جامعة الانبار/كلية العلوم/ قسم الكيمياء

اسم المادة:- طرائق الفصل

عنوان المحاضرة :- فروع الكروتوغرافيا / كروماتوغرافيا العمود

اسم التدريسي :- وهران منعم سعود

فروع الكروماتوغرافيا

تقسم الكروماتوغرافيا استنادا الى

١- الطور الساكن والطور المتحرك

٢- نوع عملية المص Sorption

٢-طريقة التظهير الكروماتوغرافيChromatogramm Development

اما للأغراض العملية فتقسم طرائق الكروماتوغرافيا الى مجموعتين رئيستين استنادا الي نوع الطور المتحرك Mobile Phaseو بغض النظر عن الطور الساكن ونوع عملية المص والتظهير

بما ان الطور المتحرك هو اما سائل او غاز، فان هذا التقسيم يكون كما يلي

كروماتوغرافيا السائل

١- كروماتوغرافيا سائل- صلب L S C حيث يكون الطور الثابت الساكن مادة صلبة فعالة

٢- كروماتوغرافيا سائل - سائل L LC حيث يكون الطور الساكن مادة سائلة محمولة على مادة صلبة خاملة محبه للطور الساكن

وهذه المجموعة ، أي كروماتوغرافيا السائل بفرعيها تضم كل من

أ- كروماتوغرافيا العمود : حيث تجري العمليات داخل عمود والطور المتحرك سائل دائما والساكن اما سائل فتسمى سائل - سائل L L C او صلب وتسمى كروماتوغيرافيا سائل صلب L S C وتشمل

١- كروماتوغرافيا التبادل الايوني Ion Ex C

٢- كروماتوغرافيا السيلكا او الجل Gel C

٣- كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC

ب- كروماتوغرافيا الصفائح وهي يمكن ان تكون كروماتوغيرافيا سائل –سائل او كروماتوغرافيا سائل – صلب وتشمل

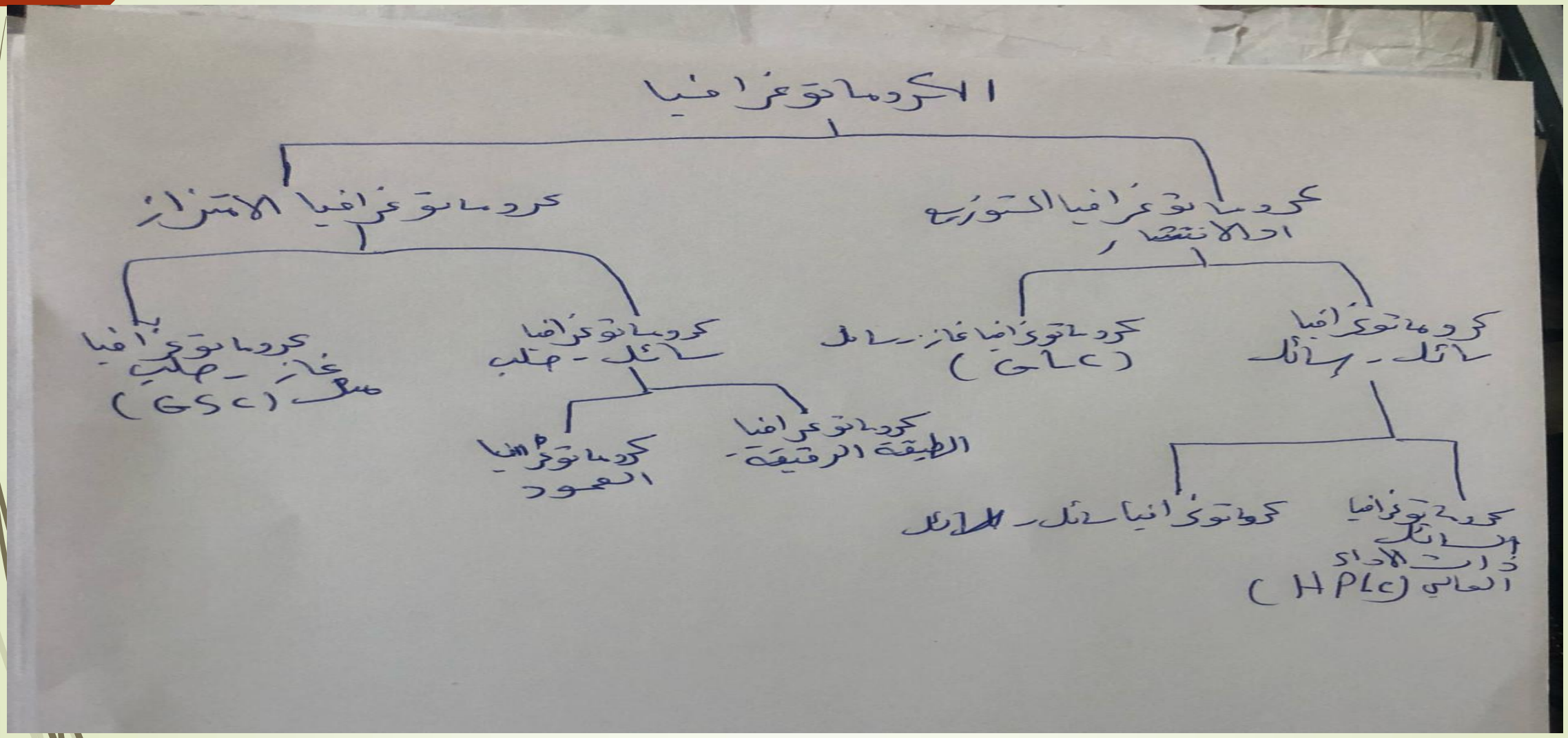
١- كروماتوغرافيا الورق (PC)

٢-كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (T L C)

٢- كروماتوغرافيا الغاز GC

- وتشمل كل من الأنواع الاتية
- أ- كروماتوغرافيا غاز – صلب G S C
- ب- كروماتوغرافيا غاز – سائل G L C

يضاف الى هاتين المجموعتين الرئيسيتين (الغاز والسائل) بعض الفروع الاخرى مثل كروماتوغرافيا المصافي الجزيئية ، حيث لا يمكن تصنيفها ضمن احد هاتيين المجموعتين لان الطور المتحرك فيها يمكن ان يكون سائل أو غاز •
كما يمكن تقسيم طرائق الكروموتوغرافيا استنادا الى الطور الساكن والعمليات السائدة بغض النظر عن الطور المتحرك و ان كان غازا او سائلا
وعلى اساس هذا التقسيم فيمكن التمييز بين مجموعتين من طرق الكروماتوغرافيا :
١ - الطور الساكن سائل محمول على مادة صلبة خاملة محبة له والعمليات ت السائدة هي عمليات توزيع اما المتحرك فيمكن ان يكون سائلا او غازا ، وتسمى هذه المجموعة بالكروماتوغرافيا التجزئة Partition IChromatography
ب-الطور الساكن مادة صلبة فعالة ، وعميات الامتزاز على الطور الساكن تكون هي العمليات السائدة وتسمى بكروماتوغرافيا الامتزاز


الكروماتوغرافيا
كروماتوغرافيا التوزيع او الانتشار
كروماتوغرافيا الامتزاز
كروماتوغرافيا سائل - سائل
كروماتوغرافيا غاز - سائل (GLC)
كروماتوغرافيا سائل - صلب
كروماتوغرافيا غاز - صلب (GSC)
كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
كروماتوغرافيا العمود
كروماتوغرافيا سائل - سائل
كروماتوغرافيا سائل ذات الاداء العالي (HPLC)

كروماتوغرافيا السائل

- وفي كل فروع هذا النوع من الكروماتوغرافيا يكون الطور المتحرك هو مادة سائلة • اما الطور الساكن أو الثابت stationery فيكون :
- أ- اما سائل وتسمى الطرق كروماتوغرافيا سائل – سائل (L L C) ويحمل الطور الساكن السائل عادة على مادة صلبة خاملة محبة له أو على الالياف السليلوزية للورق مثلا والعمليات الطاغية هي عملية التوزيع Partitionوتسمى ايضا الكرواوغرافيا التجزية •
- او يكون الطور الساكن مادة صلبة فعالة وتسمى إذ ذاك كروماتوغرافيا سائل –صلب(L S C)
- والعمليات الطاغية هي عمليات امتزاز (وتشمل التبادل الايوني) ايضا)
- وسابقا كأنت تتدرج هذه الفروع لهذا النوع من الكروماتوغرافيا او (كروماتوغرافيا السائل) ضمن كروماتوغرافيا العمود وتسمي ايضا بهذا الاسم لان الطور الساكن كان يعبا في الاعمدة ولكن ونظرا لتطور الطرائق واكتشاف طرائق جديدة مثل كروماتوغرافيا الورق والطبقة الرقيقة ، فقد اصبحت التسمية الجديدة (كروماتوغرافيا السائل) أكثر واقعية من التسمية القديمة . وهذا لا يعني ان في كروماتوغرافيا السائل لا تستخدم الاعمدة ، بل بالإضافة الى الاعمدة يمكن استخدام الورق كحامل للطور الساكن أو طبقة رقيقة تطلى بها صفيحة مناسبة (كروماتوغرافيا الصفائح)

بصورة مختصرة

كروماتوغرافيا السائل يكون فيها الطور المتحرك سائل والساكن اما صلب فتسمى (L S C)

والعملية السائدة هي الامتزاز على الطور الساكن وتسمى أيضا كروماتوغرافيا الامتزاز

او يكون الطور الساكن سائل أيضا فالعملية هي توزيع وتسمى كروماتوغرافيا(L L C) او كروماتوغرافيا التجزئة

اما تقنيات العمل فاهمها :-

١- الاعمدة : حيث يعبأ الطور الساكن أو هو وما يحمله في داخل العمود ، ويجري تظهيرا لكروماتوغرافيا اما بطريقة الكروماتوغرام الخارجي او الخارجي

٢-كروماتوغرافيا الصفائح Plane Chromatography

تجري على صحفية مناسبة والكروماتوغرام الخارجي او الداخلي

أ- كروماتوغرافيا الورق Paper Chromatography

ب- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (T L C) +Thin Leyer Chromatography

كروماتوغرافيا العمود : Column Chromatagraphy

- تعرف بالانسياب أو الانبثاق المتجانس للسائل خلال عمود معبأ بمادة قد حضرت بطريقة ومتقنة . إن المادة المنتخبة تتميز بأنها تعيق بصورة انتقائية مكونات معينة في السائل المار في العمود . تتميز الطريقة بأنها بسيطة وسهلة الإنجاز حيث أنه يمكن استعمال أنبوب زجاجي صغير أو حتى سحاحة لإنجاز التجربة خلالها أو اجراء عملية الفصل خلالها ويفضل الزجاج على البلاستيك أو المعدن حيث يمكن من خلال الزجاج متابعة ما يجري خلال العمود يمكن أن يحصل التفاعل بين المواد المراد فصلها والطور الثابت بطريقتين :
- ١ - التفاعل المباشر بين المادة وسطح الطور الثابت ويقصد به امتزاز المواد المراد فصلها على سطح المادة المازة (Adsorbent)وتسمى الطريقة عندئذ بكروماتوغرافيا العمود الامتزازية
- – Adsorption Columm Chromatography .
- -٢-وقد يكون الطور الثابت مائعاً محمولاً على مادة ساندة (Solid Support)لذا تتوزع أو تنتشر المواد المفصولة بين الطورين الثابت والمتحرك وكلاهما سائلان ولذا يطلق على هذه الطريقة بكروماتوغرافيا العمود التجزيئية أو التوزيعية (Partition Colum Chrom)استعملت هذه الطريقة في كثير من النظم المعقدة ولم تكن محددة بالمحاليل الملونة فقط .

كروماتوغرافيا العمود

- في الكيمياء هو طريقة تستخدم لفصل مكونات مركبات كيميائية من خليط من المركبات. وغالبا ما تستخدم في التطبيقات التحضيرية على مقاييس دقيقة تبدا من ميكروغرام وتصل إلى كجم. والميزة الرئيسية لكروماتوغرافيا العمود هو التكلفة المنخفضة نسبيا. ولا تحتاج الى أجهزة معقدة وكل ما تحتاجه هو:-
- أ- وسيلة لاحتواء وتجهيز الطور المتحرك السائل
- ب- العمود يعبأ بالطور الساكن
- ج- وسيلة لتقييم الكروماتوغرام • طريقة التحليل نواتج الفصل
- هنالك تقنيات اخرى تتطلب اجهزة معقدة مثل كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا الأداء العالي

اختيار الوسط الكروماتوغرافي

- عمليات الفصل ، التي تعتمد طرق الكروماتوغرافيا ، تتحكم ثلاثة عوامل :
- - الطور الساكن
- الطور المتحرك •
- - النموذج .
- والعاملين الأولين يكونان عادة متغيرين على عكس العامل الثالث ، ويشكل هذين العاملين عادة الوسط الكروماتوغرافي • واختيار الوسط الملائم لفصل مكونات النموذج معين يملي اختيار الطور المتحرك المناسب لهذا الطور الساكن ذلك بعد الاخذ بنظر الاعتبار فعالية كل منهما ومقدار قطبيته

مكونات العمود الكروماتوغرافي

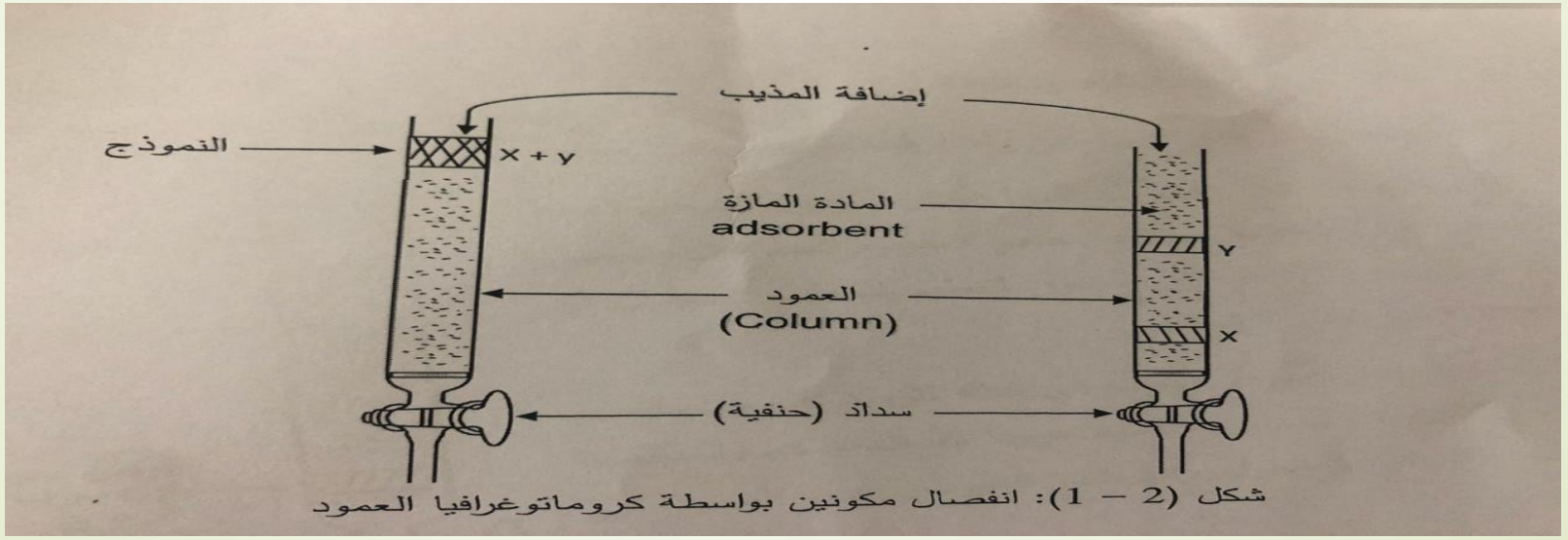
- المادة المازة وهي مواد ذات سطوح فعالة بإمكانها فصل المكونات تبعاً لاختلافها في قابليتها على الامتزاز على سطح المادة المازة . من الأمثلة على هذه المواد المازة : السليلوز ، جيل السليكا ، الالومينا ، $BaSO_4$,Zno , ThO , Be0، MgO . يجب أن لا تتفاعل المادة المازة مع المواد المفصولة . كما أن المادة المازة يجب أن لا تذوب في المذيب المستعمل كما يجب أن تكون حجوم دقائق المادة المازة متجانسة . وقد وجد أن السكروز والنشا قد أثبت نجاحهما بصورة جيدة جداً في فصل مكونات الكلوروفيل . ويمكن أن تصنف المواد المازة إلى الأصناف الآتية تبعاً لقدرتها على الامتزاز
- أ - المواد المازة الضعيفة : مثل السكروز ، والانيولين inulin، والنشأ . . . . الخ .
- ب -المواد المازة المتوسطة : مثل : $CaSO_4$، Mgo، Cas (PO42، . . . . CaCO3الخ .
- ج - المواد المازة القوية مثل الالومينا و Al20، والفحم Charcoalوالسليكا ، . . . SiOالخ .وتكون السيلكا اكثرا استخداما
- ويبين الشكل (الاتي) تقنية كروماتوغرافيا العمود المستخدم الفصل المكونين , X,y

- ومن المهم عند اختيار الطور المتحرك ملاحظة أن لا يكون تدفقه سرعة جريانه كبيرة جدا ولا صغيرة جدا اي ان :

- R_f = المسافة التي يقطعها المذيب / المسافة التي يقطعها المذاب
يجب أن تكون المسافة معقولة جهد الامكان (أقل من واحد وأكبر من صفر)

الاعمدة المستعملة

- استعمل حالياً الأنابيب الزجاجية في كروماتوغرافيا العمود وحتي يمكن استعمال سحاحة بحجم ٥٠ ملليترا أو ١٠٠ ملليتر ، تؤدي الغرض نفسه وخاصة أنها مدرجة فتفيد في متابعة حجم المذيب المستعمل . ينتهي العمود بقرص مسامي وحنفية أو صنبور لتنظيم انسياب المحلول أو المواد المفصولة إلى خارج العمود وقد يجهز العمود بخزان يحوي المذيب في قمته لتزويد العمود بالحجم المناسب من المذيب . وقد يكون العمود مزوداً بأسفله بمضخة ماصة التسريع عملية انسياب المحلول ومكونات النموذج عبر العمود إلى الخارج .



شكل (2 – 1): انفصال مكونين بواسطة كروماتوغرافيا العمود

الاعمدة ونهج التعبئة

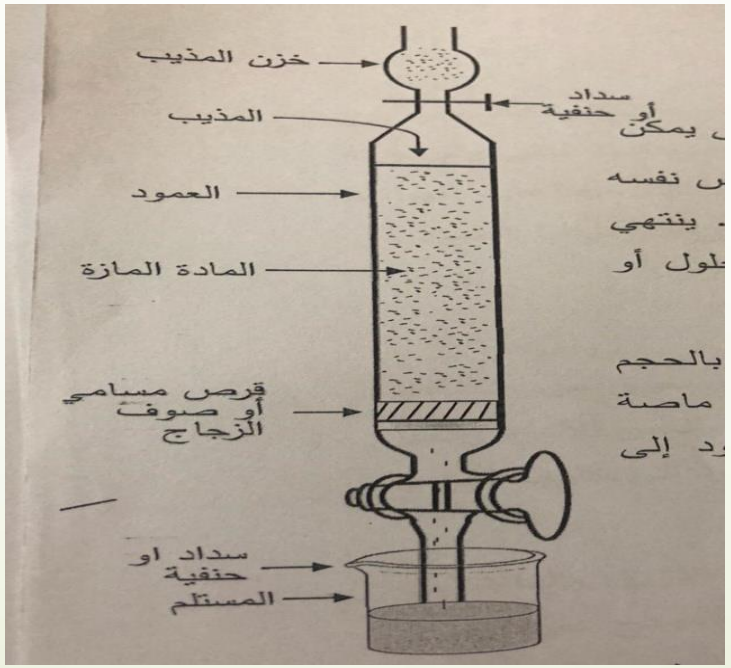
- : تتم كروماتوغرافيا العمود بصورة مألوفة على أعمدة بسيطة من الزجاج، تتوقف أبعادها على كمية المزيج المراد فصله، فالأعمدة الصغيرة ذات أقطار بعدة مليمترات وطول عدة سنتيمترات، بينما تكون الاعمدة الكبيرة ذات قطر بعدة سنتيمترات وطول قد يصل إلى ٥٠ Cmأو أكثر. من أجل الحصول على كفاءة عالية يجب أن يعبأ العمود بانتظام نظراً للتأثير الكبير أبعاد حبيبات الحشوة ودرجة تجانسها وتراصها داخل العمود. وبما أن كروماتوغرافيا العمود تعتمد على التغذية بالجاذبية للطور المتحرك المقيدة بحبيبات حشوة ذات أبعاد أكبر من(١٥٠µm) من أجل الحصول على معدلات تدفق مقبولة فإن تجانس الحشوة أساسية لتخفيض أي تشوه قد يحدث للسطوح الكروماتوغرافية الفاصلة، فالقنوات المتعددة التي تسببها وجود فقاعات الهواء خالل التعبئة تسبب مثل هذا التشوه. ومن أجل تجنب هذه الافعال ما أمكن تتم التعبئة بالطريقة الرطبة عن طريق تحضير ملاط من الحشوة مع مذيب الطور المتحرك وإضافة الملاط بهدوء وعلى دفعات لانتظار الحبيبات حتى ترصف بصورة جيدة، ويجب أن ال يترك العمود يجف حتى لا تتخرب الحشوة لذلك يحافظ على الطور المتحرك فوق الحشوة وعلى ارتفاع عدة سنتيمترات قبل بداية عملية الفصل.

عمليات تعبئة العمود

- ١ : - الطريقة الرطبة : يمسك العمود ويثبت في وضع عمودي وتسد نهايته السفلى إما بصوف الزجاجي او القطن أو قرص مسامي . يرطب السداد الموجود في نهاية العمود بإضافة من المذيب إلى داخل العمود . تمزج المادة المازة بالمذيب في قدح مناسب بين حين وآخر.وإذا وجدت بعض الفقاعات الهوائية في السداد أو بين دقائق المادة المازة في العمود فإنه يجب إزالتها بقضيب طويل من الزجاج . ويستمر في نقل المحلول المعلق إلى العمود حتى يتم الحصول على عمود معبأ إلى ارتفاع مناسب كان يكون ١٥ أو ٢٥ سم حسب الحاجة ، وترك المادة المارة لتستقر ويصبح العمود جاهزاً للعمل . تعتبر التعبئة الرطبة مناسبة وشائعة جداً عند استعمال مواد مازة مثل الألومينا ، AL_20_3أو MgO

التعبئة الجافة

- تؤخذ كمية صغيرة من مسحوق المادة المازة وتنشر داخل العمود المملوء بالمذيب برج المعلق بقضيب من الزجاج للحصول على تعبئة متماسكة ومتجانسة حتى يتم تعبئة العمود بالكمية الكافية من المادة المازة بقطر وارتفاع مناسبين ، تزال الفقاعات الهوائية بقضيب من الزجاج أو بتيار مناسب من المذيب . يستعان بكروماتوغرافيا العمود في عمليات الفصل الوصفية والكمية



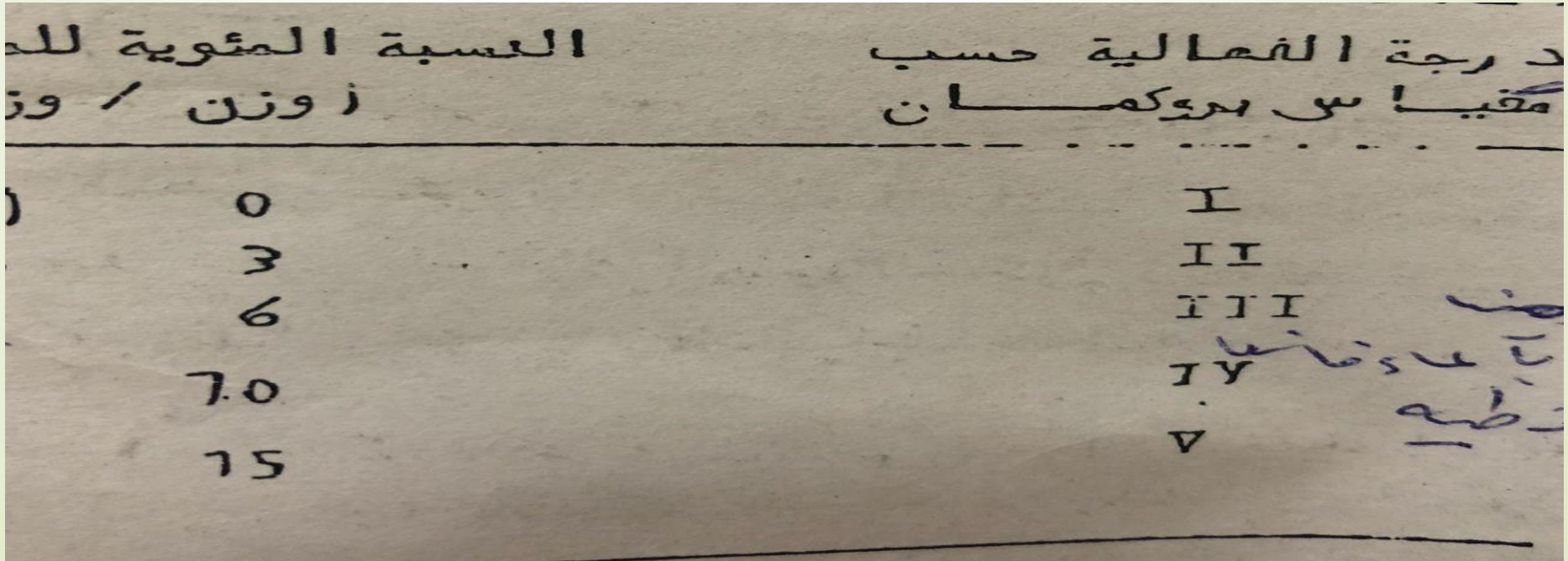
الطور الساكن في كروماتوغرافيا الامتزاز

- الامتزاز عادة هو حصليه التجاذب بين المراكز القطبية للطور الساكن ومكونات النموذج . كما أن كمية الامتزاز تزداد - بصورة عامة - بزيادة بولارية الطور الساكن ، وعلى هذا فالمحلل الكيميائي يستطيع السيطرة على درجة عملية الفصل عن طريق اختيار الطور ال
- ساكن (في كروماتوغرافيا الامتزاز).
- هلام (جل) السيليكا
- جل السيليكا أو هلام السيليكا هو بوليمر لحامض السيليسيك وهو مسامي غير بلوري ومتصلب على شكل هلام يحوي على المجاميع البولا رية - Si -OH والتي تعمل كمراكز امتزاز و بمكن تعطيل هذه المجاميع الفعالة بمعاملتها مع قاعدة او اجراء عملية واذ ذاك يستخدم جل السيليكا كحامل للطور الساكن
- اما الطور الساكن في كروماتوغرافيا سائل بسائل L L C فهو عادة سائل محمول على ساند محب له ومتشرب به كالسيليلوز مثلا • والاطوار الساكنة السائلة عادة تكون بولارية (في الطور المستقيم) لها القابلية على اذابة او جذب المكونات البولا رية . وفي هذه الحالة يكون الطور المتحرك في L L C سائل أقل بولا رية . ويمكن ان تعكس هذه البولارية ، حيث يصبح الساكن اقل بولارية والمتحرك اعلى بولارية وتسمى اذ ذاك كروماتوغرافيا الطور المعكوس . وبصورة عامة فالطور المتحرك السائل يجب ان يكون قليل الامتزاج مع الطور الساكن السائل ولا يتفاعل معه أو يتأثر به .

- المواد المختلفة المستخدمة كطور ساكن أو حامل للطور الساكن •
- الطور الساكن Stationary phageمن حيث المبدأ فان كل المواد المحببة (قوامها حبيبي) تصلح للاستخدام كطور ساكن • ولغرض طرائق الكروماتوغرافيا التي تعتمد التوزيع فيفضل أن تكون المادة الحاملة للطور الساكن خاملة غير فعالة ولكنها مسامية قابلة للتشبع بالطور السائل الساكن الذي ستحمله (أو تمتلك خاصية شعرية مثلا (الورق او السيليلوز)
- تكون غير قابلة للذوبان في الطور المتحرك او الساكن •
- أما المواد الصلبة الفعالة والتي تستخدم مباشرة كطور ساكن فيجب ان تتوفر فيها الشروط التالية :
- !- قوامها حبيبي
- ب- مساحة سطحية كبيرة
- ج- غير قابلة للذوبان في الطور السائل .
- د-عدم وجود تعارض كيمائي بينها وبين الطور المتحرك .

الا لومينا

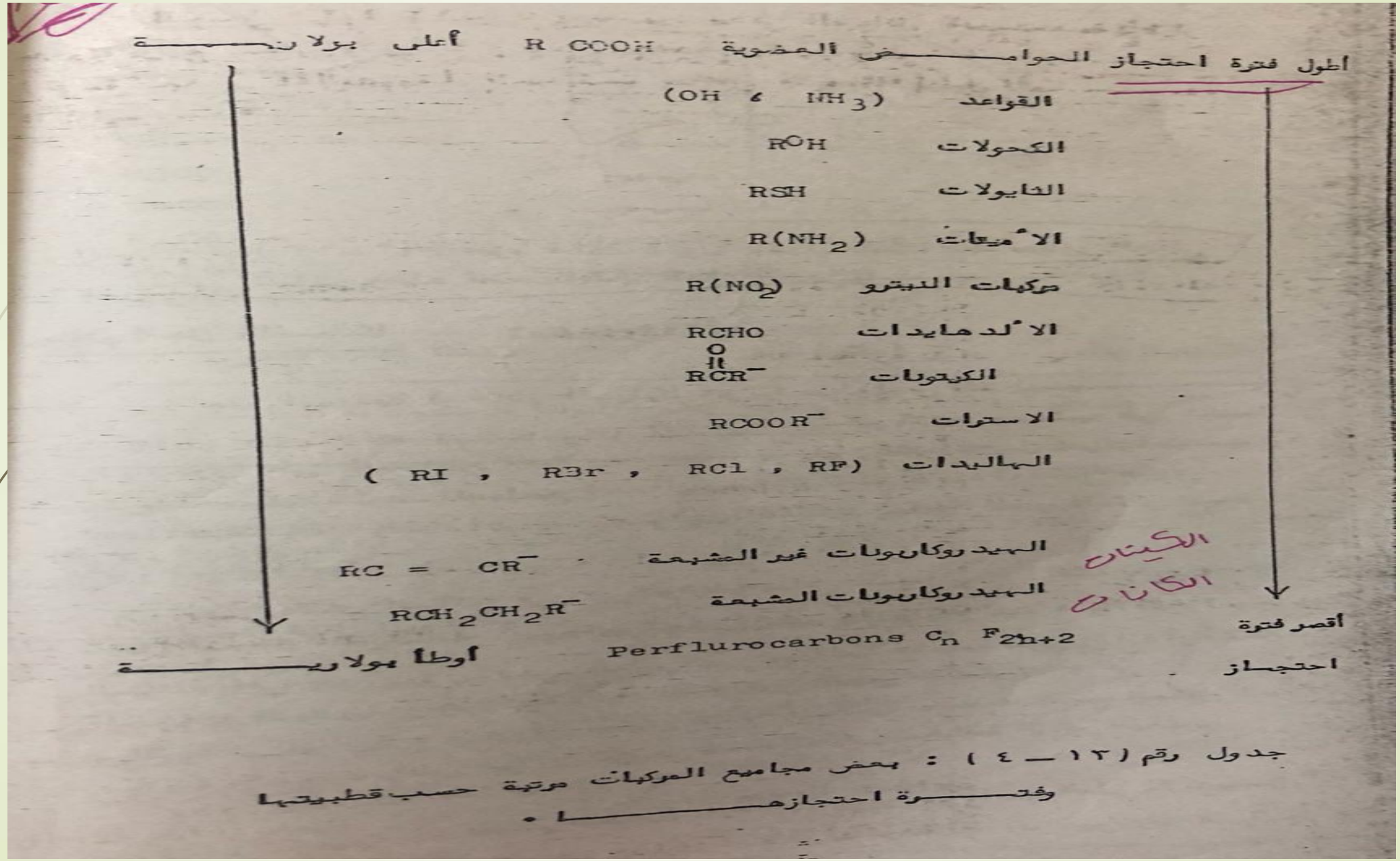
- من الممكن الحصول على الالومنيا بدرجات مختلفة من الفعالية وفعالية الومينا تعتمد على كمية الماء الذي تحويه عن طريق امتزازه و ان النشاط الامتزازي الحالي للالومينا يودي - في كثير من عمليات الفصل - الى ظهور حزم ذات ذيول . ويستخدم الماء عادة لتلطيف أو تعديل درجة فعالية الالومينا حسب الطلب ، ودور الماء في التلطيف هو احتلاله لجزء من المراكز الفعالة - في الالومينا ، الامر الذي يودي الى انقصاص القابلية الامتزاية لها بزيادة نسبة الماء الممتز . وتصنف الا لومينا حسب فعاليتها بطريقة بروكمان Broclan annكما في الجدول الاتي .بين درجة الفعالية والنسبة المئوية للماء الممتز (وزن / وزن)



درجة الفعالية حسب مقياس بروكمان	النسبة المئوية للماء (وزن / وزن)
I	0
II	3
III	6
IV	10
V	15

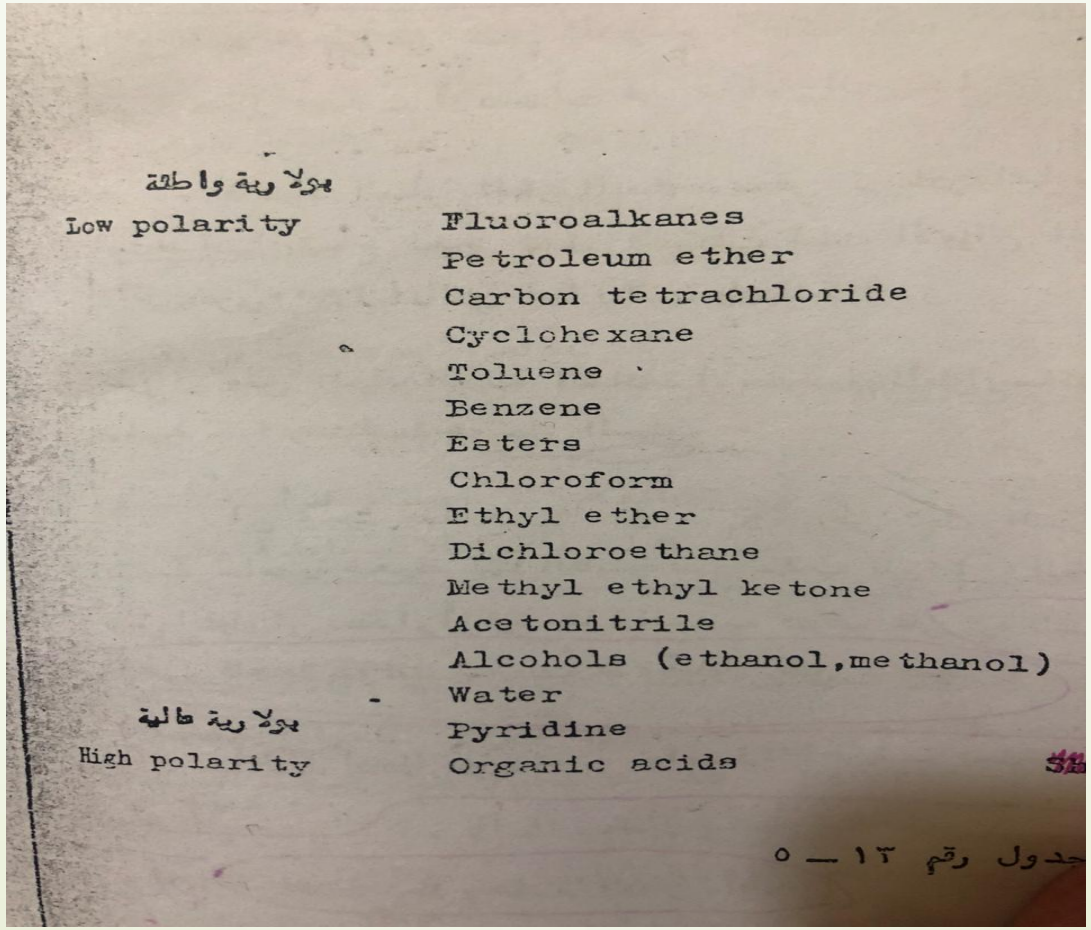
الطور المتحرك

- اختيار الطور المتحرك في كروماتوغرافيا سائل - صلب
- الطور المتحرك عادة يتنافس مع مكونات الأنموذج على الفعالة الطور الساكن الصلب
- وبزيادة بولارية الطور المتحرك تزداد قابلية امتزاز جزيئاته من قبل الطور الساكن الصلب ، والحصيلة هو قلة المراكز الفعالة المهيئة لا متزاز جزيئات المكون المذاب) . وهذا يعني أن زيادة بولارية الطور المتحرك السائل يؤدي الى نقصان زمن الاحتجاز لجزيئات الانموذج ، وتستخدم عادة طريقة التصفية أو التظهير التدريجي وذلك بالاستعانة بنوعين عن السائل كطور متحرك) ، يختلف الواحد عن الاخر بمقدار بولا ريته. يستخدم أولا السائل الاقل بولا رية لفصل المكونات التي زمن احتجازها اقل • وخلال عملية التطوير او التظهير للكروماتوغرام ، نزاد الكمية النسبية للسائل الأكثر بولارية في الطور المتحرك ، نسبة السائل الا قل بولارية • بهذه الطريقة فان المكون الممتز بقوة من قبل الطور الساكن سيدفع الى خارج



جدول رقم (١٢ ــ ٤) : بعض مجاميع المركبات مرتبة حسب قطبيتها وفترة احتجازها .

الجدول ادناه يوضح بعض السوائل المستخدمة كأطوار متحركة مرتبة حسب بولاريتها حيث كل ما كانت البولارية عالية كلما كان زمن الاستبقاء أطول للمادة المذابة



بولارية واطئة Low polarity	Fluoroalkanes
	Petroleum ether
	Carbon tetrachloride
	Cyclohexane
	Toluene
	Benzene
	Esters
	Chloroform
	Ethyl ether
	Dichloroethane
	Methyl ethyl ketone
	Acetonitrile
	Alcohols (ethanol, methanol)
	Water
بولارية عالية High polarity	Pyridine
	Organic acids

جدول رقم ١٣ — ٥

التطبيقات

١-فصل مكونات الحبر على عمود معبأ بالطباشير الذي هو مسحوق من $CaCO_3$وقليل من ، $CaSO_4$ومزيج الاحبار المستعمل هو الحبر الأزرق والحبر الأسود والحبر الأحمر ويستعمل الماء كمادة مزيحة لمكونات النموذج خلال العمود إلى خارجه لجمعها واحداً بعد الآخر .

٢ - فصل الاصباغ على الالومينا وذلك بفصل مزيج من المثلين الأزرق والمالاكايت الأخضر واستخدم الماء المقطر كمذيب لإزاحة وفصل مكونات النموذج عبر العمود إلى الخارج .

٣ - فصل بعض الأيونات الفلزية مثل أيونات الرصاص * Pb2و * Agو * * Znعلى الالومينا .

٤ - فصل مزيج من شب الحديد (III)، وكبريتات النحاس (II)على عمود معبأ بالالومينا .

٥- فصل مجموعة الفضة المكونة من ايونات الفضة Ag^{+}والزئبق Hg_2^{2}والرصاص Pb^{+2}على عمود معبأ بالالومينا .

٦- فصل مجموعة النحاس المؤلفة من النحاس Cu^{+2}، والبزموثBi^{+2}والرصاصPb^{+2}والزئبق Hg_2^{+2} و الكادميوم Cd^{+2}على عمود معبأ بالألومينا .

٧- فصل مزيج من برمنكنات البوتاسيوم KMnO4وثنائي كرومات البوتاسيوم على عمود معبأ بالالومينا

المصادر

١-الاسس العامة للتحليل الكيميائي والوزني د.**صفاء رزوقي المرعب** .الجزء الثاني .

٢-**طرق الفصل في التحليل الكيميائي ،البرتين حبوش، جامعة بغداد .**

٣- التطبيقات العملية في التحاليل الكيميائية الآلية وطرائق الفصل – اسماعيل خليل الهيتي