

УДК 544.344; 577.1.08

ИССЛЕДОВАНИЕ КАТАЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ БИОМИМЕТИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ

Н.Н. Меликова, Н.И. Али-заде, Т.М. Нагиев

*Институт Катализа и Неорганической Химии им. акад. М.Нагиева
Национальной АН Азербайджана
AZ 1143 Баку, пр.Г.Джавида, 113; e-mail: tnagiev@azeurotel.com*

Поступила в редакцию 26.05.2018

Разработанный на основе смарт биомиметического материала и полупроводника биомиметический сенсор своей высокоактивностью, чувствительностью, и устойчивостью позволяет определить концентрацию H_2O_2 в растворе до 10^6 мас.%. Показано влияние количества смарт биомиметического материала и температуры на физико-химические свойства разработанного биомиметического сенсора.

Ключевые слова: биомиметический сенсор, смарт материал, каталазный, полупроводник, концентрация H_2O_2

ВВЕДЕНИЕ

Одним из бурно развивающихся направлений современной биотехнологии является целенаправленный синтез биосенсоров с заданными свойствами. Перспективным направлением в этой области является создание высокочувствительных биосенсоров и их миметиков, в которых качестве рабочих материалов (биоселекторов) используются ферменты. В работах [1-5] проведены исследования в этом направлении. Было показано, что замена активной части (рабочий эле-

мент) на химические аналоги (биомиметики) позволило сконструировать и исследовать физико-химические особенности биомиметических сенсоров каталазного и пероксидазного типов.

В связи с вышеизложенным, нами разработаны биомиметические электроды каталазного типа целью сознательного конструирования биомиметического сенсора для определения низких концентраций H_2O_2 в водных растворах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили в электрохимической ячейке (рис.1). Каталазная активность биомиметических сенсоров определялись потенциометрическим методом.

Экспериментальная установка для выполнения этих исследований состояла из электродной части, ячейки и универсального вольтметра В7-21А и “Sana”-MV-MeterSL 901. Электродная часть установки состояла из электрода сравнения ($Ag/AgCl/Cl^-$) и приготовленных нами биомиметических сенсоров. Фоновым раствором служила бидистиллированная вода. Приготовленные биомиметические сенсоры состоят из двух компонентов: главного ра-

бочего смарт материала – активной части (биомиметик) и преобразователя первичного сигнала (транзьюсера). Для исследования физико-химических особенностей приготовленных биомиметических сенсоров нами, в качестве рабочего смарт материала, использован тетрафенилпорфирин железа и гемин.

Рабочий материал – биомиметик должен находиться в прямом контакте с транзьюсером. Поэтому, для создания этой связи нами использована серебряная паста. Было установлено, что серебряная паста практически инертна по отношению к водному раствору H_2O_2 .

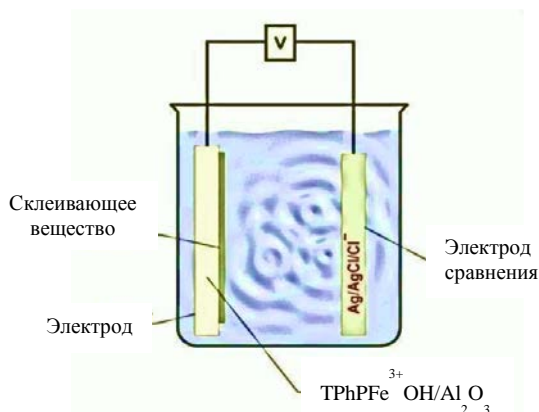


Рис. 1. Электрохимическая ячейка

Носитель представляет собой полупроводник в виде пластинки, на который наносится активный центр – тетрафенилпорфи-

рин железа фирмы “Aldrich Chem. Co.” и гемин, адсорбированный на тонко измельченном Al_2O_3 фирмы “StreamChemicalInc”.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Впервые серебряная паста, как склеивающий материал (для создания контакта рабочего материала с трансдьюсером), была использована нами при исследовании физико-химических особенностей биомиметического сенсора, где в качестве трансдьюсера был использован Pb, а рабочим материалом – $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3$. В результате проведенных исследований биомиметического сенсора на каталазную активность было установлено, что биомиметического сенсор $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3//\text{Pb}$ позволяет обнаружить следовые концентрации пероксида водорода в водном растворе в количестве равном 10^{-8} мас.% [6,7].

Эти успешно проведенные исследования позволили продолжить наши поисковые работы в области биомиметических сенсоров каталазного типа. Подложками исследований были выбраны полупроводники (Si, Te, Ge), которые широко используются в синтезе биосенсоров, химических датчиков, радиотехнике и т.д. Однако при использовании Ge в качестве подложки для биомиметического сенсора было жено, что при добавлении в систему H_2O_2 происходит растворение Ge. Поэтому ис-

следования с использованием Ge были прекращены.

Исследования каталазной активности $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ содержащего биомиметического сенсора, приготовленного путем склеивания последнего на поверхность Si-электрода при помощи серебряной пасты приведены на рис.2.

Как видно из рисунка, наличие пероксида водорода в системе приводит к снижению значения ΔE , причем повышение концентрации H_2O_2 от 10^{-6} до 1 мас.% личивает скачок электрохимического потенциала (рис.2., кривые 1-4). Рассматривая кривые 1-4, не трудно заметить, что через несколько секунд все кривые достигают своего максимума. Затем электрохимический потенциал в системе биомиметического сенсор/ $\text{H}_2\text{O}_2//\text{Cl}/\text{AgCl}/\text{Ag}$ продолжает синусоидоподобно изменяться до практического разложения H_2O_2 . Это связано с тем, что в этот промежуток времени концентрация H_2O_2 в системе уменьшается и кривые электрохимического потенциала каталазной реакции при приближении к значению потенциала воды.

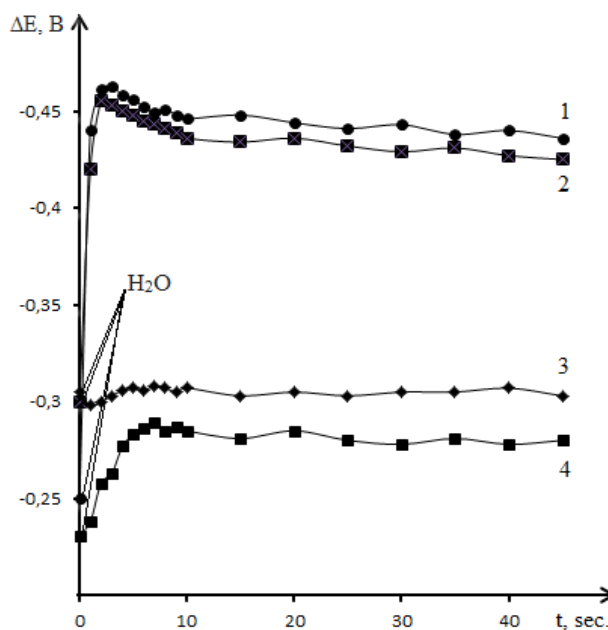


Рис.2. Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени при низких концентрациях H_2O_2 для $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ биомиметического сенсора. $T=22^\circ\text{C}$.

1. 1 мас.% H_2O_2 ; 3. 1×10^{-6} мас.% H_2O_2 .
2. 0.5 мас.% H_2O_2 ; 4. 1×10^{-4} мас.% H_2O_2 .

Были проведены опыты для изучения влияния температуры и количества использованного смарт материала TPhPFe^{3+} на каталазную активность приготовленного биомиметического сенсора. Кроме того интересно было при этих условиях определить предел чувствительности для следовых количеств H_2O_2 , т.е. порог чувствительности.

Для выполнения этой задачи были приготовлены биомиметические сенсоры с содержанием активного материала TPhPFe^{3+} в количестве 0.012 мг и 0.025 мг. Опыты для выявления каталазной активности биомиметического сенсора проводились при температурах 22°C и 40°C .

В результате проведенных исследований было установлено, что изменение количества смарт материала TPhPFe^{3+} , а также повышение температуры от 22°C до 40°C существенно не влияют на чувствительность приготовленного биомиметического сенсора. Порог чувствительности составил 10^{-6} мас.%. Результаты экспериментальных данных приведены на рис.3-4, из которых видно, что наличие в 10^{-6} мас.%-ой концентрации пероксида водорода в системе приводит к изменению значения ΔE и через несколько секунд все кривые достигают своего максимума и синусоидоподобно изменяются до практического разложения H_2O_2 .

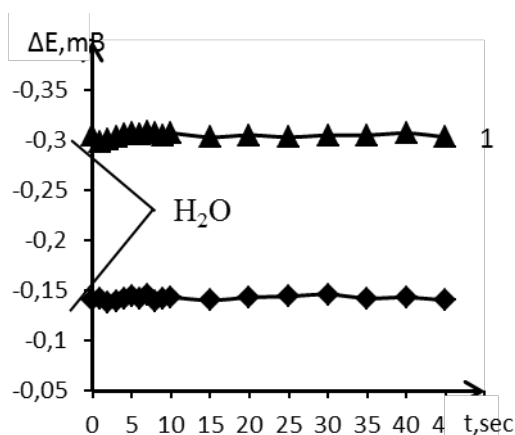


Рис.3. Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени при низких концентрациях H_2O_2 для $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ биомиметического сенсора $C_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1 \times 10^{-6}$ мас.%. $T = 22^\circ\text{C}$.

1. (Si=0.6x0.6см).

Количество $\text{TPhPFe}^{3+} = 0.025$ мг

2. (Si=0.3x0.3см).

Количество $\text{TPhPFe}^{3+} = 0.012$ мг

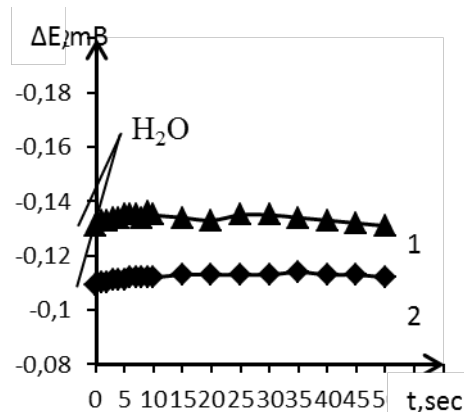


Рис.4. Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени при низких концентрациях H_2O_2 для $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ биомиметического сенсора $C_{\text{H}_2\text{O}_2} = 1 \times 10^{-6}$ мас.%. $T = 40^\circ\text{C}$.

1. (Si=0.6x0.6см).

Количество

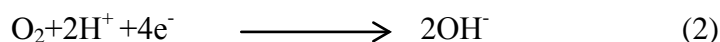
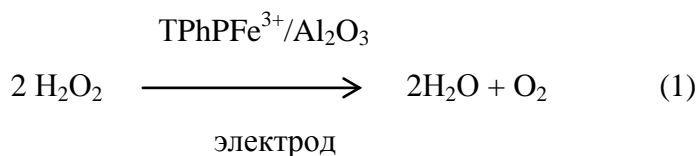
$\text{TPhPFe}^{3+} = 0.025$ мг

2. (Si=0.3x0.3см).

Количество $\text{TPhPFe}^{3+} = 0.012$ мг.

В этот промежуток времени концентрация H_2O_2 в системе уменьшается, и кривые электрохимического потенциала каталазной реакции приближаются к значению потенциала воды. Как известно [1-3], в ре-

зультате в системе последовательно протекают каталазная (1) и электрохимическая (2) реакции, которые можно представить в следующем виде:



Было установлено, что изменение количества смарт материала TPhPFe^{3+} и температуры не влияет на каталазную активность биомиметического сенсора. Порог чувствительности 10^{-6} мас. %-ой H_2O_2 .

Следующая серия опытов была посвящена определению низких концентраций H_2O_2 (10^{-4} мас. % H_2O_2 и 10^{-6} мас. % H_2O_2) в водном растворе с помощью геминсодержащего биомиметического сенсора. Как

показали результаты экспериментов, геминсодержащий биомиметический сенсор имеет определенную чувствительность в начале эксперимента (рис.5, кривые 1,2). Однако в дальнейшем наблюдается вымывание гемина с поверхности Al_2O_3 и некоторое помутнение раствора. Поэтому при проведении следующих экспериментов каждый раз готовили новый образец.

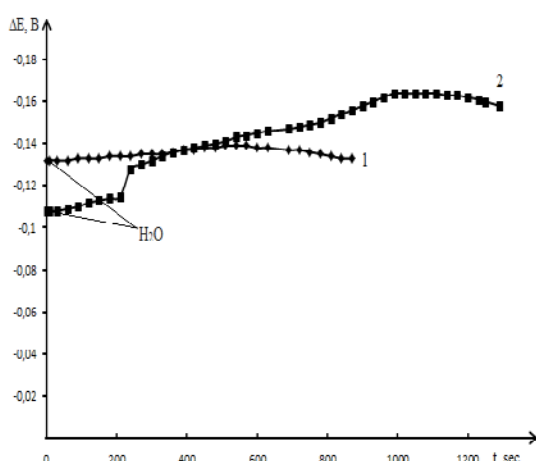


Рис.5. Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени при низких концентрациях H_2O_2 для гемин/ $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Si}$ биомиметического сенсора.

1. 1×10^{-6} масс.%. 2. 1×10^{-4} масс.%.

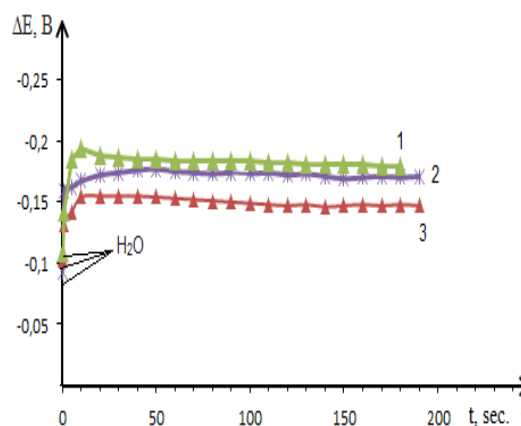


Рис.6. Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени при низких концентрациях H_2O для $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Te}$ биомиметического сенсора

1. $\text{CH}_2\text{O}_2=1$ масс.%; 2. $\text{CH}_2\text{O}_2=0.5$ масс.%.

3. $\text{CH}_2\text{O}_2=0.1$ масс.%.

В следующей серии экспериментов, для обнаружения следовых концентраций H_2O_2 в водных растворах, нами использован не менее популярный (чем Si) в приготовлении химических датчиков, радиотехнике и т.д. полупроводник Te. Был приготовлен $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Te}$ содержащий биомиметический сенсор, по выше описанной методике. На рис. 6 показаны результаты потенциометрического исследования железопорфирина-содержащего биомиметического сенсора при низких концентрациях H_2O_2 в водном растворе (0.1 масс.%, 0.5 масс.%, 1 масс.%). Как видно из рис.6, присутствие пероксида водорода различной концентрации в электрохимической ячейке во всех трех случаях в начале (менее секунды) приводит к резкому изменению значения потенциала системы. Такое изменение значения потенциала системы связано, прежде всего, с формированием нового поверхностного слоя на границе сенсор – раствор. Через определенное время в системе устанавливается равновесный поверхностный слой и значение потенциала на границе биомиметический сенсор – раствор стабилизируется. Во всех опытах на-

блюдается незначительное повышение pH в кислой среде, не доходящей до нейтральной.

Для выявления порога чувствительности $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Te}$ содержащего биомиметического сенсора были проведены соответствующие опыты, где использованы низкие концентрации H_2O_2 (1×10^{-4} масс.% и 1×10^{-6} масс.%). Как видно из рис.7, кривая 1, при добавлении в систему 1×10^{-4} масс.% H_2O_2 наблюдается скачок электрохимического потенциала, затем формируется новый поверхностный слой на границе сенсор – раствор и значение потенциала стабилизируется. На 100-ой секунде наблюдается максимальное значение э.д.с. системы, затем оно медленно снижается и, начиная с 170-ой секунды, становится постоянной, следовательно, каталазная реакция прекратила свое протекание. Этот факт объясняется, скорее всего, снижением концентрации H_2O_2 в реакционной среде. Действительно pH раствора составлял 6.0.

В присутствии в реакционной системе 1×10^{-6} масс.% H_2O_2 наблюдается низкая чувствительность биомиметического сенсора.

Незначительно повышается значение потенциала системы от (-0.096 мВ) до (-0.1 мВ) (кривая 2). В дальнейшем это значение медленно снижается до (-0.095 мВ).

На 150-ой секунде наблюдается изменение рН раствора до 6.2, что объясняется снижением концентрации H_2O_2 в реакционной среде.

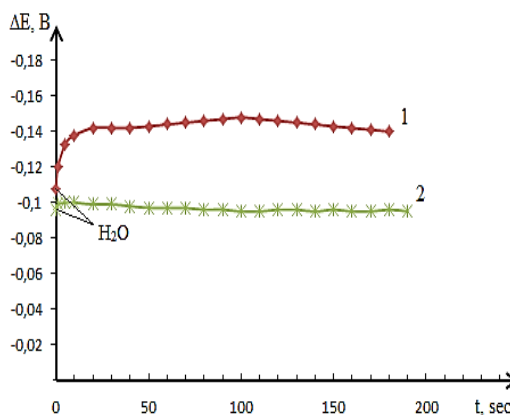


Рис.7. Изменение э.д.с. системы в зависимости от времени при низких концентрациях H_2O для $\text{TPhPFe}^{3+}/\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Te}$ биомиметического сенсора.

1. $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2 = 1 \times 10^{-4}$ мас.%;
 2. $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2 = 1 \times 10^{-6}$ мас.%.

Таким образом, на основе железопорфиринового комплекса синтезирован устойчивый к окислению, доступный и дешевый биомиметический электрод каталазного типа. Установлено, что Si-электрод с $\text{TPhPFe}^{3+}\text{OH}$ позволяет обнаружить H_2O_2 в водном растворе в количестве, равном

10^{-6} мас.%. При апробировании этого же биомиметического сенсора на пероксидазную активность была показана возможность обнаружения этилового спирта в водном растворе в количестве, равном 10^{-4} мас.% [8-9].

REFERENCES

1. Nagiev T.M. Interaction of synchronous reactions in chemistry and biology. Baku: Elm Publ., 2001, 403 p.
2. Nagiev T.M. Coherent Synchronized Oxidation by Hydrogen Peroxide. Elsevier, Amsterdam, 2007, p. 325.
3. Nagiev T.M. "Biomimetic Based Application". Preface IX, Chapter 4, Croatia, INTECH, 2011, p.105.
4. Nagiev T.M., Abbasova M.T., Baba-zade S.N. et al. Physico-chemical features of catalase-imitating sensors. *Zhurnal fizicheskoy himii - Russian Journal of Physical Chemistry*. 1999, vol. 73, no. 12, pp. 2246-2250.
5. Agamamedova L.M., Abbasova M.T., Nagiev T.M. Peroxidase-mimetic sensor for the determination of low concentrations of ethanol in aqueous solutions. *Zhurnal fizicheskoy himii - Russian Journal of Physical Chemistry*. 2002, vol. 70, no. 12, pp. 2194-2198.

6. Malikova N.N., Ali-zadeh N.I., Nagiev T.M. Catalase biomimetic sensor on base of electro chemical electrode TPhPFe(III)/Al₂O₃/Pb. 2nd International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry & Materials, October 15-17, Nice, France 2014, SMARTTECH-OR208. p. 348.
7. Malikova N.N., Ali-zadeh N.I., Nagiev T.M. Catalase-biomimetic sensor on base of electrochemical electrode TPhPFe(III)/Al₂O₃/Pb and TPhPFe(III)/Al₂O₃/Si. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering (USA)*. 2015, vol. 9, no. 1, (Serial Number 86), pp. 67-70. www.davidpublishing.com
8. Malikova N.N., Ali-zadeh N.I., Nagiev T.M. Catalase biomimetic sensor on base of silicon electrode TPhPFe³⁺/Al₂O₃/Si. 34th International Conference on Solution Chemistry 2015 30th August-3rd September, Prague, Czech Republic. p. 41.
9. Malikova N.N., Ali-zadeh N.I., Nagiev T.M. Peroxidase-biomimetic sensor on base of silicon electrode-TPhPFe(III)/Al₂O₃/Si. // ECCE10+ECAB3+EPIC5 September 27th – October 1th 2015, Nice, France, p.1039.

RESEARCH INTO CATALASE ACTIVITY OF BIOMIMETIC SENSORS

N.N. Malikova, N.I. Ali-zadeh, T.M. Nagiev

*Acad. M. Nagiyev Institute of Catalysis and Inorganic Chemistry
National Academy of Sciences of Azerbaijan
AZ 1143 Baku, H.Javid Ave., 113; e-mail: tnagiev@azeurotel.com*

Developed on the basis of smart biomimetic material and semiconductor, the biomimetic sensor with its high activity, sensivity and stability makes it possible to determine the concentration of H₂O₂ in the solution up to 10⁻⁶ wt%. Influence of smart biomimetic material and temperature on physical-chemical properties of the developed biomimetic sensor was revealed.

Keywords: *biomimetic sensor, smart material, catalase semiconductor, concentration H₂O₂.*

BIOMİMETİK SENSORLARIN KATALAZ AKTİVLİYİNİN TƏDQIQI

N.N. Məlikova, N.İ. Əli-zadə, T.M. Nağıyev

*AMEA-nın akad. M.Nağıyev adına Kataliz və Qeyri-üzvi Kimya İnstitutu
AZ 1143, Bakı, H.Cavid pr., 113; e-mail: tnagiev@azeurotel.com*

Smart biomimetik material üzərində işlənilib hazırlanmış yarımqeçirici biomimetik sensor özünüün yüksək aktivliyi, həssaslığı ilə H₂O₂ məhlulunda 10⁻⁶küt.% qatılığını ölçməyə imkan yaradır. Biomimütik sensorun fiziki-kimyəvi xassələrinə biomimetik materialın miqdarının və temperaturun təsiri göstərilmişdir.

Açar sözlər: *biomimetik sensor, smart material, katalaz, yarımqeçirici, H₂O₂ qatılığı.*