

## СИНТЕЗ И СВОЙСТВА АТРАЗИН ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГУМИН-МЕТАКРИЛАТНЫХ ПОЛИМЕРОВ

**Жоробекова Ш.Ж., Кыдралиева К.А., Худайбергенова Э.М., Прохоренко В.А.**

*Институт химии и фитотехнологий НАН КР, Бишкек, e-mail: h\_elnura@mail.ru*

Методом «Cooling-Heating» синтезированы атразин молекулярно импринтированные полимеры (МИП) с использованием смеси метакриловой кислоты (МАК) и гуминовых кислот (ГК) в качестве функциональных мономеров. ГК являются природными детоксикантами, проявляющими аффинность к атразину и образующими с ним комплексы. Использование ГК в технологических процессах затруднено изменением их молекулярной структуры под воздействием различных факторов. В связи с этим для получения механически прочного и химически устойчивого сорбента проведена сополимеризация ГК с МАК в присутствии кросслинкера. В работе использованы также этиленгликоль диметакрилат (ЭДМА) – кросслинкер, бензоил пероксид (БПО) – инициатор свободнорадикальной полимеризации, растворители – хлороформ, метанол, ацетонитрил, а также атразин в качестве темплата. Методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), ИК-Фурье спектроскопии, ртутной порозиметрии (РП), низкотемпературной адсорбции и десорбции азота проведена сравнительная характеристика физических параметров синтезированных полимеров: диаметра пор, общего объема пор, площади поверхности пор, а также общей пористости. Проведена оценка способности полимеров к молекулярному распознаванию атразина. На основе экспериментальных данных по статической адсорбции, полученных методом высококоразрешающей жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), определены величины констант связывания полимеров с атразином и констант диссоциации образующихся при этом продуктов, а также кажущихся максимальных чисел связывающих центров. Выявлено, что молекулярно импринтированные полимеры, характеризуются более высокой способностью к молекулярному распознаванию атразина по сравнению с неимпринтированными полимерами.

**Ключевые слова:** молекулярно импринтированные полимеры, атразин, темплат, уравнение Скэтчарда, молекулярное распознавание

## SYNTHESIS AND PROPERTIES OF ATRAZINE IMPRINTED HUMIN-METACRYLATE POLYMERS

**Zhorobekova Sh.Zh., Kydraliev K.A., Khudaybergenova E.M., Prokhorenko V.A.**

*Institute of Chemistry and Phytotechnologies of NAS KR, Bishkek, e-mail: h\_elnura@mail.ru*

Atrazine imprinted polymers (MIP) were synthesized using methacrylic acid (MAC) and humic acids (HA) as functional monomers using the «Cooling-Heating» method. HAs are natural detoxicants, showing affinity for atrazine and forming complexes with it. The use of HA in technological processes is complicated by changes in their molecular structure under the influence of different factors. In this regard, to obtain a mechanically strong and chemically stable sorbent, copolymerization of HA with MAK in the presence of a crosslinker was performed. Ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) – crosslinker, benzoyl peroxide (BPO) – free radical polymerization initiator, solvents – chloroform, methanol, acetonitrile, and atrazine as a template were also used in the work. 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 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 is revealed that molecularly imprinted polymers are characterized by a higher ability for molecular recognition of atrazine as compared to unimprinted polymers.

**Keywords:** molecularly imprinted polymers, atrazine, template, Scatchard equation, molecular recognition

Гербициды, как известно, широко используются в качестве химических средств защиты растений [1]. Однако чрезмерное использование гербицидов, имеющее следствием 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]. Анализ объектов окружающей среды на содержание гербицидов и разработка соответству-

ющих детоксикантов имеют важное значение. Ранее в этих целях были использованы молекулярно импринтированные полимеры [МИП] [4, 5]. Такие полимеры, распознающие целевые молекулы с высокой аффинностью и селективностью, привлекают особое внимание [6–8]. В настоящей работе синтезированы атразин импринтированные полимеры на основе гуминовых кислот (ГК) и метакриловой кислоты (МАК). Гуминовые кислоты являются природными детоксикантами, проявляющими аффинность

к атразину и образующие 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. Аналогом структурных фрагментов ГК, рассматриваемых в качестве функциональных мономеров в реакции полимеризации, выбрана метакриловая кислота, сополимеризация с которой должна привести к «обогащению» полимерного продукта сайтами, предназначенными для молекулярного распознавания целевых молекул атразина.

Цель исследования: синтез полимеров на основе гуминовых кислот (ГК) (природных сорбентов) и метакриловой кислоты (МАК), предназначенных для специфического связывания атразина, характеристике текстурных свойств синтезированных полимеров и определению способности их к молекулярному распознаванию атразина.

#### Материалы и методы исследования

В работе использованы атразин (темплат), гуминовые кислоты и метакриловая кислота – как функциональные мономеры, этиленгликольдиметакрилат (ЭДМА) – кросслинкер, бензоил пероксид (БПО) – инициатор свободнорадикальной полимеризации, растворители – метанол, ацетонитрил, хлороформ, уксусная кислота и бидистиллированная вода. Гуминовые кислоты выделены из окисленного бурого угля, характеристика их представлена в работе [9]. Синтез молекулярно импринтированного полимера (МИП) осуществлялся следующим образом: раствор атразина (0,025 г) в хлороформе (2,5 мл) вносился в предполимеризационный раствор, состоящий из МАК (4 ммоль), ГК (1 г), ЭДМА (0,525 мл),

БПО (0,07 г), а также ацетонитрила (5 мл). Реакционная смесь охлаждалась при  $-5^{\circ}\text{C}$  в течение 60 мин и затем подвергалась термической обработке при  $70^{\circ}\text{C}$  в течение 150 мин. Неимпринтированные полимеры (НИП) синтезированы без участия атразина (темплата), при этом все другие участники реакции полимеризации оставались прежними. После полимеризации твёрдый продукт размельчался, просеивался. Темплат удалялся из импринтированных полимеров последовательным промыванием смесью уксусной кислоты (AcOH) и метанола (1:9, v/v), а затем метанолом в течение 6 ч. Эта процедура повторялась 4 раза. Полученные полимеры были высушены при  $60^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч 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), ртутной порозиметрии (РП), низкотемпературной адсорбции азота, жидкостной хроматографии высокого разрешения (ВЭЖХ). Для исследования связывающей способности полученных полимеров были проведены эксперименты по статической адсорбции атразина. 20,0 мг частиц полимера были смешаны с атразином различной концентрации (от 0,1 до 1,6 ммоль/л) в хлороформе. Смесь взбалтывалась при 120 об/мин в термостатированной качалке при  $25^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч. Затем растворы были отцентрифугированы и отфильтрованы для определения в них концентрации свободного атразина методом ВЭЖХ. Регистрацию оптической плотности раствора проводили при 250 нм. Количество молекул атразина, связанных с полимером на единицу массы, которое обозначено как  $Q$ , определялось по формуле  $Q = (C_o - C_f)V_s/W_s$ , где  $C_o$  – исходная концентрация атразина в растворе,  $C_f$  – концентрация свободного (несвязанного с полимером атразина),  $V_s$  – общий объём растворителя,  $W_s$  – масса частиц полимера.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Текстурная характеристика синтезированных полимеров, полученная с использованием СЭМ, представлена на рис. 1.

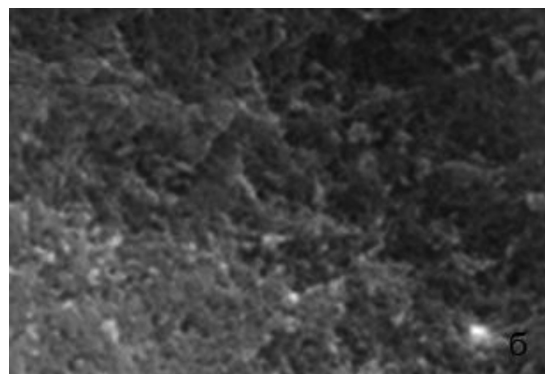
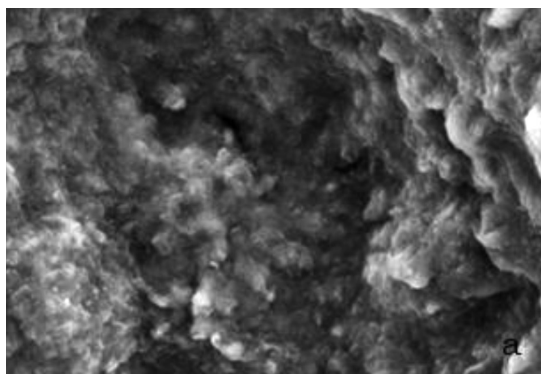


Рис. 1. Структура НИП (а) и МИП (б)

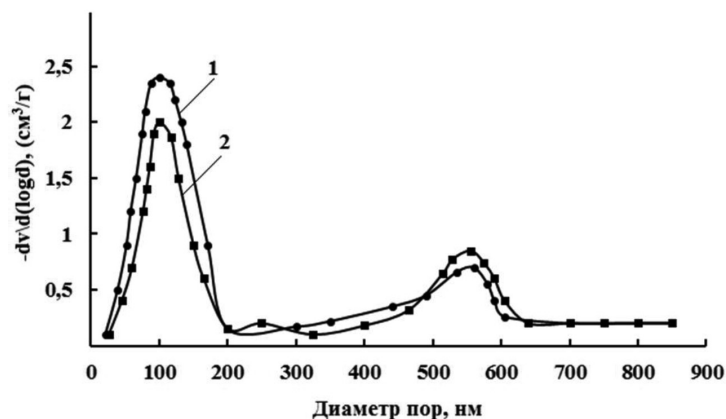


Рис. 2. Сравнительное распределение пор по размерам синтезированных полимеров: 1 – МИП, 2 – НИП

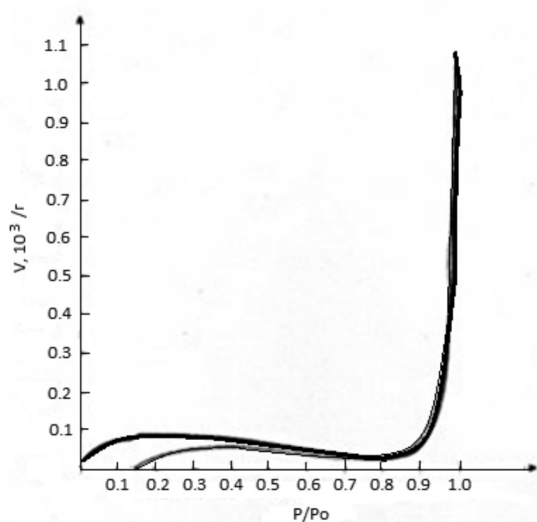


Рис. 3. Изотерма низкотемпературной адсорбции азота на МИП

Сравнительный анализ снимков указывает на различие морфологии поверхностей НИП и МИП. Молекулярно импринтированные полимеры характеризуются повышенной пористостью по сравнению с неимпринтированными полимерами и обладают более мелкими порами, но на их поверхности количество таких пор больше. Из данных, полученных методом РП, следует, что размеры пор НИП и МИП различаются незначительно и варьируют в пределах от 80 нм до 900 нм. Для этих полимеров выявлены две области наибольшего распределения пор. В первой из них распределялись поры со средними диаметрами от 10 нм до 200 нм, а во второй – более крупные поры с диаметрами от 200 нм до 900 нм. Основная часть пор МИП и НИП характеризуется размерами, близкими к 100 нм и к 570 нм. Кривые распределения частиц полимеров по размерам пор характеризуются широкими пиками с отсутствием четко выра-

женных максимумов, что свойственно полидисперсным системам (рис. 2).

Общий объем и диаметр пор в ГК, НИП и МИП рассчитаны по изотермам адсорбции БЭТ. Форма изотерм низкотемпературной адсорбции и десорбции азота во всех случаях сигмоидальна и представляет изотерму адсорбции БЭТ второго типа (рис. 3). Этот тип изотерм описывает неограниченную моно-мульти-слойную адсорбцию.

Диаметры пор для ГК, рассчитанные по изотермам БЭТ, варьируют в пределах от 130–1060 нм и от 1240–10480 нм. Отсюда следует, что в ГК присутствуют мезопоры. Общая пористость составляет 60%. В импринтированных полимерах участки молекулярного распознавания агразина представляют собой полости, диаметры которых намного меньше по сравнению с размерами мезопор в гуминовых кислотах. Однако величины площади поверхности и общего объема этих пор превышают таковые для ГК (табл. 1).

Объяснением этому, очевидно, служит уплотнение аморфной структуры ГК при полимеризации в смеси с МАК с участием кросслинкера. Сшивающий компонент играет ключевую роль в процессе полимеризации, «закрепляя» пространственную конфигурацию участков молекулярного распознавания и обеспечивая механическую устойчивость полимерной матрицы. Гуминовые кислоты являются дополнительным источником свободных радикалов [10], что является следствием повышенной пористости полимерных продуктов. Определяющую роль, вероятно, играет ещё и количественный фактор, поскольку в результате полимеризации с участием ГК и МАК следует ожидать образование разветвлённых полимеров со множеством пор. Выявлено, что пористость полимера повышается при добавлении темплата. Размеры пор, общий объём пор и общая пористость МИП, больше по сравнению с таковыми для НИП.

Таблица 1

Характеристика полимерных сорбентов

Полимер	Общий объём пор (см <sup>3</sup> /г)	Площадь поверхности (м <sup>2</sup> /г)	Общая пористость, %	Средний d, нм
МИП	0,70	310,14	80,04	350
НИП	0,64	256,40	72,45	430
ГК	0,62	177,30	60,00	3150

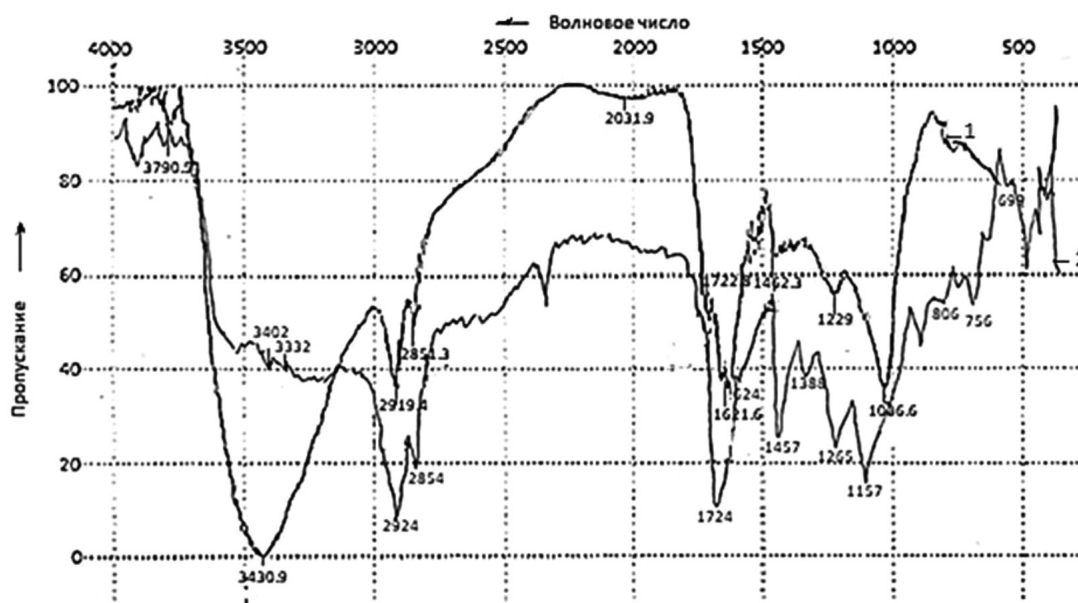


Рис. 4. ИК-спектры ГК (1) и МИП (2)

В формировании в структуре импринтированных полимеров высокоаффинных и специфических участков распознавания важное значение имеет возможность связывания темплатов с функциональными мономерными единицами посредством нескольких механизмов. В связи с этим следует 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. С другой стороны, как следует из данных, описанных ранее в работах [9], в процессах связывания ГК с атразином помимо механизмов связывания, указанных для метакриловой кислоты, реализуются ещё  $\pi$ - $\pi$  взаимодействия посредством перекрытия орбиталей ароматического ядра гуаниновых кислот и двойных связей триазинового кольца атразина.

В ИК-спектрах гуаниновых кислот и неимпринтированных полимеров не наблюдается каких-либо особых различий в полосах поглощения. Имеются чётко выраженные

полосы поглощения, характерные для карбоксильных групп при 1710–1722 см<sup>-1</sup>, относящиеся к деформационным колебаниям С=О связей, при 1220 см<sup>-1</sup> – к растяжению связей О–С–О и при 3400 см<sup>-1</sup> – к О–Н группам, участвующим в образовании водородных связей. В области 1470–1370 см<sup>-1</sup> имеются несколько полос, обусловленных деформационными колебаниями С–Н, О–Н и С–О связей. В области волновых чисел менее 1000 см<sup>-1</sup> имеются слабоинтенсивные полосы в области 900–750 см<sup>-1</sup>, относящиеся к деформационным колебаниям С–Н в ароматических кольцах. ИК-спектры импринтированных полимеров до удаления темплата характеризуются следующими полосами. Слабые пики при 3404 см<sup>-1</sup> и 3332 см<sup>-1</sup> относятся к деформационным колебаниям связи N–H в первичных и вторичных аминах. Полосы при 2924 см<sup>-1</sup> и 2854 см<sup>-1</sup> обусловлены соответственно асимметричными и симметричными колебаниями связи С–Н метиленовой группы. Поглощение при 1724 см<sup>-1</sup> и 1388 см<sup>-1</sup> вызвано соответственно деформационными колебаниями связей С=О и N–H.

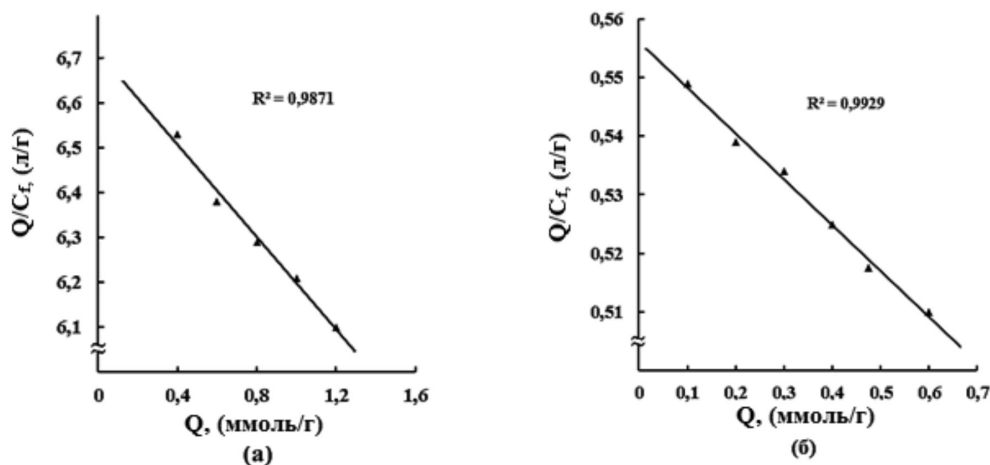


Рис. 5. График Скэтчарда для связывания атразина с МИП<sup>ГК</sup> (а) и НИП<sup>ГК</sup> (б)

Таблица 2

Параметры связывания атразина с полимерами

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

Пик при  $1624 \text{ см}^{-1}$  относится к деформации связи N-H в первичных аминах, тогда как пик при  $1457 \text{ см}^{-1}$  выражает деформационные колебания C-H в карбоксильных группах. Поглощение  $1265 \text{ см}^{-1}$  и  $1157 \text{ см}^{-1}$  относится соответственно к деформациям связи C-H в первичных и вторичных ароматических аминах. Слабые полосы поглощения в области  $900\text{--}660 \text{ см}^{-1}$  обусловлены колебаниями N-H в аминах (рис. 4).

Для определения кажущейся величины максимального числа связывающих центров и константы связывания экспериментальные результаты по статической адсорбции атразина на полимерных сорбентах обработаны в координатах Скэтчарда согласно уравнению

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

где  $Q$  – концентрация атразина, связанного с полимером,  $C_f$  – концентрация свободного атразина,  $Q_{\max}$  – кажущееся максимальное число связывающих центров,  $K_d$  – равновесная константа диссоциации образующегося комплекса «атразин – полимер». Константа ассоциации (образования) этого комплекса  $K_a = 1/K_d$ .

Диаграммы Скэтчарда для связывания атразина с полимерами и рассчитанные на их основе величины  $K_d$ ,  $K_a$ ,  $Q_{\max}$ , представлены на рис. 5, а также в табл. 2.

Сравнительный анализ величин  $K_a$ ,  $K_d$  и  $Q_{\max}$  показывает на более высокое сродство МИП с атразином по сравнению с ГК и НИП. В неимпринтированных полимерах связывание атразина носит неспецифический характер, и при этом наблюдаются пониженные значения  $K_a$  и  $Q_{\max}$ .

### Заключение

Синтезированы неимпринтированные и атразин импринтированные полимеры с использованием в качестве функциональных мономеров гуминовых кислот, выделенных из окисленного бурого угля и метакриловой кислоты. Проведен сравнительный анализ текстурной характеристики и способности полимеров к молекулярному распознаванию атразина. Выявлено, что наиболее эффективными сорбентами для атразина являются МИП.

### Список литературы

1. Tu M., Hurd C., Randall J.M. Weed Control Methods Handbook. The Nature Conservancy, Chapter 6.7. [Electronic resource]. URL: <https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1532&context=govdocs> (appeal date: 12.05.2019).

2. Solomon K.R., Baker D.R., Richards R.P., Dixon K.R., Klaine S.J., La Point T.W., Kendall R.J., Weisskopf C.P., Giddings J.M., Giesy J.P., Hall L.W., Williams W.M. Ecotoxicological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environ. Toxicol. Chem.* 1996. 15. P. 31–76.
3. De Ventura Campo B, de Angelis Franceschi D, Marin-Morales MA. Mutagenic and genotoxic effects of the atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. *Biochem. Physiol.* 2008. 90. P. 42–51.
4. Jun Chen, Lian-Yang Bai, Kun-Feng Liu, Run-Qiang Liu, and Yu-Ping Zang. Atrazine Molecular Imprinted polymers: Comparative Analysis by Far-Infrared and Ultraviolet Induced Polymerization. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. № 15. P. 574–587.
5. Idha Royani, Widayani, Mikrajuddin Abdullah, Khairurrijal. An Atrazine Molecularly Imprinted Polymer Synthesized Using a Cooling-Heating Method with Repeated Washing: Its Physico-chemical Characteristics and Enhanced Cavities. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2014. № 9. P. 5651–5662.
6. Дмитриенко Е.В., Булушев Р.Д., Пышная И.А., Пышный Д.В. «Слепки» жизни – полимеры с молекулярной памятью // *Наука из первых рук.* 2011. № 37 (1). С. 86–93.
7. Fan J., Wei Y, Waang J., Wu C., Shi H. Study of molecularly imprinted solid-phase extraction of diphenyl-guanidine and its structural analogs. *Anal. Chim. Acta.* 2009. № 639. P. 42–50.
8. Lopez C., Claude B., Morin P., Max J.P., Pena R., Ribet J.P. Synthesis and study of a molecularly imprinted polymer for the specific extraction of indole alkaloids from *Catharanthus roseus* extracts. *Anal. Chim. Acta.* 2011. № 683. P. 198–205.
9. Ли С.П., Худайбергенова Б.М., Пулатова З.М., Прохоренко В.А. Детоксицирующие свойства гуминовых препаратов по отношению к Cd(II), Pb(II), Cu(II) // *Теоретическая и прикладная экология.* 2016. № 1. С. 71–76.
10. Senesi N., Steelin C. Application of ESR Spectroscopy to the study of substances / In: Hayes MHB et al (ed.) *Humic substances.* In: *Search for the structure.* Chichester; Wiley. 2010. P. 373–408.