

ANALYTIKH XHMEIA



ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

- ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ
- ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ
- ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ
- ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΚΑΤΑΚΡΑΤΗΣΗΣ
- ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ
- ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΚΟΡΥΦΗΣ
- ΑΠΟΔΟΤΙΚΟΤΗΤΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ
- ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΣΤΗΛΗΣ

Καθηγητές

Βασίλης Σταθόπουλος

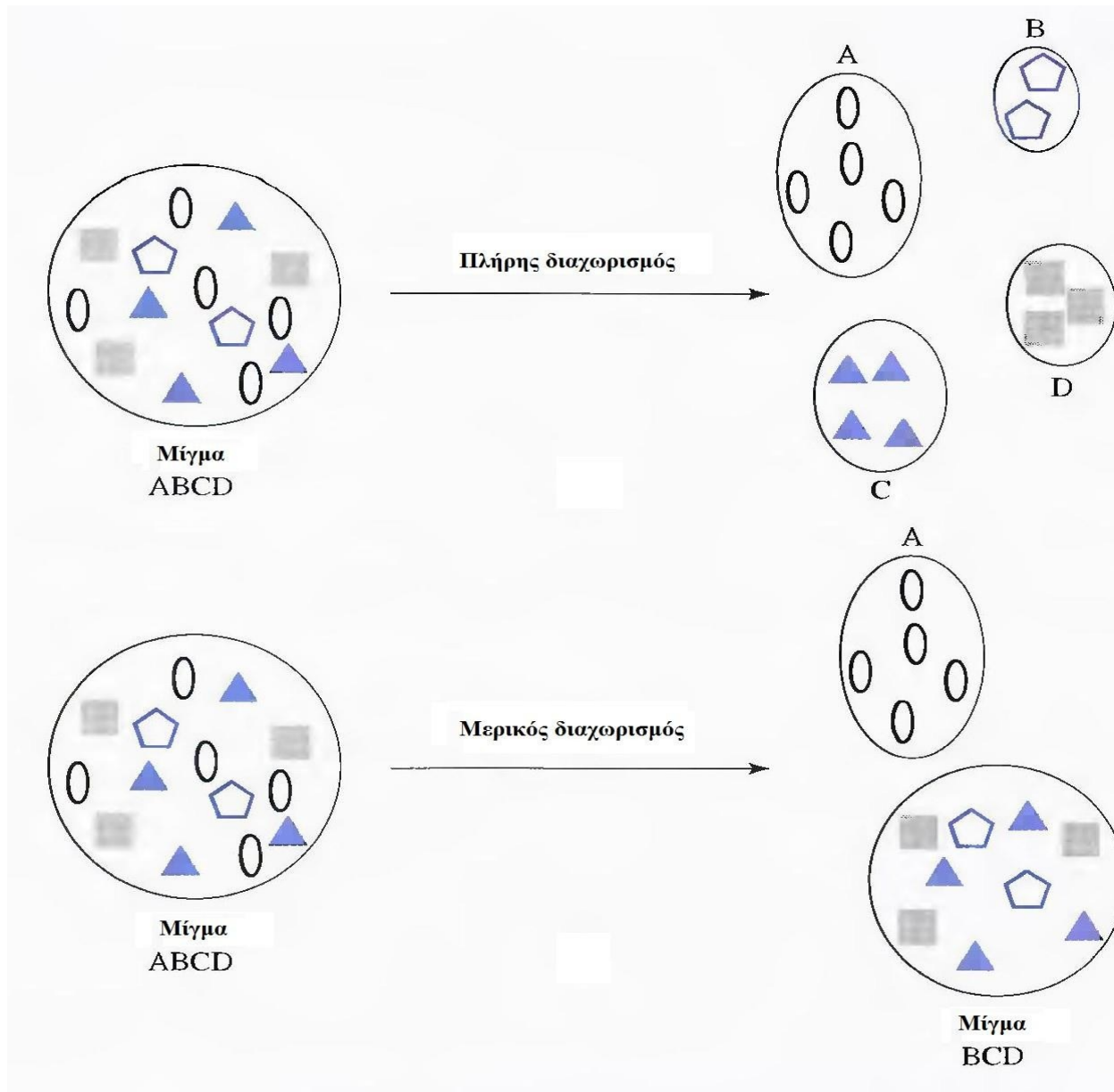
Όλγα Αρβανίτη

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Διαχωρισμός: απομόνωση του αναλύτη από πιθανές παρεμποδίζουσες ουσίες

Ο **παρεμποδιστής** είναι το χημικό σωματίδιο το οποίο προκαλεί συστηματικό σφάλμα σε μια ανάλυση αυξάνοντας ή μειώνοντας το αναλυτικό σήμα ή το σήμα υποβάθρου

Εισαγωγή στους αναλυτικούς διαχωρισμούς

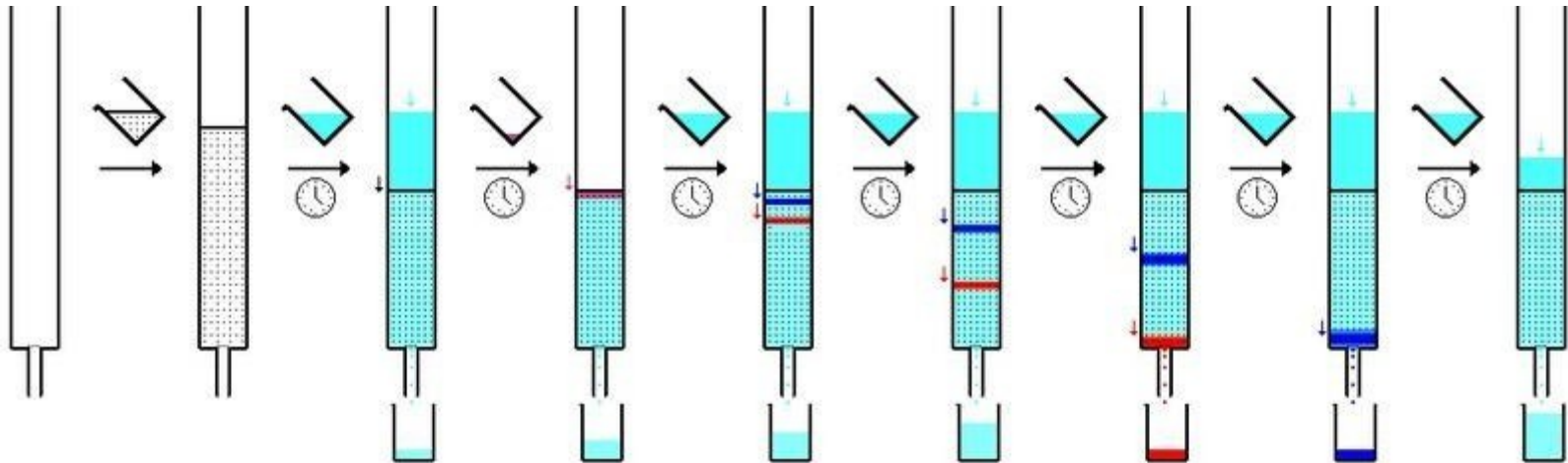
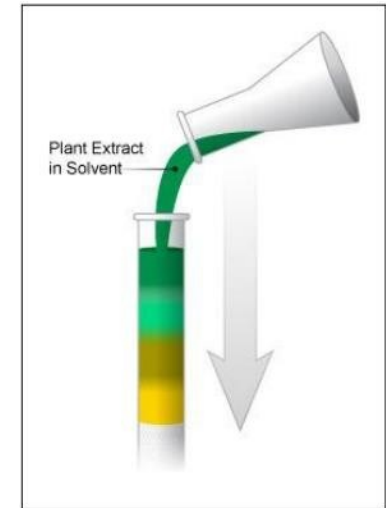


Χρωματογραφία

Εφευρέθηκε από τον Ρώσο βοτανολόγο Mikhail Tswett στις αρχές του 20^{ου} αιώνα.

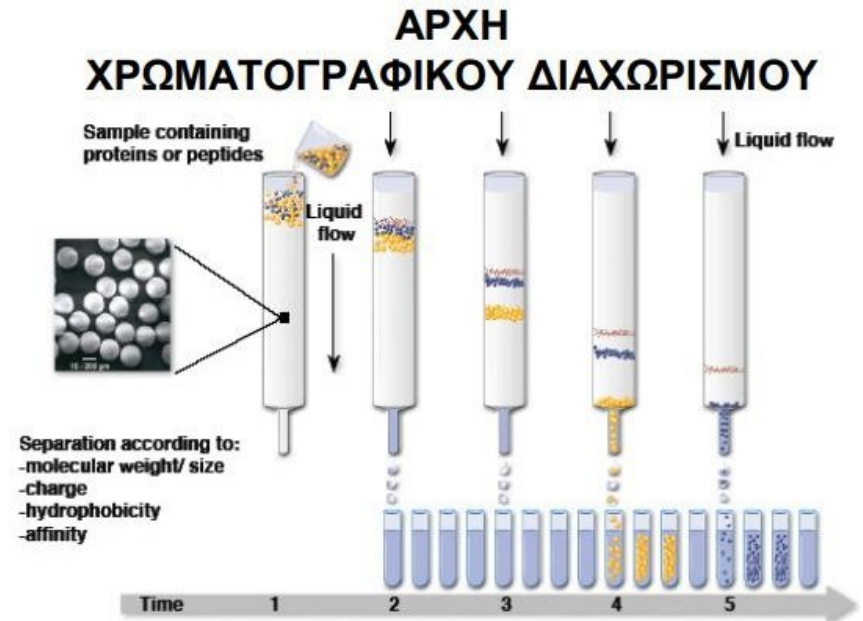
Χρησιμοποίησε την τεχνική αυτή για να διαχωρίσει φυτικές χρωστικές, όπως οι χλωροφύλλες και οι ξανθοφύλλες, με διαβίβαση διαλύματός τους μέσω υάλινου σωλήνα, ο οποίος ήταν γεμάτος με εξαιρετικά λεπτό ανθρακικό ασβέστιο.

Οι διαχωριζόμενες ουσίες εμφανίζονταν ως έγχρωμες ζώνες.



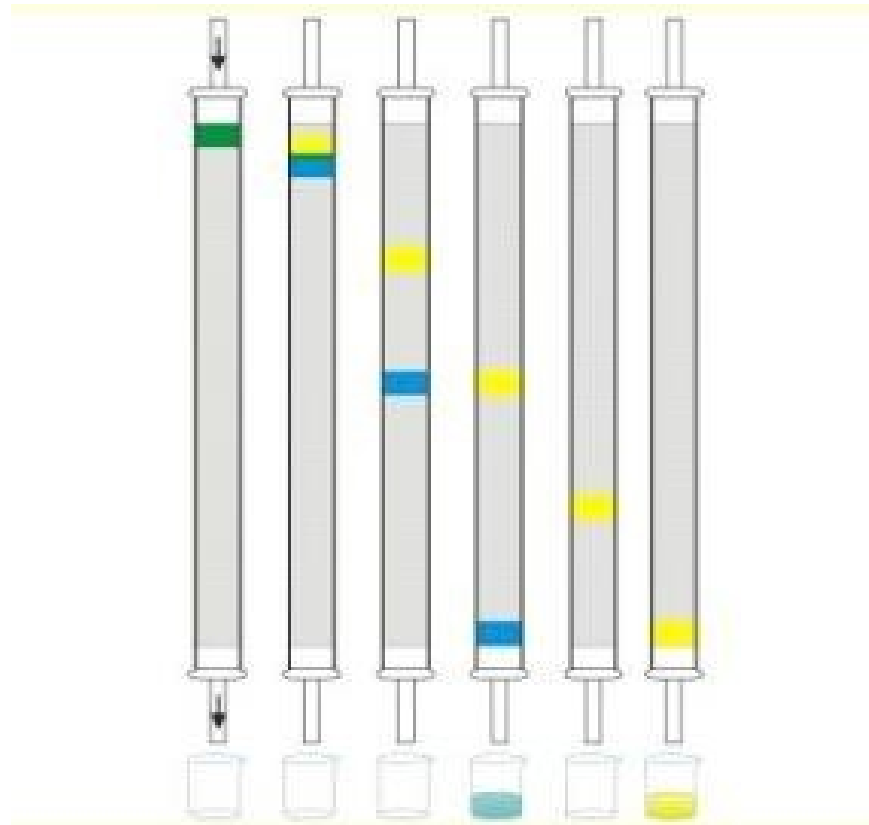
Βασίζεται στην ίδια αρχή με την εκχύλιση αλλά η μια φάση διατηρείται σταθερή και η άλλη κινείται.

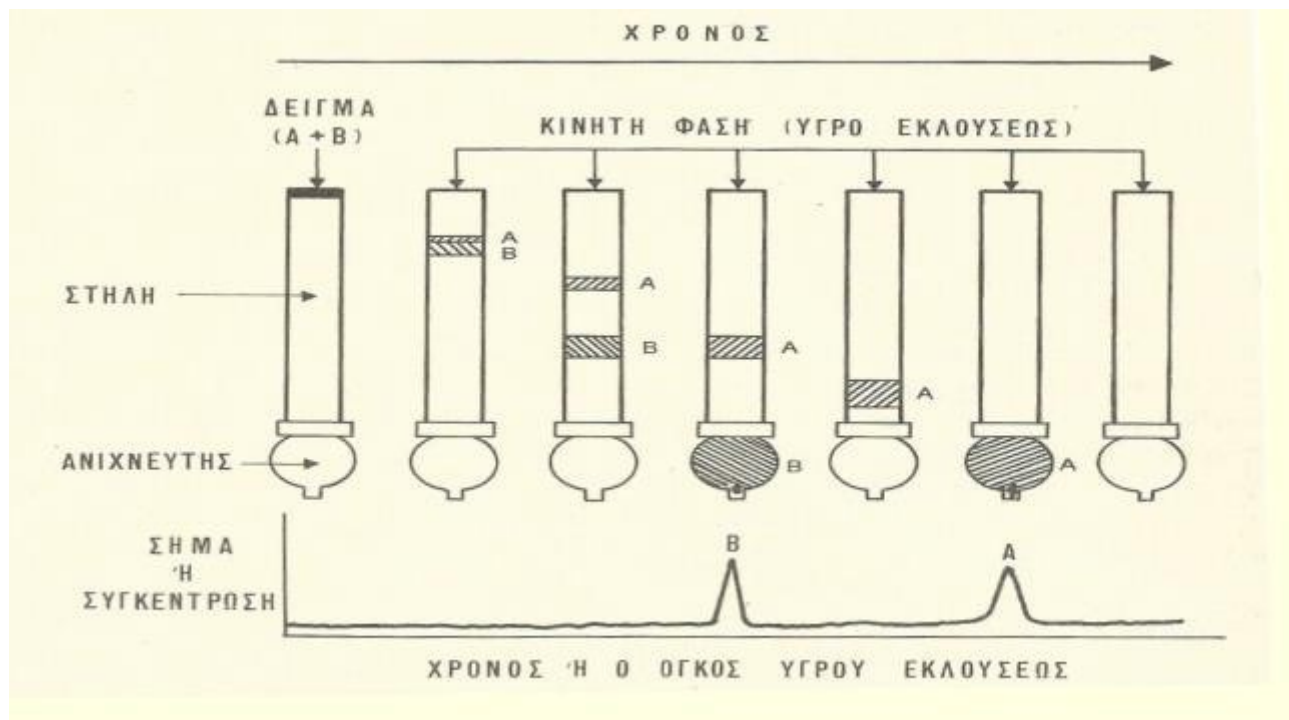
- Ο διαχωρισμός είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης μιας στατικής και μιας κινητής φάσης.
- Το δείγμα εισάγεται στη κορυφή της στήλης και με τη βοήθεια της κινητής φάσης τα συστατικά του μετακινούνται με τη μορφή ζωνών και τελικά εκχυλίζονται το ένα μετά το άλλο.
- Οι αναλυόμενες ουσίες κατανέμονται μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης, με αποτέλεσμα να μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες κατά μήκος της στήλης.

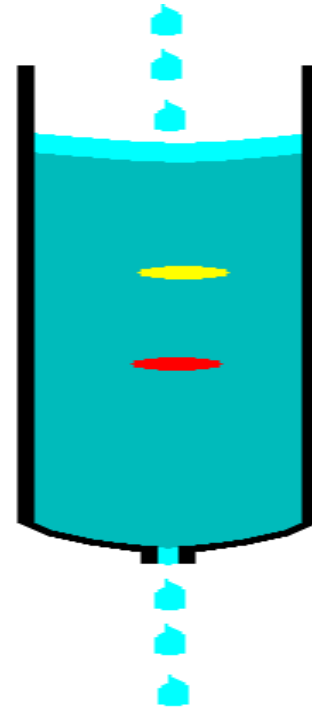
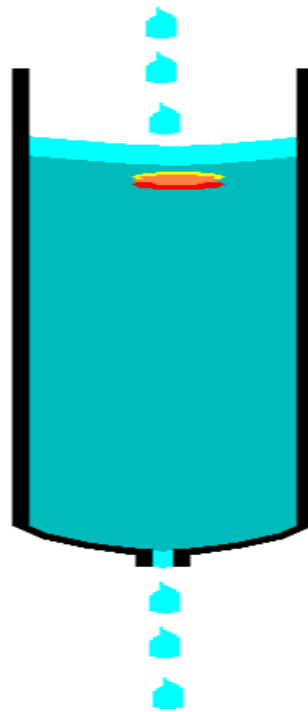
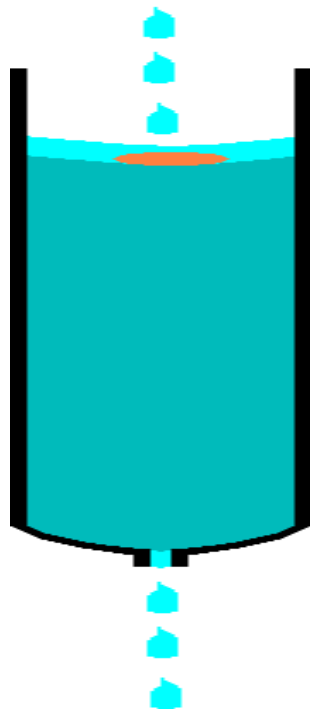


ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ

- Ποσότητα δείγματος, δύο συστατικών A και B, προστίθεται στην κορυφή (αρχή) της στήλης.
- Τα συστατικά κατανέμονται μεταξύ στατικής και κινητής φάσης.
- Το κλάσμα κάθε συστατικού που βρίσκεται στην κινητή φάση μετακινείται στη στήλη, έρχεται σε επαφή με νέο τμήμα της στατικής φάσης οπότε και έχουμε νέα κατανομή.
- Το κλάσμα που βρισκόταν στη στατική φάση, έρχεται σε επαφή με την κινητή φάση οπότε και έχουμε νέα κατανομή.
- Η διαδικασία επαναλαμβάνεται καθώς διαβιβάζεται νέα κινητή φάση
- **Τα συστατικά μετακινούνται μόνο όταν βρίσκονται στην κινητή φάση, με ταχύτητα η οποία εξαρτάται από τον χρόνο παραμονής τους σε αυτή**







Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφορών στη φυσικοχημική συγγένεια των ουσιών ως προς δύο φάσεις:

Στατική φάση (stationary phase): στρώμα στερεού ή υγρού ακινητοποιημένου σε στερεό υπόστρωμα μεγάλου εμβαδού

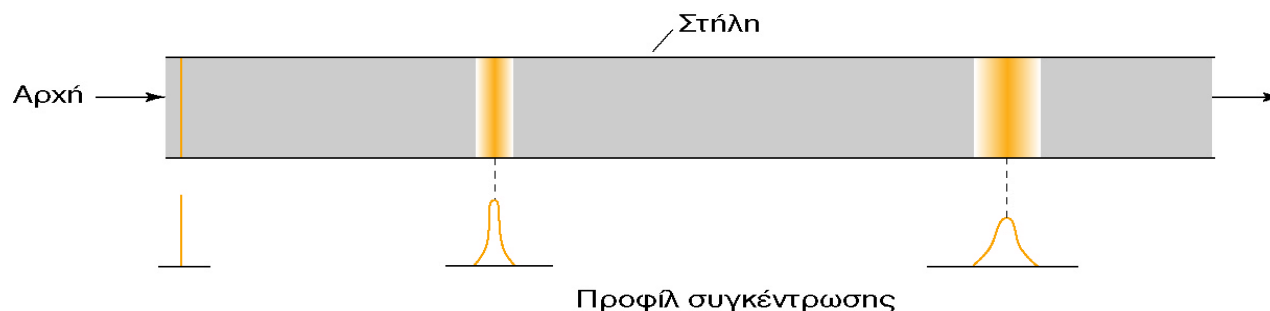
Κινητή φάση (mobile phase): ρευστό που κινείται διαμέσου και κατά μήκος της στατικής φάσης

➤ Οι δύο φάσεις επιλέγονται έτσι, ώστε τα συστατικά του δείγματος να κατανέμονται μεταξύ κινητής και στατικής φάσης σε διαφορετικό βαθμό:

✓ Διαφορετική ευκινησία

✓ Καταλαμβάνουν διαφορετικές ζώνες

και στη συνέχεια μπορούν να προσδιορισθούν ποιοτικά ή/και ποσοτικά.



Ταξινόμηση των Χρωματογραφικών Τεχνικών

Οι χρωματογραφικές τεχνικές μπορούν να ταξινομηθούν με δύο τρόπους:

1. Με βάση το είδος της στατικής φάσης

- **Χρωματογραφία στήλης:** η στατική φάση συγκρατείται σε μια στενή στήλη.
- **Επίπεδη χρωματογραφία:** η στατική φάση στηρίζεται σε μια επίπεδη πλάκα ή στους πόρους ενός χαρτιού. Στην περίπτωση αυτή η κινητή φάση κινείται μέσω της στατικής φάσης με τριχοειδή φαινόμενα ή με την επίδραση της βαρύτητας.

2. Με βάση τη φύση της κινητής φάσης

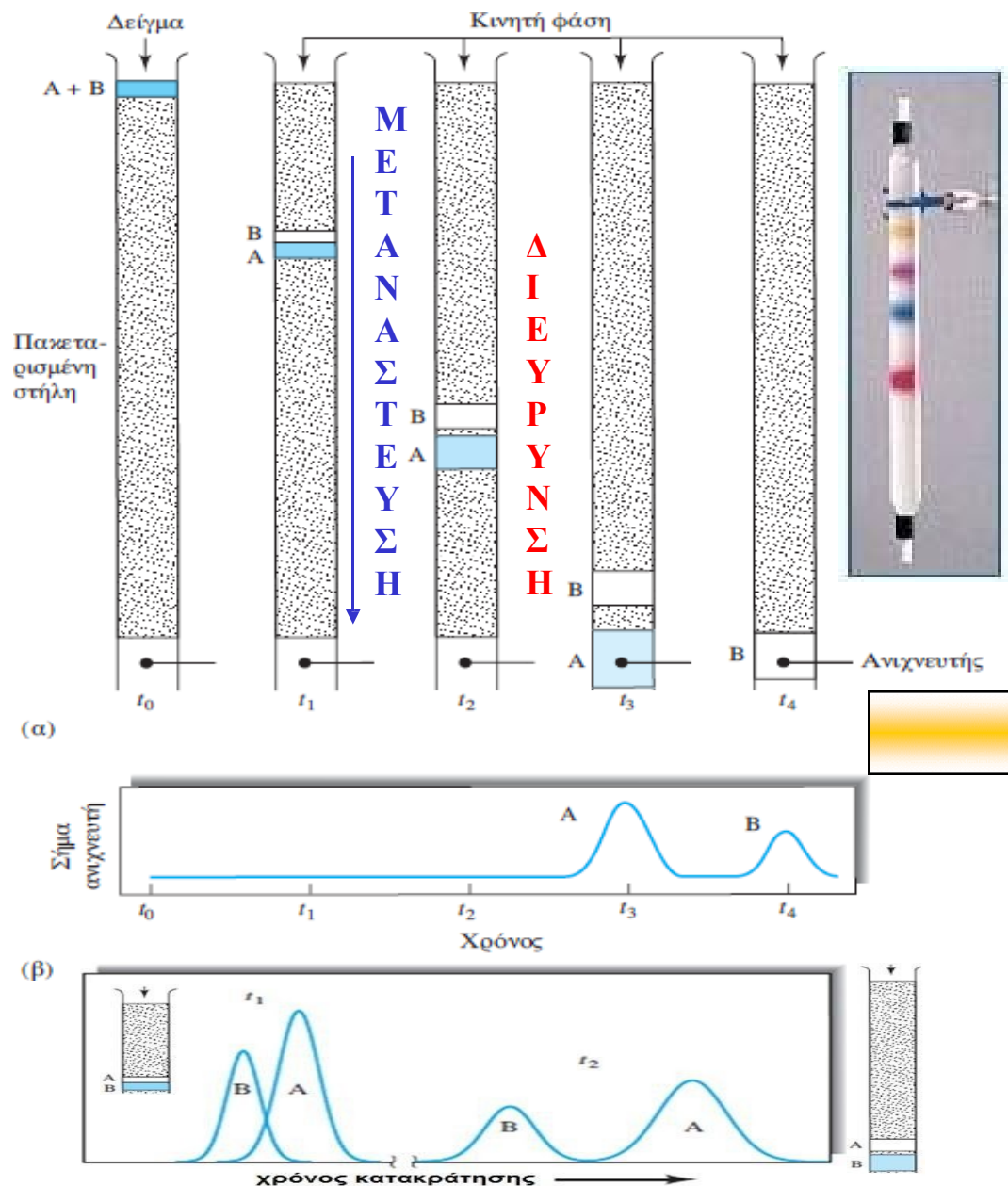
- **Υγρή χρωματογραφία & Αέρια χρωματογραφία**

Έκλυση σε χρωματογραφία στήλης

Οι Α και Β διαχωρίζονται με **χρωματογραφία στήλης** με μια κινητή φάση. Η **έκλυση** συνίσταται στην παραλαβή των μορίων (ή ιόντων) των ουσιών από τη στήλη με **συνεχή προσθήκη διαλύτη**. Τα συστατικά του δείγματος **κατανέμονται μεταξύ των δύο φάσεων**.

Χρωματογράφημα:

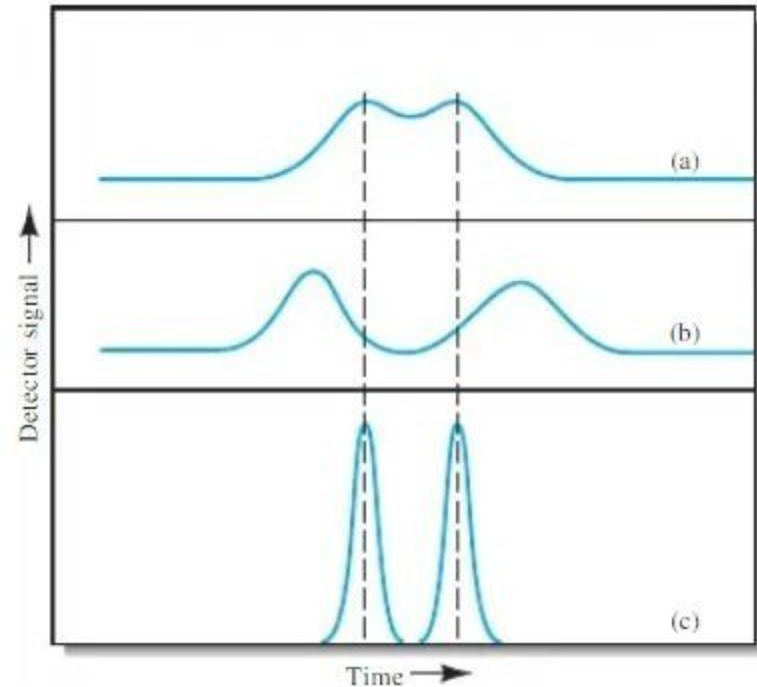
Λαμβάνεται όταν ένας ανιχνευτής, που αποκρίνεται στη συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών τοποθετηθεί στην έξοδο της στήλης, και το σήμα του καταγραφεί ως συνάρτηση του χρόνου.



Επίδραση της ταχύτητας διαχωρισμού και της διεύρυνσης των ζωνών

Συχνά είναι δυνατόν να παρατηρηθεί **βελτίωση των διαχωρισμών με ρύθμιση μεταβλητών.**

Οι μεταβλητές αυτές επηρεάζουν τις σχετικές ταχύτητες με τις οποίες μεταναστεύουν οι διαλυμένες ουσίες μέσω της στατικής φάσης.

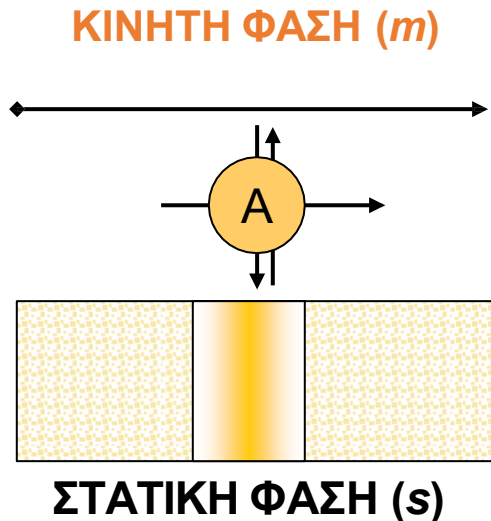


Σταθερές κατανομής

Ισορροπίες κατανομής του αναλύτη μεταξύ κινητής και στατικής φάσης.
Για τη διαλυμένη ουσία A, μπορούμε να γράψουμε: $A_{\text{κινητή}} \rightleftharpoons A_{\text{στατική}}$

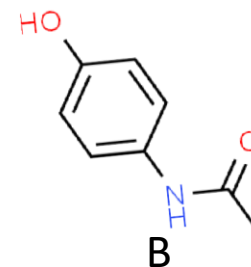
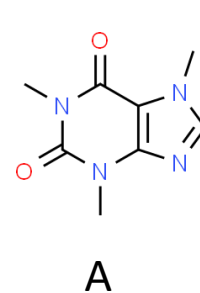
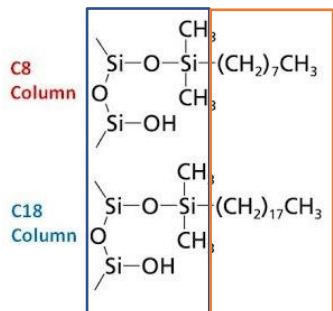
Η σταθερά ισορροπίας K της διεργασίας αναφέρεται ως **σταθερά κατανομής (distribution constant)**:

$$K = \frac{C_S}{C_M}$$

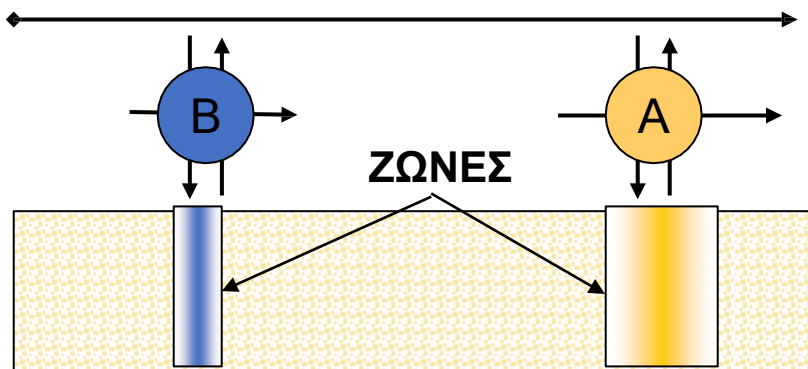


C_S : γραμμομοριακή συγκέντρωση της ουσίας στη στατική φάση και
 C_M : γραμμομοριακή συγκέντρωση της ουσίας στην κινητή φάση

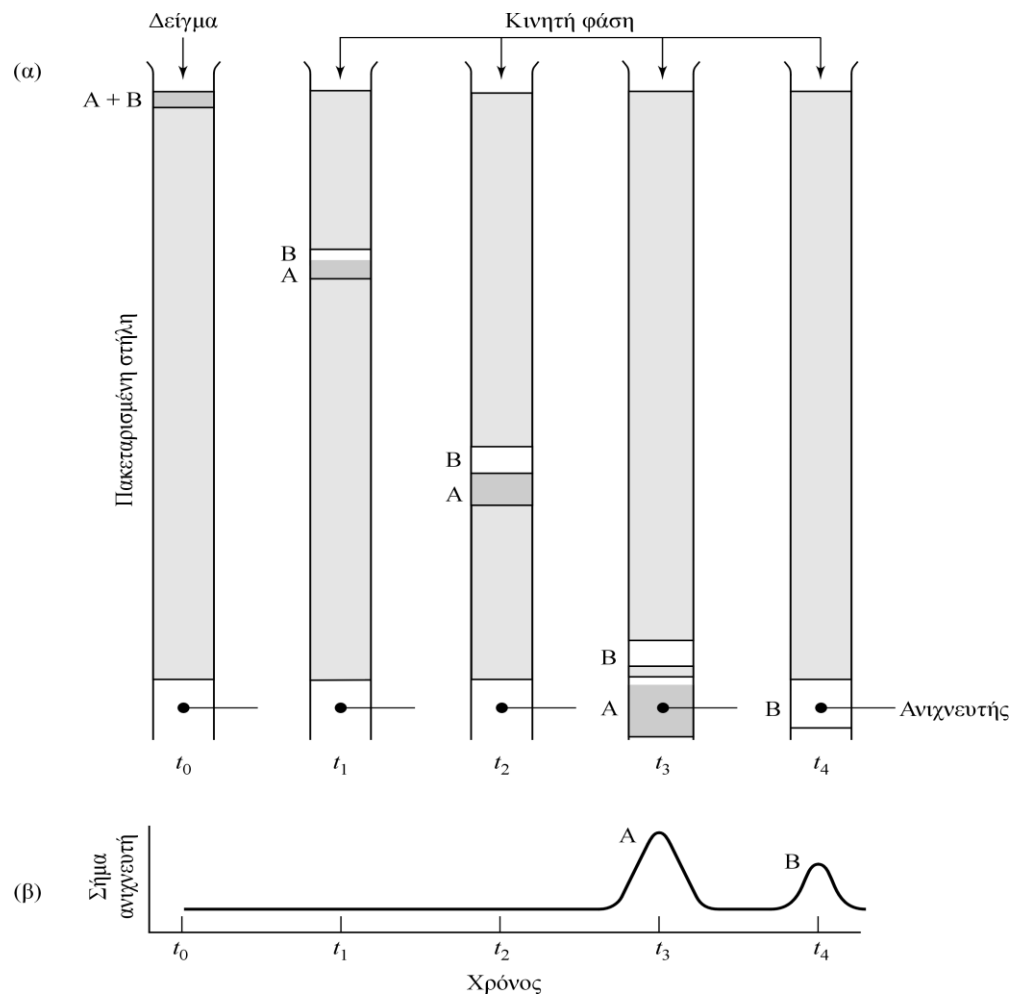
- ❖ Σε ιδανικές συνθήκες, η τιμή της K είναι σταθερή σε μια ευρεία περιοχή συγκεντρώσεων της ουσίας, δηλαδή η C_S είναι ευθέως ανάλογη προς την C_M .



ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ (*m*)
(ρευστό έκλουσης)



ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ (*s*)



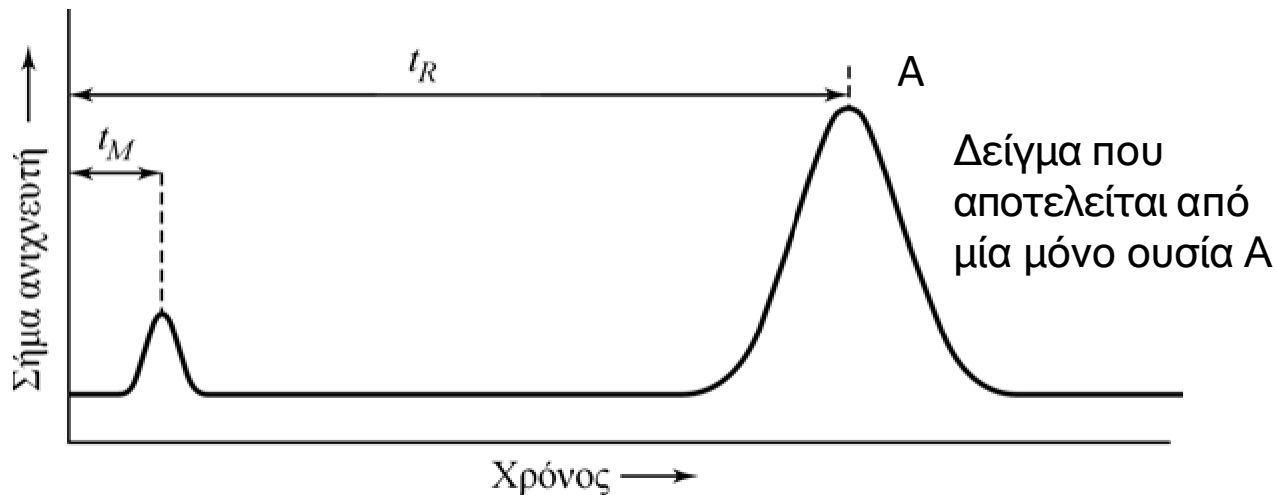
Χρωματογραφικοί ορισμοί

Υγρό εκλούσεως (eluent): η κινητή φάση

Έκλουσμα (eluate): το διάλυμα που εξέρχεται από τη στήλη

Χρωματογραφική κορυφή (peak): στο τέλος της στήλης τοποθετείται ανιχνευτής που παρακολουθεί μια αναλυτική ιδιότητα και παράγει σήμα κάθε φορά που εκλύεται ένα συστατικό

Χρωματογράφημα: γράφημα που δείχνει την απόκριση του ανιχνευτή συναρτήσει του χρόνου έκλουσης.



Χρωματογραφικοί παράμετροι

Χρόνος κατακράτησης ή χρόνος ανάσχεσης (retention time) t_R : ο χρόνος από τη στιγμή εισαγωγής του δείγματος μέχρι τη στιγμή που η κορυφή της ουσίας φθάνει στον ανιχνευτή.

Νεκρός χρόνος (dead time): ο χρόνος t_M (ή t_o) που χρειάζεται για να φθάσει μια μη κατακρατούμενη ουσία στον ανιχνευτή.

Ανηγμένος χρόνος ανάσχεσης (t'_R): $t'_R = t_R - t_M$

Όγκος ανάσχεσης (V_R): $V_R = t_R F$

Νεκρός όγκος (V_M): $V_M = t_M F$

Ανηγμένος όγκος ανάσχεσης (V'_R): $V'_R = t'_R F$

όπου F : η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης (mL/min)

V_R : όγκος της κινητής φάσης που χρειάζεται να διέλθει από τη στατική φάση για να εκλουστεί μια ουσία

V_M : όγκος της κινητής φάσης στη στατική φάση (στήλη)

Μέση γραμμική ταχύτητα μετανάστευσης (κίνησης) μιας ουσίας:

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R}$$

Συνήθως cm/s
όπου, L : μήκος πληρωμένης
(πακεταρισμένης-packed) στήλης

Μέση γραμμική ταχύτητα κίνησης u των μορίων της κινητής φάσης:

$$u = \frac{L}{t_M}$$

Όπου, t_M : νεκρός χρόνος δηλαδή ο μέσος χρόνος που χρειάζεται ένα μόριο της κινητής φάσης για να φθάσει στην έξοδο της στήλης.

Σχέση μεταξύ μέσης ταχύτητας μετανάστευσης & σταθεράς κατανομής K

Ταχύτητα μετανάστευσης ως κλάσμα της ταχύτητας της κινητής φάσης

$$\bar{v} = u \times \text{κλάσμα χρόνου παραμονής της ουσίας στην κινητή φάση}$$

Το κλάσμα αυτό είναι ίσο προς το μέσο αριθμό γραμμομορίων της ουσίας στην κινητή φάση προς τον ολικό αριθμό γραμμομορίων της στη στήλη:

$$\bar{v} = u \times \frac{\text{γραμμομόρια ουσίας στην κινητή φάση}}{\text{ολικά γραμμομόρια της ουσίας}}$$



$$\bar{v} = u \times \frac{c_M V_M}{c_M V_M + c_S V_S} = u \times \frac{1}{1 + c_S V_S / c_M V_M}$$

Με αντικατάσταση της K στην εξίσωση αυτή λαμβάνεται

$$\bar{v} = u \times \frac{1}{1 + K V_S / V_M}$$

Παράγοντας κατακράτησης ή Παράγοντας χωρητικότητας ή Λόγος Κατανομής μάζας

Για την ουσία Α,
ορίζεται

$$k_A = \frac{K_A V_S}{V_M}$$

$$\bar{v} = u \times \frac{1}{1 + K V_S / V_M} \rightarrow \bar{v} = u \times \frac{1}{1 + k_A}$$

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad u = \frac{L}{t_M} \rightarrow \frac{L}{t_R} = \frac{L}{t_M} \times \frac{1}{1 + k_A} \rightarrow k_A = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_S}{t_M}$$

Ιδανικά: $k' = 1 - 5$

- Αν $k' < 1$ δεν υπάρχει ικανοποιητικός διαχωρισμός και η έκλυση γίνεται ταχύτατα
- Αν $k' \approx 20-30$, οι χρόνοι έκλυσης είναι υπερβολικά μεγάλοι

Παράγοντας εκλεκτικότητας ή σχετική συγκράτηση, α ,
μιας στήλης για δύο προς διαχωρισμό ουσίες A και B:

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{t_{R,B} - t_M}{t_{R,A} - t_M} \geq 1$$

$$k'_A = \frac{K_A V_S}{V_M}$$
$$k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

όπου, B η βραδύτερα εκλουόμενη ουσία (η ισχυρότερα κατακρατούμενη) και A η ταχύτερα εκλουόμενη ουσία (η ασθενέστερα κατακρατούμενη (δηλ. $t_{R,A} < t_{R,B}$))

- Υπολογισμός της τιμής του α από τα δεδομένα του χρωματογραφήματος

Ο παράγοντας εκλεκτικότητας εξαρτάται από:

- τη φύση της κινητής και στατικής φάσης, &
- τη θερμοκρασία της στήλης

Παράδειγμα

Μίγμα βενζολίου-τολουολίου εισάγεται σ' ένα χρωματογράφο. Αν ο νεκρός χρόνος είναι 42 s, το βενζόλιο εκλούεται στα 251 s και το τολουόλιο απαιτεί 333 s, να βρεθούν οι ανοιγμένοι χρόνοι κατακράτησης, ο παράγοντας κατακράτησης κάθε ουσίας και ο παράγοντας εκλεκτικότητας.

Ανοιγμένοι χρόνοι κατακράτησης

$$\text{Βενζόλιο: } t_R' = t_R - t_M = 251 - 42 = 209 \text{ s}$$

$$\text{Τολουόλιο: } t_R' = t_R - t_M = 333 - 42 = 291 \text{ s}$$

Οι παράγοντες κατακράτησης είναι

$$\text{Βενζόλιο: } (251 - 42) / 42 = 5,0$$

$$\text{Τολουόλιο: } (333 - 42) / 42 = 6,9$$

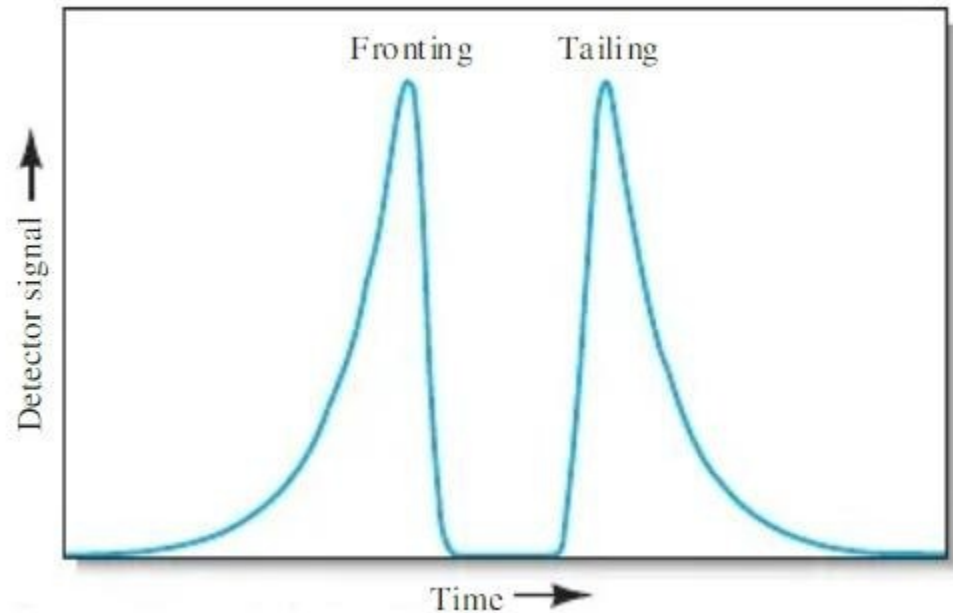
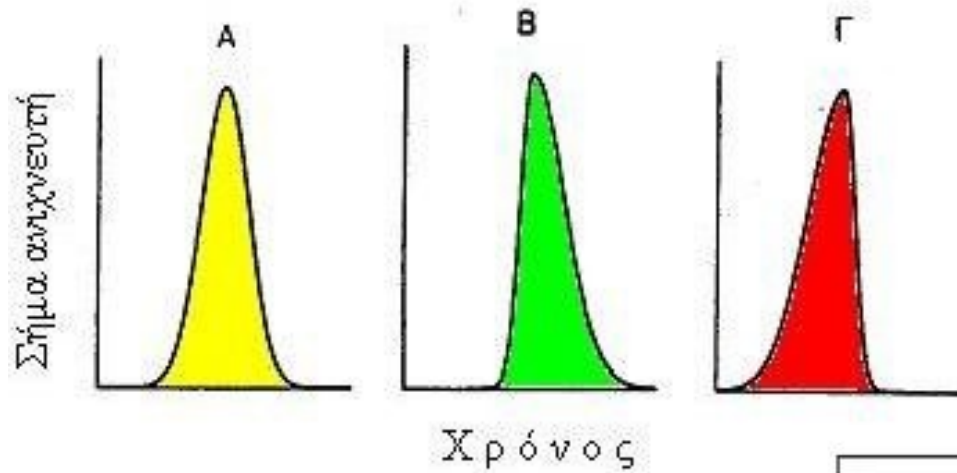
$$k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Ο παράγοντας εκλεκτικότητας είναι

$$\alpha = (333 - 42) / (251 - 42) = 1,39$$

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$$

ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΖΩΝΗΣ



ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΖΩΝΗΣ

Η παραμόρφωση ζώνης είναι ανεπιθύμητη:

- Οι ασύμμετρες κορυφές διευρύνονται ταχύτερα
- Η μεγάλη διεύρυνση κορυφών είναι ανεπιθύμητη διότι **δεν επιτυγχάνεται ικανοποιητικός διαχωρισμός**
- Οι πολύ διευρυμένες κορυφές είναι **ακατάλληλες για ποσοτική ανάλυση**

Γενικές παρατηρήσεις για τη διεύρυνση κορυφών:

- ✓ Η χρωματογραφική κορυφή προσεγγίζει την κατά Gauss καμπύλη κατανομής, εφόσον η K είναι ανεξάρτητη της C της ουσίας στην κινητή φάση
- ✓ **Όσο αυξάνει το μήκος της στήλης τόσο αυξάνει το εύρος της κορυφής**
($W \propto \sqrt{L}$)
- ✓ **Το εύρος της κορυφής εξαρτάται από την ταχύτητα ροής της κινητής φάσης** όταν όλες οι παράμετροι της κινητής και στατικής φάσης είναι σταθερές
- ✓ **Το εύρος της κορυφής ελαττώνεται, ελαττωμένου του μεγέθους των σωματιδίων της στατικής φάσης (στήλης),** όταν οι άλλες παράμετροι είναι σταθερές.

Αποδοτικότητα Χρωματογραφικής Στήλης – Θεωρία Πλακών



- Μία χρωματογραφική στήλη αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό ξεχωριστών πλακών (μικρών τμημάτων στήλης).
- Σε κάθε πλάκα υποτίθεται ότι πραγματοποιείται μια ισορροπία της διαλυμένης ουσίας μεταξύ κινητής και στατικής φάσης.
- Η κίνηση των ουσιών προς την έξοδο της στήλης θεωρείται ως μια βήμα-προς-βήμα μεταφορά της εξισορροπημένης κινητής φάσης από τη μια πλάκα στην άλλη.

Ύψος θεωρητικής πλάκας

$$ΥΙΘΠ = H = \frac{L}{N}$$

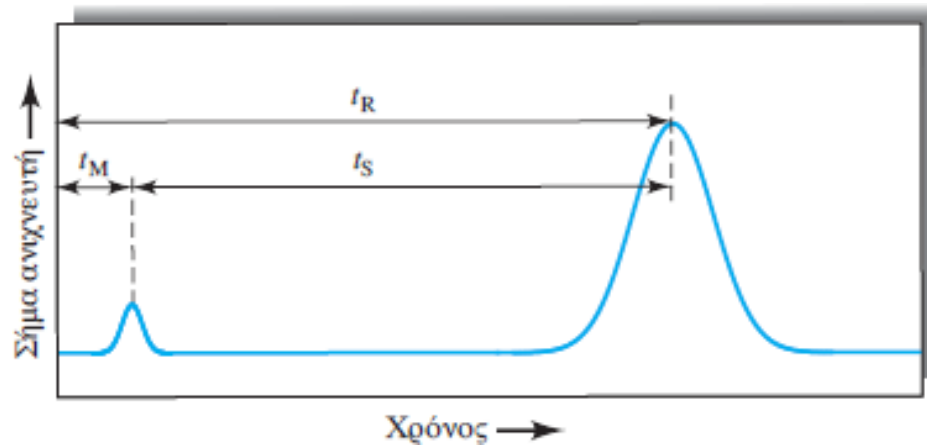
όπου, L : το μήκος της στήλης και
 N : ο αριθμός των θεωρητικών πλακών

(1) ύψος της πλάκας H και (2) αριθμός των πλακών N
χρησιμοποιούνται ως ποσοτικά μέτρα της απόδοσης
μιας χρωματογραφικής στήλης

- ❖ Η αποδοτικότητα των χρωματογραφικών στηλών αυξάνει όσο αυξάνεται ο αριθμός των πλακών και όσο το ύψος της πλάκας γίνεται μικρότερο.
- ❖ Τα ύψη των πλακών κυμαίνονται από μερικά δέκατα έως και μερικά χιλιοστά του cm.

Κάθε μόριο ουσίας κατά τη μετανάστευσή του υφίσταται πολλές χιλιάδες μεταφορές από την κινητή φάση στη στατική και αντίστροφα.

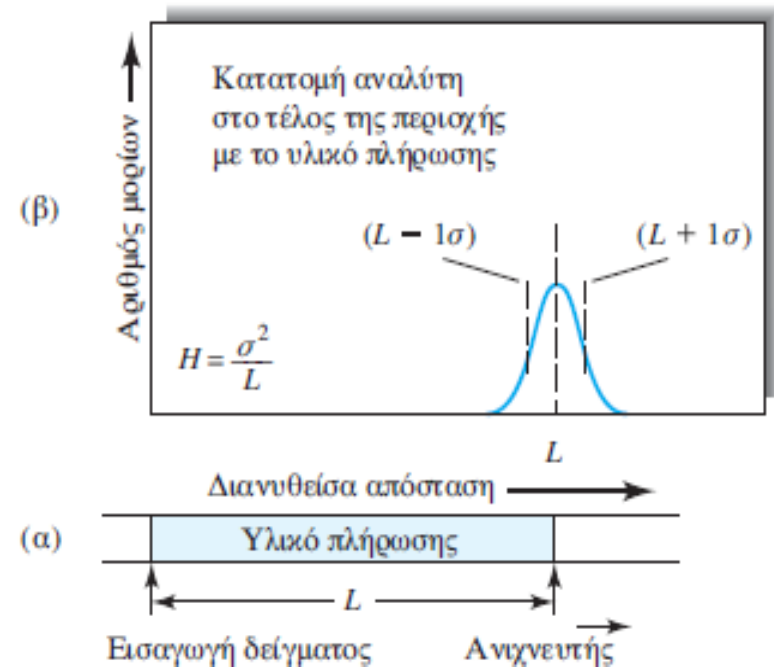
Μερικά μόρια κινούνται γρήγορα, επειδή τυχαία βρίσκονται στην κινητή φάση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από το μέσο χρόνο παραμονής και άλλα καθυστερούν επειδή βρίσκονται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στη στατική φάση.

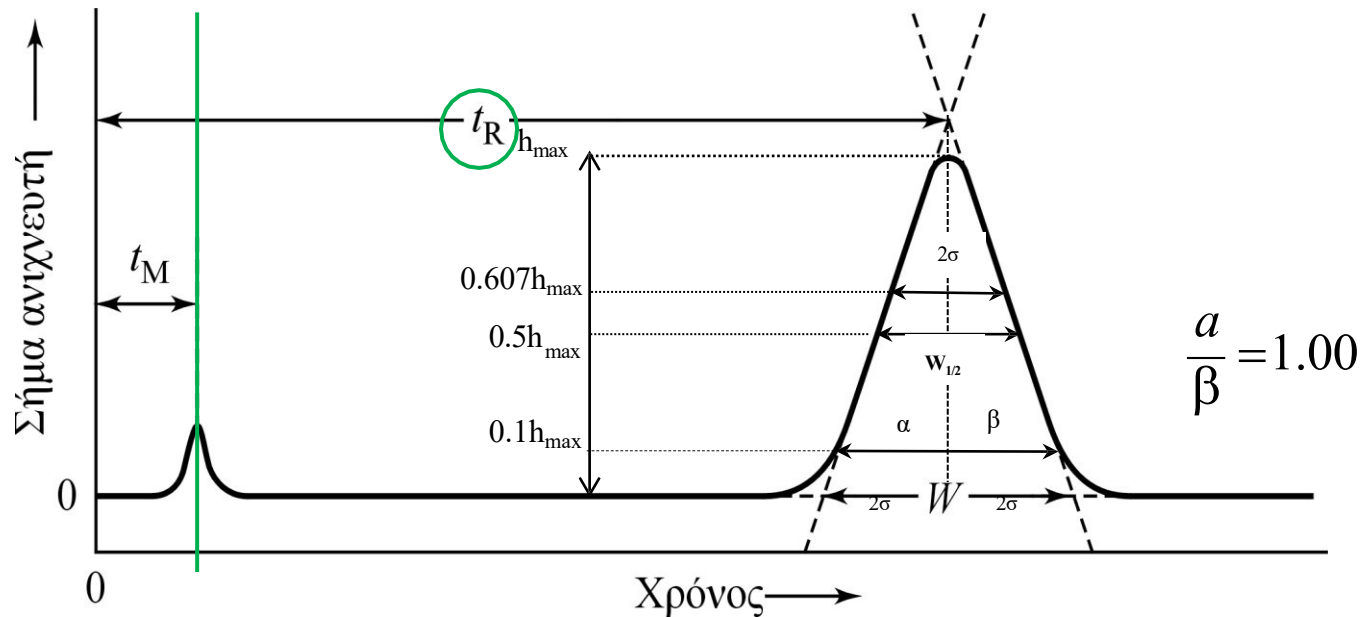


❖ **Το εύρος της ζώνης είναι ανάλογο προς το χρόνο παραμονής της ουσίας στη στήλη και αντιστρόφως ανάλογο προς την ταχύτητα ροής της κινητής φάσης.**

Όμως:

$$H = \frac{\sigma^2}{L} \quad \text{άρα} \quad N = \frac{L}{H} = \left(\frac{L}{\sigma} \right)^2$$





Φέρονται εφαπτόμενες στα σημεία καμψής στις δύο πλευρές μιας χρωματογραφικής κορυφής και προεκτείνονται, ώστε να σχηματισθεί ένα τρίγωνο με τη γραμμή βάσης ενός χρωματογραφήματος. Η επιφάνεια του τριγώνου είναι περίπου το 96% της επιφάνειας κάτω από την κορυφή. Το 96% περίπου της επιφάνειας κάτω από μια κορυφή Gauss περικλείεται στο διάστημα $\pm 2\sigma$ γύρω από το σημείο του μεγίστου. Επομένως, **Εύρος κορυφής** (στη βάση) : $W = 4\sigma$

Συμμετρία στο 10% του $h_{\max} = \alpha/\beta = 1,00$ (**ιδανική συμμετρία**)

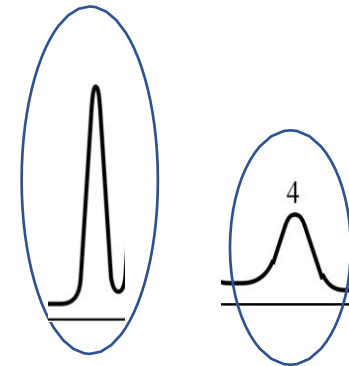
Επειδή: $W = 4\sigma \Rightarrow \sigma = W/4$

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

- ❖ Για ένα δεδομένο t_R , όσο αυξάνεται το N , τόσο μειώνεται το εύρος W (στενότερες κορυφές)
- ❖ Αύξηση του N επιτυγχάνεται με αύξηση του L και μείωση του H

Συμπεράσματα:

- Αύξηση του μήκους της στήλης, δηλ. του αριθμού N , οδηγεί σε αύξηση του χρόνου και του όγκου ανάσχεσης.
- Για ένα καθορισμένο μήκος στήλης, ο διαχωρισμός είναι τόσο αποτελεσματικότερος, όσο μικρότερο είναι το ύψος της θεωρητικής πλάκας (H).
- Από δύο στήλες εκείνη που έχει μεγαλύτερο αριθμό θεωρητικών πλακών, N , θα δίνει οξύτερες κορυφές και συνεπώς καλύτερο διαχωρισμό μεταξύ ουσιών που έχουν παραπλήσιους όγκους (χρόνους) ανάσχεσης.



- Παρατεταμένη έκλουση εκφυλίζει την κανονική κατανομή της κορυφής.
- Το πλάτος της κορυφής είναι ανεξάρτητο του μεγέθους του δείγματος αρκεί η στήλη να μη φτάσει σε κατάσταση κορεσμού.

Παράδειγμα

Δίνονται τα ακόλουθα δεδομένα για μια χρωματογραφική στήλη:

L : 25,7 cm

Από ένα χρωματογράφημα μίγματος ουσιών A , B , C και D ελήφθησαν τα επόμενα δεδομένα :

ουσία	Χρόνος κατακράτησης, min	Εύρος βάσης κορυφής (W), min
Μη κατακρατούμενη	3,1	-
A	5,4	0,41
B	13,3	1,07
C	14,1	1,16
D	21,6	1,72

Να υπολογιστούν :

Α. Ο αριθμός των θεωρητικών πλακών από κάθε κορυφή και η μέση τιμή του Ν

Β. Η τυπική απόκλιση του Ν

Γ. Το ύψος πλάκας της στήλης

Α.
$$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2 \Rightarrow N_A = 2775$$

$$N_B = 2472$$

Ομοίως: $N_C = 2364$

$$N_D = 2523$$

$$\bar{N} = \frac{N_A + N_B + N_C + N_D}{4} = 2534$$

$$\Rightarrow \bar{N} \approx 2,5 \times 10^3$$

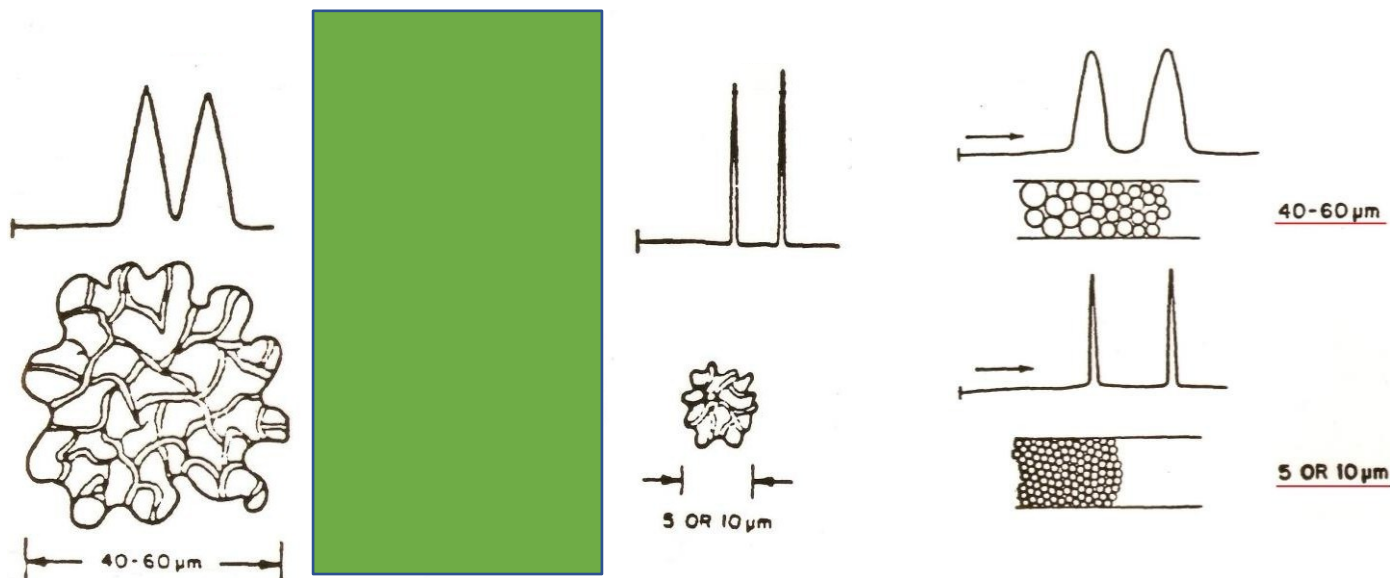
Β.
$$s = \sqrt{\frac{\sum (N_i - \bar{N})^2}{n - 1}} \Rightarrow s \approx 0,2 \times 10^3$$

$$\bar{N} = (2,5 \pm 0,2) \times 10^3$$

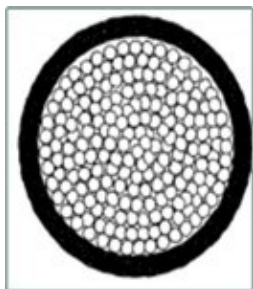
Γ.
$$H = \frac{L}{N} \Rightarrow H \approx 0,01 \text{ cm}$$

Οργανολογία Υγρής- Αέριας Χρωματογραφίας

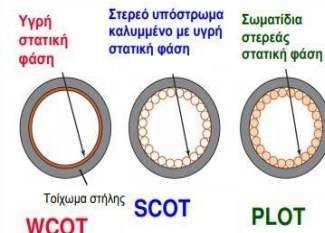
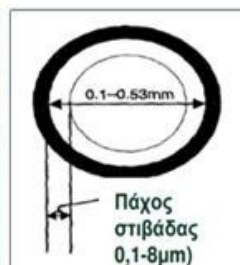
Επίδραση της διαμέτρου και των ειδών σωματιδίων στο διαχωρισμό και στην πλήρωση στήλης



LC, Υγρή Χρωματογραφία



GC, Αέρια Χρωματογραφία

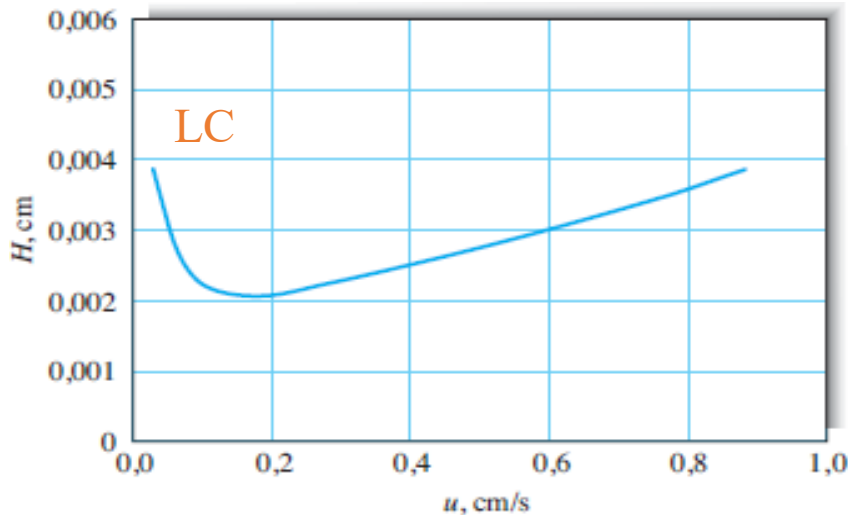


Θεωρία ταχύτητας

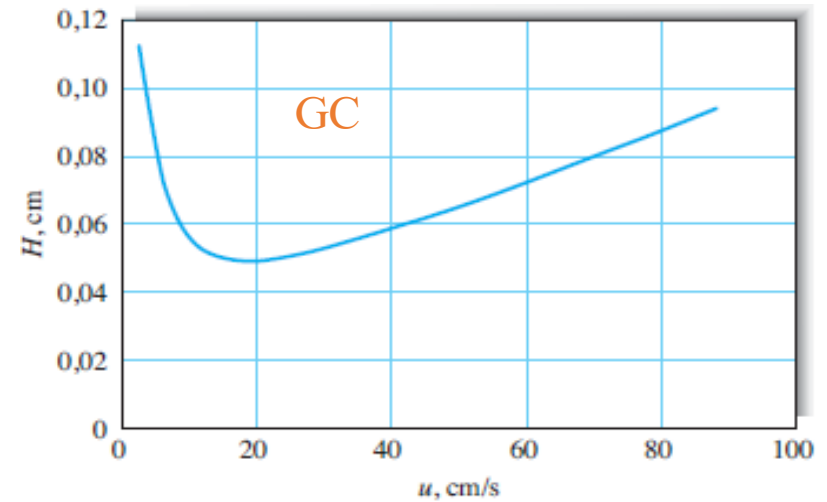
Η διεύρυνση της χρωματογραφικής ζώνης (ή κορυφής) είναι αποτέλεσμα της **πεπερασμένης ταχύτητας εξισορροπήσεως της ουσίας μεταξύ στατικής και κινητής φάσης**. Μερικές από τις ταχύτητες αυτές είναι δυνατόν να ελεγχθούν με ρύθμιση των πειραματικών μεταβλητών.

Επίδραση της ταχύτητας ροής της κινητής φάσης

Η θεωρία της ταχύτητας, που ερμηνεύει τη διεύρυνση των χρωματογραφικών ζωνών, προβλέπει με επιτυχία τη μορφή του διαγράμματος H ως προς u . Διάγραμμα van Deemter.



(α) Υγροχρωματογραφία



(β) Αεριοχρωματογραφία

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

1. $u_{LC} < u_{GC}$, άρα στην GC έχουμε πιο γρήγορους διαχωρισμούς
2. Το H_{LC} μικρότερο μια τάξη μεγέθους από το H_{GC}
3. $L_{LC} \ll L_{GC}$ ($L_{LC} = 15-50$ cm, ενώ $L_{GC} = 30-60$ m), άρα $N_{LC} < N_{GC}$

GC: ταχύτεροι διαχωρισμοί ή διαχωρισμοί με καλύτερη αποδοτικότητα

ΕΞΙΣΩΣΗ Van Deemter – θεωρία διεύρυνσης ζώνης

Έχουν διατυπωθεί περισσότερες από δώδεκα μαθηματικές εκφράσεις, που συσχετίζουν το ύψος πλάκας με τις μεταβλητές της στήλης με διαφορετικούς βαθμούς επιτυχίας.

Καμία από τις εξισώσεις αυτές δεν ερμηνεύει πλήρως τις πολύπλοκες φυσικές αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στη διεύρυνση των κορυφών. Ωστόσο, μερικές από αυτές, αν και ατελείς, υποδεικνύουν τους τρόπους βελτίωσης της απόδοσης των χρωματογραφικών στηλών και μία απ' αυτές παρουσιάζεται στη συνέχεια.

Μαθηματική προσέγγιση της συμπεριφοράς των χρωματογραφικών στηλών: **εξίσωση van Deemter**

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

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

όπου, H : ύψος της πλάκας σε cm, u : γραμμική ταχύτητα της κινητής φάσης σε cm/s, A : πολλαπλότητα διαδρομών ροής, B : συντελεστής διαμήκους διάχυσης και C : συντελεστής μεταφορά μάζα μεταξύ φάσεων (χρόνος εξισορρόπησης)

Πολλαπλότητα διαδρομών ροής	A	$A = 2\lambda d_p$
Διαμήκης διάχυση	B/u	$\frac{B}{u} = \frac{2\gamma D_M}{u}$
Μεταφορά μάζας μεταξύ υγρής και στατικής φάσης	$C_S u$	$C_S u = \frac{f_s(k')d_f^2}{D_s} u$
Μεταφορά μάζας στην κινητή φάση	$C_M u$	$C_M u = \frac{f_M(k')d_p^2}{D_M} u$

λ, γ : σταθερές που εξαρτώνται από την ποιότητα πλήρωσης της στήλης

B : συντελεστής διαμήκους διάχυσης

C_S, C_M : συντελεστές μεταφοράς μάζας στη στατική και στην κινητή φάση, αντίστοιχα

u : Γραμμική ταχύτητα κινητής φάσης

D_M : Συντελεστής διάχυσης στην κινητή φάση

D_S : Συντελεστής διάχυσης στη στατική φάση

k' : Παράγοντας κατακράτησης

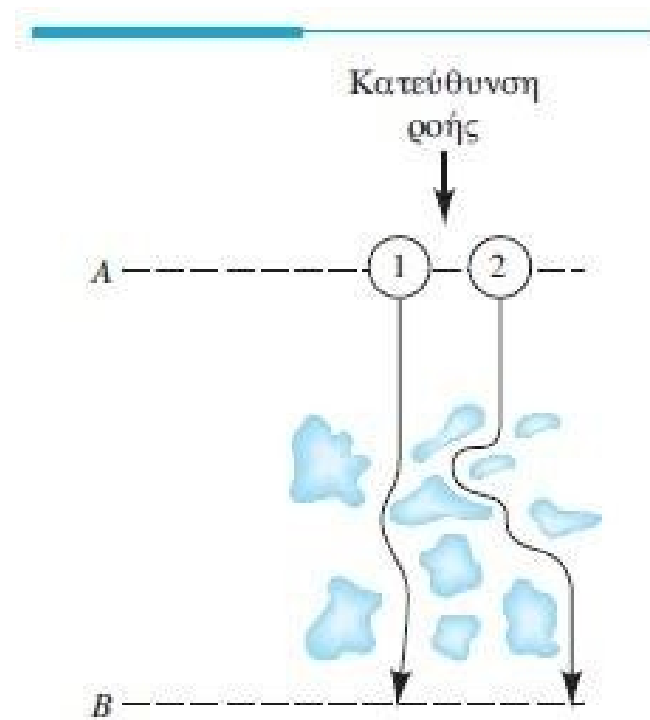
d_p : Διάμετρος του υλικού πλήρωσης

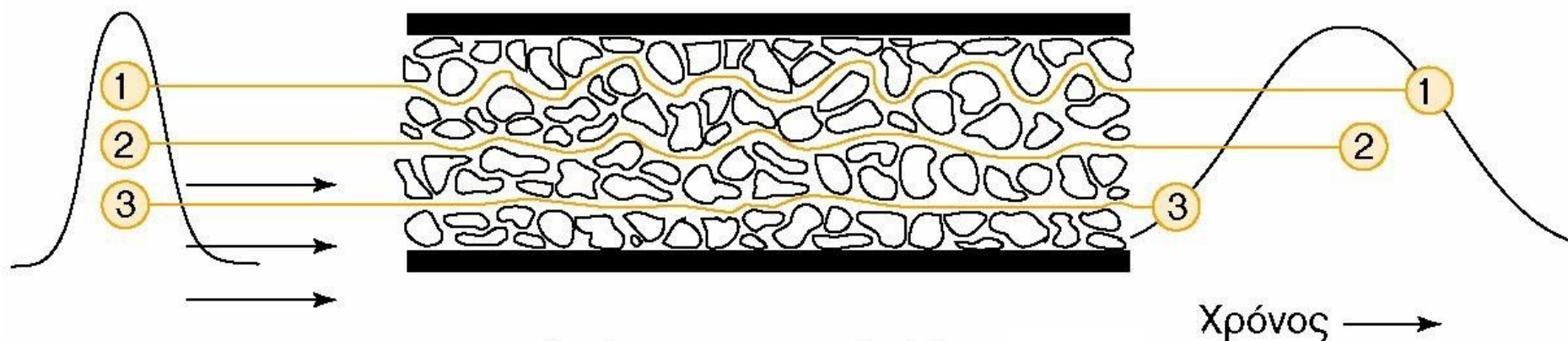
d_f : Πάχος της υγρής επικάλυψης της στατικής φάσης

Όρος πολλαπλότητας διαδρομών ροής

$$A = 2\lambda d_P$$

Η διεύρυνση των κορυφών οφείλεται σε κάποιο βαθμό στην πολλαπλότητα των διαδρομών που μπορεί να ακολουθήσει ένα μόριο (ή ιόν) κατά τη διέλευσή του μέσω μιας πληρωμένης στήλης. Το μήκος των διαδρομών αυτών μπορεί να διαφέρει σημαντικά, όπως διαφέρει σημαντικά και ο χρόνος παραμονής των σωματιδίων της ίδιας ουσίας στη στήλη, οπότε τα μόρια της ουσίας φθάνουν στην έξοδο της στήλης κατά τη διάρκεια κάποιου χρονικού διαστήματος, γεγονός το οποίο οδηγεί σε διεύρυνση της ζώνης.

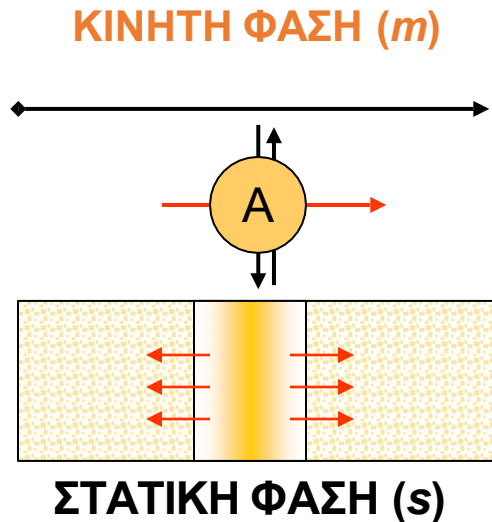




Διεύρυνση κορυφής λόγω
πολλαπλών διαδρομών ροής.

Όρος διαμήκους διάχυσης

$$\frac{B}{u} = \frac{2\gamma D_M}{u}$$



διαμήκης διάχυση B/u : αποτελεί παράγοντα διεύρυνσης των κορυφών ή ζωνών, λόγω διάχυσης της ουσίας από το πυκνό κέντρο της ζώνης προς το αραιότερο πρόσθιο ή οπίσθιο τμήμα της, δηλαδή κατά την κατεύθυνση ροής της κινητής φάσης και αντίθετα προς αυτή. Η σταθερά γ ονομάζεται παράγοντας παρακώλυσης. Υποδηλώνει ότι η διαμήκης διάχυση παρακωλύεται από την πλήρωση. Στις πληρωμένες στήλες ο παράγοντας αυτός έχει τυπικά την τιμή 0.6, ενώ για μη πληρωμένες τριχοειδείς στήλες η τιμή αυτή είναι 1. **Μεγαλύτερη γραμμική ταχύτητα, λιγότερος χρόνος παραμονής μιας ένωσης στη στήλη, άρα μικρότερη διεύρυνση της κορυφής λόγω διάχυσης της ουσίας**

διαμήκης διάχυση B/u



Ζώνη της διαλυμένης ουσίας
ύστερα από μικρό χρόνο στη στήλη

↓ Διαμήκης
διάχυση (B/u_x)



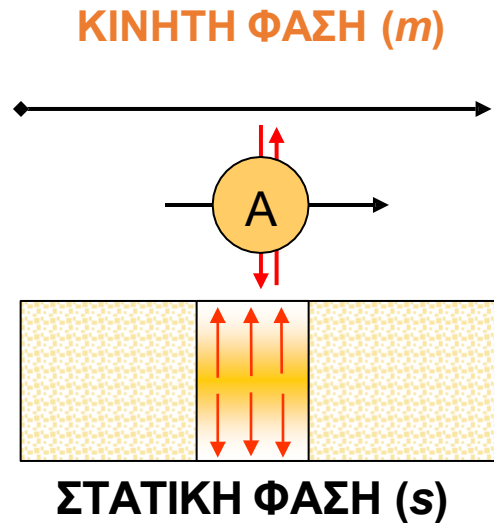
Ζώνη της διαλυμένης ουσίας
ύστερα από περισσότερο χρόνο στη στήλη



Κατεύθυνση κίνησης

Η διαμήκης διάχυση αυξάνει τον όρο B/u_x στη εξίσωση van Deemter. Η ουσία διαχέεται συνεχώς και απομακρύνεται από την περιοχή μεγάλης συγκέντρωσης στο κέντρο της ζώνης. Όσο μεγαλύτερη η ροή τόσο λιγότερο χρόνο παραμένει η ουσία στη στήλη και τόσο μικρότερη είναι η διαμήκης διάχυση.

Όρος μεταφορά μάζας Cu



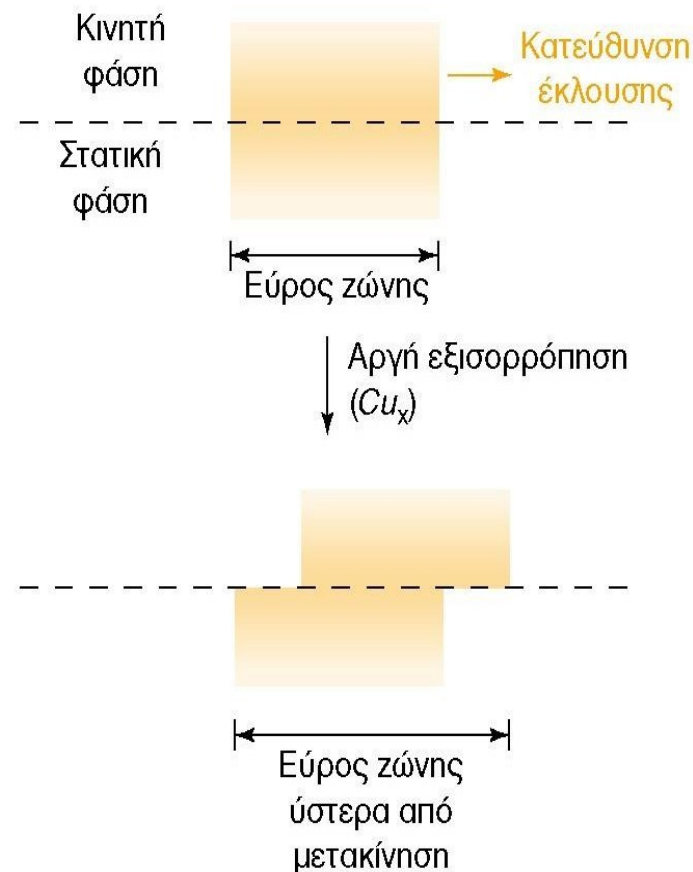
$$C_s u = \frac{f_s(k') d_f^2}{D_s} u$$

$$C_M u = \frac{f_M(k') d_p^2}{D_M} u$$

Δεν επιτυγχάνεται ισορροπία μεταξύ της κινητής και στατικής φάσης

Η διεύρυνση μεταφοράς μάζας οφείλεται στην κάθετη διάχυση των μορίων ως προς τη ροή, αυξάνεται όσο αυξάνεται η ταχύτητα της κινητής φάσης

Ο καθορισμένος χρόνος που απαιτείται για να εξισορροπηθεί μια ουσία μεταξύ κινητής και στατικής φάσης προκαλεί το Cu_x στην εξίσωση van Deemter. Όσο μικρότερη η γραμμική ροή τόσο πιο ολοκληρωμένη είναι η εξισορρόπηση και τόσο μικρότερη η διεύρυνση της ζώνης.



Ένα μέρος της ουσίας προσκολλάται στη στατική φάση, εκείνη που παραμένει στην κινητή φάση κινείται προς τα εμπρός και έτσι προκαλείται διεύρυνση της φάσης

Συμπερασματικά

Διαδικασίες που επιδρούν στη διεύρυνση ζώνης:

Πολλαπλότητα διαδρομών των μορίων της ουσίας

Διαμήκης και εγκάρσια διάχυση της ουσίας στην κινητή φάση

Πεπερασμένη ταχύτητα εξισορρόπησης της ουσίας μεταξύ στατικής και κινητής φάσης

Μεταβλητές που επιδρούν στη διεύρυνση ζώνης:

Γραμμική ταχύτητα κινητής φάσης, u (cm s^{-1})

Συντελεστής διάχυσης στην κινητή φάση, D_M ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

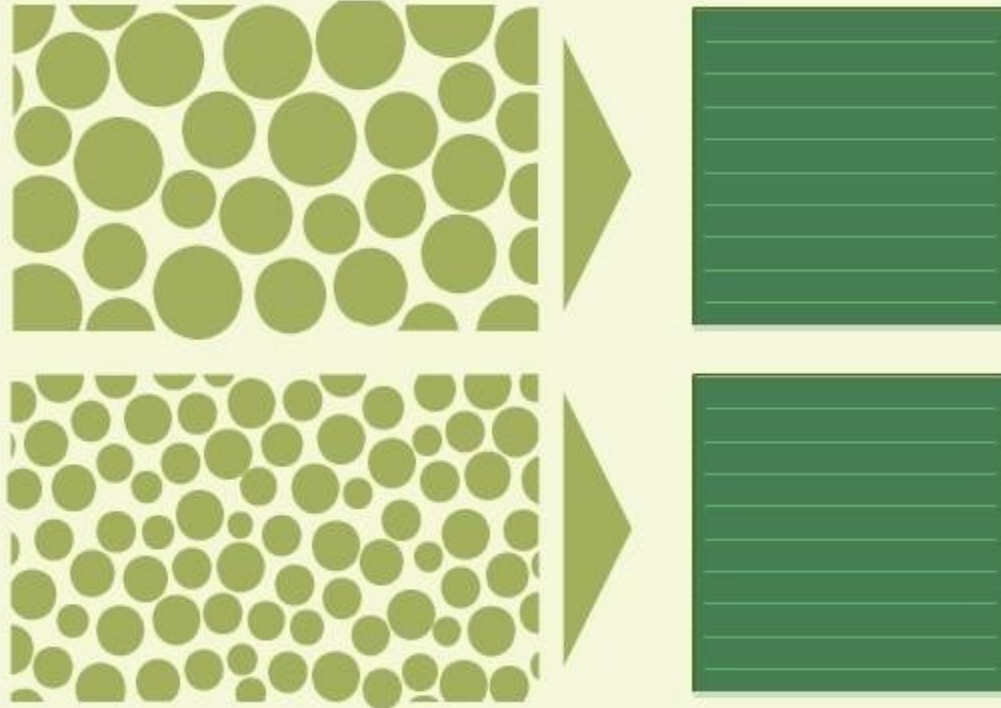
Συντελεστής διάχυσης στη στατική φάση, D_S ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

Διάμετρος του υλικού πλήρωσης, d_p (cm)

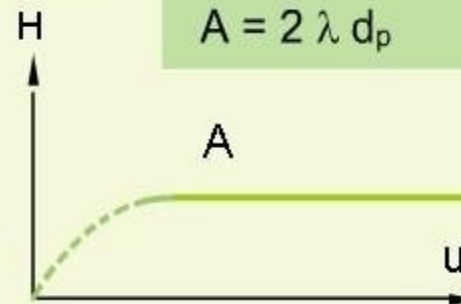
Πάχος της υγρής επικάλυψης της στατικής φάσης, d_f (cm)

Όρος πολλαπλότητας διαδρομών

Όσο μεγαλύτερα τα σωματίδια τόσο μεγαλύτερη η διαδρομή των συστατικών άρα εντονότερο το φαινόμενο διάχυσης

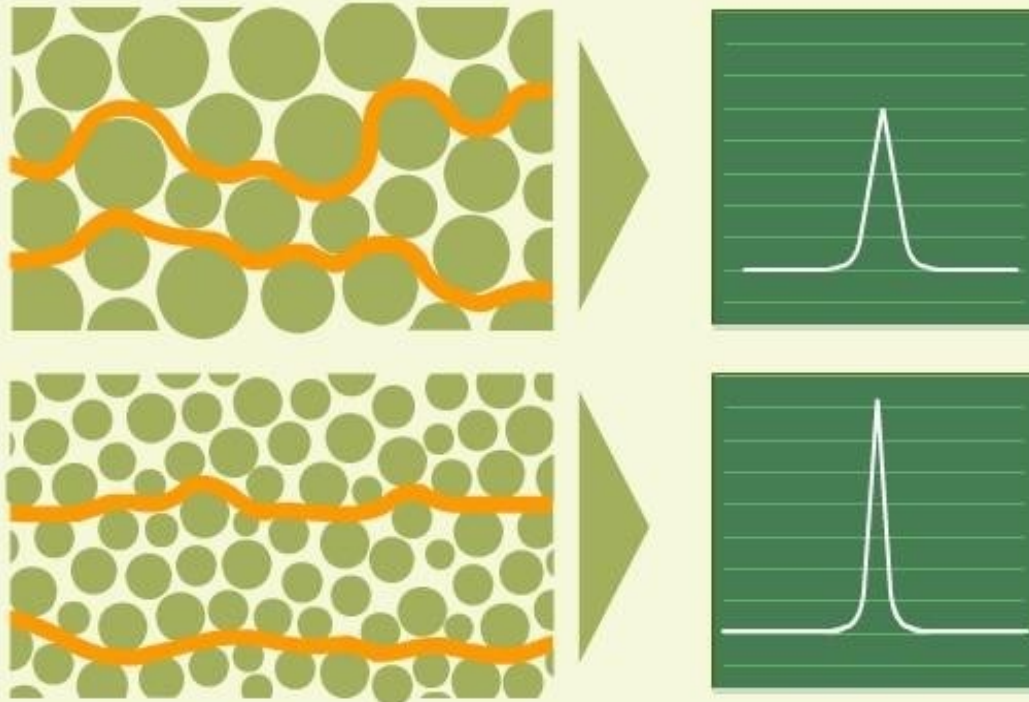


Van Deemter equation
(‘A’-term)



Όρος πολλαπλότητας διαδρομών

Όσο μεγαλύτερα τα σωματίδια τόσο μεγαλύτερη η διαδρομή των συστατικών άρα εντονότερο το φαινόμενο διάχυσης



Van Deemter equation
(‘A’-term)

H

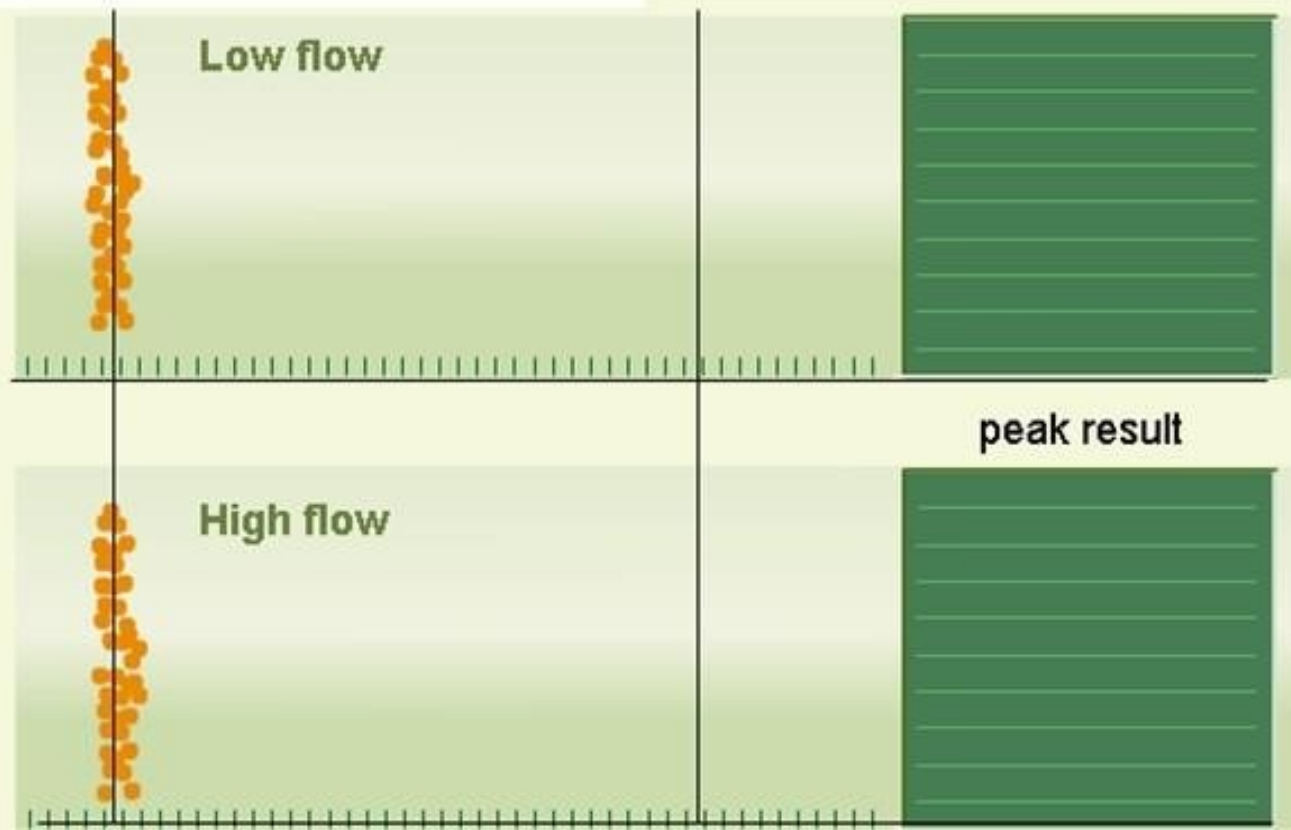
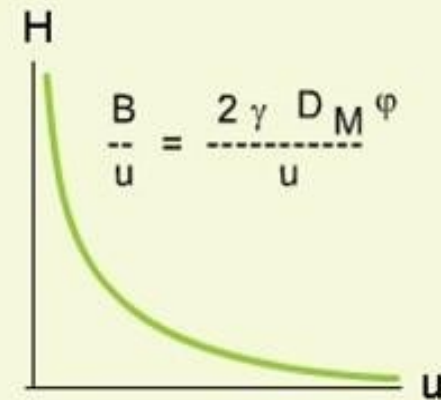
$$A = 2 \lambda d_p$$

A

u

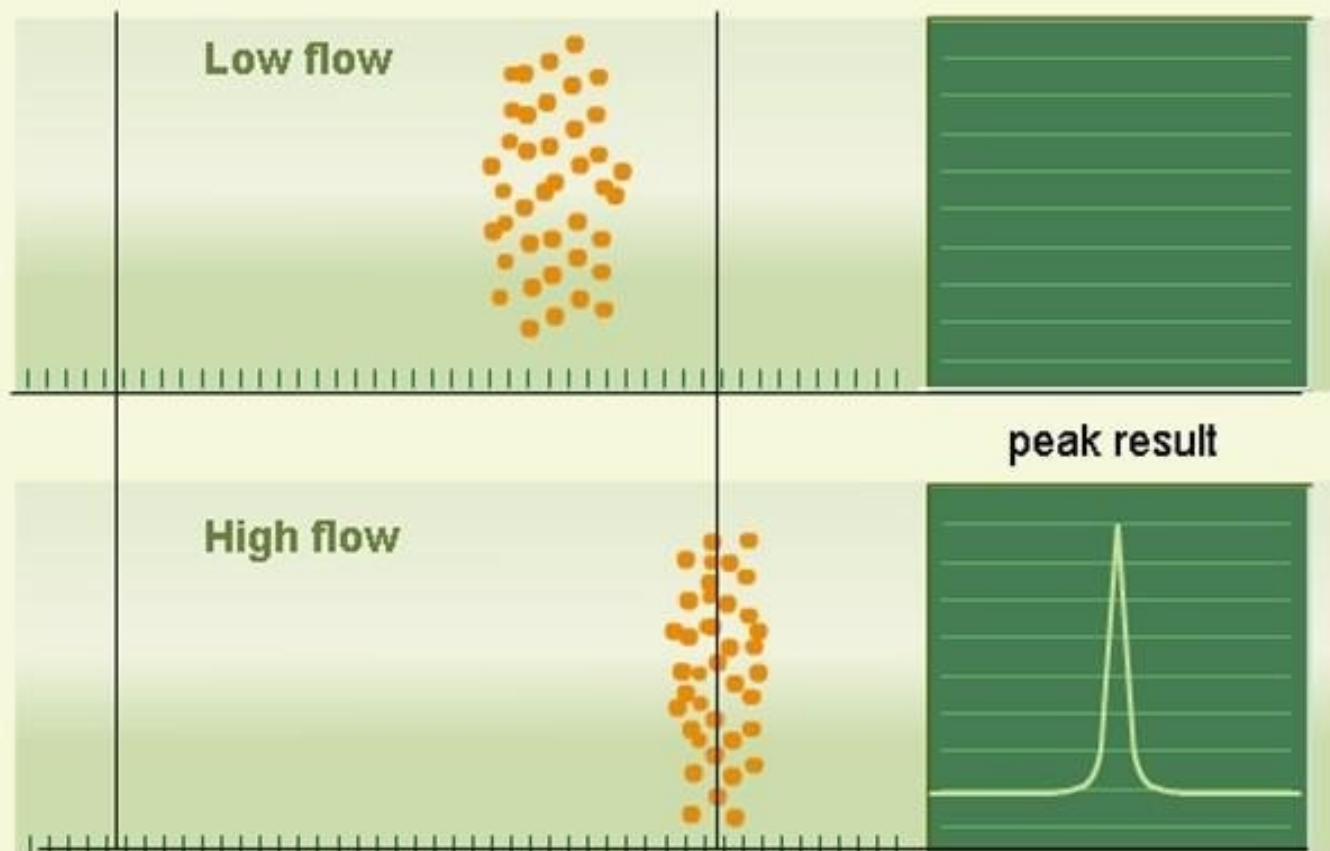
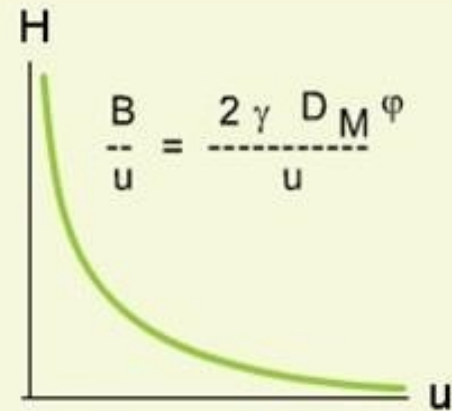
Όρος διαμήκους διάχυσης

Μερικά μόρια κινούνται γρηγορότερα και άλλα αργότερα, σε σχέση με τη μέση ταχύτητα. Συμβαίνει διεύρυνση της κορυφής κυρίως σε χαμηλές ταχύτητες ροής.



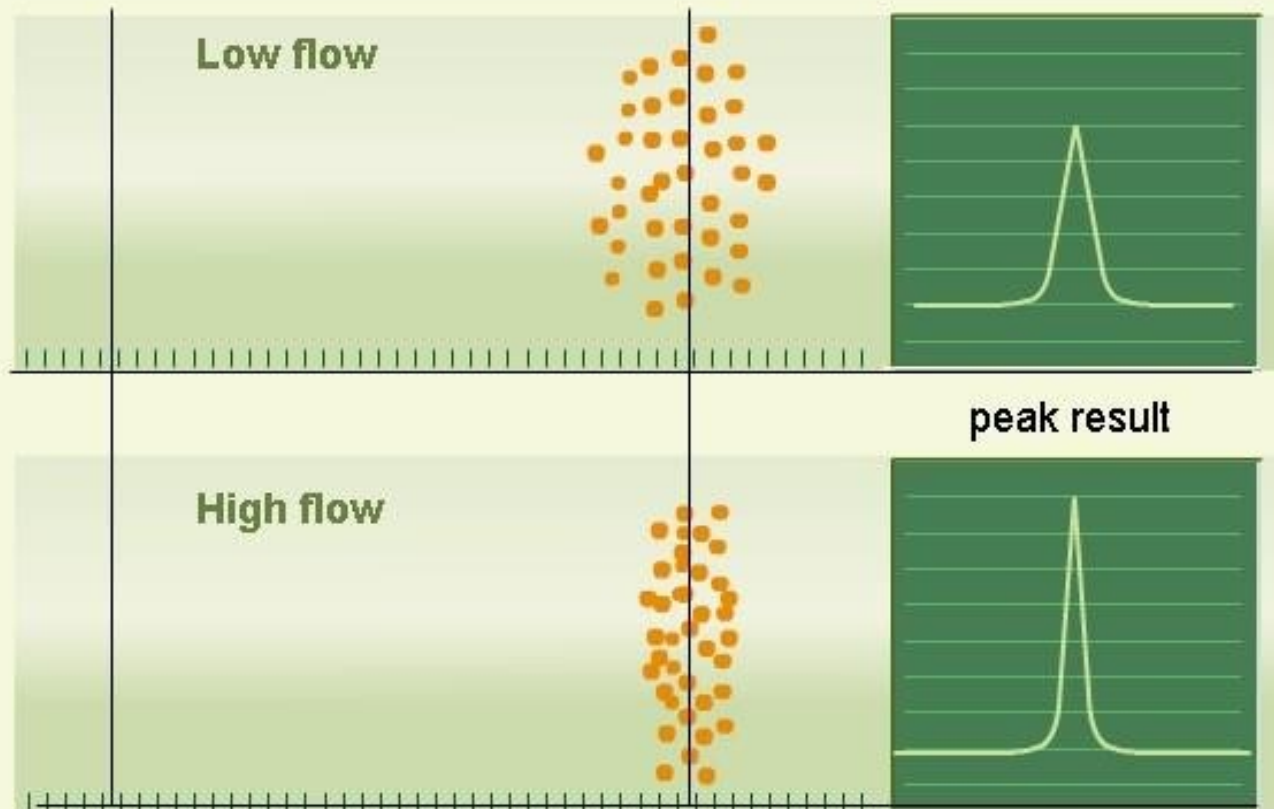
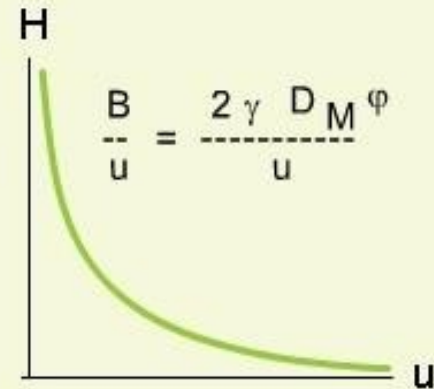
Όρος διαμήκους διάχυσης

Μερικά μόρια κινούνται γρηγορότερα και άλλα αργότερα, σε σχέση με τη μέση ταχύτητα. Συμβαίνει διεύρυνση της κορυφής κυρίως σε χαμηλές ταχύτητες ροής.

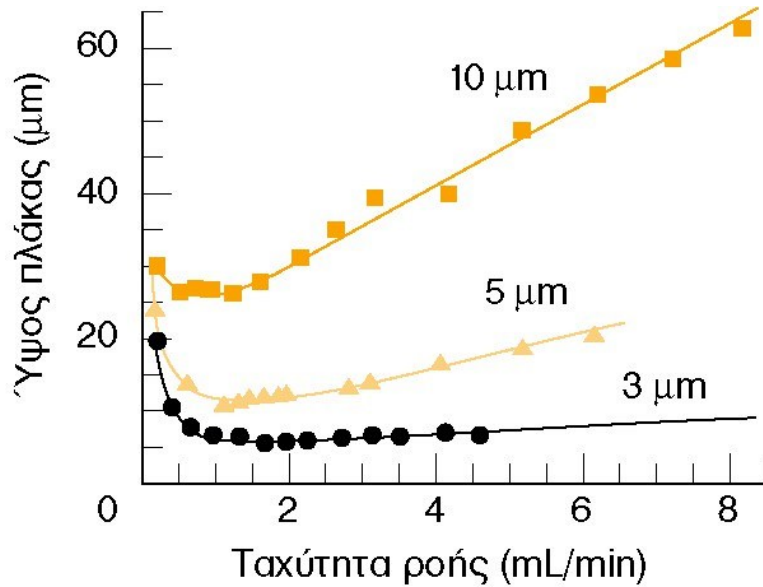


Όρος διαμήκους διάχυσης

Μερικά μόρια κινούνται γρηγορότερα και άλλα αργότερα, σε σχέση με τη μέση ταχύτητα. Συμβαίνει διεύρυνση της κορυφής κυρίως σε χαμηλές ταχύτητες ροής.



Ελαχιστοποίηση της διεύρυνσης ζώνης

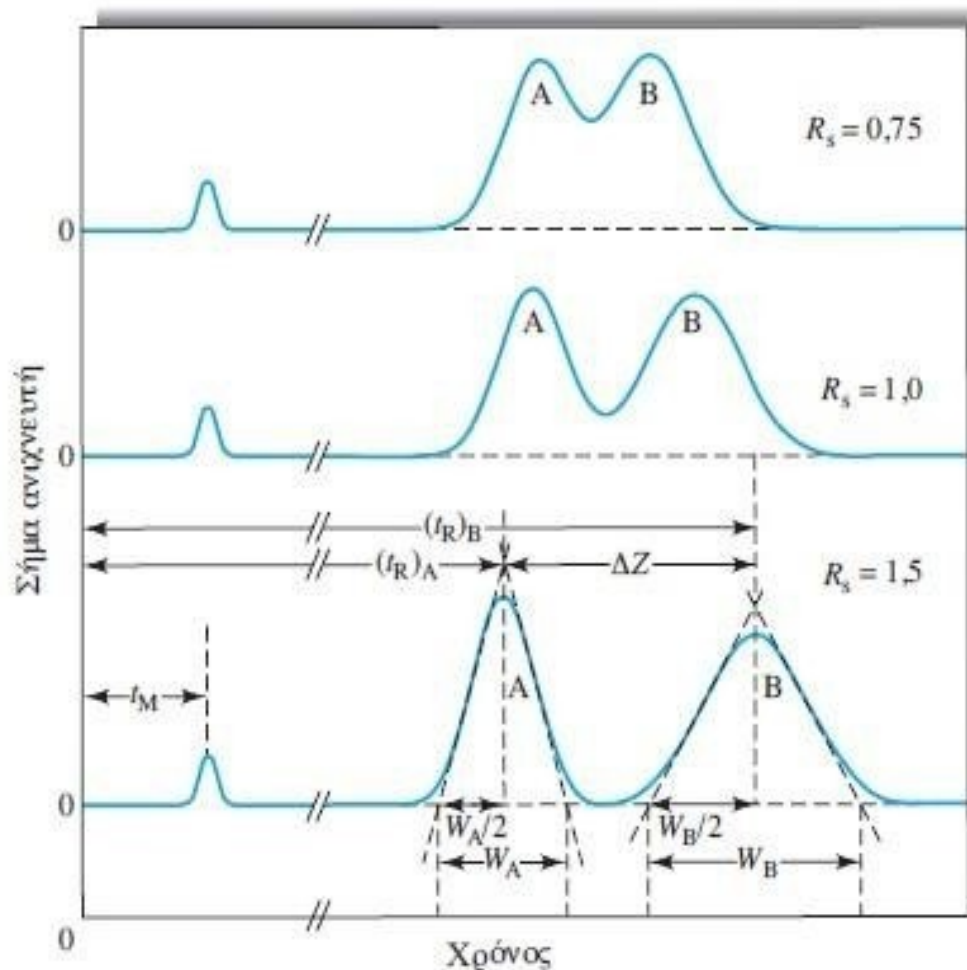


Για να αξιοποιηθεί το πλεονέκτημα της επίδρασης της διαμέτρου της στήλης χρησιμοποιούνται όλο και πιο λεπτές χρωματογραφικές στήλες, με μικρότερη διάμετρο σωματιδίων.

Διαχωριστική ικανότητα στήλης

Η **διαχωριστική ικανότητα (resolution) R_s** μιας στήλης αποτελεί ένα ποσοτικό μέτρο της ικανότητάς της να διαχωρίσει δύο αναλύτες. Η διαχωριστική ικανότητα της στήλης ορίζεται ως

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



- Εάν η διαχωριστική ικανότητα είναι ίση προς 1,0, τότε η ζώνη της ουσίας A περιέχει περίπου 4% B και η ζώνη B το ίδιο ποσοστό της ουσίας A. Εάν η διαχωριστική ικανότητα είναι 1,5, τότε τα αντίστοιχα ποσοστά επικάλυψης είναι περίπου 0,3%.

ΠΛΗΡΗΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ: $R_s \geq 1,5$

Αύξηση της **διαχωριστικότητας (R_s)** δυο διαδοχικών κορυφών μπορεί να επιτευχθεί με:

1. Αύξηση της **εκλεκτικότητας** της στήλης (t_R) $\rightarrow$ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΘΕΡΜΟΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ $\rightarrow \theta, V_s, V_m, K, k', \alpha$
2. Ελάττωση του **εύρους** της κάθε κορυφής, βελτίωση της **αποδοτικότητας** της στήλης $\rightarrow$ ΒΕΛΤΙΩΣΗ της ΚΙΝΗΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ $\rightarrow N, H, u$ και ότι επηρεάζει αυτά

- μήκος στήλης (L)
- Υλικό και μέγεθος σωματιδίων
- Ταχύτητα ροής (F)
- Θερμοκρασία (θ)
- Φύση ουσιών, και
- Τρόπος εισαγωγής δείγματος

Για δύο διαδοχικές κορυφές που εκλούνται σε **παραπλήσιους** t_R :

Θεωρούμε ότι: $W_A \approx W_B \approx W$

$$R_S = \frac{(t_{R,B} - t_{R,A})}{W}$$

Κι επειδή

$$N = 16 \left(\frac{t_{R,B}}{W} \right)^2 \Rightarrow W = \frac{\sqrt{N}}{4 t_{R,B}}$$

$$R_S = \frac{(t_{R,B} - t_{R,A})}{t_{R,B}} \times \frac{\sqrt{N}}{4} = \left(1 - \frac{t_{R,A}}{t_{R,B}} \right) \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

$$R_S = \frac{(k'_B - k'_A)}{1 + k'_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

$$R_S = \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \times \left(\frac{k'_B}{1 + k'_B} \right) \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

Παράδειγμα

Να υπολογισθεί η διαχωριστικότητα δύο ουσιών Α και Β σε μία στήλη με $N=20$ και $t_{R,A}=1,43\text{min}$, $t_{R,B}=1,27\text{min}$,
 $W_A=0,14\text{min}$, $W_B=0,20\text{min}$

Λύση:

$$R_s = \frac{2(t_{R,B} - t_{R,A})}{W_A + W_B} \Rightarrow R_s = \frac{2(1,43 - 1,27)}{0,14 + 0,20}$$

$\Rightarrow$

$$R_s = 0,94$$

Σημαντικές παράγωγες ποσότητες και σχέσεις τους

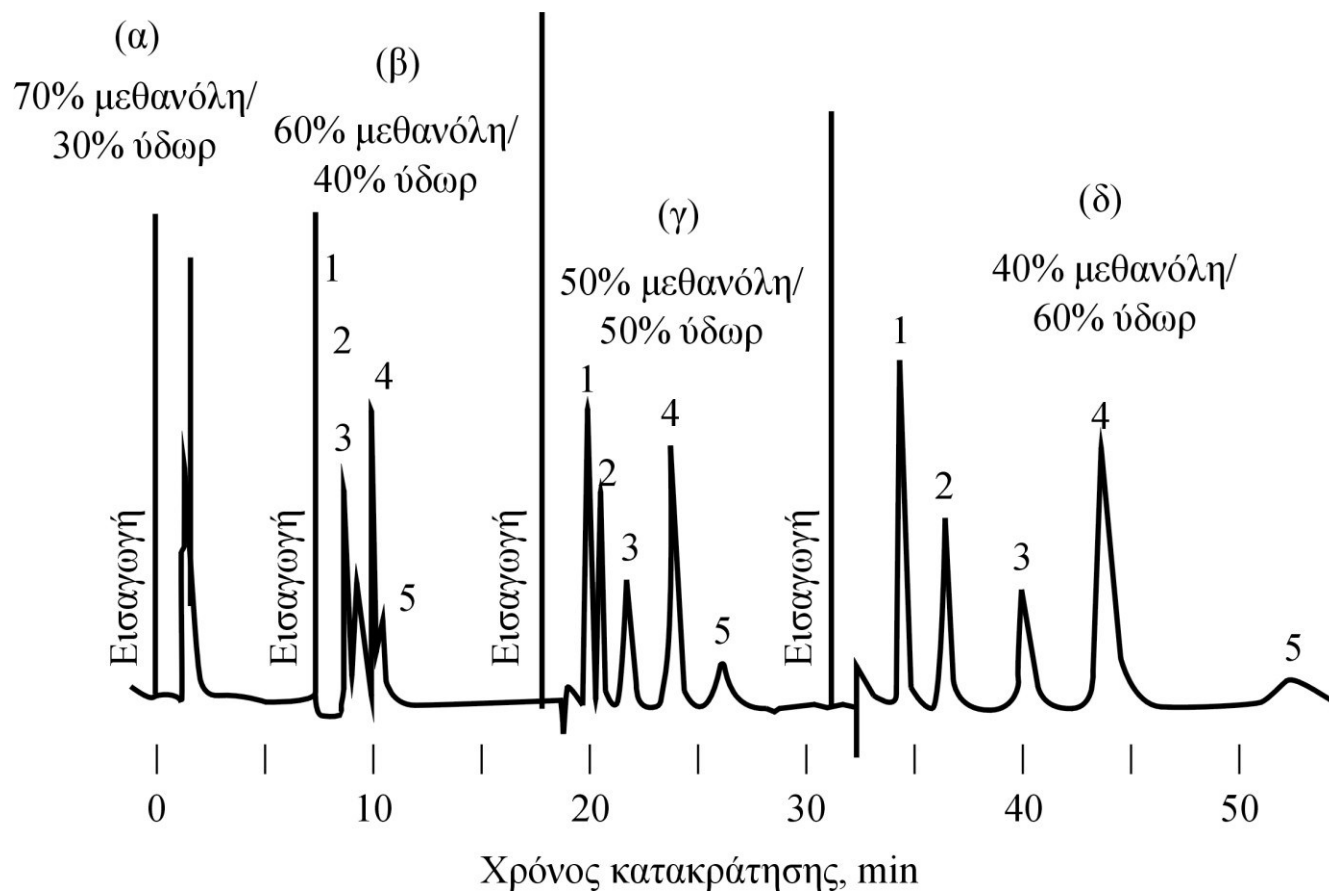
Παράμετρος	Υπολογισμός της παράγωγης παραμέτρου	Σχέση με άλλες ποσότητες
Γραμμική ταχύτητα κινητής φάσης	$u = \frac{L}{t_M}$	
Όγκος κινητής φάσης	$V_M = t_M F$	
Παράγοντας κατακράτησης	$k = \frac{(t_R - t_M)}{t_M}$	$k = \frac{KV_S}{V_M}$
Σταθερά κατανομής	$K = \frac{kV_M}{V_S}$	$K = \frac{c_S}{c_M}$
Παράγοντας εκλεκτικότητας	$\alpha = \frac{(t_R)_A - t_M}{(t_R)_B - t_M}$	$\alpha = \frac{k_B}{k_A} = \frac{K_B}{K_A}$
Διαχωριστική ικανότητα	$R_s = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B}$	$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_B}{1 + k_B} \right)$
Αριθμός πλακών	$N = 16 \left(\frac{t_R}{W} \right)^2$	$N = 16R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k_B}{k_B} \right)^2$
Ύψος πλάκας	$H = \frac{L}{N}$	

ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

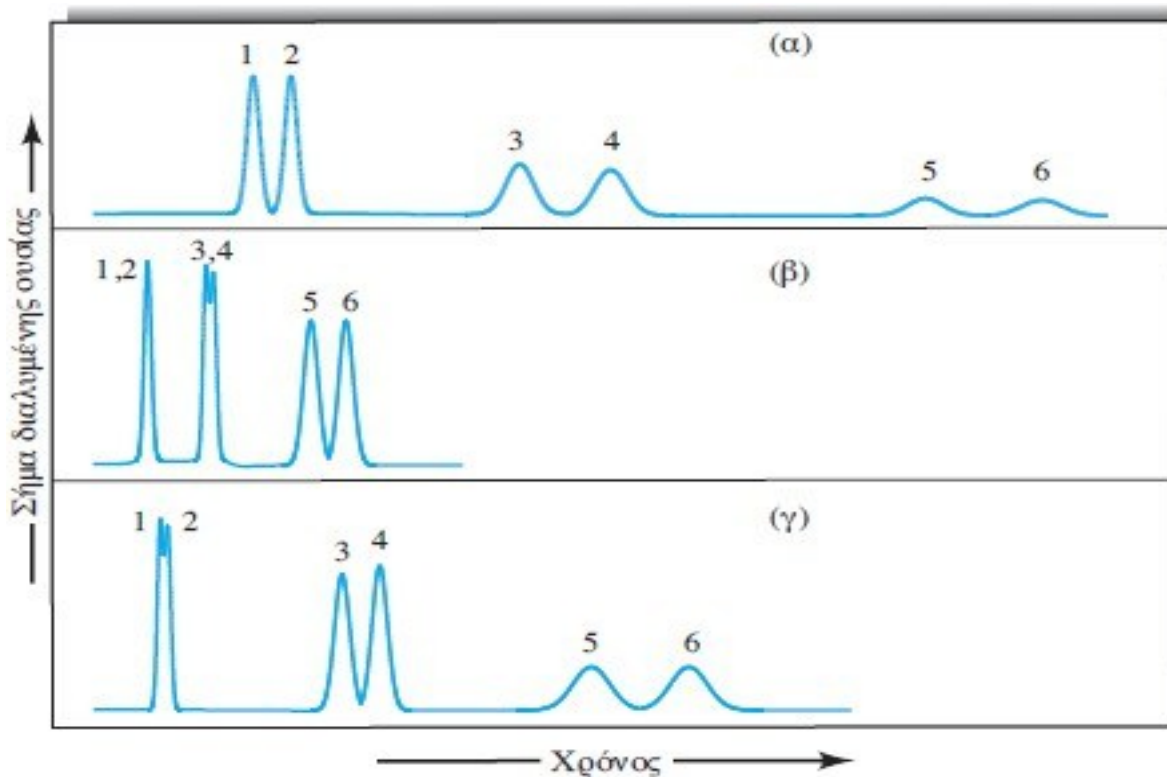
Βελτιστοποίηση του k' :

GC: Αύξηση της θερμοκρασίας

LC: Μεταβολή της σύστασης της κινητής φάσης



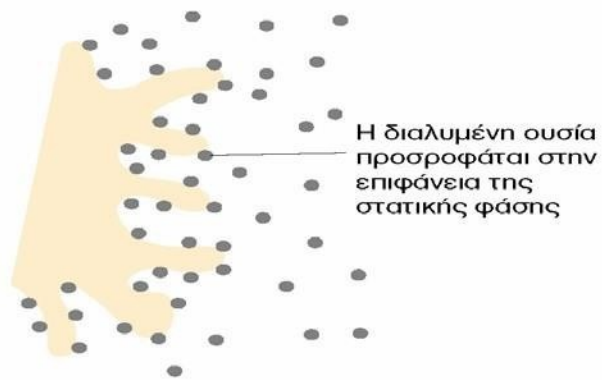
Το πρόβλημα της συνολικής έκλυσης



ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ που επηρεάζουν τον k' ΚΑΤΑ τη ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΟΥ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

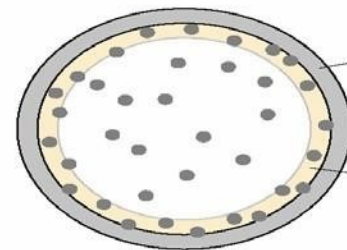
GC: Σταδιακή αύξηση θερμοκρασίας (**Προγραμματισμός θερμοκρασίας**)

LC: Μεταβολή της σύστασης της κινητής φάσης κατά την έκλυση (**βαθμιδωτή έκλυση**)



Η διαλυμένη ουσία προσροφάται στην επιφάνεια της στατικής φάσης

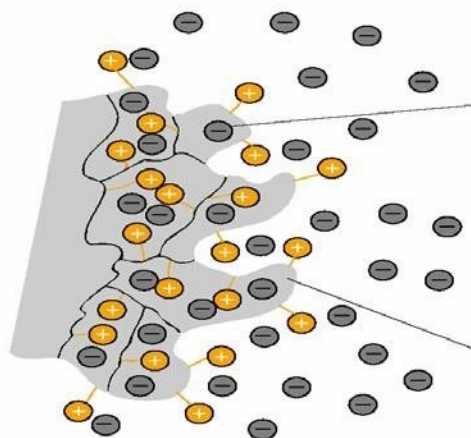
Χρωματογραφία προσρόφησης



Διατομή χρωματογραφικής στήλης

Η διαλυμένη ουσία διαλύεται στην υγρή φάση που είναι συνδεδεμένη στην επιφάνεια της στήλης

Χρωματογραφία κατανομής



Τα κινούμενα ανιόντα συγκρατούνται κοντά στα κατιόντα που είναι πολικά δεσμευμένα στη στατική φάση

Τα μικρά μόρια εισέρχονται στους πόρους των σωματιδίων

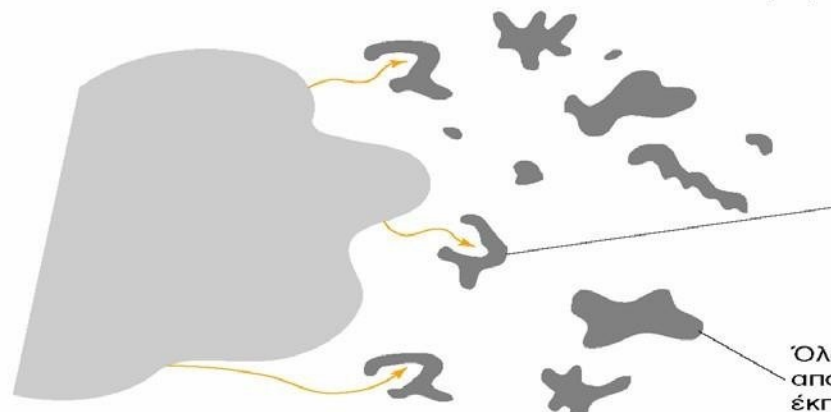
Ιοντοανταλλακτική ρητίνη· μόνο τα ανιόντα έλκονται από αυτήν

Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής



Τα μεγάλα μόρια αποκλείονται

Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού



Ένα είδος μορίων κάποιου σύνθετου μείγματος συνδέεται με μόριο ομοιοπολικά δεσμευμένο στη στατική φάση

Όλα τα άλλα μόρια απομακρύνονται με έκπλυση

Χρωματογραφία συγγένειας

Είδη χρωματογραφίας

Βιβλιογραφία

- ✓ D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, Θεμελιώδεις Αρχές Αναλυτικής Χημείας, 8η Έκδοση, Εκδ. Κωσταράκη, 2018
- ✓ H.C. Daniel, L.A. Charles, Αναλυτική Χημεία, Εκδ. BROKEN, 2021
- ✓ Gary D. Christian, Purnendu K. Dasgupta, Kevin A. Schug, Αναλυτική Χημεία, Odysseus Publishing Ltd, 2019
- ✓ Αλυγιζάκης, Ν., (2021) Αναλυτική Χημεία, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- ✓ Αρβανίτη, Ο., (2018) Ενόργανη Ανάλυση Τροφίμων, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Ιόνιο Πανεπιστήμιο
- ✓ Σταλίκας Κ., (2018) Αναλυτική Χημεία ΙΙΙ, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων