

کروماتوگرافی گازی و مایع



ارائه دهنده
زینب رجب دیزاوندی
گروه شیمی

Zeinab.dezavandi66@yahoo.com



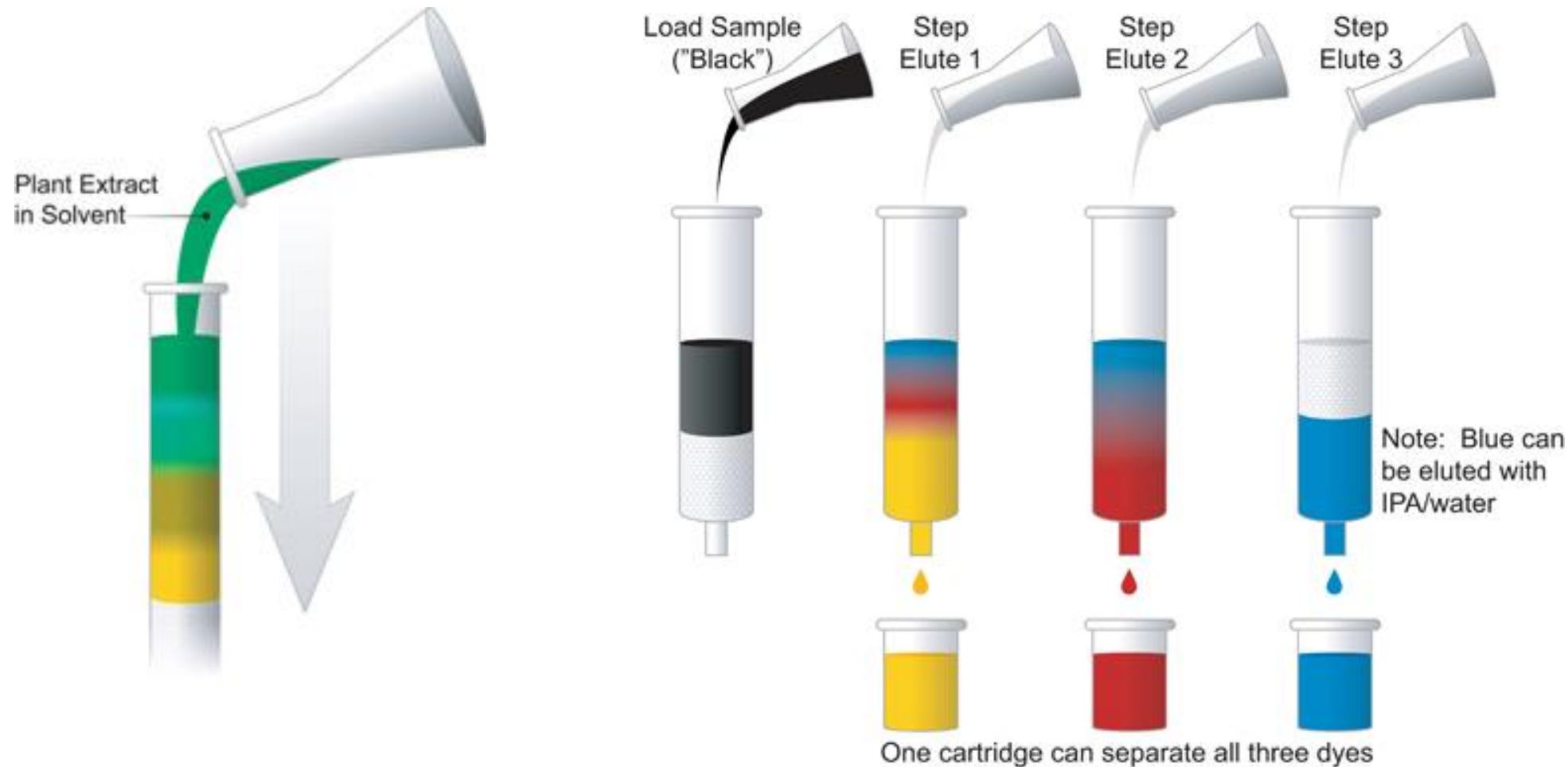


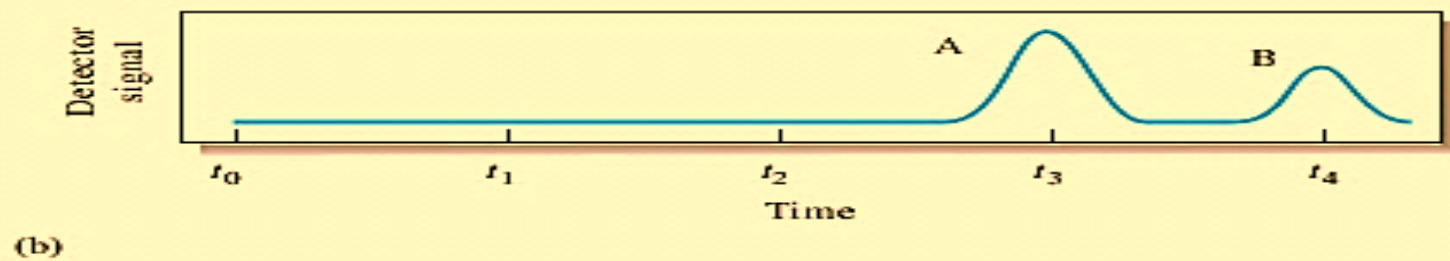
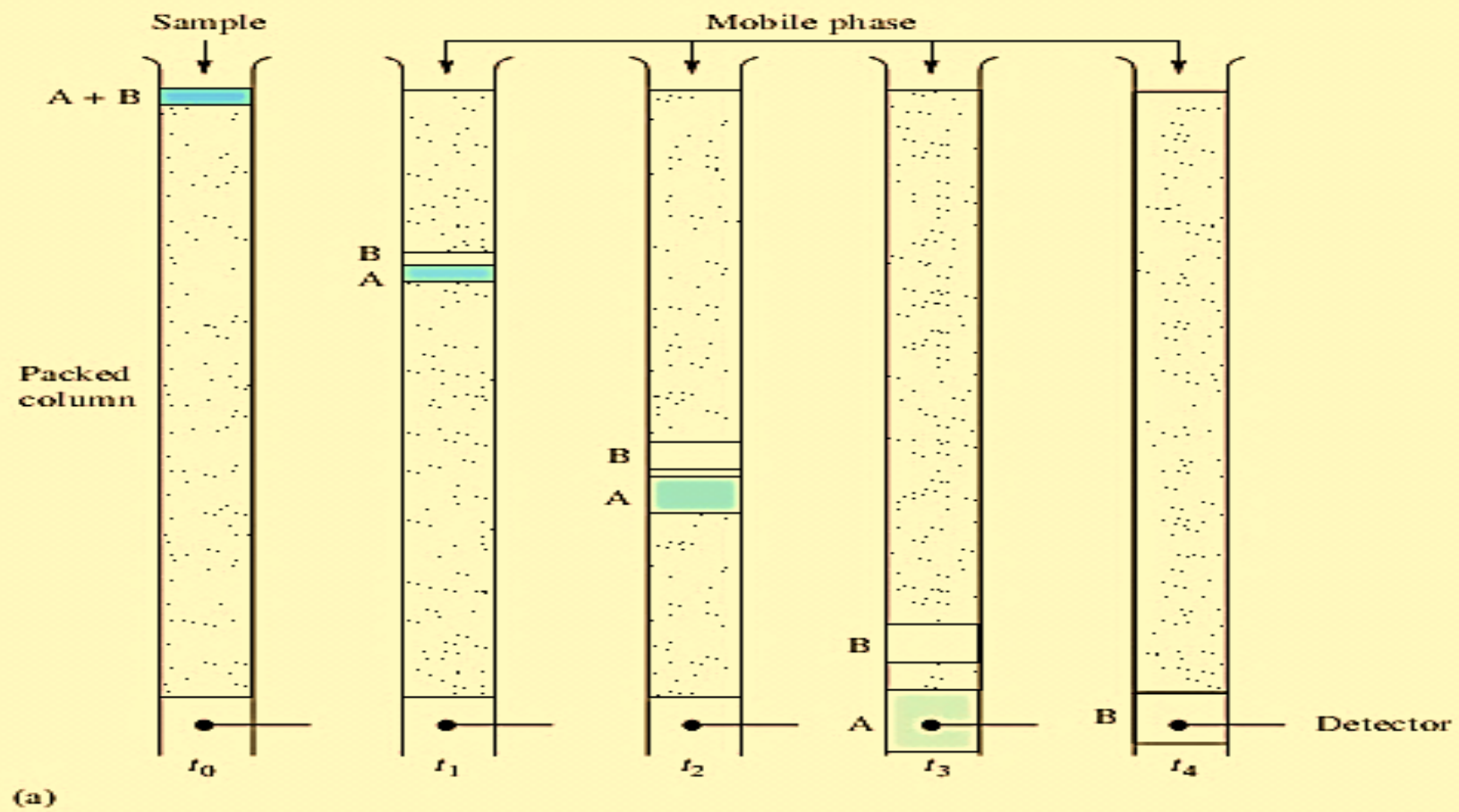
Public Domain

یکی از متداول ترین روشهای جداسازی تجزیه ای، کروماتوگرافی است. کروماتوگرافی در تمام شاخه های علوم کاربرد دارد. میخائیل تسوت گیاه شناس روسی به عنوان کاشف پدیده کروماتوگرافی شناخته میشود. او در اواخر قرن ۱۹ برای جداسازی رنگدانه های برگ سبز گیاهان از یک ستون پر شده با کلسیم کربنات استفاده کرد.

واژه کروماتوگرافی امروزه به دسته ای از روش ها اطلاق میشود که در آنها جداسازی اجزاء موجود در یک نمونه ی مخلوط، بر اساس تمایل نسبی هر جزء به فاز ساکن هنگام عبور فاز متحرک از روی و یا درون فاز ساکن است.

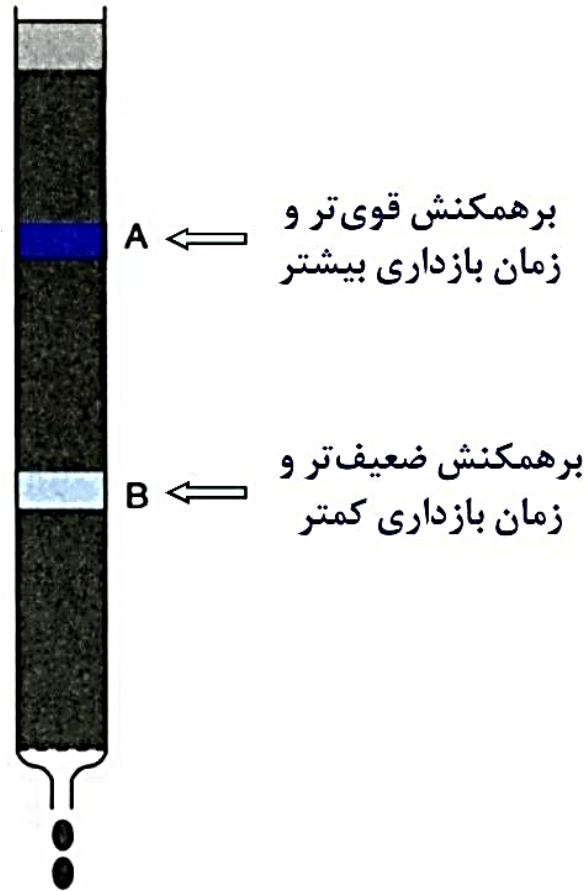
گونه ای که تمایل بیشتری به فاز متحرک دارد، با سرعت بیشتری حرکت میکند و بالعکس گونه ای که به فاز ساکن تمایل بیشتری دارد، سرعت حرکت کمتری دارد. چون مواد با درجات گوناگون به فاز ساکن تمایل دارند، میتوان از این خاصیت جهت جداسازی آنها از یکدیگر استفاده نمود. زمان مورد نیاز برای حرکت هر جزء را در فاصله های مشخص، میتوان برای تجزیه ی کیفی به کار برد.



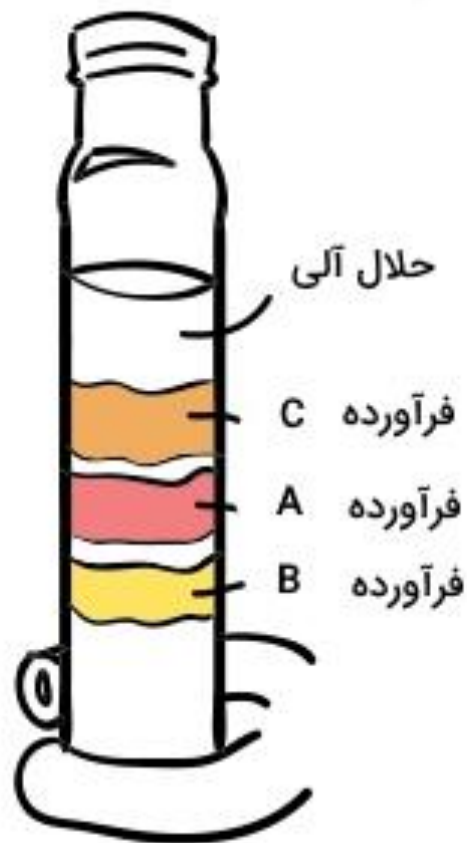


کروماتوگرافی ستونی

در کروماتوگرافی ستونی جسم بین فازهای مایع و جامد پخش میشود. فاز ساکن جسم جامدی است و این جسم اجزای مایعی را که از آن میگذرد به طور انتخابی در سطح خود جذب میکند و آنها را جدا میکند. اثرهایی که باعث جذب سطحی میشوند همان اثرهایی هستند که موجب جذب در مولکولها میشوند. این اثرها عبارتند از: **جاذبه الکترواستاتیکی، پیوند هیدروژنی، نیروی واندروالس و غیره.**



کروماتوگرافی ستونی

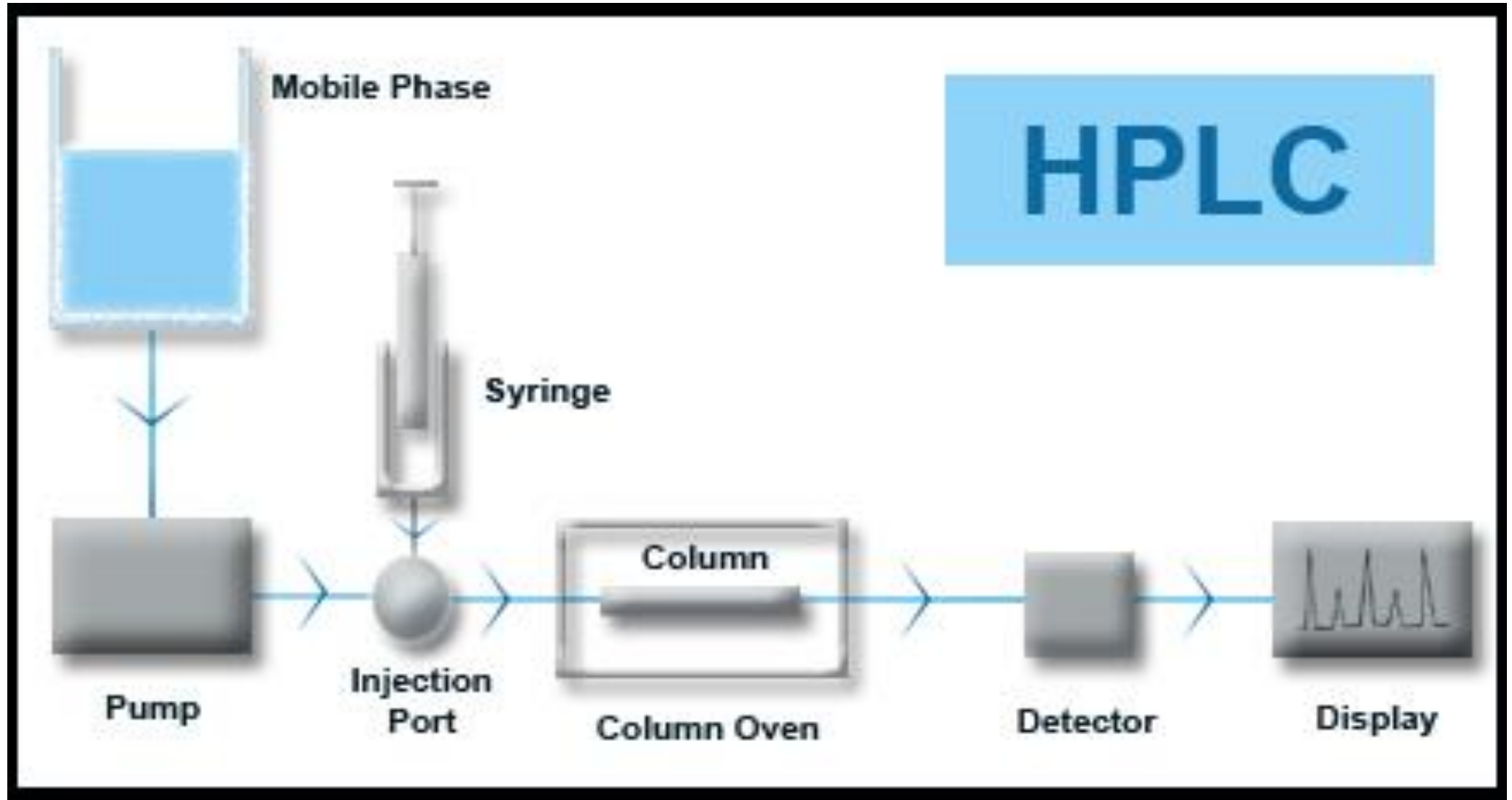


برای جدا کردن یک مخلوط با کروماتوگرافی ستونی، ستون را با جسم جامد فعالی (فاز ساکن) مانند آلومینا یا سیلیکاژل پر میکنند و کمی از نمونه مایع را روی آن میگذارند. نمونه ابتدا در بالای ستون جذب میشود. سپس حلال استخراج کننده ای را در داخل ستون جریان میدهند. این فاز مایع متحرک، اجزای مخلوط را با خود میبرد. ولی به علت **نیروی جاذبه انتخابی فاز جامد**، اجزای مربوط میتوانند با سرعتهای مختلفی به طرف پایین ستون حرکت کنند. ترکیبی که با نیروی کمتری جذب فاز ساکن شود سریعتر خارج میشود زیرا که درصد مولکولی آن در فاز متحرک از ترکیبی که با نیروی زیادتری جذب فاز ساکن میشود بیشتر است.

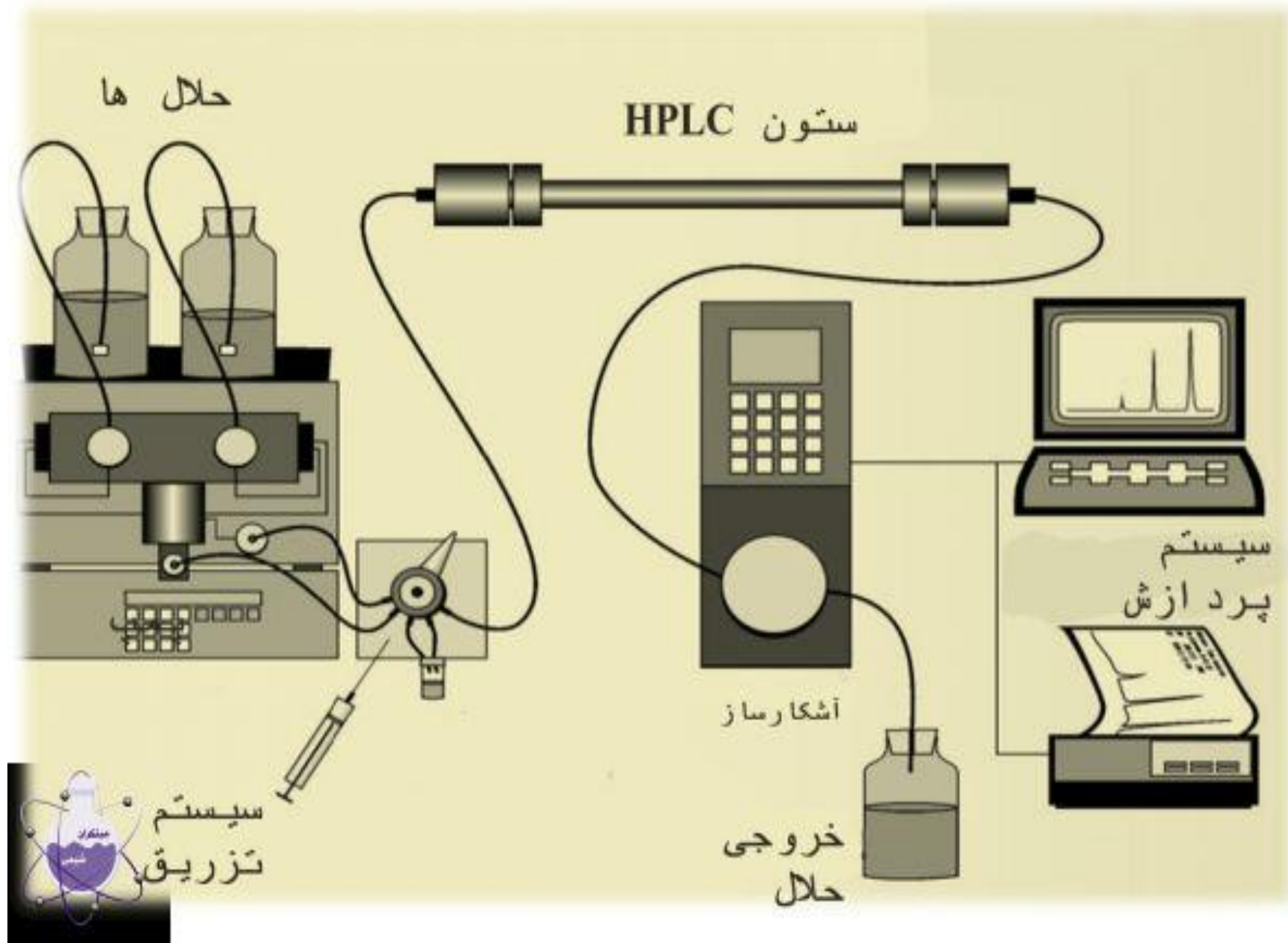
Classification of Column Chromatographic Methods

General Classification	Specific Method	Stationary Phase	Type of Equilibrium
1. Gas chromatography (GC)	a. Gas-liquid (GLC)	Liquid adsorbed or bonded to a solid surface	Partition between gas and liquid
2. Liquid Chromatography (LC)	b. Gas-solid	Solid	Adsorption
	a. Liquid-liquid, or partition	Liquid adsorbed or bonded to a solid surface	Partition between immiscible liquids
	b. Liquid-solid, or adsorption	Solid	Adsorption
	c. Ion exchange	Ion-exchange resin	Ion exchange
	d. Size exclusion	Liquid in interstices of a polymeric solid	Partition/sieving

شمایی از دستگاه HPLC



شکل کلی دستگاه HPLC



فاز متحرک

در کروماتوگرافی مایع از حلال های بسیار خالص به عنوان فاز حامل استفاده می شود. این حلال ها تحت عنوان HPLC GRADE و گران تر از حلال های معمولی در بازار به فروش می رسد.



عملکرد پمپ

به دلیل کم بودن قطر ذرات در ستون، افت فشار پدید می آید بنابراین باید از پمپ که موجب می شود نمونه با فشار (حدود ۴۰ مگاپاسکال) وارد سیستم شود، استفاده نمود.

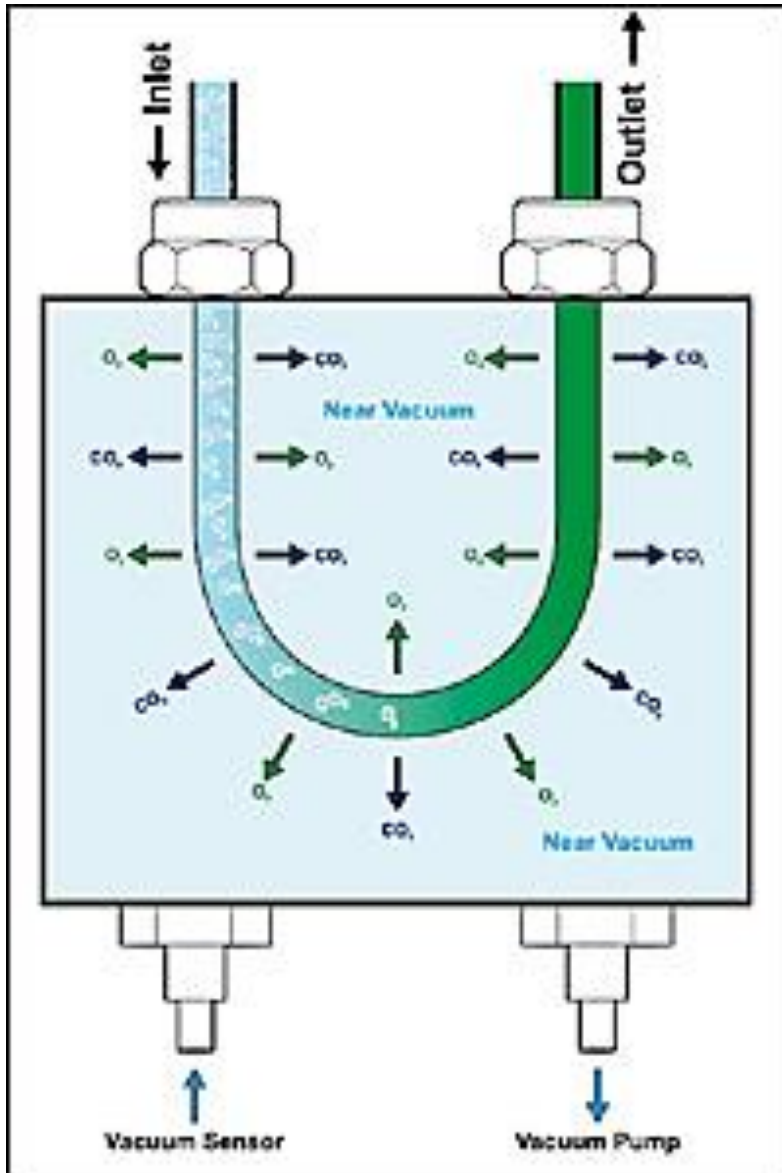
وظیفه اصلی پمپ در کروماتوگرافی مایع این است که فاز متحرک را با فشار بالا با سرعت عبور کنترل شده، از ستون عبور دهد. یک نوع پمپ (پمپ با فشار ثابت) این عمل را با آوردن فشار ثابت به فاز متحرک انجام می دهد.

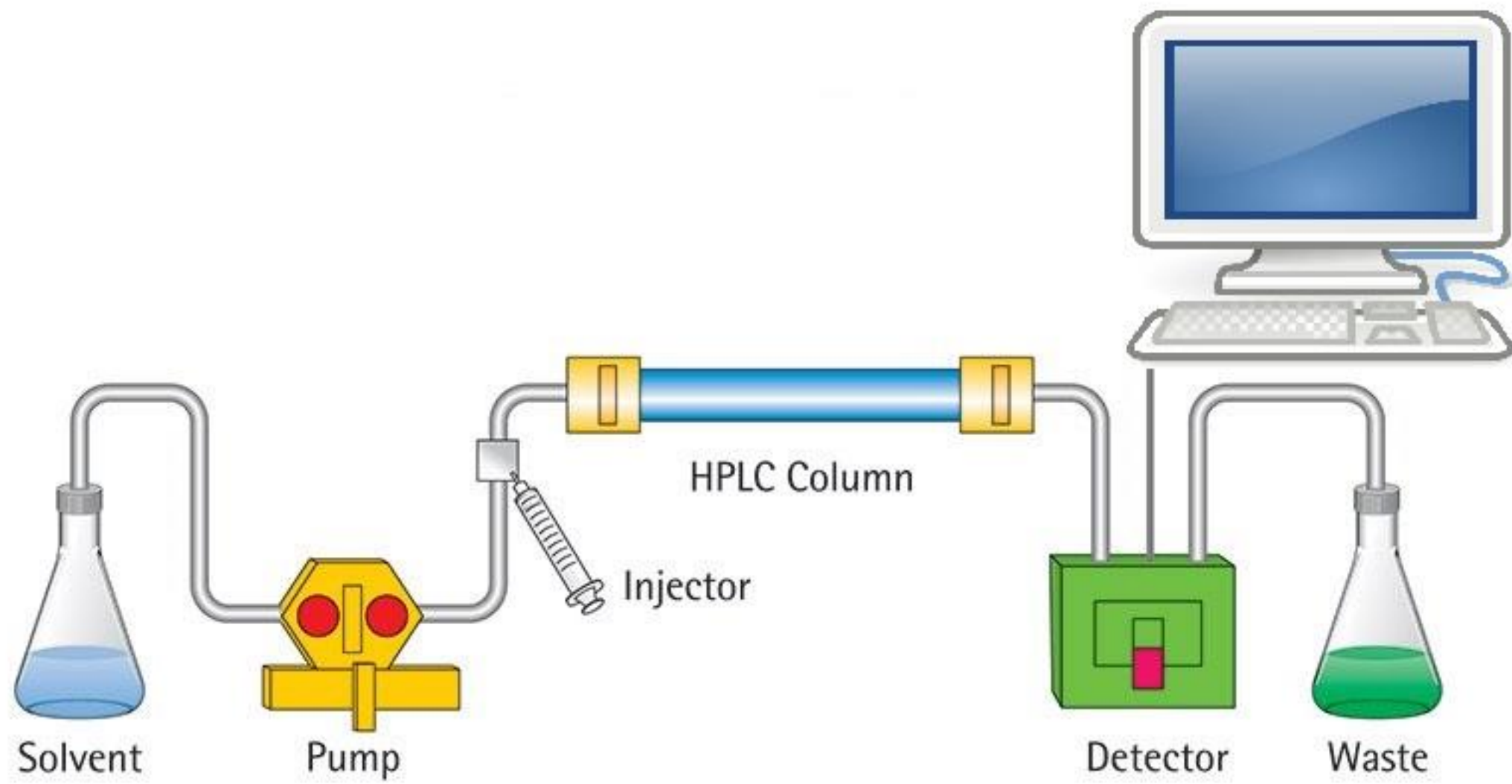


Degasser

قبل از ورود حلال به دستگاه باید از نبود هوا یا دیگر گازها در آن اطمینان حاصل نمود زیرا وجود هوا موجب بروز پیک های اضافی و تداخل با پیک های حاصل از نمونه می گردد.

Degasser یا گاززدا در HPLC، حذف هوا و یا گازهای اضافی را برعهده دارد و از ورود آنها به سیستم جلوگیری می کند.





تزریق کننده Injector



تزریق نمونه، بسته به نوع دستگاه، به دو شکل دستی و یا خودکار انجام می‌گیرد. در روش خودکار، نمونه در ظروف مخصوصی ریخته شده و در محل تعبیه شده در دستگاه قرار می‌گیرد. پس از اینکه اپراتور دستور تزریق را (از طریق نرم‌افزار) می‌دهد، نمونه توسط یک سرنگ به سیستم منتقل می‌شود.



سرنگ ها



Fixed Needles



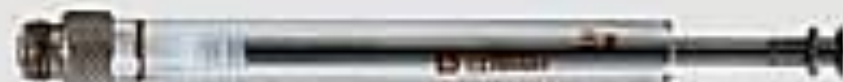
Removable Needles



TLL Needles



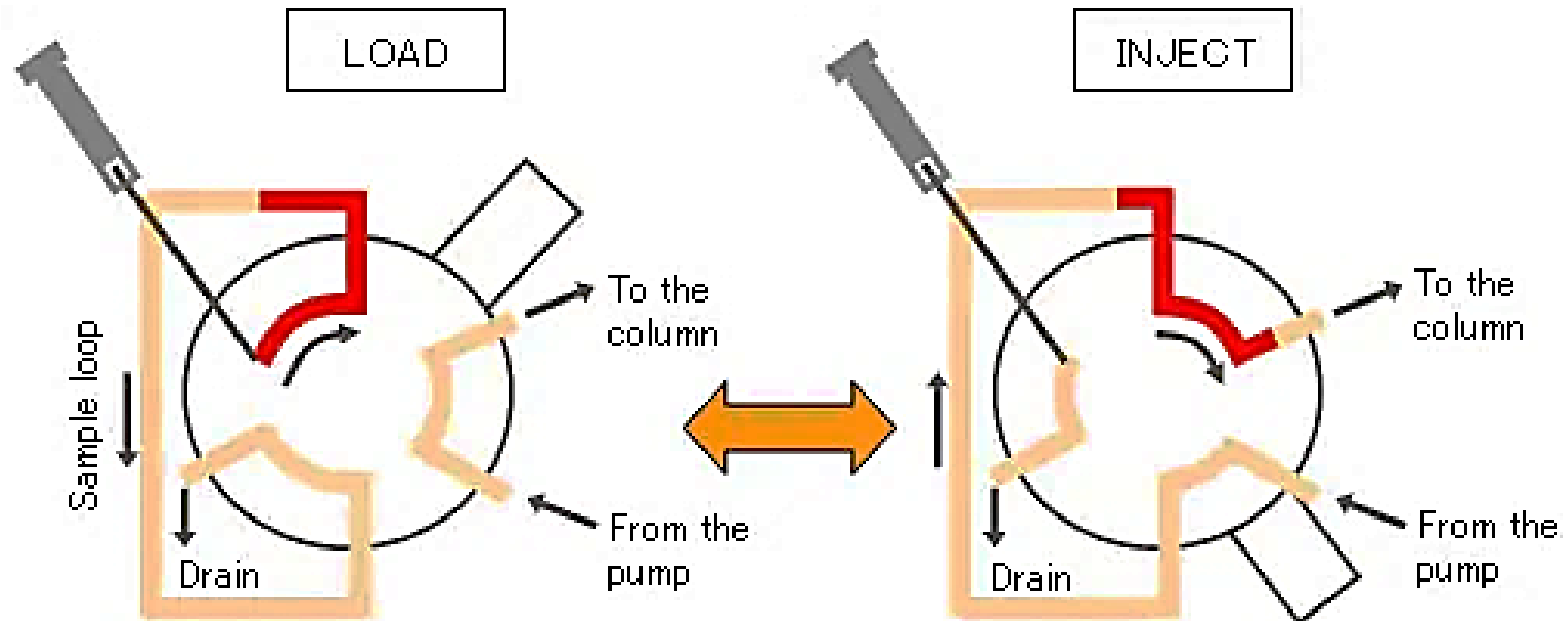
Perkin Elmer



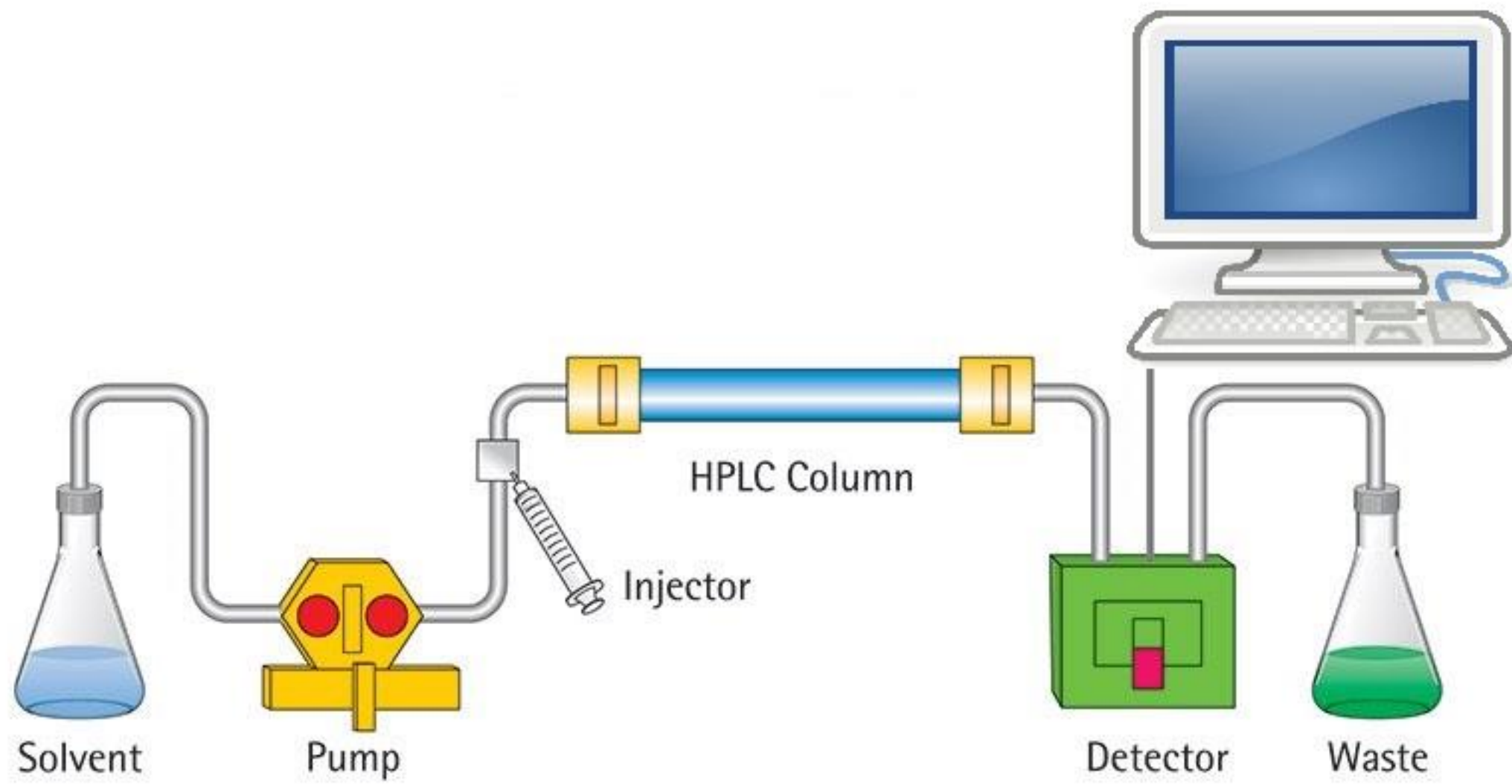
Hitachi

Loop

در روش دستی، از سرنگ‌هایی با ظرفیت‌های مختلف برای تزریق نمونه استفاده می‌شود. حجم نمونه تزریق شده (در هر دو روش)، به حجم حلقه نمونه‌بردار (Loop) بستگی دارد و مقدار آن معمولاً در حد ۵ تا ۵۰۰ میکرولیتر است. نمونه ابتدا وارد این حلقه شده و پس از آماده شدن سیستم به همراه فاز متحرک وارد ستون می‌شود.







انواع ستون

ستون های کروماتوگرافی مایع

- ستون های تجزیه ای

- ستون های محافظ



ستون های تجزیه ای

به منظور جداسازی به کار برده می شوند. طول اکثر ستونهای کروماتوگرافی مایع ۱۰ تا ۳۰ سانتیمتر است. معمولا ستونها مستقیم اند و قطر داخلی ستونهای مایع اغلب ۱ تا ۵۰ میلیمتر است و متداولترین ذرات پرکننده ها ۵ و ۱۰ میکرومتر است.

ستون های محافظ

اغلب یک ستون کوتاه محافظ قبل از ستون تجزیه ای به کار می رود تا با حذف نه تنها مواد آلاینده ها از حلالها ، بلکه همچنین اجزای نمونه که بطور برگشت ناپذیر با فاز ساکن پیوند می دهند، عمر ستون تجزیه ای را افزایش دهد.





پس از تزریق، نمونه ابتدا وارد قسمتی به نام پیش‌ستون (pre-column) یا ستون محافظ (Guard column) می‌شود. نقش این ستون، محافظت از ستون اصلی است. طول این ستون معمولاً در حد سانتی‌متر است و جنس آن از فولاد ضد زنگ است. ماده پرکننده (Packing) ستون محافظ از جنسی مشابه ماده پرکننده ستون اصلی است.

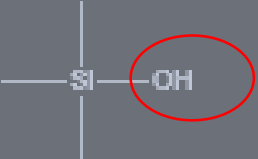
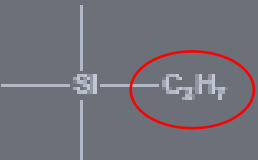
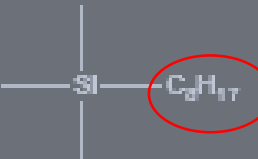
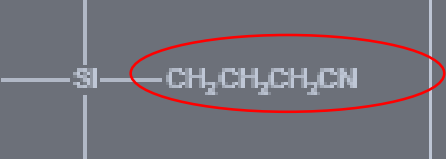
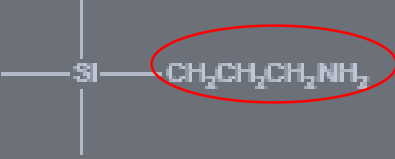
طول ستون‌های اصلی دستگاه معمولاً حدود 10-30 سانتی‌متر بوده و درون آن موادی که به یکی از دو فرم پوسته‌دار و یا متخلخل است، پر کرده‌اند. سایز این مواد پرکننده که بر کیفیت جداسازی تاثیر فراوانی دارد، متفاوت بوده و معمولاً در حد ۳ تا ۵ میکرومتر است.

انتخاب فاز ساکن در HPLC

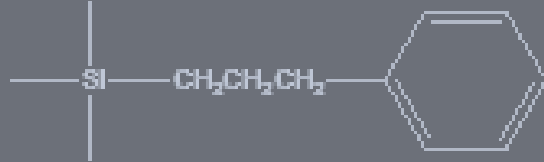
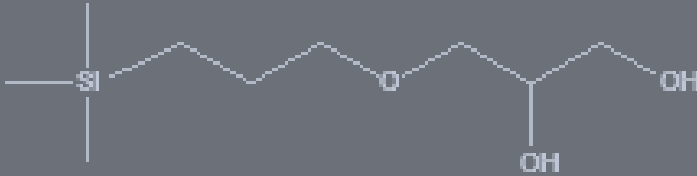
طبیعت مواد مورد تجزیه
راندمان جداسازی مورد نیاز
ظرفیت بارگذاری ستون .

سیلیکاژل متداولترین فاز ساکن جامد مورد استفاده در HPLC است
آلومین , جامد جذاب دیگری است که در HPLC به کار می رود و چون یک
ترکیب قلیایی است مواد اسیدی را بر روی خود نگه می دارد.

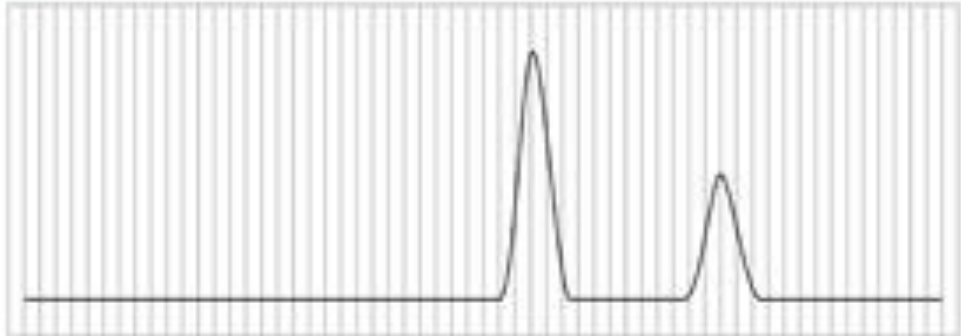
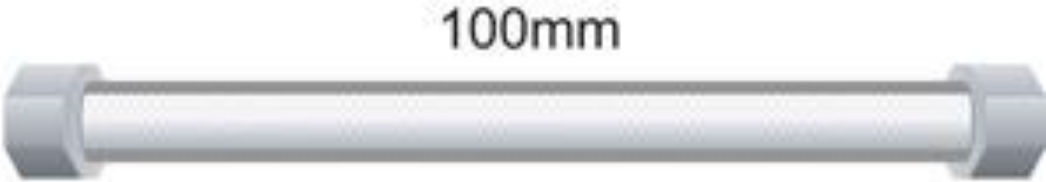
Common LC Stationary Phases

Name	Structure	Description
Silica		Normal phase, for separating polar, non-ionic organics
Propyl		Reversed-phase, for hydrophobic interaction chromatography (proteins, peptides)
C8		Reversed-phase, like C18 but less retentive, used for pharmaceuticals, steroids, nucleotides
C18		Reversed-phase, retains non-polar solutes strongly. When bonded to 300Å silica can be used for large proteins and macromolecules
Cyano		Reversed-phase and normal-phase, more polar than C18, unique selectivity
Amino		Reversed-phase, normal-phase, and weak anion exchange. RP used to separate carbohydrates

Common LC Stationary Phases

Name	Structure	Description
Phenyl		Reversed-phase, retains aromatic molecules. Also used for HIC (proteins)
Diol		Both reversed-phase and normal-phase utility. Used for RP SEC, also used for NP separations as a more robust alternative to silica (not ruined by trace water)
Nitro		Normal-phase, separates aromatic and alkene-containing molecules

**Column Length and Mechanical
Separating Power [Same Particle Size]**



**Particle Size and Mechanical Separating
Power [Same Column Length]**

Column



پس از ورود نمونه به ستون، براساس تفاوت قطبیت، اجزاء مختلف نمونه در زمان‌های متفاوتی با نام زمان بازداری (Retention Time) از یکدیگر جدا شده و برای تشخیص نوع ماده به سمت آشکارساز (Detector) هدایت می‌شوند. در نهایت پس از اتمام کار باید ستون را شستشو دهیم. برای شستشو، بسته به نوع ستون، حلال متفاوتی را با ترتیب خاص انتخاب می‌کنیم. برای مثال در ستون‌های غیرقطبی پس از اتمام کار، ابتدا ستون را با یک حلال قطبی (معمولا آب) و سپس با یک حلال غیرقطبی (معمولا متانول) شستشو می‌دهند .

ستون های کروماتوگرافی فاز نرمال: Normal Phase

در این نوع ستون ها ، برهم کنش بین بخشهای قطبی فاز ساکن و جسم حل شده وجود دارد. ترکیب فاز ساکن باید به نسبت فاز متحرک قطبی تر باشد.

ستون های کروماتوگرافی فاز معکوس: Reversed Phase

در این نوع ستون های HPLC ماده ی موجود در ستون نسبتا غیر قطبی و حلال با توجه به نمونه، قطبی است. برهمکنش بین ترکیبات غیر قطبی جسم های حل شده و فاز ساکن غیر قطبی رخ می دهد. این ستون ها در مقایسه با ستون های فاز نرمال زیست سازگارتر است.

Mobile Phase Chromatographic Polarity Spectrum



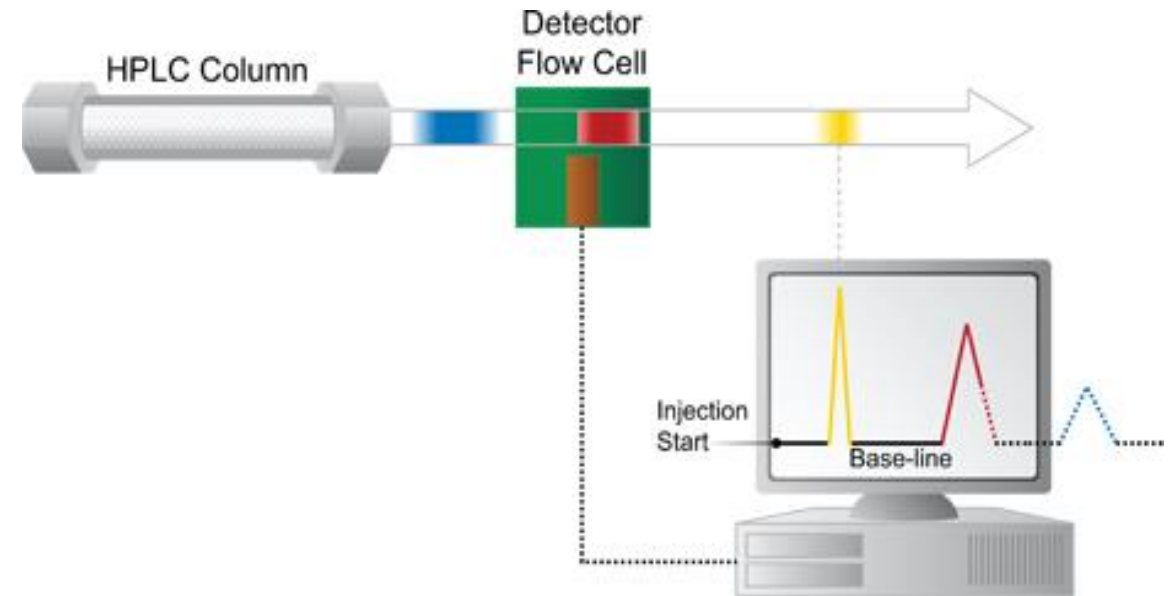
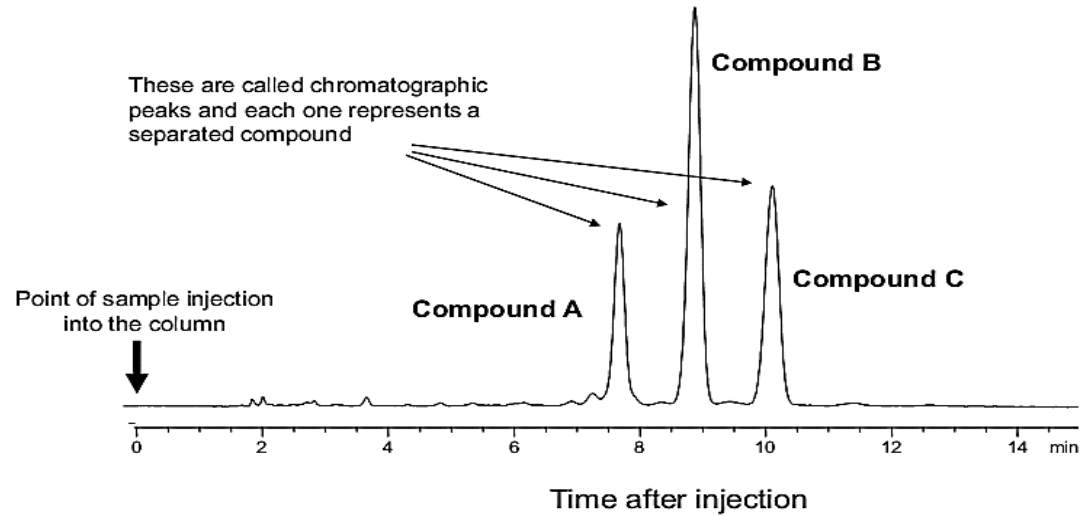
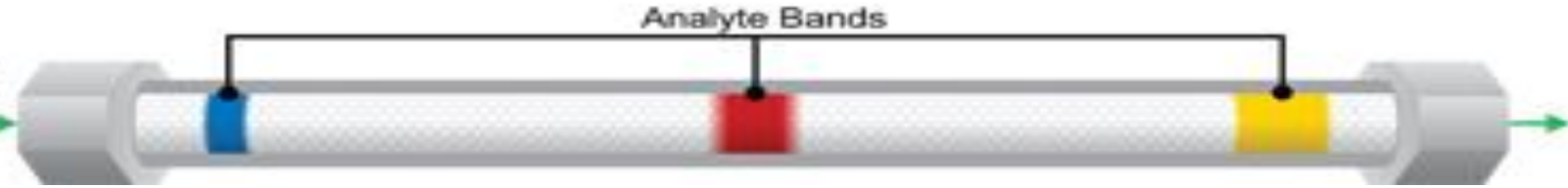
Stationary Phase Particle Chromatographic Polarity Spectrum



Time Zero
Mobile Phase



Time +10 Minutes
Mobile Phase



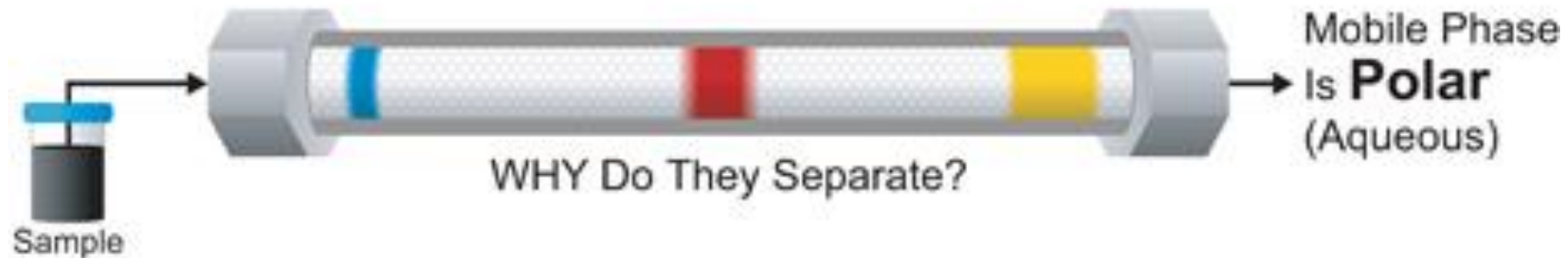
Normal-Phase Chromatography

Stationary Phase Is **Polar** (Silica)



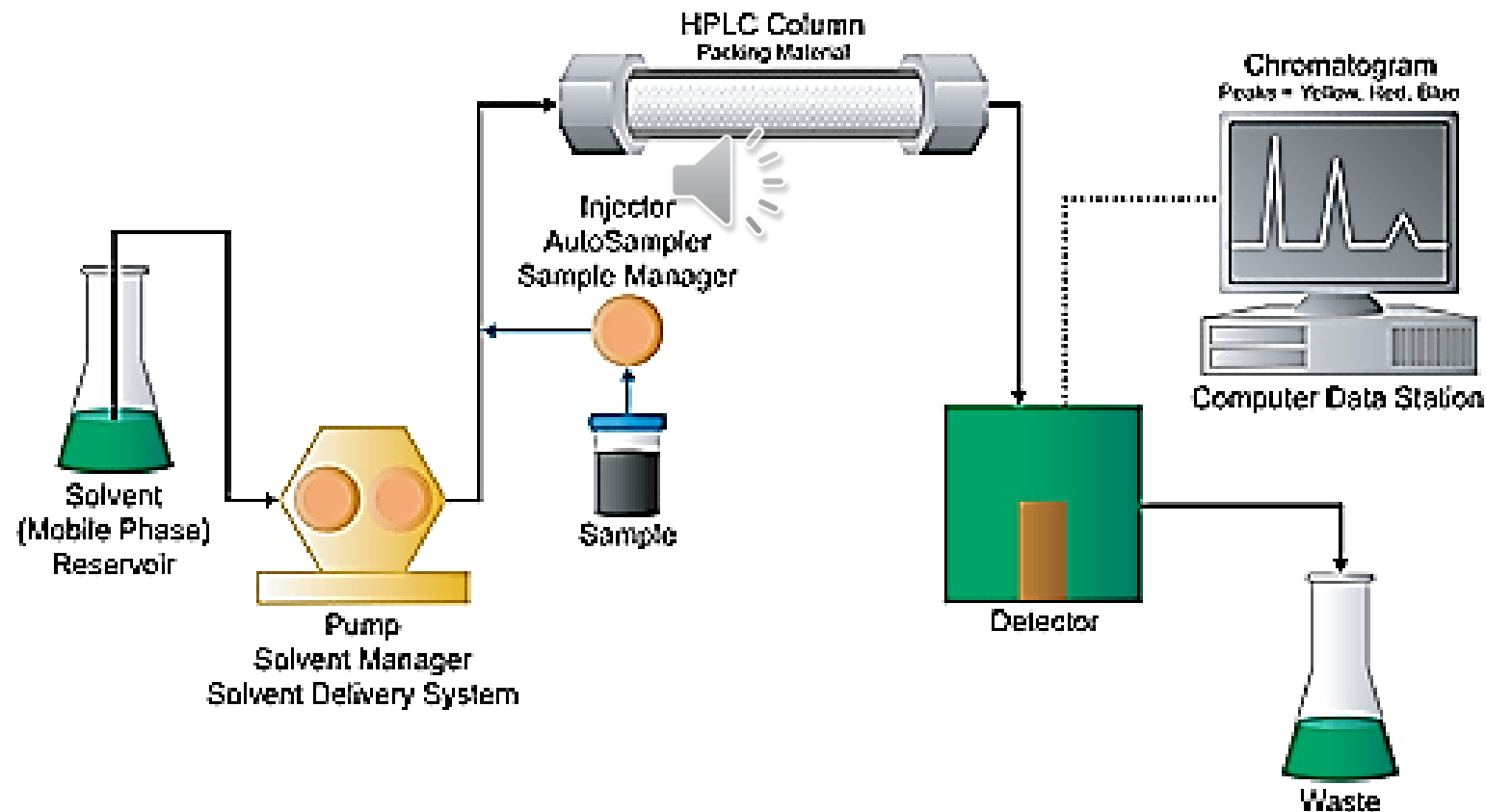
Reversed-Phase Chromatography

Stationary Phase Is **Non-Polar** (C₁₈)

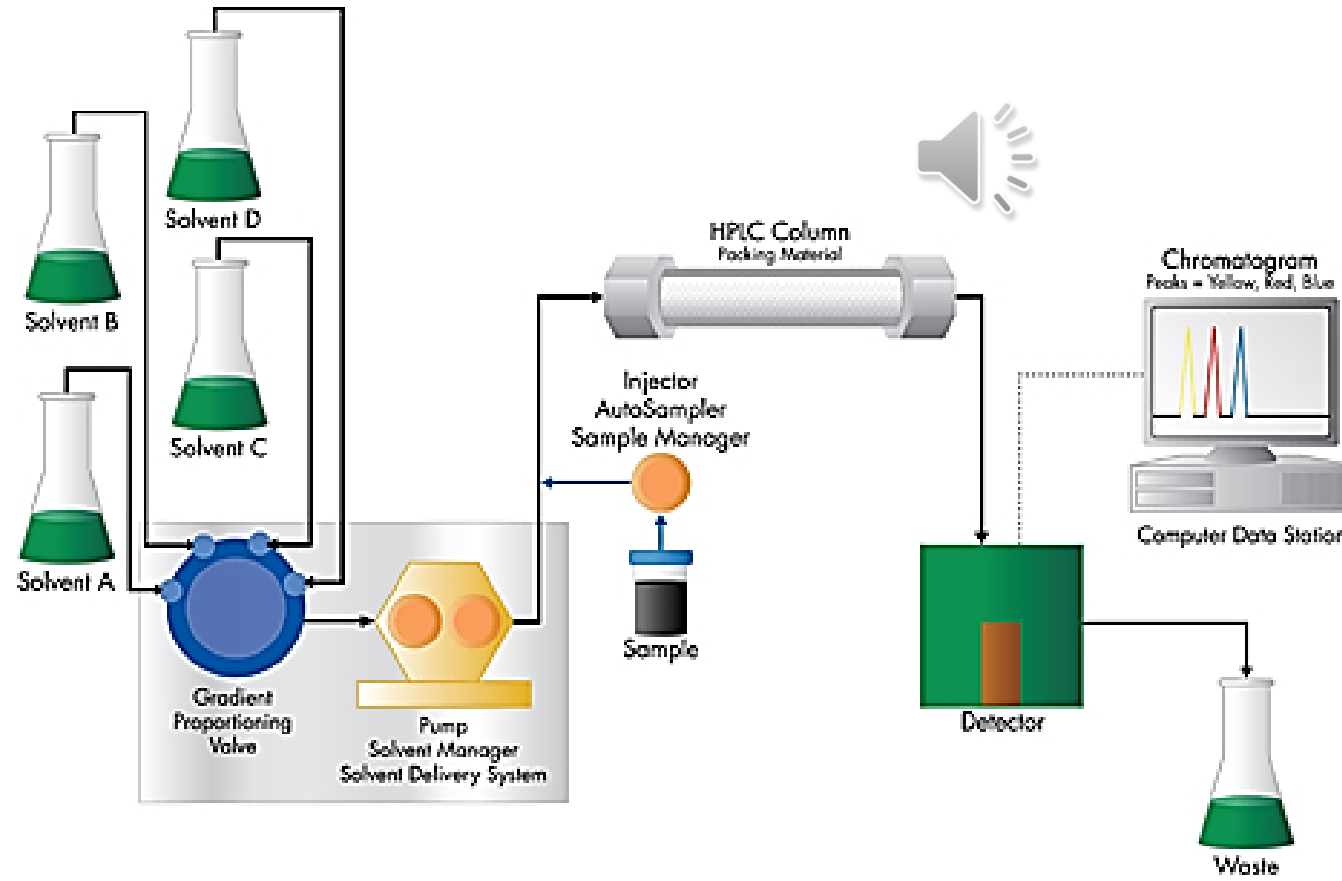


به دو روش می توانیم کار کنیم:

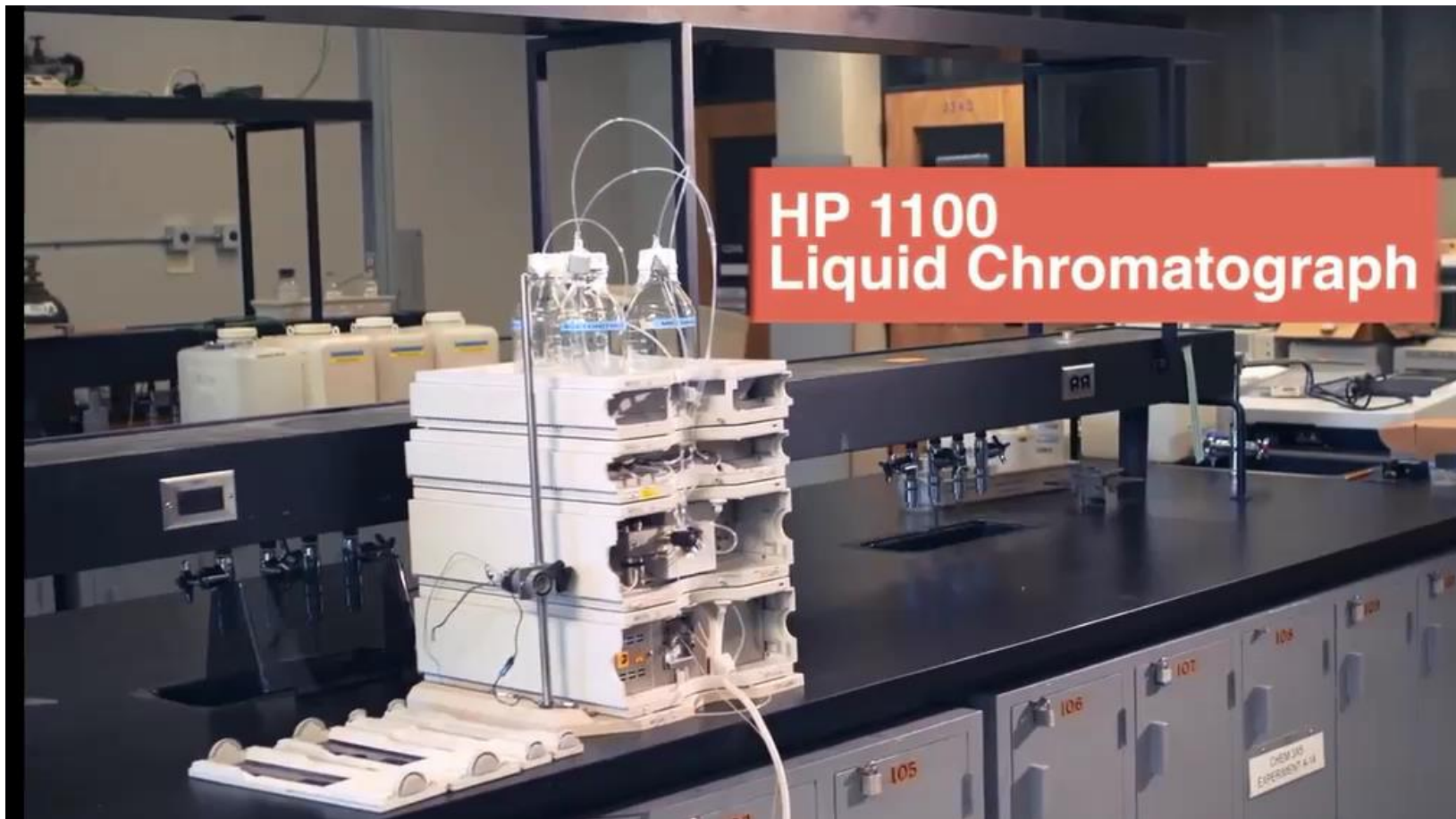
روش ایزوکراتیک: isocratic اگر نسبت های مختلفی از فاز متحرک را در یک مخزن بریزیم و از همان مخزن فاز متحرک را برداشت کنیم از روش ایزوکراتیک استفاده کرده ایم. مثلا در کار عملی انجام شده در آزمایشگاه فاز متحرک (۸۰٪ بافر فسفات ۱۲٪ متانل و ۸٪ استونیتریل) است که پس از صاف کردن همه را در یک مخزن مثل D می ریزیم و از همان مخزن پمپ برداشت می کند.



۲- روش گرادیانت : gradient اجزاء فاز متحرک در مخازن مختلف ریخته می شود. دستگاه قابلیت این را دارد که خودش نسبت های مختلف را از مخازن برداشت کند (طبق داده های ما)، مثلاً می خواهیم از مخزن A، 80% از مخزن B و 8% از مخزن C بکشد. و بعد نسبت ها را مخلوط می کند. از این روش وقتی استفاده می کنیم که نسبت های موردنظر را نمی دانیم و بخواهیم روش کار پیدا کنیم. ولی وقتی درصد فاز متحرک برای ما روشن شد می توانیم از روش ایزوکراتیک استفاده کنیم.



HP 1100 Liquid Chromatograph



مشخصات آشکارساز ایده آل

علاوه بر اینکه آشکار سازها در این روش نیازی ندارد به گستره ای به آن وسعت از دما جواب بدهد. علاوه براین برای کاهش پهن شدگی منطقه , آشکار ساز HPLC باید حداقل حجم درونی را داشته باشد



- حساسیت کافی
- پایداری خوب و تکرار پذیر
- پاسخ آنها تا حدود وسیعی برای غلظت باید خطی باشد.
- قابلیت اعتماد بالا و سهولت کاربرد
- زمان جواب کوتاه که مستقل از سرعت جریان است.

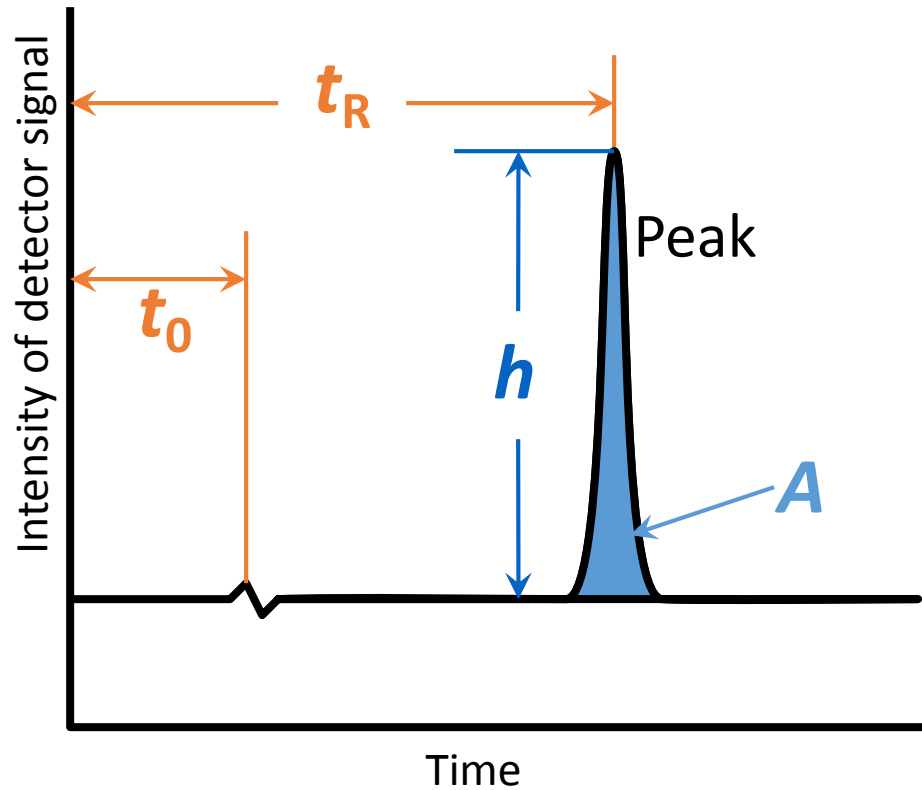
مهمترین آنها ردیاب ماورا بنفش است که برای اجسامی که در ناحیه UV-VIS جذب داشته باشند مورد استفاده قرار می گیرد. در این دتکتور جذب انجام می شود و باعث کاسته شدن انرژی می شود که این کاسته شدن قابل اندازه گیری است. میزان کاسته شدن انرژی متناسب است با غلظت، باید طول موج را مشخص کنیم. حلال نباید در طول موج انتخابی جذب داشته باشد..

دتکتور ضریب شکست، این دتکتور خیلی حساس به حرارت است. از تغییرات یا تفاوتی که بین ضریب شکست سیستم حلال به تنهایی و سیستم حلال همراه نمونه ایجاد می شود استفاده می کنیم.

دتکتور فلورسانس حساس تر از UV است ولی کم مصرف می باشد چون موادی که خاصیت فلورسانس داشته باشند کم هستند.

دتکتور الکتروشیمیایی که عملکرد آن بر مبنای واکنش های اکسید و احیا می باشد

Chromatogram



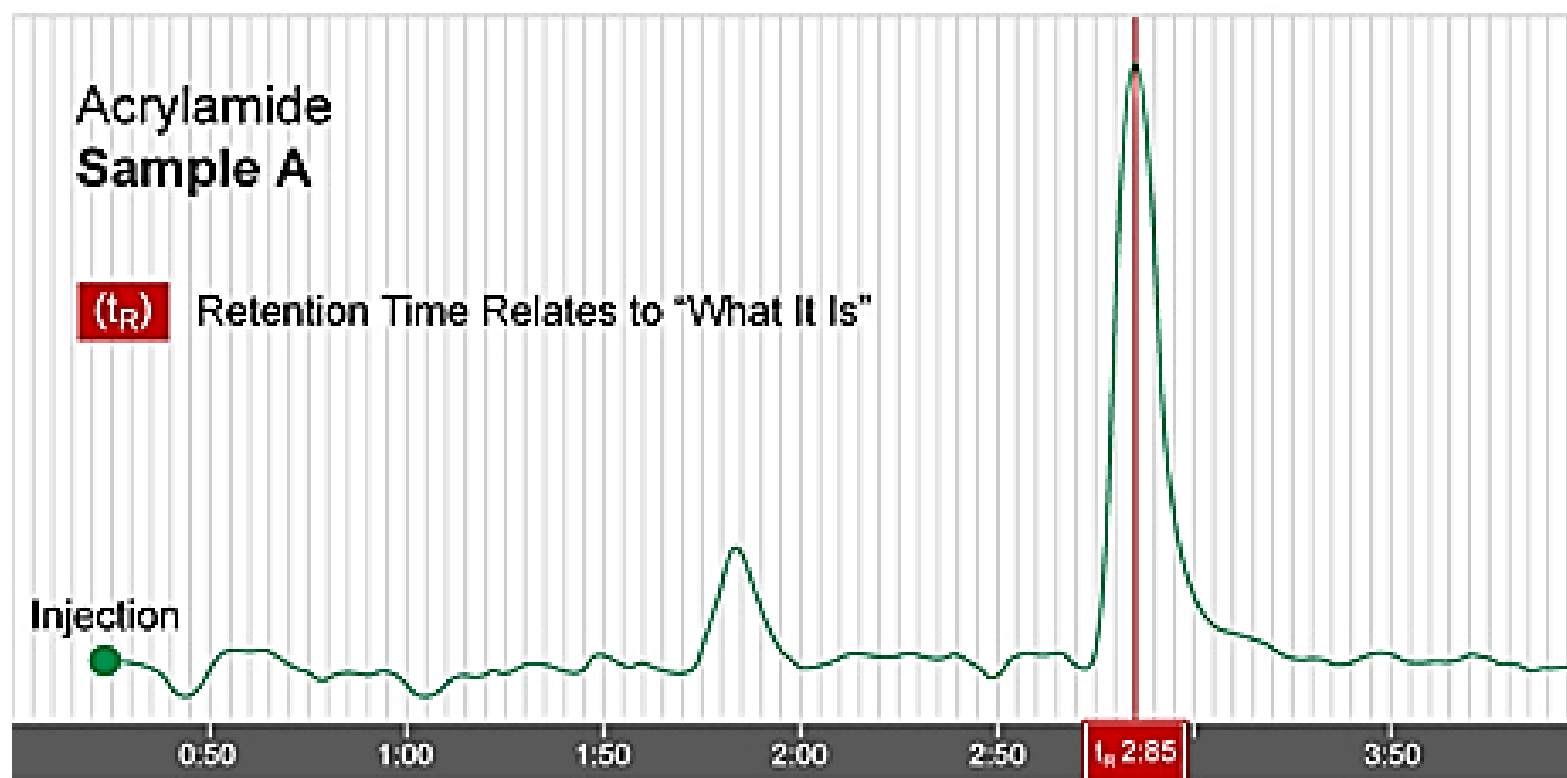
t_R : Retention time

t_0 : Non-retention time

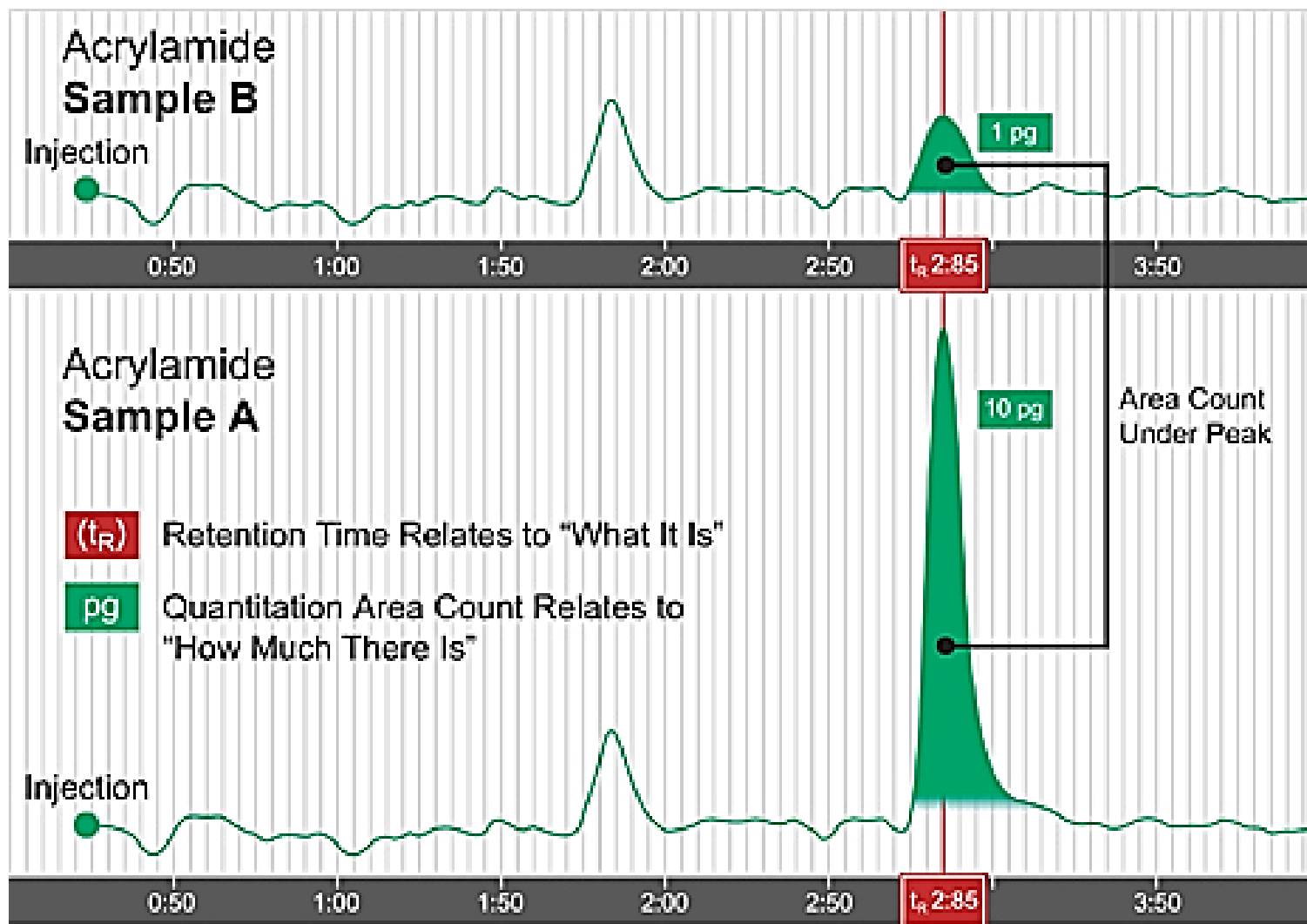
A : Peak area

h : Peak height

جهت شناسایی مواد با کروماتوگرافی از R_t Retention time استفاده می شود. R_t زمانی است که طول می کشد تا جسم از دکتور بیرون بیاید، یعنی از زمان تزریق نمونه تا زمان ظاهر شدن پیک ها روی دستگاه که برای یک ماده تحت شرایط ثابت، مقداری ثابت است. بنابراین از مقایسه R_t معلوم با R_t مجهول، می توان اجزای موجود در مجهول را تشخیص داد. اگر مجهول و استاندارد، R_t یکسان داشتند، می توان نتیجه گرفت که هر دو نمونه یکی هستند.



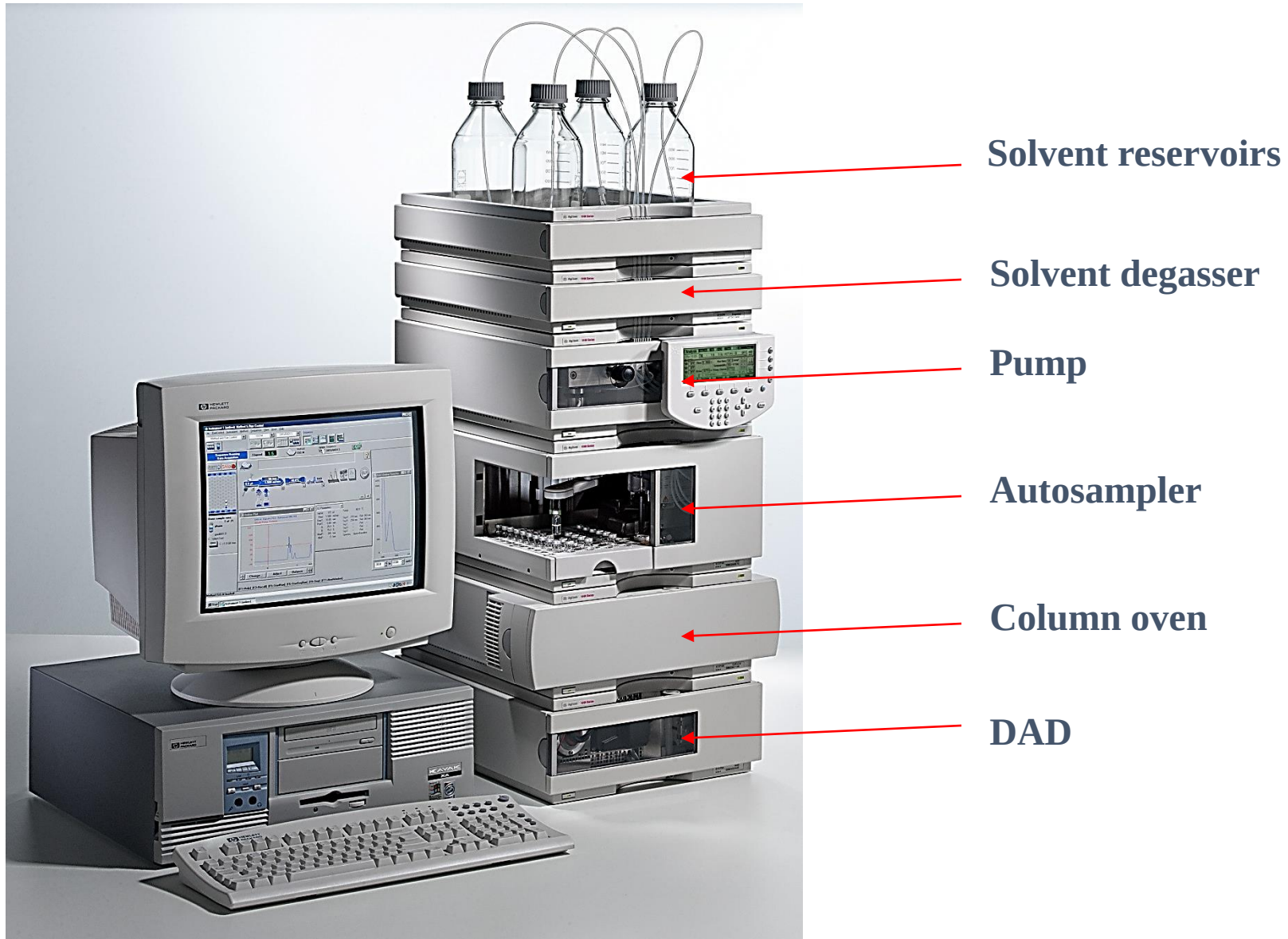
پارامتر مهم دیگر در کروماتوگرافی ، سطح زیر منحنی (AUC area under the curve) است. رکورد به ما کروماتوگرامی می دهد که در راس هر پیک R_t را می نویسد و AUC مربوط به آن را هم می دهد



پس کروماتوگرام حاوی دو اطلاع ارزنده است:
۱- R_t برای شناسایی کیفی جسم
۲- AUC برای تعیین مقدار کمی جسم

LC Instrumentation

The Agilent 1100, a typical modern LC system



Instrumentation of HPLC

mobile phase

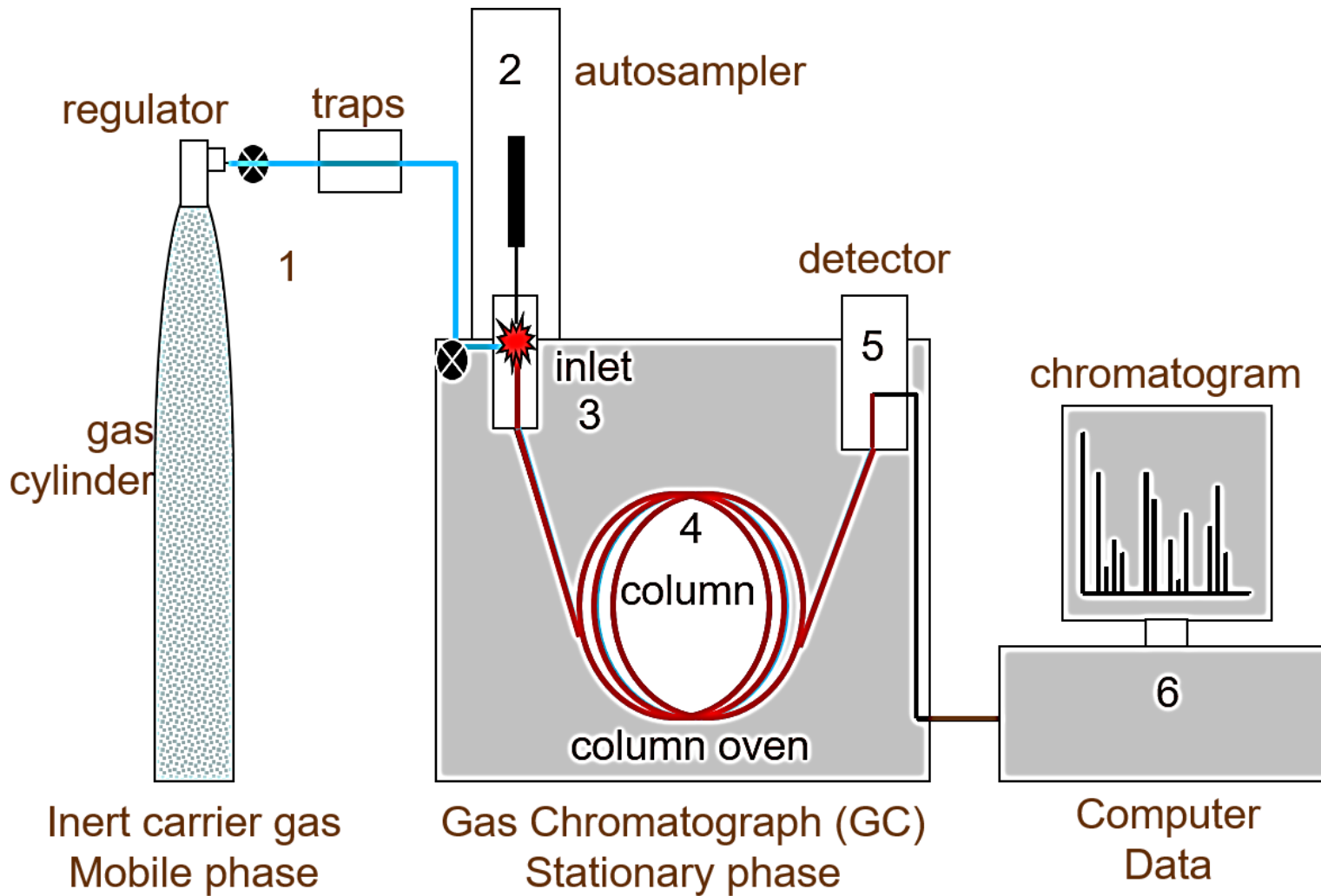


Gas chromatography

GC برای شناسایی و تعیین مقدار انجام می شود. در GC با دو فاز سر و کار داریم:

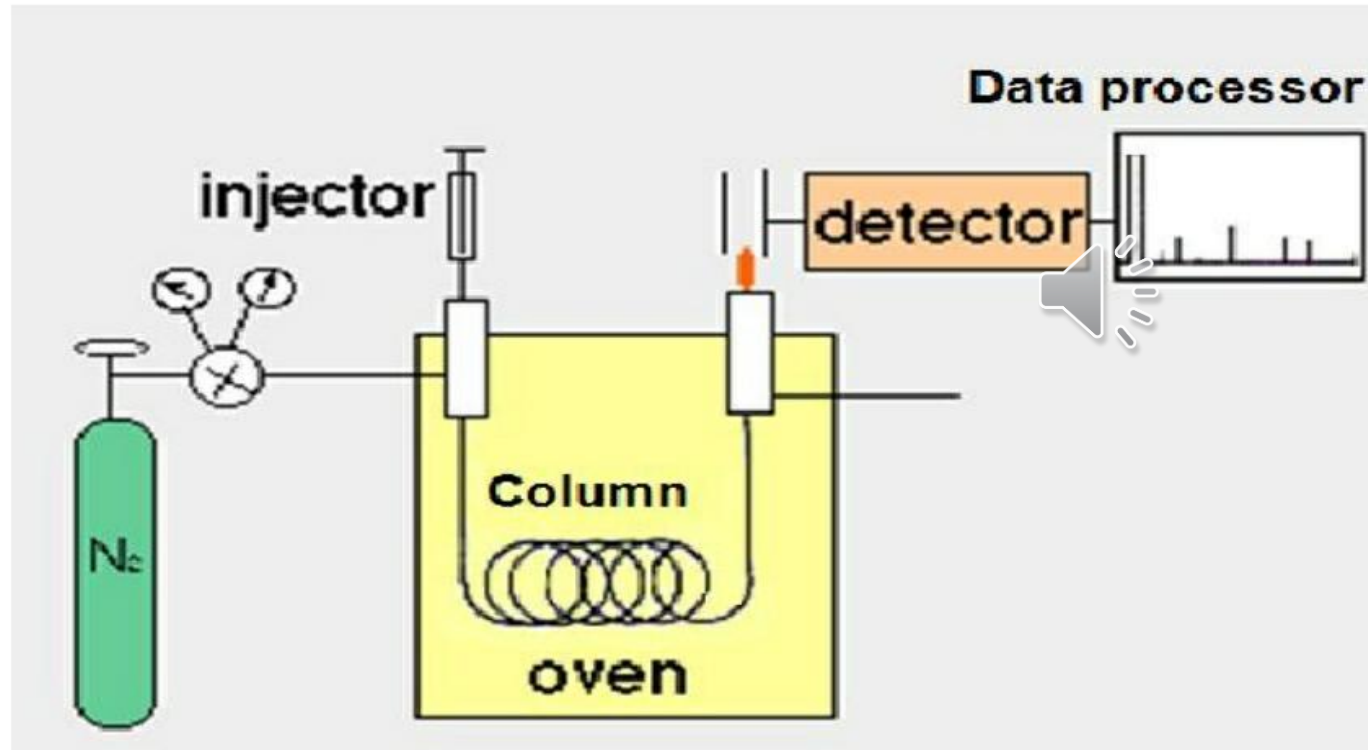
فاز ساکن و فاز متحرک، فاز متحرک یک گاز است و فاز ساکن می تواند مایع یا جامد باشد. فاز متحرک هیچ نقشی در جداسازی ندارد و یکی از تفاوت های GC با HPLC همین موضوع است.

در HPLC فاز متحرک یک مایع است که در جداسازی نقش دارد. تنها نقش فاز متحرک در GC حمل مواد به جلو و خارج کردن آنها از ستون است.



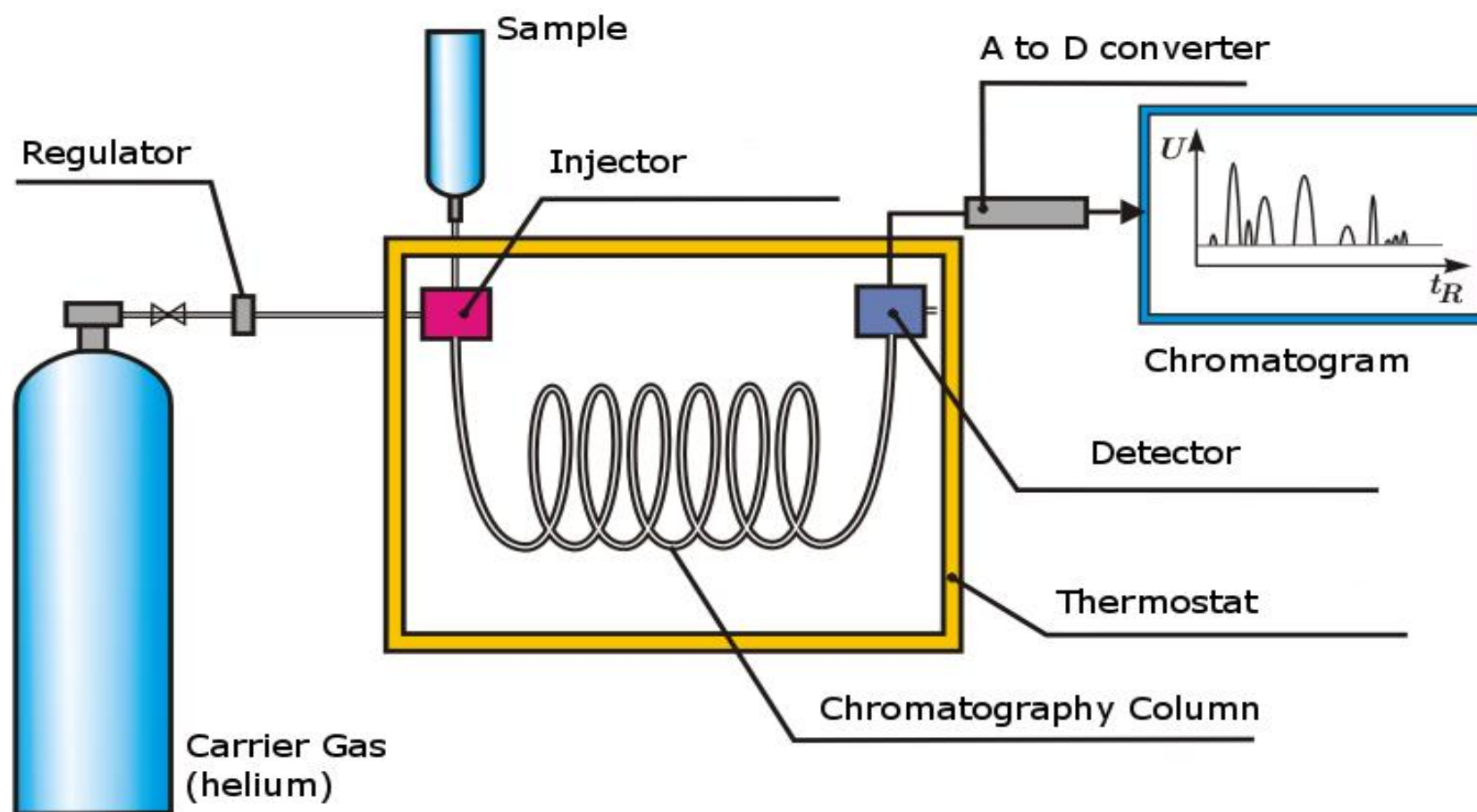
کروماتوگرافی گازی (GC)

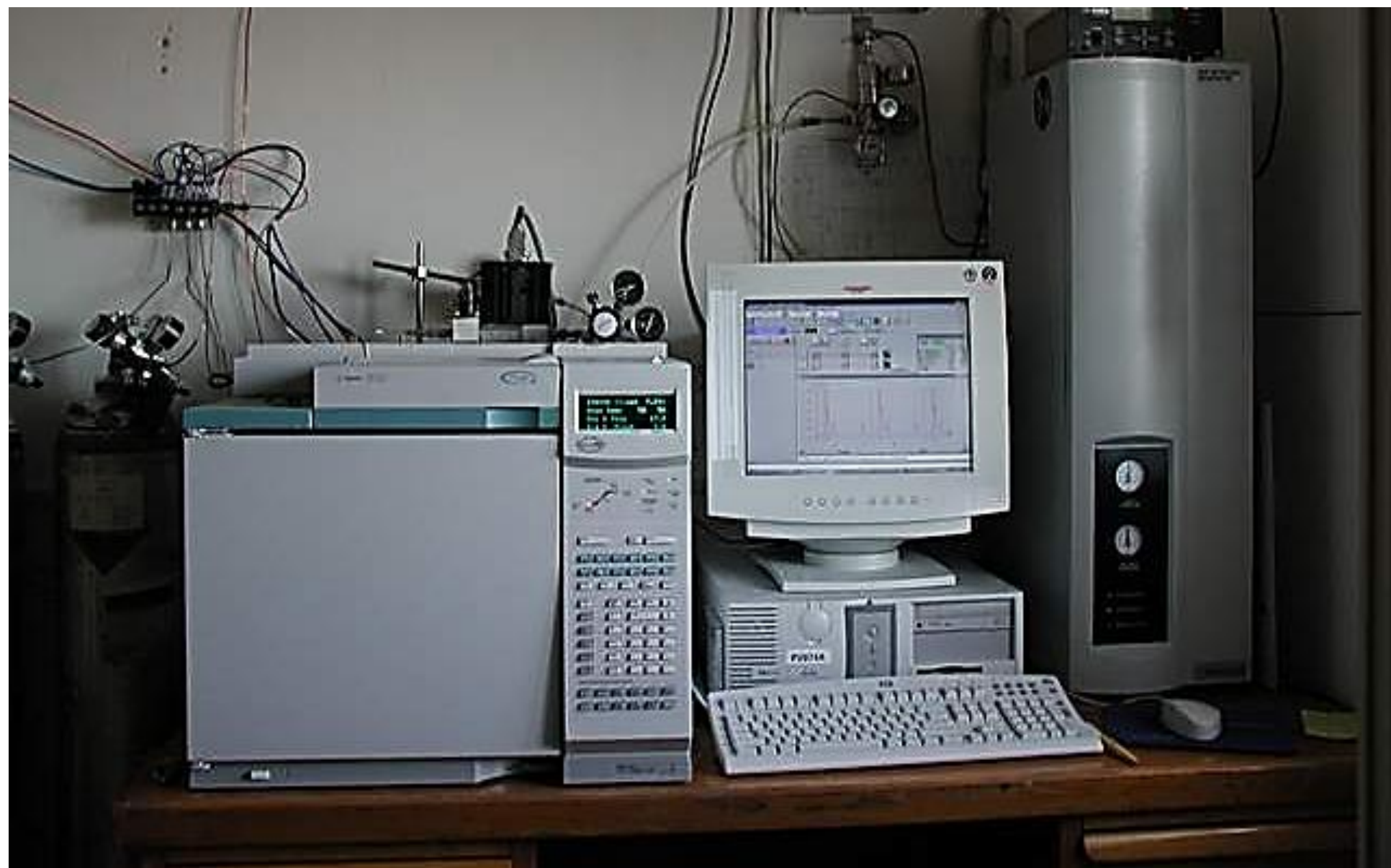
➤ دستگاهوری (Instrumentation)



- ۱- مخزن گاز حامل
- ۲- سیستم تزریق نمونه
- ۳- پیکربندی ستون ها و آون های ستون
- ۴- سیستم آشکارسازها
- ۵- پردازنده داده ها

ابتدا نمونه را توسط سرنگ داخل injector تزریق می کنیم. نمونه پس از ورود به injector به بخار تبدیل شده و با فاز متحرک مخلوط شده، وارد ستون می شود. نمونه جذب ستون می شود و در زمانهای مختلف به وسیله گاز بی اثر از ستون بیرون می آید و وارد دتکتور می شود. ستون قلب دستگاه است زیرا عمل اصلی که جداسازی است در آنجا انجام می شود. دتکتور شناسایی را انجام می دهد

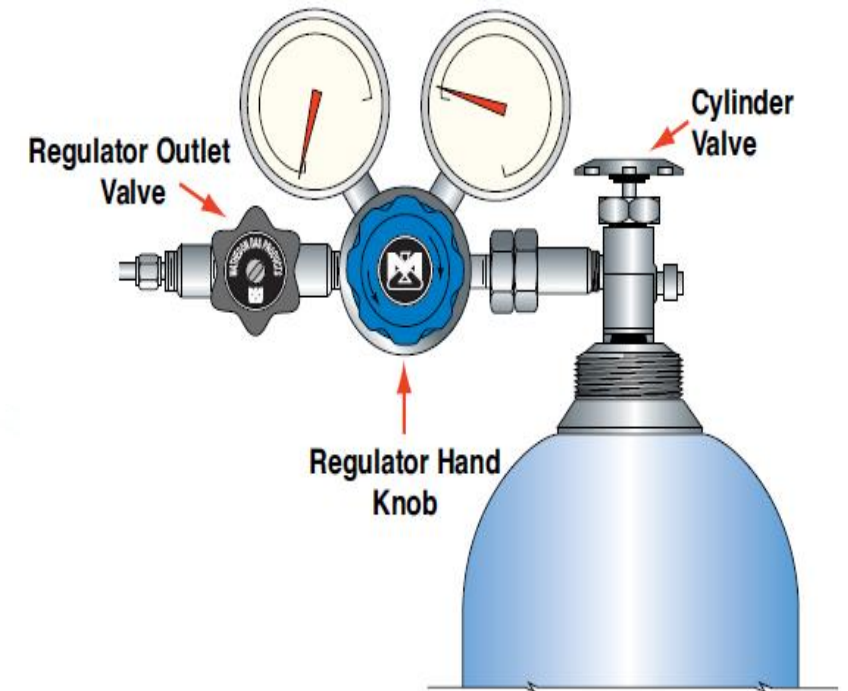




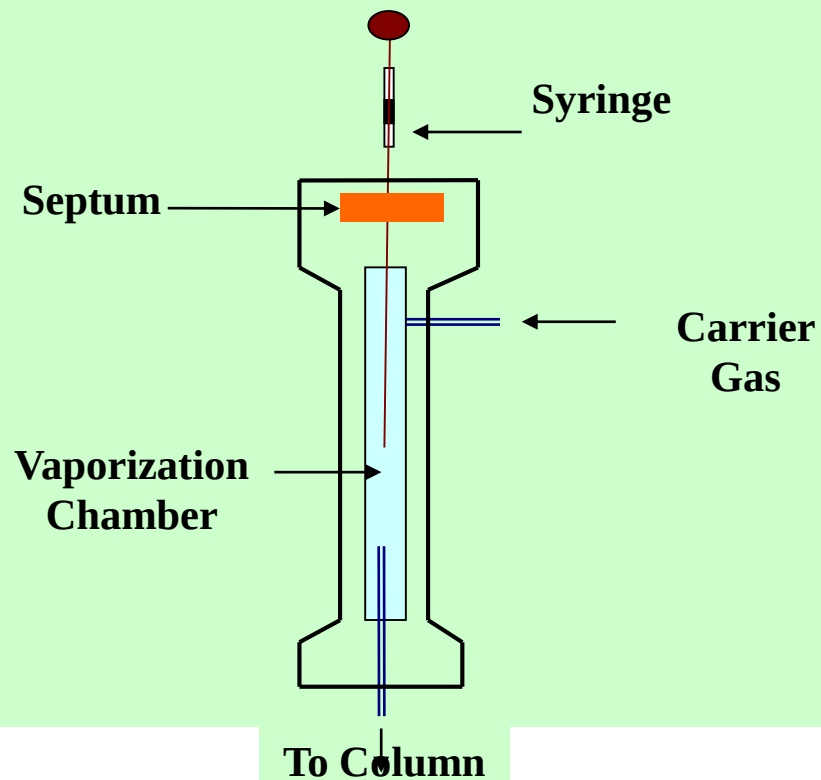
اجزاء و قسمتهای مختلف دستگاه GC

گاز حامل: یک گاز بی اثر است مثل He , H_2 , N_2

هلیوم از همه بهتر است ولی چون گران است کاربرد کمی دارد. نگهداری H_2 هم خطرناک است چون قابلیت انفجار دارد، بنابراین N_2 استفاده می شود.

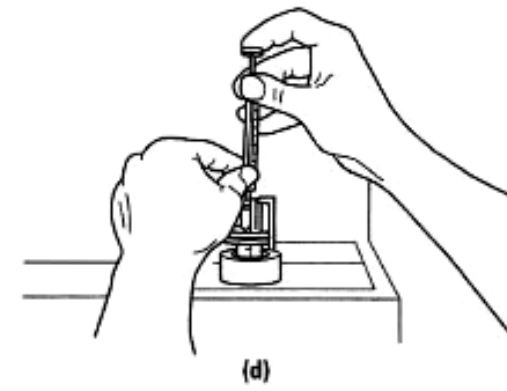
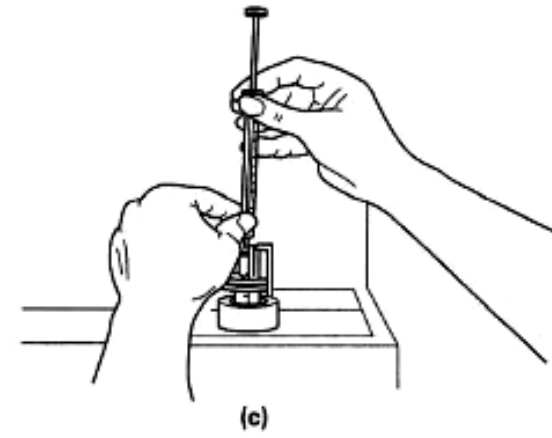
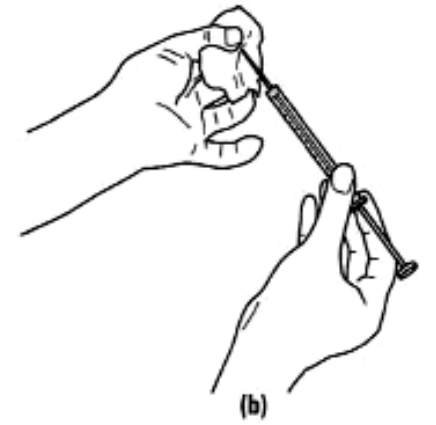
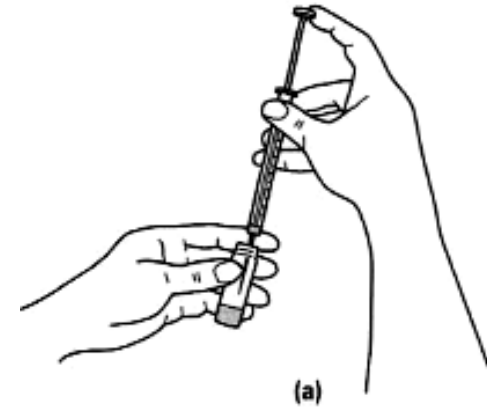
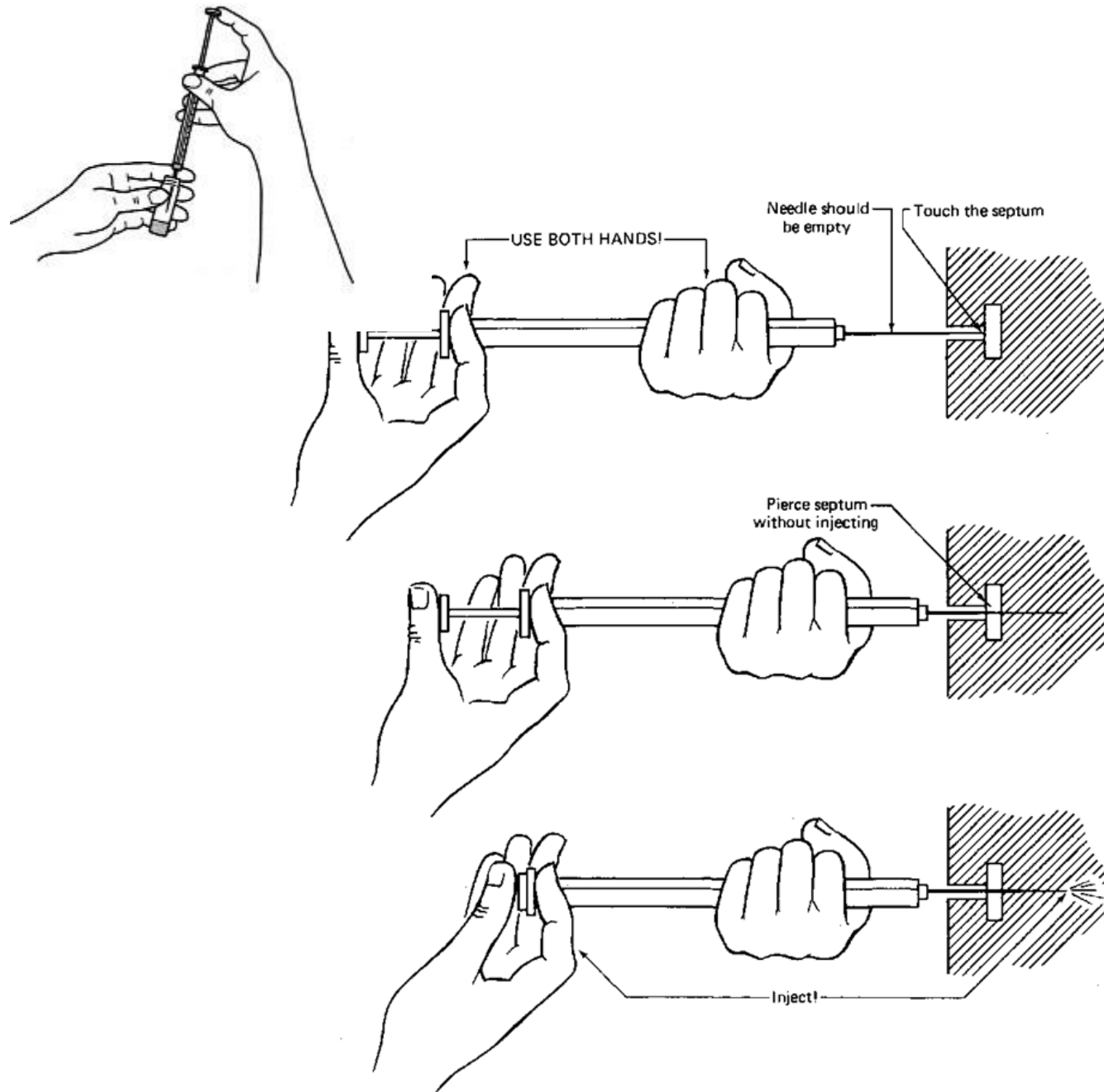


محل تزریق نمونه (injector) در محل تزریق در بالا و پائین وجود دارد که نمونه را به سرعت و توسط یک سرنگ تزریق می کنیم. با GC می توان نمونه های با حجم های بسیار کم تا دهم های میکرولیتر را اندازه گیری نمود. بعد از تزریق نمونه به سرعت و بدون مکث دکمه start را فشار می دهیم.

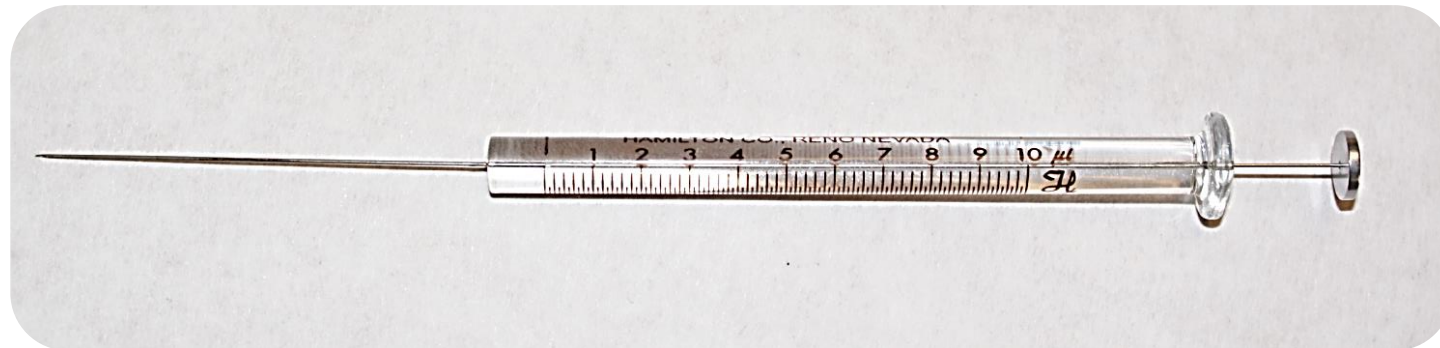
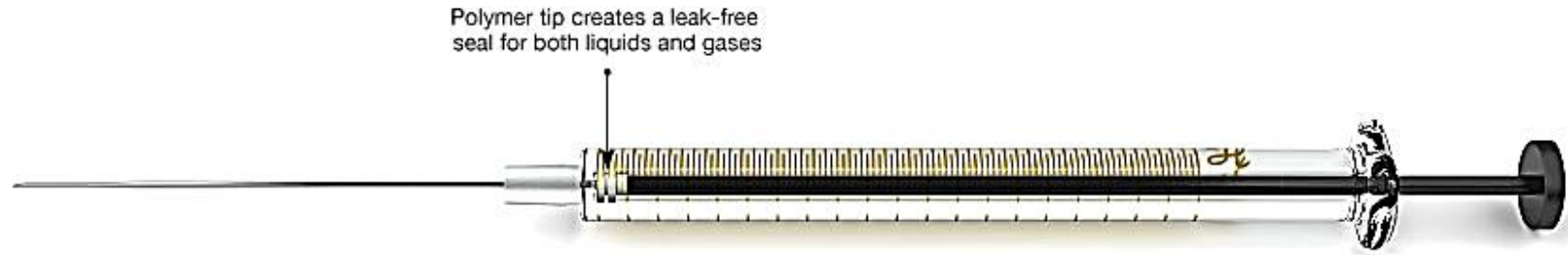


Auto sampler

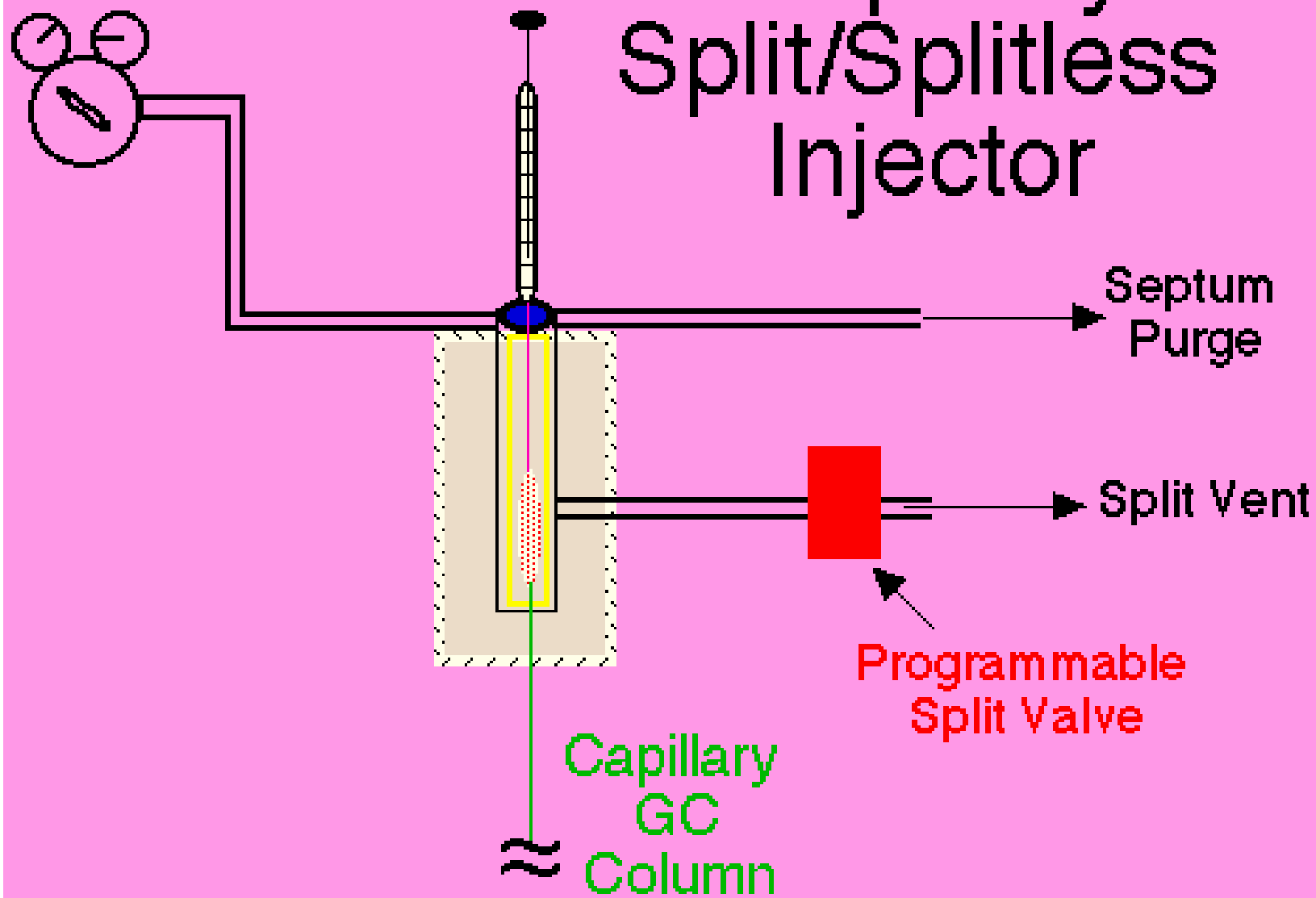




Syringe



Capillary Split/Splitless Injector

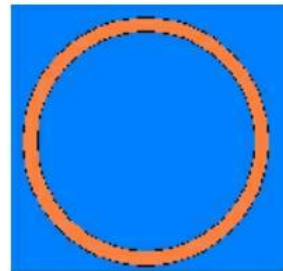
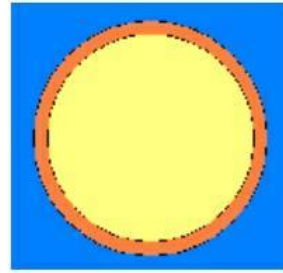




۳- پیکربندی ستون‌ها

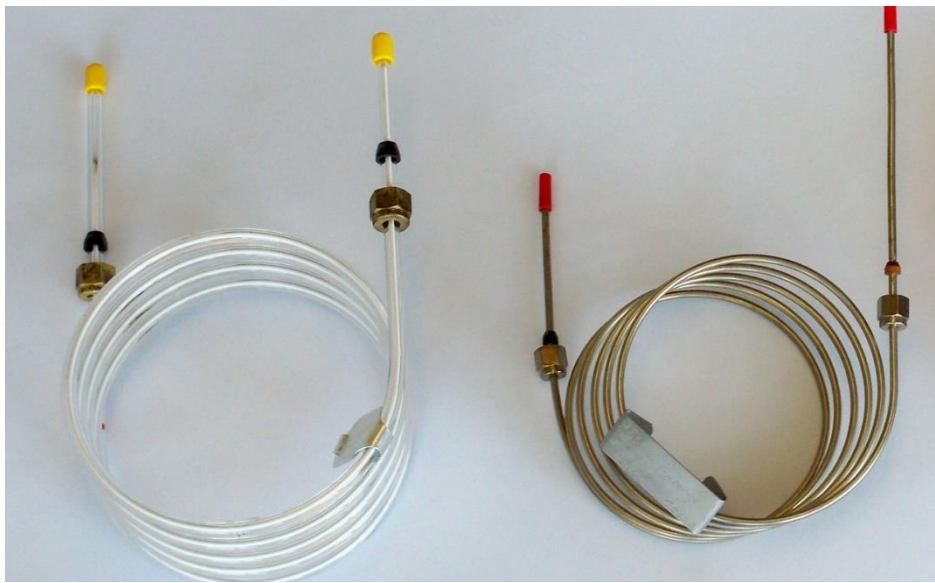
➤ با دو نوع ستون در کروماتوگرافی گاز- مایع سروکار داریم:

▪ ستون‌های پرشده (Packed column)



▪ ستون‌های موینه (Capillary column)

➤ طول ستون‌های کروماتوگرافی از کمتر از ۲ متر تا ۵۰ متر یا بیشتر تغییر می‌کند. ستون‌ها از فولاد زنگ نزن، شیشه، سیلیس جوش خورده یا تفلون ساخته می‌شود.



➤ دستگاهوری

۳- پیکربندی ستون‌ها

➤ ستون‌های پرشده

□ ستون‌های پرشده امروزی، از لوله‌های شیشه‌ای، فلزی (فولاد زنگ نزن، مس، آلومینیوم) یا تفلونی نوعاً با طول ۲ تا ۳ متر و قطر داخلی ۲ تا ۴ میلی‌متر ساخته می‌شوند. این لوله‌ها به طور فشرده و با مواد پرکننده بسیار ریز یا تکیه‌گاه جامدی که با لایه نازکی (۰/۰۵ تا ۱ میکرومتر) از فاز ساکن مایع اندود شده است، پر می‌شوند.

□ تکیه‌گاه ایده‌آل از ذرات کروی کوچک یکنواخت با قدرت مکانیکی خوب و مساحت سطح ویژه مناسب (حداقل $1\text{m}^2/\text{g}$) تشکیل می‌شود تا سطح بزرگتری در معرض فاز متحرک قرار گیرد. علاوه بر این، ماده تکیه‌گاه باید در دماهای بالا بی اثر باشد و به طور یکنواخت به وسیله فاز مایع تر شود.

□ امروزه، متداول‌ترین ماده تکیه‌گاه مورد استفاده از خاک طبیعی (دیاتومه) که از اسکلت هزاران گونه گیاهی تک یاخته‌ای که در دریاها و دریاچه‌ها قدیمی زندگی می‌کرده‌اند، تهیه می‌شوند.

ستون های مویینه به شکل لوله های باز از جنس شیشه های کوارتزی یا فلزی هستند که فاز ساکن به صورت یک لایه فیلم نازک روی دیواره داخلی ستون قرار گرفته است. این ستون ها به دو دسته کلی تقسیم می شوند:

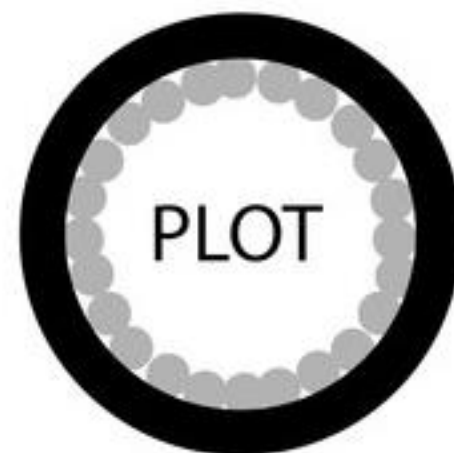
لوله ای باز دیوار اندود **Wall coated open tubular, WCOT**

سطح داخلی ستون با لایه بسیار نازکی از فاز ساکن پوشانده شده است. از متداول ترین نوع WCOT ستون های لوله باز سیلیس جوش خورده Fused silica open tubular, FSOT است که از سیلیس حاوی مقادیر کم اکسیدهای فلزی ساخته شده و با پوشش پلی ایمیدی کاملاً انعطاف پذیر بوده و می توان آنها را به صورت مارپیچ یا حلقه در آورد.

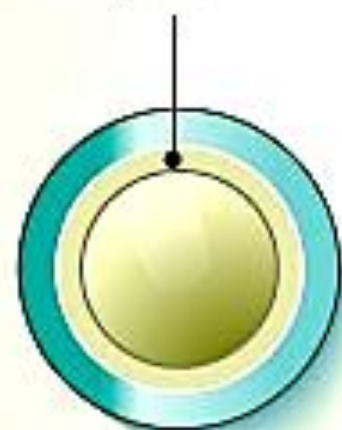
لوله ای باز تکیه گاه اندود **Support coated open tubular, SCOT**

در این نوع ستون سطح درونی لوله بالایه نازکی از مواد نگهدارنده مانند خاک دیاتومه (به ضخامت تقریبی ۳۰ میکرومتر) پوشانده می شود و سپس فاز ساکن بر روی آن قرار داده می شود. ستون های SCOT ظرفیت پذیرش مقدار بیشتری از نمونه را دارد زیرا به دلیل ضخامت فاز ساکن دیرتر از ستون های WCOT اشباع می شوند.



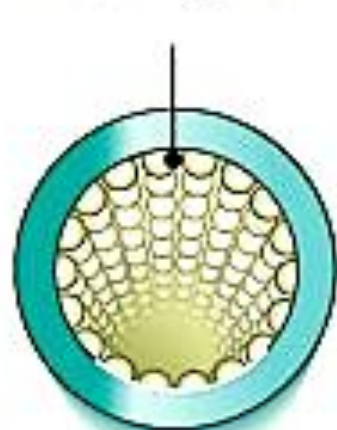


Stationary
liquid
phase



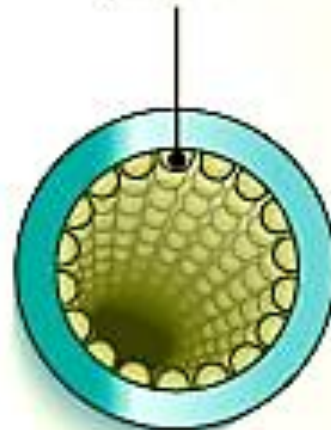
A
WCOT

Solid support coated
with liquid
stationary phase



B
SCOT

Stationary
solid phase
particles



C
PLOT

ستون موپین



فاز ساکن مایع

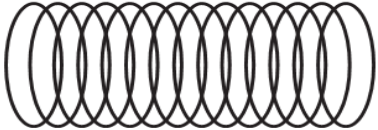
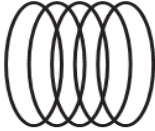
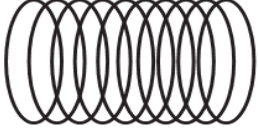


ستون متخلخل

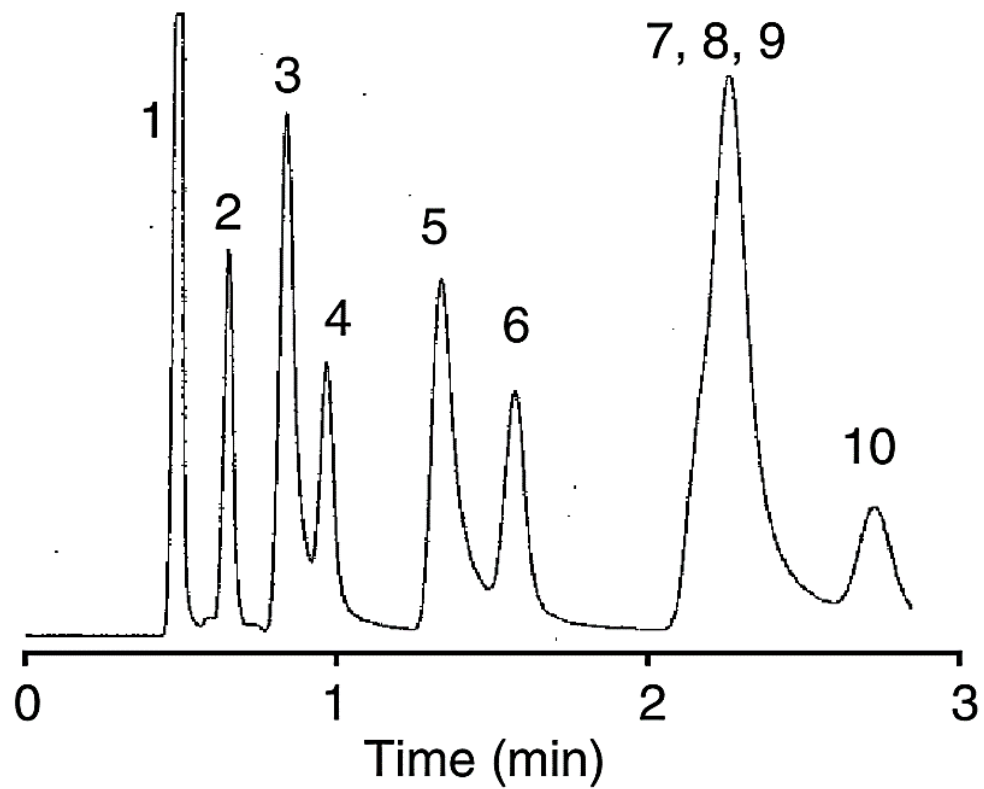


ستون متخلخل اندود شده با فاز ساکن

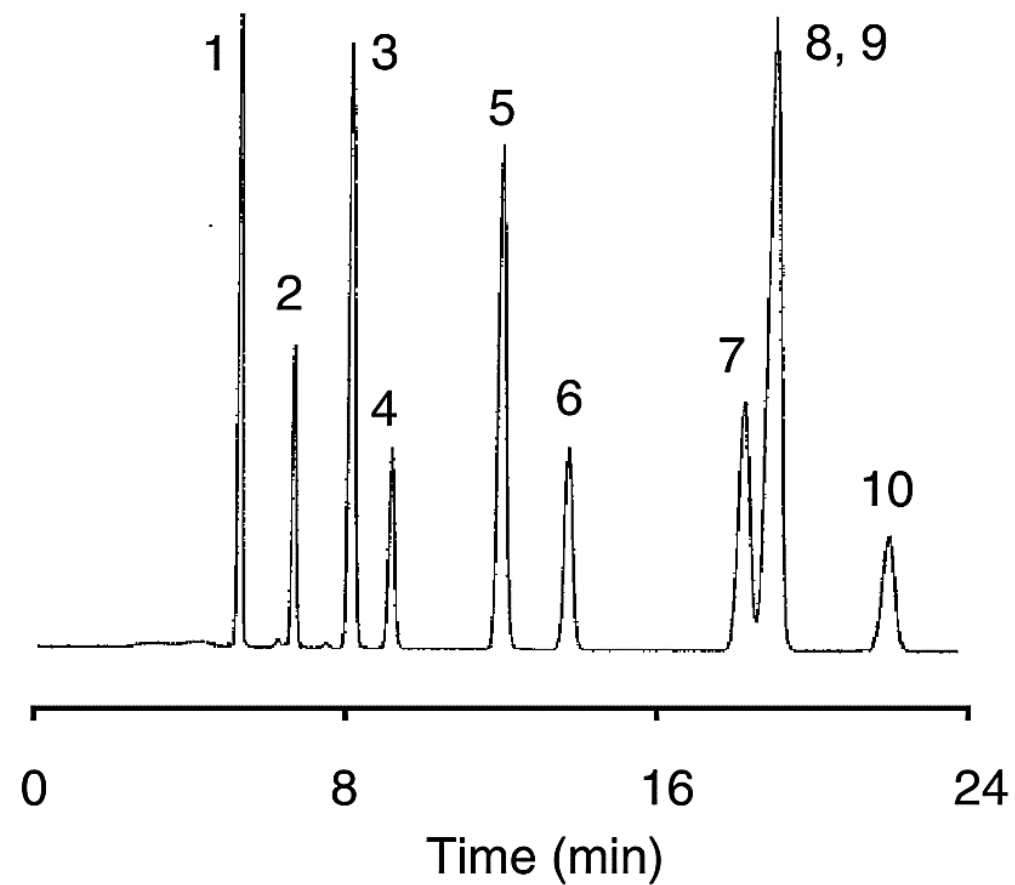


Column Length		Resolution	Speed
	Long (60–100 m)	High	Slow
	Short (5–10 m)	Moderate	Fast
	Medium (25–30 m)	Good compromise, good starting point	

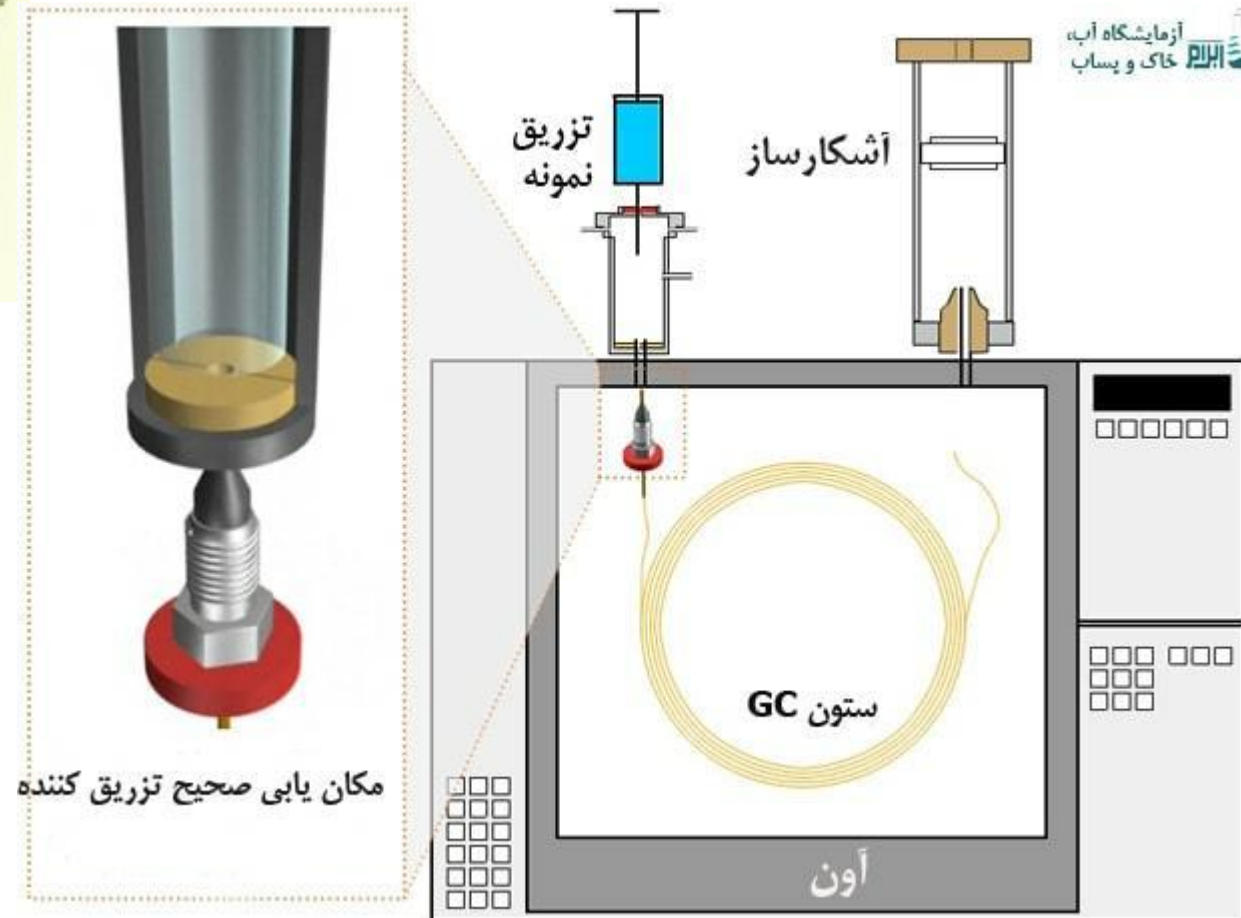
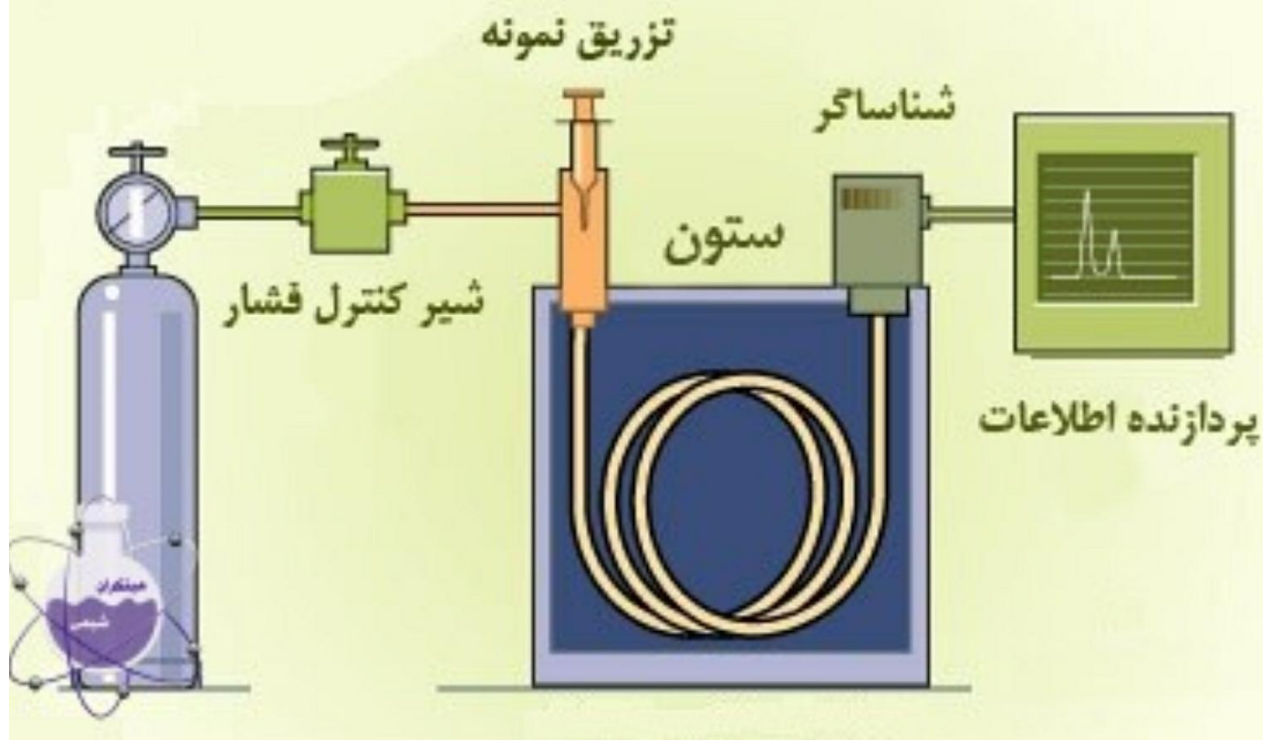
Inside Diameter	Resolution	Speed	Capacity	Ease
 100 μm	Very good	Very good	Fair	Fair
 250 μm 320 μm	Good	Good	Good	Good
 530 μm	Fair	Good	Very good	Very good



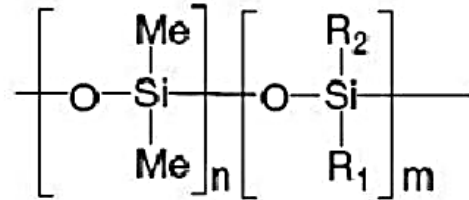
Packed



Open Tubular



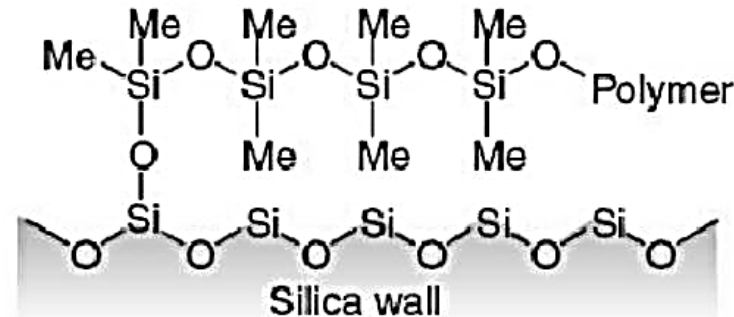
➤ فازهای ساکن متداول

$$\text{O} \begin{array}{c} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{array} \text{Si} - \text{O} - \left[\begin{array}{c} \text{Me} \\ \text{Si} \\ \text{Me} \end{array} \right]_m$$
 $(\text{CH}_2)_3\text{-CN}$ or $\text{C}_2\text{H}_4\text{-CF}_3\ldots$

ex. R_1 and $R_2 = Ph$ $m = 95\%$ and $n = 5\%$

Chemical structure of hexamethylcyclotrisiloxane, a cyclic siloxane with three silicon atoms and six methyl groups.

Wall of silica
(capillary tube)
 $T > 400^\circ\text{C}$
 $(-\text{CH}_4)$


$$\left[\text{O}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}}-\underset{\text{H}_2}{\text{C}} \right]_n \quad \text{"carbowax"}$$

"carbowax"

۳- آون‌های ستون

برای جادادن ستون‌ها در داخل آون‌های دماپای، ستون‌ها معمولا به شکل حلقه‌های با قطر ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر ساخته می‌شوند.



دمای ستون یک متغیر مهم است که باید تا چند دهم درجه برای انجام کارهای دقیق کنترل شود و بنابراین، ستون معمولا در یک آون دماپا جا داده می‌شود. بهترین دمای ستون به نقطه جوش نمونه و درجه جداسازی بستگی دارد. تقریبا دمای معادل یا کمی بالاتر از متوسط نقطه جوش نمونه، به یک زمان شویش مناسب منجر می‌شود.

چهار قسمت از دستگاه باید گرم شوند.

Injector

oven

Column

Detector

دمای ستون باید چند درجه بالاتر از نقطه جوش دیر جوش ترین جزء موجود در نمونه باشد مثلا اگر بالاترین نقطه جوش 150°C باشد، دمای ستون 170°C باشد. دمای injector باید چند درجه بالاتر از ستون و دمای دتکتور هم چند درجه بالاتر از injector باشد.

با ستون با دو برنامه دمایی می توان کار کرد:

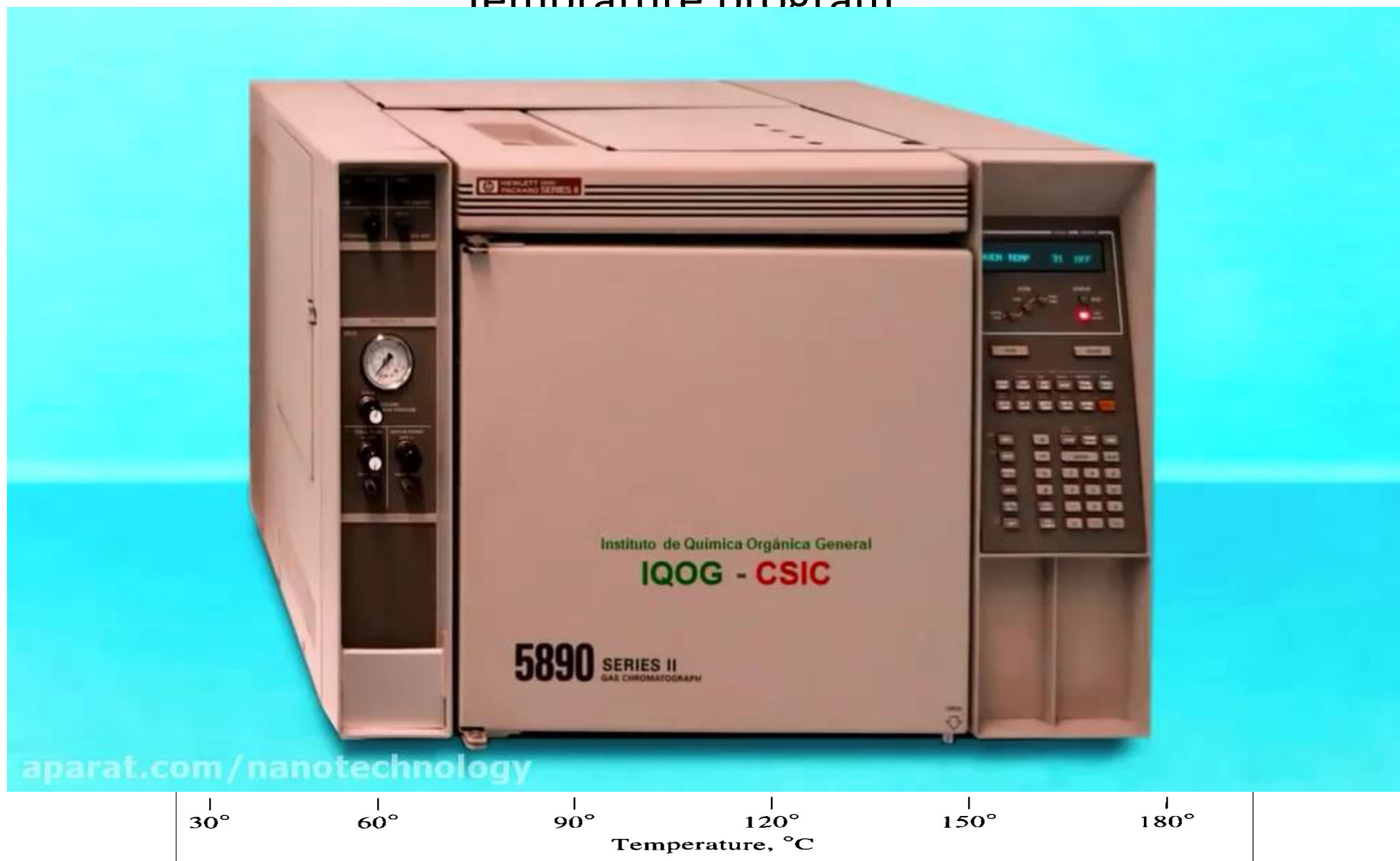
اگر روش کار ایزوترمال باشد به oven یک دمای ثابت می دهیم اما اگر به روش برنامه ریزی کار کنیم، باید به آن برنامه دمایی بدهیم.

روش با یک دمای ثابت کار می کنیم (Isothermal)، بیشتر زمانی استفاده می شود که در نمونه فقط یک ماده مورد شناسایی وجود دارد یا اگر چند ماده وجود دارد، نقطه جوش آنها نزدیک به هم است.

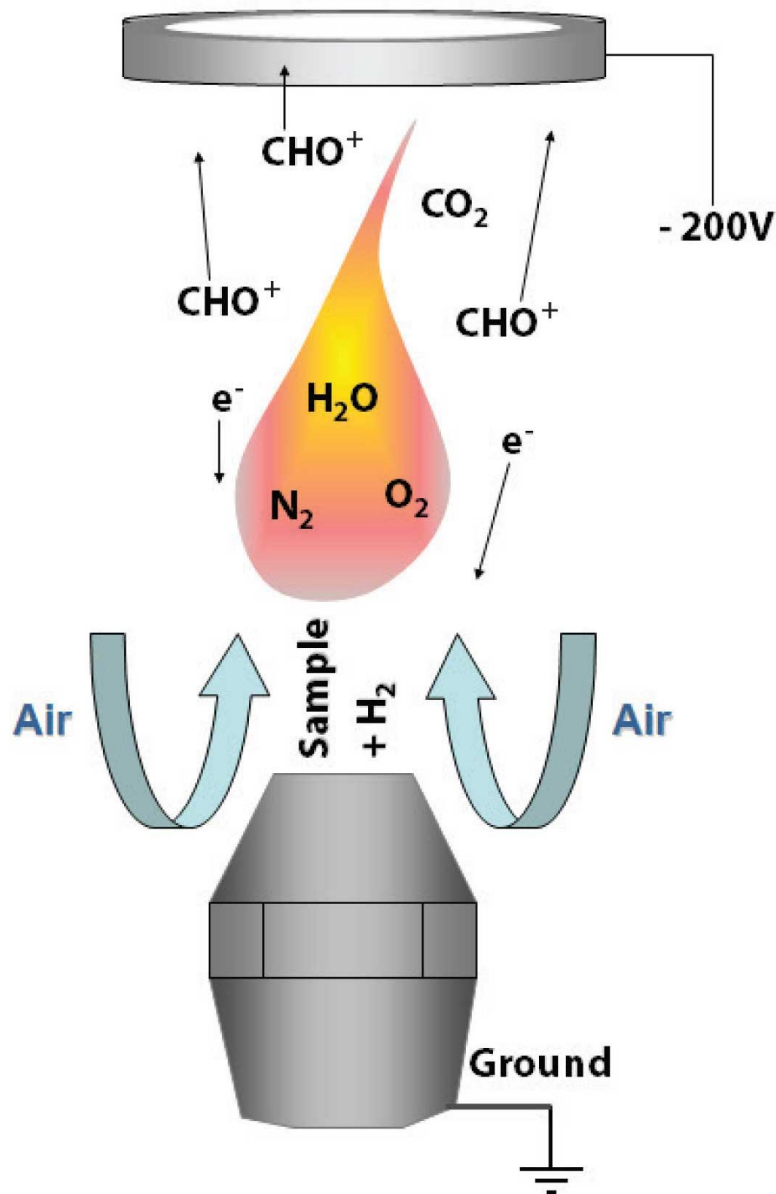
روش برنامه ریزی دمایی (programming) در مواقعی استفاده می شود که مواد موجود در نمونه Range وسیعی از نقطه جوش دارند و اگر ابتدا دمای Oven را بالاتر از نقطه جوش دیر جوش ترین ماده قرار دهیم، مواد با نقطه جوش کمتر تجزیه خواهد شد و نمی توان آنها را شناسایی کرد.

بنابراین طوری دما را تنظیم می کنیم که با سرعت مشخصی از چند درجه بالاتر از مواد به ترتیب نقطه جوش از ستون بیرون می آیند یعنی هر چه تعداد کربن های ماده بیشتر باشد دیرتر بیرون می آیند و پیک آنها دیرتر ظاهر می شود

Temprature program



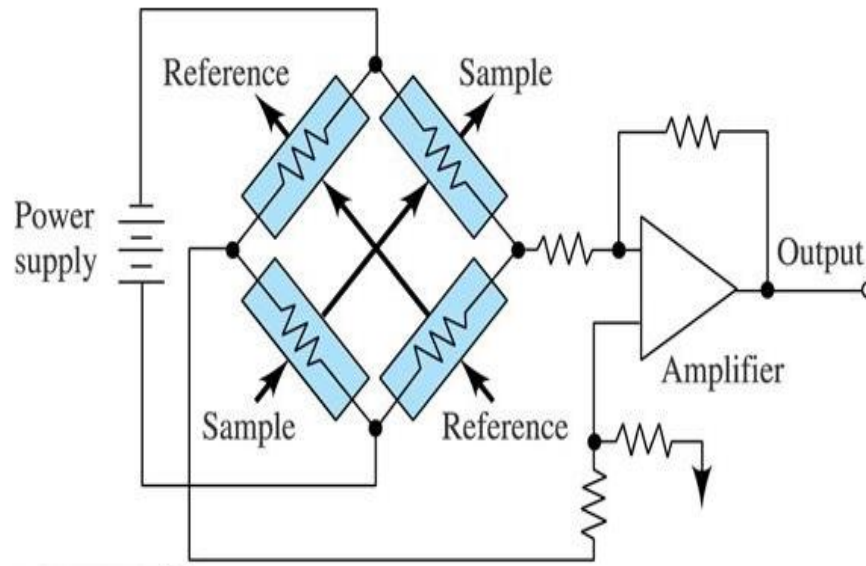
آشکارساز	اختصار	توصیف
آشکارساز یونش شعله ای	FID (Flame Ionization Detector)	- برای همه ترکیبات حاوی کربن - متداول ترین آشکارساز در GC
آشکارساز حرما رسانندگی	TCD (Thermal Conductivity Detector)	- برای کلیه ترکیبات آلی و معدنی
آشکارساز الکترون گیر اندازی	ECD (Electron Capture Detector)	-گزینش پذیر برای ترکیبات حاوی هالوژن - آنالیز سموم و حشره کش ها
آشکارساز حرما یونی	TID (Thermoionic Detector)	برای آنالیز ترکیبات حاوی فسفر و نیتروژن
آشکارساز نشر اتمی	AED (Atomic Emission Detector)	کلیه عناصری که شدت نشر مناسبی در شعله یا پلاسما دارند
آشکارساز فوتو یونشی	PID (Photoionization Detector)	-هیدروکربن های آروماتیک -ترکیبات آلی حاوی گوگرد و فسفر
آشکارساز طیف سنجی زیر قرمز فوریه	FT-IR	همه ترکیباتی که جذب IR دارند
آشکارساز طیف سنجی جرمی	GC/MS (Mass Spectrometry)	- شناسایی ترکیبات مجهول -محدودیتی در نوع نمونه ندارد



- آشکارساز یونش شعله ای Flame ionization detector, FID
- آشکارساز یونش شعله ای یا FID متداول ترین آشکارساز مورد استفاده در GC است که از یک شعله هوا/هیدروژن برای پیرولیز ترکیبات آلی و یک جمع کننده collector برای جمع آوری یون ها و الکترون های تولید شده از فرایند پیرولیز تشکیل شده است. جریان الکتریکی حاصل از یونیزه شدن اتم های کربن با یک امپلی فایر تقویت می شود. پاسخ آشکارساز به نسبت هوا/هیدروژن و گاز حامل وابسته است. حساسیت و گستره خطی بالا، نویز پایین و سهولت استفاده از مزایای این آشکارساز است.
- ترکیبات آلی حاوی گروه های عاملی مانند کربونیل، الکل، هالوژن و آمین، یون های بسیار کمی تولید می کنند و یا اصلاً تولید نمی کنند. و هم چنین به گازهای احتراق ناپذیر شامل SO₂، NO_x و CO₂ حساس نیست و برای ترکیبات غیرآلی نیز پاسخی ندارد.

آشکار ساز گرما رسانندگی

Thermal Conductivity Detector

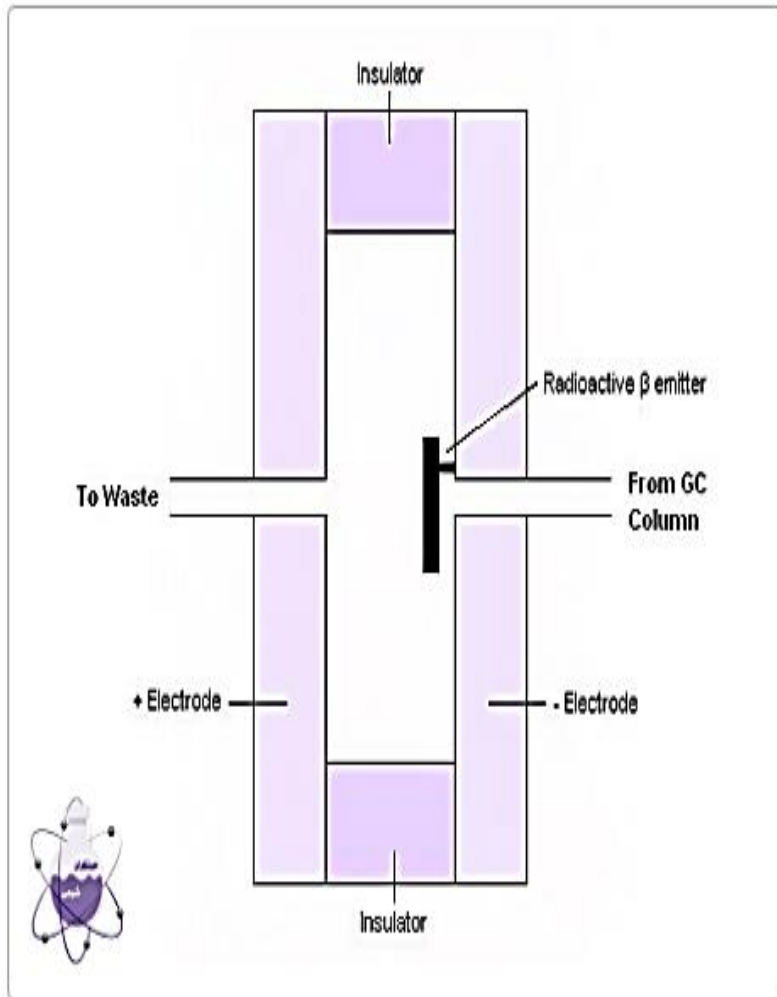


آشکار ساز گرما رسانندگی یا TCD یک آشکار ساز عمومی ست که برای شناسایی هم ترکیبات آلی و هم معدنی به کار می رود. اساس آن تغییر پذیری هدایت گرمایی یک گاز است که به وسیله تغییر مقاومت فلزی واقع در یک محفظه گرمایش سنجیده می شود.

این آشکار ساز دارای دو محفظه گرمایشی کاملاً مشابه هستند که هر کدام یک فیلامان از جنس تنگستن، طلا یا پلاتین هستند که به طور الکتریکی گرم می شوند. گاز حامل خالص از یک محفظه و گاز خارج شده از ستون حاوی نمونه از محفظه دیگر عبور می کنند. حضور مقادیر کم نمونه سبب تغییر هدایت پذیری شده و در نتیجه فیلمان نمونه داغتر از فیلامان گاز حامل می شود و این باعث اختلاف مقاومت و اختلاف جریان بین دو فیلامان می شود. آشکار ساز میزان اختلاف جریان بین دو محفظه را ثبت نموده به صورت پیک نشان می دهد.

آشکارساز الکترون گیرانداز (Electron capture detector, ECD)

در آشکارساز الکترون گیرانداز یا ECD نمونه خروجی از ستون وارد یک سل شیشه ای می شود که اتم های رادیو اکتیو نشر کننده β مانند ^{63}Ni دوپه شده است. الکترون نشر شده از اتم های رادیواکتیو سبب یونیزاسیون گاز حامل شده و در غیاب گونه های آلی یک جریان ثابتی از الکترون ایجاد می شود. در حضور گونه های گیرنده الکترون، این جریان ثابت کاهش می یابد. کاهش جریان متناسب با غلظت گونه های گیرنده الکترون است. از هلیوم و هیدروژن به عنوان گاز حامل نمی توان استفاده کرد چون یونیزه نمی شوند. این آشکارساز بسیار گزینش پذیر است و به مولکول های دارای گروه های الکترون گاتیو مانند هالوژن ها، کینون ها، گروه های نیترو و پراکسیدها حساس است اما پاسخی برای گروه های الکل، آمین و هیدروکربنی ندارد.



آموزش های آزمایشگاهی | LabLearn.ir

این، کل این دستگاه است، همراه با یک سیستم کنترل کامپیوتری در سمت راست



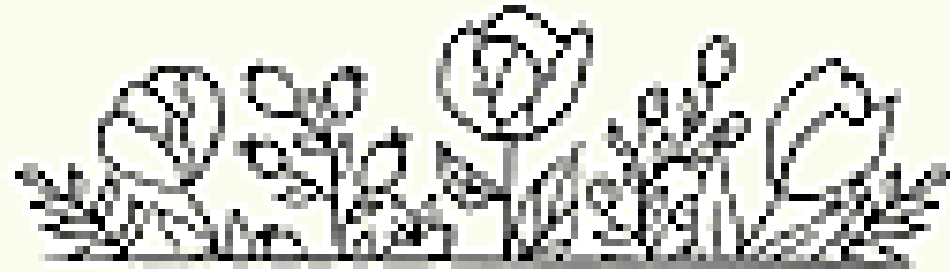
زمینه کاربردی

فارماکولوژی: آنالیز مواد باقیمانده و حلال ها در محصولات میانی و نهایی، سنجش داروها، اندازه گیری ناخالصی ها و مواد فرار

کشاورزی و صنایع غذایی: آنالیز باقیمانده سموم ، حشره کش ها، قارچ کش ها و .. ، آنالیز عطر و اسانس، تشخیص تقلب مواد غذایی (Food adulteration)، پروفایل اسیدهای چرب و ..

محیط زیست: آنالیز ترکیبات فرار در منابع آبی و پساب ها، آنالیز هوا و مانیتورینگ آلاینده های اتمسفری، باقیمانده سموم و ...

پتروشیمی: آنالیز گازهای پالایشگاه، میعانات گازی و ...
صنایع آرایشی بهداشتی و



از توجه شما
سپاسگزاریم

