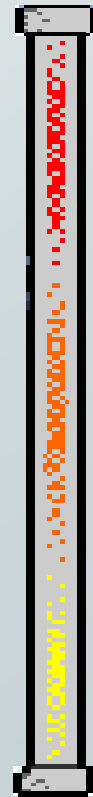
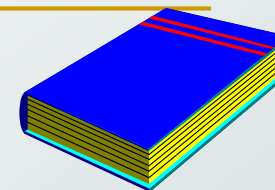

INTRODUCCIÓN A LAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

ÍNDICE

- Definición
- Clasificación
- Principios básicos: teoría termodinámica, plato teórico, teoría cinética
- Eficacia
- Resolución: optimización de parámetros cromatográficos
- Análisis cuantitativo



BIBLIOGRAFÍA

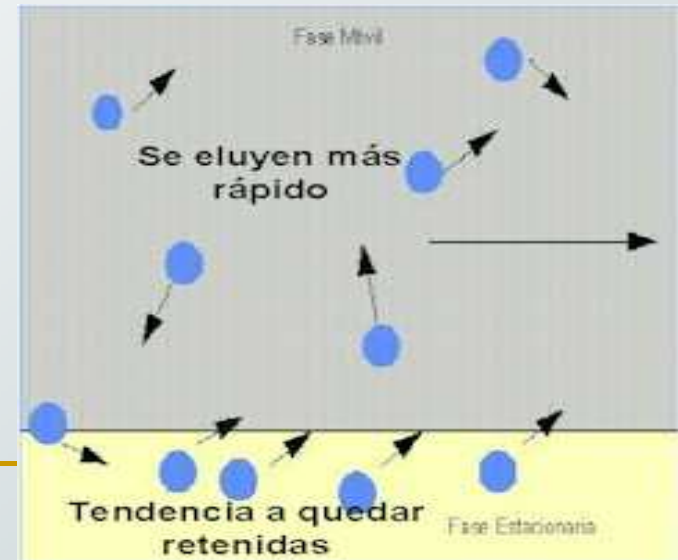


- D.A. SKOOG, F.J. HOLLER Y T.A. NIEMAN. “Principios de Análisis Instrumental”. Mc Graw Hill. 2001
 - SKOOG, WEST, HOLLER & GROUCH, “Fundamentos de Química Analítica”, Thomson & Paraninfo, España, 2005
 - D. C. HARRIS “ Análisis Químico Cuantitativo”, Ed. Reverté, Barcelona, 2007
 - M. VALCARCEL CASES y A. GÓMEZ HENS. “Técnicas analíticas de Separación”. Ed. Reverté S.A., Barcelona (España), 1994
 - L.M. POLO DÍEZ. “Fundamentos de Cromatografía” Dextra Editorial, 2015
 - http://www.iupac.org/publications/analytical_compendium, (10-01-2018)
 - http://www.shsu.edu/~chm_tgc/sounds/sound.html (10-01-2018)
 - <http://www.shu.ac.uk/schools/sci/chem/tutorials>, (10-01-2018)
-

Definiciones

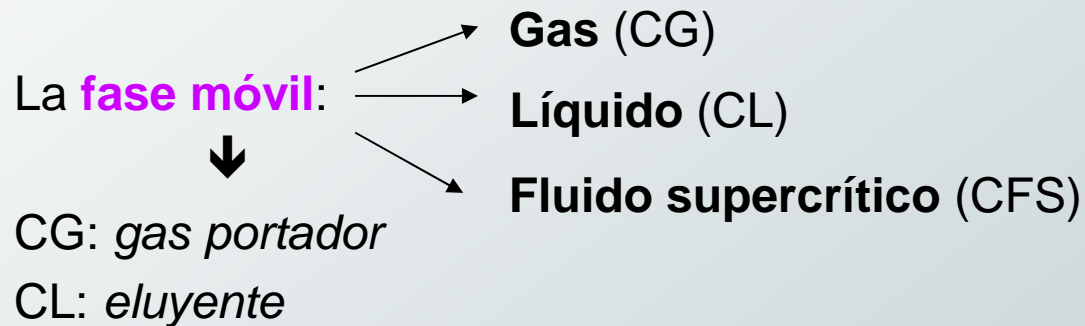
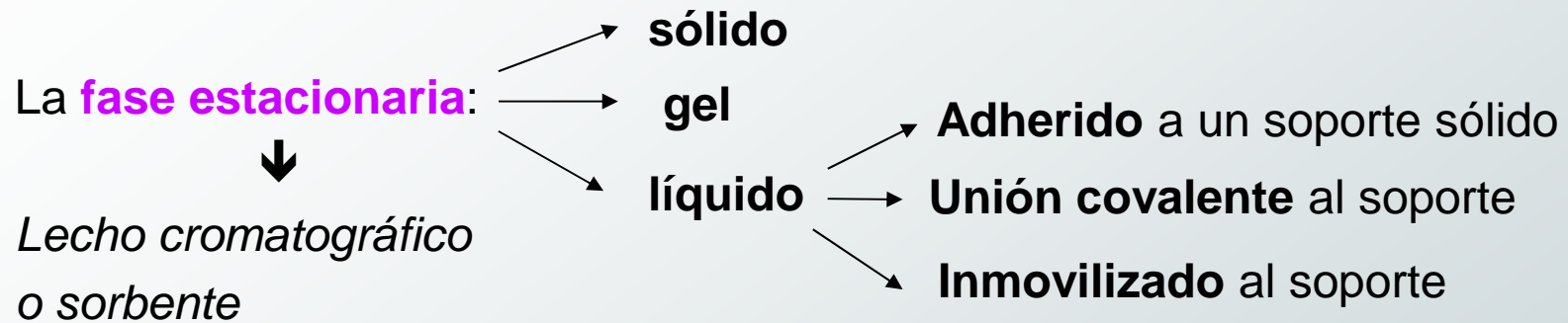
“CROMATOGRAFÍA”:

Método físico de **separación** en el que los componentes de una mezcla (solutos) se distribuyen entre dos fases: una de las cuales está en reposo (**fase estacionaria**), mientras que la otra (**fase móvil**) se mueve en una dirección definida*.



* Definiciones de la IUPAC

Definiciones

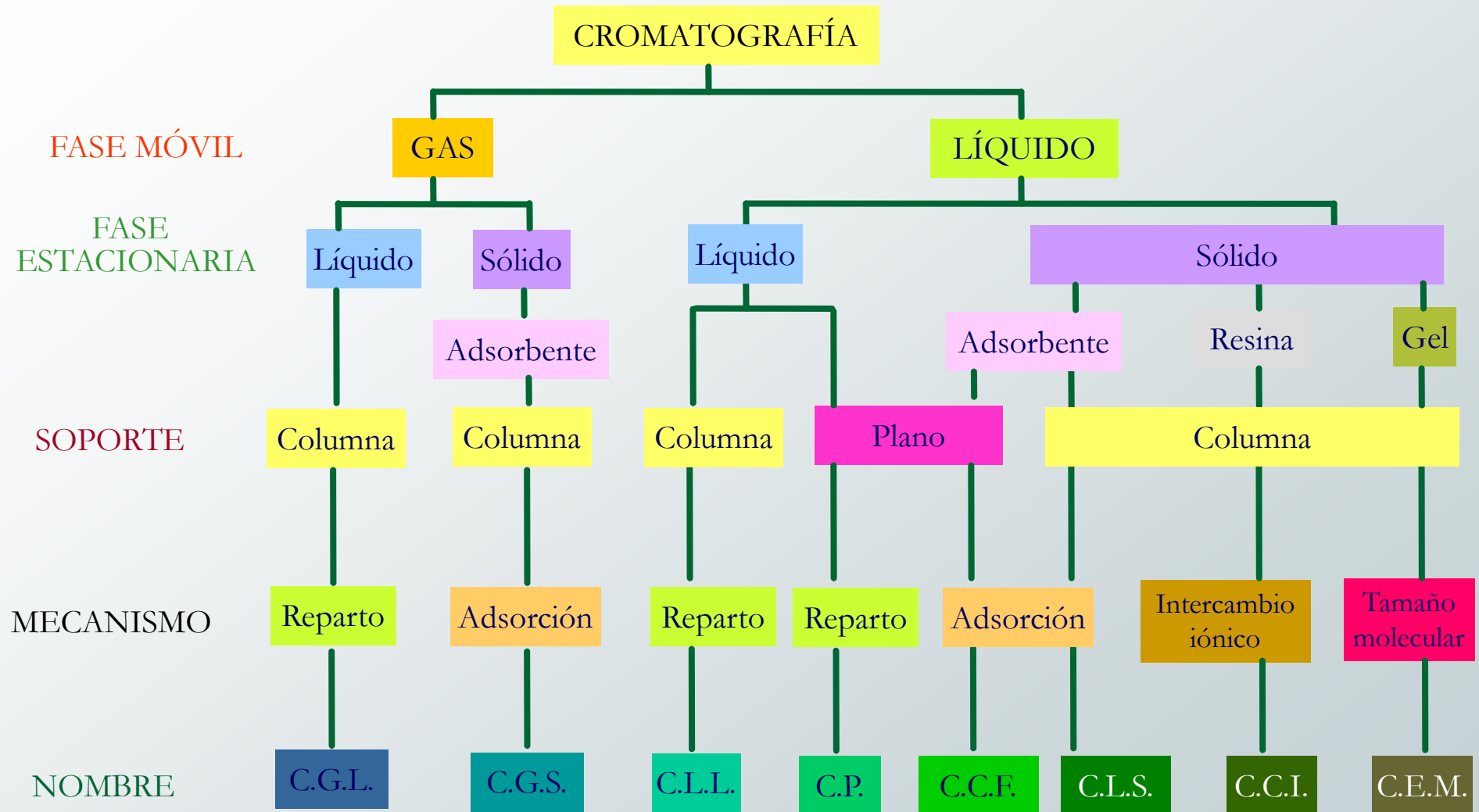


CG: cromatografía de gases
CL: cromatografía de líquidos
CFS: cromatografía de fluidos supercrítico

Clasificaciones

- a) Configuración de la **fase estacionaria** →
 - en columna
 - plana
- b) Polaridad: →
 - Fase normal
 - fase inversa
- c) Estado físico de la **fase móvil**
 - - de gases
 - de líquidos
 - de fluido supercrítico
- d) Mecanismo de **retención-separación**
 - - adsorción
 - reparto
 - intercambio ionico
 - exclusión
 - afinidad

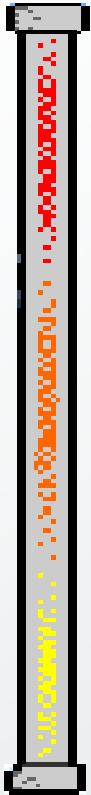
Clasificaciones



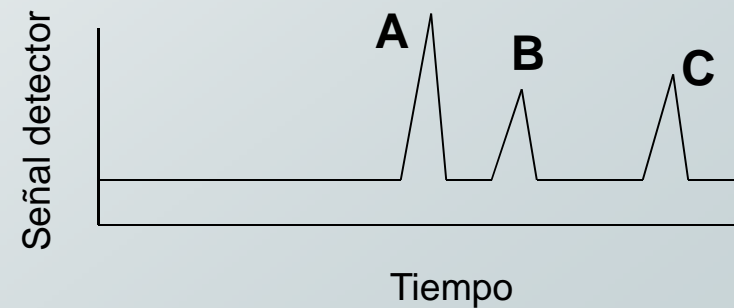
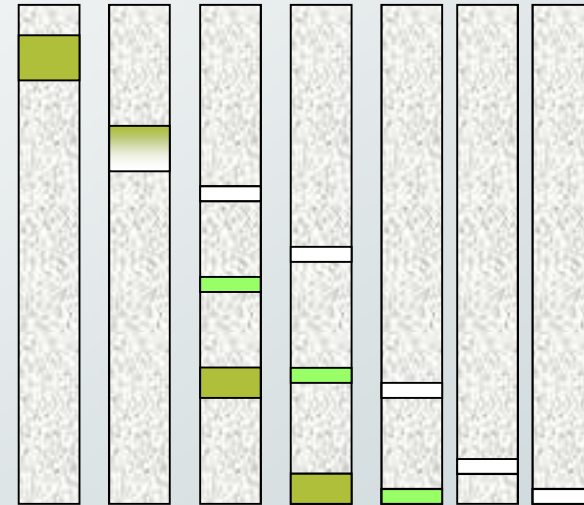
configuración del lecho cromatográfico

➔ Cromatografía en columna

Técnica de separación en la que la fase estacionaria está dentro de un tubo. Las partículas de la fase estacionaria sólida o del soporte recubierto con la fase estacionaria líquida pueden llenar el volumen interno del tubo (**columna rellena**) o concentrarse a lo largo de la pared interna del tubo dejando un camino abierto sin restricción, en la parte media, por el que circula a la fase móvil (**columna abierta**).



A+B+C

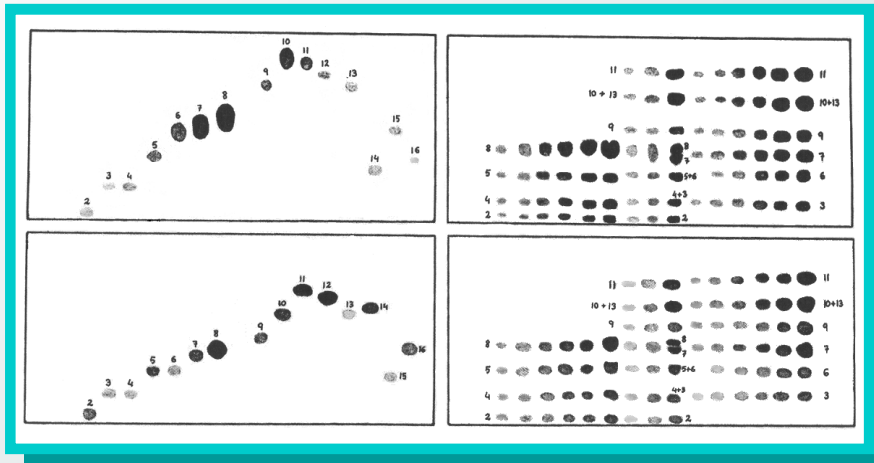


configuración del lecho cromatográfico

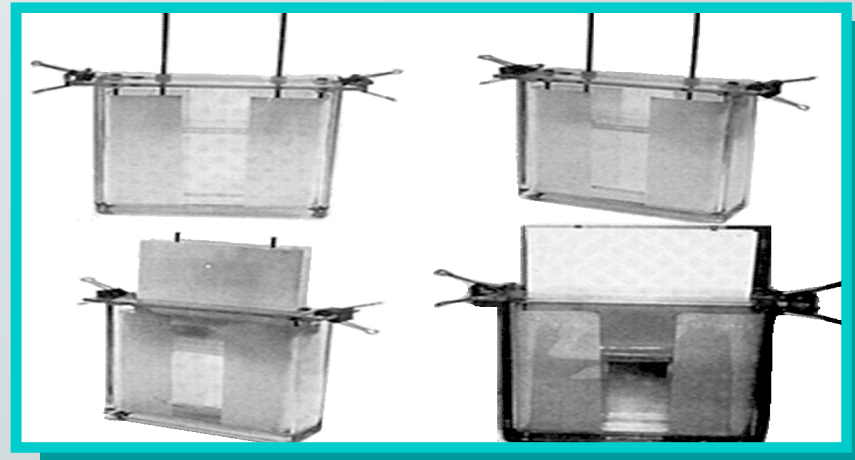
➔ Cromatografía plana

Técnica separación la que la fase estacionaria es un plano o está sobre un plano. Este plano puede ser un papel utilizado como tal, o impregnado con una sustancia a modo de lecho estacionario (**cromatografía en papel**) o bien una capa de partículas sólidas que recubren un soporte, como por ejemplo una capa de vidrio (**cromatografía en capa fina**)

CROMATOGRAMAS DE AZÚCARES



CAPA FINA CONTINUA



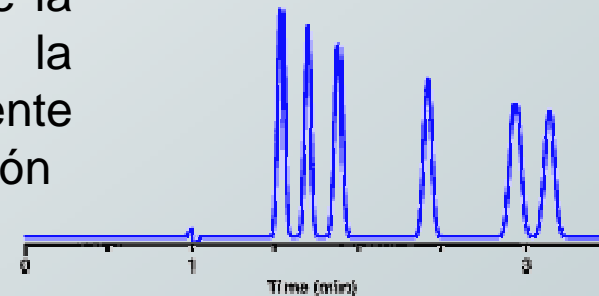
Teoría Termodinámica

Separación cromatográfica: Equilibrio continuo de soluto entre dos fases

Elución: Hacer pasar un líquido o un gas (fase móvil) a lo largo de una columna a una determinada velocidad (**caudal o flujo**)

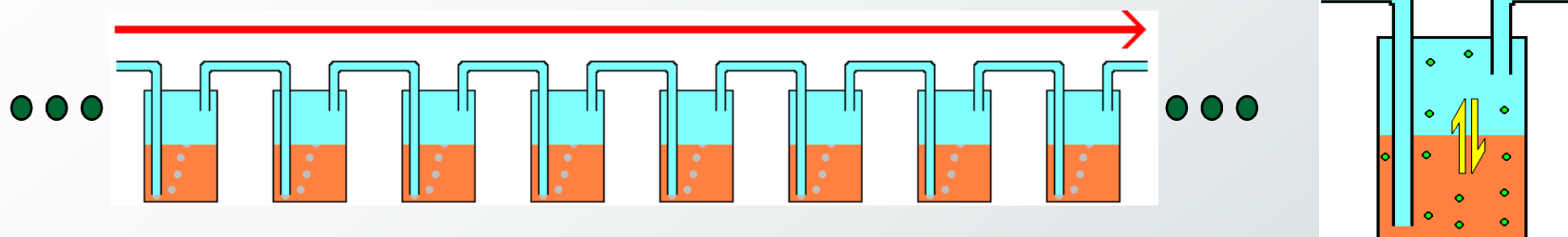
Cromatograma: Representación gráfica de la **respuesta** de un detector (función de la concentración del analito en el efluente), frente al volumen de elución, o del tiempo de elución

Aspectos termodinámicos y cinéticos de la separación quedan reflejados en la situación y forma del pico



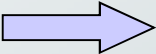
Teoría termodinámica de los Platos teóricos

- Se considera que una columna está compuesta por N segmentos a los que se les denomina “**platos teóricos**”.



- En cada uno de ellos tiene lugar el **equilibrio** del soluto entre la **fase móvil** y la **fase estacionaria**”.
- La **altura equivalente de plato teórico** es el número de platos teóricos por unidad de longitud de la fase estacionaria

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

- Cuanto **menor** sea la **altura** del **plato teórico**, mayor será el n° de ellos en una columna  **Mayor eficacia**

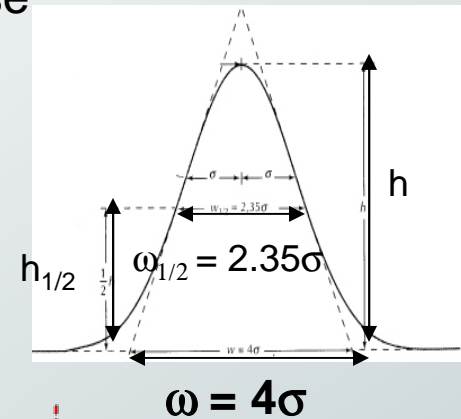
Teoría termodinámica de los Platos teóricos

$$N_{ef} = \frac{L}{H} = \left(\frac{t'_r}{\sigma} \right)^2$$

➤ Para **picos simétricos** el nº platos teóricos (**N**) se calcula a partir de la expresión:

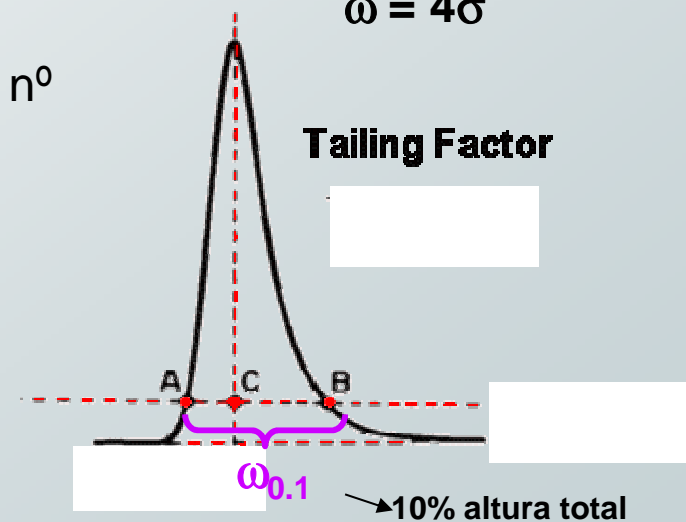
$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$$

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$$



➤ Cuando tenemos **picos asimétricos** el nº platos teóricos (**N**) se convierte en:

$$N = \frac{41.7(t_R / \omega_{0.1})^2}{A/B + 1.25}$$



Buena eficacia: Picos estrechos. Depende de N

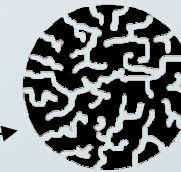
Aspectos cinéticos de la cromatografía

$$AEPT = A + \frac{B}{v} + C v$$

Descripción más realista tiene en cuenta la velocidad finita para el equilibrio del soluto

➤ La **forma** y **anchura** de los picos depende de:

- ❖ Velocidad de elución (Cv)
- ❖ Difusión del soluto (B/v)
- ❖ Diferente trayectorias en la FE (A)

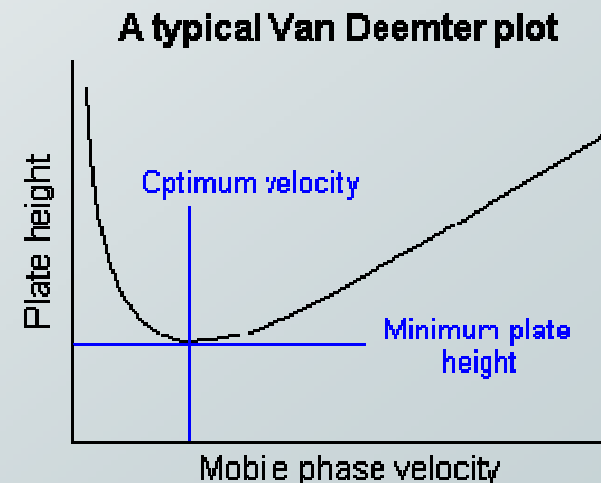


Ecuación de van Deemter

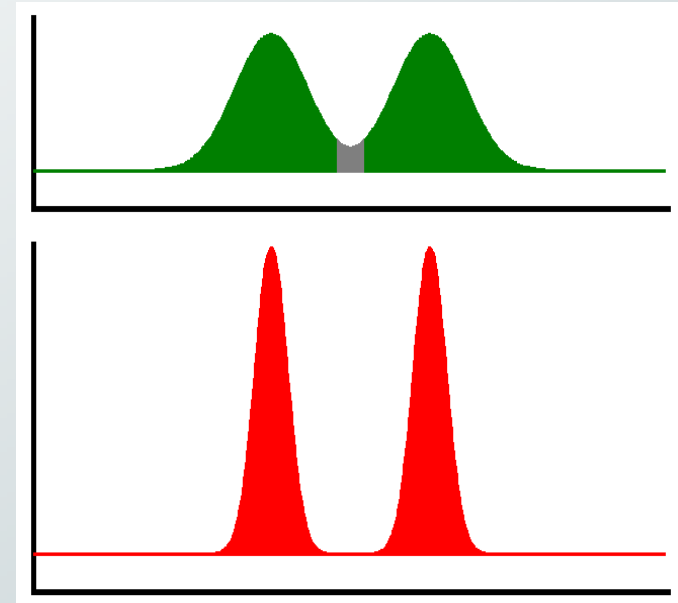
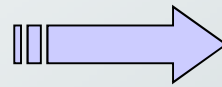
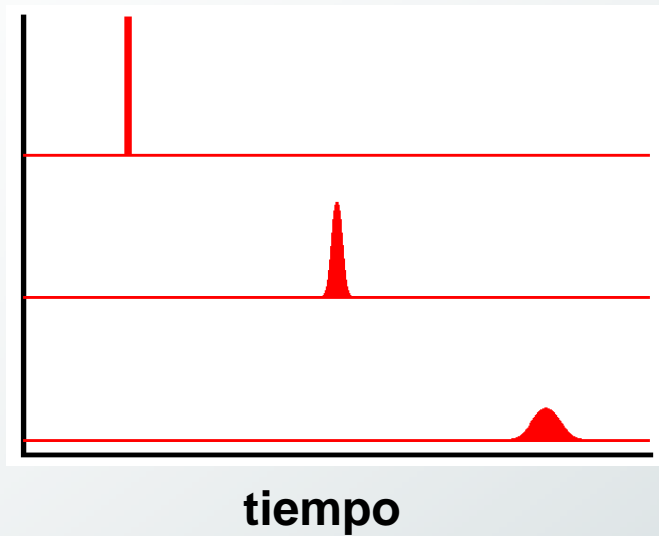
$$H = A + \frac{B}{u} + C u$$

\hat{u} = velocidad de la fase móvil

A, B, C = constantes



Aspectos cinéticos de la cromatografía



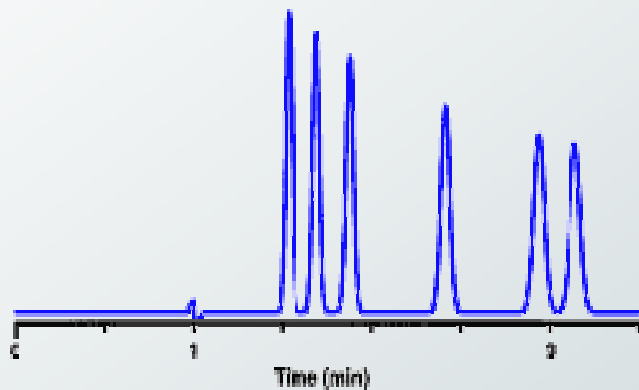
La migración de un analito por la columna provoca el **ensanchamiento** de su **banda**

Efectos negativos:

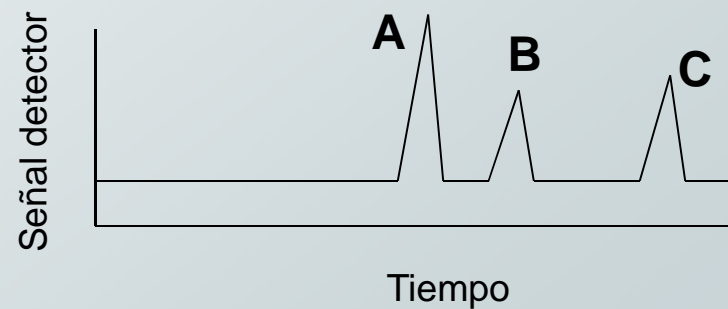
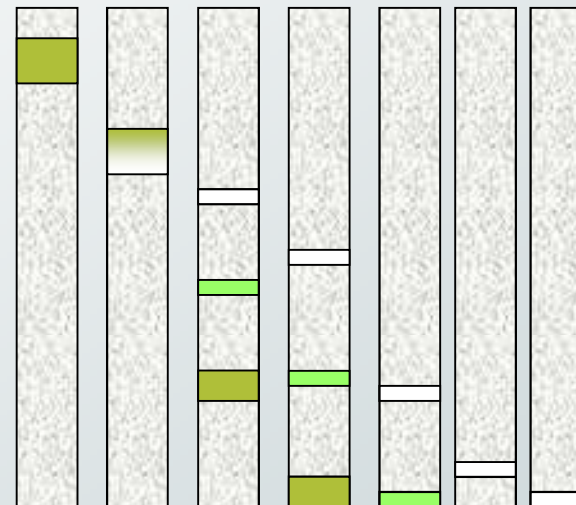
- Separación deficiente
- Pérdida de sensibilidad

“CROMATOGRAMA”:

Es la **representación gráfica** de la respuesta del detector para medir la concentración del analito en la fase móvil frente al tiempo.



A+B+C

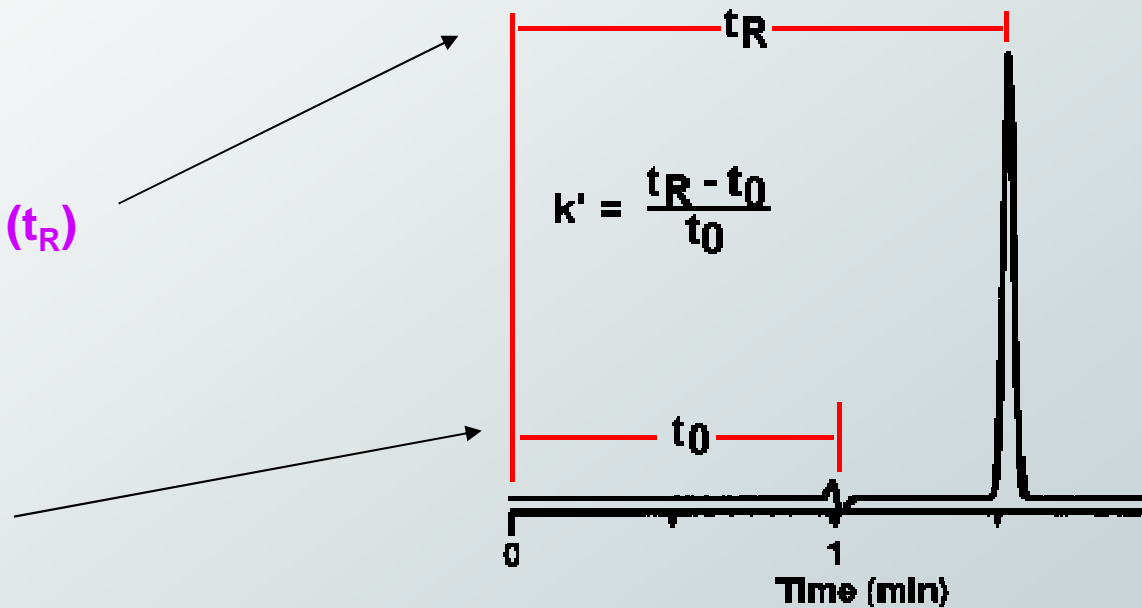


* Definiciones de la IUPAC

Parámetros cromatográficos básicos

❖ Tiempo de retención (t_R)

❖ Tiempo muerto (t_0)



❖ Tiempo de retención corregido

$$(t'_R) = t_R - t_0$$

Parámetros cromatográficos básicos

$$k' = \frac{\text{tiempo que pasa el soluto en la fase estacionaria}}{\text{tiempo que pasa el soluto en la fase móvil}}$$



❖ **Factor de capacidad**

$$(k') = t'_R / t_0$$

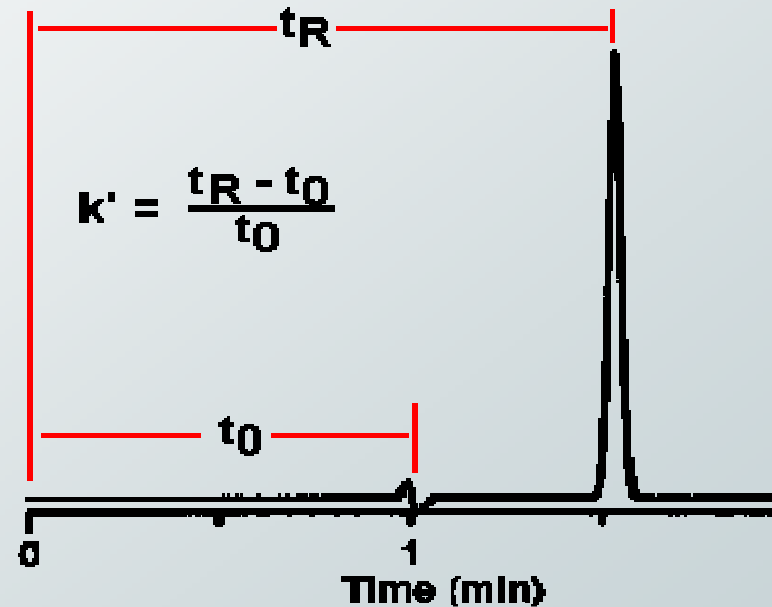
$$1 < k' < 5$$

❖ **Coeficiente de reparto o constante de Distribución**

$$(K_D) = C_E / C_M$$



Es el principio en que se basa la cromatografía



Parámetros cromatográficos básicos

❖ Factor de selectividad o retención relativa

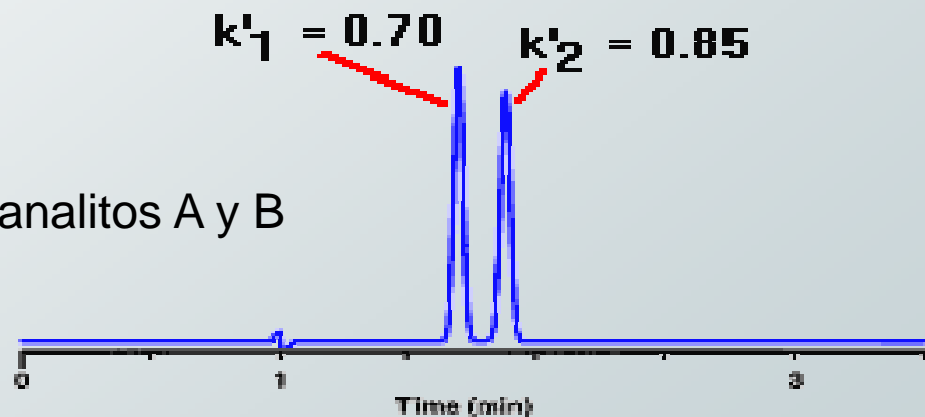
$$\alpha = \frac{t'_{r2}}{t'_{r1}}$$

$$(\alpha_{A,B}) = k'_B / k'_A$$

$$\alpha = (k'_2 / k'_1) = (0.85 / 0.70) = 1.21$$

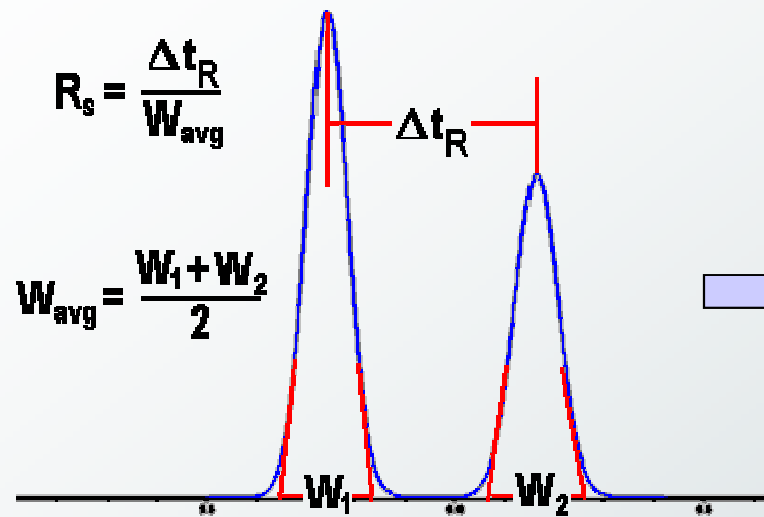
Mide la separación relativa de dos analitos A y B

α es siempre > 1



Parámetros cromatográficos básicos

Resolución: Capacidad de una columna para separar dos analitos

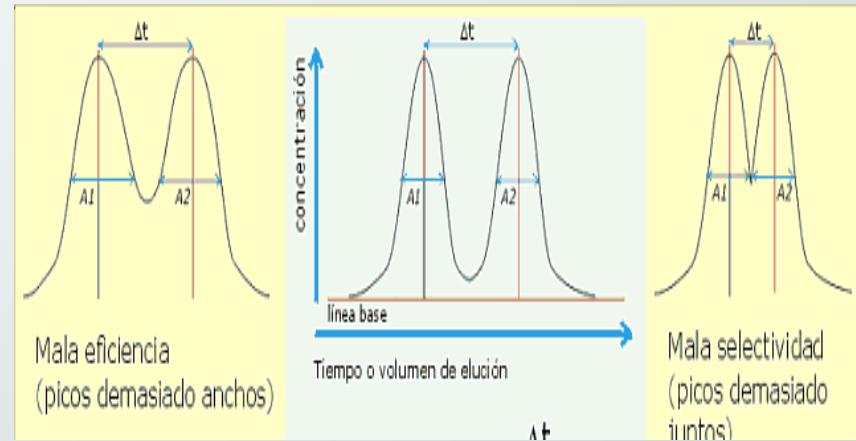


$$R_s = \frac{\Delta t_R}{W_{avg}}$$

$$W_{avg} = \frac{W_1 + W_2}{2}$$

W = 4σ

Rs > 0



$$R_s = \frac{t_{RB} - t_{RA}}{\frac{1}{2}(W_A + W_B)}$$

Se considera completamente resueltos dos picos para $R_s \geq 1.5$

$$R_s = \frac{(t_{rB} - t_{rA})}{0.85 (W_{1/2A} + W_{1/2B})}$$

Resolución

- La relación de la resolución con el número de platos que tiene la columna, así como con factores de capacidad y selectividad sobre dos solutos es

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \frac{k_B}{1 + k_B}$$

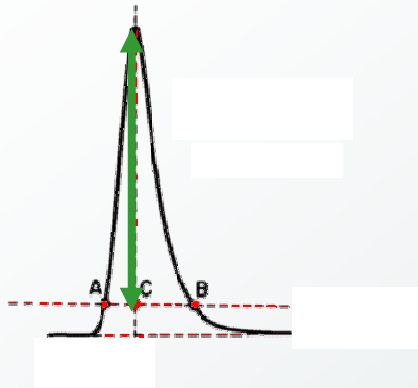
- k_B , factor de capacidad para la especie que se mueve con más lentitud
- **α factor de selectividad ó retención relativa**
- **N número de platos teóricos**

$$\alpha = \frac{k_B}{k_A} \quad \text{ó también} \quad \alpha = \frac{t_{rB} - t_m}{t_{rA} - t_m}$$

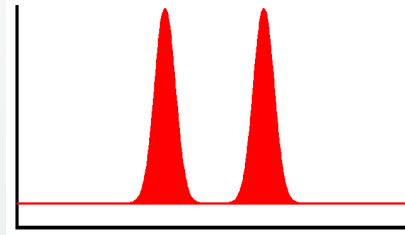
- **la resolución aumenta al aumentar la retención relativa, α y con el factor de retención, k**
- $k \uparrow \Rightarrow \uparrow$ la fracción de tiempo que el soluto permanece en la fase estacionaria. Existe un límite práctico hasta el cual es posible incrementar k porque los t_r se hacen demasiado largos y los picos se hacen excesivamente anchos

Análisis cuantitativo en cromatografía

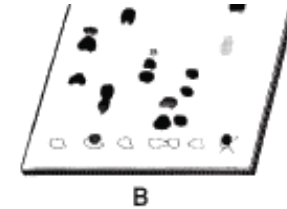
1) altura de pico



2) área de pico



3) área de las manchas (C.plana)



1) Externo

2) Adiciones estándar

3) Estándar interno

