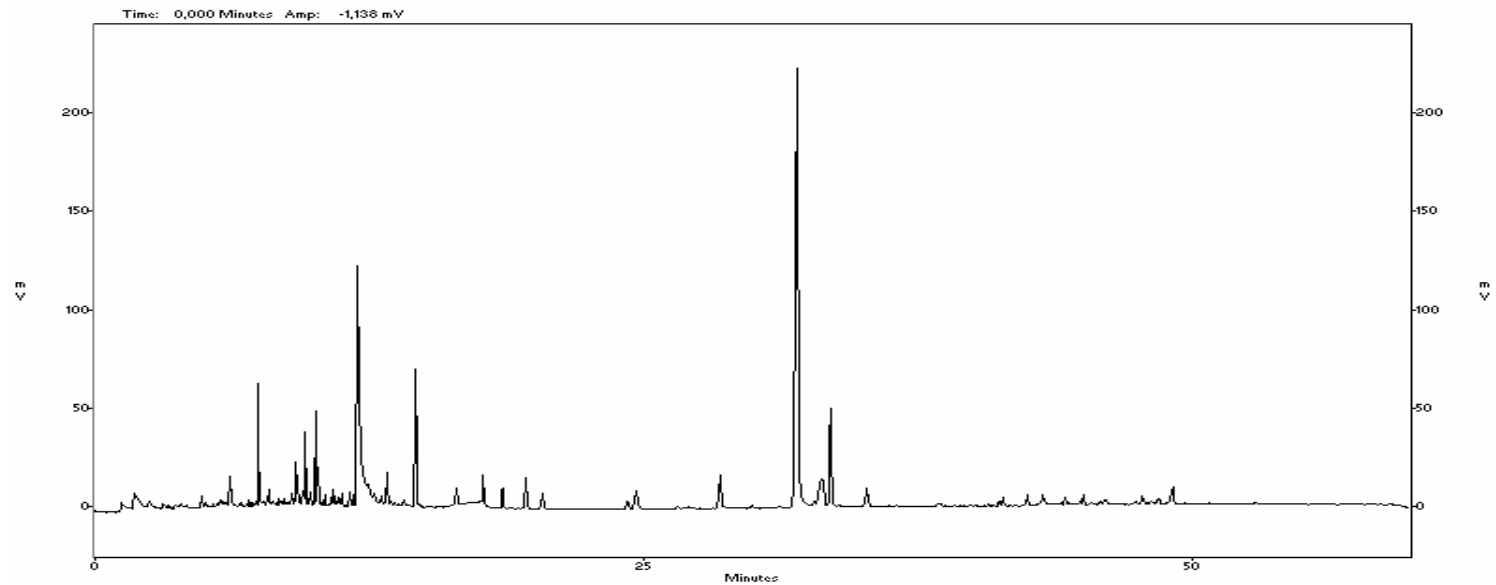


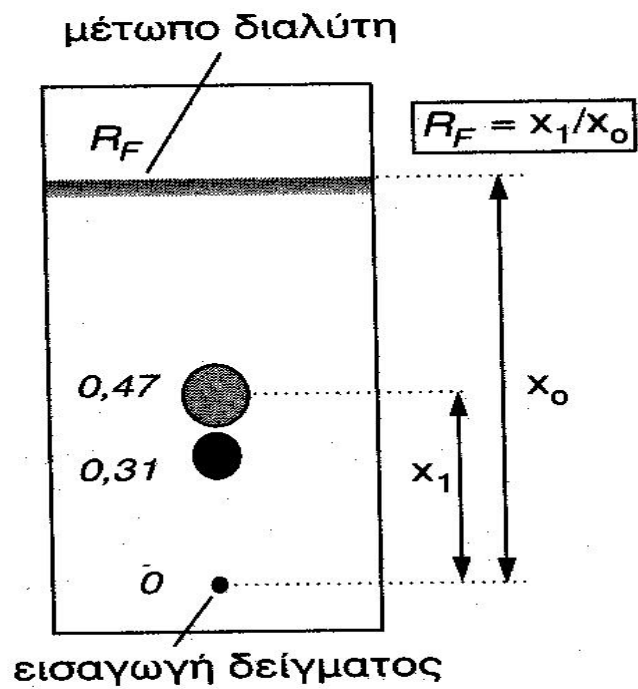
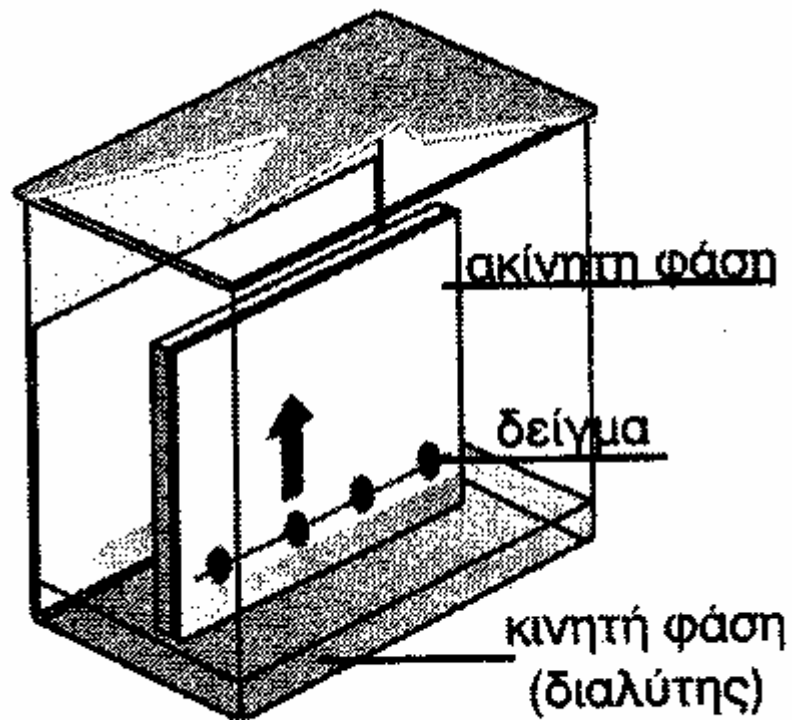
# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ



# ΕΠΙΠΕΔΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

- Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας
- Η στατική φάση
  - Διοξείδιο του Πυριτίου (Silicagel,  $\text{SiO}_2$ )
  - Οξειδίο του Αργιλίου (alumina,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ )
  - Μικροκρυσταλλική Κυτταρίνη (cellulose)
  - Γη Διατόμων (kieselgur)
  - Πολυαμίδιο

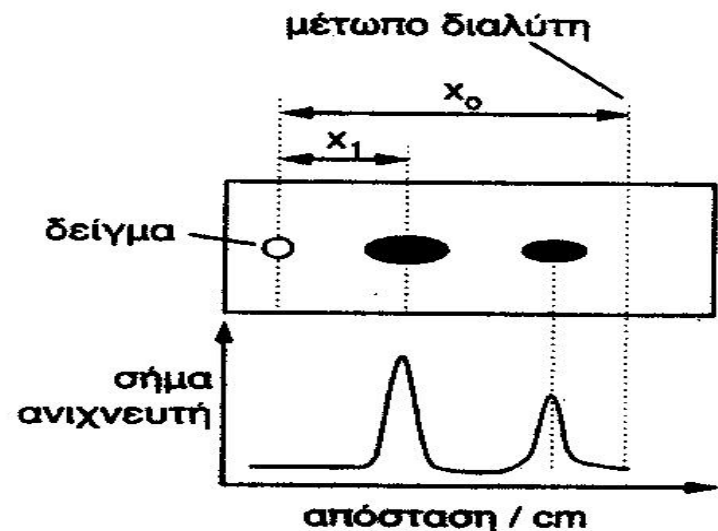
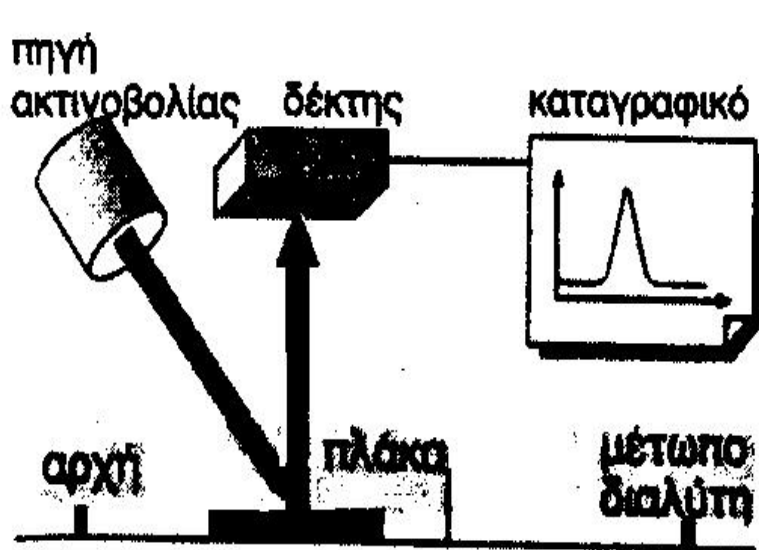
είναι επιστρωμένη σε πλάκα γυάλινη η πλαστική πάχους 100-300 $\mu\text{m}$  και η οποία προσκολλάται με τη βοήθεια συνδετικών υλικών (γύψος, άμυλο)



- Η ταυτοποίηση των συστατικών του μίγματος μπορεί να γίνει με βάση την τιμή του συντελεστή επιβράδυνσης **Rf** της κάθε κηλίδας που υπολογίζεται από την σχέση:

$$Rf = \frac{\text{απόσταση που διάνυσε η ουσία}}{\text{απόσταση που διάνυσε το μέτωπο του διαλύτη}}$$

- Ο ποσοτικός προσδιορισμός επιτυγχάνεται με σάρωση της πλάκας με την τεχνική της πυκνομετρίας (μια μορφή φασματοφωτομετρίας) ή απλούστερα με την τεχνική της μέτρησης της επιφάνειας της κηλίδας με διαφανές χιλιοστομετρικό χαρτί.

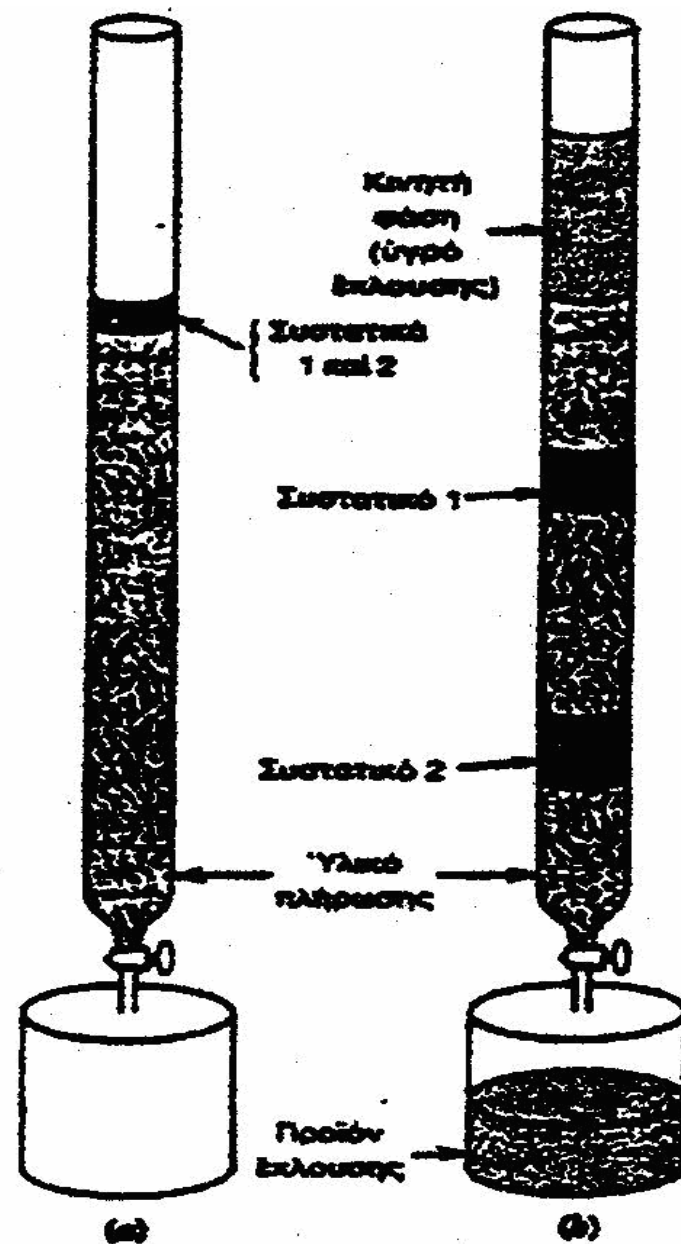


Με ανάλογο τρόπο λειτουργεί και η χρωματογραφία σε χάρτη. Στην περίπτωση αυτή, η στατική φάση είναι το χαρτί ή καλύτερα το νερό που συγκρατείται στο χαρτί.

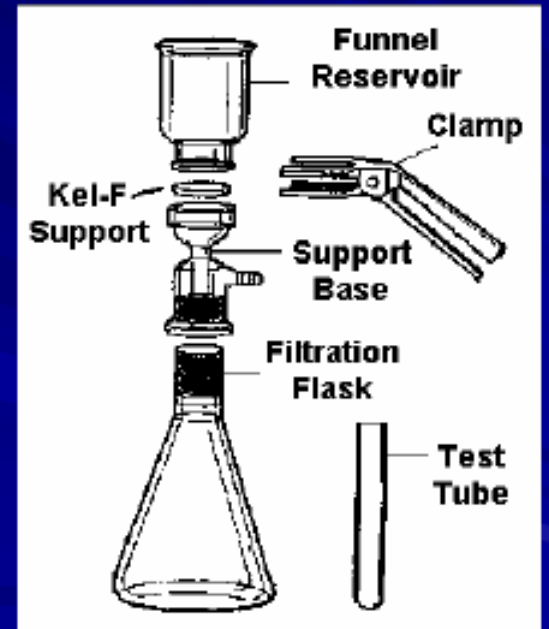
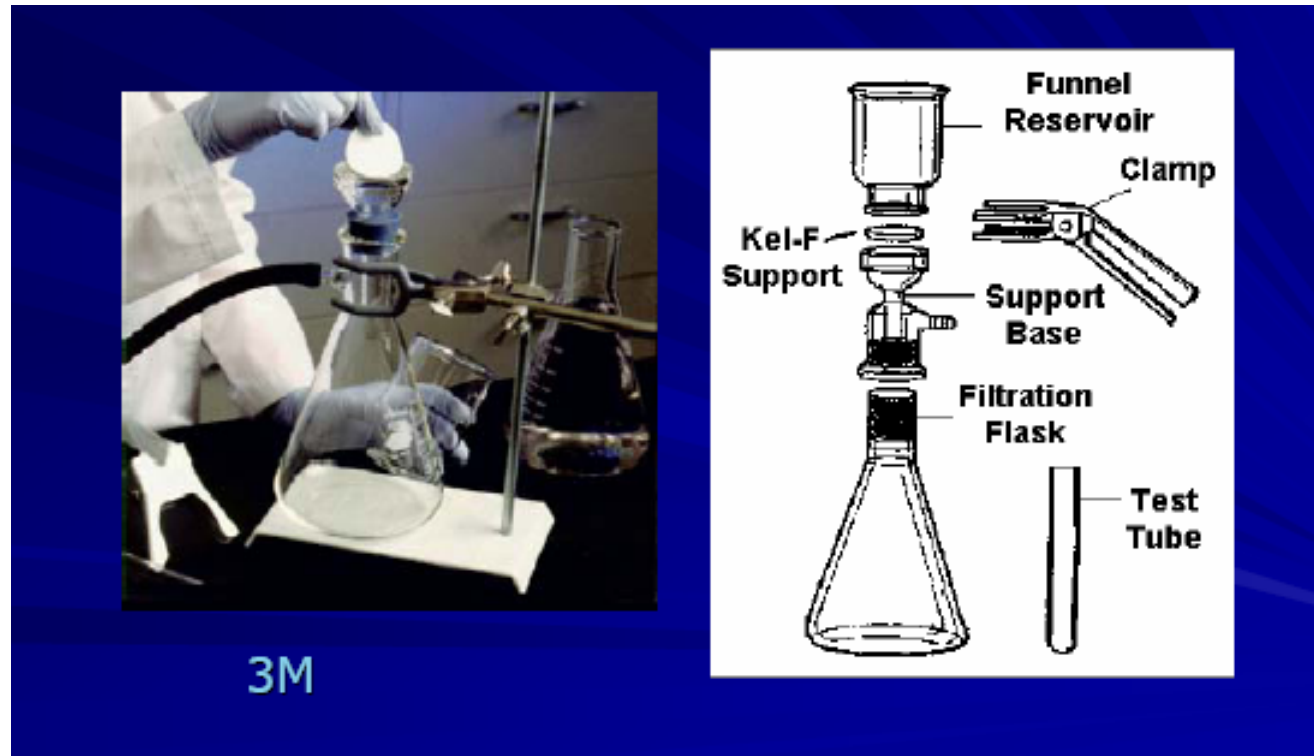
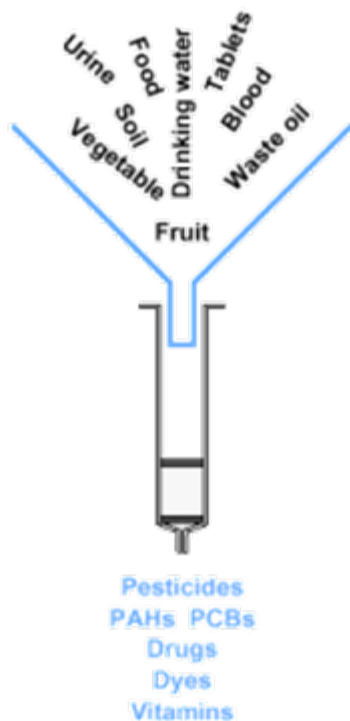
# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ

- Στη χρωματογραφία προσρόφησης επί στήλης (κλασσική) η προσροφητική ουσία (ή μείγμα ουσιών) βρίσκεται υπό μορφή στήλης μέσα σε γυάλινο σωλήνα.
- Ο διαχωρισμός των ουσιών βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης των συστατικών στη στερεά φάση και στη διαφορετική διαλυτότητα τους στη κινητή φάση.
- Η ταχύτητα μετακίνησης μιας ουσίας εξαρτάται από τον ανταγωνισμό του προσροφητικού μέσου και του διαλύτη.

- **Εφαρμογή:**
- Στο κάτω άκρο της στήλης τοποθετείται υαλοβάμβακας
- Τοποθετείται στη στήλη το προσροφητικό υλικό
- Διαβιβάζεται η κινητή φάση
- Οι ουσίες διαχωρίζονται κατά μήκος της στήλης λόγω διαφορετικής προσρόφησης κατά σειρά μειούμενης έντασης προσρόφησης(ανάπτυξη).
- Παραλαβή των διαχωριζόμενων ουσιών (έκλυση)

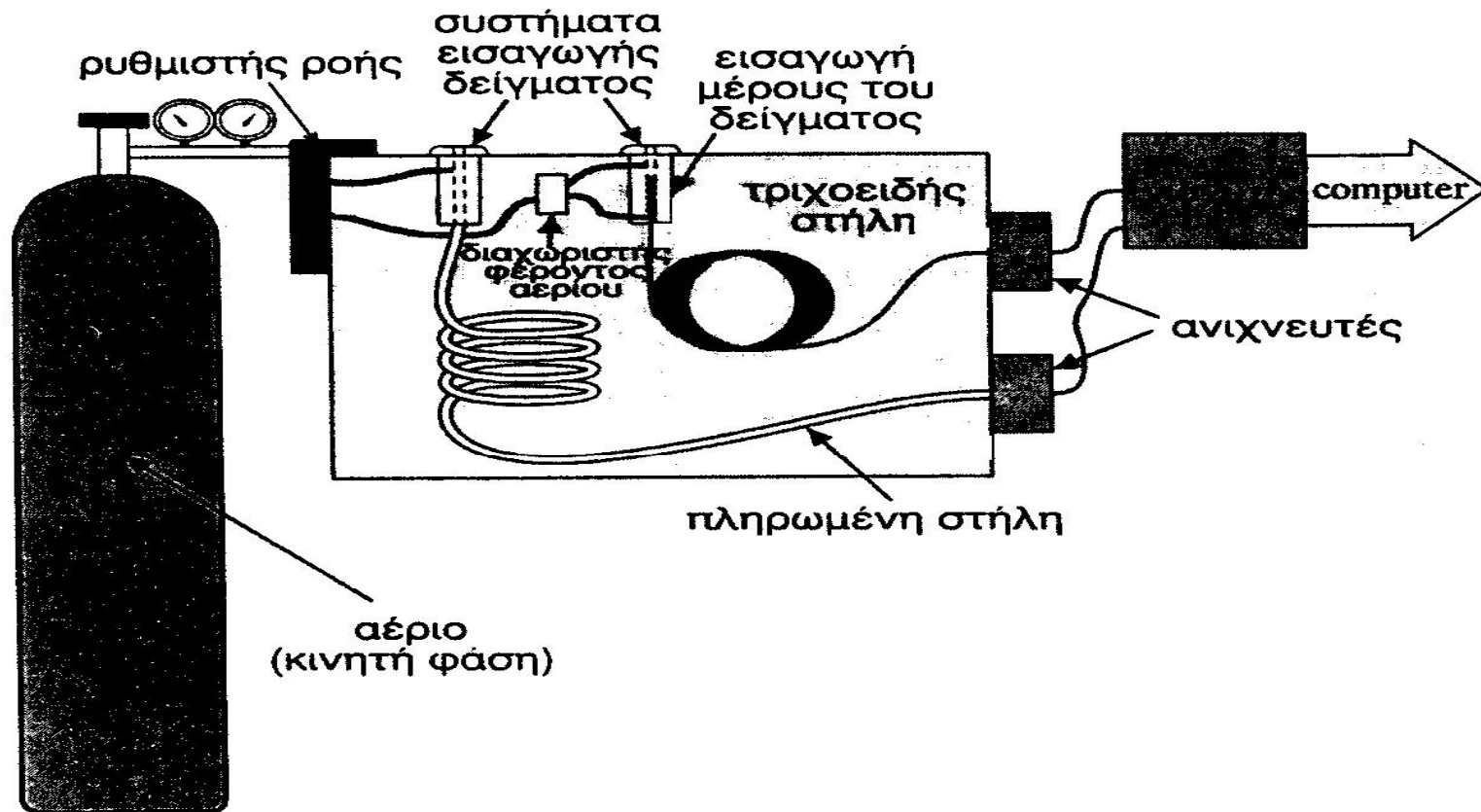


Στην περίπτωση όπου στη στήλη αντί για προσροφητική ουσία χρησιμοποιείται συνθετική ρητίνη που περιέχει ιονίσιμες δραστικές ομάδες τότε η τεχνική αυτή ονομάζεται **χρωματογραφία ιονανταλλαγής** και χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό ουσιών που μπορούν να ιονισθούν.





# ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ



Σχηματική απεικόνιση ενός αερίου χρωματογράφου (GC).

# Στατική φάση/Χρωματογραφική στήλη

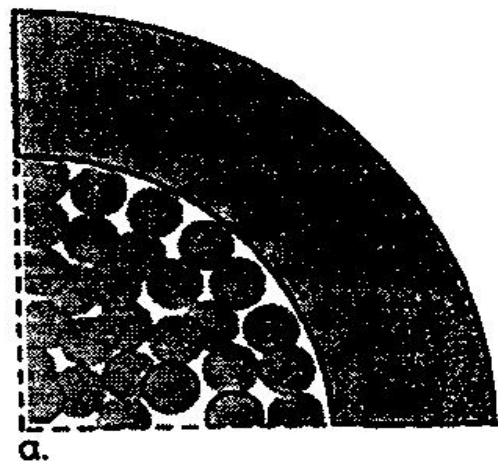
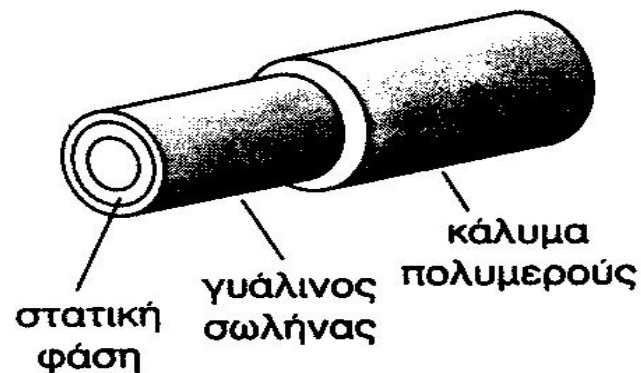
- Το βασικότερο τμήμα της αεροχρωματογραφικής διάταξης είναι η στήλη
- Πληρωμένη (packed)
- Τριχοειδής (capillary)

**Οι πληρωμένες έχουν**

Διάμετρο 3-6mm

Μήκος 1-3m

Και περιέχουν ένα στερεό υπόστρωμα διαποτισμένο με κατάλληλο υγρό, που αποτελεί την στατική φάση.



## **Οι πληρωμένες έχουν**

Διάμετρο 3-6mm

Μήκος 1-3m

Και περιέχουν ένα στερεό υπόστρωμα διαποτισμένο με κατάλληλο υγρό, που αποτελεί την στατική φάση.

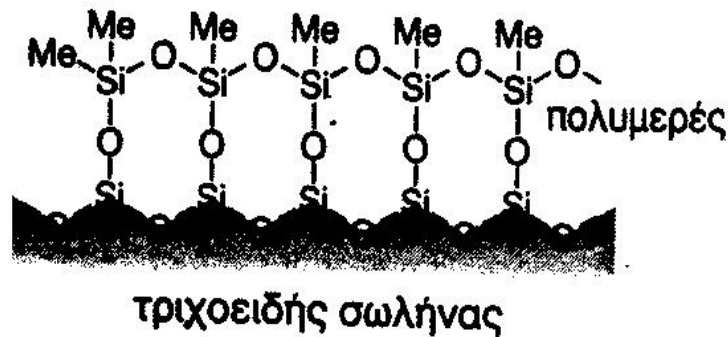
### ■ **Οι τριχοειδής**

- **WCOT (wall Coated Open Tubular):** Στο εσωτερικό τοίχωμα του σωλήνα φέρουν τοποθετημένα, απ' ευθείας, την υγρή στατική φάση
- **SCOT (Support Coated Open Tubular):** έχουν την υγρή φάση εμποτισμένη σε υπόστρωμα που καλύπτει την εσωτερική επιφάνεια του σωλήνα
- **PLOT (Porous Layer Open Tubular):** φέρουν τη στερεή φάση σε ένα προσροφητικό υλικό στην εσωτερική επιφάνεια του σωλήνα

■ **Εσωτερική Διάμετρο:** 0.1-1,5mm

■ **Μήκος :** 15-100m

- Υπάρχουν πάνω από 100 υγρές στατικές φάσεις για τις πληρωμένες στήλες .
- Για τις τριχοειδείς κυρίως χρησιμοποιούνται έλαια **σιλικόνης (polysiloxanes)** και **πολυαιθυλενογλυκόλες**



- Όσον αφορά τις στερεές στατικές φάσεις (PLOT) είναι από υλικά **πυριτικής βάσης**
- Το κριτήριο για την επιλογή της στατικής φάσης αποτελεί η χημική συγγένεια με αυτής των συστατικών του δείγματος.

# ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ

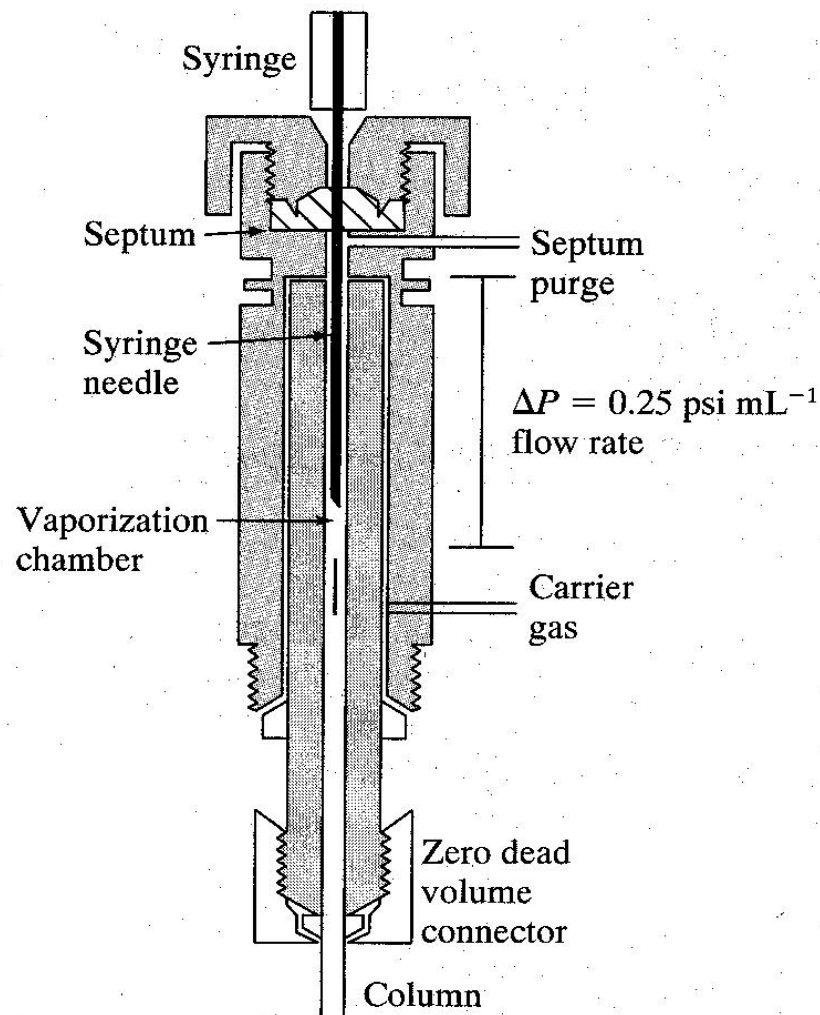
- Αδρανές Αέριο, He, N<sub>2</sub>, Ar,
- Ροή: 20-100ml/min για τις πληρωμένες και 0.1-5ml/min για τις τριχοειδείς.

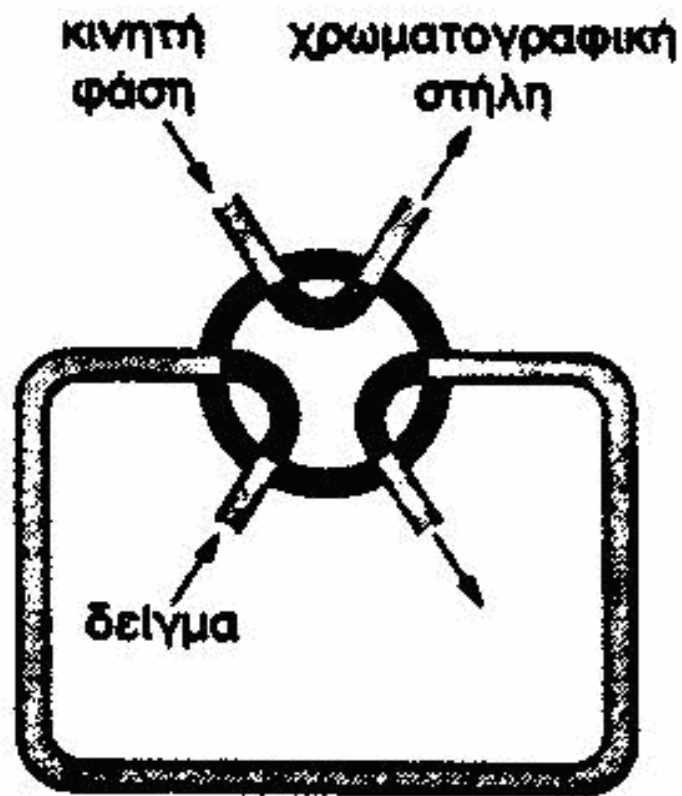
# ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η εισαγωγή γίνεται με μικροσύριγγα μέσω ελαστικού διαφράγματος ή με ειδικό σύστημα περιστρεφόμενης βαλβίδας με βρόχο.

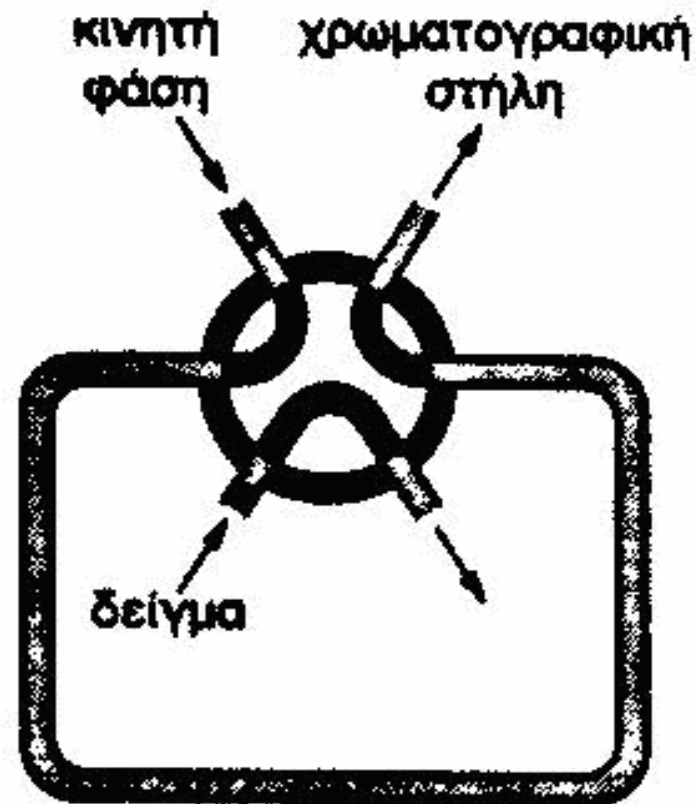
Ο χώρος εισαγωγής θερμαίνεται σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τη θερμοκρασία της στήλης, ώστε να διασφαλιστεί η εξαέρωση του δείγματος.

Στις τριχοειδείς στήλες, μέρος του εισαγόμενου δείγματος οδηγείται στη στήλη μέσω ειδικής διάταξης (splitter).





βρόχος δείγματος



βρόχος δείγματος

# ΘΕΡΜΟΣΤΑΤΙΣΗ ΣΤΗΛΗΣ

- Η θερμοκρασία της στήλης επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη διαδικασία διαχωρισμού.
- Η στήλη σε σταθερή θερμοκρασία (ισόθερμη χρωματογραφία).
- Η θερμοκρασία μεταβάλλεται με καθορισμένο πρόγραμμα (θερμο-προγραμματιζόμενη χρωματογραφία)

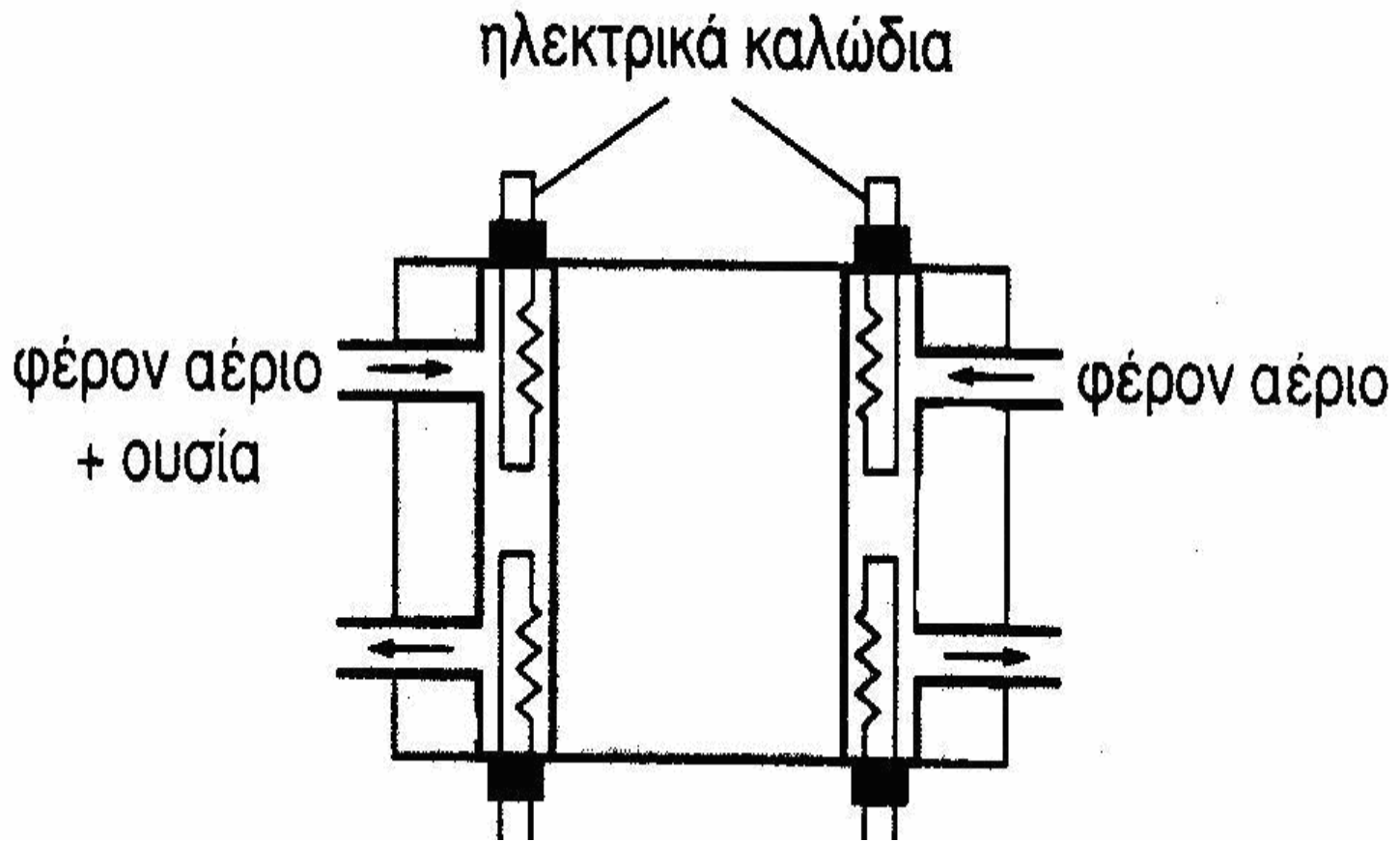


# ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

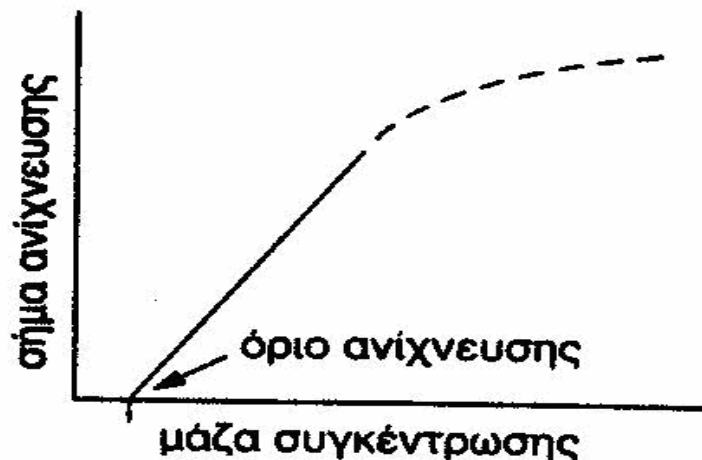
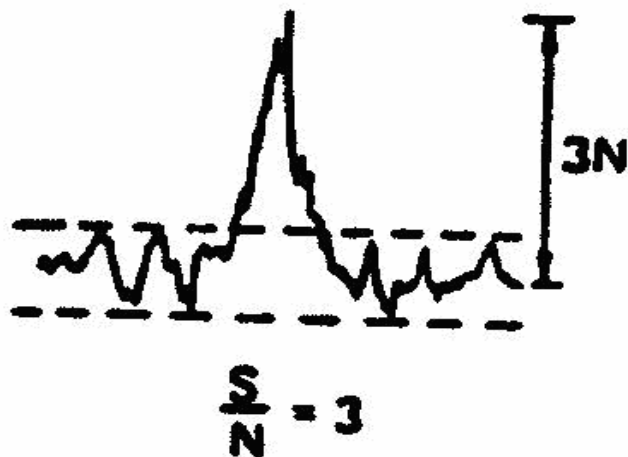
Ανιχνευτής	Ουσίες που ανιχνεύονται	Προσεγγιστικό Όριο Ανίχνευσης	Προσεγγιστική Γραμμική Περιοχή
TCD	Γενικής χρήσεως	$10^{-8} \text{ g mL}^{-1}$	$10^4 - 10^5$
FID	Ενώσεις που περιέχουν C και H	$10^{-12} \text{ g s}^{-1}$	$10^7$
EC	Ενώσεις που περιέχουν ηλεκτραρνητικά στοιχεία, π.χ. Cl	$10^{-14} \text{ g s}^{-1}$	$10^2 - 10^3$
FPD	Ενώσεις που περιέχουν S και P	$10^{-12} - 10^{-11} \text{ g s}^{-1}$	$10^3 - 10^4$
PID	Γενικής χρήσεως	$10^{-12} \text{ g}$	$10^7$

# ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

- **ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΘΕΡΜΙΚΗΣ ΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ (TCD)**
- Αποτελείται από δύο ζεύγη αντιστάσεων (θερμαινόμενα νήματα) τα οποία διατάσσονται σε γέφυρα Wheatstone. Το ένα ζεύγος περιβάλλεται από το φέρον αέριο (κυψελίδα αναφοράς) και το άλλο από το φέρον αέριο και την ουσία (αέριο έκλουσης-κυψελίδα μέτρησης).
- Με την είσοδο της εκλουόμενης ουσίας στην κυψελίδα μέτρησης η θερμική αγωγιμότητα του αερίου μειώνεται-οι αντιστάσεις μέτρησης αυξάνονται και διαταράσσεται η ισορροπία της γέφυρας Wheatstone. Το ρεύμα που απαιτείται για την αποκατάσταση της ισορροπίας αποτελεί το σήμα του ανιχνευτή.
- Η ευαισθησία του ανιχνευτή είναι αντιστρόφως ανάλογη της ροής του φέροντος αερίου και η αυξάνεται με την χρήση αερίων  $H_2$  και He (έχουν υψηλή θερμική αγωγιμότητα).



- **Ευαισθησία:** Ο λόγος της αποκρίσεως του ανιχνευτή προς την αντίστοιχη μεταβολή της συγκέντρωσης της ουσίας. Δίδεται συνήθως ως η κλίση της καμπύλης αναφοράς.
- **Όριο Ανίχνευσης:** Η ελάχιστη συγκέντρωση που μπορεί να προσδιοριστεί με στάθμη εμπιστοσύνης 95%, δηλαδή η συγκέντρωση που δίδει ένδειξη διπλάσια από την τυπική απόκλιση σε σειρά 10 μετρήσεων. Πρακτικά ως όριο ανίχνευσης θεωρούμε την ποσότητα που δίδει σήμα τριπλάσιο από το θόρυβο του σήματος.

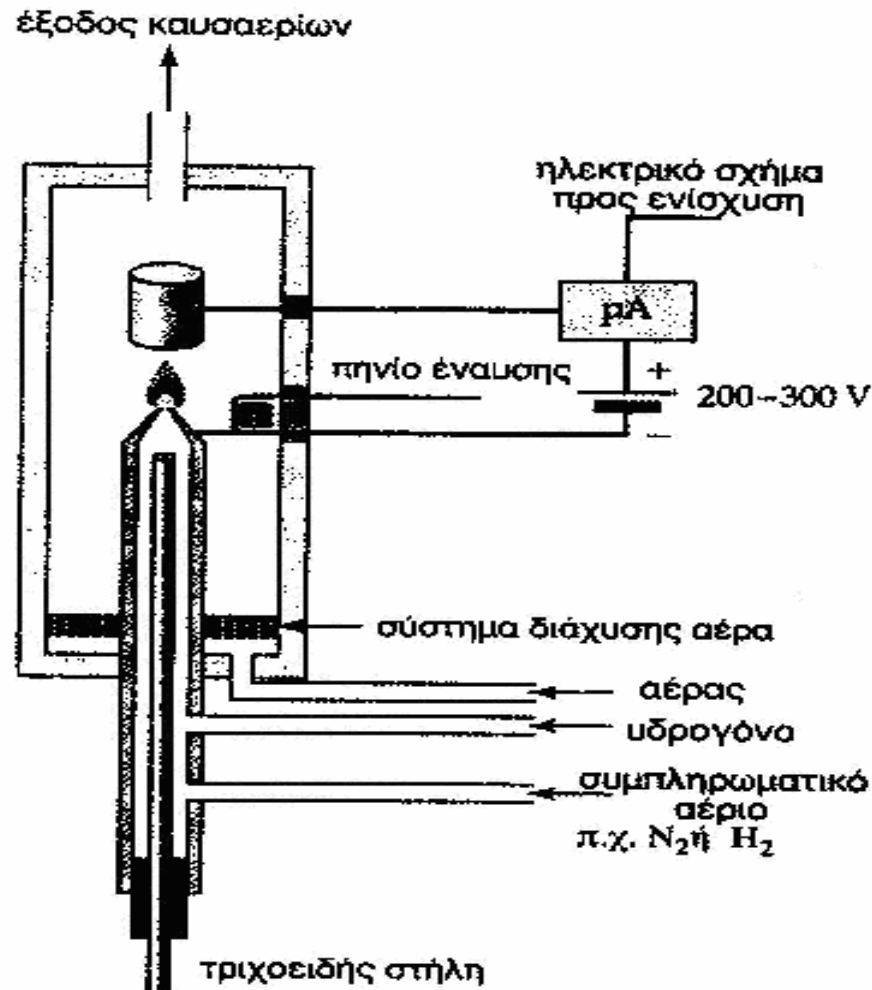


# ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΙΟΝΙΣΜΟΥ ΦΛΟΓΑΣ (FID)

Στηρίζεται στη μεταβολή της ηλεκτρικής αγωγιμότητας των αερίων ιονισμού μιας φλόγας υδρογόνου που βρίσκεται σε ηλεκτρικό πεδίο, όταν προϊόντα έκλυσης τροφοδοτήσουν τη φλόγα.

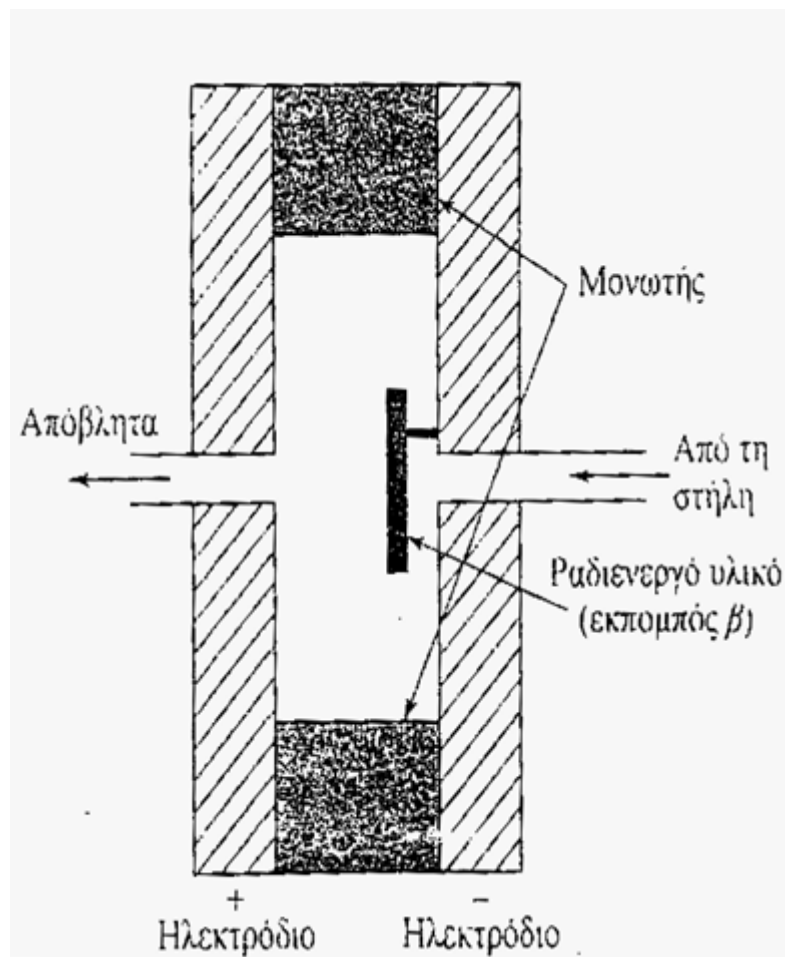
Η αύξηση της αγωγιμότητας οφείλεται στον ιονισμό που προκαλείται στην οργανική ουσία και ο οποίος οδηγεί σε σημαντική αύξηση του ρεύματος, η οποία και καταγράφεται ως το σήμα του ανιχνευτή.

Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των ατόμων άνθρακα στο μόριο τόσο μεγαλύτερο είναι το σήμα (ευαισθησία).



## ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ ΣΥΛΛΗΨΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΩΝ (ECD)

- Μια πηγή ακτινοβολίας  $\beta$  ( $^{63}\text{Ni}$  ή  $^{3}\text{N}$ ) χρησιμοποιείται για την παραγωγή βραδών ηλεκτρονίων, με ιονισμό του φέροντος αερίου που διαρρέει τον ανιχνευτή.
- Τα βραδέα ηλεκτρόνια δημιουργούν ένα ασθενές ρεύμα καθώς μεταναστεύουν στην άνοδο.
- Όταν τα ηλεκτρόνια ενός ηλεκτραρνητικού στοιχείου (Cl) διέλθουν από τον ανιχνευτή, πολλά ηλεκτρόνια 'συλλαμβάνονται' με αποτέλεσμα τη μείωση του ρεύματος.



# ΑΛΛΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

- **ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟ ΜΑΖΑΣ**
- **ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ:** Η φλόγα του **FPD** αποτελεί την πηγή ακτινοβολίας ενός φλογοφωτόμετρου.
- **ΦΩΤΟΪΟΝΙΣΜΟΥ:** Μοιάζει με τον FID και ECD μόνο που ο ιονισμός γίνεται με UV.