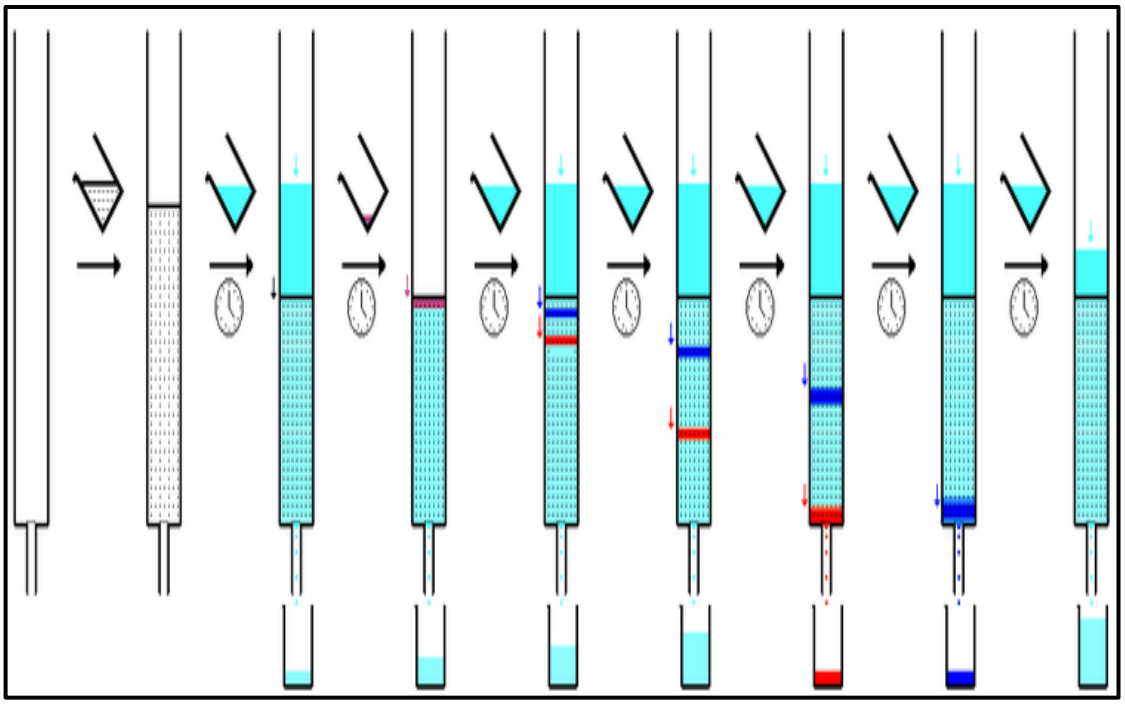
# التحليل الكروماتوجرافي (Chromatography)

التحليل الكروماتوجرافي أو ما يسمّى أيضاً بالتفريق اللوني، وهم يعتمد في طريقة فصله على فصل سوائل تختلف في خصائصها الفيزيائيّة القطبيّة مثلاً، وعلى اختلاف حجم المكوّنات، وعلى التآلف بين المركّبات ذات نفسها، ولها طرق مختلفة منها كروماتوغرافيا الـ TLC، وكروماتوغرافيا الغاز، وغيرها.



## مقدمة في التحليل الكروماتوجرافي

تعتبر طرق الفصل الكميائي من الطرق التحليلية الهامة ، والتي تستخدم للحصول على المواد المختلفة بصورة نقية ، دون وجود الشوائب العالقة بها ، وفي كثير من الأحيان تعتبر عملية الفصل جوهرية عند الحاجة إلى عمل اختبارات أخرى على المادة النقية مثل

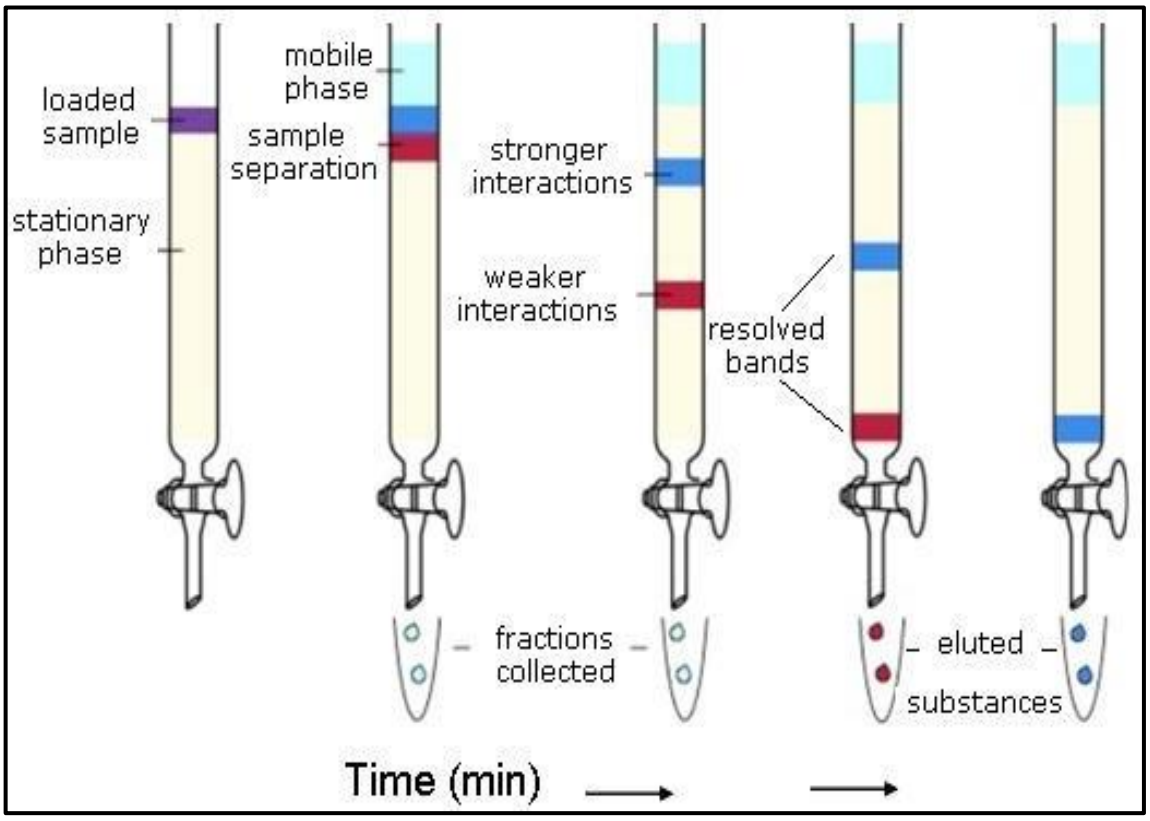
الاختبارات الطيفية (IR, mass and NMR spectrometry) , كما أن الحصول على المادة النقية يجعل من السهل إجراء التحاليل الكمية عليها لمعرفة تركيزها.

أي أن طرق الفصل الكيميائي مهمة للغاية سواء في التحليل الوصفي أو الكمي ، على حد سواء. وفي الواقع توجد عدة طرق يمكن إدراجها ضمن طرق الفصل الكيميائي ، مثل عمليات الترسيب المعروفة ، والترسيب الكهربي وعمليات الاستخلاص بشتى أنواعها لكن ما نرغب في الحديث عنه يتعلق بنوع آخر من طرق الفصل ، ألا وهو الفصل الكروماتوجرافي.

## نشأة طرق الفصل الكروماتوجرافي

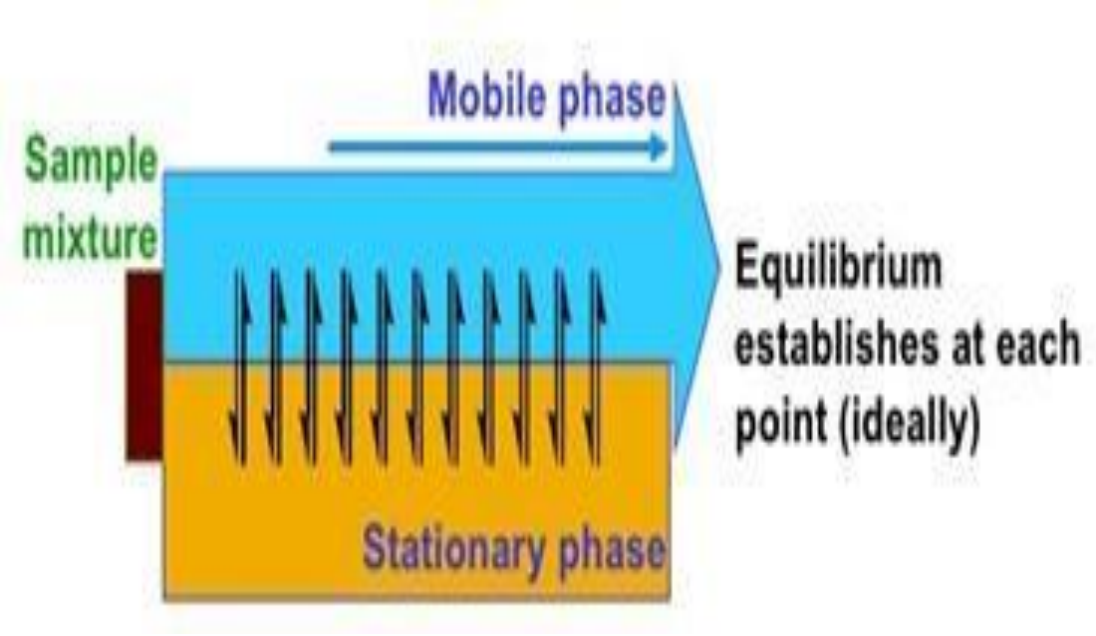
يرجع تاريخ تقنية الفصل الكيميائي إلى بدايات القرن العشرين ، حيث كان عالم النبات الروسي ميخائيل تسفت يحاول تنقية العصارة النباتية الخضراء المستخرجة من أوراق الأشجار ، وذلك باستخدام عمود زجاجي معبأ بحبيبات دقيقة من كربونات الكالسيوم (الوسط الثابت) حيث لاحظ بعد فترة من تنقيط المحلول (الوسط المتحرك) وجود مناطق محددة ومنفصلة بعضها عن بعض ، تختلف في اللون أي أنها عبارة عن مواد مختلفة تم فصلها من مكونات العصارة الخضراء.

وبذلك تمكن من تفكيك وفصل مكونات العصارة الخضراء إلى المكونات الملونة. ومن الممكن تتبع عملية الفصل مع الوقت ، وذلك بالنظر إلى الشكل التالي:

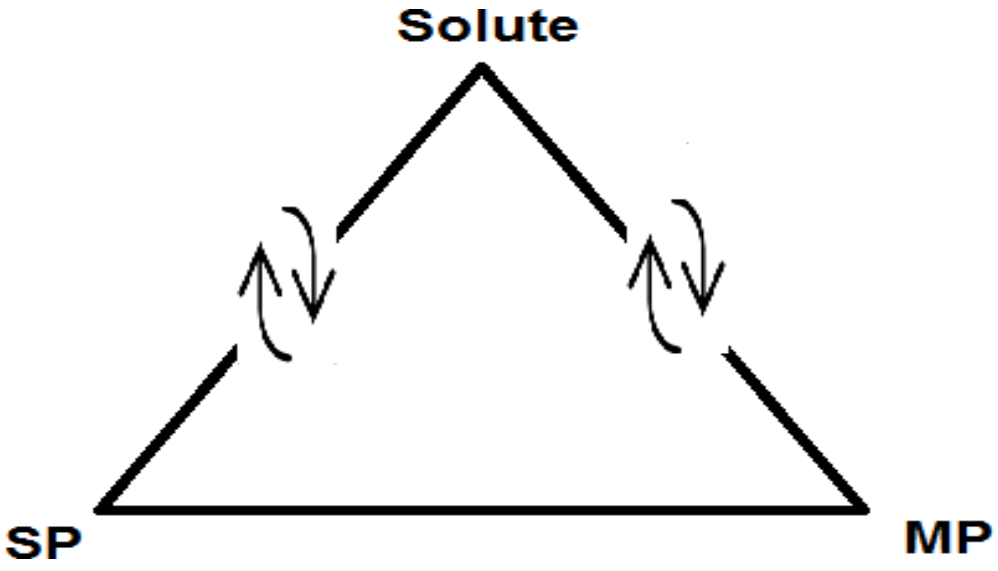



وقد أطلق Tswett على هذه التقنية الجديدة من تقنيات الفصل اسم كروماتوجرافي ، وذلك من اللاتينية chroma وتعني لون ، و graphein وتعني يكتب ، أو بمعنى آخر تقنية كتابة اللون (لأنه تمكن من تفكيك وفصل مكونات العصارة الخضراء إلى المكونات الملونة المكونة لها) ، وقد أصبح اسم التقنية كروماتوجرافي hromatography(C بغض النظر عما إذا كانت المواد المفصولة ملونة أم لا.

إن نظرية عملية الفصل باستخدام الكروماتوجرافي يمكن ان تكون بسيطة ، وتتطلب وجود وسط ثابت أو ما يسمى Stationary phase ، ووسط متحرك أو ما يسمى Mobile phase ، ولكل منهما خصائصه التي تستخدم في عملية الفصل ، مثل القطبية ، أوالقدرة على الإدمصاص Adsorption ، أو قدرته على التبادل الأيوني Ion exchange ، وما إلى ذلك من خصائص.




كما أن جوهر عملية الفصل تتعلق بمدى تشابه خصائص المادة المراد فصلها مع خصائص الوسط الثابت والمتحرك. ويمكن النظر إلى عملية الفصل على أنها تتكون من الزوايا الثلاثة لمثلث ، حيث يشكل الوسط الثابت أحد الزوايا ، بينما يشكل الوسط المتحرك الزاوية الثانية ، أما المادة المراد فصلها فتقبع في الزاوية الثالثة ، كما في الشكل:



ويمكن تلخيص نظرية الفصل على أساس الشكل أعلاه ، وذلك بالقول أن المواد المراد فصلها تتفاوت (مثلاً) في قطبيتها ، بحيث أن بعضها قطبي وبعضها غير قطبي ، بينما البعض الآخر متوسط القطبية ، وأن خصائص الوسط الثابت يجب أن تكون مغايرة لخصائص الوسط المتحرك أي إذا كان الوسط الثابت غير قطبي ، فالوسط المتحرك سيكون قطبياً بالضرورة.

فإذا كان ال SP غير قطبي ، فهذا يعني أن قدرة المواد غير القطبية على الذوبان فيه والبقاء ملتصقة به تكون عالية ، وبالتالي تميل هذه المواد إلى البقاء فترة طويلة جداً في الوسط الثابت أي time retention longer ، وفترة قصيرة للغاية في الوسط المتحرك. أما المواد القطبية فعلى العكس تماماً ، حيث لا تميل تلك المواد إلى البقاء في الوسط الثابت (غير القطبي) وذلك لتنافر خصائصهما ، حيث لا يمتزجان ، بينما تفضل تلك المواد القطبية البقاء فترة أطول في الوسط المتحرك أي time retention lower أما المواد متوسطة القطبية فتتصرف بين الحالتين المذكورتين ، وتبقى في العمود فترة متوسطة. وبديهي إذاً أن تختلف المواد في قطبيتها إذا أردنا أن نستخدم هذه الخاصية كأساس لعملية الفصل.

ومن الممكن تفسير عمليات الفصل باستخدام خصائص أخرى كالادمصاص أو التبادل الأيوني ، باستخدام مفاهيم مناسبة ، كلها قائم على أساس مدى توافق خصائص المواد المختلفة المراد فصلها مع الوسطين الثابت والمتحرك ، ويجب أن نتذكر أنه كلما توافقت تلك الخصائص مع الوسط المتحرك MP أكثر ، كلما كان الزمن الذي تقضيه تلك المواد في العمود أقصر ، أي كلما غادرت العمود بسرعة ، والعكس صحيح.

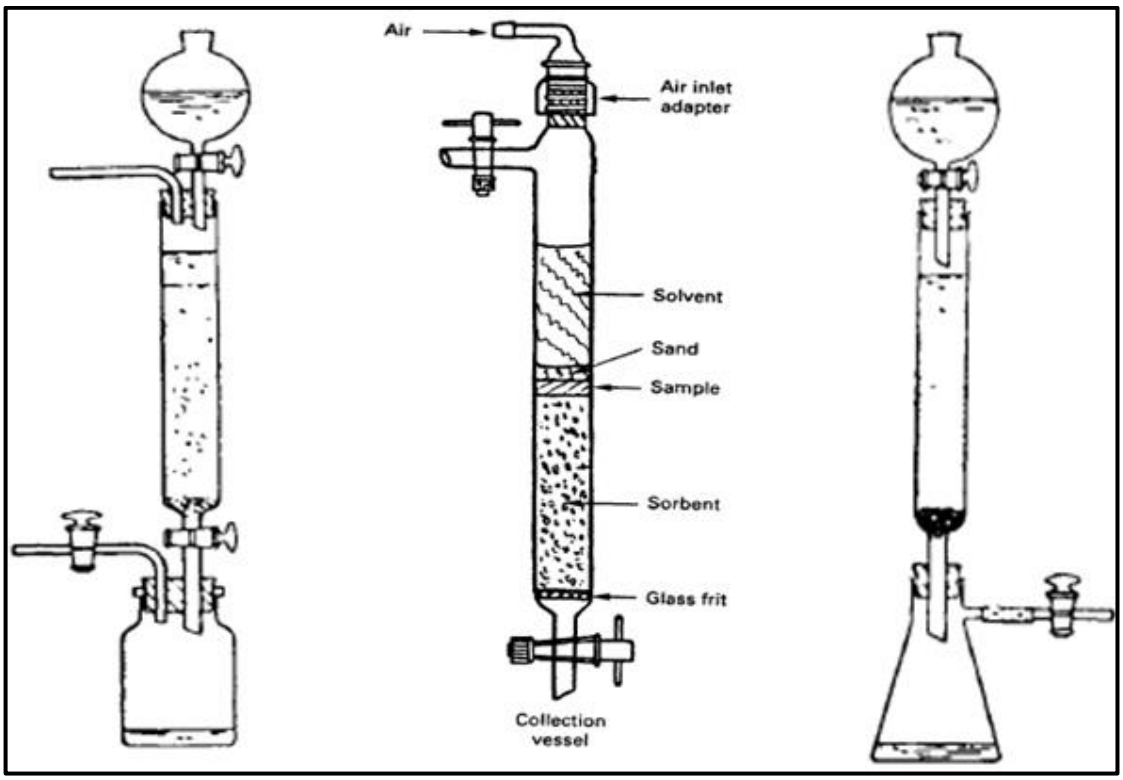
يمكن القول بأن تلك التقنيات وتسمياتها تقوم على استخدام الوسط المتحرك كأساس للتسمية ، وذلك كما يلي:

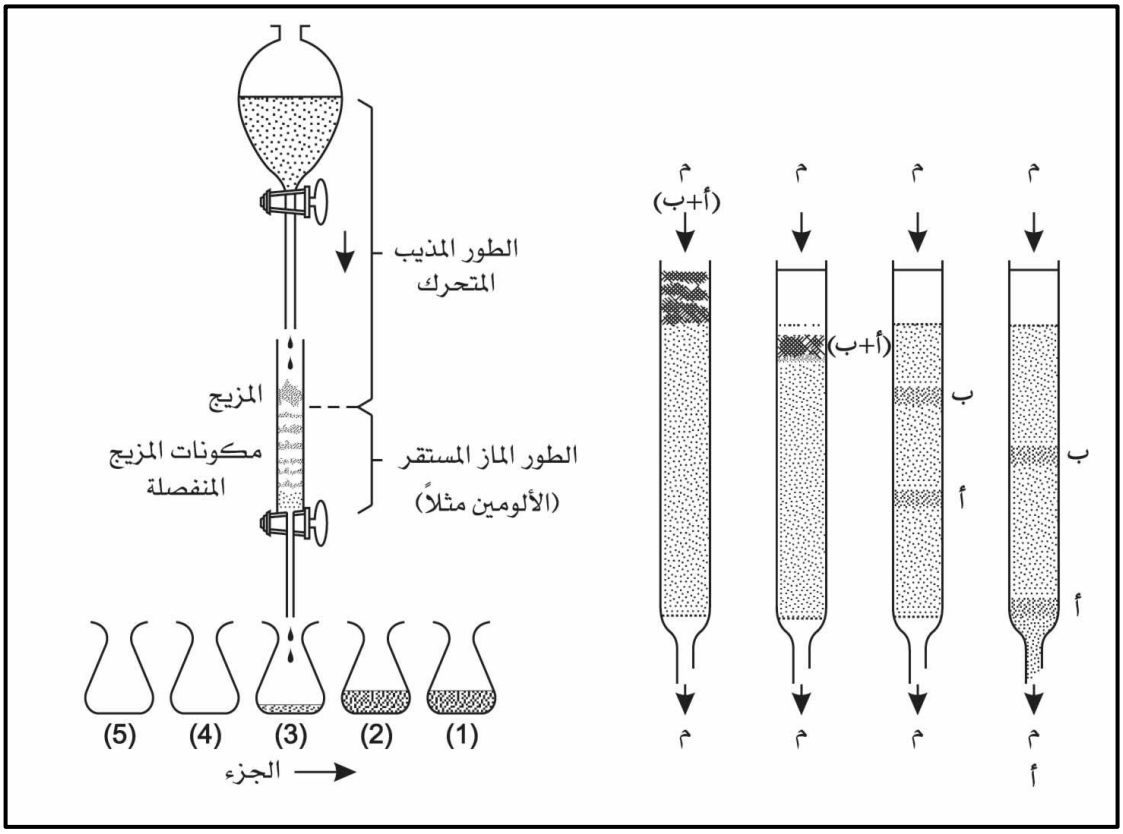
1- كروماتوجرافيا السائل وفيها يكون الوسط المتحرك سائلاً

2- كروماتوجرافيا الغاز وفيها يكون الوسط المتحرك غازياً

كما يظهر في الجدول التالي عدة تقنيات مشتقة من تلك التقنيات الأساسية ، ويظهر في التسمية الوسط المتحرك أولاً ، ويليه الوسط الثابت

| Classification | Technique | SP | Mechanism |
|---|---|---|---|
| Liquid Chromatography (LC) MP: Liquid | Liquid- liquid or partition chromatography | Liquid, adsorbed on a solid support Now rare | Partition between immiscible SP and MP |
| | Liquid bonded phase bonded phase ) ,chromatography (BPC | Liquid, chemically bonded to solid support | Partition between immiscible bonded SP and MP |
| | Liquid- solid chromatography (LSC), or adsorption chromatography | solid | adsorption |
| | Ion- exchange chromatography (IEC) | Ion- exchange resin | Ion- exchange |
| | Size exclusion chromatography (SEC) | Porous polymeric material | Size sieving |
| Gas Chromatography (GC) MP: Gas | Gas- liquid chromatography (GLC) | Liquid adsorbed on a solid support | partitioning |
| | Gas- bonded phase | Liquid, chemically bonded to solid support (or (crosslinked | partitioning |
| | Gas- solid chromatography (GSC) | solid | adsorption |
| Supercritical fluid chromatography (SCF) MP: SCF | Supercritical fluid chromatography (SCF) | Liquid, chemically bonded to solid support | partitioning |


Air
Air inlet adapter
Solvent
Sand
Sample
Sorbent
Glass frit
Collection vessel


الطور المذيب المتحرك
المزيج
مكونات المزيج المنفصلة
الطور الماز المستقر (الألومين مثلاً)
(5)
(4)
(3)
(2)
(1)
الجزء
م
(أ+ب)
ب
أ

# تعريفات هامة

**التحليل الكروماتوجرافى** :

يمكن تعريف التحليل الكروماتوجرافى بأنه طريقة لتحليل وفصل المركبات المختلفة وتعتمد عمى حدوث ما يسمى بالـ Migration Differental أى إختلاف فى إنتقال وهجرة المركبات نتيجة مرور مذيب أو غاز على الوسط المحتوى على المواد المراد تحليلها. –

والاساس العلمى للطرق المستخدمة فى الفصل تعتمد على توزيع المركبات المختلفة بين طورين أحدهما طور متحرك وطور ثابت

**الكروماتوجرام (Chromatogram):**

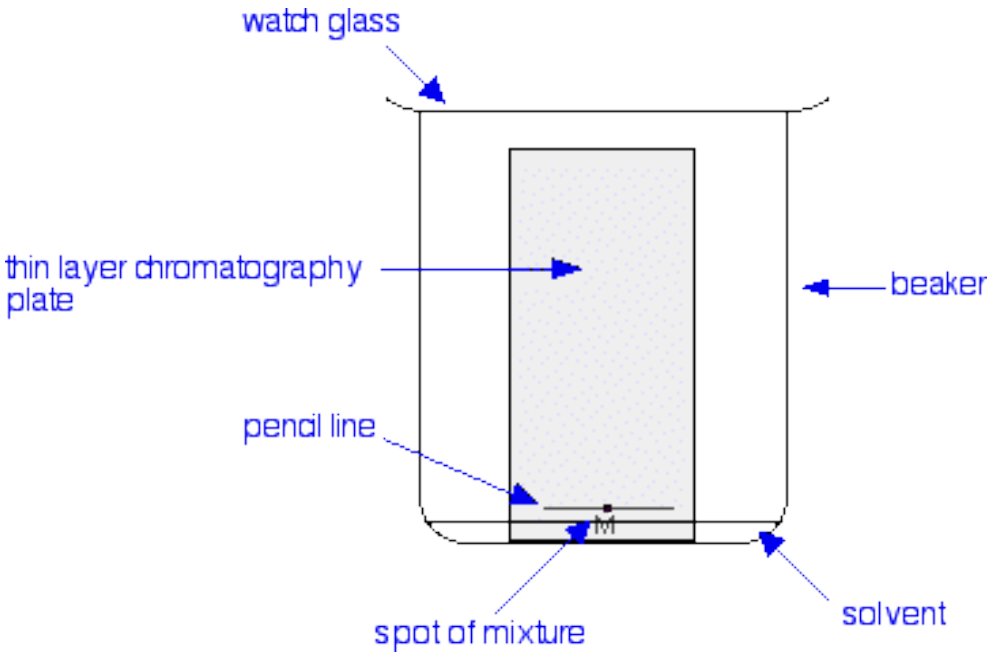
يمكن التعرف على نوع المركبات المفصولة فى العينة وذلك عن طريق معرفى قيمية مايسمى بزمن المكوث (Retention time( على شريط الورق الذى يسمى Chromatogram

**الاعمدة الحلزونية : Column Packed**

وتستعمل فى هذه الاعمدة مادة حاملة كدعامة support فى صورة حبيبات صغيرة الحجم بينهما فراغات تسمح بسريان الغاز خلالها بمعدل مناسب كما يمكنها أن تتغلف بطبقة رقيقة من السائل المستخدم كطور ثابت ومن المواد المستعملة الزجاج المجروش أو الرمل أو بعض الاتربة الطبيعية والسوائل التى تعمل كطور ثابت و تمسك فى صورة غشاء رقيق ويجب أن تكون غير متطايرة وثابتة حراريا مثل زيت البرافين أو الزيوت المعدنية أو الجلسرين وغير ذلك من السوائل حسب نوع المركبات المراد فصلها .

# التحليل الكروماتوجرافى ذو الطبقة الرقيقة

# (Thin Layer Chromatography; TLC)




## الأدوات التى تستخدم فى TLC:

ألواح زجاجية – سليكاجيل - Spreader - Plate holder

## أنواع السليكا جيل

1- Silica gel H سليكا جيل ذو حبيبات دقيقة بدون كبريتات كالسيوم

2- Silica gel G سليكا جيل تحتوي على 13% كبريتات كالسيوم

3- Silica gel R سليكا جيل تحتوي على 5% كبريتات كالسيوم

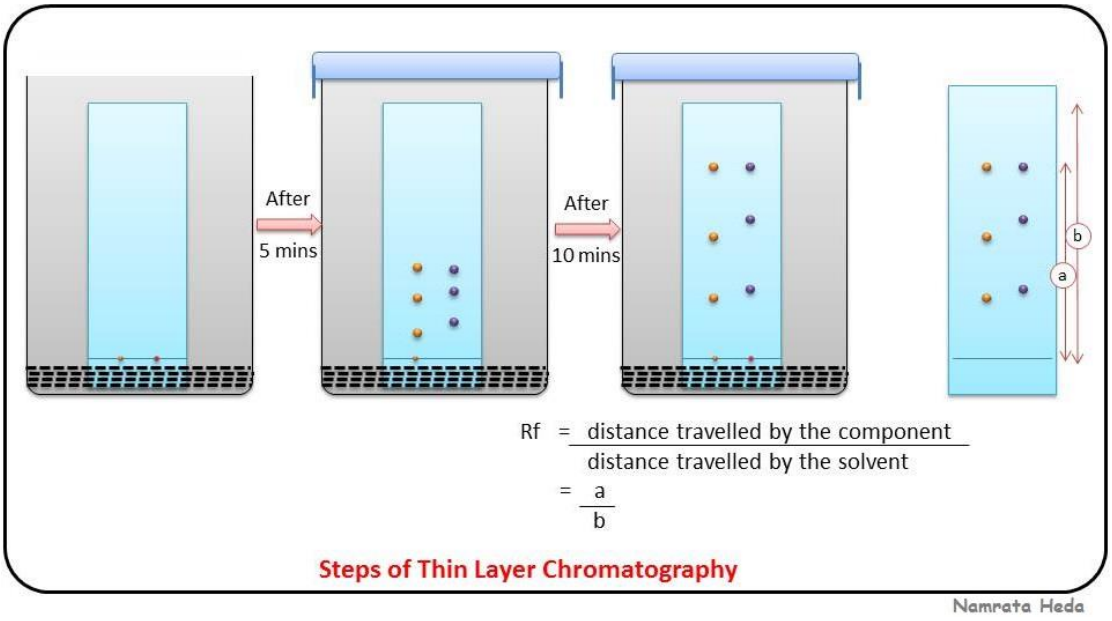
4- Silica gel GF سليكا جيل تحتوي على دليل فلورة

5- Silica gel DF5 سليكا جيل تحتوي على النشا كمادة لاصقة

ملحوظة

تتحكم أقطار جزيئات المادة الادمصاصية فى كفاءة الفصل فمثال طبقات الجزيئات فى السليكاجيل ذات قطر يتراوح بين 1-5 ميكرون يؤدى إلى فصل مناسب بينما الجزيئات الكبيرة تؤدى إلى تحرك المذيب بسرعة كبيرة وظهور بقع كبيرة جدا فى الحجم نتيجة الانتشار الجانبى العالى وقلة مقدرتها على الادمصاص

## طريقة الفصل والتحليل:




هذا النظام من التحليل الكروماتوجرافى تابع لتحليل الكروماتوجرافيا الادمصاص

1- ويعتبر النظام الثابت phase Stationary عبارة عن مادة إدمصاص مثل ثاني أكسيد الالومونيوم أو السليكاجيل مخلوط بمادة لاصقة يتم فرد مادة الادمصاص بطبقة رقيقة على شريحة زجاجية مقاس 20 ×25 سم.

2- أما النظام المتحرك phase mobile عبارة عن مذيب مناسب أو مخلوط من المذيبات

المناسبة

3- قبل استعمال الشرائح يتم وضعها فى فرن للتخلص من الرطوبة ولتنشيط مادة الادمصاص .

4- ثم يتم وضع العينة المراد فصلها بواسطة أنبوبة شعرية دقيقة عمى هيئة بقع وعلى أحد أطراف الشريحة يوضع خط ويسمى بنقطة البداية على بعد 2 سم وقبل انتهاء الشريحة بمسافة 2 سم يوضع خط يسمى بخط النهاية.

5- تغمس الشرائح الزجاجية فى حوض يحتوى عمى المذيب أو مخلوط من المذيبات ويقفل الحوض جيدا وبعد سريان المذيب حتى خط النهاية تخرج الشرائح وتجفف

تحضير طبقات رقيقة ذات سمك واحد من السليكاجيل :

توجد عدة طرق لعمل الطبقات

1- طريقة الصب

2- طريقة الغمر

1- طريقة الفرد

2- طريقة الرش

التعرف أو الكشف على أماكن الفصل

1- ترش الشرائح بجواهر كشافة لظهور مواضع المركبات المختمفة

2- بقياس المسافة التى سارها المذيب والمسافة التى سارها مكونات العينة يمكن حساب RF

التقدير الكمى بعد الاستخلاص

1- نقشط كل منطقة Zone

2- توضع فى أنبوبة زجاجية وتذاب فى مذيب مناسب وترشح للتخلص من مادة الادمصاص ثم يجرى عمليا التقديرات الكمية الاتية .