

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии

**Сорбенты на основе кремний органических молекулярно-
импринтированных полимеров для гербицидов и микотоксинов**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 251 группы
направления 04.04.01 «Химия»
Института химии
Даниловой Яны Петровны

Научный руководитель:
профессор, д.х.н., доцент

дата, подпись

Н. А. Бурмистрова

Заведующий кафедрой
д.х.н., проф.

дата, подпись

И. Ю. Горячева

Саратов 2023

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Для исключения неконтролируемого роста сорных растений на посевных площадях используются гербициды различных типов (узконаправленные, с широким спектром действия). Один из наиболее часто используемых является гербицид имидазолиновой группы — имазамокс, который обычно применяется во время выращивания подсолнечника. Не всегда имазамокс может быть нейтрален к целевым культурам, обладая способностью оставаться достаточно длительное время в почве, и оказывая угнетающее действие на почвенную микрофлору. В то же время климатические условия Саратовской области положительно влияют на рост плесневелых грибов, продуцирующих микотоксины. Один из представителей микотоксинов — зеараленон (ЗЕА). Он практически не исчезает из цепи обработки сырья сам по себе, даже после воздействия высоких температур. Это показывает необходимость строгого контроля содержания гербицидов и микотоксинов в агропромышленном комплексе.

Существует ряд методов, используемых для определения токсичных веществ с низкими пределами обнаружения, однако их применение зачастую ограничено дороговизной реагентов, трудоемкостью анализа, или невозможностью использования метода за пределами аналитической лаборатории. Одним из перспективных методов, являющихся решением перечисленных проблем может стать молекулярный импринтинг, позволяющий получать высокоселективные сорбенты. Для решения перечисленных проблем агропромышленного комплекса наиболее хорошо подходят кремнийорганические полимеры за счет высокой химической стабильности и нетоксичности, что делает возможным их широкое применение в полевых условиях. Метод является **перспективным** для промышленного внедрения, недорогим в производстве, селективным, и легко модифицируемым для решения конкретно поставленной задачи.

Цель работы: синтез молекулярно-импринтированного полимера (МИП) на основе кремнийорганических полимеров на поверхности

коммерчески доступных микрочастиц диоксида кремния с высокой площадью поверхности для селективного определения имазамокса и зеараленона.

Для достижения поставленной цели решены следующие **задачи**:

- Проведен анализ литературных данных посвященных: токсикологическим свойствам микотоксинов и гербицидов; методам синтеза молекулярно-импринтированных полимеров с применением органосиланов структуры ядро-оболочка, в том числе для выделения ЗЕА и имазамокса; принципам замены токсичных молекул шаблонов на их структурные аналоги.
- Изучено влияние условий и выбраны оптимальные условия синтеза МИП на поверхности микрочастиц Aerosil® 200 методом ядро-оболочка с использованием (3-аминопропил)триэтоксисилана для зеараленона, имазамокса и их структурных аналогов.
- Изучены сорбционные характеристики синтезированных МИП.
- Изучена возможность использования полученных МИП для извлечения ЗЕА на примере искусственно загрязненных образцов пшеницы.

Краткая характеристика методов исследования. Для решения задач, поставленных в работе, применяли комплекс физических методов исследования: спектрофотометрия, спектрофлуориметрия. Объекты исследования: кремнийорганические МИП, синтезированная в присутствии низкомолекулярных шаблонов: ЗЕА и его структурных аналогов — 4-гидроксикумарина (4-ГК), кумарина, кверцетина, варфарина; имазамокса и его структурных аналогов — никотиновой кислоты, имидазола.

Описание структуры работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, вывода, списка используемых источников, включающего 85 наименований и приложения. Работа изложена на 57 листах машинописного текста, содержит 11 рисунков, 6 таблиц.

Научная значимость работы:

- Проведён синтез кремнийорганических МИП, специфичных к ЗЕА, имазамоксу и их структурным аналогам;
- Изучена специфичность МИП к разным шаблонам;
- Изучена эффективность полученных анти-варфарин МИП при экстракции ЗЕА из модельного раствора и раствора реального образца.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении описана актуальность темы исследования, раскрыта научная новизна работы и определены основные цели и задачи.

В **первом разделе** представлен обзор и анализ работ, посвящённых: загрязняющим веществам — микотоксинам и гербицидам; МИП и особенностям их синтеза, в частности, при использовании кремнийорганической матрицы; структурным аналогам целевых веществ (имазамокса и ЗЕА), и принципам их подбора.

По результатам анализа литературы показана и обоснована необходимость синтеза МИП с кремнийорганической матрицей для селективного выделения имазамокса и зеараленона.

Во **второй главе** приведена информация об используемых реагентах, материалах, оборудовании, а также методике синтеза МИП и оптимизированной методике очистки матрицы. Характеризуются объекты исследования, обсуждаются полученные результаты экстракции шаблонов в модельных растворах на полученные МИП, и результаты экстракции ЗЕА в модельном растворе и растворе реального образца пшеницы.

Изучены **оптические свойства** основных объектов исследования: ЗЕА, имазамокса и их структурных аналогов.

Молекулы 4-ГК слабо поглощают в видимой и ближней УФ области спектра, однако хорошо флуоресцируют. Предел обнаружения (PrO , C_{min}) составил 4 мкМ, в связи с чем в дальнейшем для контроля полноты вымывания, количества сорбированного 4-ГК использовался флуориметрический метод. Контроль флуоресценции раствора 4-ГК

позволил эффективно контролировать процесс очистки и характеристики ключевых свойств МИП, таких как импринтинг фактор (ИФ) и степень извлечения. Контролировать другие шаблоны флуориметрическим методом не представляется возможным. Фотометрический метод, позволил получить удовлетворительные значения ПрО и использовался для всех шаблонов, кроме 4-ГК.

Водные растворы варфарина, использованные в работе, характеризуется низкой интенсивностью поглощения в УФ области спектра. ПрО для варфарина составил ~ 49 мкг/мл.

Кверцетин, в отличие от варфарина, активно поглощает энергию в УФ диапазоне, а также видимой области спектра и имеет выраженные максимумы в диапазоне 240-280, 345-400 нм. ПрО кверцетина, определенный по градуировочной зависимости оптической плотности от концентрации имеет самое низкое значение среди структурных аналогов ЗЕА.

Молекулы кумарина активно поглощают энергию в УФ-диапазоне спектра и имеют два максимума при 275 и 310 нм. Низкий ПрО кумарина и широкий линейный диапазон определяемых концентраций позволил определять его в необходимом диапазоне концентраций.

Для водного раствора ЗЕА спектр поглощения в УФ области спектра характеризуется тремя явно выраженными максимумами при 220, 267 и 309 нм.

Спектры поглощения имазамокса и его структурных аналогов характеризуются полосами в УФ-области спектра. Спектр поглощения имазамокса имеет только один плохо выраженный максимум при 268 нм. Никотиновая кислота имеет две выраженных полосы поглощения при 218 и 261 нм. Однако ПрО никотиновой кислоты при спектрофотометрическом определении достаточно высок, что сужает диапазон рабочих концентраций. Спектр поглощения имидазола располагается в коротковолновой области спектра (200 до 230 нм). Максимум поглощения наблюдается при 209 нм.

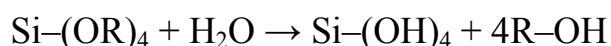
Синтез молекулярно-импринтированных полимеров. Частицы кремнезема контролируемого размера обычно получают золь-гель методом, предложенным Штобером. Другие методы, такие как обратная микроэмульсия или эмульсия вода в масле, также используются для контроля размера получаемых частиц. Частицы оксида кремния, полученные с помощью золь-гель метода, являются плотными и/или микропористыми с умеренными значениями площади поверхности. Для получения мезопористого (размер пор $2 \text{ нм} < 50 \text{ нм}$) оксида кремния с высокой площадью поверхности в раствор добавляют различные амфифильные молекулы (поверхностно-активные вещества). Ионные (катионные и анионные) ПАВ способствуют образованию мезофазы на основе электростатических взаимодействий, а действие нейтральных ПАВ вероятно связано с возможностью образования водородных связей. Цетилтриметиламмонийбромид или бромид цетримониума (ЦТАБ) является наиболее часто используемым катионным ПАВ в синтезе мезопористого кремнезема. В зависимости от концентрации добавленного ПАВ и температуры синтеза гидролизованные алкоксиды кремния реорганизуются в мицеллы (выше критической концентрации мицеллообразования), образуя гексагональные упорядоченные массивы, кубические упорядоченные массивы или пластинчатые структуры. Как метод получения плотных/микропористых (без добавления ПАВ) частиц кремнезема, так и метод получения мезопористых (с добавлением ПАВ) частиц кремнезема можно контролировать для получения наночастиц размером до 50 нм (при синтезе без ПАВ) и 15 нм (при использовании ЦТАБ в качестве ПАВ).

Мезопористость, в сочетании с импринтированными сайтами, предположительно, должна увеличить сорбционную способность получаемых частиц, поэтому, основываясь на вышесказанном, нами проведен синтез мезопористых МИП на поверхности коммерчески доступных частиц Aerosil® 200 с высокой площадью поверхности.

Синтез МИП на шаблон проводили путем сополимеризации ТЭОС и АПТЭС на поверхности микрочастиц Aerosil® 200 в присутствии ЦТАБ и различных молекул шаблонов (Рис.1).

При синтезе оболочки на частицах Aerosil® 200 протекают следующие реакции:

- образование силанольных групп при гидролизе:



- формирование силоксановых мостиков в процессе конденсации:



АПТЭС взаимодействует с OH-группами наночастиц диоксида кремния с образованием кислородных мостиков. В результате поверхность микрочастиц оказывается модифицирована аминогруппами. Добавление шаблона при синтезе МИП приводит к его нековалентному встраиванию в поверхностный слой полимера и образованию трехмерных, селективных сайтов связывания. Синтез неимпринтированных полимеров (НИП) проводили без добавления шаблона.

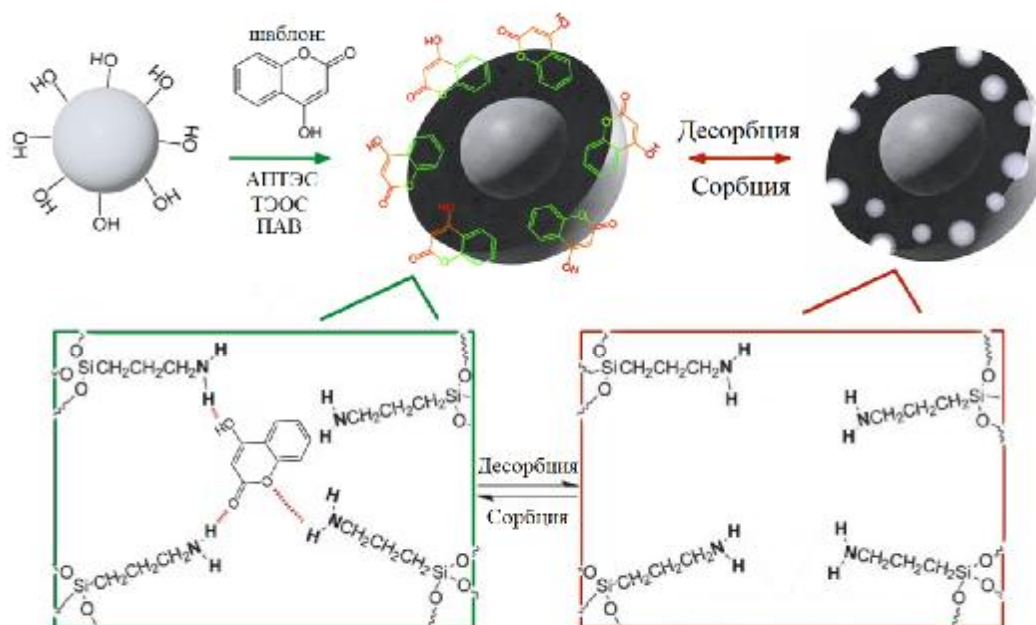


Рисунок 1 — Общая схема импринтинга с получением МИП на примере шаблона 4-ГК

Приготовление предполимеризованного комплекса: 8,6 мкМ шаблона и 0,360 г СТАВ растворяли последовательно в смеси из 1 мл этанола и 11 мл БД воды с использованием УЗ-ванны. После растворения 0,5 мл АПТЭС добавляли порционно при перемешивании, после чего оставляли смесь в УЗ-ванне на 10 мин. Для образования комплекса шаблон-мономер раствор выдерживали в течение ночи при 4 °С.

Синтез молекулярно-импринтированных полимеров: к 1,5 мл ТЭОС, 10 мл этанола и 0,1 мл NaOH (10 М) добавляли 100 мг частиц Aerosil® 200 и приливали предполимеризованный раствор, затем механически перемешивали при комнатной температуре в течении 24 ч.

Параллельно велось приготовление НИП по аналогичной методике без использования шаблона.

Очистка матрицы: смесь приливали к высушенным частицам МИП/НИП и проводили перемешивание в течение 30 мин, затем — осаждали центрифугированием и отбирали надосадочную жидкость для контроля полноты вымывания.

Удаление молекулы-шаблона проводили последовательно при использовании растворов этанол:CH₃COOH = 9:1 об. (6 стадий) и CH₃COOH (1%). После завершения очистки, при условии отсутствия шаблона в супернатанте, частицы выдерживали дополнительно в растворе в течение ночи, затем трижды промывали большим количеством БД воды. Полученные образцы сушили под вакуумом в течение ночи.

Экстракция: к высушенным микрочастицам МИП/НИП (10,0 мг) добавляли 2 мл рабочего раствора шаблона. Частицы суспендировали с помощью УЗ-ванны (10 мин), и механически перемешивали в течение 30 мин. Аликвоты раствора отбирали для контроля процесса экстракции шаблона методом электронной спектроскопии.

Получены значения меры силы взаимодействия импринтированного полимера с молекулой шаблона —ИФ, по формуле:

$$\text{ИФ} = \frac{A_{\text{НИП}}}{A_{\text{МИП}}}$$

где $A_{\text{НИП}}$ — оптическая плотность супернатанта после экстракции на НИП, а $A_{\text{МИП}}$ — оптическая плотность супернатанта после экстракции на МИП.

Установлено, что наиболее высокие значения ИФ наблюдались при сорбции 4-ГК на поверхности МИП, синтезированных на варфарин и кверцетин. Варфарин отличается тем, что сорбируется плохо как на анти-варфарин МИП, так и на МИП, синтезированные на другие шаблоны. Молекулы кверцетина лучше всего сорбировались на анти-варфарин МИП.

Лучшая сорбция на анти-МИП наблюдается при экстракции кумарина на анти-кумарин МИП. Данный шаблон практически не сорбируется на МИП, синтезированные в присутствии других шаблонов.

Молекулы имазамокса лучше всего сорбировались на анти-имазамокс МИП и анти-имидазол МИП (рис. 2, б). Вероятно, имидазольный фрагмент в строении молекулы имазамокса оказывает большее влияние на связываемость шаблона с матрицей, чем никотиновый. Имидазол умеренно сорбируется на анти-имидазол МИП и анти-имазамокс МИП. Никотиновая кислота также лучше всего сорбируется одноименным (анти-никотиновая кислота) МИП, а также анти-имидазол МИП.

Для оценки возможности применения синтезированных МИП для **анализа реальных образцов** в работе использовали образцы очищенного зерна пшеницы, купленные на рынке г. Саратова.

Образцы пшеницы измельчали в кофемолке, для проведения эксперимента отбирали частицы размером ~1 мм. 5 г образца заливали 20 мл смеси этанола и перемешивали в течение 15 мин на горизонтальном шейкере при комнатной температуре. Полученный экстракт центрифугировали.

После центрифугирования отбирали образец супернатанта, разбавляли в 12 раз этанолом и производили “искусственное загрязнение” путем смешивания рабочего раствора ЗЕА (1 мл, 3 мкг/мл в этаноле) и 1 мл экстракта. Полученные растворы использовали для оценки работы МИП. С

этой целью к высушенным образцам анти-варфарин МИП (10 мг) приливали 2 мл искусственно загрязненного экстракта и перемешивали образцы с помощью мешалки в течение 30 мин. После центрифугирования отбирали надосадочную жидкость и проводили ее анализ методом спектроскопии.

Анти-варфарин МИП не являлись специфичными и умеренно сорбировали все молекулы-шаблона. Учитывая, что варфарин наиболее часто встречается в литературе как структурный аналог ЗЕА, анти-варфарин МИП использовали для экстракции целевой молекулы — ЗЕА в модельном растворе и в растворе реального образца. Результаты экстракции в модельном растворе (раствор шаблона в этаноле) и растворе искусственно загрязненного образца пшеницы показали возможность использования структурных аналогов в импринтинге для замены токсичного шаблона. Оптическая плотность супернатантов после прибавления МИП значительно ниже, чем оптическая плотность прибавления частиц НИП. При этом сорбция у анти-варфарин МИП ниже при экстракции супернатанта пшеницы, загрязненного ЗЕА, так как реальный образец более сложен, и присутствующие в нем вещества могут оказывать мешающее воздействие на процесс сорбции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведен анализ литературы, посвященной: свойствам микотоксинов и гербицидов, в частности, ЗЕА и имазамоксу; структурным аналогам ЗЕА и имазамокса, и принципам их подбора. Проанализирована литература, посвященная методу молекулярного импринтинга с участием микрочастиц диоксида кремния методом ядро-оболочка.
2. Проведена модификация поверхности микрочастиц Aerosil® 200 мезопористыми МИП на основе АПТЭС и ТЭОС, синтезированные с использованием различных шаблонов.
3. Показана возможность процесса сорбции различных шаблонов на разные МИП, оценен ИФ и степень извлечения МИП в модельных растворах.

4. Показана возможность применения синтезированных МИП для определения ЗЕА в экстрактах злаковых культур на примере искусственно загрязненного экстракта пшеницы и анти-варфарин МИП.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Medina Á., González-Jartín J.M., Sainz M.J. Impact of global warming on mycotoxins // *Current Opinion in Food Sci.* 2017. Vol. 18. P. 76–81.
2. Wagner V., Nelson C.R. Herbicides Can Negatively Affect Seed Performance in Native Plants // *Restor. Ecology.* 2014. Vol. 22, № 3. P. 288–291.
3. Marroquín-Cardona A.G., N.M. Johnson, T.D. Phillips, A.W. Hayes. Mycotoxins in a changing global environment - A review // *Food and Chem. Toxicology.* 2014. Vol. 69. P. 220–230.
4. Pitt J.I., CP Wild, RA Baan, WCA Gelderblom, JD Miller. Improving public health through mycotoxin control // *J. Internat. Agency for Research on Cancer Lyon, France, 2012.* Vol. 5. P. 15.
5. Ropejko K., Twarużek M. Zearalenone and Its Metabolites—General Overview, Occurrence, and Toxicity // *Toxins.* 2021. Vol. 13, № 1.
6. Keith E. Newhouse, Wendy A. Smith, Mark A. Starrett, Thomas J. Schaefer, Bijay K. Singh Tolerance to imidazolinone herbicides in wheat // *Plant Phys.* 1992. Vol. 100, № 2. P. 882–886.
7. Siyuan Tan, Richard R Evans, Mark L Dahmer, Bijay K Singh, Dale L Shaner Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future // *Pest Manag. Sci. Former. Pestic. Sci. Wiley Online Library, 2005.* Vol. 61, № 3. P. 246–257.
8. Tardsio Cobucci, Helio T. Prates, Christian L. M. Falcao M.M.V.R. Effect of imazamox, fomesafen, and acifluorfen soil residue on rotational crops // *Weed Sci.,* 1998. P. 258–263.
9. Vasapollo G. et al. Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective // *Int. J. Mol. Sci.* 2011. Vol. 12, № 9. P. 5908–5945.
10. Tarannum N. et al. Molecularly imprinted polymers as receptors for assays of antibiotics // *Critical Rev. in Anal. Chem.* 2020. Vol. 50, № 4. P. 291–310.

11. Lu H., Xu S. Hollow mesoporous structured molecularly imprinted polymers for highly sensitive and selective detection of estrogens from food samples // *J. Chromatogr. A*. Elsevier B.V., 2017. Vol. 1501. P. 10–17.
12. Chen L., Xu S., Li J. Recent advances in molecular imprinting technology: Current status, challenges and highlighted applications // *Chem. Soc. Rev.* 2011. Vol. 40, № 5. P. 2922–2942.
13. Lofgreen J.E., Ozin G.A. Controlling morphology and porosity to improve performance of molecularly imprinted sol-gel silica // *Chem. Soc. Rev.* 2014. Vol. 43, № 3. P. 911–933.
14. Makote R., Collinson M.M. Template Recognition in Inorganic-Organic Hybrid Films Prepared by the Sol-Gel Process // *Chem. Mater.* 1998. Vol. 10, № 9. P. 2440–2445.
15. Paolo Lucci, Delphine Derrien, Florent Alix, Céline Pérollier S.B. Molecularly imprinted polymer solid-phase extraction for detection of zearalenone in cereal sample extracts // *Anal. Chim. Acta*, 2010. P. 15–19.
16. Abdou M.M., El-Saeed R.A., Bondock S. Recent advances in 4-hydroxycoumarin chemistry. Part 1: Synthesis and reactions // *Arab. J. Chem.* Elsevier, 2019. Vol. 12, № 1. P. 88–121.