

الفصل السابع عشر

كروماتوغرافيا الغاز

17-1 المفاهيم الأساسية في كروماتوغرافيا الغاز:

استخدمت هذه الطريقة منذ ما يزيد على أربعين عاماً في حل الكثير من المسائل التحليلية، ونتيجة للعديد من الدراسات فلقد تم وضع الظروف الملائمة لفصل معظم المكونات التي يصلح فصلها باستخدام كروماتوغرافيا الغاز. وما زال التطوير قائماً ليشمل الحصول على الظروف المثلى للتحليل بهذه التقنية العالية الكفاءة. وتستخدم نظريات الكروماتوغرافيا هنا كما هي في حال السوائل، حيث يستخدم وقت الإبقاء أو حجم الإبقاء. والأسئلة المعهودة دائماً هي هل بالإمكان استخدام كروماتوغرافيا الغاز لكل من التحليل النوعي والكمي، وهل تختلط طبقات المكونات في العمود؟ وهل استجابة المقدر تكون على هيئة علاقة خطية مستقيمة (Liner range)؟ وما أفضل طريقة لاختيار الخط القاعدي عندما يكون هناك انحراف أو حيود (Drifting)؟ وما مدى دقة قياس الحجم المحقونة للعينات والمحاليل القياسية؟ وما الظروف المثلى للحصول على أفضل عملية فصل وبأقصر وقت؟

17-2 الغاز الحامل للعينة:

يتم في هذه الطريقة تثبيت معدل سريان الطور المتحرك الذي هو عادة غاز الهيليوم. ويحقن العينة بإبرة أو حاقن خاص ستمر العينة مع الطور المتحرك إلى حجرة التسخين حيث تتحول العينة إلى بخار. وتسير العينة مع الطور المتحرك لتدخل عمود الفصل.

3-17 عمود الفصل الكروماتوغرافي:

يمكن تصنيف كروماتوغرافيا الغاز اعتماداً على نوع العمود المستخدم ثم على نوع الوسط الساكن. ففي الأعمدة المعبأة (Packed columns)، يتكون الوسط الساكن من حبيبات يعبأ بها عمود من الزجاج أو الفولاذ بقطر داخلي مقداره 2-4 مم. ويتكون الوسط الساكن من مواد صلبة مثقبة (Porous) وهذا يسمى كروماتوغرافيا غاز - صلب، حيث تتم إعاقة العينات نتيجة ادمصاصها وإرجاعها (Desorption) من خلال الوسط الساكن. ويمكن أيضاً تغليف الوسط الساكن بسوائل ذات درجات غليان عالية. ويعتمد فصل العينات على مدى ذوبان مكوناتها في الوسط الساكن وعادة ما يكون في الحالة السائلة، والمكونات التي تذوب أكثر في الوسط الساكن ستمكث مدة أطول داخل العمود؛ لأنها تمضي وقتاً أقل في تحركها مع الوسط المتحرك.

وهناك الأعمدة الشعرية (Capillary columns) التي أصبحت متميزة في كفاءتها في فصل العينات التي تحتوي على العديد من المركبات، ولهذه الأعمدة قطر داخلي قد يبلغ (530 um) وتسمى هذه (Megabore)، والتي يكون قطرها الداخلي نحو 100 ميكروميتر تسمى (Microbore) وتبلغ كفاءة الأعمدة الشعرية أضعاف الأعمدة المعبأة، حيث يكون عدد الطبقات النظرية في الأعمدة الشعرية نحو (200,000) وفي الأعمدة المعبأة لا يزيد عددها على (10,000) طبقة.

وتقسم الأعمدة الشعرية بناء على تثبيت الوسط الساكن بداخلها إلى:

1. عندما يكون الوسط الساكن على هيئة غشاء يبطن العمود من الداخل ويسمى العمود (WCOT(wall-coated open tubular)).
2. ولزيادة مساحة الوسط الساكن بتثبيت مادة معبأة على جدار العمود ويتم هذا بطريقتين:

أ. حبيبات مدعمة على جدار العمود (Support Coated Open Tubular) SCOT
هذه تغطى بالوسط الساكن.

ب. ترسيب طبقة رقيقة من مادة بوليميرية على جدار العمود وتدعى
PLOT (Porous Layer Open Tubular)

تُعدُّ كروماتوغرافيا الغاز المستخدمة للأعمدة الشعرية من أقوى أجهزة الفصل
الموجودة لفصل مكونات المخاليط المعقدة.

17-4 العينات المحللة:

إن كروماتوغرافيا الغاز هي الاختيار الأفضل لتحليل المواد العضوية التي لها
درجة غليان أقل من 250^oم. وكذلك لتحليل الغازات الثابتة، وهذه المجموعات لها
ضغط بخاري عال، لذا فهي تحمل في الوسط الغازي المتحرك. وعند فصل
المركبات ذات درجات الغليان العالية فإن بعض المركبات قد تتحلل داخل العمود
عند درجات حرارة معينة إذا ما أُريد الحصول على الكروماتوغرام في وقت معقول.
أحياناً ما يكون التفكك الحراري مطلوباً قبل عملية الفصل، وهذا ما يحدث
في الـ Pyrolysis GC، فإن العينة يتم تفكيكها عند درجات حرارة عالية، ويتم
بعدها فصل المكونات الناتجة داخل العمود. والمنحنيات الناتجة من المواد
المتفككة تكون دليلاً أكيداً على وجود بعض المكونات في العينة، لذا يستخدم
Pyrolysis GC في مقارنة عينات مثل عينات الدهون، والأجزاء الثقيلة من الزيت
الخام أو المواد البلاستيكية. وتُعدُّ هذه التقنية ضرورية في حالة عدم استجابة المقدر
لمكونات العينة الأصلية، حيث يعمل التسخين على تفكك العينة والحصول على
مكونات جديدة يستجيب لها المقدر.

كما أنه يمكن الاستفادة من زيادة درجة الحرارة لتحسين كفاءة العمود، إذ
بالإمكان أيضاً تبريد العمود ليؤثر في فصل المواد ذات درجات الغليان المنخفضة مثل

الميثان، أو الهيدروجين، وفي حالة هذه المواد يمكن تشغيل الكروماتوغرافيا بسهولة تحت ظروف تتراوح بين درجة الحرارة العادية وبين درجة تجمد الثلج الجاف (0 إلى - 80 م°).

وقد يتم عمل بعض التفاعلات على المجموعات الكيميائية التي تعطي ضغطاً بخارياً منخفضاً (درجات غليان عالية) من أجل إنتاج مركب يمكن تبخيره بسهولة مثل حامض هيكسانوك (Hexanoic Acid) ($C_5H_{11}COOH$) ودرجة غليانه (187°M). فإذا تم تحويله إلى أيستر الميثيل ($C_5H_{11}COOCH_3$) درجة غليانه (127°M)، والاشتقاق (Derivatization) يصلح أحياناً من أجل الحصول على مجموعات كيميائية يستجيب لها الكشاف بقوة، كما في حالة إضافة ($-CCl_3$) عند استعمال الكشاف الأسر للإلكترون (Electron capture detector) الذي يُعد حساساً جداً للهالوجينات. ويجب حقن كمية معينة من العينة بحيث لا يحمل العمود فوق طاقته، ومن ثمّ لن تتم عملية الفصل. وعادة ما يستخدم حاقن خاص يقوم بتقليل حجم العينة التي تدخل إلى العمود الشعري، ويسمى هذا الحاقن الموزع (Splitter)، ويمكن أيضاً استخدام (switching sample loop) بحيث تستخدم الصمامات الدائرية.

17-5-1 المادة الصلبة الداعمة:

تستخدم مادة صلبة داعمة في الأعمدة المعبأة ويجب أن تكون خاملة ولها قوة ميكانيكية بحيث لا تتكسر وتكون مساحتها واسعة، وأن يسهل ملء العمود بها بعد تغليفها بالوسط السائل. ومن المواد المستخدمة كمادة مساندة الطوب الحراري (Firebrick)، وتستخدم مواد السيليكات التي تتميز بمساحة سطحية كبيرة. وقد تستخدم حبيبات من الزجاج المعامل (Silanized Glass) أو جسيمات من التفلون.

17-5-2 الطور السائل؛

هناك سوائيل عديدة يمكن استخدامها كوسط ساكن، ويجب أن يكون الوسط الساكن قليل التبخر، ولا يتفكك بارتفاع درجة الحرارة المستخدمة، وألا تترك الحبيبات المساندة بحيث ينتزع منها، وتكون السوائيل المستخدمة إما قطبية (Polar) أو غير قطبية (nonpolar)، وهذه الأخرى تفيد في حالة فصل الأنواع غير المستقطبة مثل الهيدروكربونات. فمثلاً زيت السيلكون يصلح كوسط ساكن لفصل الهيدروكربونات، وفي حالة المركبات الأيونية القطبية (Polar) يستخدم راتنج البولي أميد (Polyamid resin)، وفي حالة فصل الكحول يستخدم (Carbowax) وعندما يراد فصل عينة غير معروفة لا بد من عمل التجارب حتى تتم معرفة الوسط الساكن المناسب لفصلها.

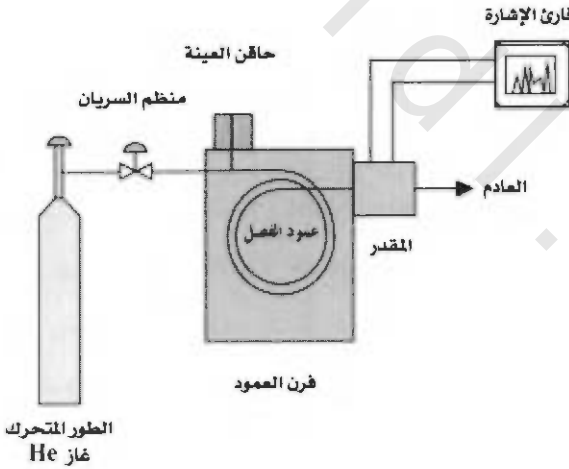
17-6 كفاءة العمود الكروماتوغرافي؛

إن نظرية الطبقة التي سبقت مناقشتها في الكروماتوغرافيا السائلة تنطبق هنا أيضاً على كروماتوغرافيا الغاز، إلا أنه تم إنشاء علاقة لها تأثير كبير في كفاءة العمود وفي طريقة كروماتوغرافيا الغاز بشكل عام. وتعرف هذه العلاقة بمعادلة فان ديمتر.

$$H = A + (B/U) + CU \quad (1-17)$$

حيث H تمثل سمك الطبقة النظرية المتكونة داخل العمود، A معامل يمثل حجم الحبيبات التي يعبأ بها العمود، B تمثل معامل الانتشار حيث تنتشر جزيئات المادة من المنطقة عالية التركيز إلى المنطقة المجاورة والأقل تركيزاً، وهذا ما يحدث عند انتقال المادة داخل عمود الفصل. أما U فهي تعبر عن معدل سريان الوسط المتحرك داخل العمود. والمعامل C يعبر عن انتقال المادة داخل العمود حال توزيعها بين كل من الوسط المتحرك والوسط الساكن، إذ إن الجزء من المادة الموجود في الوسط المتحرك وتحت تأثير تحرك هذا الوسط سيتقدم عن الجزء الموجود في الوسط

الساكن، وهذا يؤثر مباشرة في زيادة سمك الطبقة مما يقلل من كفاءة العمود. وللحصول على أعلى كفاءة للعمود يجب أن يكون سمك الطبقة H أقل ما يمكن. وللحصول على هذا المطلب تتم تعبئة العمود بحيث تكون الحبيبات المستخدمة كوسط مساند صغيرة ومتماثلة. وهذا يقلل من المسارات المختلفة الأطوال لجزيئات المادة في أثناء تحركها داخل العمود فيقل سمك الطبقة قليلاً لحد ما فلا تتداخل الطبقات، مما يزيد من كفاءة العمود، ويتم تحضير محلول قياسي من المادة المراد تحليلها، ثم يضبط معدل سريان الوسط المتحرك U عند قيمة معينة، وتحقن عينة من هذا المحلول القياسي ويرسم الكروماتوغرام. ويعين عدد الطبقات N ثم يقسم طول العمود على عدد الطبقات فتتبعين H . ويتم تغيير معدل سريان الوسط المتحرك U إلى قيمة أخرى وإعادة التجربة عدة مرات تغير فيها قيمة U كل مرة وتحسب قيمة H . ثم ترسم العلاقة بين H كمحور صادي ومعدل السريان للوسط المتحرك U كمحور سيني، يتم اختيار U التي تكون فيها قيمة H أقل ما يمكن على المنحنى، ثم تجرى التجربة باستخدام هذه القيمة فيكون العمود في هذه الحالة ذا كفاءة عالية.



شكل (1-17) جهاز كروماتوغرافيا الغاز

يظهر من مكونات جهاز كروماتوغرافيا الغاز وجود الأسطوانة التي تحتوي على غاز الهيليوم والذي غالباً ما يستخدم كوسط متحرك، إذ إن هذا الغاز يمتاز بخموله كيميائياً وأن توصيله الحراري يُعدُّ عالياً مما يجعله ملائماً حين استخدام المقدر الموصل حرارياً. وتجدر الإشارة إلى أن درجة حرارة الفرن المحيط بالعمود يمكن التحكم فيها عن طريق مبرمج الحرارة مما يساعد على عملية الفصل.

7-17 نظام حقن العينة وتوزيعها:

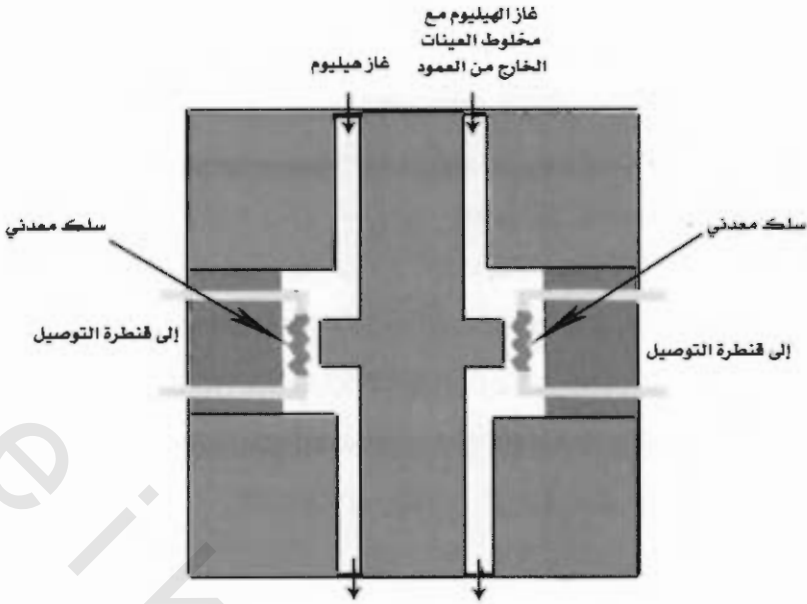
تكون العينات في طرق الكروماتوغرافيا الغازي إما غازات أو سوائل أو مواد صلبة، والعينات التي تكون في حالة الصلابة أو السيولة لا بد من تبخيرها. وإذا كانت العينات الصلبة سهلة التبخير فمن اليسير فصلها داخل العمود، وللحصول على فصل للمكونات بطريقة أفضل يجب حقن العينات في مدة زمنية قصيرة جداً، وبالنسبة للعينات السائلة يتضمن زمن الحقن الوقت اللازم لتبخير هذه العينات. ويمكن تقليل زمن الحقن وذلك عن طريق حقن العينة في منطقة درجة حرارتها أعلى من درجة حرارة عمود الفصل، وتكون درجة حرارة هذه المنطقة كافية فقط لتبخير العينة وليس لتفكيكها. وهذه المنطقة الحارة والأجزاء من الجهاز التابعة لها تسمى الحاقن، وتدعى عملية التبخير السريع للعينة بالتبخير الوميضي (السريع) ويجب الوصول بدرجة حرارة الحاقن إلى الدرجة المثلى، وذلك عن طريق إجراء التجارب، وفي العادة تثبت درجة الحرارة لمنطقة الحاقن بحيث تكون أعلى بعشر درجات مئوية من درجة حرارة المركب ذي درجة الغليان العليا. فمثلاً إذا كانت هناك ثلاثة مكونات في العينة، وكانت درجة غليان أحد المكونات الأعلى، ولنفترض أنها (85°م) فإننا نثبت درجة حرارة الحاقن عند (95°م) لضمان تبخر جميع مكونات العينة. ويتم حقن العينة إما بإبرة مدببة تتفد من خلال قرص من مطاط السيليكون، وتكون عملية الحقن يدوية أو باستخدام متحرك تلقائي (automatic) والحقن أوتوماتيكياً يكون أكثر دقة.

8-17 المقدر:

يُعدُّ المقدر مهمًا في عملية الفصل الكروماتوغرافي، فهو يقوم بالاستجابة للمواد الموجودة في العينة. كما أنه يعمل على تعيين تراكيز المواد الموجودة بالعينة وإن كانت ضئيلة. ويتم اختيار نوع المقدر بناءً على مكونات العينة المراد تحليلها. وتوجد أنواع عديدة من المقدرات ذات الكفاءة العالية والمستخدمة في كروماتوغرافيا الغاز. ومن أشهر هذه الأنواع مقدر التوصيل الحراري، ومقدر التآين اللهب، ومقدر الأسر الإلكتروني.

8-17-1 مقدر التوصيل الحراري (TCD) Thermal Conductivity Detector:

يتكون هذا المقدر من قناتين بكل واحدة منهما سلك ملفوف من سبيكة معدنية من التنجستن والرينيوم يرتبط كل سلك بطرف لقنطرة وينستون التوصيلية. وعند تمرير تيار كهربائي فإن السلكين في كل طرف سيسخنان وترتفع درجة حرارتهما. وعند مرور الوسط المتحرك عليهما مثل غاز الهيليوم فإن السلكين سيبردان بالنسبة نفسها، ومن ثم تبقى قنطرة وينستون متزنة ولا يتم إلا تسجيل إشارة الخط القاعدي. لكن عندما تمر مكونات العينة وتصل تبعاً إلى أحد الأسلاك في القناة المتصلة بالعمود فإن معدل تبريد السلك هنا سيختلف عنه في القناة الأخرى التي لا يمر فيها إلا غاز الهيليوم. وبهذا ستختلف درجة حرارة الأسلاك في كل طرف، وهذا يؤدي إلى ظهور إشارة لعدم التوازن في طرفي قنطرة وينستون، وتعتمد قيمة الإشارة المسجلة على خاصية كل مادة منفصلة من العمود وشدة توصيلها الحراري. وبهذا يظهر لكل مادة منحنى بعد زمن استبقاء معين. والشكل التالي يبين مقدر التوصيل الحراري، ويتميز هذا المقدر بأنه عام، ويستخدم في تحليل المواد العضوية والمواد غير العضوية، كما أنه لا يؤثر في العينة.



شكل (2-17) مقدر التوصيل الحراري

2-8-17 مقدر التأين اللهبى:

يستخدم هذا المقدر في تعيين عينات المواد العضوية، حيث يتم حرق مكونات العينة العضوية الخارجة من عمود الفصل بعد خلطها بغاز الهيدروجين. ومن المعروف أن المواد العضوية حين حرقها تعطي شحنات سالبة وأخرى موجبة، وباستخدام قطب جامع للإلكترونات يمكن الحصول على تيار تتناسب شدته مع تركيز المادة المفصولة في العمود، التي قد احترقت في المقدر. وبهذا يمكن تعيين تراكيز المواد العضوية بكفاءة عالية باستخدام هذا المقدر. ويُعدُّ أكثر حساسية من مقدر التوصيل الحراري إلا أنه يحرق العينة.

3-8-17 مقدر الأسر الإلكتروني:

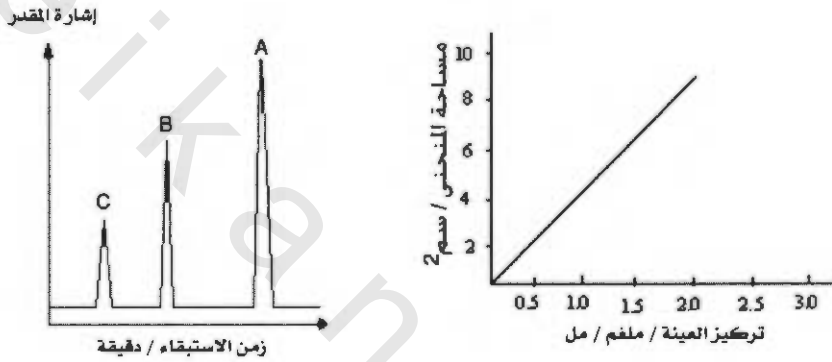
يُعدُّ هذا النوع خاصاً بتعيين المركبات التي لها خاصية أسر الإلكترونات، ويستخدم كثيراً في تعيين المبيدات الحشرية التي تحتوي على مركبات لها خاصية جذب الإلكترونات. ويتكون هذا المقدر من عنصر يطلق أشعة بيتا مثل أحد نظائر النيكل. وهذه الأشعة ستكون تياراً ذا قيمة ثابتة عند انتقالها إلى قطب آخر. وعند مرور مكونات العينة المفصولة من العمود في مسار هذه الإلكترونات المنبعثة من نظير النيكل فإنها ستأسر بعض هذه الإلكترونات، وستنقص شدة التيار الأصلي بصورة تتناسب مع تركيز المركبات الآسرة للإلكترونات، وبهذا يمكن تعيين المركبات التي تحتوي على الهاليدات ومركبات البيروكسيد والمركبات العضوية غير المشبعة.

17- 9 التحليل الكيفي:

على الرغم من أن زمن الاستبقاء لا يُعدُّ دليلاً قاطعاً على وجود مركب ما، إلا أنه يمكن استخدام هذا الزمن في تكوين فكرة عن المركب من زمن استبقائه. وعلى سبيل المثال إذا أردنا تحليل عينة من أجل الكشف عن مادة النفثالين. وبعد اختيار الظروف الملائمة تحقن العينة ومن الكروماتوغرام الناتج يعين زمن استبقاء هذه المادة. ولإجراء التحليل الكيفي للتأكد من وجود النفثالين يؤخذ الحجم نفسه من محلول هذه العينة ثم يضاف إليه حجم صغير من محلول قياسي من مادة النفثالين بحيث يكون تركيزه قليلاً. وتجرى عملية التحليل تحت الظروف نفسها. فإذا لوحظ وجود منحنى في مكان منحنى النتيجة السابقة نفسه، أي أن لهما زمن الاستبقاء نفسه، وأن طول المنحنى ومساحته قد زادت فهذا غالباً يؤكد وجود مادة النفثالين في العينة. هذا ولا بد من استخدام جهاز تحليل آخر للتيقن من وجود هذه المادة إما بأخذ الطيف لها أو بربط الجهاز بمطياف الكتلة، حيث إن هذا الأخير يُعدُّ من أهم الأجهزة في التحليل الكيفي والكمي معاً.

10-17 التحليل الكمي:

إذا كانت مكونات العينة كلها مفصولة جيداً وتظهر منحنيات على خط القاعدة تامة الفصل كما في الشكل (17-3)، فبالإمكان عمل التحليل الكمي. وكما في هذا الشكل يتم حساب المساحة تحت كل منحنى للعينات القياسية ثم ترسم المساحة مقابل التركيز للحصول على المنحنى العياري، ثم تحقن العينة وتوجد المساحة تحت المنحنى الخاص بهذه العينة، ومن المنحنى العياري يتم تعيين تركيز العينة.



شكل (17-3) تعيين مساحة منحنى الكروماتوغرام وإنشاء المنحنى العياري

وهناك طرق عدة لقياس المساحة تحت المنحنى الكروماتوغرافي، وبعض هذه الطرق يكون دقيقاً والبعض الآخر يكون بالتقريب. وعندما يكون الرسم على ورق رسم بياني فيمكن إيجاد عدد المربعات التي بين خط المنحنى وخط القاعدة أو يتم وزن هذه المساحة بعد قطعها من الورق، أو يمكن تصويرها وقطع الأجزاء من الصورة التي تمثل المنحنى ثم وزنها.

ويمكن معرفة المساحة باستخدام العلاقة التالية:

$$\text{المساحة} = \text{الارتفاع} \times \text{عرض المنحنى عند نصف أعلى ارتفاع}$$

ويمكن كذلك من معرفة مساحة المثلث، حيث المساحة = $1/2$ القاعدة \times الارتفاع. غير أن معظم الأجهزة الآن مزودة بأداة التكامل التي تحسب من المنحنى، ويقوم الجهاز بإعطاء قائمة بمساحة كل منحنى، غير أنه لا تحسب مساحة المنحنيات غير تامة الفصل.

11-17 حساب التركيز في الكروماتوغرافي:

نستطيع عمل تحليل نوعي بواسطة المخطط الكروماتوغرافي، حيث إنه باستخدام ظروف ثابتة (الوسط الساكن، نوعية الوسط المتحرك، معدل سريان الوسط المتحرك، درجة الحرارة ونوع المقدر)، فكل هذه العوامل مجتمعة يمكن استعمالها لفرض معرفة وجود مادة معينة، وذلك عن طريق حقن مادة قياسية معروفة تحت هذه الظروف والحصول على منحنى لها، ثم تحقن العينة تحت هذه الظروف فإن كان المنحنى للعينة مطابقاً للمادة القياسية فإن ذلك يرجح احتمال وجود هذه المادة.

أما بالنسبة للتحليل الكمي فإن ذلك يعتمد على استجابة المقدر، وعليه فاختيار المقدر لا يعتمد فقط على الظروف المستعملة، بل أيضاً على الخصائص الكيميائية والفيزيائية للمكونات المراد فصلها وتراكيز هذه المكونات وحجم العينة الذي يمكن استخدامه.

استجابة المقدر = س للمكون \times [تركيز المكون]

حيث س = الحساسية (ميل المنحنى القياسي)

12-17 تمارين على كروماتوغرافيا الغاز:

1. أبحث مبادئ كروماتوغرافيا الغاز.
2. ما المبادئ التي تعتمد عليها الكواشف التالية المستخدمة في كروماتوغرافيا الغاز، كاشف التوصيل الحراري والكاشف اللهبى الأيوني؟
3. كم أنواع أعمدة الفصل المستخدمة في كروماتوغرافيا الغاز؟ وما الفرق بين هذه الأنواع؟
4. لأي المواد يستخدم كاشف الأسر الإلكتروني؟ وما المبدأ الذي يقوم عليه هذا الكاشف؟
5. إذا كان هناك 2 منحنى كروماتوغرافي غازي ويراد فقط فصل هذين المنحنيين، فإذا كان زمن الاستبقاء للمنحنى الأول 85 ثانية وزمن الاستبقاء للمنحنى الثاني 100 ثانية، فإذا كان الارتفاع الكافي لارتفاع الطبقة النظرية 1.5 سم/طبقة فما هو طول العمود المطلوب إذا كان عرض المنحنى الأول مساوياً لعرض المنحنى الثاني؟
6. عينة حجمها 500 ميكروليتر تحتوي على مركبي الأنيلين $C_6H_5NH_2$ والأنيزول $C_6H_5OCH_3$ مع مواد أخرى. تم حقن هذه العينة في جهاز كروماتوغرافيا الغاز، وكان ارتفاع منحنى كل من المركبين 4.0 للأنيلين 7.0 للأنيزول. ثم أخذ الحجم نفسه من العينة، وأضيف إليها 0.25 ميكروليتر من الأنيلين النقي وحقنت في الجهاز، وكان ارتفاع منحنى الأنيلين 8.0 ومنحنى الأنيزول 7.0 فاحسب تركيز الأنيلين والأنيزول في العينة إذا كان المقدر يستجيب للمركبين بطريقة متساوية للمركبين.