فصل مزيج المركبات الفينولية على بعض الأطوار السائلة الثابتة باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز

هبة قيس كمال* , قاسم كاظم الأسدي, سجى صالح جبار***

*قسم الكيمياء, كلية العلوم, جامعة القادسية.

**قسم البيئة, كلية العلوم, جامعة الكوفة.

Email: Qasimk.alasadi@uokufa.edu.iq

Email: Kais_hiba@yahoo.com

Abstract

This study include found the optimization conditions (flow rate of carrier gas, sample injection and column temperature) for separation of mixture phenols and determination on packing column intermediate polarity poly siloxane (OV-17) through using gas-liquid chromatography which is equipped with a flame ionization detector (FID) and the nitrogen (N_2) as carrier gas with flow rate 10ml.min^{-1} at different column temperature ranged 10°C increasment with isothermal temperature system.

Temperature effect on chromatographic behavior were investigated of (phenol, m-aminophenol) on packed column (OV-17), the results obtained showed normal chromatographic behavior through the calculate of thermodynamic parameters ($\Delta H°$, $\Delta S°$, $\Delta G°$) ,as well as the resolution of system through measure of number of a theoretical plate (N) and equivalent highest of one theoretical plate (HETP).

Programming temperature system were used by using gas liquid chromatography equipped with a flame ionization detector and the N_2 as mobile phase with a flow rate 30ml.min^{-1} at different column temperature for separation mixture of phenols compounds such as (p-methoxyphenol, m-nitrophenol, m-aminophenol,o-aminophenol and phenol) on polar liquid stationary phase (DP5-S25) and non-polar capillary column poly siloxane (OV-5). Resolution factor (R_S) of studied mixture on (DP5-S25) and (OV-5) with compared of results and find out of optimum resolution of phenols mixture.

الخلاصة

شملت الدراسة إيجاد الظروف المثلى (سرعة جريان الغاز الناقل، تحديد نوعية الحقن، درجة حرارة العمود) لفصل المركبات الفينولية المدروسة وتقديرها على العمود المعبأ متوسط القطبية متعدد السلوكسين (OV-17) من خلال استخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز-السائل مزود بكاشف التأين أللهبي واستخدام N_2 كغاز ناقل بسرعة جريان 10مل/ دقيقه بمعدل زيادة درجة حرارة عمود 10م° بنظام حراري ثابت. وكما أجريت دراسة للتأثير الحراري على السلوك الكروماتوغرافي للمركبين (m-aminophenol, phenol)على العمود المعبأ (OV-17) وبينت الدراسة ان هناك تصرفاً كروماتوغرافياً اعتيادياً من خلال رسم العلاقة بين لوغاريتم حجوم الاحتجاز النوعية ومقلوب درجات الحرارة المطلقة ومن ثم احتسبت المعطيات الثرموديناميكية ($\Delta G, \Delta S°, \Delta H°$) فضلاً عن قدرة الفصل للنظام من خلال قياس عدد الصفائح النظرية N, و الارتفاع المكافئ لصفيحة نظرية واحدة HETP.

وقد استخدام نظام حراري مبرمج باستخدام كروماتوغرافيا الغاز–سائل مزود بكاشف التأين أللهبي واستخدام غاز النيتروجين كطور متحرك بسرعة جريان30 مل/دقيقة لمختلف درجات حرارة العمود لفصل مزيج من المركبات الفينولية المدروسة-m ,(p-methoxyphenol

nitrophenol, m-aminophenol,o-aminophenol and phenol) على كل من العموديين القطبي (Dp5-S25) والغير قطبي متعدد السلوكسين (OV-5) ،وتم حساب عامل الفصل (Rs) للمزيج المدروس على العمودين(Dp5-S25 , OV-5) وقد قورنت النتائج لإيجاد أفضل فصل لمزيج الفينولات .

الكلمات المفتاحية: كروماتوغرافيا الغاز, ألأطوار الثابتة, المركبات الفينولية, ألفصل, درجة الحرارة.

المقدمة

إن كروماتوغرافيا غاز-سائل تعطي نتائج سريعة لإمكانية الحصول على سريان الغاز بسرعة ودرجة تفريق او انفصال عالية بسبب تماثل وتقارب حزم الإزاحة. ويمكن التعامل مع أوزان عينات اقل من مايكرو غرام، وقد كشف عن كميات ضئيلة بحدود 10^{-10}مولا ري وتتطلب هذه التقنية منظومة محكمة تماماً (باستثناء مخرج الغاز عند النهاية) خلافاً لمنظومة كروماتوغرافيا السائل. إذ يمد الغاز الخامل المجهز من خزان مضغوط خلال منظم أو مجموعة من منظمات الضغط التي تنظم معدل سرعة الجريان. ويتم إدخال العينة إلى حجرة مسخن بواسطة محقنه مايكروية للعينات السائلة، ومن هنا يحمل الغاز الناقل مكونات العينة خلال العمود إلى حيث تفصل وتمر الواحدة تلو الأخرى من خلال المكشاف الذي يرسل إشارة إلى المسجل. ويجهز فرن يمكن تنظيم درجة حرارته للعمود والحقن والمكشاف[1-3].

قام الباحث Liu وجماعته [4] بدراسة عدد من مشتقات حامض الكر بوليك العضوي خلال تأثير المجاميع المعوضة على الحلقة الاروماتية على عملية الفصل وفق تقنية كروماتوغرافيا الغاز وبين تأثير المجاميع الساحبة والدافعة على المركب الفينولي في حجوم الاحتجاز النوعية لهذه المركبات المدروسة.

كما Ali وجماعته[5] في استخدام تقنية كروماتوغرافيا السائل-غاز في تعيين تراكيز الملوثات العضوية لمياه الشرب حيث تم الاعتماد على تقنية التحليل بالطريقة الوزنية والأخرى باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) وكروماتوغرافيا الغاز (GC) وتثبيت الظروف التشغيلية لهاتين التقنيتين ولقد تم تقدير تراكيز هذه الملوثات باستخدام التقنيات المتوفرة وكانت .النتائج للملوثات الهيدروكاربونية في النماذج المقاسة ضمن الحد المسموح به اقل من 0.01ملغم/لتر حسب المواصفات العراقية والعالمية لمياه الشرب. أما ملوثات الفينول فقد وجد حد الاحتجاز في كروماتوغرافيا الغاز17.19دقيقة وعدم كفاءة الطريقة المباشرة في القياس وتم استخدام طريقة الإضافات القياسية (Standard Addition Methods) لتقدير النماذج المختلفة لمياه الشرب وبحدود اقل من 0.0005ملغم/لتر حسب مواصفات الدول الأوربية لعام 1992.

كما قام الباحثان Alasedi and Alkazily [6] بتحليل بعض مشتقات p-cresol بتقنية كروماتوغرافيا الغاز حيث تضمنت الدراسة تأثير درجة الحرارة على السلوك الكروماتوغرافي لبعض المشتقات المحضرة لأصباغ الازو (-4 MePAMP,4-CPAMP,4-OMePAMP,4-NPAMP) على الأطوار السائلة الثابتة منصهر السيليكا (Bp10) وزيبرون (ZB-FFAT) وبولي سيلوكسين(OV-5). بينت الدراسة بان هناك اختلاف في تسلسل خروج المركبات المدروسة اعتمادا على قطبية الأطوار السائلة الثابتة المستخدمة حيث كانت قيم حجوم الاحتجاز النوعي($V°_g$) على الطور الأكثر قطبية الزيبرون(ZB-FFAT) أعلى منها على الطور متوسط القطبية منصهر السيليكا(Bp10) وكانت اقل قيم لحجوم الاحتجاز هي على الطور غير القطبي متعدد السيلوكسين(OV-5).

الجزء العملي

الأجهزة المستعملة

1- جهاز كروماتوغرافيا الغاز مزود بكاشف التأين أللهبي من نـوع: DANI Instruments Solution GC, 2007I-Italian

2- جهاز كروماتوغرافيا الغاز وكاشف التأين أللهبي من نوع:

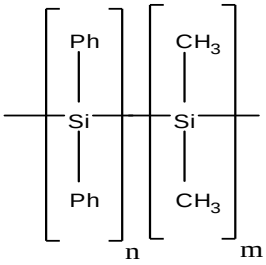
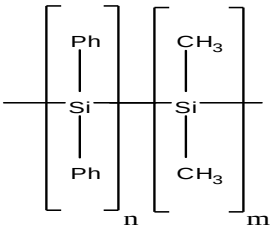
Gas Chromatography, Shimadzu-2014, Japan with Flame Ionization Detector

3- ميزان تحليلي حساس ذو أربع مراتب عشرية: Sensitive balance, SNR Made in Switzerland

4- محقنة هيدروديناميكية (Hydrodynamic Syringe) أحجام مختلفة من نوع (Hamilton 7002 NCH).

الأعمدة المستعملة: Columns

جدول (1-1) الأعمدة المستخدمة مع مواصفاتها

Liquid phase	*Composition*	*Formula*	*Column dimension*	*Max. operation temp.(M.O.T)*	*Polarity*
OV-17	**n=50%diphenyl m=50%dimethyl Polysiloxane**		**3.2mm I.D 0.25µm d.f**	**350C°**	**Medium polar**
Dp5-S25	**2,3di-o-propionyl-6-t-butyl silyl Derivative of γ-cyclodextrin phase**		**0.25mm I.D 0.12µm d.f**	**300C°**	**Polar**
OV-5	**n=5%diphenyl m=95%dimethyl Polysiloxane**		**0.32mm I.D 1.5 µm d.f**	**-60C°-310C° (330)C°**	**Non-polar**

المواد الكيميائية المستعملة

تم استخدام المركبات الفينولية من شركة .Fluka, B.D.H ,G.C.C:

Phenol, p-aminophenol, m-aminophenol, o-aminophenol, m-nitrophenol, p-methoxyphenol

أما المذيبAbsolute Ethanol من شركة Scharlau.

تحضير المحاليل القياسية

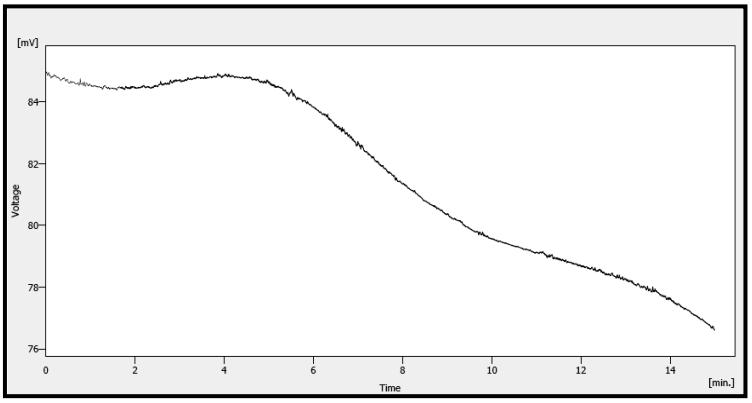
بالنسبة للمركبات المدروسة على العمود المعبأ (OV-17) فقد حضرت منها محاليل قياسية مخففة بتركيز (50ppm) لكل من مادتي(Phenol , m-amino phenol) بصورة منفردة وذلك بإذابة (0.5)mg من كل مركب في بيكر صغير سعة (10)ml بواسطة كمية قليلة من كحول الايثانول المطلق ثم نقل إلى قنينة حجميه سعة (10)ml ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة بواسطة المذيب نفسه. ثم اخذ (2)µl من كل مادة بواسطة محقنه بسعة (10)µl لغرض حقنها في العمود وفي درجات حرارة مختلفة بعد أن تم حقن المذيب لوحدة في البداية.

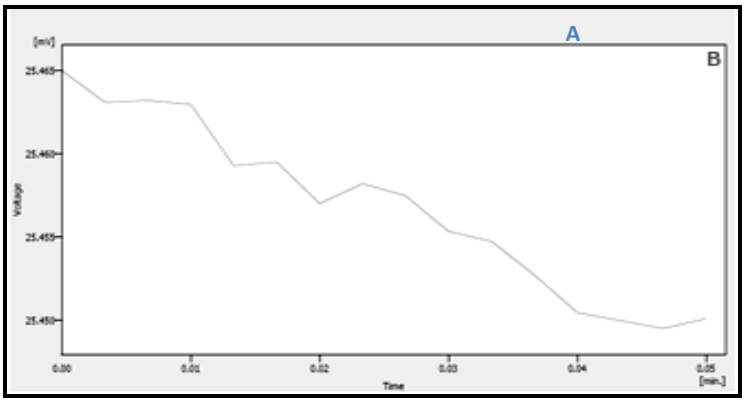
أما بالنسبة للعمودين الشعريين (OV-5 , Dp5-S25) فقد تم تحضير محاليل قياسية مخففة بتركيز (10ppm) للمركبات الفينولية (phenol, o-aminophenol, p-aminophenol, m-aminophenol, m-nitrophenol, p-methoxyphenol) وذلك بإذابة (0.1mg/10ml) كلا على حدة من المادة الصلبة في بيكر صغير سعة (5)ml بواسطة كمية قليلة من كحول الايثانول ثم نقل إلى قنينة حجميه سعة (10)ml ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة بواسطة الكحول نفسه وحضر مزيج من المركبات قيد الدراسة وذلك بمزج (1)ml من كل محلول منفرد في أسطوانة زجاجية ذات غطاء محكم , ثم مزجت جيداً بالرج المستمر لإتمام التذاوب والمزج. تم حقن (5µl) النماذج المحضرة في الجهاز باستعمال محقنه سعة (10)µl حقنت المواد بشكلها الحر في كل عمود وفي درجات حرارية مختلفة اعتماداً على الدرجة الحرارية القصوى لمعرفة تسلسل خروجها وحقنت بشكل مزيج فتبين أن زمن الاحتجاز للمادة بشكلها الحر لا يختلف عنه في حالة المزيج.

النتائج والمناقشة

دراسة الظروف المثلى لتقدير الفينولات:

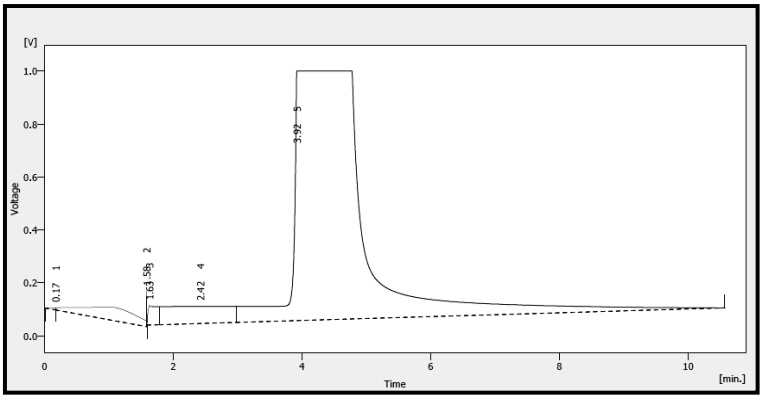
يجب أن يكون للمكون دائماً وقت بقاء معين داخل العمود، هذا الوقت يسمى وقت الاحتجاز او وقت الاسترجاع Retention time هو من المقاييس الأساسية في التشخيص النوعي والذي يعتمد على عدة عوامل منها معدل جريان الطور المتحرك، نوع الطور الثابت، التداخلات بين الطور الثابت والمادة المراد فصلها، درجة حرارة العمود، طول العمود، نوع الطور المتحرك [7، 8] وبما إن الجهاز محدد بالعمود المعبأ (OV-17) وبطول ثابت وتثبيت غاز (N_2) غاز ناقلاً الذي يمتاز بأفضل لزوجة ويفضل استخدامه في مكشاف التأين أللهبي (FID) الذي يعد من أفضل المكشافات حساسية لمعظم المركبات العضوية وإعطائه خطاً أساساً مستقراً Stable base line فضلاً عن عدم امتلاكه للاستجابة نحو H_2O، CO_2 اللذين يعدان من أكثر الملوثات شيوعاً للكاشف. لذا تم التحكم بسرعة الغاز الناقل (Flow Rate of Carrier Gas) ودرجة الحرارة فضلاً عن إلى تغيير سرعة غازي (H_2, Air) وكما موضح في الشكل(1-1) حتى تم الحصول على قمة حادة وذات مساحة كبيرة.[9]





شكل (1-1): يوضح(A) تأثير سرعة الغاز الناقل (N_2) ,
و(B) سرعة الوقود H_2 والمؤكسد Air في شعلة كاشف التأين أللهبيFID.

عندما تكون عملية الحقن بطيئة (مكان الحقن عبارة عن Septum وهو عبارة عن قطعة من التفلون) فإن جزءاً من العينة سيتجمع عند الطرف السفلي للـ Septum والعينة لن تصل إلى العمود دفعة واحدة بل ستصل على شكل دفعات فإذا كان حجم العينة 5µl فأنها ستصل على شكل أجزاء وكما مبين في الشكل (2-1).

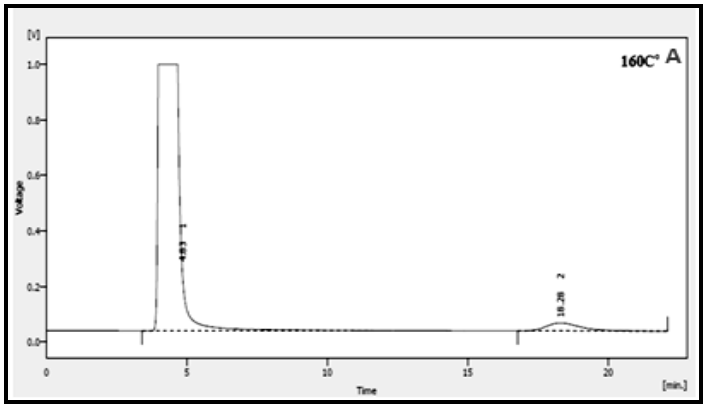


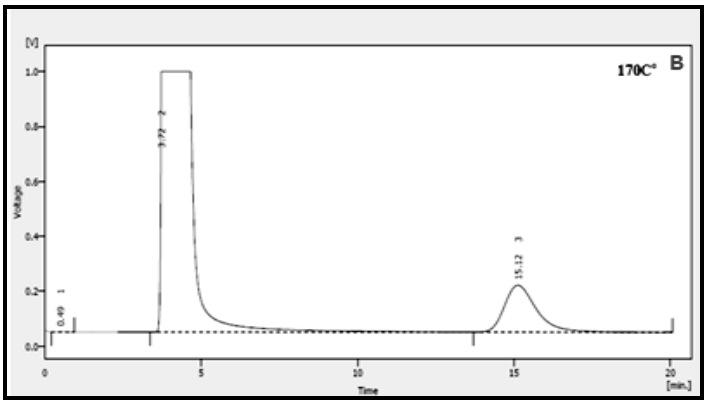
شكل (2-1) :حقن الفينول بصورة بطيئة

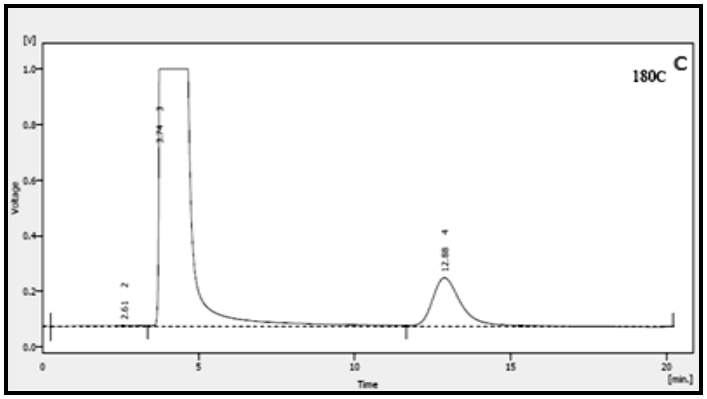
دراسة التصرف الكروماتوغرافي لبعض الفينولات على الطور السائل الثابت من نوع متعدد السلوكسين (OV-17)

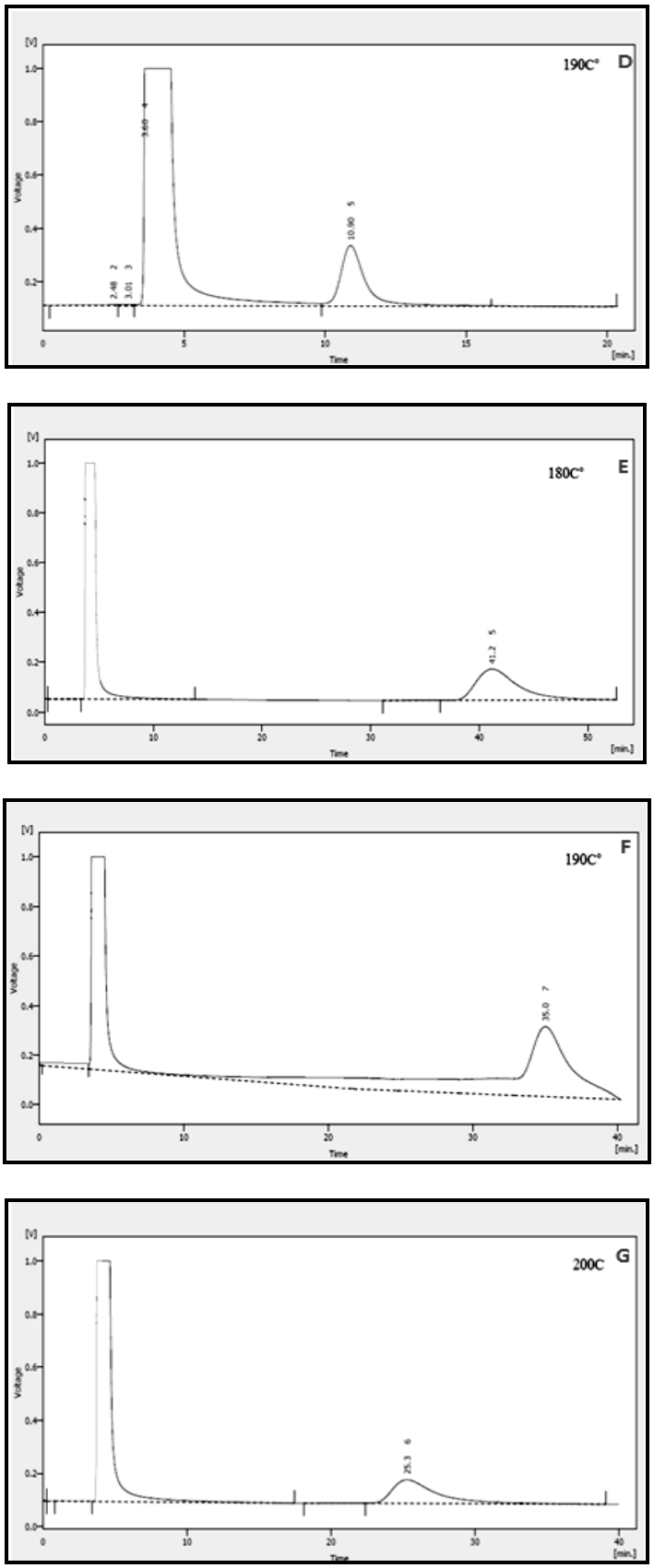
Study of Chromatographic Behavior of Some Phenols on Liquid Stationary Phases of Polysiloxane

أعطى هذا النوع من الأطوار سلوك كروماتوغرافي اعتيادي (Normal Chromatographic Behavior) في درجات حرارية معينة وذلك بسبب النقصان في حجوم الاحتجاز النوعية للمواد قيد الدراسة. نتيجة إضعاف معظم القوى الفيزيائية بين كل من جزيئات المذيب والمواد المذابة.

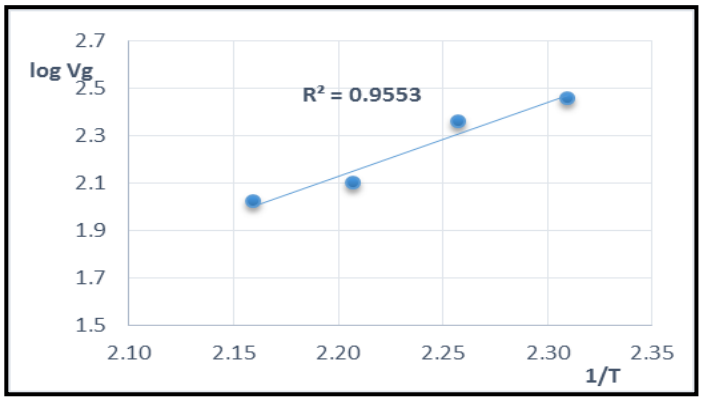




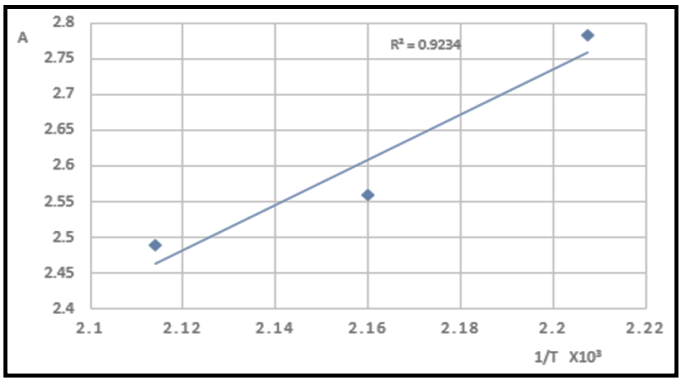




شكل (3-1) :(A,B,C,D) كروماتوغرام مركب Phenol (E,F,G) كروماتوغرام مركب m-aminophenol , في درجات حرارة مختلفة على العمود المعبأ OV-17 .



شكل (1-4) :العلاقة بين لوغاريتم حجوم الاحتجاز النوعية لمركب Phenol مع مقلوب درجات الحرارة المطلقة على العمود (OV-17) عند درجات حرارة مختلفة.



شكل (1-5) :العلاقة بين لوغاريتم حجوم الاحتجاز النوعية لمركبm-aminophenol مع مقلوب درجات الحرارة المطلقة على العمود (OV-17) عند درجات حرارة مختلفة.

جدول (1-2) :يمثل القيم الثرموديناميكية (ΔG,ΔS°,ΔH°) للمركبين phenol,m-aminophenol على العمود المعبأ .OV-17

Compounds	$\Delta H°J.mol^{-1}$	$\Delta S°J.mol^{-1}$	$\Delta G°J.mol^{-1}$
Phenol	-24.99	$14.88*10^{-2}$	-6914
m-aminophenol	-57.1	20.2	-3781

تم حساب الانثالبي المولاري الجزئي للمحلول ($\Delta H_S°$) (Partial Molar enthalpy) للمركبين (m-,Phenol aminophenol) من حساب الانحدارات (Slops) الناتجة من رسم العلاقة بين لوغاريتم حجوم الاحتجاز النوعية (Log $V_g°$) ومقلوب درجات الحرارة المطلقة (1/T) باستخدام معادلة كلاسيوس-كلابيرون (Claucius-Clapeyron) وقانون هنري (Henry) للحصول على المعادلة الاتية [10,11] :

$$\text{Log } V_g° = \frac{-\Delta H_S°}{2.303RT_C}$$

اذ تمثل ($\Delta H_S°$) انثالبي المحلول.

(T_C) درجة الحرارة المطلقة

ان الاستكمال الخطي لرسم العلاقة بين ($Log\ V_g°$) و (1/T) اعطى الميل ($\Delta H_S°/2.303R$) والذي أمكن من خلاله قياس قيمة ($\Delta H_S°$) عند حساب نقطة التقاطع نتيجة الاستكمال الخطي ورسم العلاقة بين ($Log\ V_g°$) و (1/T) وذلك عندما (1/T) تقترب من الصفر وحسب افتراض (meyer) فان نقطة التقاطع او الحد الثابت في المعادلة السابقة تضم قيمة الانتروبي $\Delta S_S°$

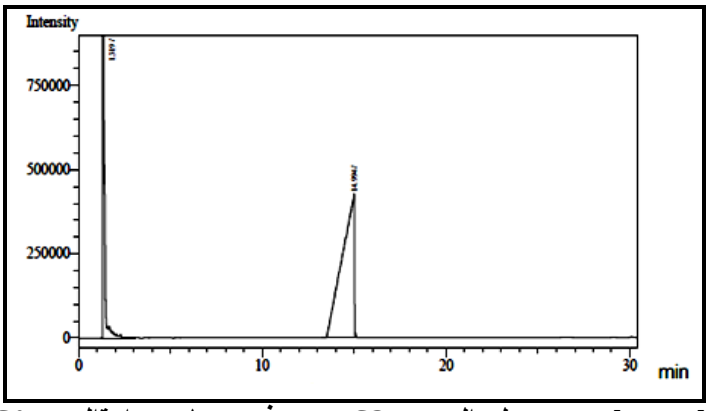
$$Intercipt = \frac{\Delta S_S°}{R} - \ln \frac{M_L}{273R}$$

فصل المركبات المدروسة على الطور السائل الثابت Dp5-S25

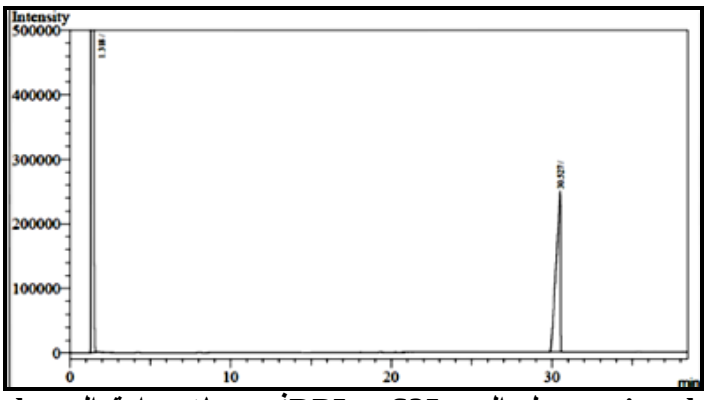
Separation of Study Compounds on Liquid Stationary Phase Dp5-S25

يمتاز هذا الطور بأنه مستقر وغير متطاير في درجات الحرارة العالية، وأنه شامل التطبيق ويمتاز بكونه قطبياً ويحتوي على مجاميع معوضه. وأعطى كل مركب في المزيج المستخدم عند حقنه لوحدة قمة مفردة وحادة، أما في حالة المزيج فقد كان تسلسل خروج المركبات الفينولية تبعا لزمن الاحتجاز لكل مركب فكانت بالآتي :

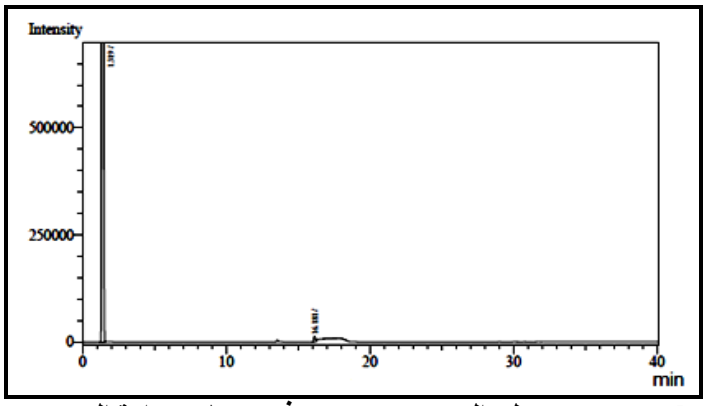
m-nitrophenol < o-aminophenol < phenol< m-aminophenol < p-aminophenol < p-methoxyphenol



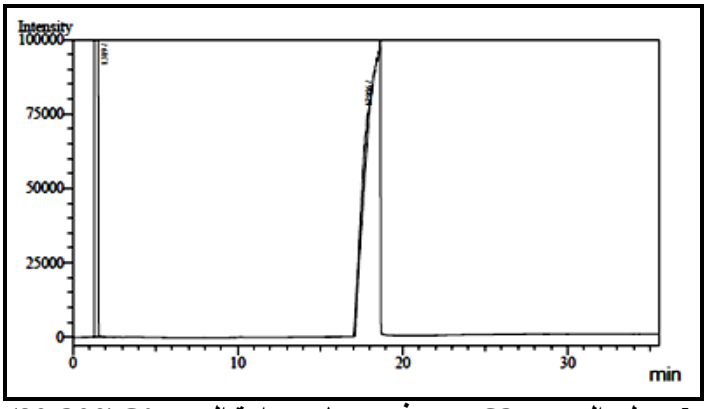
كروماتوغرام المركب p-methoxyphenol على العمود DP5-S25 في درجات حرارةالعمود C°(80-200) بزيادة 2C°/min



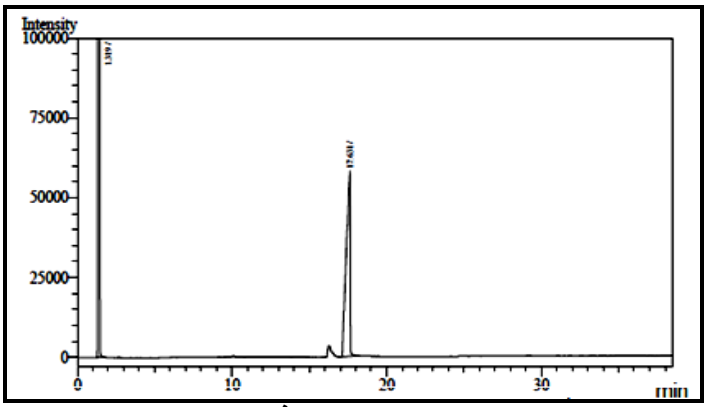
كروماتوغرام المركب o-aminophenolعلى العمودDP5- S25في درجات حرارة العمود m-nitrophenol 2C°/min بزيادة (80-200)c



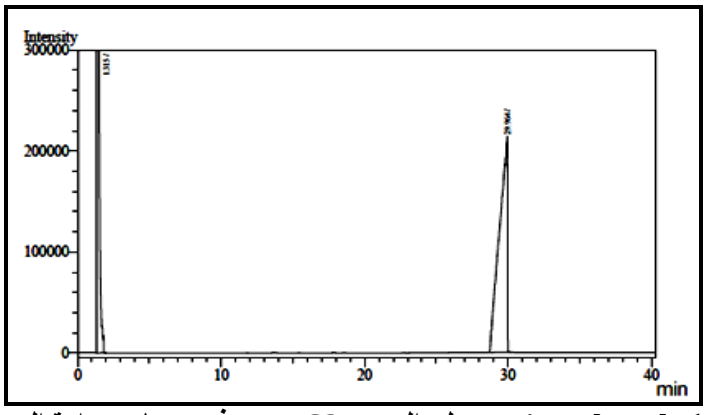
كروماتوغرام المركب p-aminophenol على العمود DP5-S25في درجات حرارة العمود C°(80-200) بزيادة 2C°/min



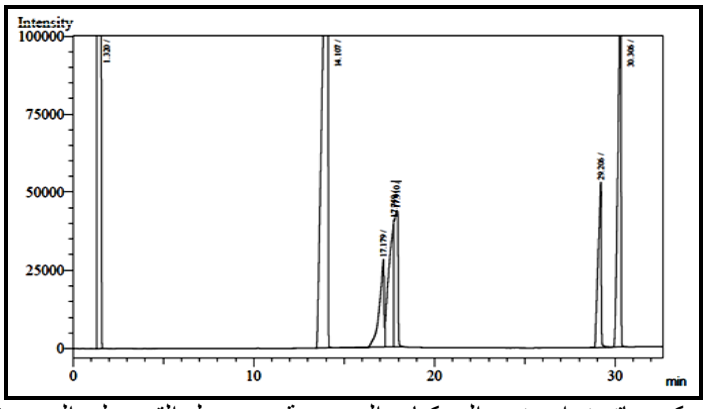
كروماتوغرام المركب Phenol على العمود DP5-S25في درجات حرارة العمود C°(80-200) بزيادة 2C°/min



كروماتوغرام المركب m-aminophenol على العمود DP5-S25في درجات حرارة العمود C°(80-200) بزيادة 2C°/min



كروماتوغرام المركبm-nitrophenolعلى العمودDP5-S25 في درجات حرارة العمود C°(80-200) بزيادة 2C°/min



شكل (1-6) :كروماتوغرام مزيج المركبات المدروسة مع جدول القمم على العمود Dp5-S25 في درجات حرارة العمود المبرمجة C°(80-200) بزيادة 2C°/min.

إن زمن احتجاز المركب p-methoxyphenol .14.1min نتيجة التأثر الضعيف بين المركب والطور السائل وهذا مؤشر على نوع التأثر بين المذاب والمذيب الطور السائل الثابت هو التأثر الفيزيائي عن طريق الترابط الهيدروجيني البيني Inter Hydrogen Bonding مع الطور الثابت.

المركب رقم (2) زمن الاحتجاز.16.18min يعتقد بان التأثر الهيدروجيني بيني مع الطور الثابت وترابط هيدروجيني ضمني داخل ألجزيئه Intra Hydrogen Bonding لكنه ضعيف كون موقع المجموعة المعوضة (بارا) وهو بعيد نوعا ما عن المجموعة (OH).

إن تسلسل خروج المركبات لم تكن وفق وزنها الجزيئي والدليل على ذالك إن المركبات(2,3,4) لها نفس الوزن الجزيئي لكنها بأزمان احتجاز مختلفة أما المركبين(5,6) فان طبيعة المجموعة المعوضة والتفاعل التاثري بين هذه المجموعة في كل مركب وبين الطور السائل الثابت ومدى قطبيته تعكس تسلسل خروجها على الطور القطبي Dp5-S25.

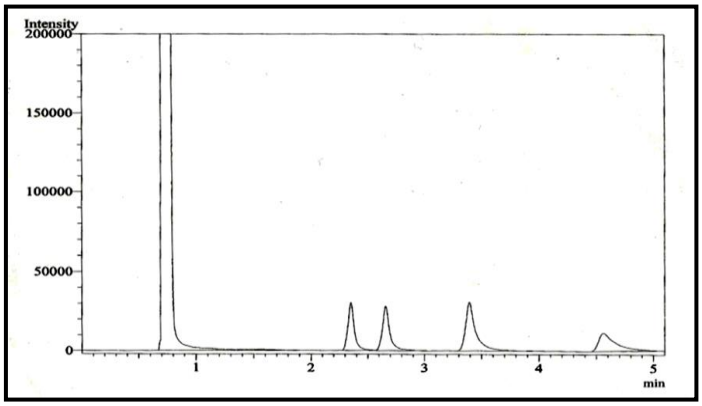
فصل المركبات المدروسة على الطور السائل الثابت OV-5

Separation of Study Compounds on Liquid Stationary Phase OV-5

كان تسلسل خروج المركبات الفينولية وكما مبين في الشكل (6-1) بالآتي:

m-nitrophenol< p-methoxyphenol< p-aminophenol < o-aminophenol < phenol

تمتاز مركبات مشتقات متعدد السلوكسين Polysiloxane liquid stationary phases (OV) باستخدامها الواسع نتيجة مدى القطبية واستقرارها وثبوتيتها في درجات الحرارة العالية. إن الزيادة في قطبية هذه الأطوار : (OV-25 , OV-101 , OV-5 , OV-7 , OV-11 , OV-17 , OV-22) تؤدي إلى زيادة التأثرات ثنائي الاستقطاب - ثنائي الاستقطاب - ثنائي الاستقطاب و ثنائي الاستقطاب المستحث بثنائي الاستقطاب مما يؤدي إلى تقليل التأثرات بين المذاب و المذيب ويبين تسلسل خروج المركبات بأنه كان وفق درجة غليان المركبات, ولم يظهر المزيج قمم حادة مقارنةً بالعمود (Dp5-S25) لكن أزمان احتجاز المزيج بصورة عامة كانت اقل لقلة قطبية الطور السائل الثابت (OV-5).



شكل (7-1) : كروماتوغرام مزيج المركبات المدروسة مع جدول القمم على العمود OV-5 في درجات حرارة العمود المبرمجة °C(270-100) بزيادة 3C°/min.

References

1) Laan S V, Neuber R E, and Meijer H A [2009], *Atmospheric Measurement Techniques Discussions*,2,p1321-1349.
2) Smith C A and Vill F W [2003] *J.Chem*,80,p1023.
3) Haddad P R [2001], *Anal Chem*, 266A,p73.
4) Liu A C Y, Chu C, Chen J L and Liu K T [1999], *Analytical Chimica Acta*,384,p51-62.
5) Ali M K, Kanaoei HG and Abdalstar A A [2009] *J.of Alkufa Uni*.,1(1),p1-7.
6) Alasedi K K and Alkazily W I [2013] *J. of Analytical Techniques.ISSN*:0976-769, 3(1),p19-22.
7) Hinshaw V J [2001], *LCGC*,19,p1056.
8) Heftman E [1983] *J. of Chromatography Library*,22A,Chap.3.
9) Davanko V A [2000] "Retention Parameters in Gas Chromatography", Russian Academy of Sciences, 10.
10) Miller J M [2005] "Chromatography: Concepts and contrasts", 2nd Ed. New York: Willy.
11) Poole C F [2003] "The Essence of Chromatography", Amsterdam, Boston: Elsevier.