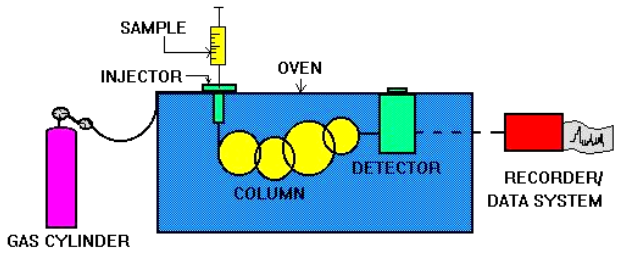
آزمایشــگاه شــرکت پالایش نفت تبــریز

مبانی کروماتوگرافی گازی

Basic Gas Chromatography

GAS CHROMATOGRAPHY



گردآوری: آرش اکبری نوشاد

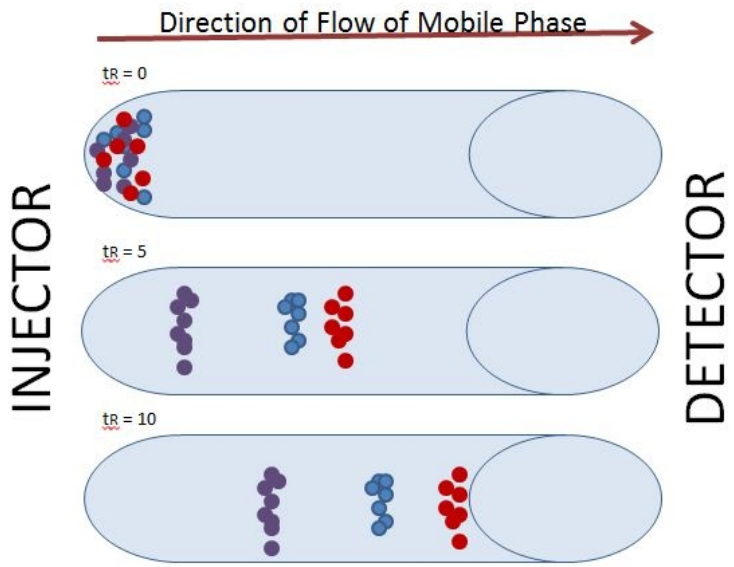
کارشناس ارشد شیمی کاربردی

بازنگری: علی اکبر عبدل‌زاده

کارشناس محترم GC (مجتمع پتروشیمی تبــریز)

مهر ماه ۱۳۹۳

بیشتر آنالیزهای شیمیایی، شامل جداسازی اجزاء موجود در یک مخلوط می‌باشد و مهمترین روش برای چنین جداسازی برخی از اشکال کروماتوگرافی می‌باشد. کروماتوگرافی براساس پخش انتخابی اجزاء مختلف در بین ۲ فاز پایه گذاری شده است. یکی از این فازها، فاز ساکن یا Stationary phase نامیده می‌شود که دارای سطح زیادی است و دیگری فاز متحرک یا mobile phase است. حرکت غیریکنواخت اجسام جداشونده به دلیل نابرابری برآیند دو نیروی متقابل محرکه و بازدارنده از طرف عامل جداکننده اساس کروماتوگرافی است که مجموعه نیروی محرکه و بازدارنده به‌نام عامل تفکیک کننده یا جداکننده نامیده می‌شود. کروماتوگرافی یکی از روش‌های فیزیکی برای جداکردن و خالص سازی مواد است. روش مذکور اولین بار توسط دانشمند روسی Mikhail Tswett برای جداسازی کلروفیل به وسیله ستون پرشده با یک جاذب به‌کار برده شد. (نکته جالب اینکه Tswett در زبان روسی به معنای **رنگ** می‌باشد). این روش براساس جذب سطحی Adsorption و یا تقسیم Partition بین دو فاز ساکن و متحرک می‌باشد. در کروماتوگرافی گازی فاز متحرک یک گاز می‌باشد که معمولاً گاز حامل (Carrier Gas) نامیده می‌شود ولی در کروماتوگرافی مایع (Liquid Chromatography) فاز متحرک یک مایع می‌باشد.



کروماتوگرافی گازی که امروزه کاربرد گسترده‌ای دارد روشی است که برای جداسازی و اندازه‌گیری اجزای فرار در یک مخلوط به کار می‌رود.(مثلاً جداسازی سیکلوهگزان با نقطه جوش ^{o}C ۸۰/۸ از بنزن با نقطه جوش ^{o}C ۸۰/۱ به روش تقطیر مقدور نیست ولی به وسیله GC امکان پذیر می‌باشد). نخستین دستگاه کروماتوگرافی gas-liquid در سال ۱۹۵۵ وارد بازار شد و در حال حاضر بیش از ۵۰ شرکت سازنده دستگاه‌های تجزیه‌ای، در حدود ۱۵۰ مدل از

دستگاه‌های GC را با قیمت‌های از حدود چند ده تا چند صد هزار دلار به فروش می‌رسانند به طوریکه هم اکنون چند صد هزار GC در سراسر جهان مشغول به کار است. قسمت‌های گوناگون دستگاه GC عبارت است از:

۱) سیلندر گاز حامل(Carrier Gas Tank or Cylinder)

۲) ادوات تنظیم فشار و جریان(Flow &Pressure Regulators)

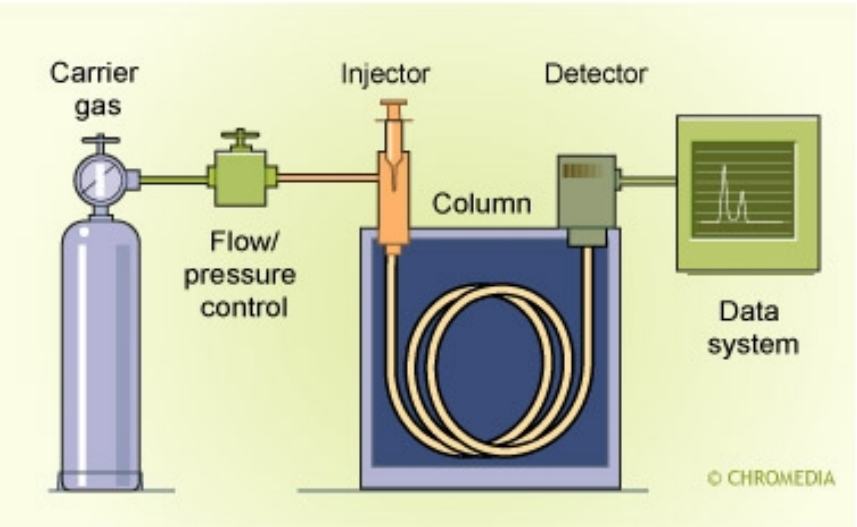
۳) محل تزریق نمونه (Sample Injection Chamber)

۴) ستـــون(Column)

۵) آشکارساز(Detector)

۶) محفظه‌های گرمکن(Oven)

۷) ثبات، داده پرداز و نمایشگر(Recorder, Data System & Displayer)



کروماتوگرافی گازی با در نظر گرفتن اینکه امکان جداسازی ترکیبات بسیار پیچیده را در حداقل زمان فراهم می‌کند یک تکنیک بسیار قوی به شمار می‌رود. گازی که به‌عنوان گاز حامل در کروماتوگرافی گازی (GC) به‌کار می‌رود در سیلندرهای گاز ذخیره می‌گردد. گازی که به یک دستگاه GC وارد می‌شود باید فشار و سرعت جریان (Flow) ثابتی که توسط کنترل کننده‌های فشار دائماً تنظیم می‌گردند، داشته باشد. نمونه‌های مورد آنالیز توسط سیستم تزریق (Injector) به درون ستون وارد می‌گردند. عمل جداسازی اجزاء توسط ستون انجام می‌گیرد و سپس این اجزاء شسته شده (elute) و توسط دتکتور تشخیص داده می‌شوند. خروجی دتکتور توسط یک آمپلی‌فایر تقویت شده و سپس به یک سیستم ثبات فرستاده می‌شود. علایم خروجی از دتکتور که به صورت mV بر حسب زمان ترسیم می‌شود یک کروماتوگرام (Chromatogram) نامیده می‌گردد. امروزه سیستم‌های ثبات به صورت کامپیوتری و با نرم‌افزارهای مجهز نظیر Maitre، Azur، Star و Galaxy امکان تجزیه و تحلیل کروماتوگرام را در حالت‌های

مختلف فرآهم نموده است. یک کروماتوگرام شامل یک‌سری از پیک‌هاست که با اجزای موجود در نمونه مطابقت دارند و در یک جهت روی یک خط پایه (یا Base Line) قرار می‌گیرند. شناسائی پیک‌ها یا آنالیز کیفی(Qualitative Analysis)، براساس زمان بازداری(Retention Time) یعنی زمانی که طول می‌کشد تا ترکیب از محل تزریق شسته شود و در نهایت از ستون خارج شود، استوار است و آنالیز کمی بر اساس اندازه یا سطح زیر پیک (Area) به‌دست می‌آید.

* سطح پیک‌ها به موارد زیر وابسته است :

- مقدار ترکیبات (Amount of Components)
- فاکتور پاسخ(Response Factor)
- حجم cell دتکتور (Cell Volume)
- زمان بودن در دتکتور(Residence Time)

به طور کلی در کروماتوگرافی گازی با ۲ نوع ستون سروکار داریم:

۱) ستون‌های مویی (Capillary Column): یک ستون مویی یک لوله باز از جنس فلز یا شیشه‌های کوارتز خالص (Fused Silica) می‌باشد که فاز ساکن به صورت لایه‌ای بنام film دیوارهای داخلی را می‌پوشاند. این ستون‌ها بر دونوع هستند:

- Wall-Coated Open Tubular یا WCOT که در آنها فاز ساکن به صورت لایه بسیار نازکی داخل آنها پوشش داده شده است.
- Support-Coated Open Tubular یا SCOT که در آنها لایه نازکی از مواد نگهدارنده نظیر خاک دیاتومه (Diatomaceous Earth) به ضخامت حدود 30µm پوشش داده شده و سپس فاز ساکن روی آن قرار داده می‌شود . تفاوت SCOT با WCOT این است که ظرفیت پذیرش مقدار بیشتری نمونه را دارد، چراکه به دلیل ضخامت فاز ساکن دیرتر از ستون‌های WCOT اشباع می‌شوند.

در هر دو مورد چنانچه جنس ستون از سیلیس گداخته باشد در اصطلاح Fused-silica open tubular Column یا FSOT نامیده می‌شود. طول ستون موی بین ۱۵ تا ۱۰۰ متر متغیر می‌باشد. قطر داخلی از ۰/۱۵ میلی‌متر برای یک ستون با قطر نازک (narrow bore) و ۰/۵۳ میلی‌متر برای یک ستون wide Bore یا Mega bore متغیر می‌باشد.

۲) ستون‌های فشرده (Packed Column): ستون‌های packed قدیمی‌تر از دیگری می‌باشند و لوله‌هایی فلزی یا شیشه‌ای هستند که به طور کامل با یک‌سری ذرات جامد پر می‌شوند.

- **زمان بازداری(Retention time)**

گذر هر نمونه وارد شده به ستون کروماتوگرافی نیازمند زمان است، حتی اگر میل ترکیبی با فاز ساکن نداشته باشد؛ به طور کلی زمان بین هدایت و ظهور آن در خارج ستون، تنها به سرعت فاز متحرک که از میان ستون عبور می‌کند بستگی خواهد داشت. به‌عبارت دیگر مدت مسافرت آن *(منظور نمونه‌هایی که میل ترکیبی با فاز ساکن ندارند)* با سرعت فاز متحرک متناسب خواهد بود. زمانی که طول می‌کشد نمونه وارد شده به ستون با میل ترکیبی صفر نسبت به فاز ساکن تحت تاثیر فاز متحرک از ستون خارج شود زمان نگهداشته شده یا (hold up time) در ستون نامیده می‌شود (t_o) . برای مثال اگر فاز متحرکی با سرعت ۴۰ cm/s از میان ستونی ۱۰ متری عبور کند زمان بازداری ۲۵ ثانیه خواهد بود.

$$U = \frac{L}{to} \Rightarrow 40 = \frac{1000}{to} \Rightarrow to = 25s$$

اجزای مخلوطی که میل ترکیبی با فاز ساکن دارند باید نسبت به این زمان تأخیر داشته باشند. بنابراین *((زمان بین تزریق نمونه و شستشوی هر جزء زمان بازداری یا Retention time یا t_r نامیده می‌شود))*. زمان بازداری خالص (t_r') زمانی است که جزء نمونه در فاز ساکن صرف می‌کند: ($t_r' = t_r - t_o$)

دو اثری که در طی یک عملیات کروماتوگرافی اتفاق می‌افتد و در جداسازی مهم هستند عبارتند از:

(۱) زمان بازداری (RT) : جداسازی ۲ جزء در طی یک عملیات کروماتوگرافی مستلزم وجود تفاوت زمان بازداری مابین آنهاست.

(۲) پهنای پیک: (یا به عبارتی سطح زیر پیک= area) : جزئی از نمونه که به وسیله دتکتور شناسائی شده، به صورت یک سیگنال به وسیله یک ثبات (recorder) به صورت پیک‌هایی بر روی کروماتوگرام ثبت می‌شود. این پیک می‌تواند بی‌اندازه باریک یا پهن باشد. چنانچه نمونه ستون را در یک زمان خیلی کم ترک کند پیک باریک و اگر دوری پیک از نقطه شروع روی کروماتوگرام بیشتر باشد پیک پهن‌تر می‌شود. وسعت پهنای پیک‌ها در جداسازی اجزاء نمونه یک نقش اساسی ایفاء می‌کند.

- **پدیده‌های همپوشانی بین ۲ پیک یا (Overlap)**

اگر ۲ پیک مجاور هم هر دو پهن باشند ۲ پیک نسبت به هم دیگر Over Lap خواهند داد و این به معنی یک جداسازی غیر کامل می‌باشد. این پدیده با پیک‌های باریک به‌ندرت اتفاق می‌افتد به طوری که چنانچه اختلاف کمی در بازداری داشته باشند جداسازی آنها کامل خواهد بود. توانایی تولید پیک‌های باریک توسط یک ستونی «کارایی یا بازده ستون» نامیده می‌شود. یک ستون کارا و مناسب ستونی است که برخلاف طول زیاد بتواند پیک‌های باریک ایجاد کند. پهن شدن نمونه در ستون به شکل ستون و شرایط عمل بستگی دارد و به طور کمی به وسیله ارتفاعی معادل یک بشقاب فرضی (HETP) و تعداد بشقاب‌های فرضی تعیین می‌شود.

- **ارتفاع معادل بشقابک فرضی**(Height Equivalent to a Theoretical Plate = HETP)

HETP طول لازمی از ستون است که نمونه مورد نظر در آن طول بین فاز گازی متحرک و فاز مایع ساکن به حالت تعادل می‌رسد.

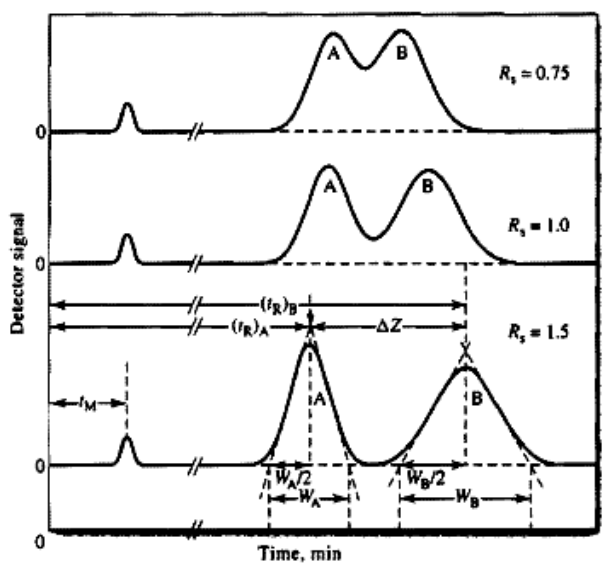
- **جداسازی در** GC

اصولاً سه حالت برای تفکیک یا Rs یا Resolution factor متصور است:

۱) Resolution factor کمتر یا مساوی 1.25 که عملاً جداسازی در این حالت غیرقابل قبول است. در حالتی که Resolution برابر با یک باشد، پیک‌های مربوط به A و B حدود 4% در یکدیگر تداخل دارند. چنانچه Resolution برابر 0.75 باشد ، اساساً جداسازی دو ترکیب به طور کامل انجام نگرفته است.

۲) 1.25 < Resolution factor < 1.5 که تجزیه با درصد خطای قابل قبول انجام پذیر است. در حالتی که Resolution برابر 1.5 باشد میزان تداخل دو ترکیب حدود 0.3% است.

۳) جداسازی مناسب هنگامی صورت می‌گیرد که Resolution factor بیش از ۱/۵ باشد که بهترین حالت برای تجزیه است.



$$R_S = \frac{1}{4}\left(\frac{\alpha-1}{\alpha}\right)\times\left(\frac{k_B}{k_B+1}\right)\times\sqrt{N_{th}}$$

1) k_A & k_B or Retention Factor $k_B = \frac{t_R - t_0}{t_0}$

2) α or Selectivity $\alpha = \frac{K_B}{K_A}$ or $\alpha = \frac{k_B}{k_A}$

3) N_{th} or Efficiency or theoretical plate number $N_{th} = 5.545\left(\frac{t_R}{W_{1/2}}\right)^2$ or $N_{th} = 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2$

در روابط بالا k_A و k_B عبارت است از مدت زمانی که یک ترکیب در فاز ساکن نسبت به فاز متحرک صرف می‌کند و R_s هم Separation or Resolution factor می‌باشد.

با توجه به روابط مشخص است که:

۱) ترکیب مورد نظر ابتدا باید حتماً **توسط فاز ساکن جذب** گردد تا بتواند جداسازی داشته باشد و یا به زبان دیگر حتماً $k_B > 0$ باشد.

۲) جداسازی هم چنین به درجات مختلف تاخیر نمونه در ستون یعنی اعداد k_A و k_B مربوط به پیک‌های بستگی دارد به طوری‌که این اعداد باید با هم متفاوت باشند تا بتوان فاکتور انتخاب پذیری ستون نسبت به ترکیبات مختلف را مناسب دانست. هر چه تفاوت بین k ها بیشتر باشد مطمئناً جداسازی مناسبتری را خواهیم داشت.

(اگر $k_A = k_B$ بنابراین گزینش‌پذیری برابر صفر و در نتیجه $Rs = 0$ می‌شود)

۳) سومین فاکتوری که در جداسازی موثر است قابلیت ستون و یا Nth است که باعث ایجاد پیک‌های باریک می‌گردد. پس هر چه تعداد بشقاب‌های فرضی بیشتر باشد پیک‌ها باریکتر و در نتیجه جداسازی مناسبتر خواهد بود.

مثال) ترکیب A و B در یک ستون 30cm دارای R.T به ترتیب 16.40 min و 17.63 min هستند. یک گونه بدون زمان بازداری ستون را در 1.30 min ترک می‌کند. پهنای پیک(Peak Widths) برای A و B به ترتیب برابر 1.11 min و 1.21 min است. موارد خواسته شده زیر را محاسبه کنید:

الف) جداسازی ستون (Resolution)

ب) تعداد میانگین تشتک‌های ستون (Average number of plates)

ج) ارتفاع تشتک (The plate height)

د) طول ستونی که جداسازی برابر با 1.5 را مهیا سازد

هـ) زمان لازم برای شست وشوی(Elute) ترکیب B از ستونی که جداسازی(R_S) برابر 1.5 را فراهم می‌کند.

و) ارتفاع تشتک لازم برای دستیابی به قدرت تفکیک 1.5 در ستون اصلی با طول 30 cm و زمان اولیه.

الف)

$$R_S = \frac{2[(t_R)_B - (t_R)_A]}{W_A + W_B} \qquad R_S = \frac{2[17.63-16.40]}{1.11+1.21} = 1.06$$

ب)

$$N_{th} = 16\left(\frac{t_R}{W}\right)^2 \begin{cases} N_A = 16\left(\frac{16.40}{1.11}\right)^2 = 3.49\times10^3 \\ N_B = 16\left(\frac{17.63}{1.21}\right)^2 = 3.40\times10^3 \end{cases} \Rightarrow N_{av} = \frac{3.49\times10^3 + 3.40\times10^3}{2} = 3.44\times10^3$$

ج)

$$H=\frac{L}{N}=\frac{30\,cm}{3.44\times10^{3}}=8.7\times10^{-3}\,cm$$

د) k و α با افزایش N و L تغییر نمی‌کنند. بنابراین، معادله مقایسه‌ای بین تفکیک و تعداد تشتک فرضی به صورت زیر نوشته می‌شود:

$$\frac{(R_S)_1}{(R_S)_2}=\frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}} \qquad \Rightarrow \qquad \sqrt{N_2}=\sqrt{N_1}\,\frac{(R_S)_2}{(R_S)_1}\ \ or\ \ N_2=N_1\times(\frac{R_{S2}}{R_{S1}})^2$$

$$N_2=3.44\times10^{3}(\frac{1.5}{1.06})^2=6.9\times10^{3}$$

$$H=\frac{L}{N}\ \Rightarrow\ L=H.N\ \Rightarrow L=8.7\times10^{-3}\,cm\times6.9\times10^{3}=60\,cm$$

هـ)

$$\frac{(t_R)_1}{(t_R)_2}=\frac{(R_S)_1^2}{(R_S)_2^2} \qquad (t_R)_2=(t_R)_1\frac{(R_S)_2^2}{(R_S)_1^2}$$

$$(t_R)_2=17.63\frac{(1.5)^2}{(1.06)^2}=35\min$$

بنابراین، برای دستیابی به Resolution اصلاح شده برابر 1.5 ، زمان جداسازی باید تقریباً دو برابر شود.

و)

$$\frac{(t_R)_B}{(t_R)_B}=\frac{(R_S)_1^2}{(R_S)_2^2}\times\frac{H_1}{H_2} \qquad \Rightarrow \qquad H_2=H_1\times\frac{(R_S)_1^2}{(R_S)_2^2}$$

$$H_2=H_1\times\frac{(R_S)_1^2}{(R_S)_2^2}=8.7\times10^{-3}cm\frac{(1.06)^2}{(1.5)^2}=4.3\times10^{-3}\,cm$$

محاسبه اخیر نشان می‌دهد که برای دستیابی به قدرت تفکیک معادل 1.5 در زمان 17.63 min در یک ستون 30 cm، ارتفاع تشتک باید نصف شود.

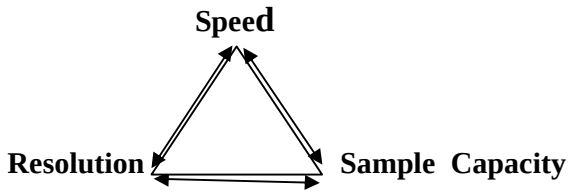
برای رسیدن به نتایج مطلوب باید به نکات زیر توجه کرد:

در هر مورد از کروماتوگرافی باید به راه‌حل مربوط به آن کروماتوگرام اندیشید و پیش رفتن با حدس و خطا هرگز یک کروماتوگرام مناسب را ارائه نخواهد داد. به همین دلیل کمپانی SIEMENS یک راه حل چند مرحله‌ای پیشنهاد می‌کند:

ستون بلندتر	**برای بیشتر کردن K´**
کم کردن دمای oven	**جهت کم کردن سرعت جداشدن نمونه از فاز ساکن و به‌دنبال آن افزایش K´**
استفاده از فاز ساکن دیگر	**برای استفاده از تغییر در α**
استفاده از یک ستون با کارائی بالاتر	**برای استفاده از فاکتور Nth**

چنانچه تغییرات بالا نتیجه مطلوب نداد آنگاه از سیستم های چند ستونی و یا (Complex Column Switching System) می‌توان استفاده نمود. در ضمن هر مشکل در کروماتوگرافی تنها یک راه حل ندارد و ممکن است بتوان از چند راه به جواب مطلوب رسید. برای بدست آوردن بهترین شرایط در کروماتوگرافی باید حتماً سه فاکتور جداسازی، سرعت و ظرفیت نمونه را مد نظر داشت که البته هیچکدام از این سه فاکتور از همدیگر جدا نیستند و هر کدام به دو عامل دیگر بستگی دارند.

این به این معنی است که اگر بخواهیم ستونی با حداکثر جداسازی داشته باشیم مسلماً مدت زمان آنالیز بسیار زیاد خواهد بود و همین طور میزان ظرفیت نمونه نیز کم خواهد شد و اگر بخواهیم آنالیزی سریع داشته باشیم عوامل دیگر را از دست می‌دهیم. این مسئله در مثلث ((سرعت – تفکیک – ظرفیت نمونه)) به صورت زیر خلاصه شده است.



این مسئله مهمترین دلیلی است که باعث می‌شود ستون‌های مختلفی برای آنالیز یک نمونه در آزمایشگاه‌های مختلف بکار رود. در اینجا یادآور می‌گردد که به جز نوع فاز ساکن، میزان آن و طول ستون و قطر ستون نیز باید انتخاب گردند و همین طور سایر عوامل نیز مانند نوع گاز حامل، فلوی آن و دمای Oven نیز از عوامل مهم دیگری هستند که در این زمینه موثر می‌باشند. به‌هرحال برای انتخاب تمامی این عوامل و بهینه سازی یک سیستم از روش حدس و خطا استفاده نمی‌گردد و باید با محاسبات و منطق موارد فوق را انتخاب کرد.

- **نوع گاز حامل و سرعت آن (Type & Rate of Carrier Gas)**

نوع گاز حامل می‌تواند تأثیر بسیاری در زمان آنالیز و کارائی ستون داشته باشد برخی از مشکلات ناشی از کم بودن Nth می‌تواند در برخی موارد با تغییر گاز حامل برطرف گردد.گازهای حامل سنگین مانند N_2 می‌توانند Nth را بسیار بالا ببرند ولی این مهم تنها در پهنه کوچکی از سرعت که اتفاقاً بسیار هم کم می‌باشد رخ می‌دهد که باعث طولانی شدن زمان آنالیز می‌گردد. افزایش سرعت در گاز هیدورژن به سرعت باعث از دست رفتن مقدار زیادی از کارائی ستون می‌گردد ولی در مورد

هیدروژن و هلیوم، افزایش سرعت مقدار کمی Nth را بالا می‌برد. عموماً گاز حاملی که باید استفاده شود نیتروژن است ولی چنانچه طول زمان آنالیز هم برای بسیاری از آنالیزها مشکل‌ساز باشد در این موارد باید گاز حامل را هیدورژن انتخاب نمـود. هیدورژن در مقایسه با نیتروژن زمان آنالیز را در شرایط یکسان ۵ برابر کم می‌کند و این در صورتی است که مشکل دیگری در میان نباشد.

- **مشکلات مربوط به خارج از ستون**

برای یک دستگاه کروماتوگرافی معمولاً غیر از ستون سایر قسمت‌ها نیز تعیین کننده است و اگر کـارائی دسـتگاه بـه ایـن دلایل تا حد ۱۰٪ کم شود نیز قابل قبول می‌باشد. معمولاً قسمت‌ها و مواردی که می‌تواند باعث ایـن مـشکل گـردد بـه ایـن ترتیب می‌باشند.

- حجم مرده‌ای که معمولاً در بخش دتکتور و اینجکتور قرار دارد.
- حجم مرده در محل اتصال ستون به اینجکتور و دتکتور.
- ضعف و قوت تکنیک تزریق.

بهرحال انتخاب و دقت در علمی کار کردن و تنظیم درست دستگاه با وجود اتصالات غلط چندان فایـده‌ای نخواهـد داشـت. یک GC نامناسب به همراه یک ستون ضعیف حتماً یک نتیجه نامناسب خواهد داشت. نتیجه اینکه یک دستگاه GC ضـعیف با یک ستون کارا و مناسب هم یک فاجعه خواهد بود و آسانتر ازآن، این خواهد بود که با تزریق ضعیف و نامناسـب کـارائی یک ستون خوب را تا حد یک ستون ضعیف پائین بیاوریم.

مورد دیگری که باید مورد توجه قرار گیرد این است که افزایش Nth به دو برابر باعث افزایش جداسازی دوبرابر نخواهد بود و افزایش دو برابر طول ستون به عنوان مثال تنها حدود 40% به جداسازی کمک خواهد کرد همان طـور کـه بـا نـصف کردن طول ستون نیز تنها حدود 30% از جداسازی را از دست می‌دهیم.

- **فاز ساکن در ستون‌های کروماتوگرافی «Stationary Phase»**

اساساً مواد مشابهی از فاز ساکن (هم جامد هم مایع) در ستون‌های مویی وانباشته به کار می‌رود. در ستون‌هـای pack یـا انباشته انتخاب مناسب ماده فاز ساکن بسیار مهم است تا بتوان به یک جداسازی نسبی و کارایی مناسب دست یافت. فاز ساکن مایع در ستون‌های مویی از نظر پیوند شیمیایی بر دو نوع ***قطبی*** و ***غیرقطبی*** است که نوع قطبی می‌توانـد قطبـی متوسـط یـا کامل باشد. فاز ساکن جامد می‌تواند Sieve (الک) پلیمر و یا ماده جاذب غیر آلی باشد. در نوع مایع، قطبیت و حلالیت اجزاء

نمونه‌ای که باید آنالیز گردد قبلاًمشخص می‌شود زیرا قطبیت یک صفت بسیار مهمی برای حلالیت مـی‌باشـد بـه طـوری کـه ترکیبات قطبی در حلال‌های قطبی و ترکیبات غیر قطبی در حلال‌های غیر قطبی حل می‌شوند[1].

برخی فازهای ساکن مایع در ستون‌های مویی که **قطبی یانیمه قطبی** هستند عبارتند از:

OV-275 or [TCEP]- [CP-SIL 88] – [Carbowax 400]- [CP-SIL 43CB]

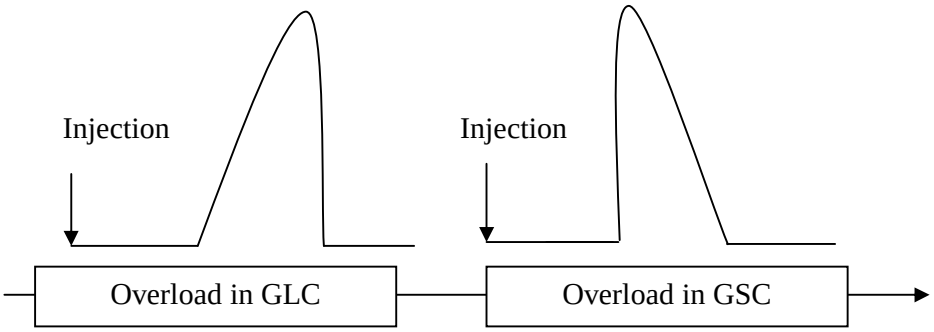
نمونه‌هایی از فازهای ساکن مایع **غیرقطبی عبارتند از**:

Squalene [CP-SIL 8CB], [CP-SIL 5CB] می‌باشند.

(نکته: منظور از CP نام شرکت تولید کننده یعنی Chrompack است. منظور از SIL ، نوع فاز ساکن Siloxane و منظور از CB یعنی اینکه فاز ساکن به صورت شیمیایی یا Chemical Bonded به ستون چسبانده شده است. عددی که پس از SIL آورده می‌شود نشانگر قطبیت فاز ساکن است که هر چه بزرگتر باشد قطبیت آن بیشتر است.)

- **پدیده Over loading:**

گاهی اوقات پدیده‌ای بنام Over loading مشاهده می‌گردد این پدیده حالتی است که مقدار اجـزاء موجـود در نمونه به‌قدری زیاد است که با رفتارهای کروماتوگرافی مغایرت دارد و به شکل یک پیک نامتقارن آشکار مـی‌گـردد. این پیک در حالتی که فاز ساکن مایع باشد به صورت یک پیک رو به جلو (fronting peak) و در حالتی کـه فـاز ساکن جامد باشد به صورتیکه پیک دنباله‌دار (tailing peak) ظاهر می‌گردد.



- **پدیده Bleeding**

یکی دیگر از پدیده‌هایی که در کروماتوگرافی گازی مشاهده می‌شود ناشی از تبخیر فاز ساکن، تجزیه محـصولات یا عوامل آلوده کننده می‌باشد. این پدیده که در آنالیز با برنامه دمایی به صورت یک انحراف رو به بـالا در خـط پایـه (Base Line) دیده می‌شود Bleeding نامیده می‌شود. عواملی که در ایجاد Bleeding موثر هستند عبارتند از:

۱) نوع فاز ساکن: قابلیت تبخیر و رسانایی گرمایی فاز ساکن از عوامل مهم ایجاد Bleeding می‌باشند. برای مثـال مواد آلی مانند دیاتومه خاکی یک انحراف جزیی در خط پایه ایجاد می‌کنند.

[1] - Like Dissolved Like

۲) مقدار فاز ساکن: میزان پرشدگی فاز ساکن (ضخامت فیلم برای ستون‌های مویی) هر چه بیشتر باشد امکان Bleeding بیشتر است بنابراین توصیه می‌شود که تا حد امکان از ستون‌هایی با ضخامت کم فاز ساکن استفاده شود.

۳) دما: دما یک نقش مهم و اساسی دارد. گاهی با افزایش دما طی برنامه دمایی Bleeding دیده می‌شود.

۴) سرعت جریان گاز حامل (flow): اگر سرعت جریان گاز حاملی که از میان ستون می‌گذرد افزایش یابد Bleeding زیاد می‌شود. گرچه نوع گاز حامل بر روی این پدیده اثر ندارد ولی میزان آن در He بالاتر و در H_2 کم است. چون تحت شرایط مناسب سرعت گاز H_2 ۴ برابر بالاتر از N_2 و برای He ۲ برابر گاز N_2 می‌باشد.

۵) دتکتور: تنظیم، شکل هندسی و نوع دتکتور در پدیده Bleeding تأثیر دارد. مثلاً در دتکتورهای FID، تنظیم شعله (گاز و هوا)؛ حساسیت بالا، خلوص گازهای دتکتور (Air , H_2) و فلوی گازهای Air , H_2، دمای دتکتور و ... می‌توانند روی Bleeding ستون تأثیر بگذارند.

- **تزریق یا Injection**

چون ظرفیت ستون‌های مویی برای گنجایش نمونه خیلی کم می‌باشد با حضور نمونه بیش از ظرفیت ستون امکان بروز Over loading وجود دارد بنابراین روش‌های تزریق متعددی به‌ویژه برای ستون‌های مویی پیشنهاد شده‌اند.

به طورکلی ۲ حالت تزریق برای نمونه ها وجود دارد:

(۱) تزریق نمونه‌های گازی

که بیشتر از طریق Valve انجام می‌گیرد و در اصطلاح GSV (Gas Sampling Valve) نامیده می‌شوند. در این حالت نمونه‌های گازی توسط بمب‌های مخصوص نمونه‌گیری گرفته شده و به دستگاه تزریق می‌شوند. قطعاتی که برای تزریق لازم هستند عبارتند از:

الف) ولو یا شیر مخصوص تزریق که به ۲ حالت باز (inject) و بسته (Fill) می‌تواند انجام وظیفه کند.

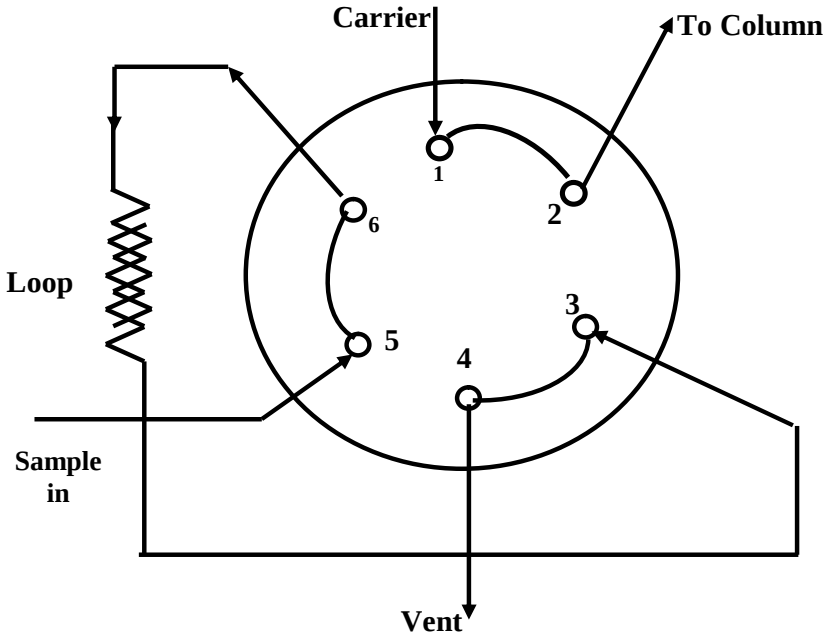
ب) Sample loop یا حلقه نمونه که به نسبت حجمی که باید نمونه تزریق گردد اندازه‌های مختلفی می‌تواند داشته باشد.

ج) مسیرهای ورودی و خروجی نمونه که جهت شست وشوی لوپ و ورود و خروج به‌کار می‌روند.

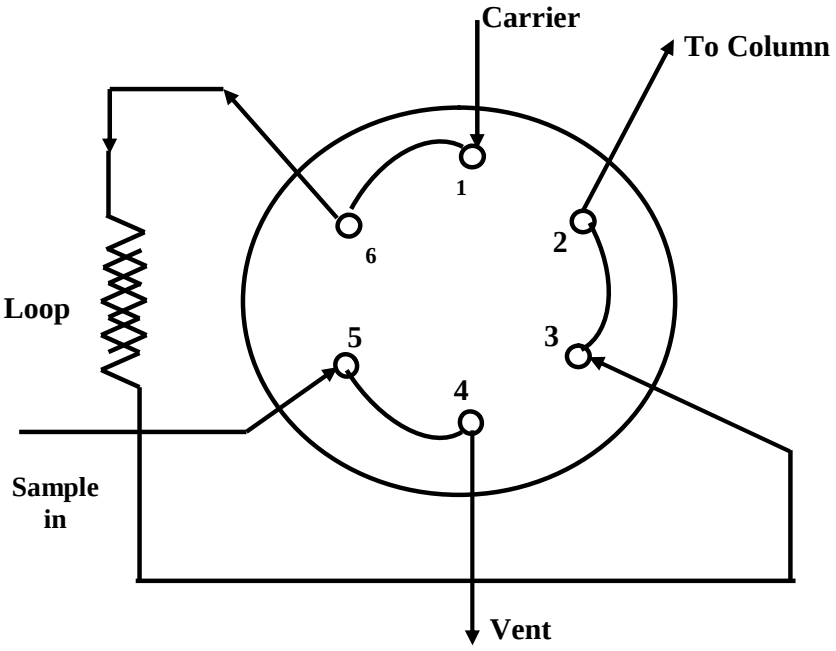
جهت تزریق، بمب نمونه‌گیری توسط رابط مخصوص به قسمت ورودی وصل می‌شود و مدتی Sample loop را با جریان مداوم و آرامی از نمونه شستشو می‌دهیم (در این حالت ولو بسته است)و سپس با قطع جریان نمونه، ولو را به حالت inject قرار می‌دهیم و بدین ترتیب نمونه موجود در Sample loop وارد ستون می‌گردد. در حالت عادی ولو ۶ راهه استفاده می‌شود البته سیستم‌های تزریق گازی متنوعی از جمله سیستم اتوماتیک و سیستم شیر دو عددی که بیشتر در دستگاه‌هایی که عمل Back flash انجام می‌گیرد استفاده می‌شود و معمولاً یکی از شیرها (ولوها) ۶ راهه و شیر دیگر ۸ راهه می‌باشد. ولوهای ۱۰ راهه نیز وجود دارد که دارای کاربردهای ویژه می‌باشد.

((شمایی از چگونگی کارکرد نوعی ولـو ۶ راهه))

حالت نخست؛ پیش از تزریق نمونه. شست و شوی لوپ



حالت دوم؛ تزریق نمونه



(۲) تزریق نمونه‌های مایع

بنابه دلایلی که در صفحه قبل گفته شد در ستون‌های مویی مقدار کمی نمونه لازم است تا عمل آنـالیز بـرروی آن انجام گیرد و گاهی مقدار لازم نمونه به‌قدری کم است که با سرنگ‌های در دسترس قادر به تزریق آن مقادیر نیـستیم؛ بنابراین روش‌های تزریق و injectorهای توسعه یافته‌تری برای این منظور طراحی شده‌اند که به ۴ نمونه ازآنها کـه متداول‌تر می‌باشند اشاره می‌شود؛ لازم به ذکر است که injector هـای مـایع در سـتون‌هـای packed نیـز بـه‌کـار می‌روند.

الف) تزریق مستقیم(The direct injection)

تزریق مستقیم یکی از معمولی‌ترین روش‌های تزریق در GC می‌باشد این روش را تزریق تبخیری نیز مـی‌نامنـد. در این روش نمونه توسط سرنگ به‌درون یک محفظه گرم که در آنجا عمل تبخیـر ناگهـانی صـورت مـی‌گیـرد وارد می‌شود و سپس به وسیله جریان گاز حامل به درون ستون هدایت می‌گردد. این روش تزریق منحصراً دردستگاه‌هـای GC که حاوی ستون‌های Packed یا ستون مویی از نـوع wide Bore هـستند بکـار مـی‌رود. در اسـتفاده از ولـو گازی (GSV) مانند آنالیز گازها تزریق مستقیم بیشتر مناسب است. سیستم injector مستقیم از ۴ قـسمت اساسـی تشکیل یافته است:

- ورودی نمونه
- اتاقک بخار برای نمونه های مایع
- قسمت ورودی گاز حامل
- اتصال دهنده برای ستون

مهمترین قسمت injector، قالب تزریق کننده یا (The injector block) می‌باشـد .ایـن قـسمت توسـط آون injector گرم می‌شود و یک خط گازی به آن وصل می‌باشد. همچنین یـک روزنـه بـه‌عنـوان ورودی نمونـه در آن تعبیه شده است. این روزنه به وسیله سپتوم(Septum) به طور کامل بسته شده است و مانع نـشت گـاز یـا برگـشت نمونه بخار شده به بیرون می‌شود. یک اتاقک کوچک به نام Liner درداخل اینجکتـور قـرار داده مـی‌شـود و عمـل تبخیر در آنجا انجام می‌گیرد. اطاقک تبخیر یا Liner توسط یک Back ferrule (مهره و واشر) درون قالب محکم شده و از طرف دیگر توسط مهره و ferrule به ستون وصل می‌شود و یک لوله از گاز حامل وارد Liner می‌شود و نمونه تزریق شده به داخل آنرا به ستون منتقل می‌کند. دمای تزریق یکی از پارامترهای مهم در تزریق نمونه می‌باشـد. نمونه مایع باید به طور ناگهانی و سریع بخار گردد. **دما باید به طور قابل توجهی بـالاتر از نقطـه جـوش اجـزاء نمونه باشد.**

سپتــوم(Septum)

اطاقک تبخیر (Liner or Vaporization Chamber) توسط یک سپتوم از محیط بیرون جدا می‌شود سـپتوم یک قطعه پلاستیکی از جنس سیلیکون می‌باشد که باعث بسته شدن سیستم GC شـده و بـه وسـیله آن یـک نمونـه می‌تواند به آرامی داخل شود. سپتوم‌ها انواع مختلفی دارند که هر کدام یکسری مشخصات خاص خـود را دارد بـرای مثال دو نمونه در زیر آورده شده است.

- **سپتوم قرمز (Red Septa)** شرکت Chrompack با مشخصات:

Bleeding خیلی پایین دارد.

تا ۴۵۰ درجه دما را تحمل می‌کند.

مقاومت خوبی در برابر نشت از خود نشان می‌دهد.

به آرامی سوراخ می‌شود.

این سپتوم می‌تواند برای **۱۰۰** بار تزریق به‌کار برد.

- **سپتوم آبی (Blue Septa)**

Bleeding کم

دمای تزریق تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد را تحمل می‌کند.

مقاومت کامل در برابر نشت دارد.

به آرامی سوراخ می‌شود.

این سپتوم می‌تواند برای ۲۰۰۰ تزریق به کار رود.

ب) تزریق تقسیمی « The Split injector»

Splitter معمولاً عمومی بوده و در injector های ستون‌های مویی استفاده می‌شود. ایـن نـوع تزریـق از روش تزریق مستقیم گرفته شده واز این رو به تبخیر سریع نمونه وابسته است. کارکرد آن بدین ترتیـب اسـت کـه نمونـه به‌درون اتاقک تبخیر وارد شده و به سرعت بخار می‌شود. بخار توسـط سیـستم Splitter تقـسیم شـده (Split) و فقط مقدار کمی از نمونه وارد ستون می‌شود و قسمت اعظم آن توسط سـوراخ Split از سیـستم خـارج مـی‌شـود. نسبت فلو بین این دو جزء ، Split ratio نامیده می‌شود که عملاً به گنجایش ستون بـرای نمونـه بـستگی دارد. در یک ستون narrow Bore فقط مقدار کمی از نمونه وارد ستون می‌شود و مقدار زیاد آن به طـور کامـل بـه بیـرون رانده (Vent) می‌شود.

هنگامی‌که گفته می‌شود نسبت Split $\frac{1}{1000}$ است یعنی ۱ قسمت نمونه وارد ستون شـده و ۱۰۰۰ قـسمت آن Vent می‌شود. با یک فیلم ضخیم (فاز ساکن) و قطر wide Bore نمونه زیـادی مـی‌تـوان وارد سـتون نمـود.

(مثلاً : $\frac{1}{5}$ = Split ratio). اعمالی مانند تبخیر نمونه، مخلوط کردن با گاز حامل، انتقال نمونه به ستون و تقسیم نمونه توسط این نوع تزریق انجام می‌گیرد. موارد مهم در سیستم تزریق تقسیمی عبارتند از:

الف) Split flow: مهمترین وظیفه Splitter که تقسیم نمونه به طور کامل می‌باشد عملاً دردرجه بالای سرعت جریان (Split flow) اتفاق می‌افتد (حدود ۵۰ تا ۲۵۰ mL/min). بنابراین سرعت بالای گاز در داخل Liner وجود دارد. یک Liner حجم متوسطی در حدود ۲۰۰ ۴۰۰ µL دارد که به محض تبخیر نمونه قسمت وسیعی از آن اشغال می‌شود.

ب)سرعت تزریق: نمونه باید سریعاً و به طور کامل و در کمترین زمان ممکن تبخیر گردد. اگر این عمل اتفاق نیافتد مسیر Split بخار بسته شده و بخار نمونه تماماً وارد ستون می‌شود بنابراین تقسیم نمونه انجام نگرفته و درنتیجه یک پیک پهن که مربوط به Split می‌باشد ایجاد خواهد شد.

ج) دمای تزریق: دما باید از نقطه جوش سنگین‌ترین جزء(Component)، بالاتر(معمولاً 50^oC بالاتر از نقطه جوش آخرین ترکیب) انتخاب شود تا عمل تبخیر نمونه به سرعت انجام گیرد. گاهی مقداری از گرما توسط تبخیر جذب می‌شود و در نتیجه با یک افت دمایی در Vaporization Chamber مواجه خواهیم شد. این افت دمایی می‌تواند باعث میعان ترکیبات سنگین شود. معمولاً این افت دمایی زیاد طول نمی‌کشد زیرا دما توسط هدایت گرمایی از قالب تزریق به سرعت تأمین می‌شود. افت دمایی به سه حالت ممکن است اتفاق افتد:

۱) تزریق نمونه‌ها با حجم زیاد

حجم زیاد نمونه مقدار گرمای بیشتری نسبت به یک حجم کم جذب می‌کند. باید سعی گردد تا جای ممکن حجم محدود شود.

۲) نمونه با اجزایی که نقطه جوش بالاتر از دمای injector دارند

این حالت هنگامی رخ می‌دهد که نمونه با اجزای دارای نقطه جوش بالاتر از دمای injector تزریق شود. ولی این حالت کمتر اتفاق می‌افتد. مگر اینکه تفاوت نقطه جوش و دمای injector زیاد باشد.

۳) نمونه‌هایی که حلال آنها ظرفیت گرمایی بالا داشته باشد

نمونه‌هایی که حلال آنها ظرفیت گرمایی بالا داشته باشد شامل نمونه‌هایی است نظیر مخلوط‌های آبی که به سبب وجود آب ظرفیت گرمایی بالایی دارند.

injector ها باید طوری طراحی شوند که هر افت دمایی با بالاترین سرعت ممکن جبران شود.

گرچه یک ترموستات خوب و یک قالب(Injector Body) فعال حرارتی مناسب و سریع با یک ظرفیت گرمایی بالا لازم می‌باشد، اما کافی نیست. ترموکوبل دمای خود Vaporization Chamber را اندازه‌گیری می‌کند نه دمای درون آنرا. برای رفع مشکل بهتر است قطر داخلی Vaporization Chamberیا Liner کوچک باشد. برای

افزایش ظرفیت گرمایی در Liner و درون آن، استفاده از پشم شیشه و یا مهره‌های شیشه‌ای توصیه می‌شود (ولی موارد یاد شده نباید زیاد باشد چون مانع ورود سرسوزن(needle می‌شود).

- **آشکارسازها DETECTORS**

دتکتور به عنوان چشم سیستم کروماتوگرافی مورد توجه قرار می‌گیرد. دتکتور در برابر حضور اجزاء موجود در گاز حامل شسته شده از ستون یک پاسخ الکتریکی می‌دهد. برخی مشخصات دتکتور به شرح زیر می‌باشند:

۱) **انتخاب دتکتور(Detector Selection)**: بسته به کاربرد ، یک دتکتور باید تمام اجزاء شیمیایی که از ستون بیرون می‌آید و یا یک گروه ویژه از آنها را شناسایی کند.

۲) **دقت(Precision)**: سیگنال‌های داده شده به وسیله دتکتور در محدوده‌های معینی می‌باشند. دقت یک دتکتور به خطاهای سیستمی و خطاهای تصادفی بستگی دارد.

۳) **قابلیت تکرار یا تکرارپذیری(Repeatability)**: اگر ۲ جزء برابر با مقدارهای مساوی از دتکتور عبور کند جدا از زمان‌های اندازه‌گیری، دتکتور باید سیگنال‌های مشابه برای آنها بدهد.

۴) **سرعت**: اجزاء موجود در گاز حامل از میان دتکتور به سرعت عبور می‌کنند این نباید در تشخیص مشکل ایجاد کند.

۵) **قابلیت اطمینان**: باید به صحت پاسخ‌های یک دتکتور اطمینان داشت.

- **پاسخ یا Response**

پاسخ یا حساسیت عبارتست از واکنش یک دتکتور به تغییراتی که در ترکیب گاز حامل حاصل می‌شود. پاسخ دتکتور به نوع دتکتور و نوع اجزاء نمونه بستگی دارد. اگر دتکتور بتواند به تمام انواع نمونه‌های موجود پاسخ قوی بدهد آن یک دتکتور عمومی(universal) می‌باشد. اگر پاسخ دتکتور فقط به تعداد محدودی از ترکیبات باشد آن یک دتکتور انتخابی یا مخصوص می‌باشد. برخی از دتکتورهای مرسوم عبارتند از:

TCD (Thermal Conductivity Detector)

FID (Flame Ionization Detector)

ECD (Electron Capture Detector)

NPD (Nitrogen- Phosphorus Detector)

- **نکاتی درباره دتکتورها**

i) **زمان پاسخ یک دتکتور**: زمان پاسخ یک دتکتور عبارتست از زمان لازم برای پاسخ به یک تغییر در سیگنال. یک دتکتور خوب سریعاً به تغییرات پاسخ می‌دهد (زمان پاسخ کوتاه). بیشتر دتکتورهای معمولی یک زمان ثابت 20 ms دارند.

ii) Noise: عبارتست از بالا و پایین رفتن (نوسان) ناجور سیگنال که توسط نامنظم شدن خط پایه (Base Line) مشخص می‌شود. نوفه یا Noise به دو طریق می‌تواند تشخیص داده شود:

(۱) تکرار سریع که Noise می‌باشد.

(۲) تکرار آرام که انحراف یا wander می‌باشد.

حساسیت(Sensitivity) یک سیستم، توسط Noise تعیین می‌شود.

iii) محدوده آشکارسازی : تحت محدوده منحنی کالیبراسیون خطی می‌باشد.

iv)محدوده تعیین: یک کمیت عددی است که در مجموعه آماری صحیح از یکسری آنالیز تعیین می‌شود.

v) مینیمم حد قابل تشخیص: مقداری است که پاسخ دتکتور معادل ۲ برابر حد Noise یا نوفه می‌باشد. مثلاً اگر حد متوسط بلندی Noise ۴ میکرو ولت باشد غلظت قابل تشخیص معادل مقدار 8 میکرو ولت می‌باشد.

vi) Drift: تغییر تدریجی سیستماتیک در سطح خط پایه drift یا انحراف نامیده می‌شود یکی از علل مهم ایجاد آن Bleeding است که وابسته به شروع برنامه دمایی می‌باشد.

vii) Linearity (خطی بودن): از نظر کمی لازم است که دتکتور در یک رنج خطی کار کند. ۱ نمونه ۲ برابر بزرگ باید یک سیگنال ۲ برابر بدهد. هر دتکتور یک Range خطی مخصوص به خود دارد. برای برخی دتکتورها مقدار آن بالاست (FID = $۱۰^{۶}$) و برای دیگران کمتر (مثل: ECD = $۱۰^{۳}$) یک FID به تناسب، برای یک مقداری که در نزدیکی محدوده آن هست و برای یک مقداری که تقریباً ۱ میلیون برابر بزرگتر است به هر دو سیگنال صحیح می‌دهد. در آنالیزهای کمی اگر مقادیر در داخل محدوده خطی باشند با تهیه یک منحنی کالیبراسیون باید به طور مداوم کنترل گردند. در یک دتکتور حساس به غلظت، سیگنالی که تولید می‌شود با غلظت اجزاء نمونه در گاز حامل متناسب است یعنی نه تنها سیگنال به مقدار ترکیب بستگی دارد بلکه به مقدار گاز حاملی که در آن زمان در دتکتور حاضر است نیز وابسته است.

دتکتورها معمولاً یا به جرم و یا به غلظت حساس می‌باشند. در یک دتکتور حساس به جرم (mass)، سیگنال به مقدار ترکیبات حاضر در دتکتور بستگی دارد. دتکتورهای FID ، FPD وNPD مثال‌هایی از دتکتورهای حساس به جرم (Mass Sensitive Detector) می‌باشند. در این دتکتورها سطح پیک‌ها (peak area) به جرم و فاکتور پاسخ وابسته است. در مقابل، در یک دتکتور حساس به غلظت مانند TCD، مساحت پیک با عکس سرعت جریان گاز حامل متناسب است و از نقطه نظر کروماتوگرافی، flow گاز باید همواره ثابت باشد.

۱) دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای یا FID

این نوع دتکتور حساسیت بالایی داشته و هدایت الکتریکی ناشی از یک شعله را اندازه می‌گیرد. هدایت الکتریکی گازهای حامل معمولی به همراه گاز H_2 (به عنوان fuel یا سوخت) و Air (به عنوان مهیا کننده O_2) اغلب ناچیز و در حد صفر است. زمانی‌که ترکیبات آلی وارد پلاسمای شعله می‌شوند قابلیت هدایت

(Conductivity) به مقدار زیادی افزایش می‌یابد زیرا حضور ترکیبات آلی در شعله موجب تولید یون‌ها و الکترون‌ها می‌شود. این تغییرات قابلیت هدایت با استفاده از ۲ الکترود قابل اندازه‌گیری است. خود نوک شعله (کاتد) یکی از الکترودهاست و collector یا (جمع کننده) الکترود آند می‌باشد. نتایج صحیح و دقیق پس از تقویت به سیستم ثبات یا کامپیوتر منتقل می‌شود. نوک شعله درون قالب دتکتور می‌باشد این قالب برای اجتناب از کاندنس شدن اجزاء نمونه، گرم نگه داشته می‌شود. عملاً دمایی مشابه با دمای injector انتخاب می‌شود. پاسخ‌ها که به تعداد اتم‌های کربن قابل یونیزه شدن بستگی دارد به وسیله یک آمپلی فایر تقویت می‌شوند. (درترکیبات شیمیایی آلی اتم‌های کربن به هیدروژن پیوند می‌یابند) عمل یک FID به عوامل زیر بستگی دارد:

a) دمای شعله: این عامل به وسیله مقدار و نسبت H_2 به Air کنترل می‌شود. با توجه به تئوری گاز از رابطه $\frac{H_2}{O_2}$ نسبت $\frac{2}{1}$ صحیح به نظر می‌رسد با این حال این نسبت به صورت $\frac{2}{5}=\frac{H_2}{Air}$ تنظیم می‌شود با این حال عملاً کافی نیست و اغلب به طور مشترک (بسته به طراحی FID) به نسبت $\frac{H_2}{Air}=\frac{1}{10}$ در دتکتور جریان دارد. یعنی اگر فلو H_2 برابر ۲۵ ml/min باشد وجود مقدار هوای ۲۵۰ ml/min در اغلب حالات مناسب می باشد.

b) ساختمان دتکتور: نصب، شکل دتکتور، شکل الکترودها، پتانسیل الکتریکی بین ۲ الکترود شکل jet (دهانه دتکتور) و مسافت بین الکترودها از جمله عوامل اساسی در کارکرد دتکتور می باشند.

- ***پاسخ‌های FID به ترکیبات مختلف***

در مورد ترکیبات هیدروکربن با پیوند H-C پاسخ بالاست.

در مورد HCN , CH_2 , COS , CS_2 , CO (heterobonding – C) پاسخ پائین و برای N_2 , He , Ar , CO_2, NO_2, H_2O , H_2S, و ترکیبات غیر آلی پاسخ ندارد.

گاز Make up: FID مربوط به ستون مویی معمولاً با یک گاز Make UP کار می‌کند که یک گاز اضافی بی اثر می‌باشد و برای کارکرد بهتر FID به درون آن جریان می‌یابد.Make Up در چند سانتیمتری نوک شعله FID ها اضافه می‌شود. سه علت اساسی استفاده از Make Up به شرح زیر می‌باشد:

الف) ستون‌های مویی را نمی‌توان نزدیک شعله دتکتورهای قدیمی، نصب کرد. درGCهای مدرن ستون در ۱ سانتیمتری زیر نوک شعله قرار می‌گیرد. اگر ستون وصل گردد این فاصله تأثیر بزرگی روی حجم مرده حاضر می‌گذارد. از طرفی فلوی ستون در یک ستون مویی به‌قدری کوچک می‌باشد که این مشکل بیشتر خود را نشان می‌دهد و اجزاء نمونه زمان زیادی برای رسیدن به شعله صرف می‌کنند با اضافه نمودن ۲۵ تا ۳۰ میلی لیتر Make Up مشکل رفع می‌شود.

ب) پاسخ دتکتور نه تنها به مقدار Air , H_2 بلکه به مقدار گاز حامل نیز بستگی دارد. گاز حامل در مقدار معینی باعث استواری شعله (عامل کاهش noise) می‌شود. بالاترین حساسیت با جریانی از نیتروژن در حدود ۳۰ ml/min به‌دست می‌آید. چون که ستون این فلو را نمی‌تواند تأمین نماید Make up این کار را انجام می‌دهد.

ج) سومین عامل استفاده از Make up به عمر دتکتور مربوط می‌شود. برخی دتکتورها به حرارت بالا حساسیت دارند (دچار ساییدگی و گرفتگی می‌شوند) اگر فلوی گاز اپتیمم(بهینه) نباشد این مورد اتفاق می‌افتد. نصب اشتباه یا حضور اجزایی مانند قسمت‌های fused silica دردهانه jet دتکتور، باعث کاهش فلو می‌شود ولیMake Up با فراهم نمودن خنکی لازم، عمر دتکتور را افزایش می‌دهد.

۲) دتکتور رسانایی یا هدایت گرمایی یا کاتارومتر یا TCD

اساس کار تغییر هدایت پذیری گرمایی گاز است که به وسیله مقاومت فلزی واقع در محفظه گرمایش سنجیده می‌شود. (پل وتستون) هدایت پذیری هیدروژن وهلیم ۶ تا ۱۰ بار بزرگتر از ترکیبات آلی است. بنابراین در صورت حضور مقدار کمی از مواد آلی هدایت پذیری گرمایی آشکارساز کاهش یافته و بدین گونه آشکارساز در محدوده دمایی بیشتری کار می‌کند و میزان انرژی الکتریکی به کار رفته برای افزایش دمای فیلمان، مورد سنجش قرار می‌گیرد.

در واقع TCD یک دتکتور عمومی است که براساس اندازه‌گیری هدایت گرمایی یک گاز استوار است. اساس کار بدین شکل است که یک فیلمان گرم شده به طور الکتریکی از جنس تنگستن، پلاتین یا نیکل توسط گاز حامل تا دمای معینی سرد می‌شود. (گاز حامل یک قابلیت هدایت گرمایی معین دارد) و بدین ترتیب در صورت حضور اجزاء نمونه هدایت گرمایی آن تغییر می‌کند. TCD این اختلاف در مقاومت فیلمان را که به دما وابسته است اندازه‌گیری می‌کند.TCD معمولاً حاوی یک سیستم ۲ کانال است. گاز حامل خالص از میان یک کانال عبور می‌کند و گاز حاملی که از ستون خارج می‌شود از کانال دیگر عبور می‌کند. دو مقاومت فیلمان‌ها قسمتی از یک **پل وتستون تار** هستند. اگر ترکیبات گازها مشابه باشند پل در حال تعادل است. با عبور یک جزء نمونه از میات دتکتور این تعادل بهم خواهد خورد. زمانی که بین گاز حامل و ترکیبات نمونه تفاوت بیشترین مقدار باشد دتکتور بالاترین حساسیت را دارد.

مزایای T.C.D

الف) محدوده خطی بالا(۱۰۰هزار)

ب) واکنش نسبت به مواد آلی و معدنی

ج) عدم تخریب نمونه

این تفاوت با گازهای حامل سبکتر مثل He, H_2 نیز به وجود می‌آید. استفاده از N_2 یا Ar به‌دلیل تفاوت کم در هدایت گرمایی توصیه نمی‌شود مگر زمانی که H_2 یا He آنالیز شوند.

برای یک TCD مویی مهم است که حجم Cell اندازه‌گیری کوچک باشد. در یک packed TCD کاهش بزرگ در کارایی دیده می‌شود. در مقایسه حجم Cell دتکتورTCD مویی با packed ، نتایج حاصل بدین قرار است که:

Packed : 220 µL

Capillary Medium Bore :10 µL

Capillary Narrow Bore , high speed GC: 20 nL

Cell با اندازه 10µL ، یک Cell بزرگ می‌باشد. در برخی موارد TCD با یک Make up flow مجهز می‌شود. ولی ازآنجائی که TCD یک دتکتور حساس غلظتی می‌باشد افزودن Make up یک افت حساسیت ایجاد می‌کند. برای یک ستون مویی همراه با یک Pack TCD ،حساسیت ضریبی از ۱۰ می‌باشد.

- **سیستم گاز در دستگاه‌های کروماتوگرافی**

این سیستم معمولاً در تمام دستگاه‌های GC مشابه می‌باشد. اجزاء سیستم به روش لوله‌ای به هم وصل می‌شوند. چنان که در بحث‌های قبلی اشاره شد یک اتصال مستقیم بین کنترل کننده فلو و تنظیم کننده فشار و دتکتور وجوددارد. بیشتر گازها توسط سیلندر (cylinder) با فشاری در حدود ۲۰۰ بار تهیه می‌شوند. فشار سیلندر معمولاً توسط یک ولو کاهنده کنترل می‌شود. این ولو به دو فشارسنج (gauge) مجهز می‌باشد که یکی فشار درون کپسول و دومی فشار خروجی را نشان می‌دهد. فشار خروجی توسط یک ولو کنترل می‌شود. گازها توسط Lineهای ویژه (خطوط لوله ویژه) از اتاق سیلندرها (Cylinder room) به آزمایشگاه GC و از آنجا به کنار هر دستگاه هدایت می‌شوند.

- **خلوص و فیلتر گازها**

گازهای به‌کار رفته در GC باید به‌قدر کافی خالص باشند. ترکیبات غیرفعال مانند آب و اکسیژن می‌توانند باعث ایجاد آسیب‌های قابل توجهی شوند. ***حضور اکسیژن باعث اکسیداسیون شده*** و **با تغییر در حجم‌های بازداری، تفکیک‌پذیری** (Resolution) **را کاهش داده وایجاد** tailing **می‌کند. به ویژه** اینکه فاز ساکن قطبی به آن حساس است. آب به دلیل عمل **هیدروژناسیون می‌تواند به فاز ساکن و اجزای نمونه صدمه بزند.** برخی فازهای ساکن جامد (مورد مصرف در GSC) به آب بسیار حساس بوده و وجود آب مانعی برای تحریک یک ستون Mol-Sieve می‌باشد. آب درترکیب با TCD یا ECD باعث ایجاد مشکلاتی در دتکتور می‌شود.

نه تنهاگاز حامل، بلکه گازهای دتکتور (Air, H_2) نیز باید تمیز باشند. تمیز نبودن این گازها به ویژه هوای فشرده که برای FID لازم می‌باشد در حضور ترکیبات آلی ایجاد noise می‌کند. امروزه خلوص گازها تا

99/999% در نظر گرفته می‌شود اما این به معنی خلوص کامل گاز نیست. زمانی‌که با یک حساسیت بالا کار شود ناخالصی‌های گاز باعث noise می‌شود. استفاده از فیلترهای مختلف پیش از ورود گازها به سیستم کروماتوگرافی باعث گرفته شدن برخی آلودگی‌ها می‌شود.

در استفاده از H_2 به عنوان گاز حامل باید دقت کافی به عمل آورد چون مخلوط برخی از درصدهای H_2 به همراه هوا (O_2) انفجار زا می‌باشد. **۴٪ هیدروژن در هوا تحریکی است برای انفجار**.

- **فیلترهای قابل استفاده در GC**

۱) **فیلتر رطوبت**: برای از بین بردن آب و گاهی اوقات مقادیر جزیی (trace) روغن ناشی از اتصالات یا pressure gauge در گاز حامل به کار می‌رود. در نوع Chrompack، زمانی که این فیلترها اشباع شوند یک اندیکاتور وجود دارد که از رنگ سبز به قهوه‌ای روشن تغییر می‌یابد. ظرفیت آنها برای جذب آب **۵** گرم می‌باشد و غلظت آب در خروجی فیلتر حدود 0.5 ppm می‌باشد.

۲) **فیلتر اکسیژن**: این فیلتر برای از بین بردن O_2 و مقادیر جزیی سولفور و ترکیبات کلری در گاز حامل به کار می‌رود. در قسمت نوک فیلتر نوع Chrompack، یک ماده جاذب سنگین پر می‌شود و خروجی فیلتر با یک شناساگر جامد اکسیژن پر می‌شود. در صورت اشباع فیلتر، رنگ اندیکاتور از سبز به خاکستری تغییر می‌یابد. ظرفیت این فیلترها ۱۵۰ میلی لیتر اکسیژن بود و غلظت در خروجی آنها کمتر از 1 ppm می‌باشد.

۳) فیلتر برای گازهای سوخت (Fuel Gas) دتکتور FID ، فیلتر ذغال فعال (charcoal) می‌باشد که برای از بین بردن ترکیبات آلی استفاده می‌شود. این فیلتر اندیکاتور ندارد. و ظرفیت آن به نوع و مقدار ناخالصی‌های گاز بستگی دارد.

کنترل شدت جریان گازها (Flow control)

سرعت جریان گاز در ستون‌های مویی به نوع گاز و قطر ستون بستگی دارد. میزان آن از 0.1-10 mL/min متغیر می‌باشد. فلو(Flow) عبارتست از مقدار گاز عبوری از میان یک ستون در واحد زمان. مقدار آن به سرعت خطی گاز و قطر ستون بستگی دارد. همچنین مقاومت سیستم به لوله‌ها (قطر و طول)، ستون (قطر و طول) و ویسکوزیته گاز حامل (نوع گاز و دمای ستون) بستگی دارد.

جدول مربوط به خلوص گازهای به‌کار رفته در GC

	Purity %	H_2O(ppm)	O_2(ppm)
He	**≥99.999** **≥99.9999**	**<3** **<1**	**<1** **<0.1**
N_2	**≥99.999** **≥99.9999**	**<5** **<1**	**<3** **<0.1**
H_2	**≥99.998** **≥99.9999**	**<5** **<1**	**<2** **<0.1**
Ar	**≥99.999**	**<3**	**<1**

Air Zero همان هوای فشرده تصفیه شده است که به عنوان اکسیدان سوخت و نیز به کار انداختن Valveهای دستگاه‌های کروماتوگرافی استفاده می‌شود. حد مجاز ناخالصی‌های موجود در آن باید به ترتیب زیر باشد.

$CO + CO_2 < 1$ Vpm	$H_2O < 3$ Vpm	Total Hydrocarbons(THC) < 3 Vpm

پیــوست

در بخش کنترل گازهای آزمایشگاه پالایشگاه نفت، تجزیه گازهای زیر از لحاظ کمی و کیفی مورد نظر می‌باشد.

۱) Permanent gases : طبق تعریف گازهایی که دما و فشار آنها، با دما و فشاری که در آن می‌توانند مایع باشند تفاوت زیادی داشته باشد، Permanent gases یا گازهای دایمی نامیده می‌شود. از این دست می‌توان گازهای نیتروژن، اکسیژن، دی‌اکسید کربن و مونوکسید کربن را نام برد.

۲) گازهای هیدروکربنی از متان تا بوتان(پنتان نیز مد نظر می‌باشد)

۳) هیدروژن

۴) گازهای سمی نظیر سولفید هیدروژن و دی‌اکسید گوگرد

گرچه بیشتر تجزیه گازها بر اساس کروماتوگرافی گازی است، با این حال از دستگاه اورسات(Orsat) برای آنالیز گازهای O_2 ، CO و CO_2 با درصدهای بالا و نیز لوله‌های تشخیص کیفی و کمی دراگر (Dräger Test Tube) برای تجزیه انواع گازها از جمله HCl ، H_2S ، SO_2 ، CO_2 ، CO و برخی دیگر از سایر گازها از چند ppm تا چند درصد استفاده می‌شود. با این حال نظر به اهمیت موارد زیر، آنالیزهای نمونه‌های گازی زیر به وسیله دستگاه‌های کروماتوگرافی (ساخت شرکت‌های Varian و Chrompack) انجام می‌گیرد:

۱) بررسی شرایط عملیاتی و خلوص هیدروژن تولیدی واحد هیدروژن
۲) بررسی شرایط عملیاتی واحد تبدیل کاتالیستی
۳) بررسی شرایط عملیاتی واحد Isomax
۴) بررسی شرایط عملیاتی و خلوص فرآورده‌های C3 و C4 واحد LPG
۵) بررسی مشخصات گاز مایع شده تولیدی (مخلوط پروپان و بوتان) شرکت
۶) افزون بر موارد بالا، با راه اندازی و شروع به کار واحد جدید بنزین‌سازی، دانستن ترکیب شیمیایی خوراک، فرآورده‌های میانی و پایانی از نظر درصد ترکیبات پارافینی، نفتنی، الفینی و آروماتیک، یا به عبارتی(PONA) مهم بوده و بدین ترتیب آنالیز GC برای تعیین ترکیبات یاد شده در مایعات نفتی نیز انجام می‌شود. همچنین تعیین خلوص Benzene تولیدی که نتیجه کار قسمت Benzene Extraction واحد بنزین‌سازی بوده و به عنوان ماده اولیه به پتروشیمی فروخته می‌شود به وسیله GC قابل انجام است. (معمولاً خلوص بنزن بالای 99.9 Wt.% می‌باشد.)
۷) آنالیز و تعیین مقدار ترکیبات آروماتیک و بنزن در بنزین موتور تولیدی پالایشگاه، به ویژه در مورد بنزین Euro 4، از دیگر موارد کاربرد GC برای آنالیز نمونه‌های نفتی مایع است.

برخی از پارامترهای دستگاه NGA (Natural Gas Analyzer) ساخت شرکت Chrompack که دارای سه کانال بوده و برای آنالیز گازهای مختلف واحدهای پالایشی به کار می‌رود در جداول زیر فهرست شده است.

Channel	Type of Column			
Hydrocarbon	Capillary 50m – 0.32 mm(medium bore) CP-SIL 5CB			
Permanent Gas	Col.1	0.5m – 1/8 inch	Ni Hayesep T	80-100 mesh
	Col.2	0.5m – 1/8 inch	Ni Hayesep	80-100 mesh
	Col.3	1.5m – 1/8 ss	Mol sieve 13 X	80-100 mesh
Hydrogen	Col.1	1.0m – 1/8 inch	ss Hayesep Q	80-100 mesh
	Col.2	1.0m – 1/8 inch	Mol sieve 5 ^{o}A	80-100 mesh

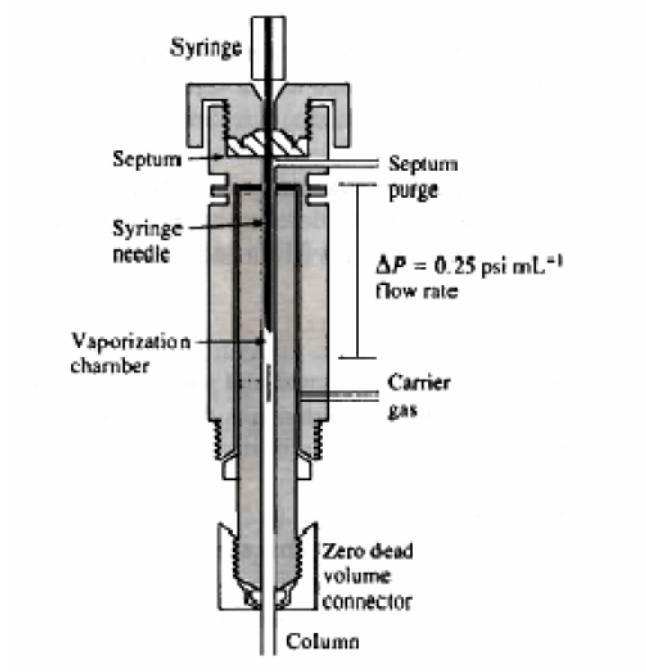
شرایط عملیاتی برای کانال‌های هیدروکربن و گازهای Permanent به ترتیب زیر است.

Col. Limit	200 ^{o}C
Det.	175 ^{o}C
Inj.	250 ^{o}C
Oven init. Temp.	40 ^{o}C
Oven Final. Temp.	185 ^{o}C
Oven rise	10 ^{o}C/min
Time init	12 min
Time final	10 min
Stab time	1 min
FID Detector Flow Rate	Make up = 25 mL/min H_2 = 25 mL/min Air flow 250 mL/min
Sample loop1 = 1000 µL Sample loop2 = 40 µL	-

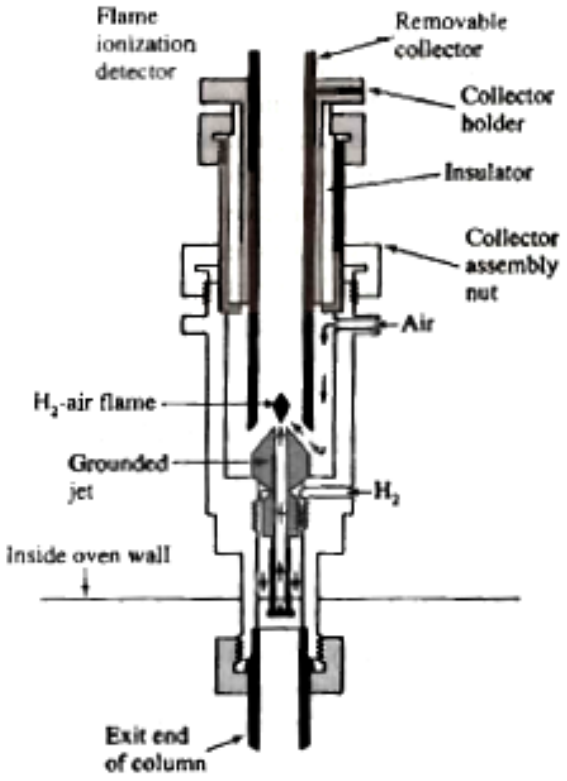
شرایط عملیاتی برای کانال هیدروژن به ترتیب زیر است.

Col. Limit	100 ^{o}C
Det.	150 ^{o}C
Inj.	150 ^{o}C
Oven init. Temp.	50 ^{o}C
Oven Final. Temp.	50 ^{o}C
Oven rise	-
Time init	5 min
Time final	-
Stab time	1 min
Det. TCD	Flow = 20 mL/min
Sample loop1 = 2000 µL	-

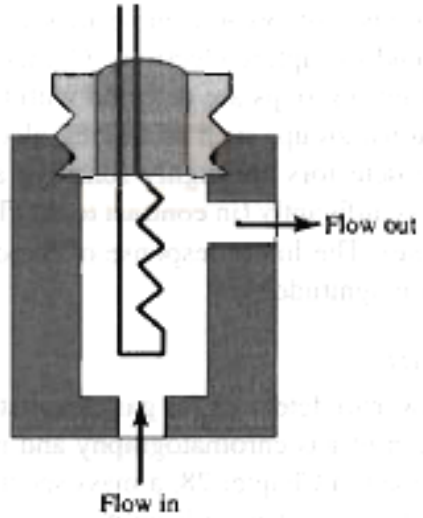
لازم به ذکر است که شرکت Chrompack هلندی به وسیله شرکت Varian آمریکایی خریداری شـده و در حـال حاضـر بهترین نوع دستگاه‌های GC مربوط به شرکت Varian و نیز Agilent آمریکایی است.



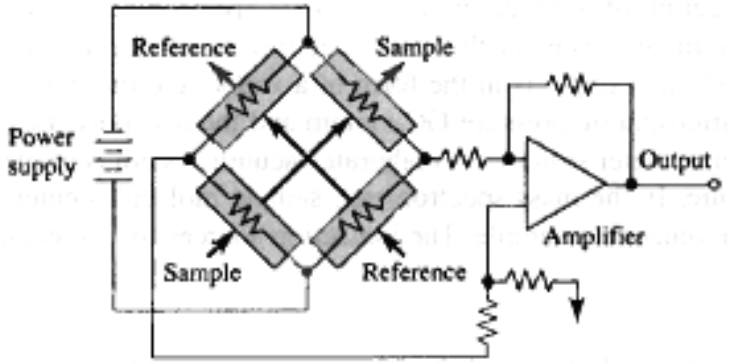
تصویر برش عرضی یک Micro flash vaporizer direct injector



نوعی دتکتور **FID**



(a)



(b)

تصویر (**a**)یک سل TCD و (**b**) آرایش سل‌های نمونه و شاهد TCD

منـــابع

۱) یادداشت کروماتوگرافی گازی مقدماتی، امور آموزش و تجهیز نیروی انسانی پتروشیمی تبریز.

۲) یادداشت‌های کروماتوگرافی، بابک بزرگی (شیمیست ارشد شرکت پژوهش و فناوری پتروشیمی).

۳) کتابچه راهنمای سیستم‌های CHROMPACK ، شرکت کرومپک.

۴) روش‌های کروماتوگرافی و راهنمای عملی استفاده، نگهداری و رفع عیب از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی با ستون موئینه؛ نوشته **Dean Rood**، ترجمه سعید امامی و حسین رحیمی، تهران، انتشارات نوپردازان، ۱۳۸۳.

۵) اصول تجزیه دستگاهی(جلد دوم)، داگلاس اِی. اسکوگ [و] اف. جیمز هالـــر [و] تیموتی اِی. نیمـــن، ترجمه دکتر عبدالرضا سلاجقه، مرکز نشر دانشگاهی، ۱۳۸۳.

۶) مبانی کروماتوگرافی گازی، نوشته هارولد م. مک نایـر [و] ارنست جی. بونلـی؛ ترجمه عباس کمالی‌زاده، مرکز نشر دانشگاهی، ۱۳۶۷.

7) Fundamentals of Analytical Chemistry, Skoog , West, Holler & Croch; 8th edition. Tomson Brooks/Cole. 2004. Chapter 31

8) Principles of Instrumental Analysis, Skoog , Holler, Nieman; 5th edition. Sanders College Publishing. 1999. Chapter 27.

اهمیت تنظیم Flow در پاسخ دتکتورها

دتکتورها معمولاً یا به جرم و یا به غلظت حساس می‌باشند. به عبارتی پاسخ یک دتکتور (R) متناسب با غلظت(C) یا جرم (m) نمونه شسته شده از ستون است. در یک دتکتور حساس به جرم (mass)، سیگنال به مقدار ترکیبات حاضر در دتکتور بستگی دارد. دتکتورهای FID و NPD مثال‌هایی از دتکتورهای حساس به جرم (Mass Sensitive Detector) می‌باشند. در این دتکتورها سطح پیک‌ها (peak area) به جرم و فاکتور پاسخ وابسته است.

$$R = K_2 \frac{dm}{dt}$$

در رابطه فوق m جرم لحظه‌ای جزء نمونه در داخل دتکتور است و R پاسخ دتکتور بوده (مثلاً برحسب میلی ولت) و t زمان است. اگر پاسخ دتکتور (R) بر حسب زمان رسم شود پیک‌هایی ظاهر می‌شود که مساحت زیر آن برابر A است. یعنی به عبارتی پاسخ دتکتور متناسب با غلظت و مساحت پیک متناسب با پاسخ دتکتور است. بنابراین خواهیم داشت:

$$A = \int_{t_1}^{t_2} R dt = \int K_2 (\frac{dm}{dt}) dt = K_2 (\int_{t_1}^{t_2} (\frac{dm}{dt}) dt)$$

با حذف dt در داخل انتگرال و انتگرال گیری دوباره خواهیم داشت:

$$A = K_2 M$$

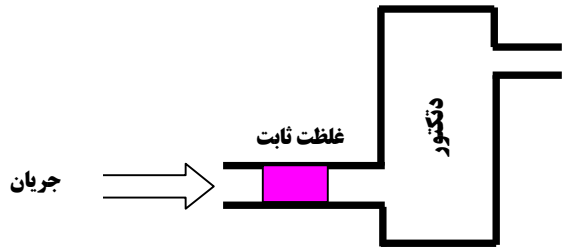
معادله فوق نشان می‌دهد برای دتکتوری که به سرعت جریان جرم پاسخ می‌دهد، مساحت پیک متناسب با جرم کل Elute شده از ستون است و بر خلاف دتکتورهای غلظتی نظیر TCD ، مساحت پیک مستقل از سرعت جریان گاز حامل بوده و بدین گونه سرعت جریان ثابت در دتکتور FID به اندازه دتکتور TCD مهم نیست. در یک دتکتور حساس به غلظت مانند TCD، مساحت پیک با عکس سرعت جریان گاز حامل متناسب است و از نقطه نظر کروماتوگرافی، flow گاز باید همواره ثابت باشد. در این دتکتور $R = K_1C$ است.

$$A = \int_{t_1}^{t_2} R dt \qquad (۱)$$

$$A = \int_{t_1}^{t_2} R dt = \int K_1 C dt = K_1 \int_{t_1}^{t_2} C dt \qquad (۲)$$

ناحیه‌ای که یک جزء در دتکتور یا ورودی آن اشغال کرده را به صورت یک ((توپی)) در نظر بگیرید که غلظت آن جزء ثابت و برابر M/V باشد. M برابر کل جرم جزء در توپی و V حجم آن است. چنانچه C ثابت باشد.

$$A = K_1 C \int_{t_1}^{t_2} dt == K_1 C (t_2 - t_1) = K_1 C \Delta t \qquad (۳)$$



جریان توپی در دتکتور

از آنجایی که $C = \frac{M}{V}$ است بنابراین:

$$A = (K_1 \frac{M}{V}) \Delta t \qquad (۴)$$

از طرف دیگر V=F.t است که F سرعت جریان گاز حامل است بنابراین : $\Delta t = \frac{V}{F}$

پس خواهیم داشت:

$$A = (K_1 \frac{M}{V})(\frac{V}{F}) = K_1 \frac{M}{F} \qquad (۵)$$

$$A = K_1 \frac{M}{F} \qquad (۶)$$

معادله (۶) نشان می‌دهد که مساحت پیک به طور مستقیم متناسب با جرم کل جزء نمونه است. از طرف دیگر برای دتکتوری که به غلظت پاسخ می‌دهد، مساحت پیک با عکس سرعت جریان گاز حامل متناسب است. بنابراین برای تجزیه کمی درست دتکتور TCD ، سرعت جریان گاز باید همواره ثابت باشد.

نوشتار گردآوری شده دریچه‌ای بسیار کوچک برای آشنایی با روش کروماتوگرافی گازی است و مطالب نوشته شده با توجه به منابع موجود و برخی از تجربه‌های کاری بوده و توجه به این نکته ضروری است که کار با دستگاه‌های GC افزون بر دانش تئوری، نیازمند سال‌ها کار عملی و مطالعه کتابچه‌های راهنمای سازندگان دستگاه‌ها می‌باشد. همچنین با توجه به پیشرفت‌های تکنولوژیکی و روابط حاکم در دنیای تجارت و سرمایه‌داری، امکان خرید برخی برندهای نام آشنا به وسیله شرکت‌های دیگر و یا ادغام آنها وجود دارد؛ با این حال معمولاً دستگاه‌های خریداری شده برای اهداف تجزیه‌ای برای هر شرکت، تا زمانی که دارای قطعات یدکی لازم بوده و از دیدگاه فنی و نیز نظر کارشناسان محترم آزمایشگاه و متخصصان الکترونیک و ابزار دقیق قابل استفاده باشد، در سرویس قرار خواهد داشت.

پیشاپیش از تمام کسانی که قبول زحمت نموده و نوشتار حاضر را مطالعه نموده سپاسگزاری نموده و خواهشمند است نظرات، پیشنهادات و انتقادات خود را جهت ارتقاء، تکمیل و به روز رسانی مطلب اعلام داشته و در صورت تمایل مراتب را به وسیله ایمیل به اطلاع برسانند.

(arash_noshad@yahoo.com)