

## Příprava dutých křemičitých mikročástic a jejich charakterizace – [KM]

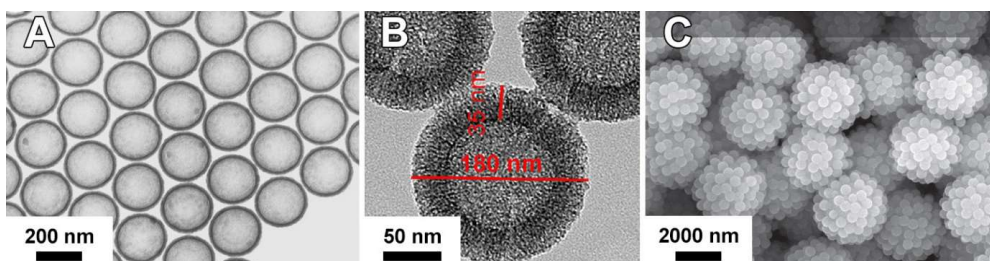
(Marek Šoltys, Denisa Lizoňová)

### 1. Úvod

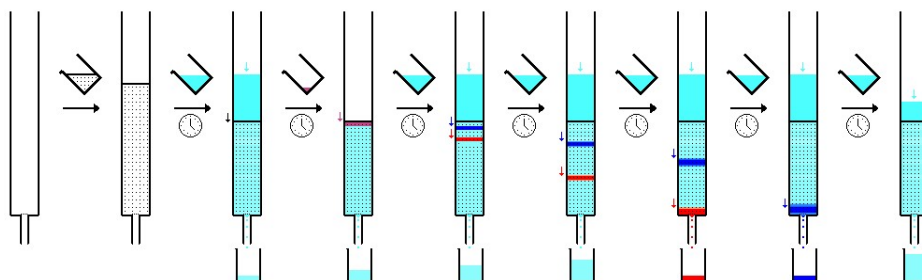
V přírodě se vyskytují organismy (např. rozsivky), které jsou chráněny před okolím pomocí schránek z oxidu křemičitého ( $\text{SiO}_2$ ). Stejně jako křemenné sklo, které je rovněž z oxidu křemičitého, jsou tyto schránky dosti odolné jak mechanicky, tak vůči mnoha chemikáliím - kyselinám i louhům - a proto o nich mikro- a nanotechnologové uvažují jako o reakčních nádobách (Obr. 1A).

Ještě zajímavější vlastností částic z oxidu křemičitého je jejich přirozená porozita (Obr. 1B). Póry jsou velmi malé, v průměru mívají od jednoho do pěti nanometrů (ale mohou být i mnohem menší či naopak větší). Výsledná částice má pak jako celek velký specifický povrch. V kombinaci s tím, že oxid křemičitý na svůj povrch dobře váže chemické, pak nepřekvapí jeho časté využití jako sorpčního materiálu látky (volné silanolové skupiny na povrchu částic jsou schopny vytvářet vodíkové můstky). S částicemi z oxidu křemičitého se tak dnes nejčastěji můžeme setkat v absorpčních kolonách určených pro separaci látek z roztoků eluční chromatografií (každá látka se na povrch váže různou intenzitou a slaběji vázané látky pak projdou kolonou rychleji, Obr. 2).

Tohoto efektu však můžeme využít i pro tvorbu mikroskopických chemických zásobníků. Do částic necháme v koncentrovaném roztoku látku nasorbovat, poté ji můžeme nechat vyschnout a když nastane potřeba, látka se po rozdispergování částic v čistém rozpouštědle desorbuje ven. Tento efekt je v současné době zkoumán například pro doručování léčiv. Oxid křemičitý je i snadné dále chemicky modifikovat. Mnohé výzkumné skupiny proto pracují právě s oxidem křemičitým a vytvářejí komplexní funkční systémy v mikro- či nano-měřítku (Obr. 1C) a snaží se připravit částice se schopností cíleně se dostat na místo určení a vyloučit svůj obsah až po dosažení cíle buď změnou vnějších podmínek, nebo na základě řízeného impulsu zvenčí [1-3]. Schopnost částic sorbovat látky a znovu je desorbovat si vyzkoušíme v této práci.



**Obr. 1:** Snímky křemičitých mikro- a nanočástic z elektronového mikroskopu: A) TEM snímek dutých křemičitých nanočástic připravených z polystyrenových šablon [1], B) TEM snímek křemičitých nanočástic se zřetelnou porozitou [2]. C) SEM snímek křemičitých nanočástic poskládaných do větších celků [3]



**Obr. 1:** Schematické znázornění průběhu separace látek pomocí eluční chromatografie v absorpční koloně

## 2. Teorie

K práci budeme používat duté porézní křemičité mikročástice, které si nejprve emulzní metodou připravíme [4]. Oxid křemičitý bude v tomto případě vznikat hydrolýzou a kondenzací z tetraethoxysilanu (TEOS) na fázovém rozhraní kapek směsi oktylaminu a TEOSu ve vodě. Emulzní metody dnes patří mezi hlavní metody příprav dutých křemičitých částic, ať již mikro-částic nebo nano-částic. U nanočástic však již syntézy nebývají tak jednoduché a pro dosažení nanometrových emulzí kapek, které slouží jako tekutá šablona výsledné částice, je potřeba použít sofistikovanější surfaktanty.



**Obr. 2:** Schema přípravy porézních silikových mikročástic

Jedním z nutných kroků přípravy částic je jejich vysušení a kalcinace (vypékání za vysoké teploty). Tento krok pro jeho velkou časovou náročnost přeskochíme a k další práci obdržíte již dříve připravené částice.

V praxi je běžné, že připravené mikro a nano-materiály se různými metodami charakterizují, abychom zjistili jejich vlastnosti. U částic je důležitá jejich morfologie (tedy tvar, velikostní distribuce, vnitřní struktura, porozita, hustota), chemické složení, fázové složení, povrchový náboj a případně pro průmyslové zpracování pak makroskopické vlastnosti (tokové vlastnosti, abrazivita, sypaný úhel, stlačitelnost, mechanická odolnost, hygroskopicitá, atd.). Pro analýzu těchto vlastností se využívají různé metody. Pro pozorování morfologie nejčastěji rastrovací či transmisní elektronová mikroskopie, pro analýzu porézní struktury sorpce dusíku či

rtuťová porozimetrie, pro měření velikostní distribuce částic je metod hned několik, chemické složení se dá ověřit například pomocí infračervené spektroskopie, povrchový náboj se dá vyjádřit například pomocí zetapotenciálu změřeného metodou elektroforetického rozptylu světla. Některé z těchto metod jsou obsaženy v jiných úlohách těchto laboratoří.

V této úloze provedeme charakterizaci pouze vizuální kontrolou na optickém mikroskopu za pomoci asistenta. Dále prozkoumáme sorpční vlastnosti částic, ale spíše prakticky, než analyticky. Konkrétně změříme absorpci účinné látky do připravených křemičitých částic a zároveň budeme měřit desorpci (kinetiku vylučování) z částic již obsahujících nasorbovanou účinnou látku. Jako modelovou účinnou látku budeme používat ibuprofen, známé antiflogistikum. Koncentraci ibuprofenu v roztocích budeme měřit pomocí UV-VIS spektrofotometru (WPA Lightwave II).

### 3. Cíl práce

1. Příprava křemičitých mikročástic
2. Změření sorpčního spektra ibuprofenu a zvolení vhodné vlnové délky, při které bude probíhat měření
3. Změření absorpce ibuprofenu do částic
4. Změření kinetiky vylučování ibuprofenu z částic
5. Vizuální kontrola velikosti částic

### 4. Popis zařízení

#### 4.1. UV/Vis spektrofotometru WPA Lightwave II

Absorbance ibuprofenu v roztoku budeme měřit na malém UV/Vis spektrofotometru WPA Lightwave II. V menu a při zadávání parametrů použijeme čísla a pohybujeme se pomocí šipek nahoru/dolů, potvrzujeme tlačítkem START. Do menu se vracíme pomocí tlačítka STOP. Před každým měřením (po odsouhlasení parametrů) je nutné změřit referenci – kyvetu naplněnou čistým rozpouštědlem – jednoduše stisknutím tlačítka Reference. Poté je možné vložit kyvetu se vzorkem a začít měření stisknutím tlačítka START. Kyveta se vkládá čirými okýnky ve směru měřicího paprsku, který je u měřicí cely naznačený. Pokud možno se těchto okýnek nedotýkáme prsty a případné kapky či nečistoty stíráme pouze pomocí ubrousků určených k čištění optických skel. Spektrofotometr umožňuje export dat do připojeného počítače. Zmáčknutím tlačítka s křížky (mezi tlačítky s šípkami) zobrazíte menu a v něm vyberete možnost 2 – Print, čímž odešlete aktuální naměřená data do spuštěného programu v počítači.

## 5. Postup práce

1. Příprava částic
2. Příprava sorpčního experimentu (část 1)
3. Změření absorpčních spekter
4. Provedení a změření desorpčních experimentů (bod 5 provést v mezech bodu 4)
5. Vizuální kontrola částic pomocí mikroskopu
6. Změření sorpčního experimentu (část 2)

### 5.1. Příprava částic

Do 200 ml PTFE kádinky nalijeme 10 ml oktylaminu a za stálého míchání (800 rpm) přidáme 10 ml TEOSu a necháme míchat 3 minuty. Následně **rychle** přidáme 100 ml vody okyselené přidáním 0,2 ml kyseliny dusičné a stále míchaný roztok necháme 3 minuty reagovat. Vzniklé částice odstředíme v centrifugačních vialkách (6000 rpm, 5 min – během odstředování uklízíme a již si připravujeme měření na spektrofotometru). Po odstředění supernatant slijeme zpět do kádinky, v níž probíhala reakce, a částice přímo ve vialkách promyjeme acetonem a dáme znovu odstředit. Aceton opět slijeme do kádinky a částice vyjmeme z vialek rozdispergováním v ethanolu na porcelánovou krystalizační misku a dáme sušit. Obsah reakční kádinky vylijeme do nádoby na vodný toxický odpad.

### 5.2. Měření absorpce a desorpce ibuprofenu

Pro sorpční a desorpční experimenty obdržíte od asistenta již dříve připravené a vyžíhané částice. Jedny čisté a druhé s nasorbovaným ibuprofenem. Dále obdržíte zásobní roztok ibuprofenu v ethanolu (10mg/ml) a ve vodě (0,015 mg/ml).

### 5.3. Sorpční experimenty – část 1: příprava

Pro sorpci budeme používat čisté křemičité částice, které rozdispergujeme v zásobním ethanolovém roztoku ibuprofenu a budeme pozorovat, jak v roztoku klesá jeho absorbance (tudíž i koncentrace). V erlenmayerově baňce se zábrusem (nebo jiné) rozdispergujeme 100 mg částic v 5 ml 10mg/ml roztoku ibuprofenu v ethanolu a necháme míchat na magnetické míchače. Před koncem práce částice necháme usadit a z hladiny odebereme vzorek roztoku a změříme koncentraci ibuprofenu pomocí UV-VIS spektrofotometru – viz část 2. Dbáme na to, aby měřený vzorek v kyvetě **neobsahoval žádné částice!**

Absorpční UV-VIS spektrum ibuprofenu ve vodě i v ethanolu změříme v UV oblasti (200 - 400 nm). Nejprve zapneme spektrofotometr, vybereme aplikaci a pak aplikaci wavescan. Nastavíme potřebné hodnoty a potvrdíme tlačítkem START. Nejprve změříme kyvetu s čistým rozpouštědlem jako referenci (modrým tlačítkem pro referenci) a poté ve stejné kyvetě naměříme zásobní roztok o příslušné koncentraci. Do skleněných čtvercových kyvet (obdržíme od asistenta) pipetujeme vždy 2 ml vzorku. Mezi měřeními kyvetu vždy propláchněte čistým rozpouštědlem a co nejlépe vysušte, aby vám zbylé rozpouštědlo nenařadilo vzorek a nezkreslilo měření.

Spektra změříme s roztoky ibuprofenu v ethanolu o koncentracích 0,5 mg/ml a 0,25 mg/ml a ve vodě o koncentracích 0,015 mg/ml a 0,01 mg/ml (naředíme si ze zásobních roztoků). Dejte si pozor, že pro měření vzorků v ethanolu a ve vodě potřebujete různé reference!

Každé naměřené spektrum vyexportujte funkcí Print do počítače a uložte.

Spektra operativně zhodnotíme a vybereme vlnovou délku (pakliže se budou spektra lišit, vybereme vlnovou délku pro vodu i ethanol zvlášť), při které budeme měřit koncentraci ibuprofenu v dalších měřeních. Toto rozhodnutí konzultujeme s asistentem a své rozhodnutí i diskuzi odůvodníme a popíšeme do protokolu. Pro vybrané vlnové délky sestojíme kalibrační křivky, pomocí kterých budeme kvantifikovat množství ibuprofenu v neznámých vzorcích.

V této části budeme měřit, jak se z částic uvolňuje nasorbovaný ibuprofen. Částice navážíme do kádinky (50 mg) a zvlášť přichystáme 100 ml vody a 8 vzorkovacích eppendorf vialek. Kádinku s částicemi a míchadlem umístíme na magnetickou míchačku, přichystáme si stopky a v momentě, kdy přilijeme vodu a spustíme míchání, začneme měřit čas. V časech vypsanych níže pak vždy odebereme stříkačkou s nasazeným filtrem cca 1,2 ml míchaného objemu, odstraníme filtr a vzorek vytlačíme do eppendorfky, kterou si ihned označíme daným časem. Vzorku v eppendorfce by mělo být **nejméně 1ml**.

Časy: 1 min, 2 min, 3 min, 4 min, 5 min, 10 min, 30 min, 45 min

Vzorky postupně měříme na spektrofotometru. Do kyvety převedeme 1ml vzorku a doplníme 1ml vody a protřepeme. Na spektrofotometru vybereme aplikace – wavelength pro měření konkrétní vlnové délky. Nastavíme vybranou vlnovou délku na základě vyhodnocení dříve naměřených spekter, potvrdíme, naměříme referenci a vzorky změříme. Spektrometr kromě dané vlnové délky ukáže i malou část spektra. Tvar spektra vizuálně kontrolujeme, zda se očividně neliší od spektra zásobního roztoku. To by totiž znamenalo přítomnost nečistot vzorku, popřípadě degradaci ibuprofenu v nasorbovaných částicích. Pokud tvar spektra odpovídá, naměřenou hodnotu si opišeme do protokolu. Export do pc není nutný. Pokud se v některé pozici blíží naměřená hodnota absorbanci 2,5, je nutné vzorek naředit a změřit znovu, jelikož za touto hodnotou se již blížíme detekčnímu limitu senzoru a zároveň již přestává platit Lambert-beerův zákon. Pokud se tak stane, konzultujte další postup s asistentem.

Vzhledem k tomu, že jste si u referenčních spekter naměřili dva vzorky o různé koncentraci, můžete si z nich zkonstruovat jednoduchou kalibrační křivku. Tu použijte pro přepočet naměřených hodnot absorbance na koncentraci a ve finálním protokolu vynesete graf koncentrace v závislosti na čase.

#### **5.4. Sorpční experimenty - část 2: měření**

Koncentraci roztoku po sorpci naměříme stejně jako v předchozím případě – měříme jen v jedné vlnové délce. Jen v tomto případě si dejte pozor, že rozpouštědlo je ethanol, nikoliv voda, je tedy nutné nesplést si rozpouštědla při měření reference a rovněž vybrat hodnotu měřené vlnové délky podle naměřeného referenčního spektra ethanolu. Naměřenou hodnotu jen opišete

a poté přepočtete na koncentraci stejně jako v předchozím bodě. Z úbytku koncentrace (o známém objemu kapaliny) spočtete hmotnost ibuprofenu nasorbovaného do částic.

## 6. Zpracování výsledků

Do protokolu (který bude mít strukturu jako odborná práce, tedy bude obsahovat úvod, experimentální část, výsledkovou část a závěr) uvedeme:

- Úvodní odstavec – krátce popište význam úlohy a co jste si z ní odnesli za poznatky
- Postup přípravy částic
- Postup provedení **sorpčního** experimentu - měření spekter, konstrukce kalibrační křivky v ethanolu, výpočet množství ibuprofenu v částicích na konci experimentu
- Postup provedení **desorpčního** experimentu, konstrukce kalibrační křivky ve vodě, výpočet koncentrace v roztocích (z absorbance)
- Postup měření velikosti částic
- Výsledky sorpčního experimentu - Kalibrační křivka v ethanolu, jedno spektrum kalibračního roztoku s vyznačenou vlnovou délkou zvolenou pro kvantifikaci, odůvodnění volby této vlnové délky, výsledná koncentrace roztoku na konci experimentu, výsledné množství ibuprofenu v částicích.
- Výsledky desorpčního experimentu - Kalibrační křivka ve vodě, jedno spektrum kalibračního roztoku s vyznačenou vlnovou délkou zvolenou pro kvantifikaci, odůvodnění volby této vlnové délky, graf závislosti koncentrace v roztoku na čase.
- Obrázek morfologie částic z optického mikroskopu s měřítkem
- Závěr se slovním zhodnocením všech výsledků a shrnutím poznatků

Při psaní protokolu se v žádném případě neodkazujte na tento návod. Protokol by měl dávat kompletně smysl sám o sobě, tudíž by v něm měly být kompletní informace ohledně použitého postupu, včetně např. použitých vzorků a jejich koncentrací. Protokol by měl být napsaný tak, aby podle něj šlo práci zopakovat. Při psaní protokolu dodržujte pravidla stylistiky – dokument by měl mít ucelenou grafickou a strukturovanou podobu.

## 7. Bezpečnostní pokyny

- Reakci provádíme v digestoři, oktylamin totiž nepříjemně zapáchá a je zdraví škodlivý.
- Oktylamin a zbytky z reakce nevylévejte do výlevky, je toxický pro vodní ekosystémy.
- Po celou dobu práce používáme osobní ochranné pomůcky – plášť, brýle a rukavice.
- Při měření velikosti částic pracujte opatrně. Skleněné části přístroje jsou velmi křehké.
- Velmi šetrně manipulujte rovněž se skleněnými kyvetami při měření absorbance.
- Kyvety chytějte pouze za matné stěny a pouze v rukavicích.

## **8. Kontrolní otázky**

- Jaký typ částic budeme připravovat?
- Popište mechanismus vzniku částic.
- K čemu se křemičité částice dají použít?
- Jak změříme absorpční kapacitu částic?
- Proč u UV-VIS spektrometrie měříme referenci?
- Co je absorpce a co je desorpce?