

RESUMO DA AULA 2 (2022)

HPLC Parte II

Principais conceitos abordados sobre HPLC (Parte II):

- Os principais componentes em um instrumento de HPLC são: reservatório(s) da FM; bomba cromatográfica; injetor de amostras; coluna cromatográfica; detector.
- Os componentes a comporem a FM devem ser miscíveis entre si, de alto grau de pureza, e sem a presença residual de ar (necessidade de purga: degaseificação).
- A bomba cromatográfica deve ser o mais inerte possível quanto à composição química da FM; trabalhar pressão alta e de forma que garanta uma vazão da FM constante, pois do contrário, poderia promover alteração no(s) tempo(s) de retenção do(s) analito(s), comprometendo a precisão da análise. Para isso, deve ser capaz de variar a pressão (se necessário) para manter a vazão constante. Existem bombas que só permitem a eluição da FM em modo isocrático (sem alteração da FM ao longo da corrida cromatográfica) e as que permitem eluição em modo de gradiente (permite que a FM seja alterada durante a corrida cromatográfica). A eluição por gradiente permite a alteração da força da FM (alterando a proporção entre seus componentes) e a seletividade (quando se altera a composição da FM, inserindo ou trocando um dos seus componentes) durante a corrida cromatográfica.
- A amostra a ser injetada deve estar em condições miscíveis com a FM; se possível, de preferência, a amostra deve estar diluída em solução de igual composição da FM.
- O uso de forno de coluna contribui principalmente para uma maior precisão das análises.