

УДК 547.992:547.391.3

АТРАЗИН СВЯЗЫВАЮЩИЕ ПОЛИМЕРЫ НА ОСНОВЕ МЕТАКРИЛОВОЙ И ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ

Л.В. Серикова, В.А. Прохоренко, Э.М. Худайбергенова, Ш.Ж. Жоробекова

Синтезированы полимеры на основе метакриловой (МАК) и гуминовых кислот (ГК). Методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), ИК-Фурье спектроскопии, ртутной порозиметрии (РП), низкотемпературной адсорбции и десорбции азота проведена сравнительная характеристика физических параметров синтезированных полимеров: диаметра, общего объема, площади поверхности пор, а также общей пористости. Проведена оценка способности полимеров к молекулярному распознаванию атразина. На основе экспериментальных данных по статической адсорбции определены величины констант связывания полимеров с атразином и констант диссоциации образующихся при этом продуктов, а также кажущиеся максимальные числа связывающих центров. Выявлено, что молекулярно импринтированные полимеры, синтезированные при участии гуминовых кислот (МИП^{ГК}), характеризуются лучшими физическими параметрами и более высокой способностью к молекулярному распознаванию атразина по сравнению с полимером (МИП), полученным на основе только МАК.

Ключевые слова: молекулярно импринтированные полимеры; атразин; темплат; уравнение Скэтчарда; молекулярное распознавание.

МЕТАКРИЛ ЖАНА ГУМИН КИСЛОТАЛАРЫНЫН НЕГИЗИНДЕ АТРАЗИНДИ БАЙЛАНЫШТЫРУУЧУ ПОЛИМЕРЛЕР

Л.В. Серикова, В.А. Прохоренко, Э.М. Худайбергенова, Ш.Ж. Жоробекова

Метакрил (МАК) жана гумин кислоталарынын (ГК) негизинде полимерлер синтезделген. Сканерлөөчү электрондук микроскопия (СЭМ), ИК-фурье спектроскопиясы, сымап порозиметриясы (СП), азоттун төмөн температурадагы адсорбция жана десорбция методдору менен синтезделген полимерлердин физикалык параметрлеринин салыштырмалуу мүнөздөмөсү аныкталган: диаметри, жалпы көлөмү, майда тешиктүүлүк аянты. Полимерлердин атразинди молекулярдык таанып-билүү жөндөмдүүлүгүнө баа берилген. Статикалык адсорбция боюнча эксперименталдык маалыматтардын негизинде полимерлердиатразин менен байланыштыруучу константтын чоңдугу, жана диссоциация константалары белгиленген, ошондой эле байланыштыруучу борборлордун максималдуу саны эсептелген. Гумин кислоталары катышуу менен синтезделген полимерлер (МИПГК) башка полимерлерге (МИП) салыштырмалуу жогору деңгээлдеги физикалык касиеттери жана атразинди молекулярдык таануу жөндөмдүүлүгү менен мүнөздөлөт.

Түйүндүү сөздөр: молекулярдык импринттелген полимерлер; атразин; темплат; Скэтчардын тендемеси; молекулярдык аныктоо.

ATRAZINE BINDING POLYMERS BASED ON METACRYLIC AND HUMIC ACIDS

L. V. Serikova, V. A. Prokhorenko, E. M. Khudaibergenova, Sh. J. Jorobekova

Polymers were synthesized using methacrylic acid (MAA) and mixture of MAA with humic acids (HA). A comparative characteristic of the physical parameters: pore diameter, total pore volume, pore surface area, and total porosity of the synthesized polymers was carried out by use of the methods of scanning electron microscopy (SEM), FTIR spectroscopy, mercury porosimetry (MP), low-temperature adsorption and nitrogen desorption. An assessment of the ability of polymers to molecularly recognition atrazine was carried out. Based on the experimental data on static adsorption obtained by use of high-resolution liquid chromatography (HPLC), the values of the binding constants of polymers with atrazine and the dissociation constants of the formed products as well as the apparent maximum numbers of binding centers were determined. It was revealed that molecularly imprinted polymers synthesized with the participation of humic acids (MIPHA), are characterized by better physical parameters and a higher ability for molecular recognition of atrazine compared to the polymer (MIP), obtained on the basis of MAC only.

Keywords: molecularly imprinted polymers; atrazine; template; Scatchard equation; molecular recognition.

Введение. Гербициды, как известно, широко используются в качестве химических средств защиты растений [1]. Однако чрезмерное использование гербицидов, и как следствие накопление их в окружающей среде, представляет особую опасность для живых организмов. Помимо токсического эффекта они проявляют мутагенное воздействие на живые клетки, вызывая геномные и структурные перестройки [2, 3]. Поэтому анализ объектов окружающей среды на содержание гербицидов и разработка соответствующих детоксикантов, имеют большое значение. Ранее были использованы молекулярно импринтированные полимеры [МИП] [4, 5]. Такие полимеры, распознающие целевые молекулы с высокой аффинностью и селективностью, привлекают все большее внимание [6–8]. Первым примером использования молекулярно импринтированных полимеров для анализа вод на содержание атразина и симазина, был представлен Matsui и др. [9]. Prasad и др. [10] разработали биометико-потенциометрический сенсор, который откликался на атразин при pH 2,5–3,0 в широком интервале концентраций от $1,0 \cdot 10^{-4}$ до 10 мМ с пределом обнаружения 0,5 мМ. Guzzella и др. [11] разработали пропазин-импринтированный полимер для использования в твердофазной экстракции совместно присутствующих в воде триазинов.

В настоящей работе синтезированы неимпринтированные и атразин импринтированные полимеры на основе гуминовых кислот (ГК) и метакриловой кислоты (МАК). Гуминовые кислоты являются природными детоксикантами, проявляющими аффинность к атразину, и образующими с ним комплексы. Однако использование ГК в технологических процессах затруднено изменением их молекулярной структуры под воздействием химических и механических факторов. В связи с этим, представляет интерес повышение механической прочности и химической устойчивости ГК путём сополимеризации их с другими реагентами, и получения жёсткой разветвленной структуры под воздействием кросслинкера. В качестве аналога структурных фрагментов ГК, как функциональных мономеров, может быть рассмотрена МАК, сополимеризация с которой должна привести к “обогащению” полимерного продукта сайтами, предназначенными для молекулярного распознавания целевых молекул атразина.

Цель исследования. На основе ГК и МАК синтезировать полимеры, способные к молекулярному распознаванию атразина. Провести сравнительный анализ текстурных свойств синтезированных полимеров и их связывающей способности по отношению к целевым молекулам.

Материал и методы исследования. В работе использованы: атразин (темплат), метакриловая кислота (МАК), гуминовые кислоты (ГК), этиленгликольдиметакрилат (ЭДМА)-кросслинкер, бензоил пероксид БПО-инициатор свободно-радикальной полимеризации, растворители – метанол, ацетонитрил, хлороформ, уксусная кислота и бидистиллированная вода. Гуминовые кислоты выделены из окисленного бурого угля, характеристика их представлена в работе [12].

Синтез молекулярно импринтированного полимера осуществляли следующим образом: атразин (0,025) растворяли в хлороформе (2,5 мл), и затем вносили в предполимеризационный раствор, состоящий из функциональных мономеров, ЭДМА (0,525 мл), БПО (0,07 г), а также ацетонитрила (5 мл). Реакционную смесь охлаждали при -5°C в течение 60 мин, и затем подвергали термической обработке при 70°C в течение 150 мин. Синтезированы два различных молекулярно импринтированных полимера. В первом случае синтез МИП осуществляли только на основе МАК. Во втором случае, в предполимеризационный раствор помимо МАК добавляли ГК (1 г), синтезированный при этом полимер был обозначен как МИП^{ГК}. Неимпринтированные полимеры (НИП и НИП^{ГК}) синтезированы без участия атразина (темплата). Все другие участники реакции полимеризации в обоих случаях оставались прежними.

После полимеризации твёрдый продукт размельчали, просеивали. Темплат удаляли из импринтированных полимеров последовательным промыванием смесью уксусной кислоты (AcOH) и метанола (1:9, v/v), а затем метанолом в течение 6 часов. Эту процедуру повторяли 4 раза. Полученные полимеры были высушены при 60°C в течение 24 часов в вакууме и сохранялись для следующих экспериментов.

Для физической и физико-химической характеристики полученных полимеров были использованы методы: ИК-Фурье спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии (СЭМ),

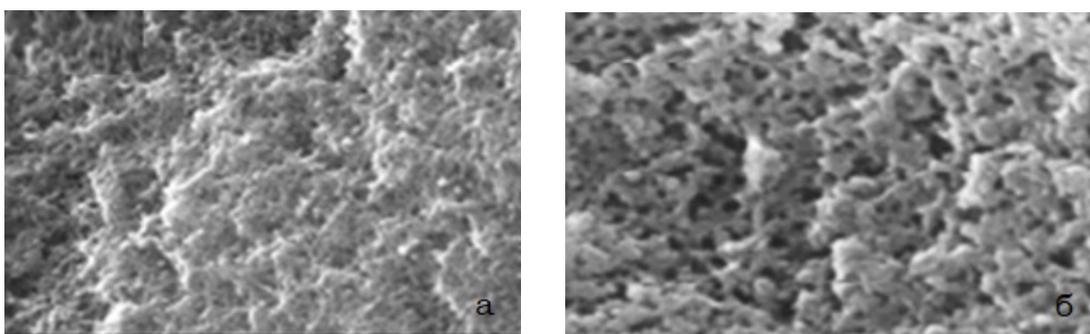


Рисунок 1 – Структура НИП (а) и МИП (б)

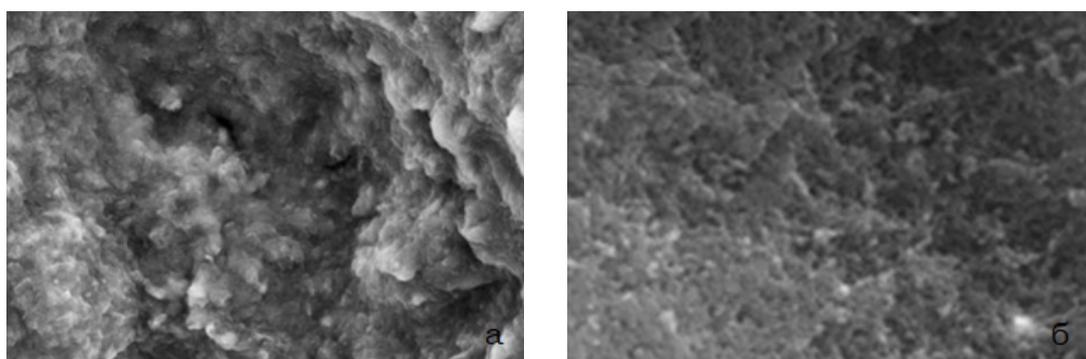


Рисунок 2 – Структура НИПГК (а) и МИПГК (б)

ртутной порозиметрии (РП), низкотемпературной адсорбции азота, жидкостной хроматографии высокого разрешения (ВЭЖХ).

Для исследования связывающей способности полученных полимеров были проведены эксперименты по статической адсорбции атразина, обработка полученных данных проведена в координатах Скэтчарда. 20,0 мг частиц полимера были смешаны с атразином различной концентрации (от 0,1 до 1,6 ммоль/л) в хлороформе. Смесь взбалтывали при 120 об/мин в термостатированной качалке при 25 °С в течение 24 часов. Затем растворы были отцентрифугированы и отфильтрованы для определения в них концентрации свободного атразина с использованием ВЭЖХ.

Количество молекул атразина, связанных с полимером на единицу массы, которое обозначено как Q , определяли по формуле:

$$Q = (C_0 - C_f) V_S / W_S,$$

где C_0 – исходная концентрация атразина растворе; C_f – концентрация свободного (несвязанного с полимером атразина); V_S – общий объем растворителя; W_S – масса частиц полимера.

Результаты и обсуждение. Текстура характеристика синтезированных полимеров, полученная с использованием СЭМ, представлена на рисунках 1 и 2.

Сравнительный анализ снимков указывает на различие морфологии поверхностей НИП и МИП. Молекулярно импринтированные полимеры характеризуются повышенной пористостью по сравнению с неимпринтированными

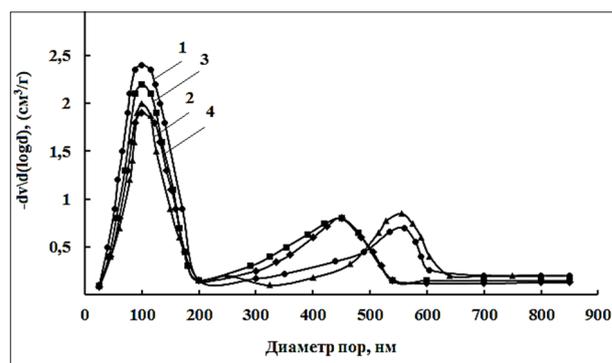


Рисунок 3 – Сравнительное распределение пор по размерам синтезированных полимеров: 1 – МИПГК, 2 – НИПГК, 3 – МИП, 4 – НИП

Таблица 1 – Характеристика полимерных сорбентов

Полимер	Общий объём пор (см ³ /г)	Площадь поверхности (м ² /г)	Общая пористость, %	Средний d, нм
МИП	0,54	220,14	76,46	380
НИП	0,48	178,30	70,16	500
МИП ^{ГК}	0,70	310,14	80,04	350
НИП ^{ГК}	0,64	256,40	72,45	430
ГК	0,62	177,3	60,00	3150

полимерами. Морфология поверхности зависит также от природы функционального мономера. Полимеры, полученные при участии гуминовых кислот (МИП^{ГК} и НИП^{ГК}), обладают более мелкими порами, но на поверхности молекулярно импринтированных полимеров количество таких пор больше.

Из данных, полученных методом РП, следует, что размеры пор МИП и МИП^{ГК} различаются незначительно и варьируют в пределах от 80 нм до 900 нм. Для всех полимеров выявлены две области наибольшего распределения пор. В первой из них поры распределялись со средними диаметрами от 10 до 200 нм, а во второй – более крупные поры с диаметрами от 200 до 900 нм. Основная часть пор МИП и НИП характеризуется размерами, близкими к 100 и к 420 нм. Для МИП^{ГК} и НИП^{ГК} также наблюдается подобная картина, однако область распределения крупных пор сдвинута в сторону больших диаметров (570 нм). Кривые распределения частиц полимеров по размерам пор характеризуются широкими пиками с отсутствием чётко выраженных

максимумов, что свойственно полидисперсным системам (рисунок 3).

Общий объём и диаметр пор рассчитаны по изотермам адсорбции БЭТ. Форма изотерм низкотемпературной адсорбции и десорбции азота сигмоидальна, и представляет изотерму адсорбции БЭТ второго типа (рисунок 4). Этот тип изотерм описывает неограниченную мономультислойную адсорбцию. Диаметры пор для ГК, рассчитанные по изотермам БЭТ, варьируют в пределах от 130–1060 нм, и от 1240–10480 нм. Эти данные показывают, что в ГК присутствуют мезопоры. Данные, характеризующие физические параметры синтезированных полимеров, а также гуминовых кислот, представлены в таблице 1.

В импринтированных полимерах, образующиеся при участии ГК, участки молекулярного распознавания атразина представляют собой полости, диаметры которых намного меньше по сравнению с размерами мезопор в гуминовых кислотах. Однако величины площади поверхности и общего объёма этих пор превышают

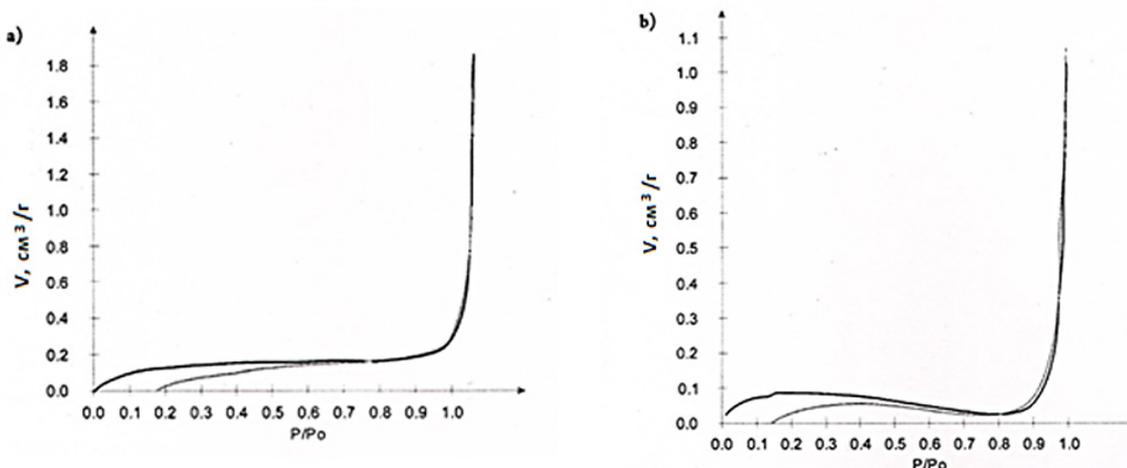


Рисунок 4 – Изотерма низкотемпературной адсорбции азота на ГК(а) и МИПГК (б)

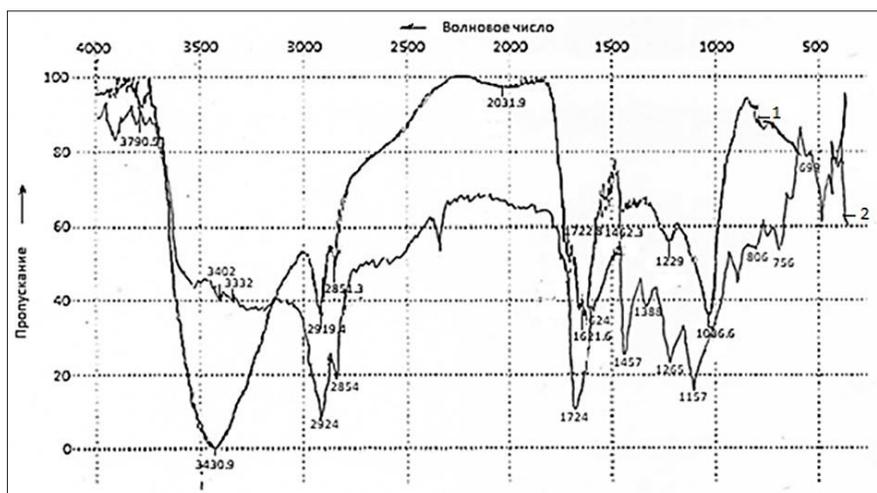


Рисунок 5 – ИК-спектры ГК (1) и МИПК (2)

таковые для ГК. Объяснением этому, очевидно служит уплотнение аморфной структуры ГК при полимеризации в смеси с МАК с участием кросслинкера. Определяющую роль здесь, вероятно, играет ещё и количественный фактор, поскольку в результате полимеризации с участием ГК и МАК следует ожидать образование разветвлённых полимеров со множеством пор.

Участие в реакции гуминовых кислот, являющихся дополнительным источником свободных радикалов [13], имеет следствием повышение пористости полимерных продуктов. Следует ожидать, что на развитой поверхности гуминовых кислот образуется большое количество полостей в дополнение к тем, которые появляются при полимеризации МАК. Вероятно, этим объясняется повышенная пористость полимеров, как МИПК^к, так и НИПК^к, образующихся при участии ГК, по сравнению с МИП и НИП, полученных при использовании в качестве функционального мономера только МАК. Выявлено, что добавление темплата усиливает пористость полимеров. Размеры пор, общий объём пор и общая пористость молекулярно импринтированных полимеров больше по сравнению с таковыми для неимпринтированных полимеров.

В ИК-спектрах гуминовых кислот и неимпринтированных полимеров (НИПК^к) не наблюдается каких-либо особых различий в полосах поглощения. Имеются чётко выраженные полосы поглощения, характерные для карбоксильных групп при 1710–1722 см⁻¹, относящихся к деформационным колебаниям С=О связей, при

1220 см⁻¹ – к растяжению связей О–С–О и при 3400 см⁻¹ – к О–Н группам, участвующим в образовании водородных связей. В области 1470–1370 см⁻¹ имеются несколько полос, обусловленных деформационными колебаниями С–Н, О–Н и С–О связей. В области волновых чисел, менее 1000 см⁻¹, не наблюдается интенсивного поглощения. Однако имеются слабоинтенсивные полосы в области 900–750 см⁻¹, относящиеся к деформационным колебаниям С–Н в ароматических кольцах. В ИК-спектрах импринтированных полимеров до удаления темплата характеризуются следующими полосами. Слабые пики при 3404 и 3332 см⁻¹ относятся к деформационным колебаниям связи N–H в первичных и вторичных аминах. Полосы при 2924 и 2854 см⁻¹ обусловлены, соответственно, асимметричными и симметричными колебаниями связи С–Н метиленовой группы. Поглощение при 1724 и 1388 см⁻¹ вызвано соответственно деформационными колебаниями связей С=О и N–H в структуре полимеров. Пик при 1624 см⁻¹ относится к деформации связи N–H в первичных аминах, тогда как пик при 1457 см⁻¹ выражает деформационные колебания С–Н в карбоксильных группах. Поглощение 1265 и 1157 см⁻¹ относится соответственно к деформациям связи С–Н в первичных и вторичных ароматических аминах. Слабые полосы поглощения в области 900–660 см⁻¹ обусловлены колебаниями N–H в аминах (рисунок 5).

Для определения кажущейся величины максимального числа связывающих центров и константы связывания, экспериментальные

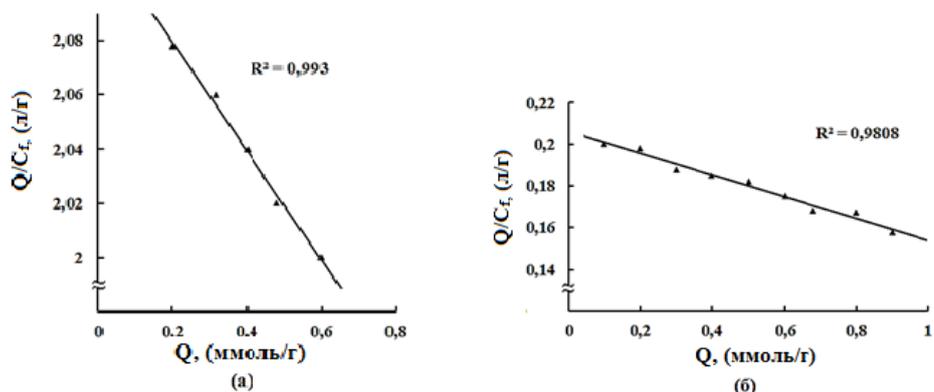


Рисунок 6 – График Скэтчарда для связывания атразина с МИП (а) и НИП (б)

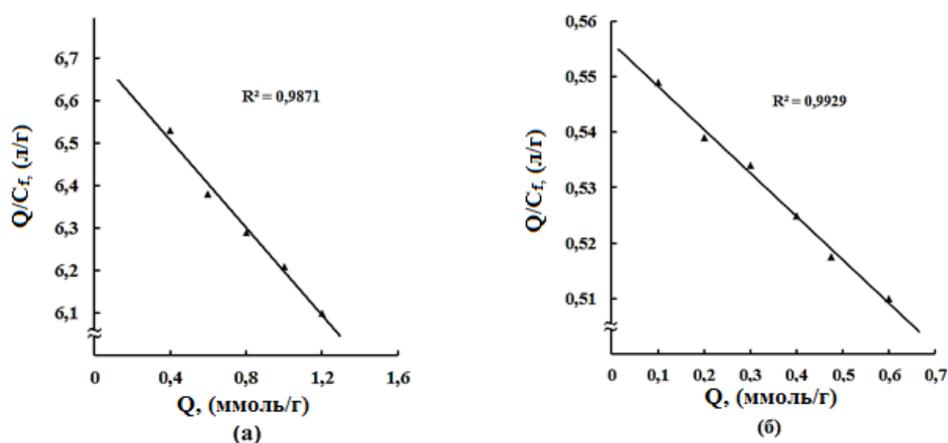


Рисунок 7 – График Скэтчарда для связывания атразина с МИПК (а) и НИПК (б)

результаты по статической адсорбции атразина на полимерных сорбентах обработаны в координатах Скэтчарда согласно уравнению:

$$\frac{Q}{C_f} = -\frac{1}{K_d} Q + \frac{Q_{max}}{K_d}, \quad (1)$$

где Q – концентрация атразина, связанного с полимером; C_f – концентрация свободной атразина; Q_{max} – кажущееся максимальное число связывающих центров; K_d – равновесная константа диссоциации образующегося комплекса “атразин-полимер”.

Константа ассоциации (образования) этого комплекса выразится уравнением:

$$K_a = 1/K_d. \quad (2)$$

Диаграммы Скэтчарда для связывания атразина с полимерами и рассчитанные на их основе величины K_d , K_a , Q_{max} представлены на рисунках 6, 7, а также в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры связывания атразина с полимерами

Полимер	K_d , л/моль	K_a , моль/л	Q_{max} , ммоль/г
МИП	$5,00 \cdot 10^{-3}$	$0,20 \cdot 10^3$	10,60
НИП	$6,60 \cdot 10^{-3}$	$0,15 \cdot 10^3$	4,12
МИПК	$2,00 \cdot 10^{-2}$	$0,50 \cdot 10^3$	13,40
НИПК	$1,25 \cdot 10^{-2}$	$0,80 \cdot 10^2$	6,97
ГК	$3,23 \cdot 10^{-2}$	$0,30 \cdot 10^2$	6,40

Сравнительный анализ величин K_a , K_d и Q_{max} указывает на более высокую способность атразин-импринтированных полимеров к распознаванию целевых молекул по сравнению с ГК и неимпринтированными полимерами. Полости, образованные при импринтинге, обладают физико-химическими характеристиками, облегчающими молекулярное распознавание

целевых объектов, использованных предварительно в качестве темплата. В неимпринтированных полимерах полости, ориентированные на связывание конкретных молекул, отсутствуют, поэтому в данном случае связывание носит неспецифический характер и при этом наблюдаются пониженные значения K_a и Q_{max} . В формировании в структуре импринтированных полимеров высокоаффинных и специфических участков распознавания, большое значение имеет возможность связывания темплатов с функциональными мономерными единицами посредством нескольких механизмов [14]. В этой связи можно отметить, что структура метакриловой кислоты предполагает связывание с атразином посредством водородной связи через карбонильную группу, донорно-акцепторной связи с гидроксильной группой карбоксила, а также гидрофобной связи с метильной группой. В процессах связывания ГК с атразином, как следует из данных, описанных в работе [15], помимо механизмов связывания, указанных для метакриловой кислоты, реализуются ещё π - π взаимодействия посредством перекрывания орбиталей ароматического ядра гуминовых кислот и двойных связей триазинового кольца атразина. Вероятно, этим объясняется более высокое сродство к атразину у МИП^{ГК} по сравнению с МИП.

Заключение. Синтезированы два вида полимерных сорбентов (неимпринтированные и атразин импринтированные) с использованием в качестве функциональных мономеров метакриловой кислоты и смеси метакриловой кислоты с угольными гуминовыми кислотами. Проведен сравнительный анализ текстурных свойств синтезированных полимеров и их связывающей способности по отношению к атразину. Установлено, что наибольшей аффинностью к атразину обладают импринтированные полимеры, синтезированные на основе смеси метакриловой и гуминовой кислоты.

Литература

1. Tu M., Hurd C., Randall J.M. Weed Control Methods Handbook / M. Tu, C. Hurd, J.M. Randall // The Nature Conservancy. Chapter 6, 7. April 2001. URL: <http://tncweeds.ucdavis.edu.version>
2. Solomon K.R. Ecotoxicological risk assessment of atrazine in North American surface waters. Environ / K.R. Solomon, D.R. Baker, R.P. Richards, K.R. Dixon, S.J. Klaine, T.W. La Point, R.J. Kendall, C.P. Weisskopf, J.M. Giddings, J.P. Giesy, L.W. Hall, W.M. Williams // Toxicol. Chem. 1996. 15. P. 31–76. [Google Scholar].
3. De Ventura Campo B. Mutagenic and genotoxic effects of the atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay / B. De Ventura Campo, D. de Angelis Franceschi, M.A. Marin-Morales // Biochem. Physiol. 2008. 90. P. 42–51. [Google Scholar].
4. Jun Chen. Molecular Imprinted polymers: Comparative Analysis by Far-Infrared and Ultraviolet Induced Polymerization / Chen Jun, Bai Lian-Yang, Liu Kun-Feng, Liu Run-Qiang, and Zang Yu-Ping // Int. J. Mol. Sci. 2014. 15. P. 574–587.
5. Royani Idha. An Atrazine Molecularly Imprinted Polymer Synthesized Using a Cooling-Heating Method with Repeated Washing: Its Physico-chemical Characteristics and Enhanced Cavities / Idha Royani, Widayani Mikrajuddin Abdullah, Khairurrijal. // Int. J. Electrochem. Sci., 2014. 9. P. 5651–5662.
6. Vlatakis G. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting / Idha Royani, Widayani, Mikrajuddin Abdullah, Khairurrijal // Nature. 1993, 361. P. 645–647.
7. Fan J. Study of molecularly imprinted solid-phase extraction of diphenyl-guamidine and its structural analogs / J. Fan, Y. Wei, J. Wang, C. Wu, H. Shi // Anal. Chim. Acta. 2009. 639. P. 42–50.
8. Lopez C. Synthesis and study of a molecularly imprinted polymer for the specific extraction of indole alkaloids from *Catharanthus roseus* extracts / C. Lopez, B. Claude, P. Morin, J.P. Max, R. Pena, J.P. Ribet // Anal. Chim. Acta. 2011. 683. P. 198–205.
9. Matsui J. Solid-phase extraction of a triazine herbicide using a molecularly imprinted synthetic receptor / C. Lopez, B. Claude, P. Morin, J.P. Max, R. Pena, J.P. Ribet // Anal. Commun. 1997. 34. P. 85–87.
10. Prasad K. Molecularly imprinted polymer (biometric) based potentiometric sensor for atrazine / K. Prasad, K.P. Prathisa, J.M. Gladis, G.K.K. Naidu, K.T. Prasada // Sensors Actuators B. 2007. 123. P. 65–70.
11. Guzzella L. Synthesis and characterization of a propazine imprinted polymer for the extraction of triazines herbicides / L. Guzzella, F. Pozzoni, C. Baggiani // Water Sci. Technol. 2008. 57. P. 139–144.

12. *Ли С.П.* Детоксицирующие свойства гуминовых препаратов по отношению к Cd(II), Pb(II), Cu(II) / С.П. Ли, Б.М. Худайбергенова, З.М. Пулатова и др. // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 1. С. 71–76.
13. *Senesi N.* Application of ESR Spectroscopy to the study of substances / N. Senesi, C. Steelin // In: Hayes MHB et al (ed.) Humic substances; In: Search for the structure. Chichester; Wiley. 2010. P. 373–408.
14. *Гендриксон О.Д.* Молекулярно-импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе / О.Д. Гендриксон, А.В. Жердев, Б.Б. Дзантиев // Успехи биологической химии. 2006. 46. С. 149–192.
15. *Ли С.П.* Модифицированные гуминовые препараты детоксицирующего назначения / С.П. Ли. Бишкек: Илим, 2015. 216 с.