

MÓDULO 02/2026

Análise Química I:
Físico-Química

CROMATOGRAFIA
AULA 4:
HPLC
(Parte II)

Prof. Dr. Jonas A. R. Paschoal



1



CONFIGURAÇÃO INSTRUMENTAL BÁSICA

2



3

SOLVENTE ORGÂNICO



- DEVE TER ALTO GRAU DE PUREZA.
 - ✓ As impurezas da fase móvel comprometer o sinal analítico do detector.
- DISSOLVER A AMOSTRA SEM DECOMPOR SEUS COMPONENTES.
 - ✓ O solvente da amostra, normalmente, é a própria FM ou um dos seus componentes.
- TER POLARIDADE E VISCOSIDADE ADEQUADAS.
- NÃO DEGRADAR A FASE ESTACIONÁRIA.
- SER COMPATÍVEL COM O DETECTOR UTILIZADO.

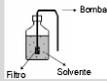
4

ÁGUA (OU SOLVENTE AQUOSO)

- ÁGUA MONO-DESTILADA E DEIONIZADA COMUM SÃO INADEQUADAS
 - ✓ Contaminação de orgânicos voláteis e de orgânicos da resina do filtro

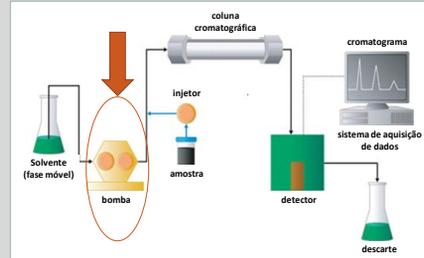
FILTRAÇÃO e DEGASEIFICAÇÃO DA FM

- ESSENCIAL



5

CONFIGURAÇÃO INSTRUMENTAL BÁSICA



6

- BOMBAS CROMATOGRÁFICAS:** tem por finalidade, produzir uma vazão constante e reprodutível de fm ao longo do sistema cromatográfico

MODO DE ELUIÇÃO DA FM

•ISOCRÁTICA

- ✓ A composição da FM é a mesma durante toda a eluição
Ex.: Metano/Água (80:20, v/v)

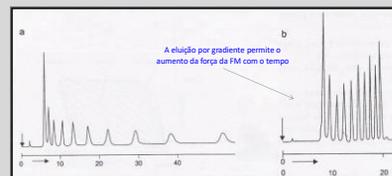
•GRADIENTE

- ✓ A composição da FM varia durante a eluição;
- ✓ Modo empregado na separação de misturas mais complexas

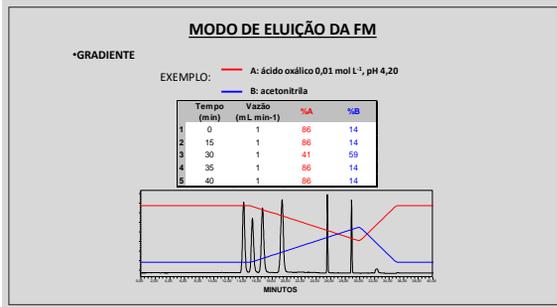
7

MODO DE ELUIÇÃO DA FM

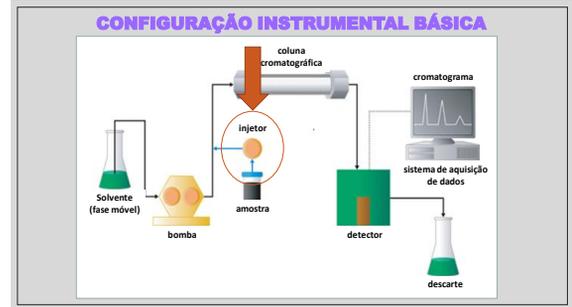
Exemplo de uma separação: a) isocrática; b) gradiente



8



9



10



11



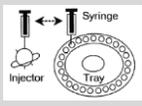
12



13

HPLC – Sistema de injeção

INJETOR AUTOMÁTICO




VANTAGENS

- ✓ Grande número de amostras sem intervenção do analista
- ✓ Programação de injeção (durante a noite)
- ✓ Permite operações como diluição, derivatização ou adição de reagentes

DESvantagem

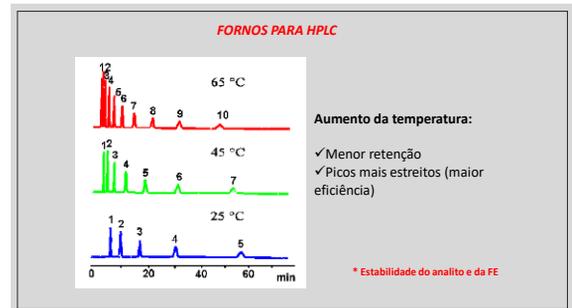
- ✓ Alto custo (aquisição e manutenção)

14



CONFIGURAÇÃO INSTRUMENTAL BÁSICA

15



16

FORNOS DE COLUNA PARA HPLC

Importante: O mecanismo de separação em HPLC não tem sua base principal ligada à temperatura, assim como ocorre em GC.

- ▶ Porém, melhores resultados são obtidos com colunas que tem sua temperatura controlada: MAIOR PRECISÃO DO t_R .
- ▶ Em colunas à base de sílica, a temperatura máxima utilizada não deve ultrapassar os 70 °C.
- ▶ Colunas com F.E. mais resistente à temperatura são disponíveis (por ex., colunas de zircônia).