

Ficha Técnica

Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC)

Waters™ Modelo 600

Centro de Ciências Moleculares e Nanotecnologia - CCMN

28 de maio de 2026

1 Resumo do Equipamento

O Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência é um sistema analítico avançado utilizado para a separação, identificação e quantificação de componentes em uma mistura complexa. O laboratório possui um sistema modular da marca Waters™ Modelo 600, equipado com uma bomba quaternária (que permite a mistura automática de até quatro solventes distintos) e múltiplos detectores acoplados, sendo altamente versátil para pesquisas em química, biociências e ciência de materiais.

2 Características Técnicas do Equipamento

- **Marca/Modelo:** Waters™ 600.
- **Sistema de Bombeamento:** Bomba Quaternária Waters 600 (*Waters 600 Quaternary Pump*).
- **Sistema de Injeção:** Manual.
- **Coletor de Frações:** *Fraction Collector III* (permite recolher fisicamente os analitos separados após a detecção).
- **Localização:** CCMN -Laboratório de Cromatografia(LEM-104).
- **Financiamento:** Adquirido com recursos da Finep.

3 Detectores Disponíveis e Aplicações

O sistema conta com três tipos de detectores independentes, ampliando o leque de moléculas que podem ser analisadas:

- **UV-Vis por Arranjo de Diodos (*Photodiode Array Waters 2996 - PDA*):** Ideal para compostos que absorvem radiação ultravioleta ou visível (como moléculas orgânicas conjugadas, proteínas e fármacos).
- **Índice de Refração (*Refraction Index Waters 2414 - RID*):** Um detector universal, excelente para compostos que não absorvem UV, como açúcares/carboidratos, polímeros e lipídeos.

- **Fluorescência (*Multi Fluorescence Detector Waters 2475 - MFD*):** Altamente sensível e seletivo, voltado para compostos que emitem fluorescência natural ou derivados (como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, vitaminas e aminoácidos).

4 Amostras que Podem ser Analisadas

- **Amostras:** Líquidas ou sólidos que estejam completamente solubilizados em uma solução.
- **Compatibilidade:** A amostra deve ser completamente miscível com a fase móvel escolhida para a corrida e quimicamente compatível com a coluna analítica utilizada.

5 Dados e Informações Obtidos

- **Resultado Principal:** Cromatograma contendo o tempo de retenção de cada analito plotado contra a unidade de medida do detector selecionado (absorbância, índice de refração ou intensidade de fluorescência).
- **Análise Qualitativa:** Identificação de compostos por meio da comparação do tempo de retenção com padrões puros.
- **Análise Quantitativa:** Determinação da concentração dos componentes através da área ou altura dos picos cromatográficos.

6 Fase Móvel e Solventes Permitidos

O sistema suporta regimes de eluição **isocrática** (proporção de solventes constante) ou por **gradiente** (proporção varia ao longo do tempo), utilizando prioritariamente:

- Acetonitrila;
- Água Ultrapura;
- Etanol;
- Metanol;

7 Colunas Disponíveis no Laboratório

As seguintes colunas estão disponíveis para uso:

- μ Bondapak C18 Column, 125Å, 10 μ m, 3.9 mm \times 300 mm, 1/pk;
- μ Bondapak C18 Column, 125Å, 10 μ m, 3.9 mm \times 300 mm, 1/pk;
- μ Bondapak C18 Column, 125Å, 15 - 20 μ m, 3.9 mm \times 300 mm, 1/pk;
- μ Bondapak Phenyl Prep Column, 125Å, 10 μ m, 7.8 mm \times 300 mm, 1/pk;

- **Nova-Pak Silica** Column, 60Å, 4 μm , 3.9 mm \times 150 mm, 1/pk;
- **Nova-Pak Silica** Column, 60Å, 6 μm , 3.9 mm \times 300 mm, 1/pk;
- **Spherisorb C8** Column, 80Å, 10 μm , 4.6 mm \times 250 mm, 1/pk;
- **Spherisorb Amino (NH₂)** Column, 80Å, 10 μm , 4.6 mm \times 150 mm, 1/pk;
- **Luna 5 μm C18(2)** 100 Å, LC Column 250 \times 10 mm, Ea;
- **Luna 10 μm C18(2)** 100 Å, LC;
- **Luna 10 μm NH₂** 100 Å, LC;
- **Luna 5 μm Silica (2)** 100 Å;
- **Promosil 5 μm C18** 100Å, LC Column 150 \times 4mm, Ea;

8 Protocolo Geral

1. **Preparo do Sistema:** Configurar a fase móvel com os solventes adequados na bomba quaternária.
2. **Preparo da Amostra:** Garantir a completa dissolução e realizar a filtragem obrigatória.
3. **Configuração da Corrida:** Definir os parâmetros no software (vazão em mL.min⁻¹, tipo de eluição, tempo de corrida programado e seleção do detector).
4. **Injeção:** Realizar a injeção da amostra manualmente utilizando o volume adequado em μL .
5. **Monitoramento:** Acompanhar a corrida analítica, que costuma durar entre 10 e 40 minutos.

9 Cuidados Críticos e Restrições ao Usar

- **Filtragem Obrigatória:** É estritamente necessário pré-filtrar todas as amostras em membrana filtrante com poros de diâmetro $\leq 0,45 \mu\text{m}$ para evitar o entupimento das tubulações e a degradação precoce da coluna analítica.
- **Restrição de Tampões:** Evitar o uso de solução tampão na fase móvel. Sais podem precipitar e danificar permanentemente as bombas e vias do equipamento.
- **Modificadores Químicos:** O uso de qualquer modificador na fase móvel deve respeitar rigorosamente as recomendações técnicas do fabricante da coluna utilizada.