

UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

CINETICA DEGRADĂRII OXIDATIVE A UNOR
POLUANȚI FENOLICI ÎN MEDIU APOS

Doctorand:

Cătălina Florentina Olmazu (Trofoșilă)

Conducător doctorat:

Profesor Dr. Dumitru Oancea

Comisia de doctorat:

Președinte: Profesor Dr. Camelia Bala

Conducător doctorat: Profesor Dr. Dumitru Oancea

Referenți oficiali:

1. Academician Profesor Dr. Eugen Segal, Universitatea din București
2. Profesor Dr. Ing. Dan Geană, Universitatea Politehnică din București
3. C.S. I Biochim. Dr. Radu Albuлесcu, Institutul Național de Cercetare Dezvoltare Chimico-Farmaceutică, București

2012

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

CUPRINS

(numerotarea paginilor este cea din teza de doctorat)

Introducere.....	3
I.Stadiul actual al cunoașterii în domeniu.....	5
I.1.Toxicitatea și parcursul poluanților fenolici în apele de suprafață.....	5
I.2.Metode oxidative de degradare a poluanților fenolici.....	6
I.3.Oxidarea enzimatică a fenolilor: alternativă fezabilă la oxidarea chimică.....	7
I.4.Modelarea cinetică a oxidării fenolilor în sisteme monoenzimatic.....	15
I.4.1. Simularea răspunsului sistemului prin integrare numerică a sistemelor de ecuații diferențiale corespunzătoare modelului cinetic propus.....	15
I.5. Efectul prezenței ionilor în soluție.....	18
I.6. Detectarea inactivării operaționale a enzimelor și estimarea parametrilor cinetici globali de inactivare cu o metodă izoconversională.....	25
I.7. Compuși cu potențial terapeutic obținuți prin oxidarea derivaților fenolici: actinomicine și fenoxazone.....	29
II. Contribuții originale.....	32
Obiective.....	32
Tabel sinoptic cu rezultate experimentale reprezentative.....	33
II.1. Materiale și metode.....	35
II.2. Cinetica oxidării 2-aminofenolului în prezența ionilor de Cu(II).....	42
II.3. Cinetica oxidării unor 2-aminofenoli substituiți în prezență de ioni ai metalelor tranziționale.....	57
II.4. Cinetica oxidării unor 2-aminofenoli în prezența tirozinazei din ciuperci.....	68
II.5. Comportarea cinetică la oxidarea unor poluanți fenolici în prezența peroxidazei din hrean.....	73
II.6. Influența sărurilor de Cu(II), Mn(II) și Co(II) asupra cineticii oxidării a unor 2-aminofenoli în prezența peroxidazei din hrean.....	95
II.7.Concluzii generale.....	108

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

Articole publicate sau în curs de publicare. Participări la comunicări științifice și conferințe.....	110
Bibliografie.....	111
Anexe.....	121

Cuvinte cheie:

2-aminofenol, 2-amino-*p*-clorofenol, 2-amino-*p*-crezol, L-3,4-dihidroxifenilalanină, oxidare, peroxidază din hrean, tirozinază din ciuperci, questiomicina A, fenoxazone, complex Cu(II), modelare cinetică, inactivare, testul Selwyn, metoda izoconversională

(Numerotarea capitolelor, subcapitolelor, figurilor, tabelelor, schemelor, ecuațiilor și a trimiterilor bibliografice este cea din teza de doctorat.)

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

INTRODUCERE

Alegerea temei „*Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos*” este justificată de faptul că înlăturarea derivaților fenolici deversați în apele reziduale provenite de la rafinării sau rezultați în urma proceselor tehnologice din industria coloranților, reprezintă o problemă de mare actualitate. Compușii fenolici sunt dăunători pentru organism, în special derivații clorurați, chiar și atunci când sunt prezenți în concentrații reduse (1 $\mu\text{g/l}$). Ei se manifestă ca substraturi inhibitoare în anumite transformări metabolice [1].

Pentru înlăturarea poluanților fenolici se utilizează în ultimul timp câteva tehnologii noi, numite procese de oxidare avansată (POA) cum sunt: fotoliza omogenă UV, oxidarea omogenă în absența luminii (metode ce folosesc reactiv Fenton [2]), fotoliza eterogenă (UV/TiO₂), radioliza, oxidarea cu aer umed [3-6].

Anumite tipuri de oxidoreductaze existente în plantele acvatice cum ar fi tirozinazele și peroxidazele precum și ionii unor metale tranzitionale ca manganul sau cuprul [10, 11] sunt specii prezente permanent în apele reziduale și naturale, iar utilizarea lor poate constitui o alternativă fezabilă la oxidarea chimică.

Poluanții fenolici sunt transformați în compuși mai puțin toxici care pot avea acțiune antimicrobină și citostatică. Producții de oxidare ai fenolilor precum xantomatina, actinomicina D, questiomicina A fac parte din clasa fenoxazonelor, acțiunea citostatică a acestor compuși fiind aceea că se pot intercala cu ADN-ul uman, ducând la blocare enzimatică și la erori de citire în timpul procesului de replicare [23-25].

Mecanismele de oxidare a poluanților fenolici sunt deosebit de complexe, iar pentru a descrie evoluția în timp a sistemelor reactante se impune utilizarea unor modele matematice. Modelele matematice constau în ecuații caracteristice care pot fi rezolvate prin metode numerice cu ajutorul unor programe dedicate.

În această teză se realizează un studiu cinetic prin monitorizarea degradării oxidative a unor poluanți fenolici în prezența unor catalizatori și biocatalizatori din mediul natural prin utilizarea reactorului semi-închis cu amestecare în vederea simulării condițiilor reale.

Principalele obiective urmărite în cadrul acestei lucrări au fost:

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

- Valorificarea unor catalizatori existenți în mediul natural, în degradarea unor poluanți fenolici deversați în apele reziduale și modelarea cinetică a proceselor în care aceștia intervin;
- Valorificarea unor biocatalizatori în degradarea poluanților fenolici;
- Efectuarea unui studiu de eficiență catalitică a peroxidazei din hrean și a tirozinazei din ciuperci existente în apele naturale și reziduale în vederea optimizării proceselor de degradare oxidativă a poluanților fenolici;
- Efectuarea unui studiu al inactivării peroxidazei din hrean în procesul de degradare oxidativă a poluanților fenolici precum și estimarea unor constante de inactivare;
- Efectuarea unui studiu al influenței modulatorilor asupra cineticii reacțiilor de oxidare enzimatică în medii apoase;
- Aplicarea unor metode moderne ale modelării matematice și ale informaticii în vederea elucidării mecanismelor de reacție pentru procesele studiate;

Teza de doctorat cuprinde o parte de literatură care descrie stadiul actual al cunoașterii în domeniul studiat, și o a doua parte, de contribuții originale, bazată pe rezultatele experimentale obținute pe perioada derulării cercetării pentru elaborarea tezei de doctorat.

În partea de literatură sunt prezentate aspecte referitoare la: toxicitatea derivaților fenolici și parcursul acestora în apele de suprafață (cap. I.1.), metodele de degradare a poluanților fenolici la compuși mai puțin toxici (cap. I.2.), avantajele utilizării metaloenzimelor în depoluarea apelor (cap. I.3.), modelarea cinetică a oxidării fenolilor pentru calcularea vitezelor de reacție și a parametrilor cinetici (cap. I.4.), efectele datorate de prezența ionilor în soluție ce modifică apreciabil comportarea celorlalte particule prezente (cap. I.5.), metodele utilizate până în prezent pentru a descrie inactivarea unei enzime precum testul Selwyn și metoda izoconversională (I.6.), iar în ultimul capitol (I.7.) sunt prezentați produșii de oxidare ai polunților fenolici cu efecte terapeutice.

În partea originală a lucrării sunt prezentate studiile cinetice la oxidarea 2-aminofenolului și a unor 2-aminofenoli substituiți (2-amino-*p*-clorofenolului, 2-amino-*p*-crezolului, L-3,4-dihidroxifenilalanină) cu oxigen molecular în soluții apoase oxigenate fie în prezența unor săruri ale metalelor tranziționale (Cu (II), Co(II), Mn(II)), fie în prezența

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

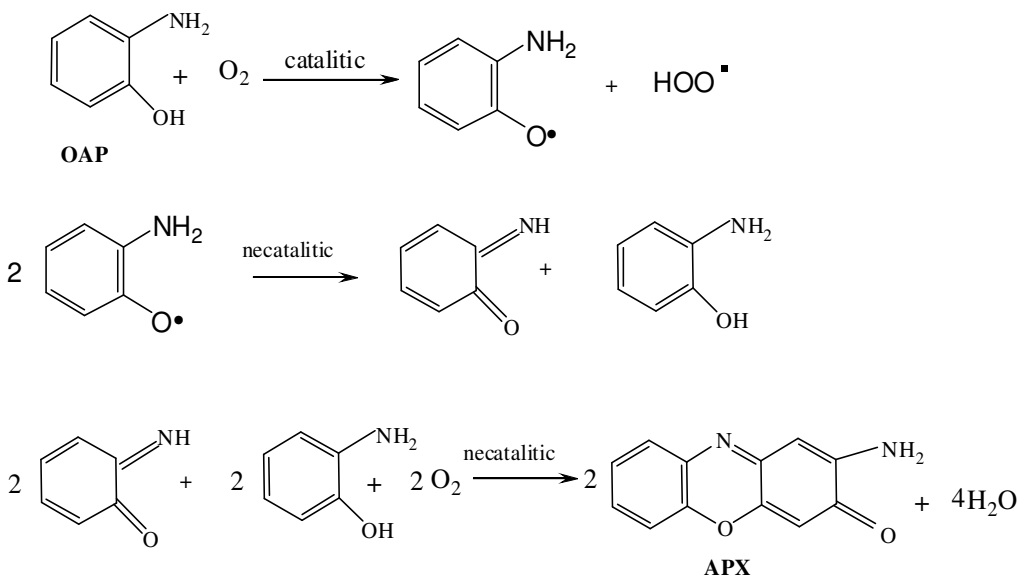
metaloenzimelor: tirozinază din ciuperci și peroxidază din hrean, fie atât în prezența sărurilor metalelor tranziționale cât și în prezența metaloenzimelor.

II. CONTRIBUȚII ORIGINALE

II.2. Cinetica oxidării 2-aminofenolului în prezența ionilor de Cu(II)

În acest studiu s-au utilizat săruri simple de cupru pentru a cataliza oxidarea OAP în soluții apoase oxigenate și pentru a elabora un model de reacție capabil să explice randamentele scăzute în fenoxazonă concomitent cu inactivarea operațională a catalizatorului. S-a demonstrat că o cale de inactivare poate fi atribuită formării complexului stabil Cu[bis(*o*-iminosemichinonat)] [99], un compus cunoscut ca agent antimicrobian moderat.

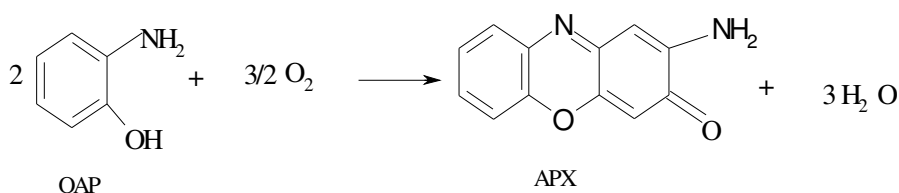
Se știe că procesul de condensare oxidativă a două molecule de OAP pentru formarea APX are loc prin intermediul radicalilor liberi 2-aminofenoxil. Generarea radicalului aminofenoxil se presupune că are loc atât catalitic cât și în absența catalizatorului (auto-oxidarea), dar următoarele etape cum sunt: disproporționarea, adiția, ciclizarea și oxidarea nu necesită prezența catalizatorului [82] (schema II.2.1.):



Schema II.2.1. Modelarea simplificată a etapelor de oxidare a OAP semnificative din punct de vedere cinetic

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos



Schema II.2.2. Ecuația globală pentru oxidarea OAP la APX

În acest studiu am propus și dezvoltat o secvență de reacție pentru oxidarea OAP catalizată de Cu(II) ce include ca intermediari activi plauzibili speciile Cu(II) superoxigenate și complexii Cu-OAP, a căror prezență este susținută și de datele din literatură [71, 86]. O etapă de inactivare, atribuită formării complexului stabil Cu[bis(o-iminosemichinonat)] (de asemenea descris în literatură [71]), a fost adăugată și demonstrată experimental.

Oxidarea OAP în prezența Cu(II) a fost monitorizată în soluții saturate în aer sau oxigen molecular, modelul cinetic luând în considerare reacțiile în prezența oxigenului molecular dizolvat în soluție conform stoechiometriei globale (schema II.2.2.).

Modelul propus ia în calcul generarea speciilor oxigenate reactive (ROS) precum $\text{HOO}\cdot$, $\text{HO}\cdot$ și a altor specii radicalice cu reactivitate înaltă, și pornește de la un set de constante de viteză raportate în literatură pentru oxidarea 2-aminofenolului [81, 82] și pentru generarea speciilor oxigenate reactive, celelalte constante fiind obținute fie experimental fie utilizând un algoritm de optimizare.



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos



unde SH_2 este OAP.

Tabelul II.2.2. Constantele de viteză în mediul apos utilizate în procesul de optimizare

Constanta de viteză	Valoarea/ $\text{M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	Referința
k_7	$1,6 \cdot 10^5$	84, 85
k_9	$2,7 \cdot 10^7$	77
k_{10}	0,50	84

Constantele de viteză (k_5 și k_8) au fost estimate experimental urmărind modelul experimental și raționamentul teoretic descris în mai multe lucrări anterioare [81, 82]. Pe scurt, o constantă de viteză de ordin aparent unu k'_5 , a fost estimată prin regresie neliniară prin fitarea unei funcții de ordin aparent unu pe curba cinetică extinsă [APX] *versus* timp obținută la oxidarea OAP cu oxigen molecular în soluție saturată în oxigen.

Constanta de viteză de ordinul doi, k_5 a fost obținută ca raport între k'_5 și $[\text{O}_2]$: $k_5 = (1,191 \pm 0,002) \cdot 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ cu $\alpha = 0,05$.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

Într-o manieră asemănătoare s-a obținut k_8 , utilizând curba cinetică extinsă [APX] vs. timp obținută în procesul de oxidare a OAP cu apă oxigenată, H_2O_2 fiind în exces de 100 de ori față de OAP: $k_8 = (2,011 \pm 0,006) \cdot 10^{-3} M^{-1}s^{-1}$ cu $\alpha = 0,05$.

Valoarea constantei de viteză k_6 a fost fixată la o valoare acceptabilă de $1 \cdot 10^8 M^{-1}s^{-1}$, deoarece variind acest parametru între $1 \cdot 10^6 - 1 \cdot 10^{10} M^{-1}s^{-1}$ (domeniul specific pentru constanta de viteză pentru reacțiile rapide în soluție) nu schimbă valorile parametrilor optimizați.

Estimarea constantei de viteză k_{11} : etapa de inactivare a catalizatorului de Cu(II) atribuită formării complexului inactiv Cu[bis(*o*-iminosemichinonat)], a fost urmărită utilizând o metodă izoconversională, așa cum a fost descrisă anterior pentru o inactivare catalitică de ordinul unu [92].

În condiții izoconversionale variația concentrației de produs (APX) în timp este de forma:

$$\left(\frac{d[APX]}{dt} \right)_i = f([APX]_{isoconv}) \times [Cu(II)]_{0,i}^* \quad (II.2.13)$$

Din bilanțul molar al catalizatorului și din condițiile aproximației stării de cvasi-staționaritate s-a calculat concentrația complexului activ $Cu(SH)^+$:

$$[(CuSH)^+] = \frac{k_1 k_3 [Cu(II)]_0^* [SH_2]}{k_2 k_3 [O_2] + [SH_2] (k_3 k_{11} + k_1 k_3 + k_1 k_2 [O_2])} \quad (II.2.21)$$

Variația în timp a catalizatorului de Cu(II) activ a fost:

$$-\frac{d[Cu(II)]_0^*}{dt} = \frac{k_1 k_3 k_{11} [SH_2]^2 [Cu(II)]_0^*}{k_2 k_3 [O_2] + (k_1 k_3 + k_1 k_2 [O_2]) [SH_2]} \quad (II.2.22)$$

Nu există un procedeu simplu pentru a integra această ecuație în vederea obținerii concentrației $[Cu(II)]_0^*$ în funcție de timp atunci când $[SH_2]$ variază în timp. De aceea, două cazuri limită mai simple s-au obținut când unul dintre cei doi termeni de la numitor s-au neglijat.

I. Dacă $k_2 k_3 [O_2] \ll (k_1 k_3 + k_1 k_2 [O_2]) [SH_2]$ ecuația (II.2.22) devine:

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

$$-\frac{d[\text{Cu(II)}]_0^*}{dt} = \frac{k_1 k_3 k_{11} [\text{SH}_2]}{(k_1 k_3 + k_1 k_2 [\text{O}_2])} [\text{Cu(II)}]_0^* \text{ sau } -\frac{d[\text{Cu(II)}]_0^*}{dt} = \frac{k_{11} [\text{SH}_2]}{\left(1 + \frac{k_2}{k_3} [\text{O}_2]\right)} [\text{Cu(II)}]_0^* \quad (\text{II.2.23})$$

Integrând ecuația (II.2.23) după ce variabilele au fost separate, și având în vedere faptul că, concentrația oxigenului dizolvat s-a menținut constantă pe toată perioada procesului de oxidare, rezultă:

$$-\int_{[\text{Cu(II)}]_0}^{\text{Cu(II)}_0^*} \frac{d[\text{Cu(II)}]_0^*}{[\text{Cu(II)}]_0^*} = \frac{k_{11}}{\left(1 + \frac{k_2}{k_3} [\text{O}_2]\right)} \int_0^t [\text{SH}_2] dt \quad (\text{II.2.24})$$

Pentru setul I, de la $t=0$ la timpul izoconversional unu se obține:

$$[\text{Cu(II)}]_{0,i}^* = [\text{Cu(II)}]_{0,i} \times e^{-k_{in1} I_1}, \quad (\text{II.2.25})$$

în care constanta de inactivare k_{in1} și integrala I_1 sunt:

$$k_{in1} = \frac{k_{11}}{1 + \frac{k_2}{k_3} [\text{O}_2]} \quad \text{și} \quad I_1 = \int_0^{t_{isocnv}} [\text{SH}_2] dt \quad (\text{II.2.26})$$

II. Dacă $k_2 k_3 [\text{O}_2] \gg (k_1 k_3 + k_1 k_2 [\text{O}_2]) [\text{SH}_2]$, ecuația II.2.22 devine:

$$-\frac{d[\text{Cu(II)}]_0^*}{dt} = \frac{k_1 k_{11} [\text{SH}_2]^2 [\text{Cu(II)}]_0^*}{k_2 [\text{O}_2]} \text{ sau } -\frac{d[\text{Cu(II)}]_0^*}{dt} = \frac{k_1 k_{11} [\text{SH}_2]^2}{k_2 [\text{O}_2]} [\text{Cu(II)}]_0^* \quad (\text{II.2.27})$$

După integrare se obține:

$$[\text{Cu(II)}]_{0,i}^* = [\text{Cu(II)}]_{0,i} \times e^{-k_{in2} I_2} \quad (\text{II.2.28})$$

$$\text{cu } k_{in2} = \frac{k_1 k_{11}}{k_2 [\text{O}_2]} \quad \text{și} \quad I_2 = \int_0^{t_{isocnv}} [\text{SH}_2]^2 dt \quad (\text{II.2.29})$$

Integralele I_1 și I_2 au fost calculate numeric ca aria de sub curbele $[\text{OAP}]$ sau $[\text{OAP}]^2$ în funcție de timp, după fitarea unor funcții nivelate (polinomiale) pe setul de date experimentale de forma $[\text{OAP}] = [\text{OAP}]_0 - 2[\text{APX}]$.

Pentru cazul I înlocuind concentrația catalizatorului activ din ecuația (II.2.25) în ecuația (II.2.13), se obține:

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

$$(d[\text{APX}]/dt)_{\text{isoconv}}/[\text{Cu(II)}]_{0,i} = f([\text{APX}]_{\text{isoconv}}) \cdot e^{-k_{\text{inl}} I_1} \quad (\text{II.2.30})$$

Constanta de inactivare k_{inl} s-a estimat prin regresie neliniară a ecuației (II.2.30) unde $(d[\text{APX}]/dt)_{\text{isoconv}}/[\text{Cu(II)}]_{0,i}$ reprezintă variabila dependentă, I_1 reprezintă variabila independentă, iar $f([\text{APX}]_{\text{isoconv}})$ și k_{inl} sunt parametrii estimați, sau prin regresie liniară a formei logaritmice a aceleiași ecuații. Estimarea constantei cinetice de inactivare k_{inl} este ilustrată în figura II.2.4.

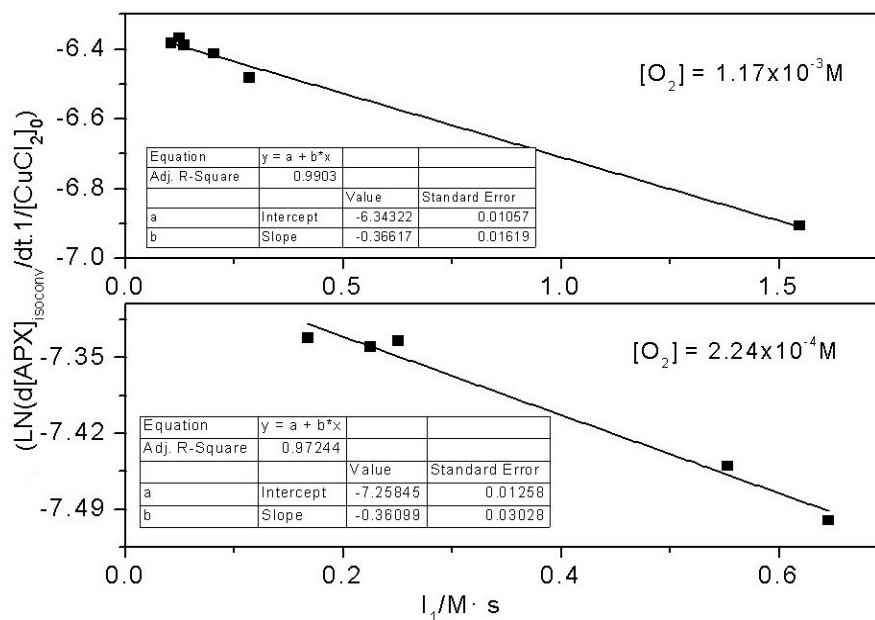


Fig.II.2.4 Estimarea constantei cinetice de inactivare k_{inl} în soluție saturată în oxigen molecular/aer în acord cu primul caz limită [ecuațiile (II.2.25) și (II.2.26)]. Condiții: $[\text{OAP}]_0 = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $T = 30^\circ \text{C}$, conversie $\approx 20\%$, $[\text{CuCl}_2]_0$ variind între $5 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ și $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$

Rezultatele pentru k_{inl} ($0,361 \pm 0,030 \text{ s}^{-1}$ în prezența O_2 și $0,366 \pm 0,016 \text{ s}^{-1}$ în aer) indică o independență aparentă a constantei de inhibiție față de concentrația de oxigen dizolvat, însă din expresia constantei de inactivare $k_{\text{inl}} = \frac{k_{11}}{1 + \frac{k_2}{k_3} [\text{O}_2]}$, acest lucru rezultă

doar dacă cel de-al doilea termen de la numitor este mult mai mic decât 1 și se poate neglija.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

În mod asemănător, pentru cazul II., înlocuind concentrația catalizatorului activ din ecuația (II.2.28) în ecuația (II.2.13), se obține:

$$(d[APX]/dt)_i/[Cu(II)]_{0,i} = f([APX]_{isoconv}) \cdot e^{-k_{in2}I_2} \quad (II.2.31)$$

Urmând aceeași procedură, analiza prin regresie liniară a formei logaritmice a ecuației (II.2.31) este ilustrată în figura II.2.5.:

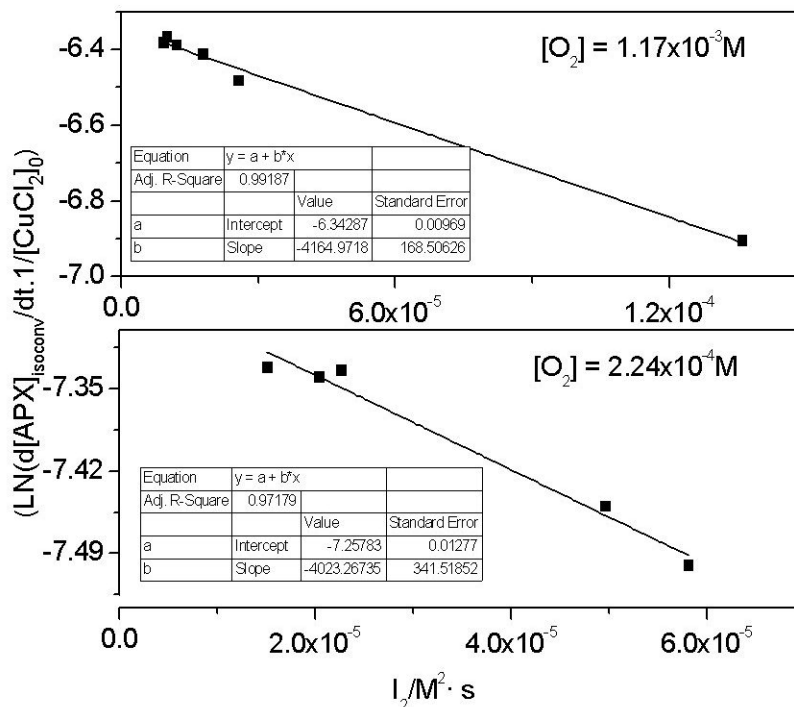


Fig.II.2.5. Estimarea constantei cinetice de inactivare k_{in1} în soluție saturată în oxigen molecular/aer în acord cu cel de-al doilea caz limită [ecuațiile (II.2.28) și (II.2.29)]. Condiții:

$[OAP]_0 = 1 \cdot 10^{-4} M$, $T = 30^\circ C$, conversie $\approx 20\%$, $[CuCl_2]_0$ variind între $5 \cdot 10^{-7} M$ și $1 \cdot 10^{-6} M$

Rezultatele pentru k_{in2} ($4165 \pm 169 s^{-1}$ în prezența O_2 și $4023 \pm 342 s^{-1}$ în aer) indică o dependență direct proporțională cu concentrația de oxigen, însă valorile obținute sunt în neconcordanță cu expresia constantei de inactivare $k_{in2} = \frac{k_1 k_{i1}}{k_2 [O_2]}$ care indică o proporționalitate inversă cu concentrația de oxigen.

Analiza numerică și optimizarea constantelor de viteză implicate în sistemul de ecuații diferențiale II.2.1-II.2.11 pot ajuta la discriminarea între aceste două cazuri limită și

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

pot de asemenea stabili semnificația constantei de inhibiție. Procesul de optimizare a fost realizat cu programul Kintecus [101].

Valorile optimizate ale următoarelor constante au fost: $k_1 = (58,50 \pm 0,04) \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $k_2 = (2,18 \pm 0,04) \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $k_3 = (2,80 \pm 0,08) \cdot 10^2 \text{ s}^{-1}$, $k_4 = (5,100 \pm 0,024) \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ și $k_{11} = (4,80 \pm 0,05) \cdot 10^{-2} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (cu $\alpha = 0,05$).

Analiza de sensibilitate, realizată cu programul Atropos [102] la trei intervale diferite de timp în scopul de a evita supra-parametrizarea, a arătat că toate constantele de viteză influențează forma curbei cinetice simulate și toate etapele din modelul cinetic propus pot fi considerate semnificative cinetic.

Curbele cinetice simulate pentru speciile Cu(II) active și inactive: $(\text{CuSH})^+$, $\text{Cu}(\text{SH})_2$, alături de curbele simulate și experimentale pentru APX sunt prezentate în figura II.2.6.

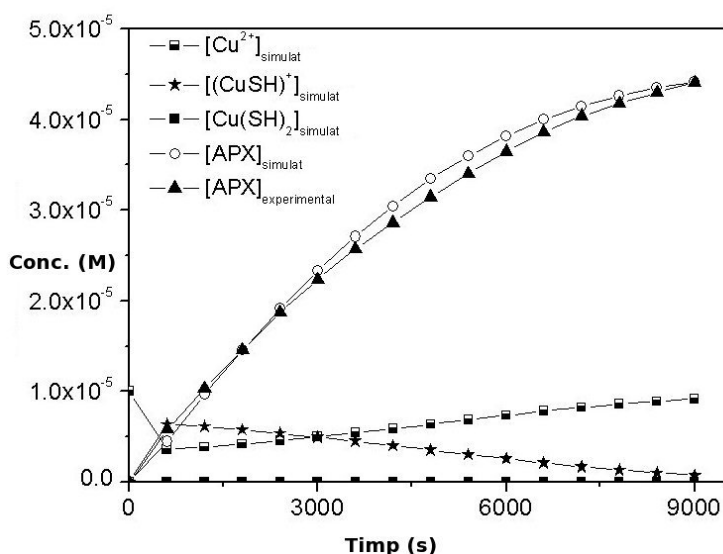


Fig. II.2.6. Curbele cinetice extinse simulate și experimentale pentru produsul și intermediarii de reacție. Condiții: $[\text{OAP}]_0 = 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{O}_2]_{\text{dizolvat}} = 1,17 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{CuCl}_2]_0 = 1 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $T = 30^\circ \text{C}$

Parametrii optimizați k_1 , k_2 , k_3 , k_{11} și concentrațiile de $[\text{O}_2]$ și $[\text{SH}_2]$ pot fi folosiți pentru a decide care dintre termenii de la numitor ai ecuației (II.2.21) pot fi neglijăți. Cu datele obținute, ecuația (II.2.22) devine mai simplă dar dificil de integrat:

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

$$-\frac{d[\text{Cu(II)}]_0^*}{dt} = \frac{k_1 k_{11} [\text{SH}_2]^2 [\text{Cu(II)}]_0^*}{k_2 [\text{O}_2] + k_1 [\text{SH}_2]} \quad (\text{II.2.32})$$

Pentru soluțiile saturate în aer $k_2[\text{O}_2] \approx 4.9 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ și $k_1[\text{SH}_2] \approx 5.9 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Dacă primul termen de la numitor este neglijat ca o aproximație grosieră, se obține $k_{\text{inl}} \approx k_{11}$, rezultat obținut de asemenea din ecuația (II.1.26) când $k_2[\text{O}_2]/k_3 = 1,7 \cdot 10^{-6} \ll 1$. Aceasta explică independența aparentă a constantei de inhibiție față de concentrația de oxigen molecular.

Pentru soluțiile saturate în oxigen molecular aproximația este și mai grosieră, dar încă în acord cu comportarea experimentală. Se poate concluziona că doar prima aproximație limitativă $k_2 k_3 [\text{O}_2] \ll (k_1 k_3 + k_1 k_2 [\text{O}_2]) [\text{SH}_2]$, de asemenea robustă, poate explica rezultatele, în timp ce a doua, estimând o proporționalitate inversă a constantei de inhibiție cu concentrația de oxigen este în neconcordanță cu rezultatele.

II.3. Cinetica oxidării unor 2-aminofenoli substituiți în prezență de ioni ai metalelor tranziționale

În acest capitol s-a studiat comportarea cinetică la oxidarea cu O_2 în soluții apoase oxigenate a unor 2-aminofenoli substituiți: 2-amino-*p*-clorofenol (4ClOAP) și 2-amino-*p*-crezol (4CH₃OAP) în prezență de săruri ale metalelor tranziționale.

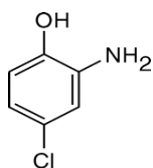


Fig. II.3.1. 2-amino-*p*-clorofenol

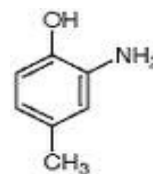


Fig. II.3.2. 2-amino-*p*-crezol

Prezența substituenților în poziția 4 poate influența formarea produșilor finali de reacție prin efectele electronice și sterice.

Pentru a ilustra cât mai bine diferențele care apar la oxidarea 2-aminofenolilor substituiți în prezența sărurilor de Cu(II) s-au reprezentat frecvențele de turnover în funcție de concentrațiile inițiale de substrat. Frecvențele de turnover s-au calculat prin împărțirea valorii pantelor, obținute din dependența concentrație de produs/substrat vs. timp, la concentrațiile de sare, așa cum sunt prezentate în figurile II.3.17. și II.3.18.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

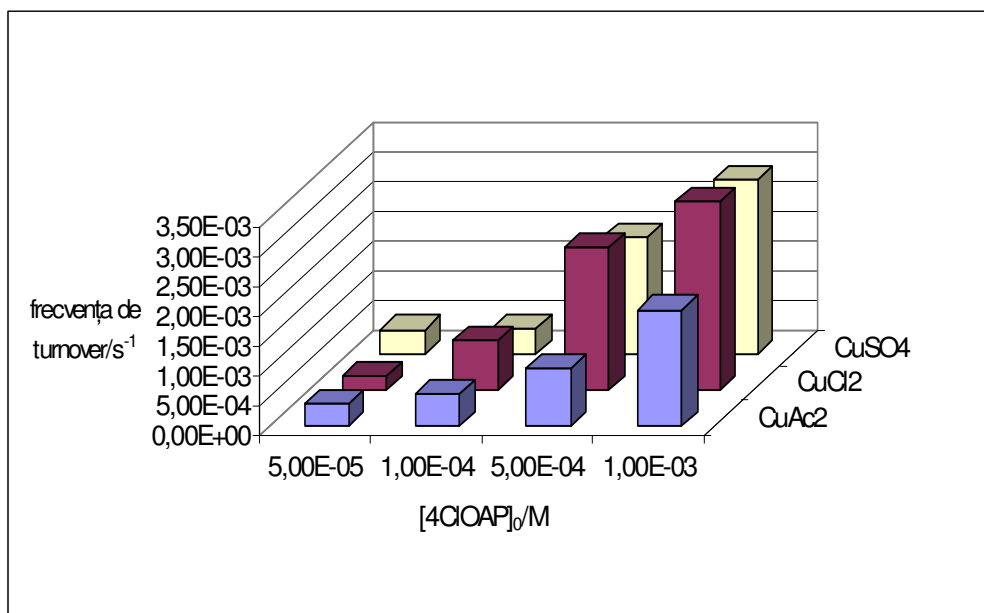


Fig. II.3.17. Frecvențele de turnover pentru trei săruri de Cu(II): $[\text{CuCl}_2]_0$, $[\text{CuSO}_4]_0$, $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]_0 = 1 \cdot 10^{-5} \text{M}$, la diferite concentrații inițiale de 4ClOAP

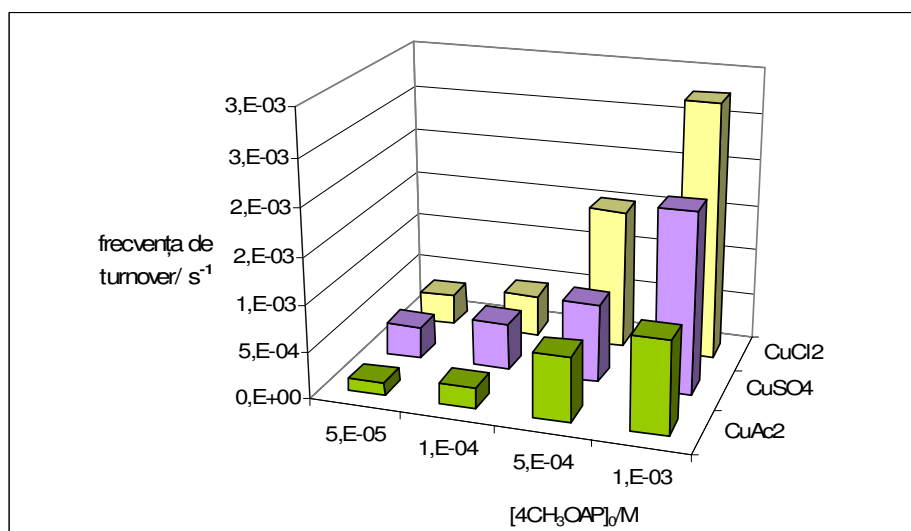


Fig. II.3.18. Frecvențele de turnover pentru trei săruri de Cu(II): $[\text{CuCl}_2]_0$, $[\text{CuSO}_4]_0$, $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]_0 = 1 \cdot 10^{-5} \text{M}$, la diferite concentrații inițiale de 4CH₃OAP.

În figura II.3.19. sunt reprezentate în mod comparativ frecvențele de turnover la oxidarea celor trei *o*-aminofenoli luați în lucru: OAP, 4ClOAP, 4CH₃OAP în prezența sărurilor de Cu(II). Se observă că cele mai mari valori se obțin în cazul oxidării 2-aminofenolului.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

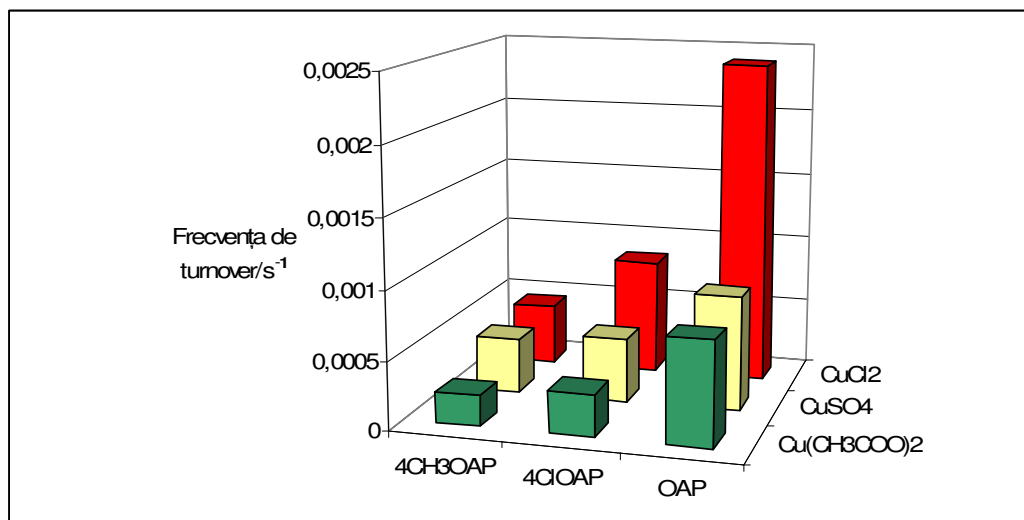


Fig.II.3.19. Frecvențele de turnover pentru trei săruri de Cu(II): [CuCl₂]₀, [CuSO₄]₀, [Cu(CH₃COO)₂]₀ = 1·10⁻⁵M, [OAP]₀, [4ClOAP]₀, [4CH₃OAP]₀ = 1·10⁻⁴M, pH = 7,00, T = 30°C

II.4. Cinetica oxidării unor 2-aminofenoli în prezența tirozinazei din ciuperci

În acest capitol s-au făcut o serie de experimente în care s-au oxidat trei *o*-aminofenoli: OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP în soluții apoase oxigenate în prezența tirozinazei din ciuperci. Tirozinaza (TYR) este o metaloenzimă ce catalizează oxidarea fenolilor, centrul catalitic activ al tirozinazei este format din 2 atomi de cupru, fiecare dintre aceștia coordonat la trei resturi de histidină.

Eficiența catalitică a tirozinazei în reacția de oxidare a unor 2-aminofenoli [105], a fost determinată utilizând constantele aparente de ordinul I obținute din curbele cinetice integrale absorbantă de produs în funcție de timp. Deoarece la conversii mici ale substratului toate reacțiile urmează o cinetică de ordinul I, pe porțiunile inițiale s-a fitat o ecuație cinetică de forma $A=A_0(1-e^{-kt})$ caracteristică unui proces de ordinul I.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

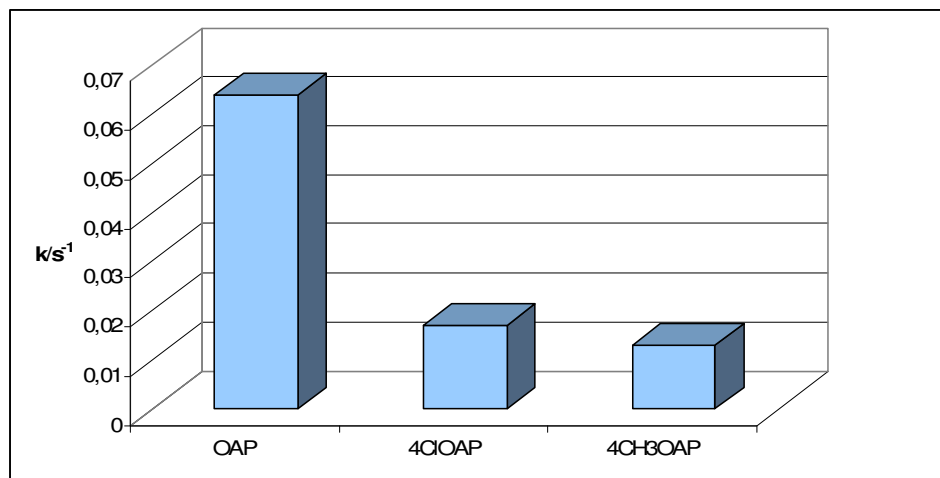


Fig.II.4.4. Eficiența catalitică a tirozinazei la oxidarea unor 2-aminofenoli

S-au calculat și frecvențele de turnover la oxidarea OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP cu oxigen molecular în prezența tirozinazei din ciuperci. Frecvențele de turnover s-au calculat prin împărțirea valorii pantelor, obținute din dependența concentrație de produs/substrat vs. timp (pentru conversii de 1%), la concentrația de enzimă.

Tabelul II.4.1. Frecvențele de turnover la oxidarea OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP cu O₂, în prezența tirozinazei din ciuperci

	OAP+O ₂ +TYR	4ClOAP+O ₂ +TYR	4CH ₃ OAP+O ₂ +TYR
Frecvența de turnover	$3,14 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$	$1,78 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$	$0,81 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$

II.5. Comportarea cinetică la oxidarea unor poluanți fenolici în prezența peroxidazei din hrean

În acest capitol s-au făcut o serie de experimente în care s-au oxidat o-aminofenoli: OAP, 4ClOAP, 4CH₃OAP și L-DOPA în soluții apoase oxigenate în prezența peroxidazei din hrean. Peroxidaza din hrean este o metaloenzimă, cu o structură formată dintr-o parte proteică și un cofactor. Cofactorul peroxidazei este alcătuit dintr-un ion de fier și protoporfirina IX.

Eficiența catalitică a peroxidazei în reacția de oxidare a 2-aminofenolilor substituiți, a fost determinată (ca și în cazul tirozinazei) utilizând constantele aparente de

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

ordinul I, ce au fost obținute din curbele cinetice integrale absorbantă de produs în funcție de timp [106]. Se știe că la conversii mici ale substratului (1%) toate reacțiile urmează o cinetică de ordinul I, astfel că pe porțiunile inițiale s-a fitat o ecuație cinetică $A=A_0(1-e^{-kt})$ caracteristică unui proces de ordinul I.

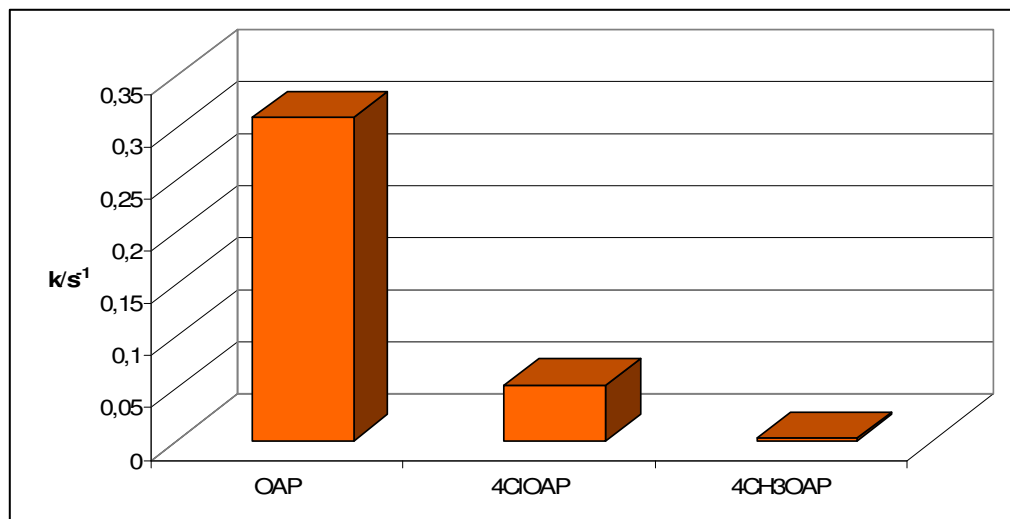


Fig.II.5.4 Eficiența catalitică a peroxidazei la oxidarea unor 2-aminofenoli

La oxidarea OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP cu oxigen molecular în prezența peroxidazei din hrean s-au calculat și frecvențele de turnover.

Tabelul II.5.1. Frecvențele de turnover la oxidarea OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP cu O₂ în prezența peroxidazei din hrean

	OAP+O ₂ +HRP	4ClOAP+O ₂ +HRP	4CH ₃ OAP+O ₂ +HRP
Frecvența de turnover	5,93·10 ⁴ s ⁻¹	2,18·10 ⁴ s ⁻¹	1,41·10 ⁴ s ⁻¹

Comparând frecvențele de turnover obținute la oxidarea OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP cu oxigen molecular atât în prezența HRP, TYR (cap. II.4.) cât și în prezența sărurilor de cupru (cap. II.3.) se observă aceeași tendință și anume: cele mai mari valori se obțin la oxidarea OAP, urmat de 4ClOAP, iar cele mai mici valori se obțin la oxidarea 4CH₃OAP.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

Căi de inactivare la oxidarea unor derivați fenolici în prezența HRP

În cazul reacției în prezența peroxidazei, generarea speciilor oxigenate reactive (ROS) în timpul procesului oxidativ duce la anumite dificultăți în obținerea unor conversii semnificative deoarece anumite specii oxigenate reactive precum $O_2^{\cdot -}$ sau $HOO^{\cdot}$ reacționează cu forma nativă a enzimei sau cu intermediarii enzimatici, rezultând complecși inactivi [46, 107].

Pentru a verifica dacă pe parcursul reacției de oxidarea a 4ClOAP/OAP cu O_2 , respectiv H_2O_2 în prezența peroxidazei se produce inactivarea enzimei s-a aplicat testul Selwyn. Acesta constă în reprezentarea concentrației de produs (sau o mărime proporțională cu aceasta) în funcție de produsul $[E]_0 \cdot \text{timp}$. Curbele obținute pentru diferite concentrații de enzimă ar trebui să se suprapună în absența inactivării. Rezultatele testelor Selwyn indică inactivarea HRP în timpul reacției.

Pentru a elucida posibile reacții ale apei oxigenate cu substratul fenolic sau cu intermediarii activi ai peroxidazei s-au făcut o serie de studii experimentale în care OAP a fost oxidat la APX cu H_2O_2 în soluție dezaerată [82].

Pe baza rezultatelor obținute și conform datelor din literatură [1, 21, 81, 109] s-a propus un model cinetic pentru generarea radicalilor aminofenoxil și a speciilor ROS în timpul oxidării OAP cu H_2O_2 :



unde SH_2 este OAP, iar $SH^{\cdot}$ este radicalul aminofenoxil corespunzător. Constantele de viteză, k_2 - k_5 , sunt raportate în literatură și sunt prezentate tabelul II.5.1.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

Pentru etapa 1 s-a estimat mai întâi constanta de viteză de ordin aparent unu $k' = (2,25 \pm 0,18) \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ atunci când H_2O_2 este în exces și are o concentrație de $1 \cdot 10^{-1} \text{ M}$. Deoarece valoarea estimată a ordinului parțial de reacție față de H_2O_2 este aproximativ egal cu 1, constanta de viteză de ordinul doi poate fi calculată ca raport între k' și concentrația de H_2O_2 , iar pentru acest set de date are valoarea $2,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Tabelul II.5.2. Constantele de viteză pentru mecanismul descris la oxidarea OAP în prezență de H_2O_2

Constantă de viteză	Valoare/ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	Referință
k_2	$2,7 \cdot 10^7$	109
k_3	0,5	109
k_4	$4,7 \cdot 10^{-2}$	81
k_5	$1,6 \cdot 10^5$	81, 46

Estimarea constantei de inactivare operațională a HRP utilizând metoda ioconversională

a) Oxidarea L-DOPA

Conform metodei izoconversionale, atunci când concentrația de HRP este mult mai mică în raport cu concentrațiile ambelor substraturi L-DOPA și H_2O_2 , se atinge o stare cvasi-staționară, iar evoluția în timp a sistemului poate fi descrisă de o singură viteză de reacție.

$$\left(\frac{d[\text{DC}]}{dt} \right)_i / [\text{HRP}]_{0,i} = f([\text{DC}]_{\text{isoconv}}) \cdot e^{-k_{\text{in}} t} \quad (\text{II.5.14})$$

Constanta de inactivare k_{in} se poate estima prin regresie neliniară a ecuației II.5.14, unde $(d[\text{DC}]/dt)_{\text{isoconv}} / [\text{HRP}]_{0,i}$ este variabila dependentă, t este variabila independentă, iar

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

$f([DC]_{\text{isoconv}})$ și k_{in} sunt parametrii estimați, sau prin regresie liniară a formei logaritmice a aceleiași ecuații:

$$\ln\left(\left(\frac{d[DC]}{dt}\right)_i \cdot \frac{1}{[HRP]_{0,i}}\right) = \ln(f([DC]_{\text{isoconv}})) - k_{\text{in}} t \quad (\text{II.5.15})$$

Constanta cinetică de inactivare poate fi calculată în condiții izoconversionale, utilizând ecuația (II.5.15) ca pantă a dependenței liniare $\ln\left(\left(\frac{d[DC]}{dt}\right)_i \cdot \frac{1}{[HRP]_{0,i}}\right)$ vs. timp, așa cum este prezentat în figura II.5.19.:

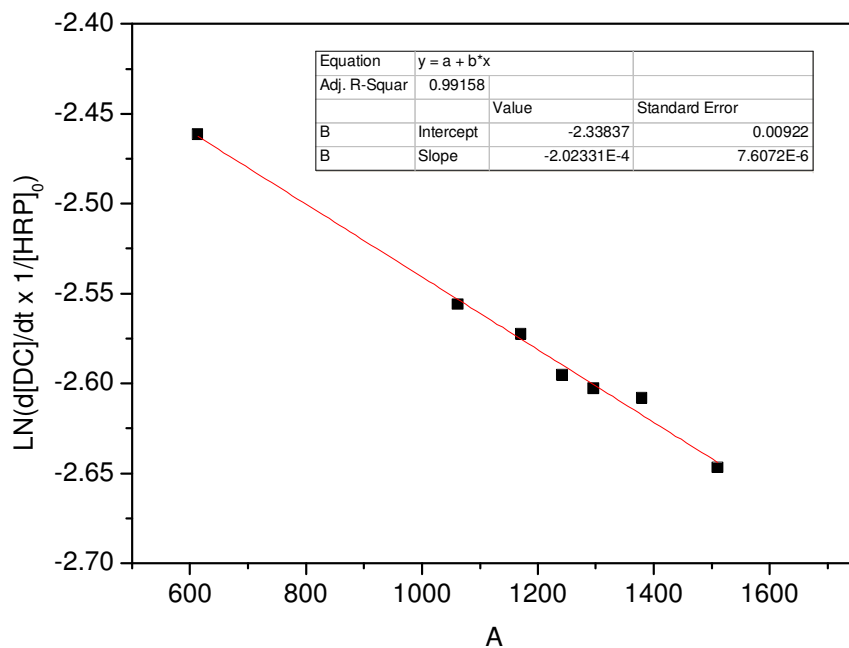


Fig. II.5.19. Estimarea constantei cinetice de inactivare k_{in} . Condiții: $[L\text{-DOPA}]_0 = 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $[DC]_{\text{isoconv}} = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ [110]

Constanta aparentă de ordinul unu fiind $k_{\text{in}} = (2,023 \pm 0,076) \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ($\alpha = 0,05$), constanta de inactivare de ordinul doi poate fi estimată ca fiind raportul $k_{\text{in}}/[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,52 \cdot 10^{-2} \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

b) Oxidarea OAP

Urmând același raționament ca și în cazul L-DOPA o constantă globală de inactivare k_{in} s-a estimat în cazul oxidării OAP, prin regresie liniară din ecuația :

$$\ln \left(\left(\frac{d[APX]}{dt} \right)_i \times \frac{1}{[HRP]_{0,i}} \right) = \ln(f([APX]_{isoconv})) - k_{in} t \quad (II.5.24)$$

Constanta cinetică de inactivare poate fi calculată în condiții izoconversionale, utilizând ecuația (II.5.24) ca pantă a dependenței liniare $\ln \left(\left(\frac{d[APX]}{dt} \right)_i \cdot \frac{1}{[HRP]_{0,i}} \right)$ vs. timp, așa cum este prezentat în figura II.5.20.

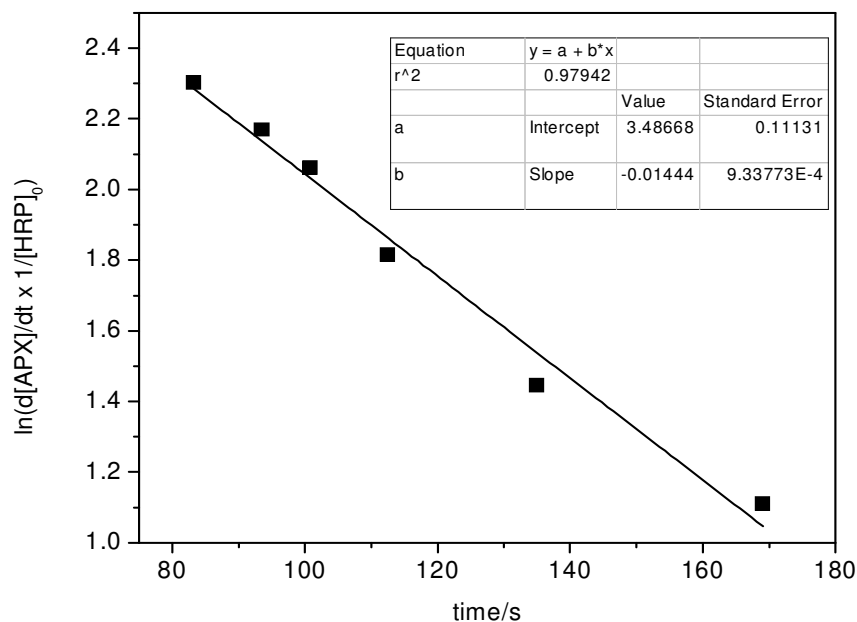


Fig. II.5.20. Estimarea constantei cinetice de inactivare k_{in} . Condiții: $[OAP]_0 = 1 \cdot 10^{-4} M$, $[H_2O_2]_0 = 2,5 \cdot 10^{-5} M$, $[APX]_{isoconv} = 1 \cdot 10^{-5} M$, $T = 30^\circ C$, $pH = 7,00$

Constanta de inactivare pentru o inactivare de ordinul unu este $k_{in} = (144,4 \pm 9,33) \cdot 10^{-4} s^{-1}$ ($\alpha = 0,05$). Constanta de inactivare de ordinul doi poate fi estimată ca fiind raportul $k_{in}/[H_2O_2] = 5,76 \cdot 10^2 M^{-1} \cdot s^{-1}$.

II.6. Influența sărurilor de Cu(II), Mn(II) și Co(II) asupra cineticii reacției de oxidare a unor 2-aminofenoli în prezența peroxidazei din hrean

Așa cum a fost descris în capitolul precedent, oxidarea fenolilor în prezența peroxidazei generează anumite specii oxigenate reactive precum $O_2^{\cdot-}$ sau $HOO^{\cdot}$, care pot reacționa cu forma nativă a enzimei sau cu intermediarul activ II, rezultând complexi inactivi.

Acest inconvenient ar putea fi evitat prin adăugarea în mediul de reacție de ioni ai metalelor tranzitionale precum Mn(II), Cu(II) și Co(II), unii dintre aceștia fiind captatori eficienți de radicali anion superoxid și peroxil.

Adaosul sărurilor de mangan în amestecul de reacție oxigenat la oxidarea OAP și 4ClOAP a determinat creșterea vitezei de formare a APX și a ClAPX. Studii din literatură au demonstrat că Mn^{2+} reacționează cu radicalul anionului superoxid sau cu radicalul peroxil și formează oxidantul puternic Mn^{+3} , iar în final generează H_2O_2 [111]. O dată ce există H_2O_2 în sistem formarea produșilor finali de reacție este mult mai rapidă atunci când oxidarea se face și în prezența HRP.

Creșterea cantității de H_2O_2 din sistem facilitează și reacția dintre compusul II și H_2O_2 și poate conduce la inactivarea enzimei native prin formare de compus III. Pentru a verifica dacă pe parcursul reacției de oxidare în prezența sărurilor de Mn (II) se produce inactivarea enzimei s-a aplicat testul Selwyn, iar rezultatele testului Selwyn au indicat inactivarea.

Sulfatul de cobalt adăugat în soluție a avut de asemenea un efect activator asupra reacției de oxidare enzimatică a OAP [108], însă Co(II) nu este cunoscut ca și captator de radical peroxil, efectul său activator putând fi atribuit modificărilor conformaționale ale enzimei [88].

S-a studiat și influența unor săruri de Cu(II) ($CuCl_2$, $Cu(CH_3COO)_2$, $CuSO_4$) asupra cineticii reacției de oxidare cu O_2 a unor 2-aminofenoli (OAP, 4ClOAP, 4CH₃OAP) în soluție apoasă saturată în oxigen în prezența peroxidazei. Creșterea vitezei de reacție se

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

datorează formării apei oxigenate în sistem sub acțiunea ionilor de Cu^{2+} , așa cum a fost prezentat în mecanismul oxidării OAP în prezența sărurilor de Cu(II) (capitolul II.2.).

II.7. Concluzii generale

În acord cu obiectivele propuse, studiile experimentale au condus la următoarele concluzii generale:

-Partea originală a lucrării prezintă studiul cinetic la oxidarea cu O_2 a unor poluanți fenolici precum 2-aminofenol, 4-cloro-2-aminofenol și 2-amino-*p*-crezol în soluții apoase oxigenate utilizând drept catalizatori săruri simple ale metalelor tranziționale precum CuCl_2 , CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, CoSO_4 , MnSO_4 , MnCl_2 , $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, iar ca biocatalizatori tirozinaza din ciuperci și peroxidaza din hrean. Aceste enzime conțin în centrul catalitic activ ioni ai metalelor tranziționale precum Cu(II) în cazul tirozinazei și Fe(III) în cazul peroxidazei, ce participă activ la procesul catalitic;

- La oxidarea 2-aminofenolului cu oxigen molecular de către săruri de cupru (CuCl_2 , CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) s-a propus un model cinetic ce implică 11 etape (catalitice și necatalitice). Cinetica procesului a indicat o inhibiție de substrat prin formarea complexului $\text{Cu}[\text{bis}(o\text{-iminosemichinonat})]$, ce a fost izolat și caracterizat prin spectrul IR;

- Unele constante de viteză ale etapelor modelului cinetic au fost luate din datele de literatură, iar celelalte au fost estimate experimental sau numeric, utilizând o metodă de optimizare. Constanta cinetică de inhibiție a fost estimată utilizând metoda izoconversională, obținându-se o concordanță rezonabilă între constanta de inhibiție măsurată și cea simulată;

-În cazul oxidării unor 2-aminofenoli substituiți precum 4-cloro-2-aminofenol și 2-amino-*p*-crezol cu săruri de cupru, reacția decurge mai lent decât în cazul oxidării *o*-aminofenolului, din cauza efectului substituentului din poziția 4;

- Vitezele inițiale de reacție la oxidarea 4-cloro-2-aminofenolului și 2-amino-*p*-crezolului în prezența sărurilor de Cu(II), sunt mai mari la oxidarea în prezența CuCl_2 față de oxidarea în prezența de CuSO_4 și $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$;

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

- Adaosul de săruri ale metalelor tranziționale precum Co(II), Mn(II) și Cu(II) la oxidarea 4ClOAP cu O_2 , duce la creșterea conversiei substratului la produsul final, ionii de Cu(II) având o eficiență catalitică mai mare față de ionii de Co(II) și Mn(II);
- Valoarea constantei cinetice de ordinul I la oxidarea *o*-aminofenolui, 4-cloro-2-aminofenolului și 2-amino-*p*-crezolului cu O_2 în prezența tirozinazei din ciuperci a fost mai mare în cazul oxidării OAP față de ceilalți doi aminofenoli substituiți;
- La oxidarea în prezența peroxidazei din hrean constanta cinetică de ordinul I a fost mai mare tot în cazul OAP în comparație cu 4ClOAP și 4CH₃OAP;
- În timpul procesului de oxidare a OAP și 4ClOAP în prezența HRP are loc inactivarea enzimei, (inactivare ce a fost demonstrată pe baza testului calitativ Selwyn) ca urmare a generării speciilor oxigenate reactive și a H_2O_2 . Generarea speciilor ROS a fost evidențiată în modelul cinetic propus la oxidarea OAP cu H_2O_2 în soluție dezaerată;
- A fost propus un model cinetic la oxidarea OAP cu H_2O_2 în prezența HRP, și s-a determinat constanta de inactivare a peroxidazei în exces de apă oxigenată cu ajutorul metodei izoconversionale. De asemenea, s-a estimat prin aceeași metodă o constantă de inactivare enzimatică și în cazul oxidării L-DOPA în prezența peroxidazei și a H_2O_2 în exces;
- Adaosul unor săruri ale metalelor tranziționale precum Co(II), Mn(II) și Cu(II) în procesul de oxidare enzimatică a unor aminofenoli, a avut un efect activator ca urmare a rolului de captatori de radicali peroxil și generare de H_2O_2 în cazul ionilor de Mn(II) și Cu(II) și datorită modificărilor conformaționale în cazul ionilor de Co(II);
- La oxidarea OAP și 4ClOAP în prezența HRP și a ionilor de Mn(II), creșterea cantității de H_2O_2 din sistem a dus la inactivarea enzimei native prin creșterea cantității de Compus III, inactivare ce a fost demonstrată prin testele Selwyn;
- La oxidarea OAP, 4ClOAP și 4CH₃OAP cu oxigen molecular atât în prezența sărurilor de cupru cât și în prezența metaloenzimelor (HRP și TYR), frecvența de turnover cea mai mare s-a obținut în cazul oxidării OAP, iar frecvența de turnover cea mai mică s-a obținut în cazul oxidării 4CH₃OAP.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

Bibliografie selectivă

1. R. H. Carvalho, F. Lemos, M. A. N. D. A. Lemos, V. Vojinovic, L. P. Fonseca și J. M. S. Cabral, “*Kinetic modelling of phenol co-oxidation using horseradish peroxidase*”, Bioprocess Biosyst Eng (2006).
2. E. M. Siedlecka și P. Stepnowski, “*Phenols Degradation by Fenton Reaction in the Presence of Chlorides and Sulfates*”, Polish Journal of Environmental Studies, **14** (2005) 823-828
3. F. J. Rivas, S. T. Kolaczowski, Beltrán, D.B. McLurgh, „*Development of a model for the wet air oxidation of phenol based on a free radical mechanism*”, Chemical Engineering Science, **53** (1998) 2575-2586.
4. A. Eftaxias, J. Font, A. Fortuny, J. Giralt, Fabregat și F. Stuber, „*Kinetics modeling of catalytic wet air oxidation of phenol by simulated annealing*” Applied Catalysis B: Environmental, **33** (2001) 175-190.
5. W. Qiang, H. Xijun și Y. Po-lock, „*Kinetics study on catalytic wet air oxidation of phenol*”, Chemical Engineering Science, **58** (2003) 923-928.
6. A. Eftaxias, J. Font, A. Fortuny, A. Fabregat și F. Stuber, „*Catalytic wet air oxidation of phenol over active carbon catalyst. Global kinetic modelling using simulated annealing*”, Applied Catalysis B: Environmental, **67** (2006) 12–23.
10. S. Itoh, H. Kumei, M. Taki, S. Nagatomo, T. Kitagawa și S. Fukuzumi, „*Oxygenation of phenols to catechols by a peroxo-dicopper (II) complex. Mechanistic insight into the phenolase activity of tyrosinase*”, Journal of American Chemical Society, **123** (2001) 6708-6709.
11. S. Itoh și S. Fukuzumi, „*Dioxygen activation by copper complexes: Mechanistic insights into copper monooxygenases and copper oxidases*”, Bulletin of Chemical Society of Japan, **75** (2002) 2081-2095.
21. TM Simandi, LI Simandi, M Gyor, A Rockenbauer și A Gomory, “*Kinetics and mechanism of the ferroxime(ii)-catalysed biomimetic oxidation of 2-aminophenol by dioxygen. A functional phenoxazinone synthase model*”. Dalton Trans (2004) 1056-1060.
23. H. Li, X. Peng, P. Leonard și F. Seelaa, “*Binding of actinomycin C1 (D) and actinomycin to base-modified oligonucleotide duplexes with parallel chain orientation*”, Bioorganic &

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

Medicinal Chemistry, **14** (2006) 4089–4100.

24. A. N. Veselkov, V. Y. Maleev, E. N. Glibin, L. Karawajew și D. B. Davies, „5 *Structure–activity relation for synthetic phenoxazone drugs*”, Eur. J. Biochem., **270** (2003) 4200–4207.

25. D. E. Graves și R. M. Wadkins, “7-Azidoactinomycin D: A Novel Probe for Examining Actinomycin D-DNA Interaction”, JBC, **264** (1989) 7262-7266.

46. I. Boutelet, S. Alexandre, J.C. Vincent, „A hydrogen peroxide assay based on the peroxidase-oxidase reaction. Numerical simulation of the reaction mechanism”, European Journal of Biochemistry, **223** (1994) 489-496.

71. N.V. Loginova, Ty.V. Koval’chuk, R.A. Zheldakova, N.P. Osipovich, V.L. Sorokin, G.I. Polozov, G.A. Ksendzova, G.K. Glushonok, A.A. Chernyavskaya și O.I. Shadyro, „Synthesis and biological evaluation of copper (II) complexes of sterically hindered o-aminophenol derivatives as antimicrobial agents”, Bioorg Med Chem Lett, **16** (2006) 5403-5407.

77. J. Kaizer, R. Csonka și G. Speier, “TEMPO-initiated oxidation of 2-aminophenol to 2-aminophenoxazin-3-one”, J Mol Catal A: Chem, **180** (2002) 91-96.

81. M. Puiu, A. Răducan, I. Babaligea și D. Oancea, “Oxidase–peroxidase reaction: kinetics of peroxidase-catalysed oxidation of 2-aminophenol” Bioproc Biosyst Eng, **31** (2008) 579-586 .

82. M. Puiu, M. Constantinovici, I. Babaligea, A. Raducan, C. Olmazu și D. Oancea, “Detecting Operational Inactivation of Horseradish Peroxidase using an Isoconversional Method” Chem Eng Technol, **33**(2010) 414-420.

84. C. Mukherjee, T. Weyhermüller, E. Bothe și P. Chaudhuri, “Mimicking the function of amine oxidases and phenoxazinone synthase by a manganese(IV)-monoradical complex” Compt Rend Chem, **10** (2007) 313-325.

85. D. Maiti, H.C. Fry, J.S. Woertink, M.A. Vance, E.I. Solomon și K.D. Karlin, “A 1:1 Copper–Dioxygen Adduct is an End-on Bound Superoxo Copper(II) Complex which Undergoes Oxygenation Reactions with Phenols”, J Am Chem Soc, **129** (2006) 264-265.

86. AM. Reynolds, BF Gherman, CJ Cramer and WB Tolman, “Characterization of a 1:1 Cu–O₂ Adduct Supported by an Anilido Imine Ligand”, Inorg Chem, **44** (2005) 6989-

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

6997.

88. A. Mahmoudi, K. Nazari, N. Mohammadian și A. A. Moosavi-Movahedi, “*Effect of Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} and Cu^{2+} on Horseradish Peroxidase*”, Applied Biochemistry and Biotechnology, **104** (2003) 81-94.

92. D. Oancea, A. Stuparu, M. Niță, M. Puiu și A. Raducan, “*Estimation of the overall kinetic parameters of enzyme inactivation using an isoconversional method*”, Biophys. Chem., **138** (2008) 50-54;

99. C. Olmazu, M. Puiu, I. Babaligea, A. Răducan, D. Oancea, “*Inactivation path during the copper (II) catalyzed synthesis of Questiomycin A from oxidation of 2-aminophenol*” (TRIMIS SPRE PUBLICARE).

101. J.C. Ianni, Kintecus Windows Version 4.5., 2012, www.kintecus.com.

102. J.C. Ianni, ATROPOS , Windows Version 1.0, 2004, www.kintecus.com

105. C. Olmazu, I. Babaligea, M. Puiu, D. Oancea, “*Catalytic efficiency of mushroom tyrosinase and horseradish peroxidase on substituted 2-aminophenols oxidation*”, International Conference on Physical Chemistry, Romphyschem-13, Bucuresti (2008) (poster).

106. C. Olmazu, M. Puiu și D. Oancea, “*Studiul eficienței catalitice a tirozinazei din ciuperci și a peroxidazei din hrean asupra degradării oxidative a unor 2-aminofenoli substituiți* ”, Sesiunea de comunicări științifice studențești, Ediția a 4-a, Facultatea de Chimie, Universitatea din București (2008) (prezentare orală).

107. H. J. Benon, DEC Bielski, B. Ross Alberta, “*Reactivity of $HO_2/O-2$ Radicals in Aqueous Solution*”, J Phys Chem Ref Data, **14** (1985) 1041-1100.

108. C. Olmazu, I. Babaligea, M. Puiu, D. Oancea, “*Inactivation pathways in peroxidase-mediated synthesis of phenoxazinone derivatives*”, International Conference on Physical Chemistry, Romphyschem-14, București (2010) (poster).

109. K. Lundgren, H. Christensen, In Proc. of the BNES Conf. Bournemouth (1996)1-8

110. M. Puiu, I. Babaligea, C. Olmazu, A. Răducan, D. Oancea “*Peroxidase-mediated oxidation of L-DOPA: a kinetic approach*”, Biochemical Engineering Journal, **52** (2010) 248-254.

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

111. B. Halliwell, “*Lignin Synthesis: The generation of hydrogen peroxide and superoxide by horseradish peroxidase and its stimulation by manganese(II) and phenols*”, *Planta* **140** (1978) 81–88.

ARTICOLE PUBLICATE SAU ÎN CURS DE PUBLICARE

1. M. Puiu, M. Constantinovici, I. Babaligea, A. Răducan, C. Olmazu, D. Oancea, “*Detecting Operational Inactivation of Horseradish Peroxidase using an Isoconversional Method*”, *Chemical Engineering & Technology* (F.I.1,394 în 2010, S.R.I. 1,31447), **33** (2010) 414-420.
2. M. Puiu, I. Babaligea, C. Olmazu, A. Răducan, D. Oancea, “*Peroxidase-mediated oxidation of L-DOPA: a kinetic approach*”, *Biochemical Engineering Journal* (F.I. 2,69 în 2010, S.R.I. 1,95912), **52** (2010) 248-254.
3. C. Olmazu, M. Puiu, I. Babaligea, A. Răducan, D. Oancea, “*Inactivation path during the copper (II) catalyzed synthesis of Questionomycin A from oxidation of 2-aminophenol*” (TRIMIS SPRE PUBLICARE).

PARTICIPĂRI LA COMUNICĂRI ȘTIINȚIFICE ȘI CONFERINȚE

1. C. Olmazu, M. Puiu și D. Oancea, “*Studiul eficienței catalitice a tirozinazei din ciuperci și a peroxidazei din hrean asupra degradării oxidative a unor 2-aminofenoli substituiți*”, **Sesiunea de comunicări științifice studențești**, Ediția a 4-a, Facultatea de Chimie, Universitatea din București, (2008) (prezentare);
2. I. Babaligea, C. Olmazu, M. Puiu, D. Oancea, „*Accelerating Effects of Copper(II) on HRP-Catalyzed Oxidation of 2-Aminophenol*”, **Sesiunea de comunicări științifice studențești**, Ediția a 4-a, Facultatea de Chimie, Universitatea din București, (2008) (prezentare);
3. C. Olmazu, I. Babaligea, M. Puiu, D. Oancea, “*Catalytic efficiency of mushroom tyrosinase and horseradish peroxidase on substituted 2-aminophenols oxidation*”,

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Cinetica degradării oxidative a unor poluanți fenolici în mediu apos

International Conference on Physical Chemistry, Romphyschem-13, București (2008) (poster);

4. I. Babaligea, C. Olmazu, M. Puiu, D. Oancea, “*Accelerating effects of copper (II) and manganese (II) on HRP-catalyzed oxidation of 2-aminophenol*”, **International Conference on Physical Chemistry, Romphyschem-13, București (2008)** (poster);
5. C. Olmazu, I. Babaligea, M. Puiu, D. Oancea, “*Inactivation pathways in peroxidase-mediated synthesis of phenoxazinone derivatives*”, **International Conference on Physical Chemistry, Romphyschem-14, București (2010)** (poster).