH do eletrólito na superfície do eletrodo muda para um pH baixo no frasco anódico, e elevado no catódico. Essa mudança de pH ocorre gradualmente por meio da solução no frasco do eletrólito por difusão e convecção. A mudança no pH depende não somente da carga total, mas também do volume de eletrólito e do tamponamento do eletrólito. ([ALTRIA et al., 2001](#)).

Pelo modo de detecção indireta, é de vital importância a avaliação do tampão a ser usado em relação ao eletrólito de corrida de forma que, com a adição de quaisquer íons tamponantes, que possuam a mesma carga do cromóforo, possa se estabelecer um processo de deslocamento competitivo com os íons analíticos, levando a uma perda na sensibilidade de detecção. Picos sistêmicos também podem aparecer nessas circunstâncias ([HADDAD et al., 1999](#)).

Há quatro possíveis maneiras para tamponar eletrólitos, quando se pretende usar detecção indireta ([DOBLE et al., 2000](#)):

- i) Usando um ácido fraco, como o cromóforo, como um tampão.
- ii) Tamponando com contra-cátions.
- iii) Adicionando um tampão co-aniônico.
- iv) Adicionando um anfólito que tampona em seu ponto isoelétrico.

O uso de um ácido fraco como benzoato e ftalato são exemplos típicos. As desvantagens óbvias são que a faixa de pH tamponante é limitada a uma estreita região de aproximadamente uma unidade de pH de cada lado do

pK_a do cromóforo, e a capacidade tamponante é limitada pela concentração do cromóforo. Também, se o cromóforo age como um tampão, ele deve ser parcialmente ionizado e irá, portanto, possuir uma pequena mobilidade, sendo útil, apenas, para análises em que os ânions possuam mobilidades intermediárias a baixas. Apesar disso, esse método de tamponamento tem a vantagem da simplicidade, fácil preparação de eletrólitos de corrida e é livre da interferência de co-íons ([HADDAD et al., 1999](#); [DOBLE et al., 2000](#)).

O tamponamento com contra-cátions tem a vantagem de o eletrólito de corrida possuir somente um ânion (o cromóforo). Entretanto, a capacidade tampão ainda é limitada pela concentração do cromóforo, porque tanto o tampão quanto o ânion cromóforo são adicionados em iguais concentrações (DOBLE et al., 2000).

Tampões co-aniônicos (que têm a mesma carga do cromóforo e compostos analíticos) dependem de um deslocamento seletivo pela mobilidade do cromóforo. Esse deslocamento seletivo pode ser definido como a tendência que um composto analítico tem de deslocar um co-ânion que deve possuir uma semelhante mobilidade³. A mobilidade do composto analítico, portanto, deve ser mais próxima do cromóforo que a do tampão (DOBLE et al., 2000).

O último tipo de tampão é o anfólito ([Tabela 4](#)), como histidina, lisina ou ácido glutâmico. Quando um anfólito é dissolvido em água pura, o pH da solução é próximo ao PI do anfólito. Nessas condições, o anfólito existe como uma forma zwitteriônica, estando no ponto isoelétrico e, portanto, não interfere na detecção indireta (não competindo como um co-íon). Um anfólito irá tamponar a seu PI, quando o valor de pK_a de dois grupos tamponantes de cada lado do PI estão próximos (dentro de uma unidade de

³ Ver item 4.1: Detecção indireta: Taxa de transferência e função reguladora de Kohlraush

pH). Adicionalmente, o anfólito em seu PI não contribui para a condutividade da solução e pode ser adicionado em quantidades suficientes para prover boa capacidade tamponante. Há poucos anfólitos que são tampões efetivos ([HADDAD et al., 1999](#); [DOBLE et al., 2000](#)).

Tabela 4. Tampões utilizados em EC¹.

Tampão	Limites de pH
Fosfato	1,14 – 3,14
Acetato	3,76 – 5,76
Fosfato	6,20 – 8,20
Borato	8,14 – 10,14
Tampões Zwitteriônicos	
MES	5,15 – 7,15
PIPES	5,80 – 7,80
HEPES	6,55 – 8,55
Tricina	7,15 – 9,15
Tris	7,30 – 9,30

MES = ácido 2-(4-morfolino)-ethano sulfônico.

PIPES = piperazina-N,N'-bis-(ácido 2-etanosulfônico)

HEPES = ácido 1-Piperazinaetano sulfônico,

Tricina = N-tris(Hidroximetil)metilglicina

Tris = Forma reduzida de tris(hidroximetil)aminometano.

¹Adaptado de [Beckman Coulter, 1991](#).

O pH do tampão tem muita influência na seletividade de separação de complexos metálicos (Fig. 15), controlando o aumento da resolução por três modos ([LIU et al., 1999](#)):

- i) Ajustando o comportamento do FEO.
- ii) Controlando o equilíbrio da dissociação ácido/base dos complexos (ver equações 13 e 14).
- iii) Mudando o estado do complexo.

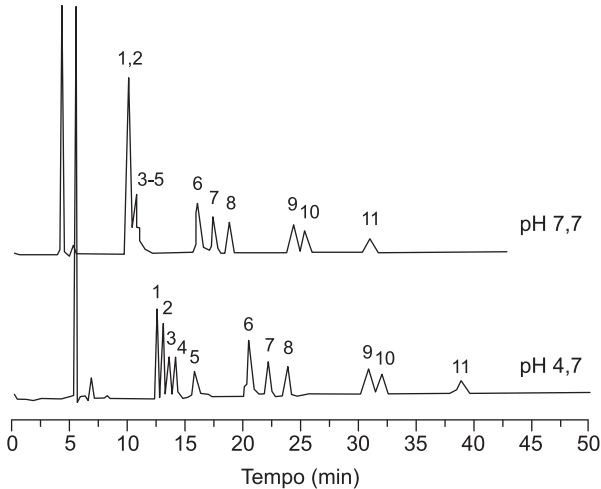


Fig. 15. Efeito do pH na separação de compostos em uma coluna ODS 5 μm ; fase móvel, 30 % ACN em tampão 2 mM, acetato para pH 4,7, fosfato para pH 7,7; voltagem, 15 kV; temperatura, 23 $^{\circ}\text{C}$. Identificação: 1, 4-hidroxi-3-metoxiacetofenona; 2, 3,5-Dimetoxi-4-hidroxibenzaldeído; 3, 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona; 4, 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído; 5, 4-hidroxibenzaldeído; 6, 2-metoxifenol; 7, dimetoxibenzaldeído; 8, 3,4-dimetoxiacetofenona; 9, 3,4,5-trimetoxibenzaldeído; 10, 3,4,5-trimetoxiacetofenona; 11, 4-metoxiacetofenona (PING et al., 2003).

Escolha do Cromóforo

Correntemente, a maioria dos eletrólitos de corrida designados para detecção indireta contém apenas um simples cromóforo, pois, nessas condições, o processo de deslocamento é relativamente simples (DOBLE et al., 2000).

Um eletrólito de múltiplos cromóforos ideal para a determinação de uma amostra com múltiplos compostos analíticos, com grandes variações em mobilidade, poderia conter uma série de cromóforos com a mesma mobilidade, aproximadamente, de todos os compostos analíticos. Entretanto, um pico sistemático é introduzido para cada cromóforo adicionado. Conseqüentemente, só haverá sucesso na separação, se todos os compostos analíticos de interesse não migrarem próximos ou em um pico sistemático (DOBLE et al., 2000).

A escolha do cromóforo é governada pela consideração de sua mobilidade e por suas propriedades espectrofotométricas e físico-químicas básicas. A mobilidade e a concentração do cromóforo são cruciais para a performance de separação do método, pois isso influencia na forma do pico e na eficiência. Para se obterem picos analíticos mais nítidos e simétricos, com o melhor limite de detecção possível, devem-se aplicar as seguintes condições ([ALTRIA et al., 2001](#)):

- i) O valor da mobilidade eletroforética do cromóforo deverá coincidir com o do composto analítico.
- ii) A diferença entre a concentração dos compostos analíticos na zona de migração e a concentração do cromóforo no eletrólito deve ser maximizada, ou seja, a concentração mais alta possível de eletrólito deve ser usada e a menor quantidade possível de amostra deve ser injetada.

Para que se coincidam as mobilidades do cromóforo e dos compostos analíticos, valores de mobilidades iônicas são necessários. Para isso, existem tabelas compiladas de diversos autores contendo valores de mobilidade de diversos ânions e cátions. Essas tabelas podem ser encontradas em [Doble e Haddad \(1999\) \(Tabela 5\)](#), [Harakuwe e Haddad \(1999\)](#), [Lucy \(1999\)](#) e [Altria et al. \(2001\)](#).

Deve ser notado que um composto analítico ou cromóforo que esteja em equilíbrio entre duas ou mais formas da mesma espécie terá uma mobilidade efetiva (μ_A) (equação 16) que reflete a mobilidade iônica (μ_i) de todas as espécies i em um equilíbrio de acordo com sua distribuição (α_i são coeficientes de distribuição das espécies) ([ALTRIA et al., 2001](#)):

Tabela 5. Dados físicos para cromóforos.

Cromóforo	Mobilidade		Absorção molar			pK_a
	$10^{-9} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$	pH	$1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	nm	pH	
Adenosina difosfato	n/a	n/a	9200	259	7,8	n/a
Adenosina monofosfato	n/a	n/a	9335	n/a	n/a	n/a
p-aminovenzoato	-28,5	11	n/a	n/a	n/a	4,94
p-aminosalicilato	-30,1	n/a	n/a	n/a	n/a	3,25
Anisato	-30,0		n/a	n/a	n/a	n/a
Benzoato	-26,7	6,5	44480	194	6,5	4,21
	-33,6		11900	228	6,5	
	-29,0	11	809	254	8,0	
1,3-benzenodissulfonato	-54,3	8,05	9950	214	8,05	n/a
Ácido o-benzilbenzóico	n/a	n/a	19000	228	6,5	n/a
Clorofenol vermelho	-22,1	n/a	28000	578	6,5	n/a
			33000	578	7,3	
Cromato	-56,7	6,5	2640	254	8,1	0,98
	-81,0		3180	254	8,0	6,5
p-cresol	-28,5	12,1	8320	236	12,1	10,26
Cistidina monofosfato	n/a	n/a	5640	271	7,8	n/a

Fonte: adaptado de [Doble e Haddad \(1999\)](#).

Aplicações em EC

A aplicação da eletroforese capilar na detecção de íons é muito vasta. Exemplos disso são: a análise de alumínio para a determinação das causas de rachaduras nas asas de um avião ([KOOPER; KELLY, 1999](#)); a identificação de sideróforos, que possuem importância biológica e química para todo um ecossistema, isolados em amostras de água marinha ([KOSAKOWSKA, 2000](#)); até a análise de produtos da degradação de agentes químicos usados em armas químicas em amostras de solo e água ([HOOIJSCHUUR et al., 2001](#)). Além disso, a EC também pode ser utilizada para especiação química, por exemplo, de Se em amostras ambientais ([PYRZYŃSKA, 2001](#)), Cr ([CHEN et al., 2001](#)) e As ([NAIDU et al., 2000](#)).

Para a separação de diversos íons metálicos, tabelas contendo várias soluções operacionais, modos de separação e detecção em várias matrizes, compiladas de diversos autores, encontram-se em [Janoš \(1999\)](#). As metodologias da eletroforese capilar na análise de íons inorgânicos em amostras ambientais como em vários tipos de água (mineral, superficial, subterrânea, proveniente da chuva ou neve, do mar e a de esgoto), aerossóis, atmosféricas, solos, sedimentos, biológicas, agroquímicos e outras são encontradas em várias tabelas compiladas de diversos autores em [Padaruskas et al. \(1998\)](#), [Valsechi e Polesello \(1999\)](#), [Fukushi et al. \(1999\)](#), [Hiissa et al. \(1999\)](#), [Kaniansky et al. \(1999\)](#), e [Menzinger et al. \(2000\)](#). Para a separação de espécies inorgânicas de enxofre e enxofre-oxigênio, pode-se recorrer às tabelas compiladas por [O'Reilly et al. \(2001\)](#) e [Montellier e Descostes \(2001\)](#). Para análises de especiação de metais em diferentes estados de oxidação, deve-se recorrer a [Timerbaev \(2000\)](#).

Aplicações

Preparo das amostras

As amostras a serem analisadas em EC freqüentemente necessitam de procedimentos de purificação antes da análise tais como: extração, filtragem para remoção de material particulado ou diluição. Segundo [Stahl \(1994\)](#), o procedimento para análise de extratos de solo pode ser, basicamente, filtrar os extratos em membranas (0.45 mm) antes do uso. Os extratos de solo devem ser diluídos na proporção de 1:10 com o eletrólito de corrida, quando necessário, e, após isso, as amostras dos extratos a serem processadas devem ser diluídas 1:5 com solução tampão.

Outro procedimento de extração feito por [Naidu et al. \(2000\)](#) é realizado com amostras na umidade de campo e com subsequente centrifugação por 2 horas a 3.000 rpm, usando tubos adequados para extrair a solução do solo. O lixiviado extraído é, então, centrifugado novamente por 90 minutos a 15.000 rpm para que permaneça límpido.

Apesar da variedade de amostras que podem ser analisadas em EC, amostras com matriz de elevada força iônica, com alta concentração de eletrólito ou com elevada acidez ou basicidade, são difíceis de se analisar

por EC. Esses tipos de amostras causam problemas uma vez que a alta força iônica fornece uma baixa resistência elétrica, interferindo no processo de agrupamento da amostra, o que leva a uma perda na eficiência de separação ([HADDAD et al., 1999](#); [ALI; ABOUL-ENEIN, 2002](#)). As matrizes de amostras de água, sedimentos e solo contendo materiais que apresentam absorção no UV também são problemáticas para a detecção de íons metálicos. Em razão disso, deve-se, sempre que possível, purificar a amostra, etapa que pode ser feita tanto antes como durante a análise (ALI; ABOUL-ENEIN, 2002). Mais detalhes para a detecção de ânions inorgânicos analíticos em amostras com alta força iônica são encontrados em Timbaev et al. (2000).

O FEO no capilar também pode ser influenciado pela matriz da amostra, especialmente pela mudança do grau de ionização dos grupos silanol nas paredes do capilar. A linha de base do detector também é normalmente perturbada, quando o pH da amostra difere muito do pH do eletrólito de corrida. Em CI, a melhor opção para contornar esse problema seria diluir a amostra, já que a detecção por condutividade tem alta sensibilidade. Em EC, essa técnica não é muito atrativa, porque a sensibilidade da detecção indireta em UV não é muito alta. No entanto, altos níveis de ácidos e bases são mais fáceis de se contornar em EC que em CI. A razão para isso é que os íons H^+ e OH^- têm alta mobilidade eletroforética em comparação aos outros íons inorgânicos. Dessa forma, é possível que as condições experimentais sejam ajustadas para que essas espécies migrem rapidamente através do capilar e sejam eliminadas antes da chegada dos íons analíticos ao detector (HADDAD et al., 1999). A sensibilidade pode ser melhorada tanto usando um método de detecção mais sensível, como pré-concentrando amostras com baixa força iônica, pré-concentrando ([SANCHEZ et al., 2003](#)).

Além do cuidado com a força iônica das amostras, em matrizes complexas como extratos de solo, tem-se que ter certeza de que não irão aparecer picos co-eluídos. Nesse ponto, a EC tem demonstrado ser uma ferramenta poderosa para a separação e identificação de diferentes íons, sendo essa a sua mais importante característica ([STAHL, 1994](#)). Além disso, para

facilitar a separação e a seletividade da determinação de íons metálicos por EC, a maioria das amostras contendo os íons metálicos pode ser tratada por ligantes antes ou durante a análise.

Apesar da facilidade em se analisar íons inorgânicos, a identificação e a quantificação em EC de pesticidas e seus metabólitos secundários em matrizes de solos é somente uma parte da análise que inclui isolamento, purificação e concentração das amostras. Como em EC os volumes de injeção estão na faixa de nanolitro, a preparação das amostras (purificação e concentração) é um passo essencial para a análise ([MEZINGER et al., 2000](#)). Entre os métodos de purificação, a extração por fase sólida (EFS) é a mais utilizada. A EFS consiste de cartuchos contendo resinas de troca iônica, que precisam ser condicionadas e equilibradas antes da inserção da amostra. Após a passagem da amostra pelo cartucho, deve-se usar um eluente no cartucho a fim de recuperar os compostos analíticos.

A especiação de metais com diferentes estados de oxidação tem comportamentos variados em termos de efeitos tóxicos potenciais no ambiente e em sistemas biológicos. A identificação da presença e da concentração dessas espécies é de suma importância para a saúde humana e fundamental para o manejo de sistemas contaminados. Alguns exemplos de análises de amostras reais em solo e água em EC para cromo, selênio e arsênio, assim como de pesticidas e substâncias húmicas, são discutidos abaixo.

Determinação de cromo

Para cromo, os dois estados de oxidação mais importantes ambientalmente são Cr^{VI} e Cr^{III} . Enquanto o Cr^{VI} é tóxico por ser um agente carcinogênico, o Cr^{III} é considerado um nutriente essencial para os humanos. O Cr^{VI} pode ser prontamente reduzido a Cr^{III} na biosfera e pode tanto ser ingerido por humanos quanto por outros receptores ecológicos ([CHEN et al., 2001](#)). Apesar de ser considerado tóxico, mesmo em baixas concentrações, o Cr^{III} é um elemento essencial para seres humanos em concentrações adequadas. Normalmente, Cr^{III} e Cr^{IV} não podem ser separados por EC. A razão para isso é que suas cargas são opostas e os valores das cargas são

diferentes. Entretanto, quando Cr^{III} é complexado com um ligante adequado e forma um complexo aniônico, sua separação é possível de ser realizada. Os ácidos aminopolicarboxílicos, incluindo os ácidos etilenodiaminotetraacético (EDTA), 1,2-ciclohexanodiaminotetraacético (CDTA) e o dietileno-triaminopentaacético (DTPA) têm sido usados como ligantes capazes de converter Cr^{III} em um complexo com carga negativa. Contudo, Chen et al. (2001) sugere que o ácido 2,6-piridinocarboxílico (2,6-PDCA) seja o mais adequado para a separação, uma vez que somente se forma um complexo 2,6-PDCA- Cr^{III} , ao contrário dos outros ligantes (Fig. 14 e 16).

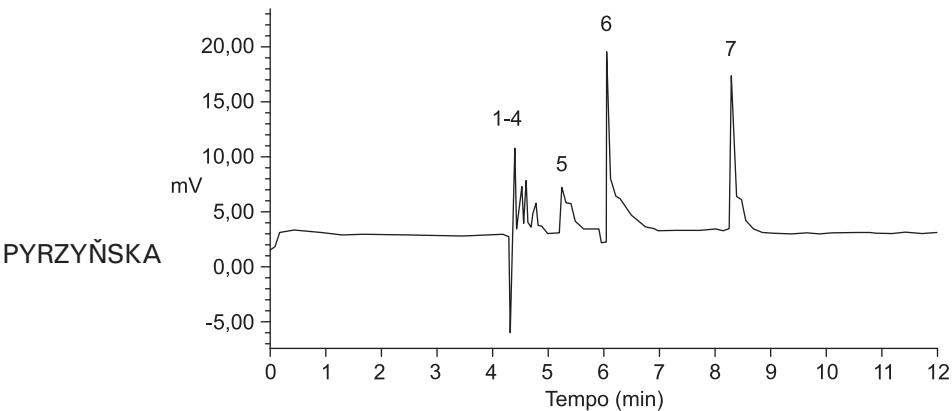


Fig. 16. Separação de Cr^{III} e Cr^{IV} sob ótimas condições de EC. 1 Cl^- (0,25 mM); 2, NO_2^- (0,25 mM); 3, NO_3^- (0,25 mM); 4, SO_4^{2-} (0,25 mM); 5, Cr^{IV} (0,1 mM); 6, 2,6-PDCA (0,25 mM); 7, complexo de Cr^{III} (0,05 mM). Condições: eletrólito: 30mM de fosfato de sódio + 0,5 mM TTAB + 0,1 mM 2,6-PDCA + 15 % (v/v) de acetonitrila a pH 6,4 (CHEN et al., 2001).

Determinação de compostos de selênio

O selênio é um importante metalóide com significância industrial, ambiental, biológica e toxicológica. Esse elemento é reconhecido como um nutriente essencial para humanos presente na enzima glutathiona peroxidase, a qual é responsável pela proteção celular contra dano oxidativo (, 2001).

Compostos de selênio podem ser encontrados na atmosfera, sistemas aquáticos, solos e sedimentos. O aumento da concentração no ambiente desse elemento-traço, de forma a causar toxidez em organismos vivos, pode ser tanto natural quanto antropogênico. Em amostras ambientais e biológicas, o selênio pode existir tanto sob espécies orgânicas como inorgânicas. As formas inorgânicas de Se incluem os íons selenato (VI) e selenito (IV), selênio elementar (0) e selenido metálico [compostos metilados, ácidos selenoamino, selenoproteínas e seus derivados ($\text{Se}^{\text{II e III}}$)]. Métodos capazes de separar e quantificar simultaneamente as diferentes formas do elemento presentes em uma amostra, em uma simples análise, são importantes, já que métodos comumente utilizados, como espectroscopia de absorção atômica e análise de ativação de nêutrons, requerem o uso de reações redox para formar Se^{IV} . Desde que a separação em EC seja principalmente governada pela diferença na razão carga-tamanho, essa técnica é extremamente poderosa para especificação química. Em geral, as amostras de solução do solo, para análise de selênio, não requerem quaisquer procedimentos para pré-tratamentos, a não ser a filtração a 0,45 mm antes da injeção (, 2001).

Todavia, análises de amostras sólidas, como as de solo, requerem que as espécies de interesse sejam trazidas para solução sem modificação de suas formas químicas ou distúrbio do equilíbrio entre as várias espécies presentes. Isso pode ser conseguido com extração pela água (que solubiliza o selênio não adsorvido e o selênio ligado à matéria orgânica solúvel) ou por um tampão (EDTA ou KH_2PO_4 , que também liberam Se trocável), em elevadas temperaturas, ou em condições alcalinas (Se ligado a substâncias húmicas), seguido de centrifugação e filtração do sobrenadante. Diversas condições experimentais são utilizadas para detectar e separar as diversas formas de Se no solo, sendo que (2001) alcançou limites de detecção de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ para Se, utilizando EC acoplada a um detector de espectrometria de massa com fonte de plasma (EC/ICP-MS). Há possibilidade de se determinar espécies orgânicas e inorgânicas de selênio, arsênio, antimônio e telúrio simultaneamente ([Fig. 17](#)).

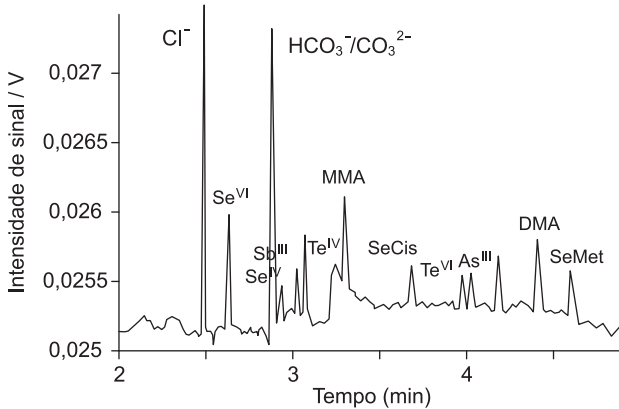


Fig. 17. Separação de compostos de selênio, arsênio, antimônio e telúrio. Eletrólito: 5 mmol L⁻¹ Na₂CrO₄, 0,5 mmol L⁻¹ de hidróxido de trimetiltetradeciloamônio (TTAOH), pH 11,2; injeção por gravidade; voltagem 20 kV; detecção, UV a 254 nm. Concentrações de 1 mg L⁻¹ de todas as espécies exceto Te^{IV} (30 mg L⁻¹) e Te^{VI} (5 mg L⁻¹). MMA, monometilarsenato e DMA, dimetilarsenito ([CASIoT et al., 1998](#)).

AsO₃³⁻, **Determinação de compostos de arsênio**

A toxicidade do As é dependente de sua forma química, existindo nos ambientes aquáticos e no solo em diferentes estados de oxidação, dependendo do potencial redox, assim como ocorre com o Se e o Cr. [Naidu et al. \(2000\)](#) usaram EZC com injeção hidrostática e detector de UV indireto para analisar amostras de um sítio contaminado com As. A técnica foi apropriada para a especiação de e as formas orgânicas ácido mono e dimetilarsênico em extratos de solo e os limites de detecção alcançados foram de 0,1, 0,1 e 0,5 mg L⁻¹, respectivamente.

Além das formas de As separadas por [Naidu et al. \(2000\)](#), [Holderbeke et al. \(1999\)](#) e [Gervasio et al. \(2003\)](#) detectaram formas catiônicas de As (arsenobetaína e arsenocolina) com limites de detecção muito mais baixos (< 10 µg L⁻¹), acoplado EC a um ICP-MS, mostrando, com isso, que a sensibilidade e seletividade do equipamento pode ser melhorada com uso de detectores mais apropriados. [Gervasio et al. \(2003\)](#) apresentam uma compilação de trabalhos envolvendo o acoplamento CE-ICP para vários íons inorgânicos.

A EC acoplada a ICP-MS pode também ser usada para se determinar simultaneamente arsênio, selênio, antimônio e compostos de telúrio (CASIOT et al., 1998) (Fig. 17), que obtiveram limites de detecção de $13 \mu\text{g L}^{-1}$ para Se^{IV} a 509 mg L^{-1} para Te^{IV} em amostras de água com injeção eletromigrativa. Em amostras de extratos de solo industrial, esses autores apenas observaram a presença de $\text{As}^{\text{III, IV e V}}$ (Fig. 18), não detectando espécies de arsênio metiladas, já que o solo estudado apresentava baixa atividade biológica.

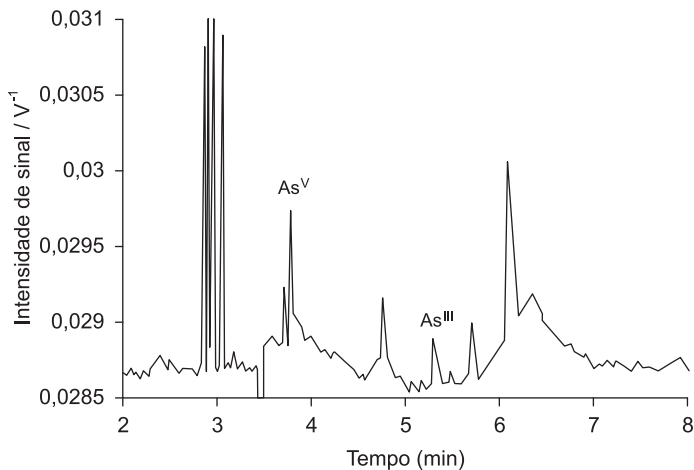


Fig. 18. Injeção hidrostática de um extrato aquoso de um solo industrial. Voltagem - 20 kV (CASIOT et al., 1998).

Determinação de pesticidas

Os pesticidas são usados amplamente para o controle de insetos, plantas daninhas, fungos, roedores e outros organismos. As plantas daninhas competem com as culturas por luz, umidade e nutrientes. Desde que a agricultura existe, o homem tem tentado, de alguma forma, controlar o crescimento dessas plantas. No início, era principalmente por meios mecânicos, como a aração e arranquio manual da plantas daninhas, mas, com a expansão dos campos e o desenvolvimento da industrialização, outras formas de controle de plantas daninhas foram necessárias (EASH; BUSHWAY, 2000).

O controle de plantas daninhas com produtos químicos não é uma prática nova. No início, produtos químicos como sal de rochas, óleo e sais de cobre eram usados. Entretanto, esses produtos matavam, inclusive, as plantas benéficas e eram, portanto, usados para manter áreas limpas, como as ferrovias. O que seria, na época, realmente necessário eram produtos químicos que fossem de toxicidade seletiva de forma que as plantas daninhas fossem destruídas sem prejuízo para as culturas ([EASH; BUSHWAY, 2000](#)).

Vários estudos têm mostrado que o transporte de pesticidas no solo é influenciado por diferentes fatores, que incluem características do pesticida, do solo, condições ambientais e práticas de manejo. Predições acuradas sobre o transporte de pesticidas em solo são críticas para o desenvolvimento de proteção sustentável de plantas e práticas de manejo de ervas daninhas.

A Comunidade Econômica Européia estabeleceu em $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração máxima admissível de qualquer pesticida e em $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração total máxima de resíduos em águas destinadas ao consumo humano ([BARCELÓ; HENNION, 2003](#)).

Alguns herbicidas exibem seletividade intrínseca, enquanto outros não são seletivos. As propriedades dos herbicidas dependem de seus ingredientes ativos que pertencem a várias classes químicas. Com o desenvolvimento dos herbicidas, foi necessário um cuidadoso monitoramento dos níveis de resíduos nas culturas, solo e água. Os resíduos de herbicidas são comumente encontrados na água superficial, subterrânea, alimentos, bem como em solos, em virtude da sua persistência e solubilidade em água. Isso exigiu o desenvolvimento de métodos rápidos, simples e confiáveis para medir os resíduos. Uma grande variedade de métodos analíticos, tais como CLAE, cromatografia a gás (GC), cromatografia de camada delgada (TLC) e imunoenensaio têm sido usados para essas análises. Esses métodos são confiáveis para a análise de misturas de herbicidas em amostras, mas freqüentemente são morosos e caros, por causa da preparação de amostras e da instrumentação. Os métodos publicados em EC já cobrem uma ampla gama de herbicidas (EASH; BUSHWAY, 2000).

Antes da análise de pesticidas por EC, é especialmente importante avaliar os efeitos das matrizes de amostras reais na recuperação durante a concentração das amostras (MENZINGER et al., 2000).

Para identificação de dimetoato (Fig. 19), Sanchez et al. (2003) centrifugaram amostras de solo para obter suspensões que foram filtradas em membranas de fibra de vidro. Para melhorar a sensibilidade, os extratos de solo foram pré-concentrados. Em seguida, o dimetoato foi identificado e quantificado por CCEM em níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$.

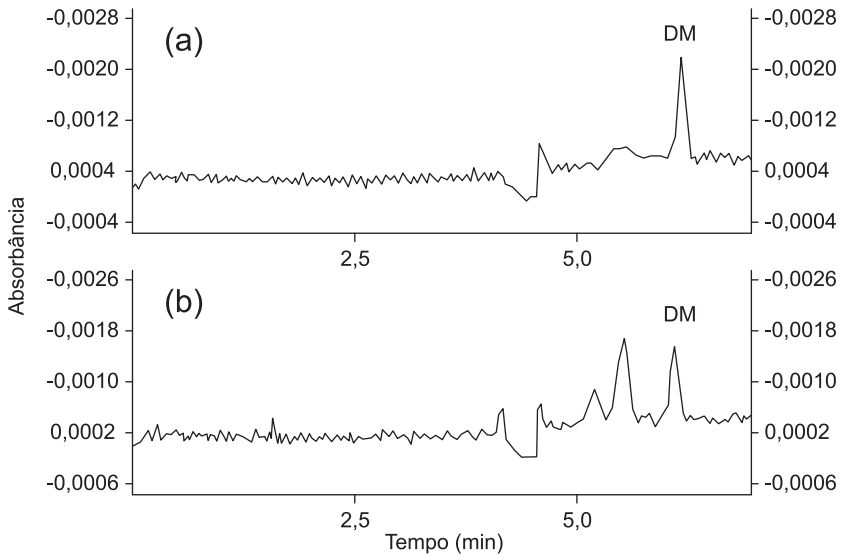


Fig. 19. Eletroferogramas obtidos após extração ultrassônica com água Milli-Q de solo tratado com dimetoato (DM) seguido por EFS de extratos aquosos. a) solo A ($10 \mu\text{g L}^{-1}$); b) solo B ($7 \mu\text{g L}^{-1}$). Condição de análise: coluna 50 cm x $75 \mu\text{m}$; pressão de injeção (10s = 60 nL); 100 mM de borato de sódio + 50 mM tampão SDS (pH 8,4); 18 kV; UV = 200 nm. (SANCHEZ et al., 2003).

O dimetoato não pode ser analisado por GC, pois é termicamente instável e em CI apresenta uma série de picos co-eluídos em decorrência dos compostos presentes na matriz do solo. Portanto, necessita de um método analítico como a EC, que possui alta seletividade.

Outro exemplo interessante da análise de pesticidas é o glifosato. Desde sua introdução, em 1971, o glifosato (N-(fosfonometil) glicina) é um dos herbicidas de espectro amplo de ação mais utilizados no mundo.

Pela sua forte retenção aos componentes do solo, alta solubilidade em água e longa meia vida no ambiente (cerca de 47 dias), o glifosato pode ser detectado muito tempo após a aplicação, ou mesmo muito longe do sítio de aplicação.

Como o glifosato não tem um cromóforo ou um fluoróforo, a derivatização é necessária para sua detecção. Para a detecção por fluorescência, o hipoclorito é usado para converter glifosato a glicina e, então, marcar a glicina com *o*-ftalaldeído e 2-mercaptoetanol (JIANG; LUCY, 2007). Na fig. 20, o reagente naftaleno-2,3-dicarboxaldeído (NDA) foi usado para marcar a glicina. A determinação foi realizada pela técnica da CCEM.

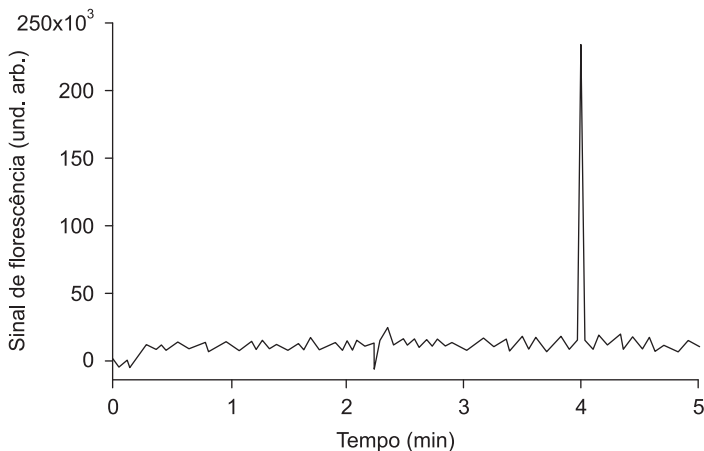


Fig. 20. Eletroferograma de 1 nmol L⁻¹ de glifosato (JIANG; LUCY, 2007).

Determinação de substâncias húmicas

A matéria orgânica (MO) afeta significativamente o comportamento de produtos químicos de origem antropogênica e contribui para a formação de subprodutos halogenados perigosos durante a cloração para obtenção de

água potável. A coagulação química é um dos principais processos usados para reduzir o conteúdo de MO na água potável, mas a natureza da MO influencia fortemente a otimização do processo de tratamento ([SCHMITT-KOPPLIN et al., 1999](#)).

Do ponto de vista estrutural, as substâncias húmicas (SH) são muito menos estudadas que qualquer biopolímero de origem animal ou vegetal. São conhecidas por terem alta massa molecular compreendendo subunidades poliaromáticas e alifáticas. O grau de ionização dessas macromoléculas é governado pela quantidade de grupos fenólicos e carboxílicos, o qual é função do pH da solução e de sua força iônica (SCHMITT-KOPPLIN et al., 1999).

Visto que os valores de pKa dos grupos funcionais dos ácidos carboxílicos das substâncias húmicas variam entre 3,5 e 5, as moléculas de SH migram em um sistema de EC, se o tampão de separação estiver com pH acima de 3,5 por estarem negativamente carregadas ([SCHMITT-KOPPLIN et al., 1998](#)).

O comportamento eletroforético da MO pode ser mais bem descrito quando o comportamento eletroforético de moléculas menores é bem entendido. Com aumento do pH, ocorre aumento da densidade de cargas teórica para diferentes monômeros de lignina (ácidos fenólicos com diferentes grupos COOH e OH; até 360 Daltons). Escolhendo o pH da separação (entre 5, 9 e 11), diferentes classes de compostos podem ser distinguidas de acordo com o número de grupos carboxílicos ou hidroxílicos ([Fig. 21](#)) (SCHMITT-KOPPLIN et al., 1999). A EC, portanto, permite, não somente a caracterização (fingerprint) da MO, mas também a determinação da densidade de cargas moleculares que refletem a distribuição de tamanhos moleculares e cargas nos respectivos polímeros.

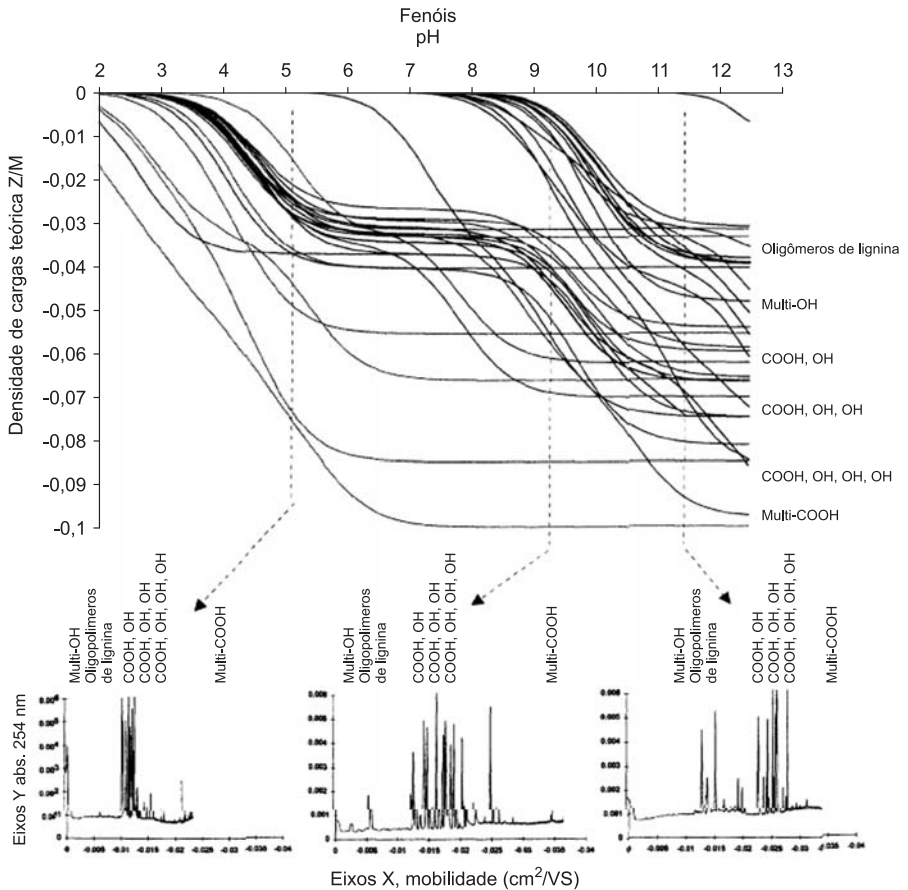


Fig. 21. Variação teórica da densidade de cargas como função do pH de 30 diferentes grupos fenólicos e a correspondente simulação de suas separações nos pHs (5,1, 9,3 e 11,4) ([SCHMITT-KOPPLIN et al., 1999](#)).

As substâncias húmicas representam a maior parte da matéria orgânica dissolvida em amostras de águas naturais, e as concentrações podem variar entre 0,1 e 115 mg L⁻¹. As propriedades físico-químicas dos elementos-traço são alteradas pela interação com a matéria orgânica dissolvida e são, freqüentemente, influenciadas pelas propriedades da substância orgânica.

Por essa razão, uma investigação detalhada dessas interações é pré-requisito essencial para o conhecimento de toxicidade, acúmulo e biodisponibilidade dos elementos-traço no sistema a ser analisado. A complexação de íons metálicos também afeta o mecanismo de transporte geoquímico de metais no ambiente e a eficiência da remoção de metais pesados no tratamento de água ([GERVASIO et al., 2003](#)).

Segundo [Pacheco e Havel \(2002\)](#), as análises tipo “*fingerprint*” para os ácidos húmicos (AH) em EC ainda não atingiram o nível adequado de separação para se diferenciar compostos isolados, entretanto, pode-se ter uma idéia, junto a outras análises, da qualidade do material quando comparado a outros. No caso da fig. 22, abaixo, infere-se que o AH de melhor qualidade seria o proveniente do México (Humitron 60S) por possuir mais compostos fenólicos que os outros AHs.

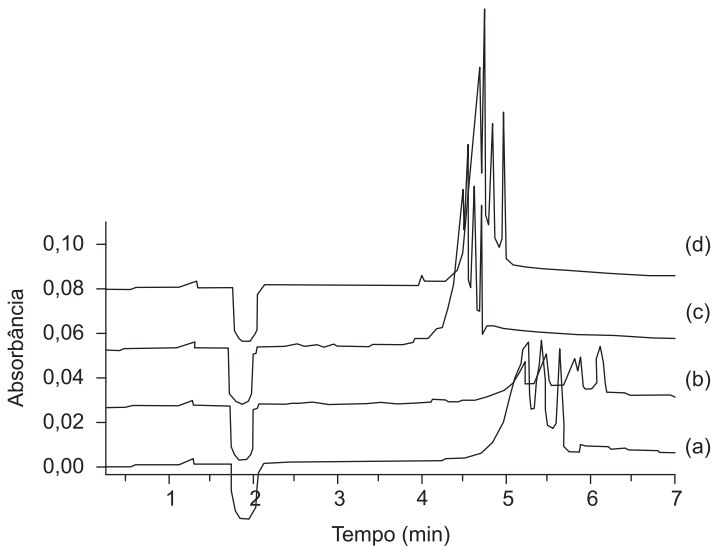


Fig. 22. Eletoferogramas para vários ácidos húmicos de Leonardita. a) IHSS padrão de AH leonardita, b) AH Guatemala (Imerca), c) AH EUA (Horizon), d) AH Mexicano (Humitron 60S). Condições da EZC: pH 8.4; voltagem, 20 kV; injeção hidrodinâmica, 20 s; detecção at 210 nm (PACHECO; HAVEL, 2002).

Os picos na Fig. 22 foram identificados como sendo de ácidos siríngico, vanílico e p-hidroxibenzoico. Esses ácidos fenólicos resultam da oxidação de estruturas de lignina e são encontrados em diferentes concentrações características da vegetação dos solos estudados por [Schmitt-Kopplin et al. \(1998\)](#).

Por meio de eletroferogramas tridimensionais, nos quais os eixos x, y e z se referem ao tempo, à absorção molar e ao comprimento de onda, respectivamente, pode-se observar o espectro UV de grupos de compostos diferentes co-eluídos (Fig. 23), este tipo de gráfico serve para verificar a pureza de picos.

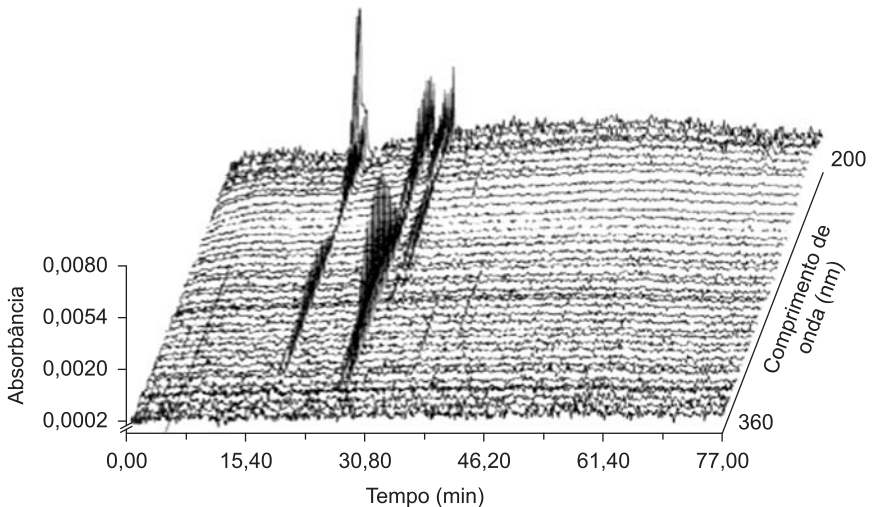


Fig. 23. Eletroferograma tridimensional de ácido fúlvico (50 mM de tampão de acetato, pH 5, 25 kV, 30 °C, coluna 100 cm x 50 cm, 200 a 360 nm (detecção direta por UV) (SCHMITT-KOPPLIN et al., 1998).

Precisão nas Análises

Inúmeras metodologias em EC estão sendo criadas e desenvolvidas para a detecção e separação de íons inorgânicos e muitos outros compostos, incluindo macromoléculas e até células inteiras. Esse fato gera a necessidade de padrões de comparação para se medir a precisão dos novos métodos.

A precisão deve ser calculada usando-se uma solução padrão contendo os íons a serem analisados numa baixa concentração (ex.: $35 \mu\text{mol L}^{-1}$), que devem ser injetadas três vezes por dia, durante três dias. A repetibilidade (equação 17) dentro de dias deve ser a média dos três desvios-padrão das concentrações observadas determinadas para cada dia. A reprodutibilidade (equação 18) deve ser estimada após o cálculo da variância relacionada ao efeito do dia como recomendado por SFTP (1992), citado por [Tamisier-Karolak et al. \(1999\)](#).

$$RSD_{\text{repetibilidade}} = \frac{S_{\text{res}}}{m} 100, \quad (17)$$

em que RSD é o desvio-padrão relativo, m é o valor médio das concentrações observadas e S_{res} é o valor médio das três estimativas do desvio-padrão calculado em cada um dos três dias.

$$RSD_{\text{reprodutibilidade}} = \frac{(S_{\text{res}}^2 S_f^2)^{0,5}}{m} 100, \quad (18)$$

em que S_f^2 é a variância relacionada ao efeito do dia, calculada pela variância inter grupo da análise de variância (ANAVA):

$$S_f^2 = \frac{(S_{\text{IG}}^2 - S_{\text{res}}^2)}{nt} \quad (19)$$

em que S_{IG}^2 é a variância inter grupo e n_t é o número de repetições (3) para cada dia.

Um valor de S_f^2 (efeito do dia) igual a zero leva a uma estimativa da variância da reprodutibilidade igual a da repetibilidade. Os valores de RSD são dados em porcentagem (%). Um bom resultado de $RSD_{\text{reprodutibilidade}}$ e $RSD_{\text{repetibilidade}}$ deve situar-se em torno de 1,5 %. Um valor de RSD muito maior que 1,5 % significa que a análise tem uma baixa precisão e precisa ser melhorada.

[Pantsar-Kallio e Manninem \(1995\)](#), comparando a determinação de alguns cátions por cromatografia iônica (CI) e eletroforese capilar, obtiveram valores de $RSD_{\text{repetibilidade}}$ em CI menores que 1 % para sódio, cálcio e magnésio e de 2,2 % para potássio. Em eletroforese capilar, os valores foram menores que 2 % para sódio, cálcio e magnésio, mas para o potássio, com sua detecção próxima ao limite de detecção (equação 11), a repetibilidade foi um pouco pior ($RSD = 4 \%$). [Soga et al. \(2000\)](#), analisando uma série de alimentos e bebidas adulteradas, obtiveram valores de %RSD para T_m , em eletroforese capilar, menores que 0,07 para cianeto, cloreto, nitrito, nitrato, sulfato, selenato, fluoreto, arsenato, fosfato, glutamato, acetato, arsenito e lactato. Adicionalmente, o menor índice de detecção que obtiveram foi para o nitrato (11 mg L^{-1}). Análises de granizo realizadas por [Santoyo et al. \(2002\)](#) mostraram %RSD no T_m menores que 0,72 em $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ de HPO_4^{2-} . [Kubáň et al. \(1999a\)](#), em determinação de ânions inorgânicos em amostras de água de drenagem e superficiais, observaram valores de %RSD para T_m menores que 0,2 para 13 ânions e limites de detecção menores que $0,5 \text{ mg L}^{-1}$.

A exatidão deve ser estudada pela comparação dos valores observados com o valor teórico (de $35 \mu\text{mol L}^{-1}$, por exemplo, como sugerido acima) ([TAMISIER-KAROLAK et al., 1999](#)). Segundo [Yang e Khots \(2001\)](#), um dos problemas mais importantes para o delineamento matemático para experimentos e modelos matemáticos, em geral, é a avaliação da exatidão das medidas. Maiores detalhes sobre a determinação das características de exatidão, modelagem e otimização em eletroforese capilar são encontrados em Yang e Khots (2001).

Considerações Finais

A técnica da eletroforese capilar é ainda um campo de estudos inteiramente novo, mostra resultados positivos e inúmeros avanços como detalhado no texto. A rápida evolução foi em parte apoiada nos conhecimentos adquiridos em métodos cromatográficos como a CLAE. Como a técnica ainda está em um estado menos desenvolvido que CI, não é ainda amplamente aplicada e também não tem uso muito freqüente em técnicas de rotina. Apesar disso, dentre as vantagens da EC incluem-se:

alta velocidade de análise, baixo consumo de amostra e reagentes, grande eficiência de separação e baixo custo de operação. É muito útil como uma técnica complementar à CLAE, quando esta não é capaz de separar componentes. Esta revisão englobou os principais pontos da eletroforese capilar para a análise de íons inorgânicos e fornece suporte para que os métodos se tornem facilmente entendidos e acessíveis para qualquer usuário. A real evolução das técnicas analíticas exige diminuição dos limites de detecção que, no caso da EC, só pode ser conseguido com o uso de sistemas complexos e caros de detecção. Na área de solos, as aplicações da EC podem ser, na área de química ambiental, em análises de poluição por elementos-traço (incluindo seus compostos e suas formas químicas em diferentes estados de oxidação) e pesticidas, na área de nutrição de plantas, com a análise simultânea de diversos macro e micronutrientes em solo, água (incluindo solução hidropônica) e plantas. Na microbiologia do solo, podem-se determinar diversos produtos metabólitos microbianos, substâncias orgânicas e seus subprodutos de degradação, células inteiras, proteínas, peptídeos, DNA, entre outros.

Referências

- ALI, I.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Determination of metal ions in water, soil, and sediment by capillary electrophoresis. **Analytical Letters**, v. 13, 2053-2076, 2002.
- ALTRIA, K. D.; MACKA, M.; JOHNS, C.; DOBLE, P.; HADDAD, P. R. Indirect photometric detection in CE using buffered electrolytes – part I, principles. **LCGC**, v. 19, p. 38-47, 2001. Disponível em: <<http://www.chromatographyonline.com>>. Acesso em: 10 fev. 2007.
- ALTRIA, K. D. Overview of capillary electrophoresis and capillary electrochromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 856, p. 443-463, 1999.
- ARCE, L.; KUBAN, P.; RÍOS, A.; VALCÁRCEL, M.; KARLBERG, B. On-line ion-exchange preconcentration in a flow injection system coupled to capillary electrophoresis for the direct determination of UV absorbing anions. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 390, p. 39-44, 1999.

ARCE, L.; RÍOS, A.; VALCÁCEL, M. Flow injection-capillary electrophoresis coupling to automate on-line sample treatment for the determination of inorganic ions in waters. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 759, p. 279-287, 1997.

BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products in water**. Amsterdam: Elsevier, 1997. (Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, 19).

BARCELÓ, D.; HENNION, M.C. Pesticides and their degradation products: characteristics, usage and environmental behaviour. In: BARCELO, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products in water**. Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 1-94 (Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, v. 19).

BECKMAN COULTER. **Introduction to capillary electrophoresis**. 1991. Disponível em: <<http://www.beckmancoulter.com/literature/Bioresearch/360643-CEPrimer1.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2007.

BRUMLEY, W. C.; BROWNRIGG, C. M.; GRANGE, A. H. Capillary liquid chromatography-mass spectrometry and micellar electrokinetic chromatography as complementary techniques in environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 680, p. 635-644, 1994.

CAI, J.; HENION, J. Capillary electrophoresis-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 703, p. 667-692, 1995.

CASIOT, C.; ALONSO, M. C. B.; BOISSON, J.; DONARD, O. F. X.; POTIN-GAUTIER, M. Simultaneous speciation of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in waters and soil extracts by capillary electrophoresis and UV detection. **The Analyst**, v. 123, p. 1887-1893, 1998.

CHAN, Y. Y.; CHAN, W. T. Interface for capillary electrophoresis coupled with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 853, p. 141-149, 1999.

CHEN, Z.; NAIDU, R.; SUBRAMANIAN, A. Separation of chromium (III) and chromium (VI) by capillary electrophoresis using 2,6-pyridinedicarboxylic acid as a pre-column complexation agent. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 927, p. 219-227, 2001.

COOPER, K. R.; KELLY, R. G. Using capillary electrophoresis to study the chemical conditions within cracks in aluminum alloys. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 850, p. 381-389, 1999.

DENG, B.; CHAN, W. Simple interface for capillary electrophoresis-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 891, p. 139-148, 2000.

DOBLE, P.; HADDAD, P. R. Indirect photometric detection of anions in capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 189-212, 1999.

DOBLE, P.; MACKA, M.; HADAD, P. R. Design background electrolytes for indirect detection of anions by capillary electrophoresis. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 19, p. 10-17, 2000.

EASH, D. T.; BUSHWAY, R. J. Herbicide and plant growth regulator analysis by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 880, p. 281-294, 2000.

FUKUSHI, K; TAKEDA, S.; CHAYAMA, K.; WAKIDA, S. Application of capillary electrophoresis to the analysis of inorganic ions in environmental samples. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 349-362, 1999.

GERVASIO, A. P. G.; LAVORANTE, A. F.; MORAES, M. C. B.; GINE, M. F. Eletroforese capilar acoplada à espectrometria com plasma: uma ferramenta eficiente para a especificação. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, p. 65-74, 2003.

HADDAD, P. R.; DOBLE, P. MACKA, M. Developments in sample preparation and separation techniques for the determination of inorganic ions by ion chromatography and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 856, p. 145-177, 1999.

HARAKUWE, A. H.; HADDAD, P. R. Control of separation selectivity in capillary zone electrophoresis of inorganic anions. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 213-232, 1999.

HISSA, T.; SIRÉN, H.; KOTIAHO, T.; SNELLMAN, M.; HAUTOJARVI, A. Quantification of anions and cations in environmental water samples. measurements with capillary electrophoresis and indirect-UV detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 853, p. 403-411, 1999.

HOLDERBEKE, M. V.; ZHAO, Y.; VANHAECKE, F.; MOENS, L.; DAMS, R.; SANDRA, P. Speciation of six arsenic compounds using capillary electrophoresis–inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, London, v. 14, p. 229-234, 1999.

HOOIJSCHUUR, E. W. J.; KIENTZ, C. E.; BRINKMAN, U. A. Th. Application of microcolumn liquid chromatography and capillary electrophoresis with flame photometric detection for the screening of degradation products of chemical warfare agents in water and soil. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 928, p. 187-199, 2001.

HSIEH, Y.; LIN, Y.; YANG, J.; WEI, G.; TIEN, P.; CHAU, L. Electroosmotic flow controllable coating on a capillary surface by a sol-gel process for capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 952, p. 255-266, 2002.

JAGER, A. V.; TAVARES, M. F. M. Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar: fundamentos e aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 363-373, 2001.

JANOŠ, P. Role of chemical equilibria in the capillary electrophoresis of inorganic substances. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 3-20, 1999.

JIANG, J.; LUCY, C. A. Determination of glyphosate using off-line ion exchange preconcentration and capillary electrophoresis-laser induced fluorescence detection. **Talanta**, London, v. 72, p. 113-118, 2007.

KANIANSKY, D.; MASÁR, M.; MARÁK, J.; BODOR, R. Capillary electrophoresis of inorganic anions. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 133-178, 1999.

KAPPES, T.; HOUSER, P. C. Electrochemical detection methods in capillary electrophoresis and applications to inorganic species. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 89-101, 1999.

KOOPER, K. R.; KELLY, R. G. Using capillary electrophoresis to study the chemical conditions within cracks in aluminum alloys. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 850, n. 1/2, p. 381-389, 1999.

KOSAKOWSKA, A. The influence of iron and selected organic compounds on Baltic sea phytoplankton. **Oceanologia**, v. 42, p. 521-523, 2000.

KRIVÁCSY, Z.; GELENCSE, A.; HLAVAY, J.; KISS, G.; SÁRVÁRI, Z. Electrokinetic injection in capillary electrophoresis and its application to the analysis of inorganic compounds. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 21-44, 1999.

KUBÁŇ, P.; , P.; , V. Capillary electrophoretic determination of inorganic anions in the drainage and surface water samples. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 848, p. 545-551, 1999a.

, P.; , P.; , V. Simultaneous capillary electrophoretic separation of small anions and cations after complexation with ethylenediaminetetraacetic acid. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 836, p. 75-80, 1999b.

LINHARDT, R. J.; TOIDA, T. Ultra-high resolution separation comes of age. **Science**, Washington, v. 298, p. 1441-1442, 2002.

LISTA, A. G.; ARCE, L.; RIOS, A.; VALCÁRCEL, M. Use of eosin as a fluorophore in capillary electrophoresis with laser detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 919, p. 407-415, 2001.

LIU, B.; LIU, L.; CHENG, J. Analysis of inorganic cations as their complexes by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 277-308, 1999.

LUCY, C. A. Factors affecting selectivity of inorganic anions in capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 850, p. 319-337, 1999.

MELANSON, J. E.; LUCY, C. A. Ultra-rapid analysis of nitrate and nitrite by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 884, p. 311-316, 2000.

MENZINGER, F.; SCHMITT-KOPPLIN, Ph.; FREITAG, D.; KETTRUP, A. Analysis of agrochemicals by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 891, p. 45-67, 2000.

MEYER, V. R. **Practical high-performance liquid chromatography**. New York: John Wiley & Sons, 1993. 376 p.

MONTELIER, S.; DESCOSTES, M. Sulphur speciation and tetrathionate sulfitolysis monitoring by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 907, p. 329-335, 2001.

NAIDU, R.; SMITH, J.; McLAREN, R. G.; STEVENS, D. P.; SUMNER, M. E.; JACKSON, P. E. Application of capillary electrophoresis to anion speciation in soil water extracts: II. arsenic. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 64, p. 122-128, 2000.

OKEMGBO, A. A.; HILL, H. H.; METCALF, S. G.; BACHELOR, M. A. Determination of nitrate and nitrite in Hanford defense waste by reverse-polarity capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 844, p. 387-394, 1999.

O'REILLY, J. W.; DICINOSKI, G. W.; SHAW, M. J.; HADDAD, P. R. Chromatographic and electrophoretic separation of inorganic sulfur and sulfur-oxygen species. **Analytica Chimica Acta**, v. 432, p. 165-192, 2001.

PACÁKOVÁ, V.; COUFAL, P.; STULIK, K. Capillary electrophoresis of inorganic cations. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 257-275, 1999.

PACHECO, M. L.; HAVEL, J. Capillary zone electrophoresis of humic acids from the American continent. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 23, p. 268-277, 2002.

PADARAUSKAS, A.; OLSAUSKAITĖ, V.; PALIULIONYTĖ, V. Simultaneous determination of inorganic anions and cations in waters by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 829, p. 359-365, 1998.

PANTSAR-KALLIO, M.; MANNINEN, P. K. G. Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium cations by capillary electrophoresis

compared with ion chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 314, p. 67-75, 1995.

PING, G.; SCHMITT-KOPPLIN, P.; HERTKORN, N.; ZHANG, W.; ZHANG, Y.; KETTRUP, A. Separation of selected humic degradation compounds by capillary electrochromatography with monolithic and packed columns. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 24, p. 958-969, 2003.

, K. Analysis of selenium species by capillary electrophoresis. **Talanta**, London, v. 55, p. 657-667, 2001.

SANCHEZ, M. E.; RABANAL, B.; OTERO, M.; MARTIN-VILLACORTA, J. Solid-phase extraction for the determination of dimethoate in environmental water and soil samples by micellar electrokinetic capillary chromatography (MEKC). **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, New York, v. 26, p. 545-557, 2003.

SANTOYO, E.; GARCÍA, R.; ABELLA, R.; APARICIO, A.; VERMA, S. P. Capillary electrophoresis for measuring major and trace anions in thermal water and condensed-steam samples from hydrothermal springs and fumaroles. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 920, p. 325-332, 2001.

SANTOYO, E.; GARCÍA, R.; MARTINEZ-FRÍAS, J.; LÓPEZ-VERA, F.; VERMA, S. P. Capillary electrophoretic analysis of inorganic anions in atmospheric hailstone samples. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 956, p. 279-286, 2002.

SANTOS, M. R.; TAVARES, M. F. M.; RUBIM, J. C. Implementação de um sistema de eletroforese capilar com detecção de fluorescência induzida por laser. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, p. 585-589, 2000.

SCHMITT-KOPPLIN, P.; GARRISON, A. W.; PERDUE, E. M.; FREITA, G, D.; KETTRUP, A. Capillary electrophoresis in the analysis of humic substances facts and artifacts. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 807, p. 101-109, 1998.

SCHMITT-KOPPLIN, P.; FREITAG, D.; KETTRUP, A.; SCHOEN, U.; EGEBERG, P. Capillary zone electrophoresis studies on Norwegian surface water natural organic matter. **Environment International**, New York, v. 25, p. 259-274, 1999.

SOGA, T.; TAJIMA, I.; HEIGER, D. N. Capillary electrophoresis for the determination of forensic anions in adulterated foods and beverages.

American Laboratory, p.124-128, 2000.

STHAL, R. Routine determination of anions by capillary electrophoresis and ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 686, p. 143-148, 1994.

TAMISIER-KAROLAK, S. L.; LE POTIER, L.; BARLET, O.; CZOK, M. Analysis of anions in aqueous samples by ion chromatography and capillary electrophoresis: a comparative study of peak modeling and validation criteria. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 852, p. 487-498, 1999.

TIMERBAEV, A. R. Element speciation analysis by capillary electrophoresis. **Talanta**, London, v. 52, p. 573-606, 2000.

TIMERBAEV, A. R.; BUCHBERGER, W. Prospects for detection and sensitivity enhancement of inorganic ions in capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 117-132, 1999.

TIMERBAEV, A. R.; FUKUSHI, K.; MIYADO, T.; ISHIO, N.; SAITO, K.; MOTOMIZU, S. Analysis of highly saline samples by capillary zone electrophoresis: enhanced direct UV detection of inorganic anions using on-capillary preconcentration and clean-up techniques. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 888, p. 309-319, 2000.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Perchlorate environmental contamination: toxicological review and risk characterization**. 2002. Disponível em:

<<http://www.perchloratesymposium.com/docs/EPA2002.pdf>>. Acesso em: 30 mar. 2007.

VALSECCHI, S. M.; POLESELLO, S. Analysis of inorganic species in environmental samples by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 834, p. 363-385, 1999.

VIZIOLI, N. **Determinacion de aniones inorganicos por electroforesis capilar**. Buenos Aires: ESANCO SRL, 2001a. 5 p. Reporte de laboratorio de aplicaciones .

VIZIOLI, N. **Determinacion de cationes inorganicos por electroforesis capilar**. Buenos Aires: ESANCO SRL, 2001b. 5 p. Reporte de laboratorio de aplicaciones .

WILLIAMS, R. C.; BOUCHER, R. J. Analysis of potassium counter ion and inorganic cation impurities in pharmaceutical drug substance by capillary electrophoresis with conductivity detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, p. 115-122, 2000.

WATLEY, H. **Mobility determinations in capillary electrophoresis**. 1997. Disponível em: <<http://www.beckmancoulter.com/literature/Bioresearch/t1842a.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2007.

YANG, Q.; KHOTS, M. S. Determination of accuracy characteristics, modeling and optimization of capillary electrophoresis for the separation of inorganic cations. **Analytica Chimica Acta**, v. 432, p. 125-133, 2001.

ZEMMAN, A. J. Conductivity detection in capillary electrophoresis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, p. 346-354, 2001.

Determination of Ions in Environmental Samples by Capillary Electrophoresis

Abstract

This work presents theory and applications in capillary electrophoresis. This technique is a powerful tool representing a large saving in chemicals (0.5 to 4 nL s⁻¹ flux), samples (1 to 100 nL), and method development time. In addition, this work pictures applications such as separation and determination of analytical compounds. Recent reviews were cited to provide essential information for users regarding data sources, pioneer works, and theoretical treatments. The technique is reliable to study air, soil, and water samples in order to be able to determine trace amounts of pollutants. Examples of trace elements, pesticides, and humic substances analyses were showed. Separation and determination of proteins, peptides, aminoacids, nucleic acids, whole cells, transition metal complexes, metal oxiacids, surfactants, fenols, alifatic amines, sulfonic aromatic acids, dyes, plant nutrients and explosives are also possible.

Index terms: trace elements, pesticides, humic substances, analysis of chemical substances.

Anexo 1. Lista de Abreviaturas

Sigla	Nome
AH	Ácidos húmicos
CCEM	Cromatografia capilar eletrocinética micelar
CI	Cromatografia iônica
CL	Cromatografia líquida
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CTAB	Brometo de tetradeciltrimetilamônio
EC	Eletroforese capilar
ECC	Eletrocromatografia capilar
EFS	Extração por fase sólida
EGC	Eletroforese de gel capilar
EZC	Eletroforese de zona capilar
FEO	Fluxo eletroosmótico
FIC	Foco isoelétrico capilar
GC	Cromatografia a gás
HIBA	Ácido \pm -hidroxiisobutírico
ICP-MS	Espectrometria de massa com fonte de plasma
ITF	Isotacoforese
MO	Matéria orgânica
SH	Substâncias húmicas
TLC	Cromatografia de camada delgada
T _m	Tempo de migração
T _r	Tempo de retenção
TTAB	Brometo de dodeciltrimetilamônio