

# INSTRUMENTAL ANALYSIS

## *Chromatography*

التحليل الآلي

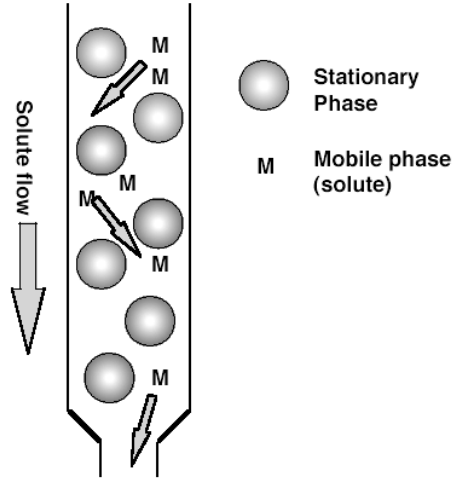
الكروماتوجرافيه

أستاذة المادة / نورا محمد علي  
المستشار / د. محمد علي

# الكروماتوغرافيا

## - مقدمة:

تعتمد هذه التقنية على ..... من الطور المتحرك في الطور الثابت تبعاً .....



في الغالب يكون الطور المتحرك .....؛ بينما يكون الطور الثابت..... أو دعامة صلبة مكسوة بسائل [ ماذا يعني هذا؟ ..... ].  
يجهز الطور الثابت المناسب ثم توضع العينة عليه ويتم استشرابها بمعدلات مختلفة؛ ثم يمر المذيب الذي يذيب مكونات العينة تبعاً بناءً على قوة ارتباطها بالطور الثابت.

## - أنواع الكروماتوغرافي:

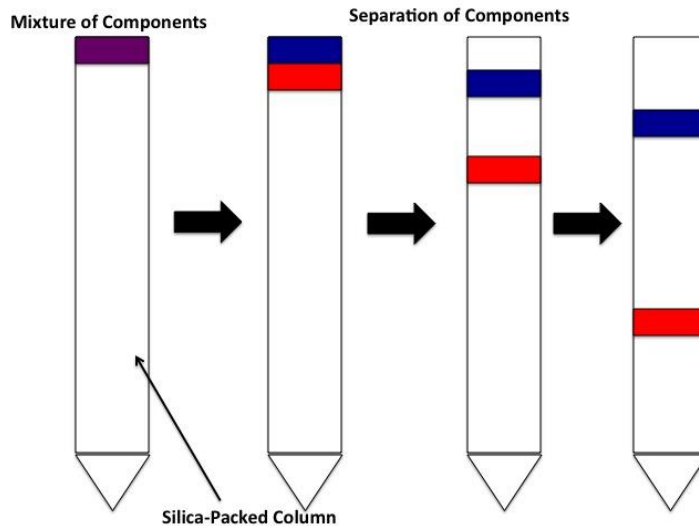
أ- الكروماتوغرافي السائلة- الصلبة (LSC):

فكرة عامة: يستخدم على نطاق واسع في تحليل ( فصل ) المركبات العضوية والحيوية ؛ الطور الثابت فيه

غالباً هو هلام السيليكا Silica Gel - صيغته ..... - أو الألومينا - صيغته ..... -.

[ لماذا هاتان المادتان؟ ..... ] ؛ [ هل تقترح مادة أخرى؟ ..... ].

يُعبأ الطور الثابت في عمود، يمر من خلاله الطور المتحرك (سائل).



عيوبها: لها عيبان رئيسان: .....

$$(D_C = C_S / C_M)$$

.....

ميكانيكيته: يعتمد توزيع المواد في الطورين الثابت (S) والمتحرك (M) على .....؛ ولذا فيمكن القول أن جميع الطرق الكروماتوغرافية التي يكون فيها S مادة صلبة تعتمد على ..... ، ولذا تُسمى " الطرق الكروماتوغرافية ..... " .

ب- الكروماتوغرافي السائلة-السائلة (LLC):

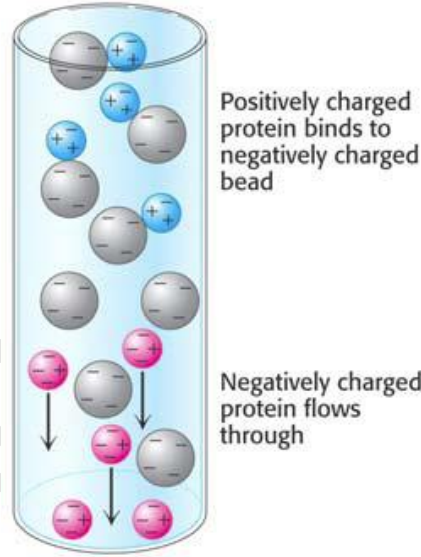
فكرة عامة: الطور الثابت عبارة عن طبقة رقيقة من ..... (أو خليط من .....) مثبتة على سطح مادة صلبة (لا بد أن تكون هذه المادة الصلبة .....)، والطور المتحرك عبارة عن ..... آخر.

معامل التوزيع هنا لا يعتمد على التركيز [ ماذا يعني هذا الشيء تطبيقياً؟ ] .....؛ ويعتمد الفصل على ..... (تسمى أيضا بـ " الطرق الكروماتوغرافية ..... ك ذ ت ").

ج- الكروماتوغرافي الغازية - السائلة (GLC):

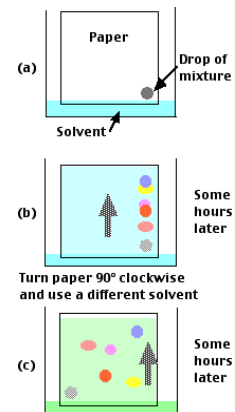
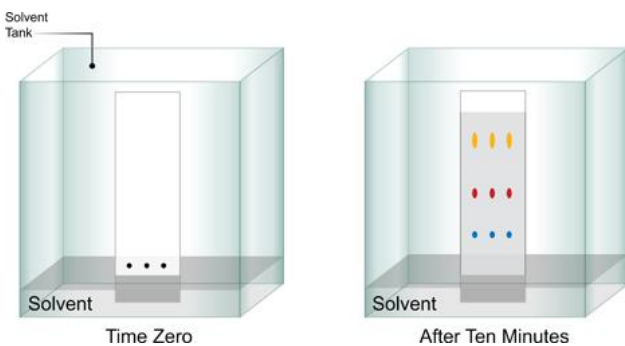
فكرة عامة: هنا الطور الثابت عبارة عن طبقة رقيقة من ..... مثبتة على دعامة صلبة؛ والطور المتحرك عبارة عن ..... وتعتمد على ..... (ك ذ ت) ؛ ويمكن بواسطتها فصل كميات تصل إلى  $10^{-10}$  جم.

د- الكروماتوغرافي التبادلية (IEC):



فكرة عامة: وهي أحد أنواع الكروماتوغرافي السائلة-الصلبة ، ولكن ميكانيكية التوزيع لا تعتمد على الامتزاز ولكن على ..... [ بماذا تختلف ك ذ ت عن ك س ص ؟ : ..... ] .

هـ- الكروماتوغرافي المستوية (PC) أو (TLC):



**فكرة عامة:** يُفرد الطور الثابت على لوح من الزجاج ( تُسمى حينها الكروماتوجرافي ذات الطبقة الرقيقة ) أو على ورقة

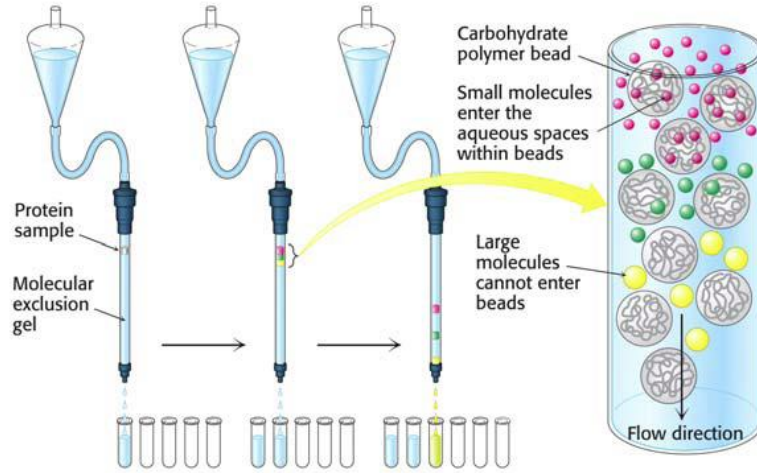
( وتُسمى الكروماتوجرافي ..... )، ويكون الطور الثابت عبارة عن طبقة رقيقة من سائل ممتز على طبقة رقيقة من السيليكا أو الألومينا ( أو الورقة التي يدخل في تركيبها السيليلوز ) ؛ بينما يكون الطور المتحرك عبارة عن سائل ( ولذا يمكن تسميتها بـ " الكروماتوجرافي ..... - ..... " ) .

حلت الكروماتوجرافي ذات الطبقة الرقيقة (TLC) محل الورقية (PC) لأنها أفضل.....

### و- الكروماتوجرافي المنخلية:

**فكرة عامة:** الطور الثابت عبارة عن مادة هلامية تتربك فراغيا من جزيئات كبيرة ، هذه الجزيئات تحتوي على تركيب

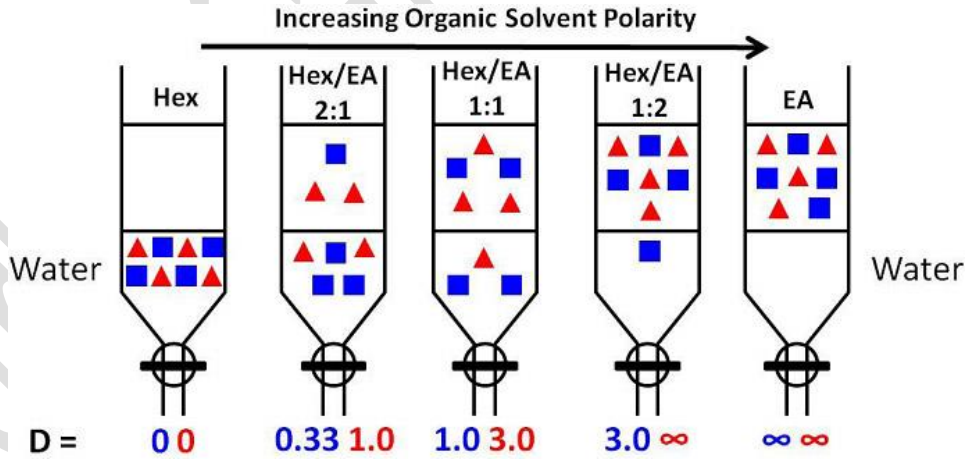
يشبه المنخل ( بعد تنقيعها في الماء )؛ ويعتمد الفصل على .....



### - معامل التوزيع " D " Distribution Coefficient :

إذا كانت D كبيرة فهذا يعني أن أغلب جزيئات المادة توجد في الطور ..... ، ولذا تبقى المادة مدة أطول في

..... مقارنة بـ ..... مما يؤخر خروجها ، والعكس بالعكس.



الجزء من الزمن الكلي الذي يمضيه جزيء المادة في M - يُرمز له بـ " t " - يتناسب ..... مع الجزء من الكمية الكلية من المادة الموجودة في M ؛ ورياضيا:

$$t = \frac{\text{No. of Molecules in M}}{\text{Total No. of Molecules}} = \frac{C_M V_M}{C_M V_M + C_S V_S} = \frac{1}{1 + D \left( \frac{V_S}{V_M} \right)} = \frac{1}{1 + k}$$

حيث أن k تُسمى " معامل السعة = Capacity Factor " .

لا تنس أن:

$$D = C_S / C_M \quad \& \quad k_X = [X]_S / [X]_M$$

- معدل سرعة سريان جزيء المادة عبر العمود "r":

$$r = U t = U \frac{1}{1+k} = U \frac{1}{1+(D \frac{V_S}{V_M})}$$

حيث أن  $U$  = سرعة سريان الطور المتحرك

جميع العوامل في المعادلة الأخيرة ..... بالنسبة للمواد المراد فصلها عدا  $D$ .

- زمن المكوث/الاستبقاء "  $t_R$  " : Retention time

وهو الزمن اللازم للمادة .....  $L$ .

$$t_R = L/r = \frac{L}{U} (1 + k) = t_M (1+k) \Rightarrow t_M = \frac{L}{U}$$

علما أن  $t_M$  : الزمن اللازم لإخراج مادة .....

- حجم المكوث/الاستبقاء "  $V_R$  " : Retention Volume

وهو حجم الطور المتحرك لتمرير/إخراج (elute) المادة من العمود.

في حالات كثيرة يُفضل قياس الحجم عوضا عن الزمن [لماذا؟].....

$$V_{R(ml)} = t_{R(min)} \times F_{(ml/min)} \Rightarrow V_R = V_M (1+K) = V_M + DV_S$$

حيث  $F$  : معدل سريان الطور المتحرك بوحدة الحجم (وهو ثابت).

و  $V_M$  : حجم الطور المتحرك في العمود عند أي لحظة (أي أن  $V_M$  تمثل .....).

المعادلة السابقة يمكن تطبيقها على جميع أنواع الكروماتوجرافي .

وأحيانا نستبدل  $V_S$  بـ المساحة السطحية القابلة للامتزاز أو سعة المبادل الأيوني [لماذا؟].....

- الاستبقاء النسبي "  $\alpha$  " : Relative Retention

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

حيث :  $t_R^* - V_R^* - D^*$  : مادة قياسية - عند نفس الظروف العملية التي أجريت للمادة المراد استخلاصها - .

[ لماذا نلجأ للاستبقاء النسبي ؟ ..... ]

- إنهاء التحليل الكروماتوجرافي:

أ- أولا:

١- بعد مرور زمن كافٍ لفصل المكونات ، نُعزل مناطق الطور الثابت (كمافي المستوية) بحيث تحتوي كل منطقة على مكون أو

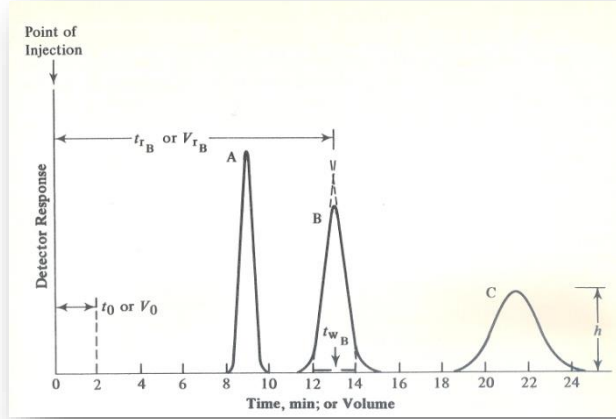
مكونين، ويتم تحليلها بالطرق المناسبة.

٢- يتم تخريج المكونات من العمود بواسطة الطور المتحرك ، فتخرج على دفعات في أزمنة مختلفة [لماذا؟]..... ، ويتم

تحليل كل مكون مباشرة بعد خروجه باستخدام جهاز تقدير وتحليل مناسب ، يُربط مع العمود بطريقة فنية.

ب- ثانياً:

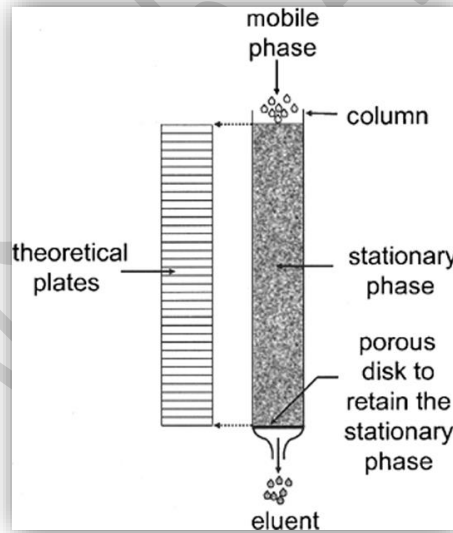
تُرسَم العلاقة بين استجابة المقدر (غالباً تُعطي دلالة على ..... ) و ..... ؛ للحصول على Chromatogram



يتضح في هذه الرسمة خروج المكونات تبعا ل ..... ، وطريقة قياس عرض السن W

#### - نظرية الطبقات Plate Theory :

يمكن فرضيا اعتبار العمود الكروماتوغرافي عبارة عن طبقات عديدة متكدسة ومتراصة فوق بعضها البعض، وبالتالي فإن درجة الفصل تعتمد على عدد هذه الطبقات النظرية (تماما كطريقة كريج ).  
[ ما العلاقة بين عدد الطبقات وكل من طول العمود وسعة العمود؟..... ]



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

حيث n : عدد الطبقات النظرية، وهي تقريبية وتعتمد على: كيفية .....، وتتأثر بطبيعة المادة المفصولة ، و ..... و ..... وغيرها.

و W : عرض السن ( لا بد أن تقاس W و  $t_R$  بنفس الوحدة )، وسنعرف بعد قليل طريقة قياس W .

#### - يمكن زيادة قيمة n عن طريق:

[ لماذا نزيد قيمتها؟..... ]

١- زيادة ..... : ولكننا لا نفضل هذا الخيار [ لماذا؟..... ]

٢- زيادة عدد الطبقات النظرية في وحدة العمود: [ كيف؟..... ]

## - سُمك الطبقة النظرية "H":

وهو الارتفاع النظري للطبقة النظرية المكونة لعمود الفصل ، وكلما كانت قيمتها قليلة كلما كانت درجة الفصل ..... [ لماذا؟..... ] .

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

ويمكن تقليل قيمة H عن طريق الرجوع إلى معادلة " فان ديمتر Van Deemter " :

$$H = 2\lambda d_p + \frac{2jD_g}{U} + \frac{8}{\pi^2} \frac{k}{(1+k)^2} \frac{d_f^2}{D_L} V$$

(للاطلاع فقط)

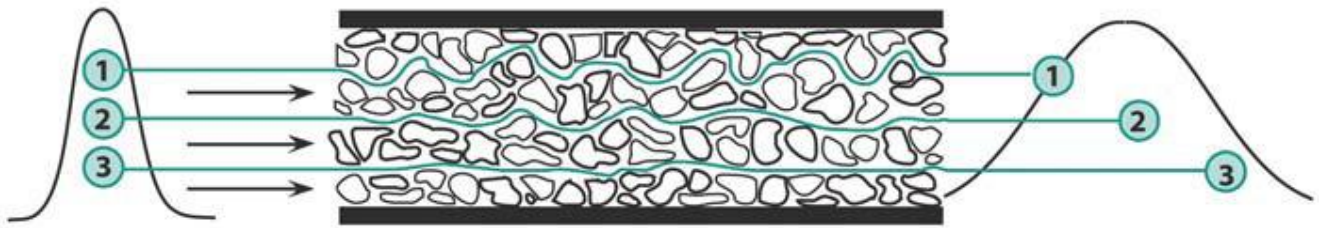
ويمكن تبسيط المعادلة السابقة بالصورة التالية:

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

وعن طريق التحكم بالحدود A , B و C يمكن التحكم بقيمة H.

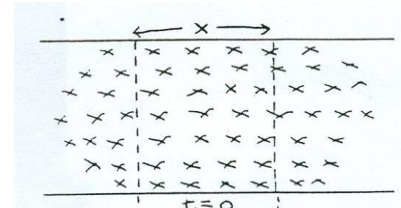
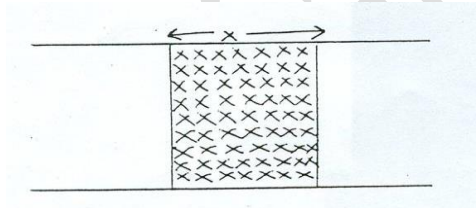
### ١- التحكم بالعامل A : عن طريق التعبئة المحكمة للعمود، وجعل الحبيبات صغيرة ومنظمة الشكل

[ لماذا؟..... ] [ كيف يقل الانتشار؟..... ] .



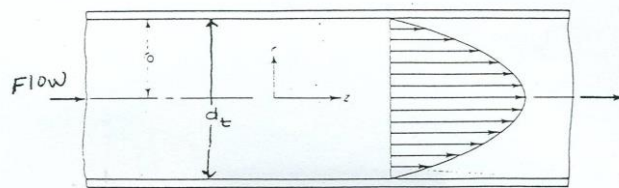
### ٢- التحكم بالعامل B : عن طريق اختيار سرعة مناسبة للطور المتحرك لتقليل الانتشار الجزيئي Molecular Diffusion

[ الجزيئات تنتشر إلى الأمام و/أو إلى الخلف، لماذا؟..... ]، هذا الانتشار سيزيد من .....؛ وحتى نقتل من تأثيره سيزيد من سرعة السريان ضمن حدود معينة للسرعة [ لماذا هذه الحدود؟..... ] [ العلاقة بين U و B ..... ] ؛ هذا العامل لا يهمنا كثيرا عندما يكون الطور المتحرك سائلا [ لماذا؟..... ] .



### ٣- التحكم بالعامل C : عن طريق اختيار سرعة سريان مناسبة، ولكن هذا العامل بخلاف العامل B يعتمد على معامل التوزيع

D و معدل الانتشار في كلي الطورين ( في البداية سيحصل الطور الثابت على كمية ..... من المادة ، بينما سيكون تركيز المادة في الطور المتحرك ..... ، ومع مرور الزمن سنجد أن العكس يحدث، إذ ستقل نسبة المادة في الطور ..... وستزيد في الطور ..... \* مما يجعل اتزان التوزيع تحيد عن المفروض ، فهي ستكون ..... من k عند مقدمة النطاق و ..... منه عند مؤخرة النطاق [ لماذا؟..... ] ؛ والعلاقة بين C و U ..... [ عند السرعات العالية لا يحدث اتزان، لماذا؟..... ] .



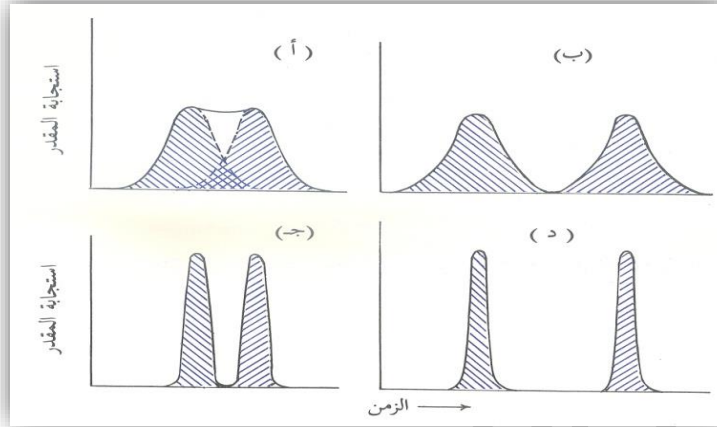
يمكن اعتبار العوامل A , B و C ثابتة للعمود الواحد ، ويمكن إيجادها عن طريق إجراء تجربة الفصل لمادة معينة عدد من المرات (٧-٣ مرات) عند سرعات سريان مختلفة ، ومنها نوجد قيم H لكل سرعة سريان ، ثم نعوض في المعادلة الأخيرة لنوجد قيم A , B و C .

يمكن تحسينها مبدئيا عن طريق:

١- تغيير T أو طبيعة S و/أو M (الشكل ب) .

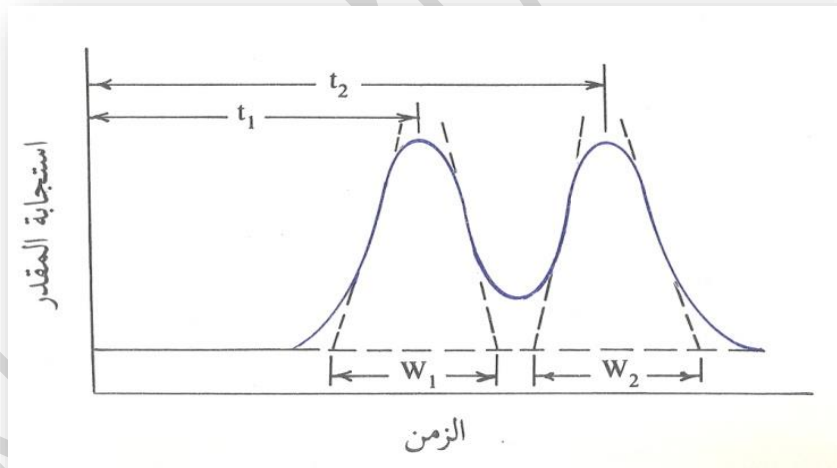
٢- تضيق W بتحسين كفاءة العمود [ كيف؟ ..... ] ( الشكل ج) .

٣- ٢+١ معاً (الشكل د) .



يُعبّر عن R بين مكونين لهما  $t_1$  و  $t_2$  وعرض سنيهما  $W_1$  و  $W_2$  بالمعادلة:

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



وعندما تكون:  $R > 1.5$  فإن الفصل .....

$1 \leq R \leq 1.5$  يحدث تداخل بين السنين (تقريبا ٢%) ، وهو تداخل .....

$R < 1$  يحدث تداخل بين السنين، أحيانا يكون مؤثرا [ متى يكون مؤثرا؟ ..... ] .

ويمكننا تحسين درجة الفصل عمليا عن طريق:

١- زيادة  $\Delta t_R$  ( $\Delta t_R = t_2 - t_1$ ) [ كيف؟ ..... أو ..... ؟

أو تحسين  $\alpha$  (عن طريق خفض T أو تغيير S و/أو M) .

٢- تقليل W [ كيف؟ ..... ] .