

Guia Prático do Peaknet 6 Cromatografia de Íons Dionex



ISSN 1983-0513
Outubro, 2012

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

Documentos 385

Guia Prático do Peaknet 6 Cromatografia de Íons Dionex

*Juliana Feitosa Felizzola
Camila da Silva Pires*

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n.
Caixa Postal 48. CEP 66095-100 - Belém, PA.
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
www.cpatu.embrapa.br
cpatu.sac@embrapa.br

Comitê Local de Publicação

Presidente: *Michell Olivio Xavier da Costa*
Secretário-Executivo: *Moacyr B. Dias-Filho*
Membros: *Orlando dos Santos Watrin*
Márcia Mascarenhas Grise
José Edmar Urano de Carvalho
Regina Alves Rodrigues
Rosana Cavalcante de Oliveira

Revisão técnica: *Ricardo de Oliveira Figueiredo* – Embrapa Meio Ambiente
Flávia Vieira – PUC-RJ
Adriana Hadad Nudi – PUC-RJ

Supervisão editorial: *Luciane Chedid Melo Borges*
Revisão de texto: *Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana*
Normalização bibliográfica: *Andréa Liliane Pereira da Silva*
Tratamento de imagens e editoração eletrônica: *Vitor Trindade Lôbo*
Foto da capa: *Camila da Silva Pires*

1ª edição

Versão eletrônica (2012)

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 Amazônia Oriental

Felizzola, Juliana Feitosa

Guia prático do Peaknet 6 cromatografia de íons Dionex / Juliana Feitosa Felizzola, Camila da Silva Pires . – Belém, PA : Embrapa Amazônia Oriental, 2012.

43 p. : il. ; 15 cm x 21 cm. – (Documentos / Embrapa Amazônia Oriental, ISSN 1983-0513; 385).

1. Cromatografia. 2. Manual. I. Pires, Camila da Silva. II. Título. III. Série.

CDD 543.089

© Embrapa 2012

Autores

Juliana Feitosa Felizzola

Bacharel em Nutrição, doutora em Química (Université de Provence Aix Marseille I), pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

juliana.felizzola@embrapa.br

Camila da Silva Pires

Engenheira Ambiental, mestre em Ciências Ambientais (Universidade Federal do Pará), pesquisadora do Instituto de Desenvolvimento Econômico, Social e Ambiental do Pará, Belém, PA.

camilapires@ymail.com

Apresentação

O Guia Prático Peaknet 6 tem o intuito de apresentar ao leitor as diversas etapas do software Peaknet 6 e detalhes dos procedimentos técnicos a serem adotados para as análises de rotina de íons inorgânicos no cromatógrafo modelo Dionex DX 120.

Amostras aquosas de diversas matrizes são filtradas e injetadas no amostrador automático do equipamento para análises de cátions (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ , Li^+) e ânions (F^- , Cl^- , NO_3^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-}) para diferentes fins de pesquisa. A análise de outros íons inorgânicos além dos citados neste guia é realizada dependendo da coluna analítica escolhida, sendo possível uma ampla faixa de aplicações de estudos.

A prática e a realização de todos os procedimentos exigidos no guia permitirão o uso do Dionex DX 120 com a máxima eficiência analítica e praticidade, ou seja, permitirá a obtenção de dados com maior precisão e exatidão para fins de análises quantitativas e qualitativas de íons inorgânicos com menores incertezas associadas aos resultados.

Com esse objetivo, os autores lançaram esta publicação, que mostra detalhadamente todos os aspectos técnicos para o funcionamento perfeito do cromatógrafo Dionex DX 120.

Claudio José Reis de Carvalho

Chefe-Geral da Embrapa Amazônia Oriental

Sumário

Guia Prático do Peaknet 6 Cromatografia de Íons Dionex	9
Introdução	9
Ligando o cromatógrafo de íons	11
Etapas para um dia de análises	14
Obtendo os resultados analíticos	28
Desligando o equipamento	37
Trocando as linhas de análise (cátions e ânions)	37
Lembre-se	38
Problemas mais comuns e suas soluções	39
Abreviações utilizadas no cromatógrafo	40
Definições	40
Referências	42
Literatura recomendada	43

Guia Prático do Peaknet 6

Cromatografia de Íons Dionex

Juliana Feitosa Felizzola

Camila da Silva Pires

Introdução

Cromatografia de troca iônica de íons (CI) é uma subdivisão da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). De acordo com a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), a cromatografia de troca iônica é definida como se segue:

“Na cromatografia de troca iônica, a separação é baseada nas diferenças das interações com a resina de troca iônica dos analitos individuais. Se íons inorgânicos são separados e podem ser detectados por detectores de condutividade ou por detecção ultravioleta (UV) indireta, então, esta também é chamada de cromatografia de íons.” (ETTRE, 1993).

Uma definição antiga e mais geral é mais adequada: “Cromatografia de íons inclui qualquer separação cromatográfica líquida rápida de íons em colunas acopladas ‘on-line’ com detecção e quantificação em um detector de fluxo.” (SCHWEDT, 1985).

Essa definição caracteriza a cromatografia de íons independente do mecanismo de separação e do método de detecção, ao mesmo tempo em que a distingue da troca iônica clássica. Os seguintes princípios de separação aplicam-se na cromatografia de íons:

- Troca iônica.
- Formação de par iônico.
- Exclusão iônica.

A cromatografia de troca iônica é simplesmente conhecida como cromatografia de íons (CI), enquanto a cromatografia de par iônico e a cromatografia por exclusão iônica são consideradas como sendo aplicações mais específicas.

Separação por troca iônica

A cromatografia de troca iônica (CI) é baseada em uma reação química estequiométrica entre os íons de uma solução e uma substância sólida (resina) contendo os grupos funcionais que podem fixar íons como resultado de forças eletrostáticas. No caso mais simples, em cromatografia de cátions, são grupos de ácido sulfônico; em cromatografia de ânions, são grupos de amônio quaternário. Teoricamente, íons com a mesma carga podem ser completa e reversivelmente trocados entre as duas fases. O processo de troca iônica leva a uma condição de equilíbrio. O lado em que ocorre o equilíbrio depende da interação de íons participantes em relação aos grupos funcionais da fase estacionária.

Sistemas de detecção em cromatografia de íons

Diferentes métodos são usados para a detecção de substâncias em CLAE. A seleção do detector adequado deve sempre estar em concordância com os problemas analíticos a serem resolvidos. Os requisitos de um detector podem ser sumarizados como se segue:

- Alta sensibilidade de medição e curto tempo de resposta.
- Sinal de medição proporcional à concentração do analito (faixa linear ampla).
- Pequenas mudanças na linha de base.
- Baixo ruído de fundo (background).
- Menor volume possível para reduzir o alargamento do pico.

Uma diferenciação geral é feita entre detectores seletivos e não seletivos. Enquanto um detector seletivo responde diretamente a uma propriedade do analito, detectores não seletivos reagem a uma alteração de uma das propriedades físicas do completo sistema de eluição causada pelo analito. O detector universal e mais frequentemente usado em CI é o detector de condutividade.

Detecção por condutividade

Também conhecida como detecção condutométrica, a detecção por condutividade é um princípio de detecção não seletiva. Assim, ambas as determinações com detecção direta e indireta são possíveis. Uma vez que eletrólitos aquosos são frequentemente usados como fase móvel em cromatografia de íons, o detector deve ser capaz de responder às mudanças relativamente pequenas na condutividade total do eluente causada pelos íons analisados. Pelo uso de chamadas técnicas de supressão, a condutividade de fundo de alguns eluentes pode ser drasticamente reduzida. No caso de ânions de ácido forte, é possível melhorar consideravelmente a sensibilidade.

A condutividade k é determinada como a recíproca da resistência R que um líquido produz entre dois eletrodos com uma área A em uma distância L .

$$k = \frac{L}{A * R}$$

A seguir será apresentado um breve manual de operação em um cromatógrafo iônico Dionex modelo DX-120.

Ligando o cromatógrafo de íons

Antes de iniciar o sistema é necessário que os estabilizadores estejam ligados. Para iniciar as atividades no cromatógrafo iônico Dionex DX-120 são necessários procedimentos prévios. É importante seguir sempre alguns passos ao iniciar o uso do equipamento.

A seguir, são listados os passos para uma operação sem surpresas durante as análises:

- Verificar se há eluente na garrafa referente ao tipo de análise que se pretende realizar (cátions ou ânions), localizadas acima do módulo analítico.
- Abrir a válvula de gás (argônio comprimido 10 m³) para a pressurização do eluente (ver Figura 1).
- Abrir a válvula de pressão do cilindro de gás e regular a pressão para 20 psi, se estiver desregulada.

Figura 1. Cilindro de gás argônio, utilizado para a pressurização do eluente.



Ligando os módulos

O Cromatógrafo de Íons Dionex DX-120 é composto por um módulo, no qual está localizada a bomba, as colunas de guarda e analíticas, além de colunas supressoras para os sistemas de determinação dos principais cátions e ânions dissolvidos em amostras aquosas.

Para ligar o sistema, deve-se pressionar a tecla **Power**, localizada abaixo do display de comando do módulo cromatográfico (Figura 2a).

As figuras a seguir ilustram os componentes do cromatógrafo iônico.

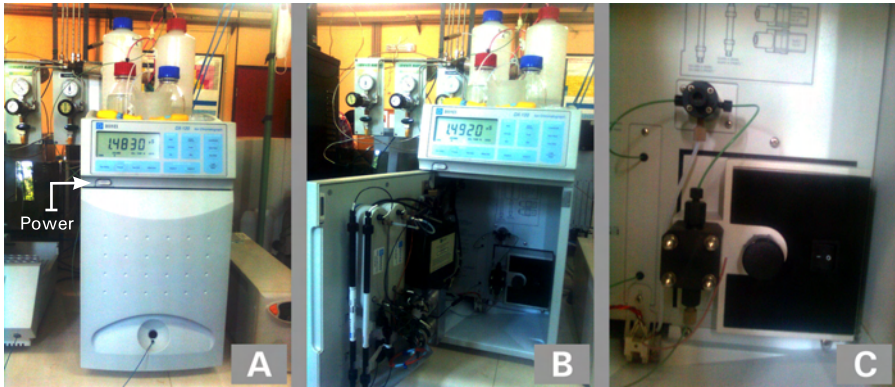


Figura 2. (a) Vista frontal do cromatógrafo de íons; (b) componentes internos do cromatógrafo de íons; (c) visão frontal da bomba.

Ligando o computador

Para iniciar as atividades no cromatógrafo é necessária a conexão do módulo com um computador (Figura 3) e a execução do software Peaknet 6.



Figura 3. Cromatógrafo iônico para determinação dos principais cátions e ânions dissolvidos em amostras de água.

Depois de inicializado o computador, é possível identificar o ícone do Peaknet 6. Na Figura 4 está ilustrada a tela principal do computador com o ícone Peaknet 6 em destaque.

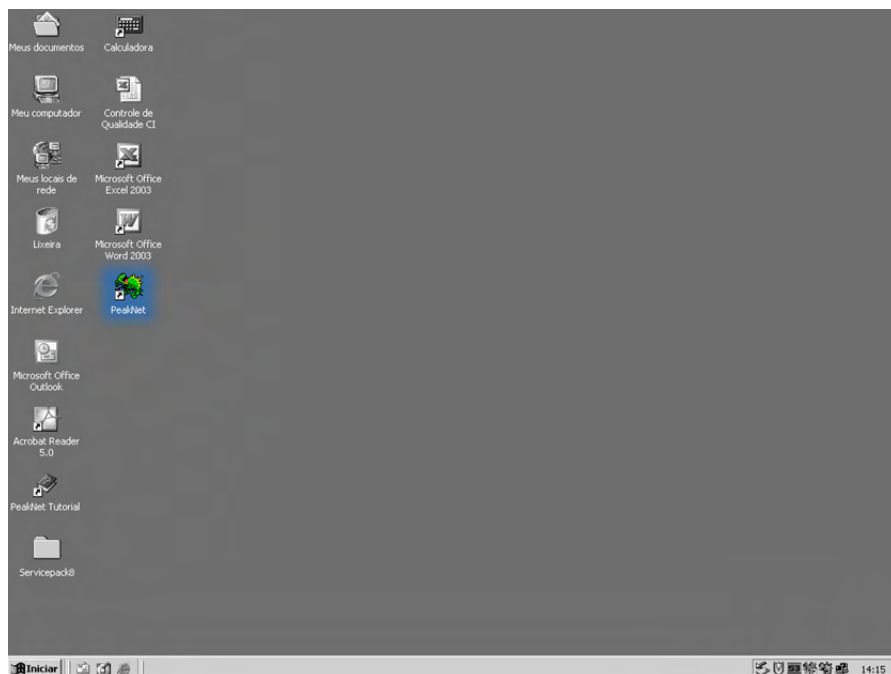


Figura 4. Software Peaknet 6 em destaque.

Etapas para um dia de análises

Antes do início das atividades, é necessário realizar alguns procedimentos que permitam uma operação segura, com reprodutibilidade, representatividade e repetitividade. Se tais procedimentos forem obedecidos será ampliada a vida útil do equipamento, assim como serão reduzidos possíveis problemas que possam surgir durante as análises.

Iniciando o software Peaknet 6

Ao iniciar o programa Peaknet 6 aparecerá uma janela (Figura 5). O próximo passo será conectar o programa ao módulo analítico, clicando na opção “**Connect**”, circulado em vermelho na Figura 5.

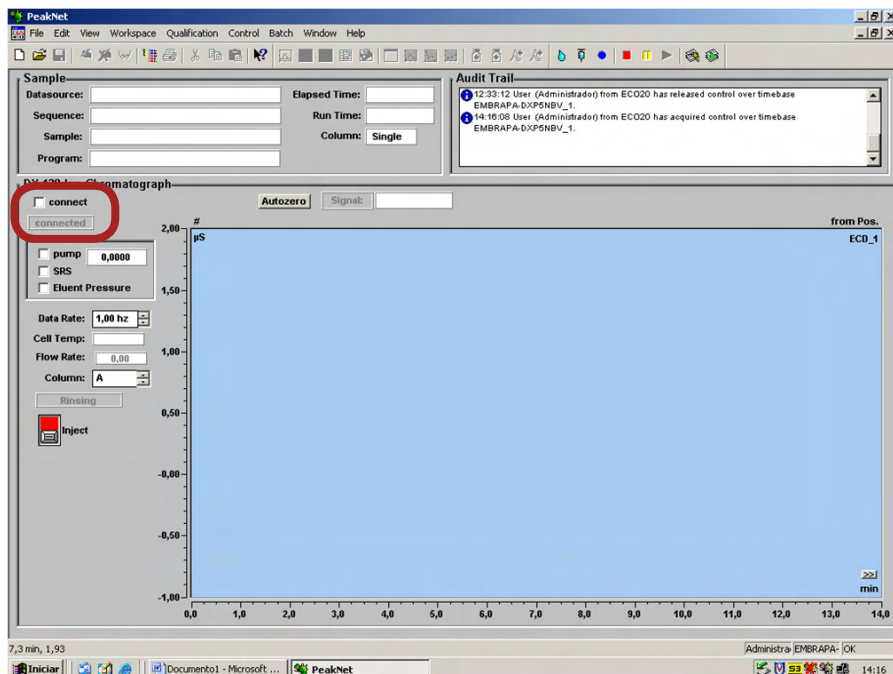


Figura 5. Tela principal do Peaknet 6 após sua inicialização.

Feito isso, o equipamento estará conectado ao módulo analítico. Depois de conectado, deve-se inicializar os módulos do cromatógrafo. Para tanto, é necessário acionar, na seguinte ordem:

- A pressão do eluente (**Eluent Pressure**).
- A bomba (**Pump**).
- A supressora (**SRS**), como indicado na Figura 6.

Após esse procedimento, a pressão da bomba em psi (indicada no quadro branco ao lado de Pump) começará a aumentar até estabilizar, devendo ser monitorada.

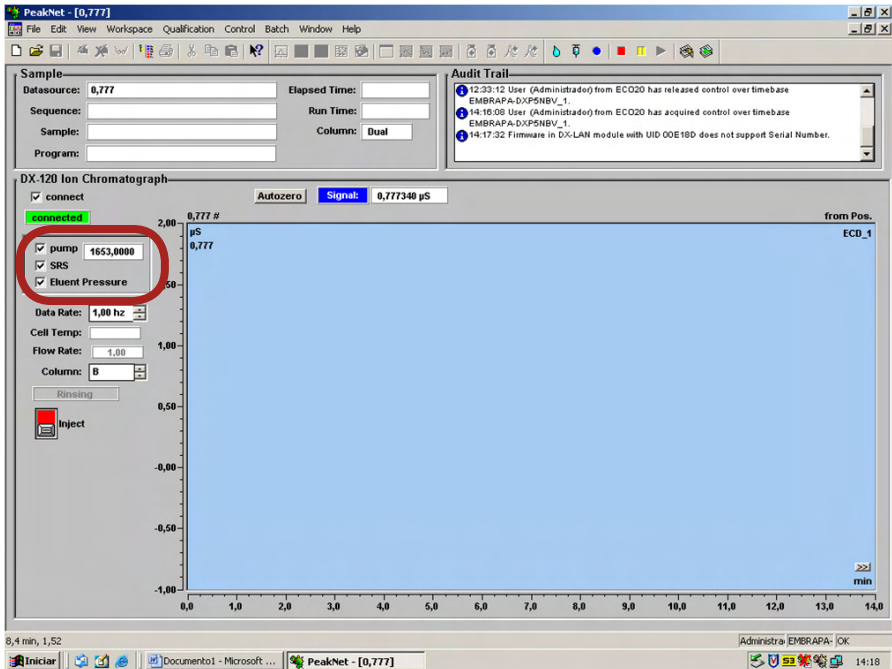


Figura 6. Tela principal do Peaknet 6 após a conexão com o módulo analítico.

Procedimento de prime ou purga

Esse procedimento consiste na estabilização do sistema com a eliminação de possíveis bolhas. Um dos sinais da presença de bolhas é a pressão instável.

O procedimento de **Prime (purga)** é realizado em uma válvula, localizada acima da bomba, que mede a pressão e empurra a fase móvel (eluyente) pelo sistema, porém é possível realizá-lo também desconectando a linha de análise, antes da coluna de guarda, para que o eluyente flua e empurre as bolhas para fora do sistema.

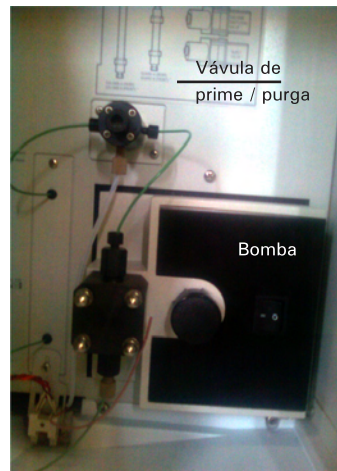


Figura 7. bomba

Para tanto, deve-se:

- Fazer a **purga**, girando a válvula no sentido anti-horário e aguardar por alguns minutos até que o sistema estabilize.
- Após esse procedimento, fechar a válvula de prime.

Após a pressão estabilizar, deve-se iniciar o procedimento de aquisição de dados, que proporcionará o monitoramento da variação da condutividade do eluente produzido, por meio de um gráfico.

Para realizar esse procedimento, é necessário clicar no botão (indicado pela seta), conforme a Figura 8.

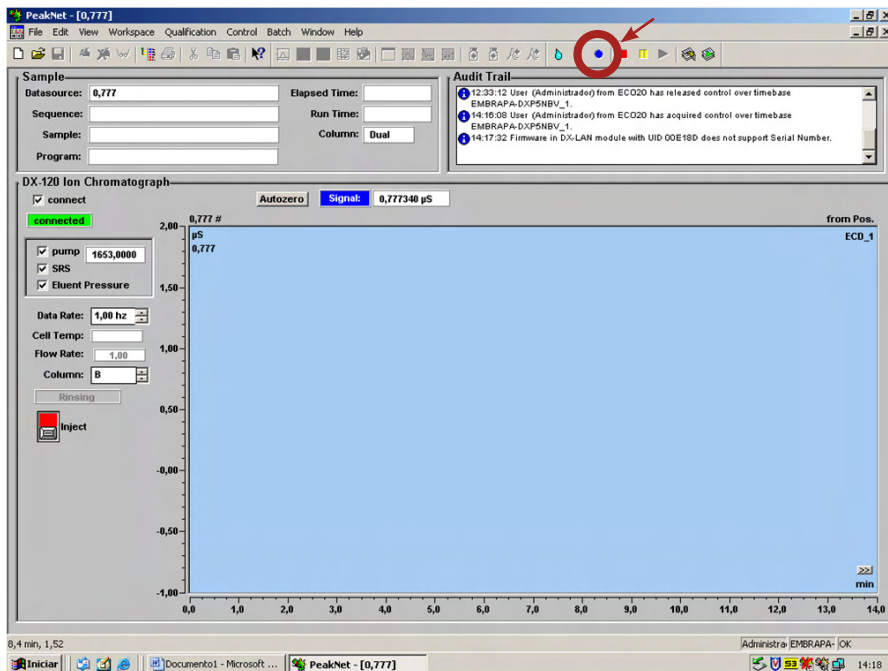


Figura 8. Tela principal do Peaknet 6 com a seta vermelha indicando o botão para iniciar a função "aquisição On/Off".

Após esse procedimento aparecerá a seguinte janela, conforme ilustrado na Figura 9:

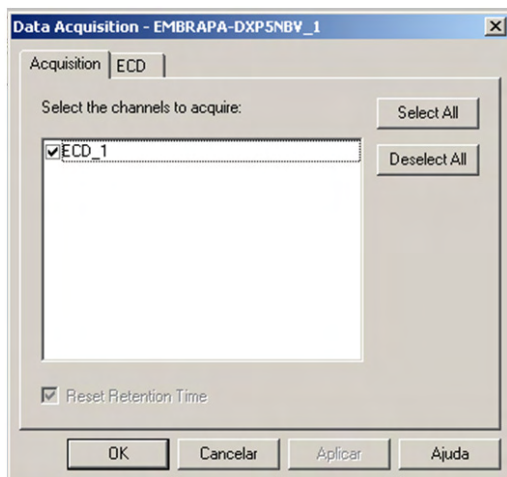



Figura 9. Janela “Data acquisition” para o início do monitoramento das condições do eluente e estabilização do sistema.

Clicar em OK. Ao realizar esse procedimento, imediatamente iniciará um processo de detecção da condutividade do eluente e esta será plotada em um gráfico, como ilustra a Figura 10. É necessário aguardar até que a linha de base se estabilize (se mantenha reta, ou seja, sem ruído), como mostrado na figura. Após a estabilização, desabilitar a função **Aquisition On/Off**, clicando no mesmo botão .

Obs.: É comum o gráfico apresentar um pico logo no início do procedimento de aquisição; tal comportamento corresponde à limpeza de algum resíduo presente na coluna, que é liberado durante essa estabilização. Configura-se um bom comportamento quando o gráfico estabiliza e não se observa mais a presença de ruídos no sistema.

O tempo para se realizar a aquisição depende das condições do sistema, bem como do eluente que foi produzido. Em boas condições, o tempo de estabilização varia de 30 a 60 minutos, podendo se estender até que se observe estabilização da linha de base (linha de cor preta do gráfico).

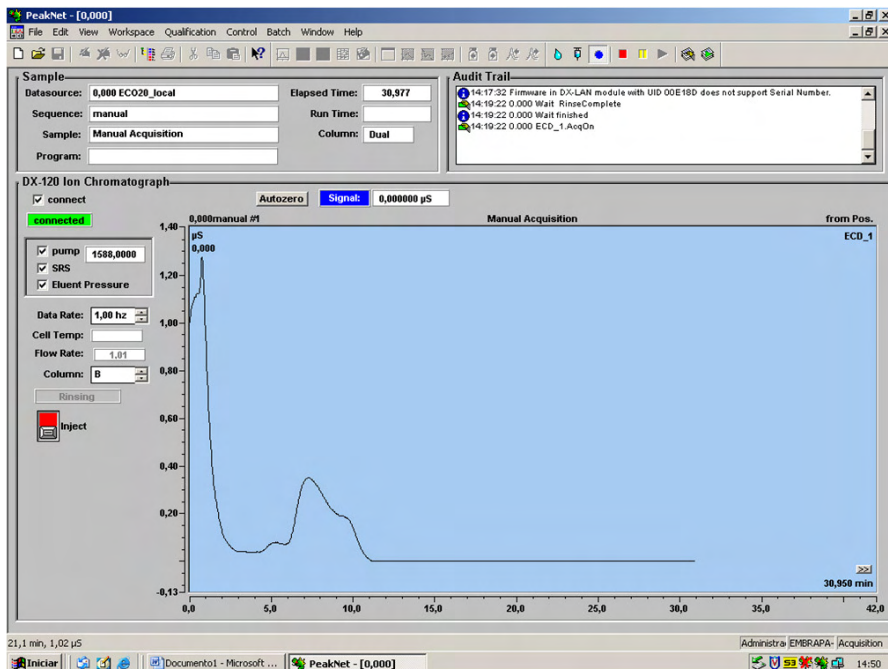



Figura 10. Tela principal do Peaknet 6 após a conexão com o módulo analítico.

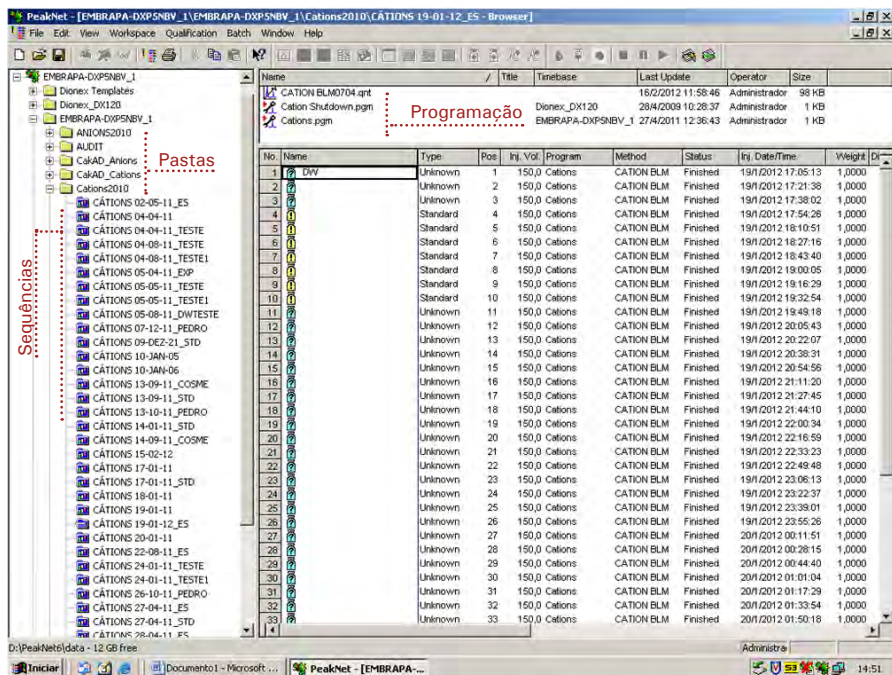
A determinação de cátions por meio do eluente à base de H_2SO_4 deverá apresentar condutividade $< 2\mu\text{S}$ e fluxo de 1 mL min^{-1} , para a coluna analítica CS12A.

Já para a determinação dos principais ânions por meio do eluente à base de carbonato/bicarbonato de sódio, a condutividade deve estar entre $15\mu\text{S}$ e $29\mu\text{S}$ e um fluxo de $1,2\text{ mL min}^{-1}$, para a coluna analítica AS22.

Para ajustar o fluxo de eluente do equipamento, utiliza-se uma válvula localizada na bomba (ver Figura 7).

Enquanto o sistema estabiliza, pode-se otimizar o tempo preparando a sequência que se pretende analisar.

Para a navegação no Peaknet 6 utiliza-se uma tela principal, na qual constam as pastas, arquivos, painel de controle, método e sequências. Para chegar a essa tela, deve-se clicar no botão  (**Browser**). Feito isso, surgirá a seguinte tela, como ilustra a Figura 11.



Sequências

No.	Name	Type	Pos	Inj. Vol.	Program	Method	Status	Inj. Date/Time	Weight	Dr
1	DIV	Unknown	1	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:05:13	1,0000	
2		Unknown	2	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:21:38	1,0000	
3		Unknown	3	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:38:02	1,0000	
4		Standard	4	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:54:29	1,0000	
5		Standard	5	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:10:51	1,0000	
6		Standard	6	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:27:19	1,0000	
7		Standard	7	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:43:40	1,0000	
8		Standard	8	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 19:00:05	1,0000	
9		Standard	9	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 19:16:29	1,0000	
10		Standard	10	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 19:32:54	1,0000	
11		Unknown	11	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 19:48:18	1,0000	
12		Unknown	12	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:05:43	1,0000	
13		Unknown	13	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:22:07	1,0000	
14		Unknown	14	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:38:31	1,0000	
15		Unknown	15	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:54:59	1,0000	
16		Unknown	16	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 21:11:20	1,0000	
17		Unknown	17	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 21:27:45	1,0000	
18		Unknown	18	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 21:44:10	1,0000	
19		Unknown	19	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:00:34	1,0000	
20		Unknown	20	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:16:59	1,0000	
21		Unknown	21	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:33:23	1,0000	
22		Unknown	22	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:49:48	1,0000	
23		Unknown	23	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:06:13	1,0000	
24		Unknown	24	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:22:37	1,0000	
25		Unknown	25	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:38:01	1,0000	
26		Unknown	26	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:55:26	1,0000	
27		Unknown	27	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 00:11:51	1,0000	
28		Unknown	28	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 00:28:15	1,0000	
29		Unknown	29	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 00:44:40	1,0000	
30		Unknown	30	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:01:04	1,0000	
31		Unknown	31	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:17:29	1,0000	
32		Unknown	32	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:33:54	1,0000	
33		Unknown	33	150,0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:50:18	1,0000	

Programação

Name	Title	Timebase	Last Update	Operator	Size
CATION BLM0704.qpt			18/2/2012 11:58:46	Administrador	98 KB
Cation Shutdown.pgm			28/4/2009 10:28:37	Administrador	1 KB
Cations.pgm			27/4/2011 12:36:43	Administrador	1 KB

Pastas

- EMBRAPA-DXP5NBV_1
 - Dionex Templates
 - Dionex_DX120
 - EMBRAPA-DXP5NBV_1
 - ANLISES2010
 - ALUAT
 - CaAD_Anions
 - CaAD_Cations
 - Cations2010
 - CÁTIONS 02-05-11_ES
 - CÁTIONS 04-04-11
 - CÁTIONS 04-04-11_TESTE
 - CÁTIONS 04-08-11_TESTE1
 - CÁTIONS 04-08-11_TESTE1
 - CÁTIONS 05-04-11_EXP
 - CÁTIONS 05-05-11_TESTE
 - CÁTIONS 05-05-11_TESTE1
 - CÁTIONS 05-08-11_DWTESTE
 - CÁTIONS 07-12-11_PEDRO
 - CÁTIONS 09-DEZ-21_STD
 - CÁTIONS 10-3AN-05
 - CÁTIONS 10-3AN-06
 - CÁTIONS 13-09-11_COSME
 - CÁTIONS 13-09-11_STD
 - CÁTIONS 13-10-11_PEDRO
 - CÁTIONS 14-01-11_STD
 - CÁTIONS 14-09-11_COSME
 - CÁTIONS 15-02-12
 - CÁTIONS 17-01-11
 - CÁTIONS 17-01-11_STD
 - CÁTIONS 18-01-11
 - CÁTIONS 19-01-11
 - CÁTIONS 19-01-12_ES
 - CÁTIONS 20-01-11
 - CÁTIONS 22-08-11_ES
 - CÁTIONS 24-01-11_TESTE
 - CÁTIONS 24-01-11_TESTE1
 - CÁTIONS 26-10-11_PEDRO
 - CÁTIONS 27-04-11_ES
 - CÁTIONS 27-04-11_STD
 - CÁTIONS 28-04-11_ES

Figura 11. Tela Browser do Peaknet 6.

Essa tela dará acesso às pastas e aos diretórios criados, criação e edição de programas, métodos e sequências, bem como ao monitoramento da sequência da análise. Será possível também alterar fator de diluição, massa da amostra e renomear amostras e padrões (STD 1, STD 2, etc.).

Deve-se selecionar uma sequência já analisada e salvar. Clicar em **File > Save as** para salvar a sequência com as identificações das amostras a serem analisadas, como mostra a Figura 12.

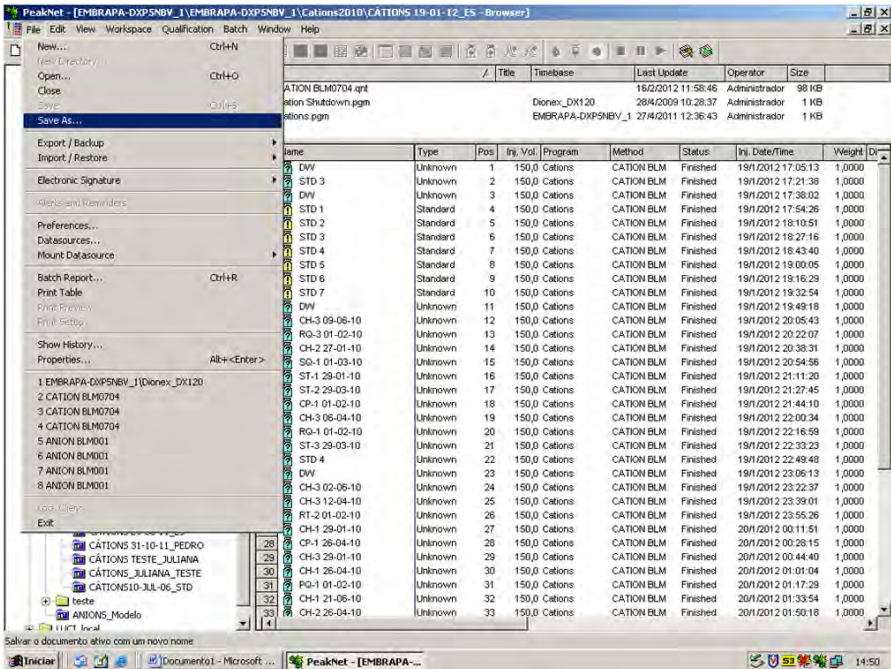


Figura 12. Tela browser do Peaknet 6 indicando como salvar uma nova sequência.

Feito isso, deve-se nomear a nova sequência e salvá-la em um diretório de interesse, clicando em Save, como mostrado na Figura 13.

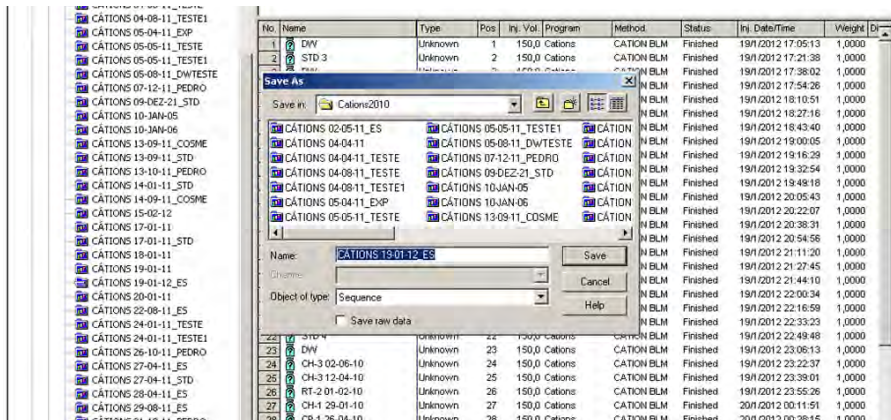


Figura 13. Janela de identificação da sequência a ser analisada.

O próximo passo é digitar a sequência a ser analisada na coluna **Name**, como mostrado na Figura 14.

Obs.: Sua sequência já deve ter sido editada em um caderno de controle, bem como os Vials devem estar preenchidos com as respectivas amostras.

No.	Name	Type	Pos	Inj. Vol.	Program	Method	Status	Inj. Date/Time	Weight
1	DW	Unknown	1	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:05:13	1,0000
2		Unknown	2	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:21:38	1,0000
3		Unknown	3	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:38:02	1,0000
4		Standard	4	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 17:54:26	1,0000
5		Standard	5	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:10:51	1,0000
6		Standard	6	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:27:16	1,0000
7		Standard	7	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:43:40	1,0000
8		Standard	8	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:00:05	1,0000
9		Standard	9	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 19:16:29	1,0000
10		Standard	10	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 18:32:54	1,0000
11		Unknown	11	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 19:48:18	1,0000
12		Unknown	12	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:05:43	1,0000
13		Unknown	13	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:22:07	1,0000
14		Unknown	14	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:38:31	1,0000
15		Unknown	15	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 20:54:58	1,0000
16		Unknown	16	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 21:11:20	1,0000
17		Unknown	17	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 21:27:45	1,0000
18		Unknown	18	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 21:44:10	1,0000
19		Unknown	19	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:00:34	1,0000
20		Unknown	20	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:16:59	1,0000
21		Unknown	21	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:33:23	1,0000
22		Unknown	22	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 22:49:48	1,0000
23		Unknown	23	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:06:13	1,0000
24		Unknown	24	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:22:37	1,0000
25		Unknown	25	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:39:01	1,0000
26		Unknown	26	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	19/12/2012 23:55:26	1,0000
27		Unknown	27	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 00:11:51	1,0000
28		Unknown	28	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 00:28:15	1,0000
29		Unknown	29	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 00:44:40	1,0000
30		Unknown	30	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:01:04	1,0000
31		Unknown	31	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:17:29	1,0000
32		Unknown	32	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:33:54	1,0000
33		Unknown	33	150.0	Cations	CATION BLM	Finished	20/12/2012 01:50:18	1,0000

Figura 14. Painel para a organização das amostras em uma sequência.

Na coluna **Type**, deve-se selecionar o tipo de amostra que se pretende injetar. Quando a amostra possui concentração desconhecida, deve-se selecionar a opção **Unknown**. No entanto, quando se pretende injetar uma solução padrão (concentração conhecida), deve-se selecionar a opção **Standard** para que o equipamento seja calibrado. A Figura 15 mostra as opções para os tipos de amostras a serem injetadas.

Atenção! É importante que, antes de injetar as amostras para serem analisadas, seja criada uma curva de calibração.

Obs.: A criação de uma nova curva de calibração é referida em seção posterior deste documento.

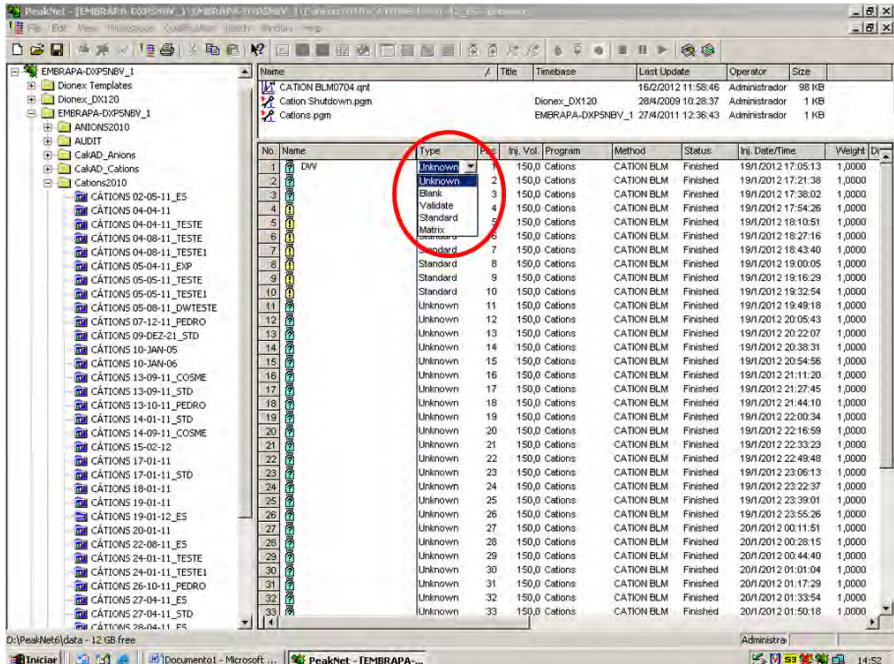



Figura 15. Painel de organização da sequência a ser criada com as opções do tipo de amostra a ser injetada.

Após a conclusão dessas etapas, deve-se retornar para a tela principal do Peaknet 6, clicando na aba **Window** e em seguida selecionar a opção **2**.

É hora de parar a aquisição (clicando no botão  novamente), se ainda estiver sendo monitorada.

Aparecerá na tela a seguinte janela:

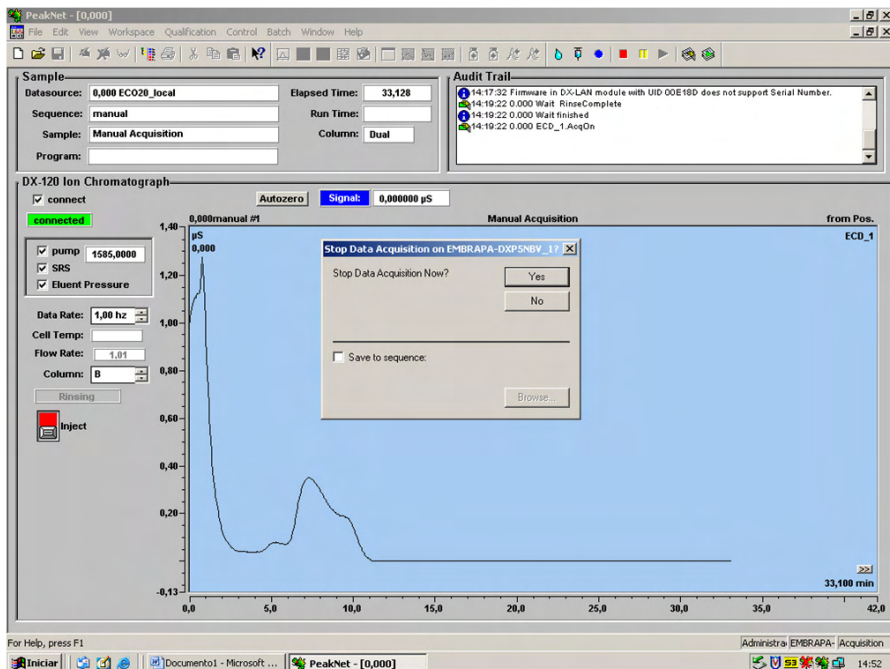


Figura 16. Janela **Stop** data acquisition, necessária para encerrar a estabilização do sistema.

Clicar em **Yes**. Feito isso, a estabilização (aquisição) será encerrada e o gráfico de monitoramento do sistema desaparecerá da área azul.

Iniciando as injeções de uma sequência

Essa etapa do procedimento de operação do cromatógrafo é importante para injetar as amostras da nova sequência.

Após certificar-se de que a linha de base estava estável e, com isso, ter finalizado o procedimento de aquisição (descrito no tópico anterior), deve-se dar o comando para o início das injeções.

- **Comando no Amostrador Automático (Auto Sampler)**

Inserir os carretéis com os vials preenchidos com as amostras de água a serem injetadas, e pressionar a tecla **Hold/Run** para que o carretel seja movido até que pare na direção do primeiro vial. **Obs.: Verificar se a luz verde mudou para o lado de "Run" ao pressionar a tecla.** É necessário certificar-se de que o carretel foi bem encaixado na correia do amostrador, para que não haja travamento do carretel.

- Comando no Peaknet

Deve-se clicar em **Batch** (na barra de ferramentas) e em seguida na opção **Start**, como mostrado na Figura 17.

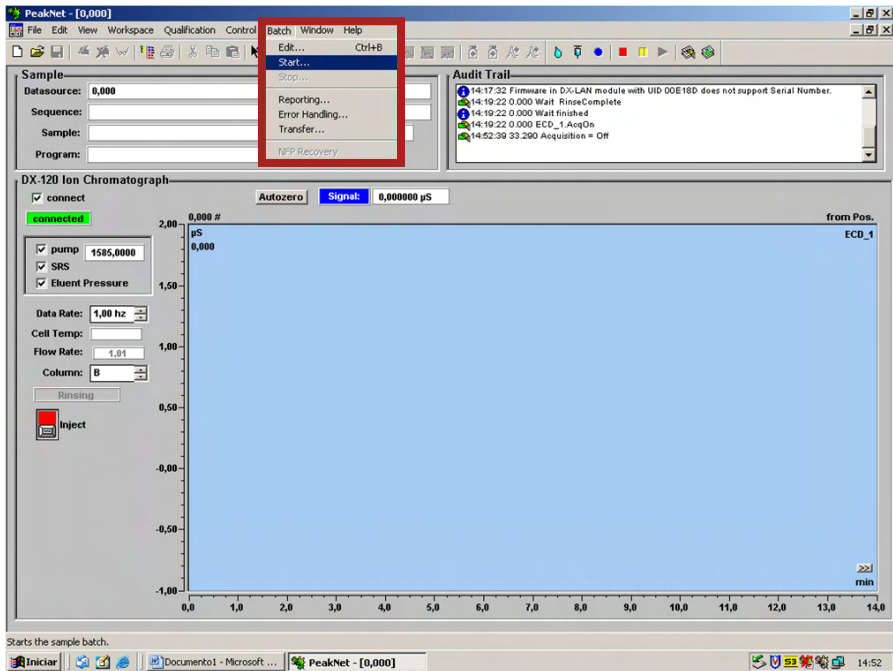


Figura 17. Tela principal com o comando para o início das injeções das amostras.

Feito isso surgirá a seguinte janela:

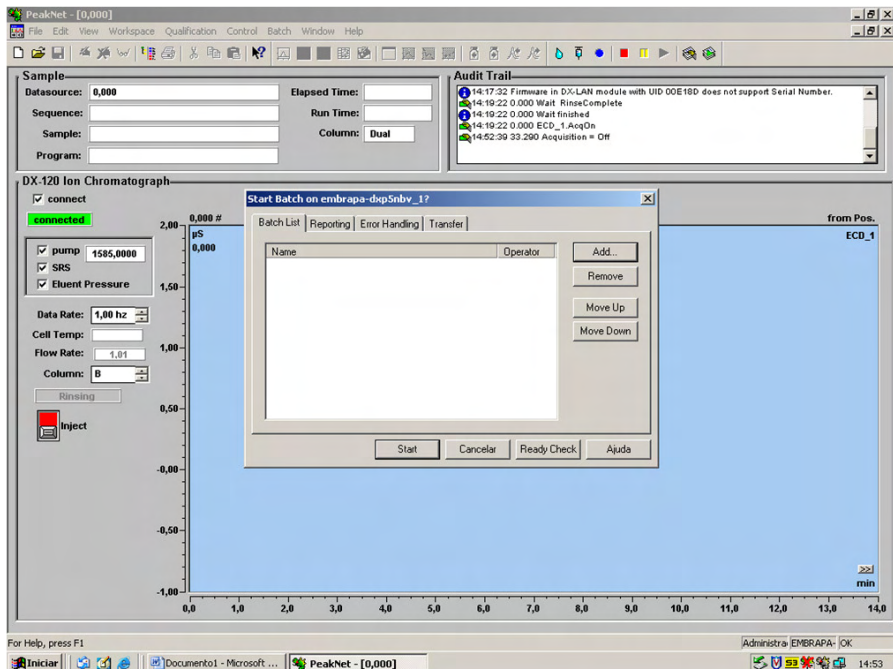


Figura 18. Janela **Start Batch** para a seleção da sequência que foi digitada.

Clicar em **Add** para selecionar a sequência que foi previamente criada, como mostrado na Figura 19. Em seguida, clicar em **Open** para que a sequência seja selecionada para análise.

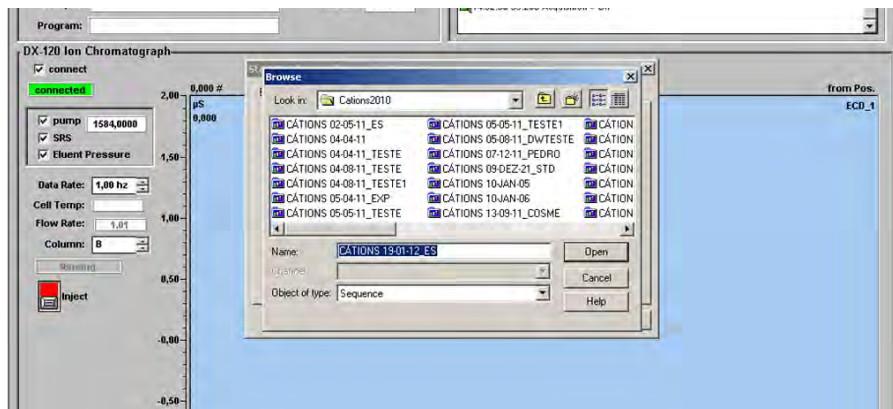


Figura 19. Janela **Browse** para a seleção da sequência que foi criada.

Após esse comando, surgirá a seguinte janela, como mostra a Figura 20:

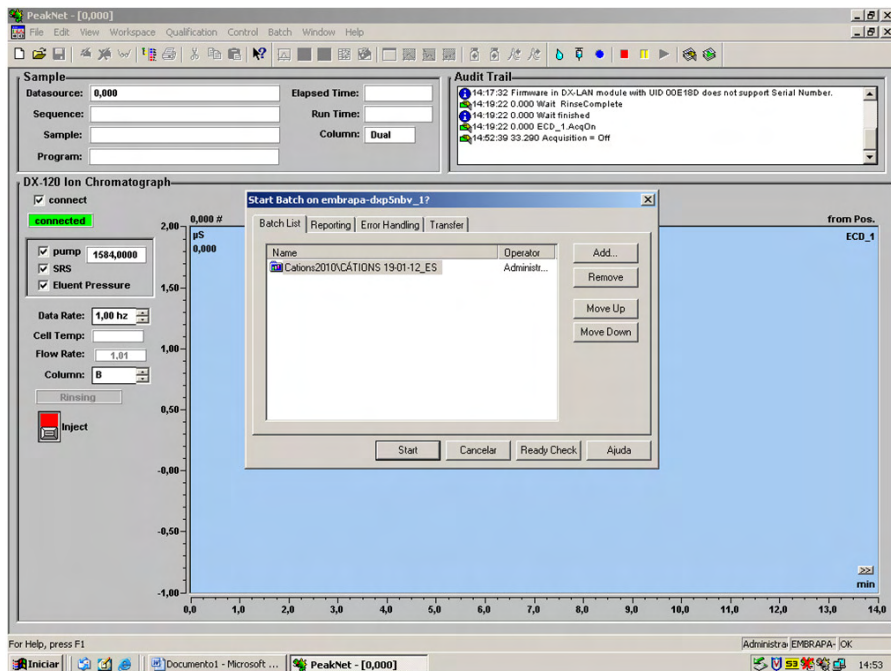


Figura 20. Janela **Start Batch** de confirmação da sequência a ser analisada.

Clicar em **Start**. Confirmar a sequência selecionada clicando em **Sim**.

Pronto! Agora é só aguardar o fim das injeções!

Depois de finalizadas as injeções, o próprio programa inicia um procedimento de **Stand By**, desativando automaticamente a SRS, pressão da bomba e pressão do eluente, permanecendo apenas conectado ao módulo analítico, como mostra a Figura 21.

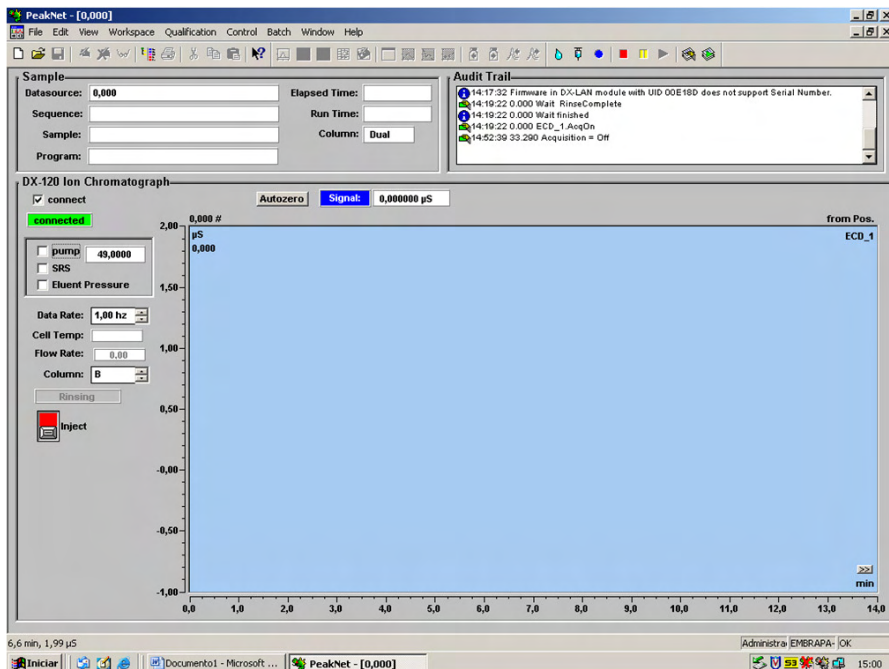



Figura 21. Tela principal do Peaknet 6 após o encerramento das injeções das amostras.

Obtendo os resultados analíticos

Esta etapa é necessária para verificar o processamento e o cálculo dos cromatogramas gerados, a fim de se obter os valores das concentrações dos elementos que se pretendeu identificar e quantificar nas amostras injetadas.

Para isso, deve-se voltar à tela em que se encontra disponível a sequência que foi analisada, clicando no botão . Surgirá então a janela que segue:

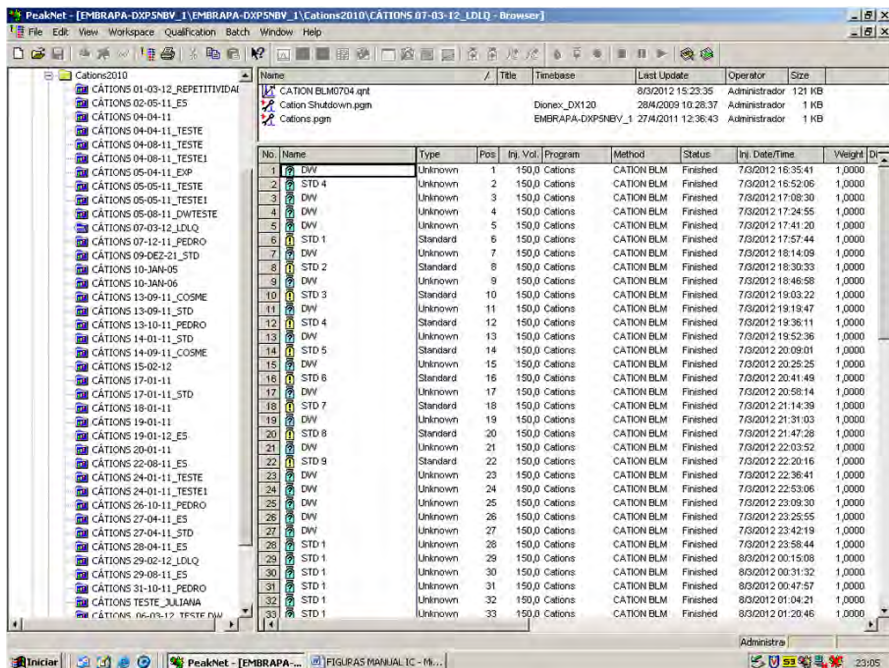



Figura 22. Janela em que consta a sequência analisada, bem como todas as sequências do programa.

Após essa tarefa, deve-se selecionar a sequência que foi analisada e dar um duplo clique na amostra a ser integrada.

Feito isso, surgirá a tela **Integration**.

Obs.: Se tiverem sido injetados padrões para a curva de calibração na mesma sequência das amostras, estes serão plotados automaticamente em um gráfico ao lado do cromatograma, como ilustrado na Figura 23.

Caso não tenham sido injetados padrões na mesma sequência das amostras, deve-se buscar uma sequência com uma curva de calibração já pronta. Para isso, é necessário clicar no botão  ou clicar na aba **View > QNT-Editor**.

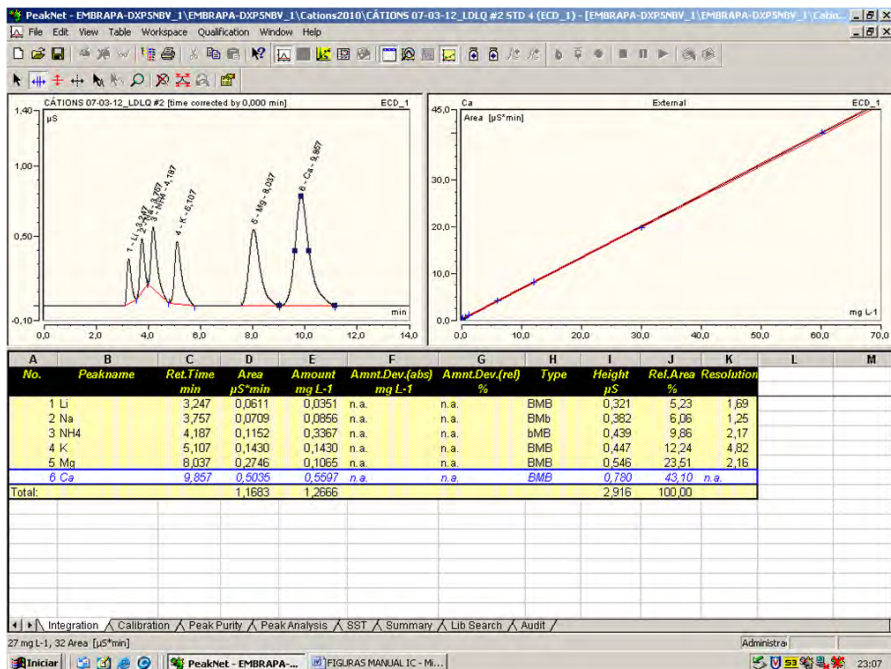


Figura 23. Tela Integration do Peaknet.

Feito isso, outra janela (Figura 24) será mostrada. Para selecionar uma curva fora da sequência que se pretende integrar, deve-se clicar na aba **General**. Em **Global Calibration Settings**, na opção **Mode**, deve-se selecionar a opção:

- **Total**, caso a curva tenha sido injetada junto com as amostras (Figura 24).
- **Fixed**, caso a curva esteja em outra sequência (Figura 25).

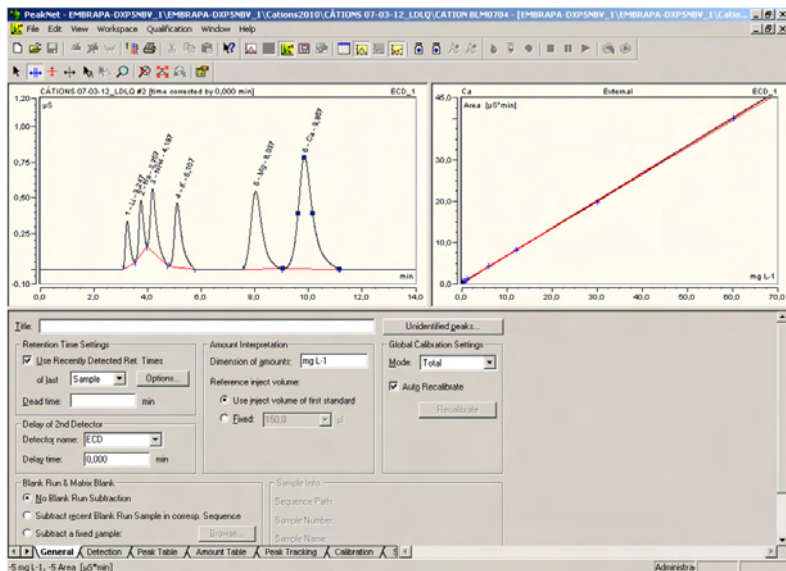


Figura 24. Tela Calibration do Peaknet 6 com a opção Total selecionada.

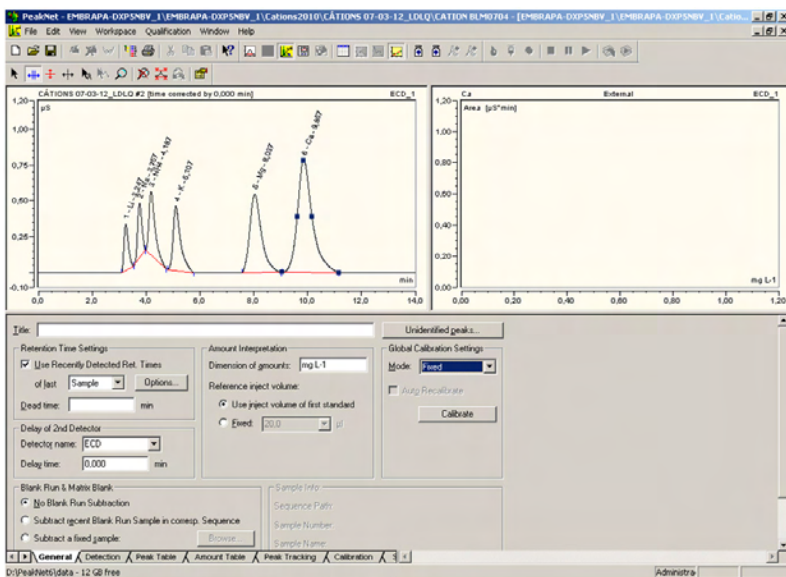


Figura 25. Tela Calibration do Peaknet 6 com a opção Fixed selecionada.

Quando é necessário seleccionar uma curva em outra sequência, após ter seleccionado a opção **Fixed** na aba General (como foi ilustrado na Figura 25), deve-se:

- Seleccionar a aba **Calibration**.
- Clicar com o botão direito do mouse na área cinza.
- Clicar na opção **Insert Standard** para inserir os novos padrões da curva.
- Seleccionar os padrões que se pretende inserir, introduzindo-os um a um, para serem integrados (Figura 27).

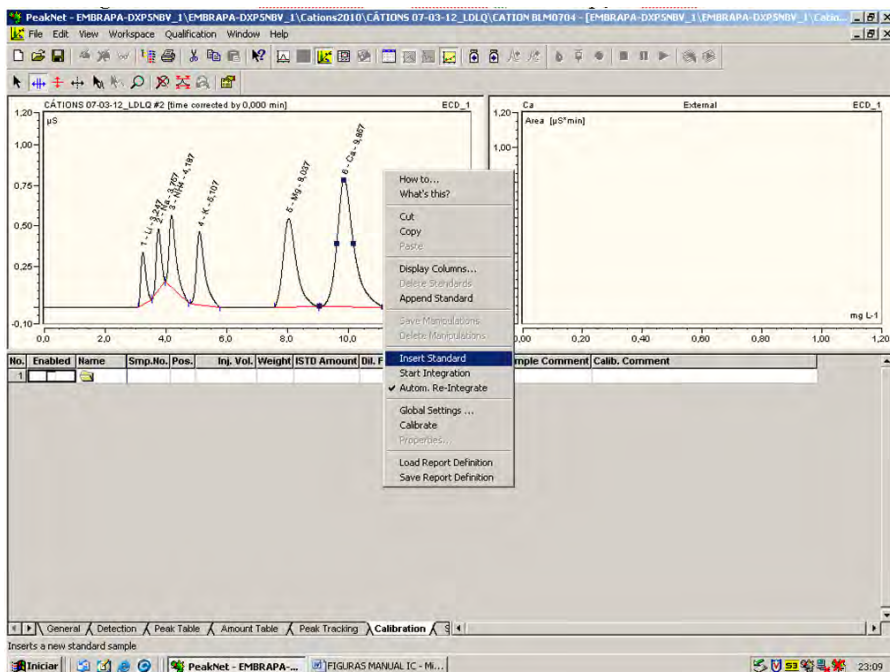


Figura 26. Tela **Calibration** do Peaknet 6 para a inserção da nova curva de calibração.

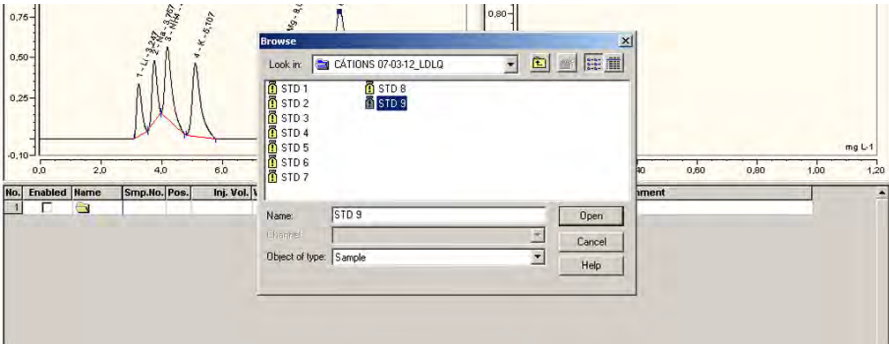


Figura 27. Tela **Calibration** do Peaknet 6 para a inserção dos novos padrões da curva de calibração.

Após os padrões terem sido inseridos, a curva passa a ser mostrada ao lado do cromatograma, como ilustrado na Figura 28.

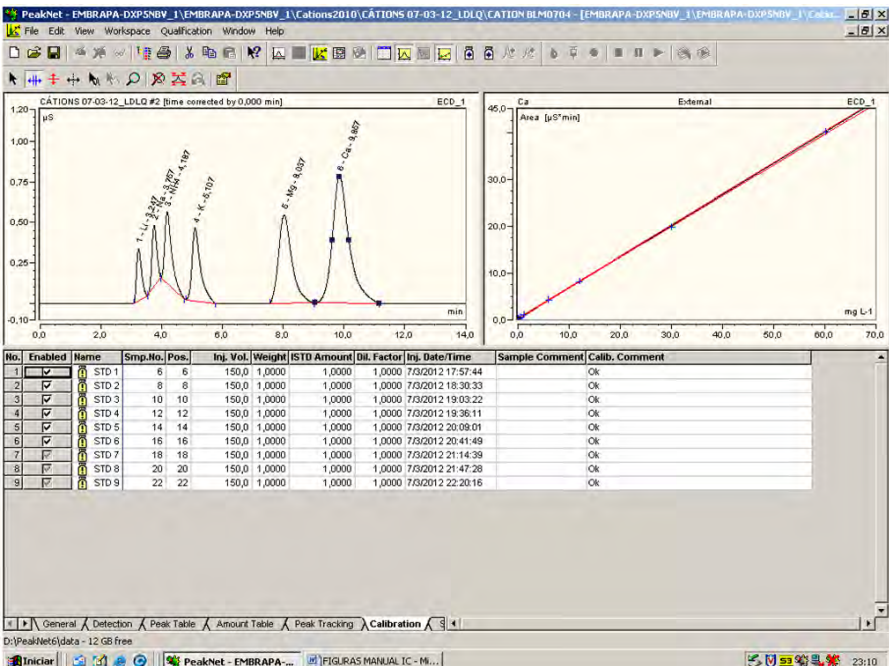


Figura 28. Tela **Calibration** após a inserção dos padrões da nova curva de calibração.

Selecionar a aba **Amount Table** para verificar as concentrações dos padrões analisados (Figura 29).

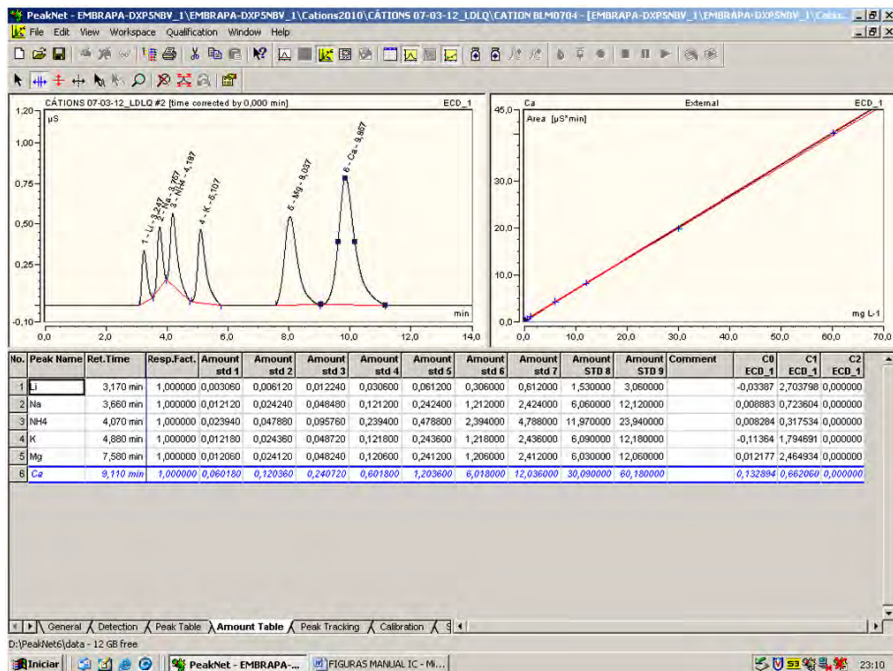


Figura 29. Aba **Amount Table** da função **Calibration** do Peaknet 6.

Na aba **Peak Table** constam os nomes dos picos, juntamente com os tempos de retenção, tipos de calibração, entre outras informações. A Figura 30 ilustra a referida janela.

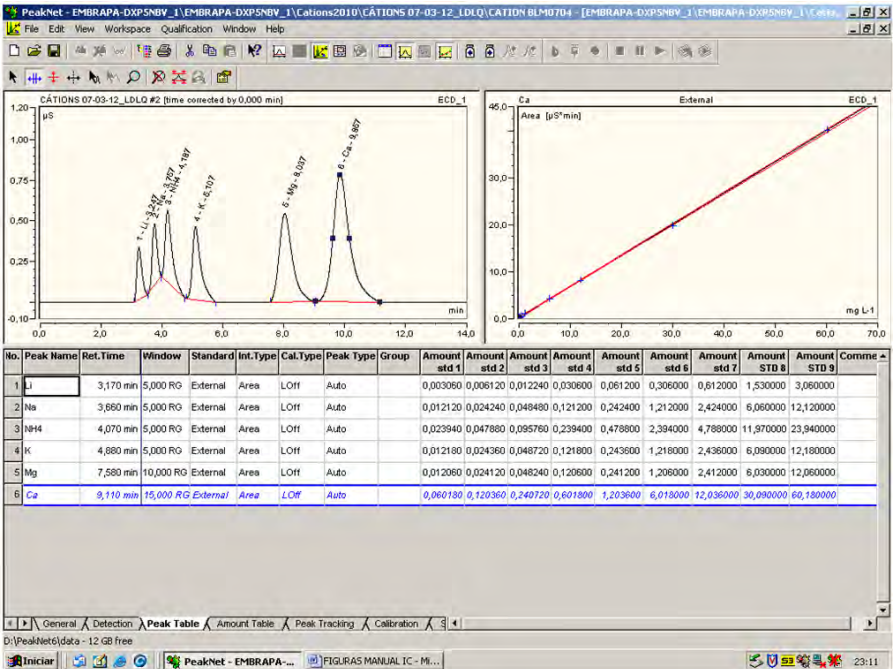




Figura 30. Aba Peak Table da função Calibration do Peaknet 6.

Após esse procedimento é necessário retornar para a janela de integração dos picos (**Integration**), para isso deve-se clicar no botão  (Figura 31). Na aba **Summary**, é possível verificar um relatório das informações de todas as amostras que foram injetadas e que se pretende integrar.

Para avançar na integração, deve-se avaliar, individualmente e com detalhe, todos os picos de cada cromatograma das amostras.

Para transitar entre os cromatogramas é necessário clicar nos botões .

Obs.: Ao editar as integrações dos picos e avançar para o próximo cromatograma, o programa sempre pergunta se é desejável salvar as manipulações do operador; portanto, deve-se clicar em **Sim/Yes**.

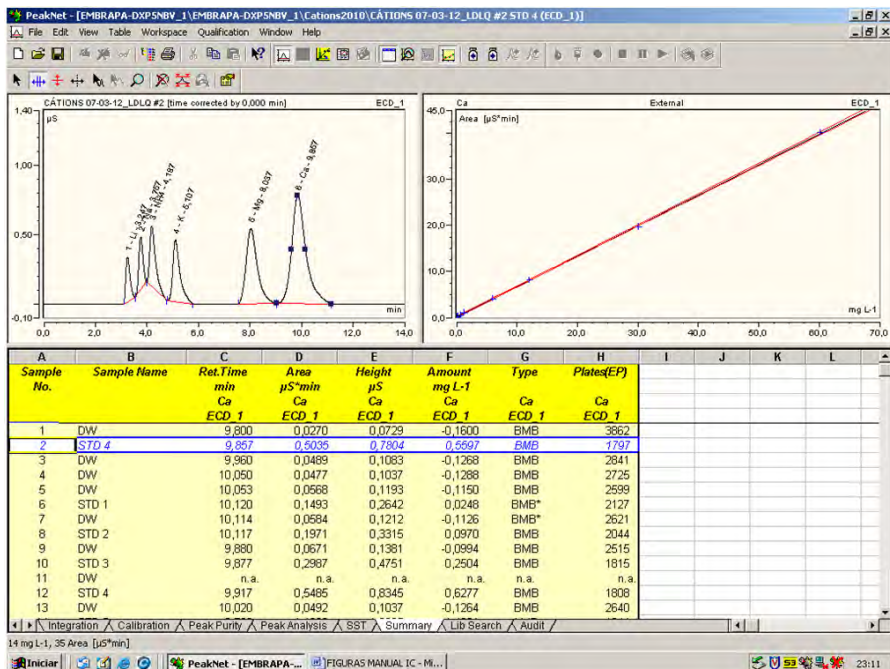


Figura 31. Aba Summary da tela Integration.

Para editar as integrações dos picos dos cromatogramas é necessário utilizar as ferramentas mostradas na Figura 32.



Figura 32. Ferramentas para edição das integrações dos picos dos cromatogramas.

Após a avaliação e verificação de todos os cromatogramas e seus picos, é hora de salvar os dados em uma planilha Excel para armazenar os dados como backup.

Esse passo é muito simples, basta selecionar as colunas com a identificação das amostras injetadas, bem como suas respectivas concentrações (**Amount**).

Obs.: Após a integração, as concentrações são fornecidas em miligramas por litro (mg L⁻¹).

Desligando o equipamento

Ao encerrar uma sequência de injeções, o próprio software Peaknet 6 desativa a pressão do eluente, bomba e supressora, permanecendo apenas conectado. Para encerrar e desligar o sistema, é necessário desconectar o programa do módulo analítico. Para tanto basta desmarcar a opção **Connect** e, em seguida, fechar o programa.

Feito isso, deve-se fechar a válvula de pressurização do gás (válvula de cor preta, no cilindro), aguardar até a redução da pressão (a níveis de 10-5 psi) e depois a válvula geral do gás, como mostrado na Figura 4.

Com as válvulas de gás fechadas, basta encerrar o sistema desligando o módulo analítico e o computador.

Trocando as linhas de análise (cátions e ânions)

Como o cromatógrafo iônico Dionex DX-120 não possui um sistema de análise simultânea para a determinação dos principais cátions e ânions em amostras de água, torna-se necessária a substituição das linhas de análise ou para análise de cátions ou para análise de ânions.

Para tanto, deve-se:

- Desligar o sistema.
- Transferir a tampa da garrafa de eluente para uma garrafa de vidro contendo água ultrapura (Milli-Q) para que a linha seja limpa.
- Iniciar o sistema (**Eluent pressure, Pump, SRS**) para a água circular pelo sistema por pelo menos 1 hora.
- Desligar apenas a SRS.
- Pressionar a tecla **Column A** (se for mudar para ânions) ou **Column B** (se for mudar para cátions).

- Deixar que o sistema circule com água, para fazer uma limpeza na nova linha de análise selecionada, por pelo menos 1 hora.
- Desligar novamente o sistema.
- Transferir a tubulação (de cor verde) para a tampa referente à garrafa de eluente da linha que se pretende trabalhar.
- Reiniciar o sistema e deixar que o novo eluente circule pela linha até que o sistema estabilize e seja possível iniciar as análises.

O procedimento descrito é realizado apenas se o equipamento estiver com problemas de chaveamento e for necessário utilizar apenas uma das linhas para injetar as amostras a serem analisadas. Caso contrário, basta desligar a supressora, pressionar a nova linha (**Column A** ou **Column B**) e deixar que, automaticamente, o sistema realize os procedimentos.

Lembre-se

- Nunca iniciar o equipamento sem que estejam abertas as válvulas de gás e regulada a pressão, pois pode resultar na estagnação do fluxo e danificação do sistema.
- Sempre verificar se existe eluente suficiente para o número de amostras que se pretende injetar.
- Não é recomendado alterar as configurações do método já testado, a menos que seja criado um novo método para análise.
- Sempre calibrar o equipamento antes de iniciar injeções de amostras. A realização correta desse procedimento resultará em resultados mais confiáveis. Para qualquer alteração será necessária nova calibração.
- São necessárias injeções de água milliQ periodicamente ao longo da análise, intercaladas às injeções de amostras, de modo a verificar a contaminação do sistema por algum composto. Se forem verificadas contaminações, injetar brancos entre as injeções das amostras para a limpeza do sistema.
- O bom funcionamento da coluna analítica implica em cromatogramas com picos bem definidos e separados uns dos outros, caso contrário será necessária a realização de procedimento de limpeza de coluna ou a substituição da mesma.
- Jamais alterar as regulagens de fluxo do gás durante uma análise! Este procedimento é feito antes de ser iniciada a estabilização do sistema.

- Nunca esquecer de pressionar a tecla **Hold/Run**, localizada no amostrador automático, antes do início das injeções.
- Se observar que o pico atingiu um platô (ficou com o topo achatado), é necessário diluir a amostra.
- Sempre tomar cuidado durante o procedimento de limpeza dos materiais a serem utilizados para o preparo de soluções de calibração, caso contrário os resultados poderão ser errôneos, em virtude de contaminação por impurezas.
- Antes de iniciar as análises, verificar se as condições do sistema estão estáveis.
- Sempre fazer backup dos resultados das análises.
- É recomendado o uso contínuo com o mínimo de interrupções no funcionamento do cromatógrafo com o objetivo de evitar a entrada de ar no sistema e a necessidade de etapas de estabilização frequentes, reduzindo o gasto de material e tempo.

Problemas mais comuns e suas soluções

Problemas	Causas possíveis	Soluções
Aumento de pressão	Obstrução de conexões ou colunas	Circulação de solução de limpeza (solvente) até que o sistema elimine as impurezas
Diminuição da pressão	1. Bolhas de ar nas linhas (tubulações) 2. Vazamentos	1. Realizar o procedimento de prime na válvula de prime, ou desconectar as conexões antes da coluna de guarda para a purga do ar 2. Verificar se as conexões estão bem vedadas (fechadas)
Picos mal formados	1. Desgaste da coluna analítica 2. Amostras contaminadas	1. Regenerar a coluna com solução de limpeza 2. Reinjetar a amostra utilizando outro vial para injeção

Problemas	Causas possíveis	Soluções
Picos não identificados	Tempo de retenção alterado ou janela do pico pequena	Enquadrar o tempo de retenção de amostra, conforme predefinido nos padrões, ou ajustar a janela de identificação do pico

Abreviações utilizadas no cromatógrafo

PSI – Unidade de pressão (libras por polegada quadrada).

SRS – Supressora em que consta o detector de condutividade.

Definições

Connect – Opção para conexão do computador ao módulo analítico do cromatógrafo iônico.

Pump – Sistema bomba.

Eluent pressure – Pressão do eluente (fase móvel), necessária para a estabilização do sistema e para que haja fluxo de padrões e amostras nas linhas de análise.

Data rate – Taxa de dados.

Cell temp – Temperatura da célula.

Flow rate – Fluxo.

Column – Coluna (analítica e/ou de guarda).

Rinsing – Lavagem.

Inject – Injeção.

Data source – Fonte de dados.

Sequence – Sequência.

Sample – Amostra.

Program – Programa.

Elapsed time – Tempo decorrido.

Run time – Tempo de execução de análise de uma amostra.

Auto zero – Eliminador de sinal de ruído.

Referências

ETTRE, E. L. Nomenclature for chromatography (IUPAC recommendations 1993). **Pure and Applied Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 819-872, 1993.

SCHWEDT, G.T. **Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie**, v. 320, n. 5, p. 423-428, 1985.

Literatura recomendada

DX-120 Ion chromatography Operator's Manual. [Sunnyvale]: Dionex Corporation, 1998.
Paginação irregular.

Embrapa

Amazônia Oriental

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

G O V E R N O F E D E R A L
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA

CGPE 10267