

بسمه تعالی

آزمایشگاه بیو پالایش زیست محیطی

مقدمه

امروزه روشهای آنالیز دستگاهی با یاری گرفتن از تکنولوژیهای پیشرفته و سریع در عرصه علوم مختلف از قبیل پزشکی، داروسازی، مواد، نساجی، کشاورزی و منابع طبیعی، معدن، شیمی، نفت، گاز، پتروشیمی، نانو تکنولوژی، بیوتکنولوژی و ... به یاری محققین شتافته و با بهره گیری از روشهای نوین پاسخگوی نیاز آنها گشته است. در این راستا آزمایشگاه بیو پالایش زیست محیطی با در اختیار داشتن تعدادی از این دستگاه ها افتخار دارد تا گامی هر چند کوچک در راستای رشد و خودکفایی علم و صنعت کشور برداشته و ضمن آشنایی علاقمندان با این روشها خدمتگذار آنها باشد. به طور کلی هدف در این آزمایشگاه شناسایی کمی و کیفی ترکیبات در زمینه های فوق الذکر می باشد.

اهداف آزمایشگاه

- جدا سازی و شناسای مواد
- تعیین وزن مولکولی مواد
- شناسایی ترکیبات ناشناخته
- اندازه گیری ترکیبات آلی
- تهیه کروماتوگرام و طیف جرمی

توانایی ها

این مرکز با بهره گیری از سیستم گاز کروماتوگرافی (GCMS, GCFID, GCTCD)، کلیه آزمونهای تخصصی در زمینه صنایع نفت و گاز، شیمیایی، داروئی، آلایندههای زیست محیطی، محصولات آرایشی، بهداشتی، شوینده، مواد غذایی و کشاورزی را مطابق استانداردهای ملی و بین المللی انجام می دهد. به عنوان مثال:

- اندازه گیری هیدروکربنهای سبک (گازی) در مقیاس ppm و درصد
- اندازه گیری هیدروکربنهای سنگین (مایعات ۶ تا ۱۵ کربنه) در مقیاس ppm و درصد
- اندازه گیری گازهای بی اثر (H_2, N_2, O_2) در مقیاس درصد
- اندازه گیری گازهای منوکسید و دی اکسید کربن در مقیاس ppm و درصد
- اندازه گیری ترکیبات سبک باقیمانده در پلیمرها و مایعات به روش Head Space
- اندازه گیری ترکیبات هیدروکربنی اکسیژن دار مایع و گازی در مقیاس ppm

- اندازه گیری ترکیبات بنزین و کازوئیل از قبیل بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن (BTEX) ، فنل، هیدروکربن های آروماتیک حلقوی (PAHs) ، افزودنی های بنزین (MTBE)
- اندازه گیری باقیمانده آفت کش ها از قبیل ارگانو کلره، ارگانوفسفره، پاراکوات ها، پاراتیروئید ها و PCBs
- اندازه گیری و تعیین ترکیب درصد اسیدهای چرب به فرم متیل استر روغنهای خوراکی.
- تشخیص و تعیین میزان الکل
- تعیین ترکیب درصد اسیدهای چرب در
- آزمونهای تخصصی اسانس

تجهیزات دستگاهی

دستگاه گاز کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی (GC/MS)

Gas Chromatography Mass Spectrometry



یکی از پیشرفته ترین دستگاههای مورد استفاده در آنالیز دستگاهی جداسازی ترکیبات به روش کروماتوگرافی گازی سپس شناسایی آنها با استفاده از طیف سنج جرمی می باشد. در واقع طیف سنجی جرمی دستگاهی است که مولکولهای گازی باردار را بر اساس جرم آنها دسته بندی می کند و بر حسب جرم آنها را از یکدیگر جداسازی و ضمن شناسایی مقدار آنها را در محلول اندازه گیری می کند. این دستگاهها کاربرد گسترده ای در شناسائی سموم و اندازه گیری باقی مانده آنها در مواد غذایی، در صنایع داروسازی، پتروشیمی و غیره بمنظور جداسازی و شناسایی ترکیبات ناشناخته با نقطه جوش پایین دارند. به بیان ساده طیف سنج جرمی سه عمل انجام می دهد:

اولاً اجسامی با قدرت تبخیر متفاوت را به صورت بخار در می آورد .

ثانیاً مولکول های بخار را تبدیل به یون می نماید.

سوماً یون ها را بر حسب جرم به بار (m/z) جدا کرده و ثبت می نماید .

از آنجا که یون هایی که دارای چند بار مثبت می باشند نسبت به یون هایی که دارای یک بار مثبت می باشند، ندرتاً تشکیل می شوند پس Z معمولاً یک است بنابراین m/z جرم یون را می دهد. از این رو طیف سنج جرمی جهت تولید و تعیین جرم یون ها کاربرد دارد. هنگامی که یون های ایجاد شده جدا و ثبت می گردند، طیف به دست آمده به نام طیف جرمی خوانده می شود. در این طیف فراوانی هر یون نسبت به m/z رسم می شود. شیمیدان ها از طیف سنجی جرمی در دو مورد استفاده می کنند ذیل :

۱- وزن ملکولی دقیق جسم.

۲- تعیین ساختمان جسم با توجه به مکان هایی که ملکول اصلی شکسته می شود.

اساس کار:

در یک طیف سنج ابتدا چند میکرو گرم از جسم در خلا بسیار زیاد (تقریباً 10^{-6} میلی متر جیوه) به صورت بخار در آمده و سپس در اطاق یون ساز تحت تاثیر بمباران الکترونی قرار گرفته و به صورت یون های مثبت (یون ملکولی M^+) در می آیند. یون ملکولی و یون های به وجود آمده از شکستن آن، به وسیله میدان الکترواستاتیکی به طرف اولین شکاف شتاب دهنده رانده می شوند. میدان الکترواستاتیک قوی بین اولین و دومین شکاف شتاب دهنده باعث می شود که یون ها به سرعت نهایی خود برسند. این یون ها سپس وارد تجزیه کننده (Analyzer) شده و به درجات مختلفی بر حسب m/z منحرف خواهند شد. با تغییر میدان مغناطیسی، یون ها در زمان های متفاوتی به جمع کننده رسیده و در آنجا بر حسب فراوانی نسبی (Relative Abundance) جریانی با شدت متفاوت ایجاد خواهند کرد. بنابراین، طیف جرمی نموداری از رسم فراوانی نسبی نسبت جرم به بار (m/z) می باشد.

مهمترین قسمت های دستگاه عبارتند از:

۱- سیستم وارد کننده نمونه:

غالباً طیف سنج های جرمی به سیستم های کروماتوگرافی گازی (GC)، کروماتوگرافی مایع با کاربرد بالا (HPLC) یا الکتروفورز موینه ای (CE) متصل می شوند تا جداسازی و تعیین اجزای مخلوط های پیچیده میسر شود.

۲- سیستم تولید کننده یون:

دو روش معمول برای تولید یون ها به کار می رود که عبارتند از:

- یونش الکترونی (Electron Ionization)

- یونش شیمیایی (Chemical Ionization).

در یونش الکترونی، الکترون های پر انرژی از یک سیم باریک گرم شده ساطع و به سمت آند می روند. اختلاف پتانسیل ایجاد شده ۷۰ الکترون ولت است. این اختلاف پتانسیل نه تنها انرژی کافی برای یونش ملکول های آلی دارد (مقدار لازم 10^{-7} الکترون ولت است)، بلکه باعث شکسته شدن ملکول ها به اجزاء کوچک تر خواهد شد (قوی ترین پیوند یگانه در ملکول های آلی دارای حدود ۴ الکترون ولت انرژی می باشد). در طیف ایجاد شده توسط یونش الکترونی گاهی یون ملکولی دیده نشده یا فراوانی آن کم است. این نکته یکی از معایب این روش می باشد. این مشکل با استفاده از یونش شیمیایی حل می شود. در این روش گاز (متان، ایزوبوتان یا آمونیاک) وارد اتاق یون ساز شده و به وسیله الکترون های با انرژی ۳۰۰ الکترون ولت یونیده شده و نمونه ای که وارد اتاق یون ساز فوق می شود، یک پروتون از این ملکول

های گازی یونی می گیرد. بنابراین در طیف یونش شیمیایی یون ملکولی دیده شده، یک واحد بزرگتر از وزن ملکولی حقیقی می باشد.

۳- سیستم های تجزیه گر یونی:

دو تجزیه گر متداول عبارتند از:

- تجزیه کننده چهار قطبی (Quadrupole MS)

- ردیاب تله یونی (Ion Trap MS)

تجزیه کننده های چهار قطبی معمولترین تجزیه گرهای مورد استفاده می باشند. طیف سنج های جرمی چهار قطبی در مقایسه با سایر انواع طیف سنج های جرمی معمولاً فشرده تر، ارزاتر و مقاوم تر هستند. این دستگاه هم چنین از مزیت سرعت های پویش بالا برخوردار است و یک طیف جرمی کامل را در کمتر از 100 میلی ثانیه می توان به دست آورد. قلب یک دستگاه چهار قطبی، چهار میله استوانه ای موازی است که به عنوان الکتروده به کار می روند. میله های روبروی یکدیگر از نظر الکتریکی متصل شده اند: یک زوج به پایانه مثبت و زوج دیگر به پایانه منفی یک منبع dc متغیر. علاوه بر این، پتانسیل های ac با فرکانس رادیویی که 180 درجه خارج از فازند، به هر زوج از میله ها اعمال می شوند. یون ها به وسیله یک پتانسیل 5 تا 7 ولت به درون فضای مابین میله ها شتاب داده می شوند. در این هنگام ولتاژهای ac و dc روی میله ها همزمان افزایش می یابد در حالی که نسبت آنها ثابت باقی می ماند. در هر لحظه معین، تمام یون ها به جز آنهایی که یک مقدار مشخص m/z دارند، به میله ها برخورد کرده و به ملکول های خنثی تبدیل میگردند. بنابراین یون های با گستره محدودی از m/z به ترانسدویسر می رسند. نوعاً، دستگاه های چهار قطبی به سهولت یون هایی را تفکیک می کنند که جرم آنها با یک واحد متفاوت است.

در ردیاب تله یونی عمل یونش و تجزیه یون ها به کمک سه الکتروده انجام می گردد. الکترون ها از سیم گرم شده (کاتد) به حفره مرکزی توسط الکتروده متمرکز کننده رانده می شوند. در این محل ملکول های نمونه به روش یونش الکترونی (EI) یونی می شوند. یون های ملکولی نیز شکسته شده و یون های ثانویه ایجاد می کنند. به کمک میدان الکتریکی به کار رفته بر روی الکتروده حلقوی مرکزی یون ها به تله می افتند.

هنگامی که میدان الکتریکی افزایش می یابد، یون ها بر پایه نسبت جرم به بار آنها (m/z) از حفره رانده شده و به وسیله الکترون مولتی پلایر آشکار می شوند. از آنجایی که سرعت تجزیه یون ها (Scanning) توسط تله یونی خیلی زیادتر از تجزیه کننده جرمی چهار قطبی می باشد، به کمک آن می توان کوچکترین نوار حاصل از گاز کروماتوگراف را تشخیص داد.

مشخصات دستگاه گاز کروماتوگرافی دستگاه GC/MS

مدل: Finnigant Trace Ms

شرکت سازنده: Thermo

« »

Parameter	Specification
Mass range:	2-1023 Dalton
Resolution	Fully adjustable up to 2500 at 1000 Daltons
Mass stability	± 0.1 Daltons over 12 hours
Sensitivity:	EI+ 50:1 on 10 pg benzophenone
Ionization Techniques	Electron ionization (EI)
Mass analyzer	Quadrupole MS
injector	Split / splitless
Spectral databases:	National Institute of Standards and Technology (NIST)

زمینه کاربرد

- ۱- کنترل کیفی و کمی مواد در زمینه های مهندسی، پزشکی، علوم پایه، کشاورزی و بیوتکنولوژی....
- ۲- اندازه گیری مقدار دارو ها و سموم و بررسی ساختار آنها.
- ۳- سنجش آلودگی ها در آب، خاک و هوا.
- ۴- اندازه گیری و شناسایی هیدرو کربن ها و ترکیبات آلی موجود.
- ۵- تعیین وزن مولکولی، فرمول تجربی و طیف جرمی ترکیبات.
- ۶- تجزیه ترکیبات آلی، بیولوژیک و ترکیبات شاخه ای.

دانشگاه فردوسی مشهد



کروماتوگرافی گازی یکی از قدرتمندترین و در عین حال فراگیرترین روش های تجزیه دستگاهی است که اطلاعات متنوع و بسیار مفیدی در زمینه شناسایی (تجزیه کیفی) و تعیین مقدار (تجزیه کمی) تک تک اجزا تشکیل دهنده یک مخلوط پیچیده به دست می هد. البته این به آن معنی نیست که تمام نمونه ها بتوان با GC آنالیز نمود، بلکه تنها نمونه هایی قابل آنالیزند که با افزایش دما بدون آنکه تخریب یا تجزیه شوند، تبخیر گردند و از فشار بخار قابل توجهی برخوردار باشند.

سیستم GC از چند قسمت اصلی تشکیل شده است:

منابع تامین کننده و تنظیم کننده جریان گاز حامل و سوخت (سیلندرها، ژنراتورها و رگلاتورها)، انژکتور، آون، ستون، دتکتور و ابزارهای ثبت کروماتوگرام و محاسبه نتایج. نمونه توسط میکروسرنگ به درون انژکتور داغ تزریق شده و بلافاصله تبخیر گشته و به همراه جریان گاز حامل به ستون هدایت می شود. به دلیل تفاوت در میزان برهم کنش هر جز از ترکیبات نمونه با فاز ساکن، سرعت حرکت هر جز متفاوت بوده و به این ترتیب در زمان های متفاوتی از ستون خارج و به دتکتور می رسند. پس از رسیدن به دتکتور، یک سیگنال الکتریکی تولید می شیود کیه شدت آن با مقدار کمی آن جز متناسب است. سیگنال الکتریکی در نرم افزار و به کمک سیستم کامپیوتری به صورت کروماتوگرام ثبت می گردد.

امروزه ستون های موئین (Capillary Column) در آنالیزهای گاز کروماتوگرافی استفاده می گردند. برحسب فاز ساکن، ستون هایی با قطبیت های مختلف وجود دارند که برای آنالیزهای خاصی مورد استفاده قرار می گیرند. انواع گوناگونی از انژکتورها برای تزریق وجود دارند اما در بسیاری از آنالیزها می توان از انژکتور Split/Splitless استفاده نمود. به دلیل اینکه ظرفیت ستون های موئین بسیار کم است، انژکتور Split نمونه را به دو بخش نامساوی تقسیم کرده و تنها بخش کوچکی را به ستون هدایت می کند و مابقی نمونه را به بیرون از سیستم می فرستد. برعکس، هرگاه غلظت نمونه بسیار کم باشد، لازم است تا مقدار بیشتری نمونه به ستون وارد گردد تا غلظت گونه های رقیق در محدوده حد تشخیص سیستم قرار گیرد. بدین منظور از انژکتور Splitless استفاده می شود که تمامی نمونه تزریق شده را به ستون منتقل می کند.

آشکارساز یونش شعله ای (FID: Flame Ionization Detector): عمومی ترین دتکتور کروماتوگرافی گازی می باشد زیرا تقریباً به تمامی مواد آلی حساس بوده و در عین حساسیت بالا، از پایداری مناسب، دامنه گسترده خطی بودن پاسخ، سادگی و سهولت کاربری و نگهداری و قیمت ارزان برخوردار است.

آشکارساز ربایش الکترونی (ECD: Electron Capture Detector): یک دتکتور انتخابی است که برای آنالیز ترکیباتی که توانایی ربایش الکترون را دارند به کار می رود. این دتکتور به ترکیبات هالوژنه (حتی در مقادیر بسیار کم) حساسیت نشان می دهد به همین خاطر برای آنالیز باقیمانده سموم کلره کاربرد دارد.

آشکارساز هدایت گرمایی (TCD: Thermal Conductivity Detector): اگرچه یک آشکارساز عمومی است و به تمامی مواد شیمیایی پاسخ می دهد، ولی حساسیت بالاتر FID (۱۰-۱۰۰ برابر) سبب شده است که کاربرد محدودتری داشته باشید. درون این آشکارساز دو سل همراه با فیلامنت رسانای داغ قرار دارد. گاز حامل همراه با نمونه از درون سل نمونه عبور میکند، اما درون سل مرجع، فقط گاز حامل جریان دارد. زمانی که یکی از اجزای نمونه از ستون خارج می شود، ترکیب شیمیایی گاز حامل در سل نمونه متفاوت از سل مرجع می گردد که باعث تغییر در دما و در نتیجه تغییر در مقاومت الکتریکی رساناها می گردد. اختلاف جریان های عبوری از دو رسانا به صورت سیگنال اندازه گیری و در قالب یک پیک در کروماتوگرام ظاهر می شود.

زمینه کاربرد

- ۱- کنترل کیفی و کمی مواد در زمینه های مهندسی، پزشکی، علوم پایه، کشاورزی و بیوتکنولوژی....
- ۲- اندازه گیری مقدار دارو ها و سموم .
- ۳- سنجش آلودگی ها در آب، خاک و هوا.
- ۴- اندازه گیری و شناسایی هیدرو کربن ها و ترکیبات آلی موجود .
- ۵- تجزیه ترکیبات آلی، بیولوژیک و ترکیبات شاخه ای.

مشخصات دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC)

ردیف	نام دستگاه	شرکت سازنده	مدل

6890	SeriesGc system	Agilen	GC-FID	۱
	Series 1400	Varian	GC-TCD	۲



دانشگاه فردوسی مشهد