

## 儀器概論

### 一 氣相層析儀 (Gas Chromatography)

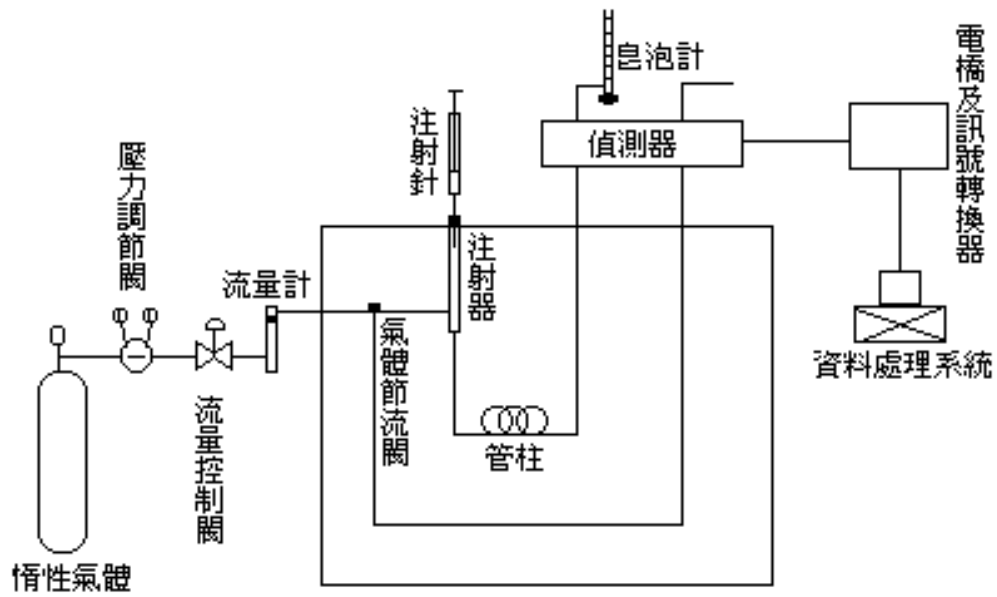
在氣相層析法 (GC) 中，樣品被氣化後注射至層析管柱之前端。沖提是由惰性氣體移動相之流動所組成，與其他類型之層析法所不同之處是，移動相並不與分析物作用，它的功能僅是載動分析物流經層析管柱。氣相層析法有兩種模式：氣相-固相層析法 (GSC) 及氣相-液相層析法 (GLC)，其中因為 GLC 被科學界廣泛運用，而其名稱以被 GC 所取代。

#### 1. 原理

氣相-固相層析法：利用固態靜相之物理吸附作用來滯留分析物，由於此法活性或極性分子大部分會永久滯留或波峰嚴重拉長（由於非線性之吸附過程），故其發展嚴重受限，因此只能從事某些低分子量氣體分離。

氣相-液相層析法：利用分析物在氣態移動相及附著於惰性固體表面上之液體不移動相間之分配 (partition)，而予以分離。

#### 2. 分析儀器組成



氣相層析儀略圖

#### 2.1 載動氣體 (carry gas)

載動氣體必須是化學惰性，包括氦氣、氮氣、二氧化碳和氫氣；氣體之選擇通常視偵測器而決定。載動氣體再進入 GC 前，必須先除其氣體中之雜質，例如，碳氫化合物、氧氣、除水等程序，以延長儀器、管柱壽命與增加分析靈敏度。

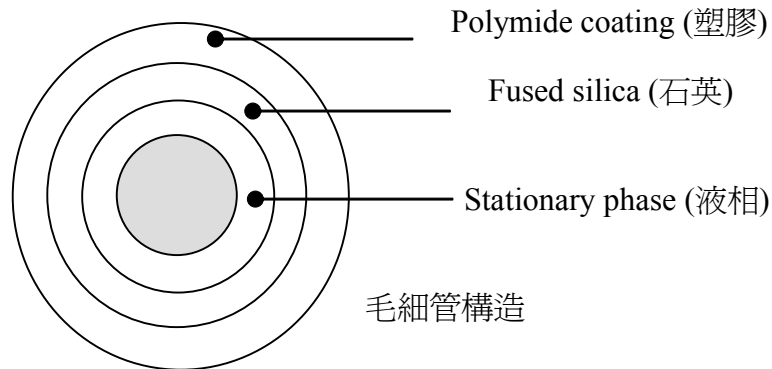
## 2.2 樣品注入系統(injection port)

管柱效率要好需要注入適量的樣品且蒸氣以「栓」狀注入，若慢慢注入或是過量，將會使樣品造成帶狀展開及解析不良。樣品注入通常以微量注射針穿透過矽膠隔膜機液體或氣體注入管柱前端的立即揮發口。因為管柱的規格不一，因此樣品進量也會有所不同，此時可用氣體節流閥 (sample split system)，控制樣品流入管柱的分析量。

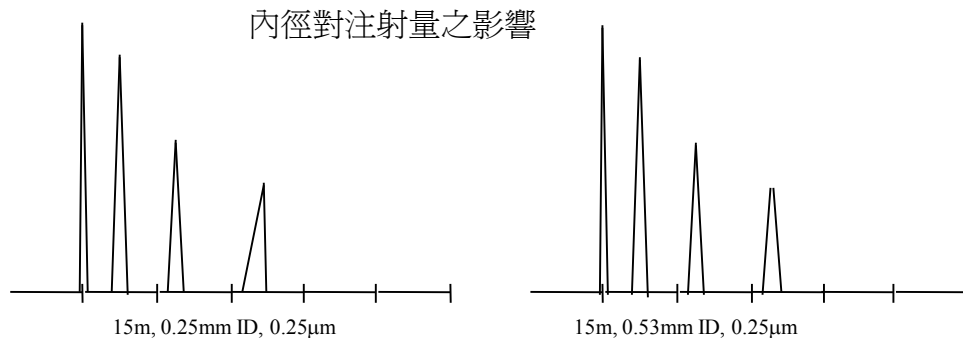
## 2.3 管柱組及烘箱(column & oven)

一般氣相層析管柱分成二種，填充管柱 (packed column) 及毛細管柱 (capillary column)，基本上毛細管柱擁有較佳的解析度與選擇性，應此除了在特殊運用上仍使用填充管柱外，大部分使用者均會以毛細管為主。毛細管顧名思義就是很細一般常用規格有內徑 0.53mm、0.25mm 等，膜厚有 1.0 $\mu$ m、0.25 $\mu$ m 等，長度有 30 公尺、或 60 公尺長，它們是由不銹鋼、玻璃、融合矽、或鐵氟龍所構成，如圖。

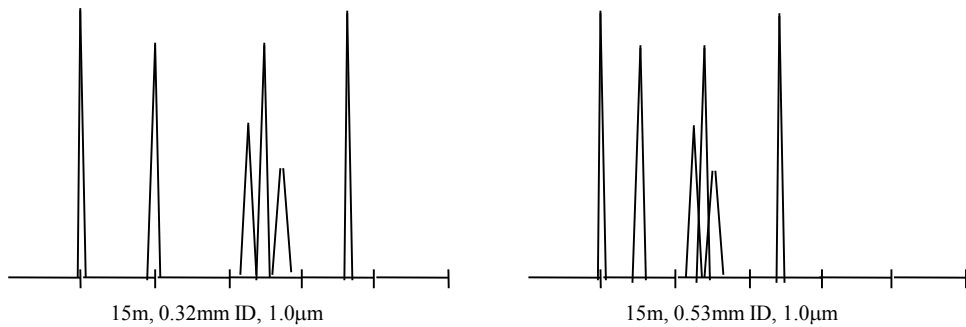
因為 GC 是以氣體進行分析，因此分析物是否氣化與在溫度間之表現顯的相當重要，大略而言，等於或略高於樣品的平均沸點之溫度可得到合理之滯留時間，對於不同沸點樣品之執行分析就必須依靠溫控城市 (temperature programming)，以連續性或階段性升溫方式予以分離。



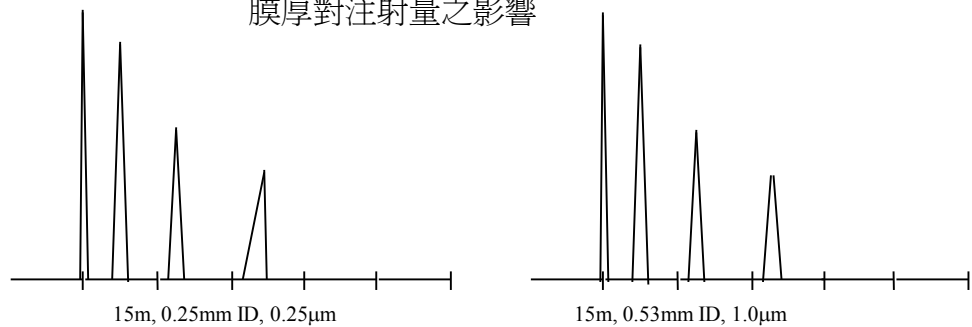
毛細管之內徑與膜厚對分離效果之影響：



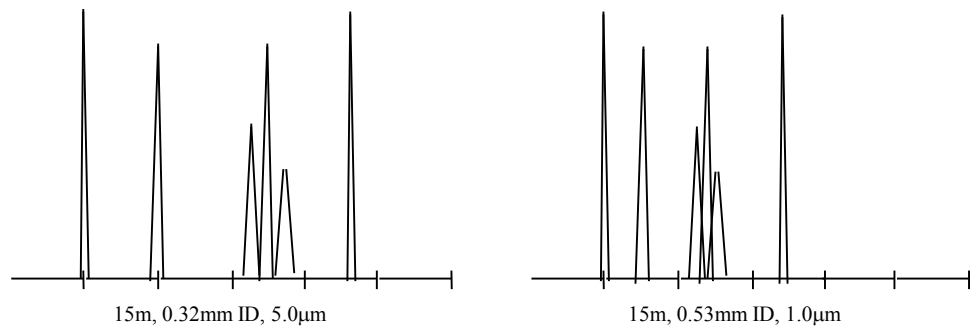
### 內徑對分離效果之影響



### 膜厚對注射量之影響



### 膜厚對分離效果之影響



## 2.4 偵測器(detection)

由於 GC 系統可根據分析需求接裝不同之偵測器如：FID、ECD、FPD、NPD 等，每一種偵測器皆有其獨特與偵測範圍在，我們僅討論實驗室所使用的 FID 偵測器。

FID，全名為「火焰離子化偵測器 (flame ionization detector)」，作用機制為來自管柱之分析物與偵測器內的空氣、氫氣混合、以電子點火。大部分有機化合物在氫氣-空氣焰的溫度下熱解，產生離子及電子，如此可使火焰導電。在燃燒頭兩端加數百伏特電壓，且接收極位於火焰上，產生的電流被導入訊號放大器中，即可測得分析物的量。

因此像羰基、醇、鹵素、胺等官能機在火焰中產生少量或不產生離子，故靈敏度相較下比一般碳氫化合物差，此外， $H_2O$ 、 $CO_2$ 、 $SO_2$ 、 $NO_x$

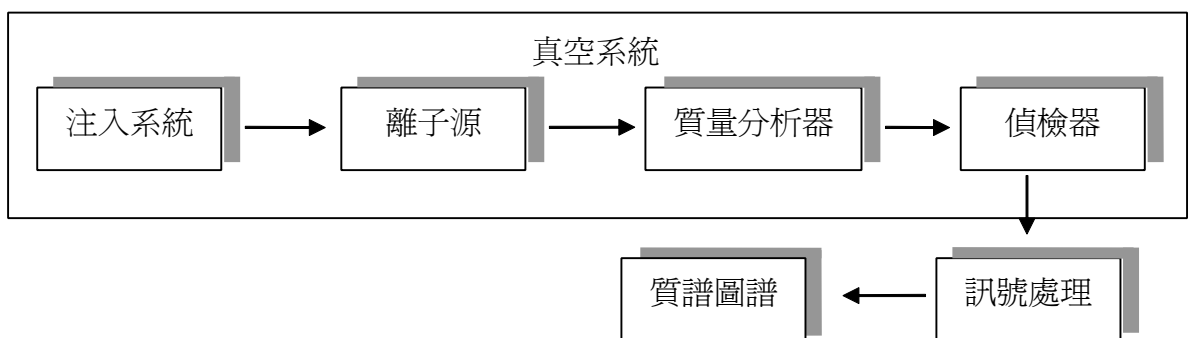
等、均無法產生離子，所以無法以 FID 偵測這些物質。

偵測器或多或少都會有些美中不足的缺憾，一個好的偵測器可具備下列條件：

適當靈敏度、具良好穩定性與再現性、對分析物偵測濃度線性範圍大、操作溫度範圍由室溫至 400°C、短且和流速無關之反應時間、高可信度且方便操作、具有高預測性與選擇性、對樣品沒有破壞性。

## 二 氣相層析質譜儀 (Gas Chromatography & Mass Spectrum)

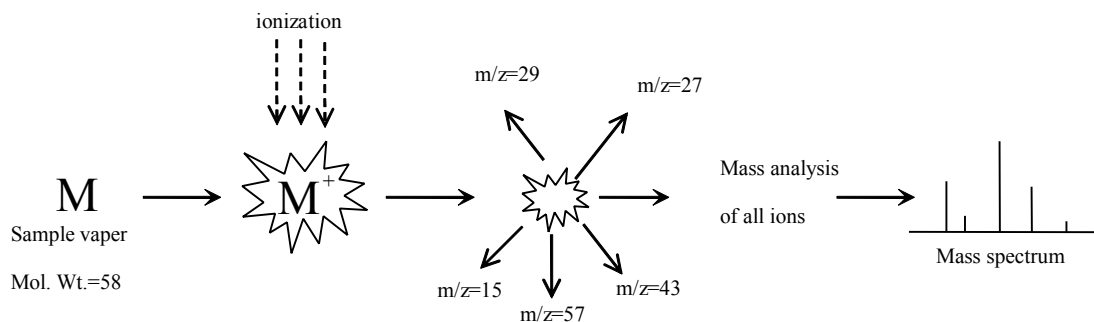
氣相層析質譜儀是由氣相層析儀加上質譜儀所組成，也就是說氣相層析儀的偵測器不再接 FID 或 ECD 等偵測器，而是以質譜儀做為偵測器。



如上圖所示整個質譜儀組件，樣品在經由氣相層析儀層析後，先行分離出各種成分來，再將各成分一一通過質譜儀進行質譜分析，如此一來既可兼顧層析的分析效果又可利用質譜分析進行定量與定性上之分析。

### 1. 原理

質譜分析原理為樣品進入注入系統後會被離子源（可能是電子、離子、分子或光子）撞擊，產生離子碎片，在經由質量分析器進行離子碎片收集，經由偵檢器之電子倍增管將訊號放大，由訊號處理彙整成層析圖譜，即完成分析，因其中涉及相當多學術理論無法一一說明，僅根據常見之裝置說明之，樣品被離子源撞擊圖如下：

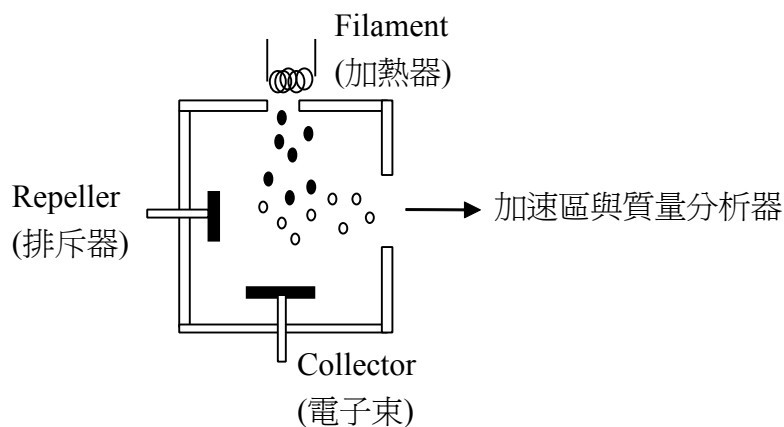


## 2. 電子撞擊區

樣品遭電子撞擊的地方，在此處必須先產生離子源，產生離子源的方法常用的有電子離子化 (EI) 及化學離子化 (CI)，過程都是先將樣品揮發，在氣態成分下以不同方式予以離子化。

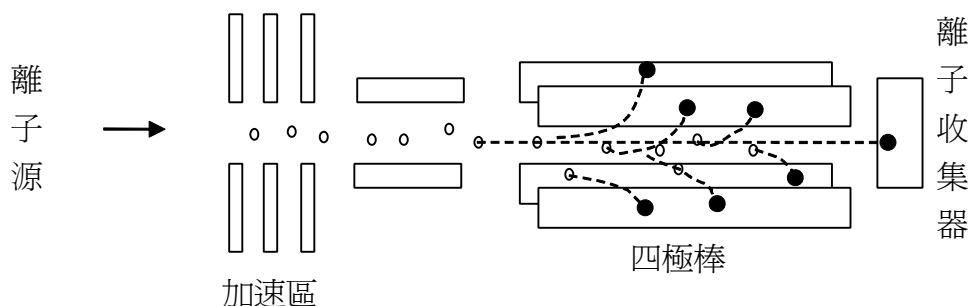
電子離子化是利用高熱鎢絲或銻絲發射，經加速後直接以直角方式與分子在離子源中心撞擊，產生離子化，其優點是便於使用並容易產生高離子電流，因此靈敏度較好，但是因電子能量過大，造成碎片也多，因斷碎作用而使分子離子峰消失，以致於無法得知分析物之分子量，但是此缺點亦是優點，因為如此，我們反而更容易鑑定分析物，此外另一個缺點是，樣品離子化前需揮發，如此一來分析物可能已受熱分解。

化學離子化是利用樣品的氣態原子與以電子撞擊過量試劑氣體所產生的離子發生碰撞而離子化。試劑的種類有甲烷、丙烷、異丁烷等，優點是撞擊離子強度較小，斷碎作用較小，質譜較簡單，但是較不容易判斷分析物。其圖示如下。



## 2. 質量分析區

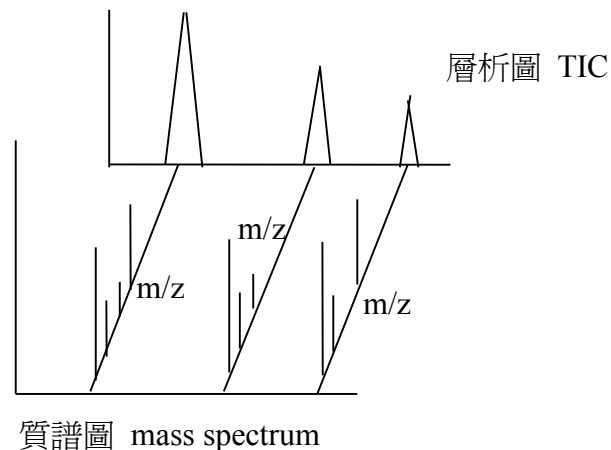
被撞擊之離子碎片在此區將被電磁場加速，而進入質量分析器中，質量分析器是根據離子碎片的  $m/z$  (質荷比 mass-to-charge ratio) 的不同，在分析區會落在不同區域的特性予以分離，一般常用之質量分析器為「四極棒」，其作用圖如下。



在四極棒中，我們可以設定它直流電與交流電交互作用，讓一組僅在此操作條件的小範圍  $m/z$  比的離子通過，所有其他離子將被中性化並被當成不帶電荷的分子帶走，因此經由改變四極棒電訊號，則可以改變穿過  $m/z$  的範圍，因此光譜掃瞄成爲可行，所以，四極體與其說是質量分析器到不如說是質量過濾器來的貼切。

### 3. 質譜圖 (mass spectrum)

質譜圖與層析圖最大之不同處，以下列圖示就可明瞭。



### 3. 定量與定性分析

定性分析：分析物被撞擊所產生之不同  $m/z$  值碎片其訊號的高度或面積會呈現一定比例，因此我們可利用此特性在不同分析物間其相同  $m/z$  碎片之高度或面積比是否相似，來決定分析物與標準品是否爲同一物種 例如安非他命經與 HFBA 衍生後會有  $m/z=240$ 、 $118$ 、 $117$  三支特殊離子峰，而其中  $(m/z240)/(m/z118)$  與  $(m/z240)/(m/z117)$  之離子峰強度比是固定的。

定量分析：既然撞擊後所產生之離子峰也會有高度與面積形成，我們可以利用面積或高度最大離子峰或不受干擾的離子峰，進行定量分析，例如安非他命以  $m/z240$  作爲定量分析之主波峰。

### 4. SIM 與 SCAN

先前我們在四極棒討論中指出，四極棒可以說是質量過濾器，因此利用此特性而衍生出 SIM 與 SCAN 分析法來。

SIM：僅針對特殊之  $m/z$  值進行「過濾」，例如：安非他命僅「過濾」 $m/z=240$ 、 $118$ 、 $117$ ，這種作法可以得到較佳之靈敏度與較乾淨之質譜圖，方便定性與定量計算。

SCAN：針對某一特定範圍的  $m/z$  值進行「過濾」，例如：從  $m/z50$  到  $m/z500$ 。此種方式是可以瞭解整個樣品所有離子峰狀況，方便選取適當離子峰作爲 SIM 之條件。

根據上述原則，一般上我們在找 GC/MS 方法時，我們會先利用 SCAN 方式找出適當的分析條件與質譜條件，在利用 SIM 的方式進行定性定量分析。

### 三 液相層析儀（High-performance Liquid Chromatography）

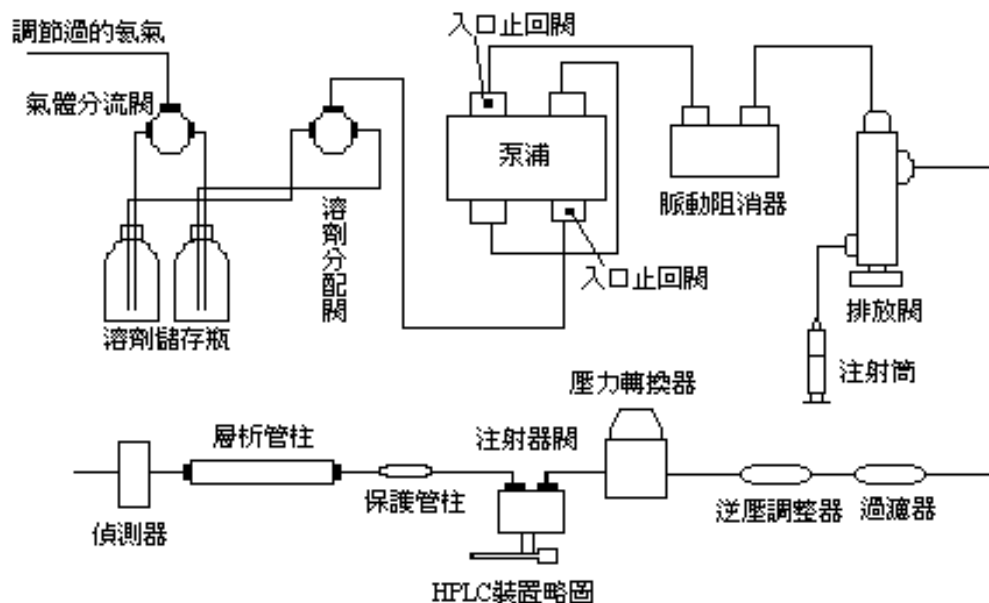
液相層析儀無疑是現今所有分析儀器使用最廣泛的，由於它靈敏度夠，易於準確的定量，適用於分離非揮發性或熱不安定的物質。

#### 3.1 原理

液相層析法之原理會根據管柱的不同而有不同之分析原理，我們僅根據分配層析法與離子層析法（見下節結論）進行討論。

分配層析法與先前層析概論所討論之分配係數有關，它可在細分「液相-液相」與「鍵結相」層析法；「液相-液相層析法」是利用將液體靜相以物理吸附方式留存於填充物表面。而「鍵結相層析法」是將靜相以化學鍵結方式接於支撐物表面。其中「液相-液相層析法」是早期唯一之分析方法，因為有許多缺點，致使有人研發出「鍵結相層析法」，此方法之唯一缺點是靜相會被動相逐漸溶解而減少，必須週期性再披覆支撐粒子，造成分析管柱之週期更替。

#### 3.2 分析儀器組成



##### 3.2.1 動相儲存器與除氣設備

HPLC 在執行分析時因其動相是液體，所以必須有儲液設備，由於動相是液體，所以液體中容易溶解空氣，尤其是甲醇與水之混合作容易產生氣泡，這些氣泡（通常是氮或氧）會在偵測器造成干擾，因此 HPLC 的動相在被使用之前，必須進行除氣工作，通常除氣工作可由超音波震盪、通氮氣進液體以趕走其他氣體（因氮氣質量低會自行排走）、濾膜過濾系統、加熱、攪拌溶劑等方式

進行，務必確定氣體已經排除後方可使用於 HPLC 的動相。最簡單的方式就是用一個毫孔隙的過濾器在真空下過濾，這種處理可以順便除氣和懸浮物質。

### 3.2.2 溶劑分配閥

使用一定組成的單一溶劑系統分離稱為「等位流析(isocratic elution)」；在分析過程中根據時間設定不同溶劑混合比分離稱為「梯度流析(gradient elution)」，利用梯度流析時，往往可得到較佳之分離率。此時執行該混合工作的即是溶劑分配閥，溶劑的體積比可以隨時間呈線性或指數關係而改變。

梯度流析可明顯縮減分析時間，而不必犧牲早期尖峰之流析時間，梯度流析產生的影響與在氣相層析儀中使用溫控程式類似。

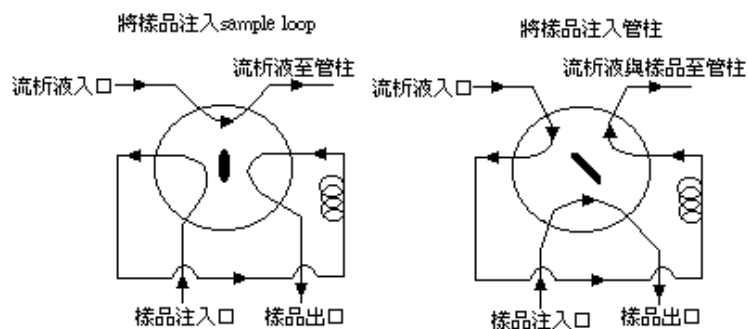
### 3.2.3 泵浦系統

泵浦之要求如下：通常可承受至 6000psi 的高壓、無脈衝輸出、流速範圍從 0.1~10ml/min、流動控制和流動再現性為相對誤差 0.5% 以內或更好、抗腐蝕性成分。

泵浦之高壓不會有爆炸的危險，因為系統某部分的破裂只會造成溶劑的漏出，引發火災，需要特別注意小心。

### 3.2.4 樣品注入系統

液相層析法的測量準確性之限制因素在於樣品注入管柱填充物時之再現性，這問題會因伴隨著管柱的超載而使層帶變寬更加嚴重。因此使用體積必須很少—在十分之幾微升到 500ul，再者必須能夠方便注入樣品而不使此系統失壓，造成流速不一。液相層析儀中樣品引入最廣泛使用的方法是基於取樣圈(sampling loops)，這些裝置經常是液相層析法設備上的機體部分，且有可互換的取樣圈能提供選擇 5 到 500ul 的樣品大小。





### 3.2.5 分析管柱

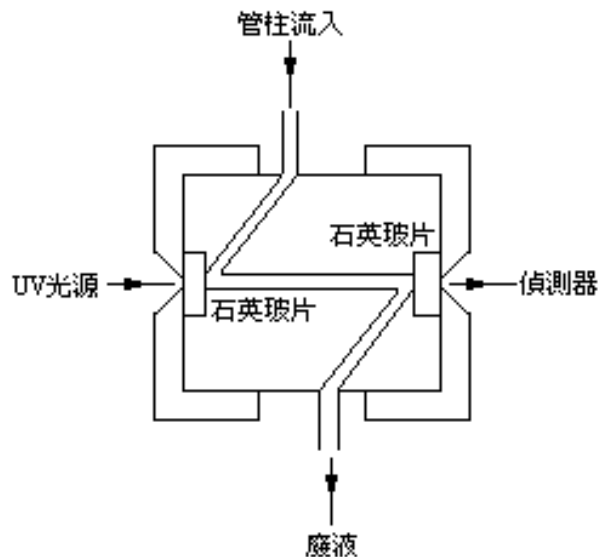
分析管柱基本上與使用目的有關，詳細內容如下節所述。一般而言，如果不討論管徑內作用力影響，則管柱長短與粒徑大小將影響分析時間與分析物之解析力，管柱越長，分析時間會越長；粒徑愈小，樣品之解析力越好。但是短管柱會有較小之阻力壓力，粒徑愈小阻力壓力也就越大，因此管柱壓力必須注意管柱長度與力徑大小之間影響。

通常在分析管柱之前，有人會加裝一支保護管柱（guard column），以便去除顆粒物質與污染物質以增長管柱的壽命，基本上，保護管柱上填充物質與管柱是相類似的。

### 3.2.6 偵檢器

通常 HPLC 偵檢器的要求與氣相層析儀唯一不同之處是 HPLC 不需要太大的溫度範圍，此外，因為液體比氣體流的慢，所以偵檢器必須有最小部分體積以檢測分析物，避免段帶變寬（zone broadening）。HPLC 最常使用之偵測器為紫外光吸收儀、螢光吸收儀等。

一般而言吸收度偵測器是利用下圖模式進行偵測，為減少額外管柱變寬效應，因此在偵檢器設計上 Z 型流過容槽的體積必須盡量的小，許多偵檢器是採用雙光束設備，一道光束通過流析液容槽，另一道光束經過濾片以減少其強度，在經過光電偵檢器可以用來比較兩光束的強度，層析圖是根據兩道光束強度比值的對數與時間作函數圖。

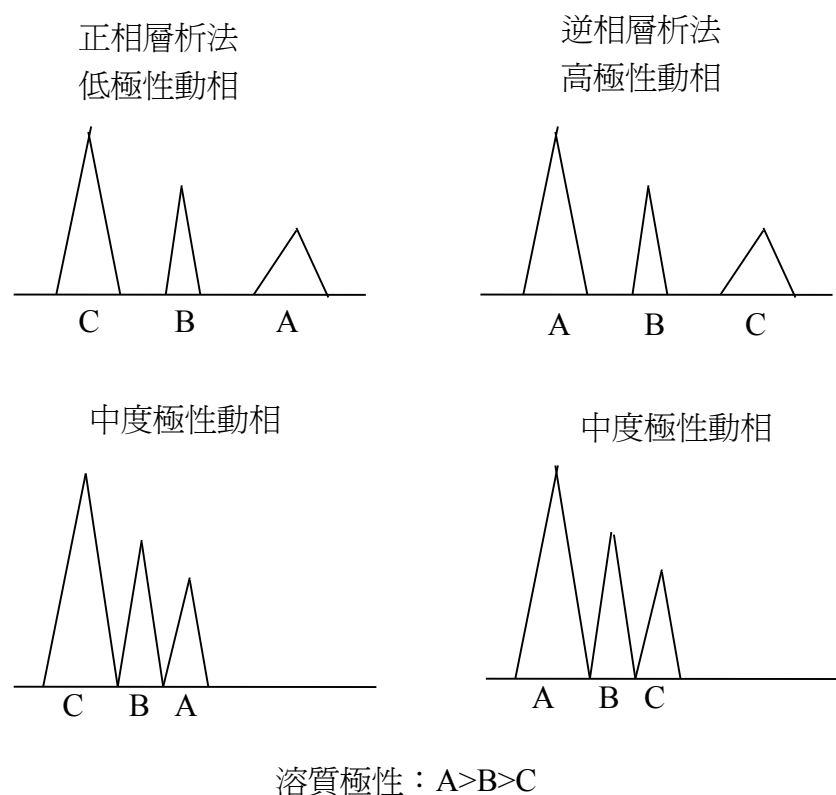


除了一般吸收度偵測器之外，還有一種偵測器亦是使用相當廣泛，二極體列質譜儀陣儀，它的偵測模式有點類似質譜儀，在單位時間中，可以在設定波長範圍中進行掃描，其圖譜就像是一張質譜圖一般。

### 3.2 分配層析法

管柱中動相與靜相間的相對極性區別了二種分配層析法，正相層析法與逆相層析法。其二者分析法之比較如下：

比較內容	正相層析法	逆相層析法
動相的極性	非極性	極性
靜相的極性	極性	非極性
流析順序	低極性先流出	最極性先流出
動性極性增加對分析的影響	減少分析時間	增加分析時間
動相常用溶劑	正以烷、異丙醚	甲醇、乙晴、THF
管柱填充物	矽膠、礬土	碳氫化合物



#### 四 離子層析儀 (Ion Chromatography)

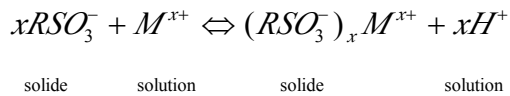
其實離子層析僅是液相層析儀的一種，所用儀器設備與層析原理基本上與 HPLC 相去不遠。離子層析儀是使用離子交換樹脂用來分離與決定離子的方法。

離子交換過程主要是根據溶液中離子與高分子量、不溶解的固體表面上同符號離子間的交換平衡。一般陽離子交換樹脂最具活性的位置是 ( $-SO_3 H^+$ ) 是

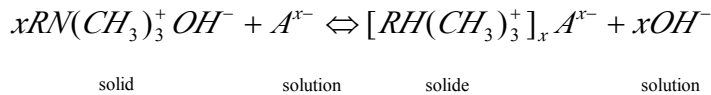
一強酸與羧酸機 ( $-COO H^+$ ) 為一弱酸。陰離子交換樹脂包括四級胺基

$(-N(CH_3)_3^+ OH^-)$  或一級胺基  $(-NH^+ OH^-)$  ; 前者是強鹼，後者是弱鹼。

因此陽離子交換反應如下：



陰離子交換反應如下：



#### 4.1 離子交換填充物

早期離子層析管的填充物是以苯乙烯(styrene)和二乙烯苯(divinylbenzene) 乳化聚合所形成的小顆粒而多孔的珠粒。二乙烯苯的作用為使珠粒更具機械穩定性，通常交換樹脂官能基是以鍵結方式結合在粒珠上。

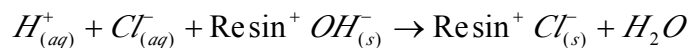
因為填充物會有微孔隙堵塞的問題，因此現在以經改用薄層丸狀填充物，表面積較大、非孔性、球形、玻璃或聚合物小珠上塗佈一層合成的離子交換樹脂。第二種是在多孔性微粒子的矽膠上塗佈薄層交換劑。

一般而言，動相的離子會與分析物的離子競爭上述填充物的活性位置，而逐漸分配層析出來。

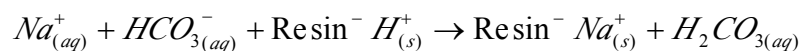
#### 4.2 抑制離子管柱 (Suppressors)

層析儀所使用的偵檢器為「電導偵測器」，它有高度靈敏、對帶電荷的物種通用、儀器簡便、組合維修不昂貴、壽命長等，它唯一令人詬病是因為需要大量電解質濃度，在合理時間流析大部分分析物離子，因此來自動相成分的電導度會抑制分析物離子濃度，因此大量將低偵檢器的濃度。所以我們必須使用抑制管來降低離子濃度維持偵檢器靈敏度。

抑制管柱是接在離子交換樹脂後面，它能有效的將溶劑中的離子轉換成有限離子化的分子物種而不影響到分析物離子。例如，當分析陽離子時，選定鹽酸當流析液，抑制管是氫氧化物型的陰離子交換樹脂，反應如下：



對陰離子的分離，抑制管是酸型陽離子交換樹脂，流析液是碳酸氫鈉或碳酸鈉，其反應是：



其中大部分非解離碳酸不會對電導度有什麼貢獻。

但是上述原生抑制管必須週期性的加以再生 (約 8hr~10hr)，才能轉變它們的填充物回到酸式或鹼式。為了這個缺憾，因此有纖維半透膜抑制管柱發明，利用半透膜特性，決定是酸式或鹼式的抑制管。

## 五 原子吸收光譜儀 (Atomic Absorption Spectroscopy)

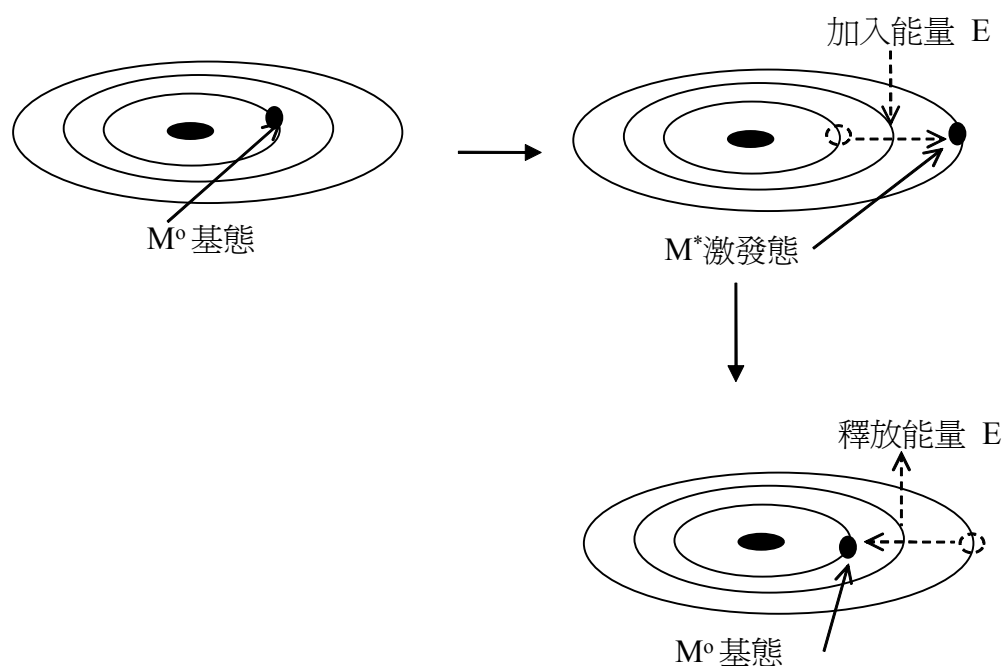
原子吸收光譜法是根據原子對電磁輻射之吸收放射或螢光放射來予以鑑別金屬原子與其含量，此方法之優點是高特異性（約七十種金屬可被決定）、廣泛適用性、最佳靈敏度（ppm~ppb）、快速方便（約一分鐘完成分析工作）等優點。

### 5.1 分析原理

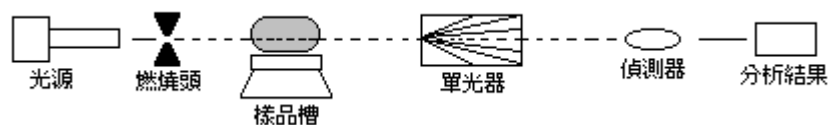
當無機鹽水溶液噴入爐火時，大部分金屬被還原成元素態，在火焰內產生一氣態溶液或含高濃度元素粒子物質的電漿（plasma），火焰分光光譜儀及根據這些粒子的放射，吸收或螢光為基礎。

氣態原子粒的放射、吸收與螢光光譜是由於最外層電子的電子轉移能量釋放所形成的光源窄線所組成，通常這種能量釋放或吸收所造成之光區出現在紫外光或可見光區。

原子放射光譜之形成是因為在室溫中，樣品之所有原子幾乎都在基態中，用火焰或電弧可將此電子激發至較高能量處，但是，這種激發態原子的壽命很短，會釋放出能量輻射後重回基態中，而所釋放出的輻射能量又是以光線方式釋放，因此我們就可以根據不同波長，進行重金屬分析。



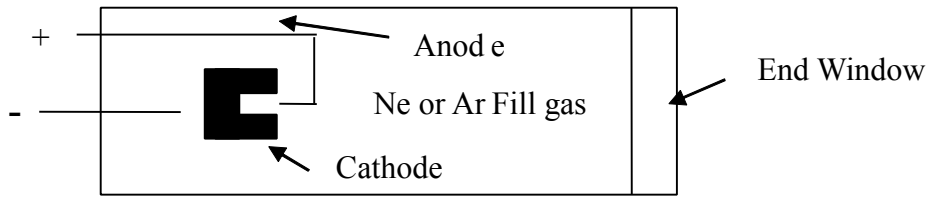
### 5.2 儀器組成



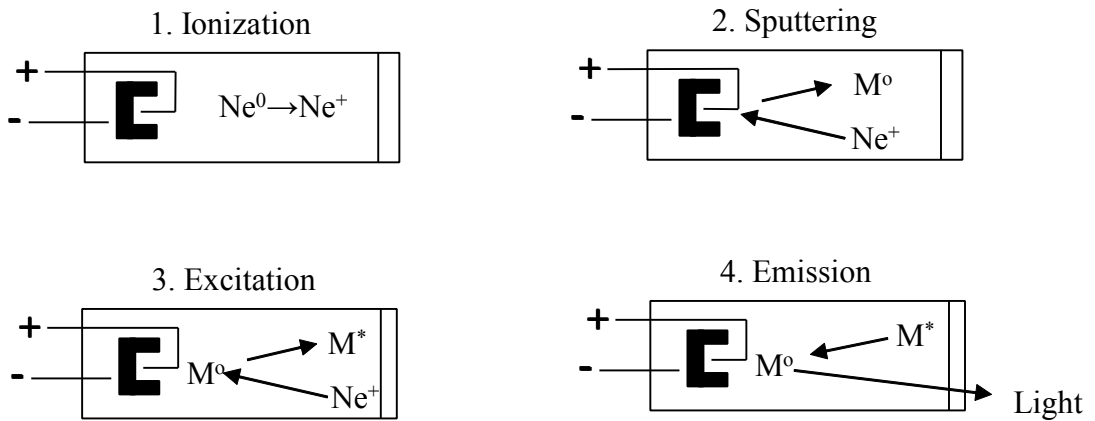


### 5.2.1 光源

用來發射輻射源的器具一般來說均使用「中空陰極管」。



發射原理如下圖：

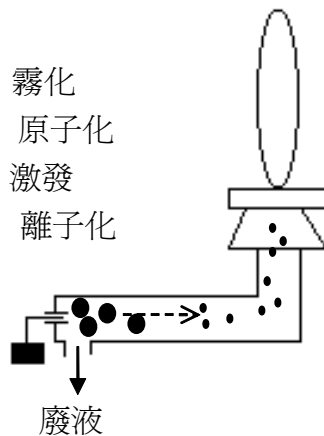


### 5.2.2 燃燒頭

燃燒頭為有一組稱為「霧化器」，此霧化器是將吸入之溶液以噴射作用將其分散成小水滴，通常霧化效果越好，被激發之原子元素越多，靈敏度也會隨之提高。

既然是燃燒頭一定會有火焰的產生，而火焰的溫度與吸收峰往往是分析干擾的基質，因此分析不同金屬時需注意其燃料之混合比，以達到所需之溫度，溫度太高或溫度太低都不可以，一般來說，火焰的燃料是乙炔與空氣的混合比，有些特殊金屬或儀器必須以氧或一氧化二氮作氧化劑，原子化過程如下圖。

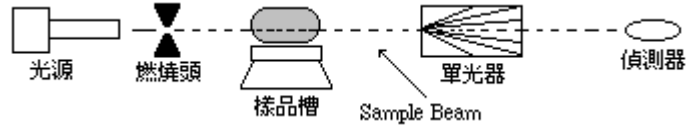
- solution → solid 霧化
- $MA \rightarrow M^0 + A^0$  原子化
- $M^0 \rightarrow M^*$  激發
- $M^* \rightarrow M^+ + e^-$  離子化



### 5.3 偵測器

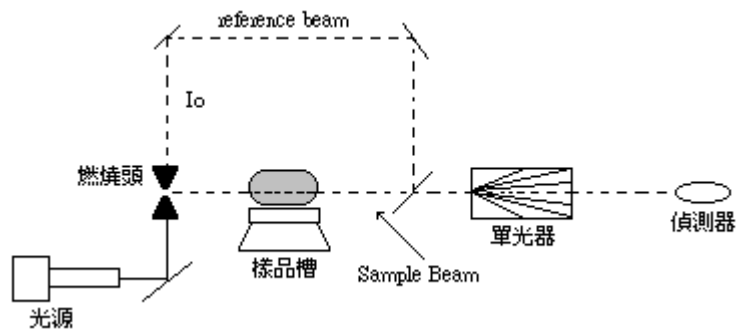
吸收波長如同其他吸收波峰儀器也是採用相對強度，其偵測器有下列兩種。

#### 5.3.1 Single-beam Configuration



因測不到  $I_0$ ，所以比較容易受到干擾，系統較不穩定。

#### 5.3.2 Double-beam Configuration



因為時時可以知道初強度，而予以得到相對強度，較不受其他基質影響。