

Cromatografía en Fase Reversa: El gel de sílice es lo más importante

Por: Dirk Rieger y Jens Pfeiffer

El gel de sílice es aún el número uno Pese a que mientras tanto están a disposición para la cromatografía en fase reversa materiales inorgánicos y orgánicos alternativos o portadores polímeros, la supremacía del gel de sílice sigue siendo incontestada. La alta resistencia a la presión de las partículas, la modificación fácil de la superficie y la disponibilidad de diversos tamaños de partícula y diámetros de poro son las ventajas principales de este material portador corriente. Sin embargo, las fases de gel de sílice convencionales cuentan también con sus puntos débiles. En particular, cuando se trata de cromatografiar compuestos ionizables (p. ej. bases).

Adsorción/Peak tailing

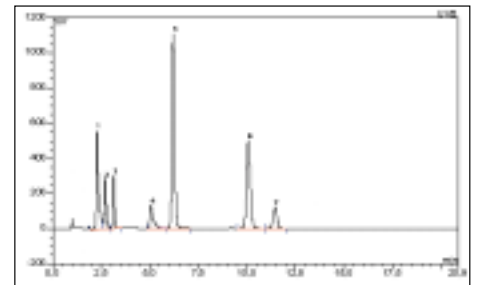
Las interacciones entre las sustancias analíticas y los centros polares en la superficie del gel de sílice causan irregularidades en la simetría de los picos

(tailing) o fenómenos de adsorción irreversibles con las notorias repercusiones negativas en el poder separador y la reproducibilidad. Tales centros polares pueden originarse debido a funciones libres de silanol y también a iones metálicos. Hay varias estrategias para enfrentar este problema. Por ejemplo, contándose con los respectivos valores pH, es posible disfrazar constituyentes polares de la muestra mediante los apropiados formadores de parejas de iones (reactivos PIC), los que se añaden al eluyente, simulando de este modo una neutralidad de carga. Pero, en ello es desventajoso el hecho de que los reactivos de parejas de iones puedan combinarse también en la superficie de la fase estacionaria, lo cual puede resultar en alteraciones de la selectividad. La actividad polar de la superficie de gel de sílice puede deberse, entre otras cosas, también a una densidad de ocupación insuficiente con cade-

nas de C18, un blindaje deficiente de los silanoles residuales y/o a una contaminación metálica del gel de sílice de base. Para los constituyentes de muestra fáciles de polarizar (ácidos, bases) se prestan, en la cromatografía, solamente fases de una ocupación suficientemente densa, de una preparación cuidadosa subsiguiente de la superficie y de alta pureza. Las figuras 1 y 2 demuestran el perfil de elución de moléculas de diferente polaridad en una fase convencional, com-

parado con una fase de C18 exenta de metal y blindada correctamente. El heterociclo N de cafeína y la base p-etilanilina ostentan en el primer ejemplo un tailing acentuado, lo cual evita en el caso de la cafeína, una separación nítida de la línea de base con respecto al 4-metoxifenol vecino. Los dos compuestos efectúan la elución, en cambio, sin deformación de pico en la columna de NUCLEODUR® 100-5 C18 ec. La columna de NUCLEODUR® tiene, debido a su ma-

Fig. 1: Fase C18 convencional, de superficie acabada, 250 x 4 mm. Condiciones: MeOH:H₂O, 49:51 (v/v); 40°C; 1 ml/min; 1 µl de volumen de inyección, UV 254 nm muestra: 1. Cafeína, 2. p-Metoxifenol, 3. o-Metoxifenol, 4. p-Etilanilina, 5. Propiofenona, 6. Éster etílico del ácido benzoico, 7. Toluol



Productos analíticos de calidad - Made in Germany



Buscando
distribuidores
en Centro y
Sudamérica

Visite nuestra tienda en el Internet: www.mn-net.com

e-mail: sales@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL

Alemania · Suiza · Francia · Reino Unido · EE UU

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · P.O. Box 10 13 52 · D-52313 Düren · Germany · Tel. ++49 (0) 24 21 969-0 · Fax ++49 (0) 24 21 969 199



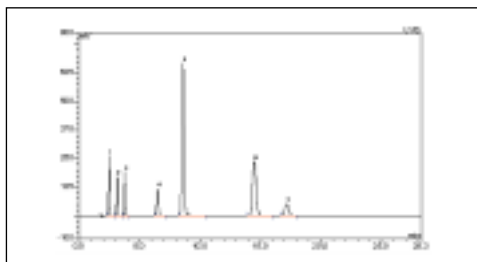


Fig. 2: NUCLEODUR 100-5 C18 ec, 250 x 4 mm. Condiciones idénticas a las de la fig. 1.

por densidad de ocupación, una hidrofobia considerablemente más acentuada, lo que se documenta a través de los factores de capacidad más altos relativos al éster etílico del ácido benzoico y al toluol.

¿Porqué estorban los iones metálicos?

Los iones metálicos en, o encima de geles de sílice entran en interacciones ácidos de Lewis/bases con los átomos de oxígeno de grupos de silanol libres en la superficie, lo cual tiene como consecuencia su desprotonización y la formación de cargas. Esto se evidencia, en especial con respecto a compuestos fáciles de ionizar, en forma del peak tailing no deseado y de desplazamientos de los tiempos de retención. Además, pueden surgir interacciones directas entre metales y constituyentes de la muestra en forma de la quelación. Por consiguiente, reviste importancia especial ya la calidad del gel de sílice de base para generar una nueva fase de gel de sílice. El grado de contaminación con iones alcalinos, alcalinotérreos o también de metales de transición, tanto en el interior de la estructura de geles de sílice como en la superficie, depende en medida decisiva del procedimiento de síntesis [1]. Aunque es posible expulsar por lavado o remover de la estructura del gel de sílice [2] una parte de los iones extraños, por medio del tratamiento posterior con ácido, son preferibles métodos que desde un principio suministran geles de sílice de un contenido de iones metálicos mínimo. En la tabla 1 están relacionados los contenidos metálicos, determinados por vía de la espectrometría de absorción atómica, del NUCLEODUR® esférico, sin modificación, con 100 angstrom de tamaño de poro y 5 µm de diámetro medio de las partículas. Además, los focos metálicos en la superficie repercuten desfavorablemente en las reacciones formadoras de derivados con silanos de alquilo, de manera que pueden originarse trastornos en la ocupación de la superficie.

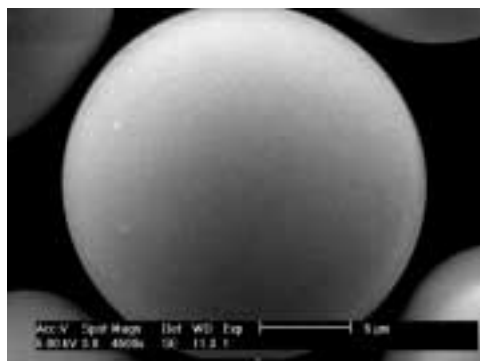


Fig. 3: Imagen de una partícula de NUCLEODUR tomada con microscopio electrónico de barrido.

Producto seleccionado

Cartuchos CHROMABOND Flash

La cromatografía flash es un método rápido y económico de separación cromatográfica en columna cuya principal aplicación es la purificación a gran escala de compuestos orgánicos. Macherey-Nagel ofrece una amplia selección de columnas rellenas para un solo uso CHROMABOND®, diseñadas para sistemas automáticos y escalado fácil. Todas las columnas CHROMABOND® Flash pueden pedirse, no sólo con la gama de productos estándar de sílica no modificada y la fase C18 ec, sino también con la gama completa de sorbentes CHROMABOND® o con NUCLEODUR® esférico. El programa de productos incluye atractivos cartuchos CHROMABOND® Flash para sistemas automáticos de las siguientes compañías: Jones Chromatography/IST™, ISCO™, Biotage™, Gilson™. La extraordinaria selección de sistemas de columna, sorbentes y fases estacionarias da una enorme flexibilidad para el desarrollo de procesos. Entre las ventajas cuentan la amplia selección de diferentes sorbentes siempre en stock, la excelente calidad del material de relleno, alto rendimiento, reproducibilidad, separaciones bien definidas gracias a la estrecha distribución del tamaño de las partículas, una contrapresión constante garantizada por la eliminación rigurosa de finas partículas de polvo durante la fabricación, muy alta reproducibilidad de lote a lote, estabilidad de almacenamiento y



exclusión de humedad gracias al cierre hermético de los cartuchos. A veces es necesario probar muchas combinaciones de solventes y sorbentes diferentes para desarrollar un método de cromatografía flash selectivo y reproducible. La cromatografía en capa fina ha probado ser muy útil para desarrollar rápidamente nuevos métodos. Es por ello que para la optimización de separaciones sobre sílica, alúmina, C₁₈, CN, NH₂, diol o poliamida ofrece los mismos sorbentes en placas TLC. Las capas sobre las placas TLC son de la misma sílica básica usada en los cartuchos CHROMABOND® Flash. Este es un requisito previo para transferir separaciones por TLC a columnas flash de forma reproducible, ya que los parámetros químicos de la sílica son idénticos en ambos sistemas.

Macherey-Nagel, Alemania

Anote el 59

Al	< 5 ppm	Ti	< 1 ppm
Fe	< 5 ppm	Zr	< 1 ppm
Na	< 5 ppm	As	< 0.5 ppm
Ca	< 10 ppm	Hg	< 0.05 ppm

Tab. 1: Contenido en iones residuales del NUCLEODUR® 100-5

Geometría superficial y forma de partículas

Además de la alta pureza del gel de sílice de base es premisa para la ocupación uniforme durante el proceso de modificación la superficie más homogénea posible de las partículas. Al fin y al cabo, hay que aspirar a obtener una simetría esférica que no tenga crecimientos epitaxiales ni otros defectos de planicidad visto que durante el proceso de relleno subsiguiente éstos podrían quebrarse, siendo la consecuencia rellenos columnares deficientes. La figura 3 muestra la superficie lisa homogénea de una partícula NUCLEODUR® totalmente esférica en la imagen tomada por un microscopio electrónico de barrido. Con materiales de este tipo se pueden conseguir paquetes columnares de alta densidad y de bajos valores h (= gran cantidad de platos teóricos). La estabilidad mecánica extraordinaria del gel de sílice NUCLEODUR® recomienda este material de relleno también para aplicaciones en la HPLC preparativa, dado que no se observaron caídas de presión notables durante los ciclos de relleno [3]. El NUCLEODUR® se puede adquirir tanto sin modificación como con formación de derivados C18, co-

mo material de 100 Å, con tamaños de partícula de 3, 5, 10, 12, 16, 20, 30 y 50 µm.

Conclusión

Ya en el momento de la selección del gel de sílice de base se encausa la calidad de la posterior columna de fraccionamiento HPLC. El contenido de iones metálicos y la homogeneidad de la superficie de las partículas son parámetros esenciales que pueden influenciar decisivamente en el resultado de la modificación. El NUCLEODUR® C18 ec ha sido sintetizado en base a un gel de sílice purísimo, idealmente esférico, siendo, gracias a su baja actividad de silanol, una fase de aplicación universal que es apropiada en particular para la HPLC de compuestos críticos e ionizables.

Bibliografía

- [1] Stella, C.; Rudaz, S.; Veuthey, J.-L.; Tchaplá, A. *Chromatographia* 2001, 53, supl., 113 (revista).
- [2] Nawrocki, J.; Moir, D.L.; Szczepaniak, W. *Chromatographia* 1989, 28, 143.
- [3] K. Möller, J. Pfeiffer, H. Riering, M. Sieber y D. Rieger, ponencia con carteles Eastern Analytical Symposium 2001, Atlantic City (NY).

Autores

Dr. Dirk Rieger, Dr. Jens Pfeiffer
MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Neumann-Neander-Str. 6-8
D-52355 Düren

Anote el 303