

УДК 544.653.2/3

Влияние природы полимера на электрохимическое восстановление кислорода

Г.С. Шаповал, О.С. Кругляк

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины
1, ул. Мурманская, Киев, 02660, Украина

Исследовано восстановление кислорода на медном катоде, на поверхности которого адсорбированы полимеры: полиакриламид (ПАА), альбумин и полианилин (ПАНИ) в качестве моделей гидрофильной стороны биомембран. Установлено, что при адсорбции ПАНИ и ПАА емкость двойного электрического слоя медного катода закономерно снижается, а адсорбция альбумина вызывает ее повышение. Показано, что адсорбированные на электроде ПАНИ и ПАА, в отличие от альбумина, облегчают восстановление молекулярного кислорода, ускоряя образование его активных форм (АФК). Высказаны предположения о механизме влияния природы полимеров на процесс электрохимического восстановления кислорода и АФК.

Ключевые слова: полимер, адсорбция, кислород, электрохимическое восстановление.

Реакции восстановления молекулярного кислорода, которые протекают на поверхности биомембран, в определенных условиях могут инициировать образование радикалов, активных форм кислорода (АФК), вызывающих повреждение жизненно важных систем организма и, соответственно, целый ряд патологий, а также преждевременное старение [1, 2].

Исследование таких реакций на биомембранах *in vivo* является очень сложной экспериментальной задачей, связанной с действием большого количества факторов, которые трудно запрограммировать и которые существенно влияют на конечный результат эксперимента. Поэтому одним из перспективных подходов к таким исследованиям является использование моделей поверхности биомембран, в частности внешних гидрофильных частей их макромолекул. Последние могут принимать участие в реакциях с переносом электронов, в основе которых, согласно существующим представлениям, лежат электрохимические закономерности [3].

В связи с этим для моделирования *in vitro* реакций кислорода с переносом электронов на поверхности биомембран уникальными являются электрохимические методы. Особенно ценной является возможность создания условий для переноса на кислород как одного, так и двух электронов.

Именно такая возможность реализуется в разработанном и используемом нами методе дифференциальной импульсной вольтамперометрии на медном катоде, который позволяет генерировать продукты одно- и двухэлектронного восстановления кислорода [4, 5].

В качестве моделей гидрофильной стороны биомембран избраны водорастворимые полимеры,

содержащие присущие макромолекулам биомембран функциональные группы, а также полимер с электронной проводимостью. Эти модели мы попытались создать за счет адсорбции на поверхности электрода следующих полимеров:

– полиакриламида (ПАА), который имеет в своем составе характерные для окислительно-восстановительного кофермента NADP, способные к адсорбции на отрицательно заряженной поверхности и способные влиять на заряд белков амидные группы;

– альбумина, который выполняет функции переносчика молекул многих плохо растворимых в воде, транспортируемых кровью эндогенных соединений, а также экзогенных лекарственных веществ, таких как пеницилин, сульфаниламид и другие;

– водорастворимого полианилина (ПАНИ), имеющего электронную проводимость, столь важную для моделирования электронного переноса, который, в частности, происходит при передаче нервных импульсов.

С учетом изложенного, исследовано электрохимическое восстановление кислорода на медном катоде в присутствии выше указанных полимеров.

Экспериментальная часть.

Для исследований использовали водный раствор полиакриламида АК 631 марки А 1510 (ПАА), очищенный перед проведением исследований путем диализа его водного раствора.

Полианилин, допированный полистиролсульфоновой кислотой (ПАНИ-ПСС), синтезирован путем полимеризации анилина при температуре 10 °С в присутствии ПСС под действием персульфата аммония при следующем соотношении компонентов: анилин:элементарное звено ПСС = 1,0:1,5; анилин : персульфат

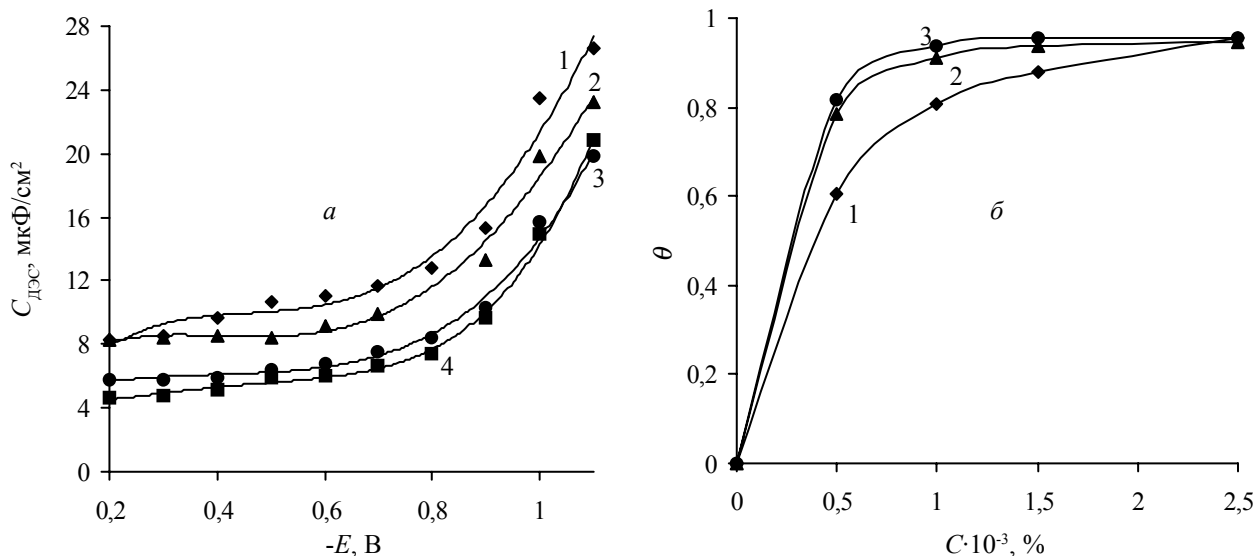


Рис. 1. Дифференциальная емкость ДЭС медного катода (а) в 0,1 М NaCl в воде (1), в присутствии ПАНИ концентраций: 0,5 (2); 1,5 (3) и $2,5 \cdot 10^{-3}$ % (4); изотермы адсорбции ПАНИ на медном катоде (б) при потенциалах: -0,2 (1); -0,6 (2) и -1,1 В (3)

аммония = 1,00:1,25. Полученный водный раствор ПАНИ-ПСС (далее ПАНИ) очищали от побочных продуктов диализом. ПСС кислота для синтеза выделена из ее натриевой соли (фирма «Aldrich»).

Раствор альбумина фирмы «Sigma» (Германия) в 0,1 М водном NaCl, ввиду специфики его растворения, готовили за сутки до проведения исследований.

Фоновый электролит 0,1 М NaCl готовили из дважды перекристаллизованного хлорида натрия марки ХЧ в бидистиллированной воде. Концентрация кислорода в исследуемом растворе отвечала равновесной при атмосферном давлении и температуре 20 °С.

Адсорбцию исследуемых соединений на медном катоде изучали методом электрохимической импедансной спектроскопии [6] с помощью универсальной системы ACM Instruments Auto по трехэлектродной схеме. В качестве рабочего использовали медный торцевой электрод ($d=1,0$ мм), вспомогательным электродом служила Pt пластина размером 25,0x15,0 мм, потенциалы задавали относительно насыщенного хлор-серебряного электрода сравнения.

Вольтамперные исследования проводили с помощью сопряженного с компьютером полярографа ПУ-1 в трехэлектродной ячейке [4, 5]. В специальном

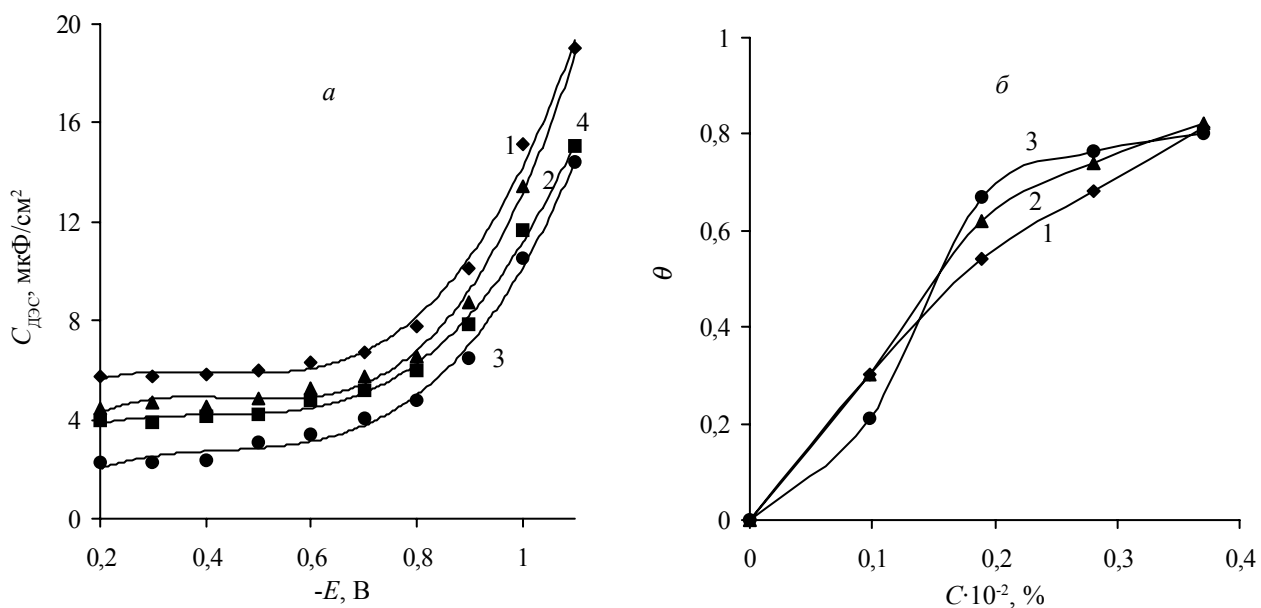


Рис. 2. Дифференциальная емкость ДЭС медного катода (а) в 0,1 М NaCl в воде (1), в присутствии ПАА концентраций: 0,098 (2); 0,37 (3); $0,45 \cdot 10^{-2}$ % (4); изотермы адсорбции ПАА на медном катоде (б) при потенциалах -0,2 (1); -0,6 (2) и -1,1 В (3)

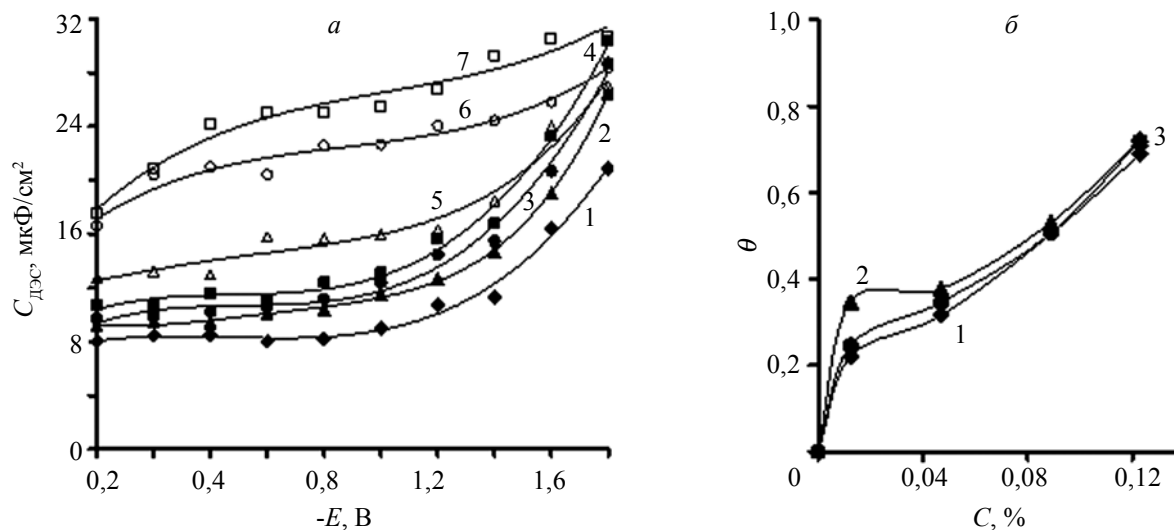


Рис. 3. Дифференциальная емкость ДЭС медного катода (а) в 0,1 М NaCl в воде (1), в присутствии альбумина концентраций: 0,125 (2); 0,047 (3); 0,088 % (4); в таком же растворе в присутствии цистеина концентраций: 0,19 (5); 0,39 (6); $0,91 \cdot 10^{-3}$ моль/л (7); изотермы адсорбции альбумина на медном катоде (б) при потенциалах: -0,2 (1); -0,6 (2) и -1,1 В (3)

импульсном режиме на медном катоде снимали дифференциальные вольт-амперные кривые восстановления кислорода на фоне 0,1 М NaCl в воде. Потенциал рабочего электрода задавали относительно хлор-серебряного электрода сравнения. Вспомогательным электродом служила платиновая спираль.

Результаты исследования и их обсуждение.

О влиянии исследуемых полимеров на восстановление молекулярного кислорода судили по изменениям дифференциальных вольтамперных кривых в присутствии этих полимеров, адсорбированных на поверхности катода.

Чтобы составить представление об их адсорбции на медном катоде, рассмотрим полученные нами данные импедансной спектроскопии. Так, на рис. 1а, 2а, 3а представлены кривые зависимости емкости (C) двойного электрического слоя (ДЭС) от потенциала (E) медного электрода в 0,1 М растворе NaCl. Как видно из рисунков, в присутствии каждого из полимеров наблюдается характерное для адсорбции изменение емкости ДЭС по сравнению с емкостью фона во всем диапазоне исследуемых потенциалов. Характер хода C - E кривых аналогичен, однако изменения емкости ДЭС с повышением концентрации полимера имеют следующие особенности.

В присутствии ПАНИ наблюдается четкое снижение емкости ДЭС (рис. 1а), зависящее от концентрации этого полимера.

Как следует из анализа изотерм адсорбции (рис. 1б), при потенциалах восстановления молекулярного кислорода и его активных форм (в диапазоне значений от -0,2 до -1,2 В) степень заполнения поверхности медного катода ПАНИ зависит от его концентрации и, выходя на насыщение при концентрации $1,5 \cdot 10^{-3}$ %, достигает $\approx 0,9$.

Добавление в фоновый раствор ПАА приводит к соответствующему его концентрации значительному снижению емкости ДЭС медного электрода (рис. 2а).

Изотермы адсорбции ПАА (рис. 2б) соответствуют изотерме Ленгмюра. Это свидетельствует о том, что при увеличении степени заполнения поверхности уменьшается свободная энергия адсорбции ПАА, с другой стороны, увеличиваются силы притяжения между адсорбированными функциональными группами макромолекул.

В отличие от первых двух полимеров, в присутствии альбумина наблюдается симбатное его концентрации повышение емкости ДЭС и соответственно C - E кривых в том же диапазоне потенциалов (рис. 3а). Полученные данные позволяют полагать, что адсорбция альбумина сопровождается специфическим взаимодействием его функциональных групп с поверхностью медного катода. Причем ответственными за это взаимодействие, очевидно, являются сульфгидрильные, так называемые якорные, группы такого фрагмента альбумина как цистеин, адсорбция которого также сопровождается повышением емкости ДЭС медного электрода (рис. 3а) в отрицательной области потенциалов.

Такое объяснение подтверждается специально проведенным экспериментом, в котором после снятия C - E кривых цистеина электрод был извлечен, промыт 0,1 М раствором NaCl, и C - E кривая снята в новом растворе фона. Как видно из рис. 4 (кривая 3), величина емкости в этом случае остается выше емкости фона во всем исследуемом интервале потенциалов, что свидетельствует о специфической адсорбции цистеина. Дополнительная выдержка электрода в 0,1 М растворе NaCl, содержащем $0,57 \cdot 10^{-3}$ моль/л цистеина в течение 3 мин., приводит, после тщательного

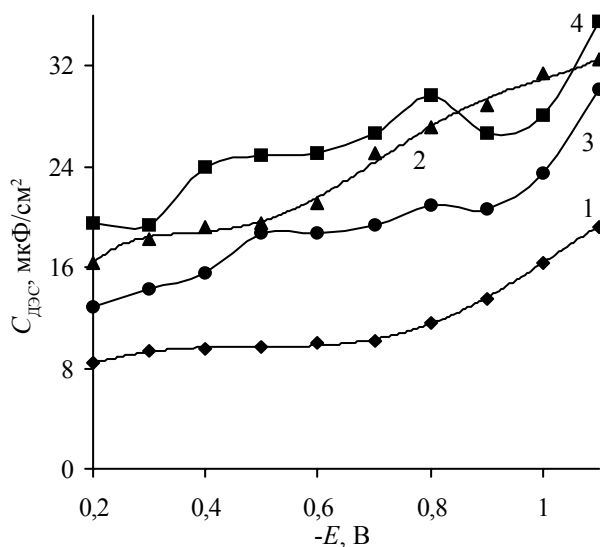
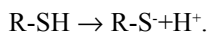
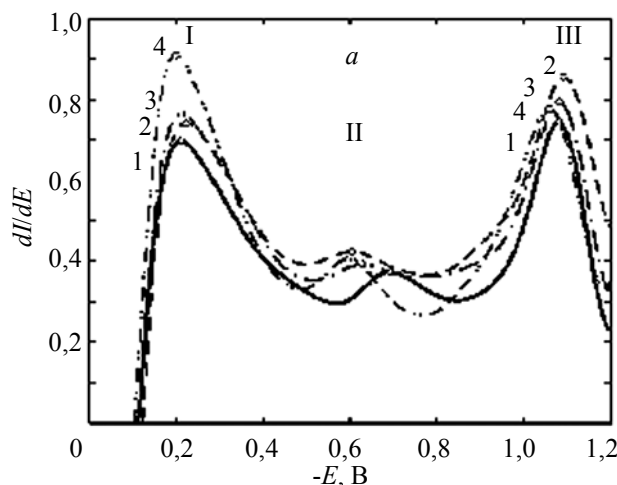


Рис. 4. Дифференциальная емкость ДЭС медного катода в 0,1 М NaCl в воде (1), в присутствии цистеина концентрации $0,57 \cdot 10^{-3}$ моль/л (2); в новом растворе NaCl после промывки электрода (3); после 3-х минутной выдержки электрода в растворе цистеина концентрации $0,57 \cdot 10^{-3}$ моль/л (4) в новом растворе NaCl

промывания электрода раствором фона, к значительно большему повышению емкостной кривой по сравнению с первоначальной (рис. 4, кривая 4). Этот эффект, скорее всего, обусловлен повышением плотности зарядов ДЭС [7], которое, очевидно, связано с потерей протона сульфгидрильной группой и образованием аниона:



Аналогичная потеря протона происходит при адсорбции на медном электроде как цистеина, так и цистеиновых фрагментов альбумина, а также при



образовании тиольными соединениями самоорганизованных структур [8–10].

Изотермы адсорбции альбумина (рис. 3б) имеют сложный характер. Можно предположить, что это связано с тем, что до концентрации альбумина в объеме раствора 0,045 % и степени заполнения поверхности катода 0,4 кривая определяется специфической адсорбцией якорных сульфгидрильных групп альбумина и соответствующей горизонтальной ориентацией макромолекул. Дальнейшее увеличение концентрации альбумина приводит к более резкому увеличению степени заполнения и вероятному изменению ориентации макромолекул.

Далее рассмотрим изменения дифференциальных вольтамперных кривых восстановления молекулярного кислорода в присутствии адсорбированных на катоде исследуемых полимеров.

В рамках используемой методики [4] при восстановлении кислорода на медном катоде в 0,1 М NaCl при определенной скважности импульсов на дифференциальной вольтамперограмме удается наблюдать (рис. 5а) три пика волн, которые характеризуют восстановление молекулы кислорода (при $E -0,6$ В), восстановление перекиси водорода (при $E -1,1$ В) и гидроксильных радикалов (при $E -0,2$ В), образующихся при одноэлектронном восстановлении перекиси водорода.

В присутствии ПАНИ (рис. 5а) происходит планомерное, пропорциональное концентрации ПАНИ, повышение высоты пика восстановления гидроксильных радикалов, повышение, а затем снижение высоты пика восстановления перекиси водорода, некоторый рост и значительный (на 0,1 В) анодный сдвиг потенциала пика восстановления молекулярного кислорода. Причем зависимость высот (рис. 5б) указанных пиков тока восстановления гидроксильных радикалов и

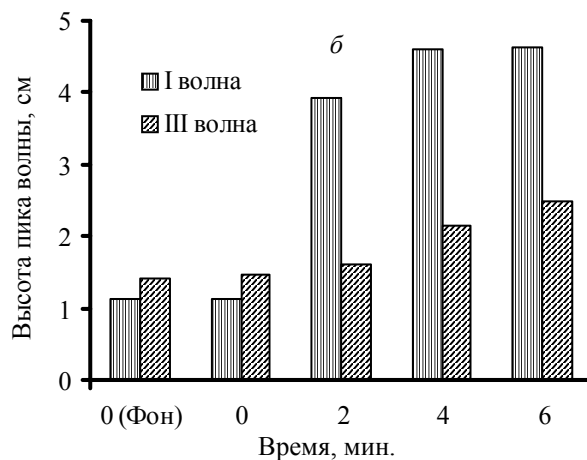


Рис. 5. Дифференциальные вольтамперограммы восстановления кислорода на медном катоде (а) на фоне 0,1 М раствора NaCl в воде (1), в присутствии ПАНИ концентраций: 10 (2); 20 (3) и $30 \cdot 10^{-3}$ % (4); зависимость высоты пиков волн восстановления кислорода на медном катоде от времени его экспозиции в ячейке при концентрации ПАНИ $20,0 \cdot 10^{-3}$ % (б)

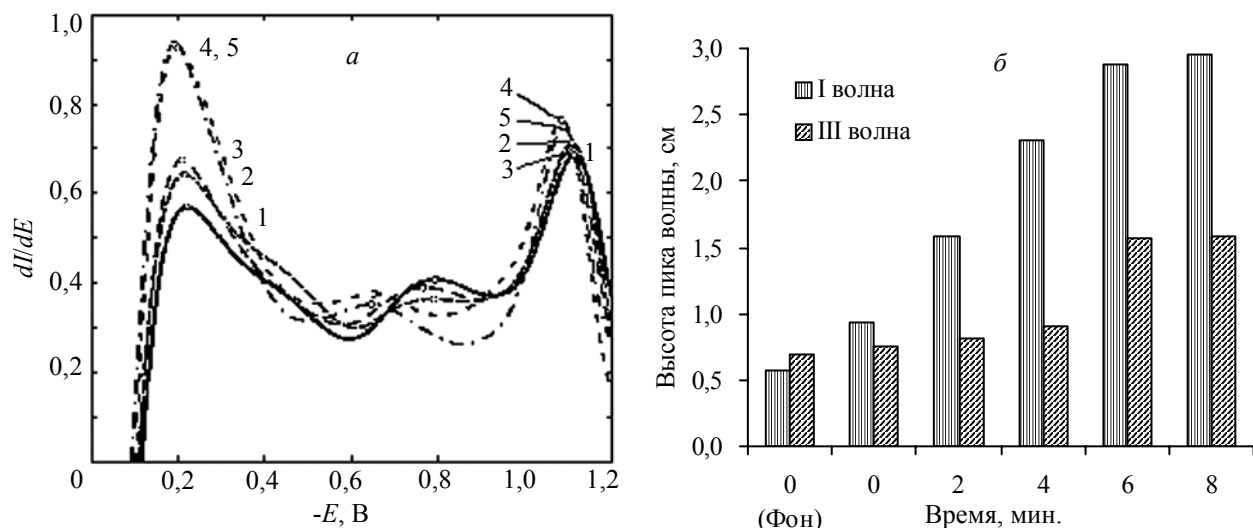


Рис. 6. Дифференциальные вольтамперограммы восстановления кислорода на медном катоде (а) на фоне 0,1 М раствора NaCl в воде (1), в присутствии ПАА концентраций: 0,09 (2); 0,19 (3); 0,37 (4) и $0,69 \cdot 10^{-2}$ % (5); зависимость высоты пиков волн восстановления кислорода на медном катоде от времени его экспозиции в ячейке при концентрации ПАА $0,69 \cdot 10^{-2}$ % (б)

перекиси водорода от времени пребывания в электролизере ПАНИ свидетельствует о его взаимодействии с кислородом в объеме раствора и адсорбции продукта взаимодействия на электроде. Об этом же свидетельствуют и полученные нами ранее электронные спектры ПАНИ, снятые в фоновом растворе в присутствии и в отсутствие кислорода [11].

Каталитическое действие ПАНИ на процесс электрохимического восстановления кислорода можно объяснить с учетом следующего. Согласно квантово-химическим расчетам [12], каталитическая активность ПАНИ определяется особенностями его электронного строения, благодаря которым молекулярный кислород может, в частности, обратимо хемосорбироваться на поверхности нанесенного на электрод ПАНИ. При этом порядок связи в хемосорбированной на ПАНИ молекуле кислорода уменьшается примерно на 30 %, а длина связи увеличивается на 24 % [12]. За счет этого снижается энергия активации реакции восстановления молекулы кислорода. Это, очевидно, является причиной облегчения процесса восстановления кислорода и возможности сдвига этого процесса в сторону генерирования гидроксильных радикалов. В результате, сначала повышается концентрация перекиси водорода, возрастает ее пик, который снижается при дальнейшем увеличении концентрации ПАНИ, тогда как пик продукта ее одноэлектронного восстановления – гидроксильных радикалов – повышается. Более того, ускорение восстановления последних может свидетельствовать и об участии ПАНИ в переносе на них электронов от электрода.

При адсорбции ПАА на медном катоде также наблюдается пропорциональное его концентрации повышение тока восстановления как гидроксильных радикалов, так и перекиси водорода (рис. 6а), а также

анодный сдвиг потенциала пика восстановления молекулярного кислорода. Процесс развивается во времени, аналогично отмеченному для ПАНИ. Ток достигает предельного значения через 6 мин. экспозиции (рис. 6б). Кроме того, также наблюдается анодный сдвиг потенциала пика восстановления молекулярного кислорода. Таким образом, адсорбция ПАА на катоде также приводит к облегчению восстановления кислорода и его АФК. Это, скорее всего, связано с возможностью образования водородной связи [13] при взаимодействии кислорода с аминогруппой ПАА, способной также изменить порядок связи в молекуле кислорода.

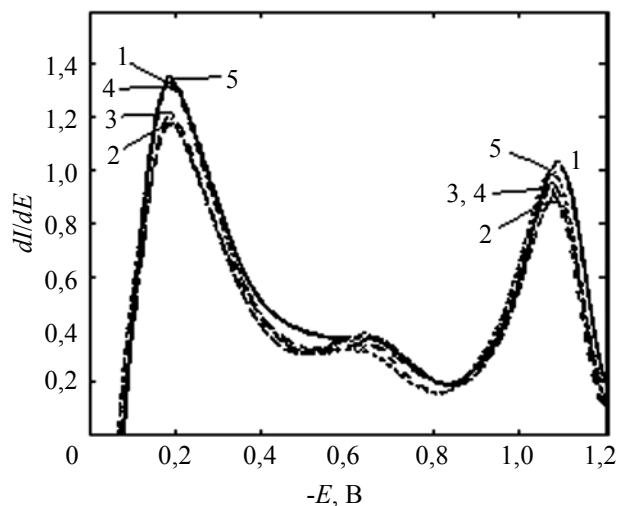


Рис. 7. Дифференциальные вольтамперограммы восстановления кислорода на медном катоде на фоне 0,1 М раствора NaCl в воде (1), в присутствии концентраций альбумина: 0,025 (2); 0,047 (3); 0,068 (4) и 0,123 % (5)

Адсорбция альбумина на медном катоде, в отличие от двух предыдущих полимеров, независимо от времени экспозиции, оказывает незначительное влияние на морфологию вольтамперных кривых и высоту пиков восстановления кислорода (рис. 7). Можно предположить, что альбумин на поверхности катода ведет себя подобно тому, как это происходит на поверхности внешней мембраны митохондрий, которая проницаема для низкомолекулярных соединений, благодаря порообразующим белкам, к которым относится альбумин [14].

В результате установлено, что все три полимера, адсорбируясь на поверхности медного катода, оказывают определенное влияние на процесс электро-

химического восстановления кислорода в этих условиях. Различия во влиянии связаны как с химическим строением макромолекул, специфическим взаимодействием функциональных групп с электродом, так и с возможностью изменения его ориентации в зависимости от степени заполнения макромолекулами поверхности электрода.

Полученные представления о влиянии полимеров на электрохимическое восстановление кислорода и образование его активных форм, которое определяется природой адсорбированных на электроде функциональных групп макромолекул, могут быть полезны при изучении *red-ox* процессов на поверхности гидрофильной стороны мембран в биосистемах.

Литература

1. *Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Ткачев В.О.* // Кислород и антиоксиданты. – 2009. – №1. – С. 3–64.
2. *Луцак В.И.* // Биохимия. – 2007. – 72, № 8. – С. 995–1017.
3. *Дамаскин Б.Б., Петрий О.А., Цирлина Г.А.* Электрохимия. – М.: Химия, 2006. – 624 с.
4. *Громовая В.Ф., Шаповал Г.С., Миронюк И.Е.* // Журн. орг. химии. – 2002. – 72, Вып.5. – С. 828–831.
5. *Шаповал Г.С., Громовая В.Ф., Миронюк И.Е., Кругляк О.С.* // Журн. орг. химии. – 2008. – 78, Вып. 12. – С. 2040–2044.
6. *Миронюк И.Е., Шаповал Г.С., Громовая В.Ф., Кухарь В.П.* // Теорет. и эксперим. химия. – 2001. – 37, №2. – С. 105–108.
7. *Дамаскин Б.Б., Петрий О.А., Батраков В.В.* Адсорбция органических соединений на электродах. – М.: Наука, 1968. – 333 с.
8. *Shengfu Wang, Dan Du* // Sensors. – 2002. – N2. – P. 41–49.
9. *Ulman A.* // Chem. Rev. – 1996. – 96, N 4. – P. 1533–1554.
10. *Хлесткин В.К.* Супрамолекулярная химия. – Новосибирск: Изд. НГУ, 2007. – 277 с.
11. *Шаповал Г.С., Кругляк О.С., Пуд А.А.* // Теорет. и эксперим. химия. – 2011. – 47, №4. – С. 229–233.
12. *Барсуков В.З., Хоменко В.Г., Каташинский А.С., Мотронюк Т.И.* // Электрохимия. – 2004. – 40, №11. – С. 1364–1368.
13. *Москва В.В.* // Соровский образовательный журнал. – 1999. – №2. – С. 58–64.
14. *Кольман Я., Рем К.Г., Вирт Ю.* Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000. – 469 с.

Поступила в редакцию 18 июля 2012 г.

Вплив природи полімеру на процес електрохімічного відновлення кисню

G.S. Shapoval, O.S. Kruglyak

Інститут біоорганічної хімії і нафтохімії НАН України
1, вул. Мурманська, Київ, 02660, Україна

Досліджено відновлення кисню на мідному катоді, на поверхні якого адсорбовані полімери: поліакриламід (ПАА), альбумін і поліанілін (ПАНІ) – як моделі гідрофільної сторони біомембран. Встановлено, що при адсорбції ПАНІ і ПАА ємність подвійного електричного шару мідного катода закономірно знижується, а адсорбція альбуміну викликає її підвищення. Показано, що адсорбовані на електроді ПАНІ і ПАА, на відміну від альбуміну, полегшують відновлення молекулярного кисню, прискорюючи утворення його активних форм (АФК). Висловлені припущення щодо механізму впливу природи полімерів на процес електрохімічного відновлення кисню і АФК.

Ключові слова: полімер, адсорбція, кисень, електрохімічне відновлення.

Influence of polymer nature on electrochemical reduction of oxygen

G.S. Shapoval, O.S. Kruglyak

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of NAS of Ukraine
Murmanska str, 1, Kyiv 02094, Ukraine

Electrochemical reduction of oxygen on the copper electrode with adsorbed polymers is investigated. The polymers serve as models of hydrophilic sides of bio-membranes and namely are: polyacrylamide (PAA), albumin and polyaniline (PANI). It is determined that adsorption of PANI and PAA decreases the double electric layer capacity of the copper cathode and adsorption of albumin increases it. It is shown that the PANI and PAA adsorbed on an electrode, unlike the albumin, facilitate reduction of molecular oxygen by accelerating formation of its active forms (AFO). Suggestions about the mechanism of influence of nature of polymers on the process of electrochemical reduction of oxygen and AFO are expressed and discussed.

Keywords: polymer, adsorption, oxygen, electrochemical reduction.