

کروماتوگرافی گازی

دکتر سالار معصوم زاده^۱، دکتر فرناز منجم زاده^۲

۱. دستیار فارماسیوتیکس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲. مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

خلاصه

■ زمینه و هدف

هدف اصلی از نگارش این مقاله جمع‌آوری و تسهیل دسترسی به داده‌های اصلی و مورد نیاز در کار با سیستم کروماتوگرافی گازی بوده است تا فرد یا افرادی که قصد استفاده از این روش را در مقالات، پایان‌نامه‌ها و یا حتی فرآیندهای تولید داروی خود دارند، بتوانند به سادگی به مجموع این داده‌ها دسترسی داشته و شرایط و سیستم مناسب را برای کار خود انتخاب کنند.

هم‌چون GC، HPLC و ... این بوده تا بتوان با انتخاب روش ارجح و اصلاح در شناسایی و سنجش کمی ماده، بهترین نتیجه را از این روش‌ها گرفت، حال آن‌که در هریک از این سیستم‌ها نیز تنوع در انتخاب موارد متفاوتی چون دکتور، گاز حامل، ستون و ... می‌توانند در نتیجه تاثیرگذار باشند. از این رو، بررسی بخش‌های سیستم قبل از شروع کار و انتخاب بهترین زیر مجموعه‌ها می‌تواند به گرفتن نتایج عالی از سیستم بسیار کمک کند.

■ نتیجه‌گیری

از اهداف مهم تنوع در روش‌ها و سیستم‌های شناسایی و مقدار سنجی

■ واژگان کلیدی

دکتور، ستون، کروماتوگرافی گازی، گاز حامل، مخزن تزریق

در شکل (۱) بخش شماره (۱) نشانگر کپسول گاز حامل (Carrier gas) می‌باشد، گاز حامل گازی خنثی یا Inert (فاقد توان واکنش با محتوای نمونه مورد آزمایش) است که وظیفه اصلی آن هدایت و حمل تمام محتوای وارد شده به سیستم به سمت دتکتور و سپس خارج از سیستم است (۲،۴).

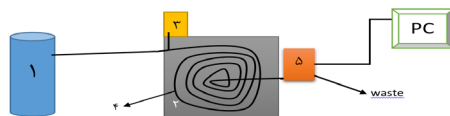
برای انتخاب گاز حامل موارد مختلفی از جمله اثر در سرعت و دقت آنالیز، انتخابی بودن و در کنار آن حساسیت در عمل و همچنین توان ظاهر کردن پیک‌های حتی‌الامکان جدا از هم در نمودار نتایج (Resolution) و امنیت برای سلامت کاربر اهمیت داشته و تاثیرگذار هستند اما به‌طور کلی، هیدروژن، نیتروژن و هلیوم بیشترین استفاده را به‌عنوان گاز حامل در سیستم کروماتوگرافی گازی دارند که البته، با توجه به این که کدام ویژگی گاز در آزمایش از اهمیت بیشتری برخوردار است، بین این سه نیز موارد مختلفی برای تعیین گاز مورد استفاده وجود دارد (از جمله تغییرات سرعت و ویسکوزیته گاز به موجب تغییرات دما که شرح آن‌ها از حوصله این بحث خارج است).

Oven یا همان بخش گرم‌کن (شکل ۱-بخش ۲) وظیفه داغ کردن نمونه تزریق شده تا مرز گازی شدن را دارا است که این تزریق از طریق قسمت Injector (مخزن تزریق) انجام می‌شود، مکانیسم عمل این قسمت به این گونه است که نمونه در حجم بسیار کم (چند میکرولیتر) به آن تزریق شده و به موجب

سرعت گسترش علوم طبی، شیمیایی، مهندسی و بسیاری دیگر از علوم روزافزون بوده و روز به روز نیز نقایص و نیازهای جدیدی در آن‌ها ظاهر می‌شوند که نشانگر وجود زمینه‌های بیشتر برای این گسترش‌ها و تکامل‌ها هستند. یکی از این نیازها که سال‌ها پیش رخ نمود، نیاز به کشف و شناسایی محتوای ترکیبات برای کشف چپستی و یا صحت سازهای ماده بود که برای رفع آن نیز روش‌های مختلفی کشف و پیشنهاد شده‌اند که یکی از بهترین و دقیق‌ترین آن‌ها، روش کروماتوگرافی گازی است (۱).

شروع تولد این روش به سال ۱۹۰۳ باز می‌گردد که دانشمند روسی میکایل تسوت (Mikhail Tsvet) رباط‌های گیاهی را با استفاده از کروماتوگرافی مایع از یکدیگر جدا می‌کرد، در زمان‌های مختلف تکامل‌های زیادی بر روش وی صورت گرفت تا این که در نهایت و به سال ۱۹۵۲، دو دانشمند (آرچر مارتین و ریچارد سینث) سیستم را به شکل کنونی آن ارائه داده و بابت آن موفق به دریافت جایزه نوبل نیز شدند (۱،۳).

بررسی ساختار سیستم کروماتوگرافی گازی



شکل ۱- شمای فرضی سیستم کروماتوگرافی گازی
۱- مخزن گاز حامل، ۲- گرم‌کن، ۳- مخزن تزریق، ۴- ستون، ۵- دتکتور (ردیاب)

از انواع ستون‌های مویرگی و ستون‌های استیل پر شده با مواد جاذب از نوع ستون‌های فشرده‌سازی شده هستند. آخرین قسمت این مجموعه که اجزای نمونه پس از جدا شدن در ستون و برای تشخیص به آن تحویل داده می‌شوند، همان ردیاب یا Detector است که با توجه به مکانیسم عمل آن انواع مختلفی دارد که در بخش بعد دقیقاً به آن‌ها اشاره شده است.

انواع ردیاب یا Detector در سیستم کروماتوگرافی گازی

1. Flame Ionization Detector (FID)

در این روش ترکیب وارد شده به ردیاب در شعله‌ای از جنس هیدروژن- هوا سوزانده می‌شود، ترکیباتی که دارای کربن بوده و وارد این شعله می‌شوند، یون‌هایی را ایجاد می‌کنند که در برخورد با Collector ایجاد سیگنال کرده و به صورت پیک گزارش می‌شوند. نکته این‌جا است که این نوع ردیاب برای ترکیبات دارای کربن و خصوصاً هیدروکربن مناسب بوده و برای ترکیبات فاقد کربن، فاقد توان شناسایی و در ترکیبات دارای کربنی که در ساختار خود هیدروژن ندارند، فاقد قدرت پاسخ و حساسیت کافی است (۵).

2. Photoionization Detector (PID)

در این نوع از Detector ترکیبات پس از خروج از ستون به درون جعبه‌ای وارد می‌شوند که در آن‌جا بمبارانی از فوتون‌های پر انرژی

دریافت حرارت از گرم کن به فرم گازی تبدیل شده و پس از گذر از فیلتر موجود در سیستم تزریق (برای جلوگیری از ورود آلودگی‌های جامد احتمالی به چرخه تعبیه می‌شود) وارد مسیر گاز حامل شده و ادامه روند را داخل ستون (شکل ۱- بخش ۴) که خود نیز در گرم کن تعبیه شده، طی می‌کند.

یکی از مهم‌ترین قسمت‌های مربوط به فرآیند کروماتوگرافی گازی بخش ستون می‌باشد. در این مرحله، ترکیب تزریق شده‌ای که به بخار تبدیل شده و با جریان گاز حامل وارد ستون شده است، به دلیل مواردی هم‌چون اختلاف وزنی و تمایل جذب یا عدم جذب مواد تشکیل دهنده نمونه به ستون و... از یکدیگر جدا شده و با اختلاف زمانی به دستگاه دتکتور می‌رسند. انواع ستون‌های استفاده شده در GC به دو دسته کلی Packed و Capillary تقسیم می‌شوند که در نوع اول به دلیل پر شدن طول مسیر با دانه‌های جاذبی هم‌چون دانه‌های گرانولی جاذب جامد، طول ستون نسبت به نوع دوم که در آن طول مسیر خالی بوده و در عوض لایه‌ای از ماده جاذب عمدتاً مایع (گاهی بر پایه مایع دیواره، دانه‌های جاذب جامد پیوست می‌گردند) به دیواره ستون پیوست شده، کمتر بوده و هم‌چنین دقت و حساسیت عمل نیز در آن کمتر می‌باشد.

PLOT (Porous Layer Open Tubular column), WCOT (Wall Coated Open Tubular column) & SCOT (Support-Coated Open Tubular column)

می‌گردد. حال با ورود آنالیت به مسیر جریان الکترونی توسط گاز حامل بخشی از بار موجود در گاز نیتروژن توسط این آنالیت‌ها جذب شده و تغییراتی در مقدار جریان محسوس توسط دتکتور گزارش می‌گردد، با بررسی سطح کاهش می‌توان مقدار آنالیت را شناسایی کرد.

5. Thermal Conductivity Detector (TCD)

درون ردیاب یک جفت رشته گرم حاوی جریان دایمی برق که منجر به ایجاد حرارت در این رشته‌ها می‌شود وجود دارد که جریان یکی از رشته‌ها مداوم و ثابت به‌عنوان جریان مرجع بوده و تغییرات جریان رشته مقابل با گذر گاز حامل حاوی ساختار (نمونه) از میان آن در مقایسه با این رشته مرجع گزارش می‌گردد، نتایج حاصل از مقایسه به صورت داده‌های نرم‌افزاری (مثل نمودار و...) گزارش می‌شوند (۹،۱۰).

6. Electrolytic Conductivity Detector (ELCD)

برای تشخیص مولکول‌ها توسط ردیاب، مولکول‌های خارج شده از ستون به موجب ترکیب با یک گاز فعال‌کننده و گذر از یک ستون بسیار داغ فعال شده و در ترکیب با محلولی هادی از درون سلول هدایت الکترولیت (conductivity cell) گذر می‌کنند. تغییرات هدایت‌پذیری محلول هادی مرجع نمایانگر نوع و مقدار ماده بوده و به اپراتور سیستم گزارش می‌شود (۱۱، ۱۲، ۱۳).

سطح شده از لامپ UV روی آن‌ها صورت می‌گیرد، حال مواد با مرز دامنه یونیزاسیون کمتر و مساوی انرژی فوتون‌های تابیده شده به موجب برخورد با این فوتون‌ها یونیزه شده و توسط سیستم، ثبت و گزارش می‌شوند. حساسیت این روش به انرژی فوتون‌های ساطع شده و سطح انرژی لازم برای یونیزاسیون مواد وارد شده، وابستگی مستقیم دارد (۶،۷).

3. Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)

روش عملکرد در این نوع از ردیاب‌ها به این گونه است که ماده حمل‌شونده توسط گاز حامل نیتروژن با رسیدن به شعله‌ای از جنس ترکیبی نیتروژن-هیدروژن سوخته و با وارد شدن به ابر اطراف بستری از روییدیوم یا سزیم بارور شده و سپس به سمت ابر مغناطیسی هدایت می‌شوند که یون‌های تشکیل شده را شناسایی و روی نرم‌افزار گزارش می‌کند. نیتروژن بودن گاز حامل در این روش اجباری است (۸).

4. Electron Capture Detector (ECD)

در این روش، ابتدا پرتو بتا جدا شده از پوشش نیکل ۶۳ تعبیه شده در دتکتور به مولکول‌های گاز نیتروژن تابانده و سبب تهییج مولکول‌های این گاز می‌شود. سپس، گاز تهییج شده به دتکتور تحویل داده شده و جریانی مداوم و ثابت از رودخانه الکترونی توسط دتکتور به‌طور مداوم ثبت

ماده باردار شده به موجب نسبت بار / جرم آن‌ها در مسیر متفاوت بوده و همین موضوع موجب جداسازی اجزا از یکدیگر و تفاوت در زمان رسیدن آن‌ها به شناساگر خواهد شد. با استفاده از یکی از انواع دتکتورها و به دست آوردن داده‌ها و جمع‌بندی آن‌ها می‌توان ترکیب حاصل را از لحاظ کیفی قضاوت و نسبت به مقدار آن تصمیم‌گیری کرد (۳،۱۵،۱۶)

7. Flame Photometric Detector (FPD)

ترکیب در شعله هیدروژن - هوا سوخته و در صورت دارا بودن گوگرد و هیدروژن فسفروس اکسید (HPO*) در طول موج‌هایی معین ایجاد نوری می‌کنند که این طول موج توسط سلول گذردهنده تک طول موجی جدا شده، توسط شناساگر شناسایی گردید و گزارش می‌شود (۱۴).

جدول ۱- مقایسه دتکتورها از لحاظ حساسیت و دمای لازم در عملکرد

ردیف	Detector	حساسیت (سطح تشخیص مقدار ماده)	انتخابی بودن	دمای عملکرد
۱	FID	۰/۱-۱۰ نانوگرم	مواد دارای پیوندهای C-H	۲۵۰-۴۵۰ درجه سانتی‌گراد
۲	PID	۲۵-۵۰ پیکوگرم در آروماتیک‌ها ۵۰-۲۰۰ پیکوگرم در خطی‌ها	بسته به انرژی لامپ	۲۰۰ درجه سانتی‌گراد
۳	NPD	۱-۱۰ پیکوگرم	ترکیبات دارای نیتروژن و فسفر	۲۵۰-۳۰۰ درجه سانتی‌گراد
۴	ECD	۰/۱-۱۰ پیکوگرم برای هالوژن‌ها ۱-۱۰۰ پیکوگرم برای نیترات‌ها ۰/۱-۱۰ نانوگرم برای هالوژن‌ها	نیترات‌ها، کربونیل‌های مزدوج و هالوژن‌ها	۳۰۰-۴۰۰ درجه سانتی‌گراد
۵	TCD	۵-۲۰ نانوگرم	تمام مواد به جز گازهای حامل (گازهای خنثی)	۱۵۰-۲۵۰ درجه سانتی‌گراد
۶	ELCD	۵-۱۰ پیکوگرم در هالوژن‌ها ۱۰-۲۰ پیکوگرم در گوگرد و نیتروژن	هالوژن‌ها و ترکیبات حاوی گوگرد و نیتروژن (نه به صورت همزمان)	۲۵۰-۴۵۰ درجه سانتی‌گراد
۷	FPD	۱۰-۱۰۰ پیکوگرم برای سولفور ۱-۱۰ پیکوگرم برای فسفر	ترکیبات شامل سولفور و فسفر (نه به صورت همزمان)	۲۵۰-۳۰۰ درجه سانتی‌گراد
۸	MS	۰/۱-۱۰ نانوگرم		۲۵۰-۴۵۰ درجه سانتی‌گراد

نتیجه‌گیری

روش کروماتوگرافی گازی در علوم مختلف مبتنی بر شیمی و ترکیب مواد و حتی در برخی زمینه‌های علوم مهندسی راه و ساختمان (مانند طراحی پلیمرها و نانوذرات برای استحکام بالاتر سازه‌های بتنی) کاربرد

8. Mass Spectrometer (MS)

مولکول ابتدا به موجب بمباران با یون‌های با انرژی بالا و یا گاز، یونیزه شده و سپس با شتابدهی به موجب القای پتانسیل در مسیر یون ایجاد شده به سمت شناساگر پرتاب می‌شود. شدت پرتاب و شتاب‌گیری

اشاره کرد که در عین دقت بالا و توان عالی آن برای جداسازی و شناسایی مواد، برای مواد با عدم توان گازی شدن (مثل موادی که در مسیر تبدیل به فرم بخار و گاز تخریب می‌شوند) انتخابی نبوده و نیازمند انتخاب روشی جایگزین به جای GC خواهیم بود.

ویژه داشته و در علوم پزشکی نیز می‌تواند در زمینه‌های گوناگونی از جداسازی مواد از پلاسما، خالص‌سازی مواد در ترکیبات دارویی، کشف و استخراج و کمی‌سازی مواد جدید شناخته شده، مورد استفاده قرار گیرد اما در آخر باید به این نقطه ضعف این روش

منابع:

1. M. Harold MJ. Miller JM. Snow NH. Basic gas chromatography. John Wiley & Sons; 2019.
2. Wacker L. Fülöp RH. Hajdas I. Molnár M. Rethemeyer J. A novel approach to process carbonate samples for radiocarbon measurements with helium carrier gas. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 2013; 294: 2174-217.
3. Bartle KD. Myers P. History of gas chromatography. Trac Trends Anal Chem 2002; 21(9-10): 547-557.
4. Gibson EK. Moore CB. Inert carrier-gas fusion determination of total nitrogen in rocks and meteorites. Anal Chem 1970; 42(4): 461-464.
5. McWilliam IG. Dewar RA. Flame ionization detector for gas chromatography. Nature 1958; 181(4611): 760.
6. Langhorst ML. Photoionization detector sensitivity of organic compounds. J Chromatographic Sci 1981; 19(2): 98-103.
7. Sun J. Guan F. Cui D. Chen X. Zhang L. Chen J. An improved photoionization detector with a micro gas chromatography column for portable rapid gas chromatography system. Sensors and actuators B: Chemical 2013; 188: 513-518.
8. Burgett CA. Smith DH. Bente HB. The nitrogen-phosphorus detector and its applications in gas chromatography. J Chromatography A 1977; 134(1): 57-64.
9. Kaanta BC. Chen H. Lambertus G. Steinecker WH. Zhdaneev O. Zhang X. High sensitivity micro-thermal conductivity detector for gas chromatography. In 2009 IEEE 22nd International Conference on Micro Electro Mechanical Systems; 2009: 264-267.
10. Goldbaum LR. Chace DH. Lappas NT. Determination of carbon monoxide in blood by gas chromatography using a thermal conductivity detector. J Forensic Sci 1986; 31(1): 133-142.
11. Coulson DM. Electrolytic conductivity detector for gas chromatography. J Chromatographic Sci 1965; 3(4): 134-137.
12. Jones P. Nickless G. Versatile electrolytic conductivity detector for gas chromatography. J Chromatography A 1972; 73(1): 19-28.
13. Coulson DM. Selective detection of nitrogen compounds in electrolytic conductivity gas chromatography. J Chromatographic Sci 1966; 4(8): 285-287.
14. Brody SS. Chaney JE. Flame photometric detector: the application of a specific detector for phosphorus and for sulfur compounds—sensitive to subnanogram quantities. J Chromatographic Sci 1966; 4(2): 42-46.
15. Frysinger GS. Gaines RB. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with mass spectrometric detection (GC× GC/MS) applied to the analysis of petroleum. J High Resolution Chromatography 1999; 22(5): 251-255.
16. Raganathan N. Krock KA. Klawun C. Sasaki TA. Wilkins CL. Gas chromatography with spectroscopic detectors. J Chromatography A 1999; 856(1-2): 349-397.