

NGHIÊN CỨU CƠ CHẾ CỦA QUÁ TRÌNH PEROXYDASA TRONG HỆ $H_2O-Ni^{2+}-HCO_3^- -Lm-H_2O_2$ (1)

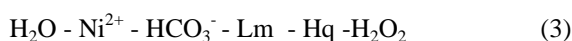
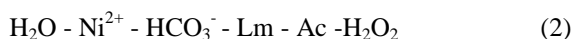
Vũ Thị Kim Loan

Đại học Y – Dược Hải Phòng

Đền Tòa soạn 23-3-2015; Chấp nhận đăng 10-6-2016

Abstract

By using method of using inhibitor, it was found that the catalytic process of indigocarmine (Ind) oxidation take place according to the radical chain mechanism with a generation of free active OH^* radical reacting with Ind, H_4L , In (Lumomagnezone - Lm, Hydroquinon - Hq, Paranitrozodimetylanilin - Pa) in the systems:



This article presents our results of calculating the rate constant $k(Ind+OH^*)$ of oxidizing reaction of Indigocarmine by hydroxyl radicals OH^* . $k(Ind + OH^*)$ was calculated by using Turbopascal programming languages.

Keywords. Inhibitor, indigocarmine, hydroxyl radicals.

1. MỞ ĐẦU

Trong công trình [1] đã chỉ ra trong hệ phản ứng gồm H_2O , Ni^{2+} , HCO_3^- , Lumomagnezon (Lm), H_2O_2 xảy ra quá trình peroxydasa tạo ra gốc tự do *OH . Tuy nhiên ở đây chưa chỉ rõ phần cơ chế của quá trình này. Để tiếp tục nghiên cứu, làm rõ cơ chế phản ứng peroxydasa trong hệ (1), trong công trình này đã sử dụng phương pháp các chất ức chế để nghiên cứu cơ chế phản ứng peroxydasa bằng cách sử dụng các chất có tương tác đặc thù với gốc tự do *OH như axit ascorbic (AC), hydroquinon (Hq) và paranitrozodimetylanilin (Pa). Kết quả thu được đã khẳng định cơ chế phản ứng peroxydasa trong hệ (1) là cơ chế mạch gốc với sự phát sinh và huỷ diệt gốc tự do *OH .

Dựa trên các phản ứng cạnh tranh giành gốc *OH trong hệ (1) đã tính được hằng số tốc độ tương tác giữa Lumomagnezon (Lm) với gốc tự do *OH có giá trị rất lớn $k_{Lm+OH} \approx 7.109 LM^{-1}S^{-1}$, điều đó chứng tỏ gốc tự do *OH là tác nhân oxi hoá mạnh.

Các kết quả thu được cho phép thiết lập được sơ đồ cơ chế mạch gốc của phản ứng peroxydasa trong hệ nghiên cứu.

2. THỰC NGHIỆM

Cách tiến hành thực nghiệm được trình bày

trong [2, 3]. Các phản ứng khi sử dụng chất ức chế, được tiến hành ở nhiệt độ $(30 \pm 0,2^\circ C)$ và $pH = 8$ với thể tích mẫu 30ml. Các hoá chất sử dụng trong phản ứng là loại PA. Thông số động học được xác định trên các thiết bị: pH5i/SET (CHLB Đức), UV-VIS 752M (TQ). Mỗi thí nghiệm được làm 3 lần để chọn kết quả.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định sự phát sinh các gốc tự do

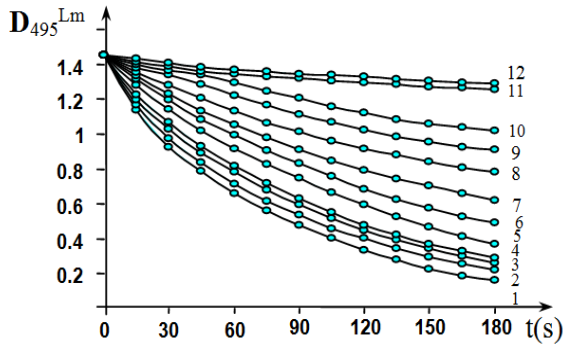
3.1.1. Ảnh hưởng của Ac đến W^{Lm} trong hệ:
 $H_2O - Ni^{2+} - HCO_3^- - Lm - Ac - H_2O_2$ (2)

Hình 1 cho biết kết quả nghiên cứu sự phụ thuộc của D_{495}^{Lm} vào nồng độ của Ac. Ở đây Ac có tác dụng ức chế quá trình peroxydasa trong hệ (2). Khi nồng độ Ac càng cao thì tác dụng ức chế càng mạnh. Mặt khác trong thời gian bị ức chế, nồng độ Ac giảm dần (hình 2), chứng tỏ đã sinh ra *OH trong quá trình phản ứng với điều kiện: $[Ni^{2+}]_0 = 10^{-6} M$; $[HCO_3^-]_0 = 10^{-1} M$; $[Lm]_0 = 8 \times 10^{-5} M$; $[H_2O_2]_0 = 10^{-1} M$; $pH = 8$.

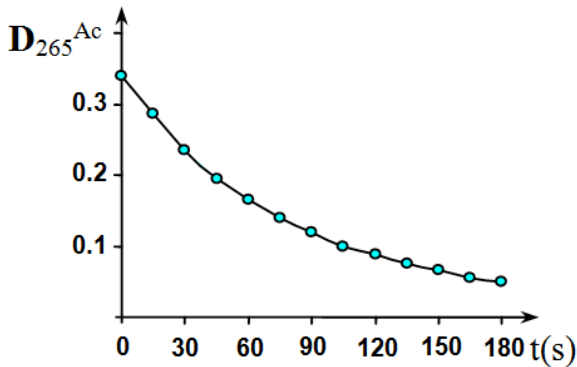
3.1.2. Ảnh hưởng của Hq đến W^{Lm} trong hệ:
 $H_2O - Ni^{2+} - HCO_3^- - Lm - Hq - H_2O_2$ (3)

Hình 3 cho biết kết quả nghiên cứu sự phụ thuộc

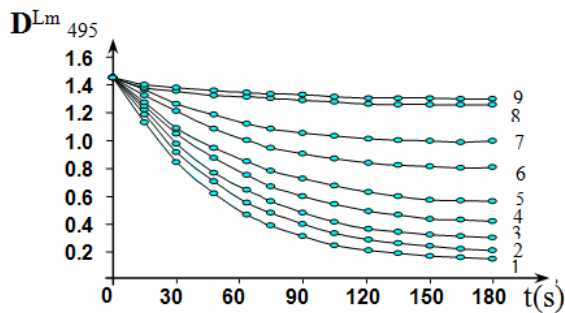
của D_{495}^{Lm} vào nồng độ của Hq. Ở đây Hq có tác dụng ức chế quá trình peroxydasa trong hệ (3). Khi nồng độ Hq càng cao thì tác dụng ức chế càng mạnh. Mặt khác trong thời gian bị ức chế, nồng độ Hq giảm dần (hình 4), chứng tỏ đã sinh ra $\bullet OH$ trong quá trình phản ứng với điều kiện: $[Ni^{2+}]_0 = 10^{-6} M$; $[Lm]_0 = 8 \times 10^{-5} M$; $[HCO_3^-]_0 = 10^{-1} M$; $[H_2O_2]_0 = 10^{-1} M$; pH = 8.



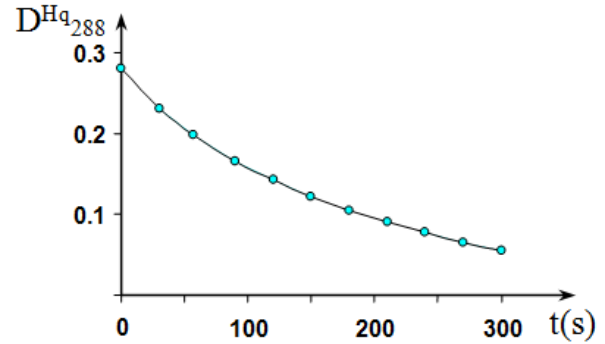
Hình 1: Ảnh hưởng của Ac trong hệ (2), $[Ac]_0 = [0, 1, 2, 3, 5, 7, 8, 10, 15, 20, 25, 25] \times 10^{-5} M$ ứng với các đường 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12



Hình 2: Sự giảm của Ac trong hệ (2) $[Ac]_0 = 1 \times 10^{-4} M$



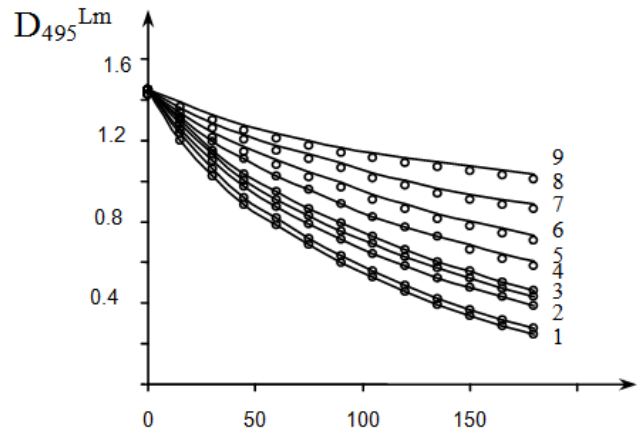
Hình 3: Ảnh hưởng của chất ức chế Hq trong hệ (3) $[Hq]_0 = (0; 0,5; 1,0; 2,0; 3; 5; 7,0; 10; 12) \times 10^{-6} M$ ứng với các đường 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9



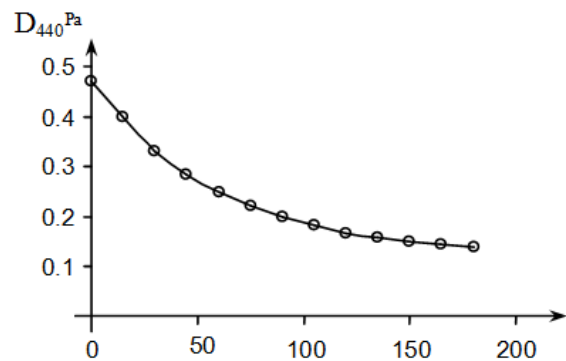
Hình 4: Sự giảm của Hq trong hệ (3), $[Hq]_0 = 1 \times 10^{-3} M$

3.1.3. Ảnh hưởng của Pa đến W^{Lm} trong hệ: $H_2O - Ni^{2+} - HCO_3^- - Lm - Pa - H_2O_2$ (4)

Kết quả ở hình 5 và 6 hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu với Ac trong hệ (2). Kết quả này một lần nữa cho phép khẳng định rằng cơ chế phản ứng ôxi hoá Lm bằng H_2O_2 trong hệ (1) là cơ chế mạch gốc sinh gốc tự do $\bullet OH$ ứng với điều kiện: $[Ni^{2+}]_0 = 10^{-6} M$; $[Lm]_0 = 8 \times 10^{-5} M$; $[HCO_3^-]_0 = 10^{-1} M$; $[H_2O_2]_0 = 10^{-1} M$; pH = 8.



Hình 5: Ảnh hưởng của chất ức chế Pa trong hệ (4) $[Pa]_0 = (0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 6; 8) \times 10^{-6} M$ ứng với các đường 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

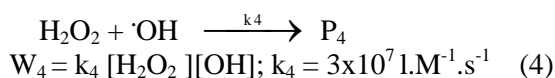
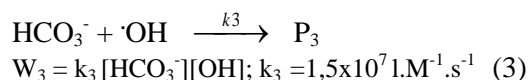
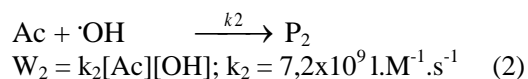
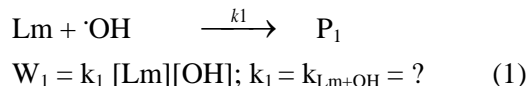


Hình 6: Sự giảm của Pa trong hệ (4) $[Pa]_0 = 0,5 \times 10^{-5} M$

3.2. Tính $k_{Lm+\cdot OH}$

3.2.1. Xác định $k_{Lm+\cdot OH}$ dựa vào hệ (2)

Đối với hệ (2) có các phản ứng cạnh tranh gốc $\cdot OH$ như các phản ứng xảy ra sau:



Theo phương pháp sử dụng các phản ứng cạnh tranh có thể xác định được k_1 theo biểu thức:

$$\frac{1}{\Delta C_1} = a + \frac{a}{k_1} x \frac{k_2 \cdot [Ac]_0 + k_3 \cdot [HCO_3^-]_0 + k_4 \cdot [H_2O_2]_0}{[Lm]_0} \quad (1)$$

Trong đó: ΔC_1 là biến thiên nồng độ của Lm ứng với mỗi giá trị nồng độ đầu $[Ac]_0$ sau mỗi khoảng thời gian $\Delta t = 30s$; ΔC_1 được xác định theo công thức:

$$\Delta C_1 = \frac{\Delta D_1}{\epsilon \cdot d} \quad (2)$$

Trong đó: ΔD_1 là độ giảm mật độ quang của Lm.

$\epsilon = 2,47 \times 10^4 \text{ l.M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ là hệ số hấp thụ phân tử của Lm. $d = 1\text{cm}$, chiều dày của Cuvet.

Đặt:

$$y = \frac{1}{\Delta C_1}; b = \frac{1}{\Delta C_1} = \frac{a}{k_1}$$

$$x = \frac{k_2 \cdot [Ac]_0 + k_3 \cdot [HCO_3^-]_0 + k_4 \cdot [H_2O_2]_0}{[Lm]_0} \quad (3)$$

Ta sẽ được phương trình dạng $y = bx + a$, trong đó a , b được xác định theo phương pháp bình phương bé nhất [1, 2]. Từ các dữ liệu thu được trên hình 1, các hằng số tốc độ ở biểu thức (1)-(4) và theo các công thức (1)-(3) ta có thể tính được các cặp giá trị x và y tương ứng với mỗi nồng độ $[Ac]_0$. Các giá trị x , y được tính theo số liệu ghi ở bảng 1.

Sau đó tính $k_{Lm+\cdot OH}$ theo chương trình PC, kết quả: $k_{Lm+\cdot OH} = 6,71 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

Bảng 1: Các giá trị của x và y trong phương trình: $y = bx + a$ của hệ (2)

n	$[Ac]_0 \cdot 10^5$	ΔD	$\Delta C_1 \cdot 10^4$	$y \cdot 10^4$	$k_2 \cdot [Ac]_0$	$k_3 \cdot [HCO_3^-]_0$	$k_4 \cdot [H_2O_2]_0$	$x \cdot 10^{10}$
1	1	0.475	0.192	5.20	7.20.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	3,84
2	2	0.421	0.170	5.87	14.4.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	3,93
3	3	0.381	0.154	6.48	21.6.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	4,02
4	5	0.306	0.124	8.07	36.0.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	4,20
5	7	0.245	0.103	9.73	50.4.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	4,38
6	8	0.217	0.088	11.37	57.6.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	4,47
7	10	0.172	0.07	14.37	72.0.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	4,65
8	15	0.109	0.044	22.68	108.10 ⁹	1.5.10 ⁶	1.5.10 ⁶	5,10

3.2.2. Xác định $k_{Lm+\cdot OH}$ dựa vào hệ (3)

Đối với hệ (3) có các phản ứng cạnh tranh gốc $\cdot OH$ tương tự như các phản ứng từ (1)-(4). Từ các số liệu thu được trên hình 3, các hằng số tốc độ ở phản ứng từ (1)-(4) nhưng thay $k_2 = 12 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ta có thể tính được k_1 theo các công thức từ (1)-(3), kết quả nhận được trên bảng 2.

Bảng 2: Các giá trị của x và y trong phương trình: $y = bx + a$ của hệ (3)

	$[Hq]_0 \cdot 10^5$	ΔD_1	$\Delta C_1 \cdot 10^4$	$y \cdot 10^4$	$k_2 \cdot [Hq]_0$	$k_3 \cdot [HCO_3^-]_0$	$k_4 \cdot [H_2O_2]_0$	$x \cdot 10^{10}$
1	0,05	0,535	0,217	4,62	0,6.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,76
2	0,1	0,475	0,192	5,2	1,2.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,77
3	0,2	0,402	0,163	6,1	2,4.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,78
4	0,3	0,333	0,135	7,4	3,6.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,80
5	0,5	0,239	0,097	10,3	6,0.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,83
6	0,7	0,186	0,075	13,3	8,4.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,86
7	1	0,105	0,043	23,5	12,0.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,90
8	1,2	0,069	0,028	35,8	14,4.10 ⁴	1,5.10 ⁶	1,5.10 ⁶	3,93

Sau đó tính $k_{Lm+\cdot OH}$ theo chương trình PC, kết quả: $k_{Lm+\cdot OH} = 7,58 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

3.2.3. Xác định $k_{Lm+\cdot OH}$ dựa vào hệ (4)

Đối với hệ (4) có các phản ứng cạnh tranh gốc $\cdot OH$ tương tự như các phản ứng từ (1)-(4). Từ các số liệu thu được trên hình 5, các hằng số tốc độ ở phản ứng từ (1)-(4) nhưng thay $k_2 = 18 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ta có thể tính được k_1 theo các công thức từ (1)-(3), kết quả nhận được trên bảng 3.

Sau đó tính $k_{Lm+\cdot OH}$ theo chương trình PC, kết quả: $k_{Lm+\cdot OH} = 7,46 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

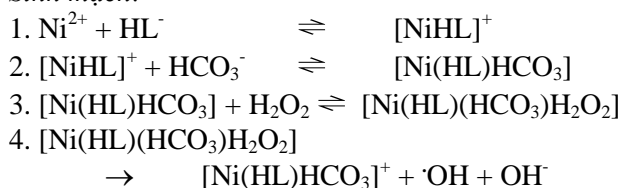
Khi sử dụng cả 3 chất ức chế Ac, Hq và Pa đều thấy xuất hiện: Quá trình kim hãm W^{lm} , tiêu hao chất ức chế và giá trị $k_{Lm+\cdot OH}$ khá lớn vì vậy có thể kết luận quá trình peroxydasa trong hệ (1) sinh ra gốc $\cdot OH$ có khả năng oxi hóa cao.

Từ các số liệu thu được trong phần tạo phức xúc tác, động học và cơ chế của quá trình xúc tác oxi hoá hợp chất hữu cơ bởi H_2O_2 [4-6] có thể giả thiết sơ đồ cơ chế oxi hoá Lm bởi H_2O_2 trong hệ (1) như sau:

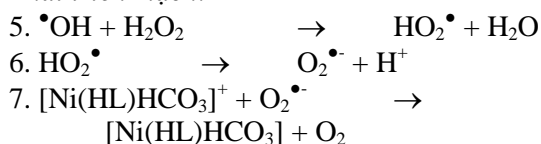
Bảng 3: Các giá trị x và y trong phương trình:
 $y = bx + a$ của hệ (4)

n	$[Pa]_0 \cdot 10^6$	ΔD_1	$\Delta C_1 \cdot 10^4$	$y \cdot 10^{-4}$	$k_1 [Pa]_0$	$k_2 [HCO_3]_0$	$k_4 [H_2O_2]_0$	$x \cdot 10^{-10}$
1	0,05	0,318	0,154	6,5	$0,9 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,76
2	0,10	0,345	0,143	7,0	$1,8 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,77
3	0,15	0,318	0,129	7,8	$2,7 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,78
4	0,20	0,299	0,121	8,3	$3,6 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,80
5	0,30	0,255	0,103	9,7	$5,4 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,83
6	0,40	0,213	0,086	11,6	$7,2 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,86
7	0,60	0,166	0,067	14,9	$10,8 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,90
8	0,80	0,125	0,051	19,6	$14,4 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	3,93

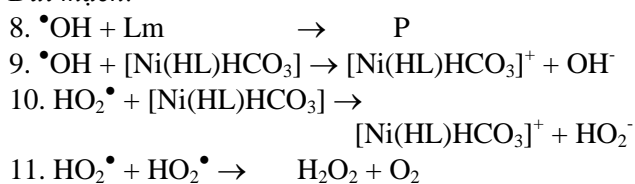
Sinh mạch:



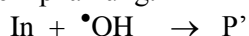
Phát triển mạch:



Đứt mạch:



Khi có chất ức chế In (Ac, Hq, Pa) giai đoạn đứt mạch còn có thêm phản ứng:



4. KẾT LUẬN

+ Chứng minh quá trình peroxydasa trong hệ nghiên cứu diễn ra theo cơ chế mạch gốc với sự phát sinh và huỷ diệt gốc tự do $\cdot\text{OH}$ có hoạt tính oxi hoá cao.

+ Trên cơ sở ngôn ngữ lập trình Pascal, đã xác định được hằng số tốc độ của phản ứng oxi hoá cơ

chất Lm bởi gốc $\cdot\text{OH}$ [4] tùy theo từng chất ức chế khác nhau. Kết quả thu được như sau: $k_{\text{Lm}+\text{OH}\cdot} = 6,71 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (với chất ức chế là Ac); $k_{\text{Lm}+\text{OH}\cdot} = 7,58 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (với chất ức chế là Hq); $k_{\text{Lm}+\text{OH}\cdot} = 7,46 \times 10^9 \text{ l.M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (với chất ức chế là Pa).

Điều đó chứng tỏ gốc tự do $\cdot\text{OH}$ có khả năng oxy hoá mạnh các hợp chất hữu cơ.

+ Tổng hợp các kết quả nghiên cứu, chúng tôi đã đề ra sơ đồ cơ chế nguyên tắc của quá trình peroxydasa trong hệ (1).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Vũ Thị Kim Loan. *Luận án tiến sĩ hoá học*, Hà Nội (2009).
- Vũ Thị Kim Loan, Ngô Kim Định, Nguyễn Văn Xuyên. *Cơ chế nguyên tắc của quá trình xúc tác oxi hoá Lumomagnezon (Lm) trong hệ: $\text{H}_2\text{O} - \text{Mn}^{2+} - \text{Lm} - \text{HCO}_3^- - \text{H}_2\text{O}_2$* , Tạp chí Hoá học, **44(2)**, 200-203 (2006).
- Vũ Thị Kim Loan, Ngô Kim Định, Nguyễn Văn Xuyên. *Nghiên cứu sự tạo phức, động học và cơ chế quá trình xúc tác oxi hoá Lumomagnezon (Lm) bằng H_2O_2 trong hệ $\text{H}_2\text{O} - \text{Fe}^{2+} - \text{Lm} - \text{HCO}_3^- - \text{H}_2\text{O}_2$* . Hội nghị Khoa học lần thứ 20 - Đại học Bách khoa Hà Nội, phân ban: Công nghệ Hoá học, 384-390, Nxb. Bách khoa Hà Nội (2006).
- Nguyễn Văn Xuyên, Trần Quang Huân, Trần Xuân Hoàng, Trần Thị Minh Nguyệt. *Xác định hằng số tốc độ của gốc OH^* với hợp chất hữu cơ S trên cơ sở lập trình bằng ngôn ngữ Foxpro và Pascal*, Tuyển tập báo cáo khoa học tại hội nghị toàn quốc về Hoá lý và hoá lý thuyết, tr. 245-252 (1999).
- Nguyễn Thị Thanh Thúy. *Nghiên cứu tính chất xúc tác oxi hóa – khử của phức chất Cu(II) với ligan và hỗn hợp ligan*. Luận án tiến sĩ hóa học, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội (2013).
- Zhimin Tao, Ryan A. Raffle, Abdul-Kader Souid, Jerry Goodisman. *Kinetic Studies on Enzyme-Catalyzed Reactions: Oxidation of Glucose, Decomposition of Hydrogen Peroxide and Their Combination*, Biophysical Journal, **96(7)**, 2977-2088 (2009).

Liên hệ: **Vũ Thị Kim Loan**

Đại học Y - Dược Hải Phòng

Số 72A, Nguyễn Bình Khiêm, Ngô Quyền, Hải Phòng

E-mail: vtkloan@hpmu.edu.vn; Điện thoại: 01276950872.