



Semnan University

Journal of Applied Chemistry

Journal homepage: <https://chemistry.semnan.ac.ir/>



Research Article

Studying the process of absorption and separation of amino acids (Arg and Glu) by tetraethoxyortho-silane exogel adsorbent

Ali Asl Rousta, Hasan Hasani*, Noor Allah Feyzi, Ali Reza Akbari

Department of Chemistry, Faculty of Science, payam noor University, Tehran, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 2/July/2022

Revised: 8/Nov/2022

Accepted: 17/Dec/2022

Keywords:

tetraethoxyorthosilane
Xerogel, Oromosil, Amino
Acid, Adsorption.

ABSTRACT

In this research, the ability of tetraethoxyorthosilane (TEOS) exogel as a cheap, safe adsorbent with a strong mechanical structure was studied in the separation of acidic (Glu.) and basic (Arg.) amino acids in an absorption chromatography column. First, the effect of pH and then The effect of the length of the chromatography column as well as the hydrophobicity factor of the adsorbent surface on the amount and speed of purification was evaluated. According to the results, the separation rate of the two tested amino acid samples was better at neutral pH (7). In the following, by preparing ormosil derivatives of exogel adsorbent (TEOS + Me, TEOS + Et and TEOS + Pro) and testing on the aforementioned amino acids sample, it was found that the effect of the hydrophobicity of the substrate surface is not significant compared to the effect of the pH factor. The length of the chromatography column was effective on the better separation of the above samples.

DOI: <https://doi.org/10.22075/CHEM.2022.27441.2081>

© 2023 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Assistant Professor of Organic Chemistry. E-mail address: hassaniir@pnu.ac.ir

How to cite this article: Rousta, A. A., Hasani, H., Feyzi, N. A., & Akbari, A. R. (2013). Studying the process of absorption and separation of amino acids (Arg and Glu) by tetraethoxyortho-silane exogel adsorbent. *Applied Chemistry*, 18(68), 47-62. (in Persian)

مطالعه فرایند جذب و جداسازی آمینو اسیدها (Glu و Arg) توسط جاذب اگزروژل

تترااتوکسی اورتوسیلان

علی اصل روستا، حسن حسنی*، نورالله فیضی و علیرضا اکبری

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۰۱/۰۴/۱۱

تاریخ تصحیح: ۰۱/۰۸/۱۷

تاریخ پذیرش: ۰۱/۰۸/۲۴

چکیده

در این تحقیق توانایی اگزروژل تترااتوکسی اورتوسیلان (TEOS) به عنوان جاذبی ارزان، ایمن با ساختار قوی مکانیکی در جداسازی آمینو اسیدهای اسیدی (Glu) و بازی (Arg) در ستون کروماتوگرافی جذبی مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا اثر pH و سپس تاثیر میزان آب گریزی سطح بستر جاذب و همچنین طول ستون کروماتوگرافی بر روی میزان و سرعت تخلیص مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده، در pH خنثی (۷) میزان تفکیک دو نمونه آمینو اسید مورد آزمایش بهتر صورت گرفت. در ادامه با تهیه مشتقات اورموسیل دار جاذب اگزروژل (TEOS + Me، TEOS + Et و TEOS + Pro) و آزمایش بر روی نمونه آمینو اسیدهای فوق الذکر، مشخص گردید که تاثیر هیدروفوبیسیتهی سطح بستر در مقایسه با تاثیر عامل pH قابل ملاحظه نیست. افزایش طول ستون کروماتوگرافی بر تفکیک و جداسازی بهتر نمونه های فوق موثر بود.

کلمات کلیدی: اگزروژل تترااتوکسی اورتوسیلان (TEOS)، اورموسیل، آمینو اسید، جذب.

۱- مقدمه

هیدرولیز اسیدی یا بازی آلکوکسی سیلان ها، تولید گروه های سیلانول می کند که می توانند به راحتی در pH خنثی پلیمریزه شده و ایجاد سل-ژل نمایند. در ادامه با خشک کردن سل-ژل در شرایط محیطی، ساختارهایی شیشه ای با قدرت مکانیکی بالا به نام اگزروژل تولید می شود [۱]. به دلیل سرعت بالای پلیمریزاسیون در مرحله تراکم، برخی از سیلانول ها بطور کامل پلیمریزه نشده و دست نخورده باقی می مانند. نتیجه این فرآیند، حضور گروه های هیدروکسیل آزاد در ساختار پس از خشک شدن ژل می باشد که این گروه ها در pH (های) بالاتر از ۴ در محلول آبی هیدرولیز شده و باعث بوجود آمدن بار منفی در سطح اگزروژل می شوند. تحقیقات انجام شده حاکی از آنست که بار نقطه صفر (PZC) برای اکثر اگزروژل ها حدود ۴ است [۲]. وجود نیروهای الکترواستاتیکی در سطح جاذب پتانسیل خوبی را در جهت استفاده از آن ها در تفکیک و تخلیص آمینو اسیدها و پلی پتیدها به ما می دهد. چنانچه برای تهیه سل-ژل از آلکوکسی سیلان هایی استفاده شود که در ساختار خود دارای گروه های غیرهیدرولیزشونده باشند، محصول نهایی این نوع سل ژل ها اورموسیل نام دارد [۳]. تهیه اورموسیل ها به منظور بررسی اثر هیدروفوبیسیتهی در دستور کار قرار گرفت.

مزیت هایی از قبیل آماده سازی آسان و مقرون به صرفه بدون فراهم نمودن شرایط خاص، ماهیت غیر سمی مواد اولیه و محصولات در سیلان ها، ساختار قوی شبکه سیلانی، خواص سطحی قابل اصلاح با امکان اضافه کردن آلکوکسیدهای فلزات مختلف قبل از تشکیل ژل و سطح ویژه بزرگ (مساحت سطح ۲۱۹ گرم بر متر مربع در نمونه مورد آزمایش) دلایلی هستند که استفاده از اگزروژل در جداسازی و خالص سازی مولکول های بیولوژیکی مانند آمینو اسیدها را حمایت می کنند [۴]. آمینو اسیدها از جمله مولکول های بیولوژیکی بسیار مهم و پر کاربرد در بسیاری از فرآیندها مانند سنتز پپتید [۵]، تولید ترکیبات دارویی، کشاورزی، شیمیایی و حسگرهای زیست پزشکی هستند [۶]. از مهمترین روش های تهیه آمینو اسیدها می توان به هیدرولیز اسیدی [۷]، بازی [۸] یا آنزیمی [۹] پلی پپتیدها و پروتئین ها اشاره کرد. فرآیند مهم بعدی جداسازی و خالص سازی مخلوط آمینو اسیدهای بدست آمده می باشد. یکی از کارآمدترین و کم هزینه ترین روش های جداسازی و تخلیص استفاده از جاذب هاست. جذب آمینو اسیدها بر روی مواد مختلف از جمله جاذب های پلیمری [۱۰]، مواد معدنی [۱۱ و ۱۲]، کربن فعال [۱۳] و زئولیت ها [۱۴ و ۱۵] مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقات اخیر (۲۰۱۷) به عنوان مثال خانم راحله ژبانی و همکارانش از صفحات نانو برای جداسازی و خالص سازی مخلوط آمینو اسیدها استفاده کرده اند. [۱۶]. در آزمایش دیگر، جداسازی آمینو اسیدها به روش H.P.L.C توسط کبرا هاشمی نسب و همکاران در سال ۱۴۰۰ شمسی مورد بررسی قرار گرفت [۱۷]. در سال ۲۰۱۷، Dirk E. De Vos و همکارانش جذب و جداسازی آمینو اسیدها توسط ساختارهای آلی-فلزی را مورد مطالعه قرار دادند [۱۸]. جاذب های بررسی شده توسط محققین، علی رغم یک یا دو ویژگی مثبت، دارای مشکلات متعددی از جمله لزوم ایجاد شرایط خاص و ویژه در کاربرد هستند که این امر کاربرد صنعتی آن ها را محدود می کند، در حالیکه اگزروژل مجموعه ای از ویژگی های مثبت و کاربردی در شرایط عادی با حجم عبوری قابل قبول به منظور جداسازی مخلوط آمینو اسیدها در مقیاس صنعتی را با هم دارد. در کار حاضر با توجه به پتانسیل های بالای ذکر شده برای اگزروژل سیلیکا، از این جاذب به عنوان فاز ثابت در ستون کروماتوگرافی برای جداسازی و خالص سازی دو آمینو اسید پر کاربرد و مهم (آرژنین و گلوتامیک اسید) استفاده گردید. در کنار اگزروژل TEOS، ۳ اورموسیل به دست آمده از آن که شامل متیل-تری اتوکسی سیلان (TEOS+Me)، اتیل-تری اتوکسی سیلان (TEOS+Et) و پروپیل-تری اتوکسی سیلان (TEOS+Pro) که بصورت نانوذرات سنتز شدند نیز به منظور بررسی اثر زنجیره های آلی بر میزان هیدروفوبیسیستی و جذب مورد آزمایش قرار گرفت.

۲- روش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی مورد استفاده

تترا اتوکسی اورتو سیلان (TEOS، خلوص ۹۸٪)، متیل تری اتوکسی سیلان (TEOS_M، خلوص ۹۸٪)، اتیل تری اتوکسی سیلان (TEOS_E، خلوص ۹۷٪)، پروپیل تری اتوکسی سیلان (TEOS_P، خلوص ۹۷٪)، از آلد ریچ (Oakville, ON, Canada) و

آمینو اسیدهای آرژنین (Arg) و گلوتامیک اسید (Glu) به صورت تجاری از BBI با خلوص بیش از ۹۹,۵٪ خریداری و بدون خالص سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲- دستگاه های مورد استفاده

طیف تبدیل فوریه-مادون قرمز جاذب ها با استفاده از طیف سنج SHIMADZU FT-IR 8400S مشخص شد. ارزیابی اندازه منافذ بر روی یک تحلیلگر سطح Microtrac Bel Corp انجام شد. شرایط سطح و مورفولوژی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی، TESCAN, VEGA-SCAN مدل LMU بررسی شد. الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) توسط دستگاه x-ray مدل Pharmaci LKB- (PumpP) جهت جمع آوری نمونه هاو دستگاه اسپکتروفتومتر UV-vis (Analytik Jena - Specord 210) جهت تعیین غلظت نمونه های جمع آوری شده مورد استفاده قرار گرفت.

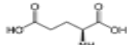
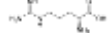
۲-۳- تهیه جاذب آگروژل

چهار محلول همگن TEOS_M، TEOS_E و TEOS_P با هیدرولیز اسیدی پیش ماده سیلان مربوطه ساخته شد. مواد اولیه (سیلان، آب و کلریدریک اسید به ترتیب با نسبت مولی ۴: ۱: ۰,۰۰۱۵) در یک ظرف شیشه ای مخلوط شده و در یک حمام آب در دمای اتاق به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه تحت فراصوت قرار داده شدند تا یک محلول شفاف تک فاز بدست آید. سپس به این حجم از محلول سیلان هیدرولیز شده، حجمی معادل از محلول بافر فسفات (۰,۱ مولار، pH=7) اضافه و کاملاً مخلوط شد. نمونه حاصل در یک ورق آلومینیومی یکبار مصرف در دمای اتاق ریخته شد. پس از تشکیل ژل، ماده در دمای اتاق قرار گرفت. فرآیند خشک کردن نمونه ها تا زمانی که کاهش وزن بیشتری مشاهده نشد ادامه یافت. جامد به دست آمده آسیاب و از طریق الک ۲۵۰ میکرومتری مش بندی شد (مش ۶۰).

۲-۴- تهیه محلول آمینو اسیدها

آرژنین (Arg) و گلوتامیک اسید (Glu) به ترتیب به عنوان نمایندگان آمینو اسیدها با خاصیت های بازی و اسیدی انتخاب شدند. ساختار و ویژگی های مورد نیاز هر یک در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱. فرمول ساختاری و برخی از خواص آمینو اسیدهای مورد آزمایش

آمینو اسید	گروه بندی	فرمول ساختاری	ثابت ایزوالکتریک (pI)	ثابت هیدروفوبیسیتی
گلوتامیک اسید	اسیدی		۳/۲۲	۰/۰۴۳
آرژنین	بازی		۱۰/۶۷	۰/۰۰۰

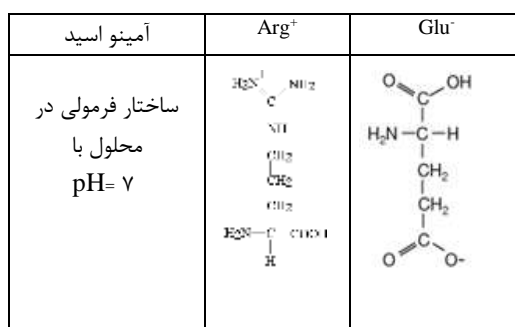
۲-۵- فرایند جداسازی

محلول آمینو اسیدها (با غلظت ۱۰ میلی مول در لیتر) با حل کردن مقدار محاسبه شده در آب دیونیزه تهیه شد. pH محلول با استفاده از HCl یا NaOH با غلظت ۰/۱ مول در لیتر تنظیم شد. ۱ میلی لیتر از هر یک از آمینو اسیدها بصورت جداگانه بر روی سطح بستر ثابت (اگزروژل) در ستون کروماتوگرافی شیشه ای (طول = ۱۵ سانتی متر و قطر = ۱۰ میلی متر) بارگذاری شد و با بافر فسفات به عنوان حلال حامل (با سرعت جریان = ۰/۲ میلی لیتر در دقیقه توسط پمپ مکنده جریان یافت. نمونه های مربوطه (حجم هر نمونه = ۲/۵ میلی لیتری) جمع آوری و با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-vis برای کنترل تغییرات غلظت آمینو اسید مربوطه در مایع خروجی استفاده شد. برای قابل مشاهده شدن در ناحیه مرئی ($L_{max} = 570$ نانومتر)، ابتدا معرف Cd-ninhydrin طبق روش گزارش شده در منابع به نمونه های مورد آزمایش اضافه شد [۱۹].

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- بررسی وضعیت های آمینو اسیدها در محلول

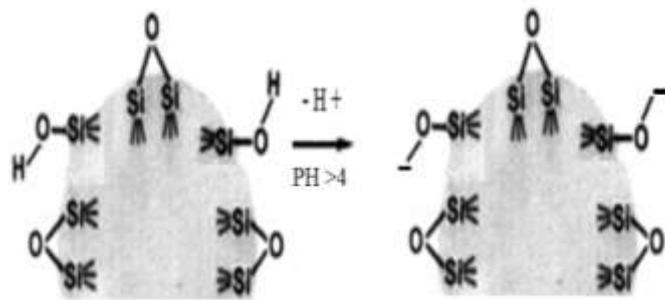
نمونه های مورد بررسی در این تحقیق در $pH=7$ به صورت کاتیون و آنیون در محلول حضور دارند (شکل-۱) [۲۰].



شکل-۱: ساختار فرمولی آمینو اسیدهای مورد آزمایش در محلول با $pH=7$

۳-۲- بررسی بار سطحی اگزروژل

سطح اگزروژل سیلیکا متشکل از گروه های باردار $SiOH_2^+$ و SiO^- ، گروه های SiOH با بارالکتریکی خنثی و گروه های غیرقطبی Si-O-Si می باشد (شکل-۲) [۲۱]. گروه های هیدروکسیل هیدرولیز شده در pH (ها) بالاتر از ۴ (PZC) در محلول آبی که دارای بار سطحی منفی در اگزروژل هستند، با گروه های باردار آمینو اسیدها وارد برهم کنش های الکترواستاتیکی می شوند. Arg^+ به سطح اگزروژل جذب شده و زمان ماندگاری در ستون را افزایش می دهد، در حالی که زمان ماندگاری Glu^- به دلیل وجود نیروهای دافعه، کاهش می یابد.

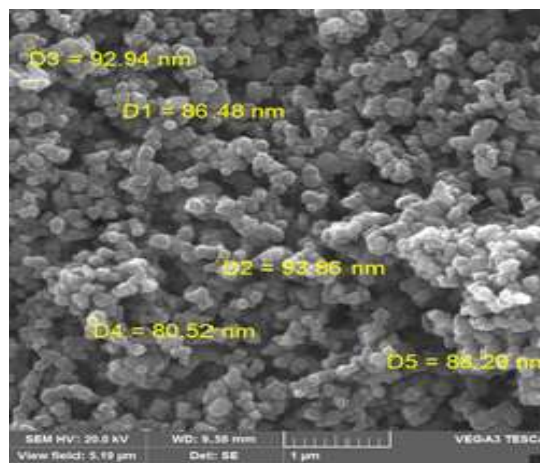


شکل-۲: گروه های موجود در سطح سیلیکا اگزروژل

۳-۳- آنالیزهای عنصری

۳-۳-۱- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و تعیین مساحت سطح (BET)

مساحت سطح ویژه بدست آمده برای نمونه اگزروژل تهیه شده در این آزمایش برابر با ۲۱۹/۹۶ گرم بر مترمربع با میانگین اندازه منافذ ۴/۷۲ میکرومتر می باشد. تصویر بدست آمده از این آنالیز، تشکیل ذرات نانو در سطح را تایید می کند (شکل-۳). آنالیزهای SEM و BET نشان داد که جاذب ها دارای سطح ناهمگن و ساختار نانومتخلخل هستند که باعث جداسازی بهتر آمینو اسیدها می شود.

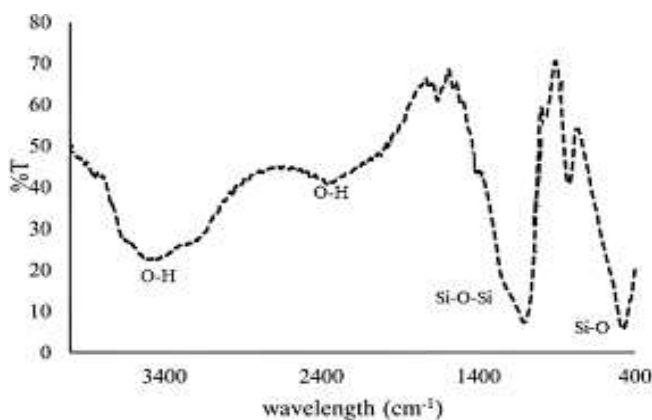


شکل-۳: تصویر میکروسکوپ الکترونی (SEM) از اگزروژل تهیه شده

۳-۳-۲- آنالیز طیف مادون قرمز (IR)

تجزیه و تحلیل FT-IR در طول موج ۴۰۰-۴۰۰۰ بر سانتی متر در شکل-۴ نشان داده شده است. با مراجعه به منابع مشخص می شود که پیک های پهن با شدت کم در ۱۶۴۰ و ۳۴۰۰ مربوط به ارتعاشات کششی گروه O-H برای مولکول های آب آزاد یا جذب شده در سطح می باشد. منطقه ۴۰۰ تا ۱۴۰۰ مربوط به ارتعاشات پیوندهای سیلیسی است. باندهای ۸۰۰، ۴۵۰ و پهنای باند در ۱۱۰۰ سانتی متر به حالت های مختلف ارتعاش Si-O یا Si-O-Si نسبت داده می شوند [۲۲، ۲۳]. نوار موجود در

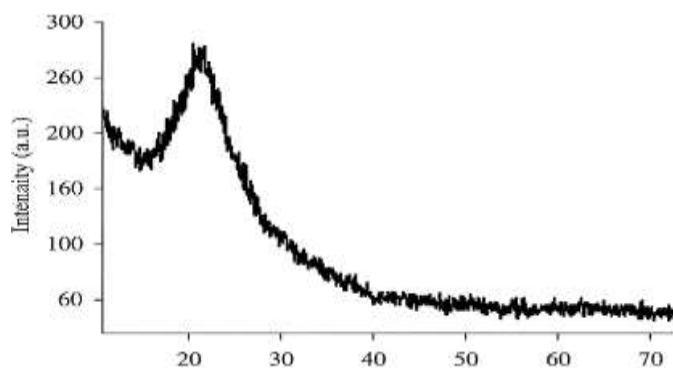
محدوده ۹۶۸ مربوط به ارتعاشات کششی Si-O-H است. همه موارد فوق با سایر مطالعات همخوانی دارد [۲۴،۲۵]. طیف‌ها نشان می‌دهند که بیشتر قله‌های اگزروژل TEOS دارای شدت قوی‌تری هستند.



شکل-۴: طیف مادون قرمز (FT-IR) از اگزروژل تهیه شده

۳-۳-۳- آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD)

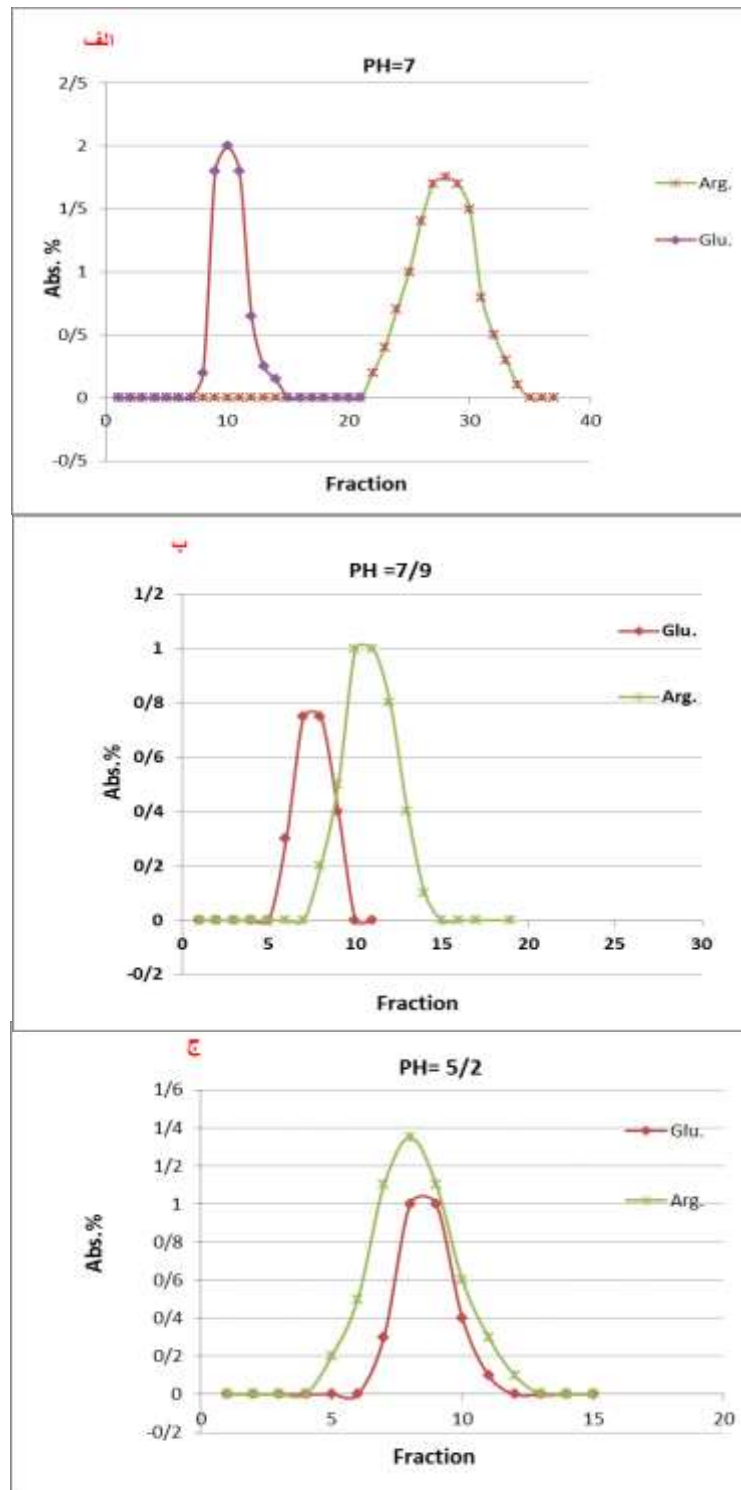
الگوی پراش اشعه ایکس اگزروژل TEOS در دمای اتاق، پیک پهن بین ۲۰ تا ۴۰ در زاویه 2θ را نشان می‌دهد که ماهیت آمورف بودن اگزروژل سیلیکا را تایید می‌کند [۲۶].



شکل-۵: الگوی پراش اشعه ایکس اگزروژل TEOS

۳-۴- اثر pH

یکی از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده که بار سطحی جاذب را تعیین می‌کند، pH است. تغییر pH با تأثیر بر میزان یونیزاسیون گروه‌های عاملی موجود در سطح، در فرآیند جداسازی مؤثر است [۲۷،۲۸،۲۹].



شکل-۶: درصد جذب بر اساس نمونه های خروجی در بستر ثابت TEOS (الف- pH=7، ب- pH=7/9 و ج- pH=5/2)

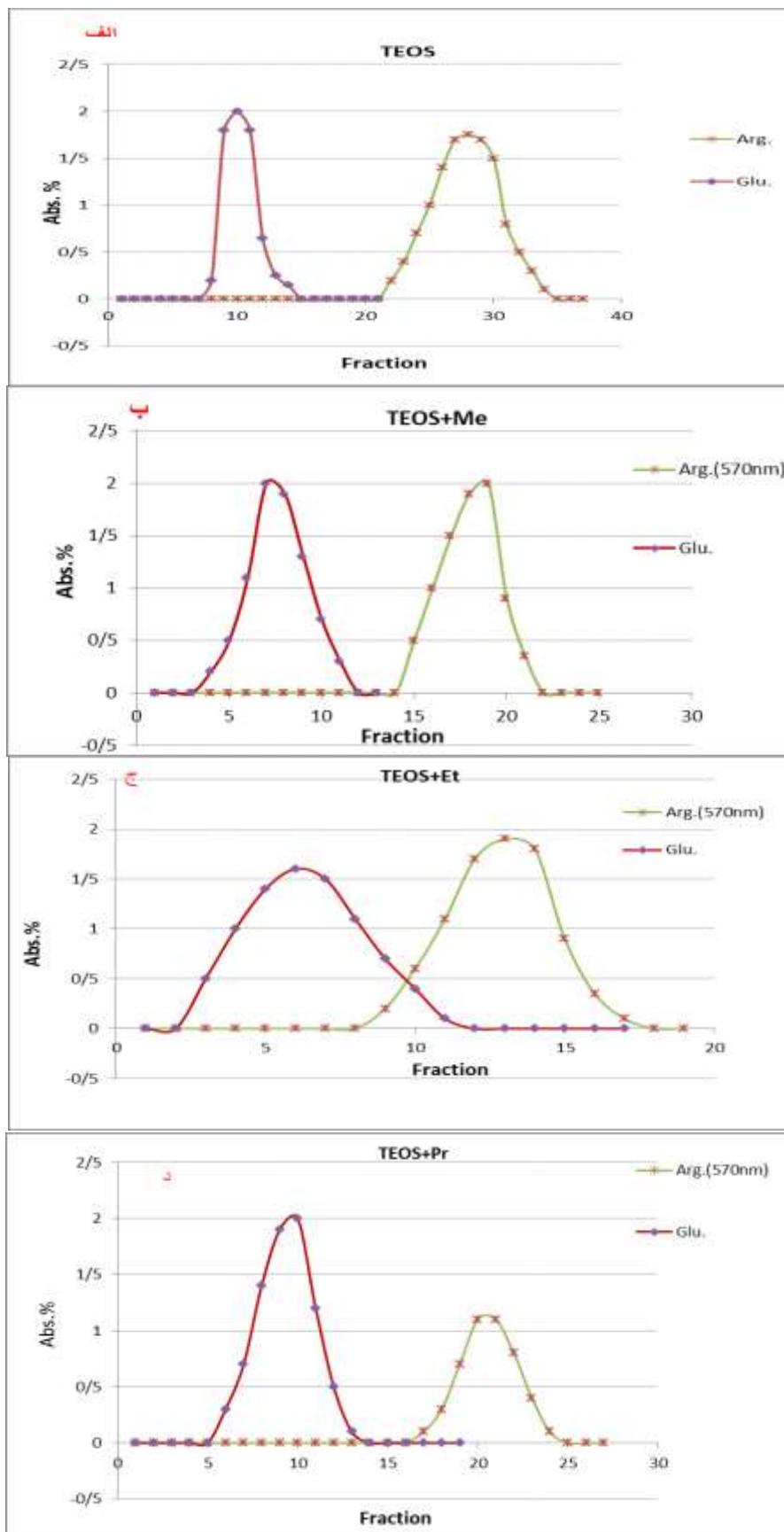
سرعت خروج نمونه های بررسی شده روی آگزرول TEOS در شکل-۶ نشان داده شده است. به نظر می رسد که نیروهای الکترواستاتیک عمدتاً عامل جذب هستند و pH از طریق تأثیر در مقدار بار ذرات، در زمان ماند و سرعت خروج مؤثر است. همانطور که انتظار می رفت سرعت خروج گلوتامیک اسید با بار منفی به علت دافعه ای که با بار مشابه سطح آگزرول دارد

سریعتر از آرژنین با گروه های عاملی دارای بار مثبت که با سطح مربوطه جاذبه داشته می باشد. به نظر می رسد تغییر pH بر روی دو آمینو اسید یاد شده به دلیل وجود بارهای الکترواستاتیکی حاکم در این ذرات تاثیرات شدیدتری در سرعت و زمان خروج آن ها دارد. این نتایج با سایر یافته ها در تحقیقات مشابه هماهنگی دارد [۳۰].

با ثابت نگه داشتن سایر فاکتورها احتمالا بتوان به pH بهینه ای برای هر آمینو اسید دست یافت که پیک خروجی آن متمایز از سایر نمونه ها باشد تا فرآیند جداسازی با درصد تخلیص بالاتری صورت گیرد. به عنوان مثال همانطور که در شکل ۶- (الف) مشاهده می شود در $pH = 7$ پیک مربوط به خروج آرژنین و گلوتامیک اسید بصورت جدا و متمایز از یکدیگر قرار دارد در حالی که در سایر pH های مورد بررسی، همپوشانی پیک های دو نمونه آمینو اسید مورد آزمایش مانع از تخلیص و جدا سازی مطلوب آن ها از یکدیگر می گردد.

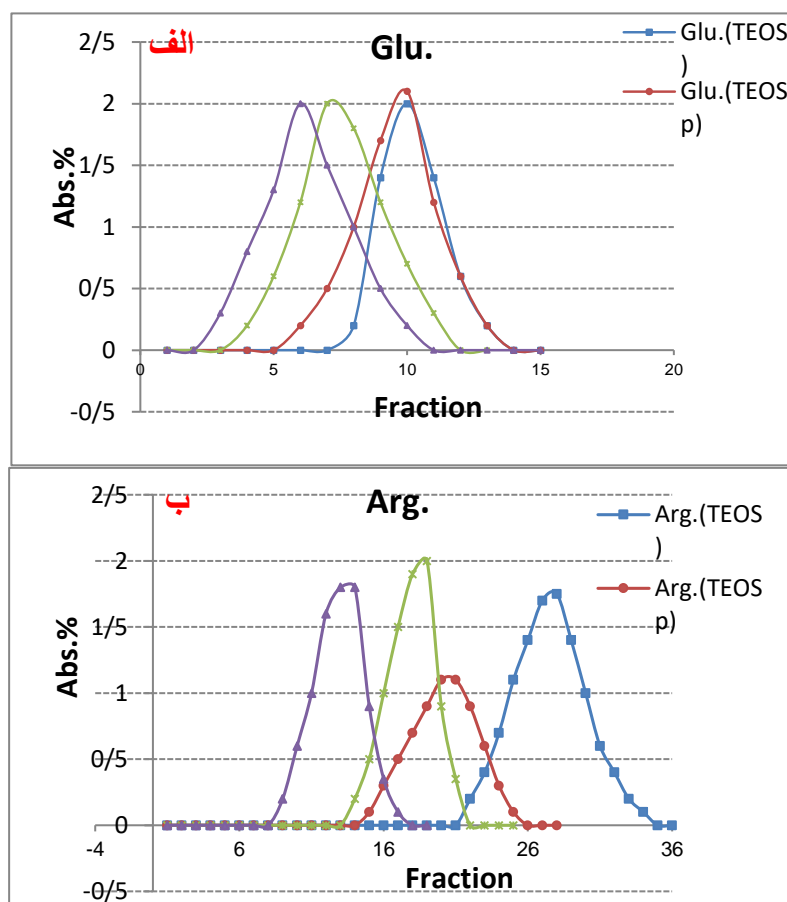
۵-۳- اثر اورموسیل

حضور زنجیره های آلی در ساختار پیش ماده آلکوکسی سیلان اولیه تولید گونه ای از اگزروژل ها با نام اورموسیل می کند که به نظر می رسد حضور این زنجیره ها به دلیل تاثیری که بر هیدروفوبیسیستی سطح جاذب می گذارند در میزان و سرعت خروج نمونه های آمینو اسید های مختلف می توانند تاثیر گذار باشند. در این تحقیق در کنار TEOS، سه نمونه اورموسیل شامل $TEOS_M$ ، $TEOS_E$ و $TEOS_P$ در جداسازی نمونه های انتخاب شده آمینو اسیدها مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۷-).



شکل- ۷: درصد جذب بر اساس نمونه های خروجی در pH=7 بر روی بستر ثابت (الف-TEOS، ب-TEOS_M، ج-TEOS_E و د-TEOS_P)

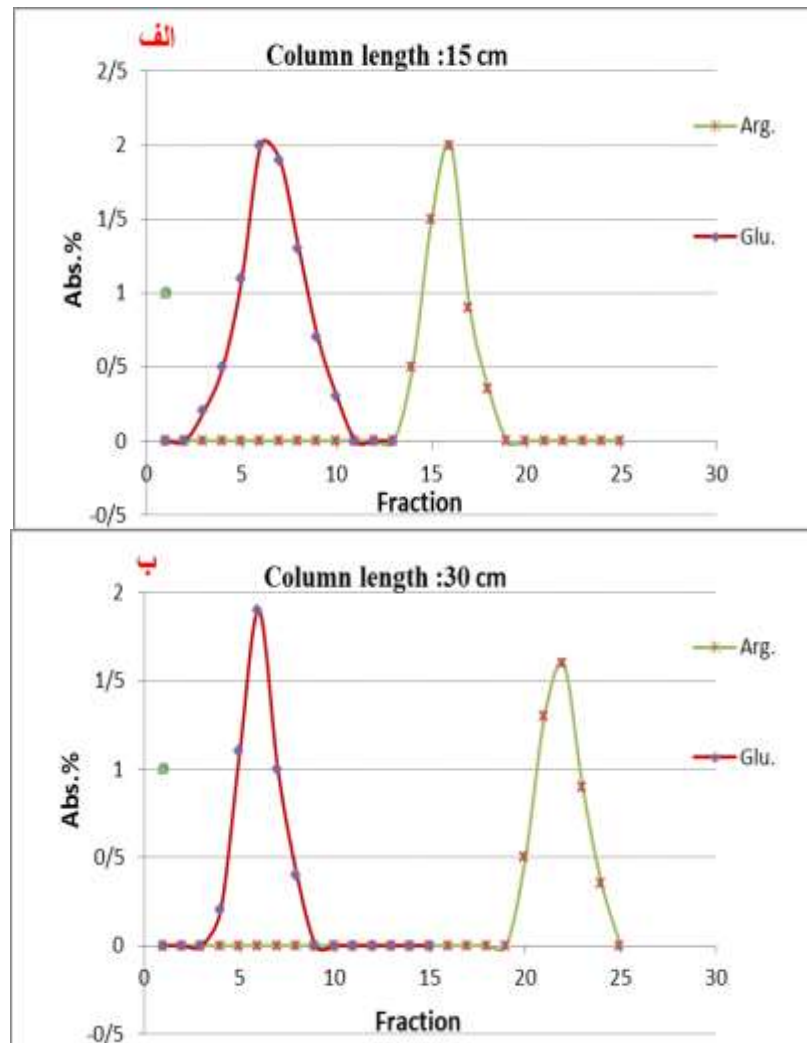
با توجه به شکل ۷، ملاحظه می شود آمینو اسید Glu (خاصیت اسیدی) در تمام بسترها به دلیل دارا بودن بار منفی و وجود نیروهای دافعه با بستر، همچنان خروج سریعتر و در مقابل Arg (خاصیت بازی) به دلیل دارا بودن بار مثبت و ایجاد جاذبه با بستر با بار مخالف، زمان ماند بیشتری دارد. ملاحظه می شود اثر اورموسیل در آمینو اسیدهای اسیدی و بازی تاثیر گذاری چندانی در مقایسه با اثر pH در سرعت خروج از ستون ندارد. شاید بتوان نتیجه گرفت فاکتور هیدروفوبیسیته، عامل فرعی تری نسبت به عامل اصلی pH باشد. ولی احتمالا در آمینو اسیدها با بارهای خنثی عامل تعیین کننده تری باشد [۳۰]. به نظر می رسد در شرایط pH ثابت، این فاکتور بیشتر بر روی سرعت خروج آمینو اسیدهای غیرقطبی با ساختارهای مختلف گروه عاملی R تاثیر گذار باشد. یعنی شاید بتوان برای آمینو اسیدهای غیرقطبی شرایط بهینه ای در نوع بستر ثابت در ستون جداسازی فراهم کرد تا تخلیص مطلوبتری از آن ها را شاهد بود. تاثیر تغییر اندازه رشته های اورموسیل در یک بستر ثابت، بر میزان جذب و سرعت خروج هر یک از نمونه ها به تنهایی در شکل ۸- مورد بررسی قرار گرفته است. مشاهده می شود تقریبا در تمام نمونه ها با افزایش طول زنجیره آلی در ساختار بستر، باعث افزایش سرعت خروج نمونه ها گردیده است. این فرآیند را شاید بتوان به ممانعت های فضایی و نیروهای دافعه ایجاد شده بین زنجیره های آلی بستر و جذب شونده در فرآیند جذب آمینو اسیدها بر روی بستر نسبت داد.



شکل-۸: بررسی اثر تغییر نوع زنجیر اورموسیل بستر بر میزان درصد جذب و سرعت خروج هر نمونه آمینو اسید در $pH = 7$

۳-۶- اثر طول ستون

اثر تغییر طول ستون کروماتوگرافی بر نمودار جداسازی در شکل-۹ نمایش داده شده است. ملاحظه می گردد افزایش طول ستون بر ایجاد فاصله در خروج نمونه های مورد آزمایش اندکی تاثیر داشته و جداسازی نمونه ها با تخلیص بیشتری صورت می گیرد.



شکل-۹: بررسی اثر تغییر اندازه طول ستون الف) ۱۵ cm و ب) ۳۰ cm بر میزان سرعت خروج هر نمونه آمینو اسید در $\text{pH} = 7$ بر روی بستر TEOS

۳-۷- مقایسه نتایج

با بررسی ثابت ماندگاری (k) و ثابت جداسازی (α) (که دو فاکتور مهم در بررسی میزان کارایی ستون های جداسازی هستند) در کارهای مشابه و مقایسه نتایج حاصل از این آزمایش مشاهده می شود، اعداد نزدیک و حتی در برخی از موارد (TEOS)_P بهتر از سایر جاذب ها و در عین حال آماده سازی آسان و مقرون به صرفه از طریق هیدرولیز اسیدی یا بازی آلکوکسیدها، ماهیت

غیر سمی مواد اولیه و محصولات، ساختار قوی سیلان ها و عدم فرسایش ساختار در حین فرآیند، خواص سطحی قابل اصلاح با افزودن انواع پروموتورها، جداسازی اجزا در pH طبیعی آب (حدود 7) و دارا بودن سطح ویژه بزرگ که تعداد جایگاه های فعال بیشتری در اختیار فرآیند جداسازی قرار می دهد، از جمله دلایلی هستند که استفاده از اگزروژل در جداسازی و خالص سازی مولکول های بیولوژیکی مانند آمینو اسیدها را حمایت می کنند. استفاده از سایر جاذب ها همه مزایای فوق الذکر را بصورت یکجا به ما ارائه نمی دهند و هر یک شرایط آزمایشگاهی و خاصی رو طلب می کنند که فرآیند جداسازی و تخلیص را دچار پیچیدگی و سختی بیشتر می کند.

جدول ۱. مقایسه فاکتور ثابت ماندگاری (k) و ثابت جداسازی (α) جاذب های مورد آزمایش با سایر جاذب ها

Stationary phase	k	α	Ref.
Calixarene	13.50	1,08	[17]
Polysaccharide	-	1,00	[31]
Coreshell tBuCQN	-	1,11	[32]
Chiral covalent organic framework (COF)	13,87	1,25	[33]
TEOS	12,98	1,05	This research
TEOS _M	13,32	1,02	
TEOS _E	13,70	1,08	"
TEOS _P	13,69	1,19	"

۴- نتیجه گیری

در این مقاله نشان داده شد که می توان از اگزروژل TEOS به عنوان بستری با ویژگی های مناسب جهت تخلیص و جداسازی مولکول های پر اهمیت بیولوژیکی در ستون های کروماتوگرافی جذبی تحت شرایط طبیعی (بدون تغییر pH و دما) استفاده کرد. این مواد با شیمی بسیار ساده در تهیه از هیدرولیز اسیدی یا بازی آلکوکسیدها، ارزان بوده و به راحتی قابل تهیه می باشند و با دارا بودن استحکام مکانیکی بالا ساختارهای سیلان، سطح تماس بالا با تعداد بیشتر جایگاه های فعال در جداسازی و شکل فیزیکی مناسب می توانند در فرآیند جداسازی آمینو اسیدها بکار گرفته شوند بدون آنکه آلودگی و یا سمیتی تولید نمایند.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از پژوهشگاه ملی ژنتیک و زیست فناوری بخاطر همکاری در اجرای این پروژه کمال تقدیر و تشکر را دارند.

۶-مراجع

- [1] Shamsodin, M., Haghbeen, K., & Fazli, M. (2015). Removal of Strontium (II) from aqueous solution by adsorption using Xerogel synthesized from TEOS: Batch and Fixed-bed Study. *Applied Chemistry*, 9(33), 35-50. (in persian)
- [2] Aslrousta, A., Akbari, A., Haghbeen, K., & Fazli, M. (2017). Investigation of adsorption of Chromium & Copper ions on TEOS xerogel. *Applied Chemistry*, 12(42), 167-180. (in persian)
- [3] Mackenzie, J. D., Bescher, E. P. (1998). Structures, properties and potential applications of Ormosils. *Sol-Gel Sci.Technol.*, 13, 371-377.
- [4] Kresg, C.T., leonowics, M.E., Roth,W.J., Vartuli, J.C., Beck, J. S. (1992). Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature (London)*, 359, 710-712.
- [۵] Meng, M., Stievano, L., Lambert, J. F. (2004). Adsorption and thermal condensation mechanisms of amino acids on oxide supports. *Langmuir*, 20, 914-923.
- [6] Vinu, A., Hossain, K. Z., Kumar, G. S., Ariga, K. (2006). Adsorption of L-histidine over mesoporous carbon molecular sieves. *Carbon*, 44, 530-536.
- [7] IDreze, A., & Reith, W. S. (1956). A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem*, 62(2), 315-323.
- [۸] Macpherson, H. T. (1946). The basic amino-acid content of proteins. *Biochem*, 40(4), 470-481.
- [9] Hill, R. L., & Schmidt, W. R. (1962). The D-galactose oxidase of *Polyporus circinatus*. *Biol. Chem*, 237, 2736-2743.
- [10] Grzegorzczuk, D. S., Carta, G. (1996). Adsorption of amino acids on porous polymeric adsorbents. *Chem. Eng. Sci*, 51(5), 819-826.
- [11] Ikahsan, J., Johnson, B. B., Wells, J. D., Angove, M. J. (2004). Modification of Silica Nanoparticles with Cysteine or Methionine Amino Acids for the Removal of Uranium (VI) from Aqueous Solution. *Colloid Interface Sci*, 273(1), 1-5.
- [12] Zimmerman, A. R., Goynes, K. W., Chorover, J., Komarneni, S., Brantley, S. L. (2004). Mineral mesopore effects on nitrogenous organic matter adsorption. *Org. Geochem*, 35, 355-375.
- [13] Vinu, A., Hossain, K. Z., Kumar, G. S., Ariga, K. (2006). Adsorption of l-histidine over mesoporous carbon molecular sieves. *Carbon*, 44(3), 530-536.
- [14] Krohn, J. E., Tsapatsis, M. (2005). Amino acid adsorption on zeolite β . *Langmuir*, 21(19), 8743-8750.
- [15] Titus, E., Kalkar, A. K., Gaikar, V. G. (2003). Equilibrium studies of adsorption of amino acids on NaZSM-5 zeolite. *Colloids Surf.*, 223(1), 55-61.
- [۱۶] Zhiani, R. (2017). Adsorption of various types of amino acids on the graphene and boron-nitride nano-sheet, a DFT-D3 study. *Applied Surface Science*, 409, 35-44.

- [17] Hashemi, K., Shahbazi, K. (2022). Determination of Free Amino Acids in Fertilizer Samples by Switchable Hydrophilic Solvent-Based Extraction (SHSE) Followed by HPLC-UV. *Iranian Journal of Analytical Chemistry*, 9(1), 56-62. (in persian)
- [18] Jonckheere, D., A. Steele, J., Claes, B., Bueken, B., Claes, L., Lagrain, B., B. J. Roeffaers, M., E. De Vos, D. (2017). Adsorption and Separation of Aromatic Amino Acids from Aqueous Solutions Using Metal–Organic Frameworks. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 9(35), 30064-30073.
- [19] Etsushiro, D., Shibata, D., Matoba, T. (1981). Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay. *Anal. Biochem.*, 118(1), 173-184.
- [20] Sven, H. B., Grier, D. G. (2001). The charge of glass and silica surfaces. *J. Chem. Phys.* 115, 6716-6721.
- [21] Dai, C., Liu, C., Wei, J., Hong, H., Zhao, Q. (2010). Molecular imprinted macroporous chitosan coated mesoporous silica xerogels for hemorrhage control. *Biomaterials*, 31 (30), 7620-30.
- [22] René Vacher, T., Pelous, J., & Courtens, E. (1988). Structure and self-similarity of silica aerogels. *Physical Review B*, 37, 6500.
- [23] Frolova, A. M., Chukhlieb, M. A., Drobot, A. V., Kryshchal, A. P., Loginova, L. P., Boichenko, A. P. (2009). Producing of monolithic layers of silica for thin-layer chromatography by sol-gel synthesis. *The Open Surface Science Journal*, 1, 40-45.
- [24] Ibrahim, S., & Ibrahim, H. (2013). Preparation and study properties of xerogel silica using sol-gel method. *International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management*, 2(9), 111-116.
- [25] Venkateswara Rao, A., Wagh, P.B., Haranath, D., Risbud, P.P., & Kumbhare, S.D. (1999). Influence of temperature on the physical properties of TEOS silica xerogels. *Ceramics International*, 25, 505-509.
- [26] Ponta, O., Mocuta, H., Vasilescu, M. & Simon, S. (2011). Structural characterization of amorphous and nanostructured bismuth silicate xerogels. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 58, 530–534.
- [27] Wang, X. D., Shen, Z. X., Sang, T., Cheng, X. B., Li, Z. F., Chen, L.Y., Wang, Z.S. (2010). Preparation of spherical silica particles by Stöber process with high concentration of tetra-ethyl-orthosilicate. *J. Colloid Interface Sci*, 341(1), 23-9.
- [28] Pavan, F. A., Lima, I. S., Benvenuti, E. V., Gushikem, Y., Airoidi, C. (2004). Hybrid aniline/silica xerogel cation adsorption and thermodynamics of interaction. *J. Colloid Interface Sci.* 275(2), 386-91.
- [29] Haghbeen, K., Hassani, S., Fazli, M. (2015). Nanoporous Xerogel for Adsorption of Pb²⁺ and Cd²⁺. *JNS*, 5(3), 209-218.
- [30] Gao, Q., Xu, W., Xu, Y., Wu, D., Sun, Y., Deng, F. (2008). Amino acid adsorption on mesoporous materials: influence of types of amino acids, modification of mesoporous materials, and solution conditions. *J. Phys. Chem.*, 112(7), 2261-7.

- [31] Khater, S., Canault, B., Azzimani, T., Bonnet, P., West, C. (2018). Thermodynamic enantioseparation behavior of phenylthiohydantoin-amino acid derivatives in supercritical fluid chromatography on polysaccharide chiral stationary phases. *J. Sep. Sci*, 41(6), 1450-1459.
- [32] Woiwode, U., Neubauer, S., Lindner, W., Buckenmaier, S., Lämmerhofer, M. (2018), Enantioselective multiple heartcut two-dimensional ultra-high-performance liquid chromatography method with a Coreshell chiral stationary phase in the second dimension for analysis of all proteinogenic amino acids in a single run. *J. Chromatograph*. 1562, 69-77.
- [33] Qian, H., Liu, F., Liu, X., Yang, C., & Yan, X. (2022). Chiral covalent organic framework-monolith as stationary phase for high-performance liquid chromatographic enantioseparation of selected amino acids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 414(18), 5255-5262.