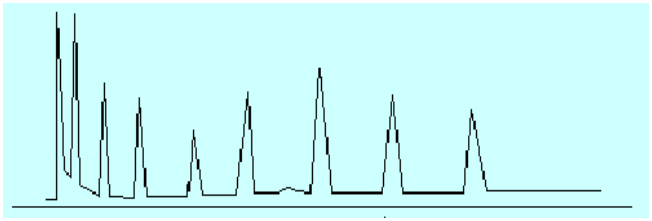
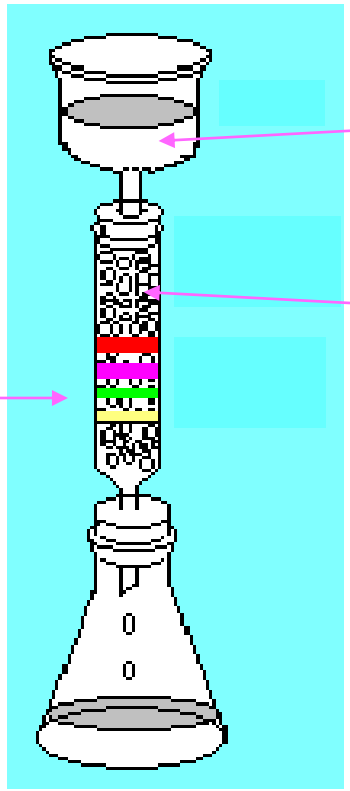
# الفصل السابع عشر: مقدمة عن الطرق الكروماتوجرافية

# Chapter 17:Introduction to chromatographic methods



# What's Chromatography?ماهو الكروماتوجرافي

- هي تقنية يتم عن طريقها فصل مكونات مخلوط و**يعتمد الفصل على اختلاف توزيع مكونات المادة المراد فصلها بين طورين احدهما ثابت و الاخر متحرك.**

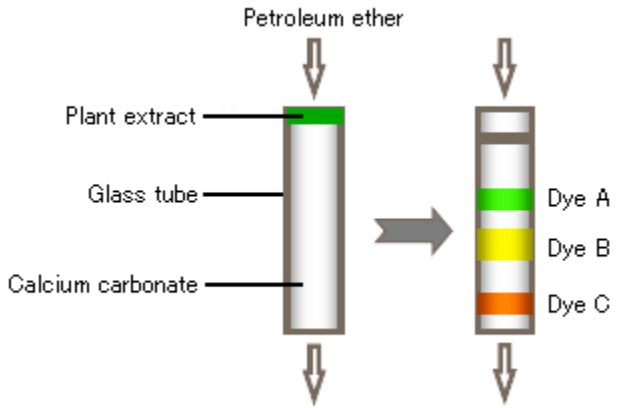



*chroma=color*
*graphein=to write*

# مقدمة عن الطرق الكروماتوجرافية

- أول من استخدم الطرق الكروماتوجرافية عالم نبات روسي عام 1906 عن طريق فصل مكونات الكلوروفيل في النبات باستخدام عمود كروماتوجرافي مملوء بكربونات الكالسيوم و تمرير الايثر البترولي حيث انفصلت نطاقات ملونة لذا اطلق على هذه الطريقة طريقة الفصل اللونية chromatography

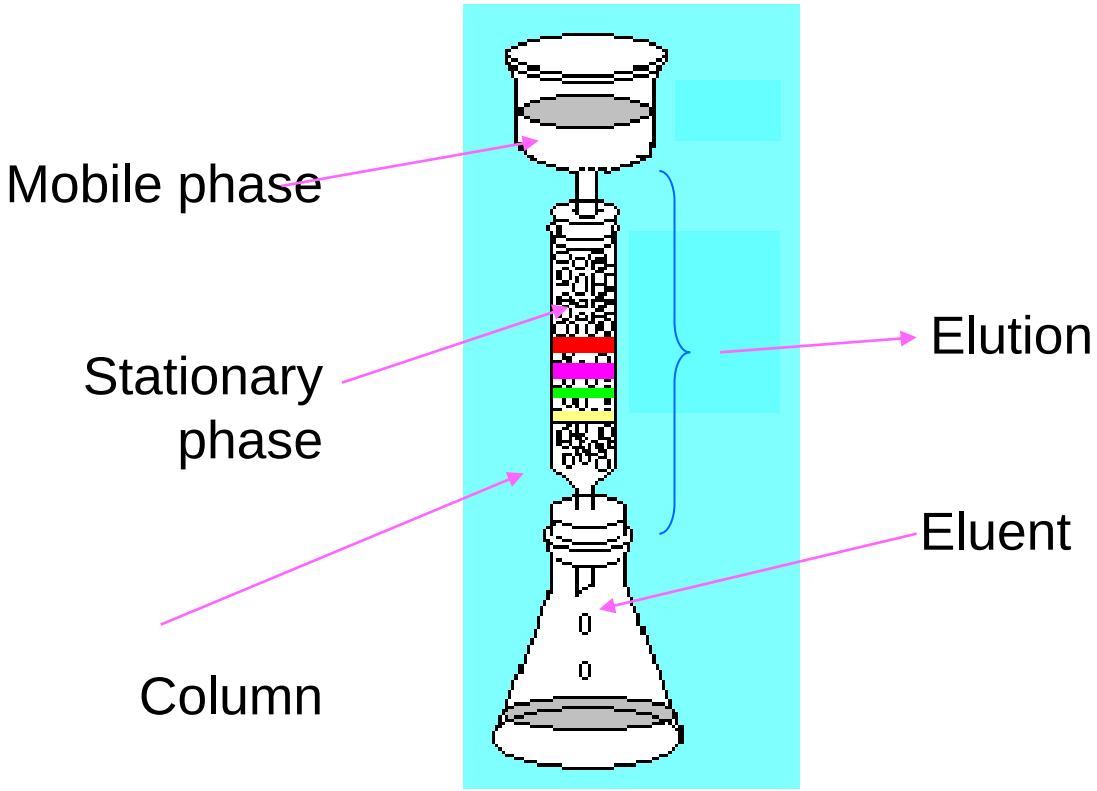
*Mikhail Tswett*



# مقدمة عن الطرق الكروماتوجرافية

- الطور الثابت Stationary phase اما ان يكون صلب او سائل مثبت على دعامة صلبة و يوضع عادة في عمود مثل السحاحة أو يفرد على لوح من البلاستيك أو ورق.
- الطور المتحرك Mobile phase اما ان يكون سائل أو غاز و يسمى بالحامل او المخرج eluentلانه يخرج المواد من العمودكما تسمى عملية تحريك المواد عبر العمود بالتخريج elution حيث تتحرك المواد خلال العمود نتيجة مرور الطور المتحرك و لكن بسرعات مختلفة تعتمد على ميل المادة للبقاء في الطور الثابت أو المتحرك.
- تستخدم لفصل المركبات العضوية و غير العضوية المتشابهة في التركيب وهذا يوضح أهمية طرق الفصل الكروماتوجرافية.

# بعض المصطلحات المهمة



# مقدمة عن الطرق الكروماتوجرافية

- **تشبه طريقة التوزيع في الطرق الكروماتوجرافية كيفية التوزيع في طريقة كريج مع اختلافات بسيطة:**

**١- كلا الطريقتين تستخدمان طورين احدهما ثابت و الاخر متحرك.**

**٢- في طريقة كريج نستخدم انابيب فيحدث الانتقال ثم ننتظر ان يتم التوزيع و يحصل الاتزان ثم انتقال اخر اما في الطرق الكروماتوجرافية نستخدم عمود يحتوي على طبقات من الطور الثابت فيحدث توزيع و اتزان عند كل نقطة.**

**٣- طريقة كريج محصورة على مذيبين لا يمتزجان اما الطرق الكروماتوجرافية نستخدم أنواع مختلفة من الاطوار.**

**٤- في طريقة كريج نستطيع توقع التوزيع بعد عدد معين من الانتقالات اما الطرق الكروماتوجرافية نقيس المكونات المفصولة عند خروجها من العمود كدالة للزمن.**

# انواع الطرق الكروماتوجرافية

١ـ الكروماتوجرافي السائلة ــ الصلبة

Liquid-Solid Chromatography

٢ـ الكروماتوجرافي السائلة-السائلة

Liquid-Liquid Chromatography

٣ـ الكروماتوجرافي الغازية-السائلة

Chromatography Gas-Liquid

٤ـ الكروماتوجرافي التبادلية

Chromatography Ion-Exchange

٥ـ الكروماتوجرافي المستويةPlane Chromatography

٦ـ الكروماتوجرافي المنخلية

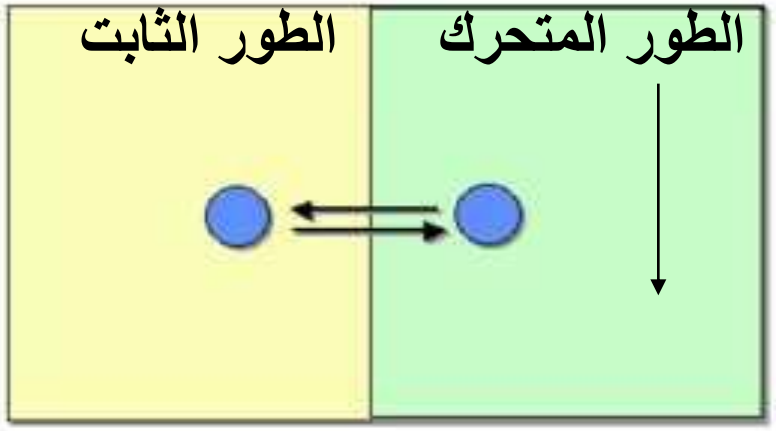
Size Exclusion Chromatography

٧ـ الالكتروفوريسيس Electrophoresis

# بعض المفاهيم الرئيسية في الطرق الكروماتوجرافية

**وظيفة الطور المتحرك حمل و نقل المواد عبر العمود لذا يسمى بالحامل.**

**وظيفة الطور الثابت منع المواد من المرور عبر العمود عن طريق استبقائها.**



# Distribution Coefficient معامل التوزيع

$$D = \frac{C_S}{C_M}$$

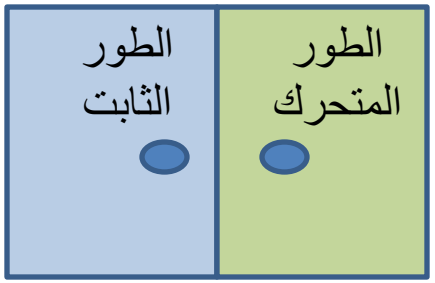
t الجزء من الزمن الكلي الذي يمضيه جزئ المادة في الطور المتحرك

$$t = \frac{\text{عدد الجزيئات في الطور المتحرك}}{\text{العدد الكلي للجزيئات}}$$

$$t = \frac{C_M V_M}{C_M V_M + C_S V_S}$$

$$t = \frac{1}{1 + D V_S / V_M}$$

$$t = \frac{1}{1 + K}$$




$$K = \frac{D V_S}{V_M}$$

K معامل السعة Capacity factor: هو العامل الذي يصف معدل إزاحة المذاب في العمود

**يمكن حساب معدل سرعة سريان جزئ المادة عبر العمود r حيث أن سرعة سريان الطور المتحرك U**

$$r = Ut = U \frac{1}{1 + K}$$

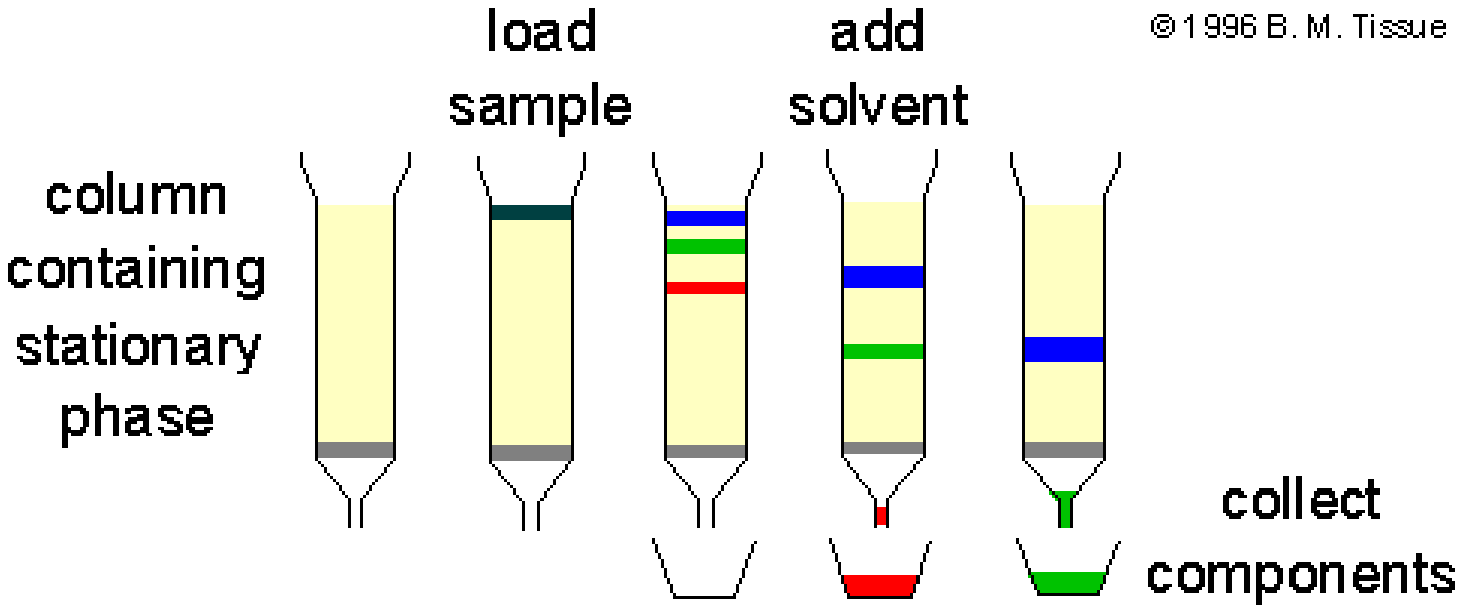
$$K = \frac{D\ Vs}{VM}$$

يعتبر كل من U وVs و Vm ثوابت.

إذا تعتمد r على معامل التوزيع و الذي يختلف من مادة إلى أخرى.

# تحليل المكونات بعد فصلها

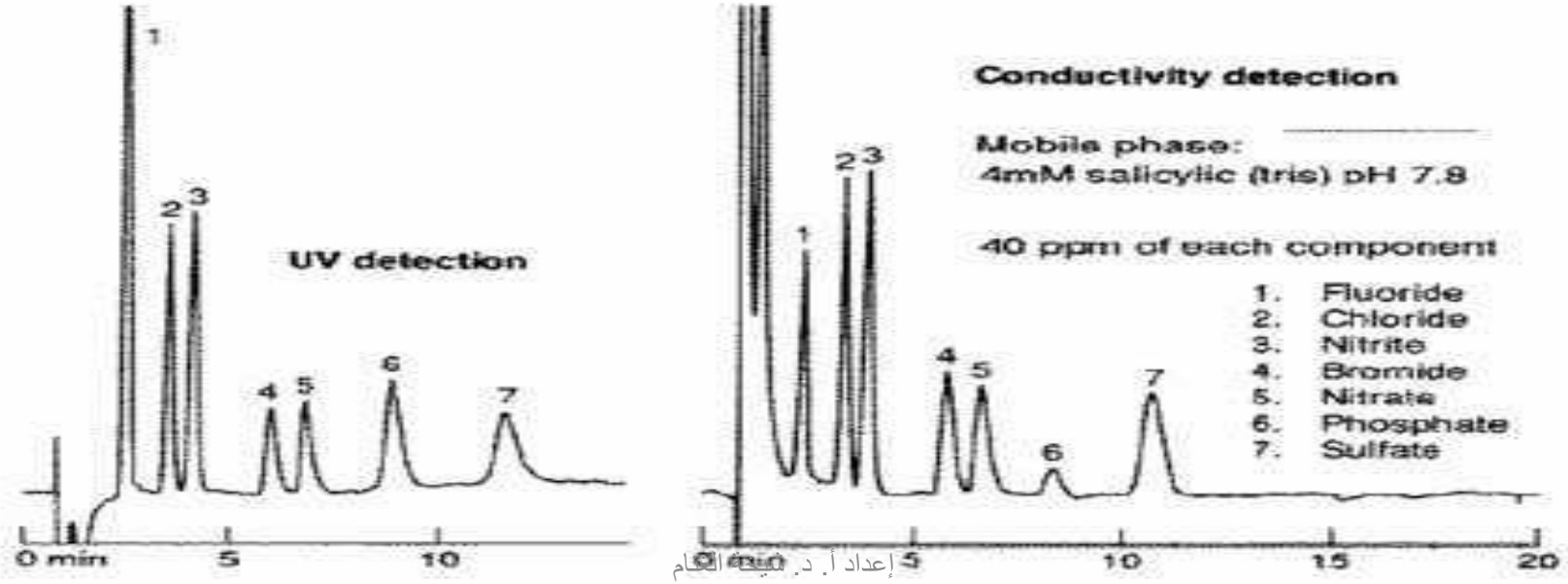
- **الطريقة الاولى: تعزل مناطق الطور الثابت بعد زمن معين كاف لفصل المكونات ثم يتم تحليل كل مكون على حده بالطرق الكيميائية المعروفة مثل الطرق الطيفية و الكهربية و غيرها**



# تحليل المكونات بعد فصلها

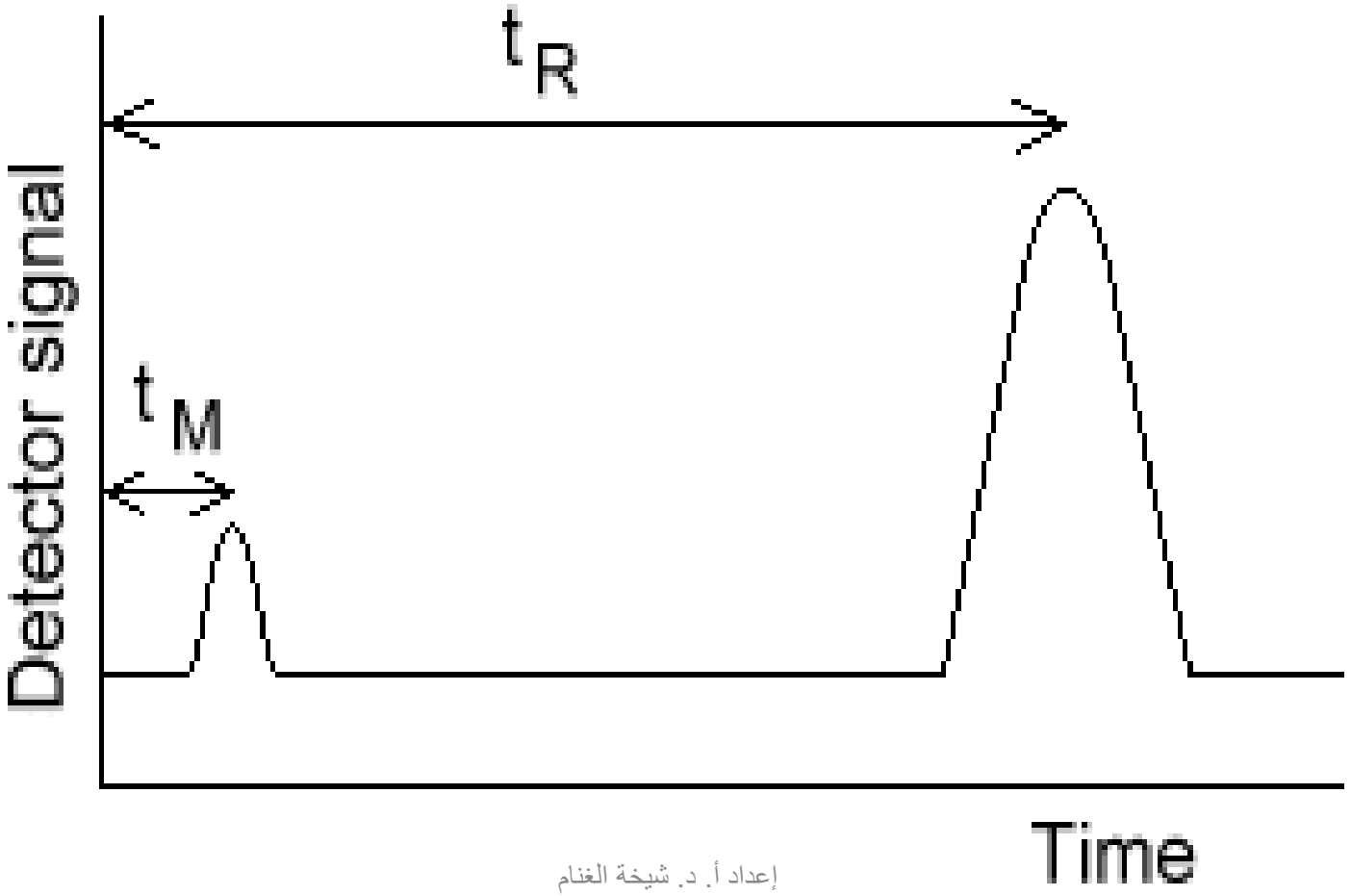
- الطريقة الثانية: يتم تخريج المكونات من العمود بواسطة الطور المتحرك على دفعات و في أزمنة مختلفة تبعا لعامل التوزيع و يتم تحليل كل مكون باستخدام مقدر يوضع في نهاية العمود و ترسم العلاقة بين استجابة المقدر و الزمن لنحصل على الكروماتوجرام

**Chromatogram**



# زمن المكوث أو الاستبقاء Retention Time

- هو الزمن المستغرق من بدء مرور الطور المتحرك و حتى خروج المادة من العمود و يرمز له بالرمز tR



# زمن المكوث أو الاستبقاء Retention Time

$$t_R = \frac{L}{r} = \frac{L}{U}(1 + K)$$

- الزمن المستغرق من بدء مرور الطور المتحرك و حتى خروجه من العمود و يرمز له بالرمز $t_M$

$$t_M = \frac{L}{U}$$

$$t_R = t_M (1 + K)$$

# Retention Volume حجم المكوث أو الاستبقاء

- هو حجم الطور المتحرك من بدء مروره و حتى خروج المادة من العمود و يرمز له بالرمز $V_R$

$$V_R = t_R \times F$$

$$V_R = t_M ( 1 + K ) \times F$$

$$V_R = t_M ( 1 + (D\ V_S / V_M ) ) \times F$$

$$V_M = t_M \times F$$

$$V_R = V_M ( 1 + (D\ V_S / V_M ) )$$

$$V_R = V_M + D\ V_S$$

- حجم الفراغ الموجود في العمود و الذي لا يحتله الطور الثابت و يرمز له بالرمز $V_M$

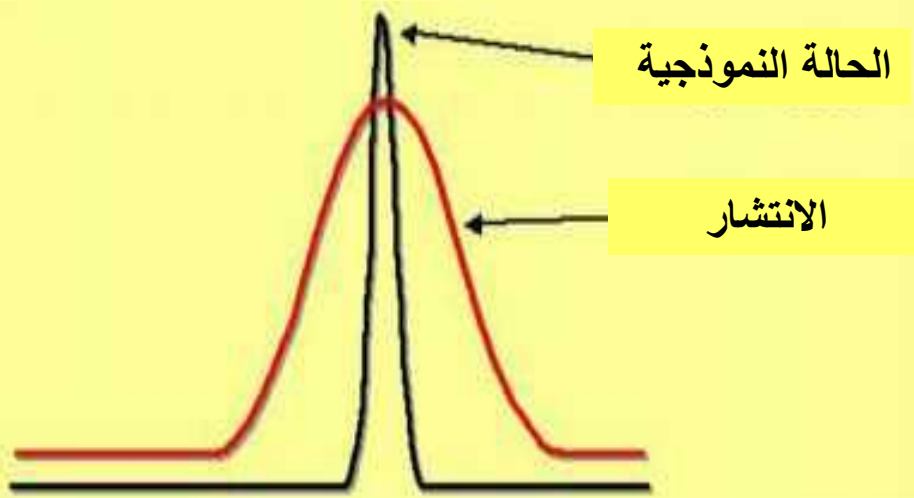
# الاستبقاء النسبي Relative Retention

- زمن و حجم الاستبقاء لا يمكن الاعتماد على قيمتهما للتعرف على نوع المادة و ذلك لان قيمتهما تعتمد على كيفية تحضير و تشغيل العمود و التي تختلف باختلاف المحلل الكيميائي.

لذا يمكن التخلص من تأثير عوامل التشغيل عن طريق مقارنة $t_R$ للمادة المراد تحليلها بزمن المكوث $t_R^*$ لمادة قياسية معروفة بحيث يقاس الزمن باستخدام نفس العمود و تحت نفس الظروف.

$$\alpha = \frac{t_R - t_M}{t_R^* - t_M} = \frac{V_R - V_M}{V_R^* - V_M} = \frac{D}{D^*}$$

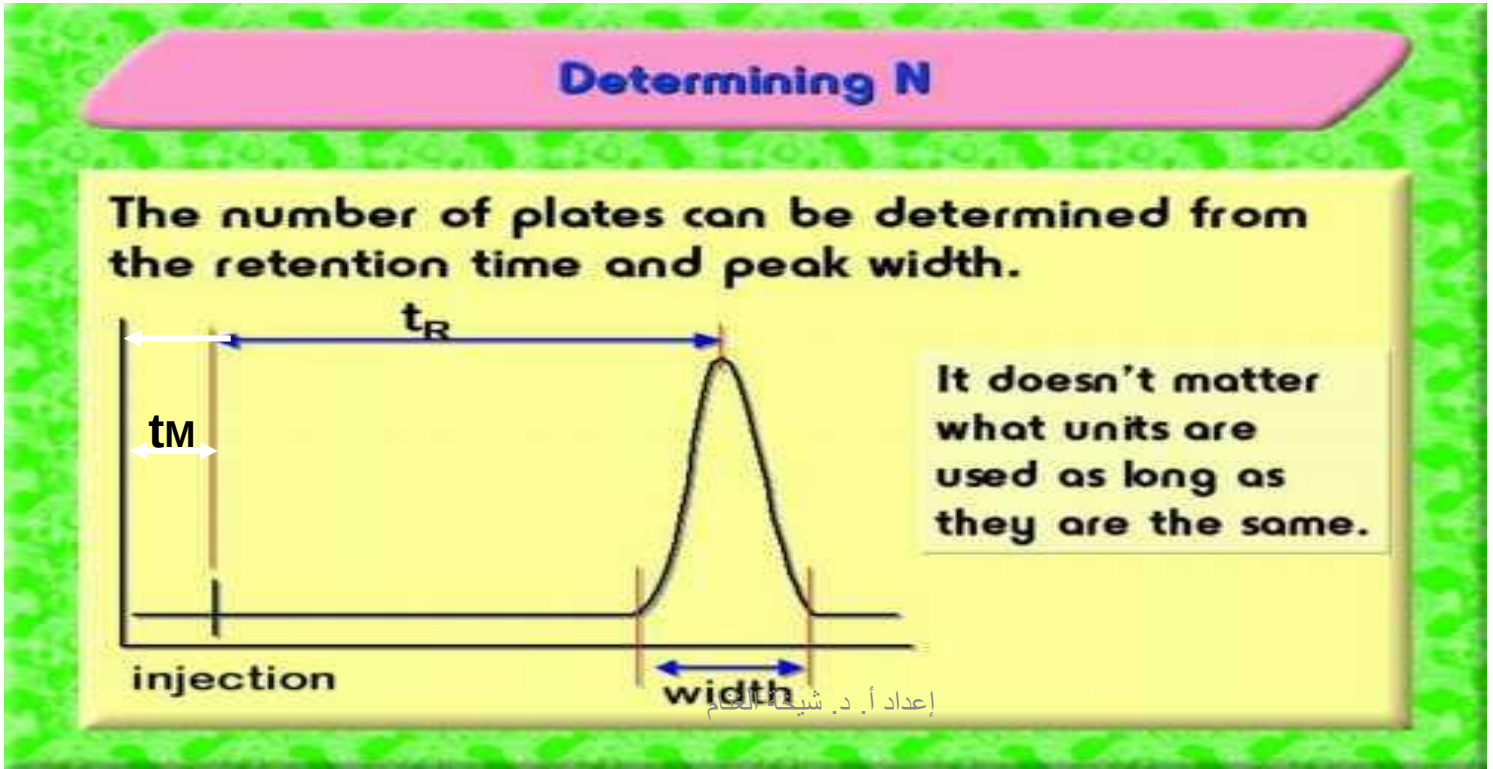
# الحالة النموذجية و الانتشار



# Plate Theory نظرية الطبقات

اذا افترضنا أن العمود الكروماتوجرافي يحتوي على عدد من الطبقات النظرية مساوي لعدد الانابيب في طريقة كريج فان درجة الفصل في الطريقتين ستكون متساوية و يمكن حساب عدد الطبقات النظرية n من العلاقة التالية:

$$n = \left( \frac{4\,t_R}{W} \right)^2 = \left( \frac{4\,V_R}{W} \right)^2$$




إعداد أ. د. شيخة الكعبي

# نظرية الطبقات Plate Theory

- قيمة n تعتمد على:

١- كيفية تحضير العمود

٢- طبيعة المادة المفصولة

٣- معدل السريان

٤- درجة الحرارة

- قيمة n تقريبية و لكنها تساعد على وصف كفاءة العمود فكلما زادت n كلما ضاقت الاسنان و اقترب الفصل من الحالة النموذجية.

# نظرية الطبقات Plate Theory

- توجد وسيلتين لزيادة n في العمود:

١- زيادة طول العمود L و لكن زمن الاستبقاء سوف يزداد و بالتالي يحدث تعريض للاسنان.

٢- زيادة عدد الطبقات النظرية في وحدة طول العمود أي نقلل من سمك الطبقة النظرية:

$$H = \frac{L}{n} = \frac{L}{16}\left(\frac{W}{t_R}\right)^2$$

نستنتج من المعادلة انه كلما قل سمك الطبقة النظرية H كلما كانت درجة الفصل أفضل.

# توجد عدة عوامل تؤثر على H يمكن تلخيصها في معادلة فان ديمترVan Deemter

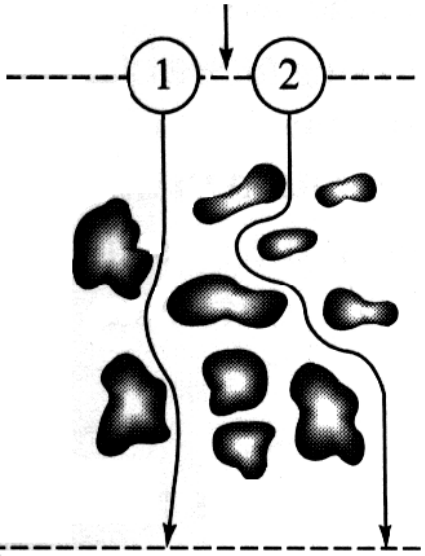
## van Deemter equation

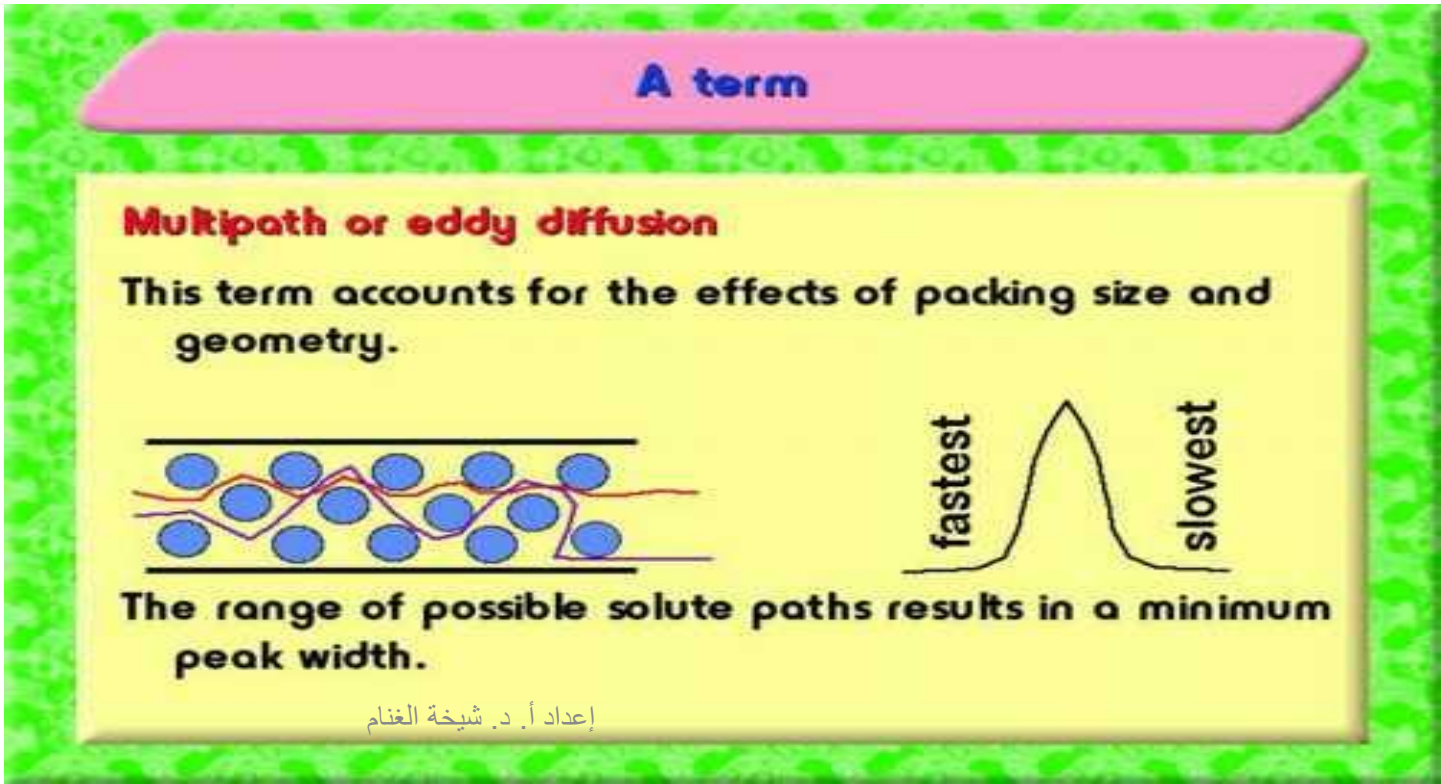
$$H = 2\lambda d_p + \frac{2\gamma D_g}{u} + \frac{8}{\pi^2}\frac{k d_f^2}{(1+k)^2 D_l} u$$

$$H = A + B/U + CU$$

العامل A-الانتشار الدوام Eddy diffusion : عندما تمر الجزيئات من مدخل العمود الى نهايته لا تتخذ جميعها نفس المسار أي انها ستصل الى نهاية العمود في ازمنة مختلفة مما يؤدي الى انتشار النطاق و عرض السن. يمكن التقليل من تأثير العامل A عن طريق التعبئة المحكمة للعمود و جعل الحبيبات صغيرة الحجم و منتظمة الشكل.

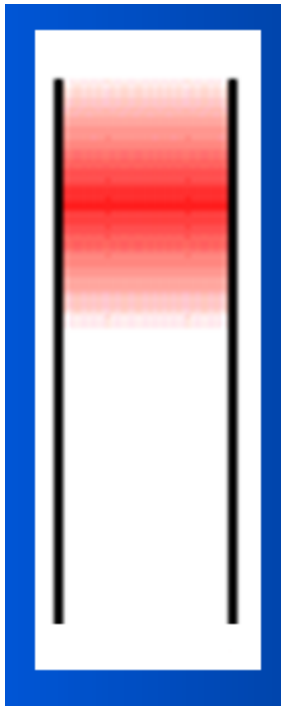
$$H = A + B/U + CU$$

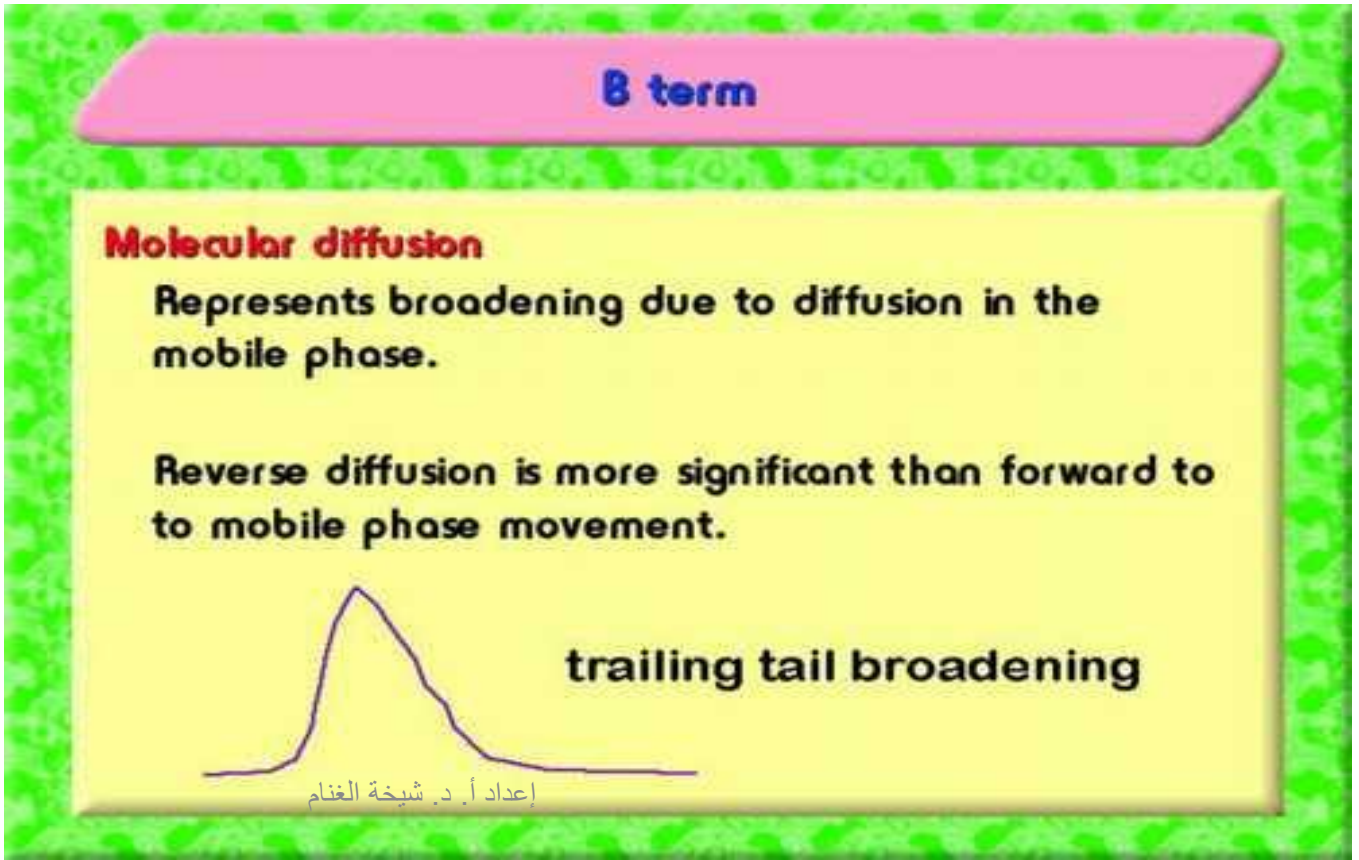


العامل B -الانتشار الجزيئي Molecular diffusion : هو انتشار المادة الى الامام و الخلف حيث تنتشر الجزيئات من المنطقة ذات التركيز العالي الى المنطقة ذات التركيز المنخفض و بالتالي حصول السن العريض. الانتشار في السوائل أقل من الغاز. للتقليل من هذا العامل نزيد من سرعة سريان الطور المتحرك و بالتالي يقل الزمن و يقل الانتشار

$$H = A + B/U + CU$$

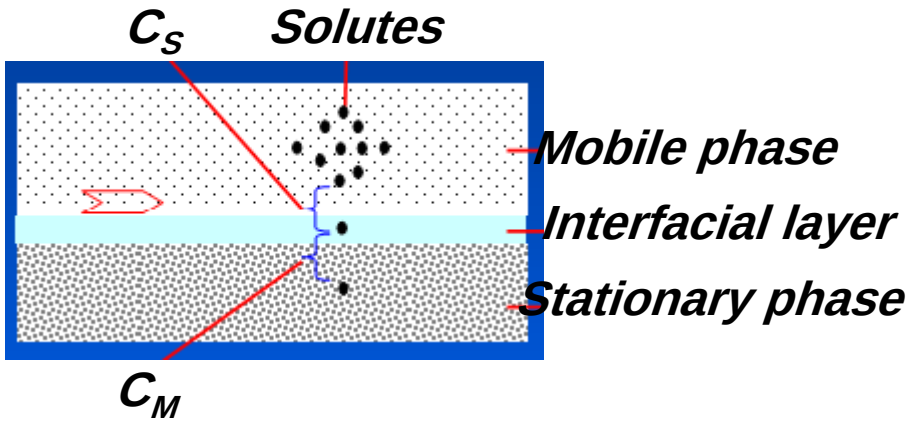





إعداد أ. د. شيخة الغنام

العامل C – مقاومة انتقال الكتلة : اتزان المذاب بين الطور الثابت و المتحرك بطئ نظرا لسرعة مرور الطور المتحرك عبر العمود و هذا يؤدي للانتشار و تعريض السن.للتقليل من هذا العامل لابد من التقليل من معدل سرعة سريان الطور المتحرك بقدر الامكان مع وضع العاملB في الاعتبار.

$$H = A + B/U + CU$$



للحصول على قيمة A و B و C و كذلك الحصول على أفضل سرعة سريان Uopt و التي يكون عندها H اقل ما يمكن و بالتالي فان الفصل أفضل

$$H1 = A + B/U1 + CU1$$

$$H2 = A + B/U2 + CU2$$

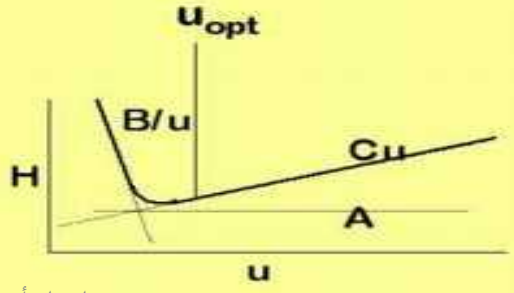
$$H3 = A + B/U3 + CU3$$

$$H = \frac{L}{n} = \frac{L}{16}\left(\frac{W}{t_R}\right)^2$$

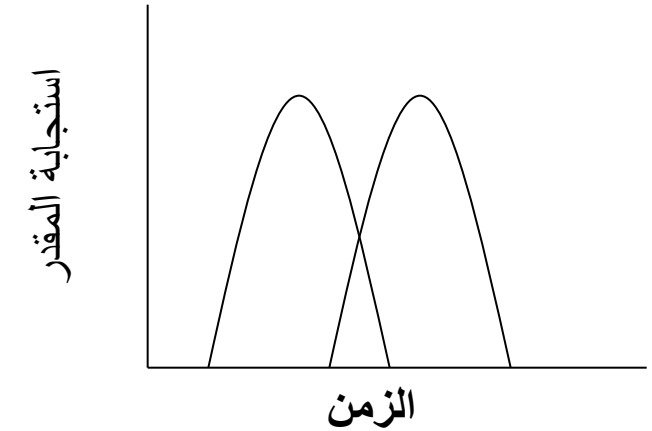
## Optimum velocity

The best velocity is a function of the Van deemter equation and practical conditions. You need to have a useable analysis time.

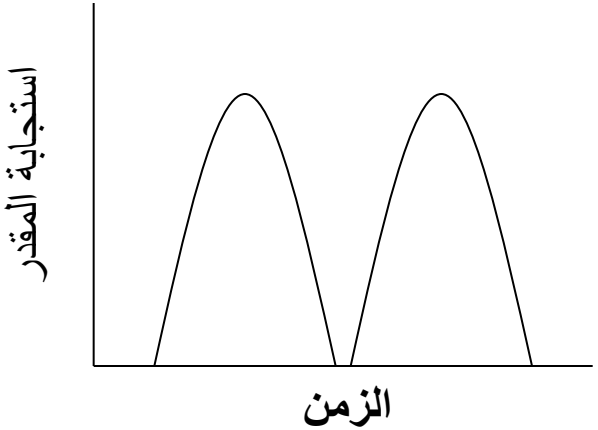
Also, since the effects of B are greater than C, it is best to set the flow a little on the high side in case it changes slightly during the analysis.



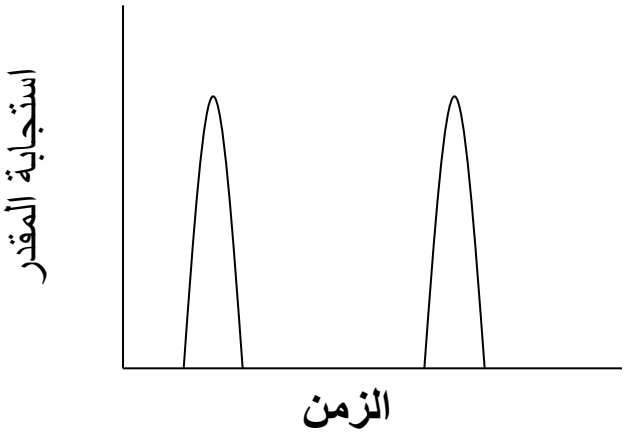
# درجة الفصل Resolution



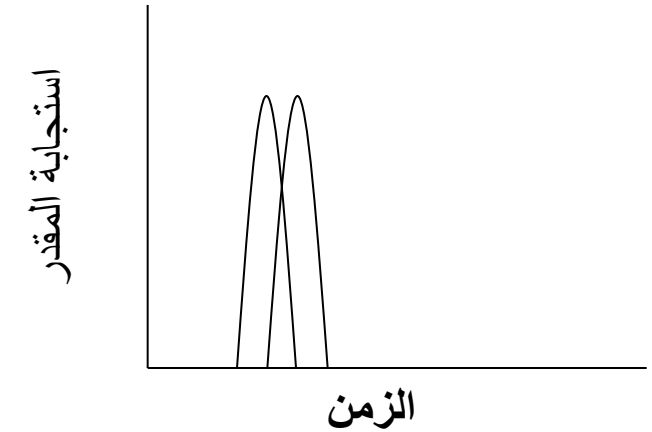

معامل الفصل جيد و عدد الطبقات النظرية صغير




معامل الفصل ردئ و عدد الطبقات النظرية صغير

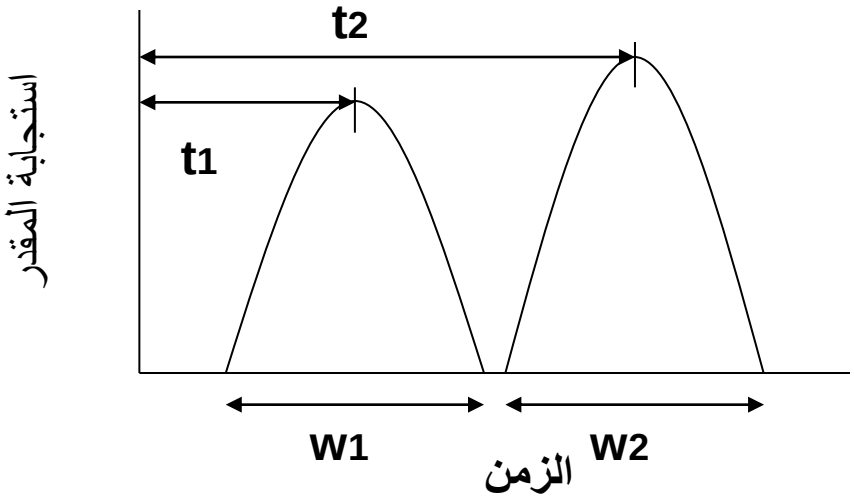



معامل الفصل جيد و عدد الطبقات النظرية كبير

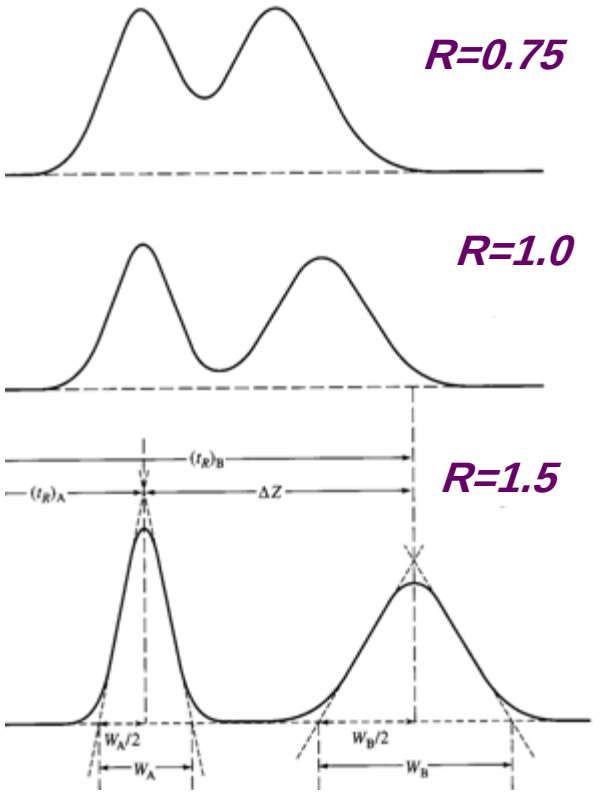



معامل الفصل ردئ و عدد الطبقات النظرية كبير

# Resolution درجة الفصل




$$R = \frac{2\,(t_2 - t_1)}{W_1 + W_2}$$



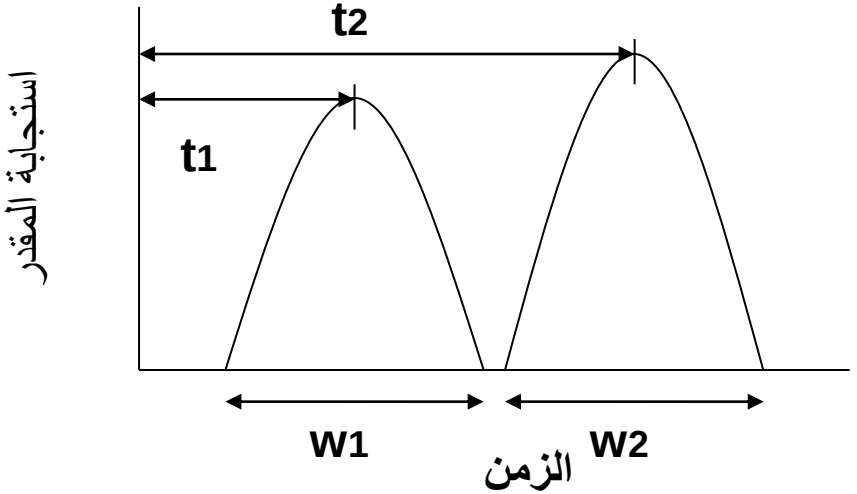

**R > 1.5** تام

**R = 1 -1.5** جيد

**R < 1** ردئ

# درجة الفصل Resolution

$$R = \frac{2\,(t_2 - t_1)}{W_1 + W_2}$$




**لتحسين درجة الفصل لابد من:**

**١- زيادة قيمة ( t1 – t2 ) عن طريق زيادة طول العمود أو زيادة كمية الطور الثابت أو تحسين معامل الفصل عن طريق تقليل درجة الحرارة أو تغيير أحد الطورين أو كلاهما.**

**٢- تقليل عرض السن w عن طريق التعبئة المحكمة للعمود و جعل حبيبات المادة الصلبة صغيرة الحجم و منتظمة الشكل و ايجاد سرعة مناسبة لسريان الطور المتحرك و تقليل كمية العينة و تصغير قطر العمود.**

# تمارين

- 1 - 8