



دانشگاه شاهرود

کروماتوگرافی

(کارشناسی ارشد شیمی تجزیه)

دکتر زرین اسحقى

دکتر ریحانه راهنماکوزانی

دکتر سیدضیاء محمدی مبارکه

دکتر نادر بهرامی فر

امروزه کتاب‌خوانی و علم‌آموزی، نه تنها یک وظیفه‌ی ملی، که یک واجب دینی است.

مقام معظم رهبری

در عصر حاضر یکی از شاخصه‌های ارزیابی رشد، توسعه و پیشرفت فرهنگی هر کشوری میزان تولید کتاب، مطالعه و کتاب‌خوانی مردم آن مرز و بوم است. ایران اسلامی نیز از دیرباز تاکنون با داشتن تمدنی چندهزارساله و مراکز متعدد علمی، فرهنگی، کتابخانه‌های معتبر، علما و دانشمندان بزرگ با آثار ارزشمند تاریخی، سرآمد دولت‌ها و ملت‌های دیگر بوده و در عرصه‌ی فرهنگ و تمدن جهانی به‌سان خورشیدی تابناک همچنان می‌درخشد و با فرزندان نیک‌نهاد خویش هنرنمایی می‌کند. چه کسی است که در دنیا با دانشمندان فرزانه و نام‌آور ایرانی همچون ابوعلی سینا، ابوریحان بیرونی، فارابی، خوارزمی و ... همچنین شاعران برجسته‌ای نظیر فردوسی، سعدی، مولوی، حافظ و ... آشنا نباشد و در مقابل عظمت آنها سر تعظیم فرود نیاورد. تمامی این افتخارات ارزشمند، برگرفته از میزان عشق و علاقه فراوان ملت ما به فراگیری علم و دانش از طریق خواندن و مطالعه منابع و کتاب‌های گوناگون است. به شکرانه‌ی الهی، تاریخ و گذشته ما، همیشه درخشان و پر بار است. ولی اکنون در این زمینه در چه جایگاهی قرار داریم؟ آمار و ارقام ارائه‌شده از سوی مجامع و سازمان‌های فرهنگی در مورد سرانه‌ی مطالعه‌ی هر ایرانی، برایمان چندان امیدوارکننده نمی‌باشد و رهبر معظم انقلاب اسلامی نیز از این وضعیت بارها اظهار گله و ناخشنودی نموده‌اند.

کتاب، دروازه‌ای به سوی گستره‌ی دانش و معرفت است و کتاب خوب، یکی از بهترین ابزارهای کمال بشری است. همه‌ی دستاوردهای بشر در سراسر عمر جهان، تا آنجا که قابل کتابت بوده است، در میان دست‌نوشته‌هایی است که انسان‌ها پدید آورده و می‌آورند. در این مجموعه‌ی بی‌نظیر، تعالیم الهی، درس‌های پیامبران به بشر، و همچنین علوم مختلفی است که سعادت بشر بدون آگاهی از آنها امکان‌پذیر نیست. کسی که با دنیای زیبا و زندگی‌بخش کتاب ارتباط ندارد بی‌شک از مهم‌ترین دستاورد انسانی و نیز از بیشترین معارف الهی و بشری محروم است. با این دیدگاه، به‌روشنی می‌توان ارزش و مفهوم رمزی عمیق در این حقیقت تاریخی را دریافت که اولین خطاب خداوند متعال به پیامبر گرامی اسلام (ص) این است که «بخوان!» و در اولین

سوره‌ای که بر آن فرستاده‌ی عظیم‌الشان خداوند، فرود آمده، نام «قلم» به تجلیل یاد شده‌است: «إِقْرَأْ وَ رَبُّكَ الْأَكْرَمُ. الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ» در اهمیت عنصر کتاب برای تکامل جامعه‌ی انسانی، همین بس که تمامی ادیان آسمانی و رجال بزرگ تاریخ بشری، از طریق کتاب جاودانه مانده‌اند.

دانشگاه پیام‌نور با گستره‌ی جغرافیایی ایران‌شمول خود با هدف آموزش برای همه، همه‌جا و همه‌وقت، به‌عنوان دانشگاهی کتاب‌محور در نظام آموزش عالی کشورمان، افتخار دارد جایگاه اندیشه‌سازی و خردورزی بخش عظیمی از جوانان جویای علم این مرز و بوم باشد. تلاش فراوانی در ایام طولانی فعالیت این دانشگاه انجام پذیرفته تا با بهره‌گیری از تجربه‌های گرانقدر استادان و صاحب‌نظران برجسته کشورمان، کتاب‌ها و منابع آموزشی درسی شاخص و خودآموز تولید شود. در آینده هم، این مهم با هدف ارتقای سطح علمی، روزآمدی و توجه بیشتر به نیازهای مخاطبان دانشگاه پیام‌نور با جدیت ادامه خواهد داشت. به‌طور قطع استفاده از نظرات استادان، صاحب‌نظران و دانشجویان محترم، ما را در انجام این وظیفه‌ی مهم و خطیر یاری‌رسان خواهد بود. پیشاپیش از تمامی عزیزانی که با نقد، تصحیح و پیشنهادهای خود ما را در انجام این وظیفه‌ی خطیر یاری می‌رسانند، سپاسگزاری می‌نماییم. لازم است از تمامی اندیشمندانی که تاکنون دانشگاه پیام‌نور را منزلگاه اندیشه‌سازی خود دانسته و ما را در تولید کتاب و محتوای آموزشی درسی یاری نموده‌اند، صمیمانه قدردانی گردد. موفقیت و بهروزی تمامی دانشجویان و دانش‌پژوهان عزیز آرزوی همیشگی ما است.

دانشگاه پیام‌نور

فهرست مطالب

پیشگفتار.....	پانزده
فصل اول. مفاهیم اساسی و نظری کروماتوگرافی.....	۱
هدف کلی.....	۱
هدف‌های یادگیری.....	۱
مقدمه.....	۱
۱-۱ اساس روش‌های کروماتوگرافی.....	۲
۲-۱ هدف‌های کروماتوگرافی.....	۳
۳-۱ انواع روش‌های کروماتوگرافی.....	۳
۱-۳-۱ کروماتوگرافی مایع - جامد (LSC).....	۴
۱-۳-۱-۱ کروماتوگرافی جذب سطحی.....	۴
۲-۳-۱-۱ کروماتوگرافی لایه نازک.....	۵
۳-۳-۱-۱ کروماتوگرافی تبادل یونی.....	۵
۴-۳-۱-۱ کروماتوگرافی ژلی.....	۵
۲-۳-۱ کروماتوگرافی مایع - مایع (LLC).....	۶
۱-۲-۳-۱ کروماتوگرافی تقسیمی.....	۶
۲-۲-۳-۱ کروماتوگرافی کاغذی.....	۶
۳-۳-۱ کروماتوگرافی گاز- مایع (GLC).....	۷
۱-۳-۳-۱ کروماتوگرافی مویینه.....	۷
۴-۳-۱ کروماتوگرافی گاز- جامد (GSC).....	۷
۵-۳-۱ کروماتوگرافی سیال فوق بحرانی.....	۸
۴-۱ انتخاب روش کروماتوگرافی مناسب.....	۱۰
۵-۱ عوامل مؤثر بر پهنای باند در کروماتوگرافی.....	۱۰
خلاصه فصل اول.....	۲۰
خودآزمایی چهارگزینه‌ای فصل اول.....	۲۱

۲۱	خودآزمایی تشریحی فصل اول
۲۳	فصل دوم. کروماتوگرافی سطح
۲۳	هدف کلی
۲۳	هدف‌های یادگیری
۲۳	مقدمه
۲۵	۱-۲ کروماتوگرافی لایه نازک
۲۵	۲-۲ اصول عملی کروماتوگرافی لایه نازک
۲۵	۲-۲-۱ انتخاب فاز ساکن و شیوه تهیه آن
۲۷	۲-۲-۲ انتخاب فاز متحرک
۲۸	۳-۲-۲ نمونه‌گذاری و شویش
۳۰	۴-۲-۲ آشکارسازی
۳۰	۱-۴-۲-۲ استفاده از خواص نشرلومینسانس آنالیت
۳۰	۲-۴-۲-۲ استفاده از صفحات با خاصیت فلورسانس
۳۰	۳-۴-۲-۲ اسپری کردن صفحات توسط اکسندهای قوی غیراختصاصی
۳۰	۴-۴-۲-۲ اسپری کردن صفحات توسط محلول واکنشگر ویژه
۳۱	۳-۲ مشکلات رایج در کروماتوگرافی لایه نازک
۳۱	۱-۳-۲ حرکت نواری نمونه روی صفحه و یا همپوشانی لکه‌ها
۳۲	۲-۳-۲ حرکت نمونه به‌صورت هلالی با قوس به‌سمت بالا
۳۲	۳-۳-۲ حرکت نمونه به‌صورت هلالی با قوس به‌سمت پایین
۳۲	۴-۳-۲ حرکت بسیار سریع جبهه حلال روی صفحه
۳۲	۵-۳-۲ بروز لکه‌های اضافی زیاد در صفحه
۳۲	۶-۳-۲ عدم مشاهده لکه نمونه
۳۳	۴-۲ کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC)
۳۴	۵-۲ رابطه‌های نظری
۳۴	۱-۵-۲ ضریب تاخیر R_f
۳۵	۲-۵-۲ ضریب بازداری
۳۶	۳-۵-۲ تعداد و ارتفاع بشقابک‌ها
۳۶	۶-۲ کاربردهای کروماتوگرافی لایه نازک
۳۶	۱-۶-۲ آنالیز کیفی
۳۷	۲-۶-۲ اندازه‌گیری کمی
۳۷	۷-۲ کروماتوگرافی کاغذی
۳۸	۸-۲ اصول عملی کروماتوگرافی کاغذی
۳۸	۱-۸-۲ انتخاب فاز متحرک
۳۹	۲-۸-۲ انتخاب کاغذ
۴۰	۳-۸-۲ انتخاب شیوه شویش
۴۰	۱-۳-۸-۲ پایین‌رونده
۴۰	۲-۳-۸-۲ بالا‌رونده
۴۱	۳-۳-۸-۲ شیوه دوبعدی

۴۱	۲-۸-۳-۴ شیوه گسترش مکرر
۴۱	۲-۸-۳-۵ شیوه مدور
۴۲	۲-۸-۳-۶ شیوه افقی
۴۲	۲-۹-۱ نقایص کروماتوگرافی کاغذی
۴۲	۲-۹-۱ لکه‌های چندتایی
۴۳	۲-۹-۲ دنباله‌دار شدن
۴۳	۲-۹-۳ اثرات لبه یا کناره
۴۳	۲-۱۰-۱ کروماتوگرافی کاغذی دوبعدی
۴۴	۲-۱۱-۱ کاربردهای کروماتوگرافی مسطح
۴۵	۲-۱۲-۱ الکتروفورز
۵۰	خلاصه فصل دوم
۵۰	خودآزمایی چهارگزینه‌ای فصل دوم
۵۱	خودآزمایی تشریحی فصل دوم
۵۵	فصل سوم. کروماتوگرافی گازی
۵۵	هدف کلی
۵۵	هدف‌های یادگیری
۵۵	مقدمه
۵۶	۳-۱ پیشرفت تاریخی کروماتوگرافی گازی
۵۸	۳-۲ پیشرفت‌های GC تا دستگاه‌وری امروزی
۶۰	۳-۳ طرح اجزای دستگاه GC
۶۰	۳-۳-۱ تزریق کننده
۶۲	۳-۳-۲ تزریق شکافنده
۶۲	۳-۳-۳ تزریق کننده‌های غیر شکافنده
۶۳	۳-۳-۴ ستون
۶۳	۳-۳-۴-۱ فاز ساکن ستون
۶۶	۳-۳-۴-۲ انتخاب فاز ساکن
۶۷	۳-۳-۴-۳ اثرات انتخاب فاز متحرک و پارامترهای جریان
۶۹	۳-۴-۱ ابعاد ستون و مقادیر شویش
۷۱	۳-۵-۱ دمای ستون
۷۲	۳-۶-۱ آشکارسازها
۷۵	۳-۶-۱-۱ آشکارساز هدایت گرمایی (TCD)
۷۷	۳-۶-۱-۲ آشکارساز یونش شعله‌ای (FID)
۷۸	۳-۶-۱-۳ آشکارساز ربایش الکترون (ECD)
۸۱	۳-۶-۱-۴ آشکارساز هدایت الکترولیتی (ELCD)
۸۲	۳-۶-۱-۵ آشکارساز شعله‌ای نورسنجی گوگرد-فسفر (SP-FPD)
۸۳	۳-۶-۱-۶ آشکارساز نورتایی گوگرد (SCD)
۸۳	۳-۶-۱-۷ آشکارساز نیتروژن - فسفر (NPD)
۸۵	۳-۶-۱-۸ آشکارساز یونش نوری (PID)

۸۶	۳-۶-۹ آشکارساز یونش هلیم (HID).....
۸۶	۳-۶-۱۰ آشکارساز نشراتی (AED).....
۸۷	۳-۷ روش های تلفیقی برخط با کروماتوگرافی گازی.....
۸۷	۳-۸ شاخص های بازداری.....
۸۸	خلاصه فصل سوم.....
۸۹	خودآزمایی چهارگزینه ای فصل سوم.....
۹۰	خودآزمایی تشریحی فصل سوم.....
۹۱	فصل چهارم. کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا.....
۹۱	هدف کلی.....
۹۱	هدف های یادگیری.....
۹۱	مقدمه.....
۹۲	۴-۱ کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا.....
۹۳	۴-۱-۱ ستون و فازهای ساکن HPLC.....
۹۷	۴-۱-۱-۱ ذرات نگه دارنده.....
۹۸	۴-۱-۱-۲ فاز ساکن.....
۹۹	۴-۱-۱-۳ فاز کاپرال برای جداسازی انانتیومرها.....
۱۰۱	۴-۱-۲ اثرات ترکیب فاز متحرک روی جداسازی.....
۱۰۴	۴-۱-۳ دستگاهوری یک دستگاه HPLC.....
۱۰۹	۴-۱-۴ عملکرد و طراحی آشکارسازهای HPLC.....
۱۰۹	۴-۱-۴-۱ آشکارساز ضریب شکست (RI).....
۱۱۰	۴-۱-۴-۲ آشکارساز پخش کننده نور تبخیری (ELSD).....
۱۱۲	۴-۱-۴-۳ آشکارسازهای جذب UV/Vis.....
۱۱۵	۴-۱-۴-۴ آشکارسازهای جذب زیر قرمز.....
۱۱۵	۴-۱-۴-۵ آشکارساز فلورسانس.....
۱۱۷	۴-۱-۴-۶ آشکارسازهای الکتروشیمیایی.....
۱۲۰	۴-۱-۴-۷ آشکارساز هدایت سنجی.....
۱۲۱	۴-۱-۴-۵ مشتق سازی در HPLC.....
۱۲۴	۴-۱-۴-۶ روش های متصل به هم در HPLC.....
۱۲۴	۴-۱-۴-۷ کاربردهای HPLC.....
۱۲۴	۴-۱-۴-۷ تشخیص بیماری ها.....
۱۲۵	۴-۱-۴-۲ در تحقیقات علمی.....
۱۲۵	۴-۱-۴-۳ در صنایع دارویی و غذایی.....
۱۲۵	۴-۲ کروماتوگرافی یون های حل شده در محلول ها.....
۱۲۶	۴-۲-۱ کروماتوگرافی زوج یون.....
۱۲۷	۴-۲-۲ کروماتوگرافی تبادل یون.....
۱۲۸	۴-۲-۲-۱ رزین های تبادل کاتیون.....
۱۲۹	۴-۲-۲-۲ رزین های تبادل آنیون.....
۱۳۱	۴-۲-۳ کروماتوگرافی یونی.....

۱۳۶	۳-۲-۴ کروماتوگرافی یونی تک ستونی.....
۱۳۶	۳-۲-۴ تعیین غیرمستقیم در کروماتوگرافی یونی.....
۱۳۷	۳-۴ کروماتوگرافی میل ترکیبی.....
۱۳۹	۴-۴ کروماتوگرافی اندازه طردی.....
۱۴۳	خلاصه فصل چهارم.....
۱۴۳	خودآزمایی چهارگزینه‌ای فصل چهارم.....
۱۴۴	خودآزمایی تشریحی فصل چهارم.....
۱۴۵	فصل پنجم. کروماتوگرافی تبادل یون.....
۱۴۵	هدف کلی.....
۱۴۵	هدف‌های یادگیری.....
۱۴۵	مقدمه.....
۱۴۶	۵-۱ اصول روش کروماتوگرافی تبادل یون.....
۱۴۹	۵-۲ پرشونده‌های ستون.....
۱۵۴	۵-۳ فازهای متحرک.....
۱۶۰	۵-۴ سایر متغیرهای جداسازی.....
۱۶۱	۵-۵ مراقبت از فاز ساکن.....
۱۶۳	۵-۶ کاربردها.....
۱۶۸	۵-۷ طراحی یک جداسازی تبادل یون.....
۱۶۸	۵-۷-۱ انتخاب ستون.....
۱۶۹	۵-۷-۲ انتخاب فاز متحرک.....
۱۷۰	۵-۷-۳ درجه حرارت.....
۱۷۰	۵-۷-۴ اندازه نمونه.....
۱۷۱	خلاصه فصل پنجم.....
۱۷۱	خودآزمایی چهارگزینه‌ای فصل پنجم.....
۱۷۲	خودآزمایی تشریحی فصل پنجم.....
۱۷۳	فصل ششم. کروماتوگرافی ژلی.....
۱۷۳	هدف کلی.....
۱۷۳	هدف‌های یادگیری.....
۱۷۳	مقدمه.....
۱۷۴	۶-۱ تاریخچه روش.....
۱۷۴	۶-۲ اصول کروماتوگرافی ژلی.....
۱۷۵	۶-۳ نظریه کروماتوگرافی اندازه - طردی.....
۱۷۸	۶-۳-۱ منحنی‌های درجه بندی.....
۱۸۰	۶-۳-۲ ستون‌ها.....
۱۸۱	۶-۴-۱ انتخاب ژل.....
۱۸۲	۶-۴-۲ آماده‌سازی ژل.....

۱۸۲	۳-۴-۶ پرکردن ستون.....
۱۸۳	۴-۴-۶ ابعاد ستون، مقدار نمونه و سرعت جریان.....
۱۸۴	۵-۴-۶ ورود نمونه.....
۱۸۴	۶-۴-۶ کروماتوگرافی ژلی با جریان رو به بالا.....
۱۸۵	۷-۴-۶ بازیابی مواد پرکننده.....
۱۸۵	۸-۴-۶ ذخیره سازی ژل ها.....
۱۸۶	۹-۴-۶ محافظت میکروبی.....
۱۸۷	۱۰-۴-۶ افزایش ارتفاع مؤثر ستون.....
۱۸۸	۵-۶ خصوصیات ژل ها.....
۱۸۹	۱-۵-۶ ژل های دکستران.....
۱۹۰	۲-۵-۶ ژل های پلی اکریل آمید.....
۱۹۱	۳-۵-۶ ژل های هیدروکسی آلکیل متاکریلات.....
۱۹۱	۴-۵-۶ ژل های آگاروز.....
۱۹۱	۵-۵-۶ سایر ژل ها.....
۱۹۱	۱-۵-۵-۶ اولتراژل.....
۱۹۲	۲-۵-۵-۶ ژل های پلی استایرن.....
۱۹۲	۳-۵-۵-۶ ژل های پلی وینیل استات و پلی اتیلن گلیکول.....
۱۹۳	۴-۵-۵-۶ ژل سیلیکای متخلخل و شیشه متخلخل.....
۱۹۳	۶-۶ کاربردهای کروماتوگرافی ژلی.....
۱۹۴	۱-۶-۶ نمک زدایی و جداسازی گروهی.....
۱۹۵	۷-۶ جز به جز کردن مخلوط ها.....
۱۹۷	خلاصه فصل ششم.....
۱۹۷	خودآزمایی چهارگزینه ای فصل ششم.....
۱۹۸	خودآزمایی تشریحی فصل ششم.....
۲۰۱	فصل هفتم. برخی از روش های جدید کروماتوگرافی.....
۲۰۱	هدف کلی.....
۲۰۱	هدف های یادگیری.....
۲۰۱	مقدمه.....
۲۰۲	۱-۷ اهمیت روش های شناسایی در کروماتوگرافی.....
۲۰۳	۲-۷ روش های تلفیقی برخط در کروماتوگرافی.....
۲۰۳	۱-۲-۷ تلفیق طیف سنج جرمی با کروماتوگرافی گازی (GC-MS).....
۲۰۵	۱-۲-۷-۱ حد واسطه های کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی.....
۲۱۰	۲-۲-۷ کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی زیر قرمز GC-IR.....
۲۱۲	۳-۷ تلفیق بر خط طیف سنج جرمی با کروماتوگرافی مایع.....
۲۱۳	۱-۳-۷ مزایای استفاده از کروماتوگرافی مایع - طیف سنج جرمی.....
۲۱۵	۲-۳-۷ اجزای تشکیل دهنده سیستم کروماتوگرافی مایع - طیف سنج جرمی.....
۲۱۶	۳-۳-۷ روش یونش فشار اتمسفری.....
۲۱۷	۱-۳-۳-۷ روش یونش الکتروافشانه ای.....

۲۱۸	۲-۳-۳-۷ روش یونش شیمیایی در فشار اتمسفری
۲۲۰	۳-۳-۳-۷ یونش افشانه حرارتی
۲۲۱	۴-۳-۷ حدواسط‌های تلفیق برخط کروماتوگرافی مایعی-طیف سنج جرمی
۲۲۲	۵-۳-۷ عملکرد در حالت پویش
۲۲۳	۶-۳-۷ عملکرد در حالت پایش یون انتخاب‌شده (SIM)
۲۲۴	۷-۳-۷ سازگاری با روش‌های کروماتوگرافی مایع
۲۲۵	۴-۷ کروماتوگرافی گازی دوبعدی
۲۳۰	۵-۷ کروماتوگرافی یخ
۲۳۱	۶-۷ کاربرد مونولیت‌ها در طراحی ستون‌های کروماتوگرافی
۲۳۳	خلاصه فصل هفتم
۲۳۳	خودآزمایی چهارگزینه‌ای فصل هفتم
۲۳۴	خودآزمایی تشریحی فصل هفتم
۲۳۷	پاسخنامه خودآزمایی‌های چهارگزینه‌ای فصل‌ها
۲۳۹	منابع

پیشگفتار

یکی از پرکاربردترین روش‌های جداسازی مواد، کروماتوگرافی است و در مواردی که جداسازی چند گونه به روش‌های دیگر ناممکن است به راحتی می‌توان از این روش استفاده کرد زیرا اختلاف‌های جزئی در رفتار مواد باعث تسهیل جداسازی در جریان عبور آن‌ها از یک بستر کروماتوگرافی می‌شود. اساس کروماتوگرافی، توزیع آنالیت‌ها در دو فاز است و در این روش، جداسازی براساس حرکت نسبی آنالیت بین دو فاز صورت می‌گیرد. یکی از فازها که فاز ساکن نامیده می‌شود، بدون حرکت است و فاز دیگر فاز متحرک نام دارد. با عبور دادن نمونه همراه با فاز متحرک از میان فاز ساکن، اجزای مختلف نمونه که با سرعت‌های مختلف عبور داده می‌شوند، از یکدیگر جدا می‌شوند. جداسازی براساس همین اختلاف سرعت‌ها صورت می‌گیرد. روش‌های کروماتوگرافی براساس ماهیت فیزیکی فازها، مکانیسم جداسازی و ساختار نمونه‌های مورد ارزیابی و نحوه تعامل نمونه با فازها و همچنین هدف‌های تهیه‌ای یا تجزیه‌ای کروماتوگرافی، به دسته‌های مختلف تقسیم‌بندی می‌شوند.

کتاب حاضر با هدف معرفی اصول و مبانی کروماتوگرافی، انواع روش‌های آن و همچنین کاربردهای این تکنیک نگارش شده است و سعی بر آن شده که شیوه‌های جدید کروماتوگرافی نیز معرفی شوند. این کتاب در هفت فصل مختلف نگارش شده است و ساختار هر فصل شامل آموزش مفاهیم، اساس روش، اجزای دستگاهی، در و صورت لزوم برخی مثال‌های لازم و خودآزمایی در آخر فصل است. آموزش مفاهیم با زبانی ساده بیان شده‌اند و هر فصل به بخش‌هایی تقسیم شده و مثال‌ها و خودآزمایی‌های آخر هر فصل، یکی از قسمت‌های مهم و از نقاط قوت کتاب است. اول هر فصل از کتاب،

هدف‌های یادگیری آورده‌شده که خواننده باید در پایان هر فصل مطمئن شود که به این هدف‌ها دست یافته است. امید است که این اثر بتواند بخشی از نیازهای علمی دانشجویان دوره‌های کارشناسی ارشد و دکتری رشته شیمی گرایش شیمی تجزیه را تأمین کند.

این کتاب توسط گروه مؤلفین، اساتید شیمی دانشگاه پیام نور؛ سرکار خانم دکتر ریحانه راهنما و آقایان دکتر سید ضیا محمدی مبارکه، دکتر نادر بهرامی‌فر و اینجانب تألیف شده‌است. لازم است که از همکار گرامی سرکار خانم دکتر شهلا مظفری جهت ویراستاری علمی دقیق و تخصصی ایشان سپاسگزاری نمایم. ایشان علی‌رغم متن سنگین علمی، شکل‌های متعدد و واژه‌های گاه نامانوس در نهایت صبر و بردباری ویراستاری این کتاب را انجام داده‌اند. از جناب آقای حمید نخعی کارشناس ارشد شیمی تجزیه که در اصلاحات تایپی، گرافیکی، برگردان شکل‌ها و جداول و تنظیم مطالب با نهایت دقت تلاش نموده‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

دانشجویان عزیز و کلیه همکاران محترمی که در این گرایش فعالیت دارند، می‌توانند ما را در غنای کیفی این کتاب که برای توسعه آموزش‌های مهارتی دانشجویان گرایش شیمی تجزیه و به‌خصوص دانشجویان عزیز این گرایش در دانشگاه پیام نور تألیف شده‌است، رهنمون و یاور باشند.

زرین اسحاقی

نماینده گروه مؤلفان

استاد گروه شیمی تجزیه

دانشگاه پیام نور مشهد

فصل اول

مفاهیم اساسی و نظری کروماتوگرافی

هدف کلی

در این فصل، با روش‌های کروماتوگرافی و تقسیم‌بندی آن‌ها و همچنین اصول نظری این روش‌ها آشنا می‌شوید.

هدف‌های یادگیری

پس از مطالعه این فصل باید به آموخته‌های زیر دست یافته باشید و بتوانید:

۱. انواع روش‌های کروماتوگرافی را با ذکر تفاوت هریک شرح دهید.
۲. عوامل مؤثر بر پهنای باندهای کروماتوگرافی را تشریح کنید.
۳. علل تغییرات زمان‌های بازداری مواد مختلف را بیان کنید.
۴. نحوه انتخاب یک روش کروماتوگرافی مناسب را بیان کنید.

مقدمه

کروماتوگرافی لغتی یونانی است، به معنی رنگ‌نگاری، ترکیبی از دو واژه «کروما» به معنی رنگ و «گروفرین» به معنی نوشتن است. در سال ۱۹۰۳، برای اولین بار، این روش برای جداسازی مواد رنگی توسط زیست‌شناس روس میخائیل سویت^۱ استفاده شد. او در اواخر قرن نوزدهم برای جداسازی رنگدانه‌های برگ سبز از یک ستون پرشده با کلسیم کربنات استفاده کرد. اما امروزه از این روش برای جداسازی انواع مواد رنگی و بی‌رنگ

حتی گازها استفاده می‌شود. پس از او، دانشمندان زیادی در توسعه نظری و روش‌های کروماتوگرافی نقش داشته‌اند. از جمله مارتین و سینج^۱ که به‌علت توصیف کروماتوگرافی تقسیمی موفق به اخذ جایزه نوبل در سال ۱۹۵۲، شدند. در همان سال مارتین به‌همراه جیمز^۲ روش کروماتوگرافی گاز-مایع را معرفی کرد. تلاش‌ها و کوشش‌های این دانشمندان باعث شده‌است تا امروزه این روش به‌عنوان یکی از مهم‌ترین روش‌های کروماتوگرافی در تمامی شاخه‌های شیمی و علوم زیستی مطرح شود.

۱-۱ اساس روش‌های کروماتوگرافی

اساس کروماتوگرافی، جذب سطحی مواد و یا توزیع آن‌ها در دو فاز است. کروماتوگرافی روش ساده‌ای برای جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات مختلف است که کاربرد فوق‌العاده‌ای دارد.

کروماتوگرافی بر اصل کلی توزیع فاز بنیان نهاده شده‌است. به‌طور خلاصه، در این روش جریان یک فاز (متحرک) از کنار (یا از داخل) یک فاز ساکن می‌گذرد و در این حال فاز ساکن اجزای آن را به‌طور انتخابی خارج می‌کند. این خروج یک عمل تعادلی است و ملکول‌های اجزاء، دوباره به داخل فاز متحرک برمی‌گردند. هنگامی که ثابت توزیع دو یا چند جزء در این دو فاز با هم متفاوت باشند، قابل جداسازی هستند و از هم تفکیک می‌شوند. به بیان دیگر جداسازی براساس حرکت نسبی دو فاز صورت می‌گیرد بدین ترتیب که یکی از فازها که فاز ساکن نامیده می‌شود بدون حرکت است و فاز دیگر فاز متحرک نام دارد. با عبور دادن فاز متحرک از داخل فاز ساکن جریانی به‌وجود می‌آید، در این حالت اجزای مختلف نمونه سرعت‌های حرکت مختلف دارند و جداسازی براساس همین اختلاف سرعت‌ها انجام می‌شود. فاز متحرک می‌تواند گاز یا مایع و فاز ساکن می‌تواند جامد یا مایع باشد. لازم به ذکر است که به‌علت انرژی جنبشی بالای ملکول‌های گازی، فاز ساکن را گاز قرار نمی‌دهند. اگر فاز ساکن جامد باشد، کروماتوگرافی جذب سطحی و اگر فاز ساکن مایع باشد کروماتوگرافی تقسیمی می‌نامند. اساس جداسازی در کروماتوگرافی می‌تواند متفاوت باشد. جداسازی

1. Martin and Synge

2. James

براساس وزن ملکولی و جداسازی براساس میل اتصال به فاز ثابت نیز از جمله فاکتورهای به کار برده شده در جداسازی مواد هستند.

برای نام گذاری روش های کروماتوگرافی براساس ماهیت فاز متحرک و فاز ساکن ابتدا ماهیت فاز متحرک و بعد ماهیت فاز ساکن ذکر می شود.

کروماتوگرافی یکی از پرکاربردترین روش های جداسازی مواد است و در مواقعی که جداسازی به روش های دیگر ناممکن است به راحتی می توان از این روش استفاده کرد، زیرا اختلاف های جزیی موجود در رفتار اجسام باعث تسهیل جداسازی در جریان عبور از یک سیستم کروماتوگرافی می شود یا اختلاف های جزیی موجود در رفتار در جریان عبور از یک سیستم کروماتوگرافی چندین برابر می شود. هر قدر این اختلاف بیشتر شود قدرت جداسازی مواد بیشتر و برای انجام جداسازی مواد نیاز کمتری به وجود اختلاف های دیگر خواهد بود.

این روش بسیار ساده و سریع است، 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 بر پایه کروماتوگرافی می توانند، در مقیاس میکرو و نیمه میکرو انجام شوند.

۱-۲ هدف های کروماتوگرافی

کروماتوگرافی دو هدف عمده را دنبال می کند:

الف) کروماتوگرافی تجزیه ای. که در آن تعیین ترکیب شیمیایی نمونه مورد انتظار است.

ب) کروماتوگرافی تهیه ای. هدف آن پاک سازی و جمع آوری یک یا چند جزء از اجزای نمونه است.

۱-۳ انواع روش های کروماتوگرافی

همان گونه که ذکر شد، فاز متحرک ممکن است گاز یا مایع و فاز ساکن ممکن است جامد یا مایع باشد. بدین ترتیب فرایند کروماتوگرافی به چهار بخش اصلی تقسیم می شود. هر یک از چهار نوع اصلی کروماتوگرافی انواع مختلف دارد:

۱. کروماتوگرافی مایع - جامد
 - کروماتوگرافی جذب سطحی
 - کروماتوگرافی لایه نازک
 - کروماتوگرافی تبادل یونی
 - کروماتوگرافی ژلی
 ۲. کروماتوگرافی گاز - جامد
 ۳. کروماتوگرافی مایع - مایع
 - کروماتوگرافی تقسیمی
 - کروماتوگرافی کاغذی
 ۴. کروماتوگرافی گاز - مایع
 - کروماتوگرافی ستون موئین
- امروزه، علاوه بر این چهار نوع اصلی کروماتوگرافی از کروماتوگرافی سیال فوق بحرانی^۱ (SFC) هم استفاده می شود. در ادامه این روش ها به طور اجمالی معرفی می شوند و بررسی های بیشتر در فصل های آینده انجام می شود.

۱-۳-۱ کروماتوگرافی مایع - جامد (LSC)

در این روش، جداسازی براساس جذب سطحی یا تشکیل کمپلکس است. کروماتوگرافی LSC در واقع نوعی کروماتوگرافی جذبی است که مواد براساس اختلاف در قابلیت جذب خود روی سطح جامد از یکدیگر جدا می شوند. این روش نیز به انواع مختلفی چون کروماتوگرافی جذب سطحی، کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی تبادل یونی و کروماتوگرافی ژلی تقسیم می شود (کلنر و دیگران، ۲۰۰۴: ۳۶).

۱-۱-۳-۱ 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 روی ماده داخل ستون بستگی دارد.

۱-۳-۲ کروماتوگرافی لایه نازک

کروماتوگرافی لایه نازک نیز نمونه‌ای از کروماتوگرافی جذب سطحی است که در آن، به جای اینکه ستون‌ها از جاذب پر شوند، آن را به صورت لایه نازک روی یک صفحه شیشه‌ای یا لایه پلاستیکی یا ورقه فلزی قرار می‌دهند. سایر اصول جداسازی مانند روش کروماتوگرافی جذب سطحی است.

۱-۳-۳ کروماتوگرافی تبادل یونی

در روش کروماتوگرافی تبادل یونی بین فاز متحرک (محللول) و فاز ساکن (جامد) به صورت برگشت پذیر، یون مبادله می‌شود. جامد تشکیل دهنده فاز ساکن معمولاً یک رزین است و پایداری مکانیکی و شیمیایی و یکنواختی اندازه ذرات از خصوصیات این نوع فاز ساکن است. ساختار این رزین‌ها بر پایه یک بسپار بزرگ (معمولاً پلی استیرن) استوار است، اما برخی از آن‌ها متکی بر متا اکریلیک اسید هستند. رزین‌ها به دو نوع تعویض کننده آنیونی و کاتیونی تقسیم می‌شوند. هر کدام از این تعویض کننده‌ها به نوع بازی ضعیف و قوی و اسیدی ضعیف و قوی تقسیم می‌شوند. رزین‌ها باید دارای گروه‌های مبادله کننده تک عاملی بوده و میزان اتصالات عرضی کنترل شده داشته باشند. گستره اندازه ذرات نیز باید تا آنجا که ممکن است کوچک باشد (حداد و جکسون، ۱۹۹۵: ۱۲۷).

۱-۳-۴ کروماتوگرافی ژلی

کروماتوگرافی ژلی برای اولین بار در سال ۱۹۵۴، معرفی و در سال ۱۹۵۹، اصلاح شد. در این روش، جداسازی مبتنی بر الک کردن ملکولی و عبور ملکول‌های بزرگ از داخل ژل‌ها انجام می‌شود. بدین ترتیب که جداسازی بر مبنای اندازه‌های نسبی ملکول‌ها انجام شده و از اصطلاح صافی ژلی استفاده می‌شود. ژل استفاده شده در این روش باید بی‌اثر و پایدار باشد. فاز ساکن از یک قالب متخلخل تشکیل شده که منفذهای آن به وسیله فاز متحرک پر شده است. از آنجا که اساس جداسازی بر این است که

ملکول‌های بزرگ‌تر از حد وارد سوراخ‌ها نشده و به ترتیب جرم ملکولی از ستون خارج شوند و ملکول‌های کوچک‌تر بر حسب شدت نفوذشان وارد منافذ شوند. بنابراین، اندازه منفذ بسیار مهم است. همچنین گرانروی نمونه نیز اهمیت زیادی دارد و نباید از دو برابر گرانروی شوینده بیشتر باشد. از دیگر عوامل مهم حجم نمونه است. بدین ترتیب که هر چه حجم نمونه کمتر باشد، غلظت آن جزء در محلول خارج شده نیز کمتر خواهد بود (هانت و هولدینگ، ۱۹۹۸: ۳۲).

۱-۳-۲ کروماتوگرافی مایع - مایع (LLC)

کروماتوگرافی مایع - مایع (LLC) به دو گونه تقسیمی (برای جداکردن مواد شیمیایی مشابه) و کاغذی تقسیم می‌شود.

۱-۲-۳-۱ کروماتوگرافی تقسیمی

در کروماتوگرافی تقسیمی که نمونه‌ای از کروماتوگرافی مایع-مایع است، شیوه کار بسیار شبیه به کروماتوگرافی جذب سطحی است و تفاوت این دو روش در ماهیت ماده پرشده در ستون است. همچنین حجم و ظرفیت یک ستون کروماتوگرافی تقسیمی، غالباً کمتر از ظرفیت یک ستون جذب سطحی بوده و گاهی این اختلاف خیلی زیاد است. فاز ساکن لایه‌ای از مایع است که روی سطح جامد ناصافی مانند سیلیکاژل قرار دارد و فاز متحرک مایعی غیرقابل امتزاج در مایع اولی است. سرعت حرکت یک جزء از مخلوط تابع انحلال‌پذیری آن در فاز ساکن است، یعنی جداشدن اجزا بدین صورت است که اجسامی که بیشتر با فاز ساکن برهمکنش دارند، کندتر از اجسامی که با فاز ساکن برهمکنش کمتری دارند به طرف انتهای ستون حرکت می‌کنند.

۱-۳-۲-۲ کروماتوگرافی کاغذی

کروماتوگرافی کاغذی نوع خاصی از کروماتوگرافی تقسیمی است که از بسترهای مسطح استفاده می‌شود و در آن صفحات کاغذی جای ستون پرشده را می‌گیرند. در این روش فاز ساکن آب است و به وسیله جذب سطحی بر روی ملکول‌های سلولز قرار می‌گیرد. ملکول‌های سلولز نیز به نوبه خود به وسیله ساختار الیافی کاغذ در وضعیت‌های ثابت نگه داشته می‌شود. به وسیله این روش مخلوط‌های مواد آلی، آنیون‌ها

و همچنین کاتیون‌ها را می‌توان جداسازی کرد. این روش در جداسازی مواد با ماهیت زیستی وسیع‌ترین کاربرد را داشته و در مسایل پزشکی و زیست شیمیایی، جداسازی اسیدهای آمینه و پپتیدها در بررسی ساختارهای پروتئینی به کار گرفته می‌شود. البته برای جداسازی مواد فرار و غیرفعال مانند هیدروکربن‌ها و جداسازی اسیدهای چرب با فراریت بالا این روش مناسب نیست.

۱-۳-۳ کروماتوگرافی گاز- مایع (GLC)

کروماتوگرافی گازی با استفاده از ستون مویینه مهم‌ترین نوع کروماتوگرافی گازی است. در GLC، مواد براساس میزان وابستگی به فاز ساکن جدا می‌شوند. فاز متحرک در جداسازی نقش ندارد و فقط یک گاز بی‌اثر است که در ستون نمونه را انتقال می‌دهد و به‌همین دلیل به آن گاز حامل می‌گویند.

۱-۳-۳-۱ کروماتوگرافی مویینه

در روش کروماتوگرافی مویینه که نوعی از کروماتوگرافی گاز- مایع محسوب می‌شود، لوله مویین بلندی وجود دارد که لایه نازکی از فاز ساکن داخل آن را پوشانده است. قدرت جداسازی ستون‌های مویینه پنج برابر ستون‌های معمولی است و زمان جداسازی مواد در این روش کمتر است. همچنین از یک آشکارساز کوچک و حساس و یک تقسیم‌کننده 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.

۱-۳-۴ کروماتوگرافی گاز- جامد (GSC)

در این روش، فاز ساکن یک جاذب جامد است و فرایند جذب سطحی نقش اصلی را بازی می‌کند. نمونه‌هایی که فرار بوده و در شرایط عملکردی دما، پایدار می‌باشند، از طریق منطقه تزریق به دستگاه ارائه می‌شوند. جریان پیوسته‌ای از گاز، مواد را از درون ستون شسته و آن‌ها بر حسب افزایش نسبت توزیع بین دو فاز ساکن و متحرک آشکارسازی می‌شوند. جاذب‌های جامد مورد استفاده در این روش مانند سیلیکا و آلومینا، جزو قطبی‌ترین فازهای ساکن محسوب می‌شوند. در این روش معمولاً از