

## Caracterização de uma Unidade de Free Flow Electrophoresis (FFE)

Crispim D. Baptista-Neto (PG), Leandro Masiero (PG), Mário Alberto Tenan (PQ), Astréa F. de Souza Silva (PQ), André Fernando Oliveira\* (PQ)–[ferqa@umc.br](mailto:ferqa@umc.br)

Laboratório de Pesquisa em Química Analítica e Físico-Química, Universidade Mogi das Cruzes UMC/OMEC – Av. Candido X. A. Souza, 200 V. Partênio, 08780-911

Palavras Chave: *Free Flow Electrophoresis, Separação Preparativa, grau de similaridade*

### Introdução

Em sistemas biotecnológicos é usual a necessidade de separações preparativas. Nesses casos, a eletroforese capilar (EC) e a em gel apresentam desvantagens. Na primeira devido ao pequeno volume envolvido e na segunda, pela dificuldade de recuperar o composto de interesse do gel, além de ambas serem descontínuas. A *Free Flow Electrophoresis* (FFE) é uma técnica adequada para esse modo, pois é contínua e não utiliza gel. Foi proposta inicialmente em 1958 por Barrolier et al.[1], mas seu uso tem sido maior desde 1990 e tem sido aplicada para isolamento, pré-concentração de fármacos, peptídeos, proteínas, organelas e células e até mesmo metais de transição [2].

A técnica se baseia na aplicação do campo elétrico transversal a um fluxo hidrodinâmico do eletrólito e da amostra, contido entre duas placas de vidro separadas por alguns milímetros (0,5-6 mm), sendo que sua largura pode variar entre 10 e 200 mm e seu comprimento entre 50 e 500 mm. A amostra é injetada na câmara em um ponto e na saída são coletadas entre 6 e 96 frações. A separação ocorre, portanto, de acordo com um vetor resultante da velocidade de migração elétrica e da velocidade hidrodinâmica na câmara. Os obstáculos na sua utilização são problemas associados com as distorções da amostra devido ao fluxo eletrosmótico (EOF), hidrodinâmico e convecção térmica[3]. Além dos problemas citados, o desempenho da FFE pode ser afetado pela penetração dos produtos de eletrólise do compartimento dos eletrodos na câmara da separação.

Este trabalho tem como objetivo caracterizar uma câmara FFE *homemade* dimensionada com 180 mm de largura, 292 mm de comprimento e 3 mm de espessura, sendo 73 capilares para a coleta das frações. O fluxo do eletrólito na câmara de separação e nas câmaras dos eletrodos foi mantido por gravidade, em um sistema de altura constante do líquido. A tensão elétrica foi mantida com auxílio de uma fonte EC500 (Apparatus Corp.) O teor de analitos nas saídas foram avaliados por UV-Vis (Agilent 8453A) ou por Eletroforese Capilar (Beckman-Coulter PACE/MDQ). Um sistema de resfriamento adjacente à placa de vidro inferior, com bombeamento de água resfriada foi utilizado.

29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

### Resultados e Discussão

Foi avaliada a distribuição de eletrólito nas diferentes saídas medindo-se a vazão em diferentes alturas manométricas (AH). Observou-se uma distribuição normal entre as vazões em cada tubo (desvio-padrão de 0,02 mL min<sup>-1</sup> para 0,29 mL min<sup>-1</sup>.tubo<sup>-1</sup> e 15 mm de altura).

Para reduzir a vazão total mínima e aumentar o tempo de residência foi estudada a influência da concentração de SDS no eletrólito. A AH mínima obtida foi de 7 mm (0,14 mL.min<sup>-1</sup>.tubo<sup>-1</sup>).

Para avaliar a entrada dos produtos das eletrólises na câmara de separação, foram estudados os fluxos nos compartimentos dos eletrodos e a concentração de tampão no eletrólito para minimizar este efeito. Para tanto foram avaliados os valores de pH e a condutividade nos tubos nas saídas em cada situação experimental. O aumento da vazão nesses compartimentos para valores maiores que 50 mL.min<sup>-1</sup> reduziu drasticamente esse efeito e um parâmetro de área de separação útil foi definido.

O EOF nas condições de trabalho foi determinado (10,6 mm do ponto de injeção - 5 tubos). A largura da banda observada foi de 10 tubos.

Foram determinadas razões entre as mobilidades eletroforéticas aparentes obtidas na FFE e por eletroforese capilar (grau de similaridade) para espécies com diferentes tamanhos e cargas, tais como verde de malaquita e metilorange (~36%) e para triptofano e fenilalanina cerca (~50%). O grau de similaridade permite avaliar a componente hidrodinâmica no sistema.

As condições ótimas observadas para a operação da câmara foram de: vazão de 0,27 mL min<sup>-1</sup>.tubo<sup>-1</sup> para o eletrólito, 80 mL min<sup>-1</sup> para os eletrólitos no compartimento dos eletrodos.

### Conclusões

Os promissores resultados obtidos demonstram o potencial da câmara desenvolvida na separação de espécies de interesse analítico e biotecnológico.

### Agradecimentos

FAPESP, FAEP/UMC

*Sociedade Brasileira de Química ( SBQ)*

Weber, G., Bocek, P., *Electrophoresis*, 1996,17,1906-1910.

Poggel, M., Melin, T., *Electrophoresis* 2001, 22, 1008-1015

Roman, M. C., Brown, P.R., *Anal. Chem.* 1994, 66, 86A-94A.