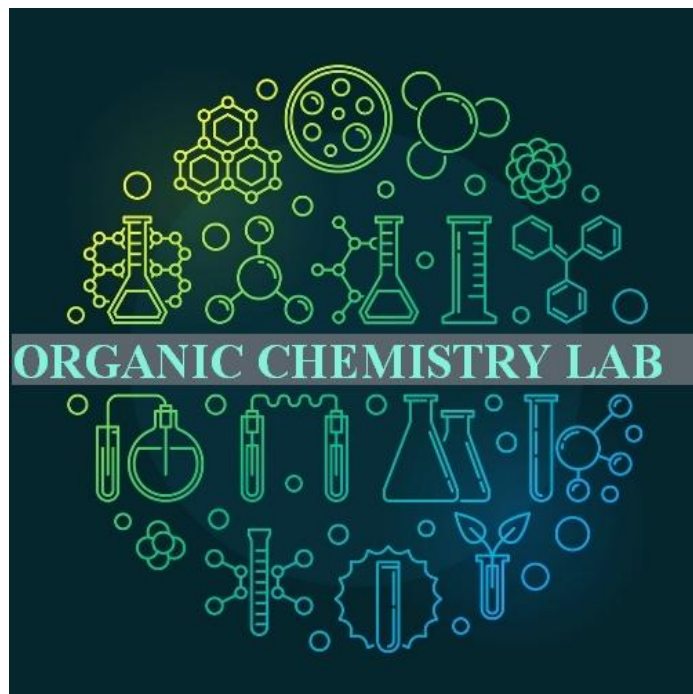
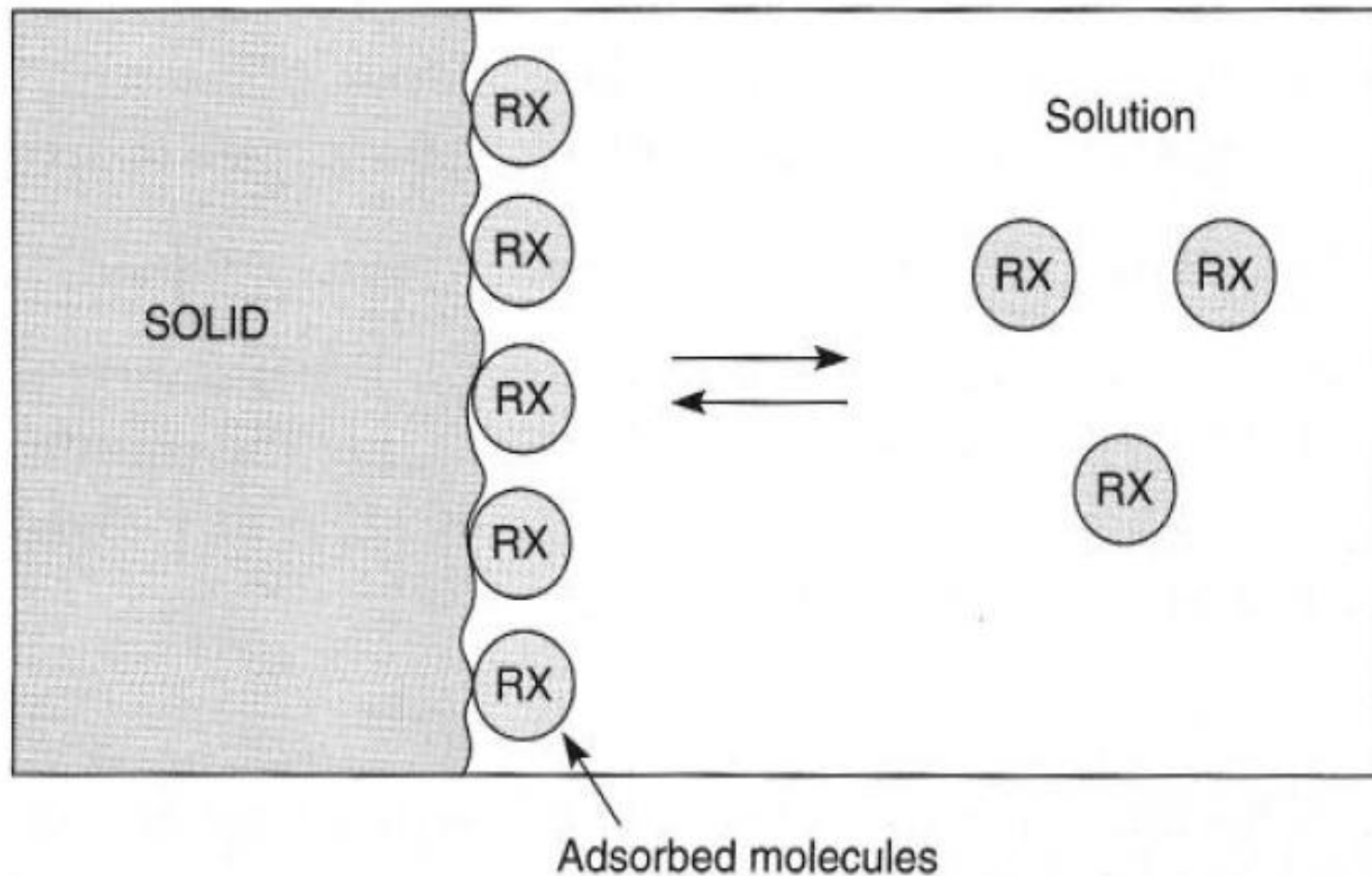


Εργαστηριακή άσκηση 10

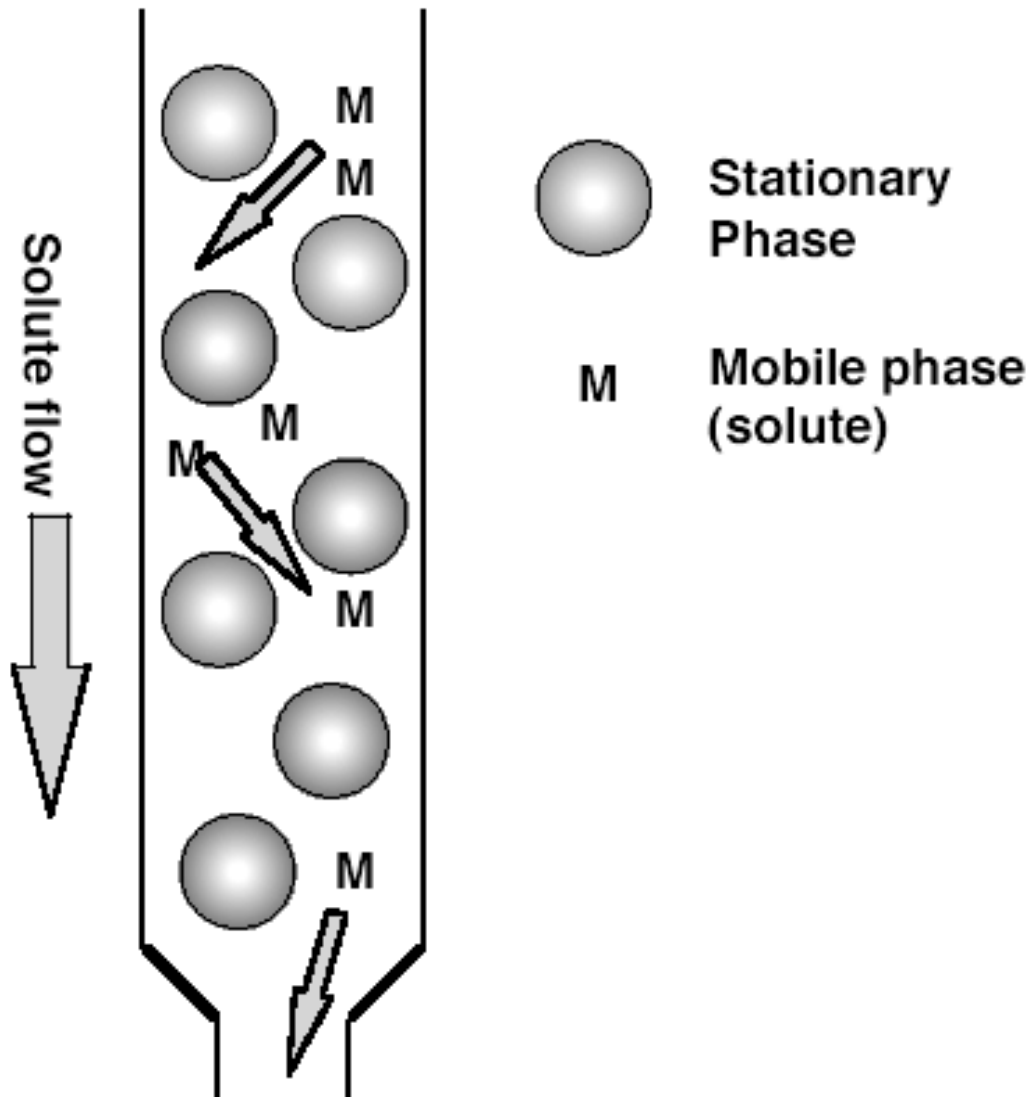


Χρωματογραφία Στήλης

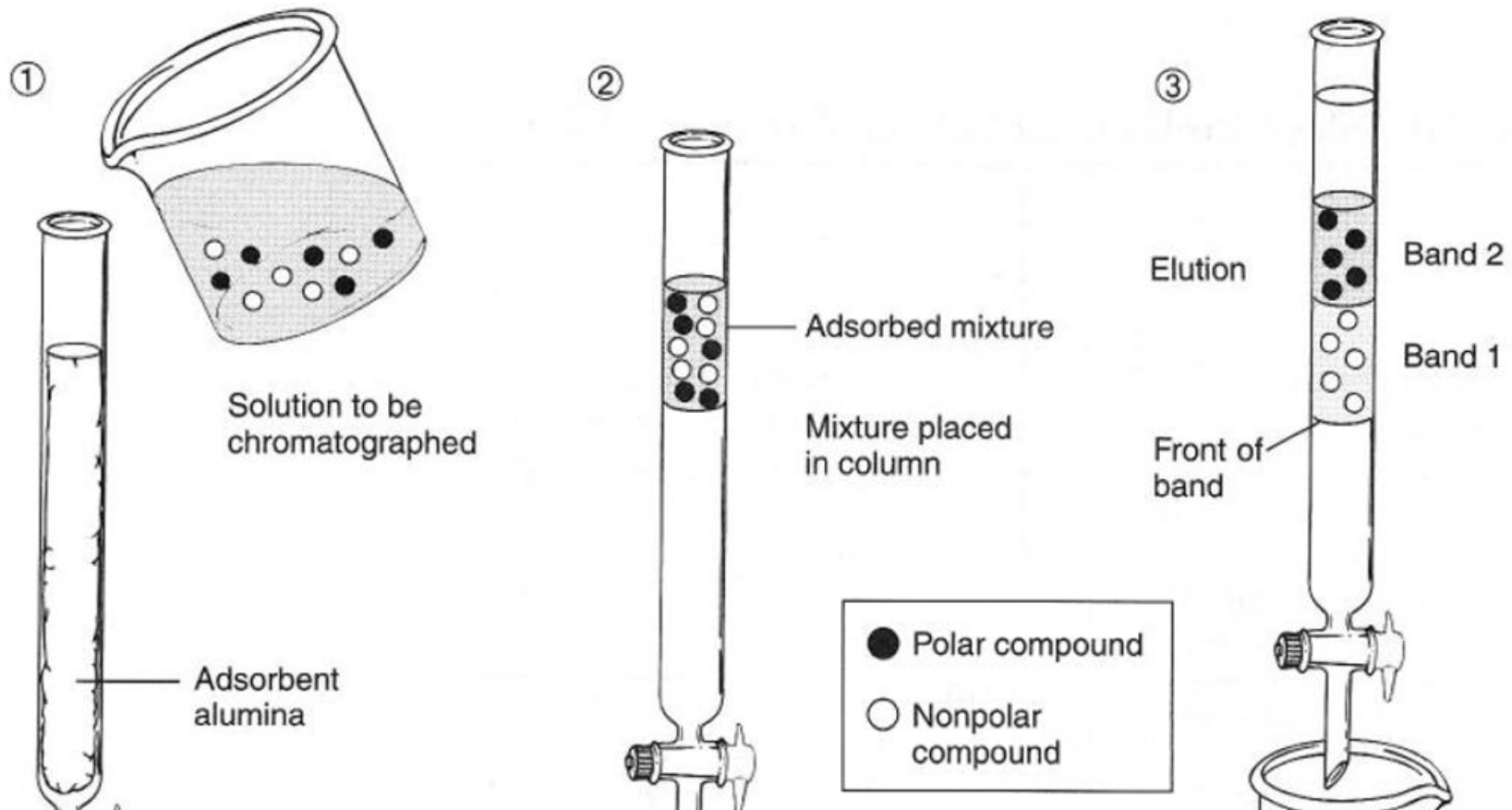
Η χρωματογραφία είναι μέθοδος διαχωρισμού χημικών ουσιών, η οποία στηρίζεται στην διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ μιας **κινούμενης** και μια **στατικής** φάσης.



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

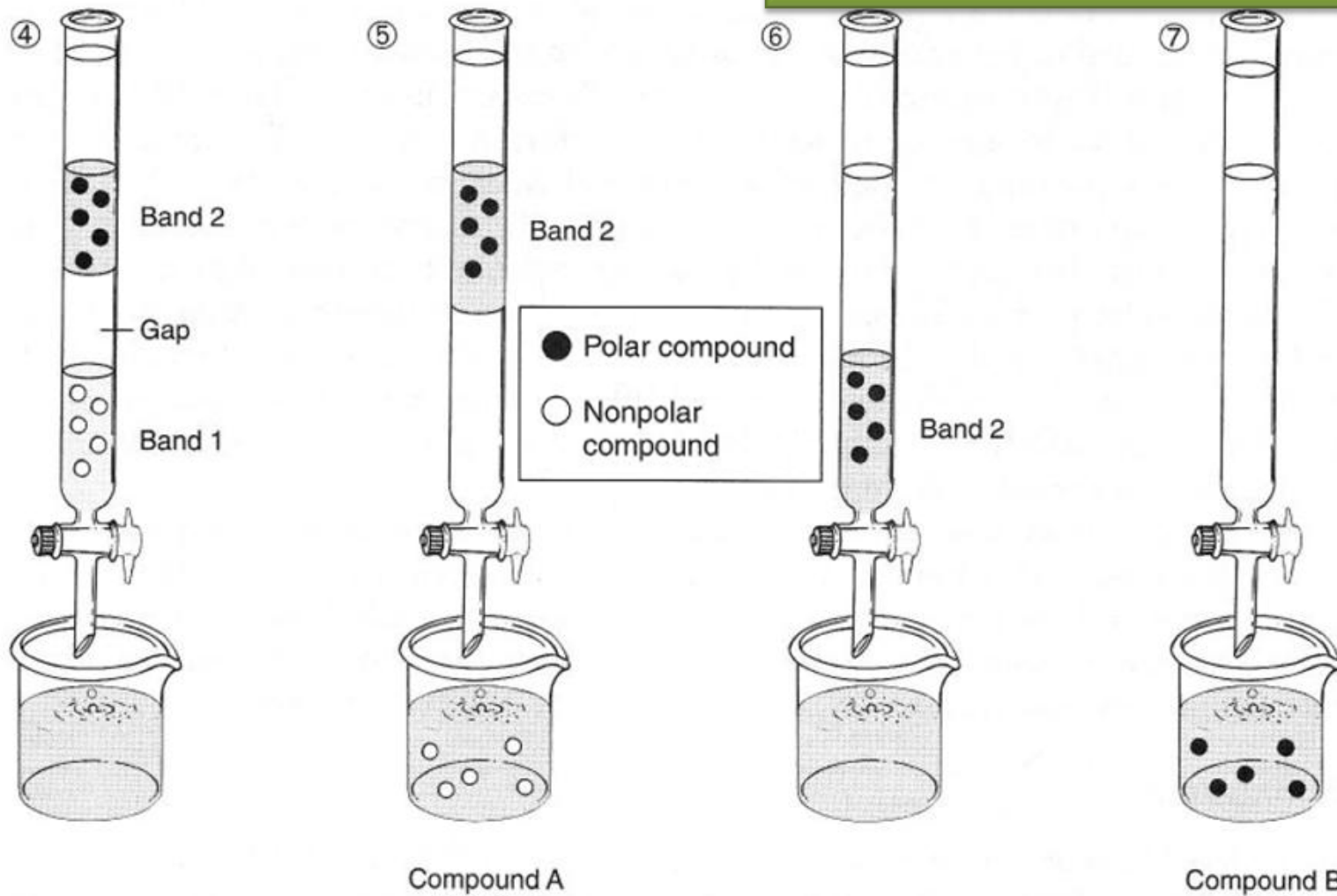


Ο διαλύτης κινείται λόγω βαρύτητας -Flash χρωματογραφία -
Χρωματογραφία υψηλής πίεσης



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

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ



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.

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

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

ΚΙΝΗΤΕΣ ΦΑΣΕΙΣ - ΔΙΑΛΥΤΕΣ

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Διαλύτες έκλουσης
Οργανικά οξέα
Πυριδίνη
Νερό
Μεθανόλη
Αιθανόλη
Ακετόνη
Οξικός αιθυλεστέρας
Αιθέρας
Χλωροφόρμιο
Βενζόλιο
Τετραχλωράνθρακας
Κυκλοεξάνιο
Πετρελαϊκός Αιθέρας
n-πεντάνιο

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

Αλουμίνα (Al_2O_3)
 Ενεργοποιημένος άνθρακας
 Florisil (μίγμα SiO_2 , MgO και Na_2SO_4)
 Silica Gel (SiO_2)
 Μαγνησία (MgO)
 Ανθρακικό μαγνήσιο (MgCO_3)
 Ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3)
 Ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3)
 Τάλκης (MgO , SiO_2)
 Ζάχαρη ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)
 Κυτταρίνη

Συνήθως χρησιμοποιούνται **silica** (SiO_2), **alumina** (Al_2O_3), **κυτταρίνη**

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

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.

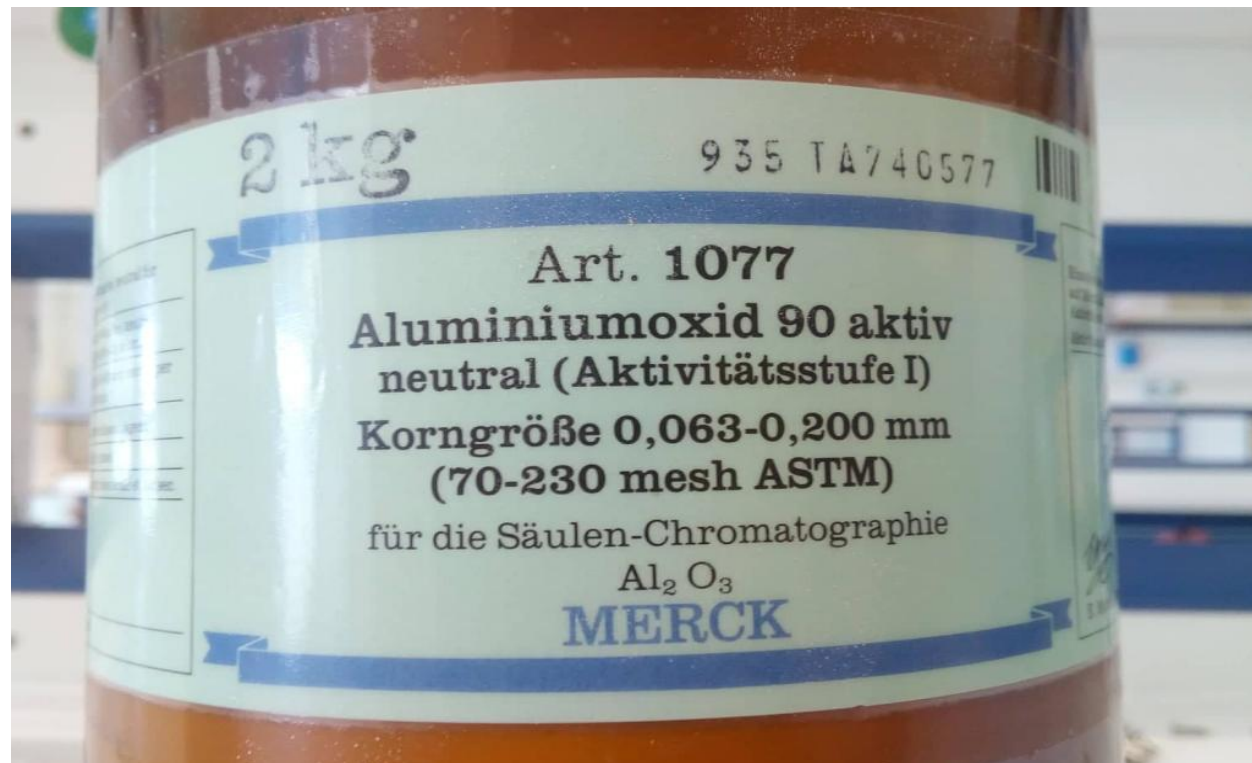
Εάν έχει μεγάλους κόκκους έχει όχι καλή προσροφητική ικανότητα και

Πολύ πιθανό να δημιουργούνται ακανόνιστες ζώνες ή "κανάλια" μέσα από τα οποία περνά ο διαλύτης και γίνεται αναποτελεσματικός ο διαχωρισμός.

ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ – ΠΡΟΣΡΟΦΗΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

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

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



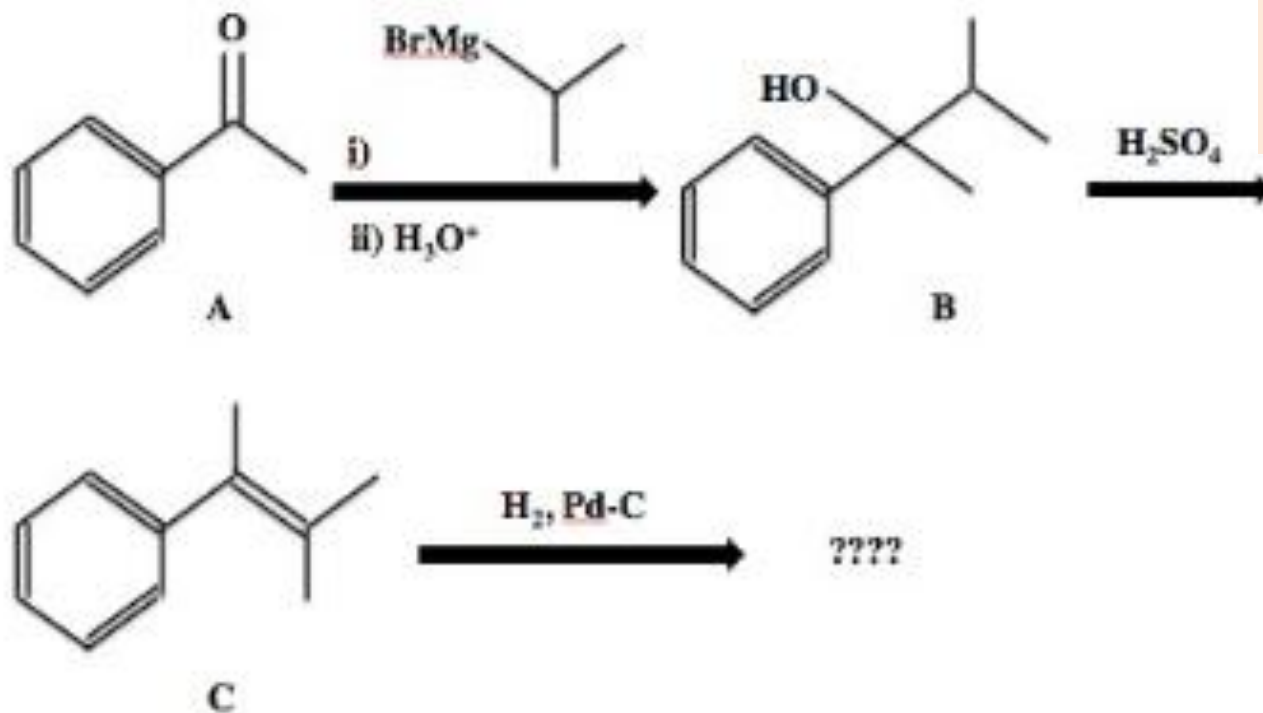
Όσο πιο μικρός ο αριθμός Mesh τόσο πιο μεγάλο το μέγεθος των κόκκων

Αλούμινα vs Σίλικά

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 σίλικά 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?

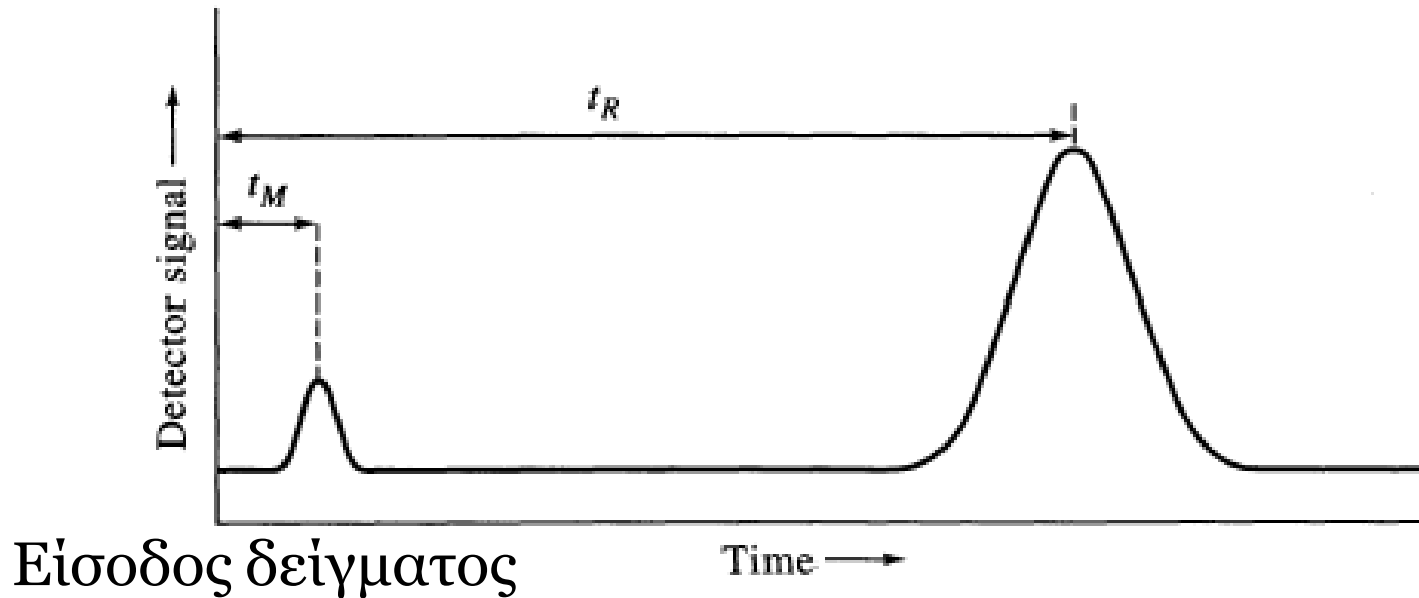
?



Κάνει διαχωρισμό με σίλικά 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

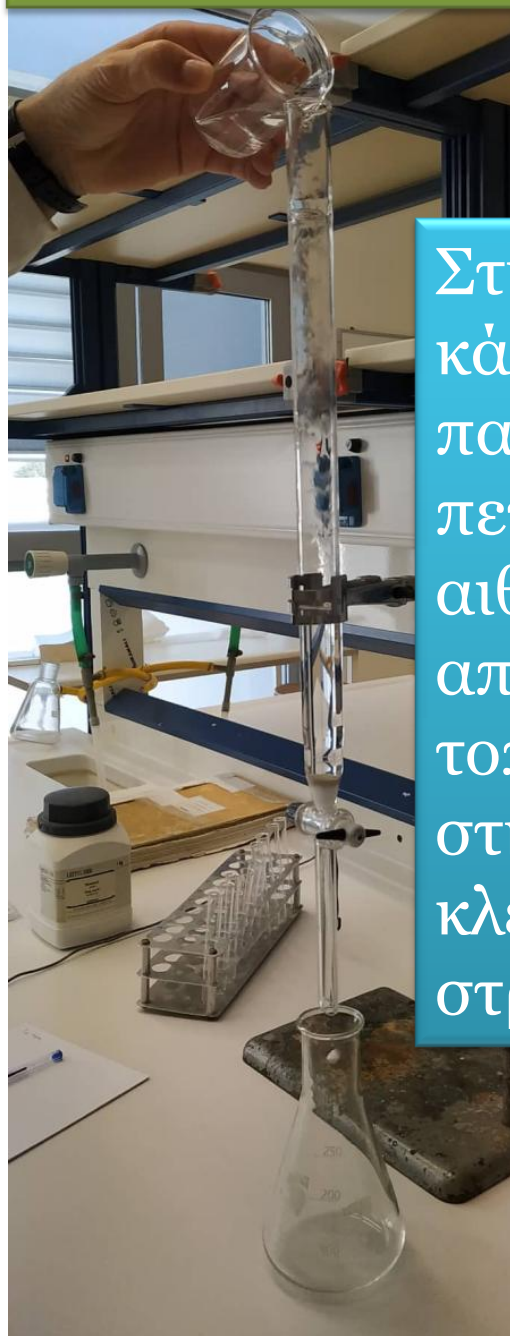
Όταν το k' παίρνει τις τιμές από 2-10, ο διαχωρισμός είναι βέλτιστος

Κάθε ομάδα παίρνει μια στήλη
χρωματογραφίας

Αρχικά τοποθετείται
ένα μικρό κομμάτι
βαμβάκι

Στην συνέχεια
ζυγίζονται ~2 γρ
άμμου και
τοποθετούνται
στην στήλη





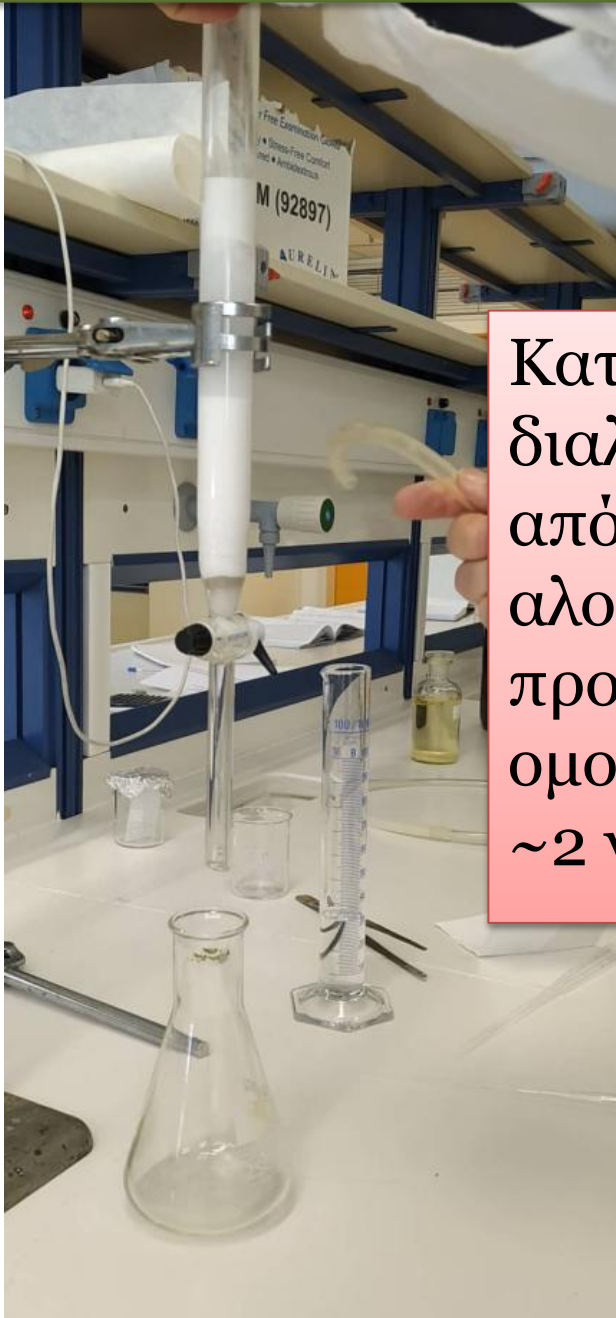
Στην συνέχεια
κάθε ομάδα
παίρνει 80 ml
πετρελαιοκ
αιθέρα. Τα 30
από αυτά
τοποθετούνται
στην στήλη (με
κλειστή την
στρόφιγγα).



Ζυγίζονται 25 γρ
αλούμινα και
προστίθενται
στην στήλη

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

Πειραματική διαδικασία



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 1 ml μίγμα προς διαχωρισμό 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 του πετρελαικού αιθέρα και αρχίζει η συλλογή κλασμάτων



Χρησιμοποιούνται οι 10 δοκιμαστικούς σωλήνες. Τους ονομάζουμε Α,1,2,3,...Τον Α τον αδειάζουμε πάλι στην στήλη

Σε πλακίδιο ελέγχου TLC βλέπουμε ποιοι σωλήνες έχουν ουσία

Κάνουμε ανάπτυξη σε διαλύτη 20% οξικό αιθυλεστέρα σε πετρελαιοειδές αιθέρα και βλέπουμε τι συλλεχθεί σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα που έχει δώσει στον έλεγχο σποτ

Μόλις τελειώσει ο αρχικός διαλύτης τοποθετούμε στην στήλη 40 ml μίγμα του αρχικού διαλύτη 20% οξικό αιθυλεστέρα σε πετρελαιοειδές αιθέρα και συνεχίζουμε την συλλογή κλασμάτων



Μόλις εκλουσθεί πλήρως η κινναμαλδεύδη η συλλογή συνεχίζεται σε κωνική φιάλη μέχρι να μην δίνει σποτ

Όλα τα κλάσματα από τους σωλήνες που περιέχουν ανηθόλη τα συλλέγουμε στο δοχείο που γράφει

ΑΝΗΘΟΛΗ

Ενώ την καθαρή κινναμαλδεύδη στην φιάλη που λέει

ΚΙΝΝΑΜΑΛΔΕΥΔΗ

Το μίγμα στην φιάλη που λέει ΜΙΓΜΑ

Ασκήσεις Αναφοράς

1. Ποιο θα είναι το αποτέλεσμα εάν : α) συλλέγατε κλάσματα πολύ μεγάλου μεγέθους από την κολώνα. β) Το προσροφητικό υλικό έχει πολύ μικρούς ή μεγάλους κόκκους. γ) Μετά την έκλυση της ανηθόλης προσθέτουμε ένα πολύ πολικό διαλύτη π.χ. ακετόνη για την έκλυση της κινναμαλδεύδης.
2. Εάν αντί για αλουμίνα χρησιμοποιούσαμε Silica Gel με τους ίδιους διαλύτες θα άλλαζε η σειρά έκλυσης των δυο ενώσεων;
3. Ποιο θα ήταν το αποτέλεσμα εάν χρησιμοποιούσατε διαιθυλαιθέρα αντί πετρελαϊκό αιθέρα στην έκλυση του μείγματος;

