

БИОКАТАЛИТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ ПОЛИМЕРОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

©2013 г. Г. В. ОТРОХОВ¹, О. В. МОРОЗОВА¹,
И. С. ВАСИЛЬЕВА¹, Г. П. ШУМАКОВИЧ¹,
Е. А. ЗАЙЦЕВА², М. Е. ХЛУПОВА¹, А. И. ЯРОПОЛОВ¹

¹Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва

²Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

I. Введение. II. Электропроводящие полимеры и способы их получения III. Ферменты, катализирующие окислительную полимеризацию мономеров. IV. Ферментативный синтез электропроводящих полимеров и их физико-химические свойства V. Возможность практического использования ферментативно синтезированных электропроводящих полимеров. VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Практически все природные полимеры, включая полисахариды, лигнин, белки, ДНК и др. синтезируются *in vivo* с участием ферментов. Однако эти высокомолекулярные соединения, а также подавляющее большинство химически синтезированных полимеров, не являются электропроводящими. В конце 20-го века был открыт новый класс полимеров, обладающих собственной электропроводностью. Открытие в 1977 г. электропроводящего органического полимера линейного строения – полиацетилена, послужило толчком к синтезу и изучению новых соединений, названных «органическими металлами» [1]. В этих материалах сочетаются свойства органических полимеров, такие как низкая плотность, стабильность, устойчивость к коррозии, с электропроводностью металлов. При этом желаемые характеристики

Принятые сокращения: ЭПП – электропроводящие полимеры; ПАНИ – полианилин; ПП – полипиррол; ЭДОТ – 3,4-этилендиокситиофен; ПЭДОТ – поли(3,4-этилендиокситиофен); АБТС – диаммониевая соль 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой) кислоты; ПХ – пероксидаза из корней хрена; ПСА – персульфат аммония; НВЭ – нормальный водородный электрод; ПАМПС – поли(2-акриламидо-2-метил-1-пропансульфонової) кислота; ДБСNa – додецилбензол сульфат натрия; СКК – сульфокамфорная кислота.

Адрес для корреспонденции: yaropolov@inbi.ras.ru

таких материалов могут быть заложены на молекулярном уровне, путем модификации исходных мономеров.

Наиболее часто используемыми методами синтеза электропроводящих полимеров (ЭПП) является химическая и электрохимическая полимеризация. Метод химического синтеза далек от экологически благоприятного, так как протекает в сильноокислой среде и требует больших количеств окислителя, продукты восстановления которого необходимо утилизировать. Кроме того, в процессе химического окисления мономеров могут образовываться побочные токсичные продукты. Реакция химической полимеризации протекает по автокаталитическому механизму с большим индукционным периодом. Электрохимическую полимеризацию также проводят в сильноокислой среде, и при этом требуется электропроводящий электрод, ограниченный геометрическими размерами. Поэтому использование природных биокатализаторов для *in vitro* синтеза полимеров с целью уменьшения нагрузки на окружающую среду (в результате минимизации побочных отходов), является весьма привлекательным и перспективным.

В последние годы для полимеризации мономеров был предложен ферментативный подход, во многом отвечающий требованиям «зеленой» химии, который может стать альтернативой традиционным методам синтеза ЭПП. Такой способ позволяет устранить некоторые недостатки, присущие химическому и электрохимическому методам синтеза. Биокаталитический синтез протекает в «мягких» условиях (умеренно кислые значения pH реакционной среды, комнатная температура), является кинетически контролируемым процессом, а получаемый полимер не загрязнен продуктами разложения окислителя. Кроме того, отсутствуют токсичные побочные продукты реакции. Поскольку процесс полимеризации как природных, так и искусственных мономеров с неподеленной парой электронов протекает по радикальному механизму, в качестве биокатализаторов реакции используют оксидоредуктазы, катализирующие аналогичные реакции *in vivo*.

В обзоре будут описаны ферментативные методы синтеза электропроводящих полимеров, физико-химические свойства получаемых продуктов, механизм протекания реакций, кратко охарактеризованы ферменты, участвующие в окислительной полимеризации мономеров, и приведены примеры практического использования ферментативно синтезированных электропроводящих полимеров.

II. ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИЕ ПОЛИМЕРЫ И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

Электропроводящие полимеры представляют собой высоко делокализованные π -электронные системы с чередующимися одинарными и двойными связями в основной цепи полимера, которые могут быть легко окислены или восстановлены [2]. Электронная проводимость этих полимеров называется «собственной», поскольку обусловлена наличием в молекулярной структуре электрических зарядов, способных перемещаться вдоль цепи полимера без участия сторонних электропроводящих материалов, таких как металлы или графит. В большинстве случаев эти материалы являются диэлектриками в нейтральном состоянии и приобретают электропроводящие свойства только после взаимодействия молекул допантов с несущими неспаренный электрон участками цепи полимера. Этот процесс называется «допированием». Следует отметить, что термин «допирование», используемый для электропроводящих полимеров, несколько отличается от аналогичного термина, используемого для неорганических полупроводников. Это отличие заключается в количестве допанта, которое в некоторых случаях может достигать 50% от массы проводящего полимера. Допант взаимодействует с полимером, однако напрямую в механизме переноса заряда не участвует. Наиболее известными электропроводящими полимерами являются полианилин, полипиррол и полиэтилендиокситиофен, структурные формулы которых приведены на рис. 1.

ПОЛИАНИЛИН

Среди электропроводящих полимеров полианилин привлекает внимание благодаря низкой стоимости мономера, простоты получения, устойчивости в условиях окружающей среды как в допированном, так и дедопированном состояниях, а также возможности изменять свои оптоэлектронные свойства при изменении pH среды и под воздействием электрического поля. Различие в составе и строении повторяющегося звена ПАНИ обуславливает несколько редокс-состояний полимера – от полностью восстановленного лейкоэмеральдина до полностью окисленного пернигранилина (рис. 1А). Различные формы ПАНИ могут легко переходить одна в другую в результате редокс-превращений. В полуокисленном состоянии (эмеральдиновая соль) полианилин обладает электропроводностью [3]. Имеются данные о том, что пернигранилин также обладает электропроводностью [4], однако эта форма крайне неустойчива и легко подвергается гидролизу.

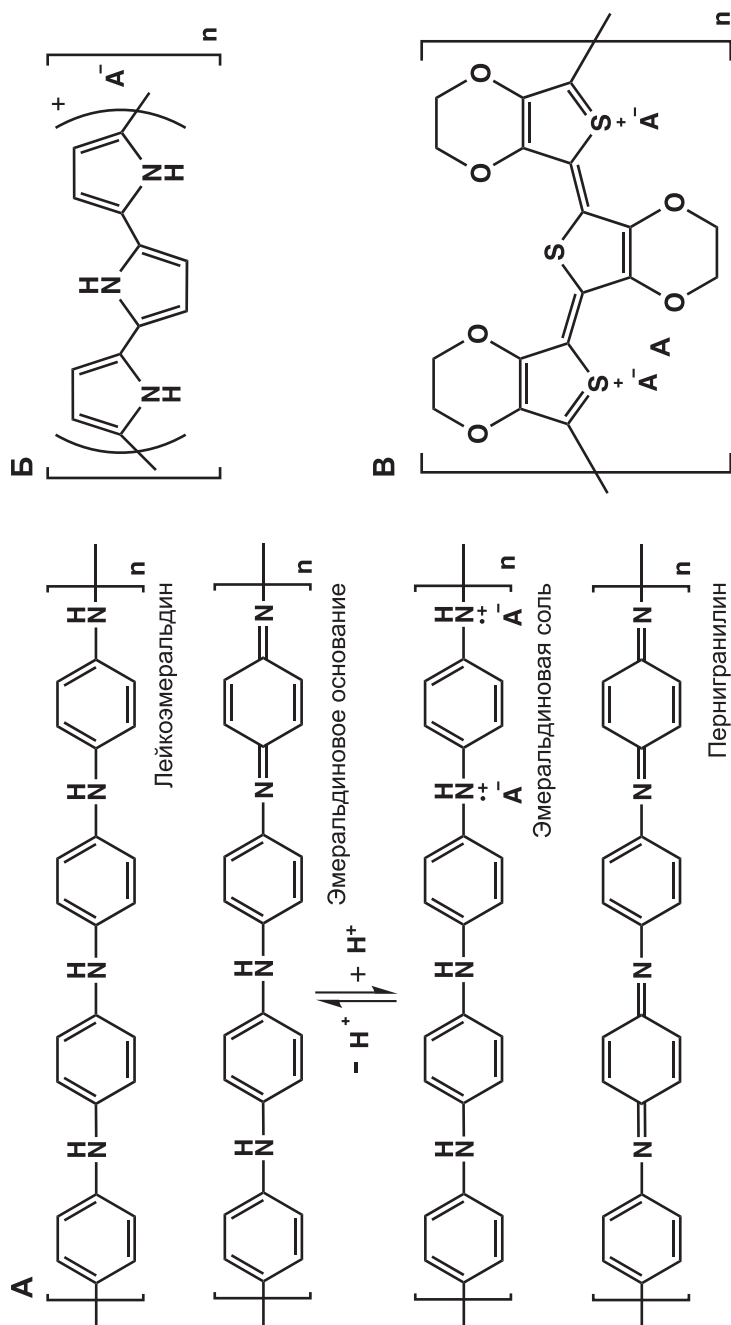


Рис. 1. Структурные формулы повторяющегося звена полианилина и его возможные редокс-состояния (А), полипиррола (Б) и поли(3,4-этилендиокситиофена) (В).

Существует два основных метода синтеза ПАНИ – прямое окисление анилина химическими окислителями и электроокисление мономера на электропроводящем электроде.

Темно-зеленая эмеральдиновая соль ПАНИ может быть легко получена путем полимеризации анилина в водной среде с использованием таких окислителей как персульфат аммония (ПСА), йодат калия, пероксид водорода, бихромат калия, хлорное железо [5]. Основным преимуществом химического синтеза является его простота и возможность получать большие количества ПАНИ с высоким выходом, а также низкая стоимость окислителя. Как правило, реакцию проводят в сильноокислой среде при pH от 0,0 до 2,0. Чаще всего, используют стехиометрически равные концентрации мономера и окислителя, чтобы избежать деградации (переокисления) полимера [5]. Химическую полимеризацию анилина обычно проводят при пониженной температуре (от 0 до +5°C) для получения полимера с высокой молекулярной массой. Серьезными недостатками данного метода является использование больших количеств окислителя, высокая кислотность реакционной среды, а также автокаталитический характер реакции полимеризации. Полученный продукт практически не пригоден для технологического использования, так как не растворим в обычно используемых растворителях. Плохая растворимость ПАНИ обусловлена межмолекулярными водородными связями между аминными и иминными группами цепей полимера [6].

Для улучшения технологичности использования ПАНИ предложен подход, заключающийся в использовании «твердых» или «мягких» матриц, на которых происходит синтез ПАНИ. «Твердые» матрицы – это металлы, различные углеродные и пластиковые материалы, оксиды кремния и металлов от макро- до наноразмеров. К «мягким» матрицам относятся отрицательно заряженные полиэлектролиты, мицеллы анионных поверхностно-активных веществ, а также эмульсии электронеutralных полимерных соединений. Композиты на основе этих материалов и ПАНИ имеют значительно больший технологический потенциал использования по сравнению с чистым ПАНИ.

Для электрохимической полимеризации мономера проводится его анодное окисление. В результате электрополимеризации анилина образуется тонкая пленка электропроводящего полимера на поверхности электрода. Недостатком метода является невозможность нанесения полианилина на непроводящую поверхность, а также ограничения по площади электрода.

ПОЛИПИРРОЛ

Ещё одним наиболее изученным представителем класса электропроводящих полимеров является полипиррол (ПП), обладающий высокой электропроводностью, стабильностью в электропроводящем состоянии и интересными редокс- и электромеханическими свойствами [7]. Структура ПП представлена на рис. 1. В отличие от ПАНИ, полипиррол обладает умеренной электропроводностью в нейтральных средах и относится к биосовместимым полимерам [8]. ПП имеет резонансную структуру. В нейтральном состоянии ПП является диэлектриком и становится электропроводящим только после его окисления. Заряд обычно делокализован на нескольких пиррольных единицах и может образовывать катион-радикал (полярон) или дикатион (биполярон), которые являются носителями заряда и образуются при допировании полимера [9–10]. Полярон и биполярон в ПП охватывают три-четыре звена полимерной цепи [11]. В зависимости от условий синтеза, в повторяющихся звеньях ПП могут присутствовать структурные единицы 2-пирролидинона [12].

Экспериментальные данные об электрических свойствах ПП свидетельствуют, что полипиррол не является линейным полимером, и его следует рассматривать как сетчатый, в боковых цепях и межцепных сшивках которого занято до 30% мономерных звеньев [13].

Растворимость ПП ограничена его жесткой структурой. Были предприняты попытки увеличения растворимости ПП модификацией пиррольных колец в 3,4-положениях алкильными группами или использованием N-замещенных производных пиррола [14–15]. Другим способом увеличения растворимости ПП является использование «мягких» матриц, таких как додецилбензолсульфат натрия (ДБСNa) [16], натриевая соль ди(2-этилгексил)сульфоцианата [17] или полистеренсульфонат [18].

Полипиррол, имеющий блочную структуру, может быть получен при окислительной полимеризации мономера в водных и неводных средах [19–22] с помощью химических окислителей или электрохимической полимеризацией. В качестве окислителей широко используются водная или безводная соль FeCl_3 или другие соли трехвалентного железа [22–23], а также ПСА [21]. На выход и электропроводимость получаемого ПП влияют многие факторы – выбор растворителя и окислителя, начальное молярное соотношение между пирролом и окислителем, время и температура полимеризации [19, 24]. Уменьшение времени полимеризации и понижение температуры реакции до 0–5°C приводит к увеличению

электропроводности ПП [25]. Кроме того, электропроводность ПП сильно зависит от природы растворителя и редокс-потенциала реакционной среды [26].

Электрополимеризацию пиррола проводят как в водных, так и в неводных средах (ацетонитриле, пропиленкарбонате, дихлорметане и др.) [27–28]. Получение ПП электрохимическим способом является сложным процессом, зависящим от многих факторов. На электрохимическую реакцию и характеристики пленки ПП сильное влияние оказывают природа электролита, соотношение мономер/электролит, конструкция ячейки, растворитель, материал электрода, приложенный потенциал или скорость изменения потенциала, температура и pH среды [29–31]. Также важную роль играет противоион.

ПОЛИ(3,4-ЭТИЛЕНДИОКСИТИОФЕН)

Гетероароматический тиофен обладает плохой растворимостью, поэтому были синтезированы замещенные производные этого соединения [32]. Наиболее широко используемым для синтеза электропроводящего полимера производным тиофена является 3,4-этилендиокситиофен (ЭДОТ) [33]. Структура полимера, синтезированного на его основе – поли(3,4-этилендиокситиофен) (ПЭДОТ) представлена на рис. 1.В [7].

Химические методы синтеза ПЭДОТ можно подразделить на две различные группы – окислительная полимеризация мономера (3,4-этилендиокситиофена, ЭДОТ) и реакция кросс-сочетания 2,5-дигалоген производных ЭДОТ [34–35].

Метод окислительной полимеризации мономера позволяет получать допированный ПЭДОТ. В качестве окислителей для полимеризации используют FeCl_3 , $\text{Fe}(\text{OTs})_3$, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ [36–38] и ПСА. Для получения устойчивой водной дисперсии ПЭДОТ, также как и при синтезе ПАНИ и ПП, используют различные матрицы [39–42].

При электрохимической полимеризации ЭДОТ на аноде образуется тонкая пленка полимера светло-голубого цвета [43–44]. Полимеризацию проводят в среде различных электролитов, в том числе полиэлектролитов [45–47], либо в водном растворе мицелл ПАВ [41, 42, 48, 49]. Этим методом удается достаточно быстро получать полимерные пленки известной толщины, характеризующиеся высокой чистотой.

III. ФЕРМЕНТЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ МОНОМЕРОВ

В настоящее время наблюдается неуклонный рост интереса к ферментативному получению органических соединений *in vitro* [50–51]. Это обусловлено тем, что многие ферменты можно использовать не только для преобразования их природных субстратов, но и для модификации широкого диапазона искусственных соединений, что позволяет получать на их основе различные новые соединения и материалы [52–53]. К таким ферментам относятся оксидоредуктазы, которые играют важную роль в синтезе природного полимера лигнина. В активные центры большинства этих ферментов входят ионы металлов.

Много исследований в области тонкого органического синтеза связано с оксидоредуктазами, в частности, пероксидазами и лаказами из различных источников, в виду их способности катализировать окислительную полимеризацию соединений с неподделенной парой электронов по радикальному механизму с образованием воды в качестве продукта восстановления окислителя. В настоящем обзоре будут приведены только основные и наиболее важные биохимические и каталитические характеристики указанных выше ферментов, которые необходимы для выбора условий синтеза электропроводящих полимеров и понимания механизма протекания реакций.

ПЕРОКСИДАЗА

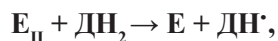
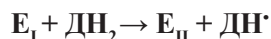
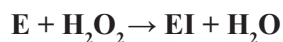
Пероксидаза (КФ 1.11.1.7; донор: H_2O_2 оксидоредуктаза) – широко распространённый фермент, присутствующий в растительных и животных тканях, грибах и бактериях. Пероксидазы участвуют в образовании и последующей лигнификации клеточных стенок, регуляции уровня ауксина через его катаболизм, защите тканей от повреждений и инфекционных патогенных микроорганизмов, окислении индолилуксусной кислоты [54–55]. Однако до конца их физиологическая роль до сих пор не выяснена. Наиболее изученными и описанными в литературе являются пероксидазы, выделенные из корней хрена [56], бобов сои [57–58], листьев пальмы [59], листьев табака [60] и помидоров [61]. Пероксидазы из различных источников представлены, как правило, несколькими изоферментами, различающимися биохимическими и кинетическими параметрами.

В активном центре фермента находится простетическая группа – феррипротопорфирин IX (гем). Ион Fe^{3+} имеет четыре координационные связи с атомами порфирина и одну связь с атомом азота

имидазольного кольца. Шестая координационная позиция остается вакантной, но в процессе катализа эту позицию занимает пероксид водорода, координируя ион железа.

Пероксидазы катализируют окисление широкого круга субстратов-восстановителей. В качестве окисляющего субстрата выступает пероксид водорода и некоторые органические пероксиды. Субстраты пероксидаз можно разделить на две группы [62]. Субстраты первой группы (к ним относятся в основном неорганические ионы – ферроцианид, йодид, нитрит и др., а также АБТС – диаммониевая соль 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой) кислоты, взаимодействуют непосредственно с гемом. Субстраты второй группы (ароматические амины, фенолы и индолы) непосредственно с гемом не реагируют. Следовательно, должна существовать электрон-транспортная цепь, включающая функциональные группы белковой части молекулы.

Присутствующий в протетической группе пероксидазы ион железа обладает способностью не только восстанавливать пероксид водорода, но также активировать окисление различных субстратов. Продуктом реакции нативной пероксидазы с окисляющим субстратом является спектрофотометрически детектируемый интермедиат – так называемое соединение I (E_I). Было установлено, что E_I является окисленным производным фермента, которое получило два окисленных эквивалента от молекулы пероксида водорода, т.е. E_I формально содержит Fe^V -центр [63]. Субстраты-восстановители окисляются по одноэлектронному механизму, и реакция проходит двухстадийно через второй интермедиат – так называемое соединение II (E_{II}), которое содержит один окисленный эквивалент по сравнению с нативным ферментом, т.е. E_{II} – это формально Fe^{IV} -форма фермента. В целом для пероксидазы известно 5 различных формальных степеней окисления железа: Fe^{VI} – соединение III, Fe^V – соединение I, Fe^{IV} – соединение II, Fe^{III} – нативный фермент, Fe^{II} – ферро-фермент. Главными из них в большинстве реакций являются нативный фермент и соединения I и II, а механизм катализируемых пероксидазами реакций описывается схемой:



где DH_2 – донор водорода, а $DH\cdot$ – радикальный продукт реакции.

Соединение III образуется в результате взаимодействия нативного фермента с избытком пероксида водорода и является каталитически

неактивным (в результате разрушения простетической группы). Это обстоятельство необходимо учитывать при изучении ферментативных реакций.

ЛАККАЗА

Другим, рассмотренным в настоящем обзоре, представителем класса оксидоредуктаз является лакказа (КФ 1.10.3.2, *n*-дифенол: кислород оксидоредуктаза) – фермент, относящийся к классу голубых медь-содержащих оксидаз, распространенный среди растений и грибов. Впервые этот фермент был обнаружен в японском лаковом дереве *Rhus vernicifera* [64]. Большинство детально изученных в настоящее время лакказ выделены из различных грибов [65–66]. Основными функциями грибных лакказ считаются участие в процессах образования и деградации лигнина, в морфогенезе гриба, во взаимодействии паразит/хозяин, а также в защите от стресса. Большинство грибов продуцируют несколько изоформ и изоферментов лакказ. Хотя большинство грибных лакказ являются мономерными белками, в литературе описаны ферменты, состоящие из нескольких субъединиц. Молекулярный вес мономера варьирует от 50 до 130 кДа. Лакказы являются гликопротеинами. Содержание углеводной части, состоящей, как правило, из маннозы, N-ацетилглюкозамина и галактозы, составляет от 10 до 45 % от массы белка. Считается, что углеводная часть отвечает за стабильность фермента [67–68].

Лакказа может катализировать окисление различных соединений, включая орто- и пара-фенолы, полифенолы, аминокфенолы, полиамины, лигнины, арилдиамины и некоторые неорганические ионы дикислородом. При этом происходит 4-х электронное восстановление молекулярного кислорода до воды [68–72]. Неорганические субстраты лакказ являются донорами электронов, в то время как органические субстраты (за исключением АБТС) являются донорами атомов водорода, который при ферментативном катализе отщепляется от органической молекулы с образованием радикала.

Для грибных лакказ, как правило, рН-оптимум реакции находится в интервале 3,5–5,0 для субстратов-доноров атомов водорода и имеет колоколообразную форму [73–76]. Оптимум рН растительных лакказ при окислении субстратов доноров атомов водорода отличается от грибных лакказ. Например, для лакказы *Rhus vernicifera* оптимум каталитической активности по субстратам-донорам атомов водорода находится в нейтральной или слабощелочной области значений рН раствора [77].

Температурный оптимум для лакказ обычно не отличается от других внеклеточных ферментов лигнинолитического комплекса и находится в диапазоне 50–70°C [65, 68].

Активный центр лакказы содержит четыре иона меди. Один из ионов меди относится к первому типу (T1), а остальные образуют трехъядерный T2/T3 кластер, содержащий один ион меди второго типа (T2) и два иона меди третьего типа (T3) [78–79]. Ион меди T1 расположен на расстоянии около 12 Å от T2/T3 кластера, а расстояние между ионами меди T2 и T3 составляет порядка 4 Å. T1 центр лакказ является первичным акцептором электронов от субстратов-доноров. Для некоторых лакказ определен редокс-потенциал T1 центра, который для большинства грибных лакказ составляет ~ 750–780 мВ (отн. НВЭ), а для растительных лакказ 420–440 мВ (отн. НВЭ) [80]. Значение редокс-потенциалов T1 центра лакказ имеет большое значение при каталитическом окислении различных субстратов.

Катализ лакказами включает три основные стадии: восстановление иона меди T1 центра субстратом-донором; внутримолекулярный перенос электрона (на ~ 12 Å) от T1 центра на T2/T3 кластер; активация молекулярного кислорода и 4-х электронное восстановление его до воды на T2/T3 кластере [81–83].

Считается, что лакказы могут катализировать окисление соединений, потенциал ионизации которых близок, либо немного превышает редокс-потенциал первичного акцептора электронов лакказ – иона меди T1 центра. Однако было найдено [84], что использование редокс-медиаторов фермента позволяет проводить окисление соединений, которые не подвергаются окислению с участием только одних лакказ. Редокс-медиаторы являются низкомолекулярными субстратами лакказ, в результате ферментативного окисления которых образуются высокореакционные продукты, способные неферментативно окислять различные соединения, не являющиеся субстратами фермента. При этом окисленный медиатор восстанавливается до исходной формы и таким образом формируется замкнутый цикл [84–85].

Помимо описанных выше оксидоредуктаз для синтеза электропроводящих полимеров можно также использовать билирубиноксидазу [86], относящуюся к медь-содержащим «голубым» оксидазам, и ФАД-зависимые глюкозооксидазу [87] и лактатоксидазу [88].

IV. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ ПОЛИМЕРОВ И ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Ферментативное получение электропроводящих полимеров привлекает внимание исследователей из различных стран. Многочисленные примеры такого подхода приведены в обзорных публикациях [89–93]. Ниже будут суммированы результаты, опубликованные в последние годы, а также данные, полученные авторами обзора.

Для синтеза электропроводящих полимеров, в первую очередь ПАНИ, используют, в основном, пероксидазу из корней хрена (ПХ), что связано с коммерческой доступностью и широкой известностью этого фермента. Однако использование ПХ имеет ряд недостатков. Для получения электропроводящего полианилина линейного строения реакцию полимеризации необходимо проводить в сильно кислой среде ($\text{pH} < 3,0$). Однако известно, что пероксидаза из корней хрена нестабильна при $\text{pH} < 4,0$ и быстро теряет свою первоначальную активность в результате диссоциации на гем и апофермент [62]. Кроме того, следует отметить, что фермент из этого источника, как и другие пероксидазы, крайне чувствителен к концентрациям пероксида водорода: при концентрации выше 1мМ фермент инактивируется, что требует при проведении реакции полимеризации постепенного добавления пероксида водорода в реакционную среду. Для устранения инактивации биокатализатора при кислых значениях pH растворов в условиях синтеза ПАНИ были использованы pH-стабильные пероксидазы из бобов сои [58, 94] и листьев пальмы [95].

В последние годы для синтеза электропроводящего ПАНИ было предложено использовать высоко редокс-потенциальную грибную лакказу. В отличие от пероксидаз, окислителем в реакции полимеризации мономеров, катализируемой лакказами, является атмосферный кислород, что упрощает проведение синтеза. Кроме того, лакказы из базидиальных грибов являются активными и стабильными при кислых значениях pH [96].

БЕЗМАТРИЧНЫЙ СИНТЕЗ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ ПОЛИМЕРОВ

Один из первых примеров использования ферментов для синтеза электропроводящего полианилина описан в патенте США [97]. Биокатализатором окислительной полимеризации полианилина являлась пероксидаза из корней хрена, а допантом служила толуолсульфоновая кислота. Реакцию проводили безматричным методом в течение 24 ч при pH реакционной среды 2,2. В результате был получен порошок темно-зеленого цвета соответствующий эмеральдиновой соли ПАНИ

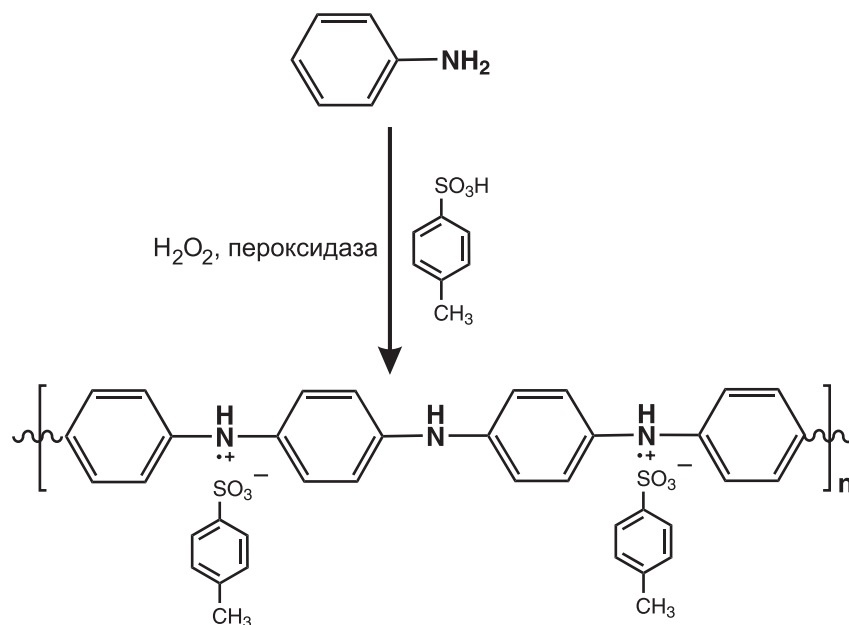


Рис. 2. Схема ферментативного безматричного синтеза ПАНИ с использованием пероксидазы.

с достаточно высокой электропроводностью 1–2 См/см. Однако возможность катализа этой реакции нативной ПХ вызывает сомнения, так как при pH раствора, в котором проводили синтез, голофермент диссоциируют на апофермент и гем и полностью теряет свою активность в течение нескольких минут. По-видимому, реакцию полимеризации в этих условиях катализирует гем.

В работе [98] для безматричного синтеза ПАНИ была использована кислотно-стабильная пероксидаза из бобов сои. Схема реакции представлена на рис. 2.

Реакцию проводили в водных или водно-органических растворах (диоксан/вода, 30/70 об.%) при различных значениях pH от 3,0 до 5,0, используя в качестве кислого допанта толуолсульфоновую кислоту. Было показано, что при pH 3,0 в результате ферментативной полимеризации образуется темно-зеленый осадок с выходом 71%. Синтезированный полимер имел электропроводность 2,4 См/см. При pH 5,0 продуктом ферментативной полимеризации анилина является водонерастворимый продукт темно-коричневого цвета, имеющий электропроводность $< 10^{-6}$ См/см. Исследование образцов ПАНИ методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье показало, что

при кислом значении pH реакционной среды образуется полимер линейного строения с предпочтительным сочетанием молекул анилина в 1,4-положении. Синтезированный в этих условиях полианилин имел характерные полосы на FTIR спектре при частотах колебаний 1598 см^{-1} и 1500 см^{-1} , характеризующие хиноиддииминные и фенилендиаминные группы повторяющегося звена ПАНИ, соответственно. Образец ПАНИ, синтезированный при pH 5,0, имел полосы при частотах в области $700\text{--}750\text{ см}^{-1}$, соответствующие 1,2-замещениям в ароматическом кольце анилина, что характерно для полимера разветвленного строения.

В работе [99] для ферментативного синтеза ПАНИ использовали глюкозооксидазу. В насыщенный воздухом реакционный раствор, содержащий анилин, добавляли субстрат глюкозооксидазы – глюкозу, в результате ферментативного окисления которой происходило образование пероксида водорода (который и является окислителем в реакции полимеризации анилина) и глюконовой кислоты, выступающей в роли слабого допанта. УФ-видимые спектры ПАНИ, синтезированного с использованием глюкозооксидазы, соответствовали полимеру разветвленного строения.

Такой же подход был использован для синтеза полипиррола, катализируемого лактатоксидазой [100]. В результате ферментативного окисления лактата кислородом воздуха происходило образование пероксида водорода, который выступал в роль окислителя в реакции полимеризации пиррола.

В работе [101] описан синтез ПАНИ с использованием билирубин-оксидазы, иммобилизованной на различных твердых поверхностях (стеклянные и пластиковые пластины), на которых происходила реакция полимеризации мономера с участием дикислорода. В результате образовывалась тонкая пленка электропроводящего ПАНИ. По данным структурных исследований полимер имел частично разветвленное строение.

СИНТЕЗ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ ПОЛИМЕРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ «МЯГКИХ» МАТРИЦ

Как уже отмечалось выше, полианилин и другие ЭПП не являются термопластичными, трудно подвергаются обработке и, как следствие, обладают плохой технологичностью использования. Поэтому для практического применения, а также для изучения реакции полимеризации мономеров, как правило, используют матричный метод синтеза ЭПП. В зависимости от конкретной задачи ферментативно могут быть получены композиты на основе твердых матриц и ЭПП методом *in*

situ полимеризации мономера, либо устойчивые водные дисперсии полимеров. Для получения последних используют такие «мягкие» матрицы как полистиролсульфонат [102–104], поли(2-акриламидо-2-метил-1-пропансульфоная) кислота (ПАМПС) [105–106], поливинилсульфоная кислота [107], ДНК [108–109], нейтральные стерические стабилизаторы, например, поливиниловый спирт [110], мицеллы поверхностно активных веществ – ДБСNa [111–113] и додецилдифенилоксиддисульфонат натрия [114], анионные везикулы, состоящие из ДБСNa и декановой кислоты [115].

Матрицы при полимеризации мономеров выполняют четыре основные функции: 1) обеспечивают «локальное» окружение, в котором значение pH, плотность заряда и концентрация мономера отличаются от соответствующих в объеме раствора; 2) в результате электростатического взаимодействия положительно заряженных протонированных молекул анилина с отрицательно заряженной матрицей, молекулы мономера упорядоченно ориентируются на матрице, обеспечивая предпочтительный рост полимерной цепи по типу «голова к хвосту» с минимальным разветвлением; 3) присутствие отрицательно заряженных полиэлектролитов или мицелл ПАВ позволяет получать ЭПП в водных и водно-органических растворах в высоко дисперсном состоянии, а также наносить тонкие слои ПАНИ на проводящие и непроводящие поверхности различной природы и формы; 4) молекулы матрицы выполняют роль заряд-компенсирующих анионов основной цепи полимера.

Свойства полученных композитных материалов сильно зависят от матрицы, на которой происходит ферментативная полимеризация мономера. В работе [116] было проведено детальное изучение влияния матрицы на синтез и свойства электропроводящего ПАНИ. В качестве катализатора использовали ПХ, полимеризацию анилина проводили при pH 4,3, при котором фермент оставался стабильным и каталитически активным. Было показано, что ПАНИ, синтезированный с использованием поликатионной (полидиаллилдиметиламмоний хлорид) или нейтральной (полиэтиленгликоль) матриц по своим физико-химическим свойствам близок к неэлектропроводящему полимеру разветвленного строения, который образуется при pH > 4,0 в отсутствии матрицы. Использование других катионных и нейтральных матриц, таких как поливиниловый спирт и поливиниламин, в отсутствии низкомолекулярных сильно кислых допантов приводило к такому же результату.

При использовании полисульфокислот, ДНК, РНК, различных мицеллярных растворов анионных ПАВ происходило образование

электропроводящего ПАНИ с отличающимися физико-химическими и технологическими свойствами и разной электропроводностью.

Для ферментативного матричного синтеза ПАНИ использовали кислотостабильные пероксидазы из бобов сои [117], листьев пальмы [118], хлоропероксидазу [119–120]. Электропроводящий ПАНИ был также получен с использованием высоко редокс-потенциальной грибной лакказы *Trametes hirsuta* ($E^0_{T1}=0,78$ отн. НВЭ) на матрицах ПАМПС, полистиролсульфоната, ДБСNa [106, 121]. Следует отметить, что низко редокс- потенциальная лакказа из латекса лакового дерева *Rhus vernicifera* ($E^0_{T1}=0,42$ В отн. НВЭ) не катализирует реакцию полимеризации анилина в силу большой разницы в потенциалах ионизации анилина и первичного акцептора электронов – T1 центра растительной лакказы.

Сравнение физико-химических свойств ПАНИ, синтезированного матричным методом с участием пероксидазы из бобов сои [98] и грибной лакказы [106], со свойствами полимера, полученного в тех же условиях традиционным химическим методом с использованием ПСА, показало близость их физико-химических свойств, включая электропроводность.

В ряде работ для многократного использования ферментов было предложено проводить синтез электропроводящего ПАНИ с участием иммобилизованных на твердых носителях пероксидазы [122] и лакказы [123] или в бифазной системе на основе ионной жидкости [124]. Во всех случаях получали электропроводящий ПАНИ, по своим свойствам весьма близкий к полимеру, синтезированному с использованием гомогенного биокатализатора.

В последние годы большой интерес вызывает синтез хиральных электропроводящих полимеров, так как они имеют большой потенциал практического применения в различных областях, например, для создания поверхностно-модифицированных электродов, электрохимического асимметричного синтеза, хиральной хроматографии и хиральной мембранной разделительной технологии [125–126]. Ферменты в синтезе хиральных электропроводящих полимеров обеспечивают не только экологическую чистоту процесса, но и получение конечного продукта с необычными свойствами. В работе [127] матричным способом с участием ПХ был получен псевдодорастворимый хиральный ПАНИ. В качестве матрицы использовали слабую полиакриловую кислоту, а в качестве допанта – S или R оптические изомеры сульфокамфорной кислоты (СКК). Поскольку в молекуле ПАНИ отсутствуют асимметричные атомы углерода, спиралевидная конформация полимера достигается взаимо-

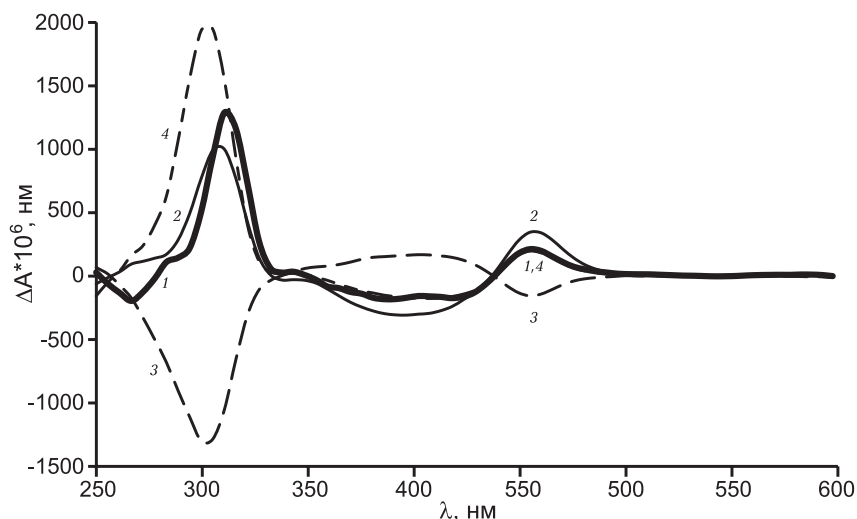


Рис. 3. КД-спектры дисперсии допированного полианилина: ПАНИ/S-СКК, полученного в процессе ферментативного синтеза (1); полимеров, обработанных после синтеза растворами S-СКК (2) и R-СКК (3); полимера, обработанного после (3) раствором R-СКК (4).

действием с соответствующим энантиомером СКК. Полученный электропроводящий ПАНИ имел весьма интересные оптоэлектронные свойства. Было показано, что ПХ играет важную роль в полимеризации анилина и полученный с ее помощью ПАНИ имеет одинаковую оптическую активность, не зависящую от оптической активности используемых изомеров СКК.

При биокаталитическом синтезе хирального ПАНИ с использованием другого фермента – грибной высоко редокс-потенциальной лакказы *T. hirsuta* и тех же энантиомеров СКК в качестве низкомолекулярных допантов, были получены другие результаты [96]. В зависимости от используемого допанта получался ПАНИ с разной оптической активностью (рис. 3). В результате обработки ферментативно синтезированного ПАНИ, допированного S-СКК (кривая 1), раствором R-СКК происходила смена оптической активности полимера (кривая 3). При последующей обработке ПАНИ раствором S-СКК, образовывался исходный оптически активный полимер – ПАНИ/S-СКК (кривая 4). Таким образом, при катализе лакказой реакции окислительной полимеризации анилина, в отличие от ПХ, получались образцы ПАНИ/СКК, оптическая активность которых зависела от оптической активности хирального допанта. Аналогичный

эффект наблюдался, если ферментативный синтез ПАНИ проводили в присутствии R-СКК, а передопирование осуществляли другим оптическим изомером допанта.

Необходимо отметить, что при химическом синтезе ПАНИ, допированного оптическими изомерами СКК, хиральность синтезировано полимера также была различной [128, 129].

Другим способом получения оптически активного ПАНИ является ферментативный синтез этого электропроводящего полимера на хиральной матрице ДНК. В работе [108] описан способ получения оптически активного ПАНИ на двойной спирали длинноцепочечной ДНК с использованием ПХ при pH 4,3. Методом спектроскопии кругового дихроизма было показано, что хиральный ПАНИ, допированный фосфатными группами ДНК, имел положительную оптическую активность, а при pH 9,0 в дедопированном состоянии оптическая активность полимера исчезала.

Хиральный ПАНИ синтезировали также на матрице короткоцепочечной ДНК с использованием в качестве биокатализаторов окислительной полимеризации анилина ПХ и микропероксидазу-11 [130]. Методом КД-спектроскопии было показано, что в электропроводящих интерполимерных комплексах ПАНИ/ДНК в зависимости от использованного биокатализатора, ПАНИ имел разную оптическую активность в области 370–450 нм. Различие в стехиометрии ПАНИ/ДНК комплексов свидетельствует о важной роли биокатализатора в направлении закручивания спирали электропроводящего ПАНИ на матрице ДНК. Связывание электроактивного ПАНИ с биологической матрицей и возможность контроля его конформации дает принципиальную возможность для фундаментальных исследований биомолекул, а также для конструирования уникальных биосенсоров, нанопроводов и создания интерфейса между электронными устройствами и биообъектами.

Как уже отмечалось выше, химический синтез электропроводящего ПАНИ протекает по автокаталитическому механизму с большим индукционным периодом [130]. Напротив, ферментативный синтез этого полимера является кинетически контролируемым процессом, характерной особенностью которого является образование электропроводящей эмеральдиновой соли ПАНИ сразу после инициирования реакции полимеризации анилина пероксидазами или грибными лакказами.

В работе [132] для идентификации промежуточных продуктов полимеризации анилина с участием лакказы была исследована реакция матричной полимеризации димера анилина (N-фенил-1,4-фенилендиамин) на мицеллах ДБСNa. Методом MALDI-TOF

было показано, что в результате реакции в основном образуются олигомеры с соотношением m/z до 2180, что соответствует степени полимеризации равной 24 (в терминах субъединиц анилина). Ферментативно синтезированные олигомеры состояли в основном из пара-замещенных единиц в форме эмеральдиновой соли. Скорость реакции полимеризации димера анилина с участием лакказы была в несколько раз выше, чем при использовании мономера анилина в тех же условиях.

Для выяснения различий в механизмах химического и ферментативного способов синтеза ПАНИ, а также для изучения особенностей матричной полимеризации анилина с участием лакказы *T. hirsuta*, в нашей лаборатории были проведены эксперименты по измерению в процессе синтеза редокс-потенциала реакционной среды при разомкнутой цепи с одновременной регистрацией УФ-видимых спектров образующихся продуктов.

При инициировании реакции химической полимеризации анилина ПСА, редокс-потенциал раствора (рН 3,5), содержащего анилин и ПАМПС, уменьшался на ~15–20 мВ и через несколько минут достигал своего минимального значения. При этом в электронных спектрах реакционной среды появлялась полоса поглощения при длине волны 320–330 нм, характерная для π - π^* -перехода в ароматических кольцах при окислении анилина. Затем происходил резкий рост редокс-потенциала среды, который не сопровождался изменением оптической плотности в области 500–1100 нм. Через 50 мин в электронных спектрах реакционного раствора возрастала оптическая плотность в области 600 нм, которая соответствует окисленным цепям олигомеров анилина, а скорость роста редокс-потенциала среды значительно уменьшалась и вскоре потенциал реакционной среды достигал своего максимального значения, а затем наблюдалось его уменьшение. При этом полоса поглощения интерполимерного комплекса ПАНИ/ПАМПС смещалась в длинноволновую область спектра (от 600 нм до ~730 нм), что свидетельствовало об образовании эмеральдиновой соли ПАНИ.

При ферментативной полимеризации анилина в присутствии дикислорода сразу после инициирования реакции лакказой наблюдалось резкое возрастание редокс-потенциала реакционной среды, после чего в течение ~20 мин происходило его монотонное уменьшение. В электронных спектрах раствора сразу после добавления фермента происходило увеличение поглощения в области 700 нм, что свидетельствовало об образовании электропроводящего интерполимерного комплекса ПАНИ/ПАМПС.

Известно, что ПСА постепенно разлагается в кислой среде, а потенциал окисления олигомеров анилина значительно ниже потенциала окисления мономера. Можно сделать обоснованный вывод, что в процессе полимеризации анилина с использованием ПСА в качестве окислителя растущие цепи ПАНИ постоянно находятся в окисленном состоянии, а в реакционной смеси всегда имеется некоторое количество не окисленного анилина. После полного разложения ПСА окисленные цепи ПАНИ восстанавливаются не прореагировавшим мономером до электропроводящей эмеральдиновой соли. Этим объясняется наличие индукционного периода при образовании эмеральдиновой соли ПАНИ при химическом синтезе. Напротив, при ферментативном синтезе индукционный период отсутствует, и рост цепей ПАНИ происходит через образование полувосстановленных форм олигомеров анилина, идентификация которых была проведена методом MALDI-TOF [132].

Формальный механизм начальных стадий роста полимерной цепи при химическом и лакказы-катализируемом синтезе ПАНИ можно представить следующим образом (рис. 4).

Следует отметить, что при использовании лакказы и пероксидазы для синтеза ПАНИ, в активных центрах этих ферментов происходит окисление анилина (либо его низкомолекулярных олигомеров) с образованием реакционноспособных продуктов, а рост полимерной цепи происходит в объеме реакционного раствора.

Несмотря на то, что реакция ферментативной окислительной полимеризации анилина протекает в кинетически контролируемом режиме без индукционного периода образования конечного продукта – эмеральдиновой соли ПАНИ, скорость реакции относительно невысока, а для ее увеличения требуется использование высоких концентраций ферментов. Редокс-медиаторы ферментов могут значительно ускорить реакцию полимеризации мономеров, что позволит синтезировать электропроводящие полимеры с большой молекулярной массой и высокой электропроводностью. Схема функционирования фермент-медиаторных систем представлена на рис. 5.

В отличие от анилина ЭДОТ, имеющий высокий потенциал ионизации, не подвергается окислению с участием только одних ферментов. В литературе имеется одна публикация, в которой описан синтез ПЭДОТ на матрице полисульфостирола с участием ПХ [133]. Электропроводность полученных образцов ПЭДОТ составила $2 \cdot 10^{-3}$ См/см. Реакцию проводили при pH 2,0 в течение суток. Однако известно, что ПХ при таком значении pH полностью теряет свою активность в течение нескольких минут. По-видимому, в условиях эксперимента

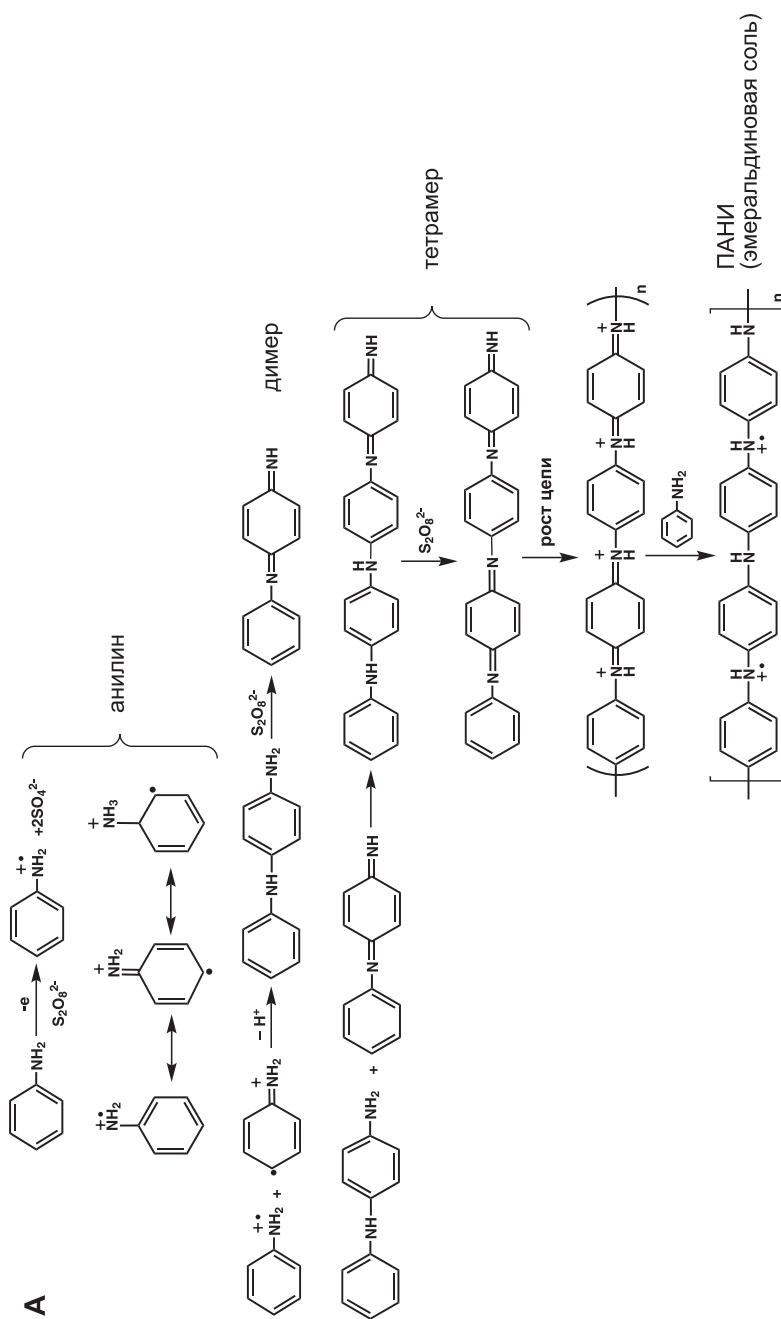


Рис. 4. Формальная схема начальных стадий реакции полимеризации анилина при химическом (А) и лакказа-катализируемом (Б) синтезах (см. сл. стр.).

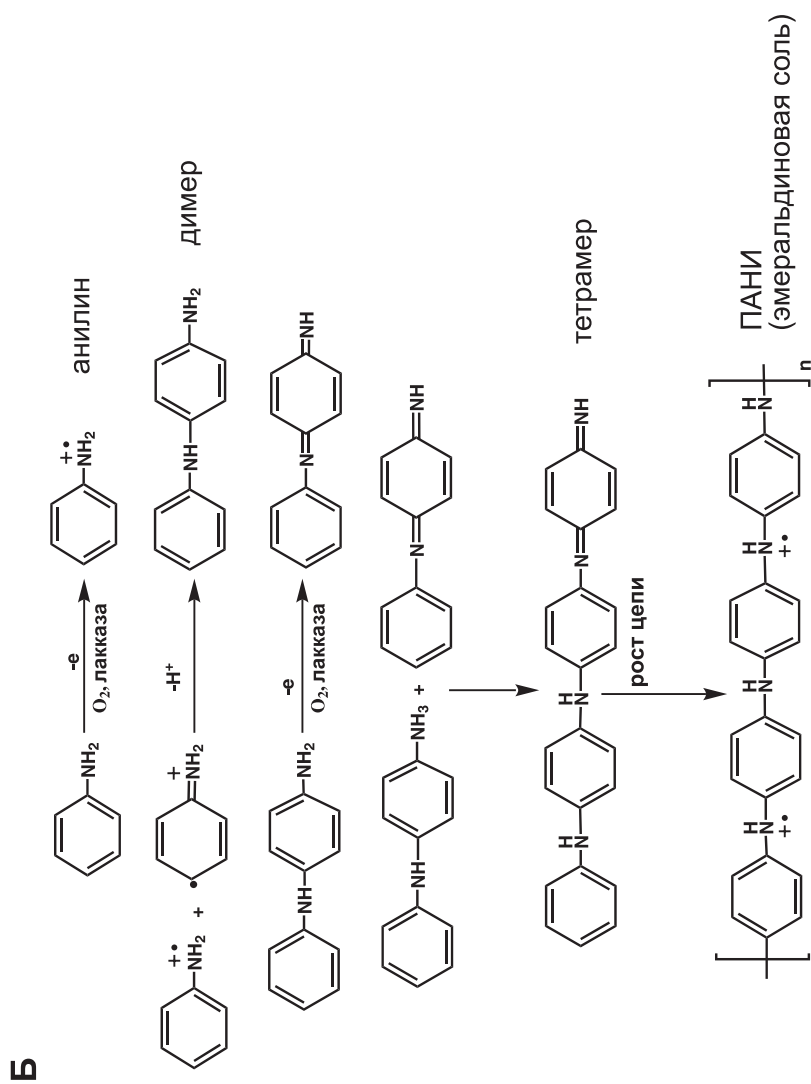


Рис. 4Б.

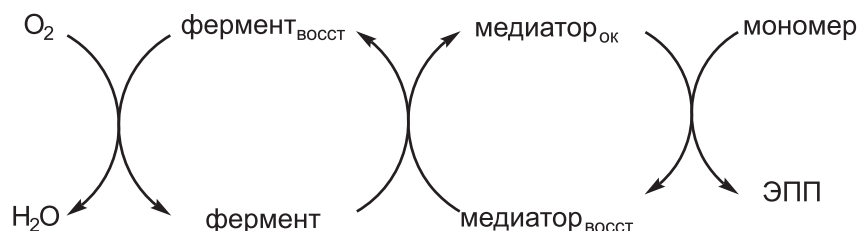


Рис. 5. Схема, представляющая роль редокс-медиатора при ферментативном синтезе электропроводящих полимеров.

при сильноокислых значениях pH реакционной среды образуются низкомолекулярные олигомеры 3,4-этилендиокситиофена, аналогично процессу полимеризации пиррола под действием кислот в отсутствие окислителя [21, 134]. Олигомеры ЭДОТ имеют более низкий потенциал окисления по сравнению с мономером и их окисление может катализироваться гемом, образующимся при диссоциации голофермента при кислых значениях pH раствора. Косвенно это подтверждается данными, представленными в работе [135], по матричному синтезу ПЭДОТ с участием пероксидазы из бобов сои, инициированному тримером тиофена. Однако это предположение требует дополнительного подтверждения.

Ферментативное окисление ЭДОТ с образованием радикала и последующим ростом полимерной цепи может происходить в присутствии соответствующего редокс-медиатора фермента. В работе [136] была проведена матричная окислительная полимеризация ЭДОТ с использованием лакказы-медиаторной системы. В качестве редокс-медиатора был использован октоцианомолибдат (4+) калия, в результате ферментативного окисления которого дикислородом образовывался октоцианомолибдат (5+) анион. Последний в диффузионно-контролируемом режиме неферментативно окислял ЭДОТ до соответствующего радикала с последующим ростом цепи полимера. В качестве матрицы использовали ПАМПС. В результате была получена водная дисперсия интерполимерного комплекса ПЭДОТ/ПАМПС темно-голубого цвета. Комплекс был исследован методами УФ-видимой и ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье. Электропроводность ПЭДОТ/ПАМПС комплекса составляла 10^{-5} См/см.

Фермент-медиаторные системы на основе лакказы [137] и ПХ [138] и АБТС в качестве редокс-медиатора были использованы для синтеза электропроводящего полипиррола (ПП). В результате ферментативного окисления редокс-медиатора образовывался катион-радикал АБТС^{•+}, который неферментативно окислял пиррол. Одно-

временно редокс-медиатор восстанавливался до исходной формы. В этих публикациях было показано, что в отсутствии редокс-медиатора скорость окисления мономера с участием ферментов крайне низка, и в этом случае образуются олигомеры пиррола с низкой молекулярной массой. В работе [110] было проведено сравнение спектральных характеристик и электропроводности ПП, полученного с использованием системы пероксидаза/АБТС и синтезированного традиционным химическим методом путем окисления пиррола хлорным железом. Было показано, что образцы ПП, синтезированные этими методами, имели близкие характеристики по FTIR-спектрам, а электропроводность ферментативно синтезированного ПП была немного ниже, чем полимера, полученного химическим способом.

В работе [139] проведено сравнение физико-химических свойств ПАНИ, синтезированного с использованием лакказы и лакказ-медиаторным методом на «мягких» матрицах (ПАМПС и прямые мицеллы ДБСNa). В качестве редокс-медиатора использовали октоцианоомолибдат (4+) калия. Было показано, что при лакказ-медиаторном синтезе скорость матричной полимеризации анилина возрастает приблизительно на порядок по сравнению с лакказ-катализируемым синтезом при одинаковых концентрациях фермента. Спектральные характеристики (УФ-видимый и FTIR-спектры) образцов ПАНИ, синтезированных обоими способами были близки. Однако электропроводность комплекса ПАНИ/ПАМПС, полученного лакказ-медиаторным методом, была приблизительно в 5 раз выше, чем комплекса, полученного в отсутствие редокс-медиатора, и составляла 4,8–5,9 мСм/см. Кроме того, при лакказ-медиатором синтезе выход полимера был в 3 раза выше. Методом MALDI-TOF были идентифицированы олигомеры анилина, экстрагированные из образцов ПАНИ тетрагидрофураном, и показано, что использование лакказ-медиаторной системы приводит к образованию более высокомолекулярных олигомеров анилина.

V. ВОЗМОЖНОСТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНО СИНТЕЗИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ ПОЛИМЕРОВ

Композиты на основе электропроводящих полимеров привлекают внимание специалистов из различных областей науки и техники в связи с их возможным использованием в качестве электродных материалов в устройствах для накопления и хранения энергии (суперконденсаторах), в «легких» гальванических элементах, в качестве

антикоррозионных и антистатических покрытий, для разделения оптических изомеров физиологически активных веществ, для создании гибких солнечных батарей, светоизлучающих диодов, хемо/биосенсоров, биомедицинских устройствах и др. [140–143]. В основном для этих целей используют ЭПП, синтезированные химическим или электрохимическим способами. В этом разделе обзора будут приведены примеры использования только ферментативно синтезированных ЭПП.

В патенте РФ № 2348455 от 10.10.2006 г. описан способ получения хирального сорбента на основе ферментативно синтезированного ПАНИ для разделения оптических изомеров физиологически активных веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [144]. В качестве биокатализатора использовали высоко редокс-потенциальную лакказу базидиального гриба *T. hirsuta*. Поскольку ПАНИ практически не растворим в традиционных для жидкостной хроматографии элюентах, эффективным и достаточно простым способом нанесения полимера является непосредственный синтез ПАНИ на поверхности сорбента, так называемый метод *in situ*. Полученным хиральным сорбентом была упакована хроматографическая колонка размером 4x250 мм. Время разделения оптических изомеров аминокислот и их производных составляет несколько минут и проходит практически до базовой линии (рис. 6; табл.). Для большинства рацематов были достигнуты высокие факторы энантиоселективности – от 1,8 до 4,5.

Стабильность и нетоксичность ЭПП позволяет использовать их для снятия статического электричества. В нашей лаборатории было показано, что интерполимерный комплекс ПАНИ/ПАМПС, синтезированный с использованием лакказы, имел электропроводность ~10 мСм/см, определенную двухточечным методом. Измерение скорости стекания электрического заряда с поверхности шерстяной ткани, обработанной комплексом ПАНИ/ПАМПС, показало, что для ферментативно и химически синтезированных комплексов скорость стекания положительного заряда увеличилась в 300 и 280 раз, соответственно, по сравнению с контролем в отсутствии ПАНИ.

Еще одним примером использования ферментативно синтезированного композита на основе электропроводящего ПАНИ и многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ) является изготовление электродов суперконденсатора – устройства накопления и хранения энергии. Синтез ПАНИ проводили *in situ* на поверхности функционализированных МУНТ с использованием лакказа-медиаторной системы. Методом сканирующей электронной микроскопии было

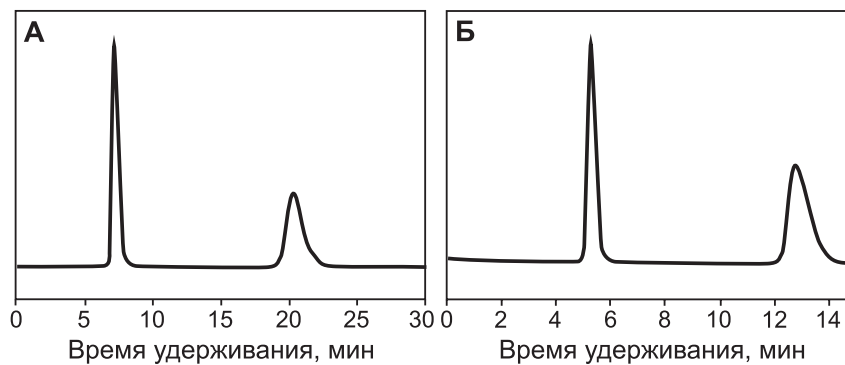


Рис. 6. Хроматограммы разделения энантиомеров 3,4-дигидрокси-фенилаланина (А) и фенилаланина (Б) [144].

Таблица.

Значения факторов удерживания (k), энантиоселективности (α) и разрешающей способности (R_s) на гибридном сорбенте [144]

Соединение	k_1	k_2	α	R_s
Фенилаланин	0,70	3,12	4,5	7,76
Триптофан	3,35	6,06	1,8	4,23
<i>m</i> -фтор-тирозин	1,06	3,16	3,0	6,69
3,4-дигидрокси-фенилаланин	1,30	5,53	4,3	8,76
Тирозин	0,87	4,03	4,6	9,54
(2-тиенил)-аланин	1,11	3,00	2,7	7,03
Гистидин	0,07	0,24	3,9	1,80
Метионин	0,26	0,67	2,6	3,99
Аланин	0,15	0,68	4,5	5,44
α -аминомасляная кислота	0,16	0,84	5,3	6,32
Валин	0,16	0,85	5,3	6,23
Норвалин	0,27	0,96	3,6	5,25
Лейцин	0,29	0,90	3,1	5,05
Норлейцин	0,23	0,59	2,6	3,60
Аспарагиновая кислота	2,45	3,74	1,5	4,27
Глутаминовая кислота	2,03	4,81	2,4	7,65
Цитрулин	0,34	0,63	1,9	2,54
Треонин	0,07	0,16	2,3	0,96
Серин	0,12	0,23	1,9	1,46

показано, что ПАНИ равномерным тонким слоем покрывает поверхность углеродного наноматериала. Полученный композит имел высокую удельную емкость, измеренную методом циклической вольтамперометрии (~440 Ф/г) и в гальваностатическом режиме в циклах заряд/разряд (~390 Ф/г). На основе этого композита был разработан гибкий и тонкий (300–400 мкм) суперконденсатор с гелевым электролитом, являющимся одновременно и сепаратором для разделения электродов суперконденсатора.

В работе [145] описано получение композита на основе карбоксилированных МУНТ с ковалентно пришитыми ферментами (ПХ и глюкозооксидаза) и осажденным на этой модифицированной поверхности ПАНИ. При ферментативном окислении глюкозы с участием глюкозооксидазы образовывался пероксид водорода, который, в свою очередь, являлся окислителем в реакции полимеризации анилина, катализируемой пероксидазой. Синтезированный биокомпозитный материал был использован при изготовлении биосенсора для количественного определения глюкозы. Предел детекции аналита составлял 0,02 мМ при соотношении сигнал/шум равном 3 с чувствительностью анализа 0,94 мкА/мМ. Биосенсор имел линейный диапазон определения концентраций глюкозы до 12 мМ, что полностью покрывает клинический диапазон измерения глюкозы 3,5–6,5 мМ [146].

VIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре описаны достижения в области синтеза электропроводящих полимеров с участием оксидоредуктаз. Использование ферментов для синтеза новых функциональных материалов является альтернативой традиционным химическому и электрохимическому способам получения как электропроводящих полимеров, так и композитов на их основе.

Наиболее перспективными ферментами для этой цели среди оксидоредуктаз являются пероксидазы и высоко редокс-потенциальные грибные лакказы. Достижения в области геной инженерии дают возможность получать в больших количествах рекомбинантные оксидоредуктазы с улучшенными свойствами и приемлемой стоимостью, что позволит сделать биокаталитический процесс получения ЭПП коммерчески оправданным. Ферментативный синтез является экологически благоприятным способом получения ЭПП в «мягких» условиях без образования побочных токсичных продуктов и позволяет кинетически контролировать реакцию полимеризации мономера. Использование матриц различной природы и структуры позволяет улучшить эксплуатационные характеристики ЭПП

Редокс-медиаторы ферментов дают возможность увеличить скорость реакции и осуществить полимеризацию мономеров, которые не подвергаются окислению с участием только одних оксидоредуктаз. Кроме того, ферментативный и фермент-медиаторный методы синтеза позволяют контролировать молекулярную массу и ряд физико-химических параметров синтезированных ЭПП. Однако необходимо отметить, что механизм роста полимерной цепи при ферментативном синтезе ЭПП, а также взаимодействие образующихся олигомеров с активными центрами ферментов в настоящее время не ясны и требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Syed, A.A., Dinesan, M.K. (1991) *Talanta*, **38**, 815–837.
2. Diaz, A.F., Rubinson J.F., Mark H.B. (1988) *Adv. Polym. Sci.*, **84**, 113–139.
3. Rao, P.S., Sathyanarayana, D.N., Jeevananda, T. (2001) *Advanced functional molecules and polymers*. Gordon and Breach: Tokyo. 79 p.
4. Chandrakanthi, N., Careem, M.A. (2000) *Polym. Bull.*, **45**, 113–120.
5. Genies, E.M., Boyle, A., Lapkowski, M., Tsintavis, C. (1990) *Synth. Met.*, **36**, 139–182.
6. Pron, A., Rannou, P. (2002) *Prog. Polym. Sci.*, **27**, 135–190.
7. Machida, S., Miyata, S., Techagumpuch, A. (1989) *Synth. Met.*, **31**, 311–318.
8. George, P.M., Lyckman, A.W., LaVan, D.A., Hegde, A., Leung, Y., Avasare, R., Testa, C., Alexander, P.M., Langer, R., Sur, M. (2005) *Biomaterials*, **26**, 3511–3519.
9. Bredas, J.L., Chance, R.R., Silbey, R. (1982) *Phys. Rev. B.*, **26**, 5843–5854.
10. Bredas, J.L., Themans, B., Andre, J.M., Chance, R.R., Silbey, R. (1984) *Synth. Met.*, **9**, 265–274.
11. Bredas, J.L., Street, G.B. (1985) *Acc. Chem. Res.*, **18**, 309–315.
12. Bocchi, V., Chierici, L., Gardini, G.P., Mondelli, R., Bocchi, V., Chierici, L., Gardini, G.P., Mondelli R. (1970) *Tetrahedron*, **26**, 4073–4082.
13. Joo, J., Lee, J.K., Baeck, J.S., Kim, K.H., Oh, E.J., Epstein, J. (2001) *Synth. Met.*, **117**, 45–51.
14. Gursoy, S.S., Uygun, A., Tilki, T. (2010) *J. Macromol. Sci. Pure Appl. Chem.*, **47**, 681–688.
15. Zheng, H., Shi, Q., Du, K., Mei, Y., Zhang, P. (2013) *Mol. Divers.*, doi 10.1007/s11030-013-9426-1.
16. Lee, G.J., Lee, S.H., Ahn, K.S., Kim, K.H. (2002) *J. Appl. Polym. Sci.*, **84**, 2583–2590.
17. Oh, E.J., Jang, K.S. (2001) *Synth. Met.*, **119**, 109–110.
18. Qi, Z., Pickup, P.G. (1997) *Chem. Mater.*, **9**, 2934–2939.
19. Armes, S.P. (1987) *Synth. Met.*, **20**, 365–371.
20. Machida, S., Miyata, S., Techagumpuch, A. (1989) *Synth. Met.*, **31**, 311–318.
21. Rapi, S., Bocchi, V., Gardini, G.P. (1988) *Synth. Met.*, **24**, 217–221.
22. Chao, T.H., March, J. (1988) *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **26**, 743–753.
23. Меньшикова А.Ю., Шабсельс Б.М., Евсеева Т.Г. (2003) *Журнал прикладной химии*, **76**, 851–855.
24. Dhawan, S.K., Trivedi, D.C. (1993) *Bull. Mater. Sci.*, **16**, 371–380.
25. Sun, B., Jones, J.J., Burford, R.P., Skyllas-Kazacos, M. (1989) *J. Mater. Sci.*, **24**, 4024–4029.

26. Whang, Y.E., Han, J.H., Motobe, T., Watanabe, T., Miyata, S. (1991) *Synth. Met.*, **45**, 151–161.
27. Scharifker, B.R., Garcia-Pastoriza, E., Marino, W. (1991) *J. Electroanal. Chem.*, **300**, 85–98.
28. Yamaura, M., Sato, K., Hagiwara, T. (1991) *Synth. Met.*, **41**, 439–442.
29. Bradner, F.P., Shapiro, J.S. (1988) *Synth. Met.*, **26**, 69–77.
30. Imisides, M.D., John, R., Riley, P.J., Wallace, G.G. (1991) *Electroanalysis*, **3**, 879–884.
31. John, R., Wallace, G.G. (1992) *Polym. Internat.*, **27**, 255–260.
32. Roncali, J., Blanchard, Ph., Frere, P. (2005) *J. Mater. Chem.*, **15**, 1589–1610.
33. Czardybon, A., Lapkowski, M. (2001) *Synth. Met.*, **119**, 161–162.
34. Pyshkina, O., Kubarkov, A., Sergeyev, V. (2010) *Scientific J. of Riga Technical University*, **21**, 51–54.
35. Baika, W., Luana, W., Zhaoa, R.H., Kooa, S., Kimb, K.-S. (2009) *Synth. Met.*, **159**, 1244–1246.
36. Kumar, A., Reyold, J. (1996) *Macromolecules*, **29**, 7629–7630.
37. Aasmundtveit, K.E., Samuelsen, E.J., Pettersson, L.A.A., Inganäs, O., Johansson, T., Feidenhans'l, R. (1999) *Synth. Met.*, **101**, 561–564.
38. Wu, C.-H., Don, T.-M., Chiu, W.-Y. (2011) *Polymer*, **52**, 1375–1384.
39. Gok, A., Omastova, M., Yavuz, A.G. (2007) *Synth. Met.*, **157**, 23–29.
40. Groenendaal, L.B., Jonas, F., Freitag, D., Pielartzik, H., Reynold, J.R. (2000) *Adv. Mater.*, **12**, 481–494.
41. Groenendaal, L.B., Zotti, G., Aubert, P., Waybright, S.M., Reynold, J.R. (2003) *Adv. Mater.*, **15**, 855–879.
42. Randrimahazaka, H., Noel, C., Chevrot, C. (1999) *J. Electroanal. Chem.*, **472**, 103–111.
43. Yamato, H., Ohwa, M., Wernet, W. (1995) *J. Electroanal. Chem.*, **397**, 163–170.
44. Yamato, H., Kai, K., Ohwa, M., Asakura, T., Koshiba, T., Wernet, W. (1996) *Synth. Met.*, **83**, 125–130.
45. Yamato, H., Kai, K.-I., Ohwa, M., Wernet, W., Matsumura, M. (1997) *Electrochim. Acta.*, **42**, 2517–2523.
46. Lima, A., Schottland, P., Sadki, S., Chevrot, C. (1998) *Synth. Met.*, **93**, 33–41.
47. Sakmeche, N., Aaron, J.J., Fall, M., Aeiyaach, S., Jouini, M., Lacroix, J.C., Lacaze, P.C. (1996) *Chem. Commun.*, **24**, 2723–2724.
48. Lee, Y., Park, S., Son, Y. (1999) *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **327**, 237–240.
49. Kudoh, Y., Akami, K., Matsuya, Y. (1998) *Synth. Met.*, **98**, 65–70.
50. Witayakran, S., Ragauskas, A.J. (2009) *Adv. Synth. Catal.*, **351**, 1187–1209.
51. Kunamneni, A., Camarero, S., Garcia-Burgos, C., Plou, F.J., Ballesteros, A., Alcalde M. (2008) *Microb. Cell Factories*, **7**:32 doi:10.1186/1475-2859-7-32.
52. Santaniello, E., Ferraboschi, P., Grisenti, P., Manzocchi, A. (1992) *Chem. Rev.*, **92**, 1071–1140.
53. Seoane, G. *Curr. Org. Chem.*, 2000, **4**, 283–304.
54. Farrell, R.L., Murtagh, K.E., Tien, M., Mozuch, M.D., Kirk, T.K. (1989) *Enzyme Microb. Technol.*, **11**, 322–328.
55. Wakamatsu, K., Takahama, U. (1993) *Physiol. Plants*, **88**, 167–171.
56. Dunford, H.B. (1991) *Peroxidases in chemistry and biology*. 2. CRC Press, Inc., 1–24.
57. McEldoon, J.P., Dordick, J.S. (1996) *Biotechnol. Prog.*, **12**, 555–558.
58. Nisum, M., Schodt, C.B., Welinder, K.G. (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1545**, 339–348.
59. Сахаров И.Ю. (2004) *Биохимия*, **69**, 1013–1020.
60. Gazaryan, I.G., Lagrimini, L.M. (1996) *Phytochem.*, **41**, 1029–1034.
61. Kokkinakis, D.M., Brooks, J.L. (1979) *Plant Physiol.*, **63**, 93–99.
62. Chance, B. *Science*, 1949, **109**, 204–208.

63. Jones, P., Dunford, H.B. (1977) Dokl. Bolg. Akad. Nauk., **5**, 121–134.
64. Yoshida, H. (1883) J. Chem. Soc. Trans., **43**, 472–486.
65. Baldrian, P. (2006) FEMS Microbiol. Rev., **30**, 215–242.
66. Thurston, C.F. (1994) Microbiolodgy, **140**, 19–26.
67. Claus, H. (2004) Micron, **35**, 93–96.
68. Морозова О.В., Шумакович Г.П., Горбачева М.А., Шлеев С.В., Ярополов А.И. (2007) Биохимия, **72**, 1136–1150.
69. Lee, S.-K., George, S.D., Antholine, W.E., Hedman, B., Hodgson, K.O., Solomon, E.I. (2002) J. Am. Chem. Soc., **124**, 6180–6193.
70. Mayer, A.M., Staples, R.C. (2002) Phytochemistry, **60**, 551–565.
71. Riva, S. (2006) Trends Biotechnol., **24**, 219–226.
72. Yaropolov, A.I., Skorobogat'ko, O.V.; Vartanov, S.S.; Varfolomeyev, S.D. (1994) Appl. Biochem. Biotechn., **49**, 257–280.
73. Baldrian, P. (2004) Appl. Microbiol. Biotechnol., **63**, 560–563.
74. Kurniawati, S., Nicell, J.A. (2008) Bioresour. Technol., **99**, 7825–7834.
75. Shin, K.S., Lee Y.J. (2000) Arch. Biochem. Biophys., **384**, 109–115.
76. Shleev, S.V., Morozova, O.V., Nikitina, O.V., Gorshina, E.S., Rusinova, T.V., Serezhnikov, V.A., Burbaev, D.S., Gazaryan, I.G., Yaropolov, A.I. (2004) Biochimie, **86**, 693–703.
77. Shiba, T., Xiao, L., Miyakoshi, T., Chen, C.-L. (2000) J. Mol. Catal. B: Enzym., **10**, 605–615.
78. Bertrand, T., Jolival, C., Caminade, E., Joly, N., Mougin, C., Briozzo, P. (2002) Acta Cryst., **D58**, 319–321.
79. Polyakov, K.M., Fedorova, T.V., Stepanova, E.V., Cherkashin, E.A., Kurzeev, S.A., Strokopytov, B.V., Lamzin, V.S., Koroleva, O.V. (2009) Acta Cryst., **D65**, 611–617.
80. Морозова О.В., Шумакович Г.П., Шлеев С.В., Ярополов А.И. (2007) Прикл. биохимия и микробиология, **43**, 583–597.
81. Solomon, E.I., Sundaram, U.M., Machonkin, T.E. (1996) Chem. Rev., **96**, 2563–2606.
82. Bento, I., Martins, L.O., Gato L.G., Arménia, C.M., Lindley P.F. (2005) Dalton Transactions, **21**, 3507–3513.
83. Solomon, E.I., Chen, P., Metz, M., Lee, S.K., Palmer, A.E. (2001) Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **40**, 4570–4590.
84. Bourbonnais, R., Paice, M.G. (1990) FEBS, **267**, 99–102.
85. Fabbrini, M., Galli, C., Gentili, P. (2002) J. Mol. Catal. B: Enzym., **16**, 231–240.
86. Shimizu, A., Kwon, J.-H., Sasaki, T., Satoh, T., Sakurai, N., Sakurai, T., Yamaguchi, S., Samejima, T. (1999) Biochemistry, **38**, 3034–3042.
87. Bankar, S.B., Bule, M.V., Singhal, R.S., Ananthanarayan, L. (2009) Biotech. Adv., **27**, 489–501.
88. Sztajer, H., Wang, W., Lünsdorf, H., Stocker, A., Schmid, R.D. (1996) Appl. Microbiol. Biotechnol., **45**, 600–606.
89. Kobayashi, S., Makino, A. (2009) Chem. Rev., **109**, 5288–5353.
90. Bouldin, R., Kokil, A., Ravichandran, S., Nagarajan, S., Kumar, J., Samuelson, L.A., Bruno, F.F., Nagarajan, R. (2010) Green Polymer Chemistry: Biocatalysis and Biomaterials. ACS Symposium Series, **1043**, 315–341.
91. Walde, P., Guo, Z. (2011) Soft Matter, **7**, 316–331.
92. Xu, P., Singh, A., Kaplan, D. (2006) Adv. Polym. Sci., **194**, 69–94.
93. Hollmann, F., Arends, I.W.C.E. (2012) Polymers, **4**, 759–793.
94. McEldoon, J.P., Dordick, J.S. (1996) Biotechnol. Prog., **12**, 555–558.
95. Sakharov, I.Yu., Sakharova, I.V. (2002) Biochim. Biophys. Acta, **1598**, 108–114.
96. Vasil'eva, I.S., Morozova, O.V., Shumakovich, G.P., Shleev, S.V., Sakharov, I.Yu., Yaropolov, A.I. (2007) Synth. Met., **157**, 684–689.

97. Патент США. 1995. № 5,420,237.
98. Cruz-Silva, R., Romero-García, J., Angulo-Sánchez, J.L., Ledezma-Pérez, A., Arias-Marín, E., Moggio, I., Flores-Loyola, E. (2005) *Eur. Polym. J.*, **41**, 1129–1135.
99. Kausaite, A., Ramanaviciene, A., Ramanavicius, A. (2009) *Polymer*, **50**, 1846–1851.
100. Cui X., Li Ch.M., Zang J., Zhou Q., Gan Ye, Bao H., Guo J., Lee V.S., Moochhala, Sh.M. (2007) *J. Phys. Chem. C*, **111**, 2025–2031.
101. Aizawa, M., Wang, L., Shinohara, H., Ikariyama, Y. (1990) *J. Biotechnol.*, **14**, 301–309.
102. Samuelson, L.A., Anagnostopoulos, A., Alva, K.S., Kumar, J., Tripathy, S.K. (1998) *Macromolecules*, **31**, 4376–4378.
103. Liu, W., Kumar, J., Tripathy, S., Senecal, K.J., Samuelson, L. (1999) *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 71–78.
104. Karamyshev, A.V., Shleev, S.V., Koroleva, O.V., Yaropolov, A.I., Sakharov, I.Yu. (2003) *Enzyme Microb. Technol.*, **33**, 556–564.
105. Мажуго Ю.М., Карамышев А.В., Шлеев С.В., Сахаров И.Ю., Ярополов А.И. (2005) *Прикл. биохимия и микробиология*, **41**, 247–250.
106. Shumakovich, G.P., Vasil'eva, I.S., Morozova, O.V., Khomenkov, V.G., Staroverova, I.N., Budashov, I.A., Kurochkin, I.N., Boyeva, J.A., Sergeyev, V.G., Yaropolov A.I. (2010) *J. Appl. Polym. Sci.*, **117**, 1544–1550.
107. Shen, Y., Sun, J., Wu, J., Zhon, Q. (2005) *J. Appl. Polym. Sci.*, **96**, 814–817.
108. Nagarajan, R., Liu, W., Kumar, J., Tripathy, S.K., Bruno, F.F., Samuelson, L.A. (2001) *Macromolecules*, **34**, 3921–3927.
109. Nickels, P., Dittmer, W.U., Beyer, S., Kotthaus, J.P., Simmel, F.C. *Nanotechnology*, 2004, **15**, 1521–1529.
110. Cruz-Silva, R., Amaro, E., Escamilla, A., Nicho, M.E., Sepulveda-Guzman, S., Arizmendi, L., Romero-Garcia, J., Castillon-Barraza, F.F., Farias, M.H. (2008) *J. Colloid Interface Sci.*, **328**, 263–269.
111. Sahoo, S.K., Nagarajan, R., Roy, S., Samuelson, L.A., Kumar, J., Cholli, A.L. (2004) *Macromolecules*, **37**, 4130–4138.
112. Samuelson, L., Liu, W., Nagarajan, R., Kumar, J., Bruno, F.F., Cholli, A., Tripathy, S. (2001) *Synth. Met.*, **119**, 271–272.
113. Streltsov, A.V., Shumakovich, G.P., Morozova, O.V., Gorbacheva, M.A., Yaropolov, A.I. (2008) *Appl. Biochem. Microb.*, **44**, 264–270.
114. Rumbau, V., Pomposo, J.A., Alduncin, J.A., Grande, H., Mecerreyes, D., Ochoteco, E. (2007) *Enzyme Microb. Technol.*, **40**, 1412–1421.
115. Guo, Z., Rüegger, H., Kissner, R., Ishikawa, T., Willeke, M., Walde, P. (2009) *Langmuir*, **25**, 11390–11405.
116. Liu, W., Cholli, A.L., Nagarajan, R., Kumar, J., Tripathy, S., Bruno, F.F., Samuelson, L. (1999) *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 11345–11355.
117. Cruz-Silva, R., Ruiz-Flores, C., Arizmendi, L., Romero-García, J., Arias-Marín, E., Moggio, I., Castillon, F.F., Farias, M.H. (2006) *Polymer*, **47**, 1563–1568.
118. Karamyshev, A.V., Evtushenko, E.G., Ivanov, V.F., Barceló, A.R., Roig, M.G., Shnyrov, V.L., van Huystee, R.B., Kurochkin, I.N., Vorobiev, A.Kh., Sakharov, I.Yu. (2005) *Biomacromolecules*, **6**, 1360–1366.
119. Longoria, A.M., Hu, H., Vazquez-Duhalt, R. (2010) *Appl. Biochem. Biotech.*, **162**, 927–934.
120. Román, P., Cruz-Silva, R., Vazquez-Duhalt, R. (2012) *Synth. Met.*, **162**, 794–799.
121. Streltsov, A.V., Morozova, O.V., Arkharova, N.A., Klechkovskaya, V.V., Staroverova, I.N., Shumakovich, G.P., Yaropolov, A.I. (2009) *J. Appl. Pol. Sci.*, **114**, 928–934.
122. Jin, Zh., Su, Y., Duan, Y. (2001) *Synth. Met.*, **122**, 237–242.

123. Васильева И.С., Морозова О.В., Шумакович Г.П., Ярополов А.И. (2009) Прикл. биохимия и микробиология, **45**, 27–30.
124. Rumbau, V., Marcilla, R., Ochoteco, E., Pomposo, J.A., Mecerreyes, D. (2006) *Macromolecules*, **39**, 8547–8549.
125. Guo, H., Knobler, Ch.M., Kaner, R.B. (1999) *Synth. Met.*, **101**, 44–47.
126. Moutet, J.-C., Saint-Aman, E., Tran-Van, F., Angibeaude, P., Utile, J.-P. (1992) *Adv. Mater.*, **4**, 511–513.
127. Thiagarajan, M., Samuelson, L.A., Kumar, J., Choll, A.L. (2003) *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 11502–11503.
128. Ashraf, S.A., Kane-Maguire, L.A.P., Majidi, M.R., Pyne, S.G., Wallace, G.G. (1997) *Polymer*, **38**, 2627–2631.
129. Kane-Maguire, L.A.P., MacDiarmid, A.G., Norris, I.D., Wallace, G.G., Zheng, W. (1999) *Synth. Met.*, **106**, 171–176.
130. Зейфман Ю.С., Майборода И.О., Грищенко Ю.В., Морозова О.В., Васильева И.С., Шумакович Г.П., Ярополов А.И. (2012) Прикл. биохимия и микробиология, **48**, 169–174.
131. Tzou, K., Gregory, R.V. (1992) *Synth. Met.*, **47**, 267–277.
132. Shumakovich, G., Streltsov, A., Gorshina, E., Rusinova T., Kurova, V., Vasil'eva, I., Otrokhov, G., Morozova, O., Yaropolov, A. (2011) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **69**, 83–88.
133. Rumbau, V., Pomposo, J.A., Eleta, A., Rodriguez, J., Grande, H., Mecerreyes, D., Ochoteco, E. (2007) *Biomacromolecules*, **8**, 315–317.
134. Hawkins, S.L., Ratcliffe, N.M. (2000) *J. Mat. Chem.*, **10**, 2057–2062.
135. Nagarajan, S., Kumar, J., Bruno, F.F., Samuelson, L.A., Nagarajan, R. (2008) *Macromolecules*, **41**, 3049–3052.
136. Shumakovich, G., Otrokhov, G., Vasil'eva, I., Pankratov, D., Morozova, O., Yaropolov, A. (2012) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **81**, 66–68.
137. Song H.-K., Tayhas G., Palmore R. (2005) *J. Phys. Chem. B*, **109**, 19278–19287.
138. Kupriyanovich, Y.N., Sukhov, B.G., Medvedeva, S.A., Mikhaleva, A.I., Vakul'skaya, T.I., Myachina, G.F., Trofimov, B.A. (2008) *Mendel. Commun.*, **18**, 56–58.
139. Shumakovich, G., Kurova, V., Vasil'eva, I., Pankratov, D., Otrokhov, G., Morozova, O., Yaropolov, A. (2012) *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **77**, 105–110.
140. Riul Jr, A., Malmegrim, R., Fonseca, F.J., Mattoso, L.H.C. (2003) *Biosens. Bioelect.*, **18**, 1365–1369.
141. Wessling, B., Posdorfer, J. (1999) *Synth. Met.*, **102**, 1400–1401.
142. Soto-Oviedo, M.A., Araújo, O.A., Faez, R., Rezende, M.C., De Paoli, M.-A. (2006) *Synth. Met.*, **156**, 1249–1255.
143. Carpi, F., De Rossi, D. (2006) *Opt. Laser Technol.*, **38**, 292–305.
144. Патент РФ № 2348455 от 10.10.2006 г.
145. Sheng, Q., Zheng, J. (2009) *Biosens. Bioelect.*, **24**, 1621–1628.
146. Heider, G.H., Sasso, S.V., Huang, K., Yacynych, A.M., Wieck, H.J. (1990) *Anal. Chem.*, **62**, 1106–1110.