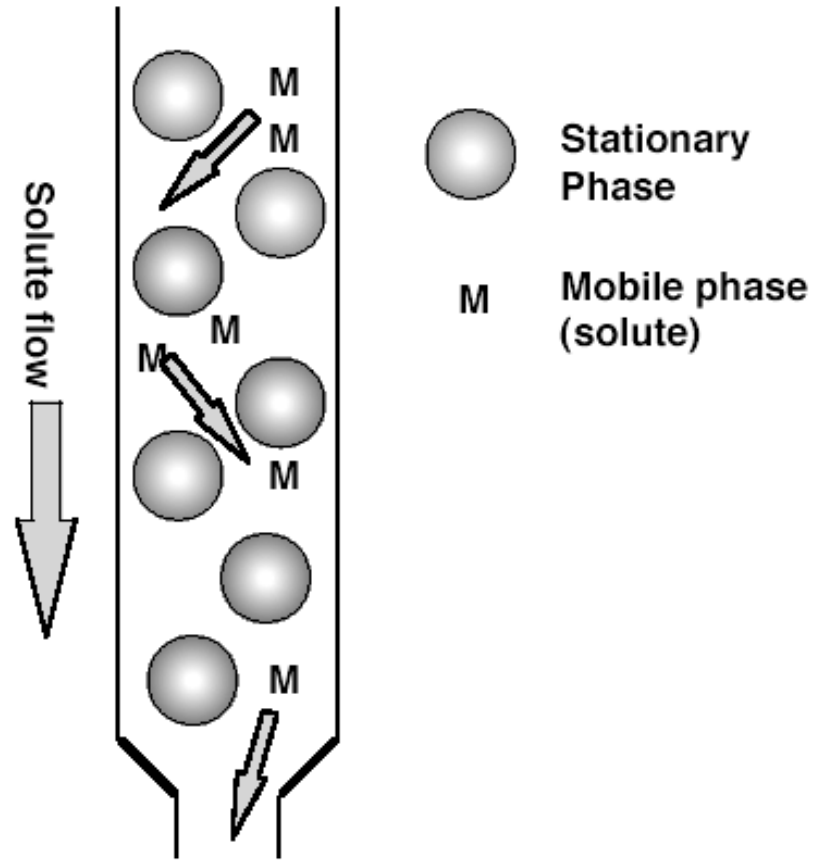
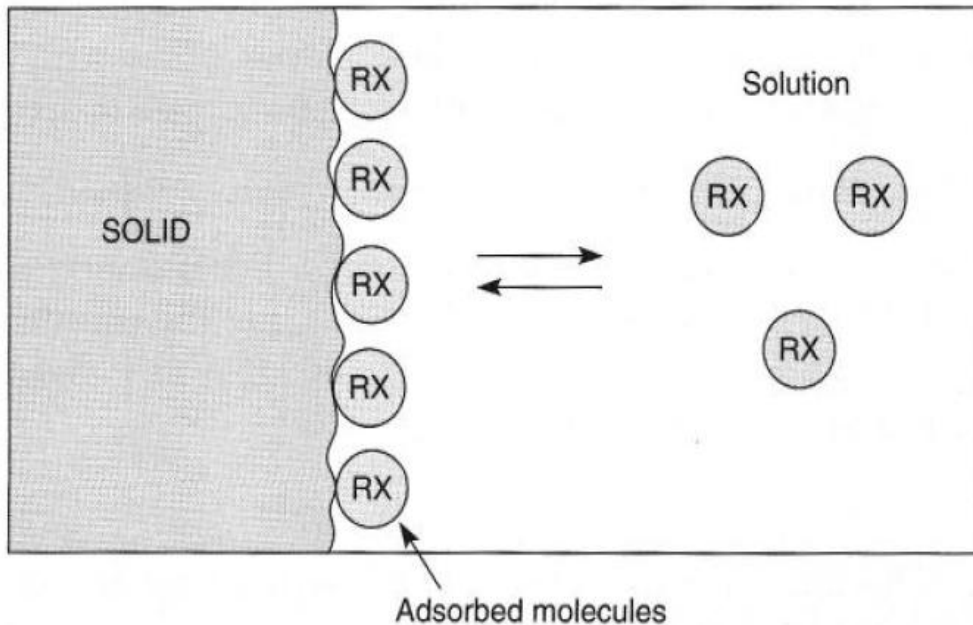


# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Η χρωματογραφία είναι μέθοδος διαχωρισμού χημικών ουσιών, η οποία στηρίζεται στην διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ μιας **κινούμενης** και μια **στατικής** φάσης.

Διαχωρίζει ενώσεις με βάση την προσρόφηση τους στην επιφάνεια μη τροποποιημένων σωματιδίων

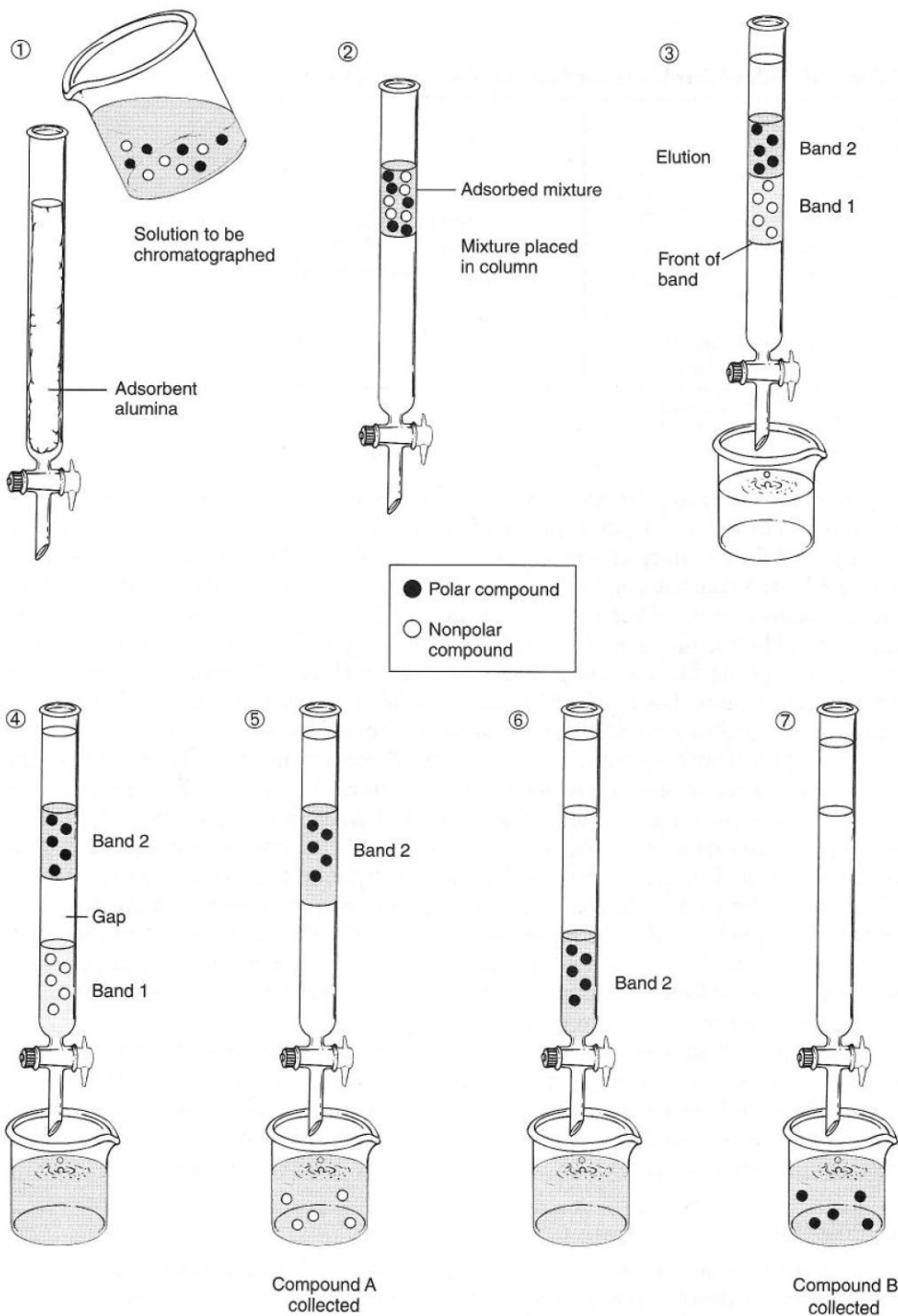


# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Ο διαλύτης κινείται λόγω βαρύτητας  
Flash χρωματογραφία  
Χρωματογραφία υψηλής πίεσης

Ο διαχωρισμός βασίζεται στην  
διαφορετική κατανομή των  
ενώσεων ενός μίγματος ανάμεσα  
στην στατική και την κινητή φάση.

Οι ενώσεις που αλληλεπιδρούν  
ισχυρότερα με την στατική φάση  
θα χρειαστούν περισσότερο χρόνο  
να εξέλθουν από την στήλη σε  
σχέση με εκείνες που έχουν  
ασθενέστερες αλληλεπιδράσεις.



# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη ενός καλού διαχωρισμού:

Η χημική δομή της κάθε ουσίας, Η χημική δομή του διαλύτη έκλουσης,

Η προσροφητική ικανότητα της στατικής φάσης για τις ουσίες και για τον διαλύτη

## ΚΙΝΗΤΕΣ ΦΑΣΕΙΣ - ΔΙΑΛΥΤΕΣ

### Διαλύτες έκλουσης

Οργανικά οξέα

Πυριδίνη

Νερό

Μεθανόλη

Αιθανόλη

Ακετόνη

Οξικός αιθυλεστέρας

Αιθέρας

Χλωροφόρμιο

Βενζόλιο

Τετραχλωράνθρακας

Κυκλοεξάνιο

Πετρελαϊκός Αιθέρας

n-πεντάνιο

Η εκλουστική ικανότητα ενός διαλύτη εξαρτάται:

1. Την χημική του συγγένεια με την ουσία → την ικανότητα διαλυτοποίησης
2. Τον βαθμό προσρόφησης του στην στατική του φάση

**Βαθμιδωτή έκλουση:** Σταδιακή αύξηση της εκλουστικής ικανότητας της κινητής φάσης

**Θετικό:** Διαχωρισμός σε λογικούς χρόνους

**Αρνητικό:** Όταν υπάρχει έντονη αλλαγή πολικότητας η ισχυρή προσρόφηση του περισσότερο πολικού διαλύτη προκαλεί έκλυση θερμότητας με αποτέλεσμα να δημιουργούνται φυσαλίδες και ρωγμές στην στατική φάση

## ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ – ΠΡΟΣΡΟΦΗΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

1. Δεν θα πρέπει να αντιδρά με τον διαλύτη έκλουσης ή με τα συστατικά του μίγματος που θα διαχωρισθεί,
2. Θα πρέπει να είναι σε σταθερή μορφή και τυποποιημένο για να έχουμε επαναλήψιμα αποτελέσματα.
3. Το μέγεθος των σωματιδίων - κόκκων πρέπει να είναι κατάλληλο

Συνήθως χρησιμοποιούνται **silica (SiO<sub>2</sub>)**, **alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)**,

Αλουμίνα (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

Ενεργοποιημένος άνθρακας

Florisil (μίγμα SiO<sub>2</sub>, MgO και Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

Silica Gel (SiO<sub>2</sub>)

Μαγνησία (MgO)

Ανθρακικό μαγνήσιο (MgCO<sub>3</sub>)

Ανθρακικό ασβέστιο (CaCO<sub>3</sub>)

Ανθρακικό νάτριο (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

Τάλκης (MgO, SiO<sub>2</sub>)

Ζάχαρη (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>)

Κυτταρίνη



## ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ – ΠΡΟΣΡΟΦΗΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Το μέγεθος των κόκκων πρέπει να είναι κατάλληλο.

Εάν ένα προσροφητικό υλικό έχει πάρα πολύ μικρούς κόκκους →

Μεγάλη επιφάνεια → μεγαλύτερη προσροφητική ικανότητα,  
άλλα συνήθως καθυστερεί στην ροή του διαλύτη.

Εάν έχει μεγάλους κόκκους έχει όχι καλή προσροφητική ικανότητα και  
Πολύ πιθανό να δημιουργούνται ακανόνιστες ζώνες ή "κανάλια" μέσα από τα  
οποία περνά ο διαλύτης και γίνεται αναποτελεσματικός ο διαχωρισμός.

Το μέγεθος των κόκκων μετράται με την τιμή Mesh που ορίζεται ως ο αριθμός  
των ανοιγμάτων σε επιφάνεια μιας τετραγωνικής ίντσας.

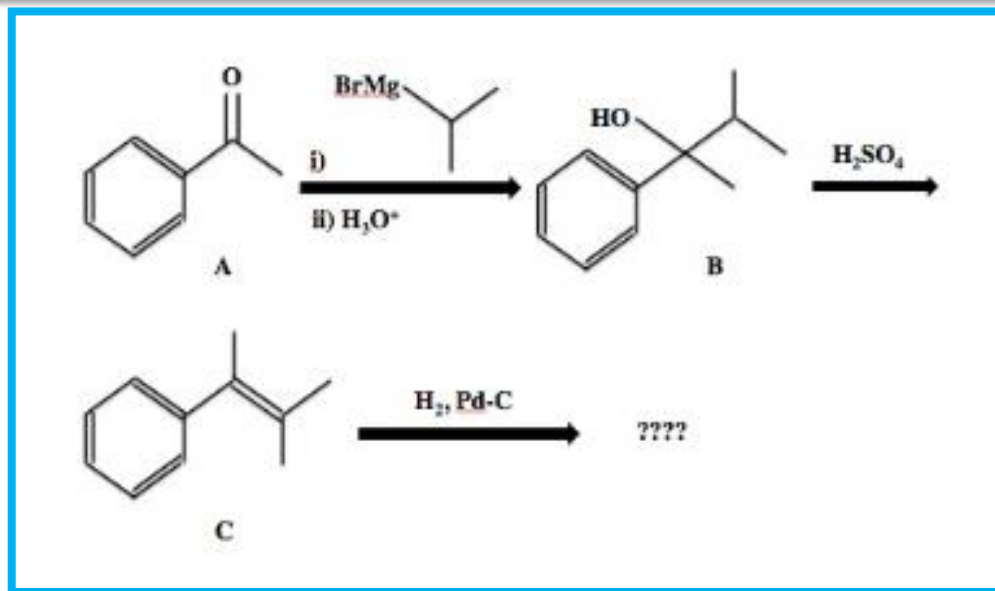
Όσο πιο μικρός ο αριθμός Mesh τόσο πιο μεγάλο το μέγεθος των κόκκων

mesh	20	50	70	100	230	400	2500
μm	840	297	200	149	63	37	5



Με την αλούμινα επιτυγχάνουμε καλύτερους διαχωρισμούς λόγω της ισχυρής προσροφητικής ικανότητας που διαθέτει. Όμως απαιτείται περισσότερος όγκος διαλύτη αλλά και περισσότερος χρόνος για την έκλουση.

Με την σίλικα το πείραμα προχωράει πιο γρήγορα όμως ο διαχωρισμός δεν είναι τόσο καλός. Συλλέγουμε περισσότερα μίγματα



Ένας χημικός τρέχει το παρακάτω συνθετικό μονοπάτι.

Λαμβάνει όμως μίγμα και των 3 ενώσεων.

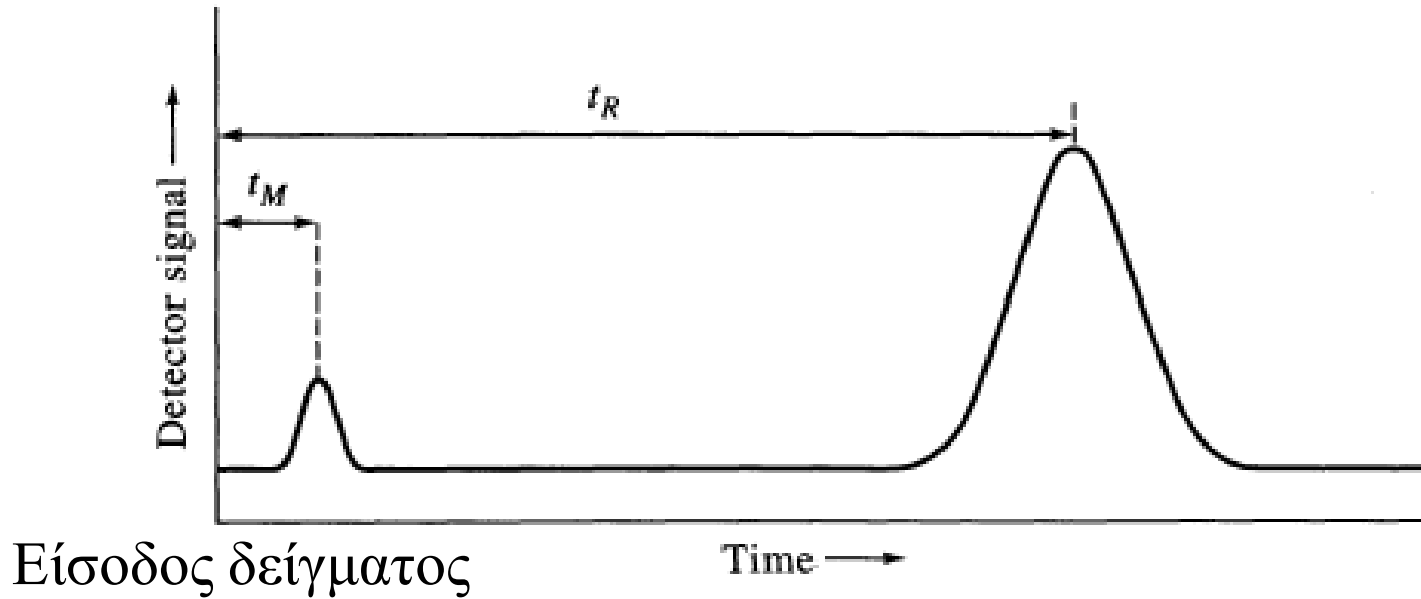
Can you answer?



Κάνει διαχωρισμό με σίλικα σαν στατική φάση και διαλύτη 10:1 Εξάνιο-διαιθυλαιθέρα

**Ερώτηση: Με τι σειρά περιμένετε να εξέλθουν από την στήλη οι ενώσεις;**

## Χρωματογράφημα - Συγκέντρωση στον χρόνο



Όπου:

$t_R$  = Χρόνος κατακράτησης,

$t_M$  = Νεκρός χρόνος και

$k' = (t_R - t_M)/t_M$  παράγων χωρητικότητας

Όταν το  $k'$  παίρνει τις τιμές από 2-10, ο διαχωρισμός είναι βέλτιστος


Κάθε ομάδα παίρνει μια στήλη χρωματογραφίας

Στην συνέχεια ζυγίζονται  
2 γρ άμμου και  
τοποθετούνται στην  
στήλη


Αρχικά τοποθετείται ένα  
μικρό κομμάτι βαμβάκι



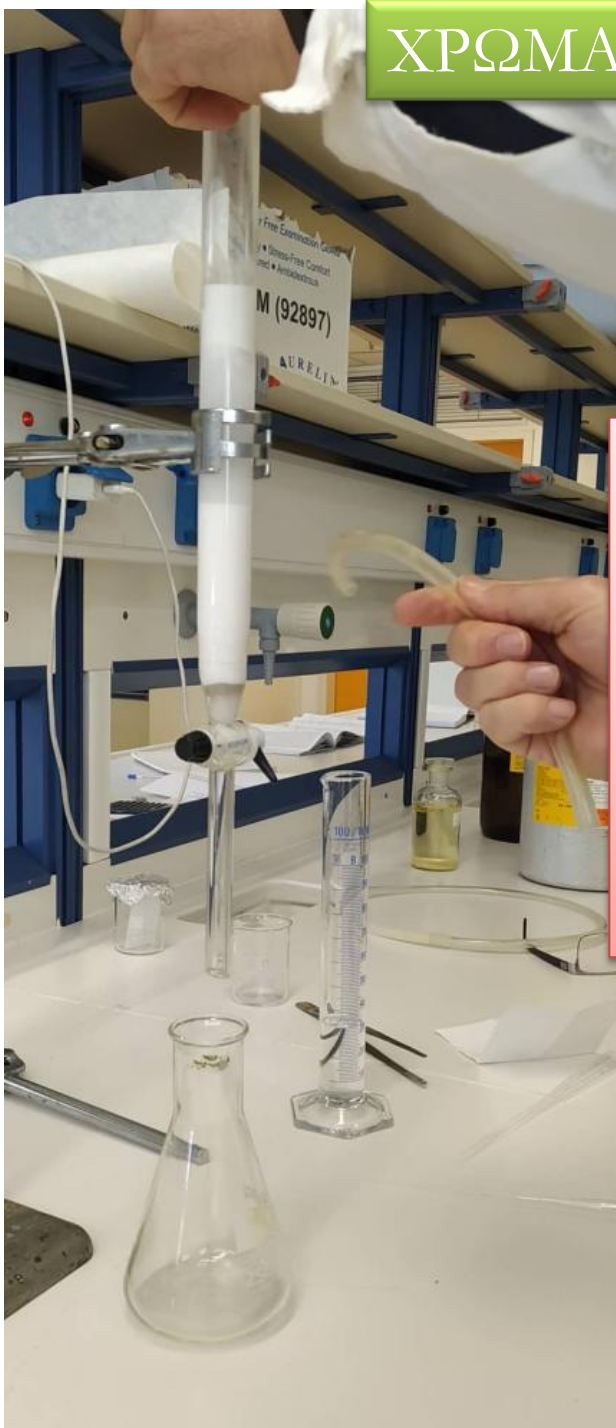




Στην συνέχεια  
κάθε ομάδα  
παιρνει 100 ml  
PE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> σε  
αναλογία 5:1, Τα  
50 από αυτά  
τοποθετούνται  
στην στήλη (με  
κλειστή την  
στρόφιγγα).



Ζυγίζονται 35 γρ  
αλούμινα και  
προστίθενται στην  
στήλη




Κατεβαίνει ο διαλύτης λίγο πάνω από το επίπεδο της αλούμινα και προστίθενται ομοιόμορφα άλλα 2 γρ άμμου



Ξεπλένονται τα τοιχώματα με λίγο διαλύτη και κατεβαίνει το επίπεδο οριακά κάτω από την αλούμινα

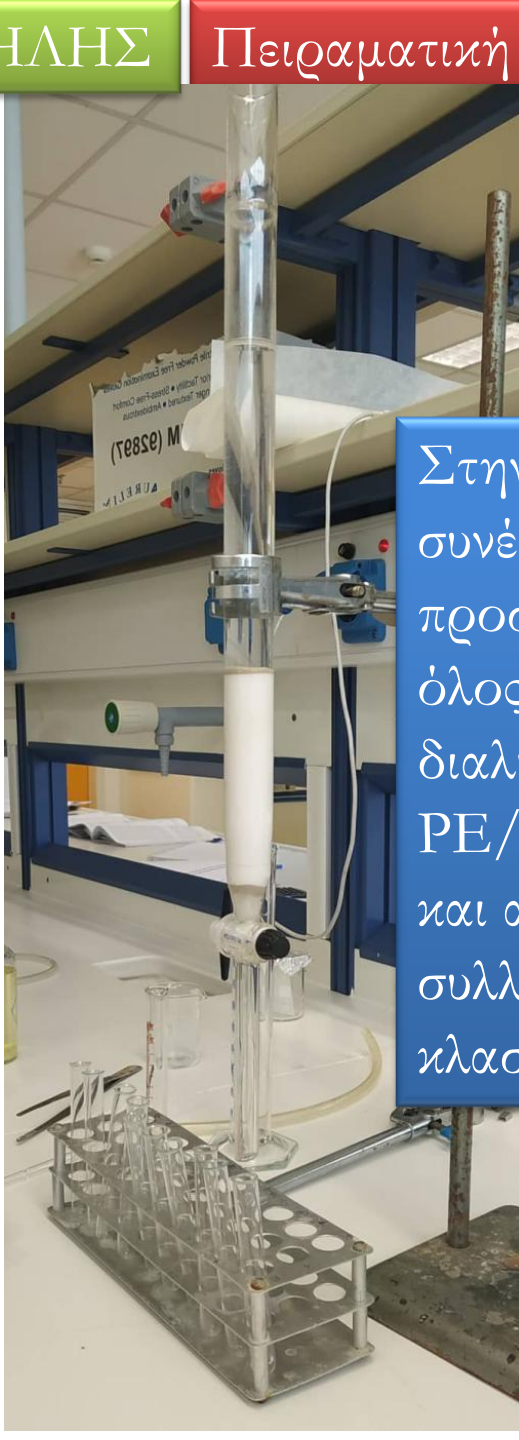




Κάθε ομάδα παίρνει 3 ml μίγμα το οποίο προστίθεται σε δύο δόσεις στην στήλη.

Κάθε φορά το επίπεδο του διαλύτη κατεβαίνει οριακά μέσα στην αλούμινα.

Ξεπλένουμε 2 φορές από 1 ml την φορά και πάλι ο διαλύτης κατεβαίνει μέσα στην αλούμινα



Στην συνέχεια προστίθεται όλος ο διαλύτης PE/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> και αρχίζει η συλλογή κλασμάτων

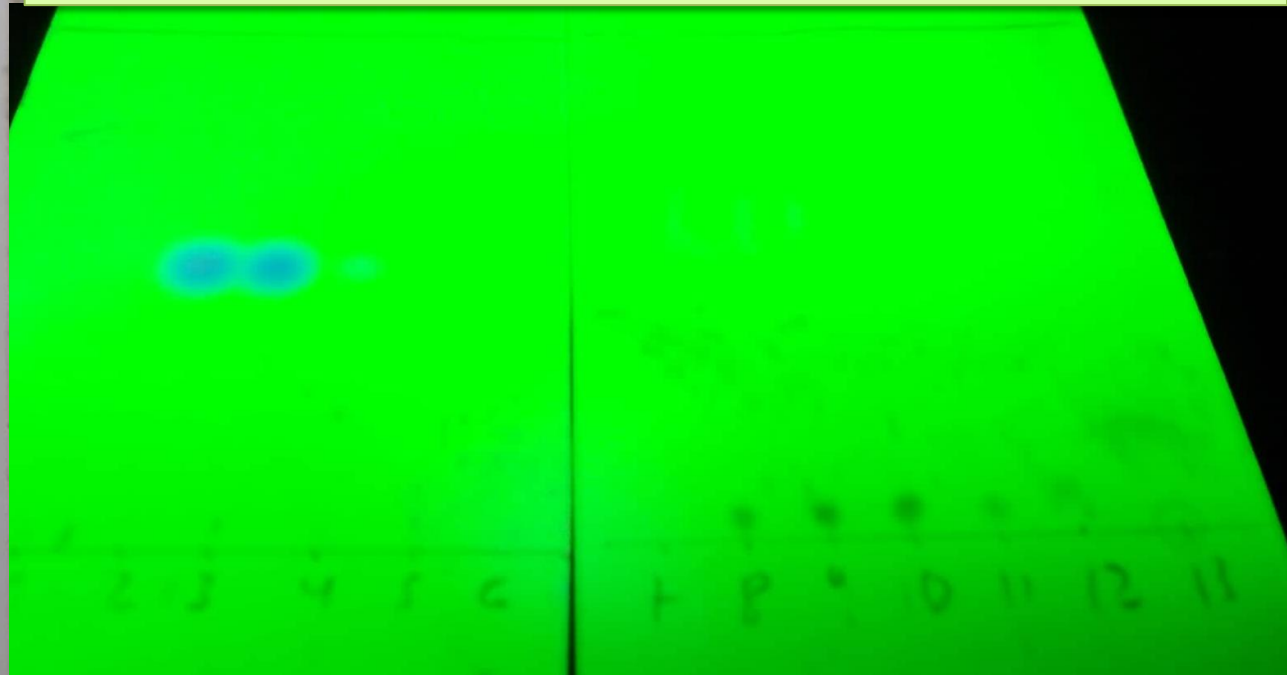
Χρησιμοποιούνται οι 10 δοκ. σωλήνες. Τους ονομάζουμε Α, Β, 1, 2, 3, ...  
Τους Α και Β τους αδειάζουμε πάλι στην στήλη

Σε πλακίδιο ελέγχου TLC βλέπουμε ποιοι σωλήνες έχουν ουσία

ΠΛΑΚΙΔΙΟ  
ΕΛΕΓΧΟΥ

·	·	·	·	·
·	·	·	·	·
11	12	13	14	15
6	7	8	9	10
1	2	3	4	5

Κάνουμε ανάπτυξη σε διαλύτη όπως ο αρχικός μας  
και βλέπουμε τι έχει βγει από την στήλη



Μόλις τελειώσει ο αρχικός διαλύτης τοποθετούμε  
στην στήλη 40 ml μίγμα του αρχικού διαλύτη 1:1 με  
αιετόνη

Μόλις εκλουσθεί πλήρως το ανθρακένιο η συλλογή συνεχίζεται σε κωνική φιάλη μια και πλέον θα υπάρχει μόνο ανθρακινόνη

Μόλις τελειώσει το μίγμα αρχικού διαλύτη με αιετόνη βάζουμε στην στήλη 30 ml αιετόνης μέχρι να σταματήσει να εκλούεται ανθρακινόνη.

Όλα τα κλάσματα από τους σωλήνες που περιέχουν ανθρακένιο ή μίγμα ανθρακινίου-ανθρακινόνης τα αδειάζουμε στην φιάλη που λέει ANΘΡΑΚΕΝΙΟ  
Ενώ την καθαρή ανθρακινόνη στην φιάλη που λέει ANΘΡΑΚΙΝΟΝΗ

Ασκήσεις 1,2,3

**Να πας και στην επόμενη διαφάνεια**





Surveyor  
ThermoFisher

ThermoFisher  
Do not use Autosampler Position A!

Surveyor  
ThermoFisher

TSQ QUANTUM ULTRA  
ThermoFisher