

Centrifugação: Uma alternativa para enchimento de colunas para CLAE.

Roberta D. Acioni* (IC), César R. Silva¹(PQ), Kenneth E. Collins(PQ) e Isabel C. S. F. Jardim (PQ)

LABCROM – Instituto de Química – UNICAMP – 13084-971 - Campinas, SP. * E-mail: ro@lexxa.com.br

Palavras Chave: Centrifugação, CLAE, FE

Introdução

A técnica proposta de enchimento de colunas para CLAE por centrifugação, visa reduzir custos, já que o sistema convencional a alta pressão requer equipamento complexo, aumentar a reprodutibilidade, pois várias colunas podem ser recheadas simultaneamente e torná-la viável para laboratórios que disponham de uma centrífuga.

Para o enchimento por centrifugação, as colunas são acopladas a um sistema com um reservatório superior para suspensão e um inferior para o solvente de suspensão, ambos de alumínio. Este sistema é adaptado ao tubo da centrífuga e aplica-se uma programação já desenvolvida.

Em um experimento, quatro colunas de aço inoxidável de 60X4 mm foram recheadas ao mesmo tempo com suspensão de C18, 10 µm em clorofórmio (10% m/v).

Resultados e Discussão

A programação da centrífuga foi de: 60 min em 10000 rpm, 10 min a 5000 rpm e 10 min a 1000 rpm. Após 20 min foram aplicados três pulsos, com intervalos de 20 min, cada um com duração de 5 min. As colunas foram avaliadas usando FM MeOH:H₂O 60:40 v/v, a uma vazão de 0,6 mL/min e uma mistura teste de solutos de polaridade variada. Após as análises, estas colunas foram submetidas à compactação do leito cromatográfico utilizando a bomba do cromatógrafo a líquido e uma FM iPROH: H₂O 40:60 v/v por 5 min, na vazão de 5,0 mL/min e mais 5 min em 7 mL/min, sendo então analisadas. Os desempenhos cromatográficos destas colunas foram comparados com os de uma coluna recheada a alta pressão, a 5000 psi, e estão mostrados na Figura 1

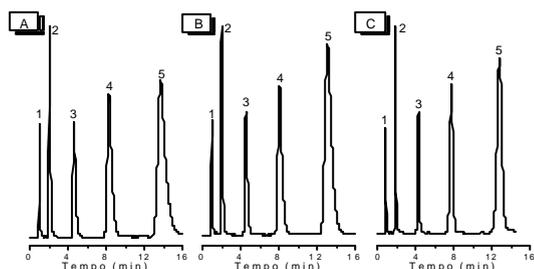


Figura 1. Cromatogramas das colunas recheadas com C18, 10 µm por centrifugação (A) antes e (B) após compactação e (C) a alta pressão

Na Tabela 1 estão apresentados os valores de: fator de retenção (k), eficiência (N/m), fator de assimetria (As) e resolução (R_s) calculados para o naftaleno..

Tabela 1. Parâmetros cromatográficos das colunas recheadas com C18, 10 µm, por centrifugação: (A) antes e (B) após a compactação e (C) a alta pressão.

	k*	N/m* (m ⁻¹)	As*	Rs**
A	13 ± 0,8	22300 ± 3300	2,0 ± 0,1	4,5 ± 0,4
B	13 ± 0,5	27500 ± 1700	1,7 ± 0,1	4,9 ± 0,2
C	14	46700	1,0	6,6

* média de 4 colunas, recheadas simultaneamente e as respectivas estimativas de desvios padrão absoluto, calculada para o naftaleno.

** Calculado para o par tolueno e naftaleno.

Observa-se, tanto nos cromatogramas quanto na Tabela 1, que os parâmetros cromatográficos melhoraram com a compactação, e a estimativa de desvio padrão relativo ficou em torno de 8%, podendo ser considerada uma técnica reprodutível.

Para verificar a versatilidade da técnica, utilizou-se uma FE C18 de tamanho e marca diferentes, 5 µm – Astrosil, mantendo a mesma programação da centrífuga. Os parâmetros cromatográficos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros cromatográficos da coluna recheada com FE C18 Astrosil 5 µm, por centrifugação.

	k*	N/m* (m ⁻¹)	As*	Rs**
D	6,9	51100	1,1	4,9

* Calculado para o naftaleno.

** Calculado para o par tolueno e naftaleno.

Nota-se, pela Tabela 2, que a técnica de enchimento por centrifugação pode ser considerada bastante satisfatória, já que forneceu bons valores para os parâmetros cromatográficos.

Conclusões

Os resultados obtidos mostraram que a técnica de enchimento de colunas para CLAE por centrifugação pode ser considerada uma alternativa ao enchimento a alta pressão por ser de menor custo, resultar em eficiência satisfatória e ser reprodutível e mais rápida, ao permitir que quatro colunas sejam recheadas

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

simultaneamente, com baixa estimativa de desvio padrão relativo.

Agradecimentos

CNPq/PIBIC, Fapesp, CNPq