جامعة الموصل
كلية العلوم

دراسة كهروكيميائية لمرافق الانزيم Q (Co Q) باستخدام أقطاب صلبة محورة مختلفة ومحاولة لبناء متحسس مرافق إنزيمي حيوي

ندى بشير شريف حامد النعيمي

أطروحة دكتوراه في
علوم الكيمياء / الكيمياء الفيزياوية

بإشراف

الأستاذ الدكتور
سعدالله توفيق سليمان الراوجي

الأستاذ المساعد الدكتور
قاسم يحيى رحاوي الدليمي

1441هـ
2019 م

الخلاصة

يتضمن البحث ثلاثة أجزاء :

الجزء الأول :

1. دراسة السلوك الكهروكيميائي لمرافق الإنزيمQ_0 وذلك باستخدام تقنية فولتامتري الموجة المربعة (SWV) على قطب (HMDE) وللمدى من التراكيز (9.09×10^{-6}–9.99×10^{-8}) مولاري ، وباستخدام تقنية فولتامتري الحلقي (CV) على قطب (HMDE) وللمدى من التراكيز (1.60×10^{-4} - 9.99×10^{-7}) مولاري باستخدام محلول الفوسفات المنظم كالكتروليت مساعد عند دالة حامضية (pH7.0) وقد أعطى مرافق الإنزيمQ_0 موجة اختزال واضحة عند جهد (0.0415–) فولت باستخدام (SWV) وموجة اختزال عند جهد Ep_c (0.05–) فولت وموجة اكسدة عكسية عند جهد مقداره Ep_a (0.0917–) فولت باستخدام تقنية (CV) ضد القطب المرجع (Ag/AgCl/3M KCl).

2. دراسة التداخلات الجزيئية ما بين مرافق الإنزيمQ_0 مع الأنيلين والبايرول باستخدام تقنية (SWV) على قطب (HMDE) وبدرجات حرارية (289، 293، 298، 303، 308) درجة مطلقة وحساب قيم ثابت الترابط (K_b) لتداخل مرافق الإنزيمQ_0 مع كلٍ من الأنيلين والبايرول وكذلك حساب القيم الثرموداينمكية (ΔS , ΔH, ΔG) ومنها أستنتج نوع عملية التداخل ما بين مساعد الانزيمQ_0 والانيلين (ΔH وΔS قيم سالبة) وتبين أنه قد يكون بسبب قوة فاندرفالز او التداخل باواصر هيدروجينية ، اما التداخل الثاني لمرافق الانزيمQ_0 مع البايرول (ΔH وΔS قيم موجبة) فقد يكون تداخل هيدروفوبي.

3. دراسة السلوك الكهروكيميائي لمرافق الإنزيمQ_0 باستخدام تقنية (SWV) على قطب البلاتين الصلب ضمن مدى من التراكيز (5.96×10^{-6} – 9.99×10^{-7}) مولاري باستخدام محلول الفوسفات المنظم عند دالة حامضية (pH7.0) وقد أعطى مرافق الإنزيمQ_0 موجة اختزال عند جهد (Ep=0.0119) فولت ضد القطب المرجع (Ag/AgCl/3M KCl) .

4. دراسة السلوك الكهروكيميائي لمرافق الإنزيمQ_0 باستخدام تقنية (SWV) على الاقطاب المحورة : قطب بلاتين بولي انيلين المحور وقطب بلاتين بولي انيلين المشوب بالنحاس وقطب بلاتين بولي انيلين المشوب بالنيكل باستخدام وسط الحامض الكبريتيك (0.5 M H_2SO_4) ووسط محلول الفوسفات المنظم عند دالة حامضية (pH7.0) حيث تتغير مواقع جهود الاكسدة لهذه الاقطاب باختلاف الوسط حيث اعطى مرافق الانزيم Q_0 تأثير واضح مع هذه الاقطاب المحورة في وسط محلول الفوسفات المنظم نتيجة عملية التداخل الجزيئي.

5. تم تقدير مرافق الإنزيمQ_0 باستخدام تقنية (SWV) على قطب بلاتين بولي أنيلين المحور في محلول الفوسفات المنظم ضمن مدى من التراكيز (5×10^{-9} - 7.39×10^{-8}) مولاري عند دوال حامضية (pH=4.8) و(pH=7) و(pH=10) بعد استقرارية تيار الانتشار لموجة اكسدة قطب بلاتين بولي أنيلين بعد 45 دقيقة عند جهود الاكسدة (0.205) و(0.022) و(0.001) فولت على التوالي.

6. كما تم تقدير مرافق الإنزيمQ_0 باستخدام تقنية (SWV) على قطب بلاتين بولي أنيلين المشوب بالنحاس في محلول الفوسفات المنظم ضمن مدى من التراكيز (5×10^{-9} – 9.80×10^{-8}) مولاري عند دوال حامضية (pH=4.8) و(pH=7) و(pH=10) بعد استقرارية تيار الانتشار لموجة اكسدة القطب بعد 60 دقيقة عند جهود الاكسدة (0.112) و(0.040) و(0.007) فولت على التوالي.

7. تم تقدير مرافق الإنزيمQ_0 باستخدام تقنية (SWV) على قطب بلاتين بولي أنيلين المشوب بالنيكل في محلول الفوسفات المنظم ضمن مدى من التراكيز (5×10^{-9} – 7.39×10^{-8}) مولاري عند دوال حامضية (pH=4.8) و(pH=7) و(pH=10) بعد استقرارية تيار الانتشار لموجة اكسدة القطب بعد 15 دقيقة عند جهود الاكسدة (0.147) و(0.078) و(0.001) فولت على التوالي.

8. استخدم قطب البلاتين- بولي انيلين مرافق الإنزيمQ_0 في دراسة السلوك الكهروكيميائي ل NADH باستخدام تقنية (SWV) وحامض الكبريتيك (0.5 M H_2SO_4) كألكتروليت مساعد حيث قُدر NADH ضمن مدى من التراكيز (9.99×10^{-9} – 1.09×10^{-7}) مولاري.

الجزء الثاني :

1. دُرس السلوك الكهروكيميائي لمرافق الإنزيمQ_{10} باستخدام تقنية (SWV) على قطب (HMDE) وللمدى من التراكيز (4.98×10^{-6}–3.85×10^{-5}) مولاري باستخدام محلول الفوسفات المنظم كالكتروليت مساعد عند دالة حامضية (pH10) بدون ايثانول وقد أعطى مرافق الإنزيمQ_{10} موجة اختزال واضحة عند جهد (0.281-) فولت وعند حالة استخدام محلول الفوسفات المنظم عند دالة حامضية (pH10) بوجود 40% ايثانول أعطى مرافق الإنزيمQ_{10} موجة اختزال واضحة عند جهد (0.317-) فولت وضمن مدى من التراكيز (4.98×10^{-6} – 6.54×10^{-5}) مولاري ضد القطب المرجع (Ag/AgCl/3M KCl).

2. دُرست التداخلات الجزيئية ما بين مرافق الإنزيمQ_{10} مع الأنيلين والبايرول باستخدام تقنية (SWV) على قطب (HMDE) وبدرجات حرارية (289، 293، 298، 303، 308) درجة مطلقة وحساب قيم ثابت الترابط (K_b) لتداخل مرافق الإنزيمQ_{10} مع كلٍ من الأنيلين والبايرول وكذلك حساب القيم الثرموداينمكية (ΔS , ΔH, ΔG) ومنها أستنتج نوع عملية التداخل.

3. دُرس السلوك الكهروكيميائي لمرافق الإنزيمQ_{10} باستخدام تقنية (SWV) على قطب البلاتين الصلب ضمن مدى من التراكيز (9.99×10^{-7} - 6.95×10^{-6}) مولاري باستخدام محلول الفوسفات المنظم عند دالة حامضية (pH7.0) وقد أعطى مرافق الإنزيمQ_{10} موجتي اختزال عند (Ep_1=0.0119) و(Ep_2=0.392) فولت ضد القطب المرجع (Ag/AgCl/3M KCl) .

4. كما دُرس السلوك الكهروكيميائي لمرافق الإنزيمQ_{10} باستخدام تقني (SWV) على الاقطاب المحورة : قطب بلاتين بولي انيلين المحور وقطب بلاتين بولي انيلين المشوب بالنحاس وقطب بلاتين بولي انيلين المشوب بالنيكل باستخدام وسط الحامض الكبريتيك ($0.5\ M\ H_2SO_4$) ووسط محلول الفوسفات المنظم عند دالة حامضية (pH7.0) .

5. تم تقدير مرافق الإنزيمQ_{10} باستخدام تقنية (SWV) على قطب بلاتين بولي أنيلين المحور وقطب بلاتين بولي أنيلين المشوب بالنحاس وقطب بلاتين بولي أنيلين المشوب بالنيكل في محلول الفوسفات المنظم وضمن مدى من التراكيز (5×10^{-9} - 9.80×10^{-8}) مولاري عند دوال حامضية (pH=4.8) و(pH=7) و(pH=10) بعد استقرارية تيار الانتشار لموجة اكسدة القطب.

6. استخدم قطب البلاتين- بولي انيلين مرافق الإنزيمQ_{10} في دراسة السلوك الكهروكيميائي ل NADH باستخدام تقنية (SWV) وحامض الكبريتيك ($0.5\ M\ H_2SO_4$) كألكتروليت مساعد حيث قُدر NADH ضمن مدى من التراكيز (9.99×10^{-9} -1.57×10^{-7}) مولاري.

الجزء الثالث :

أُجريت دراسة حاسوبية باستخدام الطريقة الشبه التجريبية (AM1) وطريقة الميكانيك الجزيئي (MM2) وطريقة الاقتران الجزيئي (Docking) كوسيلة لمعرفة حصول تداخل جزيئي لمرافق الإنزيم Q_0 وQ_{10} مع الأنيلين و بوليمر الأنيلين وكذلك مع جزيئة البايرول و بوليمر البايرول حيث اعطى كلا من مرافق الإنزيم Q_0 وQ_{10} تداخلاً جيداً مع الأنيلين والبولي أنيلين اقوى من البايرول والبولي بايرول وتم الاستنتاج من خلال النتائج النظرية المستحصلة باستخدام طريقة الاقتران الجزيئي التوافق الجيد مع النتائج العملية لعمل قطب محور كمتحسس حيوي.

University of Mosul
College of Science

Electrochemical study of Coenzyme Q (Co Q) using different modified solid electrodes an attempt to construct Coenzyme biosensor

Nada Bashir Sharif hamid Al-Naimi

Ph.D. Thesis in
Physical chemistry

Supervised by

Prof. Dr. **Asst. Prof. Dr.**

Saddalah T. S. Al-Rawachi **Kasim Y. R. Al-Dulaimi**

1441 A.H. **2019 A.D.**

Abstract

The work involve three parts:

Part (1):

1. Study of the electrochemical behavior of coenzyme Q_0 using the square wave voltammetric technique (SWV) on the HMDE electrode within the concentrations range ($9.99x10^{-8}$ - $9.09x10^{-6}$) M , the cyclic voltammetric technique (CV) on the HMDE electrode within the range of concentrations ($9.99x10^{-7}$-$1.60x10^{-4}$) M using phosphate buffer electrolyte at (pH7.0) Coenzyme Q_0 gave a clear reduction wave at (-0.0415) volts using (SWV) , reduction wave at Epc (-0.05) volts, and reverse reversible wave at Epa (-0.0917) volts using (CV) technique against the reference electrode (Ag / AgCl / 3M KCl).

2. Study the molecular interactions between coenzyme Q_0 with aniline and pyrrole using the (SWV) technique on the electrode (HMDE) at different temperatures (289, 293, 298, 303, 308) ^{0}K was examined. The binding constant (K_b) of the coenzyme Q_0 with both aniline and pyrrole as well as thermodynamic values (ΔH, ΔG, ΔS) were calculated .The results obtained show , that the interaction type was either Vander Waals or hydrogen bond for the coenzyme Q_0 with aniline and for coenzyme Q_0 with pyrrole was hydrophobic interference.

3. Study the electrochemical behavior of coenzyme Q_0 using SWV technique on solid platinum electrode within concentrations range ($9.99x10^{-7}$ - $5.96x10^{-6}$) M using phosphate buffer (pH7.0) , coenzyme Q_0 gives a reduction wave at potential (Ep = 0.0119) V versus (Ag/AgCl/3M KCl) reference electrode.

4. Study the electrochemical behavior of coenzyme Q_0 using SWV technique on different modified electrodes: pt- poly aniline modified electrode, pt- poly aniline doped copper electrode, pt- poly aniline doped nickel electrode using sulfuric acid as supporting electrolyte (0.5M H_2SO_4) and phosphate buffer (pH7) in second experiment. The oxidation peaks change with changing the media of supporting electrolyte . Coenzyme Q_0 gives a clear oxidation peaks using modified electrodes in phosphate buffer solution as a result of the molecular interaction process.

5. Coenzyme Q_0 were estimated using (SWV) technique on a pt –poly aniline modified electrode in phosphate buffer solution within a range of concentrations (5×10^{-9} -7.39×10^{-8}) M at different pHs (pH = 4.8 , 7 and 10) after the stability of the current at the platinum poly aniline modified electrode after 45 minutes at the oxidation potentials (0.205 , 0.022 and 0.001) V.

6. Coenzyme Q_0 were also determined using SWV technique on a pt- poly aniline doped copper electrode in phosphate buffer solution within the range of

concentrations (5×10^{-9} - 9.80×10^{-8}) M at different pHs (pH = 4.8 , 7 and 10) after the stability of the oxidation current peak after 60 minutes at the oxidation potentials (0.112 , 0.040 and 0.007) V.

7. Coenzyme Q_0 was estimated using SWV technique on pt- poly aniline doped nickel electrode in the phosphate buffer solution within the concentrations range (5×10^{-9} - 7.39×10^{-8}) M at different pHs (pH = 4.8 , 7 and 10) after the stability of the oxidation current peak after 15 minutes at the oxidation potentials (0.147 , 0. 078 and 0.001) V.

8. Modified pt with poly aniline and Coenzyme Q_0 electrode was used to study the electrochemical behavior of NADH using SWV and sulfuric acid (0.5M H_2SO_4) as supporting electrolyte. NADH was determined within the concentrations range (9.99×10^{-9} - 1.09×10^{-7}) M.

part (2) :

1. The electrochemical behavior of Coenzyme Q_{10} was studied using SWV technique on the HMDE electrode within the concentrations range (4.98×10^{-6} - 3.85×10^{-5}) M using phosphate buffer solution as an electrolyte at pH10 without ethanol and the Coenzyme Q_{10} gives a clear reduction peak at (-0.281) V vs. reference electrode (Ag / AgCl / 3M KCl).Were as the use of phosphate buffer solution (pH10) with 40% ethanol gives a clear reduction wave at (-0.317) V within the concentrations range (4.98×10^{-6} - 6.54×10^{-5}) M.

2. Molecular interactions between coenzyme Q_{10} with aniline and pyrrole were studied using SWV technique on HMDE at different temperatures (289, 293, 298, 303, 308) ^{0}K and the binding constant (K_b) of the coenzyme Q_{10} with both aniline and pyrrole and thermodynamic values (ΔH, ΔG ΔS) were calculated from which the type of interference process was conclude.

3. The electrochemical behavior of coenzyme Q_{10} was studied using SWV technique on a solid platinum electrode within a concentrations range (9.99×10^{-7} - 6.95×10^{-6}) M using phosphate buffer at (pH7.0) .Coenzyme Q_{10} gives two reduction peaks one at (Ep_1 = 0.0119) V and second at (Ep_2 = 0.392) V against the (Ag / AgCl / 3M KCl) reference electrode.

4. The electrochemical behavior of Coenzyme Q_{10} was studied using SWV technique on different modified electrodes: pt-poly aniline modified electrode, pt- poly aniline doped copper electrode, pt- poly aniline doped nickel electrode using sulfuric acid medium (0.5M H_2SO_4) and phosphate buffer (pH7). The oxidation process at these electrodes change with the changing electrolyte media.

5. Coenzyme Q_{10} were estimated using (SWV) technique on pt- poly aniline modified electrode , pt- poly aniline doped copper electrode , pt- poly aniline doped nickel electrode in phosphate buffer solution within the concentrations

range (5×10^{-9}–9.80×10^{-8}) M at different pHs (pH = 4.8 , 7 and 10) after the stability of the oxidation current peak.

6. Modified pt with poly aniline and Coenzyme Q_{10} electrode was used to study the electrochemical behavior of NADH using SWV and sulfuric acid (0.5M H_2SO_4) as supporting electrolyte. NADH was determined within the concentrations range ($9.99x10^{-9}$ - $1.57x10^{-7}$) M.

Part (3):

A computational study was done using the semi-experimental method (AM1) , molecular mechanics method (MM2) and the molecular conjugation method (Docking) as a means of molecular interaction of the CoQ_0 and CoQ_{10} with the molecule aniline and the aniline polymer as well as the molecule pyrrole and the pyrrole polymer . Both CoQ_0 and CoQ_{10} : gives good interaction with aniline and aniline polymer but stronger than that with pyrrole and pyrrole polymer. The results obtained shows a good agreement with the obtained practical results**.**