

УДК 543.544.943.3

МОДИФИКАЦИЯ МЕМБРАННЫХ МАТЕРИАЛОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕХНОЛОГИИ СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ, НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЦИНКА

Ж.В. Самсонова^{1,2}, С.И. Сенатова², Д.С. Муратов², А.П. Осипов^{1,2},
С.Э. Кондаков^{1,2}, Д.В. Кузнецов²

(¹химический факультет Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова; ²Национальный исследовательский технологический университет «МИСЦ»; e-mail: jvs@enz.chem.msu.ru)

Проведены исследования по модификации гидрофильных стекловолоконных и целлюлозных мембранных материалов оксидом цинка. Проведена гидрофилизация наночастиц оксида цинка путем модификации поверхности 3-аминопропилтриэтоксисиланом. Методами Фурье-ИК-спектроскопии и электронной сканирующей спектроскопии показано, что нанесение гидрофилизированных наночастиц оксида цинка не изменяет структуру стекловолокон и мембранного материала, в то время как обработка мембранных материалов на основе целлюлозы приводит к необратимому изменению структуры волокон и материала в целом.

Ключевые слова: мембранные материалы, Фурье-ИК-спектроскопия, наночастицы оксида цинка, электронная сканирующая спектроскопия.

Мембранные материалы, используемые для технологии сухих пятен крови (далее по тексту устоявшийся англоязычный термин Dry Blood Spots (DBS)), используются в основном для пробоподготовки различных биологических жидкостей и получения сухих образцов в целях пересылки их в диагностическую лабораторию для проведения последующего анализа одним из стандартных методов [1].

Необходимым условием использования мембранных материалов является их способность эффективно впитывать биологическую жидкость, равномерно распространять ее по рабочей поверхности и обеспечивать сохранность высохшего биологического материала. В связи с чем используемый мембранный материал должен обладать ярко выраженными гидрофильными свойствами и иметь гомогенную структуру, позволяющую равномерно и обратимо адсорбировать белки и другие биологически-активные соединения в порах мембраны.

Один из методов модификации существующих мембранных материалов для использования в технологии DBS заключается в специальной обработке их поверхности составами на основе наночастиц и водорастворимых полимеров, обеспечивающими стабильность их характеристик и в ряде случаев антибактериальные свойства. В нашем случае обработка мембранных материалов оксидом цинка позволяет обеспечить стабильность мембранных материалов при

хранении с точки зрения постоянства состава анализируемой пробы. Полученные покрытия с антибактериальными свойствами позволяют предотвратить деградацию биологических проб в ходе транспортировки и хранения, вызванную потенциальным бактериальным заражением из-за контакта с окружающей средой (упаковочными материалами, воздухом), например в момент забора биопробы [2].

В настоящее время при получении материалов, используемых в технологии DBS, применяют всего лишь один вид носителя – целлюлозную пористую бумагу «Whatman 903» («Whatman»). В последнее время ведутся работы по изучению использования новых типов материалов, например стекловолоконных мембран [3], однако необходимо модифицировать существующие мембранные материалы, так как они изначально гидрофобны.

Цель данной работы состояла в модификации гидрофильных стекловолоконных и целлюлозных мембранных материалов оксидом цинка и оценке результатов модификации посредством спектроскопических методов (Фурье-ИК-спектроскопии и электронной сканирующей спектроскопии).

Экспериментальная часть

В качестве исходных материалов использовали два вида мембранных материалов – стекловолоконную мембрану «MAPDS-0300» («Arista

biologicals», USA) и целлюлозно-бумажную мембрану «Grade 222» («Ahlstrom», USA). Исследуемые материалы изучены как в исходном виде, так и после нанесения на их поверхность покрытия из оксида цинка для придания им антисептических свойств. В качестве наночастиц использовали нанопорошки оксида цинка, полученные методом химического осаждения из раствора, которые были подвергнуты обработке водорастворимыми полимерами в целях придания им гидрофильности и обеспечения надежной адгезии частиц к поверхности мембран.

Для получения наночастиц оксида цинка (золь-гель) методом модифицирования их поверхности в процессе синтеза использовали следующие материалы:

этанол (95%-й C_2H_5OH , ЗАО «Брынцалов-А»);
дистиллированная вода;

Цинк азотнокислый 6-водный
($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, «ч.», ГОСТ 5106-77 («Лабораторная техника»);

спирт поливиниловый (PVA, ПВС, ГОСТ 10779-78;

марганец сернокислый 1-водный ($MnSO_4 \cdot H_2O$, «ч.», ГОСТ 435-77 («Лабораторная техника»);

натрий гидроксид NaOH («ч.д.а.»), ГОСТ 4328-77 («Лабораторная техника»);

3-аминопропилтриэтоксисилан (АПТЭС, ARTES, 95%, ООО «Пента-91»).

Получение наночастиц оксида цинка осуществляли следующим способом. Раствор 15×10^{-3} моль $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ непрерывно перемешивали в течение 2 ч, поддерживая температуру ванны $\sim 70^\circ C$. Затем в него по каплям добавляли раствор NaOH (30×10^{-3} моль) и перемешивали в течение 2 ч при постоянной температуре. Таким образом, был получен осадок $Zn(OH)_2$. Осадок промывали в дистиллированной воде 3 раза, фильтровали и сушили с помощью лабораторного сушильного оборудования («Christ alpha 1-2 LD plus»). Каждый высушенный образец кальцинировали при температуре $450^\circ C$. Оксид цинка формировался из гидроксида при нагревании. Модифицирование нанопорошка проводили в водном растворе 3-аминопропилтриэтоксисилана путем формирования на поверхности частиц мономолекулярного силанового слоя с коэффициентом заполнения 0,5–0,7. Модифицированный (силанированный) порошок промывали дистиллированной водой и сушили в сушильном шкафу при температуре $80^\circ C$.

Для анализа стабильности в жидкой среде полученные наночастицы были проанализированы с помощью определения дзета-потенциала

на установке «ZetaSizer Nano ZS» («ZEN 3600») («Malvern Instruments Ltd.», England) при комнатной температуре ($25^\circ C$).

Для определения количества гидрофиллизатора на поверхности нанопорошка оксида цинка проводили количественный анализ на спектрометре «iCAP 6300 Radial View» («Inc. Thermo Fisher Scientific»), использовали спектральный атомно-эмиссионный метод анализа с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) (спектральный диапазон 166–847 нм, разрешение 7 пм при длине волны 200 нм, твердотельный генератор (CID86) с частотой 27,12 МГц и мощностью 750–1600 Вт). Анализ проводили следующим образом. Навеску пробы массой 0,1 г растворяли в 10 см^3 царской водки при нагревании и переводили в колбу объемом 1000 см^3 . стакан, в котором растворялась проба, обмывали 90 см^3 царской водки. Раствор в колбе доводили водой до метки.

Исследования мембранных носителей методом ИК-спектроскопии проводили с помощью ИК-Фурье-спектрометра «Nicolet 380» (спектральный диапазон $4000\text{--}450 \text{ см}^{-1}$, разрешение $0,9 \text{ см}^{-1}$, точность по волновому числу $0,01 \text{ см}^{-1}$).

В работе использовали растровый электронный микроскоп «JEOL JSM-6610LV». Для получения изображения образцы мембранных носителей проходили специальную пробоподготовку. Из листа мембранного носителя вырезали образец со сторонами около 5 мм. Образец наклеивали на токопроводящий двухсторонний углеродный скотч, который в свою очередь был нанесен на столик для образца. Последующая операция заключалась в покрытии образца мембранного носителя токопроводящим слоем. Данная операция проводилась для того, чтобы образец не заряжался под действием электронного пучка (практически все мембранные носителя являются материалами, не проводящими ток, такими как стекловолокно или кварц) и не давал мешающего измерению сигнала на микрофотографии. Покрытие проводили с помощью настольной установки магнетронного напыления «JFC-1600 Jeol». В качестве покрытия использовали платину, ток ионизации 30 мА, время нанесения 40 с. Для исследования морфологии мембранных носителей использовали поля зрения при разных увеличениях ($\times 50$, $\times 100$, $\times 300$, $\times 500$). Образцы, предположительно имеющие на своей поверхности разного рода покрытия, изучались без предварительного нанесения слоя металла.

Результаты и обсуждение

С помощью полученных ИК-спектров проведен качественный анализ, который заключался

в выявлении связи Zn–O–Si на поверхности частиц. Для сравнения были получены ИК-спектры модифицированного и немодифицированного порошков оксида цинка, как показано на рис. 1. На верхнем спектре видны полосы, относящиеся только к связи Zn–O, в то время как на нижнем спектре модифицированного оксида цинка видны полосы, характеризующие связь Si–O–Si в силане, в районе волновых чисел 1087 и 1033 см^{-1} и, что самое главное, возникает полоса в районе 933 см^{-1} , описывающая связь Zn–O–Si. Следовательно, по появлению данной полосы можно судить о возникновении поверхностной связи модификатора и наночастицы оксида. В данном случае видна именно поверхностная связь, так как для получения ИК-спектров был выбран метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО).

С помощью атомно-эмиссионной спектроскопии проведен количественный анализ по определению степени покрытия нанопорошка оксида цинка молекулами гидрофиллизатора, в результате которого были получены следующие данные: 1,9 мас.% Si–98,1 мас.% ZnO. Рассчитано количество кремния ($1,9/28 = 0,07$ моль) и найдено количество атомов ($0,07 \cdot 6,02 \cdot 10^{23} = 4085 \cdot 10^{19}$ ат.). Изучение удельной поверхности показало, что

поверхность оксида цинка составляет 5000 м^2 , а площадь прикрепления одной молекулы составляет $5000/4085 \cdot 10^{19} = 1,22 \cdot 10^{-19}$ $\text{м}^2/\text{ат}$. Известно, что площадь прикрепления молекулы силана на поверхности оксида цинка составляет $2 \cdot 10^{-19}$ $\text{м}^2/\text{ат}$. При сопоставлении теоретического и расчетного результатов получим, что степень покрытия поверхности оксида цинка монослоем силана составляет 60%. Из литературы известно, что для обеспечения агрегативной устойчивости необязательно стопроцентное закрытие всей поверхности дисперсной частицы адсорбционным слоем силана (достаточно 40–60 %) [4].

Модификация поверхности нанопорошка оксида цинка приводит также к изменению внешнего вида их коллоидных растворов, как видно на фотографии, представленной на рис. 2. При одинаковой концентрации наночастиц в воде коллоидный раствор, содержащий модифицированные 3-аминопропилтриэтоксисиланом нанопорошки ZnO, более прозрачен в видимой области спектра. Это подтверждает факт увеличения агрегационной стабильности нанопорошка в воде и, следовательно, хорошей степени адгезии к поверхности гидрофильных волокон стекловолкна и целлюлозы, входящих в состав нарабатываемых мембранных материалов.

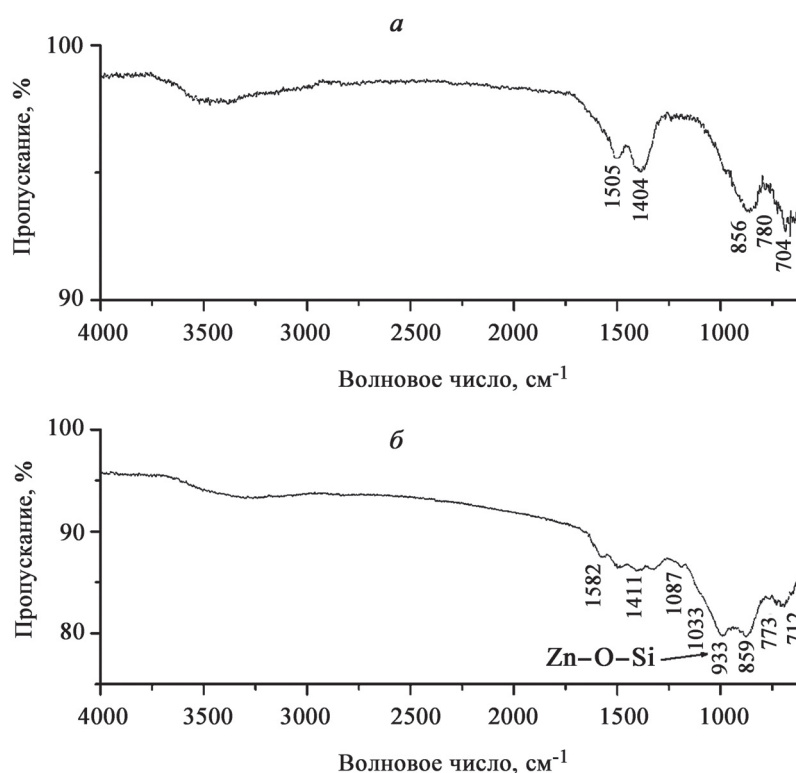


Рис. 1. ИК-спектры немодифицированных (а) и модифицированных (б) силаном нанопорошков оксида цинка

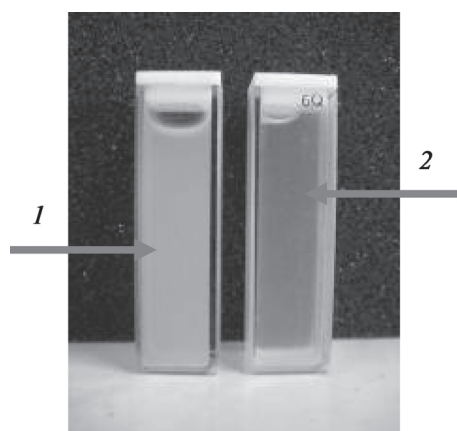


Рис. 2. Внешний вид коллоидных растворов оксида цинка в воде, содержащих немодифицированные (1) и модифицированные (2) нанопорошки

Для эксперимента мы взяли по 6 образцов каждого типа материалов. Модифицированные частицы оксида цинка наносились на поверхность мембран путем обычного пропитывания водными золями. Данный процесс включал следующие этапы: нанесение золя на мембранный материал, сушка в течение 24 ч при комнатной температуре, повторное нанесение и повторная сушка при 40°C в сушильном шкафу. Раствор наносился в объеме 10 мл, т.е. по 5 мл за каждое смачивание. Количество металла, содержащегося в золе, составляло около 8 мг на 1 л. Мембраны не подвергались механическим воздействиям, следовательно, структура материала не меняла свои физические свойства.

Для нанесения покрытия были использованы два вида образцов предварительно гидрофилизированных мембран: стекловолоконные и целлюлозно-бумажные.

Исследование методом ИК-спектроскопии гидрофильного стекловолоконного образца до и после обработки гидрофилизированными наночастицами оксида цинка показало, что наличие оксида цинка на поверхности мембраны выражается в увеличении пропускания для пика в районе 3200–3400 см⁻¹. Данный пик свидетельствует о наличии в мембране групп ОН, т.е. значение пропускания может быть связано со скоростью и степенью смачивания наработанного мембранного материала. Чем больше величина поглощения в районе 3200–3400 см⁻¹, тем более гидрофилизирована поверхность и тем лучше происходит смачивание.

Проведены исследования по модифицированию гидрофилизированными наночастицами оксида цинка целлюлозных мембранных материалов. ИК-спектры полученных образцов до и после обработки характеризуются наличием боль-

шого пика в области 3200–3400 см⁻¹ и практически идентичны. Это указывает на более высокую степень адсорбции групп ОН и гидрофильность целлюлозных волокон по сравнению с образцами стекловолоконна. Волокна целлюлозно-бумажного материала, в отличие от стекловолоконного, очень хорошо впитывают влагу и увеличиваются в объеме. Таким образом, в процессе наработки часть наночастиц впитывается внутрь и не придает полезных свойств волокнам. Можно предположить, что аналогичные эффекты будут наблюдаться при смачивании целлюлозных мембранных материалов образцами биожидкостей.

Сделанные выводы о характере взаимодействия гидрофилизированных наночастиц оксида цинка с поверхностью стекловолоконна и целлюлозных волокон были подтверждены прямым изучением мембранных материалов методом электронной сканирующей микроскопии. Результаты исследований образцов гидрофильных стекловолоконных материалов при разном разрешении представлены на рис. 3 (а–г). Как видно, нанесение гидрофилизированных наночастиц оксида цинка не изменяет структуру волокон и мембранного материала в целом. Волокна остаются прямолинейными и не имеют связей между собой, однако, как показано при большом увеличении на рис. 3, г, на поверхности волокон, в отличие от необработанных материалов, образуются скопления мелких частиц оксида цинка, представляющие собой агломераты наночастиц. Заметно также большое количество отдельных частиц, равномерно покрывающих поверхность, что указывает на эффективность предложенной методики функционализации наночастиц и волокон.

В ходе проведения наработки образцов из мембранных материалов на основе целлюлозы установлено, что обработка таких материалов, в отличие от образцов из стекловолоконна, приводит к необратимому изменению структуры волокон и материала в целом. Микрофотографии гидрофильного целлюлозного материала, функционализированного коллоидом гидрофилизированных наночастиц оксида цинка при разном разрешении представлены на рис. 4 (а–г). Как видно из представленного рисунка, целлюлозный мембранный материал характеризуется гораздо более сложным строением по сравнению со стекловолоконным. Проведение сравнительного анализа целлюлозно-бумажных мембран до и после обработки суспензиями с гидрофилизированными наночастицами показало, что в ходе пропитки золями металлов диаметр волокон увеличился с 10 до 15–20 мкм, а их форма приобрела более сложный характер.

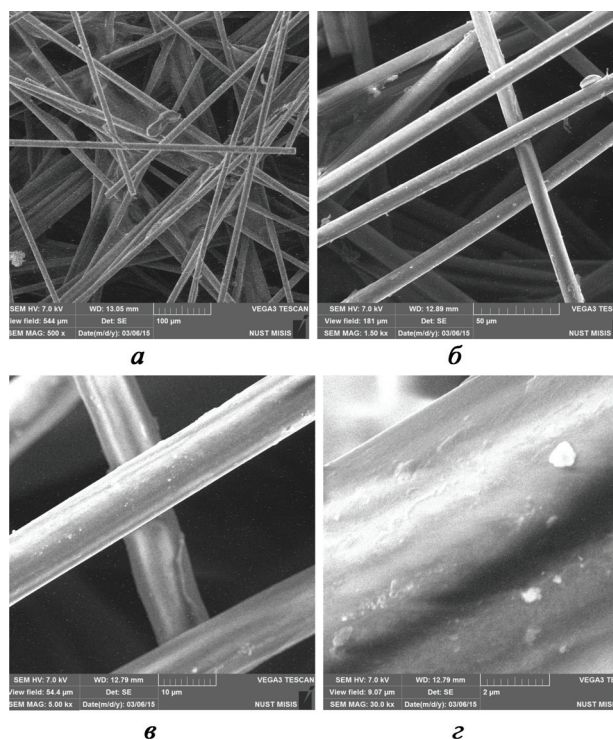


Рис. 3. Изображения структуры стекловолоконной мембраны, обработанной гидрофилизированными наночастицами оксида цинка: *а* – увеличение в 500 раз; *б* – увеличение в 1,5 тыс. раз; *в* – увеличение 5 тыс. раз; *г* – увеличение в 30 тыс. раз

Очевидно, целлюлозные волокна впитали часть раствора внутрь за счет высокоразвитой пористости, что привело к изменению их структуры несмотря на удаление жидкости из объема пор. Впитывание жидкости волокнами происходит, вероятно, вместе с диспергированными в воде наночастицами оксида цинка, так как заметных скоплений наночастиц на поверхности волокон методами микроскопии не выявлено.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать ряд выводов, подтверждающих целесообразность продолжения работ по использованию в технологии DBS стекловолоконных материалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы»; проект № RFMEFI57814X0010 (Соглашение номер 14.578.21.0010).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Demirev P.A. // Anal. Chem. 2013. Vol. 85. P. 779.
2. Meesters R.J., Hooff G.P. // Bioanalysis. 2013. Vol. 5. P. 2187.
3. Samsonova J.V., Chadina A.S., Osipov A.P. et al. // Moscow Univ. Chem. Bull. 2014. Vol. 69. P. 282.

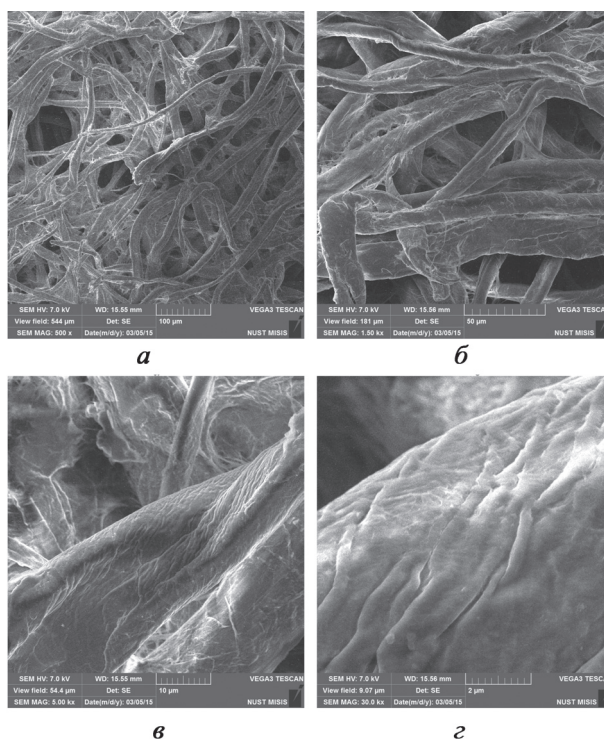


Рис. 4. Изображения структуры целлюлозной мембраны, обработанной гидрофилизированными наночастицами оксида цинка: *а* – увеличение в 500 раз; *б* – увеличение в 1,5 тыс. раз; *в* – увеличение 5 тыс. раз; *г* – увеличение в 30 тыс. раз

Установлено, что обработка поверхности мембранных материалов на основе гидрофильного стекловолокна позволяет не только придать полезные антибактериальные свойства, необходимые для обеспечения стабильности биологического материала в ходе транспортировки и хранения проб, но и повысить гидрофильность поверхности волокон.

Детализированные исследования обнаруженных эффектов, связанных с функционализацией стекловолокна, а также оценка бактерицидных свойств наночастиц и мембранных материалов предполагается выполнить в ходе дальнейших исследований.

MODIFICATION OF MEMBRANE MATERIALS USING IN DRY BLOOD SPOTS (DBS) TECHNOLOGY BY ZINC NANOOXIDE

J.V. Samsonova^{1,2}, S.I. Senatova², D.S. Muratov², A.P. Osipov^{1,2}, S.E. Kondakov^{1,2}, D.V. Kuznetsov²

(Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University; National University of Science and Technology "MISIS")

The modification of hydrophilic fiberglass and cellulose membrane materials by zinc oxide was studied. Zinc oxide nanoparticles were hydrophilized by modifying their surface with 3-aminopropyltriethoxysilane. Methods of FTIR spectroscopy and scanning electron spectroscopy showed that the application of hydrophilized zinc oxide nanoparticles does not change the structure of the glass fibers and the membrane material, while the fiber structure the cellulose membrane and material as a whole irreversibly changed after nanoparticles application.

Key words: membrane materials, modification by nanoparticles, zinc nanooxide, FTIR spectroscopy, scanning electron spectroscopy (SEM).

Сведения об авторах: Самсонова Жанна Васильевна – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (jvs@enz.chem.msu.ru); Сенатова Светлана Игоревна – аспирант кафедры функциональных наносистем и высокотемпературных материалов НИТУ МИСиС; Муратов Дмитрий Сергеевич – аспирант кафедры функциональных наносистем и высокотемпературных материалов НИТУ МИСиС; Осипов Александр Павлович – ст. науч. сотр. кафедры функциональных наносистем и высокотемпературных материалов НИТУ МИСиС, канд. хим. наук (APOsipov@mail.ru); Кондаков Сергей Эмильевич – вед. науч. сотр. кафедры функциональных наносистем и высокотемпературных материалов НИТУ МИСиС, докт. фарм. наук (ksekse@mail.ru); Кузнецов Денис Валерьевич – зав. кафедрой функциональных наносистем и высокотемпературных материалов НИТУ МИСиС, канд. техн. наук (dk@misis.ru).