

Галярник Д. М., Бортник Н. В., Бакалінська О. М.,  
Паляниця Б. Б., Кулик Т. В., Картель М. Т.

## РОЗКЛАДАННЯ ПЕРОКСИДУ БЕНЗОЇЛУ АКТИВОВАНИМ ВУГІЛЛЯМ СКН І КАУ В НЕВОДНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

*Досліджено стабільність розчинів пероксиду бензоїлу в ацетоні, чотирьоххлористому вуглеці, бутанолі, оцтовій кислоті, етилацетаті. Визначено каталітичну здатність каталази, вугілля типу СКН, КАУ та їхніх модифікованих форм у реакції розкладання пероксиду бензоїлу в етилацетаті шляхом розрахунку констант Міхаеліса ( $K_M$ ) за даними кінетики розкладання субстрату. Показано, що вуглецеві матеріали виявляють високу каталітичну здатність у неводному середовищі, що дорівнює або перевищує активність ферменту каталаза. Каталітична активність досліджених матеріалів зменшується в ряді: N-КАУ > СКН > СКНо > каталаза > КАУ > КАУо. Встановлено, що каталітична здатність досліджуваних зразків корелює зі змінами їх хімії поверхні. Введення Нітрогену в структуру АВ збільшує, а окиснення знижує його каталітичну активність.*

**Ключові слова:** активоване вугілля, каталітична активність, константа Міхаеліса, біокаталізатор, пероксид бензоїлу, неводне середовище, етилацетат.

### Вступ

Нанопористі вуглецеві матеріали широко використовують як поглиначі в сорбційних технологіях та як носії каталізаторів у хімічних та біохімічних процесах. Також ці матеріали можуть застосовуватись як каталізатори в гетерогенному каталізі. Зокрема, активоване вугілля використовують як каталізатор у реакціях галогенування, розкладання, окиснення-відновлення, дегідрогенування тощо [1].

Крім цього, нанопористі вуглецеві матеріали здатні впливати на різноманітні біологічно важливі процеси. Дослідження встановили, що їхня терапевтична активність пов'язана не лише із сорбційними властивостями, а й з впливом на ферментативні процеси (гідроліз білків, жирів, естерів, інверсію сахарози, розкладання пероксидів, сечовини тощо), тобто вуглецеві матеріали виявляють ензимоподібні властивості [2; 3].

Останнім часом значну увагу приділяють дослідженням ензимної активності в неводному середовищі. Здатність ензимів діяти як біокаталізатори в неводному середовищі відкрила нові можливості для створення біокаталізаторів для органічного синтезу, контролю вмісту органічних пероксидів у косметичних і лікарських засобах. Функціонування ферментів у неводних середовищах має переваги: краща розчинність субстрату; можливість змінювати селективність процесу, змінюючи середовище,

а не сам ензим; більша стабільність ензимів; менший ризик мікробного забруднення та ін. [4–8]. Однак ензимоподібні властивості вуглецевих матеріалів у неводному середовищі практично не досліджувалися. Реакцію розкладання пероксиду бензоїлу (ПБ) вуглецевими матеріалами можна розглядати як модель для дослідження ензимоподібних властивостей останніх. Результати таких досліджень можуть бути використані для створення на основі доступної недорогої сировини вискоєфективних біокаталізаторів спрямованої дії в біотехнології, косметології та медицині.

Метою цієї роботи є дослідження каталазоподібних властивостей нанопористих вуглецевих матеріалів у модельній реакції розкладання пероксиду бензоїлу в неводному середовищі.

### Матеріали і методи

Для вивчення каталітичного розкладання пероксиду бензоїлу використано синтетичне нітрогенвмісне (СКН) та природне (КАУ, зі шкаралупи фруктових кісточок) вугілля, їхні модифіковані форми (окиснені нітратною кислотою СКНо та КАУо, а також нітрогенвмісне КАУ (N-КАУ), отримане просочуванням сечовиною з наступною термічною обробкою) та каталаза (з бичачої печінки, К 1.11.1.6, активність 329300 о.а., Fluka).

Досліджені зразки було охарактеризовано визначенням: площі питомої поверхні ( $S_{\text{шт}}$ )

та середнього радіуса пор ( $r_{\text{пор}}$ ) – хроматографічним методом низькотемпературної адсорбції-десорбції азоту [9]; об'єму сорбційних пор ( $V_s$ ) – ексикаторним методом за бензолом [10], а також елементного складу – методами Прегля та Дюма [11; 12] (табл. 1). Якісну та кількісну характеристику функціональних груп на поверхні зразків активованого вугілля проводили їх титруванням за Бьомом [13] (табл. 2).

Для здійснення експерименту використовували порошкоподібний пероксид бензоїлу (Merck KGaA, містить 25 % води); етилацетат (Merck KGaA, для рідинної хроматографії, 99,8 %); ацетон, чотирьоххлористий вуглець, бутанол, оцтову кислоту марки «ч.д.а.».

Розчини пероксиду бензоїлу необхідних концентрацій (від 1 до 10 %) готували з наважки. Вміст ПБ у препараті, з наважки якого готували розчини, попередньо визначали йодометричним титруванням за модифікованою методикою [14]: до 10 мл розчину пероксиду бензоїлу в етилацетаті додавали 10 мл льодяної оцтової кислоти та 10 мл KI. Розчин титрували 0,01 N розчином тіосульфату натрію до знебарвлення розчину (крохмаль додавали в кінці титрування).

Волюмометричний метод [15] використовували для визначення оптимальної наважки каталізатора, дослідження стабільності пероксиду бензоїлу в розчинниках, каталітичної активності вуглецевих наноматеріалів та ферменту каталаза в неводному середовищі. Розкладання ПБ проводили в термостатованій комірці з перемішуванням. Температуру реакційної суміші визначали з точністю  $\pm 0,5$  °C, температуру навколишнього середовища – з точністю  $\pm 1$  °C, об'єм газів, що виділяються в реакції, – з точністю  $\pm 0,01$  мл. Вимірювали об'єм газу, що виділяється протягом 120 хв експерименту. Об'єм розчину пероксиду бензоїлу в кожному досліді становив 10 мл.

Каталітичну здатність вуглецевих матеріалів та їхніх модифікованих форм визначали та порівнювали з активністю каталази за методикою вивчення кінетичних закономірностей перебігу ферментативних реакцій за константами Міхаеліса ( $K_M$ ). З метою полегшення сприйняття одержаних даних розраховували константу афінності ( $K_{\text{аф}}$ ) – величину, обернену до константи Міхаеліса. Для всіх каталізаторів було визначено оптимальну наважку, за якої спостерігається максимальна швидкість розкладання субстрату. Визначення константи Міхаеліса [16] проводили за початковою швидкістю ( $V_0$ ) реакції при різних концентраціях субстрату. За отриманими результатами будували графік залежності початкової швидкості реакції від концентрації субстрату

в обернених координатах Лайнуївера-Берка ( $1/V_0 - 1/[C]$ ), з якого екстраполяцією прямої до перетину з віссю абсцис розраховували величини  $K_M$ . Аналіз продуктів реакції розкладання пероксиду бензоїлу здійснено методом температурно-програмованої мас-спектрометрії (ТПД МС) [17]. Досліджувані зразки масою 0,1 г заливали 5 % розчином ПБ у діоксані об'ємом 50 мл. Суспензію залишали на 24 год до встановлення адсорбційної рівноваги. ТПД МС дослідження проводилися на монополярному мас-спектрометрі MX-7304 A з іонізацією електронним ударом. Зразок вагою 0,1–20 мг поміщали на дно кварцмолібденової ампули і до початку досліду вакуумували при  $\sim 20$  °C до тиску  $\sim 5 \cdot 10^5$  Па. Програмоване лінійне нагрівання зразка проводили зі швидкістю 0,15 °C/с до температури  $\sim 750$  °C. Леткі продукти термолізу іонізувались та фрагментувались під дією електронного удару. Після розподілу за масами в мас-аналізаторі інтенсивність йонного струму продуктів десорбції та термолізу реєструвалася вторинно-електронним помножувачем ВЕУ-6. Реєстрацію мас-спектрів проводили в діапазоні 1–210 а.о.м.

Хімічний стан атомів Карбону, Нітрогену та Оксигену на поверхні зразків вугілля досліджували методом рентгенофотоелектронної спектроскопії (РФЕС). РФЕ-спектри знімали на приладі «VG ESCA», в якому джерелом рентгенівського випромінювання є алюмінієвий анод Al  $K_{\alpha}$  (монохроматор), за кімнатної температури та робочого тиску в камері  $2,7 \times 10^{-6}$  Па. Помилка дослідження становила  $\pm 0,1$  еВ. Стандартом для визначення енергії зв'язку електронів елементів були 1s-електрони вуглецю (284,8 еВ). Дослідження проводили після додаткової обробки вуглецевих матеріалів у вакуумі при 150 °C протягом 1,5 год. Кількісний аналіз проводили з прямої пропорційності між інтенсивністю сигналу та концентрацією елемента.

### Результати та обговорення

З метою встановлення факторів, що впливають на каталітичну активність вуглецевих матеріалів в обраній реакції, нами обрано ряд зразків вугілля, які різняться структурно-сорбційними характеристиками, хімією поверхні, наявністю гетероатома у структурі. Об'єм сорбційних пор варіюється в межах 0,50–0,90 см<sup>3</sup>/г, а площа питомої поверхні – 1070–2140 м<sup>2</sup>/г. Результати елементного аналізу зразків вугілля показують, що під час окиснення кількість атомів Оксигену збільшується вдвічі для вугілля СКН та в 20 разів для вугілля КАУ. При цьому також зростає вміст

Таблиця 1. Структурно-сорбційні характеристики та елементний склад досліджуваних сорбентів

Марка вугілля	Елементний склад (мас. %)				$V_s, \text{см}^3/\text{г}$	$r_{\text{пор}}, \text{нм}$	$S_{\text{пт}}, \text{м}^2/\text{г}$
	C	H	O	N			
КАУ	99,40	0,20	0,10	0,30	0,50	2,10	1070
КАУо	96,20	1,10	2,10	0,60	0,85	2,15	1850
N-КАУ	89,20	2,30	6,30	2,20	0,90	2,00	1470
СКН	91,20	1,00	6,50	1,30	0,75	0,95	1970
СКНо	85,90	0,90	11,20	2,00	0,80	1,30	2140

Таблиця 2. Вміст поверхневих груп зразків активного вугілля

Вугілля	Групи, (мекв/г)				
	карбоксильні	лактонні	фенольні	сума кисл. груп	основні
КАУ	0,04	0,06	0,02	0,12	0,00
КАУо	0,84	0,20	1,39	2,43	0,00
N-КАУ	-	0,45	0,05	0,50	1,90
СКН	0,08	0,02	0,02	0,12	0,12
СКНо	1,04	0,10	1,01	2,15	0,00

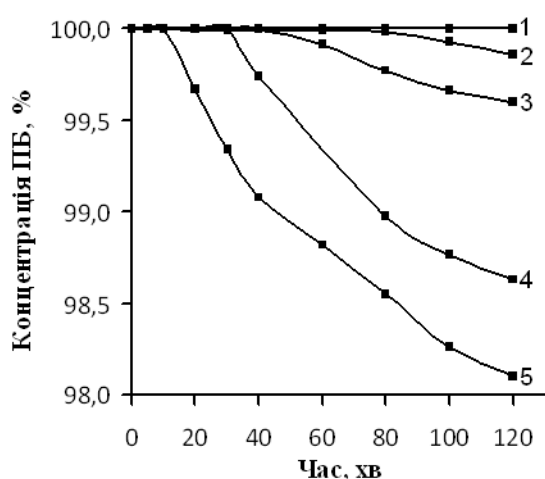


Рис. 1. Кінетика розкладання ПБ у розчинниках:  
1 – етилацетат; 2 – ацетон;  
3 – чотирьоххлористий вуглець;  
4 – бутанол; 5 – оцтова кислота

атомів водню, що свідчить про формування кисеньвмісних функціональних груп на поверхні зразків СКН та КАУ (табл. 1). Титрування поверхневих груп показало, що утворені групи мають кислотний характер. Загальна кількість кислих груп при окисненні вугілля СКН збільшується у 18, а КАУ – 20 разів. При цьому відбувається переважне утворення фенольних та карбоксильних груп, які можуть брати участь у каталітичних процесах.

Лужні поверхневі групи визначаються в зразках СКН та N-КАУ (табл. 2) у кількості 0,12 та 1,90 мекв/г відповідно, вірогідно, завдяки наявності атомів Нітрогену у структурі цих матеріалів. Вміст атомів Нітрогену найменший у вугілля КАУ – 0,30 %. Окиснення нітратною кислотою подвоює його кількість у структурі вугілля, вірогідно, внаслідок процесів нітрування вуглецеві

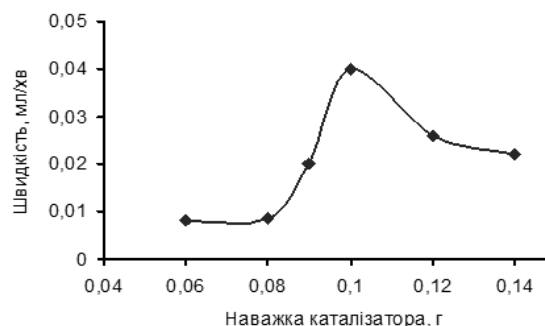


Рис. 2. Залежність швидкості розкладання ПБ вугіллям СКНо від його наважки

поверхні. Функціоналізація дає змогу ввести до 2,20 % Нітрогену. Нітроген міститься у вугіллі марки СКН (переважно в піридиновій формі [18]), оскільки цей матеріал отримують із вінілпіридинової смоли. При цьому загальний вміст Нітрогену в синтетичному вугіллі СКН також збільшується при окисненні. Виявити лужні групи в СКНо титруванням не вдалося.

Розчинники впливають на стійкість пероксиду бензоїлу [19; 20]. З метою розмежування процесів розкладання ПБ у розчині та на поверхні твердого тіла нами було досліджено його стабільність в ацетоні, етилацетаті,  $\text{CCl}_4$ , бутанолі та льодяній оцтовій кислоті. Встановлено, що ПБ протягом двох годин розкладається: в етилацетаті – на 0 %; ацетоні – 0,14 %;  $\text{CCl}_4$  – 0,23 %; бутанолі – 1,37 %; оцтовій кислоті – 1,90 % (рис. 1). Виявилось, що розчини ПБ в етилацетаті практично не розкладаються протягом часу, потрібного для дослідження каталітичних властивостей вуглецевих матеріалів. Тому саме етилацетат обрано як розчинник для дослідження каталітичних властивостей вуглецевих матеріалів.

Методологія визначення константи Міхаеліса вимагає використання в кінетичних експериментах оптимальної кількості каталізатора, за якої спостерігається максимальна швидкість розкладання субстрату (пероксиду бензоїлу в етилацетаті) (рис. 2), яку й було встановлено із залежності максимальної швидкості розкладання ПБ від наважки каталізатора. Оптимальну кількість каталізатора використовували для визначення константи Міхаеліса (табл. 3).

Таблиця 3. Визначені оптимальні наважки каталізатора

Каталізатор	Оптимальна наважка, г
СКН	0,040
СКН <sub>0</sub>	0,090
КАУ	0,100
КАУ <sub>0</sub>	0,080
N-КАУ	0,100
Каталаза	0,050

Для кількісного розрахунку зміни концентрації ПБ під час каталітичного розкладання волюмометричним методом потрібно було встановити стехіометрію реакції. Аналіз продуктів реакції розкладання пероксиду бензоїлу за присутності вуглецевих наноматеріалів методом ТПД МС показав, що в усіх випадках виділяється СО та СО<sub>2</sub>. При цьому вивільнення молекули кисню не спостерігали. Такі результати не підтверджують жоден із запропонованих у літературі механізмів реакції розкладання ПБ та не дають змоги повною мірою зрозуміти перебіг реакції. Однак для обчислення результатів дослідження кінетики розкладання ПБ волюмометричним методом було прийнято, що в результаті реакції розкладання однієї молекули ПБ виділяється дві молекули газу [21].

Експериментально було визначено каталітичну активність досліджуваних об'єктів у реакції розкладання ПБ. Достовірність визначення ( $R^2$ ) констант Міхаеліса та афінності в ході проведеного експерименту не менша за 0,90 (табл. 4).

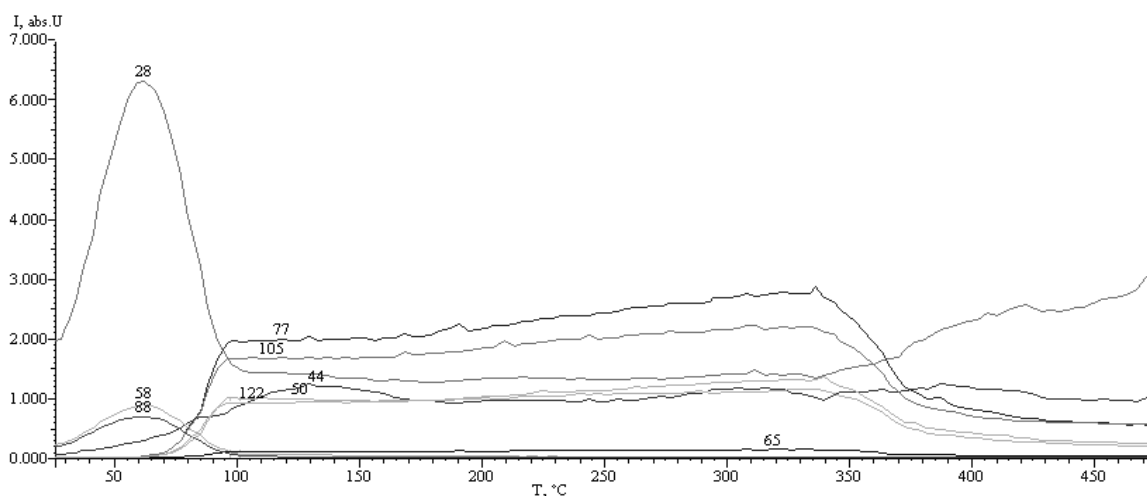
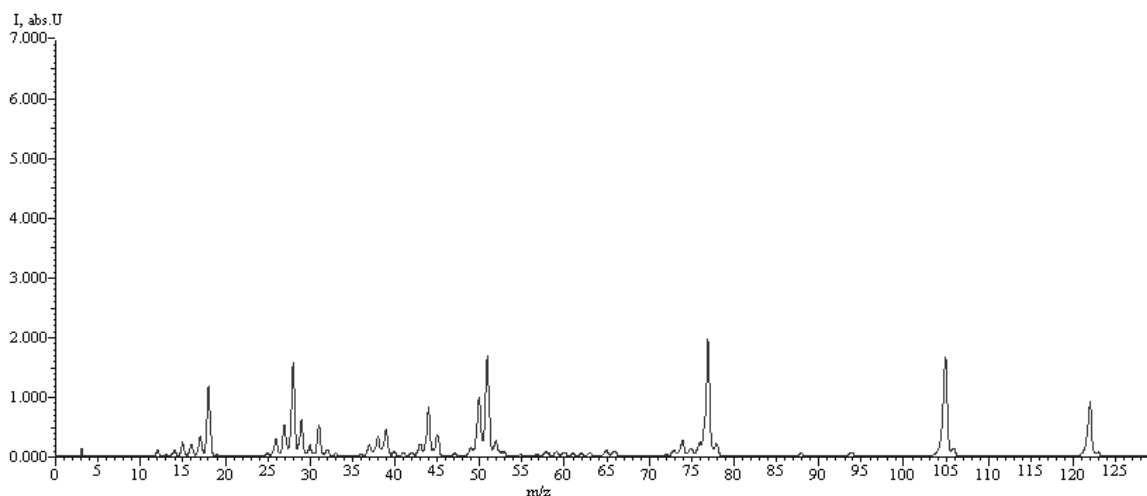


Рис. 3. ТПД МС спектр розкладання пероксиду бензоїлу на вугіллі СКН

Таблиця 4. Значення констант Міхаеліса й афінності та достовірність апроксимації визначення величини

Фермент	$K_M$ , моль/л	$K_{af.}$ , (моль/л) <sup>-1</sup>	R <sup>2</sup>
Каталаза	0,270	3,70	0,96
КАУ	0,470	2,13	0,90
КАУо	1,120	0,89	0,98
N-КАУ	0,029	34,48	0,90
СКН	0,162	6,17	0,97
СКНо	0,250	4,00	0,98

Було встановлено, що каталітична активність досліджених матеріалів зменшується в такому ряді: N-КАУ > СКН > СКНо > каталаза > КАУ > КАУо. Найвищу активність має нітрогенвмісне КАУ, значну активність проявляє СКН (яке за своєю природою також є нітрогенвмісним). Активність каталази при цьому практично на порядок менша, ніж у матеріалі N-КАУ, і мало відрізняється від СКНо. Каталітична здатність вихідного та окисненого КАУ ще менша. Значну активність виявляє вугілля СКН (яке за своєю природою також є нітрогенвмісним), меншою активністю характеризується СКНо, а КАУо має найменшу активність (рис. 3).

Таким чином, нітрогенвмісне вугілля має вищу каталітичну активність, що можна пояснити тим, що Нітроген як електродонорний

елемент забезпечує більшу, ніж у звичайному вугіллі, рухливість електронів у вуглецевій матриці і знижує роботу виходу електрона на межі поділу вугілля / рідка або газоподібна фаза.

Набагато вища активність N-КАУ в порівнянні з СКН може пояснюватися тим, що N-КАУ містить Нітроген не лише піридинового типу, як СКН, а й пірольного, піридонового, піролідонового, четвертинного, у формі N-оксидів та NO<sub>2</sub>-груп (рис. 4), а кількість поверхневих основних груп становить 1,90 мекв/г у порівнянні з 0,12 мекв/г для СКН. Окиснення вуглецевих матеріалів призводить до зниження їхньої каталітичної активності через підвищення роботи виходу електрона, через що перенесення електронів до молекули ПБ відбувається важче. Каталаза займає проміжне місце між синтетичним вугіллем СКН та природним КАУ за активністю в реакції розкладання ПБ у неводному середовищі. Це свідчить про те, що вуглецеві матеріали можуть не просто виконувати роль біокаталізаторів у неводному середовищі, а й дозволять за певних умов досягати більшої ефективності процесу в порівнянні з ензимами.

### Висновки

У роботі було досліджено та проаналізовано каталітичну дію активованого вугілля та його модифікованих форм у реакції розкладання пероксиду бензоїлу. Досліджено стабільність пероксиду бензоїлу в різних розчинниках. Встановлено, що каталітична активність досліджених матеріалів корелює не зі структурно-сорбційними параметрами, а з наявністю гетероатомів

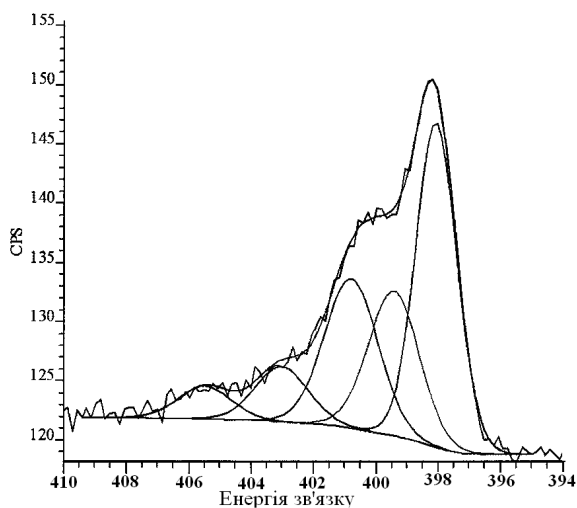


Рис. 2. РФЕС-спектр енергетичних станів Нітрогену в N-КАУ

Таблиця 4. Характеристичні енергії зв'язку для атомів Нітрогену різного типу та їх відсотковий вміст у вугіллі N-КАУ

Типи атома Нітрогену	Символ	Енергія зв'язку, eV	Вміст, %
піридиновий	N-6	398,5 ± 0,4	30,36
пірольний	N-5	400,5 ± 0,3	43,82
піридоновий	N-6(O)	400,5	
четвертинний	N-Q	401,1 ± 0,3	
піролідоновий	N-5(O)	399,6 ± 0,2	15,40
N-оксид	N-Ox	402,5–403,7	7,45
NO <sub>2</sub> -група	-NO <sub>2</sub>	405–406	2,96

у структурі. Введення Нітрогену збільшує, а окиснення АВ, навпаки, знижує його активність у реакції розкладання ПБ через підвищення роботи виходу електрона. Показано,

що вуглецеві матеріали проявляють каталазо-подібні властивості в неводному середовищі, а отже, на їхній основі можна створювати біо-катализатори.

#### Список літератури

1. Fidalgo B. Carbon materials as catalysts for decomposition and CO<sub>2</sub> reforming of methane: a review / B. Fidalgo // Chinese journal of catalysis. – 2011. – № 32. – P. 207–216.
2. Stavitskaya S. S. Catalytic properties of carbon enterosorbents / S. S. Stavitskaya and V. V. Strelko // Theoretical and Experimental Chemistry. – 1995. – Vol. 31, № 2. – P. 65–68.
3. Каталітичні (ензимоподібні) властивості багатопористих вуглецевих нанотрубок / К. В. Глевацька, О. М. Бакалінська, Ю. О. Тарасенко [та ін.] // Вісник Харківського національного університету. – 2010. – № 895 : Хімія. – Вип. 18 (41). – С. 248–255.
4. Biocatalyst activity in nonaqueous environments correlated with centisecond-range protein motion / R. K. Eppler, E. P. Hudson, S. D. Chase [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2008. – Vol. 105, № 41. – P. 15672–15677.
5. Lee M.-Y. Enzyme activation for nonaqueous media / M.-Y. Lee, J. S. Dordick // Current opinion in Biotechnology. – 2002. – № 13. – P. 376–384.
6. Non-Aqueous Biocatalysis in Heterogeneous Solvent Systems / N. Krieger, T. Bhatnagar, J. C. Baratti [et al.] // Food Technol. Biotechnol. – 2004. – Vol. 4, № 42. – P. 279–286.
7. Krishna S. H. Developments and trends in enzyme catalysis in nonconventional media / S. H. Krishna // Biotechnology Advances. – 2002. – № 20. – P. 239–267.
8. Trogadas P. Carbon as catalyst and support for electrochemical energy conversion / P. Trogadas, T. F. Fuller, P. Strasser // Carbon. – 2014. – № 75. – P. 5–42.
9. Глевацька К. Розробка ефективних біокатализаторів на основі активованого вугілля із іммобілізованою каталазою / К. Глевацька, О. Бакалінська, М. Картель // Вісник Львівського університету. – 2010. – Вип. 51. – С. 288–294.
10. Кельцев Н. В. Основы адсорбционной техники / Н. В. Кельцев. – М. : Химия, 1984. – 592 с.
11. Климова В. А. Основные микрометоды анализа органических соединений / В. А. Климова. – М. : Химия, 1967. – 208 с.
12. Алексеев В. Н. Количественный анализ / В. Н. Алексеев. – М. : Химия, 1972. – 504 с.
13. Boehm H. P. Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment / H. P. Boehm // Carbon. – 2002. – Vol. 40. – P. 145–149.
14. Hoffman R. V. p-Nitrobenzenesulfonyl Peroxide / R. V. Hoffman // e-EROS Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis. – 2001. – P. 1–2.
15. Ляликов Ю. С. Физико-химические методы анализа / Ю. С. Ляликов. – М. : Химия, 1973. – 536 с.
16. Глевацька К. В. Дослідження, опис та порівняння каталазо-активності вуглецевих сорбентів типу СКН та КАУ / К. В. Глевацька, О. М. Бакалінська, М. Т. Картель // Наукові записки НАУКМА. – 2008. – Т. 79 : Хімічні науки і технології. – С. 19–23.
17. Покровський В. О. Десорбційна мас-спектрометрія: фізика, фізична хімія, хімія поверхні / В. О. Покровський // Вісник НАН України. – 2012. – № 12. – С. 28–43.
18. О состоянии атомов азота в графитоподобной решетке активных углей / В. В. Стрелко, В. В. Немошкленко, Н. Т. Картель [и др.] // Адсорбция и адсорбенты. – 1983. – Вып. 11. – С. 76–80.
19. Лявинець О. С. Вплив розчинників на гетерогенно-каталітичний розклад пероксиду бензоїлу за наявності ванадій (V) оксиду / О. С. Лявинець, А. Ф. Чобан, Н. І. Якович // Науковий вісник Чернівецького університету. – 2012. – № 606 : Хімія. – С. 58–64.
20. Hongo T. Stability of benzoyl peroxide in methyl alcohol / T. Hongo, S. Hikage, and A. Sato // Dental Material Journal. – 2006. – Vol. 2, № 25. – P. 298–302.
21. Benzoyl Peroxide Decomposition by Carbon Nanomaterials / N. V. Bortnik, D. M. Galyarnik, T. V. Kulyk [et al.] // 34th International Conference on Vacuum Microbalance and Thermoanalytical Techniques (ICVMTT 34) and International Conference “Modern Problems of Surface Chemistry”. Kyiv (Ukraine). – 2014. – P. 29.

*D. Galyarnyk, N. Bortnyk, O. Bakalinska, B. Palyanytsya, T. Kulyk, M. Kartel*

### DECOMPOSITION OF BENZOYL PEROXIDE BY ACTIVATED CARBON SCN AND KAU IN NONAQUEOUS MEDIA

*The stability of benzoyl peroxide solutions in acetone, carbon tetrachloride, butanol, acetic acid and ethyl acetate were investigated. The catalytic activity of catalase, activated carbons of SCN and KAU type and their modified forms in benzoyl peroxide in reaction of ethyl acetate solutions decomposition were determined by calculation of Michaelis constants ( $K_M$ ) according to the kinetics of substrate decomposition. It is shown that the carbon materials exhibit high catalytic activity in a nonaqueous medium, the same or higher activity of enzyme catalase. It was determined that catalytic activity of researched materials decreases in the series: N-KAU > SCN > SCNo > catalase > KAU > KAUs. It is found that the catalytic activity of studied samples correlated with changes in surface chemistry. Introduction of Nitrogen atoms to AC structure increases but oxidization decreases its catalytic activity.*

**Keywords:** activated carbon, catalytic activity, Michaelis constant, biocatalyst, benzoyl peroxide.

*Матеріал надійшов 25.12.2014*