



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105149** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
G01J 3/00
G01N 21/00
B82Y 30/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2015 07755	(72) Винахідник(и): Фесенко Тетяна Вікторівна (UA), Смірнова Наталія Петрівна (UA), Суровцева Наталія Іванівна (UA), Покровський Валерій Олександрович (UA)
(22) Дата подання заявки: 04.08.2015	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.03.2016	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМ. О.О. ЧУЙКА НАН УКРАЇНИ, вул. Генерала Наумова, 17, м. Київ-164, 03164 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.03.2016, Бюл.№ 5	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПІДКЛАДОК НА ОСНОВІ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, ІНКОРПОРОВАНИХ У МЕЗОПОРИСТУ ЗОЛЬ-ГЕЛЬ ПЛІВКУ ДІОКСИДУ КРЕМНІЮ, ДЛЯ МАС-СПЕКТРОМЕТРІЇ З ЛАЗЕРНОЮ ДЕСОРБЦІЄЮ/ІОНІЗАЦІЄЮ**(57) Реферат:**

Спосіб одержання підкладок на основі наночастинок срібла, інкорпорованих у мезопористу золь-гель плівку діоксиду кремнію, для мас-спектрометрії з лазерною десорбцією/іонізацією. До водно-етанольного розчину тетраетоксисилану у присутності азотної кислоти, що попередньо 16 год. перемішують на магнітній мішалці для прегідролізу, додають розчин темплатного агента неіонного триблок-співполімеру пропіленоксиду з етиленоксидом $\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$ (Pluronic PI23) в етанолі, перемішують суміш 1 год. при кімнатній температурі, 1 год. - при нагріванні до 50-60 °С, охолоджують до кімнатної температури, додають водний розчин AgNO_3 , витримують при перемішуванні протягом 1 год., утворений розчин наносять на скляну основу методом "dip-coating", одержані плівки висушують 2 год. при кімнатних умовах, а потім відпалюють у програваній шафі при температурі 450 °С 2 години.

UA 105149 U

Корисна модель належить до мас-спектрометрії (МС), а саме до способів одержання та характеристики матеріалів, які можуть використовуватись як підкладки при лазерній десорбції/іонізації (ЛДІ) у приладах, обладнаних лазером, що працює в УФ-діапазоні.

Традиційна матрично-активована ЛДІ МС має низку недоліків, зокрема таких, що виявляються при аналізі малих органічних сполук. Лауреат Нобелівської премії Танака зі співр. запропонували використовувати неорганічні наночастинки (кластери розміром 1-100 нм, що містять від кількох сотень до кількох тисяч атомів) у гліцерині для аналізу білків і полімерів. Як компоненти, що можуть замінити матрицю, використовували часточки графіту розміром 2-150 мкм, наночастинки кобальту, золота, срібла, оксидів титану, заліза, солей кадмію тощо. Високе співвідношення площі поверхні до об'єму, оптичні властивості, можливість функціоналізації та надання селективності зв'язування з певними класами сполук обумовлюють перспективність цих матеріалів у мас-спектрометричних методиках. У багатьох безматричних підходах використовують матеріали на основі кремнію: наноструктуровані кремнієві плівки, силіконові нанодфектні матриці, кремнієві нанонитки, аморфний кремній. Досі популярна запропонована Г. Сьюздаком методика десорбції/іонізації на пористому кремнії. У кількох роботах демонструвалась можливість застосування наночастинок золота діаметром 2-10 нм для детекції фосфопептидів, наночастинок Ag, Au, Pt, Cu - для іонізації пептидів і синтетичних полімерів. Показано, що діючи як акумулятор/трансмiтер УФ-випромiнення, НЧ срібла завбільшки 10-160 нм сприяють м'якій (з незначною фрагментацією) десорбції/іонізації біомолекул.

Наночастинки (НЧ) срібла застосовували для мас-спектрометричної ідентифікації естрогенів, пептидів, цистеїну, вітамінів. Наприклад, методика (див. статтю Edward T. Castellana, Stacy D. Sherrod, David H. Russell "Nanoparticles for selective laser desorption/ionization in mass spectrometry", JALA, December (2008), 330-334 - Режим доступу до журн.: <http://jla.sagepub.com/content/13/6/330>), де як абсорбуючий світло агент використовують колоїдний розчин наночастинок срібла розміром 20 нм. Вихідний колоїдний розчин наночастинок срібла (Ted Pella Inc. Redding, CA) попередньо центрифугують протягом 20 хв. при 7000 об./хв. з подальшим ресуспендуванням їх у метанолі. Стокові розчини аналізованої речовини розчиняють у диметилсульфоксиді при 100 пмоль/мкл. Розчин наночастинок срібла у метанолі змішують з розчином аналізованої речовини в об'ємній пропорції наночастинки:аналіт 10:1. 1 мкл утвореної суміші наносять на поверхню стандартної сталеві мішені та висушують в умовах вакууму.

Відомо, що ефективність іонного виходу аналіту залежить від ряду фізичних характеристик наночастинок, співвідношення кількості НЧ до кількості молекул аналіту, характеристик адсорбційних зв'язків.

Золь-гель плівки SiO_2/Ag є перспективними з точки зору можливості керованого синтезу. Композит з певною величиною пор, що містить наночастинки заданого розміру, поверхневої густини, рівномірного розподілу їх по площі підкладки, високою адсорбційною ємністю дає змогу вивчати вплив цих характеристик на іоноформування аналіту. Плівці SiO_2 як матриці для допущання надають перевагу як достатньо інертному матеріалу, що запобігає активному окисненню Ag.

Найбільш близька за технічним результатом та сукупністю суттєвих ознак і, вибрана нами як прототип, методика (див. статтю Tai-Chia Chiu, Lin-Chau Chang, Cheng-Kang Chiang [et al.] Determining estrogens using surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with silver nanoparticles as the matrix // J Am Soc Mass Spectrom. - 2008. - № 19. - Р. 1343-1346), де НЧ срібла одержують доводячи до кипіння водний розчин нітрату срібла та додаючи при перемішуванні розчин цитрату натрію. Наночастинки концентрують за допомогою центрифугування при 12000 об./хв. Для дослідження готують суміш цитратного буферу, розчину з НЧ та аналізованої речовини.

Причиною, що перешкоджає одержанню стабільно повторюваного технічного результату заявленого способу, є неможливість ефективного контролю ступеня агломерації металевих НЧ, кількості НЧ на одиницю площі поверхні опромінюваної плями при крапельному нанесенні суміші аналіту та наночастинок на стандартну сталеву мішень та наявність у мас-спектрах зразків достатньо інтенсивних піків кластерів срібла, іонів металокомплексів, іонів, що утворюються за участі солей буферу.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб одержання підкладок для лазерної десорбції/іонізації, які б за своїми технічними характеристиками (хімічною чистотою, оптичними властивостями та ін.) забезпечували одержання якісних мас-спектрометричних даних, зменшення кількості та інтенсивності шумових піків у мас-спектрах, можливість одночасного дослідження зразків методами ЛДІ-мас-спектрометрії та УФ-спектроскопії.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі одержання підкладок на основі наночастинок срібла, інкорпорованих у мезопористу золь-гель плівку діоксиду кремнію, для мас-спектрометрії з лазерною десорбцією/іонізацією, згідно з корисною моделлю, до водно-етанольного розчину тетраетоксисилану у присутності азотної кислоти, що попередньо 16 год. перемішують на магнітній мішалці для прегідролізу, додають розчин темплатного агента неіонного триблок-співполімеру пропіленоксиду з етиленоксидом $\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$ (Pluronic P123) в етанолі, перемішують суміш 1 год. при кімнатній температурі, 1 год. - при нагріванні до 50-60 °С, охолоджують до кімнатної температури, додають водний розчин AgNO_3 , витримують при перемішуванні протягом 1 год., утворений розчин наносять на скляну основу методом "dip-coating", одержані плівки висушують 2 год. при кімнатних умовах, а потім відпалюють у програваній шафі при температурі 450 °С 2 години.

Тонкі оптично прозорі плівки на скляній основі одержують низькотемпературним темплатним золь-гель методом. Кремнезем вибрано як хімічно пасивний матеріал, що запобігає швидкому окисненню срібла та надає можливість рівномірного розподілення, як срібних включень, так і речовини, що тестується, на поверхні підкладки. Для формування включень Ag в оксидній плівці відповідну кількість AgNO_3 вносять в золь прекурсору. Подальший відпал підкладок надає плівці очікуваних структурних характеристик, забезпечує формування наночастинок срібла на поверхні плівки. При застосуванні таких матеріалів іонізація досліджуваних молекул відбувається без участі додаткових хімічних реагентів (матриць), а аналізовані сполуки можуть вводиться у мас-спектрометричний експеримент у кристалічному, конденсованому на підкладці стані, адсорбованому, або хімічно зв'язаному з поверхневими групами підкладки. Наявність пор у матеріалі підкладки збільшує ємність підкладки по зразку, забезпечує рівномірний розподіл сполуки по площині опромінюваної плями при підготовці зразків.

Для одержання підкладок на основі тонких оптично прозорих мезопористих золь-гель плівок оксиду кремнію, допованих наночастинами срібла, використовували наступні реагенти: тетраетоксисилан 98 % ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, Aldrich) - ТЕОС;

темплат - триблокополімер поліетиленоксид-поліпропіленоксид Pluronic P123(BASF);

AgNO_3 ; 0.1 М азотна кислота аналітичної чистоти;

етиловий спирт (Fluka) та вода подвійної дистиляції.

Підкладки одержували наступним чином.

ТЕОС змішували з водно-етанольним розчином для прегідролізу. 1М HNO_3 використовували для досягнення величини рН гідролізу ТЕОС. Розчин темплатного агента неіонного триблок-співполімера пропіленоксиду з етиленоксидом $\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$, (Pluronic P123) в етанолі використаний для формування впорядкованої мезопористої структури. Темплат додавали до розчину алкоксиду після 16 год. прегідролізу. Сіль AgNO_3 вносили у золь прекурсора. Концентрація іонів Ag варіювалась від 3 до 10 % відносно до молярної концентрації алкоксиду. Нанесення плівки на скляний слайд здійснювали за методикою "dip-coating". Після нанесення, гелювання і дозрівання гелю плівки висушували за кімнатної температури протягом 2 годин. Висушені плівки відпалювали у печі 2 години при 400 °С або 450 °С. Оскільки P123 при цих температурах вигоряє, відпал важливо проводити акуратно для досягнення рівномірної пористості гібридної плівки. Структура плівки слабковпорядкована і містить ділянки гексагональних мезоструктур із середнім розміром пор близько ~ 10 нм і $S_{\text{ВЕТ}} \sim 650 \text{ м}^2/\text{г}$. Плівки готували при відносно низьких температурах без використання водневої атмосфери. Відпалювання дає змогу контролювати такі характеристики плівок як чистоту, пористість, міцність, розмір допуючих наночастинок. Температурний діапазон і тривалість відпалу підібрані так, щоб досягти формування мезопористої матриці SiO_2 , видалити із об'єму органічну складову і провести термовідновлення Ag .

Пориста структура плівок зумовлює формування наночастинок срібла з рівномірним розподілом за розмірами. На стадії відпалу кластери та частинки Ag змінюють свою морфологію та положення в матриці (у порах і на поверхні залежно від розміру частинок і пор, процесів переносу маси та ін.). НЧ розташовані переважно на поверхні або у приповерхневому шарі тонкої кремнеземної плівки. РЕМ знімки показують відносно рівномірний розподіл включень за розмірами. Вага плівки на субстраті становила приблизно $2 \cdot 10^{-3}$ г або 10 г м^{-2} .

Різна тривалість і температура відпалювання зразків мезопористого кремнезему, допованого Ag згідно з описаною методикою, приводить до зміни розмірів сферичних наночастинок у діапазоні від 2 до 12 нм і, відповідно, до зсуву максимуму оптичного поглинання, зміни інтенсивності резонансних піків і форми кривої УФ-спектра.

На фіг. 1 наведені електронні спектри поглинання плівок SiO_2/Ag , відпалених при 400 °С (крива 1) і при 450 °С (крива 2). Як видно із фіг. 1 для підкладок, відпалених при $T=450$ °С

спостерігається явище стрибкоподібного збільшення поглинання фотонів з довжинами хвиль, характеристичними для ЛПР срібних НЧ (400 нм) і близькими до них за енергією.

Збільшення об'ємної концентрації AgNO_3 в прекурсорі плівок з 3 до 10 % не спричиняє значущого якісного впливу на оптичні властивості (зміну позиції максимуму поглинання) одержуваних наноконкомпозитів. Це означає, що за такою методикою синтезу у межах вказаних концентраційних співвідношень AgNO_3 в прекурсорі розмір НЧ срібла лишається в межах розкиду. Кількість НЧ на одиницю поверхні є концентраційно залежною.

На фіг. 2 наведені РЕМ зображення та гістограми розподілу за розмірами срібних НЧ у плівках Ag/SiO_2 , відпалених при 400 °C - а, б і при 450 °C - в, г.

Як показують знімки РЕМ, відпал наноконкомпозитів із вмістом срібла 3-10 % при 400 °C веде до формування наночастинок зі значним розкидом у розподіленні за розмірами і морфологією, є фракція дрібних НЧ срібла ≤ 4 нм (фіг. 2, 3). Збільшення температури відпалювання до 450 °C веде до агломерації наночастинок Ag (фіг. 4, 5). Ці плівки містять НЧ сферичної форми розміром 5-12 нм (фіг. 4) з поверхневою густиною $(2-2,4) \times 10^3$ НЧ/мкм².

Для характеристики одержаних підкладок використовували тіазиновий барвник метиленовий блакитний. Зразки пористих підкладок, допованих наночастинами срібла, витримували у водному розчині метиленового блакитного (МБ) концентрацією $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л⁻¹ до досягнення коефіцієнтом поглинання величини 0,4 см⁻¹ в максимумі піку поглинання. У підсумку адсорбція барвника на плівках знаходилась у межах $(0,9 \pm 0,05) \cdot 10^{-4}$ моль/г⁻¹. Експерименти проводили на повітряно-сухих зразках, тобто після діставання з водного розчину барвника плівки висушували при кімнатних умовах. Тестування проводили за допомогою мас-спектрометра Autoflex II (Bruker Daltonics Inc, Німеччина), обладнаного азотним лазером ($\lambda=337$ нм) та часопрольотним аналізатором (Time of Flight-ToF). Іонізацію зразків проводили імпульсами тривалістю 3 не з частотою 20 Гц. Прискорююча напруга - 20 кВ. Спектри позитивних іонів реєстрували з використанням рефлектронного режиму з часовою затримкою екстракції іонів у 10 не при потужності лазера 40 мкДж/імпульс. Складні слайди закріплювали на спеціально виготовленому та відрегульованому за висотою утримувачі оригінальної конструкції. Основним критерієм оцінки ефективності наноконкомпозитних підкладок вибрано інтенсивність піку катіона барвника (m/z 284) у мас-спектрах.

Суть корисної моделі пояснюється конкретними прикладами виконання.

Приклад 1. Для приготування розчину 1 до 3 мл етанолу додавали 1,6 мл 0,1М азотної кислоти. Після перемішування протягом 3-5 хв. додавали 2,23 мл ТЕОС. Суміш залишали на магнітній мішалці на 16 год. для прегідролізу. Розчин II отримували шляхом перемішування 0,638 г Р123 та 13,2 мл етанолу до повного розчинення (приблизно протягом 1 год.). Суміш розчинів I та II перемішували 1 год. при кімнатній температурі, потім перемішування продовжували 1 год. при нагріванні до 50-60 °C. У охолоджену до кімнатної температури суміш додавали 0,0255 г AgNO_3 , попередньо розчинену у 1 мл дистильованої води. Концентрація срібла по відношенню до кремнеземної матриці становила 3 %. Після перемішування суміші протягом 1 год. розчин наносили на скляну основу методом "dip-coating". Одержані плівки витримували 2 години при кімнатних умовах, а потім відпалювали у програмованій шафі при швидкості нагрівання β - 2 °C/хв до 250 °C, при β = 0,25 °C/хв з 250 до 350 °C. Після цього температуру піднімали до 450 °C при β = 3 °C/хв і систему витримували при встановленій температурі 2 години.

Приклад 2. Виконували згідно з прикладом 1, за винятком того, що температуру відпалу піднімали до 400 °C.

Приклад 3. Виконували згідно з прикладом 1, за винятком того, що температуру відпалу піднімали до 400 °C, а наважка AgNO_3 становила 0,0425 мг. Концентрація срібла по відношенню до кремнеземної матриці становила 5 %.

Приклад 4. Виконували згідно з прикладом 1, за винятком того, що температуру відпалу піднімали до 400 °C, а наважка AgNO_3 становила 0,085 мг. Концентрація срібла по відношенню до кремнеземної матриці становила 10 %.

Приклад 5 - прототип. 100 мл водного розчину нітрату срібла (1 ммоль) нагрівали до кипіння. При перемішуванні додавали 0,5 мл 20 % розчину цитрату натрію та протягом 10 хв. продовжували нагрівати суміш. Далі наночастинки концентрували за допомогою центрифугування при 12000 об./хв. Для дослідження готували суміш цитратного буферу, розчину з НЧ та водного розчину метиленового блакитного концентрацією $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л⁻¹, витримували 30 хв., центрифугували при 12000 об./хв. 10 хв. Відібраний осад обробляли в ультразвуковій ванні, наносили на поверхню стандартної сталевий мішені та висушували при кімнатній температурі.

В таблиці наведені дані за прикладами 1-5 порівняння інтенсивності піків позитивних іонів у мас-спектрах ЛДІ метиленового блакитного, адсорбованого на повітряно-сухих кремнеземних плівках, допованих НЧ срібла з різною концентрацією відносно кремнеземної матриці та іонізованого з поверхні стандартної сталевий мішені з додаванням колоїду наночастинок срібла.

5

Таблиця

Приклад	Розмір наночастинок	Температура відпалу	Концентрація срібла	Супутні піки	Іонний вихід, відн. од.
Приклад 1	5-12 нм	450 °С	3 %	39 [K] ⁺	4
Приклад 2	<4нм	400 °С	3 %	39 [K] ⁺	1
Приклад 3	<4нм	400 °С	5 %	39 [K] ⁺	3
Приклад 4	<4нм	400 °С	10 %	39 [K] ⁺	5
Приклад 5 (прототип)	34 нм	100 °С	≈100 %	39 [K] ⁺ , 284 [C ₆ H ₅ O ₇ +2K+NH ₃] ⁺ , Ag ⁺ , Ag ₂ ⁺ , [M+Ag] ⁺	4

Як видно із таблиці, існує кореляція між величиною іонного виходу катіонів МБ, розміром срібних НЧ та їх поверхневою густиною на підкладці. Збільшення об'ємної концентрації іонів срібла з 3 до 10 % на етапі приготування силікагелю з подальшим відпалом (T=400 °С), приводить до п'ятикратного зростання інтенсивності характерного піку катіона МБ з m/z 284 у мас-спектрі. При десорбції з поверхні плівок, відпалених при 450 °С, інтенсивність піку катіона МБ утричі перевищує ту, що одержана при використанні плівок з тим же відсотковим вмістом Ag у вихідному золі, але відпалених при T=400 °С. Отже, враховуючи описаний ефект та економічну обґрунтованість доцільно одержання підкладок з вмістом срібла 3 %, які відпалені при 450 °С.

Заявлена корисна модель дозволяє одержувати оригінальні та ефективні підкладки для лазерної десорбції/іонізації органічних молекул невеликої маси. Використання таких підкладок буде сприяти розширенню методологічної бази у мас-спектрометрії. Ці підкладки можуть використовуватись у комплексних дослідженнях за допомогою методів мас-спектрометрії, електронної спектроскопії, електронної мікроскопії та ін. Крім того, впровадження таких підкладок у експерименти здатне значно зменшити витрати срібла.

Таким чином, наведені приклади підтверджують досягнення технічного результату при здійсненні заявленого способу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання підкладок на основі наночастинок срібла, інкорпорованих у мезопористу золь-гель плівку діоксиду кремнію, для мас-спектрометрії з лазерною десорбцією/іонізацією, який **відрізняється** тим, що до водно-етанольного розчину тетраетоксисилану у присутності азотної кислоти, що попередньо 16 год. перемішують на магнітній мішалці для прегідролізу, додають розчин темплатного агента неіонного триблок-співполімеру пропіленоксиду з етиленоксидом EO₂₀PO₇₀EO₂₀ (Pluronic PI23) в етанолі, перемішують суміш 1 год. при кімнатній температурі, 1 год. - при нагріванні до 50-60 °С, охолоджують до кімнатної температури, додають водний розчин AgNO₃, витримують при перемішуванні протягом 1 год., утворений розчин наносять на скляну основу методом "dip-coating", одержані плівки висушують 2 год. при кімнатних умовах, а потім відпалюють у програмованій шафі при температурі 450 °С 2 години.

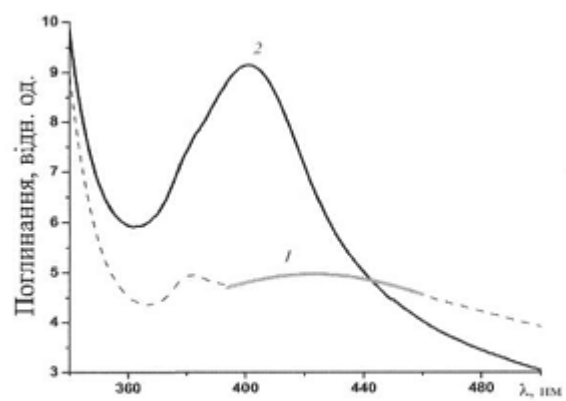


Fig. 1

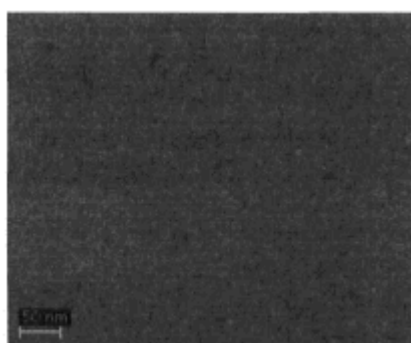


Fig. 2

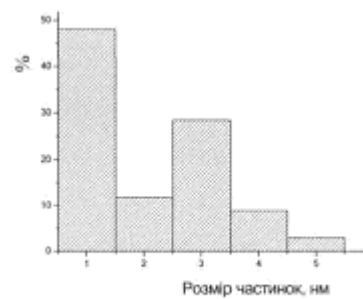


Fig. 3

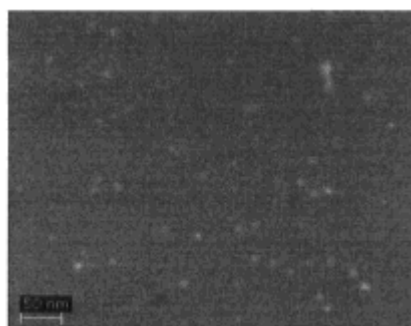


Fig. 4

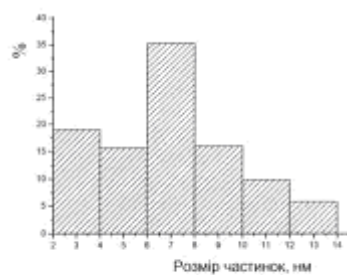


Fig. 5

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601