

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

Молекулярно-импринтированные полимеры на основе  
модифицированных микрочастиц оксида кремния для выделения  
зеараленона

**АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ**

студентки 4 курса 411 группы

направления 04.03.01 «Химия»

код и наименование направления

Института химии

наименование факультета

Мартыновой Анны Вячеславовны

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель  
профессор, д.х.н., доцент  
должность, уч. степень, уч. звание

\_\_\_\_\_  
дата, подпись

Н.А. Бурмистрова  
инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:  
д.х.н., профессор  
должность, уч. степень, уч. звание

\_\_\_\_\_  
дата, подпись

И.Ю. Горячева  
инициалы, фамилия

Саратов 2023

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Микотоксины (от греческого *mykes* – гриб и *toxicon* – яд) – токсичные продукты жизнедеятельности микроскопических (плесневых) грибов. Известно более 250 видов грибов, продуцирующих несколько сотен микотоксинов. Многие из них обладают мутагенными (в т. ч. канцерогенными) свойствами. Борьба с микотоксинами остается одним из самых актуальных среди вопросов биологической безопасности. Одним из перспективных методов выделения и концентрирования микотоксинов в цикле их аналитического определения является молекулярный импринтинг. Интерес к молекулярно-импринтированным полимерам (МИП) обусловлен в первую очередь редким сочетанием уникальных свойств этих материалов с простотой и низкой стоимостью получения.

**Цель работы** - синтез молекулярно-импринтированного полимера на поверхности микрочастиц диоксида кремния, селективного к микотоксину зеараленону.

**Задачи** исследования включали: поиск и анализ литературных данных, посвященных зеараленону (ЗЕН) и методам его определения на основе молекулярно-импринтированных полимеров; изучение методами квантовой химии взаимодействия между ЗЕН и его структурными аналогами с функциональными мономерами – органосиланами, оценка энергии связывания; получение частиц оксида кремния, модифицированных молекулярно-импринтированными полимерами на основе органосиланов с использованием в качестве шаблона 4-гидроксикумарина (4-ГК); изучение возможности использования полученных МИП для извлечения 4-ГК из модельных растворов.

**Материалы и методы исследования.** Возможность образования предполимеризационного комплекса между ЗЕН и структурно близкими соединениями (4-ГК, кумарин, кверцетин, варфарин) и кремнийорганическими соединениями (АПТЕС, тетраэтоксисилан - ТЕОС, (3-метакрилоксипропил) триметоксисилан - 3γ-МАПС, Трис(2-метоксиэтокси) винилсилан – Винилтрис,

(3-глицидил окипропил триметоксисилан) - Глимо) изучена методами квантовой химии (ROHF 3-21G\*). Синтез МИП на основе АПТЭС проводили на поверхности коммерческих микрочастиц диоксида кремния (AEROSIL® 200, Германия). Спектры флуоресценции регистрировали на спектрометре Cary Eclipse Fluorescence Spectrometer (Agilent Technologies, США)

**Структура и объем работы.** из введения, трех глав (литературный обзор, экспериментальная часть, результаты и обсуждение), списка использованных источников, инструкции по охране труда и технике безопасности. В тексте работы содержатся уравнения и графические иллюстрации. Общий объем ВКР составляет 42 страницы, включая 6 рисунков и 7 таблиц.

### **Основное содержание работы.**

В главе 1 представлен обзор литературы, в котором обсуждаются свойства микотоксинов и их влияние на живые организмы, некоторые методы определения с перспективой выделения методом молекулярного импринтинга, а также теоретическое изучение взаимодействий шаблон-мономер.

В главе 2 описаны материалы и методы, используемые в работе.

В главе 3 обсуждаются характеристики объектов исследования, рассчитанные методами квантовой химии, проведена оценка энергий связывания комплексов шаблон-мономер. Изучены спектральные характеристики 4-гидроксикумарина; изучена возможность использования молекулярного импринтинга для извлечения 4-ГК из модельных растворов. Результатами исследования является оценка сорбционных свойств полученных МИП.

### **Оценка энергии связывания комплексов шаблон-мономер.**

Основной принцип вычислительного проектирования МИП заключается в том, что стабильность комплекса шаблон-мономер напрямую связана с качеством импринтированных участков, созданных в полимере после сшивания. Расчет энергии образования комплекса проводят согласно уравнению (1):

$$\Delta E = E_{\kappa} - (E_{\text{ш}} + E_{\text{м}}), (1)$$

где  $E_{\text{к}}$ ,  $E_{\text{ш}}$  и  $E_{\text{м}}$  – наименьшие вычисляемые энергии комплекса шаблон-мономер, шаблона и мономера соответственно.

Энергии комплексообразования исследуемых комплексов представлены в табл. 1. Сравнение  $\Delta E$  позволяет оценить относительную стабильность различных систем и, таким образом, позволяет провести выбор мономера, а также найти соотношение шаблон-мономер.

Таблица 1 – Энергии комплексообразования (ROHF 3-21G\*, вакуум), КДж/моль

|            | АПТЕС  | ТЕОС   | МАПС   | Винилтрис | Глимо, |
|------------|--------|--------|--------|-----------|--------|
| Кумарин    | -31.5  | -31.5  | -63.0  | -44.6     | -60.4  |
| 4-ГК       | -112.9 | -36.7  | -102.4 | -44.6     | -44.6  |
| Зеараленон | -23.6  | -10.5  | -34.1  | -36.7     | -55.1  |
| Кверцетин  | -70.9  | -21.0  | -94.5  | -86.6     | -34.1  |
| Варфарин   | -128.6 | -107.6 | -78.7  | -131.2    | -42.0  |

Установлено, что энергия взаимодействия увеличивается в ряду: ЗЕН-ТЕОС < кверцетин-ТЕОС < ЗЕН-АПТЕС < кумарин-ТЕОС < кумарин-АПТЕС < ЗЕН-МАПС < кверцетин – Глимо < ЗЕН-Винилтрис < 4-ГК-ТЕОС < варфарин-Глимо < кумарин-Винилтрис < 4-ГК-Глимо < 4-ГК-Винилтрис < ЗЕН-Глимо < кумарин-Глимо < кумарин-МАПС < кверцетин-АПТЕС < варфарин-МАПС < кверцетин-Винилтрис < кверцетин-МАПС < 4-ГК-МАПС < варфарин-ТЕОС < 4-ГК-АПТЕС < варфарин-АПТЕС < варфарин-Винилтрис.

#### **Определение 4-гидроксикумарина**

В качестве основного метода определения концентрации 4-ГК использовали электронную спектроскопию. Вид спектров флуоресценции раствора 4-ГК представлен на рисунке 1, зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации 4-ГК – на рисунке 2. Представленные данные согласуются с литературными данными, основная характеристическая полоса флуоресценции 4-ГК наблюдается при 373 нм.

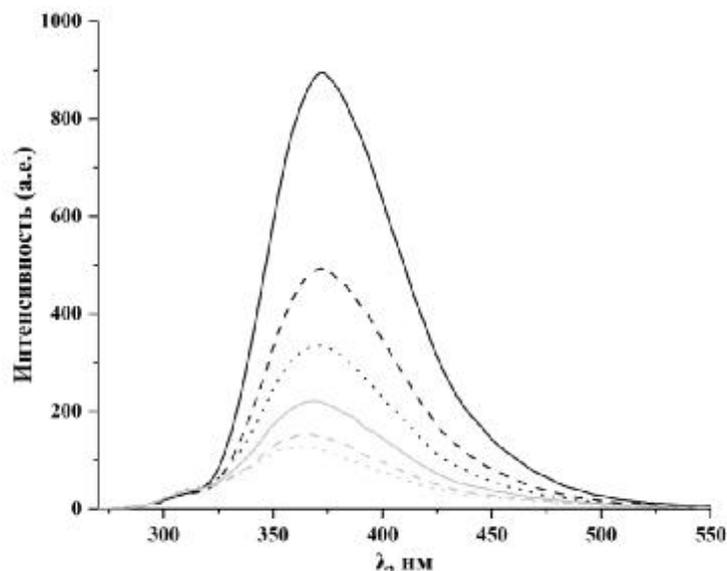


Рисунок 1 – Спектры флуоресценции 4-ГК (4-154 мкМ);  $\lambda_{\text{возб}} = 320$  нм

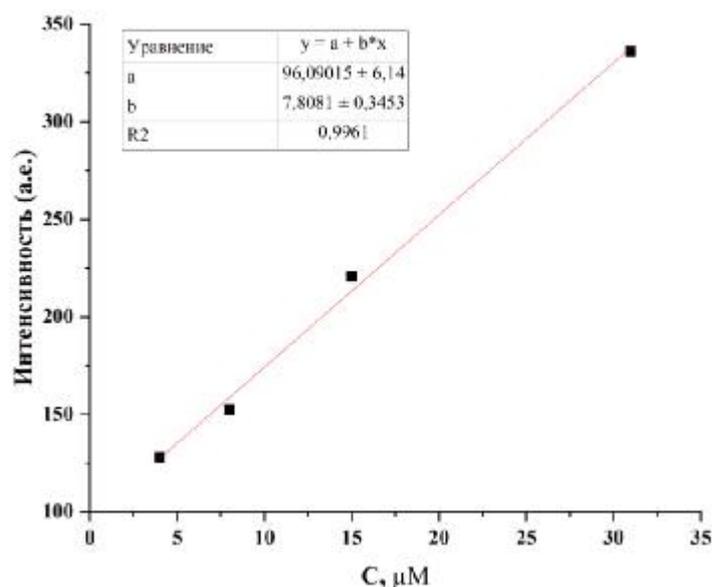


Рисунок 1 – Градуировочный график для определения 4-ГК ( $\lambda_{\text{фл}} = 373$  нм)

### **Синтез молекулярно-импринтированного полимера на поверхности оксида кремния.**

МИП на поверхности частиц оксида кремния с использованием в качестве молекул шаблонов 4 ГК синтезировали согласно известной методике [38]. Неимпринтированные полимеры (НИП) получали по аналогичной методике в

отсутствии молекул шаблонов. Установлено, что наиболее полного удаления молекулы-шаблона удалось добиться использованием многократной промывки частиц смесью  $C_2H_5OH:CH_3COOH = 9:1$  об. и последующей чисткой  $CH_3COOH$  (1% масс.).

### Экстракция 4-гидроксикумарина из модельных растворов на частицы МИП/НИП

Изучена эффективность МИП для извлечения 4-ГК из модельных растворов. Диаграмма зависимости оптической плотности 4-ГК после экстракции МИП и НИП представлены на рисунке 3.

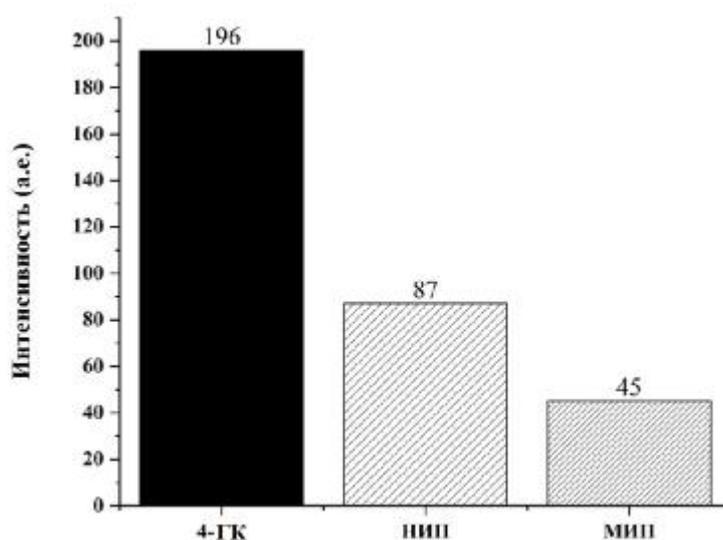


Рисунок 3 – Диаграмма зависимости интенсивности флуоресценции (при  $\lambda = 373$  нм) 4-ГК ( $C_{4-ГК} = 12$  мкМ) после его экстракции на частицы НИП и МИП;  $\lambda_{возб} = 320$  нм; щели: 10/10

Полученные данные использовали для расчета ряда сорбционных характеристик. Сорбционную емкость (А) и импринтинг фактор (ИФ) МИП рассчитывали по формулам (2, 3):

$$A = \frac{(C_0 - C_{ост}) \times V}{m}, (2)$$

где  $A$  – величина адсорбции [мкг/г];  $C_0$  – начальная концентрация адсорбата [мкг/мл];  $C_{\text{ост}}$  – равновесная концентрация адсорбата [мкг/мл];  $V$  – объем раствора адсорбата [мл];  $m$  – масса сорбента [мг].

$$\text{ИФ} = \frac{I_{\text{нип}}}{I_{\text{мип}}}, \quad (3)$$

где  $I$  – интенсивности флуоресценции супернатанта после экстракции.

Значения характеристик ( $A = 300$  мкг/г, ИФ = 1,93) свидетельствуют об удовлетворительных сорбционных свойствах МИП.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведен синтез молекулярно-импринтированного полимера на поверхности микрочастиц диоксида кремния с использованием в качестве молекул-шаблона структурного аналога зеараленона (4-гидроксикумарина).
2. Методы квантовой химии (RONF 3-21\*G) использованы для теоретического изучения процесса образования предполимеризационного комплекса между молекулами зеараленона, его структурных аналогов с молекулами органосиланов. Установлено, что наиболее стабильными являются комплексы: 4-ГК-АПТЕС, варфарин-АПТЕС, варфарин-ТЕОС, 4-ГК-МАПС, варфарин-Винилтрис;
3. Изучено влияние различных факторов и выбраны оптимальные условия модификации поверхности микрочастиц кремния молекулярно-импринтированными полимерами на основе АПТЕС и ТЕОС;
4. На примере 4-гидроксикумарина показана возможность использования синтезированных МИП для его сорбции. Установлено, что в модельных растворах МИП характеризуются удовлетворительными сорбционными свойствами (сорбционная емкость 300 мкг/г, ИФ 1,93).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Шугалей, И. В., Илюшин, М. А., Судариков, А. М. Микотоксины – опасные экологические факторы и поиски новых путей их обезвреживания, в том числе и с использованием наноматериалов // Экол. хим. - 2014. - Т. 23, №. 1. - С. 49-56.
2. Caglayan, M. O., Şahin, S., Üstündağ, Z. Detection strategies of Zearalenone for food safety: a review // Criti. Rev. Anal. Chem. - 2020. - Vol. 52, №. 2. - P. 1-20.
3. Ахмадышин, Р. А., Канарский, А. В., Канарская, З. А., Микотоксины – контаминанты кормов // Вестник Казан. Технол. ун-та - 2007. - С. 88-103.
4. Anene, A. [et al]. Molecularly imprinted polymer-based materials as thin films on silica supports for efficient adsorption of Patulin // Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp. - 2016. - Vol. 497. - P. 293-303.
5. Zinedine A. [et al]. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin // Food Chem. Toxicol. - 2007. - Vol. 45, №. 1. - P. 1-18.
6. Zhang, D., Tang, J., Liu, H. Rapid determination of lambda-cyhalothrin using a fluorescent probe based on ionic-liquid-sensitized carbon dots coated with molecularly imprinted polymers // Anal. Bioanal. Chem. - 2019. - Vol. 411, №. 20. - P. 5309-5316.
7. Wang, Y. K. [et al.] Screening of Single-Stranded DNA (ssDNA) Aptamers Against a Zearalenone Monoclonal Antibody and Development of a ssDNA-Based Enzyme-Linked Oligonucleotide Assay for Determination of Zearalenone in Corn. // J. Agric. Food Chem. - 2015. - № 63. - P. 136-141.
8. Mirocha C. J., Schauerhamer, B., Pathre, S. V. Isolation, detection, and quantitation of zearalenone in maize and barley // J. Assoc. Off. Anal. Chem. - 1974. - Vol. 57, №. 5. - С. 1104-1110.
9. Valimaa, A. L. [et al.] A Novel Biosensor for the Detection of Zearalenone Family Mycotoxins in Milk // J. Microbiol. Methods - 2010. - №. 80. - P. 44-48.

10. Xu, J. [et al.] Towards High-Efficient Online Specific Discrimination of Zearalenone by Using Gold Nanoparticles@Aptamer-Based Affinity Monolithic Column // J. Chromatogr. - 2020. - № 1620. - P. 461026.
11. Zhang, W. [et al.] Multiplex SERS-Based Lateral Flow Immunosensor for the Detection of Major Mycotoxins in Maize Utilizing Dual Raman Labels and Triple Test Lines.products // J. Hazard. Mater. - 2020. - №. 393. - C. 122348.
12. Wang, X. [et al.] Anti-Idiotypic VHH Phage Display-Mediated immuno-PCR for Ultrasensitive Determination of Mycotoxin Zearalenone in Cereals. // Talanta. - 2016. - Vol. 147. - P. 410-415.
13. Li, M. [et al.] Simultaneous detection of zearalenone, citrinin, and ochratoxin A in pepper by capillary zone electrophoresis // Food Add. Contam. Part A. - 2020. - Vol. 37, №. 8. - P. 1388-1398.
14. Tan, X. [et al.] Aptamer-based ratiometric fluorescent nanoprobe for specific and visual detection of zearalenone // Microchem. J. - 2020. - Vol. 157. - P. 104943.
15. Zhao, H. [et al.] Determination of 16 Mycotoxins in Vegetable Oils Using a QuEChERS Method Combined with High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry // Food Addit. Contam. Part A - 2016. - Vol. 34. - P. 1-264.
16. Bondarenko, A. P.; Eremin, S. A. Determination of Zearalenone and Ochratoxin a Mycotoxins in Grain by Fluorescence Polarization Immunoassay // J. Anal. Chem. - 2012. - №67. - P. 790-794.
17. Radi, A. E., Eissa, A., Wahdan, T. Voltammetric behavior of mycotoxin zearalenone at a single walled carbon nanotube screen-printed electrode // Anal. Methods. - 2019. - Vol. 11, №. 35. - P. 4494-4500.
18. Лисичкин, Г.В., Крутяков, Ю.А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение // Успехи химии – 2006. - №75 - С. 998-1017.
19. Дмитриенко, Е.В. [и др.] Молекулярно импринтированные полимеры для биомедицинских и биотехнологических применений // Успехи химии - 2016. - №85 – С. 513-536.

20. Гендриксон, О.Д., Жердев, А.В., Дзантиев, Б.Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе // Успехи биол. Химии – 2006. - Т. 46 - С. 149-192.
21. Oliveira, L. F. Tailored silica nanoparticles surface to increase drug load and enhance bactericidal response // J. Braz.- 2017 - Vol. 28, №. 9 - P. 1715-1724.
22. Sun, Y. Molecularly imprinted polymer for 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid prepared by a sol-gel method // J. Chem. Sci. Vol. 126, № 4 - 2014 - P. 1005-1011
23. Saeger, S., Beloglazova, N. Use of different labels and detection platforms in immunochemical screening methods for (multi)mycotoxins // Mycotoxins - 2019 - P. 61-62.
24. Zhang, Y. [et al.] Application of surface-imprinted polymers supported by hydroxyapatite in the extraction of zearalenone in various cereals // Anal. Bioanal. Chem. - 2020 - Vol. 412, № 17. - P. 4045-4055.
25. Piletsky, S. A., Alcock, S., Turner, A. P. F. Molecular imprinting: at the edge of the third millennium // Trends Biotechnol. - 2001. - Vol. 19, № 1. - P. 9-12.
26. Zhang, C. [et al.] Silica-based surface molecular imprinting for recognition and separation of lysozymes // Anal. Methods. - 2014. - Vol. 6, № 21. - P. 8584-8591.
27. Markowitz, M. A., Deng, G., Gaber, B. P. Effects of Added Organosilanes on the Formation and Adsorption Properties of Silicates Surface-Imprinted with an Organophosphonate // Langmuir – 2000. - Vol. 16, № 15 - P. 6148-6155.
28. Barrera, E. G., Livotto, P. R., Joao, H.Z. Hybrid silica bearing different organosilanes produced by the modified Stober method // Powder Tech. - № 301 - P. 1-26.
29. Piletsky, S. A. [et al.] Substitution of antibodies and receptors with molecularly imprinted polymers in enzyme-linked and fluorescent assays // Biosens. Bioelectron. - 2001. - Vol. 16, № 9-12 - P. 701-707.
30. Cowen, T., Karim, K., Piletsky, S. Computational approaches in the design of synthetic receptors // Anal. Chim. Acta. - 2016. - Vol. 936, № 9-12 - P. 62-74.

31. Gómez-Pineda, L. E. [et al.] Quantum Chemical Calculations on the Interaction between Flavonol and Functional Monomers (Methacrylic Acid and 4-Vinylpyridine) in Molecularly Imprinted Polymers // *Molecules*. - 2010 - Т. 15, № 6 - С. 4017-4032.
32. Andrienko, G.A. ChemCraft 1.8 [Электронный ресурс] - URL: <https://www.chemcraftprog.com/index.html> (дата обращения: 25.03.2023)
33. Stewart, J. MOPAC 2012 [Электронный ресурс] - URL: <http://openmopac.net/> (дата обращения: 25.03.2023)
34. Granovsky, A.A. Firefly version 8 [Электронный ресурс] - URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html> (дата обращения: 25.03.2023)
35. Karim K. [et al.] Protocol for the Computational Design of High Affinity Molecularly Imprinted Polymer Synthetic Receptors // *Glob. J Biotechnol. Biomater. Sci.* - 2017. - Vol. 3, № 1 - P. 1-7.
36. Prasad, B.B. , Singh, R., Kumar, A. Development of imprinted polynutral red/electrochemically reduced graphene oxide composite for ultra-trace sensing of 6-thioguanine. // *Carbon*. - 2016, №102 - Vol. 86-96.
37. Faria, R. A., Nunes da Ponte, M., Bogel-Lukasik, E. Solubility studies on the system of trihexyl(tetradecyl)phosphonium bis[(trifluoromethyl)sulfonyl]amide ionic liquid and pharmaceutical and bioactive compounds // *Fluid Phase Equilib.* - 2015. - № 385 - С. 1-9.
38. Zuo, H. [et al.] Preparation of a Novel Restricted Access Material Combined to Core-Shell Magnetic Molecularly Imprinted Polymers for Determination of Dimethyl phthalate in Soils. // *Soil Sediment Contam.: An Int. J.* - 2019. - Vol. 28, №6 - P. 529-546.
39. Moriya, T. Excited-State Reactions of Coumarins. VII. The Solvent-Dependent Fluorescence of 7-Hydroxycoumarins. // *Bull. Chem. Soc. Japan*. - 1988. - Т 61, № 6. - С. 1873-1886.