

Resultados do Uso de Frascos e Fechamentos Relavados

Autores

Loy Shick, Thermo Fisher Scientific,
Rockwood, TN, EUA

Brian King, Thermo Fisher Scientific,
Runcorn, Cheshire, Reino Unido

Introdução

Ao usar os frascos do amostrador automático de vidro em laboratório, os fluxos de trabalho padrão exigem que os frascos e os fechamentos sejam considerados itens de consumo e descartados após cada uso. O uso de lavadoras de laboratório para a limpeza de vidrarias de laboratório já foi aplicado a frascos de amostrador automático. Os frascos limpos são então utilizados no laboratório com a intenção de reduzir custos com consumíveis. Esta nota demonstra que esta limpeza está causando danos físicos aos frascos de vidro e que também é ineficaz na remoção de contaminação da superfície do frasco. Essa contaminação é imprevisível e produz picos de interferência em aplicações de cromatografia de LC e GC. A contaminação imprevisível pode ser uma das principais fontes de falhas de ensaio inexplicáveis, resultando na necessidade de repetir toda a análise de amostras concluídas.

O trabalho experimental envolveu a investigação dos efeitos físicos do processo de lavagem, seguidos dos problemas de contaminação pelo uso anterior dos frascos e septos associados.

Efeitos Físicos da Relavagem

Variação de Evaporação

Amostra 1: Frascos de rosca de 9 mm relavados foram fornecidos em vidro transparente

Amostra 2: Frascos de rosca de 9 mm relavados foram fornecidos em vidro âmbar

Amostra 3: Novos frascos de 9 mm de vidro transparente ThermoScientific™ National™, (C4000-1W) e novos fechamentos com septos de PTFE/silicone (C5000-54B) foram fornecidas como amostras de referência de linha de base.



Evaporação em Temperatura Ambiente

- Frascos preenchidos com metanol foram deixados em repouso em temperatura ambiente por 1 hora
- O peso inicial foi calculado em uma balança analítica de quatro lugares
- Os frascos foram carregados em um suporte de amostras e deixados em temperatura ambiente por 7 dias
- O peso final em temperatura ambiente foi calculado e a diferença calculada como perda de amostra em gramas

Evaporação em Alta Temperatura

- Os frascos foram devolvidos ao suporte e incubados a 40°C por 24 horas
- O peso final em alta temperatura foi obtido e subtraído do peso em temperatura ambiente final para produzir a perda de amostra a 40 °C em gramas

Os dados de evaporação são comparados nas Figuras 1a–1c. Os níveis de evaporação são mais altos para todos os frascos que passaram pelo processo de relavagem.

Impacto do uso de Septos que foram Reutilizados

A Figura 1d mostra que septos de frascos e tampas reutilizados apresentaram aumento de perda evaporativa. Isso demonstrou que perdeu-se integridade devido à divisão física da camada de PTFE e silicone.

Reutilização de Septos

Avaliação de Septo Usado

- 10 novos frascos 8-425 foram preenchidos com 100% de metanol e tampados com um novo fechamento 8-425 com septo pré-fenda em PTFE/Silicone
- 10 septos reutilizados foram inseridos manualmente em uma nova tampa 8-425 e afixados a novos 8-425 frascos preenchidos com 100% de metanol.

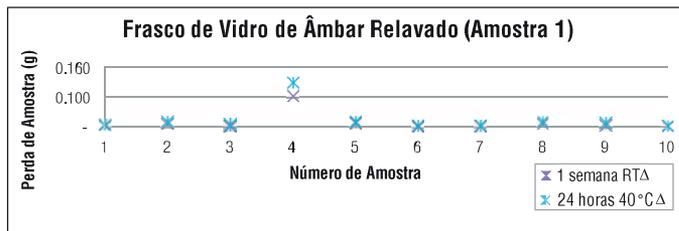


Figura 1a:

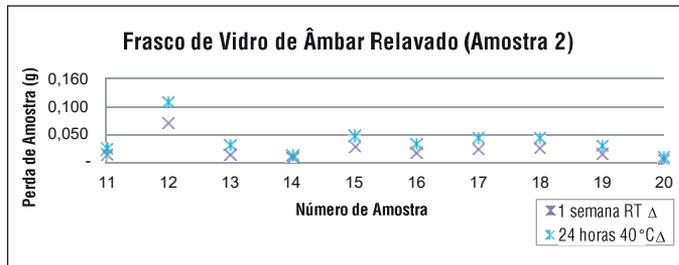


Figura 1b:

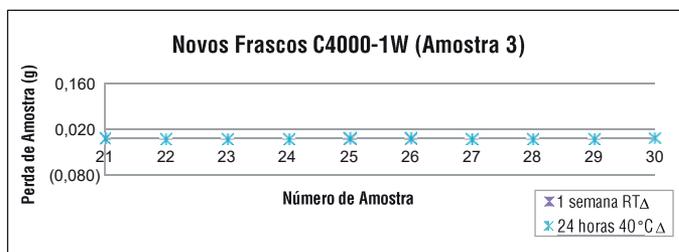


Figura 1c

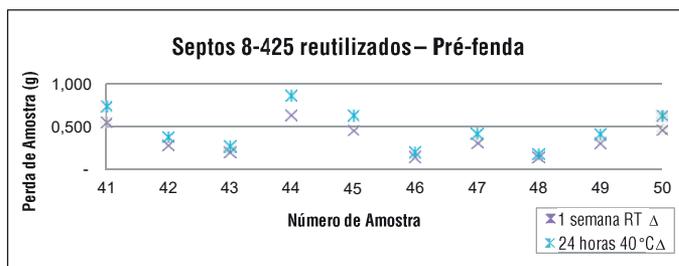


Figura 1d



Figura 2a: Frascos relavados em âmbar e transparentes típicos



Figura 2b: Dano por relavagem típico na rosca



Figura 2c: Restos de adesivos de identificação em frascos âmbar após relavagem

Deterioração de Superfície

Fisicamente, os frascos apresentaram danos nas roscas e houve abrasão extensa na superfície do frasco. A extensão da abrasão foi suficiente para remover os adesivos de identificação comum encontrados neste produto. A remoção foi associada à turvação do vidro, limitando a transparência e a visibilidade dos níveis de amostra (Figura 2a–c).

Microestrutura de Superfície de Vidro

Frascos de cromatografia são formados a partir de vidro borossilicatoneutro de alta qualidade. O tubo de vidro fundido é primeiramente alongado para formar tubos longos com diâmetro externo e espessura de parede especificados. A tubulação é então retrabalhada a altas temperaturas para formar o perfil do fechamento e o formato do fundo do frasco. Os frascos são recozidos para remover tensão e fortalecer o vidro antes da embalagem. A superfície do vidro recozido é lisa e sem arranhões e abrasões superficiais.

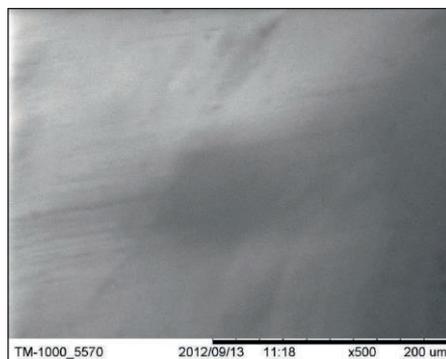
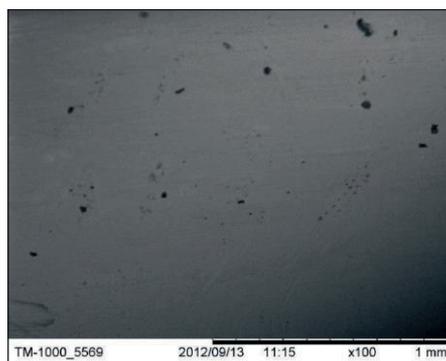
Quando os frascos são relavados, eles são arranhados, desgastados e placas ficam depositadas na superfície. A superfície não está mais livre de tensão, mas através das áreas de arranhões, é possível identificar quebras e trincas potenciais (Figura 3).

O pós-recozimento do vidro de borossilicatoneutro pode ser considerado um vidro do Tipo 1 com uma superfície homogênea quimicamente preenchida com pontes de siloxano. A quebra dessa superfície aumenta a área da superfície e parte os siloxanos, liberando grupos silanol na superfície do vidro. O aumento de silanóis ácidos aumentará a atividade da superfície, resultando em maior adsorção potencial de qualquer espécie química básica na amostra.

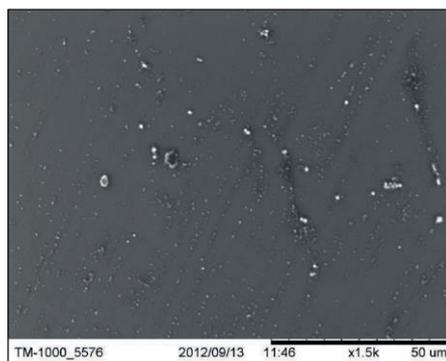
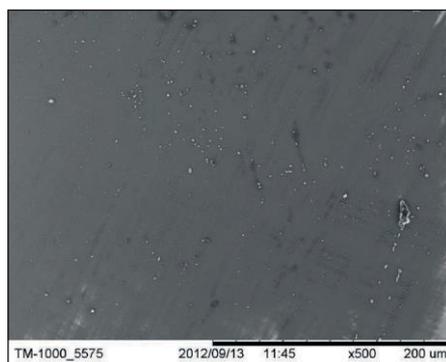
O efeito de danos físicos na superfície do frasco e na rosca pode ter consequências de longo prazo.

- As alterações da taxa de evaporação do frasco introduzirão incerteza na concentração de padrões e amostras
- A perda de solvente dos frascos irá alterar a concentração e afetar a recuperação e a precisão da medição, mesmo utilizando padrões internos

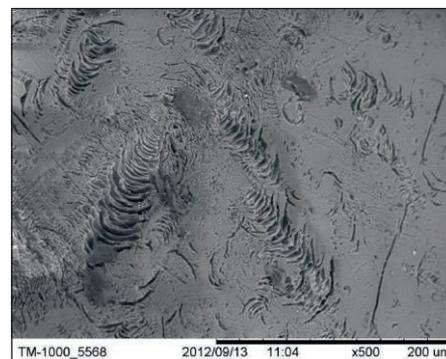
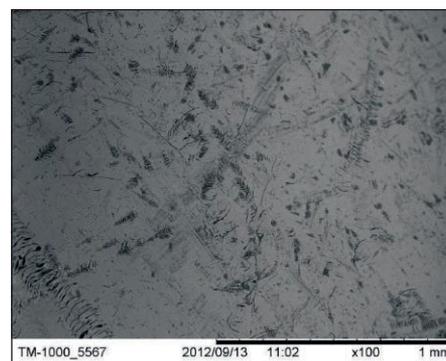
Vidro Transparente – Superfície de Vidro Nova



Vidro Âmbar - Superfície de Vidro Nova



Vidro Transparente – Superfície de Vidro Relavada



Vidro Âmbar - Superfície de Vidro Lavado

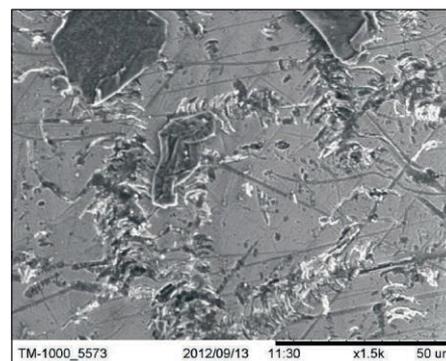
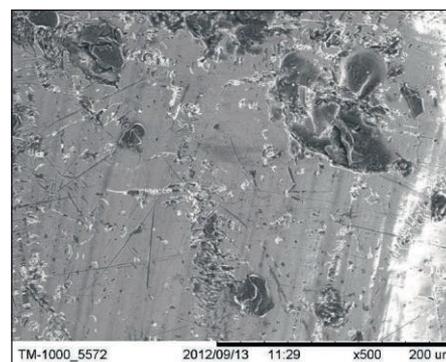


Imagem 3. Comparação de superfícies de frascos de vidro novos e relavados

- A alteração das características da superfície aumentará o risco de adsorção permanente da amostra dentro do frasco, particularmente de solutos básicos
- O vidro fica enfraquecido e a quebra dos frascos durante o transporte do amostrador automático não pode ser desconsiderada

Comparação de GC-MS de Frascos Novos e Produtos Relavados

Amostras de um mililitro de metanol utilizado como solvente em branco foram armazenadas em vários frascos de vidro padrão. As amostras armazenadas em novos frascos foram então comparadas com amostras injetadas de frascos relavados selecionados aleatoriamente. Foram utilizados dois tipos de frascos, âmbar e transparente. Os frascos transparentes foram todos fabricados com borossilicato neutro de expansão 33. Os frascos de âmbar eram borossilicato neutro de expansão 51 Tipo 1. Todos os frascos relavados foram submetidos a múltiplos ciclos de lavagem.

A Contagem Total de Íons (TIC) em branco do frasco novo é comparada com dois frascos âmbar em branco.

Os perfis dos dois frascos demonstraram que o Frasco A possui polissiloxanos cíclicos como contaminante, enquanto o Frasco B possui picos adicionais de impureza. A contaminação não é previsível, mas depende das amostras anteriores nos frascos (Figura 4).

Uma comparação em branco semelhante realizada com os frascos de expansão transparentes 33 também demonstra grande variação na intensidade e no perfil dos contaminantes extraídos dos frascos. Nesse caso, um frasco demonstrou espécies de rejeitos foram extraídas e distorceram a linha de base de GC em uma parte essencial do perfil de GC.

Outro frasco testado na mesma sequência apresentou respostas muito mais baixas para todos os picos (Figura 5).

O uso de tais frascos relavados com GC-MS no modo TIC levará à produção de picos significativos de impureza que irão interferir nos picos analíticos ou levar a uma quantificação defeituosa devido à coeluição.

Método GC-MS

Instrumento de GC: Thermo Scientific™ TRACE™ GC 40 °C
Forno: (0,5 minuto), 15 °C/minuto, 150 °C (1 minuto), 10 °C/minuto, 290 °C 5 minuto)
SSL: Sem divisão (1 minuto), fluxo de divisão de 50 mL/minuto, purga de septo constante
Carro Esquerdo: Hélio a 1,2 mL/minuto, fluxo constante, com compensação de vácuo
SSL: Temp 250 °C
Colunas: Thermo Scientific™ TraceGOLD™ TG-5MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm
Instrumento de MS: GC-MS de quadrupolo único Thermo Scientific™ ISQ™
Temp de Linha de Transferência: 290 °C
Temp. de Fonte de Íons: 230 °C
Fonte de Ionização: EI
Energia Eletrônica: 70 eV
Faixa de Varredura: 50–650 varredura completa, tempo de espera 0,2 segundos
Atraso de Solvente: 3,5 minutos
Amostrador Automático: Amostrador automático Thermo Scientific™ TriPlus RSH™
Volume de Amostra: 1 µL

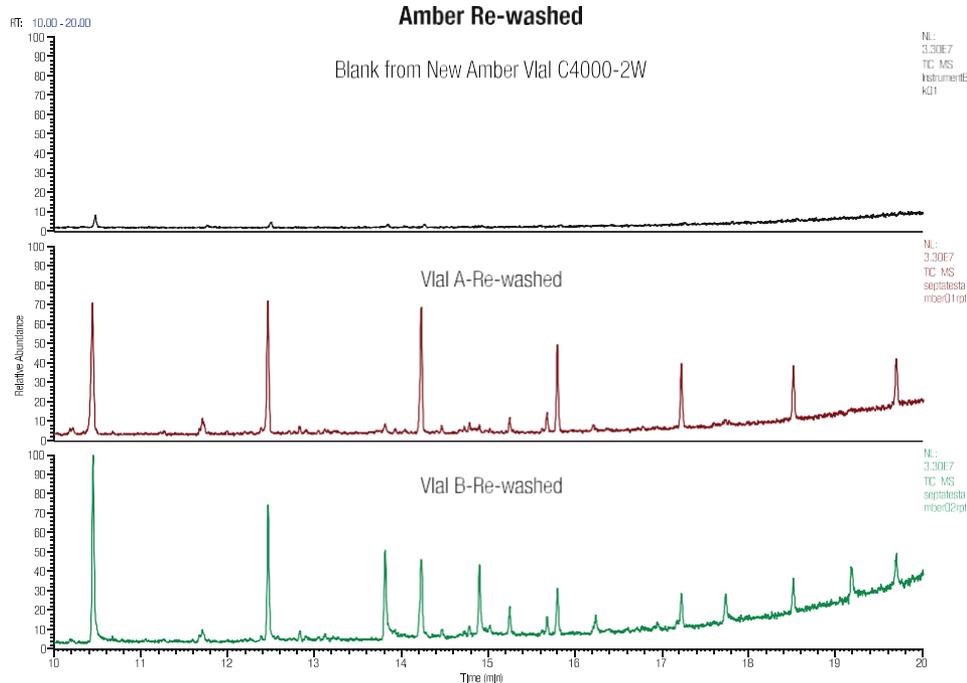


Figura 4. Triagem de TIC de 10 a 20 minutos

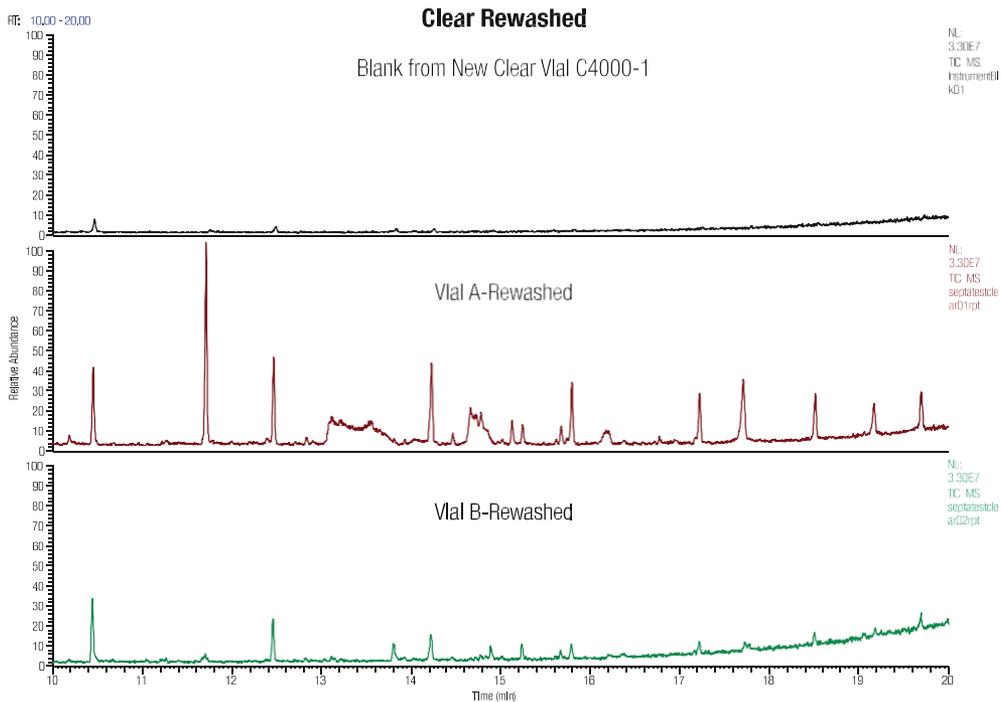


Figura 5.

Impacto da Reutilização de Septos

Além de reutilizar os frascos, a extração e reutilização dos septos de injeção também podem ser encontradas.

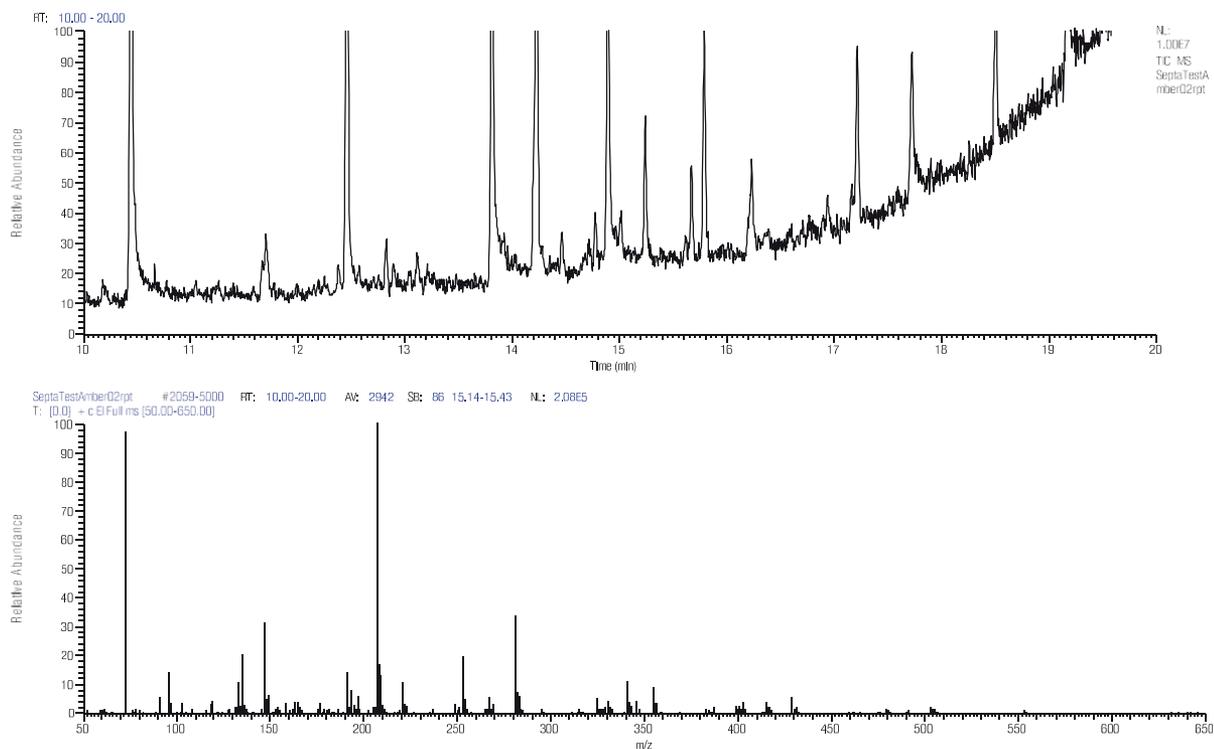


Figura 6. (Superior) Traço de GC-MS e TIC apresentando componentes dos picos de extração de siloxano. (Inferior) Os siloxanos, especificamente, são extraídos com mais facilidade de septos com fendas danificadas.

Efeitos na Instrumentação

Após realizar três sequências distintas com os frascos e septos relavados, o desempenho de GC começou a deteriorar mesmo com os brancos limpos.

O revestimento de injeção foi inspecionado e foram encontrados depósitos presos no revestimento. Alguns podiam ser vistos como fragmentos pretos provenientes da camada de silicone descolorida.

A deterioração dos septos pode aumentar o tempo de inatividade do instrumento necessário para a substituição do revestimento de injeção e também causar a transição para padrões e brancos.

Interferências de HPLC-UV Encontradas no Perfil de Gradiente

Instrumento de HPLC: PDA 1250 Thermo Scientific™ Accela™
Fase Móvel: A: Água/Ácido fórmico 1%
B: Acetonitrilo
A: B 5–95% 10 minutos

Quociente de vazão: 0,5 mL/minuto
InjectiDetection: PDA 210 nm, 220 nm, 254 nm
em Volume: 5 µL

Uma série de gradientes lineares foi realizada e monitorada por UV. As injeções dos frascos relavados demonstraram que foram detectados vários picos a 220nm e 254 nm que não estavam presentes nas novas amostras dos frascos.

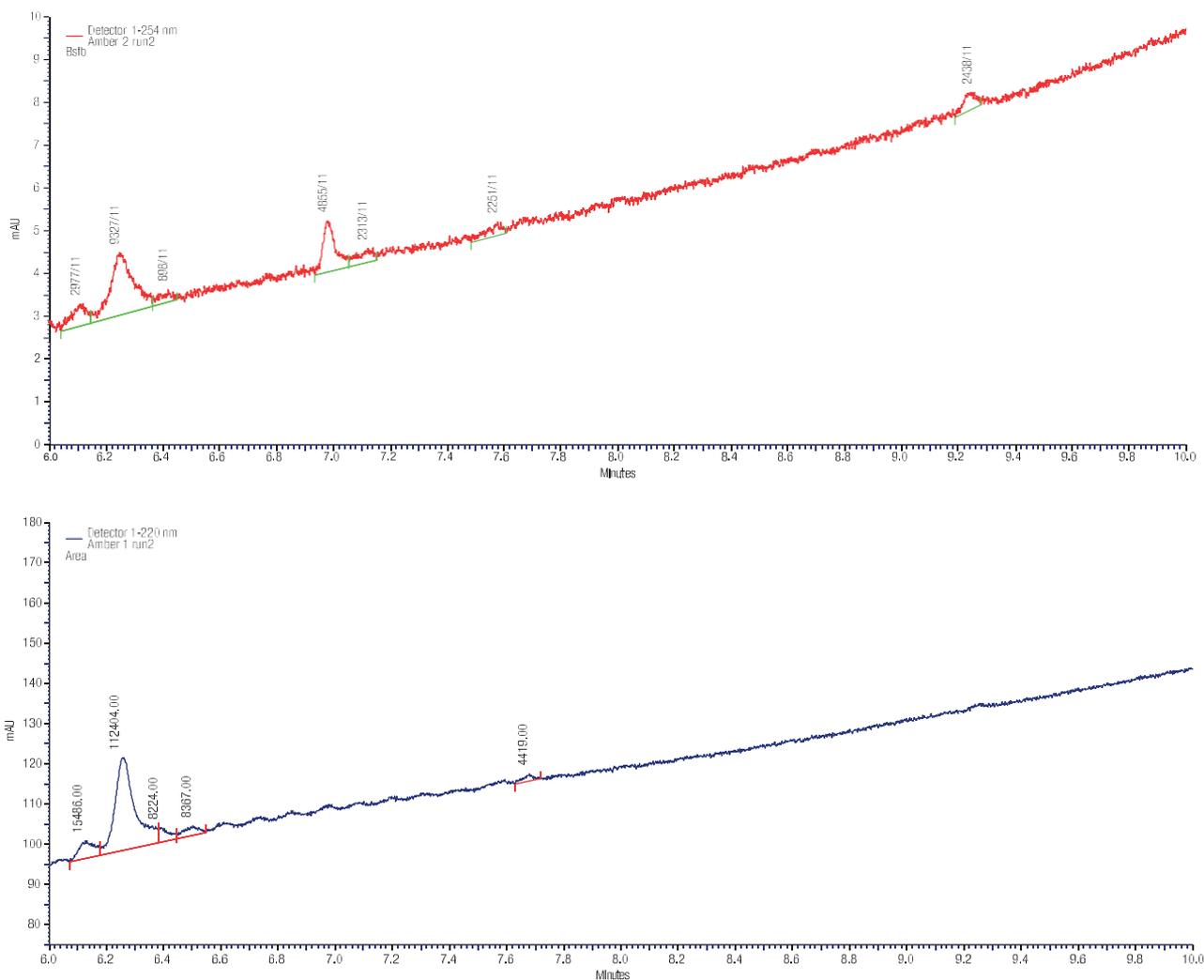


Figura 7. Extrato do perfil de gradiente do frasco relavado

Instrumento HPLC: Thermo Scientific Accela 600
 LCQ Deca XP
 Coluna: Thermo Scientific™ Hypersil
 GOLD™ 3 µm 100 mm x 2,1 mm
 Fase Móvel: A: Água/Ácido fórmico 1%
 B: Acetonitrilo
 A: B 10-100%; B em 25 minutos
 Quociente de vazão: 0,3 mL/minuto

Volume de Injeção: 10 µL
 Detecção +ESI MS
 Posição da sonda C5
 Tensão da agulha ESI 4,5 kV
 Temperatura capilar 300°C
 Tensão capilar 46 V
 Gás de impulsão 40
 Gás auxiliar 10
 Verificação completa 50 a 1500
 3
 Micro varreduras

Comparação por HPLC-MS do Sinal de Fundo de Septos Reutilizados contra Combinações de Septos e Frascos Novos

A presença de contaminação por siloxano de septos reutilizados pode ser demonstrada pelos picos de massa adicionais apresentados na varredura a partir de uma eluição de gradiente semelhante às varreduras UV abaixo.

Amostra incubada com metanol a 30°C por 12 horas com 1) Frasco transparente novo e septos de silicone/PTFE 2) Frasco transparente relavado com septos divididos reciclados.

O sinal de fundo de MS aumentou em um fator 5 em comparação com a nova combinação de frascos e septos quando as amostras são comparadas usando as condições do instrumento mostradas na Tabela 3.

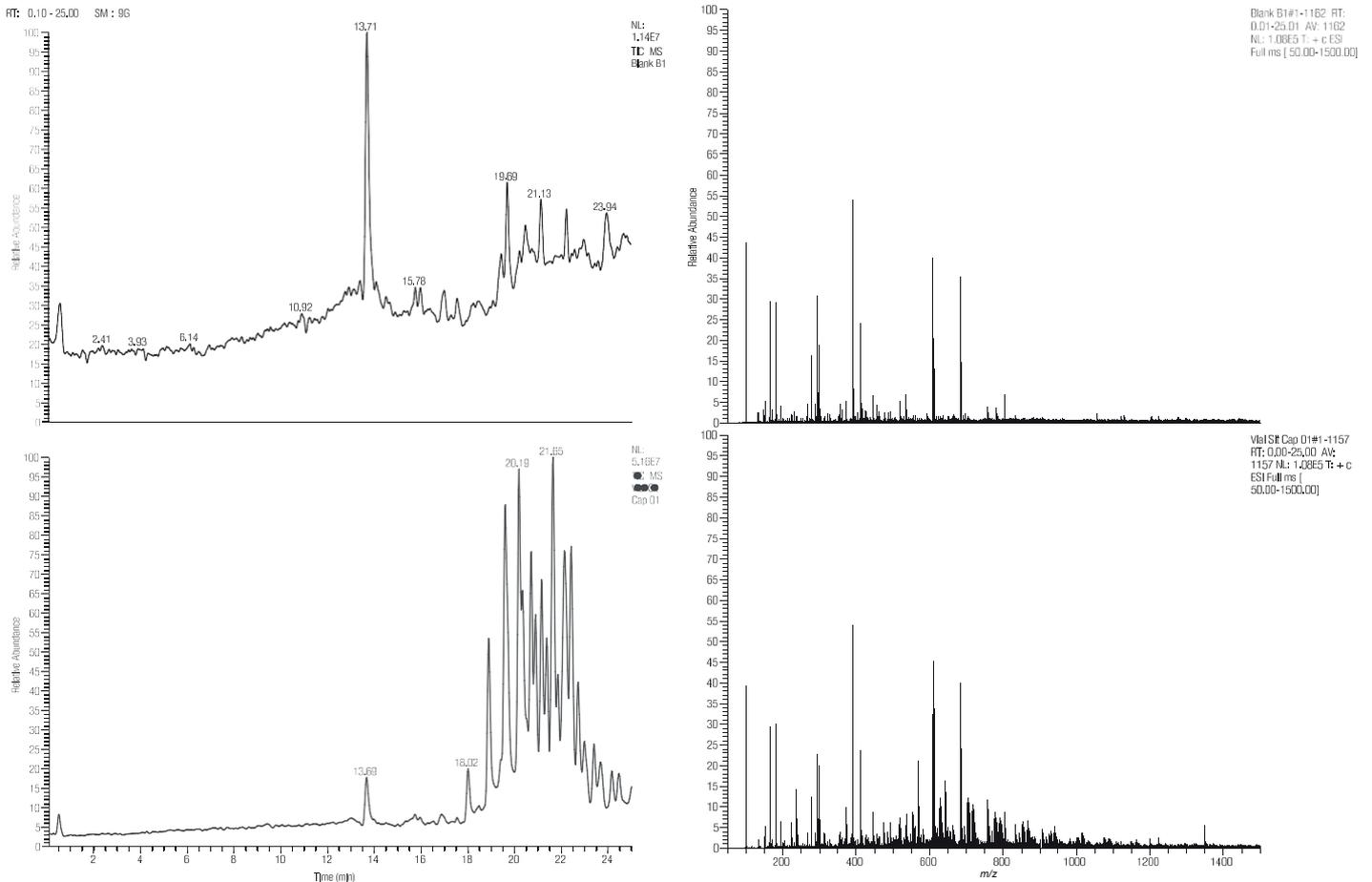


Figura 8. Comparação do branco com o frasco contaminado usando os septos de Silicone/PTFE

Resumo

O uso de frascos relavados e a reutilização de septos é comparado ao uso de frascos novos.

- A comparação das injeções em branco desses frascos relavados foi realizada com instrumentos de GC e HPLC
- Em todos os casos, foram encontrados componentes adicionais nos brancos de GC-MS. Foi encontrada interferência com padrões no modo TIC.
- O tempo de inatividade da instrumentação de GC aumentou devido ao aumento da taxa de substituição do revestimento de injeção
- Na HPLC, a introdução de injeções de pequeno volume já demonstrou a introdução de picos adicionais no modo UV
- A comparação de frascos contaminados e novos foi claramente demonstrada por uma varredura completa de faixa de massa
- Quando foram adicionados septos reutilizados, a contaminação da injeção dos frascos aumentou

Conclusão

Os resultados ideais de cromatografia podem ser comprometidos pelo uso de frascos e septos reutilizados/relavados.

Frascos e septos reutilizados/lavados podem introduzir picos aleatórios de interferência não reproduzíveis em métodos cromatográficos estáveis. Isso pode ser uma das principais fontes de falhas de ensaio inexplicáveis que costumam exigir o reteste de amostras inteiras, às vezes desde os estágios iniciais de preparação. O tempo gasto em retestes e na solução de problemas de uma falha de ensaio que não pode ser duplicada nega os benefícios percebidos da reutilização de frascos e septos. Cromatógrafos que exijam integridade de amostra intransigente devem sempre utilizar frascos e septos novos para cada análise.



Saiba mais em [thermoscientific.com/vials](https://www.thermoscientific.com/vials)

Apenas para Uso em Pesquisas. Não deve ser usado em procedimentos diagnósticos. © 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos os Direitos Reservados. Todas as marcas registradas são de propriedade da Thermo Fisher Scientific e suas subsidiárias, a menos que especificado de outra forma. Esta informação é apresentada como um exemplo das capacidades dos produtos da Thermo Fisher Scientific. Não foi elaborado para incentivar o uso desses produtos de qualquer forma que possa infringir direitos de propriedade intelectual de terceiros. Especificações, prazos e preços estão sujeitos a alterações. Nem todos os produtos estão disponíveis em todos os países. Consulte seu representante de vendas local para mais detalhes.

TN20670-PT-BR 0818S

ThermoFisher
SCIENTIFIC