

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Углеродные наноматериалы в последнее десятилетие привлекли внимание научного сообщества своими уникальными свойствами и широким спектром возможностей. В основном это связано с большой вариацией материалов, которые отличаются друг от друга строением и свойствами. Углеродные наноматериалы долгое время были представлены наноалмазами, фуллеренами и углеродными нанотрубками [1,2]. Они применяются в большом спектре научных исследований, в промышленности, в медицине и биологии

В настоящее время интерес научного сообщества вызывает новая форма углеродных объектов – так называемые углеродные наночастицы (УНЧ). В отличие от перечисленных выше углеродных наноматериалов, имеющих высокоупорядоченное строение, УНЧ представляют собой структуры, включающие помимо атомов углерода также кислород, азот и другие, содержащие дефекты и неоднородности, во многом влияющие на их свойства. Так же неотъемлемым фактором, влияющим на свойства и строение УНЧ, является подбор углеродного сырья. К настоящему моменту единого мнения о строении и свойствах УНЧ еще не выработано. Среди учёного сообщества до сих пор ходят споры о том, что из себя представляют УНЧ, являются ли данные частицы однородными, что из себя они представляют – это наноструктуры, или молекулярные соединения.

Целью настоящего исследования являлось изучение свойств флуорофоров на основе лимонной кислоты (ЛК) и этилендиамина (ЭДА), оптимизировать синтез флуорофоров, оценить их однородность, а также выявить физико-химические закономерности формирования и свойств. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи:**

1. Изучить влияние температуры синтеза на люминесцентные свойства флуорофора,
2. Изучить влияние изменения рН на люминесцентные свойства флуорофора на основе лимонной кислоты и этилендиамина,
3. Изучить влияния мольных соотношений лимонной кислоты и этилендиамина на люминесцентные свойства флуорофора,
4. Отчистка раствора флуорофора на основе лимонной кислоты и этилендиамина от низкомолекулярных агрегатов при помощи полупроницаемой мембраны,
5. Изучить однородности флуорофора на основе лимонной кислоты и этилендиамина.

Практическая значимость. УНЧ находят своё применения в биологии и медицине. Их применяют как маркеры в биологических тканях и жидкостях, для мечения клеток, что открывает им возможность в визуализации клеток онкологических заболеваний.

Структура и объем работы. Работа изложена на 56 печатных листах, данные представлены на 38 рисунках и в 1 таблице. Для написания работы было изучено и процитировано 45 литературных источников.

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи работы.

В первой главе представлен обзор литературы по флуорофорам и углеродным наноматериалам

Во второй главе представлена подробная информация о методах, использованных в ходе исследования.

В третьей главе представлено описание полученных результатов и их обсуждению.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы

Флуорофоры

Флуорофор – это флуоресцентное химическое соединение, которое может повторно излучать свет при возбуждении света. Как правило, флуорофоры обычно содержат несколько комбинированных ароматических групп с карбо- или гетероциклическим ядром. Так же к флуорофорам относятся плоские или циклические молекул с несколькими π -связями. Химическая природа флуорофора оказывает влияние на длину волны излучаемого света и количество энергии. Длина поглощенной волны, эффективность передачи энергии и время до излучения зависят не только от химической природы флуорофора, но и от химической среды, поскольку молекула в своем возбужденном состоянии взаимодействует с окружающими молекулами [3].

При поглощении световой энергии определенной длины волны флуорофор повторно излучает свет с большей длиной волны (Стоксов сдвиг). Энергии возбуждения варьируются от ультрафиолетового до видимого спектра, а энергии излучения могут продолжаться от видимого света в ближней инфракрасной области. Молекулы флуорофора могут быть использованы отдельно или служить флуоресцентным комплексом функциональной системы. Исходя из молекулярной сложности и методов синтеза, органические флуорофоры можно разделить на четыре категории:

1. Белки и пептиды,
2. Небольшие органические соединения,
3. Синтетические олигомеры и полимеры,
4. Многокомпонентные системы.

Оптическая визуализация имеет большой потенциал в качестве клинического инструмента для диагностики рака. Использование нескольких флуорофоров может открыть возможности мультиплексной визуализации (одновременная визуализация нескольких целей). Наиболее распространенные зонды оптической молекулярной визуализации состоят из флуоресцентных красителей, конъюгированных с нацеливающими

лигандами, которые имеют сходство с опухолевыми клетками. Флуоресцентные конъюгаты могут помочь в обнаружении опухолей субмиллиметрового размера в реальном времени, используя портативные и относительно недорогое оборудование. Однако флуорофоры также потенциально токсичны. Чтобы доставить новый агент в клинические испытания, требуется доклиническая оценка токсичности агента в несколько видов, чтобы определить дозу, при которой не наблюдается никаких побочных эффектов [4,5].

Способы получения углеродных наночастиц

Способы получения УНЧ могут быть разделены на методы сверху-вниз и снизу-вверх. Для получения УНЧ из углеродных материалов, таких как графит, УНТ, сажа, оксид графита, используют методы сверху-вниз [2,6-9,11]. Методы снизу-вверх [12-14] дают возможность синтезировать УНЧ из различных молекулярных прекурсоров; при этом в результате одностадийного синтеза получают УНЧ с функциональными группами.

Изучение флуорофора на основе лимонной кислоты и этилендиамина

Спектр соединений, из которых можно путём гидротермального синтеза получить флуорофор велик. Исходя из задачи, которая стоит перед научной группой, возможно получение флуорофора с различными оптическими свойствами. Варьирование параметров синтеза и прекурсоров позволяет получать флуорофоры в диапазоне длин волн от видимой до ИК.

КВ является одним из важных параметров для синтеза флуорофора. Поэтому нами была выбрана система из ЛК и ЭДА, которая позволяет получить высокий КВ.

Синтез флуорофора на основе лимонной кислоты и этилендиамина

Флуорофор на основе ЛК и ЭДА получали гидротермальным синтезом при температуре 200 °С в течение 2 часов в автоклаве. После чего зарегистрировали спектры люминесценции, возбуждения и поглощения, которые представлены ниже.

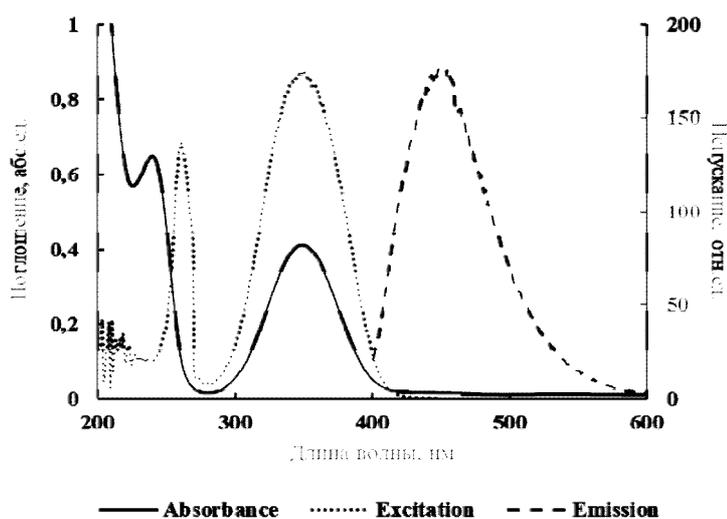


Рисунок 1. Оптические спектры флуорофора ($\lambda_{\text{воз}} = 350 \text{ нм}$)

Исходя из полученных данных видно, что флуорофор на основе ЛК и ЭДА, полученный при мольном соотношении компонентов 1:1 имеет узкий

пик эмиссии в голубой области спектра ($\lambda_{\text{макс}}=450$ нм). Спектр возбуждения и поглощения совпадает, что говорит о том, что за люминесценцию преимущественно отвечает $\pi\text{-}\pi^*$ переход. Рассчитанное значение относительного КВ составило 78%.

Изучение коллоидной стабильности

Для того, чтобы определить коллоидную стабильность были получены спектр люминесценции. Коллоид центрифугировали при 10000 об/мин в течение 5 минут. Отобрали аликвоту (1,5мл) и регистрировали спектры супернатанта. Предполагаемый осадок растворили в 1,5мл бидистиллированной воды и детектировали спектры.

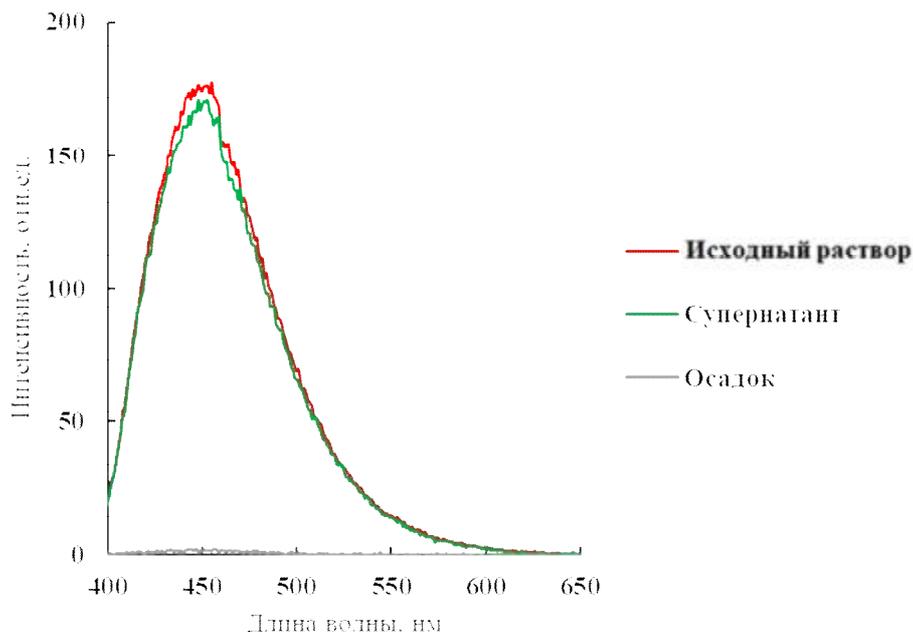


Рисунок 2. Спектры люминесценции флуорофора на основе ЛК:ЭДА ($\lambda_{\text{воз}}=350$ нм; $\lambda_{\text{макс}}=450$ нм).

Исходя из полученных данных видно, что спектр испускания исходного раствора и супернатанта близки, испускание предполагаемого осадка отсутствует, что говорит о том, что полученные флуорофоры обладают высокой коллоидной стабильностью при отсутствии агрегатов в растворе.

Влияние температуры синтеза

Оптимизация гидротермального синтеза является важной задачей при изучении оптических свойств флуорофора. Для того, чтобы получить флуорофор в высоком относительном КВ необходимо рассмотреть несколько параметров синтеза. В данной работе будет рассмотрено влияние изменения температуры гидротермального синтеза на люминесцентные свойства флуорофора. Так же будет рассмотрено влияние изменения мольных соотношений исходных компонентов флуорофора на люминесцентные свойства.

Для того, чтобы оптимизировать гидротермальный синтез флуорофора на основе ЛК и ЭДА необходимо изучить влияние температуры синтеза на люминесцентные свойства. Был проведён ряд синтезов с варьированием

температуры автоклавирования. При этом время синтеза оставалось постоянным и составляло 2 часа. Для определения влияния температуры синтеза на люминесцентные свойства полученных флуорофоров, после проведения синтезов были зарегистрированы спектры люминесценции, поглощения и возбуждения. Так же был рассчитан относительный КВ.

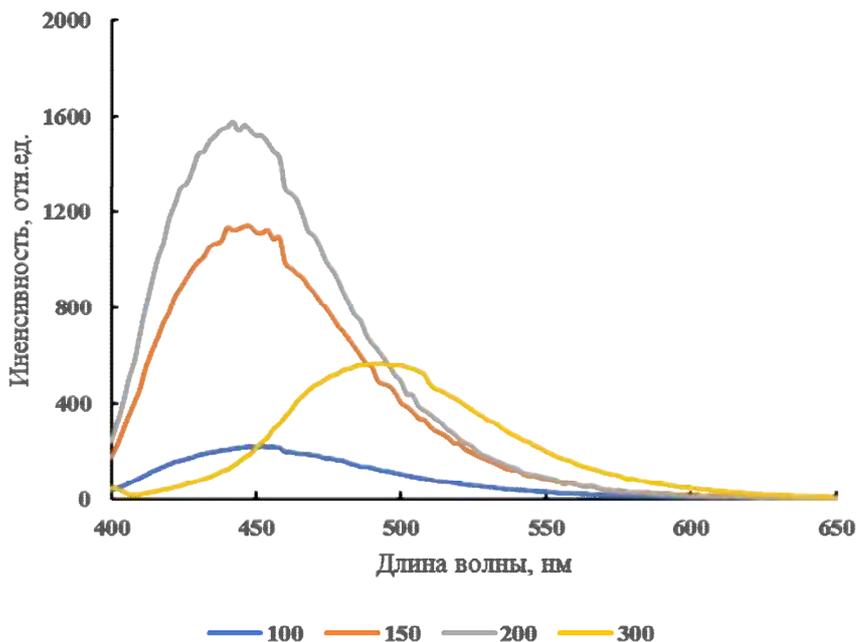


Рисунок 3. Оптические свойства флуорофора на основе ЛК и ЭДА при различной температуре синтеза ($\lambda_{\text{воз}} = 350$ нм)

Из графика зависимости интенсивности люминесценции флуорофора от длины волны возбуждения видно, что при 300 °C происходит bathochromic shift, который сопровождается уменьшением относительного КВ флуорофора, что представлено на рисунке 4 ниже.

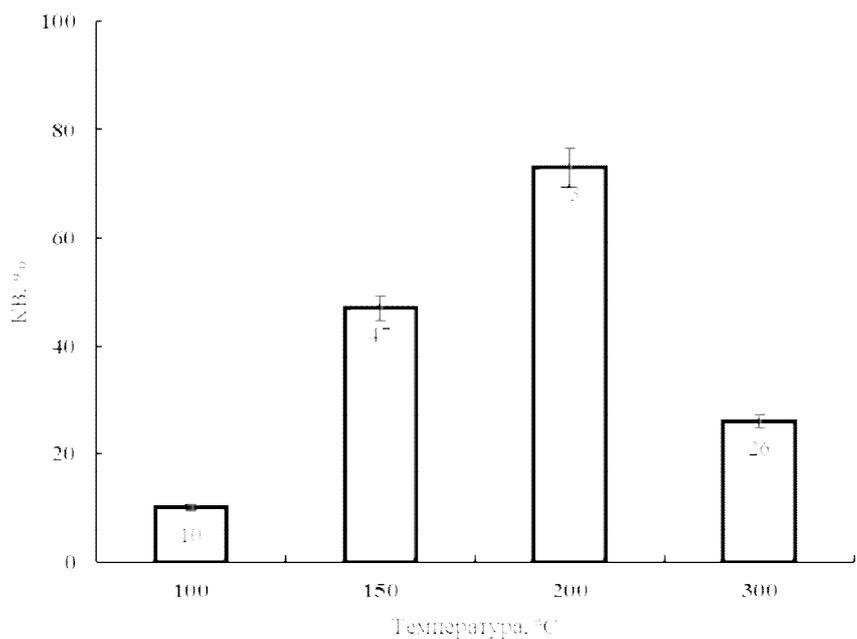


Рисунок 4. Значения относительного КВ флуорофоров на основе ЛК и ЭДА при разной температуре гидротермального синтеза.

Исходя из полученных данных был сделан вывод, что наилучшей температурой для синтеза флуорофора является 200 °С, что подтверждается высокой интенсивностью люминесценции.

Влияние pH

Для изучения влияния pH были взяты образцы флуорофора, полученные методом гидротермального синтеза на основе ЛК и ЭДА. Синтез проводили в течение 2 часов при 200 °С. Образцы флуорофора разбавляли в 1000 раз, при этом меняя pH. Полученные данные приведены в таблице. Значение pH раствора флуорофора составляло 8.

Таблица 1. pH флуорофора до и после добавления растворов с различным pH

| Среда | pH раствора |
|--------------------------------------|-------------|
| H ₂ SO ₄ 0.1M | 1 |
| H ₂ SO ₄ 0.01M | 4 |
| H ₂ O | 5.4 |
| PBS | 5.8 |
| PBS | 7,5 |
| NaHCO ₃ | 9 |
| NaOH 1M | - |
| NaOH 0,1M | 12 |

Анализ полученных результатов проводился на основании спектров люминесценции, зарегистрированных при длине волны возбуждения 350 нм (рис. 5). Так же были построены зависимости максимума интенсивности люминесценции от конечного pH образцов (рис. 6).

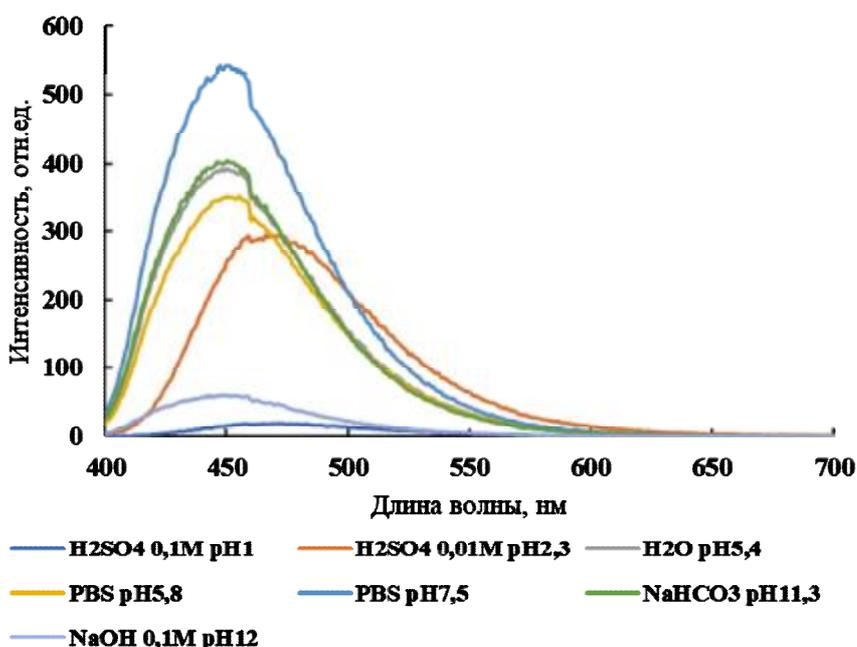


Рисунок 5. Спектры интенсивности люминесценции образцов флуорофора разбавленных в 1000 раз ($\lambda_{\text{воз}}=350$ нм)

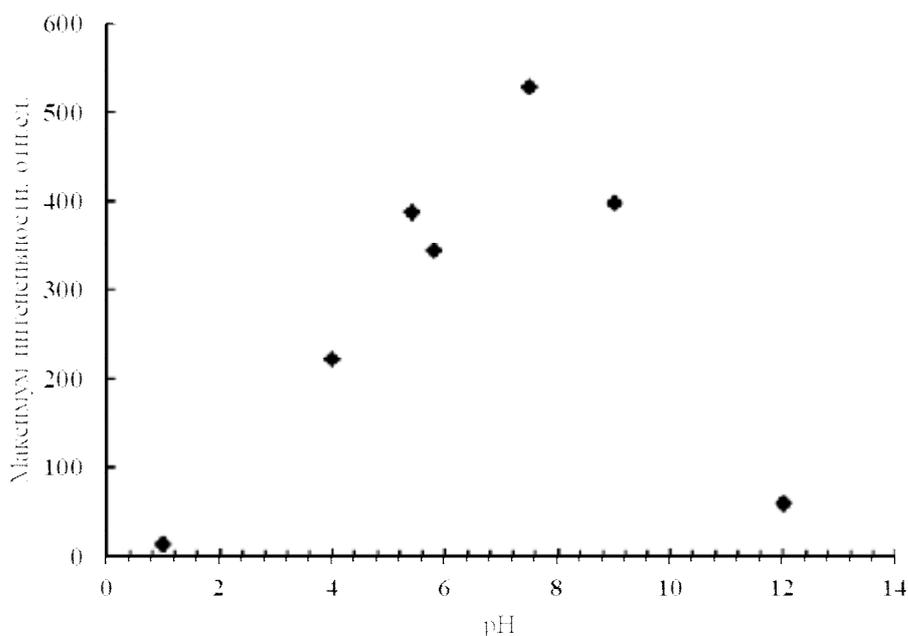


Рисунок 6. Интенсивность люминесценции образцов флуорофора при различных значениях рН ($\lambda_{\text{воз}}=350$ нм; $\lambda_{\text{макс}}=445$ нм)

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что максимальная интенсивность наблюдается при рН близком к нейтральному. При увеличении рН происходит сдвиг спектров в более коротковолновую область (гипсохромный сдвиг). В сильно кислых средах значение $\lambda_{\text{макс}}=480$ нм, для всех остальных образцов $\lambda_{\text{макс}}=445$ нм, что указывает на протонирование в кислых средах, и депротонирование в щелочных.

Влияние мольного соотношения лимонной кислоты и этилендиамина на люминесцентные свойства флуорофора

Нами было сделано предположение, что разное мольное соотношение компонентов может изменить оптические свойства частицы. Поэтому были проведены синтезы с различными мольными соотношениями ЛК и ЭДА. Для статистического расчета относительного КВ образцов, каждый синтез был проведён три раза.

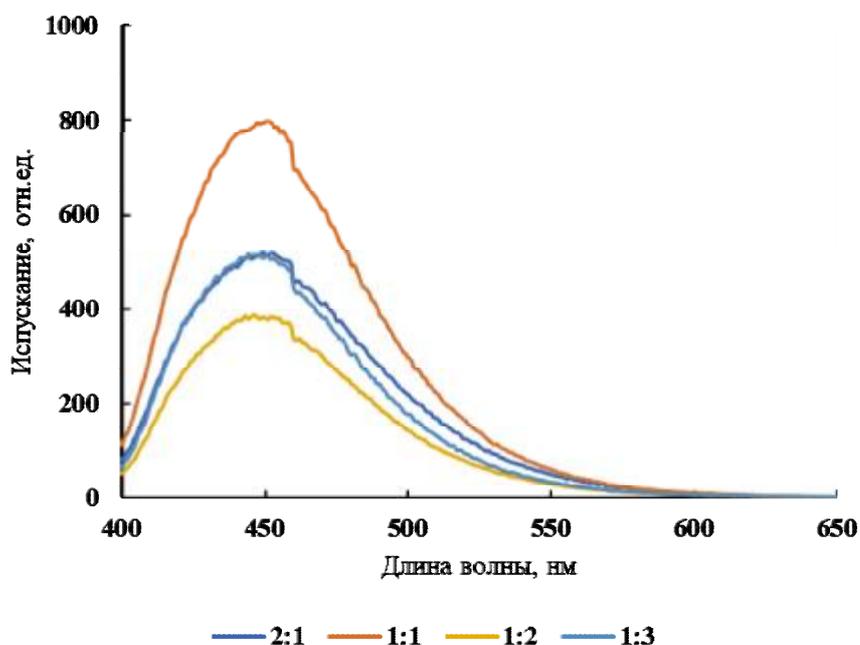


Рисунок 7. Спектры люминесценции образцов флуорофора, полученных при различных мольных соотношениях ЛК и ЭДА (разбавление в 1000 раз, $\lambda_{\text{воз}}=350$ нм)

Из спектров зависимости интенсивности люминесценции от длины волны возбуждения видно, что изменение мольных соотношений компонентов не влияет на характер спектра: максимум испускания находится при 451 нм. Однако количество компонентов оказывает влияние на относительный КВ частиц. Соотношение ЛК ЭДА влияет на люминесцентные свойства полученных флуорофоров. У частиц с мольным соотношением 1:1 наблюдается наибольшая интенсивность люминесценции.

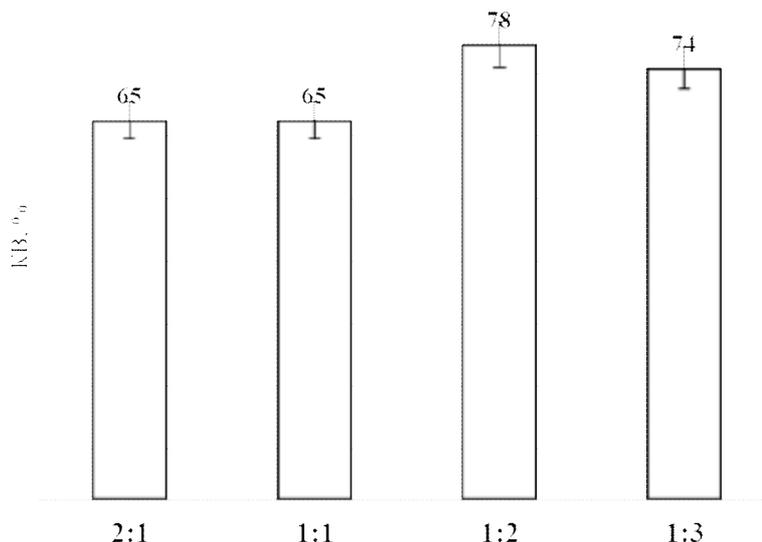


Рисунок 8. Относительный КВ флуорофора с разными мольными соотношениями ЛК и ЭДА

Изучение стабильности

Нами была проверена стабильность флуорофоров с различными мольными соотношениями ЛК и ЭДА. Спектры люминесценции полученных образцов регистрировали каждые 7 дней в течение 5 недель.

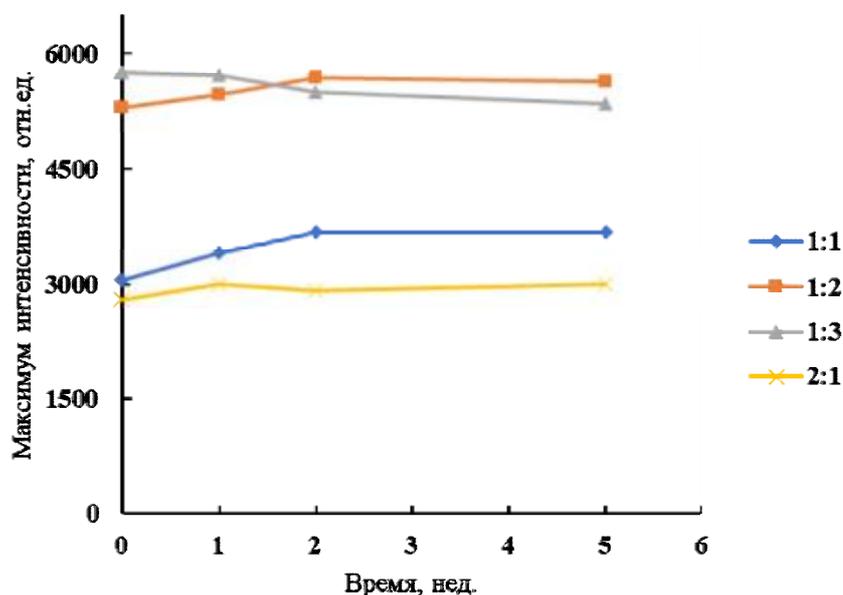


Рисунок 9. Графики зависимости максимума интенсивности полученных образцов флуорофора при разбавлении в тысячу раз от времени ($\lambda_{\text{воз}}=350$ нм; $\lambda_{\text{макс}}=450$ нм)

Перед регистрацией спектров люминесценции образцы центрифугировали (5 мин, 10000 об/мин) с целью отделения агрегатов из исходных коллоидных растворов флуорофоров. При этом осадок не образовывался, что говорит о высокой коллоидной стабильности во времени. На рисунке 9 представлены зависимости максимума интенсивности полученных образцов флуорофоров при разбавлении в тысячу раз от времени, что показывает незначительными изменениями интенсивности люминесценции частиц.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что флуорофор вне зависимости от мольных соотношений компонентов остаются стабильны как минимум в течение 5 недель.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Щур Д.В., Матысина З.А., Загинайченко С.Ю. Углеродные наноматериалы и фазовые превращения в них: Монография // Днепропетровск: Наука и образование, 2007. – 680с.
2. Беленков Е.А., Ивановская В.В., Ивановский А.Л. Наноалмазы и родственные углеродные наноматериалы. Компьютерное материаловедение // Екатеринбург: УрО РАН, 2008. – 168с.

3. Тарасов, Б.П. Водородосодержащие углеродные наноструктуры: синтез и свойства / Б.П. Тарасов, П.Ф. Гольдштейн, А.П. Моравский // Успехи химии. – 2001. – Т. 70. – С. 149.
4. Fischer, J.E. Carbon nanotubes: a nanostructured material for energy storage // J.E. Fischer // Chemical Innovation. – 2000. – Vol. 30. – P.
5. Спектр газов, выделяющихся при одноступенчатом нагреве дейтерированных под давлением ОСНГ / Ю.М. Шульга, И.О. Балкин, А.В. Кростинин и др. // Письма в журнал технической физики. – 2003. – Т. 80, № 12. – С. 884 – 888.
6. Dekaliuk M.O., Viagin O., Ma,yukin Y.V., Demchenko A.P. Fluorescent carbon nanomaterials: «quantum dots» or nanoclusters? // Phys. Chem. Chem. Phys., 2014, Vol. 16, pp. 16075-16084.
7. Dong Y, et al. Polyamine-functionalized carbon quantum dots for chemical sensing //Carbon. – 2012. –50. – P. 2810-2815.
8. Xu X, et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments //Journal of the American Chemical Society. – 2004. –126. – P. 12736-12737.
9. Cao L, et al. Carbon dots for multiphoton bioimaging //Journal of the American Chemical Society. – 2007. –129. – P. 11318-11319.
10. Губин С. П., Ткачев С. В. Графен и материалы на его основе // РЖХ. 111. – М., 2010. – Т.2, № 1-2. – С.99-137.
11. Meunier V., Lambin Ph., Lucas A.A. Atomic and electronic structures of large and small carbon tori // Physical Review B, 1998, Vol. 57, N. 23.
12. Zheng L, et al. Electrochemiluminescence of water-soluble carbon nanocrystals released electrochemically from graphite //Journal of the American Chemical Society. – 2009. –131. – P. 4564-4565.
13. Wang X, et al. Photoinduced electron transfers with carbon dots //Chemical Communications. – 2009. – P. 3774-3776.
14. Sun Y, P, et al. Doped carbon nanoparticles as a new platform for highly photoluminescent dots //The Journal of Physical Chemistry C. – 2008. –112. P. 18295-18298.


 24.6.19