

المحاضرة الثانية عشرة

الكروماتوغرافيا الغازية GC

تعد هذه التقنية وسيلة تحليلية مهمة لتحليل المواد الغذائية ، وتكتسب أهميتها في دراسة تركيب الحموض الدهنية في الدهون والزيوت.

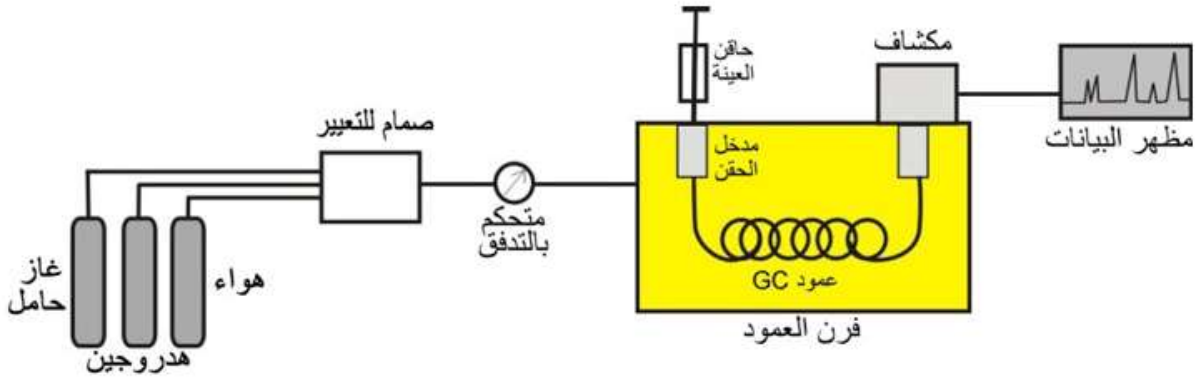
يتكون الطور الغازي (المتحرك) غالبا من غاز حامل يمكن أن يكون الهيدروجين أو الهيليوم أو الآزوت ويسمى الغاز الحامل وينساب الغاز عبر عمود في درجة حرارة معينة تتراوح بين (60-200 C) لكي يتحول إلى أبخرة ويتم فصلها.

الصفات التي يجب توفرها في المادة المراد فصلها بالكروماتوغرافيا الغازية:

1. أن تكون قابلة للتطاير في درجة حرارة العمود.
2. أن تكون المادة ثابتة حرارياً لا تتفكك في درجة حرارة العمود.

أقسام جهاز الـ GC:

يتكون جهاز الكروماتوغرافيا الغازية من الاجزاء التالي حسب الشكل (5-10)



الشكل (5-10) جهاز الكروماتوغرافيا الغازية

1. أسطوانات الغاز (الطور المتحرك Mobile phase):

دوره حمل العينة المحقونة إلى العمود، ويقود المكونات المفصولة إلى الكاشف. يتألف الطور المتحرك في الكروماتوغرافيا الغازية من عدة غازات، غازات خاملة مثل النيتروجين أو الهيليوم، وغازات مؤكسدة مثل الهواء، وغازات كوقود مثل الهيدروجين. تمزج هذه الغازات الثلاثة بالنسب المطلوبة قبل الدخول إلى الجهاز.

2. حاقن العينة Sample injector

يتم الحقن إما يدوياً أو بنظام حقن تلقائي، حيث تدخل العينة بحجم ثابت في كل مرة. يتم حقن العينات السائلة بحقنة تمنع تسرب الغازات، بينما يتم حقن العينات الغازية بواسطة صمامات حقن آلي.

3. عمود الفصل Column

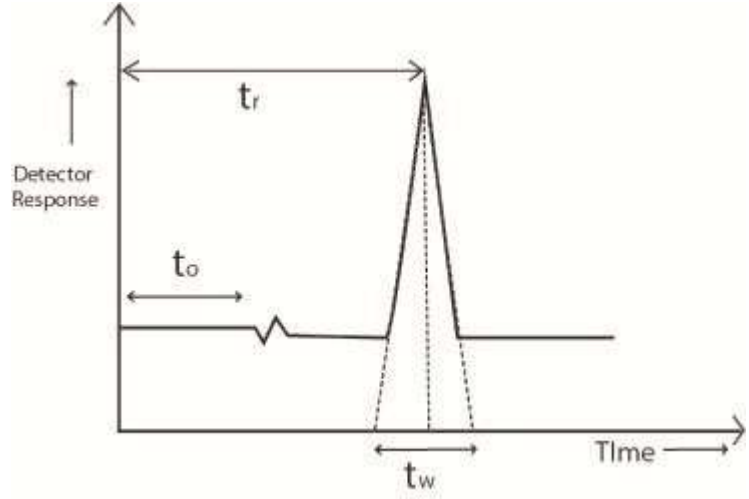
الأعمدة في الكروماتوغرافيا الغازية عادة أطول وأضيق من أعمدة الكروماتوغرافيا عالية الأداء. HPLC. تملء هذه الأعمدة أو يغلف جدارها الداخلي بالطور الثابت. واعتماداً على الامتزاز الانتقائي لمكونات العينة على الطور الثابت يتم الفصل باختلاف زمن الاحتفاظ (Retention time)

4. المكشاف Detector

أكثر المكشافات شيوعاً هو مكشاف اللهب بالتأين (FID) حيث تُحفز المركبات المفصولة عن العينة باللهب، وتعتمد استجابة المكشاف على التيار المتولد من تأين هذه المركبات. يمكن أيضاً استخدام أنواع أخرى للمكشاف مثل مكشاف التوصيل الحراري (TCD) ، ومكشاف التقاط الإلكترونات (ECD) ، ومكشاف المقياس الضوئي للهب. (FPD)

5. مظهر البيانات Data station

أجهزة الكروماتوغرافيا الغازية اليوم تستخدم أجهزة الكمبيوتر للتحكم بشروط التحليل مثل معدل التدفق وتسلسل الحقن وحجم العينة المحقونة ودورات الغسيل وضغط العمود وطول الموجة المطلوبة.. الخ. وفي نفس الوقت يقوم الكمبيوتر بحساب وعرض هذه الشروط، حيث يتم عرض وطباعة نتائج التحليل والكروماتوغرامات باستخدام برامج سهلة الاستخدام وضعت من قبل مختلف الشركات المصنعة.



يعطي هذا الشكل مثال عن الكروماتوغرام الناتج وبعض الدلالات الهامة:

- Rt أو t_r زمن الاستبقاء أو الاحتفاظ، وهو زمن بقاء المادة في العمود ويعتبر مؤشر نوعي لوجود مركب ما في العينة.
- W أو t_w عرض القمة عند القاعدة، وكلما كان العرض أضيق كان التحليل أدق.
- t_0 هو زمن الذي يسبق حقن العينة، أي أنه الزمن الذي يمر فيه الطور المتحرك عبر الجهاز بدون وجود العينة.

آلية عمل الكروماتوغرافيا الغازية:

يتضمن ال GC التجزئة في انحلالية الغازات بين غاز الطور المتحرك الخامل الداخل والطور الصلب الساكن السائل.

أهم أجزاء مكونات الكروماتوغرافيا الغازية هي: الغازات، وحجرة الحقن، والعمود، والكاشف، ونظام كسب البيانات وهو مؤلف من مقياس إلكتروني/جهاز مكاملة الغازات إن الجزء الهام الأول في الكروماتوغرافيا الغازية هو الغاز الحامل. ويكون الغاز الحامل دائماً موجود وعادتا يتكون من الهليوم والازوت، الهيدروجين، مزيج من الأرجون والميتان. تكون وظيفة الغاز الحامل حمل العينة خلال النظام. يعتمد الاختيار الأول للغاز الحامل على خصوصية التطبيق ونوع الكاشف المستخدم. ويكون الهليوم واحد من أكثر الغازات المستخدمة شيوعاً. يمكن أن تتضمن الغازات المضافة هيدروجين وهواء والتي تكون مترافقة مع كاشف معين يكون مستخدم

في الكروماتوغرافيا الغازية على سبيل المثال كاشف التشرّد بالهلب يتطلب لهب وهدرجين وهواء مساعد على الاحتراق. تكون الغازات عموماً مزودة بواسطة اسطوانة غاز مضغوط. ولكن مولدات الغاز يكون لها حرية اختيار مصدر الغاز. يجب الأخذ بعين الاعتبار نقاوة الغاز عند الحصول على اسطوانة الغاز، ويجب الأخذ بعين الاعتبار حساسية وانتقائية الكاشف لدى تحديد مستويات النقاوة الموافقة (انتقائية أعلى نقاوة أعلى). التصنيف في المنظمات، أنابيب معدنية، وصلات تكون مستخدمة كسطوح للغازات في الكروماتوغرافيا الغازية. من المفيد التذكير إن مصادير الرطوبة يمكن استخدامها لتقليل إسهام الملوثات من مصادر الغاز. يتضمن نموذج اسطوانات الغاز المضغوط ضغط بين 250 و 2500 باسكال. ولكن الضغط المألوف في العمل بالكروماتوغرافيا الغازية ضمن مجال من 20 إلى 100 باسكال.

منفذ الحقن وتقديم العينات Injection ports and sample introduction :

يكون الجزء الهام الأخر في الكروماتوغرافيا الغازية منفذ الحقن أو مدخل ال GC. إن الغاية من المدخل تقديم العينة داخل مجرى الغاز الحامل. تكون أنواع مختلفة من تقنيات تقديم العينات والمدخل متاحة. النوع الأكثر شيوعاً في التحليل هو حقن من 1 إلى 3 ميكرو لتر من العينة السائلة داخل المدخل الساخن. يمكن أن تتم عملية الحقن يدوياً أو أن تتم بواسطة أداة حقن آلية والتي تستطيع إنجاز عدد ملائم من العينات. يصمم منفذ الحقن سطح بيني مع العاود المحشوة أو الشعرية. يسمح منفذ الحقن المحشوة بإدخال حجم من العينة المحقونة والتي تكون مستخدمة داخل الحشوة أو العاود الشعري ذو السعة العالية (المعروفة شيوعاً بأعمدة ميغابور TM من أجل التحليل. في الأعوام الأخيرة أصبح يوجد تناقص في استخدام الأعمدة المحشوة وذلك بسبب الكفاءة الكروماتوغرافيا العالية للأعمدة الشعرية. صمم هذا التقسيم ليسمح فقط لجزء صغير من الحجم المحقون من العينة للدخول داخل الأنبوب الشعري والذي يملك سعة عينة محدودة. لذلك يسمح لجزء من العينة المحقونة بالدخول إلى العاود والعينة الباقية تخرج أو تقسم بنفس الطريقة. يكون مجمل تدفق الغاز الحامل داخل المدخل مقسم إلى ثلاث أجزاء والتي تمرر خلال منفذ الحقن. التدفق الصغير من 1 إلى 3 ملي/دقيقة تمرر مقطع سداة المواجهة في وضع يجرف الملوثات بعيداً للغازات المتشربة على السداة. ذلك النزف من السداة يكون خارجاً خلال مخرج تنظيف السداة. بعض من التدفق الكلي داخل المدخل يمر للأسفل خلال مركز منفذ الحقن

والتقسيم يحدث بواسطة السيل البديلة في الأسفل من المدخل. مرور التدفق الصغير أسفل داخل العامود والجسم المنتقل خلال تدفق المخرج. عندما تكون العينات محقونة بعض العينات تبقى داخل العامود من اجل التحليل والبعض الآخر يخرج بواسطة تقسيم المخرج. يكون ضبط صمام التنظيف مستخدما مباشرة مع التدفق الخارج من منفذ الحقن خلال تقسيم المخرج. تكون التكرارية الكمية هامة وذلك بالنسبة لعينات تحليل تكون معروفة. ولهذا احد الحساب لنسبة التقسيم المستخدم بالشكل التالي:

$$\text{نسبة التجزئة} = (\text{تدفق المنفذ المجزأ} + \text{تدفق العامود}) / \text{تدفق العامود}$$

نسبة التقسيم محسوبة لذلك $1/(1+50)$ أو $1:51$. مجال أحجام نسبة التقسيم النموذجي من $50:1$ إلى $400:1$ ويعتمد هذا المجال على قطر العامود المستخدم. العامود الأكثر ضيقا هو العامود الذي يملك عدد أدنى من العينات الو ساطية، ولذلك نسبة التجزئة العليا تستخدم في حالة العامود الحامل. كذلك تستطيع تجزئة منافذ الحقن العديدة أن تؤثر في نموذج عدم التجزئة. تكون العينة محتفظة داخل العامود في بعض نماذج عدم التجزئة. تكون تلك التقنية مناسبة من اجل قيم التراكيز الصغيرة من مرتبة الأثر للعينات. تكون تقنية عدم التجزئة طريقة معقدة والتي يجب فيها اخذ عدة معطيات بعين الاعتبار. أكثر تلك المعطيات شيوعا هي التي تتضمن فعالية انتقال العينة داخل العامود. باستخدام مخمد كيميائي مبطن للزجاج حيث يثبط مواقع التفاعل في فتحة الحقن. اختيار المحل المناسب لذلك والذي يكون الجزء الممتلص أولا. يكون البرنامج الحراري منجز من اجل ضبط حرارة الفرن. ومعالجة أزمنة تحول الصمام من اجل تخفيض كل من الكمية وحجم قمة المحل إلى الحد الأدنى.

وجهاً التدفقات خلال المدخل بواسطة صمام ضبط الامتلاص. مثل تلك العينات المحقونة داخل ممرات الدخول للعامود التجزئة الأخرى بين العامود وتجزئة الفرن. كما هو معروف سابقا في نموذج التجزئة في حالة اكتساب حساسية عظمى خصوصا بالنسبة للمركبات الأكثر امتلاصا والتي تكون ضرورية من اجل تحويل وضع صمام الامتلاص الخلفي لتجزئة متماثلة من 0.5 إلى 2 دقيقة خلال التحليل.

تلك الخطوات مسموحة من اجل نقل بعض المحل الزائد.تظهر الكمية الدنيا من المحل على شكل تذييل في القمة وإعاقة قمة المحل تتمثل من خلال حجب المركبات الممتلصة بجوار المحل.

الإجراءات المستخدمة من اجل وضع التدفقات المرافقة لتقنية التجزئة وعدم التجزئة

تكون معاينة ببطء بواسطة بعض المستخدمين المبتدئين وعموما تكون مطلوبة في بعض الدراسات.

تملك حجات الحقن التقليدي منضماض ضبط يدوية والتي تكون منظمة لجريان التدفقات المطلوبة المنسجمة مع صناعة المقاييس بواسطة *تدفق أداة قياس إلكتروني أو مقياس تدفق أنبوبي زجاجي.

تملك إدخال إلكتروني بشكل كامل لضبط ضغط GCS والتي لا تتطلب قياس يدوي لأي تدفق. الترحيب بالتطور من اجل العديد من المستخدمين المبتدئين.

تعرف التقنية بحقن العامود على البارد والتي تكون مخصصة لدخول العينة مباشرة داخل العامود بدون الأبخرة.

تلك الاقتراحات تكون ملائمة من اجل العينات التي تكون متغيرة حراريا أو عرضة للتفاعل مع المركبات في حجرة الحقن. تأخرت دراسة تلك التقنية كتقنية دقيقة ودقتها من اجل العينات المقدمة للأعمدة الشعرية (1) والتي ليس لديها استخدام روتيني واسع الانتشار في ولكن تملك بعض القبول في البحث العلمي ومجالات التطوير. يتم التحكم بتدفق العينات السائلة الداخلة إلى حجرة الحقن بواسطة اتوماتيكية بحجم ثابت. يشكل صمام العينات السائل الساخن سطح مع الكروماتوغرافيا الغازية. وعملية حقن العينات الغازية بالمدخل تتم بواسطة سرنغ غاز محكم أو بواسطة آلية صمام العينات الغازي في حجم ثابت. أداة تقديم العينة المساعدة تتضمن أعلى رأس المحلل، أنظمة منع التسرب والاندفاق، انحلال في حرارة عالية، ووحدات مراكز ضبط الهواء. تكون تلك الأدوات سطح مع الكروماتوغرافيا الغازية في حالة انجاز مراحل حماية قبل إدخال العينة. أعلى رأس المحلل يسمح لواحد إلى مكان الصلب، سائل لزج، أو مركبات مشابهة في آلية التطويق. ويعرض المكونات للضابط الحراري، كتحريك الأبخرة العضوية في مكان

محتويات الأبخرة في العبوة. يكون أعلى الغازات منتقل إلى حجرة الحقن بواسطة خط نقل ساخن من اجل منحنى تحليل كروماتوغرافي لاحق. تكون أدوات الامتصاص والتسرب شائعة الاستخدام في التحليل للأبخرة العضوية في العينات المائية. حيث تذر العينات المائية مع الغاز الحامل والأبخرة تكون منقولة إلى التسرب المدمص وكالمركزة. بعد أزمنة نوعية للمركبات والتي تكون مدمجة حراريا من المصيدة لتنتقل داخل المجرى والتي تكون مقدمة داخل حجرة الحقن من اجل التحليل. تستخدم وحدة الحل بحرارة عالية درجات حرارة من اجل المركبات ذات الوزن الجزيئي الكبير مثل البوليميرات المدخلة بشكل مشابه مع درجات غليان مناسبة أكثر من اجل التحليل بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية. بصمة الإصبع مثال نموذج في الشظايا التي تكون مستخدمة في تعيين البوليميرات المنتوجة. تقدم أداة تركيز كمية الهواء تراكيز اخفض مسموح بها بواسطة الادمصاص الحراري في أبخرة المركبات العضوية (VOCS) على الهواء من قيم ppb. النظام المستخدم في قبول الطرق المختلفة لوكالة حماية البيئة من اجل التحليل ال VOC. الأعمدة

إن الجزء الهام الثالث في الكروماتوغرافيا هو العامود، والذي يكون مسؤول عن عملية فصل المركبات في عينة المزيج. حيث إن أول أعمدة استخدمت في الكروماتوغرافيا هي الأعمدة المحشوة والتي ظهرت في عام 1951 م و1952 (2,3). أما أول أنبوب مفتوح أو عامود شعري ادخل في عام 1958 (4). ولان له مقدرة هامة من اجل الفصل عالي الكفاءة لذلك أصبح هذا العامود هو المفضل. طبقة النفوذ لأنبوب مفتوح (PLOT) للعامود وعامود الأنبوب المفتوح ذو الجدار المطلي التقليدي.

عندما نصف العامود فإننا نأخذ الطول بالمليمتر وسماكة طبقة الطور الساكن بالميكرومتر ونوع الطور الساكن. يكون الجدار الداخلي للأنابيب الشعرية مطلية بمادة صلبة نفوذه أو مادة سائلة لزجة. يكون العامود الشعري متكون من مصهور الكوارتز سيلكاجل المطلية من الخارج بالبولي أميد والذي يؤمن لها الحماية. إن أكثر أنصاف الأقطار الداخلية شيوعا يتراوح طولها من 0.05 وحتى 0.53م، وطول الأعمدة من 10 حتى 100م، وسماكة الطور الساكن المغطي للأنبوب من 0.05 وحتى 3 ميكرومتر. تستخدم بعض التجارب الكروماتوغرافيا الأعمدة الشعرية حيث يقوم بالفصل المطلوب. على كل حال العديد من طرق الضبط الدستورية (مثل تلك الموجهة

بواسطة ال EPA أو إدارة الأدوية والطعام) وربما في حالات خاصة تستخدم الأعمدة المحشوة. وأيضا يوجد استخدام مستمر آخر للأعمدة المحشوة من اجل تحليل الغازات الخاملة لان أجزاء العמוד PLOT البديل تكون اقل تكلفة. عند وصف العמוד فانه يعبر عن الطول بالقدم أو المتر والقطر بالانش أو المليمتر، وتركيز الطور الساكن السائل بالنسبة المئوية لأنواع الأطوار السائلة، وحجم ونوع الصلب الحامل. تتكون الأعمدة المحشوة من مادة محملة نفوذة محشوة في معدن أو أنبوب زجاجي من اجل الكروماتوغرافيا الصلبة الغازية، أو سائل لزج مغطى من الخارج بمادة صلبة محملة داخل العמוד من اجل الكروماتوغرافيا السائلة الغازية.

يوجد أنواع متعددة من الأطوار الساكنة

التي نختارها في الأعمدة المحشوة، ويكون تحديد الطور المناسب عملية مملة، لان قدرة الفصل للأعمدة الشعرية تكون أفضل. أن عملية اختيار العמוד هي عملية بسيطة من عدة أعوام مضت. نستطيع تحديد العמוד المناسب بواسطة التطبيقات المشار إليها في الكروماتوغرافيا الرئيسية المزودة بكتالوج. تلك خصوصيات كل القياسات الوثيقة الصلة بالموضوع المحتاج إليها من اجل التركيب والتحليل للحموض العضوية الحرة في الماء.

