

## Bevezetés

A modern kromatográfia több, mint egy évszázados múltra tekint vissza. 1903-ban végezte Cvet orosz biológus híres kísérletét, amikor egy üvegcsőbe két vattadugó közé apró darabokra tört kalcium-karbonátot tett és erre az oszlopra növényi levelek petroléteres kivonatát öntötte, melyet a továbbiakban tiszta petroléterrel mosott. Az addigi zöld szín összetevőire vált szét az oszlopon, ahol színes körkörös gyűrűként jelentek meg. Innen származik az elnevezés a *chromos*, mint „szín”, és *graphia*, mint „írás” szavakból. Cvet kísérleténél a mozgófázis folyadék, ezért az elnevezése folyadékkromatográfia. A mozgófázis halmazállapota szolgál a csoportosítás alapjául. Például, ha a mozgófázis gáz, akkor gázkromatográfiáról, ha pedig szuperkritikus fluidum, akkor szuperkritikus fluid kromatográfiáról beszélünk. A kromatográfia fejlődését több jelentős mérföldkő jelzi. Ilyenek a megoszlásos- és papírkromatográfia bevezetése a 40'-es években, a gáz- és vékonyréteg-kromatográfia megjelenése az 50'-es években és a különféle gélkromatográfias módszerek alkalmazása a 60'-as években.

A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) műszerezettségére a 70'-es évek elejére alakult ki. Ez visszatükrözte az arra az időre elért eredményeket a kolonnatechnológia területén, már megjelentek a 10 µm szemcseátmérőjű töltetek, a szabálytalan alakú szilikagél helyett fokozatosan átvették a szabályos, gömbszimmetrikus töltetek. Uralkodóvá váltak a 15 és 25 cm hosszú és 4,6 mm belső átmérőjű kolonnák. A folyadékkromatográfia műszerezettségét is ezekhez igazították. Ennek megfelelően az adagolási térfogat 10 – 100 µL közé esett, az UV, UV-Vis detektorok cellatérfogata 10 µL, az összekötő vezetékek belső átmérője 0,25 mm volt. Az így kialakított készülék teljes mértékben megfelelt a követelményeknek. Hosszú ideig csak a számítógépes vezérlés és adatgyűjtés jelentette a fejlesztést. Ez a rendszer lett a gyógyszeripar fő analitikai módszere. A kolonna töltetek viszont, amelyek döntő többségét a szilikagél alapúak jelentették, a nagy fémion tartalmuk, nagy szilanolcsoport aktivitás és a kis borítottságuk miatt számos feladat megoldásánál nehezen reprodukálhatóvá tették a módszereket. Sokszor sarzsról sarzsra változtak a kolonnák felületi fizikai-kémiai tulajdonságai és ez visszaköszönt az elválasztásban. Ekkor a fő feladat a kolonnatechnológia fejlesztése volt.

Kisebb fémion tartalmú, kisebb szilanolcsoport aktivitású, jól borított állófázisok és sarzsról sarzsra való azonosság jelentették a fő célokat. A 90-es évek végére, a 2000-es évek elejére a kolonnatechnológia területén

sikerült ezeket elérni, sőt megjelentek az 5 µm alatti szemcseátmérőjű töltetek. Először a 3 µm-esek, majd napjainkra a 2 µm és az alatti szemcseátmérőjűek is. A kis csúcshosszúság, amelyet a kis szemcseátmérőjű töltetekkel lehet elérni, jelentősen megnövelte a technika hatékonyságát. Értve ezalatt, hogy kis szerkezeti különbségű anyagokat lehetett rövid idő alatt elválasztani, egységnyi idő alatt viszonylag nagyszámú mintát lehetett elemezni, megnőtt a kolonna csúcsfelbontó kapacitása, stb. Ennél a technikánál a nyomás felső határa 400 bar. Ma, amikor HPLC-ről beszélünk, akkor ezzel a műszerezettséggel működő folyadékkromatográfiás rendszert értjük alatta. Ezt a műszerezettséget alkalmazva, az elemzési idő 5 – 60 perc között változott, az elválasztásokban tapasztalt csúcshosszúságok viszonylag nagyok voltak. Adva voltak a fő célok, amelyeket szem előtt tartva megindulhattak az új fejlesztések. Megjelent az igény a gyorsabb kromatográfiás módszerek alkalmazására, ahol a zónaszélesedés kisebb. A megoldásra több út kínálkozott, az egyik; csökkenteni a kolonna- és szemcseméretet, a másik; növelni a hőmérsékletet, a harmadik; új, nagyobb permeabilitású kolonnát készíteni. A nagy permeabilitású kolonnák egyik válfaja a monolit. Ez az „egy darabból álló” megoldás valóban forradalmasította az elválasztástechnikát a 2000-es évek elején azzal, hogy bizonyos szabályokat és kolonna méreteket betartva, a most már hagyományosnak mondott HPLC készülékben is használható. A 2 µm szemcseátmérőjű kolonnák, és a nagy hőmérséklet alkalmazása viszont megköveteli, hogy új készüléket használjunk.

2004 mérföldkő volt a folyadékkromatográfia történetében. Ekkor jelent meg kereskedelmi forgalomban az első 1000 bar-ig működő, kis kolonnán kívüli térfogattal rendelkező gyors folyadékkromatográfiás rendszer (UHPLC). Ezzel egyidőben 1,7 µm átlagos szemcseátmérőjű szerves sziloxánból készült teljesen porózus állófázissal töltött kolonnákat is forgalomba bocsátottak.

A kolonnatechnológia szempontjából meghatározó év volt 2007, hiszen ekkor jelentek meg a harmadik generációs héjszerkezetű töltetek, melyek napjainkban is nagy népszerűségnek örvendenek a folyadékkromatográfiás szakemberek körében.

A folyadékkromatográfia fejlődése napjainkban is töretlen, így igaz a korábban megfogalmazott tétel, miszerint „*Minden tankönyv, ahogy az intelligens szakértői rendszerek is, az adott területen az elkészítéséig megismertek rendszerezett összefoglalása.*”