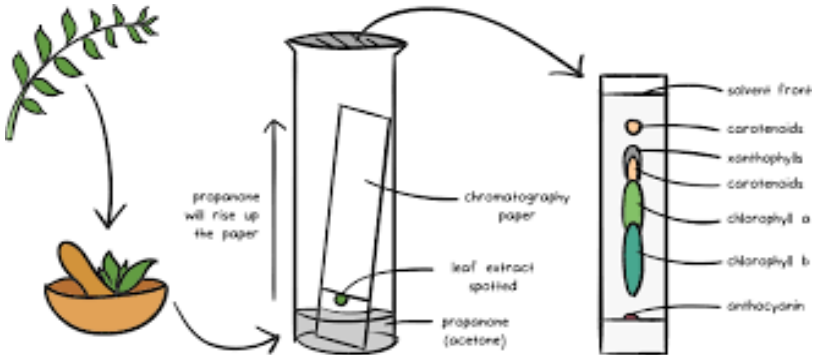
المحاضرة السابعة

الكروموتكرافيا

تمكن العالم الروسي في العام 1906م تسوت من اكتشاف الطرق الكروماتوجرافية عندما قام بفصل عصارة النبات على عمود معبأ بكربونات الكالسيوم. حيث مرر على هذا العمود محلولاً من الإيثر البترولي المحتوي على مواد النبات ولاحظ أن المواد قد انفصلت إلى طبقات لونية مختلفة. أطلق هذا العالم اسم كروماتوجرافيا على هذا النوع من الفصل، ويتركب هذا الاسم من عبارات يونانية تعني لوناً colours ويكتب to write
الكروماتوجرافيا يماثل التقطير التجزيئي الذي يعتمد على التحرك النسبي لطورين ولكن في الكروماتوجرافيا نجد أن أحد الطورين يكون ثابتا ويعرف بالطور الساكن stationary phase بينما الطور الآخر يكون متحركا ويعرف بالطور المتحرك mobile phase .

يمكن تصنيف الكروماتوجرافيا إلى تقنيات مختلفة منها :



يمكن تصنيف الكروماتوجرافيا إلى تقنيات مختلفة منها :

1- كروماتوجرافيا الورقة.
2- كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة.
3- كروماتوجرافيا الأعمدة ومنها
   أ- كروماتوجرافيا السائل ذو الكفاءة العالية (L.C or H.P.L.C).
   ب- كروماتوجرافيا الغاز (G.C).
   ج- كروماتجرافيا الأيونات (I.C).

النظرية الحركية للكروماتوجرافيا

تخيل أن الطور الساكن يمثل مرسى قوارب وبه أرصفة متعددة على طول النهر.

الطور المتحرك يمثل مياه النهر الجارية بينما المادة المراد فصلها يمكن تمثيلها بقوارب مختلفة الألوان. في كل صباح تتحرك ثلاثة مجموعات من القوارب (10 لكل مجموعة) في نفس الوقت، وكل مجموعة ممثلة بالألوان أحمر، أزرق، أخضر. القوارب الحمراء عليها أن تتوقف في كل الأرصفة (محطات)، القوارب الزرقاء تتوقف بعد كل رصيفين (كل محطتين)، بينما القوارب الخضراء تتوقف بعد كل ثلاثة أرصفة (ثلاثة محطات).

عند مشاهدة هذه القوارب في المساء في نهاية النهر مثلا سوف تشاهد القوارب الواصلة كالآتي:

مجموعة القوارب الخضراء أولاً ثم تليها مجموعة القوارب الزرقاء وأخيراً مجموعة القوارب الحمراء. وعليه المجموعة كلها (الحمراء، الزرقاء، الخضراء) التي تحركت في نفس الوقت وبنفس سرعة مياه النهر (الطور المتحرك) انفصلت إلى مجموعات خلال اليوم وذلك بسبب التوقف المختلف لكل مجموعة على الأرصفة (الطور الساكن) و نشير هنا إلى أن جميع الطرق الكروماتوجرافية تتبع ما ذكر أعلاه. ويجب الإشارة أيضا إلى أن الزمن المستغرق لكل مجموعة من بدء الرحلة صباحاً والوصول إلى آخر رصيف (محطة) مساءً يُقارن بزمن التأخير (زمن الاستبقاء) R.T (Retention-time) في الطرق الكروماتوجرافية.

كروموتكرافيا الورق

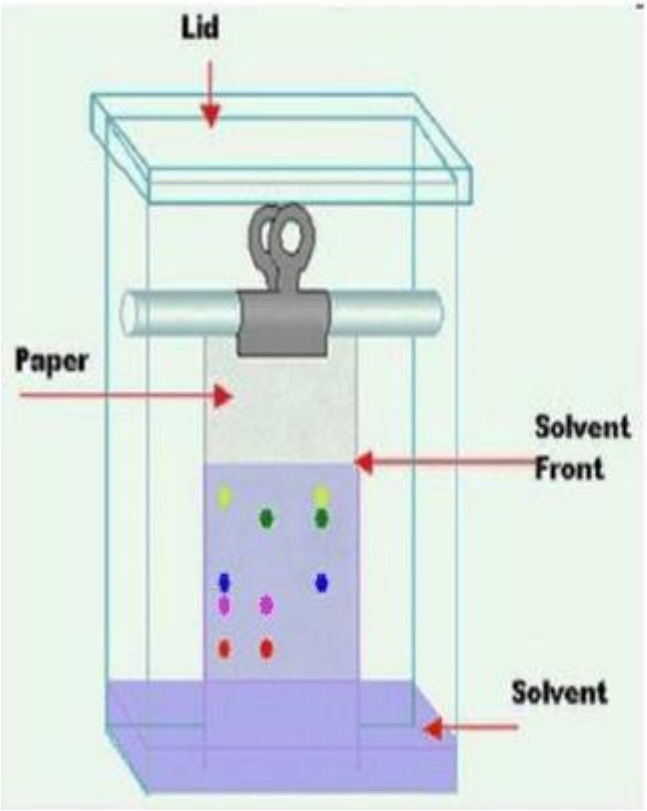
بعتبر كروماتوجرافيا الورق أحد أنواع كروماتوجرافيا التجزؤ (طور ساكن – سائل)، حيث يمثل الماء الممتز على جزيئات السليلوز في الورق الطور الساكن بينما يعمل الورق كدعامة صلبة (ساند للطور الساكن الماء). أما الطور المتحرك فيكون عادةً من خليط مذيبات عضوية.

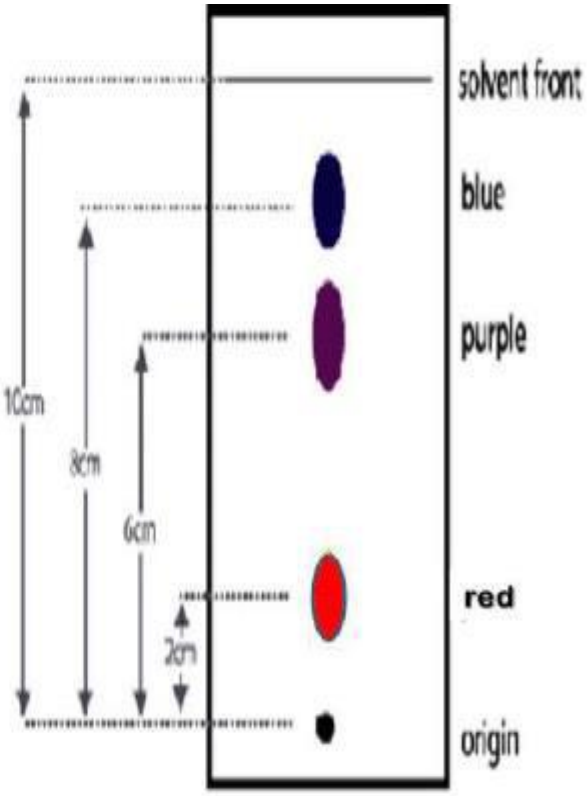
عند وضع بقعة من محلول العينة (المادة المراد فصلها) على حافة هذه الورقة (على بعد حوالي 2 سم) وبعد جفاف العينة والسماح للطور المتحرك بالانتقال خلال الورقة بخاصية الجاذبية الشعرية ماراً بالعينة، فإن العينة توزع نفسها بين الطورين وعلى هذا يتم الفصل.

- يجب ملاحظة أن درجة حرارة الطور المتحرك وكميته يجب أن تكون ثابتة وهذا يمكن الوصول إليه بتغطية خزان الطور المتحرك.

- عادةَ ما يستخدم كروماتوجرافيا الورق للتحليل النوعي وذلك بمقارنة قيم معامل الاعاقة (R.f) للمواد القياسية مع المجهول علماً بأن:

$$R_f = \frac{\text{المسافة التي قطعتها المادة بالسم}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب بالسم}}$$





كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة

Thin Layer Chromatography (TLC)

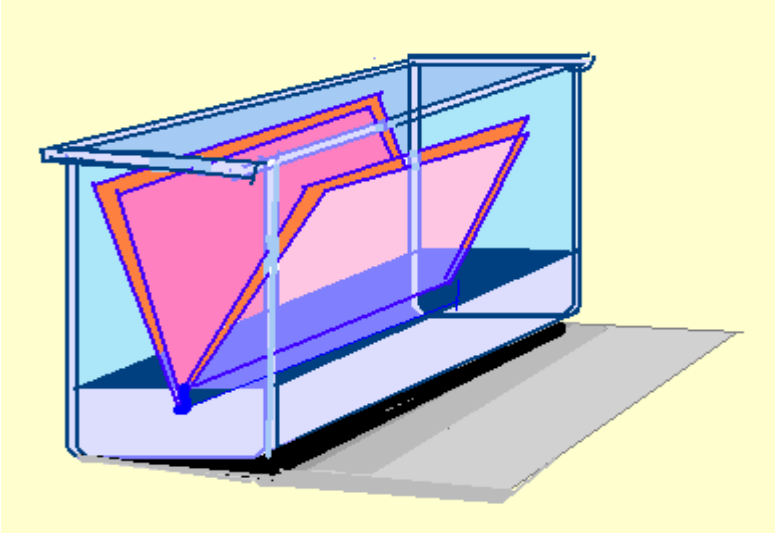
إن هذه الطريقة تشبه كروماتوجرافيا الورقة إلا أن الطور الساكن (صلب) عبارة عن طبقة رقيقة من مادة امتزاز ناعمة مطلية على صحيفة من الزجاج أو الألومونيوم.

تقنية التظهير هي نفسها كما في كروماتوجرافيا الورقة لكن كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة كما في الشكل رقم (2)، تتميز بالسرعة، التفريق الأفضل والحساسية العالية.

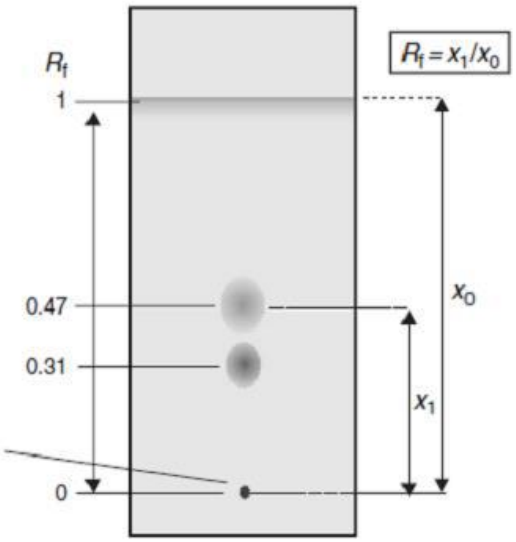
هنالك العديد من المواد التي يمكن استخدامها كطبقة رقيقة منها: الألومينا و السليكا ومسحوق السليلوز .

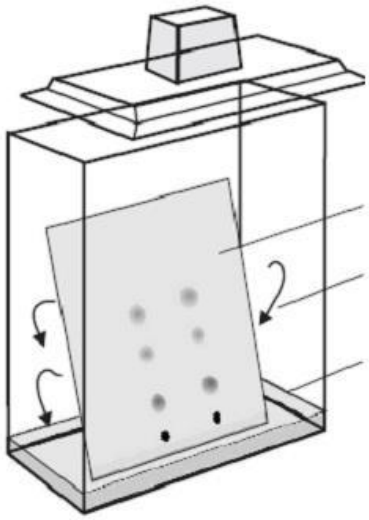
يتم التظهير بواسطة التقنية الصاعدة كما في الشكل رقم (2) والتشخيص للعينات المفصولة (إن لم تكن ملونة) تتم بعدة طرق منها رش الطبقة بعد تجفيفها بكواشف تعيين البقع locating reagent.

هذه التقنية تستخدم بكثرة في مجال تحديد النقاوة والتحليل النوعي لمكونات الخليط.



الشكل رقم (2) يوضح حوض التحليل وبه الطبقة الرقيقة

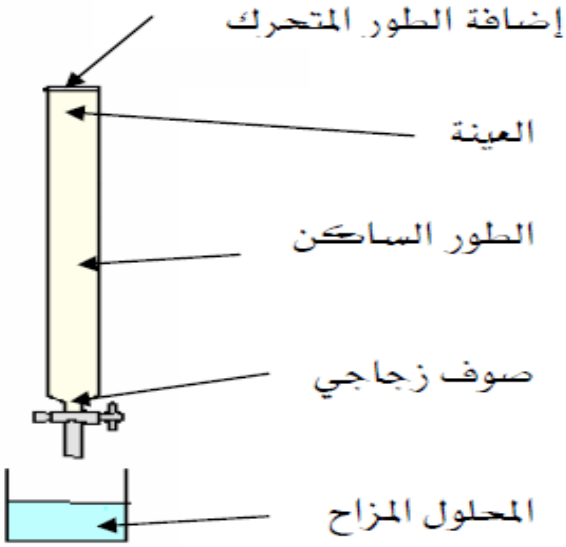




كروماتوجرافيا العمود الكلاسيكي

Classical Column Chromatography

تستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع في تحليل المركبات العضوية والحيوية حيث يتكون الطور الساكن من مادة صلبة مثل جل السليكا (وفيه نجد أن مواقع الامتزاز النشطة هي ذرات الأوكسجين الموجودة في مجموعة السيلانول Si-OH والتي تسمح بتكوين روابط هيدروجينية مع المواد المراد فصلها)، أو من مادة الألومينا والتي تشبه مادة السليكا من حيث النشاط السطحي. تعبأ المادة الصلبة في عمود يمر من خلاله الطور المتحرك كما في الشكل رقم (3).



شكل رقم (3) يوضح عمود الفصل الكلاسيكي

يعتمد معدل التحرك لأحد مكونات الخليط (المراد فصله) على مدى الإعاقة بواسطة الامتزاز فوق سطح المادة الصلبة (الطور الساكن)، لذا المكون أو المادة الأقل امتزازاً يتحرك بسرعة بالمقارنة مع المادة الأكثر امتزازاً.

اجب عن الاسئلة التالية

1- على ماذا تعتمد طريقة الفصل الكروماتوجرافية ؟

الجواب

1. على التحرك النسبي لطورين هما الطور الساكن والطور المتحرك.

....

2- اذكر بعض التقنيات المختلفة للكروماتوجافيا ؟

الجواب

(i)- كروماتوجرافيا الورقة.

(ii)- كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة.

(iii)- كروماتوجرافيا الأعمدة.

,,,

3- على ماذا تعتمد ميكانيكية الفصل في كروماتوجرافيا الورقة ؟

الجواب

ج. على التجزؤ. حيث إن الماء الممتز على جزيئات السليولوز في الورق يمثل الطور الساكن ويكون الورق دعامة صلبة. أما الطور المتحرك فهو خليط من مذيبات عضوية الذي ينتقل خلال الورقة

,,,

4- لأي نوع من التحليل يستخدم كروماتوجرافيا الورق ؟

الجواب

. يستخدم للتحليل النوعي. وذلك بمقارنة قيم زمن الاستبقاء للمواد القياسية مع العينة المجهولة.

,,

6- احسب معامل الإعاقة لمركب كيميائي قطع مسافة 2.0سم على ورقة الكروماتوجرافيا إذا علمت أن المسافة التي قطعها المذيب 4.0 سم ؟

الجواب

حجم الأمونيا $100 \quad X \frac{60}{80} = 75ml$

حجم الإيثانول $100 \quad x \frac{20}{80} = 25ml$

$Rf = 2/4 = 0.5$

8- ما هو الطور الساكن في كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة ؟

الجواب

8. هو عبارة عن مادة امتزاز ناعمة مطلية على صحيفة من الزجاج.

.....

9- كيف يمكن اختبار نقاوة مركب كيميائي باستخدام التقنيات الكروماتوجرافية ؟

الجواب

9. يقارن Rf للمركب مع Rf للمركب النقي المحضر.

.....

10- ما هو الأساس النظري في الفصل باستخدام تقنية كروماتوجرافيا العمود ؟

الجواب

10. الطور الساكن في كروماتوجرافيا العمود هو مادة صلبة مثل جل السليكا وفيه نجد أن مواقع الامتزاز النشطة هي ذرات الأوكسجين الموجودة في مجموعة السيلانول Si-OH والتي تسمح بتكوين روابط هيدروجينية مع المواد المراد فصلها، المواد الأقل امتزازاً تتحرك بسرعة من خلال العمود المحتوي على السليكا جل مقارنة بالمواد الأكثر امتزازاً.

11. (i)- يملأ العمود بمسحوق المادة الصلبة مباشرة ويتبع ذلك بإمرار الطور المتحرك خلال العمود.

(ii)- يملأ العمود بعجينة مصنوعة من مسحوق المادة الصلبة على دفعات مع قليل من الطور المتحرك.

12. (i)- من أفضل الطرق لفصل مخاليط يصل كمياتها إلى عدة ميكروجرامات.