

## Análise Instrumental II

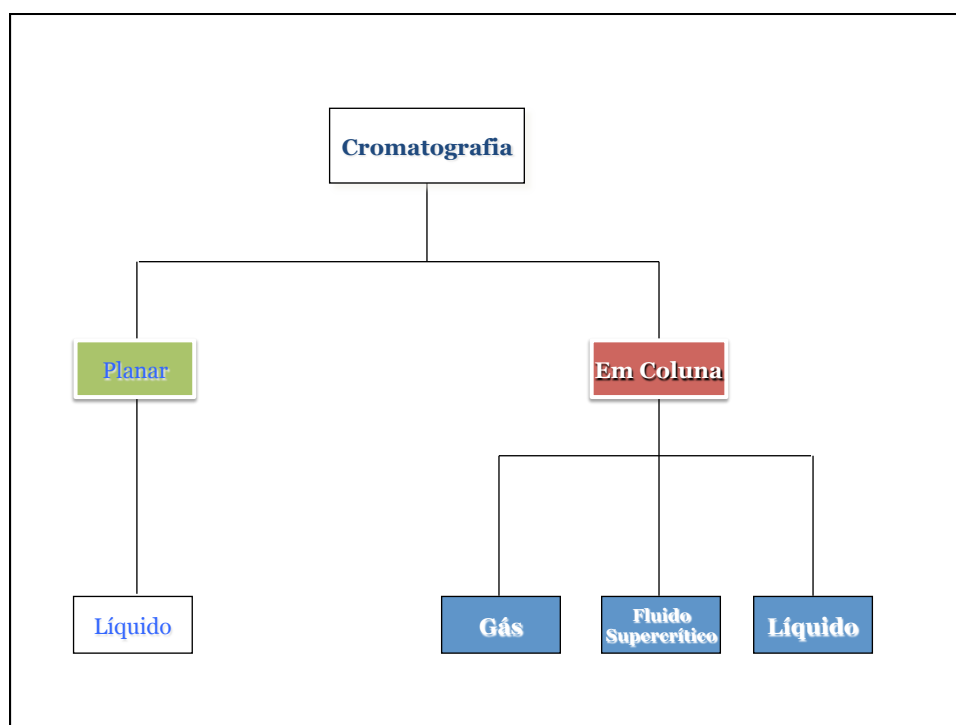
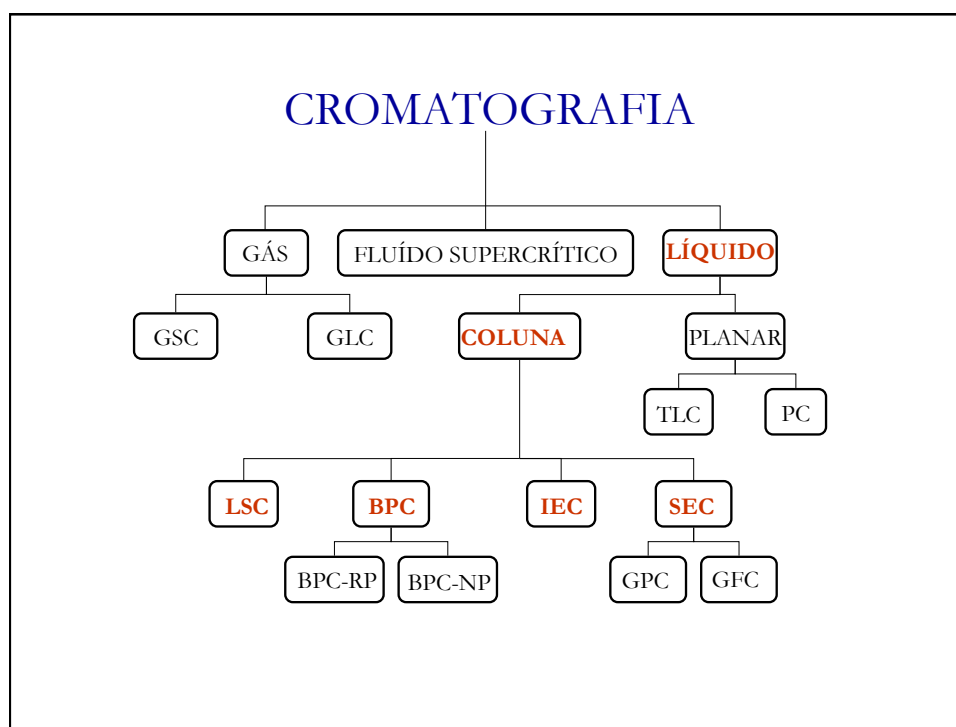
2015

### Cromatografia Líquida Clássica (coluna e planar)

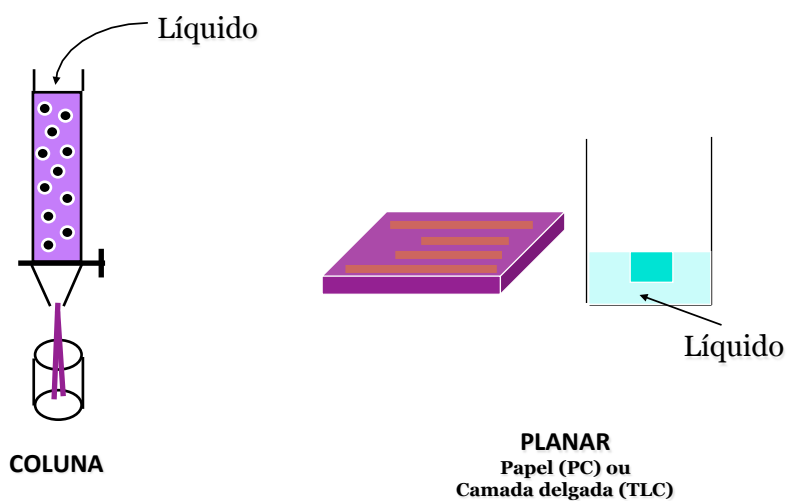
*Prof. Fernando M. Lanças*

## Classificação das Técnicas Cromatográficas

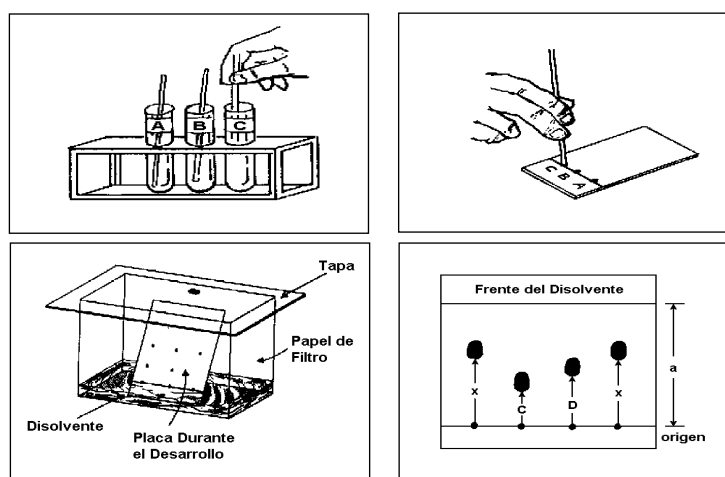
- **Fase móvel:** Gás, Líquido, Fluido Supercrítico.
- **Fase estacionária:** Tubo (coluna) ou Plano
- **Mecanismo:** Adsorção, Partição, Troca Iônica, ...



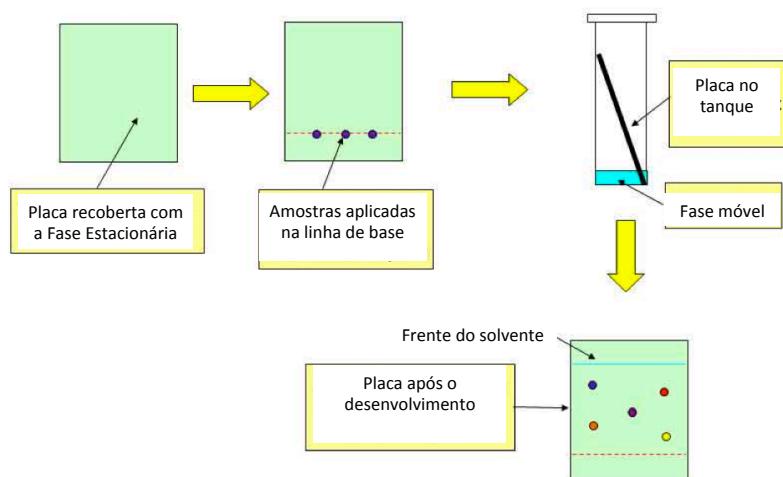
## Cromatografía Líquida (LC)



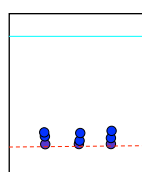
## Cromatografía Líquida Planar: Camada Delgada (TLC) ou Papel (PC)



## Etapas em TLC

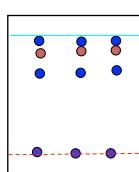


## Efeito da fase móvel em TLC



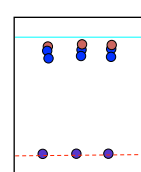
**Heptano / tolueno**  
(apolar)

A fase móvel é muito fraca comparada à fase estacionária



**Tolueno**

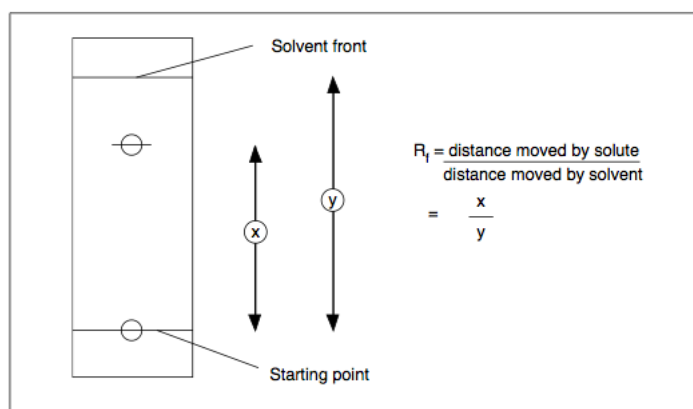
A fase móvel é suficientemente forte para resultar em uma discriminação entre os analitos



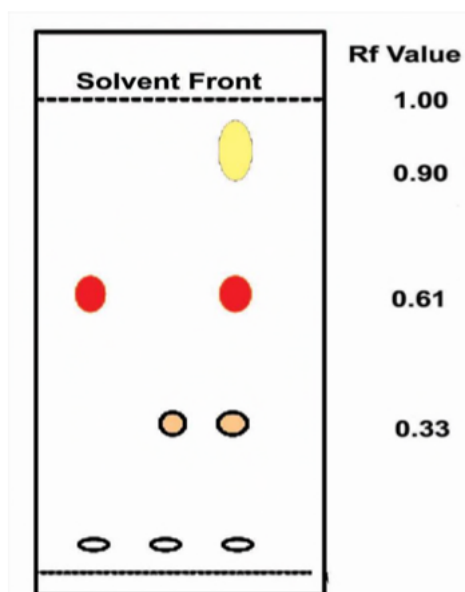
**Metanol / tolueno**  
(polar)

A fase móvel é muito forte comparada à fase estacionária

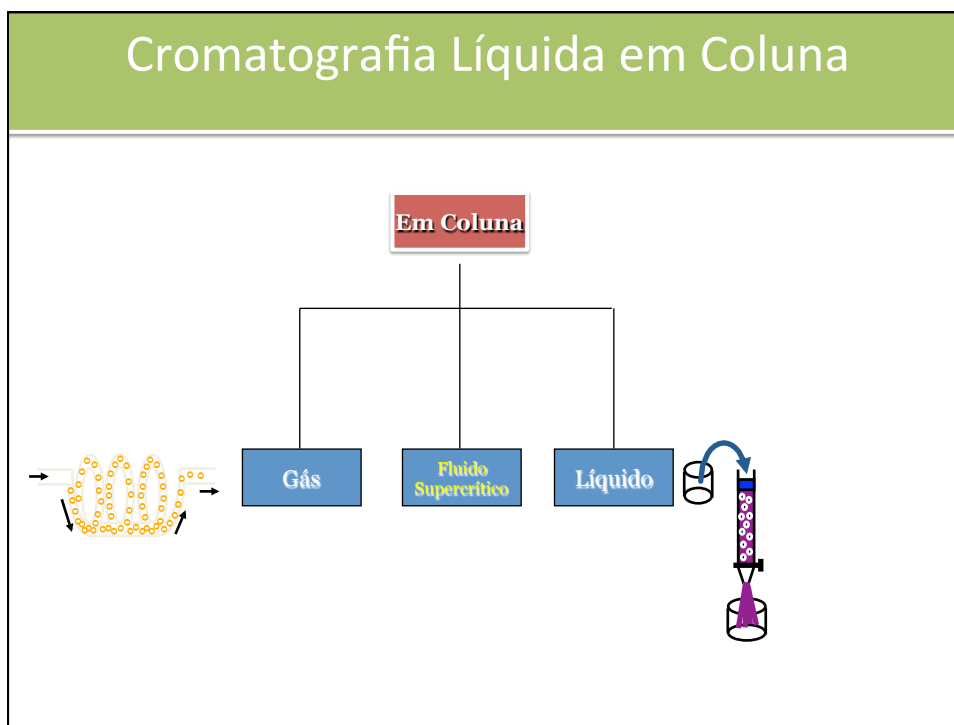
## A relação de retenção, R<sub>f</sub>



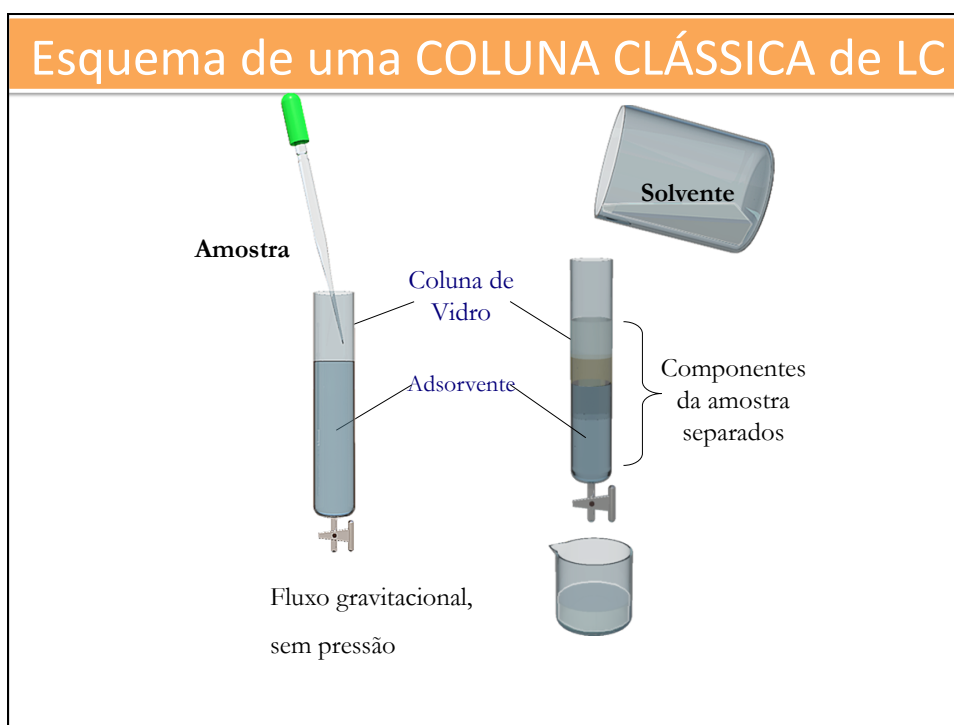
## Exemplo de aplicação



## Cromatografia Líquida em Coluna



## Esquema de uma COLUNA CLÁSSICA de LC



## Cromatografia Clássica em Coluna

### VANTAGENS

- **Baixo** Custo
- Simples
- Bom Método Preparativo

### LIMITAÇÕES

- **Lento**
- **Baixa** Resolução
- **Quantificação** Difícil

## Colunas para LC Preparativa



# Análise Instrumental II

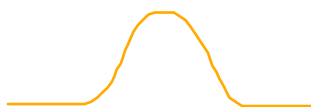
2015

Um pouco de Teoria e Cálculos

*Prof. Fernando M. Lanças*

Alargamento da banda cromatográfica:  
Cinética

Por que



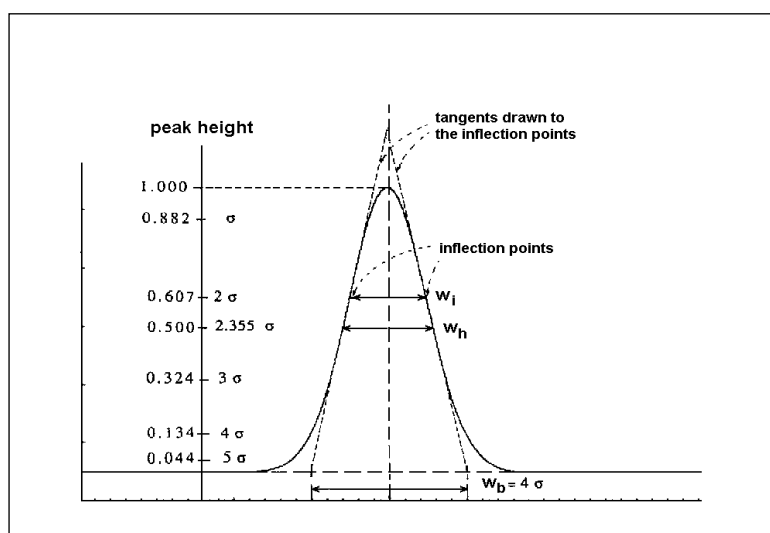
E não

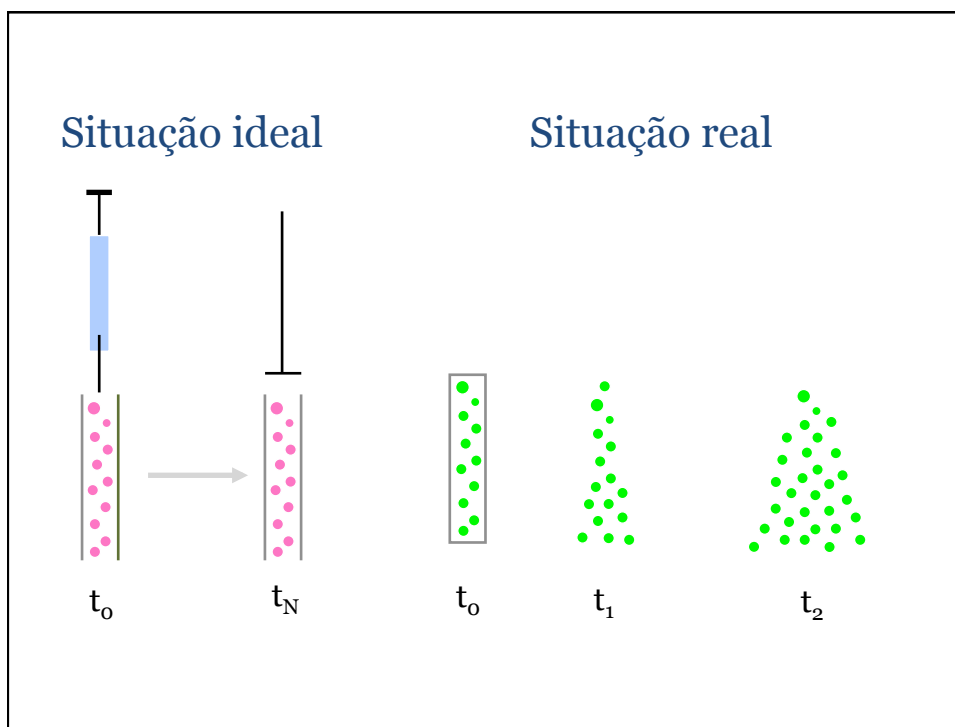




Como as moléculas se movem dentro de uma coluna cromatográfica ?

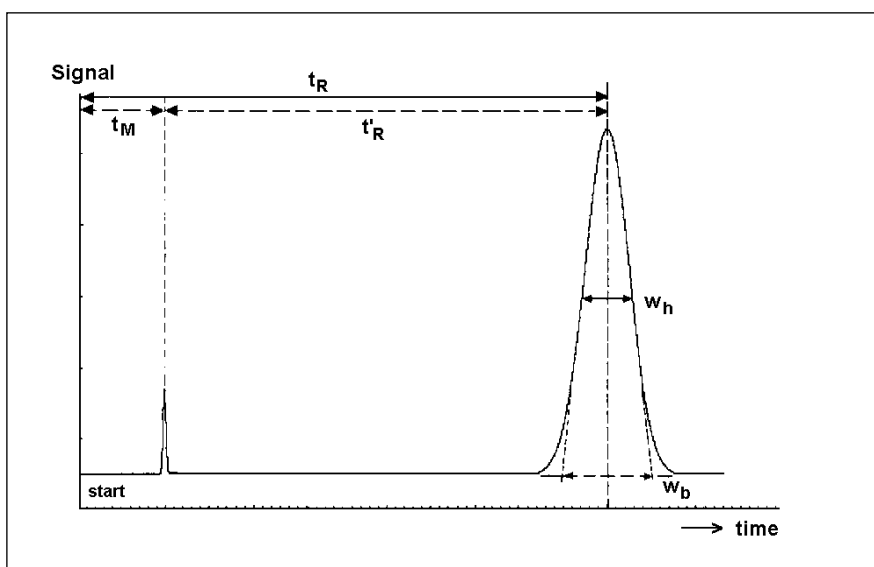
### Características de um Pico Gaussiano





Por que???


## Cromatograma Esquemático



### 1. Fator de Retenção, $k$

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad k = \frac{t'_R}{t_M} \quad [1]$$

- $t_M$  = tempo que uma molécula da fase móvel passa na coluna; denominado de “hold-up time”, tempo morto, ou tempo de retenção de um soluto não retido ( $t_0$ ).
- $t'_R$  = tempo de retenção ajustado ou tempo que o soluto passa na fase estacionária.

  $k$  é adimensional, enquanto que tempo de retenção não é.

## 2. Resolução, $R_S$

$$R_S = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(w_{b1} + w_{b2})} \quad [2]$$

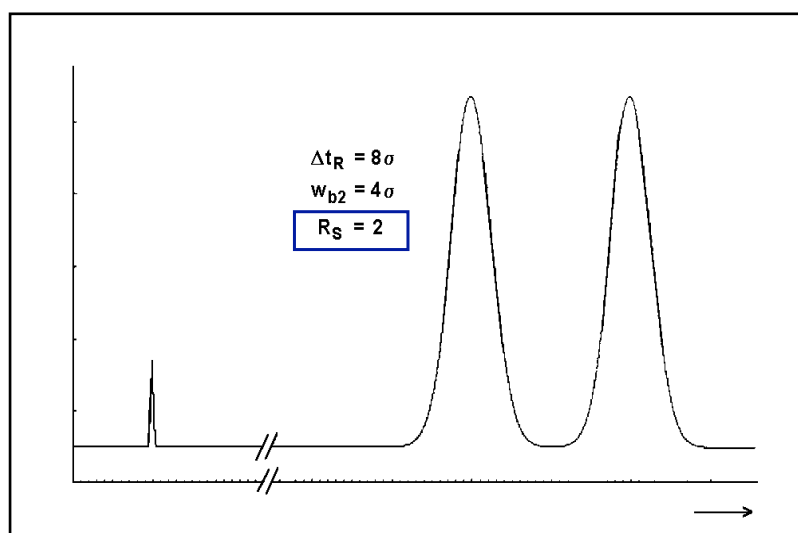
$R_S$  = Resolução entre dois picos;  $t_{R1}$  = Tempo de retenção do pico 1;  
 $t_{R2}$  = Tempo de retenção do pico 2;  $w_{b1}$  = Largura do pico 1 na base;  
 $w_{b2}$  = Largura do pico 2 na base.



Não confundir  $R_S$  com  $R$ , fator de retardamento, o qual fornece a fração do componente da amostra na fase móvel, e está relacionado ao fator de retenção,  $k$ .

$$R = \frac{1}{1 + k} \quad [3]$$

## 2. Resolução, $R_S$



### 3. Eficiência da Coluna

A **eficiência** de uma coluna cromatográfica é, usualmente, medida através do número de pratos teóricos,  $N$

[5]

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 \quad N = 16 \left(\frac{t_{R2}}{w_{b2}}\right)^2 \quad N = 5,54 \left(\frac{t_{R2}}{w_h}\right)^2$$



Quanto maior  $t_R$  e menor  $\sigma$  (ou  $w_b$  ou  $w_h$ ), maior será

$N$ .

### 3. Eficiência da Coluna

Outra maneira de medir-se a eficiência é através da **Altura Equivalente a um Prato Teórico,  $H$** :

$$H = \frac{L}{N} \quad [6]$$



$H$  é o comprimento necessário de uma coluna para gerar um prato teórico. Quanto maior  $N$  menor será  $H$  e mais eficiente a coluna.

## 4. Retenção Relativa, $\alpha$

O fator de separação,  $\alpha$ , é a relação existente entre o tempo que dois picos permanecem na fase estacionária.

[7]

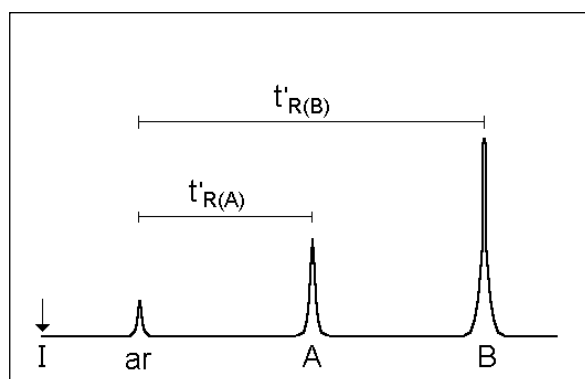
$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = \frac{K_2}{K_1}$$



Quanto maior o valor de  $\alpha$ , mais seletiva será a fase estacionária para aquele par de compostos.

## 4. Retenção Relativa, $\alpha$

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}}$$



## 5. Equação Mestre da Resolução

$$R_S = \frac{\sqrt{N}}{4} \frac{\alpha - 1}{\alpha} \frac{k_2}{1 + k_2} \quad [13]$$

## 8. Influência de $N$ , $\alpha$ e $k$ em $R_S$

- **1. Número de Pratos Teóricos,  $N$**

A resolução é proporcional a raiz quadrada de  $N$ .  
Aumentando-se  $N$  por um fator de 4 (por ex. de  $N = 20.000$  para  $N = 80.000$ ) a resolução dobrará ( $R_S = 1,40$  para  $R_S = 2,80$ ).

- **2. Fator de Separação,  $\alpha$**

Apresenta grande impacto em  $R_S$ .  
Aumentando  $\alpha$  de 1,05 para 1,10, a resolução praticamente dobra (de 1,40 para 2,68), enquanto que uma pequena diminuição em  $\alpha$  (de 1,05 para 1,03) causa drástica perda de resolução (de 1,40 para 0,86).

- **3. Fator de Retenção,  $k$**

Para valores superiores a 5, a influência de  $k$  em  $R_S$  é pequena.  
Aumentando  $k_2$  de 5 para 20 a resolução aumenta apenas 14% (de 1,4 para 1,6). Aumentando  $k_2$  de 0,25 para 5 a resolução aumenta em mais de 300% (de 0,37 para 1,4).

## 8. Influência de $N$ , $\alpha$ e $k$ em $R_s$

- **1. Número de Pratos Teóricos,  $N$**

A resolução é proporcional a raiz quadrada de  $N$ .  
Aumentando-se  $N$  por um fator de 4 (por ex. de  $N = 20.000$  para  $N = 80.000$ ) a resolução dobrará ( $R_s = 1,40$  para  $R_s = 2,80$ ).

- **2. Fator de Separação,  $\alpha$**

Apresenta grande impacto em  $R_s$ .  
Aumentando  $\alpha$  de 1,05 para 1,10, a resolução praticamente dobra (de 1,40 para 2,68), enquanto que uma pequena diminuição em  $\alpha$  (de 1,05 para 1,03) causa drástica perda de resolução (de 1,40 para 0,86).

- **3. Fator de Retenção,  $k$**

Para valores superiores a 5, a influência de  $k$  em  $R_s$  é pequena.  
Aumentando  $k_2$  de 5 para 20 a resolução aumenta apenas 14% (de 1,4 para 1,6). Aumentando  $k_2$  de 0,25 para 5 a resolução aumenta em mais de 300% (de 0,37 para 1,4).

## Resumo

- Para **aumentar a resolução  $R_s$** :

1.  **$k$  ideal:** entre 2 e 6
2.  **$\alpha$  ideal:** entre 1,05 e 1,20
3.  **$N$  ideal:** quanto maior, melhor (cuidado com  $t_R$ ).