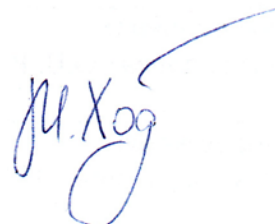


НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
Інститут загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського

**Ходикіна Марія Олегівна**



УДК 544.3.03+54.057:678.746.52+546.57/543.632.552

**ФОРМУВАННЯ ГЕТЕРОСТРУКТУР В СИСТЕМІ  
НЕОРГАНІЧНИЙ НОСІЙ - НАТИВНИЙ ФЕРМЕНТНИЙ  
ПРЕПАРАТ КЛАСУ ОКСИДОРЕДУКТАЗ**

02.00.04 – фізична хімія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата хімічних наук

Київ 2017

## Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського Національної академії наук України.

**Науковий керівник:** доктор хімічних наук, старший науковий співробітник  
**Каздобін Костянтин Олександрович,**  
Інститут загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України, завідувач відділу хімічного та інформаційного аналізу

**Офіційні опоненти:** доктор хімічних наук, професор  
**Решетняк Олександр Володимирович,**  
Львівський Національний університет ім. Івана Франка МОН України, завідувач кафедри фізичної та колоїдної хімії

доктор хімічних наук  
**Колотілов Сергій Володимирович,**  
Інститут фізичної хімії ім. Л.В. Писаржевського НАН України, завідувач відділу пористих речовин і матеріалів

Захист відбудеться “6” липня 2017 р. о 14<sup>00</sup> годині на сесії спеціалізованої вченої ради Д 26.218.01 при Інституті загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського Національної академії наук України за адресою: 03680, Київ-142, пр. Палладіна 32/34 (конференц-зал).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України за адресою: 03680, Київ-142, пр. Палладіна 32/34.

Автореферат розісланий “30” травня 2017 року

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,  
кандидат хімічних наук



Г.Г. Яремчук

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Сьогоднішні зусилля вчених спрямовані на пошуки нових матеріалів для поновлюваних «зелених» джерел енергії. Пріоритети досліджень зміщуються в область створення структур, що складаються з носія та активного шару, які мають здатність до гетеропереходів, що надає можливість їх застосування в біо- і хемосенсориці, фото- та хімічних джерелах струму. Розділення зарядів в таких матеріалах можливе тільки за умови, якщо носій та сполука формує шарувату структуру, яка здатна до гетеропереходів. Органомінеральні гетероструктури вже стали інноваційною альтернативою для сенсоризованих сонячних елементів, тому що вони обумовлені взаємодією обох систем. Однак, досі не існує чіткого визначення взаємозв'язку між природою поверхні носія зі сполуками, що мають супрамолекулярну будову, для розширення сфер їх подальшого застосування.

Рослинні ферменти є типовими представниками супрамолекулярних структур, які мають здатність до редокс-перетворень, з одного боку, та з другого - є поновлюваними джерелами. Активність ферменту до конкретного субстрату визначається його структурними особливостями і хімічною природою субстрату. Наявність таких властивостей дозволили сформулювати основні принципи селективної взаємодії субстрату з ферментом, що передбачають диференціацію каталітичних центрів для субстратів різної природи. Тому вони представляють інтерес як компоненти біосенсорів і енергоперетворюючих пристроїв. Регулювання структурних, хімічних і каталітичних властивостей нативних ферментів з використанням іммобілізації на неорганічних матеріалах (створення гетероструктур) не тільки стабілізують ферменти у водних середовищах, а й підвищують їх електрохімічну активність, що призводить до розширення можливостей використання ферментних систем. Це обумовлено тим, що гетероструктури за участю ферментів полегшують транспорт заряду завдяки утворенню розподілених каталітичних центрів. Носій і механізм зв'язування ферменту з ним є основними факторами формування електронно- і протонноакцепторної активності новоствореної структури.

Нині існують два підходи до створення гетероструктур для перетворення енергії. У першому основна маса робіт з іммобілізації чистих індивідуальних ферментів присвячена їх закріпленню на поверхні різних вуглецевих матеріалів (графен, нанотрубки) з метою підвищення електропровідності нового матеріалу. Другий підхід - використання неорганічних матеріалів, переважно силікатів, і органічних полімерів, для створення високочутливих біосенсорів і біокаталізаторів - використовується у поодиноких випадках. Гетероструктури із застосуванням суміші нативних ферментних препаратів (НФП) досі не досліджувались.

Тому визначення взаємозв'язків між фізико-хімічними (кислотно-основними, каталітичними, спектральними, морфологічними) та електрохімічними властивостями ферменту та носія, що впливають на властивості кінцевої гетероструктури має як фундаментальне, так і важливе практичне значення.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана відповідно до планів науково-дослідних робіт Інституту загальної і неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України «Розробка електрохімічних систем з малою перенапругою катодних та анодних процесів та високоекономічних електролізерів для одержання водню високої чистоти», № Держреєстрації

0110U001650 (2012-2014 р.) та «Синтез і фізико-хімічні властивості неорганічних електрокаталізаторних систем на основі карбіду вольфраму, модифікованого металами Ib (Cu, Ag), IVb (Ti, Zr, Hf) та Vb (V, Nb, Ta) підгруп, для альтернативної електрохімічної енергетики», № Держреєстрації 0110U001650 (2015 – 2017 р.).

**Мета та задачі дослідження.** Метою даної роботи є встановлення закономірностей впливу природи неорганічного носія з різною структурою та фізико-хімічними властивостями на зв'язування нативних ферментних препаратів класу оксидоредуктаз (на прикладі витяжки з коренеплоду редьки чорної); застосування одержаних гетероструктур в якості активних мас електродів для енергоперетворюючих пристроїв та біосенсорів.

Для досягнення даної мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- Визначити фізико-хімічні властивості неорганічних носіїв різної природи (бентоніт, модифікований фосфат-іонами бентоніт, каолін, пірогенний кремнезем), що відповідають за утворення гетероструктур з ферментним препаратом класу оксидоредуктаз;
- Дослідити вплив кислотно – основних властивостей носія на зміну редокс - активності в системах нативний ферментний препарат на основі оксидоредуктаз, іммобілізований на цих носіях;
- Визначити вплив структурних та морфологічних особливостей мінерального носія на стабільність редокс - активності іммобілізованого нативного ферментного препарату;
- Виявити взаємозв'язок особливостей зв'язування з електрохімічною активністю гетероструктур в системі неорганічний носій - нативний ферментний препарат;
- Випробувати синтезовані гетероструктури як активні маси для створення суперконденсаторів та біосенсорів.

*Об'єкт досліджень:* гетероструктури в системі неорганічний носій (бентоніт, модифікований фосфат-іонами бентоніт, каолін, пірогенний кремнезем) - нативний ферментний препарат класу оксидоредуктаз.

*Предмет досліджень:* закономірності утворення, фізико-хімічні та електрохімічні властивості гетероструктур в системі неорганічний носій - нативний ферментний препарат класу оксидоредуктаз.

**Методи дослідження.** В роботі використано: пряма потенціометрія та потенціометричне титрування – визначення кількості кислотно-основних центрів на поверхні носіїв. Фотоколориметрія – визначення концентрацій гідрохінону в досліджених системах. Інфрачервона (ІЧ) спектроскопія - вивчення особливостей будови досліджених матеріалів. Ультрафіолетова (УФ) спектроскопія - вивчення особливостей будови нативного ферментного препарату. Атомно-абсорбційна спектрофотометрія (ААС) – визначення компонентного складу ферментного препарату по іонам металів. Спектрофотометрія – визначення активності нативного ферментного препарату. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ) - дослідження мікротекстури досліджених зразків. Циклічна вольтамперометрія (ЦВА) – дослідження електрохімічних властивостей отриманих гетероструктур. Спектроскопія електрохімічного імпедансу (СЕІ) – дослідження механізмів електропровідності отриманих систем.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У роботі вперше:

- встановлено, що кислотно-основні властивості носія є основним фактором впливу на селективність зв'язування ферментів із суміші; вони забезпечують формування систем з різними функціями: основне середовище формує сенсорну активність, а кислоти – здатність до накопичування енергії;

- методами спектроскопії, елементного аналізу та скануючої електронної мікроскопії доведено зміну селективності зв'язування ферментів із рослинної суміші (нативного ферментного препарату), завдяки просторовому поділу ферментів по іонам металів, що входять до їх складу;

- методом спектроскопії електрохімічного імпедансу показано, що формування гетероструктур призводить до зміни природи електропровідності в залежності від хімії поверхні неорганічного носія: з електронної на протонну та навпаки;

- аналізом даних циклічної вольтамперометрії та спектроскопії електрохімічного імпедансу показана можливість формування структур, що відповідають за накопичення енергії в неорганічних системах з іммобілізованими ферментами.

#### **Практичне значення одержаних результатів:**

- Одержано гетероструктури з редокс- активністю вищою, ніж у вихідному субстраті, здатні зберігати окислювальну активність в часі.

- Створено систему, що моделює суперконденсатор, а також показана можливість формування підвищеної ємності у гетероструктурах з неспецифічним зв'язуванням фрагментів ферменту з носієм. З'ясовано, що в залежності від природи носія можливо створення електрохімічних систем, які здатні заряджатися й мають високу питому ємність – до 95 Ф/г.

- Встановлено можливість формування сенсорних властивостей гетероструктур на визначення глюкози на основі бентоніту та його модифікованої форми за рахунок селективного зв'язування активних центрів за участю йонів  $Fe^{3+}$  та  $Cu^{2+}$ , що дозволяє розглядати їх в якості перспективної основи для створення редокс- сенсорів з високим рівнем вихідного сигналу.

**Особистий внесок здобувача.** Вибір та обґрунтування тематики наукових досліджень, формулювання мети роботи, постановки завдань, які необхідно було розв'язати для її реалізації, обговорення вихідних положень та інтерпретація основних експериментальних результатів, формулювання узагальнень та висновків дисертаційної роботи проводилися спільно з науковим керівником – д.х.н., ст.н.с. К.О. Каздобіним.

Дисертантка особисто виконала експериментальну роботу по виділенню ферментного препарату з рослинної сировини та його іммобілізацію на неорганічних носіях, проаналізувала дані ІЧ- та УФ- спектроскопії, провела та узагальнила обробку одержаних експериментальних даних, дослідила електрохімічну активність гетероструктур, провела апробацію макетів гібридних систем, що моделюють суперконденсатор та амперометричний сенсор, систематизувала дані літературного огляду, оформила матеріали дисертації.

Атомно-абсорбційну, ІЧ- та УФ- спектрофотометрію проведено у співробітництві з к.х.н. Шовковою Г.В., пров. інж. Бистрик О.В. Аналіз електронних спектрів ферментного препарату проведено спільно з д.х.н. Труною О.К., СЕМ природних та синтезованих гетероструктур здійснено спільно з к.х.н. Бережницькою О.С.

(ІЗНХ ім. В.І. Вернадського НАН України). Електрохімічні дослідження (ЦВА, СЕІ) проведено спільно з д.х.н. Першиною К.Д. (Міжвідомче відділення електрохімічної енергетики НАН України).

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертації представлені та обговорені на наукових конференціях: 13 науковій конференції «Львівські хімічні читання – 2011» (28 травня-1 червня 2011 р., м. Львів), Міжнародній конференції «Прикладна фізико-неорганічна хімія» (2-7 жовтня 2011 р., м. Севастополь), IV Міжнародній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених з хімії та хімічної технології (4-6 квітня 2012 р., м. Київ), VIII Всеукраїнській науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю «Хімічні проблеми сьогодення» (17-20 травня 2014 р., м. Донецьк), XIX Українській конференції з неорганічної хімії з міжнар. участю (7-11 вересня 2014 р., м. Одеса), VII Міжнародній науковій конференції з хімії та хімічної освіти «SVIRIDOV READINGS – 2015» (7-11 квітня 2015 р., м. Мінськ, Білорусь), Всеукраїнській конференції з міжнар. участю «Хімія, фізика і технологія поверхні» (13-15 травня 2015 р., 17-18 травня 2016 р., м. Київ), VIII Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання» (18-20 квітня 2016 р., м. Харків), VIII Міжнародній конференції «Матеріалознавство і фізика конденсованих середовищ» (12-16 вересня 2016 р., м. Кишиневу, Молдова), конференції молодих вчених ІЗНХ ім. В.І. Вернадського (17-18 листопада 2016 р., м. Київ).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи опубліковано 6 статей у фахових вітчизняних та зарубіжних виданнях, тези 11 наукових доповідей на міжнародних та всеукраїнських наукових конференціях.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку цитованої літератури (151 найменування). Робота викладена на 136 сторінках друкованого тексту, містить 51 рисунок та 30 таблиць.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету та завдання дослідження. Показано наукову новизну та практичну цінність роботи.

У **першому розділі** проаналізовано літературні дані стосовно фізико-хімічних та електрохімічних властивостей оксидоредуктаз. Показані особливості будови металокомплексів. Розглянуто основні методи іммобілізації ферментів на неорганічних та органічних носіях для створення гетероструктур. Встановлено основні механізми формування редокс- активності та розглянуто сенсорні системи, побудовані на їх основі. На підставі аналізу літературних даних стосовно фізико-хімічних властивостей оксидоредуктаз обґрунтовано вибір об'єктів дослідження, сформульовано мету та основні задачі роботи.

У **другому розділі** наведено перелік використаних реактивів, методику виділення суміші ферментного препарату з рослинної сировини у фосфатному буфері (рН 6,86), саме для виділення ферментів класу оксидоредуктаз. Детально

описано обладнання та використані методи іммобілізації ферментного препарату на неорганічних носіях. Модифіковано 4 неорганічних носія (бентоніт, модифікований фосфат-іонами бентоніт, каолін, пірогенний кремнезем марки аеросил-300) ферментним препаратом. Описано методики спектральних, фізико-хімічних та електрохімічних досліджень та приведено розрахунки за результатами цих аналізів.

У третьому розділі встановлено метал - елементний склад нативного ферментного препарату, його редокс - активність, наведено результати фізико-хімічних досліджень (ІЧ та УФ спектри, кількість кислотно - основних центрів, адсорбційні властивості та інше) отриманих гетероструктур, показано вплив природи носія на зміну цих властивостей після проведення іммобілізації. Для визначення впливу природи неорганічного носія на механізм зв'язування природних оксидоредуктаз додатково проведено порівняльний аналіз адсорбції ферментного препарату на отриманих зразках гетероструктур.

Аналізом ААС нативного ферментного препарату визначено наявність чотирьох основних іонів металів ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) замість тільки одного іона – заліза ( $\text{Fe}^{3+}$ ), що входять до його складу, і які суттєво впливають на зміну фізико-хімічних властивостей кінцевого матеріалу. Дотепер ферментативну активність розглядали лише як результат перетворень редокс- пари  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ . Встановлено, що природний бентоніт селективно зв'язує іони  $\text{Cu}^{2+}$ , модифікований фосфат-іонами бентоніт – іони  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , аеросил-300 та каолін – всі чотири іона металу ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) (табл. 1).

Таблиця 1 – Вміст іонів металів у нативному та іммобілізованому на неорганічних носіях ферментному препараті

Система	Вміст іонів металів, %			
	$\text{Fe}^{3+} \cdot 10^{-3}$	$\text{Cu}^{2+} \cdot 10^{-4}$	$\text{Ni}^{2+} \cdot 10^{-5}$	$\text{Zn}^{2+} \cdot 10^{-4}$
НФП	1,85±0,09	1,20±0,06	6,72±0,34	5,38±0,27
Бентоніт + НФП	2,55±0,13	0,32±0,02	6,50±0,33	4,62±0,23
Модифікований бентоніт + НФП	1,40±0,07	0,17±0,009	6,70±0,34	4,30±0,22
Каолін + НФП	0,77±0,038	0,12±0,006	5,01±0,251	2,90±0,145
Аеросил-300 + НФП	0,30±0,015	0,012±0,001	2,40±0,120	1,50±0,075

Аналіз незворотного зв'язування з іонами металів, що входять до складу нативного ферментного препарату редьки чорної встановив наступну залежність для іонів  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Ni}^{2+}$  – аеросил-300 > каолін >> модифікований фосфат-іонами бентоніт = бентоніт, для іонів  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Zn}^{2+}$ , – аеросил-300 > каолін > модифікований фосфат-іонами бентоніт > бентоніт. Виявлена залежність знаходиться у відповідності зі структурою носія і структурою комплексу, що утворюється даним іоном у вихідному ферменті (табл. 2).

Таким чином, на основі дослідження іммобілізації ферментного препарату встановлено особливості зв'язування суміші ферментів з носієм, обумовлені кислотно-основними властивостями поверхні носія (таблиця 3).

Таблиця 2 – Еквівалентні співвідношення іммобілізованих іонів металів на поверхні неорганічних носіїв

Носій	Співвідношення
Бентоніт	$\text{Cu}_1$
Модифікований бентоніт	$\text{Fe}_{11,7} \text{Cu}_{5,5} \text{Zn}_1$
Каолін	$\text{Fe}_{89,8} \text{Cu}_{9,8} \text{Ni}_1 \text{Zn}_{19}$
Аеросил - 300	$\text{Fe}_{40,1} \text{Cu}_{3,1} \text{Ni}_1 \text{Zn}_{9,6}$

Аналіз кислотно-основної активності носіїв встановив, що селективність зв'язування оксидоредуктаз різної будови (супероксиддисмутаза і пероксидаза) є функцією концентрації гідроксильних груп на поверхні носія (табл. 3). З підвищенням кількості протонів на поверхні неорганічного матеріалу втрачається селективність зв'язування ферментів. Абсолютна кількість зв'язаного ферменту зменшується за рахунок конкурентного зв'язування оксидоредуктаз інших класів.

Таблиця 3 – Кількість кислих та основних центрів на поверхні неорганічних носіїв до та після іммобілізації ферментного препарату, (ммоль-екв/г)

Система	$[\text{H}^+]$	$\Delta [\text{H}^+]$	$[\text{OH}^-]$	$\Delta [\text{OH}^-]$
Бентоніт	$0,09 \pm 0,005$		$0,08 \pm 0,004$	
Бентоніт + НФП	$0,072 \pm 0,004$	-0,02	$0,08 \pm 0,004$	0
Мод. бентоніт	$0,14 \pm 0,007$		$0,08 \pm 0,006$	
Мод. бентоніт + НФП	$0,14 \pm 0,007$	0	$0,1 \pm 0,006$	+0,02
Каолін	$0,220 \pm 0,01$		–	
Каолін + НФП	$0,320 \pm 0,016$	+0,10	$0,200 \pm 0,010$	+0,20
Аеросил-300	$0,072 \pm 0,004$		$0,200 \pm 0,010$	
Аеросил-300 + НФП	$0,045 \pm 0,002$	+0,06	$0,110 \pm 0,006$	–

Для визначення впливу структурних особливостей мінерального носія на стабільність редокс - активності іммобілізованого ферменту одержано ІЧ – спектри всіх досліджених гетероструктур (рис. 1).

Очевидною є сильна взаємодія препарату з носієм. Аналіз ІЧ - спектрів дозволив пояснити консервуючу дію носія на іммобілізований ферментний препарат з подальшою його активацією у водному середовищі. Так, зникнення у всіх ІЧ-спектрах гетероструктур смуги характерної для  $\delta$ - коливань адсорбційної води пов'язано з утворенням водневих зв'язків білкової частини ферменту з поверхнею носія, що частково утримує фермент від десорбції.

У ІЧ-спектрі каоліну виявлено наявність коливань поверхневого шару води в комплексі типу  $\text{M-OH}_2$ , що вказує на слабку фіксацію води поверхнею мінералу та призводить до нестабільності редокс - активності гетероструктури.



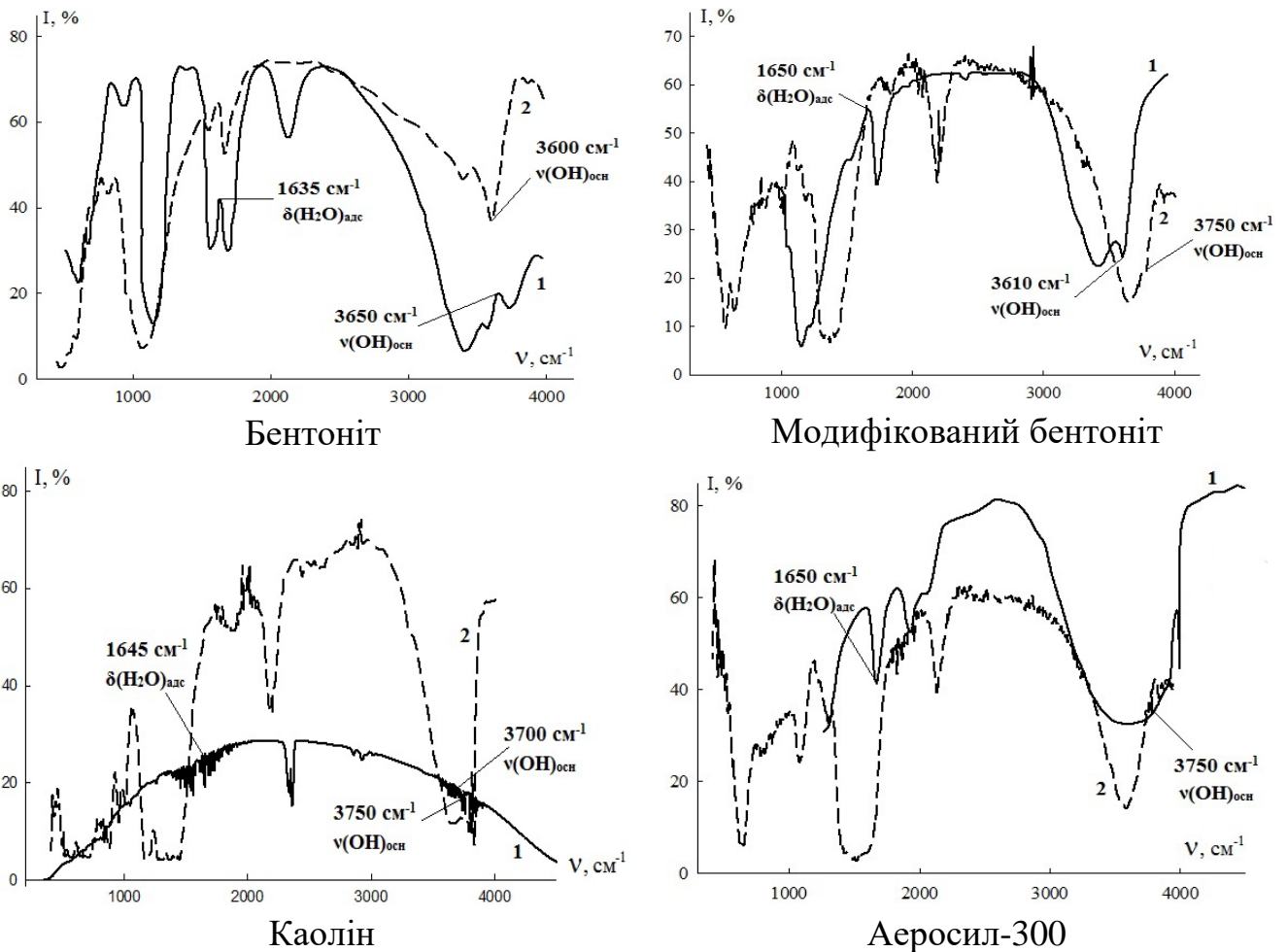


Рисунок 1 – ІЧ - спектри неорганічних носіїв (1) та гетероструктур неорганічний носій-фермент (2)

За результатами досліджень іммобілізації ферментного препарату на неорганічних носіях та даних ІЧ-спектроскопії встановлено зміну механізму зв'язування ферментів з носієм, що суттєво впливає на збільшення його активності (таблиця 4). Так, на бентоніті окислювальна активність збільшується в 7 разів, на модифікованому фосфат-йонами бентоніті - в 3 рази, на каоліні активність практично не змінюється, а на аеросилі-300 вона зростає в 4 рази.

Таблиця 4 – Окислювальна активність іммобілізованих ферментних препаратів відносно субстрата-відновника  $C_6H_4(OH)_2$

Система	$\bar{A}$ , од. акт.
НФП	$0,1 \pm 0,01$
Бентоніт + НФП	$0,7 \pm 0,01$
Мод. бентоніт + НФП	$0,3 \pm 0,001$
Каолін + НФП	$0,12 \pm 0,001$
Аеросил-300 + НФП	$0,42 \pm 0,001$

В електронних спектрах поглинання 20% розчину ферментного препарату (рис. 2) зафіксована смуга поглинання з максимумом при  $29920 \text{ cm}^{-1}$ , яка відповідає  $d-d$  переходу  ${}^4T_{2g} \rightarrow {}^2A_{2g}, {}^2T_{1g}$  іона  $Fe^{3+}$  в октаедричному оточенні. Особливістю поглинання в даному спектрі є прояв переважно переносу заряду, однак невелике розщеплення дублетних і квартетних станів при  $28736$  ( ${}^4T_{2g}$ ) і  $30960$

( ${}^2A_{2g}, {}^2T_{1g}$ )  $\text{cm}^{-1}$  може свідчити про формування низькоспінового комплексу  $Fe^{3+}$

групи симетрії  $O_h$  (рис. 3). Таким чином, для залізовмісних частин ферменту характерні два типи взаємодії з поверхнею носія, обумовлені ковалентним зв'язуванням, а також наявністю слабких електростатичних взаємодій на іоногенних групах поверхні при відсутності стеричних труднощів, зумовлених типом симетрії комплексу заліза.

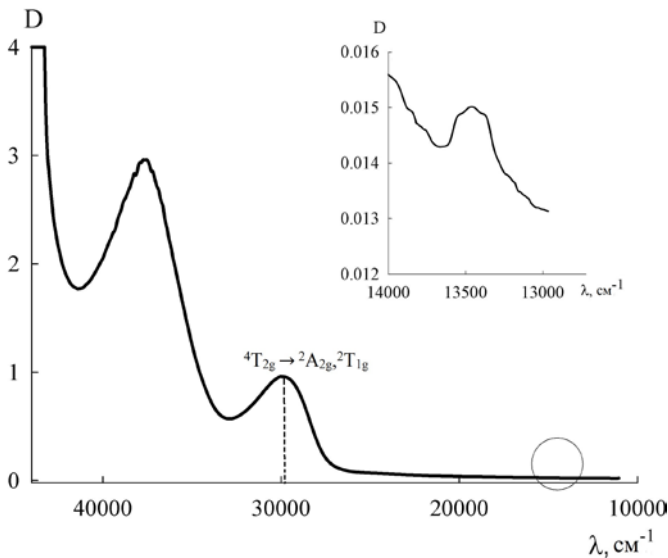


Рисунок 2 – Електронні спектри поглинання ферментного препарату ( $C_{ф.п.}=20\%$ ,  $\lambda=5000 - 11000 \text{ см}^{-1}$ ,  $l=1 \text{ см}$ ): а -  $d-d$  переходи іону  $\text{Fe}^{3+}$ ; б -  $d-d$  переходи іону  $\text{Cu}^{2+}$

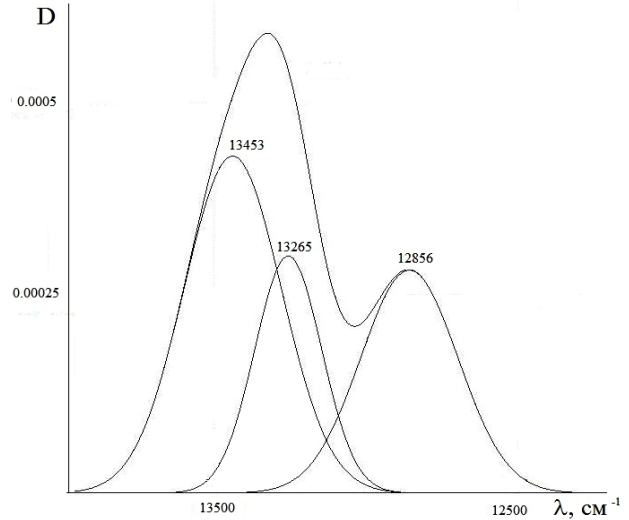


Рисунок 3 – Нормальне (гаусове) розподілення – триплет для  $\text{Cu}^{2+}$

На електронних спектрах поглинання ферментного препарату зафіксована широка розщеплена смуга поглинання з максимумом при  $13453 \text{ см}^{-1}$ , яка віднесена до  $d-d$  переходу  $A_{1g} \rightarrow T_{1g}$  іона  $\text{Cu}^{2+}$  (рис. 3). Така спектральна картина свідчить про наявність у структурному фрагменті ферменту хромофору, який містить 5- координований атом міді. На зниження координаційного числа міді (II) с 6 до 5 вказує і батохромний зсув основного максимуму поглинання ( $\sim 12000 \rightarrow 13500 \text{ см}^{-1}$ ). Вірогідно, координаційний поліедр  $\text{Cu}^{2+}$  відповідає спотвореній тригональній біпіраміді (симетрія  $D_{3h}$ ).

Цей висновок підтверджується наявністю триплету в  $d-d$ -спектрах, що може свідчити про дозвіл трьох електродипольних станів іона міді. Розклад зазначеної смуги на Гаусові складові (рис. 3) показав, що вона складається з трьох компонентів, які мають сильну енергетичну смугу ( $13453 \text{ см}^{-1}$ ), супроводжувану більш слабкими смугами в області низьких частот ( $13265$  и  $12856 \text{ см}^{-1}$ ). Лінійна симетрія комплексу та наявність електродипольних станів збільшує вірогідність фізичної адсорбції, викликані електростатичною взаємодією, а також підвищує ймовірність захоплення і зшивання ферменту з неорганічним носієм.

У **четвертому розділі** подано інформацію про розмір та розподіл частинок у досліджених гетероструктурах, а також їх електрохімічні властивості. Наявність чотирьох основних іонів металів в ферментному препараті приводить до формування різних каталітичних і адсорбційних центрів білкової молекули, що визначається появою різних поверхневих структур (рис. 4).

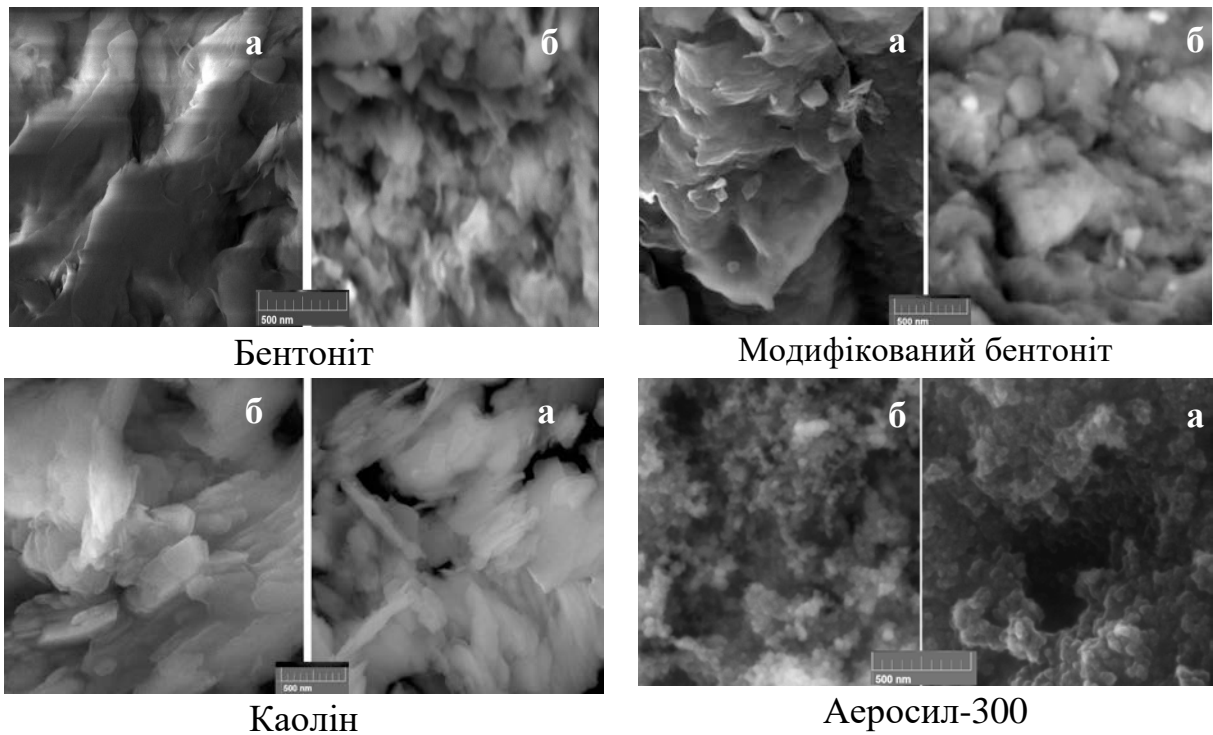


Рисунок 4 – СЕМ зображення гетероструктури (а) і вихідної поверхні неорганічного носія (б)

На основі аналізу СЕМ зображень встановлено, що на бентоніті і модифікованому бентоніті, що мають основну поверхню, активний центр ферменту формує ендотип структури з розривом «внутрішніх» глікозидних зв'язків на поверхні білкової молекули ферменту, уздовж якої і розташовується субстрат. На аеросилі-300 з кислотою поверхнею відбувається формування активного центру екзо-типу з розривом «зовнішніх» глікозидних зв'язків, спрямованого вглиб білкової молекули, структура якого не дозволяє вмістити більше визначеного числа мономерних ланок субстрату. На каоліні, для якого характерна наявність кислих і основних центрів, формуються хаотичні структури. Розміри пор досліджених зразків підтверджують формування певного типу активних центрів (таблиця 5).

Таблиця 5 – Розмір пор носія та гетероструктури на його основі, (нм)

Система	Екзо- тип	Ендо- тип
Бентоніт	100-300	150-200
Бентоніт + НФП	150-300	250-500
Мод. бентоніт	50-250	100-200
Мод. бентоніт + НФП	-	300-400
Каолін	200-300	200-450
Каолін + НФП	200-450	250-500
Аеросил-300	100-250	150-400
Аеросил-300 + НФП	100-450	150-350

Методом СЕІ показано, що наявність сильних протонпровідних властивостей носія прискорює перетворення протондонорного субстрату, а електрон-провідні

властивості впливають на перетворення електрондонорного субстрату. Подібна поведінка відповідає будові ферментів класу оксидоредуктаз, що мають  $\text{VH}^+$  та  $\text{OH}^-$  групи, які зумовлюють сумарну редокс - активність. Тому електрохімічні властивості протона можуть служити тестом для оцінки загальної редокс - активності будь-яких ферментних систем. Встановлено основні причини, що дозволяють цілеспрямовано керувати пероксидажною та оксидажною активністю іммобілізованого ферменту.

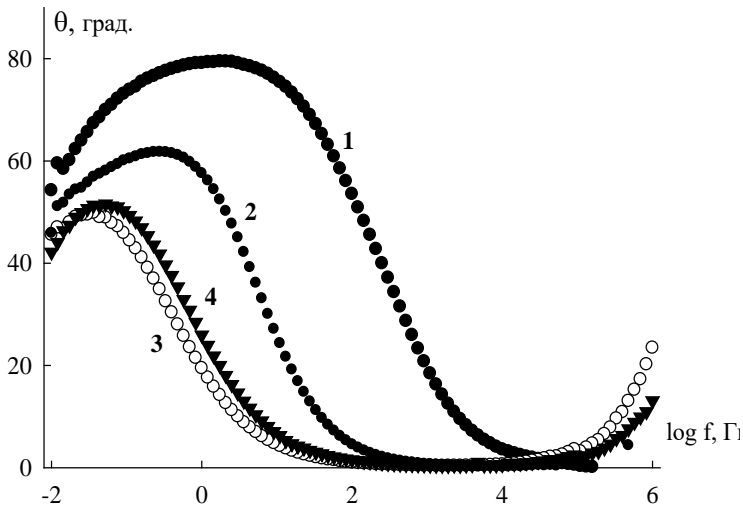


Рисунок 5 – Спектри імпедансу нативного ферментного препарату в координатах Бодє (1), носія - модифікованого бентоніту (2) і гетероструктур з іммобілізованим ферментом в початковий момент часу (3) і після 3 днів витримки в дистильованій воді (4)

Аналіз спектрів СЕІ в координатах Бодє виявив наявність резонансних частотних областей зсувів фазового кута  $\Theta$  у всіх досліджених системах, які були обрані в якості основних зон для отримання значень активного і реактивного опору, і подальшого розрахунку сумарного опору і типу носія заряду (рис. 5, 6).

З огляду на отримані результати, проведено математичний аналіз імпедансу ферментних систем на підставі припущення про участь вільних протонів у формуванні основних носіїв заряду. Знак алгебраїчної суми активного і реактивного опору в спектрах імпедансу  $\sum = R + X$  дозволяє оцінити знак основного носія струму.

Використання запропонованої методики оцінки типу носія заряду і значення його сумарного імпедансу показує, що наявність високих позитивних значень  $\sum = R + X$  приводить до ініціації електронної провідності іммобілізованого ферменту. Максимальну ефективність показав аеросил - 300, що в присутності води підвищує внесок електронної провідності. Зворотній вплив має носій - бентоніт, з високим від'ємним значенням  $\sum = R + X$ , тобто високою протонною провідністю.

Дані математичної обробки добре корелюють з отриманими значеннями кислотно – основних властивостей носія.

Отримані результати дозволяють врахувати взаємодії між ферментом та носієм, а також оцінити стабільність електрохімічної поведінки гетероструктури в цілому в часі.

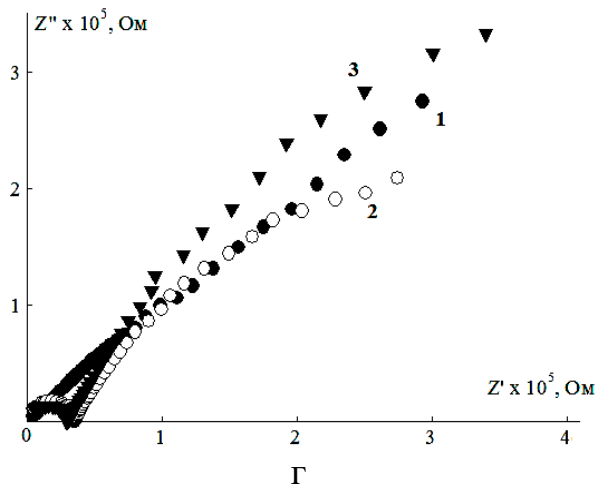
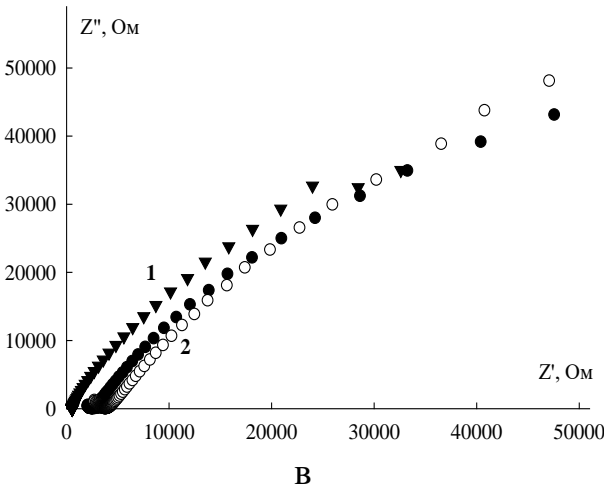
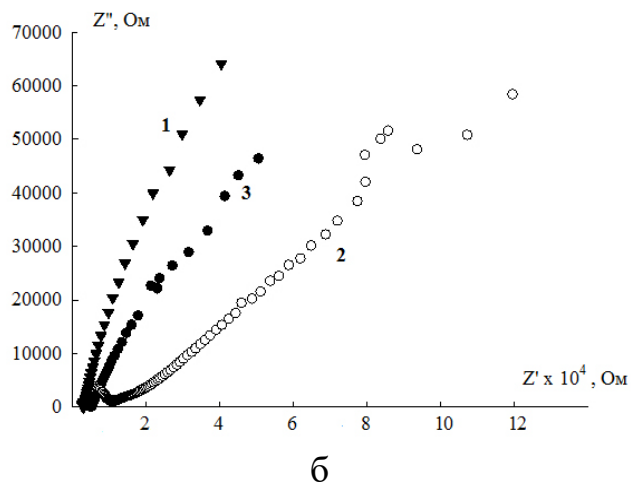
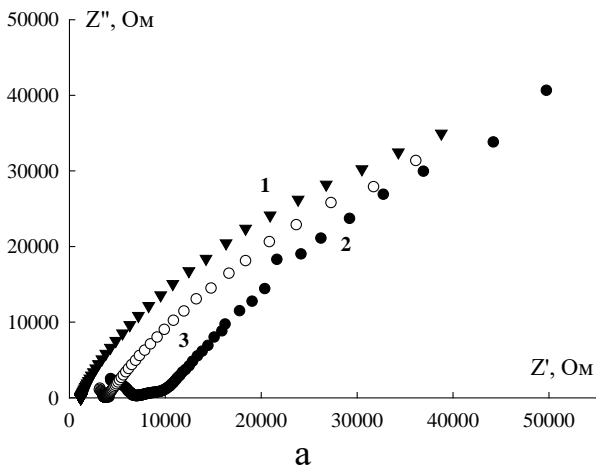


Рисунок 6 – СЕІ 0,5% суспензій ферментного препарату, іммобілізованого на бентоніті (а), каоліні (б), модифікованому бентоніті (в) та аеросилі - 300 (г) у координатах Найквіста: 1 – носій, 2 – синтезована гетероструктура, 3 – через 3 дні витримки іммобілізованих гетероструктур в дистильованій воді

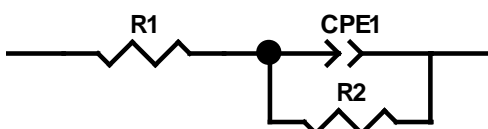
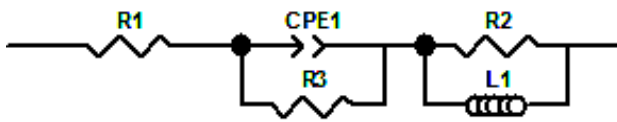


Рисунок 7 – Еквівалентна схема нативного ферментного препарату

Вихідний ферментний препарат характеризується еквівалентною електричною схемою неоднорідного електроліту (рис. 7).

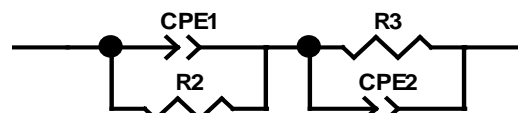
Моделювання досліджених систем методом еквівалентних електричних схем встановило різницю в послідовності з'єднання елементів у гетероструктурах з бентонітом та його кислою формою (рис. 8 а).

Моделювання досліджених систем методом еквівалентних електричних схем встановило різницю в послідовності з'єднання елементів у гетероструктурах з бентонітом та його кислою формою (рис. 8 а).



Бентоніт, модифікований бентоніт

а)



Аеросил-300, каолін

б)

Рисунок 8 – Еквівалентні схеми гетероструктур носій - ферментний препарат

Типові схеми гетероструктур бентоніт - НФП та модифікований бентоніт - НФП формально також моделюють електроліт. Це пов'язано з утворенням квазіго-

могенної системи між носієм та ферментом. Існування опору індуктивності в схемі може бути пов'язане з наявністю редокс – пари з участю йонів металів та протона, які володіють власним магнітним моментом, й узгоджується зі зміною  $|Z|$  та зниженням зсуву фазового кута на діаграмах Бодє (рис. 5).

З іншого боку, на аеросилі-300 та каоліні спостерігається утворення двофазної системи (рис. 8 б), в якій відбувається фізичний процес переносу заряду між фазами. Таким чином, типові еквівалентні схеми вказують на різні електрохімічні властивості синтезованих гетероструктур та можливість їх використання в якості суперконденсаторів або біосенсорів. Для перших необхідна участь у редокс – реакції, для других – лише фізичний перенос заряду.

**П'ятий розділ** присвячений вивченню електрохімічних властивостей синтезованих гетероструктур. Розглянуто використання гетероструктур на основі іммобілізованого ферментного препарату для конструювання суперконденсаторів. На базі отриманих результатів створено систему, що моделює електрод суперконденсатора.

Виміри виконано по screen-printed technology (рис. 9).

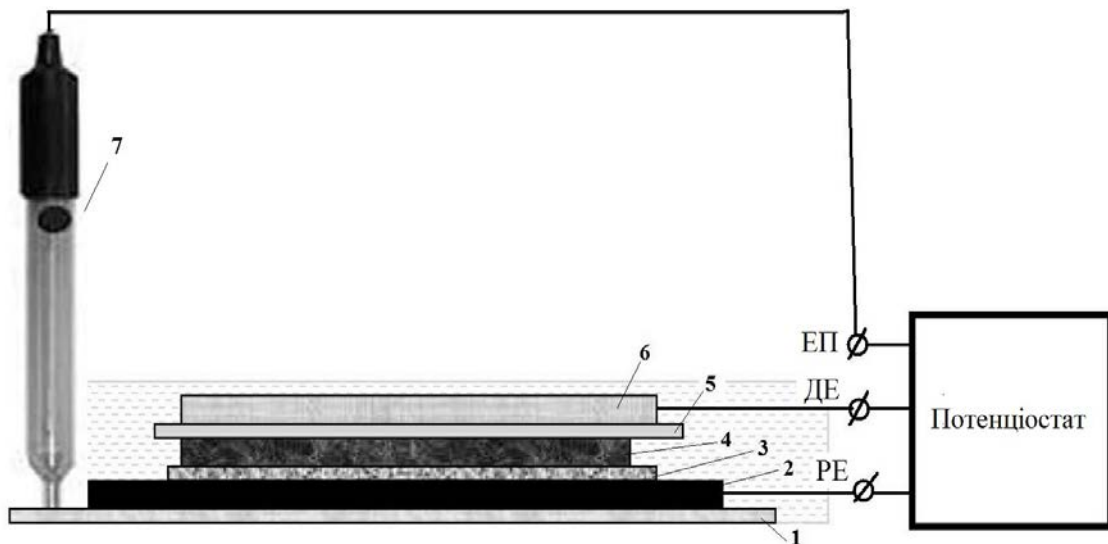


Рисунок 9 – Вимірювальна схема досліджуваних гетероструктур для ЦВА: 1 – фільтрувальний папір, змочений у КСІ; 2 – струмозбірник, 3 - графен (робочий електрод); 4 – гетероструктура; 5 – мембрана (ацетилцелюлоза); 6 – платинований титан (допоміжний електрод); 7 – хлорид-срібний електрод порівняння

Дослідження ЦВА електрохімічних систем встановили значне зростання струмів в присутності матеріалів по відношенню до електрода з графена (рис. 10). По суті, контакт гетероструктура-графен є активним шаром, у якому проявляється електропровідність і фіксується заряд.

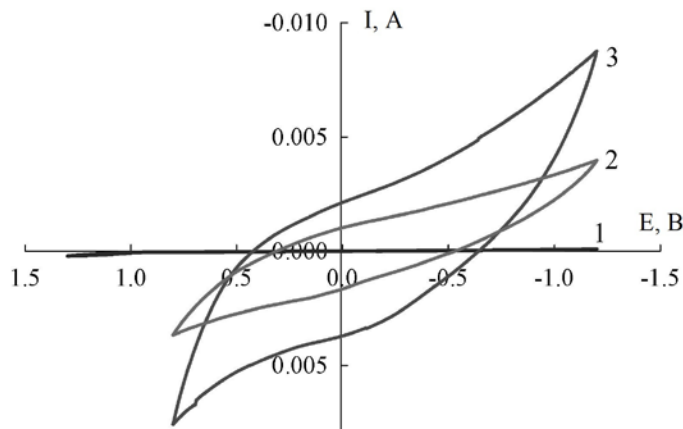


Рисунок 10 – ЦВА гетероструктури: 1- графен, 2- графен – каолін – НФП, 3- графен – аеросил-300 – НФП. Швидкість розгортки потенціалу 5 мВ/с

Встановлено, що максимальна ємність зразків відносно графенового носія досягнута у гетероструктурі аеросил-300 – фермент (рис. 11). Так струми значно, в 10 - 50 разів, перевищують відомі результати, отримані на електродах з використанням чистого ферментного препарату пероксидази.

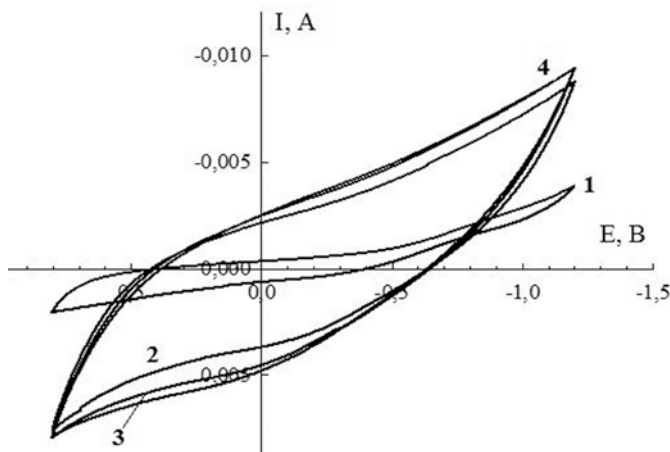


Рисунок 11 - ЦВА гетероструктури аеросил-300 – ферментний препарат в залежності від швидкості розгортки потенціалу (мВ/с): 1 – 5; 2 – 50; 3 – 75; 4 – 100. Електроліт - насичений розчин КСl,  $S_{\text{ел}} = 1.5 \text{ см}^2$ , наважка – 3 мг

На основі досліджень ЦВА гетероструктур при різній швидкості розгортки потенціалу ( $U_2 - U_1$ ), значень різниці ( $\Delta V$ ) початкового і кінцевого потенціалів розгортки  $V_1$  до  $V_2$ , модуля певного струму ( $I$ ) та даних СЕІ по початковій ємності розраховані питомі ємності ( $C$ ) досліджених матеріалів (табл. 6).

Ємність зразка розраховано по відомому співвідношенню:

$$C = \frac{\Delta Q}{\Delta V} = \frac{I \cdot (U_2 - U_1)}{V_1 - V_2} \quad (1)$$

Таблиця 6 – Характеристики зарядової ємності гетероструктур

Система	$C_{\text{поч}}, \text{ Ф/Г}$	$C_{\text{еф}}, \text{ Ф/Г}$
Бентоніт + НФП	0,00062	1,6
Мод. бентоніт+ НФП	0,00114	0,068
Каолін + НФП	0,00174	51,3
Аеросил-300 + НФП	0,00038	95,7

Встановлено, що система на основі аеросилу-300 відрізняється здатністю заряджатися, і при високих швидкостях розгортки потенціалу її ємність в 1,5 рази вище ємності системи на основі каоліну. Матеріали на основі бентонітів виявили значно нижчі показники.

Струми зарядження набагато перевищують відомі результати, отримані на чистих ферментах, та знаходяться на рівні кращих відомих матеріалів розробки останніх років.

Спектр імпедансу суперконденсатора на основі аеросил-300 - ферментний препарат – графен, зібраний у форматі 2016, являє собою класичне півколо, воно характерно для систем, в яких відсутні електрохімічні реакції (рис. 12).

Моделювання дало еквівалентну схему (рис. 13), яка включає паралельно з'єднані опір ( $R_3$ ) і ємність ( $C_1$ ), що характеризує відсутність електродної реакції на міжфазній межі.

Відмінності у поведінці двох груп гетероструктур пояснюються різницею у зв'язуванні фрагментів препарату. Для аеросилу-300 та каоліну характерне неспецифічне зв'язування, тоді як матеріали на основі бентонітів характеризуються специфічним зв'язуванням переважно йонів заліза та міді.

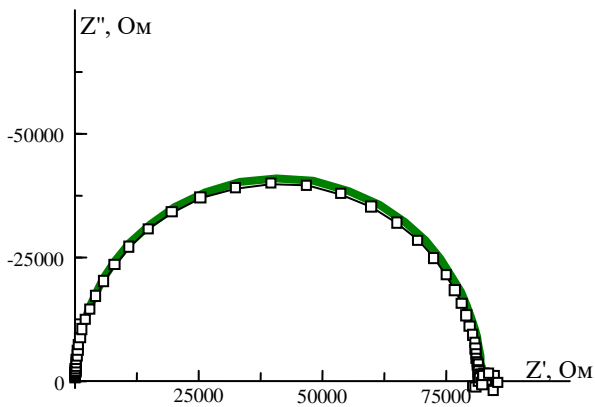


Рисунок 12 – СЕІ елемента на основі аеросил-300 - ферментний препарат - графен

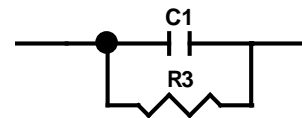


Рисунок 13 – Еквівалентна схема гетероструктури на основі аеросил-300 - ферментний препарат - графен

Для виявлення ефективності отриманих гетероструктур в якості матеріалу для біосенсора та дослідження їх особливостей протестовані біосенсори на глюкозу на основі неорганічний носій – іммобілізований ферментний препарат. Найбільш стабільні дані отримані з використанням носія бентоніту та його кислій форми. Дослідження біосенсора з використанням в якості неорганічного носія каоліну та аеросилу-300 показали нестабільність у часі, а аналітичний сигнал у вигляді значень струму виявився не відтворюваним.

На платформі модифікований бентоніт - фермент сконструйовано біосенсор та досліджено його відгук при додаванні глюкози (рис. 14, 15). Підвищення концентрації аналіту призводить до зростання відгуку струму в часі, а це означає, що сконструйований біосенсор можливо використовувати для визначення глюкози.

Інтенсивність аналітичного сигналу досягнувши свого максимального значення  $0,04 \text{ mA/cm}^2$  не змінювалася в часі. Встановлено, що час відгуку біосенсора становить 1 с, а час релаксації 5 с, що свідчить про високу чутливість сконструйованого біосенсора. Для даного біосенсора спостерігається досить чітка лінійна залежність аналітичного сигналу від кількості субстрату (рис. 15) в області концентрацій  $C_M(C_6H_{12}O_6) = 3 \cdot 10^{-6} - 3 \cdot 10^{-2} \text{ г/мл}$ . При подальшому збільшенні концентрацій від  $3 \cdot 10^{-2}$  до  $0,15 \text{ г/мл}$  під час наступних додавань глюкози значення струму дискретно зростали.



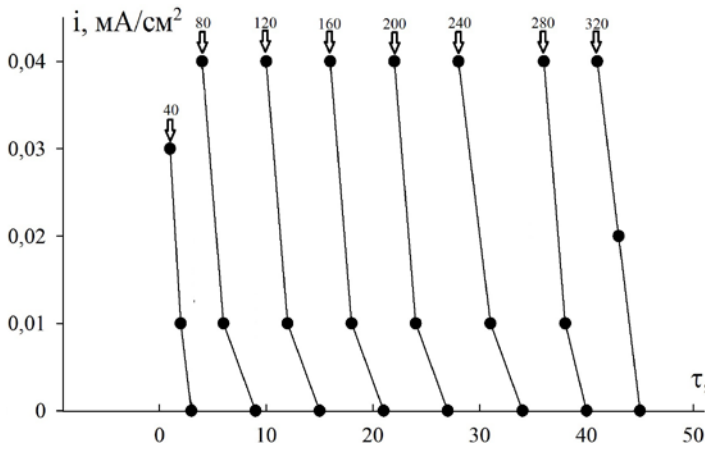


Рисунок 14 – Амперометричні відгуки глюкозного біосенсора на гетероструктурі модифікований бентоніт - фермент при додаванні (в мкл) субстрату ( $C_M(C_6H_{12}O_6) = 0,03$  г/мл)

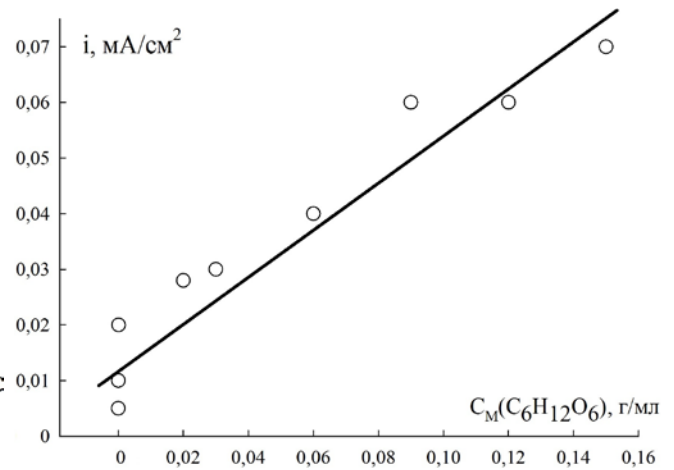


Рисунок 15 – Залежність відгуку струму глюкозного біосенсора на гетероструктурі модифікований бентоніт - фермент від концентрації субстрату ( $C_M(C_6H_{12}O_6) = 3 \cdot 10^{-6} - 0,15$  г/мл)

У таблиці 7 показані зміни часу відгуку та релаксації від щільності струму при додаванні глюкози ( $C_M(C_6H_{12}O_6) = 0,03$  г/мл).

Таблиця 7 – Час відгуку та час релаксації глюкозного біосенсора на гетероструктурі модифікований бентоніт – фермент

$i, \text{mA/cm}^2$	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
$\tau_1, \text{с}$	1	1	1	1	1	2	1
$\tau_2, \text{с}$	2	5	5	5	5	4	5

Встановлено, що кислотно-основні властивості носія є основним фактором впливу на селективність зв'язування ферментів із суміші; вони забезпечують формування систем з різними функціями: основне середовище формує сенсорну активність, а кисле – здатність до накопичування енергії.

## ВИСНОВКИ

У роботі вирішено важливе наукове завдання: синтезовано і вперше систематично досліджено гетероструктури типу неорганічний носій - нативний ферментний препарат класу оксидоредуктаз на прикладі витяжки коренеплоду редьки чорної. Вивчено вплив природи та структури неорганічного носія на фізико-хімічні властивості отриманих гетероструктур та показано можливість застосування синтезованих матеріалів в якості активних мас для створення енергоперетворюючих пристроїв та біосенсорів.

1. На основі комплексу фізико-хімічних методів доведено зміну механізму і селективності зв'язування суміші ферментів з ферментного препарату на неорганічних носіях (бентоніт та його кисла форма, каолін, пірогенний кремнезем), виявлено вплив кислотно-основних властивостей поверхні носія на посилення активності фермент-

ного препарату в результаті іммобілізації та здатність зберігати її в часі. Так, на бентоніті окислювальна активність збільшується в 7 разів, на модифікованому фосфат-іонами бентоніті - в 3 рази, на каоліні активність практично не змінюється, а на аеросилі-300 зростає в 4 рази.

2. Встановлено, що наявність чотирьох основних іонів металів ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) у ферментному препараті формує різні за складом гетероструктури з різними властивостями. Виявлено, що природний бентоніт селективно зв'язує іони  $\text{Cu}^{2+}$ , модифікований фосфат-іонами бентоніт – іони  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , а аеросил-300 та каолін – всі чотири іона металу ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ). Це вказує на можливість формування структур на основі суміші ферментів класу оксидоредуктаз, або суміші пероксидази з супероксиддисмутазою.
3. Вперше показано, що редокс - активністю іммобілізованого нативного ферменту можна керувати застосуванням носіїв з переважно електронною або протонною електропровідністю, які впливають на окисні або відновні властивості новоствореної системи. Застосовано метод оцінки впливу матеріалу носія на редокс - активність гетероструктури та її стабільність у часі на основі алгебраїчної суми значень активного і реактивного опорів системи.
4. Аналізом СЕІ в неорганічних системах на базі каоліну та пірогенного кремнезему з іммобілізованими ферментами показана можливість формування гетероструктур, що відповідають за накопичення енергії. Доведено, що зв'язування просторово розділених ферментів проявляє стабілізуючий вплив на формування областей, здатних накопичувати заряд і реалізовувати редокс - перетворення. Такі електрохімічні системи графен – НФП здатні заряджатися і мають високу питому ємність - до 95 Ф/г, на рівні кращих зразків суперконденсаторів на біологічній основі.
5. Встановлено, що специфічність зв'язування переважно іонів заліза надає можливість використання синтезованих гетероструктур на основі бентоніту та його модифікованої форми як ефективних і перспективних активних шарів графенових електродів для іммобілізації ферментів при створенні амперометричних біосенсорів на глюкозу з високим вихідним сигналом. Виявлено, що час відгуку біосенсора становить 1 с, а час релаксації - 5 с.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вяткина О.В. Каталитическая активность пероксидазы редьки чёрной относительно неорганического субстрата  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  / Вяткина О.В., Лаврентьева И.В., **Ермакова М.О.** // Ученые записки ТНУ им. В. И. Вернадского. – Серия «Биология и химия», 2011. – Т.24(63), №1. – С. 190–195. (*Особистий внесок здобувача: визначення середньої молярної активності ферменту, обговорення результатів, участь у написанні та оформленні статті*).
2. Вяткина О. Каталитична активність пероксидази редьки чорної щодо субстратів-відновників різної природи / Вяткіна О., Лаврентьева І., **Ермакова М.** // Вісник Львівського ун-ту. – Сер. хімічна, 2012. – № 53. – С. 357–362. (*Особистий внесок здобувача: дослідження каталітичної дії ферменту, участь в підготовці рукопису і обговоренні результатів*).
3. **Ходыкина М.О.** Электрохимические свойства иммобилизованных ферментных

- препаратов *Raphanus sativus l. Var. Niger* на водонерастворимых подложках / **Ходыкина М.О.** Першина Е.Д., Каздобин К.А. // Укр. Хим. Журн. – 2015. – Т. 81, № 4. – С. 116–119. (*Особистий внесок здобувача: синтез гетероструктур, розшифровка ІЧ- спектрів, участь в підготовці рукопису і обговоренні результатів*).
4. Pershina K.D. Analysis of the activity of immobilized enzyme preparations of black horseradish using electrochemical impedance spectroscopy / Pershina K.D., **Khodykina M.O.**, Kazdobin K.A. // Surface Engineering and Applied Electrochemistry – 2015. – Vol. 51, No. 6. – pp. 572–580. (*Особистий внесок здобувача: іммобілізація неорганічних носіїв, дослідження каталітичної активності ферменту, обговорення результатів, написання та оформлення статті*).
  5. **Ходыкина М.О.** Стабилизация нативного ферментного препарата на неорганических носителях каолине и аэросиле / Ходыкина М.О., Першина Е.Д., Каздобин К.А., Трунова Е.К. // Укр. Хим. Журн. – 2016. – Т. 82, № 9. – С. 57–63. (*Особистий внесок здобувача: синтез гетероструктур, участь в підготовці рукопису і обговоренні результатів*).
  6. **Khodykina M.O.** Immobilization of the *Raphanus sativus l. Var. Niger* enzyme preparation on natural bentonite and bentonite modified by phosphate ions / **Khodykina M.O.**, Pershina K.D., Kazdobin K.A., Trunova E.K. // Surface Engineering and Applied Electrochemistry – 2017. – Vol. 53, No. 2. – pp. 196–201. (*Особистий внесок здобувача: іммобілізація препарату, розшифровка SEM зображень, обговорення результатів, написання та оформлення статті*).
  7. Субстратна специфічність пероксидази редьки чорної, що іммобілізована на бентоніті / Лаврентьєва І.В., **Єрмакова М.О.**, Вяткіна О.В. // 13 наук. Конф. «Львівські хімічні читання - 2011» – Львів, Україна. – 28 травня-1 червня 2011. – С. 23.
  8. Иммобилизация как метод стабилизации и повышения активности растительных пероксидаз / Вяткина О.В., **Єрмакова М.О.** // Международная конференция «Прикладная физико - неорганическая химия» – Севастополь, Украина. – 2-7 октября 2011. – С. 243.
  9. Влияние природы подложки на каталитическую активность пероксидазы редьки черной относительно фенольных субстратов в водных системах / **Єрмакова М.О.**, Вяткіна О.В. // Зб. тез IV Міжнар. Конф. студентів, аспірантів та молодих вчених НТУУ «КПІ», ХТФ – Київ, Україна. – 4-6 квітня 2012. – С. 233.
  10. Анализ каталитической активности пероксидазы редьки чёрной методом спектроскопии импеданса / **Ходыкина М.О.**, Каздобин К.А. // Зб. тез Восьмої Всеукраїнської наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодні» – Донецьк, Україна. – 17-20 березня 2014. – С. 65.
  11. Электрохимическая оценка совместимости носителя и фермента / Каздобин К.А., Першина Е.Д., **Ходыкина М.О.**, Коханенко В.В. // Збірник тез XIX Української конференції з неорганічної хімії за участю закордонних учених – Одеса, Україна. – 7-11 вересня 2014. – С. 123.
  12. Electrochemical activity of immobilized enzyme preparation of black horseradish on inorganic carries / **Khodykina M.O.**, Pershina K.D., Kazdobin K.A. // 7th International Conference on Chemistry and Chemical Education «Sviridov readings - 2015» – Minsk, Belarus. – April 7-11, 2015. – P. 78.

13. Адсорбционные явления при иммобилизации оксидоредуктаз на поверхности дисперсных алюмосиликатов / **Ходыкина М.О.**, Першина Е.Д., Каздобин К.А. // 36. тез Всеукраїнської конф. з міжнародною участю «Хімія, фізика і технологія поверхні» – Київ, Україна. – 13-15 травня 2015. – С. 70.
14. Природа иммобилизации ферментного препарата *Raphanus sativus l. Var. Niger* на водонерастворимых неорганических подложках / **Ходыкина М.О.**, Каздобин К.А., Трунова Е.К., Першина Е.Д // VIII Всеукраїнська наукова конференція студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання-2016» – Харків, Україна. – 18-20 квітня 2016. – С. 197-198.
15. Electrochemical properties of composites based on the system of the immobilized enzyme preparation *Raphanus sativus l. Var. Niger* – graphene / **Khodykina M.O.**, Pershina K.D., Kazdobin K.A. // 36. тез Всеукраїнської конференції з міжнародною участю «Хімія, фізика і технологія поверхні» – Київ, Україна. – 17-18 травня 2016. – С. 65.
16. Voltammetric Responses of Black Horseradish Enzyme preparation immobilized on Kaolin and Aerosil / **Khodykina M.O.**, Pershina K.D., Kazdobin K.A., Shulga S.V. // The 8th Int. Conference on Materials Science and Condensed Matter Physics – Chisinau, Moldova. – September 12-16, 2016. – P.296.
17. **Ходыкина М.О.** Физико-химические свойства композитных материалов на основе неорганических силикатов и ферментного препарата // Тез. Конф. Молодых ученых Института общей и неорганической химии им. В.И. Вернадского НАН Украины – Киев, Украина. - 17-18 ноября 2016. – С. 22-23.

## АНОТАЦІЯ

**Ходикіна М.О. Формування гетероструктур в системі неорганічний носій-нативний ферментний препарат класу оксидоредуктаз** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.04 – фізична хімія. – Інститут загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України, Київ, 2017.

На основі порівняльного аналізу фізико-хімічних властивостей синтезованих гетероструктур типу неорганічний носій - ферментний препарат редьки чорної виявлено відмінності в поведінці гетероструктур на різних носіях, обумовлені проявом відмінностей в механізмах зв'язування ферментного препарату з неорганічним носієм. Визначальним фактором є природа і кислотно-основні властивості поверхні утвореної гетероструктури. Встановлено, що вибірковість зв'язування оксидоредуктаз різної будови (супероксиддисмутази і пероксидази) є функцією концентрації гідроксильних груп на поверхні носія. Так з підвищенням кількості кислих центрів на поверхні неорганічного матеріалу втрачається вибірковість зв'язування ферментів. В результаті кількість зв'язаної пероксидази зменшується за рахунок конкурентного зв'язування оксидоредуктаз інших класів.

Показана можливість формування структур, здатних накопичувати заряд в неорганічних системах з пірогенним кремнеземом, іммобілізованим ферментним препаратом та графеном, а також реалізовувати в них редокс - перетворення. Осно-

вний вплив на функціональні властивості гетероструктур має не площа поверхні, а кількість кислих і основних центрів на поверхні носія. Підвищення кількості кислих центрів обумовлює неселективне зв'язування різних оксидоредуктаз, що призводить до різкого збільшення струмів заряджання композитних електродів і припускає значний вплив синергізму на електрохімічні властивості систем. Збільшення кількості основних центрів на поверхні неорганічних носіїв обумовлює селективне зв'язування. Встановлена ефективність і перспективність використання синтезованих гетероструктур на основі бентоніту та його модифікованої форми як активних мас для амперометричних біосенсорів на глюкозу з високими струмами відгуку, а каоліну та аеросилу 300 - як енергоперетворюючих пристроїв (суперконденсаторів) з ємністю до 95 Ф/г.

**Ключові слова:** *гетероструктура, фермент, іммобілізація, бентоніт, аеросил, каолін, вольтамперометрія, імпеданс, біосенсор, суперконденсатор.*

## АННОТАЦІЯ

**Ходыкина М.О** **Формирование гетероструктур в системе неорганический носитель - нативный ферментный препарат класса оксидоредуктаз – на правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.04 – физическая химия. – Институт общей и неорганической химии им. В.И. Вернадского НАН Украины, Киев, 2017.

На основании сравнительного анализа физико-химических свойств синтезированных гетероструктур типа неорганический носитель - ферментный препарат редко черной выявлены различия в поведении гетероструктур на различных носителях, обусловленные проявлением различий в механизмах связывания ферментного препарата с неорганическим носителем. Определяющим фактором является природа и кислотно-основные свойства поверхности образованной гетероструктуры. Установлено, что избирательность связывания оксидоредуктаз различного строения (супероксиддисмутаза и пероксидаза) является функцией концентрации гидроксильных групп на поверхности носителя. Так с увеличением количества кислых центров на поверхности неорганического материала теряется избирательность связывания ферментов. В результате количество связанного фермента уменьшается за счет конкурентного связывания оксидоредуктаз других классов.

Показана возможность формирования структур, способных накапливать заряд в неорганических системах с пирогенным кремнеземом, иммобилизованным ферментным препаратом и графеном, а также реализовывать в них редокс - превращения. Основное влияние на функциональные свойства гетероструктур имеет не площадь поверхности, а количество кислых и основных центров на поверхности носителя. Повышение количества кислых центров обуславливает неселективное связывание различных оксидоредуктаз, что приводит к резкому увеличению токов заряда и предполагает значительное влияние синергизма на электрохимические свойства исследованных систем. Увеличение количества основных центров на поверхности не-

органических носителей обуславливает селективное связывание. Установлена эффективность и перспективность использования таких синтезированных гетероструктур на основе бентонита и его модифицированной формы как активных масс для биосенсора на глюкозу с высокими токами отклика, а каолина и аэросила 300 - как устройств преобразования энергии (суперконденсаторов) емкостью до 95 Ф/г.

**Ключевые слова:** *гетероструктура, фермент, иммобилизация, бентонит, аэросил, каолин, вольтамперометрия, импеданс, биосенсор, суперконденсатор.*

## SUMMARY

**Khodykina M.O. The formation of heterostructures in the system of inorganic carrier - native enzyme preparation of the class of oxidoreductases – Manuscript.**

Thesis for the scientific degree of the Candidate of Chemical Sciences in the speciality 02.00.04. – Physical Chemistry. – Vernadsky Institute of General and Inorganic Chemistry of the Ukrainian National Academy of Science, Kyiv, 2017.

Coming from the comparative analysis of physico-chemical properties of the synthesized heterostructures based on inorganic carrier - enzyme preparation of the black radish the differences in the behavior of heterostructures on various media are revealed caused by differences in the mechanisms of binding of the enzyme preparation with the inorganic carrier. The determining factor is the nature and acid-base properties of the surface of the formed heterostructure. The selectivity of binding of different structure of oxidoreductases (peroxidases and superoxide dismutases) is found as a function of the concentration of hydroxyl groups on the carrier surface. Thus the increasing number of acidic centers on the surface of the inorganic material loses selectivity of enzymes binding. As a result, the amount of bound enzyme is reduced by the competitive binding of other classes of oxidoreductases.

The possibility of formation of structures capable for charge storage in inorganic systems with aerosil-300, immobilized enzyme and graphene, allows to implement them in a redox transformations. The main influence on the functional properties of heterostructures has not a surface area and the amount of acidic and basic centers on the surface of the carrier. Increasing the amount of acid centers causes various nonselective binding of oxidoreductase, which results in a sharp increase in charge current and assumes a significant impact on the electrochemical properties of synergism systems studied. Increasing the number of basic centers on the surface of inorganic carriers causes selective binding. The efficiency and prospects of use of synthesized heterostructures based on bentonite and its modified form as the platforms for biosensor on glucose determination with high output signal is shown. Heterostructures based on kaolin and aerosil-300 could be promising materials in devices for energy conversion (supercapacitors) with capacities up to 95 F/g.

**Keywords:** *heterostructure, enzyme, immobilization, bentonite, modified bentonite, aerosil, kaolin, voltammetry, impedance, biosensor, supercapacitor.*

Підписано до друку 22.05.2017 р. Формат 60x90/16.  
Папір офісний. Гарнітура Таймс Нью Роман.  
Ум. друк. арк. 0,9. Тираж 100. Зам. № 2429

---

Надруковано ФОП «Черенок К.В.»  
Свідоцтво В02 №353856 від 25.09.2006 р.  
м. Київ, вул. Пушкінська, 45/2  
тел.: (044) 235-81-92, 228-45-05