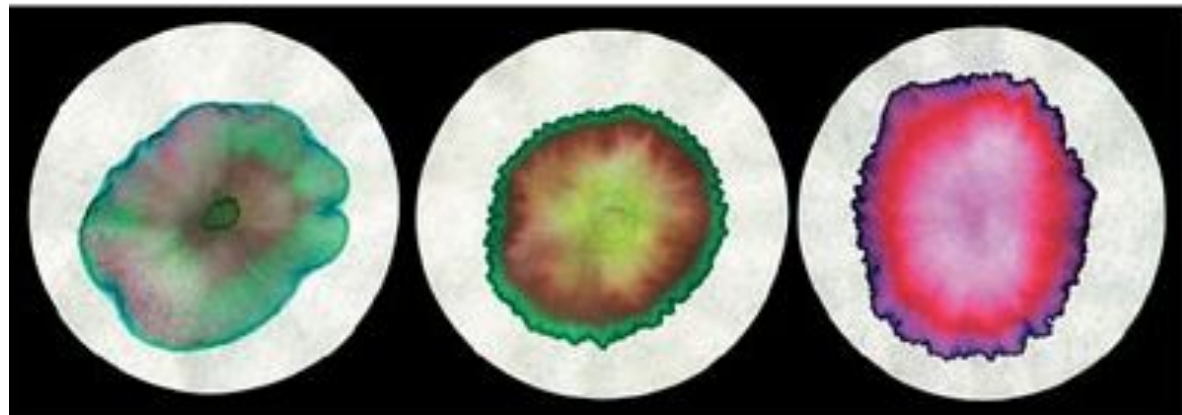


Metode cromatografice



- Analiza chimică cromatografică este un domeniu al analizei instrumentale care include mai multe metode de separare și totodată de analiză a componentelor amestecului din probă.



- separarea precede analiza și se realizează prin repetarea, de un număr mare de ori, a echilibrului de distribuție între două *faze*.
- Una dintre faze este imobilă și poartă denumirea de ***fază staționară*** (aflată de regulă într-un tub numit coloană) iar cealaltă - ***faza mobilă*** - aflată în mișcare, se deplasează prin golurile primei faze.

- Separarea se petrece în *coloana cromatografică*.
- Faza mobilă, denumită și *eluent* - scurgându-se continuu (deci cu viteză constantă) prin interstițiile fazei staționare, adeseori poroase, poate provoca migrarea, cu viteze diferite, a celor n componente ai amestecului de separat de-a lungul coloanei.

- Amestecul supus separării se introduce sub formă de soluție la începutul coloanei, folosindu-se un dispozitiv de introducere a probei (de exemplu o seringă micrometrică), și se află inițial “fixat” într-o zonă îngustă de la începutul coloanei. Spălați de eluent, o parte din componenții *probei* migrează apoi prin coloană cu viteze diferite. Acest lucru se datorează interacțiunilor fizice specifice, dintre moleculele probei și faza staționară.

Clasificarea tehnicilor cromatografice

- se distinge *cromatografia de lichide (LC)* când faza mobilă este un lichid,
- *cromatografia de gaze (GC)* când aceasta este un gaz sau *cromatografia cu fluide supracritice* la care faza mobilă este un lichid aflat peste temperatura critică.

În cadrul cromatografiei de lichide se mai face distincție între cromatografia *pe coloană deschisă* și cea *pe coloană închisă*. Pe de altă parte, în cadrul fiecăreia dintre acestea, distingem mai multe variante.

În cadrul LC se disting, în funcție de mecanismele de separare:

- ***Cromatografia de adsorbție***, una dintre primele tehnici utilizate, veche de mai bine un secol (Tvet, 1903), utilizată pentru separarea substanțelor organice cu molecule de dimensiuni mici și medii pe adsorbenți, ca *silicagel* și *alumină*, folosindu-se, ca faze mobile, diferite amestecuri de solvenți organici.

- ***Cromatografia ionică (de schimb ionic)***, care se petrece pe o fază staționară solidă, poroasă, formată din materiale specifice – *schimbătorii de ioni* – substanțe cu o rețea solidă afânată, de natură organică sau anorganică, pe care se găsesc grefate, prin procesul de obținere, niște „centre de schimb ionic”. Cele mai răspândite sunt *rășinile schimbătoare de ioni* – organice – la care scheletul-suport este unul organic – un polimer poros.

- ***Cromatografia de excluziune sterică*** se desfășoară pe faze staționare poroase dar cu porozitatea selecționată astfel încât să corespundă dimensiunilor moleculelor supuse separării. O parte dintre molecule intră prin pori, reușind să interacționeze cu suportul solid, prin forțe de adsorbție foarte slabe, iar altele sunt “*excluse*” deplasându-se practic nereținute odată cu faza mobilă.

În cazul *cromatografiei de gaze* (sau mai pretențios cromatografiei în fază gazoasă), denumită prescurtat GC se disting următoarele tehnici:

- ***Cromatografia gaz-lichid*** în care faza staționară este un lichid nevolatil immobilizat pe un suport solid. Aici suportul poate fi unul granular, poros, situat într-o coloană în așa-numita cromatografie de gaze “convențională” sau chiar pe pereții coloanei, confecționată de dimensiuni capilare, în “cromatografia pe coloană capilară”.

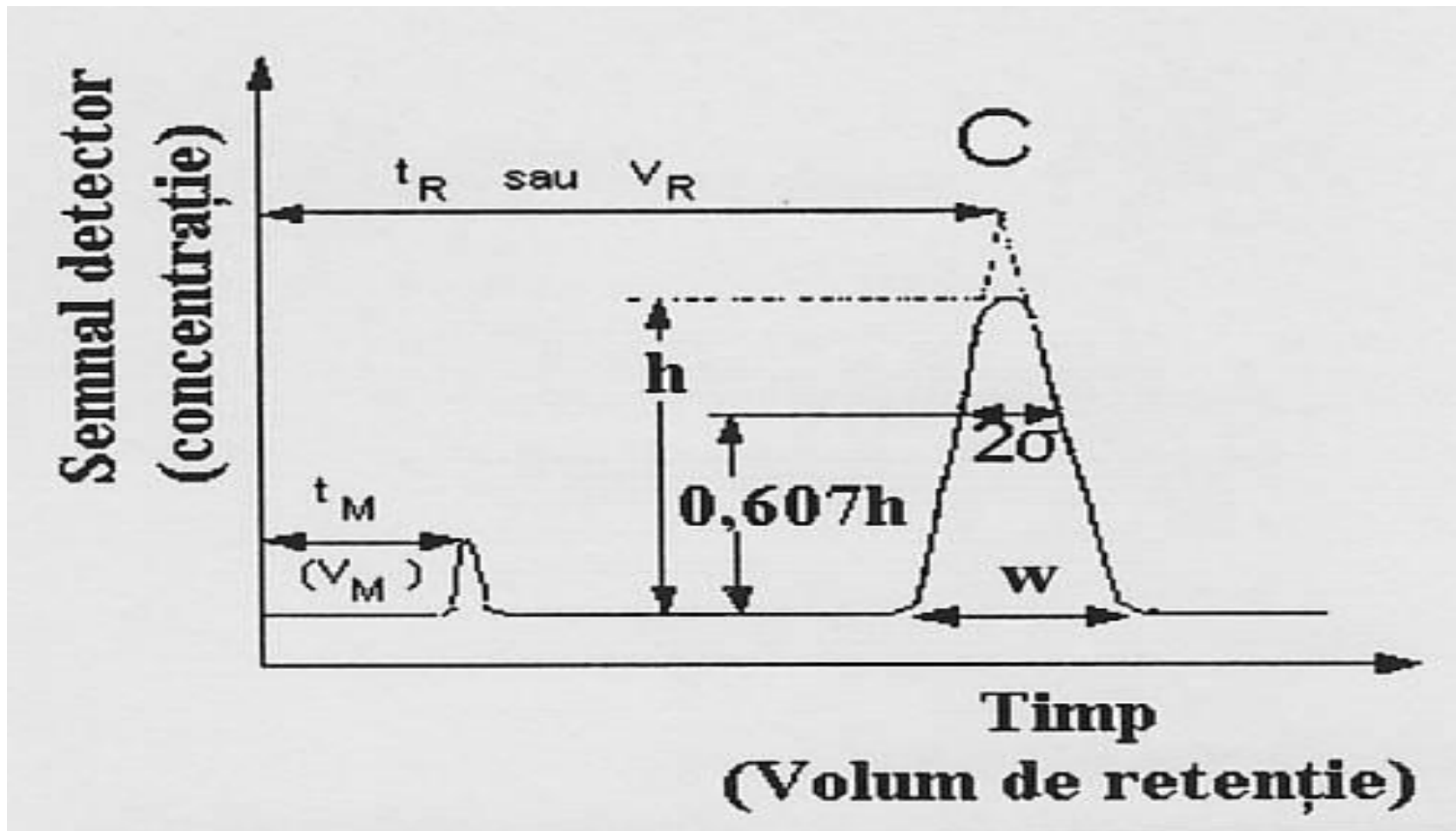
Cromatografia gaz-solid este analogă cu cele discutate la cromatografia de adsorbție și la cea de excluziune sterică cu deosebirea că schimbarea gazului nu modifică selectivitatea. Faza staționară o constituie tot silicagelul sau alumina, respectiv “sitele moleculare” (niște silicați naturali sau sintetici) respectiv granulele de carbon poros. Metoda este extrem de importantă pentru separarea gazelor permanente (CO, CO₂, O₂, N₂, gaze nobile etc.)

Cromatograma. Elementele acesteia și mărimi fundamentale

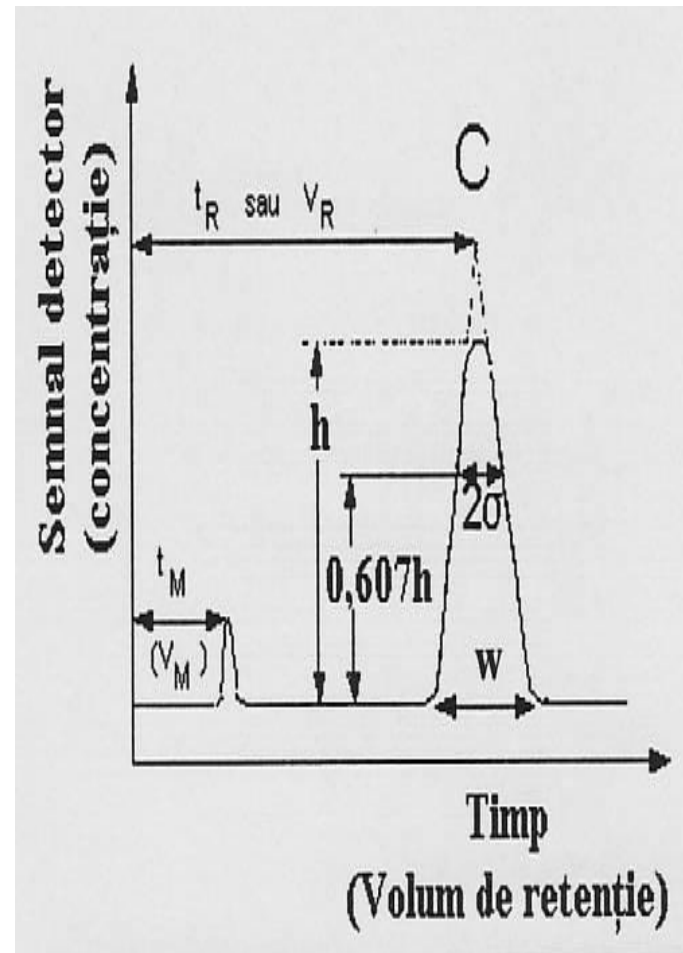
- În orice tip de cromatografie detectorul dă un semnal proporțional, uneori cu concentrația, alteori cu masa componentului aflat în celula de măsură, semnal ce poate fi înregistrat în funcție de timp. Diagrama semnal, funcție de timp sau de volumul de eluent se numește *cromatogramă*.

- Pe cromatogramă distingem o serie de maxime, numite *picuri* (peak = vârf în l. engleză), care se produc deasupra *liniei de bază* sau a porțiunii orizontale a curbei, paralelă cu axa timpului.
- Aceasta apare ori de câte ori în detector nu apare nici un component, în afara eluentului evident

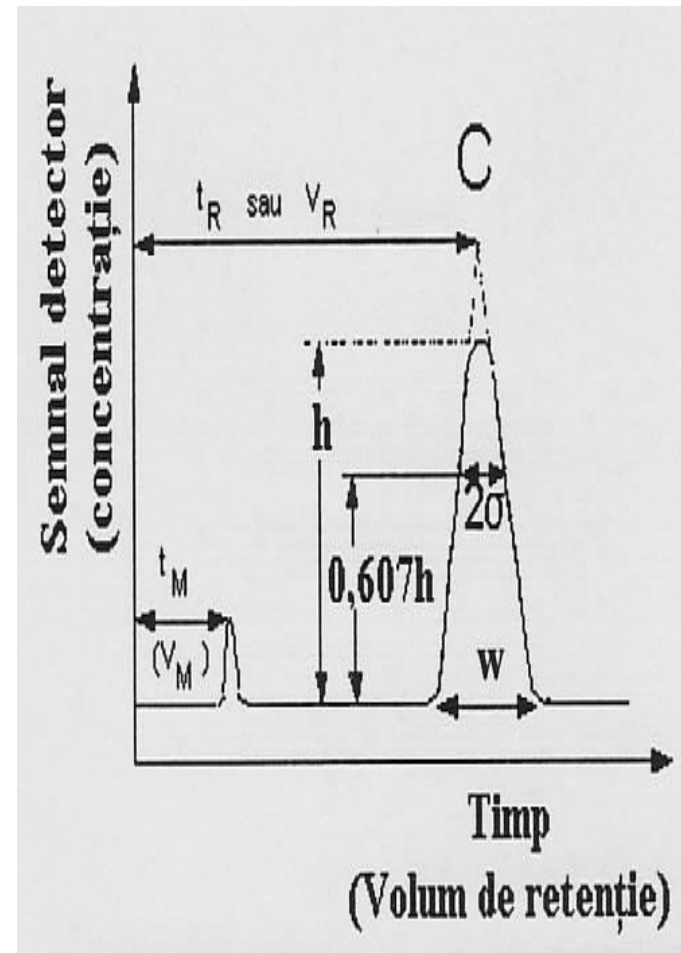
Elementele unei cromatograme



- *Timpul mort*, t_M - este timpul în care un component, complet nereținut de către faza staționară, parcurge coloana și tuburile de legătură până la detector. Acesta nu poate fi zero. În cazul CG timpul mort, de exemplu, este egal cu timpul de retenție al aerului: $t_M = t_R$ (retenție). Deci, cu alte cuvinte, reprezintă timpul scurs de la injectarea (introducerea) probei în coloană și apariția maximului de concentrație în detector, pentru componentul nereținut.



- *Timpul de retenție*, t_R - o mărime caracteristică pentru fiecare component al amestecului separat de coloană - reprezintă timpul scurs de la injectarea probei și apariția maximului de concentrație în detector. De exemplu, în cazul prezentat anterior în fig. , acesta este distanța de la axa ordonatelor (începutul cromatogramei) până la verticala prin vârful picului C.



Volumul de retenție, V_R este volumul de eluent corespunzător timpului de retenție:

$$VR = t_R F_e \quad (1)$$

Acesta este legat de timpul t_R prin intermediul debitului eluentului, F_e :

Timpul de retenție ajustat, $t_{R'}$ - introdus în cromatografie pentru a se putea compara timpii măăsurați pe coloane diferite, în cazul aceluiași component - este dat de diferența:

$$t'_{R} = t_r - t_M \quad (2)$$

Corespunzător există și un *volum de retenție ajustat*

$$V_{R'} = V_R - V_M$$

unde V_M este *volumul mort*

Acest volum mort este legat de debitul eluentului coloanei, F_e , prin produsul:

$$V_M = t_M F_e$$

și reprezintă volumul golurilor din coloană plus volumul tuburilor de legătură de la coloană la detector.

Cromatograme ideale și reale

Aspectul unui pic dintr-o *cromatogramă ideală* este același cu curba obținută prin reprezentarea grafică a *funcției de distribuție a erorilor* (Gauss).

- *Numărul de talere teoretice al coloanei, n.* Conform “teoriei talerelor” migrarea unei substanțe separate prin coloană se poate descompune teoretic într-o succesiune de deplasări prin dreptul a n mici incinte din interiorul coloanei în care au loc echilibre perfecte între fazele staționară, din incinte, și cea mobilă.
- Similar cu distilarea pe coloane prevăzute cu talere, aceste mici incinte ideale au fost denumite “*talere teoretice*”. Lungimea porțiunii dintr-o coloană, ce corespunde unei asemenea incinte, pe parcursul căreia se realizează un echilibru termodinamic, se notează cu H și poartă numele de *înălțime echivalentă a unui taler teoretic*. Aceasta caracterizează performanța coloanei și se poate calcula din raportul:

$$H = \frac{L_{col}}{N}$$

- Cu cât valoarea H este mai mare separarea este mai bună. Numărul n se poate calcula pe baza cromatogramei obținute experimental din *lățimea picului la bază*, w_b , care după cum se vede din fig. 1, este de 4 ori valoarea dispersiei curbei gaussiene care modelează matematic picul, ceea ce permite scrierea ecuației:

$$w_b = 4\sigma$$

Valoarea *numărului de talere teoretice*, N , constituie de asemenea o măsură a eficacității (totale) a coloanei cromatografice utilizate într-o separare sau analiză concretă. Pentru un component dat acest număr reprezintă patratul raportului dintre timpul de retenție și deviația standard asociată picului corespunzător:

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

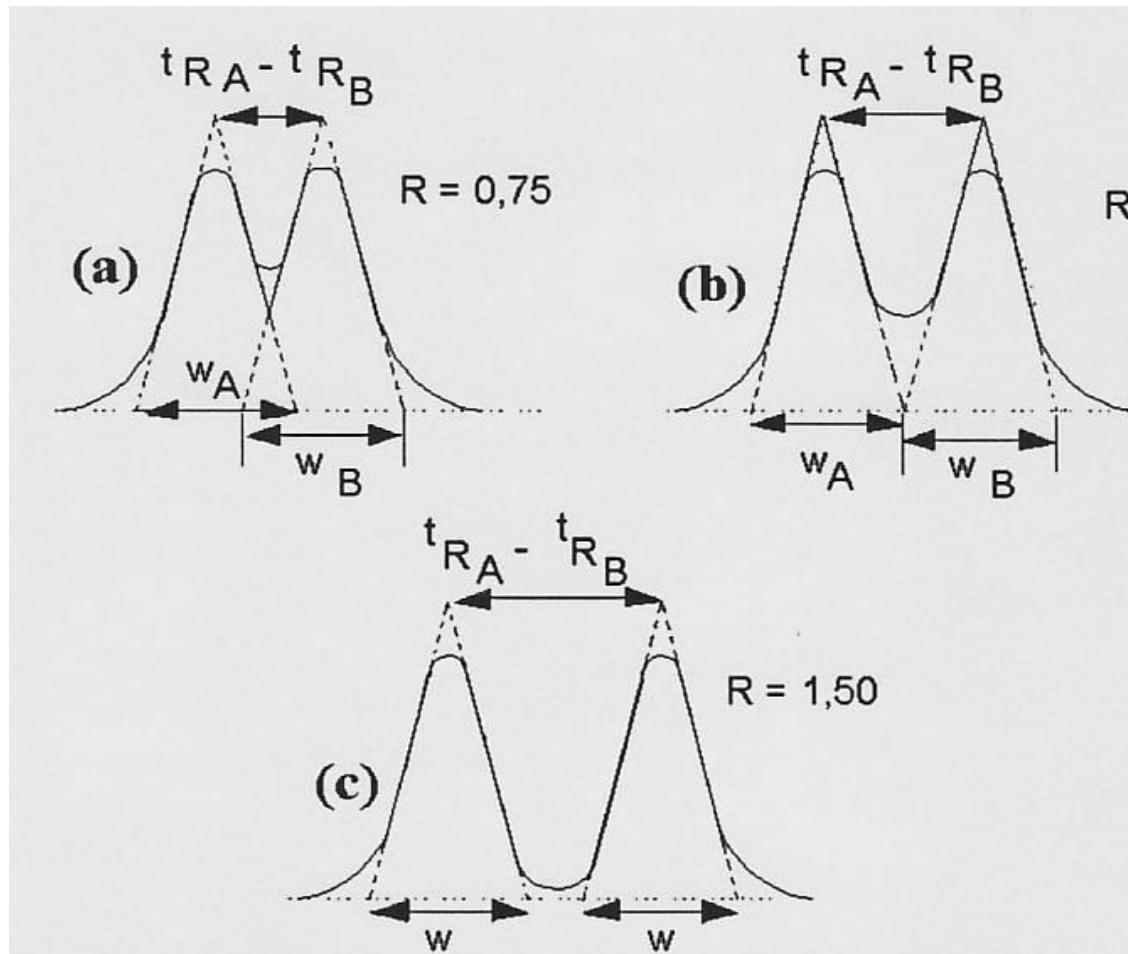
Rezoluția, simbolizată R_s , este mărimea ce exprimă gradul de separare a două componente date de pe o cromatogramă. Pentru componentele oarecare A și B aceasta se exprimă prin raportul

$$R_s = \frac{\Delta t_R}{2(\sigma_A + \sigma_B)} = \frac{\Delta t_R}{w_b}$$

- unde Δt_R este diferența dintre timpii de retenție ai componentelor B și A adică $\Delta t_R = t_{RB} - t_{RA}$, iar $w_{1/2}$ reprezintă *lățimea medie a picurilor la bază*,

$$w_{1/2} = (w_A + w_B)/2.$$

Picuri cromatografice separate între ele cu diverse rezoluții



Ecuatia lui Van Deemter

Această ecuație exprimă contribuția diverșilor factori la lărgirea zonei unui anumit component, în timp ce acesta migrează prin coloană cu o viteză medie v .

Cea mai simplă și totodată mai cunoscută expresie este cea descoperită inițial de Van Deemter pentru cromatografia de gaze:

$$H = A + B \cdot v + C$$

unde A, B și C sunt, pentru o coloană dată v niște constante

aceste constante au în realitate fiecare niște dependențe funcționale ce țin de natura fizică a fazelor staționară și mobilă, de diametrul și de natura umpluturii, dar și de condițiile de operare: temperatură, presiuni etc.

Ecuatia lui Van Deemter

