

# UPFP NA 4

## Transposición de TLC a UPFP

Interchim innovations

Los métodos de Purificación en UPFP normalmente se desarrollan en base a datos obtenidos en separaciones previas mediante Cromatografía de Capa Fina (TLC). Sin embargo los datos obtenidos en TLC se expresan en términos de factores de retención ( $R_f$ ) mientras que en purificación en columna se usa el Volumen de Columna (CV) para medir la retención.

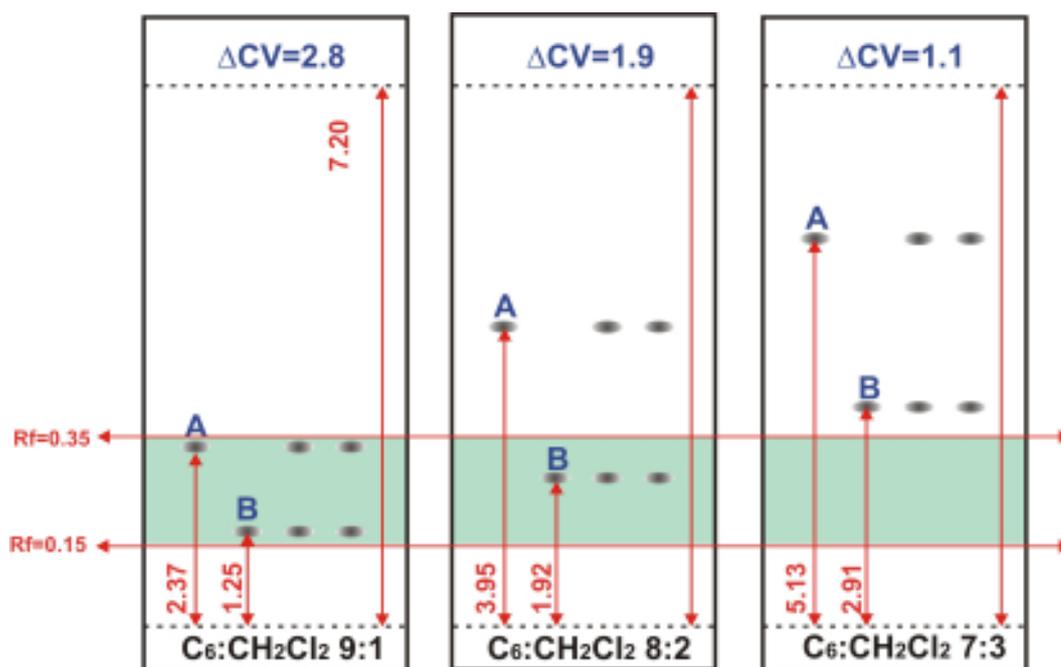
Puede transferirse los métodos de TLC a UPFP gracias a la siguiente relación:

$$CV=1/R_f$$

De esta relación se deduce que un valor de  $R_f$  menor corresponde a un mayor valor de CV que, a su vez, indica un mayor tiempo de interacción entre el compuesto de interés y el material del lecho de la columna. Un CV alto indica una retención alta y en dos compuestos adyacentes una mayor resolución, caso en que un CV alto es preferible.

Una vez obtenida una separación adecuada (los compuestos de interés han de estar comprendidos entre  $R_f$  0.15 y  $R_f$  0.35) es posible trasponer un método desarrollado en TLC y en condiciones isocráticas a un método UPFP en condiciones de gradiente.

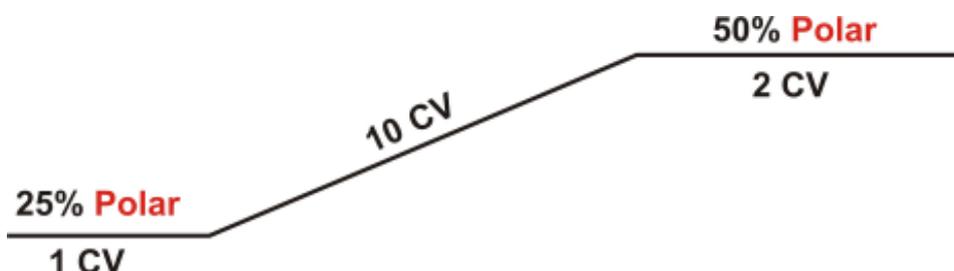
Supongamos los casos siguientes:



En este caso, la primera separación por TLC en Hexano:Cloruro de Metileno 9:1 cumple con los criterios anteriores, (los productos A y B eluyen en la zona delimitada por los  $R_f$ 's de 0.15 y 0.35).

La Tabla de Columnas (ver figura del reverso) nos indica que una columna de 25g o de 12g resulta suficiente para una buena purificación si la masa del crudo es de 200mg.

Se considerará un programa inicial como el reflejado en la figura:



La Tabla muestra la transposición de CV a RT para una columna de 25g o, alternativamente, una de 12g:

Columna g	CV mL/min	Caudal mL/min	T Inicial Min (1 CV)	T Gradiente min (10 CV)	T Final Min (2 CV)	T Total Min
4	5	7	0,71	7,14	1,43	9,29
12	19	20	0,95	9,50	1,90	12,35
25	32	20	1,60	16,00	3,20	20,80
40	48	30	1,60	16,00	3,20	20,80
80	102	40	2,55	25,50	5,10	33,15

Una separación con  $\Delta CV$  alto indica una mejor separación en UPFP o, como alternativa, una superior capacidad de carga.

En las TLC's anteriores se puede constatar que una separación con  $\Delta CV$  de 2.8 permite, para una carga de 200mg de crudo, usar una columna de 25g, mientras que para un  $\Delta CV$  de 1.1, la columna necesaria pasa a ser de 80g.

Con una columna de 80g el tiempo total es de 33.15 min frente a los 20.80 necesarios en una columna de 25 g.

El gasto de eluyente pasa de 416 mL en 25 g a 1326 en 80g.

**puriFlash® Column Loading Chart based on IR-50Si**

