



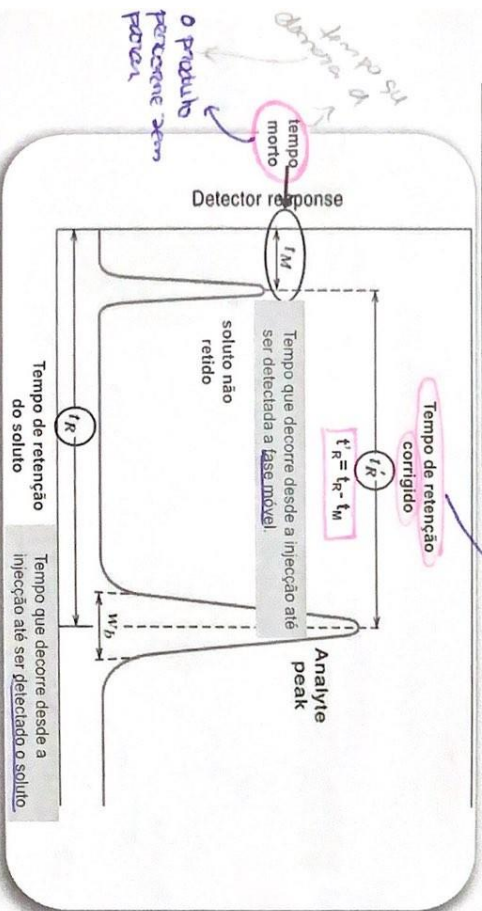
Parâmetros cromatográficos

↑ K → menor facilidade para eluir
 → ↑ tempo de retenção
 → ↑ a dificuldade com a fase estacionária (?)

Velocidade de migração dos solutos

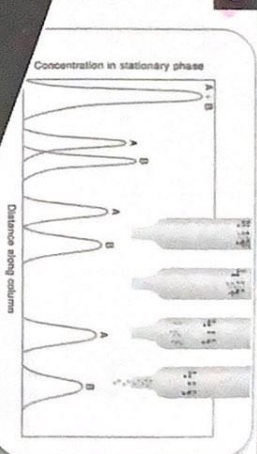
TEMPO DE RETENÇÃO

tempo que o analito fica retido na fase estacionária



Velocidade de migração dos solutos

$K > 1$ → alta afinidade, menor velocidade
 $K = \frac{C_E}{C_M}$ → taxa estacionária



Tendência dos solutos ficarem retidos na fase estacionária
 Diferente mobilidade ao longo da coluna
 Diferente distribuição dos solutos entre as duas fases

COEFICIENTE DE PARTIÇÃO

$$K = \frac{C_E}{C_M}$$

Concentração molar de A na FE
 Concentração molar de A na FM

Um soluto com K elevado elui com menor ou maior rapidez na coluna?

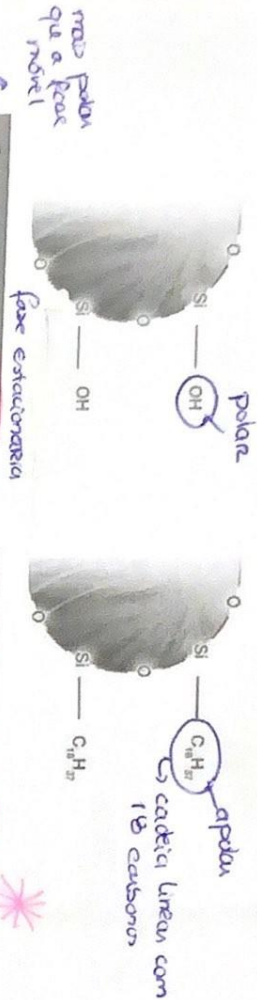
TEMPO DE RETENÇÃO

VOLUME DE RETENÇÃO

Volume da fase móvel necessário para que o soluto saia, relacionado ao tempo de retenção

- ▶ Tempo de retenção do soluto (t_R)
 Tempo que decorre desde a injeção até ser detectado o soluto
- ▶ Tempo de retenção da fase móvel (t_M) (solutos não retidos) - tempo morto
 Tempo que decorre desde a injeção até ser detectada a fase móvel.
- ▶ Tempo de retenção corrigido (t'_R)
 $t'_R = t_R - t_M$
 Volume de retenção do soluto (V_R)
 Volume da fase móvel que elui desde a injeção do analito até ser alinhado o pico referente ao analito
 $V_R = t_R \cdot \mu$ μ - caudal (mL/min)
- ▶ Volume morto ou de exclusão (V_m)
 volume necessário para obter um pico correspondente a um soluto que não interage com a fase estacionária

Técnicas Cromatográficas

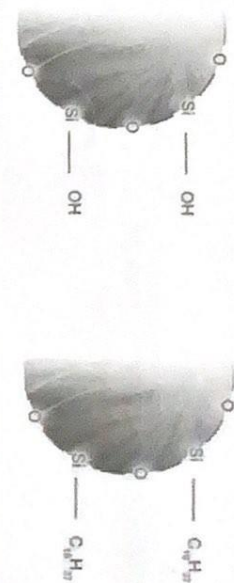


Cromatografia de fase normal

Fase estacionária Polar

Cromatografia de fase Reversa

Fase estacionária Apolar



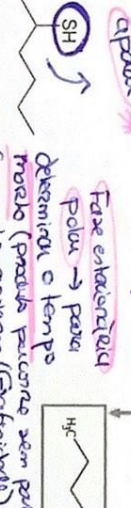
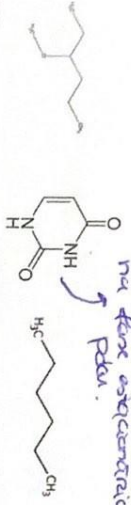
Cromatografia de fase normal

Fase estacionária Polar

Cromatografia de fase Reversa

Fase estacionária Apolar

Composto para determinar o tempo morto?



Técnicas Cromatográficas

Técnicas Cromatográficas

Para avaliar ou prever o desempenho cromatográfico definem-se os seguintes parâmetros

- Factor de capacidade (k')
- Selectividade (α)
- Resolução
- N - Eficiência

TEMPO MORTO

• O composto não interage com a fase estacionária.

• tempo que demora a ir para a fase móvel

• $k \rightarrow$ tempo muito

• Não contém que o meu analito tenha tempo de retenção $= 2$ / pois assim temo um tempo de retenção muito elevado

Factor de Retenção (k')

Medida da retenção de um componente na coluna

Quanto mais retido for o componente maior o k'

$$k' = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

tempo retido

tempo morto

$$2 \leq k' \leq 10$$

Condições ideais de separação

tempo de retenção mt próximo do tempo morto

O que significa se:

$k' \leq 1$

$k' > 10$

Qual o valor de k' de um soluto não retido?

- Descreve a velocidade com que um dado composto migra ao longo da coluna
- CL: varia alterando a FM e a FE
- CG: varia alterando a T e a FE
- descreve mt tempo
- tempo muito elevado
- tempo muito baixo
- tempo muito alto



BETTER MINDS

Factor de Retenção (k')

$$k' = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$



O tempo de retenção vai aumentar (potencialidade) k'

• mais apolar, o soluto tem maior afinidade, tempo de retenção

não tem força para tirar o soluto da fase móvel, logo que adiciona uma componente mais polar

* O que acontece ao k' se alterar a fase móvel?



polu $\rightarrow$ apolar $\rightarrow$ tem maior afinidade com o analito, pelo que passa com mais facilidade.

* O que acontece ao k' se alterar a FEE? $\rightarrow$ FE $\rightarrow$ polu $\rightarrow$ tempo de retenção $\downarrow$ k'

* FE $\rightarrow$ polu $\rightarrow$ tempo de retenção $\uparrow$ k'

* O que acontece ao k' se aumentar o tamanho da coluna? t_m e t_R $\propto$

Factor de Retenção (k')

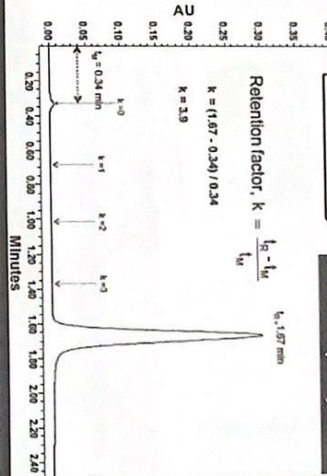
Medida da retenção de um componente na coluna Quanto mais retido for o componente maior o k'

$$k' = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

Condições ideais de separação

- * Descreve a velocidade com que um dado composto migra ao longo da coluna
- * CL: varia alterando a FM e a FE
- * CG: varia alterando a Temp. e a FE

Memória: De corredo (a pressão numa linha) tem maior afinidade, demora mais tempo a ir para a fase móvel.



Factor de Retenção (k')

Qual dos solutos tem um k' maior?

$$k'_A < k'_B$$

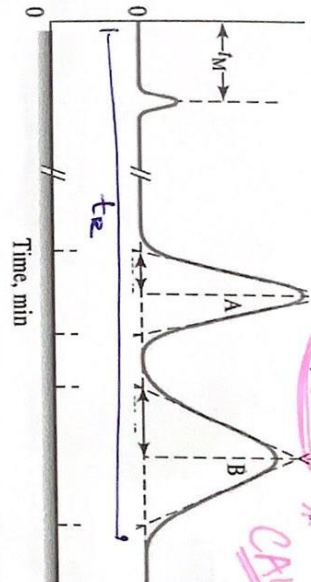
$$k'_B = \frac{t_B - t_m}{t_m}$$

* Os 2 compostos não se separam, tem o mesmo tempo de retenção.

* Descreve a velocidade relativa de migração

* A selectividade de um sistema cromatográfico é uma medida da separação de 2 componentes com base no centro do pico, uma vez que é determinado a partir da retenção relativa dos 2 componentes

* Quanto maior a diferença dos coeficientes de partição dos 2 componentes, maior a separação



Factor de Separação (alpha)

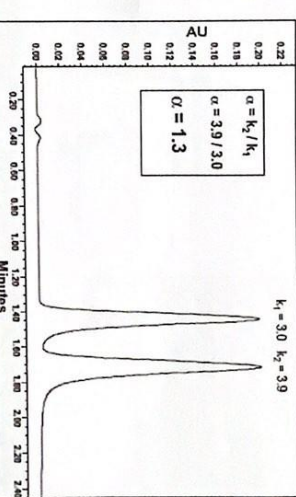
Mede a capacidade de uma coluna para separar dois componentes, A e B. maior tempo de retenção ($\uparrow k'$)

$$\alpha = \frac{t'_R}{t'_A} = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{K}{K}$$

especie mais fortemente retida / especie mais fracamente retida

K_A e K_B coeficientes de partição, espécie B retida mais fortemente que a espécie A (espécie A elui mais rapidamente)

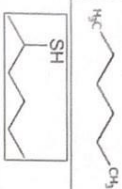
$$\alpha \gg 1$$



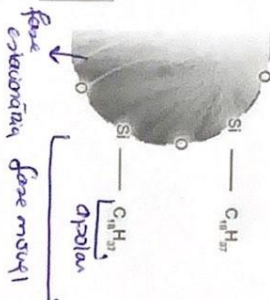
Factor de Separação ou Selectividade (α)

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{t_{R2} - t_{R1}} = \frac{K_2 - K_1}{K_2 - K_1} \quad \text{O que se altera no processo de separação}$$

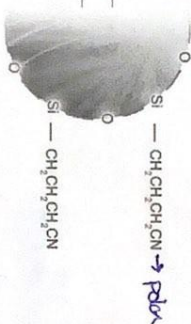
Análito/soluto



O que acontece ao α se alterar a Fase móvel

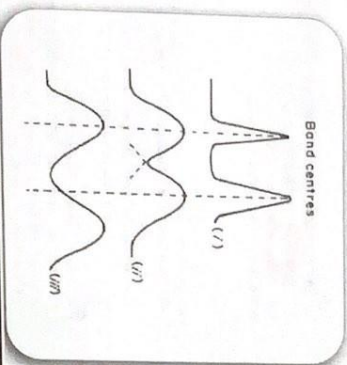


O que acontece ao α se alterar a FE



O que acontece ao α se aumentar o tamanho da coluna

Factor de Separação ou Selectividade (α)

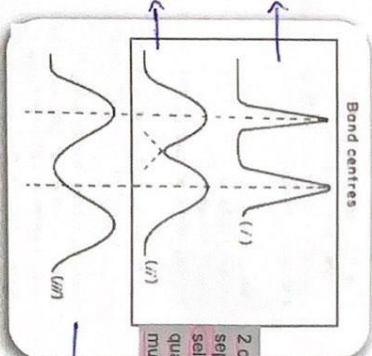


O valor de α pode não ser o mais adequado para descrever o grau de separação de 2 picos, uma vez que este parâmetro não entra em linha de conta com a largura do pico

Factor de Separação ou Selectividade (α)

mais eficiente, pois tem banda mais estreita

a separação não foi completa



2 compostos podem ser separados com a mesma selectividade, mas a qualidade da separação é muito diferente

menos eficiente, pois tem banda larga



O factor de separação é igual para todos os cromatogramas? Não, depende da amplitude

Qual o significado de $\alpha=1$? $\rightarrow$ 2 compostos não se separam, têm o mesmo tempo de retenção

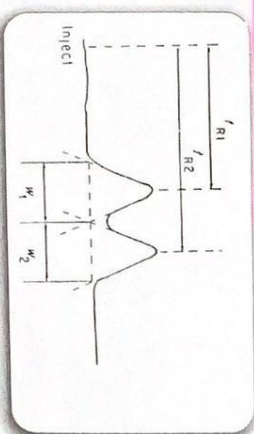
Retenção

Resolução (R_s)

parâmetro queliga a largura dos picos à amplitude

$\uparrow R \rightarrow$ melhor resolução

Mede o grau de separação entre 2 componentes. É determinada a partir do cromatograma e compara a distância entre os máximos dos picos com a largura média da base dos picos.



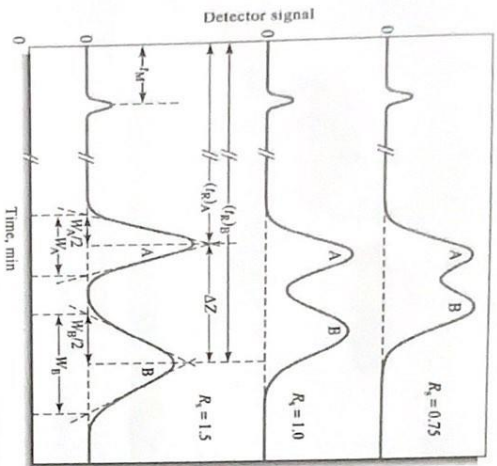
$$R_s = 2 \cdot \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_1 + W_2)} \rightarrow \text{largura dos picos}$$

IMP

O objectivo de qualquer separação cromatográfica é separar ou resolver dois ou mais componentes.

Técnicas Cromatográficas

Resolução (R) ▶ Separações com três resoluções diferentes
Exemplo



• $R = 0.75$ - significa que não há praticamente separação dos componentes (traz resolução)

• $R = 1$ - significa que há sobreposição parcial das bandas, separação não completa, no entanto esta resolução poderá ser considerada adequada para fins analíticos

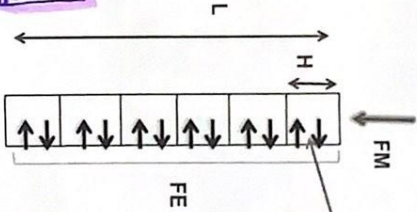
• $R = \text{ou} > 1.5$ - significa que existe separação completa das espécies (boa resolução)

Bom separação
 $R_s > 1.5$

↑
melhor resolução

⊕ interação ⊕ efeitos e ⊕ separação cromatográfica

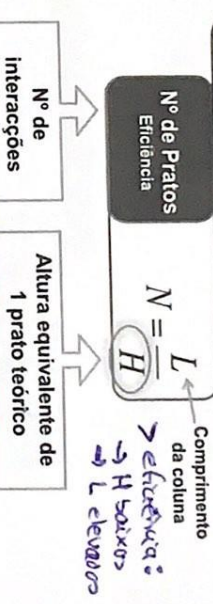
Eficiência



Prato Teórico

▶ Seção da coluna na qual o soluto se encontra em equilíbrio entre as fases estacionária e a móvel.

Portanto, quanto mais n° de pratos teóricos disponíveis dentro de uma coluna, maior o n° equilíbrios possíveis e melhor a qualidade da separação.



N depende das propriedades da coluna e do soluto
N: não é fixo, e pode variar de soluto para soluto
H: permite comparar colunas com diferentes tamanhos

Distância → H ⊕ baixo → banda ⊕ estreita ⊕ eficiência

Técnicas Cromatográficas

Largura das bandas e Eficácia da separação

▶ N° de Pratos Teóricos (N) → a eficiência reduz-se à largura das bandas

relação entre o tempo de retenção do composto e a extensão do alargamento das bandas.

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

W - largura do pico na base

Quanto mais estreitos forem os picos, maior o número de pratos teóricos, mais eficiente a coluna

H menor → picos mais estreitos e melhor separação

Se aumentar o n° de pratos teóricos, aumenta o comprimento da coluna, aumenta o N e aumenta a resolução.

Banda gaussiana → tem um máximo e o que está para trás é igual ao que está para a frente, simetria

Eficiência da coluna

Picos não gaussianos

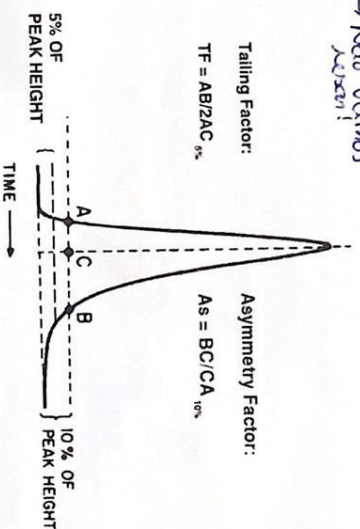
Not vamos

Tailing Factor:

$$TF = AB/2AC$$

Asymmetry Factor:

$$As = BC/CA$$



$$N = 41,7 \left(\frac{t_R}{W_{0.1}} \right)^2$$



BETTER MINDS

Colunas muito eficientes terão elevado número de pratos teóricos e valores baixos de H.

Assimetria do pico

Boa gaussian

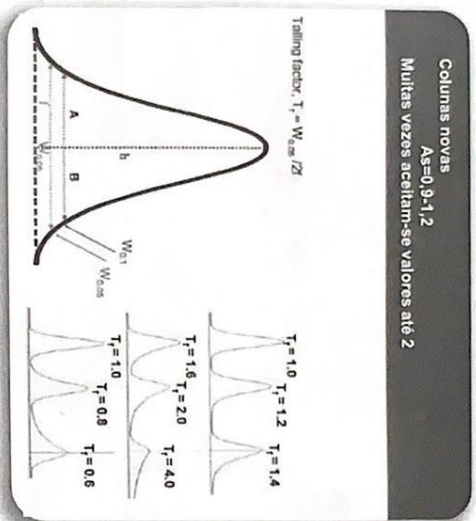
- Formas dos picos:
- Teoricamente gaussianos (sim)
 - Alongamento resulta da variação de velocidade das moléculas de soluto ao longo da coluna
 - Tempo de residência em cada fase não é constante

Peak Tailing (arrastamento) - $T > 1$

- Arrastamento provocado por coeficientes de partição não lineares
- Em algumas zonas da FE os compostos ficam mais retidos do que em outras

Fronting (frontal) - $T < 1$

- provocado por coef. partição não lineares
- amostra demasiado grande



Se o tempo de separação não for suficiente, não separamos

O que significa exactamente otimizar um processo cromatográfico?

A optimização de uma separação é principalmente direccionada para atingir os seguintes objectivos:

- separar melhor (aumentar a resolução), *menor tempo possível*
- separar mais rapidamente (diminuir o tempo de retenção),
- detectar mais (diminuir o limite de detecção),
- separar a mais baixo custo (esforço económico)
- separar mais compostos

Os três primeiros objectivos são os mais importantes mas a principal preocupação será a melhoria da resolução.

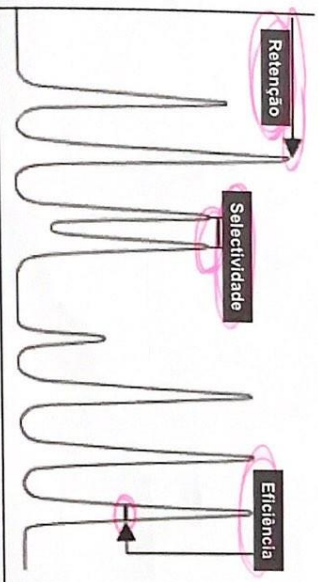
Efeito α, k, N na resolução

Resolução (R)

► A resolução, R_s , é proporcional à eficiência (N), selectividades (α) e capacidade (k) do sistema.

Diagram showing the relationship between Efficiency, Retention, and Selectivity:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k}{k+1} \cdot \frac{\alpha-1}{\alpha}$$



Ac mexer na fase estacionária, o α muda as interações.

Resolução (R)

► A resolução, R_s , é proporcional à eficiência (N), selectividades (α) e capacidade (k) do sistema.

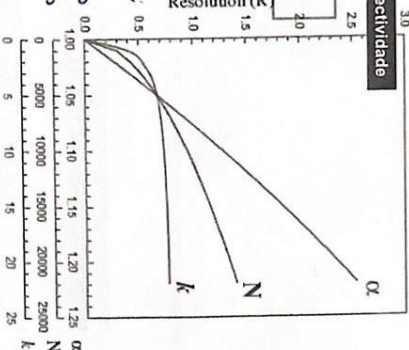
Diagram showing the relationship between Efficiency, Retention, and Selectivity:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{k}{k+1} \cdot \frac{\alpha-1}{\alpha}$$



Qual o parâmetro que tem maior efeito na resolução?

- α → maior efeito, mais eficiente, permite-nos separar os picos mais próximos, ou seja, é o mais difícil, daí que os efeitos alteramos o N.
- k → menos eficiente



Resolução (R) $\blacktriangleright$ A resolução, R_s , é proporcional à eficiência (N), selectividades (α) e capacidade (k) do sistema.

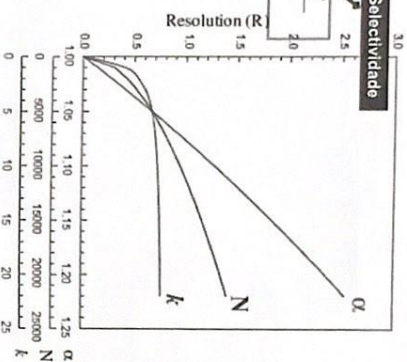


Eficiência Retenção Selectividade

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{k}{k+1} \frac{\alpha-1}{\alpha}$$

Para melhorar a resolução existem três possibilidades

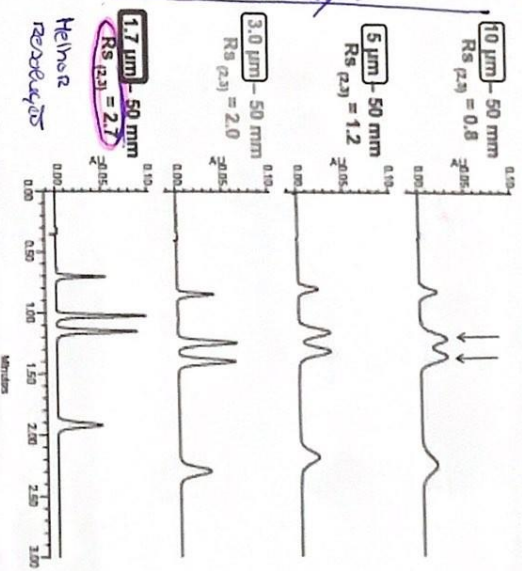
- ➔ Aumentar a força de interação entre o composto e a FE (k aumenta)
- ➔ Alteração na interação específica dos compostos (α aumenta)
- ➔ Aumento da eficiência da separação (aumento do valor de N)



↓ tamanho das partículas
⊕ eficiência

↓ coluna ⊕ eficiência
↓ tempo de retenção

na
* Eficiência
* Resolução
* Sensibilidade



Efeito da diminuição do tamanho da partícula

Efeito do tamanho da coluna, L

Técnicas Cromatográficas

na
* Eficiência
* Resolução
* Sensibilidade

SB-C18
4,6 x 150 mm
all 7 components resolved in less than 1 min

4,6 x 50 mm
4,6 x 75 mm
4,6 x 150 mm
Columns: Zorbax SB-C18, 3.5 µm
Mobile Ph.: 1 mM Na octane sulfonate
pH 2.5; ACN (80/20)
UV278 nm; Flow: 2.0 mL/min.; 70°C

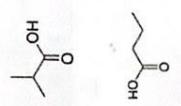
1. Acetaminophen
2. Caffeine
3. 2-Acetamidophenol
4. Acetanilide
5. Aspirin (acetylsalicylic acid)
6. Salicylic acid
7. Phenacetin (acetophenetidin)

demora mt tempo
demora mt tempo
demora mt tempo

diminuição



Numa análise cromatográfica de ácidos de baixo peso molecular, os tempos de retenção do ácido butírico e do ácido isobutírico foram de 7,36 min e 5,98 min, respectivamente. O tempo morto da coluna é de 0,31 min.



- a- Calcule o factor de retenção para o ácido butírico.
- b- Qual é o factor de separação (selectividade) para o ácido isobutírico e ácido butírico?
- c- Tendo em conta os tempos de retenção do ácido isobutírico e do ácido butírico, diga qual a natureza da fase estacionária.

Técnicas Cromatográficas

$$a) K' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

$$a, b \rightarrow K' = \frac{7,36 - 0,31}{0,31} \Leftrightarrow K' = 23,6$$

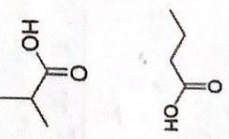
$$a, i \rightarrow K' = \frac{5,98 - 0,31}{0,31} \Leftrightarrow K' = 18,29$$

$$b) \alpha = \frac{a, b}{a, i} \Leftrightarrow \alpha = \frac{23,6}{18,29} \Leftrightarrow \alpha = 1,29$$

c) Ambos os compostos são polares, pelo que a fase estacionária será polar, pois ambos apresentam elevado tempo de retenção. (?)



Numa análise cromatográfica de ácidos de baixo peso molecular, os tempos de retenção do ácido butírico e do ácido isobutírico foram de 7,36 min e 5,98 min, respectivamente. O tempo morto da coluna é de 0,31 min.



a- Calcule o factor de retenção para o ácido butírico.

b- Qual é o factor de separação (/selectividade) para o ácido isobutírico e ácido butírico?

c- Tendo em conta os tempos de retenção do ácido isobutírico e do ácido butírico, diga qual a natureza da fase estacionária.



Numa análise cromatográfica, com uma coluna de 30,0 cm, verificou-se que as substâncias A e B têm tempos de retenção de, respectivamente, 16,40 e 17,63 min. As espécies não retidas passam através da coluna em 1,30 min. A largura dos picos para A e B são 1,11 e 1,21, respectivamente.

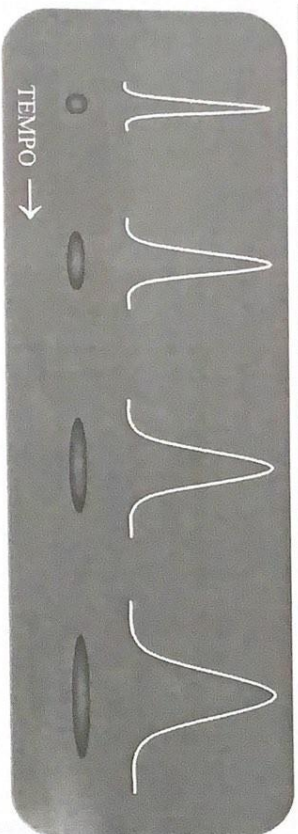
Calcule:

- a resolução da coluna
- o número médio de pratos teóricos da coluna
- a altura do prato teórico
- o comprimento da coluna necessário para obter uma resolução de 1,5.

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{K}{K+1} \times \frac{\alpha-1}{\alpha}$$



Forma dos picos cromatográficos ao longo da coluna - Difusão



A banda correspondente a um determinado soluto aumenta à medida que ele se desloca através da coluna cromatográfica. Idealmente, uma banda infinitamente estreita, na entrada da coluna emerge com uma forma gaussiana na saída. Em circunstâncias menos ideais, a banda torna-se assimétrica.

Uma das principais causas do alargamento das bandas é a difusão, que é o transporte líquido de um soluto de uma região de alta concentração para uma região de baixa concentração, através do movimento aleatório das moléculas.



$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} \Rightarrow \alpha_{AB} = \frac{1,54}{0,75} = 2,05$; $\alpha_{BC} = \frac{2,38}{1,54} = 1,55$
 $\alpha_{CD} = \frac{3,84}{2,38} = 1,61$
 Intervalos entre picos
 4. Na literatura encontra-se descrita uma separação cromatográfica em que

$k'_A = 0,75$, $k'_B = 1,54$, $k'_C = 2,38$ e $k'_D = 3,84$.

Poderá esta mistura ser separada com uma coluna de baixa pressão de apenas 300 pratos teóricos, com o mesmo sistema de fases, e uma resolução mínima de 1,5? $R = \frac{2,38 + 1,54}{2}$

(considerando que $N=300$) $(\Rightarrow) R = 1,96$

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{K}{K+1} \times \frac{\alpha-1}{\alpha}$$

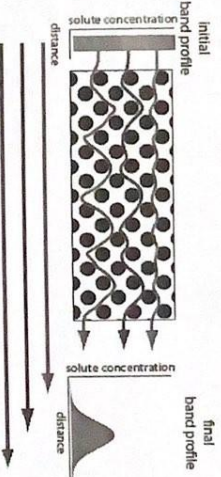
$$= \frac{\sqrt{300}}{4} \times \frac{2,38}{1,96+1} \times \frac{1,55-1}{1,55} \Rightarrow R = 1,24 < 1,5$$

Largura das bandas e Eficácia da separação

Teoria Cinética

Mecanismos de Dispersão em colunas
 Existem três mecanismos responsáveis pela dispersão de uma banda de soluto ao percorrer uma coluna.

Difusão turbulenta ou Dispersão associada ao escoamento
 A - Diferença de percursos (Difusão de Eddy)



Moléculas que circulam à mesma velocidade podem sair mais tarde ou mais cedo da coluna consoante o percurso efectuado no interior da coluna

Directamente proporcional ao diâmetro das partículas que constituem a fase estacionária

moléculas menores têm percursos menores, bandas mais finas

Picos largos ou estreitos
 As moléculas fazem percursos diferentes, velocidades diferentes



Numa análise cromatográfica, com uma coluna de 30,0 cm, verificou-se que as substâncias A e B têm tempos de retenção de, respectivamente, 16,40 e 17,63 min. As espécies não retidas passam através da coluna em 1,30 min → tempo morto

A largura dos picos para A e B são 1,11 e 1,21, respectivamente.

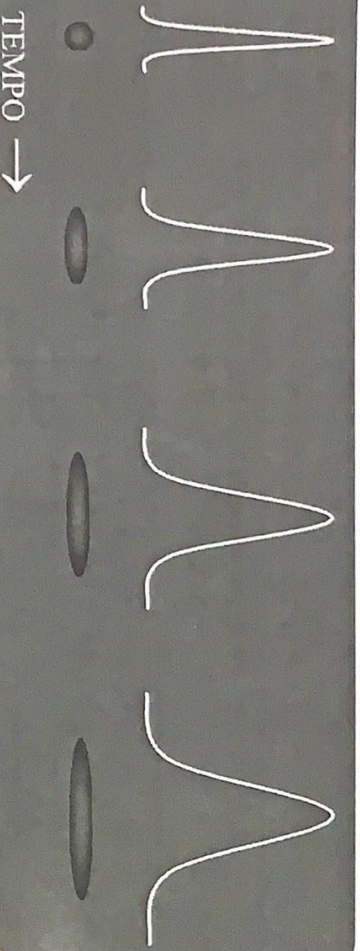
Calcule:

- a resolução da coluna
- o número médio de pratos teóricos da coluna
- a altura do prato teórico
- o comprimento da coluna necessário para obter uma resolução de 1,5.

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{k}{k+1} \times \frac{\alpha-1}{\alpha}$$

Técnicas Cromatográficas

a dos picos cromatográficos ao longo da coluna - Difusão



a) $R_s = 2 \times \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(w_1 + w_2)} \rightarrow$ largura dos bandos

$R_s = 2 \times \frac{(17,63 - 16,40)}{(1,21 + 1,11)} \Leftrightarrow R_s = 4,06$

5) a)

$N = 16 \left(\frac{16,40}{1,11} \right)^2 \quad N = 16 \left(\frac{17,63}{1,21} \right)^2$

$= 3492,7$

$= 4036,6$

$N^{\circ} \text{ médio} = \frac{3492,7 + 4036,6}{2}$

c) $N = \frac{L}{H} \Leftrightarrow$

$3444 = \frac{30,0 \text{ cm}}{H} \Leftrightarrow H = 8,74 \times 10^{-3} \text{ cm}$

d) Alterar L, manter-se constante o α , k e H, o que varia é o N

$R = 4,06$; $L = 30,0 \text{ cm}$; $R = 3,44$

$\frac{R(4,06)}{R(4,5)} = \frac{\sqrt{N_{1,06}}}{\sqrt{N_{1,5}}} \times \frac{(\alpha-1)}{(\alpha-1)} \times \frac{k}{k+1}$

dado

constante

$\Leftrightarrow \frac{R(4,06)}{R(4,5)} = \frac{\sqrt{N_{1,06}}}{\sqrt{N_{1,5}}} \rightarrow$ média

$\Leftrightarrow \frac{1,06}{1,5} = \frac{\sqrt{3444}}{\sqrt{N_{1,5}}} \Leftrightarrow N_{1,5} = (83,04)^2$

$N = \frac{L}{H} \Leftrightarrow (83,04)^2 \times 8,74 \times 10^{-3}$

$\Leftrightarrow L = 560 \text{ cm}$

As moléculas fazem percursos $\neq$, logo

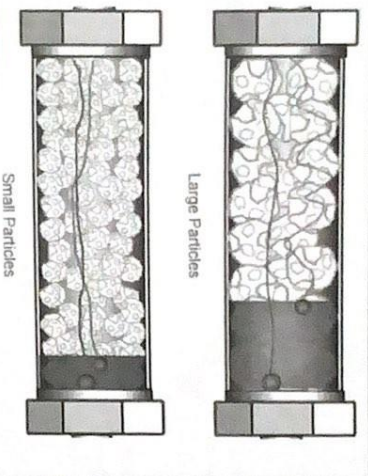
distance

A - Diferença de percursos
(Difusão de Eddy)

- Quando o efeito se deve à **↑ de frequência**, **não** vai afetar a **largura da banda**, afeta apenas o **tempo de extração**.

■ **Minimizada:**

- Minimizada:
- Selecionar colunas bem empacotadas $\rightarrow$ Cor
- Usar FE com partículas mais pequenas
- Partículas com menor distribuição de tamanho



- ④ estreitos
- ⑤ eficientes

Teoría Cinética

No mesmo percurso, as moléculas junto às paredes viajam mais lentamente.

A - Diferença de percursos
(difusão turbulenta)

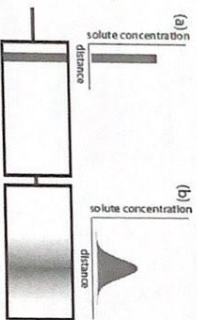


O alargamento devido a estes dois efeitos não é muito afectado pela velocidade da fase móvel

Técnicas Cromatográficas

B - Difusão longitudinal (molecular)

- As moléculas de oxigênio de acordo com o gradiente de concentração, o que leva ao alongamento dos bastões



Se ↑ a velocidade da fase
móvel vai ↑ o tempo de
retenção se espharmem,
diminui da assim a difusão
da mesma e aumentando
o coeficiente de difusão

A difusão dos solutos das zonas mais concentradas para as mais diluídas, na direcção longitudinal da coluna, provoca dispersão das bandas

Dependente da velocidade da FM –
Diretamente proporcional ao coeficiente de difusão da FM

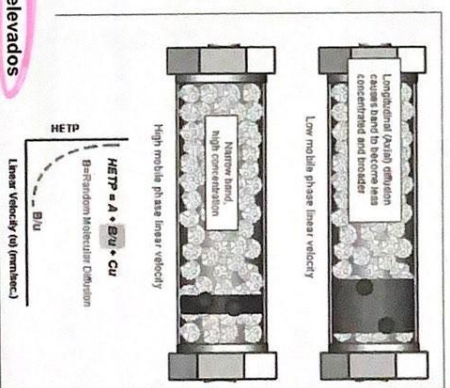
Teoria Cinética

B – Difusão longitudinal

Igual a velocidade a que
devo colocar a fase inicial
a passar?

$$\frac{A+B}{u} + Cu$$

↑
velocidade ideal



Minimizada:
■ Velocidade de fluxo mais elevados

Largura das bandas e Eficácia da separação

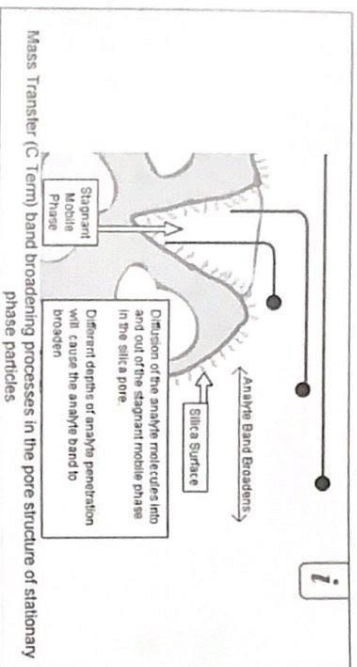
Técnicas Cromatográficas

Largura das bandas e Eficácia da separação

Técnicas Cromatográficas

Mecanismos de Dispersão em colunas

C - Efeitos de Transferência de massa



aumento do fluxo $\rightarrow$ extensão da banda

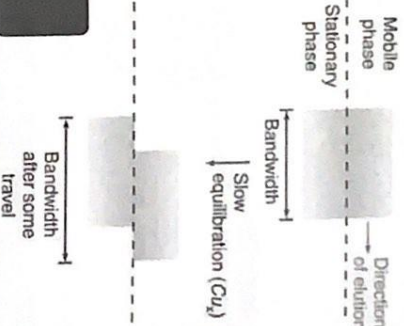
Mecanismos de Dispersão em colunas

C - Efeitos de Transferência de massa

As moléculas que interagem com a fase estacionária demoram algum tempo antes de regressar à fase móvel, atrasando-se relativamente aquelas moléculas que não interagem.

Alargamento das bandas surge devido ao equilíbrio lento entre a FM e a FE

? Diminui ou aumenta com o fluxo



Largura das bandas e Eficácia da separação

Técnicas Cromatográficas

Largura das bandas e Eficácia da separação

Técnicas Cromatográficas

Mecanismos de

Dispersão em colunas

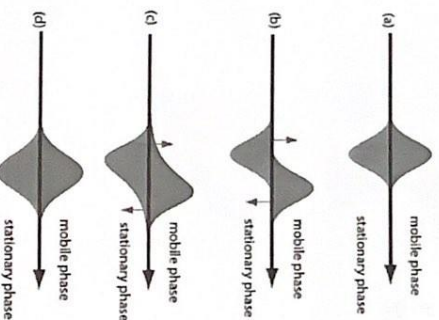
C - Efeitos de Transferência de massa

Os poros da FE estão preenchidos com FM que não se move (está estagnada). Uma molécula de soluto que entra no poro deixa de ser transportada pelo fluxo do eluente, e muda de posição apenas por difusão.

A molécula difunde de volta para o fluxo da FM. Este processo demora tempo, durante este tempo as moléculas que não ficaram retidas nos poros movem-se e adiantam-se na coluna.

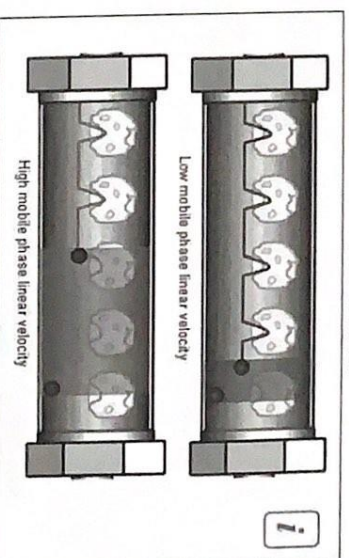
O alargamento da banda resultante será menor quanto menores forem os poros, i. e., menores as partículas da FE.

A velocidade de difusão das moléculas no solvente é maior sob condições de baixa viscosidade (i. e., difunde mais rapidamente para dentro e para fora dos poros).



Mecanismos de Dispersão em colunas

C - Efeitos de Transferência de massa



Minimizada:

- Usar FE com partículas mais pequenas
- Usar velocidades de fluxo menores

Largura das bandas e Eficácia da separação

Teoria Cinética

Técnicas Cromatográficas

Equação de Van Deemter

A altura equivalente de prato teórico é dada como uma soma de contribuições dos três mecanismos responsáveis pelos efeitos de dispersão (alargamento dos picos).

Para que serve a curva de Van Deemter?
Usada para ver a velocidade da fase móvel ideal, obtendo maior eficiência e bandas mais estreitas.

CAHA

$$H = A + \frac{B}{u_x} + C u_x$$

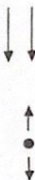
A - Diferença de percursos
(difusão turbulenta)



C - Transferência de massa



B - Difusão longitudinal



? A velocidade do fluxo da FM afecta de maneira diferente cada uma destas contribuições para H

Técnicas Cromatográficas

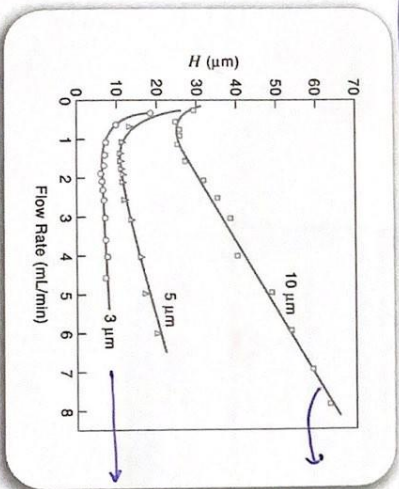
Representação Gráfica da Equação de Van Deemter

Os efeitos que contribuem para os mecanismos de dispersão dependem das dimensões das partículas da fase estacionária. Quanto menor o tamanho das partículas, mais uniforme o empacotamento, mais eficiente, especialmente para velocidades de fluxo elevadas.

$$N = \frac{L}{H}$$

H elevado, menor eficiência (N)

nao há perdas significativas quando aumento o fluxo

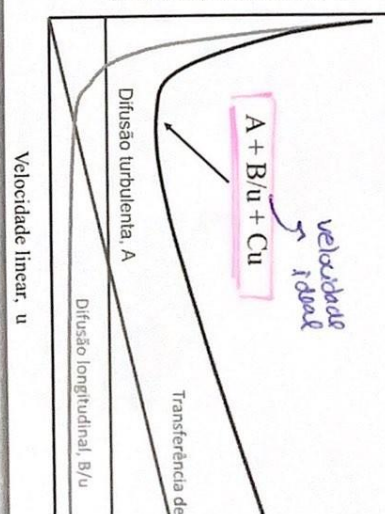


Largura das bandas e Eficácia da separação

Teoria Cinética - Curva de Van Deemter

Técnicas Cromatográficas

Altura do prato teórico, H

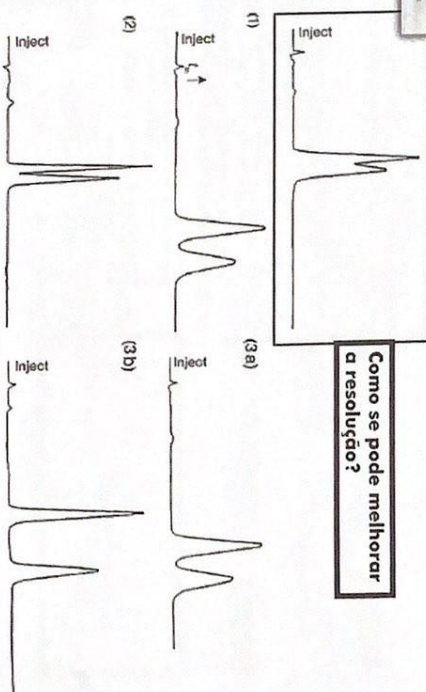


Caudal "ótimo" - corresponde um valor de H mínimo - valor mínimo no gráfico ilustrativo da equação de Van Deemter.



Técnicas Cromatográficas

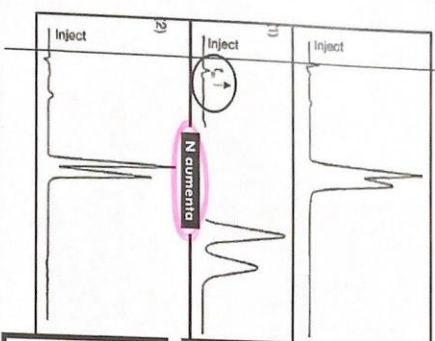
Como se pode melhorar a resolução?



Técnicas Cromatográficas

$$\uparrow N = \frac{L}{H} \quad \text{e} \quad \uparrow N \Rightarrow \uparrow R$$

$$\uparrow N = 16 \left(\frac{t_R}{t_M} \right)^2$$



Como se pode melhorar a resolução?

Aumento do t_R de todos os componentes, incluindo de um componente inerte (t_M).
 Coluna maior/menor?
 velocidade do fluxo - diminuir/aumentar?

Os t_R mantêm-se aproximadamente constantes, melhora a forma dos picos.
 Ex.
 Diminuição do volume da amostra injectado
 Diminuir/aumentar o tamanho das partículas da FE



Como se pode melhorar a resolução?

Aumento da interacção entre a amostra e a FE (possibilidades químicas):
 Alterar o eluente
 Diminuir a T
 Alterar a FE
 A alteração nas interacções afectam de igual forma os dois componente

Aumento da interacção entre a amostra e a FE (possibilidades químicas):
 Alterar o eluente
 Diminuir a T
 Alterar a FE
 A alteração nas interacções afectam os dois componentes de diferente forma (ex. alteração no pH)

