

SEPARAZIONE DI NANOPARTICELLE DI ORO MEDIANTE ELETTROFORESI CAPILLARE IN PRESENZA DI POLIELETTROLITA NEL RUNNING BUFFER

R. Ciriello e A. Guerrieri

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Via N. Sauro, 85 - 85100 Potenza (antonio.guerrieri@unibas.it)

INTRODUZIONE

Le nanoparticelle di oro trovano applicazione in svariati settori scientifici quali la catalisi, l'elettronica, l'ottica, la diagnostica medica e l'imaging biologico [1]. Nell'ambito dei nanomateriali la dimensione è un parametro estremamente importante poiché modula in modo pronunciato le proprietà chimiche e fisiche delle particelle stesse [2]. La caratterizzazione e la determinazione delle dimensioni di nanoparticelle, sintetizzate in forma quanto più possibile monodispersa, riscuote di conseguenza notevole interesse scientifico.

La tecnica più comunemente utilizzata per la caratterizzazione di particelle metalliche è la microscopia a trasmissione elettronica (TEM) [3, 4] che comporta però un campionamento non sempre rappresentativo, una possibile degradazione del campione e non consente alcun processo di separazione. L'impiego di tecniche separative per la caratterizzazione di nanoparticelle consente di ricavarne l'effettiva distribuzione in base alla dimensione e al contempo di misurarne proprietà fisiche quali l'assorbimento o la conducibilità. L'HPLC e la cromatografia ad esclusione dimensionale sono state quindi combinate al TEM per caratterizzare cluster di metalli nel regime dei nanomateriali [3, 4], fornendo però una risoluzione non particolarmente elevata, nell'intervallo 20-60 nm.

In questo contesto l'elettroforesi capillare, tecnica dalla elevata efficienza separativa, risulta piuttosto promettente, essendo già stata applicata alla separazione di materiale particolato, quale ossidi inorganici [5] e silicati [6], che, essendo carichi in superficie, vengono differenziati in base al rapporto carica/dimensione. Nel caso delle nanoparticelle di oro, sintetizzate mediante riduzione ad opera di citrato [7], la carica in superficie deriva dall'adsorbimento di ioni citrato con conseguente formazione di un doppio strato elettrico che ne previene l'agglomerazione. Poiché lo ione citrato tende a desorbire in soluzione piuttosto facilmente [8], recentemente, è stato proposto l'uso nel running buffer di un surfattante quale l'SDS che, ad alti valori di concentrazione, si adsorbe completamente sulla superficie delle nanoparticelle stabilizzandole mediante repulsione elettrostatica [9, 10] ed esaltandone al tempo stesso le proprietà elettroforetiche.

L'uso di polimeri quali il poli(1-vinilpirrolidone) e l'ossido di poli(etilene) [11] nel processo di sintesi determina una stabilizzazione sterica delle nanoparticelle risultanti. L'impiego di polielettroliti basati su polimeri organici comporterebbe una stabilizzazione maggiore delle nanoparticelle in quanto di natura *elettrosterica*. Nel presente lavoro di ricerca si è valutata quindi la possibilità di realizzare la separazione elettroforetica di nanoparticelle di oro, dalle dimensioni comprese nell'intervallo 5-20 nm, aggiungendo al running buffer svariati polimeri. In particolare l'impiego di un polielettrolita carico negativamente quale il poli(4-stirenesolfonato) (PSS) è risultato una valida alternativa all'SDS. Ottimizzata la concentrazione di PSS in termini di efficienza e risoluzione della separazione elettroforetica, è stato condotto uno studio di ottimizzazione delle condizioni sperimentali. In particolare, per quanto riguarda il voltaggio applicato, l'impiego di un gradiente di potenziale, opportunamente modulato, anziché di un voltaggio costante tipicamente impiegato in elettroforesi capillare, ha consentito un netto miglioramento della separazione elettroforetica.

Condizioni sperimentali

Campioni

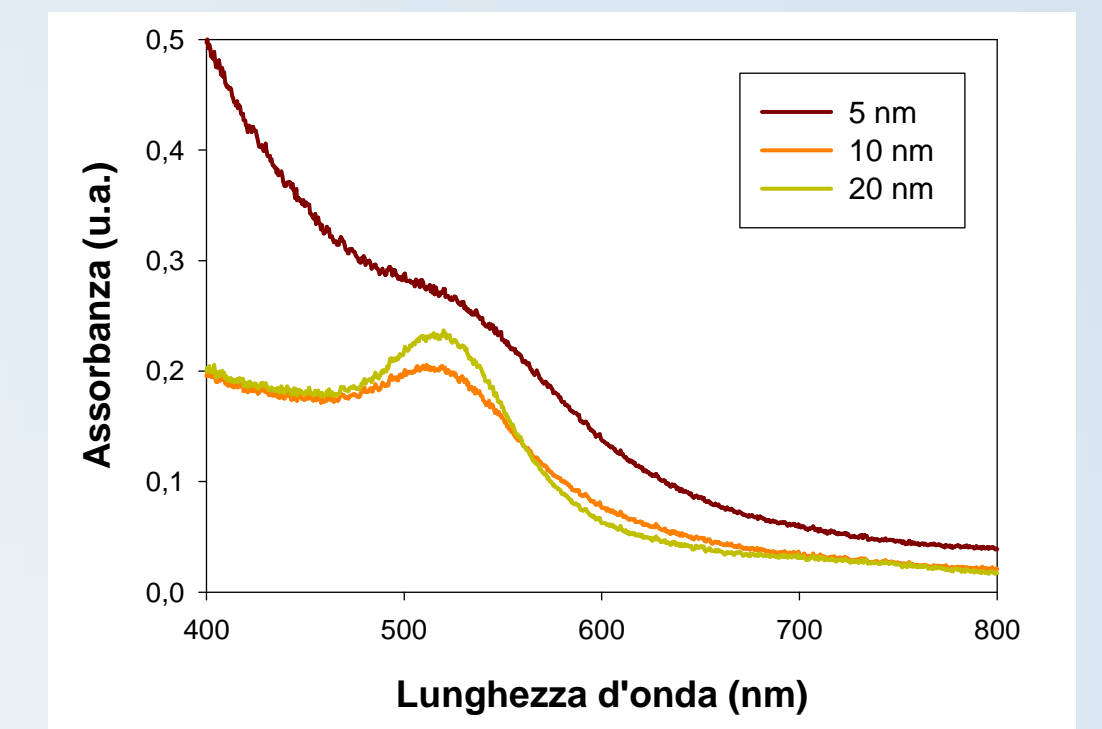
- 5 nm (4,3 nm ± 19,4%)
- 10 nm (9,1 nm ± 12,3%)
- 20 nm (20 nm ± 13,5%)



I tre standard di oro sono stati sintetizzati utilizzando una variante della metodica che prevede l'impiego di acido tannico e citrato [7]

Una prima caratterizzazione delle nanoparticelle è stata effettuata mediante spettroscopia di assorbimento nella regione del visibile:

- bande "Surface Plasmon Resonance" (SPR)
- caratterizzate da λ_{max} ed ampiezza variabile a seconda delle dimensioni delle nanoparticelle



Strumentazione

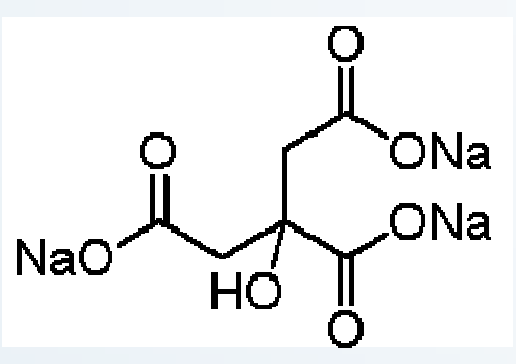
Capillare: i.d. 75 μ m; L_{tot} 50.5 cm; L_{eff} 40.5 cm

Iniezione: 0.8 psi per 10s

Separazione: 18 KV

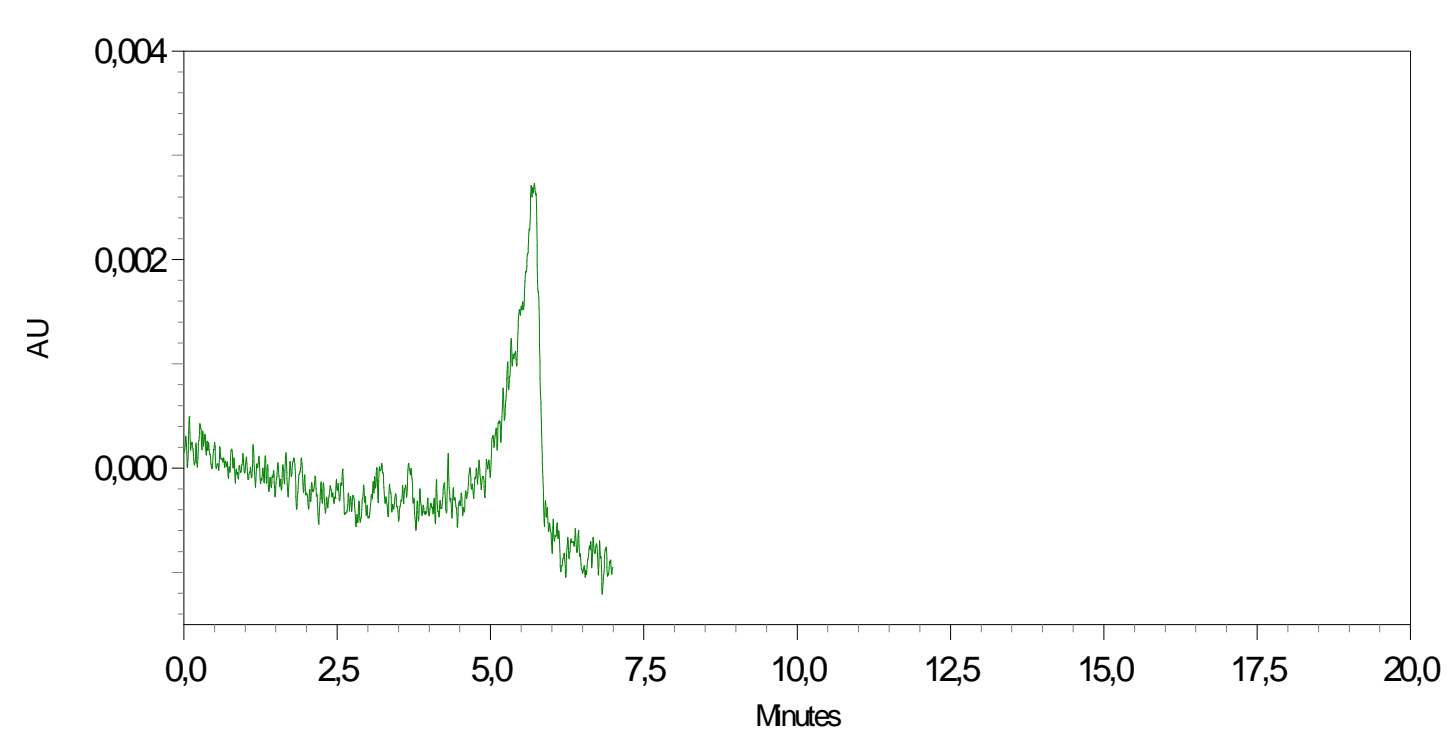
Rivelazione: DAD (Diode Array Detector) 520 nm

Running Buffer: acido 3-cicloesilammino 1-propansolfonico (CAPS) 10 mM, pH 11.0



Stabilizzazione mediante citrato

I tempi di migrazione osservati per i tre campioni risultano essere pressoché simili, tanto da non consentire alcuna loro separazione.



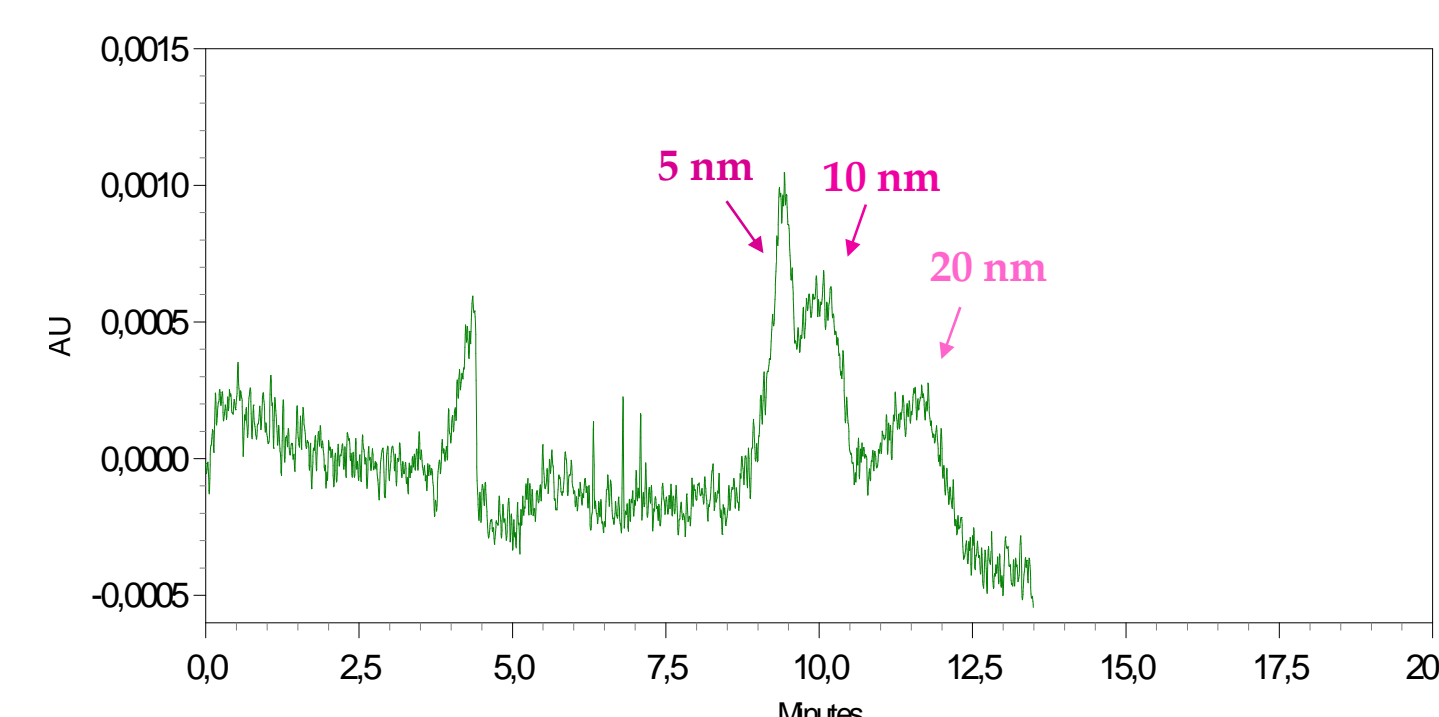
Elettroferogramma relativo ad una miscela di Au 5 nm, Au 10 nm e Au 20 nm in un rapporto di volume 1:1:1

Il rapporto carica/dimensioni conseguente all'adsorbimento del citrato sulle nanoparticelle è insufficiente a determinare una differenziazione in termini di migrazione elettroforetica delle nanoparticelle stesse.

Stabilizzazione mediante aggiunta nel running buffer di SDS 70 mM

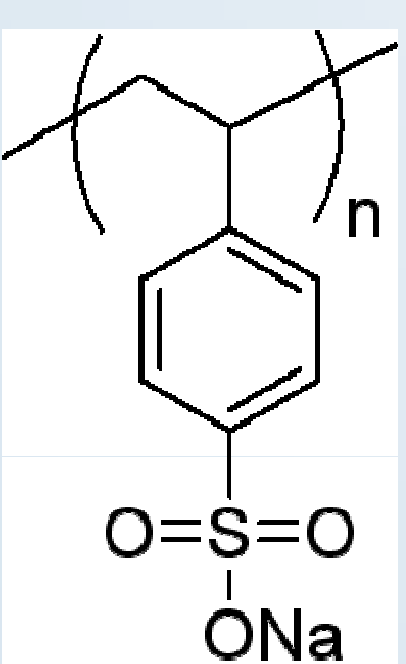
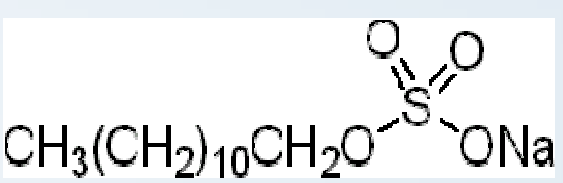
Possibilità di differenziare il comportamento elettroforetico in termini di densità di carica superficiale. La mobilità elettroforetica risulta direttamente proporzionale al raggio delle nanoparticelle

$$\mu_{ep} = \frac{q}{f} = \frac{q}{6\pi\eta r} \propto \frac{4\pi r^2}{6\pi\eta r} \left(= \frac{2r}{3\eta} \right) = Kr$$



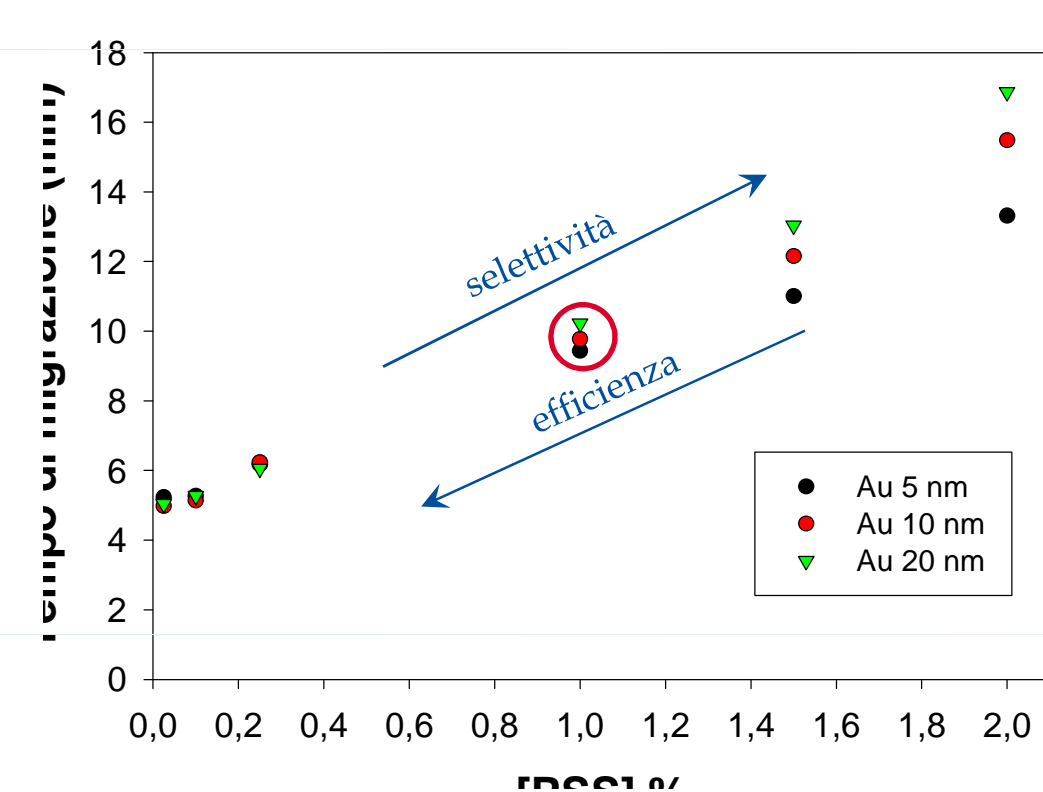
Elettroferogramma relativo ad una miscela di Au 5 nm, Au 10 nm e Au 20 nm in un rapporto di volume 1:1:1

Si nota una certa separazione delle nanoparticelle ma la risoluzione osservata è bassa.



Stabilizzazione mediante aggiunta nel running buffer di poli(4-stirenesolfonato) di sodio (PSS)

Influenza della concentrazione di PSS

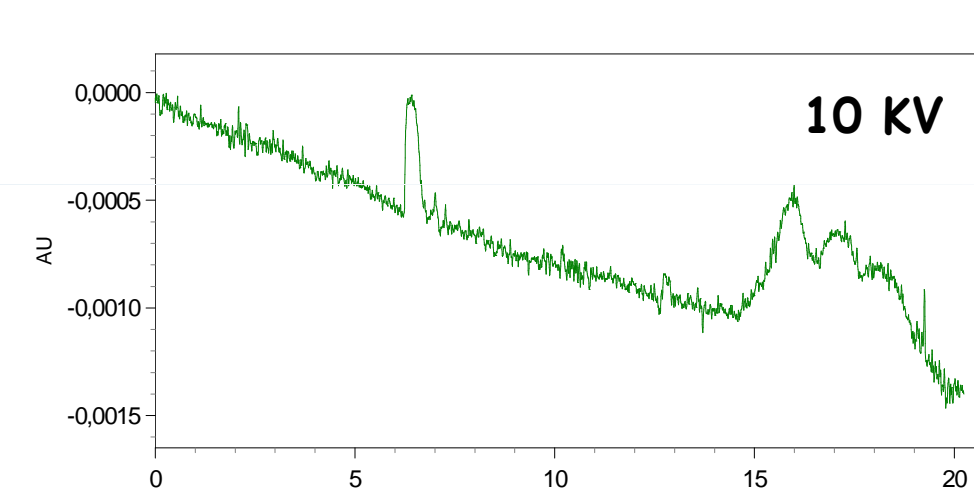
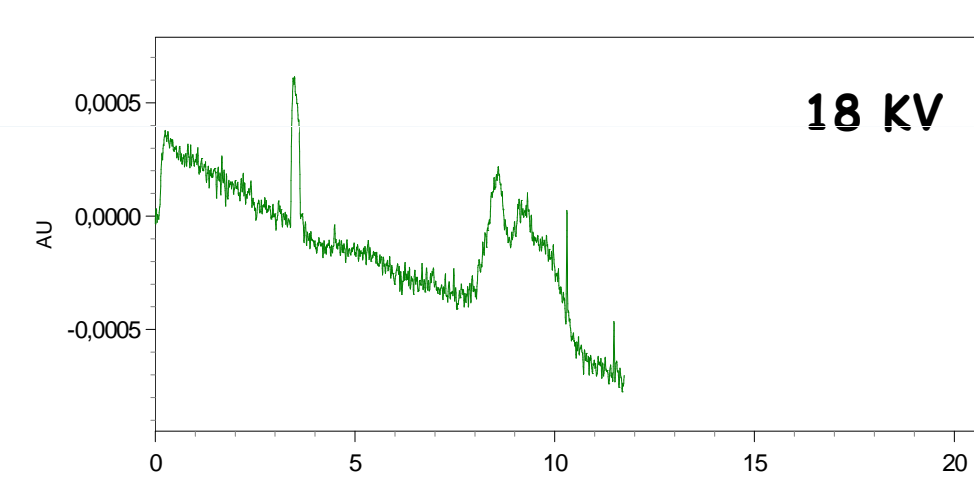
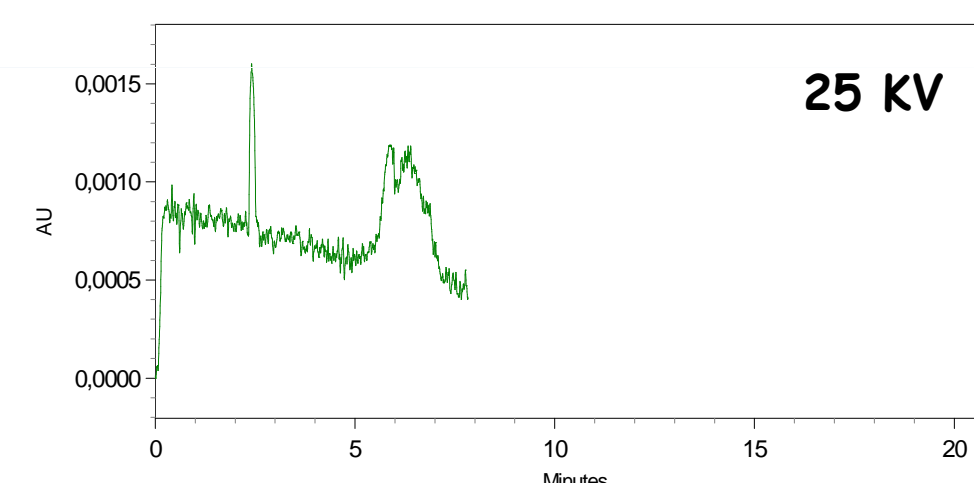


Risoluzione

- efficienza migliora a basse concentrazioni di PSS a spese della selettività
- selettività migliora ad elevate concentrazioni di PSS a spese dell'efficienza

[PSS] 1%: giusto compromesso tra la necessità di garantire una minima separazione tra i campioni senza però compromettere eccessivamente la bontà del profilo elettroforetico

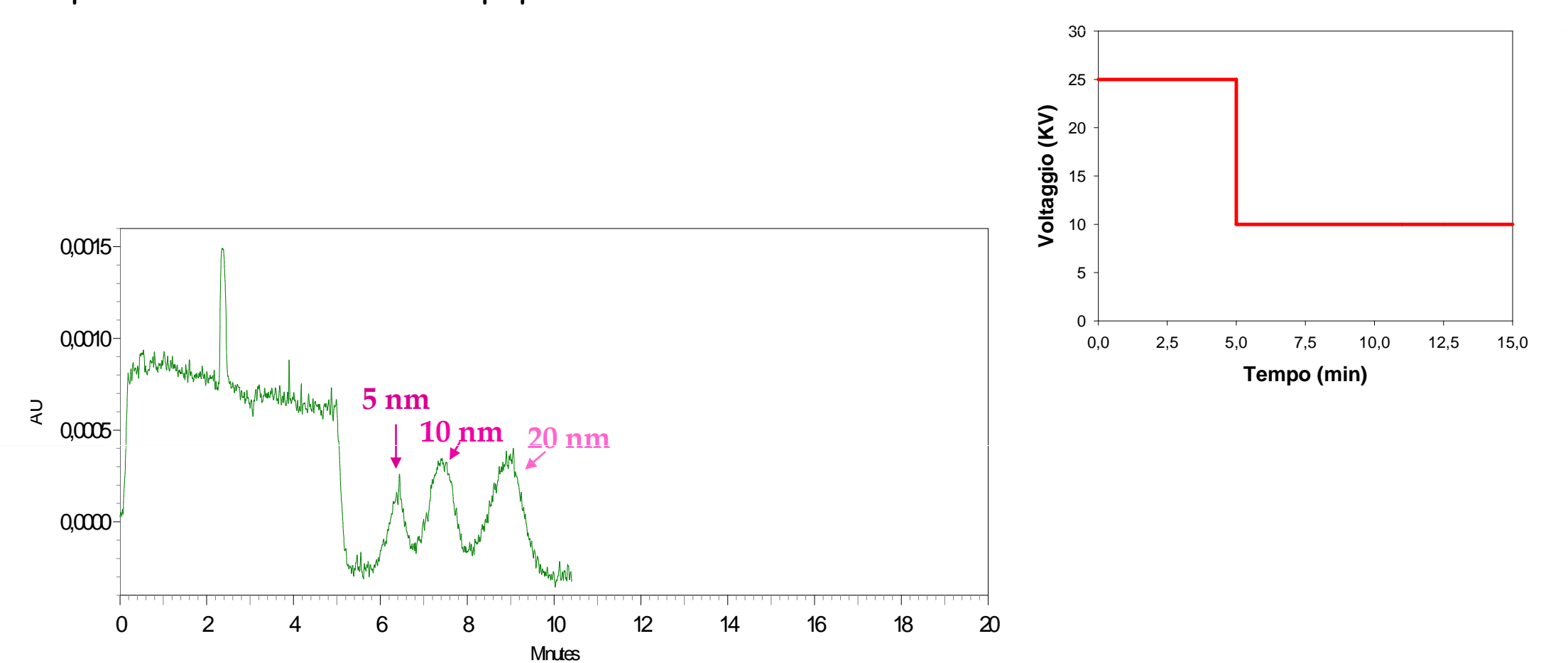
Influenza del voltaggio



Elettroferogrammi relativi ad una miscela di Au 5 nm, Au 10 nm e Au 20 nm in un rapporto di volume 1:1:1

Rispetto al profilo ottenuto nelle condizioni tipiche (18 KV), un aumento del voltaggio comporta un netto peggioramento della risoluzione già non apprezzabile; diminuendo il voltaggio si osserva il profilarsi di tre picchi che, dati i tempi di migrazione piuttosto elevati, risultano allargati e quindi non ben separati.

L'ideale sarebbe applicare un voltaggio di 10 KV, valore che sembrerebbe favorire la separazione delle sostanze, evitando però che queste risiedano per tempi eccessivamente lunghi nel capillare con conseguente peggioramento in efficienza. Ciò potrebbe essere realizzato applicando uno step di potenziale che acceleri prima le particelle per poi separarle al potenziale di 10 KV in tempi pressoché dimezzati.



Elettroferogramma relativo ad una miscela di Au 5 nm, Au 10 nm e Au 20 nm in un rapporto di volume 1:1:1

CONCLUSIONI

Il presente lavoro di ricerca ha voluto dimostrare la possibilità di caratterizzare nanoparticelle di oro mediante elettroforesi capillare utilizzando come additivo nel running buffer un polielettrolita quale il PSS in grado di conferire alle nanoparticelle una stabilizzazione maggiore rispetto a quella derivante da adsorbimento di SDS, in quanto allo stesso tempo di natura elettrostatica e sterica.

L'ottimizzazione dei parametri sperimentali, ed in particolare l'applicazione di un gradiente di potenziale opportunamente modulato, ha consentito di ottenere in tempi ragionevolmente brevi una separazione elettroforetica caratterizzata da una maggiore risoluzione rispetto a quanto riportato nel caso dell'SDS [9, 10], risoluzione decisamente apprezzabile se si considera la particolare natura dei campioni oggetto di studio.

Riferimenti Bibliografici

- [1] M. C. Daniel, D. Astruc Chem. Rev. 104 (2004) 293
- [2] G. T. Wie, F. K. Liu, C. R. C. Wang Anal Chem 71 (1999) 2085
- [3] T. Siebrands, M. Giersigs, C. H. Fischer Langmuir 9 (1993) 2297
- [4] K. A. Littau, P. J. Szaajowski, A. R. Kortan, L. E. Brus J. Phys. Chem. 97 (1993) 1224
- [5] C. Quang, S. L. Petersen, G. R. Ducatte, N. E. Ballou J. Chromatogr. A 732 (1996) 377
- [6] B. V. Huff, G. L. McIntire J. Microcol. Sep. 1 (1989) 289
- [7] Slot, J.W., and Geuze, H. J., Eur. J. Cell Biol. 38 (1985) 87
- [8] W. Bucking, T. Nann IEE Proc.-Nanobiotechnol. 153 (2006) 47
- [9] F. K. Liu, G. T. Wei Analytica Chimica Acta 510 (2004) 77
- [10] F. K. Liu, Y. Y. Lin, C. H. Wu Analytica Chimica Acta 528 (2005) 249
- [11] A. B. R. Mayer, J. E. Mark Eur. Polym. J. 34 (1998) 103