МИНОБРНАУКИ РОССИИ

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

Кафедра общей и неорганической химии

Импринтированный кремнезём для твердофазной экстракции имазамокса в сельском хозяйстве

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 413 группы
направления 04.03.01 «Химия»
Института химии
Мезенцевой Алены Александровны

Научный руководитель

Профессор, д.х.н, доцент _____ Н.А Бурмистрова

подпись, дата

Зав. кафедрой

д.х.н., профессор _____ И.Ю.Горячева

подпись, дата

Саратов 2025

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение населения безопасными и качественными продуктами питания является одной из приоритетных задач современного агропромышленного комплекса. Большие участки площади ежегодно засеваются различными культурами, такими как подсолнечник, ячмень, пшеница. Очень часто один и тот же участок засевается разными культурами в течение нескольких лет. Это может привести к накапливанию специфических патогенов: грибы, бактерии, вредители.

В связи с этим, разработка и внедрение эффективных стратегий по снижению уровня сорняков и вредителей в сельскохозяйственной структуре является актуальной научной и практической задачей. Одним из подходов к решению данной проблемы является применение гербицидов избирательного действия.

Несмотря на то, что такие препараты не оказывают негативного влияния на целевые культуры, они могут накапливаться в почве, вымываться грунтовыми водами, попадать в сельскохозяйственную продукцию и тем самым значительно влиять как на эффективность выращивания новых целевых культур, так и на организм человека и животных.

Почва является сложной по составу матричной средой, требующей проведения специфической времязатратной предварительной стадии подготовки образца для проведения его аналитического исследования. Перспективной заменой классической пробоподготовки при анализе образцов почв является применение сорбционных материалов, модифицированных молекулярно импринтированными полимерами (**МИП**). В то же время такие сорбционные материалы могут найти свое применение для инактивации гербицидов непосредственно в почвах. Одними из наиболее распространённых полимеров для получения МИП являются производные тетраэтоксисилана (**ТЭОС**). Обладающие низкой стоимостью, нетоксичностью и простой методикой полимеризации.

Целью данной работы являлось получения сорбента на основе наночастиц оксида кремния (IV) – **Aerosil® 200**, модифицированного МИП, специфичным к имазамоксу.

Для достижения поставленной цели решены следующие задачи:

Получение импринтированного кремнезема при различных условиях (концентрации ПАВ, шаблона и pH)

Изучение свойств импринтированного кремнезёма, полученного при различных условиях, методами сканирующей микроскопии и ИК-спектроскопии

Оценка влияния различных факторов на коллоидную стабильность и сорбционную ёмкость частиц импринтированного сорбента

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 Литературный обзор

С развитием сельского хозяйства необходимость использования гербицидов неуклонно растет, поскольку они помогают бороться с сорняками, повышая урожайность и качество культурных растений.

Одной из разрешенных к использованию в России гербицидных групп является имидозалиноновая, к которой относятся имазапир, имазапик, имазетапир, имазамокс. Эти гербициды отличаются высокой селективностью и эффективностью против широкого спектра сорняков, что делает их важным инструментом в современном аграрном производстве. Структурные формулы представителей имидозалиноновой группы гербицидов представлены на рисунке 1.

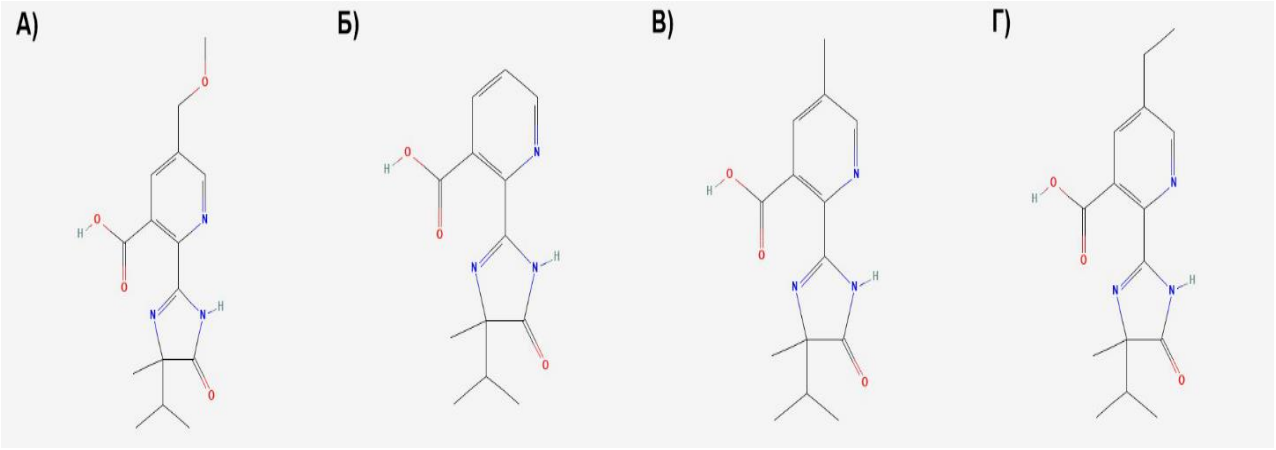

Рисунок 1 — Структурные формулы имазамокса (А), имазапира (Б), имазапика (В), имазетапира (Г)

Молекулярно-импринтированные полимеры (**МИП**) — это класс синтетических рецепторов, которые обладают высоким сродством к молекулам шаблонам, используемым при их получении. Полимерная сетка МИП характеризуется наличием трехмерных полостей, комплиментарных размеров, формой и зарядом молекуле шаблону [1]. После очистки такие сайты связывания могут быть использованы для извлечения целевой молекулы из объекта анализа. Такие синтетические рецепторы успешно применяются для выделения и концентрирования различных веществ и могут храниться в течение длительных периодов времени, с сохранением исходных сорбционных свойств [1]. Распространённая техника поверхностного импринтинга позволяет получать синтетические рецепторы с низкой стоимостью, высокой химической стабильностью на поверхности практически любых неорганических частиц [1] и сенсорных платформ [2]. За счет перечисленных преимуществ МИП широко используются в различных областях аналитической химии [3], контроле качества пищевых продуктов [4] при доставке лекарств [5] и в качестве эффективных катализаторов в биотехнологии [6].

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Реагенты

В работе использовали 98% технический имазамокс [5-(метоксиметил)-2-(4-метил-5-окси-4-пропан-2-ил-1Н-имидазол-2-ил)пиридин-3-карбоновая кислота], 98%-ый спиртовой раствор (3-аминопропил)триэтоксисилана (х.ч., Sigma), гидроксид натрия (ч.д.а., Реахим), 98%-ый спиртовой раствор тетраэтоксисилана(х.ч., Sigma), этанол (х.ч., Реахим), цетилтриметиламмония бромид (**ЦТАБ**, х.ч., Sigma), Aerosil® 200 (х.ч. ФармВИЛАР), ледяная уксусная кислота (х.ч. Реахим). Для приготовления всех растворов использовали бидистиллированную воду Milli–Q (18 МОм/см, **БД**).

2.2 Оборудование

Сорбционные свойства полученных МИП оценивали электронной абсорбционной спектроскопией с использованием спектрофотометра «UV–1800» (Shimadzu, Япония). ИК-Фурье спектроскопия использована для контроля функционализации поверхности частиц Aerosil® 200. Регистрация ИК спектров проводилась с использованием спектрометра ФТ–801 («Симекс», Россия). Так же для подтверждения положительного заряда на поверхности модифицированных частиц Aerosil® 200 проводили определение ζ-потенциала с использованием комплекса оборудования для исследования характеристик дисперсных систем «Zetasizer Advance Ultra» (Malvern Panalytical, Великобритания). Изображения просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ регистрировали на микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss) в Центре коллективного пользования исследовательским оборудованием в области физико–химической биологии и нанобиотехнологий "Симбиоз" Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук.

2.3 Методика синтеза МИП

Синтез проводили по адаптированной методике [7]: к навескам имазамокса (2 мг) и ЦТАБ (72 мг) добавляли этанол (200 мкл) и БД (2200 мкл), смесь подвергали ультразвуковой обработке (10 мин), после чего добавляли АПТЭС (100 мкл) и оставляли при постоянном перемешивании на 30 мин. Реакционную смесь подвергали УЗ обработке и оставляли на 18 ч без перемешивания при температуре 4 °С. Затем к предполимеризационным растворам добавляли раствор ТЭОС (300 мкл), этанол (2000 мкл), NaOH (10 М, 20 мкл) и навеску частиц Aerosil (20 мг), полученные смеси перемешивали в горизонтальном шейкере 24 ч при комнатной температуре. В качестве контрольных образцов по аналогичной методике, но без добавления навески молекул шаблона готовили неимпринтированный полимер (**НИП**).

2.4 Очистка импринтированных частиц

К загрязнённым частицам МИП/НИП приливали 25 мл элюента 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 H_2O:CH_3COOH = 9:1 об. (6 стадий) и C_2H_5OH:CH_3COOH = 9:1 об. (1 стадий). После завершения очистки, при условии отсутствия шаблона в над-осадочной жидкости, частицы выдерживали дополнительно в растворе в течение ночи, затем трижды промывали большим количеством БД воды. После чего частицы оставляли в БД воде.

2.5 Изучение сорбционных свойств частиц

К микрочастицам МИП анти–имаз и НИП (10 мг) добавляли раствор имазамокса (Milli–Q, 2 мл, 10 мкг/мл, pH = 3), микрочастицы ресуспендировали с помощью УЗ-обработки (40 кГц, 180 Вт) в течение 10 мин и перемешивали на горизонтальном шейкере (30 мин). Затем образцы

центрифугировали (5 мин, 5000 rcf), и спектрофотометрически регистрировали спектры поглощения надосадочной жидкости. Значения импринтинг фактора (ИФ) и сорбционную ёмкость(Q) рассчитывали по формулам:

$$ИФ = \frac{S_{НИП}}{S_{МИП}} \quad (1)$$

$$Q = \frac{(C_{нач} - C_{кон}) \times V}{m_{сорб}} \quad (2)$$

где $S_{НИП/МИП}$ — площадь фотометрического пика надосадочной жидкости, после сорбции на НИП или МИП, соответственно, у.е., $C_{нач}$ — начальная концентрация молекулы шаблона, мкг/мл, $C_{кон}$ — концентрация молекулы шаблона после экстракции, мкг/мл, $m_{сорб}$ — масса сорбента при экстракции, мг, V — объём раствора при экстракции, мл

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Свойства молекулярно импринтированных полимеров

Образцы МИП и НИП полученные в ходе выполнения работы изучены с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Результаты ПЭМ свидетельствуют об успешном образовании слоя полимера как на образцах НИП, так и на образцах МИП. Успешно проведено получения сорбента типа «ядро-оболочка». Морфологии поверхности частиц МИП и НИП отличаются. В случае МИП слой полимера неравномерно распределен по поверхности наночастицы Aerosil® 200, что, по-видимому, связано с влиянием молекул шаблона на протекание реакции полимеризации. Для образцов НИП получено равномерно распределенное полимерное покрытие без внешних дефектов. Так же стоит обратить внимание, что толщина слоя полимера у образцов НИП в 5 раз больше (~25 нм), чем у образцов МИП (~5 нм), что подтверждает замедление скорости полимеризации в присутствии

имазамокса. Средний размер МИП модифицированных наночастиц Aerosil® 200 составил ~55 нм, а для частиц с поверхностью из НИП ~100 нм.

Таким образом данные ПЭМ подтверждают успешную модификацию поверхности наночастиц Aerosil® 200 с образованием слоя МИП и НИП, соответственно и показывают значительное влияние имазамокса на протекание процесса полимеризации АПТЕС.

Результаты ИК-спектроскопии и оценки ζ-потенциала

Для проверки успешности модификации поверхности наночастиц регистрировали ИК спектры модифицированных и немодифицированных наночастиц (Рисунок 2).

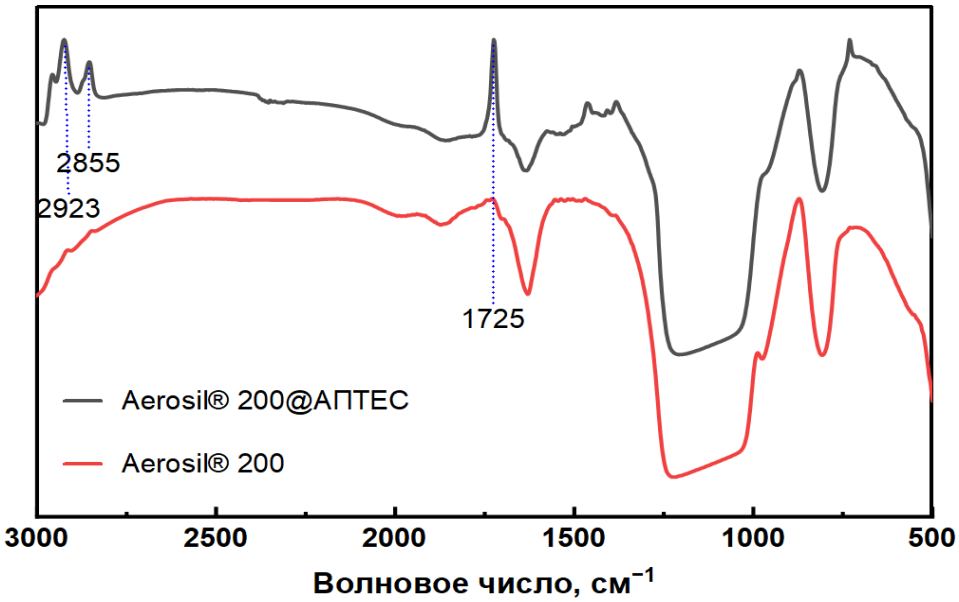

Рисунок 2 — ИК спектры наночастиц Aerosil® 200 до (красный) и после (черный) функционализации поверхности с применением АПТЕС

Согласно данным ИК-Фурье спектроскопии, модификация наночастиц Aerosil® 200 с помощью полимеризации АПТЭС приводит к появлению пика при 1725 $см^{-1}$, соответствующего деформационным колебаниям аминогруппы, а также двум пикам при 2855 и 2923 $см^{-1}$, отвечающим валентным колебаниям аминогруппы. Появление этих пиков свидетельствует об успешной модификации поверхности наночастиц Aerosil® 200.

Также для подтверждения успешной модификации и изучения коллоидной стабильности был изучен ζ-потенциал не функционализированных и функционализированных аминогруппами наночастиц Aerosil® 200. Зависимость ζ-потенциала от функциональной групп на поверхности и концентрации наночастиц Aerosil® 200 представлены на рисунке 3.

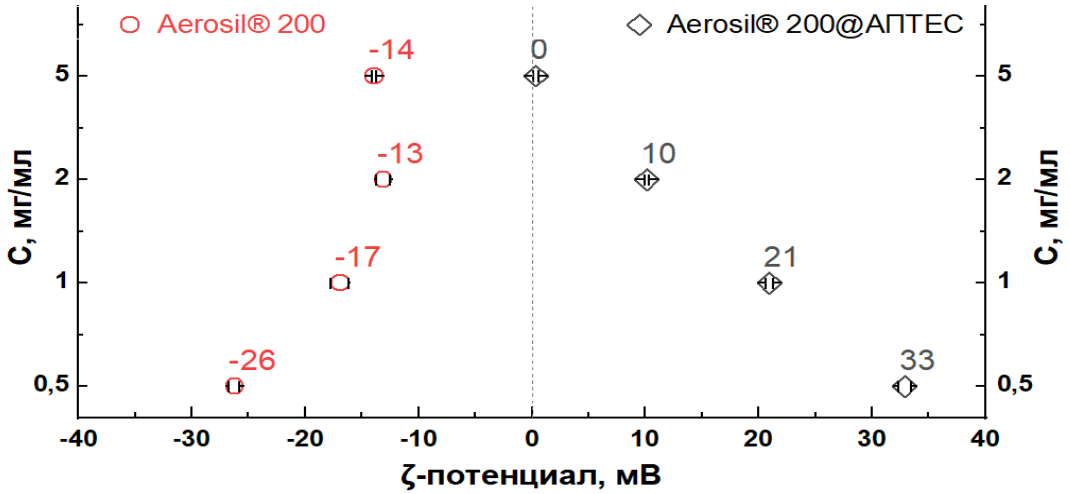

Рисунок 3 — Значения ζ-потенциала для модифицированных и немодифицированных частиц наночастиц Aerosil® 200

Модификация поверхности наночастиц Aerosil® 200 с использованием АПТЭС приводит к изменению ζ-потенциала с отрицательного на положительный. Известно, что [8] , коллоидная стабильность достигается при величине ζ-потенциала, превышающего по модулю 30 мВ. Согласно полученным данным наибольшей коллоидной стабильность обладают растворы с концентраций 0,5 мг/мл. Это связано с уменьшением концентрации противоионов при внесении растворителя, что приводит к расширению двойного электрического слоя и, следовательно, к увеличению по абсолютной величине ζ-потенциала. Данная концентрация использована для дальнейшей характеризации коллоидной стабильности модифицированных наночастиц Aerosil® 200. Изучено влияние кислотности раствора на коллоидную стабильность наночастиц Aerosil® 200 модифицированных АПТЕС.

Согласно полученным данным, максимальная коллоидная стабильность модифицированных наночастиц достигается при pH 3, а минимальная — при pH 11. Таким образом, экстракцию молекул шаблона оптимально проводить при pH 3, когда стабильность раствора частиц будет максимальна. В этом случае частицы не будут коагулировать, а, следовательно, будет доступно больше центров связывания для молекулы шаблона. Также видно, что при pH 11 дзета-потенциал раствора становится отрицательным. Возможная причина может заключаться в том, что при pH 11 алкоксильные группы молекулы АПТЭС начинают гидролизоваться, образуя гидроксильные группы на конце полимерной матрицы.

3.2 Влияние различных факторов на сорбционные свойства МИП

Выбор оптимального состава реакционной смеси для получения МИП

В случае МИП на основе производных ТЕОС наибольшее влияние на сорбционные свойства оказывают масса молекулы шаблона при синтезе и масса поверхностно активного веществ. Количество используемых молекул шаблона при получении МИП зачастую [9] значительно влияет на сорбционные свойства и специфичность полученного рецептора. В ходе работы изучено влияние массы шаблона при получении МИП на поверхности наночастиц на сорбционные свойства МИП модифицированных наночастиц Aerosil® 200.

Установлено, что оптимальной массой молекул шаблона при получении МИП является 1 г. Такую зависимость можно объяснить тем, что увеличение количества имазамокса при модификации сперва приводит к появлению большего количества центров связывания. Но после достижения оптимальной массы её дальнейшее увеличение приводит к тому, что молекулы шаблона начинают проникать глубоко в структуру МИП. Это приводит к тому, что при очистке имазамокс с нижний слоев полимера занимает свободные сайты

связывания на верхних уровнях. В таком случае часть сайтов еще связывания до экстракции целевой молекулы заполнена и не может извлекать имазамокс из модельного образца.

Вторым лимитирующим фактором при получении МИП на поверхности наночастиц Aerosil® 200 является концентрация поверхностно активного вещества. В ходе работы было оптимизированно количество ЦТАБ при модификации.

Влияние массы ПАВ на сорбционные свойства наночастиц имеет сложных характер. Так для НИП максимальная сорбционная ёмкость наблюдается для массы 10 мг, в то время как для МИП — 72 мг. Это можно объяснить тем, что при получении импринтированного кремнезёма ЦТАБ расходуется не только на образование пор, но и на взаимодействие с имазамоксом, в отличие от НИП.

Влияние pH на эффективность извлечения имазамокса

Значения ζ-потенциала показали максимальную коллоидную стабильность раствора МИП в растворе с pH 3. На основании этого нами было высказано предположение, что максимальная сорбционная емкость будет наблюдаться именно при извлечении имазамокса из модельных растворов, приготовленных с использованием HCl (pH 3). Зависимость сорбционной емкости наночастиц Aerosil® 200 модифицированных МИП от pH модельного раствора имазамокса представлена на рисунке 4.

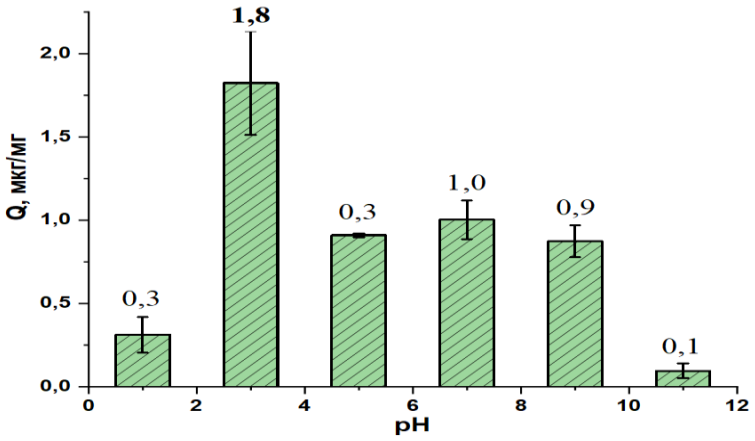

Рисунок 4 — Зависимость сорбционной емкости от pH

Установлено, максимальное значение сорбционной емкости достигается при pH 3. Зависимость согласуется с коллоидной стабильностью частиц при данных pH. Следовательно, предположение о том, что при большей коллоидной стабильности доступно больше центров связывания, а значит будет лучше извлекаться молекула шаблон — подтвердилось. Таким образом, изучение коллоидной стабильности полученных МИП позволяет подобрать оптимальные условия для дальнейшей экстракции без проведения дополнительных исследований.

Влияние концентрации шаблона на эффективность извлечения имазамокса.

Согласно данным рисунка 9 наибольшая сорбционная емкость достигается при концентрации более 300 мкг/мл для частиц МИП и НИП, Однако исследуемые концентрации не позволяют оценить равновесную концентрацию имазамокса и требует дальнейшего исследования, но, не смотря на это, наилучшая специфичность для МИП достигается при использовании значительно меньших концентрациях шаблона, а именно при 83 мкг/мл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Сорбент на основе наночастиц оксида кремния (IV) – Aerosil® 200, модифицированного МИП, специфичным к имазамоксу получен при различных условиях.
2. Импринтированный кремнезём исследован методами сканирующей микроскопии, ИК-спектроскопии и динамического светорассеяния.
3. Изучено влияние различных факторов на коллоидную стабильность и сорбционную ёмкость частиц импринтированного сорбента. Установлен оптимальный состав реакционной смеси (масса молекулы шаблона 1мг, ПАВ 72 г) для получения импринтированного сорбента.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Dickey F. The preparation of specific adsorbents. Vol. 35, № 5. P. 227.
2. Gavrila A.-M., Ionut-Cristian R., Hermine S., Anamaria Z., Elena-Bianca S., Ana-Lorena C., Tanţa-Verona I., Andrei S. Role of Functional Monomers upon the Properties of Bisphenol A Molecularly Imprinted Silica Films // Appl. Sci. 2021. Vol. 11, № 7. P. 2956.
3. Zuo H., Lin Y., Ma X., Feng Y., Luo Q. 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. Int. J. 2019. Vol. 28, № 6. P. 529–546.
4. Shiomi T., Matsui M., Mizukami F., Sakaguchi K. A method for the molecular imprinting of hemoglobin on silica surfaces using silanes // Biomaterials. 2005. Vol. 26, № 27. P. 5564–5571.
5. Mohamed Idris Z., B.H. Hameed, L. Ye, S. Hajizadeh , B. Mattiasson , A.T. Mohd Din. Amino-functionalised silica-grafted molecularly imprinted polymers for chloramphenicol adsorption // J. Environ. Chem. Eng. 2020. Vol. 8, № 5. P. 103981.
6. Xu X., Guanhong X., Fangdi W., Yao C., Menglan S., Xia C., Yuying C., Muhammad S., Qin H. Carbon dots coated with molecularly imprinted polymers: A facile bioprobe for fluorescent determination of caffeic acid // J. Colloid Interface Sci. 2018. Vol. 529. P. 568–574.
7. Yagüe C., Moros M., Grazú V., Arruebo M., Santamaría J. Synthesis and stealthing study of bare and PEGylated silica micro- and nanoparticles as potential drug-delivery vectors // Chem. Eng. J. 2008. Vol. 137, № 1. P. 45–53.
8. Sun D., Kang S., Liu C., Lu Q., Cui L., Hu B. Effect of Zeta Potential and Particle Size on the Stability of SiO Nanospheres as Carrier for Ultrasound Imaging Contrast Agents // Int. J. Electrochem. Sci. 2016. Vol. 11, № 10. P. 8520–8529.
9. Pidenko P., Zhang H., Lenain P., Goryacheva I., Saeger S., Beloglazova N. Imprinted proteins as a receptor for detection of zearalenone // Anal. Chim. Acta. 2018. Vol. 1040. P. 99–104.