اولا : جهاز HPLC

تعتبر تقنية الكروماتوغرافي أهم تقنية في تقنيات الفصل الكيميائي بين المواد، وأكثرها شيوعًا في مختلف الصناعات ومجالات البحث المختلفة. تتمايز أنواعها فمنها الوسط المتحرك (mobile phase)، والوسط الثابت ..(stationary phase) كما تشمل الـ (HPLC) وكروماتوغرافيا الغاز ...(GC) لاحقًا في آخر المقال سنتناول أوجه المقارنة بينهما.. لكن دعونا نستعرض النوع الأول، هنا.

ما هو الـHPLC ؟

تتعدد أنواع الكروماتوغرافي-كما ذكر سابقًا- حسب تعدد أنواع الوسط المتحرك والوسط الثابت، فمثلًا ضَيْفنا في هذا المقال (High-performance liquid chromatography) يعتمد على وسط متحرك سائل في عمله، لذا سمي بهذا الاسم. طُوِّر هذا الجهاز في أواخر الستينيات والسبعينيات ولاقى رواجًا كتقنية فصل، لكل من تحليل وفصل المواد في العديد من المجالات.. تتزايد تطبيقات هذا الجهاز بنجاح يومًا بعد يوم، فتمت إضافة تحليل الأحماض النووية والكربوهيدرات، وتحليل عدمية التناظر (chiral analysis) التي سُميت بهذا الإسم للتمييز بينها وبين كروماتوغرافيا العمود البسيطة

مما يتكون جهاز الـHPLC ؟

يتكون الجهاز من 8 مكونات رئيسية:

1. وعاء الوسط المتحرك (mobile phase reservoir): – هو دورق(flask) ، أو مجرد وعاء تجاري بشرط أن يكون نقيًا نظيفاً مفرغًا من الهواء والغازات؛ حتى لا يتسبب في خطأ في التحليل. كما يجب تنقيته من الشوائب عند إعداد الوسط المتحرك؛ لمنع تعطل الجهاز والخطأ في التحاليل.

2. نظام توصيل المذيب (solvent delivery system): – هو مضخة لضمان السريان الحر للوسط المتحرك بشكل مستمر ودقيق وبنبضٍ ثابت. هناك نوعان يستخدمان في HPLC: مضخة حقنية ذات مسمار(screw-driven syringe type) ، وهي بالرغم من امتيازها بسهولة التحكم في معدل السريان إلا أنها غير مناسبة لتغيير المذيب. تتكون المضخة المزدوجة الترددية ذات المكابس (Reciprocating piston) من غرفة أسطوانية تُملأ وتُفرغ بواسطة الحركة الأمامية والخلفية للمكابس، وتشمل مزايا هذه التقنية حجمها الداخلي الصغير الذي يراوح بين 35 إلى 40

ميكرولتر، مع ضغط خارجي كبير يصل إلى 10000 رطل لكل بوصة مربعة .(psi) من استخدامات الجهاز المهمة، الفصل المتدرج (gradient elution) بمعدلات سريان ثابتة حيث لا تتأثر- بشكل ملحوظ- بأي من؛ الضغط العكسي للعمود (column back-pressure) ولا لزوجة المذيب.

.3نظام إدخال العينة: يمكن أن يكون آلي أو يدوي ويستخدم صمامات، عند فتحها يمكن ملأ تجويف العينة (loop sample) بحجم من 10 إلى 50 ميكرولتر. وعند غلق الصمامات تذهب العينة إلى مجرى الوسط المتحرك ذي الضغط العالي حيث يُرسل إلى العمود حيث يتم تحليلها. يجب أن تكون العينة في حالة سائلة وتُذاب في محلول إذا كانت في حالة صلبة، حيث يكون المذيب منسجمًا مع الوسط المتحرك والثابت، وتُحقن العينة بكمية تتراوح من 1لـ100 ميكرولتر.

.4العمود: هو قلب الجهاز، حيث تحدث عملية الفصل. عادةً ما يكون مصنوعًا من الفولاذ غير قابل للصدأ ومضاد للتآكل وينقسم إلى نوعين: ١- الأعمدة التحليلية: هي النوع الأساسي وتوجد في جميع الأجهزة ويترواح طولها من 5 إلى 25 سم وبقطر داخلي من 3 مم إلى 5 مم محشو بمادة الوسط الثابت وهي جزيئات بحجم 5 ميكرومتر.. وفي الثمانينات، تطورت سرعة الفصل بسبب تقليل القطر وزيادة الطول. ٢- الأعمدة الأولية(precolumns) ، وتنقسم إلى نوعين. الأول، العمود النابش للفضلات (scavenger column) ويقع بين منطقة حقن العينة ووعاء الوسط المتحرك ويقوم بتحسين جودة الوسط المتحرك، والثاني، العمود الحارس (Guard column) ويقع بين العمود التحليلي ومنطقة حقن العينة ويقوم بإزالة الشوائب من المذيب. كما ينقسم حشو العمود المُستخدَم في هذا الجهاز إلى نوعين: حزم مُغلَفة (pellicular) وهي بوليمرات على هيئة خرزات كروية وغير مسامية يتراوح قطرها من30 إلى 40 مم، مُغلَفة بطبقة رقيقة مسامية من السيليكا أو الألومينا أو الراتنج القادر على التبادل الأيوني(Ion-exchange resin) ، والذي يستخدم الآن لفصل البروتينات والجزيئات الحيوية كبيرة الحجم، والنوع الآخر من الحشو هو الحشو المسامي، وعادة يحتوي على جزيئات صغيرة يترواح قطرها بين 3ل10مم وتتكون من السيليكا أو الألومينا أوالراتنج القادر على التبادل الأيوني والسيليكا تُعتبَر أكثر المواد المُستخدَمة شيوعًا في حشو العمود وأحيانًا تُحاط بطبقة عضوية رقيقة ترتبط بالسطح الداخلي للعمود كيميائيًا أو فيزيائيًا.(

.5الكاشف :(detector) وظيفته مراقبة المواد المُذابة المراد استخلاصها عند خروجها من العمود؛ فهو يبعث إشارات كهربية تتناسب مع مستوى خاصية معينة لدى مادة الوسط المتحرك أو للمادة المُستخرَجة. وهناك الكثير من الأنواع:

- كاشف الأشعة البنفسجية(U.V. absorbance detectors).
- الكاشف الفلوريسيني(fluoresce detectors).
- الكواشف الكهروكيميائية(electrochemical detectors).
- كواشف التوصيلية(conductivity detectors).
- كواشف معامل الانكسار(refractive index detectors).
- مطياف الكتلة(mass spectrometer).

.6الأنابيب الرابطة: هي مصنوعة من مادة خاملة لا تتفاعل مع مادة الوسط المتحرك والمذيبات، وتكون في العادة مصنوعة من الحديد غير قابل للصدأ أو من البلاستيك الخامل.

.7جهاز حاسوب أو مسجل: يستخدَم كجهاز مُجمِع للبيانات؛ حيث يكون متصلًا بالكاشف فيلتقط الإشارات الإلكترونية الآتية منه ثم يقوم بتحليلها وإخراجها في شكل رسوم بيانية تسمى كروماتوغرام (chromatogram).

.8وعاء الفضلات.

ثانيا : جهاز الامتصاص الذري

صورة جهاز الامتصاص الذري

Atomic Absorption Spectrophotometer

يقوم هذا الجهاز بتحليل المعادن مثل الصوديوم والكالسيوم والمغنزيوم والرصاص والنحاس والزئبق في العينات السائله حيث يقوم بالتعرف على وجودها من عدمه بالاضافة الى كميتها ويعتمد هذا الجهاز على مبدأ الامتصاص الذري اللهبي أي ان اللهب اساس في عمل هذا

الجهاز

ومن شروط التحليل لهذا الجهاز وجود محاليل قياسيه تحتوي على هذه العناصر بكمية معروفه حتى يتسنى للجهاز تقدير نسبة العينه اضافة الى مصادر ضوئيه لكل معدن مصدر ضوئي خاص به.

ثالثا : جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer

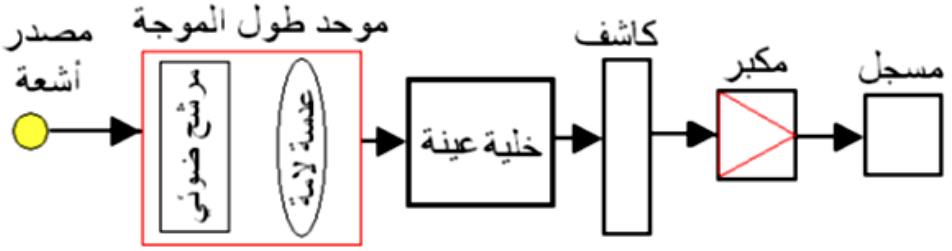
أنوع أجهزة قياس الطيف الضوئي:

أجهزة الامتصاص في المجالين المرئي وفوق البنفسجي يمكن تصميمها طبقاً لأحد النظامين : أحادي الحزمة Single Beam أو ثنائي الحزمة Double Beam .

1. جهاز الطيف الضوئي أحادي الحزمة Single Beam Photometer :

يستخدم جهاز الطيف أحادي الحزمة للقياس عند الأطوال الموجية المحددة ويستخدم لتقدير تركيز عنصر أو مركب واحد فقط . تسير الأشعة من المصدر إلى الكاشف عبر مسار واحد كما هو مبين في الشكل (1) .

ومساوئ هذا الجهاز أنه يقيس مجموعة الأشعة المفقودة بالانعكاس وامتصاص المحلول المرجع (القياسي) وليس فقط الأشعة الممتصة بواسطة المركب المراد تحليله . بالإضافة على ذلك يجب أن يكون المصدر الضوئي على درجة عالية من الاستقرار لأن الخطأ الناتج عن عدم استقرار المصدر لا يمكن تلافيه باستخدام هذه الطريقة .



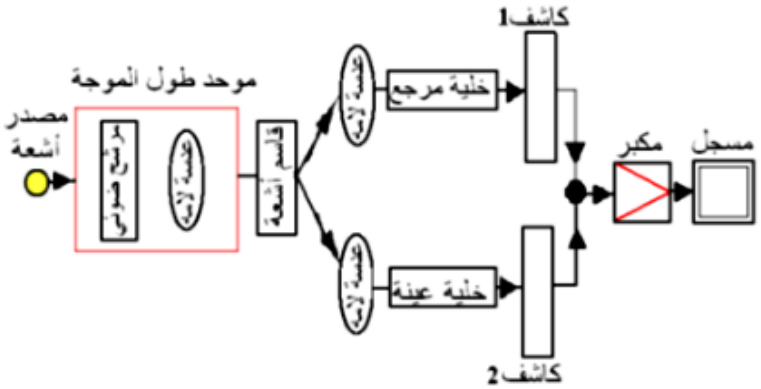
الشكل (1) المخطط الصندوقي لجهاز الطيف الضوئي أحادي الحزمة

2. جهاز الطيف الضوئي ثنائي الحزمة Double Beam Photometer :

لتلافي مساوئ الجهاز السابق يستخدم جهاز الطيف الضوئي ثنائي الحزمة . المخطط الصندوقي لهذا الجهاز موضح بالشكل (2) . في هذا الجهاز تقس أشعة المصدر بواسطة قاسم أشعة إلى حزمتين متساويتي الشدة . إحدى هاتين الحزمتين تمر من خلال المحلول المرجع (القياسي) إلى كاشف ضوئي ، بينما تمر الحزمة الأخرى وفي نفس الوقت عبر العينة المراد فحصها إلى كاشف ضوئي آخر . ويتم تقدير النسبة بين الشعاعين النافذين (I/I_O) حيث إن I هو الشعاع النافذ من العينة المفحوصة وI_o الشعاع النافذ من عينة الرجع . ومن ثم تحول النسبة إلى :

نفاذية (T) $T = \frac{I}{I_o} * \%100$

أو امتصاص (A) $A = log\frac{I}{I_o} = log\frac{1}{T}$



الشكل (2) المخطط الصندوقي لجهاز الطيف الضوئي ثنائي الحزمة

رابعا: مقياس الطيف الضوئي باللهب

مقياس الضوء باللهب هو أداة تحليلية نستخدم فيها اختبار اللهب المتحكم فيه. هناك ، نستخدم شدة اللهب لتحديد تركيز المعدن الموجود في العينة. وبالتالي ، يمكننا تحديد شدة لون اللهب باستخدام الدوائر الكهروضوئية. تعتمد هذه الشدة على كمية الطاقة التي تمتصها الذرات في إنتاج اللهب عن طريق تبخيرها.

الأهم من ذلك ، يجب أن نقدم العينة إلى اللهب بمعدل ثابت. توجد فلاتر يمكنها اختيار لون اللهب. يمكن لهذه المرشحات استبعاد التداخلات القادمة من ذرات أو أيونات أخرى. ومع ذلك ، نحتاج إلى معايرة الجهاز قبل استخدامه. لهذه المعايرة ، يمكننا استخدام سلسلة من الحلول القياسية للأيون التي سنختبرها. علاوة على ذلك ، فإن العناصر الكيميائية الرئيسية التي يمكننا قياسها بسهولة باستخدام هذه الأداة تشمل الصوديوم والبوتاسيوم والليثيوم والكالسيوم. في معظم الأوقات ، تكون عناصر المجموعة 1 والمجموعة 2 حساسة جدًا لهذا الاختبار نظرًا لأن طاقات الإثارة لديهم منخفضة.

أجزاء من مقياس شدة اللهب:

- مصدر اللهب – الموقد الذي ينتج اللهب.
- البخاخات وغرفة الخلط – تنقل العينة إلى اللهب بمعدل ثابت.
- النظام البصري – بمثابة المرشح.
- كاشف الصور – يكتشف الضوء المنبعث ويحدد شدة لون اللهب.

ما هو الفرق بين مقياس شدة اللهب ومقياس الطيف الضوئي؟

مقياس الضوء باللهب هو أداة تحليلية نستخدم فيها اختبار اللهب المتحكم فيه. هناك نستخدم اختبار اللهب المتحكم فيه ونقيس شدة اللهب الناتج عن العينة ونحدد هذه الشدة. من ناحية أخرى ، يعد مقياس الطيف الضوئي أداة تحليلية يمكنها قياس تركيز عينة عن طريق قياس امتصاص الضوء. أي أن هذه التقنية تستخدم امتصاص الضوء بواسطة المكونات في العينة. هذا هو الفرق الرئيسي بين مقياس شدة اللهب ومقياس الطيف الضوئي. علاوة على ذلك ، يعمل مقياس الضوء باللهب في النطاق المرئي للأطوال الموجية بينما يعمل مقياس الطيف الضوئي في الضوء المرئي ، بالقرب من الأشعة فوق البنفسجية ، وبالقرب من نطاق ضوء الأشعة تحت الحمراء أيضًا.