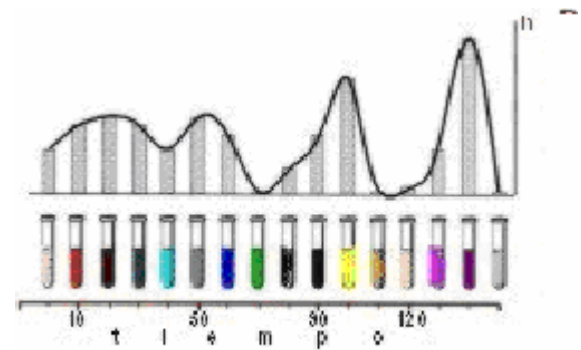
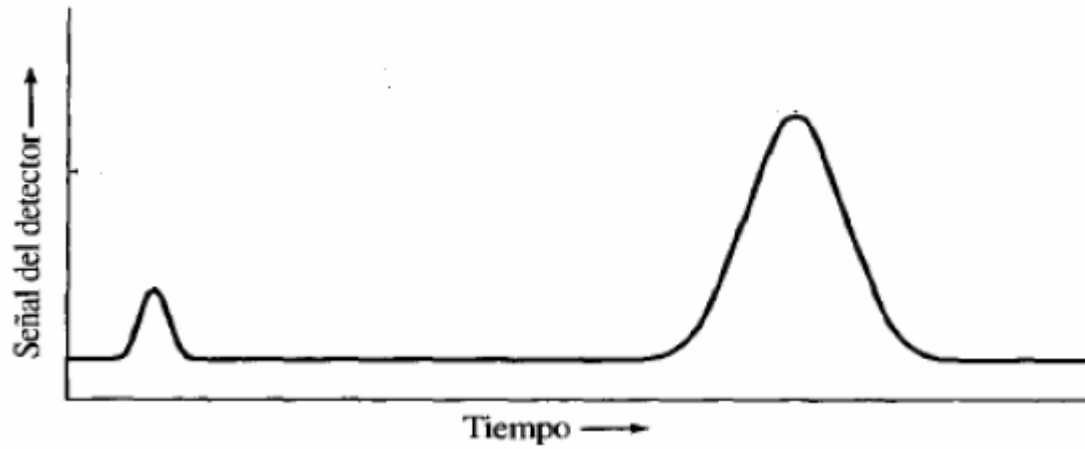


Parámetros cromatográficos

- El detector registra cambios en alguna propiedad de eluyente. Los cambios son registrados en función del tiempo. El diagrama de la respuesta del detector en función del tiempo se llama **cromatograma**



Cromatograma



Parámetros cromatográficos

- El término parámetro se emplea para referirse a una cantidad que toma diferentes valores y caracteriza a un proceso, operación o resultado.
- Los parámetros cromatográficos nos permiten tabular y comunicar los datos con mayor facilidad

Parámetros cromatográficos

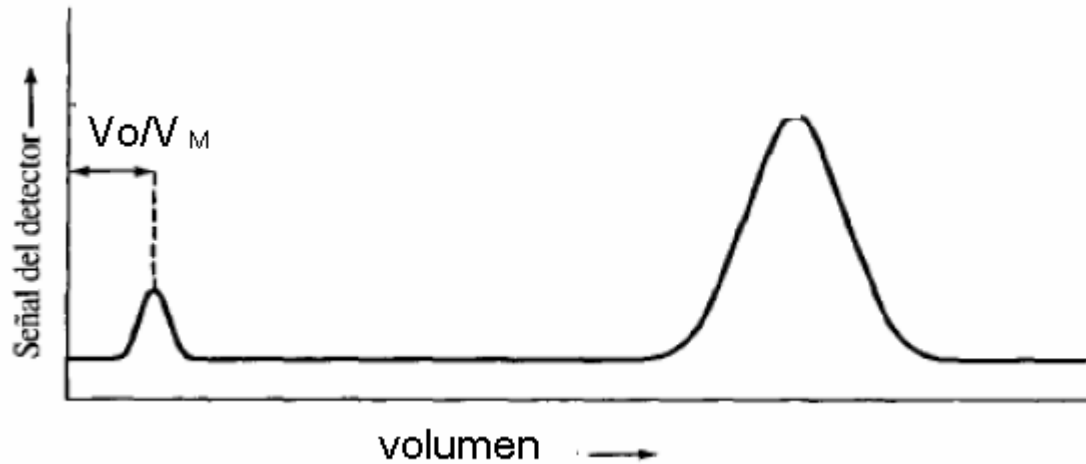
- Los parámetros cromatográficos que describen al cromatograma se correlacionan exitosamente con las descripciones de los procesos moleculares que ocurren en el curso de las separaciones.
- Los parámetros son datos primarios
- Las descripciones son modelos para explicar los fenómenos
- Los modelos son analogías matemáticas que se deducen de los datos y de la química descriptiva

Parámetros de las bandas individuales

V_M o V_0 : volumen muerto o volumen extra columna

- Es el volumen entre las partículas de fase estacionaria, más el volumen de la tubería y el detector.
- Es el volumen mínimo de eluyente que transporta a una sustancia no retenida por la fase estacionaria desde el punto de inyección hasta el detector.
- Para poder medirlo se inyecta una sustancia que no interaccione con la fase estacionaria junto con la muestra.
- Es el primer pico que aparece en el cromatograma.

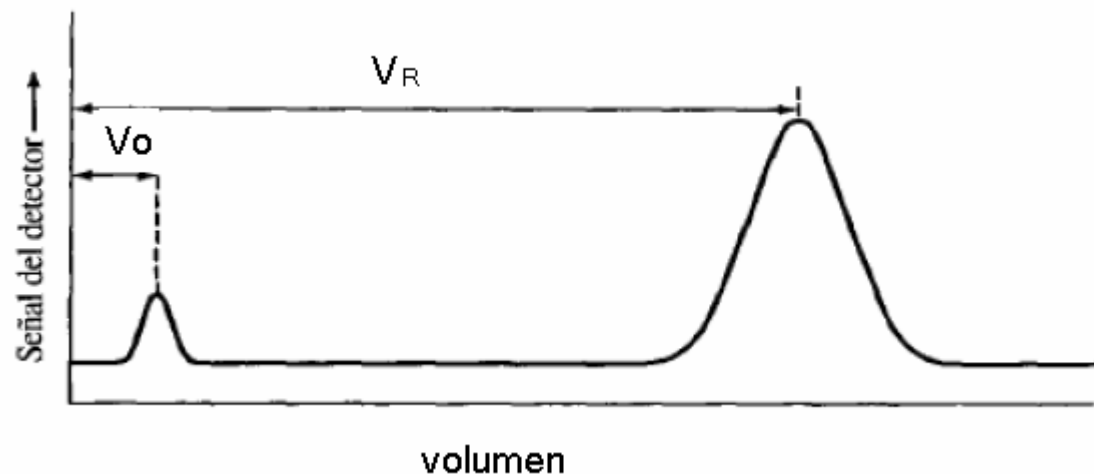
Volumen muerto



Parámetros de las bandas individuales

V_R : volumen de retención

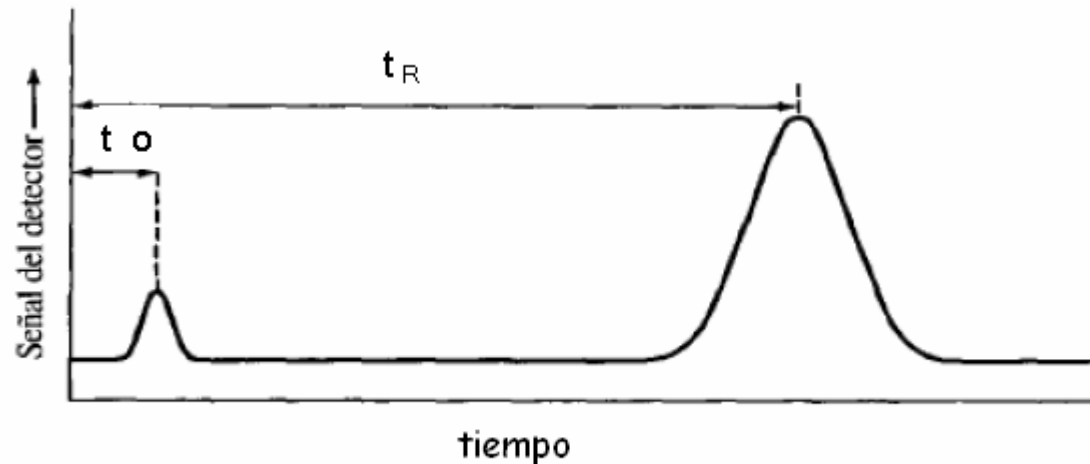
- Es el volumen que eluye de la columna desde la inyección de la muestra hasta que se produce el máximo del pico correspondiente a una sustancia que ha interactuado con la fase estacionaria.



Parámetros de las bandas individuales

t_R : tiempo de retención

- Es el tiempo que tarda un soluto que interacciona con la fase estacionaria para emerger de la columna, medido en el máximo del pico.

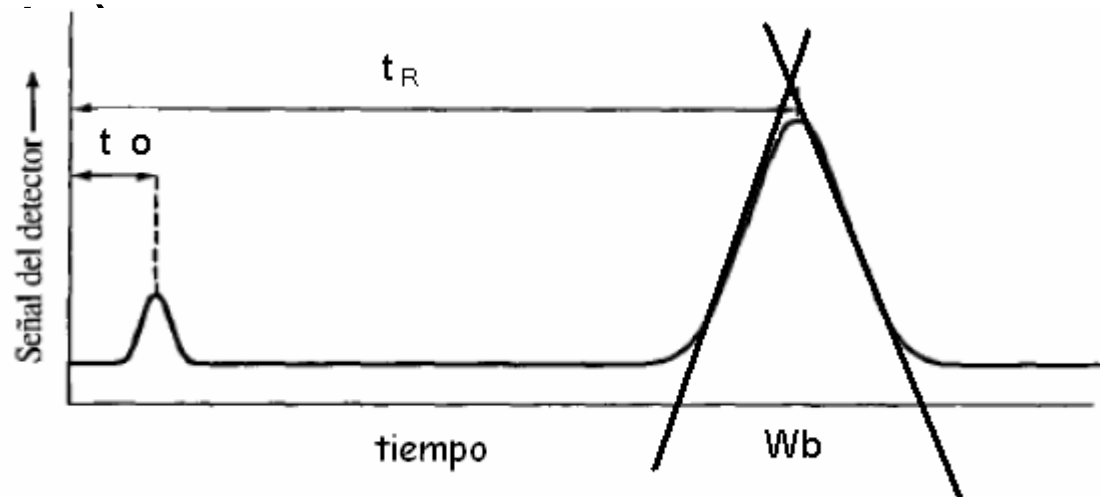


Parámetros de las bandas individuales

W_b : ancho del pico en la base

- Se obtiene trazando las tangentes en los puntos de inflexión a ambos lados del contorno de banda

($W_b =$



Parámetros cromatográficos

- Los picos o bandas de los cromatogramas son independientes por lo tanto cada conjunto de parámetros lo es.
- Cada una de las cantidades anteriores describen cada pico y cada pico (si está resuelto) es una única sustancia.

¿Qué podemos obtener de los parámetros anteriores?

- Con frecuencia se usan además otras cantidades para se obtienen de los parámetros anteriores:

- Volumen de retención neto:

$$V_{Ni} = V_{Ri} - V_M$$

- Tiempo de retención neto:

$$t_{Ni} = t_{Ri} - t_M$$

Ambos nos permiten caracterizar la sustancia sobre todo en cromatografía gaseosa

Eficiencia

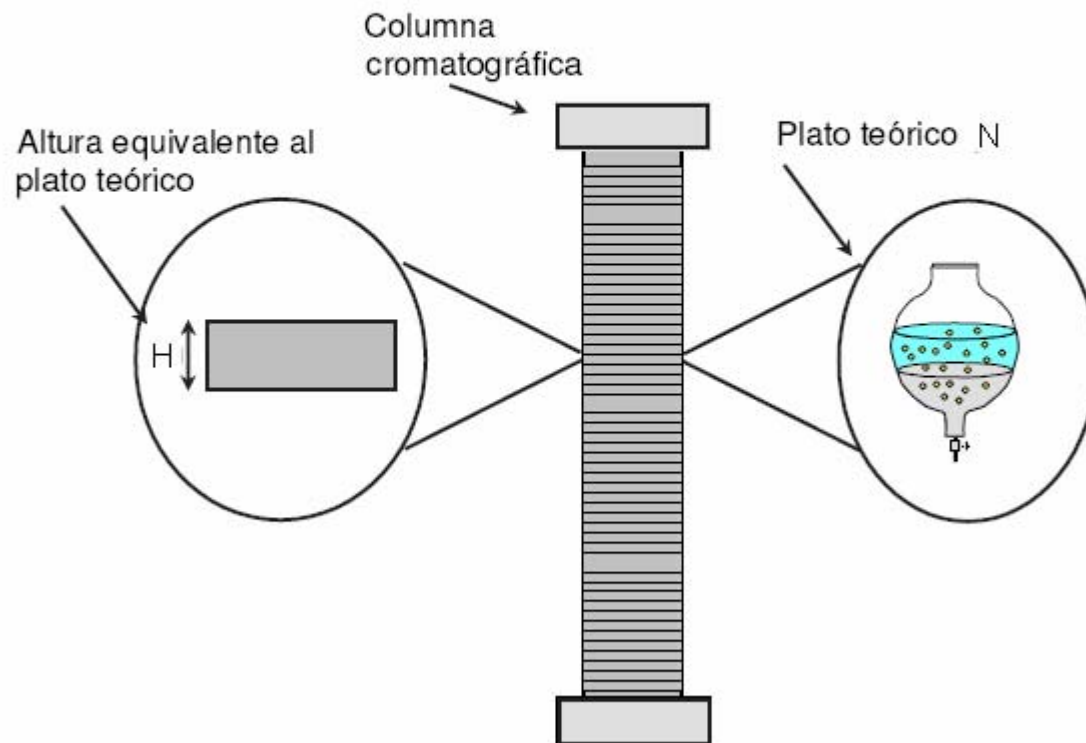
- Recordemos:

- El objetivo principal de las técnicas cromatográficas es separar los componentes de una muestra
- Cuanto más tiempo permanezca un compuesto dentro de la columna más interacciona con la fase estacionaria y más se separa de otro compuesto poco retenido por la fase estacionaria
- Definimos a la **eficiencia de una columna cromatográfica** para separar un componente de otro, como el grado de ensanchamiento de bandas que experimenta un compuesto a través de la columna.

Eficiencia

- Se han generalizado dos términos como medidas cuantitativas de la eficiencia de una columna cromatográfica:
 - ❖ Altura de plato o altura equivalente de plato teórico (HETP) H
 - ❖ Número de platos teóricos N

Teoría del plato teórico



Eficiencia

- La eficiencia **N** es una medida de la retención relativa del soluto en comparación con el ancho del pico.
- Es un parámetro útil para comparar separaciones cromatográficas efectuadas en distintas condiciones

Número de platos teóricos

- Cada banda tiene su propio número de platos teóricos.

$$N = \left(\frac{V_{Ri}}{\sigma_i} \right)^2 = 16 \left(\frac{V_{Ri}}{W_{ii}} \right)^2$$

$$N = \left(\frac{t_{Ri}}{\sigma_i} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_{Ri}}{W_{ii}} \right)^2$$

Eficiencia

- Altura equivalente de plato teórico
HETP = H

$$H = \frac{L}{N} = \frac{L}{16} \times \left(\frac{W_i}{t_{Ri}} \right)^2$$

$$H = \frac{L}{N} = \frac{L}{16} \times \left(\frac{W_i}{V_{Ri}} \right)^2$$

Problema

Un cromatograma con bandas gaussianas ideales tiene $t_R = 9,0$ min y $W_b = 4.0$ min. ¿Cuántos platos teóricos tiene? Si la columna tiene 10 cm de longitud ¿cuál es la HEPT?

$$N = 16(t_R/w_b)^2$$

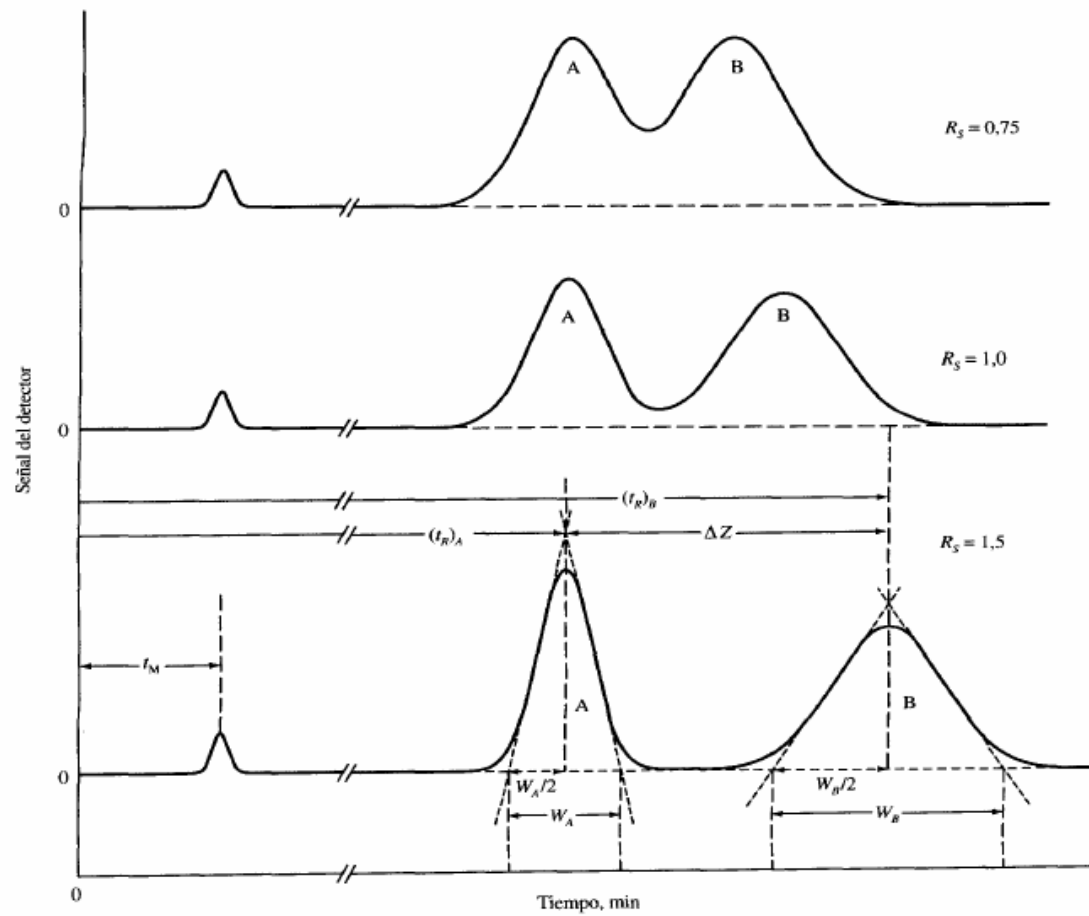
$$N = 16(9,0 \text{ min}/4.0\text{min})^2 = 81$$

$$H = L/N = 10 \text{ cm}/81 = 0,123 \text{ cm}$$

Resolución

- La **resolución** o grado de separación depende de la elección de la fase estacionaria, fase móvil, temperatura y longitud de columna
- Es una medida cuantitativa de la capacidad de la técnica cromatográfica para separar dos analitos

Resolución



Resolución

- R_s constituye una medida cuantitativa del grado de mezclado de los materiales

Resolución R_S	Contenido relativo de impurezas para bandas gaussianas de la misma área
1,5	0,001
1,0	0,023
0,8	0,045
0,5	0,16

Resolución a partir de parámetros cromatográficos

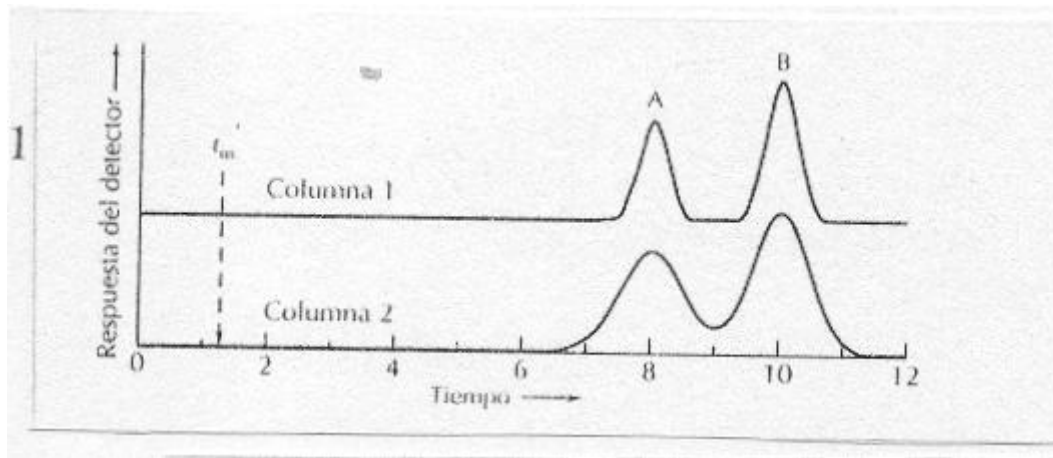
$$R_s = \frac{V_{R2} - V_{R1}}{\frac{1}{2}(W_2 + W_1)}$$

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(W_2 + W_1)}$$

Problema

Los cromatogramas de los compuestos A y B que se muestran en la figura se obtuvieron empleando dos columnas de la misma longitud y con el mismo caudal

- ¿Cuál de las dos columnas tiene mayor número de platos teóricos?
- ¿Qué columna tiene mayor altura de plato teórico?
- ¿Qué columna tiene mayor resolución?



Problema

Los siguientes datos corresponden a una columna para cromatografía líquido, cuya longitud es de 24,7 cm, el caudal es de 0.313 mL/min y el V_M de 1,37 mL

El cromatograma de una mezcla de especies A, B, C y D proporciona los siguientes datos:

analito	Tiempo de retención	Ancho de base
A	5,4 min	0,41 min
B	13,3 min	1,07 min
C	14,1 min	1,16 min
D	21,6 min	1,72 min

Factores que influyen en el ensanchamiento de bandas

- El ensanchamiento de las bandas es una consecuencia de la velocidad finita a que tienen lugar los distintos procesos de transferencia de materia que ocurren durante la migración de un soluto a medida que desciende por la columna.

Factores que influyen en el ensanchamiento de bandas

- Algunas de estas velocidades se pueden controlar por ajustes de variables experimentales, permitiendo así mejoras en las separaciones. Las variables más importantes son:
 - Velocidad de la fase móvil
 - Coeficiente de difusión del analito en la fase móvil
 - Coeficiente de difusión del analito en la fase estacionaria
 - Diámetro de las partículas en el empaquetado
 - Espesor de la capa líquida de la fase estacionaria

Ecuación de van Deemter

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

Ecuación de van Deemter difusión turbulenta o efecto Eddy.

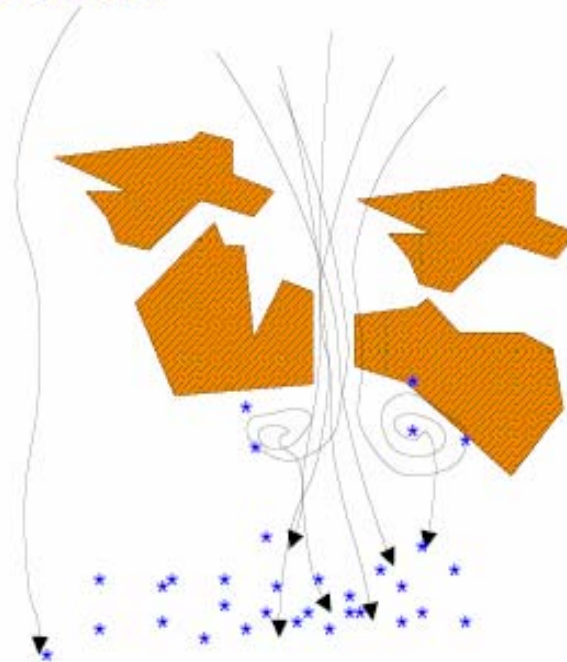
- El término A proviene de considerar la **difusión turbulenta o efecto Eddy**.
- Es una constante que no depende de la velocidad de fase móvil, sino que depende principalmente del diámetro de las partículas de relleno.
- Este término se hace cero para columnas capilares y muy pequeño para columnas muy bien empacadas.
- Esto nos indica una ventaja del uso de columnas capilares (tubulares abiertas) que permiten un rápido intercambio entre las moléculas del analito entre la fase móvil y la fase estacionaria.

DIFUSIÓN EN REMOLINO

MOLÉCULAS DE SOLUTO



ZONA INICIAL



ENSANCHAMIENTO
DE LA ZONA

$$= 2\lambda d_p$$

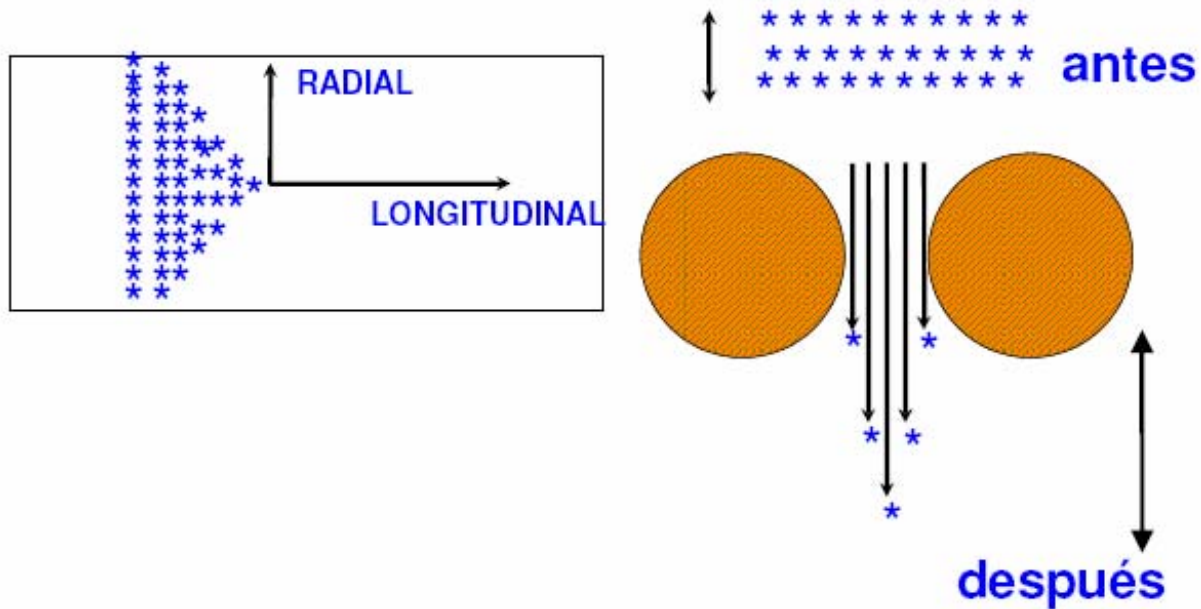
λ : Irregularidad del empaquetamiento
 d_p : Diámetro de partícula

Ecuación de van Deemter

difusión molecular longitudinal

- La difusión es un proceso por el cual las especies migran desde una parte más concentrada del medio a otra más diluida.
- La difusión longitudinal se debe a la migración del soluto desde el centro más concentrado de una banda a las regiones más diluidas a ambos lados de la misma, como puede observarse en la figura.
- La magnitud del término B está determinada en gran parte por el coeficiente de difusión del analito en la fase móvil.
- Es predominante a bajas velocidades de flujo de la fase móvil ya que las moléculas del analito tienen más tiempo de difundir.

DIFUSIÓN MOLECULAR



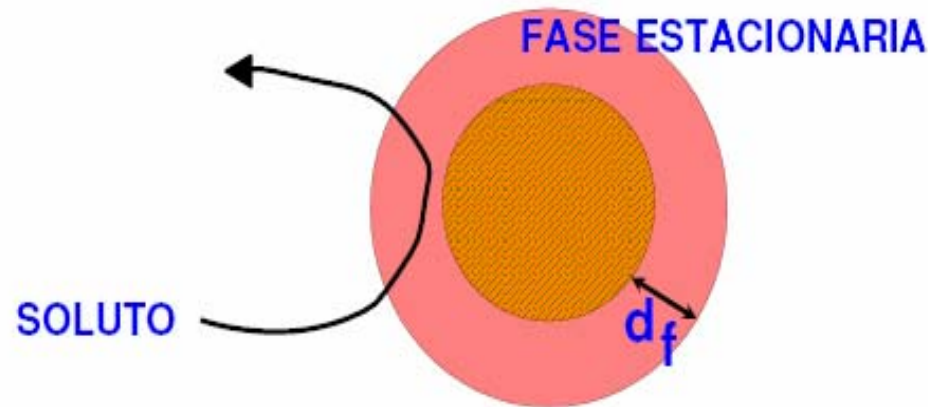
$$= 2\gamma D_G \left\{ \begin{array}{l} \gamma: \text{Factor de "Tortuosidad"} \\ D_G: \text{Coeficiente de difusión del soluto} \\ \text{en la fase móvil} \end{array} \right.$$

Ecuación de van Deemter

Transferencia de masa

- El término C proviene de considerar la **transferencia de masa**, considera los equilibrios del soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Las moléculas de soluto requieren de un tiempo para difundir en el interior de las fases móvil y estacionaria
- Estos equilibrios se alcanzan lentamente. En consecuencia las moléculas de analito en el frente de la banda migran hacia delante antes de que tengan tiempo de equilibrarse con la fase estacionaria y por lo tanto ser retenidos por ella.
- De forma análoga, no se alcanza el equilibrio en la cola de la banda y las moléculas quedan retrasadas en la fase estacionaria por el rápido movimiento de la fase móvil.
- Este término C es más importante a altas velocidades

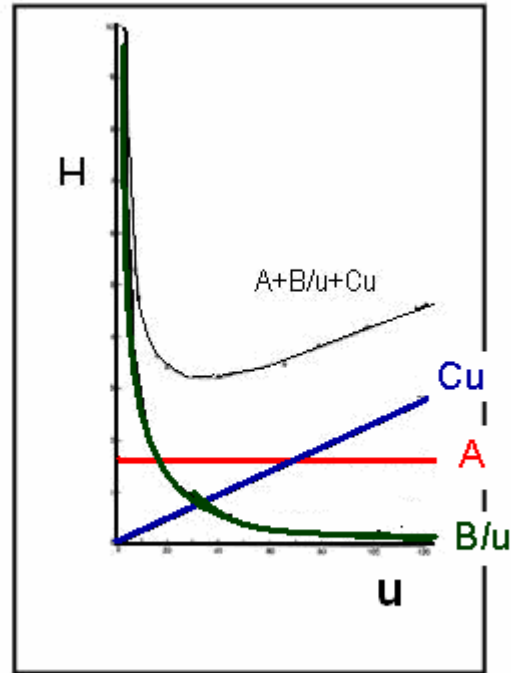
RESISTENCIA A LA TRANSFERENCIA DE MASA EN LA FASE ESTACIONARIA



$$\frac{8 K' d_f^2}{\pi^2 (1+K')^2 D_L}$$

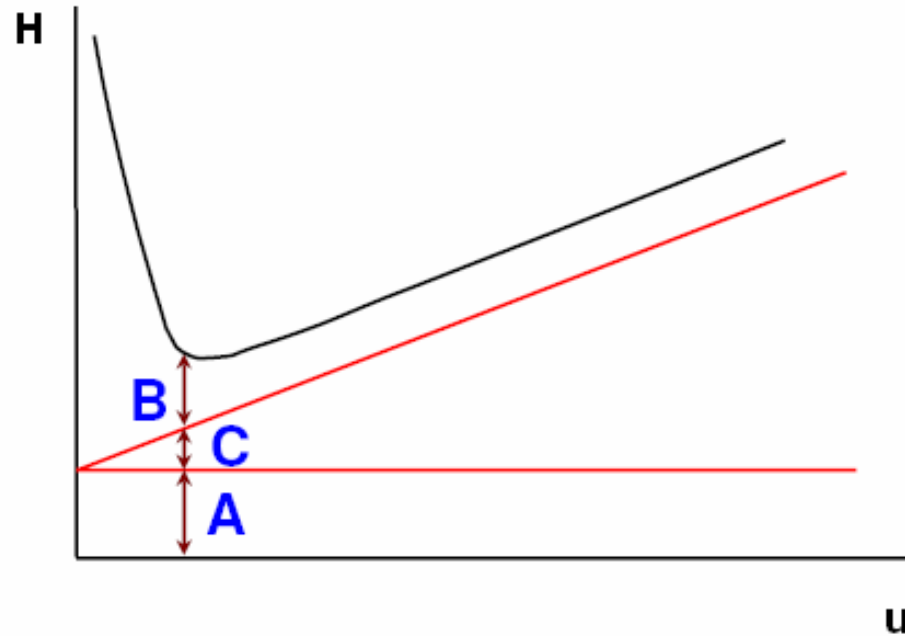
- K' : Factor de Capacidad
- d_f : Espesor de la película de fase estacionaria
- D_L : Coeficiente de difusión del soluto en la película de fase estacionaria

Ecuación de van Deemter



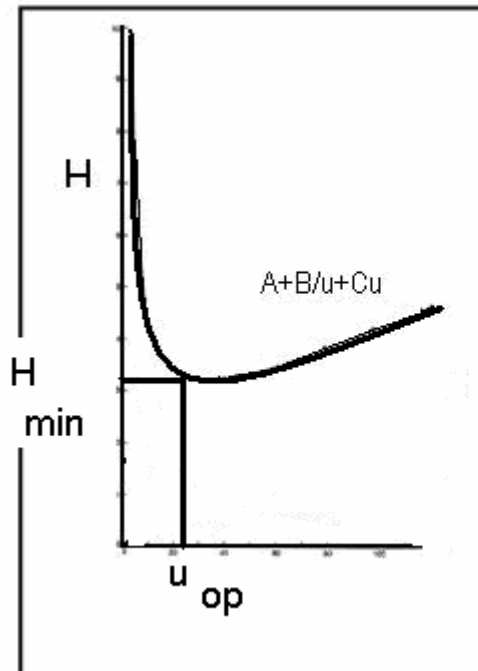
$$H = A + B/u + C \times u$$

ECUACION DE VAN-DEEMTER



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

Ecuación de van Deemter



Existe una velocidad óptima para la operación de cualquier columna, a la cual la altura de plato alcanza su valor mínimo

- Si la velocidad de la fase móvil es óptima
Entonces
- La eficiencia es máxima

$$H_{\min} = L/N_{\max}$$

Que es lo que buscamos en la cromatografía para mejorar la separación.