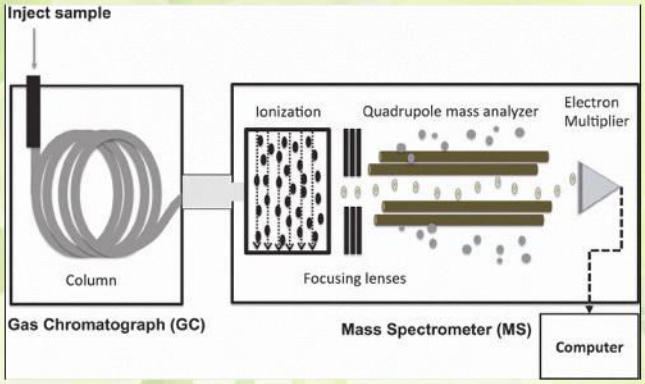
معرفی دستگاه
کروماتوگرافی گازی – طیف‌سنج جرمی

زینب البرزی، دانشجوی مقطع دکتری حشره‌شناسی کشاورزی
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران | Zeynab.alborzi@ut.ac.ir

دستگاه کروماتوگرافی گازی – طیف‌سنج جرمی، یکی از پیشرفته‌ترین دستگاه‌ها در زمینه‌ی آنالیز دستگاهی است که از دو قسمت کروماتوگراف گازی و طیف‌سنج جرمی تشکیل شده است. برای بیش از نیم‌قرن، روش کروماتوگرافی گازی نقش اساسی در جداسازی و تعیین مقادیر اجزاء یک مخلوط ایفا کرده است اما تعیین ماهیت و ساختار شیمیایی اجزاء جداسازی شده نیاز به روش‌های آشکارسازی اسپکتروسکوپی دارد که بیشترین روش مورداستفاده، آشکارساز طیف‌سنج جرمی است که امکان به دست آوردن یک طیف جرمی برای مولکول که همانند اثرانگشت آن بوده، فراهم کرده است. از این دستگاه می‌توان اطلاعات کمی و کیفی درباره وزن مولکولی، ساختار عنصری، گروه‌های عاملی (در صورت استفاده از طیف‌سنج جرمی با قدرت تفکیک بالا) و در برخی موارد، هندسه و ایزومر فضایی مولکول را به دست آورد.

نمای ظاهری دستگاه کروماتوگرافی گازی – طیف‌سنج جرمی

در این روش، اجزای یک مخلوط، پس از جداسازی با کروماتوگرافی گازی، در طیف‌سنج جرمی شناسایی می‌شوند. از آنجایی که ورود نمونه به دستگاه از طریق کروماتوگراف گازی است، لذا نمونه‌هایی قابل آنالیز با دستگاه کروماتوگراف گازی- طیف سنج جرمی هستند که فرار بوده، فشار بخار قابل‌توجهی داشته باشد و در اثر حرارت، تخریب و یا تجزیه نشوند. اجزاء یک مخلوط پس از جداسازی با ستون کروماتوگرافی و پس از حذف گاز حامل، وارد منبع یونیزاسیون طیف‌سنج جرمی می‌گردند و سپس به‌واسطه‌ی تولید میدان‌های الکتریکی پرقدرت یونیزه می‌شوند و با استفاده از تجزیه‌گر جرمی بر اساس نسبت جرم به بارشان (m/z) جداسازی می‌شوند.



طرح گرافیکی فرایند شناسایی مواد در دستگاه GC-MS

از جمله کاربردهای دستگاه کروماتوگراف گازی- طیف‌سنج جرمی می‌توان به کاربرد آن در محیط‌زیست، صنایع شیمیایی، دارویی، کشاورزی، حوزه پزشکی، حقوقی و حوزه علوم نانو اشاره کرد. برتری عمده این روش نسبت به سایر روش‌ها، سریع بودن پاسخ‌دهی می‌باشد، شناسایی اجزای مخلوط ظرف کمتر از ۹۰ ثانیه پس از ورود مخلوط به داخل دستگاه انجام می‌شود.

همچنین حتی در صورت در اختیار داشتن مقادیر بسیار اندکی از یک مخلوط (در حد پیکوگرم) می‌توان به دقت، اقدام به شناسایی نوع و مقادیر اجزای تشکیل‌دهنده‌ی آن نمود. مهم‌ترین مزیت این روش نسبت به سایر روش‌ها از قبیل TEM، XRD، UV Vis، IR، اسپکتروسپی رامان و TGA این است که برای تعیین و شناسایی ترکیبات به‌طور مستقیم از روش‌های فوق نمی‌توان استفاده کرد اما از روش MS می‌توان استفاده نمود.

کروماتوگرافی گازی

کروماتوگرافی گازی، یکی از قدرتمندترین و فراگیرترین روش‌های تجزیه دستگاهی است که اگر از امکانات و توانمندی‌های این دستگاه به‌خوبی استفاده شود، می‌توان اطلاعات متنوع و بسیار مفیدی را هم در زمینه‌ی تجزیه‌ی کیفی (شناسایی) و هم در مورد تجزیه‌ی کمی (تعیین مقدار) در ارتباط با تک‌تک اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی یک مخلوط پیچیده به دست آورد. البته، این به آن معنی نیست که همه نمونه‌ها را می‌توان با این روش آنالیز نمود. تنها نمونه‌هایی به روش کروماتوگرافی گازی قابل آنالیز هستند که دارای ویژگی‌های معینی باشند.

به‌عنوان مثال، تمامی اجزاء نمونه، باید در محدوده دمایی ۳۵۰-۴۰۰ درجه سلسیوس فرار بوده و از فشار بخار قابل‌توجهی برخوردار باشند و یا با افزایش سریع دما، اجزاء نمونه بدون آنکه تخریب و یا تجزیه گردند، تبخیر شوند.

اساس جداسازی با کروماتوگرافی گازی بر پایه توزیع نمونه بین دو فاز استوار است. یکی از این فازها عبارت است از بستر ساکن ذراتی با سطح بسیار زیاد و فاز دیگر، گازی که از میان این بستر ساکن می‌گذرد. چنانچه فاز ساکن جامد باشد آن را کروماتوگرافی گاز - جامد می‌نامند. این روش بستگی به خواص جذب سطحی مواد موجود در ستون برای جداکردن نمونه‌ها، به‌ویژه گازها دارد. مواد جامد در ستون عبارت‌اند از سیلیکاژل، الک مولکولی و زغال. اگر فاز ساکن مایع باشد آن را کروماتوگرافی گاز - مایع می‌نامند.

کروماتوگرافی گاز - مایع کاربرد گسترده‌ای در تمام رشته‌های علوم دارد که به‌طورمعمول به نام مختصر کروماتوگرافی گازی نامیده می‌شود. در کروماتوگرافی گاز مایع، اجزای نمونه باید از هم جدا شوند که با استفاده از یک گاز بی‌اثر (گاز حامل) وارد ستون می‌شوند. اجسام موجود در نمونه‌ی میان گاز حامل و حلال غیر فرار (فاز ساکن) که روی یک جسم جامد بی‌اثری با اندازه معلوم و معین (جامد نگه‌دارنده) نگاه داشته شده است، تقسیم می‌شوند. این حلال به‌طور انتخابی حرکت اجزای نمونه را بر اساس ضریب توزیع متفاوتی که دارند، کند می‌کند به‌طوری‌که هر یک نوارهای مجزایی در گاز حامل به وجود می‌آورند. هر یک از این نوارهای اجزاء، همراه با جریان گاز حامل از ستون کروماتوگرافی بیرون می‌آیند و با آشکارساز به‌صورت تابعی از زمان ثبت می‌شوند.

استفاده از GC به‌عنوان یک روش تجزیه‌ای توسط مارتین و سینج در سال ۱۹۴۱ پیشنهاد شد. جیمز و مارتین کروماتوگرافی گاز - مایع را در سال ۱۹۵۲ معرفی کردند.

به‌طور خلاصه، فرآیند آنالیز و چگونگی انجام آزمایش با روش کروماتوگرافی گازی را می‌توان این‌چنین توصیف نمود: محلولی از نمونه‌ی موردنظر (مایع یا گاز) با استفاده از یک میکروسرنگ (برای نمونه مایع) یا سرنگ گازی (برای نمونه گازی) به درون محفظه داغ انژکتور تزریق می‌شود.

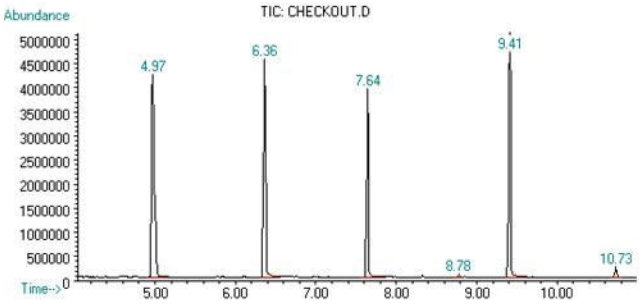
تزریق نمونه داخل انژکتور

اجزاء نمونه در تماس با دمای بالای انژکتور بلافاصله تبخیر شده و به همراه جریان گاز حامل به‌سوی ستون که داخل آونی با دمای قابل تنظیم قرار دارد، هدایت می‌شوند. هر جزء نمونه به‌صورت مجزا با فاز ساکن داخل ستون برهمکنش برقرار می‌کند. به دلیل تفاوت در میزان برهمکنش هر جزء با ستون، سرعت حرکت اجزاء در طول ستون با یکدیگر فرق دارد. میزان و نوع برهمکنش هر جزء با فاز ساکن و درنتیجه، سرعت حرکت آن علاوه بر ماهیت ذاتی و ساختار شیمیایی گونه، به نوع فاز ساکن، سرعت جریان گاز حامل و دمای آون نیز بستگی دارد.

پس از خارج شدن هر جزء از ستون و رسیدن آن به آشکارساز، یک سیگنال الکتریکی تولید می‌شود که شدت آن با مقدار کمّی آن جزء متناسب است. سیگنال الکتریکی تولیدشده به دستگاه رسم کروماتوگرام و محاسبه‌ی نتایج ارسال‌شده و نتیجه نهایی در قالب یک کروماتوگرام به دست می‌آید. کروماتوگرام، نموداری است که در آن پاسخ‌های آشکارساز به اجزاء نمونه برحسب زمان خروج اجزاء از ستون (زمان بازداری) رسم شده است که هر کروماتوگرام متشکل از چند پیک بوده که هر پیک متعلق به یک جزء نمونه است.

منابع

1) Chauhan A., Goyal M. K., Chauhan P. (2014). GC-MS Technique and its Analytical Applications in Science and Technology, Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques, Volume 5, Issue 6.
2) MacNair, H.M., Bonelli, E.J., (1969). Basic gas chromatography, Varian Aerograph.



یک نمونه کروماتوگرام حاصل از آنالیز ترکیب X- نمودار افقی RT (Retention Time) و نمودار عمودی فراوانی (Abundance) را نشان می‌دهد.

به‌عنوان‌مثال در کروماتوگرام بالا طبق استاندارد، پیک در ۴/۹۷ دقیقه مربوط به Dodecane، پیک در ۶/۳۶ دقیقه مربوط به Biphenyle و پیک در ۷/۶۴ دقیقه مربوط به Chlorobiphenyl است.

طیف‌سنجی جرمی

طیف‌سنجی جرمی روشی تجزیه‌ای است که از آن می‌توان اطلاعات کمی و کیفی درباره‌ی وزن مولکولی و ساختار مولکول ترکیبات آلی و معدنی به دست آورد. از این روش می‌توان در تجزیه‌ی کیفی و شناسایی و تعیین مواد مختلف آلی مورد نظر شیمی‌دانان و زیست-شیمی‌دانان استفاده کرد.

هم‌چنین می‌توان مخلوط گازها یا مایعات و در برخی از حالت‌ها، جامدات را به‌طور کمی تجزیه کرد. ریاضیات مربوط به تجزیه‌ی کمی غالباً پیچیده است، به‌طوری‌که اغلب از یک نرم‌افزار برای تکمیل تجزیه استفاده می‌شود. این روش، تجزیه‌ی کمی را با غلظت‌های در سطح ppb در اختیار می‌گذارد. به دلیل سرعت بالا و قابل‌اعتماد بودن روش طیف-سنجی جرمی، شیمی‌دانان تجزیه تمایل زیادی به آن پیدا کرده‌اند.

کاربردهای GC-MS

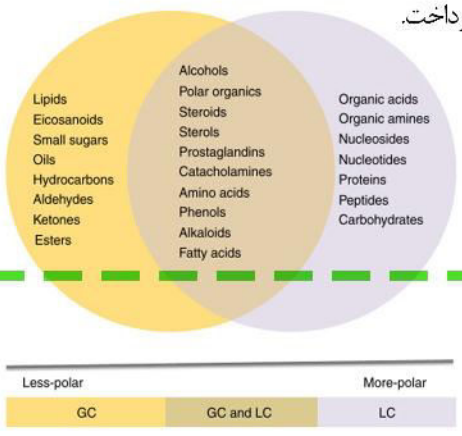
آنالیز GC-MS در زمینه‌های بسیاری قابل‌استفاده است. از جمله در شناسایی آلاینده‌های زیست‌محیطی مانند تعیین ترکیبات کلروفنل در آب‌وخاک، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، دیوکسین‌ها و دی بنزوفوران‌ها را نام برد. هم‌چنین در آنالیز ترکیباتی مثل آروماتیک‌ها، اسیدهای چرب، استرها و الکل‌ها، آلدئیدها و ترپن‌ها در صنایع غذایی، نوشابه‌ها و اسانس‌ها بسیار کاربرد دارد. در علم گیاهان دارویی و کشاورزی برای بررسی روغن‌های فرار (اسانس‌ها) اسیدهای گیاهی، برخی آلکالوئیدها (تریاک، تنباکو، شوکران و مشتقات تروپان)، برخی رزین‌ها، ترکیبات استروئیدی و اندازه‌گیری باقیمانده حشره‌کش‌ها روی غلات، مورداستفاده قرار می‌گیرد.

در سم‌شناسی محیطی GC-MS به‌عنوان یک روش مناسب و راحت برای آزمایش در محدوده‌ی وسیعی از ترکیبات سمی از قبیل کلروفنل‌های موجود در آب یا خاک و یا هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای، دیوکسین‌ها، دی‌بنزوفوران‌ها، حشره‌کش‌های ارگانوکلره و هالوژن‌دار، علف‌کش‌ها و فنل‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد.

در بسیاری از مطالعات حشره‌شناسی کشاورزی نیز به‌منظور شناسایی یک ترکیب خاص در حشره از این دستگاه استفاده می‌شود. برای مثال برای پی بردن به اینکه چه مولکول هایی در فعالیت‌های فیزیولوژیکی یک حشره دخیل هستند از این روش استفاده می‌کنند. درواقع این دستگاه برای آنالیز متابولومیکس موجود هدف و پروفایل متابولیکی استفاده می‌شود. برای مثال در مطالعه‌ای بر کرم ابریشم به‌منظور شناسایی مولکول‌های دخیل در فرایند تولید ابریشم از این دستگاه استفاده شد. از مزایای دیگر آن، این است که امکان جداسازی اکدیستروئیدهای موجود در یک نمونه بیولوژیکی را فراهم می‌کند.

پرکاربردترین روش برای جداسازی و شناسایی اکدیستروئیدها، استفاده از دستگاه GC-MS است و علت این امر این است که اکدیستروئیدها برای کروماتوگرافی مستقیم توسط دستگاه کروماتوگراف گازی قطبیت بسیار بالایی دارند و استفاده‌ی مستقیم از این دستگاه اثرات نامطلوبی از جمله تغییرات شیمیایی غیرقابل‌کنترل در ساختار اکدیستروئیدها و سختی واکنش را در پی دارد. هم‌چنین حضور ترکیبات با وزن مولکولی بسیار بالا که برای تصفیه نیاز به دمای بسیار بالایی دارند سبب عدم موفقیت فرایند جداسازی توسط این دستگاه می‌شود؛ بنابراین جفت شدن و ترکیب دستگاه کروماتوگراف گازی با طیف‌سنج جرمی سبب موفقیت در جداسازی این نوع ترکیبات شده است.

در تصویر زیر دسته‌بندی بیومولکول‌هایی که توسط GC/MS و LC/MS آنالیز می‌شود، قابل‌مشاهده می‌باشند که در شماره‌ی بعدی نشریه به معرفی LC/MS یا کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنج جرمی خواهیم پرداخت.



3) Li, Y., Wang, X., Chen, Q., Hou, Y., Xia, Q., and Zhao, P. (2016). Metabolomics Analysis of the Larval Head of the Silkworm, Bombyx mori. International Journal of Molecular Sciences, 17(9), 1460.