

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

307 934

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2018-43**
(22) Přihlášeno: **29.01.2018**
(40) Zveřejněno: **28.08.2019**
(Věstník č. 35/2019)
(47) Uděleno: **17.07.2019**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **28.08.2019**
(Věstník č. 35/2019)

A61K 49/18 (2006.01)
C01G 23/04 (2006.01)
C01G 37/02 (2006.01)
C01G 25/02 (2006.01)
B82B 1/00 (2006.01)
B82B 3/00 (2006.01)
B82Y 25/00 (2011.01)
B82Y 30/00 (2011.01)

(56) Relevantní dokumenty:

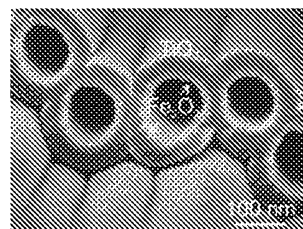
EP 2254838; WO 2009135446.

(73) Majitel patentu:
Univerzita Pardubice, Pardubice, Polabiny, CZ

(72) Původce:
Mgr. Rudolf Kupčík, Radimčř, CZ
Dr. Ing. Jan Macák, Pardubice, Cihelna, CZ
doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D., Sezemice, CZ

(74) Zástupce:
Ing. Dobroslav Musil, patentová kancelář, Ing.
Dobroslav Musil, Zábrdovická 801/11, 615 00
Brno, Zábrdovice

kovu rozkládá za vzniku souvislé rovnoměrné vrstvy
magneticky aktivního oxidu kovu uložené
prostřednictvím kovalentní vazby na povrchu nano-
a/nebo mikrostruktur.



(54) Název vynálezu:

**Způsob pro přípravu magnetického
kompozitního nosiče na bázi oxidů kovů pro
separaci biomolekul**

(57) Anotace:

Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul, který obsahuje jádro tvořené nano- a/nebo mikrostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, na kterém je uložený oxid alespoň jednoho magneticky aktivního kovu, přičemž se nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu ze skupiny Ti, Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Ce, Al, Si, Sn, Ge, Ga, nejprve hydratují ponořením do deionizované vody nebo vystavením vodní páře, přičemž se na jejich povrch naváží hydroxylové skupiny, takto hydratované nano- a/nebo mikrostruktury se vystaví atmosféře inertního plynu, čímž se inertizují a odstraní se z nich nežádoucí plyny, poté se takto inertizované nano- a/nebo mikrostruktury vystaví alespoň jednomu plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu, přičemž se tento plynný prekursor naváže na hydroxylové skupiny hydratovaných nano- a/nebo mikrostruktur a vytvoří na jejich povrchu souvislou rovnoměrnou vrstvu, načež se nano- a/nebo mikrostruktury s vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu vystaví alespoň jednomu plynnému oxidačnímu prekursoru, přičemž při následné reakci prekursoru magneticky aktivního kovu a oxidačního prekursoru se prekursor magneticky aktivního oxidu

CZ 307934 B6

Způsob pro přípravu magnetického kompozitního nosiče na bázi oxidů kovů pro separaci biomolekul

5 Oblast techniky

Vynález se týká způsobu pro přípravu magnetického kompozitního nosiče na bázi oxidů kovů pro separaci biomolekul.

10

Dosavadní stav techniky

15 Separační schopnosti oxidů přechodných a některých dalších kovů a polokovů (např. Ti, Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Al, Sn, Si, Ce nebo Ga) představují veliký potenciál pro biotechnologické, a hlavně biomedicínské využití. Jedná se zejména o využití těchto materiálů pro separační techniky v oboru analýzy a přípravy biologicky aktivních substancí a látek specifických struktur, zejména pro farmaceutické nebo biomedicínské aplikace.

20 V odborné literatuře se v tomto smyslu popisuje úspěšné použití mikročástic těchto materiálů pro izolaci fosforylovaných peptidů. Tyto peptidy jsou nejčastěji izolovány na TiO₂ mikročásticích, jejichž velikost se pohybuje v rozmezí 3 až 5 mikrometrů – viz např. M.R. Larsen et al.: „*Highly selective enrichment of phosphorylated peptides from peptide mixtures using titanium dioxide microcolumns*“, Molecular & Cellular Proteomics 4 (2005) 873–886, nebo G.T. Cantin et al.: „*Optimizing TiO₂-Based Phosphopeptide Enrichment for Automated Multidimensional Liquid*
25 *Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry*“, Anal. Chem. 2007, 79, 4666–4673. Dané mikročástice jsou přitom pro fosforylované peptidy mnohem selektivnější než klasická chromatografie IMAC s chelatačně vázaným Fe³⁺, neboť je vázou velice silně a specificky především v přítomnosti látek potlačujících nespecifickou sorpci. Mikročástice na bázi TiO₂ pro izolaci fosforylovaných peptidů o průměru několika jednotek mikrometrů jsou komerčně
30 dostupné na trhu např. pod označením Titansphere™ TiO (GL Sciences), magnetické mikročástice TiO₂ o průměru několika desítek mikrometrů pak pod označením TiO₂ Mag Sepharose (GE Healthcare).

35 Dalším materiálem vhodným pro izolace fosforylovaných peptidů/proteinů, který však nenachází tak rozsáhlé uplatnění jako TiO₂, je např. také ZrO₂ – viz Li Y. et al.: „*Preparation of Fe₃O₄@ZrO₂ Core–Shell Microspheres as Affinity Probes for Selective Enrichment and Direct Determination of Phosphopeptides Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry*“, Journal of Proteome Research, 2007, Vol. 6, no. 11, p. 4498–4510.

40 Kromě toho lze fosforylované peptidy/proteiny specificky izolovat také pomocí nosiče na bázi čistého Fe₃O₄, který využívá podobných interakcí jako nosič IMAC s Fe³⁺ ionty – viz např. Aera, L. et al.: „*Enrichment of phosphopeptides using bare magnetic particles*“, Rapid Commun. Mass Spectrum., 2008; vol. 22, p. 2561–2564.

45 Pro izolaci nukleových kyselin je pak známo např. použití magnetických nanočástic pokrytých SiO₂, které mohou být navíc modifikovány aminoskupinou – viz např. Bai Y. et al.: „*A rapid method for the detection of foodborne pathogens by extraction of a trace amount of DNA from raw milk based on amino-modified silica-coated magnetic nanoparticles and polymerase chain reaction*“, Analytica Chimica Acta, 787, (2013), 93–101.

50

Nedávno pak byla popsána také technika, která je založená na využití afinity fosfátové skupiny nukleových kyselin k TiO₂ materiálům – viz např. Amano T., et. al.: „*Preparation of DNA-adsorbed TiO₂ particles — Augmentation of performance for environmental purification by increasing DNA adsorption by external pH regulation*“, Science of the Total Environment, 408,
55 (2010), 480–485, případně KR 20070062940, ze kterého je známý způsob separace

deoxyribonukleové kyseliny prostřednictvím nemagnetických mezoporézních materiálů vyrobených z TiO_2 .

Pro přípravu těchto materiálů, zejména ve formě mikročástic a nanočástic, se v současné době používá několik různých způsobů: 1) hydrolytický způsob založený na hydrolyze vhodné anorganické soli prekursoru (např. TiCl_4), při němž se z roztoku získávají přímo mikročástice oxidu daného kovu (např. TiO_2), které se v případě potřeby dočistí následným přežahem; 2) sol-gel metody, u kterých mikročástice oxidu kovu vznikají hydrolyzou solu vhodného organického prekursoru na bázi alkoxidu daného kovu (např. butoxidu titanu) vhodnou kyselinou s polykondenzací produktu hydrolyzy a následným vysušením a přežahem; 3) pyrolýza, kdy se mikročástice připravují tepelným rozkladem vhodného prekursoru (např. rozkladem chloridu titaničitého na TiO_2).

Při vhodném přizpůsobení reakční směsi lze sol-gel metody použít také pro přípravu nanočástic oxidu kovu, např. TiO_2 – viz např. P.D. Macwan et al.: „*A review on nano-TiO₂ sol-gel type syntheses and its applications*“, J. Mater. Sci., 46, (2011), 3669–3886.

Dalším známým postupem pro přípravu nanočástic oxidů kovů je mletí mikročástic v kulovém mlýnu (tzv. ball-milling). Tento postup není při využití speciální instrumentace složitý na zvládnutí; jeho nevýhodou je ale shlukování vytvářených nanočástic, ke kterému během něj dochází. V namleté frakci se díky tomu nachází částice s velkým rozsahem průměrů (od jednotek nanometrů až po jednotky mikrometrů), které se od sebe špatně oddělují.

Kromě přípravy (obvykle kulovitých) mikročástic a nanočástic oxidů kovů jsou v řadě dalších publikací popsány také způsoby pro přípravu mikro- nebo nanostruktur oxidů kovů s jinou morfologií.

Např. z publikace J.M. Macak et al.: „*High-Aspect-Ratio TiO₂ Nanotubes by Anodization of Titanium*“, Ang. Chem. Int. Ed. 44 (2005) 2100-2102 a také např. z WO 2009015329, WO 2010080703, US 20110160047, WO 2009157266 a WO 2005090236 je známý v současné době nejrozšířenější postup pro přípravu nanotubic TiO_2 založený na elektrochemické oxidaci titanu v prostředí vhodného elektrolytu, kdy na povrchu titanu dochází k růstu snadno oddělitelných vrstev vysoce uspořádaných nanotubic TiO_2 velmi unifikovaných rozměrů.

Obdobným způsobem lze za využití různých elektrolytů a anodizačních podmínek připravovat také nanotubice (a v určitých případech i nanopóry) oxidů jiných přechodných kovů např. Hf_2O_5 , Nb_2O_5 , ZrO_2 a jiných oxidů, jako např. Al_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 , CeO_2 a Ga_2O_3 – viz např. J.M. Macak et al.: „*TiO₂ nanotubes: Self-organized electrochemical formation, properties and applications*“, Curr. Opin. Solid State Mater. Sci. 1-2 (2007) 3 a K. Lee et al.: „*One-Dimensional Titanium Dioxide Nanomaterials: Nanotubes*“, Chem. Rev. 114 (2014). 9385-9454. Jako nejvýhodnější se přitom jeví použití elektrolytů na bázi roztoků ethylenglykolu, nebo glycerolu a fluoridu amonného s přídavkem vody. Ve všech případech jsou výsledkem vrstvy samoorganizovaných nanotubic nebo nanopórů s průměrem od 5 do 250 nm a tloušťkou této vrstvy 500 nm až 1 mm.

Z publikace T. Kasuga et al.: „*Formation of titanium oxide nanotube*“, Langmuir, 14, (1998), 3160-3163 je pak známý postup pro přípravu nanotubic TiO_2 založený na bázi hydrotermální konverze vhodných nanočástic TiO_2 v přítomnosti NaOH . Nevýhodou tohoto postupu je, že vede k přípravě směsi nanotubic TiO_2 , ve které jsou zastoupeny frakce nanotubic různých průměrů, což je z aplikačního hlediska nežádoucí.

Znamé postupy pro přípravu nanovláken oxidů kovů jsou pak založeny především na elektrostatickém, nebo nověji odstředivém zvlákňování vhodného roztoku polymeru, který obsahuje prekursor daného oxidu kovu organické povahy na bázi alkoxidů (např. butoxid, propoxid Ti). Např. Li & Xia: „*Fabrication of Titania Nanofibers by Electrospinning*“, Nano Lett. 3 (2003) 555-560 popisuje zvlákňování roztoků alkoxidů titanu rozpuštěných v organických

rozpouštědlech polymerů s přidavkem zvodivující látky (např. kyseliny fosforečné). Tyto roztoky jsou však nevhodné pro průmyslovou přípravu, neboť jsou velmi nestabilní a nanovlákná z nich vytvořená krátce po svém vzniku intenzivně hydrolyzují.

5 Z WO 2009135446 a WO 2009135448 je pak známý postup pro přípravu nanovláken TiO_2 a dalších oxidických materiálů elektrostatickým zvlákňováním roztoků alkoxidů titanu s přidavkem chelatačního a stabilizačního činidla – acetylacetonátu – který výrazně zvyšuje stálost roztoků a stabilitu nanovláken v nekalcinovaném stavu. Z hlediska praktického využití pro separační aplikace (směrem k purifikaci biomolekul) je však výhodné kombinovat mikro- nebo nanostruktury TiO_2 nebo oxidu jiného přechodného nebo některého dalšího kovu nebo polokovu (např. Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Al, Sn, Si, Ce nebo Ga) s magnetickým, případně superparamagnetickým materiálem, neboť taková kombinace umožňuje rychlou separaci těchto částic od kapalně fáze pomocí silného magnetu při nulové ztrátě nosiče nebo vzorku, použití vsádkového uspořádání nebo provedení separace v koloně v tzv. dynamickém fluidním loži apod.

15 V literatuře jsou v tomto smyslu popsány první případy využití systému mikročástic tvořených jádrem Fe_3O_4 s obalem tvořeným TiO_2 pro separační aplikace fosfopeptidů – viz např. W.F. Ma et al. „*Tailor-Made Magnetic $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mTiO}_2$ Microspheres With a Tunable Mesoporous Anatase Shell for Highly Selective and Effective Enrichment of Phosphopeptides*“, ACS Nano 6 (2012), 3179-3188, nebo H. Li et al.: „*Synthesis of a new type of echinus-like $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TiO}_2$ core-shell-structured microspheres and their applications in selectively enriching phosphopeptides and removing phospholipids*“, J. Chromatography A, 1275 (2013) 9-16, případně WO 2009115176, nebo mesoporézních $\text{TiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ kompozitů – viz např. Q. Gao et al.: „*Facile synthesis of magnetic mesoporous titania and its application in selective and rapid enrichment of phosphopeptides*“, Materials Letters, 107, (2013), 202-205. I přes to, že tyto systémy vykazují určitou hrubou porozitu, je jejich nevýhodou relativně malý měrný povrch a díky tomu i nízká vazebná kapacita.

Dále je např. z Chen, C.-T. & Chen, Y.-C.: „ *$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{TiO}_2$ Core/Shell Nanoparticles as Affinity Probes for the Analysis of Phosphopeptides Using TiO_2 Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry*“, Analytical Chemistry 77 (2005), 5912–5919 známé využití laboratorně připravených nanočástic TiO_2 s magneticky aktivním jádrem tvořeným Fe_3O_4 pro obohacení fosfopeptidů pro následnou SALDI-MS (hmotnostní spektrometrie s ionizací laserem za účasti povrchu).

35 Z publikace Kupčík et al., „*New Interface for Purification of Proteins: One-Dimensional TiO_2 Nanotubes Decorated by Fe_3O_4 Nanoparticles*“, ACS Applied Materials & Interfaces, 9 (2017) 28233-28242 a českého patentu č. 305599 je dále známé využití elektrochemicky připravených nanotubic TiO_2 dekorovaných magnetickými částicemi Fe_3O_4 (z koloidního roztoku), určených pro separaci rekombinantních proteinů značených polyhistidinovou kotvou a jiných biomolekul z různých směsí.

Mimo materiálů kombinujících TiO_2 s magneticky aktivním jádrem jsou pro využití k separaci biomolekul v laboratorním měřítku známy také další kombinace materiálů. Příkladem jsou např. nanočástice obsahující jádro z NiO nebo Co_3O_4 , na kterém je uložena slupka Fe_3O_4 , určené pro purifikaci His-tagovaného proteinu – viz Zhen Liu et. al.: „*Hierarchical magnetic core-shell nanoarchitectures: non-linker reagent synthetic route and applications in a biomolecule separation system*“, Mater. Chem., 2012, 22, 2935-2942, nebo nanočástice obsahující jádro ze Fe_3O_4 , na kterém je uložena slupka ze ZnO sloužící k obohacení fosfopeptidů pocházejících z proteinů nacházejících se ve slinách – viz Wei-Yu Chen & Yu-Chie Chen: „*Functional $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{ZnO}$ magnetic nanoparticle-assisted enrichment and enzymatic digestion of phosphoproteins from saliva*“, Anal Bioanal Chem (2010) 398:2049–2057.

55 Z hlediska separační aktivity (vazebné schopnosti, specifčnosti vazeb) se jako výhodné jeví využití mikro- nebo nanostruktur, na jejichž povrchu jsou chemicky zastoupeny obě skupiny

oxidů, tj. jak oxidy přechodných nebo některých dalších kovů nebo polokovu, tak i magneticky aktivní oxidů na bázi Fe, Co a Ni. Pro mnoho separačních aplikací pak může být taková synergie velice přínosná.

- 5 V současné době však neexistuje postup, který by umožňoval efektivně a odolně vázat magneticky aktivní materiály na povrch mikro- nebo nanostruktur na bázi oxidů přechodných kovů a jiných kovů nebo polokovu (např. Al_2O_3 , SiO_2 , SnO_2 a Ga_2O_3) a vytvářet tak nosiče vhodné pro průmyslovou separaci biomolekul – např. fosforylovaných peptidů, rekombinantních peptidů/proteinů s polyhistidinovou kotvou (His-tag) či jinou, chemicky podobnou biospecifickou kotvou, peptidů/proteinů obsahujících cystein, a nukleových kyselin, apod.

Znamé depoziční metody (namáčení, nástřik atd.). sice umožňují ukládat na povrchu těchto mikro- nebo nanostruktur komerčně dostupné suspenze magnetických částic (tzv. ferrofluids) nebo samostatně připravené částice oxidů, avšak nevýhodou takových postupů je i) malá mechanická stabilita takto vytvořeného kompozitu – mezi oběma komponenty není vytvořena pevná chemická vazba, což vede k odpadávání a odmývání magnetických částic při využití kompozitu v dané aplikaci, ii) kontaminace vytvářeného kompozitu antikoagulační přísadou (např. ethylenglykolem), kterou jsou suspenze magnetických částic ošetřeny, a kterou z nich lze odstranit jen velmi obtížně. Takto připravené materiály na bázi TiO_2 se přitom v současné době kvůli malé odolnosti uložení částic magnetických oxidů na jejich povrchu používají pouze pro katalytické aplikace v přítomnosti světla o vhodné vlnové délce (tzv. fotokatalýzy) – viz např. T. Matsunaga et al.: “Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders“, FEMS Microbiol. Lett. 29, (1985), 211-214, případně jen pro separaci biomolekul v laboratorním, experimentálním, měřítku.

Cílem vynálezu je odstranit nevýhody stavu a navrhnout způsob přípravy stabilního magnetického kompozitního nosiče vhodného pro průmyslovou separaci biomolekul, který by vedl k dostatečně odolnému ukotvení magnetických nanočástic na bázi oxidů Fe, Co a Ni na povrchu mikro- nebo nanostruktur, jako např. nanotubic, nanovláken, nanočástic nebo mikročástic oxidů přechodných a některých dalších kovů nebo polokovů (např. Ti, Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Ce, Al, Sn, Si, Ga).

Podstata vynálezu

Cíle vynálezu se dosáhne způsobem pro přípravu magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul, který obsahuje jádro tvořené nano- a/nebo mikrostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, na kterém je uložený oxid alespoň jednoho magneticky aktivního kovu, jehož podstata spočívá v tom, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu ze skupiny Ti, Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Ce, Al, Sn, Ge, Ga, Si se nejprve hydratují ponořením do deionizované vody nebo vystavením vodní páře, přičemž se na jejich povrch naváží hydroxylové skupiny, a poté se takto hydratované nano- a/nebo mikrostruktury vystaví atmosféře inertního plynu o tlaku 1 až 20 mBar, čímž se inertizují a odstraňují se z nich nežádoucí plyny. Poté se takto inertizované nano- a/nebo mikrostruktury vystaví alespoň jednomu plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu, který se na ně naváže a vytvoří na jejich povrchu souvislou rovnoměrnou vrstvu, načež se nano- a/nebo mikrostruktury s vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu vystaví alespoň jednomu plynnému oxidačnímu prekursoru. Přitom dochází k reakci prekursoru magneticky aktivního kovu s tímto oxidačním prekursorem/prekursory, při které se prekursor magneticky aktivního oxidu kovu rozkládá za vzniku souvislé rovnoměrné vrstvy magneticky aktivního oxidu kovu uložené prostřednictvím kovalentní vazby na povrchu nano- a/nebo mikrostruktur. Tento postup vede k přípravě magnetického kompozitního nosiče s jádrem tvořeným nano- a/nebo mikrostrukturami oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, které mu poskytuje schopnost velmi efektivně vázat biomolekuly, přičemž na povrchu tohoto jádra je prostřednictvím kovalentní vazby odolně uložený alespoň jeden magneticky aktivní oxid

kovu, který tomuto nosiči poskytuje magnetické vlastnosti a díky tomu možnost efektivní separace z biologického média za pomoci magnetického pole.

5 Nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se alespoň jednomu plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu a alespoň jednomu plynnému oxidačnímu prekursoru vystavují opakovaně až do vytvoření vrstvy magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky – např. 0,1 až 20 nm, s výhodou pak 2 až 7 nm.

10 Pro vytvoření nosiče, který na svém povrchu obsahuje jak oxid přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, tak i alespoň jeden magnetický oxid kovu se nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu s uloženou vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu v atmosféře argonu nebo směsi argonu a vodíku s maximální podílem vodíku 10 % o tlaku 1 až 20 mBar vystaví teplotě 100 až 800 °C, s výhodou 300 až 500 °C. Přitom dochází k rekrystalizaci magneticky aktivního oxidu/oxidů kovu, v důsledku čehož se rozruší
15 jeho/jejich vrstva a z jejich kousků se vytvoří nanočástice stejného nebo jiného magneticky aktivního oxidu kovu kulového nebo v podstatě kulového tvaru, obvykle o průměru cca 5 až 10 nm. Na povrchu takto připraveného nosiče jsou pak prostřednictvím kovalentní vazby uloženy nanočástice magnetického oxidu/oxidů kovu, mezi kterými je odhalený povrch jádra. Tento proces probíhá alespoň 5 minut, s výhodou pak 5 až 25 minut.

20 Před uložení prekursoru alespoň jednoho magneticky aktivního kovu se nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu hydratují, přičemž se na jejich povrch navazují hydroxylové skupiny. Hydratace přitom probíhá po dobu alespoň 1 hodiny, s výhodou 1 až 2 hodin, ponořením těchto nano- a/nebo mikrostruktur do deionizované
25 vody, nebo jejich vystavením vodní páře na dobu alespoň 5 minut, s výhodou pak 5 až 10 minut.

Výhodným magneticky aktivním oxidem kovu je magneticky aktivní oxid Fe, Co nebo Ni, přičemž výhodným plynným prekursorem tohoto magneticky aktivního oxidu kovu je zejména organický prekursor, jako např. alkoxid, acetylacetonát, N,N'-diisopropylacetamid,
30 N,N'-diterbutylacetamid, tetramethylheptandionát, cyklopentadienyl, hexakarbonyl, apod., který obsahuje daný kov jako centrální atom, na němž je navázaný vhodný organický ligand, nebo jednodušší anorganický prekursor na bázi halogenu, dusičnanu, dusitanu daného kovu.

35 Nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se tomuto plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu vystaví v závislosti na svém množství, struktuře a prostorovém uspořádání na dobu 0,1 až 1000 sekund.

Výhodným plynným oxidačním činidlem je pak např. kyslík, ozón nebo vodní pára, přičemž je možné použít i směs alespoň dvou z nich.

40 Nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu s uloženou vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu se tomuto plynnému oxidačnímu činidlu vystaví v závislosti na svém množství, struktuře a prostorovém uspořádání na dobu 0,1 až 1000 sekund.

45 Vhodnými nanostrukturami oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu jsou nanovláknem, nanotrubice, nanočástice nebo vrstva oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu uložená na polymerním nanovláknem, případně jejich směs. Vhodnou mikrostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu je pak zejména mikročástice.

50 Vhodným oxidem přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, který tvoří jádro nosiče je zejména oxid ze skupiny TiO₂, ZrO₂, Ta₂O₅, HfO₂, WO₃, Nb₂O₃, Nb₂O₅, V₂O₅, V₂O₃, ZnO, MoO₂, MoO₃, CrO₂, Cr₂O₃, Cu₂O, CuO, CeO₂, Al₂O₃, SnO₂, Ge₂O₃, Ga₂O₃, SiO₂.

V případě, kdy je jádro nosiče tvořené nanotubicí oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, je hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na povrch jádra s výhodou 70:30 až 95:5, výhodněji 85:15.

5

V případě, kdy je jádro nosiče tvořené nanovláknem oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu nebo vrstvou oxidu tohoto kovu nebo polokovu uloženou na polymerním nanovlákně, je hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na povrch jádra s výhodou 70:30 až 95:5, výhodněji 85:15.

10

V případě, kdy je jádro nosiče tvořené nanočásticí oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, je hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na povrch jádra s výhodou 50:50 až 80:20, výhodněji 65:35.

15

V případě, kdy je jádro nosiče tvořené mikročásticí oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, je hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na povrch jádra s výhodou 95:5 až 99:1.

20

Pro úpravu délek nanovláken za účelem zvýšení mobility připraveného nosiče je možné na ně během hydratace alespoň 1 minutu, s výhodou 1 až 10 minut, působit ultrazvukem o frekvenci 40 až 200 kHz a výkonu 200 až 2000 W, případně je před hydratací mechanicky pomlít, např. na kulovém, tryskovém nebo kryostatickém mlýnu.

25

V případě, kdy jsou nano- a/nebo mikrostruktury přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu volně ložené, je výhodné, pokud se prekursor/prekursorům magnetického kovu a alespoň jednomu oxidačnímu prekursoru vystaví (a případně i hydratují) uložené v křemenné trubici uzavřené z obou stran keramickými fritami. Pro zlepšení difúze těchto prekursorů mezi tyto nano- a/nebo mikrostruktury, zejména nano- a/nebo mikročástice je výhodné, pokud se přitom tato křemenná trubice natřásá a/nebo vibruje.

30

Objasnění výkresů

35

Na přiložených výkresech je na obr. 1 SEM snímek magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu, jehož jádro je tvořené nanotubicí TiO_2 , na jejímž vnitřním i vnějším povrchu je uložena souvislá vrstva Fe_2O_3 , při zvětšení 200 000krát, na obr. 2 SEM snímek magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu, jehož jádro je tvořené nanovláknem TiO_2 , na jehož povrchu jsou uloženy nanočástice Fe_3O_4 , mezi kterými je odhalený povrch TiO_2 nanovláknů, při zvětšení 50 000krát.

40

Příklady uskutečnění vynálezu

45

Způsob pro přípravu magnetického kompozitního nosiče na bázi oxidu přechodného kovu (např. Ti, Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Ce) nebo některého jiného kovu nebo polokovu (např. Al, Sn, Ge, Ga, Si) použitelného např. pro separaci biomolekul podle vynálezu je kvůli své fyzikálně-chemické podstatě neslučitelný se standardními způsoby přípravy nano- a/nebo mikrostruktur (nanočástic, nanovláken, nanotubic, mikročástic) z těchto materiálů, které slouží jako jádro tohoto nosiče, a proto se provádí nezávisle na ní. Jako jádro budoucího nosiče tak lze využít nano- a/nebo mikrostruktury připravené předem některým ze známých způsobů pro jejich přípravu, vč. struktur komerčně dostupných. Při způsobu přípravy magnetického kompozitního nosiče podle vynálezu se na povrch těchto nano- a/nebo mikrostruktur ukládá souvislá vrstva alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu, zejména Fe, Co nebo Ni (např. Fe_3O_4 , Fe_2O_3 ,

55

CoO, NiO, apod.), kterou je následně ve výhodné variantě možné (nikoliv však bezpodmínečně nutné) rozrušit a její části přetvořit na individuální nanočástice. U této výhodné varianty se připraví magnetický kompozitní nosič s maximální vazebnou schopností a sorpční selektivitou pro purifikace biomolekul. V obou variantách způsobu přípravy magnetického kompozitního nosiče podle vynálezu lze využít libovolnou kombinaci oxidů kovů a polokovů z výše uvedených skupin.

Prvním krokem způsobu pro přípravu magnetického kompozitního nosiče na bázi oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu podle vynálezu je dostatečná hydratace výchozích nano- a/nebo mikrostruktur, která probíhá např. ponořením těchto struktur do deionizované vody nebo expozicí vodní páře, přičemž díky reaktivitě povrchů těchto struktur (danou přirozeně se vyskytujícími strukturními defekty) dochází k hydrataci jejich povrchu hydroxylovými skupinami (-OH skupiny). Takto upravené nano- a/nebo mikrostruktury se následně ukotví na vhodnou podložku, jako např. křemíkový wafer, kovový substrát, apod. (případně už jsou na takové podložce uloženy z procesu své přípravy) a nebo se uloží do křemenné trubice o vhodné velikosti a ve vakuové depoziční komoře se vystaví atmosféře dusíku nebo argonu, případně jiného inertního plynu, který zajistí potřebnou inertizaci povrchu těchto struktur a desorpci a odstranění nežádoucích plynů z jejich struktury. Tento krok probíhá při tlaku inertního plynu 1 až 20 mBar. Poté se povrch takto ošetřených nano- a/nebo mikrostruktur vystaví přítomnosti alespoň jednoho plynného prekursoru magneticky aktivního oxidu vhodného kovu (zejména Fe, Co, nebo Ni). Takovým vhodným prekurzorem je např. organický prekurzor (alkoxid, acetylacetonát, N,N'-diisopropylacetamid, N,N'-diterbutylacetamid, tetramethylheptandionát, cyklopentadienyl, hexakarbonyl, apod.), který obsahuje daný kov jako centrální atom, na němž je navázaný vhodný organický ligand, nebo jednodušší anorganický prekurzor na bázi halogenu, dusičnanu, dusitanu daného kovu. Při tomto kroku dochází díky chemické reaktivitě hydratovaného povrchu a daného plynného prekursoru ke vzniku pevné kovalentní vazby mezi tímto prekurzorem a hydroxylovými skupinami uloženými na nano- a/nebo mikrostruktuře. V důsledku toho je prekurzor na povrchu struktury velmi pevně navázan a přebytek nenavázaného prekursoru je díky tomu možné prouděním interního plynu odstranit. S výhodou se tak dosáhne vytvoření právě jedné souvislé homogenní vrstvy prekursoru pevně přichycené na celém povrchu nano-, resp. mikrostruktury. Poté se tyto nano- a/nebo mikrostruktury s alespoň jedním deponovaným prekurzorem magneticky aktivního oxidu kovu vystaví alespoň jednomu vhodnému plynnému oxidačnímu prekurzoru (např. kyslík, ozón, vodní pára apod.), přičemž při následné reakci těchto prekursorů dochází ke kompletnímu rozkladu prekursoru magneticky aktivního oxidu/oxidů kovů za vzniku souvislé vrstvy magneticky aktivního oxidu/oxidů kovů na povrchu nano- a/nebo mikrostruktur. Tato vrstva je přitom díky výše uvedené kovalentní vazbě, která si stále zachovává svoji pevnost a soudržnost, velmi pevně přichycena (deponovaná) na povrchu nano- a/nebo mikrostruktury. Vzhledem k fyzikálně-chemické podstatě tohoto postupu má vrstva magneticky aktivního oxidu/oxidů kovů vysokou chemickou čistotu a je uložena rovnoměrně na celém povrchu nano- a/nebo mikrostruktur. Při jednom cyklu však dochází k vytvoření pouze poměrně tenké vrstvy magneticky aktivního oxidu s tloušťkou cca 0,1 nm (podle zvoleného prekursoru). Proto je obvykle nutné tento postup několikrát (obecně 1krát až 200krát, s výhodou cca 20krát až 70krát) opakovat, až do vytvoření vrstvy magneticky aktivního oxidu/oxidů kovů tloušťky 0,1 až 20 nm. Pro praktické využití i případnou další úpravu této vrstvy je pak zejména výhodná tloušťka cca 2 až 7 nm.

Výše popsaný postup je stejný pro všechny výše uvedené oxidy kovů (a případně oxidy polokovů) a jejich kombinace a ve všech případech vede k ekvivalentnímu výsledku – nosiči, jehož jádro je tvořené nano- a/nebo mikrostrukturou oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu, na jehož povrchu je s vysokou mechanickou i chemickou odolností uložena souvislá homogenní vrstva tvořená alespoň jedním magneticky aktivním oxidem kovu.

V případě potřeby lze na nano- a/nebo mikrostrukturu oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu deponovat současně nebo postupně plynné prekurzory více než jednoho magneticky

aktivního oxidu kovu a vytvářet tak směsné magnetické oxidy a ferity (např. s obecným stechiometrickým vzorcem $\text{MeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$, nebo $\text{Me} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$, kde Me je kov).

5 Tímto způsobem se připraví magnetický kompozitní nosič pro separaci biomolekul s vysokou selektivitou, který je možné s výhodou použít při separačních procesech, např. dle českého patentu č. 305599, pro rychlou a efektivní separaci pevné složky (tj. kompozitního nosiče s navázanými biomolekulami, které se mají purifikovat) od kapalné (zbylé biologické médium) magnetickým polem.

10 Pokud není vrstva oxidu magnetického kovu na povrchu jádra nosiče extrémně tenká (cca do 2 nm), je na povrchu nosiče, tj. v části, která se účastní separačních reakcí přítomen pouze jeden typ materiálu – magneticky aktivní oxid/oxidy kovu. V důsledku toho takto vytvořený kompozitní nosič nedosahuje maximální vazebné schopnosti a sorpční selektivity a nedochází u něj k synergickému působení obou typů materiálů. Z tohoto hlediska je proto výhodnější
15 uspořádání, kdy jsou na povrchu magnetického kompozitního nosiče zastoupeny oba typy materiálů. V takovém případě se dosáhne jak specifické povrchové interakce oxidu přechodného nebo jiného oxidu vhodného kovu nebo polokovu s biomolekulami, které se na něj mají navázat, tak i zachování dostatečného magnetického příspěvku magneticky aktivního oxidu/oxidů kovu, který umožňuje efektivní kvantitativní odstranění kompozitu z čištěného média a jeho regeneraci.
20 Takového uspořádání se dosáhne např. přezahem magnetického kompozitního nosiče na jehož povrchu je uložena vrstva magneticky aktivního oxidu/oxidů kovu, při němž dochází k rekrytalizaci toho magneticky aktivního oxidu/oxidů kovu, která má za následek rozrušení této vrstvy a přetvoření jejích částí na diskrétní nanočástice kulového nebo přibližně kulového tvaru o průměru cca 5 až 10 nm. Tímto postupem se tak vytvoří magnetický kompozitní nosič, na jehož
25 povrchu jsou zastoupeny oba typy materiálu. Vzhledem k tomu, že výchozí vrstva magneticky aktivního oxidu/oxidů kovu je po celém povrchu jádra nosiče souvislá a rovnoměrná, jsou také z ní vytvořené nanočástice rozmístěny po celém povrchu jádra nosiče v podstatě rovnoměrně. Přezah pak probíhá za teploty 100 až 800 °C a tlaku 1 až 20 mBar v atmosféře argonu nebo směsi argonu a vodíku (s obsahem vodíku do 10 %), obvykle po dobu 5 až 20 minut, případně i více.

30 Kromě velmi pevné vzájemné chemické vazby mezi jádrem nosiče tvořeným nano- a/nebo mikrostrukturou z oxidu přechodného nebo některého jiného kovu nebo polokovu a na jeho povrchu uloženou vrstvou nebo částicemi alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu je pro dosažení co nejvyšší separační účinnosti při purifikaci biomolekul (např.
35 (hyper)fosforylovaných proteinů a peptidů, rekombinantních His-tag proteinů, biopolymerů na bázi DNK a RNK molekul, apod.) nutné zajistit také dostatečnou magnetickou aktivitu, která tomuto nosiči v konečném důsledku poskytuje velkou hybnost v různých médiích a v magnetickém poli. Určující pro dosažení vhodné kombinace těchto vlastností je pak váhový poměr oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu a magneticky aktivního oxidu/oxid
40 kovu, přičemž ideální poměr je dán mj. také morfologií jádra kompozitního nosiče.

Nejvhodnější variantou magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu je magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené nanotubicí z oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu (zejména TiO_2 , ZrO_2 , Ta_2O_5 , HfO_2 , WO_3 , Nb_2O_3 ,
45 Nb_2O_5 , V_2O_5 , V_2O_3 , ZnO , MoO_2 , MoO_3 , CrO_2 , Cr_2O_3 , Cu_2O , CuO , CeO_2 , Al_2O_3 , SnO_2 , Ge_2O_3 , Ga_2O_3 , SiO_2) na jejímž vnitřním i vnějším povrchu jsou uloženy nanočástice alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu, neboť toto uspořádání zajišťuje maximální ochranu nanočástic uložených v dutině nanotubic vůči externím, zejména fyzikálním vlivům (vymytí, uvolnění, ořez apod.). Navíc má tento kompozit obrovský specifický povrch, a díky tomu je (ve finální aplikaci
50 – tj. purifikaci biomolekul) schopen na svém povrchu pojmout v přepočtu na jednotku své váhy značné množství biomolekul, čímž se dosáhne jeho optimální využití. Ve výhodné variantě se jako jádro nosiče použijí nanotruby vyrobené elektrochemickou anodizací oxidů přechodných kovů, např. TiO_2 . Výhodný hmotnostní poměr oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu a magneticky aktivního oxidu kovu, resp. všech magneticky aktivních oxidů kovu je
55 pak 70:30 až 95:5. Obzvláště výhodný je pak hmotnostní poměr 85:15.

V další variantě magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu je jádro tohoto nosiče tvořené nanovláknem z oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu, případně vrstvou oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu uloženou na polymerním nanovlákně. Ve výhodné variantě provedení se jedná o nanovlákně připravené elektrostatickým nebo odstředivým zvlákněním roztoku vhodného prekurzoru. Výhodou tohoto provedení nosiče je velký specifický povrch a značná flexibilita ve volbě délek a průměrů nanovláken. Výhodný hmotnostní poměr oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu a magneticky aktivního oxidu kovu, resp. všech magneticky aktivních oxidů kovu je 85:15 až 98:2. Obzvláště výhodný je pak hmotnostní poměr 90:10.

Jinou variantou magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu je nosič, jehož jádro je tvořené nanočásticemi z oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu. Nosič této morfologie má velký specifický povrch, ale jeho nevýhodou je nutnost deponovat na povrch nosiče extrémně malé částice magneticky aktivního oxidu/oxidů kovu nebo extrémně tenké vrstvy takového materiálu. Výhodný hmotnostní poměr oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu a magneticky aktivního oxidu kovu, resp. všech magneticky aktivních oxidů kovu/kovů je pak 50:50 až 80:20. Obzvláště výhodný je pak hmotnostní poměr 65:35.

Další variantou magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu je nosič, jehož jádro je tvořené mikročásticemi z oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu. Nosič této morfologie má výrazně menší povrch pro separační aplikace i menší plochu osazenou oxidem magnetického kovu než výše uvedené varianty nosiče, což může částečně snížit účinnost jeho magnetické separace (na jednotku hmotnosti jádra nosiče připadá nejméně hmotnosti magnetických částic), nebrání to však jeho využití. Výsledný hmotnostní poměr oxidu přechodného nebo jiného kovu a magneticky aktivního oxidu kovu, resp. všech magneticky aktivních oxidů kovu/kovů je pak 95:5 až 99:1.

Tyto hmotnostní poměry přitom reprezentují provedení nosičů, kdy je vhodně vyvážen příspěvek obou typů oxidů.

Ze všech materiálových kombinací magnetického kompozitního nosiče připraveného způsobem podle vynálezu se jako nejvýhodnější jeví zejména varianta, kdy je jádro tohoto nosiče tvořené nano- nebo mikrostrukturou, s výhodou nanotubicí, z TiO_2 , a na jeho povrchu je uložena vrstva Fe_2O_3 nebo Fe_3O_4 nebo nanočástice Fe_3O_4 . Tyto oxidy jsou totiž ze všech použitelných oxidů nejvíce biokompatibilní; TiO_2 má navíc fotokatalytické vlastnosti, které umožňují dekontaminaci a sterilizaci nosiče, nanočástice Fe_3O_4 pak při velikosti cca 5 až 10 nm superparamagnetické vlastnosti, takže po odstranění z magnetického pole nevykazují zbytkový magnetismus. Výhodou kombinace těchto oxidů je také jejich velká chemická, fyzikální a mechanická kompatibilita, neboť se jedná o principiálně o velmi podobné materiály. Toho lze využít u aplikací, kde může docházet ke kontaktu materiálu s látkami, které jsou aplikovány do lidského nebo zvířecího těla, například v biomedicině. Oxidy většiny ostatních kovů, které mohou být pro lidský nebo zvířecí organismus toxické (např. NiO , CoO , Co_3O_4 , ferity na bázi $\text{Me.Fe}_2\text{O}_3$, kde Me je kov) jsou pak využitelné zejména pro laboratorní účely.

Níže je po názornost uvedeno 15 konkrétních příkladů způsobu pro přípravu magnetického kompozitního nosiče podle vynálezu. Analogické postupy lze použít i pro přípravu magnetického kompozitního nosiče s libovolnou kombinací oxidu přechodného kovu nebo některého dalšího kovu nebo polokovu s magneticky aktivním oxidem/oxidy kovu/kovů. Kromě toho lze analogicky vytvořit nosič, jehož jádro bude tvořené nano- nebo mikrostrukturou magneticky aktivního oxidu kovu a na jehož povrchu bude uložena souvislá vrstva nebo nanočástice alespoň jednoho oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu.

Příklad 1

Elektrochemickou anodizací titanu ve vhodném roztoku se připraví na jeho povrchu vrstva nanotubic TiO_2 , které jsou jedním svým koncem připojené k titanovému substrátu. Tloušťka vrstvy nanotubic TiO_2 je 1 μm až 1 mm a hmotnost samotných nanotubic TiO_2 v závislosti na tloušťce vrstvy 0,1 až 100 mg/cm^2 . Takto připravená matrice se nejprve na alespoň 1 hodinu, s výhodou na 1 až 2 hodiny, ponoří do deionizované vody, případně se vystaví vodní páře, přičemž díky reaktivitě povrchu nanotubic TiO_2 dojde k hydrataci jejich povrchu hydroxylovými skupinami, a poté se umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení. Depoziční komora se nejprve zaplaví dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut v ní dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury nanotubic TiO_2 . Po odvedení dusíku se do depoziční komory přivede alespoň jeden plynný prekurzor magneticky aktivního oxidu kovu, jako např. bis(N,N'-di-t-butylacetamidinato)železo, přičemž doba, po kterou jsou nanotubice TiO_2 tomuto prekurzoru vystaveny (retenční čas), je v závislosti na tloušťce vrstvy nanotubic TiO_2 0,1 až 100 sekund. Mezi povrchem nanotubic TiO_2 s hydroxylovými skupinami a plynným prekurzorem magneticky aktivního oxidu kovu přitom vzniká pevná kovalentní vazba, a plynný prekurzor magneticky aktivního oxidu kovu se ukládá do souvislé rovnoměrné vrstvy uspořádané po celém vnějším i vnitřním povrchu nanotubic TiO_2 . Po uplynutí zvoleného retenčního času se z depoziční komory proudem dusíku vytlačí přebytek prekurzoru a přivede se do ní vodní pára. Doba, po kterou jsou nanotubice TiO_2 s uloženou vrstvou prekurzoru magneticky aktivního oxidu kovu vodní páře vystaveny (retenční čas) je 0,1 až 100 sekund. Přitom dochází k reakci prekurzoru magneticky aktivního oxidu kovu s vodní párou, při které se tento prekurzor kompletně rozkládá a transformuje, v důsledku čehož se na povrchu nanotubic TiO_2 vytváří souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 s tloušťkou cca 0,1 nm. Přebytek vodní páry se po uplynutí zvoleného retenčního času z depoziční komory vytlačí proudem dusíku.

Depozice prekurzoru magneticky aktivního oxidu kovu a jeho následná transformace na tento magneticky aktivní oxid kovu se opakují, až dokud se na povrchu nanotubic TiO_2 nevytvoří vrstva magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky, s výhodou např. cca 50krát až 200krát pro vytvoření vrstvy tloušťky 5 až 20 nm. Po vytvoření vrstvy magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky se daný materiál vyjme z depoziční komory a celá vrstva nanotubic TiO_2 se z něj několikanásobným přehnutím odlomí. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanotubicí TiO_2 , na jejímž vnitřním i vnějším povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva např. Fe_2O_3 . SEM snímek tohoto nosiče při zvětšení 200 000krát je na obr. 1.

Příklad 2

Způsobem popsaným v příkladu 1 se připraví vrstva nanotubic TiO_2 , které jsou jedním svým koncem připojené k titanovému substrátu, a na jejichž vnějším i vnitřním povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 . Před jejich vyjmutím z depoziční komory se do této komory přivede argon nebo směs argonu a vodíku (přičemž podíl vodíku je do 10 %) a celá depoziční komora se při tlaku 1 až 20 mBar vyhřeje na teplotu 100 až 800 $^{\circ}\text{C}$, s výhodou 300 až 500 $^{\circ}\text{C}$. Při těchto podmínkách dochází k rekrystalizaci Fe_2O_3 na povrchu nanotubic TiO_2 a jeho přeměně na Fe_3O_4 , což má za následek rozrušení vrstvy Fe_2O_3 a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice Fe_3O_4 kulového nebo v podstatě kulového tvaru diskrétně a rovnoměrně rozložené na vnitřním i vnějším povrchu nanotubic TiO_2 . Průměr těchto nanočástic je funkcí tloušťky původní vrstvy a např. z vrstvy Fe_2O_3 o původní tloušťce cca 3 nm se tímto způsobem vytvoří nanočástice Fe_3O_4 o průměru cca 5 nm, které mají výrazný superparamagnetický charakter. Po uplynutí 5 až 20 minut se daný materiál vyjme z depoziční komory a celá vrstva nanotubic TiO_2 se z něj několikanásobným přehnutím odlomí. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené nanotubicí TiO_2 , na jejímž vnějším i vnitřním povrchu jsou uloženy nanočástice např. Fe_3O_4 , mezi kterými je odhalen povrch TiO_2 nanotubic.

Příklad 3

Hydrotermální reakcí nanočástic TiO_2 v roztoku NaOH s následným termální přezahem se připraví volně ložené nanotrubice TiO_2 , které v makroskopickém pohledu tvoří bílou práškovou směs. Takto připravené nanotrubice TiO_2 se nejprve na alespoň 1 hodinu, s výhodou na 1 až 2 hodiny, ponoří do deionizované vody (za stálého míchání), případně se vystaví vodní páře, přičemž díky reaktivitě povrchu nanotrubic TiO_2 dojde k hydrataci jejich povrchu hydroxylovými skupinami. Následně se hydratované nanotrubice TiO_2 odfiltrují přes vhodnou keramickou fritu, případně se nechají sedimentovat na dno nádoby, ze které se odstraní přebytek deionizované vody, a bez sušení se vloží do křemenné trubice, která je na jedné straně uzavřená porézní keramickou fritou vhodné porozity, a která se po vložení nanotrubic TiO_2 uzavře stejnou keramickou fritou i z druhé strany. Poté se tato křemenná trubice umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení, která se nejprve zaplaví dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut v ní dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury nanotrubic TiO_2 . Další postup je pak stejný jako v příkladu 1, s tím rozdílem, že je nutné kvůli fritám, které představují bariéru pro plynný prekurzor magneticky aktivního oxidu kovu a následně i pro plynný oxidační prekurzor, prodloužit retenční časy na cca 5násobek, tj. na 0,5 až 500 sekund. Tímto postupem se připraví magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanotrubicí TiO_2 , na jehož vnějším i vnitřním povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva např. Fe_2O_3 .

Příklad 4

Způsobem popsaným v příkladu 3 se připraví nanotrubice TiO_2 , na jejichž vnějším i vnitřním povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 . Tyto nanotrubice se ponechají v křemenné trubici uzavřené fritami a do depoziční komory vakuového depozičního zařízení se přivede argon nebo směs argonu a vodíku (přičemž podíl vodíku je do 10 %) a celá depoziční komora se při tlaku 1 až 20 mBar vyhřeje na teplotu 100 až 800 °C, s výhodou 300 až 500 °C. Při těchto podmínkách dochází k rekrystalizaci Fe_2O_3 na povrchu nanotrubic TiO_2 a jeho přeměně na Fe_3O_4 , což má za následek rozrušení vrstvy Fe_2O_3 a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice Fe_3O_4 kulového nebo v podstatě kulového tvaru diskrétně a rovnoměrně rozložené na vnitřním i vnějším povrchu nanotrubic TiO_2 . Průměr těchto nanočástic je funkcí tloušťky původní vrstvy a např. z vrstvy Fe_2O_3 o původní tloušťce cca 3 nm se tímto způsobem vytvoří nanočástice Fe_3O_4 o průměru cca 5 nm, které mají výrazný superparamagnetický charakter. Po uplynutí 5 až 20 minut se nanotrubice TiO_2 vyjmou z depoziční komory. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené nanotrubicí TiO_2 , na jejímž vnějším i vnitřním povrchu jsou uloženy nanočástice např. Fe_3O_4 , mezi kterými je odhalený povrch TiO_2 nanotrubic.

Příklad 5

Elektrochemickou anodizací niobu ve vhodném roztoku se připraví na jeho povrchu vrstva nanotrubic Nb_2O_5 , které jsou jedním svým koncem připojené k niobovému substrátu. Tloušťka vrstvy nanotrubic Nb_2O_5 je 1 μm až 100 μm a hmotnost samotných nanotrubic Nb_2O_5 v závislosti na tloušťce vrstvy 0,15 až 15 mg/cm². Takto připravená matrice se nejprve na alespoň 1 hodinu, s výhodou na 1 až 2 hodiny, ponoří do deionizované vody, případně se vystaví vodní páře, přičemž díky reaktivitě povrchu nanotrubic Nb_2O_5 dojde k hydrataci jejich povrchu hydroxylovými skupinami, a poté se umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení. Depoziční komora se nejprve zaplaví dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut, v ní dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury nanotrubic Nb_2O_5 . Po odvedení dusíku se do depoziční komory přivede alespoň jeden plynný prekurzor magneticky aktivního oxidu kovu, jako např. bis(cyklopentadienyl)nikl, přičemž doba, po kterou jsou nanotrubice Nb_2O_5 tomuto prekurzoru vystaveny (retenční čas), je v závislosti na tloušťce vrstvy nanotrubic Nb_2O_5 0,1 až 100 sekund. Mezi povrchem nanotrubic Nb_2O_5 s

hydroxylovými skupinami a plynným prekurzorem magneticky aktivního oxidu kovu přitom vzniká pevná kovalentní vazba, a plynný prekurzor magneticky aktivního oxidu kovu se ukládá do rovnoměrné vrstvy uspořádané po celém vnějším i vnitřním povrchu nanotrubic Nb₂O₅. Po uplynutí zvoleného retenčního času se z depoziční komory proudem dusíku vytlačí přebytek prekurzoru a přivede se do ní proud kyslíku. Doba, po kterou jsou nanotrubice Nb₂O₅ s uloženou vrstvou prekurzoru magneticky aktivního oxidu kovu kyslíku vystaveny (retenční čas) je 0,1 až 100 sekund. Přitom dochází k reakci prekurzoru magneticky aktivního kovu s kyslíkem, při které se tento prekurzor kompletně rozkládá a transformuje, v důsledku čehož se na povrchu nanotrubic Nb₂O₅ vytváří souvislá rovnoměrná vrstva NiO s tloušťkou cca 0,1 nm. Přebytek vodní páry se po uplynutí zvoleného retenčního času z depoziční komory vytlačí proudem dusíku.

Depozice prekurzoru magneticky aktivního oxidu kovu a jeho následná transformace na tento magneticky aktivní oxid kovu se opakují, až dokud se na povrchu nanotrubic Nb₂O₅ nevytvoří vrstva magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky, s výhodou např. cca 50krát až 200krát pro vytvoření vrstvy tloušťky 5 až 20 nm. Po vytvoření vrstvy magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky se daný materiál vyjme z depoziční komory a celá vrstva nanotrubic Nb₂O₅ se z něj několikanásobným přehnutím odlomí. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanotrubicí Nb₂O₅, na jejímž vnitřním i vnějším povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva NiO.

Příklad 6

Způsobem popsaným v příkladu 5 se připraví vrstva nanotrubic Nb₂O₅, které jsou jedním svým koncem připojené k niobovému substrátu, a na jejichž vnějším i vnitřním povrchu je uložena vrstva NiO. Před jejich vyjmutím z depoziční komory se do této komory přivede argon nebo směs argonu a vodíku (příčemž podíl vodíku je do 10 %) a celá depoziční komora se při tlaku 1 až 20 mBar vyhřeje na teplotu 100 až 800 °C, s výhodou s výhodou 300 až 500 °C. Při těchto podmínkách dochází k rekrytalizaci NiO na povrchu nanotrubic Nb₂O₅, což má za následek rozrušení vrstvy NiO a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice NiO kulového nebo v podstatě kulového tvaru diskrétně a rovnoměrně rozložené na vnitřním i vnějším povrchu nanotrubic Nb₂O₅. Průměr těchto nanočástic je funkcí tloušťky původní vrstvy a např. z vrstvy NiO o původní tloušťce cca 3 nm se tímto způsobem vytvoří nanočástice NiO o průměru cca 6 nm, které mají výrazný superparamagnetický charakter. Po uplynutí 5 až 20 minut se daný materiál vyjme z depoziční komory a celá vrstva nanotrubic Nb₂O₅ se z něj několikanásobným přehnutím odlomí. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené nanotrubicí Nb₂O₅, na jejímž vnějším i vnitřním povrchu jsou uloženy nanočástice NiO, mezi kterými je odhalený povrch Nb₂O₅ nanotrubic.

Příklad 7

Elektrostatickým nebo odstředivým zvlákňováním se připraví nanovlákná prekurzoru TiO₂ (vhodným takovým prekurzorem je např. butoxid titanu), která se následně podrobí vysokoteplotní kalcinaci v přítomnosti vzduchu, při které se prekurzor TiO₂ transformuje na TiO₂, a při které se současně z nanovláken odstraní nežádoucí příměsi. Takto připravená nanovlákná TiO₂ se nejprve na alespoň 1 hodinu, s výhodou na 1 až 2 hodiny, ponoří do deionizované vody, případně se vystaví vodní páře, přičemž dojde k hydrataci jejich povrchu hydroxylovými skupinami. Následně se hydratovaná nanovlákná TiO₂ odfiltrují přes vhodnou keramickou fritu, nebo se nechají sedimentovat na dno nádoby, ze které se odstraní přebytek deionizované vody, a bez sušení se vloží do křemenné trubice, která je na jedné straně uzavřena porézní keramickou fritou vhodné porozity, a která se po vložení nanovláken TiO₂ uzavře stejnou keramickou fritou i z druhé strany. Poté se tato křemenná trubice umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení, která se nejprve zaplaví dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut v ní dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury nanovláken TiO₂. Další postup je stejný jako v příkladu 3, přičemž se připraví

magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanovláknem TiO_2 , na jehož povrchu je uložena kontinuální vrstva např. Fe_2O_3 .

Příklad 8

5

Způsobem popsaným v příkladu 7 se připraví nanovlákn TiO_2 , na jejichž povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 . Tato nanovlákn se ponechají v křemenné trubici uzavřené fritami a do depoziční komory vakuového depozičního zařízení se přivede argon nebo směs argonu a vodíku (přičemž podíl vodíku je do 10 %) a celá depoziční komora se při tlaku 1 až 20 mBar vyhřeje na teplotu 100 až 800 °C, s výhodou 300 až 500 °C. Při těchto podmínkách dochází k rekrystalizaci Fe_2O_3 na povrchu nanovláken TiO_2 a jeho přeměně na Fe_3O_4 , což má za následek rozrušení vrstvy Fe_2O_3 a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice Fe_3O_4 kulového nebo v podstatě kulového tvaru diskrétně a rovnoměrně rozložené na povrchu nanovláken TiO_2 . Průměr těchto nanočástic je funkcí tloušťky původní vrstvy a např. z vrstvy Fe_2O_3 o původní tloušťce cca 3 nm se tímto způsobem vytvoří nanočástice Fe_3O_4 o průměru cca 5 nm, které mají výrazný superparamagnetický charakter. Po uplynutí 5 až 20 minut se nanovlákn TiO_2 vyjmou z depoziční komory. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené nanovláknem TiO_2 , na jehož povrchu jsou uloženy nanočástice např. Fe_3O_4 , mezi kterými je odhalený povrch TiO_2 nanovláken. SEM snímek tohoto nosiče při zvětšení 50 000krát je na obr. 2.

Příklad 9

Způsobem popsaným v příkladu 7 se připraví magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanovláknem z TiO_2 , na jehož povrchu je uložena kontinuální vrstva Fe_2O_3 . Během hydratace nanovláken z prekursoru TiO_2 v deionizované vodě se na tato nanovlákn alespoň 1 minutu, s výhodou 1 až 10 minut, působí ultrazvukem o frekvenci 40 až 200 kHz a výkonu 200 až 2000 W, v důsledku čehož se tato nanovlákn rozpadnou na nanovlákn menší délky. Tím se u výsledného magnetického kompozitního nosiče dosáhne vyšší mobility v magnetickém poli při separaci.

30

Příklad 10

Způsobem popsaným v příkladu 7 se připraví magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanovláknem z TiO_2 , na jehož povrchu je uložena kontinuální vrstva Fe_2O_3 . Před hydratací nanovláken z prekursoru TiO_2 se mechanickým mletím na kulovém, tryskovém nebo kryostatickém mlýnu zmenší jejich délka, čímž se u výsledného magnetického kompozitního nosiče dosáhne vyšší mobility v magnetickém poli při separaci.

Příklad 11

40

Elektrostatickým nebo odstředivým zvlákňováním se připraví polymerní nanovlákn, např. z polypropylenu, polyvinylpyrrolidonu, apod. Takto připravená polymerní nanovlákn se vloží do křemenné trubice, která je na jedné straně uzavřena porézní keramickou fritou vhodné porozity, a která se po vložení nanovláken uzavře stejnou keramickou fritou i z druhé strany. Poté se tato křemenná trubice umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení, která se zaplatí dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut, dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury nanovláken. Po odvedení dusíku se do této depoziční komory přivede plynný prekurzor magneticky aktivního oxidu kovu, jako např. chlorid titaničitý (TiCl_4), přičemž doba, po kterou jsou polymerní nanovlákn tomuto prekursoru vystavena (retenční čas) je dle množství těchto vláken 0,5 až 100 sekund. Mezi povrchem nanovláken a plynným prekursorem TiO_2 přitom vzniká pevná kovalentní vazba, a plynný prekurzor TiO_2 se ukládá do souvislé rovnoměrné vrstvy po celém povrchu polymerních nanovláken. Po uplynutí zvoleného retenčního času se z depoziční komory proudem dusíku vytlačí přebytek prekursoru TiO_2 a přivede se do ní vodní pára. Doba, po kterou jsou polymerní nanovlákn s uloženou vrstvou prekursoru TiO_2 vodní páře vystavena (retenční čas) je 0,5 až 100

55

- sekund. Přitom dochází k reakci prekursoru TiO_2 na povrchu polymerních nanovláken s vodní párou, při které se tento prekursor transformuje na TiO_2 , který na povrchu polymerních nanovláken vytváří souvislou rovnoměrnou vrstvu. Přebytek vodní páry se po uplynutí zvoleného retenčního času z depoziční komory vytlačí proudem dusíku. Celý výše popsáný proces se opakuje, až dokud se na povrchu polymerních nanovláken nevytvoří vrstva TiO_2 požadované tloušťky, s výhodou např. cca 50krát až 200krát pro vytvoření vrstvy tloušťky 5 až 20 nm. Tímto postupem se připraví polymerní nanovláčka, jejichž povrch je kompletně pokrytý souvislou rovnoměrnou vrstvou TiO_2 , díky čemuž jsou tato nanovláčka navenek anorganická. Pro následující kroky není nutné tato nanovláčka díky jejich předchozímu (opakovanému) vystavení vodní páře hydratovat. Po odvedení dusíku se do depoziční komory přivede alespoň jeden plynný prekursor magneticky aktivního oxidu kovu, jako např. bis(cyklopentadienyl)železo, přičemž doba, po kterou jsou nanovláčka tomuto prekursoru vystavena (retenční čas) je 0,5 až 500 sekund. Mezi povrchem vrstvy TiO_2 a plynným prekurem magneticky aktivního oxidu kovu přitom vzniká pevná kovalentní vazba, a plynný prekursor magneticky aktivního kovu bis(cyklopentadienyl)železo se ukládá do souvislé rovnoměrné vrstvy po celém povrchu vrstvy TiO_2 . Po uplynutí zvoleného retenčního času se z depoziční komory proudem dusíku vytlačí přebytek prekursoru a přivede se do ní vodní pára. Doba, po kterou jsou polymerní nanovláčka s vrstvou TiO_2 , na které je uložena vrstva prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu vystavena vodní páře (retenční čas) je 0,5 až 500 sekund. Přitom dochází k reakci prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu s vodní párou, při které se tento prekursor kompletně rozkládá a transformuje, v důsledku čehož se na povrchu vrstvy TiO_2 vytváří souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 s tloušťkou cca 0,1 nm. Přebytek vodní páry se po uplynutí zvoleného retenčního času z depoziční komory vytlačí proudem dusíku.
- Depozice prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu a jeho následná transformace na tento magneticky aktivní oxid kovu se opakuje, až dokud se na povrchu vrstvy TiO_2 nevytvoří vrstva magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky, s výhodou např. cca 50krát až 200krát pro vytvoření vrstvy tloušťky 5 až 20 nm. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným vrstvou TiO_2 uloženou na polymerním nanovláčku, na které je dále uložena souvislá rovnoměrná vrstva např. Fe_2O_3 .

Tento postup lze v případě potřeby kombinovat s přezahem dle příkladu 4, při kterém dochází k rekrystalizaci Fe_2O_3 a jeho přeměně na Fe_3O_4 , což má za následek rozrušení vrstvy Fe_2O_3 a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice Fe_3O_4 a/nebo s úpravou délky nanovláken (před nebo po depozici TiO_2) působením ultrazvuku dle příkladu 9 a/nebo mechanickým mletím na kulovém, tryskovém nebo kryostatickém mlýnu dle příkladu 10.

Příklad 12

- Hydrolyzou, pyrolýzou, mletím mikročástic v kulovém mlýnu, případně technikou sol-gel se připraví nanočástice TiO_2 , které se vloží do křemenné trubice, která je na jedné straně uzavřena velmi jemně porézní keramickou fritou, a která se po vložení těchto nanočástic uzavře stejnou keramickou fritou i z druhé strany. Poté se tato křemenná trubice umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení, která se nejprve zaplaví dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut, v ní dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury nanočástic TiO_2 . Po odvedení dusíku se do depoziční komory přivede na dobu 5 až 10 minut vodní pára za účelem hydratace povrchu nanočástic TiO_2 . Po uplynutí této doby se se vodní pára z depoziční komory vytlačí proudem dusíku. Následně se do depoziční komory přivede alespoň jeden plynný prekursor magneticky aktivního oxidu kovu, jako např. bis(cyklopentadienyl)kobalt, přičemž doba, po kterou jsou nanočástice TiO_2 tomuto prekursoru vystaveny (retenční čas) je 1 až 1000 sekund, což zaručuje dostatečnou difuzi tohoto prekursoru mezi nanočástice TiO_2 . Mezi povrchem nanočástic TiO_2 a plynným prekurem magneticky aktivního oxidu kovu přitom vzniká pevná kovalentní vazba, a plynný prekursor magneticky aktivního oxidu kovu se ukládá do souvislé rovnoměrné vrstvy uspořádané po celém povrchu jednotlivých nanočástic. Po uplynutí zvoleného retenčního času se z depoziční komory proudem

dusíku odvede přebytek prekursoru a přivede se do ní vodní pára. Doba, po kterou jsou nanočástice TiO_2 s uloženou vrstvou prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu vodní páře vystaveny (retenční čas) je 1 až 1000 sekund. Přitom dochází k reakci prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu s vodní párou, při které se tento prekursor kompletně rozkládá a transformuje, v důsledku čehož se na povrchu nanočástic TiO_2 vytváří souvislá rovnoměrná vrstva CoO s tloušťkou cca 0,1 nm. Přebytek vodní páry se po uplynutí zvoleného retenčního času z depoziční komory vytlačí proudem dusíku.

Pro podporu difúze prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu mezi nanočástice TiO_2 a dosažení vysoké kvality jejich pokrytí je výhodné v depoziční komoře zajistit možnost natřásání nebo vibrací křemenné trubice, ve které jsou nanočástice TiO_2 uloženy.

Depozice prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu a jeho následná transformace na tento magneticky aktivní oxid kovu se opakují, až dokud se na povrchu nanočástic TiO_2 nevytvoří vrstva magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky, s výhodou např. cca 20krát až 100krát pro vytvoření vrstvy tloušťky 2 až 10 nm. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným nanočásticí TiO_2 , na jejímž povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva CoO .

Příklad 13

Způsobem popsaným v příkladu 12 se připraví nanočástice TiO_2 , na jejichž povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva CoO . Před jejich vyjmutím z depoziční komory se do této komory přivede argon nebo směs argonu a vodíku (přičemž podíl vodíku je do 10 %) a celá depoziční komora se při tlaku 1 až 20 mBar vyhřeje na teplotu 100 až 800 °C, s výhodou 300 až 500 °C. Při těchto podmínkách dochází k rekrystalizaci CoO na povrchu nanočástic TiO_2 což má za následek rozrušení vrstvy CoO a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice CoO kulového nebo v podstatě kulového tvaru diskrétně a rovnoměrně rozložené na povrchu nanočástic TiO_2 . Průměr těchto nanočástic je funkcí tloušťky původní vrstvy a např. z vrstvy CoO o původní tloušťce cca 3 nm se tímto způsobem vytvoří nanočástice o průměru cca 5 nm, které mají výrazný superparamagnetický charakter. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené nanočásticí TiO_2 , na jejímž povrchu jsou uloženy nanočástice CoO , mezi kterými je odhalený povrch TiO_2 nanočástice.

Příklad 14

Hydrolyzou, pyrolýzou nebo technikou sol-gel se připraví mikročástice SiO_2 , které se vloží do křemenné trubice, která je na jedné straně uzavřená velmi jemně porézní keramickou fritou, a která se po vložení těchto mikročástic uzavře stejnou keramickou fritou i z druhé strany. Poté se tato křemenná trubice umístí do depoziční komory vakuového depozičního zařízení, která se nejprve zaplaví dusíkem a při tlaku 1 až 20 mBar a po dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut, v ní dochází k desorpci a odstranění nežádoucích plynů ze struktury mikročástic SiO_2 . Po odvedení dusíku se do depoziční komory přivede na dobu 5 až 10 minut vodní pára za účelem hydratace povrchu mikročástic SiO_2 . Po uplynutí této doby se se vodní pára z depoziční komory vytlačí proudem dusíku. Následně se do depoziční komory přivede alespoň jeden plynný prekursor magneticky aktivního oxidu kovu, jako např. bis(cyklopentadienyl)železo, přičemž doba, po kterou jsou mikročástice SiO_2 tomuto prekursoru vystaveny (retenční čas) je 1 až 500 sekund, což zaručuje dostatečnou difúzi tohoto prekursoru mezi mikročástice SiO_2 (která se snaží a rychlejší než v případě nanočástic). Mezi povrchem mikročástic SiO_2 a plynným prekurzorem magneticky aktivního oxidu kovu přitom vzniká pevná kovalentní vazba a plynný prekursor oxidu magneticky aktivního kovu se ukládá do souvislé rovnoměrné vrstvy uspořádané po celém povrchu jednotlivých mikročástic. Po uplynutí zvoleného retenčního času se z depoziční komory proudem dusíku odvede přebytek prekursoru a přivede se do ní vodní pára. Doba, po kterou jsou mikročástice SiO_2 s uloženou vrstvou prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu vodní páře vystaveny (retenční čas) je 1 až 500 sekund. Přitom dochází k reakci

prekurzoru magneticky aktivního oxidu kovu s vodní párou, při které se tento prekursor kompletně rozkládá a transformuje, v důsledku čehož se na povrchu mikročástic SiO_2 vytváří souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 s tloušťkou cca 0,1 nm. Přbytek vodní páry se po uplynutí zvoleného retenčního času z depoziční komory vytlačí proudem dusíku.

5

Pro podporu difúze prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu mezi mikročástice SiO_2 a dosažení vysoké kvality jejich pokrytí je výhodné v depoziční komoře zajistit možnost natřásání nebo vibrací křemenné trubice, ve které jsou mikročástice SiO_2 uloženy.

10

Depozice prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu a jeho následná transformace na tento magneticky aktivní oxid kovu se opakují, až dokud se na povrchu mikročástic SiO_2 nevytvoří vrstva magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky, s výhodou např. cca 20krát až 200krát pro vytvoření vrstvy tloušťky 2 až 20 nm. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič s jádrem tvořeným mikročásticí SiO_2 , na jejímž povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva např. Fe_2O_3 .

15

Příklad 15

Způsobem popsaným v příkladu 14 se připraví mikročástice SiO_2 , na jejichž povrchu je uložena souvislá rovnoměrná vrstva Fe_2O_3 . Před jejich vyjmutím z depoziční komory se do této komory argon nebo směs argonu a vodíku (přičemž podíl vodíku je do 10 %) a celá komora se při tlaku 1 až 20 mBar vyhřeje na teplotu 100 až 800 °C, s výhodou 300 až 500 °C. V době 5 až 20 minut při těchto podmínkách dochází k rekrystalizaci Fe_2O_3 na povrchu mikročástic SiO_2 a jeho přeměně na Fe_3O_4 , což má za následek rozrušení vrstvy Fe_2O_3 a přetvoření jednotlivých kousků této vrstvy na nanočástice Fe_3O_4 kulového nebo v podstatě kulového tvaru diskrétně a rovnoměrně rozložené na povrchu mikročástic SiO_2 . Průměr těchto nanočástic je funkcí tloušťky původní vrstvy a např. z vrstvy Fe_2O_3 o původní tloušťce cca 3 nm se tímto způsobem vytvoří nanočástice Fe_3O_4 o průměru cca 5 nm, které mají výrazný superparamagnetický charakter. Výsledkem tohoto procesu je tak magnetický kompozitní nosič, jehož jádro je tvořené mikročásticí SiO_2 , na jejímž povrchu jsou uloženy nanočástice např. Fe_3O_4 , mezi kterými je odhalený povrch SiO_2 mikročástic.

30

Průmyslová využitelnost

35

Nano- a mikrostruktury na bázi oxidů přechodných, některých jiných kovů nebo polokovů vykazují zcela ojedinělou a velmi specifickou afinitu k řadě biomolekul. Oproti dosavadním používaným materiálům mají tyto materiály nesporné výhody: vysokou specifitu a kapacitu, chemickou inertnost, biokompatibilitu a biorezistenci, případně fotokatalytické vlastnosti vhodné pro dekontaminaci a sterilizaci tohoto materiálu. Magnetické kompozitní nosiče připravené způsobem podle vynálezu, které obsahují jádro tvořené takovými nano- nebo mikrostrukturami jsou díky využitelné zejména v biotechnologických a hlavně biomedicínských aplikacích. Jejich hlavní přidanou hodnotu je soubor jejich ideálních vlastností pro izolaci (hyper)fosforylovaných proteinů a peptidů, rekombinantních His-tag proteinů a biopolymerů na bázi DNK a RNK a zejména vysoká separační účinnost a selektivita tohoto nosiče. Magnetismus nosiče je zajištěn homogenním pokrytím jeho jádra souvislou rovnoměrnou vrstvou nebo nanočásticemi alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu. Vzhledem k minimální toxicitě, zejména při materiálové kombinaci TiO_2 a Fe_3O_4 a možnosti jednoduché a bezodpadové dekontaminace tohoto nosiče se jedná o velice perspektivní materiál a to hlavně pro rutinní izolace bioaktivních látek vyrobených *in vitro* technologiemi pro biomedicínské užití, např. rekombinantních proteinů vhodných pro biologickou léčbu, *in vivo* diagnostiku apod.

50

Např. v oblasti biotechnologií a biomedicínských aplikací mají tyto nosiče využití pro:

- i) separace a izolace mono-, di-, oligo- a multifosforylovaných peptidů pro primární analýzu těchto látek (např. v analytické chemii) a pro účely kontroly kvality výsledných produktů biotechnologických procesů,
- 5 ii) izolace a purifikace rekombinantních proteinů s polyhistidinovou kotvou, které se používají pro *in vivo* aplikace, pro výrobu subjednotkových vakcín, pro purifikaci rekombinantních enzymů vhodných pro biotechnologické procesy, apod.
- 10 Netoxičnost a dostupnost materiálů, ze kterých jsou tyto nosiče připraveny, jejich biokompatibilita, možnost vysoce účinné a jednoduché separace nosiče z reakční směsi, možnost nosiče fotokatalyticky dekontaminovat a opakovaně používat, a jejich vysoká selektivita a vysoký specifický povrch jsou vlastnosti, které původní materiály a nosiče pro tyto účely dnes běžně používané odsouvají na druhou kolej.
- 15 Výroba těchto nosičů a jejich používání jsou díky jejich recyklovatelnosti, bezodpadové údržbě a možnosti dekontaminace a sterilizace v průběhu opakovaného používání šetrné k životnímu prostředí. Fotokatalytické vlastnosti TiO_2 jsou zde beze zbytku využity. Magnetické vlastnosti nosiče umožní jeho variabilní použití, ať již při vsádkovém nebo kolonovém uspořádání. V obou případech se pak k oddělení (fixaci) nanomateriálu z vodné fáze reakční směsi používá silné
- 20 magnetické pole, přičemž tyto nosiče díky superparamagnetickým vlastnostem nanočástic magnetických oxidů kovů nevykazují po odstranění z elektrického pole zbytkový magnetismus, takže s nimi lze střídavě pracovat v režimu homogenně rozptýlené suspenze nebo v oddělených fázích.
- 25 Bezodpadová technologie dekontaminace a minimální zátěž při likvidaci odpadů významně snižuje vysoké náklady na výrobu látek určených pro medicínské účely.

PATENTOVÉ NÁROKY

30

1. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul, který obsahuje jádro tvořené nano- a/nebo mikrostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, na kterém je uložený oxid alespoň jednoho magneticky aktivního kovu, **vyznačující se**
- 35 **tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu ze skupiny Ti, Zr, Ta, Hf, W, Nb, V, Zn, Mo, Cr, Cu, Ce, Al, Sn, Si, Ge, Ga, se hydratují ponořením do deionizované vody nebo vystavením vodní páře, přičemž se na jejich povrch naváží hydroxylové skupiny, takto hydratované nano- a/nebo mikrostruktury se vystaví atmosféře inertního plynu o tlaku 1 až 20 mBar čímž se inertizují a odstraní se z nich nežádoucí plyny, poté
- 40 se takto inertizované nano- a/nebo mikrostruktury vystaví alespoň jednomu plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu na bázi alkoxidu, acetylacetonátu, N,N'-diisopropylacetamidu, N,N'-diterbutylacetamidu, tetramethylheptandionátu, cyklopentadienylu, hexakarbonylu, halogenu, dusičnanu nebo dusitanu, přičemž se tento plynný prekursor naváže na hydroxylové skupiny hydratovaných nano- a/nebo mikrostruktur a vytvoří na jejich povrchu souvislou
- 45 rovnoměrnou vrstvu, načež se nano- a/nebo mikrostruktury s vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu vystaví alespoň jednomu plynnému oxidačnímu prekursoru, kterým je kyslík, ozón nebo vodní pára nebo kombinace alespoň dvou z nich, přičemž při následné reakci prekursoru magneticky aktivního kovu a oxidačního prekursoru se prekursor magneticky aktivního oxidu kovu rozkládá za vzniku souvislé rovnoměrné vrstvy magneticky
- 50 aktivního oxidu kovu uložené prostřednictvím kovalentní vazby na povrchu nano- a/nebo mikrostruktur.

2. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se alespoň jednomu plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu a
- 55

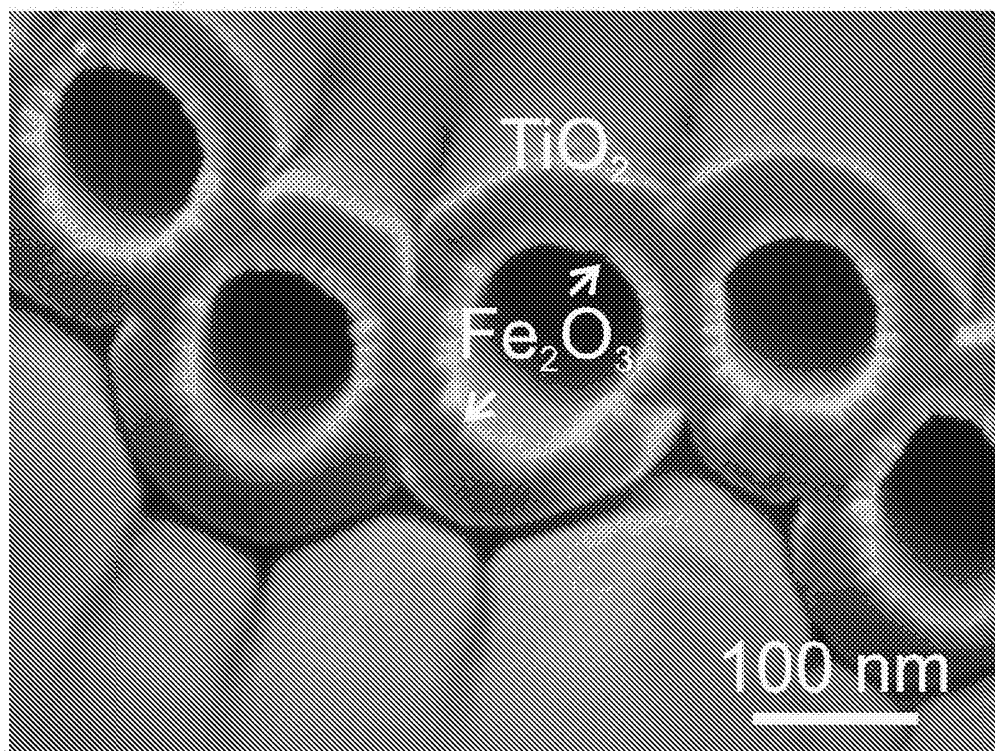
alespoň jednomu plynnému oxidačnímu prekursoru vystavují opakovaně až do vytvoření vrstvy magneticky aktivního oxidu kovu požadované tloušťky.

3. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se alespoň jednomu plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu a alespoň jednomu plynnému oxidačnímu prekursoru vystavují opakovaně až do vytvoření vrstvy magneticky aktivního oxidu kovu tloušťky 0,1 až 20 nm, s výhodou 2 až 7 nm.
4. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu s uloženou vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu se v atmosféře argonu nebo směsi argonu a vodíku s maximální podílem vodíku 10 % o tlaku 1 až 20 mBar ohřejí na teplotu 100 až 800 °C, přičemž dochází k rekrystalizaci magneticky aktivního oxidu kovu, v důsledku čehož se vrstva tohoto magneticky aktivního oxidu kovu na jejich povrchu rozruší a z jejich jednotlivých kousků se vytváří nanočástice stejného nebo jiného magneticky aktivního oxidu kovu kulového nebo v podstatě kulového tvaru.
5. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu s uloženou vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu kovu se v atmosféře argonu nebo směsi argonu a vodíku s maximální podílem vodíku 10 % vystavují 5 až 25 minut.
6. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se hydratují ponořením do deionizované vody na dobu alespoň 1 hodiny, s výhodou 1 až 2 hodin.
7. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se hydratují vystavením vodní páře na dobu alespoň 5 minut, s výhodou 5 až 10 minut.
8. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že magneticky aktivním oxidem kovu je magneticky aktivní oxid Fe, Co nebo Ni.
9. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se plynnému prekursoru magneticky aktivního oxidu kovu vystaví na dobu 0,1 až 1000 sekund.
10. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu s uloženou vrstvou alespoň jednoho magneticky aktivního oxidu se plynnému oxidačnímu činidlu vystaví na dobu 0,1 až 1000 sekund.
11. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že nanostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, je nanovláknko, nanotrubice nebo nanočástice nebo vrstva oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu uložená na polymerním nanovláknku.

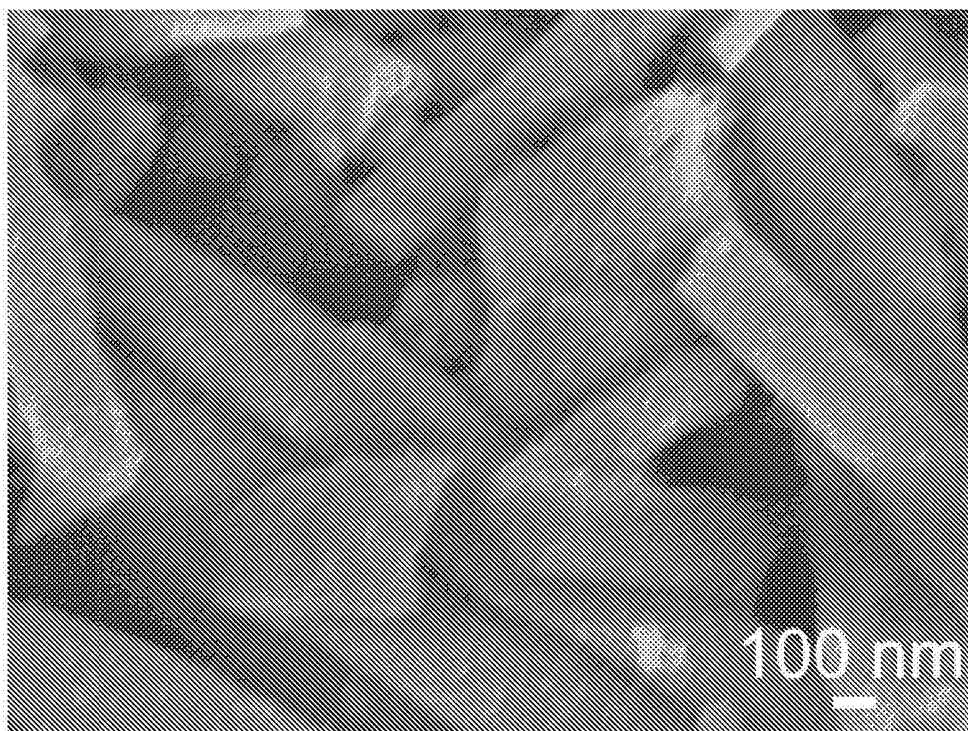
12. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z nároků 1 až 11, **vyznačující se tím**, že mikrostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, je mikročástice.
- 5 13. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že oxidem přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu, je oxid ze skupiny TiO_2 , ZrO_2 , Ta_2O_5 , HfO_2 , WO_3 , Nb_2O_3 , Nb_2O_5 , V_2O_5 , V_2O_3 , ZnO , MoO_2 , MoO_3 , CrO_2 , Cr_2O_3 , Cu_2O , CuO , CeO_2 , Al_2O_3 , SnO_2 , Ge_2O_3 , Ga_2O_3 , SiO_2 .
- 10 14. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že nanostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu je nanotrubice, přičemž hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na její povrch je 70:30 až 95:5, s výhodou 85:15.
- 15 15. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z nároků 1 až 13, **vyznačující se tím**, že nanostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu je nanovlákn, případně vrstva oxidu přechodného nebo jiného kovu nebo polokovu uložená na polymerním nanovlákn, přičemž hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na jeho povrch je 85:15 až 98:2, s výhodou 90:10.
- 20 16. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z nároků 1 až 13, **vyznačující se tím**, že nanostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu je nanočástice, přičemž hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na její povrch je 50:50 až 80:20, s výhodou 65:35.
- 25 17. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z nároků 1 až 13, **vyznačující se tím**, že mikrostrukturou oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu je mikročástice, přičemž hmotnostní poměr oxidu přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu a všech magneticky aktivních oxidů kovu, které se ukládají na její povrch je 95:5 až 99:1.
- 30 18. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1 nebo 6, **vyznačující se tím**, že během hydratace nanovláken přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu nebo polymerních nanovláken na kterých je uložena souvislá vrstva přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se na tato nanovlákn alespoň 1 minutu působí ultrazvukem o frekvenci 40 až 200 kHz a výkonu 200 až 2000 W, v důsledku čehož se tato nanovlákn rozpadnou na nanovlákn menší délky.
- 35 40 19. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 1,6 nebo 7 **vyznačující se tím**, že před hydratací nanovláken přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu nebo polymerních nanovláken na kterých je uložena souvislá vrstva přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se délka těchto nanovláken zmenší mechanickým mletím na kulovém, tryskovém nebo kryostatickém mlýnu.
- 45 20. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle libovolného z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že nano- a/nebo mikrostruktury přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se alespoň jednomu prekursoru magnetického kovu a alespoň jednomu oxidačnímu prekursoru vystaví uložené v křemenné trubici uzavřené z obou stran keramickými fritami.
- 50 21. Způsob přípravy magnetického kompozitního nosiče pro separaci biomolekul podle nároku 20, **vyznačující se tím**, že křemenná trubice s uloženými nano- a/nebo mikrostrukturami
- 55

přechodného kovu, jiného kovu nebo polokovu se při vystavení těchto nano- a/nebo mikrostruktur alespoň jednomu prekursoru magnetického kovu natřásá a/nebo vibruje.

2 výkresy



Obr. 1



Obr. 2