



PE-2P&D-01852 Versão A



Padrão ATIVO

DETERMINAÇÃO DE LACTATO, ACETATO, FORMIATO, PROPIONATO E BUTIRATO EM SOLUÇÕES AQUOSAS POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

Aprovado por Sandra Machado de Andrade/BRA/Petrobras (CENPES/PDIDMS/PPL/LABQ) em 6 de ago de 2020 | Gerido por CENPES/PDIDMS/PPL/LABQ

CADASTROTipo

PE - Padrão de Execução

Nível

Nível 2 - Área / Gerência Executiva

Sigla

P&D

Abrangência desse Padrão

CENPES - Pesquisa e Desenvolvimento

Aprovador

CENPES/PDIDMS/PPL/LABQ

ANP

Não

Outros FiltrosInstalaçãoPalavras-chaveEscopo da Certificação/Sistema de GestãoRequisitoMacroprocesso

Gerir Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação

Processo

Realizar ensaios de química analítica

Responsável Padronização

RH/DO/CLTG

VALIDAÇÃO**Padrão entrou em validação em . Prazo para validação: dias (até)**

Nome	Status	Data da Validação
------	--------	-------------------

1. OBJETIVO

Descrever o procedimento para determinação de ânions de ácidos orgânicos de cadeia curta (lactato, acetato, formiato, propionato e butirato) em água produzida, águas de processo e efluentes industriais por cromatografia de íons.

2. ABRANGÊNCIA

Este padrão se aplica ao Laboratório de Cromatografia de Íons da Gerência de Química do Cenpes.

1. OBJETIVO

3. DESCRIÇÃO

3.1. Fundamentação teórica

A cromatografia compreende um grupo diversificado de métodos que permitem a separação de misturas complexas. Em todas as separações cromatográficas, a amostra é transportada por uma fase móvel (que pode ser um gás, um líquido ou um fluido supercrítico) através de uma fase estacionária imiscível e fixa, colocada em uma coluna ou superfície sólida.

A cromatografia de troca iônica (ou cromatografia iônica) é um tipo de cromatografia líquida de alta eficiência - HPLC (high performance liquid chromatography), ou seja, uma cromatografia em que a fase móvel é um líquido, a fase estacionária é feita com partículas de 3 a 10 μ m e os equipamentos operam a altas pressões. A cromatografia iônica utiliza métodos de separação e determinação de íons com base em resinas trocadoras de íons (Skoog, 2002).

Os processos de troca iônica estão baseados em equilíbrios de troca entre íons em solução e íons de mesmo sinal na superfície de um sólido essencialmente insolúvel de alto peso molecular (Skoog, 2002). Ou seja, na cromatografia de troca iônica, a separação é baseada nas diferenças das afinidades de troca iônica dos analitos individuais (Eith et al, 2006).

3.1.1. Componentes de um sistema de cromatografia de íons.

Nota 1: Os sistemas de cromatografia de íons utilizam capilares em PEEK e todos os componentes são revestidos em PEEK.

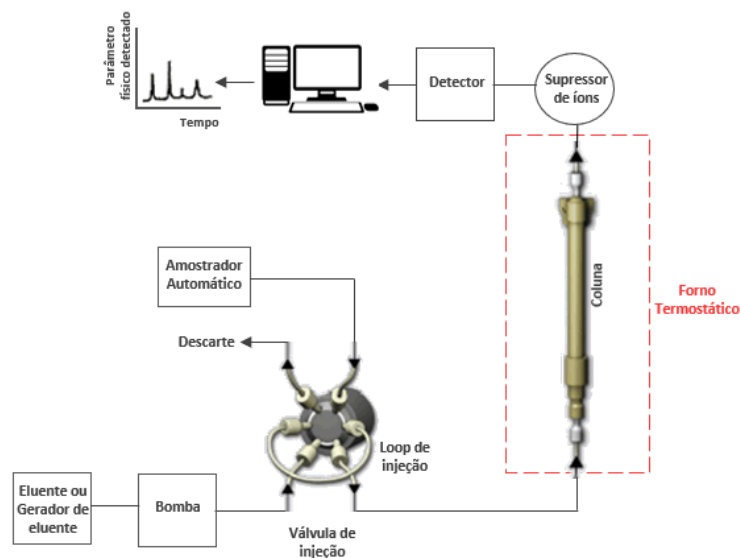


Figura 1 - Esquema simplificado dos componentes do sistema de cromatografia de íons

Eluente ou gerador de eluente: fase móvel do sistema analítico.

Bomba alternada (*reciprocating pump*) de capacidade de bombear 0,1 a 3 mL/min de eluente em pressão de cerca de 2000 psi (13 MPa). Após a bomba deve haver um absorvedor de pulsação ou então deve-se usar uma garrafa de eluente pressurizada para manter o fluxo uniforme, livre de pulsação, mesmo sob alta contra-pressão.

Válvula de 6 vias que ao girar permite a transferência da amostra da alça para o sistema em fluxo operando a alta pressão.

Alça (ou loop) de injeção conectado a uma válvula de 6 vias. Em geral as alças de amostragem mais usadas têm capacidade de 20, 25, 50 e 100 μL . A escolha depende da sensibilidade do analito ao detector e de sua concentração na amostra.

Amostrador automático responsável pela injeção da amostra no sistema e pela automatização da atividade de injeção.

Coluna analítica de troca aniônica capaz de reter e separar, com resolução de pico adequada todos os analitos de interesse dos demais ânions presentes na amostra.

É importante utilizar uma coluna de guarda (pré-coluna) de troca aniônica de mesma composição que a coluna analítica para proteção da mesma. Embora o sistema funcione sem a pré-coluna.

Forno Termostático para aquecimento da coluna analítica. É um acessório opcional, vai depender da metodologia analítica utilizada.

Supressor Eletrolítico autoregenerante com base no princípio de troca catiônica (de membrana ou de resina, a depender do fabricante do equipamento). O supressor ele deve manter o sinal de fundo baixo e estável para permitir uma linha de base adequada ao nível de sensibilidade exigido.

Detector que fará a medição da variação de algum parâmetro físico. O detector mais utilizado em cromatografia de íons é o detector de condutividade que é capaz de ler sinal de 0 a 1000 ms/cm em escala linear sob a vazão recomendada pelo fabricante da coluna. O detector deve ter controle sobre a estabilidade da temperatura.

Computador e software para controle dos componentes do sistema cromatográfico, aquisição e manipulação dos dados de forma a fornecer uma resposta como condutividade (ms/cm) em função do tempo de retenção(min), por exemplo. O software deve permitir integração dos picos cromatográficos de forma automática e manual e ainda fornecer dados quantitativos por comparação com uma curva analítica preparada a partir de padrões conhecidos.

3.2. Materiais e reagentes

3.2.1. Materiais

a) Micropipetas de volume variável de 10 a 100 uL, 100 a 1000 uL;

b) Ponteiras de micropipetas;

c) Tubos graduados tipo Falcon de 15mL e 50mL;

d) Béckeres de 100mL;

e) Espátulas;

f) Balões volumétrico de 1L e 2L;

g) Bastão de vidro;

h) Pissete;

i) Balança analítica;

Se houver necessidade de filtração da amostra, também serão necessários os seguintes materiais:

j) Seringa para preparação de amostra

k) Cartuchos de filtração adaptáveis à seringa para preparação da amostra.

Nota: A lavagem de todo material utilizado deve seguir as orientações do PE-2P&D-01717 – Limpeza de vidrarias e materiais utilizados no laboratório de cromatografia de íons.

3.2.2. Reagentes

a) Água ultrapura tipo I;

b) Solução Estoque de Lactato 1000 mg/L;

c) Solução Estoque de Acetato 1000 mg/L;

d) Solução Estoque de Propionato 1000 mg/L;

e) Solução Estoque de Formiato 1000 mg/L;

f) Solução Estoque de Butirato 1000 mg/L;

NOTA: É recomendável o uso de soluções padrão comerciais, certificadas e rastreáveis.

Entretanto, na falta destas, as soluções podem ser preparadas conforme orientações a seguir:

Para Solução Estoque de Lactato 1000 mg/L: Pesar 64,20 mg de lactato de sódio ($C_3H_5O_3Na$) 98% e completar o volume para 50mL em um balão volumétrico.

Para Solução Estoque de Acetato 1000 mg/L: Pesar 70,87 mg de acetato de sódio ($C_2H_3O_2Na$) 98%, e completar o volume para 50mL em um balão volumétrico.

Para Solução Estoque de Formiato 1000 mg/L: Pesar 51,40 mg de ácido fórmico (CH_2O_2) e completar o volume para 50mL em um balão volumétrico.

Para Solução Estoque de Propionato 1000 mg/L: Pesar 50,94 mg de ácido propiônico ($C_3H_6O_2$) 99,5% e completar o volume para 50mL em um balão volumétrico.

Para Solução Estoque de Butirato 1000 mg/L: Pesar 63,84 mg de butirato de sódio ($C_4H_7O_2Na$) 99% e completar o volume para 50mL em um balão volumétrico.

g) Solução Eluente – KOH 2mmol/L- 40mmol/L

Neste método é utilizado o gerador de eluente fornecido pelo fabricante do equipamento.

3.3. Parâmetros analíticos

Equipamento: Cromatógrafo DIONEX-2500

Pré-coluna: Dionex IonPac AG18 Guard

Coluna: Dionex IonPac AS18, 4x250 mm

Fluxo: 1,0 mL/min

Eluente: KOH 2mmol/L- 40mmol/L (Gerador de eluentes)

Tempo de análise: 30 min

Programação do método no equipamento:

Pressure.LowerLimit = 200 [psi]

Pressure.UpperLimit = 3000 [psi]

%A.Equate = "100%A"

%B.Equate = "%B"

%C.Equate = "%C"

%D.Equate = "%D"

Pump_InjectValve.State LoadPosition

ECD.Data_Collection_Rate = 5.0 [Hz]

Temperature_Compensation = 1.7 [%/°C]

DS3_Temperature = 30 [°C]

Suppressor_Type = ASRS_4mm

; ECD.Carbonate = 0,0

; ECD.Bicarbonate = 0,0

; ECD.Hydroxide = 40,0

; ECD.Tetraborate = 0,0

; ECD.Other eluent = 0,0

; ECD.Recommended Current = 99

Suppressor_Current = 100 [mA]

Flow = 1.00 [ml/min]

%B = 0.0 [%]

%C = 0.0 [%]

%D = 0.0 [%]

Pump.Curve = 5

-2.300 Pump_Relay_1.Closed Duration=138.00

Concentration = 2.00 [mM]

EluentGenerator.Curve = 5

-0.100 ; this negative step is for command traffic.

0.000 ECD.Autozero

ECD_1.AcqOn

Pump_InjectValve.InjectPosition Duration=30.00

25.000 Concentration = 2.00 [mM]

EluentGenerator.Curve = 5

25.100 Concentration = 40.00 [mM]

EluentGenerator.Curve = 5

30.000 Concentration = 40.00 [mM]

EluentGenerator.Curve = 5

30.100 ECD_1.AcqOff

Concentration = 2.00 [mM]

EluentGenerator.Curve = 5

Wait Ready

End

3.4. Procedimentos

3.4.1. Preparação do equipamento

- a) Preencher o recipiente do equipamento com água ultrapura tipo I;
- b) Abrir o software que controla o equipamento, no caso do equipamento DIONEX, o software utilizado é o Chomeleon;
- c) Ligar a bomba para permitir que o eluente circule pelo sistema até que a pressão esteja estabilizada;
- d) Ligar a supressora e o detector;
- e) Ativar o programa de estabilização pelo software e deixar o sistema estabilizar de 30 à 60 min (durante o tempo de espera de estabilização é possível iniciar o item 3.4.2.);
- f) Verificar a linha de base e a condutividade de fundo no cromatograma. Se o sistema estiver estabilizado, a análise pode ser iniciada.

Nota: Antes da análise de uma amostra ou de um grupo de amostras, deve-se injetar água e um padrão para verificação das condições do equipamento e da curva de calibração.

Nota: Os padrões e amostras são sempre analisados em duplicata.

Nota: A cada grupo de cinco amostras, é recomendável injetar um padrão de verificação para avaliar o funcionamento do sistema de diálise.

3.4.2. Preparação dos padrões/ Calibração

a) A partir das soluções estoque de 1000 mg/L, preparar uma solução mista de 100mg/L com todos os analitos de interesse conforme tabela:

Volume de solução a preparar (em mL):		10	
Analito	Concentração da solução estoque (mg/L)	Concentração desejada (mg/L)	Volume a pegar da solução estoque (uL)
Lactato	1000	100	1000
Acetato	1000	100	1000
Propionato	1000	100	1000
Formiato	1000	100	1000
Butirato	1000	100	1000

b) A partir da solução preparada no item anterior, preparar soluções de concentração conhecida nas faixas de 0,1 a 1,0 mg/L e de 1,0 a 10 mg/L, com 5 pontos em cada faixa.

Curva analítica 0,1 mg/L à 1,0 mg/L			
Volume de solução a preparar (em mL):		10	
	Concentração da solução estoque (mg/L)	Concentração desejada (mg/L)	Volume a pegar da solução estoque (uL)
Padrão-1	100	0,10	10
Padrão-2	100	0,25	25
Padrão-3	100	0,50	50
Padrão-4	100	0,75	75
Padrão-5	100	1,00	100
Curva analítica 1,0 mg/L à 10 mg/L			
Volume de solução a preparar (em mL):		10	
	Concentração da solução estoque (mg/L)	Concentração desejada (mg/L)	Volume a pegar da solução estoque (uL)
Padrão-1	100	1,0	100
Padrão-2	100	2,5	250
Padrão-3	100	5,0	500
Padrão-4	100	7,5	750
Padrão-5	100	10,0	1000

c) Injetar, utilizando alça de injeção de volume fixo, os padrões preparados no item anterior em, no mínimo, duplicata.

Nota: Se houver alguma dúvida sobre a ordem de eluição dos analitos, deve-se separar um padrão de concentração conhecida e realizar fortificações com adição de um tipo de analito de cada vez (spike), com o objetivo de realizar uma identificação qualitativa dos picos obtidos nos cromatogramas.

d) Montar a curva de calibração de acordo com o manual de instruções do software do equipamento.

Nota: Os tempos de retenção variam com as condições de operação e são influenciados pelas

concentrações dos outros íons presentes na amostra, com o tipo e tempo de vida da coluna, e também por fatores como temperatura, fluxo, concentração do eluente e força iônica da matriz da amostra. Por isso a adição, ou fortificação, da amostra com padrão (conforme nota do item c) é um recurso qualitativo de rotina em cromatografia de íons.

3.4.3. Preparação da amostra

A amostra deve estar em fase aquosa, sem material em suspensão e livre de hidrocarbonetos ou sulfetos, que podem danificar a coluna.

A amostra deve ser filtrada antes da injeção para eliminar materiais sólidos em suspensão.

Amostra com alto teor de cloreto e presença de desmulsificante pode, prejudicar a resolução dos picos dos analitos de interesse, quando estes estão em baixas concentrações. Nesse caso utilizar cartucho de extração em fase sólida com prata para retirar parte do cloreto e em seguida filtrar em filtro de 0,20mm.

Nota: evitar ao máximo o uso do cartucho de prata para gerar o mínimo de passivo ambiental.

Nota: recursos como a eliminação de matriz, diálise ou ultrafiltração em linha são passíveis de serem automatizados e podem ser usados para preparação da amostra.

3.4.4. Determinação

a) Diluir cerca de 10 vezes a amostra com o objetivo de estimar a concentração do íon a ser determinado. Com base neste resultado, fazer diluição necessária para que a concentração do íon na amostra esteja na faixa linear da curva analítica de 0,1 a 10 mg/L.

b) Injetar a amostra, utilizando o mesmo loop de injeção utilizado para a construção da curva analítica.

c) Após a corrida cromatográfica, verificar as integrações automáticas realizadas pelo software, refazer as integrações manualmente, quando necessário, e quantificar os analitos utilizando a curva analítica adequada para a quantificação.

d) A figura a seguir representa um cromatograma típico desta análise.

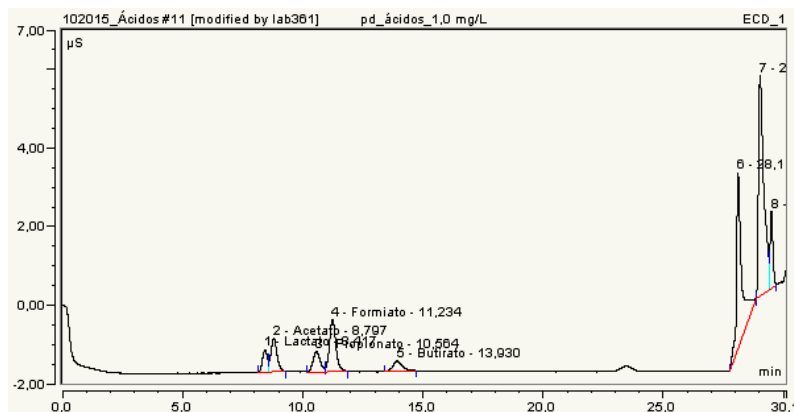


Figura 1 - Cromatograma típica da análise

3.5. Considerações relativas ao meio ambiente

Os resíduos e efluentes gerados devem ser gerenciados conforme o PE-2P&D-02576 – Plano de Gerenciamento de Resíduos do Cenpes

3.6. Considerações relativas a saúde e segurança

Na tabela a seguir, encontram-se relacionados os equipamentos de segurança e quando estes devem ser utilizados:

Material de Segurança	Quando utilizar
Luvas	Manuseio das amostras, padrões e produtos químicos
Máscara	Manuseio das amostras, padrões e produtos químicos
Óculos de segurança	Manuseio das amostras, padrões e produtos químicos

Ao armazenar os reagentes nos laboratórios observar os procedimentos do PE-2P&D-02471 – Segurança no Armazenamento e Movimentação de Produtos Químicos.

Para utilização de Equipamentos de Proteção Individual, seguir as orientações apresentadas no padrão PE-2P&D-02589 – Gerenciamento de Equipamentos de Proteção Individual.

Para uso de Equipamentos de Proteção Respiratória, seguir as orientações apresentadas no PPR (Programa de Proteção Respiratória) do Cenpes.

3.7. Autoridade e responsabilidade

Atividade	Responsabilidade	Autoridade
Calibrar equipamento	Técnico do Laboratório	Técnico ou Responsável Técnico do Laboratório

Analisar a amostra	Técnico do Laboratório	Técnico ou Responsável Técnico do Laboratório
Liberar o resultado do ensaio	Técnico do Laboratório	Técnico ou Responsável Técnico do Laboratório

4. REGISTROS

Registro	Quem Registra	Local de Arquivamento	Como Indexar	Tempo Mínimo de Retenção
Cromatograma	Técnico químico	Cd-room	Identificação numérica da amostra	2 anos
Resultado da análise	Técnico químico	SCAD	Cronológica	2 anos

5. DEFINIÇÕES

5.1. Definições

Autoridade - Atribuição de aprovar ou decidir

Responsabilidade - Atribuição de executar ou providenciar a execução

5.2. Siglas

Não se aplica

6. REFERÊNCIAS

ASTM D 1193-06 - Standard Specification for Reagent Water.

Eith, C.; Kolb, M.; Rumi, A.; Seubert, A.; Viehweger, K.H. Práticas em Cromatografia de íons - Uma Introdução. Monografia Metrohm. 2ª Edição. 2006.

Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A. Princípios de Análise Instrumental. Bookman. 5ª Edição. 2002.

HISTORICO

Data	Ação
14/04/2020 11:46:32	Flavia Pinheiro da Costa/BRA/Petrobras - Criou o documento
05/08/2020 15:51:27	Ana Paula Oliveira Castro/BRA/Petrobras - Enviou para o Gestor: Sandra Machado de Andrade/BRA/Petrobras
06/08/2020 10:14:56	Sandra Machado de Andrade/BRA/Petrobras - Aprovou o documento e ele se tornou "Ativo".

SUMÁRIO DE REVISÕES

Revisão	Data	Descrição
A	06/08/2020	[23/10/2020 12:26:37] - O usuário SINPEP, Paulo Ricardo Meirelles de Freitas, executou a ação "Substituir Gestor e/ou Aprovador" a qual alterou o Gestor do padrão de CENPES/PDISO/QM para CENPES/PDIDMS/PPL/LABQ. Revisão do Padrão: Alteração do título; Atualização do objetivo; Alteração da descrição (inclusão da fundamentação teórica, alteração do esquema simplificado dos componentes do sistema, atualização dos reagentes e parâmetros analíticos, cálculo dos padrões, inclusão dos parâmetros analíticos, inclusão do cromatograma típica de análise)
0	28/03/2017	[20/07/2017 16:00:35] - O usuário SINPEP, Michelle Bruna Santana Santos - PrestServ, executou a ação "Substituir Gestor e/ou Aprovador" a qual alterou o Aprovador do padrão de CENPES/PDISO/QM para CENPES/GTEC/GPPT. [28/03/2017 09:53:03] - Criado a partir da migração do Padrão PE-4CE-00434-A na base SINPEP CENPES.

ANÁLISE CRÍTICA

Data limite para análise

Data limite para análise
6 de mai de 2022
Análise crítica
Responsável análise
Data da análise crítica

LISTA DE DISTRIBUIÇÃO

CENPES/GTEC/ITPI, CENPES/PDIDMS/PPL/LABQ

*****ÚLTIMA FOLHA DO PADRÃO*****