

К. В. Глевацька, О. М. Бакалінська, член-кореспондент НАН України
М. Т. Картель

Кількісна оцінка каталазної активності вуглецевих сорбентів медичного призначення

The kinetics of catalytic reactions of hydrogen peroxide decomposition in water solutions by carbon adsorbents of the SCN and KAU type which are used as hemo- and enterosorbents and their modified forms (oxidized in H- and Fe(III)-form) at different values of pH in comparison with the activity of catalase is investigated. The enzyme kinetics laws are applied to the description of hydrogen peroxide decomposition processes. The dependence of the Michaelis–Menten constant on pH for the reactions which are accelerated by the investigated materials and catalase is determined. It is shown that sorbents of the SCN and KAU type demonstrate a greater catalytic activity than catalase outside of the enzyme pH optimum value. This fact can be used in efferent medicine and biotechnology.

Вуглецеві пористі матеріали займають провідне місце серед сорбентів медичного призначення [1]. Досвід використання вуглецевих гемо- та ентросорбентів показав, що їх терапевтична активність пов'язана не тільки з сорбцією шкідливих й отруйних речовин і метаболітів з біологічних середовищ, а й з дією на метаболічні шляхи організму, включаючи ферментативні процеси, зокрема гідроліз білків, жирів і складних ефірів, інверсію сахарози, розкладання пероксидів, сечової кислоти тощо [2–6]. При цьому сорбенти можуть виконувати такі функції: здатність виявляти власну ензимоподібну активність в окисно-відновних та протеолітичних процесах; можливість модифікувати, наприклад, у процесі окиснення та подальшого введення на їх поверхню іонів різних металів, комплексів або інших лігандів, підсилюючи, таким чином, каталітичну здатність вуглецевого матеріалу; бути носіями іммобілізованих ферментів та впливати на активність останніх.

Перебіг ферментативних реакцій в присутності вуглецевих сорбентів із розвиненою поверхнею може бути істотно змінений — загальмований або прискорений. Це визначається природою сорбентів, їх структурно-сорбційними властивостями та хімією поверхні. Знання закономірностей такого впливу відкриває можливість створення сорбентів направленої терапевтичної дії, а також біокаталізаторів на основі іммобілізованих на поверхні твердих тіл ензимів для біотехнологічних процесів та біосенорики.

Авторами даного повідомлення було досліджено та кількісно оцінено каталітичну (каталазну) активність вуглецевих сорбентів типу СКН й КАВ (відповідно синтетичного азотовмісного й кісточкового активованого вугілля) та ряду їх модифікованих форм (окиснених у Н- та сольовій Fe(III)-формі) у реакції розкладання пероксиду водню (H_2O_2) при різних значеннях рН у порівнянні з активністю ліофілізованої каталази (36000 о. а.).

Процес розкладання H_2O_2 вивчали при 298 К у термостатованій комірці з перемішуванням. Об'єм розчину H_2O_2 у кожному досліді становив 50 мл, маса наважки вуглецевого сорбенту — 0,1 г, а маса каталази — 4 мг. Зміну концентрації H_2O_2 з часом визначали періодичним титруванням стандартним розчином перманганату калію відібраних проб. У роботі використовували хімічні реактиви марки “ч. д. а”. За вихідне брали вугілля медичного призначення типу СКН та КАВ, яке в ході дослідження окиснювали азотною кислотою

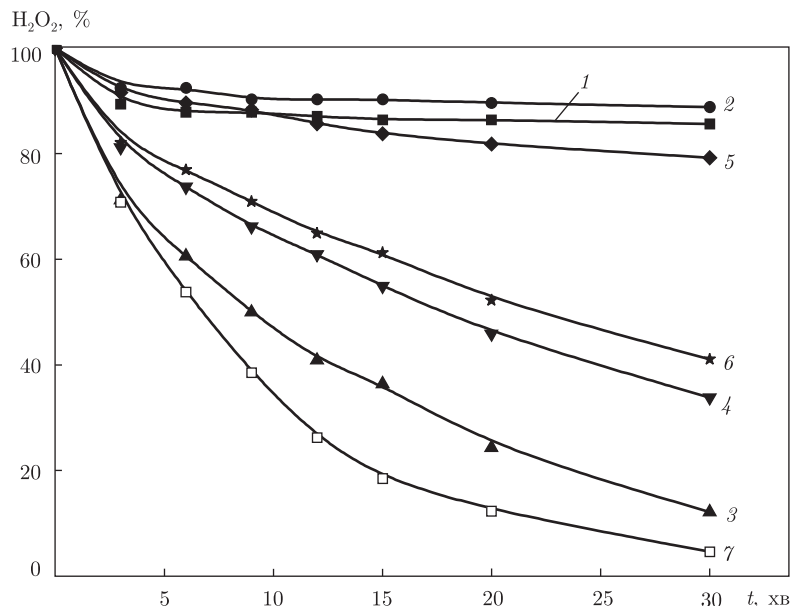


Рис. 1. Кінетика розкладання H_2O_2 за таких умов: $V_{H_2O_2}$ 50 мл, $C_{H_2O_2}$ 1%, $pH_{H_2O_2}$ 5,8 у присутності: 1 – КАВ; 2 – КАВ_о; 3 – СКН; 4 – СКН_о; 5 – КАВ_о-Fe; 6 – СКН_о-Fe; 7 – ліофілізованої каталази

до певних значень статичної обмінної ємності (СОЄ), а потім отримували сольову форму окисненого вугілля в процесі модифікування розчином $FeCl_3$ [7]. Нами визначено структурно-сорбційні характеристики сорбентів: об'єм сорбційних пор (V_s) ексікаторним методом за бензолом, питому поверхню сорбентів ($S_{пит}$) методом термічної десорбції аргону, а також їх СОЄ. Кількість заліза в сольових формах сорбентів встановлено атомно-абсорбційним спектрометром КАС-120.1, аналізуючи розчини після обробки зразків гарячим 0,1 н розчином соляної кислоти. Характеристики досліджених зразків вугілля наведено в табл. 1.

Кінетику реакції розкладання H_2O_2 у водних розчинах з концентрацією від 1 до 8% у присутності звичайних, окиснених та сольових форм вугілля вивчали при порівнянні з ліофілізованою каталазою. Досліди проводили з водними розчинами H_2O_2 при таких значеннях рН: 4,8; 5,8; 6,8 й 7,8. рН підтримували буферними системами. Кінетичні криві реакції в присутності сорбентів та каталази при рН 5,8 (рН оптимум каталази) наведено на рис. 1. З рисунка видно, що остання є найбільш активною. Отже, зазначимо, що, як і очікувалося, синтетичне вугілля типу СКН та його модифіковані форми більш активні, ніж відповідні зразки кісточкового вугілля. За здатністю розкладати H_2O_2 в цих умовах (за каталазною активністю) матеріали можна розташувати в такій послідовності:

Каталаза > СКН > СКН_о > СКН_{Fe} > КАВ_{Fe} > КАВ > КАВ_о.

Таблиця 1

Тип вугілля	СОЄ, мекв/г	V_s , см ³ /г	$S_{пит}$, м ² /г	Кількість Fe, мг/г
КАВ	0,25	0,51	1070	—
КАВ _о	1,30	0,84	1850	—
КАВ _о -Fe	—	—	—	11,4
СКН	0,25	0,75	1970	—
СКН _о	2,10	0,78	2140	—
СКН _о -Fe	—	—	—	10,3

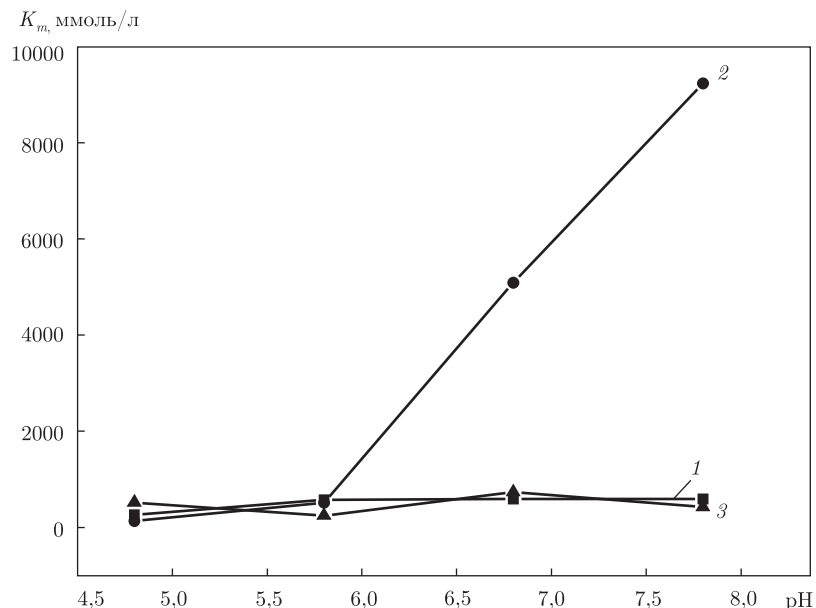


Рис. 2. Залежність константи Міхаеліса–Ментен від рН для зразків вуглецевих сорбентів на основі вугілля КАВ:

1 – КАВ вихідне; 2 – КАВ_о; 3 – КАВ_о-Fe

Щоб отримати кількісні дані для порівняння каталітичної активності вуглецевих сорбентів з активністю каталази, нами було застосовано стандартну характеристику процесу, згідно з кінетичними закономірностями щодо ферментативних реакцій [8].

Важливою характеристикою оцінки активності ферменту в досліджуваних умовах є константа Міхаеліса–Ментен (K_m): чим менше значення K_m , тим фермент вважається більш активним. Константа K_m чисельно дорівнює концентрації субстрату, при якій швидкість реакції дорівнює половині максимального значення K_m . Для визначення K_m знаходять початкову швидкість реакції при різних концентраціях субстрату. Всі інші умови досліду (рН, температура, іонний склад тощо) залишаються постійними. Отримані результати використовують для побудови графіка залежності початкової швидкості реакції від концентрації субстрату в координатах Міхаеліса (v_0 від $[C]$) або в зворотних координатах Лайнуівера та Берка ($1/v_0$ від $1/[C]$). З графіка залежності $1/v_0$ від $1/[C]$ шляхом екстраполяції прямої до перетину з віссю абсцис розраховують величини K_m і v_{\max} :

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{[C]} + \frac{1}{v_{\max}}$$

З кінетичних кривих видно, що вугілля типу КАВ у порівнянні з вугіллям типу СКН проявляє меншу активність в реакції розкладання H_2O_2 . Причини цього, мабуть, пов'язані з будовою вуглецевих матриць, що зумовлює електронодонорну здатність матеріалу, ступенем розвиненості поверхні та концентрацією поверхневих активних кластерів. Залежність K_m від рН розчину для вугілля типу КАВ та його модифікованих форм ілюструє рис 2., з якого видно, що каталітична активність вугілля типу КАВ та КАВ_о-Fe висока та майже однакова у дослідженому інтервалі рН, тоді як окиснене вугілля втрачає активність із збільшенням рН після 5,8. Це зумовлено тим, що окиснене вугілля більш електронегативне, ніж вихідне, і характеризується підвищеною роботою виходу електрона через виник-

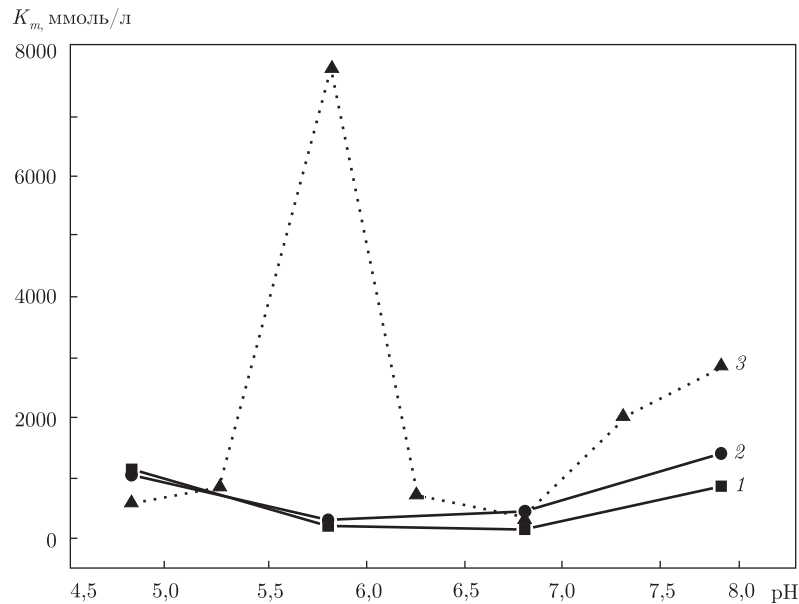


Рис. 3. Залежність константи Міхаеліса–Ментен від рН для зразків вуглецевих сорбентів на основі вугілля СКН:

1 – СКН вихідне; 2 – СКН_о; 3 – СКН_о-Fe

нення на границі розподілу фаз значного стрибка потенціалу $\overset{+}{C} - \overset{-}{O}$ [9–11], тобто на його поверхні перенесення електронів до субстрату проходить важче, ніж за відсутності кисневмісних груп. Введення на поверхню КАВ іонів заліза практично відновлює ензимоподібну здатність матеріалу до рівня вихідного вугілля. Це можна пояснити зникненням електронегативності окисненої поверхні вугілля та утворенням поверхневих координаційних сполук, які за даних умов сприяють перенесенню електронів з вугілля, тобто каталітичній дії. Це узгоджується з добре відомим фактом збільшення каталітичної активності іонів заліза (III) в гомогенних умовах, якщо вони утворили хелатні сполуки з винною, саліциловою та іншими органічними кислотами [7].

Вугілля типу СКН проявляє значно більшу активність у реакції розкладання H_2O_2 , ніж вугілля типу КАВ (див. рис. 1). Це пов'язується з будовою графітоподібної ґратки та наявністю в СКН атомів азоту, які збільшують основність сорбентів, що змінює заряд поверхні вугілля та збільшує ємність подвійного електричного шару [5–7]. З аналізу кінетичних кривих можна зробити висновок, що окиснення вугілля типу СКН призводить до незначного погіршення його здатності розкладати H_2O_2 , але наявність заліза в сольовій формі не відновлює активність до значень вихідної форми вугілля.

Рис. 3 ілюструє залежність K_m від рН для вугілля типу СКН та його модифікованих форм. З рисунка видно, що окиснення сорбенту типу СКН не змінює вигляд кривої залежності K_m від рН. Ці матеріали проявляють приблизно однакову активність в інтервалі рН від 5 до 7. Модифікування СКН_о іонами Fe^{3+} значно звужує цей інтервал. Можна стверджувати, що сольова форма вугілля активна при рН < 5,2. У той самий час в інтервалах рН від 5,2 до 6,3 та > 6,8 ензимоподібна функція такого вуглецевого матеріалу сильно зменшена. Отже, треба більш ретельно вивчити форми утворення комплексів заліза на поверхні вугілля при іонному обміні – аніонообмінні властивості окисненого вугілля СКН_о залишаються досить сильними і достатніми для утворення на поверхні гідроксидних кластерів

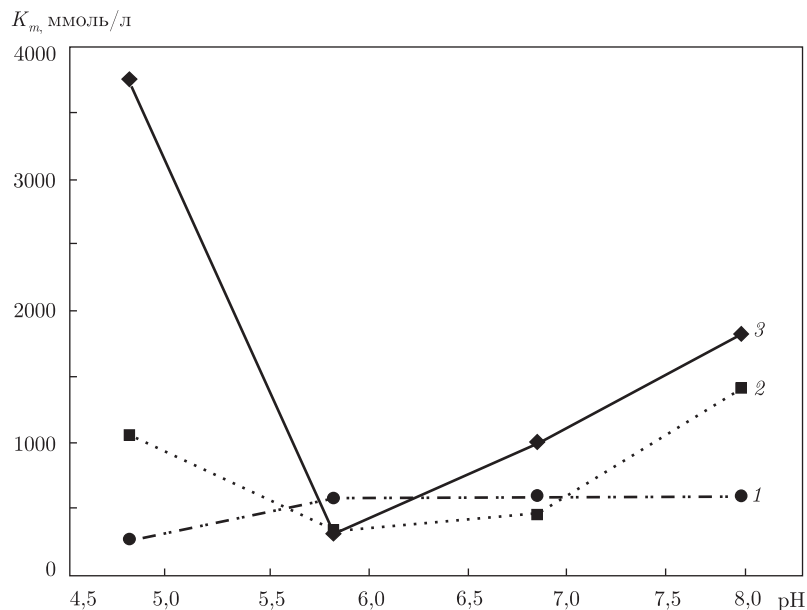


Рис. 4. Залежність константи Міхаеліса–Ментен від рН для каталази (1) та зразків активного вугілля СКН (2) й КАВ (3)

заліза (III), які пасивують електродонорну здатність поверхні вуглецевого матеріалу. Залежність K_m від рН для залізної сольової форми вугілля СКН_о є складною для аналізу і потребує додаткових досліджень.

Порівняння каталітичної здатності вуглецевих сорбентів розкладати H_2O_2 з даними для ліофілізованої каталази, активність якої вивчено у тих самих умовах, що й для сорбентів, демонструє рис. 4. Показано, що каталаза з усіх досліджених систем має найнижчі показники K_m при рН 5,8, тобто є найактивнішою серед досліджених нами об'єктів у реакції розкладання H_2O_2 . Саме таке значення рН відповідає рН оптимуму ферменту [11]. За межами цього значення каталаза різко втрачає каталітичну активність. Значно більший “робочий” рН діапазон каталітичної здатності мають вуглецеві сорбенти. Вугілля типу СКН активне в інтервалі рН від 5,6 до 6,8. За межами цього інтервалу КАВ виявляє активність вищу, ніж фермент і вугілля СКН.

Таким чином, нами визначено та зіставлено константи Міхаеліса–Ментен для ряду вуглецевих матеріалів і каталази в реакції розкладання пероксиду водню та їх залежність від рН. Встановлено, що з точки зору кінетики ферментативних реакцій можна дати кількісну оцінку ензимоподібної активності вуглецевих сорбентів, що дає змогу порівнювати їх властивості з каталітичною здатністю відповідного ферменту. Показано, що сорбенти типу СКН та КАВ більш активні поза значенням рН оптимуму ферменту, що має велике значення при використанні цих вуглецевих матеріалів як медичних сорбентів (гемо- та ентросорбція), а також при створенні ефективних каталізаторів для біотехнологій.

1. Стрелко В. В., Картель Н. Т. Активные угли медицинского назначения // Научные основы разработки лекарственных препаратов. – Харьков: Основа, 1998. – С. 490–516.
2. Щербицкий А. Б., Картель Н. Т., Михаловский С. В. и др. Исследование закономерностей разложения перекиси водорода углеродными гемосорбентами // Адсорбция и адсорбенты. – 1983. – № 11. – С. 80–84.

3. Тарковская И. А., Ставицкая С. С., Томашевская А. Н. и др. Сорбционные и каталитические свойства модифицированных углеродных материалов // Там же. – 1983. – № 11. – С. 68–76.
4. Ставицкая С. С., Стрелко В. В. Каталитические свойства углеродных энтеросорбентов // Теорет. и эксперим. химия. – 1995. – **31**, № 2. – С. 76–80.
5. Ставицкая С. С., Тарковская И. А., Петренко Т. П. Основные факторы, определяющие каталитические свойства активных углей // Там же. – 1996. – **32**, № 6. – С. 336–344.
6. Ставицкая С. С., Стрелко В. В., Цыба Н. Н. и др. Пути направленного регулирования каталазной активности углеродных материалов из разного сырья // Экотехнология и ресурсосбережение. – 2006. – № 4. – С. 12–19.
7. Тарковская И. А. Окисленный уголь. – Киев: Наук. думка, 1981. – 200 с.
8. Березин И. В., Клячко Н. Л., Левашов А. В. и др. Имобилизованные ферменты. – Москва: Высш. шк., 1987. – 160 с.
9. Стражеско Д. Н. Электрофизические свойства активных углей и механизм процессов, происходящих на их поверхности // Адсорбция и адсорбенты. – 1976. – № 4. – С. 3–14.
10. Тарковская И. А., Ставицкая С. С., Стрелко В. В. Каталитические свойства азотсодержащих углей // Укр. хим. журн. – 1983. – **49**, № 1. – С. 16–20.
11. Стрелко В. В., Глуховский П. В., Картель Н. Т. Влияние внешней поляризации угля с иммобилизованной каталазой на эффективность разложения H_2O_2 // Там же. – 1994. – **60**, № 10. – С. 677–681.

Институт сорбції та проблем ендоекології
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 09.01.2008

УДК 543.2,542.61,661.185.1

© 2008

С. А. Куличенко, О. И. Федорчук, В. А. Дорощук

Влияние природы, структуры и гидрофобности индуцирующих добавок на температуру помутнения водных растворов неионного ПАВ Triton X-100

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Н. С. Слободяником)

The influence of the hydrophobicity, nature, and structure of inducing addition agents on the cloud point temperature of Triton X-100 nonionic surfactant solutions is investigated, and the statistical estimation of the influence of each parameter is carried out. The linear regression equation for the prediction of a decrease of the cloud point temperature in the presence of inducing agents is suggested.

Мицеллярная экстракция фазами неионных поверхностно-активных веществ (НПАВ) является одним из распространенных методов разделения и концентрирования микрокомпонентов [1–5]. Нагревание растворов НПАВ до температуры помутнения (T_n) приводит к разрушению водородных связей между атомами кислорода полиоксиэтиленовой цепи НПАВ и молекулами воды. В результате образуются две фазы: мицеллярная фаза НПАВ и раствор неионного ПАВ с концентрацией, близкой к критической концентрации мицеллообразования [4]. В целях концентрирования используется мицеллярная фаза НПАВ.