

EQUIPAMENTO DE BAIXO CUSTO PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA EM AMOSTRAS AQUOSAS DE GRANDE VOLUME UTILIZANDO PRESSÃO POSITIVA DE N₂

Ananda L. Sanson*, Bruno E. L. Baeta, Keila L. T. Rodrigues e Robson J. C. F. Afonso

Departamento de Química, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto – MG, Brasil

Recebido em 16/04/2013; aceito em 08/08/2013; publicado na web em 24/09/2013

LOW COST SOLID PHASE EXTRACTION APPARATUS FOR AQUEOUS SAMPLES OF LARGE VOLUME USING N₂ POSITIVE PRESSURE. Extraction/concentration is a crucial step for the analysis of organic compounds at trace level concentrations and dispersed in complex matrices. Solid-phase extraction (SPE) is one of the techniques used for this purpose. In this work, a low cost apparatus for SPE was developed that uses nitrogen under positive pressure and ensures the maintenance of the sample flow, while also allows the simultaneous extraction of different samples without cross-contamination and sample contact with plastic materials. For the system set up, easily accessible materials were used such as hypodermic needles, stainless steel tubes, rubber stoppers, and 3-way valves from serum delivery apparatus.

Keywords: large volume of sample; solid phase extraction; positive pressure.

INTRODUÇÃO

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa (CG) são métodos analíticos comumente utilizados para análise de compostos orgânicos. Durante o processo analítico, a etapa de preparo e pré-concentração dos analitos das amostras é crucial para se chegar a um resultado final confiável.

Muitas vezes, os compostos a serem avaliados se encontram dispersos em matrizes complexas de onde precisam ser extraídos e pré-concentrados. Os procedimentos para a preparação das amostras têm como finalidade concentrar os analitos, promover a redução ou até mesmo a eliminação de interferentes presentes nas amostras. Essas ações promovem a redução dos limites de detecção (LD) do método e tornam os extratos compatíveis com a técnica instrumental a ser utilizada. No caso das técnicas de cromatografia, por exemplo, é possível obter uma separação livre de interferentes, com detecção adequada e tempo reduzido de análise.¹⁻⁴

Dentre as técnicas de extração mais utilizadas, a extração em fase sólida (*solid phase extraction* - SPE) é, atualmente, uma das ferramentas mais poderosas e mais empregadas para extração e pré-concentração de compostos presentes em matrizes complexas.⁵ A SPE emprega cartuchos recheados com adsorventes sólidos, modificados ou não, que possibilitam um mecanismo de retenção semelhante ao observado em uma coluna de cromatografia líquida. Dentre esses mecanismos estão a adsorção, a partição, a troca iônica, a exclusão por tamanho e a bioafinidade.^{1-3,6-8}

A execução da técnica de SPE consiste em quatro etapas, sendo elas (i) o condicionamento do cartucho, (ii) a permeação da amostra, (iii) a limpeza do cartucho para eliminar os interferentes menos retidos que os analitos (etapa opcional) e (iv) a eluição dos compostos de interesse. Desta maneira, vários são os fatores que podem interferir no processo de isolamento e concentração dos analitos. Tal interferência, ainda, pode ser agravada quando se faz necessário o uso de um maior volume de amostras para a análise de compostos em concentrações reduzidas.^{3,8}

A segunda etapa, permeação da amostra, baseia-se na passagem da amostra através da fase estacionária e pode ser considerada uma etapa crítica, pois a velocidade com que a amostra permeia a fase estacionária do cartucho influencia diretamente na interação com os

analitos, e, conseqüentemente, altera a eficiência da retenção dos compostos de interesse.^{6,8,9}

Os equipamentos usados na SPE são, no mínimo, um *manifold* e uma bomba a vácuo, por exemplo. Quando são utilizados grandes volumes de amostra, pode-se usar, também, uma bomba peristáltica e tubos conectores em teflon. Comumente, é utilizado o esquema apresentado na Figura 1 para realização dessa extração em laboratórios de análises.

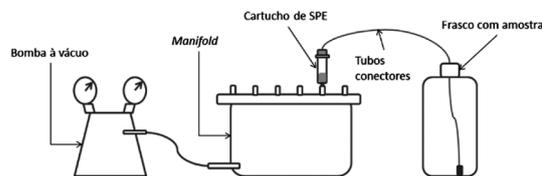


Figura 1. Equipamento de extração utilizando manifold

Apesar de largamente utilizado, o sistema de extração para SPE utilizando o *manifold* apresenta diversas desvantagens conforme referenciado por Sodré *et al.*¹⁰ Dentre as limitações observadas, podem-se destacar o controle combinado da vazão e da intensidade do vácuo, a contaminação cruzada nas tubulações plásticas e a utilização prolongada da bomba de vácuo. Com intuito de minimizar os problemas observados no processo, Sodré *et al.*¹⁰ desenvolveram um equipamento para extração de amostras ambientais utilizando bombas de vácuo. Entretanto, foi necessária a confecção de peças específicas de politetrafluoretileno (PTFE), tornando mais complicada a sua aquisição. Os equipamentos comerciais de SPE (Gilson®, Aurora Biomed®, Horizon Technology®, Jasco®, Thermo®), além de importados, têm um custo muito elevado.

Diante das limitações observadas pelos equipamentos empregados na extração por SPE, como elevado custo e dificuldades operacionais, o presente trabalho apresenta o desenvolvimento de um equipamento para SPE de custo reduzido que utiliza pressão positiva de nitrogênio para a extração de analitos em grandes volumes de amostras aquosas.

CONFECÇÃO DO EQUIPAMENTO PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

O equipamento de extração desenvolvido e detalhado na Figura 2 tem como princípio básico o uso de pressão positiva gerada por

*e-mail: ananda_lima@hotmail.com

um fluxo de nitrogênio gasoso ($N_{2(g)}$) diretamente no interior do frasco contendo amostra. O nitrogênio gasoso pressuriza o frasco de amostras e a amostra é direcionada ao cartucho de SPE. A entrada do gás pelo frasco garante a passagem da amostra pela tubulação de aço-inox e, posteriormente, pela fase estacionária do cartucho de extração com uma vazão constante.

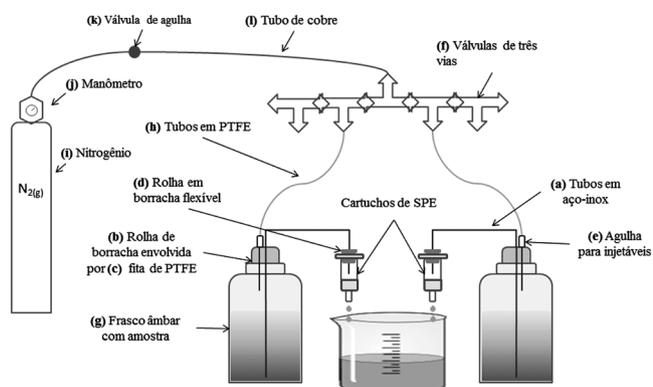


Figura 2. Aparato para extração em fase sólida de amostras de grandes volumes utilizando pressão positiva

O procedimento de extração consiste das seguintes etapas:

- 1) Condicionamento externo do cartucho com solventes apropriados. Esta etapa é realizada, previamente, com a utilização de pequenos volumes de solventes. Não ocorre contato de solventes com a amostra durante essa etapa;
- 2) Encaixe da rolha (b) contendo o tubo de aço-inox (a) no frasco de vidro contendo amostra (g);
- 3) Conexão do sistema de entrada do $N_{2(g)}$ e direcionamento das válvulas de três vias (f) aos frascos a serem utilizados;
- 4) Abertura da válvula de ajuste da pressão no manômetro do $N_{2(g)}$ (j), seguido do ajuste preliminar de vazão na válvula de agulhas (k).
- 5) Antes de encaixar o cartucho à rolha (d), aplica-se uma pressão de N_2 dentro do frasco de amostra, que impulsiona uma pequena quantidade de amostra para que a parte superior do cartucho seja parcialmente preenchida. Desta forma, o leito do cartucho fica sempre em contato com a amostra e evita que o mesmo seque durante o procedimento;
- 6) Encaixe do cartucho à rolha (d) que está fixa na saída do tubo de aço-inox;
- 7) Ajuste fino do fluxo do cartucho pela válvula de agulha (k) ;
- 8) Passagem do volume desejado da amostra pelo cartucho;
- 9) Passagem de nitrogênio para secagem do cartucho;
- 10) Coleta individual ou descarte do material eluído do cartucho (externo ao equipamento).

O controle da pressão do $N_{2(g)}$ que entra no frasco de amostra é feito por um manômetro de pressão e a vazão por uma válvula de agulha. Vale ressaltar que, depois do equipamento devidamente ajustado (pressão e vazão do gás), a vazão da amostra e o nível dos líquidos nos cartuchos de extração permanecem constantes e não sofrem alteração durante todo o procedimento de extração. Diante dessas características, o processo pode ser considerado contínuo, o que garante maior repetitividade no procedimento de extração. A repetibilidade no processo de extração foi atestada pela precisão na extração de alguns compostos testados, como por exemplo, paracetamol, genfibrozila e estradiol, que foram extraídos no equipamento desenvolvido em amostras aquosas com volumes de 500 mL e 1000 mL, em triplicata, obtendo-se coeficientes de variação de: paracetamol (1,31% e 2,86%) genfibrozila (4,45% e 3,29%) e estradiol (0,44% e 6,65%).

No caso de amostras que contenham material coloidal, capazes de obstruir os cartuchos SPE, o fluxo pode ser reajustado alterando a

pressão positiva exercida pelo $N_{2(g)}$ no manômetro de entrada.

As principais vantagens observadas neste equipamento frente aos já existentes e reportados na literatura são o baixo custo de construção, a simples operação, a redução do contato da amostra com tubulações plásticas e outras vidrarias, já que o próprio frasco, no qual se armazena a amostra, é utilizado para realização do procedimento. O contato da amostra ocorre somente com o gás ($N_{2(g)}$) e com o tubo de aço-inox que, além de ser inerte, pode ser descontaminado pela passagem de ácido nítrico e lavagem com água ultrapura ou solvente para sua reutilização em diversas amostras. O equipamento permite a extração individual ou simultânea de diversas amostras sem contaminação cruzada. Como cada linha de extração é independente e existe a possibilidade de utilizar cada uma delas para um procedimento de extração distinto, pode se afirmar que o equipamento de extração é muito versátil.

O equipamento de extração apresentado tem boa aplicabilidade. Excelentes resultados foram encontrados nos testes realizados para a determinação de microcontaminantes (estradiol, etinilestradiol, estrona, 4-octilfenol, 4-nonilfenol, bisfenol A, diclofenaco, ibuprofeno, paracetamol, naproxeno, ácido acetil salicílico, genfibrozila e cafeína) em amostras de água superficial da bacia do Rio Doce. Os resultados das amostras apontaram a presença dos hormônios estradiol (5,7 ng/L) e estrona (15,9 ng/L), além dos fármacos diclofenaco (15,3 ng/L) e ibuprofeno (70,9 ng/L) e cafeína (3.010,3 ng/L).¹¹

CUSTOS DO EQUIPAMENTO DE EXTRAÇÃO

Equipamentos comerciais automáticos para SPE têm seus preços muito elevados, variando entre US\$ 15.000,00 a US\$ 35.000,00. Por outro lado, o equipamento desenvolvido neste trabalho possui um custo reduzido que será analisado neste tópico.

Para construção do equipamento de extração, foram utilizados materiais de fácil acesso e sem nenhuma especificidade. Tal condição facilita a instalação do equipamento em qualquer laboratório e reduz o custo de sua elaboração. Os materiais utilizados para construção do equipamento, bem como os seus valores unitários, estão descritos na Tabela 1.

Após análise das informações de custos detalhadas na Tabela 1, fica evidente que o equipamento de extração proposto apresenta maior viabilidade econômica em comparação com valor unitário dos equipamentos tradicionais e mais baratos tais como o *manifold* apresentado na Figura 1. A estimativa de custo feita por alguns autores afirmam que o preço de um sistema *manifold* e bomba peristáltica é cerca de R\$ 5.000,00,¹⁰ porém, este valor pode ser muito maior dependendo da marca e modelo utilizado. Já a estimativa de custo do equipamento de pressão positiva proposto apresenta custo final de R\$ 860,07 para extração de 4 amostras de 1L, sendo que deste valor total R\$ 400,00 são referentes a aquisição do cilindro, porém o mesmo pode ser negociado em comodato com a empresa. Vale ressaltar, ainda, que o custo relativo por amostra após a confecção do equipamento é apenas o valor relacionado ao consumo de $N_{2(g)}$, pois todo o equipamento é permanente. A única manutenção efetiva desse sistema é a troca do frasco onde é armazenada a amostra e a lavagem e descontaminação dos tubos de aço-inox após cada procedimento de extração.

CONCLUSÕES

O equipamento de extração utilizando o princípio de pressão positiva mostrou-se extremamente interessante do ponto de vista operacional, com ampla possibilidade de aplicação, baixa manutenção e custo quando comparado aos equipamentos convencionais. Em razão da utilização de tubulações em aço inoxidável introduzidas nos frascos de amostras conectadas diretamente com o cartucho de SPE, sem contato com partes em materiais poliméricos, as chances de adsorção/interação

Tabela 1. Relação de materiais e valores utilizados na montagem do equipamento de extração para extração simultânea de quatro diferentes linhas

Ítem	Descrição	Uso	Valor médio em reais (R\$)	
a	Tubo em aço-inox	Utilizado em sistema de cromatografia líquida, com 1.6 mm diâmetro externo x 0.3 mm diâmetro interno	Para passagem da amostra do frasco de armazenamento da amostra para o cartucho de SPE	48,00 (R\$ 30,00/m, aproximadamente 40 cm por frasco)
b	Rolha de borracha	Rolha de borracha anti-ácida branca com 18 mm diâmetro inferior x 23 mm de diâmetro superior	Para fechar o frasco de armazenamento da amostra, por ela também passa a agulha de passagem de N ₂ e o tubo de aço-inox para passagem da amostra	2,52 (0,63/ unidade)
c	Fita de teflon	Fita “veda rosca” branca	Encapar a rolha de borracha branca e vedar as conexões	8,55
d	Rolha em borracha butílica vermelha	Rolha de borracha vermelha utilizada em tubos de coleta de sangue, com 17 mm diâmetro ou outro mais adequado ao diâmetro dos cartuchos	Para fechar o cartucho de SPE, por ela passa o cano de passagem da amostra	1,20 (0,30/ unidade)
e	Agulha	Agulha para injetáveis de 40x16 mm	Atravessa a rolha de borracha para passagem do N ₂ para o interior do frasco com a amostra	0,40 (0,10/ unidade)
f	Válvula de três vias	Aplicação de medicamentos em terapias intra-venosas. Conecta e controla o direcionamento do fluxo de soluções de 03 linhas distintas. Fabricada em polímero policarbonato	Conecta a saída de N ₂ com os módulos de extração	6,75 (1,35/ unidade)
g	Frasco âmbar de 1 L	Frasco em vidro âmbar com 1 L de capacidade	Armazena a amostra	13,20 (3,30/ unidade)*
h	Equipo para soro macrogotas estéril	Tubos flexíveis em PTFE para passagem do N ₂	Conecta a saída do N ₂ a conexão de 3 vias e, conecta a conexão ao frasco âmbar	84,25 (16,85/ unidade)
i	Nitrogênio gasoso	N _{2(g)} industrial	Proporciona a pressão necessária no interior do frasco para impulsionar a amostra para o cartucho de extração	90,00 (recarga) 400,00 (cilindro)*
j	Manômetro		Reduzir a pressão do cilindro para a pressão de uso definida dentro da capacidade do regulador	145,00
k	Válvula de agulha		Controle do fluxo de gás	55,20
l	Tubo de cobre		Linha de gás	5,00/metro
TOTAL				860,07

*Pode ser negociado como comodato.

dos analitos nas tubulações são minimizadas, bem como a contaminação cruzada de amostras. O controle da pressão e da vazão do gás (N_{2(g)}) permitem a regularidade na vazão das amostras que passam pelos cartuchos. O maior controle das vazões permite melhor repetitividade do procedimento de extração. Além disso, o equipamento possibilita a extração simultânea de diferentes amostras em linhas paralelas.

MATERIAL SUPLEMENTAR

As Figuras 1S e 2S são fotos do equipamento de extração desenvolvido e estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Fapemig, Finep, CNPq e Capes

REFERÊNCIAS

- Das, D.; Gupta, U.; Das, A. K.; *TrAC* **2011**, *38*, 163.
- Giroto, G.; Nogueira, K. L.; Moura, J. A.; Souza, J. B.; Giancometti, L. L.; Marchi, M. R. R.; Tognolli, J. O.; *Eclat. Quím.* **2007**, *32*, 61.
- Caldas, S. S.; Gonçalves, F. F.; Primel, E. G.; Prestes, O. D.; Martins, M. L.; Zanella, R.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 1604.
- Lopez de Alda, M. J.; Díaz-Cruz, S.; Petrovic, M.; Barceló, D.; *J. Chromatogr. A* **2003**, *1000*, 503.
- Augusto, F.; Hantao, L. W.; Mogollón, N. G. S.; Braga, S. C. G. N.; *TrAC* **2013**, *43*, 14.
- Poole, C. F.; Gunatilleka, A. D.; Sethuraman, R.; *J. Chromatogr. A* **2000**, *885*, 17.
- Rodil, R.; Quintana, J. B.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S.; Prada-Rodríguez, D.; *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 2958.
- Rahman, I. M. M.; Begum, Z. A.; Hasegawa, H.; *Microchem. J.* **2013**, *110*, 485.
- Atapattu, S. N.; Rosenfeld, J. M.; *J. Chromatogr. A* **2013**, *1296*, 204.
- Sodré, F. F.; Locatelli, M. A. F.; Jardim, W. F.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 216.
- Sanson, A. L.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Ouro Preto, 2012, Brasil.