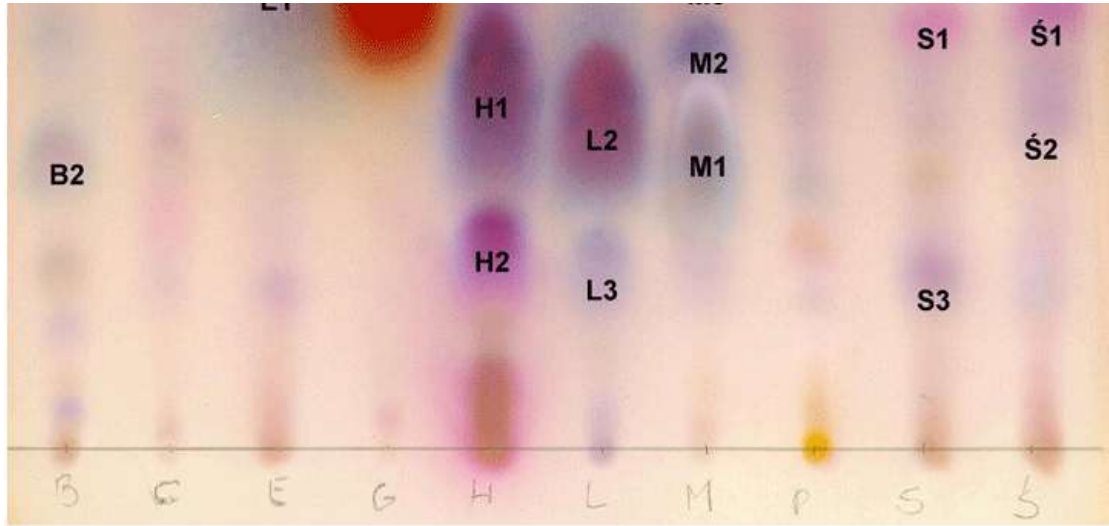


المحاضرة الحادية عشرة

الكروماتوغرافيا الورقية.

هو الأسلوب الذي يعتمدُ على استخدامِ ورقٍ للترشيح يصنعُ من مادة السيلولوز، أو يكون معالجاً كيميائياً ويستخدمُ في فصل المواد الكيميائية السائلة، وتساعدُ هذه الطريقة في بقاء المادة المفصولة عن المادّة الأخرى على ورقة الترشيح، ممّا يؤدي إلى سهولة التعرفُ عليها، ومعرفة طبيعة خصائصها الكيميائية.

تتوزع المكونات بين الماء المحمول في مسامات ورق الترشيح والطور السائل الذي يتحرك عبر الورقة. يحدث الفصل نتيجة الاختلاف بالألفة بين الماء والطور المتحرك الذي يتحرك بالخاصية الشعرية بين مسامات ورقة الترشيح. لاحظ الشكل (10-3)



الشكل (10-3) الكروماتوغرافيا الورقية

طريقة إجراء التجربة: تتم التجربة وفق الخطوات التالية ، لاحظ الشكل (10-4)

في عملية الفصل الكروماتوغرافي نضع قليلا من المخلوط الذي نود فحصه وذلك على الجزء الثابت، ومن ثم نضع هذا الجزء الثابت في سائل يكون عبارة الجزء المتحرك. حيث يقوم السائل بالسرّيان اخذا معه المخلوط . بطبيعة الحال ليست كل المواد ذات نفس سرعة الحركة على الجزء الثابت وذلك يرجع إلى عاملين اثنين رئيسيين:

1- ميل المادة إلى الالتصاق بالجزء الثابت.

2 - 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 الفة كيميائية (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.

خطوات العمل:

1. يتم عمل خط بقلم الرصاص على ورق الترشيح على بعد 5 سم من حافة الورقة ثم ضع إشارات × على مسافات متساوية بعدد المحاليل المجهولة والتي يراد فصل مكوناتها مع كتابة اسم كل محلول أسفل هذه الإشارة.

2. ارفع طرف الورقة من جهة الخط باستخدام ساق زجاجية مثلاً بحيث لا تلامس أي سطح أثناء وضع العينات عليها.

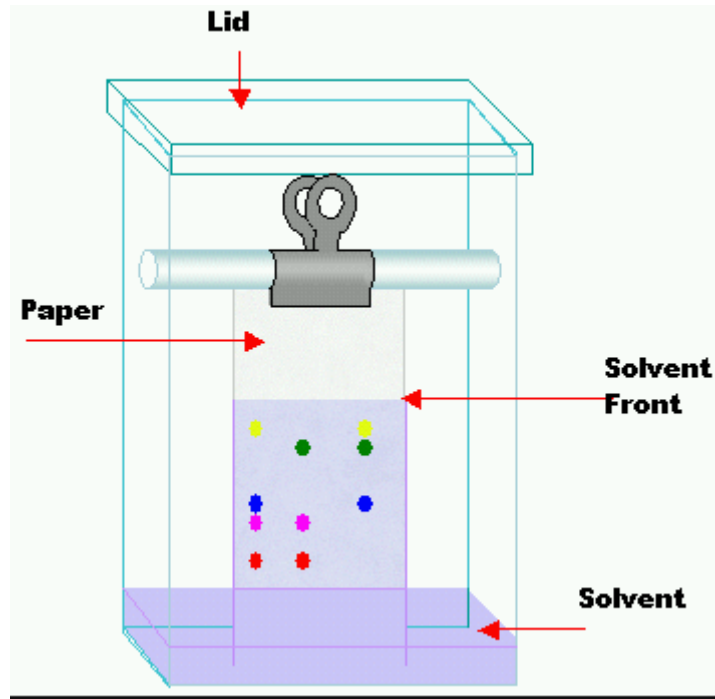
3. باستخدام ماصة نأخذ 3 ميكروليتر من المحلول المجهول وضعه عند العلامة الخاصة به واتركها حتى تجف تماماً . كرر العملية عدة مرات لنفس المحلول مع وضع القطرات على نفس المكان.

4. كرر الخطوة الثالثة لبقية المحاليل الموجودة لديك مع التأكد من وضع كل محلول على العلامة الخاصة به . يمكن ثني الورقة على شكل اسطوانة ثم تدبب أطرافها . بحيث يكون الخط المرسوم باتجاه الفتحة السفلى للأسطوانة.

5. ضع المذيب في الوعاء الزجاجي على ارتفاع 3 سم من قاع الوعاء ثم ضع ورقة الفصل بحيث تكون الجهة المرسوم عندها الخط مغموسة في السائل المذيب.

6. أغلق الوعاء واتركه لمدة 12 - 14 ساعة ثم أخرج الورقة وانزع الدبابيس عنها وعلم على المنطقة التي وصل إليها السائل.

7. اترك الورقة حتى تجف تماماً ثم رش الورقة بالمحلول المظهر بواسطة رشاش ثم ضع الورقة في فرن تجفيف عند 80 م لمدة 3 دقائق

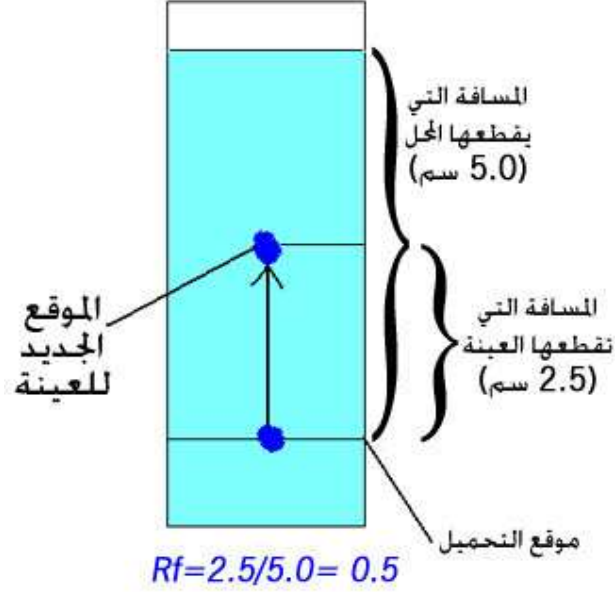


الشكل (10-4)

يحصل الفصل لمكونات العينة نتيجة عدة عوامل:

- الانحلالية: يتعلق توزيع جزيئات المادة المنحلة بين الطور الثابت السائل والسائل المتحرك باختلاف انحلالية المواد المنحلة في الطورين والذي بدوره يتعلق باختلاف القطبية بين الجزيئات.
- قوة الدفع: تميل قوة الدفع إلى جذب المادة في اتجاه تدفق السائل المتحرك. هذه القوة تعتمد على سرعة التدفق وانحلالية المادة في السائل المتحرك.

- قوة الإعاقة: تميل قوة الإعاقة إلى منع المادة من التحرك قدماً مع الطور المتحرك. هذا يعتمد على توزع المادة المنحلة بين الطور المتحرك والثابت.



- يتم التعبير عن الفصل كميًا بمصطلح معامل التأخر **Retardation Factor** ويرمز له بـ Rf والذي يساوي المسافة التي تقطعها المادة المنحلة مقسومة على المسافة التي يقطعها المحل. لا واحدة لهذا العامل.

- حيث تعبر القيمة 0 عن عدم تحرك المادة المنحلة من نقطة التحميل، وبالمقابل إذا كان $Rf=1$ فلا يوجد ألفة بين المادة المنحلة والطور الثابت وبالتالي فقد تحركت كاملةً مع الطور المتحرك حتى النهاية. تؤمن قيمة Rf تأكيد جيد لهوية مادتين منحلّتين تنتقلان إلى مسافة واحدة وتكونان من نفس اللون، ولكن لا يمكن استنتاج أن مثل هذه المواد دائماً متشابهة، إذ يمكن لمركبين أن يملكا نفس قيمة Rf واللون.

ويستفاد من تقنية كروماتوغرافيا الورق في تشخيص المركبات العضوية فقط ، حيث يمكن معرفة قيمة عامل الإعاقة للمركبات ، ومن ثم مقارنته مع عامل الإعاقة للمركب القياسي (المعروف الهوية) فإذا تطابق كان المركب مماثل للمركب القياسي أي إن عامل الإعاقة هو مقياس لسرعة حركة المكون نسبة إلى الطور المتحرك . ويتم قياس المسافة اعتباراً من خط الابتداء، أي من مركز البقعة.

(R) = بعد مركز البقعة عن نقطة الأصل / بعد المذيب عن نقطة الأصل

- تنقسم هذه الطريقة إلى قسمين حسب اتجاه سريان المذيب على الورقة إلى:
- أ- الطريقة التصاعدية Ascending حيث يتجه سريان المذيب من أسفل إلى اعلي
- ب- الطريقة التنازلية Descending حيث يتجه سريان المذيب من أعلى إلى أسفل الورقة

أساسيات الكروماتوغرافيا الورقية:

- تفصل مكونات المخاليط على أساس اختلاف معامل التوزيع.
- يكون الوسط المتحرك إما مذيب واحد أو خليط من المذيبات.
- تستعمل أشربة ورق كروماتوجرافيا.
- يتحرك الوسط الثابت خلال الوسط المتحرك بإحدى الطرق التالية:
- الخاصية الشعرية. من مركز الدائرة إلى محيطها. الجاذبية الأرضية.

أنواع الورق المستخدم في الكروماتوغرافيا الورقية:

- الأوراق المشبعة بالمحاليل العضوية.
- أوراق التبادل الأيوني.
- أوراق كارهة للماء.
- الأوراق ذات البعدين.

بعض أنواع الأطوار المتحركة المستخدمة في كروماتوغرافيا الورق

- كحول البيوتانول المشبع بحامض الهيدروكلوريك.
- استيل أسيتون المشبع بالماء.

• حامض الخليك الثلجي الحاوي على (5%) من كحول الميثانول

• .اثيل - مثيل كيتون.

• .كحول الميثانول.

10-2-5. كروماتوغرافية الطبقة الرقيقة TLC Thin Layer Chromatograph :

هو الأسلوب الذي يعتمدُ على استخدام صفيحة معدنية رقيقة في فصل المواد الكيميائية، ولكن لا تظل كل كمية المادة المفصولة عن الصفيحة، لذلك يجبُ على الباحث، أو الشخص الذي يقوم بعملية الفصل أن يُحافظَ على كمية المادة التي حصل عليها ليتمكّن من دراستها، والتعرّف على طبيعتها.

يوجد على الطرف الخلفي لصفيحة ال TLC معدن ألومنيوم أو حديد أو مغطاة بالسيليكا وهو الطور الساكن.

خطوات العمل:

1. تجهيز ألواح الطبقة الرقيقة (الطور الساكن) : إن المواد المدمصة في TLC هي نفسها

الدممصة في كروماتوغرافيا الأعمدة ،هذه الألواح تكون مصنوعة و مجهزة للاستخدام مباشرة.

2. اختيار المذيب المناسب (الطور المتحرك):يعتمد اختيار المذيب على نوع المادة المراد

فصلها و قد يكون ضروريا اختيار عدد من المذيبات لإجراء عملية الفصل و يكون الاختيار

التقريبي سهلا .فالمذيب الذي له قطبية عالية يؤدي إلى تحريك البقع مع حركة المذيب، في حين

إن المذيب غير القطبي لا يؤدي إلى تحريك البقع مع المذيب ، و يعتبر الكلوروفورم و البنزين

من المذيبات المتوسطة القطبية التي تستخدم بصورة واسعة لفصل العديد من المركبات وكما

يمكن إضافة ماء أو ميثانول أو ..حسب الحاجة.

3. وضع العينة:يتم وضع حجم معين في حدود 5-20 ميكرو لتر بواسطة ماصة دقيقة أو

أنبوب شعري دقيق على خط البدء(خط الهجرة) الذي يبعد 2 سم من احد أضلاع اللوح.

و ينبغي ألا يزيد قطر البقعة عن 1سم ، و للمحافظة على بقاء البقعة صغيرة توضع العينة

بأحجام صغيرة عدة مرات مع التجفيف بعد كل اضافة.

4. تقنية الفصل: يتم الفصل بهذه الطريقة بوضع قطرة من المحلول الذي يحتوي على المزيج

المراد فصل مكوناته على بعد 2سم من احد أضلاع اللوح . ثم يوضع اللوح في وعاء مغطى(تجنبنا لتبخر المذيب لأننا نريد جو مشبع) يحتوي على كمية من المذيب المستخدم بحيث لا يزيد ارتفاع المذيب في الوعاء عن 1سم(أي لا يصل إلى خط البدء) و بعد وقت قصير يبدأ المذيب في التحرك إلى أعلى مارا بالبقعة التي تحتوي على المزيج و يبدأ فصل مكوناته حسب قوة ادمصاص كل منها على سطح الطور الساكن ، و ينتج عن ذلك فصل بقعة المزيج إلى عدة بقع و عندما تقترب جبهة المذيب من نهاية اللوح نخرج اللوح من الوعاء و نقوم بتحديد المكان الذي وصلت اليه جبهة المذيب لمعرفة المسافة التي قطعها المذيب . ثم نحدد مواقع البقع المفصولة . و تقاس المسافة التي قطعتها البقع مباشرة إذا كانت هذه المواد المفصولة ملونة أما إذا كانت غير ملونة فلابد من إتباع طرق معينة لإظهار البقع.

5. طرق تظهير البقع المفصولة(Visualization Method)

طرق الفصل سهلة في حالة المواد المفصولة ملونة ، إلا انه في اغلب الحالات تكون المواد المفصولة عديمة اللون و يجب جعلها في هذه الحالة ملونة باستعمال بعض الكواشف ، و تسمى هذه بكواشف التظهير .

أيضاً يمكن استخدام مصباح الأشعة فوق البنفسجية ٧.٧و هي غالباً ما تُظهر المركبات المفصولة على شكل بقع براقّة ساطعة على الطبقة الرقيقة و بعضها يظهر عليه فقط خاصية التألّق. (Flourescence)

و هناك أيضاً إضافة مادة متألّقة إلى الوسط الثابت في الطبقة الرقيقة مثل خليط من كبريتات الزنك و الكادميوم ، و إذا كانت المركبات المفصولة تسبب إخماد التألّق (quenching) (flourescence) فإنها ستظهر على هيئة بقع سوداء على الصفيحة عند تعرضها للأشعة فوق البنفسجية.

6. معامل التأخير: عند تثبيت كل الظروف على الطبقة الرقيقة فإن أي مركب سيقطع مسافة ثابتة بالنسبة إلى المسافة التي سيقطعها المذيب(جبهة المذيب) و تعرف النسبة بين المسافة التي تقطعها المادة المفصولةXA و المسافة التي يقطعها المذيب بمعامل التأخر و يرمز لها بالرمز Rf.

$$Rf = \frac{\text{المسافة التي قطعها مركز البقعة من خط البدء} (XA)}{\text{المسافة التي قطعها جبهة المذيب من خط البدء} (Xf)}$$

المسافة التي قطعها جبهة المذيب من خط البدء (Xf)

حيث $R_f < 1$ دائماً.

و يكون معامل التأخير ثابتاً للمركب المعطى عندما تكون كل ظروف التجربة هي نفسها و هو

يمثل احد الصفات الفيزيائية لهذا المركب.

و يمكن التعرف إلى المادة المجهولة عن طريق حساب تلك المسافات من نقطة البداية الى

مركز المادة.

