



Precipitação de tampão em HPLC

Um dos problemas recorrentes que mais nos questionam é a elevada pressão numa coluna de HPLC. Depois de colocarmos algumas questões e despistarmos alguns sintomas óbvios como a coluna, a pré-coluna ou o injector “entupidos”, muitas vezes acabamos por concluir que o problema reside na precipitação do tampão. Há alguns conselhos que gostaríamos de partilhar para evitar estes “dissabores”:

- Tenha em conta a solubilidade do tampão no eluente orgânico. Por exemplo, o ácido ortofosfórico é insolúvel em concentrações de solvente orgânico acima de 80% a 90%. Neste caso, limite o seu gradiente a 70% de solvente orgânico.
- A utilização de tampão em fase reversa deve-se à necessidade de mantermos os analitos na sua forma molecular, pois se o mecanismo utilizado é a interação hidrofóbica, optimizamos a separação com moléculas neutras. Portanto, se estamos a trabalhar com uma dada concentração de amostra, não necessitamos mais do que algumas nanomoles de tampão para evitar que se encontrem na forma iónica. Ajuste a concentração do tampão ao mínimo necessário—às vezes, concentrações de tampão 10 a 100 vezes menos é mais que suficiente!
- Utilize outro tampão: desde que o pH da solução seja menos 1 que o pKa ($\text{pH} = \text{pKa} - 1$) do componente mais ácido (o de pKa mais baixo), garantimos que os nossos analitos encontram-se na sua forma molecular. Tanto o ácido fórmico como o ácido acético constituem excelentes alternativas ao ácido ortofosfórico, sendo muito mais solúveis em solventes orgânicos.

Bons cromatogramas!