

## RESUMO DA AULA 4 (2022)

### HPLC - Parte I

#### Principais conceitos abordados sobre HPLC (Parte I):

- HPLC é uma forma de cromatografia em coluna que se difere da CCC por fazer uso de uma FE com partículas menores e mais compactadas dentro da coluna, o que resulta em maior eficiência no processo de separação e que, por sua vez, demanda do uso de recursos (bombas cromatográficas) para que a FM possa eluir através da FE. Por esta razão, HPLC demanda por uma instrumentação mais sofisticada do que aquela empregada em CCC, onde na grande maioria das vezes, a FM eluição por ação da gravidade.
- Os cromatogramas obtidos de HPLC são representados por gráficos que correlacionam o tempo de corrida cromatográfica com a intensidade do sinal transmitida pelo sistema de detecção empregado (detectores serão vistos na próxima videoaula).
- As manchas cromatográficas obtidas em Cromatografia Planar (CP ou CCD) são representadas por picos cromatográficos em HPLC, com formatos triangulares.
- Da mesma forma discutida em Cromatografia Planar, em HPLC também se avalia a qualidade dos resultados obtidos através da medição de parâmetros como seletividade, resolução e eficiência.
- Enquanto na Planar,  $R_f$  é a medida cromatográfica obtida para cada analito (mancha), em HPLC é importante se obter o Tempo de Retenção Relativo para cada analito (pico), descontando-se o tempo do volume morto ( $T_M$ ).
- Da mesma forma que em Planar, manchas que se alargam durante a corrida analítica indica perda de eficiência, em HPLC, o alargamento dos picos também representa uma diminuição da eficiência.
- Eficiência é o número de Pratos Teóricos; sendo que cada Prato Teórico representa uma etapa de equilíbrio químico na distribuição das moléculas entre a FE e a FM.
- Diferentes colunas cromatográficas podem promover diferentes eficiências, a depender, principalmente, do seu comprimento, diâmetro interno e diâmetro das partículas da FE.

- Para se comparar as eficiências proporcionadas por colunas diferentes, deve-se tomar como referência o número de pratos oferecidos por centímetros de comprimento da coluna (L). Essa medida é conhecida como Altura Equivalente a um Prato Teórico (H).
- $H = L/N$
- Comparando colunas de mesmo tamanho, aquela que apresentar maior Eficiência (N) terá menor H.
- Para saber como uma coluna cromatográfica pode oferecer menor H, ou seja, ser mais eficiente (maior N), é preciso entender os fatores que afetam o alargamento dos picos cromatográficos.
- Van Deemter correlaciona 3 fatores responsáveis pelo alargamento dos picos cromatográficos (A, B e C) e relaciona cada um deles com a vazão da FM aplicada.
- De forma sumária, FE constituídas de partículas menores, regulares e uniformes oferecem menores H (consequentemente, maiores N) e, portanto, são mais eficientes. Além disso, são mais resistentes ao aumento de H quando se aumenta a vazão da FM, permitindo, portanto, análises mais rápidas sem comprometer a eficiência da separação.