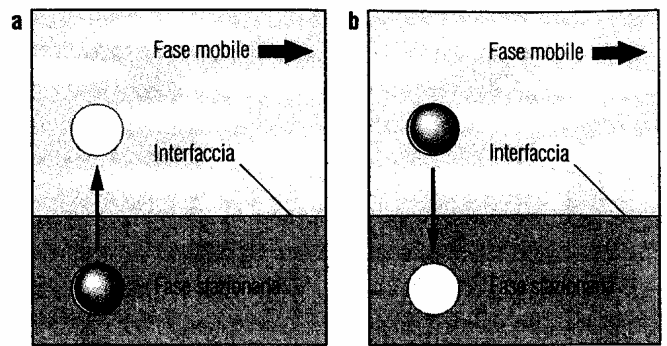
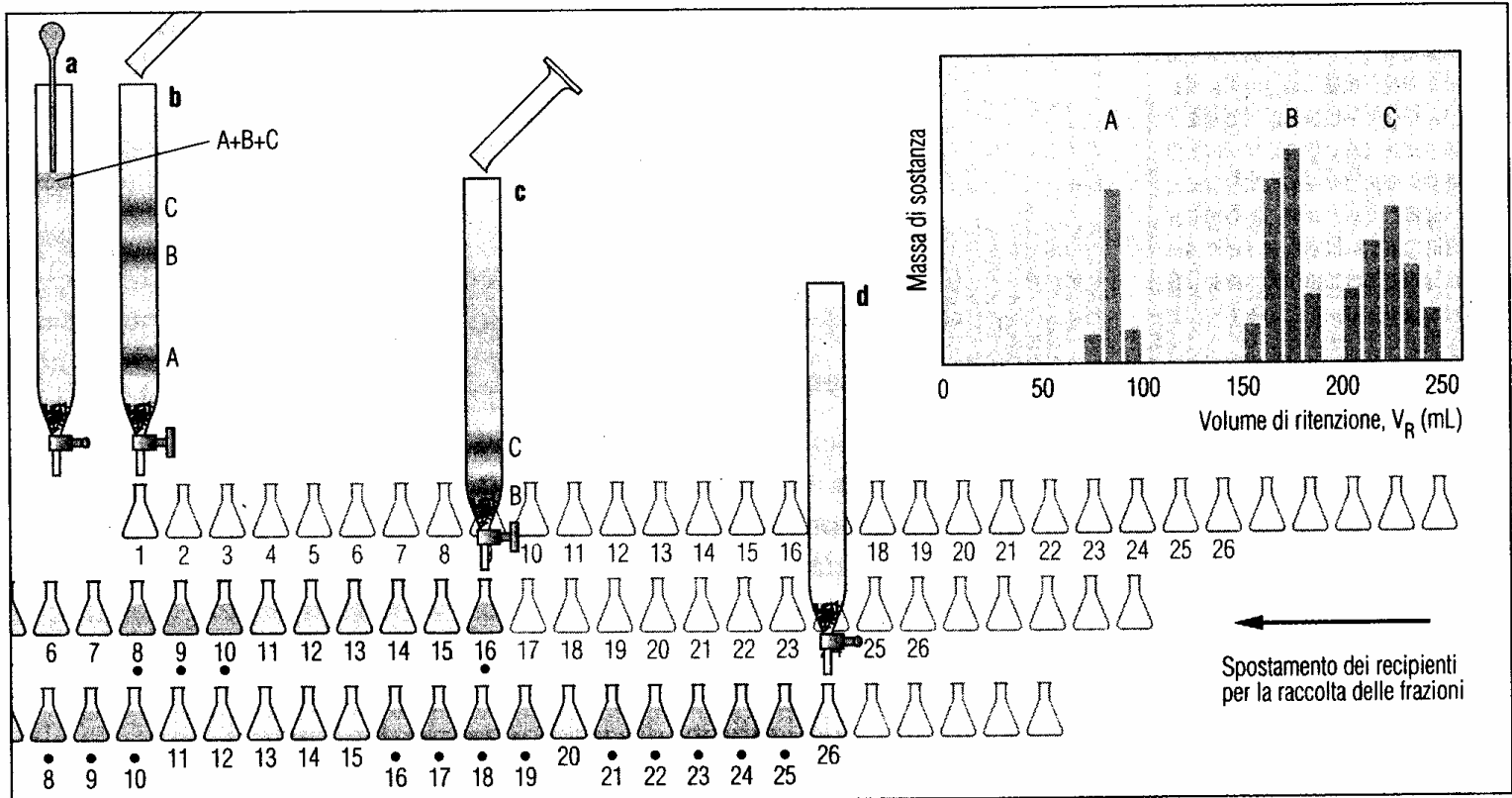


Cromatografia

I **metodi cromatografici**, sfruttano la diversa affinità delle molecole e degli ioni nei confronti di due fasi diverse. Il principio è lo stesso su cui si basa *l'estrazione con solvente*.

Nella *cromatografia* una delle due fasi viene immobilizzata, e perciò è detta **fase stazionaria**, mentre l'altra fase (**fase mobile**) viene fatta scorrere in modo continuo sulla fase stazionaria; in questo modo la cromatografia realizza la dinamica dell'estrazione in modo continuo.



Meccanismi chimico-fisici della separazione cromatografica

Le interazioni che si verificano tra la sostanza e le due fasi non sono facilmente descrivibili in quanto di natura eterogenea

- Legami a idrogeno
- Interazioni dipolo-dipolo
- Interazioni dipolo-dipolo indotto
- Legami di VdW
- Formazione di composti di coordinazione
- Meccanismi di scambio ionico
- Interazioni steriche

In tutte queste interazioni la **polarità** gioca di solito un ruolo decisivo

Classificazione secondo il meccanismo principale

Adsorbimento: FS solida, FM gas (**GSC**) o liquido (**LSC**)

Ripartizione: FS liquido, FM liquido (**GLC**) o gas (**LLC**)

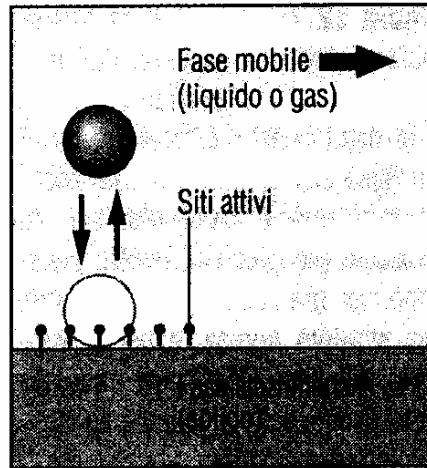
Scambio ionico: FS costituita da macromolecole con siti attivi ionizzati (**IEC**)

Esclusione: FS costituito da un solido poroso (**SEC**)

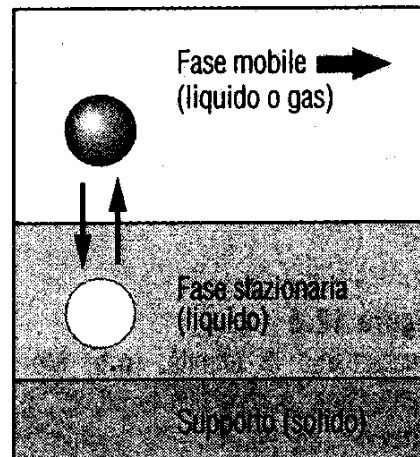
Affinità: si usano reazioni di tipo biochimico reversibili (**AFC**)

In realtà oltre al meccanismo principale possono intervenire meccanismi secondari

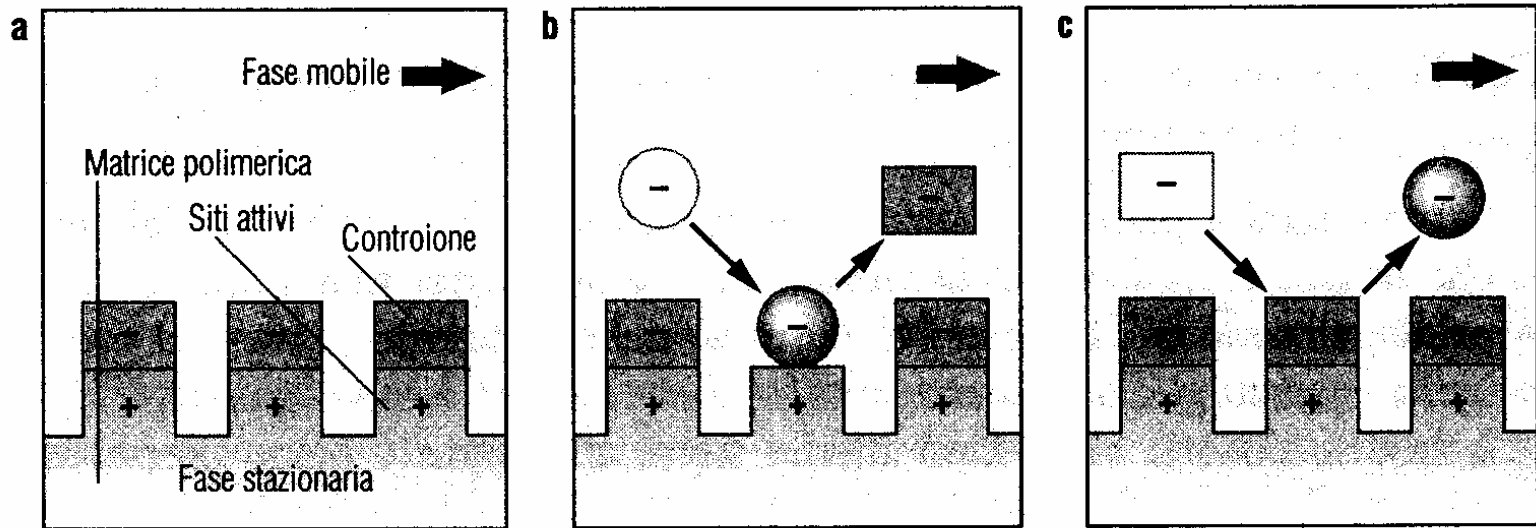
Adsorbimento: FS solida, FM gas (GSC) o liquido(LSC)



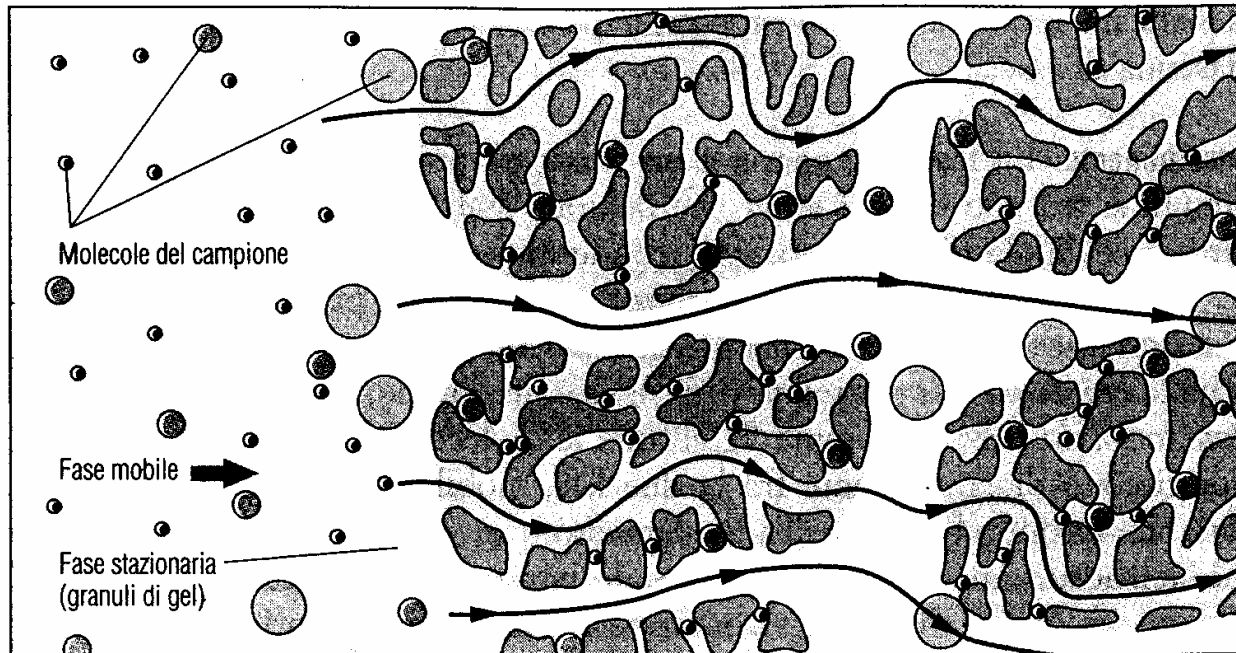
Ripartizione: FS liquido, FM liquido(GLC) o gas(LLC)



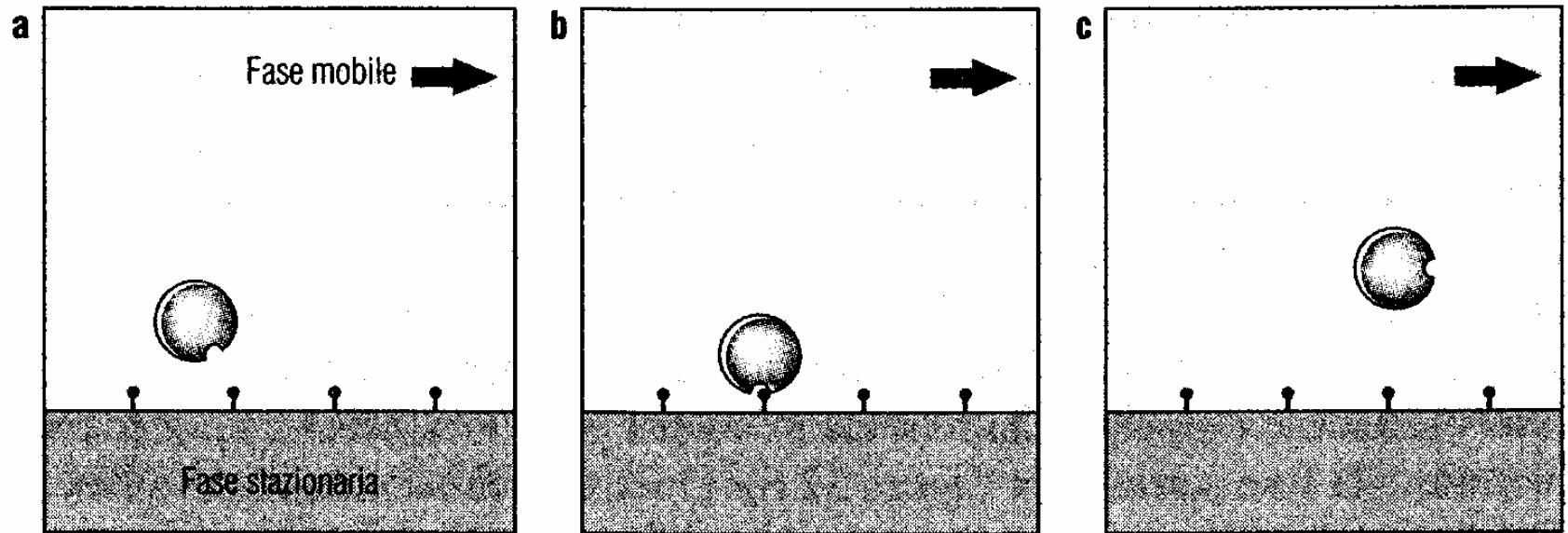
Scambio ionico: FS costituita da macromolecole con siti attivi ionizzati (IEC)



Esclusione: FS costituito da un solido poroso (SEC)



Affinità: si usano reazioni di tipo biochimico reversibili (AFC)



Tecniche Cromatografiche

- Cromatografia planare: TLC e PC
- Cromatografia su colonna a bassa pressione (LPC)
- Cromatografia in fase liquida ad alte prestazioni (HPLC)
- Gascromatografia (GC)
- Cromatografia in fase supercritica(SFC)

Il Cromatogramma

Tutte le separazioni cromatografiche (ad esclusione della TLC) si concludono con la registrazione del **cromatogramma**

Descrive l'andamento del segnale di un rilevatore in funzione del tempo o del volume di eluente a partire dall'introduzione della miscela nella colonna ($t=0$)

Picco cromatografico: tracciato ottenuto per ciascuna sostanza

Picco cromatografico

L'area totale sottesa alla curva del picco è proporzionale alla concentrazione di sostanza

Tempo di ritenzione: t_R , tempo impiegato da ciascuna sostanza per scorrere attraverso la colonna

Volume di ritenzione: V_R , volume di FM impiegato da ciascuna sostanza per scorrere attraverso la colonna

Il t_R di una sostanza che non viene trattenuta dalla FS è definito **tempo morto**, t_M

Qualunque sostanza per giungere al rilevatore deve trascorrere nella colonna un tempo almeno uguale al t_M

Volume morto: V_M , o anche volume interstiziale o volume della fase mobile, corrisponde al volume della colonna non occupato dalla FS

Tempo di ritenzione corretto: t'_R , tempo speso dalla sostanza eluita nelle interazioni chimico-fisiche con la fase stazionaria

$$t'_R = t_R - t_M$$

$$V'_R = V_R - V_M$$

Se il flusso F_C è costante vale: $V_R = t_R F_C$ e anche $V'_R = t'_R F_C$

Grandezze, equazioni e parametri fondamentali



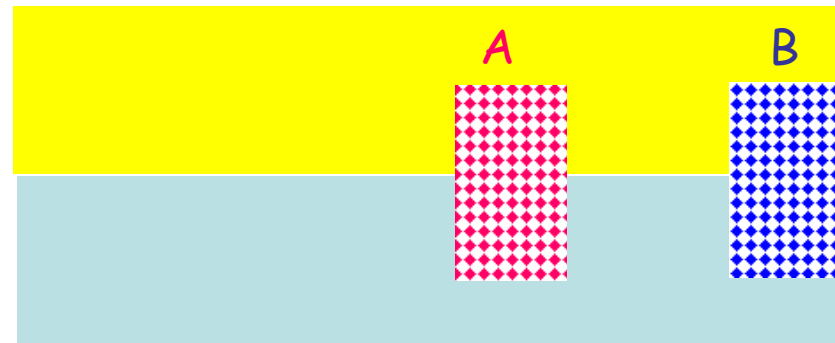
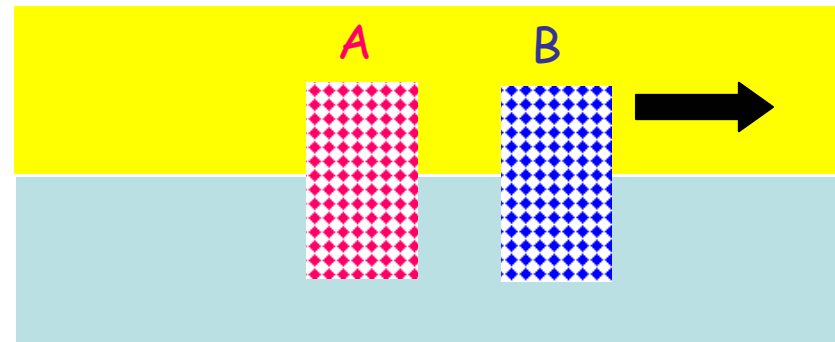
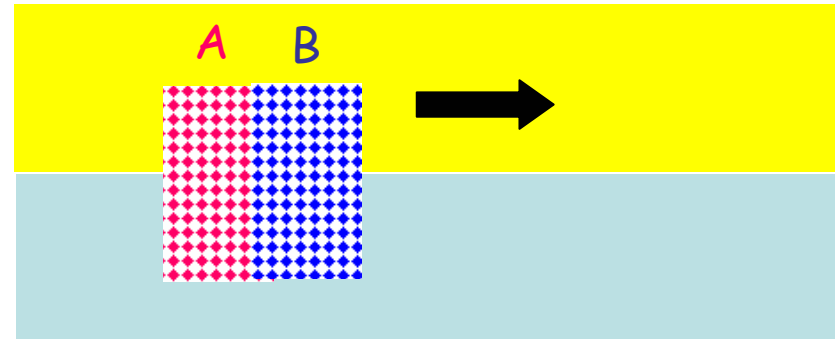
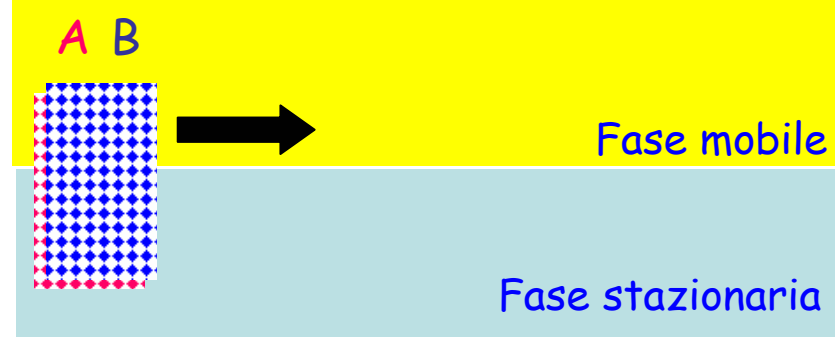
C_M : concentrazione della sostanza nella fase mobile

C_S : concentrazione della sostanza nella fase stazionaria

K_C : coefficiente di distribuzione

La K_C Dipende solo dalla fase mobile, dalla fase stazionaria e dalla temperatura, è quindi una grandezza termodinamica

t_R e V_R sono funzioni di K_C



Mettiamo in correlazione K_C con V_R e t_R

$$V_R = V_M + V_X$$

V_X = volume in più rispetto a V_M ,
necessario a far uscire la sostanza dalla
colonna

Per sostanze non trattenuate $K_C=0$ e $V_X=0$

Il volume di fase stazionaria influisce sui
volumi e sui tempi di ritenzione!!!

$$V_R = V_M + K_C V_S$$

Equazione fondamentale della cromatografia

La misura sperimentale più complicata riguarda V_S , per ovviare alle
difficoltà sperimentali si fa riferimento al **fattore di ritenzione** k

Fattore di ritenzione

$$k = \frac{n_S}{n_M}$$

n_S : numero di moli di una sostanza presenti nella fase stazionaria
 n_M : numero di moli della stessa sostanza presenti della fase mobile

$$k = \frac{C_S V_S}{C_M V_M}$$

Poiché: $K_C = \frac{C_S}{C_M}$

$$k = \frac{V_S}{V_M} K_C$$

k dipende dalla determinata coppia di fasi e dal determinato tipo di colonna, è quindi una proprietà di una sostanza in una determinata colonna, non è una grandezza termodinamica!!!

$$\text{Rapporto di fase: } \beta = \frac{V_M}{V_S}$$

$$\text{Per cui: } K_C = \beta k$$

Due colonne preparate con le stesse fasi, alla stessa temperatura possono avere un diverso rapporto di ritenzione (diversa preparazione, diversa forma della colonna, etc)

$$K_C = \frac{V_M}{V_S} k$$

$$V_R = V_M + kV_M$$

$$V_R = V_M(1+k)$$

$$\text{Poiché } V_R = t_R F_C, V_M = t_M F_C \quad t_R F_C = t_M F_C(1+k)$$

$$\text{Se il flusso è costante: } t_R = t_M(1+k)$$

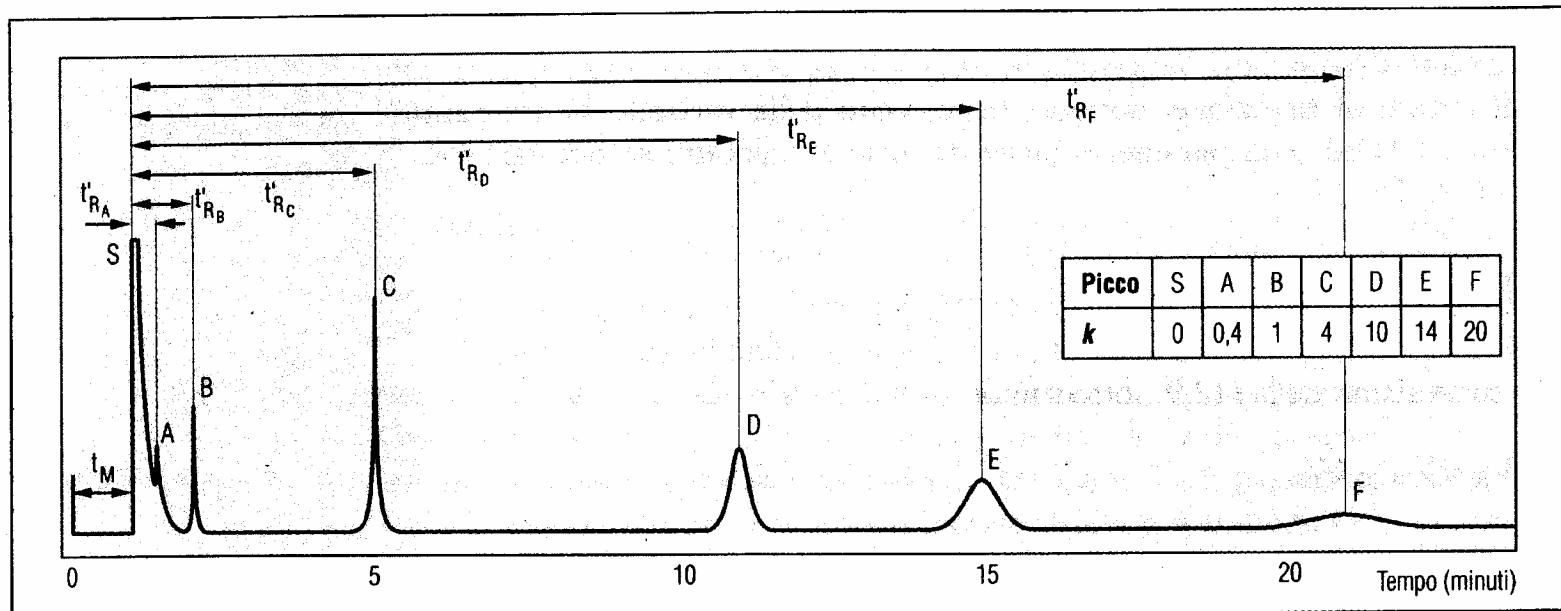
Queste ultime variabili possono essere ricavate facilmente.

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

$$k = \frac{t'_R}{t_M}$$

Quindi k può essere ricavato da due parametri ottenibili dal cromatogramma

Per avere buone separazione k deve essere compreso tra 1 e 15-20



Selettività

Capacità di un sistema cromatografico di eluire specie chimiche diverse a **velocità il più possibile diverse**, in modo tale che siano ben separate all'uscita della colonna

$$\alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad \alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{K_{C2}}{K_{C1}}$$

