


PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

Cromatógrafo de Permeação em Gel (GPC)


OBSERVAÇÕES IMPORTANTES

1. O GPC está configurado por padrão para solvente tetrahidrofurano (THF). Antes de ligar o equipamento ou começar uma análise, verifique o nível de solvente no frasco.
2. O equipamento está instalado com três colunas em série: KF-802.5, KF-804L e KF-805L. Este POP foi escrito baseado nesta configuração.
3. Observe se o tubo de descarte que sai do detector está posicionado no frasco de descarte ou no frasco de solvente para refluxo. Se necessário, faça a mudança.
4. O principal indicador de status do equipamento é a pressão do sistema. Verifique sempre a pressão e observe se ela está de acordo com o esperado para o fluxo que está sendo utilizado.


LIGANDO O EQUIPAMENTO

1. Durante a semana o equipamento ficará sempre ligado, com fluxo de 0,2 mL/min, recirculando o solvente. Caso o equipamento esteja, de fato desligado, siga os passos a seguir.
2. Ligue cada uma das partes do equipamento (bomba + injetor, forno e detector) no botão localizado na parte posterior. Ligue o computador e abra o software OmniSEC 5.1 localizado na área de trabalho. Utilize tanto para senha como usuário a palavra *admin*.
3. Clique no botão GPC max  localizado na barra no lado esquerdo do equipamento.
4. No campo Flow Rate, coloque o fluxo Normal em 0,2 mL/min. O fluxo de Stand-by sempre deverá ser 0,2 mL/min. Com fluxo de 0,2 mL/min a pressão deve ficar entre 80 e 120 psi.
5. Clique em Apply, e em seguida clique no botão Pump On para iniciar a bomba. Observe se o fluxo e a pressão aumentam como esperado. Clique em Ok.




INICIALIZANDO O EQUIPAMENTO PARA ANÁLISES

1. Antes de se iniciar as análises, alguns procedimentos devem ser realizados para se garantir o bom funcionamento do sistema.
2. Clique no botão GPC max , localizado na barra no lado esquerdo do equipamento, para abrir o GPCmax Toolpad.
3. No campo Flow Rate, coloque o fluxo Normal em 1 mL/min. O fluxo de Stand-by sempre deverá ser 0,2 mL/min.
4. Aguarde cerca de 2 minutos e observe o aumento do fluxo gradativamente, seguido por um aumento da pressão. Com fluxo de 1 mL/min a pressão deve ficar entre 480 e 530 psi.
5. No painel do detector RI, pressione o botão Purge para iniciar a purga do detector.
6. No computador, na janela do GPCmax toolpad, selecione 3 Washes abaixo do botão Wash Now e então clique no botão para realizar a lavagem do sistema de injeção. Atenção: Esta etapa é muito importante para se garantir o bom funcionamento do equipamento.
7. Ao término das lavagens, pressione novamente o botão Purge no painel do detector RI para finalizar a purga.
8. Ainda no painel do detector, pressione o botão AutoZero para zerar o detector.
9. Antes de realizar injeções, monitore a estabilidade do sinal por ao menos 30 minutos, de acordo com o procedimento abaixo.

MONITORANDO O SINAL DO DETECTOR

1. Antes de realizar uma injeção o sinal deve ser monitorado para se verificar que o detector está estável. Isso deve ser feito sem a injeção de amostra.
2. No menu lateral esquerdo, clique no botão Quick Run .
3. Desmarque a opção "Save data". Automaticamente as outras configurações devem ser atualizadas para que não seja feita injeção. O número do vial deve ser 0.
4. O sinal será monitorado por 45 minutos (tempo de uma corrida). Se necessário, repita o procedimento para continuar o monitoramento.
5. Para interromper o monitoramento antes dos 45 minutos, clique no botão Stop.

MONTANDO UMA SEQUÊNCIA DE ANÁLISES

1. Clique no botão Edit Sample Sequence .
2. Uma nova janela se abrirá com a fila de análises.
3. Caso já exista um arquivo de sequência para suas análises, clique no botão Load para carregá-lo.
4. No campo Sub-directory, digite o caminho da sua pasta, que deverá ser no formato LABORATÓRIO/ORIENTADOR/ALUNO
5. A não ser que a corrida vá ser observada até o final, marque o campo *Use 'Stand-by' Flow Rate at end of sequence* para que não haja desperdício de solvente.
6. Preencha a lista com as amostras que serão analisadas. Recomenda-se um volume de injeção de 100 µL.
7. Na coluna Pre-Injection Commands clique na seta para baixo, indique o número do vial e marque *AutoZero RI*. Clique no ícone  para salvar as escolhas.
8. Verifique o nome e o número do vial de todas amostras antes de continuar.
9. Clique em Ok.
10. Retire a tampa do autoinjeter segurando-a com ambas as mãos e puxando para trás cuidadosamente.
11. Coloque os vials na bandeja da esquerda e, caso sejam muitos vials, retire a bandeja para organizá-la. Em seguida, coloque a bandeja novamente no lugar (verifique se ela de fato está na posição correta).
12. Posicione a tampa do autoinjeter no lugar.
13. Para disparar a sequência de análises, clique no botão  localizado no lado esquerdo do programa OmniSEC.

ANALISANDO OS CROMATOGRAMAS

1. Para usar um método já existente nos dados, os arquivos do método devem estar na mesma pasta dos resultados. Caso a pasta dos dados ainda não tenha uma cópia do método, vá até a pasta *Referência_Calibração\Calib_Atual* e copie os arquivos *.vcm* e *.vcc* mais recentes (com maior número no final, como 0004) para a pasta dos dados. O método será reconhecimento somente se ambos arquivos estiverem na mesma pasta do arquivo da amostra.
2. Abra o arquivo da corrida. Para se definir a linha de base, pressione e segure a tecla Shift, e clique com o botão direito do mouse em um ponto no início e um ponto no fim da corrida, de modo que a reta criada se sobreponha à linha de base do cromatograma.
3. Após feita a linha de base, pressione e segure novamente a tecla Shift e clique com o botão esquerdo nos limites de cada pico que será integrado. Caso necessário, dê um zoom no pico antes deste procedimento. A definição correta dos limites do pico é essencial para um cálculo correto dos resultados.
4. Clique no botão com ícone Σ ou então aperte F5 para integrar os picos. As janelas com os resultados deverão ser abertas, informando os valores de Mp, Mw, Mn, etc.
5. Caso queira salvar os resultados em um relatório PDF, vá no menu superior em Reporting → Use alternate report design → Preview... navegue até a pasta My Documents\Ominisec Data\GPC SEC e selecione o arquivo CAIQ.ORD. Verifique se o relatório está correto, e então mande imprimir utilizando a impressora virtual CutePDF writer.
6. Para obter os arquivos de resultados (arquivos brutos e reports), utilize a antena da rede wireless e envie por email.
7. O programa OmniSEC também está disponível para os usuários instalarem em seus computadores. Caso deseje, peça uma cópia para o técnico responsável pelo equipamento.

CRIANDO UM MÉTODO DE CALIBRAÇÃO

Os padrões só devem ser analisados caso haja uma mudança no sistema (tubos, colunas) ou se for verificado que a calibração atual não está boa, de acordo com a análise de amostras conhecidas. Os padrões ficam guardados sob a responsabilidade do coordenador do equipamento, e só podem ser utilizados com seu aval.

Os padrões são analisados em mix com 3 padrões de tamanhos diferentes que não coeluem, possibilitando a identificação de seus picos corretamente. As corridas dos padrões devem ser realizadas como as de amostras comuns. Lembre-se apenas de colocar no nome do arquivo a indicação de quais padrões estão presentes no mix.

1. Após a realização das corridas, abra o arquivo do primeiro mix. Vá em Method → New → Selecione Blank → Selecione Conventional Calibration - Homopolymers → Next (Apenas RI) → Next (Em branco) → Next (No algorithm) → Digite um nome para o método de calibração e clique em Finish.
2. Faça o procedimento para marcação da linha de base e delimitação dos picos dos padrões, como explicado acima.
3. Clique duas vezes em cima de cada pico e insira o valor de Mp nominal do padrão.
4. Aperte F7. Uma janela deverá aparecer perguntando se deseja inserir estes picos no método. Confira os valores de Mp e confirme.
5. Feche o arquivo, confirmando que as alterações devem ser salvas.
6. Abra o próximo arquivo e repita a partir do item 2 (linha de base e delimitação dos picos). **Não repita** o procedimento 1, ou um novo método sem o arquivo anterior será criado.
7. Após realizar o procedimento para todas as corridas de padrão e salvar, o método estará finalizado. Faça um teste aplicando-o em uma amostra conhecida ou nos próprios padrões.