

مقدمه‌ای بر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و کاربرد آن در جداسازی نانوذرات طلا

نویسندگان:

زهرا بهراد^۱، محمود نادری^۲ و

مریم یوسفی^۳

۱. کارشناس ارشد، شیمی آلی، موسسه

تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

behrad@rifr.ac.ir

۲. دکتری شیمی آلی، پژوهشکده

نانوبیوتکنولوژی، پژوهشگاه

فناوری‌های نوین علوم زیستی جهاد

دانشگاهی-ابن سینا

۳. عضو کارگروه تخصصی کروماتوگرافی

شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

چکیده

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، روشی مناسب جهت جداسازی، اندازه گیری، و تعیین نوع مواد است. این تکنیک با تلفیق با روشهای دیگر و آشکارسازهای پیشرفته ای مانند طیف سنج جرمی کاربرد های زیادی در علوم مختلف دارد. انتخاب فاز متحرک و ثابت، انتخاب آشکارساز و تعیین سرعت جریان فاز متحرک از جمله موارد اساسی در تنظیمات یک روش مناسب HPLC است. در این مقاله به بررسی روش ها ممکن برای جداسازی نانوذرات توسط این راهبرد پرداخته میشود

واژه‌های کلیدی

نانوذرات طلا، کروماتوگرافی مایع

مقدمه

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یکی از پرکاربردترین روش‌های کروماتوگرافی است. فرآیند کروماتوگرافی به عنوان یک روش جداسازی که شامل انتقال جرم بین یک فاز ساکن و یک فاز متحرک است، تعریف می‌شود. روش HPLC با بهره‌گیری از یک فاز متحرک مایع، ترکیبات یک مخلوط را روی فاز ساکن جدا می‌کند. فاز ساکن می‌تواند مایع یا جامد باشد. ترکیبات ابتدا در یک حلال حل می‌شوند. سپس درون یک ستون کروماتوگرافی تحت فشار بالا جریان می‌یابند. در ستون، ترکیبات مخلوط از هم جدا می‌شوند. میزان تفکیک‌پذیری بسیار اهمیت دارد و به میزان برهم‌کنش بین ترکیبات حل شده و فاز ساکن بستگی دارد. فاز ساکن به عنوان مواد متراکم شده درون ستون تعریف می‌شود. برهم‌کنش جسم حل شده با فازهای متحرک و ثابت می‌تواند از طریق انتخاب حلال‌ها و فازهای ساکن مختلف تغییر کند. در نتیجه HPLC درجه بالایی از جداسازی را که در دیگر روش‌های کروماتوگرافی یافت نمی‌شود، فراهم می‌کند و توان آن را دارد تا به آسانی گستره وسیعی از مخلوط‌های شیمیایی را جدا نماید.

HPLC یک فرآیند جذب سطحی پویا است. مولکول‌های مورد تجزیه، زمانی که از میان دانه‌های متراکم متخلخل حرکت می‌کنند، جذب سطحی می‌شوند. بسته به روش HPLC، انواع مختلفی از نیروهای جذب سطحی ممکن است در فرآیند بازداري موثر باشند. برهم‌کنش‌های آب‌گریز (غیراختصاصی)، اصلی‌ترین برهم‌کنش‌ها در جداسازی فاز معکوس، برهم‌کنش‌های دوقطبی-دوقطبی (قطبی)، اصلی‌ترین برهم‌کنش در روش فاز نرمال و برهم‌کنش‌های یونی نیز در کروماتوگرافی تبادل یونی، باعث بازداري ترکیبات می‌شوند. برهم‌کنش‌های مذکور همگی در رقابت با هم عمل می‌کنند. مولکول‌های مورد تجزیه با مولکول‌های حلال شوییده، برای جذب سطحی روی مکان‌های فعال فاز ساکن رقابت می‌کنند. بنابراین هر قدر مولکول‌های مورد تجزیه، برهم‌کنش قوی‌تری با سطح داشته باشند، برهم‌کنش شوییده ضعیف‌تر بوده و ماده مورد تجزیه زمان طولانی‌تری روی سطح فاز ساکن باقی می‌ماند. کروماتوگرافی اندازه طردی، نوع دیگری از کروماتوگرافی است که جداسازی مخلوط به واسطه تفاوت اندازه مولکول‌ها صورت می‌گیرد و بر پایه عدم وجود هرگونه برهم‌کنش‌های تجزیه‌ای خاص با فاز ثابت می‌باشد (هیچ نیرویی در این روش استفاده نمی‌شود). اصل اساسی جداسازی کروماتوگرافی اندازه طردی این است که مولکول بزرگتر، امکان کمتری برای نفوذ در فضای متخلخل جاذب دارد و بنابراین کمتر در ستون بازداري می‌شود.

سطح این فازهای ثابت با جمعیت انبوهی از گروه‌های OH که این سطوح را در حالت قطبیت بالایی نگه می‌دارند، پوشیده شده‌است. بازداری آنالیت روی این سطوح به تغییرات ترکیب فاز متحرک بسیار حساس است. فازهای ثابت اصلاح شده یا تغییر یافته از لحاظ شیمیایی هم می‌توانند در کروماتوگرافی فاز نرمال استفاده شوند. سیلیکای تغییر یافته با تری‌متوکسی گلاسیدوکسی پروپیل سیلان (نام رایج: دیول-فاز) جزو مواد پرکننده رایج است که قطبیت سطح در آن کاهش یافته است. چگالی سطح گروه‌های OH روی فاز دیول، در محدوده اندازه $4-3 \text{ mol}\mu\text{m}^2$ است. در حالی که روی سیلانول‌های سیلیکای بدون پوشش، چگالی سطح در اندازه $8-10 \text{ mol}\mu\text{m}^2$ است. استفاده از فاز ساکن از نوع دیول و ترکیباتی با قطبیت پایین به عنوان اصلاح کننده شوینده (استرها مانند اتیل استات به جای الکل‌ها) باعث جداسازی بهتر و تکرارپذیرتر در مقایسه با سیلیکای بدون پوشش می‌شود. قدرت جذب سطحی ترکیبات شیمیایی در کروماتوگرافی فاز نرمال به ترتیب زیر افزایش می‌یابد:

هیدروکربن‌های سیر شده، اولفین‌ها، آروماتیک‌ها، سولفیدها، اترها، ترکیبات نیترو، استرها-آلدهیدها-کتون‌ها، الکل‌ها، آمیدها، اسیدهای کربوکسیلیک.

انتخاب استفاده از کروماتوگرافی فاز نرمال به عنوان روش کروماتوگرافی منتخب معمولاً به حلالیت نمونه در فازهای متحرک خاص بستگی دارد. از آنجایی که رایج است در روش فاز نرمال از حلال‌های غیرقطبی استفاده شود، این روش برای ترکیبات آب‌گریز (ترکیباتی که برهم‌کنش‌های قوی‌تری در کروماتوگرافی فاز معکوس از خود نشان می‌دهند) و در حلال‌های قطبی یا آبی حل نمی‌شوند کاربرد دارد. شکل (۱) کاربرد کروماتوگرافی فاز نرمال را برای جداسازی مخلوطی از چربی‌های مختلف نشان می‌دهد.

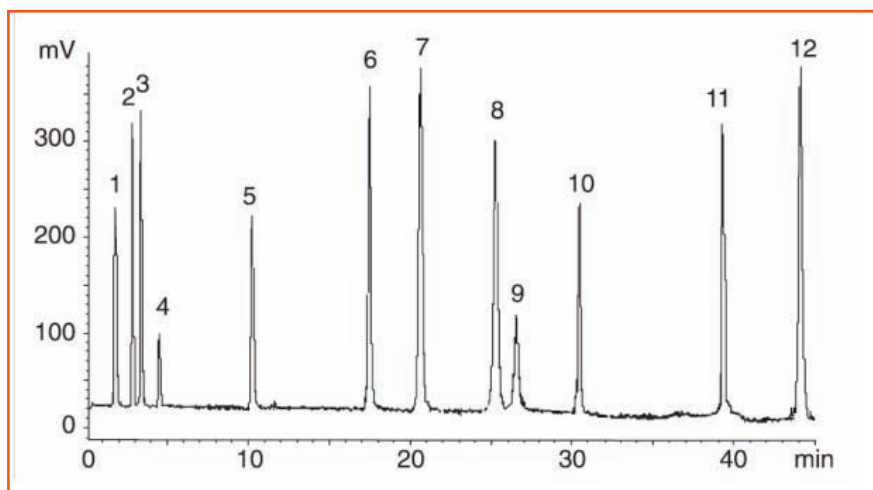
■ انواع روش‌های HPLC

چهار نوع روش کروماتوگرافی نام برده شده (فاز نرمال، فاز معکوس، تبادل یونی و اندازه طردی) روش‌های اصلی هستند که در ادامه شرح داده شده‌اند.

■ کروماتوگرافی فاز نرمال

در کروماتوگرافی فاز نرمال تفاوت قدرت برهم‌کنش‌های قطبی آنالیت‌ها در یک مخلوط با فاز ساکن معیار جداسازی است. هرچه برهم‌کنش فاز ساکن با آنالیت قویتر باشد، نگهداری آنالیت در ستون طولانی‌تر خواهد بود. همانند هر روش کروماتوگرافی دیگر، فرایند جداسازی کروماتوگرافی فاز نرمال نیز یک رویداد رقابتی است که در آن مولکول‌های آنالیت با مولکول‌های فاز متحرک برای جذب روی سطح فاز ثابت رقابت می‌کنند. فاز متحرک در کروماتوگرافی فاز نرمال، حلال‌های غیرقطبی همچون هگزان و هپتان هستند که کمی حلال قطبی مانند اتانول و متانول به آن افزوده می‌شود. تغییر غلظت حلال‌های قطبی در فاز متحرک باعث کنترل میزان بازداری آنالیت در ستون می‌گردد. افزودنی‌های قطبی رایج، الکل‌ها (متانول، اتانول و ایزوپروپانول) هستند که به فاز متحرک در مقادیر کم افزوده می‌شوند. از آنجایی که نیروهای قطبی، نوع غالب برهم‌کنش‌ها هستند و نسبت به سایرین نیز قوی هستند، حتی فقط تغییر یک درصد حجمی/حجمی تعدیل کننده قطبی در فاز متحرک، معمولاً باعث تغییرات قابل توجه در بازداری آنالیت می‌شود.

مواد پرکننده ستون رایج در کروماتوگرافی فاز نرمال، اکسیدهای متخلخلی مانند سیلیکا (SiO_2) و یا آلومینا (Al_2O_3) هستند.



شکل ۱- جداسازی نمونه‌های انتخابی از دسته‌های چربی مختلف:

۱- پارافین، ۲-n-هگزادسیل پالمیتات، ۳- کلسترول پالمیتات، ۴- استئاریک اسید متیل استر، ۵- گلیسرول تری‌پالمیتات، ۶- هگزادسیل الکل، ۷- استئاریک اسید، ۸- کلسترول، ۹- گلیسرول-۱و۳-دی‌پالمیتات، ۱۰- گلیسرول-۱و۲-دی‌پالمیتات، ۱۱- گلیسرول مونوپالمیتات، ۱۲- اروسیل آمید. ستون مورد استفاده Liکروسفر® دیول (3×125 میلی متر) قطرذرات پرکننده ستون $5-\mu\text{m}$. حلال شوینده به صورت گرادینانی است که از ۱۰۰ درصد ایزواکتان شروع شده و به تدریج درصد متیل تری ترسیوبوتیل اتر (MTBE) افزایش می‌یابد تا درصد آن طی ۳۴ دقیقه به ۶۰ درصد برسد و سپس ۱۰ دقیقه در این درصد به صورت ایزوکراتیک نگهداری می‌شود.

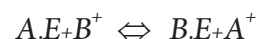
■ کروماتوگرافی فاز معکوس (HPLC RP یا RPLC)

بر خلاف کروماتوگرافی فاز نرمال، در کروماتوگرافی فاز معکوس برهم کنش‌های واندروالس یا آب‌گریز نیروهای عمده هستند. در این روش قطبیت فازهای متحرک و ثابت معکوس شده‌اند به طوری که سطح فاز ثابت آب‌گریز و فاز متحرک، قطبی است (در بیشتر موارد، محلول‌های آبی به عنوان شوینده استفاده می‌شوند). کروماتوگرافی فاز معکوس تا به امروز متداول‌ترین روش کروماتوگرافی است و تقریباً ۹۰ درصد تمام تجزیه‌های نمونه‌هایی با وزن مولکولی پایین، با استفاده از کروماتوگرافی فاز معکوس انجام می‌شود. یکی از عوامل اصلی شهرت و کاربرد زیاد این روش، توانایی تمایز ترکیبات بسیار مشابه و سهولت تغییر بازداری و گزینش پذیری در آن است. دلیل وجود این مزایا این است که نیروهای پراکندگی که در این نوع جداسازی استفاده می‌شوند، از ضعیف‌ترین نیروهای بین مولکولی هستند. این انرژی پایین، تشخیص تفاوت‌های بسیار کوچک برهم کنش‌های مولکولی آنالیت‌های بسیار مشابه را ممکن می‌کند.

مواد جاذب سطحی که در این نوع کروماتوگرافی استفاده می‌شوند، مواد جامد متخلخل با سطحی آب‌گریز هستند. بیشتر مواد پرکننده ستون که در کروماتوگرافی فاز معکوس استفاده می‌شوند، سیلیکاهای متخلخل اصلاح شده شیمیایی هستند. خواص سیلیکا طی سال‌های زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است و فناوری ساخت ذرات متخلخل کرووی با اندازه و تخلخل مشخص، به خوبی توسعه یافته است. با وجود تحقیقات گسترده و رشد فراوان انواع ستون و مواد پرکننده قابل دسترس از لحاظ تجاری، هنوز در مورد خصوصیات بهینه برای فاز ساکن در این نوع کروماتوگرافی برای تجزیه دسته‌های متنوع ترکیبات (مانند دارویی، زنجیره‌های آلکلی خطی، حلقه‌های آروماتیک و هتروسیکل‌ها)، نظر جامعی وجود ندارد.

■ کروماتوگرافی تبادل یونی

این نوع کروماتوگرافی، بر پایه کشش متفاوت یون‌های ماده مورد تجزیه نسبت به مراکز یونی با بار مخالف در رزین و یا یون‌های با بار مخالف جذب سطحی شده در فاز ثابت آب‌گریز عمل می‌کند. تبادل دو یون A^+ و B^+ در محلول و رزین تبدالی E^- را در نظر بگیرید:



ثابت تعادل برای این فرایند در معادله زیر نشان داده شده است:

$$K = \frac{[A^+][BE]}{[AE][B^+]}$$

این معادله تمایل نسبی دو کاتیون را به مراکز تبدالی روی سطح تعیین می‌کند. اگر ثابت تعادل برابر با یک باشد هیچ تمایز و تشخیصی برای این سیستم وجود نخواهد داشت. ثابت تعادل بالاتر از یک توانایی بیشتر کاتیون B^+ برای جانشین شدن به جای A روی سطح رزین را نشان می‌دهد. با توجه به بار مراکز تبادل روی سطح، رزین می‌تواند هم مبدل آنیون (مراکز یونی مثبت روی

سطح) و هم مبدل کاتیون (مراکز منفی روی سطح) باشد. چهار نوع اصلی مراکز تبادل یون که معمولاً به کار گرفته می‌شود عبارتند از:

◆ SO_3^- : مبادله‌کننده کاتیون قوی؛

◆ CO_3^- : مبادله‌کننده کاتیون ضعیف؛

◆ آمین نوع چهارم: مبادله‌کننده آنیون قوی؛

◆ آمین نوع سوم: مبادله‌کننده آنیون ضعیف.

نگهداری آنالیت و گزینش‌پذیری در کروماتوگرافی تبادل یون بستگی زیادی به pH و قدرت یونی فاز متحرک دارد.

■ کروماتوگرافی اندازه-طردي (SEC)

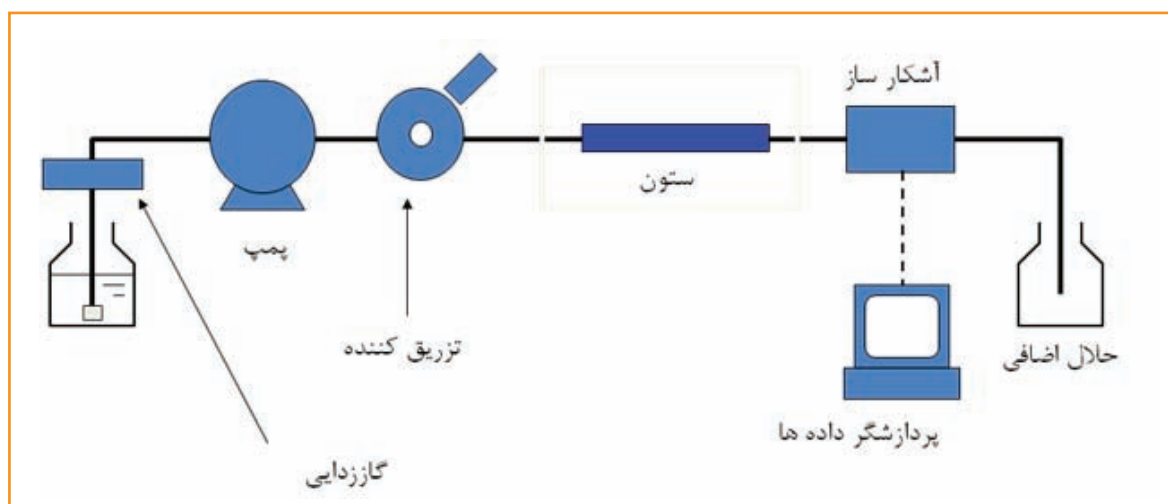
کروماتوگرافی اندازه-طردي روشی برای جداسازی مولکول‌ها بر اساس اندازه آنها است و همان‌طور که از نام آن پیداست، جداسازی بر اساس اندازه مولکول‌ها و عبور آنها از فضای متخلخل فاز ساکن و به دلیل ممانعت فضایی آن انجام می‌شود. شعاع هیدرودینامیکی مولکول مورد تجزیه، فاکتور اصلی در تعیین میزان بازداری آن است. به طور کلی هرچه شعاع هیدرودینامیکی مولکول بزرگتر باشد، زمان ماندن آن در ستون کوتاهتر است. از لحاظ تاریخی، دو نام مختلف برای این روش استفاده می‌شود. در سال ۱۹۵۹ غربال‌گری مولکولی برای جداسازی پلیمرهای بیوشیمیایی روی دکستران استفاده شد و کروماتوگرافی ژل صافی نامیده شد (شوینده‌های با پایه آبی به همراه نمک‌ها به عنوان فاز متحرک به کار برده می‌شوند). در ۱۹۶۱ همان روش برای تعیین وزن مولکولی پلیمرهای سنتزی به کار گرفته شد و نام کروماتوگرافی ژل تروایی بین شیمی‌دانان پلیمر کاربرد عمومی پیدا کرد (عمدتاً حلال‌های آلی از قبیل THF به عنوان شوینده به کار برده می‌شوند).

این تنها روش جداسازی کروماتوگرافی است که در آن باید از هرگونه برهم‌کنش مثبت آنالیت با فاز ساکن اجتناب شود. در کروماتوگرافی اندازه-طردي هرچه وزن مولکولی آنالیت بالاتر باشد، شعاع هیدرودینامیکی آن بزرگتر است و در نتیجه سریعتر از ستون عبور می‌کند. در عین حال، اگر یک مولکول آنالیت با فاز ساکن برهم‌کنش نماید (که نامطلوب است)، بازداری مولکول‌های بزرگتر افزایش می‌یابد و ممکن است جداسازی مولکول‌ها منحصراً بر اساس شعاع هیدرودینامیک را مغشوش کند. به همین علت انتخاب مواد پرکننده ستون و فاز متحرک باید با دقت انجام شود به نحوی که مولکول‌های فاز متحرک با سطح فاز ساکن، قوی‌تر از پلیمر برهم‌کنش نمایند که در نتیجه از برهم‌کنش پلیمر با سطح جلوگیری می‌شود.

تعیین وزن مولکولی پلیمر بر اساس رابطه بین شعاع هیدرودینامیکی مولکول و وزن مولکولی است. شعاع تقریباً با ریشه سوم وزن مولکولی متناسب است. بنابراین ریشه سوم وزن مولکولی با میزان بازداری آنالیت متناسب است. این رابطه فقط در ناحیه کامل مولکول‌های پلیمر از فضای متخلخل فاز ساکن صحیح است.

■ دستگاه HPLC

دستگاه HPLC دارای یک پمپ تزریق کننده، ستون، آشکارساز و سیستم داده‌ها است. قلب دستگاه، ستون آن است؛



شکل ۲- تصویر اجزای تشکیل دهنده دستگاه HPLC

روش‌های کروماتوگرافی مایع که به طور معمول برای جداسازی مولکول‌ها و پلیمرها بر اساس اندازه و خواص شیمیایی آنها به کار می‌رفتند، امروزه برای آنالیز توزیع اندازه ذرات نانوذرات طلا استفاده می‌شوند [۱]. علاوه بر این، میانگین اندازه و خواص نوری نانوذرات طلا را می‌توان با استفاده از یک تک نمونه که حجمی در حد چند میکرولیتر دارد در طی زمان کوتاهی به دست آورد [۲ و ۳]. این روش‌ها را می‌توان بر اساس شیوه عمل آنها طبقه‌بندی کرد که به عنوان مثال کروماتوگرافی اندازه طردی [۴-۱۱]، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا [۱۲-۱۴] و کروماتوگرافی تبادل یونی [۱۵] جزو این دسته از روش‌ها هستند.

از آنجا که طیف نوری وابسته به اندازه نانوذرات را می‌توان به آسانی به وسیله سیستم‌های کروماتوگرافی و آشکارسازهای دیودی آرایه‌ای ثبت نمود، از کروماتوگرافی اندازه طردی در تلفیق با TEM برای تعیین اندازه ذرات طلا در محدوده ۳ تا ۲۰ نانومتر استفاده شده‌است [۱۶]. از این روش تلفیقی همچنین برای آنالیز دیگر ذرات کلئیدی مانند سیلیکا [۱۷] و نیمه‌هادی‌ها [۲۱-۱۸] استفاده شده‌است. کروماتوگرافی اندازه طردی همچنین این توانمندی را نیز دارد که از طریق گردآوری بخش‌های جداسازی شده از یک مخلوط پلی‌دیسپرس، فرم‌های مونودیسپرس ایجاد نماید [۲۲]. چنین گزارش‌هایی مویید این مطلب است که روش‌های کروماتوگرافی قادر به جداسازی نانوذرات مختلفی است.

جداسازی با روش اندازه طردی مستلزم انتخاب فاز ساکن با اندازه تخلخل مناسب و علاوه بر آن، انتخاب فاز متحرک مناسب است. با این وجود، جذب سطحی برگشت‌ناپذیر نانوذرات روی فاز ساکن از مشکلات استفاده از روش‌های کروماتوگرافی برای جداسازی است و مساحت سطح بالای فاز ساکن و فعالیت سطحی بالای نانوذرات، مشکل برگشت ناپذیری جذب سطحی را دو چندان می‌سازد.

الکتروفورز موینه می‌تواند این مشکل را با کاهش اثر سطح در سیستم جداسازی کاهش دهد [۲۳]. اما در این صورت جداسازی نمونه برای به دست آوردن ذرات مونودیسپرس یکی از چالش‌های عمده است. برای حل این مشکل در کروماتوگرافی اندازه طردی می‌توان به فاز متحرک، سورفکتانت اضافه نمود. سورفکتانت به فاز ساکن متصل می‌شود و بر رفتار بازداری

جایی که جداسازی اتفاق می‌افتد. برای عبور فاز متحرک از میان ذره‌های متخلخل میکرومتری فاز ساکن ستون، یک پمپ با فشار بالا لازم است. فرآیند کروماتوگرافی با تزریق محلول به ابتدای ستون شروع می‌شود. جداسازی ترکیبات زمانی اتفاق می‌افتد که ماده مورد تجزیه و فاز متحرک به داخل ستون پمپ شوند. سرانجام هر ترکیب که درون ستون شسته می‌شود، به صورت یک پیک روی آشکارساز ظاهر می‌شود. تشخیص ترکیبات شسته شده بسیار مهم است و این می‌تواند بسته به آشکارساز مورد استفاده، انتخابی یا عمومی باشد. پاسخ آشکارساز برای هر ترکیب روی نمودار یا صفحه نمایش کامپیوتر نمایش داده می‌شود که به عنوان کروماتوگرام شناخته می‌شود. برای گردآوری، ذخیره و آنالیز داده‌های کروماتوگرافی، کامپیوتر، انتگرال‌گیر و سایر تجهیزات پردازش داده‌ها اغلب استفاده می‌شود.

■ کاربرد HPLC در آنالیز نانوذرات طلا

نانوذرات فلزی در فیزیک، شیمی و بیولوژی کاربرد روز افزونی دارند. اندازه این ذرات تأثیر بسیار مهمی بر خواص فیزیکی و شیمیایی، از جمله خصلت کاتالیزوری آنها دارد. اغلب از روش TEM برای تعیین اندازه ذره و شکل آن استفاده می‌شود. با این وجود TEM روشی وقت گیر و گران است که در آن هیچگونه جداسازی انجام نمی‌شود. علاوه بر این، در یک آنالیز TEM تنها قسمت محدودی از نمونه بررسی می‌شود و نمی‌توان خواص میانگین ماده مانند قطر و شکل را به دست آورد. این عدم قطعیت آماری به این دلیل رخ می‌دهد که این شخص است که در نهایت تصمیم می‌گیرد کدام منطقه از نمونه مورد بررسی قرار گیرد و از سایر مشکلات که در طی خشک شدن نمونه به وجود می‌آید و می‌تواند باعث تجمع و یا تغییرات شیمیایی از جمله اکسیداسیون شود، صرف نظر می‌شود. در نهایت از آنجا که در TEM بمباران الکترونی انجام می‌شود، گروه‌های آلی که برای پوشاندن سطوح نانوذرات استفاده می‌شوند، مشاهده نمی‌شوند و بنابراین اندازه لایه آلی را نمی‌توان محاسبه کرد. با در نظر گرفتن تمامی این عوامل، لزوم استفاده از روش‌های جایگزین برای آنالیز اندازه نانوذرات به جای TEM و DLS آشکار می‌شود [۱].

شکل (۳) اثر فازهای متحرک مختلف را نشان می‌دهند. زمانی که از آب به عنوان تنها شوینده استفاده می‌شود هیچ پیکی مشاهده نمی‌شود و جذب سطحی بسیار شدید است (نمودار A در شکل ۳). با افزودن SDS به عنوان شوینده، هر دو پیام مربوط به اشکال مختلف ذرات طلا، در یک محدوده مشاهده می‌شود (نمودار B در شکل ۳). با استفاده از مخلوط سورفکتانت‌ها (SDS و Brij-۳۵) همان طور که در نمودار C شکل ۳ نشان داده شده‌است، جداسازی نانوذرات کروم و میله‌ای را می‌توان انجام داد.

با افزودن SDS به فاز متحرک این امکان فراهم می‌آید که برهم‌کنش SDS با فاز ساکن و نانوذرات القا شود. برهم‌کنش میان سورفکتانت و فاز ساکن به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است [۳۴-۳۱]. برهم‌کنش میان مواد پرکننده ستون و سورفکتانت به صورت جذب سطحی سورفکتانت روی سطح مواد پرکننده رخ می‌دهد و بر کارایی جداسازی اثر می‌گذارد. همچنین این احتمال وجود دارد که برهم‌کنش میان نانوذرات و سورفکتانت، چگونگی آرایش سورفکتانت را در حول نانوذرات طلا تحت تأثیر قرار دهد.

آرایش مولکول‌های کافی از SDS در حول نانوذرات طلا که به وسیله سورفکتانت‌های کاتیونی پایدار می‌شوند و مانند ذرات باردار مثبت عمل می‌کنند [۳۴] باعث می‌شود بار ذرات به منفی تغییر کند. داده‌ها حاکی از آن است که نانوذرات طلا در غلظت بالای SDS غلیظ، مانند گونه‌هایی با بار منفی عمل می‌کند و می‌توان انتظار داشت که هم مواد پرکننده ستون و هم نانوذرات طلا، با SDS برهم‌کنش کرده و بار منفی روی سطح آنها پدید آید. دافعه به وجود آمده میان ذرات و ماده پرکننده ستون باعث جلوگیری از جذب سطحی نانوذرات روی فاز ساکن پرکننده ستون می‌شود.

در بررسی دیگری توسط وی و لی یو از سورفکتانت برای جداسازی اندازه‌های مختلف نانوذرات طلا استفاده شد. رفتار بازداری و کارایی جداسازی در کروماتوگرافی اندازه طردی برای نشان دادن مزیت سورفکتانت یونی در فاز متحرک در تحقیق مذکور مورد بحث قرار گرفته است [۳۵]. همان گونه که پیشتر

آنالیت اثر می‌گذارد. از سورفکتانت‌ها برای کنترل اندازه نانوذرات استفاده می‌شود اتصال سورفکتانت به نانوذرات، آنها را از طریق اثرهای فضایی و یا الکتروستاتیکی پایدار می‌سازد و از تجمع آنها جلوگیری می‌کند.

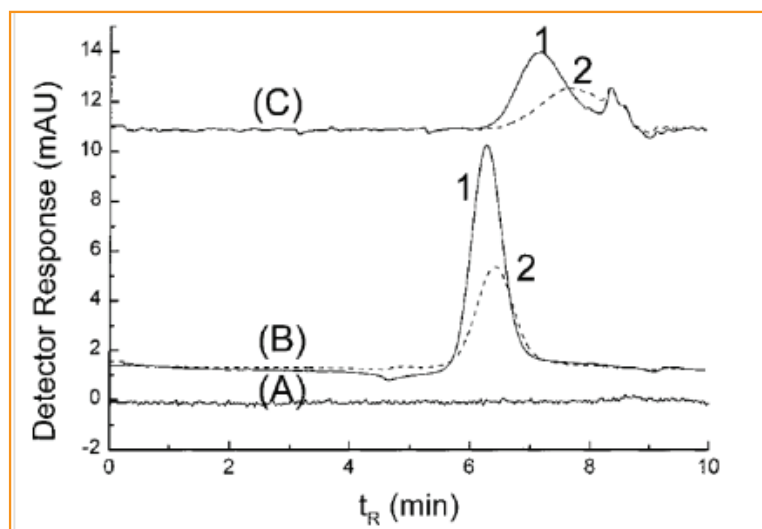
به تازگی جداسازی و آنالیز نانوذرات طلای نامحلول (مانند نانوذرات طلای پوشیده شده با آلکان‌تیولات‌ها) با استفاده از کروماتوگرافی فاز معکوس و در تلفیق آن با آشکارساز آرایه‌ای دیودی ۱۴ برای تعیین مونودیسپرس بودن نسبی نانوذرات طلا با اندازه کمتر از ۲۸ nm، انجام شده‌است [۲۸-۲۴]. همچنین از آشکارساز ولتامتری متناوب برای آشکارسازی نانوذرات کوچک (با قطر هسته کمتر از ۲ نانومتر) که از طریق HPLC فاز معکوس جداسازی شده بودند، استفاده شد.

السومالی گزارش نمود که یک ستون مایکروژل هیدروفوب متخلخل که با سیستم کروماتوگرافی اندازه طردی قابل بازیافت کار می‌کند، آنالیز با میزان تفکیک بالایی برای نانوذرات طلای پایدار شده با آلکان تیولات با اندازه کوچک تر از ۳ nm به دست می‌دهد [۲۹].

روش‌های جداسازی برای آنالیز نانوذرات طلای محلول در آب (به عنوان مثال نانوذرات طلای پایدار شده با سیترات) نیز شایان اهمیت هستند و علت اهمیت آنها، کاربردهای بیوتجزیه‌ای و دارویی آنهاست. افزودن سورفکتانت (به عنوان مثال سدیم دو دسیل سولفات) به فاز متحرک از جذب سطحی نانوذرات طلا روی ستون و تجمع آنها جلوگیری می‌کند و باعث تسهیل در جداسازی بر اساس اندازه ذره می‌شود [۱۰].

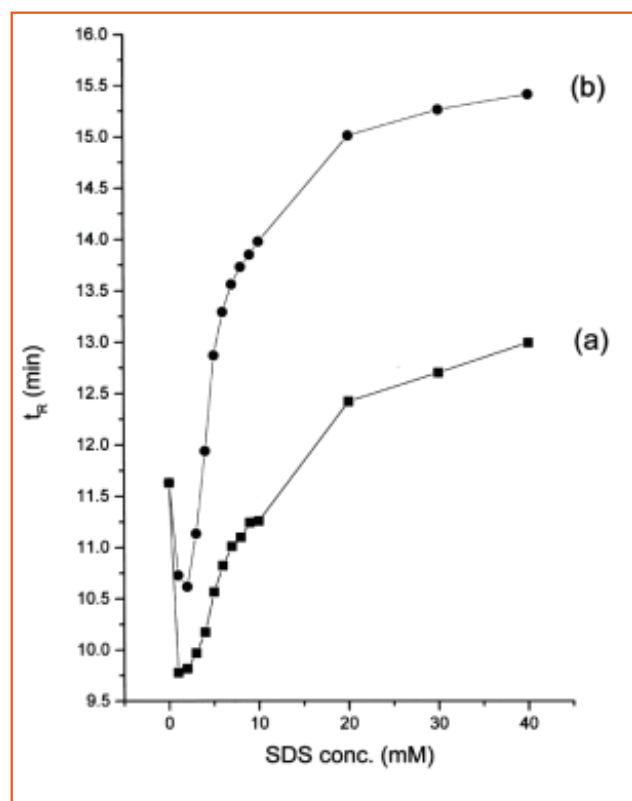
برای نخستین بار، روش کروماتوگرافی اندازه طردی برای جداسازی اشکال مختلف کروم و میله‌ای نانوذرات طلا به وسیله وی و همکارانش به کار گرفته شد [۳۰].

از جمله مشکلات روش SEC برای جداسازی نانوذرات، جذب سطحی برگشت‌ناپذیر آنها به وسیله مواد پرکننده ستون است. ترکیبات متنوعی از فاز متحرک برای جداسازی نانوذرات طلا به منظور بررسی مشکل جذب سطحی استفاده شدند. کروماتوگرام‌های



شکل ۳- کروماتوگرام جداسازی اشکال مختلف نانوذرات طلا با ترکیب مختلف شوینده‌ها: (A) H₂O، (B) ۴mM SDS، (C) ۴mM SDS و ۳۵mM Brij و (۱) آشکارسازی در ۹۲۰nm (خطوط پر رنگ) و (۲) آشکارسازی در ۵۲۰nm (خطوط خط چین)

زمان بازداری در ابتدا کاهش می‌یابد و در غلظت‌های بالاتر SDS افزایش می‌یابد.

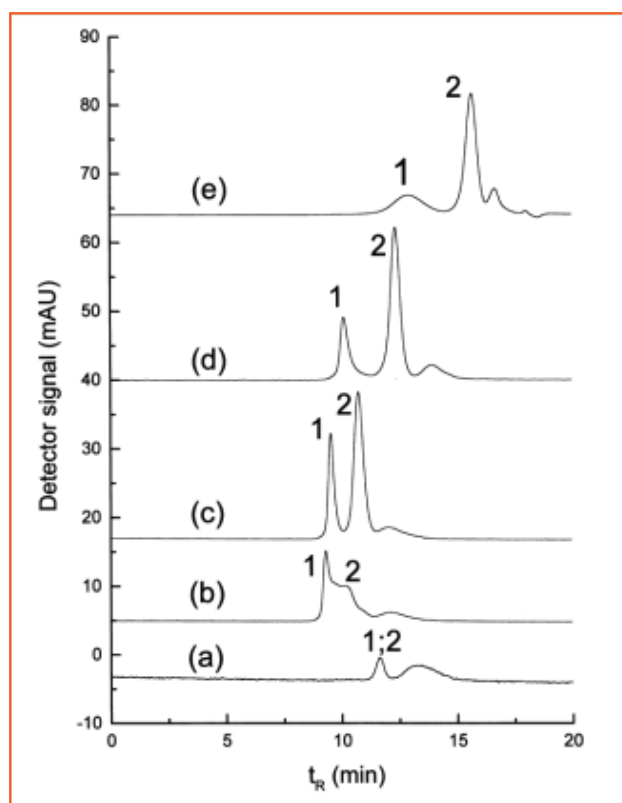


شکل ۵ - اثر غلظت SDS بر زمان بازداری نانوذرات طلا در SEC. (a) نانوذرات 38 nm^3 ، (b) نانوذرات 15 nm^3 . حجم نمونه $10\text{ }\mu\text{l}$ و سرعت جریان 5 ml/min است.

این امکان وجود دارد که عوامل مختلفی بر زمان بازداری اثر بگذارند. در غلظت پایین SDS برهم‌کنش SDS با نانوذرات طلا و مواد پرکننده ستون رخ می‌دهد. برهم‌کنش SDS با مواد پرکننده که جذب سطحی طلا را کاهش می‌دهند باعث کاهش زمان بازداری و افزایش شدت پیام می‌شود، همان‌طور که در شکل (۳) نشان داده شده‌است. برای تأیید بیشتر این امر که بهبود پیام به واسطه جذب سطحی نانوذرات بر مواد پرکننده ستون است، محلول نانوذرات با غلظت‌های مختلف از محلول SDS به صورت ۱:۱ رقیق شد و از میان ستون عبور داده شد.

طیف جذب در شکل (۶) نشان داده شده‌است و آشکار است که حضور SDS باعث افزایش جذب می‌شود و این موید آن است که افزودن SDS به نمونه باعث کاهش جذب سطحی نانوذرات به وسیله فاز ساکن شده‌است. بهبود پیام به دست آمده به برهم‌کنش سورفکتانت و مواد پرکننده ستون نسبت داده می‌شود که باعث ایجاد بار منفی روی سطح فاز ساکن و جلوگیری از جذب ذرات طلا روی آن می‌شود. همچنین تئوری کروماتوگرافی اندازه‌طردی بر این اساس است که ذرات طلای بزرگ‌تر سریع‌تر از ستون عبور می‌کنند و حجم بازداری کم‌تری دارند. کاهش زمان شستشو با افزایش غلظت SDS (شکل ۳) باعث ایجاد این فرضیه می‌شود که SDS اندازه ذره را افزایش داده و در نتیجه زمان شستشو کاهش را کاهش می‌دهد.

نیز اشاره شد، نوع ستون مورد استفاده در SEC بسیار مهم است و به علت جذب نانوذرات روی آن، محدودیت‌های خاصی دارد. به عنوان مثال از ستون‌های Nucleosil ($500, 1000$) برای جداسازی نانوذرات طلا استفاده شده‌است. در تحقیق مذکور سیترات نه تنها به عنوان شوینده بلکه به عنوان پایدارکننده هم مورد استفاده قرار گرفته است. استفاده از ستون Nucleogel به همراه سیترات به عنوان شوینده باعث جذب سطحی شدید گردید. شایان ذکر است که Nucleosil یک ماده پرکننده بر پایه سیلیکا است و Nucleogel یک پلیمر (پلی استایرن - دی وینیل بنزن) است و شرایطی که برای Nucleosil استفاده می‌شود، برای Nucleogel مناسب نیست حتی اگر اندازه تخلخل یکسانی داشته باشند و این به علت مشکل جذب سطحی نانوذرات روی بستر است. غلظت‌های مختلف محلول SDS به عنوان فاز متحرک برای کاهش اثر جذب سطحی استفاده شد. تأثیر غلظت‌های مختلف از محلول SDS به عنوان فاز متحرک را می‌توان در شکل (۴) مشاهده نمود. داده‌ها نشان دهنده آن است که بدون حضور SDS پیام‌های کوچک دیده می‌شود و هیچ‌گونه جداسازی انجام نمی‌گیرد. اندازه پیام به دست آمده و تفکیک در جداسازی با افزایش غلظت SDS افزایش می‌یابد.



شکل ۴ - اثر غلظت SDS روی جداسازی نانوذرات طلا با اندازه 38 nm^3 و 15 nm^3 به وسیله SEC. (a) 0 ، (b) 0.1 ، (c) 1 ، (d) 5 و (e) 80 mM SDS. نانوذرات طلا 38 nm^3 ، (۲): 15 nm^3 . حجم نمونه‌ها $10\text{ }\mu\text{l}$ و سرعت جریان 5 ml/min است.

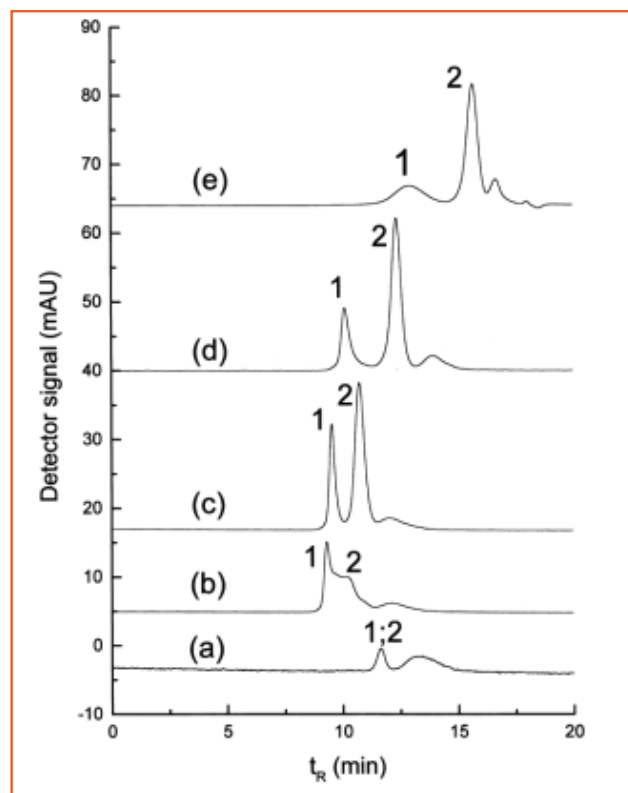
غلظت SDS از 0.1 تا 40 میلی‌مول تغییر داده شد تا اثر غلظت بر زمان شستشو بررسی شود (شکل ۵). نتایج نشان می‌دهد که

نتیجه‌گیری

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، روشی مناسب جهت جداسازی، اندازه‌گیری، و تعیین نوع مواد است. این تکنیک با تلفیق با روشهای دیگر و آشکارسازهای پیشرفته‌ای مانند طیف سنج جرمی کاربردهای زیادی در علوم مختلف دارد. انتخاب فاز متحرک و ثابت، انتخاب آشکارساز و تعیین سرعت جریان فاز متحرک از جمله موارد اساسی در تنظیمات یک روش مناسب HPLC است. در این مقاله روش‌های مختلف کروماتوگرافی برای جداسازی نانوذرات طلا و همچنین اثر عواملی نظیر SDS مورد بررسی قرار گرفت

پی‌نوشت

- 1.High performance liquid chromatography (HPLC)
2. Hydrophobic (non-specific)
- 3.Reversed-phase (RP)
4. Dipole-dipole
- 5.Normal phase (NP)
- 6.Ion-exchange chromatography
- 7.Size-exclusion chromatography
- 8.Trimethoxy glycidoxoxy propyl silane
9. diol-phase
10. van der Waals interactions
- 11.Dispersive forces
- 12.Gel-filtration chromatography
- 13.Gel-permeation chromatography
- 14.Diode array detectors(DAD)
15. Capillary electrophoresis
16. Surface effect
- 17.Cyclic Voltametric
- 18.Al-Somali
19. Sodium dodecyl sulphate (SDS)
20. Wei
- 21.Liu



شکل ۶ - اثر غلظت SDS بر جذب سطحی نانوذرات طلا با اندازه ۵/۳ nm: (a) ۰، (b) ۰/۱ و (c) ۵ میلی‌مولار SDS. محلول با غلظت‌های مختلف از SDS به صورت ۱:۱ رقیق شده‌است. گزارش‌های مذکور، پتانسیل SEC برای جداسازی اشکال و اندازه‌های مختلف نانوذرات طلا را نشان می‌دهد. مشکل جذب سطحی برگشت‌ناپذیر نانوذرات طلا روی مواد پرکننده ستون را می‌توان با افزودن سورفکتانت‌هایی به حلال شوییده (به عنوان مثال SDS) حل نمود. در این زمینه، برای افزایش کارایی جداسازی فاکتور جذب سطحی را هم باید به فاکتور فضایی که در SEC دخیل است اضافه نمود. با این وجود برای نانوذراتی با اشکال مختلف نمی‌توان خط پایه مناسبی به دست آورد ولیکن سیستم آشکارساز آرایه‌های دیودی ۱۴ را می‌توان برای تفسیر شکل نانوذرات مورد استفاده قرار داد. تلفیق DAD و SEC از لحاظ مطالعه خواص اسپکتروسکوپی نانوذرات، بر TEM ارجحیت دارد. اما همچنان به مطالعات بیشتری برای تعیین مکانیسم برهم‌کنش سورفکتانت و نانوذرات طلا نیاز است.

- [۱] F.K. Liu, Chromatographia ۶۶ (۲۰۰۷) ۷۹۱.
- [۲] J.P. Wilcoxon, J.E. Martin, P. Provencio, Langmuir ۱۶ (۲۰۰۰) ۹۹۱۲.
- [۳] F.K. Liu, G.T. Wei, Chromatographia ۵۹ (۲۰۰۴) ۱۱۵.
- [۴] G.T. Wei, F.K. Liu, J. Chromatogr. A ۸۳۶ (۱۹۹۹) ۲۵۳.
- [۵] Y. Mori, M. Furukawa, T. Hayashi, K. Nakamura, Particul. Sci. Technol. ۲۴ (۲۰۰۶) ۹۷.
- [۶] P.M. Shiundu, S.M. Munguti, S.K.R. Williams, J. Chromatogr. A ۹۸۳ (۲۰۰۳) ۱۶۳.
- [۷] J.C. Giddings, Science ۲۶۰ (۱۹۹۳) ۱۴۵۶.
- [۸] F.K. Liu, Chromatographia ۶۶ (۲۰۰۷) ۷۹۱.
- [۹] F.K. Liu, G.T. Wei, Chromatographia ۵۹ (۲۰۰۴) ۱۱۵.
- [۱۰] C.K. Lo, M.C. Paa, D. Xiao, M.M.F. Choi, Electrophoresis ۲۹ (۲۰۰۸) ۲۳۳۰.
- [۱۱] J.P. Wilcoxon, J.E. Martin, P. Provencio, J. Chem. Phys. ۱۱۵ (۲۰۰۱) ۹۹۸.
- [۱۲] Y. Song, M.L.A.V. Heien, V. Jimenez, R.M. Wightman, R.W. Murray, Anal. Chem. ۷۶ (۲۰۰۴) ۴۹۱۱.
- [۱۳] Y. Song, V. Jimenez, C. McKinney, R. Donkers, R.W. Murray, Anal. Chem. ۷۵ (۲۰۰۳) ۵۰۸۸.
- [۱۴] V.L. Jimenez, M.C. Leopold, C. Mazzitelli, J.W. Jorgenson, R.W. Murray, Anal. Chem. ۷۵ (۲۰۰۳) ۱۹۹.
- [۱۵] W. Bos, J.J. Steggerda, S. Yan, J.A. Casalnuovo, Inorg. Chem. ۲۷ (۱۹۸۸) ۹۴۸.
- [۱۶] G. Schmid, Clusters and Colloids: From Theory to Applications, VCH, Weinheim, ۱۹۹۴.
- [۱۷] A. Henglein, J. Phys. Chem. ۹۷ (۱۹۹۳) ۵۴۵۷.
- [۱۸] R.W. Devenish, T. Goulding, B.T. Heaton, R. Whyman, J. Chem. Soc., Dalton Trans. N۵ (۱۹۹۶) ۶۷۳.
- [۱۹] K.A. Littau, P.J. Szajowski, A.R. Kortan, L.E. Brus, J. Phys. Chem. ۹۷ (۱۹۹۳) ۱۲۲۴.
- [۲۰] Ch.-F. Fischer, M. Giersigs, Langmuir ۸ (۱۹۹۲) ۱۴۷۵.
- [۲۱] T. Siebrands, M. Giersigs, P. Mulvaney, Ch.-F. Fischer, Langmuir ۹ (۱۹۹۳) ۲۲۹۷.
- [۲۲] J.J. Kirkland, J. Chromatogr. ۱۸۵ (۱۹۷۹) ۲۷۳.
- [۲۳] Ch.-F. Fischer, M. Giersig, J. Chromatogr. A ۶۸۸ (۱۹۹۴) ۹۷.
- [۲۴] Ch.-F. Fischer, M. Giersig, T. Siebrands, J. Chromatogr. A ۶۷۰ (۱۹۹۴) ۸۹.
- [۲۵] A. Dass, R. Guo, J.B. Tracy, R. Balasubramanian, A.D. Douglas, R.W. Murray, Langmuir ۲۴ (۲۰۰۸) ۳۱۰.
- [۲۶] R.L. Wolfe, R.W. Murray, Anal. Chem. ۷۸ (۲۰۰۶) ۱۱۶۷.
- [۲۷] R. Balasubramanian, R. Guo, A.J. Mills, R.W. Murray, J. Am. Chem. Soc. ۱۲۷ (۲۰۰۵) ۸۱۲۶.
- [۲۸] V.L. Jimenez, D.G. Georganopoulou, R.J. White, A.S. Harper, A.J. Mills, D.I. Lee, R.W. Murray, Langmuir ۲۰ (۲۰۰۴) ۶۸۶۴.
- [۲۹] A.M. Al-Somali, K.M. Krueger, J.C. Falkner, V.L. Colvin, Anal. Chem. ۷۶ (۲۰۰۴) ۵۹۰۳.
- [۳۰] G.T. Wei, F.-K. Liu, C.R.C. Wang, Anal. Chem. ۷۱ (۱۹۹۹) ۲۰۸۵.
- [۳۱] T. Okada, Anal. Chem. ۶۰ (۱۹۸۸) ۱۵۱۱.
- [۳۲] W. L. Hinze, In Ordered Media in Chemical Separation; Hinze, W. L., Armstrong, D. L., Eds.; ACS Symposium Series ۳۴۲; American Chemical Society: Washington, DC, ۱۹۸۷; pp ۲-۸۲.
- [۳۳] A. Berthod, I. Girard, C. Gonnet, In Ordered Media in Chemical Separation; Hinze, W. L., Armstrong, D. L., Eds.; ACS Symposium Series ۳۴۲; American Chemical Society: Washington, DC, ۱۹۸۷; pp ۱۳۰-۱۴۱.
- [۳۴] W. G. Tramposch, S.G. Weber, Anal. Chem. ۵۸ (۱۹۸۶) ۳۰۰۶.
- [۳۵] G.T. Wei, F.-K. Liu, J. Chrom. A. ۸۳۶ (۱۹۹۹) ۲۵۳.