POCCINICKASI DELLEPALLINS



密路路路路

母

安安安安安

密

密

母

松

斑

母

母

母

斑

路路

路路

松

斑

松

母

松

母

路路

母

松

母

路路

母

母

母

母

母

数数数

* MATERIE

на изобретение

№ 2414696

ДИССОЦИАТИВНЫЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ НАНОСЕНСОР

Патентообладатель(ли): Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный университет информационных технологий, механики и оптики" (RU)

Автор(ы): см. на обороте

路 路 路 路 路

路路

松

路

母

松

母

路

松

路路

岛

母

路路

岛

路路

母

母

岛

母

松

母

口口口

松

路

母

母

路路

岛

斑

岛

段

路路

岛

Заявка № 2008147101

Приоритет изобретения 19 ноября 2008 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 20 марта 2011 г.

Срок действия патента истекает 19 ноября 2028 г.

Руково<mark>дитель Федеральной службы по инте</mark>ллектуальной собственности, патентам и товарным знакам

Decey

Б.П. Симонов



(51) ΜΠΚ *G01N* 21/62 (2006.01) *B82B* 1/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ, ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2008147101/28, 19.11.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 19.11.2008

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 19.11.2008

(43) Дата публикации заявки: 27.05.2010 Бюл. № 15

(45) Опубликовано: 20.03.2011 Бюл. № 8

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 02/100805 A2, 19.12.2002. US 2007/0212746 A, 13.09.2007. WO 2006/083269 A2, 10.08.2006. RU 2313778 C1, 27.12.2007.

Адрес для переписки:

197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49, ГОУВПО"СПБГУ ИТМО", ОИС и НТИ

относится

(72) Автор(ы):

Баранов Александр Васильевич (RU), Вениаминов Андрей Викторович (RU), Виноградова Галина Николаевна (RU), Воронин Юрий Михайлович (RU), Германова Надежда Михайловна (RU), Маслов Владимир Георгиевич (RU), Орлова Анна Олеговна (RU), Парфенов Петр Сергеевич (RU), Федоров Анатолий Валентинович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный университет информационных технологий, механики и оптики" (RU)

(54) ДИССОЦИАТИВНЫЙ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ НАНОСЕНСОР

области

(57) Реферат:

Изобретение

2

C

9

တ

ဖ

4

4

2

приборостроения. Наносенсор включает в себя полупроводниковые нанокристаллы (квантовые точки, КТ), связанные посредством координационной связи c молекулами органического красителя в комплекс, в котором собственная люминесценция отсутствует. В наносенсор входят гидрофобные КТ и молекулы гидрофобных органических красителей, экстрагирующие ионы металлов и (или) ионы водорода из водной среды в гидрофобную среду и образовывающие с ними комплексы. При этом наносенсор может быть помещен в тонкую гидрофобную полимерную пленку, допускающую диффузию металлов и ионов водорода, или может находиться в гидрофобной жидкой среде, имеющей фазовую границу с анализируемой

пробой. Технический результат - повышение чувствительности и упрощение методики изготовления наносенсора. 5 з.п. ф-лы, 6 ил.

တ

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2008147101/28**, **19.11.2008**

(24) Effective date for property rights: 19.11.2008

Priority:

(22) Date of filing: 19.11.2008

(43) Application published: **27.05.2010** Bull. 15

(45) Date of publication: 20.03.2011 Bull. 8

Mail address:

197101, Sankt-Peterburg, Kronverkskij pr., 49, GOUVPO"SPbGU ITMO", OIS i NTI

(72) Inventor(s):

Baranov Aleksandr Vasil'evich (RU), Veniaminov Andrej Viktorovich (RU), Vinogradova Galina Nikolaevna (RU), Voronin Jurij Mikhajlovich (RU), Germanova Nadezhda Mikhajlovna (RU), Maslov Vladimir Georgievich (RU), Orlova Anna Olegovna (RU), Parfenov Petr Sergeevich (RU), Fedorov Anatolij Valentinovich (RU)

RU⁽¹¹⁾ 2 414 696⁽¹³⁾ C2

(73) Proprietor(s):

Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija "Sankt-Peterburgskij gosudarstvennyj universitet informatsionnykh tekhnologij, mekhaniki i optiki" (RU)

တ

റ

(54) DISSOCIATIVE LUMINESCENT NANOSENSOR

(57) Abstract:

FIELD: instrument making.

SUBSTANCE: nanosensor comprises semi-conductor nanocrystals (quantum points, QP) joined by means of coordination joint to molecules of organic dye into complex, in which own luminescence of QP is not available. Nanosensor comprises hydrophobic QP and molecules of hydrophobic organic dyes, extracting ions of metals and (or) ions of hydrogen from water medium into hydrophobic medium, forming complexes with them. At that nanosensor may be placed into thin hydrophobic polymer film, allowing for diffusion of metal ions and hydrogen ions, or may be arranged in hydrophobic liquid medium, having phase difference with analysed sample.

EFFECT: improved sensitivity and simplified procedure of nanosensor making.

6 cl, 6 dwg

J 24146

2

2

C

9

တ

Изобретение относится к устройствам, материалам и методам, предназначенным для качественного и количественного анализа ионов металлов или ионов водорода (определения изменения уровня кислотности, рН) в анализируемой пробе, и может быть использовано в медицине, биологии, экологии и различных отраслях промышленности.

Известен люминесцентный сенсор, состоящий из полупроводниковых нанокристаллов (квантовых точек, КТ), полимера и органических молекул, в котором отклик на наличие аналита в пробе состоит в изменении измеряемой интенсивности собственной люминесценции КТ, обусловленном вызванным наличием аналита сдвигом спектра поглощения органических молекул, которые частично поглощают люминесценцию полупроводниковых наночастиц ("Ion-selective quantum dots", авторы Clark H.A., Harjes D.I., Dubach J.M. Патент США US/2008/0131909, кл. G01N 33/53, C12Q 1/20, C12M 1/34, заявка 11/888663, дата публикации 05.06.2008, приоритет 31.07.2007).

Известны диссоциативные люминесцентные сенсоры, в которых отклик на наличие аналита в пробе состоит в увеличении сигнала собственной люминесценции полупроводниковых нанокристаллов, вызванном диссоциацией их комплекса с органическим красителем в присутствии определяемого аналита, при этом стабильность комплекса в отсутствие аналита обеспечивается специальными связывающими молекулами - "линковщиками":

- 1. "Quantum dot nanoparticle-based universal neurotoxin biosensor", автор Bauer D. Патент США US/2007/212746, кл. C12Q 1/46, C12M 3/00, заявка 11/684109, дата публикации 13.09.2007, приоритет 09.03.2007, заявитель Bauer D.
- 2. "Luminescent nanosensor", автор Mogul R. Мировой патент WO/2006/083269, кл. G01N 33/00, G01N 33/53, G01N 33/553, заявка PCT/US2005/016818, дата публикации 10.08.2006, приоритет 13.05.2005, заявитель Florida Atlantic University.
- 3. "Detection method for specific biomolecular interactions using FRET between metal nanoparticle and quantum dot", авторы Kim H.-S., Oh E., Hong M.-Y., Lee D., Nam S. Патент США US/2006/0183247, кл. G01N 33/553, заявка 11/355069, дата публикации 17.08.2006, приоритет 16.02.2006.

Недостатками рассмотренных выше аналогов являются чувствительность, пониженная из-за наличия люминесценции КТ в отсутствие аналита, и достаточно сложная технология создания сенсора.

Наиболее близким аналогом (прототипом) предлагаемого технического решения является решение, защищенное патентом "Colorimetric nanocrystal sensors, methods of making, and use thereof", авторы Miller B.L., Krauss T.D. Мировой патент WO/02/100805, кл. С07С, заявка РСТ/US02/18760, дата публикации 19.12.2002, приоритет 13.06.2001, заявитель University of Rochester. Согласно прототипу сенсор представляет собой комплекс полупроводниковой наночастицы и органического люминофора или металлической наночастицы, связанных с помощью лиганда, также способного к образованию комплексов с молекулами анализируемого вещества, причем степень его связывания с молекулами аналита выше, чем степень связывания с полупроводниковым нанокристаллом. Собственная люминесценция полупроводниковой наночастицы в комплексе с органическим люминофором частично потушена в результате переноса энергии внутри комплекса. При добавлении в пробу аналита происходит диссоциация комплекса, приводящая к увеличению интенсивности люминесценции полупроводниковой наночастицы, которое регистрируется как признак наличия аналита и может служить для количественной

оценки его концентрации.

Прототип имеет следующие недостатки:

- 1) принципиально ограниченные чувствительность и точность определения аналита, обусловленные тем, что КТ, входящие в состав сенсора, люминесцируют как в присутствии аналита в пробе, так и в его отсутствие, и наличие аналита в пробе определяется по изменению интенсивности люминесценции полупроводниковых нанокристаллов (разностный метод), а не по наличию или отсутствию люминесценции;
- 2) избыточная сложность композиции сенсора, включающей, помимо КТ и красителя, дополнительный связывающий агент, что усложняет и удорожает изготовление сенсоров.

Решается задача повышения чувствительности определения ионов металлов и водорода при упрощении композиции.

Сущность предлагаемого изобретения состоит в том, что КТ и органические молекулы, образующие диссоциативный люминесцентный сенсор, связываются в комплекс не с использованием дополнительного компонента, а посредством координационной связи молекул красителя с поверхностными ионами металла нанокристалла. При координационном типе связывания осуществляется непосредственный контакт молекулы с поверхностью нанокристалла, что обеспечивает максимальную эффективность переноса энергии. Собственная люминесценция КТ в таком комплексе полностью потушена за счет безызлучательного переноса энергии от КТ к молекуле органического красителя. Степень связывания молекул органического красителя с поверхностными ионами нанокристалла существенно ниже степени связывания данных молекул с детектируемыми свободными ионами, присутствующими в анализируемой пробе, поэтому при наличии аналита в пробе происходит диссоциация комплекса и появляется собственная люминесценция КТ, являющаяся индикатором наличия в пробе определяемого аналита. Интенсивность люминесценции служит количественной мерой концентрации ионов в анализируемой пробе. Тот факт, что люминесценция возникает только в присутствии аналита (нуль-метод), обеспечивает предлагаемому подходу принципиальное превосходство по чувствительности над аналогичными решениями, основанными на измерении разности сигналов (разностные методы).

Диссоциативный люминесцентный наносенсор, представляющий собой координационный комплекс полупроводникового нанокристалла и органических молекул, может быть расположен в полимерной пленке, не препятствующей проникновению определяемых ионов к наносенсору, либо в жидкой гидрофобной фазе, имеющей фазовую границу с исследуемой пробой. Это обеспечивает следующие дополнительные преимущества по сравнению с прототипом, предполагающим введение люминесцентных наносенсоров непосредственно в раствор:

- 1) удобство использования, упрощение пробоподготовки заранее приготовленная пленка помещается в исследуемый раствор;
- 2) возможность проведения параллельного люминесцентного анализа большого числа пространственно разделенных микропроб, наносимых в виде двумерной матрицы на пленку с наносенсорами, метода, аналогичного используемому для анализа «биочипов»;
- 3) возможность использования гидрофобных КТ, более дешевых и при этом обладающих значительно более высоким квантовым выходом люминесценции, чем гидрофильные КТ, используемые в большинстве аналогов.

Сущность предлагаемого изобретения поясняется фиг.1-6, где

на фиг.1 приведена структурная формула 1-(2-пиридилазо)-2-нафтола; на фиг.2 представлены спектры люминесценции пленочного сенсора: 1 - до обработки раствором азотнокислого кобальта; 2 - после обработки раствором азотнокислого кобальта с концентрацией 3.8×10^{-5} M; 3 - после обработки раствором азотнокислого кобальта с концентрацией 3.6×10^{-4} M;

на фиг.3 приведена зависимость относительной интенсивности люминесценции пленочного сенсора от концентрации ионов кобальта в анализируемой пробе;

на фиг.4 представлены спектры люминесценции пленочного сенсора: 1 - до обработки раствором сернокислого никеля; 2 - после обработки раствором сернокислого никеля с концентрацией 7.0×10^{-5} M; 3 - после обработки раствором сернокислого никеля с концентрацией 3.5×10^{-4} M; 4 - после обработки раствором сернокислого никеля с концентрацией 7.0×10^{-4} M;

на фиг.5 приведена зависимость относительной интенсивности люминесценции пленочного сенсора от концентрации ионов никеля в анализируемой пробе;

15

на фиг.6 приведена зависимость относительной интенсивности люминесценции пленочного сенсора от уровня кислотности.

В качестве примера нами были создан диссоциативный люминесцентный наносенсор, представляющий собой координационные комплексы полупроводниковых нанокристаллов и органических молекул, внедренные в полимерную пленку (пленочный сенсор). Были использованы КТ CdSe/ZnS диаметром 2.5 нм с максимумом люминесценции 530 нм, синтезированные в соответствии с известной процедурой (Sukhanova A., Baranov A.V., Perova T.S., Cohen J.H.M., and Nabiev I. Controlled Self-Assembly of Nanocrystals into Polycrystalline Fluorescent Dendrites with Energy-Transfer Properties. Angew. Chemie Int. Ed. 45(13), 2048-2052 (2006)).

В качестве органического красителя использовался 1-(2-пиридилазо)-2-нафтол (ПАН), который широко применяется в качестве металлоиндикатора. Структурная формула ПАН приведена на фиг.1. ПАН нерастворим в воде, но может экстрагировать из водной среды в хлороформ, бензол, четыреххлористый углерод и т.д. ионы многих металлов и образовывать с ними хелатные комплексы, в которых ионы металлов замещают водород оксигруппы и координационно связываются с атомами азота азогруппы.

Нами были приготовлены отдельно толуольные растворы КТ (концентрация 5,8×10⁻⁴ М) и ПАН (концентрация 5,8×10⁻³ М). Затем они смешивались с полиуретановым двухкомпонентным клеем Novacote NC-250-A+CA-350 фирмы NOVACOTE в следующих соотношениях: 1,5 мл раствора КТ+1,5 мл раствора ПАН+1 мл клея Novacote NC-250-A+CA-350. Полученную смесь наносили на лавсановую подложку, после нанесения пленки сушились около 15 минут при температуре воздуха 100°C, а затем в течение суток при комнатной температуре. При таком объемном соотношении полимерного клея и вводимых в него толуольных растворов нами были получены пленки толщиной от 1 до 3 мкм с молярным соотношением КТ и ПАН 1 к 10.

Полимерную пленку (способ приготовления см. выше) помещали в кювету с дистиллированной водой под 45° и проводили регистрацию спектров люминесценции с помощью спектрофлуориметра "Флюорат-2-Панорама" (Люмекс, Россия).

Для получения зависимости интенсивности люминесценции пленочного сенсора от концентрации ионов кобальта в анализируемой пробе одинаковые по площади образцы сенсора были выдержаны в растворах азотнокислого кобальта различной

концентрации - от 3.8×10^{-5} М до 9.9×10^{-4} М. В случае анализа растворов на наличие ионов никеля использовались растворы сернокислого никеля с концентрациями от 7.0×10^{-5} М до 1.0×10^{-4} М. После этого образцы сенсора вынимались из растворов и проводилась регистрация их спектров люминесценции. На фиг.2 приведены спектры люминесценции образцов пленочного сенсора до и после воздействия на них раствором азотнокислого кобальта: 1 - до обработки раствором азотнокислого кобальта с концентрацией 3.8×10^{-5} М; 3 - после обработки раствором азотнокислого кобальта с концентрацией 3.6×10^{-4} М. Видно, что увеличение концентрации ионов кобальта в пробе приводит к существенному увеличению сигнала люминесценции сенсора.

Параллельно с появлением и ростом люминесценции наблюдалось изменение окраски пленочного сенсора с сиреневой на серо-зеленую, что свидетельствует о диссоциации комплексов КТ/ПАН и об образовании комплексов ПАН/ионы кобальта. На фиг.3 приведена зависимость относительной интенсивности люминесценции пленочного сенсора от концентрации ионов кобальта в анализируемой пробе.

Нами было исследовано воздействие ионов никеля на пленочный сенсор. На фиг.4 приведены спектры люминесценции образцов пленочного сенсора до и после обработки их раствором сернокислого никеля: 1) до обработки раствором сернокислого никеля с концентрацией 7.0×10^{-5} M; 3) после обработки раствором сернокислого никеля с концентрацией 3.5×10^{-4} M; 4) после обработки раствором сернокислого никеля с концентрацией 7.0×10^{-4} M.

Так же как и при воздействии на пленочный сенсор раствором азотнокислого кобальта, наличие в анализируемой пробе ионов никеля приводит к появлению отклика сенсора и его заметному увеличению с ростом концентрации ионов никеля в пробе. На фиг.5 представлена зависимость относительной интенсивности люминесценции пленочного сенсора от концентрации ионов никеля в анализируемой пробе.

Нами была получена зависимость интенсивности люминесценции пленочного сенсора с комплексами КТ/ПАН от уровня кислотности анализируемой пробы, приведенная на фиг.6. Пленочный сенсор помещался в кювету с дистиллированной водой, в которую затем было последовательно добавлено 0,5; 1,5; 4,0 и 4,5 мкл 100% уксусной кислоты, что соответствует рН раствора 5,72; 5,33; 4,99 и 4,75 соответственно, и через определенное время после каждой добавки (10 мин) регистрировалась люминесценция образца. Из чертежа видно, что образец реагировал на последовательное увеличение концентрации кислоты в кювете: после каждой добавки наблюдалось увеличение интенсивности люминесценции. При данных величинах добавок уксусной кислоты вымывания ПАНа из пленки не наблюдалось, после эксперимента цвет пленки не изменился. Это свидетельствует о том, что большая часть комплексов КТ/ПАН не диссоциировала.

Таким образом, предлагаемое изобретение обладает повышенной чувствительностью определения ионов металлов и водорода, простотой изготовления и отсутствием необходимости в специальной пробоподготовке.

Формула изобретения

50

1. Диссоциативный люминесцентный наносенсор, представляющий собой комплекс, состоящий из люминесцирующих полупроводниковых нанокристаллов и связанных с

RU 2414696 C2

ними молекул органического красителя, отличающийся тем, что молекулы органического красителя связаны с поверхностными ионами металла полупроводникового нанокристалла посредством координационной связи при непосредственном контакте молекулы органического красителя с поверхностью нанокристалла.

- 2. Диссоциативный люминесцентный наносенсор по п.1, отличающийся тем, что собственная люминесценция полупроводниковых нанокристаллов в комплексе отсутствует.
- 3. Диссоциативный люминесцентный наносенсор по любому из пп.1, 2, отличающийся тем, что в состав комплекса входят гидрофобные полупроводниковые нанокристаллы.
- 4. Диссоциативный люминесцентный наносенсор по п.3, отличающийся тем, что в состав комплекса входят молекулы гидрофобных органических красителей, способные образовывать комплекс с ионами металлов и(или) ионами водорода.
- 5. Диссоциативный люминесцентный наносенсор по п.4, отличающийся тем, что наносенсор помещен в тонкую гидрофобную полимерную пленку, не препятствующую проникновению определяемых ионов к наносенсору.
- 6. Диссоциативный люминесцентный наносенсор по п.4, отличающийся тем, что наносенсор находится в гидрофобной жидкой среде, имеющей фазовую границу с анализируемой пробой.

25

20

10

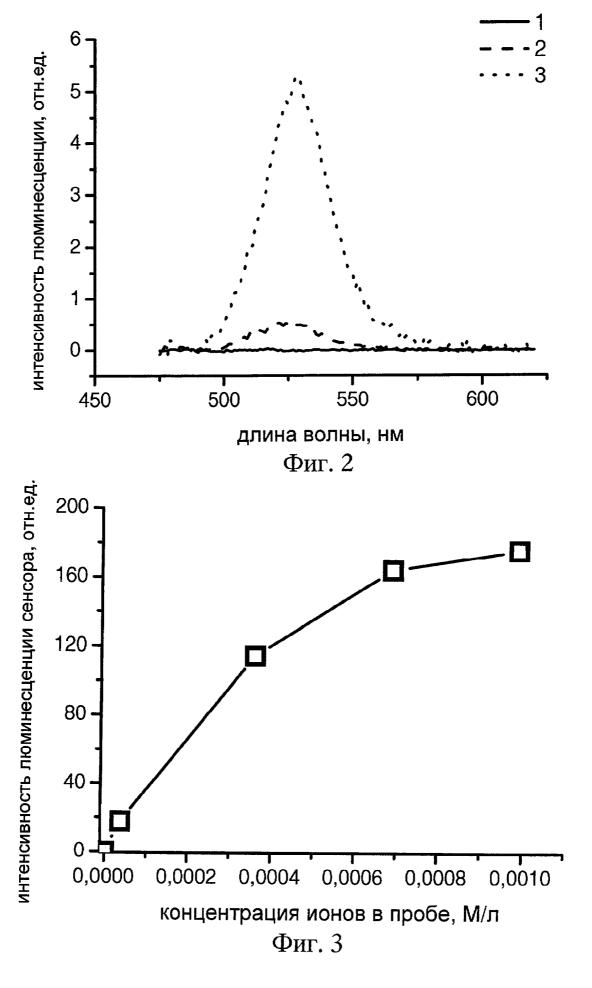
30

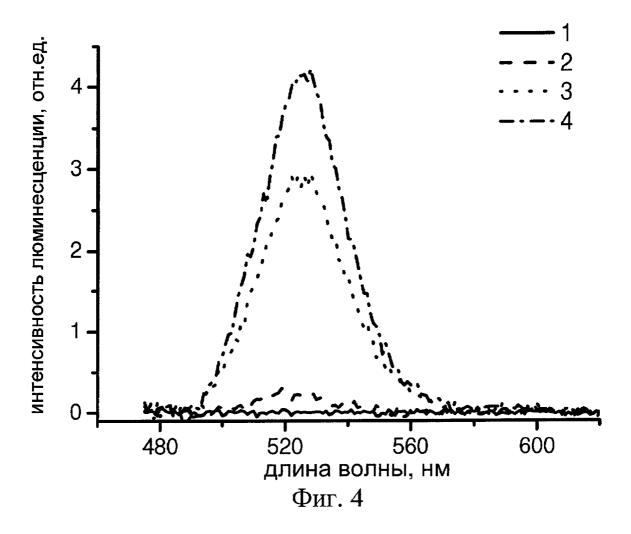
35

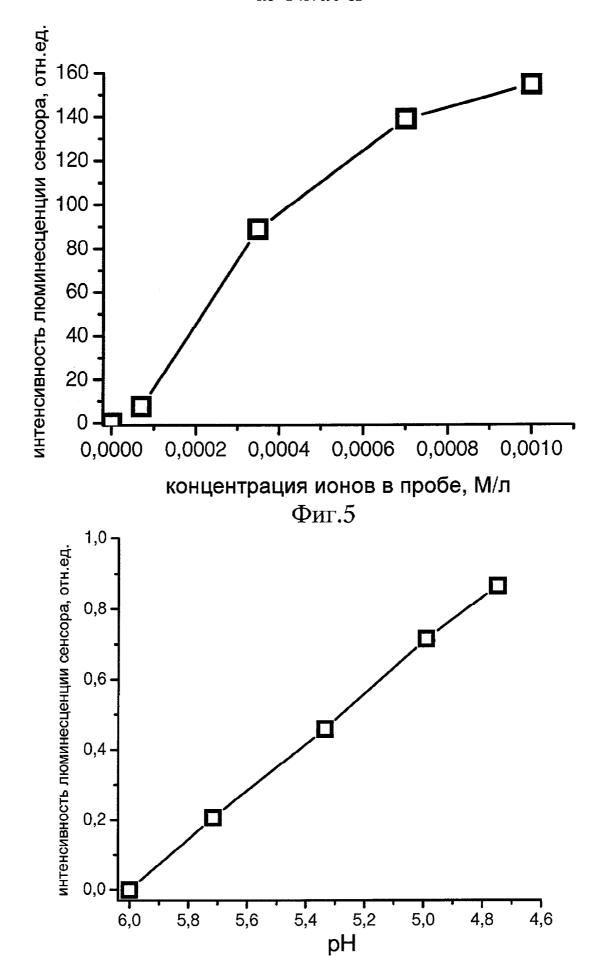
40

45

50







Стр.: 10

Фиг. 6