

Atunci când un amestec de componente este supus analizei cromatografice, au loc două procese concurente. Primul dintre acestea cuprinde fenomenele de interacțiune dintre componentii analizați (denumiți *soluți* în cromatografie) și fazele cromatografice, determinând retenția (respectiv sorbtia) lor diferentiată și, în cele din urmă, separarea. Cel de-al doilea fenomen este de natură cinetică și are drept rezultat dispersia (largirea) zonei în care se găsește solutul în timp ce străbate sistemul (coloana) cromatografic. În momentul introducerii în coloana solutul se găsește într-o zonă îngustă, însă în timpul deplasării în coloana el se dispersează, fenomen ce se opune separării și este nedorit. Pentru a putea optimiza o separare cromatografică, trebuie cunoscute relațiile matematice care caracterizează ambele fenomene menționate: retenția solutului și dispersia zonei de eluție a acestuia. Teoria proceselor cromatografice are ca obiect tocmai stabilirea acestor relații.

Prima teorie a proceselor cromatografice a fost elaborată de Martin și Synge în 1941 și se numește teoria talerelor. Prin analogie cu talerele fizice existente în coloanele de distilare cu talere, ei au introdus noțiunea de *taler teoretic*. Teoria talerelor este teoria cromatografiei ideale, care presupune că solutul se găsește în echilibru între cele două faze. În realitate, datorită trecerii continue a moleculelor de solut dintr-o fază în alta pe măsură ce ele străbat coloana, acest echilibru de fapt nu este atins niciodată. Modelul talerului teoretic transpune sistemul real continuu într-un sistem ideal discontinuu, pe baza următoarelor ipoteze:

- Coloana cromatografică este împărțită în segmente de lungime egală numite talere teoretice, iar înălțimea unui asemenea segment se numește *înălțime echivalentă a talerului teoretic* (H).
- În fiecare taler are loc un proces de echilibru al fiecărui solut între faza mobilă și faza staționară.
- Solutul nu difuzează dintr-un taler în altul.

Cu cât înălțimea echivalentă a unui taler este mai redusă, vor avea loc un număr mai mare de echilibre elementare de repartitie în coloană și separarea va fi mai bună. Așadar, numărul de talere teoretice reprezintă o măsură a eficienței coloanei și a capacității sale de separare.

Modelul talerului teoretic se aplică la toate tipurile de separare cromatografică, însă numai pentru compuși cu izoterme de distribuție liniare (cu picuri de eluție simetrice). El permite elucidarea unor probleme legate de dinamica migrării și retenția cromatografică, fără a lua însă în considerare perturbările produse de difuzie sau alte fenomene care se opun echilibrului. De asemenea, această teorie permite determinarea vitezei

de deplasare a solutului în coloana, cât și a concentrației în zona de eluție a solutului, distribuție care în cazul cromatografiei ideale are forma unei curbe de tip Gauss.

1. Parametrii care caracterizează mobilitatea și retenția cromatografică

Procesul de separare cromatografică se desfășoară prin echilibre interfazice succesive și este o consecință a forțelor de interacțiune care se manifesta între soluți și cele două faze. Aceste forțe generează diferențe în echilibrele de distribuție ale componentelor amestecului de analizat, determinând migrarea lor diferențiată și deci separarea.

Fiecare molecula progresează în coloană prin secvențe de deplasări și opriri repetate. Când se află în faza staționară migrarea ei stagnează, deplasarea având loc, cu o viteză egală cu cea a fazei mobile, doar atunci când se găsește în faza mobilă.

Deplasarea componentei în coloana cromatografică poate fi redată cu ajutorul relației:

$$R = \frac{t_s}{t_s + t_D} \quad (1)$$

unde t_s reprezintă *timpul de sorbție*, adică timpul care solutul se află în faza staționară, iar t_D reprezintă *timpul de desorbție* (*timpul care solutul se află în faza mobilă*), luate ca valori medii.

Parametrul R se numește *factor de întârziere (retardare) selectivă* și este un parametru fundamental de mobilitate cromatografică.

Dacă înmulțim timpul mediu de sorbție cu numărul treptelor elementare de sorbție care au loc în timpul deplasării în coloana n , obținem timpul total pe care componenta îl petrece în faza mobilă. Acest timp se notează cu t_M și se numește *timp mort*, fiind egal cu timpul necesar moleculelor fazei mobile pentru a străbate sistemul cromatografic. În mod asemănător, dacă se înmulțește suma $(t_s + t_D)$ de la numitorul relației (1) cu n vom obține timpul total pe care solutul îl petrece în sistemul cromatografic. Acest timp se numește *timp de retenție*, se notează cu t_R și poate fi definit ca intervalul de timp necesar solutului pentru a parcurge distanța dintre locul în care se face introducerea probei și locul în care solutul respectiv este detectat sub forma unui semnal distinct. Pe cromatogramă, (Figura 1) timpul de retenție apare ca intervalul de timp dintre introducerea probei în sistemul cromatografic și maximumul picului corespunzător solutului respectiv, în timp ce timpul mort în general nu poate fi evidențiat pe cromatogramă și valoarea lui trebuie calculată.

Așadar relația (1) devine:

$$R = \frac{n \cdot t_s}{n \cdot (t_s + t_D)} = \frac{t_M}{t_R} \quad (2)$$

deci factorul de întârziere selectivă reprezintă acea fracțiune din timpul de retenție în care moleculele componentei se găsesc în faza mobilă.

Fracțiunea din timpul de retenție în care moleculele respective se găsesc în faza staționară va fi în consecință egal cu $1-R$.

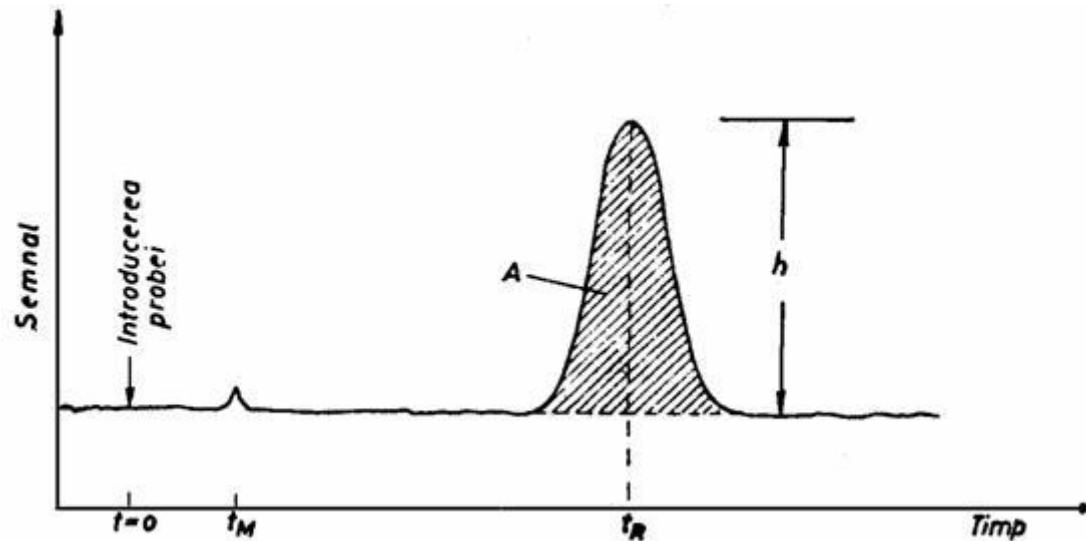


Figura 1. Timpul de retenție și timpul mort a cromatogramei unui solut

La echilibru, putem considera ca raportul dintre timpul petrecut de solut în faza mobilă și cel petrecut în faza staționară este egal cu raportul dintre cantitatea solutului care se găsește în faza mobilă și cea care se găsește în faza staționară.

$$\frac{R}{1-R} = \frac{c_M \cdot V_M}{c_S \cdot V_S} \quad (3)$$

unde C_M este concentrația solutului în faza mobilă, iar C_S concentrația în faza staționară. V_M și V_S reprezintă volumul fazei mobile, respectiv al fazei staționare.

Raportul concentrației solutului în faza staționară și cea în faza mobilă, la echilibru se definește ca *coeficientul de distribuție* K al solutului între fazele staționară și mobilă:

$$K = \frac{c_S}{c_M} \quad (4)$$

În cazul cromatografiei de repartitie, coeficientul K poartă numele de coeficient de repartitie. Orice proces de separare este guvernat de un coeficient de distribuție, care reprezintă o mărime fundamentală în cromatografie.

Daca exprimăm C_M din 4 și înlocuim în relația (3), vom avea:

$$\frac{R}{1-R} = \frac{V_M}{K \cdot V_S}$$

de unde rezultă valoarea lui R :

$$R \cdot K \cdot V_S = V_M - R \cdot V_M$$

$$R = \frac{V_M}{V_M + K \cdot V_S} = \frac{1}{1 + K \cdot \frac{V_S}{V_M}} \quad (5)$$

Raportul dintre cantitatea de solut care se găsește în faza staționară și cantitatea acestuia care se găsește în faza mobilă, la echilibru, se numește *factor de capacitate* și se notează cu k' .

$$k' = \frac{c_s \cdot V_s}{c_M \cdot V_M} = K \cdot \frac{V_s}{V_M} \quad (6)$$

Dacă înlocuim în ecuația (5), vom obține relația dintre factorul de întârziere selectivă și factorul de capacitate:

$$R = \frac{1}{1 + k'} \quad (7)$$

Factorul de întârziere selectivă are și semnificația de viteză relativă a solutului în raport cu faza mobilă. Acest lucru rezultă și pe baza relației (2):

$$R = \frac{t_M}{t_R} = \frac{L}{t_R} \cdot \frac{1}{\frac{L}{t_M}} = \frac{v_z}{v} \quad (8)$$

unde v_z este viteza medie a zonei solutului, v este viteza medie a fazei mobile, iar L reprezintă lungimea coloanei. Exprimarea factorului de întârziere selectivă ca viteză relativă este importantă mai ales în cazul cromatografiei în strat subțire, unde acest parametru se notează cu R_f , denumit *indice de retenție* și este principalul parametru de mobilitate cromatografică.

Pe baza relațiilor (8) și (5), rezultă că viteza zonei solutului va fi funcție de coeficientul de distribuție K , deoarece în mod obișnuit în timpul unei analize viteza fazei mobile v și raportul fazelor V_s/V_M nu se modifică.

În acest sens, pot exista următoarele două situații extreme:

a) Dacă concentrația solutului în faza staționară C_s este zero, rezultă $K = 0$, $R = 1$ și $v_z = v$, deci solutul nu interacționează cu faza staționară și trece prin coloana cu o viteză egală cu cea a fazei mobile.

b) Dacă concentrația componentei în faza mobilă c_M este zero, rezultă $K = \infty$, $R = 0$ și $v_z = 0$. Solutul rămâne reținut în faza staționară și nu are loc deplasarea lui în coloana cromatografică.

În realitate, viteza relativă a zonei solutului ia valori între 0 și 1, valorile apropiate de cele extreme fiind de evitat.

Viteza zonei solutului, respectiv viteza fazei mobile pot fi exprimate și în funcție de lungimea coloanei, cu relațiile:

$$v_z = \frac{L}{t_R} \quad (9)$$

$$v = \frac{L}{t_M} \quad (10)$$

Relația dintre timpul de retenție și factorul de capacitate rezultă pe baza ecuațiilor (2) și (7):

$$t_R = \frac{t_M}{R} = t_M(1 + k') \quad (11)$$

Diferența dintre timpul de retenție și timpul mort se numește *timp de retenție ajustat* și se notează cu t_R' . El reprezintă timpul pe care solutul respectiv îl petrece în faza staționară, sau timpul suplimentar necesar solutului pentru a traversa sistemul cromatografic, comparativ cu faza mobilă sau cu o componentă nereținută. Dacă ținem cont de relația (11), rezulta:

$$t_R' = t_R - t_M = k' \cdot t_M \quad \text{sau}$$

$$k' = \frac{t_R'}{t_M} \quad (12)$$

Relația (12) arată o altă semnificație a factorului de capacitate k' : reprezintă raportul dintre timpul pe care moleculele solutului îl petrec în faza staționară (când nu se deplasează prin coloană) și timpul pe care îl petrec în faza mobilă (când se deplasează prin coloana).

Dacă în ecuația (11) facem înlocuirile corespunzătoare din ecuațiile (10) și (6), vom obține:

$$t_R = \frac{L}{v} \left(1 + K \frac{V_S}{V_M} \right) \quad (13)$$

Conform acestei relații, timpul de retenție depinde de lungimea coloanei, viteza fazei mobile, coeficientul de distribuție al solutului și raportul fazelor. Relația în această formă este valabilă doar dacă se consideră viteza fazei mobile constantă în timpul trecerii prin coloană, așa cum este cazul în cromatografia de lichide. În cromatografia de gaze din cauza compresibilității fazei mobile această viteză variază, de aceea este necesară utilizarea unor coeficienți de corecție.

Alături de timpul de retenție, comportarea cromatografică a unui solut poate fi descrisă și cu ajutorul unui alt parametru, volumul de retenție. *Volumul de retenție* V_R reprezintă volumul fazei mobile care paraseste coloana între momentul introducerii probei și momentul apariției maximumului picului corespunzător solutului respectiv. Volumul de retenție corespunzător unui component nereținut se numește *volum mort* și se notează cu V_M pentru că este identic cu volumul de faza mobilă din coloana.

Volumul de retenție și volumul mort pot fi exprimate în funcție de timpul de retenție și timpul mort, prin relațiile:

$$V_R = t_R \cdot F \quad (14)$$

$$V_M = t_M \cdot F \quad (15)$$

unde F reprezintă debitul fazei mobile.

În mod corespunzător, se va defini și un *volum de retenție ajustat* V_R' , egal cu diferența dintre volumul de retenție și volumul mort:

$$V_R' = V_R - V_M \quad (16)$$

Dacă în relația (11) facem înlocuirile din ecuațiile (14) și (15), obținem:

$$\frac{V_R}{F} = \frac{V_M}{F} (1 + k')$$

$$V_R = V_M (1 + k') = V_M \left(1 + K \frac{V_S}{V_M} \right) = V_M + K \cdot V_S \quad (17)$$

Respectiv:

$$V_R' = K \cdot V_S \quad (18)$$

Ecuația (17) este una dintre ecuațiile fundamentale ale cromatografiei. În cazul altor tipuri de cromatografie ea are o formă puțin modificată pentru a ține cont de parametrii specifici ai acestor tehnici. Astfel, în cazul cromatografiei de adsorbție, în care fenomenul care stă la baza separării este adsorbția și nu repartiția, va avea forma:

$$V_R = V_M + K_A \cdot A \quad (19)$$

unde K_A reprezintă coeficientul de adsorbție, iar A este suprafața specifică a adsorbentului.

Ecuția (17) nu ține însă cont de fenomenele care determină dispersia zonei solutului.

2. Dispersia zonei solutului. Izoterme de sorbtie si forma picului cromatografic

Viteza și eficiența proceselor de separare cromatografică sunt influențate de transferul de masă, care la nivel molecular se realizează prin difuzie. În cazul cromatografiei, difuzia are loc în cadrul procesului de curgere prin coloana și poartă numele de *difuzie axială*. Ea se datorește gradientului de concentrație și se manifestă prin deplasarea moleculelor de la zone cu concentrație mai mare spre zonele cu concentrație mai scăzută, urmărind eliminarea acestor diferențe de concentrație. Rezultă în mod logic faptul că pe măsura creșterii timpului de staționare în coloana, acest efect difuzional va fi tot mai pronunțat și zona solutului devine tot mai dispersă, ceea ce în cromatogramă se manifestă prin lărgirea picului și are efect negativ asupra separării.

Fenomenele care determină această dispersie sunt de o mare complexitate. Ele pot fi parțial explicate pe baza teoriei talerelor care permite determinarea lățimii picului cromatografic și a înălțimii talerului teoretic, dar mai bine pe baza unei alte teorii, numite teoria cinetica, elaborată de Van Deemter cu colaboratorii săi, care studiază cinetica proceselor ce au loc în sistemul cromatografic și identifică factorii care determină dispersia zonei solutului.

Până acum am presupus că coeficientul de distribuție este o constantă independentă de concentrația solutului analizat, situație în care graficul dependenței $c_s = f(c_m)$ este o dreaptă care are panta egală cu K .

Această reprezentare se numește izoterma de sorbtie, pentru că este obținută și valabilă pentru o anumită temperatură. Picul rezultat în urma analizei cromatografice, care corespunde profilului de concentrație al unui solut, pentru care se respectă această liniaritate, este simetric și gaussian. Dispersia concentrației în jurul valorii maxime, care corespunde timpului de retenție sau volumului de retenție, se poate exprima cu ajutorul unui parametru numit *abatere standard*, care se notează cu σ și a cărui

semnificație rezultă din ecuația (20) a distribuției normale, ecuație care reda variația concentrației solutului în funcție de timp:

$$C = \frac{1}{F} \frac{m}{\sigma \sqrt{2 \cdot \pi}} e^{-\frac{1}{2} \frac{(t_R - t)^2}{\sigma^2}} \quad (20)$$

unde C este concentrația solutului după timpul t , m este cantitatea totală de solut introdusă în coloana, iar F este debitul fazei mobile. Se observă din această ecuație că cea mai mare concentrație de solut se înregistrează pentru $t = t_R$ și această concentrație scade pe măsură ce diferența $t_R - t$ devine mai mare. Abaterea concentrației de la valoarea maximă este în funcție de mărimea parametrului σ .

Această distribuție a concentrației solutului, exprimată în cromatogramă prin înălțimea picului, este redată în Figura 2.

În conformitate cu geometria curbei de tip Gauss, valoarea abaterii standard reprezintă jumătate din lățimea picului între punctele de inflexiune ale acestei curbe. Pentru picuri simetrice, abaterea standard se poate calcula mai ușor pe cale grafică cu ajutorul relației:

$$w_b = 4 \cdot \sigma \quad (21)$$

unde w_b este lungimea segmentului rezultat din intersecția cu abscisa a celor două tangente duse în punctele de inflexiune ale curbei.

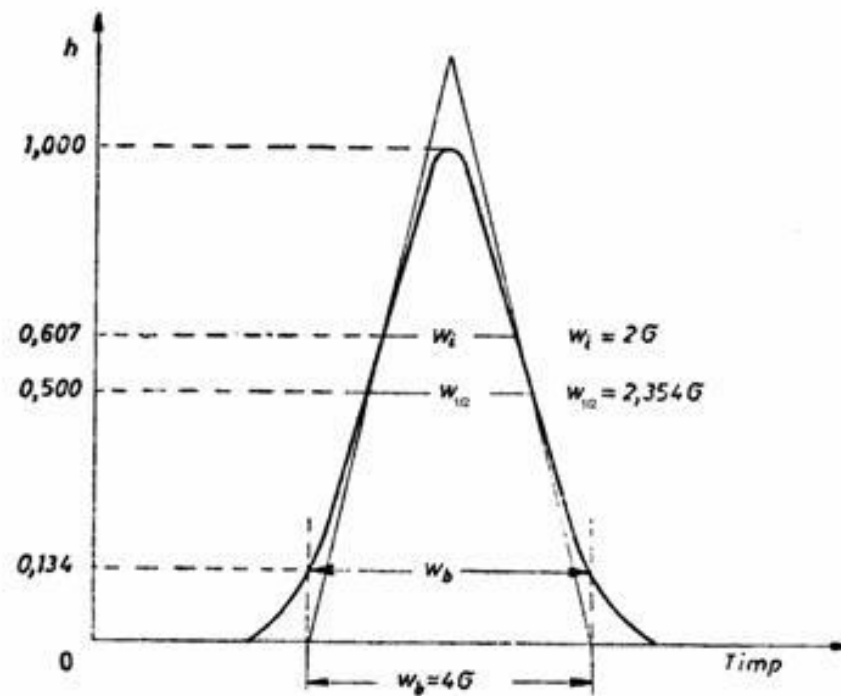


Figura 2. Distribuția concentrației solutului conform curbei Gauss

Trebuie însă de precizat faptul că forma picului cromatografic nu este întotdeauna simetrică. Ea depinde de tipul izotermei de sorbție, fiind posibile trei tipuri de asemenea izoterme:

1. izoterme de sorbție liniare, carora le corespund picuri de eluție simetrice, de tip gaussian (varianta (a) din figura 3);
2. izoterme de sorbție convexe (de tip Langmuir), cărora le corespund picuri asimetrice, cu coada (varianta (b) din figura 3);
3. izoterme de sorbție concave (de tip anti-Langmuir), cărora le corespund așa-numitele picuri frontale (varianta (c) din figura 3).

Izoterme de tip Langmuir se observă în cazul sistemelor la care interacțiunile solut-faza staționară sunt mai puternice, iar cele de tip solut-solut sunt slabe, de exemplu atunci când faza staționară conține grupări capabile de a forma legături de hidrogen cu moleculele solutului.

Izotermele de tip anti-Langmuir se întâlnesc la sistemele în care interacțiunile solut-faza staționară sunt slabe în comparație cu interacțiunile solut-solut, sau dacă coloana a fost supraîncărcată cu o cantitate excesivă de solut.

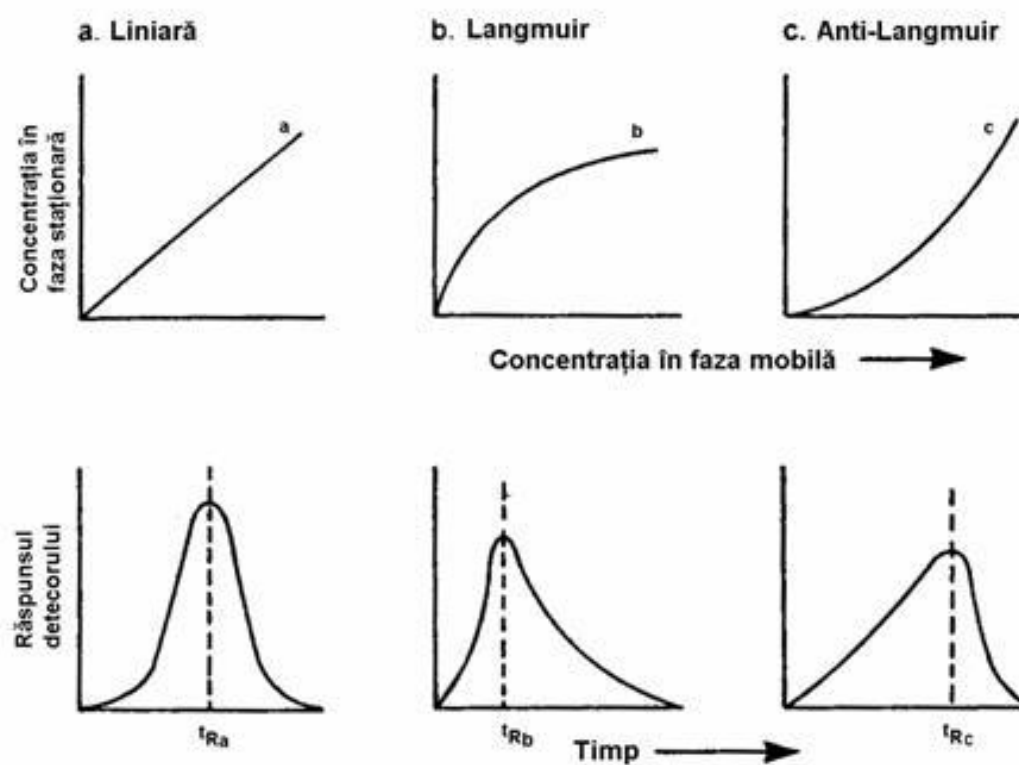


Figura 3. Tipuri de izoterme de sorbție

În afară de asimetria picurilor, o altă consecință negativă a izotermelor de sorbție neliniare este variația timpului de retenție în funcție de cantitatea de solut introdusă în coloană. Această variație reprezintă un dezavantaj important, mai ales pentru analiza cantitativă. Pentru eliminarea interacțiunilor care duc la izoterme de sorbție neliniare, este necesară fie derivatizarea solutului, fie modificarea fazei staționare (sau a fazei mobile în cromatografia de lichide).

Picurile asimetrice sunt nedorite în cromatografie. În afară de cazurile izotermelor de sorbție neliniare, apariția lor mai poate avea și alte cauze. Este important să putem evalua gradul de asimetrie al picurilor, pentru ca între anumite limite ele pot fi acceptate fără a duce la erori prea mari. Există o serie de metode pentru măsurarea asimetriei picurilor, cea mai simplă fiind aceea care utilizează *factorul de asimetrie* A_s .

$$A_s = \frac{b}{a} \quad (22)$$

unde b și a sunt lungimile segmentelor corespunzătoare lățimilor celor două laturi ale curbei ce redă forma picului, măsurate la 10% din înălțime a picului, considerată de la bază.

O valoare egală cu 1,0 a factorului de asimetrie indică un pic gaussian. În general, valori între 0,8 și 1,2 pot fi acceptate fără a avea erori prea mari la determinarea eficienței separării sau la analiza cantitativă.

3. Factorii care influențează dispersia zonei cromatografice.

Expresia cinetică a înălțimii talerului teoretic (ecuația Van Deemter)

Dispersia sau lărgirea zonei cromatografice este considerată a fi rezultatul următoarelor procese elementare (Figura 4):

- Difuziunea turbulentă, care apare doar la cromatografia pe coloane cu umplutură și este rezultatul deplasării moleculelor de solut pe o traiectorie aleatoare, între particulele care se găsesc în coloană. Datorită faptului că trebuie să străbată spațiul dintre particulele de umplutură, fiecare moleculă va avea un traseu puțin diferit de ale celorlalte și drept urmare lungimea drumului parcurs în coloană va fi diferită, rezultând dispersia moleculelor. Această dispersie depinde de forma și geometria umpluturii din coloana.

- Difuziunea moleculară longitudinală, a componentilor în eluent, care este determinată de gradientul de concentrație și care duce la dispersia moleculelor dinspre zonele cu concentrații mai mari spre zonele cu concentrații mai mici, de-a lungul axei pe care are loc deplasarea.

- Rezistența la transferul de masă, care este determinată de timpul diferit necesar moleculelor individuale pentru a se transfera din faza mobilă în faza staționară, respectiv din faza staționară în cea mobilă. Moleculele care se vor situa mai aproape de interfață vor face acest transfer mai rapid decât cele situate la o distanță mai mare, ceea ce duce de asemenea la dispersia lor.

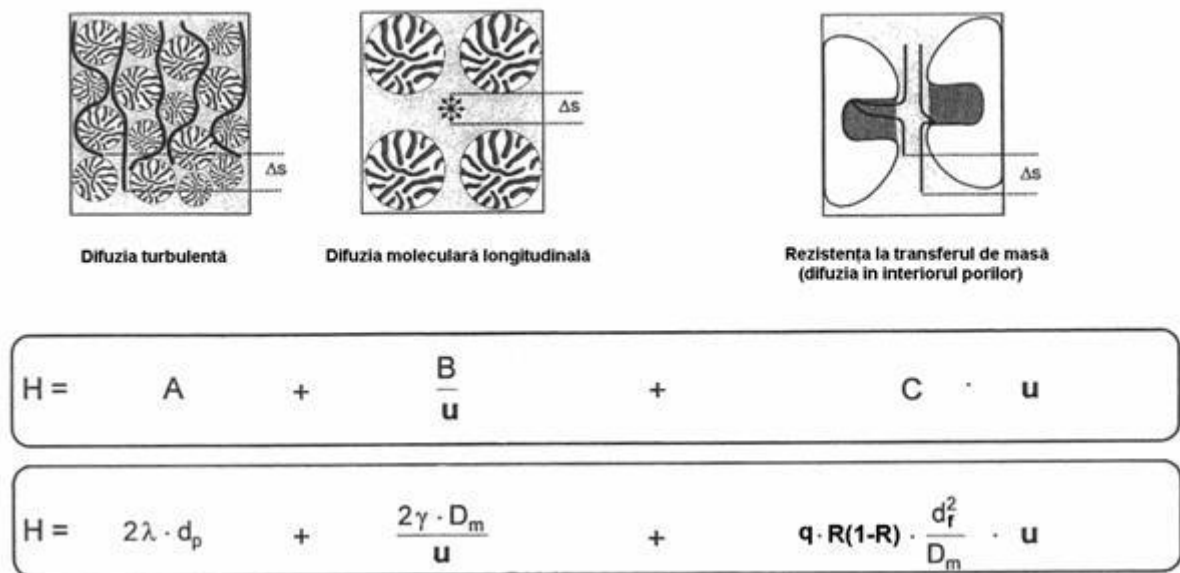


Figura 4. Elemente care contribuie la dispersia zonei solutului

Dispersia zonei cromatografice poate fi exprimată cantitativ cu ajutorul parametrilor statistici legați de procesul de migrare. Cel mai important asemenea parametru este abaterea standard σ , care se poate exprima cu ajutorul relației:

$$\sigma = l \cdot \sqrt{n} \quad (23)$$

unde l reprezintă lungimea medie a unei trepte ce constituie distanța dintre două sorbții, iar n este numărul treptelor de sorbție. Semnificația acestei relații este ca un număr mare de molecule individuale, care pornesc în același timp să străbată sistemul cromatografic, vor da naștere unei zone de migrare din ce în ce mai difuze pe măsură ce are loc migrarea. Această dispersare a zonei, exprimată ca și concentrația moleculelor componente respective în funcție de distanța străbătută se va înscrie pe o curba de distribuție de tip Gauss. Așa cum s-a arătat, din punct de vedere geometric abaterea standard σ reprezintă lățimea curbei Gauss între punctele de inflexiune.

Un alt parametru important pentru caracterizarea dispersiei zonei cromatografice este înălțimea echivalentă a talerului teoretic H . Se poate considera ca pentru o coloana uniformă H este identic cu lungimea unei trepte de sorbție l , iar distanța de migrare pe direcția de curgere, echivalentă cu lungimea coloanei L , va fi egală cu produsul ($l \times n$). Pe baza ecuației (23) rezulta:

$$\sigma^2 = l^2 \cdot n = H \cdot L \quad \text{deci}$$

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad (24)$$

H fiind proporțional cu σ^2 , rezulta ca înălțimea echivalentă a talerului teoretic va depinde de contribuția fiecărui element care determină dispersia zonei cromatografice. Această dispersie depinde la rândul ei de cele trei procese difuzionale care au fost menționate: difuziunea turbulentă, difuziunea moleculară și rezistența la transferul de masă. Dispersia totală poate fi considerată suma dispersiilor individuale, pe baza regulii de aditivitate, deoarece ele nu se influențează reciproc:

$$\sigma^2 = \sigma_{dt}^2 + \sigma_{dl}^2 + \sigma_{tm}^2 \quad (25)$$

În consecință, expresia înălțimii echivalente a talerului teoretic se va obține de asemenea prin însumarea a trei termeni, reprezentând contribuția difuziunii turbulente, difuziunii moleculare și rezistenței la transferul de masă:

$$H = H_{dt} + H_{dl} + H_{tm} \quad (26)$$

Fiecare dintre termenii care intervin în această relație a fost explicat de Van Deemter s.a., iar ecuația rezultată poartă numele de ecuația cinetica a înălțimii talerului teoretic sau ecuația Van Deemter pentru coloane cu umplutura:

$$H = 2 \cdot \lambda \cdot d_p + 2 \cdot \gamma \cdot \frac{D_m}{v} + \frac{q \cdot R(1-R) \cdot d_f^2}{D_s} \cdot v \quad (27)$$

În care semnificația parametrilor este următoarea:

- λ - constanta ce depinde de iregularitățile particulelor de umplutura;
- d_p - diametrul mediu al particulelor de umplutura;
- γ - coeficient de corecție pentru iregularitățile spațiilor dintre particule;
- D_m - coeficient de difuziune al solutului în faza mobilă;
- q - constanta, numita factor de configurație al sistemului cromatografic;
- R - factorul de întârziere (retardare) selectiva al solutului;
- d_f - grosimea mediu al filmului pe faza staționară, considerată uniformă;
- D_s - coeficient de difuziune al solutului în faza staționară;
- v - viteza medie liniară a fazei mobile.

Într-o formă restrânsă, ecuația Van Deemter se poate scrie ca:

$$H = A + \frac{B}{v} + C \cdot v \quad (28)$$

Această formă restrânsă se bazează pe constatarea ca toți parametrii care intervin în ecuația Van Deemter sunt constanți pentru un sistem cromatografic dat, cu excepția vitezei fazei mobile v . Așadar, forma restrânsă exprimă mai clar dependența înălțimii echivalente a talerului teoretic H de viteza fazei mobile v . Coeficienții A , B și C se numesc coeficient de difuziune turbulentă, coeficient de difuziune moleculară și coeficient de rezistență la transferul de masă.

Dacă în ecuația (27) se înlocuiește $q = \frac{8}{\pi^2}$ și $R = \frac{1}{1+k'}$

se obține ecuația Van Deemter pentru cromatografia de gaze:

$$H = 2 \cdot \lambda \cdot d_p + 2 \cdot \gamma \cdot \frac{D_m}{v} + \frac{8}{\pi^2} \cdot \frac{k' \cdot d_f^2}{(1+k')^2 \cdot D_s} \cdot v \quad (29)$$

Evident că forma simplificată a ecuației (29) este tot de forma (28). Din ecuațiile (27) și (28) rezultă că la viteze mari ale fazei mobile contribuția difuziunii moleculare la înălțimea talerului teoretic va fi redusă, în timp ce contribuția rezistenței la transferul de masă va fi determinantă. La viteze mici ale fazei mobile este invers, adică determinantă devine contribuția difuziunii moleculare.

Cei trei termeni ai ecuației (28) se pot reprezenta grafic în funcție de viteza fazei mobile v , obținându-se curbele din Figura 5, iar prin însumarea lor se obține graficul dependenței înălțimii talerului teoretic de viteza fazei mobile $H = f(v)$.

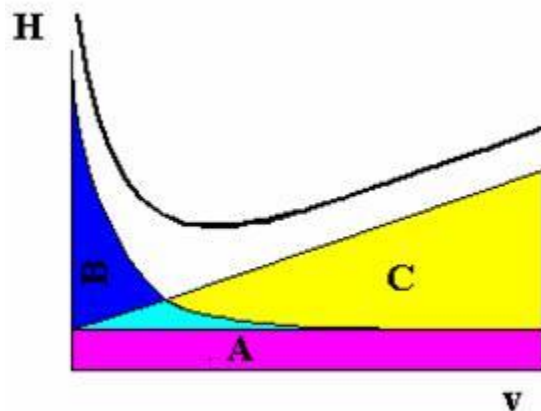


Figura 5. Reprezentarea grafica a ecuației Van Deemter

Din această reprezentare se observa că se obțin valori ridicate ale înălțimii H pentru valori extreme (mari și mici) ale vitezei fazei mobile, respectiv o valoare minimă a înălțimii talerului teoretic ce corespunde vitezei optime a fazei mobile. Așadar pentru a obține o dispersie minimă a zonei solutului ar trebui să se lucreze la această valoare optimă a vitezei fazei mobile. În practică însă se prefera să se lucreze la viteze ceva mai mari, pentru a reduce durata efectuării analizei, care este de asemenea un factor foarte important în cromatografie. Din alura curbei se poate observa că este posibil să se lucreze la o viteză cu aproximativ 50% mai mare decât cea optimă, în condițiile doar a unei scăderi mici a eficienței analizei, însă reducând considerabil durata efectuării analizei.

Relația (27) reprezintă forma generală a ecuației Van Deemter, valabilă pentru cromatografia pe coloane cu umplutură. Pentru alte tipuri de cromatografie, există relații specifice, care țin cont de parametrii ce caracterizează aceste procese. Astfel, în cromatografia de gaze pe coloane capilare termenul A de difuziune turbulentă dispare. Atunci când faza staționară nu este lichidă ci solidă (în cazul cromatografiei de adsorbție),

în termenul C se înlocuiește $\frac{d_f^2}{D_s}$ prin $2t_d$, unde t_d reprezintă timpul mediu de desorbție, în care moleculele solutului rămân atașate de suprafața adsorbentului.

În cazul cromatografiei de lichide, termenul A se poate de asemenea neglija pentru că vitezele de deplasare sunt mult mai mici și nu se produce difuziune turbulentă, însă trebuie de ținut cont de rezistența la transferul de masă în faza mobilă. În aceste condiții, forma restrânsă a ecuației Van Deemter este:

$$H = \frac{B}{v} + (C_s + C_M)v \quad (30)$$

unde C_s și C_M reprezintă coeficientul de rezistență la transferul de masă în faza staționară, respectiv în faza mobilă.

4. Parametrii care caracterizează eficiența separării cromatografice

În afara de parametrii care caracterizează migrarea și retenția componentelor, există și parametri care permit determinarea eficienței separării cromatografice și eficacității de separare a coloanei. Aceștia sunt: coeficientul de separare, rezoluția și numărul de talere teoretice. Primii doi sunt parametri de eficiență și se referă la componente, care eluează succesiv, adică au picuri vecine în cromatogramă.

Coeficientul de separare (α)

Se definește prin raportul coeficienților de distribuție, la echilibru, sau al factorilor de capacitate a doua componente, ale căror picuri sunt vecine (Figura 6).

$$\alpha = \frac{K_2}{K_1} = \frac{k_2'}{k_1'} = \frac{t_{R_2}'}{t_{R_1}'} \quad (31)$$

Acest parametru corelează interacțiunile moleculare dintre cei doi soluți și fazele cromatografice. Pentru ca să avem o separare a componentelor analizate, trebuie ca α să fie diferit de 1. În cazul cromatografiei de gaze, prin alegerea adecvată a fazei staționare, aceste interacțiuni pot fi dirijate astfel, încât să se realizeze o selectivitate corespunzătoare a sistemului cromatografic. În cazul cromatografiei de lichide, intervin și

interacțiunile soluțiilor cu faza mobilă, iar coeficientul de separare se poate optimiza cel mai bine prin alegerea adecvată a solventului sau amestecului de solvenți utilizat drept fază mobilă.

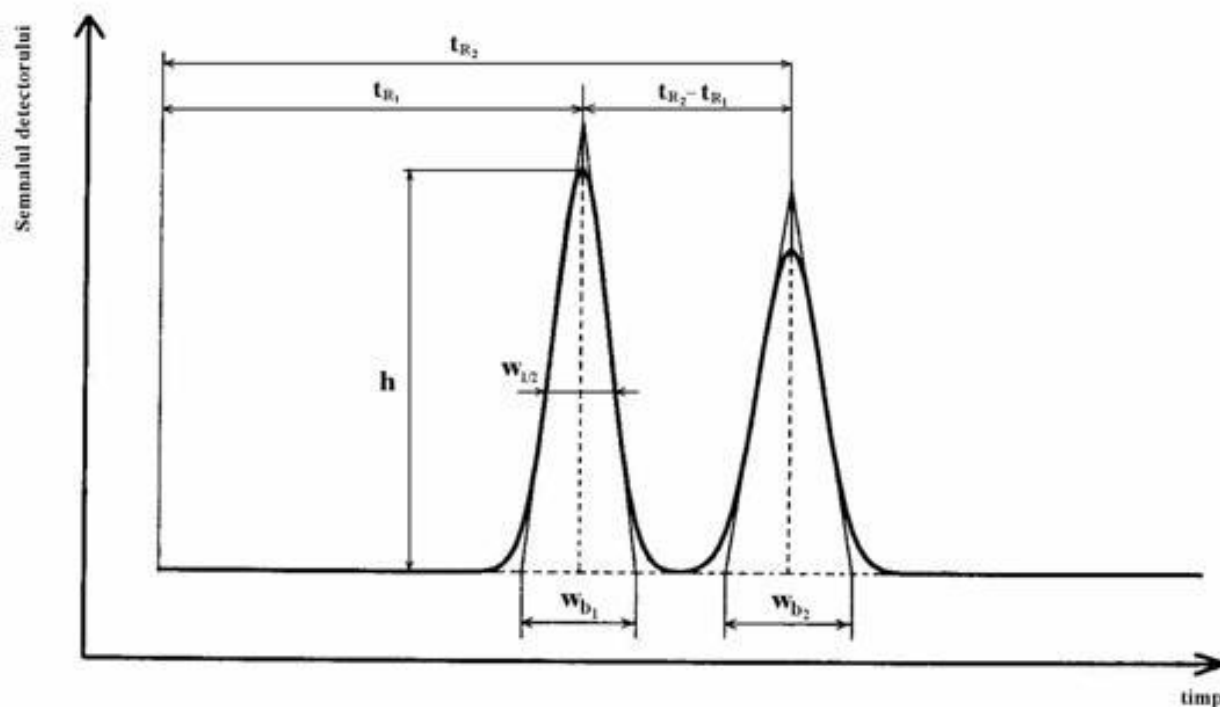


Figura 6. Eficiența separării a doua picuri vecine

Rezoluția (R_s)

Este cel mai important parametru care caracterizează eficiența separării cromatografice. Se definește prin raportul dintre diferența timpilor de retenție a două componente cu picuri vecine și suma lățimilor picurilor respective în dreptul punctelor de inflexiune.

$$R_s = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{2(\sigma_2 + \sigma_1)} \quad (32)$$

Deoarece valoarea abaterii standard σ este mai dificil de determinat experimental, se preferă utilizarea lăţimii picului la baza, w_b sau a lăţimii picului la jumătatea înălţimii $w_{1/2}$. În aceste cazuri, relaţia (32) devine:

$$R_s = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{w_{b_2} + w_{b_1}} \quad (33)$$

$$R_s = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{0,849(w_{1/2(2)} + w_{1/2(1)})} \quad (34)$$

În cazul în care avem două picuri identice ca mărime, ale căror abateri standard pot fi considerate egale, relaţia rezoluţiei devine:

$$R_s = \frac{t_{R_2} - t_{R_1}}{4\sigma} \quad (35)$$

Numărul de talere teoretice (N)

Reprezintă una dintre cele mai importante caracteristici ale unui sistem cromatografic, exprimând eficienţa de separare a coloanei. Trebuie însă menţionat ca nu există un singur asemenea număr care să caracterizeze o anumită coloană, ci el va avea o valoare diferită pentru fiecare compus separat, chiar dacă aceste valori nu sunt mult diferite. Numărul de talere teoretice se defineşte prin raportul dintre lungimea coloanei şi înălţimea echivalentă a unui teler teoretic:

$$N = \frac{L}{H} \quad (36)$$

Întrucât:

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad \text{vom avea:} \quad N = \frac{L^2}{\sigma_L^2} \quad (37)$$

Deoarece numărul de talere este adimensional, rezulta ca abaterea standard σ_L trebuie exprimată în unitati de lungime, adica în acest caz dispersia solutului se exprima în raport cu distanța parcursa x . În majoritatea tehnicilor cromatografice însă (exceptând cromatografia planara), parametrul principal, la care se face raportarea este timpul de retenție și nu distanța parcursă de solut. De aceea este mai comod să se exprime și numărul de talere teoretice tot în funcție de timpul de retenție. Se folosește relația:

$$L = v \cdot R \cdot t_R$$

$$t_R = \frac{L}{v \cdot R}$$

Pentru ca N sa ramâna adimensional, este necesar ca și abaterea standard sa fie exprimată în unități de timp. Trecerea de la abaterea standard exprimată în unități de lungime la cea exprimată în unități de timp se face cu o relație asemănătoare:

$$\sigma_L = v \cdot R \cdot \sigma_t \quad \text{respectiv:} \quad \sigma_t = \frac{\sigma_L}{v \cdot R}$$

Relația numărului de talere teoretice devine:

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma_t^2}$$

(38)

Deoarece aceasta relație este general utilizată, nu se mai utilizează indicele t însă se subînțelege faptul că abaterea standard este exprimată în unități de timp. Acest lucru trebuie avut în vedere atunci când se face determinarea experimentală a numărului de talere teoretice. Există și posibilitatea (mai puțin utilizată practic) de a folosi volumul de retenție în loc de timpul de retenție. În acest caz, evident și abaterea standard va trebui exprimată în unități de volum.

În analizele curente, este mai ușor să se utilizeze lățimea picului la baza w_b și nu abaterea standard, care este mai greu de determinat experimental. Numărul de talere teoretice se determină în acest caz conform relației:

$$N = 16 \frac{t_R^2}{w_b^2}$$

(39)

ținând cont că $w_b = 4 \cdot \sigma$

Din relația (39) se observă că numărul de talere teoretice se calculează ținând cont de întregul timp de retenție, deci include și un număr de talere corespunzătoare timpului mort al coloanei, care nu au nici o semnificație în ce privește eficiența separării cromatografice. Din acest motiv, a fost definit și un alt parametru, numit număr efectiv de talere teoretice, care se definește pe baza timpului de retenție ajustat și reprezintă o măsură mai exactă a eficienței coloanei.

$$N_{ef} = 16 \frac{t_R'^2}{w_b^2}$$

(40)

Se observa ca atunci când t_R tinde spre t_M , N_{ef} tinde spre 0.

Numărul efectiv de talere teoretice este cuprins în general între 500 și 2.000 în cazul coloanelor cromatografice cu umplutură și între 20.000 și 100.000 în cazul coloanelor capilare.

Pentru caracterizarea eficienței unei coloane cromatografice, este mai indicat să se folosească numărul de talere teoretice și nu rezoluția. Numarul de talere teoretice suferă modificări moderate de la o zonă la alta a coloanei, în timp ce rezoluția diferă foarte mult de la o pereche de componente la alta.

Determinarea experimentală a numărului de talere teoretice se poate face pe baza cromatogramei analizei respective, măsurând timpii de retenție și lățimile picurilor în dreptul punctelor de inflexiune (care sunt egale cu 2σ). Din punct de vedere practic este mai indicat și în acest caz să se utilizeze lățimea picului la bază w_b sau lățimea la jumătatea înălțimii picului $w_{1/2}$. În acest din urma caz, numarul de talere teoretice se va calcula cu relația:

$$w_{1/2} = 2,354 \cdot \sigma \quad (41)$$

$$N = \frac{t_R^2}{\sigma^2} = \frac{(2,354 \cdot t_R)^2}{w_{1/2}^2} = 5,54 \frac{t_R^2}{w_{1/2}^2} \quad (42)$$

Pentru calculul numărului de talere teoretice în cazul picurilor asimetrice au fost propuse o serie de relații. Una dintre acestea, care folosește factorul de asimetrie A_s este:

$$N = \frac{41,7}{A_s + 1,25} \cdot \frac{t_R^2}{w_{0,1}^2} \quad (43)$$

unde $w_{0,1}$ este lățimea picului calculată la 10% din înălțime, calculata de la bază.

