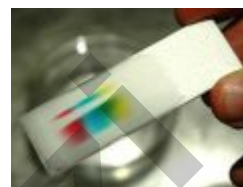


انواع و روش های کروماتوگرافی

PAGE ADDRESS :

[HTTP://WWW.NIAZEMKAZI.COM/ARTICLE/PDF/10004601.HTML](http://www.niazemarkazi.com/article/pdf/10004601.html)



انواع و روش های کروماتوگرافی

یکی از پرکاربردترین روش های جداسازی مواد در آزمایشگاه کروماتوگرافی است و در مواقعی که جداسازی به روش های دیگر ناممکن است به راحتی می توان از این روش استفاده کرد، زیرا اختلافات های جزئی موجود در رفتار اجسام باعث تسهیل جداسازی در جریان عبور آن ها از یک سیستم کروماتوگرافی می شود. این روش بسیار ساده و سریع است به طور مثال آزمایشی که ممکن است با استفاده از روش ستون تقطیر چندین روز به طول بینجامد، می تواند به کمک کروماتوگرافی در عرض زمانی بسیار کوتاه انجام گیرد، وسایل مورد لزوم آن نیز ارزان قیمت است. مزیت دیگر روش های کروماتوگرافی این است که تنها مقدار بسیار کمی از مخلوط برای تجزیه لازم است به این دلیل روش های تجزیه ای مربوط به جداسازی مواد کروماتوگرافی می توانند در مقیاس میکرو و نیمه میکرو انجام گیرند.

کروماتوگرافی لغتی یونانی به معنی رنگ نگاری است که ترکیبی از دو واژه "کروما" به معنی رنگ و "گروفرین" به معنی نوشتن است. در سال ۳۰۹۱ برای اولین بار از این روش جداسازی مواد رنگی استفاده شد که این کار توسط میخائیل سوئت انجام گرفت. اما امروزه از این روش برای جداسازی مواد بی رنگ چون گازها استفاده می شود. اساس کروماتوگرافی، جذب سطحی مواد و توزیع آن ها در دو فاز است. در این روش جداسازی بر اساس حرکت نسبی دو فاز صورت می گیرد بدین ترتیب که یکی از فازها که فاز ساکن نامیده می شود بدون حرکت است و فاز دیگر فاز متحرک نام دارد. با عبور دادن فاز متحرک از داخل فاز ساکن جریانی به وجود می آید، در این حالت اجزای مختلف نمونه سرعت های حرکت مختلف دارند و جداسازی بر اساس همین اختلاف سرعت ها انجام می شود. فاز متحرک می تواند گاز یا مایع و فاز ساکن می تواند جامد یا مایع باشد.

لازم به ذکر است که به علت انرژی جنبشی بالای مولکول های گازی، فاز ساکن را گاز قرار نمی دهند. اگر فاز ساکن جامد باشد، کروماتوگرافی جذب سطحی و اگر فاز ساکن مایع باشد کروماتوگرافی را تقسیمی می نامند. نوع دیگری از نام گذاری روش های کروماتوگرافی بر اساس ماهیت فاز متحرک و ماهیت فاز ساکن انجام می شود. که بدین ترتیب کروماتوگرافی به چهار بخش اصلی طبقه بندی می شود. نامی که در ابتدا آورده می شود بیان کننده ماهیت فاز متحرک و نام دوم بیان کننده ماهیت فاز ساکن است.

● کروماتوگرافی مایع - جامد (LSC)

در این روش جدا شدن بر اساس جذب سطحی یا تشکیل کمپلکس است. کروماتوگرافی LSC در واقع نوعی کروماتوگرافی جذبی است که مواد بر اساس اختلاف در قابلیت جذب خود روی سطح جامد از یکدیگر جدا می شوند. این روش نیز به انواع مختلفی چون کروماتوگرافی جذب سطحی (برای جدا کردن مواد شیمیایی غیر مشابه) ، کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی تبادل یونی و کروماتوگرافی ژلی تقسیم می شود.

● کروماتوگرافی گاز - جامد (GSC)

در این روش نیز اساس جداسازی جذب سطحی فاز گاز روی سطح جامد است که برای خالص سازی گازها اجسام فرار استفاده می شود.

● کروماتوگرافی مایع - مایع (LLC یا HPLC)

به دو گونه تقسیم می شود (برای جدا کردن مواد شیمیایی مشابه) و کاغذی استفاده می شود.

● کروماتوگرافی گاز مایع (GLC یا VPC)

کروماتوگرافی ستون مویین از این نوع است. در LLC و GLC ، مواد بر اساس توزیع بین دو فاز جدا می شوند. برای انتخاب نوع روش کروماتوگرافی ابتدا روش های ساده تر مانند کروماتوگرافی کاغذی و لایه نازک امتحان می شوند و اگر پاسخ گو نباشد به سراغ روش های پیچیده تر مانند روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HELC) می رویم.

حال به توضیح برخی روش های کروماتوگرافی می پردازیم :

■ کروماتوگرافی جذب سطحی

در این نوع کروماتوگرافی جداسازی بر مبنای تفاوت در جذب سطحی اجزای فاز متحرک و فاز ساکن صورت می گیرد. در کروماتوگرافی جذب سطحی، فاز متحرک مایع (حلالی مانند هگزان) و فاز ساکن جامد (مانند آلومین) است بنابراین نوع خاصی از کروماتوگرافی مایع - جامد محسوب می شود.

در این نوع جداسازی حلال (فاز متحرک) با عبور خود از میان ستون جامد (فاز ساکن) اجزای مخلوط را با خود حمل می‌کند. سرعت حرکت هر جزء، به میزان جذب سطحی آن بر روی ماده داخل ستون بستگی دارد. به این ترتیب سرعت ماده ای که کم جذب شده است بیشتر از ماده ای که زیاد جذب شده است خواهد بود و اجزایی که قابلیت جذب بالاتری دارند، در قسمت بالایی ستون و اجسامی که قابلیت جذب کمتر دارند در قسمت های پایین ستون، جذب خواهند شد. حال اگر اختلاف بین جذب های سطحی به حد کافی زیاد باشد، جداسازی مواد کامل انجام خواهد گرفت..

■ کروماتوگرافی لایه نازک

این نوع کروماتوگرافی نمونه ای از کروماتوگرافی جذب سطحی است که در آن، به جای اینکه ستون ها از جاذب پر شوند، آن را به صورت لایه نازک روی یک صفحه شیشه ای یا لایه پلاستیکی یا ورقه فلزی قرار می دهند. سایر اصول جداسازی مانند روش کروماتوگرافی جذب سطحی است.

■ کروماتوگرافی تبادل یونی

در این روش بین فاز متحرک (محلول) و فاز ساکن (جامد) به صورت برگشت پذیر یون مبادله می شود. جامد تشکیل دهنده فاز ساکن رزین نامیده می شود و پایداری مکانیکی و شیمیایی و یکنواختی اندازه ذرات از خصوصیات آن ها است. قالب این رزین ها بر پایه یک بسیار بزرگ (معمولا پلی استیرن) استوار است اما برخی از آن ها متکی بر اسید متا اکریلیک هستند، رزین ها به دو نوع تعویض کننده آنیونی و کاتیونی تقسیم می شوند. هر کدام از این تعویض کننده ها به نوع یازی ضعیف و قوی و اسیدی ضعیف و قوی تقسیم می شوند. می توان این روش را مانند کروماتوگرافی جذبی در نظر گرفت به گونه ای که رزین ها جایگزین جاذب شده باشند. رزین ها باید دارای گروه های مبادله کننده تک عاملی باشند و درجه اتصالات عرضی کنترل شده داشته باشند. گستره اندازه ذرات نیز باید تا آنجا که ممکن است کوچک باشد. با این روش کروماتوگرافی می توان محللول های رقیق را به خوبی جداسازی کرد.

■ کروماتوگرافی ژلی

این نوع کروماتوگرافی برای اولین بار در سال ۴۵۹۱ معرفی و در سال ۹۵۹۱ اصلاح شد. در این روش جداسازی های مبتنی بر الک کردن مولکولی بر روی اجسام بی بار در جریان مهاجرت الکترو اسمزی از داخل ژل ها انجام می شود. بدین ترتیب که جداسازی بر مبنای اندازه های نسبی مولکول ها انجام شده و از اصطلاح صاف کردن به وسیله ژل استفاده می شود. ژل استفاده شده در این روش باید بی اثر و پایدار باشد. فاز ساکن از یک قالب متخلخل تشکیل شده که منافذهای آن به وسیله حلالی که فاز متحرک را تشکیل داده پر شده است. از آنجا که اساس جداسازی بر این است که مولکول های بزرگ تر از حد وارد سوراخ ها نشده و به ترتیب جرم مولکولی از ستون خارج شوند و مولکول های کوچک تر بر حسب شدت نفوذشان سوراخ ها را پر کنند پس اندازه سوراخ بسیار مهم است. همچنین گرانیروی نمونه نیز اهمیت زیادی دارد و نباید از دو برابر گرانیروی شوینده بیشتر باشد. از دیگر عوامل مهم حجم نمونه است بدین ترتیب که هر چه حجم نمونه کمتر باشد، غلظت هر جزء در محللول خارج شده نیز کمتر خواهد بود.

■ کروماتوگرافی تقسیمی

در این روش که نمونه ای از کروماتوگرافی مایع مایع است، شیوه کار بسیار شبیه به کروماتوگرافی جذب سطحی است و تفاوت این دو روش در ماهیت ماده پر شده در ستون است. همچنین حجم ظرفیت یک ستون تقسیمی، غالباً کوچک تر از ظرفیت یک ستون جذب سطحی بوده و گاهی این اختلاف خیلی زیاد است. فاز ثابت لایه ای از محلول است که روی سطح جامد ناصافی مانند سیلیکاژل قرار دارد و فاز متحرک مایعی غیر محلول در مایع اولی است. سرعت حرکت یک جزء از مخلوط تابع انحلال پذیری آن در فاز ساکن است یعنی جدا شدن اجزا بدین صورت است که اجسامی که بیشتر حل می شوند، کندتر از اجسامی که کمتر حل می شوند به طرف پایین ستون حرکت می کنند. در جریان عبور از ستون، اجسام میان دو فاز تقسیم شده و جداسازی انجام می شود. در این روش ابتدا مخلوط اجسام به صورت یک نوار در ستون در می آید که علت آن جذب سطحی یا جذب به وسیله فاز ساکن است. و سپس از روش های دیگری برای جداسازی مواد استفاده می شود.

■ کروماتوگرافی کاغذی

کروماتوگرافی کاغذی نوع خاصی از کروماتوگرافی تقسیمی است که در آن صفحات کاغذی جای ستون پر شده را می گیرند. در این روش فاز ساکن آب است و به وسیله جذب سطحی بر روی مولکول های سلولز قرار می گیرد. مولکول های سلولز نیز به نوبه خود به وسیله ساختار الیافی کاغذ در وضعیت های ثابت نگه داشته می شود. در ابتدا کروماتوگرافی کاغذی برای جداسازی مخلوط های مواد آلی به کار می رفت. اما امروزه برای جداسازی یون های معدنی استفاده می شود. به وسیله این روش هم آنیون ها و هم کاتیون ها را می توان جداسازی کرد.

برای انجام این روش قطره ای از محلول حاوی مخلوطی که باید جدا شود را روی یک صفحه یا نوار کاغذ صافی در محل علامت گذاری شده قرار می دهند. قطره به صورت یک لکه حلقوی در این محل پخش می شود. هنگامی که لکه خشک شده کاغذ را در یک ظرف مناسب سر بسته طوری قرار می دهند که یک سر آن در حلال انتخاب شده به عنوان فاز متحرک فرو رود، حلال از طریق الیاف کاغذ در نتیجه عمل موئینگی نفوذ می کند. پس از گذشت زمان از قبل تعیین شده، وقتی حلال مسافت مناسبی را طی کرد، کاغذ را بیرون آورده و حلال را با علامتی مشخص می کنند. پس از خشک شدن صفحه وقتی محل های مناطق جدا شده آشکار شدند هر یک از اجسام به طور جداگانه شناسایی می شوند. در موارد ایده آل، هر جسم با واکنش گر مکان یاب، رنگ مخصوصی می دهد که در مورد مواد معدنی بیشتر و در مورد مواد آلی کمتر مشاهده می شود. ساده ترین روش شناسایی بر اساس مقدار R_f یعنی نسبت فاصله طی شده به وسیله جبهه حلال است.

از نقایص کروماتوگرافی کاغذی می توان به مواردی چون لکه های چند تایی، دنباله دار شدن و اثرات لبه یا کناره اشاره کرد. این روش در جداسازی مواد با ماهیت زیستی وسیع ترین کاربرد را داشته و در مسائل کلینیکی و زیست شیمیایی، جداسازی اسیدهای آمینه و پپتیدها در بررسی ساختارهای پروتئین به کار گرفته می شود. آزمایش روزمره ادرار و سایر مایعات بدن برای اسید آمینه و قند، جداسازی بازهای پورین و نوکلئوتیدها در آزمایش اسیدهای نوکلئیک، جداسازی استرئیدها، تجزیه عمومی، تجزیه بسیارها، تشخیص و ارزیابی فلزات در خاک ها و نمونه های زمین شناسی، بررسی ترکیبات فنلی در عصاره های گیاهی، جداسازی آلکالوئیدها و جداسازی ترکیبات علامت دار به وسیله رادیو ایزوتوپ ها از دیگر کاربردهای کروماتوگرافی کاغذی است، البته توجه داشته باشید که برای جداسازی مواد فرار غیر فعال مانند هیدروکربن ها و دیگری جداسازی اسیدهای چرب با فراریت بیشتر این روش مناسب نیست.

در این روش که نوعی از کروماتوگرافی گاز مایع محسوب می شود، لوله موئین بلندی وجود دارد که لایه نازکی از فاز ساکن داخل آن را پوشانده است. قدرت جداسازی ستون های موئین پنج برابر ستون های معمولی است و زمان جداسازی مواد در این روش کمتر است. همچنین از یک آشکارساز کوچک و حساس و یک تقسیم کننده خطی تشکیل شده تا عواملی چون تغییرات دما، سرعت عبور، اندازه نمونه و نسبت تقسیم تأثیری بر آن نداشته باشد. از آنجا که سرعت خارج شدن اجزای جدا شده بسیار بالا است، آشکارساز باید زمان پاسخ سریعی داشته باشد. البته ثبات های معمولی پتانسیل سنجی قادر به همگامی با علائم حاصل از آشکارساز نبوده و باید از دستگاه دیگری مانند یک نوسان کننده اشعه کاتد برای نمایش علائم می توان استفاده کرد.

منابع:

ماهنامه تخصصی مهندسی پزشکی (www.iranbmemag.com)

مقاله ای که مشاهده می کنید در این گروه ثبت شده است:

پزشکی

نام ثبت کننده مقاله:

parvaz2006

PAGE ADDRESS :

[HTTP://WWW.NIAZEMARKAZI.COM/ARTICLE/PDF/10004601.HTML](http://www.niazemarkazi.com/article/pdf/10004601.html)

درج مقاله رایگان و تبدیل آنلاین به پی دی اف در سایت نیازمرکزی

رفع مسئولیت :

درج مقاله در سایت نیازمرکزی رایگان است و مسئولیت آن با فرد ثبت کننده مقاله است. کلیه مقالات قبل از تایید از نظر قوانین تعریف شده بررسی می شوند

با وجود این به دلیل ازدیاد مقالات و مطالب امکان تایید صحت مطالب درج شده وجود ندارد شما هم می توانید مقالات خود را منتشر کنید. برای درج مقاله به آدرس سایت نیازمرکزی مراجعه کنید

آگهی رایگان | تبلیغات موثر | نیازمندیها | نیازمرکزی

www.NiazeMarkazi.com