

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DUAS COLUNAS CROMATOGRÁFICAS PARA O PESTICIDA SULFENTRAZONE

Maria Paz¹

Geovana da Cruz Pereira²

Rafael Roehrs³

Resumo:

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a detectores, é um método de separação, identificação e quantificação de compostos químicos de uma mistura. É realizada através da passagem da fase móvel líquida com o auxílio de uma bomba de alta pressão, pela fase estacionária que neste caso está em uma coluna metálica. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de fazer uma comparação de eficiência entre as colunas cromatográficas Synergi Fusion RP 18 da Phenomenex e Inertsil ODS-3 RP 18 da GL Sciences de diferentes fases estacionárias reversas, utilizando um padrão do pesticida sulfentrazone. As equações utilizadas para fazer comparações entre colunas são a de número de pratos teóricos (n) e altura equivalente de um prato teórico (h). Os volumes de fluxo de fase móvel testados em triplicata para a comparação foram de 0,8 mL/min, 0,9 mL/min e 1 mL/min. Para número de pratos teóricos (n) e altura equivalente de um prato teórico (h) observou-se que a coluna Synergi teve melhor desempenho no fluxo de 0,9 mL/min, enquanto a coluna Inertsil mostrou melhor eficiência no fluxo de 1,0 mL/min. Quanto à otimização da análise, os fluxos mais intensos de fase móvel apresentaram um tempo de retenção e altura equivalente de um prato teórico menor, podendo assim se reduzir o tempo de análise do Sulfentrazone significativamente, sendo necessário um volume menor de solventes, gerando menos resíduos por análise.

Palavras-chave: Cromatografia Líquida; Sulfentrazone; Colunas Cromatográficas

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DUAS COLUNAS CROMATOGRÁFICAS PARA O PESTICIDA SULFENTRAZONE

¹ Aluno de graduação. mariaelizabethpaz2@gmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. geovi.cpereira@gmail.com. Co-autor

³ Docente. rafael.roehrs@gmail.com. Orientador



AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DUAS COLUNAS CROMATOGRÁFICAS PARA O PESTICIDA SULFENTRAZONE

1. INTRODUÇÃO

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a detectores, é um método de separação, identificação e quantificação de compostos químicos de uma mistura. É realizada através da passagem da fase móvel líquida com o auxílio de uma bomba de alta pressão, pela fase estacionária que neste caso está em uma coluna metálica.

As colunas cromatográficas podem ser classificadas de acordo com a polaridade das moléculas do recheio. As colunas de fase normal possuem o recheio mais polar que a fase móvel. Já as de fase reversa, possuem o recheio menos polar que a fase móvel utilizada (COLLINS et al, 1997).

Um dos métodos para calcular a eficiência de uma coluna é através do uso da equação de número de pratos teóricos, que visa demonstrar quantos espaços de equilíbrio termodinâmico existem em uma determinada coluna cromatográfica. Entretanto, apenas o número de pratos teóricos não é o suficiente para fazer uma comparação entre a eficiência de duas colunas, devido a variações que uma coluna pode ter em relação à outra, para isso é utilizada a equação para a altura equivalente de um prato teórico (CIOLA, 1998).

A CLAE tem sido empregada para a análise, identificação e quantificação de pesticidas em solo ou em água. Um dos pesticidas analisados é o 2',4'-dichloro-5-(4-difluoromethyl-4,5-dihydro-3-methyl-5-oxo-1H-1,2,4-triazol-1-yl) methanesulfonanilide ou Sulfentrazone, potente herbicida aplicado em situação de pré-emergência (PUBCHEM, 2005).

Para análises cromatográficas do pesticida Sulfentrazone, as colunas utilizadas são as de fase estacionária reversa (C18) (OLIVEIRA et al, 2014). Considerando estas condições o presente trabalho foi realizado com o objetivo de fazer uma comparação de eficiência entre as colunas cromatográficas Synergi Fusion RP 18 da Phenomenex e Inertsil ODS-3 RP 18 da GL Sciences de diferentes fases estacionárias reversas.

2. METODOLOGIA

Para as análises cromatográficas foi utilizado o equipamento Young Lin (YL 9100) com detecção por arranjo de diodo (DAD) e duas colunas cromatográficas, sendo elas: 1) Synergi Fusion de fase reversa (C18), tamanho 250 mm X 4,60 mm, para as análises feitas com esta coluna foi utilizada uma fase móvel constituída por acetonitrila: água ultrapura pH3 (70:30); 2) Inertsil ODS-3 de fase reversa (C18), tamanho 250 mm X 4,3 mm, para as análises feitas com esta coluna foi utilizada uma fase móvel constituída por acetonitrila: água ultrapura pH3 (90:10).

Em ambas as colunas o tempo de análise determinado foi de 18 minutos, com detecção DAD de 210 nm e injeção de 20 µL, utilizando uma solução de Sulfentrazone de 10 mg/L. Os volumes de fluxo de fase móvel testados em triplicata para a comparação foram de 0,8 mL/min, 0,9 mL/min e 1 mL/min.

Para o preparo da solução padrão foi utilizado um padrão de Sulfentrazone de 99,4% de pureza, adicionando 10 mg de Sulfentrazone medido com uma balança de precisão que foi diluído em 10 mL de acetonitrila. A partir desta solução foram feitas duas diluições para se obter a concentração para a análise. A primeira diluição foi preparada adicionando 1 mL da solução padrão a um balão volumétrico de 10 mL que foi preenchido com 9 mL de acetonitrila, para esta solução obteve-se a concentração de 100 mg/L. A segunda diluição foi feita adicionando 1 mL da solução de 100 mg/L a um balão volumétrico de 10 mL, que teve seu volume completo com 9 mL de acetonitrila, obtendo-se assim uma concentração de 10 mg/L.

Para fazer uma comparação entre a eficiência das duas colunas cromatográficas foram utilizadas as equações de número de pratos teóricos (n) e a altura equivalente de um prato teórico (h) descritas na literatura por Aquino e Nunes (2003, p. 92):

$$n = 5,549 (Tr / Wh)^2$$

Em que Tr é o tempo de retenção do analito e Wh é a largura do pico na sua meia altura.

$$h = L / n$$

Em que L é o comprimento da coluna e n é o número de pratos teóricos.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Um prato teórico pode ser definido como sendo um estágio da coluna onde se atinge um equilíbrio termodinâmico entre fase móvel, fase estacionária e o analito, isso significa que, quanto maior for o número de pratos teóricos por coluna, mais espaços de equilíbrio existirão e a separação dos picos no cromatograma será maximizada (CIOLA, 1998).

Os valores necessários para calcular o número de pratos teóricos (n) foram encontrados alterando o fluxo de fase móvel do sistema, como visto na Tabela 1, assim como o n obtido para cada vazão testada.

Tabela 1 - Valores referentes à triplicata das análises de duas colunas.

Fluxo (mL/min)	Synergi			Inertsil		
	Tr (min)	Wh (min)	n	Tr (min)	Wh (min)	n
0,8	8,82	0,31	4484	7,32	0,26	4367
0,9	7,88	0,27	4718	6,62	0,25	3884
1,0	6,93	0,25	4256	5,90	0,18	5952

Tr = tempo de retenção; Wh = largura do pico na sua meia altura; n = número de pratos teóricos

Os valores encontrados para o tempo de retenção e a largura do pico na sua meia altura seguiram um padrão inversamente proporcional à vazão de fase móvel. Porém o mesmo não ocorreu com o número de pratos teóricos, que não seguiu nenhum padrão relacionado com os fluxos testados.

Observou-se que a coluna Synergi teve melhor desempenho no fluxo de 0,9 mL/min, enquanto a coluna Inertsil mostrou melhor eficiência no fluxo de 1,0 mL/min. Portanto o número de pratos teóricos de uma coluna não pode ser um fator determinante na escolha da coluna a ser usada, devido às alterações que este valor pode ter dependendo do analito, das condições de análise e principalmente do comprimento da coluna, por estes motivos a comparação entre o desempenho de duas colunas é feita utilizando a equação de altura equivalente de um prato teórico (COLLINS et al, 1997).

Acredita-se que o valor da altura equivalente de um prato teórico seja mais preciso ao fazer a comparação entre colunas, pois este demonstra com exatidão o comprimento em que ocorre o equilíbrio entre fase móvel, fase estacionária e o analito, é um valor expresso em milímetros (CIOLA, 1998).

Para esta equação foram encontrados os seguintes valores apresentados na Figura 1.

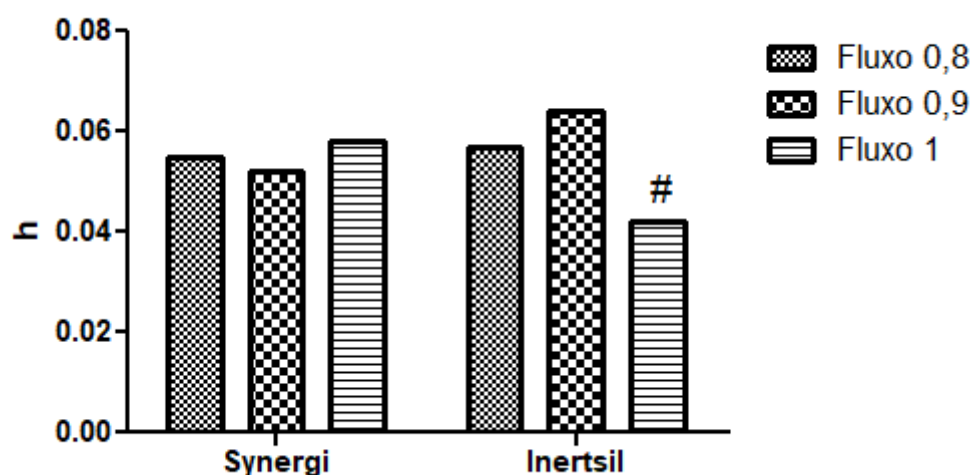


Figura 1: Valores obtidos para altura equivalente de um prato teórico em diferentes fluxos. H = altura equivalente de um prato teórico; # = resultado significativo para h

Como observado na Figura 1, o número de pratos teóricos (n) está diretamente relacionado a altura equivalente de um prato teórico (h), pois quanto maior for o valor de n, conseqüentemente menor vai ser o valor de h, assim os picos obtidos serão mais finos e mais fácil será a separação entre eles (CIOLA, 1998). Sendo assim, em relação à coluna Synergi, o valor mais satisfatório para h foi observado no fluxo de 0,9 mL/min, enquanto para a coluna Inertsil, o fluxo de maior eficiência foi o de 1,0 mL/min.

Quanto à otimização da análise, os fluxos mais intensos de fase móvel apresentaram um tempo de retenção e altura equivalente de um prato teórico menor, podendo assim se reduzir o tempo de análise do Sulfentrazone significativamente, sendo necessário um volume menor de solventes, gerando menos resíduos por análise.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados das análises cromatográficas do pesticida Sulfentrazone foram satisfatórios em ambas as colunas. As colunas cromatográficas demonstraram eficiência em diferentes fluxos de fase móvel, sendo a coluna Synergi mais eficiente na vazão de 0,9 mL/min, enquanto a coluna Inertsil demonstrou maior eficiência na vazão de 1 mL/min. Como benefício tem-se um menor gasto de solvente em uma das colunas, entretanto o valor da coluna Inertsil é inferior ao da coluna Synergi.

5. REFERÊNCIAS

AQUINO NETO, F., NUNES, D. S. Cromatografia. – Princípios Básicos e Técnicas Afins. Rio de Janeiro, INTERCIENCIA, 2003. 187p.

CIOLA, R. Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho HPLC. São Paulo: Edgard Blücher. 1998. 179p.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. Introdução a Métodos Cromatográficos. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 1997. 273p.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=86369, <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/86369>> (acesso em Set. 22, 2017).

OLIVEIRA, M. A., PIRES, F. R., FERRAÇO, M., BELO, A. F. The Validation of an Analytical Method for Sulfentrazone Residue Determination in Soil Using Liquid Chromatography and a Comparison of Chromatographic Sensitivity to Millet as a Bioindicator Species. Molecules Journal. v. 19. 2014.