Gas Chromatography (GC) الكروماتوغرافيا الغازية

تعريف الكروماتوغرافيا الغازية
Description of GC

-هي فصل مكونات العينة المبخرة بالاعتماد على توزعها بين طور متحرك غازي وطور ثابت صلب أو سائل.

- تصنف الكروماتوغرافيا الغازية حسب طبيعة الطور الثابت المستخدم إلى:

- الكروماتوغرافيا الغازية الصلبة gas solid chromatography (GSC): حيث يكون الطور الثابت مادة صلبة ذات طبيعة ادمصاصية.

- الكروماتوغرافيا الغازية السائلة gas liquid chromatography (GLC): حيث يكون الطور الثابت مادة سائلة محمولة على صلب خامل.

شروط الفصل الغازي conditions of gas separation

1. يجب أن يكون الطور المتحرك غازاً خاملاً
2. يجب تحويل العينة المفحوصة إلى الحالة الغازية والمحافظة على الحالة الغازية للعينة طيلة عملية الفصل.
3. يجب استخدام أطوار ثابتة غير طيارة (أي تتحمل درجات حرارة عالية)
4. يجب استخدام أعمدة تتحمل درجات حرارة عالية.
5. العمل على فصل كميات قليلة من المواد المفحوصة

أقسام مقياس الكروماتوغرافيا الغازية gas chromatographic apparatus

اسطوانة الغاز: اسطوانة معدنية مصنوعة من معدن غير قابل للصدأ تكون سميكة الجدران تملأ بغاز خامل (الهليوم أو النتروجين...الخ). تزود هذه الاسطوانة بصمام يتحكم بحجم الغاز المتدفق في واحدة الزمن.

-**حجرة الحقن:** حجرة معدنية مصنوعة من معدن غير قابل للصدأ يمكن رفع درجة حرارتها حتى 350 درجة مئوية ويجب رفع درجة حرارتها إلى درجة تفوق أعلى درجة غليان لمادة في المزيج ب 40- 50°م درجة مئوية.

-**أعمدة الفصل:** تقسم الأعمدة المستخدمة في مقياس الكروماتوغرافيا الغازية إلى نوعين:

1. الأعمدة المملوءة: وهي أعمدة مصنوعة من الزجاج أو الستانلس ستيل يتراوح طولها 1-10 م وتملك قطراً 0,2- 0,6سم تأخذ هذه الأعمدة شكل حرف U أو W أو تأخذ شكلاً حلزونياً وتملأ بالطور الثابت بعد تصنيعها ويكون العمود موجوداً في فرن يسمح بتسخين العمود لدرجات

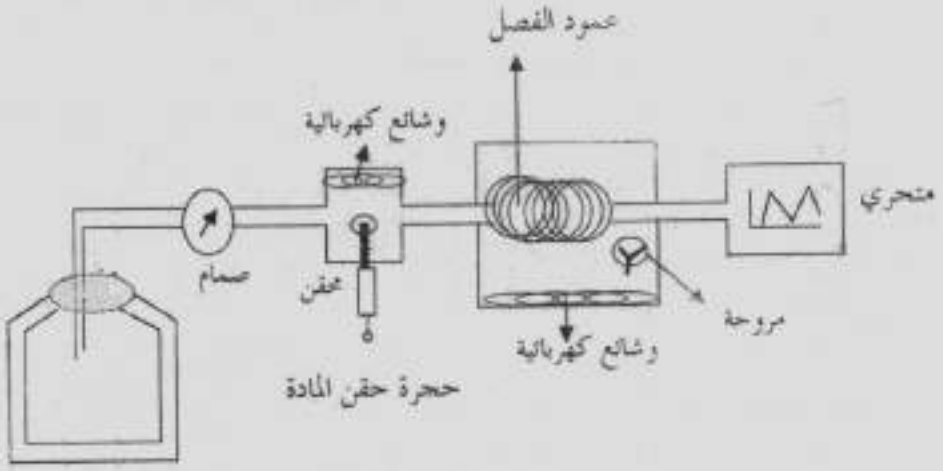
Dr. Eda Ani Ali

حرارة تصل إلى 350درجة مئوية.

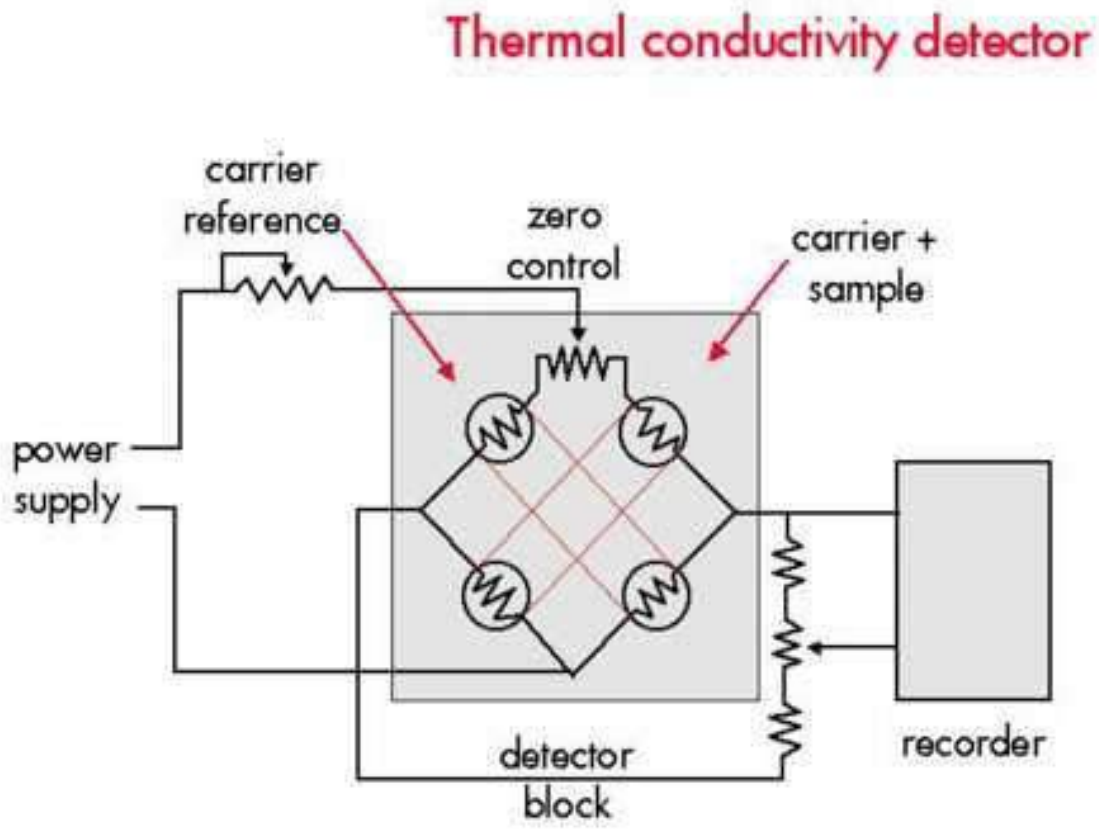
2 . الأعمدة الشعرية: هي أعمدة مصنوعة من الستانلس ستيل طولها 15-100 م وتملك قطراً من رتبة 0,1-0,5مم ويجعل جدارها الداخلي مغطى بالطور الثابت أثناء التصنيع وهي تأخذ شكلاً حلزونياً وتحقق كفاءة فصل عالية

- **المتحري:** يجب أ تتوافر في المتحري المستخدم في الكروماتوغرافيا الغازية الصفات التالي:

1) أن يمتلك حساسية عالية
2) أن تكون استجابة المتحري متناسبة مع كمية أو تركيز المادة المفصولة
3) أن يتمتع بالثباتية أي تكون له تكرارية جيدة
4) أن لايخرب المادة المارة عبره
5) زمن القياس قصير
6) يفضل أن يكون نوعياً


عمود الفصل
وشائع كهربائية
متحري
صمام
محقن
مروحة
وشائع كهربائية
حجرة حقن المادة
اسطوانة الغاز

Thermal Conductivity Detector متحري الناقلية الحرارية (TCD)



- **مبدأ متحري ال TCD :**

- عندما يمر الغاز على سلك خيطي مسخن فإن حرارة ومقاومة هذا السلك ستختلف تبعاً للناقلية الحرارية للغاز.

-في متحري الناقلية الحرارية يمر غاز الطور المتحرك لوحده carrier gas على سلك خيطي مسخن في حين يمر غاز الطور المتحرك حاملاً معه المادة المفصولة على سلك خيطي آخر مسخن.

هذان السلكان يشكلان ذراعان متعاكستان في دارة جسر واطسطن التي تقيس الفرق بين المقاومات.

- طالما لاتوجد عينة محمولة مع غاز الطور المتحرك تكون مقاومتا جسر واطسطن متماثلتين

- حالما تبدأ مكونات العينة بالخروج مع الطور المتحرك والدخول لإحدى الذراعين سيحدث خلل بين المقاوتين يكون متناسباً مع الناقلية الحراية للمادة المفصولة والتي تكون متناسبة مع تركيز المادة المفصولة ويسجل هذا التغير كقمة كروماتوغرامية

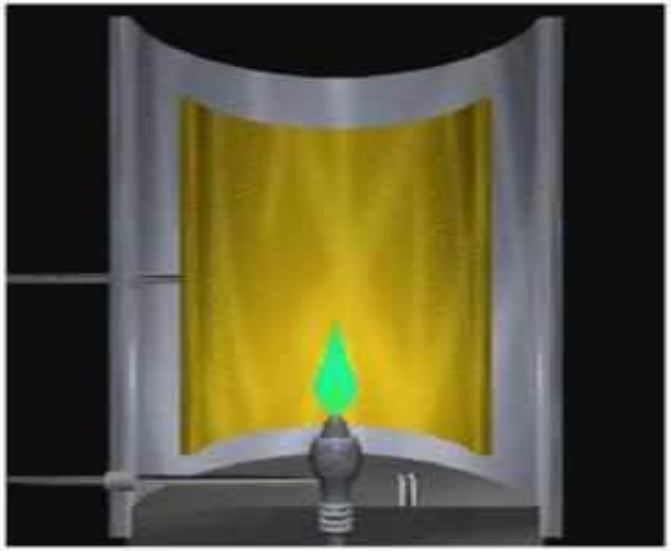
متحري تشرد اللهب Flame Ionization Detector (FID)

مبدأ المتحري:

معظم المركبات العضوية تحترق في اللهب وتشكل أيونات يتم تجميعها وقياسها بين قطبين مشحونين charged electrodes .

متحري تشرد اللهب FID

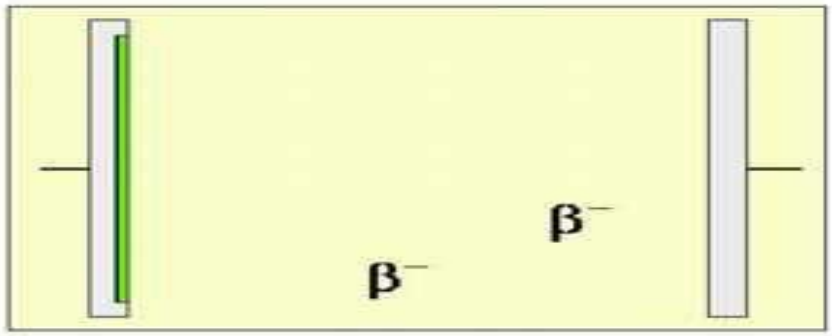
Flame ionization detector



Sample components enter at the base of the detector. They mix with hydrogen and enter the flame.

Ions are produced that can be measured.

Electron Capture Detector المتحري اللاقط للالكترون (ECD)



Electron capture

β⁻ are emitted by an ^{63}Ni source.

Electrophores will absorb β⁻, reducing the current.

This is the basis for the response

مبدأ المتحرى اللاقط للالكترون:

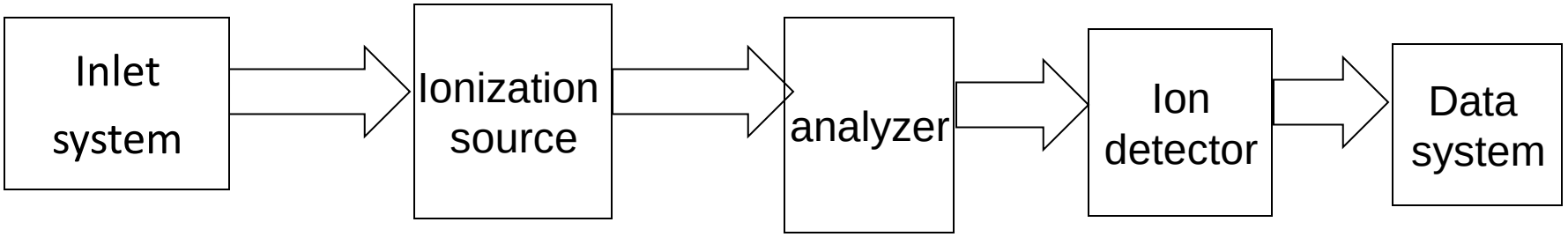
يشترط في المادة المراد تحريها بوساطة هذا المتحري أن تتمتع بخواص كهربائية تمكنها من تثبيت الكترون والتحول إلى شاردة سالبة.

يتألف هذا المتحري خلية معدنية مصنوعة من معدن غير قابل للصدأ مقاومة وسميكة الجدران , يكون الكاثود في هذه الخلية مغطى بمادة مشعة تعطي أشعة ß غالباً ماتكون Ni^{63} وظيفتها إصدار أشعة ßالتي تصدم جزيئات الغاز الداخلة إلى خلية المتحري مما يؤدي إلى تحرير الالكترونات منها فتتشكل سيالة من الالكترونات تتجه من الكاثود باتجاه الآنود مسببة تيار شدته ثاتة.

عندما تدخل المواد المفصولة المحبة للالكترونات لخلية المتحري تصطدم بسيالة الالكترونات وتقوم بتثبيت الالكترونات مما يسبب تناقص في شدة التيار المار في خلية المتحري وهذا التناقص يكون متناسباً مع تركيز المادة المفصولة

مقياس الكروماتوغرافيا الغازية المندمج مع مطياف الكتلة

GC-MS



- يعد مطياف الكتلة من أكثر المتحريات كفاءة لتحديد المواد المفصولة باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية.
- إن ربط مطياف الكتلة بمقياس الكروماتوغرافيا الغازية يعطي جهاز يدعى GC/MS
- مطياف الكتلة جهاز يقيس نسبة الكتلة إلى الشحنة (m/z) للأيونات الموجبة الناتجة عن المادة
- عندما تخرج مكونات العينة من عمود الفصل في ال GC تدخل إلى الجزء الذي يدمج مطياف الكتلة مع ال GC والمسمى Inlet system بعدها تدخل المادة إلى مطياف الكتلة حيث يتم تحريها

بعض المتحريات النادرة الاستخدام في ال GC

متحري تشرد اللهب الحراري Flame Thermoionic Detector:

هو عبارة عن متحريي تشرد اللهب متوضعين فوق بعضهما ومنفصلين عن بعضهما بشاشة سلكية منخلية مطلية بأحد أملاح الصوديوم حيث تمر المادة المفصولة في اللهب الأول وتنتقل عبر الشاشة المنخلية إلى اللهب الثاني وهذا يزيد حساسية الكشف بالنسبة للمركبات الحاوية على فوسفور أو نتروجين إلى 1000مرة أكثر من متحري تشرد اللهب (0,1بيكوغرام)

متحري الناقلية الكهربائية Electrolytic Conductivity Detector:

يعتمد مبدأ هذا المتحري على تغير الناقلية الكهربائية للماء المقطر نتيجة خروج المواد الفعالة الحاوية عناصر كهرسلبية مع الطور المتحرك.

متحري الكولومتر Coulometric Detector:

يقيس كمية الكهرباء اللازمة لإتمام تفاعل كهركيميائي للمادة المفصولة.

الأطوار الثابتة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الغازية

Stationary phases for GC

يجب أن تتوفر في الأطوار الثابتة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الغازية الشروط التالية:

1- النقاوة العالية high purity

2- عدم التطاير nonvolatile

3- الثبات الحراري thermal stable

الأطوار الثابتة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الغازية الصلبة
Stationary Phases for GSC

- تكون الأطوار الثابتة المستخدمة في ال GSC عبارة عن مساحيق ذات طبيعة ادمصاصية ومن أهم هذه المواد المستخدمة:

1- الألومين: مادة عالية القطبية تتحمل درجات حرارة حتى 350درجة مئوية.

2- الكروموسورب: نوع من الآجر المعالج حرارياً يتحمل درجات حرارة حتى 400 درجة مئوية ولايكون له قدرة ادمصاصية إلا إذا لبس بفحم الغرافيت.

3- السيليت: هو نوع من التراب المسامي يتحمل درجات حرارة عالية وهو قطبي وهو الأكثر استخداماً لأنه يسمح للطور المتحرك بالمرور بين حبيباته ومن خلالها فيزيد سطح التماس

سؤال:

تم فصل المركبين A و B بالكروماتوغرافيا الغازية الصلبة باستخدام السيليت كطور ثابت حيث :

A= استر و B = حمض البنزوئيك فكانت احتمالات الفصل الممكنة كما يلي :

1- يتثبت A على الطور الثابت أكثر من B

2- يتم ادمصاص B على الطور الثابت بالروابط الهيدروجينية

3- B يملك أقل تأثير متبادل مع الطور الثابت

4- يكون ال elution للمادة A أسرع من B

اختر الإجابات الصحيحة من الاحتمالات السابقة.

سؤال:

تم فصل مزيج ثلاثة مركبات A, B و C باستخدام ال GSC على عمود من الألومين حيث :

A= مركب كيتوني , B= حمض الصفصاف و C= فينول . ماهي نتائج الفصل المتوقعة:

1- يمكن للمركب B أن لا يغادر عمود الفصل

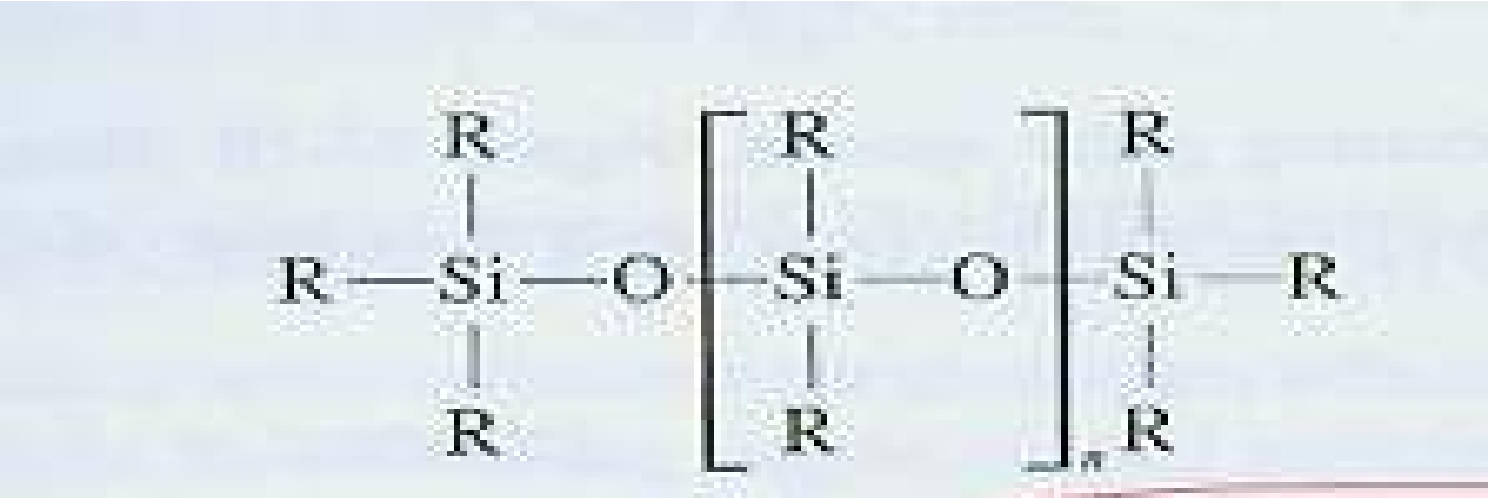
2- B يملك أعلى قيمة لزمن الاحتفاظ إذا غادر العمود

3- C هو أول مركب يغادر عمود الفصل

4-سيتم ادمصاص A على الطور الثابت أقل من B وأكثر من C

الأطوار الثابتة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الغازية السائلة
Stationary Phases for GLC

إن معظم الأطوار الثابتة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الغازية السائلة تكون مشتقة من البولي دي ميتيل سيلوكسان الذي يملك الصيغة التالية:



أهم الأطوار الثابتة المستخدمة في ال GLC مدرجة في الجدول التالي:

L.S.P	Commercial column	Temp	application
polydimethyl siloxane P.D.S	OV1	350˚ C	Hydrocarbons- non-polar compounds
5% phenyl P.D.S	OV3	350˚ C	Fatty acids methyl esters - Alkaloids
50% phenyl P.D.S	OV17	250˚C	Pesticides- Sugars
50%trifluoro-propyl P.D.S	OV210	200 ˚C	Chlorinated aromatic-nitro aromatic
Polyethylene glycol	Carbowax	250˚C	Free acids- essential oils
50%cyano-propyl P.D.S	OV275	240˚C	Free acids - Alcohols

سؤال:

تم فصل المركبات A , B و Cبالكروماتوغرافيا الغازية السائلة باستخدام العمود OV3 كطور ثابت حيث :

A= مركب متعدد الحلقات العطرية و B = حمض الصفصاف و C= مركب إيتيري فكانت احتمالات الفصل الممكنة كما يلي :

1- يملك المركب C زمن احتباس أعلى من زمن الاحتباس للمركب B

2- يكون تثبت المركب B بالادمصاص على الطور الثابت الأقل بين المركبات الثلاثة

3- A يغادر العمود أولاً ويكون له أقل زمن احتفاظ

4- تكون قمة المادة C ضيقة ويملك المركب أعلى زمن احتفاظ

اختر الإجابات الصحيحة من الاحتمالات السابقة.

اختيار درجة الحرارة في أجهزة ال GC
Temperature Selection in GC

-يكون اختيار درجة الحرارة في الأجهزة التي لاتحوي برمجة حرارية حلاً وسطاً بين مجموعة من العوامل.

-درجة حرارة الحقن يجب أن تكون عالية بشكل كاف لتبخير المكونات بأسرع مايمكن ودخولها للعمود بأقل حجم ممكن كي نتجب التذييل في القمم الناتجة ونحصل على أعلى دقة , غير أن الحرارة المطبقة يجب أن تتناسب مع الثبات الحراري للمواد.

- أما درجة حرارة العمود فتشكل حلاً وسطاً بين ثلاثة عوامل هي السرعة والدقة والحساسية. فإذا كانت درجة الحرارة عالية جداً سيتم ال elution بسرعة فتكون قمة المادة المفصولة ضيقة وزمن الاحتفاظ قليل فتكون الحساسية جيدة والدقة قليلة. أما إذا كانت درجة الحرارة منخفضة نسبياً سيتم ال elution ببطء فتكون قمة المادة المفصولة عريضة القاعدة وزمن الاحتفاظ طويل فتكون الحساسية سيئة والدقة جيدة.

-أما درجة حرارة المتحري فيجب أن تكون كافية لمنع مكونات العينة الغازية من التكاثف والعودة إلى حالتها الأصلية.

- أما الأجهزة التي تملك برنامج حراري فيتم فيها رفع درجة الحرارة بشكل تدريجي بسرعة يتم اختيارها مسبقاً فيتم تلافي كل المشاكل السابقة.

العوامل المؤثرة على الفصل الغازي
Factors that affect on gas separation

1- القطبية The polarity

2- درجة الحرارة The temperature

3- الوزن الجزيئي Molecular weight

3- سرعة الطور المتحرك The mobile phase rate

استخدام الكروماتوغرافيا الغازية في التحليل الكيفي والكمي

-يستخدم مقياس الكروماتوغرافيا الغازية في تحديد هوية المواد المفصولة بالاعتماد على مقارنة زمن الاحتفاظ للمادة المفصولة مع زمن احتفاظ المادة الشاهدة.

- يستخدم مقياس الكروماتوغرافيا الغازية في التحليل الكمي بقياس مساحات القمم التي تكون متناسبة مع التركيز.

- يمكن التأكد من هوية المادة المفصولة في حالة العينات مجهولة المكونات عن طريق إضافة كمية من المادة الشاهدة إلى العينة ومراقبة زيادة مساحة القمة (Spike).

استخدامات الكروماتوغرافيا الغازية في المجالات الصيدلانية
Application of gas chromatography

- يستخدم ال GC في تحديد آثار الأدوية المخدرة في الدم

-يستخدم ال GC في تحليل مكونات الغذاء والمضافات الغذائية والمواد المتسربة للغذاء.

- يستخدم ال GC في تحليل الزيوت الطيارة الموجودة في العقاقير

- يستخدم ال GC في إجراء بعض التحاليل الرقابية لبعض الأدوية.

-يستخدم ال GC في إجراء بعض التحاليل البيئية كمراقبة الملوثات المتسربة للمياه الجوفية أو للهواء.

-يستخدم ال GC في فصل المركبات الإيزوميرية (مصاوغات فراغية) كفصل الشكلين cis و trans للحموض الدسمة

الاشتقاق derivation

تعريف الاشتقاق: هو عملية يتم من خلالها استبدال ذرة من ذرات المركب المراد فصله بجذر كيميائي بهدف تغيير إحدى الصفات الفيزيائية لهذا المركب بهدف تحسين الفصل.

أهداف الاشتقاق:

1- تغيير قطبية المادة المراد فصله

2- خفض درجة غليان المركب المراد فصله

3- جعل المركب المراد فصله ممكن التحري بالمتحريات النوعية

طرائق الاشتقاق الرئيسية:

1- الألكلة :Alkylation هي طريقة تهدف إلى استبدال هيدروجين المجموعة الكاربوكسيلية في الحموض العضوية بجذر ألكيلي بغية خفض قطبية الحمض الكاربوكسيلي والتقليل من تثبته على الطور الثابت القطبي.

2- استخدام جذر التري ميتيل سيليل $-Si\ (CH_3)_3$:

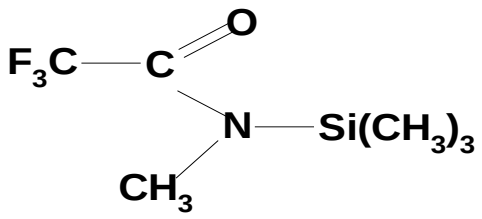
هي طريقة تهدف إلى استبدال الهيدروجين الفعال في المركبات العضوية الحاوية المجموعات NH, OH, SH بجذر التري ميتيل سيليل لخفض درجة غليان المركبات المذكورة

3- استخدام جذر التري فلورو أسيتيل CF_3COOH –:

تهدف هذه الطريق إلى خفض درجات غليان المركبات العضوية وخلق إمكانية تحريها بالمتحريات النوعية.

4- استخدام جذر الميتيل تري ميتيل سيليل تري فلورو أسيتاميد (MSTFA):

إن استبدال الهيدروجين الفعال في الأمينات والأغوال بالجذر MSTFAيخفض من درجات غليان المركبات المذكورة ويجعل تحريها بالمتحريات النوعية ممكناً.



MSTFA

5- استخدام التري ميتيل كلور سيلان $(H_3C)_3$-SiCl: إن استبدال الهيدروجين الفعال في الحموض الكاربوكسيلية بالجذر المذكور يخفض من درجات غليانها ويجعل تحريها بالمتحريات النوعية ممكناً