

# Descrizione quantitativa dell'efficienza della colonna

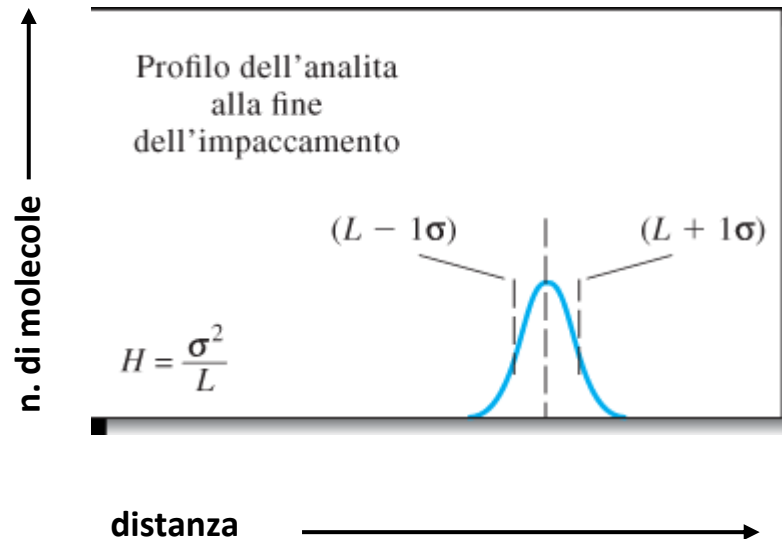
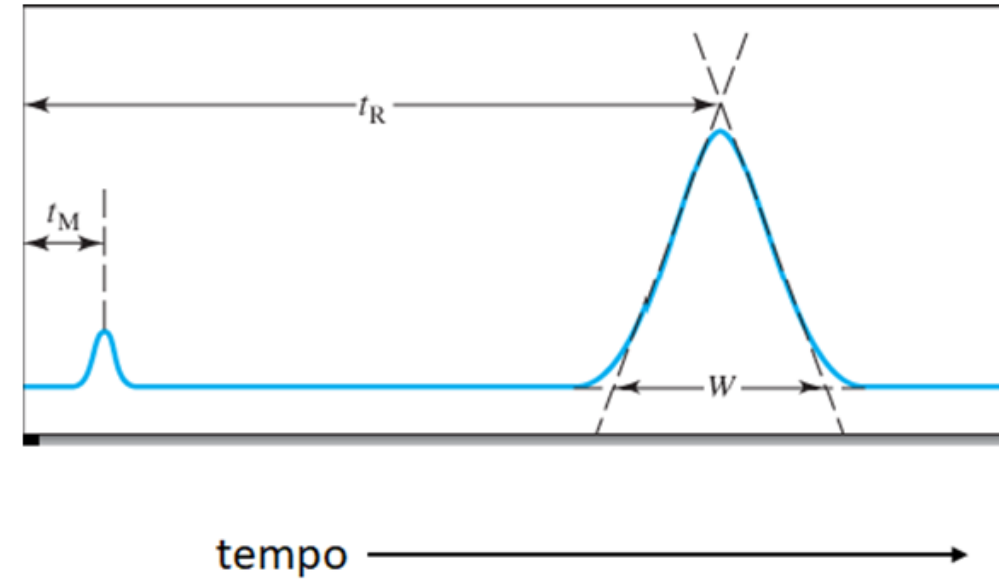
**N** può essere descritta dal rapporto tra  $L$  (lunghezza dell'impaccamento della colonna) e  $H$  (altezza del piatto).

L'efficienza di una colonna cromatografica aumenta all'aumentare del numero dei piatti  $N$  e alla diminuzione dell'altezza del piatto teorico  $H$ .

**N** può variare da poche centinaia a parecchie centinaia di migliaia

**H** può variare tra pochi decimi fino a < un milionesimo di centimetro

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

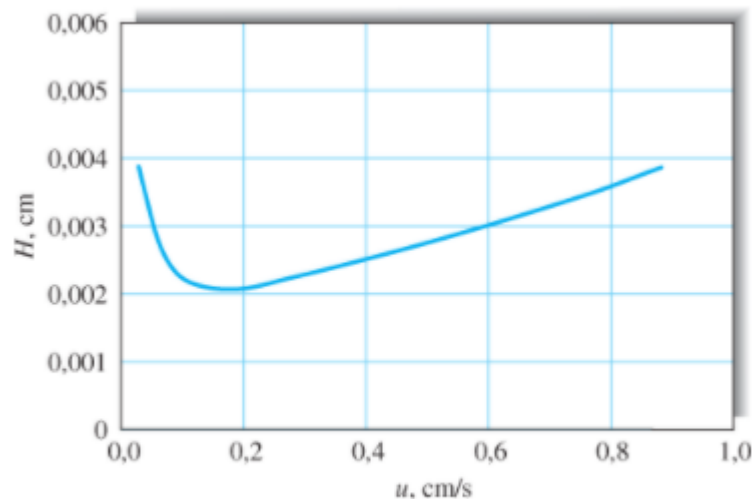


altezza del piatto ( $H$ ) può considerarsi come la lunghezza di colonna che contiene una frazione di analita compresa tra  $L$  e  $L - \sigma$ .

Area della curva normale di errore compresa tra  $\pm\sigma$  è circa il 68% dell'area totale l'altezza del piatto  $(L-1\sigma)$ , contiene il 34% dell'analita.

## Effetto della velocità di flusso della fase mobile

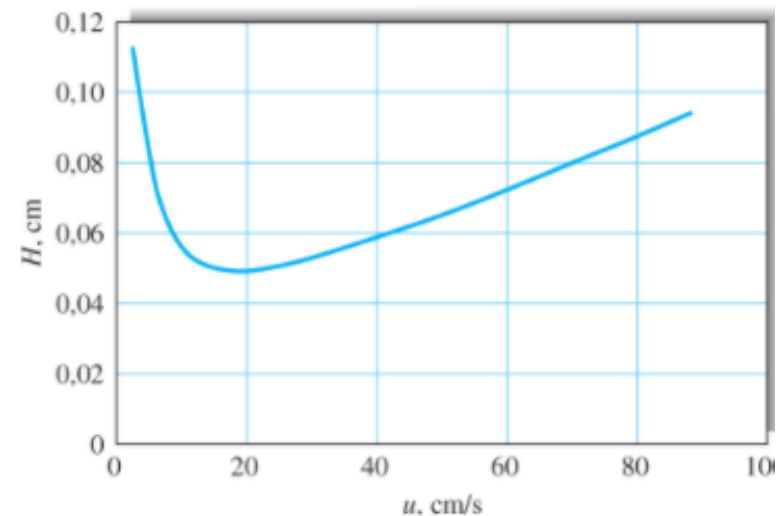
Allargamento di banda dipende dal tempo in cui la fase mobile resta in contatto con la fase stazionaria, che a sua volta dipende dalla velocità di flusso della fase mobile.



(a) Cromatografia liquida

Minimo di  $H$  (o un massimo di efficienza) a velocità di flusso lineare basse

Il valore minimo di  $H$  in cromatografia liquida si verifica per flussi che sono minori quelli tipici della gas cromatografia.



(b) Gas cromatografia

Colonne cromatografia liquida di 25-50 cm a causa dell'alta caduta di pressione.

Colonne per gas cromatografia > 50 metri o anche più.

N maggiore in colonne GC rispetto HPLC

## Teoria dell'allargamento di banda

Fattori che concorrono all'aumentare del valore H:

$$H = \frac{B}{u} + C_S u + C_M u$$

$u$  è la velocità lineare della fase mobile in cm/sec

$B$  è il coefficiente di diffusione longitudinale,

$C_S$  e  $C_M$  coefficienti di trasferimento di massa per la fase stazionaria e la fase mobile,

Nelle colonne impaccate (elevate velocità di flusso) H risulta:

### ***Equazione di van Deemter***

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

A effetto percorsi multipli

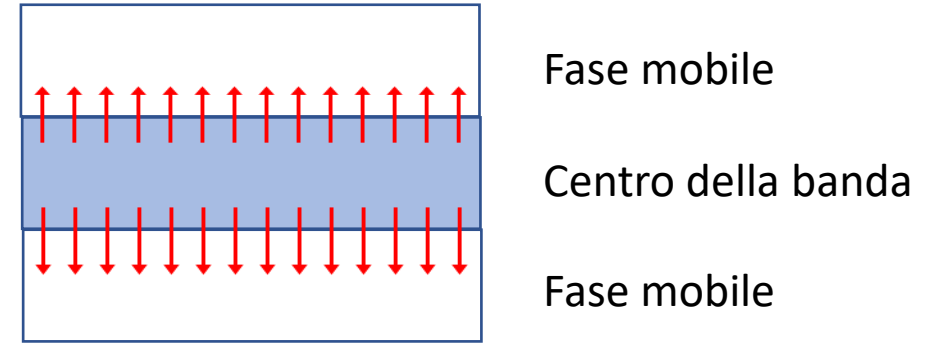
$B$  è il coefficiente di diffusione longitudinale,

$C_S$  coefficienti di trasferimento di massa per la fase stazionaria

$U$  velocità della fase mobil

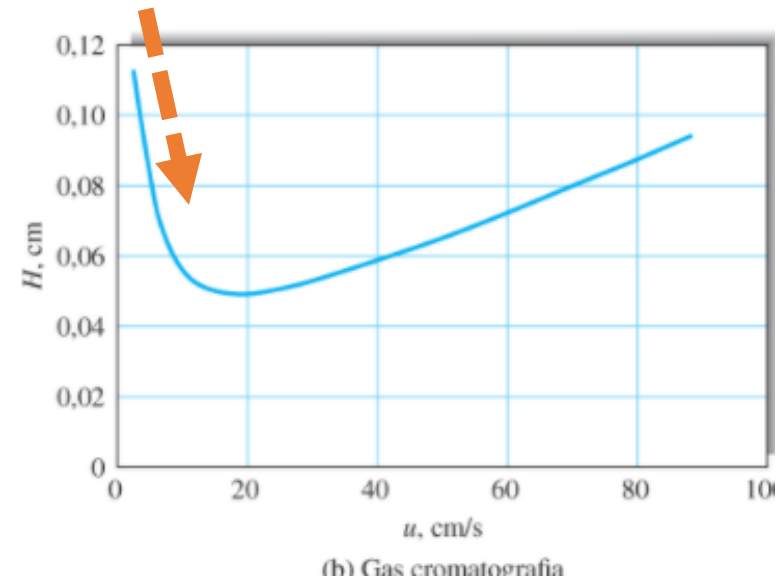
## Il coefficiente di diffusione longitudinale, $B/u$ .

Diffusione longitudinale ( $B/u$ ) spostamento di un soluto dal centro di una banda (dove la sua concentrazione è maggiore) a regioni in cui la concentrazione è minore e che sono poste rispettivamente da una parte e dall'altra rispetto alla banda



il contributo di  $B$  a  $H$  è **inversamente proporzionale** alla velocità lineare dell'eluente perché l'analita risiede nella colonna per un **tempo tanto minore quanto più alto è il flusso**. (minor tempo per verificarsi)

Diminuzione iniziale di  $H$  che si notano nelle misure di correlazione tra  $H$  e  $u$  sono una diretta conseguenza della diffusione longitudinale.



# Il coefficiente di trasferimento di massa nella fase stazionaria ( $C_s u$ )

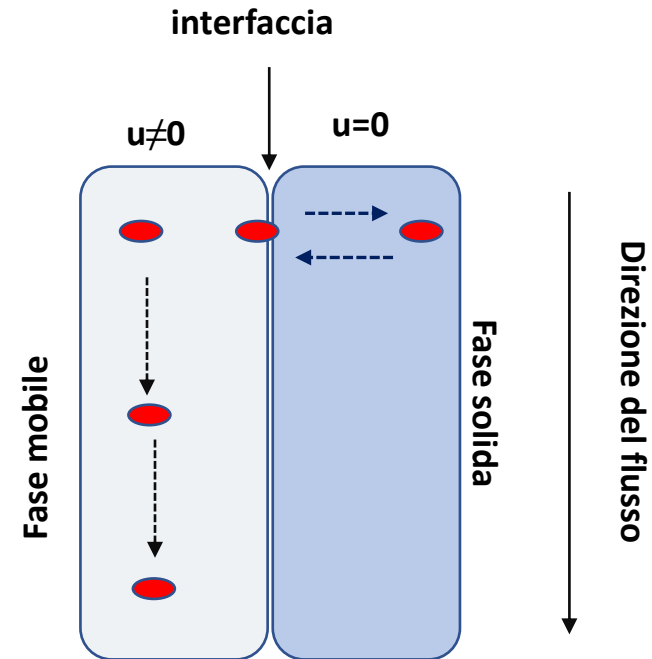
## FS liquida

Coefficiente di trasferimento di massa è direttamente proporzionale al quadrato dello spessore del film sulle particelle del supporto ed inversamente proporzionale al coefficiente di diffusione  $D_s$  del soluto nel film.

**Spessore e coefficiente di diffusione** contribuiscono a ridurre la frequenza media con cui le molecole dell'analita raggiungono l'interfaccia dove avviene il loro trasferimento a FM

## FS solida:

il coefficiente  $C_s$  è direttamente proporzionale al tempo richiesto ad una specie per essere adsorbita o desorbita, tempo che a sua volta è inversamente proporzionale alla costante di velocità di primo ordine per i processi.



**Film spessi:** le molecole devono compiere cammini maggiori per raggiungere la superficie

**Coefficienti di diffusione minori,** si spostano più lentamente.

La conseguenza è una minore velocità nel trasferimento di massa e un aumento dell'altezza del piatto.

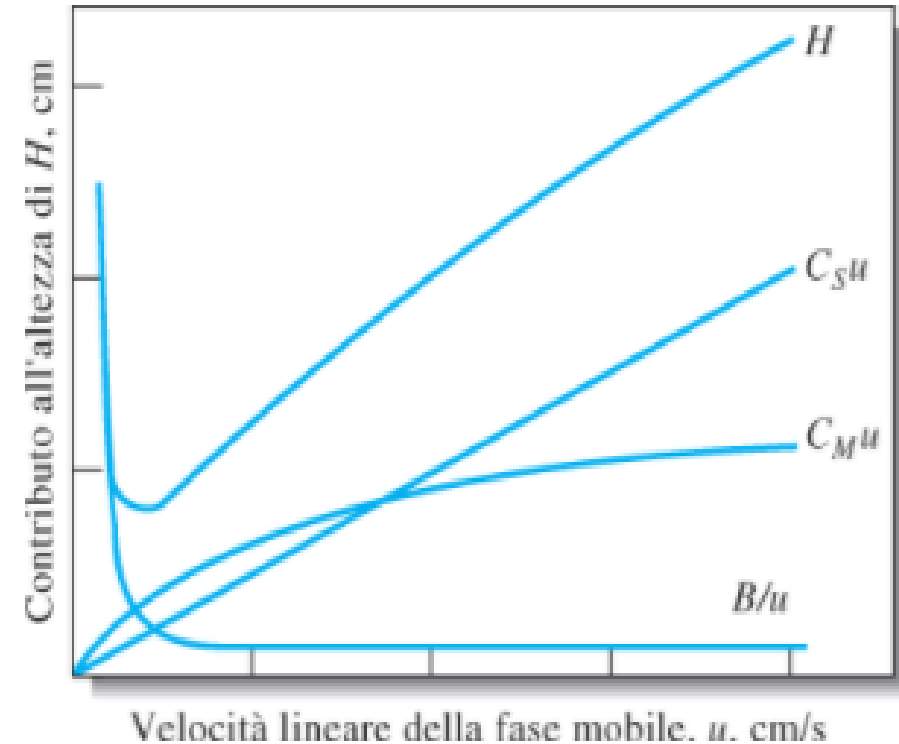
## Il coefficiente di trasferimento di massa nella fase mobile ( $C_M u$ )

Coefficiente di trasferimento di massa in fase mobile  $C_M$  è **inversamente proporzionale** al coefficiente di diffusione dell'analita nella fase mobile  $D_M$ .

Per le colonne impaccate è proporzionale al quadrato del diametro delle particelle del materiale di impaccamento.

Per le colonne capillari,  $C_M$  è proporzionale al quadrato del diametro della colonna, ed è una funzione della velocità di flusso.

Il contributo netto di  $u$  all'altezza del piatto non è lineare in  $C_M u$



## Percorsi multipli

Disomogeneità della fase stazionaria porta a percorsi di diversa lunghezza.

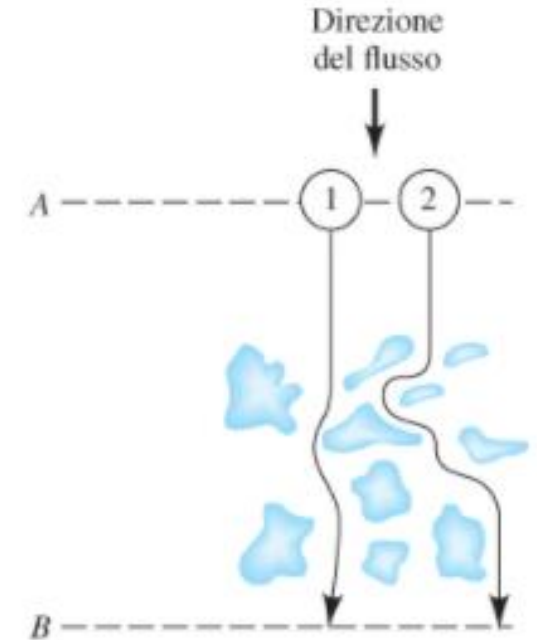
L'allargamento di banda nella fase mobile è dovuto in parte alla moltitudine di cammini possibili percorsi dalla molecola lungo una colonna impaccata.

Le molecole del soluto quindi raggiungono l'estremo della colonna in un determinato intervallo di tempo tale da portare ad una banda allargata.

Percorsi multipli e diffusione danno effetto additivo

velocità di flusso è molto bassa → le molecole non sono disperse in modo significativo dall'effetto dei percorsi multipli → prevale diffusione

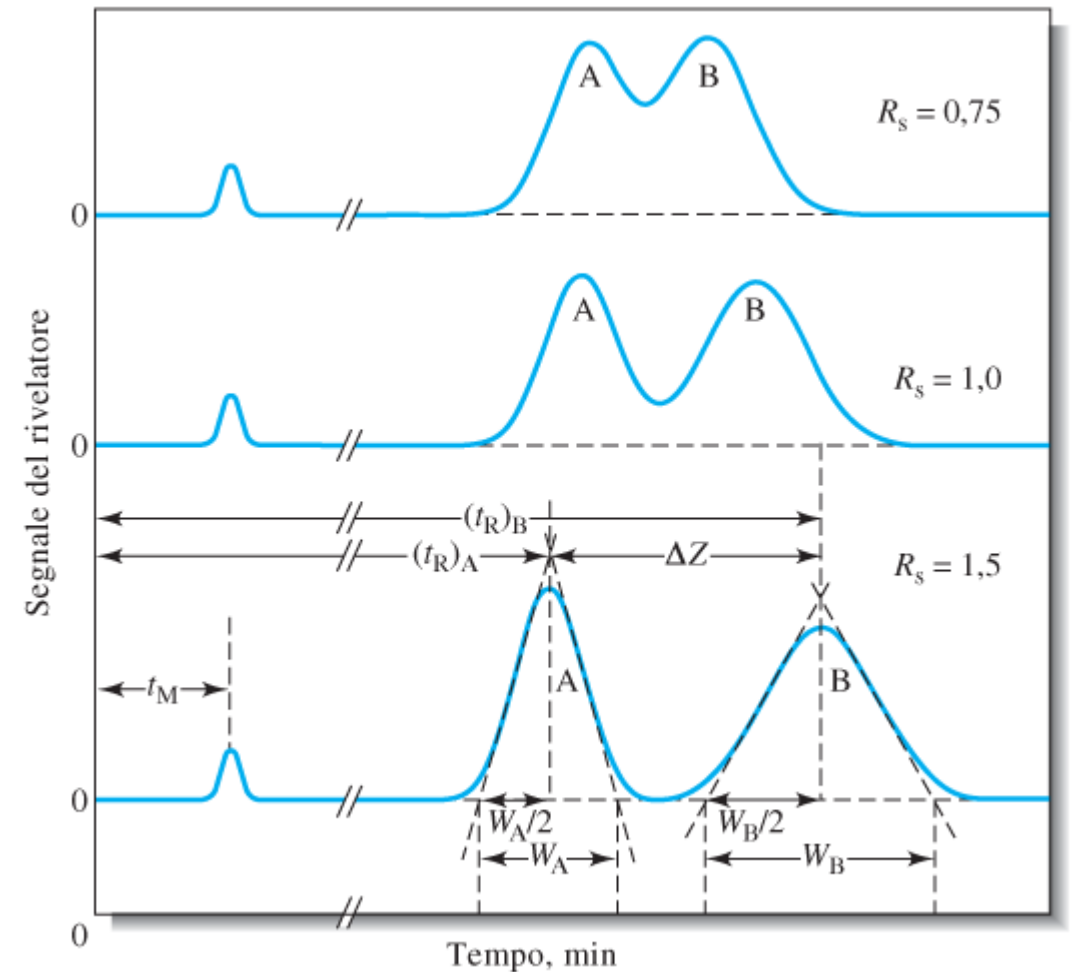
velocità di flusso moderate o alte → tempi non sufficienti a raggiungere una diffusione media → allargamento di banda dovuto ai percorsi multipli



## Risoluzione della colonna

La risoluzione,  $R_s$ , di una colonna ci dice quanto sono lontane due bande in relazione alle loro ampiezze. La risoluzione fornisce una misura quantitativa dell'abilità della colonna nel separare due analiti.

$$R_s = \frac{\Delta Z}{\frac{W_A}{2} + \frac{W_B}{2}} = \frac{2\Delta Z}{W_A + W_B} = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B}$$



La risoluzione può essere migliorata con colonne più lunghe → aumenta  $N$

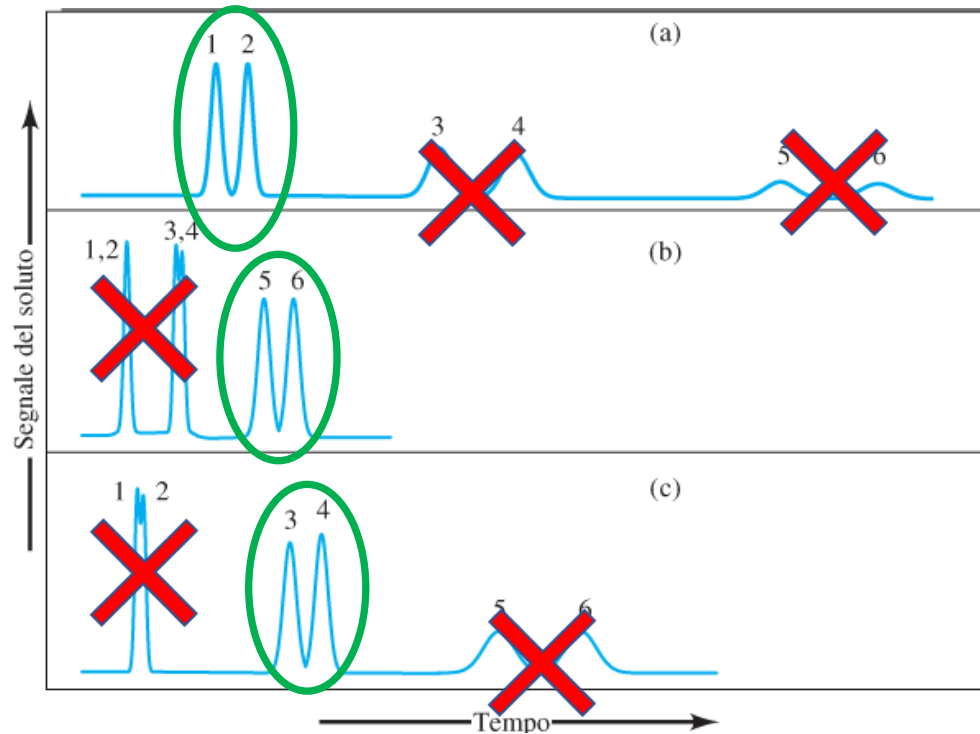
$N \uparrow \rightarrow \uparrow t_R \rightarrow \uparrow W \rightarrow \downarrow N$

Fattore autolimitante



## Problema generale dell'eluizione

miscela di sei componenti suddivisi in tre paia con costanti di distribuzione molto diverse → fattori di ritenzione molto diversi.



Per avere fattori di capacità compresi tra 1 e 10 per le 3 coppie si creano condizioni:

- Sovrapposizione dei picchi (coeluizione)
- Tempi di ritenzione troppo alti

➡  
➡  
➡

In cromatografia liquida,  $k$  viene modificata durante eluizione variando composizione fase mobile (eluizione a gradiente)

L'eluizione in condizioni di composizione costante della fase mobile è chiamata eluizione isocratica.

In gas-cromatografia,  $k$  viene modificato durante l'eluizione variando la temperatura (programmata di temperatura) → raggiungimento delle condizioni ottimali per la separazione