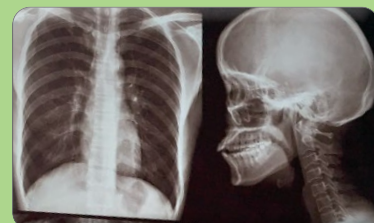


بررسی تاثیر برخی از عوامل موثر در نتایج DLS و راهکارهای کاهش خطا

ارتقا و توسعه شبکه آزمایشگاهی در سومین دهه فعالیت



بررسی اثر شرایط کاشت آرماتور با
چسب‌های شیمیایی در بتن بر میزان
مقاومت بیرون‌کشی



تفسیر فیلم رادیوگرافی با استفاده از هوش
مصنوعی و روش‌های پردازش تصویر



کاربرد فیلتراسیون در آماده‌سازی نمونه‌ها در
کروماتوگرافی (بخش اول)



مقایسه دو روش هضم اسیدی و هضم خشک
در تعیین فلزات سنگین سرب و کادمیوم به
روش جذب اتمی کوره گرافیت در برنج



واکنش زنجیره‌ای پلیمراز قطره‌ای، گامی نو در
تشخیص مولکولی

نویسندگان

فریده باتقوا^{۱*}حمید حیدری^۲

۱. کارشناس آزمایشگاه تحقیقاتی اکسیر تجهیز آزما

۲. عضو کارگروه کروماتوگرافی

*exirtajhizazma@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۱

کاربرد فیلتراسیون در
آماده‌سازی نمونه‌ها در
کروماتوگرافی

(بخش اول)



واژه‌های کلیدی

فیلتر، فیلتر غشایی، فیلتر ممبران، کروماتوگرافی،
آماده‌سازی نمونه، فیلتر سرسرنگی.

چکیده

آماده‌سازی نمونه‌ها برای کروماتوگرافی یک فرآیند چند مرحله‌ای است که نیازمند دقت و استفاده از تجهیزات مناسب است. استفاده از فیلترهای با کیفیت و مناسب برای هر نمونه و ستون و تنظیم دقیق مراحل آماده‌سازی می‌تواند تاثیر قابل توجهی بر دقت و صحت نتایج داشته باشد. آماده‌سازی نمونه‌ها برای دستگاه‌های کروماتوگرافی فرآیندی پیچیده و دقیق بوده که شامل مراحل مختلفی از استخراج نمونه تا تزریق نمونه به دستگاه است. در این مقاله، به اهمیت استفاده از فیلتر قبل از تزریق نمونه به دستگاه و قبل از عبور حلال به‌عنوان فاز متحرک و انواع مختلف آنها و کاربرد هر یک به تفکیک می‌پردازیم.

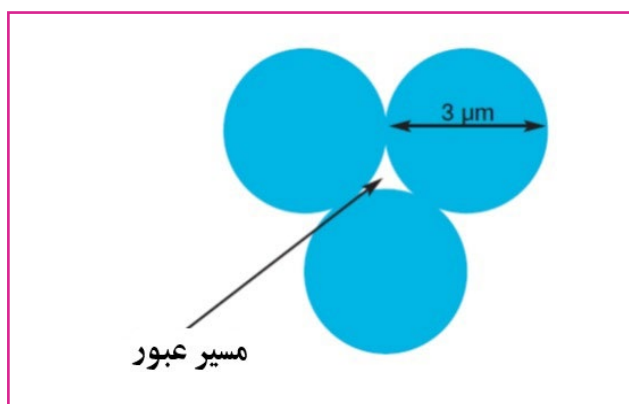
به‌طور کلی، یکی از روش‌هایی که برای خالص‌سازی مواد و محلول‌های آزمایشگاهی استفاده می‌شود، فیلتراسیون است. در این فرآیند، از یک فیلتر یا غشا استفاده می‌شود که با عبور کردن محلول از آن، بخشی از ناخالصی‌ها در غشا مانده و امکان عبور از غشا را نخواهند داشت؛ در نتیجه، پس از عبور از غشا، بخشی از ناخالصی‌های محلول حذف خواهد شد. انواع مختلفی از غشا با توجه به کاربرد آنها وجود دارد که از جمله می‌توان به فیلترهای غشایی و فیلترهای سرسرنگی اشاره کرد. در بخش اول این مقاله، فیلترهای غشایی و کاربرد آنها در آنالیزهای کروماتوگرافی معرفی می‌شوند. تاثیر اندازه ذرات پرشده ستون‌های کروماتوگرافی مایع به‌عنوان فاز متحرک در انتخاب اندازه منافذ فیلترهای غشایی بررسی شده و نکاتی که در انتخاب فیلتر از نظر خواص و کاربرد اهمیت دارد مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد. در ادامه، انواع پر کاربرد فیلترهای غشایی مقایسه می‌شوند و در بخش دوم نیز فیلترهای سرسرنگی معرفی خواهند شد.

مقدمه

معرفی

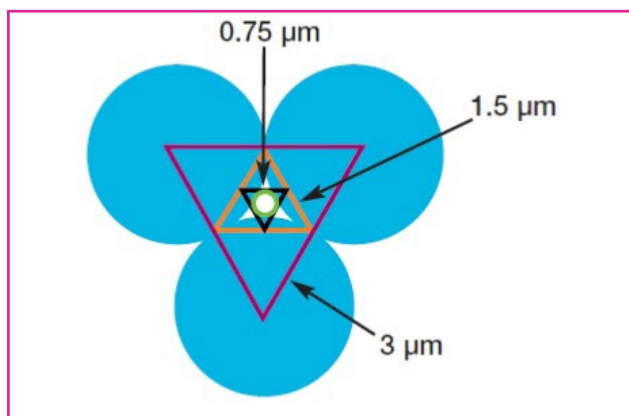
چگونگی انتخاب فیلتر برای فاز متحرک در کروماتوگرافی مایع

مطلوب است که عمر ستون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۳ را افزایش داده و تعمیر و نگهداری به دلیل وجود ذرات در سیستم پمپاژ کاهش یابد. با توجه به این فرض، اندازه منافذ فیلتر باید براساس اندازه ذرات پر شده ستون تعیین شود. همان طور که در شکل (۱) می بینید، ذرات پر شده ستون با یکدیگر تماس دارند. در حالت ایده آل، نباید آلودگی در فضای بین ذرات پر شده قرار گیرد. این فضا با نام مسیر عبور^۴ در شکل (۱) مشخص شده است.



شکل (۱): چگونگی قرارگیری ذرات پر شده در ستون کروماتوگرافی [۱].

هدف این است که مشخص شود فضای مسیر عبور چقدر بزرگ است تا بتوان ذرات با آن اندازه را حذف کرد. به عنوان مثال، اگر اندازه ذرات پر شده را ۳ میکرومتر در نظر بگیریم، همان طور که در شکل (۲) نشان داده شده است، چند مثلث متساوی الاضلاع به خوبی در آن قرار می گیرد. بزرگترین ذره ای که می تواند در ستون قرار گیرد، با ترسیم مثلث متساوی الاضلاع با طول ضلع ۰/۷۵ میکرومتر تعیین می شود.



شکل (۲): ترسیم مثلث متساوی الاضلاع در مسیر عبور ذرات پر شده در ستون کروماتوگرافی [۱].

غشاء لایه نازکی از مواد نیمه تراوا است که وقتی نیروی محرکه روی غشا اعمال می شود، مواد را جدا می کند. فرآیندهای غشایی به طور فزاینده ای برای حذف باکتری ها، میکروارگانیسم ها، ذرات و مواد آلی طبیعی استفاده می شوند. فیلتر غشایی یا فیلتر ممبران نوعی فیلتر ساخته شده از مواد مصنوعی مانند استات سلولز، نایلون یا تفلون است که با کانال های به هم پیوسته ظریف یا منافذ استوانه ای یکنواخت برای بهبود نرخ جریان برای فرآیندهای فیلتراسیون در شیمی طراحی شده است. در واقع، فیلتراسیون غشایی فرآیندی است که از یک مانع انتخابی به نام غشاء استفاده می کند تا مولکول های زیستی و ذرات را براساس اندازه آنها جدا کند و به مولکول های کوچک تر اجازه عبور دهد و در عین حال مولکول های بزرگ تر را حفظ کند.

کاربرد فیلتر غشایی یا ممبران فیلتر در کروماتوگرافی چیست؟

غشاها با فشار به عنوان فرآیندهای محرک در فیلتراسیون غشایی املاح و در اسمز معکوس استفاده می شوند. فیلتر غشایی در کروماتوگرافی به عنوان ابزاری برای جداسازی و خالص سازی نمونه ها استفاده می شود. این فیلترها به طور معمول برای حذف ذرات معلق، باکتری ها و ناخالصی های موجود در مایعات قبل از ورود به سیستم کروماتوگرافی به کار می روند. استفاده از فیلتر غشایی به بهبود دقت و صحت نتایج آزمایش کمک می کند.

عملکرد فیلترهای غشایی در سیستم کروماتوگرافی چگونه است؟

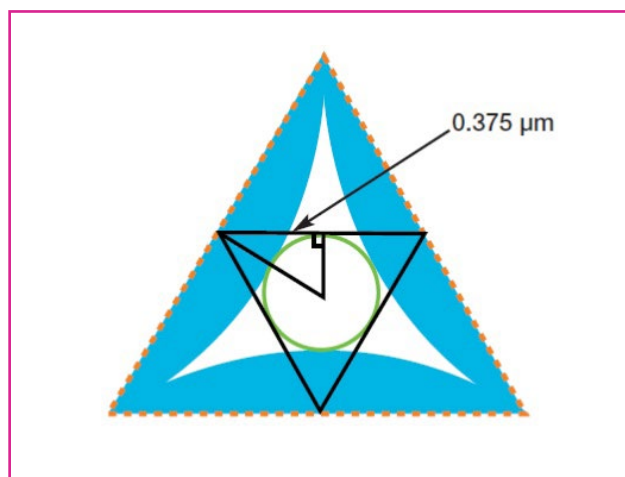
فیلتر غشایی که به عنوان فیلتر میکرو متخلخل^۱ یا فیلتر غربالی^۲ نیز شناخته می شود، نوعی فیلتر است که در کاربردهای مختلف علمی، صنعتی و زیست محیطی مورد استفاده قرار می گیرد. وظیفه اصلی آن، جداسازی ذرات و میکروارگانیسم ها از نمونه مایع و یا گاز براساس اندازه آنها است. اندازه منافذ فیلترها بسته به نوع فیلتر و نیاز آزمایش می تواند متفاوت باشد. انتخاب اندازه مناسب منافذ برای حذف مؤثر ناخالصی ها و حفظ کیفیت نمونه بسیار مهم است [۱].

چه نوع فیلتر غشایی در کروماتوگرافی مایع و کروماتوگرافی گازی^۶ استفاده می‌شود؟

فیلترهای غشایی به‌طور معمول قبل از تزریق نمونه به سیستم‌های HPLC و GC استفاده می‌شوند تا از ورود ناخالصی‌ها به سیستم جلوگیری کنند و دقت نتایج را افزایش دهند. استفاده از فیلترهای غشایی در مراحل آماده‌سازی نمونه، به ویژه در روش‌های آنالیزی مانند کروماتوگرافی، بسیار حائز اهمیت است و به بهبود کیفیت و دقت نتایج آزمایش‌ها کمک می‌کند.

فیلترهای غشایی در جداسازی زیستی در همه جا وجود دارند و به‌طور عمده برای جداسازی تقریبی مولکول‌ها براساس تفاوت در اندازه استفاده می‌شوند. با این حال، میل ترکیبی، تبادل یونی، برهم‌کنش آبگریز یا لیگندهای فاز معکوس ممکن است به چنین غشاهایی «فیلترهای میل ترکیبی» جفت شوند تا گزینش‌پذیری آنها را برای مولکول هدف با چندین مرتبه بزرگی افزایش دهند. برای چنین اهدافی از مواد غشایی مختلف از جمله پلی‌آمید، سلولز احیا شده، پلی‌استایرن و کوپلیمرهای مختلف استفاده شده‌است. یکی دیگر از مزیت‌های فیلترهای غشایی، مقاومت جریان کم آنها (فشار برگشتی) است. از آنجایی که کارایی جداسازی (ارتفاع صفحه) هیچ وابستگی به نرخ جریان نشان نمی‌دهد، جداسازی‌ها را می‌توان در عرض چند ثانیه با نرخ جریان بسیار بالا انجام داد، مگر اینکه سینتیک جذب در آنها محدودیتی ایجاد کند. کروماتوگرافی غشایی بیشتر با استفاده از دستگاه‌های مشتق شده از واحدهای فیلتراسیون معمولی انجام می‌شود، اگرچه برخی از نگهدارنده‌های فیلتر وجود دارند که با سیستم‌های کروماتوگرافی معمولی یا آنالایزرهای تزریق جریان سازگار هستند [۲].

در صورتی که نمودار را بزرگ کرده و بهتر نگاه کنیم مجموعه‌ای از مثلث‌های متساوی‌الاضلاع را می‌توان تصور کرد که طول ضلع آنها به 0.75 میکرومتر می‌رسد. شکل (۳) یک مثلث قائم‌الزاویه را نشان می‌دهد که ضلع کوتاه آن شعاع کره را نشان می‌دهد. زاویه یک نیمه 60 درجه یا 30 درجه است. ضلع افقی این مثلث قائم‌الزاویه جدید 0.375 میکرومتر (نصف 0.75 میکرومتر) طول دارد. با محاسبه مماس 30 درجه، نسبت طول ضلع مقابل به ضلع مجاور، در این مورد 0.58 است. این بدان معنی است که ضلع کوتاه مثلث برابر با 0.58 ، یا همان 0.375×0.217 میکرومتر بوده که بر حسب اتفاق این هم شعاع ذره است. بنابراین، اگر قطر ذرات پر شده ستون 3 میکرومتر باشد، مسیر جریان 0.43 میکرومتر است.



شکل (۳): ترسیم مثلث قائم‌الزاویه در مسیر عبور ذرات پر شده در ستون کروماتوگرافی [۱].

چگونه فیلتر مناسب برای هدف خود در آزمایشگاه انتخاب کنیم؟

هنگام انتخاب بهترین فیلتر برای برنامه خود، باید به سه نکته اصلی توجه شود:

۱. سازگاری شیمیایی فیلتر چیست؟ آیا فیلتر باید در برابر بازها، اسیدها یا حلال‌های آلی مقاوم باشد؟ هنگام انتخاب فیلتر برای آماده‌سازی نمونه یا فاز متحرک، سازگاری شیمیایی یک نکته مهم است.
 ۲. فیلتر با چه مساحتی برای فیلتراسیون مورد نیاز است؟
 ۳. اندازه منافذ بهینه برای فیلتر کردن نمونه چقدر است؟
- بر این اساس، دسته‌بندی انواع فیلترهای غشایی پلیمری در جدول (۱) ذکر شده‌است:

بنابراین، هنگامی که ستون HPLC با اندازه ذرات پر شده 3 میکرومتر یا کوچکتر باشد، باید از یک فیلتر 0.2 میکرومتر استفاده شود زیرا یک فیلتر 0.45 میکرومتر ممکن است ذرات را از خود عبور دهد و ستون را مسدود کند. برای سیستم‌های کروماتوگرافی مایع با استفاده از ستون‌هایی با ذرات پر شده بزرگتر از 3 میکرومتر، استاندارد غشای فیلتراسیون 0.45 میکرومتر برای فیلترهای غشایی فاز متحرک است. برای ستون‌هایی با ذرات پر شده 3 میکرومتر یا کوچک‌تر، از جمله دستگاه‌های کروماتوگرافی مایع با عملکرد فوق‌العاده بالا، ستون‌های ریز منفذ، یا زمانی که نگرانی بابت رشد میکروبی وجود داشته باشد، فیلتر 0.2 میکرومتری توصیه می‌شود.

جدول (۱): دسته‌بندی انواع فیلترهای غشایی پلیمری [۲].

ماهیت فیلتر غشایی	خواص	کاربرد
نایلون	آب گریز مقاومت خوب در برابر حلال‌ها چسبندگی پروتئین متوسط	برای فیلتراسیون همه نمونه‌های آبی و بیشتر حلال‌ها (آلی)
تفلون	آب گریز بالاترین مقاومت در برابر حلال‌ها چسبندگی پروتئین بالا	برای فیلتراسیون محیط‌های غیر آبی و حلال‌ها (آلی) مناسب برای فیلتر کردن و گاززدایی در کروماتوگرافی
پلی وینیلیدین فلوراید آبدوست (هیدروفیل)	آبدوست مقاومت بالا در برابر حلال‌ها چسبندگی پروتئین بالا ویژگی‌های سرعت جریان خوب	برای فیلتراسیون تمام محیط‌های آبی و بیشتر حلال‌ها (آلی) فیلتراسیون عمومی نمونه‌های زیستی (هیدروفیل)
پلی وینیلیدین فلوراید آبگریز (هیدروفوب)	آب گریز مقاومت بالا در برابر حلال‌ها چسبندگی پروتئین بالا ویژگی‌های سرعت جریان خوب	برای فیلتراسیون تمام محیط‌های آبی و بیشتر حلال‌ها (آلی) فیلتراسیون عمومی نمونه‌های زیستی
سلولز استات	آبدوست مقاومت محدود در برابر حلال‌ها پایین‌ترین چسبندگی پروتئین	ایده‌آل برای نمونه‌های آبی ایده‌آل برای کشت بافت و نمونه‌های زیستی حساس
سلولز احیا شده	آبدوست مقاومت زیاد در برابر حلال‌ها پایین‌ترین چسبندگی پروتئین	ایده‌آل برای نمونه‌های آبی به‌خصوص برای فیلتراسیون اثر آلودگی (عدم خلوص) پروتئینی
پلی پروپیلن	آب گریز است مقاومت بالا در برابر حلال‌ها در مقایسه با PVDF چسبندگی پروتئین پایین‌تر	فیلتراسیون تمام محیط‌های آبی و بیشتر حلال‌ها (آلی) فیلتراسیون عمومی نمونه‌های زیستی
پلی اتر سولفون	آب دوست مقاومت محدود در برابر حلال‌ها چسبندگی پروتئین پایین ویژگی‌های سرعت جریان خوب	ایده‌آل برای نمونه‌های آبی ایده‌آل برای کشت بافت و نمونه‌های زیستی حساس
میکروفیبر شیشه‌ای	به‌عنوان پیش فیلتر برای برطرف کردن ذرات درشت و کاهش هدر رفتن نمونه	فیلتراسیون عمومی نمونه‌های زیستی کاربرد متنوع برای پاک کردن نمونه‌ها و پیش فیلتر کردن

نکات تکمیلی برای انتخاب فیلتر مناسب

فیلترهای با غشای پلی تترا فلورو اتیلن^{۱۰} را انتخاب نمود.

◆ محلول‌های حلال آبی و آلی

غشاهای پلیمری مختلف سازگاری شیمیایی متفاوتی دارند. براساس کاربرد و سازگاری شیمیایی، می‌توان یک یا چند نوع فیلتر غشایی یا سرسرنگی را انتخاب نمود. به‌طور کلی، یک نوع فیلتر به دلیل محدودیت در آبگریزی/آب دوستی و سازگاری شیمیایی برای همه کاربردها عمل نمی‌کند. با این حال، غشای پلی پروپیلن آبدوست یک غشای عمومی برای کاربردهای آبی و آلی است.

◆ سطوح فوق‌العاده پایین قابل استخراج

فیلترها برای افزایش دقت با حذف ذرات ناخواسته

◆ نمونه‌های آبی

غشاهای آبدوست یا هیدروفیل که میل ترکیبی با آب دارند هنگام فیلتر کردن نمونه‌های آبی ترجیح داده می‌شوند. از فیلترهای با غشاهای پلی وینیلیدین فلوراید^۸، نایلون یا پلی اتر سولفون^۹ می‌توان استفاده کرد.

◆ گازها و حلال‌های آلی خورنده

غشاهای آبگریز یا هیدروفوب آب را دفع می‌کنند و نسبت به حلال‌های آلی خورنده بی‌اثر هستند و آنها را برای گازها و حلال‌های آلی، ایده‌آل می‌کند. در این حالت می‌توان

نتیجه‌گیری

فیلتراسیون غشایی فرآیندی است که از یک مانع انتخابی به نام غشاء استفاده می‌کند تا مولکول‌های زیستی و ذرات را براساس اندازه آنها جدا کند و به مولکول‌های کوچک‌تر اجازه عبور دهد و در عین حال مولکول‌های بزرگ‌تر را حفظ کند. در این مقاله به معرفی فیلترهای غشایی و کاربرد آنها در آنالیزهای کروماتوگرافی پرداخته شد. تاثیر اندازه ذرات پرشده ستون‌های کروماتوگرافی مایع به‌عنوان فاز متحرک در انتخاب اندازه منافذ فیلترهای غشایی مورد بررسی قرار گرفت. نکاتی که در انتخاب فیلتر از نظر خواص و کاربرد اهمیت دارد دسته‌بندی شد و انواع پر کاربرد آنها مورد مقایسه قرار گرفت.

طراحی شده‌اند. با این حال، فیلتر نامناسب می‌تواند منبع آلاینده‌هایی به شکل مواد قابل استخراج باشد که از دستگاه فیلتر به نمونه شسته می‌شود. این مصنوعات نامطلوب می‌توانند نتایج آنالیز را به خطر بیندازند. برخی از نگرانی‌های قابل استخراج عبارتند از شویش ترکیبی^{۱۱}، خطا در مقادیر اندازه‌گیری شده و پیک‌های مزاحم.

تفاوت بین فیلتر غشایی یا ممبران فیلتر PES و PVDF چیست؟

به‌طور خلاصه، غشاهای PES برای کاربردهای زیستی مبتنی بر آبی که نیاز به اتصال کم پروتئین دارند، ایده‌آل هستند، در حالی که غشاهای PVDF متنوع‌تر و از نظر شیمیایی قوی‌تر هستند و آنها را برای کاربردهایی با حلال‌های آلی یا نیاز به حفظ پروتئین بالا مناسب‌تر می‌سازد [۳].

پی‌نوشت

1. microporous filter
2. sieve filter
3. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
4. Flow path
5. Ultra-High Performance Liquid Chromatography (UHPLC)
6. Gas chromatography (GC)
7. Flow rate
8. Polyvinylidene fluoride or polyvinylidene difluoride (PVDF)
9. Polyethersulfone (PES)
10. Polytetrafluoroethylene (PTFE)
11. coelution

مراجع

- [1] HPLC and Chromatography Sample Prep. 1.800.521.1520 (USA and Canada), www.pall.com/lab.
- [2] Sample preparation on filtration, Element lab solutions. Element.com.
- [3] Chromatography: basic principles. Sample preparations and related methods. E Lundanes, L Reubsaet, T Greibrokk - 2013 - books.google.com



Authors

Farideh Bataghva^{1,2*}Hamid Heydari^{1,2}

* exirtajhizazma@gmail.com

1. Exir Tajhiz Azma research laboratory expert
2. Member of specialized working group of chromatography

(Part 1)

Sample preparation on filtration in chromatography

Abstract

Sample preparation for chromatography is a multi-step process that requires precision and the use of appropriate equipment. Using quality and appropriate filters for each sample and column and carefully adjusting the preparation steps can have a significant impact on the accuracy and precision of the results. Sample preparation for chromatography devices is a complex and precise process that includes various steps from sample extraction to sample injection into the device. In this article, we will discuss the importance of using a filter before sample injection into the device and before the solvent passes as the mobile phase, and their different types and applications of each separately.

Keywords

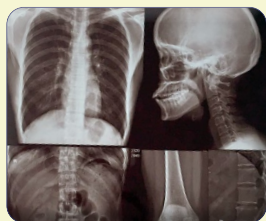
filter, membrane filter, chromatography, sample preparation, syringe filter.



Investigation of Key Factors Affecting DLS Results and Error Reduction Strategies



Investigation of the Effect of Reinforcement Installation Conditions Using Chemical Adhesives in Concrete on Pull-Out Resistance



Radiographic Film Interpretation Using Artificial Intelligence and Image Processing Techniques



Sample preparation on filtration in chromatography (Part 1)



Comparison of Acid Digestion and Dry Ashing Methods for Determination of Lead and Cadmium Heavy Metals in Rice by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry



Droplet Polymerase Chain Reaction; A New Step in Molecular Diagnosis