

Рис. 1. Залежність сорбції іонів Pd(II) (1, 2, 3) та оловохлоридних комплексів Pd(II) (1', 2', 3') від рН розчинів і концентрації HCl: 1, 1' – АПТМС-СГ, 2, 2' – ДТКС-СГ, 3, 3' – ПГМГС-СГ

Поверхня ПГМГС-СГ у розчині заряджена позитивно, тоді як оловохлоридний комплекс паладію –  $[\text{PdCl}_2(\text{SnCl}_3)_2]^{2-}$  є негативно зарядженим [6]. У зв'язку з цим можна припустити, що сорбція проходить за аніоно-обмінним механізмом, про що також свідчить і висока швидкість установа сорбційної рівноваги. Однак із часом на поверхні АПТМС-СГ і ДТКС-СГ відбувається перегрупування лігандів навколо центрального атому Pd(II) в оловохлоридному комплексі. Завдяки тому, що комплекси паладію із сірковмісними лігандами є стійкішими, то, очевидно, відбувається заміщення ліганду  $(\text{SnCl}_3)^{-}$  на сірковмісні. Таким чином паладій ковалентно закріплюється на поверхні досліджуваних сорбентів. Можна припустити, що в процесі сорбції оловохлоридного комплексу паладію на АПТМС-СГ і ДТКС-СГ він

УДК: 543.253:543.9

координується біля  $\text{NH}_3^+$ -груп, що входять до складу ПГМГС, а потім "переходить" на сусідні функціональні групи, у складі яких є атоми сірки.

**Висновки.** Досліджено взаємодію оловохлоридних комплексів паладію з силікагелями, що містять сірковмісні функціональні групи. Визначено оптимальні умови сорбції оловохлоридних комплексів паладію на досліджуваних сорбентах. Показано, що застосування  $\text{SnCl}_2$  сприяє кількісному вилученню паладію з розчинів за допомогою розглянутих сорбентів. Установлено, що при сорбції оловохлоридних комплексів паладію на поверхні АПТМС-СГ і ДТКС-СГ відбувається перегрупування з переходом іонів  $[\text{PdCl}_2(\text{SnCl}_3)_2]^{2-}$  з аніонообмінних груп ПГМГС фрагмента сорбенту на сірковмісні, що супроводжується його руйнуванням.

1. Гинзбург С.И., Езерская Н.А., Прокофьева И.В. и др. Аналитическая химия платиновых металлов. – М., 1972. 2. Лещенко В.Н., Андрианова Е.Б., Легенчук А.В., Трофимчук А.К. Сравнительное концентрирование металлов сорбентами с серосодержащими функциональными группами, закрепленными на поверхности различными способами // Доп. НАН Украины. – 2006. – № 12. – С. 54-57. 3. Лисичкин Г.В., Кудрявцев Г.В., Нестеренко П.Н. Химически модифицированные кремнеземы и их применение в неорганическом анализе // Журн. аналит. хим. – 1983. – Т. 38, № 9. – С. 1684-1705. 4. Лосев В.Н., Кудрина Ю.В., Трофимчук А.К. Особенности взаимодействия оловохлоридных комплексов палладия и платины с N-(2,6-диметил-4-метилентрифенилфосфонийхлорид)фенил N-пропилтиомочевинными группами, ковалентно закрепленными на поверхности кремнезема // Журн. неорг. хим. – 2003. – Т. 48, № 6. – С. 923-930. 5. Малофеева Г.И., Петрухин О.М. Хелатообразующие гетероцепные сорбенты на основе аминов различной основности и их применение для концентрирования металлов // Журн. аналит. хим. – 1992. – Т. 47, № 3. – С. 456-465. 6. Шленская В.И., Бирюков А.А., Морякова Л.Н. Спектрофотометрическое исследование условий образования комплексных соединений палладия (II) с хлоридом олова (II) в растворе // Журн. неорг. химии. – 1969. – Т. 14, № 2. – С. 496-501. 7. Donald E. Leyden, G. Howard Luttrell. Preconcentration of trace metals using chelating groups immobilized via silylation // Anal. Chem. – 1975. Vol. 47, № 9. – P. 1612-1618.

Надійшла до редколегії 12.01.07

Т. Рожанчук, асп.,  
Є. Мазуренко, студ.,  
О. Наджафова, канд. хім. наук

## МОДИФІКУВАННЯ ВУГЛЕСИТАЛОВОГО ЕЛЕКТРОДА ПЛІВКОЮ НА ОСНОВІ ОКСИДУ СИЛІЦІУ ТА ГЕМОГЛОБІНУ МЕТОДОМ ЕЛЕКТРООСАДЖЕННЯ

Показано можливість модифікування вуглеситалового електрода тонкою плівкою на основі оксиду силіцію і гемоглобіну методом електроосадження. Установлено оптимальні умови модифікування електрода, за яких утворюється стійке однорідне покриття, а саме: вміст катіонної поверхневої активної речовини та гемоглобіну в золі оксиду силіцію, потенціал і час електроосадження. Гемоглобін, капсульований у плівці, отриманий за даних умов, є електрохімічно та каталітично активним.

It was shown the possibility of modification of carbon electrode with silica and haemoglobin based thin film using method of electrodeposition. The optimal conditions of electrode modification under which stable homogeneous coating was obtained were determined, i.e. concentration of cationic surfactants and haemoglobin in the silica sol, potential and time of electrodeposition. Haemoglobin encapsulated in the film obtained under these conditions was electrochemically and catalytically active.

**Вступ.** Розробка чутливих елементів безмедіаторних амперметричних біосенсорів третього покоління є одним із актуальних завдань сучасної аналітичної хімії. Перспективним напрямком в цій області є іммобілізація білків на поверхні електродів і подальше їхнє застосування в аналізі [1]. Перевагою використання білків як аналітичних реагентів є їхня селективність і висока чутливість визначення субстратів. Фермент пероксидаза є класичним білком, котрий використовується в біоаналітичній хімії, проте для нього характерні низька стійкість і висока вартість препаратів. Альтернативою пероксидази є інші білки класу гемпротейнів, зокрема гемоглобін

(Hb), який має слабо виражені властивості ферменту в живих організмах, однак виявляє високу пероксидазну активність при закріпленні на поверхні твердих носіїв, зокрема вугільних електродів. Завдяки присутності порфіринового комплексу феруму у складі Hb, білок є електроактивним, з іншого боку, цей білок є стійкішим і доступнішим, ніж пероксидаза, тому все більше застосовується як чутливий елемент біосенсорів [8–10]. Разом з тим, залишається актуальною проблема підвищення чутливості таких сенсорних елементів за рахунок збільшення кількості електроактивних молекул білка на поверхні модифікованих електродів і забезпечення відтворюваності

© Рожанчук Т., Мазуренко Є., Наджафова О., 2007

аналітичного сигналу шляхом міцнішого закріплення гемопротейнів на поверхні електрода.

Одним із найкращих методів закріплення біомолекул на поверхні електродів є капсулювання їх у тонких плівках оксиду силіцію ( $\text{SiO}_2$ ), за низькотемпературною золь-гель технологією [2; 5; 8]. Матеріали на основі  $\text{SiO}_2$ , одержані таким чином, є хімічно інертні щодо біомолекул, мають тривимірну пористу структуру, що дозволяє зберігати конформаційну рухливість білків. Гемпоротеїни, капсульовані в  $\text{SiO}_2$  на поверхні вугільного електрода, мають високу електрокаталітичну активність щодо розчиненого у воді кисню і пероксиду водню. Однак через певний час роботи спостерігається зниження амперометричного сигналу модифікованого електрода, що є результатом часткового вимивання білків із плівки  $\text{SiO}_2$  та її руйнування. Один зі шляхів поліпшення стійкості плівок на поверхні електродів і закріплення в них білків – це ведення в золь  $\text{SiO}_2$  міцелярних розчинів катіонних поверхнево-активних речовин (КПАР), зокрема цетилтриметиламоній бромід (ЦТАБ). Дана сполука підвищує ступінь структурованості золь-гель синтезованих матеріалів і сприяє міцнішому закріпленню гідрофобних молекул всередині пор [5–7].

Для одержання рівномірних тонких плівкових покриттів  $\text{SiO}_2$  на поверхні електродів перспективним вважається метод електроосадження, суть якого полягає в тому, що на електрод, занурений у золь  $\text{SiO}_2$ , накладається електронегативний потенціал, що спричиняє утворення гідроксил-іонів, які відіграють роль каталізатора реакції поліконденсації попередньо прогрідированих алкоксисиланів. Регулюючи час і величину прикладеного потенціалу можна одержувати структуровані плівки товщиною 100–400 нм [3]. Нещодавно даний метод був застосований для модифікування скловуглецевих електродів плівками на основі  $\text{SiO}_2$ , які містили гемоглобін. Показано, що білки за даних умов модифікування залишаються каталітично активними [4].

Метою даної роботи було оптимізувати умови модифікування вуглесталового електрода (ВЕ) плівкою на основі  $\text{SiO}_2$  і Hb, одержаною за золь-гель технологією, методом електроосадження, а саме вивчити вплив параметрів електроосадження і складу золю на вольтамперометричні характеристики модифікованого електрода, з метою подальшого аналітичного застосування.

**Об'єкти й методи досліджень.** У роботі використовували бідистильовану воду, тетраетоксисилан (ТЕОС) "Aldrich", розчин Hb "Sigma", який готували розчиненням точної наважки препарату в  $0,01 \text{ моль/дм}^3$  фосфатному буфері, рН 6,0. Як КПАР застосовували ЦТАБ "Sigma". Інші препарати, використані в роботі, були кваліфікації х.ч.

Електрохімічні вимірювання проводили на вольтамперометричному аналізаторі "АВА-2" (Санкт-Петербург, Росія) у триелектродній комірці: індикаторний електрод – ВЕ, електрод порівняння – хлорид срібний, допоміжний електрод – платиновий. Як фоновий електроліт використовували  $7 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3$  фосфатні буферні розчини рН 6,0 і 6,5; швидкість розгортки потенціалу 100 мВ/с. Для видалення кисню через розчин об'ємом 20 мл у комірці попередньо перед вимірюваннями пропускали азот протягом 10 хв.

**Методики експерименту.** Золь  $\text{SiO}_2$  одержували кислотним гідролізом ТЕОС (рН 2,4). Перед модифікуванням електрода в золь додавали по  $0,08 \text{ см}^3$   $0,07 \text{ моль/дм}^3$  фосфатного буферу рН 6,0 та розчину Hb певної концентрації, золь  $\text{SiO}_2$  – Hb перемішували

протягом 30 с. Для дослідження впливу КПАР розраховану наважку ЦТАБ вносили в золь  $\text{SiO}_2$  після додавання фосфатного буферу, перемішували протягом 1 хв до повного розчинення КПАР, потім додавали розчин Hb і перемішували ще 30 с. Одержували золь  $\text{SiO}_2$  – ЦТАБ – Hb.

Перед модифікуванням ВЕ шліфували алмазною пастою, промивали етанолом і бідистильованою водою, висушували. Модифікували ВЕ двома методами: електроосадження і нанесення плівки  $\text{SiO}_2$  – Hb за процедурою "spin-coating". Для модифікування електрода за процедурою "spin-coating"  $1 \cdot 10^{-3} \text{ см}^3$  золю  $\text{SiO}_2$  – Hb за допомогою мікропіпетки наносили на електрод, далі електрод обертали 30 с при швидкості 1000 об/с за допомогою спеціальної приставки й висушували при кімнатній температурі протягом доби.

Для модифікування електрода методом електроосадження ВЕ і платиновий електрод занурювали в золь  $\text{SiO}_2$  – Hb або  $\text{SiO}_2$  – ЦТАБ – Hb, електрод порівняння занурювали у фосфатний буфер рН 6,0, обидва розчини з'єднували електролітичним містком, далі на ВЕ накладали постійний потенціал  $(-1,0) \div (-1,3) \text{ В}$  протягом  $5 \div 15 \text{ с}$ . Після електроосадження електрод промивали бідистильованою водою і висушували на повітрі. Одержували ВЕ, модифікований плівкою на основі оксиду силіцію і гемоглобіну: ВЕ  $\text{SiO}_2$  – Hb та ВЕ  $\text{SiO}_2$  – ЦТАБ – Hb.

**Результати та їх обговорення.** На рис. 1 наведено циклічні вольтамперограми немодифікованого та модифікованого методом електроосадження ВЕ. На катодній і анодній кривій для ВЕ  $\text{SiO}_2$  – Hb у розчині фонового електроліту з видаленим киснем помітно невеликі хвилі при  $E_{1/2}^k = -0,09 \text{ В}$  і  $E_{1/2}^a = -0,20 \text{ В}$  (рис. 1, кр. 2). На вольтамперограмі немодифікованого ВЕ таких хвиль не спостерігається (рис. 1, кр. 1). Можна зробити висновок, що дані хвилі відповідають електрохімічній парі  $\text{Fe(II)/Fe(III)}$  порфіринового комплексу Hb. Аналогічні результати отримані раніше для вугільних електродів, модифікованих Hb, але  $E_{1/2}$  їхніх піків зсунуті в бік більш електронегативних потенціалів [4; 5; 10].

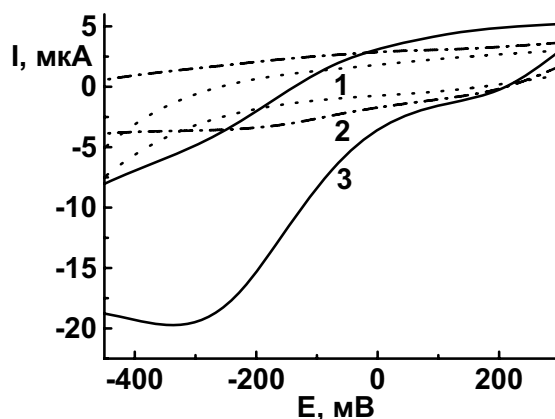


Рис. 1. Вольтамперограми немодифікованого ВЕ (1) і ВЕ  $\text{SiO}_2$  – Hb, модифікованого методом електроосадження (2, 3), одержані у фоновому розчині без видалення (1, 3) і з видаленням (2) розчиненого у воді кисню. Фон – фосфатний буфер рН 6,5  $C = 7 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3$  (1) і  $7 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3$  (2, 3)

У присутності розчиненого у воді кисню на вольтамперограмі ВЕ  $\text{SiO}_2$  – Hb видно різке зростання величини сили катодного струму (рис. 1, кр. 3). Згідно з літературними даними, це пояснюється електрокаталітичним відновлен-

ням кисню на поверхні електрода, що містить капсульований Hb [4; 5]. Отже, на поверхні BE SiO<sub>2</sub> – Hb білок є електроактивним і виявляє каталітичні властивості. Надалі як аналітичний відгук BE SiO<sub>2</sub> – Hb використовували величину катодного струму ( $I_k$ ) для вольтамперограм, одержаних у фоновому розчині без видалення кисню.

Для BE SiO<sub>2</sub> – Hb, модифікованого за процедурою spin – coating, ніяких змін у вольтамперограмі, порівняно з немодифікованим BE, не спостерігається. Очевидно, за даних умов модифікування на поверхні електрода знаходиться набагато менша кількість електроактивних молекул Hb, можливо, через утворення менш просторово структурованої та більшої за товщиною плівки SiO<sub>2</sub>.

Досліджено вплив параметрів електроосадження (час і потенціал електронакопичення –  $t_H$  і  $E_H$ ), а також концентрації Hb в золі SiO<sub>2</sub> – Hb, на величину  $I_k$  модифікованого електрода. Показано, що найвищий аналітичний відгук для BE SiO<sub>2</sub> – Hb досягається при  $t_H = 7$  с і  $E_H = -1,2$  В. При значеннях, що перевищують указані величини  $t_H$  і  $E_H$ ,  $I_k$  зменшується, можливо, через утворення більших за товщиною і менш упорядкованих плівок, що погіршує їхню провідність і контакт електроактивних молекул білка з поверхнею електрода [4]. При значеннях  $t_H$  і  $E_H$ , які менші за вказані, спостерігається зменшення  $I_k$ , очевидно через утворення тонших і менш стабільних плівок. Надалі електроосадження проводили при  $t_H = 7$  с і  $E_H = -1,2$  В.

Показано, що на величину  $I_k$  впливає концентрація Hb у золі SiO<sub>2</sub> – Hb. При збільшенні концентрації Hb у золі від  $2 \cdot 10^{-5}$  до  $8 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup> величина  $I_k$  лінійно зростає, залежність описується рівнянням  $I_k = 5,7 + C_{Hb} \cdot 10^5$ , моль/дм<sup>3</sup> ( $R = 0,96$ ). Проте найбільша каталітична ефективність (відношення величини сили каталітичного струму до некаталітичного, тобто в присутності та у відсутності кисню) спостерігається для  $C_{Hb} = 7 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup> і становить  $I_{кат}/I_{некат} = 9$ . Надалі для модифікування використовували золь SiO<sub>2</sub> – Hb з  $C_{Hb} = 7 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup>.

Для BE SiO<sub>2</sub> – Hb, модифікованого за вказаних вище умов, каталітичний струм кисню у фосфатному буферному розчині зменшується з кожним скануванням і повністю зникає після 18 сканувань. Це може бути спричинено частковим вимиванням молекул Hb з плівки SiO<sub>2</sub> або частковим руйнуванням самої плівки. Для поліпшення відтворюваності вольтамперометричного сигналу модифікованого BE в золь SiO<sub>2</sub> – Hb вводили добавки ЦТАБ і вимірювали аналітичний відгук ( $I_k$ ) електрода BE SiO<sub>2</sub> – ЦТАБ–Hb протягом 10 сканувань. У табл. 1 наведено відсоток зменшення аналітичного відгуку ( $\Delta I_k$ ):

$$\Delta I_k = \frac{I_{k_0} - I_{k_{10}}}{I_{k_0}} \cdot 100\% \text{ для BE SiO}_2 - \text{ЦТАБ} - \text{Hb, де } I_{k_0} -$$

величина каталітичного струму при першому скануванні ( $\mu\text{A}$ ),  $I_{k_{10}}$  – величина каталітичного струму після 10 сканувань ( $\mu\text{A}$ ), залежно від концентрації ЦТАБ у золі SiO<sub>2</sub>–ЦТАБ–Hb. З даних видно, що найбільш стабільний аналітичний відгук спостерігається для електродів, модифікованих золем із вмістом ЦТАБ  $0,02 \div 0,05$  моль/дм<sup>3</sup>. Так, після 10 сканувань  $\Delta I_k$  для BE SiO<sub>2</sub> – ЦТАБ – Hb, модифікованого золем, із вказаною концентрацією ЦТАБ, зменшується лише на 14–15 %. Аналітичний відгук такого електрода залишається практично незмінним навіть після 30 сканувань. Надалі для стабілізації аналітичного відгуку електрода в золь SiO<sub>2</sub> – Hb вносили  $0,022$  моль/дм<sup>3</sup> ЦТАБ.

Відомо, що рН середовища значно впливає на стабільність та каталітичну активність ферментів [2; 10]. Потенціал напівхвилі BE SiO<sub>2</sub> – ЦТАБ – Hb, зануреного у фосфатний буферний розчин після видалення кисню, лінійно залежить від значення рН цього розчину в інтервалі  $4,2 \div 6,8$ , та описується рівнянням  $E_{1/2} = 0,41 - 0,07 \cdot \text{pH}$  ( $R = 0,97$ ). Значення тангенса нахилу прямої  $0,07$  близьке до теоретичного значення  $0,059$ , що свідчить про участь 1 протона і 1 електрона в електрохімічному перетворенні [2; 4; 10]. Максимальне значення  $I_k$  спостерігається при рН  $6,0 \div 6,5$  для фосфатного буферу.

**Таблиця 1.** Вплив концентрації ЦТАБ у золі на стабільність аналітичного відгуку ( $\Delta I_k$ ) BE SiO<sub>2</sub> – ЦТАБ – Hb

Співвідношення ТЕОС:ЦТАБ	$C_{\text{ЦТАБ}}$ , моль/дм <sup>3</sup>	$\Delta I_k$ , %
–	0	32
100 : 1	0,011	69
50 : 1	0,022	14
20 : 1	0,056	15,5
10 : 1	0,112	36
5 : 1	0,224	60

**Висновки.** Проведені дослідження показують, що електроосадження є перспективним методом модифікування вуглесталового електрода тонкими плівками оксиду силіцію, що містять молекули гемопротейнів. Білок на поверхні електрода є електрохімічно та каталітично активним. Каталітичний струм модифікованого електрода можна збільшити шляхом оптимізації умов електроосадження плівки SiO<sub>2</sub> – Hb і вмісту Hb в золі SiO<sub>2</sub>. Добавки ЦТАБ у золь SiO<sub>2</sub> в діапазоні концентрацій  $0,02 \div 0,05$  моль/дм<sup>3</sup> значно поліпшують відтворюваність вольтамперометричного сигналу модифікованого електрода. Одержані таким чином модифіковані електроди перспективні для розробки амперометричних безмедіаторних біосенсорів.

1. Будников Г.К., Майстренко В.Н., Муринов Ю.И. Вольтамперометрия с модифицированными и ультрамикророзэлектродами // Химически модифицированные электроды как амперометрические биосенсоры. – М., 1994. 2. Dai Zh., Liu S., Ju H., Chen H. Direct electron transfer and enzymatic activity of haemoglobin in a hexagonal mesoporous silica matrix. // Biosensors and Bioelectronics. – 2004. – Vol. 19. – P. 861–867. 3. Deepa P.N., Kanungo M., Claycomb G. et al. Electrochemically Deposited Sol-Gel-Derived Silicate Films as a Viable Alternative in Thin – Film Design // Anal. Chem. – 2003. – Vol. 75. – P. 5399–5405. 4. Nadzhafova O., Etienne M., Walcarius A. Direct electrochemistry of hemoglobin and glucose oxidase in electrodeposited sol-gel silica thin films on glassy carbon // Electrochemistry Communications. – 2007. 5. Nadzhafova O.Yu., Zaitsev V., Drozdova M. et al. Heme proteins sequestered in silica sol-gels using surfactants feature direct electron transfer and peroxidase activity // Electrochemistry Communications. – 2004. – Vol. 6. – P. 205–209. 6. Raman N.K., Anderson M.T., Brinker C.J. Template-Based Approaches to the Preparation of Amorphous, Nanoporous Silicas. // Chem. Mater. – 1996. – Vol. 8. – P. 1682–1701. 7. Rottman C., Grader G., De Hazan Y., Melchior Sh., Avnir D. Surfactant- Induced Modification of Dopants Reactivity in Sol-Gel Matrixes // J. Am. Chem. Soc. – 1999. – Vol. 121. – P. 8533–8543. 8. Walcarius A. Electrochemical Applications of Silica-Based Organic-Inorganic Hybrid Materials // Chem. Mater. – 2001. Vol.13. – P. 3351–3372. 9. Zhang Y., Cheng W., Li Sh., Li N. Direct electron transfer of hemoglobin on DDAB/SWNTs film modified Au electrode and its interaction with Taxol // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. – 2006. – Vol. 286. – P. 33–38. 10. Zhou Y., Hu N., Zeng N., Rusling J.F. Heme Protein – Clay Films: Direct Electrochemistry and Electrochemical Catalysis // Langmuir. – 2002. – Vol. 18. – P. 211–219.

Надійшла до редколегії 31.01.07