



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی

بهرام

معاونت غذا و دارو - آزمایشگاه کنترل مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی

راهنمای آشنایی با دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیفسنجی جرمی (GC-MS)

تهیه کننده : بهروز مصلی نژاد - کارشناسی ارشد آنالیز دستگاهی

اسفند ۱۴۰۳

فهرست مطالب

۱. کروماتوگرافی گازی.....	۱
۲. کروماتوگرافی گازی برای جداسازی چه ترکیباتی مناسب است؟.....	۳
۳. دستگاهوری کروماتوگرافی گازی.....	۴
۳.۱ گاز حامل.....	۴
۳.۱.۱ ویژگی‌های گاز حامل.....	۴
۳.۱.۲ انواع گاز حامل مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۱.۳ منابع تأمین کننده گاز حامل.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۱.۳.۱ ژنراتورها.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۱.۳.۲ سیلندر یا کپسول گازی.....	۷
۳.۲ اتصالات.....	۷
۳.۳ ورودی یا انژکتور.....	۸
۳.۳.۱ انواع انژکتور.....	۱۱
۳.۳.۱.۱ Cool-on-column inlets (non-vaporizing).....	Error! Bookmark not defined.
۳.۳.۱.۲ Split/splitless injector.....	۱۲
۳.۳.۱.۳ Programmed-Temperature Vaporizer (PTV).....	Error! Bookmark not defined.
۳.۴ سرنگ.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۵ آون.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۶ فرول.....	Error! Bookmark not defined.
۷.۳ ستون.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۷.۱ ستون پر شده.....	Error! Bookmark not defined.
۷.۳.۲ ستون‌های موئین.....	Error! Bookmark not defined.
۳.۸ دتکتور.....	۲۱
۳.۸.۱ دتکتور یونیزاسیون شعله.....	۲۲
۳.۸.۲ دتکتور هدایت حرارتی.....	۲۳
۳.۸.۳ دتکتور ربایش الکترون.....	۲۴
۳.۸.۴ دتکتور نیتروژن-فسفر.....	۲۵
۳.۸.۵ دتکتور فوتومتریک شعله.....	۲۶
۴. کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی.....	۲۶
۴.۱ اجزای تشکیل دهنده طیف‌سنجی جرمی.....	۲۷
۴.۱.۱ منبع یونی.....	۲۷
۴.۱.۲ آنالایزر یونی.....	۲۷
۴.۱.۳ دتکتور یونی.....	۲۷
۵. چه عواملی بر کروماتوگرافی گازی تأثیرگذار هستند؟.....	۲۸

۱- کروماتوگرافی گازی

کروماتوگرافی گازی^۱ یکی از مهم‌ترین انواع روش‌های جداسازی مواد به شمار می‌آید که با هدف جدا کردن ترکیبات استفاده می‌شود. همانند دیگر روش‌های کروماتوگرافی، اساس کروماتوگرافی گازی، برهمکنش میان فاز متحرک^۲ (حامل نمونه) و فاز ساکن^۳ است. در این تکنیک، فاز متحرک به صورت گاز است. اما، فاز ساکن می‌تواند به صورت جامد یا مایع باشد. به همین خاطر، نوع کروماتوگرافی گازی می‌تواند براساس ماهیت فاز ساکن تغییر کند.

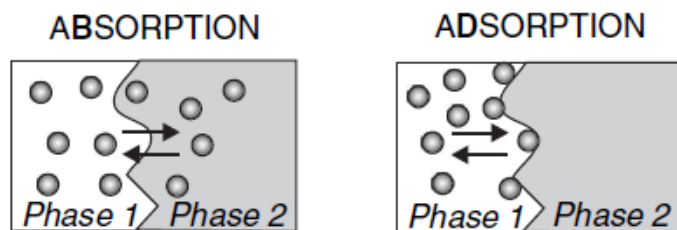
جدول ۱. انواع کروماتوگرافی گازی براساس ماهیت فاز ساکن

نوع کروماتوگرافی گازی	ماهیت فاز متحرک	ماهیت فاز ساکن	نوع برهمکنش نمونه با فاز ساکن
گازی-جامد	گاز	جامد	جذب/واجذب ^۴ سطحی
گازی-مایع	گاز	مایع	تبادل ^۵ میان فاز گازی و مایع

همانطور که در جدول ۱ به آن اشاره شده است، براساس نوع کروماتوگرافی گازی، نوع برهمکنش نمونه (درون فاز متحرک) با فاز ساکن می‌تواند تغییر کند که شامل:

جذب/واجذب سطحی

این نوع برهمکنش فقط در انواعی از روش‌های جداسازی رخ می‌دهد که فاز ساکن آن‌ها جامد است نظیر کروماتوگرافی گازی-جامد. اساس آن، جذب یا اتصال سطحی نمونه (درون فاز متحرک) به فاز ساکن جامد، انجام واکنش و سپس واجذب آن است. تفاوت جذب سطحی (Adsorption) با جذب (Absorption) در این است که در اولی هیچ‌گونه انتقال یا توزیع نمونه بین دو فاز صورت نمی‌گیرد، در حالی که در دومی توزیع نمونه بین دو فاز اتفاق می‌افتد.



شکل ۱. فرآیندهای جذب و جذب سطحی و تفاوت میان آن‌ها.

^۱ Gas chromatography (GC)

^۲ Mobile phase

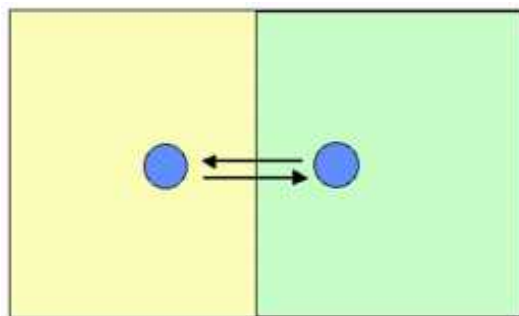
^۳ Stationary phase

^۴ Adsorption/desorption

^۵ Partitioning

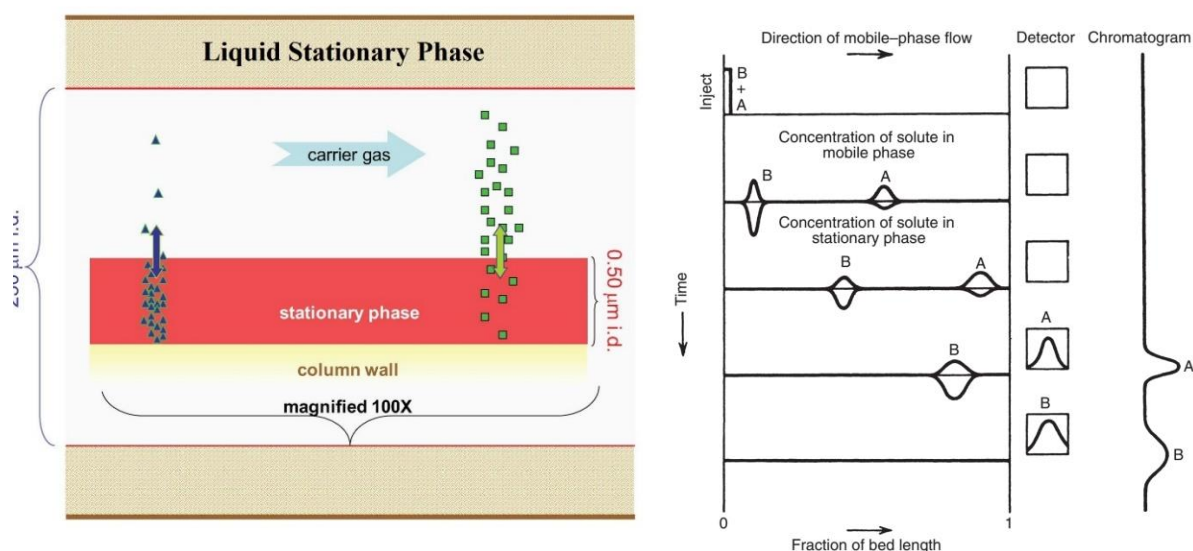
تبادل

در فرآیند تبادل، نمونه بین دو فاز (فاز متحرک و ساکن) توزیع یا تقسیم می‌شود.



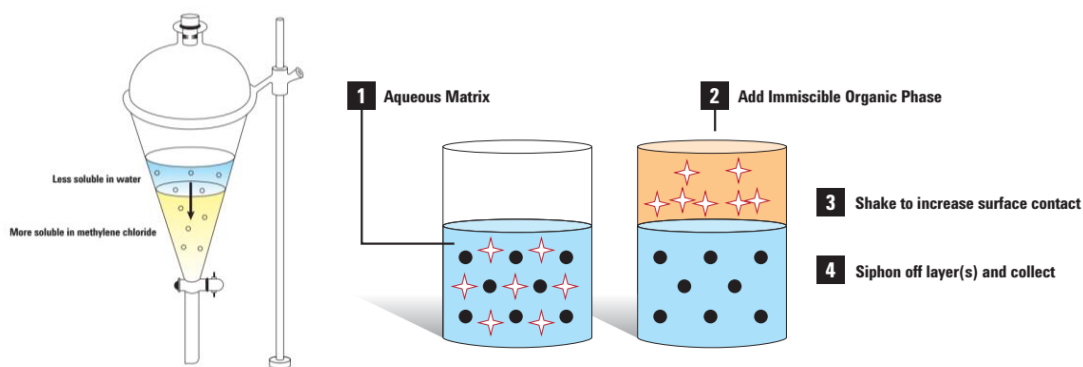
شکل ۲. فرآیند تبادل که در آن نمونه بین دو فاز توزیع یا تقسیم می‌شود.

تبادل نوعی واکنش تبادلی است و فقط در انواعی از روش‌های جداسازی رخ می‌دهد که ماهیت فاز ساکن، مایع است که از نمونه آن‌ها می‌توان به کروماتوگرافی گازی-مایع و نیز استخراج مایع-مایع اشاره کرد.



شکل ۳. (سمت چپ) کروماتوگرافی گازی-مایع و تبادل نمونه‌ها بین فاز متحرک گازی و فاز ساکن مایع و (سمت راست) منحنی یا کروماتوگرام‌های نمونه‌ها.

استخراج مایع-مایع روشی برای جداسازی ترکیبات براساس حلالیت نسبی آن‌ها در دو مایع متفاوت امتزاج ناپذیر در یکدیگر است که معمولاً یکی از آن‌ها آب (با خاصیت قطبی) و دیگری یک حلال آلی (با خاصیت غیرقطبی) است.

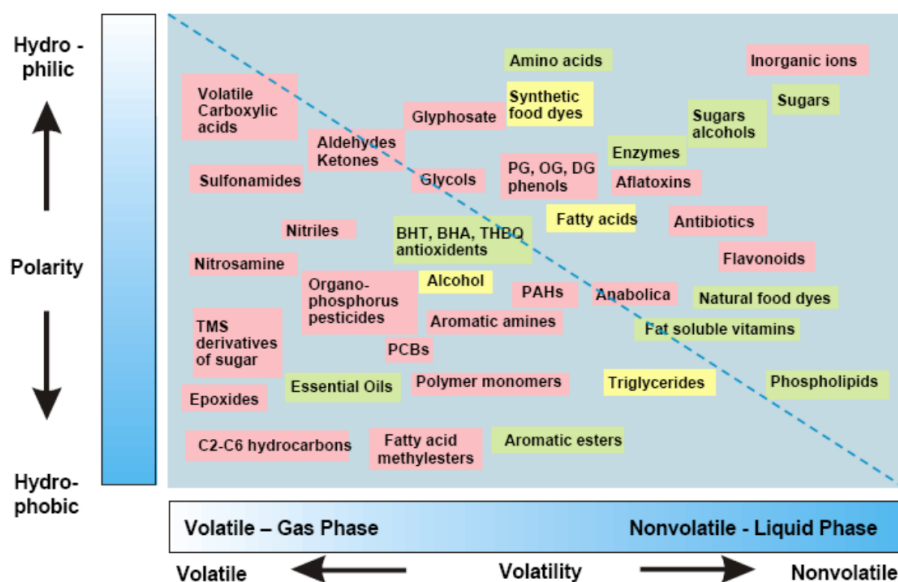


شکل ۴. شمایی از استخراج مایع-مایع با استفاده از قیف جداکننده یا دکانتور.

۲- کروماتوگرافی گازی برای جداسازی چه ترکیباتی مناسب است؟

به طور کلی، ترکیباتی با کروماتوگرافی گازی قابل جداسازی هستند که شرایط زیر را داشته باشند:

- فرار باشند؛ به عبارتی دیگر، فشار بخار بالایی داشته باشند (در دماهای کمتر از ۳۵۰ تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به حالت بخار درآیند).
 - پایداری حرارتی بالایی داشته باشند؛ یعنی، در اثر دمای بالا تجزیه نشده و با ترکیبات دیگر وارد واکنش نشوند.
- قواعد زیر می‌توانند راهنمای خوبی در انتخاب نوع ماده برای کروماتوگرافی گازی باشند:
- قاعده (۱) هرچه قطبیت یک ماده و یا جرم مولکولی آن بیشتر باشد، فرآریت آن کمتر است. وجود گروه‌های عاملی قطبی نظیر آمین‌ها و هیدروکسیل‌ها، قطبیت را افزایش و فرآریت را کاهش می‌دهند.

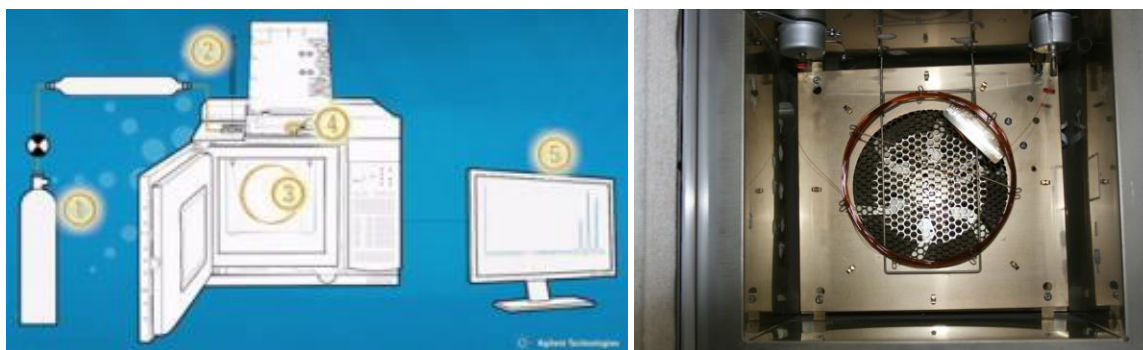


شکل ۵. رابطه بین قطبیت و فرآریت و شناسایی ترکیبات فرار و غیرفرار.

قاعده ۲) تنها بخش کوچکی از ترکیبات (۱۰ تا ۲۰ درصد) قابل جداسازی با کروماتوگرافی گازی هستند. قندها، آمینواسیدها، نمکها، اسیدها و بازهای معدنی قابل جداسازی با تکنیک GC نیستند.

۳- دستگاهوری کروماتوگرافی گازی

دستگاه کروماتوگرافی گازی متشکل از: ۱- منبع گاز حامل (کپسول یا ژنراتور)، ۲- محل تزریق نمونه، ۳- ستون، ۴- آون، ۵- دتکتور و ۶- سیستم قرائت است.



شکل ۶. (سمت راست) دستگاه کروماتوگرافی گازی و اجزای تشکیل دهنده آن شامل ۱) سیلندر گاز (منبع گاز حامل)، ۲) سیستم تزریق نمونه، ۳) ستون (فاز ساکن) و آون، ۴) دتکتور، و ۵) سیستم قرائت. (سمت چپ) نمای درونی از دستگاه GC.

۱-۳- گاز حامل

گاز حامل یا همان فاز متحرک وظیفه انتقال نمونه به ستون و سپس دتکتور را بر عهده دارد.

۱-۱-۳- ویژگی‌های گاز حامل

گاز حامل مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی باید ویژگی‌های زیر را داشته باشد:

- خنثی باشد؛ به عبارتی دیگر، هیچ برهمکنشی با نمونه و نیز فاز متحرک نداشته باشد.
- خشک (فاقد رطوبت) و عاری از اکسیژن باشد تا به ستون آسیبی وارد نشود. برای حذف هرگونه ناخالصی از گاز حامل (نظیر رطوبت، اکسیژن و هیدروکربن‌ها) از کارتریج استفاده می‌شود. این کارتریج‌ها پر شده از مولکولارسیو^۱ (برای زدودن رطوبت) و یا کربن فعال (برای حذف هیدروکربن‌ها و نیز اکسیژن) هستند.

¹ Molecular sieve



شکل ۷. تصویری از کارتريج برای حذف ناخالصی‌ها از گاز حامل.

- از درجه خلوص بالایی برخوردار باشد (عاری از هرگونه ناخالصی نظیر هیدروکربن‌ها باشد).
- مقرون به صرفه باشد.
- از ایمنی بالایی برخوردار باشد.

علاوه بر ویژگی‌های فوق، نفوذپذیری^۱ و ویسکوزیته دو ویژگی دیگر گازهای حامل هستند که نقش مهمی در سرعت فرآیند کروماتوگرافی گازی ایفا می‌کنند:

- نفوذپذیری: سرعت پخش شدن یک نمونه در محیط را بیان می‌کند.
- ویسکوزیته: ویسکوزیته گاز حامل، میزان فشار ورودی مورد نیاز برای رسیدن به سرعت معینی از گاز را تعیین می‌کند.

۲-۱-۳- انواع گاز حامل مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی

گازهای مختلفی به عنوان گاز حامل در کروماتوگرافی گازی مورد استفاده قرار می‌گیرند (جدول ۲) که در میان آن‌ها، هلیوم، نیتروژن و هیدروژن پرکاربردترین هستند.

جدول ۲. گازهای مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی و خواص فیزیکی آن‌ها.

Gas	Abundance in Dry Air (by volume)	Boiling Point (K) at 101 kPa	Gas Viscosity (Pa.s × 10 ⁻⁶) at 0 °C	Relative Diffusivity [†]
Nitrogen	78.1%	77.4	16.7	0.30
Argon	0.93%	87.3	21.0	0.37
Carbon Dioxide	394 ppm	217 K at 523 kPa (triple point)	13.7	0.23
Neon*	18 ppm	27.1	29.4	0.43
Helium	5.2 ppm	4.2	18.7	1.0
Krypton*	1.1 ppm	120	23.3	0.2
Hydrogen	0.6 ppm	20.3	8.40	1.2
Xenon*	0.1 ppm	166.6	21.2	—

*Not commonly used in chromatography.

†Calculated for *n*-octane at 130 °C from the Fuller-Schettler-Giddings equation (2) as cited in reference 3.

¹ Diffusivity

جدول زیر مقایسه ویژگی‌های سه گاز حامل پر کاربرد در کروماتوگرافی گازی را نشان می‌دهد:

جدول ۳. مزایا و معایب گازهای پر کاربرد هیدروژن، نیتروژن و هلیوم.

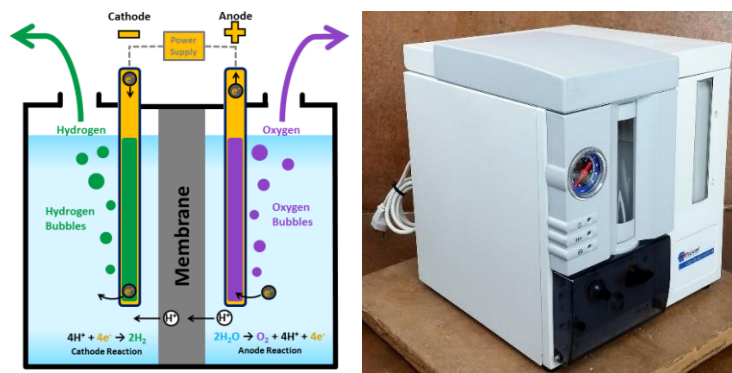
گاز	مزایا	معایب
نیتروژن	ارزان، دسترسی آسان	طولانی بودن زمان کروماتوگرافی
هلیوم	ایمن	گران قیمت
هیدروژن	ارزان، کوتاه‌تر بودن زمان کروماتوگرافی	انفجاری

۳-۱-۳- منابع تأمین کننده گاز حامل

تأمین گاز حامل از طریق سیلندر (کپسول) گاز و یا ژنراتورهای تولید گاز صورت می‌گیرد:

۳-۱-۳-۱- ژنراتورها

برخی از گازهای حامل مورد استفاده در تکنیک کروماتوگرافی گازی از طریق ژنراتورهای گازی تولید می‌شوند. یکی از ژنراتورها، ژنراتور گاز هیدروژن است که عملکرد آن براساس فرآیند "الکترولیز آب" است. در این سیستم، آب دی یونیزه توسط غشای تبادل پروتون^۱ به گازهای هیدروژن و اکسیژن شکسته می‌شود.

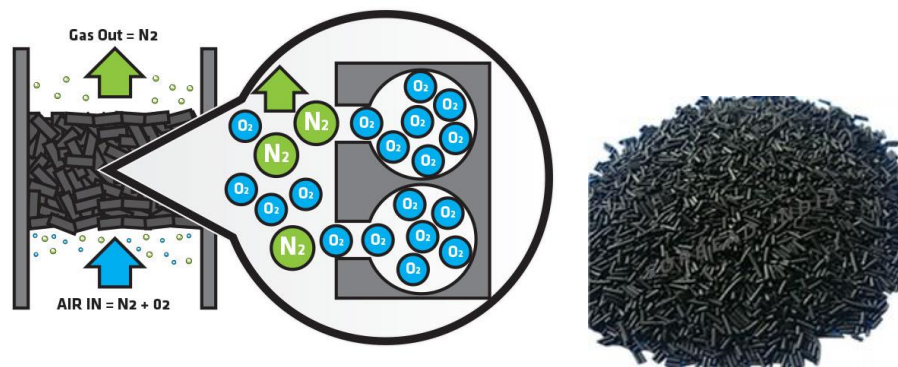


شکل ۸. (سمت راست) فرآیند الکترولیز آب و تولید گاز هیدروژن و (سمت چپ) ژنراتور تولید گاز هیدروژن.

یکی دیگر از ژنراتورها، ژنراتور گاز نیتروژن است. اساس این دستگاه، جذب نوسان فشاری^۲ است، فرآیندی که طی آن از مولکول‌های کربنی برای جداسازی نیتروژن از هوا استفاده می‌شود.

^۱ Proton Exchange Membrane

^۲ Pressure Swing Adsorption



شکل ۹. (سمت راست) فرآیند جذب نوسان فشاری و تولید گاز نیتروژن و (سمت چپ) مولکولارسیوهای کربنی به عنوان جاذب.

۲-۳-۱-۳- سیلندر یا کپسول گازی

یکی دیگر از راه‌های تأمین گاز حامل در کروماتوگرافی گازی، استفاده از سیلندره‌های گازی است. سیلندر، مخزنی فلزی است که گاز را با فشار زیاد درون خود نگهداری می‌کند. برای کاهش فشار گاز ورودی به دستگاه GC از رگلاتور^۱ استفاده می‌شود. گاز درون سیلندر فشار بالایی در حدود ۲۵۰۰ psig دارد. رگلاتور، این فشار زیاد را به یک فشار قابل استفاده در حدود ۲۰ تا ۶۰ psig تبدیل می‌کند.

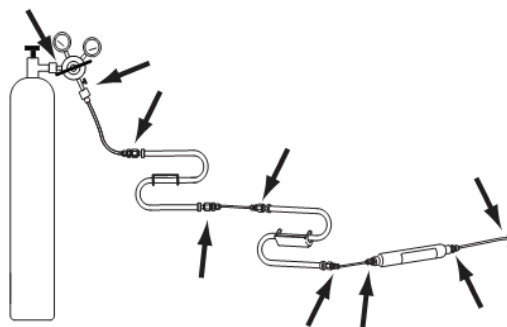


شکل ۱۰. نمایی از یک رگلاتور گازی.

۲-۳-۲- اتصالات

اتصالات یا به عبارتی دیگر، لوله‌های مورد استفاده در تکنیک کروماتوگرافی گازی نباید نسبت به گاز حامل یا گازهای دیگر نظیر اکسیژن نفوذپذیری داشته باشند. لوله‌های غیرفلزی نظیر تفلون و پلاستیک برای این منظور مناسب نیستند، زیرا هم نسبت به گاز نفوذپذیری دارند و هم اینکه تمیز کردن آن‌ها دشوار است. لوله‌های مسی و فولاد ضدزنگ بهترین گزینه برای اتصالات هستند.

^۱ Regulator



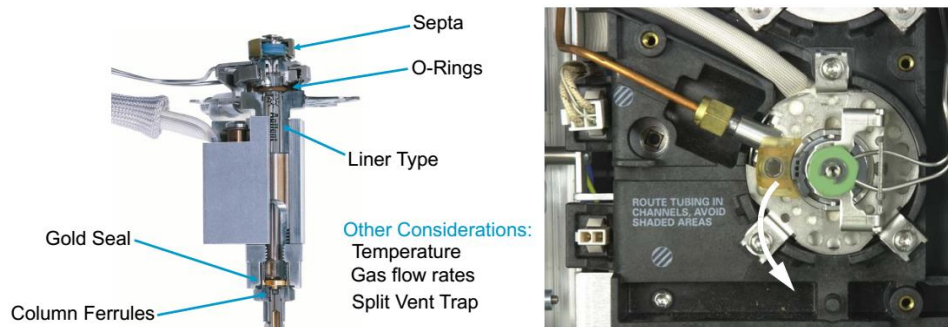
شکل ۱۱. شمایی از اتصالات در کروماتوگرافی گازی.

جدول ۴. نفوذپذیری لوله‌ها با جنس‌های مختلف نسبت به گاز اکسیژن.

جنس لوله	مقدار نفوذپذیری (ppm)
مس	۰
فولاد ضد زنگ	۰
پلی کلروتری فلورو اتیلن (Kel-F)	۰/۶
نئوپرن	۶/۹
پلی اتیلن	۱۱
تفلون	۱۳
لاستیک	۴۰

۳-۳- ورودی یا انژکتور^۱

انژکتور در واقع محل تزریق و ورود نمونه است. با کمک این قسمت، مقدار مشخصی از نمونه وارد ستون می‌شود.



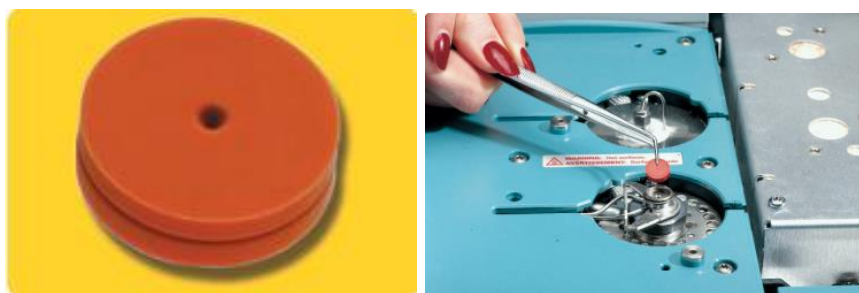
شکل ۱۲. انژکتور در کروماتوگرافی گازی.

^۱ Injector

انژکتور از بخش‌های مختلفی تشکیل می‌شود که شامل:

سپتوم^۱

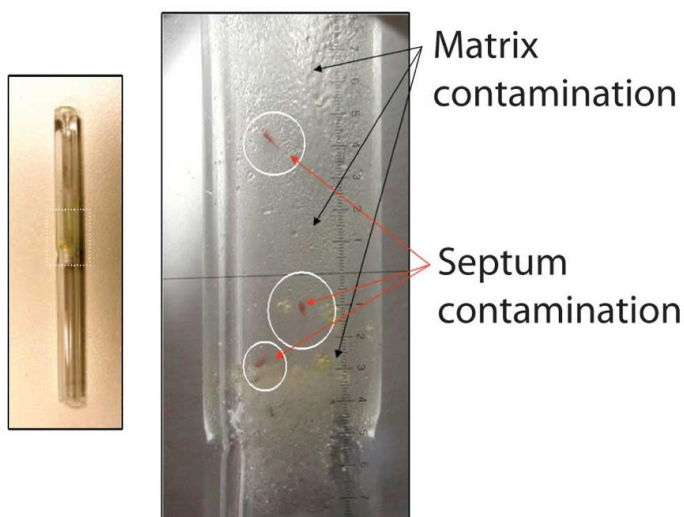
سپتوم، وظیفه مهر و موم کردن ورودی انژکتور برای ممانعت از ورود هرگونه هوا را بر عهده دارد. جنس آن، لاستیک سیلیکونی است که مقاومت زیادی در برابر دما دارد.



شکل ۱۳. نمایی از سپتوم.

سپتوم بایستی به طور مرتب تعویض شود تا:

- از هرگونه نشتی جلوگیری شود.
- باعث ممانعت از هدررفت نمونه شود.
- از ورود بقایای سپتوم و متعاقباً، عواقبی چون دنباله‌دار شدن پیک^۲ جلوگیری شود.



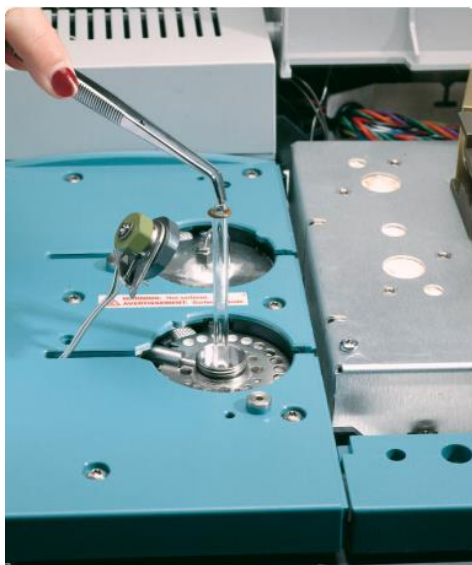
شکل ۱۴. ورود بقایای سپتوم به لاینر و سپس به ستون.

¹ Septum

² Tailing

لینر^۱

لینر، محفظه‌ای برای نگهداری نمونه و سپس، انتقال آن به شکل گازی به ستون است.



شکل ۱۵. نمایی از لینر.

مقدار نمونه‌ای که تزریق می‌شود باید متناسب با حجم لینر باشد تا از پدیده بک فلش^۲ (خروج مازاد نمونه گازی از لینر) جلوگیری شود. بک فلش منجر به دنباله دار شدن و پهن شدگی پیک‌ها می‌شود.

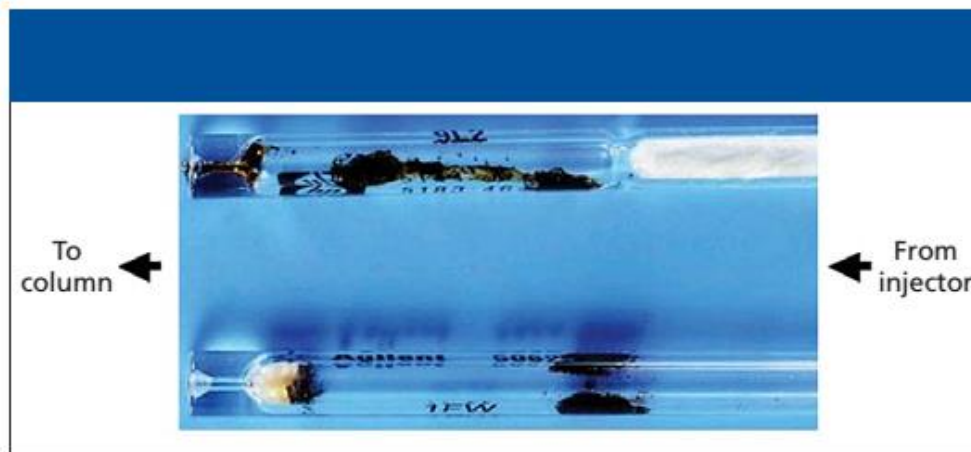
جدول ۵. مقادیر تئوری و مؤثره لینر براساس قطر داخلی.

قطر داخلی لینر (میلی‌متر)	مقدار تئوری (میکرولیتر)	مقدار مؤثره (میکرولیتر)
۱	۵۹	۳۰
۲	۲۳۶	۱۱۸
۳	۵۳۰	۲۶۵
۴	۹۴۲	۴۷۱

گاهی اوقات، در انتهای لینر پشم شیشه قرار داده می‌شود تا از ورود بقایای غیرفرار به ستون جلوگیری شود. پشم شیشه برای مواد فعال نظیر فنول‌ها، آمین‌ها، اسیدهای آلی، سموم و داروها پیشنهاد نمی‌شود، زیرا ممکن است به به طور برگشت‌ناپذیری به پشم شیشه جذب شوند.

¹ Liner

² Backflash

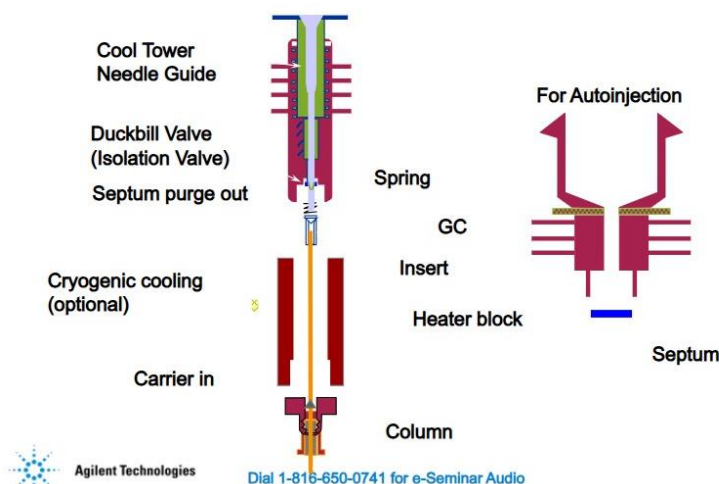


شکل ۱۶. (بالا) لاینر بدون پشم شیشه و بقای برجامانده و (پایین) لاینر با پشم شیشه و جلوگیری از ورود بقایا به ستون. پشم شیشه در انتهای لاینر قرار می‌گیرد.

۱-۳-۳- انواع انژکتور^۱

۱-۳-۳-۱- Cool-on-column inlets (non-vaporizing)

استفاده از این نوع انژکتور به عنوان ساده‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش برای تزریق نمونه به دستگاه GC شناخته می‌شود. همانطور که از نام آن پیداست، هیچ گونه تبخیر نمونه در محفظه ورودی اتفاق نمی‌افتد. با این حال، نمونه حین تزریق خنک می‌شود و اجازه داده می‌شود تا به طور مستقیم وارد ستون شود. پس از تزریق، ورودی (که شامل سر ستون است) همراه با ستون از طریق برنامه‌ریزی دما گرم می‌شود.



شکل ۱۷. نمایی از انژکتور (Cool On-Column Inlets (non-vaporizing))

¹ Injector

مزایا

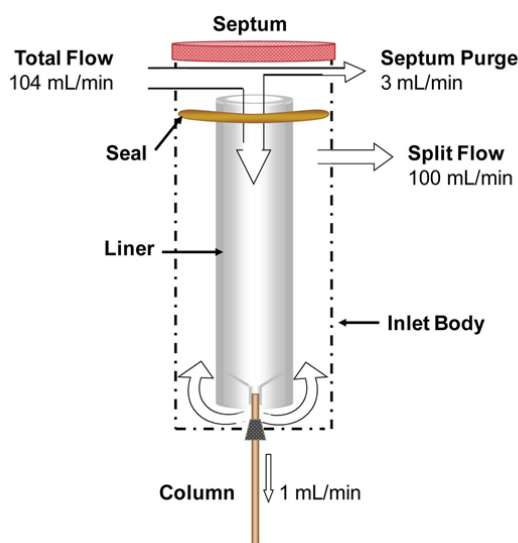
- کل نمونه‌ای که از سوزن سرنگ خارج می‌شود به ستون می‌رسد. از این رو، نمونه‌هایی که از فرآریت کمتری برخوردار هستند و ممکن است در تکنیک Split/Splitless حذف شوند (Sample Discrimination) نیز وارد ستون می‌شوند.
- عدم تغییر ماهیت نمونه
- مشکلات مربوط به فلاش بک از بین می‌رود.
- ایده‌آل برای ترکیبات حساس به حرارت
- قابل استفاده برای ترکیبات با نقطه جوش بالا
- دقت بالا

معایب

- به سرنگی نیاز است که مخصوص انژکتور یا قطر ستون باشد.
- بدترین ورودی برای تمیز نگه داشتن ستون است، زیرا کل نمونه از جمله ماتریکس وارد ستون شده و باعث رسوب‌گیری سریع آن می‌شود.

Split/splitless injector - ۳-۳-۱-۲

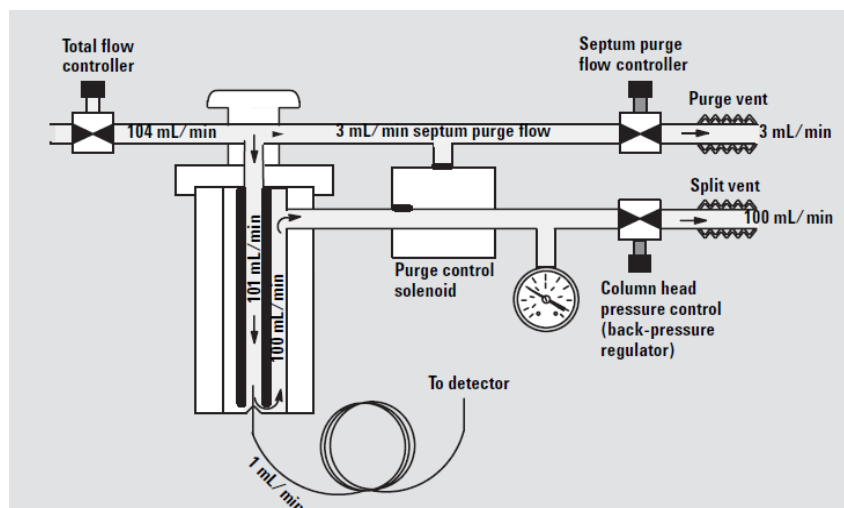
این نوع انژکتور به طور معمول به همراه ستون‌های موئین استفاده می‌شود.



شکل ۱۸. نمایی از انژکتور Split/Splitless

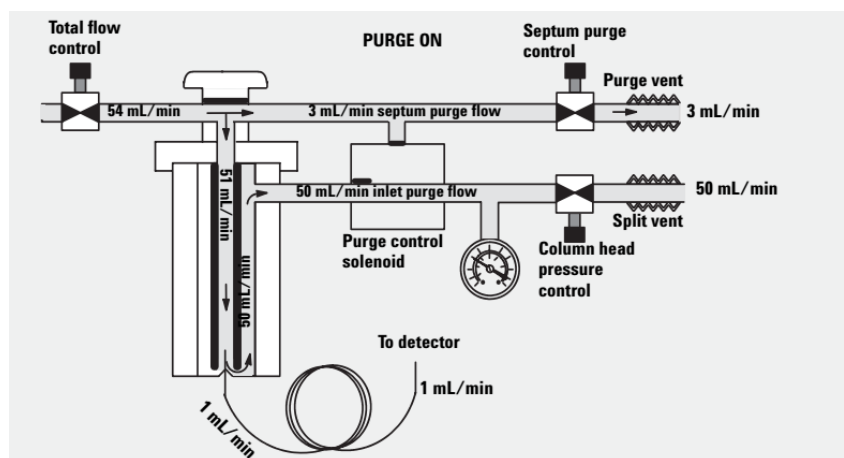
نمونه به صورت مایع (۱/۰ تا ۱ میکرولیتر) توسط سرنگ به درون لاینر شیشه‌ای داغ تزریق می‌شود. یک دریچه قابل تغییر^۱ در خروجی لاینر برای تنظیم حالت‌های split یا splitless در نظر گرفته شده است. انژکتور Split/Splitless برای نمونه‌ها با غلظت‌های بالا یا نمونه‌هایی که قابل رقیق شدن نیستند، مناسب است.

عملکرد انژکتور به گونه‌ای است که در حالت split، شیر در موقعیت باز قرار می‌گیرد و گاز حامل اجازه داده می‌شود تا از لاینر پورت تزریق جریان یابد و از مسیر تخلیه (Split vent line) خارج شود.



شکل ۱۹. نمایی از مکانیسم Split انژکتور

در حالت تزریق Splitless، شیر بسته است و تنها جریان عبوری از لاینر، جریان ستون است.

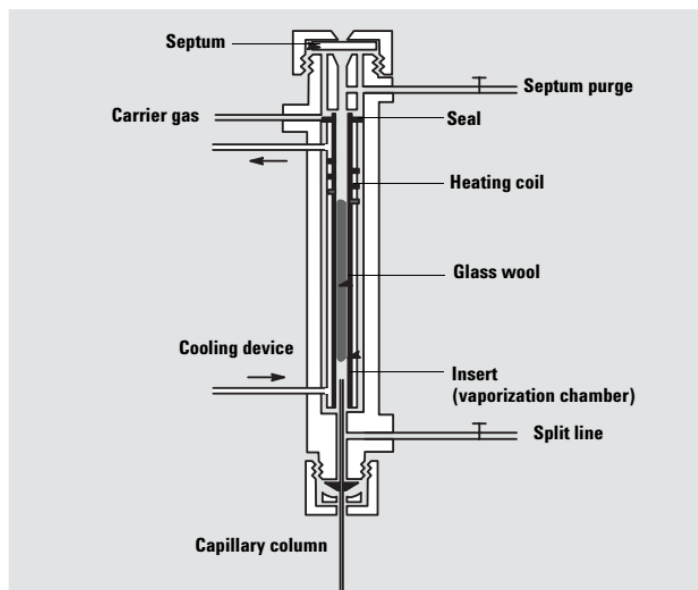


شکل ۲۰. نمایی از مکانیسم Splitless انژکتور

^۱ Switchable vent

۳-۳-۱-۳ Programmed-Temperature Vaporizer (PTV)

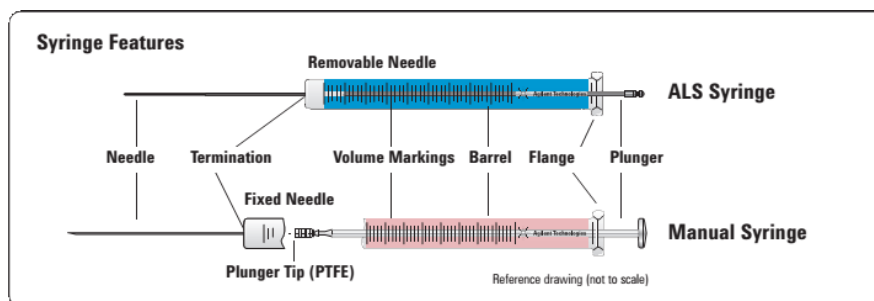
این نوع انژکتور، ترکیبی از دو انژکتور فوق است. نمونه وارد یک لینر خنک شده و سپس دمای انژکتور برای تبخیر نمونه افزایش می‌یابد. این انژکتور به دلیل انعطاف پذیری، عمومی‌ترین سیستم برای تزریق نمونه می‌باشد.



شکل ۲۱. نمایی از انژکتور PTV

۳-۴-۳ سرنگ

سرنگ، ابزاری برای تزریق نمونه به دستگاه می‌باشد. سرنگ‌هایی که برای این هدف استفاده می‌شوند به دو صورت دستی (Manual) و یا خودکار (ALS) هستند.



شکل ۲۲. انواع مختلف سرنگ‌های مورد استفاده در تکنیک GC.

همچنین، براساس نوع نمونه، سرنگی که برای تزریق استفاده می‌شود متفاوت است که شامل:

- Fitted Plunger Syringe: از این نوع سرنگ عموماً برای تزریق مایعات استفاده می‌شود. همانطور که از نام آن پیداست، پیستون این سرنگ تناسب خوبی با دست دارد.
- Gas-tight Syringe: این سرنگ مهروموم خوبی برای نمونه‌های گازی فراهم می‌کند. از این رو، علاوه بر نمونه‌های مایع برای گازی هم قابل استفاده است. جدول زیر، مزایا، معایب و مصارف هر یک از انواع سرنگ‌های GC را نشان می‌دهد:

جدول ۶. مزایا، معایب و کاربردهای هریک از انواع سرنگ‌های کروماتوگرافی گازی.

نوع سرنگ	مزایا	معایب	موارد استفاده
Fitted Plunger (۵) میکرولیتزر	دقیق‌ترین سرنگ برای تزریق‌های ۱ میکرولیتری	(۱) پیستون نازکی دارد و احتمال خم شدگی آن بالاست. (۲) مناسب برای نمونه‌های ویسکوز نیست. (۳) پیستون قابل تعویض نیست.	تزریق‌های ۱ میکرولیتری نمونه‌های تمیز و عاری از آلودگی آنالیزهای روتین
Fitted Plunger (۱۰) میکرولیتزر	✓ اقتصادی‌ترین ✓ احتمال خم شدگی آن پایین است. ✓ قابل استفاده برای نمونه‌های ویسکوز	(۱) تنها برای تزریق‌های یک میکرولیتری و بیشتر قابل استفاده است. (۲) پیستون قابل تعویض نیست.	مصارف معمول و روتین نمونه‌های تمیز و عاری از آلودگی
Gas-tight (۱۰) میکرولیتزر	✓ دارای پیستون قابل تعویض است که باعث کاهش هزینه‌ها می‌شود. ✓ نسبت به Fitted خم شدگی کمتری دارد. ✓ مهروموم عالی میان پیستون و بدنه استوانه‌ای شکل	(۱) گران قیمت‌تر نسبت به Fitted (۲) در سایز ۵ میکرولیتزر موجود نیست.	نمونه‌های آلوده نمونه‌های گازی و فرار نمونه‌های واکنش‌پذیر

نکات پیرامون سوزن سرنگ

- نوک سرنگ باید به صورت مخروطی (نه تیز) باشد تا از آسیب به سپتوم جلوگیری شود.
- سایز سوزن سرنگ باید متناسب با نوع انژکتور باشد.
- برای افزایش عمر سرنگ، آن را قبل و بعد از استفاده بشوئید و پیستون آن را تمیز کنید.

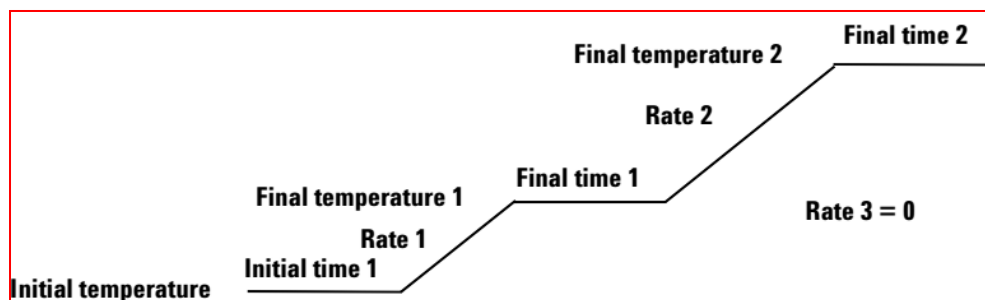
- بین هر تزریق، سرنگ را ۵ تا ۸ بار شستشو دهید تا از انتقال نمونه‌های قبلی جلوگیری شود.
- برای افزایش دقت، حداقل نمونه را ۵ بار به داخل و خارج از سرنگ پمپاژ کنید تا هرگونه حباب از بین رود.
- در صورتی که نمونه داخل سرنگ نیست (سرنگ به صورت کاملاً خشک است)، هرگز پیستون آن را نچرخانید.

۵-۳-آون

نقش آون، حرارت دهی نمونه است. حرارت دهی به دو صورت انجام می‌شود:

۱- ایزوترمال^۱: دما در طول جداسازی ثابت است.

۲- برنامه‌ریزی دمایی^۲: دما در طول فرآیند جداسازی با نرخ‌های مختلف تغییر می‌کند.



شکل ۲۳. نمونه‌ای از برنامه‌ریزی دمایی.

۶-۳-فرول^۳

فرول درواقع نوعی اتصال دهنده میان انژکتور و ستون و یا ستون و دتکتور است. فرول با ایجاد مهر و موم از هرگونه نشتی جلوگیری می‌کند. این اجزا در جنس‌های مختلف (گرافیتی و یا ترکیبی از گرافیت و پلی ایمید) و نیز ابعاد مختلف عرضه می‌شود.



شکل ۲۴. تصویری از فرول.

^۱ isothermal

^۲ Temperature Programming

^۳ Ferrules

۷-۳- ستون

ستون، محل برهمکنش میان نمونه درون فاز متحرک با فاز ساکن است، جایی که عمل جداسازی انجام می‌شود.

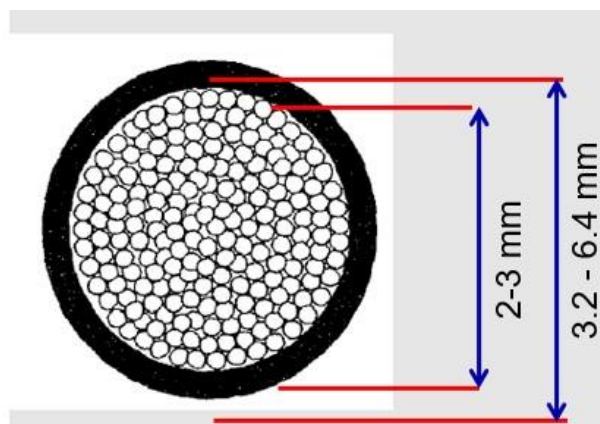


شکل ۲۵. از چپ به راست: ستون پر شده از جنس شیشه، ستون پر شده از جنس فولاد ضدزنگ و ستون موئین از جنس سیلیس گداخته^۱.

ستون مورد استفاده در تکنیک کروماتوگرافی گازی به دو صورت زیر می‌باشد:

۱-۷-۳- ستون پر شده^۲

ستون‌های پر شده، همانطور که از نامشان پیداست، لوله‌ای پر شده از ذرات هستند.



شکل ۲۶. تصویری از ستون پر شده با قطر داخلی ۲ تا ۳ میلی‌متر و قطر خارجی ۳/۲ تا ۶/۴ میلی‌متر.

^۱ Fused silica

^۲ Packed column

ویژگی‌های ستون‌های پر شده به صورت زیر است:

جدول ۷. ویژگی‌های ستون‌های پر شده

ویژگی‌های ستون‌های پر شده	
جنس ستون	شیشه (عمدتاً)، فولاد ضد زنگ، مس
طول ستون	۱ تا ۳ متر
قطر خارجی	۳/۲ تا ۶/۴ میلی‌متر
قطر داخلی	۲ تا ۳ میلی‌متر

فاز ساکن در ستون پر شده یا به صورت ذرات جامد جاذب هستند که به این نوع جداسازی، کروماتوگرافی گازی-جامد (جدول ۱) گفته می‌شود یا ذرات غیر فعالی (سپورت^۱) هستند که توسط یک مایع غیر فرار پوشش داده شده‌اند. در این حالت، جداسازی از نوع کروماتوگرافی گازی-مایع است. ذرات پر کننده ستون‌های پک در قطر و مش‌های مختلفی عرضه می‌شود که در جدول زیر به آن‌ها اشاره شده است:

جدول ۸. قطر و اندازه مش ذرات پر کننده.

قطر (میلی‌متر)	اندازه مش (مش)
۰/۱ تا ۰/۱۲۵	۱۲۰ تا ۱۴۰
۰/۱۲۵ تا ۰/۱۵	۱۰۰ تا ۱۲۰
۰/۱۵ تا ۰/۲۵	۶۰ تا ۱۰۰

جنس ذرات سپورت و نیز مایع غیر فراری که اطراف آن‌ها را پوشش می‌دهد می‌تواند متفاوت باشد:

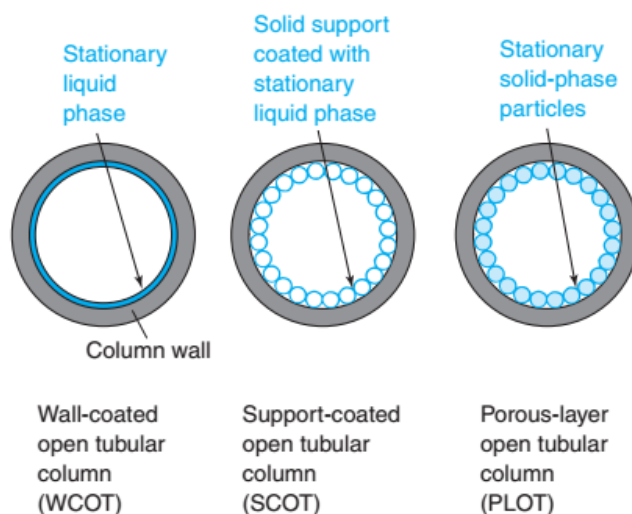
جدول ۹. انواع جنس‌های جاذب و سپورت.

سپورت	Chromosorb W (ساخته شده از خاک دیاتومه)، Chromosorb P (ساخته شده از خاک دیاتومه)
جاذب جامد (معدنی)	آلومینا، سیلیکاژل، مولکولارسیوهای ژئولیتی
جاذب جامد (کربنی)	مولکولارسیوهای کربنی و کربن بلک‌های گرافیتی شده

¹ Support

(SCOT).

۳- دیواره درونی ستون توسط جاذب‌های جامد پوشانده شده است (PLOT).

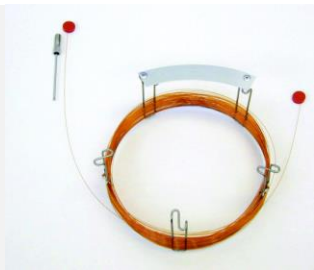


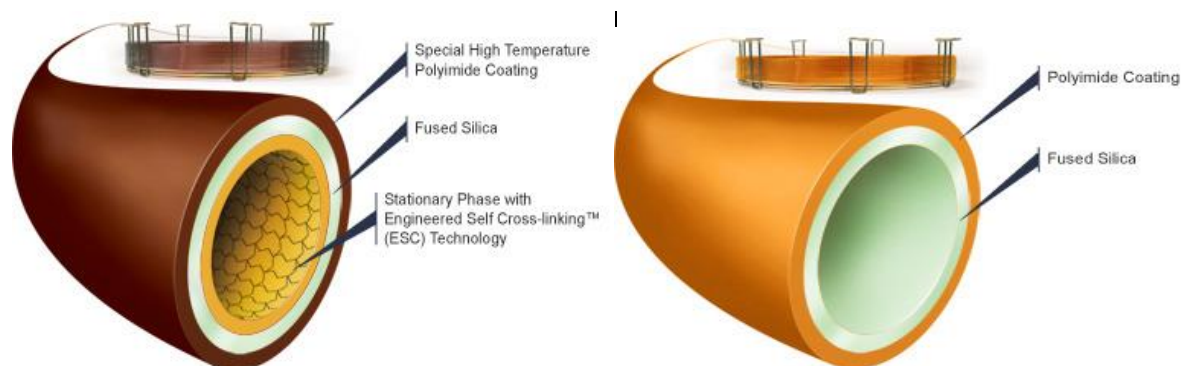
شکل ۲۹. انواع فاز ساکن در ستون‌های موئین.

جنس ستون‌های موئین

لوله ستون‌های موئین به طور معمول از سیلیکای گداخته و یا فولاد ضدزنگ ساخته می‌شوند که هر کدام ویژگی‌های مخصوص به خود را دارند:

جدول ۱۰. انواع و ویژگی‌های جنس ستون‌های موئین.

تصویر	ویژگی‌ها	نوع ستون
	سطح خارجی سیلیکا توسط یک لایه پلی‌ایمیدی پوشانده شده است. سطح درونی لوله، فاز ساکن قرار دارد.	سیلیکای گداخته
	برای مصارفی که نیاز به اعمال دمای زیاد به ستون است. پایین بودن احتمال شکسته شدن ستون درون لوله ممکن است از سیلیکای گداخته استفاده شود.	فولاد ضدزنگ



شکل ۳۰. نمایی از (راست) ستون موئین WCOT و (چپ) SCOT.

همانطور که بیان شد، فاز ساکن در ستون‌های موئین به سه صورت موجود هستند. فاز متحرک در این نوع ستون‌ها عمدتاً پلیمر هستند که از نمونه‌های آن می‌توان به پلی سیلوکسان‌ها^۱ و پلی اتیلن گلیکول‌ها اشاره کرد.

۸-۳- دتکتور^۲

دتکتور یا آشکارساز وظیفه شناسایی اجزای جداسازی شده توسط ستون را برعهده دارد. دتکتورها انواع مختلفی دارند.

جدول ۱۱. انواع دتکتورهای مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی.

Name	Acronym	Type of Response	Detected Species	Response Characteristic	Destructive	LOD	Dynamic Range	Linear Range	Selectivity
Flame Ionization Detector	FID	universal to C	carbon	mass	Y	10^{-12} g C/sec	10^7	10^7	na
Thermal Conductivity Detector	TCD	universal	thermal conductivity	concentration	N	10^8 g/mL	10^5	$<10^5$	na
Nitrogen/Phosphorus Detector, Thermionic Detector	NPD	selective	nitrogen or phosphorus	mass	Y	10^{-12} g N/sec	10^8	10^8	25000 N vs C 75000 P vs C
Flame Photometric Detector	FPD	selective	phosphorus or sulfur	mass	Y	10^{-13} g P/sec 10^{-12} g S/sec	10^4 10^3	10^4 for P non-linear S	10^6 P vs C 10^6 S vs C
Electron Capture Detector	ECD	selective	electronegative groups such as halogens, oxygen containing-groups	concentration	N	10^{-14} g/mL	10^5	10^4	up to 10^6 vs C depending on type and number of halogens
Chemiluminescence Detector	SCD NCD	selective	sulfur nitrogen	mass	Y	10^{-12} g S/sec 10^{-12} g N/sec	10^5 10^5	$>10^4$ $>10^4$	10^7 S vs C
Photo-ionization Detector	PID	selective	ions of photo dissociated compounds	mass	N	10^{-12} g/sec	10^7	10^6	∞ against compounds with ionization potentials higher than source energy
Atomic Emission Detector	AED	both	atomic emission	mass	Y	10^{-12} to 10^{-10} g/sec	$10^3 - 10^4$	$10^3 - 10^4$	$10^3 - 10^4$ vs C
Mass Selective Detector, Mass Spectrometer	MSD	both	ionized molecular fragments	mass	Y	10^{-13} g	10^6	10^6	∞ for ions outside mass resolution window
Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer	ICP-MS	both (universal if measuring carbon)	ionized atoms	mass	Y	10^{-14} g/sec	10^6	10^5	∞ outside mass resolution window
Electrolytic Conductivity Detector	ELCD	selective	halogens	mass	Y	10^{-15} g/sec	10^6	10^5	$10^5 - 10^6$ vs C
Infrared Detector	IR	both	molecular vibrations	concentration	N	10^{-8} g/mL	10^5	10^4	$10^2 - 10^4$ depending on functional group

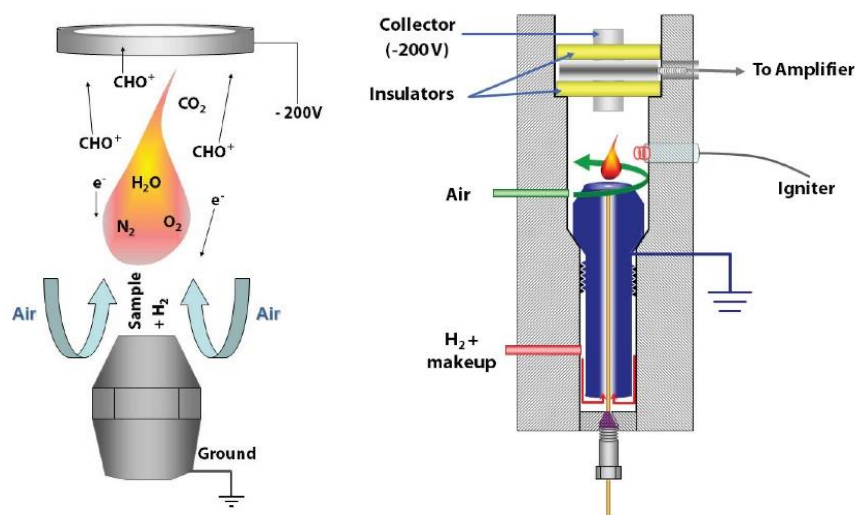
¹ Polysiloxanes

² Detector

برخی از آن‌ها به صورت عمومی^۱ هستند و تمام یا بخش عمده‌ای از گونه‌ها را شناسایی می‌کنند و برخی دیگر به صورت گزینش‌پذیر^۲ هستند و تنها به گونه‌های خاصی پاسخ می‌دهند. دتکتورها همچنین می‌توانند مخرب^۳ یا غیرمخرب باشند. دتکتورهای مخرب، همانطور که از نامشان پیداست، باعث تخریب نمونه می‌شوند.

۱-۸-۳- دتکتور یونیزاسیون شعله^۴

دتکتور FID یکی از دتکتورهای عمومی یا یونیورسال است که عمدتاً برای شناسایی گونه‌های کربنی استفاده می‌شود. ترکیباتی مثل گازهای نجیب، آمونیاک، آب، اکسیژن، نیتروژن، کربن دی اکسید و کربن مونواکسید قابل شناسایی با این نوع آشکارساز نیستند. برای تولید شعله، از یک سوخت (نظیر هیدروژن) و یک اکسیدان (هوا) استفاده می‌شود.



شکل ۳۱. نمایی از دتکتور یونیزاسیون شعله.

۲-۸-۳ دتکتور هدایت حرارتی^۵

پراستفاده‌ترین آشکارساز در کروماتوگرافی گازی که اساس آن، تغییر در هدایت حرارتی (توانایی یک ماده در هدایت حرارت) اجزاء است. هدایت حرارتی گاز حامل (فاقد نمونه) به صورت یک سیگنال ثابت است. وجود بخارات اجزای مختلف در گاز حامل تغییراتی را در هدایت حرارتی متناسب با مقدار آن‌ها ایجاد می‌کند. این موضوع باعث ایجاد تغییراتی در مقاومت فیلامنت می‌شود که مقدار آن اندازه‌گیری می‌شود.

¹ Universal

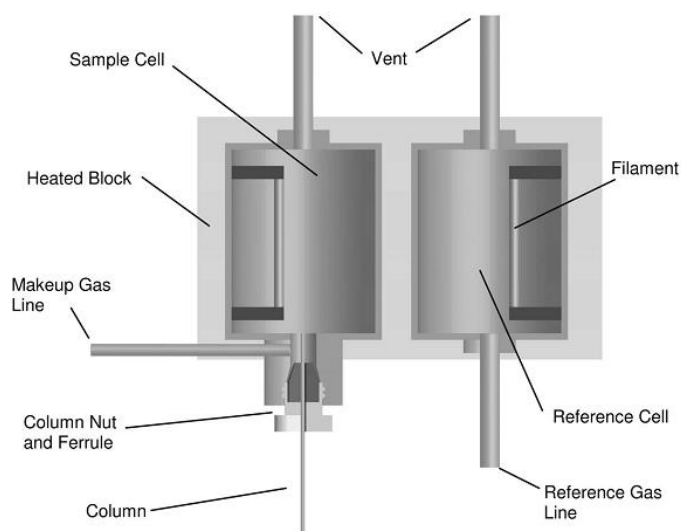
² Selective

³ Destructive

⁴ Flame Ionization Detector (FID)

⁵ Thermal Conductivity Detector (TCD)

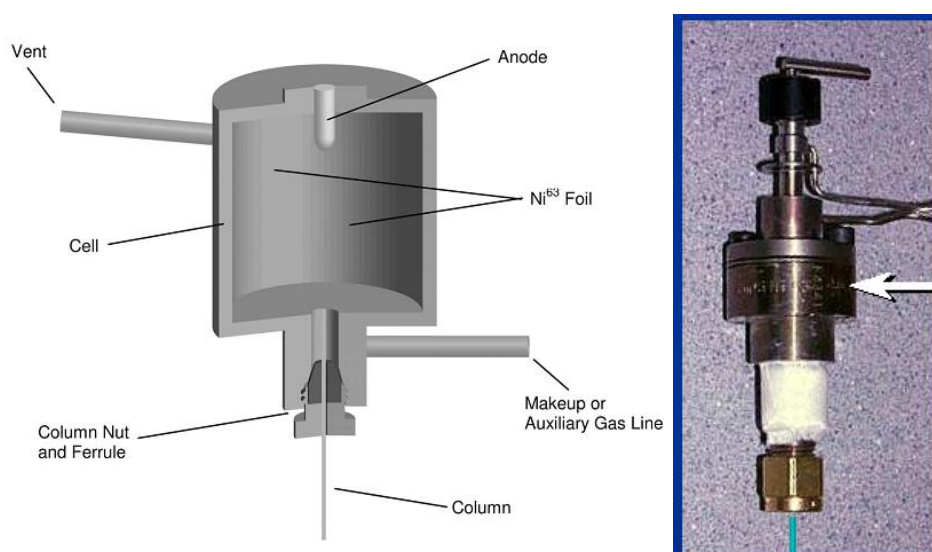
همانند دتکتور یونیزاسیون شعله، دتکتور هدایت حرارتی عمومی یا یونیورسال است و معمولاً در شرایطی که دتکتور FID قابل استفاده نیست از آن استفاده می‌شود.



شکل ۳۲. دتکتور هدایت حرارتی و اجزای تشکیل دهنده آن.

۳-۸-۳ دتکتور ربایش الکترون^۱

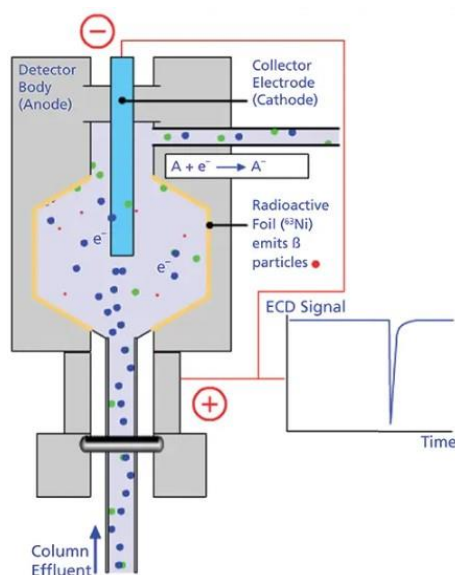
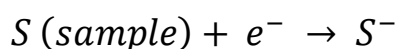
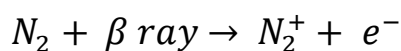
دتکتوری گزینش پذیر که برای شناسایی اتم‌ها و گروه‌های عاملی الکترونگاتیو (قدرت جذب کنندگی بالای الکترون) نظیر هالوژن‌ها و گروه‌های عاملی که حاوی اکسیژن هستند، استفاده می‌شود.



شکل ۳۳. (راست) اجزای تشکیل دهنده دتکتور ربایش الکترون و (چپ) تصویری از آن.

^۱ Electron Capture Detector (ECD)

مکانیسم عملکردی این آشکارساز به گونه‌ای است که در مرحله اول، الکترون‌های آزاد شده توسط فویل ^{63}Ni با گاز آرایش^۱ نیتروژن (گاز آرایش گاز نیست که برای انتقال گونه‌های یونیزه شده استفاده می‌شود) تولید الکترون‌های بی‌شماری می‌کند. این الکترون‌ها توسط گونه‌های الکترونگاتیو نمونه جذب شده که این موضوع باعث تغییر در جریان می‌شود. همانطور که در روابط زیر پیداست، تکنیک ربایش الکترون یک تکنیک غیرمخرب است، یعنی باعث تخریب نمونه نمی‌شود.

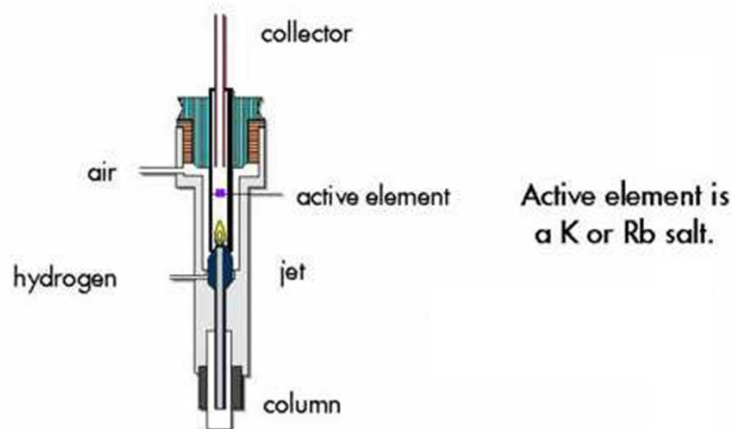


شکل ۳۴. شمایی از مکانیسم عملکردی آشکارساز ECD.

۴-۸-۳ دتکتور نیتروژن-فسفر

دتکتور نیتروژن-فسفر یکی دیگر از آشکارسازهای گزینش‌پذیر است که برای شناسایی گونه‌های حاوی نیتروژن و فسفر استفاده می‌شود. عملکرد دتکتور نیتروژن-فسفر برپایه اندازه‌گیری هدایت الکترونیکی شعله در حضور نمک فلز قلیایی و تغییرات آن ناشی از حضور نیتروژن یا فسفر در ترکیبات وارد شده به آشکارساز است.

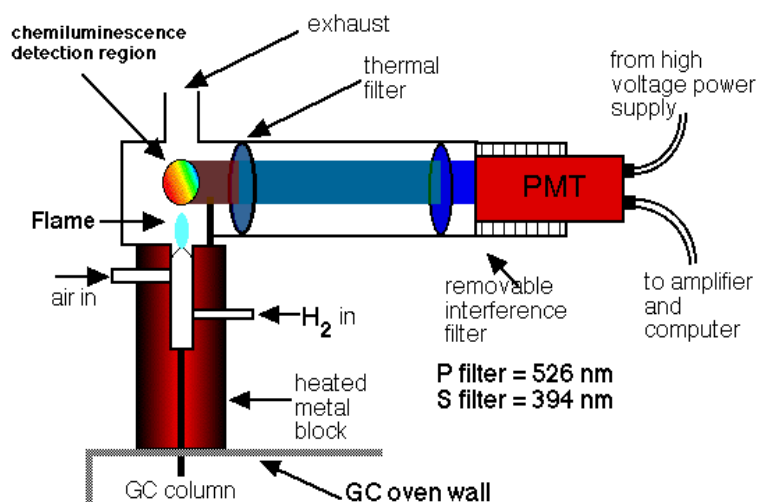
^۱ Makeup



شکل ۳۵. تصویری از آشکارساز نیتروژن-فسفر.

۵-۸-۳ دکتور فوتومتریک شعله^۱

دکتور فوتومتریک شعله برای شناسایی ترکیبات حاوی فسفر و نیز سولفور (گوگرد) استفاده می‌شود. نمونه درون یک محفظه احتراق توسط شعله (ترکیب هیدروژن با هوا یا اکسیژن) تولید اکسیدهای فسفر و یا اکسیدهای گوگرد می‌کند. این اکسیدها سپس در یک محفظه واکنش در یک واکنش نوترکیبی شرکت و انرژی را به شکل فوتون آزاد می‌کنند. فوتون‌های ساطع شده به سمت یک آشکارساز فوتومولتی پلایر^۲ هدایت و به سیگنال الکتریکی تبدیل می‌شوند. این سیگنال الکتریکی تقویت و تشخیص داده می‌شود که بزرگی آن مستقیماً با غلظت ترکیبات حاوی گوگرد یا فسفر در نمونه متناسب است.



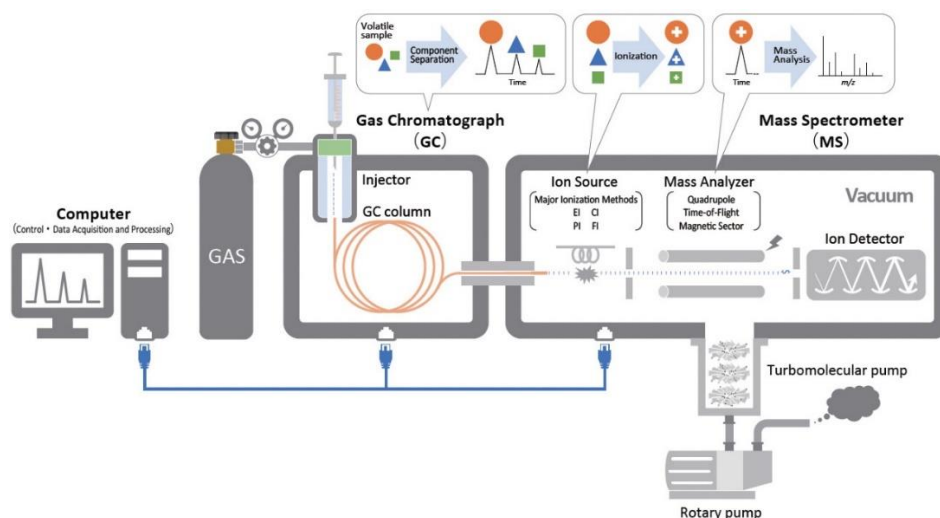
شکل ۳۶. تصویری از آشکارساز فوتومتریک شعله.

¹ Flame Photometric Detector

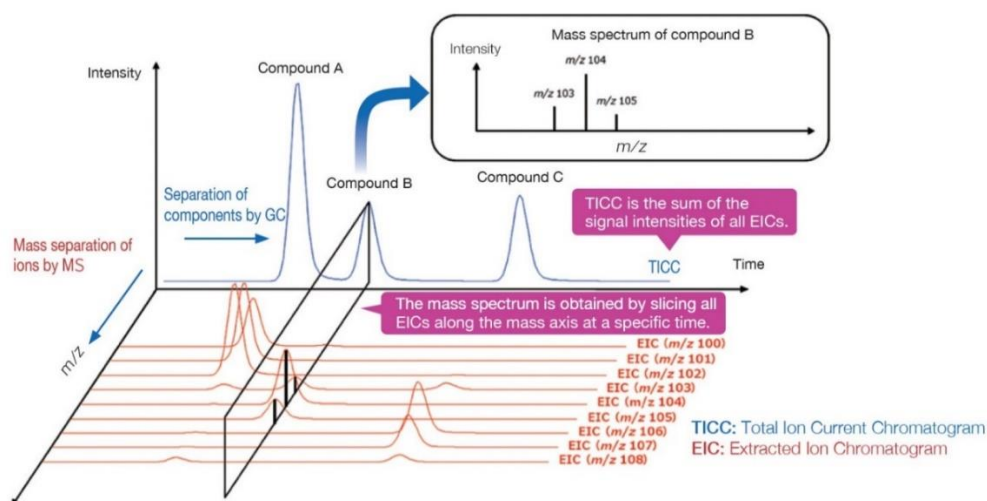
² Photo Multiplier Tubes

۴- کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی^۱

گاهی اوقات، کروماتوگرافی گازی به صورت کوپل یا جفت شده با طیف‌سنجی جرمی استفاده می‌شود که نقش اولی، جداسازی ترکیبات و اندازه‌گیری کیفی آن‌ها (حضور یا عدم حضور ترکیبات موردنظر) و دومی، اندازه‌گیری کمی اجزاء (تعیین مقدار آن‌ها) است.



شکل ۳۷. تصویری از کروماتوگرافی گازی به صورت جفت شده با طیف‌سنجی جرمی.



شکل ۳۸. تصویری از کروماتوگرام و نیز طیف جرمی به دست آمده از نمونه.

¹ Mass spectrometry (MS)

۴-۱- اجزای تشکیل دهنده طیف سنجی جرمی

۴-۱-۱- منبع یونی

نقش منبع یونی، تبدیل اتم‌ها و مولکول‌های گازی به ذرات باردار الکتریکی یا همان یون‌ها است. روش‌های مختلفی برای این منظور استفاده می‌شود که شامل:

- یونیزاسیون الکترونی^۱: استفاده از پرتوهای الکترونی با انرژی بالا برای تبدیل اتم‌ها و مولکول‌های گازی به یون
- یونیزاسیون شیمیایی^۲: استفاده از پرتوهای الکترونی به همراه واکنش‌های شیمیایی
- فوتو یونیزاسیون^۳: استفاده از نور فرابنفش
- یونیزاسیون میدانی^۴: استفاده از میدان الکتریکی

۴-۱-۲- آنالیزر یونی

پس از یونیزه شدن، یون‌ها بر اساس نسبت جرم به بار (m/z) دسته‌بندی و جداسازی می‌شوند. در حال حاضر آنالیزرهای جرمی مختلفی در دسترس هستند که هر کدام دارای ویژگی‌های مختلف در رابطه با سرعت عملکرد، وضوح جداسازی و دیگر پارامترها هستند. معروف‌ترین آنالیزرهای جرمی عبارتند از:

- زمان پرواز^۵: ساده‌ترین آنالیزر جرمی که از میدان‌های الکتریکی برای جداسازی یون‌ها با جرم‌های مختلف استفاده می‌کند. عملکرد آن به گونه‌ای است که ذرات کوچکتر (وزن کمتر) با سرعت بیشتری نسبت به ذرات بزرگتر حرکت می‌کنند.
- چهارقطبی^۶: آنالیزر جرمی چهارقطبی با تولید میدان الکتریکی کار می‌کند و تنها یون‌هایی که در محدوده مشخصی از نسبت جرم به بار قرار دارند می‌توانند از آن عبور کنند. این موضوع از طریق اعمال سیگنال‌های فرکانس رادیویی و جریان مستقیم در دو قطب مختلف و تشکیل یک فیلتر پایین‌گذر^۷ و یک فیلتر بالاگذر^۸ در دو صفحه متعامد^۹ به دست می‌آید.

۴-۱-۳- دتکتور یونی

¹ Electron ionization (EI)

² Chemical ionization (CI)

³ Photoionization (PI)

⁴ Field ionization (FI)

⁵ Time-of-Flight

⁶ Quadrupole

⁷ Low-pass filter

⁸ High-pass filter

⁹ Orthogonal

در دتکتور یونی، یون‌های جدا شده اندازه‌گیری و به یک سیستم داده ارسال می‌شوند که در آن نسبت‌های m/z همراه با فراوانی نسبی آن‌ها ذخیره می‌شود. طیف جرمی نسبت m/z یون‌های موجود در یک نمونه را نشان می‌دهد که بر حسب شدت آن‌ها ترسیم می‌شود (شکل ۳۷).

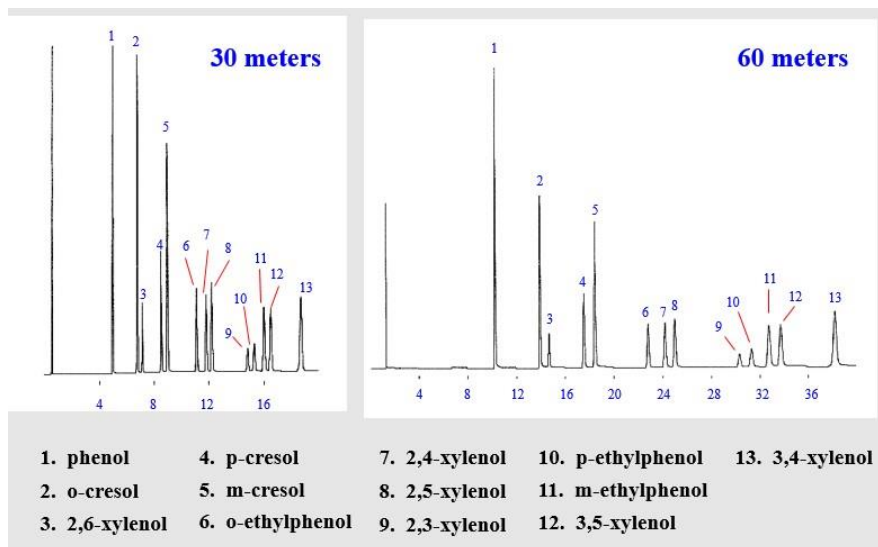
چه عواملی بر کروماتوگرافی گازی تأثیر گذار هستند؟

دما

به طور کلی در کروماتوگرافی گازی، افزایش دما منجر به کاهش زمان ماند^۱ آنالیت‌ها می‌شود، به این معنی که آن‌ها سریع‌تر از ستون شسته می‌شوند، زیرا دماهای بالاتر باعث می‌شود مولکول‌ها راحت‌تر تبخیر شوند و بر تقسیم‌بندی بین فاز ساکن و فاز متحرک تأثیر بگذارد. بنابراین، افزایش دما تأثیر قابل توجهی بر فرآیند جداسازی و گزینش‌پذیری (توانایی فاز ساکن در تشخیص نمونه‌ها از یکدیگر) دارد.

طول ستون

طول ستون با عملکرد آن ارتباط مستقیم دارد. هر چه طول بیشتر باشد، برهمکنش‌های میان نمونه با فاز ساکن بیشتر خواهد بود که این موضوع باعث جداسازی بهتر و تفکیک‌پذیری^۲ بیشتر پیک‌ها می‌شود.



شکل ۳۹. کروماتوگرام‌های به دست آمده از دو ستون با طول‌های مختلف.

¹ Retention time

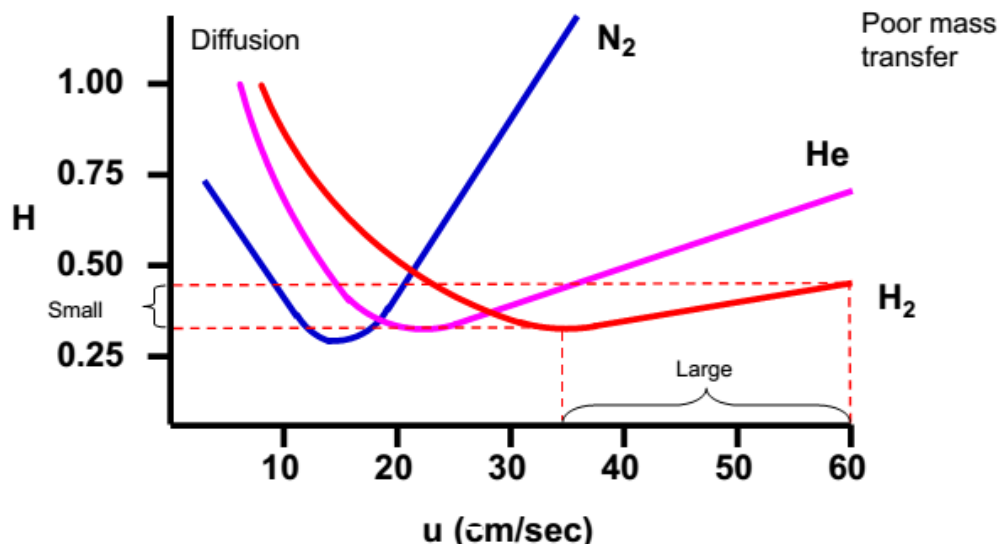
² Resolution

نوع گاز حامل

همانطور که پیش تر بیان شد، نوع گاز حامل با توجه به ویسکوزیته و نفوذپذیری که دارند می‌توانند بر فرآیند جداسازی تأثیر گذارد.

سرعت گاز حامل

طبق معادل وان-دیمر، سرعت گاز حامل با بازدهی ستون رابطه دارد. طبق آن، با افزایش سرعت گاز حامل، نفوذپذیری به طور نمایی کاهش پیدا می‌کند. همچنین، مقاومت مربوط به انتقال جرم افزایش می‌یابد. از این رو یافتن یک سرعت بهینه برای گاز حامل امری ضروری است که مطابق با منحنی وان-دیمر (شکل ۳۹)، سرعت بهینه جایی است که مقدار H (ارتفاع ستون‌های تئوری) مینیمم است.



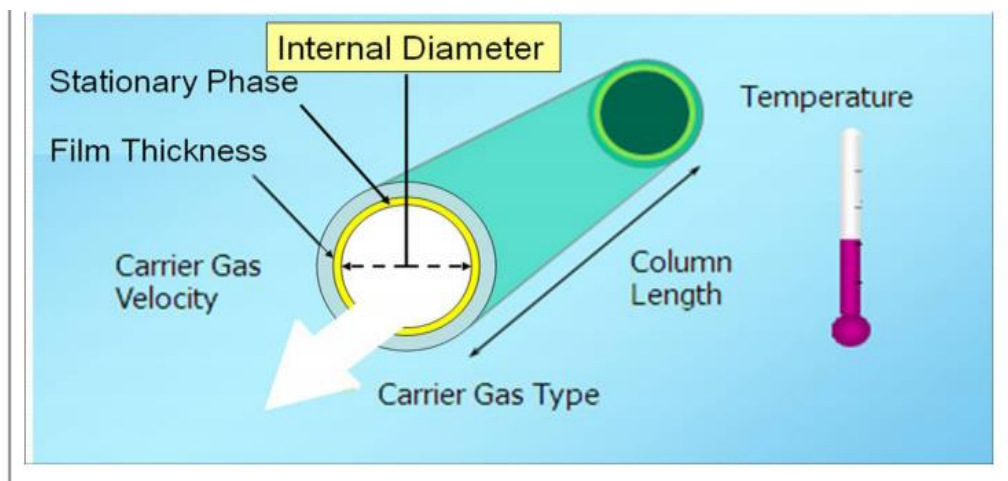
شکل ۴۰. منحنی وان دیمر.

قطر داخلی ستون

ستون با قطر داخلی کمتر بازدهی بیشتری دارد. این گونه ستون‌ها معمولاً برای مصارفی که سرعت جریان گاز پایین است استفاده می‌شوند. در مقابل، ستون‌هایی که قطر داخلی بیشتری دارند برای حالتی که نیاز به تزریق مقدار نمونه بالایی است یا سرعت جریان گاز حامل بالاست کاربرد دارند.

ضخامت فاز ساکن

ضخامت فاز ساکن بر انتخاب نوع نمونه تأثیرگذار است. به طور معمول، ستون با ضخامت‌های کمتر برای نمونه‌ها با نقطه جوش بالا و با ضخامت‌های بیشتر برای نمونه‌های فرار استفاده می‌شوند. دلیل این امر این است که حرارت بالا در ستون‌های ضخیم باعث پدیده کندن فاز ساکن یا Bleeding می‌شود.



شکل ۴۱. پارامترهای اصلی تأثیرگذار بر کروماتوگرافی گازی.

منابع

Fowles IA. Gas chromatography: analytical chemistry by open learning. 1995 Jan.