

**Εισαγωγή στις
Χρωματογραφικές Μεθόδους Διαχωρισμού**

Ε. Μπακέας
2013

Εισαγωγή

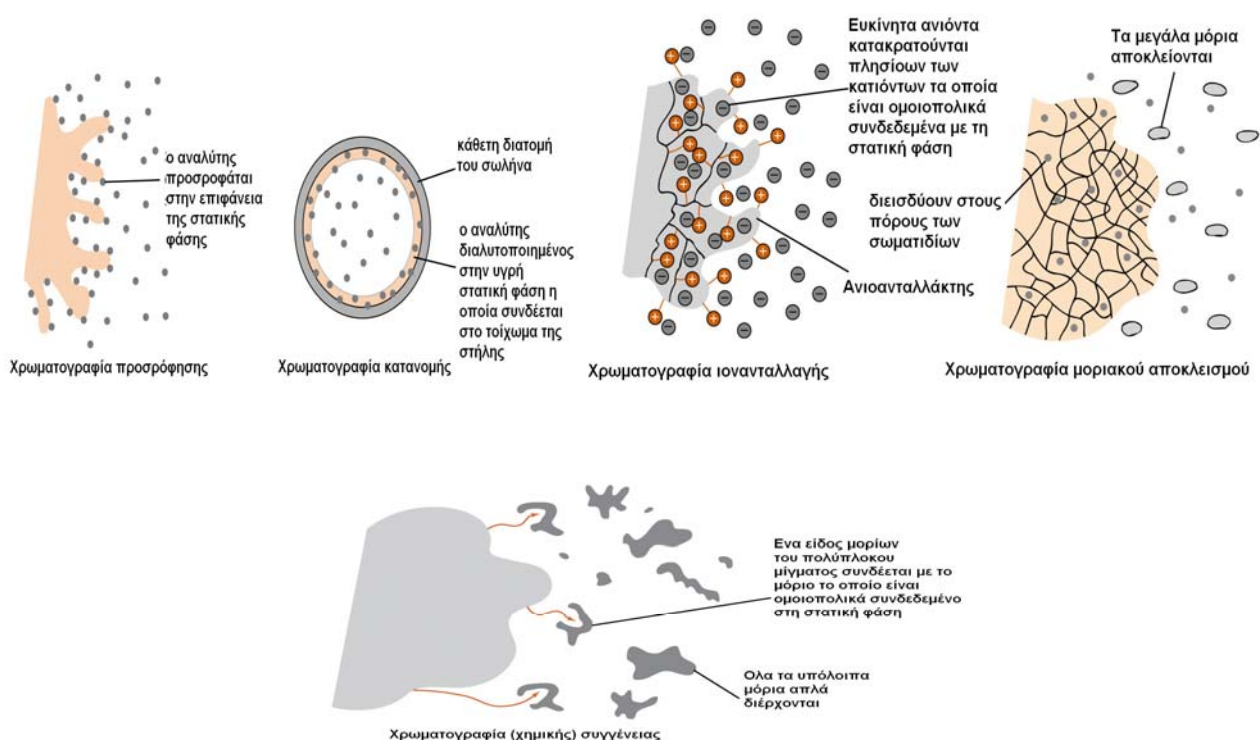
Ο Ρώσος βοτανολόγος M.S. Tswett χρησιμοποίησε για πρώτη φορά τη χρωματογραφία για τον διαχωρισμό διαφόρων φυτικών χρωστικών με τη βοήθεια μίας στήλης με πληρωτικό υλικό λεπτόκοκκο ανθρακικό ασβέστιο. Κατά τη διέλευση του διαλύτη μέσω του πληρωτικού υλικού οι διάφορες χρωστικές (χλωροφύλλες και ξανθοφύλλες) διαχωριζόμενες εμφανίστηκαν ως διαφορετικές χρωματικές ταινίες. Ονόμασε τη μέθοδο αυτή από τις ελληνικές λέξεις «χρώμα (Chroma)» και «γραφή».

Οι χρωματογραφικές μέθοδοι διαχωρισμού χαρακτηρίζονται από μια μεγάλη ποικιλία μεθόδων με κοινό χαρακτηριστικό ότι τα συστατικά προς διαχωρισμό κατανέμονται μεταξύ δύο φάσεων, μία εκ των οποίων είναι στατική (με μεγάλη επιφάνεια) και η άλλη κινητή η οποία διαπερνά με εξαναγκασμένη διέλευση τη στατική. Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός είναι το αποτέλεσμα επαναλαμβανόμενων ισορροπιών των συστατικών μεταξύ των δύο φάσεων κατά τη μετακίνησή τους στη στατική φάση και οφείλεται στις διαφορετικές τιμές των σταθερών κατανομής των συστατικών. Τα συστατικά τα οποία κατακρατούνται ισχυρότερα από τη στατική φάση κινούνται αργά κατά τη ροή της κινητής φάσης. Αντίθετα, τα συστατικά τα οποία κατακρατούνται ασθενέστερα από τη στατική φάση, κινούνται ταχύτερα.

Η χρωματογραφία δεν περιορίζεται μόνο σε αναλυτικούς προσδιορισμούς αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή υψηλής καθαρότητας ουσιών, στην προκατεργασία και προετοιμασία φυσικών δειγμάτων, στη μελέτη κινητικής αντιδράσεων, στη διερεύνηση της δομής των μορίων και στον προσδιορισμό φυσικοχημικών σταθερών.

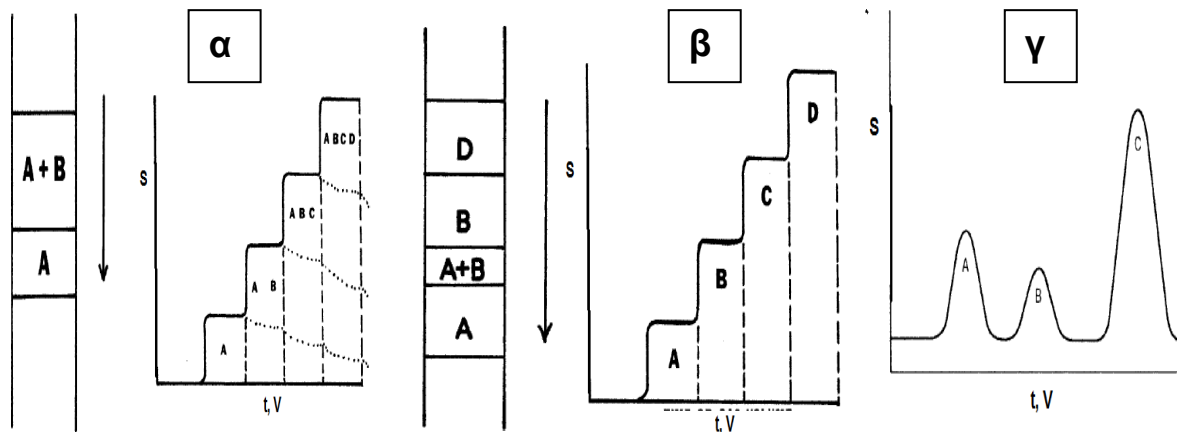
Ταξινόμηση των χρωματογραφικών μεθόδων

Ανάλογα με τον μηχανισμό ισορροπίας η χρωματογραφία διακρίνεται σε χρωματογραφία προσρόφησης, κατανομής, ιονανταλλαγής, μοριακού αποκλεισμού και χημικής συγγένειας.



Σχήμα 1. Διάκριση των χρωματογραφικών μεθόδων ανάλογα με το μηχανισμό κατανομής.

Η χρωματογραφία επίσης διακρίνεται ανάλογα με την τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός, σε **χρωματογραφία ανάλυσης μετώπου** (frontal analysis), σε **χρωματογραφία αντικατάστασης** (displacement chromatography) και σε χρωματογραφία έκλυσης (elution development). Σήμερα λόγω της ευρείας εφαρμογής της η χρωματογραφία έκλυσης είναι συνώνυμη με το όρο **χρωματογραφία**.



Σχήμα 2. α) Χρωματογραφία ανάλυσης μετώπου, β) χρωματογραφία αντικατάστασης και γ) χρωματογραφία έκλυσης

Στη χρωματογραφία ανάλυσης μετώπου το δείγμα τοποθετείται στην κορυφή της στήλης η οποία περιέχει την στατική φάση. Το ίδιο το δείγμα συμπεριφέρεται ως η κινητή φάση και ο διαχωρισμός εξαρτάται από την ικανότητα του κάθε συστατικού αυτού να προσροφηθεί. Όταν η στατική φάση κορεσθεί (δηλ. δεν μπορεί να κατακρατήσει περισσότερα συστατικά) τότε το δείγμα μετακινείται κατά μήκος της στήλης με την αρχική του σύσταση. Το λιγότερο κατακρατούμενο από τη στατική φάση συστατικό (A) διαπερνά πρώτο τη στήλη και εξέρχεται αυτής με αποτέλεσμα να είναι και το μοναδικό συστατικό το οποίο μπορεί να παραληφθεί στην καθαρή του μορφή.

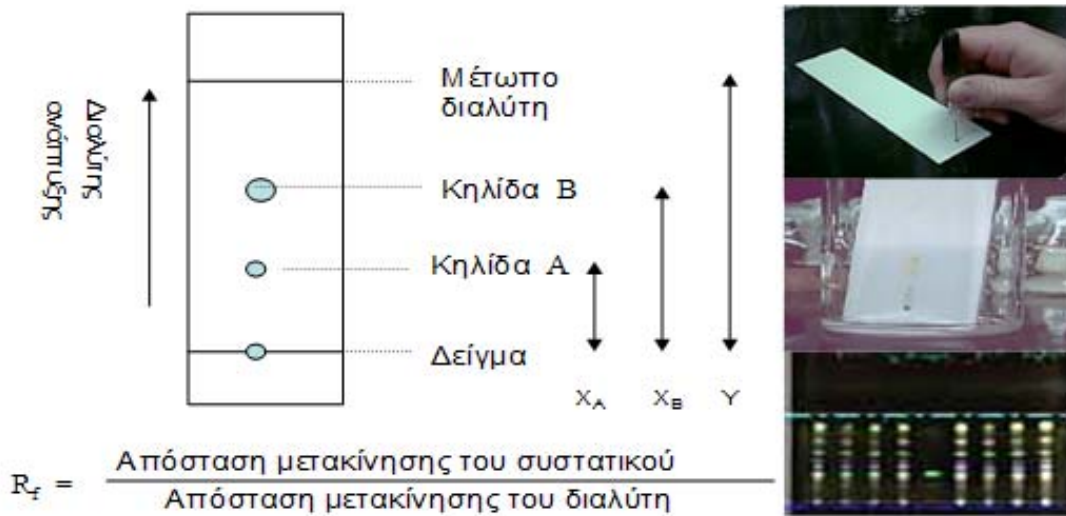
Στη χρωματογραφία αντικατάστασης ο παράγοντας αντικατάστασης (D) περιέχεται στην κινητή φάση. Απαραίτητη προϋπόθεση της τεχνικής αυτής είναι η κινητή φάση να προσροφάται ισχυρότερα από κάθε συστατικό του δείγματος. Με αυτόν τον τρόπο το ισχυρότερα κατακρατούμενο συστατικό αντικαθιστά το αμέσως λιγότερο κατακρατούμενο συστατικό το οποίο και «ωθείται» προς την έξοδο της στατικής φάσης ($D > C > B > A$).

Στη χρωματογραφία έκλυσης τα συστατικά του δείγματος μετακινούνται κατά μήκος της στατικής φάσης με διαφορετικές ταχύτητες οι οποίες εξαρτώνται από την κατακράτησή τους από τη στατική φάση. Εάν οι διαφορές αυτές είναι σημαντικές είναι πιθανός ο πλήρης διαχωρισμός των συστατικών. Συνεχής προσθήκη του μέσου έκλυσης (κινητή φάση) προκαλεί την έξοδο (έκλυση) των διαχωριζόμενων ζωνών από τη στήλη. Κύριο μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ο μεγάλος χρόνος ο οποίος απαιτείται για την έκλυση του ισχυρότερα κατακρατούμενου συστατικού.

Ένας άλλος τρόπος διάκρισης των χρωματογραφικών μεθόδων είναι το μέσο στο οποίο τοποθετείται η στατική φάση. Έτσι η χρωματογραφία διακρίνεται σε επίπεδη χρωματογραφία και σε χρωματογραφία στήλης.

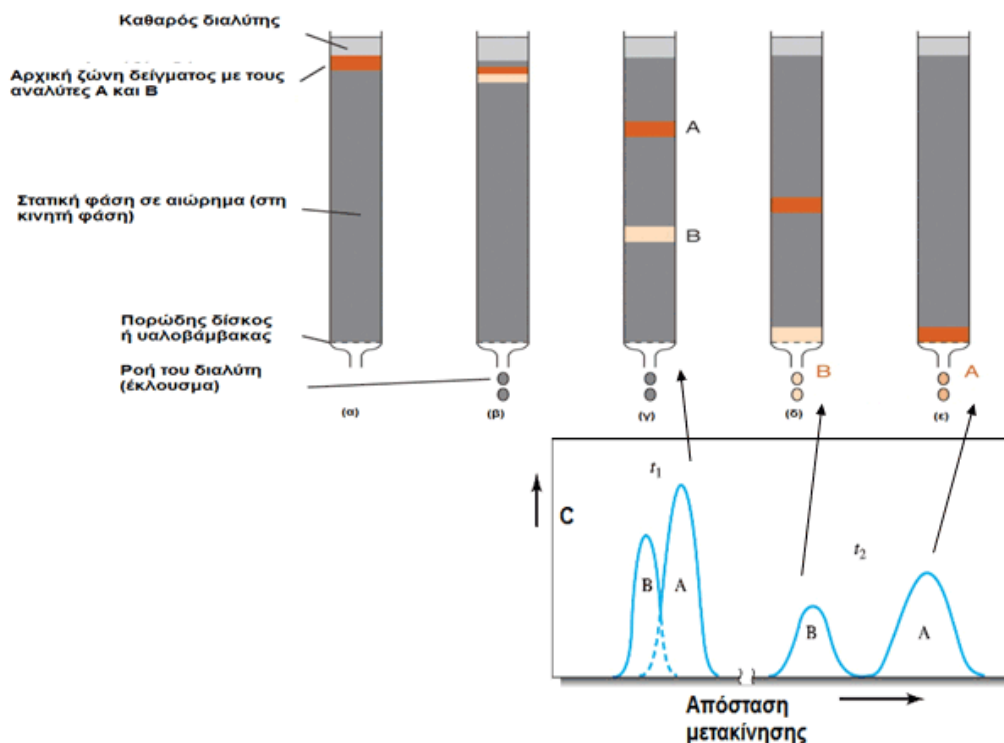
Στην επίπεδη χρωματογραφία η στατική φάση τοποθετείται σε μια επιφάνεια ή στους πόρους ενός χαρτιού (χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και χρωματογραφία χάρτου αντίστοιχα). Η κινητή φάση μετακινείται λόγω τριχοειδών φαινομένων ή λόγω της βαρύτητας. Τα συστατικά του δείγματος λόγω της διαφορετικής συγγένειας ως προς τη στατική φάση μετακινούνται σε διαφορετική απόσταση.

Με βάση τη διανυθείσα απόσταση κάθε συστατικού στη στατική φάση πραγματοποιείται και ο προσδιορισμός του .



Σχήμα 3. Επίπεδη χρωματογραφία

Στη χρωματογραφία στήλης η στατική φάση τοποθετείται σε μια στήλη κατασκευασμένη από αδρανές υλικό (ύαλος, πηκτική πυριτίας, ανοξειδωτος χάλυβας). Το δείγμα το τοποθετείται στην αρχή (κορυφή) της στήλης και η κινητή φάση διέρχεται εξαναγκασμένα μέσω της στατικής φάσης με την εφαρμογή πίεσης σε αυτήν ή λόγω της βαρύτητας. Τα συστατικά του δείγματος μετακινούνται κατά μήκος της στήλης με διαφορετικές ταχύτητες εξαρτώμενες από τη συγγένεια των συστατικών ως προς τη στατική φάση.



Σχήμα 4. Χρωματογραφία στήλης.

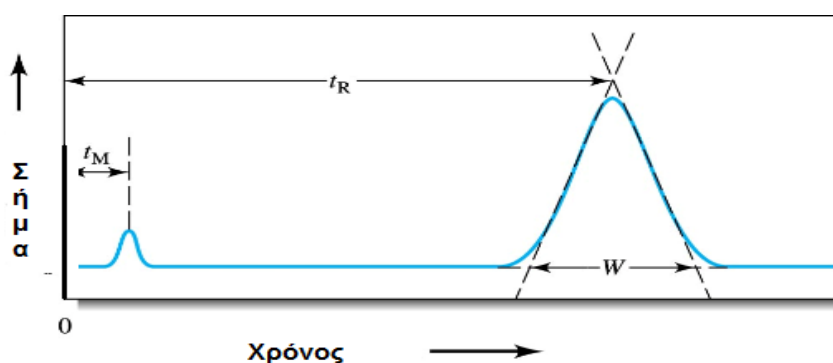
Τέλος οι χρωματογραφικές μέθοδοι διακρίνονται με βάση το είδος των δύο φάσεων. Η στατική φάση μπορεί να είναι υγρή ή στερεά και η κινητή φάση αέρια και υγρή. Στον Πίνακα 1 δίνονται τα διάφορα είδη χρωματογραφίας στήλης ανάλογα το είδος φύση των φάσεων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Ταξινόμηση των μεθόδων χρωματογραφίας στήλης

Γενική ταξινόμηση	Ειδική τεχνική	Στατική φάση	Τύπος ισορροπίας
Υγροχρωματογραφία (liquid chromatography, LC) (κινητή φάση: υγρό)	Υγρού-υγρού ή κατανομής	Υγρό προσροφημένο σε στερεό	Κατανομή μεταξύ δύο μη αναμίξιμων υγρών
	Υγρού-συνδεδεμένης φάσης	Οργανικά μόρια συνδεδεμένα (χημικώς) σε στερεή επιφάνεια	Κατανομή μεταξύ υγρού και συνδεδεμένης επιφάνειας
	Υγρού-στερεού ή προσρόφησης	Στερεό	Προσρόφηση
Αεριοχρωματογραφία (gas chromatography, GC) (κινητή φάση: αέριο)	Αερίου-υγρού	Υγρό προσροφημένο σε στερεό	Κατανομή μεταξύ αερίου και υγρού
	Αερίου-συνδεδεμένης φάσης	Οργανικά μόρια συνδεδεμένα (χημικώς) σε στερεή επιφάνεια	Κατανομή μεταξύ αερίου και συνδεδεμένης επιφάνειας
	Αερίου-στερεού	Στερεό	Προσρόφηση
Χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού (supercritical-fluid chromatography, SFC) (κινητή φάση: υπερκρίσιμο ρευστό)		Οργανικά μόρια συνδεδεμένα (χημικώς) σε στερεή επιφάνεια	Κατανομή μεταξύ υπερκρίσιμου ρευστού και συνδεδεμένης επιφάνειας

Χρωματογράφημα

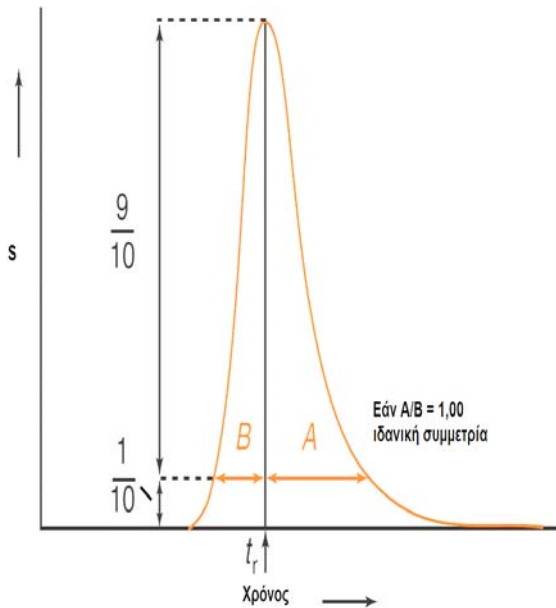
Στη χρωματογραφία στήλης η πληροφορία η οποία αφορά τον διαχωρισμό περιέχεται στο χρωματογράφημα, το οποίο αποτελεί την καταγραφή της ποσότητας του εκλούόμενου συστατικού ως συνάρτηση της μετακίνησης της κινητής φάσης. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικής διάταξης, τον ανιχνευτή, ο οποίος αποκρίνεται στην ποσότητα (μάζα ή συγκέντρωση) του εκλούόμενου συστατικού. Το χρωματογράφημα αποτελεί το διάγραμμα του σήματος του ανιχνευτή ως συνάρτηση του χρόνου έκλυσης του συστατικού ή του όγκου έκλυσης της κινητής φάσης. Η πληροφορία η οποία λαμβάνεται άμεσα από το χρωματογράφημα αφορά την πολυπλοκότητα του δείγματος (αριθμός κορυφών), την ταυτότητα των συστατικών με τον προσδιορισμό της ακριβούς θέσης της κορυφής καθώς και την ποσότητα των συστατικών.



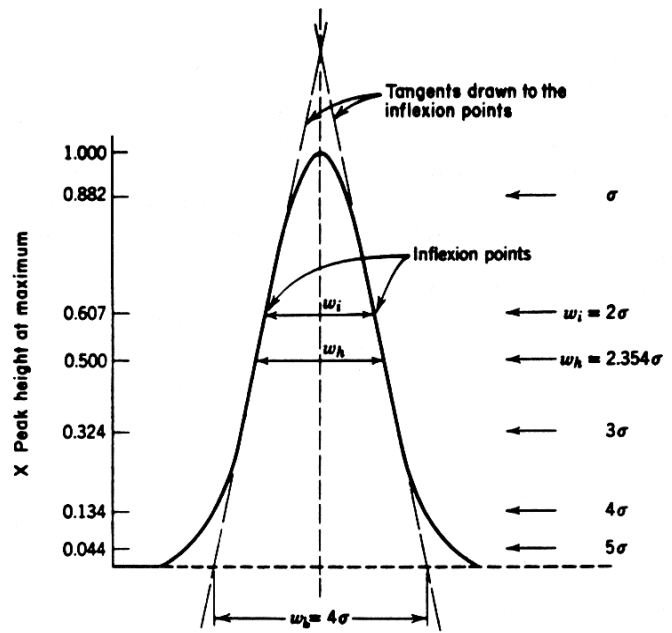
Σχήμα 5. Χρωματογράφημα μιας ουσίας. Αριστερά φαίνεται η κορυφή μιας ουσίας που δεν κατακρατείται από τη στήλη (π.χ. αέρας) ως προς την οποία διορθώνεται ο χρόνος κατακράτησης της κυρίας ουσίας: $t'_R = t_R - t_M$. Η θέση της κορυφής (t_R ή $t_R - t_M$) αποτελεί το **ποιοτικό** χαρακτηριστικό της προσδιοριζόμενης ένωσης, ενώ το ύψος (ή το εμβαδόν) της κορυφής αποτελεί το **ποσοτικό** χαρακτηριστικό.

Η μεταβολή του σήματος του (ανιχνευτή λόγω της έκλυσης του συστατικού) στο χρωματογράφημα αποτελεί τη χρωματογραφική κορυφή. Βασικά χαρακτηριστικά αυτής θα αναφερθούν παρακάτω.

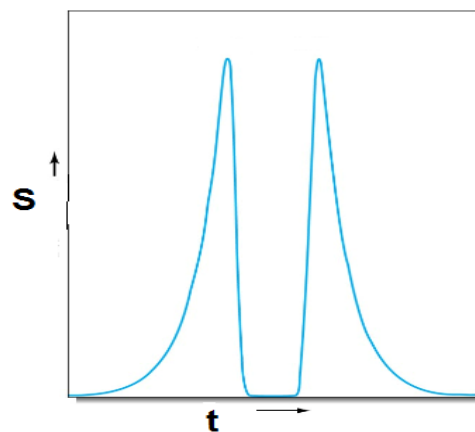
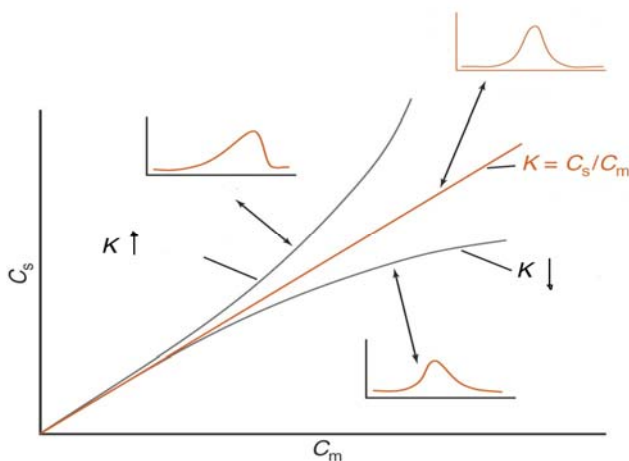
Γενικά η κορυφή ενός χρωματογραφήματος ή η ζώνη ενός συστατικού σε μια στήλη προσομοιάζουν με την καμπύλη κανονικής κατανομής σφαλμάτων, τη γνωστή και ως καμπύλη Gauss. Αυτό συμβαίνει μόνο στην περίπτωση όπου η αναλογία της συγκέντρωσης του συστατικού στην κινητή και στη στατική φάση είναι σταθερά. Σε κάθε άλλη περίπτωση η χρωματογραφική κορυφή δεν περιγράφεται από την καμπύλη Gauss. Γενικά κατά την επεξεργασία των χρωματογραφικών κορυφών και μετά την εξέταση της συμμετρίας τους αυτές θεωρούνται ως καμπύλες Gauss και χρησιμοποιούνται οι βασικές σχέσεις οι οποίες χαρακτηρίζουν την κανονική κατανομή.



Σχήμα 6. Συμμετρία κορυφής



Σχήμα 7. Χαρακτηριστικές ιδιότητες της καμπύλης Gauss



Σχήμα 8. Σχήμα χρωματογραφικής κορυφής ως συνάρτηση των συγκεντρώσεων του συστατικού στη στατική και την κινητή φάση.

Κατακράτηση (ή ανάσχεση)

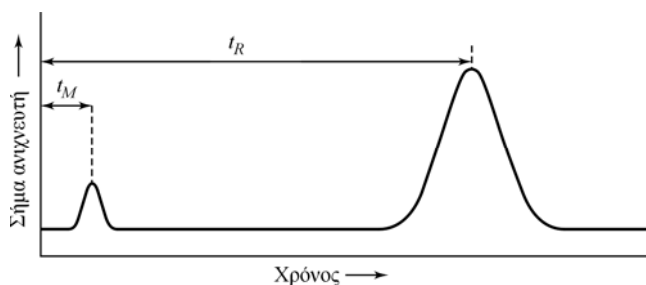
Κατά τη μετακίνησή τους κατά μήκος της στήλης τα μόρια του αναλύτη παραμένουν μέρος του χρόνου στην κινητή φάση και το υπόλοιπο αυτού στην στατική φάση. Η διαρκής αυτή θερμοδυναμική ισορροπία περιγράφεται τη σταθερά ισορροπίας K η οποία ονομάζεται συντελεστής κατανομής:

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

όπου C_S είναι η γραμμομοριακή συγκέντρωση της ουσίας στη στατική φάση και C_M είναι η γραμμομοριακή συγκέντρωση της ουσίας στην κινητή φάση. Στην περίπτωση την οποία η τιμή της K παραμένει σταθερή σε μια ευρεία περιοχή συγκεντρώσεων της ουσίας τότε η κορυφή έχει την μορφή της καμπύλης Gauss και ο χρόνος παραμονής της ουσίας στη στήλη είναι ανεξάρτητος της ποσότητας αυτής. Σε κάθε περίπτωση όπου $C_S \neq C_M$ η κορυφή δεν είναι η συμμετρική καμπύλη Gauss αλλά λαμβάνει χαρακτηριστική ασύμμετρα πεπλατυσμένη μορφή.

Χρόνος κατακράτησης (ή ανάσχεσης)

Ο χρόνος παραμονής των μορίων του δείγματος στην κινητή φάση είναι ο ίδιος για όλα τα συστατικά του δείγματος και ονομάζεται **νεκρός χρόνος** (t_M). Ο νεκρός χρόνος ισούται με τον χρόνο που απαιτείται για ένα μη κατακρατούμενο από τη στατική φάση συστατικό να διέλθει από τη στήλη. Ο **χρόνος κατακράτησης** ή **ανάσχεσης** (t_R) είναι ο χρόνος μεταξύ της εισαγωγής του δείγματος και της έκλουσης του συστατικού από τη στήλη (εμφάνιση μεγίστου χρωματογραφικής κορυφής).



Σχήμα 9. Χρόνος ανάσχεσης.

Ο χρόνος κατακράτησης (ή ανάσχεσης) είναι πάντα μεγαλύτερος από τον νεκρό χρόνο κατά χρόνο ο οποίος ονομάζεται **ανηγμένος χρόνος κατακράτησης** (t_R') και ισούται με τη διαφορά του χρόνου κατακράτησης και του νεκρού χρόνου κατακράτησης. Ο ανηγμένος χρόνος κατακράτησης εκφράζει τον χρόνο παραμονής του συστατικού στη στατική φάση. Η σχέση μεταξύ αυτών είναι θεμελιώδης στη χρωματογραφία στήλης και εκφράζει ποσοτικά την κατακράτηση:

$$t_R = t_R' + t_M$$

Η κατακράτηση συνήθως μετρείται σε μονάδες χρόνου. Αντί όμως του χρόνου μπορούν να χρησιμοποιηθούν μονάδες όγκου (όγκος κινητής φάσης), όποτε η μέτρησή τους είναι ακριβέστερη. Στον Πίνακα 2 δίνονται συνοπτικά οι τρόποι έκφρασης της κατακράτησης σε όρους όγκου.

Η μέση γραμμική ταχύτητα μετακίνησης μιας ουσίας στη στήλη, \bar{v} , και η μέση γραμμική ταχύτητα κίνησης u των μορίων της κινητής φάσης είναι αντίστοιχα:

$$\bar{v} = \frac{L}{t_R} \quad u = \frac{L}{t_M}$$

όπου L είναι το μήκος της στήλης.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Η κατακράτηση εκφρασμένη σε όρους όγκου

Όρος	Σύμβολο	Ορισμός	Υπολογισμός*
Νεκρός όγκος στήλης	V_m	Όγκος κατακράτησης της ο οποίος αντιστοιχεί στο νεκρό χρόνο κατακράτησης	$V_m = t_m F_c$
Όγκος κατακράτησης	V_R	Όγκος κατακράτησης ο οποίος αντιστοιχεί στο χρόνο κατακράτησης	$V_R = t_R F_c$
Ανηγμένος όγκος κατακράτησης	V_R'	Όγκος ανάσχεσης ο οποίος αντιστοιχεί στον ανηγμένο χρόνο κατακράτησης	$V_R' = t_R' F_c = V_R - V_m$
Διορθωμένος νεκρός όγκος	V_m^o	Ο νεκρός όγκος κατακράτησης διορθωμένος ως προς τη συμπίεστικότητα της κινητής φάσης	$V_m^o = j V_m$
Διορθωμένος όγκος κατακράτησης	V_R^o	Ο όγκος κατακράτησης διορθωμένος ως προς τη συμπίεστικότητα της κινητής φάσης	$V_R^o = j V_R$
Καθαρός όγκος κατακράτησης	V_N	Ο ανηγμένος όγκος κατακράτησης διορθωμένος ως προς τη συμπίεστικότητα της κινητής φάσης	$V_N = j V_R' = V_R^o - V_m^o$
Ειδικός όγκος κατακράτησης	V_g	Ο καθαρός όγκος κατακράτησης στους 0°C ανά μονάδα μάζας της στατικής φάσης	$V_g = (273 V_N / w_L T_c)$

w_L : η μάζα της στατικής φάσης στη στήλη και F_c : η ογκομετρική ροή της κινητής φάσης

j : διορθωτικός παράγοντας ίσος προς $j = \frac{3[(P_i/P)^2 - 1]}{2[(P_i/P)^3 - 1]}$, όπου P_i η πίεση του φέροντος αερίου στην είσοδο και P στην

έξοδο της στήλης.

Σχέση μεταξύ του χρόνου κατακράτησης (t_R) και της σταθεράς κατανομής (K)

Για να συσχετισθεί ο χρόνος κατακράτησης μιας ουσίας με τη σταθερά κατανομής της, η ταχύτητα μετανάστευσης αυτής εκφράζεται ως κλάσμα της ταχύτητας της κινητής φάσης:

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

Εάν ληφθεί υπόψη ότι το κλάσμα αυτό ισούται προς τον μέσο αριθμό γραμμομορίων της ουσίας στην κινητή φάση διαιρεμένο με τον ολικό αριθμό γραμμομορίων της στη στήλη, τότε προκύπτει η παρακάτω σχέση:

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

Στην παραπάνω σχέση εάν ο αριθμός των γραμμομορίων εκφρασθεί ως το γινόμενο της γραμμομοριακής συγκέντρωσης της ουσίας στη φάση (στατική ή κινητή) και του όγκου της φάσης αντίστοιχα τότε προκύπτει:

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

όπου C_M , C_S η γραμμομοριακή συγκέντρωση της ουσίας στην κινητή και στη στατική φάση αντίστοιχα και V_S , V_M ο όγκος της στατικής και της κινητής φάσης.

Λαμβάνοντας υπόψη ότι $K = \frac{C_S}{C_M}$ τότε από την παραπάνω σχέση προκύπτει

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

Παράγοντας κατακράτησης ή χωρητικότητας (k')

Ενας άλλος θεμελιώδης τρόπος έκφρασης της κατακράτησης μιας ουσίας στη χρωματογραφική στήλη είναι ο **παράγοντας κατακράτησης** (ή χωρητικότητας). Ο παράγοντας κατακράτησης ισούται με τον λόγο του χρόνου που παραμένει η ουσία Α στη στατική φάση προς τον χρόνο που αυτή παραμένει στην κινητή φάση:

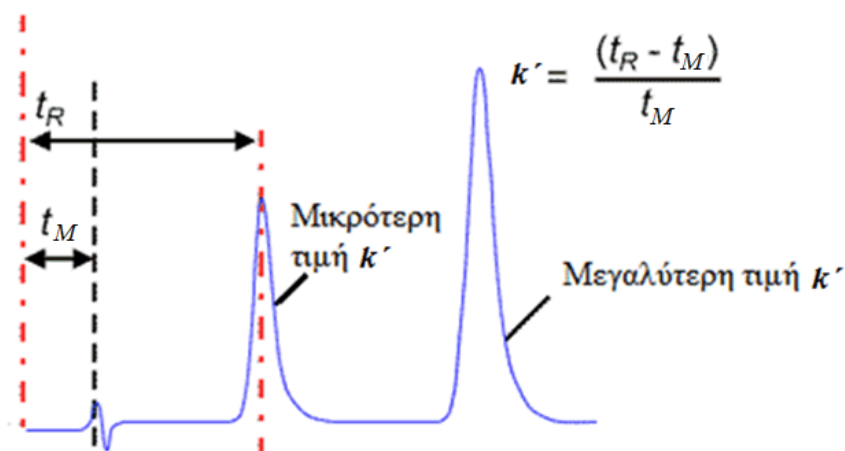
$$k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Όπου t_R και t_M ο χρόνος κατακράτησης της ουσίας και ο νεκρός χρόνος κατακράτησης, αντίστοιχα. Από τον παράγοντα κατακράτησης μπορεί να προσδιορισθεί ο χρόνος κατακράτησης κάθε συστατικού:

$$t_R = t_M(1+k') = (L/u)(1+k')$$

όπου L το μήκος της στήλης και u η γραμμική ταχύτητα της κινητής φάσης.

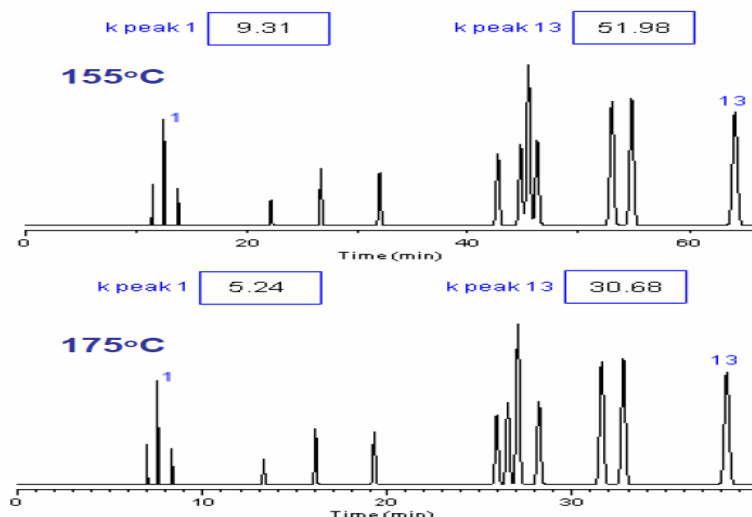
Αυξημένη τιμή του k' δεικνύει ισχυρή κατακράτηση της ουσίας και μεγαλύτερο χρόνο παραμονής στη στατική φάση.



Σχήμα 10. Παράγοντας κατακράτησης k'

Ο παράγοντας κατακράτησης είναι ανεξάρτητος μικρών μεταβολών της ροής της κινητής φάσης και των διαστάσεων της στήλης και για αυτόν ακριβώς τον λόγο χρησιμοποιείται ιδιαίτερα στην υγροχρωματογραφία για τη σύγκριση της κατακράτησης των ουσιών σε διαφορετικές στήλες.

Κατά τη βελτιστοποίηση χρωματογραφικών μεθόδων επιδιώκεται οι τιμές που λαμβάνει ο k' να κυμαίνονται στην περιοχή 1 έως 10. Για τιμές $k' < 1$, η έκλυση είναι αρκετά ταχεία για ακριβή προσδιορισμό του t_R . Για τιμές $k' > 10$, η ουσία κατακρατείται ισχυρά από τη στατική φάση με αποτέλεσμα μη ικανοποιητικό διαχωρισμό. Ο παράγοντας χωρητικότητας μπορεί να μεταβληθεί με μεταβολή της ταχύτητας της κινητής φάσης, της θερμοκρασίας κ.α.



Σχήμα 11. Μεταβολή του k' ως συνάρτηση της θερμοκρασίας της στήλης.

Δείκτης κατακράτησης Kovats

Στην αεριοχρωματογραφία ένας ομοιόμορφος τρόπος έκφρασης των δεδομένων κατακράτησης βασίζεται στο Σύστημα Δεικτών Κατακράτησης Kovats (Kovats' Retention Index System). Οι δείκτες κατακράτησης Kovats (I) «κανονικοποιούν» τις οργανολογικές παραμέτρους (π.χ. ταχύτητα ροής), έτσι ώστε τα δεδομένα κατακράτησης για διαφορετικά χρωματογραφικά συστήματα να μπορούν να συγκριθούν αποτελεσματικά. Ουσιαστικά το σύστημα αυτό δεικτών αποτελεί τη βάση για τον προσδιορισμό της ταυτότητας των συστατικών με τη χρήση αεριοχρωματογραφίας.

Το σύστημα δεικτών Kovats αποτελεί μέτρο της σχετικής κατακράτησης του συστατικού και χρησιμοποιεί την ομόλογη σειρά των κ-αλκανίων ($\text{C}_N\text{H}_{2N+2}$) ως πρότυπο αναφοράς. Βασίζεται στην εκθετική σχέση που συνδέει τους ανηγμένους χρόνους κατακράτησης ($t'_{R,N}$) με τον αριθμό ανθράκων (N) των κ-αλκανίων, δηλ. σε μια σχέση της μορφής:

$$t'_{R,N} = A \exp(m N)$$

όπου A και m σταθερές που εξαρτώνται από το υλικό πλήρωσης της στήλης και τη θερμοκρασία.

Σε κάθε κ-αλκάνιο αποδίδεται ένας αριθμός ίσος με το γινόμενο του αριθμού ατόμων άνθρακα αυτού με το 100 ($100 \times N$). Για παράδειγμα, το κ-πεντάνιο και το κ-οκτάνιο έχουν δείκτη Kovats 500 και 800 αντίστοιχα, **ανεξάρτητα από το είδος της χρωματογραφικής στήλης και τη θερμοκρασία της**. Για όλες τις υπόλοιπες ενώσεις οι δείκτες κατακράτησης υπολογίζονται με λογαριθμική παρεμβολή των ανηγμένων χρόνων κατακράτησης σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$$I_a = 100N + 100n \frac{\log t'_{R,a} - \log t'_{R,N}}{\log t'_{R,N+n} - \log t'_{R,N}}$$

όπου:

N = ο αριθμός ατόμων άνθρακα του κ-αλκανίου με τη μικρότερη ανθρακική αλυσίδα

n = η διαφορά ατόμων άνθρακα δύο κ-αλκανίων τα οποία «περιβάλλουν» την ένωση

Για να πραγματοποιηθεί η παρεμβολή πρέπει να είναι γνωστοί οι σχετικοί χρόνοι κατακράτησης των κ-αλκανίων αναφοράς. Αυτό συνήθως γίνεται με ξεχωριστή μέτρηση ενός μίγματος το οποίο περιέχει μόνο κ-αλκάνια. Για παράδειγμα για μια δεδομένη στήλη, ο δείκτης κατακράτησης για το τολουόλιο, το οποίο εκλούεται μεταξύ κ-επτανίου και κ-οκτανίου, είναι 749 και για το βενζόλιο, το οποίο εκλούεται μεταξύ κ-εξανίου και κ-επτανίου, είναι 644.

Ο λόγος για τον οποίο χρησιμοποιείται λογαριθμική και όχι γραμμική προεκβολή είναι προφανής: στην ισόθερμη αεριοχρωματογραφία οι ανηγμένοι χρόνοι κατακράτησης αυξάνουν εκθετικά με τον αριθμό ατόμων άνθρακα.

Επαναλαμβάνουμε, ότι ο δείκτης κατακράτησης Kovats ενός κανονικού αλκανίου ($\kappa\text{-C}_N\text{H}_{2N+2}$) είναι ανεξάρτητος της θερμοκρασίας, του υλικού και του τρόπου πλήρωσης της στήλης και πάντοτε ίσος προς $100 \times N$. Αντίθετα, οι δείκτες κατακράτησης όλων των άλλων ουσιών μπορεί να διαφέρουν σημαντικά από τον ένα τύπο στήλης στον άλλο. Για παράδειγμα, ο δείκτης I του ακεναφθένιου σε στατική φάση διασταυρωμένου πολυδιμεθυλοσιλοξάνιου στους 140°C είναι 1460. Σε στατική φάση με 5% φαινυλοδιμεθυλοσιλοξάνιο ο δείκτης στην ίδια θερμοκρασία γίνεται 1500, ενώ σε στατική φάση πολυαιθυλενογλυκόλης 2084.

Παράδειγμα. Σε μια στήλη χρωματογραφίας διαπιστώνεται ότι οι χρόνοι κατακράτησης του κ-εξανίου και του κ-επτανίου ήταν 44,8 s και 55,1 s αντιστοίχως. Ο χρόνος κατακράτησης του 2-μεθυλο-εξανίου ήταν 52,7 s. Ο νεκρός χρόνος ήταν 5,0 s και όλες οι μετρήσεις έγιναν με την ίδια θερμοκρασία στήλης. Να υπολογισθεί ο δείκτης Kovats του 2-μεθυλο-εξανίου.

Λύση. Οι διορθωμένοι χρόνοι κατακράτησης των τριών ενώσεων είναι:

$$\kappa\text{-εξάνιο: } t_{R,6}' = 44,8 - 5,0 = 39,8$$

$$\kappa\text{-επτάνιο: } t_{R,7}' = 55,1 - 5,0 = 50,1$$

$$2\text{-μεθυλο-εξάνιο: } t_{R,a}' = 52,7 - 5,0 = 47,7$$

Εφαρμόζοντας την προηγούμενη σχέση έχουμε:

$$I_a = 100 \times 6 + 100 \times 1 \times \frac{\log 47,7 - \log 39,8}{\log 50,1 - \log 39,8} = 678,7$$

Επομένως ο δείκτης Kovats του 2-μεθυλο-εξανίου για τη συγκεκριμένη στήλη και θερμοκρασία της είναι 678,7.

Η εκθετική αύξηση του χρόνου κατακράτησης με τον αριθμό ανθράκων δυσκολεύει την ανάλυση μιγμάτων οργανικών ενώσεων με ευρεία περιοχή σημείων ζέσης και στις περιπτώσεις αυτές προτιμάται η **θερμοπρογραμματιζόμενη αεριοχρωματογραφία**.

Στην περίπτωση κατά την οποία χρησιμοποιείται γραμμικά θερμοπρογραμματιζόμενη αεριοχρωματογραφία, οι χρόνοι κατακράτησης μιας ομόλογης σειράς αυξάνουν γραμμικά (και όχι εκθετικά) με τον αριθμό ατόμων άνθρακα. Η ιδέα των δεικτών κατακράτησης επεκτάθηκε και στην θερμοπρογραμματιζόμενη αεριοχρωματογραφία από τους Van den Dool και Kratz. Η εξίσωση απλοποιείται με τη χρήση των μη ανηγμένων χρόνων κατακράτησης ως εξής:

$$I_a = 100N + 100n \frac{t'_{R,a} - t'_{R,N}}{t'_{R,N+n} - t'_{R,N}}$$

όπου $t_{R,a}$, $t_{R,N}$, $t_{R,N+n}$: είναι οι χρόνοι κατακράτησης του συστατικού και των κ-αλκανίων, των οποίων οι κορυφές περιβάλλουν την κορυφή του εξεταζόμενου συστατικού.

Οι δείκτες Kovats στην ισόθερμη αεριοχρωματογραφία έχουν το πλεονέκτημα ότι εξαρτώνται αποκλειστικά και μόνο από το είδος της στατικής φάσης και τη θερμοκρασία. Σε αντίθεση, κατά την θερμοπρογραμματιζόμενη αεριοχρωματογραφία απαιτείται ακριβής ρύθμιση των πειραματικών συνθηκών όπως διαστάσεις χρωματογραφικής στήλης, είδος φέροντος αερίου, ταχύτητα ροής και θερμοκρασιακό πρόγραμμα.

Σημείωση: Μια μεγάλη συλλογή τιμών δείκτη Kovats υπάρχει στον ιστότοπο:

<http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>

Παράγοντας εκλεκτικότητας ή διαχωριστικότητας

Ο παράγοντας εκλεκτικότητας (α) αποτελεί ποσοτικό μέτρο της εκλεκτικότητας της χρωματογραφικής στήλης δηλ. της ικανότητας αυτής να «διακρίνει» δύο συστατικά μεταξύ τους. Για δύο ουσίες A και B ο παράγοντας εκλεκτικότητας ορίζεται ως

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A}$$

όπου K_A και K_B οι συντελεστές κατανομής των ουσιών. Η ουσία B είναι η ισχυρότερα κατάκρατούμενη και έτσι εξ' ορισμού ο παράγοντας εκλεκτικότητας είναι πάντα μεγαλύτερος της μονάδας. Όταν $\alpha = 1$ πρακτικά σημαίνει ότι οι ουσίες συνεκλούνται.

Ο παράγοντας εκλεκτικότητας προσδιορίζεται από δεδομένα κατακράτησης σύμφωνα με την παρακάτω σχέση:

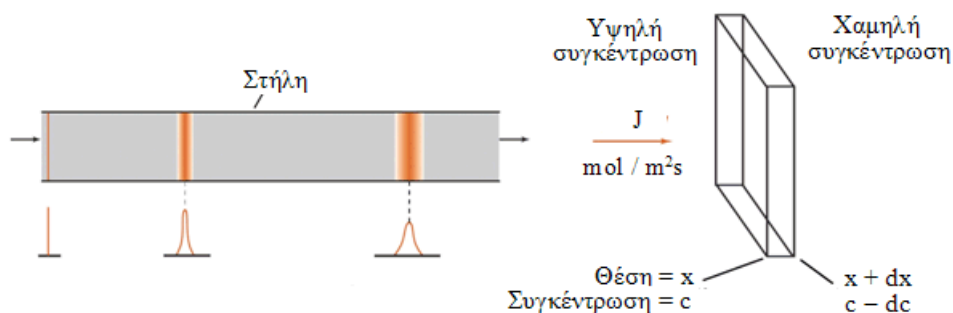
$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} \quad \text{ή} \quad \alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M}$$

όπου k' ο παράγοντας κατακράτησης και t_R ο χρόνος κατακράτησης.

Η τιμή του παράγοντα εκλεκτικότητας εξαρτάται από τη φύση της στατικής και της κινητής φάσης, την αναλογία των φάσεων και τη θερμοκρασία της στήλης.

Διεύρυνση ζώνης και αποδοτικότητα στήλης

Κατά τη μετακίνηση της ζώνης του δείγματος στη χρωματογραφική στήλη η κατανομή των μορίων γύρω από το κέντρο της ζώνης συνεχώς αυξάνει αναλογικά με τη διανυθείσα εντός της στήλης απόσταση. Αυτό προκαλεί διεύρυνση της ζώνης η οποία είναι ανεπιθύμητη στη χρωματογραφία λόγω μείωσης της ικανότητας (αποτελεσματικότητας ή αποδοτικότητας) της στήλης να διαχωρίσει.



Σχήμα 12. Διεύρυνση ζώνης

Η διεύρυνση αυτή οφείλεται στη διάχυση των μορίων του αναλύτη και εξαρτάται από τον συντελεστή διάχυσης της ουσίας καθώς και από τον χρόνο παραμονής στη στήλη. Το κλάσμα των μορίων το οποίο διαχέεται είναι ανάλογο της βαθμίδας συγκέντρωσης καθώς και του συντελεστή διάχυσης.

Αποδοτικότητα της στήλης

Η αποδοτικότητα της στήλης και κατά συνέπεια η διεύρυνση της ζώνης του δείγματος ερμηνεύθηκε με τη χρήση δύο διαφορετικών θεωριών: της θεωρίας των πλακών και της θεωρίας της ταχύτητας.

Η θεωρία των πλακών προϋποθέτει ότι η στήλη αποτελείται από έναν αριθμό στοιχείων όγκου τα οποία αποκαλούνται πλάκες. Σε κάθε πλάκα η κατανομή του αναλύτη μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης είναι ταχεία και η ισορροπία αποκαθίσταται πριν τη μετακίνηση του αναλύτη στην επόμενη πλάκα. Σε όλες τις πλάκες η τιμή του συντελεστή κατανομής (K) παραμένει σταθερή και ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του αναλύτη. Η θεωρία των πλακών επίσης προϋποθέτει ότι η ροή της κινητής φάσης είναι ασυνεχής και ότι η εγκάρσια διάχυση των μορίων είναι αμελητέα. Η θεωρία αυτή δεν περιλαμβάνει τη σημαντική συνεισφορά της εγκάρσιας διάχυσης στη διεύρυνση της ζώνης, ενώ αφενός μεν ο συντελεστής κατανομής είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης σε μία περιορισμένη περιοχή συγκεντρώσεων αφετέρου δε η ροή της κινητής φάσης είναι συνεχής.

Η θεωρία των πλακών εισήγαγε ως ποσοτικό μέτρο της αποδοτικότητας της στήλης των **αριθμό των θεωρητικών πλακών (N)**:

$$N = (t_R / \sigma_t)^2$$

όπου σ_t η τυπική απόκλιση της ζώνης και t_R ο χρόνος κατακράτησης της ουσίας. Αυξανόμενου του αριθμού των θεωρητικών πλακών αυξάνει η αποδοτικότητα της στήλης. Οι αποδοτικότητες σε αριθμούς πλακών κυμαίνονται από μερικές εκατοντάδες έως αρκετές εκατοντάδες χιλιάδες.

Εκτός του αριθμού των θεωρητικών πλακών η αποδοτικότητα της στήλης περιγράφεται και από το **ύψος της πλάκας (H)** το οποίο ορίζεται ως

$$H = \sigma^2 / L$$

σ^2 : διακύμανση των τιμών και L : μήκος της στήλης (cm). Μειούμενης της τιμής του H αυξάνει η αποδοτικότητα της στήλης, εφόσον έτσι για δεδομένο μήκος στήλης (L) αυξάνεται έτσι ο αριθμός των θεωρητικών πλακών. Οι δύο όροι συνδέονται με την εξίσωση

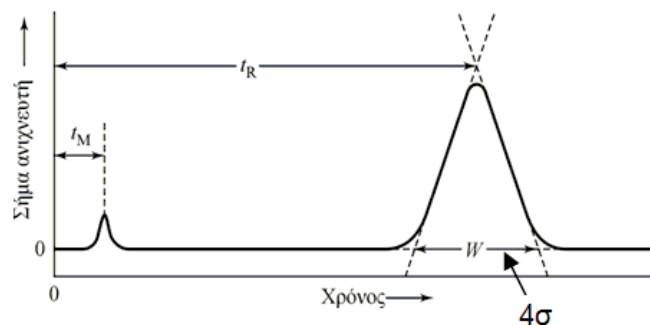
$$N = L / H$$

Η αποδοτικότητα της στήλης εξαρτάται από τη γραμμική ταχύτητα της κινητής φάσης, τους συντελεστές διάχυσης στην κινητή και στη στατική φάση, τον παράγοντα κατακράτησης, τη διάμετρο του υλικού πλήρωσης καθώς και από το πάχος της υγρής επικάλυψης της στατικής φάσης.

Η τιμή των H και N μπορεί να υπολογιστεί και από τα βασικά μεγέθη του χρωματογραφήματος. Από το διπλανό σχήμα έχουμε $W = 4\sigma$, οπότε

$$\sigma = \frac{LW}{4t_R}$$

Επομένως η εξίσωση $H = \sigma^2 / L$ γράφεται ως



$$H = \frac{LW^2}{16t_R^2}$$

και ο αριθμός θεωρητικών πλακών N δίνεται από τη σχέση

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

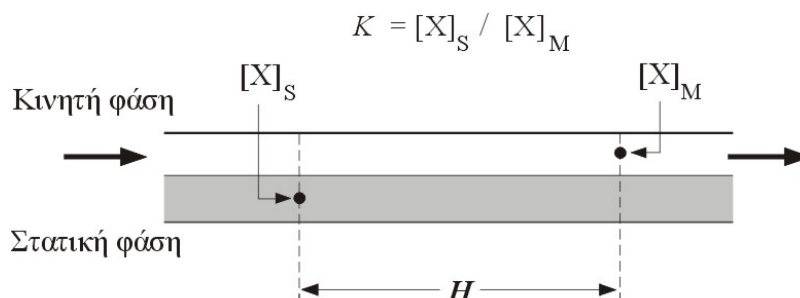
ή εάν το εύρος της κορυφής υπολογισθεί στο ήμισυ του ύψους αυτής από τη σχέση

$$N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$$

Εάν στον υπολογισμό του N χρησιμοποιηθεί αντί του χρόνου κατακράτησης (t_R) ο ανηγμένος χρόνος κατακράτησης (t'_R) τότε υπολογίζεται ο αποτελεσματικός αριθμός θεωρητικών πλακών (N_{eff}) ο οποίος θεωρείται σημαντικότερος από το N γιατί περιγράφει αποκλειστικά τη διεύρυνση ζώνης η οποία οφείλεται στη στατική φάση.

Φυσική σημασία της έννοιας του ύψους της θεωρητικής πλάκας

Η έννοια της θεωρητικής πλάκας είναι θεμελιώδους σημασίας στις χρωματογραφικές τεχνικές. Ουσιαστικά, το ύψος της θεωρητικής πλάκας (H) αντιστοιχεί προς το μήκος του τμήματος της χρωματογραφικής στήλης στο οποίο η συγκέντρωση του διαχωριζόμενου συστατικού X στη στατική φάση $[X]_S$ στην αρχή του και η συγκέντρωση του X στην κινητή φάση $[X]_M$ στο τέλος του, έχουν την αναλογία εκείνη που προβλέπεται από τη σταθερά κατανομής της ουσίας στο διαφασικό σύστημα στατικής και κινητής φάσης, δηλ. $K = [X]_S / [X]_M (= C_S / C_M)$, όπως υποδεικνύεται στο επόμενο σχήμα.

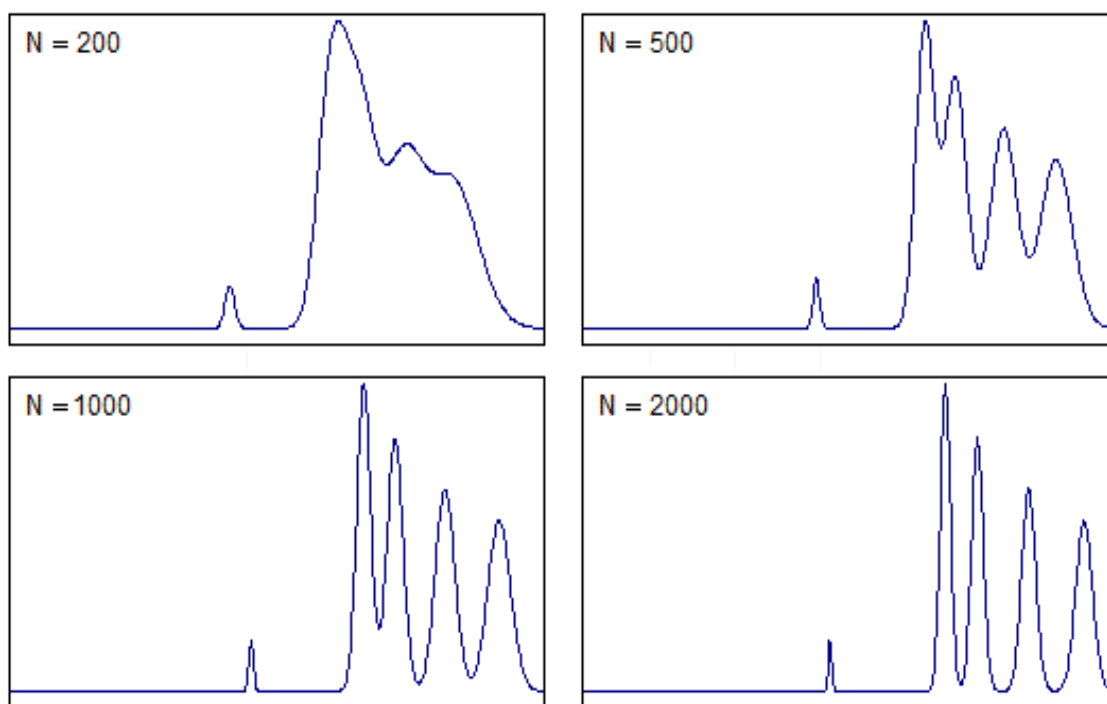


Ιδανικά, το μήκος αυτό (δηλ. το ύψος της θεωρητικής πλάκας) θα έπρεπε να τείνει προς το μηδέν. Στην πράξη όμως δεν ισχύει κάτι τέτοιο και αυτό οφείλεται στο ότι **ποτέ** δεν αποκαθίσταται ακαριαία η ισορροπία κατανομής και η κινητή φάση βρίσκεται **πάντοτε** σε κίνηση.

Υπενθυμίζεται ότι στην συσκευή Craig (εκχύλιση κατ' αντιρροή) σε κάθε εκχυλιστικό σωλήνα μπορεί να αποκατασταθεί ΠΛΗΡΩΣ η ισορροπία κατανομής μιας ουσίας μεταξύ των δύο φάσεων (εφόσον μπορεί να διατεθεί απεριόριστος χρόνος για την ανάδευση των φάσεων) και ΜΕΤΑ ακολουθεί η διαδικασία της μεταφοράς. Επομένως, κάθε θεωρητική πλάκα μιας χρωματογραφικής στήλης δεδομένου μήκους (L) αντιστοιχεί σε ένα «νοερό εκχυλιστικό σωλήνα» συσκευής Craig και η χρωματογραφική στήλη δρα ως μια «νοερή συσκευή Craig» με σωλήνες ίσους αριθμητικά με τον αριθμό θεωρητικών πλακών ($N = L / H$).

Όπως στη συσκευή Craig, όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των εκχυλιστικών σωλήνων, τόσο αποτελεσματικότερος είναι ο διαχωρισμός των ουσιών, έτσι και στις χρωματογραφίες στήλης, όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός (N) των θεωρητικών πλακών – ή ισοδύναμα: όσο μικρότερο είναι το ύψος της θεωρητικής πλάκας (H) – τόσο αποτελεσματικότερος θα είναι ο χρωματογραφικός διαχωρισμός.

Μεγάλο μέρος της έρευνας στις χρωματογραφίες στήλες επικεντρώνεται στην ανάπτυξη νέων χρωματογραφικών στηλών με όσο το δυνατόν μεγαλύτερο αριθμό θεωρητικών πλακών.



Σχήμα 13. Προσομοιώσεις (simulations) χρωματογραφημάτων μίγματος 4 ουσιών που ελήφθησαν με χρωματογραφικές στήλες 200, 500, 1000 και 2000 θεωρητικών πλακών. Η μικρή κορυφή που εμφανίζεται στην αρχή των χρωματογραφημάτων, υποτίθεται πως ανήκει σε μία μη κατακρατούμενη ουσία (π.χ. αέρας, απαραίτητη για τη μέτρηση του νεκρού χρόνου t_M). Είναι εμφανής η βελτίωση της διαχωριστικής ικανότητας με την αύξηση του αριθμού θεωρητικών πλακών. (Οι προσομοιώσεις ελήφθησαν με το applet χρωματογραφίας, που βρίσκεται στην ιστοσελίδα: http://www.chem.uoa.gr/applets/AppletChrom/App1_Chrom1.html).

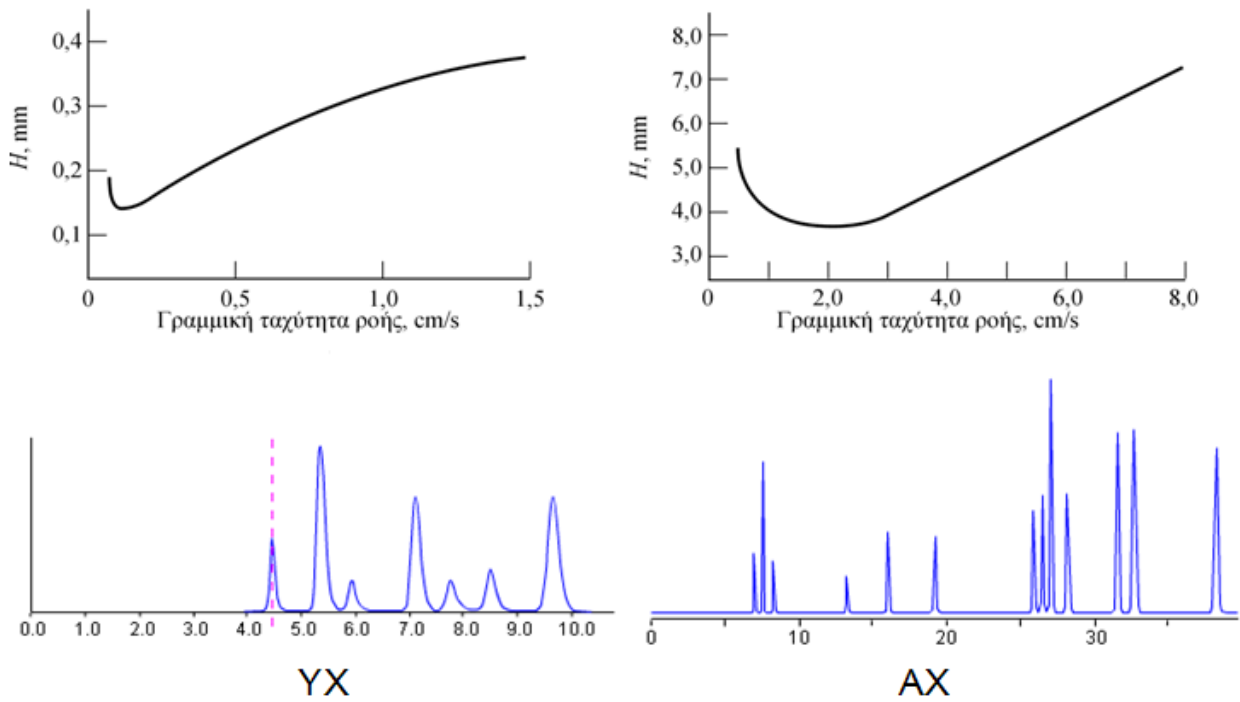
Αριθμός διαχωρισμού

Ένα άλλο μέτρο της αποδοτικότητας της στήλης είναι ο αριθμός διαχωρισμού (separation number, SN), ο οποίος ορίζεται ως ο αριθμός των κορυφών ο οποίος μπορεί να διαχωρισθεί μεταξύ δύο διαδοχικών κορυφών ομόλογης σειράς με τιμή διαχωριστικότητας 1,177

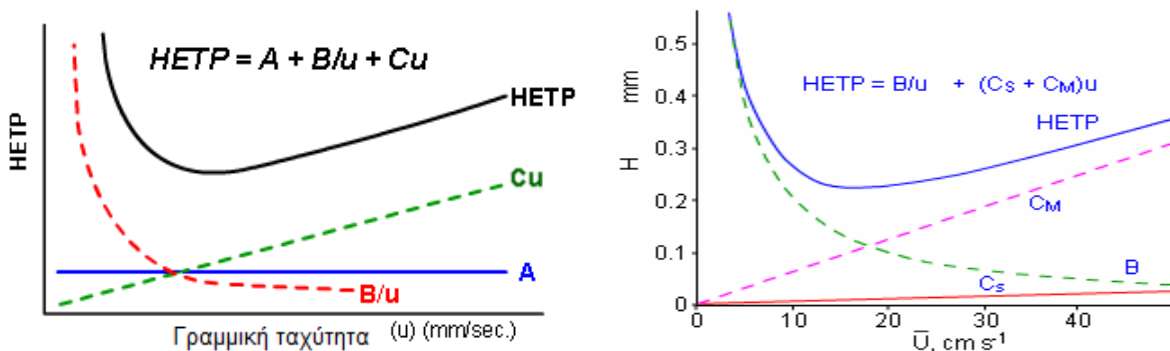
$$n_{\text{sep}} = \frac{(t_{R_2} - t_{R_1})}{(w_h)_1 + (w_h)_2} - 1 = \text{SN}$$

Σε αντίθεση με τη θεωρία πλακών η θεωρία ταχύτητας κάνει τις παρακάτω παραδοχές:

- Η αντίσταση στη μεταφορά μάζας στη στατική και στην κινητή φάση παρεμποδίζει την ταχεία αποκατάσταση της ισορροπίας (κύρια αιτία διεύρυνσης της ζώνης)
- Η ταχύτητα ροής στη στήλη επηρεάζεται σημαντικά από την ακτινική θέση
- Η διαμήκης διάχυση οδηγεί σε διεύρυνση της ζώνης η οποία είναι ανεξάρτητη από την ταχύτητα της κινητής φάσης



Σχήμα 14. Επίδραση της ταχύτητας ροής της κινητής φάσης στο ύψος πλάκας



Σχήμα 15. Εξίσωση van Deemter και εξίσωση Golay

Εξίσωση van Deemter

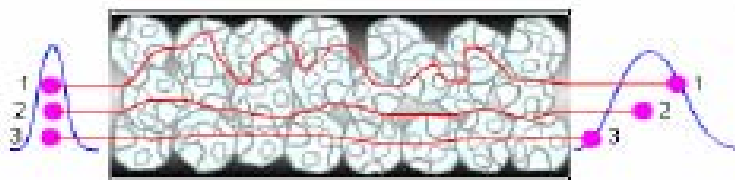
Η επίδραση των κινητικών παραγόντων στην αποδοτικότητα της στήλης εξαρτάται από τον χρόνο επαφής μεταξύ κινητής και στατικής φάσης. Ο χρόνος αυτός εξαρτάται από την ταχύτητα ροής της κινητής φάσης. Για τον λόγο αυτό οι μελέτες αποδοτικότητας αφορούν κυρίως στον προσδιορισμό του H ως συνάρτηση της ταχύτητας της κινητής φάσης u .

Ο J. J. van Deemter πρότεινε μία εξίσωση η οποία περιέχει όλους τους παράγοντες οι οποίοι συνεισφέρουν στη διεύρυνση της ζώνης. Περιέγραψε τους επιμέρους όρους (A , B και C) και επίσης εξήγαγε μία καμπύλη η οποία συσχετίζει το ύψος της πλάκας (H) με τη γραμμική ταχύτητα της κινητής φάσης στη στήλη.

$$H = A + B/u + Cu = A + B/u + (C_S + C_M)u$$

όπου A : συντελεστής στροβιλώδους διάχυσης, B : συντελεστής διαμήκου διάχυσης, C : συντελεστής μεταφοράς μάζας, C_s : μεταφορά μάζας στη στατική φάση και C_m : μεταφορά μάζας στην κινητή φάση. Οι συντελεστές μεταφοράς μάζας αποτελούν μέτρα της «ευκινησίας» των μορίων της ουσίας στις αντίστοιχες φάσεις.

Η εξίσωση Golay αποτελεί υποπερίπτωση της εξίσωσης van Deemter και εφαρμόζεται για τριχοειδείς στήλες όπου η στατική φάση βρίσκεται υπό τη μορφή λεπτής στιβάδας προσδεδεμένης στο εσωτερικό τοίχωμα της στήλης.



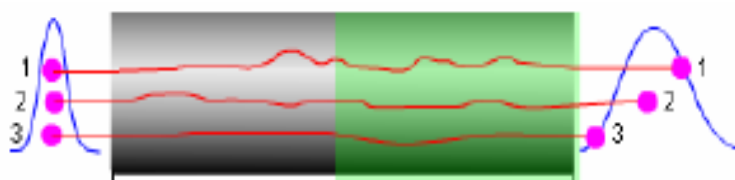
Σχήμα 16. Πολλαπλότητα διαδρομών των μορίων του αναλύτη στη στατική φάση

Ανάλυση όρων εξίσωσης van Deemter

Όρος A . Ο πρώτος από τους παράγοντες της εξίσωσης van Deemter ο οποίος σχετίζεται με τη διεύρυνση της ζώνης είναι η στροβιλώδης διάχυσης (A) ή διάχυση **eddy** (αγγλικά: eddy = μικρή δίνη). Είναι ένας γενικός όρος ο οποίος περιγράφει διακυμάνσεις της ροής στην πακεταρισμένη στήλη. Η συνεισφορά της στροβιλώδους διάχυσης στη διεύρυνση της ζώνης είναι σημαντική μόνο στην περίπτωση πακεταρισμένων στηλών και όχι σε τριχοειδείς στήλες όπου η στατική φάση βρίσκεται υπό τη μορφή λεπτής στιβάδας.

Η στροβιλώδης διάχυση σχετίζεται με το γεγονός ότι τα μόρια του αναλύτη της ζώνης μπορούν να ακολουθήσουν διαφορετικές διαδρομές κατά μήκος της στήλης. Αυτό οφείλεται στην ανομοιογένεια του πακεταρίσματος της στήλης (στατική φάση). Αυτή η πολλαπλότητα των διαδρομών τείνει να διευρύνει τη ζώνη του αναλύτη με τα μόρια να ακολουθούν μικρότερες ή μεγαλύτερες διαδρομές. Συχνά ο όρος A ονομάζεται και ως «ορος πακεταρίσματος» δείχνοντας την ποιότητα του πακεταρίσματος της στήλης. Η συνεισφορά της στροβιλώδους διάχυσης μπορεί να μειωθεί με τη χρήση καλά πακεταρισμένων στηλών, μικρότερου μεγέθους σωματιδίων στατικής φάσης και σωματιδίων περιορισμένης κατανομής μεγεθών.

Όρος B/u . Ο δεύτερος όρος της εξίσωσης van Deemter (B/u) περιγράφει τη διεύρυνση της ζώνης λόγω της διαμήκου διάχυσης. Η συνεισφορά της διαμήκου διάχυσης στη διεύρυνση της ζώνης είναι η σημαντικότερη και οφείλεται στη τάση των μορίων του αναλύτη να διαχυθούν 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. Ουσιαστικά εξαρτάται από τη βαθμίδα συγκέντρωσης των μορίων του αναλύτη.



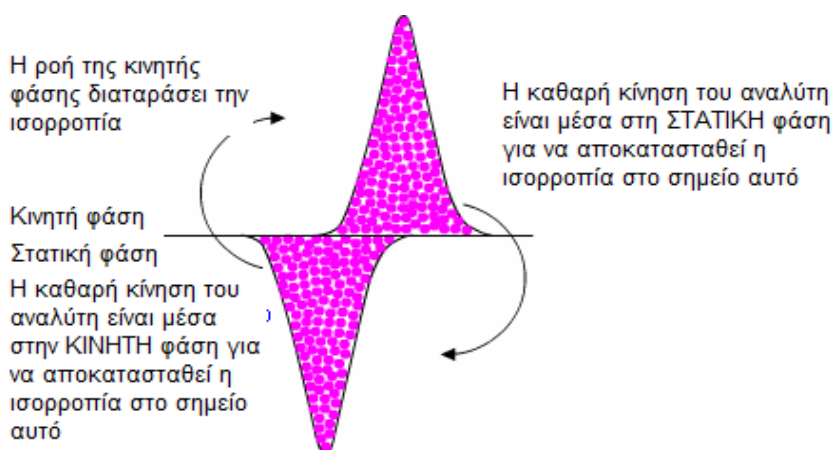
Σχήμα 17. Διεύρυνση ζώνης λόγω διαμήκου διάχυσης

Το μήκος της στήλης καθορίζει την έκταση της διεύρυνσης της ζώνης λόγω της διαμήκουσ διάχυσης. Μεγαλύτερη παραμονή της ζώνης στη στήλη συνεπάγεται μεγαλύτερο βαθμό διάχυσης και μεγαλύτερου εύρους κορυφή.

Η διαμήκουσ διάχυση επίσης εμφανίζεται όταν το χρωματογραφικό σύστημα περιέχει εσωτερικούς όγκους οι οποίοι είναι μεγαλύτεροι από το απαραίτητο, π.χ. εισαγωγέας, ανιχνευτής κ.α. Η διαμήκουσ διάχυση επιδρά σε μεγαλύτερο βαθμό στη διεύρυνση της ζώνης σε χαμηλές τιμές ταχύτητας της κινητής φάσης. Μείωση της επίδρασης της διαμήκουσ διάχυσης στη διεύρυνση της ζώνης μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση στηλών μικρού μήκους και εσωτερικής διαμέτρου, υψηλότερων ταχυτήτων της κινητής φάσης και κινητών φάσεων με μικρή τιμή του συντελεστή διάχυσης.

Όρος *C_i*. Ο τρίτος όρος της εξίσωσης van Deemter (*C_i*) σχετίζεται με τη μεταφορά μάζας του αναλύτη στην κινητή και στη στατική φάση. Η μεταφορά μάζας περιγράφει την ταχύτητα με την οποία τα μόρια του αναλύτη μετακινούνται (διαχέονται) στην κινητή ή τη στατική φάση. Για παράδειγμα ταχεία προσρόφηση και εκρόφηση των μορίων του αναλύτη από τη στατική φάση θα κρατήσει τα μόρια εντός μίας στενής ζώνης μειώνοντας τη διεύρυνση αυτής. Η μεταφορά της μάζας σε οποιαδήποτε φάση δεν είναι ακαριαία με αποτέλεσμα να μην αποκαθίσταται υπό τις συνθήκες συνθήκες διαχωρισμού η ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων. Ως αποτέλεσμα αυτού είναι ότι η κατανομή της συγκέντρωσης των μορίων του αναλύτη στη στατική φάση να προηγείται της θέσης ισορροπίας ενώ αυτή στην κινητή φάση να έπεται το οποίο οδηγεί και σε διεύρυνση της ζώνης γύρω από το κέντρο αυτής.

Το αποτέλεσμα της μεταφοράς μάζας στη διεύρυνση της ζώνης μπορεί να περιορισθεί με τη χρήση ελαττωμένου πάχους στατικής φάσης και μικρού μεγέθους σωματίδια αυτής.

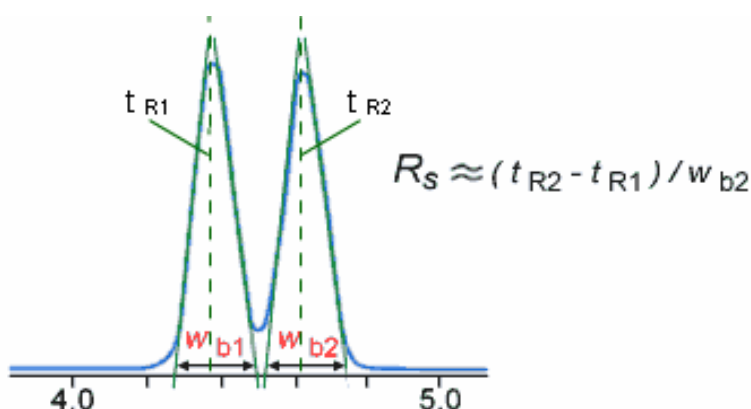


Σχήμα 18. Μεταφορά μάζας του αναλύτη στις δύο φάσεις

Πίνακας 3 Κινητικές διεργασίες που συνεισφέρουν στη διεύρυνση των κορυφών

Διεργασία	Όρος στην Εξίσωση van Deemter	Σχέση μεταξύ ιδιοτήτων στήλης και αναλύτη
Πολλαπλότητα διαδρομών ροής	A	$A = 2\lambda d_p$
Διαμήκης διάχυση	B/u	$\frac{B}{u} = \frac{2\gamma D_M}{u}$
Μεταφορά μάζας στη στατική φάση	$C_S u$	$C_S u = \frac{f_S(k')d_f^2}{D_S} u$
Μεταφορά μάζας στην κινητή φάση	$C_M u$	$C_M u = \frac{f_M(k')d_p^2}{D_M} u$

u : γραμμική ταχύτητα κινητής φάσης, D_S : συντελεστής διάχυσης στη στατική φάση, D_M : συντελεστής διάχυσης στην κινητή φάση, d_f : πάχος στατικής φάσης, d_p : διάμετρος υλικού πλήρωσης, k' : παράγοντας κατακράτησης, $f(x)$: συνάρτηση του x , λ και γ : σταθερές που εξαρτώνται από την ποιότητα της πλήρωσης της στήλης, B : συντελεστής διαμήκους διάχυσης, C_S , C_M : συντελεστές μεταφοράς μάζας στη στατική και στην κινητή φάση, αντίστοιχα.



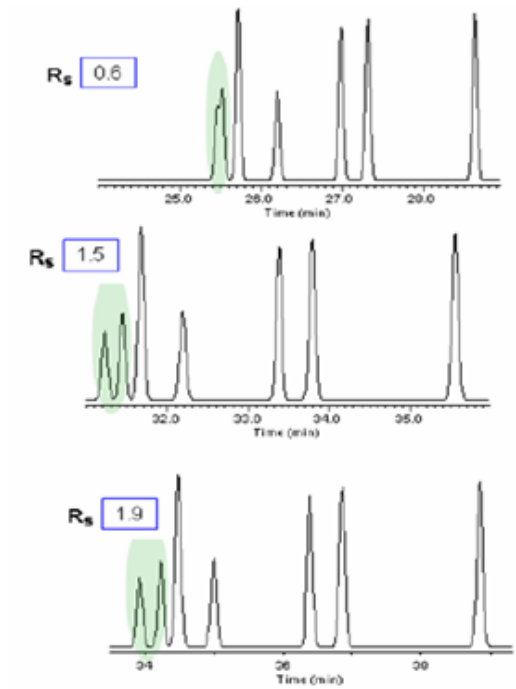
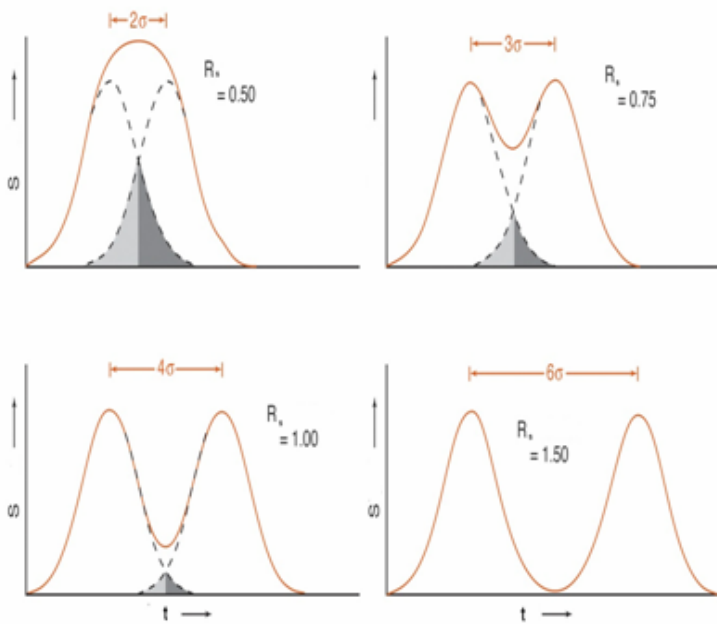
Σχήμα 19. Υπολογισμός της διαχωριστικής ικανότητας.

Διαχωριστική ικανότητα στήλης (διαχωριστικότητα)

Η *διαχωριστική ικανότητα* (resolution) R_s μιας στήλης αποτελεί ένα ποσοτικό μέτρο της ικανότητάς της να διαχωρίσει δύο αναλύτες. Αποτελεί ακριβέστερο μέτρο περιγραφής του διαχωρισμού δύο αναλυτών από τον παράγοντα εκλεκτικότητας (α), επειδή ο τελευταίος δεν περιέχει καμία πληροφορία σχετικά με το εύρος των κορυφών. Η διαχωριστική ικανότητα της στήλης ορίζεται ως υποδεικνύεται στο Σχήμα 19.

Εάν θεωρήσουμε δύο αναλύτες τότε η σημασία του όρου αυτού απεικονίζεται στο Σχήμα 19, στο οποίο παρουσιάζονται χρωματογραφήματα των ουσιών A και B με τρεις στήλες διαφορετικής διαχωριστικής ικανότητας.

Τιμή διαχωριστικής ικανότητας $R_s = 1,0$ αντιστοιχεί στον διαχωρισμό μίας κορυφής κατά 94%, ο οποίος γενικά θεωρείται επιτυχής διαχωρισμός κατά τη βελτιστοποίηση μιας χρωματογραφικής μεθόδου. Πλήρης διαχωρισμός επιτυγχάνεται για τιμές $R_s > 1,5$



Σχήμα 20. Χαρακτηριστικά παραδείγματα διαχωριστικής ικανότητας (διάφορες τιμές R_s για τις δύο κορυφές αριστερά στα τρία χρωματογραφήματα)

Επίδραση κατακράτησης και παραγόντων εκλεκτικότητας στη διαχωριστική ικανότητα

Εάν υποθέσουμε ότι για τους αναλύτες A και B με χρόνους κατακράτησης παραπλήσιους ισχύει

$$W_A = W_B \approx W$$

τότε η διαχωριστική ικανότητα θα δίνεται από τη σχέση

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{W}$$

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

τότε προκύπτει ότι

$$R_s = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{(t_R)_B} \times \frac{\sqrt{N}}{4}$$

ή με αντικατάσταση του $k'_A = \frac{t_R - t_M}{t_M}$

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

Εάν στην παραπάνω σχέση χρησιμοποιηθεί ο παράγοντας εκλεκτικότητας $\alpha = \frac{k'_B}{k'_A}$

τότε προκύπτει η σχέση μεταξύ της διαχωριστικής ικανότητας και των παραγόντων εκλεκτικότητας και κατακράτησης

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

ή η σχέση μεταξύ του αριθμού των θεωρητικών πλακών, της διαχωριστικής ικανότητας και των παραγόντων εκλεκτικότητας και κατακράτησης:

$$N = 16 R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{1 + k'_B}{k'_B} \right)^2$$