

TEMA 16: INTRODUCCIÓN A LAS SEPARACIONES CROMATOGRÁFICAS

1. Un soluto tiene un tiempo de retención de 8 min y la fase móvil tarda 2 min en atravesar la columna cromatográfica.
 - a. Calcule el factor de retención del soluto. (Sol.: 3)
 - b. ¿Cuánto tiempo pasa el soluto en la fase móvil y cuánto en la estacionaria? (Sol.: 2 y 6 min)
 - c. Calcule el número de platos de la columna si la anchura del pico del soluto a la altura de los puntos de inflexión es de 2,1 min. (Sol.: 58)
 - d. Dado que la columna tiene una longitud de 10 cm, calcule la altura equivalente de plato teórico. (Sol.: 1,72 mm)

2. Para la separación cromatográfica de vitaminas del grupo de las cobalaminas, mediante HPLC, se proponen dos conjuntos diferentes de condiciones experimentales (A y B) que aportan parámetros de separación distintos, que a continuación se detallan:

Especie	Condiciones experimentales A		Condiciones experimentales B	
	t_R , min	w_b , min	t_R , min	w_b , min
No retenida	0,97	-	1,0	-
Hidroxocobalamina (Cbl-OH)	3,5	0,8	1,6	0,8
Cianocobalamina (Cbl-CN)	4,9	0,9	4,0	1,1
Adenosilcobalamina (Cbl-Ade)	6,5	1,0	5,0	1,3
Metilcobalamina (Cbl-Me)	9,2	1,2	18,2	1,9

- a. Calcule para cada una de las condiciones experimentales:
 - a. Factor de retención de cada vitamina.
 - b. Factor de separación o retención relativa para todos los pares de picos adyacentes.
 - c. Factor de resolución para todos los pares de picos adyacentes.
 - d. Número de platos promedio.
 - e. Altura promedio de plato teórico, si la longitud de la columna es de 15 cm.

Soluciones:

- a. Condiciones A: $K_{\text{Cbl-OH}}=2,61$; $K_{\text{Cbl-CN}}=4,05$; $K_{\text{Cbl-Ade}}=5,70$; $K_{\text{Cbl-Me}}=8,48$
 Condiciones B: $K_{\text{Cbl-OH}}=0,6$; $K_{\text{Cbl-CN}}=3,0$; $K_{\text{Cbl-Ade}}=4,0$; $K_{\text{Cbl-Me}}=17,2$
 - b. Condiciones A: $\alpha_{\text{Cbl-CN/Cbl-OH}}=1,55$; $\alpha_{\text{Cbl-Ade/Cbl-CN}}=1,41$; $\alpha_{\text{Cbl-Me/Cbl-Ade}}=1,49$
 Condiciones B: $\alpha_{\text{Cbl-CN/Cbl-OH}}=5,0$; $\alpha_{\text{Cbl-Ade/Cbl-CN}}=1,33$; $\alpha_{\text{Cbl-Me/Cbl-Ade}}=4,3$
 - c. Condiciones A: $R_{\text{sCbl-CN/Cbl-OH}}=1,65$; $R_{\text{sCbl-Ade/Cbl-CN}}=1,68$; $R_{\text{sCbl-Me/Cbl-Ade}}=2,45$
 Condiciones B: $R_{\text{sCbl-CN/Cbl-OH}}=2,53$; $R_{\text{sCbl-Ade/Cbl-CN}}=0,83$; $R_{\text{sCbl-Me/Cbl-Ade}}=8,25$
 - d. Condiciones A: 599
 Condiciones B: 494
 - e. Condiciones A: 0,25 mm.
 Condiciones B: 0,3 mm.
- b. De acuerdo con los resultados obtenidos en el apartado anterior, elija las condiciones experimentales donde considere que la separación de las vitaminas es más eficiente. Justifique la elección. (Sol.: Condiciones A)