

به نام آنکه جان را فکرت آموخت

کروماتوگرافی لایه نازک

یک روش کاربردی نوین

تألیف

پیتر ای. وال

ترجمه

دکتر همایون احمدپناهی

عضو هیأت علمی تمام وقت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی

عاطفه غرقی

صبا ارجمندپور



سرشناسه	وال، پتر ای.
عنوان و نام پدیدآور	Wall, Peter E.
مشخصات نشر	گروماتوگرافی لایه نازک: یک روش کاربردی نوین/تألیف پتر ای. وال؛ ترجمه همایون احمدپناهی، عاطفه غرقی، صبا ارجمندپور.
مشخصات ظاهری	تهران: دایره دانش، ۱۳۹۳.
شابک	۷۴۴ ص، مصور، جدول، نمودار.
وضعیت فهرست نویسی	978-600-7111-08-6
یادداشت	فیبیا
یادداشت	عنوان اصلی: Thin-layer chromatography : a modern practical approach, c2005.
موضوع	کتابنامه.
شناسه افزوده	گروماتوگرافی لایه نازک
شناسه افزوده	احمد پناهی، همایون، ۱۳۴۶ - مترجم
شناسه افزوده	ارجمندپور، صبا، ۱۳۶۷ - مترجم
شناسه افزوده	غرقی، عاطفه، ۱۳۴۷ - مترجم
رده بندی کنگره	۷۱۳۹۳۷۴۶۳ ک
رده بندی دیویی	۸۴/۵۴۳
شماره کتابخانه ملی	۳۶۶۱۵۳

گروماتوگرافی لایه نازک یک روش کاربردی نوین



تألیف	پتر ای. وال
ترجمه	دکتر همایون احمدپناهی، عاطفه غرقی، صبا ارجمندپور
مدیر نشر	حامد جمالی نسب
نوبت چاپ	اول - ۱۳۹۳
تیراژ	۱۰۰
چاپ و صحافی	مرتب
قیمت	۱۴۰۰۰ ریال
شابک	۹۷۸ - ۶۰۰ - ۷۱۱۱ - ۰۸ - ۶

دفتر فروش : تهران - خیابان انقلاب - روبروی تربیت بدنی دانشگاه تهران - جنب بانک صادرات - کتابفروشی محسن
تلفن: ۶۶۴۹۲۶۶۲ - ۰۹۱۲۳۷۷۶۸۸۰

کلیه حقوق و حق چاپ متن و عنوان کتاب که به ثبت رسیده است؛ مطابق با قانون حقوق مولفان و مصنفان مصوب ۱۳۴۸ محفوظ و متعلق به انتشارات دایره دانش می باشد. هرگونه برداشت، تکثیر، کپی برداری به هر شکل (چاپ، فتوکپی، انتشار الکترونیکی) بدون اجازه کتبی از ناشر ممنوع بوده و متخلفین تحت پیگرد قانونی قرار خواهند گرفت.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
پیش‌گفتار	۱۱
فصل ۱: مقدمه و تاریخچه	۱۵
۱- مقدمه‌ای بر کروماتوگرافی لایه نازک	۱۵
۲- تاریخچه TLC	۱۶
۳- مراجع	۲۰
فصل ۲: جاذب‌ها و لایه‌های TLC	۲۳
۱- انتخاب جاذب	۲۳
۱-۱- مقدمه	۲۳
۲-۱- جاذب‌های سیلیکایی	۲۵
۱-۲-۱- سیلیکاژل	۲۵
۲-۲-۱- فازهای پیوندی سیلیکاژل	۲۳
۳-۱- جاذب‌های غیر سیلیکایی	۶۰
۱-۳-۱- سلولز	۶۰
۲-۳-۱- فازهای پیوندی سلولز	۶۳
۳-۳-۱- آلومینیوم اکسید	۶۵
۴-۳-۱- کیزلگور	۶۵
۵-۳-۱- پلی آمید	۶۷
۶-۳-۱- فازهای ساکن مختلف	۶۷
۷-۳-۱- فازهای ساکن مختلط	۶۸
۸-۳-۱- فازهای دوگانه	۶۸
۲- آماده‌سازی صفحات و ورق‌های TLC	۶۹
۱-۲- صفحات TLC "دست‌ساز"	۶۹
۲-۲- صفحات و ورق‌های TLC/HPTLC از پیش پوشش داده شده	۶۹
۳- برش صفحات و ورقه‌های TLC/HPTLC	۷۰
۴- تأثیرات رطوبت بر روی صفحات TLC	۷۱
۵- صفحات TLC از پیش شستشو داده شده	۷۳

۷۳	۶- استفاده از شناساگرهای فسفرسانس/فلوئورسانس
۷۴	۷- لایه‌های TLC مجرادر
۷۵	۸- صفحات TLC/HPTLC ناحیه غلظتی
۷۵	۹- صفحات از پیش پوشش داده شده HPTLC
۷۹	۹-۱- سیلیکاژل ۶۰ کروی HPTLC
۸۱	۱۰- بهبود تفکیک با استفاده از بافرها و عامل‌های کمپلکسه کننده
۸۱	۱۰-۱- آغشته‌سازی جاذب پیش از پوشش‌دهی لایه
۸۱	۱۰-۲- آغشته‌سازی لایه پوشش داده شده آماده
۸۲	۱۱- آغشته‌سازی نیترات نقره
۸۳	۱۲- TLC انتقال بار
۸۶	۱۳- لایه کروماتوگرافی تهیه‌ای (PLC)
۸۹	۱۴- مراجع

فصل ۳: پیش‌فرآوری نمونه ۹۳

۹۳	۱- مقدمه
۹۴	۲- استخراج‌ها از نمونه‌های جامد
۹۶	۳- سیستم‌های استخراج فاز جامد (SPE)
۹۶	۳-۱- خاک دیاتومه
۹۶	۳-۲- سیلیکاژل‌های جوش خورده و پلیمرها
۹۸	۳-۳- آماده‌سازی جاذب
۹۸	۳-۴- تزریق نمونه
۹۹	۳-۵- پاک‌سازی
۹۹	۳-۶- بازیابی آنالیت‌ها
۱۰۰	۴- مراجع

فصل ۴: کاربرد نمونه ۱۰۱

۱۰۱	۱- مقدمه
۱۰۱	۲- انتخاب حلال نمونه
۱۰۳	۳- تعیین نظری اندازه لکه
۱۰۳	۳-۱- اندازه لکه و معادلات بارگذاری
۱۰۵	۳-۲- معادله ظرفیت لکه

۱۰۹	۴- بارگذاری نمونه
۱۱۳	۴-۱- تأثیرات تخریب لایه
۱۱۴	۴-۲- ملاحظات مقدار رطوبت
۱۱۵	۵- روش‌های اعمال نمونه
۱۱۵	۵-۱- روش‌های دستی
۱۱۷	۵-۲- روش‌های دستگاهی
۱۱۷	۵-۲-۱- تکنیک‌های وسایل دستی
۱۱۸	۵-۲-۲- تکنیک‌های خودکار
۱۲۰	۵-۳- به‌کارگیری نمونه درشت
۱۲۰	۵-۳-۱- لکه‌گذاری تماسی
۱۲۱	۵-۳-۲- استفاده از ناحیه غلظتی HPTLC/TLC
۱۲۳	۶- انتخاب نوار یا لکه
۱۲۶	۷- مراجع

۱۲۷	فصل ۵: تکنیک‌های پیشروی
۱۲۷	۱- مقدمه
۱۲۷	۲- نظریه مهاجرت حلال
۱۳۱	۳- مکانیسم‌های جداسازی TLC
۱۳۱	۳-۱- مقدمه
۱۳۲	۳-۲- جداسازی‌های جذب سطحی
۱۳۳	۳-۳- جداسازی‌های تقسیمی
۱۳۴	۳-۴- جداسازی‌های تبادل-یونی
۱۳۴	۴- انتخاب حلال
۱۳۵	۴-۱- سری‌های الوتروپیک و بهینه‌سازی حلال
۱۴۰	۴-۱-۱- مثلث‌های گزینش‌پذیری
۱۴۳	۴-۱-۲- طرح پریسما
۱۴۴	۵- محفظه‌های پیشروی
۱۴۵	۵-۱- محفظه‌های-N و تأثیرات اشباع محفظه
۱۵۰	۵-۲- محفظه دو آخوره
۱۵۱	۵-۳- محفظه‌های-U، افقی و ساندویچی
۱۵۴	۵-۴- محفظه پیشروی خودکار (ADC)

۱۵۵	۵-۵- پیشروی جریان- فشاری (OPLC)
۱۵۷	۵-۶- محفظه‌های وارپو
۱۵۹	۶- تکنیک‌های پیشروی چندگانه
۱۵۹	۶-۱- پیشروی پیوسته و چندگانه فاز متحرک تک
۱۶۳	۶-۲- پیشروی دو بعدی
۱۶۷	۶-۳- پیشروی گرادیانی دستی
۱۶۷	۶-۴- پیشروی چندگانه خودکار (AMD)
۱۷۱	۷- افزودنی‌های فاز متحرک
۱۷۱	۷-۱- استفاده از بافرها و pH
۱۷۴	۷-۲- افزودنی‌های اسید و باز
۱۷۵	۷-۳- معرف‌های زوج یون
۱۷۷	۷-۴- افزودنی‌های کاپرال
۱۷۸	۷-۴-۱- دکسترین‌های جلقوی
۱۸۱	۷-۴-۲- آلبومین سرم گاوی (BSA)
۱۸۱	۷-۴-۳- سایر گزینشگرهای کاپرال
۱۸۴	۷-۵- TLC نقره‌دار کردن (نیترات نقره)
۱۸۵	۸- مراجع

۱۸۷	فصل ۶: آشکارسازی و ظاهر ساختن
۱۸۷	۱- مقدمه
۱۸۹	۲- تکنیک‌های غیرتخریبی
۱۸۹	۲-۱- آشکارسازی مرئی
۱۸۹	۲-۲- آشکارسازی فرابنفش
۱۹۱	۲-۳- واکنش‌های برگشت‌پذیر
۱۹۱	۲-۳-۱- بخارید
۱۹۲	۲-۳-۲- بخار آمونیاک
۱۹۳	۲-۴- واکنش‌های برگشت‌ناپذیر
۱۹۳	۲-۴-۱- رنگینه‌های فلئورسانتی
۱۹۴	۲-۴-۲- شناساگرهای pH
۱۹۴	۳- تکنیک‌های تخریبی
۱۹۵	۳-۱- واکنش‌های زغالی شدن

۱۹۵	۲-۳- فعالسازی گرمایشیمیایی
۱۹۶	۴- واکنش‌های مشتقی
۱۹۶	۴-۱- ظاهر کردن پس- کروماتوگرافی
۱۹۹	۴-۱-۱- معرف‌های شیمیایی عمومی
۲۰۳	۴-۱-۲- معرف‌های ویژه گروه
۲۰۷	۴-۱-۳- واکنش‌های متوالی
۲۱۰	۴-۲- ظاهر کردن پیش کروماتوگرافی
۲۱۳	۵- مراجع

فصل ۷: تعیین کمی و تصویرسازی ویدئویی

۲۱۵	۱- مقدمه
۲۱۶	۲- چگالی‌سنجی
۲۱۷	۲-۱- شیوه عملکرد اسپکتروانسیتومترها
۲۲۰	۲-۲- نظریه اسپکتروانسیتومتری
۲۲۳	۳- تصویر ویدئویی و چگالی‌سنجی
۲۲۷	۴- رویکردهای آتی- اسپکتروانسیتومتری با تصویربرداری ویدئویی
۲۲۸	۵- مراجع

فصل ۸: تکنیک‌های جفت شدن TLC

۲۲۹	۱- مقدمه
۲۳۰	۲- HPLC و HPTLC/TLC
۲۳۱	۳- MS و TLC
۲۳۵	۴- TLC جفت شده با FTIR
۲۳۶	۴-۱- TLC-FTIR پیوسته
۲۳۷	۴-۲- TLC-FTIR ناپیوسته
۲۳۸	۵- TLC و طیف‌سنجی رامان
۲۴۰	۶- مراجع

پیش‌گفتار

بدون شک کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) یکی از تطبیق‌پذیرترین و گسترده‌ترین روش‌های جداسازی مورد استفاده در کروماتوگرافی است. مواد جاذب بسیاری با پوشش‌های متنوع از نظر تجاری در دسترس هستند. در حال حاضر اکثر مراحل این تکنیک به صورت خودکار است (به صورت دستگاهی نیز انجام می‌شود) و HPTLC نوین (کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا) استفاده از نمونه‌های متعدد در یک مرحله کروماتوگرافی را ممکن می‌سازد. سرعت جداسازی (زمان پیشروی)، حساسیت بالا و تکرارپذیری خوب، همه از لایه‌های کروماتوگرافی با کیفیت بالاتر و پیشرفت مستمر تجهیزات آن ناشی می‌شود. به علاوه این روش نسبتاً ارزان بوده و می‌توان به سادگی متوجه شد که چرا تا به حال محبوبیت خود را حفظ کرده است. از آنجایی که مفهوم TLC بسیار ساده است و نمونه‌ها معمولاً به حداقل پیش فراوری نیاز دارند، در طیف گسترده‌ای از زمینه‌های کاربردی مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از این روش اغلب در تولیدات و آنالیزهای دارویی و نیز آنالیزهای بالینی مورد مطالعه واقع شده است، اما برخی روش‌های استاندارد در شیمی صنعتی، سم شناسی زیست محیطی، شیمی غذایی، آب، آنالیزهای معدنی و آفت کش‌ها، خلوص رنگ، لوازم آرایشی، مواد گیاهی و آنالیزهای گیاهی، به TLC به عنوان یک روش ارجح متکی هستند. در ساده‌ترین شکل، هزینه‌های TLC بسیار اندک است اما حتی دستگاه‌های پیچیده‌تر آن به ازای آنالیز نمونه‌ها، نسبت به روش‌هایی مانند HPLC بسیار ارزان‌تر هستند. کروماتوگرافی لایه نازک، در پژوهش‌هایی که در طی سال‌های ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ در ۵۰۰-۷۰۰ نشریه به چاپ رسیده، به صورت تکنیک فعالی ادامه پیدا کرده است.

هدف این کتاب بیان پیشرفت‌هایی است که به ویژه در دو تا سه دهه اخیر صورت گرفته است که موجب انقلابی در TLC شده و آن را به یک تکنیک دستگاهی نوین تبدیل کرده

است. تمام وجوه TLC متأثر از تکنولوژی لایه جاذب، از طریق دستگاه‌های " لکه‌گذاری " و تجهیزات پیشروی برای آشکارسازی و اندازه‌گیری نهایی است. امروزه رایانه نیز نقش مهمی در کنترل تجهیزات و محاسبه گسترده مقدار اطلاعات به‌دست آمده از اسکن صفحه TLC که پیشروی کرده است ایفا می‌کند. این روش باعث توانایی ذخیره و بازسازی تصاویر کروماتوگرام‌ها و داده‌های فیزیکی در نتایج واقعی جداسازی شده و شرایط را برای استفاده‌های بعدی فراهم می‌آورد. در حال حاضر، کروماتوگرافی مسطح دستگاهی قادر به استفاده از نمونه‌هایی با حداقل پیش فراوری، تشخیص اجزایی با حساسیت کمتر از نانوگرم و انحراف استاندارد نسبی حدود ۱٪ است. از نظر نویسنده این توسعه نشان می‌دهد که تصورات قبلی در مورد حساسیت پایین و تفکیک و تکرارپذیری ضعیف TLC باید فراموش شود و امروزه TLC یک روش نوین همزمان با HPLC و GC است. TLC نوین، یک روش قدرتمند و قابل اعتماد با صرفه اقتصادی برای آنالیزهای کیفی و کمی است.

ترتیب فصل‌های این کتاب به گونه‌ای در نظر گرفته شده است که خواننده هر مرحله از فرایند کروماتوگرافی مسطح را با نظم دنبال کند. از این رو، ابتدا جاذب انتخاب می‌شود و به دنبال آن نمونه برای اعمال و روش‌های کاربرد آماده‌سازی می‌گردد. پس از آن طبقاً موضوع پیشروی کروماتوگرام مطرح بوده و سپس معمولاً آشکارسازی، تعیین کمی و یا تصویرسازی ویدئویی آخرین مراحل هستند. اما برخی اوقات آنالیزهای دستگاهی بیشتری مورد نیاز است. از این رو در فصل آخر تکنیک‌های جفت شدن مطرح شده است. همه نظریه‌ها و معادلات ریاضی و توضیحات لازم در صورت لزوم در متن بیان شده‌اند. هدف این کتاب فراهم آوردن نگارش و راهنمایی برای کسانی است که با کروماتوگرافی سروکار دارند و تنها پرداخت عمیق به این نظریه منعکس می‌کند که چرا نیاز است مراحل عملی خاصی انجام شود. مقصود نویسنده این است که کتاب دارای ارزش عملی بوده و توسط کسانی که می‌خواهند برای اولین بار با TLC کار کنند و نیز کسانی که مدت زمانی است با آن کار می‌کنند مورد استفاده واقع شود. این نکته را در خاطر داشته باشید که مثال‌های عملی جداسازی‌های کروماتوگرافی، زمینه آزمایش را مشخص می‌کند. این کتاب روی مراحل بنیادین درگیر در TLC متمرکز است و یک راهنمای عملی برای دستیابی به جداسازی‌های بهتر از لایه HPTLC/TLC فراهم می‌آورد. به همین دلیل برخی از تکنیک‌ها از قبیل میله‌های کوارتزی پوشیده شده با جاذب و رادیوکروماتوگرافی لایه نازک، پوشش

داده نشده‌اند. اما اصول اساسی که هنوز برای بهینه‌سازی جداسازی‌ها در تکنیک‌های مربوطه به کار می‌روند شرح داده شده است. توصیه‌هایی که در سراسر متن انجام گرفته، برای به دست آوردن نتایج قابل قبول و اغلب با کیفیت بالاست که بر اساس سال‌ها تجربه عملی در کروماتوگرافی مسطح توسط نویسنده حاصل شده است.

از آنجایی که برای هر ناشر، بحث در مورد دستگاه‌های HPTLC/TLC ضروری است، محصولات تجاری زیادی در این کتاب معرفی شده است. منابع استفاده شده بر اساس تجربه شخصی نویسنده در استفاده از این محصولات است و قطعاً به معنای برتری آن‌ها نسبت به محصولات سایر تولیدکنندگان نیست.

www.ketaboo.ir