

Р. А. Зайдуллина
R. A. Zaidullina
zaidullina.regina@urfu.ru
В. А. Васенева
V. A. Vaseneva
vaseneva.valeriya.00@gmail.com
А. В. Мазур
A. V. Mazur
a.v.mazur@urfu.ru
Н. Н. Малышева
N. N. Malysheva
n.n.malysheva@urfu.ru
Т. С. Свалова
T. S. Svalova
t.s.svalova@urfu.ru
А. Н. Козицина
A. N. Kozitsina
a.n.kozitsina@urfu.ru

ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», г.
Екатеринбург
«Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin»,
Ekaterinburg

**ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ МАГНЕТИТА И
ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В ЭКОМОНИТОРИНГЕ
FUNCTIONALIZED MAGNETIC NANOPARTICLES AND THEIR APPLICATION
IN ECOMONITORING**

Аннотация: были рассмотрены методы функционализации магнитных наночастиц и возможность их применения при разработке способа определения *E.coli* в объектах окружающей среды. Предложены подходы по покрытию наночастиц амино-, карбокси- и тиольными группами. Наличие функциональных групп на поверхности наночастиц было доказано методом ИК-спектроскопии. От синтезированных наночастиц зарегистрирован электрохимический отклик и получена калибровочная зависимость величины сигнала от концентрации наночастиц в суспензии, модифицирующей рабочий электрод: $I \text{ (мкА)} = 263 \cdot C \text{ (г/л)} - 71.3$, минимально определяемая концентрация наночастиц: 0,1 г/л

Abstract: methods of functionalization of magnetic nanoparticles and the possibility of their application in the development of a method for determining *E.coli* in environmental objects were considered. Approaches were proposed for coating nanoparticles with amino, carboxy, and thiol groups. The presence of functional groups on the surface of nanoparticles was proved by IR spectroscopy. An electrochemical response was registered from the synthesized nanoparticles and a calibration dependence of the signal magnitude on the concentration of nanoparticles in the

suspension modifying the working electrode was obtained: $I (\mu A) = 263 \cdot C (g/l) - 71.3$, LOQ nanoparticles: 0.1 g/l.

Ключевые слова: магнитные наночастицы, функционализация, глицин, фенилаланин, 3-меркаптопропилтриэтоксисилан.

Keywords: magnetic nanoparticles, functionalization, glycine, phenylalanine, 3-mercaptopropyltriethoxysilane.

Благодаря своей доступности, универсальности и экологичности магнитные наночастицы (МНЧ) считаются одним из самых популярных видов наноматериалов, применяемых в настоящее время. Наночастицы (НЧ) Fe_3O_4 обладают уникальными характеристиками: химической стабильностью, низкой стоимостью, суперпарамагнетизмом и биосовместимостью, что обуславливает чрезвычайно широкий спектр применения [1].

В последнее время возрос интерес к использованию МНЧ в эко-мониторинге [2]. Комбинация повышенной реакционной способности, обусловленной большим соотношением площади поверхности к объему частицы, и суперпарамагнитных свойств позволяет МНЧ выступать в роли детектирующих агентов для загрязняющих веществ различной природы и эффективно магнитно-сепарироваться из реакционной среды для дальнейшей обработки и удаления [3]. Однако, МНЧ нестабильны на воздухе, поскольку имеют тенденцию окисляться до маггемита ($\gamma-Fe_2O_3$), что часто приводит к снижению магнитных свойств, и могут легко агломерировать после получения, что значительно уменьшает площадь активной поверхности [4]. Следовательно, увеличение стабильности магнитных наночастиц является одной из важнейших задач. Функционализация их поверхности с помощью полимеров, металлов или органических и / или неорганических стабилизирующих агентов является одним из основных способов её достижения [5].

Кроме того, функционализация позволяет адаптировать магнитные наночастицы для конкретного применения, поскольку свободные функциональные группы, присутствующие на поверхности, обеспечивают большое количество активных центров для последующего связывания с целевыми молекулами [6].

Наиболее популярными группами для функционализации магнитных наночастиц являются amino-, карбокси- и тиольные группы, которые посредством ряда реакций способны к связыванию с компонентами белковой природы, что позволяет использовать модифицированные НЧ, например, в качестве метки и/или концентрирующего агента для при детектировании бактерий и вирусов в различных объектах окружающей среды [1]. На данный момент исследованы различные агенты для функционализации. Наиболее часто в литературе встречаются:

- кислоты (янтарная, лимонная, фолиевая, олеиновая) в качестве карбоксилирующих агентов [7];

- аминопропилтриэтоксисилан (APTES), полианилин, этилендиамин в качестве аминирующих агентов [8];

- меркаптопропилтриэтоксисилан (MPTES), ди/меркаптоянтарная кислота, бензолдитиол в качестве тиолирующих агентов [9, 10].

Отдельно стоит отметить функционализацию аминокислотами, содержащими в своем составе как amino-, так карбокси- группы [11] что значительно расширяет возможности для связывания модифицированных ими наночастиц с молекулами биологического распознавания (антитела, белки, полипептиды), а также с биосовместимыми органическими/неорганическими молекулами. Кроме того, наночастицы с аминокислотным покрытием отличаются хорошей биосовместимостью и гидрофильностью.

Наночастицы Fe_3O_4 получали методом соосаждения [5]:



Синтезированные таким образом НЧ магнетита функционализировали amino-, карбокси- и тиольными группами, посредством покрытия глицином (Gly), фенилаланином (Phe) и 3-меркаптопропилтриэтоксисиланом (MPTES) используя следующие оптимизированные методики модификации:

- 1) С целью функционализации amino- и карбокси-группами: к 0,05 г НЧ Fe_3O_4 , в этиленгликоле добавляли 0,003 моль аминокислоты (Gly или Phe). Реакция протекала при перемешивании в инертной атмосфере в течение 4 ч при 175 °С. Полученную суспензию промывали этанолом и дистиллированной водой.

- 2) Функционализацию тиольными группами осуществляли следующим образом: к 0,1 г НЧ Fe_3O_4 добавляли смесь 95% EtOH: 25% NH_3 (aq): MPTES (1:1:0,5). Реакция протекала при магнитном перемешивании в течение 5 ч при 60 °С. Полученную суспензию промывали этанолом и дистиллированной водой.

Наличие функциональных групп на поверхности наночастиц доказывали методом ИК-спектроскопии (Рисунок 1, а).

Во всех полученных образцах присутствуют характеристические полосы поглощения в интервале 631–578 cm^{-1} , соответствующих колебаниям связи Fe–O магнитных наночастиц.

На спектрах MNP-Gly и MNP-Phe были выявлены следующие характеристические полосы: деформационные колебания -OH группы — 955–820 cm^{-1} ; диапазоны колебаний -CO₂⁻ — 1335–1300 cm^{-1} , 1600–1560 cm^{-1} ; деформационные колебания NH₃⁺ — 1550–1485 cm^{-1} .

На спектре МНЧ, модифицированных МРТЕС наблюдается сильная полоса поглощения при 1080 см^{-1} , что соответствует колебанию группы Si-O-CH_2 . Также наблюдается небольшая полоса поглощения $-\text{SH}$ группы при $2560\text{--}2500\text{ см}^{-1}$ [12].

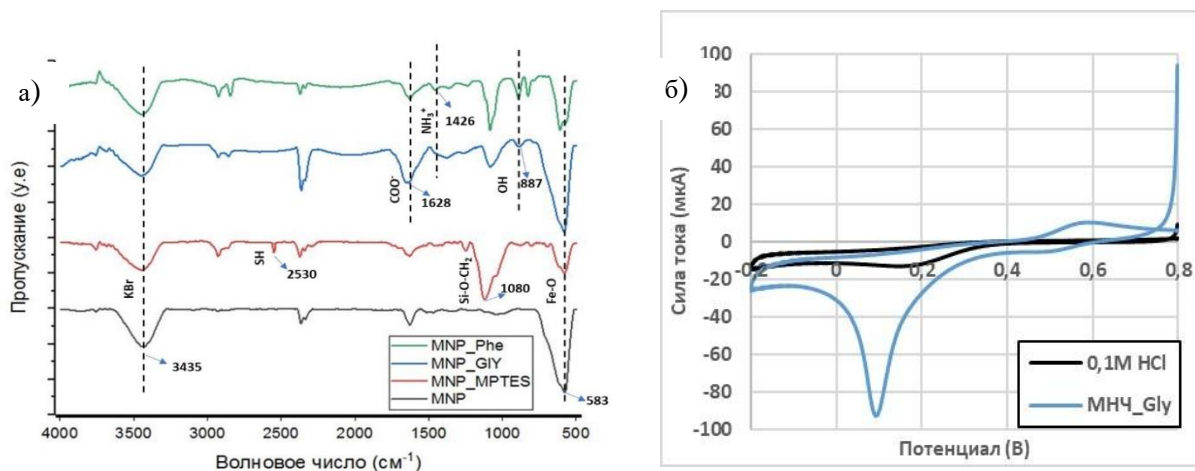


Рис. 1. а) ИК спектры МНЧ, функционализированных Phe (—), Gly (—), МРТЕС (—). Спектры регистрировались в таблетке KBr; б) ЦВА наночастиц, модифицированных Gly (0,003 М). Рабочий электрод – Pt дисковый; фоновый раствор – 0,1 М HCl; Скорость развертки 0,05 В/с

Посредством связывания с функциональными группами на поверхности НЧ становится возможной иммобилизация на поверхности НЧ антител к бактериальным и вирусным агентам. Иммобилизация может происходить посредством реакций аминогрупп антител с карбоксильными группами (карбодиимидная сшивка) или аминогруппами НЧ (сшивка глутаровым альдегидом). Тиольные группы на поверхности НЧ посредством тиолиновой «клик» реакции, позволяют иммобилизовать разнообразные органические молекулы, синтезированные под конкретные задачи эко-/биомониторинга.

От синтезированных частиц зарегистрирован электрохимический отклик в режиме циклической вольтамперометрии (ЦВА) на платиновом электроде в 0,1 М растворе соляной кислоты (Рисунок 1, б). Получена калибровочная зависимость величины аналитического сигнала от концентрации функционализированных наночастиц в суспензии, модифицирующей рабочую поверхность электрода (объем аликвоты 5 мкл): $I\ (\mu\text{A}) = 263 \cdot C\ (\text{г/л}) - 71.3$, минимально определяемая концентрация НЧ: 0.1 г/л.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования синтезированных наночастиц в качестве сигналообразующей метки при разработке способов электрохимического иммуноанализа. Модифицированные наночастицы с иммобилизованными посредством карбодиимидной сшивки антителами будут использоваться в качестве прямой электрохимической метки для определения бактерии *E.coli* в различных объектах окружающей среды (вода, почва). Применение магнитных наночастиц позволит

также проводить магнитное концентрирование анализата (бактерий *E.coli*), что в дальнейшем может послужить основой для создания электрохимической портативной тест-платформы для определения низких концентраций бактериальных патогенов.

Список литературы

1. Pratt A. Environmental applications of magnetic nanoparticles // *Frontiers of Nanoscience*. Elsevier Ltd. 2014. Vol. 6. P. 259–307. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-098353-0.00007-5>.
2. Nanoparticle-based Immunochemical Biosensors and Assays: Recent Advances and Challenges / Farka Z., T. Juřík, T. Kovaar et al. // *Chemical Reviews*. 2017. Vol. 117, № 15. P. 9973–1000. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00037>.
3. Niculescu A. G., Chircov C., Grumezescu A. M. Magnetite nanoparticles: Synthesis methods – A comparative review // *Methods*. 2022. Vol. 199. P. 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2021.04.018>.
4. Superparamagnetic nanocomposite particles synthesized using the mini-emulsion technique / S. Gyergyek, D. Makovec, A. Mertelj et al. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010. Vol. 366, iss. 1–3. P. 113–119.
5. Preparation, surface functionalization and application of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles / Liu S., Yu B., Wang S. et al. // *Advances in colloid and interface science*. 2020. Vol. 281. P. 102–165. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102165>.
6. Singh S., Barick K. C., Bahadur D. Surface engineered magnetic nanoparticles for removal of toxic metal ions and bacterial pathogens // *Journal of Hazardous Materials*. 2011. Vol. 192, iss. 3. P. 1539–1547. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.06.074>.
7. Systematic magnetic fluid hyperthermia studies of carboxyl functionalized hydrophilic superparamagnetic iron oxide nanoparticles based ferrofluids / Kandasamy G., Sudame A., Bhati P. et al. // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2018. Vol. 514. P. 534–543. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.12.064>.
8. Preparation and characterization of amino-coated maghemite nanoparticles / L. Zeng, R. Hu, S. Wu et al. // 2010 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, 18–20 June 2010, Chengdu, China. IEEE, 2010. P. 5. <https://doi.org/10.1109/ICBBE.2010.5516627>.
9. Encapsulation of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles with poly (methyl methacrylate) via surface functionalized thiol-lactam initiated radical polymerization / L. G. Bach, Md. R. Islam, J. T. Kim et al. // *Applied Surface Science*. 2012. Vol. 258, iss. 7. P. 2959–2966. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2011.11.016>.

10. Thiol-functionalized magnetic porous organic polymers for highly-efficient removal of mercury / L. Huang, C. Peng, Q. Cheng et al. // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2017. Vol. 56. P. 13696–13703. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.7b03093>.
11. Wet-Chemical Green Synthesis of L-Lysine Amino Acid Stabilized Biocompatible Iron-Oxide Magnetic Nanoparticles / R. Krishna, E. Titus, N. Bardhan et al. // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2012. Vol. 12, no. 8. P. 6645–6651. <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.4571>.
12. Тарасевич Б. Н. ИК спектры основных классов органических соединений. М. : МГУ имени М. В. Ломоносова, 2012. 55 с.