مهسا مقراضی نوبر، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات
شهرزاد فتح اللهی پور، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات
مهندس سامان پروانه، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

کروماتوگرافی
روشی برای جداسازی مواد

جداسازی مواد مختلف از یکدیگر در آزمایشگاه‌های شیمی و به ویژه بیوشیمی همواره یکی از دغدغه های مهم پژوهشگران بوده است. امروزه کروماتوگرافی به عنوان یکی از پر کاربردترین روش های جداسازی و تخلیص مواد مورد نظر، از میان اجزای بی شمار یک نمونه شناخته شده است. فرایند کروماتوگرافی روشی است برای جداسازی اجزای یک مخلوط، به وسیله پخش این اجزا در بین فازهای متحرک و ساکن، در طول زمان. عبارت کروماتوگرافی از دو واژه کروما، به معنای «رنگ» و گرافین به معنی «نوشتن» گرفته شده است.

از مزایای این روش می توان به کوتاهی زمان جداسازی و هزینه پایین اشاره کرد. همچنین، مقدار نمونه لازم برای جداسازی در این فرایند، در مقایسه با سایر روش ها کمتر است. این روش برای نخستین بار در سال ۱۹۰۳، توسط میخائیل سوئت، به منظور جداسازی رنگدانه های گیاهی درون یک ستون آهکی مورد استفاده قرار گرفت و در طول سال های ۱۹۳۷ تا ۱۹۷۲ پیشرفت چشمگیری داشت؛ به گونه ای که توسعه روش های آن در سال ۱۹۵۴، جایزه نوبل را برای مارتین و سینگ به ارمغان آورد.

کروماتوگرافی در واقع روشی فیزیکی به منظور جداسازی است، که در آن مواد مورد نظر برای تفکیک ، محیطی بی حرکت پخش می شوند. این فاز بی حرکت، به «فاز ساکن» معروف است؛ در حالیکه فاز دیگر، یعنی «فاز متحرک»، در امتداد یک مسیر معین جاری می شود. فاز متحرک، در واقع همان حلال و فاز ساکن شامل ستون هایی حاوی ماده مورد تجزیه است. فرایند کروماتوگرافی در اثر اختلاف میان ضریب های پخش هر یک از اجزای نمونه در میان این دو فاز اتفاق می افتد.

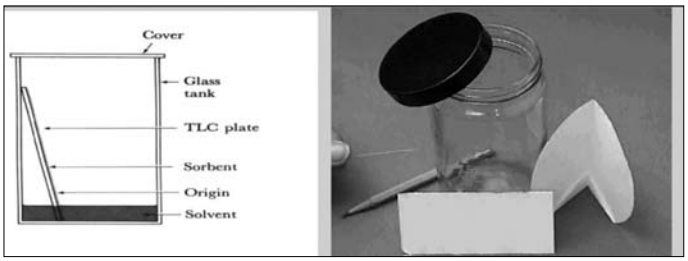
دسته بندی روش های کروماتوگرافی

روش های مختلف کروماتوگرافی از جنبه های مختلف دسته بندی می شوند. در یکی از این تقسیم بندی ها روش های کروماتوگرافی بر مبنای نوع مادهٔ تشکیل دهنده فازهای ساکن و متحرک در چهار دسته مجزا قرار می گیرند. به گونه ای که جزء اول نام روش، نمایان گر نوع فاز متحرک و جزء دوم آن نماینده فاز ساکن است. این چهار دسته عبارتند از:

۱-کروماتوگرافی مایع- جامد (LSC): که خود شامل چهار روش کروماتوگرافی جذب سطحی، لایه نازک، تبادل یونی و ژلی است

۲-کروماتوگرافی مایع- مایع (LLC): روش های کروماتوگرافی کاغذی و تقسیمی در این بخش قرار می گیرند.

۳-کروماتوگرافی گاز- جامد (GSC): از این روش برای خالص سازی گازهای فرار استفاده می شود.



الف) ب)

شکل ۱) الف) وسایل لازم برای کروماتوگرافی لایه نازک
ب) نحوه قرارگیری اجزا درون ظرف

۴-کروماتوگرافی گاز-مایع (GLC): انواع روش های کروماتوگرافی ستونی در این دسته قرار می گیرند.

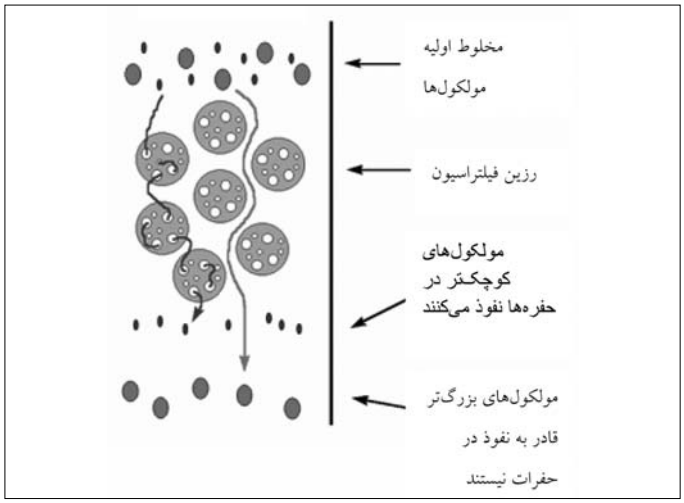
در ادامه به توضیح هر یک از روش های ذکر شده می پردازیم:

کروماتوگرافی جذب سطحی

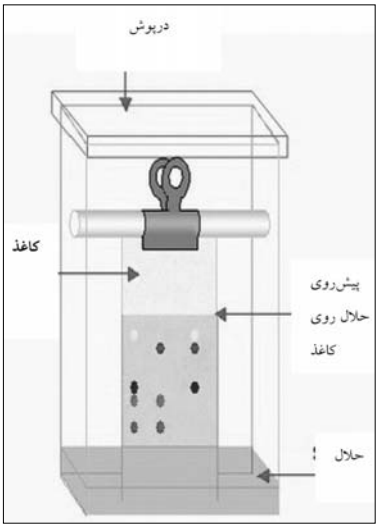
در این نوع کروماتوگرافی که عمدتا برای ترکیبات قطبی و غیر یونی مطرح می شود، جداسازی بر مبنای اختلاف میزان جذب سطحی مواد مختلف در فازهای ساکن و متحرک، صورت می پذیرد. متداول ترین موادی که به عنوان جاذب سطحی (فاز ساکن)، استفاده می شوند ژل های آلومینا و سیلیکا هستند و فاز متحرک نیز حلالی مانند هگزان است. برهم کنش فاز ساکن و مولکول های حل شونده به دلیل حضور گروه های هیدروکسیل روی سطح جاذب صورت می گیرد. مولکول هایی قطبی تر، بیشتر جذب شده و در نتیجه کند تر شسته می شوند و همین موضوع مبنای تفکیک اجزای نمونه خواهد بود.

کروماتوگرافی لایه نازک

در این روش، فاز ساکن لایهٔ نازکی از جاذبی سطحی (عموما ژل سیلیکا یا آلومینا) است که بر روی صفحه ای نازک کشیده شده است و فاز متحرک، عبارت است از مایع ظهور که در مسیر حرکت خود از میان فاز ساکن نمونه را نیز حمل می کند. اجزای نمونه، بر اساس میزان جذب در فاز ساکن و میزان انحلال پذیری در فاز متحرک جداسازی می شوند.



شکل ۲)
مکانیزم جداسازی در روش کروماتوگرافی ژلی



شکل ۳)
کروماتوگرافی کاغذی

کروماتوگرافی تبادل یونی

در این روش، یون های یک محلول الکترولیت (فاز متحرک)، به عنوان فاز ساکن با رزین مبادله کننده یونی در تماس قرار می گیرند. رزین، یک پلیمر انحلال ناپذیر، شامل شبکه‌ای حامل یون های ثابت و متحرک (فعال) است. یون های متحرک رزین، با پیوندی ضعیف به شبکه متصل هستند. رزین ها به دو گروه کاتیونی و آنیونی تقسیم می شوند. در محیط آبی، یون های متحرک داخل شبکه کم وبیش به صورت آزادانه حرکت می کنند و یون های موجود در محلول الکترولیت جایگزین آن ها می شوند. مکانیزم جداسازی در کروماتوگرافی تبادل یونی همانند روش جذب سطحی است، با این تفاوت که در این روش به جای ژل های آلومینا یا سیلیکا، از رزین کروماتوگرافی استفاده می شود.

کروماتوگرافی ژلی

فاز ساکن در این روش، به صورت فضای پلیمری متخلخلی شامل ذرات اسفنجی است. حفره های این فضای پلیمری کاملا با ژلی به عنوان فاز متحرک، پوشش داده شده اند. عمل تفکیک بر مبنای قطر حفره ها صورت می گیرد. به عبارت دیگر، بر خلاف مولکول های کوچک، مولکول هایی که ابعادشان از حدی مشخص بیشتر باشد قادر به نفوذ در ژل نیستند؛ نتیجه این فرایند غربال گری، جداسازی مولکول ها خواهد بود.

کروماتوگرافی کاغذی

در این روش، از کاغذ صافی به عنوان تکیه گاهی ثابت برای نمونه استفاده می شود. در کروماتوگرافی کاغذی، فاز ساکن معمولا آب است که جذب فیبر های سلولز موجود در کاغذ می شود. فاز متحرک، شامل حلالی آلی است که از نمونه موجود بر روی کاغذ عبور می کند. جداسازی اجزای مخلوط از یکدیگر به ضریب تفکیک آن ها در حلال بستگی دارد.

کروماتوگرافی تقسیمی

این روش، شامل تکیه گاهی ثابت از جنس سلولز یا سیلیکا است که توسط لایه مایعی به عنوان فاز ساکن پوشش داده می شود. فاز متحرک نیز می تواند هر مایع انحلال ناپذیری در فاز ساکن باشد. جداسازی اجزای نمونه بر مبنای سرعت حرکت آن ها در فاز ساکن صورت می پذیرد؛ که از این جهت بسیار شبیه کروماتوگرافی جذب سطحی است.

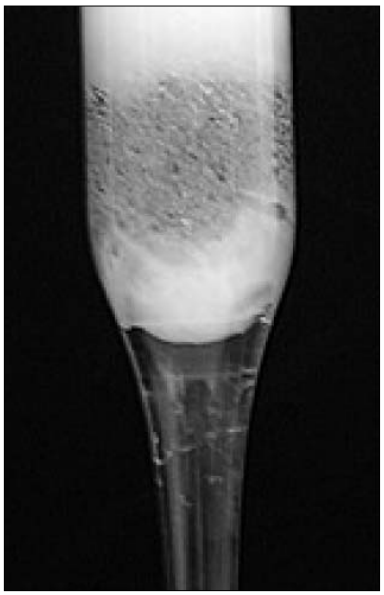
کروماتوگرافی گاز- جامد

این روش عمدتا برای جداسازی اجزای مخلوط های گازی به کار می رود.

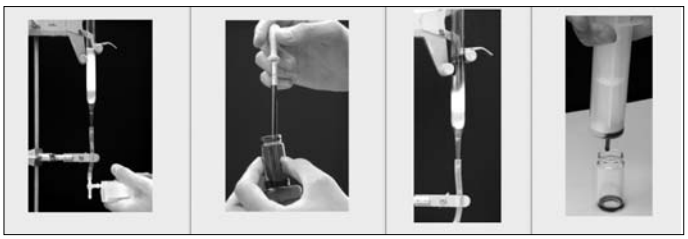
کروماتوگرافی ستونی

در این روش نیز، فاز ساکن از جنس سیلیکا یا آلومینا است که با حلال مورد استفاده به عنوان فاز متحرک ترکیب می شود تا محلول آبکی سفید رنگی حاصل شود. میزان کشش عناصر مختلف موجود در داخل نمونه در فازهای ساکن و متحرک، متفاوت بوده و در نتیجه، این عناصر در زمان های متفاوتی از فاز ساکن خارج می شوند. موادی با قطبیت بالا در نمونه بیشتر تحت کشش سطحی فاز ساکن قرار گرفته و به آرامی از ستون شسته می شوند. در مقابل، موادی که قطبیت آن ها در نمونه کمتر است، کمتر تحت تاثیر کشش سطحی از سوی فاز ساکن قرار گرفته و سریعا توسط فاز متحرک، در میان ستون به جلو رانده می شوند.

در ابتدا دهانه ستون را با لایه ای نازک از ماسه (جهت ایجاد بستری یکنواخت برای فاز ساکن)، که بین دو لایه از جنس پشم شیشه (به منظور جلوگیری از آلوده شدن محصولات) قرار گرفته پوشش داده، سپس فاز ساکن را درون آن می ریزیم. از آن جائیکه ژل های آلومینا و سیلیکا کاملا غلیظ و چگال هستند، اگر نیروی گرانش تنها نیروی کششی فاز متحرک در میان ژل باشد، پیشرفت فرایند بسیار کند خواهد بود. به منظور تسریع آن، می توان از اعمال گازی با فشار بالا در قسمت فوقانی ستون، و یا ایجاد خلاء در قسمت انتهایی آن (بوسیله سرنگ) استفاده کرد. این روش کروماتوگرافی ستونی آنی نامیده می شود.



شکل ٤)
لایه ماسه و پشم شیشه
در انتهای پایینی ستون



شکل ۵) کروماتوگرافی ستونی که بر خلاف کروماتوگرافی کاغذی، فرایندی پیچیده است

برخی کاربردهای کروماتوگرافی

همان‌گونه که پیش‌تر ذکر شد، استفاده از کروماتوگرافی در بسیاری از زمینه های زندگی، از جداسازی آلاینده های محیطی گرفته تا شناسایی گیاهان دارویی و داروسازی کاربرد گسترده‌ای دارد. به‌علاوه استفاده از این روش در اکثر آزمایشگاه های شیمی و بیوشیمی امری کاملا متداول است. از میان کاربردهای گسترده آزمایشگاهی این روش می توان به موارد زیر اشاره کرد:

● تعیین وزن مولکولی پروتئین ها و پلی ساکاریدها، نمک زدایی از مواد کلوئیدی، جداسازی اسیدهای آمینه از پپتیدها و پروتئین ها، تفکیک میوگلوبین و هموگلوبین و خالص سازی آنزیم ها که به روش کروماتوگرافی ژلی انجام می شوند.

● نرم کردن آب و زدودن مواد معدنی از آن، خنثی سازی اسیدیته مواد و تفکیک الکترولیت‌ها از غیر الکترولیت ها، که همگی از طریق کروماتوگرافی تبادل یونی انجام پذیر هستند ◀

منابع

[1]http://teaching.shu.ac.uk

[2]http://www.chem.ubc.ca

[3]www.pharmacybd.com

[4]http://faculty.ksu.edu.sa

منتشر شد

کتاب مجموعه قوانین، مقررات و ضوابط تجهیزات پزشکی

▲ کلیه قوانین ومقررات کشوری مربوط به تجهیزات پزشکی

▲ آیین نامه ها و دستورالعمل ها

▲ مصوبات و تفاهم نامه‌های همکاری در رابطه با تجهیزات پزشکی

مطالعه این کتاب به همه کسانی که در امر تجهیزات پزشکی فعالیت می‌کنند اعم از ادارات، دانشگاه‌ها بیمارستان‌ها، تولیدکنندگان، بازرگانان و مسؤولان خرید اکیدا توصیه می‌شود.

با تهیه این کتاب کامل ترین مجموعه قوانین تجهیزات پزشکی کشور را در اختیار خواهید داشت.

دفتر توزیع: ۸۸۰۲۶۱۳۲ فاکس: داخلی ۱۱۱ info@iranbmemag.com