

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии
наименование кафедры

Детектирование токсичных веществ с помощью углеродных
наноструктур на основе лимонной кислоты

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента (ки) 4 курса 411 группы

направления 04.03.01 «Химия»

код и наименование направления

Института химии

наименование факультета

Штановой Ангелины Алексеевны

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель

д.х.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

17.06.22 Тор

дата, подпись

И.Ю. Горячева

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

д.х.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

17.06.22 Тор

дата, подпись

И.Ю. Горячева

инициалы, фамилия

Саратов 2022

Введение

Актуальность работы

В последние годы всё большее внимание привлекают углеродные наноструктуры (УНС) благодаря своим уникальным оптическим свойствам, превосходной фотостабильности, благоприятной биосовместимости, нетоксичности и отличной растворимости в воде. На основе этих превосходных свойств УНС обеспечивают новую платформу для различных применений.

Благодаря вышеупомянутым свойствам УНС находят широкое применения в обнаружении токсичных веществ. Тяжёлые металлы и некоторые органические вещества оказывают отрицательное влияние на организм человека, поэтому их количественное определение очень важно для экологических, аналитических и биомедицинских применений. Методы на основе УНС являются многообещающими кандидатами для флуоресцентного обнаружения ионов металлов и молекул органических веществ в водном растворе.

Методы исследования

Регистрацию спектров пропускания растворов проводили на спектрофотометре SHIMADZU UV-1800. Измерения спектров испускания растворов проводили на спектрофотометре Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer, который предназначен для измерения и регистрации спектров испускания и возбуждения флуоресценции веществ в области спектра 220-820 нм. С помощью многофункционального гибридного фотометра Synergy H1MF были измерены спектры испускания растворы УНС с добавлением ионов металлов, ПК и 4-НФ.

Практическая значимость

Практическая значимость исследования заключается в возможности использования полученных результатов в наносенсерах для определения содержания токсичных веществ.

Цели и задачи исследования

Целью нашей работы являлось – изучение физико-химических свойств флуоресцентных наноструктур на основе лимонной кислоты, и применение данной системы в качестве детектора катионов тяжёлых металлов, 4-нитрофенола и пикриновой кислоты. Для достижения вышеуказанной цели были поставлены следующие задачи: оптимизировать синтез УНС методом гидротермальной (ГТ) обработки; оценить влияние pH и ионной силы; определить цитотоксичность УНС; детектировать катионы металлов, 4-НФ и ПК в разных концентрациях.

Структура и объём работы.

Бакалаврская работа общим объемом 48 страниц состоит из введения, трех основных глав: 1 глава – литературный обзор; 2 глава - техника эксперимента; 3 глава - экспериментальные результаты и их обсуждения, выводов, техники безопасности и списка цитируемой литературы. Работа содержит 4 таблицы, 16 рисунков и 55 ссылок.

Основное содержание работы

Первый раздел – литературный обзор, включает в себя четыре подраздела:

1.1-1.2 Флуоресцентные наноструктуры, УНС. В этом подразделе рассмотрено разнообразие аллотропных наночастиц углерода, которые являются флуоресцентными соединениями.

Благодаря разнообразию углеродных скелетов и типов химических связей между атомами углерода существует большое число известных к настоящему времени аллотропных наночастиц углерода. Ни одна из наночастиц углерода не существует в природе, их можно получить только в сильно неравновесных, специально подобранных условиях. К наноструктурным модификациям углерода относятся частицы, одно из измерений которых не превышает 100 нм. Они являются флуоресцентными соединениями, которые могут повторно излучать свет при возбуждении света. К ним относятся УНС, углеродные нанотрубки, графен, фуллерен, наноалмазы, наноконусы, и др. Среди других

наноформ углерода УНС отличаются уникальными свойствами, обеспечивающими их широкое применения в обнаружении токсичных веществ.

1.3 В этом подразделе указаны основные способы, условия, стадии, получения УНС.

Общие пути получения флуоресцентных УНС включают золь-гель метод, лазерную абляцию, пиролиз, микроволновое облучение, электрохимический и гидротермальный (ГТ) синтез и ряд других методов. Все методы получения УНС разделяются на методы «сверху-вниз» (диспергационные методы) и «снизу-вверх» (конденсационные методы). Метод «сверху-вниз» заключается в уменьшении размеров объектов до нановелечин. Метод «снизу-вверх» — в создании материалов путём их сборки из отдельных атомов или молекул, а также элементарных атомно-молекулярных блоков.

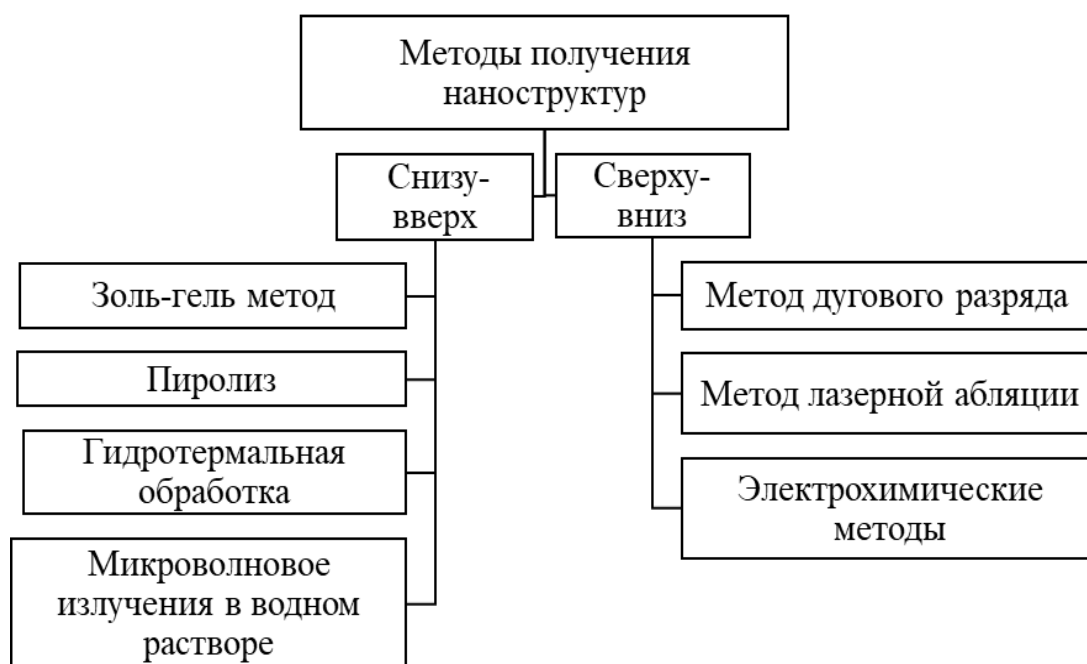


Таблица 1. Классификация методов получения УНС

1.4 Люминесцентные методы детектирования. В данном подразделе описываются возможные механизмы детектирования токсичных веществ различными методами, основанных на измерении интенсивности люминесценции.

Методы, основанные на интенсивности флуоресценции позволяют обойти многие проблемы, такие как колебания сигнала, вызванные колебаниями

концентрации, длины оптического пути и интенсивности источника, которые в противном случае препятствуют точному и количественному определению. Существует в основном четыре типа режимов флуоресцентного отклика: тушение флуоресценции, включение флуоресценции, резонансный перенос энергии флуоресценции и ратиометрический отклик. Большинство наносенсоров на основе УНС являются тушителями флуоресценции. Большая часть механизма тушения флуоресценции в основном связана с переносом электронов, заряда или энергии, а также с эффектом внутреннего фильтра

1.5 В последнем подразделе приводится большое количество примеров обнаружения ионов металлов и молекул, органических веществ в водном растворе, описаны их механизмы и стадии получения УНС.

Благодаря своим выдающимся свойствам УНС являются многообещающими кандидатами для флуоресцентного обнаружения токсичных веществ. С помощью УНС были обнаружены ионы тяжёлых металлов, таких как ртуть(II), медь(II), свинец(II), олово(II), никель(II) и др.

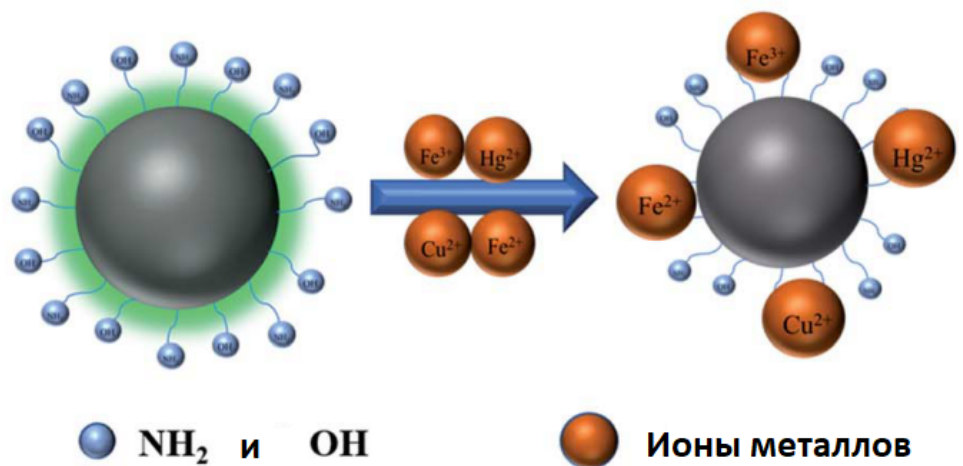


Рис. 1. Схема взаимодействия углеродных наноструктур и хелатирующих ионов металлов

Из органических веществ – 4-НФ, ПК и другие нитропроизводные фенола. Углеродные наночастицы могут быть использованы для обнаружения токсичных веществ в речных, подземных, сточных водах и в почве. Некоторые наночастицы обладают поглощающим эффектом и могут не только обнаруживать токсичные вещества, но и удалять их. Наночастицы также могут

быть использованы в клинической диагностике и скрининге лекарств для обнаружения токсичных веществ в живых клетках и биологических жидкостях человека.

Второй раздел – экспериментальная часть, включает в себя подразделы, в которых описывается методика синтеза УНС, используемого оборудования и реагентов

УНС получали с помощью ГТ синтеза ЦН и ЭДХ в бидистиллированной воде. Водный раствор смеси помещали в стеклянный стакан, далее его переносили в тefлоновый стакан с плотно прилегающей крышкой и погружали в автоклав из нержавеющей стали. Автоклав нагревали при постоянной температуре (200°C) в течение двух часов. Для полученных УНС были проведены расчёты КВ УНС с использованием эталонного флуорофора сульфата хинина. Для оценки цитотоксичности клетки мышинных фибробластов культивировали в питательной среде при 37 °С в инкубаторе в течение 24 часов в луночных планшетах. Далее в лунки к клеткам добавляли 10 мкл образца и оставляли инкубировать на 24 часа, после чего к клеткам добавляли реагент alamarBlue. Для обнаружения ионов металлов и ПК с помощью УНС была подготовлена серия водных растворов концентрацией $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-1}$ мг/мл, для 4-НФ - $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-1}$ мг/мл, растворы УНС предварительно разбавлялись в 1000 раз. Эти растворы смешивались 1:1 с раствором УНС в микропланшете, затем снимали спектры испускания растворов. Результаты тушения количественно определяли с помощью значения константы Штерна-Фольмера и значения предела обнаружения (ПО).

В третьем разделе - экспериментальные результаты, описываются данные, полученные в ходе выполнения экспериментальной части бакалаврской работы. Глава посвящена изучению влияния температуры синтеза, молярного соотношения компонентов, рН, ионной силы и обнаружению 4-нитрофенола и пикриновой кислоты с помощью метода тушения люминесценции.

Для получения УНС на основе лимонной кислоты с максимальной возможной интенсивностью флуоресценции было изучено влияние температуры и молярного соотношения компонентов. Сначала были проведены синтезы с варьированием температуры с постоянным временем ГТ обработки 2 часа. После их проведения, регистрации спектров (рис. 1А) и нахождения температуры с самой высокой интенсивностью испускания (200°C) УНС были получены при различных соотношениях ЦН и ЭДХ и для них так же были сняты спектры люминесценции (рис. 1Б). Наилучшим соотношением является 1:0,5 ЦН к ЭДХ, что подтверждается относительным рассчитанным значением КВ 79%.

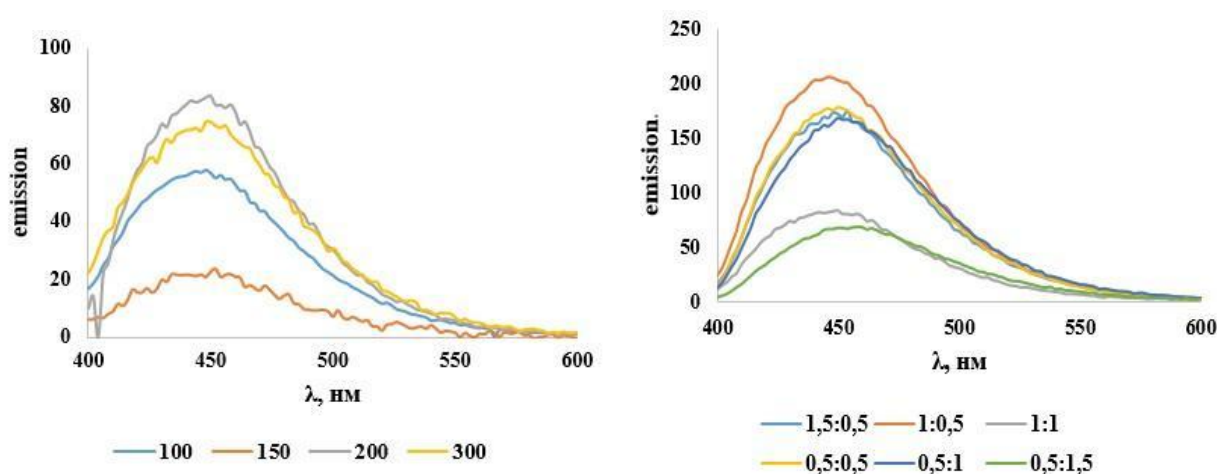


Рис. 1. Спектры испускания ($\lambda_{\text{воз}}=350$) УНС, полученных при разных температурах (А); Спектры испускания ($\lambda_{\text{воз}}=350$) УНС, полученных при разных молярных соотношениях (Б)

Для детектирования с помощью УНС токсичных веществ необходимо для начала изучить влияние рН и ионной силы на люминесцентные свойства. Для изучения их влияния были зарегистрированы спектры интенсивности люминесценции при разных значениях рН в диапазоне от 1 до 12 и ионной силы от 0,01 до 1 М. На рис. 2А видно, что ионная сила не влияет на флуоресцентные свойства УНС, а из рис. 2Б можно сделать вывод, что максимальная интенсивность наблюдается при рН близком к нейтральному.

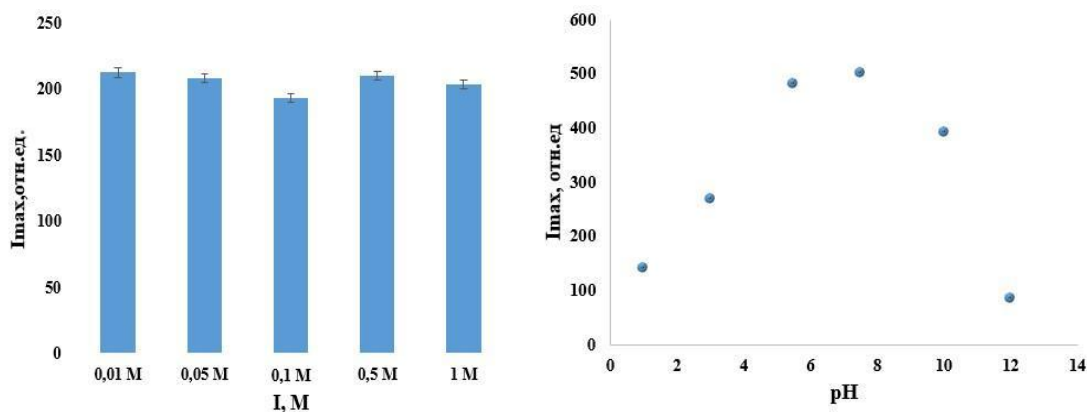


Рис. 2. Зависимость максимума интенсивности испускания от ионной силы (А); зависимость максимума интенсивности испускания от рН (Б).

Оценка цитотоксичности очень важна при разработке углеродных наноструктур т.к. она позволяет получать адекватную информацию о жизнеспособности клеток. На рис. 3 представлены результаты оценки цитотоксичности, которые показывают отсутствие значительных цитотоксических эффектов.

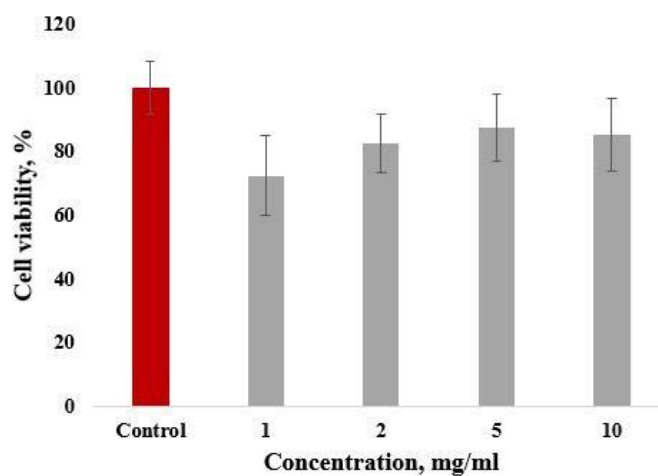


Рис.3. Тесты на цитотоксичность УНС

Методом тушения флуоресценции мы сначала проверили детектирование ионов тяжёлых металлов. Возможность детектирования ионов хрома, олова, свинца и меди была не выявлена.

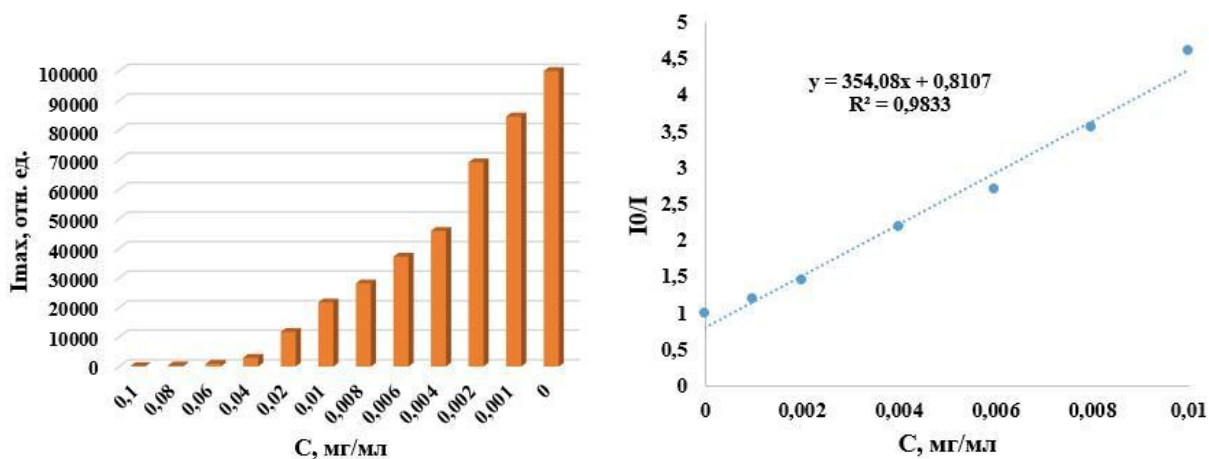


Рис. 4. Спектр испускания раствора УНС и 4-НФ при разных концентрациях 4-НФ (А), График Штерна-Фольмера тушения флуоресценции УНС добавлением различных концентраций 4-НФ (Б)

На графике зависимости интенсивности люминесценции от длины волны видно, что с увеличением концентрации 4-нитрофенола уменьшается интенсивность флуоресценции УНС. ПО составляет $1,5 \cdot 10^{-3}$. Из рис.12 можно увидеть, что значение константы Штерна-Фольмера равно $3,6 \cdot 10^2 \cdot \text{M}^{-1}$.

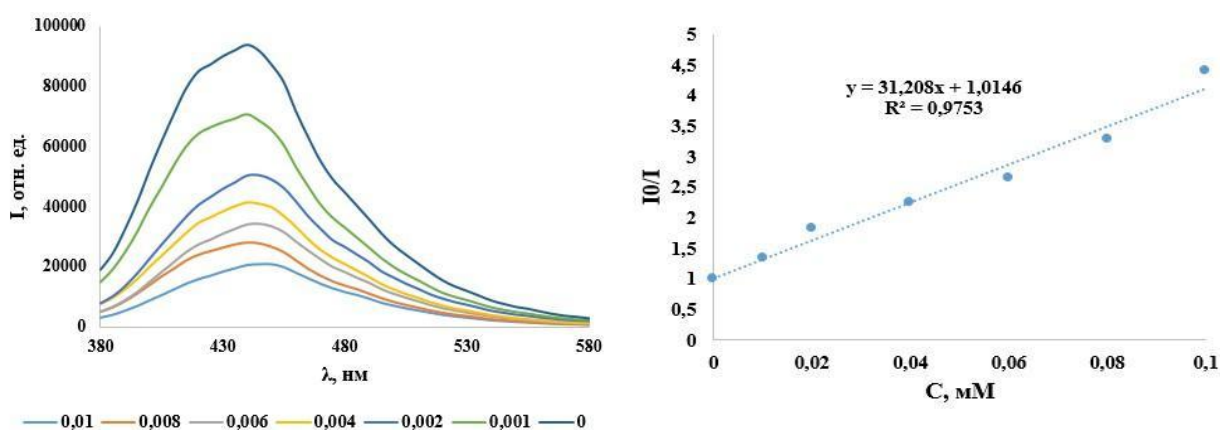


Рис. 5. Спектр испускания раствора УНС и ПК при разных концентрациях ПК (А), график Штерна-Фольмера тушения флуоресценции УНС добавлением различных концентраций ПК (Б)

На графике 5А видно, что с увеличением концентрации 4-нитрофенола уменьшается интенсивность флуоресценции УНС. Значение константы Штерна-Фольмера равно $31,2 \cdot 10^2 \cdot \text{M}^{-1}$. ПО составляет $1,2 \cdot 10^{-2}$.

Нами также был предположен механизм тушения флуоресценции. Как правило, фотоиндуцированный перенос электронов играет ключевую роль в тушении взрывчатых веществ из-за их электронодефицитной природы. Во время процесса переноса электронов возбужденное состояние флуорофора, вероятно, отдаёт электрон в основное состояние ПК, что приводит к гашению флуоресценции.

Заключение

- Был оптимизирован ГТ синтез УНС. Относительный КВ составил 79%.
- Выявлено, что ионная сила в изученном диапазоне не оказывает влияние на люминесцентные свойства УНС.
- Влияние рН показало, что УНС стабильны в нейтральной среде. В сильнокислой и щелочной среде происходит тушение флуоресценции, что связано с протонированием и депротонированием.
- УНС не обладают значительными цитотоксическими эффектами.
- Показана возможность детектирования токсичных компонентов (4-НФ, ПК). Предел обнаружение для 4-НФ составил $1,1 \cdot 10^{-3}$, для ПК – $1,1 \cdot 10^{-2}$.

17.06.22 *[Signature]*