

На правах рукописи

Отрохов Григорий Владимирович

**ЛАККАЗА-МЕДИАТОРНЫЙ СИНТЕЗ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ
ПОЛИМЕРОВ И КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ИХ ОСНОВЕ**

Специальность 03.01.04 Биохимия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Москва 2015

Работа выполнена в лаборатории химической энзимологии Института биохимии имени А.Н. Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Ярополов Александр Иванович

Официальные оппоненты: **Лозинский Владимир Иосифович**
доктор химических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук лаборатория криохимии (био)полимеров, заведующий лабораторией

Ефременко Елена Николаевна
доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», химический факультет, кафедра химической энзимологии, лаборатория экобиокатализа, заведующая лабораторией

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля Российской академии наук

Защита состоится «22» декабря 2015 г. в 12 часов на заседании диссертационного совета Д 002.247.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, строение 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Библиотеке биологической литературы Российской академии наук по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, строение 1 и на сайте <http://fbras.ru/>.

Автореферат разослан «___» _____ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

А.Ф. Орловский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Биокатализ, являясь важным методом синтеза различных соединений, отвечает требованиям «белой» технологии. Использование природных биокатализаторов для *in vitro* синтеза электропроводящих полимеров (ЭПП) позволяет устранить или минимизировать большинство недостатков традиционных методов получения этих соединений (химический и электрохимический синтез). В первую очередь биокаталитический синтез ЭПП позволяет уменьшить нагрузку на окружающую среду, так как проводится в «мягких» условиях (рН, температура, давление) и не сопровождается образованием токсичных побочных продуктов. Кроме того, биокаталитическая реакция окислительной полимеризации мономеров является кинетически контролируемой, может быть остановлена на стадии образования олигомеров с определённой молекулярной массой и индексом полидисперсности, не зависит от наличия электропроводящей подложки и может обеспечивать высокий выход конечного продукта. Наиболее привлекательными ферментами для синтеза ЭПП являются грибные высоко редокс-потенциальные лакказы, использующие в качестве субстрата-окислителя молекулярный кислород, восстанавливающийся в процессе реакции до воды.

Уникальные свойства ЭПП позволяют использовать их для изготовления электрохромных устройств; покрытий, защищающих от коррозии, статического электричества и электромагнитного излучения; био- и хемосенсоров; «лёгких» гальванических элементов; электродов суперконденсатора и т. д.

Целью настоящей работы являлась разработка нового лакказа-медиаторного метода синтеза для получения электропроводящих полимеров и нанокомпозитных материалов на их основе для использования в качестве электроактивных материалов электродов суперконденсатора.

Достижение поставленной цели требовало решения нескольких **задач**:

- Сравнить лакказа-катализируемую и химическую полимеризации анилина (АНИ).
- Провести лакказа-медиаторный синтез электропроводящих полианилина (ПАНИ), поли(3,4-этилендиокситиофена) (ПЭДОТ), полипиррола (ПП) и композитов на основе ПАНИ и многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ).
- Изучить физико-химические свойства синтезированных электропроводящих полимеров и композитов ПАНИ/МУНТ.
- Разработать и протестировать макет гибкого тонкого суперконденсатора, в котором в качестве электроактивного материала электродов был использован композит ПАНИ/МУНТ, полученный лакказа-медиаторным способом.

Научная новизна работы. Впервые проведён лакказа-медиаторный синтез электропроводящих полимеров и композитов ПАНИ/МУНТ. Показано различие лакказа-катализируемой и химической полимеризации анилина. Разработан новый способ изготовления гибкого тонкого суперконденсатора на основе композита полианилин/многостенные углеродные нанотрубки, полученного лакказа-медиаторным способом.

Научно-практическая значимость работы. В ходе выполнения работы были расширены представления о механизме лакказа-катализируемой полимеризации анилина. Разработан экологически приемлемый лакказа-медиаторный способ получения электропроводящих полимеров (полианилин, поли(3,4-этилендиокситиофен), полипиррол) и композитов ПАНИ/МУНТ. Разработан новый ферментативный подход для синтеза гидрогеля композита ПАНИ/МУНТ с использованием димера анилина в качестве ускорителя ферментативной реакции и фитиновой кислоты как кислотного допанта. На основе композита ПАНИ/МУНТ разработан и протестирован макет гибкого тонкого суперконденсатора, обладающий высокими значениями удельной ёмкости, плотности мощности и плотности энергии. Благодаря хорошим удельным характеристикам суперконденсаторы на основе композита ПАНИ/МУНТ могут быть использованы в различных электронных устройствах.

Связь работы с государственными программами. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15-08-00142 и № 10-04-00916. Работы диссертанта по структурной характеристике наноразмерных препаратов были поддержаны ФЦП "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы" (соглашение о предоставлении субсидии № 14.607.21.0015 от 05.06.2014).

Апробация работ. Результаты проделанной работы были представлены на следующих научных конференциях и конкурсах: III Всероссийская молодёжная конференция с элементами научной школы «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества», Москва, 2012 г.; Осенний финал «У.М.Н.И.К.» РАН – 2012, Москва, 2012 г.; Международная заочная научно-практическая конференция «Наука и образование в XXI веке», Тамбов, 2013 г.; VIII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», Россия, Москва, 2015 г.

Решением Ученого Совета Института биохимии им. А.Н. Баха РАН в 2014 г. соискатель удостоен стипендии имени чл.-корр. РАН В.Л. Кретовича.

Публикации. Основные результаты диссертационной работы изложены в 8 публикациях, в том числе 4 статьях в журналах, входящих в перечень ВАК РФ, 1 патенте РФ и 3 тезисах материалов конференций.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы (383 ссылки). Работа изложена на 165 страницах, включает 65 рисунков и одну таблицу.

Сокращения принятые в тексте.

FTIR – инфракрасная спектроскопия с преобразованием Фурье; АБТС – диаммониевая соль 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой) кислоты; АНИ – анилин; ДБСNa – додецилбензолсульфонат натрия; ИК – инфракрасный; ЛМС – лакказа-медиаторная система; МУНТ – многостенные углеродные нанотрубки; олигоЭДОТ – олигомеры 3,4-этилендиокситиофена; ПАМПС – поли(2-акриламидо-2-метил-1-пропансульфоновая) кислота; ПАНИ – полианилин; ПСА – пероксидисульфат аммония; ПЭДОТ – поли(3,4-этилендиокситиофен); ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия; ПП – полипиррол; СК – суперконденсатор; СЭМ – сканирующая электронная микроскопия; УФ – ультрафиолетовый; ФК – фитиновая кислота; ФФДА – N-фенил-1,4-фенилендиамин; ЦФБ – Na-цитратно-фосфатный буферный раствор; ЭДОТ – 3,4-этилендиокситиофен; ЭПП – электропроводящие полимеры.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы. Литературный обзор включает в себя описание биохимических и каталитических свойств лакказ, методов синтеза электропроводящих полимеров, характеристик композитов на основе электропроводящих полимеров и углеродных нанотрубок, а также возможностей использования этих композитов в качестве электроактивного материала электродов суперконденсатора. Так как настоящая работа носит междисциплинарный характер, в литературном обзоре не ставилась задача предоставить исчерпывающую информацию о современном состоянии исследований в этих областях. Анализ литературы, с одной стороны, позволил выяснить состояние проблемы по теме диссертации, а с другой, получить данные необходимые для выполнения работы. Однако литературный обзор не претендует на полноту описания всех известных результатов по каждому из представленных в нём разделов.

Материалы и методы. В главе описаны объекты и методы исследования. В качестве биокатализатора реакции окислительной полимеризации использовали высоко редокс-потенциальную грибную лакказу *Trametes hirsuta*, в качестве редокс-медиаторов – низкомолекулярные соединения, являющиеся субстратами лакказы: октоцианомолибдат (4+) калия, АБТС и димер анилина (N-фенил-1,4-

фенилендиамин), в качестве матриц для полимеризации мономеров – поли(2-акриламидо-2-метил-1-пропансульфоновая) кислота (ПАМПС) и поверхностно-активное вещество додецилбензолсульфонат натрия (ДБСNa), а в качестве кислотных допантов для безматричного синтеза ПАНИ – *n*-толуолсульфоновую или фитиновую кислоты.

Для увеличения гидрофильности и удаления металлов, катализаторов роста нанотрубок, МУНТ предварительно обрабатывали горячей азотной кислотой. Матричную ферментативную полимеризацию 3,4-этилендиокситиофена, анилина и его димера контролировали методом УФ-видимой спектроскопии. Для изучения физико-химических свойств полученных ЭПП и композитов ПАНИ/МУНТ использовали ИК-спектроскопию с преобразованием Фурье, времяпролётную масс-спектрометрию (MALDI-TOF), циклическую вольтамперометрию и гальваностатический метод.

Морфологию синтезированных ЭПП и композитов исследовали методами просвечивающей электронной микроскопии и сканирующей электронной микроскопии. Электропроводность ЭПП и композитов измеряли двухточечным и четырёхточечным методами.

Методика изготовления суперконденсатора. Полоску клейкой ленты толщиной 40 мкм приклеивали к поверхности графитовой фольги. На липкой стороне ленты после отслаивания оставался электропроводящий тонкий слой углеродного материала, на поверхность которого наносили спиртовую дисперсию ферментативно синтезированного композита ПАНИ/МУНТ. Поверх слоя композита наносили гелевый электролит (1 М раствор H_3PO_4 с массовой долей поливинилового спирта 10%), который одновременно служил сепаратором в СК. Два электрода совмещали рабочими поверхностями и прессовали. В результате получали гибкий тонкий СК, характеристики которого исследовали по двухэлектродной схеме методом циклической вольтамперометрии и гальваностатическим способом в цикле заряд/разряд.

Результаты и обсуждение представлены в третьей главе диссертационной работы.

1. Изучение особенностей лакказа-катализируемой и химической матричной полимеризации анилина

Для выяснения различий ферментативного и химического синтеза ПАНИ использовали спектрофотометрический метод, позволяющий фиксировать изменения спектральных характеристик продуктов полимеризации анилина, и электрохимический метод регистрации редокс-потенциала реакционной среды

при разомкнутой цепи в процессе протекания реакции. Матрицей для полимеризации мономера являлись мицеллы ДБСNa.

При химическом синтезе через ~10 мин после инициирования реакции пероксидисульфатом аммония (ПСА) на электронных спектрах появлялась полоса поглощения в области 400–420 нм, характерная для растущих цепей ПАНИ. Через 60 мин реакции наблюдалось возрастание оптической плотности в области 600 нм, связанное с образованием растущих окисленных цепей ПАНИ (Рис. 1). Затем, приблизительно на 270–300 мин наблюдалось увеличение поглощения в области 760 нм, что указывало на образование эмеральдиновой соли ПАНИ (Рис. 1). На электронном спектре реакционной среды после 24 ч реакции присутствуют характерные для ПАНИ полосы поглощения в области 340–360, 410–430 и 770–790 нм. Первая полоса поглощения соответствует электронным переходам внутри ароматических колец цепи ПАНИ, вторая полоса поглощения соответствует растущей цепи полимера в протонированной форме, а поглощение в области 770–790 нм соответствует полярону в основной цепи полимера, который образуется в процессе допирования.

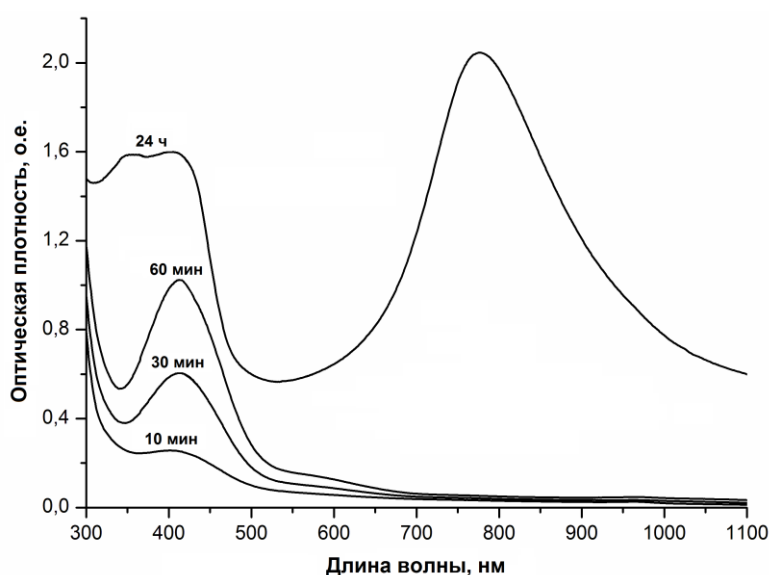


Рис. 1. Изменение во времени электронных спектров продуктов химической полимеризации анилина в водных мицеллярных растворах ДБСNa. Образцы разбавляли 10 мМ раствором ДБСNa в ЦФБ в 20 раз, а через 24 ч протекания реакции – в 100 раз.

Условия реакции:

0,1 М ЦФБ (pH 3,5); [АНИ] =
= [ДБСNa] = [ПСА] = 10 мМ;
 $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

На Рис. 2 показано изменение редокс-потенциала реакционной среды при разомкнутой цепи в процессе протекания химической полимеризации анилина и изменение во времени оптической плотности реакционной среды при длине волны 600 нм, которая соответствует окисленному состоянию ПАНИ – пернигранилину. При добавлении в реакционный раствор ПСА наблюдали уменьшение редокс-потенциала системы на 50–60 мВ. Через 30–40 мин потенциал реакционной среды достигал своего минимального значения и в течение следующих 230–240 мин практически не изменялся. Затем потенциал реакционной среды и оптическая плотность при 600 нм достигали своего максимального значения, что свидетельствовало об образовании ПАНИ в

окисленном состоянии (пернигранилин). После этого наблюдалось резкое уменьшение потенциала реакционной среды и увеличение поглощения в области 780 нм, что указывало на образование эмеральдиновой соли ПАНИ.

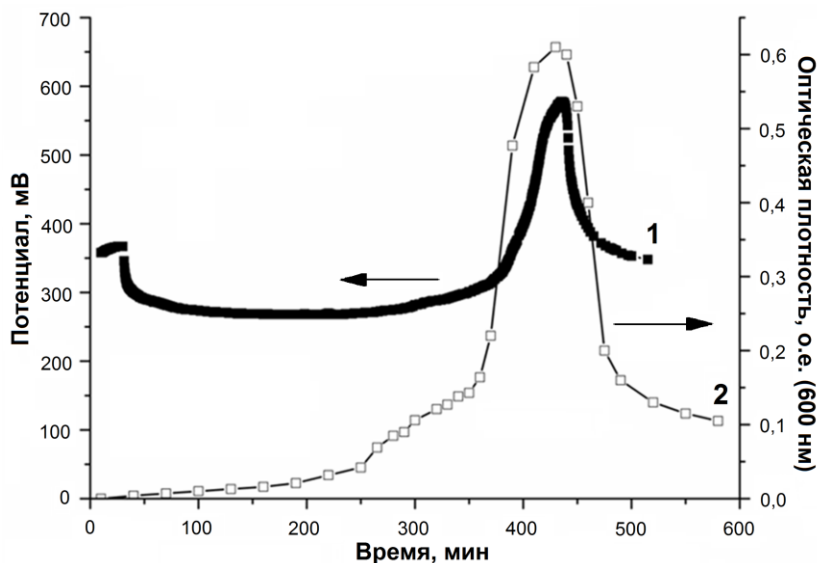


Рис. 2. Зависимость потенциала золотого электрода от времени при разомкнутой цепи (1) и оптического поглощения ($\lambda = 600$ нм) реакционной среды (2) при матричной химической полимеризации анилина.

Условия реакции:
 0,1 М ЦФБ (pH 3,5); [АНИ] =
 = [ДБСNa] = [ПСА] = 10 мМ;
 $t = 22$ °С.

Так как в ходе полимеризации анилина количество ПСА в реакционной среде уменьшается, можно предположить, что после полного его расходования, окисленные цепи ПАНИ восстанавливаются непрореагировавшим мономером до электропроводящей эмеральдиновой соли. Этим можно объяснить наличие индукционного периода при химическом синтезе ПАНИ.

При ферментативной полимеризации анилина в аэробных условиях после инициирования реакции образование ПАНИ в форме эмеральдиновой соли происходило с первых минут реакции, о чём свидетельствовало увеличение поглощения в области 750–780 нм. Изменение во времени электронных спектров продуктов ферментативной полимеризации анилина показано на Рис. 3.

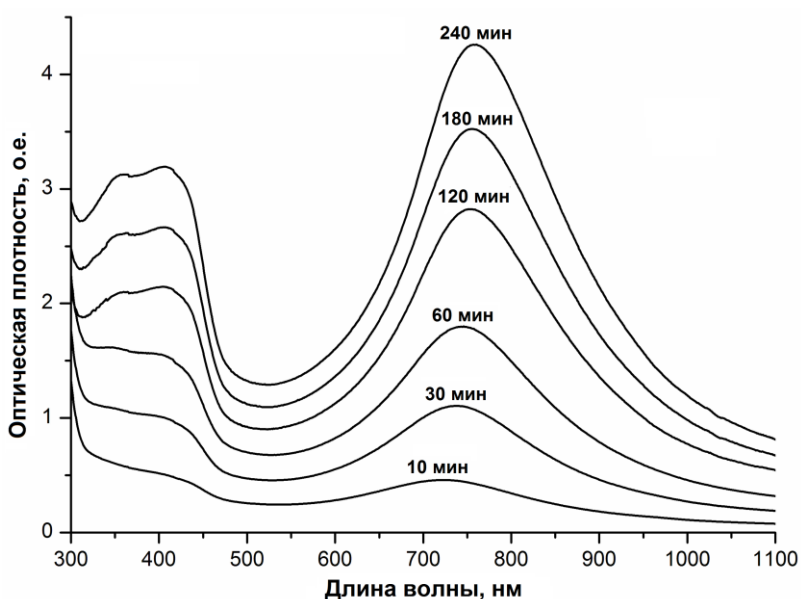


Рис. 3. Изменение во времени электронных спектров реакционной среды в процессе лакказы-катализируемой полимеризации анилина в мицеллярных растворах ДБСNa. Образцы, отобранные через 120, 180 и 240 мин, разбавляли раствором ДБСNa в ЦФБ в 10 раз.

Условия реакции:
 0,1 М ЦФБ (pH 3,5);
 [АНИ] = [ДБСNa] = 10 мМ;
 удельная активность лакказы в
 реакционной среде 0,4 МЕ/мл;
 $t = 22$ °С.

Редокс-потенциал реакционной среды при ферментативной полимеризации анилина незначительно увеличивался в течение первых 5 мин на 7–10 мВ относительно первоначального значения (Рис. 4, кривая 1). Затем в течение 25–30 мин происходило небольшое падение редокс-потенциала реакционной среды до своего предельного значения ~290 мВ.

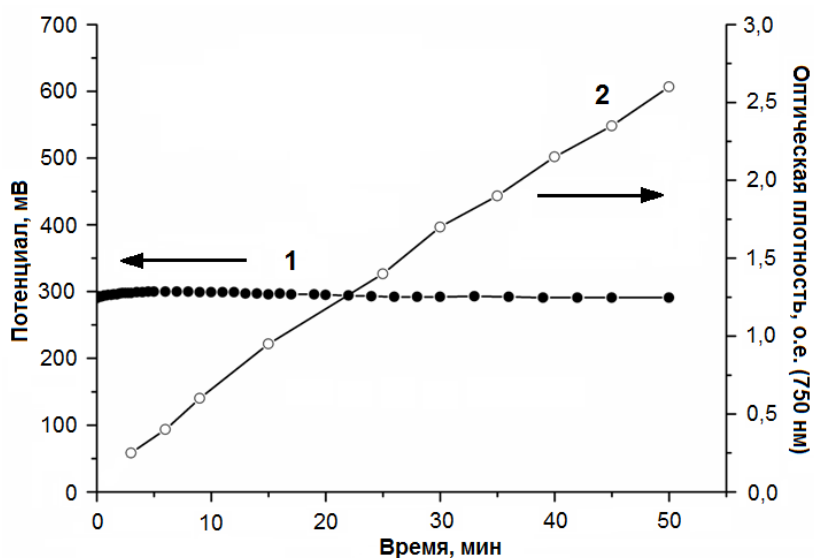


Рис. 4. Зависимость потенциала золотого электрода от времени при разомкнутой цепи (1) и оптического поглощения ($\lambda = 750$ нм) реакционной среды (2) при матричной лакказы-катализируемой полимеризации анилина.

Условия реакции:
 0,1 М ЦФБ (pH 3,5);
 [АНИ] = [ДБСNa] = 10 мМ;
 удельная активность лакказы в реакционной среде 0,4 МЕ/мл;
 $t = 22$ °С.

На графике зависимости оптического поглощения реакционной среды от времени (Рис. 4, кривая 2) видно, что через ~5 мин после инициирования ферментативной окислительной полимеризации анилина наблюдалось увеличение поглощения в области 750 нм, что свидетельствует об образовании электропроводящего комплекса ПАНИ/ДБСNa с первых минут реакции.

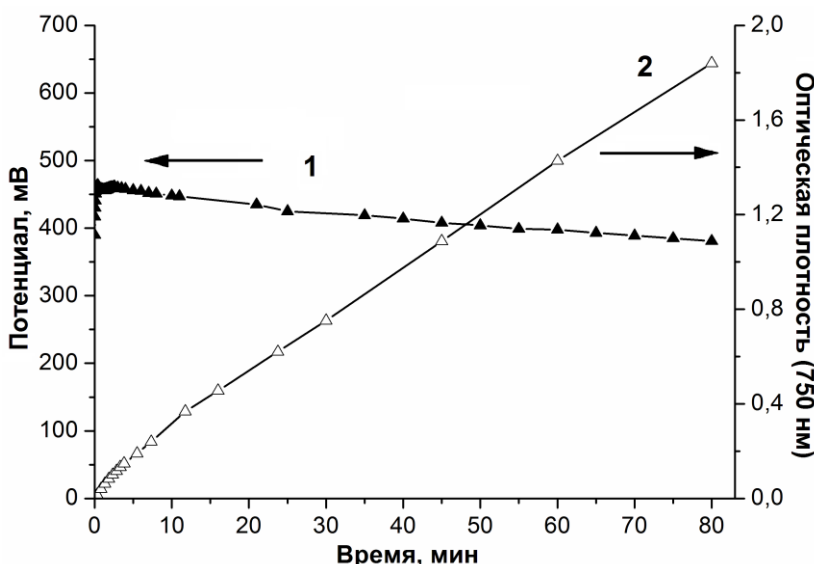


Рис. 5. Зависимость потенциала золотого электрода от времени при разомкнутой цепи (1) и оптического поглощения ($\lambda = 750$ нм) (2) реакционной среды при матричной лакказы-медиаторной полимеризации анилина.

Условия реакции:
 0,1 М ЦФБ (pH 3,5);
 [АНИ] = [ДБСNa] = 10 мМ;
 удельная активность лакказы в реакционной среде 0,4 МЕ/мл;
 $t = 22$ °С.

При проведении окислительной полимеризации анилина на мицеллярной матрице ДБСNa с использованием лакказы-медиаторной системы, так же, как и при лакказы-катализируемой реакции, изменение потенциала реакционной среды при разомкнутой цепи было незначительным по сравнению с химическим

синтезом и образование эмеральдиновой соли ПАНИ происходило сразу после инициирования реакции ферментом (Рис. 5).

Таким образом, главное различие между химической и лакказа-катализируемой полимеризацией анилина состоит в следующем. При химическом синтезе рост цепи происходит через образование полимера в пернигранилиновом состоянии окисления, который после расходования окислителя (ПСА) восстанавливается непрореагировавшим анилином до электропроводящего ПАНИ в эмеральдиновом состоянии окисления. Напротив, при ферментативной полимеризации анилина полимер в эмеральдиновом состоянии окисления образуется сразу после инициирования реакции лакказой.

2. Лакказа-катализируемая окислительная полимеризация димера анилина

Димер анилина (N-фенил-1,4-фенилендиамин, ФФДА) является первым промежуточным продуктом полимеризации анилина, поэтому для дальнейшего изучения реакции лакказа-катализируемого синтеза ПАНИ были проведены эксперименты по ферментативному окислению ФФДА и исследованы физико-химические свойства полученных продуктов. Методом циклической вольтамперометрии было установлено, что потенциал окисления ФФДА значительно ниже потенциала окисления анилина, поэтому скорость ферментативного окисления ФФДА была значительно выше, чем скорость лакказа-катализируемой реакции окисления мономера анилина.

Реакцию полимеризации ФФДА в мицеллярных растворах ДБСNa инициировали добавлением лакказы *T. hirsuta*. В результате реакции происходило образование стабильной (по меньшей мере, в течение 6 месяцев) дисперсии тёмно-зелёного цвета. Характерные полосы поглощения при 800–1100 и 410–420 нм на УФ-видимых спектрах указывали на образование эмеральдиновой соли ПАНИ.

Полосы поглощения при 1596 см^{-1} и 1500 см^{-1} на FTIR-спектре дедопированных продуктов ферментативного окисления ФФДА характерны для валентных колебаний C–C связей в хиноиддииминных и фенилендиаминных единицах полимера, соответственно (Рис. 6). Пик при 1304 см^{-1} соответствует C–N ароматическим валентным колебаниям. Поглощение в областях 1169 см^{-1} и 822 см^{-1} указывает на то, что связывание молекул ФФДА при ферментативной полимеризации происходит преимущественно по принципу «голова к хвосту».

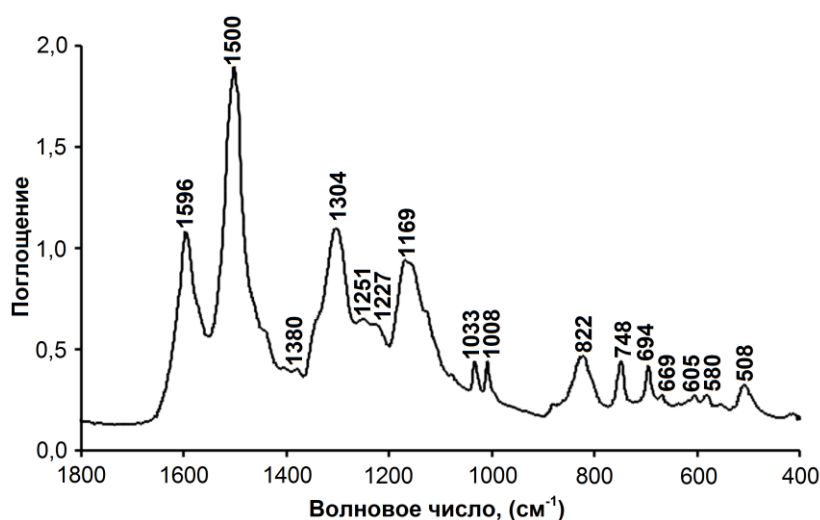


Рис. 6. FTIR-спектр дедопированного ПАНИ.

На масс-спектре (Рис. 7) дедопированных продуктов ферментативной полимеризации ФФДА, растворённых в тетрагидрофуране, пики группируются в мультиплеты, что подразумевает наличие в экстрактах не только структурных сегментов олигомеров $-C_6H_4-NH-$ или $-C_6H_4=N-$, но и терминальных групп, таких как $-NO_2$ и $-NO$.

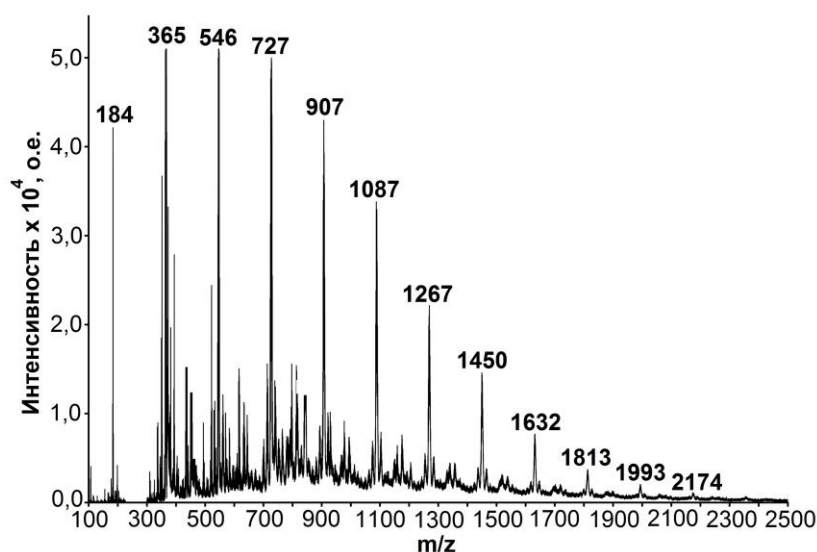


Рис. 7. MALDI-TOF спектр дедопированных продуктов ферментативной полимеризации ФФДА, растворённых в тетрагидрофуране.

В результате лакказы-катализируемой полимеризации ФФДА образовывались продукты с соотношением m/z равным 365, 546, 727, 907, 1087, 1267, 1450, 1632, 1813, 1993 и 2174, которые соответствуют олигомерам анилина со степенью полимеризации 4–24 в терминах субъединиц анилина ($m/z = 90-92$). Низкая степень полимеризации димера анилина может быть связана с его низкой концентрацией в реакционном растворе.

Таким образом, было показано, что сочетание молекул ФФДА в ходе ферментативной окислительной полимеризации происходит по принципу «голова к хвосту» с образованием эмеральдиновой соли в качестве продукта реакции.

3. Лакказа-медиаторный синтез электропроводящего ПАНИ

Реакция ферментативной полимеризации анилина с участием лакказы, в отличие от химической полимеризации мономера, протекает в кинетически контролируемом режиме и её скорость зависит от концентрации фермента. Однако из-за высокой стоимости биокатализатора и относительно низкой скорости полимеризации мономера, для ферментативного синтеза ПАНИ перспективно использование редокс-медиаторов лакказ, которые многократно ускоряют реакцию, удешевляют этот процесс и позволяют получать полимер с большим выходом, обладающий более высокой электропроводностью. При выполнении настоящей работы было проведено сравнение физико-химических свойств ПАНИ, полученного с использованием только лакказы и лакказа-медиаторной системы (ЛМС).

Для изучения кинетики окислительной полимеризации анилина лакказа-катализируемый и лакказа-медиаторный синтез ПАНИ проводили матричным методом в водных растворах ПАМПС или мицелл ДБСNa. В качестве редокс-медиатора (ускорителя реакции) использовали октоцианомолибдат (4+) калия.

Схема ферментативной полимеризации анилина с использованием лакказа-медиаторной системы на основе октоцианомолибдата (4+) калия представлена на Рис. 8.

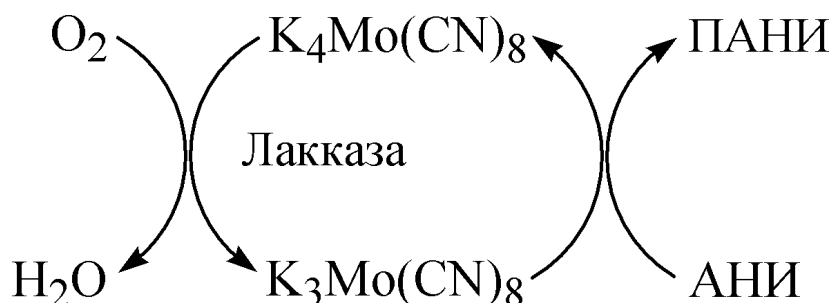


Рис. 8. Схема полимеризации анилина с использованием лакказа-медиаторной системы.

Предварительно была исследована зависимость скорости окисления редокс-медиатора ($K_4Mo(CN)_8$) с участием лакказы от pH реакционной среды, так как получение электропроводящего ПАНИ возможно только в кислой среде. На Рис. 9 представлен график pH-зависимости реакции ферментативного окисления октоцианомолибдата (4+) калия с участием *T. hirsuta*. При кислых значениях реакционного раствора (pH 2,5–3,5) скорость ферментативного окисления октоцианомолибдата (4+) калия высока, поэтому $K_4Mo(CN)_8$ может быть использован в качестве редокс-медиатора лакказы для синтеза электропроводящего ПАНИ.

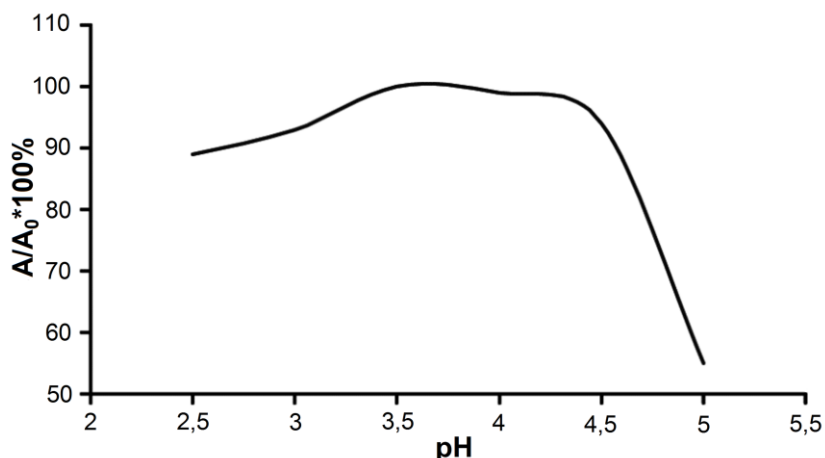


Рис. 9. pH-зависимость относительной скорости окисления $K_4Mo(CN)_8$ в присутствии лакказы *T. hirsuta*. За 100% принята начальная скорость окисления субстрата при оптимальном значении pH среды.

Условия: 0,1 М ЦФБ;
 $[K_4Mo(CN)_8] = 0,1$ mM;
 удельная активность лакказы в реакционной среде 0,4 МЕ/мл;
 $t = 22$ °C.

Использование ЛМС на основе $K_4Mo(CN)_8$ позволило увеличить скорость полимеризации анилина на матрице ПАМПС в 4–5 раз, по сравнению с аналогичной реакцией в отсутствие редокс-медиатора. Выход ПАНИ в составе комплексов ПАНИ/ПАМПС, полученных с использованием ЛМС и лакказа-катализируемым методом, составил 78% и 61%, а электропроводность комплексов — 4,8–5,9 мСм/см и 0,95–1,5 мСм/см, соответственно.

При использовании в качестве матрицы ДБСNa скорость лакказа-медиаторной реакции полимеризации анилина увеличивалась в 5–6 раз по сравнению со скоростью лакказа-катализируемой реакции (Рис. 10), а выход ПАНИ составил 35% при лакказа-катализируемом синтезе и 70% при использовании ЛМС.

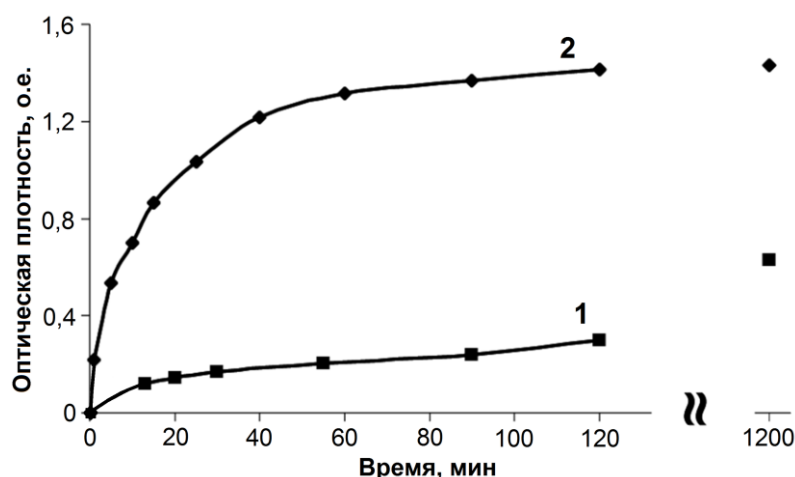


Рис. 10. Зависимость от времени оптической плотности реакционных растворов при $\lambda = 750$ нм лакказа-катализируемой (1) и лакказа-медиаторной (2) реакций полимеризации анилина в мицеллярных растворах ДБСNa.

Условия реакции:
 0,1 М ЦФБ (pH 3,8);
 $[АНИ] = [ДБСNa] = 10$ mM;
 $[K_4Mo(CN)_8] = 0,1$ mM;
 удельная активность лакказы в реакционной среде 0,4 МЕ/мл;
 $t = 22$ °C.

На FTIR-спектрах дедопированного ПАНИ (Рис. 11), синтезированных на матрице ДБСNa с использованием лакказы и ЛМС, присутствовали полосы поглощения, соответствующие колебаниям связей в хиноиддииминном (1563 см^{-1}) и фенилендиаминном (1501 и 1494 см^{-1}) фрагментах звена ПАНИ.

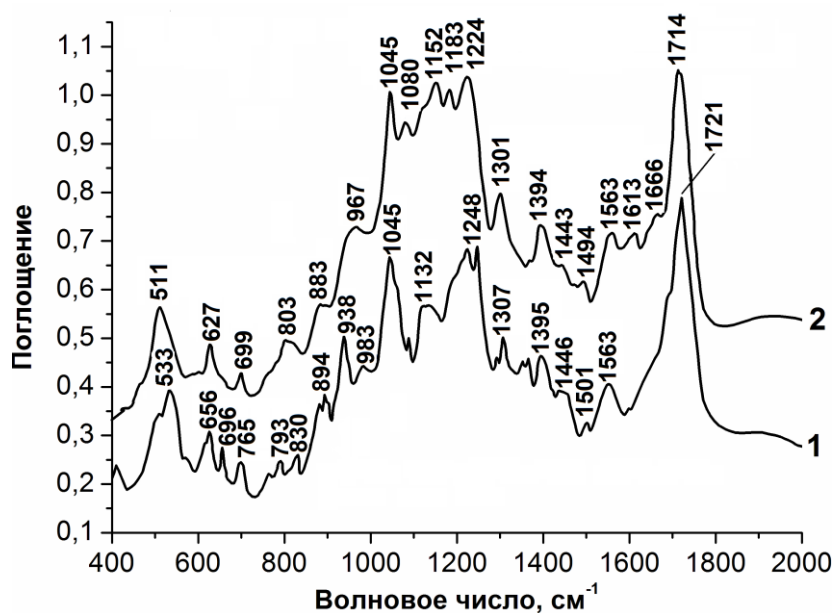


Рис. 11. FTIR-спектры дедопированного ПАНИ, полученного лакказы-катализируемым (1) и лакказа-медиаторным (2) методами.

Важно отметить, что после обработки образцов ПАНИ тетрагидрофураном (т.е. после удаления растворимых олигомеров анилина) выход нерастворимого полимера составил 16% в случае лакказы-катализируемой реакции и 58% при использовании ЛМС. Это косвенно свидетельствует о том, что степень полимеризации ПАНИ, полученного в присутствии редокс-медиатора, существенно выше, чем полимера, синтезированного лакказы-катализируемым методом.

Исследование комплексов ПАНИ методом ПЭМ показало, что полимеры, полученные лакказы-катализируемым методом и с использованием ЛМС, обладали морфологическим сходством, имели гранулярную форму и образовывали агломераты. Однако размер отдельных частиц, синтезированных с использованием ЛМС, был существенно меньше.

Таким образом, сравнение реакций окислительной полимеризации анилина с участием лакказы и с использованием ЛМС показало, что присутствие редокс-медиатора ускоряет полимеризацию мономера. Кроме того, электропроводящий полимер, синтезированный лакказа-медиаторным методом, имел большую электропроводность по сравнению с ПАНИ, полученным лакказы-катализируемым методом в отсутствие редокс-медиатора.

4. Лакказа-медиаторный синтез олигоЭДОТ

В отличие от ферментативной полимеризации анилина, ЭДОТ не окисляется в присутствии лакказы из-за высокого потенциала окисления мономера.

Проведённые исследования показали, что октоцианолибдат (5+) калия, образующийся в ходе ферментативной реакции, может окислять ЭДОТ с

последующим образованием его олигомеров. В качестве матрицы для полимеризации ЭДОТ использовали ПАМПС.

Методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье было установлено, что при лакказа-медиаторном окислении ЭДОТ образуются продукты (Рис. 12), спектр которых близок к спектральным характеристикам олигоЭДОТ, полученных химическим методом с использованием в качестве окислителя хлорного железа.

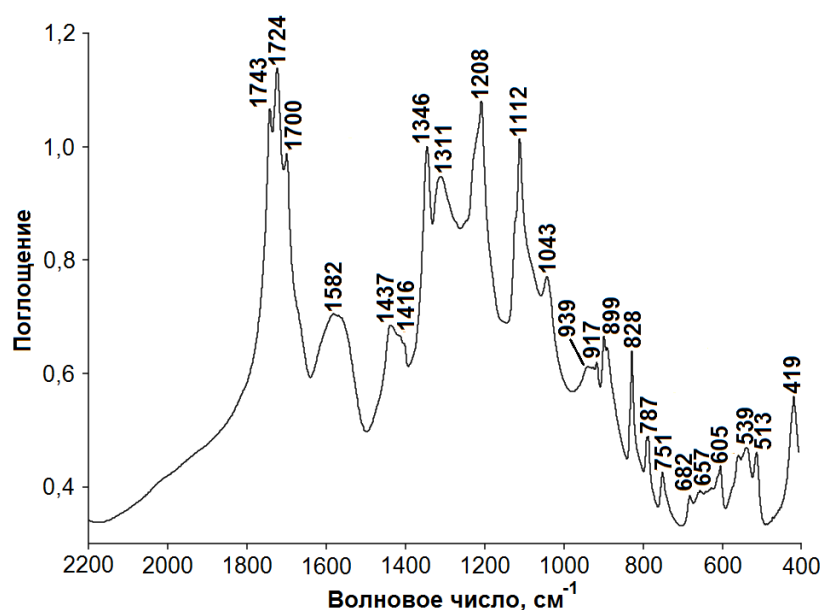


Рис. 12. FTIR-спектр комплекса олигоЭДОТ/ПАМПС.

Пики при 1437 см^{-1} и 1582 см^{-1} соответствуют асимметричным валентным колебаниям $\text{C}=\text{C}$ связи, при 939 см^{-1} и 828 см^{-1} – колебаниям $\text{C}-\text{S}$ связи, при 1112 см^{-1} и 1043 см^{-1} – колебаниям $\text{C}-\text{O}$ связи в группе $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$, при 1311 и 1346 см^{-1} – колебаниям $\text{C}-\text{C}$ связи в кольце тиафена. Пики характерные для ПАМПС наблюдались при 1043 и 1112 см^{-1} .

Электропроводность полученных комплексов олигоЭДОТ/ПАМПС была невысокой – $2,2 \times 10^{-5} - 3,8 \times 10^{-5}\text{ См/см}$.

Таким образом, была показана принципиальная возможность использования лакказа-медиаторной системы для окислительной полимеризации ЭДОТ, которую нельзя осуществить лакказа-катализируемой реакцией в отсутствие редокс-медиатора.

5. Лакказа-медиаторный синтез ПП

Предложенный в работе лакказа-медиаторный подход был использован для получения ещё одного электропроводящего полимера – полипиррола (ПП). Синтез ПП проводили на матрице ПАМПС с использованием другого редокс-медиатора – АБТС.

Образование полипиррола при лакказы-медиаторном синтезе было подтверждено методом FTIR-спектроскопии. Пики при 1549, 1188, 1047 и 883 см^{-1} на ИК-спектре, соответствовали колебаниям связей в основной цепи полипиррола. Полученные ПП/ПАМПС комплексы обладали высокой электропроводностью (1,4 – 5,3 мСм/см), измеренной четырёхточечным методом.

Таким образом, было показано, что лакказы-медиаторный подход может быть использован для получения электропроводящего полипиррола.

6. Лакказы-медиаторный синтез композита ПАНИ/МУНТ

В качестве углеродного материала для получения композита на основе электропроводящего ПАНИ использовали многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ). Для гидрофилизации поверхности коммерческие МУНТ предварительно обрабатывали горячей азотной кислотой. В результате такой обработки в составе МУНТ значительно уменьшалось содержание аморфного углерода (сажи) и металлов-катализаторов, а на поверхности образовывались карбоксильные и гидроксильные группы, в результате чего углеродный материал становился гидрофильным.

Композит ПАНИ/МУНТ получали ферментативной полимеризацией анилина на поверхности нанотрубок. В качестве кислотного допанта использовали *n*-толуолсульфоновую кислоту, а октоцианомолибдат (4+) калия – являлся редокс-медиатором. Лакказы-медиаторный синтез композитов ПАНИ/МУНТ проводили при исходных весовых соотношениях АНИ/МУНТ 6:1, 4:1, 0,5:1. Все композиты образовывали стабильные дисперсии в этаноле. Массовая доля ПАНИ в композитах с исходными весовыми соотношениями АНИ/МУНТ 6:1, 4:1, 0,5:1 составляла 49, 41 и 23%, соответственно.

Полученные композиты были охарактеризованы по следующим основным параметрам: структура повторяющегося звена ПАНИ в составе композита, морфология, электропроводность, удельная электрохимическая ёмкость и электрохимическая стабильность. На Рис. 13 приведены FTIR-спектры гидрофилизированных МУНТ (1), ферментативно синтезированных композитов ПАНИ/МУНТ с различной массовой долей ПАНИ (2–4), а также ферментативно синтезированного ПАНИ (5). По сравнению со спектрами коммерческих МУНТ на спектрах гидрофилизированных нанотрубок появлялись полосы поглощения при 1739, 1194 и 1021 см^{-1} , соответствующие валентным колебаниям карбоксильных групп.

FTIR-спектры ПАНИ (Рис. 13, кривая 5) и ПАНИ/МУНТ композитов характеризуются полосами поглощения, которые соответствуют $\text{C}=\text{N}$ и $\text{C}=\text{C}$

валентным колебаниям хиноиддииминных ($1549\text{--}1565\text{ см}^{-1}$) и фенилендиаминных ($1467\text{--}1495\text{ см}^{-1}$) фрагментов полимера. Следует отметить, что относительная интенсивность пиков, соответствующих валентным колебаниям основных единиц ПАНИ, возрастала с увеличением массовой доли полимера в составе композита (Рис. 13, кривые 2–4).

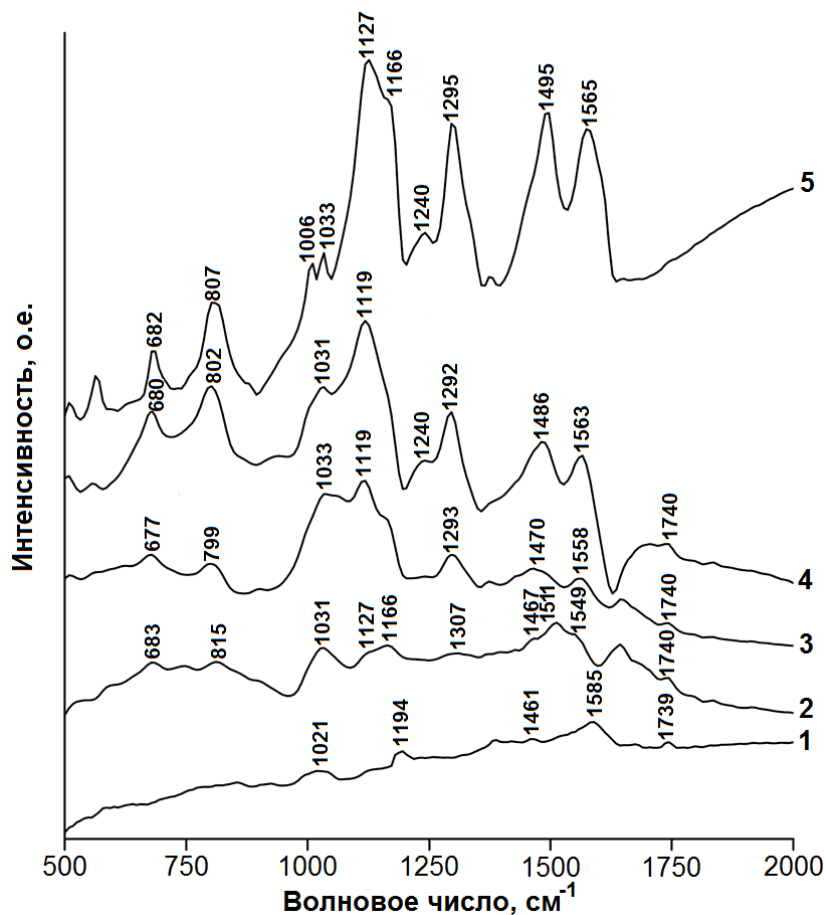


Рис. 13. FTIR-спектры МУНТ (1), композитов ПАНИ/МУНТ с различной массовой долей ПАНИ: 23% (2), 41% (3), 49% (4) и чистого ПАНИ (5).

Морфологию ферментативно синтезированных композитов ПАНИ/МУНТ и МУНТ исследовали методами сканирующей электронной и просвечивающей электронной микроскопии (СЭМ и ПЭМ). Как показали исследования, толщина слоя ПАНИ на поверхности МУНТ возрастала с увеличением массовой доли полимера в композите.

На Рис. 14 представлены СЭМ и ПЭМ изображения МУНТ и композита ПАНИ₄₉/МУНТ (массовая доля ПАНИ 49%). Как видно из рисунка, МУНТ обладали ровной поверхностью (Рис. 14 а, в), и их диаметр составлял 10–15 нм. Композит ПАНИ₄₉/МУНТ обладал фибриллярной структурой, а его диаметр увеличился до 50–70 нм (Рис. 14 б, г) по сравнению с МУНТ. В композите ПАНИ₄₉/МУНТ полимер образовывал однородный, тонкий и рельефный слой на поверхности МУНТ.

Эти результаты показывают, что МУНТ можно использовать в качестве твёрдой матрицы для ферментативного получения композитов ПАНИ/МУНТ со

структурой ядро/оболочка. Такая структура композитных материалов обеспечивает большую удельную площадь поверхности на границе раздела электрод/электролит, быстрые процессы допирования/дедопирования цепи ПАНИ в циклах заряд/разряд и высокие скорости переноса заряда.

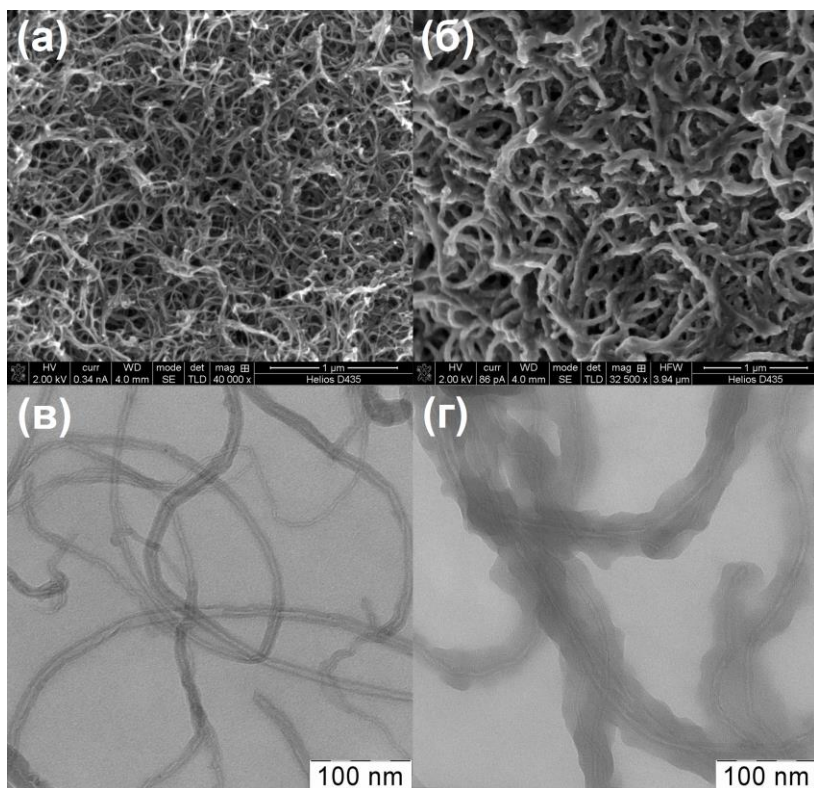


Рис. 14 СЭМ изображения МУНТ (а) и композита ПАНИ₄₉/МУНТ (б); ПЭМ изображения МУНТ (в) и композита ПАНИ₄₉/МУНТ (г).

Электропроводность синтезированных композитов ПАНИ/МУНТ с массовой долей ПАНИ 23, 41 и 49%, измеренная 4-х точечным методом, составляла 13,1, 10,9 и 10,1 См/см, соответственно. Необходимо отметить, что электропроводность композитов ПАНИ/МУНТ более чем в 14 раз выше электропроводности чистого ПАНИ (0,7 См/см).

Электрохимические свойства композитов были исследованы с использованием циклической вольтамперометрии по трёхэлектродной схеме, а также гальваностатическим методом в циклах заряд/разряд.

Циклические вольтамперограммы МУНТ и синтезированных композитов записывали при разных скоростях изменения потенциала (5, 10, 20, 50 и 100 мВ/с) в интервале потенциалов от -0,1 В до +0,6 В (отн. Ag/AgCl).

Удельную электрохимическую ёмкость композита (C_{yd}) для циклических вольтамперограмм рассчитывали по формуле

$$C_{yd} = \frac{\int IdE}{v \cdot E \cdot m},$$

где I – ток; v – скорость изменения потенциала; E – потенциал; m – масса нанесенного на токоотвод композита. Удельную ёмкость электрода рассчитывали на активный композит без учёта ёмкости токоотвода, которую определяли в независимых экспериментах и вычитали из общей ёмкости электрода. Ёмкость токоотвода не превышала 0,3% от ёмкости композитного электрода.

Удельная ёмкость композитов ПАНИ/МУНТ с массовой долей ПАНИ 23, 41 и 49% при скорости изменения потенциала электрода 5 мВ/с составляла 263, 385 и 440 Ф/г, соответственно (Рис. 15), в то время как удельная ёмкость МУНТ составляла 45 Ф/г. Таким образом, с увеличением массовой доли ПАНИ в составе композита увеличивалась его удельная ёмкость. Следует отметить, что удельная ёмкость композитов ПАНИ/МУНТ, полученных химическим способом с использованием $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ в качестве окислителя, измеренная в тех же условиях, составляла 276 и 314 Ф/г для композитов с массовой долей ПАНИ 46 и 73%, соответственно.

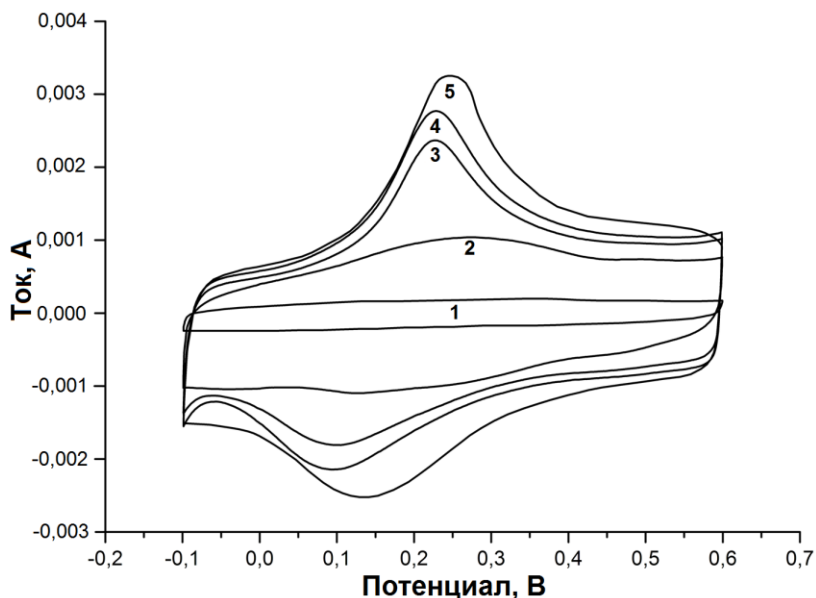


Рис. 15. Циклические вольтамперограммы МУНТ (1); композитов ПАНИ/МУНТ с массовой долей ПАНИ 23% (2), 41% (3), 49% (4) и чистого ПАНИ (5).

Условия: 1 М раствор H_2SO_4 ; скорость изменения потенциала 5 мВ/с.

Таким образом, композит ПАНИ₄₉/МУНТ имел высокую удельную ёмкость, хорошую электропроводность и образовывал устойчивую спиртовую дисперсию. Кроме того, в этом композите, электропроводящий полимер покрывал поверхность углеродного наноматериала равномерным тонким слоем, что обеспечивало оптимальное участие в фарадеевском процессе всего нанесённого на МУНТ полимера и быструю кинетику допирования/дедопирования ПАНИ. Поэтому именно он был выбран для дальнейших исследований.

При гальваностатических измерениях в режиме заряд/разряд на исследуемый электрод подавали постоянный ток 7,0 А на 1 г образца. Удельную ёмкость композита рассчитывали из кривой разряда по формуле

$$C_{y\partial} = \frac{I \cdot \Delta t}{\Delta V \cdot m},$$

где I – ток; Δt – временной интервал изменения напряжения ΔV ; m – масса нанесённого на токоотвод композита.

Удельная ёмкость композита ПАНИ₄₉/МУНТ, при плотности тока 7 А/г составила 329 Ф/г (Рис. 16).

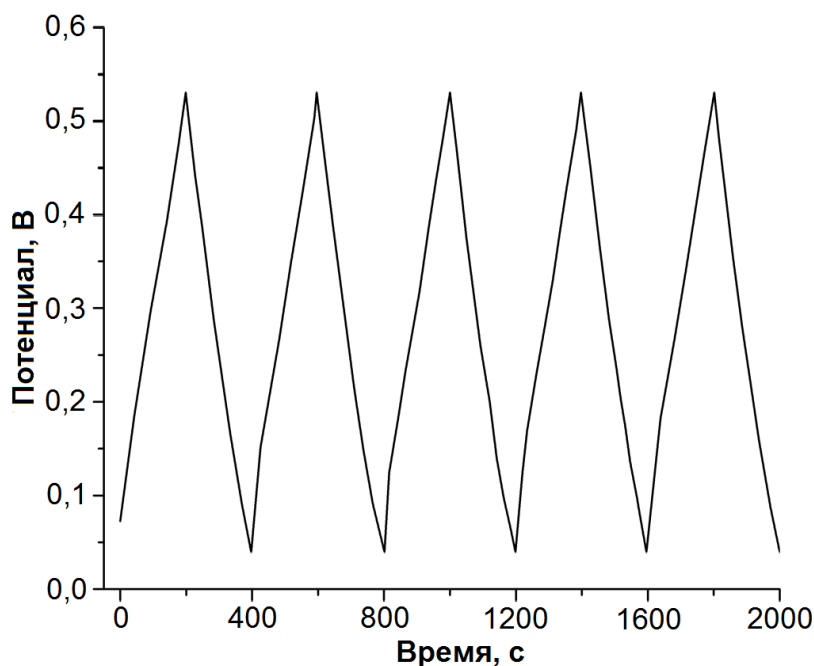


Рис. 16. Гальваностатические кривые заряд/разряд композита ПАНИ₄₉/МУНТ.

Условия: 1 М раствор H₂SO₄, плотность тока 7 А/г.

Стабильность композита ПАНИ₄₉/МУНТ, исследованная методом циклической вольтамперометрии, в диапазоне потенциалов от -0,1 до +0,6 В при непрерывном циклировании потенциала электрода представлена на Рис. 17.

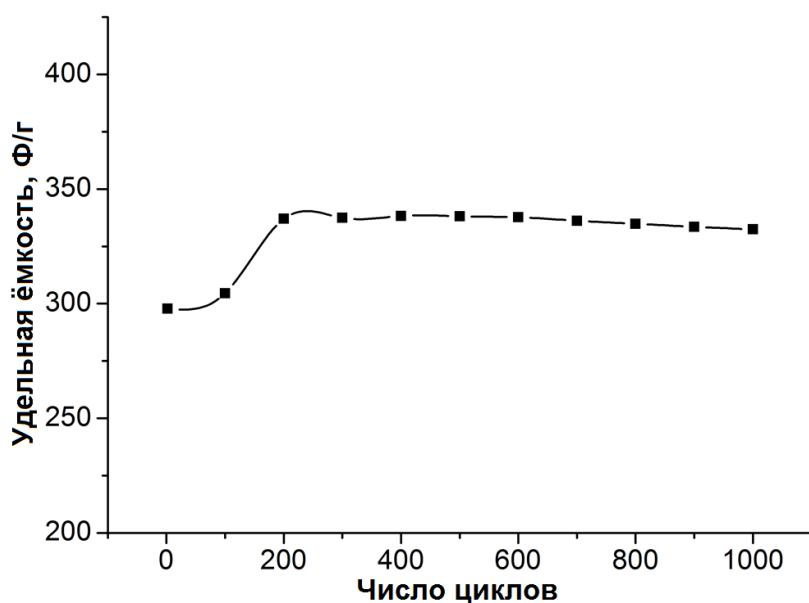


Рис. 17. Зависимость удельной ёмкости композита ПАНИ₄₉/МУНТ от числа циклов сканирования потенциала.

Условия: 1 М раствор H₂SO₄; интервал сканирования потенциала от -0,1 до +0,6 В; скорость изменения потенциала 100 мВ/с.

После сорокового цикла удельная ёмкость композита увеличивалась с 299 Ф/г до максимального значения 360 Ф/г, которое было достигнуто на 215 цикле сканирования. Затем до 1000 цикла происходило постепенное снижение удельной ёмкости композита на ~7 % от максимального значения. Рост удельной ёмкости композита, возможно, связан с улучшением смачиваемости поверхности композита электролитом в процессе эксперимента.

Высокая стабильность композита ПАНИ₄₉/МУНТ в диапазоне потенциалов от -0,1 до +0,6 В при 1000 циклах сканирования может являться результатом хорошей морфологии композита и малой толщины слоя ПАНИ на поверхности МУНТ.

7. Лакказы-медиаторный синтез композита ПАНИ/МУНТ с использованием димера анилина и фитиновой кислоты

Димер анилина (ФФДА) является ускорителем ферментативной полимеризации анилина. Для улучшения морфологической однородности композита и его электрохимических характеристик димер анилина иммобилизовали на поверхности МУНТ методом физической адсорбции. Адсорбцию ФФДА на поверхности МУНТ контролировали с использованием УФ-видимой спектрофотометрии. Было установлено, что через 60 мин инкубирования 5 мг МУНТ в 1 мМ растворе ФФДА достигалось предельное заполнение димером поверхности углеродного наноматериала. Модифицированные ФФДА нанотрубки использовали для ферментативного синтеза композита ПАНИ/МУНТ.

В качестве кислотного допанта при синтезе композита использовали многоосновную кислоту природного происхождения – фитиновую кислоту (ФК). Полимеризацию анилина на поверхности МУНТ, модифицированных ФФДА, инициировали добавлением лакказы и проводили при комнатной температуре и постоянном перемешивании в течение 12 ч.

Электропроводность композита ПАНИ/МУНТ, ферментативно синтезированного с использованием ФФДА, адсорбированного на поверхности МУНТ, составила 12,8 См/см, а массовая доля ПАНИ в составе композита – 47%. ПЭМ изображение полученного композита представлено на Рис. 18.

Удельная ёмкость композита, рассчитанная из циклических вольтамперограмм записанных при скорости изменения потенциала 5 мВ/с, составила 530 Ф/г, что значительно выше удельной ёмкости аналогичного композита, синтезированного с использованием ФФДА находящегося в объёме реакционной среды (471 Ф/г).

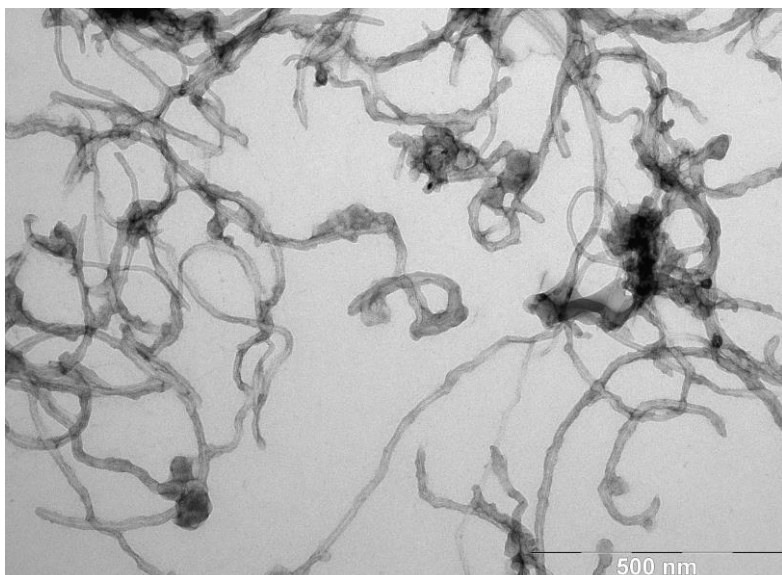


Рис. 18. ПЭМ изображение композита ПАНИ/МУНТ, ферментативно синтезированного с использованием ФФДА, адсорбированного на поверхности МУНТ.

Стабильность композитного наноматериала при непрерывном сканировании потенциала со скоростью 100 мВ/с в интервале от -0,1 до +0,6 В (отн. Ag/AgCl) составила 91% от первоначального значения после 2000 циклов сканирования.

Следует отметить, что использование фитиновой кислоты в качестве допанта ПАНИ также позволяет получать электропроводящий гидрогель нанокompозитного материала при больших концентрациях АНИ (1 М), ФК (0,2 М) и лакказы с высокой удельной активностью (1 МЕ/мл) в реакционной среде (Рис. 19). Такой наноструктурированный гидрогель может быть использован для нанесения на различные подложки методом трафаретной печати.

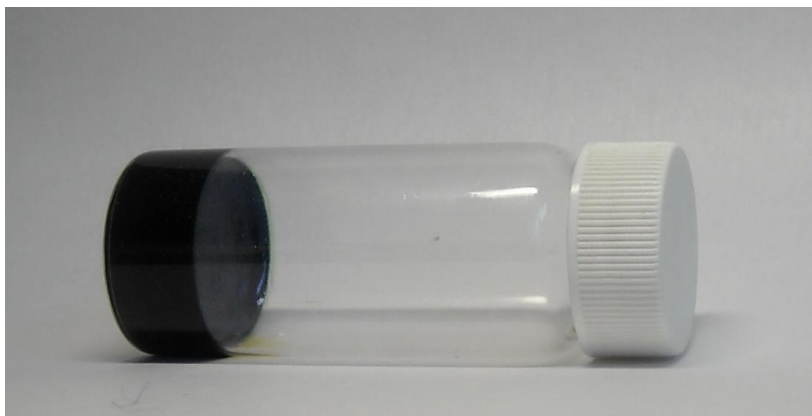


Рис. 19. Гидрогель ПАНИ/ФК/МУНТ, синтезированный с использованием ЛМС.

8. Изготовление и электрохимические характеристики макета гибкого тонкого суперконденсатора на основе ферментативно синтезированного композита ПАНИ/МУНТ

Была разработана модель суперконденсатора (СК) с симметричной архитектурой. СК изготавливали из двух одинаковых гибких электродов с ферментативно синтезированным композитом ПАНИ₄₉/МУНТ (массовая доля полимера 49%), полученного с использованием редокс-медиатора

октоцианомолибдата (4+) калия. Гелевый полимерный электролит служил одновременно электролитом и сепаратором.

Для изготовления электродов СК сначала формировали коллектор тока. Для этого клейкую ленту приклеивали к поверхности графитовой фольги и затем отслаивали, при этом на липкой стороне ленты образовывался тонкий слой графита с крайне низким поверхностным сопротивлением $3 - 8 \text{ } \Omega/\square$. СЭМ изображение графитового слоя представлено на Рис. 20.

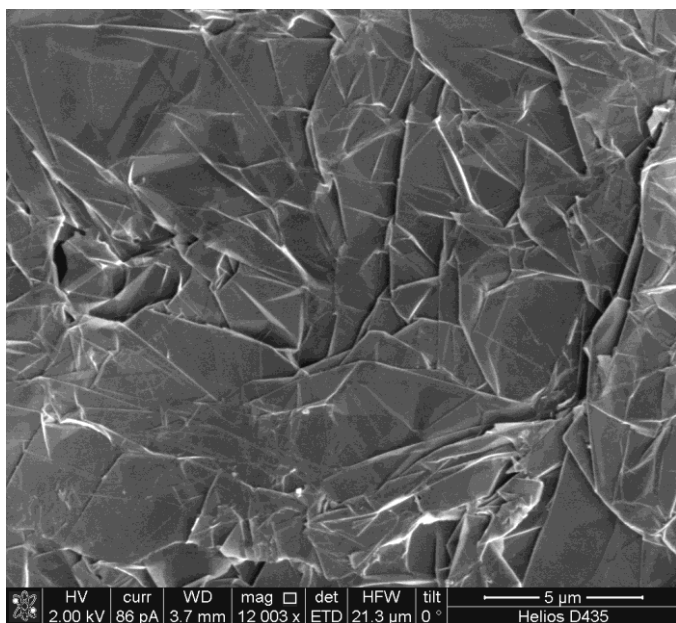


Рис. 20. СЭМ-изображение графитового коллектора тока.

Масса композита, нанесённого на электрод, составляла $\sim 0,3$ мг, а поверхностное сопротивление такого электрода $4 - 10 \text{ } \Omega/\square$. Затем на каждый из двух электродов СК наносили гидрогель поливинилового спирта (ПВС) в $0,5 \text{ М}$ H_3PO_4 и после эластификации ПВС прессовали. В результате получали тонкий и гибкий СК, контактами у которого являлась серебряная паста. Было изготовлено 4 макета гибких СК, толщина которых составляла $300 - 400 \text{ мкм}$.

Электрохимические исследования изготовленных СК проводили методом циклической вольтамперометрии и гальваностатическими измерениями в циклах заряда/разряда, используя двухэлектродную схему.

Результаты гальваностатических испытаний СК в циклах заряд/разряд представлены на Рис. 21. Внутреннее сопротивление изготовленных СК, которое оценивали по спектрам импеданса Найквиста при $0,0 \text{ В}$, составляло $43 - 59 \text{ Ом}$. Средние значения удельной ёмкости, плотности энергии и мощности СК, рассчитанные из кривых разряда составили 412 Ф/г , $7,03 \text{ Вт}\cdot\text{ч/кг}$ и $5,2 \text{ кВт/кг}$, соответственно.

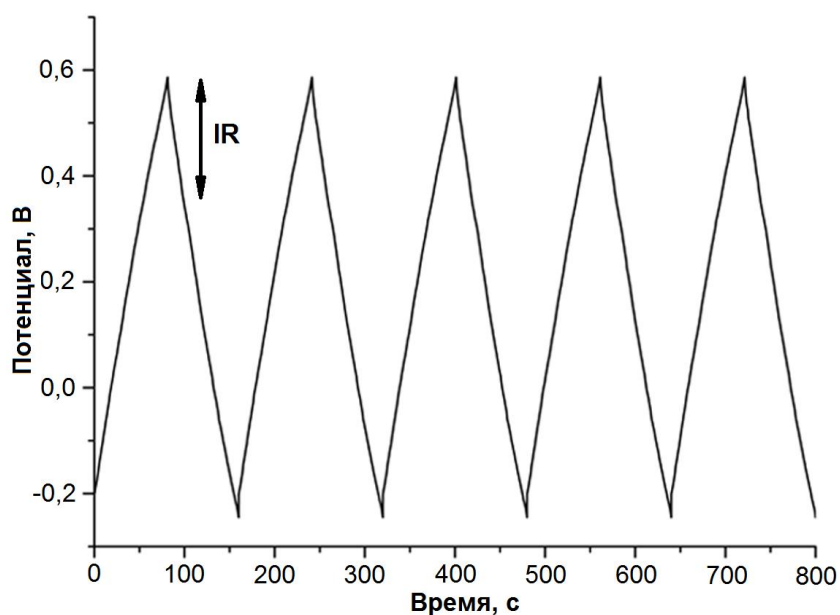


Рис. 21. Гальваностатические кривые заряд/разряд суперконденсатора, записанные при токе 0,6 мА.

Сконструированный тонкий гибкий СК был использован в качестве источника питания светодиода. Основная проблема при этом заключалась в низком операционном напряжении отдельного СК. Поэтому для демонстрации работы разработанного макета устройства, 4 суперконденсатора были последовательно соединены в батарею для достижения напряжения, необходимого для электропитания светодиода (Рис. 21).

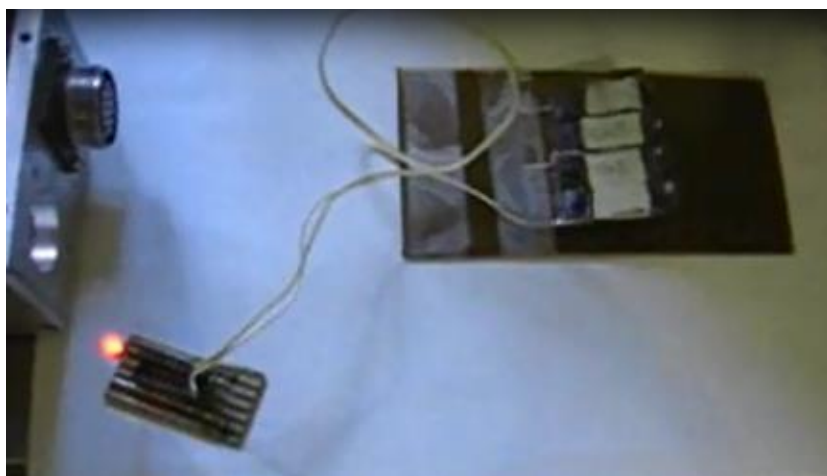


Рис. 22. Использование батареи гибких тонких СК для питания светодиода.

ВЫВОДЫ

1. Разработан новый лакказа-медиаторный подход к получению электропроводящего полианилина. В присутствии редокс-медиатора скорость ферментативной полимеризации анилина значительно увеличивается, и синтезированный полимер обладает большей электропроводностью, по сравнению с полианилином, полученным в отсутствие медиатора. Показана принципиальная возможность использования лакказа-медиаторных систем для окислительной полимеризации 3,4-этилендиокситиофена и пиррола, ферментативную полимеризацию которых невозможно осуществить в отсутствие редокс-медиатора.
2. Установлены различия лакказа-медиаторной и химической полимеризации анилина. В отличие от химической полимеризации анилина, протекающей через образование полимера в окисленном состоянии (пернигранилин), при лакказа-медиаторном синтезе электропроводящая эмеральдиновая соль полианилина образуется сразу после инициирования реакции.
3. Использование лакказа-медиаторного подхода позволяет получать композиты на основе электропроводящего полианилина и многостенных углеродных нанотрубок, которые обладают высокой электрохимической ёмкостью, электропроводностью и стабильностью в циклах заряд/разряд.
4. Показано, что в результате ферментативной полимеризации анилина в присутствии фитиновой кислоты в качестве допанта и димера анилина, адсорбированного на поверхности многостенных углеродных нанотрубок, образуется композитный материал с улучшенными электрохимическими характеристиками и морфологией. Установлено, что при высоких концентрациях анилина и фитиновой кислоты образуется электропроводящий гидрогель композита, который может быть использован в технологии трафаретной печати электронных устройств.
5. Создан и протестирован макет гибкого тонкого суперконденсатора, в котором электроактивным материалом электродов являлся композит полианилин/многостенные углеродные нанотрубки, синтезированный с использованием лакказа-медиаторной системы. Суперконденсатор обладал большой удельной ёмкостью (412 Ф/г) и высокими плотностями мощности (5,2 кВт/кг) и энергии (7,03 Вт·ч/кг).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи:

1. Shumakovich G.P., Kurova V.S., Vasil'eva I.S., Pankratov D.V., **Otrokhov G.V.**, Morozova O.V., Yaropolov A.I. Laccase-mediated synthesis of conducting polyaniline. // Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2012., V. 77, p. 105 – 110.
2. Shumakovich G.P., **Otrokhov G.V.**, Vasil'eva I.S., Pankratov D.V., Morozova O.V., Yaropolov A.I. Laccase-mediated polymerization of 3,4-ethylenedioxythiophene (EDOT). // Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2012., V. 81, p. 66 – 68.
3. **Отрохов Г.В.**, Морозова О.В., Васильева И.С., Шумакович Г.П., Зайцева Е.А., Хлупова М.Е., Ярополов А.И. Биокаталитический синтез электропроводящих полимеров и перспективы его использования. // Успехи биологической химии. 2013., Т. 53, с. 355 – 386. (**Otrokhov G.V.**, Morozova O.V., Vasil'eva I.S., Shumakovich G.P., Zaitseva E.A., Khlopova M.E., Yaropolov A.I. Biocatalytic synthesis of conducting polymers and prospects for its application// Biochemistry (Moscow) 2013., V. 78, No. 13, p. 1539 – 1553.)
4. **Otrokhov G.V.**, Pankratov D.V., Shumakovich G.P., Khlopova M.E., Zeifman Y. S., Vasil'eva I.S., Morozova O.V., Yaropolov A.I. Enzymatic synthesis of polyaniline/multi-walled carbon nanotube composite with core shell structure and its electrochemical characterization for supercapacitor application. // Electrochimica Acta. 2014., V. 123, p. 151– 157.

Материалы конференций:

1. **Отрохов Г.В.** Лакказы-медиаторный синтез электропроводящего полианилина III Всероссийская молодёжная конференция с элементами научной школы «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества», Москва, 2012 г., с. 454.
2. **Отрохов Г.В.** Лакказы-медиаторный способ получения композита на основе углеродных нанотрубок и электропроводящего полианилина. Международная заочная научно-практическая конференция «Наука и образование в XXI веке», Тамбов, 2013 г., часть 12, с. 94-95.
3. Ярополов А.И., Шумакович Г.П., **Отрохов Г.В.**, Хлупова М.Е., Васильева И.С., Морозова О.В. Синтез нанокомпозита на основе электропроводящего полианилина и углеродных нанотрубок с использованием лакказы-медиаторной системы и разработка на его основе гибкого тонкого суперконденсатора. VIII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», Россия, Москва, 2015 г., часть 3, с. 13.

Патент:

Отрохов Г.В., Попов В.О., Липкин А. В., Ярополов А.И., Шумакович Г.П., Морозова О.В., Панкратов Д.В., Васильева И.С., Зейфман Ю.С. Способ получения композитного материала для электрода суперконденсатора. Патент РФ на изобретение №2495509 от 10 октября 2013 г.