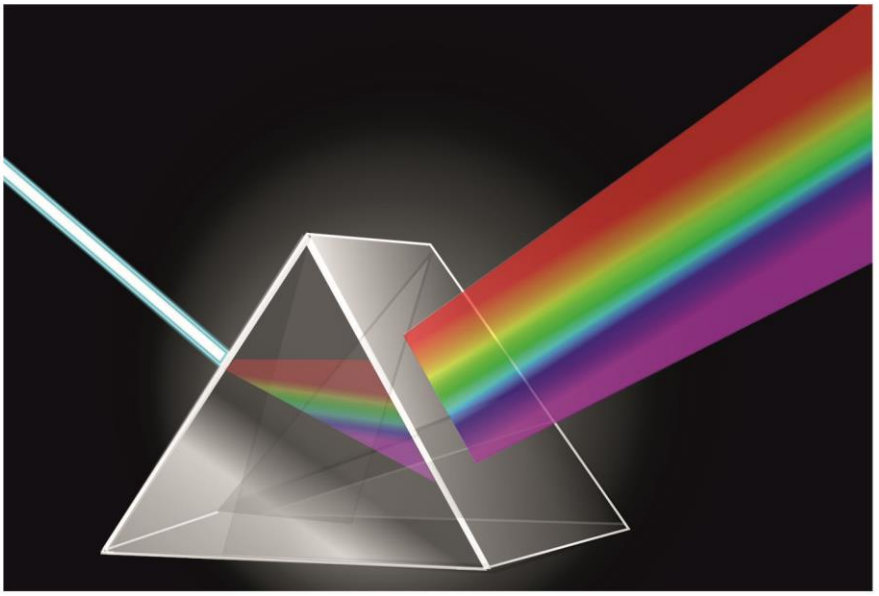
مقدمه‌ای بر طیف‌سنجی

(ویژه دانشجویان شیمی و مهندسی شیمی)



مولفان:

ملیکا ملک آرا - محسن صادقی نیه

ویراستاران:

الهام خورسند - گیسو مرادمند - فرزانه شاهسوار

مقدمه

در دنیای امروز، کنترل کیفیت محصولات صنعتی و غیرصنعتی جایگاه ویژه خود را دارد و پایه و اساس آن‌را تجزیه‌های شیمیایی انجام شده به کمک روش‌های تجزیه دستگاهی تشکیل می‌دهد.

هدف یک تجزیه شیمیایی، فراهم آوردن اطلاعات درباره‌ی ترکیب نمونه‌ای از یک ماده است. در بعضی موارد اطلاعات کیفی و در مواردی دیگر، اطلاعات کمی مورد نظر است که این اطلاعات توسط اندازه‌گیری یکی از خواص فیزیکی به‌دست می‌آیند.

خواص فیزیکی که در تجزیه به‌کار گرفته می‌شوند عبارتند از: جرم، حجم، جذب تابش، نشر تابش، پراکندن تابش، شکست تابش، چرخش تابش، پتانسیل الکتریکی، رسانایی الکتریکی، جریان الکتریکی، کمیت الکتریسیته، نسبت جرم، بار و خواص گرمایی.

روش‌های جداسازی به این دلیل مورد احتیاج‌اند که خواص فیزیکی و

شیمیایی مناسب برای اندازه‌گیری غلظت، معمولاً بین چندین عنصر یا ترکیب مشترک است مراحل روش‌های جداسازی عبارتند از:

۱- نمونه‌برداری

۲- تهیه و انحلال مقدار معینی از نمونه

۳- جداسازی گونه‌ی مورد اندازه‌گیری از اجزاء سازنده‌ای که در سنجش نهایی مزاحمت ایجاد می‌کند.

تکنیک‌هایی نظیر کروماتوگرافی، تقطیر جزء به جزء، استخراج با جریان نا همسو و الکترولیز در پتاسیل کنترل شده، از جمله روش‌های اختصاصی جداسازی می‌باشند.

انتخاب روش برای یک مسئله‌ی تجزیه‌ای از اهمیت خاصی برخوردار است و شیمیدان برای تصمیم‌گیری در انتخاب روش، باید پیچیدگی ماده‌ی مورد تجزیه، غلظت گونه‌ی مورد نظر، تعداد نمونه‌هایی که باید تجزیه شوند و دقت مورد نیاز را در نظر بگیرد.

روش‌های تجزیه‌ای مبتنی بر اندازه‌گیری خاصیت عبارتند از:

وزنی – حجمی - طیف نورسنجی (اشعه‌ی ایکس، UV، مرئی، IR)، رنگ‌سنجی، طیف‌بینی جذب اتمی، رزونانس مغناطیسی هسته و رزونانس اسپین الکترون – طیف‌بینی نشری (اشعه ایکس، UV، مرئی)، نورسنجی شعله‌ای، فلوئورسانس (اشعه‌ی ایکس، UV، مرئی)، روش‌های رادیوشیمیایی ـ کدری سنجی، نفلومتری، طیف‌بینی رامان ـ شکست سنجی و تداخل سنجی ـ روش‌های پراش اشعه‌ی ایکس و الکترون ـ قطبش سنجی، پاشندگی چرخش نوری و دورنگ نمایی دورانی ـ پتانسیل سنجی، پتانسیل سنجی با زمان رسانا سنجی ـ پلاروگرافی، تیتراسیون‌های آمپرسنجی ـ کولن سنجی ـ طیف‌سنجی جرمی ـ روش‌های رسانایی ـ حرارتی و آنتالپی.

دستگاهوری در تجزیه به این معناست که به دستگاه می‌توان به صورت یک وسیله‌ی ارتباطی نگریست. دستگاه این هدف را در مراحل مختلف

انجام می‌دهد:

۱- تولید یک علامت.

۲- تبدیل این علامت به علامتی با ماهیّت متفاوت (تبدیل).

۳- تقویت علامت تبدیل شده.

۴- و ارائه این علامت به صورت یک جابه‌جایی بر روی یک صفحه‌مدرج یا صفحه‌ی یک ثبات.

بسیاری از دستگاه‌ها یک مبدل را به کار می‌گیرند که علامت اوّلیه را به علامتی تبدیل می‌کند که آسان‌تر اندازه‌گیری می‌شود. حساسیت بسیاری از دستگاه‌ها با تقویت کردن علامت اوّلیه و یا شکل تبدیل شده‌ی آن افزوده می‌شود. علامت تبدیل شده و تقویت یافته از یک دستگاه، معمولاً به صورت جابه‌جایی خطی یا زاویه‌ای در طول یک صفحه‌ی مدرج ارائه می‌شود.

رشد تجزیه دستگاهی هم‌راستا با پیشرفت‌های الکترونیک بوده است،

زیرا تولید، تبدیل، تقویت و ارائه‌ی یک علامت می‌تواند به راحتی و به سرعت توسط مدارهای الکترونیکی انجام پذیرد.

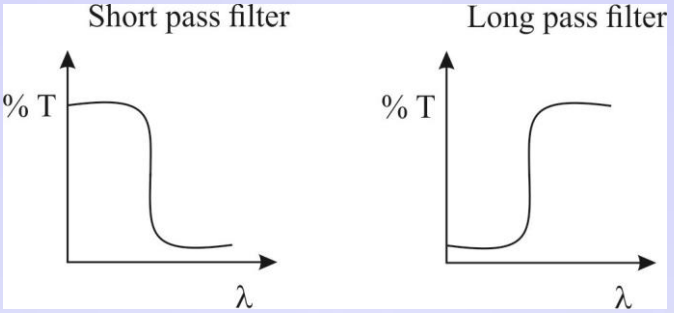
یکی از مباحث مهم و گسترده در شیمی تجزیه دستگاهی، مباحث مربوط به نور و اپتیک می‌باشد که شامل رفتار عبوری نور، خواص نوری ماده (انعکاس یا بازتابش، شکست نور یا ضریب شکست، پخش نور و جذب نور)، قوانین اپتیک (خطی، غیر خطی، هندسی)، مدارهای الکترونیکی و طیف نسبی می‌باشد.

اپتیک یکی از شاخه‌های علم فیزیک است که با بررسی ویژگی‌های نور و برهم‌کنش آن با ماده سروکار دارد. اپتیک هندسی به زمان آشوری‌ها در قرن نهم قبل از میلاد برمی‌گردد که از کره‌های صیقل داده شده به عنوان شیشه‌های آتشین استفاده می‌کردند. اپتیک غیر خطی شاخه‌ای از اپتیک است که رفتار نور در محیط غیر خطی را توضیح می‌دهد. رشته‌ای شدن نور نتیجه‌ی پاسخ‌دهی غیر خطی محیط به انتشار نور

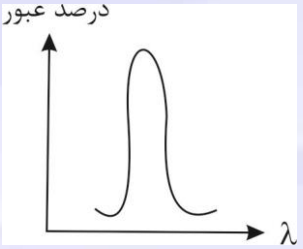
است. ساختمان دستگاه‌های طیف‌سنجی به صورت زیر می‌باشد:

فیلترها شامل:

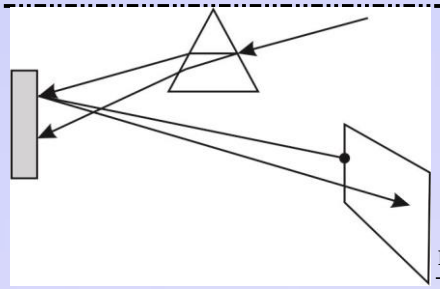
فیلترهای جذبی



فیلترهای تداخلی



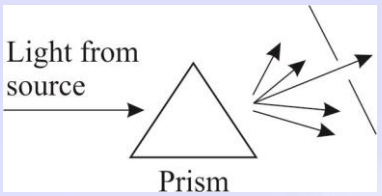
منشور:



$$\frac{n_2}{n_1}=\frac{\sin\theta_1}{\sin\theta_2}$$

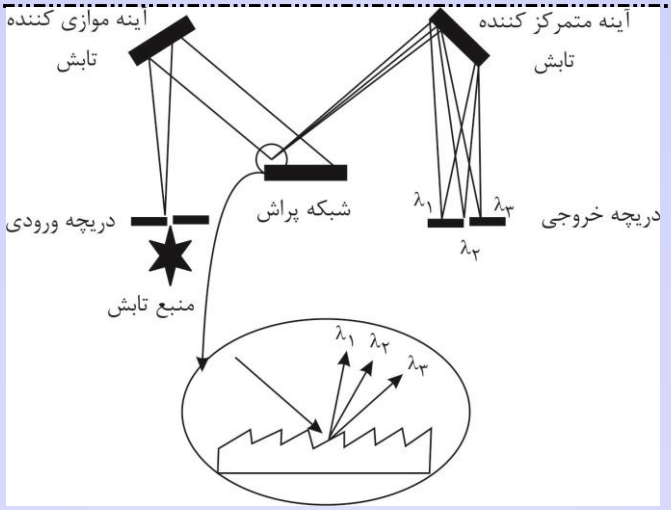
(θ_1 :زاویه برخورد) (θ_2 :زاویه شکست)

(n_1 :ضریب شکست محیط خارجی) (n_2 :ضریب شکست منشور)

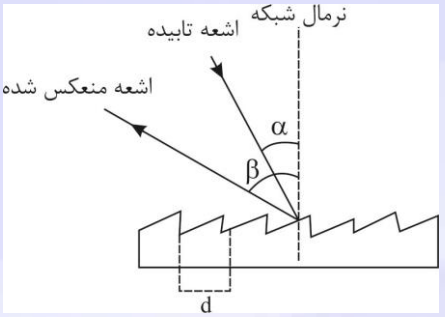


پاشندگی منشور: $\frac{d\theta}{d\lambda}=\frac{d\theta}{dn}\times\frac{dn}{d\lambda}$

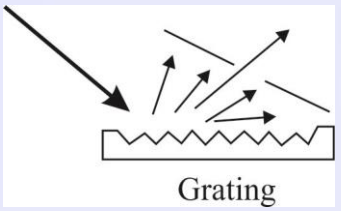
مسیر نوری در یک تکفام ساز:



شبکه (Grating):

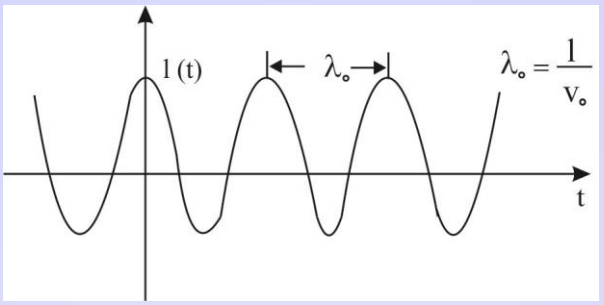


$$n\lambda = d(\sin i + \sin r)$$

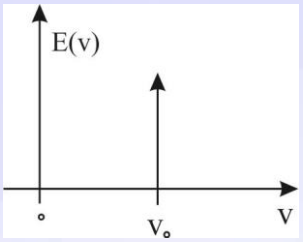


تبدیل فوریه:

طیف حوزه زمانی



طیف حوزه فرکانسی



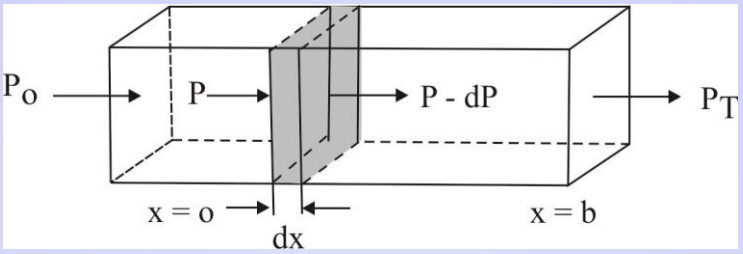
زوج‌های تبدیل فوریه:

$$I_{(x)} = \int_{-\infty}^{\infty} \beta_{(\lambda)} \cos(\varepsilon\pi X\bar{\nu} d\bar{\nu})$$

$$\beta_{(\bar{\nu})} = \int_{-\infty}^{\infty} I_{(x)} \cos(\varepsilon\pi X\bar{\nu}) dX$$

قانون پیرلامبرت:

$$A = \varepsilon bC$$



فتو تکثیر کننده (photomultiplier):

الکترون‌های خارج شده از فتوکاتد به وسیله یک میدان الکتریکی سرعت گرفته و به دانیود برخورد می‌کنند تا الکترون‌های بیشتری را خارج کنند. این اثر آشار مانند ممکن است ۹ تا ۱۶ مرحله داشته باشد.

سلول‌های فتوولتایی (Photovottaic cells):

این دستگاه شدّت فوتون‌ها را به وسیله ولتاژی که در لایه نیمه هادی ایجاد می‌شود اندازه‌گیری می‌کند.

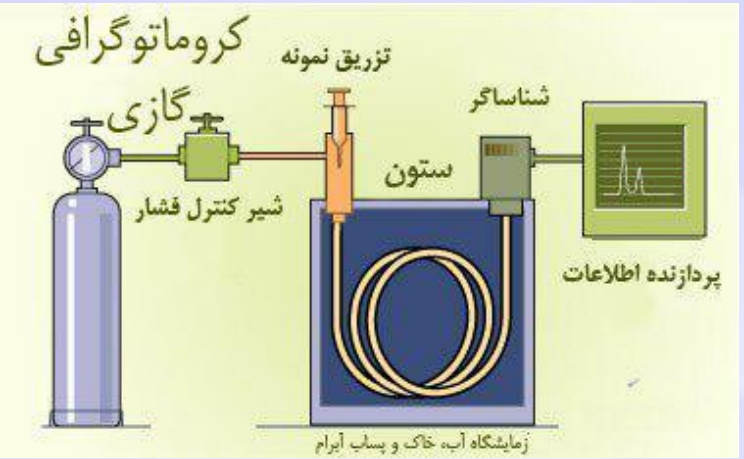
فتولوله (Photo tubes):

در این آشکارساز فوتون‌های پر انرژی در برخورد با کاتد الکترون‌ها را

جدا می‌کنند. جریان الکتریکی سیستم با شدّت نوتون‌ها نسبت مستقیم دارد.

دستگاه فوتومتر:

کروماتوگرافی:



کروماتوگرافی شامل روش‌هایی فیزیکی است که طی آنها دو یا چند ترکیب در یک مخلوط به وسیله‌ی توزیع متفاوت بین دو فاز ساکن و متحرک از یکدیگر جدا می‌شوند.

فاز متحرک: یک گاز یا یک مایع است که از روی ستون یا بستر

کروماتوگرافی عبور می‌کند.

فاز ساکن: یک مایع یا یک جامد است که حرکت نمی‌کند.

اجزاء نمونه: توسط فاز متحرک از روی بستر فاز ساکن عبور داده می‌شوند.

تقسیم‌بندی کروماتوگرافی براساس ابزار فیزیکی که فاز ساکن و متحرک با آن‌ها در تماس هستند:

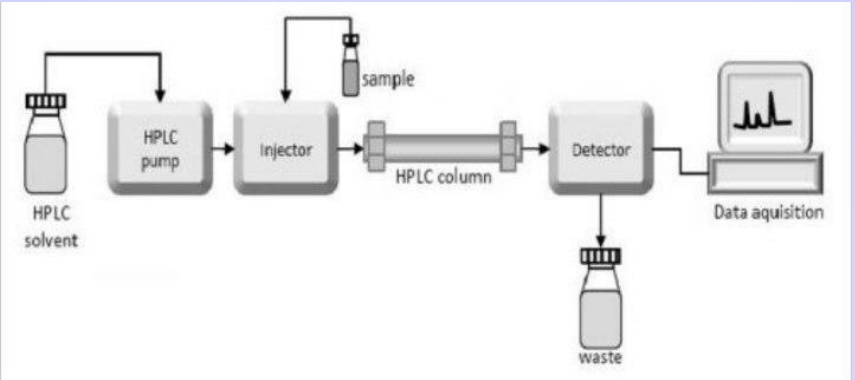
۱- ستونی: فاز ساکن در یک لوله شیشه‌ای یا فلزی گنجانده می‌شود و فاز متحرک، مایع یا گاز می‌باشد.

۲- مسطح: فاز ساکن بر روی شیشه یا صفحه پلاستیکی یا کاغذ است و فاز متحرک، اثر موئینه‌ای یا نیروی ثقل می‌باشد.

تقسیم‌بندی کروماتوگرافی براساس نوع فاز ساکن و متحرک:

کروماتوگرافی مایعی: بیشتر برای جداسازی مواد آلی غیر فرار مورد استفاده قرار می‌گیرد. مانند ترکیبات یونی، پلیمرها و مواد بیولوژیکی.

کروماتوگرافی مایعی شامل فازهای زیر می‌باشد:



۱- جذبی Absorption Chromatography

۲- تقسیمی Split Chromatography

۳- تعویض یونی Ion exchange Chromatography

۴- طرد مولکولی Molecular exclusion Chromatography

۱- فازهای جذبی: آلومینا ← اغلب با فازهای متحرک هگزان، کلروفرم و ۲- پروپانول به کار می‌رود. کاربرد ← به عنوان مثال جداسازی آمین‌ها.

سیلیکا ← اغلب با فازهای متحرک هگزان، کلروفرم و ۲- پروپانول به

کار می‌رود. کاربرد ← جداسازی اترها، استرها، ویتامین‌های قابل حل در چربی و پورفیرین‌ها.

۲- فازهای تقسیمی:

فاز نرمال (NPLC) ← در کروماتوگرافی فاز نرمال اجزاء قطبی با شدّت بیشتری نگهداری می‌شوند.

فاز معکوس (PPLC) ← در کروماتوگرافی فاز معکوس اجزاء قطبی سریع‌تر حرکت می‌کنند.

فاز مخلوط ← ترکیبی از دو فاز نرمال و معکوس می‌باشد.

۳- فازهای تعویض یونی:

فاز تابت ← سیلیکا و پلی‌استرین اصلاح شده با گروه‌های عاملی مانند آمین‌های ۴تایی.

فاز متحرک ← محلول بافر آبی $(NaCl , MgCl_2 , K_3PO_4 , NH_4SO_4)$ حاوی یون مخالف با یون‌های سطحی رزین.

۴- فازهای طرد مولکولی:

شامل یک ستون است که نمونه به داخل آن تزریق می‌شود. مولکول‌های کوچکتر وارد کانال‌ها می‌شوند و از سرعت آنها کاسته می‌شود. مولکول‌های بزرگتر از میان فاز ساکن و حلال سریع‌تر عبور می‌کنند و زودتر از ستون خارج می‌شوند.

کارایی ستون: به سرعت پهن شدن نوار هنگام حرکت ماده حل شده در ستون یا صفحه مربوط می‌شود.

$$N = \left[\frac{t_R}{\sigma_{total}}\right]^2$$

$$\sigma_{total} = \sigma_{column} + \sigma_{inject} + \sigma_{cell} + \sigma_{connect}$$

پارامترهای کارایی:

صفحات تئوری: $N = 16\left[\frac{t_R}{W_b}\right]^2 = 5/545\left[\frac{t_R}{W_h}\right]^2$

ارتفاع صفحه: $HETP = H = \frac{L_C}{N}$

معادله ریاضی مربوط به ارتفاع صفحات تئوری و در نتیجه پهن شدن پیک‌ها:

$$H = \frac{۱}{\left(\frac{۱}{H_{ed}} + \frac{۱}{H_{mp}}\right)} + H_{Ld} + H_{Sm} + H_{Sp}$$

H_{ed} = پخش گردابی

H_{Ld} = پخش و نفوذ طولی ماده حل شده

H_{Sm} = انتقال جرم مربوط به فاز متحرک بی‌حرکت شده

H_{Sp} = انتقال جرم ماده حل شده به فاز ساکن

H_{mp} = انتقال جرم مربوط به فاز متحرک

عوامل پهن شدن پیک‌ها (عوامل بزرگ شدن H):

۱- سرعت زیاد فاز متحرک

۲- فضاها و حفره‌های خالی در لابه‌لای فاز ساکن

۳- حرکت‌های گردابی و چرخشی فاز متحرک

قدرت تفکیک در کروماتوگرافی (Resolution):

عرض پیک هر جزء $= t_w$ ، زمان تأخیر برای هر جزء $= t_r$

$$R = \frac{(t_{rB} - t_{rA})}{(t_{wA} + t_{wB})}$$

$$\begin{cases} R \to ۰ & \text{پیک‌ها قابل تشخیص نیستند} \\ R \sim ۱ & \text{جداسازی حداقل} \\ R \sim ۱/۵ & \text{جداسازی کامل} \end{cases}$$

عامل گزینندگی یا بارداری نسبی (Selectivity factor):

$$\alpha = \frac{(t_{rB} - t_o)}{(t_{rA} + t_o)} = \frac{k'_B}{k'_A}$$

هرچه مقدار α به یک نزدیک‌تر باشد جداسازی مشکل‌تر است $\{\alpha \to ۱\}$

کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography) (TLC):

در این نوع کروماتوگرافی: سطح صفحاتی از جنس شیشه، آلومینیوم یا پلاستیک با یک پودر جامد متخلخل متشکل از ذرات ریز به قطر $۵-۴۰\mu m$ پوشیده می‌شود که فاز ساکن را تشکیل می‌دهد. این پودر

جامد شامل سیلیکاژل آلومین، سلولز، پلی‌آمید و رزین‌های تعویض یونی می‌باشند. ضخامت لایه بین ۰/۲-۰/۳mm برای کارهای تجزیه‌ای و ۲-۱۰mm برای کارهای کمی و تهیّه‌ای می‌باشد.

$$R_{f(A)} = \frac{d_A}{d_S} \quad , \quad R_{f(B)} = \frac{d_B}{d_S}$$

کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC):

در این روش قدرت تفکیک و حساسیت زیاد است و می‌توان جداسازی و اندازه‌گیری را همزمان انجام داد. در این سیستم طول ستون مایع زیاد و عرض آن کم است فاز متحرک با فشار بالا در ستون رانده می‌شود و ذرات فاز ساکن بسیار ریز و فشرده هستند و این امر باعث ایجاد یک فشار معکوس می‌شود.

$$d = \frac{t'_{R(B)}}{t'_{R(A)}} = \frac{k_{R(A)}}{k_{R(B)}}$$

شویش گرادیانی: فرآیندی است که در آن ماده حل شده در اثر

افزودن پیوسته حلال تازه در یک ستون انتقال می‌یابد. فاز متحرک را شوینده می‌نامند. حرکت جسم حل شونده به طرف پایین ستون فقط می‌تواند در فاز متحرک انجام شود. سرعت متوسط حرکت جسم حل شده در ستون، به میزان زمانی که این جسم در فاز متحرک قرار دارد بستگی دارد.

مزایای شویش گرادیانی: زمان کل آنالیز کاهش می‌یابد، رزولوشن (قدرت تفکیک) افزایش می‌یابد، پیک‌های با شکل مناسب‌تر حاصل می‌شود، حساسیّت افزایش می‌یابد.

کروماتوگرافی کاغذی (PC):

روشی است در شیمی که با آن اجزاء یا قطعات یک مولکول را جدا می‌کنند. اجزای محلول درمکانی خاص روی کاغذ مخصوص کروماتوگرافی قرار داده می‌شوند. در این روش یک حلال (مانند آب، روغن یا ایزوپروپیل ـ الکل) جذب نوار کاغذی می‌شود در حین این

اتفاق حلال بخشی از محتویات مخلوط را نیز با خود روی کاغذ به بالا می‌برد. مولکول‌های مختلف با سرعت‌های مختلف روی کاغذ بالا می‌روند و در نتیجه اجزای محلول جدا می‌شوند و در این حالت بر روی کاغذ کروماتوگرافی قابل مشاهده هستند.

کروماتوگرافی گازی: برای جداسازی و اندازه‌گیری اجزای نوار در یک مخلوط به کار می‌رود.

روش‌های متداول کروماتوگرافی گازی:

- کروماتوگرافی گازی (GC)
- کروماتوگرافی گاز ـ مایع (GLC)
- کروماتوگرافی گاز ـ جامد (GSC)

در کروماتوگرافی گازی، فاز متحرک یک گاز است و فاز ساکن می‌تواند مایع یا جامد باشد. اگر فاز ساکن مایع باشد به آن GLC و اگر فاز ساکن جامد باشد به آن GSC گفته می‌شود. کروماتوگرافی گاز ـ مایع

(GLC)، براساس تقسیم اجزای یک نمونه بین دو فاز مایع و گاز است. نمونه در فاز متحرک حل شده و فاز ساکن یک مایع دیر جوش است که به صورت لایه نازکی بر روی یک جامد گسترده شده است.

قسمت‌های گوناگون دستگاه GC عبارت است از:

۱) سیلندر گاز حامل

۲) ادوات تنظیم فشار وجریان

۳) محل تزریق نمونه (Sample Injection)

۴) ستون (Column)

۵) آشکارساز (Detector)

۶) محفظه‌های گرمکن (Oven)

۷) ثبات، داده پرداز ونمایشگر (Recorder, Data system & Displayer)

گازی که به عنوان حامل در کروماتوگرافی گازی (GC) به کار می‌رود،

در سیلندرهای گاز ذخیره می‌شود. این گاز باید فشار و سرعت جریان ثابتی که توسط کنترل کننده‌های فشار دائماً تنظیم می‌گردند، داشته باشد.

نمونه‌های مورد آنالیز توسط سیستم تزریق، درون ستون وارد می‌شوند. عمل جداسازی اجزا توسط ستون انجام می‌گیرد و سپس این اجزا شسته شده و توسط دتکتور تشخیص داده می‌شوند. خروجی دتکتور توسط یک آمپلی‌فایر تقویت شده و سپس به یک سیستم ثبات فرستاده می‌شود. علائم خروجی از دتکتور که به صورت mV برحسب زمان تقسیم می‌شود، یک کروماتوگرام نامیده می‌گردد.

یک کروماتوگرام شامل یک سری از پیک‌هاست که با اجزای موجود در نمونه مطابقت دارند و در یک جهت روی یک خط پایه قرار می‌گیرند. شناسایی پیک‌ها یا آنالیز کیفی، براساس زمان بازداری (یعنی زمانی که طول می‌کشد تا ترکیب از محل تزریق شسته شودو در نهایت از ستون

خارج شود) استوار است و آنالیز کمی، براساس اندازه یا سطح زیر پیک به دست 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)

ستون‌های مورد استفاده در کروماتوگرافی گازی:

۱) ستون‌های مویی

۲) ستون‌های فشرده

زمان بارداری (Retention Time):

عبور هر نمونه وارد شده به ستون کروماتوگرافی نیازمند زمان است، به عبارت دیگر زمان بین هدایت و ظهور آن در خارج ستون، تنها به

سرعت فاز متحرک که از میان ستون عبور می‌کند بستگی دارد. زمانیکه طول می‌کشد نمونه وارد شده به ستون با میل ترکیبی صفر، نسبت به فاز ساکن تحت تأثیر فاز متحرک از ستون خارج شود، زمان نگه داشتن در ستون نامیده می‌شود. 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 نامیده می‌شود. زمان بازداری خالص، زمانی است که جزء نمونه در فاز ساکن صرف می‌کند.

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

۱) زمان بازداری (RT): تفاوت زمان بازداری میان دو جزء در طی یک عملیّات کروماتوگرافی لازم است تا جداسازی میان آنها صورت گیرد.

۲) پهنای پیک: جزئی از یک نمونه که به وسیله دتکتور شناسائی شده،

به عنوان یک سیگنال توسط یک ثبات (recorder)، به صورت پیک‌هایی به روی کروماتوگرام ثبت می‌شود. این پیک می‌تواند باریک یا پهن باشد اگر نمونه خیلی سریع از ستون عبور کند پیک باریک و اگر در زمان بیشتری عبور کند پیک پهن‌تر می‌شود.

$$\begin{cases} V'_r = V_r - V_\circ \\ V'_r = \text{حجم بازداری تنظیم شده یا حجم فاز شوینده} \\ V_o = \text{حجم بازداری فاز شوینده برای جزئی که در ستون توقفی ندارد} \\ V_r = \text{حجم بازداری} \end{cases}$$

$$\begin{cases} t'_r = t_r - t_o \\ t'_r = \text{زمان بازداری تنظیم شده یا زمان عبور فاز شوینده} \\ t_o = \text{زمان عبور فاز شوینده از ستون برای جزئی که در ستون توقفی ندارد} \\ t_r = \text{حجم بازداری} \end{cases}$$

$$\begin{cases} V_r = t_r F_c \\ F_c = \text{سرعت جریان تنظیم شده} \end{cases}$$

در کروماتوگرافی گازی (GC)، چون فاز متحرک گاز است و گاز نسبت به مایع تراکم‌پذیر است می‌بایست روی حجم تنظیم شده تصحیحی انجام شود تا حجم واقعی V_n به دست آید.

$$\begin{cases} V_n = JV'_r \\ J = \frac{۳}{۲}\left[(P_i / P_o)^{۲} - ۱ / (P_i / P_o)^{۳} - ۱\right] \\ P_i = \text{فشارورودی} \\ P_o = \text{فشارخروجی} \\ J = \text{ضریب تصحیح} \end{cases}$$

مواد پایه در ستون‌های کروماتوگرافی گازی:

- این مواد باید دارای سطح و منافذ زیادی باشند.

- فاز ساکن مایع متشکل از مایع فاز ساکن می‌باشد که روی این مواد پر منفذ اندود می‌گردند.

- اگر عمل اندود کردن کامل انجام نگیرد، بخشی از مواد پایه به صورت فاز جامد جاذب عمل خواهند کرد.

تهیّه ستون در کروماتوگرافی گازی:

- ابتدا ماده پایه را به فاز ساکن مایع آغشته می‌کنند.

- سپس ستون را از این ماده پر می‌کنند.

- قبل از نصب در کروماتوگرافی و استفاده از ستون، باید آن را

آماده‌سازی نمود.

- ستون مناسب ستونی است که در کوتاه‌ترین زمان بهترین نتایج از آن حاصل شود.

شرح سیستم ورودی به ستون:

- دمای سیستم ورودی می‌بایست بالا باشد، تا نمونه به محض ورود به بخار تبدیل شود.

- نمونه با حجمی در حد نانو لیتر توسط سرنگ‌های میکرولیتر به ستون تزریق می‌شود.

انواع سیستم‌های ورودی:

- یک نوع سیستم ورودی که نمونه را یک‌جا تبخیر می‌کند. ← Flash vaporization inlet

- و نوع دیگر سیستم ورودی شکافنده می‌باشد. ← Splitter inlet

آشکارسازها Detectors:

دتکتور به عنوان چشم سیستم کروماتوگرافی، در برابر حضور اجزاء موجود در گاز حامل شسته شده از ستون، یک پاسخ الکتریکی می‌دهد. موارد زیر در ارتباط با آشکارساز حائز اهمیّت می‌باشد:

- انتخاب دتکتور (Detector selection): با توجّه به کاربرد مورد نظر، یک دتکتور باید بتواند، تمام اجزاء شیمیایی یا یک گروه ویژه از موادی که از ستون بیرون می‌آیند را شناسایی کند.

- **دقّت (Precision)**: سیگنال‌های داده شده توسط یک دتکتور باید در محدوده‌های معیّنی باشد، اگر این سیگنال‌ها تحت تأثیر خطاهای سیستمی و تصادفی قرار گیرند، دقّت دتکتور پایین می‌آید.

- **سرعت (Rate)**: سرعت عبور اجزاء موجود در گاز حامل از میان دتکتور باید بالا باشد.

- **قابلیّت تکرار یا تکرارپذیری (Repeatability)**: اگر دو جزء یکسان با مقادیر مساوی از دتکتور عبور کنند، علاوه بر زمان‌های

اندازه‌گیری، دتکتور باید سیگنال‌های مشابه برای آنها بدهد.

- **قابلیّت اطمینان (Reliability)**: یک دتکتور باید به گونه‌ای باشد که بتوان به پاسخ‌های آن اطمینان داشت.

- **پاسخ (Response)**: پاسخ یک دتکتور به معنی واکنش آن به تغییراتی است که در ترکیب گاز حامل حاصل می‌شود و این پاسخ به نوع دتکتور و نوع اجزاء نمونه بستگی دارد.

- **زمان پاسخ یک دتکتور (Response Time)**: عبارت است از زمان لازم برای پاسخ به یک تغییر در سیگنال.

- **Noise**: عبارت است از نوسان سیگنال که توسط نامنظم شدن خط پایه مشخّص می‌شود. Noise در تعیین حساسیت یک سیستم مؤثر می‌باشد.

- **Drift**: یا انحراف، تغییر تدریجی سیستماتیک در سطح خط پایه می‌باشد.

- **Linearity**: یا خطی بودن یک دتکتور، از نظر کمّی ضرورت دارد. در آنالیزهای کمّی، اگر مقادیر در داخل محدوده خطی باشند باید با تهیّه یک منحنی کالیبراسیون به‌طور مداوم کنترل گردند.

در دتکتورهای حساس به جرم (mass|)، سیگنال به مقدار ترکیبات حاضر در دتکتور بستگی دارد، مانند دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای (FID). در این دتکتورها سطح پیک‌ها (Peak area) به جرم و فاکتور پاسخ وابسته است.

در دتکتورهای حساس به غلظت (Density) مانند دتکتور هدایت گرمایی (TCD)، مساحت پیک با عکس سرعت جریان گاز حامل متناسب است و جریان گاز (flow) باید همواره ثابت باشد.

آشکارسازی کروماتوگرافی گازی:

۱) دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای (FID): آشکارسازی حساس است و هدایت الکتریکی ناشی از یک شعله را اندازه می‌گیرد. با ورود ترکیبات آلی، پلاسمای شعله قابلیّت هدایت الکتریکی (conductivity)، مقدار زیادی افزایش می‌یابد زیرا ترکیبات آلی موجب تولید یون‌ها و الکترون‌ها می‌شوند. الکترود کاتد نوک شعله و الکترود آند جمع کننده (Collector) می‌باشد. عمل یک FID به عوامل زیر وابسته است:

- دمای شعله: به وسیله مقدار و نسبت H_2 به هوا کنترل می‌شود که معمولاً این نسبت $\frac{۲}{۵}$ می‌باشد.

- ساختمان دتکتور: طریقه نصب و شکل دتکتور، شکل الکترودها، پتانسیل الکتریکی بین ۲ الکترود و مسافت بین الکترودها از جمله عوامل اساسی در کارکرد دتکتور می‌باشد.

دتکتور FID نسبت به گروه‌های الکترون کشنده مانند هالوژن‌ها، آمین‌ها و هیدروکسیل‌ها حساس و نسبت به گازهای N_2، O_2، CO_2، کربن اکسیژن‌دار مانند کربونیل و کربوکسیلیک‌ها غیر حساس می‌باشد.

۲) دتکتور رسانایی یا هدایت گرمایی یا کاتارومتر (TCD):

آشکارسازی عمومی، ساده و بادوام است. اساس کار آن، تغییر هدایت گرمایی گاز است که به وسیله‌ی مقاومت فلزی واقع در محفظه گرمایش سنجیده می‌شود. با ورود ترکیبات آلی، هدایت‌پذیری گرمایی دتکتور کاهش می‌یابد و دتکتور در محدوده دمایی بیشتری کار می‌کند. به این ترتیب میزان انرژی الکتریکی به کار رفته برای افزایش دمای فیلمان مورد سنجش قرار می‌گیرد. TCD معمولاً دارای یک سیستم ۲

کاناله است. از یک کانال گاز حامل خالص و از کانال دیگر گاز حاملی که از ستون خارج می‌شود عبور می‌کنند. این دتکتور برخلاف FID، نمونه را تخریب نمی‌کند.

۳) دتکتور ربایش الکترون (ECD): این دتکتور دارای یک منبع تولید اشعه β (بتا) می‌باشد که گاز حامل را یونیزه می‌کند و دارای گزینش‌پذیری بالا می‌باشد. این دتکتور نسبت به هالوژن‌ها، انیدریدها و کتون‌ها حساس و نسبت به آمین‌ها، الکل‌ها و هیدروکربن‌ها غیر حساس می‌باشد.

جداسازی در GC:

برای به دست آوردن بهترین شرایط در کروماتوگرافی باید حتماً سه فاکتور جداسازی، سرعت و ظرفیّت نمونه را مدنظر داشته باشیم که هر کدام از این عوامل به دو عامل دیگر بستگی دارد. به این معنی که اگر بخواهیم ستونی با حداکثر جداسازی داشته باشیم مسلّماً مدّت زمان

آنالیز بسیار زیاد خواهد بود و همچنین میزان ظرفیّت نمونه نیز کم خواهد شد. برای حل شدن این مشکلات رعایت موارد زیر پیشنهاد می‌شود:

انتخاب ستون بلندتر ← برای بیشتر کردن k'

کم کردن دمای Oven ← جهت کم کردن سرعت جدا شدن نمونه از فاز ساکن و سپس 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

$$R_s - \frac{۱}{۴}\left(\frac{\alpha - ۱}{\alpha}\right) \times \left(\frac{k_\beta}{k_\beta + ۱}\right) \times \sqrt{N_{th}}$$

۱) $k_A \,\&\, k_\beta$ or Retention factor (فاکتور بازداری) $k_\beta = \frac{t_R - t_O}{t_O}$

۲) α or Selectivity (گزینندگی) $\alpha = \frac{k_B}{k_A}$

$N_{th} = ۱۶\left(\frac{t_R}{w}\right)^۲$ or $N_{th} = ۵/۵۴۵\left(\frac{t_R}{w_{\frac{۱}{۲}}}\right)^۲$ (شماره بشقابک فرضی) or

۳) N_{th} or (کارآیی)

- نوع گاز حامل و سرعت آن:

در برخی موارد، کم بودن N_{th} مشکلاتی می‌آفریند که تغییر گاز حامل می‌تواند آنها را برطرف کند. عموماً گاز حاملی که باید استفاده شود نیتروژن $(N_۲)$ است ولی چنانچه طول زمان آنالیز مشکل‌ساز شود، باید گاز حامل را هیدروژن انتخاب نمود.

- مشکلات مربوط به خارج از ستون:

حجم مرده‌ای که معمولاً در بخش دتکتور واینجکتور قرار دارد.

حجم مرده‌ای که درمحل اتصال ستون به اینجکتور و دتکتور قرار دارد.

ضعف و قدرت تکنیک تزریق (تزریق ضعیف و نامناسب کارائی ستون را پایین می‌آورد).

فاز ساکن در ستون‌های کروماتوگرافی:

فاز ساکن مایع در ستون‌های مویی می‌تواند قطبی و غیر قطبی باشد. فاز ساکن جامد نیز می‌تواند پلیمر و یا ماده جاذب غیر آلی باشد. در نوع مایع، قطبیّت و حلالیّت اجزاء نمونه‌ی قابل آنالیز باید از قبل مشخّص شود زیرا ترکیبات قطبی در حلال‌های قطبی و ترکیبات غیر قطبی در حلال‌های غیر قطبی قابل حل می‌باشند.

پدیده (Over loading) یا بیش از حد بودن:

این پدیده حالتی است که مقدار اجزاء موجود در نمونه به قدری زیاد است که با رفتارهای کروماتوگرافی مغایرت دارد و پیک آن به صورت نامتقارن ظهور می‌کند. اگر فاز ساکن مایع باشد، این پیک به صورت یک پیک رو به جلو (fronting peak) و اگر فاز ساکن جامد باشد، این پیک به صورت دنباله‌دار (tailing peak) ظاهر می‌گردد.

پدیده Bleeding:

این پدیده ناشی از تبخیر فاز ساکن، تجزیه محصولات یا عوامل آلوده کننده می‌باشد. پدیده Bleeding در آنالیز با برنامه دمایی به صورت یک انحراف رو به بالا در خط پایه دیده می‌شود. عوامل مؤثر در این پدیده:

۱) **نوع فاز ساکن:** هر نوع فاز ساکن دارای یک میزان قابلیّت تبخیر در رسانایی گرمایی می‌باشد که عامل مؤثری در ایجاد پدیده Bleeding می‌باشد.

۲) **مقدار فاز ساکن:** هرچه ضخامت فاز ساکن بیشتر باشد، امکان Bleeding نیز بیشتر است.

۳) **دما:** گاهی با افزایش دما طی برنامه دمایی، پدیده Bleeding دیده می‌شود.

۴) **سرعت جریان گاز حامل:** اگر flow یا سرعت جریان گاز حامل افزایش یابد، این پدیده نیز محتمل‌تر می‌شود. در شرایط مناسب

سرعت گاز H_2، ۴ برابر بالاتر از N_2 و سرعت کار He نیز، ۲ برابر بالاتر از کار N_2 می‌باشد.

۵) دتکتور: نوع دتکتور، تنظیم و شکل هندسی دتکتور در پدیده Bleeding تأثیر دارد.

تزریق یا Injection:

چون ستون‌های یونی دارای ظرفیّت‌های پایینی برای گنجایش نمونه می‌باشند و با حضور نمونه بیش از ظرفیّت ستون ممکن است پدیده Over loading به وجود بیاید، بنابراین روش‌های تزریق متعددی برای آنها وجود دارد.

۱) تزریق نمونه‌های گازی: از طریق Valve انجام می‌گیرد و در اصطلاح GSV نامیده می‌شود (Gas Sampling Valve). قطعات لازم برای تزریق عبارتند از:

- Valve یا شیرفلکه مخصوص تزریق که به حالت باز (inject) و بسته

(fill) می‌تواند انجام وظیفه کند.

- Sample loop یا حلقه نمونه که به نسبت حجمی که باید نمونه تزریق گردد، دارای اندازه‌های مختلفی می‌تواند باشد.

- مسیرهای ورودی و خروجی نمونه که جهت شست‌وشوی لوپ در ورود و خروج به کار می‌روند.

۲) تزریق نمونه‌های مایع: تزریق نمونه‌های مایع به روش‌های مختلفی انجام می‌شود، این روش‌ها عبارتند از:

- تزریق مستقیم (The direct injection): یکی از معمولی‌ترین روش‌های تزریق در GC می‌باشد که روش تزریق تبخیری نیز نامیده می‌شود. تزریق در این روش به این صورت است که نمونه توسط سرنگ به درون یک محفظه‌ی گرم وارد می‌شود و در آنجا عمل تبخیر ناگهانی صورت می‌گیرد و سپس به وسیله‌ی جریان گاز حامل به درون ستون هدایت می‌گردد. سیستم injector مستقیم از ۴ قسمت اصلی تشکیل شده

است: ورودی نمونه ـ اتاقک بخار برای نمونه‌های مایع ـ قسمت ورودی گاز حامل ـ اتصال دهنده برای ستون.

دمای تزریق پارامتری مهم در تزریق نمونه می‌باشد، نمونه مایع باید به‌طور ناگهانی و سریع بخار گردد و دما باید به‌طور قابل توجّهی بالاتر از نقطه جوش اجزاء نمونه باشد.

- تزریق تقسیمی (The split injection): اساس کار این نوع تزریق، تبخیر سریع نمونه می‌باشد. بخار حاصل از نمونه توسط سیستم Splitter تقسیم می‌شود و فقط مقدار کمی از نمونه وارد ستون می‌شود و قسمت اعظم آن توسط سوراخ Split از سیستم خارج می‌شود.

موارد مهم در سیستم تزریق تقسیمی عبارتند از:

الف) جریان (flow): مهم‌ترین وظیفه Splitter تقسیم نمونه به‌طور کامل می‌باشد که در سرعت جریان بالا اتفاق می‌افتد.

ب) سرعت تزریق: نمونه باید با سرعت بالا تبخیر گردد، اگر در این عمل وقفه ایجاد شود مسیر Split بخار بسته شده و بخار نمونه تماماً وارد ستون می‌شود، بنابراین تقسیم نمونه انجام نمی‌شود و در نهایت یک پیک پهن ایجاد خواهد شد.

ج) دمای تزریق: دمای سیستم باید از نقطه جوش سنگین‌ترین جزء، بالاتر انتخاب شود تا عمل تبخیر نمونه، به سرعت انجام شود. گاهی مقداری از گرما اوسط تبخیر جذب می‌شود و یک افت دمایی اتفاق می‌افتد که می‌تواند باعث میعان ترکیبات سنگین شود. افت دمایی به سه حالت ممکن است اتفاق افتد:

۱) تزریق نمونه‌ها با حجم زیاد: هرچه حجم نمونه بیشتر شود، مقدار گرمای جذب شده توسط آن نیز بیشتر می‌شود، بنابراین باید تا جای ممکن حجم محدود شود.

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

۳) نمونه‌هایی که حلال آنها ظرفیّت گرمایی بالا داشته باشد: نمونه‌هایی نظیر مخلوط‌های آبی که به سبب داشتن آب، ظرفیّت گرمایی بالایی دارند.

دستگاه کروماتوگرافی گازی طیف‌سنج جرمی:

این دستگاه یکی از پیشرفته‌ترین دستگاه‌ها در زمینه آنالیز دستگاهی است که از دو قسمت کروماتوگراف گازی و طیف‌سنج جرمی تشکیل شده است. در این سیستم ابتدا اجزای مخلوط، توسط ستون دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) جداسازی می‌گردند، سپس وارد محفظه یونیزاسیون طیف‌سنج جرمی شده و در آنجا یونیزه می‌شوند و در آخر با استفاده از تجزیه‌گر جرمی، براساس نسبت جرم به بارشان (m/z) جداسازی می‌شوند.

با استفاده از این دستگاه می‌توان اطلاعات کمّی و کیفی درباره وزن مولکولی و ساختار ترکیبات به دست آورد که در زمینه‌های محیط

زیست، صنایع شیمیایی، دارویی، کشاورزی، پزشکی، حقوقی و علم نانو کاربرد دارد.

اساس جداسازی کروماتوگرافی گازی ← بر پایه توزیع نمونه بین دو فاز استوار است. یکی از فازها بستری است ساکن و فاز دیگر گازی است که از میان آن می‌گذرد.

اگر فاز ساکن جامد باشد ← آن را کروماتوگرافی گاز ـ جامد می‌نامند. این روش به خواص جذب سطحی مواد موجود در ستون برای جدا کردن نمونه‌ها به ویژه گازها وابسته است.

اگر فاز ساکن مایع باشد ← آن را کروماتوگرافی گاز ـ مایع می‌نامند که در آن اجزای نمونه باید از هم جدا شوند و با استفاده از گاز حامل وارد ستون شوند. اجزای موجود در نمونه، میان گاز حامل و حلال غیر فرار (فاز ساکن) که روی یک جسم جامد بی‌اثر با اندزه معلوم نگه داشته شده است انجام می‌شود.

حلال غیر فرار (فاز ساکن) ← به‌طور انتخابی حرکت اجزای موجود در نمونه را براساس ضریب توزیع مقاومتشان کند می‌کند که حاصل آن ایجاد نوارهای مجزا در گاز حامل می‌باشد که توسط آشکارساز به صورت تابعی از زمان ثبت می‌شوند.

اجزاء اصلی دستگاه طیف‌سنج جرمی عبارتند از:

۱) پمپ‌ها: پمپ‌ها قادرند خلأ بسیار بالا که برای عملکرد طیف‌سنج جرمی ضروری است را فراهم نمایند، زیرا الکترون‌ها و یون‌های تشکیل شده در صورت نبودن خلأ، با مولکول‌های هوای موجود در تجزیه‌گر برخورد کرده، از بین رفته و به شناساگر نخواهند رسید.

۲) حد واسط بین طیف‌سنج جرمی و کروماتوگراف گازی: وجود این حد واسط، برای انتقال نمونه از ستون کروماتوگراف به طیف‌سنج جرمی ضروری است.

۳) محفظه یونیزاسیون و منبع الکترونی: مولکول‌ها، با ورود به محفظه

یونیزاسیون طیف‌سنج جرمی که در خلأ بسیار بالا قرار دارد، توسط الکترون، بمباران شده و یونیزه می‌شوند و یون‌های تک بار، دارای بار چندتایی، دارای بار مثبت یا منفی را به وجود می‌آورند. این یون‌ها با استفاده از میدان الکتریکی شتاب گرفته و مسیر تجزیه‌گر جرمی را طی می‌کنند و براساس نسبت جرم به بار (m/z) جداسازی شده و به سمت شناساگر می‌روند.

۴) تجزیه‌گر جرمی: در تجزیه‌گر جرمی، یون‌ها برساس نسبت جرم به بارشان (m/z) جداسازی می‌شوند. یک تجزیه‌گر جرمی ایده‌آل باید توانایی شناسایی اختلاف جرم‌های جزئی را داشته باشد و به تعداد کافی از یون‌ها امکان عبور بدهد تا به شدّت جریان‌های قابل اندازه‌گیری منجر شود. این توانایی با قدرت تفکیک یا R بیان می‌شود:

$$R = m/\Delta ml$$

در این رابطه: $\Delta m \leftarrow$ تفاوت جرم بین دو پیک مجاور جدا شده و $m \leftarrow$

جرم اسمی پیک اوّل می‌باشند.

۵) لنزهای متمرکز: یون‌های عبوری از تجزیه‌گر جرمی با استفاده از لنزهای متمرکز، از مسیر مستقیم خروجی از تجزیه‌گر منحرف شده و به سطح شناساگر برخورد می‌کنند. این یون‌ها پس از برخورد به سطح شناساگر، آبشاری از الکترون‌ها به وجود می‌آورند که یک جریان قوی قابل اندازه‌گیری است.

۶) آشکارساز: انواع مختلفی از آشکارساز برای طیف سنج‌های جرمی وجود دارد که از بین آنها آشکارساز تکثیر کننده الکترون بیشترین کاربرد را دارد. (توضیح لنزهای متمرکز)

۷) سیستم کنترل داده‌ها.

چگونگی کاربردی GC/MS:

مراحل کار با این دستگاه به صورت زیر می‌باشد:

۱- راه‌اندازی: ابتدا باید پمپ مکانیکی برای ایجاد خلأ را روشن کرد.

۲- انتخاب روش یونیزاسیون: که شامل روش‌های رایج در آزمایشگاه‌ها برای یونیزاسیون الکتریکی و شیمیایی است روش یونیزاسیون الکترون، اطلاعاتی راجع به ساختار قطعه قطعه شدن می‌دهد که به شناسایی ترکیب کمک می‌کند امّا روش یونیزاسیون شیمیایی به تعیین وزن مولکولی ترکیب کمک می‌کند.

۳- انتخاب روش اسکن:

روش اوّل ← اسکن متوالی در یک محدوده‌ی جرمی مشخّص است که برای ترکیبات ناشناخته و مخلوط‌های پیچیده استفاده می‌شود.

روش دوم ← که به آن نمایش یون انتخاب شده می‌گویند و در آن از جرم‌های خاصّی که مشخّصه‌ی ترکیب مورد آنالیز است استفاده می‌شود و کاربرد آن زمانی است که در جستجوی مقادیر کمی از ترکیبات ویژه یا تغییراتی در ساختار یک ترکیب در یک بازه زمانی مستقیم می‌باشد.

۴- آماده‌سازی و چگونگی تزریق نمونه: قبل از تزریق نمونه دو سر ستون کروماتوگرافی باید به انژکتور و طیف‌سنج جرمی متصل شود و خلأ لازم با استفاده از پمپ به وجود بیاید، یک محفظه‌ی شیشه‌ای تمیز مناسب در مسیر انژکتور قرار بگیرد، برنامه دمایی مناسب ستون مشخّص شود، نمونه قبل از تزریق آماده‌سازی شده و در نهایت طیف‌سنج جرمی کالیبره و تنظیم شود.

۵- کالیبراسیون و تنظیمات دستگاهی: قبل از شروع کار با دستگاه، یک برنامه تنظیم خودکار روزانه اجرا می‌شود که مراحل کالیبراسیون و تنظیمات دستگاه به‌طور خودکار انجام می‌گیرد و دستگاه آماده تزریق نمونه می‌شود.

۶- جستجوی کتابخانه‌ای و جمع‌آوری اطلاعات: برای تفسیر طیف‌های حاصل از دانش قبلی یا نتایج حاصل از جستجوی کتابخانه‌ای استفاده می‌شود و مواردی مانند تعیین محل یون مولکول و انتخاب نوع ساختار

بسیار کمک کننده می‌باشند. هرچند دستگاه‌های امروزی مجهز به کتابخانه بوده و جستجوی کتابخانه‌ای به صورت خودکار انجام می‌شود امّا در برخی موارد برای شناسایی دقیق و تعیین جرم اجزاء، نیاز به تخصص کاربر و محاسبات دقیق می‌باشد.

شاخص بازداری: اگر شرایط کروماتوگرافی ثابت نگه داشته شود، زمان خروج ترکیبات نیز ثابت می‌ماند. با این که استهلاک ستون و یا تأثیر ماتریس نمونه ممکن است زمان خروج این ترکیبات را تغییر دهد، امّا اگر زمان خروج نسبی مربوط به دو استاندارد که هم‌زمان تزریق شده‌اند اندازه‌گیری شود، تا حد زیادی این مشکل رفع می‌شود.

محاسبات کمّی در GC/MS:

۱- روش سطح زیر منحنی ← با تقسیم سطح زیر منحنی هر جزء به سطح کل اجزاء، درصد سطح هر جزء را به‌طور تقریبی، درصد وزنی از آن جزء در نظر می‌گیرند.

۲- روش فاکتور پاسخ نسبی ← ابتدا مخلوطی از استاندارد اجزاء نمونه تهیّه می‌شود، به‌طوریکه غلظت این استانداردها به‌طور تقریبی مشابه غلظت اجزاء در نمونه می‌باشد، سپس یکی از اجزاء به عنوان نمونه در نظر گرفته شده و فاکتور پاسخ نسبی آن معادل ۱ در نظر گرفته می‌شود. در انتها با استفاده از رابطه $RF_x = \frac{A_R.W_x}{A_x.W_R} = \frac{SA_R}{SA_x}$ فاکتور پاسخ نسبی هر جزء به دست آمده و با استفاده از رابطه $W_x\% = \frac{A_x.RF_n.۱۰۰}{\sum(A_n.RF_n)}$ درصد وزنی هر یک از اجزاء نمونه تعیین می‌شود.

۳- روش استاندارد داخلی ← در این روش که بسیار دقیق است، مقدار مشخّصی از یک استاندارد با غلظت مشخّص به مقدار مشخّصی از نمونه اضافه شده و به همین ترتیب همان مقدار به طرف دیگری از نمونه با وزن دیگر اضافه می‌شود (به‌طور معمول حداقل سه وزن باید در نظر گرفته شود). سپس منحنی نسبت وزنی نمونه‌ها به استاندارد (W^n / W^{is}) در مقابل نسبت سطح زیر پیک نمونه‌ها به استاندارد

(A^n / A^{is}) رسم شده و برای یک نمونه مجهول، محاسبات انجام می‌شود.

کاربردهای GC/MS:

- شناسایی آلاینده‌های زیست محیطی
- آنالیز ترکیباتی مانند آروماتیک‌ها، اسیدهای چرب، استرها، الکل‌ها، آلدئیدها، و اسانس‌ها
- استفاده از اطلاعات حاصل از این آنالیزها در حل و فصل مسائل حقوقی و دادگاهی
- در علم گیاهان دارویی و کشاورزی

کروماتوگرافی

ارزیابی خاصیت الکتریکی مواد

خواص اپتیکی واکنش ماده نسبت به نور چگونه است؟

بررسی خواص اپتیکی (طیف نسبی)

در روش طیف نسبی تنها روش است که حالت فیزیکی ماده مهم نیست.

جامد- مایع- گاز

در این روش ها محدودیت حالت ماده نداریم.

۱- خواص نوری ماده: جذب اتمی جذب نور

رفتار عبوری نور: IR یک طیف نسبی عبوری برحسب (عدد موجی- عبور نور)

انعکاس یا بازتابش:

شکست نور یا ضریب شکست:

پخش نور:

چند فصل درخصوص مقدمات و کلیات طیف‌سنجی، علمی که از فیزیک وارد شیمی می شود.

۱۱ فصل تدریس می‌شود.

- قوانین optic
- محدودیت ابزارهای optic
- مدارهای الکترونیکی
- Noise- نوفه
- روش‌های طیف‌سنجی
- Atomic absorption

* طیف‌سنجی علمی است که از تأثیر متقابل نور و ماده صحبت می‌کند.

اگر این رفتارهای نوری را تبدیل به گراف کنیم طیف به‌دست می‌آید.

طیف Spectrum

اگر این تغییرات شدت نور درخصوص اتم رخ داده باشد طیف اتمی داریم. طیف مولکولی طبقه‌بندی براساس انتقالات الکترونی است.

ارتعاش چرخشی: چرخشی خالص

E_4 _____

در طیف الکترونی ترازهای اصلی لحاظ شده است.

E_3 _____

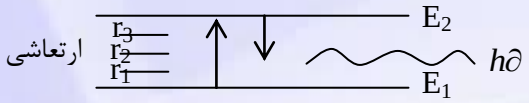
E_2 _____

E_1 _____

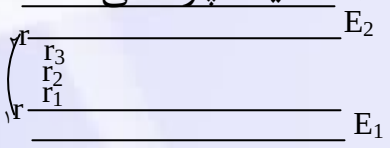
ترازهای اصلی انرژی (طیف الکترونی)

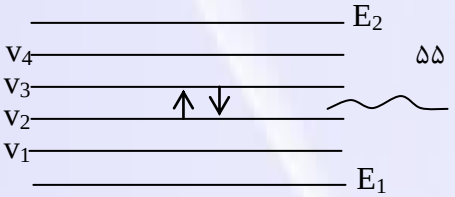
لایه‌های فرعی اول ارتعاشی است و زیرمجموعه‌ها ارتعاشی چرخشی است.

فقط ترازهای ارتعاشی عوض می‌شوند نه اصلی (۱) طیف الکترونی



E , V ثابت فقط r عوض می‌شود. (۳) طیف چرخشی





ماده و نور:

ماده حجم داشته باشد فضا را اشغال می‌کند: جامد، مایع، گاز

مقدار هم طبقه‌بندی می‌شود. حجم و جرم نمونه یک تقسیم‌بندی دیگر دارد؟

نمونه توده Bulk sample

نمونه اولیه Initial sample

نمونه تجزیه ای Analytical sample Analysis Analytic

نمونه توده به تمام نمونه گفته می‌شود.

روش‌های نمونه‌گیری

نمونه برداری تصادفی

بعد از نمونه برداری تصادفی دوباره بکبار دیگر هم نمونه برداری می‌کنیم تا نمونه به حد آزمایشگاهی برسد.

نمونه‌ی تجزیه آن نمونه ای است که داخل آزمایشگاه می‌شود و ما به‌دنبال آن هستیم. به طور مثال این pb برای نمونه کل رودخانه است.

کمیت آماری انحراف استاندارد
معدل $\bar{x}$ نماینده کل نمونه است که مقدار واقعی μ است.
معدل تعداد آزمایش

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

لذا همیشه بین $\bar{x}$ و μ تفاوت صفر نیست.

$$\mu - \bar{x} = \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} \qquad \mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

وقتی که به آنالیت می‌رسیم می‌خواهیم analyte را اندازه‌گیری کنیم.

Macro analysis > 0/1 gr

Semi 0/1 – 0/01

Micro 0/001 ppt

Trace ppm فوق‌العاده ناچیز و مقادیر ناچیز کمیاب

$< 0/001$ 10^{-6}

Part per milione $\Rightarrow$ ppm

10^{-9} nano $\Rightarrow$ ppb

در مقالات trace را به کار می‌برند ولی بعضی از مقالات ultra trace یا فراناچیز گویند.

بسته به ماده‌ی ما که اتم باشد یا مولکول، طیف اتمی یا طیف مولکولی داریم.

هدف اندازه‌گیری غلظت ماده در کل است.

و باید با تکنیک‌های sampling آشنا باشیم.

Signal تابع چه متغیرهایی است.

$$Signal = f(\lambda), (Ca), (x_i)$$

سایر متغیرها مثل pH و دما

غلظت آنالیت طول موج

(۳)

(۱) (۲)

از نظر ریاضی می‌گویند تابع ما یک تابع چند متغیره است یعنی (۱) و (۲) و (۳)

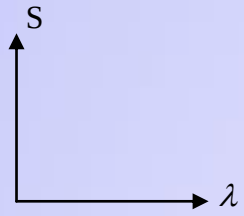
اگر ما بخواهیم اثر این متغیرها را بررسی کنیم از نظر ریاضی می‌توانیم چه‌کار کنیم؟

یکی از آن کارها این است که یکی را تغییر می‌دهیم و دوتای دیگر را ثابت می‌گیریم. بعد دومی را تغییر داده بقیه را ثابت می‌گیریم و ...

(غلظت و سایر متغیرها ثابت درنظر گرفته)

$$S = f(\lambda)_{Ca,xi}$$

اثر طول موج بر سیگنال:



یک طول موج کوتاه دارد و یکی طول موج بلند دارید. محل پیک مربوط به ساختمان مولکول است.

ساختمان: مثلاً پیوند اشباع دارد، غیراشباع دارد، حلقه بنزن دارد یا گروه عاملی دارد ...

(۱) محل پیک ← ساختمان مولکول

(۲) شدت سیگنال ← شناسایی و تعیین مقدار دقیق‌تر.

هرچه سیگنال قوی‌تر و شدیدتر باشد تشخیص آن راحت‌تر است. خطا در تعیین غلظت کمتر است.

*** عواملی که روی شدت اثر دارد:**

۱- غلظت

۲- افزایش مسافتی است که نور در داخل ظرف طی می‌کند.

اگر ما ظرفی داریم که ۲ تا آنالیت دارد و ظرفی دیگر دارای چندین آنالیت است، کدام سیگنال قوی‌تری دارد؟

(در ظرف دومی) (analyte بیشتر شدت بیشتر است)

در نمونه‌های واقعی غلظت همیشه کم است و غلظت‌های Trace هستند و از طرفی هم وقتی مقدار کم است شدت کم است.

ما چه کار کنیم که غلظت زیاد شود؟

پیش تغلیظ انجام دهیم.

یعنی مقدار را در واحد حجم زیاد کنیم. (افزایش مقدار در واحد حجم)

رایج‌ترین روش تغلیظ extraction است. (استخراج)

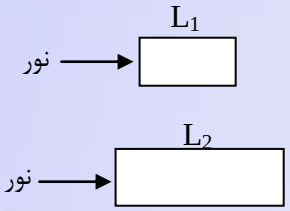
مثال: ۵ نفر آدم را می‌بریم رستورانی که ۱۰۰ نفر ظرفیت دارد. آیا این ۵ نفر رستوران را شلوغ کرده‌اند؟!

همینطوری است

حالا اگر این ۵ نفر را در یک ساندویچی ببریم که ۴ تا صندلی دارد، آیا این ساندویچی شلوغ است؟

بله← این یعنی پیش تغلیظ یعنی ما مقدار را در واحد حجم زیاد کردیم.

در صورتی که ما همان مقدار را داریم و فقط تغلیظ کرده‌ایم. غلیظ که شد شدت هم بالا می‌رود.



$L_2 > L_1$

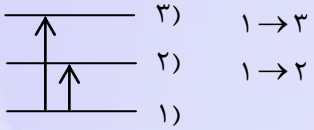
نور را به هر دو ظرف می‌تابانیم و عبور می‌دهیم ولی چون نور در L_2 مسافت

بیشتری را طی می‌کند، پس گونه های بیشتری سر راه آن هست پس شدت سیگنال هم بیشتر است. در آزمایشگاه می‌گویند طول سل درصورتی‌که

عرض سل است و منظور از طول، طول مسیری است که نور حرکت کرده است.

۳- احتمال انتقال: یعنی چقدر احتمال وجود دارد که ما از یک تراز به تراز دیگر برویم.

۳ تا تراز داریم.



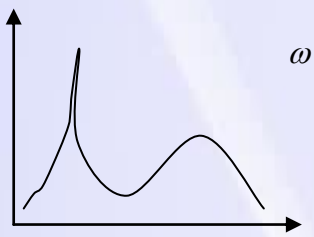
احتمال اینکه از تراز اول به ۳ برود بیشتر است یا اینکه از تراز اول به تراز ۲ برود؟! معلوم نیست (انتگرال احتماال)

چیزی که اینجا مهم است انتگرالی است که در کوانتوم حل می‌کنند که محاسبه می‌کنند تراز ۳ → ۱ و تراز ۲ → ۱ احتمال آن چگونه است؟ فرض می‌کنیم که درآمده ۳ → ۱ بهتر است.

پس اگر ما نوری بتابانیم آن شدت ۲ → ۱ مناسب است نه ۳ → ۱ شدت ضعیف است ولی اگر نوری بتابانیم که مناسب ۳ →۱ باشد و انتگرال هم احتمال ۳ → ۱ را بیشتر نشان داده است پس شدت سیگنال زیاد خواهد شد.

انتگرال احتمال می‌آید مشخص می‌کند کدام تراز و انرژی احتمال آن بیشتر است پس ما می‌فهمیم که نوری که باید بتابانیم اندازه و شدت آن باید به اندازه‌ی مثلاً تراز ۳ → ۱ باشد.

۴- پهنای سیگنال: سیگنال باریک و شارپ بهتر است هر چه سیگنال پهن باشد می‌آید پایین‌تر اول ارتفاع را حساب کرده (عرضی که معادل نصف ارتفاع باشد) را پهنا و عرض گویند

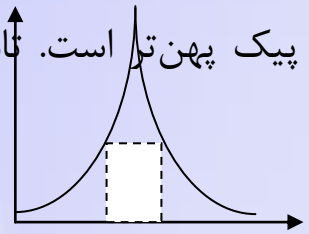


$\omega \frac{1}{2} * f\omega H\mu$ (نیم‌پهنا)

*** چه عواملی روی پهنای سیگنال اثر دارد:**

عرض سیگنال هم گفته می‌شود.

۱. عریض شوندگی برخوردی (برخورد مولکول‌ها به هم): تابع دما هست که هوا گرم شود برخورد بیشتر است و پیک پهن‌تر است. تابع جرم هم است.



جرم مولکول‌هایی که برخورد می‌کنند هم مهم است.

با دما رابطه مستقیم با جرم رابطه عکس دارد.

۲. عریض شوندگی (Doppler):

عرض سیگنال

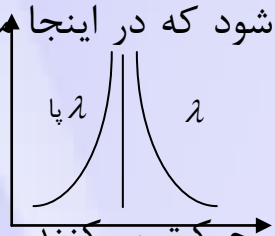
(عرضی معادل نصف ارتفاع)

$$(\omega\frac{1}{2})(f\omega H\mu)$$

عریض شوندگی برخوردی با عریض شوندگی Doppler چه تفاوتی با هم دارند؟

پدیده Doppler: اگر ما یک ناظر ساکن داشته باشیم اگر به ناظر ساکن نزدیک شود طول موج کوتاه و اگر به ناظر ساکن دور شویم طول موج بلند می‌شود.

ما اگر در کلاس باشیم وقتی در را باز می‌کنیم می‌توانیم با صدای پای دیگران بفهمیم که دارد نزدیک می‌شود یا دور می‌شود که در اینجا ما می‌شویم ناظر و ساکن.



خط وسط جایی است که آن‌ها نسبت به ناظر ساکن حرکت می‌کنند.

ناظر ساکن در دستگاه‌های طیف‌سنجی دتکتور ها هستند.

مولکول‌های ما نسبت به دتکتور دور می‌شوند یا نزدیک می‌شوند و میانگین آن

و چیزی که Detector نشان می‌دهد یک پیک پهن است.

نزدیک و دور شدن تابع سرعت است. سرعت تابع دما است و جرم با دما رابطه مستقیم و با غلظت رابطه عکس دارد.

وقتی طیف می‌بینیم ۱- محل ۲- شدت ۳- پهنا

چقدر تغییرات طول موج خط ایجاد می‌کند؟ چون دیگر خط نیست و یک دامنه می شود.

چه مقدار $\Delta\lambda$ روی سیگنال وابسته خطا می‌شود؟

با مشتق حساب می‌شود.

ما از عبارت نسبت به طول موج مشتق بگیریم (اثر خطا براساس طول موج)

$$\frac{\partial S}{\partial \lambda} = ?$$

C	S
C_1	S_1
C_2	S_2
C_3	S_n

اثر غلظت روی سیگنال:

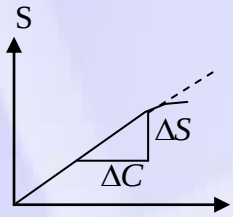
اگر غلظت، غلظت استاندارد باشد (بدانیم غلظت چند است) به این خط منحنی کالیبراسیون گویند.

تغییر غلظت چقدر خطا ایجاد می‌کند؟

یعنی اگر از $C_1 \to C_1 + \Delta C = C_2$ برویم با تغییر غلظت چقدر خطا در C حاصل می‌شود؟

باید مشتق بگیریم. $\frac{\partial S}{\partial C} = ?$

چرا با ∂ نشان می‌دهند؟ چون چند تا متغیر داریم (مشتقات جزئی چند تا متغیر داریم)



$m = \frac{\Delta S}{\Delta C}$ شیب منحنی

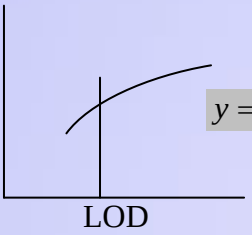
m نشان‌دهنده‌ی حساسیت کالیبراسیون است.

از 1ppm به 2ppm سیگنال ما چقدر عوض می‌شود؟

حساسیت کالیبراسیون:

حساسیت

حساسیت کالیبراسیون ⇐ شیب منحنی یعنی هرچه ΔC تغییر کند چقدر ΔS تغییر می‌کند؟
حساسیت تجزیه‌ای ⇐ به کمترین تغییرات غلظت چقدر حساس است؟



$y = mx + b$ (معادلهٔ خط)

عرض از مبدأ که نشان دهنده‌ی خط است که ما میخواهیم b صفر باشد.

وقتی منحنی کالیبراسیون را نگاه می‌کنیم حد تشخیص (LOC) می‌بینیم.

تعریف:

تعریف علمی: غلظتی از جسم مورد تجزیه‌ای که سیگنال آن ۲ تا ۳ برابر انحراف استاندارد سیگنال بلانک (شاهد) باشد. ۲ برابر

یعنی اطمینان ۹۵٪ $2S$ 2δ δ انحراف معیار

۳ برابر یعنی اطمینان ٪۹۹

S انحراف استاندارد 3δ $3S$

تعریف عادی: کمترین غلظتی است که دستگاه به آن پاسخ صحیح می‌دهد.

آیا نقطه‌ی شروع منحنی حد تشخیص است؟ خیر

دو برابر انحراف استاندارد معلول شاهد پاسخ صحیح است. پس نقطه‌ی شروع خط LOD نیست. حد تشخیص را باید از blank به‌دست آوریم

اگر blank $\Leftarrow$ $۱۰^{-۹}$ نشان دهد نمی‌تواند $۱۰^{-۵}$ را اندازه بگیرد.

فرض $\Leftarrow$ $LOD : ۱۰^{-۴}$ ppm

آیا می‌توان غلظت $۱۰^{-۵}$ را به عنوان مجهول اندازه‌گیری کنیم؟ خیر. چون از LOD کمتر است.

حد تشخیص یعنی ما تشخیص داده‌ایم که فلان چیز هست و با اطمینان ۹۵ تا ۹۹ درصد.

حد تعیین یعنی ما می‌خواهیم اطمینان بیشتری داشته باشیم که آنالیت حتماً به مقدارزیاد وجود دارد (بیشتر در داروسازی) (اطمینان از حضور آنالیت بالاست و در حد تشخیص نیست) به طور مثال از دور تشخیص داده ایم که فلانی زینب است ولی وقتی نزدیک شد دیدیم شبیه آن بود و آن نیست که این می‌شود حد تشخیص.

ولی یک وقتی با اطمینان می‌گوییم زینب آمد که این می‌شود حد تعیین و مطمئن هستیم.

تعریف LOQ

غلظتی از جسم مورد تجزیه‌ای که سیگنال آن ۱۰ برابر انحراف استاندارد سیگنال بلانگ (شاهد) باشد.

معلول شاهد محلولی است که همه چیز داخل آن است به جز آنالیت

Sample = analyte + Matrix

شاهد همان ماتریکس نمونه

(همه‌چیز به جز Analyte)

۵ برابر انحراف استاندارد شاهد یا ۱۰ برابر انحراف استاندارد شاهد حد تعیین می‌شود.

در منحنی کالیبراسیون:

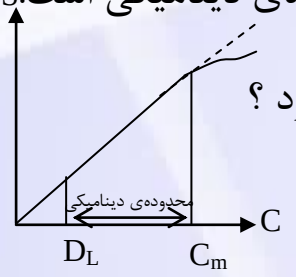
۱) شیب (حساسیت) ۲) LOD ۳) LOQ ۴)

محدوده‌ی دینامیکی

محدوده‌ی دینامیکی (Dynamic range):

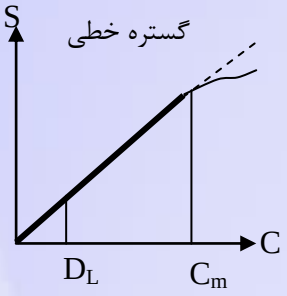
یعنی از جایی که LOD شروع می‌شود تا جایی که از حالت خطی خارج می‌شود که این دامنه خطی است یا محدوده‌ی دینامیکی است.

این محدوده‌ی دینامیکی چه فایده یا کاربردی دارد ؟



منحنی کالیبراسیون کلا چه فایده‌ای داشت؟ مجهول‌یابی که در گستره خطی است. که پایین‌تر از LOD قبول نیست یعنی جایی است که ما بتوانیم مجهول را پیدا کنیم و این در محدوده‌ی خطی امکان‌پذیر است.

قسمت خطی مهم بود ⇐ اگر منحنی خطی نباشد مناسب برای تعیین مجهول نیست.



اگر خیلی غلیظ باشد باید رقیق کنیم تا بیاید پایین و در محدوده‌ی خطی قرارگیرد.

اگر خیلی رقیق باشد و پایین باشد غلیظ می‌کنیم تا بالاتر بیاید، تا در گستره خطی بیفتد.

امروزه در شیمی تجزیه علمی ایجاد شده که ما در این علم از امکانات ریاضی، آمار و امکانات کامپیوتری (هوش مصنوعی)، پردازش داده‌ها استفاده می‌کنیم.

داده‌های ما در قسمت غیرخطی است یا زیر منحنی یا بالاست پس ما باید ناحیه غیرخطی را خطی کنیم کمومتریکس مورد نیاز است.

شاخه‌ای از این علم Multi variate calibration کالیبراسیون چندمتغیره که کاری به خطی بودن نداریم.