

Synteza organicznych mikrosfer metodą wytrącania na interfejsie

1. Wstęp teoretyczny

Mikrosfery polimerowe są uniwersalną i rozpowszechnioną klasą materiałów polimerowych, a dzięki kontroli wielkości i wąskim rozkładom rozmiaru – odnajdują szerokie zastosowania, m.in. jako standardy kalibracji instrumentów, materiały do wypełniania kolumn do chromatografii, mikroelektroniki czy biotechnologii. Istnieje wiele metod polimeryzacji (np. polimeryzacja emulsyjna, polimeryzacja precypitacyjna, polimeryzacja dyspersyjna), które prowadzą do uzyskania monodispersyjnych cząstek polimeru o różnych zakresach rozmiarów. Mikrosfery mogą być zarówno pustymi cząstkami, jak i pełnić rolę nośnika innych substancji, np. barwników, białek.

Najbardziej rozpowszechnionymi typami mikrosfer polimerowych są te wytworzone z polistyrenu i polietylenu. Mikrosfery polistyrenowe są zazwyczaj stosowane w biomedycynie ze względu na ich zdolność do ułatwiania procesów wewnątrzkomórkowych, tj. np. sortowanie komórek.

Synteza organicznych mikrosfer metodą wytrącania na interfejsie

W wyniku tej metody syntezy, następuje polimeryzacja dwóch komplementarnych monomerów na granicy faz dwóch rozpuszczalników w dwufazowym roztworze. Monomery muszą być uprzednio rozpuszczone w osobnych fazach roztworu, następnie na granicy faz następuje proces polimeryzacji. Często należy dostosować dodatkowe parametry, np. temperaturę czy czas reakcji. Gdy polimer jest wysoce nierozpuszczalny w drugim rozpuszczalniku – powstaje pusta w środku kapsuła. W przypadku, gdy polimer charakteryzuje się dobrą rozpuszczalnością w drugim rozpuszczalniku (zawierającym np. barwnik) – zostaje cząsteczką wzbogaconą w zawartość substancji rozpuszczonej.

2. Cel ćwiczenia

- synteza organicznych (polistyrenowych) sfer domieszkowanych optycznie aktywnymi barwnikami i/lub nanocząstkami
- przygotowanie próbek do obserwacji pod mikroskopem
- pomiary kształtu i rozmiaru z użyciem mikroskopu transmisyjnego
- obserwacja zlokalizowanej emisji mikroskopem epifluorescencyjnym

3. Bezpieczeństwo

Przed przystąpieniem do wykonywania ćwiczenia:

- Upewnij się, że zapoznałeś się z zasadami bezpiecznej pracy w laboratorium
- Znasz zagrożenia wynikające z pracy z urządzeniami laboratoryjnymi oraz odczynnikami chemicznymi
- Skorzystaj ze środków ochrony indywidualnej:

- fartuch laboratoryjny
- okulary ochronne
- rękawice nitrylowe

- Przedstaw prowadzącemu uzupełnioną Tabele I (kolumny oznaczone na czerwono)

4. Odczynniki chemiczne

Tabela I. Lista odczynników

l.p.	Nazwa PL	skrót	Nr CAS	masa molowa (M_w)	Wzór sumaryczny	Toksyczność / zagrożenia
1	Polistyren M _w ~35 000	PS	9003-53-6			brak
2	Tetrahydrofuran	THF	109-99-9			duża zdolność penetracji i uszkodzenia tkanek miękkich, szkodliwy wpływ na oczy i układ oddechowy
3	etanol	EtOH	64-17-5			wysoce łatwopalna ciecz i pary. Działa drażniąco na oczy.
4	Woda demineralizowana	DI	7732-18-5			brak
5	Kumaryna 153	C-153	53518-18-6			brak
6	Kropki kwantowe CdSe	QDs	1306-24-7			toksyczne w wyniku inhalacji lub przez kontakt ze skórą

Tabela II. Odczynniki użyte w eksperymencie

l.p.	odczynnik	masa (mg)	objętość (ul)	stężenie (mg/ml)	oznaczenie
1	DI		800		A ₁
2	EtOH		600		
3	DI		800		A ₂
4	EtOH		600		
5	PS				

6	THF			5	PS/THF
7	THF		400		E ₁ z roztworem B
8	PS/THF		100		
9	C-153		100	XX	
10	THF		400		E ₂ z roztworem C
11	PS/THF		100		
12	QDs		100	XX	

$T_r = 50^\circ\text{C}$ – temperatura reakcji

5. Materiały

1. Stojak na fiolki
2. Próbkówki typu Falcon 15 ml x1
3. Łyżeczka stalowa
4. Fiolki 4 ml, x2
5. Próbkówki typu Eppendorf (pojemność 1,5 ml)
6. Pipeta Pasteura ze smoczkiem x2
7. Pipeta automatyczna 1 ml + końcówki
8. Szkiełka podstawkowe
9. Szkiełka nakrywkowe

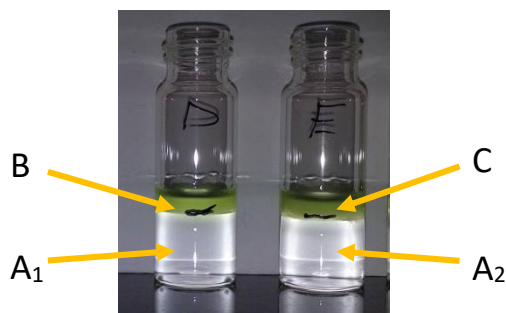
6. Aparatura

1. Wyrząsarka typu Vorteks
2. Waga precyzyjna
3. Płyta grzejna + przystawka do fiolek
4. Mikroskop optyczny

7. Procedura syntezy

1. W dwóch fiolkach przygotować mieszaninę DI/EtOH – roztwory A₁ i A₂.
2. Zaznaczyć cienkopisem poziom cieczy.
3. Korzystając z wagi precyzyjnej w próbkówce Falcon zważyć jedną porcję (kulkę) PS.
4. Używając szklanej pipety Pasteura i korzystając ze skali na próbkówce dodać odpowiednią ilość THF, aby uzyskać zadane stężenie PS w THF. W celu przyspieszenia rozpuszczania użyć wyrząsarkę typu vorteks – roztwór PS/THF.
5. W dwóch próbkówkach typu Eppendorf (E₁ i E₂) umieścić określoną ilość THF.
6. Do próbkówki E₁ dodać roztwór PS/THF oraz roztwór barwnika (C-153). Całość dokładnie wymieszać – roztwór B.

7. Do próbówki E₂ dodać roztwór PS/THF oraz roztwór QDs. Całość dokładnie wymieszać – roztwór C.
8. Używając pipet Pasteura ostrożnie przenieść roztwory B i C do fiolek odpowiednio z roztworem A₁ i A₂. Roztwory B i C nakrapiać po ściankach fiolek unikając mieszania, tak, aby powstała wyraźna granica faz (Zdjęcie 1). Wykonać zdjęcie fiolek.



Zdjęcie 1. Dwie fioleki, każda z dwoma rozdzielonymi fazami DI+EtOH (dół) / THF (góra).

9. Przenieść fioleki pod dygestorium i umieścić na płycie grzejnej wyposażonej w przystawkę do fiolek.
10. Nastawić temperaturę reakcji T_r i odczekać około godziny do całkowitego odparowania THF.
11. Wykonać zdjęcie fiolek z roztworem mikrosfer w DI.
12. Fioleki podpisać: **LSN18/gr/ćw/para – B i C** – zgodnie z informacją od prowadzącego.

8. Pomiary mikroskopowe

W celu przeprowadzenia obserwacji mikrosfer z użyciem mikroskopu optycznego należy nakropić 50 μ l gotowego roztworu na szkiełko mikroskopowe. Z uwagi na uniknięcie zabrudzenia obiektywów utworzoną kroplę należy przykryć szkiełkiem nakrywkowym. Sfery znajdujące się w rozpuszczalniku przez cały czas poruszają się w polu widzenia mikroskopu.

Do pomiarów mikroskopowych używać obiektywu powiększeniu x40. Dla zdjęć wykonanych takim układem 1 $px = 0,045 \mu m$.

Uwaga: Instrukcja obsługi mikroskopu znajdują się na stanowisku pomiarowym.

9. Zakończenie pracy

Posprzątaj stanowisko pracy. Odpady i zlewki umieść w odpowiednim koszu/kanistrze. Upewnij się, że buteleczki z otrzymanymi próbkami są podpisane. Zapytaj prowadzącego gdzie należy je umieścić.

10. Raport z badań

Raport z badań powinien zawierać następujące elementy:

1. Wstęp teoretyczny (reakcja wytrącania na interfejsie, mikrosfery polimerowe)
2. Cel eksperymentu
3. Tabele użytych odczynników (Tabela II. z instrukcji roboczej)

4. Wyniki eksperymentu
 - a. reakcja chemiczna – opis słowny
 - b. zdjęcia przygotowanych roztworów przed i po reakcji
 - c. zdjęcia z mikroskopu transmisyjnego
 - d. zdjęcia z mikroskopu epifluorescencyjnego
 - e. analiza rozmiarów zsyntezowanych sfer (wykres dystrybucji rozmiarów)
 - f. porównanie wyników dla sfer domieszkowanych barwnikiem i QDs
5. Wnioski

11. Zagadnienia

- Mikrosfery polimerowe – właściwości i zastosowanie
- Domieszkowanie polimeru, polimeryzacja
- Reakcja na interfejsie
- Mikroskopia optyczna – transmisyjna i epifluorescencyjna

12. Literatura

1. D. Okada, T. Nakamura, D. Braam, T. Duy Dao, S. Ishii, T. Nagao, A. Lorke, T. Nabeshima, Y. Yamamoto, *Color-Tunable Resonant Photoluminescence and Cavity-Mediated Multistep Energy Transfer Cascade*. ACS Nano **2016**, 10, 7058.
2. H. Satoh, H. Yabu, *One-Pot Preparation of Organic–Inorganic Composite Microspheres Comprising Silica Nanoparticles and End-Functionalized Polymers*, Macromol. Mater. Eng. **2016**, 301, 279–286.
3. F. Zhang, L. Cao, W. Yang, *Preparation of Monodisperse and Anion-Charged Polystyrene Microspheres Stabilized with Polymerizable Sodium Styrene Sulfonate by Dispersion Polymerization*, Macromol. Chem. Phys. **2010**, 211, 744–751.