



## Validação de Métodos de Lavagem de Vidraria Utilizando Vitamina B12 como Marcador de Limpeza

Aureanna Nairne NEGRÃO<sup>1</sup>, Cibele BUBA<sup>1</sup>, Thais BARBOZA<sup>1</sup>,  
Sílvia M. FRANCHI<sup>1</sup> & Cíntia M. RIBAS DE OLIVEIRA<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Controle de Qualidade e Desenvolvimento, Curso de Farmácia.

<sup>2</sup> Mestrado Profissional em Gestão Ambiental - Centro Universitário Positivo (UnicenP),  
Rua Professor Pedro Viriato Parigot de Souza 5300. CEP 81280-330 - Curitiba - Paraná (Brasil)

**RESUMO.** O objetivo do trabalho foi a validação de procedimentos de limpeza de vidrarias, utilizando determinação espectrofotométrica de resíduo de vitamina B12, como marcador, para avaliação da eficácia de tal procedimento. Após ter sido impregnada com o marcador de limpeza, cada vidraria testada foi submetida aos agentes de limpeza (detergente neutro 2%, solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N, ácido sulfúrico 50% (v/v), ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico 30% (v/v) e hidróxido de sódio 5% (p/v)). Para limpeza de béquer e pipeta volumétrica, o método utilizando detergente 2% foi eficaz. Para limpeza de balões volumétricos, os métodos que mostraram total eficiência foram os com ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico 30% (v/v) e hidróxido de sódio 5% (p/v).

**SUMMARY.** "Glass Cleaning Validation Method using Vitamin B12 as a Marker Substance". Any analytical procedure strongly depends on an appropriate cleaning of glass apparatus. In the present research it was studied a glass cleaning validation procedure using a spectrophotometric method for quantitative determination of residual vitamin B12, employed as cleaning efficacy marker. Each tested glass apparatus was impregnated with the marker solution, and cleaned using conventional cleaning agents (2% detergent, 0,5 N alcoholic potassium hydroxide, 50% (v/v) sulfuric acid, concentrated sulfuric acid, 30% (v/v) nitric acid and 5% (w/v) sodium hydroxide). The 2% detergent was appropriate to clean beakers and volumetric pipettes. The volumetric flasks were successfully cleaned with concentrated sulfuric acid, 30% (v/v) nitric acid and 5% (w/v) potassium hydroxide.

### INTRODUÇÃO

O sucesso em conduzir ensaios com resultados confiáveis depende da limpeza adequada da vidraria utilizada. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi validar metodologia para limpeza de vidraria, desenvolvendo procedimento operacional padrão para tal metodologia. A importância do uso de procedimentos apropriados para a limpeza de vidrarias tem sido destacada para a obtenção de resultados exatos e precisos em análises de laboratório. Diferentes são os métodos de limpeza empregados, em função do tipo de análise a ser conduzida, conforme pode ser exemplificado a seguir.

De acordo com a Farmacopéia Americana 26<sup>a</sup> edição<sup>1</sup>, os agentes de limpeza mais eficazes são a solução de ácido nítrico a quente e a mis-

tura sulfocrômica. A mistura sulfocrômica contém, porém, cromo hexavalente (cromo VI), que integra a listagem da EPA (Agência Ambiental dos EUA) dos 129 poluentes mais críticos. Essa substância é considerada um potente carcinogênico humano<sup>1-3</sup>. Agentes alcalinos de limpeza, tais como fosfato trissódico e detergentes sintéticos, são amplamente utilizados, mas requerem prolongados enxágües para que se evitem acúmulos de resíduos do agente de limpeza<sup>1</sup>.

Para determinação de cádmio em meio aquoso, Moraes *et al.*<sup>4</sup> empregaram a limpeza de vidrarias por meio de uso da seqüência detergente, ácido nítrico 10% (v/v) e água deionizada. Dias & Satta<sup>5</sup>, para determinação de arsênio em amostras orgânicas por meio de absorção atômica, utilizaram para limpeza de vi-

**PALAVRAS CHAVE:** Espectrofotometria, Limpeza de vidraria, Validação, Vitamina B12, .  
**KEY WORDS:** Glass cleaning, Spectrophotometry, Validation, Vitamin B12.

\* Autor a quem correspondência deve ser enviada. E-mail: cmara@unicenp.edu.br

drarias a seqüência ácido nítrico 0,28 mol/L (24 h), água deionizada (5 vezes) e imersão por 24 h em água deionizada. Para limpeza de vidrarias em estudos de polimerização de 1,3-butadieno, Fraga *et al.* <sup>6</sup> utilizaram solução de potassa alcoólica e ácido clorídrico 5%, seguido de enxágue com água destilada. Para determinação de sódio no controle de qualidade de bebidas carbonatadas, a exigência em relação à limpeza de vidrarias é estabelecida, conforme descrito por Ferrari e Soares <sup>7</sup>, pela utilização de água e detergente, seguida de enxágue e imersão em ácido nítrico 10% (por uma noite) e enxágue com água deionizada (3 vezes).

Em laboratórios de análises clínicas, a limpeza de vidrarias recebe também atenção especial, como pode ser observado em procedimentos descritos por Gold Analisa Diagnóstica <sup>8</sup> e "In Vitro" Diagnóstica <sup>9</sup> para determinações de ferro e triglicérides, respectivamente.

Para os ensaios de eficiência de limpeza, os marcadores utilizados podem ser tanto heparina sódica, quanto vitamina B12 (cianocobalamina). A cianocobalamina é o marcador mais utilizado, por possuir um elevado coeficiente de absorvidade molar na região do ultravioleta <sup>1</sup>.

Muito embora procedimentos de limpeza sejam destacados em trabalhos analíticos, não são citadas referências sobre a validação dos métodos. Faz-se, portanto, necessária a realização de estudos que estabeleçam o uso de marcadores de limpeza como determinantes para a validação de métodos de limpeza de vidrarias em laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Reagentes e vidraria

Os reagentes utilizados para os experimentos foram de grau p.a. A cianocobalamina (vitamina B12) 99%, da marca Sigma, foi utilizada como marcador de limpeza. Como diluente do marcador de limpeza empregou-se solução de álcool etílico 25% (v/v). Os agentes de limpeza escolhidos para o ensaio foram baseados em revisões bibliográficas, sendo eles: solução de detergente neutro 2% (diluído em água destilada); solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N <sup>10</sup>; solução de ácido sulfúrico 50% (v/v); ácido sulfúrico concentrado; solução de ácido nítrico 30% (v/v); solução de hidróxido de sódio 5% (p/v). A vidraria utilizada para a verificação de limpeza foi: balão volumétrico de 10 mL, bquer de 250 mL e pipeta volumétrica de 5 mL. Foram utilizadas 6 unidades-teste para cada um dos materiais.

### Equipamentos

Os procedimentos de pesagem foram conduzidos em balança analítica (Boeco Germany). Os ensaios espectrofotométricos foram realizados em espectrofotômetro UV-Vis, modelo UV-1601 (Shimadzu).

### Escolha do marcador de limpeza

O marcador utilizado para a impregnação das vidrarias foi vitamina B12 (Sigma), pelo fato desta substância possuir elevado coeficiente de absorvidade molar na região do ultravioleta <sup>1</sup>. Utilizou-se nos experimentos a vitamina B12 em solução de álcool etílico a 25% (v/v).

### Determinação do comprimento de onda máximo ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ) de vitamina B12 em álcool etílico 25% (v/v)

Foi determinado o  $\lambda_{m\acute{a}x}$  da solução de vitamina B12 a 1,0  $\mu\text{g/mL}$  em álcool etílico (25%, v/v), por meio de varredura de comprimento de onda de 260 a 610 nm, em espectrofotômetro UV/Vis, segundo recomendado pela Farmacopéia Portuguesa VII <sup>11</sup>.

### Determinação da curva padrão para vitamina B12 em álcool etílico 25% (v/v)

Foi preparada uma solução estoque de vitamina B12 contendo 10,0  $\mu\text{g/mL}$  em álcool etílico 25% (v/v), e diluída a 0,02  $\mu\text{g/mL}$ , 0,05  $\mu\text{g/mL}$ , 0,1  $\mu\text{g/mL}$ , 0,2  $\mu\text{g/mL}$  e 0,5  $\mu\text{g/mL}$ . Realizou-se a leitura das absorbâncias de tais soluções no  $\lambda_{m\acute{a}x}$  determinado, a partir do que foi estabelecida curva padrão, com sua respectiva equação da reta por regressão linear. O experimento descrito foi conduzido em triplicata.

### Identificação da concentração ótima de vitamina B12 para emprego como marcador de limpeza

Determinou-se experimentalmente a concentração de vitamina B12 necessária para validar a eficácia de limpeza. Foram testadas três concentrações diferentes deste marcador. Balões volumétricos de 10 mL foram impregnados com solução de vitamina B12 a 1,0 mg/mL, 10,0 mg/mL e 20,0 mg/mL, isoladamente e em duplicata para cada concentração. O mesmo procedimento foi realizado para unidades de bquer de 250 mL. Essas soluções foram mantidas nas vidrarias por 30 minutos e lavadas com os diferentes agentes de limpeza selecionados.

A vidraria seca foi preenchida com álcool etílico a 25% (v/v) e agitada para dissolução de vitamina B12 residual. Para identificação do resí-

duo de vitamina B12, realizou-se a leitura das absorvâncias das soluções alcoólicas no  $\lambda_{\text{máx}}$  determinado. Partindo da equação da reta, foram obtidas as concentrações do marcador residual presente nas vidrarias.

Este teste preliminar de limpeza foi realizado utilizando detergente a 2%, devido a seu amplo emprego como agente de limpeza em laboratórios.

### ***Impregnação da vidraria com a solução do marcador***

Determinada a concentração ótima do marcador de limpeza, as vidrarias balão volumétrico de 10 mL, bquer de 250 mL e pipeta volumétrica de 5 mL foram mantidas, por 30 min, em contato com a solução de vitamina B12, seguido de descarte e procedimento de limpeza.

### ***Limpeza da vidraria de acordo com o agente de limpeza***

*Limpeza da vidraria utilizando detergente 2%*

*Limpeza de bquer de 250 mL.* Após descarte de solução de vitamina B12, o recipiente foi preenchido com água, adicionadas, aproximadamente, 5 gotas do detergente a 2%. Em seguida, procedeu-se à escovação do recipiente de vidro. Após esta lavagem, a vidraria foi enxaguada 7 vezes com água corrente, 2 vezes com água destilada e seca sob ar comprimido.

*Limpeza de balão volumétrico de 10 mL.* A solução de vitamina B12 foi descartada, e o balão preenchido com água, seguido da adição de aproximadamente 5 gotas do detergente a 2%. Agitou-se vigorosamente por 30 segundos. Após esta lavagem, os balões volumétricos, enxaguados 7 vezes com água corrente e 2 vezes com água destilada, foram secos com auxílio de ar comprimido.

*Limpeza de pipeta volumétrica de 5 mL.* A solução de vitamina B12 foi descartada e a pipeta colocada em equipamento próprio para limpeza deste material. No lavador, foram realizadas 2 lavagens, em dias diferentes, utilizando aproximadamente 5 mL de detergente a 2%, em processo de lavagem de 3 h por dia e imersão por uma noite. Após este procedimento, a vidraria foi enxaguada 2 vezes com água destilada e seca sob ar comprimido.

*Limpeza da vidraria com ácido sulfúrico 50% (v/v)*

A solução de vitamina B12 foi descartada e as vidrarias, após enxaguadas 3 vezes com água corrente, foram preenchidas com solução de ácido sulfúrico 50% (v/v), mantendo-se em con-

tato por um período de 2 h. No caso de pipetas, optou-se por deixá-las imersas em proveita contendo ácido sulfúrico 50% (v/v), pelo mesmo tempo de contato. Após este período, a solução de limpeza foi descartada, e o material enxaguado 7 vezes com água corrente e 2 vezes com água destilada. A secagem foi realizada sob ar comprimido.

*Limpeza da vidraria com solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N*

A solução de vitamina B12 foi descartada e a vidraria enxaguada 3 vezes com água corrente. A vidraria foi preenchida com solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N, mantendo-se em contato por um período de 2 h. Após este período, o agente de limpeza foi descartado, e o material enxaguado 7 vezes com água corrente e 2 vezes com água destilada. A secagem foi realizada com ar comprimido.

*Limpeza da vidraria utilizando ácido sulfúrico concentrado*

Após impregnação com a solução do marcador de limpeza, seguida de descarte, a vidraria foi enxaguada 3 vezes com água corrente e preenchida com solução de ácido sulfúrico concentrado, mantendo-se em contato por um período de 2 h. O agente de limpeza foi descartado, e a vidraria enxaguada 7 vezes com água corrente e 2 vezes com água destilada. A secagem foi realizada com auxílio de ar comprimido.

*Limpeza da vidraria utilizando ácido nítrico 30% (v/v)*

A solução de vitamina B12 foi descartada, e a vidraria enxaguada 3 vezes com água corrente. Em seguida, o recipiente foi preenchido com solução de ácido nítrico 30% (v/v), mantendo-se em contato por um período de 2 h. A solução de limpeza foi, então, descartada, e o material enxaguado 7 vezes com água corrente e 2 vezes com água destilada. A secagem foi realizada sob ar comprimido.

*Limpeza da vidraria utilizando hidróxido de sódio 5% (p/v)*

Após descarte da solução do marcador de limpeza, a vidraria foi enxaguada 3 vezes com água corrente e preenchida com solução de hidróxido de sódio 5% (p/v), mantendo-se em contato por um período de 2 h. Após este período, a solução de limpeza foi descartada e a vidraria enxaguada 7 vezes com água corrente e 2 vezes com água destilada. A secagem foi realizada sob ar comprimido.

### Tratamento da vidraria para a determinação espectrofotométrica

Após a secagem, a vidraria foi preenchida com a solução de álcool etílico 25% (v/v) e agitada para dissolução de vitamina B12 residual. Partindo-se dessa solução, realizou-se a leitura das absorvâncias no  $\lambda_{m\acute{a}x}$  determinado e com a equação da reta obteve-se a concentração residual do marcador de limpeza.

## RESULTADOS

### Determinação do comprimento de onda máximo ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ) da vitamina B12 em álcool etílico 25% (v/v)

Realizada varredura de comprimento de onda entre 260 e 610 nm, para a solução de marcador de limpeza, 3 picos de absorção foram observados, respectivamente a 279, 361 e 550,5 nm, conforme apresentado na Tabela 1.

$\lambda$ (nm)	Absorbância
279,0	0,5032
361,0	0,1848
550,5	0,0569

**Tabela 1.** Valores máximos de absorvância observados para solução de vitamina B12 a 1,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  em álcool etílico 25% (v/v).

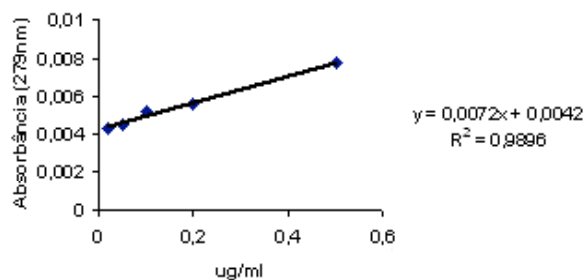
O pico de maior absorvância correspondeu ao comprimento de onda de 279 nm, que foi definido com o  $\lambda_{m\acute{a}x}$  para os ensaios seguintes.

### Determinação da curva padrão da vitamina B12 em solução de álcool etílico 25% (v/v) a 279 nm

A viabilidade de utilização de solução de álcool etílico (25% v/v) de vitamina B12 como marcador de limpeza foi avaliada partindo-se da análise espectrofotométrica a 279 nm, com intuito de se avaliar a faixa de sensibilidade do método de determinação residual de tal marcador, conforme ensaios para construção de curva padrão (Tabela 2, Fig. 1).

Concentração ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Absorbância a 279 nm
0,02	0,0043
0,05	0,0045
0,1	0,0052
0,2	0,0056
0,5	0,0078

**Tabela 2.** Curva padrão da vitamina B12 em álcool etílico a 25% (v/v) a 279 nm.



**Figura 1.** Curva padrão da vitamina B12 em álcool etílico a 25% (v/v).

A linearidade do método foi observada, conforme construção da curva padrão, de modo a alcançar a detecção de concentrações residuais de vitamina B12 entre 0,02 e 0,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### Identificação da concentração ótima de vitamina B12 para emprego como marcador de limpeza

A concentração ótima do marcador de limpeza foi obtida testando, em dois diferentes tipos de vidraria, diferentes concentrações de vitamina B12 em álcool etílico 25% (v/v), conforme procedimento descrito no item MATERIAL E MÉTODOS. A quantificação residual de vitamina B12 foi determinada por espectrofotometria no ultravioleta a 279 nm (Tabela 3).

Os resultados de testes com concentrações superiores a 20,0 mg/mL apresentaram-se similares à esta concentração. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, a concentração de escolha do marcador vitamina B12 para os ensaios de validação de limpeza foi de 20,0 mg/mL em álcool etílico 25% (v/v).

### Verificação da eficiência do procedimento de limpeza

Para testar a eficiência do procedimento, foram utilizadas 6 unidades de cada tipo de vidraria, para cada um dos métodos de limpeza utilizados. Determinada a concentração ótima de 20,0 mg/mL de marcador de limpeza, os diferentes tipos de vidraria estudados foram impregnados com essa solução e tratados conforme a metodologia descrita para cada agente de limpeza.

A vidraria, após secagem com ar comprimido, foi preenchida com álcool etílico 25% (v/v) e agitada para dissolução da vitamina B12 residual. A absorvância da solução resultante foi determinada a 279 nm, para identificar a presença ou não do marcador residual. Partindo-se da equação da reta ( $Y = 0,0072 X + 0,0042$ ), determinou-se a concentração de vitamina B12 presente em cada um dos tipos de vidraria estudados.

Concentração de Vitamina B12 (mg/mL)	Vidraría	Nº de Unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
1,0	balão volumétrico de 10 mL	1	0,0004	nd*
		2	0,0006	
	béquero de 250 mL	1	-0,0002	
		2	-0,0005	
10,0	balão volumétrico de 10 mL	1	0,0024	
		2	0,003	
	béquero de 250 mL	1	-0,0024	
		2	-0,004	
20,0	balão volumétrico de 10 mL	1	0,0055	0,181
		2	0,0062	0,278
	béquero de 250 mL	1	-0,0044	nd*
		2	-0,0048	

**Tabela 3.** Resultados da impregnação da vidraria com solução de vitamina B12 a 1,0 mg/mL, 10,0 mg/mL e 20,0 mg/mL em álcool etílico 25% (v/v), após limpeza com detergente a 2%. \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

#### **Limpeza da vidraria utilizando detergente 2%**

Os resultados de absorbância e, conseqüente, concentração residual do marcador de limpeza das vidrarias limpas com detergente 2% estão apresentados na Tabela 4. Conforme os resultados, a limpeza com detergente 2% foi eficaz para a vidraria do tipo béquer de 250 mL e pipeta volumétrica de 5 mL. Para balão volumétrico de 10 mL, no entanto, esse agente de limpeza não se mostrou satisfatório.

#### **Limpeza da vidraria utilizando ácido sulfúrico 50% (v/v)**

Na Tabela 5, estão apresentadas as absorbâncias e as concentrações residuais de vitamina B12 para a vidraria limpa com ácido sulfúrico 50% (v/v).

De acordo com os resultados obtidos, a limpeza com ácido sulfúrico 50% (v/v), tanto para béquer de 250 mL, como para pipeta volumétrica de 5 mL, foi eficiente, pois não foram detectados resíduos do marcador. Para balão volumétrico de 10 mL, entretanto, quatro de seis unidades testadas apresentaram-se limpas, e, em duas, foram detectados resíduos do marcador.

#### **Limpeza da vidraria utilizando solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N**

Os resultados de absorbância e, conseqüente, concentração residual do marcador de limpeza das vidrarias limpas com solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N estão apresentados na Tabela 6. Utilizando-se este método de lim-

Vidraría	Nº unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
balão volumétrico de 10 mL	1	0,0055	0,1805
	2	0,0062	0,2777
	3	0,0038	nd*
	4	0,0056	0,1944
	5	0,0084	0,5833
	6	0,0172	1,8056
béquero de 250 mL	1	-0,0044	nd*
	2	-0,0048	
	3	-0,0096	
	4	-0,01	
	5	-0,0125	
	6	-0,0118	
Pipeta volumétrica de 5 mL	1	-0,0001	nd*
	2	-0,0024	
	3	-0,0031	
	4	-0,0027	
	5	-0,0038	
	6	-0,0062	

**Tabela 4.** Concentração residual de vitamina B12 na vidraria após limpeza com detergente a 2%. \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

peza, em pipeta volumétrica de 5 mL, não foi observado resíduo do marcador em nenhuma das unidades testadas. Na mesma condição, no caso de vidraria tipo béquer de 250 mL, houve resíduo de vitamina B12 em apenas uma das seis unidades testadas. Para vidraria tipo balão volumétrico de 10 mL, alcançou-se limpeza adequada em quatro das seis unidades testadas.

Vidraria	Nº unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
balão volumétrico de 10 mL	1	0,0001	
	2	0,0008	nd*
	3	0,004	
	4	0,0041	
	5	0,0052	0,1389
	6	0,0056	0,1944
béquero de 250 mL	1	0,0023	
	2	-0,0004	
	3	-0,0013	nd*
	4	-0,001	
	5	0,0014	
	6	0,0023	
pipeta volumétrica de 5 mL	1	-0,0144	
	2	-0,0114	
	3	-0,0157	nd*
	4	-0,0015	
	5	-0,0017	
	6	-0,0011	

**Tabela 5.** Concentração residual de vitamina B12 na vidraria após limpeza com ácido sulfúrico 50% (v/v). \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

Considerando que todos os métodos anteriormente citados foram ineficientes, total ou parcialmente, para a limpeza de balões volumétricos de 10 mL, foram testados, para este tipo de material, os métodos de limpeza com agentes oxidantes fortes, tais como, ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico 30% (v/v) e hidróxido de sódio 5% (p/v).

#### **Limpeza da vidraria utilizando ácido sulfúrico concentrado**

Na Tabela 7, estão apresentadas as absorbâncias e concentrações de vitamina B12 residuais para a vidraria limpa com ácido sulfúrico concentrado. De acordo com os resultados, todas as unidades ensaiadas foram adequadamente limpas.

#### **Limpeza da vidraria utilizando ácido nítrico 30% (v/v)**

As absorbâncias e concentrações de vitamina B12 residual, para a vidraria limpa com ácido nítrico 30% (v/v), estão apresentadas na Tabela 8. Conforme os resultados mostrados na tabela, todas as unidades testadas apresentaram limpeza adequada.

#### **Limpeza da vidraria utilizando hidróxido de sódio 5% (p/v)**

Na Tabela 9, estão apresentadas as absorbân-

Vidraria	Nº unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
balão volumétrico de 10 mL	1	0,0015	
	2	0,0034	nd*
	3	0,0041	
	4	0,0036	
	5	0,0057	0,2083
	6	0,0055	0,1806
béquero de 250 mL	1	0,0053	0,1528
	2	-0,0041	
	3	-0,0059	nd*
	4	-0,0063	
	5	0,0024	
	6	-0,0051	
pipeta volumétrica de 5 mL	1	-0,0121	
	2	-0,0124	
	3	-0,0135	nd*
	4	-0,0138	
	5	-0,0144	
	6	-0,0147	

**Tabela 6.** Concentração residual de vitamina B12 na vidraria após limpeza com solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N. \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

Vidraria	Nº unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
balão volumétrico de 10 mL	1	-0,0101	
	2	-0,0003	
	3	-0,0117	nd*
	4	-0,0075	
	5	-0,0138	
	6	-0,0132	

**Tabela 7.** Concentração residual de vitamina B12 na vidraria, após limpeza com ácido sulfúrico concentrado. \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

Vidraria	Nº unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
balão volumétrico de 5 mL	1	-0,0021	
	2	0,0028	nd*
	3	-0,0053	

**Tabela 8.** Concentração residual de vitamina B12 na vidraria, após limpeza com ácido nítrico 30% (v/v). \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

cias e as concentrações residuais de vitamina B12, para a vidraria limpa com hidróxido de sódio 5% (p/v). De acordo com os resultados, toda a vidraria testada mostrou-se adequadamente limpa.

Vidraria	Nº unidades	Absorbância a 279 nm	Concentração (µg/mL)
balão	1	-0,0055	
volumétrico	2	-0,0081	nd*
de 5 mL	3	-0,006	

**Tabela 9.** Concentração residual de vitamina B12 na vidraria, após limpeza com hidróxido de sódio 5% (p/v). \*nd = não detectado (abaixo do limite de sensibilidade do método).

## DISCUSSÃO

Para validação do método de limpeza, um requisito necessário é o marcador de limpeza. Inicialmente, avaliou-se o emprego da cafeína como marcador, porém, pelos resultados obtidos, observou-se que a faixa de sensibilidade do método seria muito alta, o que impossibilitaria a identificação e quantificação de quantidades mínimas de resíduos, para constatar a ineficiência do processo de limpeza do material. Muito embora a recomendação da vitamina B12, como marcador de limpeza, esteja indicada na 26 ed. da USP<sup>1</sup>, nenhum trabalho foi encontrado na literatura descrevendo o uso desta substância como marcador de limpeza.

De acordo com os resultados da Tabela 4, o método de limpeza utilizando detergente 2% mostrou-se eficaz para a limpeza de béqueres de 250 mL, uma vez que seu formato permite facilmente escovação e enxágüe apropriados à remoção de resíduos. Vidraria do tipo pipeta volumétrica de 5 mL também foi limpa satisfatoriamente por este método, devido à possibilidade de passagem contínua de água pelo interior do material, no equipamento lavador de pipetas. No entanto, em balões volumétricos de 10 mL, detectou-se resíduo do marcador de limpeza após lavagem com detergente 2%. Justifica-se este fato pela impossibilidade de escovação e dificuldade de enxágüe, neste tipo de vidraria. Métodos mais drásticos foram testados, portanto, para a limpeza eficiente de vidraria do tipo balão volumétrico de 10 mL.

Conforme resultados apresentados na Tabela 5, o agente de limpeza ácido sulfúrico 50% (v/v) demonstrou-se eficiente tanto para béqueres de 250 mL como para pipetas volumétricas de 5 mL, não sendo detectados pelo método, resíduos do marcador nos líquidos de lavagem deste tipo de vidraria. No caso de balão volumétrico de 10 mL, tal solução de limpeza mostrou-se parcialmente eficaz, pois, das seis unidades testadas, duas delas apresentaram resíduos do mar-

cador. A solução ácida testada também não proporcionou limpeza eficiente para a vidraria do tipo balão volumétrico.

Os resultados mostrados na Tabela 6 indicam que o método de limpeza utilizando solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N mostrou-se eficiente para pipetas volumétricas de 5 mL, não apontando resíduo de vitamina B12 em nenhuma das unidades testadas. No caso de béqueres de 250 mL, de seis unidades testadas, uma apresentou resíduo do marcador de limpeza. A vidraria balão volumétrico de 10 mL ficou adequadamente limpa em 4 unidades, porém duas apresentaram resíduo de marcador de limpeza.

Considerando que todos os métodos anteriormente citados foram ineficientes, total ou parcialmente, na limpeza de balão volumétrico de 10 mL, testaram-se para este frasco métodos de limpeza com agentes oxidantes fortes, tais como, ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico 30% (v/v) e hidróxido de sódio 5% (p/v). Os resultados obtidos por esses métodos foram satisfatórios para todas as unidades de balões volumétricos testadas.

Com esses estudos ficou evidente que, para cada tipo de vidraria, um método de limpeza deve ser adaptado. Assim sendo, a escolha do agente de limpeza é de extrema importância, pois se faz necessária a limpeza eficaz do material, evitando-se, ao mesmo tempo, a geração de resíduos que poderão ocasionar contaminação ambiental.

## CONCLUSÕES

Para limpeza adequada de vidraria tipo béquer de 250 mL, verificou-se que o método ideal é o que utiliza o detergente 2%, seguido de escovação e enxágüe com água. A limpeza deste frasco com ácido sulfúrico 50% (v/v) também foi satisfatória, porém o uso de detergente apresenta-se mais inócuo dermatologicamente do que de ácido sulfúrico. Além disso, o resíduo do detergente é menos agressivo ao meio ambiente do que o de ácido sulfúrico.

A vidraria do tipo pipeta volumétrica de 5 mL pôde ser convenientemente limpa, tanto com detergente a 2%, em lavador de pipetas, quanto por imersão em ácido sulfúrico 50% (v/v) ou solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N. Sugere-se, dentre estes, o método do detergente a 2%, como método ideal de limpeza, pelos mesmos motivos citados anteriormente para o caso de vidraria tipo béquer de 250 mL.

Para a vidraria do tipo balão volumétrico de

10 mL, apenas o emprego de ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico 30% (v/v) e hidróxido de sódio 5% (p/v) permitiram eficiência de limpeza. Os demais métodos testados foram considerados pouco eficientes na limpeza deste tipo de frasco, uma vez que, das seis unidades testadas por método, algumas acusaram resíduo de vitamina B12. Embora o emprego destas soluções represente risco de queimadura para o manipulador, bem como geração de resíduos tóxicos para o ambiente, não foram validados outros métodos melhores para limpeza de baldes volumétricos de 10 mL. Sugere-se que o operador, ao empregar alguns destes métodos, faça uso obrigatório de equipamentos de proteção individual (EPI) e de proteção coletiva (EPC), além de descartar adequadamente o resíduo da lavagem. Conforme Birch <sup>2</sup> destacou em seu texto, agentes de limpeza alcalinos atacam a sílica da superfície da vidraria, tornando o vidro opaco, devendo o mesmo ser usado com certa moderação.

Estudos posteriores poderão ser realizados para a verificação do reaproveitamento contínuo das soluções ácidas e alcalinas nos procedimentos de limpeza, evitando, dessa maneira, o excesso de resíduos gerados pelos agentes de lavagem, que devem passar por tratamentos especiais para eliminar o risco de contaminação ambiental.

**Agradecimentos.** Ao Centro Universitário Positivo (UnicenP), Curitiba - Paraná (Brasil), onde o presente trabalho foi conduzido, por fornecer a infra-estrutura e demais condições de suporte financeiro para a realização do presente estudo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. The United States Pharmacopeia & The National Formulary (2002) 26<sup>th</sup> Ed. United States Pharmacopeia Convention, Rockville, pág. 2144.
2. Birch, W.R. (2000) "Coatings: an Introduction to the Cleaning Procedures". Disponível em: <<http://www.solgel.com/articles/June00/Birch/cleaning.htm>> Acessado em: 20/06/2006.
3. CISQ-Ando notbilce, Universidade Estadual Paulista (UNESP) "O risco do CromoVI e da solução sulfocrômica" Disponível em: <[www.qca.ibilce.unesp.br/prevencao/bm-cisq1004.html](http://www.qca.ibilce.unesp.br/prevencao/bm-cisq1004.html)> Acessado em: 24/03/2004.
4. Moraes, F.V. de, I.L. de Alcântara, P. S. Roldan, G.R. Castro, M.A.L. Margionte & P.M. Padilha (2003) *Eclét. Quím.* **28**: 9-17.
5. Dias, V.M.C. & M.S.S. Satte (2003) *Quím. Nova* **26**: 661-4.
6. Fraga, L.A., M.I.B. Tavares, F.M.B. Coutinho, M.A.S. Costa & L.C. Santa Maria (2003) *Polímeros* **13**: 229-34.
7. Ferrari, C.C. & L.M.V. Soares (2003) *Ciênc. Tec. nol. Aliment.* **23**: 414-7.
8. Gold Analisa Diagnostica. (2003). Disponível em: <<http://www.goldanalisa.com.br>> Acessado em: 21/06/2006.
9. In vitro Diagnóstica. Disponível em: <<http://www.invitro.com.br/principal/produto/bulaspdf/quimicaclinica/enzimatica/triglic.pdf>> Acessado em: 23/06/2006.
10. Morita, T. & R.M.V. Assumpção (1997) "Manual de soluções, reagentes e solventes", Ed. Edgard Bucher Ltda, São Paulo, pág. 73.
11. Farmacopéia Portuguesa VII (2002) Ed. Pharmacopeia, Lisboa, págs. 1029-30.