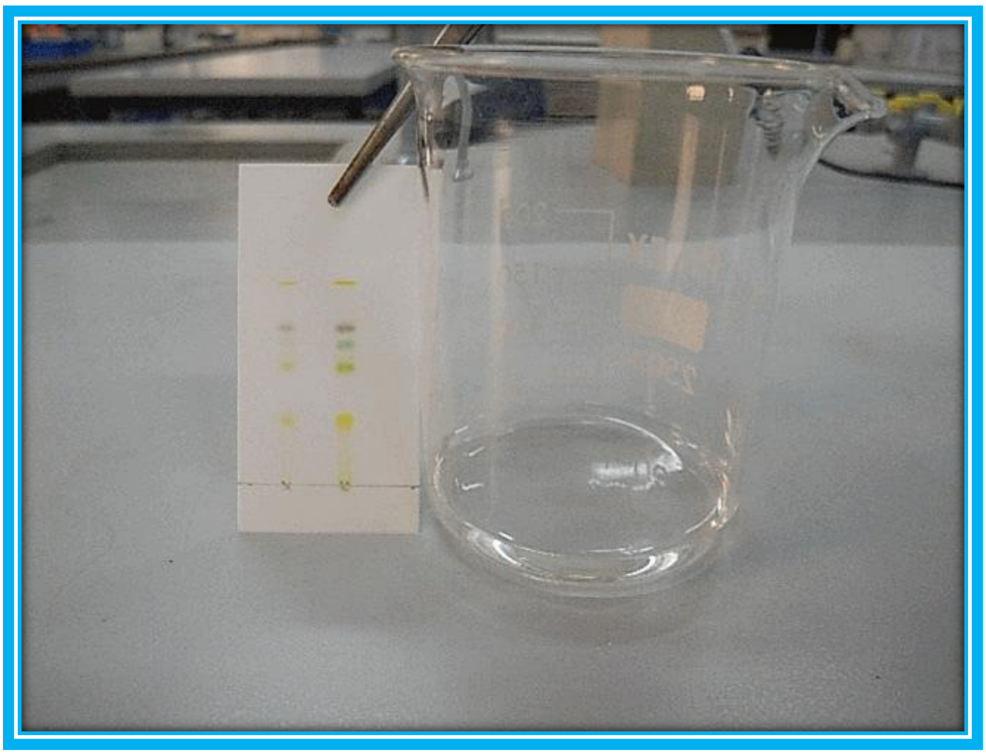
الكروماتوكرافيا الورقة

Paper chromatography



Dhia F. Al.Fekaiki

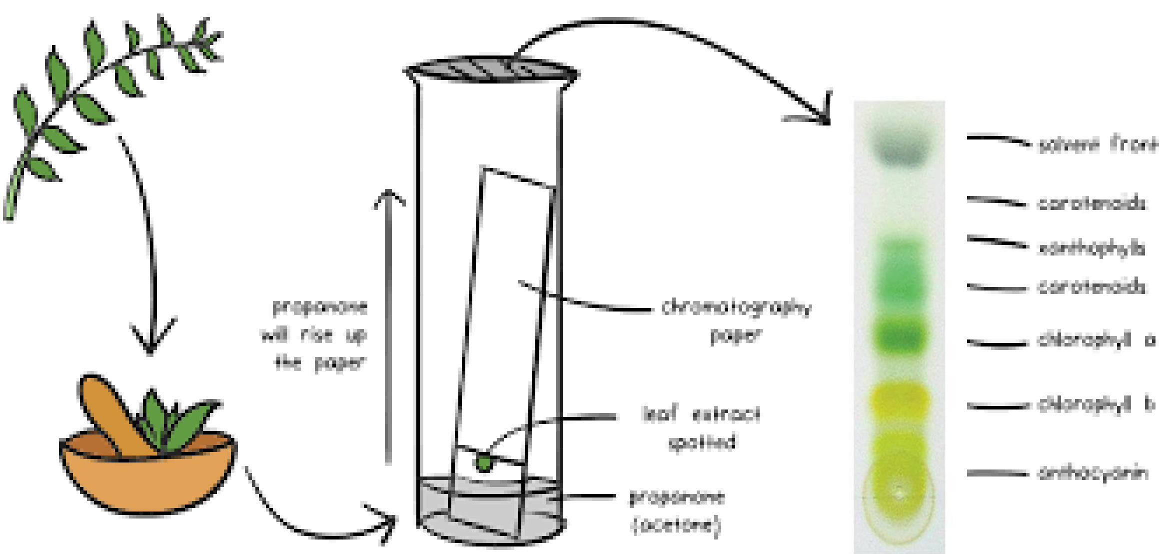
2019

تاريخ علم الكروماتوغرافيا:

كما أن لكل علمٍ أب ومُكتشف، فإن أبو الكروماتوغرافيا هو عالم النبات الروسى ميكايل تسيفت (Mikhail Tswett)الذى اخترع تقنية الكروماتغرافيا عام ١٩٠٠ من خلال أبحاثه على الكلوروفيل، وقد استخدم عموداً لامتزاز (ادمصاص) السوائل يحتوي على كربونات الكالسيوم لفصل الأصباغ النباتية (مثل الكلوروفيل والكاروتين). شُرحت هذه الطريقة للمرة الأولى في ٣٠ ديسمبر ١٩٠١، في المؤتمر الحادي عشر لعلماء الطبيعة والأطباء. وقد أُستخدم مصطلح " chromatography"لأول مرة فى عام ١٩٠٦ فى ورقتين بحثيتين من قبل العالم "ميكايل" وتم النشر فى إحدى المجلات الألمانية لعلم النبات.

وتخليداً لأعماله التي اعتمد فيها على فصل الصبغات النباتية الملونة؛ أُطلق اسم "كروماتوغرافيا" -والتى تعنى حرفياً "الكتابة الملونة"- على هذا النوع من التحليل الكيميائى الفيزيائى.

– تطوّرت تقنية الكروماتوغرافيا بشكلٍ كبير فى خلال الفترة ١٩٤٠م – ١٩٥٠م على يد العالمين (آرشر مارتين Archer Martin)و(ريتشارد لورانس Richard Laurence)، مما أهّلهما للفوز بجائزة نوبل للكيمياء عام ١٩٥٢، الأمر الذي شجع على تطوير طرق التحليل اللونى إلى وقتنا الحالى.



تعريف عام:

الكروماتوكرافي بشكل عام هي إحدى طرق الفصل في الكيمياء والتي تستخدم على نطاق واسع سواء في الأبحاث أو الصناعة لسهولة الفكرة التي تعتمد عليها وإمكانية تطبيقها في العديد من الحالات كما تتسم بعض طرق الكروماتوكرافي بالدقة العالية جدا في فصل المواد. يستخدم فيها بشكل عام وسطين حيث يسمى الأول بالوسط المتحرك والثاني بالوسط الثابت. يعمل الوسط المتحرك على تحريك المواد المراد فصلها خلال الوسط الثابت والتي يتم فصلها حسب تفاعلها مع الوسط الثابت والمتحرك.

طريقة كروماتوكرافيا الورقة هي إحدى أقدم طرق الكروماتوكرافي والتي يتم إستخدامها الآن في معامل الكيمياء وفي بعض الصناعات. وقد إعتمد علي هذه الطريقة في الفصل العديد من الناس في الماضي لتسهيل أعمالهم. فعلى سبيل المثال كان الصباغون يستخدمونها للتفريق بين الصبغات المختلفة ومعرفة جودة الصبغات فكل صبغة تتكون من مجموعة من المكونات التي يمكن أن تظهر على شكل عدة ألوان مختلفة. فإذا تم وضع قطرة من الصبغة على ورقة فإن المكونات سوف تنتقل خلال الورقة ولكن بعض المكونات تنتقل أسرع من الآخرين فتظهر الألوان المختلفة للمكونات التي تكون الصبغة وبهذا يتم معرفة جودة الصبغة.

كيفية عمل كروماتوكرافيا الورقة:

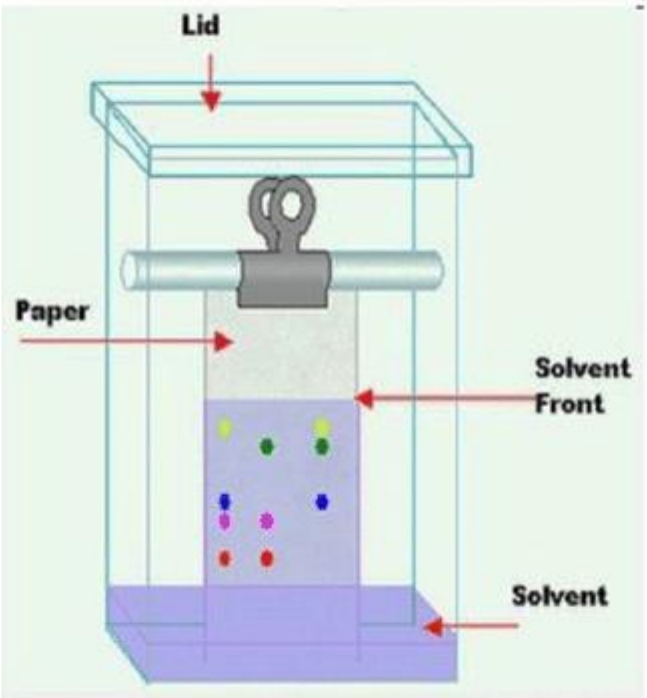
والآن يجب أن نعرف ما هو الكروماتوكرافي؟ في إحدى المقالات السابقة تطرقنا بشكل عام إلى الحديث عن الكروماتوكرافي وعن كيفية عمله بالإضافة إلى بعض من أنواعه وبعض الإستخدامات. وللتذكير فإن الكروماتوجرافي هو أحد طرق الفصل في الكيمياء ويتم إستخدام ثلاثة عناصر أساسية وهي كالآتي: الوسط الثابت والوسط المتحرك والعينة المراد فصل مكوناتها. تتكون العينة من عدة مركبات ولكل مركب خصائصه المميزة له وبفهم هذه الخصائص نستطيع أن نستغلها لنفصل ما بين هذه المكونات ويعتمد الأمر في الأساس على مدى إرتباط كل مكون من مكونات العينة مع الوسط الثابت والمتحرك. فكلما كان إرتباط إحدى المكونات مع الوسط الثابت أكبر كلما قلت سرعة حركتها مع الوسط المتحرك وتأخرت عن باقي المكونات في عملية الفصل والعكس صحيح.

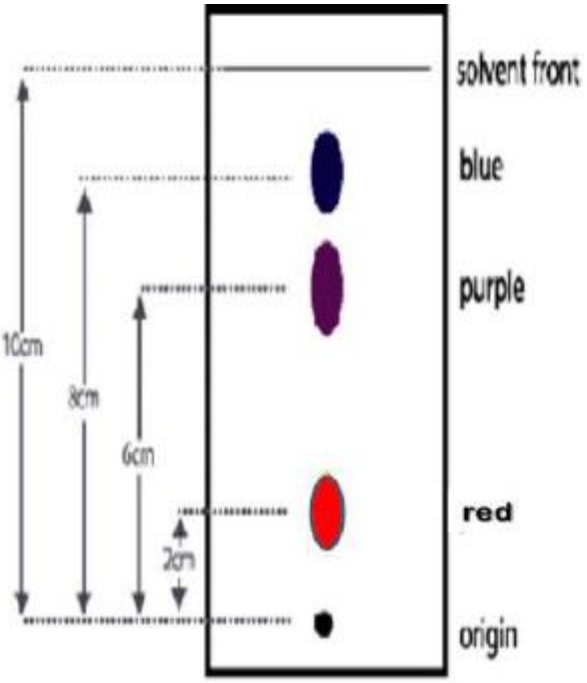
عمل كروماتوكرافيا الورقة بإستخدام نفس المفهوم حيث يكون الوسط الثابت هوالورقة المستخدمة ويكون الوسط المتحرك محلول يحتوي على مواد تكون مناسبة لعملية الفصل المراد إجراءها. كروماتوجرافيا الورقة تشبه آلية عمل الأنابيب الشعرية إلى حد ما حيث ينتقل السائل في الأنابيب الشعريه من الأسفل إلى الأعلى وعلى حسب إمكانية إلتصاقه بالجدار يمكنه أن ينتقل إلى مسافة أكبر أو أقل. في كروماتوكرافيا الورقة ينتقل المحلول من الأسفل إلى الأعلى أيضا ولكن يكون محمولا بواسطة الوسط المتحرك والذي باختلافه يختلف إرتفاع المادة في المحلول.

يجب تغطية الوعاء الذي يحتوي على المكونات حتي نتأكد من أن الجو حول الورقة متشبع ببخار المذيب ولكي لا يتم تطاير كمية كبيرة من العينة أو المذيب قبل إنتهاء العملية.

معامل الإعاقة أو التأخر:Retardation factor

ليتم التعرف على المواد المختلفة في كل مرة لا بد من وجود صفة مميزة لها يتم من خلالها التعرف على المادة. يوجد طريقة بسيطة لفعل هذا الأمر عن طريق قياس إرتفاع كل مكون من مكونات العينة. كما عرفنا من قبل فإن كل مادة في العينة تصل إلى إرتفاع معين ولا تستطيع الإرتفاع أكثر منه. إذا يمكن التعرف على وجود مادة ما إذا ظهر علامة على وجودها في الإرتفاع الخاص بها.
يتم تعيين إرتفاع المذاب وقسمته على إرتفاع المذيب وتسمى هذه النسبة بمعامل الإعاقة أو التأخر (retardation factor)وتكون هذه النسبة ثابتة لكل مادة





Technique	Stationary phase	Mobile phase	Basis of separation	Notes
*Paper chromatography	solid (cellulose)	liquid	polarity of molecules	compound spotted directly on a cellulose paper
*Thin layer chromatography (TLC)	solid (silica or alumina)	liquid	polarity of molecules	glass is coated with thin layer of silica on which is spotted the compound

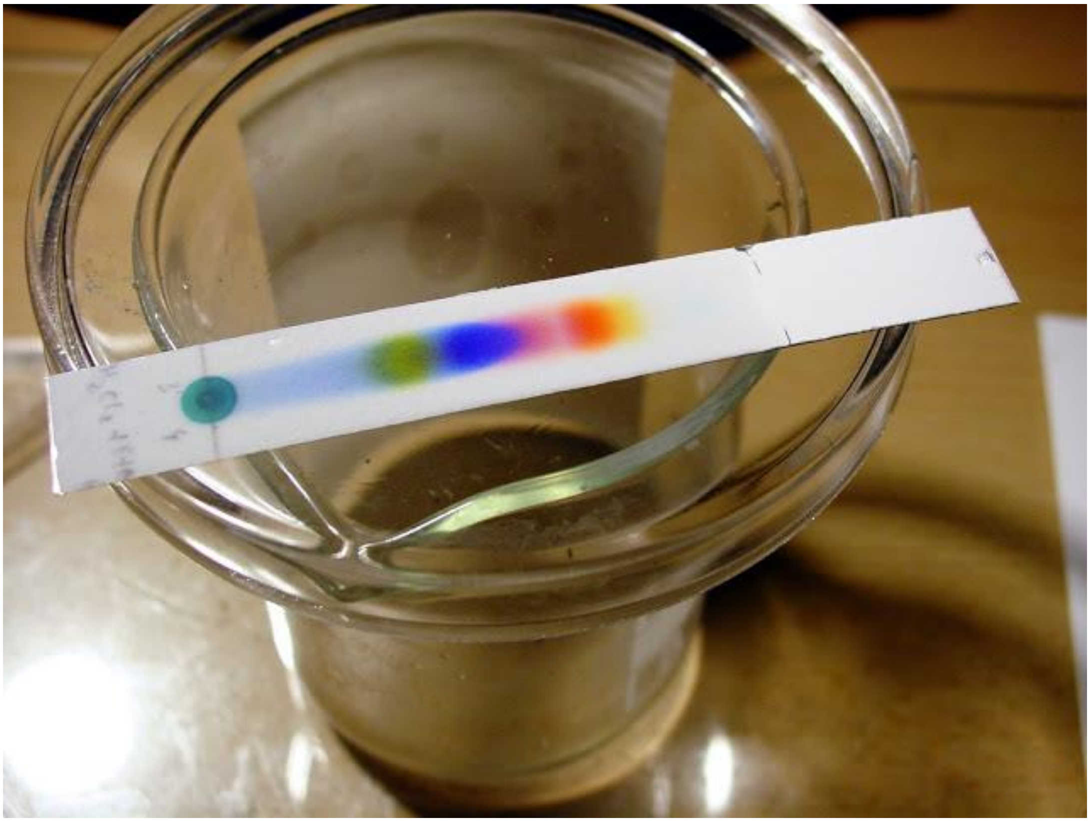
تشمل الكروماتوغرافيا أنواعاً عديدة، نذكر منها الآتي:

١- الكروماتوغرافيا الورقية Paper chromatography

يتم هذا النوع باستخدام ورقة مثل ورقة الترشيح العادية، وقد تحدثنا عنه فى بداية المقال، وهو يعد أبسط أنواع الكروماتغرافيا لتحليل المخاليط وفصل مكوناتها.

٢- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatographyأو ((TLC

أشهر أنواع التحليل الكروماتوغرافي، ويعتبر هذا النوع من الكروماتوغرافيا مشابه للنوع السابق، ولكن بدلاً من استخدام الورقة كوسط ثابت stationary phase؛ يتم استخدام طبقة رقيقة من السيليكا أو الألومينا (أكسيد الأولمنيوم) أو السليلوز على مادة خاملة ومسطحة (البلاستيك أو الزجاج كمثال)، وبذلك نحصل على عملية فصل أسرع وأدق، بحيث يظهر كل لون على حدة، ويبيّن مُكونات الخليط الأساسية بشكل أفضل.
في الشكل التالي (٢) مثالٌ على هذا النوع من التحليل، حيث يوضح **انفصال مكونات حبر أسود على ورقة** .**TLC**



كرماتوكرافيا الورقة الرقيقة:

في هذه الطريقة يتم إستخدام ورقة ذات سمك صغير ولكن هذا النقص في سمك الورقة والمواد التي تستخدم في صناعة الورقة يجعلها أكثر دقة في عملية الفصل بين المواد. بالإضافة إلى الدقة في عملية الفصل فعندما تعاد التجربة مرة أخرى يمكنا إيجاد نفس النتائج مما يجعل التعرف على المواد أسهل.

في ماذا يمكن ان يستخدم:

يوجد العديد من الاستخدامات لهذه التقنية خاصة في معامل الأبحاث وفي الصناعة حيث تستخدم لفصل مكونات أحد المحاليل أو معرفة تقدم أحد التفاعلات الكيميائية برؤية المكونات التي يتم فصلها بالورقة.

الاستخدام الأول هو فصل مادتين من بعضهما البعض وهذا هو الغرض الأساسي منها. حيث يتم قطع الجزء الذي يحتوي على أحد المواد وإعادة إذابته في محلول آخر لإجراء التجارب أو الفحوصات عليه.

الاستخدام الثاني يتم كالآتي، إذا كانت العينة المراد فصلها معروفه فمن الممكن تحديد ما إذا كانت العينة تحتوي على مادة ما أم لا. يمكن معرفة ذلك ببساطة حيث أن الوسط المتحرك معروف والوسط الثابت معروف لذا فإن معامل التأخر لكل مكون من مكونات العينة يكون معروفا أيضا. فإذا ظهرت مادة ما على الورقة لها نفس معامل التأخر فيكمن معرفة أن المادة التي أريدها موجودة ايضا في العينة. يمكن إستخدام هذا الأمر للتنبأ بإنتهاء التفاعلات الكيميائية حيث يمكنك أن تعرف بوجود المادة الناتجة من التفاعل التي تريدها حين تظهر في مكانها على ورقة الكروماتوجرافي.

ا طبقنا مثل ما يحدث فى هذه التجربة على محلول الكلوروفيل chlorophyllالآتي من عصارة إحدى أوراق الأشجار، مع اختلاف عدة أشياء بسيطة سنحصل على الشكل التالى (١)، وهذا النوع من التحليل يسمى (.paper chromatography) شكل (١). تشير الدائرة إلى نقطة البداية.

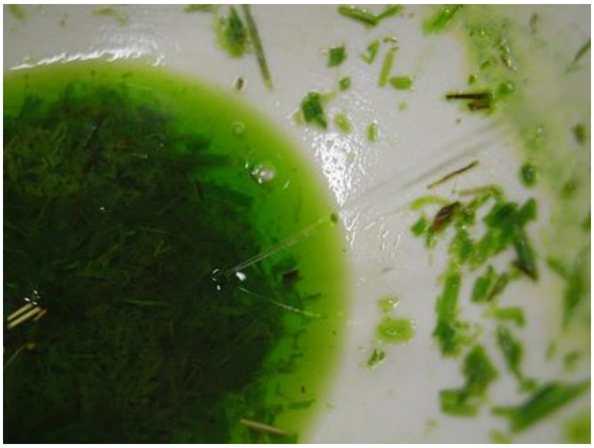
بشكلٍ عام، يشير مصطلح "الكروماتوغرافيا" إلى مجموعة واسعة من الطرق الفيزيائية المستخدمة لفصل و / أو لتحليل مخاليط معقدة من المركبات الفردية، وتعتمد هذة التقنية على الخاصية الشعرية للسوائل .capillary-action

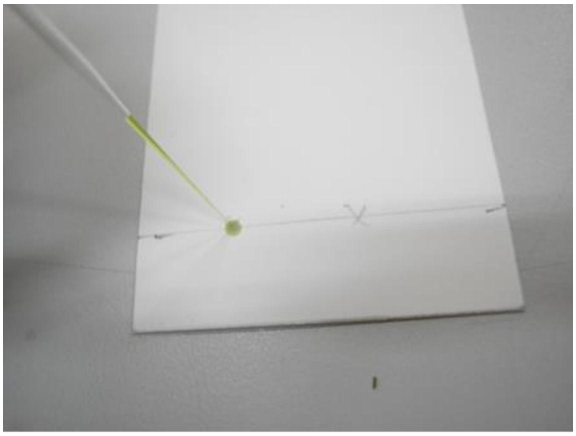
–وتعمل آلية فصل المركبات المختلطة كالتالى:
تنفصل مركبات الخليط عن بعضها نتيجة لاختلاف سرعاتها فى السريان على مادة الورقة التي تُسمى بالوسط الثابت stationary phase، ويكون الخليط المُراد فصله موضوعاً في مادة أخرى تعمل كمذيب للخليط، وتسمى الوسط المتحرك mobile phase، ونلاحظ أن عملية الفصل تحدث بسبب اختلاف درجة امتزاز (أو ادمصاص (Adsorptionتلك المركبات المكونة للخليط عن بعضها البعض (تُعبّر خاصية الامتزاز عن درجة ارتباط جزيئات المادة السائلة أو الغازية بسطح المادة الصلبة)، فكلما زادت درجة الامتزاز على سطح الوسط الثابت كلما قلت سرعة سريان المركب، وهكذا تتم عملية الفصل عن طريق اختلاف سرعات السريان لكل مكون من مكونات الخليط.

The chromatography of chlorophyll is an experiment often carried out at school. An extract from grass was made by grinding up some grass in a pestle and mortar with a 50:50 mixture of **propanone** and **petroleum ether** (60-80 Celsius b.p. range).

Pestle and mortar, grass, scissors and solvent.

Fold up for cutting





Ground up extract.

خطوات العمل:

١-ارسم بقلم رصاص خط عبر الورقة يبعد ٣ سم من أسفلها، ضع نقطتين عليه ا، ب تبعدان ٢ سم من بعضها.

٢-باستخدام قطارة نظيفة ضع على النقطة (ا) قطرة من محلول الأحماض الأمينية كافية لتكوين حلقة قطرها ٠.٥ سم ، ضع على النقطة ب قطرة من محلول الجليسين كافية لتكوين حلقة قطرها ٠.٥ سم اترك الورقة لتجف في الهواء.

٣-ضع ٣٥ مل من المذيب في المخبار المدرج وعلق شريحة ورق الترشيح إلى الذراع الأفقي للساق الزجاجية (ج)، عدل وضع الورقة بحيث يكون أسفلها بعيدا عن سطح المذيب بمقدار ١سم غطي المخبار بسدادة وضعه في مكان بعيد عن التيارات الهوائية لمدة ٥-٨ ساعات.

٤- انزل شريحة الورقة التي أصبحت مشبعة ببخار جزئيات المذيب بحيث ينغمر طرفها السفلي بحوالي ١سم في المذيب، ثم أعد سد المخبار بسدادة ثم اتركها لمدة ٨-١٢ساعات ،هذه الفترة الزمنية كافية لأن يرتفع المذيب إلى حوالي ١٠سم.

٥- خذ شريحة ورقة الترشيح وعلم ارتفاع جهة المذيب على الورقة باستخدام قلم الرصاص. جفف الورقة بتيار من الهواء البارد ثم رذ ذ الورقة بمحلول النينهدرين وذلك داخل غرفة الغازات اترك الشريحة الورقية تجف.

٦-ترى بوضوح مواقع الأحماض الامينية الثلاثة على هيئة بقع ملونة حيث يدل اللون الأصفر على البرولين أما بقع الجليسن والفينيل اللانين فهي زرقاء، قس ارتفاع كل بقعة اعتباراً من الخط المرسوم أسفل الورقة إلى منتصف الدائرة للبقعة لكل حمض.
٧- استخدم محلول الضبط من الجليسين في هذه التجربة للتفريق بين البقعة الزرقاء الخاصة بالجليسين والفينيل الانين . وسوف ترى أن معامل توزيع للفينيل الانين أكبر من معامل توزيع الجليسين.

الإضافات :

حدد المسافة لارتفاع الأحماض الأمينية ومسافة ارتفاع المذيب.

تجربة: فصل الأحماض الامينية باستخدام كروماتوجرافيا الورق

مقدمة

يختلف الأساس النظري لكروماتوكرافيا الورق عن الأساس النظري لكروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة و الأساس النظري لكرومتوجرافيا العمود، في اعتماد لكروماتوكرافيا الورق على اختلاف معامل التوزيع للمواد الكيميائية في خليط المذيبات المختلفة المستخدمة كطور متحرك؛ كذلك الفرق بينهما هو سهولة وسرعة الفصل، وكمية الخليط المراد فصله في كروماتوجرافيا العمود والطبقة الرقيقة. ففي كرومونوجرافيا الورق يمر مخلوط من المواد مذابا على ماز ثابت (الورق والماء الممتز عليها) مدفوعا بسائل يرتفع خلال مسامات الورق على أساس الخاصية الشعرية، تختلف المسافات التي تصلها المواد إلى أعلي باختلاف البناء الجزئي للمواد ،لذلك تستخدم تقنية الكروماتوكرافيا للتعرف على المواد بدلالة كمية بعبر عنها بالرمزRf

= المسافة التي تقطعها المادة/المسافة التي تقطعها مقدم المذيب.Rf

وهذه الطريقة تعتبر تحليلية بالدرجة الأولى لأن العينة المستخدمة يجب أن تكون قليلة.

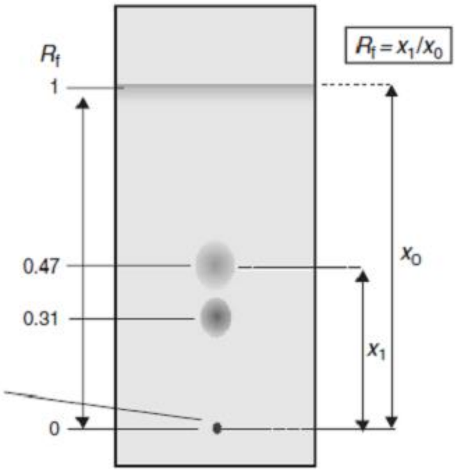
الأهداف:

١-أن يفصل الطالب خليط من الأحماض الأمينية باستخدام كروموتجرافيا الورق.

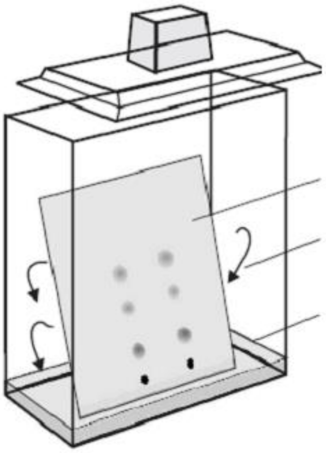
٢-أن يشرح الطالب أسس الفصل باستخدام كروموتجرافيا الورق.

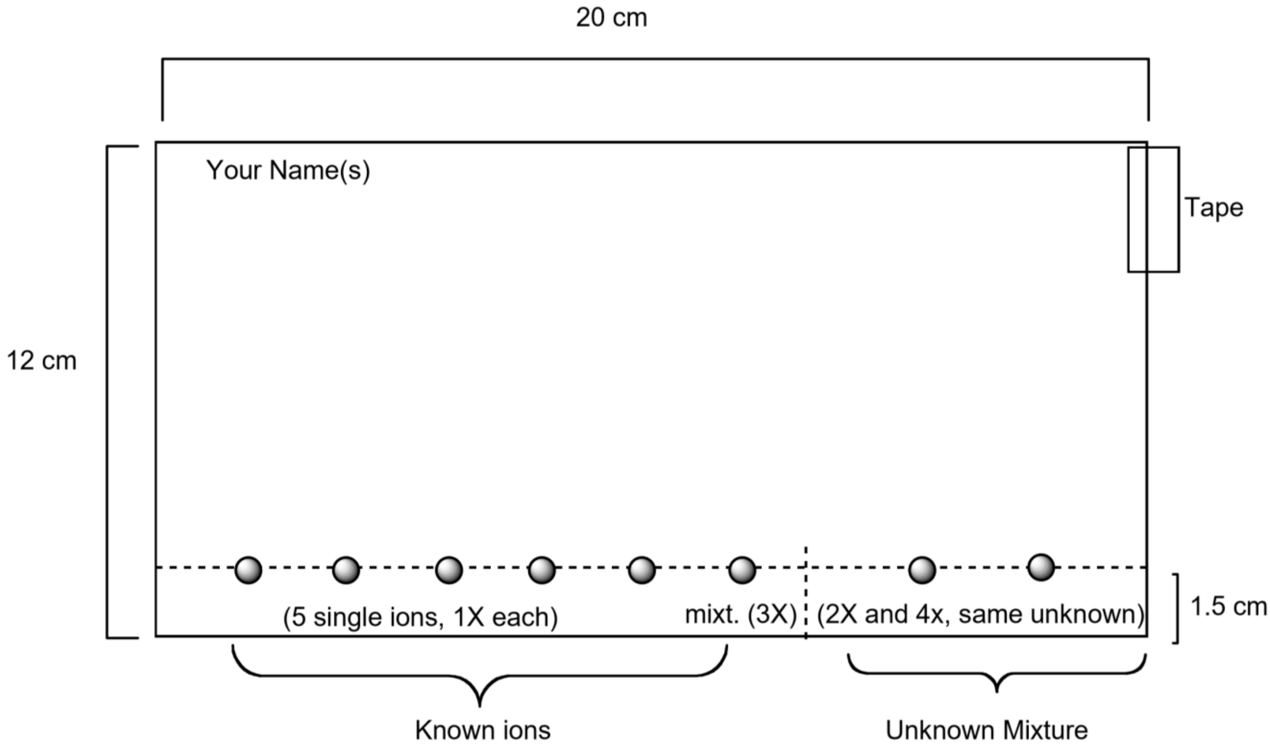
الأجهزة والأدوات المطلوبة:

ورق ترشيح– المذيب (١٩مل ماء مقطر، ٤٠ مل بيوتانول عادي،١١ مل إيثانول مطلق) –محاليل أحماض أمينية -(جليسين- البرولين- الفينيل الانين)- محلول الضبط (٠.٥ جم من الجليسين في ١٠٠ملي حامض الهيدروكلوريك ٠.١ مولار)- محلول الصبغة (٠.٢ جم من النندهيدرين، ٩٩ مل بيوتانول عادي،١ مل حامض الأسيتيك).



R_f
$R_f = x_1/x_0$
1
0.47
0.31
0
x_0
x_1





20 cm
Your Name(s)
Tape
12 cm
(5 single ions, 1X each)
mixt. (3X)
(2X and 4x, same unknown)
1.5 cm
Known ions
Unknown Mixture