

## خدمات آنالیز HPLC

آنالیز HPLC یا کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatograph) یکی از پرکاربردترین و سریع‌ترین روش‌های جداسازی محلول‌های مایع و تعیین و تحلیل اجزای آن است. در مقایسه با کروماتوگرافی گازی (GC) در آنالیز HPLC خود مایع می‌تواند تزریق شود و در نتیجه برای محلول‌های آبی و غیر فرار مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاربردهای HPLC بسیار متنوع است.

جداسازی و شناسایی ترکیبات آلی در نمونه‌های مجهول، اندازه‌گیری سموم، آفت‌کش‌ها و داروها، آنالیز مواد غذایی، و آنالیز انواع اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها تنها بخشی از کاربردهای آن است. آنالیز HPLC کیفی و کمی است. با این حال برای آنالیز کمی باید استاندارد هر ترکیب نیز به دستگاه تزریق شود.

### مشخصات دستگاه‌های آماده برای ارائه خدمات آنالیز HPLC

نوع جوابدهی: فایل اکسل

مدل دستگاه: Shimadzu

مدل آشکارساز: SPD-M10Avp مدل پمپ: LC-10ATVP

مدت زمان انجام آنالیز: ۳۰ روز کاری

### آنالیز HPLC: آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا High Performance Liquid Chromatograph که به آنالیز HPLC معروف است. یکی از پرکاربردترین و سریع‌ترین روش‌های جداسازی محلول‌های مایع است. برخلاف روش کروماتوگرافی گازی که در آن ماده ورودی به ستون جدایش باید به صورت گازی باشد، در کروماتوگرافی مایع، خود محلول مایع می‌تواند مستقیماً وارد ستون شود. از این رو برای بررسی محلول‌هایی که فرار نیستند و یا محلول‌هایی که به دما حساس هستند باید از کروماتوگرافی مایع (LC) استفاده کرد. در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) محلول را به همراه یک حلال با یک پمپ فشار بالا وارد ستون جدایش می‌شود.

ستون جدایش با مواد متخلخل و یا لایه‌ای پر شده است. برای عبور دادن محلول از داخل ستون معمولاً به فشار زیادی نیاز است از این رو به این روش کروماتوگرافی مایع با فشار بالا نیز گفته می‌شود. درون ستون ترکیبات مختلف با سرعت‌های متفاوتی عبور می‌کنند زیرا میزان چسبندگی، نوع و قدرت پیوندی که هر مولکول با فاز ثابت درون ستون ایجاد می‌کند متفاوت است. به همین دلیل زمانی که طول می‌کشد تا هر مولکول از ستون خارج شود مقداری مشخص است. البته این زمان وابسته به نوع ستون و شرایط آزمایشی است که دستگاه آنالیز HPLC با آن کار می‌کند.

باید برای اطمینان از شناسایی دقیق و اندازه گیری مقدار این ترکیب باید نمونه استاندارد و معلوم از این ترکیب تهیه شود و این نمونه یک بار با شرایط محلول اصلی توسط همان دستگاه HPLC و با همان شرایط تست شود.

## روش اندازه گیری کیفی در آنالیز HPLC

زمانی که طول می کشد هر مولکول از ستون دستگاه آنالیز HPLC عبور کند و به آشکارساز برسد، زمان بازداری (Retention Time) نامیده می شود. زمان بازداری برای هر مولکول مقداری منحصر به فردی است از این رو ابتدا لازم است مقداری از محلول استاندارد (معمولا ترکیب خالص از ماده مورد نظر است) ترکیبی را که به دنبال شناسایی آن هستیم را وارد دستگاه کنیم و زمان بازداری آن را اندازه گیری کنیم و سپس نمونه های مجهول را بررسی کنیم اگر در نمونه مجهول پیک با زمان بازداری مشابه مشاهده شود می توان گفت که این پیک مربوط به همان ترکیب استاندارد است. برای تعیین چندین ترکیب در یک محلول ناشناس باید محلول استاندارد تمام ترکیبات مورد نظر را تهیه کرد. باید توجه داشت که تمام نتایج بدست آمده از مقایسه نمونه مجهول با نمونه های استاندارد زمانی ارزشمند است که تمامی آنالیزها با یک دستگاه در شرایط آزمایشگاهی یکسان انجام شود.

## روش های اندازه گیری کمی در آنالیز HPLC

در روش های اندازه گیری کمی نیز مانند روش کیفی نیاز است محلول استاندارد ماده مورد اندازه گیری موجود باشد. در ابتدا چند محلول با غلظت های مشخص از ماده استاندارد ساخته می شود و این محلول ها وارد دستگاه آنالیز HPLC می شوند. شدت و سطح زیر نمودار مربوط به پیک ها اندازه گیری می شود و سپس نموداری بر حسب غلظت و سطح زیر نمودار (در برخی موارد بر حسب شدت) رسم می شود. بر حسب یک معادله خطی می توان سطح زیر نمودار ترکیب مورد نظر را به غلظت آن ارتباط داد.

در مواردی که ماتریسی که ماده مورد نظر در آن موجود دارد روی نتایج HPLC اثر گذار است، برای اندازه گیری کمی ترکیب مورد نظر، مقادیر مشخصی از ماده استاندارد به نمونه اضافه می شود و سپس نمودار مساحت زیر نمودار ماده مورد بررسی بر حسب غلظت ماده استاندارد اضافه شده به نمونه رسم می شود. بر اساس نمودار بدست آمده و استفاده از یک سری روابط ریاضی ساده می توان غلظت ماده مورد نظر را در نمونه مجهول مشخص نمود.

### توانایی ها آنالیز HPLC

جداسازی و شناسایی ترکیبات آلی در نمونه مجهول

اندازه گیری سموم مختلف در محیط

آنالیز مواد غذایی

آنالیز کمی و کیفی ترکیبات دارویی

جداسازی و تشخیص پروتئین ها و مولکول های زیستی

کنترل استانداردهای داروها، سموم و مواد غذایی

تشخیص و شناسایی مایعات غیر فرار

کاربرد برای اسیدهای آمینه، جداسازی، خالص سازی و شناسایی پروتئین ها (همچنین تحقیقات پروتومیک)، اسیدهای نوکلئیک، هیدروکربنها، داروها، ترپنوئیدها، حشره کش ها، آنتی بیوتیکها، استروئیدها، گونه های آلی و گروهی از مواد گوناگون معدنی و همچنین در برخی از آزمایش های مربوط به تعیین غلظت داروها.

مقایسه ساختارهای پروتئین های مختلف

تعیین ساختار پلیمرها

راندمان جداسازی بیشتر نسبت به سایر روشهای کروماتوگرافی

نمونه های آنالیز HPLC

قبل از ارسال نمونه برای آنالیز HPLC، متقاضی باید مشخصات نمونه را از طریق ایمیل و یا تلفنی برای این مرکز ارسال شود تا اپراتور بررسی کند که آیا آنالیز این نمونه امکانپذیر هست یا نه. برای اندازه گیری کمی برخی از ترکیبات لازم است نمونه استاندارد آن ترکیب نیز برای اپراتور ارسال شود. بسته به نوع نمونه اپراتور مشخص می کند چه مقدار از نمونه باید ارسال شود و یا اگر لازم باشد سوالات بیشتری از طرف اپراتور برای کاربر ارسال می شود.