

UTILIZAÇÃO DE UM MONITOR DE VÍDEO COMO FONTE DE ALTA TENSÃO PARA ELETROFORESE CAPILAR

José Alberto Fracassi da Silva* e Leonardo Frassetto

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13084-971, Campinas - SP, Brasil

Recebido em 6/10/05; aceito em 14/2/06; publicado na web em 25/7/06

UTILIZATION OF A CONVENTIONAL CRT MONITOR AS A HIGH VOLTAGE POWER SUPPLY FOR CAPILLARY ELECTROPHORESIS. This article describes the use of a conventional CRT monitor as a high voltage power supply for capillary electrophoresis. With this monitor, a 23-kV high voltage with a ripple of 1.32% was observed. The reproducibility of the applied high voltage was evaluated by measuring the standard deviations of peak area and migration time for five consecutive injections of a test mixture containing potassium, sodium, and lithium cations at 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The errors were about 2.5% and 0.6% for peak area and migration time, respectively. The maximum current tested was about 180 μA , which covers most capillary electrophoresis applications. This system has been successfully used for several months, maintaining the desired level of performance.

Keywords: capillary electrophoresis; high voltage power supply; analytical instrumentation.

INTRODUÇÃO

A eletroforese capilar (CE) é uma técnica de separação de compostos baseada na migração diferenciada das espécies contidas na amostra, mediante a aplicação de um campo elétrico. Dentre as técnicas de eletromigração em capilares, a CE é a modalidade mais utilizada, devido à facilidade de implementação e otimização das condições de análise. As características gerais da CE são curto tempo de análise, alta eficiência e resolução, baixos volumes empregados de eletrólito e amostra e alto grau de automação. Além disso, várias classes de compostos em diferentes matrizes podem ser analisadas – desde íons inorgânicos pequenos até macromoléculas, portadores ou não-portadores de carga^{1,2}. Há também disponível ampla literatura que descreve métodos de análise por CE³⁻⁶.

Um aspecto interessante a ser considerado na CE é a simplicidade da instrumentação. O sistema básico consiste de uma fonte de alta tensão (FAT), um capilar mergulhado em dois reservatórios contendo o eletrólito, eletrodos inertes (comumente platina) para conexão com a FAT e um detector apropriado. A FAT é usada para propiciar o alto campo elétrico ao longo do capilar. Estas fontes podem ser operadas à voltagem constante, com valores de até 30 kV, ou à corrente constante, com valores de até 300 μA .

Considerando os custos envolvidos na aquisição de um equipamento comercial de CE – o equipamento de menor custo que temos informação está cotado em US\$ 25000.00 – a construção de sistemas de CE é uma alternativa muito interessante para laboratórios de pesquisa que estejam interessados no desenvolvimento da instrumentação e de métodos para CE, e para laboratórios de ensino. Por sua vez, um dos itens mais custosos na construção de protótipos é a FAT, uma vez que não há itens disponíveis no mercado nacional – o custo de uma FAT de 0 a 30 kV, com polaridade reversível, pode ser superior a US\$ 2000.00, dependendo do fabricante e da estabilidade e capacidade de corrente.

Monitores de vídeo (MV) comuns possuem circuito “fly-back” de geração de alta tensão, a qual é utilizada para aceleração de elétrons no tubo de raios catódicos (CRT), além de tensões menores utilizadas para ajuste de brilho e de foco. Neste tipo de circuito, o primário de um transformador (“fly-back”) é chaveado através de um transistor de potência (saída horizontal) e, através de uma relação de espiras favorável, uma alta tensão alternada é obtida no secundário. A tensão alternada é retificada através de um diodo e filtrada (o próprio CRT proporciona amortecimento da oscilação da tensão de saída). A oscilação característica do potencial contínuo obtido é denominada tensão de “ripple”, ou simplesmente “ripple”.

Neste artigo, é proposta a utilização de um MV na aplicação de potenciais em CE. A qualidade desta FAT foi avaliada em relação à flutuação do valor de potencial fornecido e à repetibilidade nas separações. O circuito elétrico construído para controle do MV pode ser reproduzido facilmente e utiliza apenas alguns componentes de baixo custo. O custo material para implementação do sistema proposto está estimado em R\$ 400,00, caso se utilize um MV novo.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico e utilizados sem tratamento prévio. Ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico (MES), histidina (His), NaCl, KCl e LiCl foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, SP). Todas as soluções foram preparadas em água deionizada (18 M Ω cm). Os eletrólitos e padrões foram preparados diariamente a partir da diluição das soluções estoque de MES, His, K⁺, Na⁺ e Li⁺, preparadas na concentração de 0,1 mol L⁻¹.

Equipamento de eletroforese capilar

O sistema eletroforético construído está ilustrado na Figura 1. O sistema foi montado em um gabinete em acrílico para evitar a exposição dos usuários aos altos potenciais aplicados. A injeção de amostra foi feita hidrodinamicamente, com o auxílio de uma bomba do tipo da utilizada em aquários (Master, São Paulo, SP)⁷ e duas

*e-mail: fracassi@iqm.unicamp.br

válvulas solenóides (038T2S12-32-4, Bio-Chem Valve Inc., NJ, USA) acionadas por um circuito PWM DRV103⁸. O detector utilizado foi o condutométrico sem contato, C⁴D, operando com um sinal senoidal de 515 kHz e 2 V de amplitude⁹. O sistema foi interfaceado a um microcomputador Pentium[®] 4 através de um módulo USB multifuncional de entrada e saída NI USB 6009 (National Instruments, São Paulo, SP). O programa de controle foi escrito em linguagem Labview[®] 7.1 (National Instruments, São Paulo, SP). Foi utilizado um capilar de sílica fundida com diâmetro interno de 75 μm e comprimento de 30 cm (20 cm até o detector). A injeção de material no capilar foi hidrodinâmica, efetuada através da aplicação, por 5 s, de uma pressão constante (11 kPa ou 1,6 psi) no reservatório anódico.

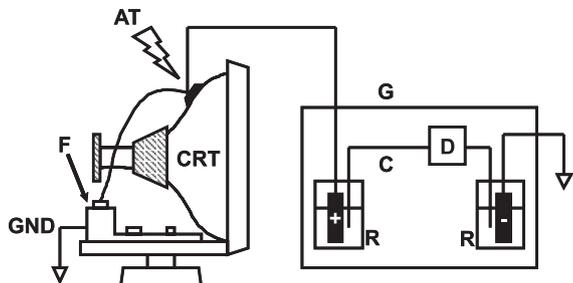


Figura 1. Representação esquemática do sistema construído. AT: Alta tensão; C: Capilar de sílica fundida; CRT: Tubo de raios catódicos; D: Detector condutométrico sem contato (C⁴D); F: Saída do “Fly-back”; G: Gabinete em acrílico; GND: Terra do circuito (0 V); R: Reservatório de eletrólito

O tratamento dos dados obtidos foi realizado com o auxílio do software Origin 7.5 (OriginLab Co., MA, USA).

Fonte de alta tensão

Foi utilizado um MV marca Daewoo, modelo 1427X. O cabo utilizado na confecção do pólo positivo do sistema foi um cabo de alta tensão de duplo isolamento, marca Mult Cabo[®]. Uma vez desmontada a tampa traseira do MV, soldou-se este cabo diretamente na saída do “fly-back” do monitor. A Figura 2 mostra uma fotografia da montagem realizada. O controle do MV é realizado via saídas digitais (TTL) do módulo USB. O circuito é constituído de um relé (Giant, modelo JQC-3F T73), um transistor BC337, um resistor de 5 k Ω e um diodo 1N4007, segundo a Figura 3. Quando um sinal digital (DO) de 5,0 V (nível lógico alto) é enviado, o transistor é saturado acionando o relé RL1 e o MV. O diodo é utilizado para proteger os componentes do circuito quando o relé é desligado. O pólo positivo (cabo de alta tensão) foi conectado a um eletrodo de

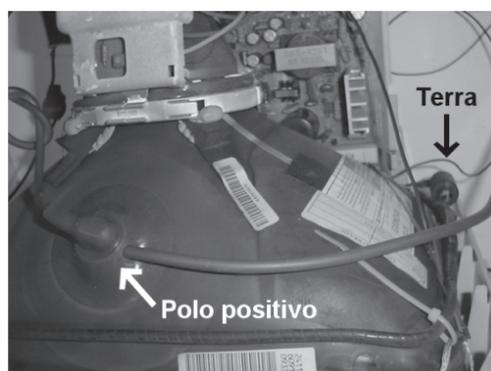


Figura 2. Fotografia do monitor de vídeo, ilustrando a ligação do cabo de alta tensão e do ponto de aterramento na malha do CRT

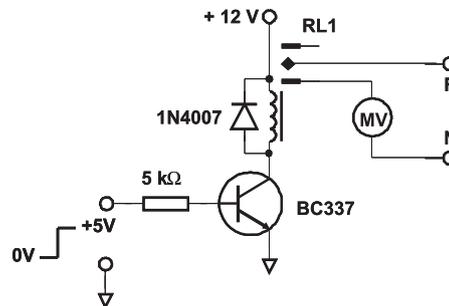


Figura 3. Circuito esquemático de acionamento do monitor de vídeo (MV). F, N: Fase e neutro da rede elétrica, respectivamente (110 V_r); RL1: Relé

ação inox mergulhado no reservatório de injeção, enquanto que o outro eletrodo foi conectado ao pólo negativo (terra, 0 V) do MV. Um bom ponto para a conexão do terra pode ser obtido na malha de aterramento da CRT, conforme mostrado nas Figuras 1 e 2. Para evitar escapes de alta tensão, com conseqüente ruído no sistema, é aconselhável o isolamento do ponto de conexão da alta tensão com o eletrodo, através de uma resina epóxi não-condutora (Scotch Mix 15 min, 3M, Brasil).

RECOMENDAÇÃO DE SEGURANÇA: O manuseio por pessoas não-qualificadas do circuito eletrônico do MV pode causar acidentes, inclusive com queimaduras e risco de choque elétrico. Recomenda-se, portanto, que as conexões de alta tensão sejam efetuadas por pessoas especializadas e que o gabinete do equipamento de CE seja equipado com dispositivo de segurança para evitar exposição aos usuários.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A alta tensão fornecida pelo MV depende de fatores como diâmetro da tela do CRT e frequência de oscilação do circuito de deflexão horizontal, dentre outros. De maneira geral, quanto maior o diâmetro da tela, maior a alta tensão necessária. O valor obtido para o MV utilizado neste trabalho foi de 23 kV, medido com o auxílio de multímetro digital (ET-2201, Minipa, São Paulo, SP) conectado a um divisor de tensão de alta impedância (fator de divisão de 1:1000).

A estabilidade do potencial fornecido pelo MV foi avaliada conectando-se um osciloscópio (54622A, Agilent Technologies Brasil, Barueri, SP) ao divisor de tensão a fim de se medir a tensão de “ripple”. A Figura 4 mostra a forma de onda obtida. Pode ser notado na figura que o valor do “ripple” medido foi de 303 mV, que

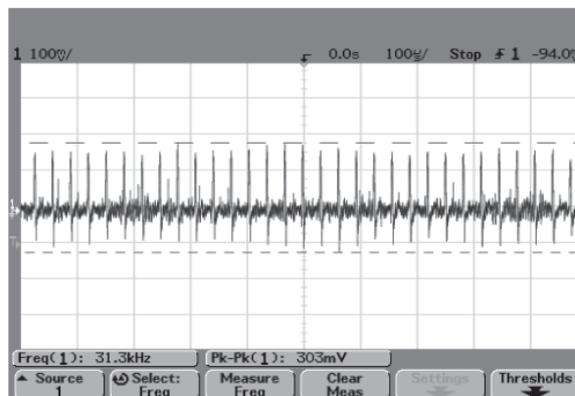


Figura 4. Frequência e amplitude do “ripple” observado na alta tensão fornecida pelo MV

corresponde a uma variação de 303 V na alta tensão gerada, ou seja, uma variação de 1,32% com uma frequência de oscilação de 31,3 kHz. É importante o monitoramento da frequência de operação do MV, pois pode haver interferência com o sistema de detecção C⁴D, que opera com frequências da ordem de centenas de kHz. Não se observa interferência significativa para sinais com frequência de operação de dezenas de kHz, como é o caso do MV.

Como o CRT atua como um capacitor de alta tensão, sua influência na estabilidade do potencial foi avaliada. A Figura 5 mostra os sinais obtidos com e sem o CRT conectado ao ponto de alta tensão. Pode-se observar que, apesar do sinal apresentar ruído menor quando da conexão do CRT (Figura 5A), não há uma redução significativa do “ripple”, o que sugere que apenas o circuito do MV possa ser utilizado, culminando na redução de espaço da montagem. Este aspecto não foi completamente explorado neste trabalho, uma vez que os testes de estabilidade a longo termo foram efetuados com o CRT conectado.

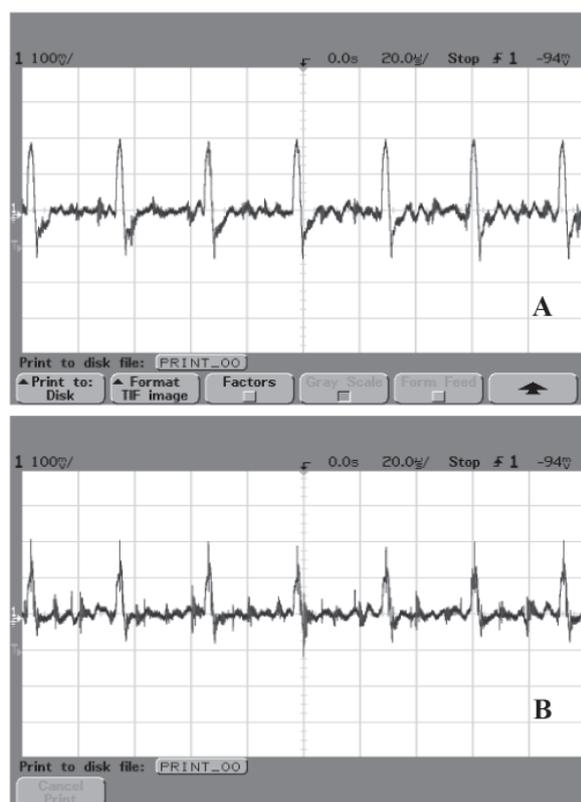


Figura 5. Oscilação da alta tensão fornecida pelo MV com (A) e sem (B) a conexão do CRT

Na Figura 6 é apresentada a separação eletroforética de uma mistura de K⁺, Na⁺ e Li⁺, na concentração de 50 μmol L⁻¹, utilizando-se como eletrólito uma solução tampão composta por MES/His 20 mmol L⁻¹. O eletroferograma obtido é característico dessa separação e deste sistema de detecção. O pico negativo observado em torno de 1,2 min é referente à zona de injeção, que migra com a velocidade do fluxo eletrosmótico (EOF). Observa-se também a boa estabilidade da linha base, o que indica que o C⁴D não capta ruído do MV, dentre outros fatores que podem influenciar a relação sinal-ruído do sistema de detecção.

A repetibilidade do sistema foi avaliada pela injeção seqüencial de uma solução aquosa contendo mistura de K⁺, Na⁺ e Li⁺ na concentração de 50 μmol L⁻¹. As áreas e os tempos de migração para os três picos foram medidos para cinco injeções sucessivas e os valo-

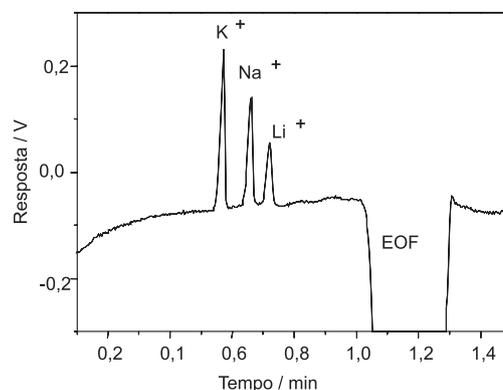


Figura 6. Separação eletroforética de uma mistura de K⁺, Na⁺ e Li⁺ na concentração de 50 μmol L⁻¹. Condições: Potencial fornecido pelo MV: 23 kV; Capilar: sílica fundida, 75 μm, 30 cm de comprimento, 20 cm até o detector; Tampão MES/His 20 μmol L⁻¹; Detector: C⁴D operando em 515 kHz e 2 V (pico-a-pico). Injeção hidrodinâmica: 11 kPa por 5 s

res de área média, tempo de migração médio e erro relativo médio dos analitos estão resumidos na Tabela 1. Os erros relativos médios obtidos foram 1,7; 2,5 e 1,8% para as áreas dos picos dos cátions K⁺, Na⁺ e Li⁺, respectivamente. O erro médio final foi 2,0%. Já para os tempos de migração, os valores calculados foram 0,3; 0,6 e 0,2% para os cátions K⁺, Na⁺ e Li⁺, respectivamente. O erro médio final foi 0,4%. Estes valores de erro indicam ótima reprodutibilidade dos resultados, viabilizando o emprego de MV como fonte de alta tensão para EC. Convém ressaltar que os erros apresentados refletem os erros acumulados em todas as etapas do processo, como por ex., na injeção da amostra.

Tabela 1. Área média dos picos, tempo médio de migração e respectivos erros relativos percentuais

| | K ⁺ | Na ⁺ | Li ⁺ | Média |
|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|-------|
| Área média (V min) | 0,00456 | 0,00378 | 0,00227 | - |
| Desvio padrão | 0,00008 | 0,00009 | 0,00004 | - |
| Erro rel. (%) | 1,7 | 2,5 | 1,8 | 2,0 |
| Tempo médio (min) | 0,572 | 0,661 | 0,721 | - |
| Desvio padrão | 0,002 | 0,004 | 0,002 | - |
| Erro rel. (%) | 0,3 | 0,6 | 0,2 | 0,4 |

A maior corrente registrada neste sistema de alta tensão baseado em MV foi de cerca de 180 μA. Convém ressaltar que esta corrente é suficiente para a maioria das aplicações em CE. Até o presente momento, não foram testadas correntes maiores que esse valor. Devido às características do circuito do MV, é possível apenas a operação no modo voltagem constante com alta tensão positiva. Para operação no modo de polaridade invertida, basta que a injeção da amostra seja feita na outra extremidade do capilar (terra ou 0 V do circuito).

CONCLUSÃO

A CE tem se mostrado uma técnica cada vez mais importante na separação de compostos iônicos ou ionizáveis. Por apresentarem alto custo, os aparelhos comerciais ainda não são muito difundidos, especialmente no segmento acadêmico. O emprego de um MV como fonte de alta tensão é uma solução economicamente viável na implementação da instrumentação para CE – estima-se em R\$ 400,00 o custo material de construção do sistema, levando-se em consideração a utilização de um MV novo. Com base na boa reprodutibilidade

dos valores de áreas dos picos e tempos de migração, pode-se concluir que o potencial fornecido pelo MV se apresentou constante durante os ensaios. Estudos efetuados na presença e ausência do CRT sugerem que apenas o circuito eletrônico do MV possa ser utilizado, embora esta situação não tenha sido testada exaustivamente. Com relação à durabilidade, o MV tem sido utilizado continuamente por cerca de 7 meses sem danos ou desgastes perceptíveis, o que é indicativo da robustez da montagem.

Assim, verifica-se que o presente trabalho apresenta uma saída de baixo custo para a construção de sistemas de eletroforese com propósitos didáticos e de pesquisa.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio concedido (processo 04/09079-0), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

(CNPq) pela bolsa concedida a L. Frassato e ao Prof. Dr. C. L. do Lago pela utilização do divisor de alta tensão.

REFERÊNCIAS

1. Tavares, M. F. M.; *Quim. Nova* **1996**, *19*, 173.
2. Tavares, M. F. M.; *Quim. Nova* **1997**, *20*, 493.
3. Weinberger, R.; *Practical Capillary Electrophoresis*, Academic Press: San Diego, CA, 1993.
4. Baker, D. R.; *Capillary Electrophoresis*, John Wiley & Sons: New York, 1995.
5. Li, S. F. Y.; *Capillary Electrophoresis. Principles, practice and applications*, Journal of Chromatography Library, vol. 52, Elsevier Science B. V.: Amsterdam, The Netherlands, 1992.
6. Fracassi da Silva, J. A.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 56.
7. Fracassi da Silva, J. A.; Frassato, L.; *13º Encontro Nacional de Química Analítica*, Niterói, Brasil, 2005.
8. Fracassi da Silva, J. A.; do Lago, C. L.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 842.
9. Fracassi da Silva, J. A.; Guzman, N. A.; do Lago, C. L.; *J. Chromatogr., A* **2002**, *942*, 249.