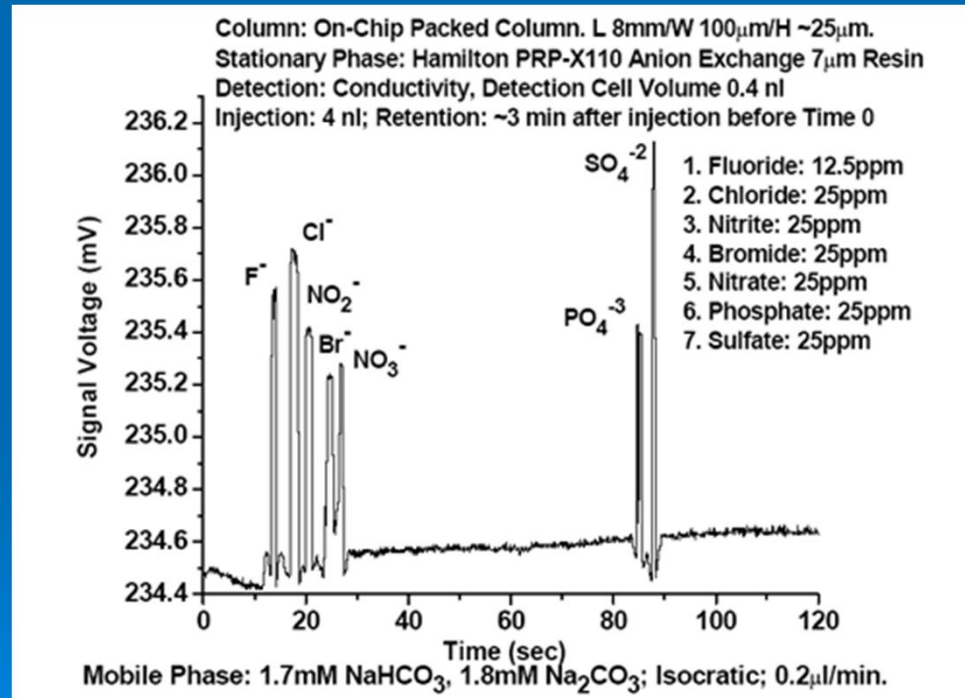


# ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

## (CHROMATOGRAPHY)



ΑΘΗΝΑ, ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ- ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2014

# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Σύνολο μεθόδων **διαχωρισμού** ανόργανων, οργανικών ή οργανομεταλλικών ενώσεων.

Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφορών ως προς την φυσικοχημική συγγένεια των ουσιών σε σχέση με τις δυο φάσεις.

- Στατική (= ακίνητη) φάση: Στερεή (στρώμα στερεού) ή υγρή (στρώμα υγρού ακινητοποιημένο σε ένα στερεό υπόστρωμα).
- Κινητή φάση: Υγρή ή αέρια, που κινείται μέσω και κατά μήκος της στατικής φάσης.

Οι δυο φάσεις επιλέγονται έτσι ώστε τα συστατικά του δείγματος (που επιθυμούμε να διαχωριστούν) να κατανέμονται μεταξύ κινητής και στατικής φάσης σε **διαφορετικό** βαθμό. Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός είναι αποτέλεσμα επαναλαμβανόμενων ισορροπιών των συστατικών μεταξύ των δυο φάσεων και στην διαφορετική μετακίνηση τους στην στατική φάση.

# ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ



- 1906: Tswett: Διαχωρισμός χρωστικών (χλωροφύλλες και ξανθοφύλλες) από πράσινα φύλλα μέσα σε στήλη πληρωμένη από κιμωλία → Οι χρωστικές διαχωριζόμενες εμφανίστηκαν ως διαφορετικές χρωματικές ταινίες. Χρωματογραφία: Από τις ελληνικές λέξεις «χρώμα» (chroma) και «γραφή».
- 1938: Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC).
- 1952: Nobel Χημείας (Martin & Synge).
- 1952-1960: Περίοδος ανάπτυξης αεριοχρωματογραφίας (Gas Chromatography, GC).
- 1969: Εμφάνιση χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography).

# ΓΕΝΙΚΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΘΕΩΡΙΑ



Διαφορετική φυσικοχημική συγγένεια ουσιών ως προς στατική/ κινητή φάση → Κάθε συστατικό κινείται με διαφορετική ταχύτητα στην στατική φάση → Εξέρχεται από την στήλη σε διαφορετικούς χρόνους (χρωματογραφία στήλης) ή διανύει διαφορετική απόσταση στον ίδιο χρόνο στην στατική φάση (επίπεδη χρωματογραφία).

# ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

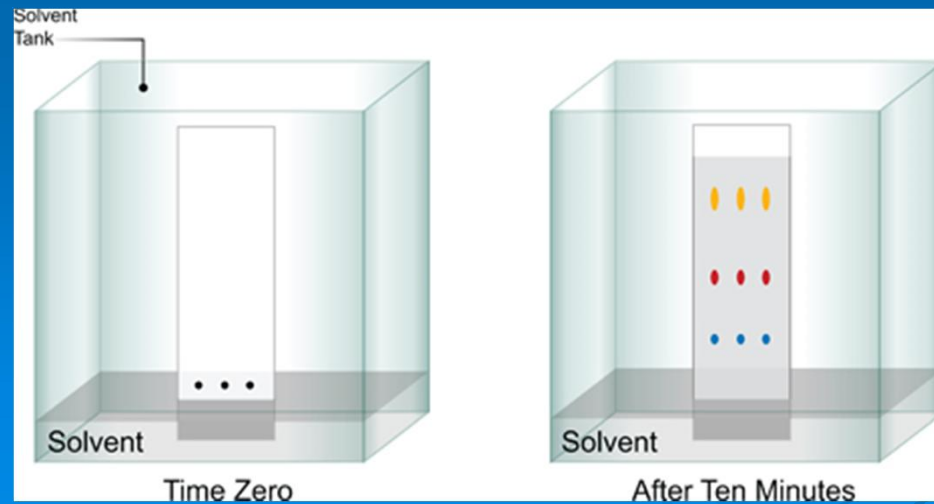
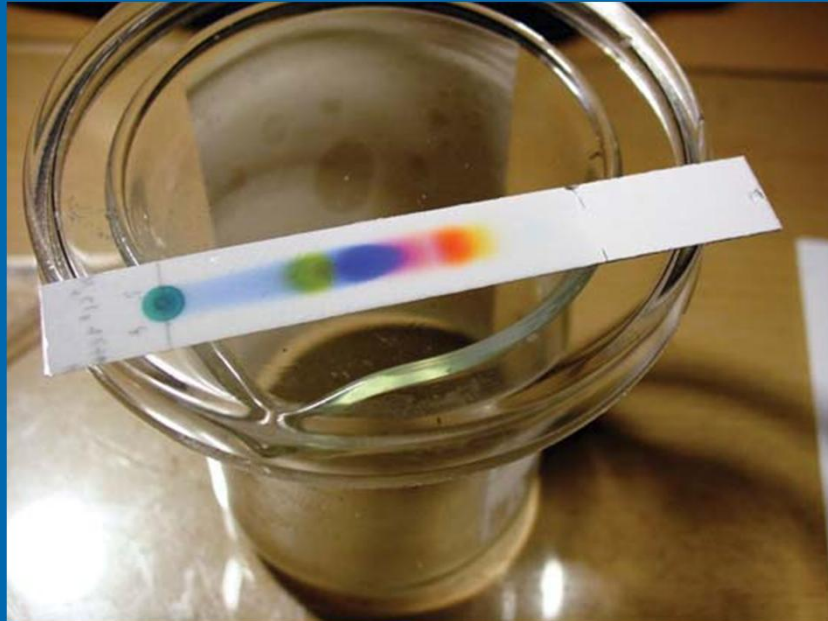
- Την φυσική κατάσταση της στατικής και κινητής φάσης: Αεριοχρωματογραφία (GC), υγροχρωματογραφία (LC), χρωματογραφία υπερκρίσιμων ρευστών (SFC).
- Την διάταξη της στατικής φάσης: Χρωματογραφία στήλης (column chromatography) και επίπεδη χρωματογραφία (planar chromatography). Η τελευταία διακρίνεται σε χρωματογραφία χάρτου (paper chromatography) και σε χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (thin layer chromatography, TLC). Η επίπεδη χρωματογραφία αφορά μόνο την υγροχρωματογραφία και όχι την αεριοχρωματογραφία.
- Τον μηχανισμό διαχωρισμού: Προσρόφηση, Κατανομής, Αποκλεισμού μεγέθους, Ιονεναλλαγής, Συγγένειας.
- Την σχετική πολικότητα των δυο φάσεων: Η σχετική πολικότητα έχει νόημα στην υγροχρωματογραφία. Πολικότητα στατικής φάσης > πολικότητα κινητής φάσης: Κανονικής Φάσης. Πολικότητα κινητής φάσης > Πολικότητα στατικής φάσης: Αντιστρόφου φάσεως.

# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ: ΕΠΙΠΕΔΗ ΚΑΙ ΣΤΗΛΗΣ

Επίπεδη

ΣΤΗΛΗΣ

Στήλης

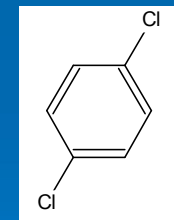
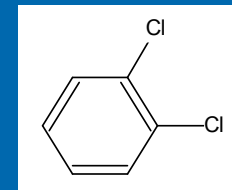
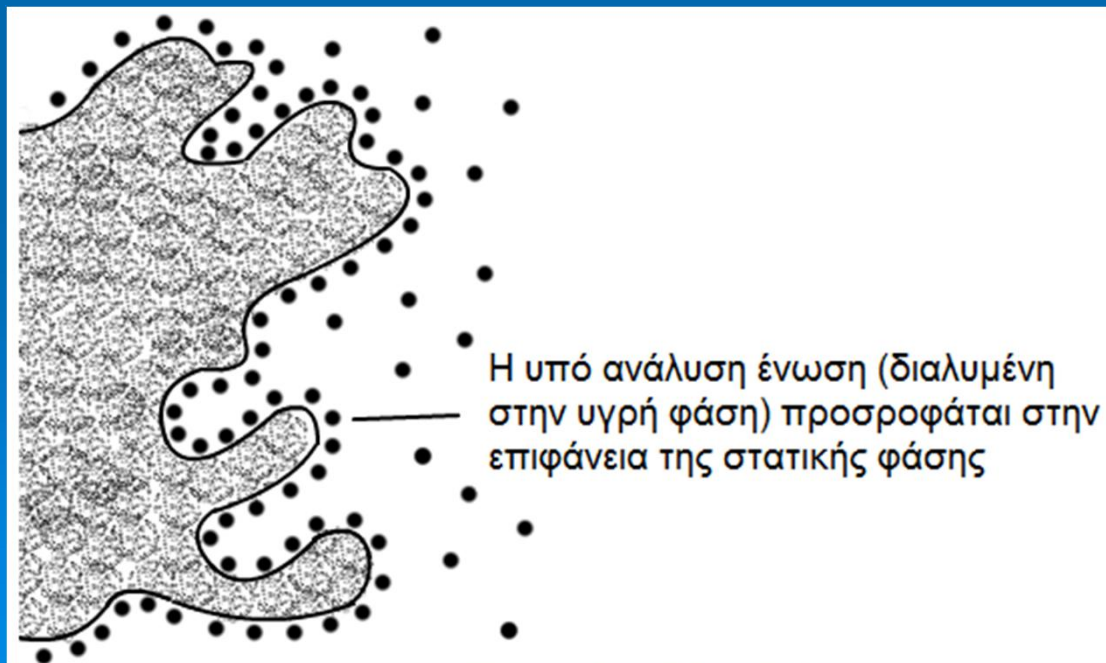


# ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ (I)

## 1. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ (ADSORPTION CHROMATOGRAPHY)

Ο διαχωρισμός στηρίζεται στην διαφορετική ροφητική συγγένεια των συστατικών του δείγματος με ένα πολικό προσροφητικό υλικό, όπως η síλικά ( $\text{SiO}_2$ ) ή η αλούμινα ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). Οι πολικές ενώσεις συγκρατούνται ισχυρά.

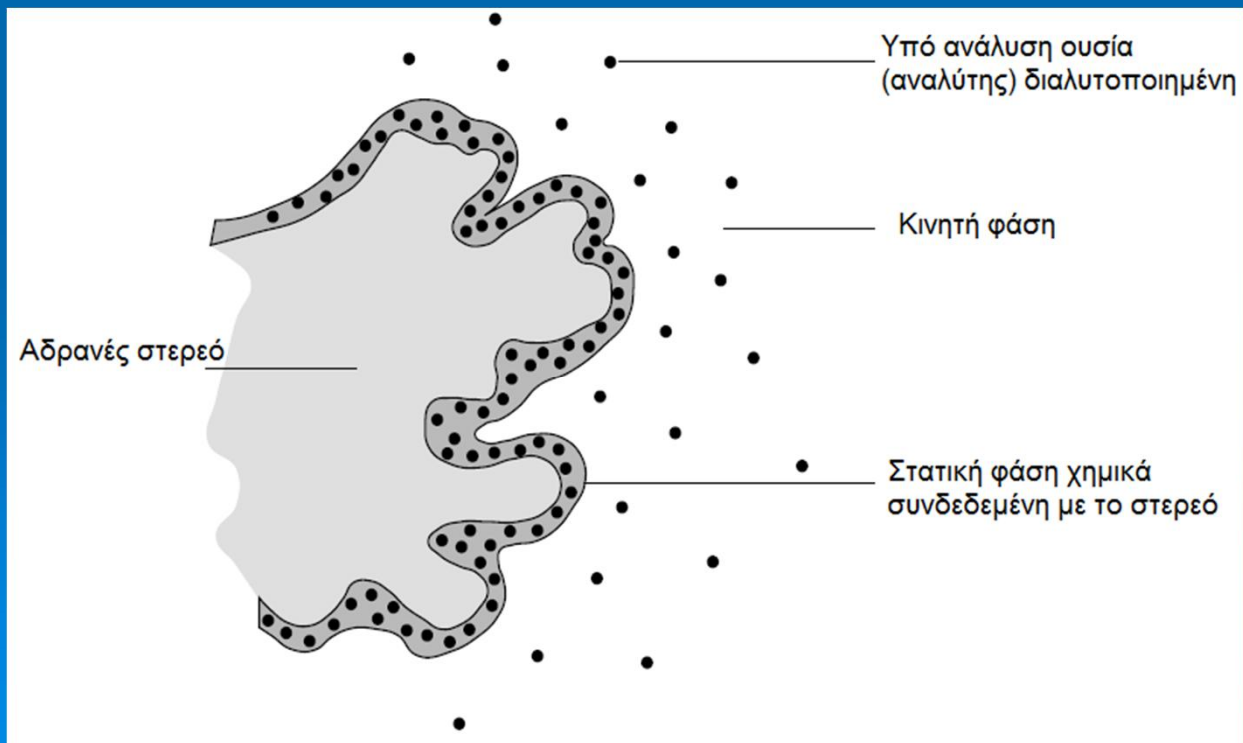
Εφαρμογή: Διαχωρισμός ισομερών ενώσεων → Π.χ.



# ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ (II)

## 2. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ (PARTITION CHROMATOGRAPHY)

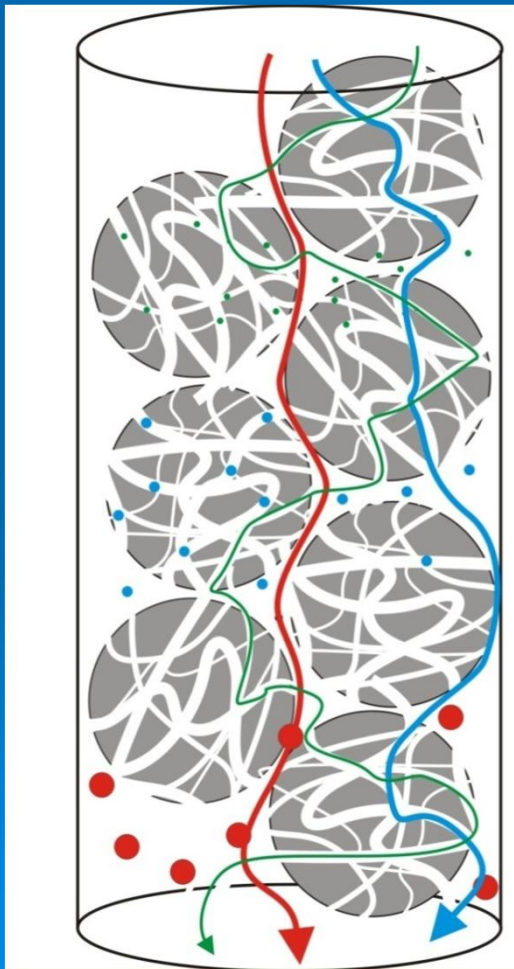
Ο διαχωρισμός στηρίζεται στην διαφορετική κατανομή των συστατικών του δείγματος μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Η ακίνητη φάση είναι συνήθως χημικά συνδεδεμένη με το υπόστρωμα ώστε να αποφεύγεται η απομάκρυνση (διαρροή) της ακίνητης φάσης.



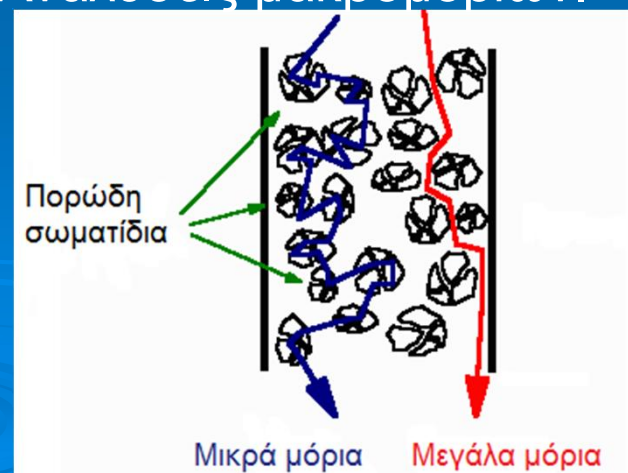


# ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ (III)

## 3. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ ΜΕΓΕΘΟΥΣ (SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY, SEC)



Αφορά μόνο την υγροχρωματογραφία. Ο διαχωρισμός στηρίζεται στο μέγεθος των μορίων: Τα μικρά μόρια εισχωρούν στους πόρους και καθυστερούν να εξέλθουν από την στήλη περιπλανώμενα στους πόρους του πληρωτικού υλικού. Τα μεγάλα μόρια εκλούονται άμεσα. Πληρωτικό υλικό: Πηκτές πυριτικές ή πολυμερικές με πορώδη αδρανή επιφάνεια. Εφαρμογή: Αναλύσεις μακρομορίων.

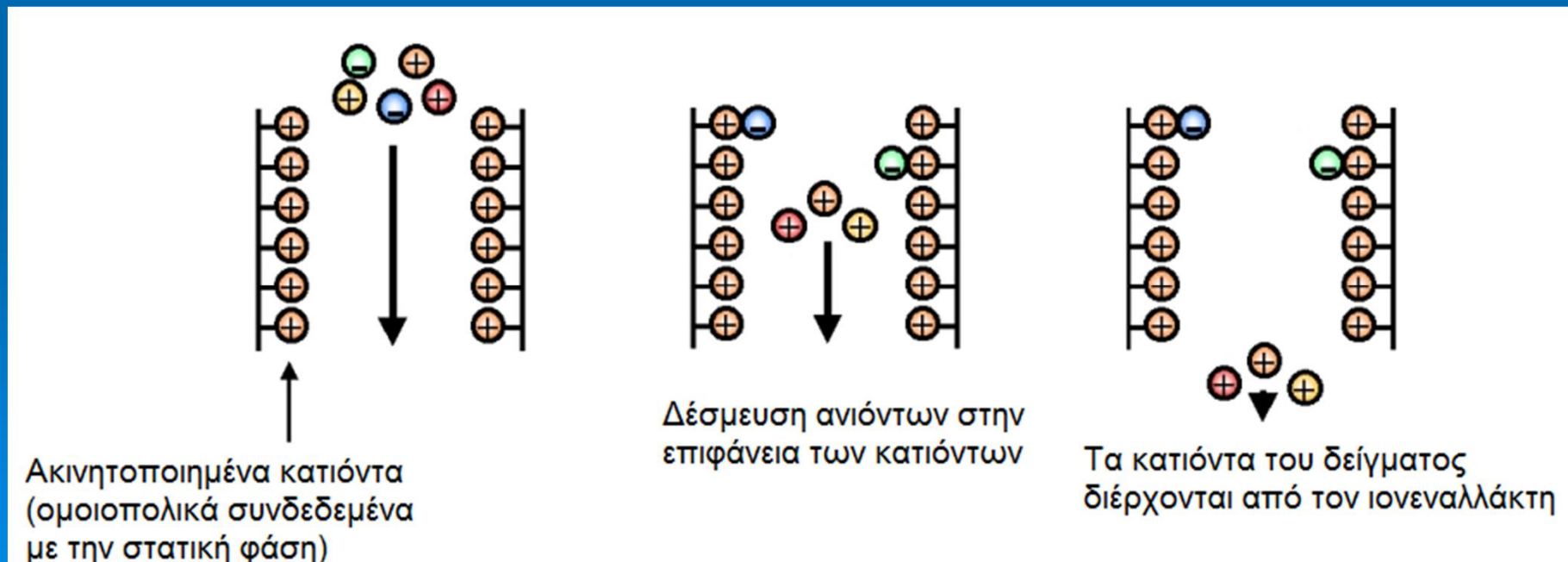


# ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ (IV)

## 4. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΙΟΝΕΝΑΛΛΑΓΗΣ (ION EXCHANGE CHROMATOGRAPHY)

Αφορά μόνο την υγροχρωματογραφία. Ο διαχωρισμός στηρίζεται στην διαφορετική ιονεναλλακτική ικανότητα των συστατικών του μίγματος με την στατική φάση.

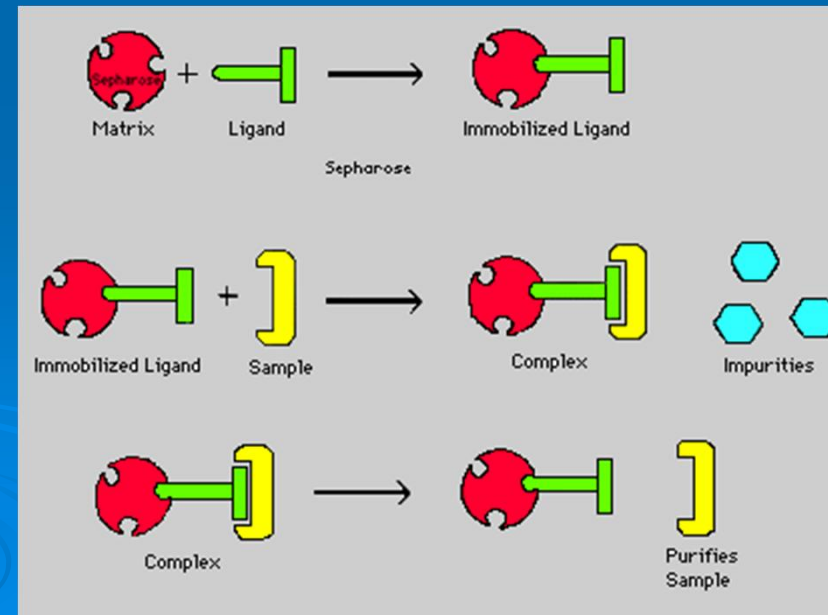
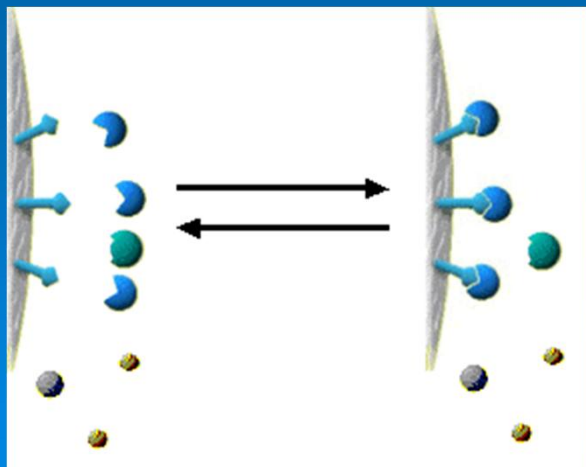
Εφαρμογή: Διαχωρισμός ιόντων.



# ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ (V)

## 5. ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑΣ (AFFINITY CHROMATOGRAPHY)

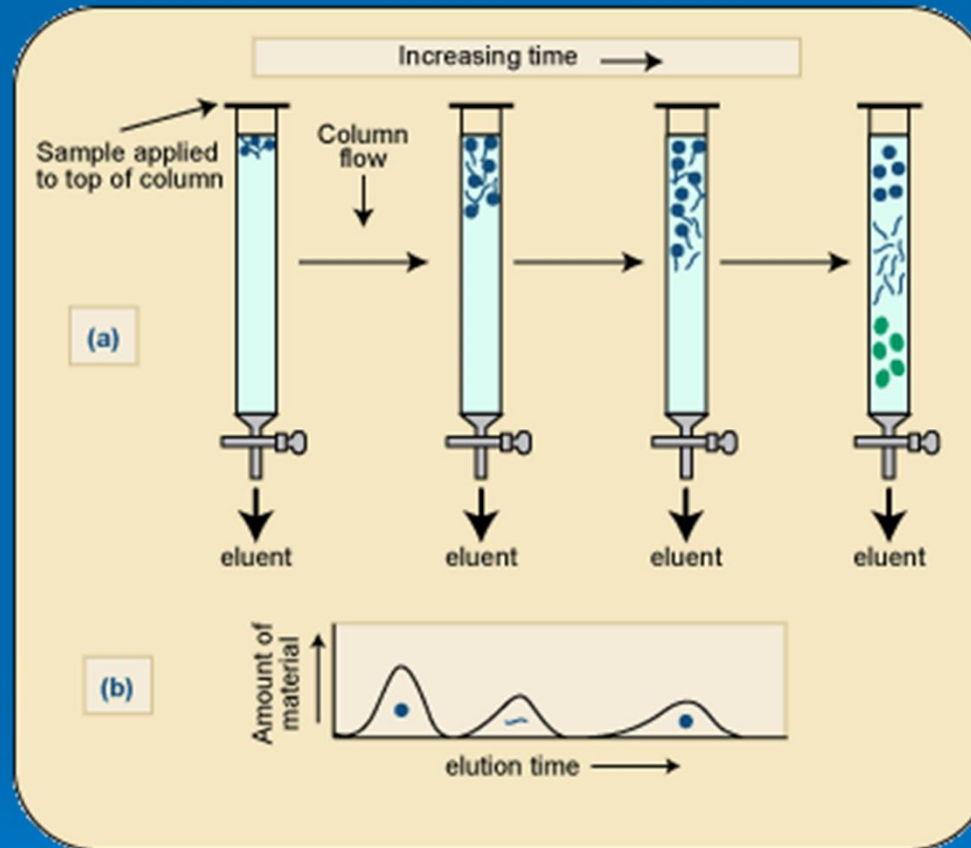
Αφορά μόνο την υγροχρωματογραφία. Ο διαχωρισμός στηρίζεται στην απόλυτα εκλεκτική αλληλεπίδραση της στατικής φάσης με την υπό προσδιορισμό ουσία (π.χ. αντισώματα, συνένζυμα, μέταλλα). Συνήθως χρησιμοποιούνται υποκαταστάτες, συνδεδεμένοι στην επιφάνεια του φορέα με ικανότητα να αναγνωρίζουν και να δεσμεύουν με εκλεκτικό και αντιστρέψιμο τρόπο συγκεκριμένα μόρια-δεσμευτές (ligand).



# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΕΙΔΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ

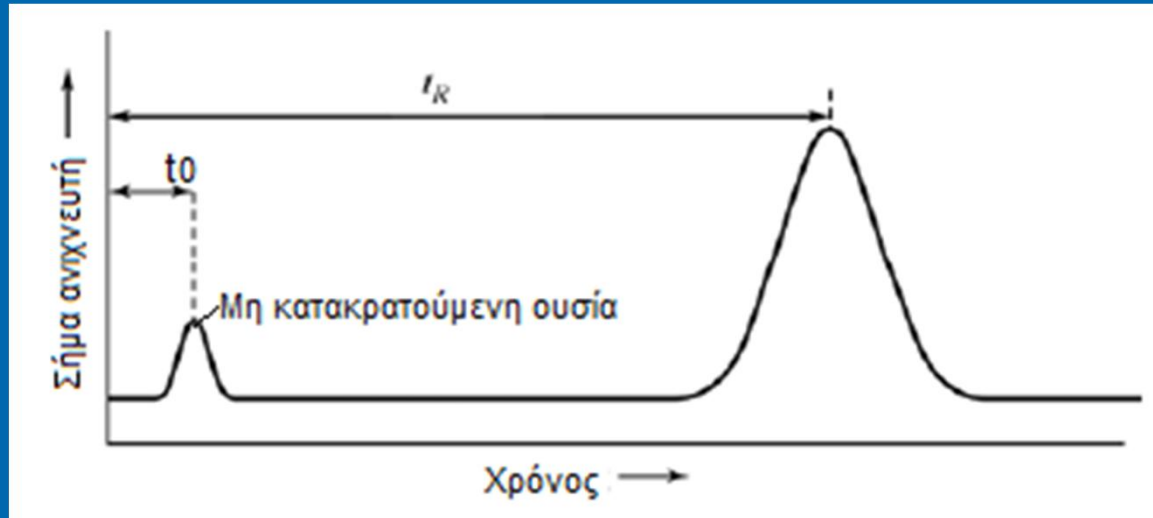
- Αεριοχρωματογραφία αναστρεφόμενης ροής: Μελέτη φθοράς υλικών (π.χ. μνημείων) από τους αέριους ρύπους της ατμόσφαιρας, υπολογισμός φυσικοχημικών φαινομένων.
- Παρασκευαστική χρωματογραφία: Καθαρισμός δειγμάτων, απομόνωση προϊόντων μεγάλης αξίας (π.χ. φυσικά βιοδραστικά προϊόντα, σπάνιες γαίες). Μεγάλο μέγεθος δείγματος (από g έως και τόνους) → Μεγάλες διαστάσεις χρωματογραφικού συστήματος.
- Βιομηχανική χρωματογραφία ή βιοχρωματογραφία: Μιμείται την συμπεριφορά βιολογικών μεμβρανών (χρωματογραφία ακινητοποιημένων μεμβρανών IAM) ή πρωτεϊνών πλάσματος (ανθρώπινη λευκωματίνη-HSA,  $\alpha_1$  όξινη γλυκοπρωτεΐνη-AGP): Εφαρμογή στον σχεδιασμό φαρμάκων (εκτίμηση φαρμακοκινητικών παραμέτρων υποψηφίων φαρμάκων) και σε περιβαλλοντικές μελέτες (εκτίμηση διέλευσης ρυπαντών από μεμβράνες ψαριών, εκτίμηση τάσης βιοσυσσώρευσης ρυπαντών).

# ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΚΑΙ ΟΡΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΤΗΛΗΣ



Για την παρακολούθηση της εξόδου των συστατικών του μίγματος από την στήλη θα πρέπει η έξοδος της στήλης να συνδεθεί με ανιχνευτή (ευαίσθητο στα συστατικά του μίγματος και όχι στην κινητή φάση).

# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑ (I)



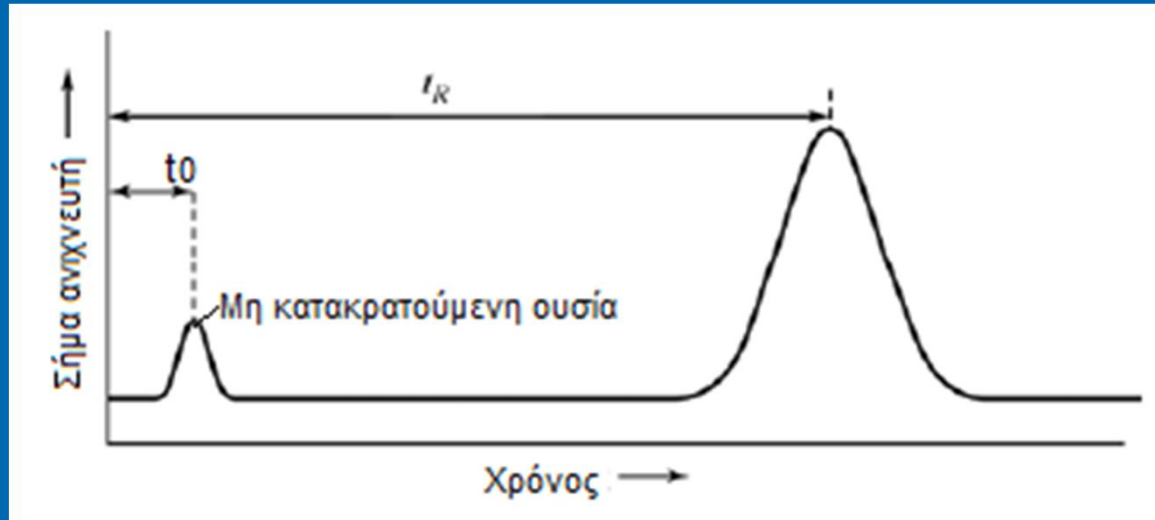
Χρωματογράφημα (Chromatogram): Η συνάρτηση της απόκρισης του ανιχνευτή σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Καμπύλη έκλουσης (Elution curve): Καμπύλη συγκέντρωσης της ουσίας.

Χρόνος ανάσχεσης ή έκλουσης (Elution/ Retention time): Ο χρόνος από την στιγμή της έγχυσης του δείγματος στην στήλη μέχρι την εμφάνιση κορυφής.

Νεκρός χρόνος (Void/ Dead time): Χρόνος που απαιτεί μια μη κατακρατούμενη ουσία μέχρι να φτάσει στον ανιχνευτή.

# ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑ (II)



Ανηγμένος χρόνος ανάσχεσης (adjusted retention time):  $t_R' = t_R - t_0$

Ανηγμένος όγκος ανάσχεσης (adjusted retention volume):  $V_R' = V_R - V_0$

Συντελεστής χωρητικότητας ή κατακράτησης (retention factor)  $k'$ :  
Αποτελεί μέτρο ανάσχεσης μιας ουσίας από την στήλη. Χαμηλή τιμή  $k'$ : Η ουσία σχεδόν δεν συμμετέχει στην χρωματογραφική διαδικασία. Υψηλές τιμές  $k'$ : καλός διαχωρισμός αλλά επιβάρυνση της ανάλυσης. Ιδανικά  $k'=2-10$ .

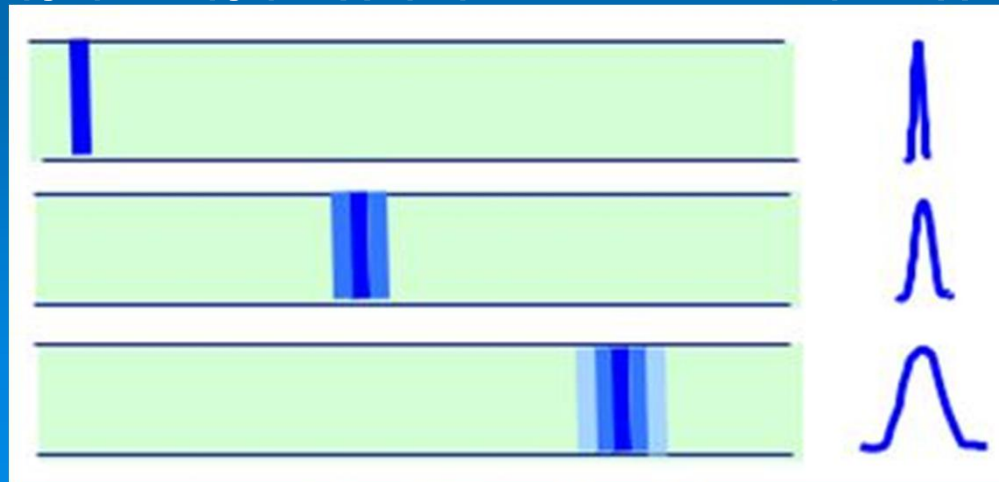
$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{V_R - V_0}{V_0}$$

# ΔΙΕΥΡΥΝΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΚΟΡΥΦΩΝ ΛΟΓΩΝ ΔΙΑΜΗΚΟΥΣ ΔΙΑΧΥΣΗΣ (LONGITUDINAL DIFFUSION)

Οφείλεται στην φυσική διάχυση της διαχωριζόμενης ουσίας από την υψηλότερη συγκέντρωση (κέντρο της ζώνης) προς χαμηλότερη συγκέντρωση (πρόσθιο ή οπίσθιο τμήμα της ζώνης).

Η διάχυση επηρεάζεται σημαντικά από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της στήλης.

Μείωση της διάχυσης επιτυγχάνεται με α) Μείωση εσωτερικής διαμέτρου στηλών, β) αύξηση της ροής της κινητής φάσης, γ) χρήση κινητής φάσης με χαμηλό συντελεστή διάχυσης.



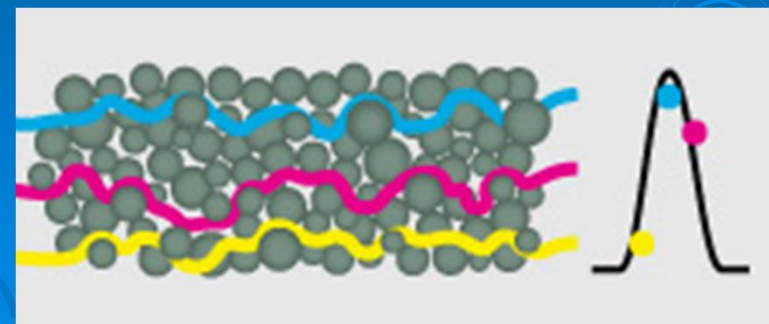
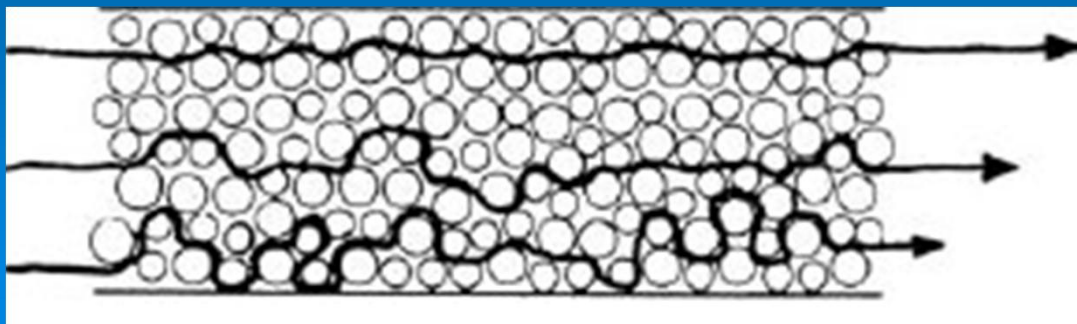


# ΔΙΕΥΡΥΝΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΚΟΡΥΦΩΝ ΛΟΓΩΝ ΣΤΡΟΒΙΛΩΔΟΥΣ ΔΙΑΧΥΣΗΣ (EDDY DIFFUSION)

Η διεύρυνση χρωματογραφικών κορυφών είναι ανεπιθύμητη: α) Υποβάθμιση διαχωρισμών, β) οι διευρυμένες κορυφές είναι ακατάλληλες για ποσοτική ανάλυση.

Η στροβιλώδης διάχυση εκφράζει την πολλαπλότητα των διαδρομών που μπορεί να ακολουθήσει ένα μόριο.

Ελαττώνεται με μείωση του μεγέθους των σωματιδίων της στατικής φάσης, μείωση της κατανομής μεγέθους αυτών και με βελτίωση του «πακεταρίσματος» της στατικής φάσης.



# ΠΟΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΟΣ

- Ποιοτικές πληροφορίες: Ο χρόνος συγκράτησης μιας ουσίας και, επομένως και ο παράγοντας συγκράτησης  $k'$ , είναι πάντα σταθερός κάτω από τις ίδιες χρωματογραφικές συνθήκες. Χρωματογραφικές συνθήκες: Φύση της κινητής και της στατικής φάσης και η θερμοκρασία της στήλης. Δυνατότητα ταυτοποίησης ουσιών μέσω σύγκρισης  $k'$  αγνώστου με  $k'$  αναφοράς. Η ποιοτική ανάλυση συμπληρώνεται με επιπλέον στοιχεία (φάσματα UV-Vis, IR, NMR, MS).
- Ποσοτικές πληροφορίες: Η επιφάνεια μιας χρωματογραφικής κορυφής είναι ανάλογη της ποσότητας της ουσίας → Δυνατότητα ποσοτικού προσδιορισμού με βάση την επιφάνεια της κορυφής. Το ύψος της κορυφής επηρεάζεται από παραμέτρους όπως: θερμοκρασία, εύρος κορυφής, ροή κινητής φάσης και ταχύτητα έγχυσης).

# ΑΛΛΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

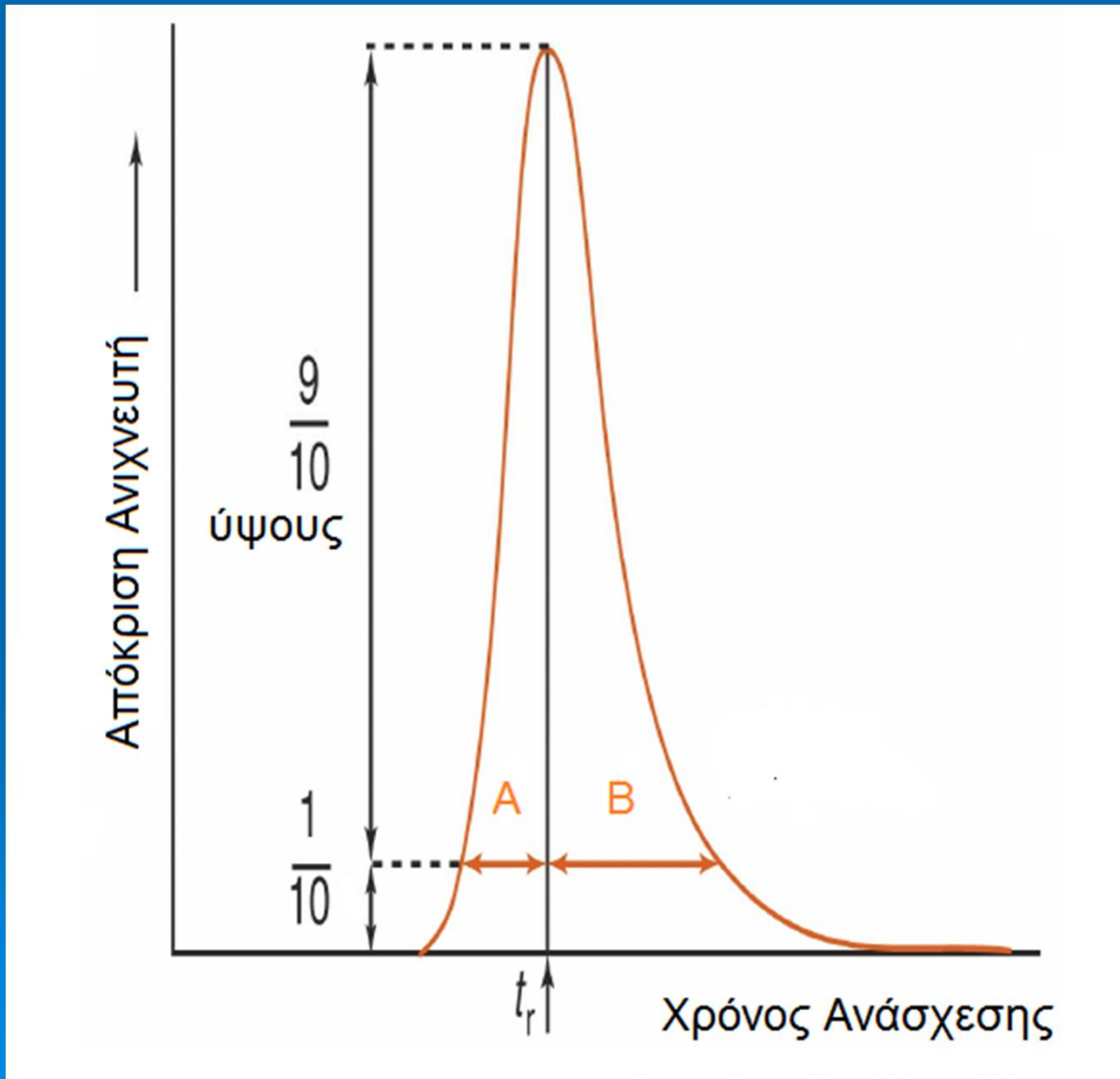
- Συντελεστής Κατανομής: Εκφράζει την κατανομή της ουσίας μεταξύ στατικής και κινητής φάσης.

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

- Συντελεστής διαχωρισμού,  $\alpha$  (Παράγοντας εκλεκτικότητας): Εκφράζει το μέτρο της ευκολίας ή δυσκολίας ενός διαχωρισμού κάτω από δεδομένες συνθήκες. Όσο αυξάνεται το  $\alpha$  βελτιώνεται ο διαχωρισμός.

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_{R0}}{t_{R1} - t_{R0}} = \frac{V_{R2} - V_{R0}}{V_{R0}} = \frac{k_2'}{k_1'}$$

# ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑΣ (I) (ASYMMETRY FACTOR)



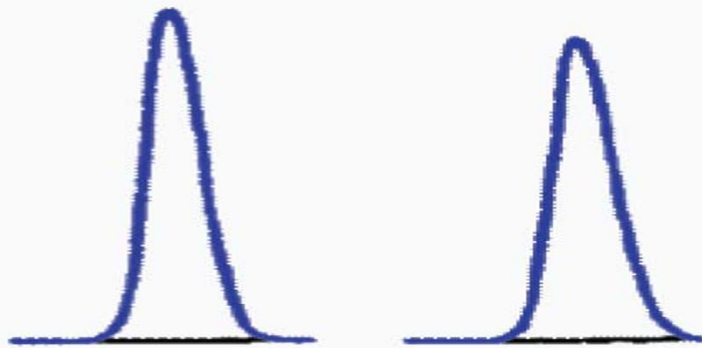
$$A_s = \frac{B}{A}$$

Συμμετρικές  
Κορυφές → Αύξηση  
ακρίβειας ποσοτικών  
προσδιορισμών.

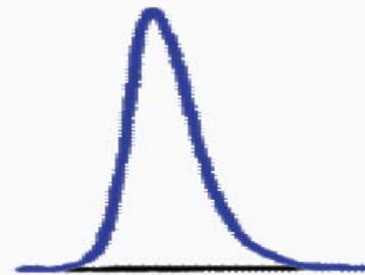
Προσδιορισμοί  
υψηλής ακρίβειας:  $A_s$   
 $\leq 1.2$

# ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑΣ (II) (ASYMMETRY FACTOR)

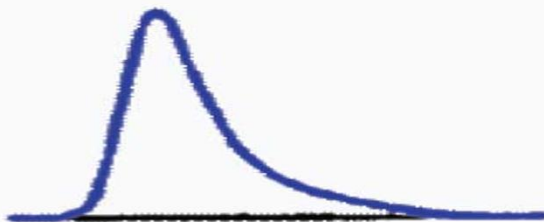
**Excellent**  
 $A_s = 1.0 - 1.05$



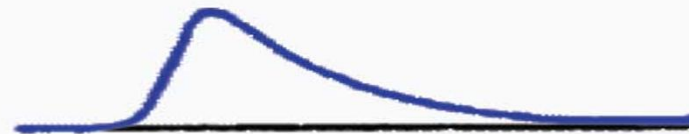
**Acceptable**  
 $A_s = 1.2$



**Undesirable**  
 $A_s = 2.0$

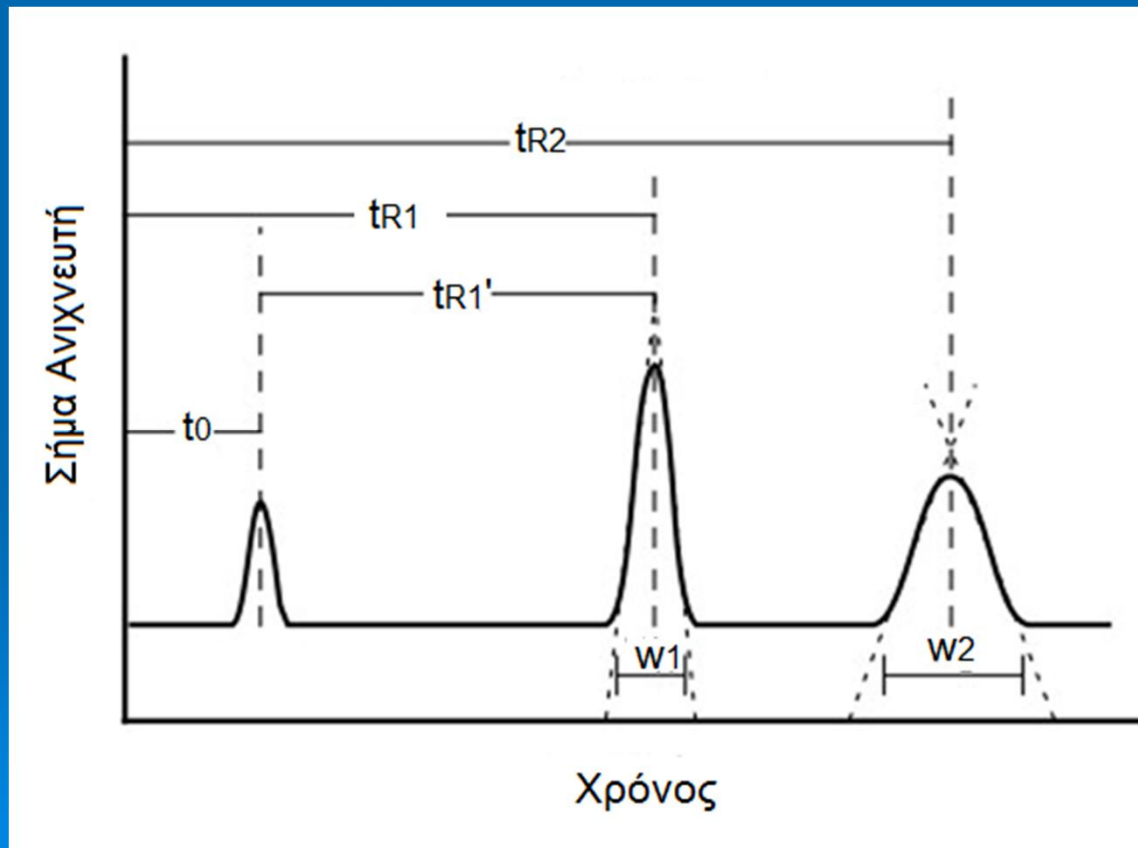


**Terrible**  
 $A_s = 4.0$



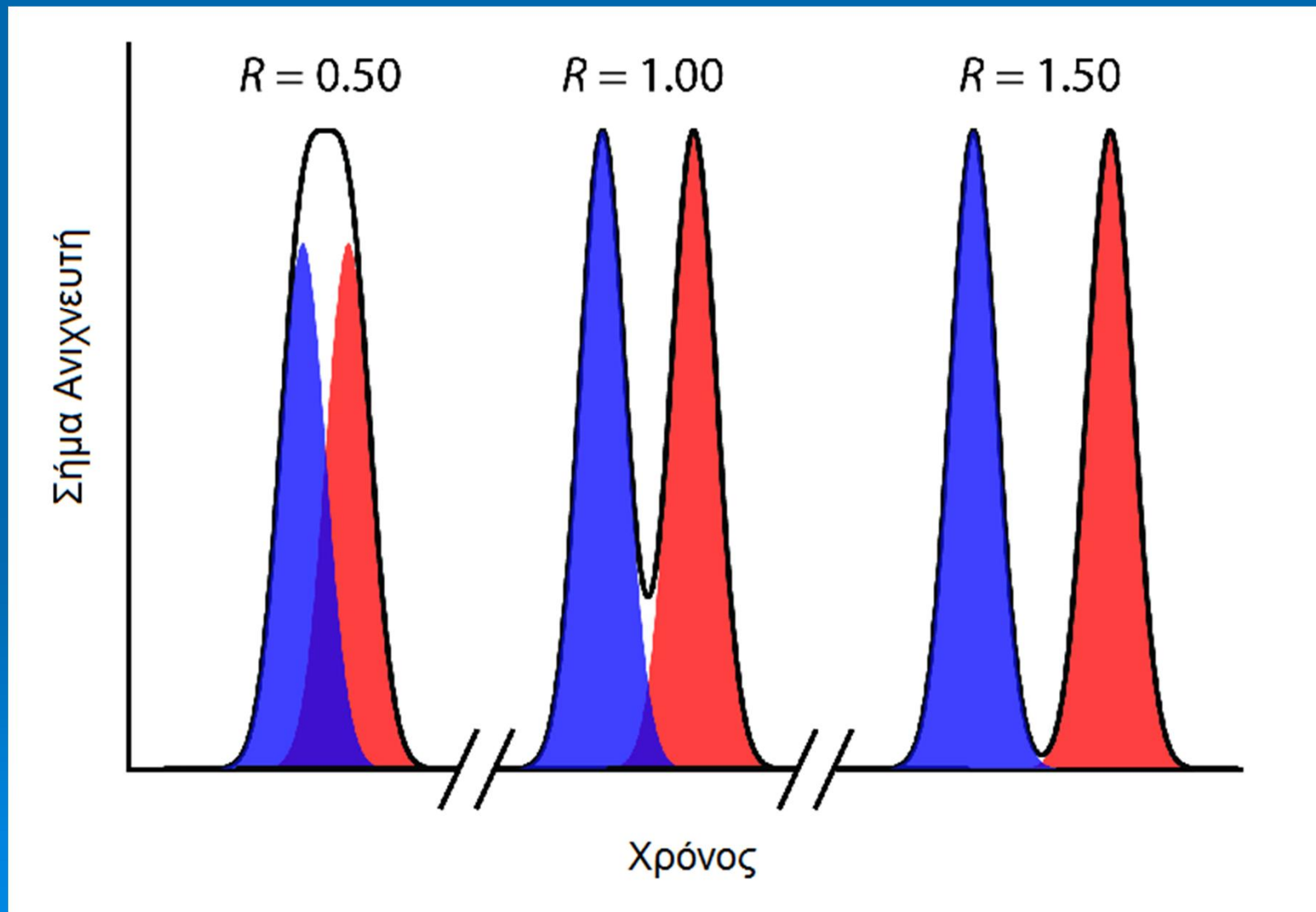
# ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΟΤΗΤΑ $R_s$

Η διαχωριστότητα (Resolution)  $R_s$  εκφράζει ποσοτική το μέτρο του διαχωρισμού δυο συστατικών. Απαιτείται  $R_s > 1.5$  (επικάλυψη κορυφών μικρότερη του 1%).



$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{w_2 + w_1}{2}} = \frac{2 \cdot \Delta t}{w_1 + w_2}$$

# ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΕΠΙΤΥΓΧΑΝΟΜΕΝΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ



# ΑΠΟΔΟΤΙΚΟΤΗΤΑ/ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΛΗΣ- ΘΕΩΡΙΑ ΠΛΑΚΩΝ

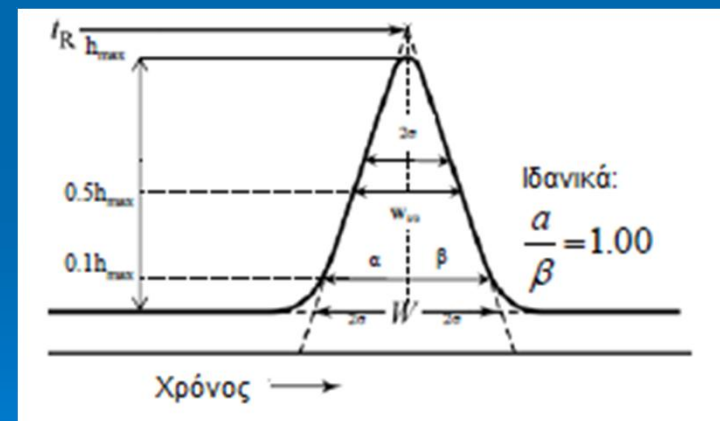
- Σύμφωνα με την θεωρία των πλακών, η στήλη αποτελείται από έναν αριθμό ζωνών (στοιχείων όγκου), τα οποία ονομάζονται πλάκες.
- Σε κάθε πλάκα υπάρχει ταχύτατη κατανομή του αναλύτη μεταξύ στατικής και κινητής φάσης. Η ισορροπία αποκαθίσταται πριν την μετακίνηση του αναλύτη στην επόμενη πλάκα.
- Σε όλες τις πλάκες η τιμή του συντελεστή κατανομής παραμένει σταθερή (και ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του αναλύτη).
- Η θεωρία των πλακών προϋποθέτει ασυνεχή ροή της κινητής φάσης και αμελητέα εγκάρσια διάχυση των μορίων (δεν ισχύει), ενώ και ο συντελεστής κατανομής είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης σε μια συγκεκριμένη περιοχή συγκεντρώσεων.
- Οι αποδοτικότητες των στηλών κυμαίνονται από μερικές εκατοντάδες μέχρι εκατοντάδες χιλιάδες.



# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΣΤΗΛΗΣ

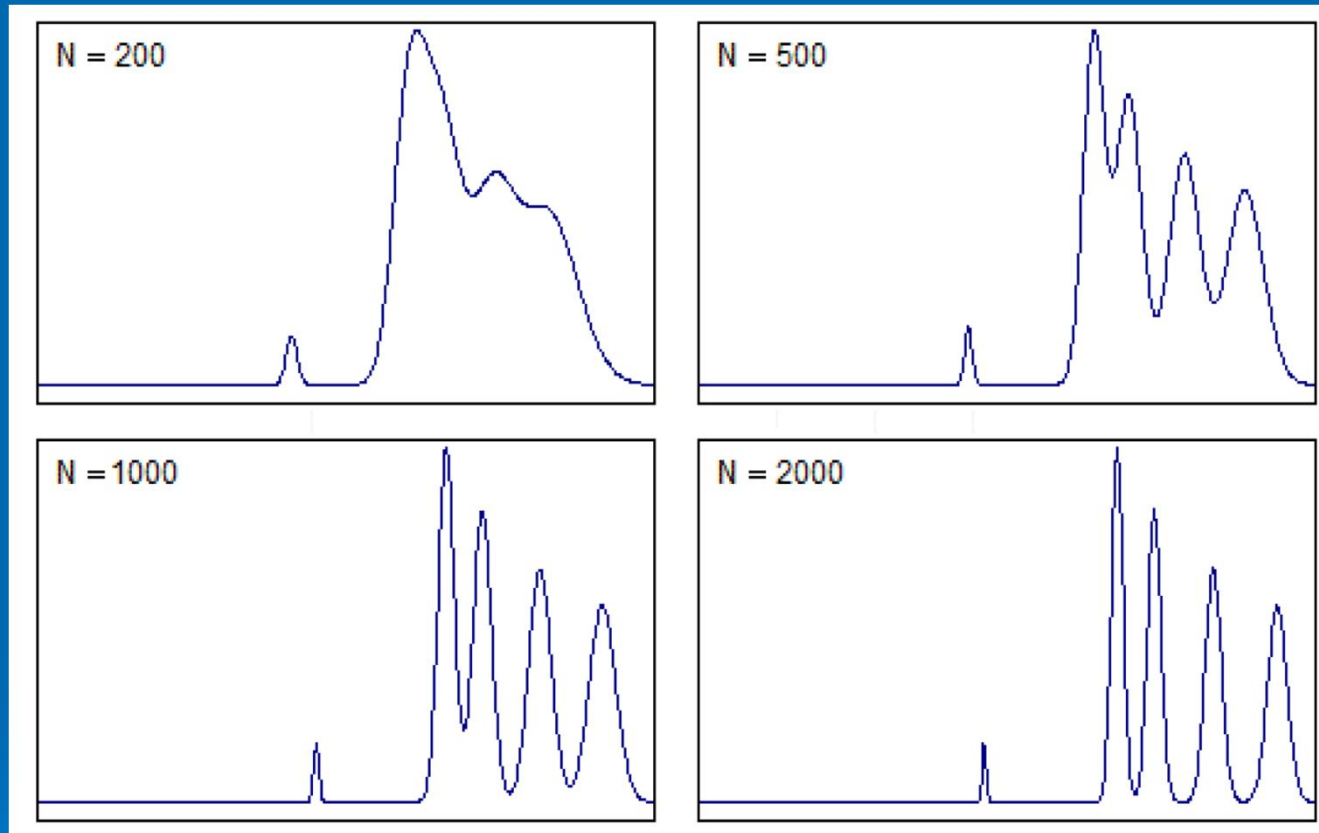
- Αριθμός θεωρητικών πλακών  $N$  (number of theoretical plates): Το  $N$  μπορεί να υπολογιστεί με σημαντικό σφάλμα σε περίπτωση ιδιαίτερα ασύμμετρων κορυφών. Για δεδομένο  $t_R$  όσο αυξάνεται  $N$  τόσο μειώνεται το εύρος  $w$  (στενότερες κορυφές). Αύξηση του  $N$  επιτυγχάνεται με αύξηση του μήκους της στήλης. Το  $N$  εξαρτάται από τον τρόπο πλήρωσης της στήλης, την φύση της ουσίας, την ταχύτητα ροής και την θερμοκρασία.

$$N = 16 \cdot \left( \frac{t_R}{w} \right)^2 = 5.54 \cdot \left( \frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$$



- Θεωρητικό ύψος κάθε πλάκας,  $H$ :  $H = L/N$ . Μέτρο της διαχωριστικής ικανότητας της στήλης.

# ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΩΡΗΤΙΚΩΝ ΠΛΑΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ



[http://www.chem.uoa.gr/applets/AppletChrom/App1\\_Chrom1.html](http://www.chem.uoa.gr/applets/AppletChrom/App1_Chrom1.html)

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \cdot \left( \frac{k_B}{k_B + 1} \right)$$

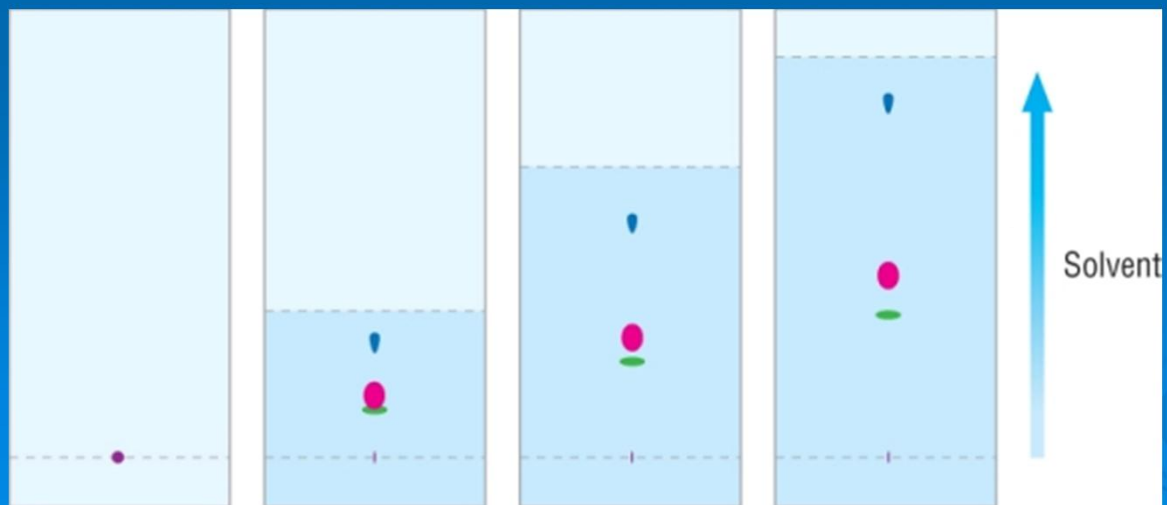
# ΑΣΚΗΣΗ

Οι ουσίες A και B εμφανίζουν χρόνους ανάσχεσης 6.6 και 8.0 min, αντίστοιχα σε μια χρωματογραφική στήλη μήκους 15 cm. Τα εύρη των κορυφών των ουσιών A και B στην βάση είναι 0.95 και 1.15 min, αντίστοιχα. Μια μη κατακρατούμενη ουσία διέρχεται από την στήλη σε χρόνο 1.25 min. Να υπολογιστούν:

- α) Ο συντελεστής διαχωρισμού ( $\alpha$ ).
- β) Η διαχωριστική ικανότητα,  $R_s$ , της στήλης.
- γ) Ο μέσος αριθμός θεωρητικών πλακών,  $N$ .
- δ) Το ύψος της κάθε θεωρητικής πλάκας.

# ΕΠΙΠΕΔΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ: ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ/ ΧΑΡΤΟΥ

- Σήμερα χρησιμοποιείται η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας και μάλιστα στην ενόργανη μορφή της (high performance thin layer chromatography). Η χρωματογραφία χάρτου έχει σχεδόν εγκαταληφθεί.
- Συχνός συνδυασμός με πυκνόμετρα (ειδικά φωτόμετρα) για την μέτρηση της ποσότητας των συστατικών που διαχωρίστηκαν. Χρησιμοποιούνται επίσης ανιχνευτές βιοφωταύγειας, UV-Vis και συστοιχίας φωτοδιόδων (photodiode array).



# ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ TLC



Διάταξη εφαρμογής  
του δείγματος στην  
πλάκα (λεπτή  
στοιβάδα)



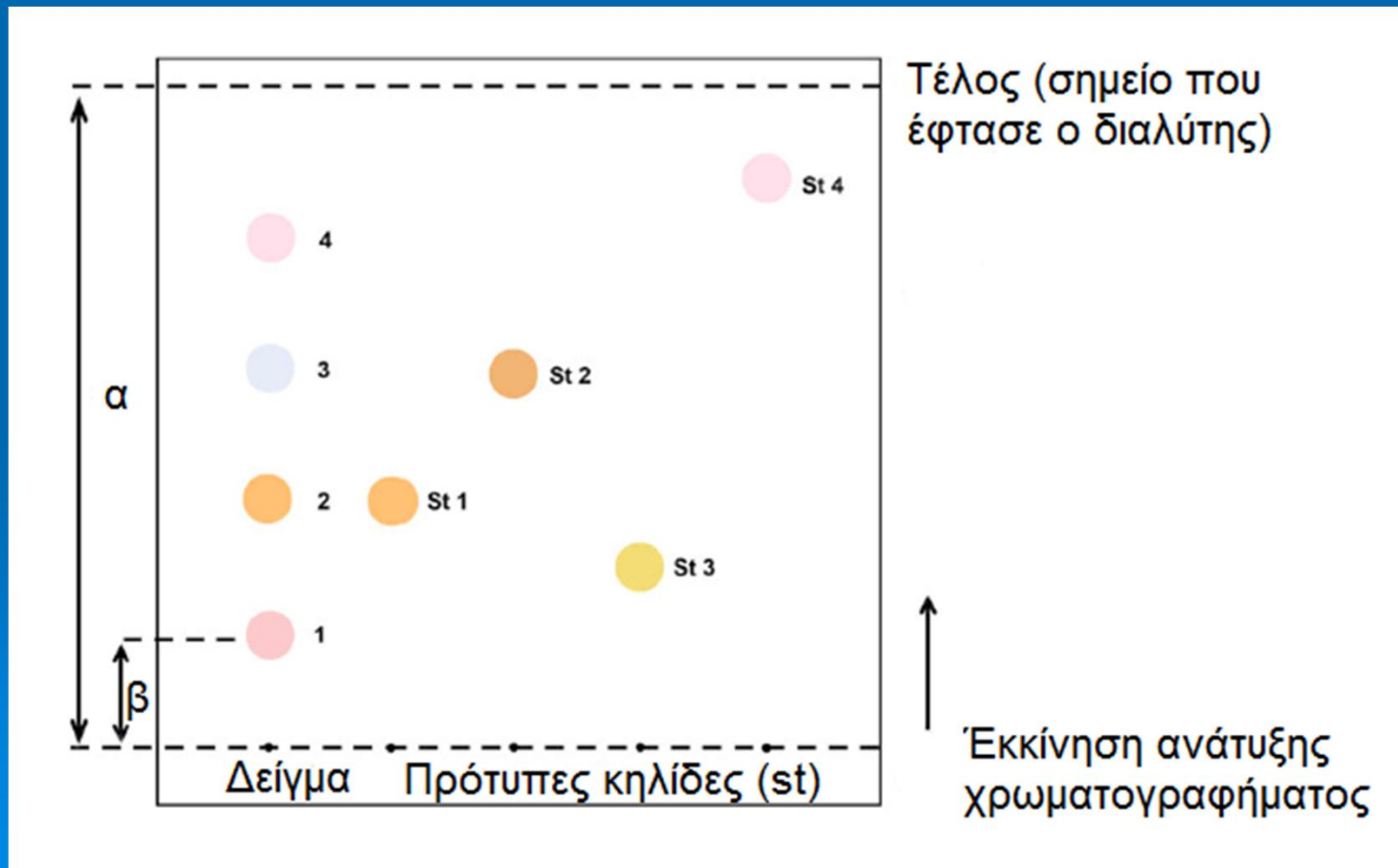
Διάταξη  
θέρμανσης  
πλάκας



Αυτόματος  
δειγματολήπτης  
TLC

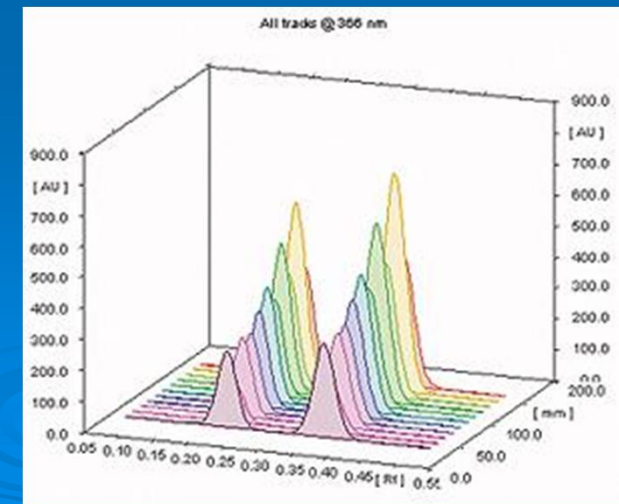
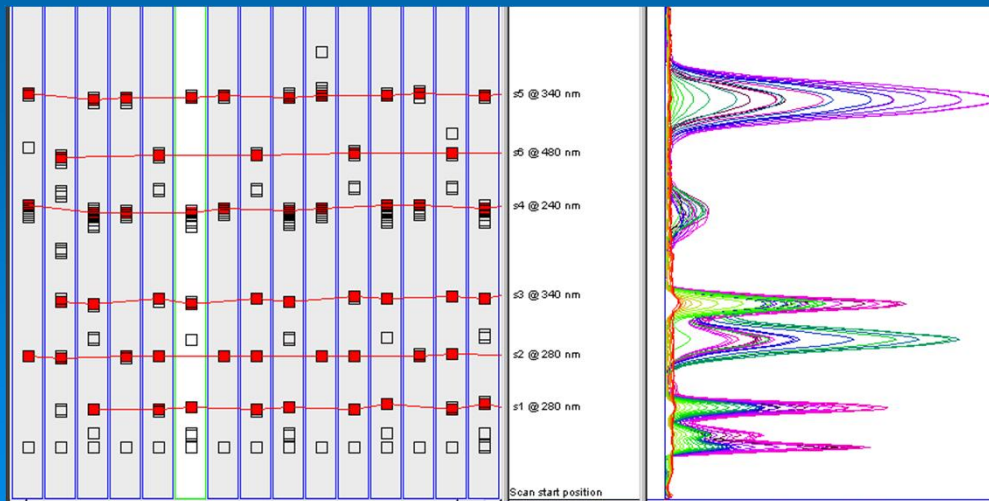
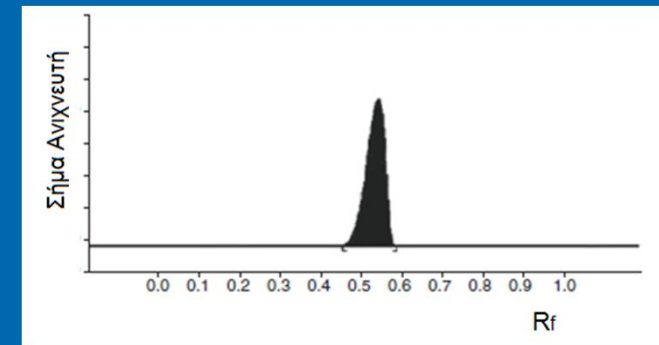
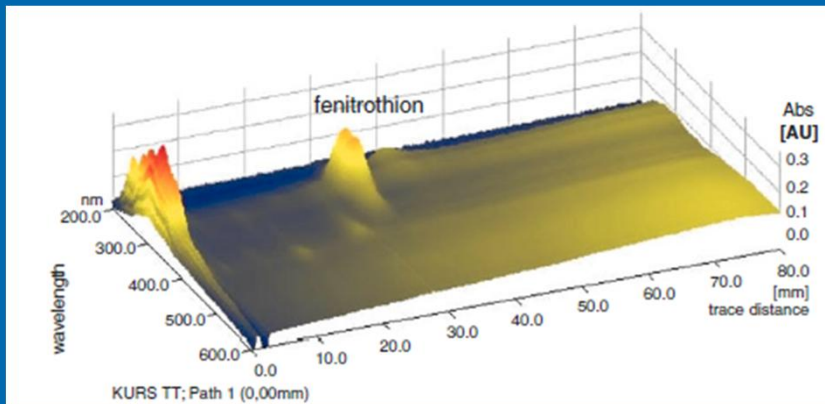
# ΕΠΙΠΕΔΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Ποιοτικός Προσδιορισμός: Με βάση τον **λόγο μετώπου** (frontal ratio)  $R_f$ : Λόγος απόστασης που έχει διανύσει η ουσία (**κέντρο κηλίδας**) προς την απόσταση που διένυσε ο διαλύτης  $R_f = \beta/\alpha$ .



# TLC ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑ

Το TLC χρωματογράφημα έχει ως τετμημένη την απόσταση ή τον λόγο μετώπου ( $R_f$ ) αντί του χρόνου. Ο άξονας των y αντιστοιχεί στο σήμα του ανιχνευτή, όπως και στην χρωματογραφία στήλης.



# ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ TLC

- Επέκταση στατικών φάσεων (π.χ. χημικά συνδεδεμένες φάσεις  $C_8$ ,  $C_{18}$  έως χειρόμορφες στατικές φάσεις) → Μεγαλύτερο εύρος εφαρμογών.
- Διαχωρίζονται διάφορες οργανικές ουσίες (π.χ. υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, φαινόλες, καρβοξυλικά οξέα, αιθέρες, οργανομεταλλικά μόρια). Το πεδίο εφαρμογής της TLC περιλαμβάνει ειδικές κατηγορίες ενώσεων όπως βιταμίνες, ένζυμα, αντιβιοτικά, αγροχημικά, φαρμακευτικά μόρια κ.λ.π.
- Εφαρμογές TLC στην φυτοχημική ανάλυση, ανάλυση τροφίμων, αναλύσεις καλλυντικών και κλινική ανάλυση, anti-doping control, τοξικολογία και ιατροδικαστική.
- Παραδείγματα εφαρμογών: Προσδιορισμός ουσιών σε βιολογικά υγρά (κυρίως μορφίνη/ ηρωίνη σε ούρα ασθενών, ανίχνευση αναβολικών σε ούρα/ αίμα).