

الفصل بالأجهزة

(٣, ١) طرق الفصل بواسطة كروماتوغرافية الغاز

تمهيد نظري

تعتبر كروماتوغرافية الغاز Gas Chromatography من أفضل الطرق لفصل مخاليط تصل كمياتها إلى عدة ميكروجرامات وذلك بتمرير العينة في الحالة البخارية عبر عمود يحتوي على طور ساكن سائل. الطور المتحرك يكون غازاً خاملاً مثل الهليوم أو النيتروجين ويجب أن يكون الغاز خالي من الشوائب وخاصة الأوكسجين الذي يعمل على أكسده الطور الثابت.

يمكن فصل المركبات العضوية المعقدة المتطايرة في دقائق بهذه التقنية بينما يستخدم كروماتوغرافيا السائل (LC) لفصل المواد غير المتطايرة. وتستخدم حالياً أعمدة شعرية في جهاز كروماتوغرافية الغاز مما يجعلها أقوى وأفضل الطرق لفصل المركبات العضوية المتطايرة. (الشكل رقم ٣, ١)

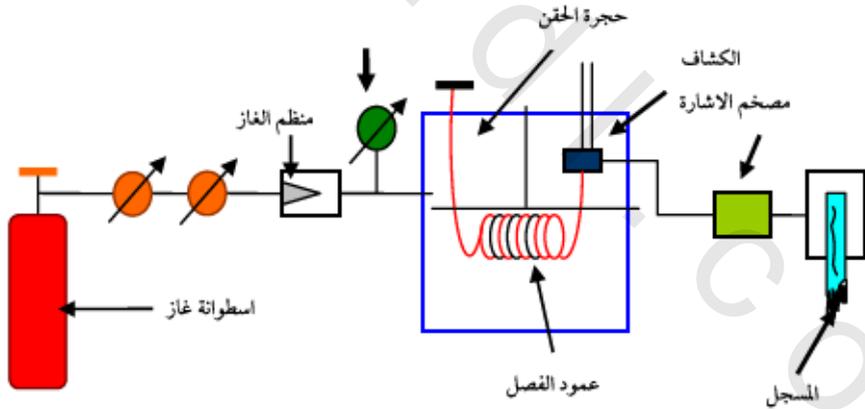
يمكن تقسيم كروماتوغرافيا الغاز إلى قسمين وهما :

١- كروماتوغرافية الغاز الصلب Gas Solid Chromatography يكون الطور الساكن من مادة صلبة مثل السليكا والألومينا

٢- كروماتوغرافية الغاز السائل gas liquid chromatography يكون الطور الساكن من سائل غير متطاير (زيت السيليكون) في درجات حرارة الفصل مطلبي على دعامة صلبة مثل حبات الزجاج.

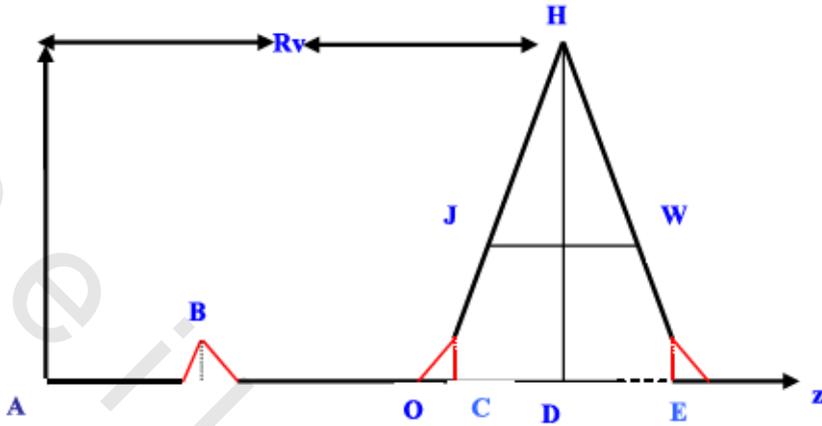
مميزات الجهاز GLC

- ١- تفصل المركبات الغازية والسائلة والصلبة.
- ٢- يستخدم في تحليل العديد من المركبات التي تتبع أقسام مختلفة (أحماض دهنية - أمينية - سكريات - هرمونات). نظراً لوجود العديد من الأعمدة وطرق الفصل.
- ٣- وقت التحليل قصير حيث يحدث الاتزان بسرعة بين الأطوار الثابتة والمتحركة.
- ٤- الحساسية العالية ولذلك يرتفع ثمن جهاز (GLC).
- ٥- السهولة وهي بسيطة في تشغيلها وتفسر النتائج بسهولة.



الشكل رقم (٣،١). رسم يوضح مكونات جهاز الكروماتوغرافية الغازية.

والكروماتوغرام الناتجة تكون موضحة بالشكل رقم (٣،٢):



الشكل رقم (٢، ٣). الكروماتوغرام .

يعبر الخط المستقيم AZ عن الـ Base line وينتج من تأثير مرور الغاز الخامل
Carrier gas خلال العمود
Peak : ينتج من العمود في وقت محدد.

Peak area : مع المساحة المحصورة بين قمة H وقاعدة الـ (CE)

Peak height : يمثله الخط HD

Peak width : يمثله الخط CE الذي ينتج من تقاطع أضلاعه مع Base line

Air peak : يمثله الحرف B وينتج من كميات الهواء القليلة التي توجد عادة مع
العينة خلال الحقن ومن المعروف أن الهواء لا يبل يتحرك في مقدمة الغاز الخامل.

peak width of half peak height = Gw يمثله

كفاءة العمود

يعبر عن كفاءة العمود بعدد theoretical plates (n) فكلما زادت قيمة (n)

زادت كفاءة الأعمدة على الفصل ويعرف عدد (n) من عرض الـ peak بالسهم

وRetention time (RT) بالسهم وفقاً للمعادلة :

$$n = 16 \left(\frac{R_t}{w} \right)^2$$

من المعادلة يتضح أنه كلما انخفضت قيمة (w) للـ peak كلما زادت كفاءة العمود ويمكن استنتاج (n) من المعادلة :

$$n = 5.54 \left(\frac{R_t}{w_h} \right)^2$$

حيث wh عبارة عن القاعدة عند نصف الارتفاع

مسألة

إذا كان لديك عمودين أبعادهما هي $25\text{cm} \times 2.6\text{cm}$ و $50\text{cm} \times 2.6\text{cm}$ وتم فصل مخلوط واحد بهما إلى مكوناته - أي العمودين أكثر كفاءة لفصل هذا المخلوط من هذه المعلومات :

العمود الأول	العمود الثاني	
61.4mm	80.2mm	المسافة من بداية الحقن peak max
10mm / min	10mm / min	سرعة chart
1.7mm	2.2mm	قاعدة الـ peak عند نصف الارتفاع

من القانون

$$n = 5.54 \left(\frac{R_t}{w_h} \right)^2$$

$$n_1 = 5.54 \left(\frac{61.4}{1.7} \right)^2 = 7227$$

$$n_2 = 5.54 \left(\frac{80.2}{2.2} \right)^2 = 7362$$

$$H_1 = \frac{250}{7227} = 0.03$$

$$H_2 = \frac{500}{7362} = 0.07$$

كفاءة العمود الأول أكثر من العمود الثاني

مثال:

احسب عدد الطبقات النظرية في عمود طوله 122 Cm ومملوءة بالكربواكس (Carbowax) وذلك بالنسبة لعينة من البيوتانول مع العلم أن زمن استبقاء البيوتانول 2.25 min وعرض القمة 0.25 min . احسب سمك الطبقة النظرية.

الحل:

تحسب عدد الطبقات النظرية من العلاقة :

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{\Delta t} \right)^2$$

وبالتعويض نحصل على عدد الطبقات النظرية :

$$n = 16 \left(\frac{2.25}{0.25} \right)^2 = 1296 \text{ theoretical plates}$$

ثم نحسب سمك الطبقة النظرية بقسمة طول العمود على عدد الطيقات النظرية

$$\text{HETP} = \frac{122}{1296} = 0.094 \text{ Cm/ plate}$$

(٣, ١, ١) تقنية حقن العينات ومقدمة الإحصائيات

من المهم قبل الخوض في التجارب معرفة الطالب كيفية حقن العينات ومعرفة

الحسابات والإحصائيات لهذه التقنية.

خطوات التجربة

١- ضبط الجهاز على الآتي :

أ) درجة حرارة الكاشف 250°C

ب) درجة حرارة المحقنة 150°C

ج) درجة حرارة العمود 80°C

٢- احقن 0.2 ميكرو لتر من الهكسانول باستخدام المحقنة.

٣- أعد الحقن ثلاثة مرات.

٤- قس ارتفاع كل قمة بالمليمتر.

٥- احسب متوسط الارتفاع ، الأخطاء الشخصية ، والخطأ النسبي.

النتائج

سجل النتائج في جدول على هذا النحو :

تم الحصول على ثلاثة قيم ارتفاعها على التوالي

$$144 \text{ cm} , 142 \text{ cm} , 140 \text{ cm}$$

$$\text{متوسط الارتفاع} = \frac{144 + 142 + 140}{3} = 142 \text{ cm}$$

$$\text{أخطاء فردية} = 142 - 140 =$$

$$142 - 140 = 0$$

$$144 - 142 = 2$$

تؤخذ القيم كقيم إحصائية بعض النظر عن الاستشارة

$$\text{متوسط الخطأ} = 1.3 \text{ mm} = \frac{4}{3}$$

$$\text{متوسط الخطأ النسبي} = 0.9 \% = \frac{1.3}{142}$$

(٢, ١, ٣) التحليل النوعي لمواد عضوية باستخدام جهاز كروماتوغرافية الغاز

خطوات التجربة

١- اضبط الجهاز على النحو الآتي :

$$\text{أ) درجة حرارة الكاشف} = 250^{\circ}\text{C}$$

$$\text{ب) درجة حرارة المحقنة} = 150^{\circ}\text{C}$$

$$\text{ج) درجة حرارة العمود} = 80^{\circ}\text{C}$$

راجع خطوات تشغيل الجهاز من الكتيب المرفق مع الجهاز

- ٢- احقن (0.1) ميكرومتر بالمحقنة من العينات القياسية التالية هكسانول -1 ، هكسانول -2 ، تولوين ، بنزلدهيد.
- ٣- سجل زمن الاستبقاء RT لكل عينة.
- ٤- احقن المجهول رقم (1) والمجهول رقم (2) على التوالي ثم سجل RT لمكونات المجهول كل على حدة.

النتائج

- ١- سجل زمن الاستبقاء RT (الزمن المستغرق من لحظة حقن العينة حتى خروج قمة الذروة peak) للمواد القياسية وكذلك مكونات كل مجهول.
- ٢- تعرف على مكونات كل المجهول وذلك بمقارنة RT للمحاليل القياسية والمجهول.
- ٣- ابحث عن درجات الغليان للمواد القياسية في المكتبة واستنتج علاقة درجة الغليان مع قيم RT.

(٣، ١، ٣) تحديد درجة الحرارة المناسبة لفصل مكونات خليط بجهاز كروماتوغرافية الغاز

المواد المطلوبة

مركبات عضوية بروبان ، بيوتان ، هكسانول ، إلخ ..

ظروف التجربة

- ١- درجة حرارة العمود متغيرة.
- ٢- درجة حرارة الحقن $150^{\circ}C$.
- ٣- درجة حرارة الكاشف $250^{\circ}C$.
- ٤- عمود شعري أو عمود مشحون.

خطوات التجربة

- ١- اتبع خطوات تشغيل الجهاز من الكتيب المرفق.
- ٢- نظف المحقنة بالميثانول والماء المقطر وكرر ذلك مع كل محقنة.
- ٣- اضبط درجة حرارة العمود عند $50^{\circ}C$
- ٤- اسحب 0.2 ميكرومتر من الخليط ثم احقن في محطة الحقن.
- ٥- كرر الخطوة (٤) ولكن مع تغيير درجة حرارة العمود $60^{\circ}C$ ، $70^{\circ}C$ ، $80^{\circ}C$ ، $100^{\circ}C$ ، $120^{\circ}C$.

النتائج

- ١- سجل ارتفاع النتائج في جدول.
 - ٢- حدد درجة الحرارة المناسبة لفصل الخليط.
- (٤, ١, ٣) التحليل الكمي لمادة الهكسانول بجهاز كروماتوغرافية الغاز

تمهيد نظري

التحليل الكمي مرتبط بعلاقة أن مساحة أو ارتفاع المنحنى تتناسب طردياً مع التركيز والاستفادة من هذه العلاقة لإيجاد تركيز المجهول وذلك بمقارنة مساحة المنحنى للمجهول بمساحة منحنيات المحاليل القياسية.

المواد المطلوبة

- ١- محاليل قياسية من الهكسانول.
- ٢- محلول مجهول التركيز من الهكسانول.

خطوات التجربة

- ١- اتبع خطوات تشغيل الجهاز
- ٢- احقن 0.2 ميكرومتر للمحاليل القياسية (5 محاليل).
- ٣- احقن 0.2 ميكرومتر من الهكسانول مجهول التركيز.

النتائج

- ١- سجل مساحة أو ارتفاع المنحنى للمحاليل القياسية والمجهول في جدول.
- ٢- ارسم العلاقة بين مساحة الذروة أو ارتفاعه مقابل التركيز للمحاليل القياسية.
- ٣- من الذروة أوجد تركيز المجهول.
- ٤- لا يمكن إيجاد تركيز المجهول من الجهاز. لماذا ؟

(٣، ٢) كروماتوغرافية السائل فائقة الأداء

تمهيد نظري

من أهم طرق فصل المواد العضوية وهو يمتاز على طرق الفصل الأخرى بـ :

- ١- السرعة حيث إنه في الأعمدة الكلاسيكية يستغرق عدة ساعات.
 - ٢- الدقة والحساسية العالية.
 - ٣- لا تعتمد على تطاير العينة وتأثرها بالحرارة.
 - ٤- يفصل العديد من المركبات المختلفة.
- تم تطوير الجهاز بإدخال نظام جديد للحقن (حقن بواسطة الصمام) وإدخال نظام المضخة حديثاً لضخ الطور المتحرك بمعدل ثابت وأدخلت كواشف حديثة detectors للكشف عن المواد لحظة خروجها من العمود وعليه نجد أن الفصل والتحليل يتم في دقائق معدودة. (الشكل رقم ٣، ٣)
- يضخ الطور المتحرك بواسطة مضخة ذات رأس ترددي لإلغاء الذبذبة في السريان. هذا النظام يسمح باستخدام طور متحرك واحد Isocratic elution ولكن إذا كان هناك فارق كبير في زمن الاستبقاء RT فمن الضروري استخدام طورين متحركين يغير أحدهما قطبية الآخر ويسمى النظام في هذه الحالة نظام التصفية التتابعية التدريجية gradient elution.

نظام الحقن

يستخدم الحقن بواسطة الصمام (ذو أحجام محددة) وذلك بحقن العينة في الوضع load ثم تحول للعمود وذلك بتحويل الصمام إلى الوضع inject.

العمود

هنالك العديد من المواد التي تستخدم لتعبئة العمود منها :

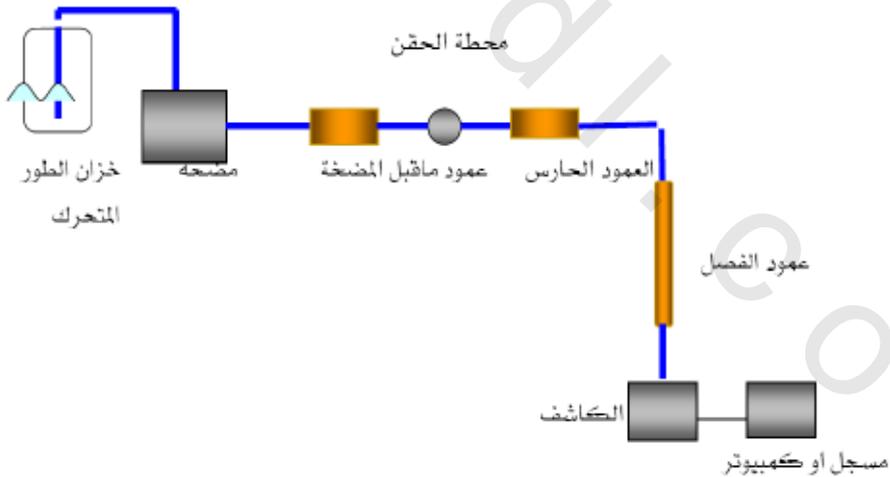
(أ) السليكا.

(ب) السليكا المرتبطة كيميائياً.

الكواشف

يستخدم كاشف الأشعة فوق البنفسجية ذات الخلية الصغيرة وبأطوال موجية

متغيرة في المدى بين 190-380nm.



الشكل رقم (٣,٣). جهاز كروماتوغرافية الضغط العالي

(١, ٢, ٣) التحليل النوعي لمواد عضوية باستخدام كروماتوغرافية السائل فائقة الاداء

المواد المطلوبة

- ١- حمض سالسيلك.
- ٢- حمض أستايل سالسيلك.
- ٣- حمض بنزويك.
- ٤- حمض فثاليك.

ظروف التجربة

- ١- ور المتحرك : إيثانول : ماء بنسبة 30-70 .
- ٢- العمود : symmetry c_{18} .
- ٣- طول موجة الكاشف : 225nm .
- ٤- جم الحقن : 10 مايكرومتر .
- ٥- معدل السريان : 0.1 ml/min .

خطوات التجربة

- ١- اتبع خطوات التشغيل المرفقة مع الجهاز.
- ٢- نظف المحقنة بالميثانول ثم بالماء المقطر.
- ٣- احقن 10 μ m من المواد المذكورة سابقاً مع تحويل صمام الحقن في كل حالة من الوضع load إلى الوضع inject.
- ٤- احقن الخليط.

النتائج

- ١- من نتائج التحليل التي تحصل عليها بالكمبيوتر ، سجل قيم RT للمحاليل القياسية والمجهول.
- ٢- حدد مكونات الخليط بمقارنة قيم RT.

(٣, ٢, ٢) تقدير تركيز حمض البنزويك باستخدام جهاز كروماتوغرافية السائل فائقة الأداء

المواد المطلوبة

١- محاليل قياسية من حمض البنزويك 5، 10، 20 ppm، 15 جزء بالمليون (ppm) وتحضر باستخدام الطور المتحرك.

٢- محلول مجهول التركيز من حمض البنزويك.

طرق التجربة

١- الطور المتحرك إيثانول : ماء بنسبة 30-70 .

٢- العمود symmetry c_{18} .

٣- طول الموجه الكاشف 225 nm .

٤- حجم الحقن 10 μ l .

٥- معدل السريان 1.0 ml/min .

خطوات التجربة

١- اتبع خطوات التشغيل المرفقة مع الجهاز.

٢- نظف المحقنة بالميثانول ثم بالماء المقطر تكرر هذه الخطوة مع كل حقنة.

٣- ابدأ بحقن المحاليل القياسية لحمض البنزويك (أقل تركيز أولاً).

٤- احقن محلول حمض البنزويك المجهول التركيز.

النتائج

١- سجل مساحة الذروة (0.1 ارتفاع الذروة) وزمن الاستبقاء RT للمحاليل

القياسية والمجهول.

٢- ارسم منحنى العلاقة بين المساحة أو (ارتفاع الذروة) مقابل التركيز في

ورق رسم بياني.

٣- أوجد التركيز المجهول من المنحنى وقارن نتائجك مع النتائج المتحصل

عليها من جهاز الكمبيوتر.

(٣, ٢, ٣) تقدير الكافيين في الشاي والقهوة والمشروبات الغازية بجهاز كروماتوغرافية السائل فائقة الأداء

تمهيد نظري

يستخدم الجهاز لتقدير الكافيين دون الحاجة لإجراء استخلاص الكافيين كما في الطرق التقليدية.

المواد المستخدمة

- ١- محاليل قياسية من الكافيين ويحضر باستخدام الطور المتحرك.
- ٢- شاي وقهوة وكوكاكولا.

ظروف التجربة

الطور المتحرك ماء : ميثانول بنسبة 20:80 ويضبط الرقم الهيدروجيني إلى $pH = 3.5$ باستخدام حمض الهيدروكلوريك.
العمود : symmetry C_{18} .
طول موجة الكاشف 245 nm .
حجم الحقن : 10 مايكرومتر .
معدل السريان : 1 ml/min .

أ) تحضير عينة الشاي والقهوة

انقل 10 ml من الشاي و 5 ml من القهوة إلى دورق قياسي سعة 50 ml ثم إكمال الحجم حتى العلامة بالطور المتحرك.

ب) تحضير عينة الكوكاكولا

خذ 15 ml من العينة ثم اسكبه في كأس مجفف نظيف ثم يعاد سكبه إلى كأس آخر لطرده الغازات. اسحب بالماصة 10 ml من العينة إلى دورق قياسي سعة 25 ml ثم أكمل بالطور المتحرك حتى العلامة.

خطوات التجربة

- ١- اتبع خطوات التشغيل المرفقة مع الجهاز.
- ٢- نظف المحقنة بالميثانول ثم بالماء المقطر وكرر هذه الخطوات عند كل حقنة.
- ٣- ابدأ بحقن المحاليل القياسية (أقل تركيزاً أولاً) من محلول الكافيين.
- ٤- احقن عينات الشاي والقهوة والكوكاكولا.

النتائج

- ١- قارن زمن الاستبقاء RT للمجاهيل مع المحاليل القياسية لتحديد الذروة الخاص بالكافيين بين الذرى المختلفة في المجهول.
 - ٢- سجل مساحة الذروة (ارتفاع الذروة) للمحاليل القياسية والعينات.
 - ٣- ارسم منحنى تدرج قياسي للمحاليل القياسية - المساحة مقابل التركيز.
 - ٤- أوجد تركيز الكافيين في العينات المختلفة من المنحنى وقارن نتائجك مع النتائج المتحصل عليها من جهاز الكمبيوتر.
- (٣، ٢، ٤) فصل وتقدير فيتامين ج (C) في عصير الفواكه استخدام جهاز كروماتوغرافية السائل ذي فائقة الأداء

تمهيد نظري

يمكن لجهاز (HPLC) لتقدير (C) ascorbic Acid دون الحاجة لاستخلاصه من عينة العصير بالطرق التقليدية.

المواد المستخدمة

- ١- محاليل قياسية من فيتامين ج (ج) ويحضر باستخدام الطور المتحرك.
- ٢- محلول عصير من البرتقال ، عنب ..إلخ.

ظروف التجربة

الطور المتحرك يحضر بإذابة 1.36 g من KH_2PO_4 في لتر من الماء المقطر.

العمود : Nova – Pak C_{18} .

الطول الموجي للكاشف : 254nm .

حجم الحقن : 10 ميكرومتر .

معدل السريان : 1 ml/min .

خطوات التجربة

١- اتبع خطوات التشغيل المرفقة مع الجهاز.

٢- نظف المحقنة بالميثانول ثم بالماء المقطر.

٣- احقن المحاليل القياسية (أقل تركيز أولاً) من محلول فيتامين (ج).

٤- احقن عينات العصير المختلفة.

النتائج

١- قارن زمن الاستبقاء RT لكل عصير مع المحاليل القياسية لتحديد المنحنى

الخاص بفيتامين (ج) بين المنحنيات المختلفة في المجهول.

٢- سجل مساحة المنحنيات (أو ارتفاع المنحنى) للمحاليل القياسية والعينات

في جدول.

٣- ارسم منحنى تدرج لمساحة الذروة (0.1 ارتفاع الذروة) مقابل تركيز

المحاليل القياسية.

٤- أوجد تركيز فيتامين (ج) في العينات من المنحنى وقارن نتائجك مع

النتائج المتحصل عليها من الكمبيوتر.

(٣,٢,٥) تلوث الهواء

تمهيد نظري

لوضع برنامج تلوث الهواء يحتاج لقاعدتين أساسيتين :

أولاً : تجميع وتحليل عينة الهواء .

ثانياً : خطة استراتيجية لتجميع متواصل للعينات في مناطق معينة ومحددة وفي

أوقات مختلفة ومحددة مع رصد منابع التلوث في المنطقة المعنية . عند تسجيل نتائج تلوث

الهواء يجب مراعاة الآتي :

- ١- درجة الحرارة .
 - ٢- الضغط الجوي .
 - ٣- درجة الرطوبة .
 - ٤- اتجاه الرياح .
 - ٥- زمن تجميع العينة .
- يجب أيضاً مراعاة تسجيل أي ملاحظات أثناء التجميع والتحليل .

طريقة تجميع العينة

- ١- تأكد من صلاحية بطارية مضخة تجميع العينة .
- ٢- املا أنبوبة العينة بالمحلول الذي يمثل العنصر أو المادة المراد تقديرها .
- ٣- درجة الرطوبة .
- ٤- اتجاه الرياح .
- ٥- زمن تجميع العينة

ويجب أيضاً مراعاة تسجيل أي ملاحظات أثناء التجميع والتحليل .

طريقة العمل

- ١- تأكد من صلاحية بطارية مضخة تجميع العينة .
- ٢- املاء أنبوبة العينة بالمحلول الذي يمتص العنصر أو المادة المراد تقديرها .

- ٣- ضع مفتاح التشغيل في اتجاه ON
 - ٤- اضبط مقياس السريان للهواء للمعدل المطلوب.
 - ٥- في نهاية الزمن المحدد لتجميع العينة دحرك مفتاح التشغيل إلى الوضع off
 - ٦- خذ المحلول للتحليل.
- (٣, ٢, ٦) تقدير الأمونيا في الهواء

تمهيد نظري

يعتبر غاز الأمونيا من الغازات الملوثة للهواء ويتواجد في المنازل عادة في المنظفات وغيره.

طريقة العمل

- ١- انقل 10ml من المحلول الماص للأمونيا في أنبوبة المضخة واجمع الهواء بتشغيل المضخة بمعدل 1 l/min لمدة عشر دقائق.
- ٢- انقل 5 ml من المحلول إلى أنبوبة الاختبار التي سعتها 5 ml ثم أضف نقطتين من الكاشف (1) Ammonia Reagent ورج المحلول.
- ٣- أضف (8) نقاط من الكاشف (2) Ammonia Reagent إلى المحلول ورج المحلول ولاحظ تكون اللون الأصفر البني للمحلول والذي يدل على وجود الأمونيا في عينة الهواء.