



یک سده با کروماتوگرافی



نوشته: حسین سالار آملی* و
زین العابدین بشیری صدر*

چکیده

کروماتوگرافی یکی از روش‌های ارزشمند و پر کاربرد در جداسازی اجزای مخلوط‌ها، در شیمی، داروسازی، زیست فناوری و ... به شمار می‌رود. نام این روش، برگرفته از یک واژه یونانی است که نخستین بار توسط پژوهشگری به نام تسوت به کار گرفته شد. در این نوشتار، به مهم‌ترین دستاوردهای این روش و پژوهشگرانی که در پیشرفت آن نقشی اساسی داشته‌اند، اشاره می‌شود.

واژه‌های کلیدی

کروماتوگرافی ستونی، کروماتوگرافی مبادله‌ی یونی، کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی لایه‌ی نازک، کروماتوگرافی غریبال مولکولی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، GC/MS، GC/FTIR، GC/IR، HPLC/MS، کروماتوگرافی با ستون میکرو، الکتروکروماتوگرافی موئین

آغاز سخن

را به پایان رسانده بود و در آزمایشگاه گیاه‌شناسی شهر سن پترزبورگ به پژوهش می‌پرداخت مقاله‌ی مهم خود را در سال

واژه‌ی کروماتوگرافی که ریشه‌ای یونانی دارد، برای نخستین بار توسط تسوت^۱ به کار رفت. او که در سوییس تحصیلات خود



۱۹۰۳ ارابه داد [۱-۲]. پس از چندی، پژوهشگران به اهمیت یافته‌های او پی بردند و به این ترتیب رشد چشم‌گیری روش کروماتوگرافی را فرا گرفت.

کروماتوگرافی در ۱۲ طرح پژوهشی که موفق به دریافت جایزه‌ی نوبل شده‌اند نقش کلیدی داشته است. چنان‌که، تیزلیوس^۲ به خاطر پژوهش‌های گسترده روی «تجزیه به وسیله‌ی جذب و الکتروفورز»، به عنوان نخستین کسی شناخته می‌شود که با استفاده از روش یاد شده، جایزه‌ی نوبل شیمی در سال ۱۹۴۸ را از آن خود کرد. مارتین و سینج^۳ نیز در سال ۱۹۵۲ برای بار دوم به کمک این روش به خاطر پژوهش‌هایی درباره‌ی «کروماتوگرافی گازی از طریق پخش» برنده‌ی جایزه‌ی نوبل شیمی شناخته شدند [۳].

بسیاری از پژوهشگران بر این باورند که حرکت محلول‌ها در خاک و جذب مواد معدنی توسط گیاهان، پدیده‌ی کروماتوگرافی را در طبیعت به نمایش می‌گذارد. به هر حال، کروماتوگرافی عبارت از جداسازی اجزای مخلوطی از ترکیب‌ها با استفاده از دو فاز است. یکی از فازها ثابت است و دیگری که حالت مایع یا گاز دارد فاز متحرک نامیده می‌شود [۴].

روشن نیست که چرا در نشریه‌های علمی دهه‌ی ۲۰ میلادی، از کروماتوگرافی سخنی به میان نیامده است. در همان سال‌ها، یک پژوهشگر آمریکایی به نام پالمر^۴، در این زمینه فعالیت می‌کرد. او در نخستین مقاله‌ی خود جداسازی دانه‌های رنگی شامل کاروتنوئیدها، گزانتوفیل‌ها و کلروفیل را گزارش داد [۵].

در دهه‌ی ۴۰، گروه پژوهشی مارتین کروماتوگرافی کاغذی را معرفی کرده، گسترش داد [۶]. آرن ویلهلم کورین تیزلیوس در این دوران اصول و فرمول‌های گوناگون کروماتوگرافی را ارائه کرد و فعالیت‌های او به بهبود روش کروماتوگرافی انجامید. دهه‌ی ۵۰ را می‌توان دهه‌ی پیشرفت کروماتوگرافی گازی به شمار آورد. در این دهه، جیمز و مارتین^۵ برای نخستین بار به طور کامل کروماتوگرافی مایع-گاز را شرح دادند که در آن مولکول‌های نمونه، چه فرار و چه نیم‌فرار توسط فاز متحرک یعنی گاز حمل می‌شدند [۷]. در این روش، از بسپارهای مایع که روی پایه‌ای خنثی پوشش داده شده بود، به عنوان فاز ثابت استفاده می‌شد.

سرعت عبور هر جزء از نمونه که با فاز متحرک حرکت می‌کند، به مقدار جاذبه‌ی میان آن جزء با فاز ثابت بستگی دارد. در سال ۱۹۵۲، ارابه‌ی این روش جایزه‌ی نوبل را از آن مارتین و سینج کرد. در سال ۱۹۵۵، نخستین دستگاه کروماتوگرافی مایع-گاز تجاری توسط شرکت پرکین المر ساخته شد و به بازار راه یافت. وان دیمتر^۶ بحث نظری درباره‌ی این روش را در سال ۱۹۵۶ ارابه داد [۸].

در نیمه‌ی دوم دهه‌ی ۶۰، با بهره‌گیری از پژوهش‌های نظری گیدینگز^۷ و کارهای عملی هوروات^۸ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا شکل گرفت. به این ترتیب، بسیاری از مشکلات موجود در کروماتوگرافی مایع کلاسیک، مانند کندی انتقال جرم میان دو فاز متحرک و ثابت برطرف شد. هوروات و همکارانش در سال ۱۹۶۷ موفق به ساخت نخستین سامانه‌ی کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا شدند. چندی نگذشت که این روش کاربرد گسترده‌ای در تجزیه‌ی دارویی، آلاینده‌های زیست‌محیطی و عنصرهای کمیاب یافت. چنان‌که با توجه به مراجع علمی، رشد این نوع از روش یاد شده سریع‌تر از انواع دیگر آن بوده است.

در اواخر این دهه، کروماتوگرافی خشک ستونی^۹ شناخته شد. از جمله برتری‌هایی که برای این روش برشمرده شد، هزینه‌ی کم، نیاز به زمان کوتاه برای جداسازی و سادگی آن بود [۹]. در این روش، برخلاف کروماتوگرافی ستونی، شست‌وشوی ترکیب‌ها در ستون انجام نمی‌گیرد. به این ترتیب که، پس از وارد شدن نمونه از بالای ستون، اندکی حلال، تنها در حد پر کردن فضای میان ذره‌های فاز ثابت به ستون افزوده می‌شود. سپس با مکش جداسازی انجام می‌شود. در این نوع کروماتوگرافی، سیلیس یا آلومینا به عنوان فاز ثابت کاربرد دارند. اگر جنس ستون از نایلون

باشد، در پایان کار می‌توان با برش دادن ستون، لایه‌های گوناگونی را که تشکیل شده است، از یک‌دیگر جدا کرد.

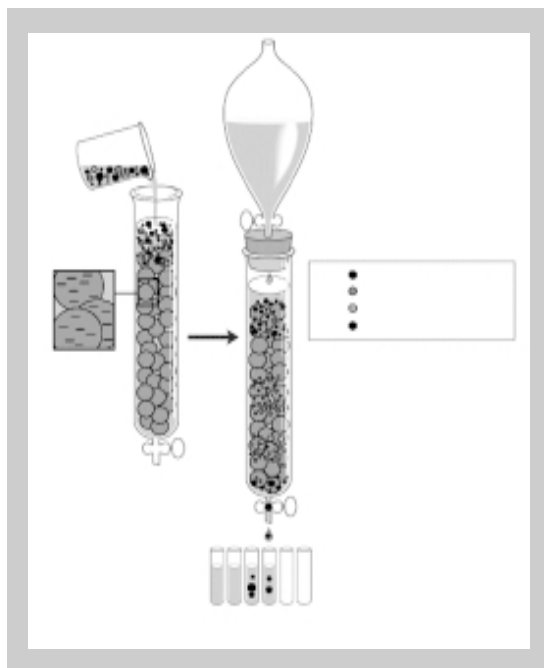


بازار شد. هم‌چنین نخستین مقاله‌ی علمی کروماتوگرافی مبادله‌ی یون با کارایی بالا، با استفاده از تجهیزات HPLC در این دهه به چاپ رسید [۱۲]. آن‌چه در پیشرفت این روش سهم بسزایی داشت، یکی تهیه‌ی ذره‌های رزین مبادله‌کننده‌ی یون با قطر $10\ \mu\text{m}$ یا کم‌تر و دیگری، امکان دسترسی به آشکارسازهایی بود که با خاصیت رسانایی الکتریکی کار می‌کردند.

در دهه‌ی ۸۰، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به عنوان روشی متداول در جداسازی ترکیب‌های شیمیایی شناخته شد. نوآوری‌هایی در این روش روی داد که از آن جمله می‌توان به این موارد اشاره کرد:

- استفاده از تجهیزات خودکار و برنامه‌های نرم‌افزاری
- افزایش کیفیت ستون‌ها و تکرارپذیری آزمایش‌ها
- پیشرفت معادله‌های ریاضی برای اندازه‌گیری‌های مربوط به شست‌وشو و کارایی ستون‌ها [۱۳].

پیشرفت‌های چشم‌گیر در پیوند دادن تجهیزات کروماتوگرافی به دستگاه‌های گوناگون طیف‌سنجی از رویدادهای دهه‌ی ۷۰ به شمار می‌رود. به این ترتیب، استفاده‌ی هم‌زمان از کروماتوگرافی و طیف‌سنجی، با تزریق مقداری از نمونه، جداسازی و شناسایی مواد را در پی داشت. در این دهه، GC/FTIR، GC/IR، GC/MS، و HPLC/MS متداول شد از این میان دو مورد آخر کاربرد گسترده‌تری پیدا کرد. در واقع، نخستین روش دوگانه‌ی کروماتوگرافی و طیف‌سنجی، GC/MS بود [۱۰]. با برقراری پیوند میان GC و MS، حجم گاز حامل خارج شده از GC کاهش می‌یابد و به این ترتیب، از سوختن برخی سیم‌ها که تنها در خلاء سالم می‌مانند جلوگیری می‌شود. متداول‌ترین سامانه در این زمینه، سامانه‌ی جداسازی پاششی است که در آن، مولکول‌های سنگین به MS وارد می‌شوند ولی گاز حامل که هلیوم است به خاطر سبک بودن به بیرون از سامانه مکیده می‌شود. به هر حال پیوند HPLC و MS با دشواری‌های بیش‌تری همراه بود زیرا باید حلال‌های به کار رفته به عنوان فاز متحرک، پیش از ورود نمونه به دستگاه MS حذف می‌شد [۱۱]. در همین دهه بود که نخستین دستگاه تجاری کروماتوگرافی مبادله‌ی یون راهی



در خلال این دهه، ستون‌های میکرو و سامانه‌های کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به صورت تجاری درآمد.

12. micro super - critical fluid chromatography
13. capillary gas chromatography
14. chiral
15. pirkle
16. pertorius
17. Jorgenson
18. Lukacs



1. Ettre, S. L., *J. Chromatogr. Sci.* **2000**, 38(3), 89.
2. Tswett, M. S., *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **1906**, 24, 316, 384.
3. Hoorwood, E., *Chromatogr. Adsorption Analysis*, **1990**, 104.
4. IUPAC Analytical Chemistry - Division Commission on Analytical Nomenclature, Recommendations on nomenclature for chromatography, Rules approved in 1973, *Pure Appl. Chem.* **1974**, 37, 447.
5. Palmer, L. S.; Eckles, C. *J. Biol. Chem.* **1914**, 17, 191, 211, 223, 237, 245.
6. Martin, A. J. P.; Synge, R. L. M. *Biochem. J.* **1941**, 35, 1358.
7. James, A. T.; Martin, A. J. P. *Biochem. J.* **1952**, 50, 679.
8. Van Deemter, J. J.; Zinderweg, F.; Klinkenberg, A. *Chem. Eng. Sci.* **1956**, 5, 271.
9. Casey, A. C. *J. Lipid Res.* **1969**, 10, 456.
10. Mc Fadden, W. H. Techniques of combined gas chromatography/mass spectrometry, Wiley Inter science, London, 1973.
11. Baldwin, M. A.; Mc lafferty, F. W. *Org. Mass Spectrum*, **1973**, 7, 1111.
12. Small, H.; Stevens, T. S.; Bauman, W. C. *Anal. Chem.* **1975**, 47, 1801.
13. Bidlingmeyer, B. A.; Warren, F. V. *Anal. Chem.* **1984**, 56, 1583.
14. Pirkle, W. H.; Pochapsky, T. C. *Adv. Chromatogr.* **1987**, 27, 73.
15. Ettre, L. S. *Anal. Chem.* **1971**, 43, 20A.
16. Jorgenson, J. W.; Lukacs, K. D. *J. Chromatogr.* **1981**, 218, 209.



زیست فناوری خواهد شد. پیوند دستگاه‌های دیگر مانند SPE (استخراج با فاز جامد) به GC و HPLC افزایش کارایی این روش‌ها را بویژه، برای تجزیه‌ی مقدارهای بسیار کم مواد در پی دارد. با توجه به تمایل شدید به کوچک کردن ابعاد دستگاه کروماتوگرافی، بویژه ستون‌های بسیار کوچک با قطر داخلی حدود ۳ تا ۲۰۰ میکرومتر، می‌توان پیش‌بینی کرد که در آینده میکرو ستون‌ها و دستگاه‌های کوچک کروماتوگرافی در راستای یک دیگر گسترش می‌یابند و جداسازی با دستگاه‌های مینیاتوری کروماتوگرافی متداول خواهد شد.



* عضو هیأت علمی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده‌ی صنایع شیمیایی

1. Tswett, M. S.
2. Tiselius, A. W.
3. Martin & Synge
4. Palmer
5. James
6. Van Deemter
7. Giddings
8. Horvath
9. dry column chromatography
10. micro liquid chromatography
11. capillary electrophoresis