

Aula 10

PREPARO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE INSTRUMENTAL

META

Discutir as técnicas para preparo de amostras para a análise instrumental;
Entender os métodos de extração de analitos orgânicos;
Entender os métodos de extração de metais.

OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:
entender as diferentes técnicas de preparo de amostras para análise instrumental;
saber diferenciar os tipos de preparo de amostras para análise de compostos orgânicos;
entender os diferentes tipos de métodos de extração de metais.

PRÉ-REQUISITOS

Conhecimento das técnicas instrumentais de análise.

Elisangela de Andrade Passos

INTRODUÇÃO

Na aula anterior foram abordados os aspectos gerais da cromatografia gasosa e líquida e os principais componentes de um cromatógrafo e suas implicações nas análises. Também vimos os diferentes tipos de fases estacionárias que são utilizadas em cromatografia gasosa e líquida e suas aplicações.

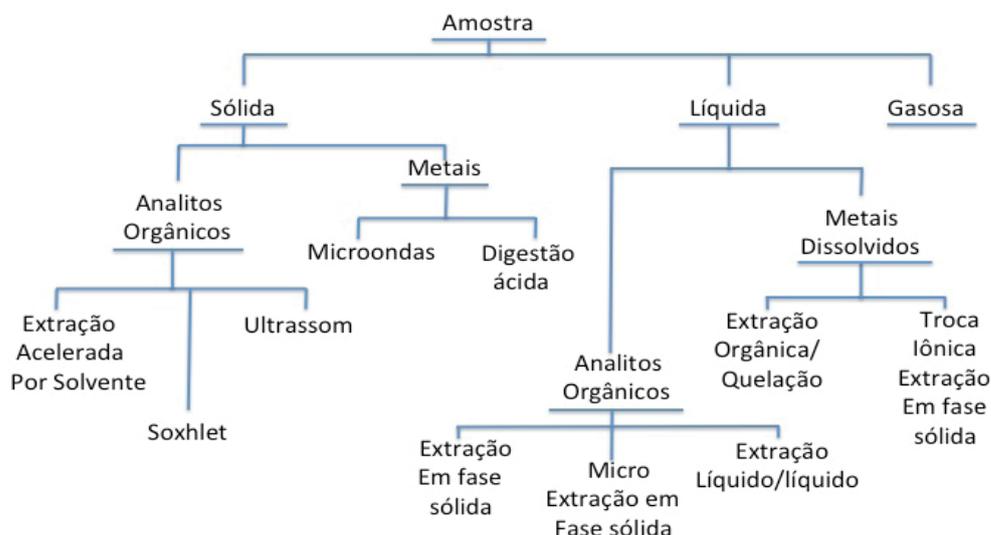
Nesta aula iremos abordar os aspectos gerais do preparo de amostras para análise instrumental. A preparação de amostras para análise é o passo subsequente após as amostras terem sido coletadas e armazenadas. Normalmente, a coleta das amostras, que é um passo fundamental para o processo analítico, ocorre após metucioso planejamento, que levam em consideração condições climáticas, amostradores, número de réplicas, entre outros aspectos. Muito raramente uma amostra coletada pode ser diretamente analisada, por isso a importância do seu preparo, que normalmente é o fator limitante na velocidade de geração dos resultados. É nesta etapa também que muitos dos erros de análise podem acontecer, por isso a importância de entender e saber aplicar os diferentes tipos de preparo de amostras para os diferentes tipos de analitos e de análise instrumental.

TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

Como vimos, a preparação de amostras é o passo entre a amostragem e a análise. Este é o ponto onde os analitos são transferidos de uma matriz amostral para uma forma possível de análise instrumental. Um método de extração deve, preferencialmente, ser rápido, simples, barato e boa repetibilidade. É sabido, no entanto, que dependendo da complexibilidade da matriz amostral, esses atributos de extração podem ser inatingíveis, principalmente quando os analitos a serem estudados estão em baixas concentrações. Nesses casos, o analista deve ficar atento à contaminação, evitando-a com alguns simples procedimentos, a saber:

- minimizar o manuseio da amostra
- usar o mínimo possível de aparato laboratorial
- manter a área de preparo limpa
- usar o mínimo possível de reagentes/solventes

A seguir (Fig. 1) são apresentados alguns métodos de extração para diferentes tipos de amostras.



Métodos de extração de analitos de interesse a partir de diferentes matrizes.

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS DE AMOSTRAS LÍQUIDAS

Basicamente, para extração de compostos orgânicos de amostras líquidas, dois métodos são bastante difundidos e empregados: A extração líquido-líquido e em fase sólida. Vejamos

Extração líquido-líquido (ELL): É o método mais popular de extração de compostos orgânicos de amostras líquidas, principalmente a água. É empregado para analitos que têm baixa volatilidade e não são passíveis de extração pelo método direto de purga e armadilha (Purge and Trap) ou pela amostragem direta a atmosfera acima da amostra (Headspace). Esse tipo de extração baseia-se na distribuição do analito entre duas fases distintas (Eq. 01), a amostra aquosa e um solvente orgânicos imiscível.

$$D = \frac{C_{so}}{C_{aq}} \quad (1),$$

onde D é o coeficiente de partição ou distribuição, C_{so} e C_{aq} representam a concentração do analito no solvente orgânico e na fase aquosa, respectivamente. Pela equação acima, vemos que quanto maior o volume de solvente orgânico utilizado, maior será a quantidade do analito no mesmo, pois D deve permanecer constante. Se conhecermos o coeficiente de partição D , podemos determinar qual a fração de analito (FA) extraído pelo solvente, segundo a Equação (2):

$$FA = \frac{(C_{so}V_{so})}{(C_{so}V_{so} + C_{aq}V_{aq})} = \frac{1}{1 + \frac{C_{aq}V_{aq}}{C_{so}V_{so}}} = \frac{1}{1 + V_r/D} \quad (2),$$

onde V_r é a razão entre o volume da fase aquosa e o volume da fase orgânica.

Geralmente, uma simples extração líquido-líquido não é suficiente para recuperar todo o analito para uma determinada análise. Por isso, frequentemente, é realizada sucessivas extrações. Após a primeira extração, a quantidade de analito remanescente na fase aquosa deve ser $1 - FA$. Lembre-se que, mantido os volumes de extração, a porcentagem do analito extraído em cada passo será o mesmo, fazendo com que, a cada extração, mais e mais analito seja separado para a fase orgânica.

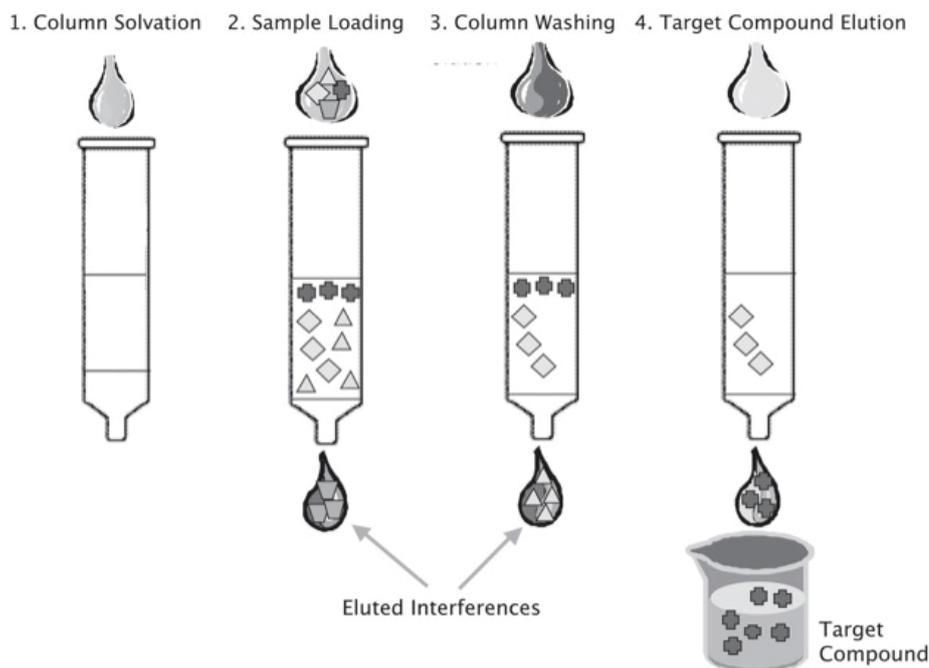
A instrumentação mais simples para a extração líquido-líquido é o funil de separação, que dispõe de uma válvula em sua parte inferior que permite a retirada do líquido mais denso (Fig. 2).



Funil de separação para extração líquido-líquido.

(Fonte: <http://www.prof2000.pt/users/anitsirc/decant.%20em%20funil.gif> acessado em 08/03/2011)

Extração em Fase Sólida (EFS): Também conhecida como extração líquido-sólido, ela baseia-se na retenção dos analitos de interesse por um adsorvente sólido. Neste tipo de extração, um tubo é recheado com o adsorvente (cartucho de EFS), pelo qual a amostra líquida é passada. Uma vez terminada a passagem da amostra líquida pelo cartucho de EFS, o analito que ficou retido no mesmo é recuperado pela passagem de uma pequena quantidade de solvente, que retira o analito pré-concentrado no cartucho de EFS e o transfere para um solvente orgânico (Fig. 3).



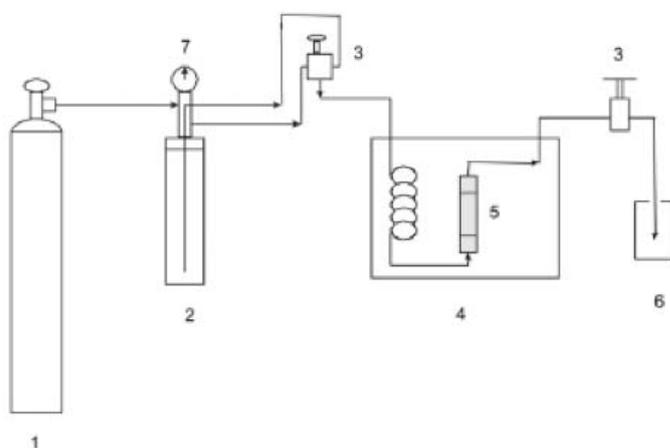
Modelo esquemático de uma extração em fase sólida. 1. Column Solvation (solvatação da coluna/condicionamento); 2. Sample Loading (Adição da amostra); 3. Column Washing (lavagem da coluna); 4. Target Compound Elution (Eluição dos compostos de interesse); Eluted interferences (Interferentes eluídos); Target Compound (Composto alvo/de interesse).
(Fonte: <http://www.biotage.com/graphics/9223.jpg> acessado em 08/03/2011)

Da mesma forma que a extração líquido-líquido, a separação dos analitos por EFS é regida pela partição do composto de interesse entre duas fases, uma aquosa, contendo a amostra e a outra sólida, que irá adsorver os analitos. Como vimos na Figura 3, o processo é bastante simples e traz uma série de vantagens sobre a extração líquido-líquido, pois esta técnica é rápida; não consome grandes quantidades de solventes orgânicos; a etapa de concentração do solvente, quando necessária, também é rápida; oferece maior seletividade e precisão, devido aos diferentes tipos de adsorventes; e gera menor resíduo pós extração.

Micro-Extração em Fase Sólida (SPME): a sigla SMPE vem do inglês, Solid Phase Micro Extraction. Esta é uma técnica de extração razoavelmente nova e utiliza uma fibra revestida com um material polimérico para a extração dos compostos de interesse. Esse fato, por si só, já demonstra a grande vantagem de utilizar esse tipo de extração, pois existe uma infinidade de revestimento para uma grande gama de analitos orgânicos. Além disso, não utiliza solvente orgânico, pois os analitos são adsorvidos na fibra, que é levada diretamente ao instrumento de análise, como mostra a Figura 4.

Neste aparato de extração, a amostra seca é colocada em um cartucho que na câmara de extração. O Solvente que é destilado do reservatório é levado para a câmara de extração, preenchendo-a gradualmente, até o seu nível atingir o sifão, que retornará o solvente, para o seu reservatório. Dessa forma, a amostra é por várias vezes colocadas em contato com o solvente destilado e retorna para o reservatório, onde os compostos extraídos são concentrados.

Extração por solvente acelerada: Assim como cozinhar alimentos sob alta pressão e temperatura acelera o processo de cozimento, a extração de analitos de uma amostra sólida a altas pressões e com temperatura acima do ponto de ebulição do solvente de extração acelera e melhora a extração de compostos de amostras sólidas. Para isso, já existe instrumentação (Fig. 6).



Aparato de extração por solvente acelerada. 1 – Reservatório nitrogênio gasoso; 2 – Bomba de pressurização; 3 – Válvula; 4 – Forno; 5 – Célula de extração; 6 – Frasco coletor; 7 – Manômetro. (Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/jbchs/v20n5/a16fig01.gif> acessado em 08/03/2011)

Neste tipo de instrumento, a amostra sólida seca é colocada em uma célula extratora, onde é colocado solvente sob pressão e aquecido. O tempo de extração, dependendo do analito, pode ser de alguns minutos. A eficiência de extração também é aumentada devido às altas pressões e temperaturas, pois o solvente tem melhor contato com a matriz da amostra.

Extração por Ultrassom: A extração utilizando ultrassom é outra técnica bastante difundida para amostras sólidas. O processo ultrassônico permite que o solvente extrator tenha maior contato com a matriz da amostra. A vantagem do uso do ultrassom é que ele permite que sejam realizadas dezenas de extrações simultâneas com baixo custo, pois o banho ultrassônico permite a acomodação de diversos frascos extratores ao mesmo tempo. Além de ser mais rápida do que a extração por soxhlet, a eficiência de extração é comparável a este, e melhor quando se trata de compostos semivoláteis.

Extração com fluido supercrítico: Um fluido supercrítico é uma substância acima de sua temperatura e pressão crítica. Por apresentar características de gás e solvente, simultaneamente, esse tipo de fluido é muito atrativo

como extrator. Pela necessidade de altas temperaturas e pressões, também requer, como a extração por solvente acelerada, equipamentos especiais para sua realização. Basicamente, o fluido supercrítico mais comumente utilizado é o CO₂, e a instrumentação se resume em um reservatório deste, uma bomba de pressurização e uma célula de extração. Após a extração, o CO₂, que a temperatura ambiente é um gás, é dissipado, permanecendo apenas o extrato desejado.

TRATAMENTO PÓS-EXTRAÇÃO

Após a extração por solvente, muitas vezes existe a necessidade de redução do volume para a análise instrumental. Em função disto faz-se a evaporação do excesso de solvente extrator. Isso pode ser feito num evaporador rotativo ou sob fluxo de nitrogênio, dependendo da quantidade e do tipo de analito que se quer determinar. Depois da redução do volume, pode ou não haver a necessidade de limpeza da amostra. Isso depende do tipo de matriz e do analito, pois muitas vezes, durante o processo de extração, centenas de compostos, além do analito de interesse, podem ser extraídos. Normalmente, a limpeza da amostra envolve o uso de uma coluna recheada com alguma fase estacionária que retém o analito de interesse, que pode ser recuperado com um segundo solvente de extração, ou pelo contrário, a fase estacionária pode reter os interferentes, deixando o analito pronto para a análise.

LEIA MAIS

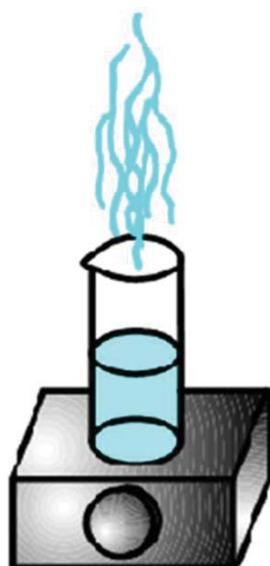
Para entender as informações acima citadas leia o artigo intitulado “Microextração em fase sólida: aspectos termodinâmicos e cinéticos“ que está disponível na plataforma. Em seguida, faça um resumo sucinto das principais idéias de cada texto.

EXTRAÇÃO DE ANALITOS METÁLICOS

Os analitos metálicos são encontrados de diversas formas no ambiente, incluindo íons hidratados, complexados, óxidos insolúveis, hidróxidos, entre outros. Podem estar fortemente ligados as matrizes amostrais. Em qualquer caso, assim como os compostos orgânicos, os metais, na maioria das vezes, precisam ser extraídos da amostra para a análise instrumental.

Em matrizes aquosas, os metais podem estar dissolvidos ou associados ao material particulado. Dessa forma, se dissolvido, uma etapa de pré-concentração muitas vezes se faz necessário. No caso de estar associado ao material particulado, este pode ser filtrado e ser tratado como matriz sólida, onde normalmente uma etapa de digestão ácida está envolvida. Vejamos:

Digestão ácida: Os metais associados ao material particulado ou a amostras sólidas são normalmente extraídos utilizando ácidos. Ácidos como o ácido nítrico (HNO_3), Ácido clorídrico (HCl) e Ácido Fluorídrico (HF) são bastante utilizados, juntamente com espécies oxidativas, tais como H_2O_2 e H_2SO_4 . Basicamente, após eliminação da matéria orgânica associada à matriz, esta é levada, juntamente com um pequeno volume de ácido (ou mistura destes), ao aquecimento por determinado tempo. Após a esta etapa de extração, pode ou não haver a necessidade de concentração da amostra. Isso dependerá da concentração do analito na amostra. Deve-se ressaltar que o uso de aquecimento na extração de metais, seja em frascos abertos ou fechados, normalmente está associado à determinação do que chamamos de metais totais. Quando existe a necessidade de determinação de metais biodisponíveis, uma extração branda deve ser utilizada. Esta extração branda varia com a metodologia adotada e com o tipo de metal a ser determinado (Fig. 7).



Digestão ácida.

(Fonte: <http://bcortez.files.wordpress.com/2008/08/aula-2-preparo-de-amostras.ppt> acessado em 08/03/2011.)

Digestão com auxílio de microondas: É utilizada em detrimento da extração em frascos abertos para a determinação de metais totais. O princípio do forno de microondas é o mesmo daqueles utilizados em nossas cozinhas, porém adaptado a realidade de um laboratório, onde o controle de pressão e temperatura é fundamental (Fig. 8).



Digestão com auxílio de microondas

(Fonte: <http://bcortez.files.wordpress.com/2008/08/aula-2-preparo-de-amostras.ppt> acessado em 08/03/2011.)

Extração por ultrassom: Ao contrário da extração com forno de microondas, a extração com ultrassom é um procedimento brando de extração. É utilizada principalmente na determinação de analitos bastante solúveis em água (Fig. 9).



Extração por ultrassom.

(Fonte: http://www.lfequipamentos.com.br/produtos_detalhes.aspx?ProdutoID=657&CategoriaID=2 acessado em 08/03/2011.)

Extração orgânica de metais: Este tipo de extração é utilizado para a determinação de analitos metálicos iônicos dissolvidos em água. Sabe-se que espécies iônicas são praticamente insolúveis em solventes orgânicos. Dessa forma, quando um complexo metálico pode ser formado entre a espécie metálica e um agente quelante, este pode ser extraído da fase aquosa mediante uma simples extração líquido-líquido.

LEIA MAIS

Para entender as informações acima citadas leia o artigo intitulado “Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte” que está disponível na plataforma. Em seguida, faça um resumo sucinto das principais idéias de cada texto.

ANÁLISE DE AMOSTRAS GASOSAS

A análise de amostras gasosas depende do tipo de amostragem e do tipo de analito a ser determinado. Se a amostragem é feita com amostrador ativo, onde um filtro é utilizado para a retirada do material particulado de uma atmosfera a ser analisada, então, o filtrado pode ser submetido a extração por ultrassom ou soxhlet, se o analito a ser determinado for um composto orgânico. Se o que se deseja determinar for um metal, então procede-se um extração por digestão ácida.

Se, por outro lado, o analito for um gás (CO_2 , NO_x , etc), ou um composto orgânico volátil, então pode-se levar a amostra diretamente à análise ou fazer sua pré-concentração utilizando o mesmo princípio da extração em fase sólida.

CONCLUSÃO

Nesta aula foram apresentados e discutidos os principais métodos de extração para as diversas matrizes amostrais e analitos. Vimos que uma determinação analítica não termina na amostragem, pelo contrário, é a partir desta etapa que inicia-se um exaustivo trabalho de secagem, moagem e extração, de forma a minimizar os interferentes, aumentar a sensibilidade e promover assim melhor precisão e exatidão em um método analítico.



RESUMO

Os métodos de preparo de amostras para análise instrumental são um importante passo no desenvolvimento analítico. Insere-se entre a amostragem e a análise instrumental propriamente dita. Por isso sua importância, pois esta etapa deve ser realizada com o maior rigor possível para que não exista erro na determinação do analito desejado. Devemos lembrar que o preparo da amostra é dependente do tipo de amostra e do tipo de analito a ser determinado. Assim, para determinação de analitos orgânicos em amostras sólidas, podemos utilizar métodos clássicos, como a extração por soxhlet, ou métodos que utilizem equipamentos modernos, como o

ultrassom e o extrator acelerado por solvente. Em amostras líquidas, o método mais difundido é a extração líquido-líquido. Porém, técnicas modernas como a extração em fase sólida e a micro extração em fase sólida estão ocupando lugar de destaque em metodologias analíticas para determinação de compostos orgânicos em matrizes aquosas. Quando tratamos da determinação de analitos metálicos, o procedimento mais utilizado é a extração por digestão ácida. Tanto para analitos em amostras sólidas ou presentes em material particulado. Para a análise de metais em água pode-se fazer sua complexação com um agente quelante orgânico e fazer sua extração, tal qual a extração líquido-líquido. Amostras gasosas podem ser analisadas diretamente após a amostragem ou então utilizar um pré-concentrador, que em algumas vezes reage com o analito a ser determinado, sendo sua quantificação feita indiretamente. Em suma, independente da amostra a ser determinada, é fundamental que o método de preparação da mesma seja confiável, reprodutível, baixo custo e de fácil execução.



ATIVIDADES

Considere uma extração líquido-líquido onde o coeficiente de distribuição D é 5 e o volume da amostra é de 100 mL. O que será mais eficiente, uma extração com 100 mL de solvente imiscível ou 2 extrações com 50 mL?

COMENTARIO SOBRE AS ATIVIDADES

Para a extração com 100 mL, a fração do analito extraído será

$$FA = \frac{1}{1 + V_r/D} = \frac{1}{1 + \frac{100}{100/5}} = 0,83$$

Para uma única extração com 50 mL, temos

$$FA = \frac{1}{1 + V_r/D} = \frac{1}{1 + \frac{100}{50/5}} = 0,71$$

Dessa forma, uma única extração com 100 mL nos oferece 83 % de eficiência. Se considerarmos que uma única extração com 50 mL nos dá 71 % de eficiência e que uma segunda extração com 50 mL, dos remanescente 29 % da amostras terá também uma eficiência de 71 % (os volumes da amostra e do solvente extrator continuam os mesmos), ao final, teremos um total de 92 % de analito extraído. Isso nos mostra que é preferível fazer duas ou mais extrações a uma única com o mesmo volume de solvente.



AUTO-AVALIAÇÃO

- Sinto-me capaz de diferenciar as técnicas de preparo de amostras para análise instrumental?
- Consigo entender os diferentes tipos de preparo de amostras para análise de compostos orgânicos?
- Consigo entender os diferentes tipos de métodos de extração de metais?



PRÓXIMA AULA

Na próxima aula faremos uma breve introdução ao laboratório, ressaltando a necessidade do uso de equipamento de proteção individual (EPI) e das normas de segurança em laboratório.

REFERÊNCIAS

- SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8 ed. Americana. Ed. Thomson; São Paulo, 2007.
- CHRISTIAN, G.D. Analytical Chemistry, 6 ed. Ed. John Wiley & Sons Inc, EUA, 2004
- KEBBEKUS, B.B.; MITRA, S. Environmental Chemical Analysis. 1 ed. CRC press company, EUA, 1998.
- DOREA, H.S.; GAUJAC, A.; NAVICKIEN, S. **Microextração em fase sólida**: aspectos termodinâmicos e cinéticos. Scientia plena, v.4(7), p.1-7, 2008.
- ARRUDA, M.A.Z.; SANTELLI, R. E. **Mecanização no preparo de amostras por microondas**: o estado da arte. Química nova, v.20(6), p.638-643, 1997.