
СУПРАМОЛЕКУЛЯРНИЙ КОМПЛЕКС 1-МЕТИЛЦИКЛОПРОПЕНУ З КУКУРБИТ[6]УРИЛОМ ЯК ЕФЕКТИВНИЙ ЗАСІБ ОБРОБКИ ЯБЛУК

*О.І. Збруєв, Н.О. Пінчукова, В.Є. Сараєв, Д.Ю. Мяснікова,
Г.С. Власенко, Ю.В. Шляпкіна, Є.В. Євтушенко, В.А. Чебанов*

<https://doi.org/10.15407/akademperiodyka.444.026>

Агропромисловість є однією з галузей реального сектору економіки України, яка дуже динамічно розвивається і має тенденцію до подальшого стрімкого зростання. Наразі її частка у ВВП України становить близько 13 %, або понад 11 млрд євро в абсолютних цифрах [1]. При цьому значна кількість агрогосподарств мають різного типу фруктові сади, більш ніж половина з яких — яблуневі. Частка яблук у виробництві плодів зерняткових культур в Україні становить близько 90 % [2]. Тому саме яблука, поряд з соняшниковою олією, пшеницею та медом, забезпечують стабільний експортний потенціал вітчизняного агропромислового сектору.

Висока конкуренція, яка спостерігається на світовому ринку агропродукції, приводить до того, що садівництво стає дедалі більш високотехнологічним і потребує значних інвестицій, зокрема й для проведення широкого спектру науково-дослідних робіт. Крім застарілої матеріально-технічної бази і все ще значного використання ручної праці, серед нагальних проблем садівничого сектору можна назвати нестабільність продуктивності насаджень та великі (до 45 %!) втрати врожаю через недотримання належних умов його збирання та зберігання [3]. Тому для українських агропідприємств конче потрібні наукові розробки, що дозволять вивести на ринок вітчизняні агрохімічні засоби для захисту агропродукції в період визрівання та зберігання.

Відомо, що оброблення плодово-овочевої продукції газоподібним 1-метилциклопропеном (1-МЦП) навіть дуже низької концентрації (одна мільйонна частка в повітрі) приводить до того, що він міцно зв'язується з рецепторами рослинного гормону етилену і блокує його дію, яка полягає спочатку в дозріванні, а потім, при зберіганні, — у псуванні продукції. Застосування 1-МЦП дозволяє значно сповільнити небажані процеси, особливо в яблуках, грушах, бананах, томатах і квітах [4]. Серед препаратів на основі 1-МЦП для післязбиральної обробки агропродукції найкращим і найпоширенішим є «Smartfresh» виробництва США [5], вартість якого для кінцевого користувача в Україні за останні кілька років помітно зросла. Зазначена ситуація стала

причиною того, що ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України розпочав роботи з розроблення вітчизняних препаратів на основі 1-МЦП для дозбиральної та післязбиральної обробки плодово-овочевої продукції.

Слід зауважити, що синтез основної діючої речовини 1-МЦП є досить складним процесом. Крім того, в стандартних умовах 1-МЦП перебуває в газоподібному стані і є вкрай нестійким при зберіганні. Це зумовлює необхідність дотримання спеціальних заходів як для зберігання, так і для доставки речовини, зокрема у вигляді супрамолекулярного комплексу в порожнинах молекул-контейнерів.

У результаті проведених наукових досліджень нами розроблено новий агрохімічний препарат для післязбиральної обробки на основі 1-МЦП, який відрізняється від відомих аналогів тим, що для зв'язування діючої речовини в ньому використано такий супрамолекулярний контейнер, як кукурбіт[6]урил (СВ-6 [6]). Препарат пройшов випробування на яблуках, засвідчивши свою високу ефективність, зареєстрований під маркою «Оберіг^{PRO}» і вже застосовується в діяльності агропідприємств.

Оптимізація синтезу кукурбіт[6]урилу

Кукурбітурили є макроциклічними кавітандами, утвореними з 5—10 фрагментів молекул гліколурилу, з порожниною в центрі молекули, завдяки якій вони здатні утворювати численні супрамолекулярні сполуки з органічними речовинами, а також комплекси з неорганічними іонами (рис. 1). Ці властивості відкривають широкі можливості для застосування кукурбітурилів (див., наприклад, [7]).

Першим відомим синтезованим представником цього класу сполук був кукурбіт[6]урил, одержаний ще в 1905 р. конденсацією гліколурилу з формальдегідом у соляній кислоті [8] (рис. 2); його структуру було встановлено лише в 1981 р. за результатами рентгеноструктурного дослідження [9].

Пізніше було з'ясовано, що варіюванням умов реакції можна отримувати суміші гомологів з різною кількістю фрагментів гліколурилу, від 5 до 10 [10]; вивчено вплив на співвідношення продуктів різних факторів — типу кислоти, концентрацій реагентів, температури [11].

Згідно з літературними методиками, для виділення СВ-6 з реакційної суміші її виливають у велику кількість метанолу [11], ацетону [10] або води [8, 9], в яких продукт є малорозчинним та випадає в осад, який потім фільтрують і промивають. При цьому витрати розчинників досить великі. Наприклад, для отримання 1 г кукурбітурилу потрібно близько 20 мл метанолу.

Ми модифікували відому методику синтезу СВ-6, знизивши витрати кислот, розчинників і, відповідно, зменшивши кількості відходів, та порівняли чистоту одержаної речовини з кукурбітурилом, отриманим за літературними методиками.

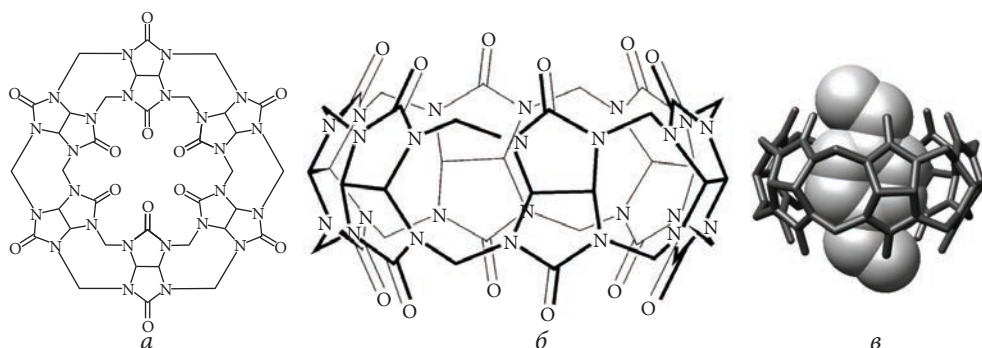


Рис. 1. Кукурбіт[6]урил: *a* — структурна формула; *b* — просторова будова супрамолекулярного контейнера; *в* — приклад супрамолекулярної сполуки з *p*-ксиліламонієм

Спочатку для синтезу СВ-6 нами було відтворено літературні методики [11] і з'ясовано, що вони мають багато недоліків і погано масштабуються. Крім того, отриманий за їх допомогою продукт виявився забрудненим іншими гомологами, про що свідчить аналіз спектрів ЯМР ^{13}C .

Відомо [11], що утворенню кукурбіт[6]урилу замість інших гомологів сприяє використання концентрованої сірчаної кислоти, тому в подальшому ми використовували саме її як реакційне середовище. Для мінімізації кількості кислоти та води застосовували твердий параформ замість водного розчину формальдегіду. До того ж ми збільшили завантаження гліколурилу на 1 мл кислоти до максимальної концентрації, за якої тимчасове загустіння реакційної суміші на початку реакції ще є помірним і дозволяє ефективно здійснювати її перемішування.

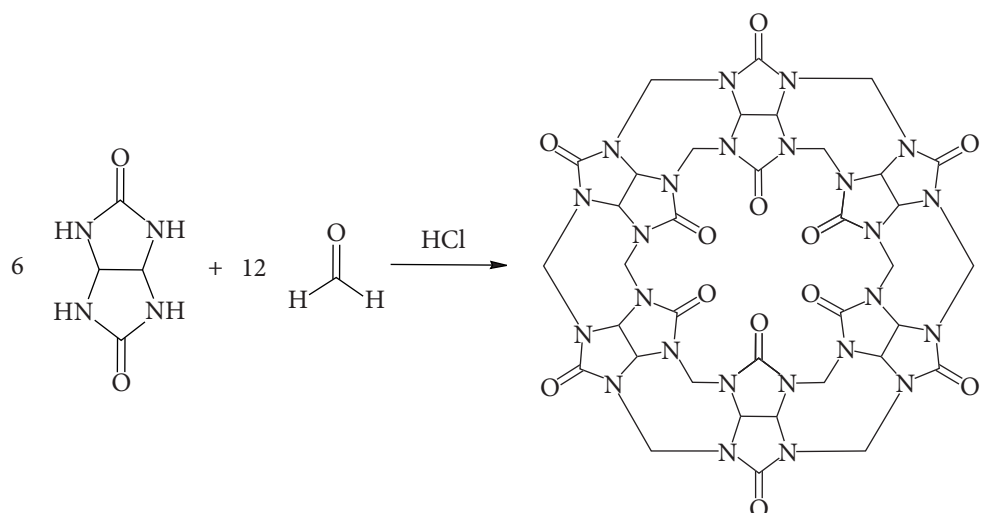


Рис. 2. Синтез кукурбіт[6]урилу реакцією гліколурилу і формальдегіду

У результаті такої модифікації методики було виявлено, що проведення реакції в концентрованій сірчаній кислоті, хоча й дає перевагу у виділенні СВ-6 з мінімальним вмістом інших гомологів, але супроводжується утворенням забарвлених домішок. Проблему було вирішено вдосконаленням способу виділення, що дало змогу одержати чистий продукт з виходами 75—85 %.

Для масштабування методики синтезу СВ-6 та її подальшого промислового впровадження важливо мінімізувати кількість сірчаної кислоти до оптимального співвідношення сірчаної кислоти і продукту. Обмежувальним фактором при збільшенні концентрацій реагентів є значне підвищення в'язкості реакційної суміші після додавання параформу, аж до гелеподібного стану, який практично блокує перемішування. Виявилось, що для отримання реакційної суміші оптимальної в'язкості необхідно чітко дотримуватися певних температурних режимів на різних етапах — перед додаванням параформу, під час його додавання та при проведенні подальшого синтезу.

Саме тепловий режим є найбільш складним для масштабування параметром, особливо у випадку сильно екзотермічних або ендотермічних процесів. Звичайне лабораторне обладнання (колби, колбонагрівачі) майже не придатне для масштабування, адже не дозволяє точно відтворити термограму процесу, а тому результати перших експериментів з масштабування методики були невідтворюваними. Подальші експерименти з масштабування ми проводили з використанням промислового реактора з робочим об'ємом 50 л і можливістю гнучкого регулювання температури оболонки з теплоносієм. Це дало змогу знайти оптимальні умови масштабованого синтезу СВ-6, придатні для промислового використання.

Отже, оптимізація методики синтезу СВ-6 дозволила, по-перше, вдвічі зменшити витрати сірчаної кислоти порівняно з найменшими витратами, наведеними в літературі [11], по-друге, знизити витрати метанолу, а по-третє, підвищити вихід продукту до 85 %. Враховуючи зниження трудомісткості і зменшення часу процесу, можна констатувати, що використання модифікованої методики приводить до зниження собівартості синтезу СВ-6 у кілька разів.

До того ж продукт, синтезований за модифікованою методикою, не містить домішок інших гомологів кукурбітурилу, а тому немає потреби в додатковому його очищенні.

Синтез комплексу з максимальним вмістом активної речовини та розроблення методу її подальшого вивільнення

Відповідно до мети дослідження, кінцевий продукт має бути супрамолекулярним комплексом: 1-МЦП знаходиться в порожнині молекули СВ-6, з якої потім діючи речовину можна вивільнити.

Утворення такого комплексу та вплив деяких факторів на цей процес описано в літературі [6]. Синтез комплексу відбувається при взаємодії СВ-6 з 1-МЦП у воді, але, оскільки кукурбіт[6]урил є малорозчинним у воді (розчинність 13—20 мг/л [12]), він перебуває у вигляді суспензії в досить великій кількості розчинника (20—50 ммоль/л), а реакція відбувається при перемішуванні в присутності газової фази, яка містить 1-МЦП, та за температури 15 °С.

Вміст 1-МЦП в отриманому комплексі автори дослідження [6] визначали термогравіметричним методом за втратою маси комплексу при нагріванні від 40 до 110 °С. Вміст становив 4,5 мас.% при теоретичному максимумі 5,1 мас.% у разі повного стехіометричного утворення комплексу. Однак такий метод, на наш погляд, не можна вважати точним, оскільки як СВ-6, так і сам комплекс можуть мати різний вміст води залежно від умов виділення та сушки, а втрата маси за рахунок води та 1-МЦП відбувається в одному й тому самому інтервалі температур.

Отже, попри те, що літературні дані [6] свідчать про принципову можливість використання супрамолекулярного комплексу, що вивчається, з метою зберігання 1-МЦП з подальшим його вивільненням, для виробництва і практичного використання препарату на його основі необхідно було вирішити низку важливих науково-практичних завдань: 1) розробити ефективний метод синтезу комплексу; 2) розробити надійну методику кількісного визначення вмісту 1-МЦП у комплексі; 3) максимально підвищити ступінь вивільнення речовини з комплексу; 4) вивчити стабільність комплексу в часі за різних умов зберігання.

Для вирішення цих завдань нами було проведено детальні дослідження щодо утворення супрамолекулярного комплексу 1-МЦП з СВ-6 та його подальшого розкладання.

Показано, що синтез комплексу шляхом простого пропускання газоподібного 1-МЦП у суспензію кукурбіт[6]урилу є неефективним — газ не встигає поглинатися за час проходження бульбашок через рідину. Тому для забезпечення більш тривалого контакту компонентів методику синтезу було значно вдосконалено: синтез комплексу проводили у водній суспензії СВ-6 при інтенсивному перемішуванні з газовою фазою, яка складалася, на відміну від літературної методики, лише з очищеного 1-МЦП, без повітря або інших газів. Утворення газової фази досягали вакуумуванням без перемішування суспензії СВ-6 у воді з подальшим відключенням вакууму і заповненням об'єму над рідиною газоподібним 1-МЦП, який надходив з іншої колби за атмосферного тиску. Схему установки для поглинання 1-МЦП наведено на рис. 3.

Як було зазначено вище, термогравіметричний метод для визначення вмісту 1-МЦП у комплексі не можна вважати надійним. З іншого боку, для практичного використання значення має не повний вміст 1-МЦП у комплек-

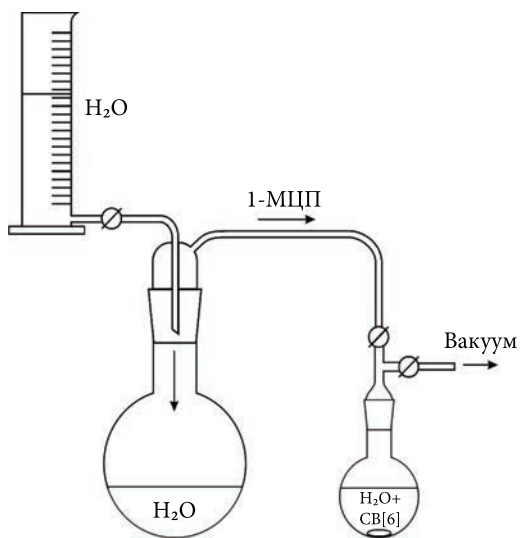
Рис. 3. Схема установки для експериментів з поглинання 1-МЦП

сі, а саме та кількість, яку можна отримати в результаті розкладання. Тому для створення простого у виконанні експрес-методу оцінки вмісту 1-МЦП у комплексі ми мали вирішити взаємопов'язані одне з одним завдання: визначити умови, за яких відбувається максимальне вивільнення з комплексу 1-МЦП, і розробити метод оцінки вмісту 1-МЦП.

Для грубого експрес-варіанту оцінки вмісту 1-МЦП ми використовували вивільнення діючої речовини при взаємодії комплексу з відповідними водними розчинами (як у разі реального використання комплексу на практиці) і проводили вимірювання об'єму газу, що вивільнявся, методом витіснення води. Отримані в такий спосіб значення можуть бути заниженими через неповне виділення 1-МЦП з комплексу, але, незважаючи на невисоку точність, цей метод дає змогу порівнювати зразки, отримані за різних умов. (Далі в тексті, якщо йдеться про вміст 1-МЦП у комплексі, мається на увазі вміст, визначений цим методом, якщо не зазначено інше.)

Перші зразки комплексу було отримано з СВ-6, синтезованим за літературними методиками або незначними їх модифікаціями. Вміст 1-МЦП оцінювали описаним вище методом. При цьому встановлено, що у водній суспензії СВ-6 при контакті з газоподібним 1-МЦП дійсно відбувалося поглинання останнього на рівні до 6 мас.% від маси взятого кукурбіт[6]урилу. Водночас при розкладанні одержаних зразків комплексу виділявся об'єм газу, який відповідав вмісту 1-МЦП у комплексі 1,3—1,8 мас.%. Зразки, які зберігалися герметично закритими до 3 місяців за кімнатної температури, давали такі самі результати, але після їх зберігання на відкритому повітрі впродовж місяця виділення 1-МЦП зменшувалося на ~3—5 %, ймовірно, під дією вологи.

Отже, комплекс показав достатню стабільність у часі в герметичній тарі, але кількість діючої речовини, яку можна вивільнити з комплексу, була незадовільною відносно введеної кількості. Крім того, розчин гідрокарбонату натрію, використаний для розкладання комплексу, сам по собі в умовах експерименту виділяє CO_2 , який дає додатковий об'єм і приводить до завищення результатів. Тому гідрокарбонат натрію було замінено на карбонат, і



результати цих експериментів виявили 1,0—1,5 мас.% вивільненого 1-МЦП від маси комплексу. Це означає, що близько 60—75 % 1-МЦП втрачається через неповне розкладання комплексу.

Тому було запропоновано витіснити 1-МЦП з комплексу речовиною, яка утворювала б з СВ-6 більш міцний комплекс. При цьому слід враховувати, що порожнина кукурбіт[6]урилу є неполярною в центральній частині та полярною біля країв, де розташовані карбонільні групи, і найміцніші супрамолекулярні комплекси він утворює з молекулами, які мають як неполярний, так і полярний фрагменти. Зокрема, з усіх відомих комплексів найбільш стійкий утворюється з гексаметилендіаміном $H_2N(CH_2)_6NH_2$ [13], однак використання цієї речовини на практиці є невиправданим з економічної та екологічної точок зору. Проте використання інших, доступніших та безпечніших речовин з полярним та неполярним фрагментами, наприклад етилового спирту, може виявитися ефективним.

Експерименти показали, що при додаванні етанолу у водний розчин комплексу з карбонатом натрію дійсно відбувається різке, в декілька разів, прискорення вивільнення 1-МЦП, та збільшення його кількості приблизно на 40—60 %. Використання гексаметилендіаміну приводить до аналогічного результату, а тому застосування етилового спирту є достатньо ефективним для практичної реалізації. Такий спосіб вивільнення дозволив підвищити кількість 1-МЦП, який можна вивільнити, до 2,2 мас.% від маси комплексу.

Подальші експерименти дали змогу оптимізувати технологію одержання самого комплексу. Важливим виявився той факт, що наявність у кукурбіт[6]-урилі залишків сірчаної кислоти не лише не перешкоджає утворенню комплексу, а й, навпаки, дозволяє отримати комплекс з таким самим вмістом 1-МЦП, як і для чистого кукурбіт[6]урилу, але в меншій кількості води.

Вочевидь, це пов'язано з підвищенням розчинності кукурбіт[6]урилу у воді у присутності кислоти. Це дозволило значно спростити методику, істотно зменшити витрати розчинників, скоротити час процесу та знизити витрати праці; використання меншої кількості води дає змогу отримувати в кілька разів більше продукту з одного завантаження.

Використання СВ-6, одержаного за модифікованою методикою, дозволило отримати комплекс з підвищеним до 2,9—3,0 мас.% вмістом 1-МЦП. При цьому кількість 1-МЦП, яку витрачали на отримання комплексу, було, навпаки, знижено до приблизно 4,0—4,5 % від маси комплексу. Загалом при вивільненні отримували вже 65—75 % від витраченого 1-МЦП, тобто його втрати вдалося скоротити в 3—4 рази.

Однак оптимізація методики призвела до появи в кінцевому продукті слідів сірчаної кислоти, яка може негативно впливати на його зберігання, тому було розроблено метод її нейтралізації гідроксидом натрію. Зразки, отримані з нейтралізацією кислоти, в подальших випробуваннях на терміни зберігання показали кращі результати, ніж зразки комплексу, отримані

без нейтралізації кислоти. Для пояснення цього факту можна припустити, що, по-перше, наявність у реакційній суміші сульфату натрію зменшує розчинність 1-МЦП внаслідок ефекту висолювання, що сприяє більш повному його переходу в комплекс. По-друге, іони натрію також утворюють комплекс з СВ-6. Вони розташовуються по боках молекули біля входів до порожнини з карбонільними групами, утворюючи таким чином «кришки», що блокують молекулу 1-МЦП, яка розміщена в центрі порожнини [14], що підвищує стійкість комплексу. При цьому, як показали експерименти, це не заважає вивільненню 1-МЦП з комплексу за відповідних умов.

Масштабування синтезу супрамолекулярного комплексу

Для використання комплексу 1-МЦП з СВ-6 в агропромисловості необхідно забезпечити отримання великої кількості продукту, а тому методику синтезу комплексу потрібно було масштабувати. Залежно від кількості комплексу, яку необхідно синтезувати, масштабування процесу можна здійснювати з використанням як лабораторного габаритного обладнання, так і промислового.

Перший варіант масштабування (лабораторний) здійснювали в 10-літровій колбі за допомогою спеціально розробленого циркуляційного перемішувача (рис. 4): через трубку, один кінець якої занурений до дна колби, реакційну суміш відбирають з нижньої частини колби і далі під тиском подають у колбу через спеціальне сопло, розміщене у верхній частині колби. Конфігурація сопла забезпечує закручування струменю навколо вертикальної осі, що зумовлює обертальне перемішування. Такий спосіб перемішування виявився дуже ефективним, забезпечуючи швидке поглинання газу і отримання продукту з високим вмістом 1-МЦП.

Подальше масштабування здійснювали з використанням реактора об'ємом 50 л з оболонкою, підключеною до системи нагріву і охолодження. Використання такої системи спростило

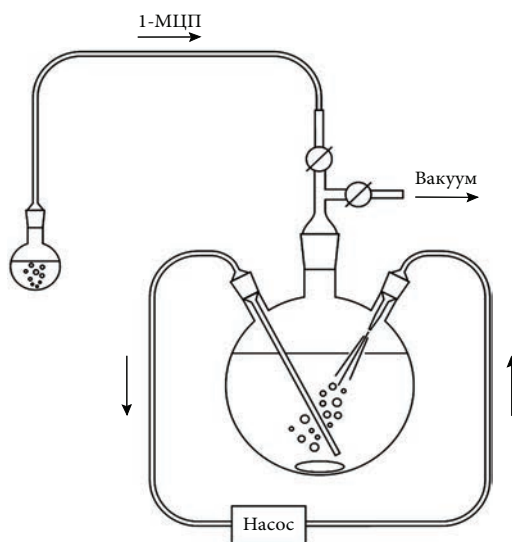


Рис. 4. Схема установки для синтезу комплексу з перемішуванням струменем рідини

оохолодження реакційної суміші до температури +10—15 °С, за якої поглинання відбувається найбільш ефективно, і підтримання цієї температури, а механічна мішалка забезпечувала достатнє перемішування рідини з газовою фазою при заповненні реактора рідиною не більше ніж на 50 %. У разі необхідності використання більших об'ємів, можна застосовувати перемішування струменем рідини.

При великих завантаженнях швидкість сушки комплексу після фільтрування, навіть з використанням спеціального вакуумного обладнання, знижується, що призводить до зменшення вмісту 1-МЦП у комплексі. Тому на практиці на кілограмових масштабах вдається отримати комплекс з дещо меншим вмістом 1-МЦП, ніж на малих дослідних зразках, а саме до 2,7—2,9 %, визначених за виділенням газу. Підвищити його вміст у комплексі в принципі можливо, якщо використовувати надлишок 1-МЦП, але це призведе до зростання його втрат і тому є економічно недоцільним.

Іншим перспективним варіантом вирішення цієї проблеми є розроблення ефективної технології промислового сушіння комплексу, яка забезпечувала б отримання комплексу потрібної якості з мінімальними втратами 1-МЦП.

Визначення вмісту 1-МЦП у комплексі хроматографічними методами

Як уже було зазначено, визначення кількісного вмісту 1-МЦП у комплексі описаним вище методом вимірювання об'єму газу, витісненого водою, не є специфічним, адже при цьому вимірюється загальний об'єм всіх газів, які можуть міститися в комплексі, в тому числі кисню, вуглекислого газу та інших складових повітря. Більш специфічним методом є газова хроматографія (ГХ) та високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).

Згідно з газохроматографічним методом аналізу 1-МЦП, описаним у роботі [6], кількісний вміст 1-МЦП розраховують за допомогою зовнішнього стандарту — ізобутилену. Однак у попередніх дослідженнях для вивчення поведінки 1-МЦП у газових розчинах та при вивільненні його з комплексу ми використовували розчини чистого 1-МЦП. Умови проведення хроматографічного аналізу було адаптовано для нашого обладнання з роботи [15], яку було взято за основу для розроблення методики кількісного визначення 1-МЦП у комплексі.

Метод ГХ з полуменево-іонізаційним детектором було використано для поточного аналізу вмісту 1-МЦП у повітрі. Однак на перших етапах розроблення газохроматографічної методики ми застосовували ГХ з мас-спектрометричним детектором (ГХ-МС) для ідентифікації компонентів повітряної суміші, що утворюється при розкладанні комплексу з 1-МЦП. Умови хроматографування було підбрано так, щоб досягти розділення піків 1-МЦП та метиленциклопропану, який є його невід'ємною домішкою.

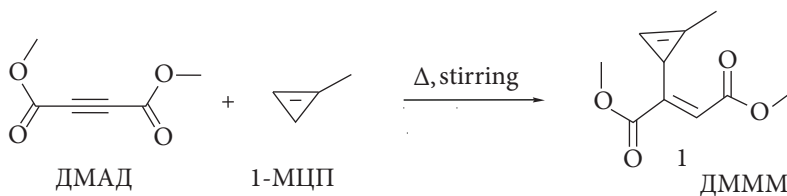


Рис. 5. Реакція дериватизації 1-МЦП

Для визначення чутливості газохроматографічного обладнання до низьких концентрацій 1-МЦП було використано розчини 1-МЦП точної концентрації в органічному розчиннику. З літератури відомо [16], що 1-МЦП добре розчиняється в метанолі (11 г/л) та етилацетаті (12,5 г/л). Проте виявилось, що варіюванням підібраних раніше умов хроматографування неможливо розділити піки метанолу та 1-МЦП. Більше того, в подальших дослідженнях було встановлено, що використання калібрувального графіку, побудованого для розчину 1-МЦП в етилацетаті, дає занижену оцінку масової частки 1-МЦП у комплексі порівняно з даними, отриманими методом витіснення води. Тому для побудови калібрувальних графіків краще використовувати газові розчини 1-МЦП. Вивчення стабільності газових розчинів 1-МЦП у широкому інтервалі концентрацій (від 1 до 1000 ppm) показало, що вони є стабільними протягом лише кількох годин.

За результатами проведених експериментів встановлено, що метод ГХ дає можливість достовірно визначати концентрації 1-МЦП на рівні з очікуваними в повітрі овочесховищ при реальному використанні препарату.

Метод ГХ дає змогу прямого визначення концентрації 1-МЦП, однак, з огляду на високу реакційну здатність цієї нестабільної в часі речовини, аналіз газової проби потрібно здійснювати якомога швидше, що не завжди можливо. Відтермінований аналіз проби, відібраної, наприклад, в умовах сховища, може давати недостовірні результати, адже за час транспортування проби до лабораторії в ній може відбутися хімічне перетворення. Отже, для відтермінованого аналізу 1-МЦП, вивільненого з комплексу, необхідно було знайти альтернативний метод аналізу, який дозволяв би спочатку перевести 1-МЦП в іншу, більш стабільну речовину і потім її проаналізувати. Це завдання поділялося на два підзавдання: розроблення методики дериватизації 1-МЦП та розроблення методики аналізу деривата.

Аналіз літературних джерел засвідчив, що є небагато речовин, які, вступаючи в хімічну реакцію з 1-МЦП, дають один продукт реакції. Найбільш перспективною, на наш погляд, речовиною, придатною для дериватизації 1-МЦП, виявився диметилацетилендикарбоксилат (ДМАД), який вступає в реакцію з 1-МЦП з утворенням диметил-2-(2-метилциклопроп-2ен-1-іл)-малеату (ДМММ) [17] (рис. 5).

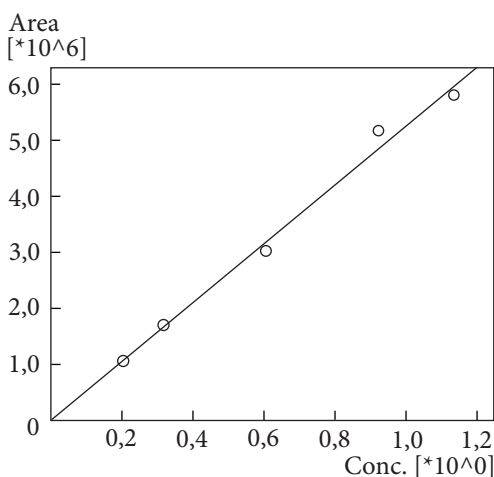


Рис. 6. Калібрувальна крива для кількісного визначення ДМММ у продуктах дериватизації 1-МЦП методом ВЕРХ

Реакція легко перебігає за температури $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, однак згідно з даними, наведеними у статті [16], продукт реакції осмолується вже за $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Проведення реакції за низьких температур не є зручним, особливо в польових умовах, тому ми дослідили можливість проведення цієї ре-

акції за кімнатної температури і вище та вивчили стабільність одержаної речовини. Експерименти з дериватизації проводили із зразками 1-МЦП, які паралельно використовувалися для одержання комплексу. Оскільки ДМММ є нелеткою речовиною, для його аналізу більш придатний метод ВЕРХ. Отже, для контролю перебігу реакції та аналізу вихідних реагентів і продуктів реакції ми використовували розроблену нами методику ВЕРХ. На хроматограмі всі речовини, які беруть участь у реакції дериватизації (ДМАД, 1-МЦП, ДМММ), дають добре розділені піки, тому запропонована методика є придатною для кількісного визначення ДМММ.

Контроль перебігу реакції методом ВЕРХ показав поступове зменшення концентрацій вихідних реагентів та збільшення кількості ДМММ, тоді як склад домішок залишається практично незмінним. У результаті було знайдено оптимальні умови реакції дериватизації, зокрема температуру, співвідношення реагентів і час проведення взаємодії. Отриманий за новою методикою продукт дериватизації містив не менш як 80 % ДМММ.

Структуру ДМММ було підтверджено методом ^1H ЯМР-спектроскопії.

Після підтвердження структури і чистоти продукту дериватизації було побудовано калібрувальну криву (рис. 6) для подальшого кількісного визначення 1-МЦП у зразках комплексу з кукурбіт[6]урилом. Для приготування калібрувальних розчинів використовували зразок ДМММ з відомим вмістом основної речовини.

Далі розроблену методику ВЕРХ для кількісного визначення 1-МЦП необхідно було адаптувати для визначення масової частки 1-МЦП у комплексі. З попередніх експериментів з використанням описаного вище методу витиснення води відомо, що загальний вміст газу, який умовно вважаємо чистим 1-МЦП, у комплексі становить 2,5–3,0 %. Цю величину ми взяли як орієнтир для розрахунку кількості ДМАД, необхідної для дериватизації 1-МЦП.

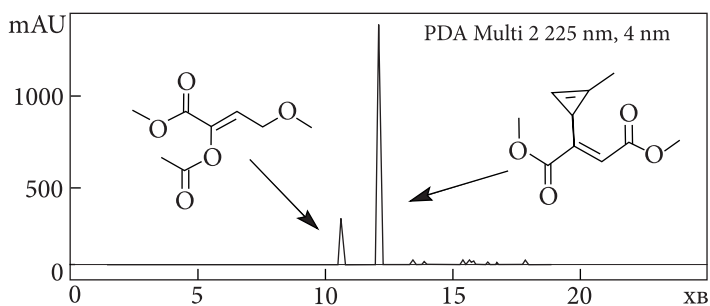


Рис. 7. Хроматограма деривата 1-МЦП, вивільненого зі зразка комплексу з кукурбітурилом

Оскільки для дериватизації зв'язаного 1-МЦП, потрібно створити умови для його вивільнення з комплексу, методику дериватизації було модифіковано так, щоб поєднати ці два процеси.

На хроматограмі (рис. 7) крім основного піку, що відповідає ДМММ, є ще один значний пік — за даними ЯМР ^1H -спектроскопії і ГХ-МС-аналізу встановлено структуру цієї сполуки, яка є продуктом перетворення ДМАД, що вводиться в реакцію у надлишку. На хроматограмі присутні також кілька інших дрібних піків, що далі не піддавалися ідентифікації.

Стабільність ДМММ вивчали з використанням методів ЯМР ^1H -спектроскопії, ГХ-МС і ВЕРХ, шляхом повторного аналізу одного зі зразків ДМММ з інтервалом 10 днів при зберіганні його за кімнатної температури.

На основі даних, отриманих з хроматограм та спектрів, масова частка ДМММ і супутніх домішок у зразку після зберігання впродовж 10 днів не змінюється і нові домішки не з'являються. Це означає, що ДМММ, продукт дериватизації 1-МЦП, може зберігатися впродовж 10 днів без зміни його якісного і кількісного складу, що дозволяє використовувати методику дериватизації 1-МЦП для подальшого визначення його масової частки в комплексі з кукурбіт[6]урилом методом ВЕРХ, а також для відтермінованого аналізу повітря сховищ на вміст 1-МЦП.

Отже, в роботі було істотно поліпшено методи одержання кукурбіт[6]урилу і його супрамолекулярного комплексу з 1-метилциклопропеном, який є основою агрохімічного препарату для післязбиральної обробки яблук «Оберіг^{Pro}». Показано високу стабільність комплексу в часі за різних умов зберігання та запропоновано методику, яка дозволяє підвищити ступінь вивільнення діючої речовини з комплексу, що загалом свідчить про максимальну ефективність розробленого препарату для практичного використання. Розроблено надійну методику кількісного визначення вмісту 1-МЦП, що відкриває шлях до подальших фізико-хімічних досліджень його супрамолекулярних комплексів і створення нових агрохімічних засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна служба статистики України. <http://www.ukrstat.gov.ua>
2. Ковінько О.М., Шутова Л.О. Томчук А.О. Перспективи розвитку ринку яблук в Україні та світі. *Інфраструктура ринку*. 2018. № 20. С. 72—77.
3. Турбін В.О. Наукове обґрунтування технології зберігання та забезпечення якості основної плодовоовочевої продукції: Дис. ... докт. тех. наук. 05.18.03. Херсонський державний технічний університет. Херсон, 2004.
4. Hu B., Sun D.-W., Pu H., Wei Q. Recent advances in detecting and regulating ethylene concentrations for shelf-life extension and maturity control of fruit: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019. Vol. 91. P. 66—82.
5. AgroFresh Expands SmartFresh™ Technology for More Crops and Ready-to-Eat Produce Suppliers. <https://www.prnewswire.com/news-releases/agrofresh-expands-smartfresh-technology-for-more-crops-and-ready-to-eat-produce-suppliers-301048986.html>
6. Zhang Q., Zhen Z., Jiang H., Li X.-G., Liu J.-A. Encapsulation of the Ethylene Inhibitor 1-Methylcyclopropene by Cucurbit[6]uril. *J. Agric. Food Chem.* 2011. Vol. 59, No. 19. P. 10539—10545.
7. Day A.I., Collins J.G. Cucurbituril Receptors and Drug Delivery. In: *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*. John Wiley & Sons Ltd, 2012. P. 983—1000.
8. Behrend R., Meyer E., Rusche F. Ueber Condensationsproducte aus Glycoluril Und Formaldehyd. *Liebigs Ann. Chem.* 1905. Vol. 339, No. 1. P. 1—37.
9. Freeman W.A., Mock W.L., Shih N.-Y. Cucurbituril. *J. Am. Chem. Soc.* 1981. Vol. 103, No. 24. P. 7367—7368.
10. Kim J., Jung I.-S., Kim S.-Y., Lee E., Kang J.-K., Sakamoto S., Yamaguchi K., Kim K. New Cucurbituril Homologues: Syntheses, Isolation, Characterization, and X-ray Crystal Structures of Cucurbit[n]uril (n = 5, 7, and 8). *J. Am. Chem. Soc.* 2000. Vol. 122, No. 3. P. 540—541.
11. Day A., Arnold A.P., Blanch R.J., Snushall B. Controlling Factors in the Synthesis of Cucurbituril and Its Homologues. *J. Org. Chem.* 2001. Vol. 66, No. 24. P. 8094—8100.
12. Lagona J., Mukhopadhyay P., Chakrabarti S., Isaacs L. The Cucurbit[n]uril Family. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005. Vol. 44, No. 31. P. 4844—4870.
13. Mock W.L., Shih N.-Y. Structure and Selectivity in Host-Guest Complexes of Cucurbituril. *J. Org. Chem.* 1986. Vol. 51, No. 23. P. 4440—4446.
14. Jeon Y.-M., Kim J., Whang D., Kim K. Molecular Container Assembly Capable of Controlling Binding and Release of Its Guest Molecules: Reversible Encapsulation of Organic Molecules in Sodium Ion Complexed Cucurbituril. *J. Am. Chem. Soc.* 1996. Vol. 118, No. 40. P. 9790—9791.
15. Chen X. Development of liquid 1-methylcyclopropene delivery formulations for modifying ethylene response of fresh produce. Dissertation for the Ph.D. (Graduate program in food science). New Brunswick, New Jersey, 2015.
16. FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides: 1-Methylcyclopropene. Food and Agriculture organization of the United Nations. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/1-MCP10.pdf
17. Weigert F.J., Baird R.L., Shapley J.R. The Palladium Chloride Catalyzed Cyclodimerization of 1-Methylcyclopropene. *J. Am. Chem. Soc.* 1970. Vol. 92, No. 22. P. 6630—6635.