بسم الله الرحمن الرحیم

1 – نام و نام خانوادگی :

2 – نام همکار :

3 – شماره گروه :

4 – عنوان آزمایش : کروماتوگرافی

6 – تاریخ انجام آزمایش : 04 / 8 /1393

7 – تاریخ تحویل گزارش : 12 / 9 /1393

1 – هدف آزمایش :

آشنایی با کروماتوگرافی و جداسازی مخلوط کاتیون ها به روش کروماتوگرافی روی کاغذ و محاسبه R_f کاتیون ها

2 -مقدمه و تئوری :

کروماتوگرافی(به انگلیسی: Chromatography) یا **سَوانِگاری**[۱] روشی است در علم شیمی برای جداسازی اجزای یک مخلوط با عبور دادن یک فاز متحرک از روی یک فاز ساکن.

در این روش معمولاً مخلوط که به صورت مایع یا گاز است از یک لوله یا شبکه گذرانده میشود؛ سرعت حرکت اجزای تشکیل دهنده مخلوط در لوله یا شبکه مختلف است (با توجه به عناصر دیواره داخلی لوله یا شبکه) در نتیجه مخلوط به اجزای تشکیل دهنده تجزیه شده و هر جز جداگانه خارج میشود. در کروماتوگرافی دو فاز وجود دارد فاز ثابت و فاز متحرک، فاز ثابت در واقع اجزای درون لوله یا شبکه جداسازی را تشکیل میدهند و فاز متحرک مربوط به ماده‌ای است که میخواهد مورد تجزیه و تلخیص قرار بگیرد. فاز ثابت میتواند مایع یا جامد باشد که بر اساس اینکه جامد یا مایع باشد به کروماتوگرافی جذب سطحی و کروماتوگرافی تقسیمی، تقسیم میشوند. اساس جداسازی در کروماتوگرافی متفاوت میباشد جداسازی براساس وزن ملکولی و جداسازی بر اساس میل اتصال به فاز ثابت از اعم این اصول میباشد. کروماتوگرافی یک اصطلاح کلی است که در آزمایشگاهها برای جداسازی ترکیبات استفاده میشود. این ترکیب در مایعی به نام فاز متحرک حل شده است و توسط ساختار دیگری به نام فاز ثابت نگه داری میشود. اجزای مختلف این ترکیب با سرعت های مختلفی حرکت میکنند و همین امر باعث جداسازی این ذرات میشود. جداسازی بر اساس تفکیک دیفرانسیلی بین فاز متحرک و ثابت انجام میشود. تفاوتهای نا محسوس در مقدار پارتیشن یک ترکیب در فاز ثابت باعث جدایی اجزا میشود. کروماتوگرافی میتواند مقدماتی و یا تحلیلی (تجزیه ای) باشد. هدف از کروماتوگرافی مقدماتی جداسازی اجزا برای استفاده های پیشرفته میباشد. این در حالی است که کروماتوگرافی تحلیلی به صورت نرمال بر روی گروه کوچکی از مواد صورت میگیرد و برای اندازه‌گیری نسبت آنالیت‌ها در مخلوط میباشد. این دو با یکدیگر متناسب بوده و هیچ تضادی با یکدیگر ندارند.

تاریخچه

پر کاربرد ترین شیوه جداسازی مواد تجزیه ای کروماتوگرافی است که در تمام شاخه‌های علوم کاربردهایی دارد.
کرماتوگرافی گروه گوناگون و مهمی از روش‌های جداسازی مواد را شامل میشود و امکان میدهد تا اجزای سازنده نزدیک به هم مخلوطها کمپلکس را جدا، منزوی و شناسایی کند بسیاری از این جداسازی ها به روش‌های دیگر نا ممکن است. اولین روش‌های کروماتوگرافی در سال ۱۹۰۳ بوسیله میکائیل سوئت ابداع و نامگذاری شد. او از این روش برای جداسازی مواد رنگی استفاده کرد. مارتین و سینج در سال ۱۹۵۲ به پاس اکتشافات شان در زمینه کروماتوگرافی جایزه نوبل دریافت کردند.

مبانی

سَوانِگاری را به دلیل اینکه در برگیرنده سامانه‌ها و فنون مختلفی است نمیتوان به طور مشخص تعریف کرد. اغلب جداسازی ها بر مبنای کروماتوگرافی بر روی مخلوطهایی از مواد بیرنگ از جمله گازها صورت میگیرد. کروماتوگرافی متکی بر حرکت نسبی دو فاز است ولی در کروماتوگرافی یکی از فاز ها بدون حرکت است و فاز ساکن نامیده میشود و دیگری را فاز متحرک مینامند. اجزای یک مخلوط به وسیله جریانی از یک فاز متحرک از داخل فاز ساکن عبور داده میشود. جداسازی ها بر اساس اختلاف در سرعت مهاجرت اجزای مختلف نمونه استوارند.

روشها

روش‌های سَوانِگاری را میتوان ابتدا بر حسب ماهیت فاز متحرک و سپس بر حسب ماهیت فاز ساکن طبقه‌بندی کرد. فاز متحرک ممکن است گاز یا مایع و فاز ساکن ممکن است جامد یا مایع باشد. بدین ترتیب فرایند کروماتوگرافی به چهار بخش اصلی تقسیم میشود. اگر فاز ساکن جامد باشد کروماتوگرافی را کروماتوگرافی جذب سطحی و اگر فاز ساکن، مایع باشد کروماتوگرافی را تقسیمی مینامند.

انواع کروماتوگرافی هر یک از چهار نوع اصلی کروماتوگرافی انواع مختلف دارد:

۱ -کروماتوگرافی مایع – جامد

کروماتوگرافی جذب سطحی

کروماتوگرافی لایه نازک

کروماتوگرافی تبادل یونی

کروماتوگرافی ژلی

۲ -کروماتوگرافی گاز – جامد

۳ -کروماتوگرافی مایع – مایع

کروماتوگرافی تقسیمی

کروماتوگرافی کاغذی

۴ -کروماتوگرافی گاز- مایع

کروماتوگرافی گاز – مایع

کروماتوگرافی ستون مویین

کروماتوگرافی لایه نازک

این نوع جداسازی برای مقادیر بسیار کم کاربرد دارد. در این کروماتوگرافی فاز ساکن جامد و فاز متحرک مایع میباشد. حلال توسط جذب سطحی روی لایه بالا میرود و اجزای مختلف نمونه برحسب نوع و استحکام پیوند در محلی از لایه متمرکز میشوند. معمولا اجسام قطبی پایین‌تر و اجسام غیر قطبی در بالای لایه قرار میگیرند. حلال مناسب باید لکه ها را به خوبی از هم جدا کند و با مواد موجود در نمونه واکنش ندهد. لکه گذاری روی لایه نازک به وسیله لوله مویین انجام میشود. طبقه جاذب یا فاز ساکن (سیلیکاژل، آلومین ...) روی شیشه یا هر جسم دیگری که خود اثری در عمل ندارد ریخته میشود.

مزیت روش‌های سَوانِگاری

با روشهای کروماتوگرافی میتوان جداسازی‌هایی را که به روش‌های دیگر خیلی مشکل میباشند انجام داد. زیرا اختلافات جزئی موجود در رفتار جزئی اجسام در جریان عبور آنها از یک سامانه کروماتوگرافی چندین برابر میشود. هر قدر این اختلاف بیشتر شود قدرت جداسازی مواد بیشتر و برای انجام جداسازی مواد نیاز کمتری به وجود اختلافات دیگر خواهد بود.

مزیت کروماتوگرافی نسبت به ستون تقطیر این است که نسبتاً آسان میتوان به آن دست یافت با وجود اینکه ممکن است چندین روز طول بکشد تا یک ستون تقطیر به حداکثر بازده خود برسد ولی یک جداسازی مواد کروماتوگرافی میتواند در عرض چند دقیقه یا چند ساعت انجام گیرد.

یکی از مزایای برجسته روش‌های کروماتوگرافی این است که آنها ملایم هستند. به این معنی که احتمال تجزیه مواد جدا شونده به وسیله این روشها در مقایسه با سایر روشها کمتر است.

مزیت دیگر روش‌های کروماتوگرافی در این است که تنها مقدار بسیار کمی از مخلوط برای تجزیه لازم است به این دلیل روش‌های تجزیه ای مربوط به جداسازی مواد کروماتوگرافی میتوانند در مقیاس میکرو و نیمه میکرو انجام گیرند.

روش‌های کروماتوگرافی ساده سریع و وسایل مورد لزوم آنها ارزان هستند. مخلوطها پیچیده را میتوان نسبتاً به آسانی به وسیله این روشها به دست آورد.

مواد نوع کروماتوگرافی مواد شیمیایی مشابه کروماتوگرافی تقسیمی مواد شیمیایی غیر مشابه کروماتوگرافی جذب سطحی گازها و اجسام فرار کروماتوگرافی گازی مواد یونی و معدنی

کروماتوگرافی تبادل یونی در ستون کروماتوگرافی کاغذی یا لایه نازک الکترفورز ناحیه ای مواد یونی و غیر یونی کروماتوگرافی تبادل یون یا ژلی مواد زیستی و ترکیباتی با جرم ملکولی نسبی بالا کروماتوگرافی ژلی الکترفورز

انتخاب بهترین روش کروماتوگرافی

انتخاب نوع روش کروماتوگرافی بجز در موارد واضح (مانند کروماتوگرافی گازی در جداسازی مواد گازها) عموماً تجربی است. زیرا هنوز هیچ راهی جهت پیش بینی بهترین روش برای جداسازی مواد اجسام مگر در چند مورد ساده وجود ندارد. در ابتدا روش‌های ساده‌تر مانند کروماتوگرافی کاغذی و لایه نازک امتحان میشوند. زیرا این روشها در صورتی که مستقیماً قادر به جداسازی مواد نباشند نوع سیستم کروماتوگرافی را که جداسازی مواد بوسیله آن باید صورت بگیرد، مشخص میکنند آنگاه در صورت لزوم از روش‌های پیچیده تر استفاده میشود. از فهرست زیر میتوان به عنوان یک راهنمای تقریبی استفاده کرد:

مواد----نوع کروماتوگرافی

- مواد شیمیایی مشابه---- کروماتوگرافی تقسیمی
- مواد شیمیایی غیر مشابه-کروماتوگرافی جذب سطحی
- گازها و اجسام فرار----کروماتوگرافی گازی
- مواد یونی و معدنی ----کروماتوگرافی کاغذی یا لایه نازک – کروماتوگرافی تبادل یونی درستون
- مواد یونی و غیر یونی ---کروماتوگرافی تبادل یون یا ژلی
- مواد زیستی ---- کروماتوگرافی ژلی الکترفورز

در جداسازی‌هایی مشکل وقتی که روش‌های ساده فاقد کارایی لازم هستند روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) میتواند جوابگو باشد

3 - روش انجام آزمایش :

الف :

I – بشر 250 و کاغذ کروماتوگرافی را تهیه کردیم.

II – بشر را ابتدا با اسید جرم گیری کردیم و با آب شهر شستیم و سپس با آب مقطر آب کشیدیم و خشک کردیم.

III –. ارتفاع کاغذ را به اندازه یک سانتی متر کمتر از ارتفاع بشر در آوردیم

IV –. درون بشر 25ml آب مقطر ریختیم

V –. به اندازه یک سانتی متر بالاتر از ارتفاع آب ، کاغذ را با مداد علامت گذاری کردیم

VI – کاغذ را از وسط به صورت عمود تا کردیم.

VII –. Cu^{2+} و Fe^{3+} را در یک طرف کاغذ و Ni^{2+} و یکی از مجهول ها را در طرف دیگر با استفاده از لوله مویین ریختیم و صبر کردیم تا خشک شوند.

VIII –. 4ml آب مقطر ، HCl 2ml غلیظ و 19ml استون در زیر هود درون بشر ریختیم

IX – کاغذ را درون بشر حاوی حلال قرار دادیم.

X – بدون اینکه بشر تکان بخورد سر بشر را با کاغذ سفید بستیم.

XI –منتظر ماندیم تا حلال از کاغذ بالا بیاید. پیش از رسیدن حلال به فاصله 1 سانتی متری انتهای کاغذ ، آن را از بشر خارج کردیم.

XII – پیش از خشک شدن حلال مکان آن ، بر روی کاغذ کروماتوگرافی را با استفاده از مداد علامت گذاشتیم.

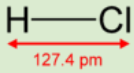
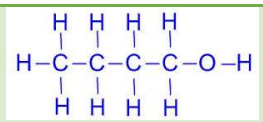
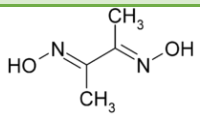
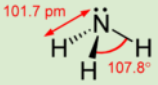
XIII – از آنجایی که لکه مربوط به یون Fe^{3+} به رنگ زنگ آهن در می آید و کاملا مشخص است در نتیجه تنها برای تشخیص یون های Ni^{2+} و Cu^{2+} به ترتیب از شناساگرهای دی متیل گلی اکسیم و آمونیاک استفاده کردیم.

XIV – فاصله ی مرکز لکه های نمایان شده از مرز را اندازه گرفتیم.

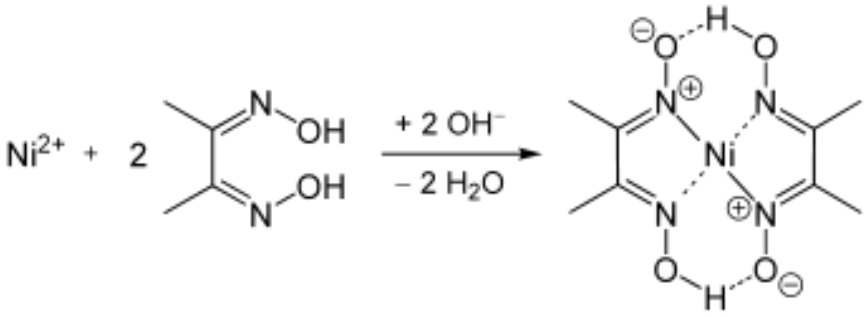
4 – فرمول ها ، واکنش‌ها و محاسبات :

I - فرمول ها:

$$R_f = \frac{r_1}{r}$$

نام فرمول	فرمول گسترده	فرمول بسته
هیدروکلریک اسید		HCl
آب	H-O-H	H_2O
استون		CH_3COCH_3
دی متیل گلی اکسیم		$C_4H_8N_2O_2$
آمونیاک		NH_3

II - واکنش‌ها:



$$Cu^{2+}_{(aq)} + 4NH_{3\,(aq)} \longrightarrow Cu(NH_3)_{4\,(aq)}$$

III – محاسبات:

الف :

$r_{solvent} = 4.6\ cm$

$r_{Fe3+} = 4.3\ cm \longrightarrow R_f = \frac{4.3\ cm}{4.6\ cm} = 0.93$

$r_{Cu2+} = 3.7\ cm \longrightarrow R_f = \frac{3.7\ cm}{4.6\ cm} = 0.80$

r_{Ni2+} = 1.8 cm $\longrightarrow$ $R_f = \frac{1.8\ cm}{4.6\ cm} = 0.39$

Unknown No.1 = $Cu^{2+} + Fe^{3+}$

5 – بحث و نتیجه گیری :

سوال 1 – کروماتوگرافی کاغذی جزو کدام دسته از کروماتوگرافی ها است و بر چه خواصی استوار است؟

سوال 2 – چرا ابتدا 25ml آب مقطر درون بشر میریزیم ؟

سوال 3 – چرا ارتفاع کاغذ باید یک سانتی متر کمتر از ارتفاع بشر باشد ؟

سوال 4 – چرا بشر را ابتدا با اسید جرم گیری کردیم ؟

سوال 5 - چرا بر روی کاغذ کروماتوگرافی مرز مشخص کردیم؟

پاسخ 1 – کروماتوگرافی کاغذی جزو کروماتوگرافی های مایع-جامد است و بر خاصیت مویینگی و جاذبه استوار است.

پاسخ 2 – زیرا بر روی کاغذ علامت بگذاریم و مواد بعد از گذاشتن کاغذ درون محلول زیر محلول قرار نگیرند.

پاسخ 3:چون زمانی که می خواهیم سر بشر را ببندیم کاغذ مزاحم نباشد.

پاسخ 4 – چون با حلال ترکیب نشود.

پاسخ 5 – تا اینکه در مرحله اندازه گیری فواصل لکه ها و حلال از آن به عنوان مبدا استفاده کنیم.

6 – خطاهای آزمایش :

I – اگر ارتفاع کاغذ کمتر از بشر نبود در هنگام بستن سر بشر کاغذ خم می شد.

II. - اگر کاغذ کثیف می شد در نتیجه اشتباه رخ می داد.

III – اگر حلال مورد نظر را زودتر تهیه می کردیم به علت وجود استون در آن حجم آن کاهش می یافت.

IV – اگر هنگام گذاشتن لکه ها بر روی کاغذ فاصله لازم را بین آنها رعایت نمی کردیم در مراحل بعدی برای تعیین نوع ماده به مشکل بر می خوردیم.

V – اگر هنگامی که کاغذ کروماتوگرافی را درون محلول قرار دادیم ظرف را بیش از حد تکان می دادیم در نتیجه آزمایش اشتباه ایجاد می شد.

7 – پاسخ سوالات :

سوال 1 : درجه حرارت چه تاثیری بر R_f دارد چرا؟

سوال 2 : آیا نوع کاغذ کروماتو گرافی بر روی R_f تاثیری دارد.چرا؟

سوال 3 : مقدار R_f به چه عواملی بستگی دارد.

سوال 4 : اگر غلظت لکه هایی که روی کاغذ می گذارید زیاد باشد چه حالتی پیش می آید؟

سوال 5 : بجز کاغذ چه ماده دیگری می تواند به عنوان فاز ساکن در کروماتو گرافی عمل کند؟

سوال 6 : کروماتوگرافی کاغذی یک روش کیفی است یا کمی؟توضیح دهید.

سوال7 : معادله ی واکنش های شناسایی یون های Cu^{2+} و Fe^{3+} را نوشته و موازنه کنید.

پاسخ 1: تغییرات دما بر میزان تبخیر حلال موجود در بشر و در نتیجه بر بالا آمدن حلال در کاغذ کروماتوگرافی تاثیر می گذارد.

پاسخ2: یکی از عوامل موثر بر R_f نوع کاغذ کروماتوگرافی است چون با توجه به جنس کاغذ میزان خاصیت مویینگی آن با هم متفاوت است که این موضوع بر فاصله طی شده توسط حلال تاثیر می گذارد.

پاسخ 3 : مقدار R_f وابسته به نوع حلال ، کاغذ کروماتوگرافی و دما است.

پاسخ 4: در صورت زیاد بودن غلظت لکه ها میزان مقاومت آن ها در برابر جابجایی توسط حلال افزایش می یابد در نتیجه فاصله طی شده توسط هر یک از لکه ها کمتر می شود.

پاسخ 5: به جز کاغذ هر نوع ماده جامد یا مایع دیگری می تواند به عنوان فاز ثابت به کار برده شود مانند پودر کلسیم کربنات

پاسخ 6 : کروماتوگرافی کاغذی یک روش کمی است چون بر مبنای اندازه گیری فواصل استوار است.

پاسخ 7 :

$$Cu^{2+}_{(aq)} + 4NH_{3\,(aq)} \longrightarrow Cu(NH_3)_{4\,(aq)}$$

8 – منابع :

http://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%A9%D8%B1%D9%88%D9%85%D8%A7%D8%AA%D9%88%DA%AF%D8%B1%D8%A7%D9%81%DB%8C

http://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A7%D8%B3%D8%AA%D9%88%D9%86

http://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A2%D9%85%D9%88%D9%86%DB%8C%D8%A7%DA%A9

جزوه دستور کار صفحه 71 - 77