

На правах рукописи

САРДАРЛЫ НАРМИН АЗИЗАГА КЫЗЫ

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ КАТАЛАЗНЫХ И
ПЕРОКСИДАЗНЫХ БИОМИМЕТИЧЕСКИХ
КАТАЛИЗАТОРОВ НА МОДИФИЦИРОВАННЫХ
ОКИСНО-АЛЮМИНИЕВЫХ СЕНСОРНЫХ
ЭЛЕКТРОДАХ**

2316.01 – Химическая кинетика и катализ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по химическим наукам

Б А К У - 2013

Работа выполнена в Институте Химических Проблем им. акад. М.Ф.Нагиева НАН Азербайджана.

Научный руководитель:

-академик, доктор химических наук, проф.

Нагиев Т.М.

Официальные оппоненты:

- доктор химических наук.

Шейнин В.Е.

- доктор химических наук.

Талыбов А.Г.

Ведущая организация: Бакинский Государственный Университет
(кафедра физической химии)

Защита состоится «22» 11 2013 года в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 01.021 при Институте Химических Проблем им. акад. М.Ф.Нагиева НАН Азербайджана

Адрес: Аз 1143, Баку, пр. Г.Джавида, 29.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института Химических Проблем им. акад. М.Ф.Нагиева НАН Азербайджана

Автореферат разослан « » _____ 2013 года.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета

к. х. н., с.н.с.

С.А.Алиева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одним из наиболее бурно развивающихся и перспективных направлений в области современной биотехнологии является создание высокочувствительных биосенсоров, в которых в качестве биоселектора используются ферменты.

Биологические и химические сенсоры применяются для контроля загрязненности окружающей среды, для оценки уровня промышленных загрязнений в воздухе и воде, клинической диагностике, для качественного и количественного определения алифатических спиртов, в частности смеси метанола с этанолом и др. На сегодняшний день известны биосенсоры для определения свыше 100 различных веществ.

Биоселекторы биосенсоров, как известно, являются ферменты, клетки, антитела, рецепторы и др. Биосенсоры ферментативного анализа характеризуются доступностью и дешевизной. Заметим, что биосенсоры имеют ограничения связанные с их высокой чувствительностью к внешней среде, кратким сроком функционирования, дороговизной и многостадийностью анализа.

От этих недостатков можно избавиться путем использования биомиметических аналогов имитирующих определенные функции соответствующих ферментов.

За последнее время огромное количество работ посвящено синтезу и исследованию моделей активных центров таких ферментов, как каталаза, пероксидаза и цитохром P-450. Поэтому развитие биосенсоров и их миметических аналогов является весьма актуальной задачей поскольку приведет к созданию и внедрению микроаналитических систем. Это позволит перейти на новый уровень миниатюризации оборудования и точности измерений.

Цель работы. Целью настоящей работы является исследование физико-химических особенностей синтезированных железопорфиринасодержащих биомиметических электродов как главных рабочих элементов в биомиметических сенсорах каталазного и пероксидазного типов для определения низких концентраций H_2O_2 и C_2H_5OH в водных растворах.

Научная новизна заключается в разработке нового типа модифицированных электрохимическим и химическим методами железопорфиринасодержащих биомиметических электродов для биомиметических сенсоров каталазного и пероксидазного типов и исследова-

нии их физико-химических особенностей. Выявлено, что разработанные каталазно-имитационные сенсоры модифицированных Al-электродов по сравнению со своими биосенсорными аналогами обладают рядом технологических преимуществ:

- модифицированные электрохимическим методом биомиметические электроды не теряли своей активности в течение длительного времени (не менее 1 года), как под воздействием окислителя и его интермедиатов, так и конечных продуктов распада H_2O_2 и окисления C_2H_5OH ;
- предложен наиболее вероятный механизм каталазной и пероксидазной реакций;
- в электрохимической системе на биомиметическом электроде доминирует диффузионный фактор, благодаря которому электрохимическая реакция имеет автоколебательный характер;
- установлено, что разработанные биомиметические сенсоры оказались устойчивыми и стабильными в работе и могут быть многократно использованы.

Практическое значение работы. Благодаря устойчивости биомиметического сенсора, его простоты и технологичности изготовления, предложенный новый модифицированный электрохимическим и химическим методами железопорфиринсодержащий электрод можно быстро внедрить в производство и использовать его в медицинской практике и химическом производстве.

Апробация диссертации: Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на следующих конференциях: 11th IU-PAC International Symposium on Macromolecule-Metal Complexes (Pisa-Italy 10-13 september, 2005); VI Бакинской Международной конференции по нефтехимии посвященной 100-летию академика Ю.Г.Мамедалиева (Баку, 27–30 сентябрь, 2005); XIX Ulusal Kimya Kongresi (30 Eylül– 4 Ekim.2005 Kuşadası Türkiye); III Международной научной конференции “Тонкий органический синтез и катализ” (Баку, 14–16 декабря, 2005г.); академик М.Ф.Нағыевин 100- illik yubileyinə həsr olunmuş elmi konfransı (Bakı, 2008 il); 2th European Conference on Process Analytics and control technology April 26-29, 2011. Clagrow/UK; International Congress of Chemical Engineering June 24-27, 2012 Sevilla.

Основное содержание диссертации опубликовано в 14 научных работах, из них 5 статей, 8 тезиса докладов и положительное решение предварительной экспертизы о выдаче патента Азерб.респуб.

Объем и структура диссертации: Диссертационная работа изложена на 141 странице компьютерного текста, содержит 20 рисунков и список цитируемой литературы включающей 214 наименований. Она состоит из введения, четырех глав и выводов.

Во введении дано обоснование актуальности темы, исследования, сформулирована цель работы, дана оценка научной новизны и практической значимости полученных результатов.

В первой главе диссертационной работы представлен литературный обзор, в котором рассматриваются и критически обсуждаются существующие сенсоры для экспресс-аналитических целей, на основе биологических и химических объектов. Приведены выводы из литературного обзора и дана постановка задачи.

Во второй главе представлено описание лабораторных установок, методики приготовления катализаторов, проведения эксперимента.

В третьей главе представлены результаты экспериментальных исследований каталазной и пероксидазной активности биомиметических электродов.

В четвертой главе представлены обсуждения полученных результатов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследование

Опираясь на успехи в области имитационного катализа, нами разработаны биомиметические электроды каталазного и пероксидазного типов с целью сознательного конструирования биомиметического сенсора для определения низких концентраций H_2O_2 и $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ в водных растворах.

Главными рабочими компонентами сенсоров, предназначенных для определения H_2O_2 и $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ являются железопорфириновые комплексы иммобилизованные на поверхности окисленных Al-электродов.

Окисление обработанных Al-электродов проводили 2-мя методами: электрохимическим и химическим.

Электрохимический метод окисления Al-пластинок заключается в следующем: обработанные Al-пластинки помещали в раствор

щавелевой кислоты концентрации (50 гр/л) и в гальваническом режиме поляризовали электрод анодным током плотностью 15 мА на 1 см² в течение 20–30 минут при температуре 25⁰С. После этого отмывали электрод дистиллированной водой и высушивали при комнатной температуре. В результате на поверхности Al-электродов образовался слой Al₂O₃ толщиной 10÷63мкм приемлемый для последующего нанесения активных компонентов.

Окисление Al-образцов химическим методом проводили 2-мя способами: алюминатным и гидротермальным.

Алюминатный способ, окисления поверхности Al-электродов заключается в следующем: Al – пластинки опускали в раствор NaAlO₂ при температуре 60⁰С, в результате реакции декомпозиции образовались Al(OH)₃ и NaOH.

В растворе NaOH взаимодействует с Al-пластинкой и образующийся Al(OH)₃ выпадает в осадок, а на поверхности электрода осаждается алюминат натрия. При снижении температуры до 30⁰С на поверхности электрода образуется гидроксид алюминия. После последующей прокали образцов при температуре 400⁰С образуется γ-Al₂O₃, вторичное оксидное покрытие приемлемое для последующего синтеза активных компонентов. Объем пор соответствовал 0.60см³/г при величине удельной поверхности равной 180м²/г и толщине 150 мкм. При этом способе окисления на поверхности Al- пластинок образуются большие поры.

Гидротермальное окисление Al-образцов проводилось в автоклаве из нержавеющей стали марки 12X18H10T, снабженном устройствами для измерения температуры и давления, а также устройствами ввода и вывода водяного пара.

При фиксированных значениях температуры и времени прокали величины удельной поверхности образцов суммарного объема пор и распределение объема пор по размерам существенно зависят от условий гидротермальной обработки, в которых образовались предшественники конечных форм оксида Al.

Так, в области относительно низких температур в начальном временном интервале гидротермального окисления поверхности Al-пластинок и осаждения в Al(OH)₃ при температуре 180–218⁰С и после последующей прокали образцов при температуре 400⁰С формируется мелкопористое покрытие Al₂O₃ с более развитой поверхностью. Объем пор соответствовал 0.52см³/г при величине удельной поверхности равной 148м²/г и толщине 200мкм. При достижении практиче-

ски приемлемой для последующих стадий синтеза катализаторов толщины оксидного покрытия (~200 мкм) с увеличением времени и температуры гидротермальной обработки наблюдается снижение величины удельной поверхности и перераспределение пор с преобладанием пор крупного размера. Это связано с постепенным фазовым превращением первоначально образующегося при гидротермальном окислении алюминиевой поверхности псевдобемита в мелкокристаллический бемит, это определяет формирование γ - Al_2O_3 «бемитной природы». Однако этот процесс очень длительный.

Для получения Al-модулей оксидного покрытия с более развитой поверхностью необходимо ведение реакции в максимально возможном «мягком режиме», т.е. при минимальных значениях температуры и времени контактирования. С этой целью реакцию проводили с участием H_2O_2 . С повышением концентрации H_2O_2 наращивание оксидной пленки с большими величинами удельной поверхности и суммарного объема пор протекает при меньших значениях времени и температуры гидротермальной обработки алюминиевых модулей.

Иммобилизацию железопорфиринового комплекса – $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ на окисленную электрохимическим методом поверхность Al-пластинок проводили путем адсорбции из соответствующего растворителя-бензола. 1,5 мг $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ растворяли в 80мл бензола и пластинки погружали в полученный раствор. В течение 10 дней при температуре 18°C выдерживали в растворе и каждый день ~ на 3 часа включали мешалку для ускорения процесса. В результате на поверхности электрода адсорбировалось 0,44 мг $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$. В оставшийся раствор помещали другой окисленный Al-электрод и по вышеописанной методике на поверхность этой пластинки адсорбировалось 0,084 мг $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$.

Таким же методом путем адсорбции был получен геминсодержащий электрод с содержанием гемина 0.88мг.

Иммобилизацию железопорфиринового комплекса $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ и гемина на окисленную химическим методом (алюминатным и гидротермальным способами) поверхность Al-пластинок проводили также путем адсорбции. В результате были синтезированы два $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ содержащих электрода с содержанием активной массы 0.23 и 0.6мг. и два геминсодержащих электрода с содержанием активной массы 2.96 и 0.64мг.

Каталазная и пероксидазная активность биомиметических электродов определялась потенциометрическим методом. Экспери-

ментальная установка для выполнения этих исследований состояла из электродной части, ячейки и вольтметра «Ф4834» (рис. 1).

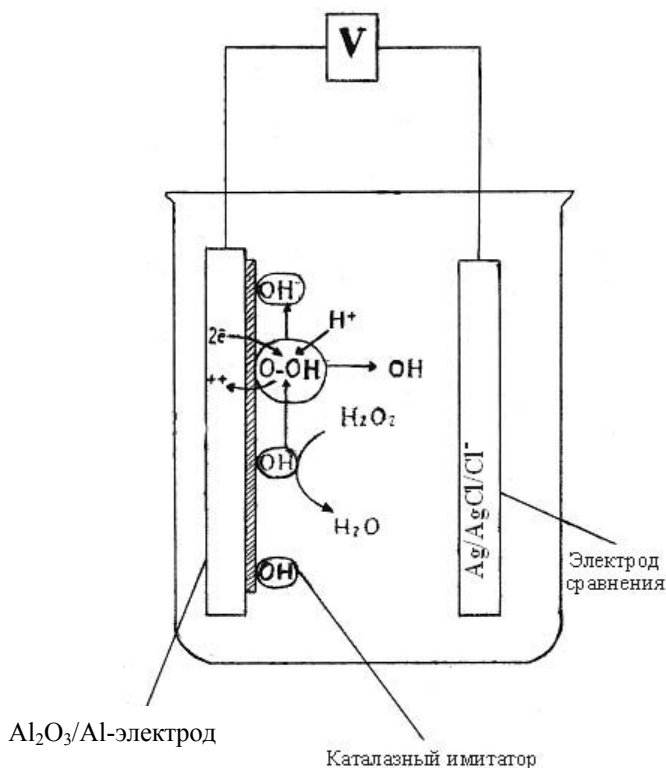


Рис 1. Электрохимическая ячейка

Электродная часть установки состоит из электрода сравнения ($\text{Al}/\text{AgCl}/\text{Cl}$) и подготовленного нами биомиметического электрода.

Потенциометрические исследования проводили следующим образом; в ячейке, заполненной определенным количеством бидистиллированной воды (фоновый раствор) определяли э.д.с. (E) элемента и затем, добавляя разные количества H_2O_2 (в каталяных реакциях) или H_2O_2 + этанола (в пероксидазных реакциях), фиксировали изменения э.д.с.(E) раствора. Э.д.с. элемента в бидистиллированной воде приняли в качестве стандарта (E_0), а э.д.с.ячейки в присутствии растворов определяли по разнице э.д.с. растворов; $\Delta E = E_0 - E$.

Все измерения проводили при непрерывном перемешивании магнитной мешалкой.

Каталазно-имитационные сенсоры с модифицированными Al-электродами

Результаты потенциометрического исследования каталазной активности $\text{TPhPF}e^{3+}\text{OH}$ и гемин содержащих биомиметических электродов, приготовленных путем адсорбции на окисленную электрохимическим методом поверхность Al-электродов, приведены на рис.2 и 3.

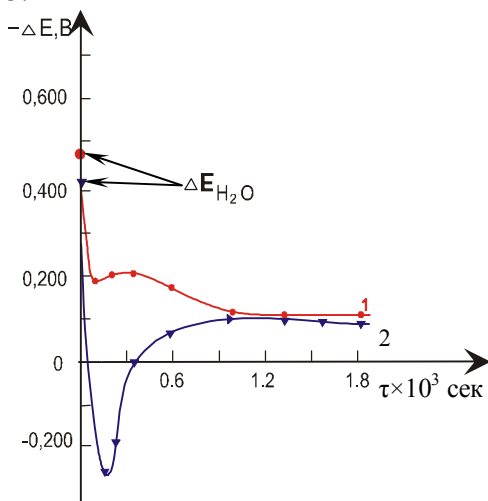


Рис.2 Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени для геминсодержащих биомиметических электродов приготовленных электрохимическим методом. $C_{\text{H}_2\text{O}_2}=1.0\text{мас.}\%$; $T=22^\circ\text{C}$
1— $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрод без имитатора; 2—Гемин в количестве 0,88 мг нанесен адсорбционным методом на поверхность $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрода.

Как видно из рис. 2, стремление кривых 1 и 2 к постоянному и одинаковому для обеих значению ΔE , показывают, что в случае исследования $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ электрода без имитатора (кривая 1) каталазная реакция, по всей вероятности, практически отсутствует, а в случае исследования геминсодержащего биомиметического электрода (кривая 2) на 180-ой секунде наблюдалось максимальное значение э.д.с. системы, затем оно резко снижается и начиная с 600-ой секунды становится постоянной, следовательно, каталазная реакция прекратила свое протекание. Этот факт объясняется, скорее всего, снижением концентрации H_2O_2 в реакционной среде. Установлено что, воспроизводимость результатов и активность электрода приготовленного методом адсорбции сохраняется в течение всех опытов.

Рассматривая кривые (2,3) рис.3 можно заключить, что количество нанесенного $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ на $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрод окисленный электрохимическим методом существенным образом сказывается на их каталазной активности. Биомиметический электрод с содержанием $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ в количестве 0,44 мг (кривая 3) проявляет большую каталазную активность, чем биомиметический электрод с количеством $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ 0,084 мг (кривая 2). Но, несмотря на это биомиметические электроды с $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ независимо от количества нанесенного рабочего элемента также имели длительный срок работы, и активность их практически независела от количества приведенных опытов.

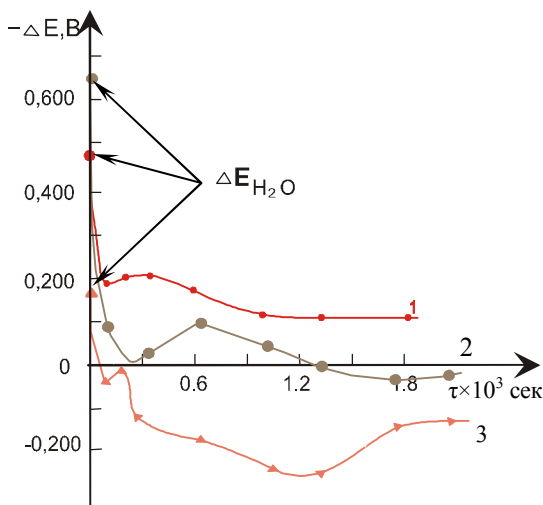
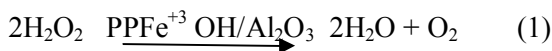


Рис.3 Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени для $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ содержащих биомиметических электродов приготовленных электрохимическим методом.

$\text{C}_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1,0 \text{ мас.}\%$; $\text{T} = 22^\circ\text{C}$

1 – $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрод без имитатора;
 2 – $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ в количестве 0,084 мг. адсорбционным методом нанесен на поверхность $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрода;
 3 – $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ в количестве 0.44 мг. адсорбционным методом нанесен на поверхность $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрода.

Как показали наши исследования, в электрохимической системе на электроде протекают две последовательные реакции- каталазная и электрохимическая, которые ответственны за суммарное изменение электрохимического потенциала системы:



Каталазная реакция разложения пероксида водорода(1) является сложной и состоит из нескольких элементарных стадий, в которых происходит перенос электронов между электродом, H_2O_2 и его активными фрагментами.

Электрохимическая реакция восстановления молекулярного кислорода, образующего в реакции(1), также является стадийной окислительно-восстановительной реакцией.

На рис.4 приведены результаты экспериментальных исследований проведенных с $TPhPFe^{3+}OH$ содержащими электродами, где Al_2O_3/Al -электрод был приготовлен химическим методом (гидротермальным и алюминатным способами) в условиях идентичных предыдущим экспериментам.

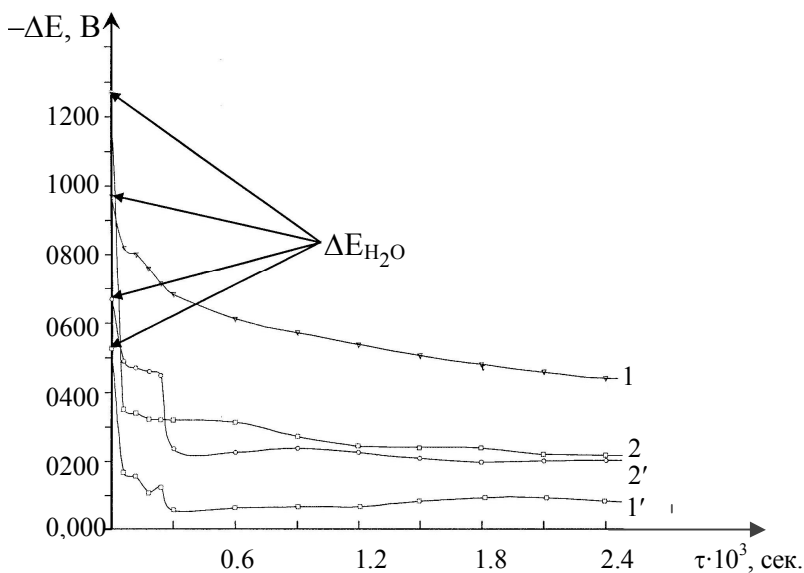


Рис.4 Изменение эд.с. системы в зависимости от времени для $TPhPFe^{3+}OH$ содержащих биомиметических электродов приготовленных химическим методом (гидротермальным-1 и алюминатным-2 способами). $C_{H_2O_2}=1,0$ мас.%; $T=22^0C$

1,2 – Al_2O_3/Al -электрод без имитатора, приготовленные способами 1и2 соответственно; 1',2' – $TPhPFe^{3+}OH$ в количествах 0,6 и 0,23 мг соответственно нанесены адсорбционным методом на поверхность Al_2O_3/Al -электрода приготовленного способами 1 и 2 соответственно.

Как видно из рисунка 4, присутствие H_2O_2 в системе во всех случаях-Al₂O₃/Al-электродом без имитатора, биомиметическими электродами с TPhPFe³⁺OH в количествах 0.6мг и 0.23мг приводит к повышению электрохимического потенциала системы.

Было установлено, что, наиболее устойчивым и чувствительным биомиметическим электродом, оказался электрод, приготовленный алюминатным способом (кривая 2'), хотя в обоих случаях по ходу опытов наблюдалось некоторое разрушение активного поверхностного слоя. С этими изменениями активного поверхностного слоя связываем наблюдаемое снижение каталазной активности, которое затем стабилизируется, что свидетельствует об устойчивости каталазной системы.

Количество нанесенного TPhPFe³⁺OH гидротермальной обработкой поверхности в присутствии пероксида водорода, оказалось выше, чем алюминатным методом, тем не менее каталитическая активность последнего заметно выше. Это видимо связано с тем, что предварительная обработка Al-электродов H_2O_2 , приводит к частичному разрушению активного комплекса на поверхности электрода.

Сравнение данных рис. 2, 3, и 4, показывают, что электроды, приготовленные химическим методом, хотя и оказались весьма чувствительными, тем не менее несколько уступают биомиметическим электродам приготовленным электрохимическим методом, по каталазной активности и стабильности. Так, биомиметические электроды, приготовленные электрохимическим методом, практически были устойчивы в течение всех опытов.

На рис. 5 представлен предполагаемый механизм каталазной реакции на поверхности биомиметического электрода..

Как видно из рисунка механизм носит стадийный характер, на первой стадии формируется гидропероксидная активная частица, ответственная за перенос электронов от катода на ион железа с дальнейшим ее перераспределением.

В результате, на заключительной стадии, в объем (реакционную среду) генерируются гидроксидные анионы с одновременной регенерацией биомимика. Этот механизм достаточно убедительно показывает, каким реакционным путем в системе происходит рост pH и достигает величин выше, чем для бидистиллированной воды (pH 6,2).

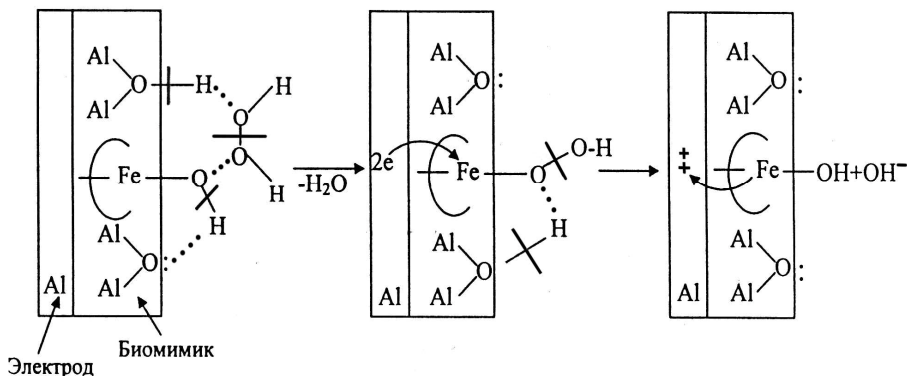


Рис. 5 Предполагаемый механизм работы катализного биомиметического электрода в электрокаталитическом режиме.

Как известно, одним из основных показателей сенсоров является их чувствительность к самым низким концентрациям определяемых им веществ, т.е. их порог чувствительности.

Электроды приготовленные электрохимическим методом, имеют предельную чувствительность к концентрации H_2O_2 равной 10^{-2} мас.%, а электроды, приготовленные химическим методом проявляют активность в колебательном режиме, что видимо связано с диффузионным фактором (их чувствительность составляла величину равную 10^{-6} мас.% H_2O_2).

Пероксидазно-имитационные сенсоры модифицированных Al-электродов

Определение низких концентраций этилового спирта в водных растворах с помощью экспресс методов, вытекает из требований, предъявляемых к качеству вино-водочных изделий. Ведь, как известно, от соотношения метилового и этилового спиртов зависят вкусовые и питьевые качества изделия. Другая не менее важная сторона этого вопроса связана с определением микроколичеств этилового спирта в водных растворах различного происхождения. Так, например, разработка экспресс анализа на содержание этилового спирта в дыхании нетрезвых водителей автомобильного транспорта, позволит осуще-

вить мониторинг непосредственно на месте происшествия, по весьма доступной и несложной технологии.

Наши исследования были связаны с применением одного из перспективных направлений в области биосенсорных технологий – разработке пероксидазного биомиметического сенсора, для определения следовых количеств этилового спирта в различных растворах.

В связи с этим были разработаны более устойчивые железопорфириносодержащие биомиметические электроды для биомиметических сенсоров каталазного и пероксидазного типов.

Вышеописанные каталазные биомиметические электроды были также исследованы и на пероксидазную активность в реакции превращение этанола в ацетальдегид.

На рис. 6 приведены результаты пероксидазной активности геминсодержащего биомиметического электрода в количестве 0,88 мг активной массы приготовленного электрохимическим методом.

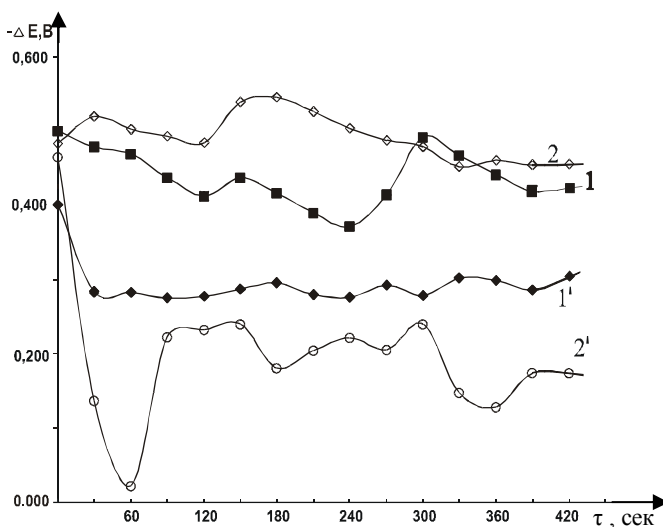


Рис. 6 Зависимости изменения электродного потенциала пероксидазного сенсора от времени реакции в среде, состоящей из 99,0 мас.% H_2O и 1,0 мас.% C_2H_5OH (кр.1,2) и 98,0 мас.% H_2O , 1,0 мас.% C_2H_5OH и 1,0 мас.% H_2O_2 (1', 2') при $t=22^{\circ}C$ для Al_2O_3/Al -электродов, приготовленных электрохимическим методом с имитатором гемин.

1, 1' – Al_2O_3/Al электрод без имитатора;

2, 2' – с имитатором гемин($PPFe^{3+}OH$) в количестве 0,88 мг.

Во всех опытах для сравнения был исследован также электрод без имитатора ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$).

Исследования проводились в реакционной среде состоящей из 1.0%-го водного раствора спирта, затем в этот раствор добавляли 1.0%-ный водный раствор H_2O_2 .

Предварительно был измерен электродный потенциал 1%-ного водного раствора этилового спирта. Была получена величина полностью совпадающая с потенциалом бидистиллированной воды. Таким образом, установлено, что водно-спиртовой раствор практически инертен по отношению к электроду (кривые 1 и 2 рис. 6).

Геминсодержащий биомиметический электрод (кривая 2') проявляет наибольшую пероксидазную активность в начале опыта с максимальным значением $\Delta E = -0,022\text{В}$ при $\tau = 60$ сек, после чего его значение заметно снижается со временем.

При рассмотрении кривых рисунка 7 видно, что каталитическая активность $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ электрода в количестве 0,44 мг заметно превышает таковую $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ электрода в количестве 0,084 мг активной массы (кривые 2' и 3').

Пероксидазная активность $\text{TPhPFe}^{+3}\text{OH}$ электрода (кривая 2', 0,44 мг $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$) в течение всего опыта увеличивается и достигает наибольшего значения $\Delta E = -0,079\text{В}$ при $\tau = 150$ с.

При сравнении результатов (рис. 6 и 7) по максимальным значениям ΔE видно, что каталитическая активность геминсодержащего электрода (кривая 2', рис.6) заметно превышает активность $\text{TPhPFe}^{+3}\text{OH}$ электрода в количестве 0,44 мг активной массы (кривая 2', рис.7) и существенно отличается по времени. Количество нанесенного методом адсорбции $\text{TPhPFe}^{+3}\text{OH}$ на $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электрод приготовленный электрохимическим путем, заметно сказывается на пероксидазной активности (кривые 2' и 3', рис. 7).

Величина электрохимического потенциала увеличивается в зависимости от времени и количества нанесенного биоимитатора и, что весьма важно активность биомиметических электродов, приготовленных электрохимическим методом, сохраняется в течение всех опытов. Устойчивость, наблюдаемая для каталазных электродов характерна и для пероксидазных.

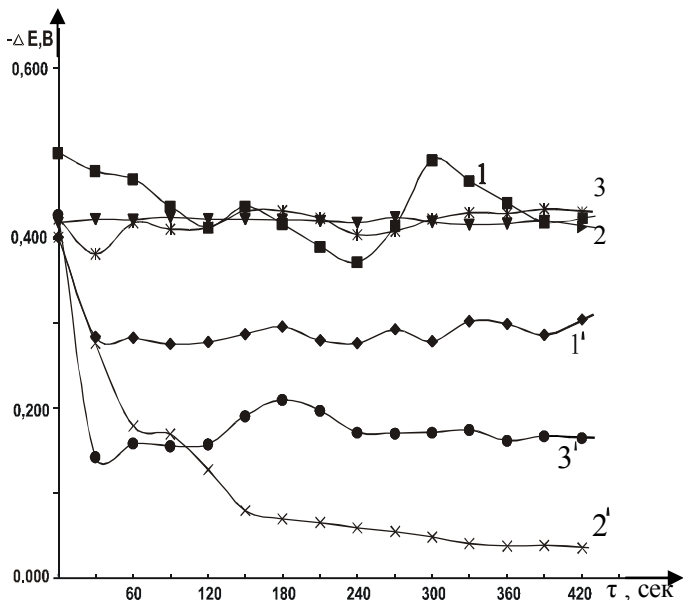


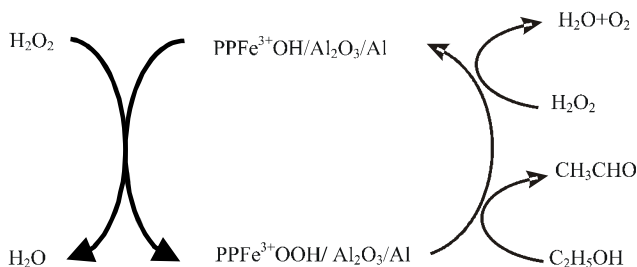
Рис. 7. Зависимости изменения электродного потенциала пероксидазного сенсора от времени реакции в среде, состоящей из 99,0 мас.% H_2O и 1,0 мас.% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (кр.1,2,3) и 98,0 мас.% H_2O , 1,0 мас.% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и 1,0 мас.% H_2O_2 (1', 2', 3') при $t=22^\circ\text{C}$ для $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ -электродов, приготовленных электрохимическим методом с имитатором $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$.

- 1, 1'– $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$ электрод без имитатора;
- 2, 2'– с имитатором $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ в количестве 0,44 мг;
- 3, 3'– с имитатором $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ в количестве 0,084 мг.

В исследуемой системе наряду с каталазной реакцией синхронно протекает и пероксидазная реакция. Эти две реакции взаимодействуют (сопряжены) между собой через общий интермедиат $\text{PPFe}^{+3}\text{OOH}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Al}$, которые образуются в общих для этих синхронных реакций стадиях.

По аналогии с механизмом каталазной реакции ниже на рис.8 рассмотрен предлагаемый механизм пероксидазной реакции

Следует отметить, что протон передаваемый на активный центр биомиметического электрода, может быть заменен на H^+ из объема реакционной среды.



Механизмы каталазной и пероксидазной реакций дают вероятностные представления о стадийном их протекании в электрохимическом режиме. От соотношения скоростей взаимодействия пероксида водорода и этилового спирта с поверхностным интермедиатом зависит соотношение образующихся по обеим реакциям продуктов – кислорода и CH_3CHO .

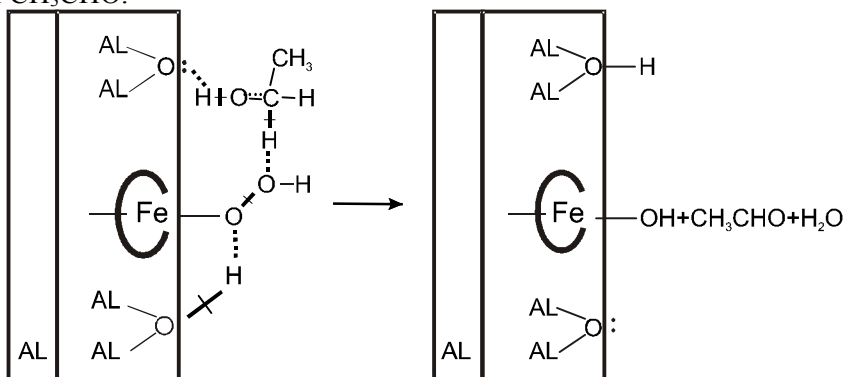


Рис. 8 Предполагаемый механизм работы пероксидазного миметического электрода в электрокаталитическом режиме.

На рис.9 представлены результаты экспериментов с $\text{TPhPFen}^{+3}\text{OH}$ содержащими электродами, приготовленными химическим методом (алюминатным и гидротермальным способами) при идентичных условиях.

Как показывают результаты экспериментов, проводимые с $\text{TPhPFen}^{+3}\text{OH}$ содержащими электродами, кривая 2', характерная для электрода, приготовленного алюминатным способом, имеет наиболее высокий показатель электрохимического потенциала на начальном этапе эксперимента. Рассматривая кривые 3' и 4' рис. 9, характерные

для электродов, приготовленных гидротермальным способом, видно, что кривая 4' также имеет сравнительно больший электрохимический потенциал на начальном этапе эксперимента.

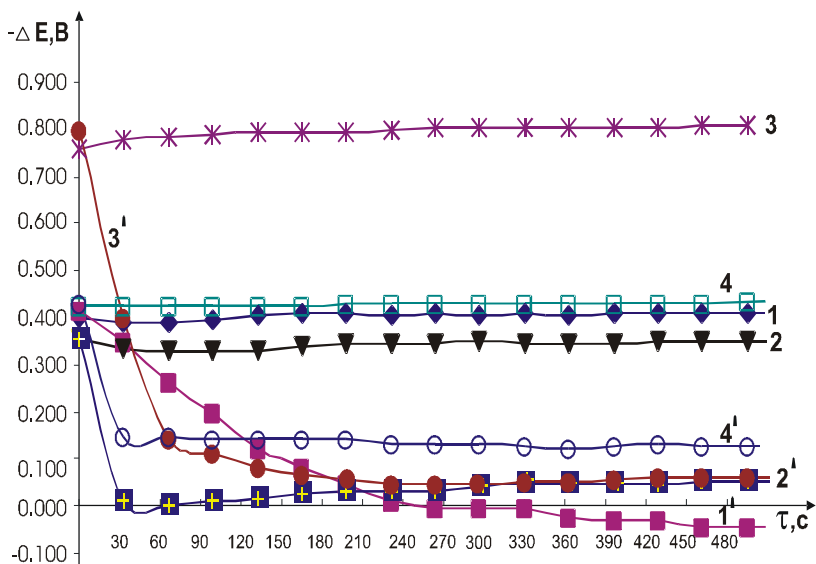


Рис. 9 Зависимости изменения электродного потенциала пероксидазного сенсора от времени реакции в среде, состоящей из 99,0 мас.% H_2O и 1,0 мас.% C_2H_5OH (кр. 1–4) и 98,0 мас.% H_2O , 1,0 мас.% C_2H_5OH и 1,0 мас.% H_2O_2 (кр. 1'–4') при $t=22^{\circ}C$ для Al_2O_3/Al -электродов, приготовленных химическим методом (алюминатным-1 и гидротермальным-2) с имитатором $TPhPF_6^{+3}OH$.
 1,1' – Al_2O_3/Al электрод без имитатора приготовленный способом 1;
 2,2' – с имитатором $TPhPF_6^{+3}OH$ в количестве 0,23 мг;
 3,3' – Al_2O_3/Al электрод без имитатора приготовленный способом 2;
 4,4' – с имитатором $TPhPF_6^{+3}OH$ в количестве 0,6 мг

Таким образом, электроды, приготовленные алюминатным способом имеют скачок электрохимического потенциала намного больше, чем приготовленные по гидротермальному способу. Но, несмотря на это, электроды, приготовленные различными способами, в основном оказались весьма устойчивыми к действию окислителя.

Следующая серия опытов посвящена определению наиболее

низкой, так называемой пороговой чувствительности системы на этиловый спирт. Биомиметические электроды с $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ позволяют обнаружить этиловый спирт в водном растворе в количестве равном 10^{-6} мас.%, при этом, сохраняется высокая устойчивость электрода.

ВЫВОДЫ

1. На основе железопорфириновых комплексов синтезированы устойчивые к окислению, доступные и дешевые биомиметические электроды каталазного и пероксидазного типов.
2. Синтезированные электрохимическим методом гемин и $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ содержащие биомиметические электроды с количеством активной массы 0.88мг и 0.44мг соответственно, имеют предельную чувствительность к концентрации H_2O_2 равной 10^{-2} мас.%
3. Синтезированные химическим методом $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ содержащие биомиметические электроды проявляют активность в колебательном режиме и их чувствительность на H_2O_2 , составила величину равную 10^{-6} мас.%.
4. Выявлен наиболее вероятный механизм каталазной реакции, протекающий на поверхности биомиметического электрода.
5. При исследовании каталазных биомиметических электродов на пероксидазную активность, было установлено, что электроды с $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ разработанные электрохимическим методом, позволяют обнаружить этиловый спирт в водном растворе в количестве равном 10^{-6} мас.%.
6. Выявлен наиболее вероятный механизм работы пероксидазно-миметического электрода в электрохимическом режиме. И установлено, что в электрохимической системе протекают две синхронизированные реакции: каталазная и пероксидазная.
7. Разработанные электрохимическим методом электроды в течение длительного времени (не менее 1 года) не теряли своей активности как под воздействием окислителя и его интермедиатов, так и конечных продуктов распада H_2O_2 и окисления этилового спирта

**Основные результаты диссертационной работы отражены
в следующих работах:**

1. Сардарлы.Н.А. Усовершенствование железопорфириновых электрохимических электродов для каталазно-миметических сенсоров. //«Ekologiya və Nəyat Fəaliyyətinin Mühafizəsi» V Beynəlxalq Elmi Konfransının Materialları. Bakı (26-27 noyabr 2004-cü il, s.135
2. Sardarli N., Agamamedova L., Alizade N., Nagieva I., Tairli H., Litvishkov Y., Nagiev T. Research of catalase mimetic sensors /11th IUPAC International Symposium on Macromolecule- Metal Complexes (MMC-11, Pisa-Italy) 10-13 September 2005, p.50
3. Сардарлы Н.А., Агамамедова Л.М., Нагиева И.Т., Али-заде Н.И., Литвишков Ю.Н., Нагиев Т.М. Исследование пероксидазной активности $TPhPF_6^{3+}OH/Al-Al_2O_3$ электродов /Тезисы докладов VI Бакинской Международной Мамедалиевской конференции по нефтехимии, посв.100-летию акад. Ю.Г Мамедалиева. 27-30 сентября 2005. с.106
4. Sardarli N., Agamamedova L., Alizade N., Nagieva I., Tairli H., Litvishkov Y., Nagiev T. Research of catalase mimetic sensors /XIX. Ulusal Kimya Kongresi 30Eylül-4Ekim 2005, Kuşadası. Bildiri Özetleri BKP5
5. Сардарлы Н.А., Агамамедова Л.М., Ализаде Н.И., Нагиева И.Т., Таирли Х.М., Литвишков Ю.Н., Нагиев Т.М. Исследование пероксидазной активности усовершенствованных биомиметических электродов.// III международная научная конференция «Тонкий Органический Синтез и Катализ», посвящ. 85-летнему юбилею Азерб. госуд. Нефтяной академии. Тезисы докладов Баку 2005, с.229–230
6. Sardarli N.A., Alizade N.I., Tairli H.M., Y.N. Litvishkov., Nagiev T.M . Physico chemical features of ironporphyrincontaining electrodes in biomimeti sensors of catalase type // Book of Abstracts, International Conference on Cellular and Molecular Bioengineering, Singapore, 2007. A 1021, p.105
7. Сардарлы Н.А., Нагиев Т.М. Устойчивые к окислению биомиметические каталазные сенсоры /Akademik M.F Nağıyevin 100-illik yubileyinə həsr olunmuş elmi konfrans. Məruzələrin tezisləri. Bakı 2008, s. 96–97

8. Сардарлы Н.А., Таирли Х.М., Литвишков Ю.Н., Нагиев Т.М. Исследование каталазной активности железопорфиринсодержащих электродов в биомиметических сенсорах // Азерб. хим. журн. 2008, №1, с.32–37
9. Сардарлы Н.А., Нагиев Т.М. Биомиметические пероксидазные сенсоры для определения следовых количеств этилового спирта // Азерб. хим. журн. 2008, №2, с.27–32
10. Sardarli N.A., Nagiev T.M. The iron-tetraphenylporphyrinous selectors in biomimetic sensors of the catalase and peroxidase types. // Book of Abstracts Europacat IX. Catalysis for a Sustainable World 30th August-4th September 2009 Salamanca (Spain), p.9–22
11. Сардарлы Н.А., Нагиев Т.М. Физико-химические особенности железопорфиринсодержащих электродов в биомиметических сенсорах каталазного и пероксидазного типов // Журнал Физической Химии, 2009, т. 83, №8, с.1–5
12. Sardarli N.A., Nagiev T.M. Physicochemical Peculiarities of iron porphyrin-containing electrodes in peroxide biomimetic sensors /2th European Conference on Process Analytics and control technology. April 26-29, 2011. Glasgow/UK LMP. с. 10(121)
13. Nagiev T.M., L.M. Gurbanova., N.A. Sardarli., N.N. Malikova. Catalase Mimetic Sensor/ Innovaiting for the Feutur ANQVE ICCE 2012, Inter. Congress of Chem Engineering Sevilla(Spain) 24-27 June Oral sec.T 14-005
14. N.A. Sardarli., T.M. Nağıyev. Katalaz və peroksidaz tipli sensorlar üçün biomimetik elektrodun hazırlanma üsulu. Azərb. Respub. Патенти. İlk ekspertizanın müsbət nəticəsi. İddia sənədi № a20100260. 24.12.2010

SƏRDARLI NƏRMİN ƏZİZAĞA QIZI

MODİFİKASIYA OLUNMUŞ ALÜMİNİUM OKSİDLİ SENSOR ELEKTRODLARI ÜZƏRİNDƏ KATALAZ VƏ PEROKSİDAZ BİOMİMETİK KATALİZATORLARIN SİNTEZİ VƏ TƏDQIQI

XÜLASƏ

Məlum olan katalaz və peroksidaz proseslərin imitasion modelləşdirilməsi əsasında sulu məhlullarda H_2O_2 və C_2H_5OH -ın aşağı qatılıqlarının müəyyən olunması üçün katalaz və peroksidaz tipli təkmilləşmiş dəmirporfirin biomimetik elektrodları sintez olunmuş və onların fiziki-kimyəvi xüsusiyyətləri öyrənilmişdir.

Elektrokimyəvi metodla sintez olunmuş, uyğun olaraq 0,88 mq və 0,44 mq aktiv kütləli hemin və $TPhPFe^{3+}OH$ tərkibli biomimetik elektrodlar H_2O_2 –in qatılığına qarşı 10^{-2} küt.%-nə bərabər son həssaslığa malikdir, kimyəvi metodla hazırlanmış elektrodlar isə dəyişkən şəraitdə aktivlik göstərir və onların H_2O_2 -ə həssaslığı 10^{-6} küt.%-nə bərabərdir.

İşdə biomimetik elektrodun səthində gedən katalaz reaksiyanın mexanizmi təklif olunmuşdur. Elektrokimyəvi sistemdə elektrodun üzərində iki ardıcıl reaksiya – katalaz və elektrokimyəvi reaksiya gedir.

Katalaz biomimetik elektrodların etil spirtinin asetaldehidə çevrilməsi reaksiyasında peroksidaz aktivliyi də tədqiq olunmuşdur. Müəyyən olunmuşdur ki, elektrokimyəvi metodla hazırlanmış $TPhPFe^{3+}OH$ tərkibli elektrodlar sulu məhlullarda 10^{-6} küt.%-nə bərabər miqdarda etil spirtini müəyyənləşdirməyə imkan verir.

İşdə peroksidaz – mimetik elektrodun elektrokimyəvi şəraitdə işləməsinin mexanizmi göstərilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, elektrokimyəvi sistemdə iki sinxronlaşmış reaksiya – katalaz və peroksidaz reaksiya baş verir.

Aparılan tədqiqatlar nəticəsində müəyyən olunmuşdur ki, elektrokimyəvi və kimyəvi metodlarla hazırlanmış elektrodlar həm oksidləşdirici və onun intermediatlarının, həm də H_2O_2 -in parçalanması və etil spirtinin oksidləşməsi məhsullarının təsiri altında uzun müddət öz aktivliyini itirməmişdir.

SARDARLI NARMIN AZIZAGA
SYNTHESIS AND RESEARCH OF CATALASE AND PEROXIDASE
BIOMIMETIC CATALYSTS ON MODIFIED OXID-ALUMINIUM
SENSOR ELECTRODES

SUMMARY

On the of imitational modeling of known catalase, peroxidase and monooxygenase processes the improved ironporfirin biomimetic electrodes of catalase and peroxidase type for defining of low concentrations of H_2O_2 and C_2H_5OH in water solutions were synthesized and their physico-chemical features were studied. Worked out by electrochemical method, hemin and $TPhPFe^{3+}OH$, containing biomimetic electrodes with quantity of active mass 0,88mg and 0,44mg correspondingly, have maximum sensitivity to the concentration H_2O_2 , which is equal to $10^{-2}mass\%$, and electrodes, prepared by chemical method display activity in oscillatory regime and their sensitivity to H_2O_2 has magnitude $10^{-6}mass\%$.

Mechanism of catalase reaction proceeding on the surface of biomimetic electrode. Two consecutive reaction: catalase and electrochemical, proceed in electrochemical system on the electrode.

Catalase biomimetic electrodes were investigated for the peroxidase activity, in reaction of transformation of ethanol into acetaldehyd.

It has been determined, that electrodes $TPhPFe^{3+}OH$ worked out by electrochemical method allow to discover ethanol in water solution in the quantity $10^{-6}mass\%$.

In the paper the mechanism of work of peroxidase-mimetic electrode in electrochemical regime has been revealed. It has been determined that two synchronized reactions: catalase and peroxidase, proceed in electrochemical system.

As a result of realized investigations it has been determined that electrodes worked out by electrochemical and chemical methods within long time have been losing their activity as under influence of oxidant and its intermediats and finite products of decay of H_2O_2 and oxidation of ethanol.

AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
AKADEMİK M.F.NAĞİYEV ad.
KİMYA PROBLEMLƏRİ İNSTİTUTU

Яліазмасы щцгузунда

NƏRMİN ƏZİZAĞA GЫZY SƏRDARLI

**MODİFİKASIYA OLUNMUŞ ALÜMİNİUM OKSİDLİ SENSOR
ELEKTRODLARI ÜZƏRİNDƏ KATALAZ VƏ PEROKSİDAZ
BİOMİMETİK KATALİZATORLARIN SİNTEZİ VƏ TƏDQIQI**

2316.01 – «Кимйяви кинетика вя катализ»

**Kimya elmləri üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim olunmuş dissertasi yanın**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т Ы

BAKİ– 2013