Chem. Bilal A. Al-rifaii
الكيماوي بلال عبد الوهاب الرفاعي
مستشار في الاتحاد العربي للصناعات النسيجية ومدرب التقنيات الصباغية في غرفتي صناعة دمشق وحلب
دمشق: هاتف: ٣٤٤٠٥٣٨ ٠١١، حلب: ٢٢٦٢١٣٩ ٠٢١، جوال: ٥٨٤٣١٦ ٠٩٤٤، b.rifatex@hotmail.com

الكروموتوغرافيا Chromatography

تعريف الكروماتوغرافيا:

هي إحدى طرق الفصل المتقدمة والدقيقة للغاية، والكروماتوغرافيا كلمة مكونة من مقطعين: كرومو وتعني لون، وغرافيا وتعني كتابة، وكانت تستخدم قديماً لفصل المركبات الملونة، حيث كانت تقنية الكروماتوغرافيا البسيطة تستخدم لفصل منتجات النباتات الملونة الطبيعة باستخدام طورين: أحدهما متحرك *Mobile phas*، والآخر ثابت*Stationary phase*، بحيث يمر الطور المتحرك على الثابت المحتوي في العادة على العينة المراد فصلها فتفصل المادة المطلوبة وتخرج مرافقة للطور المتحرك...

وتتم هذه العملية باستخدام أكثر من تقنية، منها: الكروماتوغرافيا الغازية، كروماتوغرافيا التبادل الشاردي، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، الكروماتوغرافيا الورقية، كروماتوغرافيا الامتزاز، كروماتوغرافيا السائل فائق الأداء *HPLC* وغيرها...

أما *RF* فهو معامل الاحتجاز أو *Retention factor* وهو النسبة بين احتجاز مكونات العينة، وتقسم الكروماتوغرافيا إلى: كروماتوغرافيا الطبقات ، وكروماتوغرافيا العمود

تقسم كروماتوغرافيا الطبقات إلى: الكروماتوغرافيا الورقية، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

الكروماتوغرافيا الورقية:

يتم الفصل في هذا النوع من الكروماتوغرافيا للمركبات باستخدام طورين هما الطور السائل المتحرك *Mobile phase*، والطور الساكن *Stationary phase* ويكون في الغالب سائل أيضاً محمول على الألياف السيليلوزية للورقة، لذلك يطلق عليها أسم الكروماتوغرافيا الورقية.

أنواع الورق المستخدم في الكروماتوغرافيا الورقية:

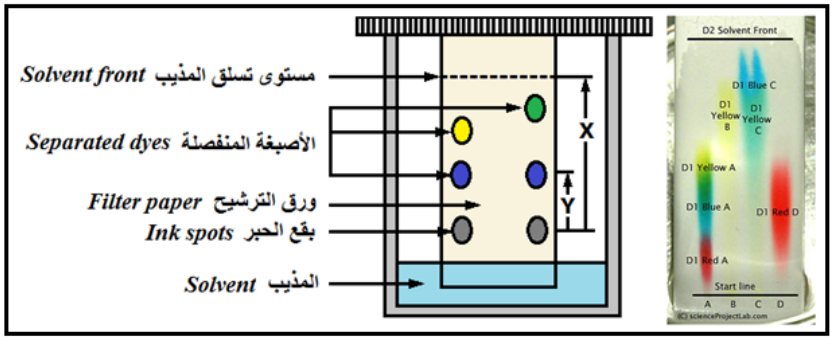
١. الأوراق المشبعة بالمحاليل العضوية.
٢. أوراق التبادل الشاردي.
٣. أوراق كارهة للماء.
٤. الأوراق ذات البعدين.

بعض أنواع الأطوار المتحركة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الورق:

١. بوتانول مشبع بحمض كلور الماء.
٢. استيل أسيتون مشبع بالماء.

٣. مزيج من حمض الخل الثلجي مع ٥% ميتانول.
٤. اثيل - مثيل كيتون.
٥. ميثانول.

ويستفاد من تقنية الكروماتوغرافيا الورقية في تحديد المركبات العضوية فقط، حيث يمكننا معرفة قيمة عامل الإعاقة RF للمركبات، ومن ثم مقارنته مع عامل الإعاقة للمركب القياسي المعروف الهوية، فإذا تطابق كان المركب مماثل للمركب القياسي أي إن عامل الإعاقة RF هو مقياس لسرعة حركة المكون نسبة إلى جبهة الطور المتحرك، ويتم قياس المسافة اعتبارا من خط البدء، أي من مركز البقعة (النموذج الذي على الورقة) أي جبهة الطور المتحرك كما في الشكل التالي:



أما اليوم فتشمل الكروماتوغرافيا الكثير من طرق الفصل، يجمعها شيء واحد أساسي ألا وهو وجود شيئين اثنين في التجارب: الجزء الثابت والجزء المتحرك...

نضع في عملية الفصل الكروماتوغرافي قليلاً من المخلوط الذي نود فصله لمكوناته على الجزء الثابت، ومن ثم نضع الجزء الثابت في السائل المتحرك الذي يبدأ بالارتفاع جاراً معه المخلوط... ، ولكل مادة سرعة حركة خاصة به على الجزء الثابت، ومرد ذلك سببين اثنين رئيسين:

١. ميل المادة إلى الالتصاق بالجزء الثابت.
٢. ميل المادة إلى الذوبان في الجزء المتحرك.

إذا لم تكن المادة قابلة للذوبان في الجزء المتحرك، أو إنها لا تلتصق بالجزء الثابت فإن عملية الفصل الكروماتوغرافي مستحيلة.

وبما أن المخلوط المراد فحصه عبارة عن مواد ذات ألفة كيماوية (ميل للالتصاق) مختلفة للجزء الثابت، وذات قدرة مختلفة على الذوبان في المذيبات المختلفة، فإن النتيجة تكون الفصل الفيزيائي بين المواد المكونة للمخلوط وذلك على سطح الجزء الثابت. وهكذا يمكن جمع المواد كل على حدة وفحص صفاتها وكمياتها...

أنواع الطرق الكروماتوجرافيا:

ينقسم التحليل الكروماتوجرافي إلى ثلاثة أنواع:

١. كروماتوجرافيا الامتزاز.
٢. كروماتوجرافيا التبادل الشاردي.
٣. الكروماتوجرافيا الكهربائية.

الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء أو الكروموتوغرافيا السائلة عالية الأداء
HPLC: High Performance Liquid Chromatography

شكل من أشكال الكروماتوجرافيا العمودية، وغالبا ما تستخدم في الكيمياء الحيوية والتحليلية لفصل وتحديد وقياس المركبات في مزيج واحد. ويستخدم فيها عمود يحتوي على المادة الثابتة *Stationary Phase* ومضخة تحرك المادة المتنقلة المراد تحليلها *Mobile Phase*، وكاشف لتحديد زمن الاحتباس لكل مادة.

ويختلف زمن الاحتباس من مادة لأخرى بسبب الاختلاف في الروابط البينية بين المادة المراد تحليلها والمادة الثابتة في العمود مما يؤخر ظهور المادة على الكاشف.

تعتمد طريقة التحليل على استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء *HPLC* وهذه الطريقة تعتمد على التباين في سرعة تحرك الأصباغ من خلال عمود الفصل حيث استخدم عمود فصل من النوع *RPC18* وجد من خلال هذه الدراسة أن الوقت اللازم لخروج مركبات الصبغات من عمود الفصل يعتمد على مقدار قطبية المركب، فالصبغة السوداء تخرج من عمود الفصل أولا ثم الصبغة الزرقاء ثم البرتقالية وأخيرا الصبغة الحمراء مما يعني أن الصبغة السوداء ذات قطبية أعلى من باقي الصبغات. ولتحريك الصبغات داخل عمود الفصل تم استخدام الطور المتحرك:

N-Cetyl-N,N,N-tri methyl ammonium bromide (CTAB)