الكروماتوغرافيا Chromatography

كان المقصود بالكروماتوغرافيا هو فصل المواد الملونة (المعنى الحرفي للكلمة ألوان) أما اليوم فالمصطلح أصبح أوسع من هذا المفهوم الضيق.

ولتعريف عملية الكروماتوغرافيا بشكل عام هي طريقة فيزيائية للتحليل والفصل باستخدام طورين أحدهما الطور الثابت Stationary phase ذو مساحة سطحية كبيرة نسبيا والآخر متحرك Mobile phase الذي يتحرك عبر الطور الساكن ويحوي على النموذج المراد فحصهُ. إن الإمكانية الواسعة لاختبار مواد كل من الطورين جعل بالإمكان استخدام هذه الطرق لفصل المواد المتقاربة في الخواص الفيزيائية والكيميائية.

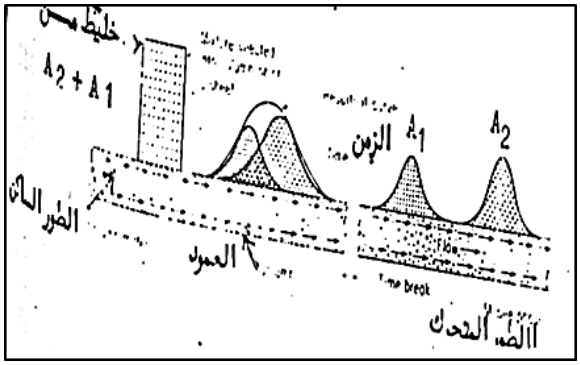
في أغلب الأحيان تكون الكروماتوغرافيا طرائق تحليلية مزدوجة حيث يمكن استخدامها كطرائق فصل وتقدير في نفس الوقت وتمتاز بالسهولة والسرعة اضافة الى انها تصلح لفصل وتقدير كمية صغيرة من النموذج.

الاسس العامة للكروماتوغرافيا

كل عملية كروماتوغرافية تتطلب وجود طورين مساعدين. الطور الساكن والطور المتحرك حيث يكون الاخير متحركاً على الاول والطور الساكن يكون عادة مادة صلبة ذات مساحة سطحية كبيرة او سائل محمول على مادة صلبة خاملة. اما الطور المتحرك فيكون عادة اما سائل او غاز.

ان الاسس والقوانين الثرموديناميكية هي التي تلعب الدور الاكبر في عمليات الفصل بهذه الطرق على الرغم من اهمية دور القوانين الحركية في هذا المجال.

وعملية الفصل تتم بامتصاص Sorption ولفظ Desorption للفصيلة المراد فصلها تبادلياً بين الطورين فاذا كان ميل أحد الطورين للاحتفاظ باحد مكونات النموذج كبيرا (أكبر من ميله للمكونات الاخرى في النظام) فالنتيجة ستكون فصل هذا المكون عن المكونات الاخرى. ان عملية الامتصاص Sorption هي نوع من انواع التجمع في حدود مساحة الطور الثاني وفي داخله وعادة تكون هذه العملية (الامتصاص) اما توزيع Pardition او امتزاز Adsorption والمخطط التالي يوضح عملية فصل المكون A1 عن المكون A2.



اما فصل المواد الداخلة في تكوين مزيج ما فانه يتم إذا وجد اختلاف في معامل النموذج لهذه المواد بين الطورين ومعامل النموذج Coefficient Distribution للمادة الواحدة يحدد اويعين كمية المادة في الطور المتحرك في أي وقت كان وبناء على ذلك الوقت الكلي الذي تصرفه المادة في الطور الثابت والاخير يحدده زمن الاحتجاز او الاعاقة للمذاب.

ويوضح المخطط ان سبب الاختلاف في سلوك المكونين A1 وA2 تجاه الطور الساكن هو اختلاف السرعة الظاهرية في حركة كل منهما قياساً الى الطور المتحرك وهذا يعن ان هناك اعاقة لحركة أحد المكونات أكثر من اعاقة المكون الاخر من قبل الطور الساكن. فالمكون A2 في المخطط أصبح في المقدمة بالنسبة للمكون A1 وكأن اعاقة حركة A1 هي الاكبر بسبب الميل الاكبر للطور الساكن له (امتزاز او ذوبان في الطور الساكن) او بسبب الميل الاكبر للطور المتحرك m للمكون A2 كان يكون A2 أكثر ذوبانية في الطور المتحرك.

تقنيات العمليات الكروماتوغرافية

ان طرائق الفصل الكروما توغرافية تتطلب وجود طورين أحدهما ثابت ساكن والآخر متحرك ويكون الطور المتحرك مادة غازية او سائلة ويكون الطور الثابت مادة صلبة او سائلة وبناء على ذلك سيكون التصنيف الرئيسي بموجب حالة الطور المتحرك اما التصنيف الثاني يعتمد على حالة الطور الثابت ونوع التفاعل المتبادل بين المذاب والطور الثابت ويمكن توضيح هذا التصنيف بالجدول:

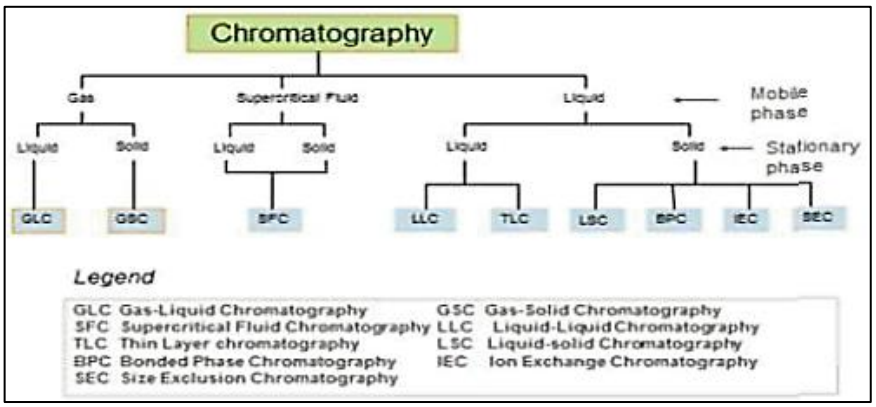
ت	الطرائق الكروماتوغرافية	الطور الثابت	الطور المتحرك
1	التبادل الايوني *Ion exchange*	صلبة (راتنجات)	سائل
2	كروماتوغرافيا سائل سائل (LLC) وكروماتوغرافيا الامتصاص *Liguid Chromatography*	سائل	سائل صلبة (ممتزة) راتنجات

3	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC)		الورقة
4	كروماتوغرافيا سائل – صلب (LSC)	سائل	صلبة ممتزة
5	كروماتوغرافيا الاستثناء (الترشيح الجيلي)	سائل	صلب
6	كروماتوغرافيا غاز- صلب (GSC)	صلبة /مميزة	غاز
7	كروماتوغرافيا غاز- سائل (GLC)	سائل	غاز
8	كروماتوغرافيا المنخل الجزئي	صلبة / منخل جزئي	غاز

يكون الطور الثابت أكثر قطبية من الطور المتحرك عادة وإذا كان العكس فان العملية تدعى كروماتوغرافيا الطور المعكوس وتدعى الطريقة رقم (5) **بكروماتوغرافيا الاستثناء** تميزا لها عن الطرائق الاخرى حيث انها تعتمد على الاختلاف في الحجم وليس على نوع التأثر بين الطور الثابت والنموذج كما هو الحال في الانواع الاخرى.

ان العمليات التي تطغى في الطرائق السابقة هي اما عملية امتزاز او توزيع او تبادل ايوني ويتوقف نوع العملية على نوع الطور الساكن والمتحرك وميكانيكية توزيع النموذج بينها:

أولا: إذا كان الطور الساكن مادة صلبة فعالة والطور المتحرك سائل فيحصل:



1- تبادل ايوني بين الطور الصلب والطور السائل أي ان القوى المؤثرة بين الطورين هي قوى الكتروستايكية يمكنها كلا من الطور الساكن والايونات الموجودة في محلول الطور المتحرك وهذه التقنية تسمى (التبادل الايوني *Ion Exchange*).

2- إذا لم يكن هنالك دور للقوى الالكتروستاتيكية فعالية الطور الساكن الصلب تكمن في قابلية على امتزاز شديدة او الايون المطلوب فصله امتزازا فيزيائيا او كيميائيا.

ثانيا: إذا كان الطور الساكن هو سائل:

يحمل عادة على مادة صلبة خاملة تعبأ على شكل مسحوق في عمود (انبوب) مناسبا وتشبع بالطور الساكن السائل او قد يحمل هذا السائل بواسطة الالياف السيللوزية الانواع خاصة من الورق (كروماتوغرافيا الورق) وفي جميع الاحوال فان القوى المؤثرة في هذه الحالة والعمليات الطاغية هي عمليات التوزيع وحتى عمليات التبادل الايوني هي في الواقع عمليات توزيع ايضا، وفي كل هذه العمليات يتم مص (عن طريق الامتزاز او التوزيع او التبادل) ولفظ الفصيلة المراد فصلها من قبل الطورين الساكن والمتحرك تبادليا، وان عملية الفصل تتم بتكرار المص واللفظ لعدة مرات أي اعادة مستمرة لمرات عديدة ولهذا تعتبر طرائق الكروماتوغرافيا من الطرائق المستمرة.

أنواع الكروماتوغرافيا Types of Chromatography

المجموعة الأولى: كروماتوغرافيا السائل Liquid Chromatography

وتضم الفروع الآتية:

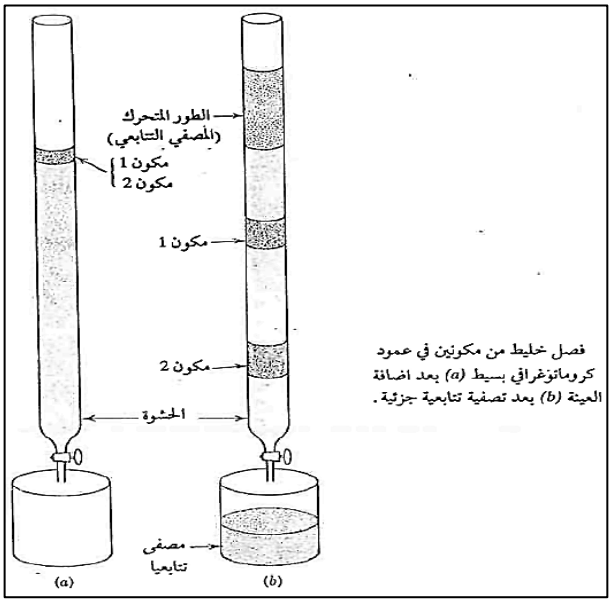
1. كروماتوغرافيا سائل صلب LSC
2. كروماتوغرافيا سائل سائل LLC. وتضم:

أ. كروماتوغرافيا العمود وتشمل:

1. كروماتوغرافيا الأعمدة الاعتيادية.
2. كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي.
3. كروماتوغرافيا التبادل الأيوني.
4. كروماتوغرافيا الجل أو الاستثناء.

ب. كروماتوغرافيا الصفائح وتشمل:

1. كروماتوغرافيا الورقة.



فصل خليط من مكونين في عمود كروماتوغرافي بسيط *(a)* بعد اضافة العينة *(b)* بعد تصفية تتابعية جزئية.

2. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

المجموعة الثانية: كروماتوغرافيا الغاز Gas-Chromatography

وتضم ما يلي: أ- كروماتوغرافيا غاز – صلب GSC

ب- كروماتوغرافيا غاز – سائل GLC

ويضاف إلى هاتين المجموعتين (الغاز والسائل) فرع آخر وهو كروماتوغرافيا المصافي الجزئية حيث لا يمكن تصنيفها ضمن أحد هاتين المجموعتين لأن الطور المتحرك فيها يمكن أن يكون سائل أو غاز.

في حالة كون الطور الساكن صلب فالعمليات الكروموتوغرافية هي عملية امتزاز.

اما إذا كان الطور الساكن سائل فالعمليات الكروموتوغرافية هي عملية توزيع.

ويمكن اعادة كتابة تصنيف الطرق الكروموتوغرافيا على الاساس التالي حيث يوضح الطريقة الكروموتوغرافية والاساس النظري لها.

طريقة الكروموتوغرافيا	الاساس النظري
1- الكروموتوغرافيا الامتزاز بالعمود	امتزاز المذاب بين الطور الصلب (S) والسائل على العمود
2- الكروموتوغرافيا التوزيع (التجزوء) بالعمود	توزيع المذاب بين سائلين على العمود
3- الكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC	امتزاز او توزيع على صفيحة رقيقة مفتوحة
4- كروموتوغرافيا الورق PC	تجزوء على صفيحة ورقية
5- كروموتوغرافيا التبادل الايوني	امتزازغاليا وتتبادل الايونات
6- المناخل الجزيئية	حجم المذاب (حسب وزنه الجزيئي) الاختلاف في الحجم
7- كروموتوغرافيا الغاز	توزيع المذاب الغازي بين طور متحرك غازي وطور سائل او صلب متحرك
8- الترشيح بالجل	حجم المذاب
9- الفصل بالانتقال الكهربائي	يتم الفصل على ورقة خاصة بوجود مجال كهربائي

يتم اختيار الطريقة الكروموتوغرافية المناسبة لفصل مادة ما كما يلي:

1- مواد متشابهة بالخواص الكيميائية	كروموتوغرافيا التجزوء
2- مواد مختلفة في الخواص الكيميائية	كروموتوغرافيا الامتزاز
3- مواد متطايرة	(GC) كروموتوغرافيا الغاز
4- مواد غير متطايرة	(HPLC) كروموتوغرافيا السائل ذو الاداء العالي
5- مواد متاينة وغير عضوية	كروموتوغرافيا التبادل الايوني او كروموتوغرافيا الصناعية
6- فصل المواد المتاينة عن الغير متاينة	كروموتوغرافيا التبادل الايوني
7- المواد البيولوجية والمركبات ذات الاوزان الجزيئية العالية	كروموتوغرافيا الترشيح بالجل

كروموتوغرافيا الامتزاز

في هذا النوع من الكروموتوغرافيا يكون الطور الساكن مادة صلبة مثل الالومينا او السليكا جل alumina or silica gel في حين يكون الطور المتحرك غاز او سائل.

يتم الفصل عندما يكون لاحد مكونات الخليط قابلية على الامتزاز بالطور الصلب أكثر من بقية المكونات.

ويعتمد هذا النوع على:

1- درجة الحرارة

2- تراكيز المواد المتحولة بالفصل

ان درجة الفصل تعتمد على المساحة السطحية للمادة المازة.

محاسن وتحديدات كروموتوغرافيا الامتزاز

1- يكون عمليا ابسط من كروموتوغرافيا التوزيع.

2- يتمتع هذا النوع بسلوك منتظم وذات تكرارية جيدة.

3- يكون حساس جدا للفروقات الفراغية للجزيئات المتماثلة.

4- يكون مفضلا في فصل المخاليط المختلفة كثيرا في تراكيبها.

كروموتوغرافيا التجزوء او التوزيع

الطور الساكن هنا هو سائل. يتم تثبيت الطور الساكن السائل على مادة خاملة كيميائيا مثل حبيبات الزجاج يمكن ان يكون الطور الساكن السائل مطليا على الطور الساند (المادة الساندة) او مرتبطة بها كيميائيا مثل الماء الموجود على السيليلوز كما في كروموتوغرافيا الورقة.

معدل التحرك يعتمد على الذوبانية للمادة المراد لها في الطور الساكن السائل. فالمادة التي تذوب (تنتشر) بشكل أكبر تتاثر بينما المادة التي يكون ذوبانها (انتشارها) في الطور الساكن السائل اقل تخرج من العمود في وقت مبكر.

اي ان الفصل يتم على اساس اختلاف حامل التجزوء للمادة المراد فصلها بين طور سائل متحرك وطور سائل ساكن.

محاسن وتحديدات كروموتوغرافيا التجزوء

1- لها قدرة وكفاءة فصل اعلى من كروموتوغرافيا الامتزاز.
2- ملائمة لمخاليط التراكيز الواطئة.
3- تكون مفضلة في فصل المواد المتقاربة في التركيب الكيميائي لان العملية تعتمد على مبدأ الذوبانية فان الفروقات القليلة في الاوزان الجزيئية تعطي او تؤثر على الذوبانية.
4- يكون منحني التوزيع الايزوثرمي خطيا على مدى التراكيز واطئة.

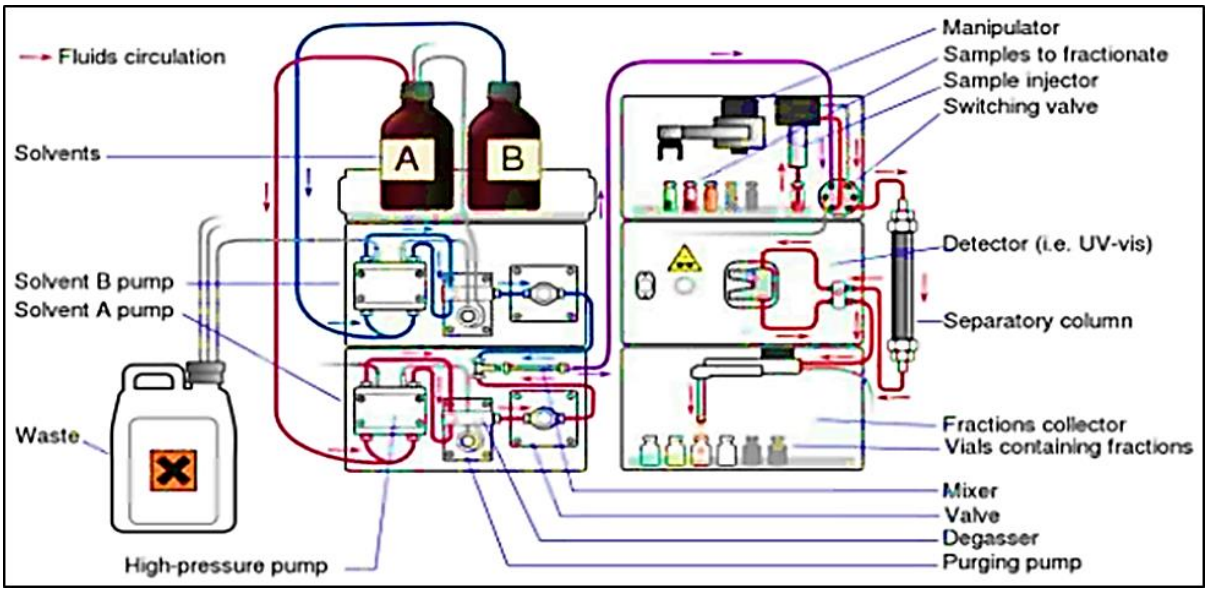
كروماتوغرافيا السائل Liquid Chromatography

هي إحدى طرائق الكروماتوغرافيا عندما يكون الطور المتحرك سائل ويحمل مكونات النموذج المعني بالفصل ويمر خلال عمود معبأ بدقائق صغيرة تتراوح بين (3-5) مايكرون ذات مواقع تخصيصية تمثل الطور الساكن وتتم عملية احتجاز مكونات المزيج على العمود الكروماتوغرافي بسبب بعض القوى بين هذه المركبات والطورين وتتضمن قوى فاندرفال، تآثرات قطبية، تآثرات ثنائية القطب، تآثرات الكتروستاتيكية، وأواصر هيدروجينية ومحصلة هذه القوى تقوم نوعية الفصل.

كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي High Performance Chromatography

في كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي (أو الضغط العالي High Pressure Chromatography) تستخدم أعمدة معبأة بإحكام بدقائق صغيرة من الطور الساكن. من العوامل المهمة التي تزيد من كفاءة الأعمدة هو حجم دقائق الطور الساكن، حيث أن استخدام دقائق صغيرة كطور ساكن يعني تعريض مساحة كبيرة من سطح الطور الساكن لمكونات النموذج أكبر عادة من المساحة التي تهيئها الأعمدة الاعتيادية المستخدمة في كروماتوغرافيا سائل – سائل كروماتوغرافيا سائل – صلب وأعمدة التبادل الأيوني. وفي الشكل التالي مخطط مبسط على هذه الأجهزة ومكوناتها:

1. حاوية للطور الساكن
2. مضخة تجهيز الضغط
3. العمود
4. مذيب حر حاوي على المكون
5. جهاز تسجيل كشاف Detector



رسم تخطيطي يوضح الاجزاء الرئيسية في تقنية HPLC

مميزات HPLC

تتميز HPLC ببعض الصفات التي تكاد أن تنفرد بها عن غيرها من طرائق الفصل وهي:

1. كفاءة وانتقائية عالية واستعمالات واسعة.
2. تحتاج إلى نموذج صغير فقط.
3. غير تالفة للنموذج.
4. من السهل تحويلها للتحليل الكمي.
5. يمكنها تقبل نماذج غير طيارة وحراريا غير مستقرة.
6. تطبق عموما على الأيونات الغير العضوية.
7. سرعة عالية في الفصل تفضلها عن غيرها من طرائق الفصل.

المصادر

الكتاب المنهجي

- الكيمياء التحليلية، الجزء الاول، الاسس العامة للتحليل الكمي الوزني، صفاء رزوقي المرعب، 1989.
- الكيمياء التحليلية، الجزء الثاني، طرائق الفصل الحديثة، صفاء رزوقي المرعب، 1989.

كتب مساعدة

- "Fundamental of Analytical Chemistry" by Doglas A. Skooge, Donald M. West and James Holler, Eighth Edition, 1988.
- "Analytical Chemistry" by Gary D. Christian, Purnendu K. (Sandy) Dasgupta, Kevin A. Schug, 7th Edition, 2014.
- "An Introduction to Analytical Chemistry" by Doglas A. Skooge & Donald M. West, 4th Edition, 1986.
- "Analytical Chemistry" by Gary D. Christian, John Wiley and Sons, Inc. 6th Edition, 2004.
- الاساسيات النظرية للكيمياء التحليلية اللاعضوية، التحليل الكمي الوزني والحجمي، هادي كاظم عوض واخرون، 1986.
- طرائق وتقنيات حديثة في التحليل الكيميائي الآلي د. جميل موسى ضباب
- مفتاح الابداع للكيمياء التحليلية Analytical Chemistry، عمر جبر حلوة، الطبعة الاولى، 2008.