

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Α. Μπαδέκα

Αναπλ. Καθηγήτρια

Τμήμα Χημείας – Παν/μιο Ιωαννίνων

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- Μέθοδος διαχωρισμού των συστατικών ενός μίγματος και συνδυάζει την απλότητα, την ακρίβεια, την ευαισθησία, τη μεγάλη διαχωριστική ικανότητα, τη δυνατότητα ανάλυσης μικρών δειγμάτων και το ευρύ φάσμα των εφαρμογών της.

- Μέθοδος διαχωρισμού – σειρά εκλεκτικών προσροφήσεων ή κατανομών μεταξύ μιας στατικής φάσης με μεγάλη επιφάνεια και μιας κινούμενης φάσης.
- Και για παρασκευαστικούς σκοπούς, διερεύνηση δομής σε μοριακό επίπεδο, προσδιορισμός φυσικοχημικών σταθερών, θερμοδυναμικών παραμέτρων κτλ.

ΕΙΔΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

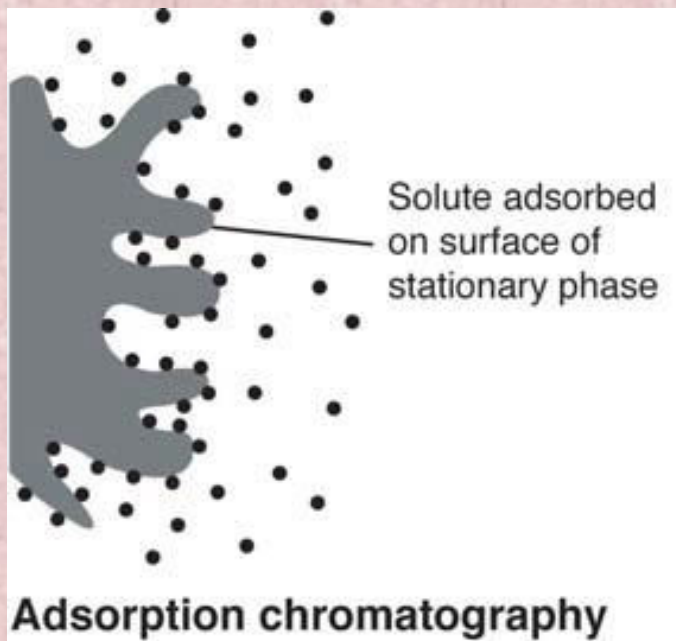
Κινούμενη φάση	Αέριο	
	Αέρια χρωματογραφία	
Στατική φάση	Υγρό	Στερεό
	Χρωμ. Αέριου/Υγρού	Χρωμ. Αέριου/Στερεού
Φ/Χ φαινόμενο	Κατανομή	Προσρόφηση

ΕΙΔΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

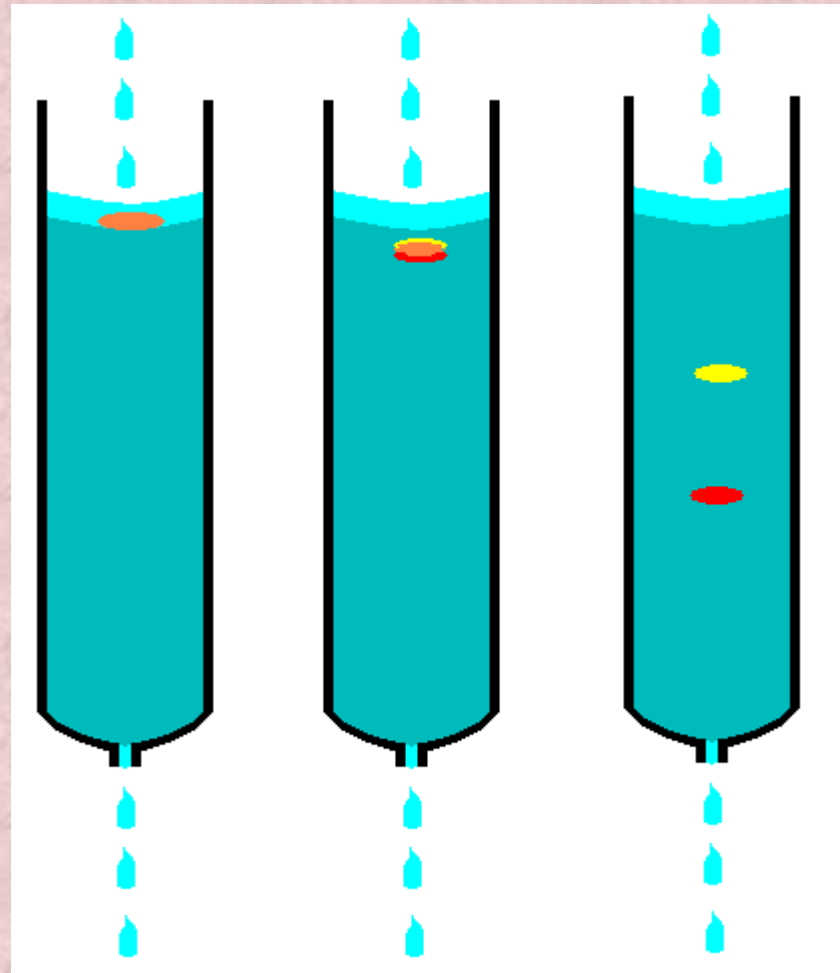
Κινούμενη φάση	Υγρό			
	Υγρή χρωματογραφία			
	TLC	Χάρτου	Στήλης (απλής & HPLC)	
Στατική φάση	Υγρό		Στερεό	
	Χρωμ. Υγρού/Υγρού		Χρωμ. Υγρού/Στερεού	
Φ/Χ φαινόμενο	Κατανομή		Διάχυση σε πηκτή	Προσρό- φηση Ιονανταλ- λαγή

Χρωματογραφία προσρόφησης

- Διαδοχικές εκλεκτικές προσροφήσεις και εκροφήσεις από στερεή στατική φάση με τη βοήθεια κινούμενου ρευστού.
- Λεπτή στοιβάδας ή στήλης (απλή, αέρια χρωματογραφία, υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης).
- Συντελεστής κατανομής $K_d = C_s / C_M$ (C_s : στην στατική φάση, C_M : στην κινούμενη φάση)



Van der Waals, μεταξύ
διπόλων, δεσμοί υδρογόνου

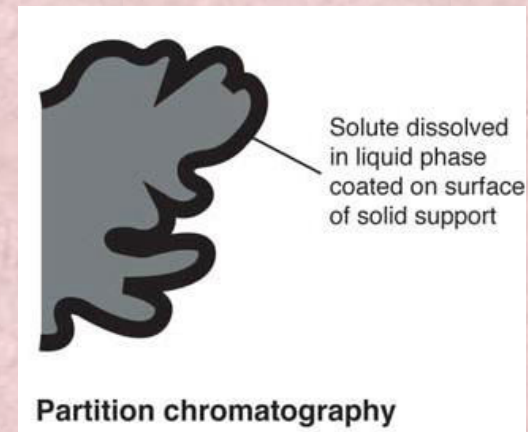


- Προσροφητικά μέσα silica gel, alumina, οξείδιο του μαγνησίου, σάκχαρο κ.α. – ένα ή συνδυασμός τους.
- Πολικές ουσίες – μη πολικά προσροφητικά.
- Μέγεθος και επιφάνεια προσροφητικού.
- Διαλυτικό (**μίγμα διαλυτών**) ανάλογα με την πολικότητα των συστατικών του προς διαχωρισμό μίγματος.
- Όμοια διαλύουν όμοια.

- Π.χ. πολικός διαλύτης σε μίγμα μη πολικών ενώσεων, ο διαλύτης θα προσροφηθεί και το δείγμα θα διέλθει χωρίς διαχωρισμό.
- Μη πολικός διαλύτης σε πολικό μίγμα, τα συστατικά του θα προσροφηθούν στην αρχή της στήλης – μη διαχωρισμός.
- Πετρελαϊκός αιθέρας < τολουόλιο < χλωροφόρμιο < αιθέρας < ακετόνη < ακετονιτρίλιο < μεθανόλη < νερό

Χρωματογραφία κατανομής

- Διαδοχικές εκλεκτικές κατανομές μεταξύ 2 μη μιγνυόμενων ρευστών.
- Λεπτής στοιβάδας ή στήλης (απλή, αέρια χρωματογραφία, υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης).
- Συντελεστής κατανομής.

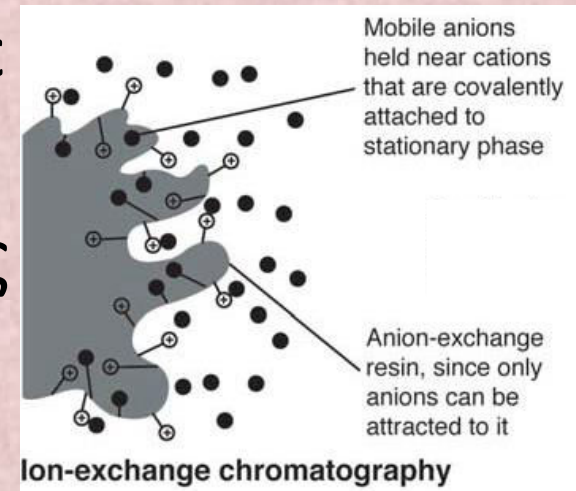


- Διαχωρισμός κατά τάξεις υδρόφιλων ουσιών με μεγάλες διαφορές πολικότητας.
- Χαρακτηριστικό παράδειγμα – χρωματογραφία ανεστραμμένης φάσης (στατική πολική – κινούμενη μετρίως ή μη πολική).

Εάν οι ουσίες είναι ελάχιστα διαλυτές στο νερό συμπαρασύρονται από την μη πολική κινούμενη φάση – δεν υπάρχει διαχωρισμός. Διαποτισμός της στατικής φάσης με ένα μέσο (μη υδατικό) το οποίο δρα ως στατική φάση.

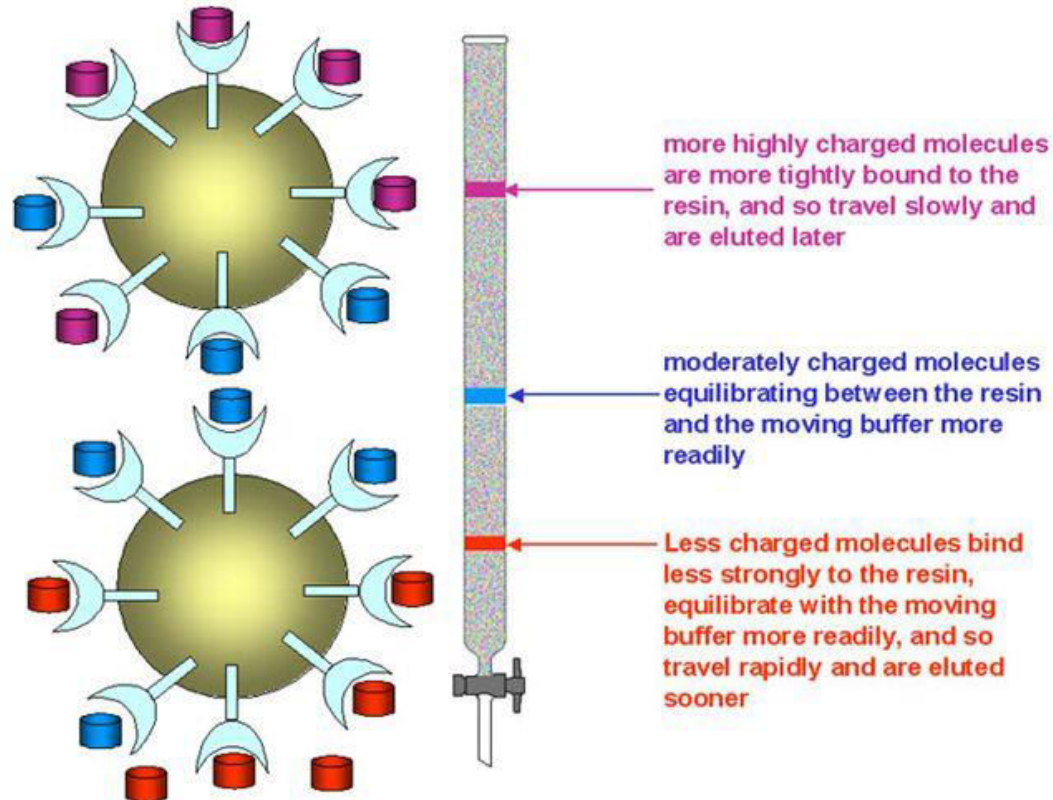
Χρωματογραφία Ιονανταλλαγής

- Εκλεκτικές δεσμεύσεις και αποδεσμεύσεις μεταξύ ενός υγρού κι ενός πορώδους στερεού που φέρει δραστικές ομάδες μέσω των οποίων συνδέονται ευκίνητα ιόντα που μπορούν να ανταλλάγουν με ιόντα του υγρού.
- Ανόργανες και οργανικές ενώσεις στις οποίες περιλαμβάνονται σύνθετα μόρια (πρωτεΐνες, ορμόνες, ένζυμα, νουκλεϊνικά οξέα κ.α.)

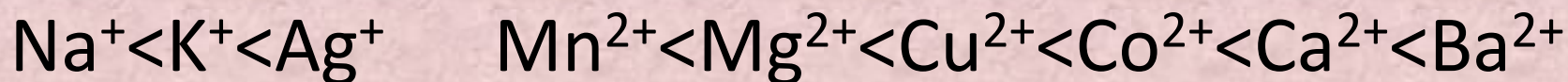


- Δυνάμεις Coulomb (ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις).
- Το υλικό μπορεί να είναι μία ανόργανη ουσία της οποίας τα άτομα φέρουν αρνητικό φορτίο.
- Καταστρέφονται από ισχυρά οξέα και βάσεις.
- Οργανικοί ιονανταλλάκτες (συνθετικές ρητίνες π.χ. πολυστυρόλιο) ο σκελετός τους περιέχει χημικές ομάδες που μπορούν να ανταλλάξουν ιόντα με το περιβάλλον.

Μηχανισμός Ιονανταλλαγής σε Χρωματογραφία Στήλης



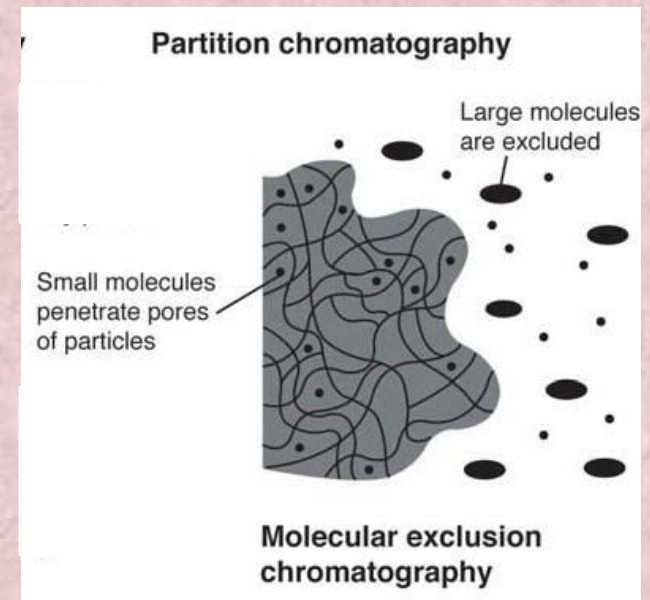
- Κατιονανταλλακτικές $\text{RH}^+ + \text{Na}^+ \rightarrow \text{RNa}^+ + \text{H}^+$
- Ανιονανταλλακτικές $\text{R}^+ \text{OH}^- + \text{Cl}^- \rightarrow \text{R}^+ \text{Cl}^- + \text{OH}^-$
- Σε χαμηλές συγκεντρώσεις και θερμοκρασίες η τάση για ανταλλαγή ιόντων αυξάνει με αύξηση του σθένους $\text{Na}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Al}^{3+}$
- Για ίδιο σθένος η τάση αυξάνεται με τον ατομικό αριθμό του ιόντος

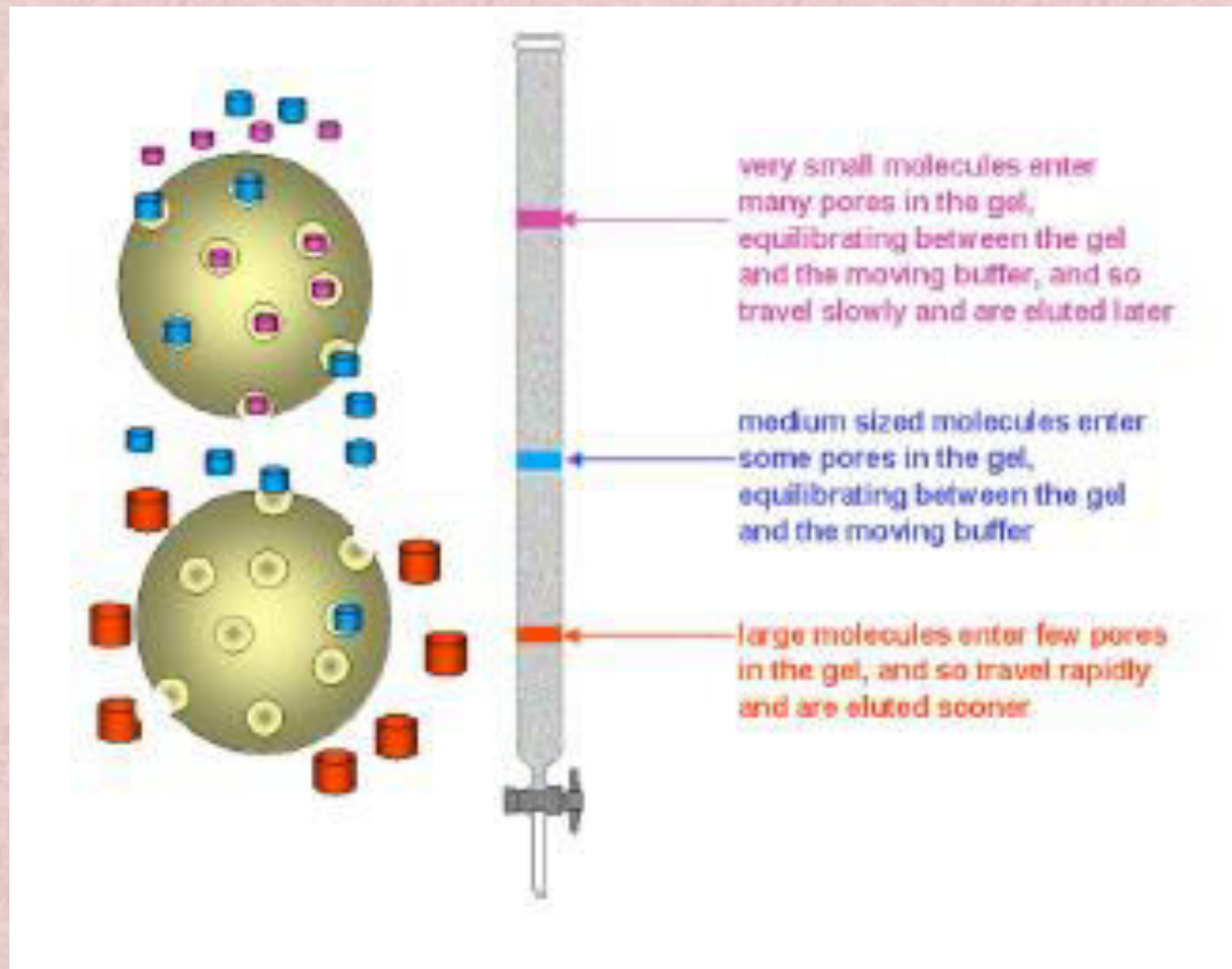


- Σε υψηλές συγκεντρώσεις η τάση για ανταλλαγή ιόντων μηδενίζεται.
- Σε υψηλές θερμοκρασίες η τάση ανταλλαγής ιόντων παρόμοιου φορτίου εξομοιώνεται.

Χρωματογραφία πηκτής

- Με βάση το μέγεθος των προς διαχωρισμό ουσιών πάνω σε πορώδες υλικό
- Μόρια με διάμετρο μικρότερη ή ίση με τη διάμετρο των πόρων εισέρχονται και κατακρατούνται από τους πόρους.
- Μόρια με μεγαλύτερη διάμετρο διέρχονται χωρίς καμία αλληλεπίδραση και εξέρχονται πρώτα.





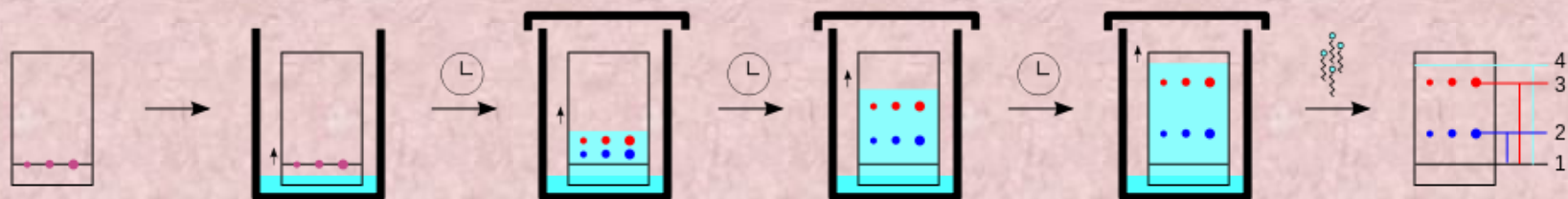
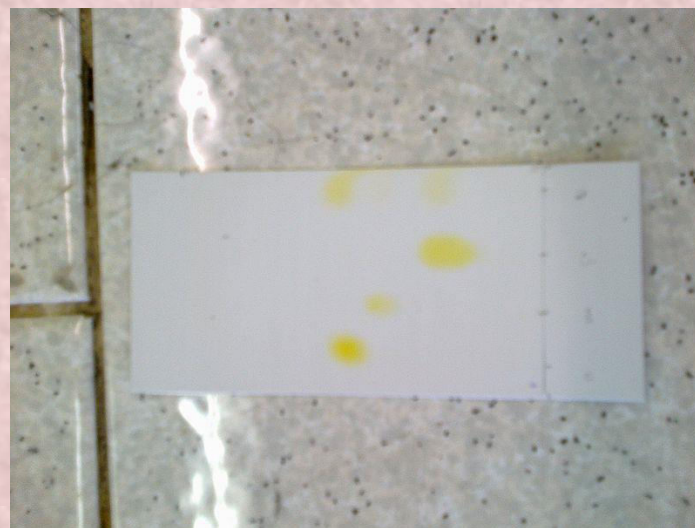
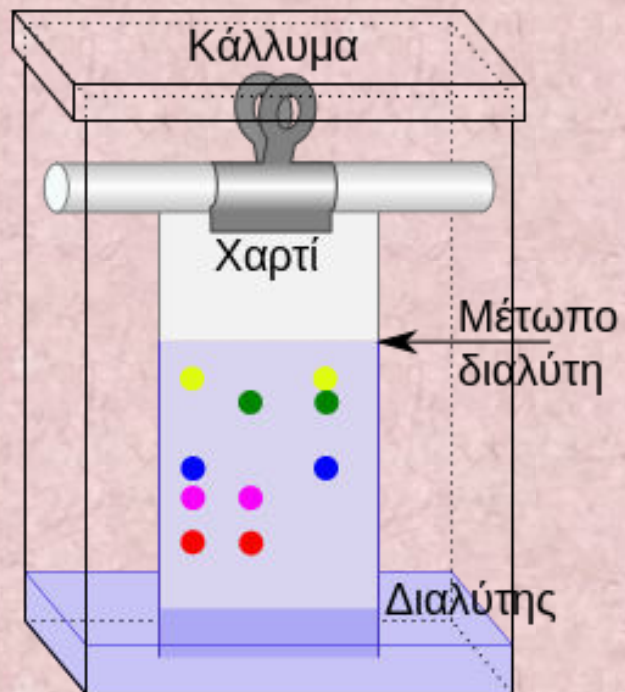
- Υλικό που έχει την ικανότητα να απορροφήσει διαλύτη, να γίνει διόγκωση έτσι ώστε να διαχυθούν τα μόρια των προς διαχωρισμό ουσιών.
- Πολικοί και μη πολικοί διαλύτες.
- Ο βαθμός διόγκωσης του πολυμερούς και συνεπώς το μέγεθος πόρων εξαρτάται από τη φύση και τη σύσταση του διαλύτη. Με τη βαθμωτή έκλυση μεταβάλλεται το μέγεθος πόρων.
- Μικρά σωματίδια – μεγαλύτερη διαχωριστική ικανότητα – χαμηλή ροή.

Χρωματογραφία χάρτου και λεπτής στοιβάδας

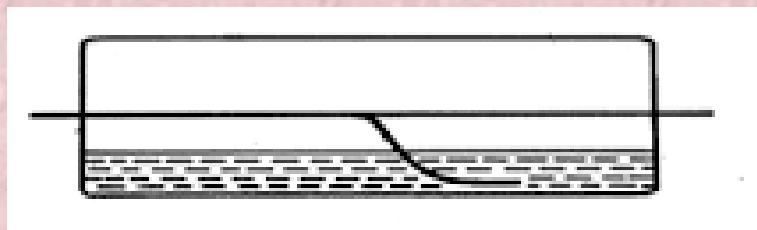
- Απομόνωση, ταυτοποίηση και ποσοτικός προσδιορισμός μικρού ΜΒ οργανικών αλλά και ανόργανων ουσιών.
- Η TLC πλεονεκτεί γιατί είναι πιο ευαίσθητη.
- Χρωμ. Χάρτου (κυτταρίνη) – κατανομή.
- Η TLC (alumina, silica gel, κυτταρίνη κ.α.) – προσρόφηση ή κατανομή.

- Ο διαλύτης λαμβάνει ενεργό μέρος στη διαδικασία προσρόφησης – συναγωνίζεται με το δείγμα για την κάλυψη των ενεργών κέντρων.
- Διάφορα συστήματα διαλυτών έτσι ώστε να επιτευχθεί ο καλύτερος διαχωρισμός.
- Στην PC – επιλέγεται ο διαλύτης.
- Στην TLC – επιλέγεται σύστημα διαλύτη/προσροφητή.

- Τοποθέτηση με μορφή κηλίδας του δείγματος 2,5 cm από το άκρο του χάρτου ή της πλάκας TLC.
- Τοποθέτηση σε δοχείο χρωματογράφησης στο οποίο συνήθως έχει γίνει κορεσμός της ατμόσφαιρας με τον διαλύτη.
- Στη βάση ή στην κορυφή του δοχείου βρίσκεται ο διαλύτης κι έτσι ανέρχεται ή κατέρχεται ο διαλύτης μέσω του χάρτου ή της πλάκας TLC.



- **Κυκλική τεχνική:** Ένα κυκλικό διηθητικό χαρτί λαμβάνεται και το δείγμα τοποθετείται στο κέντρο του χαρτιού. Μετά την ξήρανση της κηλίδας το διηθητικό χαρτί συνδέεται οριζόντια σε ένα τρυβλίο petri που περιέχει διαλύτη, έτσι ώστε το συστρεμμένο χαρτί (“φυτίλι” - wick) να εμβαπτίζεται στον διαλύτη και ο διαλύτης ανεβαίνει μέσω του “φυτιλιού” και τα συστατικά διαχωρίζονται με τη μορφή συγκεντρωτικής κυκλικής ζώνης.



- **Δυσδιάστατη τεχνική:** Δύο διαφορετικά διαλυτικά. Προσθήκη του πρώτου – ανάπτυξη σε μία διεύθυνση. Στη συνέχεια το χαρτί ή η πλάκα ξηραίνεται, στρέφεται κατά 90° , προσθήκη δεύτερου διαλυτικού και ανάπτυξη κατά τη νέα διεύθυνση.

Καλύτερος διαχωρισμός, μεγάλη ποικιλία ενώσεων.

- Υπολογίζεται το R_f (μέτρο ταχύτητας)

$$R_f = S_x/S_\delta$$

S_x = απόσταση που διέτρεξε η ουσία x

S_δ = απόσταση που διέτρεξε ο διαλύτης

- Επίσης χρησιμοποιούνται πρότυπες ενώσεις και σύγκριση των R_f τους με τα άγνωστα.

Εμφάνιση χρωματογραφήματος

- Εάν είναι έγχρωμες οι ουσίες δεν χρειάζονται εμφάνιση.
- Εάν είναι άχρωμες απαιτείται ειδική τεχνική εμφάνισης (καταστρεπτικές ή μη).
- Μη καταστρεπτικές – UV, ψεκασμός με κατάλληλο διαλύτη, θάλαμος I_2 , μέτρηση ραδιενέργειας.

- Καταστρεπτικές – α) οξείδωση (H_2SO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ – απανθράκωση) μόνο στην TLC, β) ειδικές αντιδράσεις (νινυδρίνη, βρωμοκρεσόλη κ.α.)
- Εκτός από τη μέτρηση των R_f γίνεται και απομάκρυνση των κηλίδων και αναλύονται περαιτέρω με διάφορες άλλες μεθόδους ανάλυσης.

Ποσοτικός προσδιορισμός

- Μέτρηση εμβαδού.
- Μέτρηση του χρώματος με φωτόμετρο.
- Μέτρηση της έντασης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας.
- Ζύγιση του χαρτιού μετά την αποκοπή της κηλίδας.
- Εκχύλιση της ένωσης από το χαρτί ή την TLC και προσδιορισμός με κλασσικές μεθόδους.

Εφαρμογή - PC

- Πρωτεΐνες-αμινοξέα: Διάκριση ξυδιού από ζύμωση και συνθετικού ξυδιού. Κηλίδες αμινοξέων – ναι στο φυσικό, όχι στο συνθετικό. Αμινοξέα αλευριού, ζύμης και ψωμιού (ιονανταλλαγή).
- Αιθέρια έλαια: Προέλευση αιθέριων ελαίων. Συλλογή φαινολών (απόσταξη με υδρατμούς – σύζευξη με διαζωνικά άλατα). Διαφορές R_f και του χρώματος.

- Λιπαρές ύλες: Διάκριση μονο- και διγλυκεριδίων (ανεστραμμένη φάση). Τα μονο- αντιδρούν απ' ευθείας στο χρωματογράφημα με HIO_4 /αντιδρ. Schiff, τα διγλυκερίδια απαιτούν αποικοδόμηση.
 - Ανάλυση λιπαρών οξέων των ελαίων και λιπών φυτικής και ζωικής προέλευσης.
 - Προσδιορισμός ποιότητας ψαριών: το βουτυρικό οξύ στο φρέσκο είναι αμελητέα – αυξάνεται στα αλλοιωμένα.

- Υδατάνθρακες: γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη και λακτόζη – διαιτητικά τρόφιμα.
- Ανίχνευση σκόνης γάλακτος σε κρεατοσκευάσματα (λακτόζη → γαλακτόζη και γλυκόζη).
- Βιταμίνες: Υδατοδιαλυτές – ειδικό χαρτί με ιονανταλλάκτη. Λιποδιαλυτές – με αλουμίνα.

- **Νοθεία:** Ελαίων π.χ. Το κραμβέλαιο – ερουκινό οξύ, σογιέλαιο & λινέλαιο – λινολεϊκό οξύ, ηλιέλαιο – λιγνοκερικό & βεχενικό.
- Η περιεκτικότητα σε βουτυρικό οξύ για νοθεία στο βούτυρο με μαργαρίνη.
- Υδρολυμένο αμυλοσιρόπι στο μέλι.
- Πορτοκαλοχυμός με εκχύλισμα σόγιας: ραφινόζη, σταχυόζη (όχι στο πορτοκάλι).
- Διάφορα χημικά συντηρητικά.

Εφαρμογές TLC

- Λιπαρές ύλες: Διαχωρισμός σύμφωνα με τον αριθμό και τη θέση των διπλών δεσμών.
- Παρουσία λίπους γάλακτος, η παρουσία συκωτιού σε κρεατοσκευάσματα.
- Ανάλυση λιπαρών οξέων (μεθυλεστέρες), φωσφολιπιδίων, σύσταση του λίπους του γάλακτος, λιποδιαλυτών χρωστικών κ.α.
- Υδατάνθρακες, Πρωτεΐνες, Βιταμίνες, Πρόσθετα, Νοθεία κ.α.

- Υδατάνθρακες: σακχαρόζη σε κρασί και μούστο, η λακτόζη σε κρεατοσκευάσματα.
- Πρωτεΐνες: αμινοξέα και παράγωγά τους.
- Βιταμίνες.
- Πρόσθετα: συνθετικές χρωστικές, χημικά συντηρητικά, γλυκαντικά σε αναψυκτικά. Αντιοξειδωτικά σε λιπαρά δείγματα
- Διάφορα: κατάλοιπα φυτοφαρμάκων, αφλατοξίνες, γνησιότητα εκχυλισμάτων βανίλιας, κανέλλας, ελαίων σε ελαιόλαδο κ.α.

ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ HPLC

- Ως υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ορίζεται η μέθοδος διαχωρισμού ενός μίγματος στα συστατικά του, η οποία λαμβάνει χώρα με διαδοχικές προσροφήσεις/ εκροφήσεις ή κατανομές μεταξύ μιας στατικής φάσης και μιας κινητής υγρής φάσης με τη βοήθεια πίεσης μεγαλύτερης της ατμοσφαιρικής.

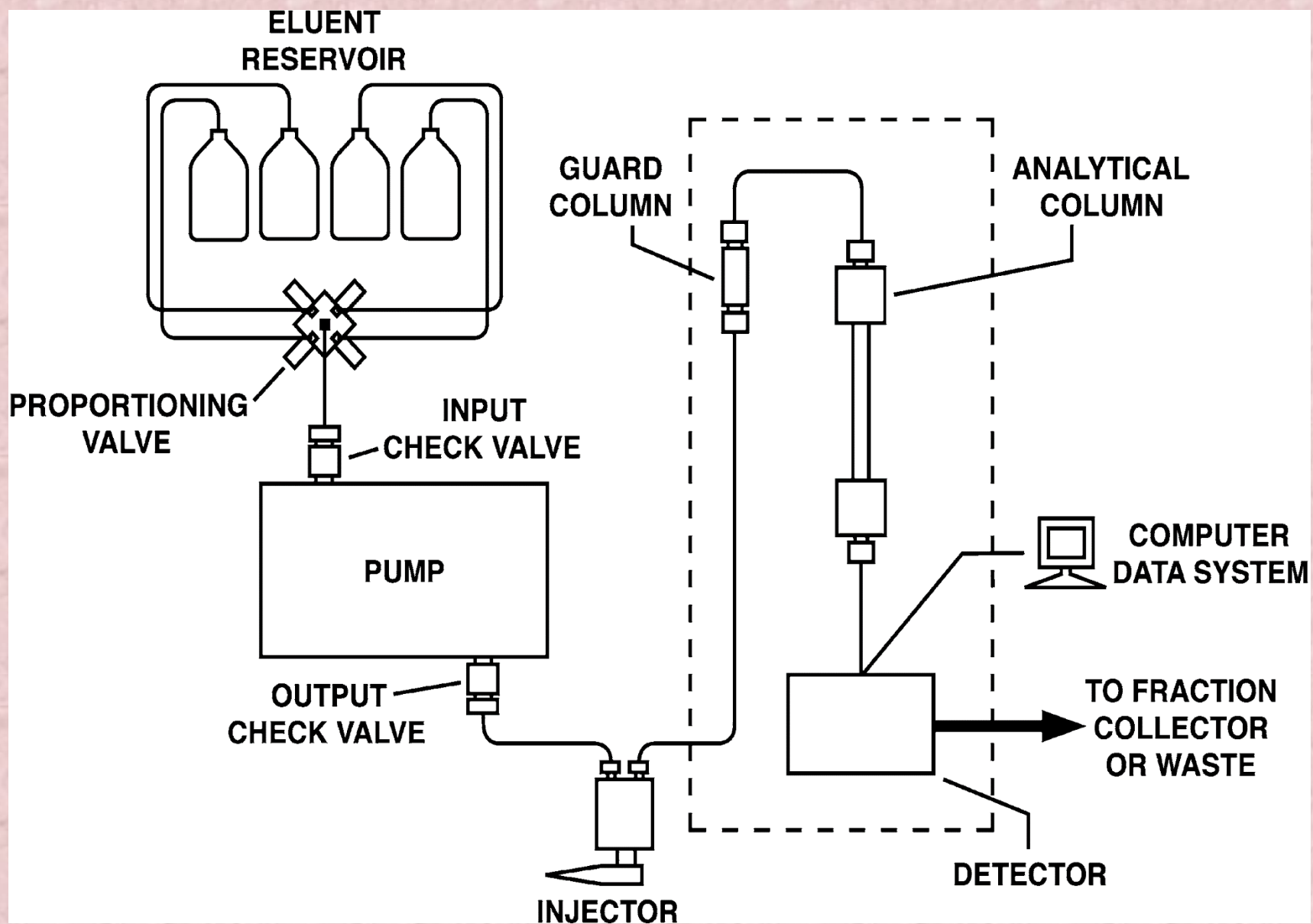
Πλεονεκτήματα έναντι άλλων τεχνικών υγρής χρωματογραφίας

- Ο διαχωρισμός γίνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα
- Μεγάλη ποικιλία στατικών φάσεων
- Υψηλή διακριτική ικανότητα
- Μεγάλη ακρίβεια και επαναληπτικότητα
- Λιγότερη ποσότητα εκλουστικού για την ανάλυση
- Δυνατότητα αυτοματοποίησης

Πλεονεκτήματα έναντι της GC

- Ανάλυση μη πτητικών ενώσεων π.χ. αμινοξέα, λιπίδια, χρωστικές
- Ανάλυση μεγαλομοριακών ενώσεων π.χ. πολυμερή, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα
- Παρέχει δυνατότητα συνδυασμού 2 φάσεων – καλύτερος διαχωρισμός
- Λειτουργεί σε πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες σε σύγκριση με την GC (μη αποικοδόμηση ή μη απώλεια)

- Παρέχει τη δυνατότητα χρήσης μιας μεγάλης ποικιλίας ανιχνευτών (φασματοφωτομετρικών, ηλεκτροχημικών, δείκτη διάθλασης, φασματογράφου μάζας)



Κανονικής φάσης

- Στατική φάση – πολική - με βάση τη silica στην οποία έχουν χημικά συνδεθεί πολικές λειτουργικές μονάδες (υδροξυλομάδες, νιτροομάδες, νιτριλομάδες, αμινομάδες) (πολικές και λιποδιαλυτές).
- Κινούμενη φάση – μη πολική (π.χ. εξάνιο με έναν τροποποιητή πιο πολικό π.χ. μεθυλενοχλωρίδιο έτσι ώστε να ελέγχεται η ισχύς και η εκλεκτικότητα του διαλύτη).
- Η ισχύς αναφέρεται στο τρόπο με το οποίο η διαλύτης επιδρά στο ρυθμό μεταφοράς του δείγματος. **Αδύναμοι** διαλύτες – αυξάνουν την κατακράτηση. **Ισχυροί** διαλύτες – ελαττώνουν την κατακράτηση.

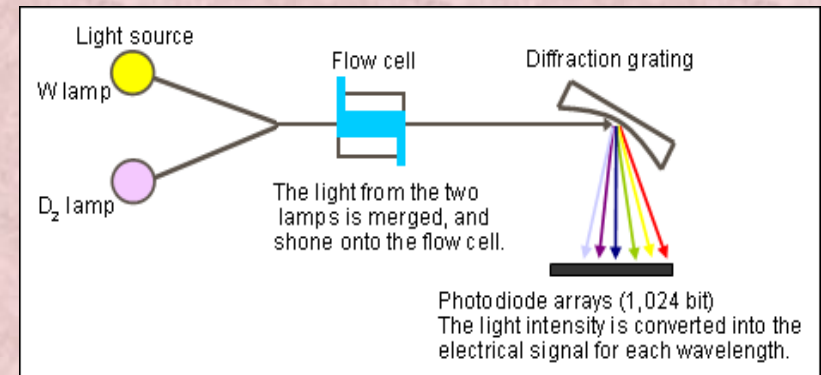
Ανεστραμμένης φάσης

- Στατική φάση – μη πολική. Χημικά δεσμευμένες αλυσίδες με 18, συνήθως, άτομα άνθρακα ή φανυλομάδων. Οι διαφορές στην συμπεριφορά της στατικής φάσης οφείλονται στη φύση της οργανικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στη silica ή το μήκος της αλυσίδας της.
- Κινούμενη φάση – πολική. Μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, νερό.
- Οι ενώσεις παραμένουν στη στήλη λόγω της υδροφοβικότητά τους και εκκλούνται με σειρά αυξανόμενης υδροφοβικότητας (μη πολικές ενώσεις).
- **Αυξάνοντας το πολικό** συστατικό του διαλύτη αυξάνεται η κατακράτηση. Το αντίθετο –**οργανικός** διαλύτης.

ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

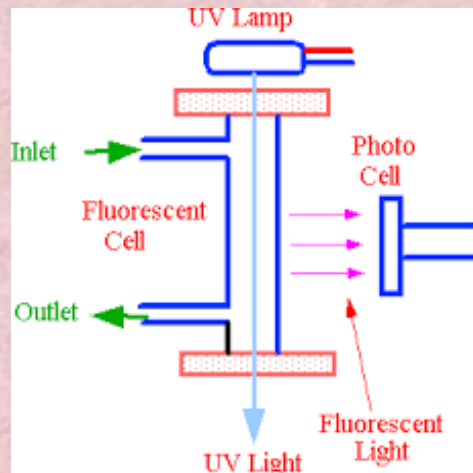
Ανιχνευτής ορατού – υπεριώδους (UV-Vis)

- Μέτρηση της απορρόφησης από μία ένωση που περιέχει χρωμοφόρα ομάδα.
- $-X = Y$ όπου $X = C, S, P$ $Y = O, S, P, N$ $Z = S, P$
|
Z
τα Y, Z φέρουν ασύζευκτα e
- Υπάρχουν 2 λάμπες, μία από δευτέριο (UV) μία η άλλη από βολφράμιο (Ορατό – Vis)
- Σταθερό μήκος κύματος
- Πολλαπλό μήκος κύματος
- Συστοιχία διοδίων.



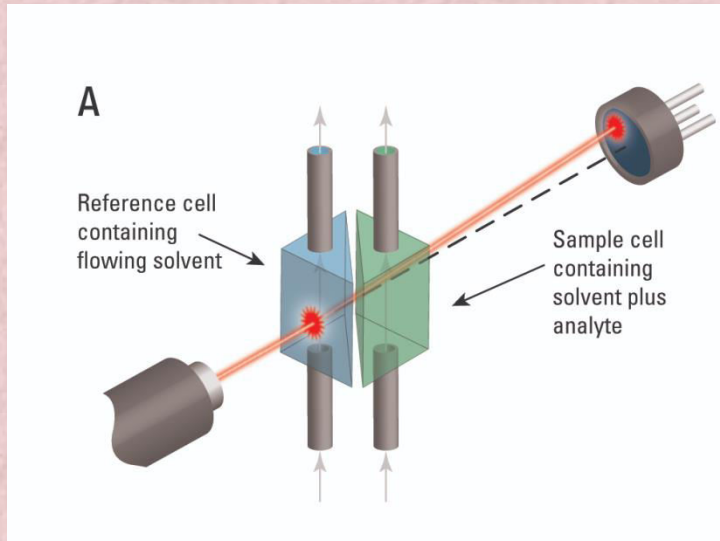
Ανιχνευτής φθορισμού (FLD)

- Κάποιες οργανικές ενώσεις μπορούν να επανεκπέμψουν ένα μέρος της απορροφούμενης UV-Vis ακτινοβολίας σε ένα μεγαλύτερο μήκος κύματος (μικρότερη ενέργεια).
- Είναι πολύ ευαίσθητος (έως και 1000 φορές πιο ευαίσθητος από τον UV-Vis).
- Συνήθως οι ενώσεις προς ανάλυση μετατρέπονται σε παράγωγα που φθορίζουν.
- Για ανίχνευση ιχνών (βιταμίνες, αφλατοξίνες κ.α.)



Ανιχνευτής δείκτη διάθλασης (RI)

- Λόγω των διαλελυμένων ενώσεων στην κινητή φάση μεταβάλλεται ο δείκτης διάθλασης του διαλύτη.
- Όταν οι ενώσεις δεν περιέχουν χρωμοφόρες ομάδες.
- Είναι λιγότερο ευαίσθητοι.
- Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί βαθμωτή έκλυση (λόγω της αλλαγής του σήματος της baseline).
- Υδατάνθρακες, λιπίδια (σε υψηλή συγκέντρωση).



Ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές

- Βασίζονται στην ηλεκτροχημική οξείδωση ή αναγωγή των ενώσεων ή στις μεταβολές της αγωγιμότητά τους.
- Οι **αμπερομετρικοί** ανιχνευτές μετρούν την ένταση του ρεύματος καθώς ο αναλυτής οξειδώνεται ή ανάγεται κατά την εφαρμογή ενός δυναμικού.
- Ισχυρά εκλεκτικός και πολύ ευαίσθητος.
- Μειονέκτημα – συσσώρευση του οξειδωμένου προϊόντος στην επιφάνεια ηλεκτροδίου.

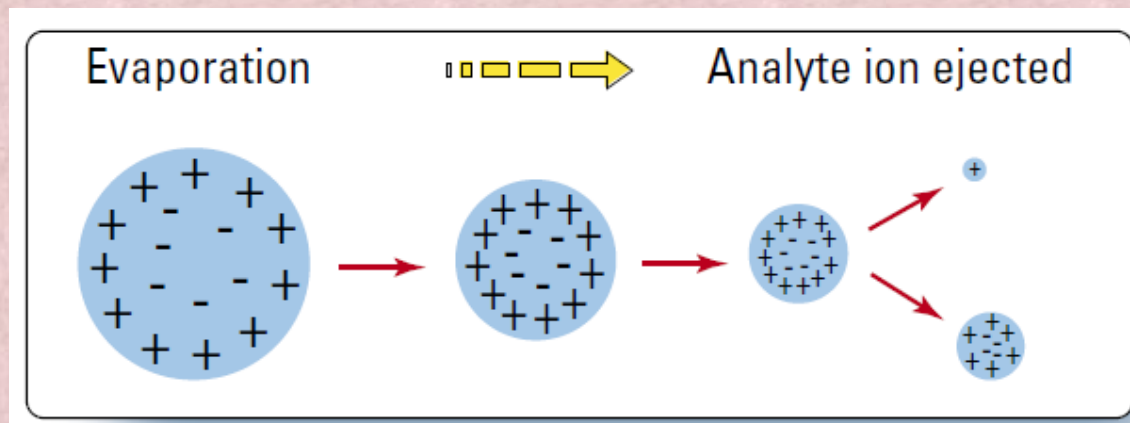
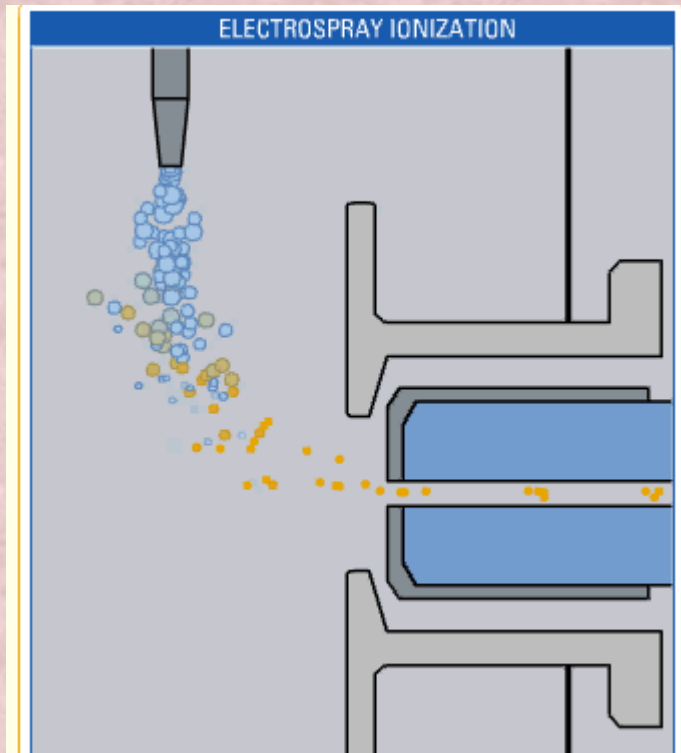
Ανιχνευτής φασματομετρίας μάζας (MS)

- **Ιοντισμός με Ηλεκτροψεκασμό (ESI)**

Ψεκασμός του υγρού δείγματος μέσα από τριχοειδή σωλήνα στον οποίο εφαρμόζεται υψηλή τάση (3-4 kV) και σχηματίζεται αερόλυμα φορτισμένων σωματιδίων.

- Γίνεται θετικός ή αρνητικός ιοντισμός.
- Π.χ. αμινομάδα – θετικός ιοντισμός
- Καρβοξυλομάδα – αρνητικός ιοντισμός.
- Μεγαλύτερη ταχύτητα ψεκασμού – μικρή ταχύτητα του διαλύτη έκλουσης.

- Μεγάλο εύρος MB (50-2000 Da).
- Μεγάλα μόρια (π.χ. πρωτεΐνες) μπορούν να αναλυθούν με LC-MS λόγω του φαινομένου πολλαπλού φορτίου. Π.χ. MB = 7845, με 4 θέσεις φορτίου $\rightarrow 7845/4 = 1962,3$.
- Πολικά και μετρίως πολικά μόρια.
- Θερμικά ασταθείς ενώσεις μπορούν να αναλυθούν.



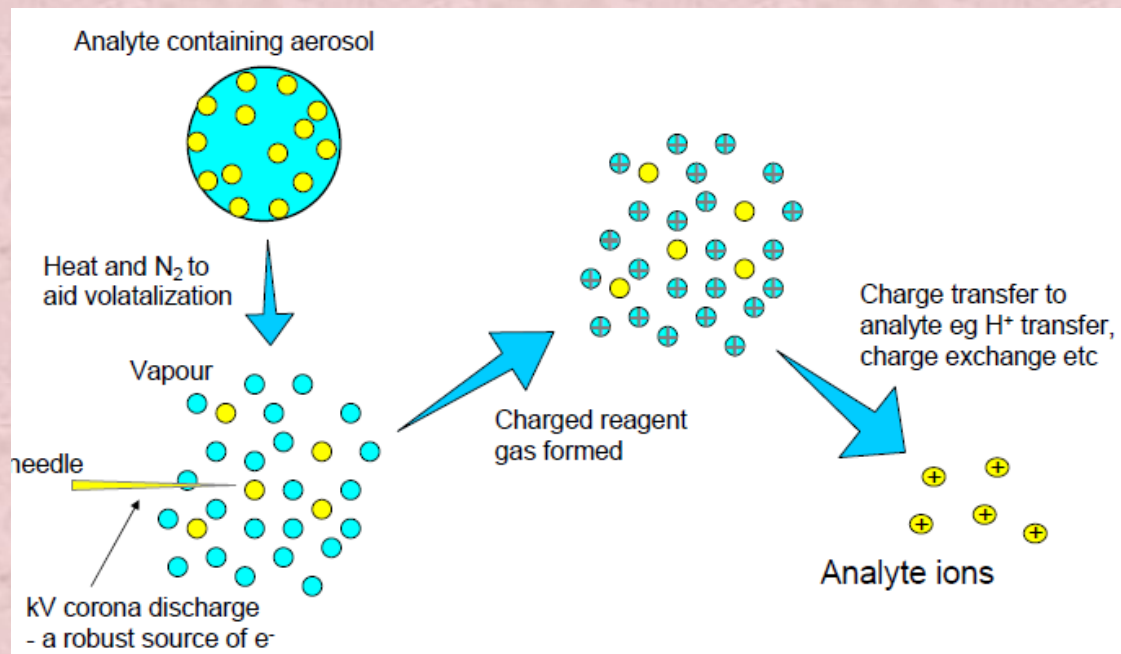
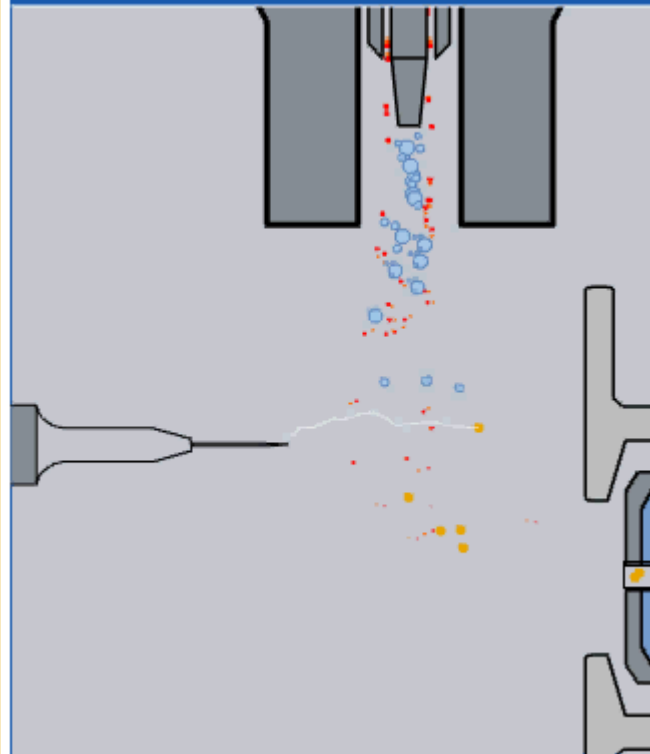
- Χημικός ιονισμός ατμοσφαιρικής πίεσης (APCI)

Το υγρό διέρχεται από τριχοειδή σωλήνα θερμαινόμενο, εξατμίζεται και σχηματίζονται αεριώδη μόρια.

Στην έξοδο του σωλήνα υπάρχει ακίδα (corona needle) σε υψηλή τάση που ιονίζει τον αέριο διαλύτη ή το N_2 το οποίο στη συνέχεια ιονίζει τα μόρια του αναλυτή (μεταφορά φορτίου).

- Είναι πιο «σκληρός» ιονισμός σε σχέση με τον ESI και γίνεται στην αέρια φάση.
- Για ενώσεις λιγότερο πολικές και σχετικά πτητικές.
- Δεν χρησιμοποιεί πολλαπλά φορτία επομένως δεν μπορούν να αναλυθούν ενώσεις με $MB > 1000 Da$.
- Όχι θερμοευαίσθητες ενώσεις.

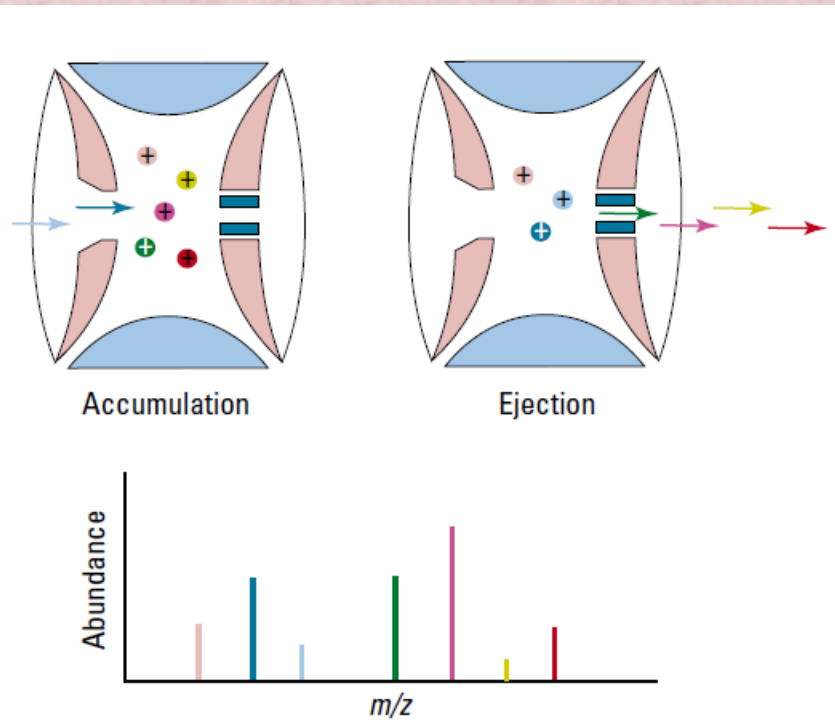
ATMOSPHERIC PRESSURE CHEMICAL IONIZATION



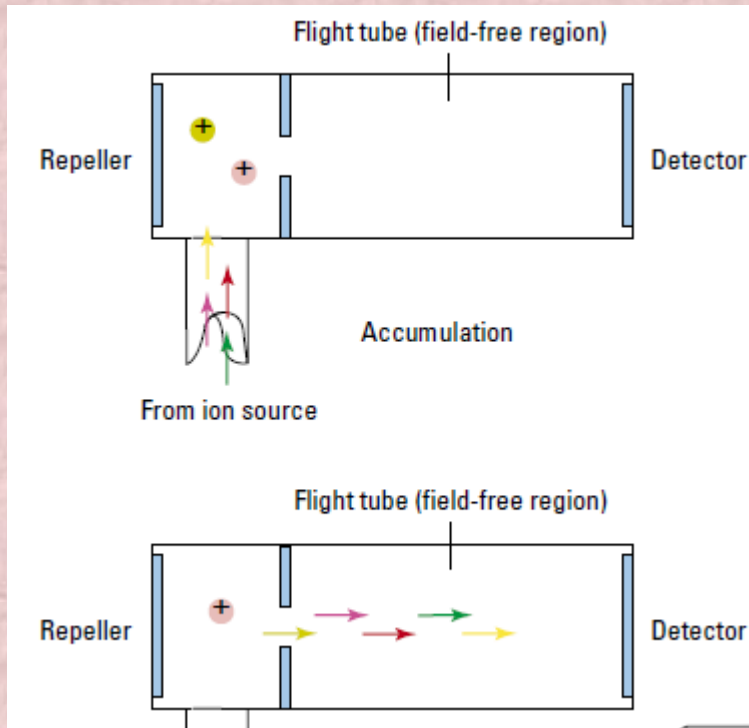
ION TRAP

- Είναι πολλαπλής διάστασης τετράπολα τα οποία αποθηκεύουν (παγιδεύουν) ιόντα και μετά τα εξάγουν σύμφωνα με το λόγο m/z . Μετά την παγίδευσή τους μπορεί να επιτευχθούν πολλαπλά στάδια MS (MS^n), η ανάλυση μάζας μπορεί να αυξηθεί και η ευαισθησία να βελτιωθεί αισθητά.

Η κυρίαρχη διαφορά μεταξύ της παγίδας ιόντων και του τετράπολου είναι ότι στην παγίδα ιόντων τα ασταθή ιόντα εξάγονται και ανιχνεύονται ενώ τα σταθερά ιόντα παγιδεύονται.



TOFF

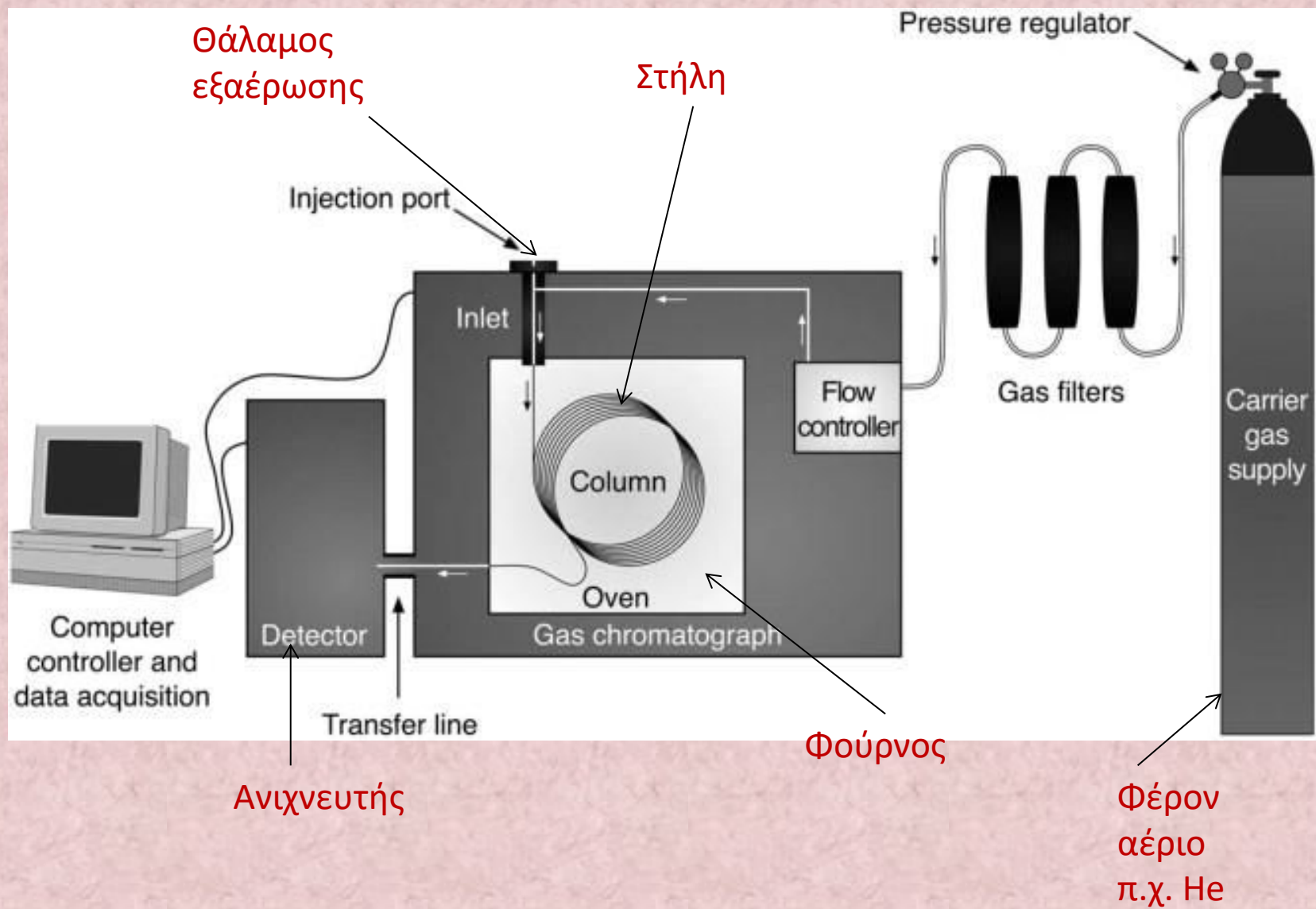


- Εφαρμόζεται ηλεκτρομαγνητικό πεδίο ταυτόχρονα σε όλα τα ιόντα με αποτέλεσμα να επιταχύνονται.
- Τα ελαφρύτερα ιόντα «ταξιδεύουν» πιο γρήγορα και φτάνουν πρώτα στον ανιχνευτή.
- Επομένως ανάλογα με το m/z φτάνουν στον ανιχνευτή.

ΑΕΡΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- Στη δεκαετία του '40 παρατηρήθηκε ότι η χρήση της αέριας φάσης διευκολύνει το χρωματογραφικό διαχωρισμό.
- Η αέρια χρωματογραφία (gas chromatography – GC) είναι μία ιδιαίτερη χρωματογραφική τεχνική με την οποία τα συστατικά ενός μίγματος διαχωρίζονται με συνδυασμό τριών διεργασιών: κατανομή, προσρόφηση και **διαφορά στο σημείο ζέσεως των συστατικών** στην αέρια φάση.



Στατική φάση

- **A. μη πολικές:** αποτελούνται από υδρογονάνθρακες, δεν περιέχουν αρωματικές ενώσεις, χρησιμοποιούνται για διαχωρισμό μη πολικών ενώσεων (υδρογονάνθρακες, μη πολικά φάρμακα, χλωριωμένα παρασιτοκτόνα κ.α.).
- **B. σχετικά πολικές:** αποτελούνται από μακριές αλυσίδες μη πολικών ενώσεων που φέρουν πολικές πλευρικές ομάδες ή μπορούν να καταστούν πολικές (φυτοφάρμακα, υποκατεστημένα βενζένια, αλογονωμένες ενώσεις κ.α.).
- **Γ. πολικές:** υγρές φάσεις με μεγάλο ποσοστό πολικών ομάδων για διαχωρισμό πολικών ενώσεων (οξέα, αλκοόλες, εστέρες, γλυκόλες κ.α.).

Μήκος της στήλης

Εσωτερική
διάμετρος

DB5, 30 m × 0,32 mm × 0,25 μm

Υλικό επίστρωσης:

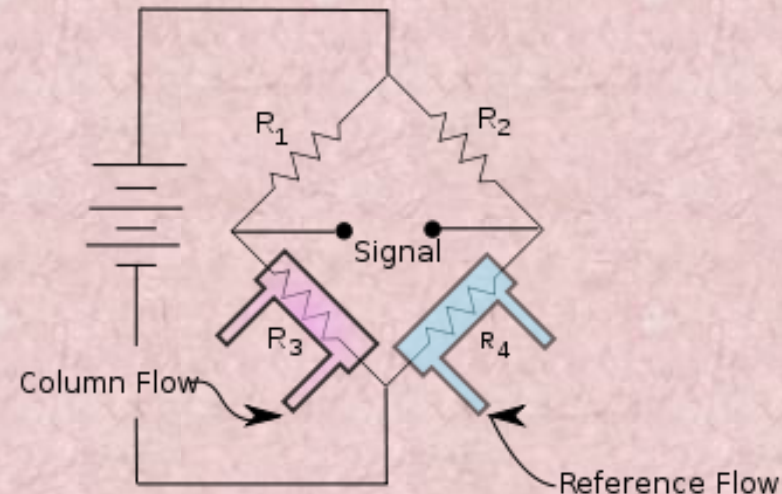
5% phenyl 95% dimethylpolysiloxane

Πάχος επίστρωσης

ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

Ανιχνευτής Θερμικής Αγωγιμότητας TCD

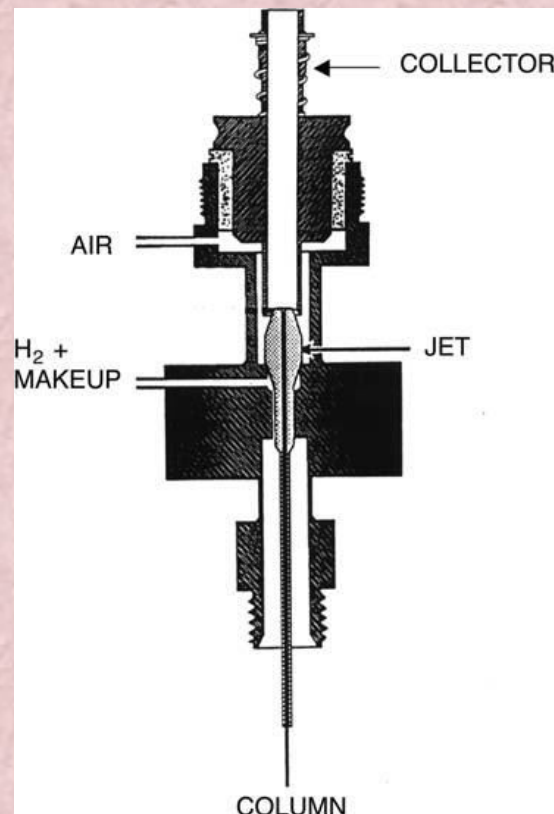
- Αποτελείται από σύρμα-αντίσταση σε θερμικά μονωμένο θάλαμο.
- Το σύρμα θερμαίνεται με ρεύμα σταθερής έντασης.
- Το φέρον αέριο ψύχει το σύρμα → ελάττωση της ηλεκτρικής του αντίστασης.
- Τα διαχωριζόμενα συστατικά έχουν διαφορετικές θερμικές αγωγιμότητες, επομένως μεταβάλλεται η θερμοκρασία και η ηλεκτρική αγωγιμότητα του σύρματος.



- Ενδείκνυται για τον προσδιορισμό ουσιών **που δεν καίγονται**.
- Ευθύγραμμη απόκριση μεταξύ ευρέων ορίων συγκέντρωσης.
- Αυξημένη ευαισθησία έναντι των μεταβολών στη ροή του φέροντος αερίου και τη θερμοκρασία.
- Ανώτατο όριο λειτουργία 500°C.

Ανιχνευτής Ιονισμού Φλόγας -FID

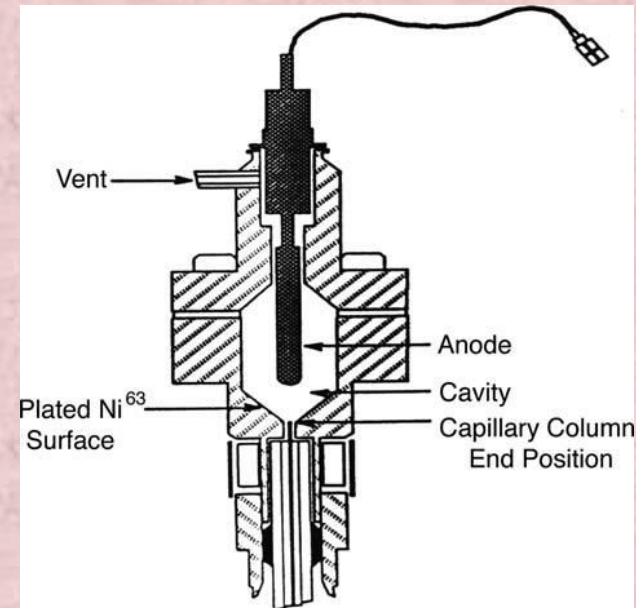
- Αέριο μίγμα H_2 και αέρα καίγεται και δημιουργείται φλόγα υψηλής θερμοκρασίας.
- Από τη στήλη μαζί με το φέρον αέριο εξέρχονται τα συστατικά (ένα-ένα) και καίγονται στη φλόγα
- Το συστατικό ιονίζεται, παράγονται ιόντα (+ & -).
- Τα ηλεκτρόδια έλκουν τα ιόντα και έτσι παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα, πολλαπλασιάζεται και μετατρέπεται σε σήμα (κορυφή).



1. Ενδείκνυται για **όλες τις οργανικές ενώσεις**.
2. Όχι για ανόργανες, H_2O , H_2S , CO_2 , NO_2 .
3. Παρέχει ευθύγραμμη απόκριση για μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων.
4. Ανώτατο όριο θερμοκρασίας $\sim 400^\circ\text{C}$.
5. Είναι 1000 πιο ευαίσθητος από τον TCD ($\sim 1\text{ng}$)

Ανιχνευτής Σύλληψης Ηλεκτρονίων ECD

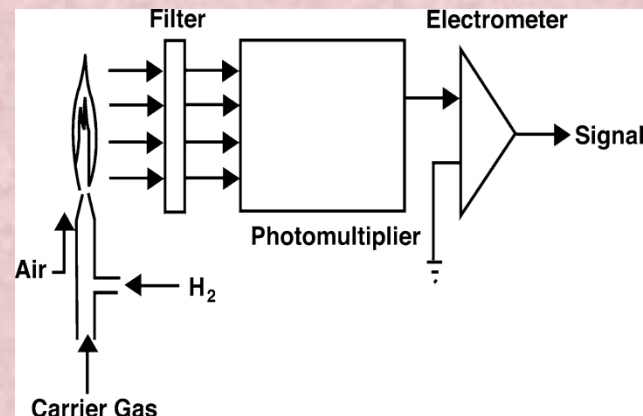
- Χρησιμοποιούνται ηλεκτρόνια υψηλών ταχυτήτων (β -σωμάτια) (Sr^{90} , H^3).
- Τα παραγόμενα ηλεκτρόνια παράγουν ρεύμα.
- Καθώς οι ενώσεις εκλούονται από τη στήλη, μερικά από τα ηλεκτρόνια δύναται να συλληφθούν από αυτές τις ενώσεις με αποτέλεσμα να μειώνεται το ρεύμα.
- Αυτή η διαφορά καταγράφεται και αντιστοιχεί ποσοτικά στην ποσότητα της ένωσης.



- Ενδείκνυται για **αλογονωμένες ενώσεις, συζυγείς καρβονυλικές ενώσεις, νιτρίλια, οργανομεταλλικές ενώσεις.**
- Η ευαισθησία τους είναι της τάξης του 0,1pg (10^{-13} g). 1000 έως 10000 φορές πιο ευαίσθητος από τον FID.
- Ευθύγραμμη απόκριση μεταξύ στενών σχετικά ορίων συγκέντρωσης.
- Όχι για ανόργανες ενώσεις, εκτός εάν περιέχουν αλογόνα, S, N κ.α.
- Είναι ευαίσθητος στις μεταβολές θερμοκρασίας της στήλης.
- Έχει ανώτατο όριο λειτουργίας τους 220°C.

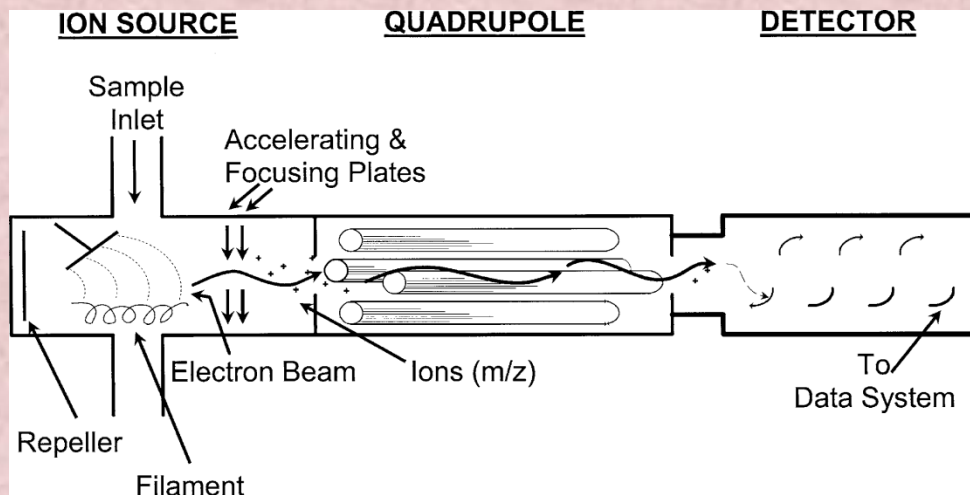
Φωτομετρικός ανιχνευτής φλόγας FPD

- Γίνεται καύση των εκλυόμενων ενώσεων και στη συνέχεια μετρούνται τα μήκη κύματος που εκπέμπονται από τη φλόγα μέσω φίλτρων κι ενός φωτομετρητή.
- Τα μήκη κύματος είναι χαρακτηριστικά για το S και το P.
- Δεν υπάρχει γραμμικότητα μεταξύ της απόκρισης και των μορίων που περιέχουν S.
- Για οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα και πτητικές ενώσεις θείου.



Φασματογράφος μάζας MS

Ο τετραπολικός αναλυτής μαζών (quadrupole mass analyzer), γνωστός και ως τετραπολικό φίλτρο μαζών, είναι μία συσκευή με την οποία μπορεί να διαχωριστούν οι ενώσεις σύμφωνα με τους λόγους τους m/z χωρίς την παρουσία μαγνητικού αναλυτή.



Ένα εναλλασσόμενο ρεύμα κι ένα συνεχές.

Η διαφορά δυναμικού ποικίλει και παράγει ένα ταλαντευόμενο ηλεκτρικό πεδίο.

Οι απέναντι μπάρες έχουν αντίθετο φορτίο.

