الكروماتوغرافيا السائلة ذات الضغط العالي HPLC :

يستخدم في الطرائق الكروماتوغرافية العمودية السائلة التقليدية عمود ذو قطر كبير نسبياً، كما أن معدل سريان الطور المتحرك المناسب والذي يعطي كفاءة فصل جيدة تحت هذه الظروف بطيء نسبياً. لهذا تستغرق عملية الفصل زمناً طويلاً قد يصل إلى عدة ساعات كما أن جمع المكونات وتحليلها قد يستغرق ساعات إضافية ولهذا فكر الباحثون في تطوير الطرائق الكروماتوغرافية العمودية السائلة وتوصلوا إلى الطريقة التي تسمى الكروماتوغرافية السائلة ذات الضغط العالي والتي تسمى أحيانا ذات السرعة العالية أو ذات الكفاءة العالية.

تطور علم التحليل الكروماتوغرافي بشكل كبير وأصبحت هذه التقنية في الفصل والتحليل مستخدمة في مجالات عدة : الصيدلانية والبيولوجية والبيئية، وفي الصناعات الغذائية والبلاستيكية، كما تطورت صناعة أجهزة وأدوات التحليل الكروماتوغرافي السائل وأصبح لها تطبيقات عدة بعضها يتضمن تحليل الحموض النووية، وتحليل الكربوهيدرات كالسكر والنشاء.

في البداية استخدم في الجهاز مضخة لتأمين ضغط بحيث يتم تدفق الطور المتحرك للعمود واستطاعة هذا الضغط حوالي 35 بار ولذلك سميت بذات الضغط العالي وتم تطوير هذه المضخة حتى وصلت في يومنا هذا إلى 400 بار كما تم تحضير حبيبات للطور الثابت أصغر بكثير فأصبح الاسم ذات الكفاءة العالية، وأصبحت هذه التقنية من أقوى أدوات التحليل الكيميائي من حيث الفصل والمطابقة (تحديد هوية المركب) والتحليل الكمي لأية عينة محلولة في سائل، واليوم حتى آثار العينات والتي تراكيزها بحدود أجزاء من الألف (ppt) أصبح من الممكن تحديدها.

إن السبب الذي يجعل معدل السريان المناسب للطور المتحرك بطيئاً في الطرائق التقليدية هو أن معدل الانتشار في السوائل بطيئاً ويمكن زيادة هذا المعدل إما عن طريق رفع درجة الحرارة أو بشكل أفضل عن طريق تصغير المسافة التي تنتشر عبرها الجزيئات بين الطورين الثابت والمتحرك ويتم ذلك بواسطة استخدام حبيبات صغيرة جدا للطور الثابت واستخدام عمود ذو قطر صغير.

لهذا نجد أنه في الكروماتوغرافيا السائلة ذات الضغط العالي يستخدم عمود طويل (قد يصل طوله إلى متر وقطره إلى 3.1 مليمتر) من الحديد الصلب أو الزجاج المقاوم للضغط العالي، ومعبأ بحبيبات صغيرة من السليكا النفاذ أو الألومينا أو المبادل الصمغي العضوي (بالنسبة للطريقة الامتزازية) أو تكون هذه الحبيبات مغطاة بطبقة رقيقة من سائل (بالنسبة للطريقة التجزيئية).

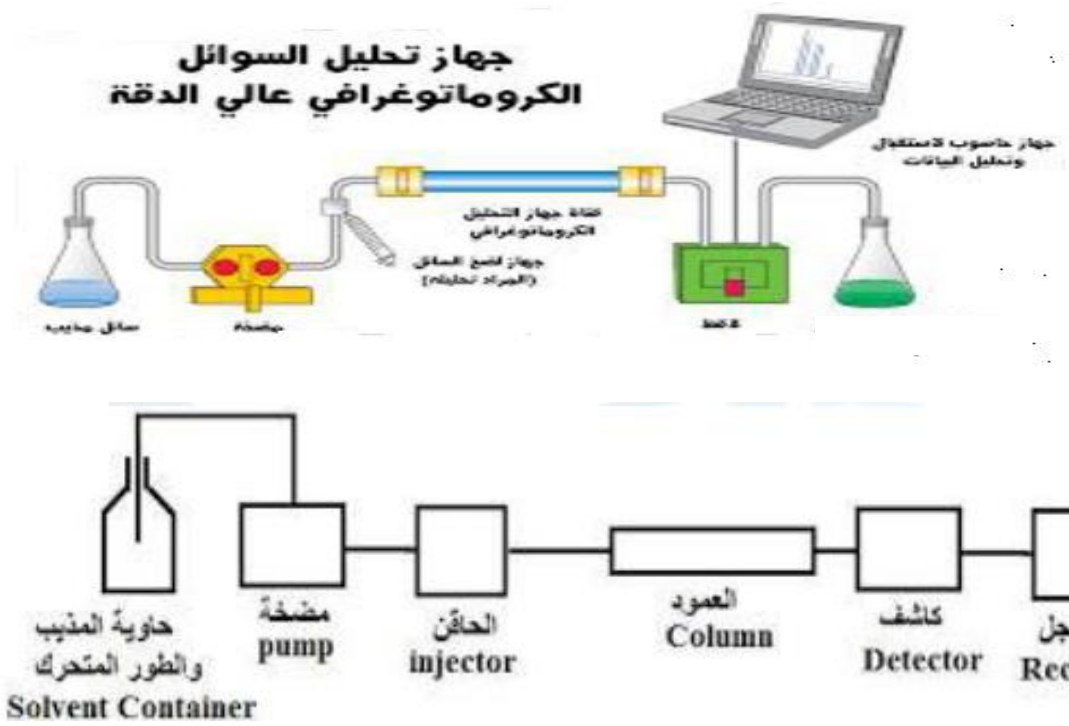
بالنسبة للتطبيقات يمكن القول بشكل عام أن المواد ذات القطبية العالية يفضل فصلها باستخدام الطريقة التجزيئية أما المواد غير القطبية فتستخدم لها الطريقة الامتزازية وبين هذين الحدين يمكن استخدام أي من الطريقتين.

آلية عمل الجهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء:

يتم أولاً ضخ الطور المتحرك داخل العمود بواسطة المضخة، ثم يتم حقن العينة والتي يكون حجمها صغير جداً (من مرتبة µ l) ولذلك تكون القمم الناتجة حادة وضيقة وبالتالي يكون الفصل جيد وسريع ، حيث تنتقل العينة (التي تكون قابلة للذوبان في السائل أو المحل) عبر العمود الذي يعتبر من أهم أجزاء جهاز الكروماتوغرافيا السائلة حيث يتم فصلها، ويأتي في نهاية العمود الكاشف الذي يظهر لنا المكونات المفصولة وبالترتيب التي تفصل به، إن الكاشف المفضل هو الكاشف الذي يملك قابلية الإحساس بوجود مكون ويرسل الإشارة الكهربائية الموافقة إلى الكومبيوتر، ويعتمد اختيار الكاشف المناسب على ميزات ومواصفات وخصائص المكونات التي نريد فصلها وتحليلها، لتظهر النتيجة على شكل كروماتوغرام والذي يرسم ما بين زمن الاحتفاظ والإشارة التحليلية.

أقسام جهاز الكروماتوغر افيا السائلة:

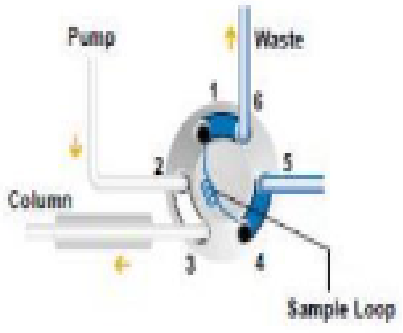
يتألف جهاز الكروماتوغرافيا السائلة من الأجزاء التالية:



1-**خزان يحوي الطور المتحرك.**

2- **منظومة امداد الطور المتحرك:** تحتوي على مضخة لتوفير الضغوط المرتفعة المطلوبة، تقوم بضخ الطور المتحرك وفق تدفق محدد.

3- **منظومة حقن العينة:** تتكون من حلقة من الفولاذ غير قابلة للصدأ ذات ست فتحات مختلفة واحدة لحقن العينة، والثانية للمضخة، والثالثة للعينة الزائدة، والرابعة موصولة بالعمود، أما الخامسة والسادسة فيجمع بينهما أنبوبة ملف العينة. كما في الشكل



كما أن هناك وضعان لا بد من فهمهما ، حيث أنه في الوضع الأول يتم تحميل العينة في ملف العينة (أنبوبة رفيعة لها حجم ثابت معروف هو حجم العينة المراد حقنها). ويظهر هذا الوضع على الحاقن باسم Load ، ويكون ضخ الوسط المتحرك في هذه الحالة من المضخة الى

العمود مباشرة دون المرور بالعينة. أما الوضع الأخر فهو وضع الحقن (Inject)، وفيه يتم ضخ العينة الى داخل العمود ليتم فصلها، وذلك عبر تغيير مسار الضخ ليتم من المضخة الى العينة ومن ثم العمود.

لا بد من تنظيف الحاقن عن طريق تفكيكه كل فترة ، اذ من الممكن تكون بعض الرواسب من العينات المختلفة، وبالتالي التأثير على النتائج.

4- **العمود الكروماتوغرافي:** تصنع عادة أعمدة ال HPLC باستخدام أنابيب فولاذية لا تصدأ أو من مادة الستانلس ستيل يتحمل الضغط العالي .القطر الدارج هو 4.6 mm، بينما طول العمود يتراوح في العادة بين 5-25 cm، ويتوقف طول العمود على حجم حبيبات التعبئة، اذ كلما قل قطر حبيبات التعبئة كلما كان طول العمود أقل، وذلك بسبب زيادة الضغط المعاكس، المصاحب لنقص حجم الحبيبات كما في الشكل التالي

ويتكون العمود من الأنبوبة الرئيسية التي تحتوي على الوسط الثابت، المثبت على حبيبات التعبئة، ويوجد على طرفي الانبوبة مصفاتين مساميتين لمنع خروج الوسط الثابت والحبيبات الحاملة له، عند ضخ الطور المتحرك.

ومن الممكن القول أن محتوى العمود(بخلاف مكونات جسمه)هو المكون الجوهري في عملية الفصل، وبالتالي لابد من دراسته وذلك من النواحي الآتية:

أولاً: حبيبات التعبئة:

وهي حبيبات مستديرة الشكل وتحتوي على حجم هائل من المسامات بحيث تصل المساحة السطحية للغرام الواحد حوالي m^2 (200-300) وعادة ما تكون من السيليكا أو الألومينا.

ثانياً: الوسط الثابت

ان الطور الثابت في طريقة ال HPLC هو دعامة صلبة محتواه في عمود معين يتدفق عبره الطور المتحرك مؤثرا على فصل المكونات كلا على حدى.

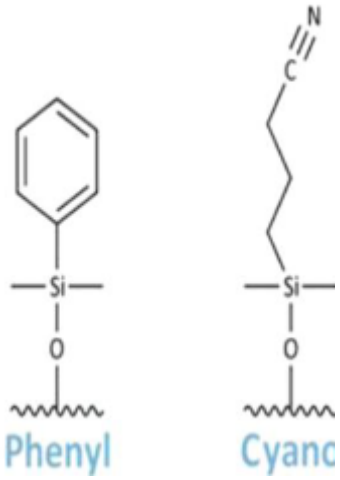
وهو عبارة عن مادة قطبية ذات خواص امتزازيه جيدة وتعتبر الألومينا وهلام السليكا من أكثر المواد استخداماً، تتميز الألومينا بأنها أكثر قطبية وبالتالي أكثر فعالية ولهذا تستخدم في فصل المركبات ذات القطبية المنخفضة. أما المركبات التي تتمتع بقطبية عالية فتكون الألومينا غير مناسبة لفصلها لأنها تمتز على سطحها ومن ثم يصعب تخليصها بواسطة المذيب لذلك يتم استخدام السيلكا لفصل هذه المركبات.

من الممكن تصنيف الوسط الثابت إلى صنفين:

1- الوسط الثابت القطبي: وفي هذه الحالة نسمي هذا النوع من عملية الفصل

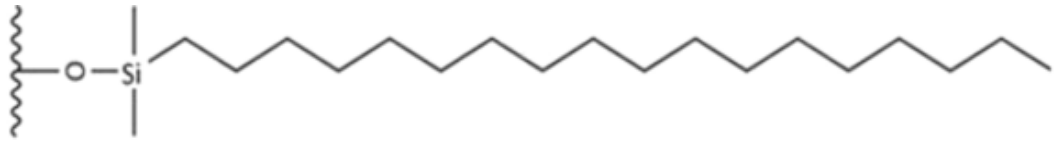
(NPLC)(normal phase liquid chromatography) يكون الطور الثابت قطبي مثل السيليكاجيل والألومينا والسيليت أما الطور المتحرك بالضرورة سائلاً غير قطبي. ومن الجدير بالذكر أن استخدام هذا النوع من الكروماتوغرافيا قليل نسبياً. ومن أمثلة الأوساط الثابتة التي تتبع هذا الصنف تلك التي تنتهي بمجموعات قطبية مثل سيليكاجيل مرتبط بـ

$-CN, -OH, -NH_2, -phenyl$

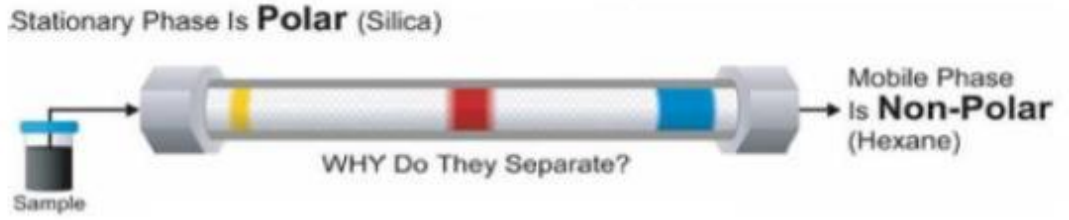


2- الوسط الثابت غير القطبي: عادة ما يكون هذا النوع عبارة عن هيدروكربون سائل ومشبع عادي(غير متفرع) أيn-alkane مثل: C_{18} يرمز له(ODS) وC_8 يسمى(octyl) أوC_3 مع أن أغلب الأعمدة تستخدم C_{18} كوسط ثابت.

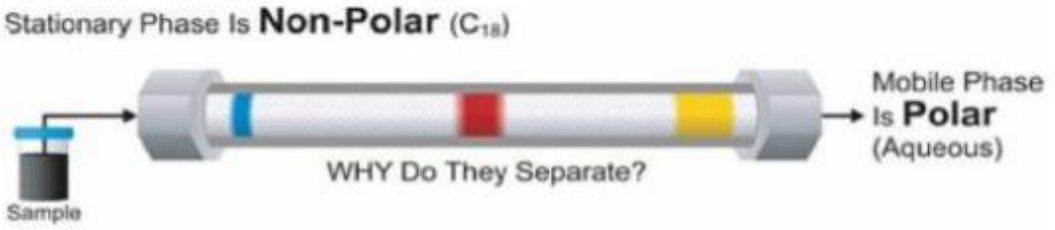
ومن الجدير بالذكر أن الوسط المتحرك في هذه الحالة يجب أن يكون قطبياً وذلك لأن الوسط الثابت والمتحرك يجب ألا يمتزجان وتسمى الكروماتوغرافيا في هذه الحالة بالكروماتوغرافيا المعكوسة وهذا النوع هو السائد في عمليات الفصل باستخدام HPLC



Alkyl

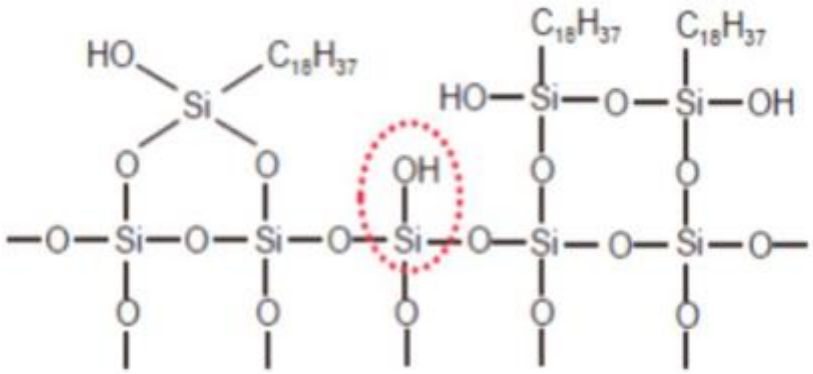


Normal-Phase Chromatography

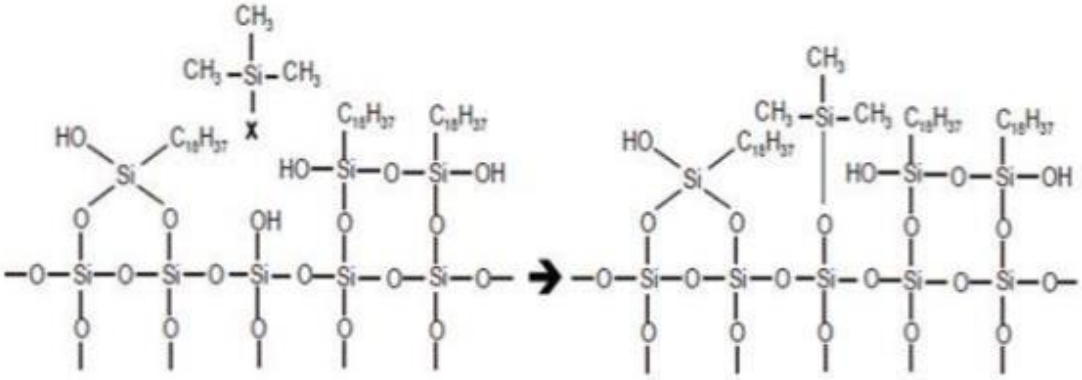


Reversed Phase Chromatography

كما تجب الإشارة إلى أن الوسط الثابت يجب أن يتصل كيميائيا بالحبيبات الحاملة له عن طريق روابط تساهمية حقيقية وذلك لمنع نزف الوسط الثابت أثناء ضخ الطور المتحرك ويطلق على الكروماتوغرافيا التي يكون فيها الوسط الثابت مرتبطاً بالحبيبات الصلبة مصطلح كروماتوغرافيا الوسط المرتبط.



ويتم التخلص من مجموعات الـ silanol المتبقية (بقدر الامكان) عن طريق تفاعلها مع الـ trimethylchlorosilane، وهي تسمى عملية التغطية:



وفي الحقيقة تزداد جودة العمود، وتتحسن كفاءته كلما تخلصنا من عدد أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة المتبقية على السطوح، لكن سعر العمود يزداد أيضاً وبشكل كبير.

كما أن طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت لها انعكاسات هامة على أداء العمود منها:

1- يزداد زمن المكوث بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت.

2- تزداد كمية العينة التي يمكن فصلها باستخدام العمود بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت.

3- تقل الكفاءة بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية للوسط الثابت.

-الخصائص التي تستخدم لاختيار تقانة الفصل:

بشكل عام هناك ثلاثة خصائص أساسية في المركبات الكيميائية تستخدم لاختيار تقانة الفصل في HPLC ، هي:

a) القطبيةPolarity

b) الشحنة الكهربائية (Ion-exchange) Electrical Charge

c) الحجم الجزيئي Molecular Size

ملاحظة : بهدف تقليل القطبية تضاف مجموعات ، مثل(CN)- Cyano propyl silyl

ثالثا- تأثير pH:

من المهم الانتباه إلى أن عملية ربط الوسط الثابت بالحبيبات الصلبة تتم عن طريق الأوكسجين وبالتالي تكون رابطة Si-O-C- وهي رابطة غير ثابتة في الأوساط الحمضية والقلوية القوية لذا يتم العمل ضمن مجال (3-9) pH كما أن الحبيبات الصلبة تبدأ بالذوبان خارج هذا المدى نظراً لتفكك روابط بولي سيلوكسان (Si-O-Si-).

اختيار نوع وتركيب الطور المتحرك:

طرائق تدفق الطور المتحرك في نظام التحليل HPLC :

1- التدفق المتساوي النسب: في هذه الطريقة يبقى الطور المتحرك نفسه نقياً أو مزيجاً بنفس النسبة من أول عملية الفصل الى آخرها وهنا نحتاج الى مضخة واحدة في الجهاز.

2- التدفق المتدرج : في هذه الطريقة يختلف تركيب ونسبة المزيج للطور المتحرك أثناء عملية الفصل بالتدريج بحسب خطة موضوعة ، وهذه الطريقة تستخدم للعينات التي تحتوي على مركبات مختلفة القطبية بحيث تزداد القوة القطبية للطور المتحرك كي يستطيع اخراج المكونات الأكثر حجزاً على الطور الثابت.

- أما الأطوار المتحركة المستخدمة في HPLC فيمكن أن تكون:

مذيبات عضوية ، مثل : الميثانول أو الأسيتونتريل أو مزيجهما معا ويمكن أن تكون محاليل موقية أو الماء أحياناً ويجب أن يعاد تنقيتها قبل الاستخدام ، ويجب أن تكون شفافة بالنسبة لأجهزة الكشف بالأشعة فوق البنفسجية أي أنها لا تمتص عند الأطوال الموجية المختلفة.

– يستخدم في بعض الحالات مذيب واحد لفصل مكونات الخليط، وأحياناً يستخدم خليط من مذيبات مختلفة لتمليص هذه المكونات من العمود.

ويبدأ التمليص عادة بمذيب غير قطبي لتخليص المركبات غير القطبية من العمود ثم تزداد درجة القطبية المذيب بالتدريج لتخليص المركبات ذات القطبية الأعلى من العمود وبصورة عامة تتحرك المركبات غير القطبية خلال العمود بشكل أسرع من المركبات القطبية ، هذا ويعتبر الوزن الجزيئي عاملا مهما جدا في تحديد عملية الفصل ، لذا فان المركبات غير القطبية ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة ستتحرك خلال العمود بصورة أبطأ من مركب غير قطبي وزنه الجزيئي صغير ومن المحتمل أن يخرج من العمود مع بعض المركبات القطبية.

بديهي أن اختيار الطور المتحرك المناسب لعملية الفصل يعتبر الخطوة الجوهرية التي تؤدي إلى النتيجة المطلوبة وفي الحقيقة لا توجد طريقة عملية معتمدة ومباشرة لمعرفة ماهية الوسط المتحرك المناسب إلا أن هناك خطوات يمكن اتباعها للوصول إلى نوع وتركيبة هذا الوسط ولنبدأ بالتعرف على كيفية حساب قطبية أي وسط متحرك يتكون من مادتين أو أكثر من القانون:

$$P'AB = ØA\ P'A + ØB\ P'B$$

حيث أنP´AB يعبر عن قطبية الوسط المتحرك الناشئ عن الخليط منA و B.

أماØA فتعبر عن النسبة المئوية للمذيب A وP´A تعبر عن قطبية المذيب النقيA.

أماØB فتعبر عن النسبة المئوية للمذيبB وP´B تعبر عن قطبية المذيب النقيB.

مثال:

إذا كان الوسط المتحرك يتكون من% 40 ميتانول (معامل قطبية للميتانول النقي5.1) مع60% من الماء(معامل قطبية للماء النقي10.2) وبالتالي معامل قطبية المزيج الناتج:

$$P'\ (mixture) = (0.40 * 5.1) + (0.60 * 10.2) = 8.16$$

يبين الجدول الآتي معامل القطبية لبعض المذيبات المعروفة:

Solvent	Polarity Index, P'	Eluent Strength, ϵ^0
Cyclohexane	0.04	−0.2
n-Hexane	0.1	0.01
Toluene	2.4	0.29
Diethyl ether	2.8	0.38
Tetrahydrofuran	4.0	0.57
Chloroform	4.1	0.40
Ethanol	4.3	0.88
Methanol	5.1	0.95
Acetonitrile	5.8	0.65
Ethylene glycol	6.9	1.11
Water	10.2	Large

- شروط إجراء عملية التحليل وفق تقنيةHPLC:

1-تحديد طول موجة الكاشف.

2-نوع وتركيب الطور المتحرك.

3- نسبة المزج.

4- درجةpH الطور المتحرك.

5- تدفق الطور المتحرك.

6- درجة الحرارة المناسبة

المكشاف: يستخدم لتحسس القمم مثلاً مكشاف قرينة الانكسار و كشافات الأشعة فوق البنفسجية UV.

حاسوب لجمع البيانات.

ميزات الكروماتوغرافيا السائلة:

1- بمجال استخدام واسع لأن حوالي % 85 من المركبات المعروفة غير طيارة وغير ثابتة بصورة تكفي لفصلها بالكروماتوغرافيا الغازية.

2- بإمكانية الفصل والقياس في زمن لا يتجاوز الدقائق.

- التحليل الكيفي والكمي في الكروماتوغر افيا السائلة: HPLC

a) التحليل الكيفي:

نعتمد على تحديد زمن الاحتفاظ للمادة المدروسة وهو الزمن المسجل من لحظة حقن العينة أي ملامستها للطور الثابت إلى لحظة ظهور القمة الكروماتوغرافية وخروج العينة من العمود أو حجوم الاحتفاظ للعينة المجهولة مقارنة مع العينات القياسية معلومة التركيز عند نفس شروط التجربة من طور ثابت وطور متحرك وسرعة تدفق ودرجة حرارة..... .

مثال:

لدينا عينة دوائية للتأكد من وجود مادة معينة فيها نقوم أولاً بحقن المادة العيارية (المحلول النقي القياسي من المادة المجهولة) في الجهاز فتظهر قمة كروماتوغرافية بزمن احتفاظ محدد ثم بعد ذلك نقوم بحقن العينة ونحصل على الكروماتوغرام الموافق لها وهنا لدينا عدة احتمالات:

1- يمكن ألا تظهر لدينا قمة أبداً على المخطط وبالتالي العينة الدوائية خالية من المادة المدروسة.

2- يمكن أن تظهر لدينا قمة لها زمن احتفاظ مختلف عن زمن احتفاظ المادة العيارية وبالتالي العينة الدوائية خالية من المادة المدروسة.

3-يمكن أن تظهر قمة لها نفس زمن الاحتفاظ للمادة العيارية فهذا يؤكد بنسبة 99% أن العينة تحوي المادة المدروسة.

b) التحليل الكمي: يحقن حجم محدد من محلول عياري standard solution ذي تركيز محدد عدة مرات (معظم الطرائق المتعلقة بدستور الوصفات الدوائية تتطلب عادة خمس إلى ست حقن)

طرائق التحليل الكمي:

1- طريقة المكاملة:

في هذه الطريقة يجب أن تخرج كل المواد الموجودة في المزيج من العمودالكروماتوغرافي

ثم تحسب مساحات قمم المواد الكاملة والشرط الأساسي لتطبيق هذه الطريقة أن نكون نعرف عدد المواد الموجودة في العينة وهي الطريقة الوحيدة التي لا تحتاج إلى محلول عياري وتحدد النسبة المئوية للمادة في المزيج.

النسبة المئوية للمادة تساوي مساحة القمة مقسومة على مجموع مساحات القمم كلها مضروبة بـ100.

$$C\%=\frac{Areai}{\sum Area}\times 100$$

حيثAreai مساحة القمة للمادة.

2- طريقة المقارنة:

نحضر محلولاً عيارياً واحداً لكل حلالة معلومة التركيز C ثم نحدد الارتفاع الموافق للقمة h أو سطح القمة S. بعد معرفة قيمة الارتفاع h_x للعينة المدروسة أو السطح الموافق للقمة S_x يمكننا استنتاج التركيز المجهول من العلاقة:

$$\frac{Sx}{S}=\frac{hx}{h}=\frac{Cx}{C}$$

3- طريقة العياري الخارجي:

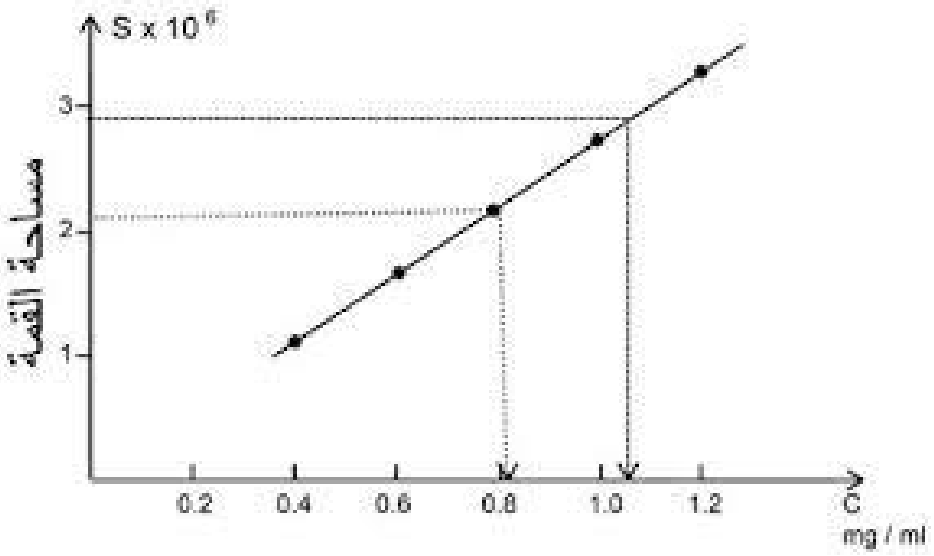
وهي الطريقة الأكثر استخداماً في المجال الصيدلاني لتحديد تركيز المواد المفصولة من العينة والشرط الأساسي لهذه الطريقة هو أن تكون العلاقة خطية طردية بين التركيز وارتفاع القمة أو مساحتها.

تحضر سلسلة عيارية للمادة المدروسة بتراكيز مختلفة(مجموعة من الستاندرات المعلومة التركيز)

لتكن تراكيز المحاليل العيارية من أجل الحلالة الأولى C_1 و C_2 و C_i ..... ثم نحقن كل محلول عياري (ستاندر) في الجهاز فينتج لدينا الكروماتوغرام الموافق ويؤخذ منه ارتفاع القمة أو مساحتها المقابل لكل تركيز.

نرسم العلاقة بين التركيز ومساحة القمة لكل ستاندر يجب أن ينتج لدينا خط مستقيم كما يلي:

ثم نحقن العينة المجهولة التركيز ونحسب مساحة القمة ثم نسقط قيمتها على الخط المستقيم وبالتالي نحصل على تركيز العينة المدروسة.(يجب اختيار قيم تراكيز المحاليل العيارية ضمن المجال الخطي)

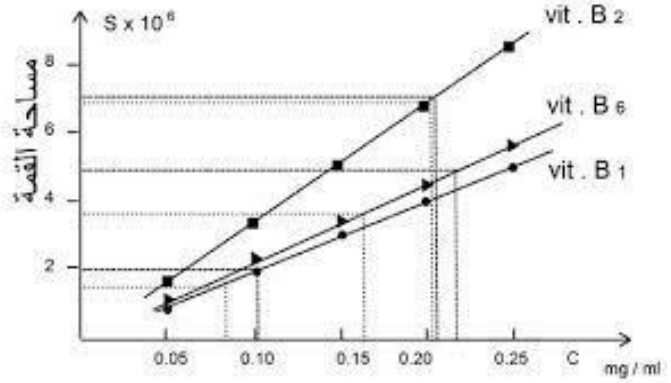


المنحني العياري

4- طريقة المنحني العياري ذو المعيار الداخلي Internal Standard Method:

يتم تحضير عدد من المحاليل العيارية بتراكيز مختلفة ومعلومة بدقة لكل حلالة ، ثم يضاف لكل محلول من هذه المحاليل وكذلك لمحلول العينة كمية محددة a من مركب جديد له زمن احتفاظ مجاور لزمن احتفاظ الحلالة يسمى بالمعيار الداخلي (أي الكمية المضافة a متساوية في جميع المحاليل العيارية والعينة)

نرسم المنحني العياري بين تراكيز المحاليل العيارية والارتفاع النسبي الموافق لقمة الارتفاع h_i للمحاليل العيارية على الارتفاع الموافق للمعيار الداخلي h_a أو السطح النسبي الموافق لقسمة السطوح الموافقة للمحاليل العيارية S_i على السطح الموافق للمعيار الداخلي S_a ، ثم نستنتج قيمة تركيز العينة المجهولة من معرفة النسبة h_x/h_a أو النسبة S_x/S والتي توافق قمة الارتفاع أو السطح الموافق للمعيار الداخلي



المنحني العياري ذو المعيار الداخلي.

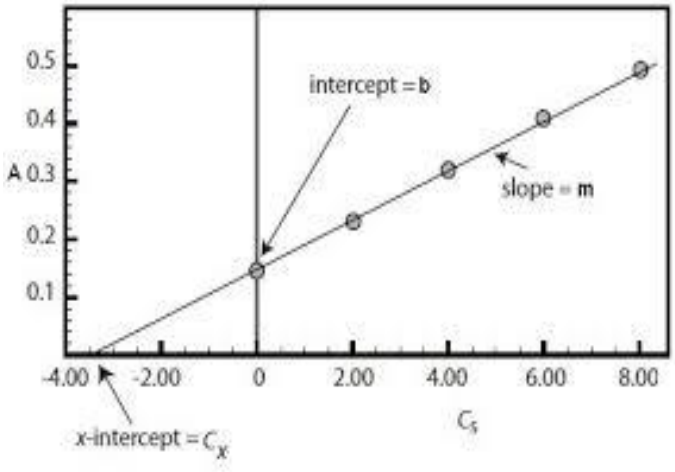
5- طريقة الإضافات القياسية standard addition method :

تستخدم هذه الطريقة في الحالات التي يصعب فيها تحضير منحني أو خط تعيير قياسي بسبب عدم معرفة تركيب محلول العينة المراد تحليلها.

يقاس في هذه الطريقة امتصاص المحلول المجهول وليكن A ، ثم يضاف الى المحلول نفسه كمية معروفة من المادة المراد تحليلها ولتكن 'C ويقاس الامتصاص مرة ثانية وليكن 'A وبناء على قانون بيير يمكن إيجاد التركيز المجهول C من العلاقة:

$$\frac{A}{A'} = \frac{C'}{C + C'}$$

كذلك يمكن إجراء إضافات على محلول العينة ويقاس الامتصاص بعد كل إضافة ثم ترسم العلاقة بين الامتصاص والكميات المضافة حيث نحصل على خط مستقيم وبتمديده يتقاطع مع محور التركيز، فنحصل على التركيز المطلوب كما يبين الشكل (68).



طريقة المنحني العياري بالإضافات القياسية

تحضير العينة Sample Preparation:

يجب أن تكون العينة سائلة حتى يتم حقنها في الجهاز، أما العينات الصلبة فتحل في محل مناسب وهو غالباً الطور المتحرك ، وتحقن عادة كمية 5 – 10 µl وتتغير كمية الحقن بالاعتماد على حساسية ومجال الكشف للحلالة (العينة.)

اذ يتم تحضير العينة في العديد من التحاليل بإذابة وزن أو حجم معلوم من العينة، وتمديد المحلول للوصول الى التركيز المناسب للتحليل. بالرغم من ذلك فقد يتطلب تحضيراً شاملاً للعينة اذا كان مطلوباً الاشتقاق قبل الوضع بالعمود يطبق من أجل زيادة الحساسية ، أو لإحداث النوعية ، أو لفصل المماكبات الضوئية ، ومن ناحية أخرى ، فانه يطبق من أجل

التقليل أو التخلص من إجراءات التنظيف المعقدة والغالية الثمن . ستعمل عادة الاستخلاص بالطور الصلب (solid phase extraction) باستخدام خرطوشات (cartridges) صلبة مناسبة من أجل تنظيف العينات الحيوية.

تطبيقات الكروماتوغرافيا السائلة:

– يمكن الاستفادة من الكروماتوغرافيا السائلة لعزل وتنقية المواد عن طريق الكروماتوغرافيا التحضيرية ، والذي يختلف تماما عن الكروماتوغرافيا التحليلية (يختص بالتحليل النوعي والكمي للمواد بعد فصلها).

– التحليل النوعي: يمكن الوصول اليه بمقارنة زمن الاستبقاء للمادة المراد تحليلها مع زمن الاستبقاء لعينات قياسية . كما يمكن الوصول الى نوعية المادة عن طريق مكتبات بحث تزود بها ذاكرة الكومبيوتر للأجهزة الحديثة.

– التحليل الكمي: قياس مستوى بعض المركبات مثل الحموض الأمينية والحموض النووية والبروتينات في عينات فيزيولوجية، وأهم هذه التطبيقات:

a) قياس مستوى العقار (الدواء) الفعال ، المنتج الثانوي (في الصناعة) أو تراجع وانحلال النواتج في كمية أو شكل الجرعة الصيدلانية.

b) قياس مستوى المواد الخطرة مثل مبيد الذباب أو الجرذان أو مبيد الحشرات.

c) يفيد في تحليل العينات البيئية (لمعرفة قوة النشاط الاشعاعي)

d) تنقية وفصل المركبات الموجودة في شكل مزائج.

e) فصل البوليمرات وتحديد الوزن الجزيئي وتوزعه لبوليمرات موجودة في مزائج مع بعضها.

f) يمكن تتبع تفاعلات الاصطناع بوساطتها.