

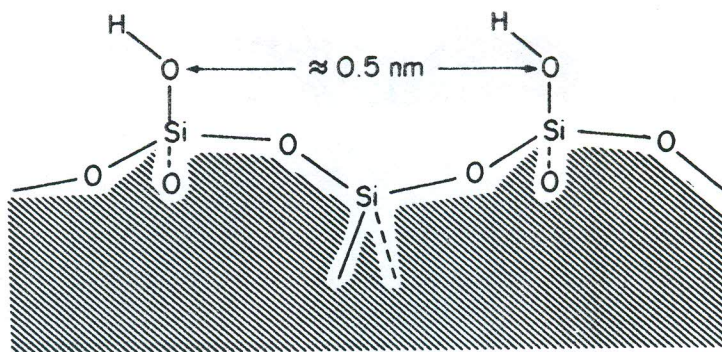
Η ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ  
(ΚΑΙ ΟΙ ΔΙΑΛΥΤΕΣ)

ΣΤΗΝ ΗΡΛC

ΕΛΛΗΝΙΚΗ  
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ  
ΑΝΤΙΟΧΕΙΑ ΕΡΕΥΝΑ  
2001

ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2001

# ΧΡΟΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ



Silica surface.

→ Οι σιλανολικές ομάδες αντιπροσωπεύουν τη δραστική περιοχή της στατικής φάσης

(στην περίπτωση του  $Al_2O_3$ , τα κέντρα  $Al^{3+}$  είναι πιο ισχυρά και εν συνεχεία το  $O^{2-}$ )

• σχηματίζουν ασθενή "δεσμό" με κάθε μόριο που προσεγγίζει, τύπου:

→ επαχρωμένου διπόλου - διπόλου

→ διπόλου - διπόλου

→ δεσμού υδρογόνου

→ δεσμού π-συμπλοίου

→ Στις παραπάνω περιπτώσεις πρέπει τα μόρια να έχουν αυξενικά ζεύγη  $e^-$  ή διπλό δεσμό (για π-σύμπλοια), δηλ. να είναι αιόρεστα ή να περιέχουν δραστικές ομάδες

→ Αζιάνια δεν αλληλεπιδρούν με τη Σ.Φ.

## ΠΡΟΣΡΟΦΗΤΙΚΗ ΔΥΝΑΜΗ

The adsorption strengths and hence  $k'$  values (elution series) increase in the following order:

saturated hydrocarbons < olefins < aromatics  $\approx$  organic halogen compounds < sulphides < ethers < nitro compounds < esters  $\approx$  aldehydes  $\approx$  ketones < alcohols  $\approx$  amines < sulphones < sulphoxides < amides < carboxylic acids.

$k'$ , capacity factor (τιμές μεταξύ 1 και 5)

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

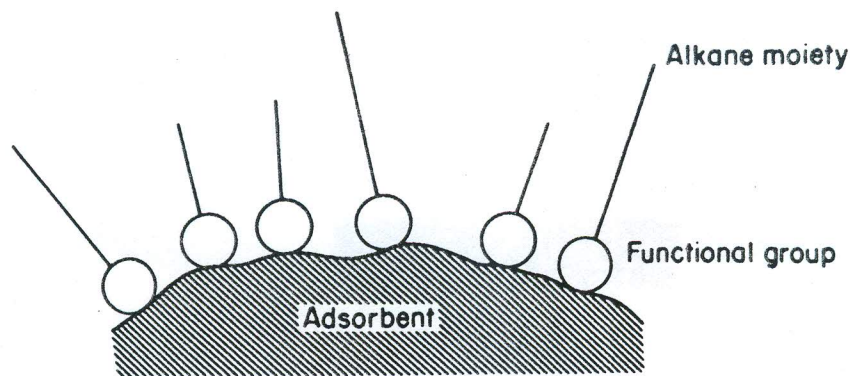
- αντιπροσωπεύει τον λόγο των συγκεντρώσεων μιας ουσίας στη στατική και κινητή φάση

$$k' = K \cdot \frac{V_s}{V_M}$$

↓  
συντελεστής κατανομής

$\rightarrow$  όγκος της στατικής φάσης  
 $\rightarrow$  όγκος της κινητής φάσης

$\Rightarrow$  Εάν ένα μόριο έχει πολλές δραστικές ομάδες, η περισσότερα πολική καθορίζει τις ιδιότητες συγκράτησης



During adsorption, functional groups are directed towards the silica surface.

### Στην προσρόφηση

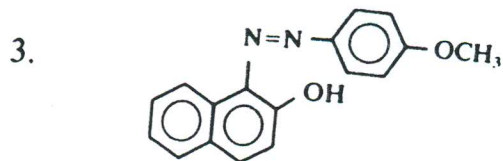
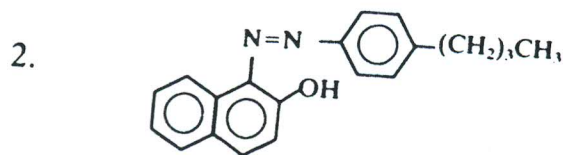
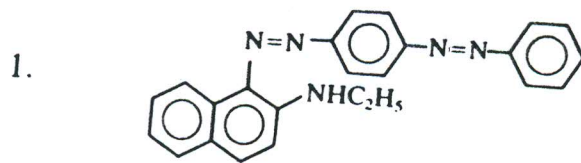
→ Η επιφάνεια της στατικής φάσης ( $\text{SiO}_2$ ) περιβάλλεται από παντού με κινητή φάση, η οποία καταλαμβάνει όλα τα δραστηνά κέντρα της πρώτης. Για να προσροφηθεί ένα μόριο δείγματος στη Σ.Φ. πρέπει να αλληλεπιδράσει μ' αυτήν πιο ισχυρά απ' ότι η Κ.Φ.

→ Τόσο τα μόρια του δείγματος όσο και του διαλύτου προσανατολίζονται με τέτοιο τρόπο στη Σ.Φ. ώστε οι δραστηνές τους ομάδες και οι διπλοί δεσμοί να είναι κοντά στις σιλανολινές ομάδες.

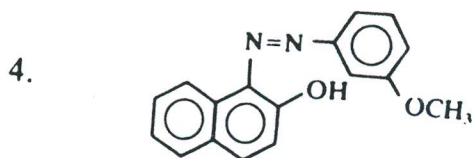
- στην προσρόφηση δε "διακρίνονται" τα υδροσφιμένα τμήματα των μορίων, συνεπώς δε γίνεται διαχωρισμός των τελευταίων (πχ. εξανόλη, επτανόλη, οκτανόλη).

→ Ο βαθμός αλληλεπίδρασης μεταξύ Σ.Φ. και μορίων του δείγματος δεν εξαρτάται μόνο από τις δραστηνές ομάδες αλλά και από παράγοντες στερεοχημικούς.

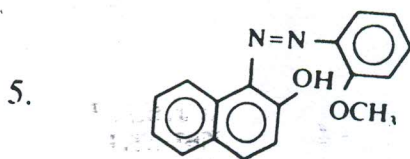
Διαχωρισμός αζω-χρωμάτων, που βασίζεται  
στη διαφορετική στερεοχημεία,  
επιτυγχάνεται με προσρόφηση



*p*-Isomer



*m*-Isomer



*o*-Isomer

# Επιλογή Διαλυτών στην HPLC

→ Πρέπει να ικανοποιούν κάποια κριτήρια:

- υψηλής φασματοσκοπικής <sup>χρωματογραφικής</sup> καθαρότητας (HPLC-grade)
- ελεύθεροι σωματιδίων
- να έχουν διηθηθεί
- να έχουν απαερωθεί
- τοξικότητα εντός αποδεικτών ορίων
- χαμηλό ιξώδες (⇒ πίεση χαμηλή)
- να διαλυτοποιούν πλήρως τα συστατικά του δείγματος
- να μην αντιδρούν με αυτά
- να μην απορροφούν είλονα στο λ παράγωγο

**Euotropic series with physical properties of the solvents**

Solvent	Polarity, $\epsilon^\circ(\text{Al}_2\text{O}_3)$	Viscosity (mPa s)(20 °C)	Refractive index, $n_D^{20}$	UV cutoff <sup>5</sup> (nm)	Boiling point (°C)
Fluoroalkane	-0.25		1.25	210	
n-Pentane	0.00	0.23	1.3575	195	36
n-Hexane	0.00	0.33	1.3749	190	69
Isooctane	0.01	0.50	1.3914	200	99
Light petroleum	0.01	0.3		210	
n-Decane	0.04	0.92	1.4119	200	174
Cyclohexane <sup>6</sup>	0.04	1.00	1.4262	200	81
Cyclopentane	0.05	0.47	1.4064	200	49
Diisobutylene	0.06		1.411	210	
Pent-1-ene	0.08	0.24 (0 °C)	1.3715	210	30
Carbon disulphide	0.15	0.37	1.6280	380	46
Carbon tetrachloride	0.18	0.97	1.4652	265	77
Amyl chloride	0.26	0.43	1.4120	225	108
n-Butyl chloride	0.26	0.47	1.4021	220	78
Xylene	0.26	0.62-0.81 ≈	1.50	290	138-144
Diisopropyl ether	0.28	0.37	1.3681	220	68
2-Chloropropane	0.29	0.33	1.3777	255	36
Toluene	0.29	0.59	1.4969	285	111
n-Propyl chloride	0.30	0.35	1.3879	225	47
Chlorobenzene	0.30	0.80	1.5248	290	132
Benzene	0.32	0.65	1.5011	280	80
Ethyl bromide	0.37	0.39	1.4239		38
Diethyl ether	0.38	0.24	1.3524	205	34.5
Ethyl sulphide	0.38	0.45	1.4429	290	92
Dichloromethane	0.39	0.44	1.4242	230	40
Chloroform	0.40	0.57	1.4457	245	61
Isobutylmethyl ketone	0.43	0.54	1.3957	330	116.5
1,2-Dichloroethane	0.49	0.79	1.4448	230	83
Ethylmethyl ketone	0.51	0.4	1.3788	330	80
1-Nitropropane	0.53	0.77	1.4016	380	131
Acetone	0.56	0.32	1.3587	330	56
Dioxane	0.56	1.54	1.4224	220	101
Methyl acetate	0.60	0.37	1.3614	260	56
Amyl alcohol	0.61	4.1	1.4100	210	138
Tetrahydrofuran	0.62	0.46	1.4072	220	66
tert-Butylmethyl ether	0.62	0.35	1.3689	220	53
Ethyl acetate	0.62	0.45	1.3724	260	77
Dimethyl sulphoxide	0.62	2.24	1.4783	270	189
Aniline	0.62	4.4	1.5863		184
Diethylamine	0.63	0.38	1.3854	275	55
Nitromethane	0.64	0.67	1.3819	380	101
Acetonitrile	0.65	0.37	1.3441	190	82
Pyridine	0.71	0.94	1.5102	305	115
Butylcellosolve	0.74	3.1	1.4198	220	170
Iso- + n-propanol	0.78	2.3	1.3772, 1.3856	210	82, 97
Ethanol	0.88	1.20	1.3614	210	78
Methanol	0.95	0.60	1.3284	205	65
Ethylene glycol	1.11	19.9	1.4318	210	197
Acetic acid	High	1.26	1.3719		118
Water	Higher	1.00	1.3330	<190	100
Salt solutions and buffers	Highest				

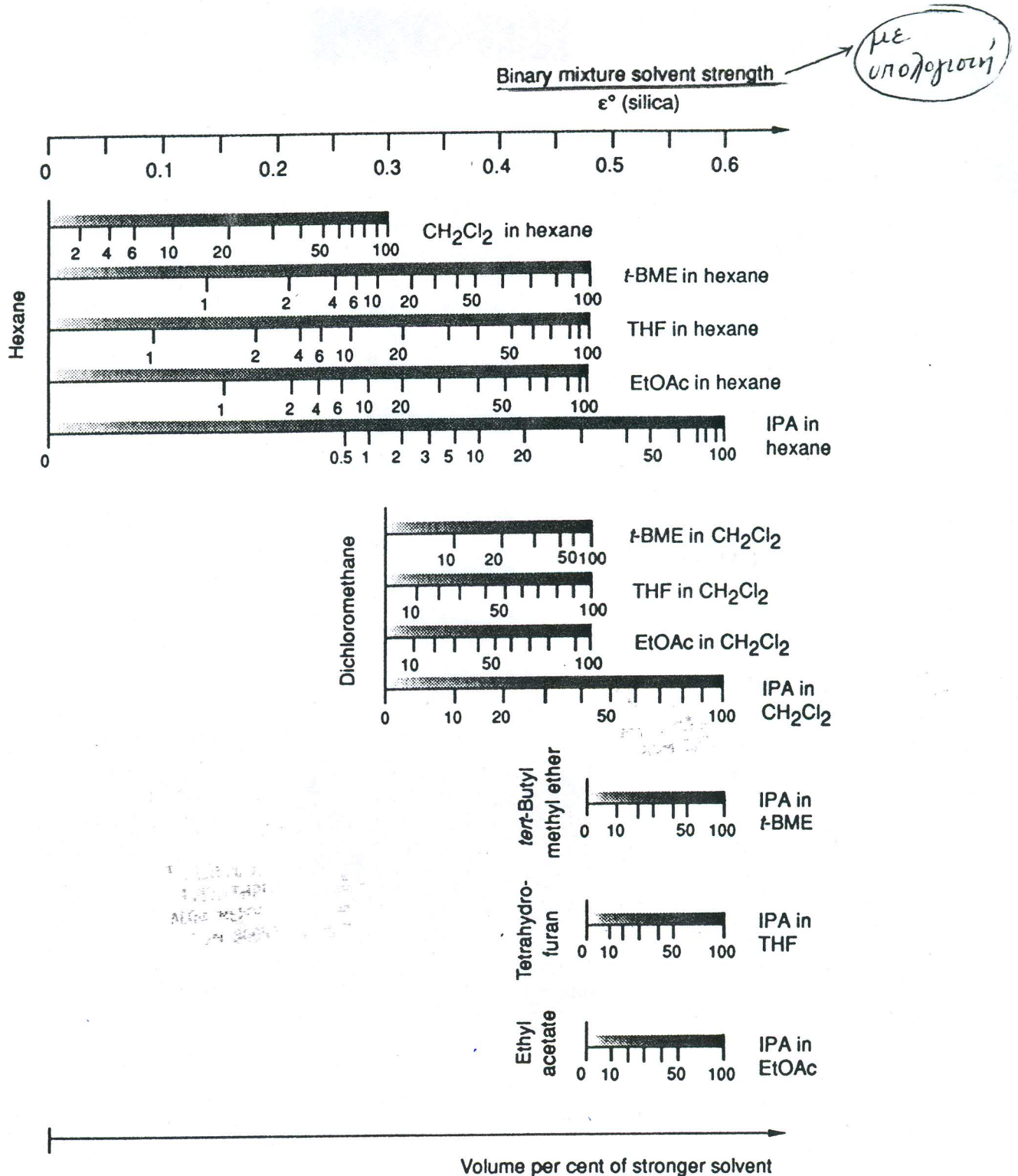
<sup>5</sup>Wavelength at which the absorbance of the pure solvent is 1, measured in a 1 cm cell with air as the reference.

<sup>6</sup>Becomes solid at 350 bar!

→ Η επιλογιστική δύναμη των διαλυτών προσδιορίζεται εμπειρικά και αναφέρεται με το σύμβολο  $\epsilon^\circ$

$$\epsilon^\circ(\text{SiO}_2) = 0.77 \epsilon^\circ(\text{Al}_2\text{O}_3)$$

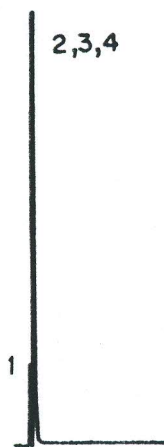
\* Οι σειράς έλυσης είναι εντελώς διαφορετική για το styrene - divinylbenzene.



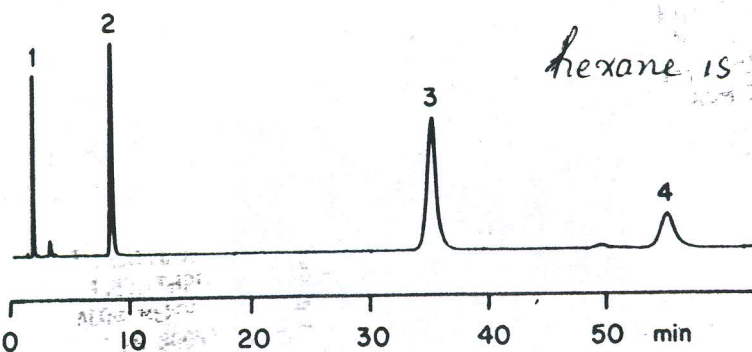
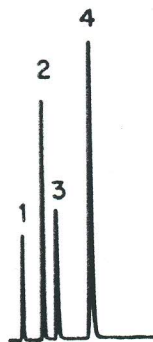
Elution strength of binary mixtures as used for adsorption chromatography on silica (M. D. Palamareva and V. R. Meyer, *J. Chromatogr.*, **641**, 391 (1993)). The graph covers the twelve possible mixtures of hexane, dichloromethane, tert-butylmethyl ether, tetrahydrofuran, ethyl acetate and isopropanol.



# Εκλογαστική Ικανότητα



*tert-butylmethyl ether is too strong*



*hexane is too weak*

Separation of a test mixture on silica with eluents of different strength.  
Top: *tert*-butylmethyl ether,  $\epsilon = 0.48$ ; middle: hexane-*tert*-butylmethyl ether (9:1),  $\epsilon = 0.14$ ; bottom: hexane,  $\epsilon = 0$ . The attenuation of the hexane chromatogram is only half as much as of the other two. Conditions: column, 25 cm  $\times$  3.2 mm i.d.; stationary phase, LiChrosorb SI 60 5  $\mu$ m; flow-rate, 1 ml min<sup>-1</sup>; UV detector, 254 nm. Peaks: 1 = *p*-xylene; 2 = nitrobenzene; 3 = acetophenone; 4 = 2,6-dinitrotoluene.

## ΕΚΚΛΟΥΣΤΙΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

↪ Είναι η ικανότητα διαφορετικών κινήτων φάσεων να αλλάξουν τον παράγοντα διαχωρισμού  $\alpha$  δυο ή περισσότερων συστατικών ενός δείγματος

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'} = \frac{k_2}{k_1}, \quad k_2' > k_1'$$

↙ συντελεστής χωρητικότητας

↘ δυο συστατικών

Αν  $\alpha = 1$ , δεν γίνεται διαχωρισμός

$$1,05 < \alpha < 2,0$$

↪ Δεν έχει καμία σχέση με την επιλογιστική δύναμη  $E^\circ$

- Είναι άλλος παράγοντας που επηρεάζει το διαχωρισμό

⇒ Ευελυξιμότητα Προσρόφησης

Polarity  $P'$

localization  $m$

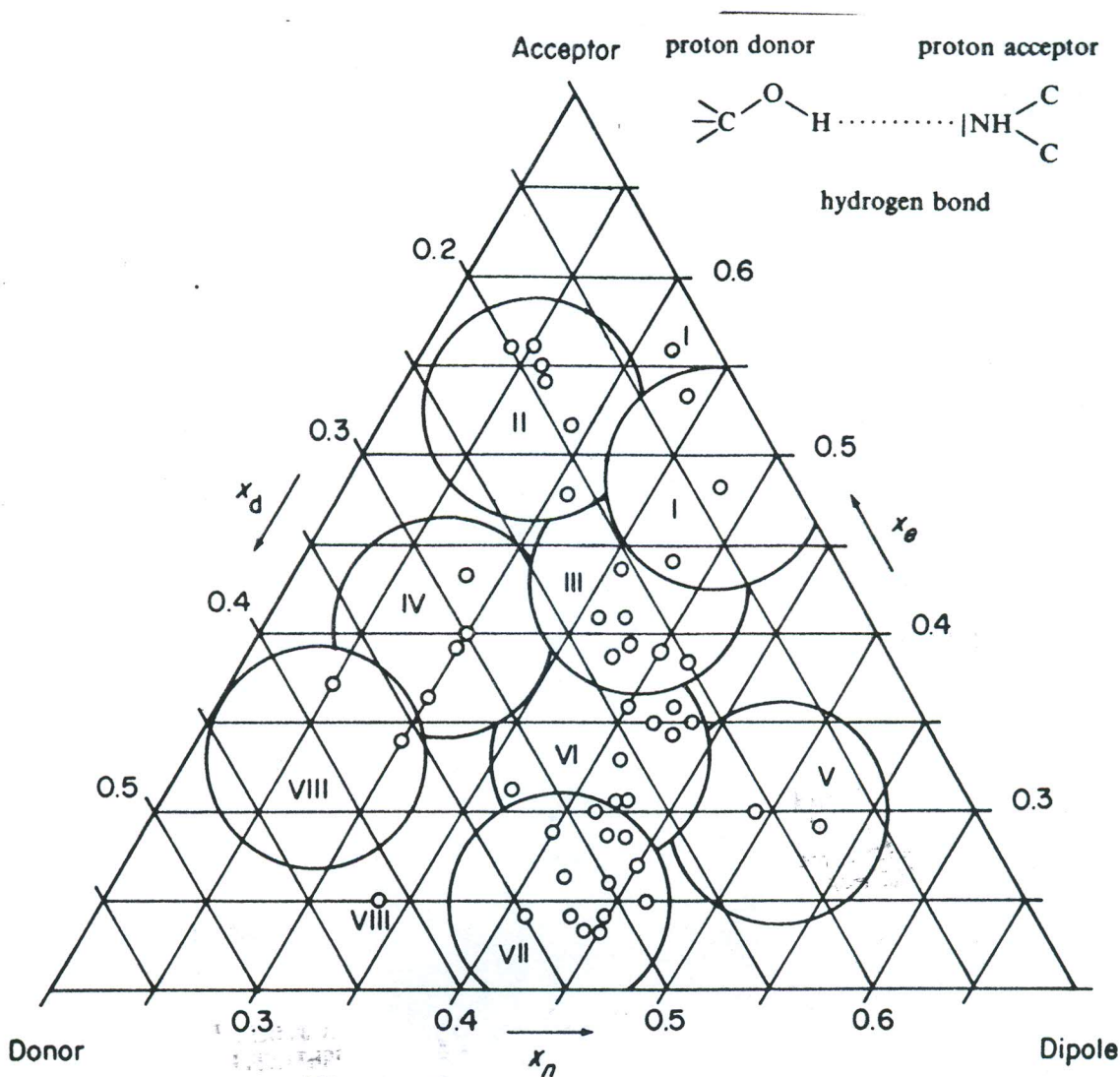
# Παράμετρος Πολικότητας P'

The polarity parameter P' is a measure of the solvating power of a solvent. It is composed of  $x_e$ ,  $x_d$  and  $x_n$  (determined experimentally with ethanol, dioxane and nitrobenzene):

$x_e$  proton acceptor<sup>†</sup> or basicity parameter, a measure of hydrogen bonding tendency

$x_d$  proton donor<sup>†</sup> or acidity parameter, a measure of hydrogen bonding tendency

$x_n$  dipole parameter, a measure of dipole character



Selectivity triangle. Each solvent is characterized by a small circle.

- I. Aliphatic ethers, trialkylamines (more basic than ethers)
- II. Aliphatic alcohols
- III. Pyridine derivatives, THF, amides (excluding formamide), glycol ethers, sulphoxides
- IV. Glycols, benzyl alcohol, acetic acid, formamide
- V. Dichloromethane, ethylene chloride
- VI. Aliphatic ketones and esters, dioxane, nitriles, aniline
- VII. Aromatic hydrocarbons, halogenated aromats, nitro compounds, aromatic ethers
- VIII. Fluorinated alcohols, water, chloroform (less basic than the other solvents in this group)

Eluotropic series based on polarity parameters<sup>9</sup>

Solvent	P'	$x_e$	$x_d$	$x_n$	Group
Triethylamine	1.9	0.56	0.12	0.32	I
Di-n-butyl ether	2.1	0.44	0.18	0.38	I
Diisopropyl ether	2.4	0.48	0.14	0.38	I
Toluene	2.4	0.25	0.28	0.47	VII
p-Xylene	2.5	0.27	0.28	0.45	VII
Benzene	2.7	0.23	0.32	0.45	VII
Chlorobenzene	2.7	0.23	0.33	0.44	VII
Bromobenzene	2.7	0.24	0.33	0.43	VII
Diethyl ether	2.8	0.53	0.13	0.34	I
Iodobenzene	2.8	0.24	0.35	0.41	VII
Dichloromethane	3.1	0.29	0.18	0.53	V
Fluorobenzene	3.2	0.24	0.32	0.45	VII
Ethoxybenzene	3.3	0.28	0.28	0.44	VII
Diphenyl ether	3.4	0.27	0.32	0.41	VII
Ethylene chloride	3.5	0.30	0.21	0.49	V
n-Butanol	3.9	0.56	0.19	0.25	II
Isopropanol	3.9	0.55	0.19	0.27	II
Tetrahydrofuran	4.0	0.38	0.20	0.42	III
n-Propanol	4.0	0.54	0.19	0.27	II
Chloroform	4.1	0.25	0.41	0.33	VIII
tert-Butanol	4.1	0.56	0.20	0.24	II
Dibenzyl ether	4.1	0.30	0.28	0.42	VII
Ethanol	4.3	0.52	0.19	0.29	II
Ethyl acetate	4.4	0.34	0.23	0.43	VI
Nitrobenzene	4.4	0.26	0.30	0.44	VII
Cyclohexanone	4.7	0.36	0.22	0.42	VI
Ethylmethyl ketone	4.7	0.35	0.22	0.43	VI
Dioxane	4.8	0.36	0.24	0.40	VI
Benzonitrile	4.8	0.31	0.27	0.42	VI
Acetophenone	4.8	0.33	0.26	0.41	VI
2-Picoline	4.9	0.44	0.21	0.36	III
Acetone	5.1	0.35	0.23	0.42	VI
Methanol	5.1	0.48	0.22	0.31	II
Nitroethane	5.2	0.28	0.29	0.43	VII
Pyridine	5.3	0.41	0.22	0.36	III
Methoxyethanol	5.5	0.38	0.24	0.38	III
Benzyl alcohol	5.7	0.40	0.30	0.30	IV
Acetonitrile	5.8	0.31	0.27	0.42	VI
Acetic acid	6.0	0.39	0.31	0.30	IV
Nitromethane	6.0	0.28	0.31	0.40	VII
Methylformamide	6.0	0.41	0.23	0.36	III
Aniline	6.3	0.32	0.32	0.36	VI
Dimethylformamide	6.4	0.39	0.21	0.40	III
Ethylene glycol	6.9	0.43	0.29	0.28	IV
Dimethyl sulphoxide	7.2	0.39	0.23	0.39	III
Tetrafluoropropanol	8.6	0.34	0.36	0.30	VIII
Formamide	9.6	0.36	0.33	0.30	IV
Water	10.2	0.37	0.37	0.25	VIII

<sup>9</sup>L. R. Snyder, *J. Chromatogr. Sci.*, 16, 223 (1978).

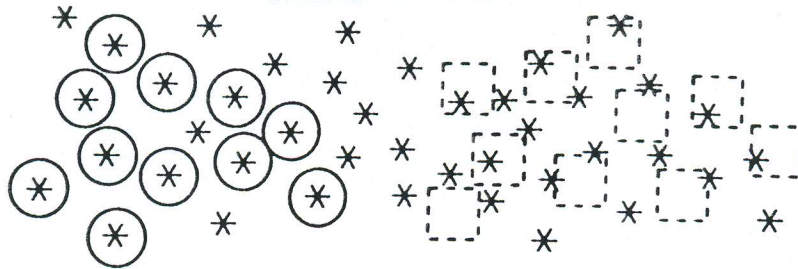
$$\underline{x_e + x_d + x_n = 1}$$

\* Οι πιο αδύνατοι διαλύτες (αλειφατικοί υδρογονάνθρακες, τετραχλωράνθρακας κ.τ.λ.) δεν έχουν περιληφθεί στον Πίνακα

# Localization parameter $m$

(Παράμετρος Εντοπισμού)

→ είναι μέτρο της ικανότητας των μορίων του διαλύτη να αντιδρούν με τα μόρια της σταθμής φάσης



Localizing  $\bigcirc$  and non-localizing  $\square$  molecules and their interaction with an adsorbent. The silica surface is drawn in an overhead view and its adsorptive centres (silanol groups) are symbolized by asterisks.

## Localizing strengths of solvents on silica<sup>11</sup>

Solvent	$m$	
Toluene	-0.43	
Benzene	-0.42	
Carbon tetrachloride	-0.35	
2-Chloropropane	-0.23	non-localizing
Bromoethane	-0.16	
Chlorobenzene	-0.12	
Ethyl sulphide	-0.03	
Chloroform	0.10	
• Dichloromethane	0.10	
1,2-Dichloroethane	0.14	
• Di Ethyl ether	0.43	
Ethyl acetate	0.60	localizing
Triethylamine	0.65	
Tetrahydrofuran	0.65	
tert-Butylmethyl ether	0.82	
Acetone	0.87	
Pyridine	1.09	
Acetonitrile	1.19	

<sup>11</sup>L. R. Snyder, in *High Performance Liquid Chromatography, Advances and Perspectives*, C. Horváth (ed.), Academic Press, New York, 1983, pp. 157-223, data on p. 186.

→ Αλλαγή διαλύτη ⇒ διαφορετική επιλεκτική ευαισθησία

# Optimization of the Mobile Phase

## ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ

### Πρόβλημα

Ένα μίγμα δείγματος, με ικανοποιητικές τιμές συντελεστού χωρητικότητας  $k'$ , επιλύεται με 52% διαιθυλαθέρα σε εζάνιο αλλά οι επί μέρους κορυφές δεν είναι επαρκώς διαχωρισμένες. Ποια μίγματα διαλυτών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να επιλυθεί το πρόβλημα;

### Λύση

} Ξωστή αντιμετώπιση, θεωρητική  $\epsilon'$ ,  $R'$  και  $m$  σε υπολογιστή για διάφορα μίγματα διαλυτών

$$R'_{\text{μίσματος}} = R'_1 \phi_1 + R'_2 \phi_2 + \dots + R'_n \phi_n$$

όπου  $R'_n$ : παράμετροι πολικότητας (περιέχονται στον Πίνακα)  
και  $\phi_n$ : μέρος όγκου του συστατικού  $n$

Στη συγκεκριμένη περίπτωση:

$$R'_{\text{hexane}} = 0.1 \approx 0$$

$$R'_{\text{ether}} = 2.8$$

$$R'_{\text{mixture}} = 2.8 \times 0.52 = 1.46$$

Διχλωρομεθάνιο και χλωροφόρμιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί του διαιθυλαθέρα.

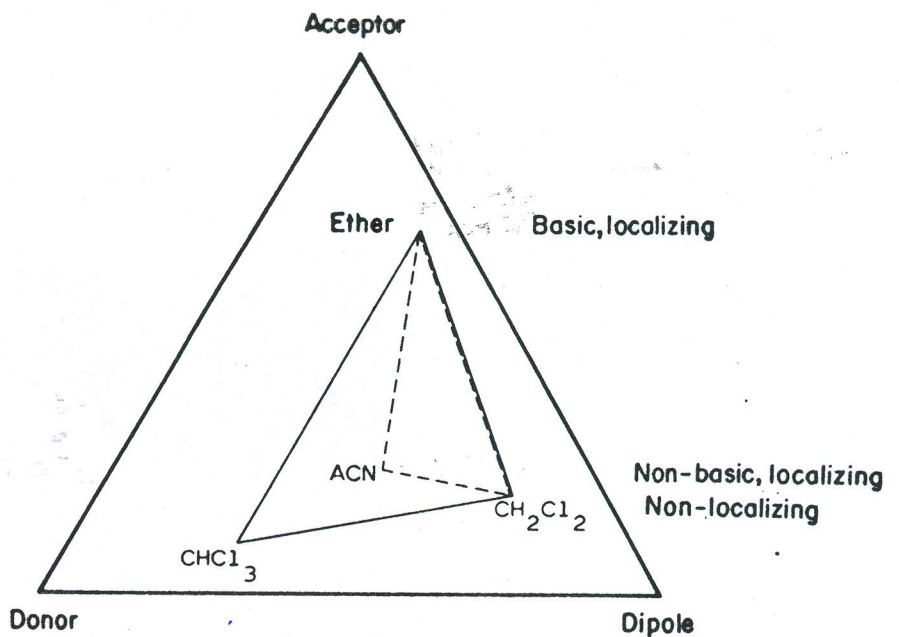
Τότε:

$$\rightarrow R'_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 3.1$$

$$\phi_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = \frac{R'_{\text{mix}}}{R'_{\text{CH}_2\text{Cl}_2}} = \frac{1.46}{3.1} = 0.47 \Rightarrow 47\% \text{ CH}_2\text{Cl}_2 \text{ σε εζάνιο}$$

$$\rightarrow R'_{\text{CHCl}_3} = 4.1$$

$$\phi_{\text{CHCl}_3} = \frac{1.46}{4.1} = 0.36 \Rightarrow 36\% \text{ CHCl}_3 \text{ σε εζάνιο}$$



# ΧΡΟΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟΥ ΦΑΣΕΩΣ

Η συγκράτηση των ουσιών ελαττώνεται ως εξής:

aliphatics > induced dipoles (e.g.  $\text{CCl}_4$ ) > permanent dipoles (e.g.  $\text{CHCl}_3$ ) > weak Lewis bases<sup>2</sup> (ethers, aldehydes, ketones) > strong Lewis bases (amines) > weak Lewis acids (alcohols, phenols) > strong Lewis acids (carboxylic acids).

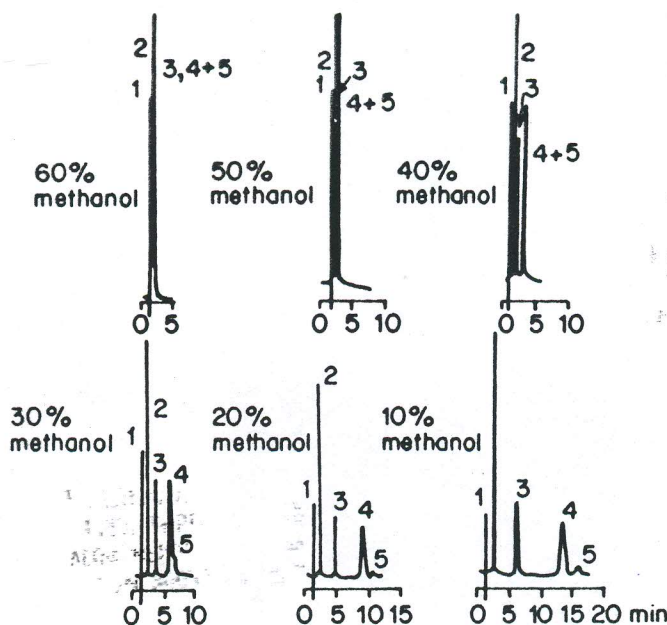
→ Σ.Φ. λιγότερο πολική από την Κ.Φ.

The mobile phase generally consists of mixtures of water or aqueous buffer solutions with various water-miscible solvents, e.g.

methanol  
acetonitrile (toxic!)  
ethanol  
isopropanol  
dimethylformamide  
propan-1-ol  
dioxane  
tetrahydrofuran

decreasing polarity

increasing elution power



2: benzene  
3: chlorobenzene  
4: o-dichlorobenzene  
5: iodobenzene

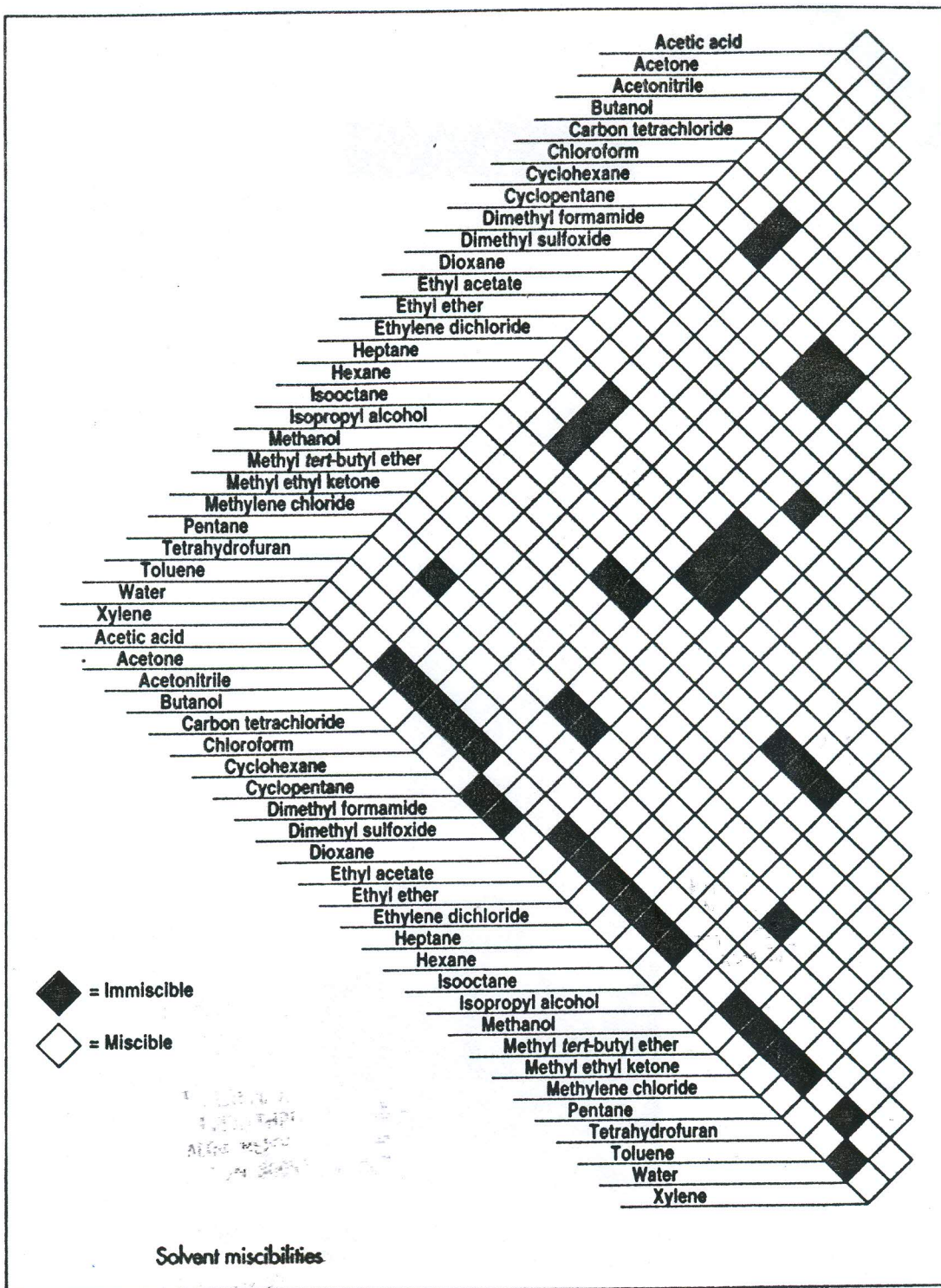
Effect of eluent composition in reversed-phase chromatography (N. A. Parris, *Instrumental Liquid Chromatography*, p. 157).

→ Το  $\text{H}_2\text{O}$  είναι το πιο ισχυρό εμulsionικό μέσο !!! για χρωματογραφία (μόνο στις διαδικασίες πρόσρξης).

ΣΤΗΝ RP-HPLC : το  $\text{H}_2\text{O}$  είναι η πιο 'ασθενής' κινητή φάση

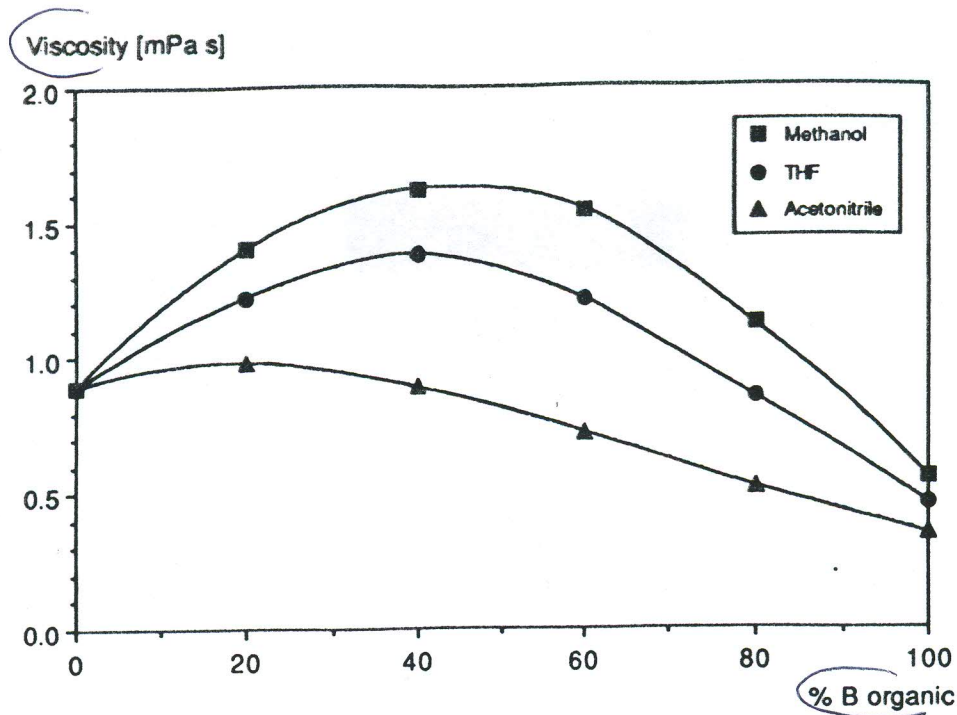
- όσο πιο πολύ  $\text{H}_2\text{O}$  περιέχει η Κ.Φ. τόσο πιο μεγάλος είναι ο χρόνος έμulsionσης των συστατικών

# Αναμειξιότητα Διαλυτών





# Ιξώδες Μιγμάτων Οργανικών Διαλυτών με $H_2O$



Viscosity of mixtures of water and organic solvents at 25 °C. (Numeric values after J. W. Dolan and L. R. Snyder, *Troubleshooting LC Systems*, Humana Press, Clifton, 1989, p. 85.)

→ Μεθανόλη: σχηματίζει με το  $H_2O$ , μίγματα σχετικώς υψηλού ιξώδους ⇒ μεγάλη πίεση

→ Ακετονιτρίλιο: πολύ αέριο  
πιθανός τοξικό ( $CH_3C \equiv N$ )  
μικρό ιξώδες ⇒ μικρή πίεση

# Ιδιότητες Διαλυτών

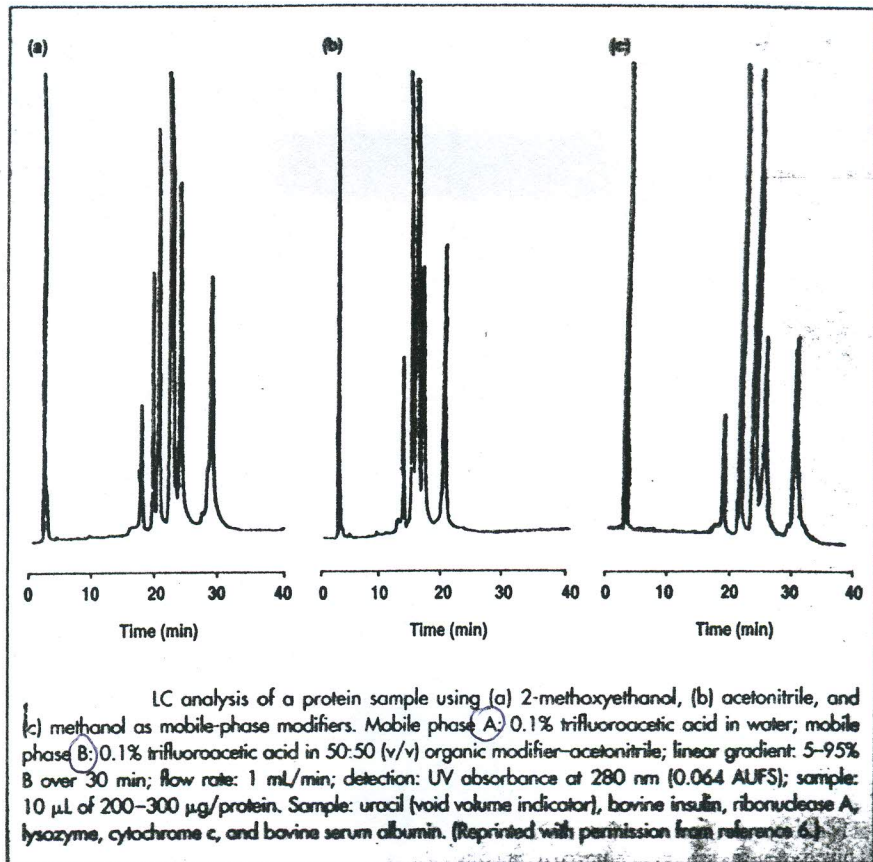
Solvent	UV Cutoff (nm)	Refractive Index (20 °C)	Viscosity (cP)	Boiling Point (°C)	Miscibility Number (M)	Polarity (P)	Dielectric Values		
							Alamina	C10	ε <sub>30°C</sub>
Acetone	330	1.3587	0.36	56.29	15,17	5.1	0.56	8.8	0.53
Acetonitrile	190	1.3441	0.38	81.60	11,17	5.8	0.65	3.1	0.52
<i>n</i> -Butyl acetate	254	1.3942	0.734	126.11	22	4.0	—	—	—
1-Butanol	215	1.3993	2.98	117.5	15	3.9	—	—	—
Chlorobenzene	287	1.5249	0.80	131.69	21	2.7	—	—	—
1-Chlorobutane	220	1.4021	0.45	78.44	—	1.0	—	—	—
Chloroform	245	1.4458	0.57	61.15	19	4.1	0.40	—	0.26
Cyclohexane	200	1.4242	1.0	80.72	28	0.2	0.04	—	—
Cyclopentane	200	1.4064	0.44	49.26	—	0.1	0.05	—	—
Decahydronaphthalene	200	1.4758	2.42	191.7	—	—	—	—	—
<i>o</i> -Dichlorobenzene	295	1.5514	1.32	180.48	—	2.7	—	—	—
Dimethyl acetamide	268	1.4384	0.84	166.1	—	6.5	—	—	—
Dimethyl formamide	268	1.4305	0.92	153.0	12	6.4	—	7.6	—
Dimethyl sulfoxide	268	1.4783	2.24	189.0	9	7.2	0.62	—	—
1,4-Dioxane	215	1.4224	1.37	101.32	17	4.8	0.56	11.7	0.51
Ethyl acetate	256	1.3724	0.45	77.11	19	4.4	0.58	—	0.48
Ethylene dichloride	228	1.4448	0.79	83.48	—	3.5	0.49	—	—
Ethyl ether	215	1.3524	0.24	34.55	23	2.8	0.38	—	0.43
Glyme	220	1.3796	0.46	83.5	—	—	—	—	—
Heptane	200	1.3876	0.40	98.43	29	0.1	0.01	—	0.00
Hexadecane	190	1.4340	—	287.0	—	0.5	—	—	—
Hexane	195	1.3749	0.31	68.7	29	0.1	0.01	—	0.00
Isooctane	215	1.3914	0.50	99.24	29	0.1	0.01	—	—
Isobutyl alcohol	220	1.3959	—	107.7	15	4.0	—	—	—
Isopropyl alcohol	205	1.3772	2.40	82.26	15	3.9	0.82	8.3	0.6
Methanol	205	1.3284	0.55	64.7	12	<u>5.1</u>	0.95	1.0	0.7
2-Methoxyethanol	210	1.4020	1.72	124.6	—	5.5	—	—	—
Methyl <i>tert</i> -butyl ether	210	1.3689	0.27	55.2	—	2.5	0.35	—	0.48
Methyl ethyl ketone	329	1.3788	0.43	79.64	17	4.7	0.51	—	—
Methyl isoamyl ketone	330	1.4072	0.80	144.9	—	4.0	—	—	—
Methyl isobutyl ketone	334	1.3957	0.506	116.5	—	4.2	0.43	—	—
Methyl <i>n</i> -propyl ketone	331	1.3901	0.51	102.4	—	4.5	—	—	—
Methylene chloride	233	1.4241	0.44	39.75	20	3.1	0.42	—	0.30
<i>n</i> -Methyl-2-pyrrolidone	285	1.4680	1.67	202.00	—	6.7	—	—	—
Pentane	190	1.3575	0.23	36.07	—	0.0	0.00	—	0.00
Propyl alcohol	210	1.3856	2.3	97.2	—	4.0	0.82	—	—
Propylene carbonate	280	1.4210	—	241.7	—	6.1	—	—	—
Pyridine	—	1.5102	0.95	115.25	16	5.3	0.71	—	—
Tetrahydrofuran	212	1.4072	0.55	66.0	17	4.0	0.45	3.7	0.53
Toluene	284	1.4969	0.59	110.62	23	2.4	0.29	—	0.22
1,2,4-Trichlorobenzene	308	1.5717	0.566	213.5	—	—	—	—	—
Trichloroethylene	273	1.4767	0.567	87.19	25	1.0	—	—	—
Trichlorotrifluoroethane	231	1.3557	0.711	47.57	—	0.0	—	—	0.02
Trifluoroacetic acid	210	1.2850	0.926	71.8	—	—	—	—	—
Water	190	1.3330	1.00	100.0	—	10.2	—	—	—
<i>o</i> -Xylene	288	1.5054	0.81	144.41	—	2.5	0.26	—	—

## SPECIAL SELECTIVITY EFFECTS FROM TERNARY SOLVENT MIXTURES<sup>11</sup>

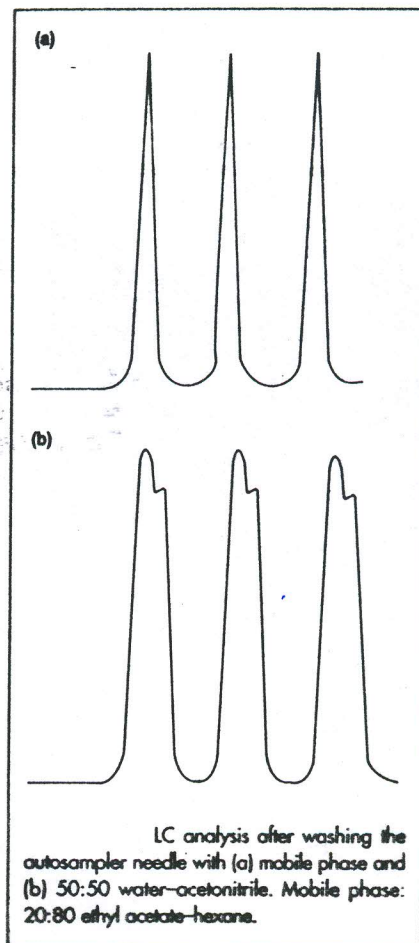
If a relatively small amount (5-25%) of a third component is added to an optimum-strength methanol-water mixture, then special selectivity effects come into play, by means of which sample components with special functional groups are eluted at a specifically faster or slower rate:

- (a) Acetonitrile as the third component accelerates compounds with the ester function —COOR selectively.
- (b) Tetrahydrofurane accelerates compounds with methoxy groups —OCH<sub>3</sub> with respect to similar substances which do not contain such groups.
- (c) Acetonitrile retains compounds containing methoxy groups.
- (d) Dichloromethane accelerates compounds with chloro groups —Cl.
- (e) Tetrahydrofuran accelerates straight-chain products with respect to cyclic compounds. Sorbic acid ( $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCOOH}$ ) and benzoic acid ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ ) cannot be separated with a methanol-water mixture but a combination of 60% water (pH 2), 32% methanol and 8% tetrahydrofurane does achieve the desired effect.
- (f) N,N-Dimethylformamide accelerates basic compounds (aromatic amines, N-heterocyclics) and reduces the amount of tailing.<sup>12</sup>

Χρήση Διαλυτών παρόμοιας πολικότητας  
 ⇒ παρ' όλ' αυτά διαφοροποίηση χρωματογραφημάτων



gradient  
 → με A και B  
 Κ.Φ.



Ασυμφορία  
 Διαλυτών