



**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП
ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ
ФАРМАЦИЈА**

м-р Милкица Јанева

**ПРИМЕНА НА ЕЛЕКТРОДНИТЕ МЕХАНИЗМИ НА ПОВРШИНСКО-АКТИВНИ
СИСТЕМИ ВО АНАЛИТИКА НА ЛЕКОВИ – ТЕОРЕТСКА И
ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА СТУДИЈА ВО УСЛОВИ НА КВАДРАТНО-БРАНОВА
ВОЛТАМЕТРИЈА**

**APPLICATION OF ELECTRODE MECHANISMS OF SURFACE ACTIVE
SYSTEMS IN DRUG ANALYSIS- THEORETICAL AND EXPERIMENTAL STUDY
IN SQUARE-WAVE VOLTAMMETRY**

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА-

Штип, Март, 2022

Комисија за оценка и одбрана

Ментори:

Проф. д-р Рубин Гулабоски, интерен ментор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ, екстерен ментор, Медицински факултет, Универзитет Ниш, Република Србија;

Член: Проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, редовен професор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Член: Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска, редовен професор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Член: Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, редовен професор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Членови на Комисијата за оценка и одбрана за докторска дисертација:

Претседател: Проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, редовен професор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Член: Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска, редовен професор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Член: Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, редовен професор, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Интерен ментор - член: Проф. д-р Рубин Гулабоски, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип;

Екстерен ментор – член : Проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ, Медицински факултет, Универзитет Ниш, Република Србија;

Научно поле: Фармација

Научна област: Аналитика на лекови

Дата на одбрана:

Дата на промоција:

БЛАГОДАРНОСТ / ACKNOWLEDGMENTS

Искрена и неизмерна благодарност до мојот ментор на докторската дисертација, проф. д-р Рубин Гулабоски, за несебичната посветеност и професионален ангажман, за покажаните насоки во работата и безрезервната поддршка во текот на целиот процес на нејзината изработка.

Благодарност до екстерниот ментор, проф. д-р Андрија Шмелцеровиќ, од Медицинскиот факултет при Универзитетот во Ниш, Република Србија.

Благодарност до Деканот на Факултетот за медицински науки при Универзитетот „Гоце Делчев“ – Штип, проф. д-р Милка Здравковска, и членовите на комисијата за рецензија и одбрана на докторската дисертација, проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска и проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, за стручните сугестии дадени во процесот на изработката на докторската дисертација.

Огромна благодарност за поддршката на проф. д-р Биљана Ѓорѓеска, која како Претседател на комисијата за оценка на трудот со своите упатства и насоки даде придонес за оценката на темата на докторската дисертација.

Благодарност до проф. д-р Татјана Рушковска од Факултетот за медицински науки и проф. Иван Богески од Медицинскиот факултет при Универзитетот во Гетинген, Германија, за поддршката и искрената помош во текот на изработката на докторската работа.

Од длабочината на срцето му благодарам на мојот сакан сопруг којшто ми беше поддршка при изработката на докторската дисертација. Неизмерно им благодарам на моите родители, затоа што со својата постојана поддршка и поттик придонесуваат за моите успеси во животот. Бескрајно им благодарам затоа што со нивната трпеливост и љубов ме мотивираа да ја завршам докторската дисертација.

**Рецензирани и објавени трудови (стручни, научни и апликативни)
произлезени од истражувањето, печатени во меѓународни списанија со
фактор на влијание (Impact Factor)**

1. **Milkica Janeva**, Pavlinka Kokoskarova, Rubin Gulaboski, " Multistep Surface Electrode Mechanism Coupled with Preceding Chemical Reaction-Theoretical Analysis in Square-Wave Voltammetry" *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry* 12 (2020) 766-779 (Impact Factor = 1.48);
2. **Milkica Janeva**, Pavlinka Kokoskarova, Viktorija Maksimova, Rubin Gulaboski, Square-wave voltammetry of two-step surface redox mechanisms coupled with chemical reactions-a theoretical overview, *Electroanalysis* 31 (2019) 2488-2506 (Impact Factor = 3.223);
3. Pavlinka Kokoskarova, **Milkica Janeva**, Viktorija Maksimova, Rubin Gulaboski, "Protein-film Voltammetry of Two-step Electrode Enzymatic Reactions Coupled with an Irreversible Chemical Reaction of a Final Product-a Theoretical Study in Square-wave Voltammetry", *Electroanalysis* 31 (2019) 1454-1464 (Impact Factor = 3.223);
4. Rubin Gulaboski, **Milkica Janeva**, Viktorija Maksimova, "New Aspects of Protein-film Voltammetry of Redox Enzymes Coupled to Follow-up Reversible Chemical Reaction in Square-wave Voltammetry", *Electroanalysis*, 31 (2019) 946-956 (Impact Factor = 3.223).

Учество на стручни конгреси и симпозиуми

1. Janeva, Milkica and Maksimova, Viktorija and Gulaboski, Rubin (2019) Getting insight into enzymes kinetics and thermodynamics via theoretical models in protein-film square-wave voltammetry. In: 7th International Symposium on Sensor Science, Napoli, Italy, 9-11 May 2019;
2. Janeva, Milkica and Petkovska, Sofija and Ristova, Angela and Maksimova, Viktorija and Gulaboski, Rubin (2018) Ембелин – моќен природен антиоксидант и транспортер на калциумови јони. In: Прв конгрес на студенти по општа медицина, 09-10 May 2018, Stip, Macedonia;
3. Gulaboski, Rubin and Maksimova, Viktorija and Janeva, Milkica (2018) The Power of Voltammetry. In: Alexander von Humboldt Kolleg, 19-23 April 2018, Ohrid, Macedonia.

ПРИМЕНА НА ЕЛЕКТРОДНИТЕ МЕХАНИЗМИ НА ПОВРШИНСКО-АКТИВНИ СИСТЕМИ ВО АНАЛИТИКА НА ЛЕКОВИ – ТЕОРЕТСКА И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА СТУДИЈА ВО УСЛОВИ НА КВАДРАТНО-БРАНОВА ВОЛТАМЕТРИЈА

КРАТОК ИЗВАДОК

Волтаметриските анализи за студирање на електродните механизми на површинско-активни системи претставуваат електрохемиски методи со кои можат да се разработат соодветни аналитички методи, како и да се добијат релевантни параметри за квантитативно определување на голем број лекови, како и за интеракциите што можат да настанат помеѓу два лека. Притоа, доколку постојат интеракции помеѓу два дефинирани лека, со примена на теоретски методи, можат да се определат кинетички и термодинамички параметри што се во корелација со брзината на интеракциите, како и со стабилноста на евентуалните комплекси што настануваат при интеракција на дефинираните лекови. Во рамките на докторската работа се разработени поголем број на теоретски модели на површинско-активни лекови што се поврзани со хемиски рамнотежи, каде електронскиот трансфер се случува во еден или во два последователни чекори. Дел од резултатите од теоретските модели се тестирани со експериментални системи на површинско-активни моделни супстанции. Резултатите од теоретските и експерименталните испитувања се од корист во дизајнирањето на нови електрохемиски методи во аналитиката на лекови, како и за дизајнирање на соодветни експериментални методи преку кои ќе можат да се анализираат квантитативно голем број лекови, но и да се определат релевантни кинетички и термодинамички параметри од интеракциите помеѓу дефинирани лекови.

Клучни зборови: протеин-филм волтаметрија, теоретски модели, определување на кинетички параметри, определување на термодинамички параметри, интеракции помеѓу лекови.

APPLICATION OF ELECTRODE MECHANISMS OF SURFACE ACTIVE SYSTEMS IN DRUG ANALYSIS- THEORETICAL AND EXPERIMENTAL STUDY IN SQUARE-WAVE VOLTAMMETRY

ABSTRACT

Voltametric analysis developed for studying electrode mechanisms of surface-active systems are electrochemical methods through which appropriate analytical methods can be developed, as well as to obtain relevant parameters for quantitative determination of a number of drugs, as well as for interactions that may occur between two drugs. In addition, if there are interactions between two defined drugs, by using theoretical methods, kinetic and thermodynamic parameters can be determined that correlate with the kinetics of interactions, as well as the stability of possible complexes that can be formed during the interaction of two defined drugs. Within the doctoral thesis, several theoretical models of surface-active compounds, related to chemical equilibria have been developed, where the electron transfer takes place in one or two consecutive steps. Some of the theoretical results are verified with experimental systems of surface-active model drug. The results of theoretical and experimental analyzes are useful in designing new electrochemical methods in drug analysis, as well as in designing appropriate experimental methods through which a quantitative number of drugs can be analyzed, but also to determine relevant kinetic and thermodynamic parameters from interactions between defined drugs.

Keywords: protein-film voltammetry, mathematical models, kinetics, thermodynamics, drug-drug interactions.

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД.....	9
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА.....	11
2.1. Волтаметрија.....	11
2.2. Инструментација во волтаметриските експерименти.....	12
2.2.1. Потенциостат.....	12
2.2.2. Електроди.....	13
2.3. Квадратно-бранова волтаметрија.....	16
2.4. Механизми на електродата проучувани со SWV.....	19
2.4.1. Теоретски модели на механизми што се релевантни за анализирање на лек-лек интеракциите.....	20
2.4.2. Површински механизми-опис, дефиниции и карактеристики на површински редокс системи во квадратно-бранова волтаметрија.....	22
3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО.....	25
4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ НА РАБОТА.....	27
4.1. Теоретски методи.....	27
4.2. Материјали и методи за експериментален дел.....	29
5. РЕЗУЛТАТИ.....	31
5.1. Карактеристики на теоретските волтамограми на едностепени електродни механизми релевантни за испитување на интеракции на лековиво услови на квадратно-бранова волтаметрија.....	31
5.1.1. <i>Едноставна реакција која се одвива на површината на електродата</i> ... 31	
5.1.2. Површински каталитички (регенеративен) механизам на електродата (surface EC' mechanism).....	35
5.1.3. Површинска реакција на електродата поврзана со последователна реверзибилна хемиска реакција (surface EC _{rev}).....	38
5.2. Карактеристики на теоретските волтамограми на повеќестепени електродни механизми релевантни за испитување на интеракции на лекови во услови на квадратно-бранова волтаметрија.....	61
5.2.1. Површински EE-механизам.....	69
5.2.2. Површински ECE-механизам.....	73
5.2.3. Површински EEC _{re} -механизам.....	81
5.2.4. Површински каталитички (регенеративен) EEC'-механизам.....	92

5.2.5. Повеќестепен површински електроден механизам поврзан со претходна хемиска реакција - површински СЕЕ-механизам	101
6. ДИСКУСИЈА.....	116
6.1. Дискусија на експерименталните резултати	116
7. ЗАКЛУЧОЦИ	137
8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES).....	140
ДОПОЛНИТЕЛЕН МАТЕРИЈАЛ (Mathcad working files).....	149

1. ВОВЕД

Електрохемиските техники се неопходни алатки во речиси секоја хемиска и биохемиска истражувачка лабораторија. Овие техники помагаат во разјаснувањето на механизмите на процесите на редукција и оксидација, во проучувањето на кинетичките и термодинамичките процеси за трансфер на електрони и јони, како и за изучување на феномените на адсорпцијата и на кристализација на површината на електродата. Нивната широка примена се заснова врз релативно евтината инструментација, големата осетливост во широк линеарен опсег на концентрации за неорганските и органските соединенија, брза анализа (во секунди), како и можностите за истовремено определување на неколку аналити. Администрацијата на даден лек во комбинација со друг лек може да доведе до појава на значајни интеракции помеѓу активните соединенија. Информациите за јачината на лек-лек интеракциите и фармакокинетичките карактеристики на дадени лекови можат да дадат насоки со цел да се дефинира најсоодветен начин на нивна администрација (Ozkan et al., 2015). Со анализа на хемиските интеракции помеѓу два лека, можеме да добиеме информации за стабилноста, ефикасноста и можните синергетски или токсични ефекти поврзани со комбинирањето на лековите што ги администрираме. Кога се разгледуваат интеракциите помеѓу два лека (или даден лек и ДНК), секогаш треба да се имаат информации за:

- (а) механизам на интеракции помеѓу лековите и факторите кои влијаат на јачината на лек-лек интеракциите;
- (б) кинетиката на лек-лек интеракциите;
- (в) термодинамиката на лек-лек интеракциите.

Термодинамичките параметри важни за лек-лек интеракциите даваат информации за вредноста на рамнотежната константа (или константата на стабилност), а кинетиката на интеракциите помеѓу два лека дава информации релевантни за можни синергистички или антагонистички ефекти на испитуваните лекови (Gulaboski et al., 2020).

Во последните 40 години, волтаметријата стана едноставна, брза и евтина алатка за добивање увид во механизмите, кинетиката и термодинамиката на интеракции на многу лекови. Современите методи за проучување на липофилноста на лековите даваат можност за предвидување на фармакокинетиката и фармакодинамиката на лекот, со што се добиваат нови корисни знаења преку соодветно користење на математички модели за дефинирани механизми. Резултатите од испитувањата на липофилноста на лековитите супстанции имаат голема примена во развојот на нови лекови и оптимизацијата на современата фармакотерапија. Цели на оптимизацијата се: одредување на начинот на примена на лекот, добивање на посакуван фармаколошки одговор, намалено појавување или изоставување на несаканите дејства или несакани интеракции, намален ризик за појавување на токсични ефекти и примена на соодветна антидотска терапија во случај на труење (Гулабоски и сор., 2019).

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА

2.1. Волтаметрија

Терминот волтаметрија се однесува на класа на електроаналитички техники во кои преку измерената струја во однос на потенцијалот применет на одредена работна електрода се добиваат информации за аналити што се од интерес.

Кај волтаметријата имаме процес на мерење на струјата во електрохемиската ќелија како функција од применетиот напон (потенцијал). Електрохемиските реакции во волтаметријата се случуваат на мала површина од т.н. работна електрода, при што имаме минимална потрошувачка на аналит во текот на волтаметриските мерења.

Волтаметријата се развила од поларографијата, развиена од Јарослав Хејровски (1922 година), а се однесува на мерењето на струјата како резултат на апликација на електричен напон, при што техниката функционираше со употреба на живина електрода што капе (DME) како работна електрода. Употребата на капка на жива како работна електрода обезбедувала униформна површина и свежа неконтаминирана површина на електрода во широк опсег на применети потенцијали (Гулабоски и сор., 2019).

Волтаметријата се заснова на мерење на односот помеѓу потенцијал-струја-време, во систем што се случува во електрохемиска ќелија што содржи аналит од интерес (растворен во даден електролит) и три електроди: работна електрода, референтна електрода и помошна електрода. Кога даден потенцијал (E) контролиран од надворешен извор се аплицира на работната електрода, тогаш електрична струја (I) може да тече низ електрохемиската ќелија. Оваа струја е резултат на размена на електрони помеѓу работната електрода и даден аналит присутен во електрохемиската ќелија. Применетиот потенцијал се менува на точно определен начин, при што добиената струја ќе биде измерена во текот на временски период (t) (Kounaves, 1997). Потенцијалот што се применува на работната електрода е движечка сила за одвивање на реакцијата на размена на електрони помеѓу работната електрода и аналитот. Потенцијалот, во суштина, е параметарот (движечка сила) што предизвикува хемиските видови присутни во растворот да се електролизираат (редуцираат или оксидираат) на површината на електродата.

Инструментот што го снима односот на струјата како функција од нанесениот електричен потенцијал е дизајниран од страна на Хејровски и Шиката. Резултирачката крива од потенцијал-струја заемната релација се нарекува поларограм, каде струјата се прикажува на вертикална оска, а потенцијалот на хоризонталната оска од поларограмот. Промената на напонот во текот на времето може да биде во неколку форми и тоа: линеарна, пулсирачка, триаголна и оттука произлегуваат различните волтаметриски методи. Волтаметриските системи за анализа се изведуваат на статична електрода и истите се евтини и брзи експериментални системи што можат да се применат за квалитативна анализа на голем број на физиолошки системи и лекови присутни од наномоларни до милимоларни концентрации. Покрај тоа, овие електрохемиски системи се погодни алатки и за определување на релевантни кинетички параметри (брзина на хемиски интеракции, брзина на пренос на електрони) и термодинамички параметри (константа на компелскирање, константа на ацидитет и сл.) кај голем број на важни хемиски или физиолошки системи.

2.2. Инструментација во волтаметриските експерименти

Модерниот електроаналитички систем за волтаметриско мерење најчесто е составен од 3 модули: потенциостат, електрохемиска ќелија и компјутер (слика 1). Во некои случаи потенциостатот и компјутерот се наоѓаат во еден дел. Кај поголем дел од електрохемиските системи, компјутерот, конверторите и микроконтролорите се одделени, при што потенциостатот може да оперира самостојно.

2.2.1. Потенциостат

Потенциостатот претставува „срце“ на секоја електрохемиска инструментација (слика 1). Во волтаметриските техники задачата на потенциостатот е да нанесува соодветен потенцијал и да ги забележи промените на струјата што се случуваат како резултат на електрохемиска трансформација во системот. Во сите модерни електроаналитички системи, потенциостатот вклучува електрични кола, различни конвертори и амплификатори, како и микропроцесори со внатрешна меморија. Кај постарите типови инструменти, најчесто била аплицирана континуирана линеарна промена на потенцијалот од

една вредност до друга. Сите модерни потенциостати дизајнирани по 1980-та година оперираат дигитално. Кај овие потенциостати главно се користи скалесто модулираниот потенцијал, при што во чекори се аплицира константно зголемување на потенцијалот. Главните бенефити од т.н. скалесто модулираниот потенцијал се огледуваат во значителното минимизирање на капацитетните (нефарадееви) струи во однос на фарадеевите струи (што се од главен интерес при волтаметриските анализи). Главните електрохемиски техники што денес се применуваат како експериментални волтаметриски техники се цикличната и квадратно-брановата волтаметрија (Гулабоски и сор., 2019).



Слика 1. Инструментација за волтаметрија
Figure 1. Voltammetry instrumentation

2.2.2. Електроди

Електрохемиската ќелија се состои најчесто од три електроди и тоа: работна електрода, референтна и помошна електрода (слика 2).



Слика 2. Електрохемиска ќелија составена од три електроди
Figure 2. Electrochemical cell with three electrodes

Работната електрода е спроводник на електрони, најчесто направена од платина, злато, графит, дијамант, челик и сл. На површината од работната електрода се одвива електрохемиската реакција на аналитот што е предмет на интерес во една електрохемиска анализа.

Во сите волтаметриски експерименти потребно е на една од електродите да се одржува константен потенцијал. Оваа електрода, дизајнирана на начин да има константен (реверзибилен) потенцијал, се нарекува **референтна електрода**. Сите потенцијали што се мерат во волтаметриските експерименти се во однос на потенцијалот на референтната електрода.

Помошната електрода е електродата на чија површина се одвива спротивна електрохемиска реакција во однос на таа што се одвива на работната електрода, со цел да има балансирање на вкупниот полнеж во системот.

Во присуство на молекули од електрохемиски активни видови во електрохемиската ќелија, нанесениот потенцијал помеѓу електродите ќе предизвика промени на концентрацијата на електроактивните видови од

аналитот на површината на електродата, односно на електродата ќе се случи реакција на редукција или оксидација на испитуваниот аналит. Промената на концентрацијата на електроактивниот учесник на површината на работната електрода ќе предизвика транспорт на соодветната супстанца од внатрешноста на растворот кон работната електродата. Притоа, низ системот ќе протече електрична струја што ќе биде директно пропорционално со концентрацијата на аналитот во електрохемиската ќелија. Оваа едноставна зависност помеѓу измерената струја и концентрацијата на аналитот прави волтаметриските техники да бидат користени во рутински анализи при квантитативно определување на различни органски и неоргански компоненти (Гулабоски и сор., 2019).

Работните електроди имаат различни форми, изработени се од различен материјал, најчесто се дискови, мал рамен диск од проводник (Pt, Au, пиролитички графит, стаклест јаглерод) или полупроводник (калај или индиум оксид, метал обложен со слој од жива) во цевка од инертен материјал (тефлон) со жичен контакт. Живините работни електроди имаат широка примена поради нивниот релативно голем опсег на апликација во негативни потенцијали и можност да се анализираат голем број супстанции што може да се редуцираат (висок наднапон на издвојување на H_2).



Слика 3. Видови на работни електроди во волтаметријата

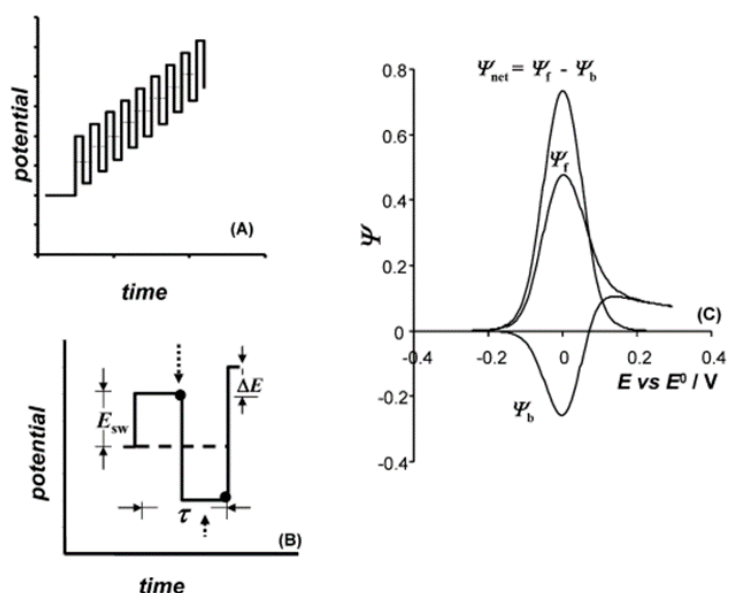
Figure 3. Types of working electrodes explored in voltammetry

2.3. Квадратно-бранова волтаметрија

Квадратно-брановата волтаметрија (SWV) е една од водечките техники во фамилијата на волтаметриските методи. Уникатните карактеристики на оваа техника произлегуваат од специфичниот облик на применетиот сигнал на ексцитација (движечката сила) и постапката за мерење на струјата во мал сегмент на крајот од секој потенцијален пулс. Со овој начин на мерење на струјата доаѓа до ефикасно дискриминирање на Фарадеевата струја во однос на струјата на полнежот во двојниот електричен слој (наречена уште и капацитетна струја). Оттука, SWV е високочувствителна волтаметриска техника способна за детектирање на разни аналити дури и во нано-моларно подрачје на концентрации. Поради сложеноста на модулациите во потенцијалот што се применува, SWV ретко е употребувана како техника за испитување на електродните механизми. И покрај фактот дека бројни теоретски модели за различни електродни механизми се презентирани досега, широката примена на SWV за кинетичките и механистичките студии сè уште е предизвик. Ова важи дури и за некои електродни механизми што се сметаат за „едноставни“. На пример, кај таканаречената едноставна реакција на електродата што е ограничена на површината во услови на квадратно-бранова волтаметрија, постојат значително комплексни волтаметриски феномени кои сè уште се предмет на дебати (Gulaboski, 2019).

Типичната форма на потенцијалот што се користи во SWV се состои од скалеста платформа на потенцијалот модифициран со пулсни потенцијали со квадратна форма (слика 4). На секој чекор на платформата на скалилата се наметнуваат два еднакви по висина и спротивно насочени т.н. пулсни потенцијали. Два пулсни потенцијали комплетираат еден т.н. потенцијален циклус во SWV (слика 4B). Циклусот од потенцијали во SWV се повторува на секој чекор од платформата на скалилата во текот на волтаметрискиот експеримент. Висината на единечен потенцијален пулс се нарекува SW-амплитуда (E_{sw}). Во однос на насоката на платформата на скалилата, се препознаваат “forward” пулсни потенцијали и “backward” пулсни потенцијали. За време на секој единечен потенцијален циклус во SWV се случува и реакција на оксидација и реакција на редукција. На тој начин, во оваа техника се обезбедува

симултан увид во механизмот на електродата при секој аплициран пулс. Критичното време на волтаметрискиот експеримент е претставено со времетраењето на еден циклус на потенцијалот (τ), или времетраење на еден потенцијален пулс, $t_p = \tau/2$. Волтаметриските податоци во SWV можат да се толкуваат во однос на τ , во однос на t_p или во однос на фреквенцијата на потенцијалот f . Физичкото значење на фреквенцијата може да се разбере како број на потенцијални циклуси во единица време. Типичен опсег на фреквенција кој се обезбедува со комерцијално достапната инструментација е од 1 до 2000 Hz, што одговара на времетраењето на единечен потенцијален пулс од 0.25 до 100 ms (Mirceski et al., 2013).

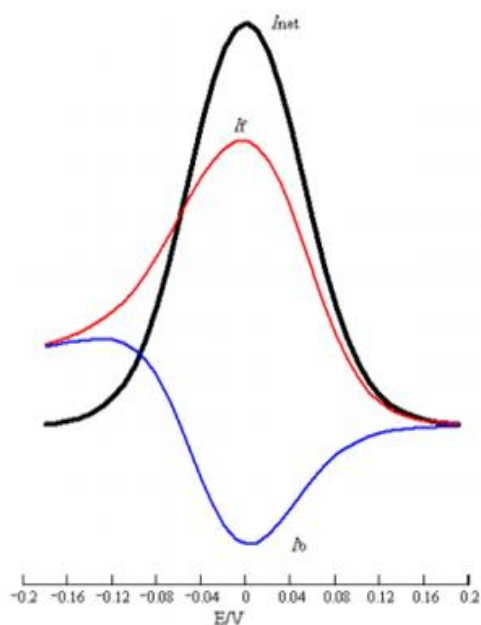


Слика 4. Бранова форма на потенцијалот (A), еден циклус на потенцијалот (B), типичен „дифузионен“ волтамограм во квадратно-бранова волтаметрија (C). Одговорот се состои од “forward” (Ψ_f), “backward” (Ψ_b) и нет (Ψ_{net}) компонента која е „разлика“ на forward и backward компонента на струите.

Figure 4. Waveform of potential (A), one cycle of potential (B), typical “diffusional” voltammogram in square-wave voltammetry (C). The answer consists of a “forward” (Ψ_f), a “backward” (Ψ_b) and a net (Ψ_{net}) component which is the “difference” between the forward and backward current components.

Квадратно-брановата волтаметрија (SWV) е една од најсофистицираните техники во фамилијата на пулсни волтаметриски техники. Потенцијалната форма во SWV се состои од симетрични квадратно-бранови пулсеви со постојана амплитуда E_{sw} што се нанесуваат на скалеста потенцијална рампа. Потенцијалот во SWV се менува за постојан потенцијал инкремент dE . Струјата

во оваа техника се мери двапати на крајот од секој пулс (Mirceski et al., 2013). Струите измерени на крајот од анодните потенцијални пулсеви ја даваат оксидативната компонента на струјата, додека струите измерени на крајот на катодните потенцијални пулсеви ја даваат редуktivната компонента на струјата (слика 5).



Слика 5. Квадратно-бранов волтамограм: I_b , повратна струја (катодна); I_f , директна струја (анодна); I_{net} , вкупна струја

Figure 5. Square-wave voltammogram: I_b , reverse current (cathode); I_f , direct current (anode); I_{net} , total current

Вкупната струја во SWV се добива како разлика помеѓу катодната и анодната струја. Но, бидејќи редуktivските струи (по дефиниција) имаат негативен знак, *вкупната струја во SWV е всушност сума на апсолутните вредности на двете струјни компоненти* (слика 5). Овој метод на мерење ја прави SWV многу чувствителна електроаналитичка техника. *Измерената струја на пиковите добиени во SWV, како и во другите пулсни волтаметриски техники, е пропорционална на концентрацијата на аналитот.* Кај оваа техника често се достигнуваат граници на детекција во субнаномоларни подрачја. Покрај тоа, SWV обезбедува истовремен увид и во двете електродни реакции (оксидација и редуktivција). На тој начин SWV е слична со цикличната волтаметрија што и дава

можност да се применува за проучување на механизмите на електрохемиски реакции. SWV е многу брза техника, обезбедува увид во кинетиката на електронските трансфери на електродните реакции, како и во кинетиката на хемиските реакции што може да се спрегнати со електродната реакција што ја студираме. Иако теоријата на SWV сè уште се развива, голем број на важни теоретски трудови на SWV се појавија во последните триесет години обезбедувајќи притоа критериуми за признавање на многу комплексни електродни механизми.

Покрај тоа, во SWV се развиени голем број на едноставни методи за мерење на кинетиката и термодинамиката на различните процеси што се среќаваат кај релевантни електрохемиски системи. Во текот на последните дваесет и пет години, SWV е една од волтаметриските техники што се употребува како за квантитативни апликации така и за механистички студии кај голем број на биохемиски и неоргански системи. Притоа, оваа метода е широко применувана и за квантитативна апликација како при директни, така и при т.н. „стрипинг„ анализи. Некои јони или соединенија можат да се мерат директно без додавање на реактант или продукт во електрохемиската реакција, некои од нив се 5-аминосалицилна киселина, арсен, атрацин, ацидотимидин, кофеин, допамин, етанол, олово, индиум, манган, рибофлавин, ураниум, уратна киселина, серотонин, витамин Б6 и Б12 итн. Стрипинг анализите се базираат на формирање на амалгами и метални комплекси, како на пример за мерење на траги на цинк, кадмиум, олово или бакарни јони. Некои од аналитичките методи во SWV се засноваат на механичка имобилизација на микрочестички на нерастворливи органски или неоргански соединенија на површината на соодветна цврста електрода (на пример: графитна прачка заситена со парафин што во последно време се користи како работна електрода во експериментите на квадратно-брановата волтаметрија). Притоа, оваа метода се користи и за механички и кинетички проучувања (Mirceski et al., 2013).

2.4. Механизми на електродата проучувани со SWV

Значајни придонеси во објаснувањето на теоријата на SWV се направени од истражувачките групи на Ловриќ, Молина, Комптон, Мирчески и Гулабоски. Теориите развиени во квадратно-бранова волтаметрија се однесуваат на

различни електродни механизми, вклучително и за растворени и за имобилизирани редокс парови, како на макроскопски електроди така и на микроелектроди. Поради нивната важност за енергетските процеси во биохемиските системи, последователните трансфери на електрони во повеќе чекори добиваат значајно внимание во пулсните волтаметрички техники во последните години (Molina et al., 2007; Komorsky-Lovric & Lovric 2011; Laborda & Molina et al., 2012; Gulaboski, 2009; Gonzalez & Molina et al., 2012; Gulaboski, 2011). Во рамките на дисертацијата се разгледувани *површински електродни механизми* кај кои сите електрохемиски активни форми на испитуваната редокс-активна супстанца се цврсто адсорбирани на површината од работната електрода и нема транспорт на маса со помош на дифузија. Притоа, овие теоретски модели се релевантни за проучување на интеракциите помеѓу еден липофилен редокс лек (во електрохемијата се нарекува и електрохемиски површинско-активен лек) со друг лек. Теоретските модели претставени во рамките на оваа дисертација овозможуваат да се дијагностицира механизмот според кој два лека стапуваат во хемиски интеракции. Покрај тоа, во рамките на теоретските модели се претставени методи за определување на кинетиката на интеракциите помеѓу два лека, како и на термодинамичките параметри (константата на рамнотежа или константата на комплексирање) кај лекови што стапуваат во интеракции и што можат да градат стабилни комплекси

2.4.1. Теоретски модели на механизми што се релевантни за анализирање на лек-лек интеракциите

Неколку површински електродни механизми се релевантни за опишување на интеракциите помеѓу два лека, од кои едниот лек покажува т.н. „електрохемиска активност“. Под терминот „електроактивен“ или (електрохемиски активен) дефинираме лек или метаболит на лек (последниот може да се генерира хемиски или електрохемиски) што може да претрпи електрохемиска трансформација (да размени електрони со електродата) на површината на работната електрода. Кога се користи терминот „електрохемиски неактивен“, овој термин се однесува за дефиниран учесник во електродните механизми што не покажува електрохемиска активност во опсегот на применети потенцијали. Символот „С“ кај сите елаборирани механизми означува „хемиска реакција“, додека символот „Е“ означува „електрохемиска реакција“. Терминот „С“ означува

„каталитичка (регенеративна) хемиска реакција“. Терминот „дифузион“ значи дека трансферот на маса на електроактивните видови се случува само преку процесот на дифузија (Gulaboski et al., 2020).

Терминот „**површински**“ сугерира дека електроактивните видови се силно атсорбирани на површината на работната електрода и не се одвива трансфер на маса преку дифузија. Терминот „**протеин-филм волтаметрија**“ е со идентично значење како и терминот „површински редокс активни системи“. Со „Ox“ ја обележуваме оксидираната електроактивна форма на даден лек или метаболит, додека „Red“ се користи за редуцираната електроактивна форма. Символите „A“, „Y“ и „S“ се користат за да се означат електрохемиски неактивните лекови (или ДНК) кои можат да влезат во некој вид на хемиска интеракција со електрохемиски активните форми на лекот (Ox или Red) (Gulaboski et al., 2020).

За да се студираат електрохемиските својства на дадени лекови, како и интеракциите помеѓу дадени лекови, важно е да се решат соодветни математички модели за дадените системи. Притоа, важно е од тие модели да се разработат теоретски симулациски платформи преку кои ќе може да се определат кинетички и термодинамички параметри што се релевантни за интеракциите помеѓу два лека. Од кинетичките параметри најважна е **константата на брзина на хемиска реакција** помеѓу два лека. Константата на брзината на хемиски интеракции е параметар што ни кажува колку брзо во дадени услови реагираат (или не реагираат) два лека. **Од термодинамичките параметри**, најважна е **константата на рамнотежа (или константата на стабилност)**, доколку се формираат стабилни комплекси) на двата лека. Овој параметар ни кажува колку е стабилен комплексот што евентуално се формира помеѓу два лека што стапуваат во интеракции. Во зависност од природата на интеракциите, механизмите со кои можат да се опишат интеракциите помеѓу два лека се опишуваат со математички модели во кои електрохемиската реакција на даден лек е поврзана со претходна, последователна или регенеративна хемиска реакција со друг лек.

2.4.2. Површински механизми - опис, дефиниции и карактеристики на површински редокс-системи во квадратно-бранова волтаметрија

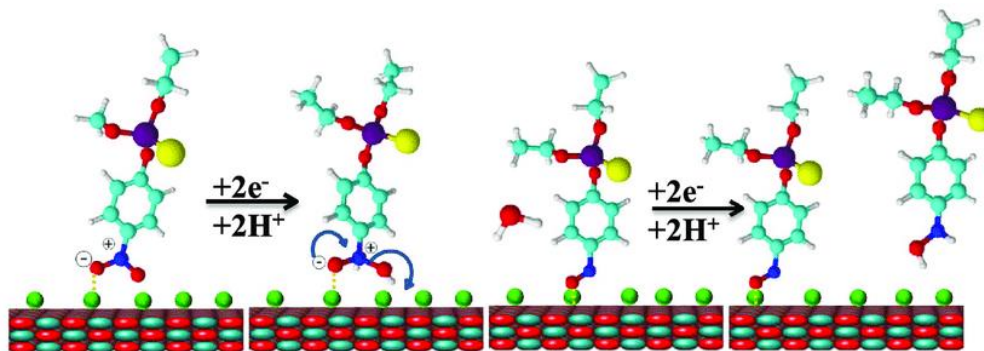
Површинските механизми поврзани со хемиска реакција се релевантни за опишување на волтаметриското однесување на липофилните лекови кај кои и двете редокс-форми од т.н. електрохемиски активен лек (Ox и Red) се силно адсорбирани (ads) на површината на работната електрода. Волтаметриските одговори кај сите површински електродни механизми имаат неколку специфични карактеристики од кои најважни се: поостар катоден и аноден пик (за разлика од соодветните пикови кај дифузииските механизми); отсуство на т.н. дифузииска опашка; волтаметриските карактеристики се чувствителни на помали брзини на хемиската реакција за разлика од дифузииските механизми; линеарна зависност на лимитирачките струи или струите на волтаметриските пикови како функција од фреквенцијата на волтаметрискиот сигнал во квадратно-бранова волтаметрија. Кај сите механизми обработени во оваа докторска дисертација, претпоставуваме дека реверзибилните хемиски реакции се поврзани со „квази-реверзибилен“ (кинетички контролиран) електрохемиски чекор.

Во сите обработени механизми, со k_f е означена константата на брзина на директната (“forward”) хемиската реакција, додека со k_b е означена константата на брзина на повратната (“backward”) хемиска реакција. Со k_s^\ominus е означена стандардната константа на брзината на електронскиот трансфер, поврзана со реакцијата на електрохемиска трансформација на електродата (единица за k_s^\ominus е s^{-1} кај површинските електродни механизми).

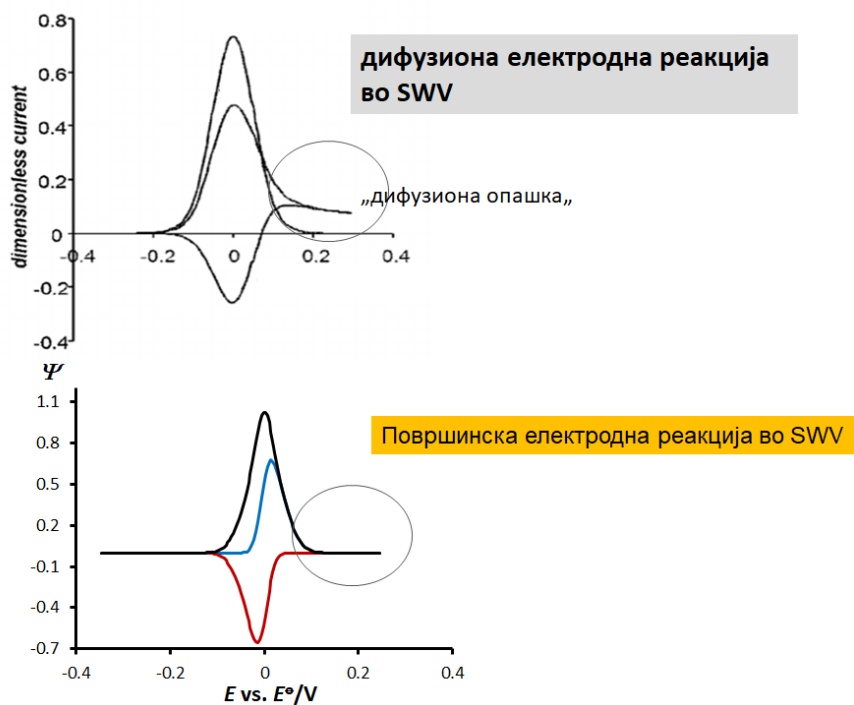
Треба да се потенцира дека во сите разработени механизми, константите на брзината на хемиска реакција помеѓу двата испитувани лека се од „псевдопрв ред“. Ова значи дека имаме еден од електрохемиски неактивните лекови („А“, „Z“ или „Y“) присутен во вишок во волтаметриската ќелија. Во сите механизми, се претпоставува дека има константна вредност на параметарот поврзан со симетријата во чекорот на трансфер на електроните (т.е., коефициентот на трансфер на електрони секогаш е земен дека е $\alpha = 0.5$).

Струјата што ја мериме во волтаметријата (при даден аплициран потенцијал) се должи на реакцијата $Ox + ne^- \leftrightarrow Red$ (заради размената на електрони помеѓу работната електрода и електро-активните видови на лекови). Сепак, хемиските

промени во концентрациите на Ox и Red што ќе настанат во временската рамка на мерењето на forward на струјата, обично предизвикуваат специфични карактеристики кај снимените волтамограми. Карактеристиките на кривите струја-потенцијал кај различните механизми зависат од временскиот интервал на мерење на струјата, од природата на хемиската реакција, како и од кинетичките и термодинамичките параметри поврзани со хемискиот чекор. Во таканаречените „површински“ механизми на електродата, претпоставуваме дека редокс активните форми на лековите Ox (ads) и Red (ads) се силно адсорбирани (ads) на површината на работната електрода и не се случува трансфер на маса преку дифузија. Покрај тоа, претпоставуваме дека не постојат интеракции помеѓу адсорбираните видови. На следните две слики (слика 6 и слика 7) се прикажани шематски прикази на една површинска електродна реакција, како и на изгледот на еден квадратно-бранов волтамограм што се добива кај површинските електродни механизми.



Слика 6. Шематски приказ на површински електроден механизам
Figure 6. Schematic representation of the surface electrode mechanism



Слика 7. Дифузиона (горе) и површинска (долу) електродна реакција-симулирани волтамограми во услови на квадратно-бранова волтаметрија. Кај површинските електродни механизми карактеристично е што пиковите се остри и ја нема „дифузионата опашка,, што постои кај дифузионите електродни механизми.

Figure 7. Diffusion (upper voltammogram) and surface (voltammogram down) electrode reaction - simulated voltammograms under conditions of square-wave voltammetry. It is characteristic of a surface electrode mechanisms that the peaks are sharp and do not have the "diffusion tail" that exists in diffusion electrode mechanisms.

3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Во рамките на оваа дисертација ќе бидат студирани и елаборирани својствата на неколку теоретски модели за едностепени и двостепени електродни механизми што се поврзани со различни хемиски реакции. Теоретските модели во услови на квадратно-бранова волтаметрија се релевантни за студирање на интеракции помеѓу еден површински активен лек што може да претрпи електрохемиска трансформација (оксидација или редукција) на површината од работната електрода и друг лек чија концентрација ја менуваме во електрохемиската ќелија. Притоа, од симулираните теоретски волтамограми ќе се обидеме да дефинираме дијагностички критериуми за препознавање на даден електроден механизам. Покрај тоа, за механизмите што се првпат обработени и решени во оваа дисертација ќе се направат обиди да се конструираат работни криви што ќе можат да се искористат за определување на кинетички и термодинамички параметри што се релевантни за интеракциите помеѓу два дефинирани лека. Како теоретски модели, што се соодветни за студирање на интеракциите на еден површински-активен редокс лек и друг дефиниран лек во услови на квадратно-бранова волтаметрија, ќе бидат разработени следните механизми:

- едноставна едностепена површинска реакција (т.н. „Е-електроден механизам“);
- едностепен површински електроден механизам во која електрохемиски генерираниот продукт стапува во иреверзибилна хемиска реакција, при што доаѓа до регенерација на почетниот електрохемиски-активен реактант (т.н. „површински регенеративен ЕС' електроден механизам“);
- едностепен површински електроден механизам во која електрохемиски генерираниот продукт стапува во последователна реверзибилна хемиска реакција (т.н. „површински ЕС_{rev}-електроден механизам“);
- двостепен површински електроден механизам во кој крајниот електрохемиски генерираниот продукт стапува во иреверзибилна хемиска реакција, при што доаѓа до регенерација на интермедиерниот електрохемиски-активен реактант (т.н. „двостепен површински регенеративен ЕЕС'-електроден механизам“);

- двостепен површински електроден механизам во кој двата електрохемиски чекори се поврзани со иреверзибилна хемиска реакција (т.н. „двостепен површински ECirrE-електроден механизам“);
- двостепен површински електроден механизам во кој крајниот електрохемиски генериран продукт стапува во последователна реверзибилна хемиска реакција (т.н. „двостепен површински EECrev-електроден механизам“);
- двостепен површински електроден механизам во кој имаме хемиска рамнотежа кај почетниот реактант (т.н. „двостепен површински CrevEE- електроден механизам“).

Во експерименталниот дел од дисертацијата, ќе биде направен обид за потврдување на дел од теоретските резултати преку студирање на електрохемиската реакција на метиленско сино во присуство на серија од дефинирани лекови во услови на квадратно-бранова волтаметрија. Покрај тоа, ќе бидат направени обиди за примена на методологиите предложени од теоретските модели за определување на кинетичките и термодинамичките параметри на интеракциите помеѓу метиленско сино и дефинирани лекови или суплементи. Главната цел на дисертацијата е да се постават теоретски основи за примена на резултатите од површински електродни механизми поврзани со хемиски реакции за студирање на интеракции помеѓу лекови, во услови на техниката квадратно-бранова волтаметрија.

4. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ НА РАБОТА

4.1. Теоретски методи

Математичките модели за површински ECrev-механизам, за површински EECrev-механизам, како и за CrevEE-механизам се решени и претставени за првпат од страна на нашата група. Работните фајлови во програмата MATHCAD за овие модели се дадени во Дополнителниот материјал во докторската дисертација. Останатите електродни механизми елаборирани во дисертацијата се симулирани врз база на модели за површински електродни реакции поврзани со хемиски рамнотежи во услови на квадратно-бранова волтаметрија, а се обработени врз основа на соодветните математички модели публикувани од страна на Рубин Гулабоски, Валентин Мирчески и Миливој Ловриќ. Пресметаните теоретски квадратно-бранови волтамограми симулирани во дисертацијата се функција на параметрите на применетиот потенцијал (квадратно-бранова амплитуда E_{sw} , потенцијален чекор dE , фреквенција f). Покрај тоа, теоретските квадратно-бранови волтамограми зависат и од коефициентот на пренос на електрони α , константата на рамнотежа на дефинирана хемиска реакција K_{eq} (во случај кога постои хемиска рамнотежа во соодветниот математички модел), како и од два бездимензионални кинетички параметри K и K_{chem} . Бездимензионалниот кинетички параметар K е поврзан со брзината на хетерогениот трансфер на електрони помеѓу работната електрода и адсорбируваниот редокс пар. Овој кинетички параметар се дефинира со изразот $K = k_s^0/f$. Со k_s^0 (единица s^{-1}) е дефинирана стандардната константа на брзина на пренос на електрони, а f е квадратно-брановата фреквенција. SW фреквенцијата е дефинирана како $f = 1/t$, каде t е времетраењето на секој потенцијален SW пулс. За пресметување на теоретските волтамограми SW фреквенцијата f е поставена на 10 Hz, SW амплитудата изнесува $E_{sw} = 50$ mV, додека потенцијалниот чекор dE е 4 mV во сите извршени пресметки кај сите електродни механизми. Пресметаните квадратно-бранови волтамограми за површинскиот ECrev механизам зависат и од бездимензионален хемиски параметар K_{chem} , дефиниран како $K_{chem} = \varepsilon/f$, каде ε е хемиски параметар (s^{-1}) дефиниран како $\varepsilon = (k_f+k_b)$ (за реакции каде постои хемиска рамнотежа). k_f и k_b се константи на брзина на директната и повратната реакција во дефинираната

хемиска реакција од хемиската рамнотежа. За електродните механизми каде постојат иреверзибилни хемиски реакции, хемискиот параметар е дефиниран со изразот $K_{\text{chem}} = k_c'/f$, каде k_c' е константа на брзината на иреверзибилната хемиска реакција. *Важно е да се напомене дека кога се студираат интеракции на два лека, вредноста на K_{chem} кореспондира на константата на брзината на интеракции помеѓу двата лека, додека K_{eq} кореспондира на константата на рамнотежа на хемиската реакција (или константа на стабилност помеѓу тие два лека, во случаи кога се формира стабилен или умерено стабилен комплекс).* Рамнотежната константа K_{eq} на хемискиот чекор е дефинирана како $K_{\text{eq}} = k_f/k_b$. Вредноста на K_{eq} ја дефинира рамнотежната количина на електроактивните видови на површината на работната електрода. Од друга страна, вредноста на параметарот K_{chem} е директно поврзана со брзината на хемиска конверзија на молекулите од електрохемиски активните видови во временската рамка на мерење на струјата во секој потенцијален SW-пулс. Во сите симулации, почетниот потенцијал е поставен на позитивна вредност, а скеновите се одвиваа кон финален негативен потенцијал. Во сите пресметки, вредноста на стандардниот редокс потенцијал на редокс парот Ox(ads)/Red(ads) до 0.00 V. Редукциската струја ја дефинираме како позитивна, а оксидациската струја како негативна и ова е во согласност со Американската конвенција за електрохемија. Сите пресметки во теоретскиот дел на дисертацијата се вршени со комерцијално достапниот пакет MATHCAD 14. Детални објаснувања за секој елабориран механизам се дадени во работните MATHCAD-фајлови во дополнителниот материјал на дисертацијата. Покрај квадратно-бранова волтаметрија, во експерименталниот дел на дисертацијата беше применета и техниката циклична волтаметрија, главно, да се обезбеди подобар визуелен приказ на некои ефекти кај одредени електродни механизми.

4.2. Материјали и методи за експериментален дел

Сите волтаметриски експерименти беа изведени на електрохемиската инструментација PGSTAT 128 N. Електрохемиската ќелија беше составена од сад во кој беше ставен 60 mL фосфатен пуфер со $\text{pH} = 7.40$ (VWR Chemicals). Сите употребувани лекови беа употребени како чисти супстанции (произведени во Merck, Sigma-Aldrich, Fisher Chemical, CPA chem, Alkaloid). Покрај тоа, во пуферскиот раствор во ќелијата беше поставена триелектродна конфигурација составена од стаклеста јаглеродна електрода (glassy carbon electrode) со дијаметар од 0.5 cm на работната површина, Ag/AgCl (заситен раствор на KCl) беше референтна електрода, додека платинска жица со голема површина беше употребена како помошна електрода. Концентрацијата на електрохемиски активната супстанца метиленско сино (редокс лекот) во електрохемиската ќелија беше константна и изнесуваше 0.5 mmol/L. Работните инструментални параметри, доколку поинаку не е наведено, беа: квадратно-бранова амплитуда $E_{\text{sw}} = 50 \text{ mV}$, потенцијален инкремент $dE = 4 \text{ mV}$, фреквенција $f = 50 \text{ Hz}$, време на акумулација $t_{\text{acc}} = 20 \text{ s}$. При испитувањето на интеракциите помеѓу метиленско сино и дефинирани лекови, концентрацијата на вториот лек во електрохемиската ќелија се зголемуваше во границите помеѓу 1 mmol/L и 1 mol/L. При секое додавање на дефинирана концентрација од вториот лек во електрохемиската ќелија (при константна концентрација на метиленско сино), се снимаа најмалку 8 волтамограми и се земаше средната вредност од волтаметриските одговори за пик струјата и пик потенцијалот. Притоа, стандардната девијација на измерените вредности за пик струја и пик потенцијал не беше поголема од 1.5%. За пресметување на константата брзина на интеракции и константата на хемиска рамнотежа помеѓу дефиниран лек и метиленско сино беше употребен метод на фитирање на експерименталните и теоретските волтамограми. Теоретските волтамограми беа симулирани при дефинирани услови што важеа за соодветните експериментални волтамограми. За таа цел, најпрво беше определен механизмот според кој стапуваат во интеракција дефинираниот лек и метиленското сино. Дијагностицирањето на редокс механизмите беше евалуирано преку својствата на волтаметриските одговори како функција од концентрацијата на вториот лек, за ситуации што се детално објаснети за секој механизам во теоретскиот дел од оваа дисертација.

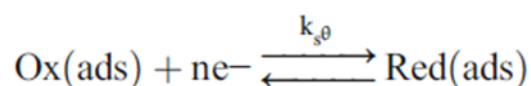
Кинетичките параметри за електрохемиската реакција на метиленско сино беа определени во отсуство на други лекови, во пуфер со рН = 7.40, и вредностите на тие релевантни параметри (константата на брзина на пренос на електрони k_s^0 и коефициентот на пренос на електрони- α) беа во согласност со литературите податоци (Zhou et al., 1995). Притоа, преку методот на квазиреверзибилен максимум, ја пресметавме вредноста за стандардната константа на брзина на пренос на електрони и таа изнесуваше $k_s^0 = 1.5 \text{ s}^{-1}$, додека определената вредност за коефициентот на пренос на електрони (неговата вредност беше определена преку мерење на односот на катодната и анодната струја при различни фреквенции) беше $\alpha = 0.5$.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. Карактеристики на теоретските волтамограми на едностепени електродни механизми, релевантни за испитување на интеракции на лекови, во услови на квадратно-бранова волтаметрија

5.1.1. Едноставна реакција која се одвива на површината на електродата

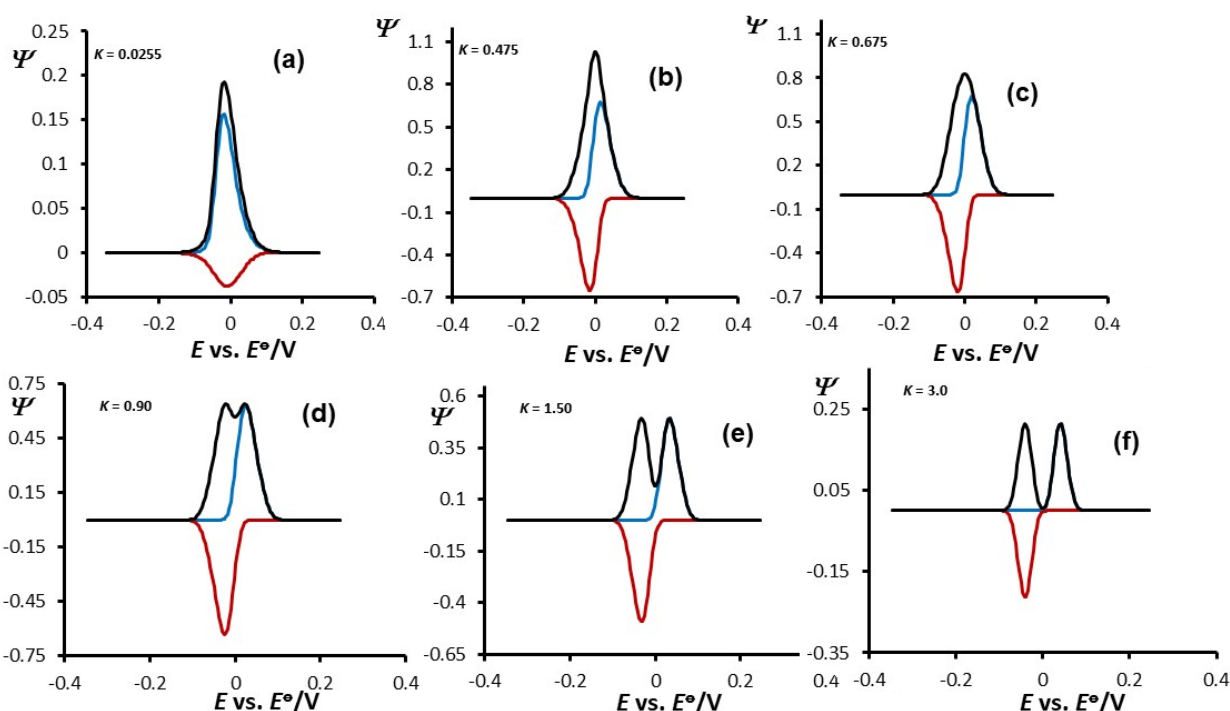
Овој едноставен површински механизам што подразбира размена на електрони помеѓу адсорбираните редокс форми Ox(ads) и Red(ads) со површината на работната електрода, може да се претстави со следната шема:



Покрај параметрите на потенцијалниот сигнал во квадратно-бранова волтаметрија (фреквенција, амплитуда, потенцијален инкремент), главните својства на симулираните волтамограми кај овој механизам се функција и на еден бездимензионален кинетички параметар поврзан со брзината на размена на електрони K , дефиниран како $K = k_s^0/f$. Овој бездимензионален параметар ја прикажува брзината на размена на електрони во однос на временската скала на мерењето на струјата во еден потенцијален SWV потенцијален пулс. Дефиницијата на K ($K = k_s^0/f$) покажува дека брзината на размена на електрони помеѓу површината на работната електрода и Ox и Red формите на адсорбираниот редокс лек зависи од должината на временската скала (фреквенцијата) на потенцијалниот пулс. Притоа, доколку може да се определи вредноста на K , тогаш може да се определи и вредноста на стандардната константа на брзина на пренос на електрони (k_s^0), што е исклучително важен параметар кој покажува колкава е брзината на размена на електрони на еден лек со дадена работна електрода (Gulaboski et al., 2019).

На слика 8. се прикажани серија од теоретски квадратно-бранови волтамограми на едноставна површинска реакција, симулирани при неколку вредности на бездимензионалниот електроден кинетички параметар K . Како што се зголемува брзината на реакцијата на размена на електрони помеѓу работната електрода и редокс-формите на адсорбираниот лек (Ox и Red), се забележува

значително зголемување на сите компоненти на струјата. Откако струјата на пикот ќе постигне максимална вредност при вредност на $K \approx 0.5$, се забележува значително намалување на струјата со понатамошното зголемување на K . Во исто време, катодниот (forward) пик започнува да се поместува кон попозитивни вредности за потенцијалот, додека анодниот (backward) пик се поместува во спротивната насока со зголемување на K . Како последица на ова настанува разделување (цепење) на нет SWV пикот (слика 8 d-f). Притоа, големината (потенцијалната разлика) помеѓу разделените нет пикови се зголемува пропорционално со K .

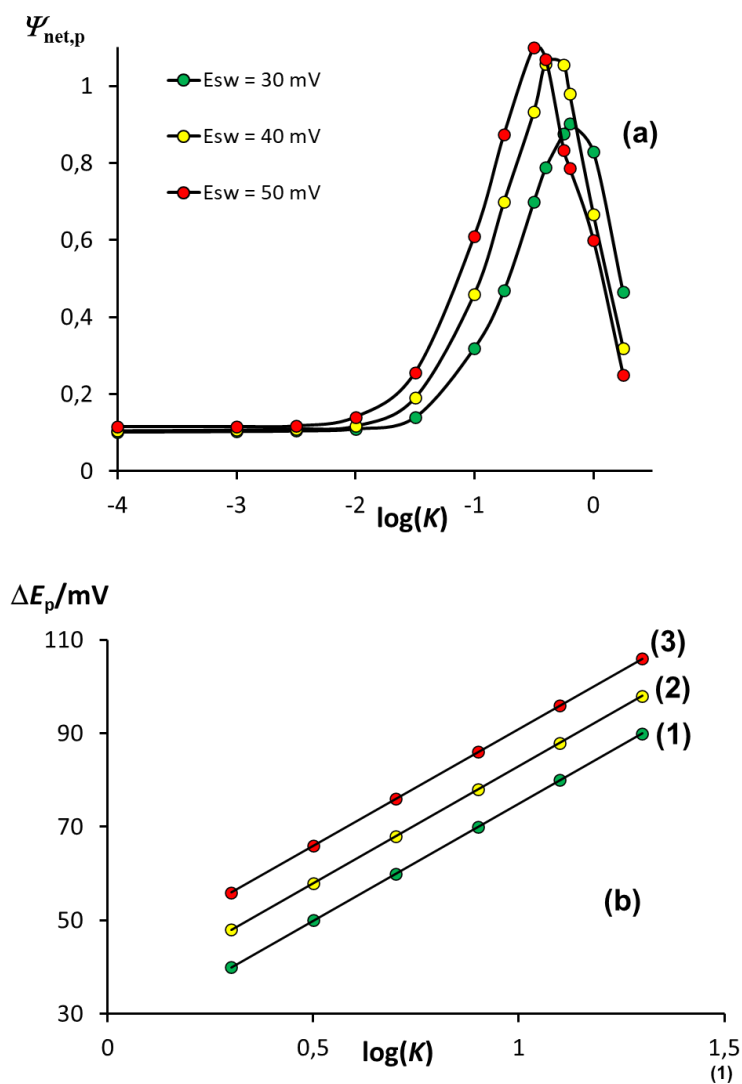


Слика 8. Едноставна површинска редокс реакција. На волтамограмите е прикажан ефектот на бездимензионалниот кинетички параметар K на карактеристиките на симулираните волтамограми. Параметрите за симулација се фреквенција на SW $f = 10$ Hz, SW амплитуда $E_{sw} = 50$ mV, потенцијал $dE = 4$ mV, температура $T = 298$ K. Во сите симулации вредноста за коефициентот на електронски трансфер $\alpha = 0.5$, а бројот на електрони кои се разменуваат е $n = 2$. Вредностите на бездимензионалниот кинетички параметар на електронскиот трансфер K се дадени во сликата. Во сите симулирани волтамограми, редуциската струја (forward) е означена со сина линија, оксидационската (backward) струја е означена со црвена линија, додека црната линија ја претставува „net“ струјата.

Figure 8. Simple surface redox reaction: Effect of the dimensionless electrode kinetic parameter K to the features of calculated square-wave voltammograms. The simulation parameters were SW frequency $f = 10$ Hz, SW amplitude $E_{sw} = 50$ mV, potential step $dE = 4$ mV, temperature $T = 298$ K. In all simulations, the value of electron transfer coefficient was $\alpha = 0.5$, while the number of electrons exchanged was $n = 2$. The values of the dimensionless kinetic parameter of electronic transfer K are given in the charts. In all simulated voltammograms in this work, the reduction (forward) current is assigned with blue line, the oxidation (backward) current is assigned with red line, while the black line represents the „net“-SWV current.

На слика 9a. е покажана зависноста на нет пик струјата како функција од $\log(K)$. Кривите на слика 9a. се симулирани за 3 различни вредности на SW-амплитудата. Овој т.н. „квазиреверзибилен максимум„ прикажан на работните криви на слика 9a. имплицира дека максималната нет SWV-пик струја е функција на брзината на реакцијата на електродата (преку K), како и од SW амплитудата. Ова е очекувано бидејќи кинетиката на електродната реакција зависи не само од формалната константа на брзината на трансферот на електроните (и на температура), туку и од применетиот потенцијал, кој е определен од големината на SW-амплитудата. Феноменот на квазиреверзибилен максимум се појавува кога брзината на трансферот на електрони и времетраењето на пулсниот потенцијал кај SW се синхронизирани (Mircevski et al., 2007, Mirceski & Gulaboski 2014, Mirceski et al., 2013, Mirceski & Lovric 1997, O`Dea et al., 1981, O`Dea & Osteryoung 1993). Експериментално, феноменот на квазиреверзибилен максимум може да се репродуцира со претставување на зависноста на измерената нет SW-струја на пиковите како функција од логаритам од инверзната вредност на фреквенцијата $\log(1/f)$. Притоа, на ваков начин се добива критичната фреквенција f_{\max} што одговара на максимумот на кривата при дадена амплитуда (слика 9a). Ако при дадена амплитуда се знае критичната вредност на параметарот K_{\max} (пример, за E_{sw} од 50 mV, K_{\max} е 1), тогаш знаејќи дека $K_{\max} = k_s^{\ominus} / f_{\max}$, од оваа релација може да се определи вредноста на константата на брзина на пренос на електрони k_s^{\ominus} . Од друга страна, цепенето на нет SWV-пикот настанува кај електрохемиските реакции што се карактеризираат со голема кинетика на пренос на електрони (Mirceski et al., 2013, Mirceski & Lovric 1997, Gulaboski et al., 2012). Кога брзината на трансферот на електроните е голема, времето што е потребно да настане електрохемиска трансформација на Ox(ads) во Red(ads) видовите на даден потенцијален пулс е кратко. Доколку времетраењето на потенцијалниот пулс е подолго од времето потребно да се постигне редокс трансформацијата на Ox(ads) во Red(ads), тогаш измерената струја на крајот од пулсот е многу мала. Тоа, пак, резултира со мала струја измерена кај вкупниот волтаметриски одговор. Притоа, постои линеарна зависност помеѓу потенцијалната сепарација помеѓу раздвоените пикови (ΔE_p) како функција од бездимензионалниот кинетички параметар K (слика 9b). Тоа покажува дека зависностите претставени на слика 9a. и 9b. овозможуваат да се пресмета вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар K , а со тоа и

вредноста на константата на брзина на пренос на електрони (k_s^\ominus), со едноставни експериментални постапки при експериментална промена на фреквенцијата на сигналот во квадратно-бранова волтаметрија (Mirceski et al 2007; Gulaboski et al., 2019; Komorsky et al., 1995).

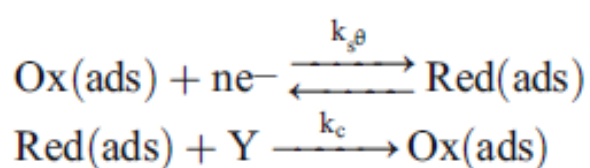


Слика 9. Едноставна површинска редокс реакција. а) Квази-реверзибилен максимум на едноставна површинска редокс реакција, симулирана за три различни вредности на амплитудата на SW. б) Зависност на сепарацијата на потенцијалот на разделените net SWV пикови како функција на $\log(K)$, симулирани за SWV амплитуди од 30mV (1), 40mV (2) и 50mV (3). Сите други параметри на симулацијата се исти како оние на Сл. 8.

Figure 9. Simple surface redox reaction. a) Quasi-reversible maxima of simple surface redox reactions simulated for three different values of SWV amplitude. b) Dependence of the potential separation of „split net SWV peaks“ as a function of $\log(K)$, simulated for square-wave amplitudes of 30mV (1), 40mV (2) and 50mV (3). All other simulation parameters are same as those in Fig. 8.

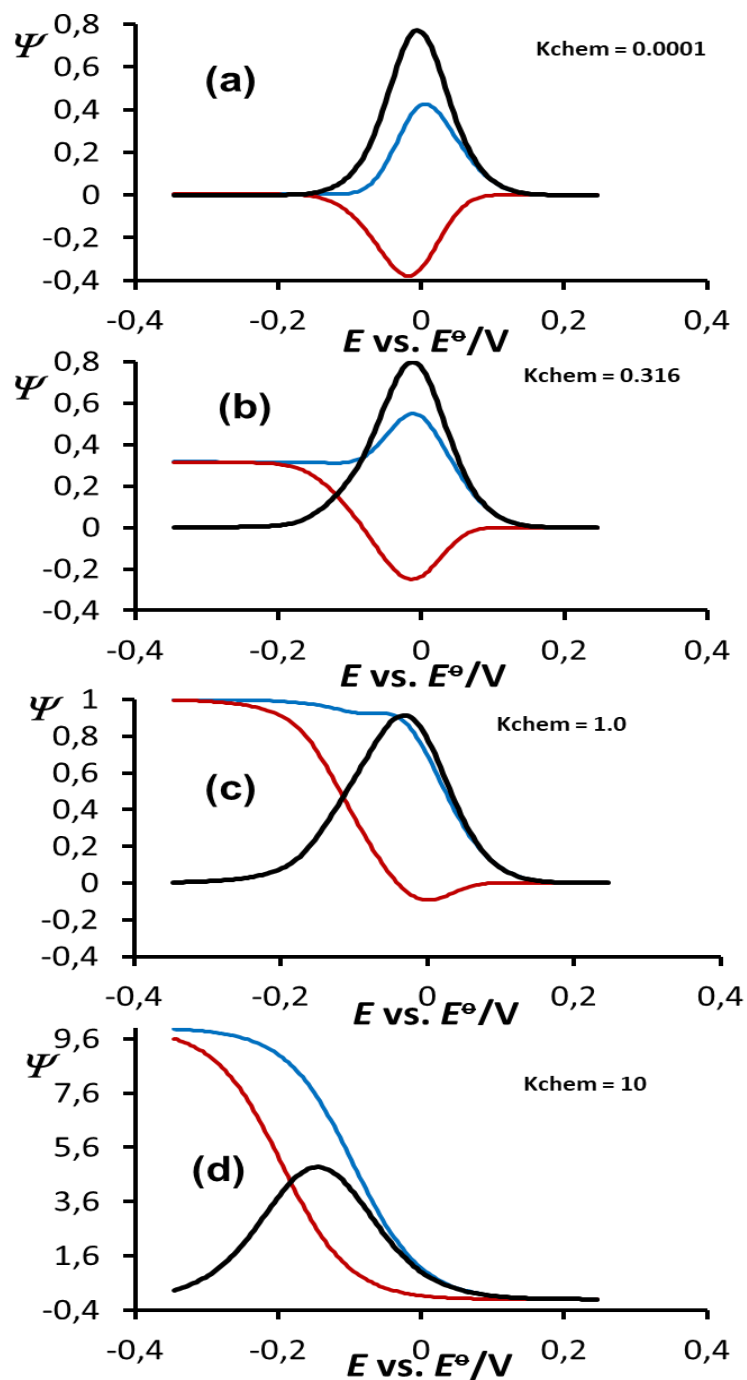
5.1.2. Површински каталитички (регенеративен) механизам на електродата (surface EC' mechanism)

Овој површински механизам подразбира размена на електрони помеѓу адсорбираните редокс-форми на даден лек (формите Ox(ads) и Red(ads) на испитуваниот редокс-лек) со површината на работната електрода. Притоа, Red(ads) формата преку иреверзибилна хемиска реакција со даден супстрат Y, придонесува за регенерација на почетната редокс-форма на лекот Ox(ads). Овој електроден механизам може да се претстави со следната шема:



Во фамилијата на површинските процеси на електродата поврзани со хемиска реакција, наједноставен случај е т.н. површински каталитички (регенеративен) механизам (surface EC'). Кај овој електроден механизам, иреверзибилна хемиска реакција помеѓу електрохемиски генерираниот продукт Red(ads) (редуцираната форма на даден електрохемиски површинско-активен лек) со даден реактант Y (втор лек што е присутен во голема концентрација во волтаметриската ќелија) придонесува за регенерација на иницијалниот реактант Ox(ads) во текот на периодот на мерењето на струјата на секој потенцијален пулс во SWV. На слика 10. се прикажани квадратно-бранови волтамограми симулирани при умерена брзина на реакцијата на пренос на електрони помеѓу електродата и редокс активните форми ($K = 0.5$) и при неколку вредности на каталитичкиот параметар (или регенеративен хемиски параметар) K_{chem} . Зголемувањето на интензитетот на редукциската (forward) и намалувањето на интензитетот на оксидациската (backward) струја поврзано со зголемувањето на K_{chem} е типично својство за овој електроден механизам. Ваквиот феномен е проследен со зголемување на нет пик струјата на квадратно-брановите волтамограми. Како што каталитичкиот параметар K_{chem} станува поголем, така и редукциската и оксидациската струја добиваат ист знак и се доближуваат една до друга со нивните вредности. Ова се случува кога брзината на каталитичката реакција е многу поголема од брзината на редокс трансформацијата на

површината на работната електрода. Како последица на овој феномен настанува повеќекратна употреба на стартниот електроактивен материјал во сегментот на мерење на времето на секој пулсен потенцијал, при што се продуцира струја што е пропорционална со K_{chem} . Поради специфичниот начин на мерење на струјата, во SWV се генерираат добро дефинирани нет SW-пикови за која било вредност на каталитичкиот параметар K_{chem} . Овој ефект е последица на диференцијалната природа на нет SW-компонентата. Покрај тоа, ова својство произлегува и од карактеристиките на forward и backward компонентите на струјата, кои се секогаш разделени до одреден степен на оската на потенцијалот доколку се аплицирани SW-амплитуди кои се поголеми од 10 mV (Gulaboski & Mirceski 2015). Бидејќи хемискиот кинетички параметар K_{chem} е директно поврзан со концентрацијата на супстратот „Y“ (а тоа е вториот лек во моделот), промената на параметарот K_{chem} може експериментално да се изврши со промена на концентрацијата на лекот „Y“, при константна фреквенција. *Линеарното зголемување на нет SWV-струјата на пикот како функција од концентрацијата на супстратот (вториот лек) $c(Y)$, е едно од карактеристичните својства кај овој механизам.* Притоа, при дадени услови (при дефинирана концентрација на лекот „Y“) но со примена на методите на „фитување“, на експерименталните со теоретските волтамограми (симулирани при идентични услови како и експерименталните волтамограми), може да се определи константата на брзина на хемиски интеракции помеѓу лекот „Y“ и редуцираната форма на електрохемиски активниот редокс-лек Red(ads). Покрај тоа, за оваа намена можат да се употребат и неколку методолошки пристапи што се опишани во литература (Mirceski & Gulaboski 2001, Mirceski & Gulaboski 2003), а се однесуваат на поместувањето на позицијата на квазиреверзибилниот максимум при различни концентрации на лекот „Y“. Константата на брзина на хемиска реакција (или константата на брзина на хемиски интеракции) помеѓу лекот Red(ads) и лекот „Y“ покажува дали и со колкава брзина реагираат овие два лека во дадени експериментални услови.

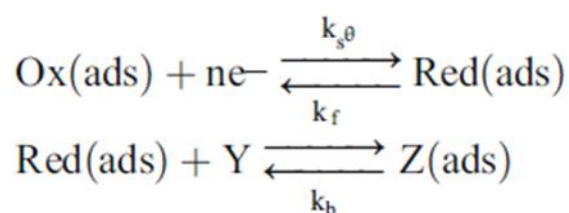


Слика 10. Површински EC' каталитички механизам: случај со умерена брзина на пренос на електрони. На сликите е прикажан ефектот на хемискиот (каталитички) параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на каталитичкиот параметар K_{chem} се 0.0001 (a), 0.316 (b), 1 (c) и 10 (d). Вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата K е 0.5.

Figure 10. Surface EC' catalytic mechanism: case with moderate electron transfer rate: Effect of the chemical (catalytic) parameter K_{chem} to the features of calculated SW voltammograms. The values of the catalytic parameter K_{chem} were 0.0001 (a), 0.316 (b), 1 (c) and 10 (d). The value of the dimensionless electrode kinetic parameter K was 0.5.

5.1.3. Површинска реакција на електродата поврзана со последователна реверзибилна хемиска реакција (surface EC_{rev})

Овој површински механизам подразбира размена на електрони помеѓу адсорбираните редокс форми на даден лек (формите Ox(ads) и Red(ads) на лекот) со површината на работната електрода, при што Red(ads) формата стапува во дополнителна реверзибилна хемиска реакција со даден супстрат Y. Овој механизам може да се претстави со следната шема:



Површинскиот електроден механизам, во кој електродната реакција е поврзана со реверзибилна хемиска реакција на електрохемиски генерираниот продукт (или EC_{rev}-механизам) често се среќава во волтаметријата на електродните реакции со имобилизирани ензими, како и кај многу липофилни физиолошки-активни супстанции кои можат да се адсорбираат на површината на електродата (Gulaboski et al., 2012; Gulaboski et al., 2018; Compton & Banks 2007, Mirceski & Lovric 2000; Mirceski & Lovric 2004; Garay & Lovric 2002; Helfrick et al., 2016). Кај овој механизам, реакцијата на размена на електроди се одвива на површината на електродата, при што електрохемиски генерираниот редокс продукт Red(ads) е вклучен во последователна хемиска реверзибилна реакција (Gulaboski et al., 2019). Главните карактеристики на волтаметриските одговори кај овој механизам се функција од електродниот кинетички параметар на размена на електрони $K = k_s^0/f$, како и од константата на рамнотежа на хемискиот чекор $K_{eq} = k_f/k_b$, но и од вкупната брзина на последователната хемиска реакција, дефинирана преку бездимензионалниот хемиски кинетички параметар $K_{chem} = (k_f + k_b)/f$. Притоа, k_f и k_b се константи на брзината на директната и повратната хемиска реакција помеѓу редуцираната форма на редокс-лекот Red(ads) и супстратот "Y" (односно вториот лек во нашиот модел). Во овој модел, константата на рамнотежа ја определува рамнотежната количина на Red(ads) формата на лекот, додека големината на хемискиот параметар K_{chem} ја

претставува брзината на отстранување/повторно снабдување на Red(ads) формата (од лекот 1), што се случува во временската рамка на секој потенцијален пулс.

- *Математички модел за површински ECrev-механизам*

Во математичкиот модел за овој електроден механизам е дефинирано дека и двете редокс форми на проучуваниот липофилен лек, Ox(ads) и Red(ads), се силно адсорбирани формирајќи мономолекуларен слој на површината на работната електрода. Притоа, се дефинира дека не постојат интеракции помеѓу адсорбираните редокс-молекули и нема трансфер на маса со дифузија до или од површината на работната електрода. Со „Y“ е означено редокс-неактивно соединение, присутно во вишок во волтаметриската ќелија, што може да реагира само со Red(ads) видовите. Покрај тоа, претпоставуваме дека реакцијата помеѓу Red(ads) и „Y“ е хемиски реверзибилна. Бидејќи „Y“ е присутен во вишок во електрохемиската ќелија, неговата концентрација ќе биде константна за време на електрохемиските мерења. Ова значи дека хемискиот чекор во механизмот на реакцијата е од псевдопрв ред.

Во математичкиот модел важат следните почетни и гранични услови:

$$t = 0; \Gamma(\text{Ox}) = \Gamma^*(\text{Ox}); \Gamma(\text{Red}) = 0$$

$$t > 0; \Gamma(\text{Ox}) + \Gamma(\text{Red}) = \Gamma^*(\text{Ox})$$

$\Gamma(\text{Ox})$ и $\Gamma(\text{Red})$ се површинските концентрации на Ox(ads) и Red(ads), соодветно, додека $\Gamma^*(\text{Ox})$ е вкупната концентрација на редокс учесниците на $t = 0$ на површината на работната електрода. За $t > 0$, важат следниве услови за разгледаниот механизам:

$$d\Gamma(\text{Ox})/dt = -I/(nFS)$$

$$d\Gamma(\text{Red})/dt = I/(nFS) + k_f\Gamma(\text{Red}) - k_b\Gamma(\text{Z})$$

Под претпоставка дека важи Батлер-Волмеровиот формализам (закон) на површината на електродата, струјата може да се дефинира како функција на површинските концентрации на редокс учесниците Ox и Red, како и кинетиката

на брзина на пренос на електрони и применетиот потенцијал во следнава форма:

$$I/(nFS) = k^{\circ}_s \exp(-\alpha\Phi) [\Gamma(\text{Ox}) - \exp(\Phi) \Gamma(\text{Red})]$$

Во последната равенка, I е симбол за електричната струја, n е бројот на електрони разменети во текот на електрохемиската трансформација на површината на работната електрода, S е активната површина на работната електрода, додека α е коефициент на пренос на електрони (α може да има вредности од 0.1 до 1). Бездимензионалниот потенцијал Φ е дефиниран како $\Phi = nF(E - E^{\circ}_{\text{Ox(ads) Red(ads)}})/RT$. Во равенката, F е Фарадеева константа (96485 C/mol), R (8.314 Jmol⁻¹K⁻¹) е универзална гасна константа, T е термодинамичка температура, додека $E^{\circ}_{\text{Ox(ads)Red(ads)}}$ е стандарден редокс потенцијал на Ox(ads) и Red(ads) парот (Gulaboski et al., 2012; Mirceski et al., 2007; Bard & Faulkner 2004; Molina & Gonzales 2016, Compton & Banks 2007). Рекурентните формули за пресметување на бездимензионалните струи Ψ за теоретските квадратно-бранови волтамограми како функција од применетиот потенцијал се дадени во продолжение:

$$\Psi_m :=$$

$$\frac{K \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_m} - \frac{K}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_m} \cdot \sum_{i=1}^{m-1} \Psi_i - \frac{K \cdot K_{\text{eq}}}{1+K_{\text{eq}}} (K_{\text{chem}})^{-1} \cdot e^{\Phi_m \cdot (1-\alpha)} \cdot \sum_{i=1}^{m-1} (\Psi_i \cdot M_i)}{1 + \frac{K}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_m} + \frac{K \cdot K_{\text{eq}}}{1+K_{\text{eq}}} (K_{\text{chem}})^{-1} \cdot e^{\Phi_m \cdot (1-\alpha)} \cdot M_1 + \frac{K_{\text{chem}}}{1+K_{\text{eq}}} \cdot e^{(1-\alpha) \cdot \Phi_m} \cdot M_1}$$

Бездимензионалната струја Ψ е нормализирана со изразот $\Psi = I/[nFSi^{\circ}(\text{Ox})]$. Рекурентната формула е евалуирана со помош на методот на нумеричка интеграција (Mirceski et al., 2007). Комерцијално достапниот пакет MATHCAD 14 се користи за пресметување на теоретски SW-волтамограми.

Пресметаните теоретски SW-волтамограми кај овој електроден механизам се функција на параметрите на применетиот потенцијал (амплитуда E_{sw} , потенцијален чекор dE). Покрај тоа, теоретските SW-волтамограми зависат и од коефициентот на пренос на електрони α , константата на рамнотежа на

последователната хемиска реакција K_{eq} , како и од двата бездимензионални кинетички параметри K и K_{chem} . Бездимензионалниот кинетички параметар K (во некои литературни податоци е означен и како K_{ET}) е поврзан со брзината на хетерогениот трансфер на електрони помеѓу работната електрода и атсорбираниот редокс пар. Овој параметар е дефиниран со изразот $K = k^0_s/f$. Со k^0_s (единица s^{-1}) е дефинирана стандардната константа на брзина на пренос на електрони, а f е квадратно-брановата фреквенција. SW-фреквенцијата е дефинирана како $f = 1/t$, каде t е времетраењето на секој потенцијален SW- пулс. За пресметување на теоретските волтамограми SW-фреквенцијата f е поставена на 10 Hz, SW амплитудата изнесува $E_{sw} = 50$ mV, додека потенцијалниот чекор dE е 4 mV во сите извршени пресметки. Дополнително, пресметаните SW-волтамограми за површинскиот ECrev механизам зависат од бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} , дефиниран како $K_{chem} = \epsilon/f$, каде ϵ е хемиски параметар (s^{-1}) дефиниран како $\epsilon = (k_f+k_b)$. k_f и k_b се константи на брзина на директната и повратната реакција, чекори во последователната хемиска реакција. Бездимензионалната вредност на хемискиот параметар K_{chem} е поврзан со повторно набудување/отстранување на Red(ads) во временската рамка на потенцијалните импулси каде што се мери струјата во SWV. *Важно е да се напомене дека кога се студираат интеракции на два лека што може да се опишат со овој механизам, вредноста на K_{chem} кореспондира на константата на брзината на интеракции помеѓу двата лека, додека K_{eq} кореспондира на хемиска рамнотежа или константата на стабилност помеѓу тие два лека (во случаи кога се формира стабилен или умерено стабилен комплекс).* Во рекурентните формули дадени погоре, M е нумерички фактор за интеграција дефиниран како $M = \exp(\epsilon m/50) - \exp(\epsilon(m-1)/50)$, каде што „ m “ е сериски број на временските интервали. Рамнотежната константа K_{eq} на хемискиот чекор е дефинирана како $K_{eq} = k_f/k_b$. Додека вредноста на K_{eq} ја дефинира рамнотежната количина на електроактивните видови на површината на работната електрода, K_{chem} е директно поврзана со брзината на хемиска конверзија на Red(ads) за временската рамка на мерење на струјата во секој потенцијален SW-пулс. Во сите симулации, почетниот потенцијал е поставен на 0.25 V, а скеновите се насочени кон финален негативен потенцијал од -0.35 V. Во сите пресметки вредноста на стандардниот редокс-потенцијал на редокс-парот Ox(ads)/Red(ads) е до 0.00 V. Редукциската струја ја дефинираме како

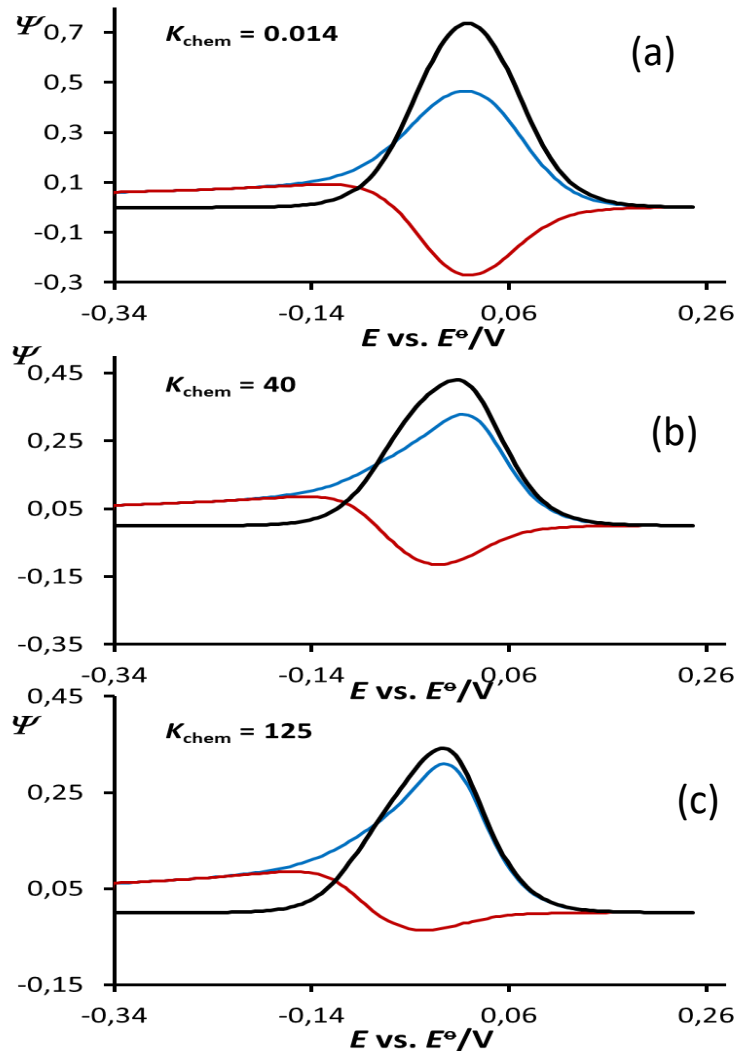
позитивна, а оксидациската струја како негативна и ова е во согласност со Американската конвенција за електрохемија (Gulaboski & Mihajlov 2011, Gulaboski et al., 2008, Gulaboski & Mirceski 2015, Gulaboski 2009).

Површинскиот ECrev-механизам често што е претставен во овој дел од докторската работа, покрај тоа што е застапен кај интеракциите помеѓу разни лекови, истиот е присутен и во многу протеин-филм ензимски реакции (Armstrong et al., 1997; Armstrong 2015, 2002). Овој механизам се јавува во случаи кога електрохемиски генерираната форма на површината на електродата е нестабилна и реагира на хемиски реверзибилен начин со даден супстрат. Во овој случај се разработуваат неколку аспекти на површинскиот ECrev-механизам карактеризиран главно со брз чекор на пренос на електрони помеѓу работната електрода и ензимскиот редокс пар. Со објаснувањето на теоретските модели на овој механизам на експерименталистите се овозможува да се препознаат површинскиот ECrev-механизам и да се проценат релевантните термодинамички и кинетички параметри.

Доколку квадратно - бранова волтаметрија (SWV) се применува како работна техника, во редокс однесувањето на системи каде постои брза размена на електрони со работната електрода, како главни феномени се јавуваат „цепењето на net SWV-пикот“ (Mirceski et al., 2007; Mirceski & Lovric 1997) и „квазиреверзибилен максимум“ (Gulaboski et al., 2005, Lovric 1995, Gulaboski 2019).

- Ситуација со бавна до умерена брзина на трансфер на електрони кај површински ECrev системи

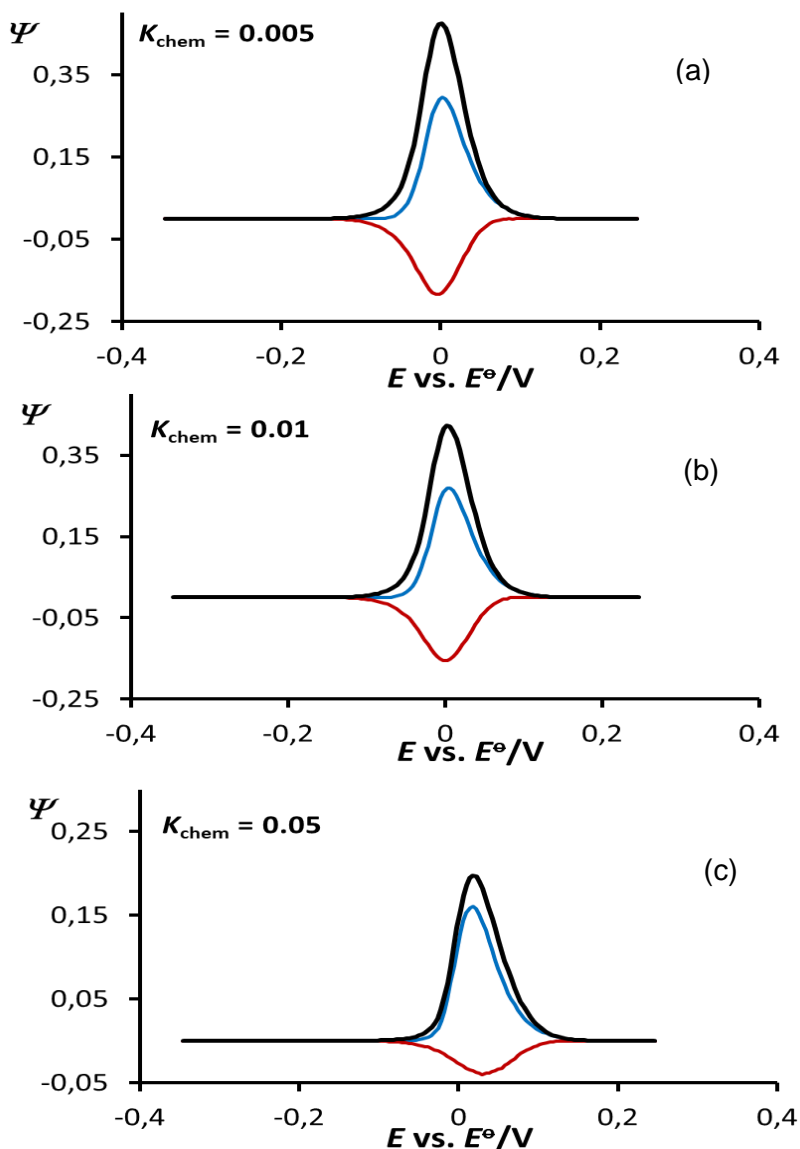
Бидејќи последователната хемиска реакција влијае на површинската концентрација само на Red(ads) видовите, се очекува дека кинетиката на хемискиот чекор треба да влијае само на реоксидациските SWV-струји. Сепак, овој ефект се гледа до некаде при дифузиски ECrev-реакции. Бидејќи кинетиката на последователната хемиска реакција влијае главно на „повратната (backward)“ компонента на SW-струјата (т.е. реоксидациската компонента на струјата во овој случај) на дифузионите ECrev-системи (волтамограми на слика 11.) (Mirceski et al., 2007, Compton & Banks 2007), кај „едноставните“ површински ECrev-механизми се забележуваат доста комплексни сценарија со SWV.



Слика 11. Дифузишки ЕСгев-механизам: Симулирани квадратно-бранови волтамограми каде волтаметриските компоненти на струјата се функција на бездимензионалниот хемиски параметар на последователната хемиска реакција K_{chem} . Другите симулациски параметри се: коефициент на дифузија $D=5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; бездимензионален кинетички параметар $K=0.1$; константа на рамнотежа на хемискиот чекор $K_{\text{eq}}=10$; коефициент на пренос на електрони $\alpha=0.5$; фреквенција $f=10 \text{ Hz}$; потенцијален чекор $dE=4 \text{ mV}$; амплитуда $E_{\text{sw}}=50 \text{ mV}$; број на разменети електрони $n=2$; температура од $T=298 \text{ K}$, стандарден редокс потенцијал на редокс пар $E^{\text{Ox/Red}}=0.00 \text{ V}$. Вредноста на K_{chem} е на 0.014 (a), 40 (b) и 125 (c).

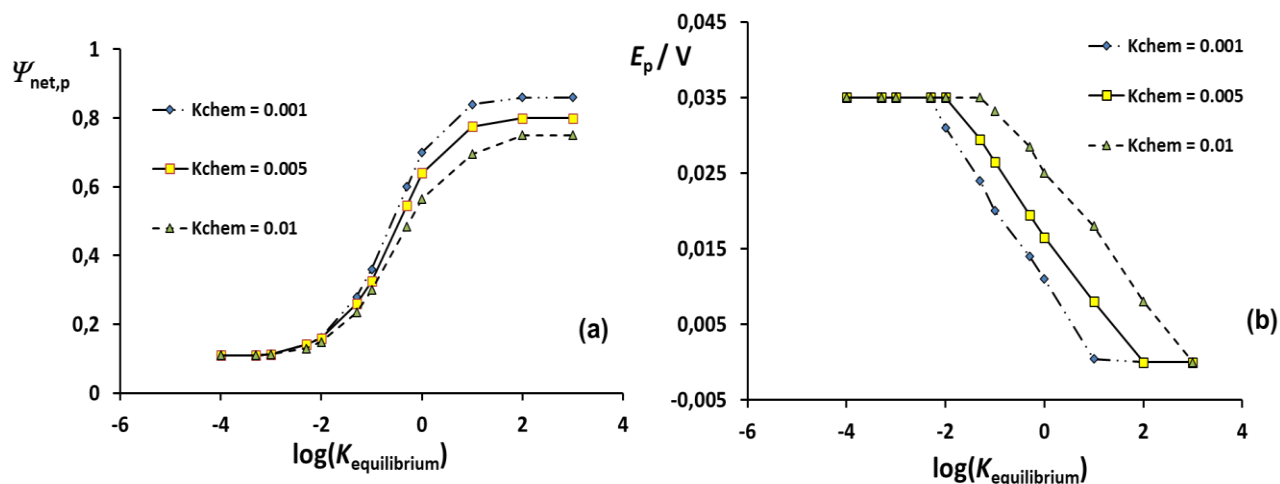
Figure 11. Diffusional Ecrev mechanism: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) current components as a function of dimensionless chemical parameter of follow-up chemical reaction K_{chem} . Other simulation parameters were: diffusion coefficient $D=5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; dimensionless kinetic parameter of electrode reaction $K=0.1$; equilibrium constant of follow-up chemical step $K_{\text{eq}}=10$; electron transfer coefficient $\alpha=0.5$; SW frequency $f=10 \text{ Hz}$; potential step $dE=4 \text{ mV}$; square-wave amplitude $E_{\text{sw}}=50 \text{ mV}$; number of exchanged electrons $n=2$; temperature of $T=298 \text{ K}$, standard redox potential of redox couple $E^{\text{Ox/Red}}=0.00 \text{ V}$. Value of chemical parameter K_{chem} was set to 0.014 (a), 40 (b) and 125 (c).

На слика 12. а-с, прикажан е ефектот на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} на SWV-компоненти на струјата кај површинска ECrev-реакција со умерена брзина на пренос на електрони ($K = 0.1$, и $K_{\text{eq}} = 1$).



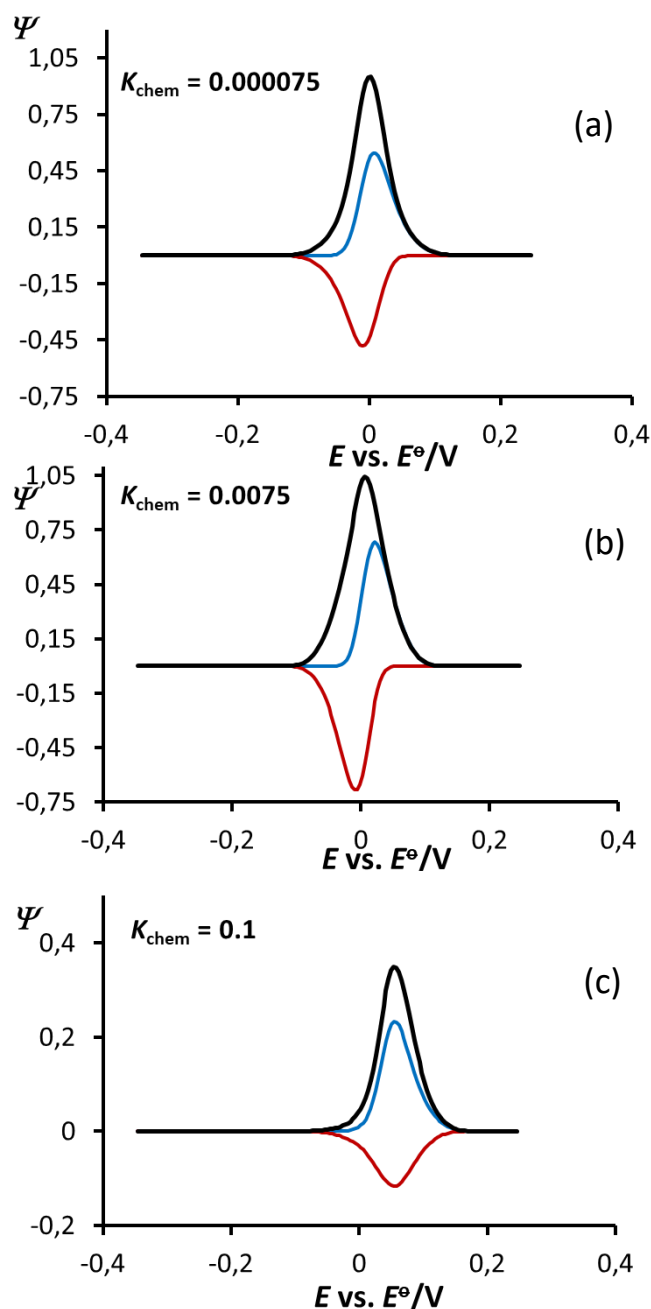
Слика 12. Површински ECrev-механизам: Симулирани квадратно-бранови волтамограми кои ги прикажуваат компонентите на SW-струите: редукциска (сина линија), оксидациска (црвена линија) и нет (црна линија) како функција на бездимензионалниот хемиски параметар на последователната хемиска реакција K_{chem} . Другите параметри за симулација се исти како оние на Слика 11. Вредноста на хемискиот параметар K_{chem} е поставена на 0.005 (а), 0.01 (б) и 0.05 (с).
 Figure 12. Surface ECrev mechanism: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) current components as a function of dimensionless chemical parameter of follow-up chemical reaction K_{chem} . The other simulation parameters were same as those in Figure 11. Value of chemical parameter K_{chem} was set to 0.005 (a), 0.01 (b) and 0.05 (c).

Како што се зголемува брзината на последователната хемиска реакција, се гледа ефект на намалување на струјата не само на реоксидациските (backward) SWV-струји, но и во значителен степен, исто така, се забележува намалување на редукциските (forward) на компоненти на SWV-струите. Овој ефект бара подлабока елаборација особено за површинската ECrev-реакција во SWV, бидејќи е изведена со слични површински редокс системи (Gulaboski, 2019). Во такво сценарио, важно е да се нотираат т.н. „сигмоидалните“ зависимости помеѓу нет-пикот на струјата и пик-потенцијалите на нет SWV-пиковите како функција на рамнотежната константа на последователниот хемиски чекор $\log(K_{eq})$ во случај на бавни до умерени брзини на реакцијата на електродата кои се пријавени во литература (Mirceski et al., 2007; Compton & Banks 2007), (слика 13).



Слика 13. Површински ECrev-механизам: (а) Зависност на струите на пиковите на нет SWV-симулираните волтамограми (а) и на нет SWV-потенцијалите (b) како функција на логаритам на константа на рамнотежа на последователен хемиски чекор $\log(K_{eq})$. SW-волтамограмите беа пресметани за три вредности на хемискиот параметар K_{chem} од 0.001, 0.005 и 0.01. Другите параметри за симулација беа исти како оние на Слика 12. Figure 13. Surface ECrev mechanism: (a) Dependence of the net peak currents of simulated square-wave voltammograms (a) and of net-SWV peak potentials (b) as a function of logarithm of equilibrium constant of follow-up chemical step $\log(K_{eq})$. SW voltammograms were calculated for three values of chemical parameter K_{chem} of 0.001, 0.005, and 0.01. Other simulation parameters were same as those in Figure 12.

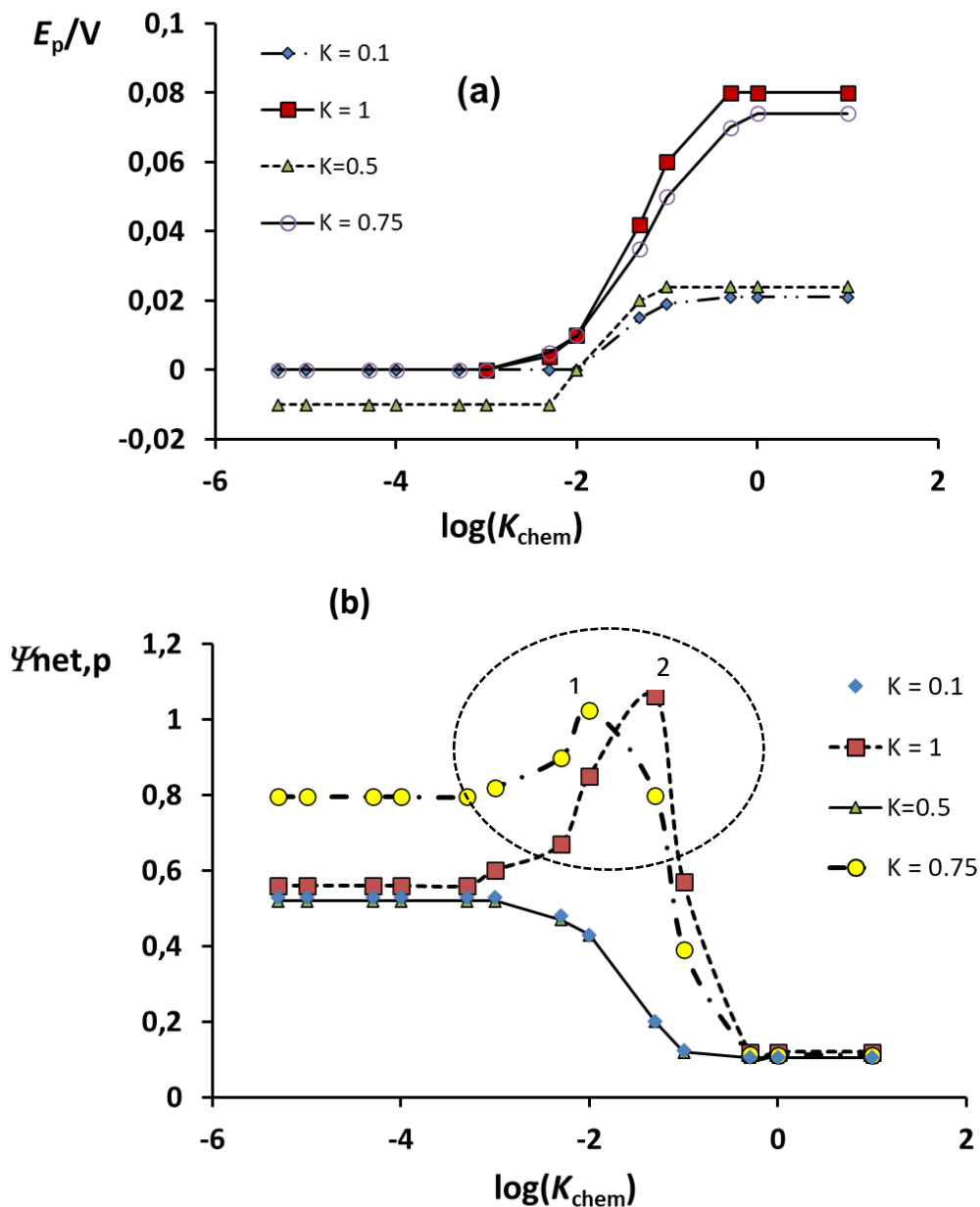
Значително покомплексна ситуација постои кога реакцијата на размена на електрони помеѓу електродата и редокс парот кај површинските ECrev- системи станува побрза ($K=0.65$). Ако, на пример, имаме ситуација каде $0.50 < K < 1.05$, тогаш се забележува доста сложен ефект на K_{chem} на сите SWV- компоненти на струјата (слика 14).



Слика 14. Површински ECrev-механизам: Симулирани квадратно-бранови волтамограми кои ги покажуваат редукциската (сина линија), оксидациската (црвена линија) и нет (црна линија) компонентите на струјата како функција на бездимензионалниот хемиски параметар на последователна хемиска реакција K_{chem} . SW-волтамограмите се симулирани за вредност на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата $K=0.65$ (умерена брзина на пренос на електрони). Вредноста на хемискиот параметар K_{chem} е поставена на 0.000075 (a), 0.0075 (b) и 0.1 (c). Останатите симулациски параметрите се исти како оние на Слика 11.

Figure 14. Surface ECrev mechanism: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) current components as a function of dimensionless chemical parameter of follow-up chemical reaction K_{chem} . SW voltammograms are simulated for value of dimensionless electrode kinetic parameter $K=0.65$ (moderate rate of electron transfer). Value of chemical parameter K_{chem} was set to 0.000075 (a), 0.0075 (b) and 0.1 (c). The other simulation parameters were same as those in Figure 11.

Во овој регион на вредности за K , брзината на последователната хемиска реакција K_{chem} не покажува ефект на SWV-компонентите на струјата се до вредности на $K_{\text{chem}} = 0.002$. Сепак, понатамошно зголемување на K_{chem} , во регионот $0.002 < K_{\text{chem}} < 0.02$, предизвикува зголемување (но, не намалување!) на сите SWV-компоненти на струјата (споредба на волтамограмите од Слика 14a. со оние на слика 14b). Во случај кога $K_{\text{chem}} > 0.02$ (значајна брзина на последователниот хемиски чекор), се забележуваат „очекувани“ карактеристики за брзината на хемискиот чекор кај ре-оксидационата SWV-компонента на струјата (слика 14c). Покрај намалувањето кај ре-оксидациската SWV-компонента на струјата, во регионот $0.02 < K_{\text{chem}} < 0.1$, се забележува значително намалување на редукциската (forward) SWV-компонента на струјата (споредба на волтамограми на слика 14c. со 14b). За вредности на $K_{\text{chem}} > 0.1$, повратната-backward (ре-оксидациска) SWV-компонента на струјата целосно се намалува и во овој случај нема повеќе ефект на хемиската брзина на карактеристиките на SW-волтамограми. На слика 15. се прикажани зависимости на нет SWV-одговорите $E_{\text{net,p}} \text{ vs } \log(K_{\text{chem}})$ и $\Psi_{\text{net,p}} \text{ vs } \log(K_{\text{chem}})$, симулирани за неколку вредности на бездимензионалниот кинетичкиот параметар на електрода K и $K_{\text{eq}}=1$. Во вакво сценарио, зависноста $E_{\text{net,p}} \text{ vs } \log(K_{\text{chem}})$ (слика 15a.) е во согласност со претходните наоди на овој механизам (Mirceski et al., 2007; Molina & Gonzales 2016, Compton & Banks 2007). Линеарниот дел на кривите на зависноста на $E_{\text{net,p}} \text{ vs } \log(K_{\text{chem}})$ од слика 15a. е дефиниран со изразот: $-2.303 RT/F[\log(K_{\text{eq}}/(1+K_{\text{eq}}))]$ и оваа формула може да се употреби за определување на вредноста на константата на хемиска рамнотежа K_{eq} . Меѓутоа, за умерено брзи реакции на електродата, што се карактеризираат со брзина на пренос на електрони во интервалот $0.40 < K < 1.05$, се забележуваат добро дефинирани локални максими кои се појавуваат на врвот на сигмоидните криви на зависностите $\Psi_{\text{net,p}} \text{ vs } \log(K_{\text{chem}})$ (заокружениот регион на кривите 1 и 2 на слика 15b). Зголемувањето на струјата на нет SWV-одговорите во регионот од $0.02 < K_{\text{chem}} < 0.1$ е последица на специфичните хроно-амперометриски карактеристики на овој механизам во квадратно-бранова волтаметрија.



Слика 15. Површински ECreв-механизам: (а) Зависност на нет пик потенцијалите на симулираните квадратно-бранови волтамограми (а) нет SWV- пик струи (b) како функција од логаритам на бездимензионалниот хемиски параметар на последователниот хемиски чекор $\log(K_{\text{chem}})$. SW-волтамограмите се пресметани за четири вредности на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата K од 0.1, 0.5, 0.75 и 1. Константата на рамнотежа на последователната хемиска реакција е поставена на $K_{\text{eq}}=10$. Другите параметри за симулација се исти како оние на Слика 11.

Figure 15. Surface ECreв mechanism: (a) Dependence of the net peak potentials of simulated square-wave voltammograms (a) and of net-SWV peak currents (b) as a function of logarithm of dimensionless chemical parameter of follow-up chemical step $\log(K_{\text{chem}})$. SW voltammograms were calculated for four values of dimensionless electrode kinetic parameter K of 0.1, 0.5, 0.75 and 1. Equilibrium constant of the follow-up chemical reaction was set to $K_{\text{eq}}=10$. Other simulation parameters were same as those in Figure 11.

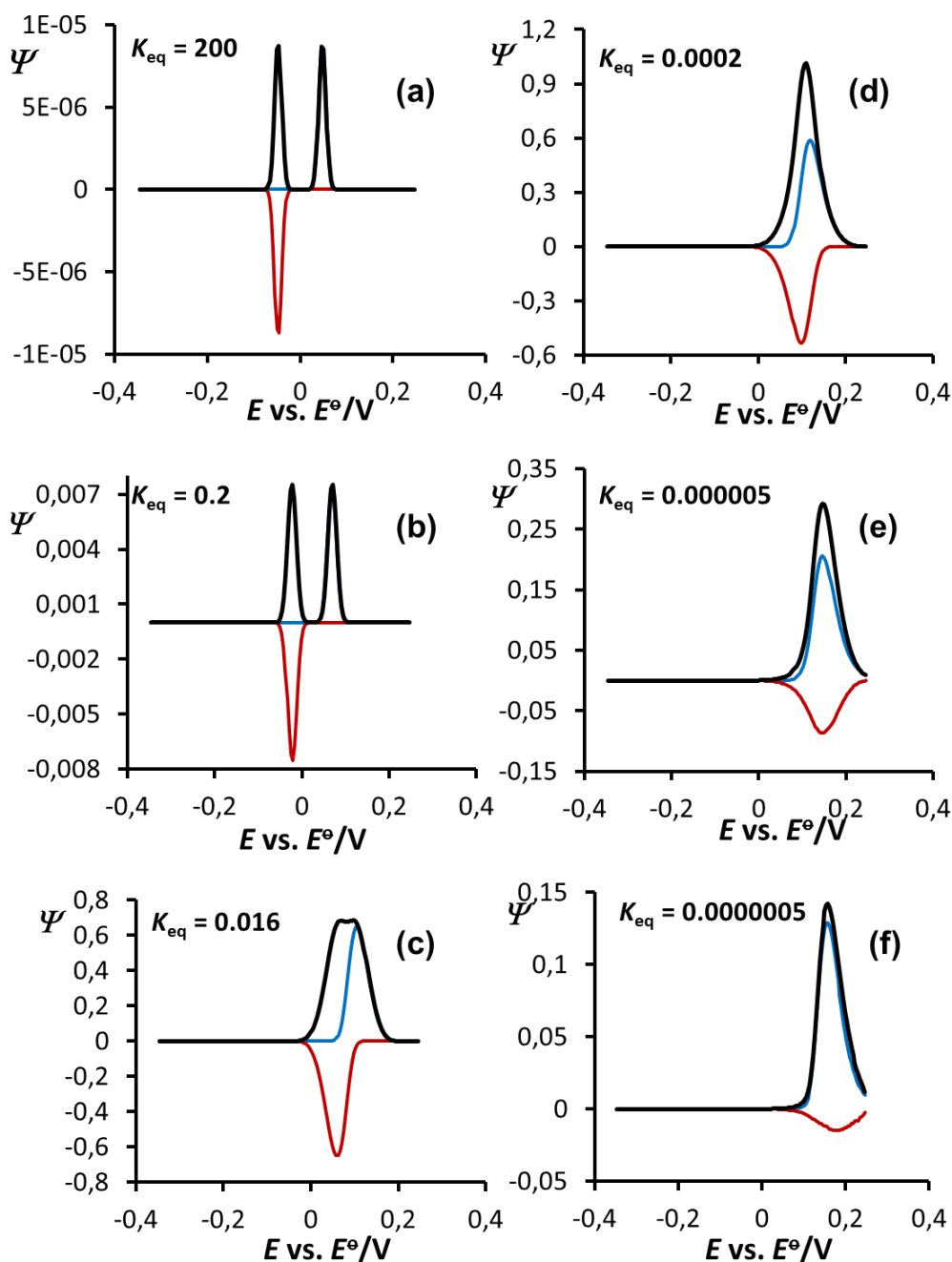
Овој ефект се појавува кога постојат споредливи брзини помеѓу хемиско отстранување/повторно-снабдување на Red(ads) и нивното електрохемиско генерирање на површината на работната електрода. Клучна улога во такво сценарио игра брзината на хемиско отстранување на Red(ads) , но и на оние Red(ads) видови што се создадени како резултат на полуреакцијата $\text{Ox(ads)} + ne \rightarrow \text{Red(ads)}$ која се одвива во т.н. „мртво време“ (време на мерење без струја) во дефинирани потенцијални SW „редукциски“ импулси. Овој ефект, заедно со термодинамичката можност кај површинските реакции да се одвиваат и двете полуреакции истовремено во дадени „саморедукциски“ и „самооксидациски“ потенцијални пулсеви, придонесува за значително зголемување на сите SWV-компоненти на струјата во регионот на умерени брзини на хемискиот чекор. Набљудуваните феномени претставени на слика 14. и 15b. се сосема нов аспект на површинскиот ECrev-механизам студирани теоретски во услови на SWV.

Покрај од брзината на кинетиката на електродите, овој феномен зависи и од вредноста на константата на рамнотежа на последователниот хемиски чекор. Кај површинскиот ECrev-механизам ситуацијата е посложена, поради реверзибилната последователна хемиска реакција што е поврзана со електрохемискиот чекор. Тоа значи дека во разработката на карактеристиките на површинската ECrev-реакција со SWV, треба да разгледаме уште еден степен на слобода, односно ефектот на константата на рамнотежа K_{eq} . Бидејќи ефектите од хемискиот чекор се многу поизразени кај површинските ECrev-системи кои се карактеризираат со брза електродна реакција, во овој дел ќе се фокусираме на ефектите на K_{eq} и K_{chem} на SW-волтамограми со брз пренос на електрони.

- *Ситуација на брз чекор на пренос на електрони кај површински ECrev-системи*

Во овој дел се разгледува површинскиот ECrev-механизам проследен со брз чекор на пренос на електрони на електродна реакција и со многу бавна брзина на последователниот хемиски чекор. Прикажани на слика 16 се репрезентативни SW-волтамограми пресметани за K од 20 (брза електродна реакција), K_{chem} од 0.000001 (многу слаба кинетика на последователна хемиска реакција) и неколку вредности на рамнотежната константа на последователниот

хемиски чекор K_{eq} . При елаборирањето на волтаметриските карактеристики прикажани во Слика 16, важно е повторно да нагласиме дека вредноста на K_{eq} ја одразува рамнотежната количина на електроактивните Red(ads) видови ($K_{eq}=k_i/k_b$). Ако вредноста на K_{eq} е висока ($K_{eq}=200$), тогаш се забележуваат SW-волтамограми идентични како тие за едноставна површинска редокс реакција (Gulaboski et al., 2008; Mirceski et al., 2007; Mirceski & Lovric 1997) (слика 16a.). Забележлива карактеристика на едноставните површински редокс процеси кои се карактеризираат со многу брза кинетика на пренос на електродата е енормното намалување на интензитетот на измерената струја и феноменот на „расцепување на нет SWV-пикот“ (Mirceski et al., 2007, Mirceski & Lovric, 1997). Овие појави се случуваат кога чекорот на преносот на електрони е брз, така што времето потребно за конвертирање на Ox(ads) до Red(ads) при дефинирани SW-потенцијални пулсеви е пократко. Ако временскиот период за мерење на струјата на тие потенцијални пулсеви е подолг од времето потребно за редокс трансформација на Ox(ads) во Red(ads), големината на измерените струи ќе биде многу мала. Ова е последица на малата количина на Ox(ads) што останува „достапна“ за да се редуцира до Red(ads) на крајот на SW- потенцијалните пулсеви, односно во краткиот временски период на мерење на струјата во SWV. Истовремено, како што кинетиката на редокс реакцијата на електродата се зголемува, се забележува поместување на редукцискиот пик кон попозитивни потенцијали и на оксидацискиот пик кон понегативни потенцијали. Ова однесување ќе предизвика „цепење“ на нет SWV-одговорот на два симетрични пика (слика 16a). Како што се забележува на сликите 16a. и 16b., во некои региони на SW-волтамограмите, forward и нет струите се преклопуваат. Ова е поради начинот на мерења во SWV и „придонесот на нулта (zero) струја на (backward) струите во тие сегменти (Mirceski et al., 2007, Mirceski & Lovric, 1997). Значи, во тие сегменти од пресметани волтамограми, forwards струјата е всушност нет струјата во исто време.

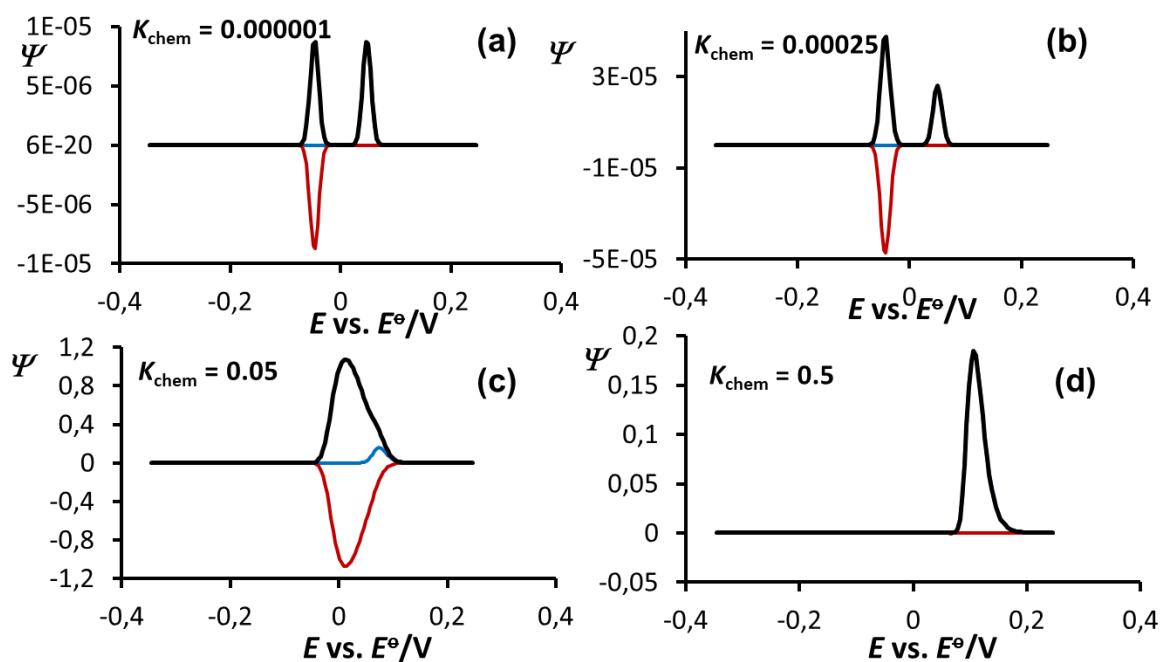


Слика 16. Површински ECreв-механизам со брза реакција на електродата: Симулирани квадратно-бранови волтамограми со што ги покажуваат редуциските (сина линија), оксидациските (црвена линија) и нет (црна линија) струи како функција на константата на рамнотежа на последователната хемиска реакција K_{eq} . $K_{eq}= 200$ (a); 0.2 (b); 0.016 (c); 0.0002 (d); 0.000005 (e) и 0.0000005 (f). Вредноста на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} е поставена на 0.000001, додека вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата е поставен на $K=20$. Останатите параметри за симулација се исто како оние на слика 11.

Figure 16. Surface ECreв mechanism with fast electrode reaction: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) currents as a function of equilibrium constant of follow-up chemical reaction K_{eq} . $K_{eq}= 200$ (a); 0.2 (b); 0.016 (c); 0.0002 (d); 0.000005 (e) and 0.0000005 (f). Value of dimensionless chemical parameter K_{chem} was set to 0.000001, while the value of the dimensionless electrode kinetic parameter was set to $K=20$. The other simulation parameters were same as those in Figure 11.

Феноменот на раздвојувањето (цепењето) на нет SW-волтаметриските одговори не зависи само од брзината на реакцијата на електродата, туку и од параметрите на сигналот (амплитуда E_{sw} , потенцијален чекор dE) (Mirceski et al., 2007; Mirceski & Lovric 1997). Во литературата (Mirceski & Lovric 1997), дадена е листа на критични вредности на E_{sw} , dE при кои вредности може да се постигне разделување на нет SW-пикот при различни кинетики на електродните реакции. Покрај тоа, во литературата (Mirceski et al., 2007; Mirceski & Lovric 1997), претставени се и оптималните вредности на E_{sw} , dE што може да се користат за аналитички апликации. Најчесто, квадратно-брановата амплитудата E_{sw} од 30 до 60 mV и потенцијален чекор dE од 2 до 5 mV се гледаат како оптимални параметри за аналитички апликации (Mirceski et al., 2007). Кога рамнотежната константа K_{eq} добива вредности пониски од 1, тогаш првично набљудуваме две забележителни карактеристики на пресметаните SW волтамограми (слика 16b и 16c): прво, струјата на сите SW компоненти се зголемува со намалување на K_{eq} и второ, растојанието помеѓу поделените SW- пикови се намалува со намалување на K_{eq} . Последниот ефект е главно предизвикан од поместување на реоксидацискиот пик кон попозитивни вредности со намалување на K_{eq} . На крајот, дополнително намалување на K_{eq} до вредност од 0.0002 доведува до појава на единечен нет SW-волтамограм со максимална SW нет пик струја и со пик потенцијал на нет SWV-одговорот поместен за околу 100 mV попозитивно од стандардниот редокс-потенцијал $E^{0}_{Ox(ads)/Red(ads)}$ (слика 16d). Понатамошното намалување на K_{eq} на вредности пониски од 0.000005 резултира со SW-волтамограми што имаат значително намалена реоксидациска компонента на струјата (слика 16e и 16f). Симулираните волтамограми на Слика 16 имплицираат дека кинетиката на електродната реакција на површинските ECrev-системи во SWV зависи во голема мерка од расположивата површинска концентрација на електроактивните Red(ads) видови. Имајќи го предвид овој факт, важно е да се елаборираат неколку сценарија каде што ќе го истражиме влијанието на брзините на последователна хемиска реакција (K_{chem}) на карактеристиките на SW-волтамограмите, пресметани за неколку различни вредности на рамнотежната константа на хемиската реакција K_{eq} .

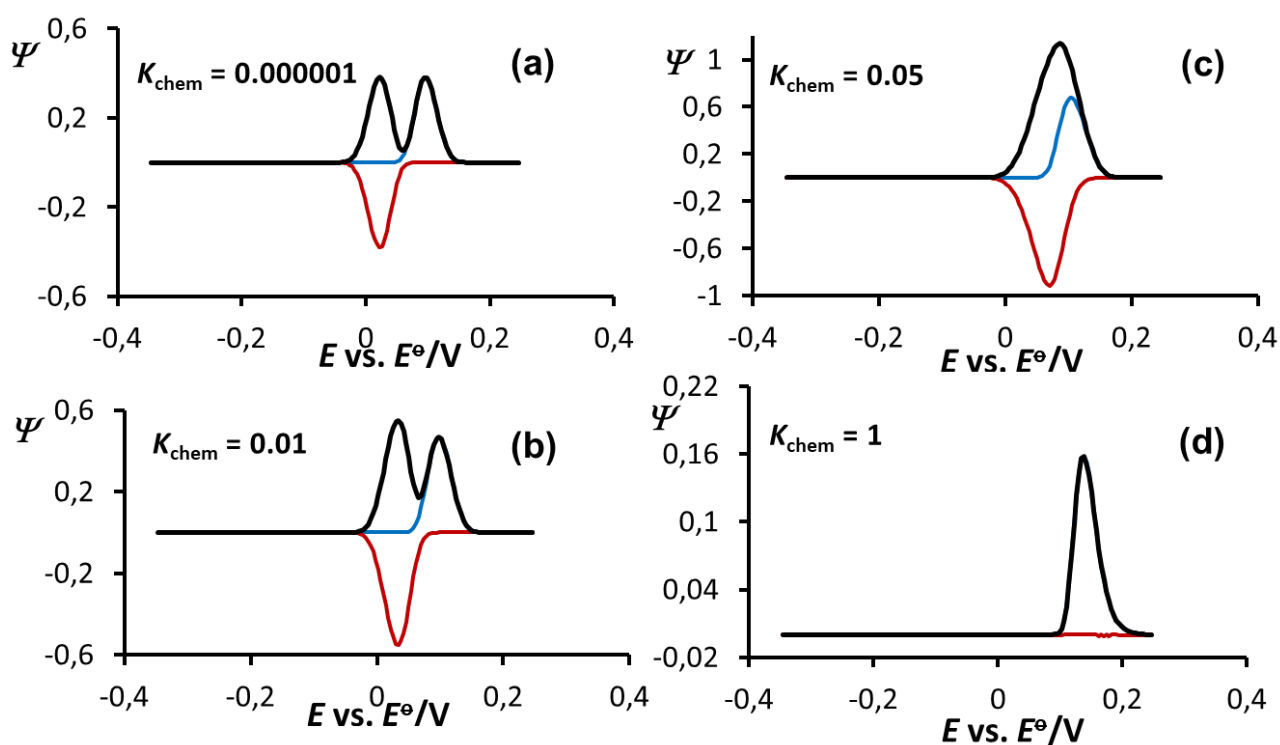
А) За брзи електродни реакции ($K=20$) и за големи вредности на константата на рамнотежа на последователна хемиска реакција ($K_{eq}>1$) на површинските ECrev-системи и за вредности на хемискиот параметар $0.0001 < K_{chem} < 0.075$ (слика 17b и 17c) забележуваме зголемување на двете, редуциски и оксидациски SWV-компоненти на струјата. При вакви услови, повеќе изразено е зголемувањето на оксидацискиот дел на SW- волтамограмите што се поместува кон попозитивни вредности со зголемување на вредноста на K_{chem} . Феноменот на разделување на SWV-нет пикот исчезнува кога K_{chem} има вредности поголеми од 0.04 (слика 17c). Ако бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} добива вредности поголеми од 0.4, тогаш ре-оксидациската SWV-компонента на струјата се намалува, додека не се забележува ефект на редуцискиите SWV-компоненти на струјата (слика 17d).



Слика 17. Површински ECrev-механизам што се карактеризира со брза реакција на електродата и константа на рамнотежата на последователната хемиска реакција $K_{eq} = 200$: Симулирани квадратно-бранови волтамограми што ги покажуваат редуциските (сина линија), оксидациските (црвена линија) и нет (црна линија) струи како функција на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} . $K_{chem} = 0.000001$ (a); 0.00025 (b); 0.05 (c); 0.5 (d);. Вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата K е поставен на 20. Останатите параметри за симулација се исто како оние на слика 11.

Figure 17. Surface ECrev mechanism with fast electrode reaction and equilibrium constant of follow-up chemical reaction of $K_{eq}=200$: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) currents as a function of dimensionless chemical parameter K_{chem} . $K_{chem} = 0.000001$ (a); 0.00025 (b); 0.05 (c); and 0.5 (d). Value of dimensionless electrode kinetic parameter K was set to 20. Other simulation parameters were same as those in Figure 11.

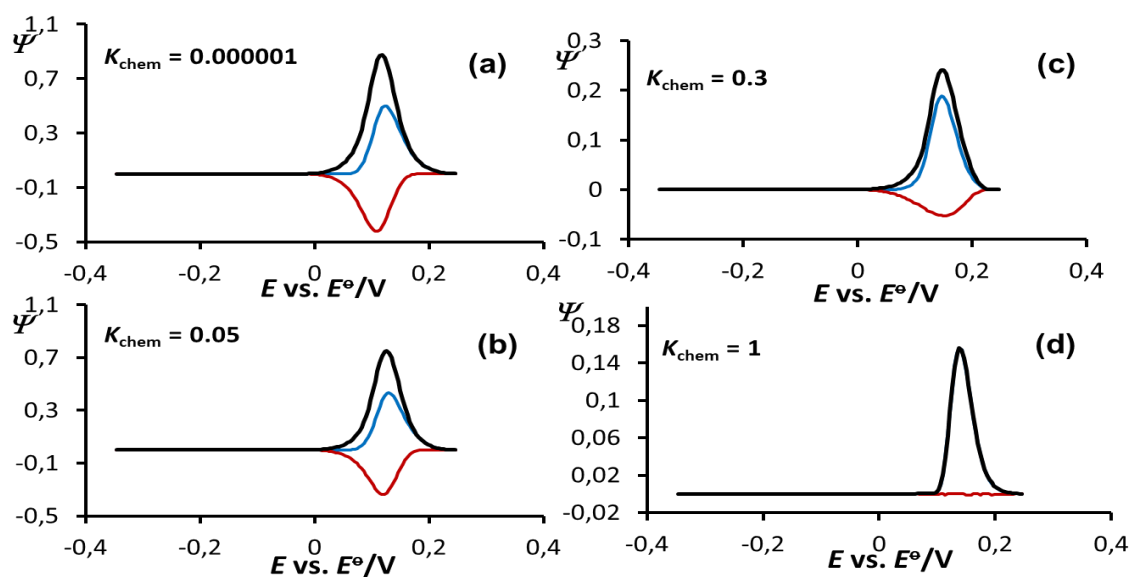
Б) За брзи електродни реакции ($K=20$) и за вредност на рамнотежната константа на последователната хемиска реакција на $K_{eq}=0.01$ на површинските ECrev-системи, ефектите на константата на хемиската брзина врз пресметаните SW-волтамограми се забележуваат при поголеми вредности на K_{chem} отколку во случај на $K_{eq}>1$. Во такво сценарио, ефектот на брзината на хемиската реакција почнува да се забележува за $K_{chem} >0.01$ (слика 18b). Понатамошното зголемување на K_{chem} доведува до исчезнување на раздвоениот нет SWV-сигнал и појава на еден волтаметриски нет одговор кој се карактеризира со највисока струја за K_{chem} од 0.05 (Слика 18c). За вредностите на $K_{chem} >1$, нема понатамошен ефект на K_{chem} врз SW- волтамограмите (слика 18d).



Слика 18. Површински ECrev-механизам што се карактеризира со брза реакција на размена на електрони електродата и со константа на рамнотежата на последователната хемиска реакција $K_{eq}=0.01$: Симулирани квадратно-бранови волтамограми што ги покажуваат редукциските (сина линија), оксидациските (црвена линија) и нет (црна линија) струи како функција на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} . $K_{chem}=0.000001$ (a); 0.01 (b); 0.05 (c); 1 (d). Вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата K е поставен на 20 . Останатите параметри користени при симулациите се исти како тие на слика 11.

Figure 18. Surface ECrev mechanism with fast electrode reaction and equilibrium constant of follow-up chemical reaction of $K_{eq}=0.01$: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) currents as a function of dimensionless chemical parameter K_{chem} . $K_{chem}=0.000001$ (a); 0.01 (b); 0.05 (c); and 1 (d). Value of dimensionless electrode kinetic parameter K was set to 20 . Other simulation parameters were same as those in Figure 11.

В) За брзи електродни реакции што се карактеризираат со мали вредности на константата на рамнотежа на последователна хемиска реакција ($K_{eq} < 0.0002$) на површинските ECrev-системи, не се забележува феноменот на расцепување на нет SW-волтаметриските одговори (слика 19a). Во такво сценарио, гледаме единечен SW- нет волтамограм, чиешто карактеристики се засегнати за значителни брзини на хемискиот чекор, т.е. за K_{chem} вредности поголеми од 0.05 (слика 19b-d). SW-волтаметриските карактеристики опишани на слики 14-19 се специфични и тие се покажани за првпат во овој важен редокс механизам. Многу од карактеристиките елаборирани во овој дел може да се користат како квалитативни критериуми за проценка на вредностите на K_{chem} и K_{eq} . Истовремено, тие феномени го разграничуваат површинскиот ECrev-механизам од други слични површински механизми кога квадратно-брановата волтаметрија се користи како работна техника.



Слика 19. Површински ECrev-механизам што се карактеризира со брза реакција на размена на електрони помеѓу електродата редокс-лекот и константа на рамнотежата на последователната хемиска реакција $K_{eq} = 0.0001$: Симулирани квадратно-бранови волтамограми што ги покажуваат редукциските (сина линија), оксидациските (црвена линија) и нет (црна линија) струи како функција на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} . $K_{chem} = 0.000001$ (a); 0.05 (b); 0.3 (c); 1 (d); . Вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата K е поставен на 20. Останатите параметри за симулација се исто како оние на слика 11.

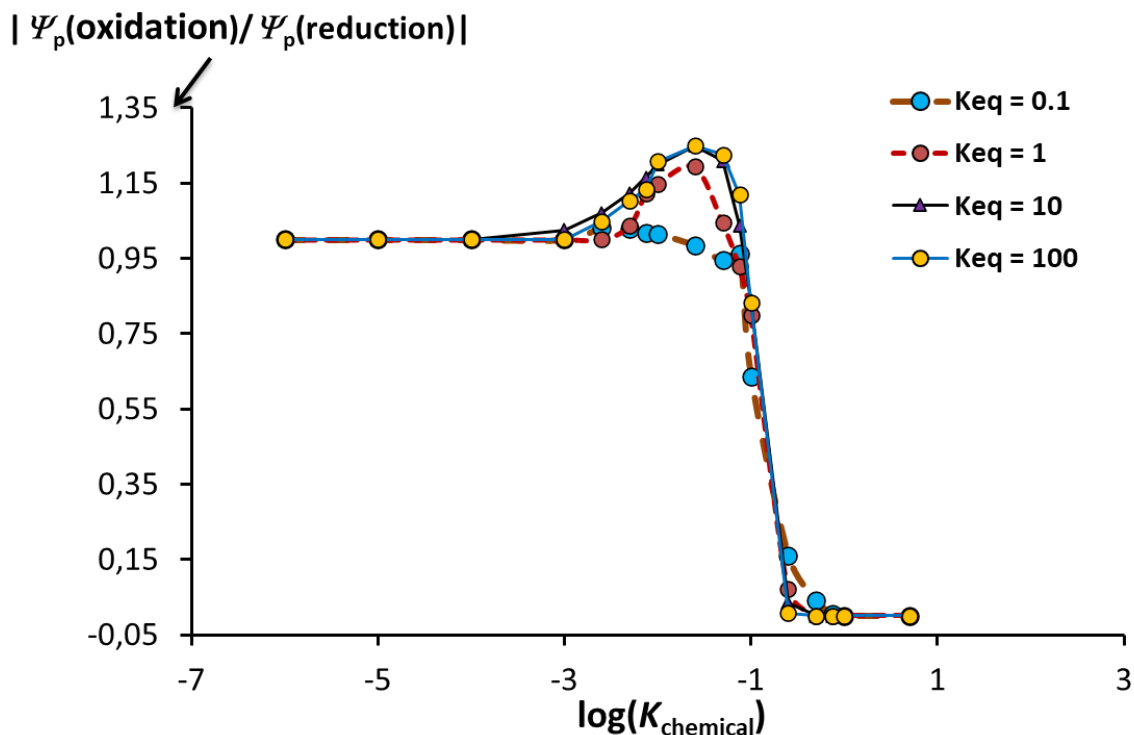
Figure 19. Surface ECrev mechanism with fast electrode reaction and equilibrium constant of follow-up chemical reaction of $K_{eq} = 0.0001$: Simulated square-wave voltammograms showing the reduction (blue line), oxidation (red line) and net (black line) currents as a function of dimensionless chemical parameter K_{chem} . $K_{chem} = 0.000001$ (a); 0.05 (b); 0.3 (c); and 1 (d). Value of dimensionless electrode kinetic parameter K was set to 20. Other simulation parameters were same as those in Figure 11.

Со претходно дадените примери во овој дел од докторската работа, елаборирани се неколку нови аспекти на површинските редокс реакции чијшто електрохемиски генериран продукт е вклучен во последователна реверзибилна хемиска трансформација. Покажано е дека и кинетиката и термодинамиката на последователната хемиска реакција може да предизвикаат значителни промени на SW-волтаметриските одговори на површинските ECrev-системи, особено на системи што се карактеризираат со брзи електродни реакции. Бидејќи „расцепувањето“ на нет SW-волтаметрискиот одговор е препознатлива карактеристика на брзите површински електродни реакции, корисно е да се истражи овој феномен за квалитативно препознавање на површинските ECrev-системи. Како што покажавме на сликите од 13 до 19, за брзи површински електродни реакции, брзината на последователниот хемиски чекор може да предизвика (во умерени региони на K_{chem}) значајни зголемувања и на редукциските и на оксидациските пик струи. Ова се случува ако константата на рамнотежа на хемиската реакција има вредности поголеми од 0.01. На слика 20 е прикажана зависноста на односот на апсолутните вредности на пик струите на оксидациските пикови наспроти пик-струите на редукциските пикови, пресметани за $K=2$ (ситуација на разделен нет SWV-пик) и за неколку константи на рамнотежа на последователната хемиска реакција. Од сликата се забележува дека при вредности на $K_{eq}>0.2$, соодносот $|\Psi_p(\text{oxidation})/\Psi_p(\text{reduction})|$ има добро изразени локални максимуми како функција на константата на хемиската брзина $\log(K_{chem})$. Овие максимуми постојат во регионот на брзината на хемиската реакција $0.005 < K_{chem} < 0.1$. Бидејќи вредноста на K_{chem} може да се промени со промена на концентрацијата на соединението „Y“ во електрохемиската ќелија, за брзи површински електродни реакции, со претставување на односот на вредностите на оксидација/редукција на SW-пик струите како функција од $c(Y)$, можеме да ги репродуцираме кривите прикажани на слика 20. Притоа, добиените криви на зависност каде ќе постојат локални максимуми на сигмоидалните криви, може да послужат како квалитативен критериум за препознавање на површинскиот ECrev -механизам. Со цел да се процени вредноста на хемискиот параметар K_{chem} , можеме да истражime уште една специфична карактеристика на површинските електродни реакции, односно феноменот на „квазиреверзибилен максимум“ (Mirceski et al., 2007). Поради специфичната процедура на мерење на струјата во квадратно-брановата волтаметрија и

специфичното однесување на површинските редокс реакции, површинските електродни процеси со умерен пренос на електрони даваат највисока измерена струја во услови на SWV (Mirceski et al., 2007). Параболичната зависност помеѓу измерените нет SWV- пик струи како функција на бездимензионалниот кинетички параметар поврзан со електродната реакција (K), овозможува определување на стандардната константа на брзината на чекорот за пренос на електрони k^e_s на многу едноставен начин (Mirceski et al., 2007). На слика 21a се прикажани неколку т.н. „квазиреверзибилни максимуми“ на површински ECrev-механизам, конструирани за K_{eq} од 1 и за неколку вредности на параметарот на хемиската брзина K_{chem} . Од сликата се гледа дека при зголемување на K_{chem} од 0.01 на 0.09 се случува поместување на позицијата на „квазиреверзибилниот максимум“ кон повисоки вредности за K . Да се потсетиме дека бездимензионалниот кинетички параметар на електрода K е дефиниран како $K=k^e_s/f$, каде што f е SW-фреквенција. Покрај тоа, пик струите што одговараат на „квазиреверзибилниот максимум“ добиваат и повисоки вредности на ист начин со зголемувањето на K_{chem} . Притоа, постои линеарна зависност помеѓу $\log(K_{chem})$ и $\log(K_{max})$, карактеризирани со коефициент на корелација од R^2 поголем од 0.99. Наклонот на зависноста $\log(K_{chem})$ како функција од $\log(K_{max})$ на слика 21b овозможува определување на брзината на хемискиот чекор K_{chem} , доколку се знае вредноста на параметарот $\log(K_{max})$, експериментално определен за редокс лекот во отсуство на супстратот „Y“ (вториот лек). Експериментално, „квазиреверзибилните максимуми“ на слика 21a може да се репродуцираат со менување на концентрацијата на електро-неактивниот „Y“ реактант во електрохемиската ќелија и со графичко прикажување на зависноста на измерените SWV-нет пик струи како функција на $\log(f^1)$, при дефинирана концентрација на $c(Y)$ во електрохемиската ќелија. Во таквото сценарио, позицијата на квазиреверзибилниот максимум треба да се помести кон повисоки вредности на $\log(f^1)$ како што $c(Y)$ се зголемува. Со користење на соодветната равенка на линеарна зависност на слика 21b, можеме да ја пресметаме вредност на хемискиот параметар K_{chem} . Ако ги претставиме пик струите на forward (редукциски) SWV-пикови наспроти $\log(K)$, измерени за неколку концентрации на супстратот $c(Y)$, тогаш можеме да ја добиеме и вредноста на forward константа на брзина k_f на сличен начин како оној прикажан на слика 21. Следствено, од проценетите вредности на K_{chem} и k_f и знаејќи го фактот дека $K_{chem}=(k_f+k_b)/f$,

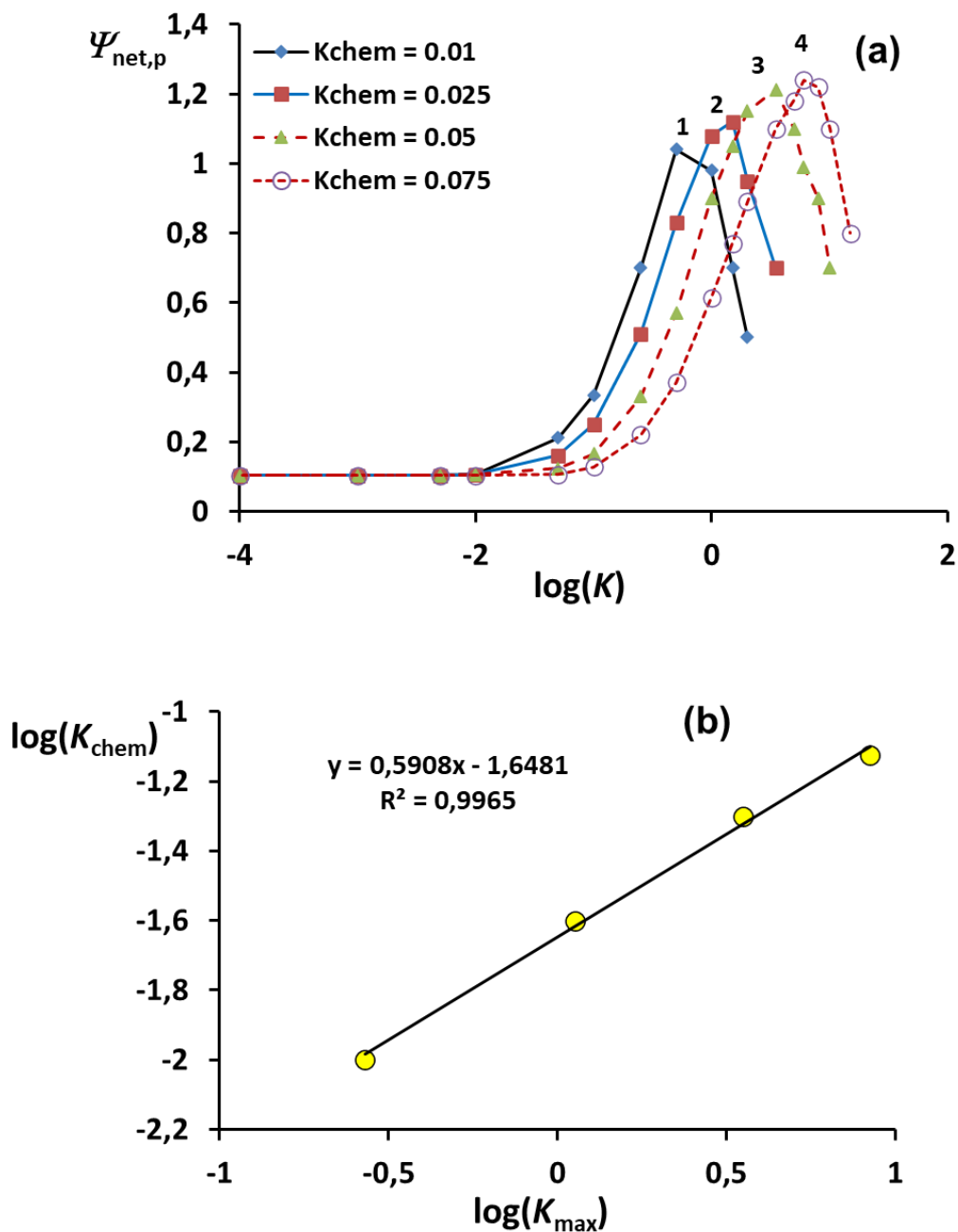
можеме да ја определиме вредноста на k_b . Ако вредностите на k_f и k_b се определни, тогаш може да се пресмета и вредноста на рамнотежната константа K_{eq} , бидејќи $K_{eq}=k_f/k_b$. Вредноста на константата на рамнотежа K_{eq} може да се определи и од линеарниот дел на нагибот на зависноста на нет SWV-пик потенцијалите како функција од $\log(K_{chem})$ (слика 15a) која изнесува $-2.303 RT/F[\log(K_{eq}/(1+K_{eq}))]$. За да се изведат овие определувања, треба да биде определена и вредноста на k_s^\ominus за студираниот редокс-лек (во отсуство на супстратот „Y“), најдобро преку методата на „квазиреверзибилен максимум“. За проценка на стандардната константа на брзина на пренос на електрони на реакцијата на електродата k_s^\ominus како и коефициентот на пренос на електрони „ α “, може да се користат и некои од методите елаборирани во трудовите (Gulaboski et al., 2008; Gulaboski et al., 2012; Mirceski et al., 2007; Compton & Banks 2007; Mirceski & Lovirc 1997).

Методологијата презентирана овде е сосема нов пристап за пресметување на кинетиката и термодинамиката на последователниот хемиски чекор од површинскиот EСrev-механизам.



Слика 20. Површински ECreв-механизам што се карактеризира со брза електродна реакција на размена на електрони: На сликата е прикажан односот на оксидациските/редукциските пик струи на симулираните квадратно-бранови волтамограми како функција од логоритам на бездимензионалниот хемиски параметар $\log(K_{\text{chem}})$. SW волтамограмте се пресметани за четири вредности на константата на рамнотежа на последоваелниот хемиски чекор K_{eq} од 0.1; 1; 10 и 100. Вредноста на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата K е поставен на 2. Останатите параметри за симулација се идентични како параметрите користени на слика 11.

Figure 20. Surface ECreв mechanism with fast electrode reaction: Ratio of oxidation vs. reduction peak currents of simulated square-wave voltammograms as a function of logarithm of dimensionless chemical parameter $\log(K_{\text{chem}})$. SW voltammograms were calculated for four values of equilibrium constant of follow-up chemical step K_{eq} of 0.1; 1; 10 and 100. Value of dimensionless electrode kinetic parameter was set to $K=2$. Other simulation parameters were same as those in Figure 11.



Слика 21. Површински ECrev-механизам со бавни и умерени реакции и константа на рамнотежа на последователната хемиска реакција на $K_{eq}=1$. (a) „Квазиреверзибилни максимуми“ што се симулирани за четири различни вредности на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chem} . K_{chem} параметарот во симулациите е поставен на вредности од 0.01 (1); 0.025 (2); 0.05 (3) и 0.075 (4). (b) Зависност на $\log(K_{chem})$ како функција на логаритам на максималните вредности на бездимензионалниот кинетички параметар на електродата $\log(K_{max})$. Другите параметри за симулација се исти како оние на Слика 11.

Figure 21. Surface ECrev mechanism with slow and moderate electron reactions and equilibrium constant of follow-up chemical reaction of $K_{eq}=1$. (a) “Quasireversible maxima” simulated for four different values of dimensionless chemical parameter K_{chem} . K_{chem} was set to 0.01 (1); 0.025 (2); 0.05 (3) and 0.075 (4). (b) Dependence of $\log(K_{chem})$ as a function of logarithm of maximal values of dimensionless electrode kinetic parameter $\log(K_{max})$. Other simulation parameters were same as those in Figure 11.

5.2. Карактеристики на теоретските волтамограми на повеќестепени електродни механизми, релевантни за испитување на интеракции на лекови, во услови на квадратно-бранова волтаметрија

1. површински EE -механизам
2. површински ECE
3. површински EEC_{rev} -механизам
4. површински $EECat$
5. површински $C_{rev}EE$ -механизам

Многу липофилни ензими (Barlett, 2008; Leger & Bertrand, 2008; Armstrong, 1997, 2002, 2015; Leger et al., 2003; Gulaboski et al., 2012), лекови и други физиолошки релевантни соединенија (Mirceski et al., 2007, 2013; Mirceski & Gulaboski, 2003, 2014; Lovric, 2010; Gulaboski et al., 2008; Molina & Gonzales, 2016; Compton & Banks, 2011; Bard & Faulkner 2004) ги карактеризираат таканаречените „активни центри“ во нивните структури кои можат да подлежат на редокс трансформација што се одвива во два последователни чекори. Од нив, значителен интерес привлекуваат биолошките системи кои содржат т.н кинин/хидрохинонски дел (Sies & Parker, 2004) или пак некои поливалентни катјони како тие на Mo, V, Cr или Mn (Hille, 2002; Ermler et al., 1998; Kobayashi & Shimizu, 1999; Crans et al., 2004) што служат како редокс-активен центар во нивните структури. Редокс-хемијата на многу од овие системи може успешно да се третира со волтаметриски техники, под услов нивните редокс-активни центри да можат да разменуваат електрони со работната електрода при дадени услови. Во последните 20-тина години, техниката наречена „квадратно-бранова протеин филм волтаметрија“ се појавува како една од најсоодветните алатки за да се добие увид во редокс-хемијата на многу липофилни ензими и други „површински активни“ соединенија (Mirceski et al., 2013; Mirceski & Gulaboski, 2003, 2014, Mirceski, Komorsky-Lovric, Lovric, 2007). Оваа техника ги обработува волтаметриските експерименти во кои мала количина на даден липофилен редокс-ензим или површинско активно соединение силно се адсорбира на работната електрода. Проучуваните молекули на редокс- активните системи треба да формираат добро дефиниран монослој од адсорбирани молекули на површината на работната електрода. Во следниот чекор, работната електрода, модифицирана со монослој на молекули на разгледуваната супстанца, се внесува во електролитен раствор што може да содржи и одреден супстрат со кој

атсорбираниот ензим може да стапи во хемиска интеракција. Со примена на контролиран потенцијал од надворешен извор, можеме да извршиме електрохемиски експерименти во нормална три електродна волтаметричка инструментација (Mirceski, Komorsky-Lovric&Lovric, 2007; Mirceski & Gulaboski, 2003; Mirceski et al., 2013; Compton & Banks, 2011; Bard & Faulkner 2004). Од волтаметричките одговори добиени во таквите системи, може да се добијат релевантни информации во врска со хемијата и интеракциите на многу важни соединенија (Mirceski, Komorsky-Lovric&Lovric, 2007; Leger & Bertrand, 2008; Gulaboski et al., 2012; Mirceski et al., 2013). Во последните две децении, оваа методологија е успешно истражена со цел да се определат квантитативно голем број на важни соединенија, како и да се измерат кинетичките и термодинамичките параметри релевантни за соодветните липофилни биолошки системи кои подлежат на последователна редокс-трансформација во повеќе чекори (Armstrong 2002; Mirceski, Komorsky-Lovric&Lovric, 2007; Gulaboski et al., 2008). Во овој дел од докторската дисертација претставени се неколку теоретски модели решени во волтаметрички услови кои претставуваат основа за дизајнирање на едноставни методи за препознавање на одреден повеќестепен електроден механизам. Притоа, во теоретските трудови публикувани од нашата истражувачка група, претставени се неколку едноставни методи (Gulaboski, 2009, 2019; Gulaboski et al., 2005, 2018, 2019; Gulaboski & Mihajlov, 2011; Kokoskarova et al., 2019; Mirceski et al., 1999, 2013; Guziejewski et al., 2015; Gulaboski & Mirceski, 2015; Lovric, 1983; Mirceski & Lovric 1997; Meunier-Prest & Laviron, 1996) што овозможуваат лесен пристап до кинетичките и термодинамичките параметри што се релевантни за многу липофилни редокс-активни системи. Со употребата на квадратно-брановата волтаметрија можат теоретски да се карактеризираат неколку важни двостепени површински електродни механизми поврзани со хемиски реакции. Главниот акцент кај овие електродни механизми е да се селектираат дијагностички критериуми за препознавање на одредена двостепена површинска електродна реакција и за нејзино разликување од другите слични електродни реакции. Во овој дел од докторската дисертација претставени се и дијагностички критериуми што може да се користат за да се препознае одреден двостепен површински механизам во сложен случај кога двата чекора за пренос на електрони се случуваат на ист потенцијал. Покрај тоа, во двостепените површински редокс-реакции, поврзани

со хемиски чекори, презентирани се неколку методологии што овозможуваат пристап до кинетичките и термодинамичките параметри на разгледуваните механизми што се комплицирани со хемиски реакции. Треба да се спомене дека во литературата има ограничен број на теоретски трудови фокусирани на квадратно-брановата волтаметрија на двостепени редокс-механизми кои се објавени досега (Lovric, 1983; Osteryoung & O'Dea, 1986; O'Dea & Osteryoung, 1993, 1997; Lovric & Komorsky-Lovric, 2012; Komorsky-Lovric & Lovric, 2011).

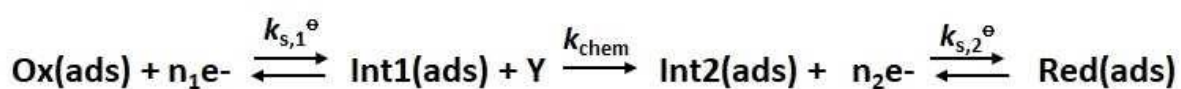
- **Математички модели**

Во првите четири теоретски модели кои се елаборирани во овој дел, теоретски се разработени двостепени електродни механизми на т.н. редокс-активни адсорбати чиито молекули се унифицирано адсорбирани на површината на работната електрода:

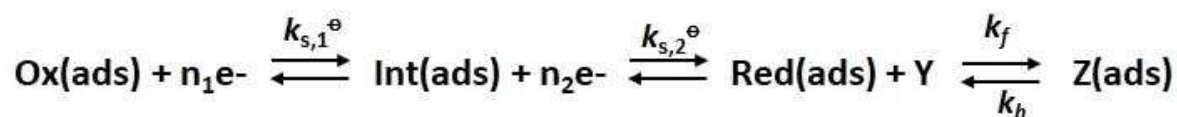
(1) „Едноставна“ двостепена површинска редокс-реакција или „површински *EE*-механизам“



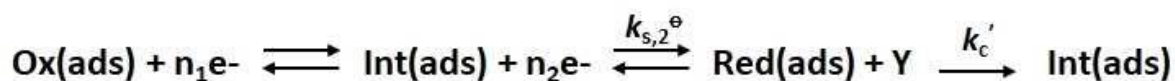
(2) Двостепена површинска редокс-реакција вкрстено поврзана со иреверзибилен (irr) хемиски чекор т.е. површински *ECirrE* или едноставно „површински *ECE*-механизам“



(3) Двостепена површинска редокс-реакција поврзана со реверзибилен последователен хемиски чекор до краен продукт од реакцијата на електродата, или „површински *EECrev*-механизам“



(4) Двостепена површинска редокс-реакција со иреверзибилен каталитички (регенеративен) хемиски чекор поврзан со крајниот продукт од реакцијата на електродата или „површински каталитички EEC'-механизам“



Терминот „Е“ кај сите механизми се однесува на чекорот на пренос на електрони помеѓу работната електрода и дадена супстанца адсорбирана на неа, додека терминот „С“ означува хемиска реакција. На почетокот на експериментот претпоставуваме дека се присутни само видовите „Ох“ во електрохемиската ќелија и нивните молекули се унифицирано адсорбирани на површината на работната електрода. Со „Int(ads)“ и „Int1(ads)“ во површинскиот ECE механизам се означени интермедиерни видови создадени со редукција на Ox(ads) во првиот чекор на електродата. Red(ads) видовите се крајните редокс- активни видови што се електрохемиски генерирани во текот на вториот чекор на пренос на електрода. Со „Y“ е дефинирано електрохемиски неактивно соединение (супстрат) (електрохемиски неактивно во користениот регион на потенцијали). Супстратот „Y“ може да реагира иреверзибилно со видовите Int1(ads) создавајќи Int2(ads) редокс-видови во површинскиот ECE механизам (2) или може да реагира на хемиски реверзибилен начин со Red(ads) видовите, претворајќи ги во краен електрохемиски неактивен продукт Z(ads) во механизмот на електродата (3). Во последниот електроден механизам (4) (т.н. површински каталитички EEC'), „Y“ реагира иреверзибилно со Red(ads), на начин што ги регенерира Int(ads) интермедиерните редокс-активни видови. Во сите разработени механизми, претпоставуваме дека супстратот „Y“ е присутен во вишок во електрохемиската ќелија и не покажува електрохемиска активност на работната електрода во рамките на применетите потенцијали. Притоа, концентрацијата на „Y“ останува константна на површината на електродата за време на волтаметриските експерименти. Следствено, претпоставуваме дека хемиските чекори во сите разгледувани двостепени механизми (2-4) се од псевдопрв ред. Разработените механизми (1–4) се решени при следните услови:

$$t = 0 \text{ (Ox)} = \Gamma^*(\text{Ox}); \Gamma(\text{Int}) = \Gamma(\text{Int1}) = \Gamma(\text{Int2}) = \Gamma(\text{Red}) = 0 \text{ (важи за сите механизми 1-4)}$$

$$t > 0; \Gamma(\text{Ox}) + \Gamma(\text{Int}) + \Gamma(\text{Red}) = \Gamma^*(\text{Ox}) \text{ (важи за механизмите 1-4)}$$

$$t > 0; \Gamma(\text{Ox}) + \Gamma(\text{Int1}) + \Gamma(\text{Int2}) = \Gamma(\text{Red}) = \Gamma^*(\text{Ox}) \text{ (важи за механизам 2)}$$

$$t > 0; \Gamma(\text{Ox}) + \Gamma(\text{Int}) + \Gamma(\text{Red}) = \Gamma(\text{Z}) = \Gamma^*(\text{Ox}) \text{ (важи за механизам 3)}$$

За $t > 0$, следните услови важат за да се разгледаат механизми (1-4):

$$d \Gamma(\text{Ox})/dt = I_1/(n_1FS) \text{ (важи за сите механизми 1-4)}$$

$$d \Gamma(\text{Int})/dt = I_1/(n_1FS) - I_2/(n_2FS) \text{ (важи за механизмите 1 и 3)}$$

$$d \Gamma(\text{Int1})/dt = I_1/(n_1FS) - k_c \Gamma /(\text{Int1}) \text{ (важи за механизам 2)}$$

$$d \Gamma(\text{Int2})/dt = I_2/(n_2FS) - k_c \Gamma /(\text{Int1}) \text{ (важи за механизам 2)}$$

$$d \Gamma(\text{Int})/dt = I_1/(n_1FS) - I_2/(n_2FS + k_c \Gamma /(\text{Red})) \text{ (важи за механизам 4)}$$

$$d \Gamma(\text{Red})/dt = I_2/(n_2FS) \text{ (важи за механизам 1)}$$

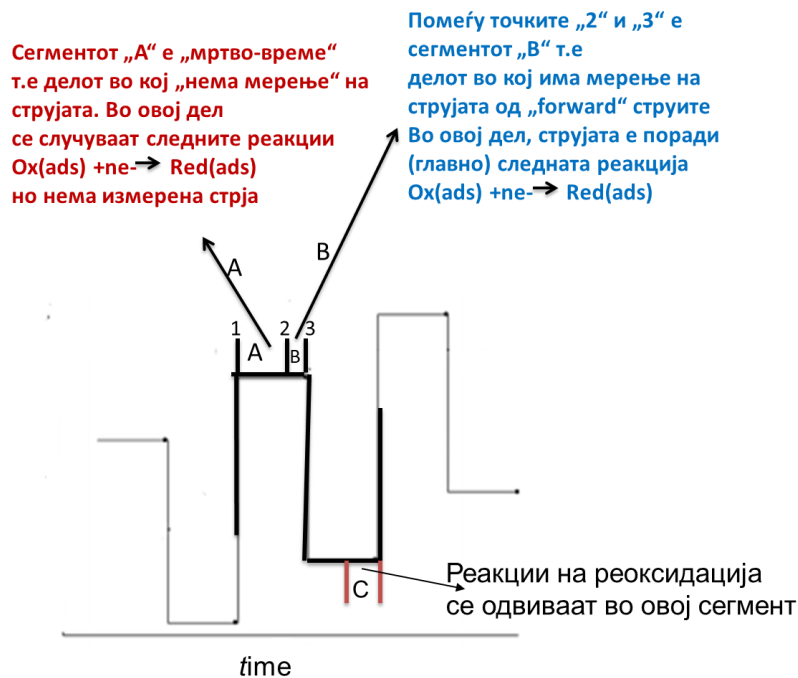
$$d \Gamma(\text{Red})/dt = I_2/(n_2FS) - k_f \Gamma /(\text{Red}) + k_b \Gamma /(\text{Red}) \text{ (важи за механизам 3)}$$

$$d \Gamma(\text{Red})/dt = I_2/(n_2FS) - k_c \Gamma /(\text{Red}) \text{ (важи за механизам 4)}$$

Во сите модели го разгледуваме формализмот на Батлер-Волмер за меѓузависноста помеѓу применетиот потенцијал, електричната струја, површинските концентрации (Γ) на сите вклучени видови и параметрите на реакцијата на електродата коишто влијаат на карактеристиките на теоретските волтамограми. Аналитичкото решение на електродниот механизам (1) (површинскиот EE-механизам) во услови на SWV е прикажано во трудот на Mirceski & Gulaboski (2003). Во трудовите на Gulaboski (2009) и Gulaboski & Mihajlov (2011) дадени се аналитичките решенија на механизмите (2) (површинскиот ECE-механизам) и (4) (површинскиот каталитички EEC'-механизам). Електродниот механизам (3) е претставен за првпат во оваа дисертација. Во сите разгледани модели се дефинирани редукциските струи со позитивен знак, додека негативниот знак се припишува на оксидациските струи. Сите потенцијали се дефинирани во однос на стандардниот редокс-потенцијал на првиот процес на електродата што се случува на попозитивни потенцијали (означени како „пик I“). Во сите симулации, почетниот потенцијал е поставен на позитивна вредност и се движи кон крајните негативни потенцијали (Janeva et al., 2019).

- Параметри што влијаат на карактеристиките на пресметаните волтамограми кај сите модели

Вкупната бездимензионална струја на теоретските SW-волтамограми во сите модели се дефинира како збир на струите поврзани со првиот и вториот чекор на електродните трансформации, т.е. $\Psi = \Psi_I + \Psi_{II}$. Посебните бездимензионални струи што се однесуваат на секој од двата чекори на електродата се дефинирани како $\Psi_I = I_1/[n_1FSf\Gamma(\text{Ox})^*]$ и $\Psi_{II} = I_2/[n_2FSf\Gamma(\text{Ox})]$.



Шема 1. Карактеристики на еден квадратно-бранов волтаметриски пулс со објаснување на некои од процесите што се случуваат во дефинирани сегменти на SWV-пулсот.

Scheme 1. Features of one square-wave voltammetric pulse, with explanation of some of the processes happening in defined segments of the SWV pulse

Со I ја дефинираме електричната струја, додека n_1 и n_2 се бројот на електрони разменети во првиот и вториот чекор на електродата. Во сите модели поставуваме $n_1 = n_2 = n = 1$. S е активната област на работната електрода, додека f е SW фреквенција дефинирана како $f = 1/(2t_p)$, каде временскиот параметар t_p е дефиниран како времетраење на единечен потенцијален пулс во SWV. „ Γ “ е симбол на површинската концентрација. Со $\Gamma(Ox)^*$ ја дефинираме вкупната површинска концентрација, што е, всушност, почетната површинска концентрација на адсорбираните Ox видови. Φ е симбол на бездимензионален потенцијал дефиниран како $\Phi_1 = nF(E^* - E_1^{\circ'}/RT)$ и $\Phi_2 = nF(E^* - E_2^{\circ'}/RT)$, каде што $E_1^{\circ'}$ и $E_2^{\circ'}$ се стандардни (или поточно, формални) редокс-потенцијали на првиот и вториот чекор на електродата. α е симбол за коефициентот на пренос на електрони. Во сите пресметки α има вредност од 0.5 за двата чекора за трансфер. Со T ја дефинираме термодинамичката температура (во сите симулации е поставена на 298 K), додека R е универзална гасна константа, а F е Фарадеева константа. Пресметаните SW-волтамограми во сите разгледувани механизми се под влијание на неколку бездимензионални параметри.

Бездимензионалните електродни кинетички параметри $K_I = k_{s,1} / f$ и $K_{II} = k_{s,2} / f$ го рефлектираат влијанието на стандардните константи на брзината на двата чекори на електродата ($k_{s,1}$ и $k_{s,2}$) во времетраењето на пулсните потенцијали во SWV. За површинскиот ECE-механизам, пресметаните волтамограми зависат од бездимензионален хемиски параметар K_{chem} дефиниран како $K_{chem} = k_{chem} / f$. Во последната равенка, k_{chem} е константа на брзината на иреверзибилната хемиска реакција во механизмот (2). За површинскиот EECrev- механизам (3), симулираните SW-волтамограми се, исто така, функција на бездимензионален хемиски параметар K_{chem} , што е поинаку дефиниран отколку во механизмот (2). Тој се дефинира како $K_{chem} = \varepsilon / f$, каде што $\varepsilon = (k_f + k_b)$ е збирна константа на брзина од прв ред k_f и k_b на директната и повратната хемиската реакција. Овој бездимензионален параметар во површинскиот EECrev-механизам ја рефлектира брзината на хемискиот чекор во однос на временската рамка на мерењето на струјата во SWV. Покрај тоа, карактеристиките на теоретските SW-волтамограми на површинскиот EECrev- механизам (3) зависат од константата на рамнотежа K_{eq} што е дефинирана со изразот $K_{eq} = k_f / k_b$. За површинскиот каталитички EEC'-механизам (4), бездимензионалниот хемиски кинетички параметар влијае на карактеристиките на пресметаните SW-волтамограми и е дефиниран како $K_{chem} = k_c' / f$, каде што k_c' е константа на брзина од прв ред на регенеративната (каталитичка) хемиска реакција. Во овој дел, вреди да се нагласи дека сите хемиски параметри k'_{chem} , ε и k_c' во механизмите (2–4) се од псевдопрв ред бидејќи сите зависат од концентрацијата на супстратот „Y, $c(Y)$ на следниов начин: $k_c = k_c^\circ c(Y)$ за механизам (1); $\varepsilon = [k_f^\circ c(Y) + k_b]$ за механизам (3); и $k_c' = k_c'^\circ c(Y)$ за механизмот (4). Во последните равенки, k_c° , k_f° и $k_c'^\circ$ се реални хемиски константи на брзината во соодветните механизми (2), (3) и (4).

Во сите симулации, параметрите на применетиот потенцијал се поставени на: SW-фреквенција $f = 10$ Hz, SW амплитуда $E_{sw} = 50$ mV и потенцијален чекор $dE = 4$ mV. За симулирање на сите двостепени електродни механизми е употребен софтверот MATHCAD 14. Нет SWV-струјата кај сите симулирани волтаметрички шеми е претставена со црна боја, додека forward (редукциските) струи се означени со сина боја. Црвената боја е поврзана со backward (реоксидациски) струи на сите симулирани волтамограми.

- **Елаборирање на карактеристиките на двостепените површински механизми во SWV**

За елаборирање на специфичните карактеристики на поврзаните двостепени површински механизми во SWV, вреди да се споменат неколку аспекти важни за сите електродни механизми поврзани со хемиските реакции. Терминот „поврзување“ се однесува на хемиски процес што вообичаено го прави термодинамички поповолен даден чекор на пренос на електрони помеѓу работната електрода и редокс атсорбатот од интерес. Протонирањето/депротонирањето, на пример, е хемиски процес што често се поврзува со процесот на пренос на електрони. Додека поврзаната хемиска реакција што се одвива брзо може да влијае на термодинамиката на електродната реакција (со поместување на рамнотежата на електродната реакција), бавната хемиската реакција може да влијае на брзината на целокупната реакција. Кога зборуваме за брзи или бавни брзини на хемиската реакција во волтаметрија, важно е да се разбере дека термините „брзо“ или „бавно“ се секогаш релативни, бидејќи тие зависат од временската скала на потенцијалниот пулс каде што струјата се мери во SWV. Главниот фокус кај овие механизми е на ефектот на брзината на хемиска реакција врз својствата на SW-волтаметриските одговори. Како што е дефинирано во претходниот дел, параметрите на брзината на хемиските реакции кај сите разгледувани двостепени електродни механизми зависат и од SW-фреквенцијата и од концентрацијата на супстратот „Y“. Бидејќи SW-фреквенцијата влијае не само на хемиските брзини, туку и на брзините на двата електродни чекори (преку K_1 и K_{11}), сите пресметки во симулациите се направени при константна SW-фреквенција f . Ова значи дека во направените симулации го разгледуваме, главно, ефектот на концентрација на „електрохемиски неактивен“ супстрат (вториот лек) „Y“-с(Y) врз карактеристиките на симулираните SW- волтамограми.

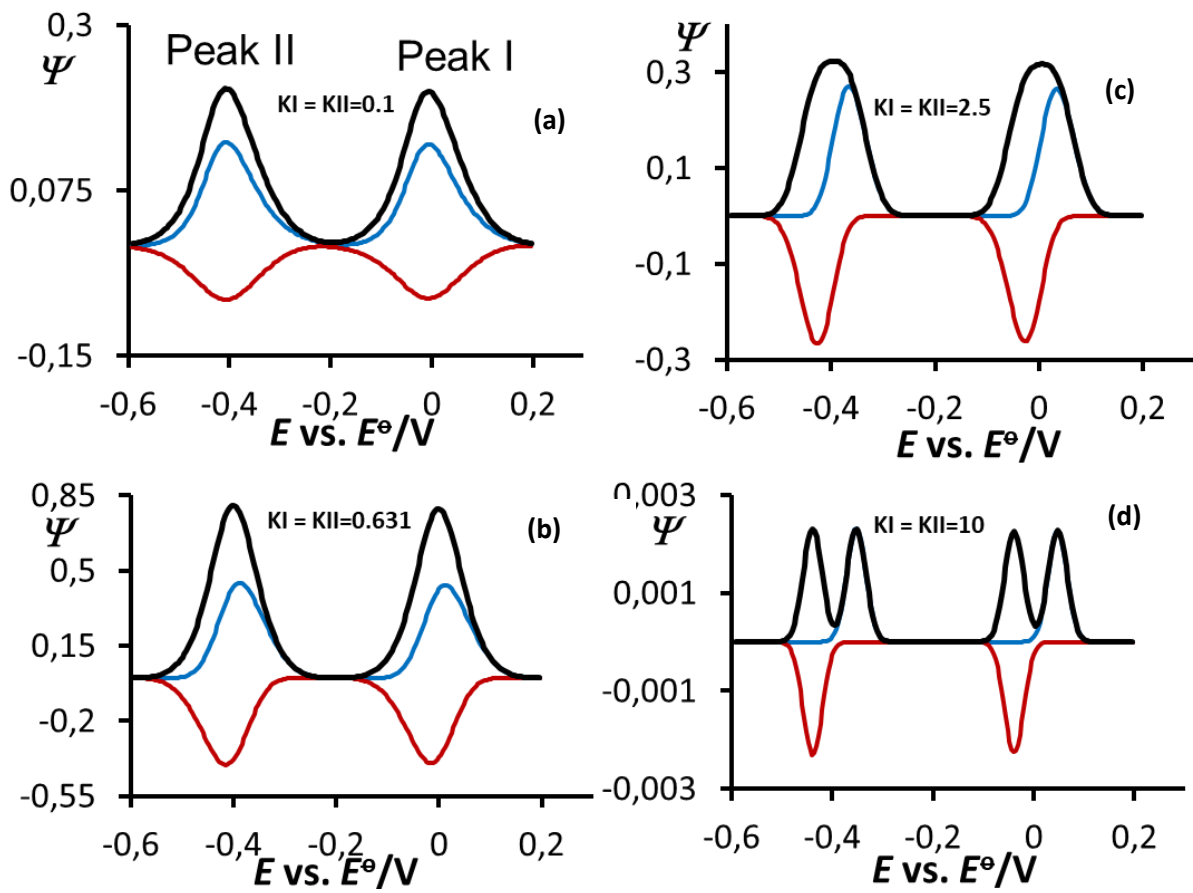
5.2.1. Површински ЕЕ-механизам

Кај овој наједноставен повеќестепен површински механизам, најпрво ќе ја разгледуваме ситуацијата кога волтаметрискиот одговор струја - потенцијал е поврзан со пренос на електрони што се случува во два последователни чекори помеѓу електродата и редокс-центрите на адсорбираните молекули. Кај овој електроден механизам има отсуство на хемиска реакција. Кај сите двостепени електродни механизми елаборирани во овој дел од дисертацијата ќе разгледаме два случаи и тоа: (I) случај на добро одделени SW-пикови од првиот и вториот чекор на електродата (одвоени најмалку 300 mV на скала на потенцијалот); и (II) случај каде што двата чекора на електродата се случуваат на ист потенцијал, кој ќе се рефлектира во единечен волтаметриски пик.

Двостепен површински ЕЕ-механизам со два одделни електрохемиски чекори на електродата што се одвоени најмалку |300 mV|

На слика 22a–d е прикажана серија од теоретски квадратно-бранови волтамограми на едноставна двостепена површинска реакција (механизам 1). Волтамограмите се симулирани при неколку вредности на бездимензионални кинетички параметри на електродата K_I и K_{II} . Кога електродниот потенцијал е соодветен, тогаш доаѓа до размена на електрони помеѓу молекулите на проучуваните редокс-адсорбати и работната електрода. Големината на измерената струја на волтамограмите е најчесто пропорционална со брзината на размена на електрони помеѓу електродата и електроактивниот материјал што е адсорбиран на површината од работната електрода. Притоа, зголемувањето на брзината на пренос на електрони е проследено со значително зголемување на големината на сите компоненти на струјата на двата SW-пикови (слика 22a–b). Како што се постигнуваат максималните пик струи за K_I и $K_{II} \sim 0.6$ (слика 22b), сите компоненти на струјата почнуваат да се намалуваат со дополнително зголемување на вредностите на K (слика 22c–d). За K_I и $K_{II} > 0.5$ забележуваме поместување на катодните (forward) пикови на двата SW-пика кон попозитивни вредности на потенцијалот додека анодните (backward) пикови се поместуваат во спротивна насока. Конечниот одговор од овие настани резултира со „цепење“ на двата нет SWV-пика (слика 22d). Како што претходно беше елаборирано,

главни карактеристики на сите површински редокс-реакции се феномените на „квазиреверзибилен максимум“ и „цепење на нет SWV-пиковите“ (Mirceski & Lovric, 2007). Квазиреверзибилниот максимум е феномен на параболична зависност на нет SW-пик струите како функција на логаритам на бездимензионалниот кинетички параметар поврзан со реакцијата на електродата (K). Овој феномен е последица на синхронизирање на брзината на пренос на електрони со мерењето на временската рамка на потенцијалниот пулс во SWV. Овој феномен резултира со повеќекратна употреба на електроактивниот материјал при квазиреверзибилни реакции (т.е. електродни реакции кои се карактеризираат со умерена брзина на пренос на електрони). Притоа, ваквите електродни реакции се карактеризираат со максимални измерени нет струи (Mirceski & Lovric, 2007). Феноменот на „цепење на нет SWV-пиковите“ се среќава во површинските електродни реакции што се карактеризираат со многу брза кинетика на пренос на електрони (Gulaboski et al., 2008, 2012, 2019; Gulaboski & Mirceski, 2015; Mirceski & Lovric, 1997, Mirceski, Komorsky-Lovric&Lovric, 2007). На ваквите површински редокс-реакции им треба кратко време за да се случи редокс-трансформација на Ox(ads) во Red(ads). Овој феномен произведува само мала количина на електроактивни редокс адсорбати што остануваат во краткиот временски сегмент од мерењето на струјата при дадени потенцијални пулсеви во SWV. Притоа, струјата измерена на крајот од SW/потенцијалниот пулс кај брзите површински електродни реакции ќе биде многу мала како што е прикажано на слика 22d. И кај двата SW пика на површинскиот EE-механизам (кога тие се одвоени за 300 mV или повеќе), преку феномените на „квазиреверзибилен максимум“ и „цепење на нет SW-пикот“ може да добиеме пристап до константите на брзина на двата чекора за пренос на електрони како што е елаборирано во трудовите (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Mirceski & Gulaboski, 2014; Mirceski et al., 2013; Gulaboski et al., 2008).

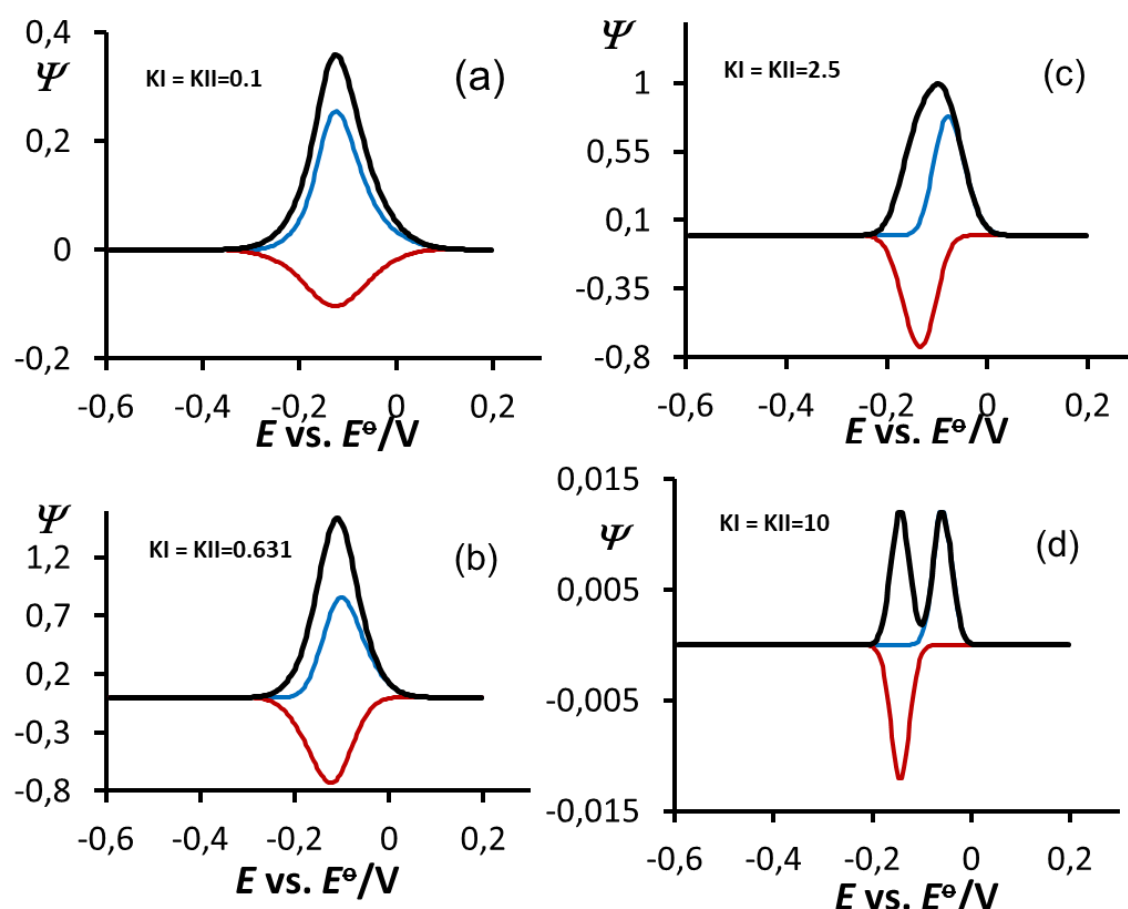


Слика 22. Површински ЕЕ-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани при потенцијално одвојување од ~ 400 mV помеѓу двата чекора на електродата: На волтамограмите е прикажан ефект на вредностите на двата бездимензионални кинетички параметри K_I и K_{II} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_I и K_{II} што се употребени во симулациите се дадени во графиконите. Други параметри користени во симулациите се: SW-фреквенција $f=10$ Hz, SW-амплитуда $E_{sw}=50$ mV, потенцијален чекор $dE=4$ mV, температура $T=298$ K. Во сите симулации, коефициентите на пренос на електрони на првата и втората електродна реакција се поставени на $\alpha = 0.5$, додека бројот на разменети електрони помеѓу работната електрода и редокс адсорбатите е $n_1=n_2=1$.

Figure 22. Surface EE mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated at potential separation of ~ 400 mV between the two electrode steps: Effect of the values of both dimensionless kinetic parameters K_I and K_{II} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_I and K_{II} are given in the charts. Other simulation parameters were: SW frequency $f=10$ Hz, SW amplitude $E_{sw}=50$ mV, potential step $dE=4$ mV, temperature $T=298$ K. In all simulations, the electron transfer coefficients of first and second electrode reaction was set to $\alpha=0.5$, while the number of electron exchanged between working electrode and the redox adsorbates was $n_1=n_2=1$

Двостепен површински ЕЕ-механизам со два чекора што се одвиваат со ист потенцијал

На слика 23а–д е прикажан случај на површински ЕЕ-механизам, во сценарио кога двата чекора на електродата се случуваат со ист потенцијал. Ова се случува кога енергијата на одвивање на вториот чекор на електродата е помала или е еднаква со енергијата потребна за одвивање на првиот чекор на размена на електрони помеѓу електродата и редокс -атсорбатите.



Слика 23. Површински ЕЕ-механизам: симулирани квадратно-бранови волтамограми во ситуација кога двата чекора на електродата се одвиваат на ист потенцијал: Ефект на двата бездимензионални кинетички параметри K_I и K_{II} на карактеристиките на симулирани SW-волтамограми. Вредностите на K_I и K_{II} се дадени во графиконите. Другите параметри користени за овие симулации се исти како на слика 22.

Figure 23. Surface EE mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of both dimensionless kinetic parameters K_I and K_{II} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_I and K_{II} are given in the charts. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Резултантниот волтамограм при ваков сет од параметри се пресликува во единечен волтаметриски SW-пик со речиси исти карактеристики како и волтаметриските одговори од едностепените површински електродни реакции. Кај ваквите случаи, голем предизвик е да се дефинира критериум и да се препознае дали SW-волтамограмот припаѓа на едностепена површинска електродна реакција или е резултат на двостепен последователен EE-механизам што се одвива во два чекора. Во следните елаборирани двостепени површински механизми, дадени се критериуми за разликување на едностепениот површински електроден механизам од двостепениот површински EE-механизам, во случаи кога двата чекора од површинските EE- механизми се случуваат на ист потенцијал.

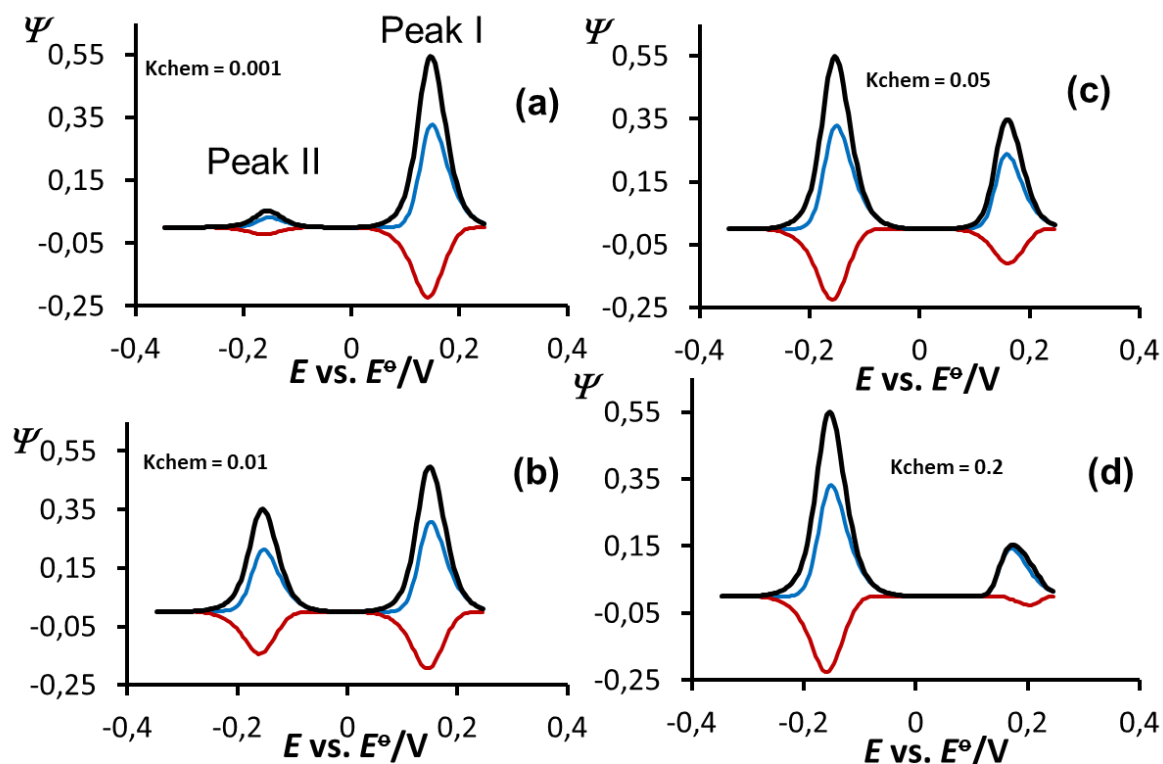
5.2.2. Површински ECE-механизам

-Површински ECE-механизам кога двата чекора на размена на електрони помеѓу електродата и редокс-атсорбатите се одвоени за најмалку 300 mV

На слика 24 е прикажан ефектот на брзината на хемиската реакција на површинскиот ECE-механизам кога двата електрохемиски чекори што се случуваат на работната електрода се во квазиреверзибилниот регион на пренос на електрони (т.е. $K_1=K_{11}=0.1$). Во такви услови, големината на сите компоненти на струјата на вториот чекор на електродата зависат од брзината на хемиската реакција. Ако брзината на хемискиот чекор (што го троши продуктот од првиот чекор на електродата и го претвора во реактант за вториот чекор на електродата) е мала, тогаш се детектираат мали струи измерени за втората електродна реакција, без оглед на вредноста на K_{11} (слика 24a). Како што се зголемува брзината на иреверзибилната хемиска реакција, така се забележува зголемување на сите компоненти на струјата на вториот волтаметриски пик (пик II) и истовремено намалување на сите струи измерени со првиот волтаметриски пик (пик I) (слика 24b-d). Во таков редослед на настани, првиот пик има карактеристики на површинска EC_{irr} -реакција („irr“ е кратенка за иреверзибилна реакција), додека карактеристиките на вториот пик може да се припишат како оние на површинскиот $C_{irr}E$ -процес. Доколку двата SW-пикови на површинскиот ECE-механизам се добро одвоени, а кинетиката на електродите на двата чекора

паѓа во квазиреверзибилниот регион на пренос на електрони, тогаш може да се искористат методите на „фитување„ на теоретските и експерименталните волтамограми или некои од методите елаборирани во трудовите (Mirceski & Lovric, 2007; Mirceski et al., 2013; Gulaboski, 2009; Kokoskarova et al., 2019) за да се определат сите параметри релевантни за овој електроден механизам.

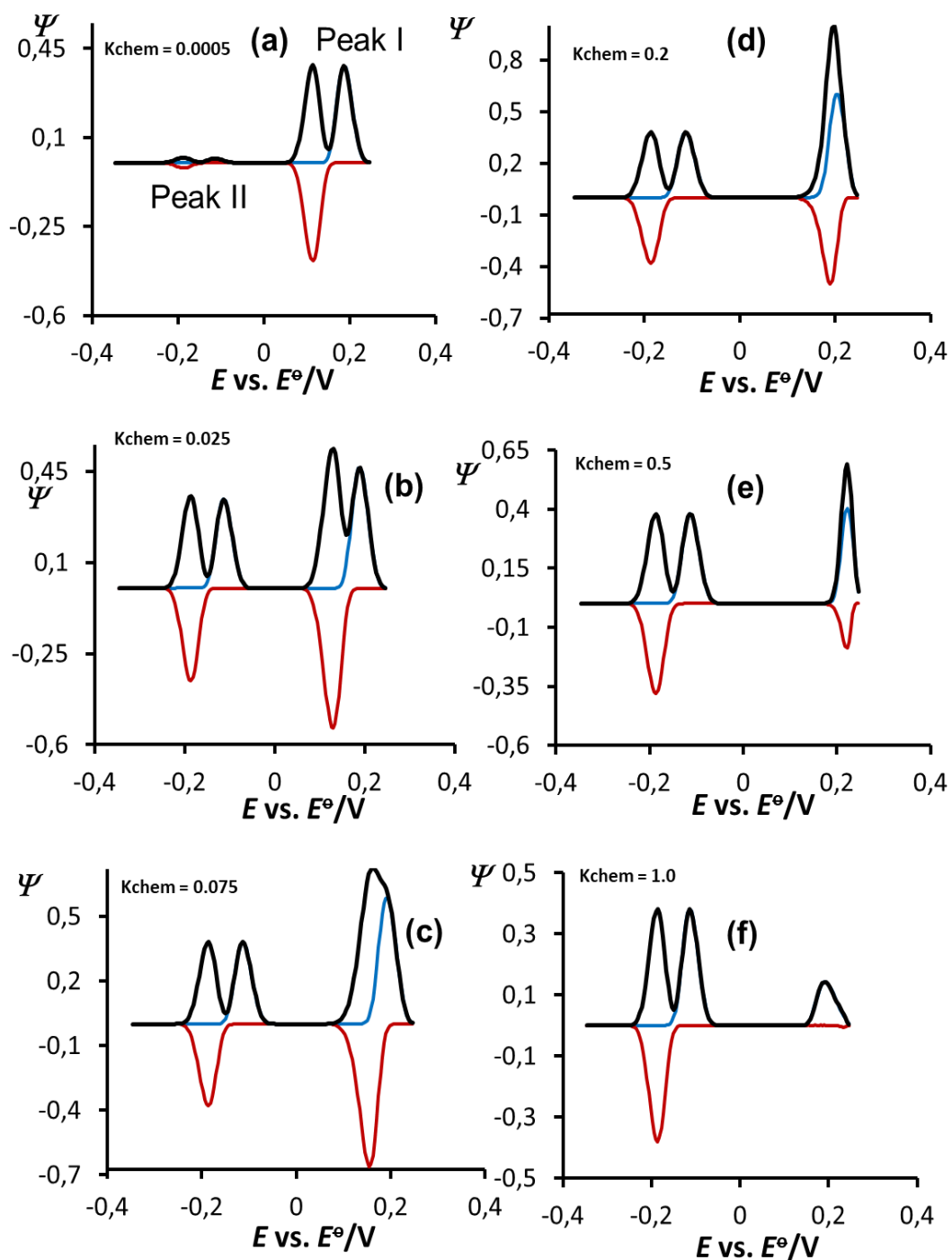
Ситуацијата станува многу посложена кога двата одвоени SWV-пика на површинскиот ECE-механизам имаат голема вредност на кинетиките на двата електродни чекора (тоа е ситуација на „раздвоени нет SWV-пикови“, слика 25a-f). Во таков случај има многу интересна појава во регионот на брзини на хемиската реакција $0.01 < K_{\text{chem}} < 0.2$ (слика 25b-d). Во споменатиот регион, на K_{chem} вредности, зголемувањето на брзината на иреверзибилната хемиска реакција доведува до истовремено зголемување не само на струјата на вториот електроден процес (пик II), туку и на сите SWV-струјни компоненти од првиот електроден процес. Она што е уште понеобично, повратните (реоксидациски) SW-струјни компоненти на првиот електроден процес (компонентата од струјата што треба да биде „потрошена“ поради одвивањето на хемиската реакција) се зголемува поинтензивно од директниот пик при зголемување на K_{chem} (слика 25b-c). Така на пример, односот на апсолутните вредности на повратните (реоксидациски) наспроти директните (редукциски) пик струи на првиот чекор на електродата се зголемува во регионот $0.01 < K_{\text{chem}} < 0.2$ и достигнува максимална вредност од 1.40 за K_{chem} од околу 0.075 (слика 25c).



Слика 24. Површински ECE-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани при потенцијално раздвојување на ~ 400 mV помеѓу двата чекора на електродата: На сликата е прикажан ефект на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_{I} и K_{II} се 0.1. Другите параметри за симулација се исти како тие на слика 22.

Figure 24. Surface ECE mechanism: Square-wave voltammograms simulated at potential separation of ~ 400 mV between the two electrode steps: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SWV voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_{I} and K_{II} were set to 0.1. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Конечниот волтамограм при овие услови е отсликан во исчезнување на феноменот на лепење на нет SWV-пик I (слика 25c–d), што резултира со постоење на единствен нет SWV-пик. Притоа, за вредности на $K_{\text{chem}} > 0.2$ се забележува намалување на сите струјни компоненти на првиот SWV-пик, како што се очекува за механизмот ECirr (слика 25d-f). Феноменот на зголемување на сите SWV-компоненти на струјата на површинските EC-реакции со зголемувањето на брзината на последователната хемиска реакција се должи на специфичните хроноамперометриски карактеристики на овие механизми во SWV. Таканареченото „мртво време“ во секој потенцијален SW-пулс (Gulaboski, 2019) е сегмент каде струјата не се мери, но сепак таму се случуваат и електрохемиската и хемиската реакција (шема 1).



Слика 25. Површински ECE-механизам: Квадратно-бранови волтаметриски шеми симулирани при потенцијално одвојување од 400 mV помеѓу двата чекори на електродата: На сликите е прикажан ефект на бездимензионален хемиски кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_I и K_{II} се 2. Другите параметри за симулација се исти како во слика 22.

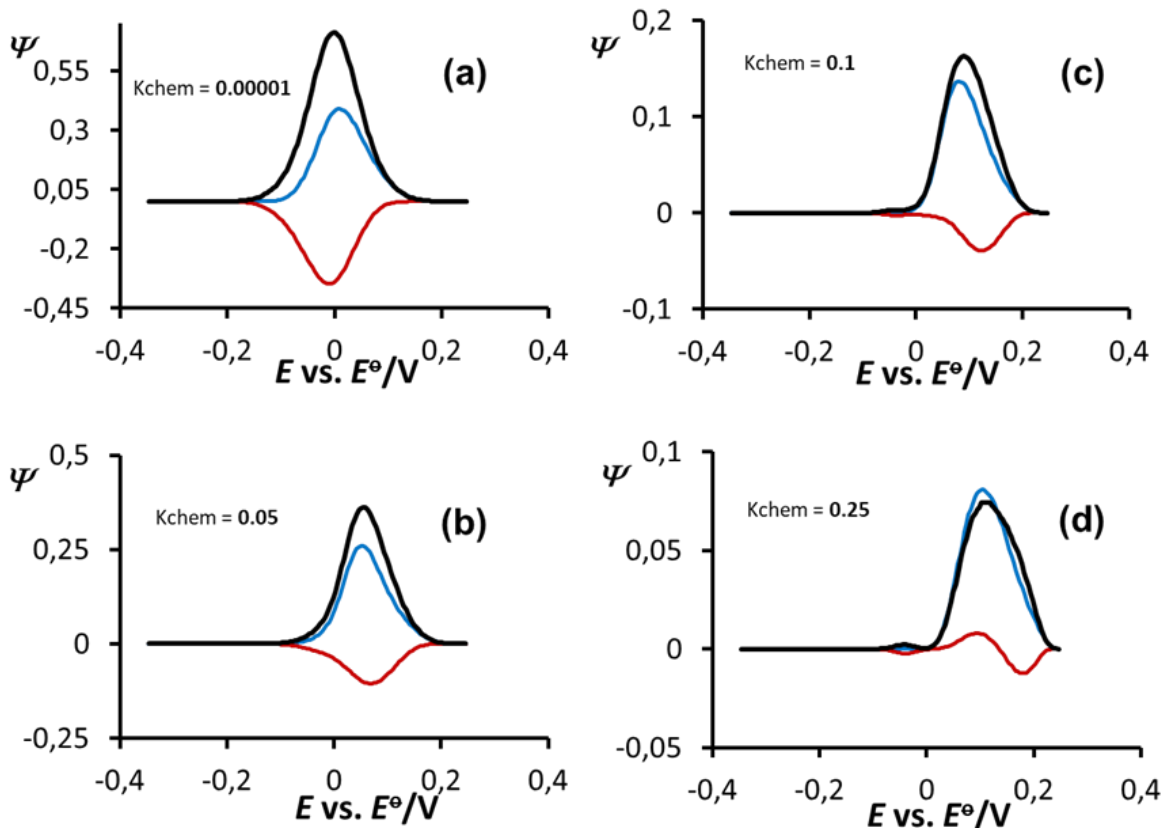
Figure 25. Surface ECE mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated at potential separation of 400 mV between the two electrode steps: Effect of dimensionless chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 2. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Како што е прикажано на шема 1, во сегментот на т.н. „мртво време“ од секој потенцијален SW-пулс се случуваат и редокс-трансформација и хемиска реакција. Таквата серија на настани што се случува во „мртвото време“ на дадените потенцијални SW-пулсеви предизвикува значително нарушување во рамнотежата на редокс-атсорбатите (Gulaboski, 2019). Ова се случува кога кинетиката на реакцијата на електродата е споредлива со брзината на хемиската трансформација. Притоа се создава повеќе „електроактивен“ материјал достапен за трансформација на електродата во времето на мерење на струјата на даден SW-пулс. Исходот од овие феномени ќе биде пресликан во поинтензивни SWV-струи детектирани при умерени брзини на последователната хемиска реакција како што е објаснето во (Kokoskarova et al., 2019; Gulaboski et al., 2019; Gulaboski, 2019).

- Површински ECE-механизам во случај кога и двата електрохемиски чекори на електродата се одвиваат на ист потенцијал

На сликите 26 и 27 е прикажана серија од симулирани квадратно-бранови волтамограми на површински ECE-механизам. Овие волтамограми го прикажуваат ефектот од брзината на иреверзибилната хемиска реакција. Кога брзините на двата чекора на електрохемиска трансформација се наоѓаат во регион на умерени брзини на електрохемиска трансформација (слика 26), се детектираат SW-волтамограми со карактеристики типични за оние на површинска $E_{C_{irr}}$ реакција (Gulaboski, 2019). Во таков случај, нет SW-пикот се поместува кон попозитивни потенцијали со зголемување на K_{chem} за $59 mV/[log(K_{chem})]$, во делот од $0.005 < K_{chem} < 0.5$. Од друга страна, како што вредноста на K_{chem} се зголемува, струите на сите SWV компоненти на пикот се намалуваат, при што поизразено е намалувањето на backward (оксидационите) пик струите (слика 26b-d). Формално, површинскиот ECE-механизам се состои од еден површински $E_{C_{irr}}$ -процес поврзан со дополнителен површински $C_{irr}E$ -чекор. Бидејќи и двата електродни процеси на слика 26 се јавуваат на ист потенцијал и бидејќи целиот електроактивен материјал останува атсорбиран на површината на работната електрода, интуитивно се очекува брзината на хемиската реакција да нема значително влијание врз карактеристиките на нет

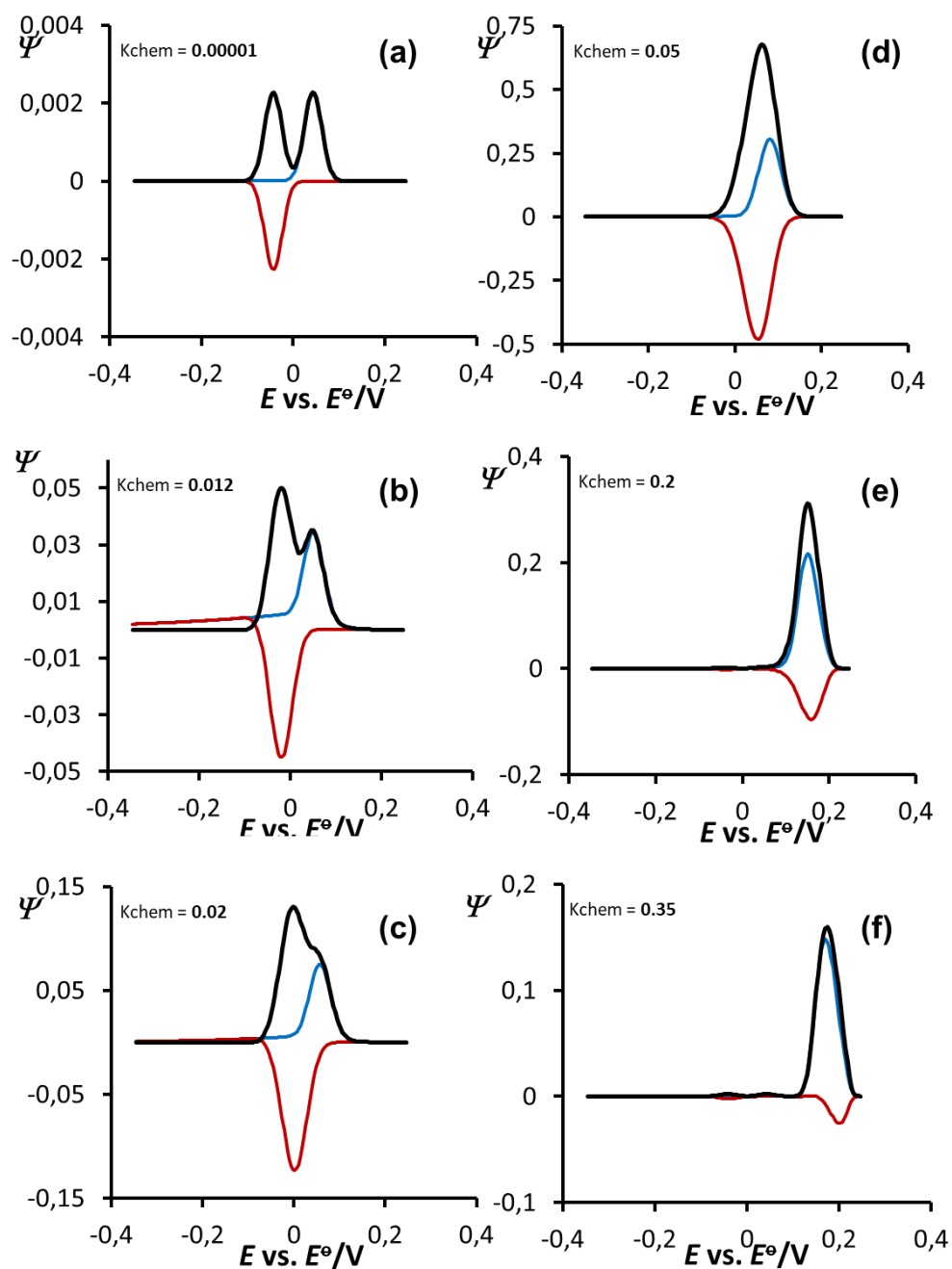
SW-волтамограмите во таквите случаи. Објаснување за феномените забележани на слика 26 се наоѓа во специфичните хроноамперометриски карактеристики на овој механизам во SWV (Gulaboski, 2019). Кога двата процеса на електродата на површинскиот ECE-механизам се случуваат на ист потенцијал, тогаш и двете „редокс“ рамнотежи на површината на работната електрода може значително да се нарушат за време на „мртвото време“ на дадените потенцијални SW-пулсеви. Во сегментот на мртво време на SW-потенцијалните пулсеви, умерените брзини на хемиската реакција може да доведат до продуцирање на значителна количина на краен редокс-производ Red(ads). Оваа појава ќе продуцира мала количина на Ox(ads) преостаната во временската рамка на мерење на струјата на крајот на SW-потенцијалните пулсеви (шема 1). Овој редослед на настани во површинскиот ECE-механизам ќе доведе до значително намалување на струјата поради мала количина на иницијален електроактивен материјал што ќе може да претрпи трансформација за време на малиот временски интервал на мерење на струјата во SW-пулсевите. Ова е една од причините за карактеристиките на симулираните SW-волтамограми прикажани на слика 26.



Слика 26. Површински ЕСЕ-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани кога двата чекора на електродата се одвиваат на ист потенцијал: На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_{I} и K_{II} се поставени на 0.5. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

Figure 26. Surface ECE mechanism: Square-wave voltammograms simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_{I} and K_{II} were set to 0.5. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Меѓутоа, кога и K_{I} и K_{II} се многу големи (случаи на поделени SWV-нет пикови), тогаш карактеристиките на симулираните SW-волтамограми во многу аспекти наликуваат и на едноставниот површински EC_{irr} -механизам (Gulaboski, 2019) и на едноставен површински $\text{C}_{\text{irr}}\text{E}$ -механизам (Gulaboski et al., 2005), (слика 27).



Слика 27. Површински ECE-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани кога двата чекора на електродата се одвиваат на истиот потенцијал: На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} на карактеристиките на симулирани SW-волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_I и K_{II} се поставени на 10. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

Figure 27. Surface ECE mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 10. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Со зголемување на брзината на хемиската реакција до $K_{\text{chem}} = 0.05$, се забележува истовремено зголемување на сите компоненти на SWV-струјата, што е проследено со исчезнување на феноменот на цепање на единствениот пик при $K_{\text{chem}} > 0.03$. Понатамошното зголемување на брзината на хемиската реакција (при $K_{\text{chem}} > 0.075$) доведува до појава на единечен SW-пик, при што сите компоненти на струјата се намалуваат со зголемување на K_{chem} , што е типично за површинскиот EC_{irr} - механизам (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007). Зголемувањето на K_{chem} од 0.03 на 0.5 влијае и на позицијата на нет SW-пикот кој се поместува кон попозитивни потенцијали за $+59 \text{ mV}/\log(K_{\text{chem}})$ во делот на брзини на иреверзибилната хемиска реакција. Единственото нешто што го разликува двостепениот површински EC_E-механизам од површинските EC или SE-механизми е појавата на многу мали последователни пикови кои се појавуваат на понегативни потенцијали од главниот пик во таквиот случај. Овие мали последователни пикови се малку видливи на слика 26c–d и слика 27e–f, но тие стануваат поизразени во следниот елабориран површински EEC_{rev}-механизам.

5.2.3. Површински EEC_{rev} - механизам

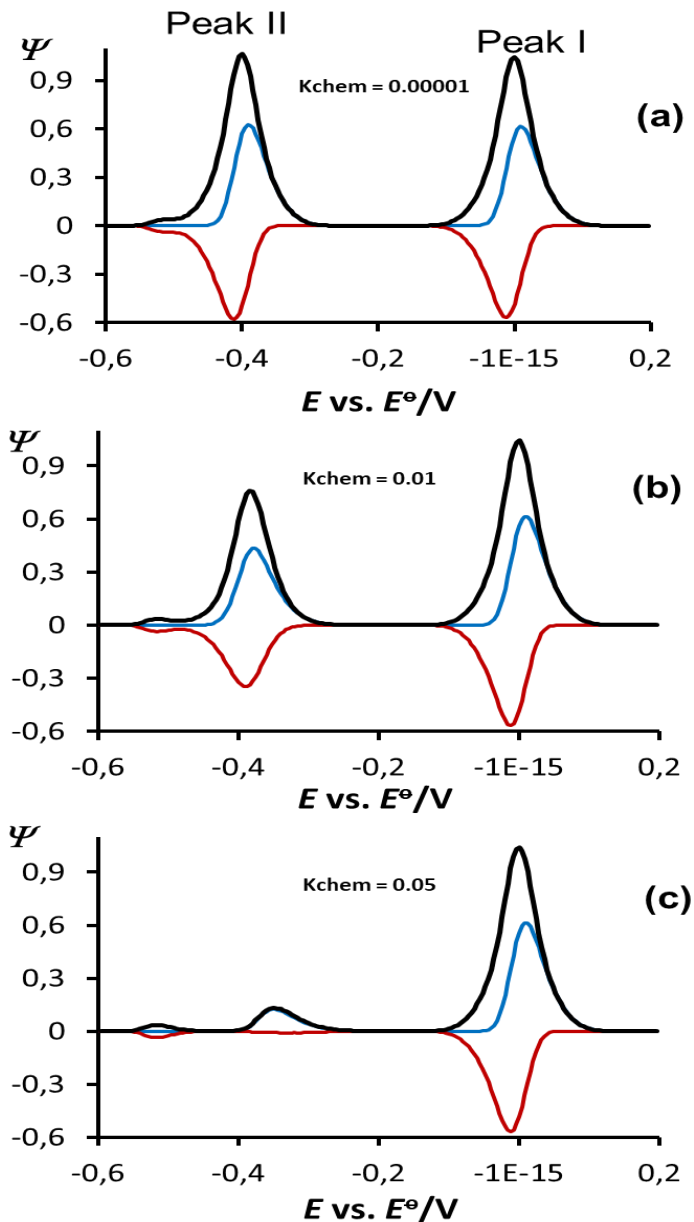
Двостепен површински EEC_{rev} - механизам во кој двата електрохемиски чекори се одвоени за најмалку 300 mV

Во нашата неодамнешна работа (Kokoskarova, Janeva et al., 2019) за првпат презентиравме детално теоретско објаснување на површинскиот EEC_{irr} - механизам во услови на SWV. Површинскиот EEC_{rev} - механизам („rev“ значи „реверзибилно“) досега не беше решен во услови на SWV. SW- волтаметриските одговори од површинскиот EEC_{rev}-механизам се функција на двата кинетички параметри на електродата K_f и K_b . Покрај тоа, кај овој механизам, константата на рамнотежа на последователниот хемиски чекор дефинирана како $K_{\text{eq}}=k_f/k_b$, како и брзината на последователна хемиска реакција изразена преку параметарот K_{chem} ($K_{\text{chem}}=(k_f+k_b)/f$), исто така, влијаат на карактеристиките на симулираните SW-волтамограми. Додека вредноста на K_{eq} го одредува рамнотежното количество на редокс-активните видови, брзината на отстранување на Red(ads) молекулите во временската рамка на секој пулс на потенцијалот е определена од вредноста на хемискиот параметар K_{chem} .

Големиот број параметри што влијаат на SW-волтамограмите на овој редокс-механизам може да доведат до многу сложена ситуација што е тешка за теоретско студирање. Затоа кај овој механизам се фокусираме само на неколку специфични релевантни ситуации.

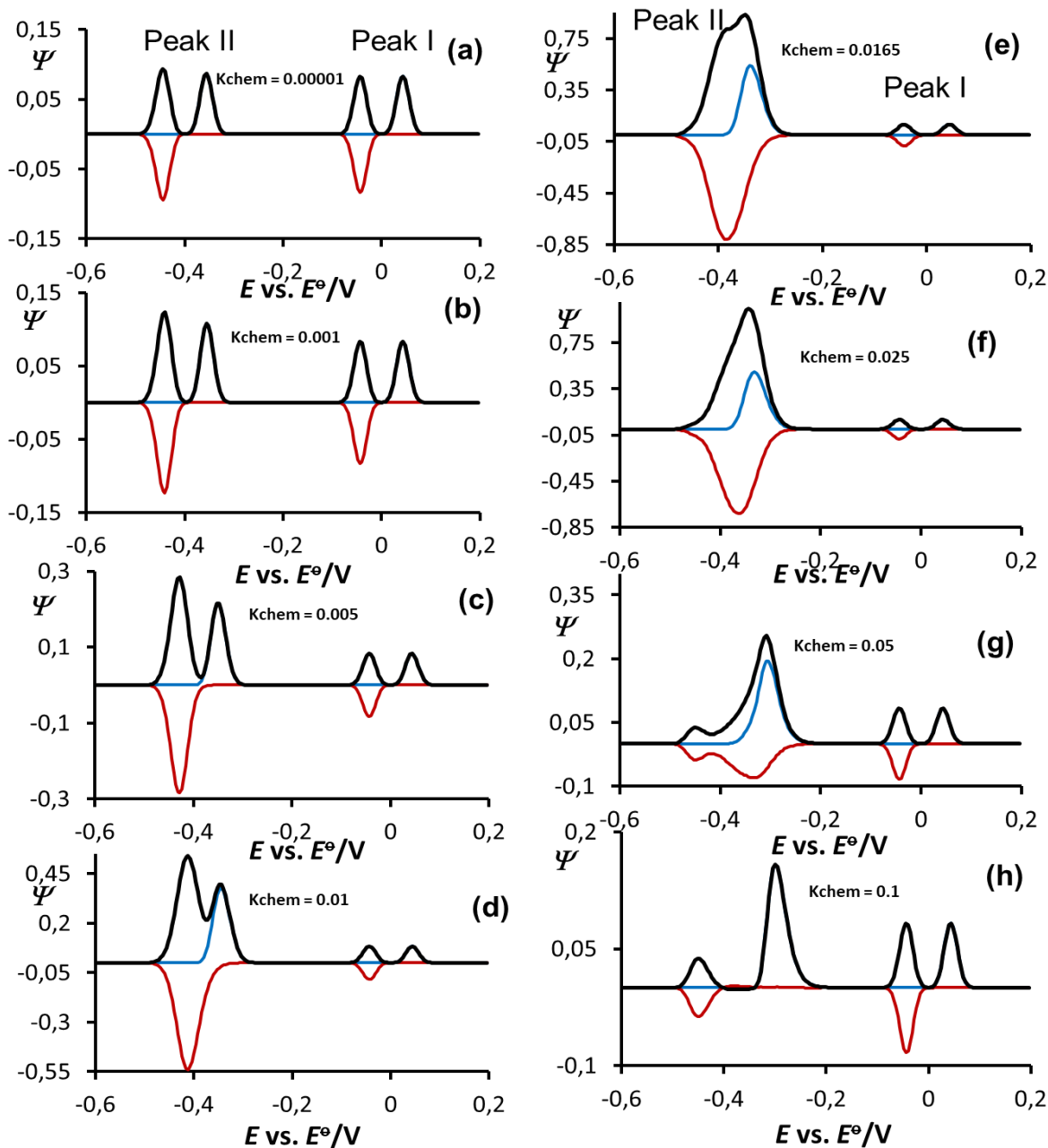
Како што беше прикажано во трудот на нашата група публикуван неодамна (Gulaboski & Janeva, 2019), при одредени дефинирани вредности на K_I , K_{II} и K_{eq} , волтаметриските шеми на „едноставните“ површински ECEv-системи се функции од вредноста на константа на брзината на хемиската реакција K_{chem} . Бидејќи во ECEv-механизмот, хемискиот чекор е поврзан со крајниот продукт на двостепената површинска електродна реакција, интуитивно се очекува секое зголемување на K_{chem} да влијае само на волтаметриските карактеристики само на вториот процес на електродата (Пик II или Peak II како што е означен во сликите). Таквото „идеално“ сценарио е претставено на слика 28, каде што зголемувањето на K_{chem} е проследено со намалување на сите SWV струјни компоненти само на Пик II.

Веднаш до пикот II кај кој сите струјни компоненти се намалуваат со зголемувањето на K_{chem} , се појавува мал „after-peak“ на понегативни потенцијали (при околу -0.5 V). Овој феномен е спомнат кај површинскиот ECE- механизам, а се појавува со поголем интензитет кај површинските ECEv- механизми коишто се карактеризираат со брз пренос на електрони во двата електрохемиски чекори (слика 29). На сликата 29 е прикажана серија на SW- волтамограми, пресметани при $K_I = K_{II} = 4.50$ (и двата процеса на електродата спаѓаат во делот на брз пренос на електрони), при вредност на константата на рамнотежа $K_{eq} = 100$ и за неколку вредности на параметарот на хемиската брзина K_{chem} . Почетното зголемување на брзината на последователната хемиска реакција (при вредности на $K_{chem} = 0.01$) предизвикува значително зголемување на двете струјни компоненти на вториот процес на електродата. Поизразено зголемување е забележано кај реоксидациските (backward) компоненти на струјата на пресметаните SW волтамограми (слика 29a-d). Во исто време, позицијата на backwards (реоксидациски) пик на вториот чекор на електродата се движи кон попозитивни вредности (се поместува за 59 mV/log(K_{chem}) во регионот на брзини на хемиски реакции $0.005 < K_{chem} < 0.1$.



Слика 28. Површински EECrev-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани при потенцијално раздвојување од 400 mV помеѓу двата чекора на електродата. На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулирани SW-волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_I и $K_{II} = 0.316$. Константа на рамнотежа употребена при овие симулации е $K_{eq} = 100$. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

Figure 28. Surface EECrev mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated at potential separation of 400 mV between the two electrode steps: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 0.316. Equilibrium constant $K_{eq} = 100$. Other simulation parameters were same as in Figure 22.



Слика 29. Површински EECrev-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани при потенцијално одвојување од -400 mV помеѓу двата електрохемиски чекори. На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулирани SW-волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_{I} и K_{II} се поставени на 4.47. Константа на рамнотежа $K_{\text{eq}} = 100$. Другите параметри користени при симулациите се исти како на слика 22.

Figure 29. Surface EECrev mechanism: Square-wave voltammograms simulated at potential separation of -400 mV between the two electrode steps: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_{I} and K_{II} were set to 4.47. Equilibrium constant $K_{\text{eq}} = 100$. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Феноменот на „цепење“ на волтамограмите од вториот процес на електродата исчезнува за вредностите на $K_{chem} > 0.02$. Понатамошното зголемување на K_{chem} доведува до волтамограми за вториот електрохемиски чекор што се типични за површинска EC_{rev} -реакција (слика 29f–h), (Gulaboski & Janeva, 2019). Причините за појавите забележани во волтамограмите од вториот чекор на електрохемиската реакција на слика 29 се идентични како тие образложени за површинскиот EC_{rev} -механизам што е претходно елабориран во оваа дисертација. Единствената карактеристика што ги разликува SWV волтамограмите на двостепениот површинскиот EEC_{rev} -механизам од „едноставните“ едностепени површински EC_{rev} -системи (Gulaboski & Janeva, 2019) се гледа во постоењето на мал пост-пик (after-peak) што се појавува кај површинскиот EEC_{rev} -механизам за вредности од $K_{chem} > 0.03$ (слика 29g–h). При истражување на двостепениот површински EEC_{rev} -механизам, треба да знаеме дека снабдувањето/дополнувањето на активните редокс адсорбати на електродата (т.е. видовите $Red(ads)$) доаѓа од два извора: (а) електрохемиски - од првиот чекор на електродата и (б) хемиски - од поврзаната хемиска рамнотежа. Треба да се спомене дека првиот чекор на електродата на површинските EEC_{rev} -системи се одвива (со многу повисока кинетика) на потенцијали дефинирани за вториот чекор на електродата. Интеракцијата помеѓу кинетиката на преносот на електрони на двата чекора на електродата како и високите брзини на хемиска реакција поврзана со вториот чекор, може да произведат, при одредени услови, дополнителна количина на $Red(ads)$ склони да се реоксидираат при понегативни потенцијали. Овој случај, заедно со специфичните хроноамперометриски карактеристики на површинските реакции во SWV веројатно се причина за постоењето на „after-peak“ забележан на површинскиот EEC_{rev} -механизам (слика 29g–h). Треба да се спомене дека таков случај не е забележан кај двостепениот површинскиот EEC_{irr} -механизам.

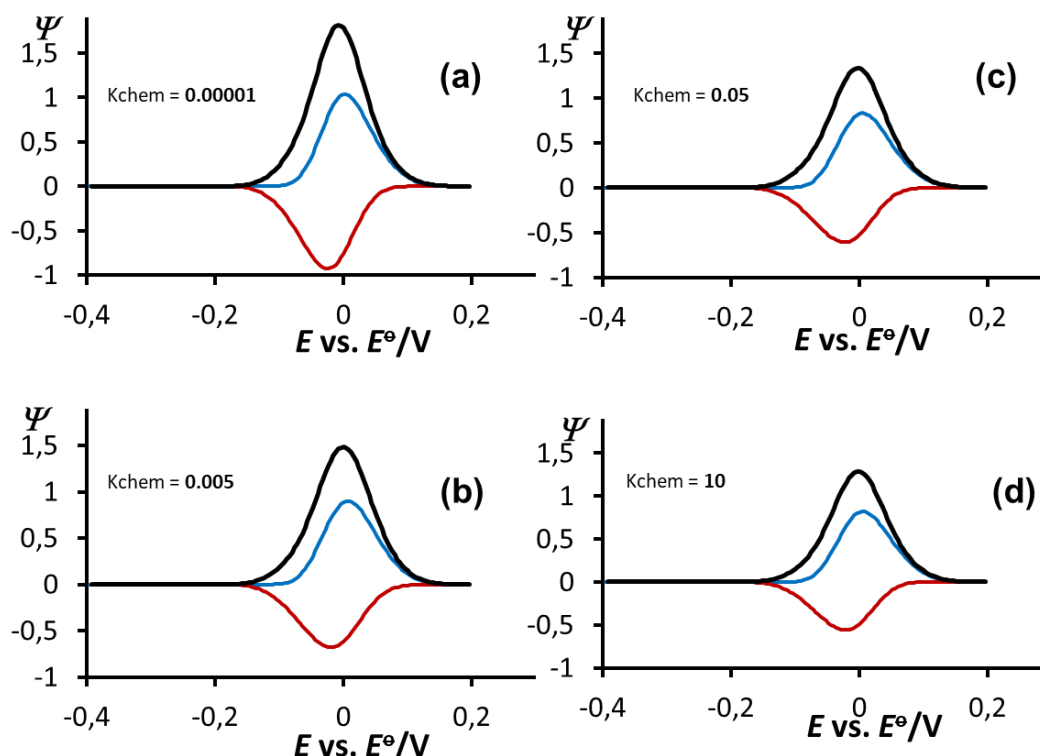
Површински EEC_{rev} - механизам со двата чекора на електродата што се одвиваат на ист потенцијал

Кога двата чекора на електродата на даден површински EEC_{rev} - систем се одвиваат на ист потенцијал, тогаш треба да се разработат неколку специфични случаи. На сликите 30 и 31 се прикажани квадратно-бранови волтамограми што симулирани при вредност за константа на рамнотежа на

хемискиот чекор од $K_{eq} = 10$. Кај овие волтамограми е прикажан ефектот на брзината на последователната хемиска реакција во случај на умерена (слика 30) и голема кинетика на двата чекора на електродата на површинскиот EECrev - механизам (слика 31). Во првиот случај (за $K_i = K_{ii} = 1$), зголемувањето на параметарот на хемиската брзина до K_{chem} за 0.1 придонесува за незначително намалување на сите струјни компоненти (слика 30a–c). Притоа, при вредности од $K_{chem} > 0.1$, веќе не се забележува ефект на брзината на последователниот хемиски чекор и SW-волтамограмите се во стабилна состојба, независно од K_{chem} (слика 30c-d). Волтаметриските шеми на слика 30c–d имплицираат дека не се случува ефикасно отстранување на Red(ads) во таквиот случај. Бидејќи константата на рамнотежа K_{eq} го регулира рамнотежното количество на Red(ads) видовите присутни на површината од работната електрода, SW-волтамограмите на слика 30 сугерираат дека дури и високите брзини на последователниот хемиски чекор не можат да дојдат до значително претворање на Red(ads) материјалот во електронеактивен продукт Z(ads). Бидејќи двата чекора на електродата се случуваат на ист потенцијал, континуираното снабдување со Red(ads) се случува на сите пулсеви на потенцијалот преку електрохемиските чекори. Ова е причината за волтамограмите што се добиваат при висока константа на рамнотежа на последователен хемиски чекор, во случај кога двата електрохемиски чекори се одвиваат на ист потенцијал (слика 30c-d).

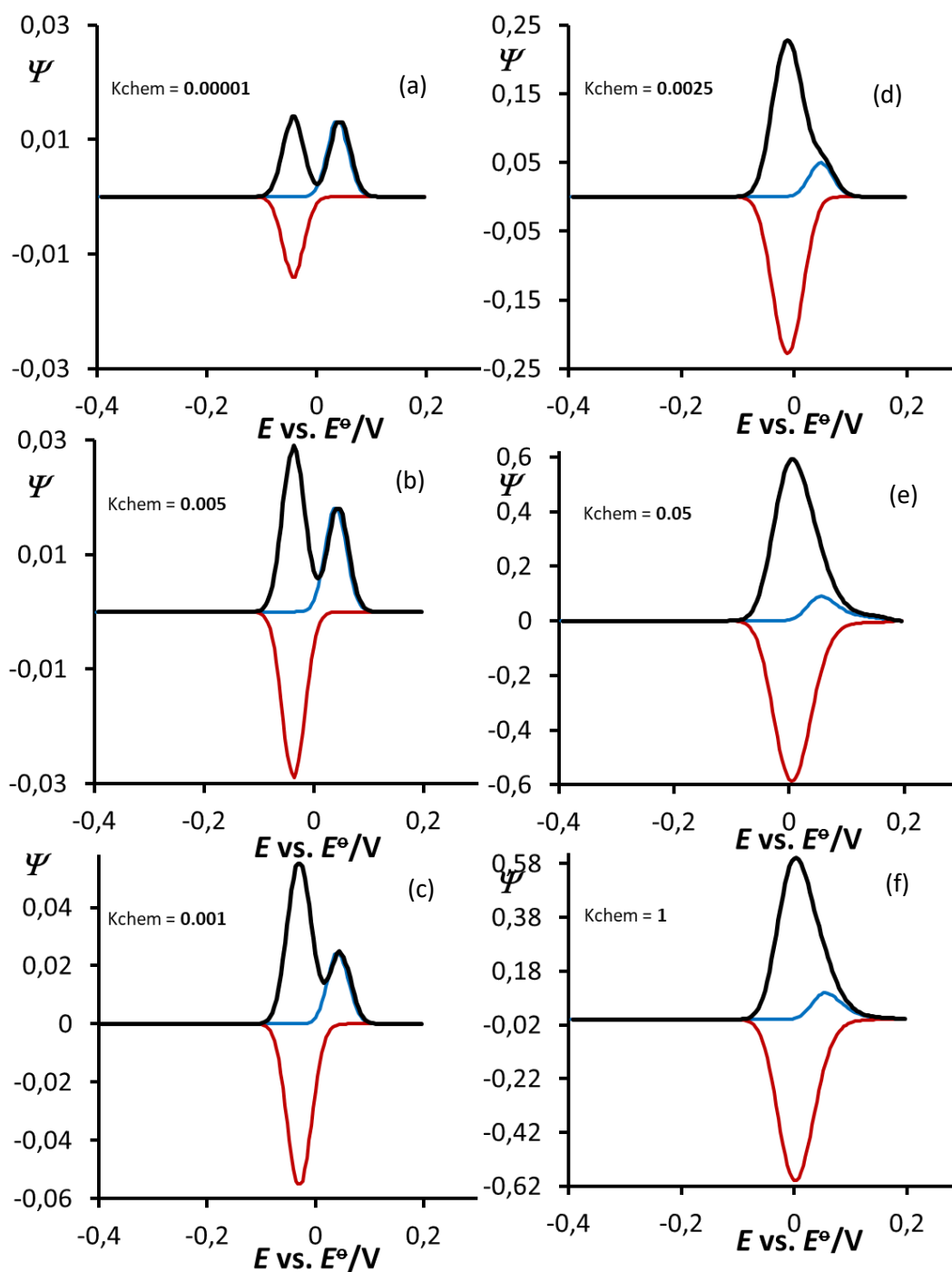
На слика 31 е прикажан ефектот од брзината на последователната хемиска реакција на пресметаните SW-волтамограми на површинскиот EECrev-механизам кога електрохемиските чекори се карактеризираат со брз пренос на електрони во двата чекора на електродата ($K_i = K_{ii} = 10$). Во овој случај, при вредностите на K_{chem} од околу 0.01, карактеристиките на симулираните волтамограми (слика 31a-d) се слични на оние на едностепениот површинскиот EECrev-механизам (Gulaboski & Janeva, 2019). Меѓутоа, кога брзината на хемиската реакција е голема т.е. при $K_{chem} > 0.04$, тогаш се добива стабилна состојба на симулираните волтамограми чишто карактеристики се независни од K_{chem} (слика 31e–f). Интересно е тоа што при овие услови, струјата на backward (реоксидациски) пик добива значително повисоки вредности од онаа на forward (редукциски) пик. Односот на апсолутните вредности на пик струите од backwards во однос на forward пиковите, достигнува константна вредност од 0.8 за $K_{chem} > 0.03$ (слика 31e–f). Ова е специфично својство на двостепен

површински EECrev-механизам, во ситуација кога два чекора на размена на електрони на електродата се карактеризираат со голема кинетика. Оваа специфична карактеристика на овој механизам го разликува EECrev од другите двостепени површински електродни механизми. SW-волтаметриските одговори претставени на слика 31 можат да послужат како дијагностички критериум за препознавање на овој конкретен механизам, во случај двата чекора на електродата се одвиваат на ист потенцијал. Други важни ситуации кај овој двостепен механизам поврзан со последователна хемиска реакција, се опишани при големи вредности на константата на рамнотежа K_{eq} .



Слика 30. Површински EECrev-механизам: Квадратно-бранови волтамограми симулирани во ситуација кога двата чекора на електрохемиска трансформација се одвиваат на ист потенцијал: На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_f и K_{f1} се поставени на 1 (умерени брзини на двата чекора од електрохемиските реакции). Константата на рамнотежа $K_{eq} = 10$. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

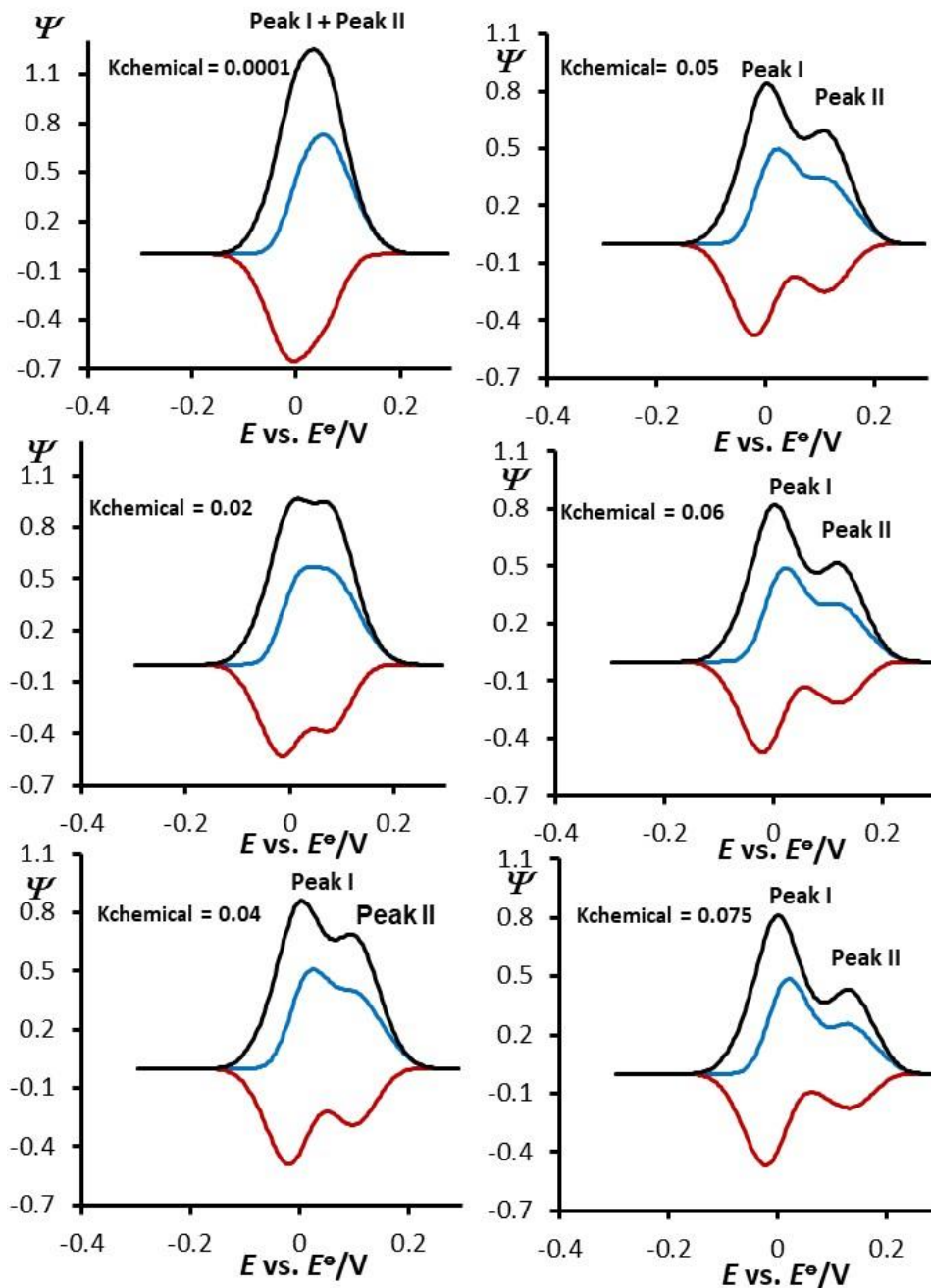
Figure 30. Surface EECrev mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_f and K_{f1} were set to 1. Equilibrium constant K_{eq} was set to 10. Other simulation parameters were same as in Figure 22.



Слика 31. Површински EECrev-механизам: квадратно-бранови волтамограми што се симулирани кога двата чекора на електродата се одвиваат на ист потенцијал: На волтамограмите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на $K_i = K_{ii} = 10$. Константата на рамнотежа користена при овие симулации е $K_{eq} = 10$. Другите параметри за симулациите се исти како на слика 22.

Figure 31. Surface EECrev mechanism: Square-wave voltammograms simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_i and K_{ii} were set to 10. Equilibrium constant K_{eq} was set to 10. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

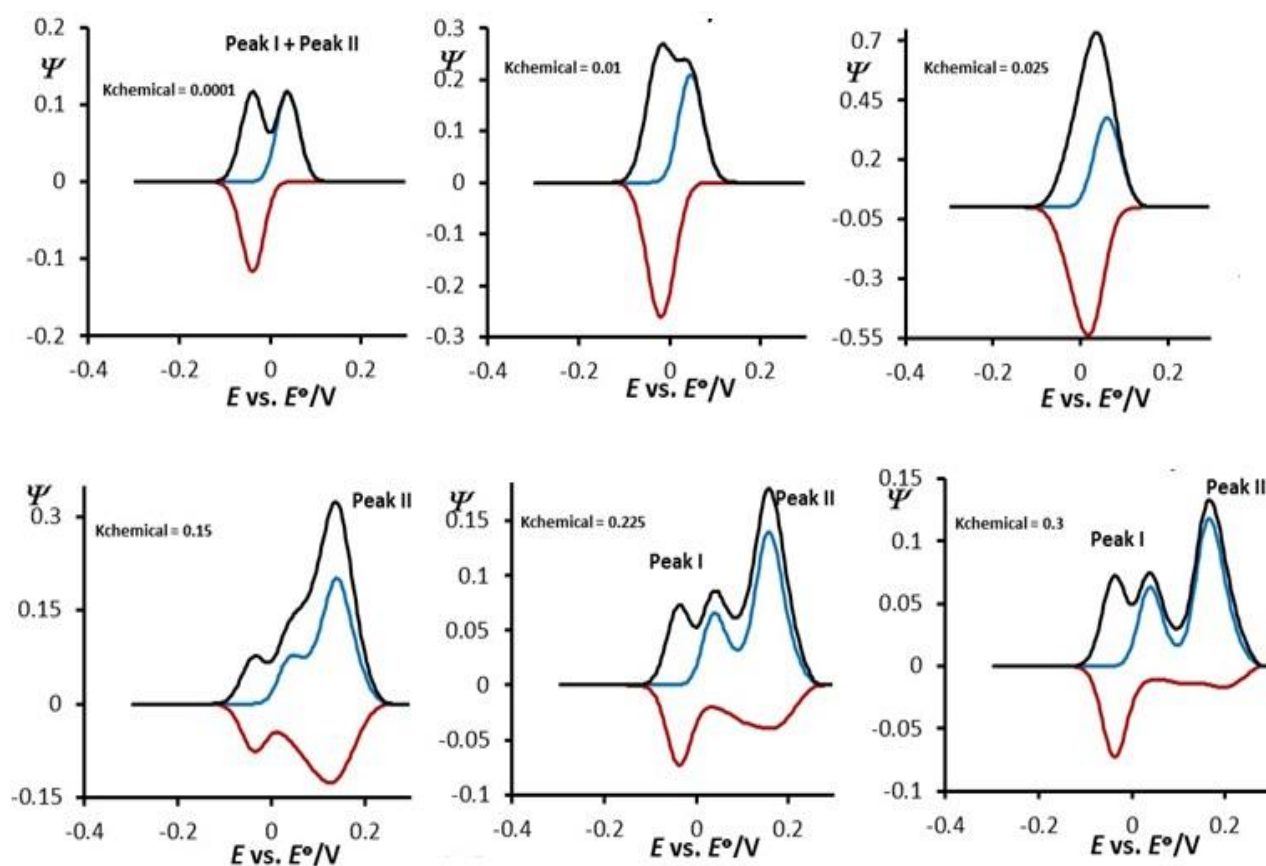
Кај двостепените електродни механизми кај кои и двата електрохемиски чекори се случуваат на ист потенцијал, важен сегмент е определувањето на природата на електродниот механизам. Бидејќи и двата електрохемиски чекори во површинскиот EECrev-механизам се случуваат на ист потенцијал, определувањето дали единечниот резултатен волтамограм е резултат на електрохемиска трансформација во два последователни чекори со учество на по еден електрон или на еден чекор со размена на два електрона е од фундаментално значење за определување на термодинамичките и кинетичките параметри. Притоа, кај површинските EECrev-механизми што се карактеризираат со големи вредности на константата на рамнотежа (при $K_{eq} > 1$), зголемувањето на брзината на хемиската реакција (отсликана преку вредноста на K_{chem}) може да доведе до раздвојување на двата процеса. Таква една ситуација е прикажана на слика 32. Ако знаеме дека брзината на хемиската реакција зависи од концентрацијата на супстратот „Y“, тогаш зголемувањето на концентрацијата на „Y“ ќе доведе (кај системи со големи вредности на K_{eq}) до раздвојување на двата пика кај двостепен механизам во кој двата „E-E“ чекори се случуваат на ист потенцијал. Тоа се случува поради поместувањето на рамнотежата во вториот електрохемиски чекор под влијание на $c(Y)$, при што позицијата на волтамограмот од вториот пик се поместува кон попозитивни потенцијали со зголемување на $c(Y)$. Ситуацијата прикажана на слика 32 е прв едноставен начин во литература што се однесува за карактеризација на двостепена површинска електродна реакција кај која двата електрохемиски чекори се одвиваат на ист потенцијал. Експериментално, раздвојувањето на два последователни електрохемиски процеси што се одвиваат на ист потенцијал може да се покаже кај лекови што градат стабилни комплекси. Притоа, како параметар што би довел до дијагностицирање на овој механизам е промената (зголемувањето) коцентрацијата на супстратот „Y“ т.е. концентрацијата на едниот лек, при константна концентрација на редокс активниот лек што претрпува електрохемиска трансформација. Овој едноставен дијагностички критериум за раздвојување на два препокриени SW- пикови е предуслов за прецизно определување на кинетичките и термодинамичките параметри што се релевантни кај овој тип на електроден механизам.



Слика 32. Површински EECrev-механизам: Квадратно-бранови волтамограми симулирани во ситуација кога двата чекора на електрохемиска трансформација се одвиваат на ист потенцијал: На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_I и K_{II} се поставени на 0.75 (умерени брзини на двата чекора од електрохемиските реакции). Константата на рамнотежа $K_{\text{eq}} = 10$. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

Figure 32. Surface EECrev mechanism: Square-wave voltammetric patterns simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 0.75 (moderate rates of both steps of electrochemical reactions). Equilibrium constant K_{eq} was set to 10. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

На сличен начин како тој опишан на слика 32, може да се направи раздвојување и кај двостепени електродни механизми поврзани со последователна хемиска реакција, кога и двата електрохемиски „Е-Е“ чекори се карактеризираат со голема брзина на преносот на електрони. Притоа, двата „Е-Е“ процеси во ваква ситуација се пресликани преку еден нет SWV-пик пресликан (ситуација на „цепење„ на нет SWV-пик). Слично како и во претходната ситуација (види слика 32), раздвојување на двата електрохемиски процеси што се случуваат на ист потенцијал, може да се реализира со промена на концентрацијата на супстратот „Y“ (т.е. со зголемување на концентрацијата на едниот лек кога се студираат интеракции на лекови).



Слика 33. Површински EECrev-механизам: ефект на параметарот на хемиската брзина K_{chemical} . Сите волтамограми се симулирани при услови кога процеси на размена на електрони се одвиваат на ист потенцијал, во регионот на брз пренос на електрони од двата чекора, т.е. $K_I = 5$ и $K_{II} = 5$. Вредностите на K_{chemical} се дадени во графиконите. Вредноста на константата на рамнотежа на хемиската реакција е поставена на $K_{\text{eq}} = 100$. Другите симулациски параметри се исти како на слика 22.

Figure 33. Surface EECrev mechanism: effect of the chemical rate parameter K_{chemical} . All voltammetric patterns are calculated when both electron transfers take place as the same potential, in the region of fast rate of the electron transfer of both steps, i.e. $K_I = 5$ and $K_{II} = 5$. The values of K_{chemical} are given in the charts. Value of the equilibrium constant of chemical reaction was set to $K_{\text{eq}} = 100$. Other simulation parameters were the same as for Fig. 22.

Од волтаметриските профили претставени на сл. 32 и 33, се гледа дека кинетиката на последователната хемиска реакција поврзана со вториот пренос на електрони може да доведе до успешно раздвојување на два последователни чекори за пренос на електрони, кога тие се случуваат со ист потенцијал. Ова значи дека само преку карактеристиките на површинскиот EECrev-механизам предизвикани со промена на концентрацијата на супстратот „Y“ (како што е елаборирано во дискусијата за сликите 32 и 33), може да се постигне ефикасно раздвојување и карактеризација на поединечните чекори на последователен пренос на електрони. Откако ќе добиеме волтамограми со одвоени пикови, како оние претставени на сл. 32 и сл. 33, тогаш можеме да примениме соодветни методологии за термодинамички и кинетички проценки поврзани со двата чекори на EE. За одредување на коефициентот α на пренос на електрони на двата чекора, може да се употреби методологијата што е детално елаборирана во (Gulaboski et al., 2008).

5.2.4. Површински каталитички (регенеративен) EEC' механизам

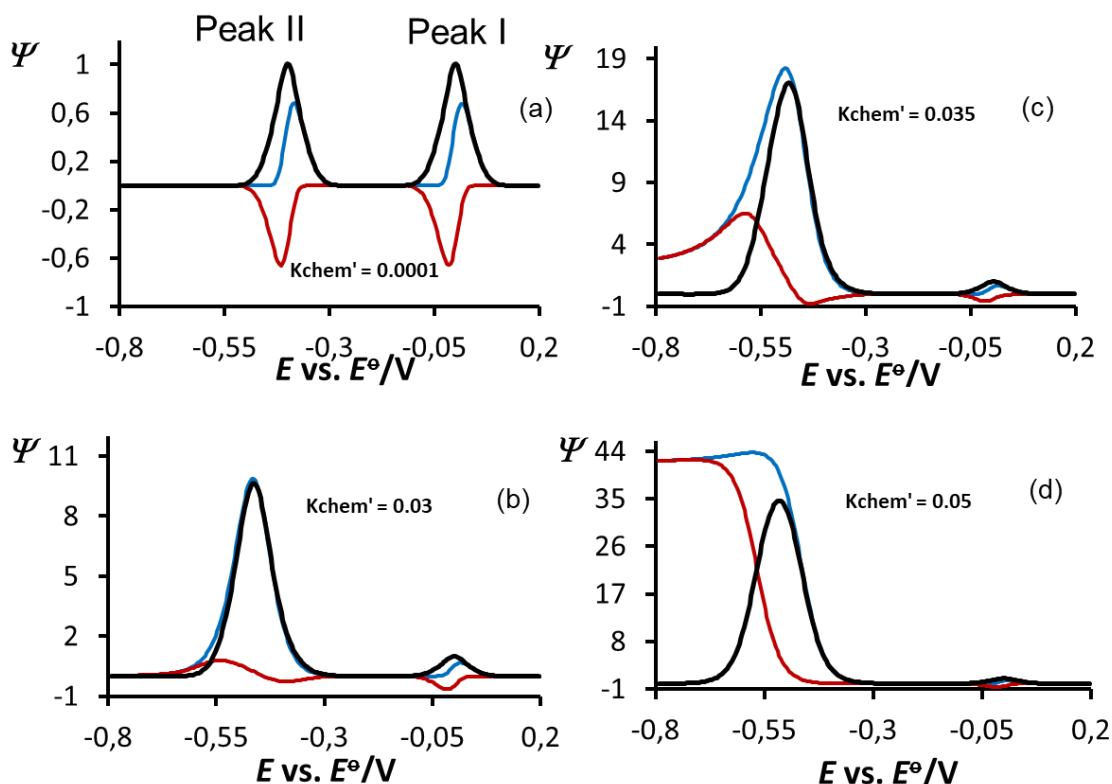
Површински каталитички EEC'-механизам со два чекора на електрода одвоени за најмалку 300 mV

Постојат многу важни аспекти на двостепениот површински каталитички EEC'-механизам, но во оваа дисертација се фокусираме на само некои специфични карактеристики на овој механизам во SWV. Тоа е од причина за да го споредиме овој двостепен електроден механизам, но и да најдеме критериуми за да го разликуваме од другите слични површински двостепени електродни механизми. Каталитички (регенеративен) механизам во волтаметријата е специфичен случај што подразбира *регенерација* на почетниот реактант на дефиниран електрохемиски чекор на површината од работната електрода. Ова се случува преку иреверзибилна хемиска реакција на крајниот продукт од вториот електрохемиски чекор на електродата со даден (електрохемиски неактивен) супстрат „Y“. На слика 34 е претставена серија од пресметани SW волтамограми што го претставуваат ефектот на каталитичкиот параметар K_{chem}

во случај на умерена кинетика на пренос на електрони во двата чекора на електродата ($K_I=K_{II}=0.5$).

Зголемување на редукциските (forward) и истовремено намалување на оксидациските (backward) струи на SW-волтамограми на вториот чекор на електродата (пик II) при зголемени брзини на каталитичката реакција е препознатлива карактеристика на овој специфичен механизам. Дополнително, овој феномен е поврзан со истовремено зголемување на нет SWV-пик струите (слика 34b-d). За поголеми вредности на хемискиот каталитички параметар K_{chem} , и редукционите и оксидационите SWV струјни компоненти добиваат идентичен знак. Притоа, двете струи се приближуваат една до друга со нивните вредности (слика 34d). Ова настанува кога брзината на каталитичката (хемиската регенеративна) реакција е многу поголема од брзината на редокс трансформација на површината на работната електрода. Во такви околности се случува повеќекратна регенерација на почетниот електроактивен материјал од вториот чекор на електродата во временската рамка на мерење на струјата на дадени потенцијални пулсеви во SWV. Следствено, измерените нет SWV- струи се зголемуваат пропорционално со K_{chem} (Gulaboski & Mihajlov, 2011; Gulaboski & Mirceski, 2015). Сепак, дури и при многу големи брзини на регенеративната каталитичка реакција, секогаш на квадратно-брановите волтамограми се добива добро дефиниран нет SW-пик (слика 34b-d). Ова се случува поради специфичното дефинирање на нет-струјните компоненти во SWV (Mirceski & Lovric, 2007; Lovric, 2010; Osteryoung & O'Dea, 1986).

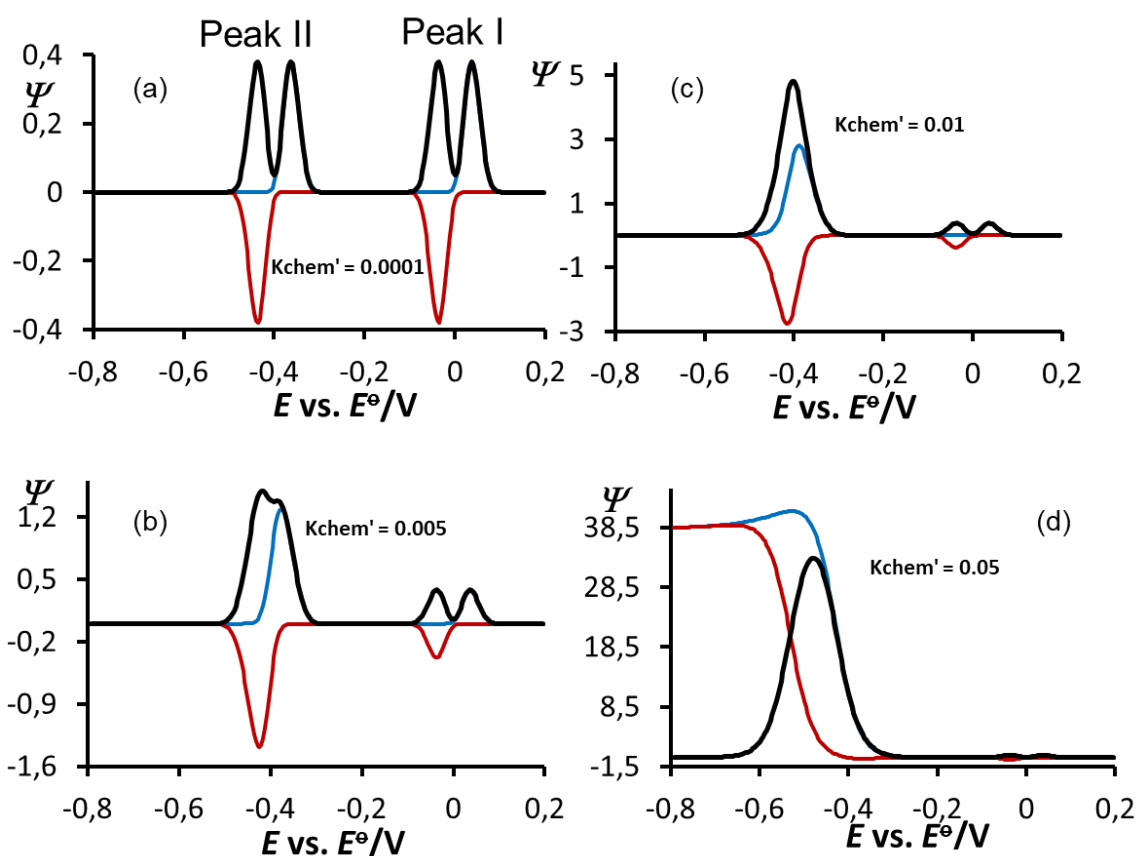
Волтамограмите што го прикажуваат ефектот на брзината на каталитичката (регенеративна) реакција во случај на два „разделени нет SWV-пикови“ се дадени на слика 35. Карактеристиките што се забележуваат на вториот чекор на електродата (до K_{chem} вредности од 0.01) не се типични за површинските EC'-механизми (Mirceski & Lovric, 2007; Mirceski et al., 2013; Gulaboski & Mirceski, 2015). Поточно, зголемувањето на K_{chem} од 0.001 на 0.01 (слика 35a-c) произведува феномени на струјните компоненти од вториот чекор на електродата (пик II) што иницијално личат на оние на површинскиот EC-механизам (Gulaboski & Janeva, 2019; Gulaboski, 2019). Можна причина за таквиот случај се гледа во интеракцијата помеѓу параметарот на хемиската брзина K_{chem} и бездимензионалните кинетички параметри K_I и K_{II} .



Слика 34. Површински каталитички EEC'-механизам: квадратно-бранови волтамограми симулирани при потенцијално раздвојување од 400 mV помеѓу двата електрохемиски чекори. На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните квадратно-бранови волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на $K_I = K_{II} = 0.5$. Другите параметри за симулациите беа идентични како параметрите на Слика 22.
 Figure 34. Surface catalytic EEC' mechanism: Square-wave voltammograms simulated at potential separation of 400 mV between the two electrode steps: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 0.5. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Редокс-реактантот на вториот чекор на електродата во механизмот (4) (т.е. $Int(ads)$), се добива на два начина: (а) електрохемиски - преку трансформација на електродата во првиот чекор на електродата, но, исто така, и (б) хемиски - преку регенеративна реакција на $Red(ads)$ и субстратот „Y“. Тоа значи, постојат три различни процеси во кои $Int(ads)$ се вклучени истовремено. Таквиот случај може да произведе сложена интеракција помеѓу двата параметри на електродата K_I и K_{II} и хемискиот каталитички параметар K_{chem} . Оваа интеракција помеѓу трите кинетички параметри може да придонесе за невообичаени волтаметрички својства што се забележани на слика 35а-с. При значителни (поголеми) брзини на регенеративната реакција (т.е. за вредности на $K_{chem} > 0.02$) се забележуваат карактеристики на вториот SWV-пик (пик II)

типичен за површинскиот каталитички EC'-механизам (слика 35d). Кога двата процеса на електродата од првиот и вториот чекор на електродата се одвоени за најмалку 300 mV, може да се употребат методите опишани во трудовите (Mirceski et al., 2013; Gulaboski & Mihajlov, 2011; Gulaboski & Mirceski, 2015) и образложени кај едностепениот површински EC'-механизам во оваа дисертација, со цел да се добие пристап до кинетичките и термодинамичките параметри релевантни за вториот чекор на електродата на површинскиот каталитички EEC'-механизам.



Слика 35. Површински каталитички EEC'-механизам: квадратно-бранови волтаметриски шеми симулирани при потенцијално раздвојување од ~ 400 mV помеѓу двата чекора на електродата: Ефект на хемискиот кинетички параметар K_{chem} на карактеристиките на симулирани SW-волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на K_I и K_{II} се поставени на 2. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

Figure 35. Surface catalytic EEC' mechanism: Square-wave voltammograms simulated at potential separation of ~ 400 mV between the two electrode steps: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 2. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

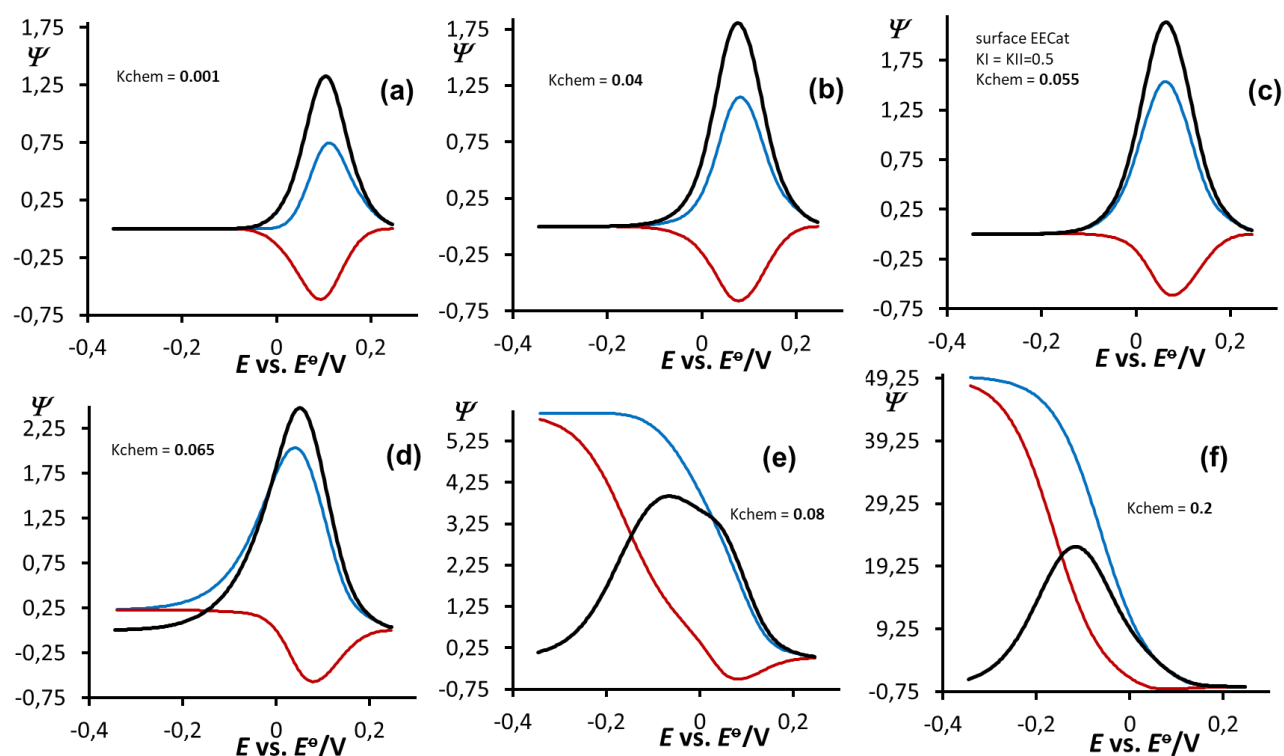
Површински каталитички EEC'-механизам кога двата електрохемиски чекори се одвиваат на ист потенцијал

Сложената интеракција помеѓу K_I , K_{II} и K_{chem} се гледа кога двата електрохемиски (E-E) чекори на површинскиот каталитички EEC'-механизам се случуваат на ист потенцијал (слика 36 и слика 37). Волтаметриските шеми претставени на слика 36 се пресметани за $K_I=K_{II}=0.5$ (регион на умерен пренос на електрони при двете електродни реакции), додека SW-волтамограмите на слика 37 се симулирани за $K_I=K_{II}=4$ (регион на брз пренос на електрони кај двата чекора на електродата).

Бидејќи хемискиот каталитички параметар K_{chem} под таква околност влијае не само на вториот, туку и на првиот електрохемиски чекор, овој феномен произведува многу сложена SW волтаметричка слика. Ефектот на хемискиот каталитички параметар K_{chem} на карактеристиките на SW- волтамограмите пресметани за $K_I=K_{II}=0.5$ многу повеќе наликува на ефектот на површинскиот EC-механизам (Gulaboski & Janeva, 2019; Gulaboski, 2019) отколку на површинскиот каталитички EC' (Mirceski et al., 2013; Gulaboski & Mirceski, 2015) механизам (слика 36a-d). За K_{chem} од околу 0.05 се гледа дека карактеристиките на нет SW-одговорот се два пика (слика 36d), додека SW- волтамограмите почнуваат да добиваат форма типична за површинскиот каталитички механизам (Gulaboski & Mirceski, 2015) при дополнително зголемување на K_{chem} (слика 36f). Појавите што се среќаваат на слика 36 можат да послужат како дијагностички критериуми за разликување на двостепениот површински каталитички EEC' од едностепен површински каталитички EC- системи (Gulaboski & Mirceski, 2015).

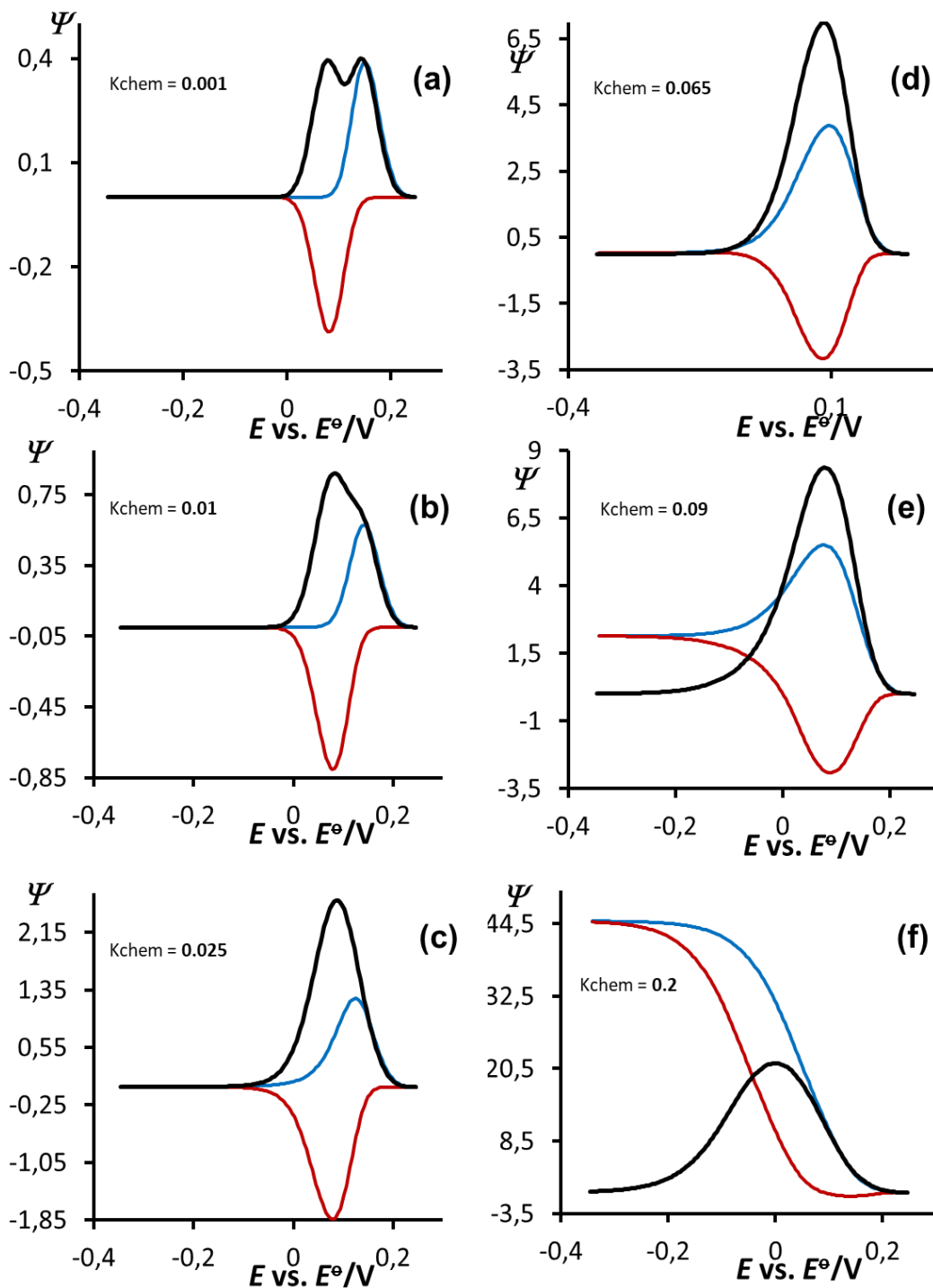
SW-волтаметриските шеми што го претставуваат ефектот на брзината на каталитичката реакција кога двата електродни процеси на површинскиот каталитички EEC'-механизам се карактеризираат со брз пренос на електрони ($K_I=K_{II}=4$), исто така, се разликуваат од соодветните карактеристики што ги исполнува едноставниот едностепен површински каталитички EC'-механизам (Gulaboski & Mirceski, 2015). Како што е прикажано на слика 37a-d, зголемувањето на K_{chem} од 0.001 до 0.065 произведува симултано зголемување на сите SWV-струјни компоненти, со поизразено зголемување на backward (реоксидациска) SW струја. На пример, односот на магнитудата на пик струите, backward наспроти forward пик се менува од 1.0 (за K_{chem} од 0.001) до 1.85 (за

K_{chem} од 0.025). Во овој опсег на брзини на регенеративната реакција, карактеристиките на пресметаните SW-волтамограми личат на оние на површинската EC_{rev} -реакција (Gulaboski & Janeva, 2019). Дури при вредности на K_{chem} поголеми од 0.08 т.е. при позначителна брзина на регенеративната хемиска реакција (слика 37e-f), добиените теоретски волтамограми добиваат карактеристики што се типични за површинскиот каталитички механизам (Gulaboski & Mirceski, 2015). Волтаметриските шеми претставени на слика 37 можат да послужат како дополнителен важен критериум за разликување на двостепениот површински каталитички EEC' -механизам од едностепен EC -механизам.



Слика 36. Површински каталитички EEC' -механизам: квадратно-бранови волтамограми што се симулирани кога двата електрохемиски чекори се одвиваат на ист потенцијал: На сликите е прикажан ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните SW-волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на $K_I = K_{II} = 0.5$. Другите параметри употребени при овие симулации беа идентични како параметрите на слика 22.

Figure 36. Surface catalytic EEC' mechanism: Square-wave voltammograms simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 0.5. Other simulation parameters were same as in Figure 22.



Слика 37. Површински каталитички EEC'-механизам: квадратно-бранови волтамограми што се симулирани кога двата електрохемиски чекори на електродата се одвиваат на исти потенцијал: На сликите е прикажен ефектот на хемискиот кинетички параметар K_{chem} врз карактеристиките на симулираните SW-волтамограми. Вредностите на K_{chem} се дадени во графиконите. Во сите симулации, вредностите на $K_I = K_{II} = 4$. Другите параметри за симулација се исти како на слика 22.

Figure 37. Surface catalytic EEC' mechanism: Square-wave voltammograms simulated for both electrode steps taking place at same potential: Effect of the chemical kinetic parameter K_{chem} to the features of simulated SW voltammograms. The values of K_{chem} are given in the charts. In all simulations, the values of K_I and K_{II} were set to 4. Other simulation parameters were same as in Figure 22.

Како што може да се забележи од големиот број симулирани SW-волтамограми кои се претставени во оваа дисертација, разгледуваните двостепени површински механизми што се поврзани со хемиски реакции можат да дадат многу сложени волтаметриски шеми. Ситуацијата станува посложена кога двата чекора на електродата, каде еден или двата од нив се поврзани со дополнителна хемиска реакција, се одвиваат на ист потенцијал.

Примарна цел во експерименталните случаи кај сите овие механизми е да се разбере дали чекорот на електродата е составен од два последователни чекори или тоа е трансформација на два електрони што се случува во еден чекор. Како што е прикажано на сликите од 24 до 37, карактеристиките на сите симулирани волтамограми релевантни за двостепените површински ECE, EEC_{rev} или EEC механизми, зависат од вредноста на хемискиот параметар K_{chem} . Во механизмите (2), (3) и (4), хемискиот параметар K_{chem} е параметар зависен од времето (фреквенцијата). Сепак, за сите двостепени механизми (2-4) кај кои постои и хемиска реакција, вредноста на K_{chem} е, исто така, функција на концентрацијата на супстратот „Y“ т.е. $c(Y)$. Како што споменавме, SW фреквенцијата истовремено влијае не само на кинетиката на хемиските реакции, туку и на кинетиката на електрохемиските реакции на проучуваните редокс атсорбати. Анализата на фреквенцијата (или времето) во волтаметриските експерименти на електродните реакции поврзани со хемиските реакции, создава прилично сложена интеракција на сите кинетички параметри. Затоа, подобар случај за репродукција на волтаметриските шеми на сликите од 24 до 37 е да се направи соодветна анализа на менувањето на брзината на хемиските реакции преку модифицирање на концентрацијата на „Y“ во услови на константна фреквенција и константна SW-амплитуда. Од експерименталните волтаметриски одговори, добиени само со промена на концентрацијата на „Y“, можеме да го препознаеме типот на двостепениот површински механизам. Ова е лесно остварливо во техниката квадратно-бранова волтаметрија, бидејќи сите механизми (2), (3) и (4) имаат специфични SW-волтаметриски карактеристики, без разлика дали двата чекора се случуваат на сосема различен или на ист потенцијал. Кога двата чекора на електродата на даден двостепен површински механизам се одвоени за 300 mV или повеќе, тогаш можеме да ги употребиме методите разработени во трудовите (Gulaboski et al., 2012; Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Mirceski et al., 2013; Gulaboski et al., 2018; Gulaboski &

Janeva, 2019; Gulaboski et al., 2005; Gulaboski & Mirceski 2015; Gulaboski & Janeva, 2019) за да се добие увид во сите релевантни кинетички и термодинамички параметри. Методот на „квазиреверзибилен максимум“ (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007) може да се употреби со цел да се добие увид во кинетиката на реакциите на електродата во случај на два добро одвоени SW-пикови кај сите елаборирани двостепени механизми, освен на површинскиот EECrev-механизам кај кој има високи вредности на константа на рамнотежа во последователниот хемиски чекор (Gulaboski & Janeva, 2019). Брзината на последователниот хемиски чекор влијае врз позицијата на „квазиреверзибилниот максимум“ за вредности на константа на рамнотежа на последователниот чекор поголема од 0.1. За површинскиот EECrev-механизам, потребно е да се користи друга методологијата за определување на кинетиката на електродните реакции, но, исто така, и кинетиката и термодинамиката на хемискиот чекор.

Кај површинскиот ECE-механизам и површинскиот EEC'-механизам, кинетиката на електродата (измерена преку феноменот „квазиреверзибилен максимум“) на двата чекора не е под влијание на параметрите на хемиската брзина. Меѓутоа, кога двата чекора на електродата се случуваат на ист потенцијал, тогаш има ограничен пристап до параметрите релевантни за чекорите на електродата или хемиските реакции, како резултат на сложената меѓусебна интеракција на сите кинетички параметри. Сепак, кај површинските EECrev и EEC'-механизми, преку менување на концентрацијата на супстратот “Y” (или вториот лек во нашите студии), може да се дијагностицира соодветниот механизам дури и кога двата електрохемиски чекори се одвиваат на ист потенцијал. Како и да е, принципите што се елаборирани во оваа дисертација можат да објаснат многу експериментални карактеристики кои се среќаваат во волтаметријата на многу ензими т.н. површински активни лекови (Armstrong, 1997, 2002, 2015; Mirceski Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Armstrong et al., 1997, 2016; Bertrand et al., 2007; Wijma et al., 2007; Jeuken et al., 2006). За едноставниот двостепен механизам во квадратно-брановата волтаметрија, за пресметување на релевантните кинетички параметри на електронски трансфер, може да се искористат голем дел од методите разработени во трудовите на Ловриќ и Коморски Ловриќ во (Komorsky Lovric & Lovric, 2014; Lovric, 2012).

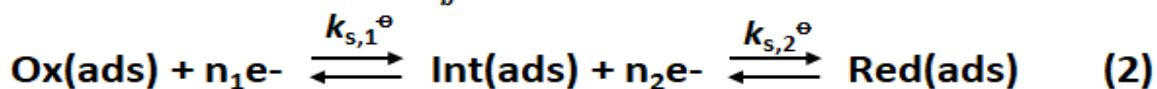
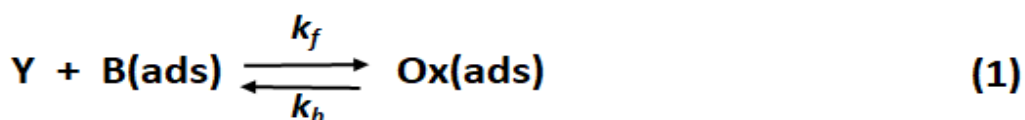
5.2.5. Повеќестепен површински електроден механизам поврзан со претходна хемиска реакција-површински СЕЕ-механизам

Електрохемиските системи во кои најмалку еден учесник е адсорбиран на површината на работната електрода најчесто се дефинирани како „површински редокс-реакции“ (Mirceski & Lovric, 2007; Compton & Banks, 2011; Bard & Faulkner, 2004; Mirceski et al., 2013). Ако се разгледува волтаметрија на липофилни редокс-ензими, волтаметриската техника што овозможува студирање на редокс-хемијата на такви системи се именува како „протеин - филм волтаметрија“ (Armstrong, 2002; Léger & Bertrand, 2008; Gulaboski et al., 2012). Релевантни експериментални примери кои припаѓаат на површински редокс-системи се реакциите помеѓу антитела-антигени (Barlett, 2008), лек-лек интеракции (Gulaboski et al., 2020), електрохемиските трансформации на едноверижна ДНК (Saveant, 2006), како и интеракциите на многу физиолошки молекули (Mirceski & Lovric, 2007; Compton & Banks, 2011; Barlett, 2008). За да се добие волтаметриски пристап до параметрите што се релевантни за термодинамиката и кинетиката на површински активните редокс супстанции (редокс лекови во нашиот случај), треба да се следат промените во површинската концентрација на дефинираните испитувани супстанции анализирани под услови на применетиот потенцијал. Меѓутоа, пред да разгледаме соодветна волтаметриска постапка за таква анализа, треба да се определи точната природа на електрохемискиот механизам што се случува во електрохемиска ќелија. Ова е од исклучителна важност за да се примени адекватен метод за добивање пристап до кинетиката и термодинамиката поврзани со дефиниран систем од интерес. Квадратно - брановата волтаметрија (SWV) е препознаена како моќна пулсна волтаметриска техника што овозможува проучување на редокс-механизмите на голем број површински редокс-системи, како и ензимски реакции (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Compton & Banks, 2011; Armstrong, 2002; Léger & Bertrand, 2008; Gulaboski et al., 2012). Покрај тоа, оваа техника обезбедува елегантен пристап до релевантните кинетички и термодинамички параметри на важни површински редокс-системи (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Mirceski et al., 2013). Бидејќи многу површински активни биомолекули покажуваат електрохемиска активност во мултиелектронски повеќестепен механизам (Barlett, 2008; Saveant, 2006), многу

е важно да се развијат теоретски модели за таквите системи во услови на SWV. Во овој дел од дисертацијата се дадени информации за волтаметричка теорија на мултиелектронски двостепен површински редокс- механизам што е поврзан со претходна хемиска реакција во услови на SWV. Кратенката на овој конкретен електроден механизам е „површински CEE- механизам“. Важноста на овој конкретен механизам се гледа во редокс- хемијата на многу комплекси на метал-лиганд (Lasia, 1986) и сложени биомолекули (Compton & Banks, 2011; Armstrong, 2002; Barlett, 2008; Saveant, 2006). Треба да се нагласи дека резултатите на овој механизам се идентични и доколку се разгледа теоретски површински EE-механизам со $Ox(ads)$ иницијално присутен во електрохемиската ќелија, каде $Ox(ads)$ формата од првиот „E“ електрохемиски процес е вклучена и во паралелна реверзибилна хемиска реакција во која стапува почетниот реактант $Ox(ads)$ (EE-механизам поврзан со паралелна хемиска рамнотежа на првиот „E“ чекор).

Математички модел

Површинскиот електроден механизам што се разгледува во овој дел се состои од два последователни чекори на преноси на електрони, што се поврзани со претходна хемиска реакција. Притоа, претходната хемиска реакција (хемиската рамнотежа) е поврзана со првиот електрохемиски чекор. Електрохемиската кратенка на овој комплексен систем е „површински CEE-механизам“, и истиот е решен и претставен за првпат од нашата група (Janeva et al., 2020). Со поимот „E“ дефинираме даден чекор за пренос на електрони, додека терминот „C“ означува реверзибилна хемиска реакција. Во математичкиот модел се претпоставува дека сите електрохемиски активни видови се силно и унифицирано имобилизирани (адсорбирани) на површината на работната електрода. Во првиот чекор (1), претпоставуваме дека се случува реверзибилна хемиска реакција помеѓу електрохемиски неактивни видови Y и $V(ads)$ што го генерираат почетниот електроактивен вид $Ox(ads)$. Електрохемиската трансформација на $Ox(ads)$ до $Red(ads)$ се одвива во два последователни чекори со пренос по еден електрон (2). Шематски, овој механизам може да се опише на следниов начин:



Само молекулите од видовите „B(ads)“ и „Y“ се присутни во електрохемиската ќелија, во периодот пред потенцијалот да биде аплициран помеѓу работната и референтната електрода. Претпоставуваме дека молекулите од сите имобилизирани видови се рамномерно адсорбирани („ads“) на површината на работната електрода и не постојат никакви дополнителни интеракции помеѓу адсорбираните видови. „Int(ads)“ претставува електроактивен супстрат што се формира електрохемиски како интермедиер во првиот редукциски чекор на електродата. Со „Red(ads)“ го означуваме конечниот редокс активен вид што се генерира електрохемиски во текот на вториот чекор на електродата од Int(ads). „Y“ е симбол на супстратот што треба да биде присутен во вишок во електрохемискиот систем и истиот не покажува електрохемиска активност во регионот на применети потенцијали. Во моделот претпоставуваме дека супстратот „Y“ реагира селективно и хемиски реверзибилно со молекулите од B(ads), при што се генерираат почетните електроактивни молекули од Ox(ads). Математички, површинскиот СЕЕ- механизам може да се претстави со следните равенки:

$$t = 0; \Gamma(B) = \Gamma^*(B); \Gamma(Ox) = K_{eq} \Gamma^*(B); \Gamma(Red) = 0 \quad (a)$$

$$t > 0; \Gamma(B) + \Gamma(Ox) + \Gamma(Int) + \Gamma(Red) = \Gamma^*(B); K_{eq} = k_f/k_b; \quad (b)$$

За $t > 0$, диференцијалните равенки (c-f) ги поврзуваат промените на концентрациите на површината со фарадеевата струја и кинетиката и термодинамиката на претходниот хемиски чекор:

$$d\Gamma(B)/dt = k_b\Gamma(Ox) - k_f\Gamma(B) \quad (c)$$

$$d\Gamma(Ox)/dt = -I_1/(n_1FS) - k_b\Gamma(Ox) + k_f\Gamma(B) \quad (d)$$

$$d\Gamma(Int)/dt = I_1/(n_1FS) - I_2/(n_2FS) \quad (e)$$

$$d\Gamma(Red)/dt = I_2/(n_2FS) \quad (f)$$

Меѓусебната зависност помеѓу електричната струја, електричните потенцијали, површинските концентрации на електрохемиски активните видови и кинетичките параметри релевантни за двата чекора за пренос на електрони се

прикажани преку Батлер-Волмеровите равенки, дефинирани со следниве формули:

$$(I_1/n_1FS) = k_{s,1}^{\circ} \exp(-\alpha\Phi_1) [\Gamma(Ox) - \exp(\Phi_1) \Gamma(Int)] \quad (g)$$

$$(I_2/n_2FS) = k_{s,2}^{\circ} \exp(-\alpha\Phi_2) [\Gamma(Int) - \exp(\Phi_2) \Gamma(Red)] \quad (h)$$

Важно е да се напомене дека сите потенцијали се дефинирани во однос на стандардниот редокс потенцијал на првиот електроден процес (дефиниран како „Пик I“). Во сите симулации, почетниот потенцијал е дефиниран на дадена позитивна вредност и скенирањето е насочено кон негативни крајни потенцијали.

Дефиниции на параметрите кои покажуваат ефект врз релевантните карактеристики на симулираните квадратно-бранови волтамограми

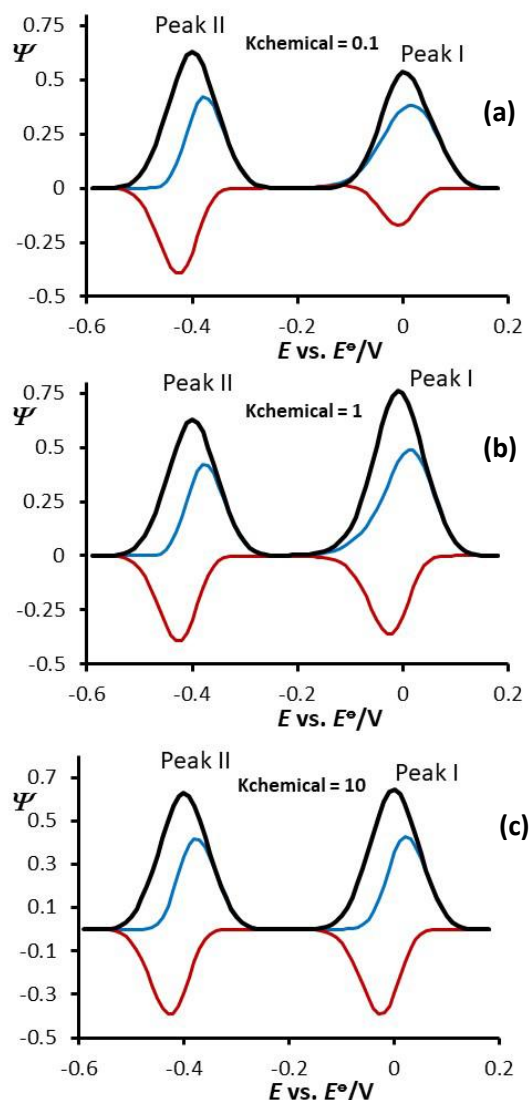
И кај овој електроден механизам, бездимензионалните кинетички параметри $K_f = k_{s,1}^{\circ}/f$ и $K_{II} = k_{s,2}^{\circ}/f$ на првиот и вториот електрохемиски чекор, го прикажуваат ефектот на $k_{s,1}^{\circ}$ и $k_{s,2}^{\circ}$ (т.е. стандардните кинетички константи на двата ЕЕ-процеси) во однос на времетраењето на SW-потенцијалните пулсеви. Покрај тоа, карактеристиките на теоретските SW-волтамограми зависат од бездимензионален хемиски параметар K_{chemical} , дефиниран како $K_{\text{chemical}} = \varepsilon/f$. Во последната равенка, $\varepsilon = (k_f + k_b)$ е кумулативниот хемиски параметар дефиниран како збир од константите на брзина од прв ред на forward (k_f) и backward (k_b) хемиските реакции, соодветно. K_{chemical} ја одразува вкупната брзина на хемискиот чекор во однос на временската рамка на мерење на струјата во техниката квадратно-бранова волтаметрија (SWV). Бидејќи претпоставуваме дека имаме супстрат „Y“ што треба да биде присутен во многу голем вишок во електрохемиската ќелија, тогаш важи дека хемискиот параметар K_{chemical} е од псевдопрв ред. Имено, вредноста на хемиски параметар K_{chemical} зависи од концентрацијата на супстратот „Y“ -с(Y) преку следниов израз: $\varepsilon = [k_f^{\circ}c(Y) + k_b]$. Во последната равенка, k_f° е реалната константа на брзина на forward хемискиот чекор. Покрај тоа, карактеристиките на симулираните квадратно-бранови волтамограми се функција од константа на рамнотежа K_{eq} што е дефинирана како $K_{\text{eq}} = k_f/k_b$, идентично како кај ECrev- механизмите. Големината на константата на хемиската рамнотежна го одредува количеството на Ox(ads) што е достапно да се подложи на електрохемиска трансформација на површината

од работната електрода. Во сите симулации, параметрите кај овој електрохемиски механизам беа поставени на следните константни вредности: фреквенција $f = 10 \text{ Hz}$, амплитуда на SW-пулсевите $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ и потенцијален инкремент $dE = 10 \text{ mV}$.

Карактеристики на теоретските волтамограми од површинскиот СЕЕ-механизам

Волтаметриската сложеност на повеќестепените површински механизми може првично да се поедностави ако претпоставиме дека двата пика се одвоени за најмалку $|150 \text{ mV}|$. Во такви ситуации, волтаметриските шеми на површинскиот СЕЕ-механизам се еквивалентни на SW-волтамограми симулирани за површински ЕЕ-механизам (Mirceski & Gulaboski, 2003) кога константата на рамнотежа е голема т.е. $K_{eq} > 10$, независно од големината на бездимензионалниот хемиски параметар $K_{chemical}$ (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Gulaboski et al., 2005). Во вакво сценарио, хемиската рамнотежа е значително поместена надесно т.е. кон продукција на почетни електрохемиски активни видови $Ox(ads)$. Во такви услови, може да се употребат методите елаборирани во трудовите (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Mirceski & Gulaboski, 2003) со цел да се добие пристап до кинетичките и термодинамичките параметри релевантни за двата чекора за пренос на електрони. Кога $K_{eq} \leq 1$, тогаш постојат значајни ефекти на рамнотежната константа K_{eq} и бездимензионалниот хемиски параметар $K_{chemical}$ врз карактеристиките на симулираните волтамограми. На слика 38 се прикажани неколку симулирани волтамограми за површински СЕЕ -механизам што го отсликуваат ефектот на брзината на претходната хемиска реакција. Волтамограмите се симулирани за $K_I = K_{II} = 1.6$ и за големина на константата на хемиската рамнотежа $K_{eq} = 0.5$. Како и што се очекува, големината на хемискиот параметар $K_{chemical}$ покажува ефект само на карактеристиките на „пик I“, што добива облици типични за површинскиот СЕ-механизам (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Gulaboski et al., 2005). За вредности на $K_{chemical} \geq 10$, нема понатамошно влијание на брзината на хемиската реакција врз карактеристиките на симулираните SWV шеми и целиот систем се претвора во двостепен површински ЕЕ-механизам (Mirceski & Gulaboski, 2003).

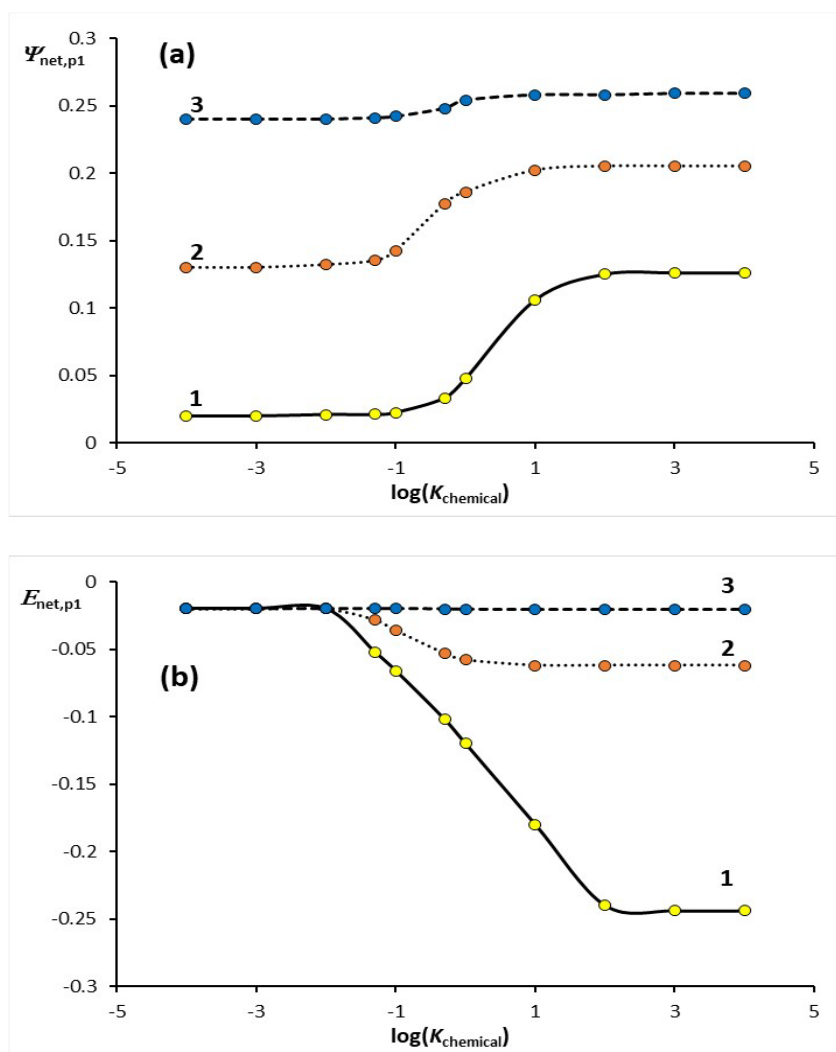
Презентиран на слика 39a-b е ефектот на K_{chemical} врз големината на нет SWV-пик струите и нет SWV-пик потенцијалите на „Пик I“. Работните криви на слика 39 се пресметани за $K_i = 0.2$ и за три различни вредности на K_{eq} .



Слика 39. Влијание на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chemical} врз карактеристиките на SW-волтамограмите симулирани за $K_i = K_{ii} = 1.60$ и константа на рамнотежа на $K_{\text{eq}} = 0.5$. Потенцијалното раздвојување помеѓу двата пика е $|400 \text{ mV}|$. Вредностите на другите параметри користени во симулациите се: температура $T = 298 \text{ K}$; број на електрони $n_1e^- = n_2e^- = 1$; коефициент на пренос на електрони $\alpha = 0.5$, потенцијален чекор $dE = 10 \text{ mV}$, фреквенција $f = 10 \text{ Hz}$. Вредностите на K_{chemical} се дадени во графиконите.

Figure 38. Influence of the dimensionless chemical parameter K_{chemical} to the features of SW voltammograms simulated for $K_i = K_{ii} = 1.60$, and equilibrium constant of $K_{\text{eq}} = 0.5$. The potential separation between both peaks is set to $|400 \text{ mV}|$. The values of other parameters used in simulations were: temperature $T = 298 \text{ K}$; number of electrons $n_1e^- = n_2e^- = 1$; electron transfer coefficient $\alpha = 0.5$, potential step $dE = 10 \text{ mV}$, frequency $f = 10 \text{ Hz}$. The values of K_{chemical} are given in the charts.

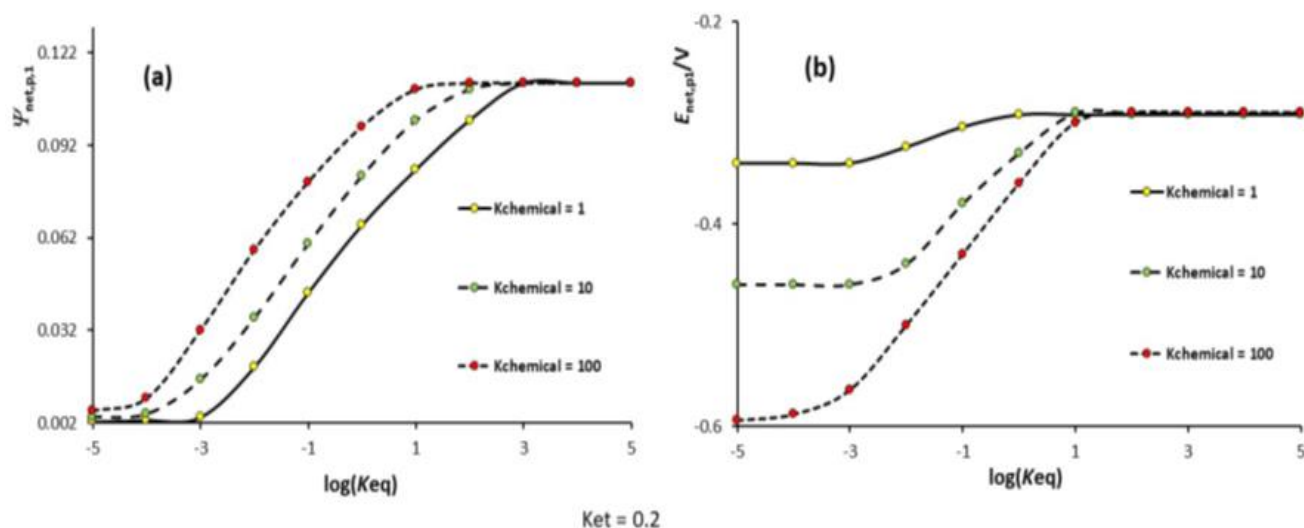
Од работните криви на слика 39, може да се забележи дека постои сигмоидална зависност помеѓу нет SWV-пик струјата на „Пик I“ - $\Psi_{\text{net,p1}}$ и $\log(K_{\text{chemical}})$, со линеарна „кинетичка зона“ што егзистира во регионот $-1 < \log(K_{\text{chemical}}) < 1$ (слика 39a). Регионот во кој постои овој линеарен кинетички ефект на $\log(K_{\text{chemical}})$ врз $\Psi_{\text{net,p1}}$ зависи од големината на K_{eq} , и тој ефект е поголем при помали вредности на K_{eq} . Промената на нет SW-потенцијалот на „Пик I“ како функција на логаритам на хемискиот кинетички параметар, исто така, покажува сигмоидална зависност (слика 39b).



Слика 39. Ефект на бездимензионалниот параметар на хемиска брзина K_{chemical} врз нет пик струи $\Psi_{\text{net,p1}}$ (a) и нет пик потенцијалите $E_{\text{net,p1}}$ (b) на SW волтамограми на „пик I“. Волтамограмите се симулирани на $K_i = 0.2$ и $K_{\text{eq}} = 0.1$ (1); 1 (2) и 10 (3). Другите параметри користени во симулацијата се исти како оние на слика 38.

Figure 39. Effect of dimensionless chemical rate parameter K_{chemical} to the net peak currents $\Psi_{\text{net,p1}}$ (a) and the net peak-potentials $E_{\text{net,p1}}$ (b) of SW voltammograms of "Peak I". Voltammograms are simulated at $K_i = 0.2$ and $K_{\text{eq}} = 0.1$ (1); 1 (2) and 10 (3). The other parameters used in simulation were same as those in Figure 38.

За $K_{eq} \leq 1$, се забележуваат линеарни делови на кривите на зависноста $E_{net,p1}$ во однос на $\log(K_{chemical})$, приближно во регионите $-1 < \log(K_{chemical}) < 1.5$. Наклонот на линеарните делови на кривите $E_{net,p1}$ vs. $\log(K_{chemical})$ е функција на K_{eq} и е дефиниран како $2.303[RT/F]\log[K_{eq}/(1+K_{eq})]$. Притоа, големината на наклонот на $E_{net,p1}$ наспроти $\log(K_{chemical})$ од овие работни криви на слика 39b може да се употреби за да се определи вредноста на K_{eq} . Зависностите помеѓу $\Psi_{net,p1}$ и $E_{net,p1}$ како функција од K_{eq} се претставени на слика 40a-b. Кривите се симулирани за $K_I = K_{II} = 0.2$ и за три различни вредности на $K_{chemical}$. Сите криви на зависноста на $\Psi_{net,p1}$ наспроти $\log(K_{eq})$ имаат сигмоидална форма со идентични наклони на линеарните делови (слика 40a). За вредности на $\log(K_{eq}) > 2$, струјата на пикот $\Psi_{net,p1}$ добива константна вредност што е независна од K_{eq} .

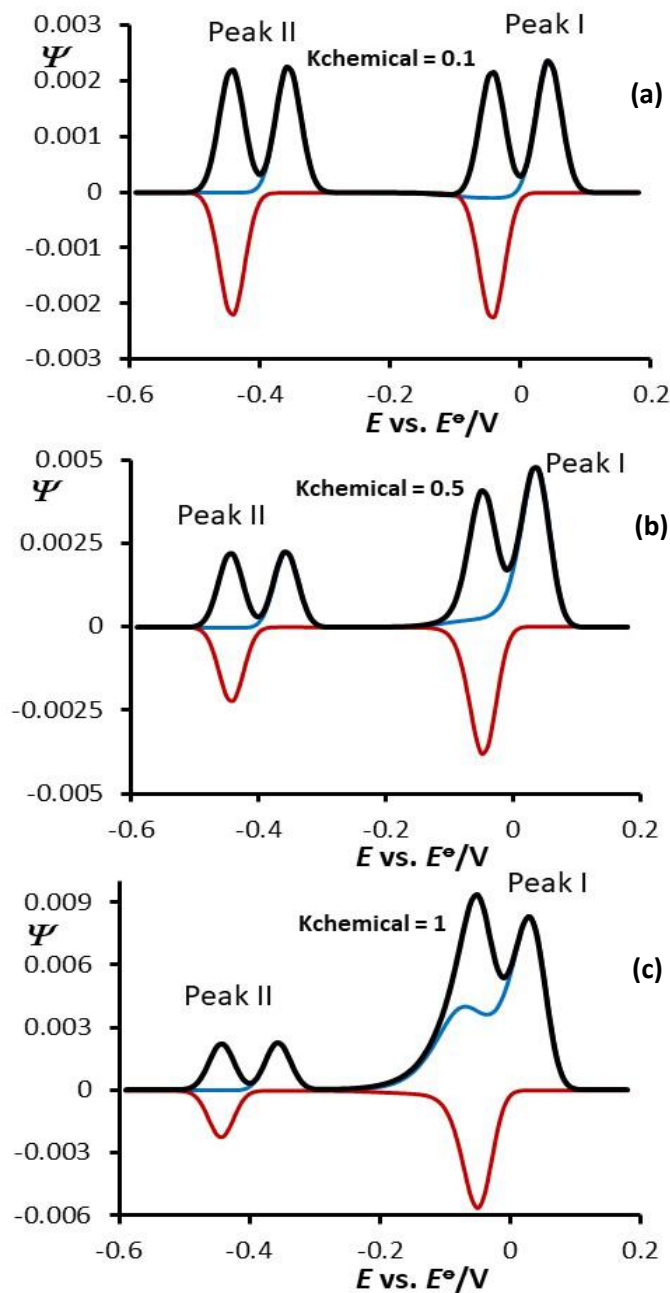


Слика 40. Влијание на константата на рамнотежа на претходната хемиска реакција K_{eq} на нет пик струите $\Psi_{net,p1}$ (a) и нет пик-потенцијали $E_{net,p1}$ (b) на SW-волтамограми на „Пик I“. Волтамограмите се симулирани на $K_I = 0.2$ и $K_{chemical} = 1, 10$ и 100 . Другите параметри користени во симулацијата се исти како оние на слика 38.

Figure 40. Influence of the equilibrium constant of preceding chemical reaction K_{eq} to the net peak currents $\Psi_{net,p1}$ (a) and the net peak-potentials $E_{net,p1}$ (b) of SW voltammograms of “Peak I”. Voltammograms are simulated at $K_I = 0.2$ and $K_{chemical} = 1, 10$ and 100 . The other 4 parameters used in simulation were same as those in Figure 38.

Ова сценарио одговара на значително поместување на хемиската рамнотежа кон креирање на $Ox(ads)$. Во такви услови, карактеристиките на првиот волтаметриски пик („Пик I“) конвергираат од СЕ во едноставен

“едностапен површински E-механизам“ (Gulaboski et al., 2005). Зависноста на големината на нет SWV-пик потенцијал на „Пик I“ - $E_{net,p1}$ како функцијата на $\log(K_{eq})$, исто така, е сигмоидална функција (слика 40b). Во принцип, зголемувањето на K_{eq} доведува до поместување на потенцијалот на пикот $E_{net,p1}$ кон попозитивни вредности. За $\log(K_{eq}) > 1$, нет SWV-пик потенцијалот на „Пик I“ е независен од K_{eq} . Наклоните на линеарните сегменти од зависностите $E_{net,p1}$ наспроти $\log(K_{eq})$ се функција на $K_{chemical}$ и тие стануваат поголеми при повисоки вредности на параметарот на брзината на хемиската реакција $K_{chemical}$. Типична карактеристика на сите површински механизми во пулсните волтаметриски техники е таканаречениот „квазиреверзибилен максимум“. Параболична зависност на нет SWV-пик струите и логаритамот на кинетичкиот параметар на електрохемиската реакција е резултат на синхронизацијата на кинетиката на пренос на електрони со временската рамка на мерења на струјата во SWV (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Gulaboski, 2019). Овој феномен може да се употреби за проценка на стандардна константа на брзината на чекорот на пренос на електрони на многу едноставен начин како што е опишано во (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007). За површински SE- механизам, позицијата на „квазиреверзибилниот максимум“ не зависи од кинетиката на хемиската реакција што му претходи на чекорот за пренос на електрони. Затоа, ова својство („квазиреверзибилен максимум“) може да се употреби за определување и на $k_{s,1}^{\ominus}$ и на $k_{s,2}^{\ominus}$ независно за двата SWV-пикови на површинскиот CEE-механизам.



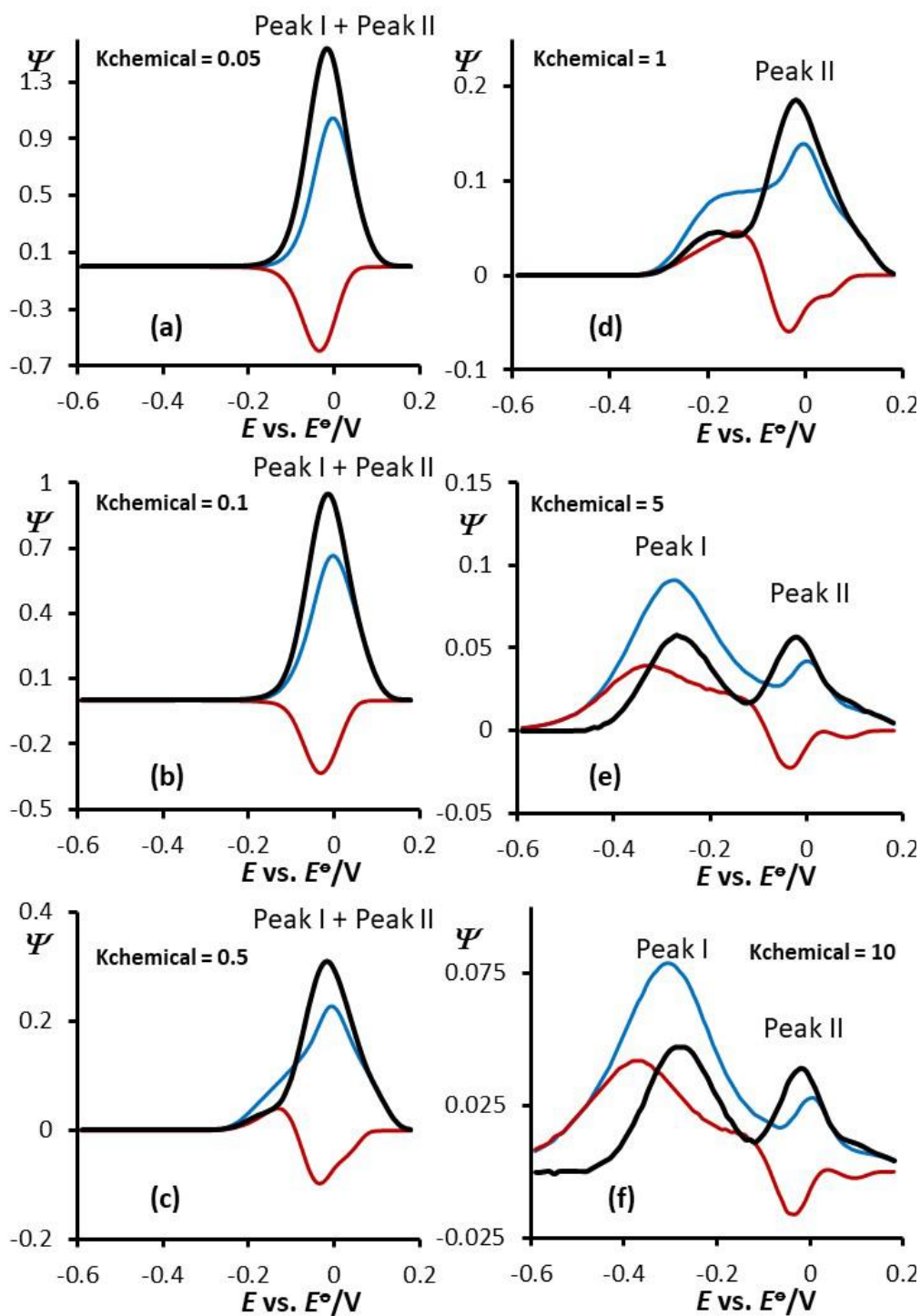
Слика 41. Влијание на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chemical} врз карактеристиките на SW-волтамограмите во ситуација на брз пренос на електрони во двата чекора на електродата. Волтамограмите се симулирани за $K_f = K_{fl} = 10$ и за константа на рамнотежа на хемиската реакција од $K_{\text{eq}} = 0.1$. Потенцијалното раздвојување помеѓу двата пика е поставено на $|400 \text{ mV}|$. Вредностите на K_{chemical} се дадени во графиконите. Другите услови за симулација се исти како оние на Слика 38.

Figure 41. Influence of the dimensionless chemical parameter K_{chemical} to the features of SW voltammograms in situation of fast electron transfer at both electrode steps. Voltammetric patterns are simulated for $K_f = K_{fl} = 10$, and equilibrium constant of $K_{\text{eq}} = 0.1$. The potential separation between both peaks is set to $|400 \text{ mV}|$. The values of K_{chemical} are given in the charts. Other simulation conditions are same as those in Figure 38.

Како што и претходно беше дискутирано, кога кинетиката на пренос на електрони е многу голема (слика 41а), тогаш може да се детектира феномен на „цепење на нет SWV-волтамограмот“, или таканаречени „раздвоени нет SWV-пикови“ (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007; Gulaboski, 2019; Mirceski & Lovric, 1997). Феноменот на „цепење или раздвојување на нет SWV-пикот“ што резултира со појава на два симетрични пикови, може да се користи за одредување на големината на константата на брзина на пренос на електрони k_s^e и за двата електрохемиски чекори. На слика 41 прикажан е ефектот на хемискиот параметар K_{chemical} врз карактеристиките на симулираните волтамограми во сценарио на „раздвоени SW пикови“ кај површинскиот СЕЕ- механизам. Волтамограмите се симулирани за $K_I = K_{II} = 10$ и за вредност на константата на хемиска рамнотежа $K_{\text{eq}} = 0.1$. Бидејќи вториот процес на понегативни потенцијали (пик II) е незасегнат од K_{chemical} , карактеристиките на првиот SWV-процес (пик I) зависат во голема мерка од вредноста на K_{chemical} . Зголемувањето на K_{chemical} во регионот од 0.1 до 1 е проследено со пораст на сите компоненти на струјата на „пик I“. Во иста насока, постои намалување на потенцијалното раздвојување помеѓу разделените делови на нет SWV- компонентите од „Пик I“. При вредности на $K_{\text{chemical}} > 2$, феноменот на расцепување на нет SWV-пикот исчезнува и постои само единечен „пик I“ што се појавува на попозитивни потенцијали, со интензитет кој е многу поголем од оној на „Пик II“. Феноменот прикажан на слика 41 може да се употреби како квалитативен критериум за препознавање на површинскиот механизам СЕЕ, во случај кога двата SWV-пикови се одвоени за најмалку |150 mV|.

Кога двата SWV-пика од овој механизам се одвоени за најмалку |150 mV|, тогаш е релативно лесно да се направи независно определување на сите релевантни параметри за двата електрохемиски (E-E) чекори. Меѓутоа, кога двата електрохемиски EE-чекори се случуваат на ист потенцијал, тогаш површинскиот СЕЕ-механизмот ќе биде отсликан во единечен SW-волтамограм што ги „крие“ сите процеси во неговата форма (слика 42а). Во вакво сценарио, предизвикувачка задача е да се одреди дали добиениот единечен SWV-пик е последица на едноставен пренос на два електрона што се случуваат во еден чекор или тој пик се должи на два последователни преноси на по еден електрон. Во површинскиот EECrev-механизам претставен погоре во оваа дисертација, покажавме дека на едноставен начин може да се дијагностицира двостепен

последователен површински електроден механизам, кога двата ЕЕ-чекори се случуваат на ист потенцијал. Имено, при зголемена брзина на хемиската реакција што го следи чекорот на пренос на електрони (изразена преку вредноста на K_{chemical}) може да се продуцира до поместување на вториот електрохемиски чекор кај површинскиот ЕЕ_{rev}-механизам кон позитивни потенцијали. Сличен алгоритам може да се примени за да се препознае површинскиот СЕЕ-механизам, кога и двата електрохемиски ЕЕ-процеси се дефинирани да се одвиваат на ист потенцијал. Во овој случај, зголемена брзина на претходната хемиска реакција го поместува првиот процес на пренос на електрони кон понегативни потенцијали (слика 42e-f). За $K_{\text{eq}} = 0.1$ и $K_{\text{f}} = K_{\text{r}} = 1.6$, раздвојување на двата електрохемиски чекори на пренос на електрони (што се случуваат на потполно ист потенцијал) може да се постигнат за $K_{\text{chemical}} \geq 5$ (слика 42e-f). Оваа карактеристика може да се употреби како дополнителен дијагностички критериум за препознавање на површинскиот СЕЕ-механизам и за независно анализирање на двата пика во ситуации кога и двата електрохемиски процеси се случуваат на ист потенцијал.



Слика 42. Влијание на големината на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chemical} на карактеристики на SW-волтамограми во ситуација кога двата електрохемиски процеси се одвиваат на ист потенцијал. Волтамограмите се симулирани за $K_{\text{eq}} = 0.1$ и $K_{\text{I}} = K_{\text{II}} = 1.60$. Вредностите на K_{chemical} се дадени во графиконите. Другите услови се исти како на слика 38.

Figure 42. Influence of the magnitude of dimensionless chemical parameter K_{chemical} to the features of SW voltammograms in situation when both electrode processes take place at same potential. SW voltammograms are simulated for $K_{\text{eq}} = 0.1$, and $K_{\text{I}} = K_{\text{II}} = 1.60$. The values of K_{chemical} are given in the charts. Other conditions are same as in Figure 38.

Резултатите презентирани за овој модел овозможуваат сеопфатно проучување на волтаметриските одговори на површински СЕЕ-механизми како функција на константата на брзината и константата на рамнотежа на претходниот хемиски чекор. Од симулираните волтамограми се забележува дека кинетичките и термодинамичките параметри поврзани со хемискиот чекор може да рефлектираат прилично сложено однесување врз симулираните волтамограми. Уште посложена ситуација се среќава ако двата преноса на електрони се одвиваат во ист електроден потенцијал. Кога двата чекора на електродата на површинскиот СЕЕ-механизам се појавуваат при потенцијали кои се најмалку $|150 \text{ mV}|$ разделени еден од друг, тогаш може да се употребат независни методологии за да се определат релевантните параметри на секој од двата чекора кај овој комплексен механизам. При такви услови, за двата електрохемиски чекори, може да се употреби феноменот „квазиреверзибилен максимум“ (Mirceski, Komorsky-Lovric & Lovric, 2007) и феноменот на „раздвојување на нет SWV пикови“ (Mirceski & Lovric, 1997) за да се добие пристап до вредностите на $k_{s,1}^{\circ}$ и $k_{s,2}^{\circ}$. Меѓутоа, доколку двата електрохемиски (ЕЕ) процеси кај овој механизам се случуваат на ист потенцијал, од круцијална важност е да се препознае дали волтамограмот што се добива е заради истовремен пренос на два електрони или е последица на два последователни едноелектронски размени. При дадени вредности на K_{eq} , K_{I} и K_{II} , сите релевантни карактеристики на симулирани SWV модели на површински СЕЕ-механизам се функција на бездимензионален хемиски параметар K_{chemical} . За $K_{\text{eq}} \leq 1$, зголемувањето на K_{chemical} доведува до поместување на позицијата на првиот електроден чекор кон понегативни потенцијали. Како што е претставено на сликата 42e-f, при дадена критична вредност на K_{chemical} , можеме да постигнеме раздвојување на двата ЕЕ процеси што се одвиваат на ист потенцијал. Бидејќи вредноста на бездимензионалниот хемиски параметар K_{chemical} зависи од концентрација на „Y“-с(Y) и фреквенцијата f , важно е да се потенцира дека фреквенцијата f истовремено влијае и на кинетиката на хемиските реакции и врз брзината на електрохемиските реакции (преку K_{I} и K_{II}). Поради тоа, анализата на фреквенцијата во реалните експерименти на ваквите системи може да продуцира прилично сложена интеракција на сите релевантни кинетички параметри. Поради тоа, релевантен протокол за експериментално да се постигне раздвојување на двата пика од SW-волтамограмите, како што е

прикажано на слика 42, е преку модификација на моларната концентрација на субстратот „Y“. Во такви експериментални услови треба да ги одржуваме константните вредности на SW-фреквенцијата, како и на SW-амплитудата и потенцијалниот чекор. Од експерименталните волтамограми добиени со модификација на моларната концентрација само на супстратот „Y“, може да се утврдат критериуми за дистинкција на елаборираниот површински СЕЕ од другите површински механизми (двостепени) кои се поврзани со хемиски реакции и претставени во оваа дисертација.

6. ДИСКУСИЈА

6.1. Дискусија на експерименталните резултати

Метиленското сино (methylene blue) е познат површинско-активен редокс систем што често во волтаметријата се користи како моделна супстанца за студирање на голем број ефекти и поврзани хемиски реакции кај површинските електродни механизми.

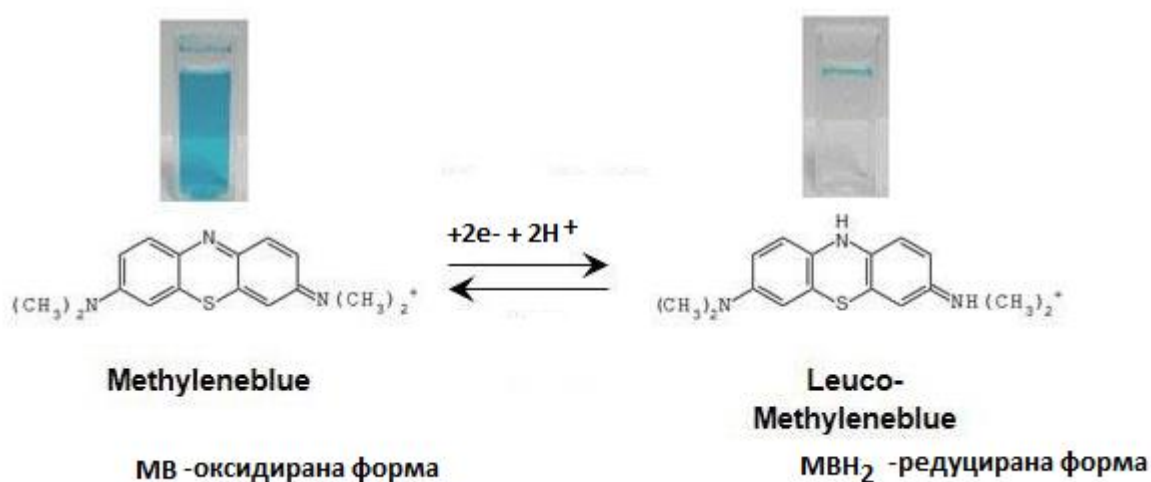
Покрај ова, метиленското сино се употребува во медицината за третман на повеќе заболувања. Метиленско сино претставува инхибитор на азот оксид (NO) синтазата и гванилат циклазата (GC) и наоѓа многу намени во медицината. Покажано е дека ја подобрува хипотензијата поврзана со различни клинички состојби (Axelband, et al., 2008). Има податоци во литературата дека влијае во состојби на хипоксија и хипердинамичката циркулација при цироза на црниот дроб и тешка форма на хепатопулмонален синдром (Schenk et al., 2000). Исто така, неговото присуство резултира со подобрување на крвниот притисок и срцевата функција кај септичен шок (Lejeune, et al., 1995). Механизмот на дејство на метиленско сино кај вазоплегија се должи на инхибицијата на гванилат циклазата со што доаѓа до намалување на C-GMP и васкуларна релаксација на мазните мускули (Levin et al., 2004; Gachot et al., 1995). Метиленско сино е користено пред околу 100 години против маларија, но е заменето кога хлорокин (CQ) и другите антимальарични лекови се појавија на пазарот. Сепак, неодамнешните студии ја покажаа ефикасноста на метиленско сино како ефикасен и евтин антимальаричен агенс особено во земјите со зголемување на отпорноста на *P. falciparum* на постоечката прва линија на антимальарични агенси-CQ и пириметамин-сулфадоксин. Најефективна е дозата од 36-72 mg/kg во тек на 3 дена (Meissner et al., 2006; Schirmer et al., 2003). Метиленско сино се користи за лекување на состојба наречена метхемоглобинемија. Оваа состојба се јавува кога крвта не може да достави кислород таму каде што е потребен во телото. Метиленско сино делува така што реагира со RBC за да се формира леукометиленско сино коешто е редуцирачко средство на оксидираниот хемоглобин и го претвора фери-јонот на железо (Fe^{3+}) неговата кислород носечка феро состојба (Fe^{2+}) (Boylston & Beer, 2002; Clifton & Leikin, 2003).

Дозата која најчесто се користи е 1-2 mg/kg од 1% раствор на метиленско сино (Boylston & Beer, 2002; Clifton & Leikin, 2003). Метиленско сино се истражува и за употреба кај фотодинамички третман на рак (Wondrak, 2007). Инфузијата на метиленско сино се користи како безбедна и ефикасна метода на локализирање на абнормални паратиroidни жлезди (Gordan et al., 2005). Метиленско сино, исто така, се користи во дијагностичката микробиологија како средство за боење. Врската помеѓу метиленско сино и Алцхајмерова болест неодамна привлече зголемено научно внимание. Покажано е дека ги ослабува формациите на амилоидните наслаги и неврофибриларните заплеткувања и делумно ги поправа на нарушувањата митохондријалната функција и клеточниот метаболизам (Oz et al., 2009). Метиленско сино е безбеден лек кога се користи во терапевтски дози (<2 mg/kg), но може да предизвика токсичност во високи дози. Карактеристиките на токсичноста се срцеви аритмии, коронарна вазоконстрикција, намален срцев минутен волумен, зголемен пулмонарен васкуларен притисок. Исто така, урината добива зеленикаво сина и синкава боја и се јавува промена на бојата на кожата и слузницата. Новороденчињата се особено склони кон негативни ефекти од Метиленско сино.

Метиленско сино е контраиндицирано кај пациенти кои имаат развиено реакции на преосетливост кон него и кај тешки форми на бубрежна инсуфициенција. Метиленско сино е инхибитор на MAO и затоа може да стапи во интеракција со селективните инхибитори за повторно земање на серотонин (SSRI) и MAO инхибиторите и да предизвикаат сериозна токсичност на серотонин (Gillman, 2006; Dewachter et al., 2005). Неодамнешните истражувања од Универзитетот во Мериленд сугерираат дека метиленското сино што се употребува како медицинско средство, може, исто така, да го успори и процесот на стареењето на кожата. Истражувачите го тестирале метиленското сино на клетки од кожа од средовечни донори, како и на лица кои боледуваат од прогериа – ретко генетско заболување кое предизвикува забрзано стареење. Покрај метиленско сино, истражувачите извршиле и тестрање на уште три познати антиоксиданси. Истражувањето покажало дека метиленското сино дава подобри резултати во намалување на неколку симптоми поврзани со стареењето на клетките и кај здравите донори и кај пациентите со прогериа (Xiong et al., 2017). Метиленско сино е идентификуван како нискомикромоларен

инхибитор на интеракцијата помеѓу SARS-CoV-2 spike протеинот и неговиот сроден рецептор ACE₂, што е првиот критичен чекор што го иницира вирусното влегување на овој коронавирус. Метиленско сино покажува силна полифармакологија и може да биде донекаде промискуитетен PPI инхибитор, неговата способност да го инхибира овој PPI може да придонесе за антивирусна активност против SARS-CoV-2 што го прави ефтин и широко достапен лек потенцијално корисен во превенција и третман на Covid-19 како орален или инхалативен лек (Vojadzic et al., 2021).

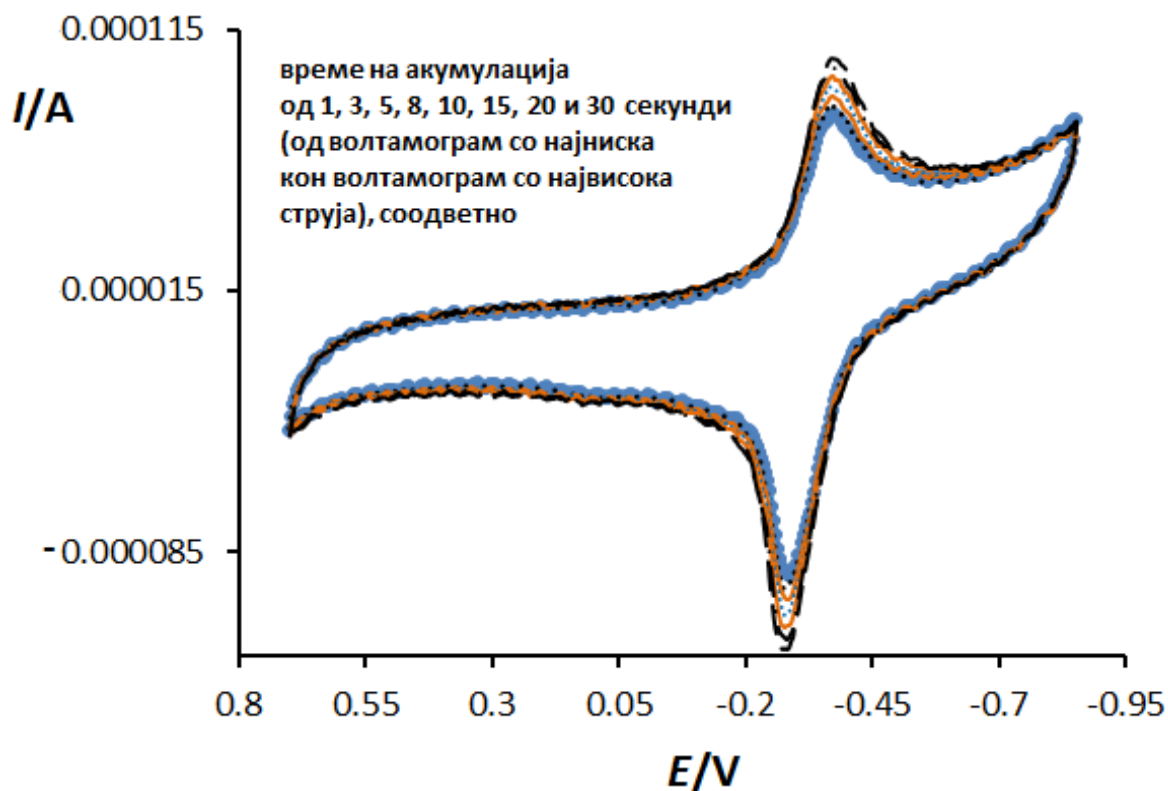
Електрохемиската трансформација на метиленско сино во водени раствори може да се прикаже преку шемата 2 дадена подолу. Електродната реакција на метиленско сино е проследена со реверзибилна размена на 2 електрони и два протони, при што метиленското сино од оксидирана форма (сина боја-MB) преминува во редуцирана форма наречена леуко-метиленско сино (безбоен раствор MBH₂) и обратно.



Шема 2. Електрохемиска трансформација на метиленско сино во водени раствори
 Scheme 2. Electrochemical transformation of methylene blue in water solutions

На слика 43 се претставени циклични волтамограми на метиленско сино во фосфатен пуфер со pH = 7.40, снимени како функција од времето на акумулација. Од цикличните волтамограми се забележува дека со зголемување на времето на акумулација доаѓа до зголемување и на оксидациската и на

редукциската струјна компонента од волтамограмите на метиленско сино. При времиња на акумулација поголеми од 20 s се добиваат волтамограми со константни струи, што имплицира дека при тие услови доаѓа до целосно заситување на електродната површина со молекули од метиленско сино.

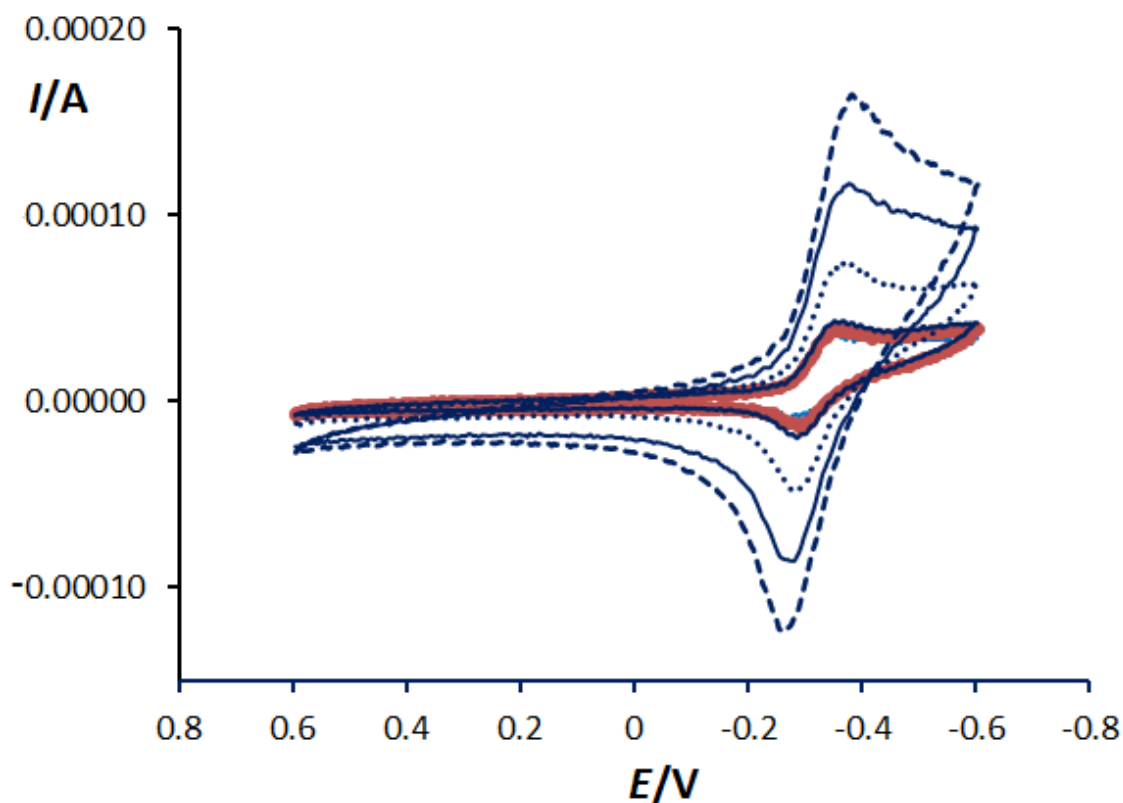


Слика 43. Циклични волтамограми на метиленско сино ($c = 0.0005 \text{ mol/L}$) снимени при различни времиња на акумулација на потенцијал од 0.00 V . При овие анализи, употребена беше брзина на промена на потенцијалот од 25 mV/s .

Figure 43. Cyclic voltammograms of methylene blue ($c = 0.0005 \text{ mol/L}$) recorded as a function of accumulation time at potential od 0.00 V . Scan rate of 25 mV/s was applied for these analyses.

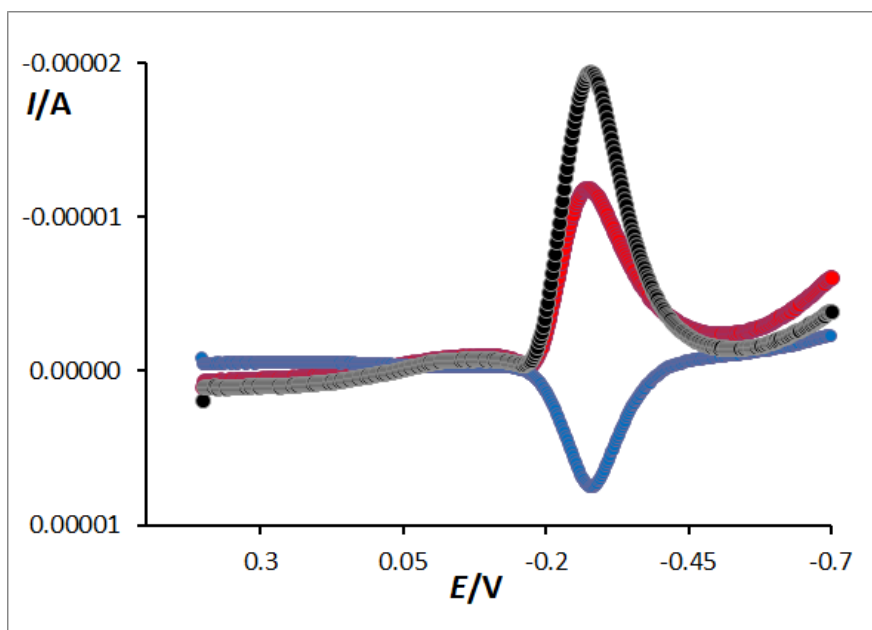
Од цикличните волтамограми на метиленско сино снимени при различни брзини на скенирање (слика 44) може да се забележи дека потенцијалната сепарација помеѓу редукциските и оксидациските пикови е приближно константна при различни брзини на скенирање. Покрај тоа, односот на струите на пиковите од оксидациските и редукциските струјни компоненти е константен при сите аплицирани брзини на скенирање. Притоа, интензитетот на струите и на редукциските и на оксидациските пикови се линеарна функција од брзината на скенирање, што е типична карактеристика за површинските електродни механизми. Слични информации се добиваат и од анализата на односот на

струите на катодниот и анодниот пик од квадатно-брановите волтамограми, како тој што е прикажан на слика 45.



Слика 44. Циклични волтамограми на метиленско сино ($c = 0.0005 \text{ mol/L}$) снимени при време на акумулација од 20 s на потенцијал од 0.00 V, како функција од брзината на промена на потенцијалот. При овие анализи, употребена беше брзина на промена на потенцијалот од 2, 5, 10, 25 и 50 mV/s (одејќи од волтамограмот со најниска кон волтамограмот со највисока струја, соодветно)

Figure 44. Cyclic voltammograms of methylene blue ($c = 0.0005 \text{ mol/L}$) recorded at accumulation time 20 s at accumulation potential of 0.00 V. In this analysis, the applied scan rates were 2, 5, 10, 25 and 50 mV/s (from voltammogram with lowest towards voltammogram with highest currents, respectively).



Слика 45. Квадратно-бранов волтамограм на метиленско сино ($c = 0.0005 \text{ mol/L}$) снимен при време на акумулација од 20 s на потенцијал од 0.00 V. На волтамограмот се прикажани: директната редукциска (црвена крива), повратната оксидациска (сина крива) и вкупната (нет-SWV) компонента (кривата со црна боја). Волтамограмот е снимен при фреквенција $f = 50 \text{ Hz}$, амплитуда $E_{sw} = 50 \text{ mV}$ и потенцијален чекор $dE = 2 \text{ mV}$.

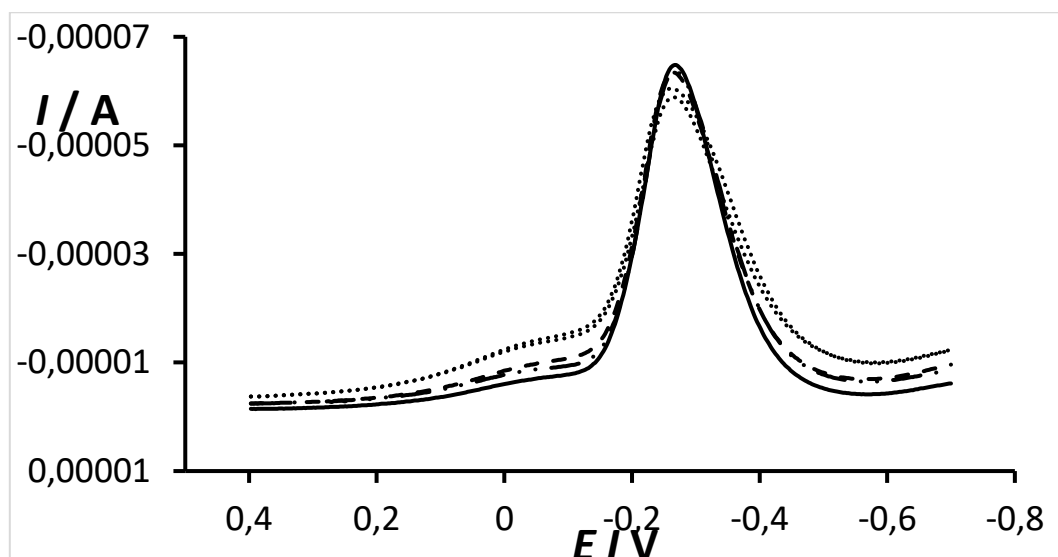
Figure 45. Square-wave voltammogram of methylene blue ($c = 0.0005 \text{ mol/L}$) recorded at accumulation time of 20 s at accumulation potential of 0.00 V. The voltametric patterns show the forward reduction (curve with red color), backward oxidation (curve with blue color) and net SW component (curve with black color). Other instrumental parameters were set to: SW frequency $f = 50 \text{ Hz}$, SW amplitude $E_{sw} = 50 \text{ mV}$, and potential step $dE = 2 \text{ mV}$.

Овие податоци прикажани и дискутирани на сликите 43, 44 и 45 имплицираат на релативно високиот степен на електрохемиска реверзибилност на метиленско сино, што се потврдува и преку вредноста на определената константа на брзина на пренос на електрони $k_s^\ominus = 1.5 \text{ s}^{-1}$. Овие податоци за електрохемиската активност на метиленско сино се во целосна согласност со литературните податоци за ова соединение добиени на графитна работна електрода од други автори (Ju et al., 1995).

Во сегментот на испитување на потенцијалните интеракции помеѓу метиленско сино и дефиниран лек, согласно теоретските резултати за сите елаборирани модели, потребно е да се спроведе протокол во кој се менува само концентрацијата на дефинираниот лек, при константна концентрација на метиленско сино во електрохемиската ќелија. При овој тип на анализи, сите инструментални параметри (фреквенција, квадратно-бранова амплитуда,

потенцијален чекор, време на акумулација) се поставени на константни дефинирани вредности. Како што е елаборирано во теоретските модели, како волтаметриски индикатори дека се случуваат интеракции помеѓу метиленско сино и даден дефиниран лек, се: (а) промените во струите на волтаметриските одговори од метиленско сино, како и (б) поместувањето на потенцијалот на нет SWV-пикот од метиленско сино при зголемување на концентрацијата на вториот лек.

На слика 46 се претставени квадратно-бранови волтамограми на 0.5 mmol/L метиленско сино, снимени во отсуство и во присуство на ибупрофен што е растворен во електрохемиската ќелија во концентрации од 0.1 mmol/L до 5 mmol/L.



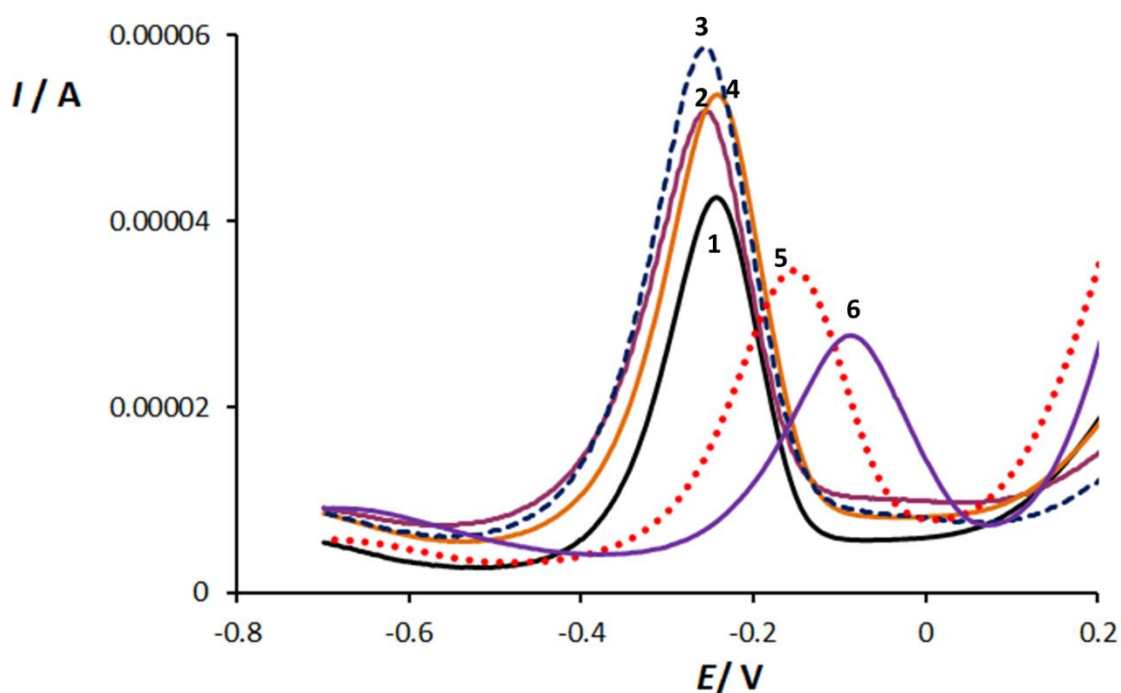
Слика 46. Квадратно-бранови волтамограми (прикажани нет SWV-струјни компоненти) на метиленско сино како функција од концентрацијата на ибупрофен во електрохемиската ќелија. Волтамограмите се снимени во отсуство и во присуство на ибупрофен во концентрации од 0.1 mmol/L до 5 mmol/L. Останатите експериментални и инструментални параметри се идентични како параметрите на слика 45.

Figure 46. Net SW voltammograms of methylene blue recorded in absence and in presence of ibuprofen in concentrations in the range from 0.1 mmol/L до 5 mmol/L. Other experimental and instrumental parameters were same as those reported in figure 45.

Од волтамограмите претставени на слика 46 може да се забележи дека нема значителни промени ниту во големината на струјата на пиковите, а не доаѓа до поместување ниту на положбата на пиковите од метиленско сино при зголемување на концентрацијата на ибупрофен во електрохемиската ќелија. Ваквото волтаметриско однесување имплицира дека во оваа ситуација не доаѓа

до интеракции на метиленско сино со лекот ибупрофен. Идентични ситуации беа забележани во ситуации кога беа испитувани потенцијалните интеракции на метиленско сино со други лекови и суплементи (Табела 1). Треба да се нагласи дека отсуството на интеракции помеѓу наведените лекови и метиленско сино секогаш е функција од временската рамка во која се вршат експериментите, како што и беше нагласено и во теоретските резултати за сите електрохемиски реакции што беа комплицирани со хемиски рамнотежи.

Значително различна ситуација во поглед на претходните волтаметриски одговори на метиленско сино во присуство на ибупрофен (види слика 47) се забележува во присуство на витамин С во електрохемиската ќелија. На слика 47 се прикажани квадратно-бранови волтаметриски одговори на метиленско сино во отсуство и во присуство на витамин С во концентрации од 2 mmol/L до 160 mmol/L.

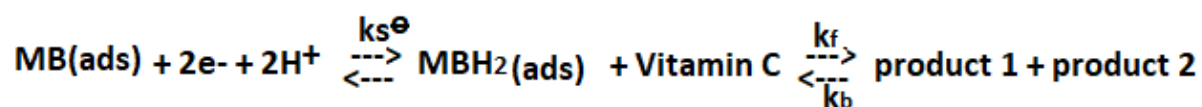


Слика 47. Квадратно-бранови волтамограми на метиленско сино снимени во отсуство на витамин С (крива 1) и во присуство на витамин С во концентрации: 20 mmol/L (2); 40 mmol/L (3); 80 mmol/L (4); 120 mmol/L (5) и 160 mmol/L (6). Другите експериментални и инструментални параметри при овие анализи беа идентични како тие на слика 45.

Figure 47. Net-SW voltammograms of methylene blue recorded in absence of vitamin C (curve 1), and in presence of vitamin C with concentrations: 2 mmol/L (2); 40 mmol/L (3); 80 mmol/L (4); 120 mmol/L (5) and 160 mmol/L (6). Other experimental and instrumental conditions were same as those reported in figure 45.

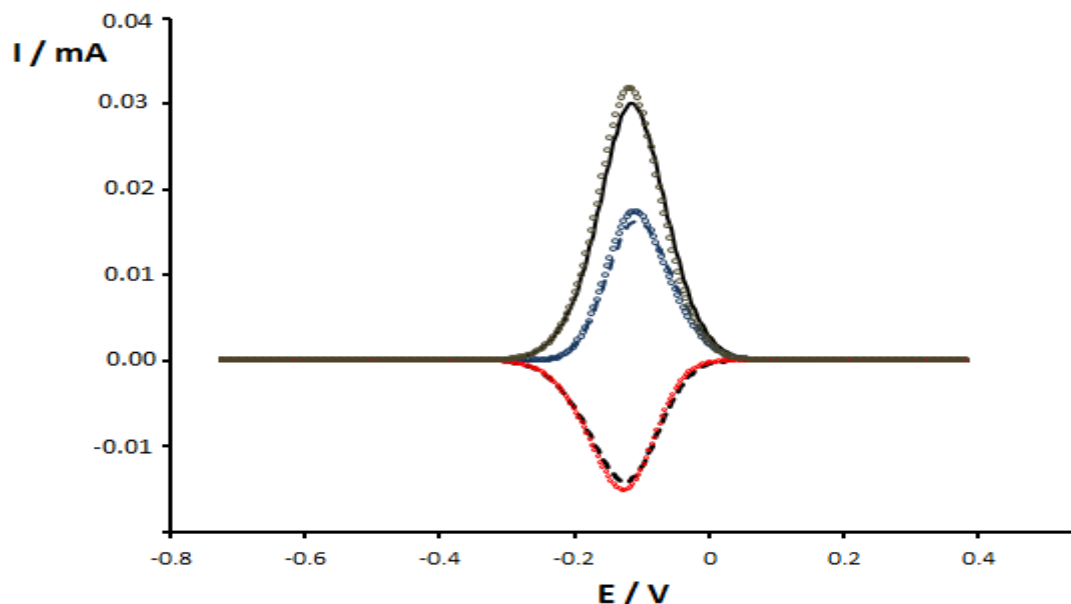
Како што може да се забележи од слика 47, при пониски концентрации на витамин С во електрохемиската ќелија се забележува иницијално зголемување на нет-струјата на SW-волтаметрискиот пик од метиленско сино. Со натамошно зголемување на концентрацијата на витамин С, висината на нет SWV-волтаметрискиот пик интензивно се намалува. Во исто време, зголемувањето на концентрацијата на витамин С во регионот од 1 mmol/L до 160 mmol/L е проследено со поместување на потенцијалот на нет SWV-пикот од метиленско сино кон попозитивни вредности и тоа за 130 mV во присуство на витамин С во концентрација од 160 mmol/L. Како што е опишано во оваа дисертација и во трудот (Gulaboski, Janeva, Maksimova, 2019), ова однесување е типично за површински Есrev-механизам. Преку линеарниот дел од зависноста на нет SWV-потенцијалот на пикот како функција од $\log[c(\text{витамин С})]$, се добива наклон на правата со вредност 51 mV. Знаејќи дека наклонот на ваквата линеарна зависност е поврзан со константата на рамнотежа преку изразот $\text{наклон} = -2.303 [RT/F] \log[K_{eq}/(1+K_{eq})]$, може да се определи вредноста на K_{eq} и таа изнесува $K_{eq} = 0.15$. Покрај тоа, со примена на зависноста на нет SWV-струјата на пикот како функција од $\log[c(\text{витамин С})]$, со примена на равенка на права на слика 21b која е дефинирана како $\log(K_{chem}) = 0.5908 \times \log(K_{max}) - 1.6481$, при вредност на концентрацијата на витамин С од 1000 mmol/L и пресметаната вредност на K_{max} за електроодната реакција на метиленско сино од 0.02, се добива дека константата на брзина на директната во однос на повратната хемиската реакција помеѓу метиленско сино и витамин С изнесува $k_f + k_b = 0.058$. Ако се знае дека $K_{eq} = k_f/k_b = 0.15$ и дека $k_f + k_b = 0.058$, се добиваат две равенки со две непознати, од каде што се пресметуваат вредностите на k_f и k_b кои изнесуваат: $k_b = 0.0505 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ и $k_f = 0.0075 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$.

Механизмот на електроодната реакција на метиленско сино во присуство на витамин С може да се опише со следната реакциона шема;



Со примена на алгоритмот за овој механизам, и со употреба на пресметаните вредности на K_{eq} , k_f и k_b , со апликација на методата на „фитување“ се добива многу добро усогласување на експерименталните волтамограми на

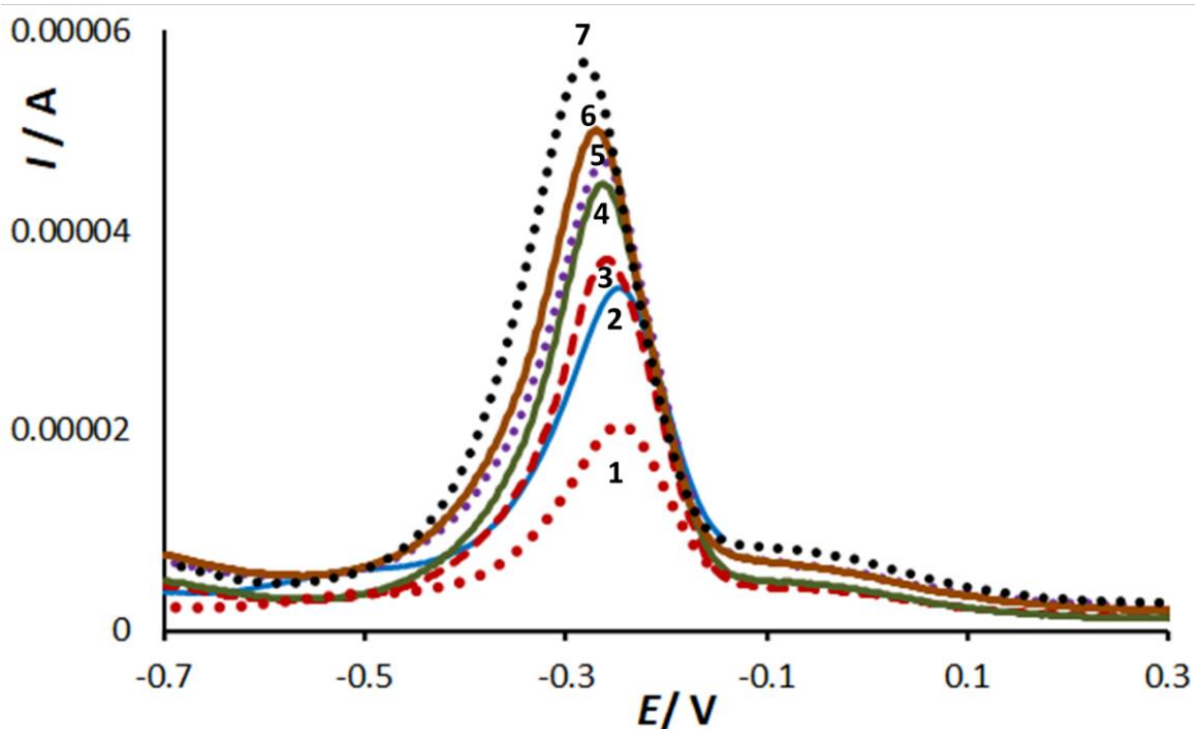
метиленско сино во присуство на витамин С (слика 48). Пресметаните вредности за константите на брзините на хемиска интеракција помеѓу витамин С и метиленско сино се во многу добра согласност со вредноста на брзина на хемиски интеракции помеѓу овие две супстанции определена од други автори (Mowry & Ogren, 1999).



Слика 48. Експериментални квадратно-бранови волтамограми на 0.5 mmol/L метиленско сино снимени во присуство на 100 mmol/L витамин С (точки) и теоретски квадратно-бранови волтамограми (полни линии) симулирани при услови како тие употребени во експериментот. При теоретските симулации, беа употребени следните вредности: $K_{eq} = 0.15$; $k_b = 0.0505 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ и $k_f = 0.0075 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$; $c(\text{Витамин С}) = 100 \text{ mmol/L}$. Покрај тоа, во симулациите беа применети и следните параметри: константа на брзина на пренос на електрони за електродната реакција на метиленско сино $k_s^e = 1.5 \text{ s}^{-1}$; и коефициент за електронски трансфер за електродната реакција на метиленско сино $\alpha = 0.5$. Останатите инструментални параметри беа идентични како параметрите употребени на слика 45. (забелешка: основната blank струја е одземена од експерименталните волтамограми)

Figure 48. Experimental square-wave voltammograms of 0.5 mmol/L methylene blue recorded in presence of 100 mmol/L витамин С (dots) and theoretical square-wave voltammograms (lines) simulated under following conditions: equilibrium constant $K_{eq} = 0.15$; rate constants of forward and backward chemical steps of reaction between methylene blue and vitamin C, $k_b = 0.0505 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ and $k_f = 0.0075 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$; $c(\text{vitamin C}) = 100 \text{ mmol/L}$; standard rate constant of electron transfer of methylene blue $k_s^e = 1.5 \text{ s}^{-1}$; electron transfer coefficient of methylene blue $\alpha = 0.5$. Other experimental conditions were same as those reported in figure 45.

Во волтаметриските експерименти дизајнирани за испитување на интеракциите помеѓу метиленско сино и гентамицин (Gentamicin), забележан е друг тип на механизам на интеракции помеѓу двата лека. На слика 49 се прикажани серија од квадратно-бранови волтамограми на метиленско сино, снимени во присуство на гентамицин во ранг на концентрации од 0.025 до 0.15 mol/L.

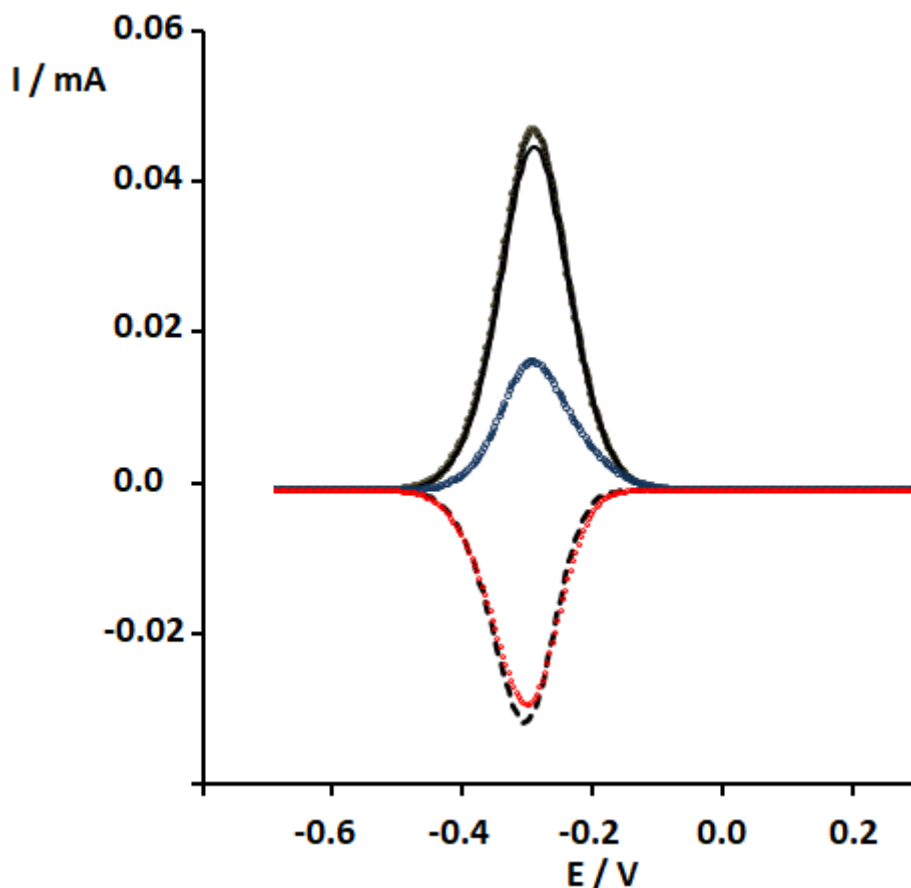


Слика 49. Квадратно-бранови волтамограми на метиленско сино (0.0005 mol/L) снимени во отсуство на gentamicin (крива со број 1) и во присуство на gentamicin присутен во концентрации од 0.0025 mol/L (крива број 2), 0.05 mol/L (крива број 3), 0.075 mol/L (крива број 4), 0.1 mol/L (крива број 5), 0.12 mol/L (крива број 6) и 0.15 mol/L (крива број 7) (концентрациите одговараат соодветно на кривите со зголемена струја на волтаметриските пикови). Останатите експериментални и инструментални услови беа идентични како параметрите на слика 45.

Figure 49. Net square-wave voltammograms of methylene blue (0.0005 mol/L) recorded in absence of gentamicin (curve 1 with lowest peak-current), and in presence of gentamicin, ranging from 0.0025 mol/L to 0.15 mol/L (curve 2 to 7, concentration of gentamicin correspond to each curve with rising current, correspondingly). Other experimental and instrumental conditions used for these analyses were same as those reported in figure 45.

Со зголемување на концентрацијата на гентамицин во гореспонентатото концентрациско подрачје, се забележува зголемување на интензитетот на струјата на SWV-пикот од метиленско сино. Покрај тоа, при концентрации на гентамицин во регионот од 0.075 mol/L до 0.15 mol/L доаѓа до поместување на потенцијалот на пикот од метиленско сино за околу 52 mV во негативна насока. Овие податоци, заедно со односот на струите на пиковите од директната и повратната компонента од квадратно-брановите волтамограми на метиленско сино снимени при зголемени концентрации на гентамицин, имплицираат дека електрохемиската реакција на метиленско сино во присуство на гентамицин се одвива согласно моделот за површински CrevE-механизам (во теоретските модели, тоа е однесувањето опишано за првиот пик од површински CrevEE-механизам при раздвоени потенцијали > 150 mV помеѓу двата електрохемиски чекори во SWV). Со примена на зависностите што се однесуваат на нагибите од работните криви за површински CrevE-механизам претставени на слика 39, со алгоритам аналоген како тој за интеракциите помеѓу метиленско сино и витамин С, пресметавме дека (при концентрација на гентамицин од 100 mmol/L) константите на брзините на повратната во и директната хемиската реакција помеѓу метиленско сино и гентамицин изнесуваат: $k_b = 0.135 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ и $k_f = 0.065 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$, соодветно, додека константата на стабилност на комплексот формиран помеѓу метиленско сино и гентамицин (за реакција од прв ред) изнесува $K_{eq} = 0.48$.

При овие пресметани параметри и при вредност за константата на брзина на електродната реакција на метиленско сино од 1.5 s^{-1} , фитираните теоретски и експериментални волтамограми при концентрација на гентамицин од 0.1 mol/L, се претставени на слика 50.

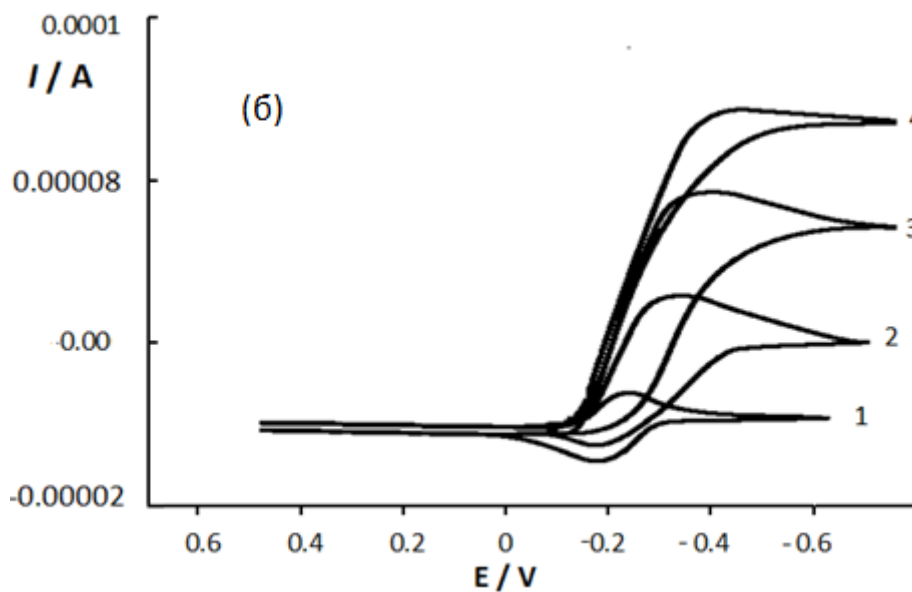
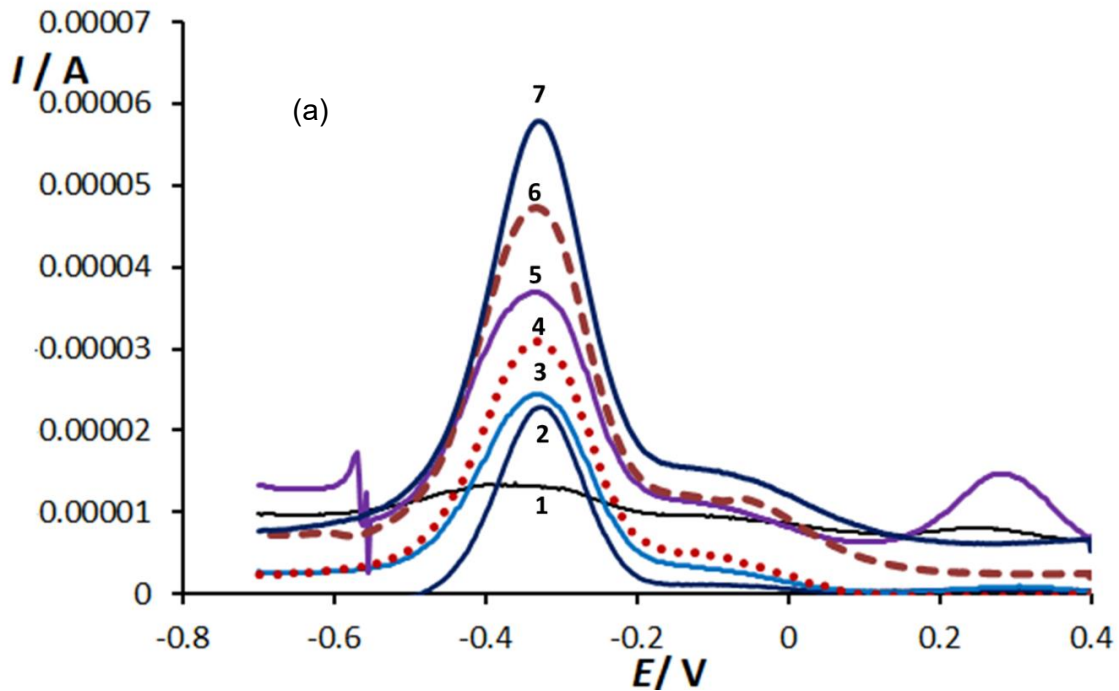


Слика 50. Експериментални квадратно-бранови волтамограми на 0.5 mmol/L метиленско сино снимени во присуство на 100 mmol/L гентамицин (точки) и теоретски квадратно-бранови волтамограми (полни линии) симулирани при услови како тие употребени во експериментот. При теоретските симулации, беа употребени следните вредности: $K_{eq} = 0.48$; $k_b = 0.135 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ и $k_f = 0.065 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$. Покрај тоа, во симулациите беа применети и следните параметри: константа на брзина на пренос на електрони за електродната реакција на метиленско сино $k_s^\ominus = 1.5 \text{ s}^{-1}$; и коефициент за електронски трансфер за електродната реакција на метиленско сино $\alpha = 0.5$. Останатите инструментални параметри беа идентични како параметрите употребени на слика 45. (забелешка: основната blank струја е одземена од експерименталните волтамограми)

Figure 50. Experimental square-wave voltammograms of 0.5 mmol/L methylene blue recorded in presence of 100 mmol/L gentamicin and theoretical square-wave voltammograms (lines) simulated under following conditions: equilibrium constant $K_{eq} = 0.48$; rate constants of forward and backward chemical steps of reaction between methylene blue and vitamin C $k_b = 0.135 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ and $k_f = 0.065 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$; standard rate constant of electron transfer of methylene blue $k_s^\ominus = 1.5 \text{ s}^{-1}$; electron transfer coefficient of methylene blue $\alpha = 0.5$. Other experimental conditions were same as those reported in figure 45.

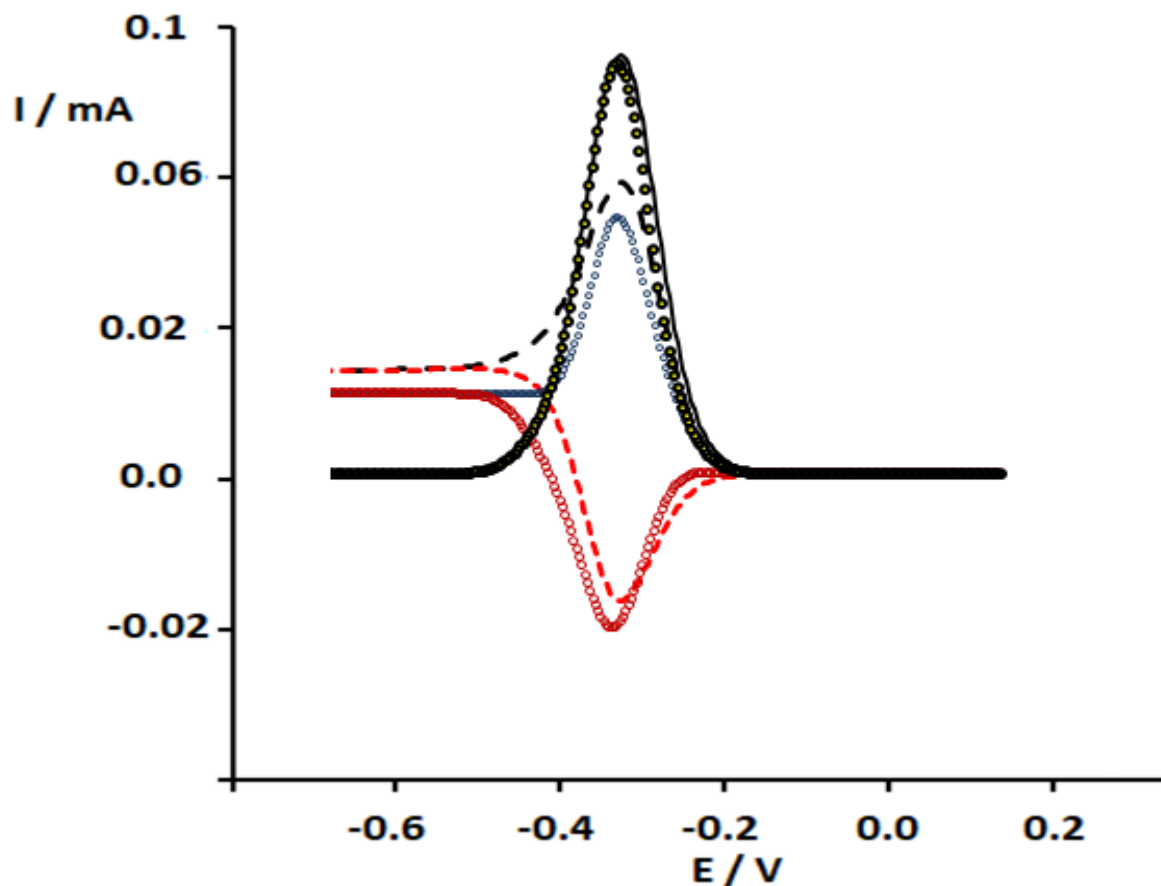
Последниот специфичен механизам според кој метиленско сино стапува во интеракција со друга оксидативно-способна супстанца (калиум перманганат во овој случај) е прикажан на слика 51а. Овој т.н. каталитички регенеративен механизам подразбира реакција помеѓу редуцираната форма на метиленско

сино (MBH₂) и перманганатните јони, при што доаѓа до регенерација на оксидираната форма на метиленско сино. (Цикличните волтамограми на слика 51б се прикажани со цел да се добие визуелна претстава за карактеристиките на овој механизмот). Бидејќи хемиската реакција помеѓу MBH₂ и перманганатните јони придонесува за намалување на концентрацијата на редуцираната форма MBH₂, зголемувањето на концентрацијата на перманганатните јони ќе биде проследена со намалување на интензитетот на оксидацискиот волтаметриски пик. Истовремено пак, хемиската реакција помеѓу MBH₂ и перманганатните јони доведува до регенерација на нов материјал од почетната (оксидирана) форма на метиленско сино (MB), што дополнително ќе може да се редуцира во временскиот интервал на мерење на струјата во SWV. Овој феномен ќе се отслика во зголемување на интензитетот на струјата на директната (редукциска) компонента на волтаметриските одговори. Овие феномени се прикажани на волтаметриските криви 2, 3 и 4 на слика 51а. Во квадратно-бранова волтаметрија, иако директните и повратните струјни компоненти на волтаметриските одговори на метиленско сино во присуство на перманганатни јони имаат слични особини како соодветните струјни компоненти на цикличните волтамограми на слика 51б, сепак поради специфичниот карактер на мерење на струјата во SWV, нет SWV-струјната компонента има форма на добро дефиниран пик, како што е прикажано на слика 51а. Кај овој механизам, покрај карактеристичните форми на директната и повратната струјна компонента од волтамограмите на метиленско сино како функција од зголемената концентрација на перманганатните јони, дополнителен индикатор за препознавање на овој механизам во SWV е порастот на нет SWV-струјната компонента, како и поместување на позицијата на нет SWV-пикот во негативна насока со зголемување на концентрацијата на перманганатните јони при многу висока концентрации (над 50 mmol/L). Со фитување на теоретските со експерименталните волтамограми (при дефинирани услови), кај овој механизам (слика 52) може да се определи константата на хемиската иреверзибилна реакција (т.н. константа на катализа) помеѓу редуцираната форма на метиленско сино и перманганатните јони и истата изнесува: $k_c = 140 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$. (Забелешка: кај овој механизам нема хемиска рамнотежа).



Слика 51. (а) Нет квадратно-бранови волтамограми од метиленско сино снимени во отсуство (крива 1 само пуфер, крива 2 пуфер и метиленско сино) и во присуство на калиум перманганат во концентрации од: 0.0001 mol/L (3); 0.0003 (4); 0.0005 mol/L (5); 0.001 mol/L (6) и 0.002 mol/L (7). Останатите инструментални услови се идентични како на слика 45. На сликата (б) е даден приказ на циклични волтамограми за механизмот во кој стапуваат во интеракции метиленско сино и перманганатните јони.

Figure 51. (a) Net-square-wave voltammograms of methylene blue recorded in absence (curve 1 buffer only, curve 2 buffer and methylene blue) and in presence of permanganate ions concentrations: 0.0001 mol/L (3); 0.0003 mol/L (4); 0.0005 mol/L (5); 0.001 mol/L (6); 0.002 mol/L (7). In patterns of figure (b) a series of cyclic voltammograms typical of this electrode mechanism is presented.



Слика 52. Експериментални квадратно-бранови волтамограми на 0.5 mmol/L метиленско сино снимени во присуство на 1 mmol/L калиум перманганат (точки) и теоретски квадратно-бранови волтамограми (полни линии) симулирани при услови како тие употребени во експериментот. При теоретските симулации, беа употребени следните вредности: константа на брзина на пренос на електрони за електродната реакција на метиленско сино $k_s^\ominus = 1.5 \text{ s}^{-1}$; коефициент за електронски трансфер за електродната реакција на метиленско сино $\alpha = 0.5$ и константа на катализа помеѓу редуцираната форма на метиленско сино и перманганатните јони $k_c = 140 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$. Останатите инструментални параметри беа идентични како параметрите употребени на слика 45. (забелешка: основната blank струја е одземена од експерименталните волтамограми).

Figure 52. Experimental square-wave voltammograms of methylene blue recorded in presence of 1 mmol/L potassium permanganate (dots) and theoretical square-wave voltammograms (lines) calculated under identical experimental conditions. For the theoretical calculations, the following parameters were used: standard rate constant of electron transfer of methylene blue $k_s^\ominus = 1.5 \text{ s}^{-1}$; electron transfer coefficient of methylene blue $\alpha = 0.5$, and catalytic rate constant of interaction between methylene blue (reduced form) and permanganate ions $k_c = 140 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$. Other conditions were same as those reported in figure 45 (blank curves were subtracted in both experimental and theoretical voltammograms).

Во табела 1 се дадени податоци за интеракциите помеѓу метиленско сино и испитуваните лекови во оваа дисертација. За случаите каде постојат интеракции помеѓу метиленско сино и дадениот лек, дадени се податоци за типот на механизмот на интеракции, како и за кинетичките параметри (константите на брзина на хемиска реакција). Кај некои интеракции што се од реверзибилна хемиска природа, дадени се податоци и за термодинамичките параметри (константите на хемиска рамнотежа). Најголемиот дел од експериментални параметри за интеракциите помеѓу метиленско сино и супстанците претставени во Табела 1 за првпат се евалуирани во рамките на оваа дисертација. Важно е да се нагласи дека експерименталното и теоретското пресметување на кинетичките и термодинамичките параметри за интеракциите на два лека зависи пред сè од точното дијагностицирање на механизмот според кој два лека стапуваат во хемиска интеракција. Точна евалуација на електродниот механизам ќе овозможи правилна употреба на теоретските методи, како и на методите на фитување на теоретските и експерименталните волтамограми, со цел да се добие пристап до релевантните физички параметри за интеракциите помеѓу два лека. Притоа, важно е повторно да се нагласи дека еден од лековите што стапуваат во интеракција треба да покажува електрохемиска активност во подрачјето на аплицирани потенцијали (да дава добро дефиниран волтаметриски процес) и истиот да е површински активен (т.е. да се апсорбира на површината од работната електрода).

Табела 1. Податоци за механизам на интеракција на лекови што беа испитувани со квадратно-бранова волтаметрија во присуство на површинско активна супстанца-Метиленско сино (редокс активен лек, присутен во концентрација од 0.0005 mol/L). Сите експерименти беа изведени во фосфатен пуферски раствор со физиолошко pH = 7.4. Во табелите се дадени и пресметаните вредности за константите на брзина на директна и повратна реакција со метиленско сино со дефинираниот лек, како и вредностите за константите на хемиска рамнотежа (во ситуациите каде постои хемиска рамнотежа).

Table 1. Data about mechanism of possible interactions of defined medicaments with methylene blue, obtained by square-wave voltammetry. Methylene blue was present in electrochemical cell at 0.0005 mol/L concentration. All experiments were conducted in phosphate buffer with pH = 7.40. In the table are given information about estimated values of forward and backward chemical reactions between the defined medicament and methylene blue, together with the magnitude of the constant of chemical equilibrium (in mechanisms where chemical equilibrium exists)

	Тип на електроден механизам	Пресметани вредности на константите на брзина на хемиска реакција k_f и k_b (или k_c за EC'-механизам)	Пресметани вредности на константите на хемиска рамнотежа- K_{eq}
Куркумин Curcumin	Нема интеракции	/	/
Ресвератрол Resveratrol	Нема интеракции	/	/
Линкосол Lincomycin HCl	Нема интеракции	/	/
Епикатехин (-)-Epicatechin	Нема интеракции	/	/
Цистеин L – cysteine	EC механизам	$k_b = 0.4 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.035 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.0875$

Витамин Ц Ascorbic acid	ЕС - механизам	$k_b = 0.0505 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.0075 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.15$
Калиум перманганат Potassium permanganate	ЕС' - механизам	$k_c = 140 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$.	
Цитерал Ciprofloxacin	ЕС- механизам	$k_b = 0.25 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.07 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.28$
Водород пероксид H_2O_2 Hydrogen peroxide	ЕС' - механизам	$k_c = 55 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	
Caffeine	Нема интеракции		
Аналгин Metamizole	Нема интеракции		
Пирацетам Piracetam	Нема интеракции		
Диклофенак Diclofenac	Нема интеракции		
Гентамицин Gentamicin	СЕ - механизам (специфичен СЕ механизам во кој Ox(ads) стапува во реверзибилна паралелна хемиска реакција)	$k_b = 0.135 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.065 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$.	$K_{eq} = 0.48$
Синопен	Нема интеракции		

Chloropyramine			
Лендацин Ceftriaxone	ЕС - механизам	$k_b = 0.25 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.02 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.08$
Допамин Dopamine	СЕ - механизам (специфичен СЕ механизам во кој $Ox(ads)$ стапува во реверзибилна паралелна хемиска реакција)	$k_b = 0.18 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.03 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.166$
Ранитидин Ranitidine	Нема интеракции		
Витамин В6 Pyridoxine	СЕ - механизам (специфичен СЕ механизам во кој $Ox(ads)$ стапува во реверзибилна паралелна хемиска реакција)	$k_b = 0.8 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.25 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.312$
Спазмекс Trospium	ЕС - механизам	$k_b = 0.42 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ $k_f = 0.11 \text{ mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$	$K_{eq} = 0.262$
Кетопрофен Ketoprofen	Нема интеракции	/	/
Ибупрофен Ibuprofen	Нема интеракции	/	/
Витамин В1 Thiamine	Нема интеракции		

Витамин В12 Суаносobalamin	Нема интеракции		
-------------------------------	--------------------	--	--

7. ЗАКЛУЧОЦИ

Во рамките на оваа дисертација, електрохемиските својства на липофилни површински активни редокс-лекови се теоретски студирани во услови на квадратно-бранова волтаметрија (SWV). Притоа, разработени се неколку релевантни едностепни и двостепени теоретски модели во кои електрохемиските реакции на липофилните редокс-активни лекови се комплицирани со интермедиерна, дополнителна, претходна или т.н. регенеративна хемиска реакција. Во рамките на обработените теоретски модели, дадени се дијагностички критериуми за експериментално препознавање на секој од елаборираните механизми. Покрај тоа, предложени се соодветни теоретски методи за сите елаборирани механизми што овозможуваат пресметување на релевантни кинетички и термодинамички параметри што се поврзани со потенцијални интеракции помеѓу два испитувани лека. Како главни придобивки од оваа дисертација, може да се наведат следните:

- За првпат се решени и публикувани теоретски модели во услови на квадратно-бранова волтаметрија за следните електродни механизми: (а) површинска едностепена електродна реакција што е поврзана со последователна реверзибилна хемиска реакција (површински E_{Crev} -механизам); (б) површинска двостепена електродна реакција што е поврзана со последователна реверзибилна и иреверзибилна хемиска реакција на крајниот електрохемиски генериран продукт (површински E_{ECrev} -механизам и површински E_{ECirr} -механизам); (в) површинска двостепена електродна реакција што е поврзана со претходна реверзибилна хемиска реакција, преку која се генерира почетниот електрохемиски активен реактант (површински $C_{rev}E_{Ev}$ -механизам).

- Покрај горенаведените површински електродни механизми, во рамките на оваа дисертација се елаборирани и голем број на релевантни својства за следните електродни механизми што се важни за волтаметриско студирање на интеракции помеѓу лекови: (г) едноставен површински електроден механизам; (д) едноставен површински електроден механизам поврзан со иреверзибилна хемиска регенеративна реакција (површински $E_{C'}$ -механизам); (ѓ) површинска

двостепена електродна реакција што е поврзана со последователна иреверзибилна регенеративна хемиска реакција на електрохемиски генериран меѓупродукт (површински EEC'-механизам); (e) површинска двостепена електродна реакција што е поврзана со интермедиерна иреверзибилна хемиска реакција (површински EcirrE-механизам);

- Во теоретските модели за површинските ECrev и EECrev електродни механизми, покажано е дека при дадени вредности на константата на рамнотежа на реверзибилните хемиски реакции, може да дојде до зголемување на сите струјни компоненти од волтаметриските одговори, што е целосно невообичаен феномен за овој тип на механизми. Притоа, кај овие електродни механизми, феномените на „квазиреверзибилен максимум„, при дефинирани вредности на константата на хемиска рамнотежа, се функции од кинетиката на реверзибилната хемиска реакција. Ова својство е уникатно само за овој тип на електродни механизми.

- Во теоретските модели за двостепени површински EECrev и CrevEE-механизмите, покажано е дека е можно да се раздвојат и карактеризираат два последовалтени електрохемиски (E-E) чекори кога и двата електрохемиски чекори се одвиваат на ист потенцијал. Тоа може да се продуцира само со зголемување на концентрацијата на вториот лек, при константна концентрација на првиот (редокс-активниот) лек. Овие својства за првпат се публикувани во литература во услови на квадратно-бранова волтаметрија од страна на нашата научно-истражувачка група.

- Феномените на „квазиреверзибилен максимум„ и „цепење на вкупниот нет SWV-волтаметриски пик можат ефикасно да се применат за определување на стандардната константа на брзина на пренос на електрони и на коефициентот на пренос на електрони на липофилниот редокс-активен лек.

- Преку својствата на зависностите на пик-потенцијалите на нет SWV-волтаметрискиот пик како функција од концентрацијата на вториот лек во електрохемиската ќелија, може да се пресмета вредноста на константата на хемиска рамнотежа, кај сите механизми што се поврзани со реверзибилна хемиска реакција.

- За пресметување на константата на брзина на интеракции помеѓу два лека може да се употреби процедура на фитување на теоретските и експерименталните резултати. Неколку примери на фитување на

експериментални и теоретски резултати за различни типови на интеракции кај репрезентативни електродни механизми се прикажани во рамките на оваа дисертација.

- Во рамките на експерименталниот дел, студирани се интеракциите на метиленско сино (површинско-активен редокс-лек) со голем број на лекови. Притоа, даден е табеларен приказ на релевантните кинетички и термодинамички параметри за ситуациите каде се утврдени интеракции помеѓу метиленско сино и даден лек. Покрај тоа, во ситуациите каде има интеракции, дадена е насока за природата на електродниот механизам според кој метиленско сино стапува во хемиска интеракција со дефиниран лек.

- Експерименталните методи предложени за определување на кинетиката на интеракции помеѓу два лека се едноставни и се базираат на следење на својствата на волтаметриските одговори на метиленско сино само како резултат на промена на концентрацијата на вториот лек во електрохемиската ќелија. При овие експерименти, важно е да се нагласи дека сите други инструментални параметри и концентрацијата на метиленско сино, треба да бидат константни.

- Важно е да се нагласи дека електрохемиски активниот лек (или редокс-активен лек) треба да биде површинско-активна супстанца (да се адсорбира на површината од работната електрода) со цел да се применат резултатите од моделите за електродните механизми презентирани во оваа дисертација.

- Математичките и теоретските модели во кои се обработени елаборираните системи во оваа дисертација се презентирани во четири оригинални научни трудови, публикувани во списанија со фактор на влијание.

- Во оваа дисертација, дадени се во слободна форма и работните MATCAD-фајлови за сите нови електродни механизми презентирани за првпат во дисертацијата, што може секој да ги употреби и да ги симулира соодветните електродни механизми елаборирани во оваа дисертација.

8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Armstrong F. A., (1997); *Applications of voltammetric methods for probing the chemistry of redox proteins In: Bioelectrochemistry: Principles and practice* (G. Lenaz, G. Milazz eds), Birkhauser Verlag AG, Basel;
- Armstrong F. A., H. A. Heering, J. Hirst, (1997); *Reaction of complex metalloproteins studied by protein-film voltammetry*, Chem. Soc. Rev., 26, 169;
- Armstrong F. A., R. M. Evans, S. V. Hexter, B. J. Murphy, M. M. Roessler, Ph. Wulff, (2016); *Guiding Principles of Hydrogenase Catalysis Instigated and Clarified by Protein Film Electrochemistry*, Acc. Chem. Res., 49, 884;
- Armstrong F. A., (2002); *Voltammetry of Proteins*. In: A. J. Bard, M. Stratmann, G. S. Wilson 16 (eds) *Encyclopedia of Electrochemistry*, vol. 9, Wiley VCH, Weinheim, 17;
- Armstrong F. A., (2015); *Electrifying metalloenzymes in: Metalloproteins: Theory, calculations and experiments* (A. E. Cho, W. A. Goddar III, eds), CRC Press, Taylor&Francis Group, London, New York;
- Bard A. J., and L. R. Faulkner, (2004); *Electrochemical methods. Fundamentals and 14 applications*, 3rd edition, John Wiley & Sons, Inc;
- Barlett P. N., (2008); *Bioelectrochemistry-Fundamentals, Experimental Techniques and Application*, Wiley, Chichester, 19;
- Bertrand P, B. Frangioni, S. Dementin,, M. Sabaty, P. Arnoux, B. Guigliarelli, D. Pignol, Ch. Léger, (2007); *Effects of Slow Substrate Binding and Release in Redox Enzymes: Theory and Application to Periplasmic Nitrate Reductase*, J. Phys. Chem. B, 111, 10300;
- Bojadzic Damir, Oscar Alcazar and Peter Buchwald, (2021); *Methylene Blue Inhibits the SARS-CoV-2 Spike–ACE2 Protein-Protein Interaction—a Mechanism that can Contribute to its Antiviral Activity Against COVID-19*; Front. Pharmacol;
- Bosoy, Dimitry, Axelband, et al. (2008); *Utilization of methylene blue in the setting of hypotension associated with concurrent renal and hepatic failure: a concise review*. OPUS 12 Scientist; 2: 21-9;
- Boylston Marianne, Deborah Beer, (2002); *Methemoglobinemia: A Case Study*. Critical Care Nurse; 22: 50-5;

- Clifton, Jack II, Leikin, Jerrold, (2003); *Methylene blue*. American Journal of Therapeutics; 10: 289-91;
- Compton R. G., and C. E. Banks, (2011); *Understanding voltammetry*, 2nd Edition, Imperial 12 College Press, London, UK. 13;
- Compton RG, Banks CE (2007) *Cyclic voltammetry: coupled homogeneous kinetics and adsorption in: understanding voltammetry*. Imperial College Press, London;
- Crans D. C., J. J. Smee, E. Galdamauskas, L. Yang, (2004); *The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds*; Chem. Rev. 104, 849;
- Dewachter Pascale, Claudie Moutan-Faivre, Philippe Trechot, Jean-Claude Llieu, Paul Michel Mertes, (2005); *Severe anaphylactic shock with methylene blue instillation*. Anesth Analg 101: 149-50;
- Ermler U., W. Grabarse, S. Shima, M. Goubeaud, R. K. Thauer, (1998); *Active sites of transition-metal enzymes with a focus on nickel*; Curr. Opin. Struct. Biol., 8, 749;
- Gachot B., J.P. Bedos, B.Veber, M. Wolff, B. Regnier, (1995); *Short-term effects of methylene blue on hemodynamics and gas exchange in humans with septic shock*. Intensive Care Medicine 21: 1027-31;
- Garay F, Lovrić M (2002) *Square-wave voltammetry of quasireversible electrode processes with coupled homogeneous chemical reactions*. J Electroanal Chem 518:91–102;
- Gillman P K. (2006); *Methylene blue implicated in potentially fatal serotonin toxicity*. Anaesthesia 61:1013-4;
- Gonzalez J., A. Molina, F. Martinez Ortiz, E. Laborda, (2012); *Characterization of the Electrocatalytic Response of Monolayer-Modified Electrodes with Square-Wave Voltammetry*, J. Phys. Chem. C 116, 11206;
- Gordan L. Donald, Mohan C. Airan, William Thomas, Leon H. Seidman. (2005); *Parathyroid identification by methylene blue infusion*. British Journal of Surgery 62: 747-9;

- Gulaboski R, Janeva M, Maksimova V (2019) *New aspects of protein-film voltammetry of redox enzymes coupled to follow-up reversible chemical reaction in square-wave voltammetry*. *Electroanalysis* 31;
- Gulaboski R, Kokoskarova P, Petkovska S (2018) *Timeindependent methodology to access Michaelis-Menten constant by exploring electrochemical-catalytic mechanism in protein-film cyclic staircase voltammetry*. *Croat Chem Acta* 91:377–382;
- Gulaboski R, Lovric M, Mirceski V, Bogeski I, Hoth M (2008) *A new rapid and simple method to determine the kinetics of electrode reactions of biologically relevant compounds from the half-peak width of the square-wave voltammograms*. *Biophys Chem* 138: 130–137;
- Gulaboski R, Lovric M, Mirceski V, Bogeski I, Hoth M (2008) *Protein-film voltammetry: a theoretical study of the temperature effect using square-wave voltammetry*. *Biophys Chem* 137:49–55;
- Gulaboski R, Mirceski V (2015) *New aspects of the electrochemical-catalytic (EC') mechanism in square-wave voltammetry*. *Electrochim Acta* 167:219–225;
- Gulaboski R, Mirceski V, Bogeski I, Hoth M (2012) *Protein-film voltammetry: electrochemical enzymatic spectroscopy. A review on recent progress*. *J Solid State Electrochem* 16:2315–2328;
- Gulaboski R., (2018); *Theoretical Contribution Towards Understanding Specific Behaviour of “Simple” Protein-film Reactions in Square-wave Voltammetry*; *Electroanalysis* 2018, 30, 1 – 10;
- Gulaboski R., (2019); *Theoretical Contribution towards Understanding Specific Behaviour of “Simple” Protein-film Reactions in Square-wave Voltammetry* *Electroanalysis* 31, 545;
- Gulaboski R., (2009); *Surface ECE mechanism in protein film voltammetry—a theoretical study under conditions of square-wave voltammetry*; *J. Solid State Electrochem.* 13, 1015;
- Gulaboski R., L. Mihajlov, (2011); *Catalytic mechanism in successive two-step protein-film voltammetry—Theoretical study in square-wave voltammetry*; *Biophys. Chem.*, 155, 1;

- Gulaboski R., M. Lovric, V. Mirceski, I. Bogeski, M. Hoth, (2008); *Protein-film voltammetry: a theoretical study of the temperature effect using square-wave voltammetry.*, Biophys. Chem. 137, 49;
- Gulaboski R., M. Lovric, V. Mirceski, I. Bogeski, M. Hoth, (2008); *A new rapid and simple method to determine the kinetics of electrode reactions of biologically relevant compounds from the half-peak width of the square-wave voltammograms;* Biophys. Chem. 138, 130;
- Gulaboski R., P. Kokoskarova, S. Mitrev, (2012); *Theoretical aspects of several successive two-step redox mechanisms in protein-film cyclic staircase voltammetry,* Electrochim. Acta, 69, 86–96;
- Gulaboski R., V. Mirceski, (2015); *New aspects of the electrochemical-catalytic (EC') mechanism in square-wave voltammetry,* Electrochim. Acta 167, 219;
- Gulaboski R., V. Mirceski, I. Bogeski, and M. Hoth, J. (2012); *Protein film voltammetry: electrochemical enzymatic spectroscopy. A review on recent progress;* Solid State Electrochem. 16, 2315;
- Gulaboski R., V. Mirceski, M. Lovric, and I. Bogeski, (2005); *Theoretical study of a surface electrode reaction preceded by a homogeneous chemical reaction under conditions of square-wave voltammetry;* Electrochem. Commun. 7, 2 515. 3;
- Gulaboski, Rubin and Kokoskarova, Pavlinka and Petkovska, Sofija (2020) *Analysis of Drug-Drug Interactions with Cyclic Voltammetry: An Overview of Relevant Theoretical Models and Recent Experimental Achievements.* Analytical and Bioanalytical Electrochemistry, 12 (3). pp. 345-364. ISSN 2008-4226;
- Gulaboski, Rubin and Mirceski, Valentin and Lovric, Milivoj (2019) *Square-wave protein-film voltammetry: new insights in the enzymatic electrode processes coupled with chemical reactions.* Journal of Solid State Electrochemistry. pp. 1-14. ISSN 1432-8488;
- Guziejewski D., V. Mirceski, D. Jadresko, (2015); *Measuring the Electrode Kinetics of Surface Confined Electrode Reactions at a Constant Scan Rate;* Electroanalysis 27, 67;
- Helfrick JC, Mann MA, Bottomley LA (2016); *Diagnostic criteria for the characterization of electrode reactions with chemical reactions following electron transfer by cyclic square wave voltammetry.* Electrochim Acta 205:20 28;
- Hille R., (2002); *Molybdenum and tungsten in biology,* Trends Biochem. Sci. 27, 360;

- Janeva, Milkica and Kokoskarova, Pavlinka and Gulaboski, Rubin (2020) *Multistep Surface Electrode Mechanism Coupled with Preceding Chemical Reaction-Theoretical Analysis in Square-Wave Voltammetry*. *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, 12 (6). pp. 1-14. ISSN 2008-4226;
- Janeva, Milkica and Kokoskarova, Pavlinka and Maksimova, Viktorija and Gulaboski, Rubin (2019) *Square-wave Voltammetry of Two-step Surface Electrode Mechanisms Coupled with Chemical Reactions – A Theoretical Overview*. *Electroanalysis*, 29. pp. 1-20. ISSN 1040-0397;
- Jeuken L. J. C., S. D. Connell, P. J. F. Henderson, R. B. Gennis, S. D. Evans, R. J. Bushby, (2006); *Redox Enzymes in Tethered Membranes*; *J. Am. Chem. Soc.* 128, 1711.
- Ju H., J. Zhou, C. Cai, H. Chen, (1995); *The electrochemical behavior of methylene blue at a microcylinder carbon fiber electrode*, *Electroanalysis*, 12, 1165-1170;
- Kobayashi M., S. Shimizu, (1999), *Cobalt proteins*; *Eur. J. Biochem.* 261, 1.
- Kokoskarova P., V. Maksimova, M. Janeva, R. Gulaboski, (2019); *Protein-film Voltammetry of Two-step Electrode Enzymatic Reactions Coupled with an Irreversible Chemical Reaction of a Final Product-a Theoretical Study in Square-wave Voltammetry*, *Electroanalysis*, doi.org/10.1002/elan.201900225;
- Komorsky Lovric S, Lovric M (1995) *Kinetic measurements of a surface confined redox reaction*. *Anal Chim Acta* 305:248–255
- Komorsky Lovric S., M. Lovric, (2014); *Square-wave voltammetry of two-step electrode reaction*; *Int. J. Electrochem. Sci.* 9, 435;
- Komorsky-Lovrić, Š., & Lovrić, M. (2011). *Theory of square-wave voltammetry of two-step electrode reaction with kinetically stabilized intermediate*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 660(1), 22–25. doi:10.1016/j.jelechem.2011.05.02
- Kounaves Samuel P.,(1997); *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry/ Chapter 37*,
- Laborda E., A. Molina, Q. Li, C. Batchelor-McAuley, R. G. Compton, (2012); *Square wave voltammetry at disc microelectrodes for characterization of two electron redox processes*; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 14, 8319;

- Lasia A., (1986); *Study of the CEE mechanism by voltammetry and chronoamperometry*; Can. J. Chem. 64 2319. 38;
- Léger C., and P. Bertrand, (2008); *Direct Electrochemistry of Redox Enzymes as a Tool for Mechanistic Studies*, Chem. Rev. 108 2379. 24;
- Leger C., S. J. Elliott, K. R. Hoke, L. J. C. Jeuken, A. K. Jones, F. A. Arsmtrong, (2003); *Enzyme Electrokinetics: Using Protein Film Voltammetry To Investigate Redox Enzymes and Their Mechanisms*; Biochem. 42, 8653;
- Levin Ricardo L., Marcela A. Degrange, Gustavo F. Bruno, et al. (2004); *Methylene blue reduces mortality and morbidity in vasoplegic patients after cardiac surgery*. Ann Thorac Surg 77: 496-9;
- Lovric M., (2010); "Square-wave voltammetry," in *Electroanalytical Methods*, F. Scholz, Ed. Springer, Berlin, Germany, 2nd edition;
- Lovric M., (1983); *The theory of the EE mechanism with adsorption of the intermediate*; J. Electroanal. Chem. 153, 1;
- Lovric M., S. Komorsky-Lovric, (2012); *Theory of square-wave voltammetry of kinetically controlled two-step electrode reactions*; Croat. Chem. Acta 85, 569;
- Lovric M., S. Komorsky-Lovric, (2012); *Theory of Square-Wave Voltammetry of Two-Electron Reduction with the Adsorption of Intermediate*; Intern. J. Electrochem. 596268;
- Meissner Peter E, Germain Mandi, Boubacar Coulibaly, et al. (2006); *Methylene blue for malaria in Africa: results from a dose-finding study in combination with chloroquine*. Malaria Journal 5: 84;
- Mirceski V, Gulaboski R (2001) *Surface catalytic mechanism in square-wave voltammetry*. Electroanal 13:1326–1334;
- Mirceski V, Gulaboski R (2003) *The surface catalytic mechanism: a comparative study with square-wave and cyclic staircase voltammetry*. J Solid State Electrochem 7:157–165;
- Mirceski V, Gulaboski R, Lovric M, Bogeski I, Kappl R, Hoth M (2013); *Square-wave voltammetry-a review on the recent progress*. Electroanal 25:2411–2422;

- Mirceski V, Komorsky-Lovric S, Lovric M, (2007) In: Scholz F (ed) *Square-wave voltammetry: theory and application*, 2nd edn. Springer, Berlin;
- Mirceski V, Lovric M (2000); *Adsorption effects in square-wave voltammetry of an EC mechanism*. Croat Chem Acta 73:305–329;
- Mirceski V, Lovric M (2004); *EC mechanism of an adsorbed redox couple. Volume vs surface redox reaction*. J Electroanal Chem 565: 191–202;
- Mirceski V, Lovric M, (1997); *Split square-wave voltammograms of surface redox reactions*. Electroanal 9:1283–1287;
- Mirceski V., and R. Gulaboski, (2003); *A theoretical and experimental study of a two-step quasireversible surface redox reaction by square-wave voltammetry*; Croat. Chem. Acta 76 37. 1;
- Mirceski V., D. Guzijewski, K. Lisichkov, (2013); *Electrode kinetics measurements with square-wave voltammetry at a constant scan rate*, Electrochim. Acta 114, 667;
- Mirceski V., R. Gulaboski, I. Kuzmanovski, (1999); *Mathcad-A Tool for Numerical Calculation of Square-Wave Voltammograms*; Bull. Chem. Technol. Macedonia 18, 57;
- Mirceski, Valentin and Gulaboski, Rubin (2014) Recent achievements in square-wave voltammetry (a review). Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 33 (1). pp. 1-12. ISSN 1857-5552
- Molina A., J. Gonzales, (2016); *Pulse voltammetry in physical electrochemistry and electroanalysis, in Monographs in electrochemistry* (F. Scholz, ed.), Berlin Heidelber, Springer;
- Molina A., M. M. Moreno, C. Serna, M. Lopez-Tenes, J. Gonzalez, N. Abenza, (2007); *Study of Multicenter Redox Molecules with Square Wave Voltammetry*; J. Phys. Chem. C 111, 12446;
- Mowry S., P. J. Ogren, (1999); *Kinetics of methylene blue reduction by ascorbic acid*, J. Chem. Educ. 76 970-973;
- O'Dea J. J., J. G. Osteryoung, (1997); *Square Wave Voltammetry for Two-Step Surface Reductions*; Anal. Chem. 69, 650;

- O'Dea JJ, Osteryoung J., (1993); *Characterization of quasi-reversible surface processes by square-wave voltammetry*. Anal Chem 65: 3090–3097;
- O'Dea JJ, Osteryoung J, Osteryoung RA., (1981); *Theory of squarewave voltammetry for kinetic systems*. Anal Chem 53:695–701;
- Osteryoung J., J. J. O'Dea, (1986); *Square-wave voltammetry, in Electroanalytical Chemistry*, A. J. Bard, Ed. Marcel Dekker, New York, NY, USA, 14, 209;
- Oz Murat, Dietrich E. Lorke, George A. Petroianu. (2009); *Methylene blue and Alzheimer's disease*. Biochemical pharmacology 78: 927-32;
- Ozkan A., J. M. Kaufmann, P. Zuman, (2015); *Electroanalysis in biomedical and pharmaceutical sciences* (F. Scholz, editor), Springer, Berlin;
- Preiser, Jean-Charles, Lejeune, et al. (1995); *Methylene blue administration in septic shock: A Clinical Trial*. Critical Care Medicine 23: 259-64;
- Saveant M., (2006); *Elements of Molecular and Biomolecular Electrochemistry: An Electrochemical Approach to Electron Transfer Chemistry*, Hoboken, NJ, Wiley;
- Schenk Peter, Christian Madl, Shahrzad Rezaie-Majd, Stephen Lehr, Christi an Muller. (2000); *Methylene blue improves the hepatopulmonary syndrome*. Ann Intern Med 133: 701-6;
- Schirmer R.H, Coulibaly B, Stich A, et al., (2003); *Methylene blue as an antimalarial agent*. Redox rep 8: 272- 5;
- Sies H., L. Parker, (2004); *Quinones and quinone enzymes*, in Methods in enzymology, Academic Press, UK;
- Wijma H. J., L. J. C. Jeuken, M. Ph. Verbeet, F. A. Armstrong, G. W. Canters, (2007); *Protein Film Voltammetry of Copper-Containing Nitrite Reductase Reveals Reversible Inactivation*; J. Am. Chem. Soc. 129, 8557;
- Wondrak GT. (2007); *NQO1-activated phenothiazinium redox cyclers for the targeted bioreductive induction of cancer cell apoptosis*. Free Radic Biol Med 43: 178-90;
- Xiong Zheng-Mei, Mike O'Donovan, Linlin Sun, Ji Young Choi, Margaret Ren & Kan Cao, (2017); *Anti-Aging Potentials of Methylene Blue for Human Skin Longevity*; Scientific Reports volume 7, Article number: 2475;

Рубин Гулабоски, Викторија Максимова, Виолета Иванова -Петропулос.
Инструментални фармацевтски анализи [Електронски извор]: учебник / -
Штип Универзитет "Гоце Делчев", Факултет за медицински науки, (2019)

ДОПОЛНИТЕЛЕН МАТЕРИЈАЛ (Mathcad working files)

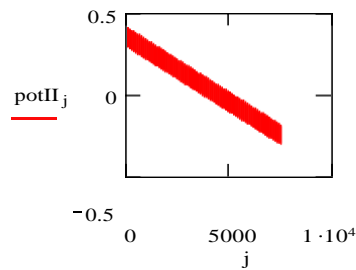
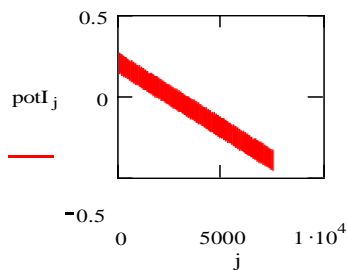
Supplementary MATHCAD FILE: Surface "E" and ECE mechanism in SWV

$$\begin{array}{llllll}
 E_{sI} := 0.2 & \Delta E := 0.6 & dE := 0.004 & E_{sw} := 0.06 & & E_{sII} := 0.35 \\
 n := 2 & F := 96500 & R := 8314 & T := 298.15 & \alpha := 0.5 &
 \end{array}$$

$$j := 1.. \frac{\Delta E}{dE} \cdot 50$$

$$potI_j := E_{sI} + E_{sw} - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right) \cdot dE + \text{if} \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right), 1, -1 \right) \cdot E_{sw} + E_{sw} \right) - dE \right]$$

$$potII_j := E_{sII} + E_{sw} - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right) \cdot dE + \text{if} \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right), 1, -1 \right) \cdot E_{sw} + E_{sw} \right) - dE \right]$$



$$\begin{array}{llllll}
 ks1 := 1 & ks2 := 1 & f := 10 & kf := 0.00001 & & kf \text{ is a chemical rate constant of} \\
 & & & & & \text{pseudo-first order}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{llll}
 K1 := \frac{1}{f} & K2 := \frac{1}{f} & \lambda := \frac{1}{f} & \lambda \text{ is a dimensionless chemical parameter}
 \end{array}$$

$$M_j := e^{-\lambda \cdot \frac{j}{50}} - e^{-\lambda \cdot \frac{j+1}{50}}$$

$$\Phi I_j := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potI_j \quad \Phi II_j := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potII_j$$

$$\Psi I_1 := \frac{K1 \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi I_1}}{1 + \frac{K1}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi I_1} + K1 \lambda^{-1} \cdot e^{-\Phi I_1 \cdot (1-\alpha)} \cdot M_1}$$

$$\Psi_{II_1} := \frac{\left(\Psi_{I_1} \cdot \frac{K_2}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_1}} \right) - K_2 \cdot \lambda^{-1} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_1}} \cdot \Psi_{I_1} \cdot M_1}{1 + \frac{K_2 \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_1}}}{50} \cdot (1 + e^{\Phi_{II_1}})}$$

The equations (1) and (2) are recursive formulas for the SURFACE ECE MECHANISM

$$\Psi_{I_j} := \frac{K_1 \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{I_j}} - \frac{K_1}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{I_j}} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I_i} - K_1 \lambda^{-1} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{I_j} \cdot (1-\alpha)} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I_i} \cdot M_j}{1 + \frac{K_1}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{I_j}} + K_1 \cdot \lambda^{-1} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{I_j} \cdot (1-\alpha)} \cdot M_j} \quad (1)$$

$$\Psi_{II_j} := \frac{\frac{K_2}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_j}} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I_i} - K_2 \lambda^{-1} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_j}} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I_i} \cdot M_j - \frac{K_2}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_j}} \cdot (1 + e^{\Phi_{II_j}}) \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{II_i}}{1 + \frac{K_2}{50} \cdot e^{-\alpha \cdot \Phi_{II_j}} \cdot (1 + e^{\Phi_{II_j}})} \quad (2)$$

SIMPLE SURFACE REDOX REACTION

$$z := 2$$

$$\phi_j := z \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot \text{pot} I_j$$

$$\Pi_1 := \frac{K_1 \cdot e^{-\alpha \cdot \phi_{I_1}}}{1 + \frac{K_1 \cdot e^{-\alpha \cdot \phi_{I_1}} \cdot (1 + e^{\phi_{I_1}})}{50}}$$

$$\Pi_j := \frac{K_1 \cdot e^{-\alpha \cdot \phi_{I_j}} - K_1 \cdot e^{-\alpha \cdot \phi_{I_j}} \cdot \frac{(1 + e^{\phi_{I_j}})^{j-1}}{50} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Pi_i}{1 + \frac{K_1 \cdot e^{-\alpha \cdot \phi_{I_j}} \cdot (1 + e^{\phi_{I_j}})}{50}}$$

$$\Psi_j := \Psi I_j + \Psi \Pi_j$$

$$p := 1 \cdot \left(\frac{\Delta E}{dE} \right) - 1$$

$$\Psi I_p := \Psi I_{(p+1) \cdot 50} \quad \Psi I_b_p := \Psi I_{50 \cdot p + 25} \quad \Psi I_{net_p} := \Psi I_f_p - \Psi I_b_p$$

$$\Psi \Pi_b_p := \Psi \Pi_{50 \cdot p + 25} \quad \Psi \Pi_f_p := \Psi \Pi_{(p+1) \cdot 50} \quad \Psi \Pi_{net_p} := \Psi \Pi_f_p - \Psi \Pi_b_p$$

$$\Psi b_p := \Psi_{50 \cdot p + 25} \quad \Psi f_p := \Psi_{(p+1) \cdot 50} \quad \Psi_{net_p} := \Psi f_p - \Psi b_p$$

$$E_p := E_s I - p \cdot dE$$

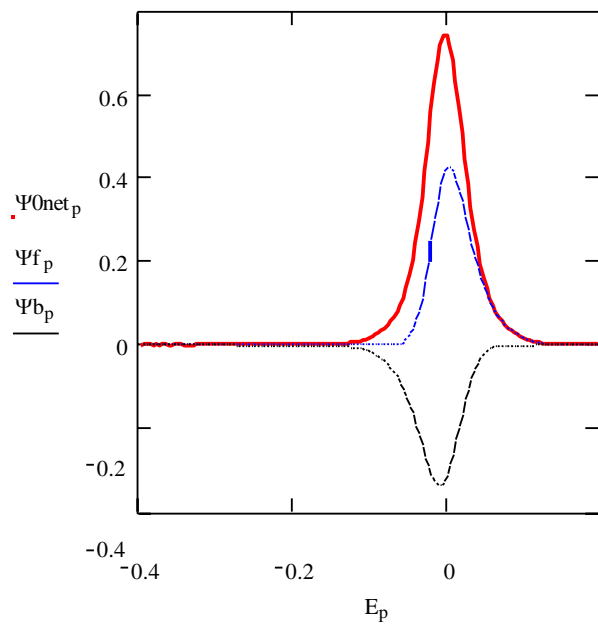
$$\Psi_{0net_p} := \Psi I_{net_p} + \Psi \Pi_{net_p}$$

FOR ECE MECHANISM

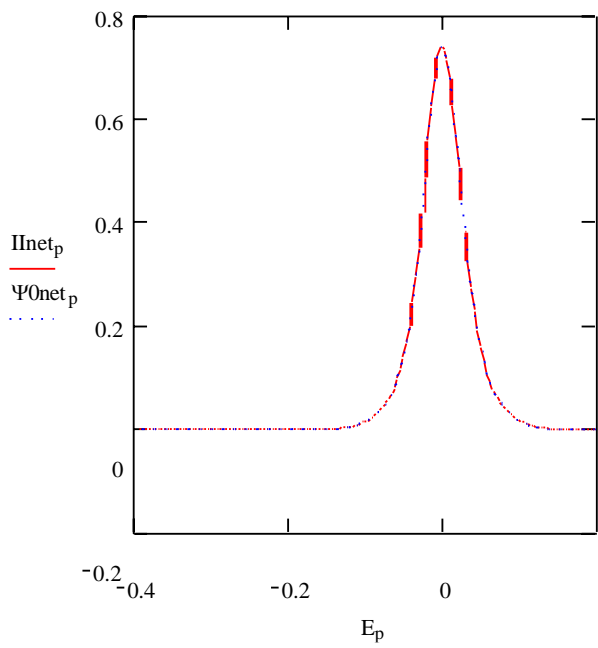
$$\Pi_f_p := \Pi_{(p+1) \cdot 50}$$

$$\Pi_b_p := \Pi_{50 \cdot p + 25}$$

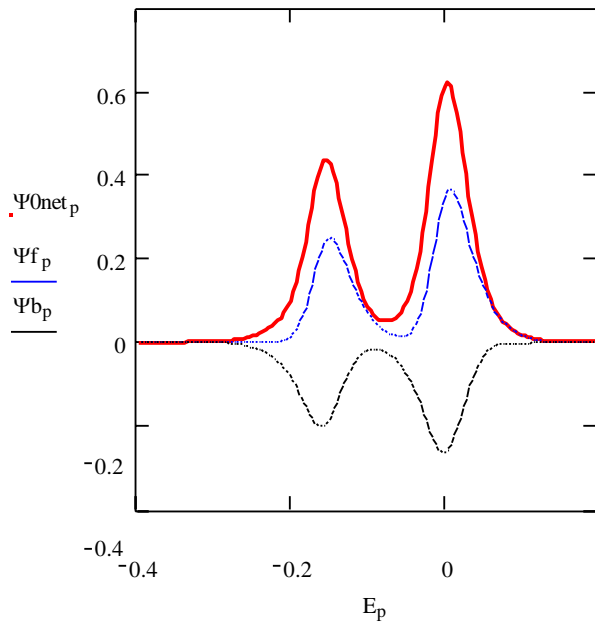
$$\Pi_{net_p} := \Pi_f_p - \Pi_b_p \quad \text{FOR SIMPLE SURFACE REDOX REACTION}$$



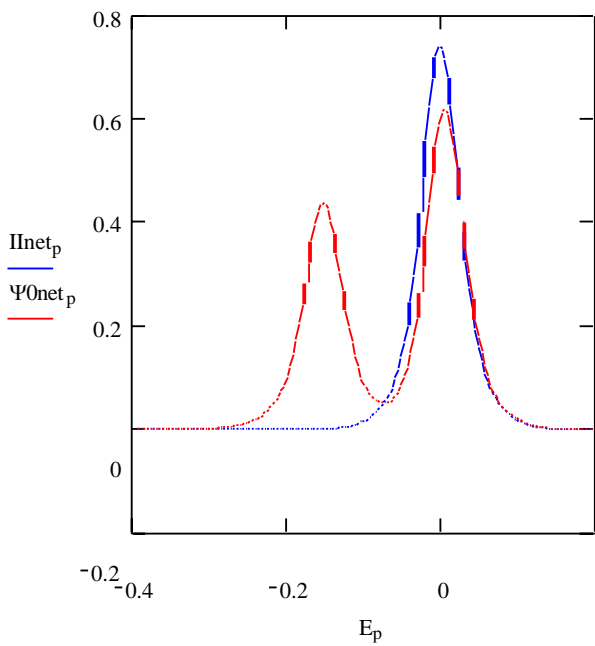
Voltammogram of surface ECE mechanism
 $E_{st(II)} - E_{st(I)} = -150 \text{ mV}$
 $K_1 = K_2 = 0.1$
 This voltammogram is simulated for small value of the chemical rate constant $\lambda = 0.000001$.



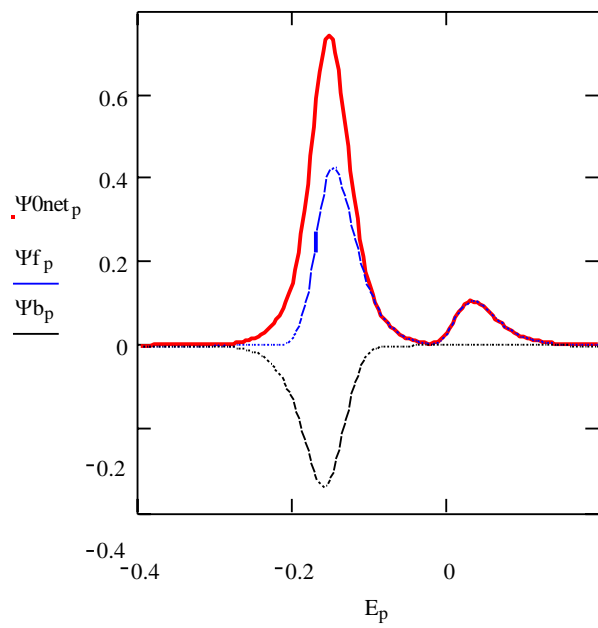
Voltammograms of surface ECE mechanism from previous case (blue line) and that of simple surface reaction (red line). The simple surface reaction is simulated for the value of the kinetic parameter $K = 0.1$



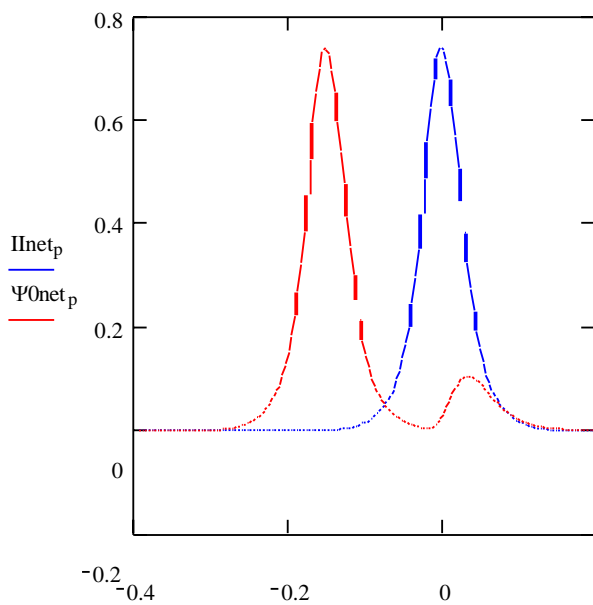
Voltammogram of surface ECE mechanism
 $Est(II) - Est(I) = -150 \text{ mV}$
 $K1 = K2 = 0.1$
 This voltammogram is simulated for moderate value of the chemical rate constant
 $\lambda = 0.01$.



Voltammograms of surface ECE mechanism from the case above (red line) and that of simple surface reaction (blue line). The simple surface reaction is simulated for the value of the kinetic parameter $K = 0.1$



Voltammogram of surface ECE mechanism
 $E_{st(II)} - E_{st(I)} = -150 \text{ mV}$
 $K_1 = K_2 = 0.1$
 This voltammogram is simulated for big value of the chemical rate constant
 $\lambda = 1$



Voltammograms of surface ECE mechanism from the case above (red line) and that of simple surface reaction (blue line). The simple surface reaction is simulated for the value of the kinetic parameter $K = 0.1$

SUPPLEMENTARY MATERIAL: MATHCAD FILE for TWO-STEP SURFACE EECrev MECHANISM

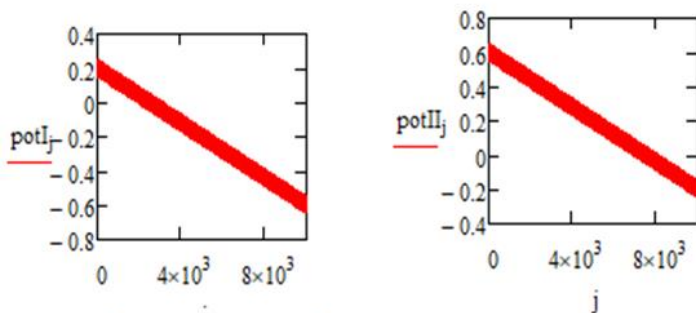
(Es – standard)potentials $f := 10$ f is SW frequency $r := 1..1$

EsI := 0.2 $\Delta E := 0.8$ $dE := 0.004$ Esw := 0.05 EsII := 0.6
 $n := 1$ $\frac{F}{R \cdot T} := 96500$ $\frac{R}{T} := 8.314$ $\frac{T}{R} := 298.15$ $KI_r := \left(\frac{ks1 \cdot r}{f} \right)$
 $j := 1.. \frac{\Delta E}{dE} \cdot 50$ $KII := \frac{ks2}{f}$

$\alpha 1 := 0.5$ $\alpha 2 := 0.5$

$$potI_j := EsI + Esw - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right) \cdot dE + i f \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right), 1, -1 \right) \cdot Esw + Esw \right) - dE \right]$$

$$potII_j := EsII + Esw - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right) \cdot dE + i f \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right), 1, -1 \right) \cdot Esw + Esw \right) - dE \right]$$



$$\Phi I_j := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potI_j \quad \Phi II_j := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potII_j$$

$$M_j := e^{-\gamma \cdot \frac{j}{50}} - e^{-\gamma \cdot \frac{j+1}{50}}$$

$x := 0.001$

$kf := 0.1$ $ks1 := 10$ ks1 is the standard rate constant of first electrode step

$kb := 0.1$ $ks2 := 10$ ks2 is the standard rate constant of second electrode step

$\gamma := \frac{(kf + kb)}{f}$ kf and kb are forward and backward constant of chemical reaction
 γ is the dimensionless chemical kinetic parameter

$U := \frac{kf}{kb}$ U is the equilibrium constant of follow up chemical reaction

KI is dimensionless kinetic parameter of first electrode step

KII is dimensionless kinetic parameter of second electrode step

M is numerical integration factor

These are the recurrent formulas for calculating dimensionless currents

$$\Psi_{I,1,r} = \text{root} \left[1 + \frac{K_{I,r} e^{-\alpha_1 \Phi_{I_1}}}{50} (1 + e^{\Phi_{I_1}}) \right] x - \frac{K_{I,r}}{50} e^{(1-\alpha_1) \Phi_{I_1}} \left[\frac{x \frac{K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}}}{50}}{1 + \frac{K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}}}{50} (1 + e^{\Phi_{II_1}})} \right] - K_{I,r} e^{-\alpha_2 \Phi_{I_1}} x$$

$$\Psi_{II,1,r} = \frac{K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}}}{50 + K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}} (1 + e^{\Phi_{II_1}})} \Psi_{I,1,r} + \frac{\frac{UK_{II}}{1+U} e^{(-\alpha_2) \Phi_{II_1}} - \frac{K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}}}{1}}{50 + K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}} (1 + e^{\Phi_{II_1}}) + \frac{UK_{II}}{(1+U) \cdot 50} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_1}} M_1} + \frac{\frac{\gamma}{1+U} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_1}}}{50 + K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_1}} (1 + e^{\Phi_{II_1}}) + \frac{\gamma}{1+U} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_1}} M_1}$$

$$\frac{x}{\omega} = 0.001$$

$$\Psi_{I,j,r} = \text{root} \left[x - K_{I,r} e^{-\alpha_1 \Phi_{I_j}} \left[1 - \frac{1}{50} (1 + e^{\Phi_{I_j}}) \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I,i,r} \right) + \frac{e^{\Phi_{I_j}}}{50} \left[\frac{1}{1 + e^{\Phi_{I_j}}} \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I,i,r} \right) - \frac{50}{K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_j}} (1 + e^{\Phi_{II_j}})} \left[\frac{1}{50} \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I,i,r} \right) - \frac{1}{50} (1 + e^{\Phi_{II_j}}) \left[\frac{50x}{K_{I,r} e^{(1-\alpha_1) \Phi_{I_j}}} - 50 e^{-\Phi_{I_j}} \left[1 - \frac{1}{50} (1 + e^{\Phi_{I_j}^2}) \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{I,i,r} \right) \right] \right] \right] \right] \right]$$

$$\Psi_{II,j,r} = \frac{0.02 K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_j,1}}}{1 + \frac{K_{II}}{50} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_j,1}} (1 + e^{\Phi_{II_j}})} \sum_{i=1}^j \Psi_{I,i,r} + \frac{0.02 K_{II} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_j,1}} - \frac{K_{II} e^{(-\alpha_2) \Phi_{II_j,1}}}{50} \sum_{i=1}^{j-1} (\Psi_{I,i,r}) - \frac{1 UK_{II}}{\gamma(1+U)} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_j,1}} \sum_{i=1}^{j-1} (\Psi_{II,i,r} M_1) - \frac{\gamma}{1+U} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_j,1}} \sum_{i=1}^{j-1} (\Psi_{II,i,r} M_1)}{1 + \frac{K_{II}}{50} e^{-\alpha_2 \Phi_{II_j,1}} + \frac{1 UK_{II}}{\gamma(1+U)} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_j,1}} M_1 + \frac{\gamma}{1+U} e^{(1-\alpha_2) \Phi_{II_j,1}} M_1}$$

$$\Psi_{j,r} = \Psi_{I,j,r} + \Psi_{II,j,r}$$

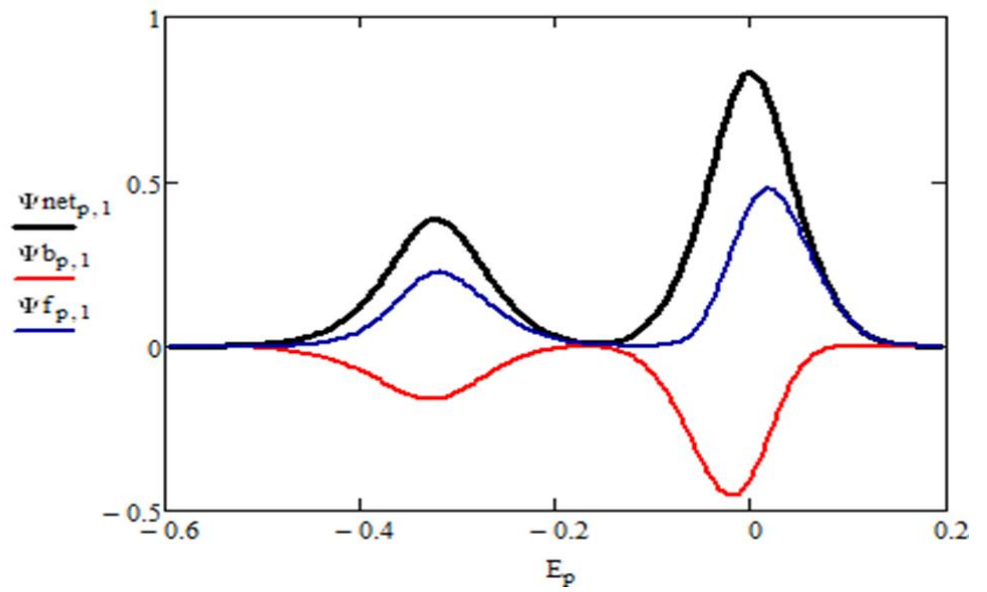
$$p := 1.. \left(\frac{\Delta E}{dE} \right) - 1$$

$$\Psi_{p,r}^{\text{If}} := \Psi_{(p+1),50,r} \quad \Psi_{p,r}^{\text{Ib}} := \Psi_{50,p+2} \quad \Psi_{p,r}^{\text{Inet}} := \Psi_{p,r}^{\text{If}} - \Psi_{p,r}^{\text{Ib}}$$

$$\Psi_{p,r}^{\text{IIb}} := \Psi_{50,p+25,r} \quad \Psi_{p,r}^{\text{IIIf}} := \Psi_{(p+1)} \quad \Psi_{p,r}^{\text{IIInet}} := \Psi_{p,r}^{\text{IIIf}} - \Psi_{p,r}^{\text{IIb}}$$

$$\Psi_{p,r}^{\text{b}} := \Psi_{50,p+25,r} \quad \Psi_{p,r}^{\text{f}} := \Psi_{(p+1),50} \quad \Psi_{p,r}^{\text{net}} := \Psi_{p,r}^{\text{f}} - \Psi_{p,r}^{\text{b}}$$

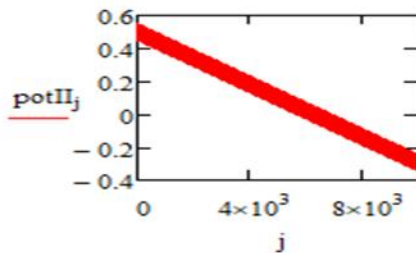
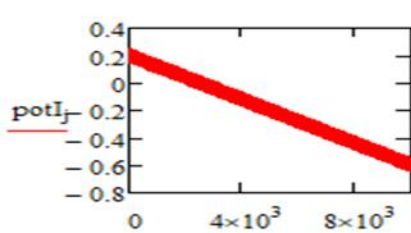
$$E_p := E_{sI} - p \cdot dE$$



MATHCAD File for TWO-STEP SURFACE EECirr MECHANISM in SWW

$$\begin{aligned}
 & f := 10 & r &:= 1..1 & ks1_r &:= 1-r \\
 EsI &:= 0.2 & \Delta E &:= 0.8 & dE &:= 0.004 & Esw &:= 0.05 & ks2 &:= 1 & K1_r &:= \frac{ks1_r}{f} \\
 EsII &:= 0.5 & F &:= 96500 & R &:= 8.314 & T &:= 298.15 & & & K2 &:= \frac{ks2}{f} \\
 n &:= 1 & & & \alpha 1 &:= 0.5 & \alpha 2 &:= 0.5 & & & & \\
 j &:= 1.. \frac{\Delta E}{dE} \cdot 50 & & & & & & & & & &
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 potI_j &:= EsI + Esw - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right) \cdot dE + \text{if} \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right), 1, -1 \right) \cdot Esw + Esw \right) - dE \right] \\
 potII_j &:= EsII + Esw - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right) \cdot dE + \text{if} \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j}{25} \cdot \frac{1}{2} \right), 1, -1 \right) \cdot Esw + Esw \right) - dE \right]
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 kc &:= 0.1 \\
 Kchem &:= \frac{kc}{f}
 \end{aligned}$$

$$\Phi I_j := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potI_j \quad \Phi II_j := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potII_j$$

$$M_j := e^{-Kchem \cdot \frac{j}{50}} - e^{-Kchem \cdot \frac{j+1}{50}}$$

$$\begin{aligned}
 x &:= 0.001 \\
 x &:= 0.001
 \end{aligned}$$

$$\Psi I_{1,r} := \text{root} \left[\left[1 + \frac{K1_r \cdot e^{-\alpha 1 \cdot \Phi I_1}}{50} \cdot (1 + e^{\Phi I_1}) \right] \cdot x - \frac{K1_r}{50} \cdot e^{(1-\alpha 1) \cdot \Phi I_1} \cdot \left[\frac{x \cdot \frac{K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_1}}{50}}{1 + \frac{K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_1}}{50} \cdot (1 + e^{\Phi II_1})} \right] - K1_r \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi I_1} \cdot x \right] \quad (I)$$

$$\Psi II_{1,r} := \frac{K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_1}}{50 + K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_1} \cdot (1 + e^{\Phi II_1})} \cdot \Psi I_{1,r} + \frac{K2 \cdot e^{(-\alpha 2) \cdot \Phi II_1}}{50 + K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_1} \cdot (1 + e^{\Phi II_1}) + \frac{K2}{Kchem \cdot 50} \cdot e^{(1-\alpha 2) \cdot \Phi II_1} \cdot M_1} \quad (II)$$

$$\bar{x} := 0.001$$

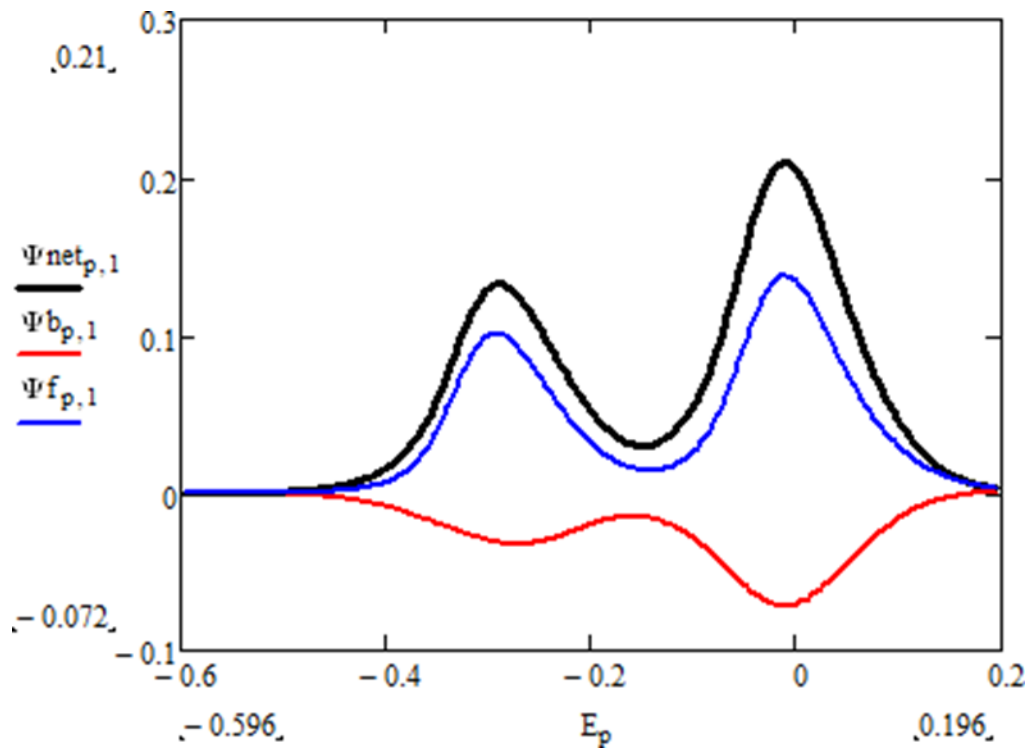
$$\Psi I_{j,r} := \text{root} \left[x - K1_r \cdot e^{-\alpha 1 \cdot \Phi I_j} \cdot \left[1 - \frac{1}{50} \cdot (1 + e^{\Phi I_j}) \cdot \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi I_{i,r} \right) + \frac{e^{\Phi I_j}}{50} \cdot \frac{1}{1 + e^{\Phi I_j}} \cdot \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi I_{i,r} \right) - \frac{50}{K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_j} \cdot (1 + e^{\Phi II_j})} \cdot \left[K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_j} \cdot \left[\frac{1}{50} \cdot \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi I_{i,r} \right) - \frac{1}{50} \cdot (1 + e^{\Phi I_j}) \right] \cdot \frac{50x}{K1_r \cdot e^{(1-\alpha 1) \cdot \Phi I_j}} - 50 \cdot e^{-\Phi I_j} \cdot \left[1 - \frac{1}{50} \cdot (1 + e^{\Phi I_j}) \right] \cdot \left(x + \sum_{i=1}^{j-1} \Psi I_{i,r} \right) \right] \right] \right] \quad (III)$$

$$\Psi II_{j,r} := \frac{0.02K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_{j,1}}}{1 + \frac{K2}{50} \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_j} \cdot (1 + e^{\Phi II_j})} \cdot \sum_{i=1}^j \Psi I_{i,r} + \frac{0.02K2 \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_{j,1}} \cdot \frac{K2}{50} \cdot e^{(-\alpha 2) \cdot \Phi II_j} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} \Psi II_{i,r} - \frac{K2}{Kchem \cdot 1} \cdot e^{(1-\alpha 2) \cdot \Phi II_j} \cdot \sum_{i=1}^{j-1} (\Psi II_{i,r} \cdot M_i)}{1 + \frac{K2}{50} \cdot e^{-\alpha 2 \cdot \Phi II_{j,1}} + \frac{K2}{Kchem \cdot 1} \cdot e^{(1-\alpha 2) \cdot \Phi II_j} \cdot M_1} \quad (IV)$$

$$\Psi_{j,r} := \Psi I_{j,r} + \Psi II_{j,r}$$

$$p := 1 - \left(\frac{\Delta E}{dE} \right) - 1$$

$$\begin{aligned}
 \Psi H_{p,r} &:= \Psi I_{(p+1) \cdot 50, r} \quad \Psi Ib_{p,r} := \Psi I_{50 \cdot p+2} \quad \Psi Inet_{p,r} := \Psi H_{p,r} - \Psi Ib_{p,r} \\
 \Psi IIb_{p,r} &:= \Psi II_{50 \cdot p+25, r} \quad \Psi If_{p,r} := \Psi II_{(p+1)} \quad \Psi Inet_{p,r} := \Psi If_{p,r} - \Psi IIb_{p,r} \\
 \Psi b_{p,r} &:= \Psi_{50 \cdot p+25, r} \quad \Psi f_{p,r} := \Psi_{(p+1) \cdot 50} \quad \Psi net_{p,r} := \Psi f_{p,r} - \Psi b_{p,r} \\
 E_p &:= EsI - p \cdot dE
 \end{aligned}$$



MATHCAD working file for simulation of theoretical voltammograms of a Surface CEE Mechanism

Meaning of the symbols:

potI_j and potII_j are symbols for time-dependent potential in SWV_j

and k_r are symbols of the magnitude of potential steps applied r

- is a counter parameter

R - is universal gas constant

x - is symbol for initiation of calculation of the complex equation for current estimation

ΔE – is the potential width of simulation

S_k – is numerical integration parameter

α₁ and α₂ – are symbols for the electron transfer coefficients of the first and second electron transfer step, respectively

Meaning of other symbols is given in the working file

EsI := 0.2 ΔE := 0.8 dE := 0.01 Esw := 0.05
 n := 1 F := 96500 R := 8.314 T := 298.15

EsII := 0.6 r := 1..1
 KI_r := 10^{0·r}
 KII := 10⁰

j := 1.. $\frac{\Delta E}{dE}$ · 50

α₂ := 0.5

α₁ := 0.5

$\log(KI_r) =$
0

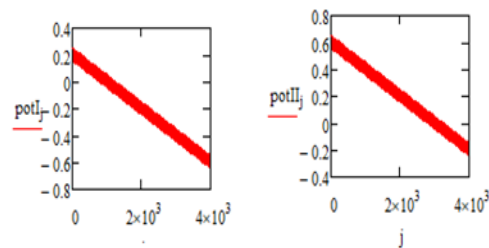
$$potI_j := EsI + Esw - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right) \cdot dE + \text{if} \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right) \cdot 1, -1 \right) \cdot Esw + Esw \right) - dE \right]$$

$$potII_j := EsII + Esw - \left[\left(\text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right) \cdot dE + \text{if} \left(\frac{\text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right)}{2} = \text{ceil} \left(\frac{j-1}{25} \right) \cdot 1, -1 \right) \cdot Esw + Esw \right) - dE \right]$$

$\frac{K_r}{K} := 0.1$
 z := 2

**TWO STEP SURFACE CEE MECHANISM
 MATHEMATICAL MODEL IN
 SQUARE WAVE VOLTAMMETRY**

KI and KII are kinetic parameters related to the first and second electron transfer step
 alpha is the electron transfer coefficient
 EsI and EsII are potentials related to the first and the second electron transfer step
 n is number of electron exchanged
 F is Faraday constant
 Esw is SWV amplitude
 T is temperature
 dE is potential step
 Φ is dimensionless potential
 Ψ is dimensionless current
 K is equilibrium constant -K_{eq}
 z is dimensionless chemical parameter -K_{chemical} = ε/f



k := 1.. $\frac{\Delta E}{dE}$ · 50

$S_{k,r} := e^{\frac{z}{50} \cdot (-k)} - e^{\frac{z}{50} \cdot (-k+1)}$

$\Phi_{I,j} := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potI_j$ $\Phi_{II,j} := n \cdot \frac{F}{R \cdot T} \cdot potII_j$

x := 0.001

$$\Psi_{I,1,r} := \text{root} \left[\frac{\frac{KI_r \cdot e^{-\alpha_1 \cdot \Phi_{I1}} \cdot K}{1+K} \cdot \left(1 - \frac{1}{50} \cdot 0 \right) - (z)^{-1} \cdot KI_r \cdot \left(\frac{1}{1+K} \right) \cdot (-1) \cdot e^{-\alpha_1 \cdot \Phi_{I1}} \cdot 0 - \frac{KI_r}{50} \cdot e^{-\alpha_1 \cdot \Phi_{I1}} \cdot (1-\alpha_1) \cdot 0}{\frac{KI_r \cdot e^{-\alpha_1 \cdot \Phi_{I1}} \cdot K}{1+K} \cdot \frac{1}{50} + 1 + (z)^{-1} \cdot KI_r \cdot (-1) \cdot \left(\frac{1}{1+K} \right) \cdot S_1 \cdot e^{-\alpha_1 \cdot \Phi_{I1}} + \frac{KI_r}{50} \cdot e^{-\alpha_1 \cdot \Phi_{I1}} \cdot (1-\alpha_1)} \cdot (1+0) \cdot x - \frac{KI_r}{50} \cdot e^{(1-\alpha_1) \cdot \Phi_{I1}} \cdot \left[\frac{x \cdot \frac{KII \cdot e^{-\alpha_2 \cdot \Phi_{II1}}}{50}}{1 + \frac{KII \cdot e^{-\alpha_2 \cdot \Phi_{II1}}}{50} \cdot (1 + e^{\Phi_{II1}})} \right] - KI_r \cdot e^{-\alpha_2 \cdot \Phi_{II1}} \cdot x \right]$$

$$\Psi_{II,1,r} := \frac{\Psi_{I,1,r} \cdot \frac{KII \cdot e^{-\alpha_2 \cdot \Phi_{II1}}}{50}}{1 + \frac{KII \cdot e^{-\alpha_2 \cdot \Phi_{II1}}}{50} \cdot (1 + e^{\Phi_{II1}})}$$

$$\Psi_{1,t} = \text{net} \left[1 - \frac{1}{K} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j} \right] \left[\frac{1}{1+K} \left[1 - \frac{1}{S} \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{1,t}^i \right] - \left(\frac{1}{1+K} \right) \left(\frac{1}{1+K} \right) \left(\frac{1}{1+K} \right) \left[\sum_{i=1}^{j-1} \left(\Psi_{1,t}^i S_{j-i-1} \right) \right] - 0 \right] + \frac{1}{1+K} \left[\frac{1}{1+K} \frac{K_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j}}{1} + 1 + \left(\frac{1}{S} \right) \left(\frac{1}{1+K} \right) S_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j} + K_{1,t} e^{-(1-\alpha) \theta_{1,t}^j} \right] \left[\frac{1}{1+K} \left[1 - \frac{1}{S} \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{1,t}^i \right] - \frac{1}{K_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j}} \left[\frac{1}{S} \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{1,t}^i \right] - \frac{1}{S} \left(\frac{1}{1+K} \right) \left[\frac{S_{1,t}}{K_{1,t} e^{-(1-\alpha) \theta_{1,t}^j}} - S_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j} \right] \left[1 - \frac{1}{S} \left(\frac{1}{1+K} \right) \left[\sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{1,t}^i \right] \right] \right]$$

$$\Psi_{1,t}^j = \frac{K_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j}}{S + K_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j}} \sum_{i=1}^j \Psi_{1,t}^i - \frac{K_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j}}{S + K_{1,t} e^{-\alpha t \theta_{1,t}^j}} \left(\frac{1}{1+K} \right) \sum_{i=1}^{j-1} \Psi_{1,t}^i$$

$$\Psi_{1,t} = \Psi_{1,t}^j + \Psi_{1,t}^i$$

$$p = 1 - \left(\frac{\Delta \epsilon}{\epsilon} \right) - 1$$

$$\Psi_{p,t}^f = \Psi_{(p-1),t}^f \quad \Psi_{p,t}^b = \Psi_{(p-1),t}^b \quad \Psi_{net,p,t} = \Psi_{p,t}^f - \Psi_{p,t}^b$$

$$\Psi_{p,t}^b = \Psi_{(p-1),t}^b \quad \Psi_{p,t}^f = \Psi_{(p-1),t}^f \quad \Psi_{net,p,t} = \Psi_{p,t}^f - \Psi_{p,t}^b$$

$$\Psi_{p,t}^b = \Psi_{(p-1),t}^b \quad \Psi_{p,t}^f = \Psi_{(p-1),t}^f \quad \Psi_{net,p,t} = \Psi_{p,t}^f - \Psi_{p,t}^b$$

$$\epsilon_p = \Delta \epsilon - p \epsilon$$

