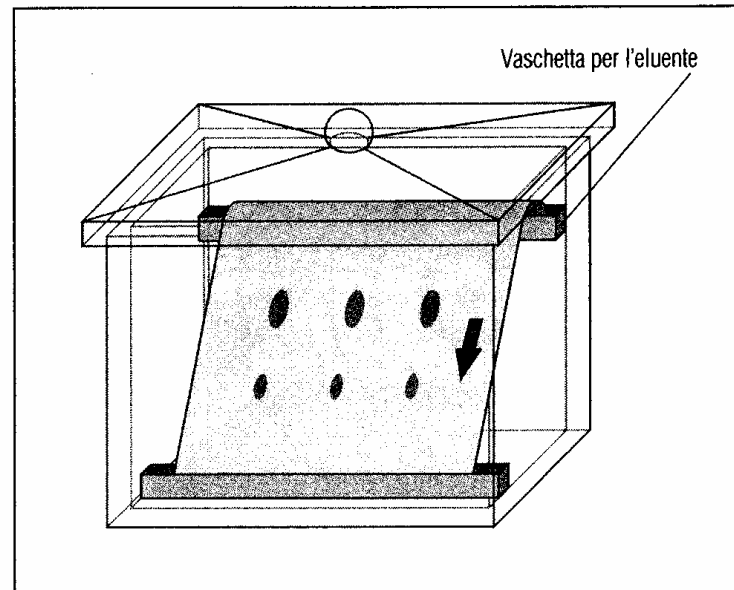


Sviluppo discendente

L'eluente defluisce dall'alto verso il basso della lastrina e perciò è richiesta una speciale camera di eluizione, con una vaschetta posta in alto. Durante lo sviluppo l'eluente si sposta verso il basso per gravità e quindi l'eluizione avviene in tempi più brevi; inoltre si amplifica lo spostamento delle sostanze meno mobili.

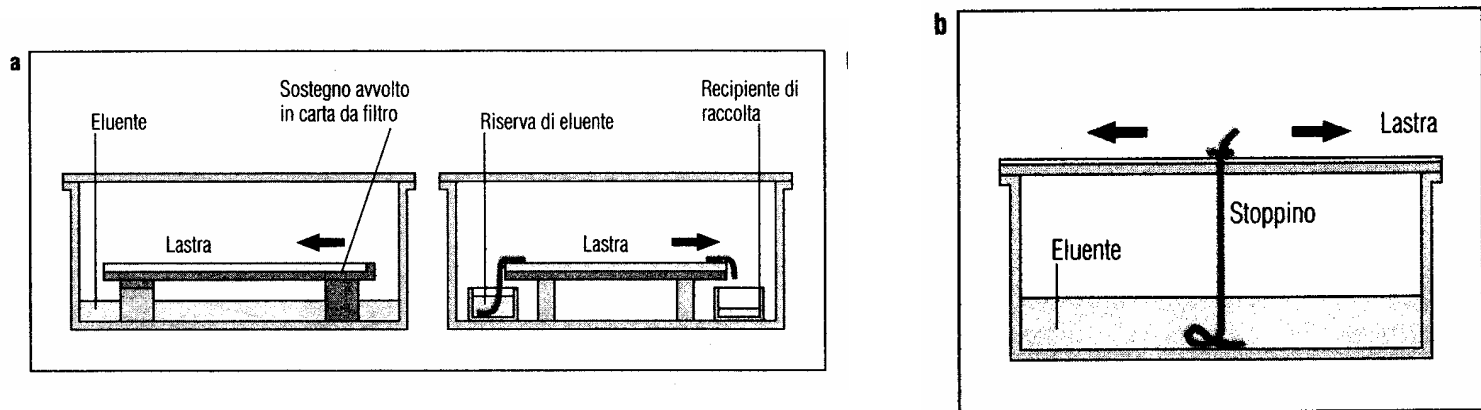


Sviluppo orizzontale

Consente di realizzare sistemi più compatti

Richiedere minori quantità di eluente

Lo sviluppo orizzontale può essere realizzato *a senso unico* oppure *in senso circolare o radiale*

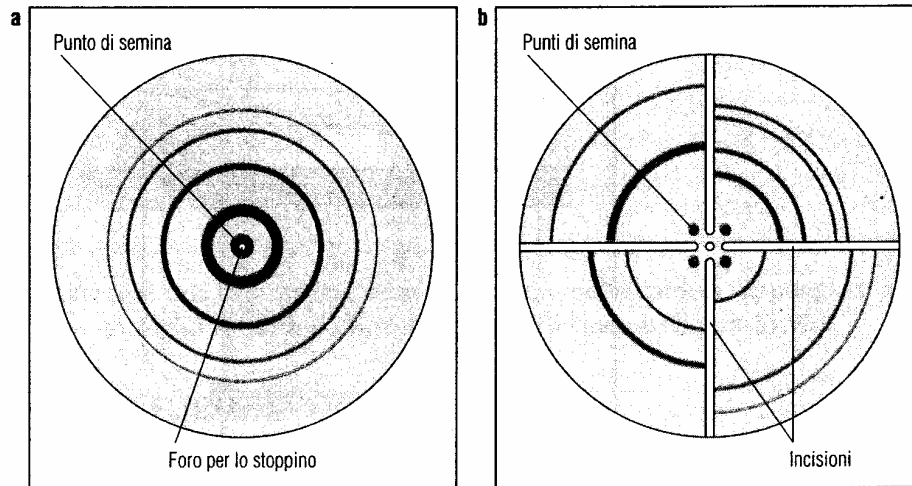


(a) Camera per sviluppo a senso unico. Nel tipo più semplice (a sinistra), la lastra cromatografica poggia su due sostegni; uno è avvolto in carta da filtro e consente all'eluente di arrivare fino alla lastra. Alternativamente (a destra), la camera contiene due vaschette, una per l'eluente e l'altra per la raccolta a fine corsa

(b) Camera per sviluppo radiale. La lastrina è circolare; l'eluente imbeve lo stoppino e giunge così fino alla lastra.

Sviluppo Circolare

Nello **sviluppo circolare** le sostanze da separare migrano dal centro di una lastra circolare verso il margine e formano, invece di macchie, degli anelli concentrici. La lastra ha un foro centrale, in cui viene inserito uno stoppino di cotone o di carta da filtro che pesca nell'eluente; la semina viene fatta intorno al foro centrale oppure direttamente sulla parte di stoppino che ne fuoriesce. Per effettuare più semine contemporaneamente, la lastra deve essere incisa in modo da delimitare la superficie disponibile per ciascuna sostanza; si realizza così uno sviluppo **in senso radiale**

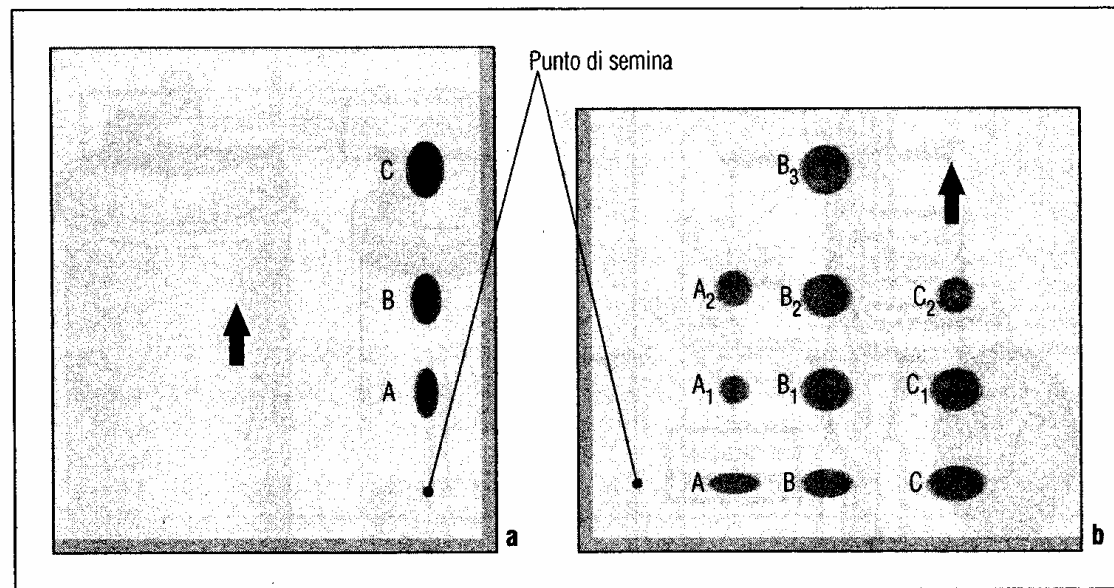


Lo sviluppo circolare (o radiale), a volte, consente di migliorare la separazione fra sostanze che risultano molto ravvicinate nello sviluppo verticale

$$(R_F)_{\text{radiale}} = \sqrt{(R_F)_{\text{lineare}}}$$

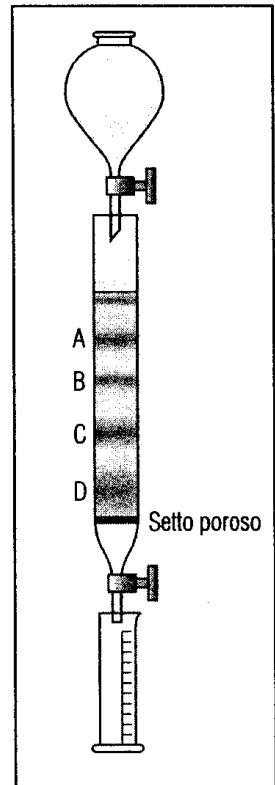
Cromatografia bidimensionale

Si semina una macchia in un angolo della lastrina e si effettua un primo sviluppo con un eluente opportuno. Poi si ruota la lastrina di 90° e si effettua un nuovo sviluppo con un diverso eluente

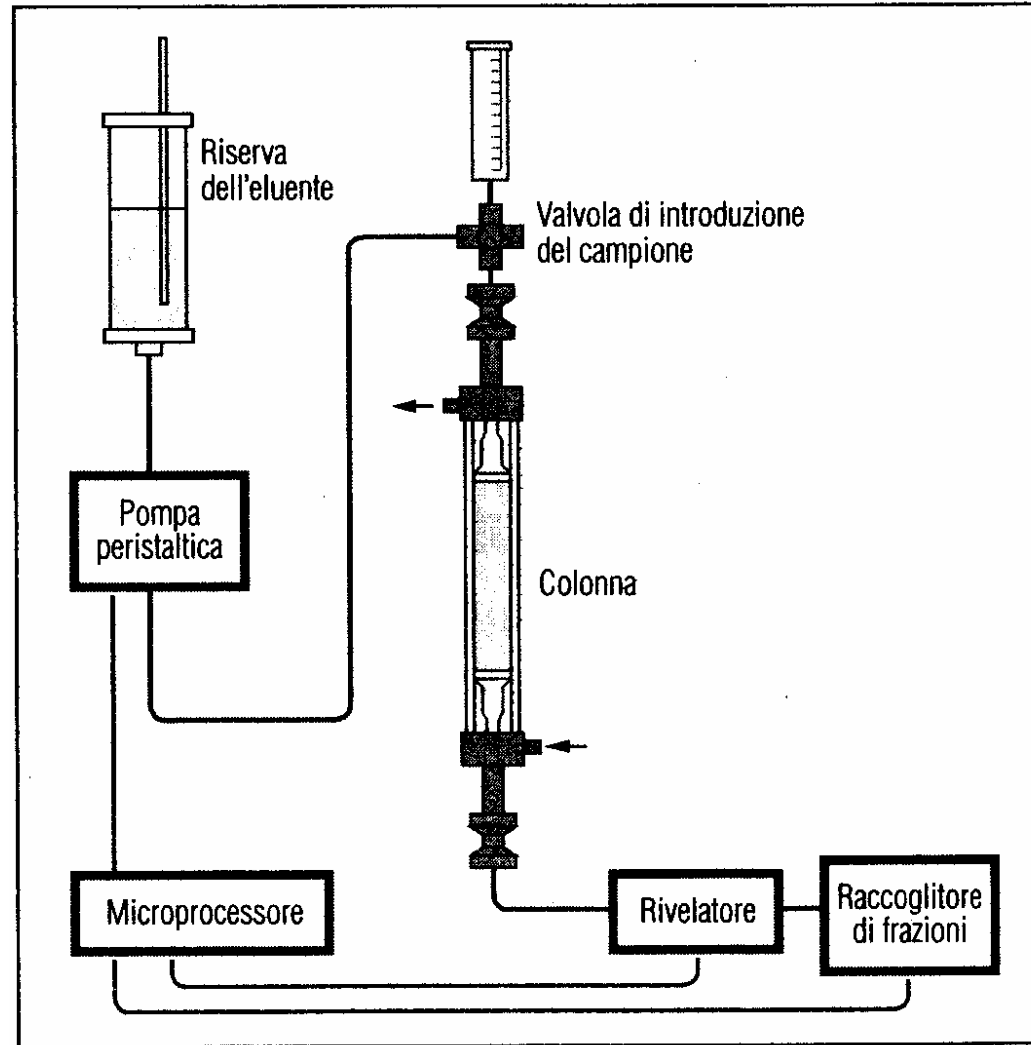


CROMATOGRAFIA SU COLONNA A BASSA PRESSIONE

La **colonna** viene riempita con una **fase stazionaria** (solida, liquida o in gel) attraverso la quale viene fatta scorrere, per gravità o esercitando una moderata pressione, la **fase mobile** (un liquido organico a bassa viscosità o una soluzione acquosa). Le bande eluite vengono raccolte in frazioni all'uscita dalla colonna. Oggi questa tecnica è detta **cromatografia a bassa pressione** (*Low Pressure Chromatography, LPC*).

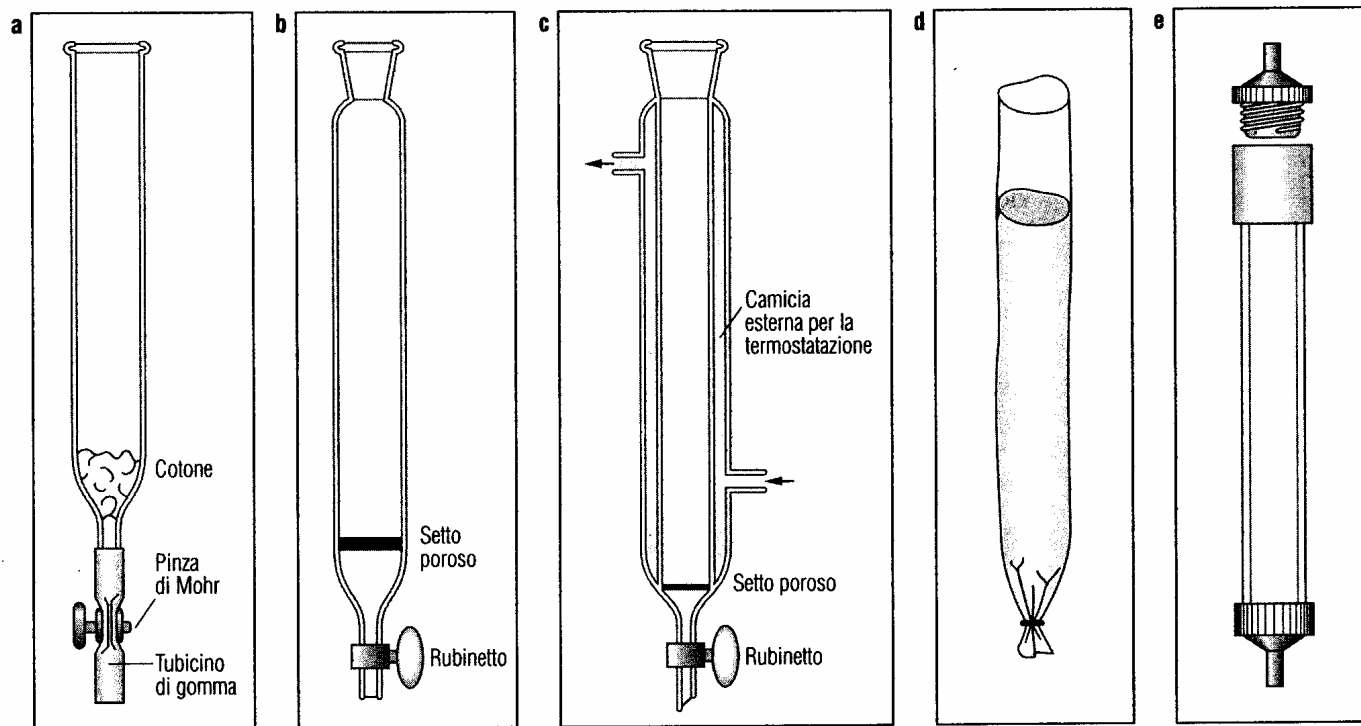


Cromatografia classica su colonna. La fase mobile scorre lungo la colonna per gravità, percolando dalla riserva posta in alto. I diversi componenti della miscela (A, B, C e D) vengono recuperati in raccoglitori di frazioni



Sistema automatico per l'esecuzione di una separazione cromatografica **isocratica** su colonna, completo di collettore di frazioni.

Il fulcro di un sistema per LPC è la **colonna** stessa, realizzata in vetro o in materiale plastico, perlopiù trasparente; in genere la lunghezza varia da 10 a 100 cm e il diametro interno (abbreviato id) da 0,5 a 5 cm.



- (a) versione molto semplificata della colonna "classica";
- (b) colonna con rubinetto;
- (c) colonna con camicia per la termostatazione;
- (d) colonna in nylon, che può essere tagliata in corrispondenza delle bande;
- (e) versione moderna per dispositivi automatici.

La **classificazione** delle diverse tecniche in LPC si basa su un criterio che tiene conto sia dello **stato fisico delle due fasi** sia del **meccanismo della separazione**; le tecniche principali si possono suddividere in:

- cromatografia di adsorbimento-ripartizione;
- cromatografia di esclusione;
- cromatografia di scambio ionico;
- cromatografia di affinità;

CROMATOGRAFIA DI ADSORBIMENTO-RIPARTIZIONE

Questa tecnica prevede due varianti, molto simili fra loro dal punto di vista operativo:

- **cromatografia liquido-solido** (*Liquid-Solid Chromatography, LSC*);
- **cromatografia liquido-liquido** (*Liquid-Liquid Chromatography, LLC*).

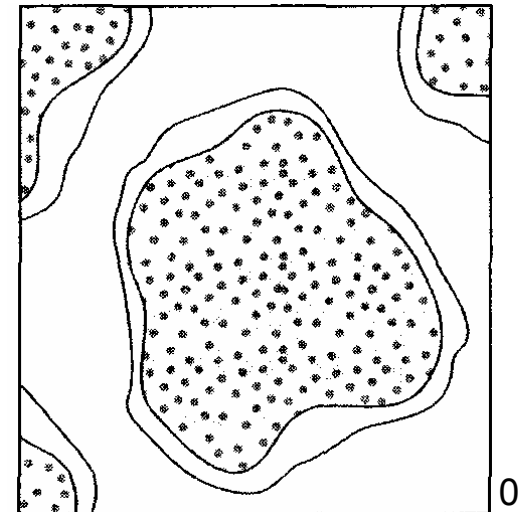
Il meccanismo di separazione può coinvolgere sia **fenomeni di adsorbimento**, caratteristici della **LSC**, sia **fenomeni di ripartizione**, caratteristici della **LLC**.

FASE STAZIONARIA

Fase stazionaria solida. In pratica, tutti i materiali usati in TLC sono usati anche su colonna, con una preferenza per l'allumina.

Le particelle della fase stazionaria devono essere **abbastanza piccole**, per minimizzare i fenomeni di diffusione e assicurare buone velocità di scambio; questo consente di ottenere bande compatte. D'altra parte, le particelle **non devono essere troppo piccole**, perché creerebbero una eccessiva resistenza al flusso dell'eluente. In genere si usano granulometrie comprese fra 50 e 200 mesh. **La distribuzione granulometrica deve essere la più ristretta possibile.**

Fase stazionaria liquida. Il liquido viene fatto adsorbire su un materiale di supporto di tipo granulare, possibilmente inerte; la granulometria è compresa fra 60 e 100 mesh, in modo che ogni granulo sia rivestito abbastanza uniformemente di un film di liquido, su cui avviene lo scambio con la fase mobile.



In realtà, il materiale di supporto partecipa inevitabilmente al processo di separazione; di conseguenza, per ridurre i fenomeni di adsorbimento spesso si disattiva il supporto granulare. Nel caso dell'allumina si effettua un riscaldamento prolungato a 800°C, mentre per il gel di silice si bloccano i gruppi attivi superficiali aggiungendo acqua.

FASE MOBILE

I risultati ottenuti in TLC possono essere trasferiti alla separazione su colonna

La tecnica su colonna si presta anche all'uso di diversi solventi durante la stessa eluizione.