

LABORATORIUM FUNKCJONALIZACJI NANOMATERIAŁÓW

Ćwiczenie 5 – Chromatografia wykluczenia (v1.1)

I. Cel ćwiczenia

1. Zapoznanie się z podstawą chromatografii wykluczania.
2. Zastosowanie chromatografii wykluczania do oczyszczenia roztworu nanokryształów.
3. Przeprowadzenie analizy rozkładu nanokryształów w żelu chromatograficznym.

II. Wprowadzenie

Koloidalne kropki nanokryształy wymagają, aby po syntezie uzyskane nanocząstki zostały oddzielone od m.in. niezużytych prekursorów i nadmiarowych ligandów, a następnie przeprowadzone do właściwego rozpuszczalnika. Etap ten nazywamy oczyszczaniem (ang. *purification*) nanokryształów i możemy przeprowadzić go na kilka sposobów, m.in.:

- wytrącanie antyrozpuszczalnikiem
- ekstrakcja
- chromatografia żelowa

Metoda i sposób przeprowadzenia oczyszczania nanocząstek może wpływać na szerokie spektrum ich właściwości fizyko-chemicznych: stabilność roztworu koloidalnego, wydajność emisji, utlenianie powierzchni. Wpływ ten wynika bezpośrednio z faktu zmiany ilości ligandów przypadających na pole powierzchni nanokryształów. Z tego też względu proces wymywania, pomimo iż nie jest właściwą reakcją wzrostu nanocząstek, stanowi kolejny etap ich przygotowania do dalszej funkcjonalizacji, bądź też zastosowania. Dokładne i powtarzalne przeprowadzenie procesu oczyszczania nanokryształów jest zatem konieczne, aby możliwe było ich powszechne użycie.

III. Chromatografia - pojęcia

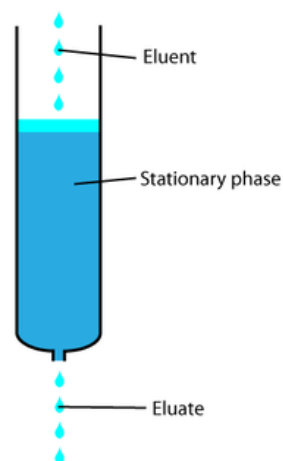
Chromatografia – technika analityczna lub preparatywna służąca do rozdzielania lub badania składu mieszanin związków chemicznych.

Chromatografia cieczowa – w której eluentem jest ciekły rozpuszczalnik lub mieszanina rozpuszczalników.

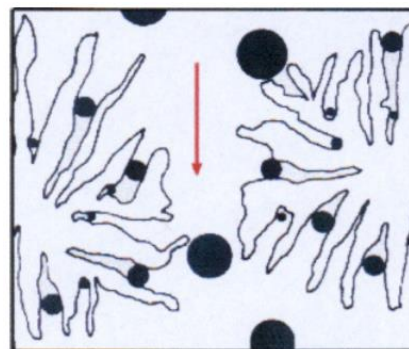
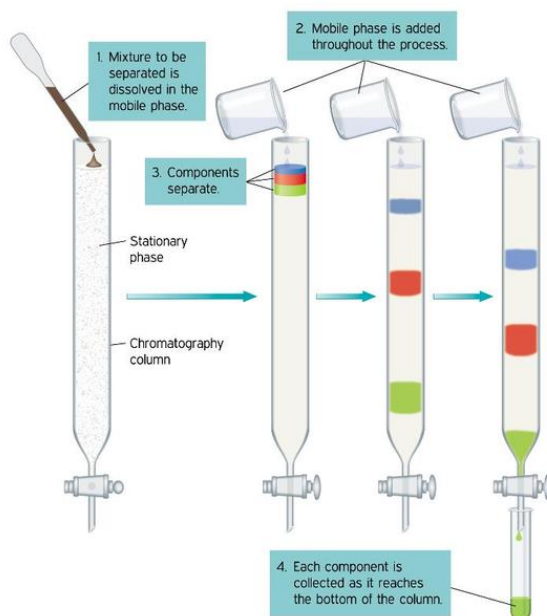
Chromatografia kolumnowa – w której faza rozdzielcza jest umieszczona w specjalnej kolumnie, przez którą przepuszcza się następnie roztwór badanej mieszaniny. Przepływ roztworu przez kolumnę można wymuszać grawitacyjnie lub stosując różnicę ciśnień na wlocie i wylocie kolumny.

GPC (ang. Gel Permeation Chromatography) chromatografia żelowa – odmiana kolumnowej chromatografii cieczowej. Polega na rozdzieleniu składników mieszaniny na żelu lub sitach molekularnych w zależności od rozmiarów cząsteczek.

Eluent – płyn wymywający substancje zaadsorbowane na fazie stałej podczas chromatografii. Proces wymywania nosi nazwę elucji, a faza wypływająca z fazy stałej to eluat



IV. Chromatografia wykluczenia (dawniej żelowa) - GPC



Migracja cząstek o różnych wielkościach przez porowate wypełnienie kolumny

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Kromatografia.png>

V. Odczynniki

1. Koloidalne nanokryształów CdSe w roztworze reakcyjnym
2. Toluen – eluent
3. Żel chromatograficzny – faza stała kolumny

VI. Aparatura i materiały

- kolumna chromatograficzna
- wkraplacz
- zlewka 50 ml
- szklana pipeta Pasteura + smoczek
- statyw na próbówki
- próbówki eppendorf 1,5 ml x12

- cienkopis
- spektrofluorymetr
- przejściówka do trzymania eppendorfek

VII. Przebieg doświadczenia

1. Omówić z prowadzącym sposób działania kolumny chromatograficznej.
2. Zdjąć górny korek z kolumny. Upewnić się, że pod wyjściem z kolumny znajduje się zlewka 50 ml.
3. Otworzyć zawór kolumny i obniżyć poziom rozpuszczalnika do wysokości max 1 cm ponad górną granicę żelu.
4. Zamknąć zawór kolumny.
5. Szklaną pipetą Pasteura przenieść przygotowane nanokryształy do kolumny wstrzykując je ostrożnie (bez mieszania) do rozpuszczalnika znajdującego się ponad żelem.
6. Otworzyć zawór i obserwować wnikanie, a następnie przemieszczanie się nanokryształów w żelu.
7. Gdy całość nanokryształów znajdzie się ~2 cm poniżej górnej granicy żelu do górnego szlifu kolumny zamontować wkraplacz z zapasem rozpuszczalnika – poprosić prowadzącego o pomoc.
8. W statywie przygotować ok 12 próbek podpisanych eppendorf (eppendorfek)
9. Zachować szczególną czujność, gdy nanokryształy zbliżają się do spieku na dolnym krańcu kolumny.
10. Gdy pierwsze krople rozpuszczalnika zabarwione od nanokryształów zaczną wypływać do zlewki sprawnym ruchem wsunąć zlewkę spod ujścia kolumny podstawiając pierwszą eppendorfkę.
11. Do każdej eppendorfki łapać 3 kroplę roztworu nanokryształów, po czym przesunąć statyw, aby postawić kolejną próbkę.
12. Dodać po ~1 ml toluenu do każdej eppendorfki i szczelnie ją zamknąć.
13. Gdy cały roztwór nanokryształów przejdzie p[rzez kolumnę zamknąć zawór wyjściowy.
14. Wykonać pomiar fotoluminescencji umieszczając kolejno wszystkie eppendorfki w uchwycie. Długość dali pobudzenia 405 nm.
15. Widma PL zapisać.

VIII. Zadanie do wykonania

1. Omówić znaczenie oczyszczania nanokryształów
2. Przedstawić metody oczyszczania
3. Sporządzić i omówić wykresy PL zmierzone dla NCs rozdzielonych w żelowej kolumnie chromatograficznej.

Literatura

1. W. Szczepaniak „Metody instrumentalne w analizie chemicznej” Wydawnictwo Naukowe UAM

2. Kamiński M.: „*Chromatografia żelowa w układach liofilowych i hydrofilowych*”, w: „*Chromatografia Cieczowa*”, Praca zbiorowa pod redakcją M. Kamińskiego. CEEM, Gdańsk, 2004, s. 67-82