

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΩΣ

17-1. ΓΕΝΙΚΟΤΗΤΕΣ

Η χρωματογραφική ανάλυση, γνωστή συνήθως ως χρωματογραφία, περιλαμβάνει σειρά τεχνικών φυσικού διαχωρισμού και προσδιορισμού των συστατικών μείγματος ανόργανων ή οργανικών ουσιών. Ο διαχωρισμός πετυχαίνεται με κατανομή των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιάς στατικής και μιάς κινητής, που βρίσκονται στη χρωματογραφική "στήλη". Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές, που υπάρχουν σε ορισμένες ιδιότητες των συστατικών ενός μείγματος, όπως είναι το σημείο ζέσεως, η πολικότητα, τα ηλεκτρικά φορτία (για ιονικές ενώσεις), το μέγεθος των μορίων κ.ά. Οι διαφορές αυτές διαφοροποιούν τη σχετική φυσικοχημική συγγένεια κάθε συστατικού προς τις δύο φάσεις της χρωματογραφικής στήλης. Έτσι, η κινητή (ή φέρουσα) φάση, διερχόμενη μέσα από τη στατική, προκαλεί διαφορετική μετατόπιση επάνω σε αυτή των συστατικών του μείγματος, τα οποία διαχωρίζονται μεταξύ τους και συνήθως εξέρχονται από τη στήλη, σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Εάν στην έξοδο της στήλης υπάρχει σύστημα ανιχνεύσεως και καταμετρήσεως της ποσότητας κάθε συστατικού, εκτός από το διαχωρισμό και παράλληλα με αυτό, πραγματοποιείται και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών.

Η χρωματογραφία ανακαλύφθηκε και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από το Ρώσο βοτανολόγο Tswett (1903), στην προσπάθειά του να διαχωρίσει τις χρωστικές των φύλλων. Αυτός εκχύλισε τα πράσινα μέρη των φύλλων σε πετρελαϊκό αιθέρα και διαβίβασε το εκχύλισμα μέσα από στήλη από κονιοποιημένο CaCO_3 , οπότε τα συστατικά (χλωροφύλλες) διαχωρίστηκαν σε διάκριτες έγχρωμες ζώνες. Εξαιτίας αυτού του γεγονότος, η τεχνική ονομάστηκε διεθνώς "χρωματογραφία", από τις Ελληνικές λέξεις χρώμα και γράφω, αν και τα χρώματα είναι συμπτωματικά και καμμία σχέση έχουν με τις αρχές της τεχνικής. Από

τότε η τεχνική βελτιώθηκε και διαμορφώθηκαν και άλλες τεχνικές, ώστε σήμερα η χρωματογραφία να αποτελεί την καλύτερη τεχνική διαχωρισμού και αναλύσεως πολύπλοκων μειγμάτων και απομονώσεως ευπαθών ουσιών, έγχρωμων και άχρωμων, με εφαρμογές όχι μόνο στη Χημεία, αλλά και σε άλλες επιστήμες, όπως Βιολογία, Ιατρική, Φαρμακευτική, Επιστήμη Περιβάλλοντος, Επιστήμη Τροφίμων, Γεωπονία, κλπ. Σπουδαιότεροι σταθμοί στην ανάπτυξη της χρωματογραφίας είναι η σύνθεση της πρώτης ιονανταλλακτικής ρητίνης από τους Adams και Holmes το 1935, η ανάπτυξη της υγρής-υγρής χρωματογραφίας κατανομής από τους Martin και Synge το 1941 (για την εργασία τους αυτή πήραν το βραβείο Nobel το 1954), η ανάπτυξη της αεριοχρωματογραφίας από τους Martin και James το 1952, και η ανάπτυξη της υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδόσεως τα τελευταία χρόνια.

Ταξινόμηση χρωματογραφικών τεχνικών. Η διαφοροποίηση των χρωματογραφικών τεχνικών καθιστά δύσκολη την ταξινόμησή τους με βάση ένα μόνο κριτήριο. Οι τεχνικές αυτές διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη φύση της κινητής φάσεως, τη φύση και μορφή της στατικής φάσεως, ως προς το μηχανισμό, στον οποίο οφείλεται ο διαχωρισμός και ως προς τον τρόπο εισαγωγής του δείγματος στη στατική φάση και κινήσεώς του μέσα απ' αυτή. Έτσι η ταξινόμηση μπορεί να γίνει:

1) *Με βάση τη φύση της κινητής και στατικής φάσεως:* Ταξινομούνται σε *υγρή χρωματογραφία (LC)* και *αέρια χρωματογραφία (GC)*, αναλόγως του εάν η κινητή φάση είναι υγρή ή αέρια. Οι δύο αυτές τάξεις υποδιαιρούνται παραπέρα ανάλογα με τη φύση της στατικής φάσεως, που μπορεί να είναι στερεή ή υγρή επάνω σε στερεό αδρανή φορέα. Έτσι, διακρίνονται σε *υγρή-στερεή χρωματογραφία (LSC)*, *υγρή-υγρή χρωματογραφία (LLC)*, *αέρια-στερεή χρωματογραφία (GSC)*, και *αέρια-υγρή χρωματογραφία (GLC)*.

2) *Με βάση το μηχανισμό διαχωρισμού:* Ταξινομούνται στις ακόλουθες πέντε τάξεις, ανάλογα με το μηχανισμό, με τον οποίο τα συστατικά του μείγματος κατακρατούνται από τη στατική φάση και γίνεται έτσι δυνατός ο διαχωρισμός:

α) *Χρωματογραφία προσροφήσεως (adsorption chromatography).* Είναι η παλαιότερη χρωματογραφική τεχνική, στην οποία τα συστατικά του μείγματος αλληλεπιδρούν (προσροφούνται) στην επιφάνεια ή σε ορισμένες θέσεις της επιφάνειας στερεής, συνήθως, στατικής φάσεως. Η ισορροπία, που αποκαθίσταται μεταξύ των προσροφημένων σωματιδίων και των σωματιδίων στην κινητή φάση, η οποία μπορεί να

Χρησιμοποιούνται ιονανταλλακτικές ρητίνες ή πηκτές (γέλες) (σελ. 393), ως στερεή στατική φάση και ένα υγρό, ως κινητή φάση. Τα ιονικά συστατικά του μείγματος συγκρατούνται ηλεκτροστατικά σε διάφορο βαθμό από τις με αντίθετο φορτίο ιονικές ομάδες της στατικής φάσεως.

γ) *Χρωματογραφία κατανομής* (partition chromatography). Στην τεχνική αυτή τα συστατικά του μείγματος κατανέμονται μεταξύ λεπτής στιβάδας υγρής στατικής φάσεως, που σχηματίζεται στην επιφάνεια στερεού υποστρώματος, και μίας υγρής κινητής φάσεως. Εάν η υγρή στατική φάση είναι πολικότερη από την κινητή φάση, πρόκειται για *χρωματογραφία κανονικής φάσεως*, ενώ στην αντίθετη περίπτωση έχουμε *χρωματογραφία αντίστροφης φάσεως* (reversed phase chromatography).

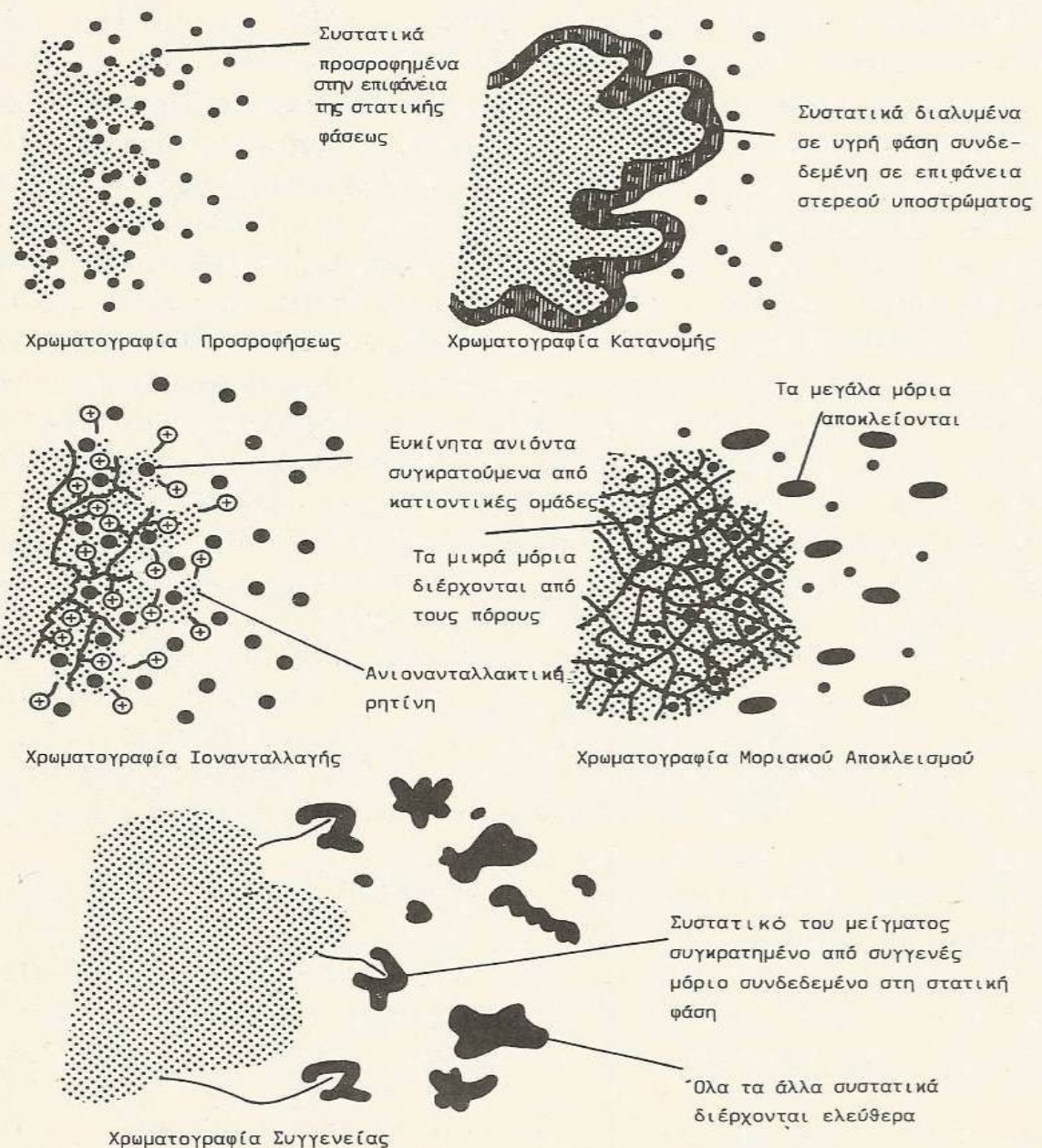
δ) *Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού* (molecular exclusion chromatography). Σε αντίθεση με τα προηγούμενα είδη χρωματογραφίας, στην τεχνική αυτή, σε ιδανικές συνθήκες, δεν παρατηρείται αλληλεπίδραση μεταξύ των συστατικών του μείγματος και της στατικής φάσεως. Η υγρή ή αέρια κινητή φάση διέρχεται μέσα από πορώδη πηκτή, το μέγεθος των πόρων της οποίας είναι αρκετά μικρό, ώστε να επιτρέπει την είσοδο στο δίκτυο της πηκτής μόνο μορίων μικρού μεγέθους, αποκλείοντας τα μόρια μεγάλου μεγέθους. Έτσι, τα μόρια μεγάλου μεγέθους διέρχονται ταχέως χωρίς να εισέρχονται στο δίκτυο της πηκτής, ενώ τα μόρια μικρού μεγέθους μπαίνοντας στο δίκτυο αργούν να εξέλθουν από τη στήλη, αφού χρειάζονται μεγαλύτερο όγκο κινητής φάσεως για να τα παρασύρει. Έτσι, τα μόρια διαχωρίζονται με βάση το μέγεθός τους, με τα μόρια μεγάλου μεγέθους να εξέρχονται πρώτα. Η τεχνική είναι γνωστή και ως *χρωματογραφία διηθήσεως πηκτής (γέλης)* (gel filtration chromatography) ή *χρωματογραφία διαπερατότητας πηκτής (γέλης)* (gel permeation chromatography).

ε) *Χρωματογραφία συγγενείας* (affinity chromatography). Αυτή η νεώτερη και περισσότερο εκλεκτική τεχνική βασίζεται στην εξαιρετικά εξειδικευμένη αλληλεπίδραση ενός μορίου του μείγματος με ένα μόριο, που έχει χημικά δεσμευθεί (ακινητοποιηθεί) στη στερεή στατική φάση.

Στο σχήμα 17-1 δίνονται παραστατικά τα διάφορα είδη χρωματογραφίας με βάση το μηχανισμό διαχωρισμού.

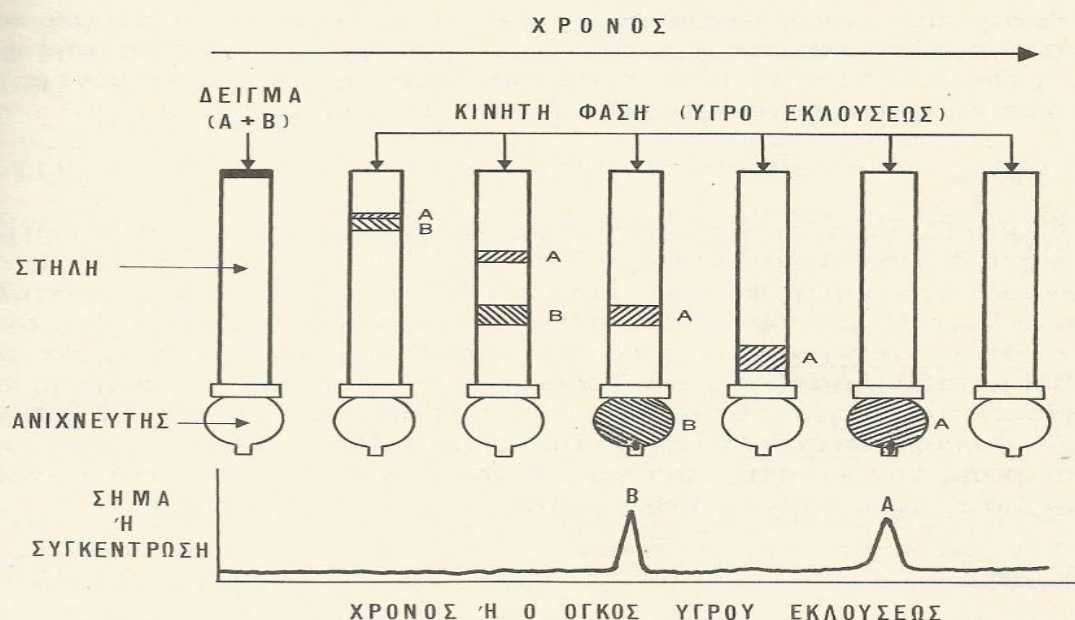
3) *Με βάση τη φυσική μορφή της στατικής φάσεως*. Στις περισσότερες χρωματογραφικές τεχνικές η στατική φάση συγκρατείται σε μία στήλη μέσα από την οποία η κινητή φάση διαβιβάζεται με πίεση ή ρέει λόγω βαρύτητας. Η τάξη αυτή, που ονομάζεται *χρωματογραφία στήλης* (column chromatography), υποδιαιρείται σε δύο ομάδες ανάλογα με τον τρόπο ακινητοποίησεως της στατικής φάσεως. Στη *χρωματογραφία πληρωμένων στηλών* (packed columns chromatography), η στατική

φάση αποτελείται από μικρά στερεά σωματίδια (συντά επικαλυμμένα με λεπτό υμένα υγρού) και περιέχεται σε ένα ανοικτό σωλήνα. Στη *χρωματογραφία ανοικτών τριχοειδών στηλών* (open capillary (tubular) chromatography), η υγρή στατική φάση εξαναγκάζεται να διέλθει μέσα από ένα τριχοειδή σωλήνα και να επικαλύψει το εσωτερικό τοίχωμα του σωλήνα με ένα λεπτό υμένα, που συγκρατείται από τριχοειδείς δυνάμεις ή με χημικό δεσμό. Στη δεύτερη τάξη, που ονομάζεται *επίπεδη χρωματογραφία* (planar chromatography), η στατική φάση είναι μία λωρίδα χάρτη ή μία στιβάδα στερεού επιστρωμένη σε υάλινη, ή από άλλο υλικό, πλάκα. Η υγρή κινητή φάση διέρχεται μέσα από τη στατική με τη βοήθεια τριχοειδών δυνάμεων ή της βαρύτητας.



Σχήμα 17-1. Κυριότερα είδη χρωματογραφίας με βάση το μηχανισμό διαχωρισμού.

Βασική αρχή και ορολογία χρωματογραφίας εκλούσεως. Για την καλύτερη κατανόηση της βασικής αρχής της χρωματογραφίας και της ορολογίας της, δίνεται στο σχήμα 17-2 το σχηματικό διάγραμμα ενός χρωματογραφικού διαχωρισμού. Ορισμένη ποσότητα δείγματος δύο συστατικών, Α και Β, προστίθεται στην κινητή φάση στην κορυφή ή αρχή της στήλης. Καθώς το δείγμα μετακινείται στη στήλη, τα συστατικά του κατανέμονται, με κάποιο μηχανισμό, μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσεως. Το κλάσμα κάθε συστατικού, που βρίσκεται στην κινητή φάση, μετακινείται στη στήλη, ερχόμενο σε επαφή με νέο τμήμα της στατικής φάσεως, οπότε συμβαίνει νέα κατανομή. Κατά τον ίδιο χρόνο, το κλάσμα του συστατικού, που βρισκόταν στη στατική φάση, έρχεται σε επαφή με νέο τμήμα της κινητής φάσεως, οπότε υφίσταται περαιτέρω κατανομή. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται πολλές φορές, καθώς διαβιβάζεται συνεχώς, και συνήθως με σταθερή παροχή, νέα κινητή φάση στη στήλη. Τα συστατικά μετακινούνται μέσα από τη στήλη, μόνον όταν βρίσκονται στην κινητή φάση και η ταχύτητα μετακινήσεώς τους εξαρτάται από το κλάσμα το χρόνου παραμονής τους σε αυτή, το οποίο είναι συνάρτηση του συντελεστή κατανομής τους στις δύο φάσεις. Έτσι, συστατικά με διαφορετικούς συντελεστές κατανομής θα μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες μέσα από τη στήλη, με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται σε ζώνες, όπως φαίνεται στο σχήμα 17-2. Στο τέλος τα διαχωρισμένα συστατικά εξέρχονται από τη στήλη, όπου και μπορούν να ανιχνευθούν ή/και να συλλεγούν.



Σχήμα 17-2. Σχηματική παράσταση διαχωρισμού με χρωματογραφία εκλούσεως.

Η κινητή φάση (υγρό ή αέριο) ονομάζεται *υγρό (ή αέριο) εκλούσεως* (eluent), ενώ το διάλυμα, που εξέρχεται από τη στήλη, *έκλουσμα* (eluate). Η διαδικασία αυτή, δηλαδή η διαβίβαση υγρού (ή αερίου) εκλούσεως μέσα από τη χρωματογραφική στήλη, ονομάζεται *έκλουση*, και εάν αυτή γίνεται με σταθερή παροχή, τότε μιλούμε για *γραμμική έκλουση*. Στο τέλος της στήλης τοποθετείται συνήθως ένας ανιχνευτής, που παρακολουθεί μία αναλυτική ιδιότητα του εκλούσματος και παράγει ένα σήμα, κάθε φορά που εκλύεται ένα συστατικό (*χρωματογραφική κορυφή*). Το διάγραμμα αυτού του σήματος ως συνάρτηση του όγκου του υγρού (ή αερίου) εκλούσεως ονομάζεται *χρωματογράφημα*. Στην περίπτωση γραμμικής εκλούσεως, αντί του όγκου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο χρόνος. Τα χρωματογραφήματα εκλούσεως παρέχουν πληροφορίες, χρήσιμες για την ποιοτική και την ποσοτική ανάλυση, επειδή

ο χρόνος, που χρειάζεται ένα συστατικό για να εκλουσθεί, είναι χαρακτηριστικός για το συστατικό αυτό, ενώ το ύψος ή η ολοκληρωμένη επιφάνεια της κορυφής του σήματος μπορεί να σχετισθεί με τη συγκέντρωση του συστατικού.

Η βάση της χρωματογραφίας εκλούσεως είναι η κατανομή των συστατικών ενός μείγματος μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσεως, η οποία είναι μία διαδικασία ισορροπίας, που περιγράφεται με το *λόγο ή συντελεστή κατανομής K*, που ορίζεται με τη σχέση

$$K = C_S / C_M \quad (17-1)$$

όπου C_S και C_M είναι οι συγκεντρώσεις του συστατικού στη στατική (S) και κινητή φάση (M), αντίστοιχα.

Ο όγκος της κινητής φάσεως, που απαιτείται να διέλθει από τη στήλη για να εκλουσθεί μία ουσία στο μέγιστο της συγκεντρώσεώς της, ονομάζεται *όγκος συγκρατήσεως ή ανασχέσεως*, V_R , ενώ ο χρόνος, που μεσολαβεί μεταξύ εισαγωγής του δείγματος στην είσοδο της στήλης και εμφανίσεως του μεγίστου της κορυφής της ουσίας, ονομάζεται *χρόνος συγκρατήσεως ή ανασχέσεως*, t_R . Εάν είναι γνωστή η ογκομετρική ταχύτητα ροής της κινητής φάσεως, F (σε μονάδες όγκου ανά μονάδα χρόνου), ο χρόνος συγκρατήσεως υπολογίζεται από τη σχέση

17-2. ΘΕΩΡΙΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Αποτελεσματικότητα στήλης - Θεωρία πλακών. Στο σχήμα 17-2 φαίνεται, ότι κατά τη διάρκεια της εκλούσεως συμβαίνουν δύο ενδιαφέρουσες διαδικασίες: 1) Τα συστατικά του μείγματος μετακινούνται στη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες και 2) τα μόρια κάθε συστατικού διασπείρονται, από μία πολύ λεπτή αρχική ζώνη σε μία πολύ ευρύτερη ζώνη, καθώς εξέρχονται από τη στήλη (διεύρυνση κορυφής (ταινίας ή ζώνης)). Η πρώτη διαδικασία προκαλεί το διαχωρισμό των συστατικών, ενώ η δεύτερη τείνει να τα κρατήσει αναμειγμένα. Για να επιτευχθεί διαχωρισμός, οι ζώνες των συστατικών πρέπει να μετακινούνται χωριστά ταχύτερα απ' ό,τι διαπλατώνονται και επομένως μία χρωματογραφική στήλη είναι τόσο αποτελεσματικότερη, όσο μικρότερη διαπλάτυνση κορυφής προκαλεί για δεδομένο όγκο συγκρατήσεως.

Η πρώτη θεωρία της χρωματογραφίας διατυπώθηκε το 1940 από τους Martin και Synge (βραβείο Nobel Χημείας 1952) και συνδύαζε τη διεύρυνση κορυφής με τη μετακίνηση των συστατικών στη στήλη. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή (θεωρία πλακών), η κίνηση μιάς ουσίας A μέσα από τη χρωματογραφική στήλη μπορεί να θεωρηθεί ως μετακίνηση μέσω διαδοχικών θαλάμων (ζωνών) εξισορροπήσεως, που ονομάζονται θεωρητικές πλάκες. Μία θεωρητική πλάκα είναι ο απαιτούμενος όγκος της στήλης, ώστε μέσα σε αυτόν να αποκαθίσταται ισορροπία μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσεως. Η ισορροπία αυτή περιγράφεται με το λόγο ή συντελεστή κατανομής (σχέση 17-1). Οι θάλαμοι εξισορροπήσεως δεν έχουν σαφή όρια μεταξύ τους και η θεωρητική πλάκα είναι μία φανταστική έννοια, που δε συσχετίζεται με πραγματικές παραμέτρους της στήλης, διευκολύνει όμως τη μελέτη τους.

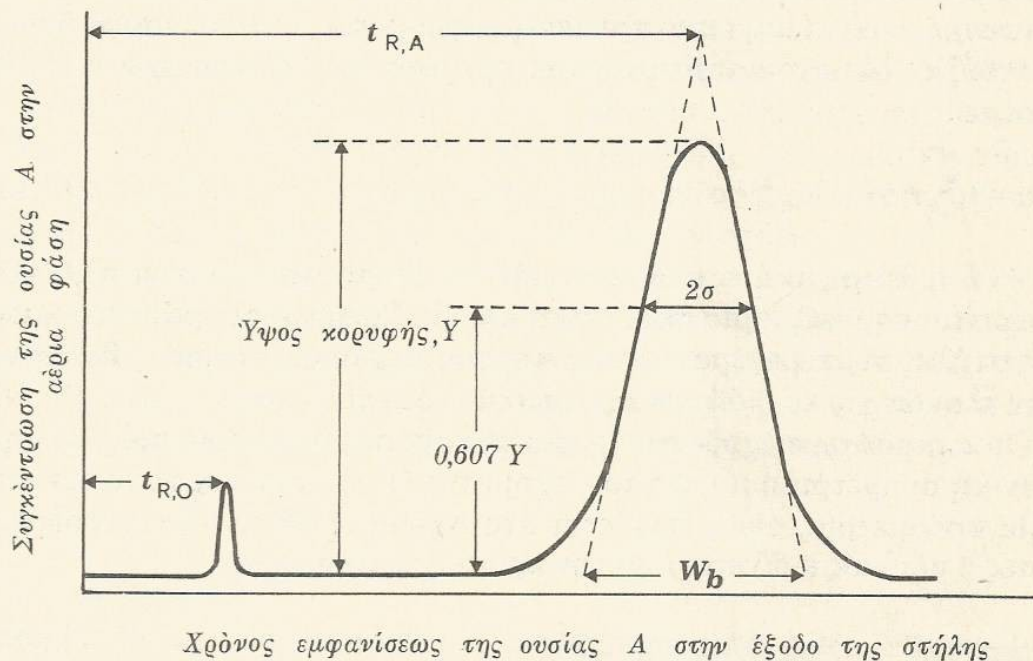
Η αποτελεσματικότητα της στήλης χαρακτηρίζεται από τη "λεπτότητα" μιάς θεωρητικής πλάκας ή το ύψος ισοδύναμο με μία θεωρητική πλάκα (ΥΙΘΠ), δηλαδή το μήκος της στήλης που αντιστοιχεί σε μία θεωρητική πλάκα και ισούται με

$$\text{ΥΙΘΠ} = h = L / n \quad (17-8)$$

όπου n είναι ο αριθμός των θεωρητικών πλακών της στήλης.

Στη θεωρία πλακών υποτίθεται, ότι συντελεστής κατανομής K είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση, ότι η ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων αποκαθίσταται ταχύτατα και ότι η ταχύτητα διαχύσεως μέσα σε μία φάση κατά μήκος της στήλης είναι αμελητέα. Με αυτές τις ιδανικές συνθήκες, η συγκέντρωση της ουσίας A στην κινητή φάση κατά μήκος της στήλης ακολουθεί κανονική στατιστική κατανομή κατά

Gauss. Επομένως, στην περίπτωση της γραμμικής εκλούσεως (σταθερή ταχύτητα κινήσεως κινητής φάσεως), η συγκέντρωση της ουσίας A στην έξοδο της στήλης, ως προς το χρόνο, θα δίνεται από καμπύλη ανάλογη με αυτή του σχήματος 17-3.



Σχήμα 17-3. Χρωματογράφημα και διάγραμμα συγκεντρώσεων των ουσιών A και O (αδρανής) κατά σειρά εξόδου από τη χρωματογραφική στήλη.

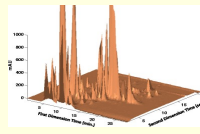
Ο αριθμός θεωρητικών πλακών για την ουσία A μπορεί να υπολογισθεί από παραμέτρους, που λαμβάνονται από τη χρωματογραφική κορυφή της, με βάση τις σχέσεις

$$n = 16 (t_{R,A}/w_b)^2 = 16 (V_{R,A}/w_b)^2 \quad (17-9)$$

$$n = 5,54 (t_{R,A}/w_{1/2})^2 = 5,54 (V_{R,A}/w_{1/2})^2, \quad (17-10)$$

όπου w_b είναι το εύρος κορυφής (η απόσταση μεταξύ των σημείων τομής της γραμμής βάσεως και των εφαπτομένων στα σημεία καμπής των πλευρών της κορυφής, σχήμα 17-3) και $w_{1/2}$ το εύρος της κορυφής στο μισό του ύψους της Y. Ο αριθμός θεωρητικών πλακών είναι καθαρός αριθμός, το ΥΙΘΠ (h) έχει μονάδες μήκους και οι όροι $t_{R,A}$ ($V_{R,A}$) και w_b μετρούνται στις ίδιες μονάδες, π.χ. cm ή mm καταγραφικού χάρτη ή mL. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός n, τόσο στενότερες είναι οι κορυφές και τόσο αποτελεσματικότερη η στήλη κατά το διαχωρισμό μειγμάτων ουσιών με παραπλήσιους χρόνους (όγκους) συγκρατήσεως.

Θεωρία Χρωματογραφίας

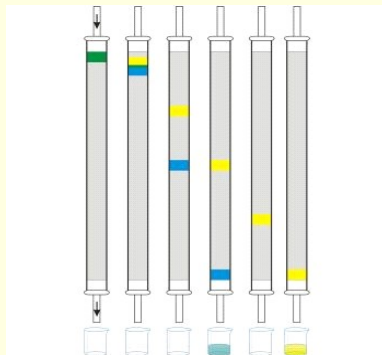


- ❖ Ορισμός
- ❖ Χρωματογραφικοί παράμετροι
- ❖ Διεύρυνση ζωνών
- ❖ Επεξεργασία δεδομένων

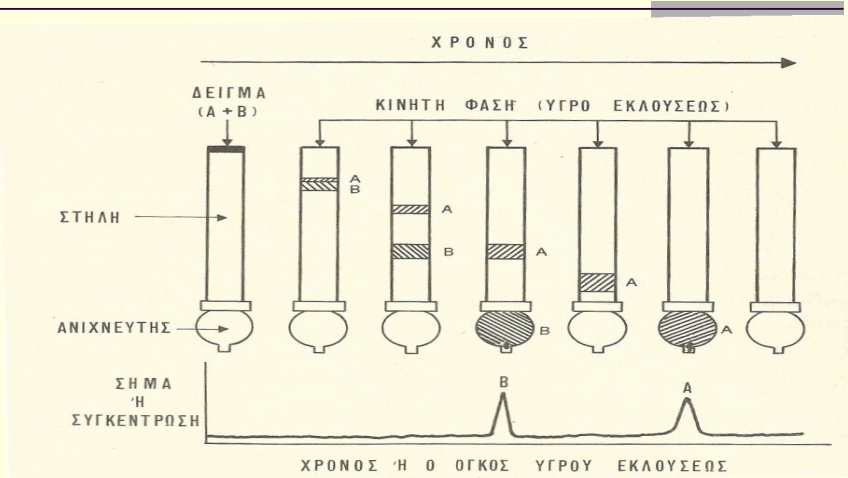
ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ:

Είναι η διαδικασία εκείνη βάση της οποίας επιτυγχάνεται διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος με κατανομή τους μεταξύ δύο μη μιγνυόμενων φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής.

Tswett 1903



Ερμηνεία φαινομένου

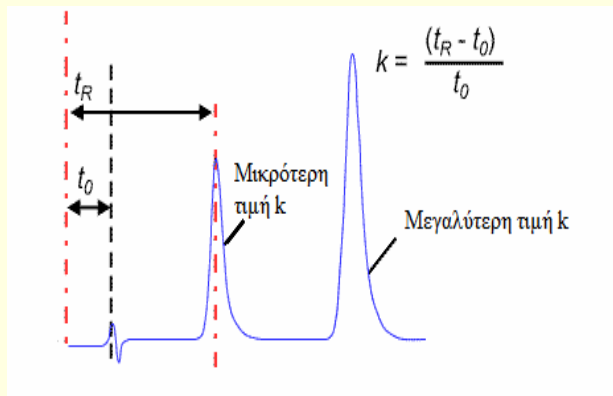


ΕΙΔΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΒΑΣΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ

- Χρωματογραφία προσροφήσεως
- Χρωματογραφία κατανομής
- Χρωματογραφία ιονανταλλαγής
- Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού
- Χρωματογραφία συγγενείας

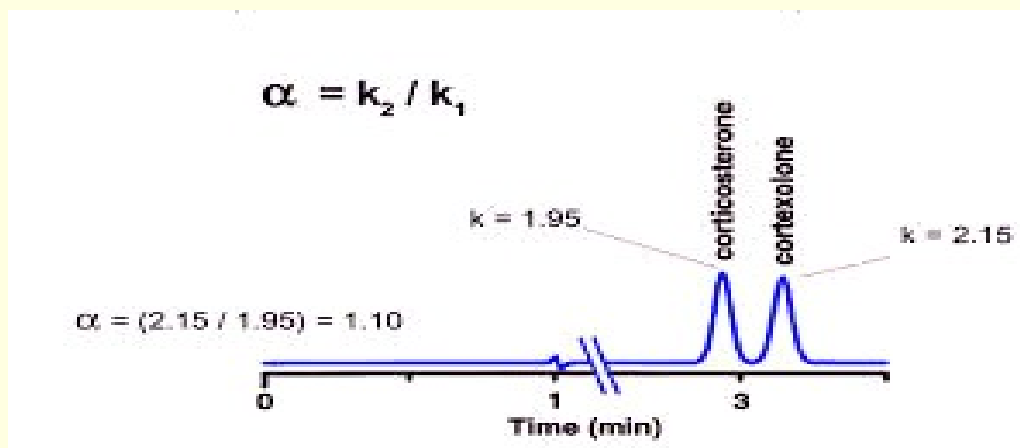
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

- Νεκρός όγκος στήλης (V_0), όγκος συγκράτησης ή ανάσχεσης του αναλύτη (V_r)
- Νεκρός χρόνος ή μέτωπο του διαλύτη (t_0), χρόνος ανάσχεσης της ουσίας ή χρόνος κατακράτησης (t_r)
- Συντελεστής κατακράτησης (k')



ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

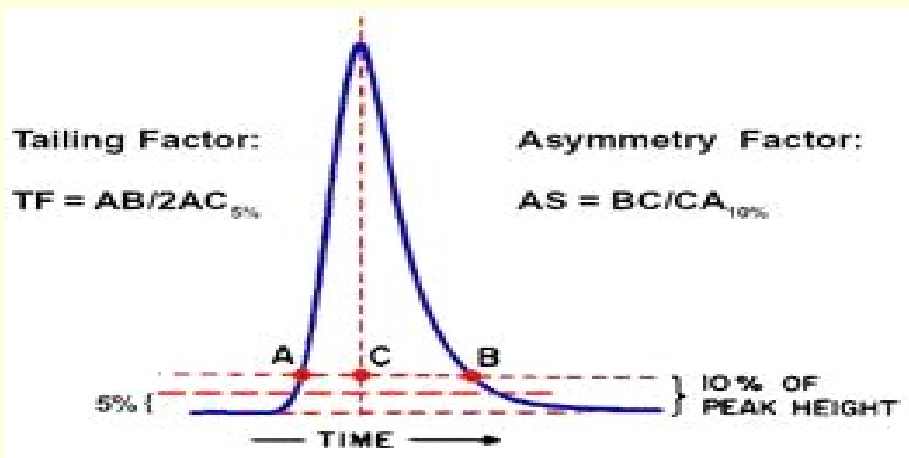
- Παράγοντας διαχωριστικότητας ή εκλεκτικότητα



$$\alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{(t_R)_B - t_0}{(t_R)_A - t_0}$$

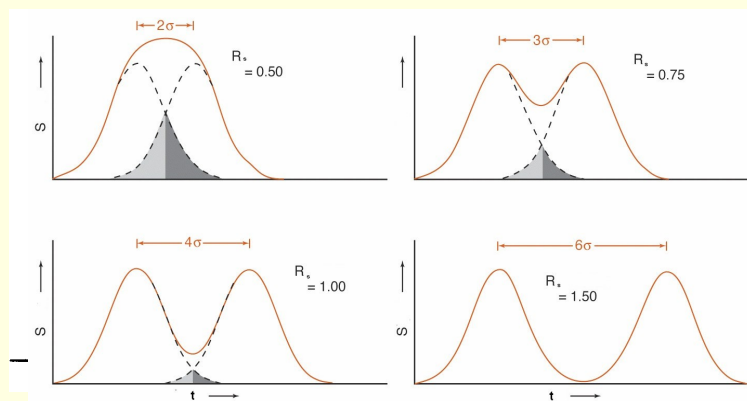
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

■ Παράγοντας ασυμμετρίας (A_s)



ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

■ Διαχωριστική ικανότητα (R_s)



$$R_s = \frac{1}{4} N^{0.5} \left(\frac{a-1}{a} \right) \left(\frac{k'_B}{1+k'} \right)$$

$$k' = \frac{k'_B + k'_A}{2}$$

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

- Αριθμός θεωρητικών πλακών

$$n = 5.54 \left(\frac{t_r}{w_{1/2}} \right)^2 = 16 \left(\frac{t_r}{w} \right)^2$$

- Αποτελεσματικότητα στήλης

$$N_{eff} = 5.54 \left(\frac{t'_r}{w_{1/2}} \right)^2 \quad t' = t_r - t_o$$

- Ύψος θεωρητικής πλάκας (H)

$$H = \frac{L}{N_{eff}}$$

