

# دانش آزمایشگاهی ایران

سال ششم ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۷ ■ شماره پیاپی ۲۲

ISSN 2538-3450



چگونه می توان در تدوین استاندارد بین المللی ایزو مشارکت داشت؟



تفکر مبتنی بر ریسک برای آزمون شیمیایی



میکروسکوپ الکترونی عبوری چند گذری

پیشرفت های اخیر در مواد پرکننده ی ستون در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

کارشناسان منتخب و رتبه بندی رابطن مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی فناوری های راهبردی در سال ۱۳۹۶ اعلام شد

پژوهشگاه شیمی، میزبان گردهمایی سالانه رابطن مراکز عضو شبکه آزمایشگاهی

## چکیده

در دهه‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه مواد پرکننده‌ی ستون‌های کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۱</sup> بدست آمده است. از جمله این پیشرفت‌ها می‌توان به استفاده از ذرات بسیار کوچک متخلخل (قطر کم‌تر از  $0.2\mu\text{m}$ )، نوع جدید ذرات لایه‌دار و یا متخلخل سطحی و نسل دوم ستون‌های مونولیتیک سیلیکا با کارایی بالا اشاره نمود. در این مقاله به برخی از این پیشرفت‌ها به همراه کاربرد آن‌ها در آنالیز مولکول‌های کوچک اشاره شده است.

## مقدمه

اگر چه به نظر می‌رسد روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به تکامل رسیده است، اما پیشرفت‌های جدید همچنان ادامه دارند. توسعه انواع مختلف مواد پرکننده، شیمی فاز ساکن و ساخت ستون و تغییر شکل آن‌ها همچنان انجام می‌شود. امروزه کاربران دستگاه درک بهتری از مزایا و محدودیت‌های مواد بر پایه سیلیکا دارند و از این ستون‌ها در شرایطی که منجر به کاهش طول عمر و یا کاهش کارایی آن‌ها می‌شود، استفاده نمی‌کنند. علاوه بر این، با پیشرفت‌های به وجود آمده در فازهای جدید، محدوده استفاده از pH هم در مقدار بالا و هم در مقدار پایین، بیشتر شده است و تنوع بیشتری در نوع ستون‌ها فراهم آمده و طول عمر ستون نیز افزایش یافته است. در قسمت اول این مقاله به جای پرداختن به همه زمینه‌ها، پیشرفت‌های پرکننده‌ها در چند محدوده کلیدی (ذرات بسیار کوچک، ذرات هسته-پوسته و ستون‌های مونولیتیک) مورد بررسی قرار گرفته است. در قسمت دوم مقاله به دیگر موارد پرداخته خواهد شد.

## نویسندگان

مریم یوسفی<sup>۱\*</sup>محمود نادری<sup>۲</sup>\*[m.yousefi@avicenna.ac.ir](mailto:m.yousefi@avicenna.ac.ir)

## پیشرفت‌های اخیر در مواد پرکننده‌ی ستون در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

(قسمت اول)

## واژه‌های کلیدی

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، پرکننده‌های ستون، ذرات هسته-پوسته، ستون‌های مونولیتیک.

متخلخل، مواد حل شونده از فاز متحرک بیرونی به فاز متحرک درون حفرات انتقال می‌یابند تا با فاز ساکن برهم‌کنش کنند. به دنبال این برهم‌کنش، مولکول‌های حل شونده باید از ذرات خارج شوند و به سفر خود درون ستون ادامه دهند. چنین انتقال جرمی هزاران یا حتی میلیون‌ها بار رخ می‌دهد تا زمانی که جداسازی انجام و حل شونده از ستون خارج شود. از آنجا که حل شونده زمان خود را درون حفرات می‌گذراند، فاز متحرکی که حل شونده را در خود دارد رو به پایین ستون و جلوتر از حل شونده حرکت می‌کند. سرعت آهسته انتقال جرم به درون و بیرون حفرات، منبع عمده پهن شدن باند در HPLC است. استفاده از ذرات کوچک‌تر طول مسیر را برای فرایند نفوذ به درون و بیرون حفرات کوتاه‌تر می‌کند و انتقال جرم را بهبود بخشیده و کارایی را افزایش می‌دهد. امروزه، سازندگان ستون‌ها، قطر ذرات را کاهش داده و توزیع اندازه ذره را هم به قطر متوسط  $1/5 \mu\text{m}$  کاهش داده‌اند. البته همچنان ذرات  $3-3/5 \mu\text{m}$  و  $5 \mu\text{m}$  متداول هستند. البته این کاهش اندازه ذرات باعث کاهش نفوذپذیری در ستون و افزایش فشار برگشتی نیز می‌شود. پمپ‌های مدرن موجب افزایش فشار شده و می‌توانند سرعت جریان‌های متداول (به‌عنوان مثال،  $1-3 \text{ mL/min}$ ) برای حلال‌های معمولی چون آب، متانول، استونیتریل، هگزان و غیره را ایجاد کنند.

کارآمدی ستون و ارتفاع بشقابک تئوری<sup>۵</sup> متناسب با قطره ذره و جداسازی هم متناسب با  $N^{1/2}$  است. بنابراین، اگر از ذرات کوچک‌تر در ستون‌های کوتاه‌تر با قطر یکسان استفاده شود، جداسازی به حدی که کارایی افزایش می‌یابد، افت نمی‌کند. رویکردی که امروزه در HPLC برای جداسازی استفاده می‌شود، استفاده از ستون‌های کوتاه‌تر با اندازه‌های کوچک‌تر (قطر ذرات  $1/5-1/9 \mu\text{m}$  و  $3-3/5 \mu\text{m}$  و طول  $50-20 \text{ mm}$  و قطر درونی ستون  $4/6 \text{ mm}$ ) به جای ستون‌های بلندتر با ذرات بزرگ‌تر (قطر ذره  $5 \mu\text{m}$  در ستون‌هایی به طول  $150-250 \text{ mm}$  و قطر داخلی ستون  $4/6 \text{ mm}$ ) است. از آنجایی که زمان جداسازی متناسب با طول است، کوتاه کردن ستون منجر به جداسازی‌های سریع‌تر می‌شود [۳].

#### ■ ذرات هسته- پوسته<sup>۵</sup>

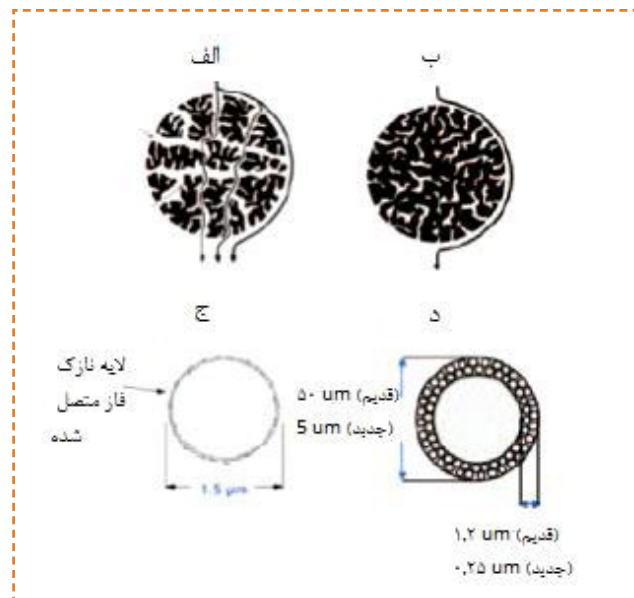
تولید این نوع ذرات، امروزه در میان سازندگان ذرات با وجود تفاوت در جزئیات روش‌های تهیه، متداول شده‌است. دو روش کلی در شکل (۲) نشان داده شده‌است [۴].

فرایند لایه به لایه شامل افزودن یک پلیمر کاتیونی به هسته سیلیکای جامد (فرایند استوبر) در pH بالا است به‌گونه‌ای که سیلانول‌ها دارای بار منفی شده‌اند. پس از حذف مواد اضافی، یک سوسپانسیون از نانوذرات سیلیکا با اندازه  $16-10 \text{ nm}$  افزوده و فرایند چندین بار تکرار می‌شود تا ضخامت مورد نظر حاصل شود. روش جایگزین، استفاده از یک پلیمر به‌عنوان هسته است که در آن لایه‌های مختلفی از ذرات  $\text{So}1^{\text{Y}}$  را جذب می‌کند، به صورتی که در هر بار  $10-5$  لایه، به لایه‌های متخلخل اضافه شود. این فرایند همان‌طور که در شکل (۲) دیده می‌شود به یک فرایند یک مرحله‌ای تبدیل شده‌است.

## پیشرفت‌های پرکننده‌های متخلخل

### ■ ذرات بسیار کوچک

اولین مواد پرکننده کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ذراتی بودند که در آن‌ها روی یک ذره غیرقابل نفوذ، لایه متخلخلی با قطر  $50-40 \mu\text{m}$  پوشش داده شده بود (شکل ۱-د). پرکننده‌های کاملاً متخلخل (شکل ۱-ب) در میان دیگر اشکال متداول‌تر بودند. ذراتی که سطح آن‌ها متخلخل بود از ذرات کاملاً متخلخل بزرگ (با قطر  $100 \mu\text{m}$ ) کارآمدتر بودند اما به دلیل مساحت سطح پایین‌تر آن‌ها، ظرفیت نمونه کم‌تری داشتند. در اوایل دهه ۱۹۷۰ هم‌زمان با عرضه سیلیکاهای با قطر کم‌تر از  $10 \mu\text{m}$  به بازار، ذرات متخلخل کوچک نیز ساخته شد و به تدریج جایگزین ذرات متخلخل بزرگ‌تر و ذرات با سطح متخلخل شد [۱]. ذرات بی‌شکل در طی دهه هفتاد تا زمانی که ذرات کروی ساخته شوند، متداول‌تر بودند. ذرات کروی بسیار هم‌وزن‌تر از ذرات بی‌شکل درون ستون پر می‌شوند و کارایی بالاتری را فراهم می‌کنند. ذرات سیلیکای نوع B که مقدار فلزات در آن‌ها بسیار اندک بود در اوایل دهه ۱۹۹۰ بر بقیه ذرات غلبه پیدا کردند و امروزه هم متداول‌ترین ذرات پرکننده، سیلیکاهایی با خلوص بسیار بالا هستند. وجود فلزات در ذرات سیلیکای نوع A باعث برهم‌کنش با برخی مواد شده و روی اسیدیته و سیلانول‌های باقیمانده تأثیر می‌گذارند [۲].



شکل ۱: نمایی از انواع مختلف ذره شامل (الف) پرفیوژن، (ب) کاملاً متخلخل، (ج) غیرمتخلخل و (د) به‌طور سطحی متخلخل [۱].

برای درک بهتر راه‌های مختلف بهبود کارایی ستون، ابتدا بحث مختصری در مورد مورفولوژی مواد پرکننده متخلخل مانند سیلیکا یا آلومینا خواهیم داشت. حفره‌های پراکنده در ذرات پرکننده متخلخل بسیار زیاد هستند (شکل ۱-ب) و در قسمت عمده مساحت سطح ذرات، این حفرات وجود دارند. کاهش اندازه ذره هم انتقال جرم درون ذرات و هم انتقال جرم بین ذرات را افزایش می‌دهد. در یک ذره

سطح این مواد، حفرات بسیار کوچکی با قطر کم‌تر از ۲nm دارد، اما تخلخل بالای آن‌ها، امکان جداسازی پروتئین‌های بزرگ را به علت فضای میان سطوح نانوسفرها می‌دهد. یک ستون هسته - پوسته که ۲/۷  $\mu\text{m}$  قطر دارد، کارایی معادل یک ستون متخلخل زیر ۲  $\mu\text{m}$  داشته و نصف فشار برگشتی آن را داراست. این مسئله ممکن است کمی مبهم به نظر برسد؛ اما دلیل این امر آن است که تخلخل ستون روی فشار برگشتی اثر ندارد. به دلیل اینکه حفرات به قدری کوچک هستند که امکان عبور حلال از میان آن‌ها وجود ندارد و جریان حلال اصولاً فقط در اطراف ذرات انجام می‌شود. بنابراین ستون‌های لایه‌ای و متخلخل با قطر یکسان، فشار برگشتی یکسانی تولید می‌کنند. فشار برگشتی پایین‌تر ذرات لایه‌ای ۲/۷  $\mu\text{m}$  صرفاً به علت قطر ذرات بزرگ‌تر آن است. در ستون‌های لایه‌ای، ارتفاع بشقابک تئوری (۱/۵ - ۱/۲) در مقایسه با ستون‌های با ذرات متخلخل (۲/۱ - ۱/۹) کم‌تر است.

این کارایی بالاتر به چند دلیل رخ می‌دهد:

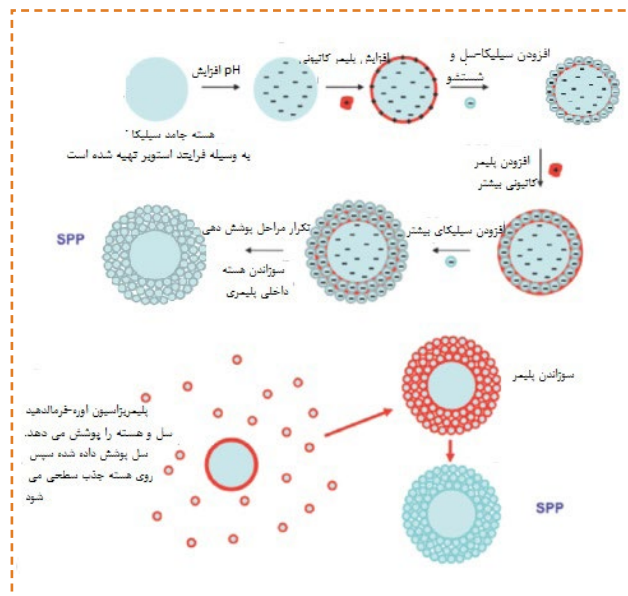
۱. توزیع اندازه ذره کوچک‌تر ذرات لایه‌ای (۵ درصد rsd در برابر ۲۰ درصد rsd برای ذرات متخلخل)
  ۲. پرشدگی بهتر ستون‌های ذرات لایه‌ای (کاهش عبارت A در معادله ون دیمتر)
  ۳. ستون‌های لایه‌ای مشکلات کم‌تری در رابطه با گرمای ایجاد شده به علت اصطکاک دارند. زیرا هسته جامد، رسانایی گرمایی بیشتری در مقایسه با فاز متحرک که وارد حفرات ستون‌های متخلخل می‌شود، دارد.
- تمامی موارد ذکر شده امکان استفاده از ستون‌هایی با قطر داخلی ۴/۶ mm و ذرات لایه‌ای ۲/۵  $\mu\text{m}$  به جای ستون‌های با قطر داخلی ۲/۱ mm و ذرات کوچک‌تر از ۲ میکرون را می‌دهد.

### ■ ستون‌های مونولیتیک

طی سال‌های گذشته کارخانه‌های دارویی زیادی در بخش شیمی ترکیبی<sup>۱۰</sup> تحقیق می‌کنند و در روند تحقیقاتی برای یافتن موثرترین داروها، باید طیف بسیار وسیعی از آنالیزها با سرعت انجام شوند. در بسیاری موارد، نتایج منجر به تولید و سنتز هزاران ترکیب در ماه می‌شود. هر کدام از مخلوط این ترکیبات باید برای پیدا کردن ترکیب مورد نظر جداسازی و بررسی شوند. برای هر آنالیز، زمان استاندارد ۲۰-۱۵ دقیقه بوده و هنگامی که تعداد نمونه‌ها بسیار زیاد باشد، بسیار وقت‌گیر است. به همین دلیل، ستون‌ها باید مقاوم باشند چرا که بسیاری از آزمایشگاه‌ها ۲۴ ساعته برای آنالیز این ترکیبات کار می‌کنند.

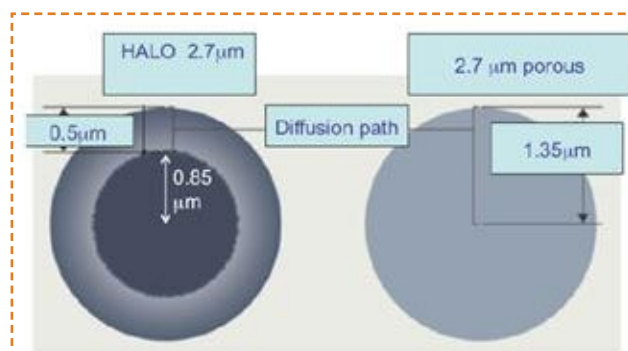
ظهور دستگاه‌های HPLC جدید و کارآمد و طیف‌سنج‌های جرمی برای آشکارسازی، باعث تحقیق در مورد فازهای ساکن مناسب برای این دستگاه‌ها شده‌است. یکی از ستون‌های مناسب برای جداسازی، ستون‌های مونولیتیک هستند.

منحنی ون دیمتر که ارتفاع بشقابک تئوری (H) بر حسب سرعت خطی فاز متحرک (u) است، بیشتر برای ارزیابی کارایی ستون مورد



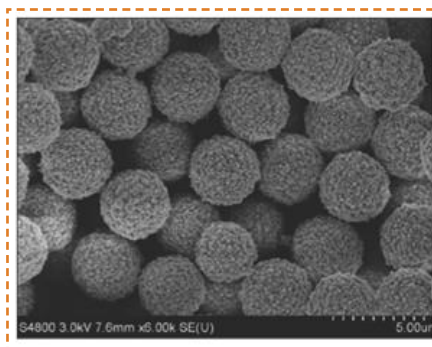
شکل ۲: (بالا) فرایند لایه به لایه و (پایین) فرایند Coacervation که تجمعات کروی قطرات کلونیدی با نیروهای هیدروفوبیک در کنار هم نگه داشته می‌شوند [۲].

در هر روش، پلیمر در انتها با سوزاندن حذف و ذرات برای بهبود خواص مکانیکی شان سخت می‌شوند. شکل (۳) ابعاد این ذرات متخلخل سطحی را نشان می‌دهد.



شکل ۳: ابعاد ذرات متخلخل سطحی [۲].

روش دیگر برای سنتز تک ظرف، روش کره روی کره<sup>۸</sup> است که در آن میکروسفرهای سیلیکا با یک تک لایه از نانوسفرها پوشانده می‌شوند (شکل ۴).



شکل ۴: میکروگراف اسکن الکترونی ذرات کره روی کره [۲].

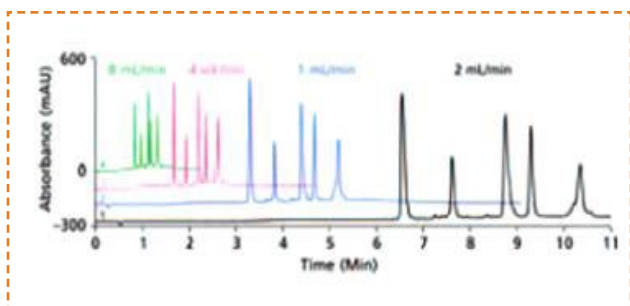
هر دو نوع ستون‌های مونولیتیک سیلیکایی و ستون‌های HPLC ذره‌ای بر پایه سیلیکا و بر پایه پلیمر مورد بررسی قرار گرفته‌اند. ایده این ستون‌ها برای نخستین بار، ۳۰ سال گذشته معرفی شدند [۵]. این ستون‌ها به صورت یک فوم صلب که حفرات به هم پیوسته آن یک شبکه را تشکیل می‌دهد، درون ستون هستند و فاز متحرک از میان آن‌ها عبور می‌کند.

در این بخش بیشتر بر ستون‌های مونولیتیک بر پایه سیلیکا تأکید می‌شود. مونولیت‌های آلی به صورت عمده در آنالیز مولکول‌های زیستی بزرگ موفقیت داشته‌اند تا جداسازی مولکول‌های کوچک. سیلیکاهای مونولیتیک در دهه ۱۹۹۰ توسعه یافته و در سال ۲۰۰۰ تولید آن‌ها تجاری‌سازی شد. اولین ستون سیلیکایی مونولیتیک با PEEK<sup>۱۱</sup> و کرومولیت<sup>۱۲</sup> (قطر داخلی ۴/۶ mm و طول ۱۰ cm) پر شد و کارایی معادل یک ستون با اندازه ذره ۳/۵-۴ μm را داشت. اما افت فشار (با نفوذپذیری آن) معادل یک ستون پر شده با ذراتی با اندازه ۷-۸ μm بود. این ستون‌ها از طریق پلیمریزاسیون هیدرولیتیک، تترامتوکسی سیلان در استیک اسید آبی در حضور پلی اتیلن گلیکول<sup>۱۳</sup> تهیه شدند. حفره‌های مزوپور در ساختار ستون از طریق افزودن آمونیاک آبی ایجاد می‌شوند. اولین نسل ستون سیلیکایی مونولیتیک (میله‌ای و موئین)، حفره‌های ۲-۸ μm داشتند که برای ایجاد کارایی بسیار بزرگ بود.

به طور کلی می‌توان دو ویژگی عمده برای ستون‌های سیلیکایی مونولیتیک ذکر نمود:

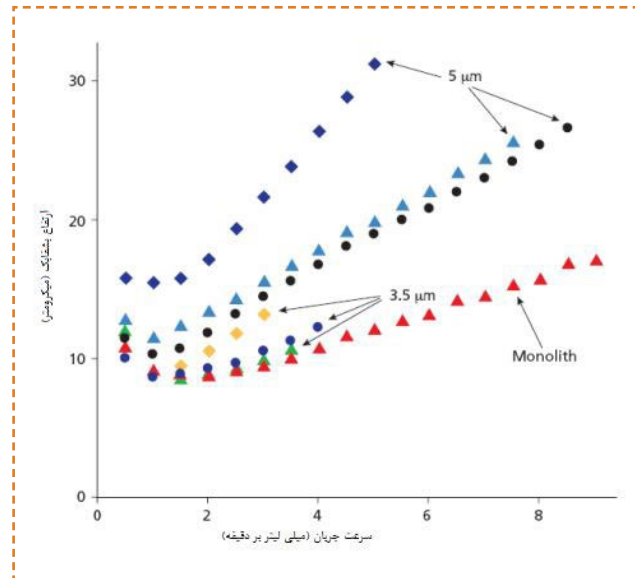
۱. ستون‌های سیلیکایی مونولیتیک کارایی معادل ذرات سیلیکایی ۳-۵ μm را دارند و افت فشار آن‌ها ۴۰-۵۰ درصد کم‌تر از ذرات سیلیکایی با اندازه ۵ μm است. به همین علت این ستون‌ها را می‌توان به روش سریالی به هم متصل نمود تا تعداد صفحات بیشتری برای جداسازی‌های دشوار به دست آورد.
۲. برای به دست آوردن جداسازی‌هایی با راندمان بالا، این ستون‌ها با سرعت جریان بسیار آهسته‌تر از ستون‌های متناظر خود (در حدود ۳-۵ mL/min) کار می‌کنند.

ستون‌های مونولیت پلیمری، پلیمرهای مونولیتی متخلخل اتصال عرضی شده هستند که می‌توان آن‌ها را به صورت دیسک و یا تیوبی شکل در آورد و به دستگاه HPLC وصل نمود. در شکل (۷) می‌توان جداسازی سریع چندین پروتئین را در سرعت‌های بالا مشاهده نمود. ساختار متخلخل پروتئین، امکان نفوذ سریع پروتئین‌ها را می‌دهد.



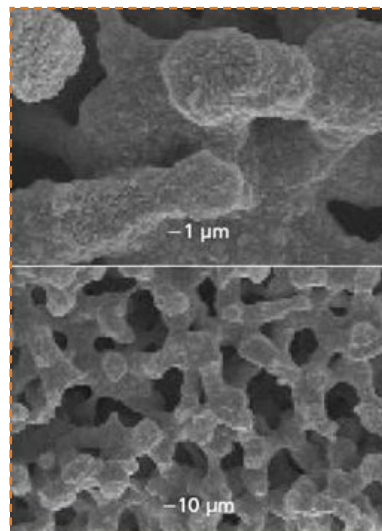
شکل ۷: جداسازی سریع پروتئین‌ها روی ستون مونولیتیک پلیمری. ستون ۴/۶ mm × ۵۰ [۱].

استفاده قرار می‌گیرد؛ بنابراین، منحنی مذکور نشان می‌دهد که ستون‌های مونولیتیک، کارایی بسیار بیشتری از ستون‌های معمول با قطر ۵ μm دارند. کارایی آن‌ها معادل ستون‌هایی با مواد پرکننده با قطر ۳/۵ μm است و مزیت آشکار آن‌ها این است که سرعت جریان‌هایی به بزرگی ۹ mL/min برای آن‌ها قابل استفاده است (شکل ۵).



شکل ۵: منحنی H بر u برای ستون‌های مونولیتیک سیلیکایی (Chromolith) و ستون‌های HPLC ذره‌ای [۳].

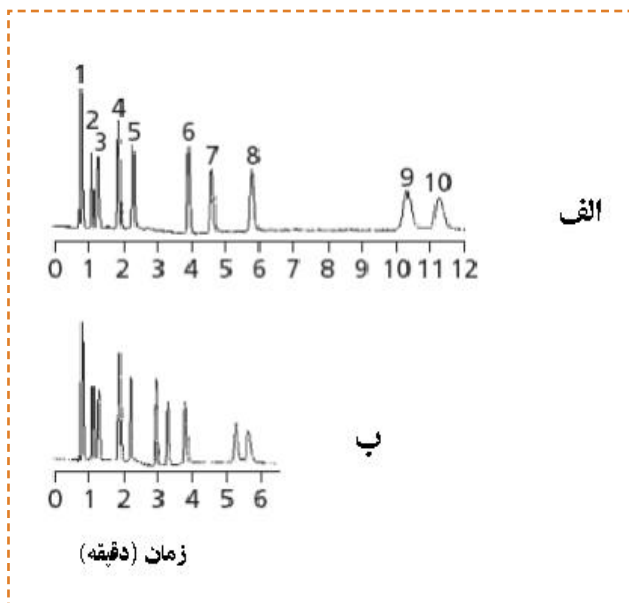
در شکل (۶) نمایی از ساختار ستون مونولیتیک سیلیکایی با حفرات مزوپور (قطر حدود ۳ nm) دیده می‌شود.



شکل ۶: میکروگراف الکترونی ساختار (الف) ماکرو پوروس و (ب) مفروز پوروس ستون‌های مونولیتیک سیلیکایی میله‌ای [۳].

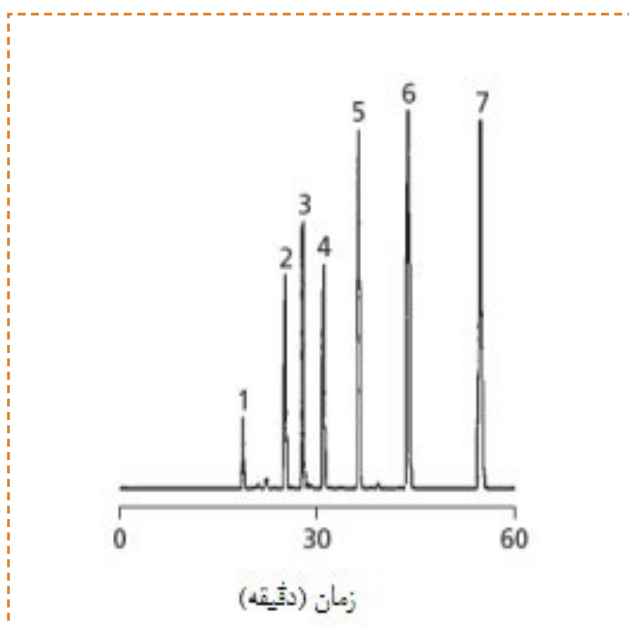
ستون‌های مونولیتیک، ستون‌هایی هستند که به جای آن که ذرات منفرد و مجزا درون ستون پر شوند، در یک فاز هموزن به شکلی پیوسته قالب‌ریزی می‌شوند (درست مانند بتون‌ریزی). ستون‌های مونولیتیک، پتانسیل بالایی از لحاظ پایداری دارند و به آسانی با هر دو جداسازی‌های آنالیتیکی و تهیه‌ای سازگار می‌شوند.

انتهای هر آزمایش به سادگی به ترکیب اولیه برگرداند (شکل ۹).



شکل ۹: جداسازی داروهای مسدود کننده  $\beta$  (الف) بدون و (ب) با فلوی گرادینی. ستون  $100 \times 4/6$  mm chromolith [۳].

همان‌طور که گفته شد، از آنجایی که جداسازی سریع مدنظر است، ستون‌های کوتاه‌تر با ذرات کوچک‌تر امکان جداسازی سریع‌تر را ایجاد می‌کنند. در مورد نمونه‌های ترکیبات طبیعی، مانند داروهای گیاهی و نمونه‌های غذایی و نوشیدنی، با استفاده از ستون‌های مونولیتیک سریالی، می‌توان طول بیشتر و بشقابک بیشتر به دست آورد. شکل (۱۰) به وضوح نشان می‌دهد که ستون‌های سیلیکای مونولیتیک بزرگ‌تر از یک متر را می‌توان با نتایج قابل قبول به دست آورد [۶]. این طول بیشتر به دلیل فشار برگشتی کم‌تر در این ستون‌ها قابل دستیابی است.

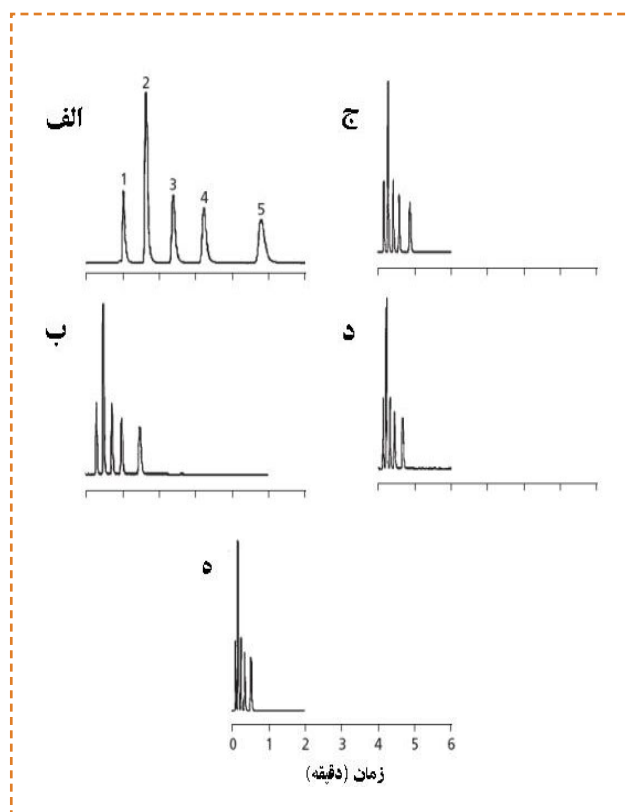


شکل ۱۰: جداسازی از طریق جفت کردن ۱۴ ستون Chromolith با ابعاد  $100 \times 4/6$  mm [۳].

پلیمرهای مونولیتیک تجاری موجود به شکل‌های تبادل یونی برهم‌کنش هیدروفوبی، فاز معکوس و کروماتوگرافی میل ترکیبی وجود دارند. البته باید در نظر داشت که غشاهای عامل‌دار شده که مدت‌ها برای جداسازی مولکول‌های زیستی استفاده می‌شدند، شکلی متفاوت از ستون‌های مونولیت هستند. به صورت کلی، مونولیت‌های پلیمری برای جداسازی بیومولکول‌های بزرگ مناسب بوده و در واقع مکمل مونولیت‌های سیلیکا هستند و نه رقیب آن‌ها.

ستون مونولیتیک که دارای دنباله C18 بوده و انتهای آن نیز بسته شده است، از لحاظ گزینش‌پذیری قابل مقایسه با ستون‌های فاز معکوس هستند. مقایسه‌ای نشان می‌دهد که اگر گزینش‌پذیری ستون مونولیتیک و ستون ذره‌ای مشابه هم است، زمان بازداری به دست آمده در ستون مونولیتیک بسیار کوتاه‌تر است؛ بنابراین، جداسازی سریع‌تری را فراهم می‌آورد و دلیل این امر هم، انتقال جرم بهتر در ستون‌های مونولیتیک است.

به‌عنوان نمونه، پنج ترکیب در ستون معمولی با سرعت جریان ۱ mL/min در عرض ۵ دقیقه جداسازی شد و فشار برگشتی کل دستگاه ۱۳ bar بود اما همین پنج ترکیب در یک ستون مونولیتیک در عرض ۰/۵ دقیقه با فشار برگشتی ۷۲ bar و سرعت جریان ۹ mL/min جدا شدند (شکل ۸).



شکل ۸: جداسازی پنج ترکیب مسدود کننده  $\beta$  در سرعت جریان‌های (الف) ۱، (ب) ۳، (ج) ۵، (د) ۷ و (ه) ۹ میلی‌لیتر بر دقیقه. ستون  $50 \times 4/6$  mm chromolith [۳].

برعکس ستون‌های ذره‌ای، نیازی به تعادل رساندن مجدد ستون در شستشوی گرادینی نیست، ترکیب فلوی را می‌توان در

## پی‌نوشت

۱. دکتری شیمی آلی، مرکز تحقیقات ریزفناوری زیستی، پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ابن‌سینا
۲. کارشناسا رشد شیمی آلی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
۳. عضو کارگروه تخصصی کروماتوگرافی شبکه آزمایشگاهی
4. High performance liquid chromatography (HPLC)
5. Height Equivalent to a Theoretical Plate (HETP)
6. Core-Shell
7. Sol Particles
8. Sphere on sphere
9. relative standard deviation
10. Combinatorial Chemistry
11. Polyether ether ketone
12. Chromolith
13. Polyethylene glycol (PEG)

## نتیجه‌گیری

ستون‌های دارای ذرات کوچک که در فشارهای بالا کار می‌کنند، می‌توانند کارایی مشابه ستون‌های HPLC متداول داشته باشند و در عین حال زمان و حلال مصرفی نیز در آن‌ها کاهش می‌یابد. این دستگاه‌ها به دستگامه‌وری پیچیده‌تر نیاز دارند که بتوانند فشارهای بالا را هم تحمل کنند. ذرات لایه‌ای کارایی بیشتری را باعث می‌شوند و حتی می‌توان ذرات بالاتر از  $2.5 \mu\text{m}$  در فشارهای پایین‌تر به جای ذرات  $2 \mu\text{m}$  که همان کارایی را دارند، استفاده نمود. از سوی دیگر، ذرات کوچک‌تر از  $2 \mu\text{m}$  لایه‌ای، کارایی بیشتری نسبت به ذرات کاملاً متخلخل با همان اندازه در فشار یکسان دارند. نسل اولیه ستون‌های مونولیتیک نویدبخش کارآمدی بیشتر و فشار برگشتی کم‌تر در مقایسه با ذرات  $5 \mu\text{m}$  بود که بسیار متداول هستند. اما از نظر سرعت جداسازی و کارایی، قابل رقابت با ستون‌های هسته-پوسته نیستند.

## مراجع

- [1] R.E. Majors, Anal. Chem. 44, 1722 (1972).
- [2] R.K Iler, Chemistry of Silica Gel (John Wiley and Son, New York, 1979), p. 671.
- [3] J.W. Henderson and R.E. Majors, "High Throughput Separation of Xanthines by Rapid Resolution HPLC," Agilent Technologies, Application Note, Publication Number 5989-4857EN, March 2006.
- [4] W. Chen, K. Jiang, A. Mack, B. Sachok, X. Zhu, W.E. Barber, X. Wang, J. Chromatograph. A 1414, 147-157(2015).
- [5] J.H. Knox and P.A. Bristow, Chromatographia, 10, 279 (1977).
- [6] Karin Cabrera, "Mololithic vs. Particulate Silica Materials for HPLC," paper presented at the International Symposium on Chromatography, London, UK, October 2000.

## Author

Maryam Yousefi<sup>1,3\*</sup>Mahmoud Naderi<sup>2,3</sup>

f.ali.ars@gmail.com

1. Organic Chemistry Ph.D,  
Nanobiotechnology Research  
Center, Avicenna Research  
Institute, Academic Center for  
Education, Culture and Research

2. M.Sc. Organic Chemistry, Medici-  
nal Plants Department, Research  
Institute of Forests and Rangelands

3. Laboratory Network  
Chromatography Experts  
Workgroup



## Recent Developments in HPLC Column Packing Materials

### (Part 1)

#### Abstract

A number of advances have taken place in the last decade in the area of support materials for high performance liquid chromatography (HPLC). These developments have included the use of very small porous particles (< 2.0  $\mu\text{m}$  diameter), new types of superficially porous or 'shell' particles and the development of a second generation of silica monolithic columns with increased efficiency compared with earlier versions. This article will consider these developments mostly with regard to their use in the analysis of small molecules.

#### Keywords

High Performance Liquid  
Chromatography, Packing  
Materials, Core-shell particles,  
Monolithic columns.





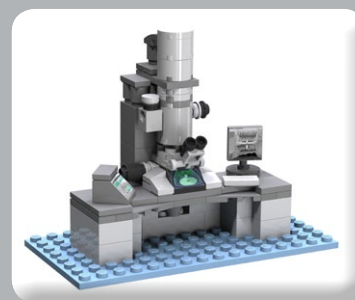
## Recent Developments in HPLC Column Packing Materials



Risk-based thinking for  
chemical testing



How can we participate in the  
drafting of the ISO  
International Standard?



Multi-pass Transmission  
Electron Microscopy