

mgr Dominika Majdecka  
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski  
Pracownia Teorii i Zastosowań Elektrod

Warszawa, dn. 05.03.2017r.

## Autoreferat rozprawy doktorskiej

### **„Projektowanie hybrydowych nanomateriałów zawierających enzym do zastosowania w mikrobioogniwie paliwowym.”**

Promotorzy pracy: prof. dr hab. Renata Bilewicz, prof. dr hab. Jerzy Rogalski

W ostatnich latach znacznie wzrosło zainteresowanie alternatywnymi źródłami energii, a ogniwa enzymatyczne stały się przedmiotem badań wielu grup naukowych na świecie. Wynika to z możliwości wytwarzania przez enzymy energii chemicznej powstałej w procesach utleniania i redukcji oraz przetwarzaniu jej na energię elektryczną, dzięki czemu stanowią alternatywę dla konwencjonalnych ogniw paliwowych. Enzymy ze względu na swoje warunki działania, coraz większą dostępność oraz zmniejszenie kosztów ich otrzymywania stają się czynnikiem znajdującym szereg różnych potencjalnych zastosowań przemysłowych od ciężkiego przemysłu chemicznego do mikroelektroniki.

Projektowanie bioogniw, dobór materiałów rozwijających powierzchnie elektrod, matryc i enzymów jest niezwykle istotne w kontekście tworzenia stabilnych układów, działających przez wiele miesięcy i generujących odpowiednie do założonych celów prądy. Bioogniwa mogą służyć do zasilania urządzeń, które nie wymagają dużego poboru prądu jak kalkulatory, mierniki, głośniki czy mobilne mikroczujniki oraz w medycynie zasilając np. rozruszniki serca, pompy insulinowe lub inne wszczepiane urządzenia kontrolujące poziom określonych substancji obecnych w płynach fizjologicznych. Konwencjonalne ogniwa paliwowe mogą pracować w wysokich temperaturach i skrajnie kwaśnym lub zasadowym środowisku, a do ich konstrukcji stosowane są drogie, metaliczne elementy. Produkty reakcji elektrodowych są również często wysoko toksyczne dla środowiska. Bioogniwa charakteryzuje natomiast zdolność do pracy w łagodnym środowisku bliskim fizjologicznemu (pH 7), wykorzystanie względnie tanich, biologicznych materiałów, selektywność, biodegradowalność, praca w temperaturze pokojowej oraz niska toksyczność produktów reakcji

elektrodowych. Teoretyczny model bioogniwa do którego dążą zespoły badawcze to układ jak najprostszy, a zarazem jak najbardziej funkcjonalny, którego koszty wytworzenia byłyby jak najniższe. Przez najprostszą konstrukcję rozumie się zastosowanie powszechnie znanych substancji produkowanych na masową skalę oraz konstruowanie układów zawierających ograniczoną liczbę elementów. Przykładem takiego działania byłoby ogniwo nie zawierające skomplikowanej matrycy unieruchamiającej enzymy na powierzchni oraz układ bezmediatorowy. Pożądane byłoby również stosowanie wydajnych i odpornych na zmianę warunków środowiska enzymów, których koszt otrzymania byłby jak najniższy, a właściwości działania odpowiednie do konkretnego zastosowania. Najlepszym rozwiązaniem mogłyby być modyfikowane biokatalizatorami materiały węglowe, które będąc elementem elektrody, zwiększałyby jej powierzchnię i umożliwiałyby bezpośredni transport elektronów pomiędzy enzymem a elektrodą.

Celem mojej pracy było opracowanie konstrukcji hybrydowego bioogniwa paliwowego z anodą cynkową i enzymatyczną katodą oraz pełnego bioogniwa tlenowo-cukrowego o jak najlepszych parametrach prądowych w czasie pracy ogniwa. Najefektywniejsze spośród badanych ogniw planowałam wykorzystać do zasilania układu elektronicznego zintegrowanego z prostym sensorem oraz zastosować bezprzewodową transmisję wyników pomiaru sensora do przenośnego komputera.

W konstrukcji bioelektrod zastosowałam kilka typów podłoży węglowych, które następnie z sukcesem zmodyfikowałam nanorurkami węglowymi oraz odpowiednim enzymem unieruchomionym fizycznie na ich powierzchni. Oryginalnym rozwiązaniem w tej pracy było poprawienie kontaktu elektrycznego centrum aktywnego enzymu z elektrodą, przez zastosowanie wielościennych nanorurek węglowych modyfikowanych grupami bifenyłowymi. Wykazałam, iż modyfikacja nanorurek grupami aromatycznymi sprzyja zwiększeniu prądów konstruowanej biokatody, co może wynikać z większego powinowactwa dołączonych grup do hydrofobowego centrum aktywnego stosowanych enzymów ułatwiającego skontaktowanie się białka z elektrodą.

Do konstrukcji bioelektrod (będących biokatodami ogniwa enzymatycznego) użyłam lakazę *Trametes versicolor* lub oksydazę bilirubinową *Myrothecium verrucaria*, będące biokatalizatorami 4-elektronowej reakcji redukcji tlenu bezpośrednio do wody. Enzymy te są najczęściej stosowane do konstrukcji bioogniw, jednakże rzadko dotąd stosowano je w warunkach bez obecności mediatora, czyli wykorzystując bezpośrednie przeniesienie elektronów. Wyznaczyłam optymalne parametry biokatod, których podłożem przewodzącym był papier węglowy pokryty wielościennymi nanorurkami węglowymi oraz lakazą lub oksydazą bilirubinową. Podczas badań zaobserwowałam, że efektywność katalizy bioelektrod zawierających lakazę uzależniona jest od środowiska, z którego przeprowadzałam proces adsorpcji. Prądy redukcji tlenu wzrastały niemal dwukrotnie, prawdopodobnie ze względu na poprawę przewodnictwa warstw katalitycznych na elektrodzie, gdy używałam alkoholu etylowego w środowisku adsorpcji lakazy. Można to wytłumaczyć korzystniejszą orientacją cząsteczek enzymu

względem powierzchni elektrody oraz usuwaniem części zanieczyszczeń znajdujących się w komercyjnym preparacie enzymu.

Dla najefektywniejszej katody, tzn. papieru węglowego pokrytego bifenyłowymi wielościennymi nanorurkami węglowymi z zaadsorbowaną na nich oksydazą bilirubinową otrzymałam gęstości prądów  $3,1 \pm 0,2 \text{ mA cm}^{-2}$ . Trwałość badanych biokatod zawierających lakazę była zadowalającą, gdyż prądy redukcji tlenu po 7 dniach od zakończenia etapu adsorpcji enzymu wynosiły ok. 70% wartości początkowej i ustalały się na tym poziomie.

Napięcie otwartego ogniwa układów hybrydowych skonstruowanych w oparciu o wybrane enzymy katodowe i anodę cynkową jest zadowalające (ok. 1,7 V), a maksymalne gęstości mocy wyniosły ok. 5 mW ( $1,6 \text{ mW cm}^{-2}$ ). Obecność enzymu na katodzie podwyższa wartość napięcia otwartego ogniwa o ok. 0,5 V w porównaniu z ogniwem bez enzymu, co ma kluczowe znaczenie, ponieważ stwarza możliwość zastosowania powyższego układu jako źródła zasilania, co pokazałam w części doświadczalnej mojej pracy.

Chcąc otrzymać wyższe parametry prądowe układów i mniejsze spadki napięcia w czasie pracy zastosowałam wielowarstwowe biokatody, a dla najefektywniejszego bioogniwa hybrydowego – układu z 9-warstwową biokatodą wykorzystującą lakazę lub oksydazę bilirubinową otrzymałam najwyższe gęstości mocy ok. 7,8 mW ( $2,5 \text{ mW cm}^{-2}$ ) w obecności tlenu z powietrza. Ogniwa te wykazywały stabilność w czasie pracy w warunkach cyklicznego obciążania ich zadany oporem zewnętrznym, co wynikało prawdopodobnie z ilości materiału węglowego unieruchomionego na katodzie oraz większej ilości zaadsorbowanego enzymu. Opisane układy posłużyły do zasilania układu elektronicznego zintegrowanego z sensorem na katechol. Otrzymałam więc w ramach tej pracy przenośne, samo zasilające się biourządzenie, do oznaczania wybranego analitu (tu – katecholu).

Opracowałam również konstrukcję pełnego bioogniwa przepływowego, w którym anodę cynkową zastąpiłam elektrodą z papieru węglowego pokrytego wielościennymi nanorurkami węglowymi, zawierającą jako enzym, dehydrogenazę fruktozową z *Gluconobacter*. Bioogniwo zbudowane z 9-warstwowych bioelektrod, pozwoliło uzyskać gęstość mocy niemal 1 mW (ok.  $0,3 \text{ mW cm}^{-2}$ ), wartość dużą w porównaniu z innymi bioogniwami, jednak dużo mniejszą niż przy zastosowaniu wyżej opisanej biobaterii. Bioogniwo działało stabilnie w czasie gdy pracuje w trybie pulsowego obciążania go oporem o wartościach odpowiadających wymaganiom związanym z zasilaniem czujnika.

W badaniach opisanych w mojej pracy wykazałam że układ pełnego bioogniwa daje zawsze prawie 10-krotnie niższe wartości prądów w porównaniu z bioogniwem hybrydowym zawierającym anodę cynkową, i dlatego opracowane ogniwo hybrydowe uważam za główne osiągnięcie mojej pracy. Połączenie szeregowe wielowarstwowych bioogniw pozwoliło osiągnąć odpowiednio 2- i 3-krotnie

wyższe napięcie otwartego ogniwa, a maksymalne gęstości mocy dla tak skonstruowanych układów wyniosły odpowiednio ok. 0,6 oraz ok. 0,9 mW cm<sup>-2</sup>.

Podsumowując, w rozprawie wykazałam, że bioogniwo hybrydowe zbudowane z 9-warstwowej biokatody opartej na enzymach miedziowych jest użytecznym źródłem zasilania. Wykazuje bowiem: 1. niewielkie spadki napięcia podczas zasilania urządzenia elektronicznego, stabilne napięcie w czasie pracy; 2. szybką regenerację napięcia do wartości ustalonej przez zasilane urządzenie, a także 3. powtarzalność pracy w każdym cyklu obciążania ogniwa. Pełne bioogniwo z katodą i anodą enzymatyczną natomiast nie pracuje zbyt powtarzalnie w dłuższych okresach czasu i obserwuje się wydłużanie się w każdym cyklu czasu regeneracji. Nie zmienia to jednak faktu, iż układ trzech połączonych szeregowo 6-warstwowych bioogniw może być traktowany jako potencjalne źródło zasilania, o nieco gorszych parametrach, niż bioogniwo hybrydowe konstruowane w oparciu o 9-warstwową biokatodę zawierającą lakazę lub oksydazę bilirubinową oraz cynkową anodę pokrytą hopeitem.

Bioogniwo hybrydowe z lakazą lub oksydazą bilirubinową oraz układ trzech pełnych bioogniw umożliwił zasilanie układu elektronicznego zintegrowanego z amperometrycznym czujnikiem do oznaczania katecholu, w korzystnym dla tego typu pomiaru, cyklicznym trybie pracy, generując każdorazowo prąd ok. 1 mW. Układ ten jest szczegółowo opisany w zgłoszeniu patentowym, którego jestem współautorką „Samozasilający układ pomiarowy, urządzenie sensora, moduł zarządzająco-zasilający, urządzenie elektroniczne oraz sposób działania hybrydowego ogniwa biopaliwowego”, nr P-414079. Wyniki badań mojej pracy doktorskiej zostały przedstawione w 3 publikacjach o zasięgu międzynarodowym – *Journal of Solid State Electrochemistry*, *ECS Transaction* oraz *Journal of the Electrochemical Society*.

Stosowanie bioogniw hybrydowych i pełnych bioogniw w celu zasilania urządzeń wymagających niewielkich prądów staje się coraz bardziej popularne, a zaprojektowane w rozprawie doktorskiej układy, pomimo prostej budowy, są konkurencyjne w stosunku do przedstawionych w literaturze przez najlepsze w tej dziedzinie zespoły badawcze na świecie.