

Autoreferat

do wniosku o przeprowadzenie procedury habilitacyjnej

Zastosowanie nanomateriałów węglowych do konstrukcji enzymatycznych bioczuJNIKÓW i bioogNIW

dr Krzysztof Stolarczyk

Uniwersytet Warszawski

Wydział Chemii

Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej

Pracownia Teorii i Zastosowań Elektrod

ul. Pasteura 1

02-093 Warszawa



Warszawa, styczeń 2019

1. Dane personalne

Imię i nazwisko: Krzysztof Stolarczyk

Miejsce pracy: Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski,
02-093 Warszawa, ul. Pasteura 1

Telefon służbowy: 22 55 26 351

e-mail: kstolar@chem.uw.edu.pl

2. Informacje o posiadanych dyplomach i uzyskanych stopniach naukowych

2006 stopień doktora nauk chemicznych na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, praca doktorska pt. „Właściwości elektrod modyfikowanych związkami organotiolowymi i klasterami złota”, promotor prof. dr hab. Renata Bilewicz

2000 stopień magistra chemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, praca magisterska pt. „Klastera złota modyfikowane tiolami”, promotor prof. dr hab. Renata Bilewicz

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2005 – 2007 specjalista naukowo-techniczny na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego,

2007 – 2010 wykładowca na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego,

2010 – 2014 adiunkt na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego,

od 2014 do teraz wykładowca na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego.

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

4.A Tytuł osiągnięcia naukowego:

monotematyczny cykl publikacji zatytułowany:

Zastosowanie nanomateriałów węglowych do konstrukcji enzymatycznych bioczuJNIKÓW i bioogniw

4.B Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

(IF zgodnie z rokiem opublikowania z Journal Citation Reports (JCR), liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS) z dnia 09.01.2019)

[H1] K. Stolarczyk, E. Nazaruk, J. Rogalski, R. Bilewicz*, „Mediatorless catalytic oxygen reduction at boron-doped diamond electrodes”, *Electrochemistry Communications* 9 (2007) 115 - 118

IF (2007) = 4,186; liczba cytowań: 35

[H2] K. Stolarczyk, E. Nazaruk, J. Rogalski, R. Bilewicz*, „Nanostructured carbon electrodes for laccase catalyzed oxygen reduction without added mediators”, *Electrochimica Acta* 53 (2008) 3983 - 3990

IF (2008) = 3,078; liczba cytowań: 46

[H3] K. Sadowska, K. Stolarczyk, J.F. Biernat*, K.P. Roberts, J. Rogalski, R. Bilewicz*, „Derivatization of single-walled carbon nanotubes with redox mediator for biocatalytic oxygen electrodes”, *Bioelectrochemistry* 80 (2010) 73–80

IF (2010) = 3,520; liczba cytowań: 28

[H4] K. Stolarczyk, M. Sepelowska, D. Łyp, K. Żelechowska, J.F. Biernat, J. Rogalski, K.D. Farmer, K.N. Roberts, R. Bilewicz*, „Hybrid biobattery based on arylated carbon nanotubes and laccase”, *Bioelectrochemistry* 87 (2012) 154 - 163

IF(2012) = 3,947; liczba cytowań: 46

[H5] K. Stolarczyk, D. Łyp, K. Żelechowska, J.F. Biernat, J. Rogalski, R. Bilewicz*, „Arylated carbon nanotubes for biobatteries and biofuel cells”, *Electrochimica Acta* 79 (2012) 74 - 81

IF(2012) = 3,777; liczba cytowań: 41

[H6] K. Stolarczyk, M. Kizling, D. Majdecka, K. Żelechowska, J.F. Biernat, J. Rogalski, R. Bilewicz*, „Biobatteries and biofuel cells with biphenylated carbon nanotubes”, *Journal of Power Sources* 249 (2014) 263 - 269

IF(2014) = 6,217; liczba cytowań: 26

[H7] M. Kizling, **K. Stolarczyk**, J. Sim Sin Kiat, P. Tammela, Z. Wang, L. Nyholm, R. Bilewicz*, „Pseudocapacitive polypyrrole–nanocellulose composite for sugar-air enzymatic fuel cells”, *Electrochemistry Communications* 50 (2015) 55 - 59

IF(2015) = 4,569; liczba cytowań: 20

[H8] M. Kizling, S. Dramińska, **K. Stolarczyk**, P. Tammela, Z. Wang, L. Nyholm, R. Bilewicz*, „Biosupercapacitors for powering oxygen sensing devices”, *Bioelectrochemistry* 106 (2015) 34 - 40

IF(2015) = 3,556; liczba cytowań: 22

[H9] M. Kizling, **K. Stolarczyk**, P. Tammela, Z. Wang, L. Nyholm, J. Golimowski, R. Bilewicz*, „Bioelectrodes based on pseudocapacitive cellulose/polypyrrole composite improve performance of biofuel cell”, *Bioelectrochemistry* 112 (2016) 184 - 190

IF(2016) = 3,346; liczba cytowań: 7

[H10] B. Olszewski, **K. Stolarczyk***^, “Laccase catalyzed reduction of oxygen at electrodes modified by carbon nanotubes with adsorbed promazine or acetosyringone”, *Catalysts* 8 (2018) 414

IF(2017) = 3,465; liczba cytowań: 0

* autor korespondencyjny

^ publikacje bez udziału pracownika z tytułem profesora lub dr hab.

Całkowity Impact Factor: **39.661**

Średni Impact Factor na publikację: **3,966**

4.C Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

I. Cel naukowy

Celem badań było otrzymanie nowych, wielofunkcyjnych, środowiskowo bezpiecznych materiałów elektrodowych do unieruchomienia enzymów i zastosowania ich w konstrukcji bioogniw, które mogą zasilać małe urządzenia pomiarowe, jak również układy, które mogą mieć zastosowanie jako sensory środowiskowe. Celem niniejszej pracy było także opracowanie nowego bioogniwa paliwowego działającego przez długi okres czasu i generującego odpowiednie duże gęstości mocy, w którym zarówno biokatalizatory na anodzie jak i katodzie były w bezpośrednim kontakcie elektrycznym z powierzchnią elektrody. W badaniach zastosowałem różnego rodzaju nanomateriały i praca polegała na zbadaniu

oddziaływania tych materiałów z enzymami. Materiały wybierałem tak, by zapewnić odpowiednią orientację zaadsorbowanych cząsteczek białka i zmniejszyć dystans pomiędzy centrum aktywnym enzymu a powierzchnią elektrody. Do konstrukcji elektrod poszukiwałem materiałów, które są tanie, bierne chemicznie, powszechnie dostępne, rozwijają powierzchnię czynną elektrody (o odpowiedniej porowatości), mają dużą wytrzymałość mechaniczną i dobre przewodnictwa oraz właściwości do gromadzenia energii. Celem pracy było opracowanie materiału elektrodowego użytecznego w biobaterii i bioogniwie tak, aby osiągać zwiększenie gęstości mocy, prądu, co pozwoliłoby na zasilanie przez dłuższy czas małych urządzeń np. czujników, zegarków, potencjostatów. W swojej pracy projektowałem biobaterie i bioogniwa o jak najprostszej konstrukcji i najniższym koszcie materiałów oraz jak najdłuższym działaniu biourządzenia. Układy te projektowałem tak, aby można było je zastosować do badań środowiskowych np. do konstrukcji bioczujników glukozy, tlenu lub fenoli oraz do usuwania różnych cząsteczek ze środowiska, poprzez zastosowanie materiałów trójwymiarowych, które mogą adsorbować różne związki na dużej powierzchni wewnętrznej materiału.

II. Wprowadzenie

W ostatnich latach, ze względu na bardzo szybki wzrost zużycia energii w wyniku rozwoju przemysłu motoryzacyjnego i elektronicznego, obserwuje się duże zainteresowanie elektrochemicznymi źródłami energii (w tym bateriami i akumulatorami). Szczególnie intensywne badania prowadzone są w dziedzinie ogniw paliwowych oraz tzw. bioogniw paliwowych, w których energia reakcji chemicznej może być zamieniona w energię elektryczną, tzn. elektrony uwolnione w reakcji redoks mogą być wykorzystywane w postaci prądu elektrycznego¹⁻³. Pomimo że pierwsze ogniwo paliwowe zostało skonstruowane już w 1839 r.^{4,5}, to duży postęp w tej dziedzinie nastąpił dopiero w ostatnich latach. Związane jest to ze wzrostem świadomości stopniowego wyczerpywania się naturalnych zasobów energetycznych (takich jak ropa naftowa, gaz czy węgiel), a co za tym idzie zwiększeniem nakładów finansowych w różnych krajach na badania naukowe w tej dziedzinie.

Enzymatyczne ogniwa paliwowe (EOP) są obecnie uważane za jedno z przyszłych alternatywnych źródeł energii. Jednakże uzyskiwane moce bioogniwa są zbyt małe z punktu widzenia zastosowania, jak również ich stabilność w czasie jest zbyt mała^{3,6}. Dlatego jest

konieczny dalszy rozwój i postęp w konstrukcji bioelektrod. Do najważniejszych zagadnień należą:

1. poprawa parametrów pracy bioelektrod,
2. wyeliminowanie niebezpieczeństw związanych z dyfuzją mediatora do roztworu,
3. zwiększenie liczby cząsteczek enzymu połączonych elektrycznie z podłożem elektrodowym (zwiększenie objętości elektrody),
4. dobranie enzymu dającego proces anodowy przy jak najbardziej ujemnym potencjale, a więc umożliwiającego otrzymanie jak największego potencjału otwartego ogniwa.

Ogniwa paliwowe składają się z dwóch elektrod zdolnych do konwersji energii chemicznej w elektryczną. Ich szczególnym rodzajem są bioogniwa paliwowe, w których źródłem energii chemicznej są procesy redukcji i utlenienia naturalnie występujących odnawialnych związków obecnych w środowisku, a także w żywych organizmach^{7,8}. Ze względu na liczne zalety bioogniw paliwowych w porównaniu do klasycznych ogniw paliwowych, dużo zespołów badawczych pracuje nad konstrukcją wydajnego bioogniwa enzymatycznego. W ostatnich latach koszty otrzymania enzymów znacznie się obniżyły i dlatego enzymy stały się konkurencyjnymi katalizatorami procesów elektrodowych w porównaniu do katalizatorów metali szlachetnych takich jak platyna czy złoto. Pozyskiwanie tych metali jest też coraz droższe ze względu na wyczerpujące się ich zasoby naturalne. Enzymy są aktywnymi biologicznie cząsteczkami o dużej biokompatybilności i specyficzności oraz aktywności w łagodnych warunkach pH, zbliżonych do fizjologicznych^{7,9}. Dzięki temu, że enzymy wykazują wysoką selektywność wobec substratów, w konstrukcji bioogniwa nie trzeba stosować membran rozdzielających dla procesów elektrodowych^{10,11}. Ze względu na liczne zalety bioogniw są one uważane za potencjalne źródła zasilania dla urządzeń wewnątrz organizmów żywych takich jak rozruszniki serca, dozowniki leków, pompy insulinowe czy biosensory. Źródłem paliw dla tych bioogniw mogą być metabolity (glukoza, mleczany) oraz tlen obecny w płynach ustrojowych. Bardzo szybko rozwijająca się nanotechnologia dostarcza również rozwiązań w celu miniaturyzacji urządzeń elektronicznych, w tym także bioogniw, które można zastosować w medycynie, przemyśle lub naukach przyrodniczych. Ważną rolę w konstrukcji bioogniwa odgrywają enzymy katalizujące reakcję katodową i anodową, które zmniejszają nadpotencjał redukcji i utleniania paliwa. Do konstrukcji bioogniw stosuje się enzymy o jak najwyższym potencjale redoks dla katody i jak najbardziej ujemnym potencjale dla anody. Te właściwości enzymów pozwalają na uzyskanie wysokiego napięcia otwartego ogniwa. Do

najczęściej stosowanych enzymów należą: na anodzie - oksydaza glukozowa, dehydrogenaza glukozowa, dehydrogenaza fruktozowa; dehydrogenaza celobiozowa, na katodzie - lakaza i oksydaza bilirubiny. W części anodowej najczęściej utleniane jest glukoza jako paliwo, a na katodzie najczęściej stosuje się redukcję tlenu do wody.

III. Omówienie prac

W moich badaniach do konstrukcji bioelektrod zastosowałem enzymy umożliwiające otrzymanie efektywnego kontaktu elektrycznego pomiędzy centrum aktywnym enzymu a powierzchnią elektrody, które miały dużą aktywność w pH bliskim fizjologicznemu i były łatwo dostępne. Do przygotowania anody zastosowałem dehydrogenazę fruktozową (FDH) oraz oksydazę glukozową (GOx), które utleniają odpowiednio fruktozę i glukozę. Oksydazę glukozową cechuje niski potencjał utleniania glukozy oraz wysoka aktywność komercyjnie dostępnych preparatów enzymatycznych. GOx można również potencjalnie zastosować w konstrukcji implantowanych bioogniw paliwowych oraz czujników określających poziom stężenia glukozy (glukometrach), ze względu na obecność glukozy w płynach fizjologicznych. Drugi enzym przeze mnie stosowany na anodzie, FDH, wykazuje ściśle powinowactwo tylko do jednego substratu – fruktozy. W ostatnich kilku latach enzym ten jest intensywnie stosowany w przygotowaniu bioogniw paliwowych, ponieważ umożliwia otrzymywanie wysokich prądów katalitycznych bez obecności mediatora przy niskim nadpotencjale (utlenianie fruktozy przy $-0,34\text{V}$ vs Ag/AgCl). Do przygotowania biokatody zastosowałem lakazę, która katalizuje reakcję redukcji tlenu bezpośrednio do wody w środowisku o pH 4 – 7 (w zależności od pochodzenia enzymu). Redukcja tlenu z użyciem lakazy przebiega z dużo mniejszym nadpotencjałem, co wpływa na dużą efektywność tego procesu redukcji.

Bardzo dużym problemem w zastosowaniu enzymu jako katalizatora jest uzyskanie dobrego kontaktu pomiędzy centrum aktywnym enzymu a powierzchnią elektrody. Bezpośrednie przeniesienie elektronu (ang. Direct Electron Transfer, DET) między enzymem a powierzchnią elektrody jest utrudnione, ponieważ centrum aktywne enzymu ulokowane jest wewnątrz struktury białkowej¹². Bezpośrednie przeniesienie elektronu jest ułatwione, gdy centrum aktywne enzymu jest położone blisko powierzchni elektrody. Do większej stabilności elektrody modyfikowanej enzymem może prowadzić silne związanie enzymu z elektrodą. Kowalencyjne unieruchomienie enzymu na elektrodzie umożliwia unieruchomienie dużej

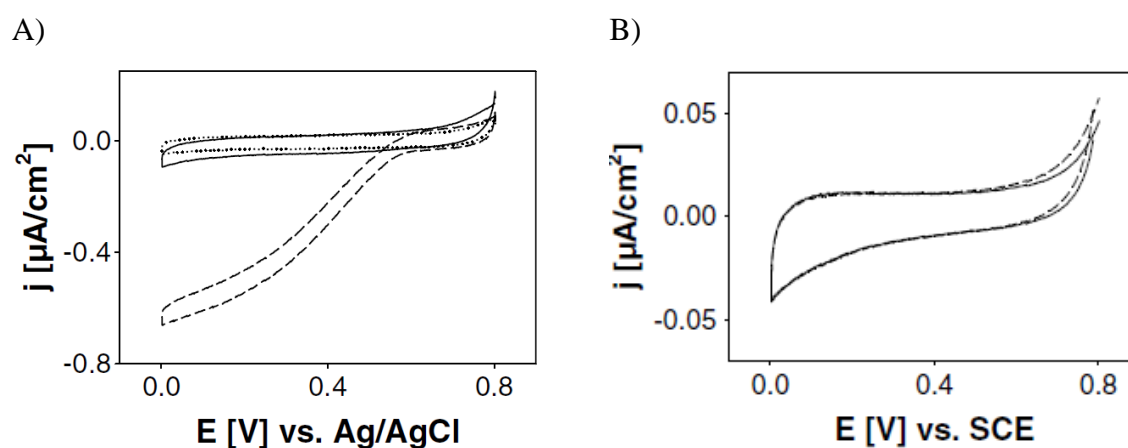
ilości cząsteczek enzymu oraz korzystną ich orientację względem powierzchni elektrody. Zaletą elektrody z unieruchomionymi enzymami jest łatwość miniaturyzacji oraz potencjał pracy, który jest bliski potencjałowi formalnemu centrum aktywnego enzymu. Jedną z metod uzyskania bezpośredniego kontaktu elektrycznego pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody jest zastosowanie różnych nanostruktur: takich jak nanorurek węglowych, grafenu, czy nanocząstek¹³⁻¹⁵.

W tym celu stosowałem różne materiały m.in. diament domieszkowany borem, mikrocząstki węgla, nanorurki węglowe, nanocząstki złota, kompozyt nanocelulozy/polipirolu, na których uzyskałem bezpośrednie lub mediowane przeniesienie elektronu pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody [**H1-H10**]. Nanomateriały działają jako bardzo wydajne materiały pomocnicze do unieruchomienia enzymu z powodu swoich cech, tj.: niewielkiego rozmiaru, bardzo dobrego transportu ładunku czy też możliwości przyłączania różnych grup funkcyjnych, umożliwiających unieruchamianie kowalencyjne enzymów czy też mediatorów. Nanostruktury umożliwiają uzyskanie dobrego kontaktu centrum aktywnego z podłożem oraz utrzymania aktywności enzymu przez dłuższy czas. Nanomateriały znacznie zwiększają powierzchnię oraz pojemność elektrody, dlatego bioogniwa z zastosowaniem tych struktur osiągają znacznie wyższą moc. Do unieruchomienia enzymów na stałych podłożach stosuje się metody fizyczne lub chemiczne: adsorpcję fizyczną i chemiczną, sieciowanie polimerami przewodzącymi, zamykanie w kapsułkach lub micelach, pułapkowanie w matrycy, unieruchomienie w membranie półprzepuszczalnej^{11,16}. Poprzez unieruchomienie enzymu na elektrodzie zwiększa się stężenie biokatalizatora na jej powierzchni. Ponadto procesy elektrodowe zachodzą z większą wydajnością i uzyskuje się dużo wyższe gęstości prądów.

W pracach [**H1,H2**], jako pierwszy uzyskałem bezmediatorową katalityczną redukcję tlenu w obecności lakazy na elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem (BDD), zarówno dla lakazy rozpuszczonej w roztworze jak i unieruchomionej na elektrodzie BDD. BDD jest stosunkowo nowym materiałem elektrodowym, który wykorzystywany jest do coraz to nowszych zastosowań¹⁷⁻¹⁹. Diament domieszkowany borem daje możliwość przeprowadzenia badań w bardzo dużym zakresie potencjałów do około 3,5V i dlatego umożliwia śledzenie procesów redoks w ekstremalnych zakresach potencjałów. Prądy tła są niskie, co umożliwia pomiar procesów faradejowskich o dużej czułości. Elektrody diamentowe są obojętne chemicznie, a zatem są odporne na zatrucie przez produkty reakcji, które mogą gromadzić się na bardziej reaktywnych materiałach elektrodowych. BDD ma

również doskonałe właściwości optyczne, dlatego umożliwia łączenie pomiarów elektrochemicznych z pomiarami spektroskopii UV-Vis i IR. Zastosowanie odpowiedniej aktywacji powierzchni diamentu domieszkowanego borem daje możliwość kontrolowania jego hydrofobowości lub hydrofilowości poprzez tworzenie odpowiednich grup funkcyjnych, które mogą oddziaływać z enzymami. W badaniach do aktywacji powierzchni elektrody BDD zastosowałam procedurę zaproponowaną przez Markena²⁰. Aktywację elektrody BDD przeprowadziłam poprzez wielokrotne rejestrowanie krzywych cyklicznych od 0V do 5V w roztworze 1mol/dm³ kwasu azotowego (V). Dzięki aktywacji elektrody tworzy się na jej powierzchni grupy funkcyjne np. grupy karboksylowe lub hydroksylowe. W badaniach zastosowałam lakazę Cerrena unicolor, która posiada zdolność katalizowania czteroelektronowej redukcji tlenu bezpośrednio do wody. Niestety na klasycznych elektrodach, np. węglowych, lakaza nie wykazuje bezpośredniego przeniesienia elektronów, ponieważ centrum T1 enzymu znajduje się zbyt daleko od powierzchni elektrody (redukcja tlenu występuje przy potencjale -0,6V względem elektrody odniesienia Ag/AgCl). Stosując odpowiednio aktywowane elektrody diamentowe domieszkowane borem uzyskałam bezmediatorową katalityczną redukcję tlenu w obecności lakazy rozpuszczonej w buforze McIlvaina (pH 5,2). Zastosowanie tego typu elektrody spowodowało znaczące zmniejszenie nadpotencjału redukcji tlenu o około 1,2V. Falę katalityczną obserwowałam przy potencjale około +0,6V vs. Ag/AgCl (Rys. 1A). Z punktu widzenia zastosowania, istotny jest sposób unieruchomienia enzymu na elektrodzie. Immobilizacja enzymu w warstwie matrycy na elektrodzie jest powszechnie stosowana, ponieważ pozwala zwiększyć stężenie biokatalizatora na jej powierzchni. Dzięki temu procesy elektrodowe zachodzą z większą wydajnością i uzyskuje się dużo wyższe gęstości prądów katalitycznych. W opisanych pracach do unieruchomienia lakazy zastosowałam fazę kubiczną - ciekłokrystaliczny układ lipidowy o strukturze dwuwarstwy lipidowej poprzecinanej systemem kanałów wodnych. Kanały wodne umożliwiają wbudowanie do niej hydrofobowych oraz hydrofilowych katalizatorów. Do przygotowania fazy kubicznej zastosowałam monooleinę, która w połączeniu z wodą, w odpowiednich stosunkach, tworzy fazę ciekłokrystaliczną²¹. Fazy kubiczne utworzone przez monooleinę są izotropowe, mają dużą lepkością oraz są trwałe w obecności nadmiaru wody. Duża lepkość oraz trwałość w roztworach wodnych umożliwia łatwe jej zastosowanie jako matrycy do unieruchamiania enzymów na powierzchni elektrod. Na elektrodzie BDD pokrytej fazą kubiczną zawierającą lakazę, obserwowałam falę katalityczną rozpoczynającą się przy tym samym potencjale co bez użycia fazy kubicznej.

Jednakże gęstości prądów katalitycznych redukcji tlenu były dwa razy większe i wynosiły około $-0,8\mu\text{A}/\text{cm}^2$. Nie obserwowałem fali katalitycznej na dyskowej elektrodzie z węgla szklanego pokrytej fazą kubiczną z lakazą, której użyłem jako układu porównawczego (Rys. 1B). Badaną elektrodę BDD zmierzyłem w roztworach o różnej zawartości tlenu, tj. w roztworze odtlenionym, w roztworze będącym w równowadze z powietrzem oraz w roztworze natlenionym. Obserwowałem zależność gęstości prądów katalitycznej redukcji tlenu od stężenia tlenu w roztworze zbliżoną do liniowej. Dlatego ten układ z powodzeniem może być zastosowany jako czujnik tlenu w roztworze.



Rys. 1 Woltammogramy zarejestrowane w (—) odtlenionym i (---) natlenionym buforze McIlvaina (pH 5,2) za pomocą elektrod A) BDD i B) GCE zmodyfikowanych fazą kubiczną zawierającą lakazę, szybkość zmian potencjału: $0,001\text{V}/\text{s}$.

W pracy [H2] opracowałem metodę unieruchamiania nanomateriałów: nanorurek węglowych oraz mikrocząstek węgla, na powierzchni elektrod węglowych i zastosowałem tak modyfikowane elektrody jako miejsca adsorpcji enzymu lakazy do bezmediatorowej katalitycznej redukcji tlenu. Zarówno nanomateriały jak i lakazę unieruchomiłem trwale na powierzchni elektrod za pomocą różnych matryc: Nafionu, chitosanu, lecytyny oraz hydrofobiny. Badania przeprowadziłem z zastosowaniem dyskowej elektrody z węgla szklanego pokrytej mikrocząstkami węglowymi lub nanorurkami węglowymi w buforze McIlvaina (pH 5,2) zawierającym rozpuszczoną lakazę. Redukcja tlenu na niemodyfikowanej elektrodzie z węgla szklanego przebiegała ze znacznym nadpotencjałem, przy potencjale około $-0,6\text{V}$ względem elektrody chlorosrebrowej. Przy użyciu niemodyfikowanych nanorurek węglowych lub mikrocząstek węgla do modyfikacji elektrody z węgla szklanego, proces katalityczny redukcji tlenu w obecności lakazy rozpoczynał się przy potencjałach

dodatnich, około +0,6V względem elektrody chlorosrebrowej (a więc ok. +0,8V względem normalnej elektrody wodorowej), a gęstości prądu redukcji tlenu były od 10 do 40 razy większe w porównaniu do stosowanej elektrody diamentowej domieszkowanej borem. Zastosowane w pracy matryce (Nafion, chitosan, lecytyna oraz hydrofobia) z unieruchomionym enzymem lakazą badałem pod kątem wykorzystania ich do konstrukcji układów katalizujących redukcję tlenu w bioogniwie lub bioczuJNIKU tlenu. Po unieruchomieniu enzymu w warstwie matrycy uzyskałem większe gęstości prądów katalitycznych redukcji tlenu, a potencjały, przy których rozpoczynała się fala katalityczna były zbliżone do potencjałów otrzymanych w eksperymentach z lakazą rozpuszczoną w roztworze. Największe gęstości prądów katalitycznej redukcji tlenu, około $-110\mu\text{A}/\text{cm}^2$ zmierzone przy potencjale 0,2V, uzyskałem dla elektrody pokrytej niemodyfikowanymi nanorurkami węglowymi i lakazą w warstwie Nafionu. Użycie matrycy do unieruchamiania enzymów umożliwiło zastosowanie mniejszej ilości enzymu, jak również trwałe unieruchomienie enzymu i nanomateriału na powierzchni elektrody. Zastosowanie niemodyfikowanych nanorurek i mikrocząstek węgla zapewniło optymalną orientację cząsteczek enzymów, czego wynikiem była obserwacja bezmediatorowej bioelektrokatalizy.

Bezpośrednie przeniesienie elektronu pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody nie jest możliwe w przypadku większości enzymów należących do klasy oksydoreduktaz, powszechnie stosowanych do konstrukcji bioogniw paliwowych. Dlatego stosuje się dodatkowe substancje zwane mediatorami, które ułatwiają transport elektronów pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody. Transport elektronowy z udziałem mediatorów nazywany jest mediowanym transportem elektronowym (ang. mediated electron transfer, MET)^{11,22}. Jako mediatory stosuje się małe cząsteczki, najczęściej metale, kompleksy metali lub cząsteczki organiczne, które posiadają potencjał zbliżony do formalnego potencjału użytego enzymu i w sposób odwracalny ulegają procesowi utleniania i redukcji. Stosowanie mediatorów w formie roztworów jest czasami niekorzystne z punktu widzenia konstrukcji bioogniw, ponieważ wprowadzenie dodatkowej substancji komplikuje działanie bioogniwa. Bardzo często substancja ta może reagować zarówno na katodzie jak i na anodzie, i trzeba wprowadzać do konstrukcji membranę rozdzielającą przestrzeń katodową i anodową. Tych problemów można uniknąć stosując mediatory bezpośrednio unieruchomione na modyfikowanych elektrodach. Wykazano również, że mediatory unieruchomione na elektrodzie zwiększają szybkość procesu przeniesienia ładunku. Uzyskuje się wyższe gęstości prądów katalitycznych oraz używa się mniejsze ilości katalizatora. Unieruchomienie

mediatorów, jak również enzymów na powierzchni materiałów lub elektrod, zapobiega rozpuszczaniu się ich do roztworu, przez co z jednej strony znacznie zmniejsza się koszty zastosowania materiałów, a z drugiej strony zapobiega dyfundowaniu ich do sąsiednich przestrzeni elektrodowych. Unieruchomione enzymy wykazują także większą efektywność katalityczną w porównaniu do enzymów rozpuszczonych w roztworze lub zaadsorbowanych fizycznie na elektrodzie.

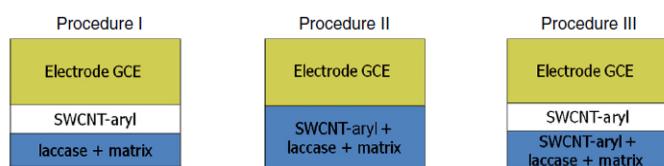
W moich badaniach współpracowałem z dr hab. Kamilą Żelechowską i prof. Janem Biernatem z Politechniki Gdańskiej, w celu opracowania i przeprowadzenia syntez nanorurek węglowych z kowalencyjnie przyłączonymi grupami aryłowymi i związkami redoks, które następnie stosowałem do modyfikacji elektrod. W pracy [H3] jako pierwszy unieruchomiłem na elektrodzie nanorurki węglowe kowalencyjnie modyfikowane kwasem 2,2'-azobis-(3-etylobenzotriazo-sulfonowym) (ABTS) i zbadałem wpływ różnych modyfikacji nanorurek węglowych na katalityczną redukcję tlenu w obecności lakazy. W pracy porównałem efekty katalityczne dwóch sposobów kowalencyjnie modyfikowanych nanorurek. W pierwszym przypadku nanorurki węglowe były modyfikowane ABTS na końcu ścian, zaś w drugim przypadku nanorurki były modyfikowane tym samym związkiem redoks na ścianach bocznych nanorurek. Dodatkowo elektrody pokryte nanorurkami węglowymi z ABTS były modyfikowane warstwą Nafionu z lakazą, co uniemożliwiało zarówno rozpuszczanie lakazy do roztworu, jak również odrywanie się modyfikowanych nanorurek od powierzchni elektrody węglowej. ABTS jest jednym z najczęściej stosowanych mediatorów stosowanych dla lakazy, ponieważ cechuje go odwracalny proces elektrodowy, jak również jego potencjał jest bliski potencjałowi formalnemu centrum T1 lakazy²³⁻²⁵. Modyfikowane nanorurki badałem w obecności lakazy wobec procesu katalitycznego redukcji tlenu. Wykazałem, że unieruchomienie ABTS na powierzchni nanorurek powoduje zachowanie jego funkcjonalności, co jest korzystne dla właściwego działania biokatody. Zaletą kowalencyjnego unieruchomienia ABTS na powierzchni nanorurek jest to, że nie dyfunduje on do roztworu i układ biokatalityczny jest stabilny. W przypadku obu modyfikacji nanorurek uzyskałem znaczący wzrost wartości gęstości prądów w porównaniu do nanorurek niemodyfikowanych i obniżenie nadpotencjału redukcji tlenu do wartości 0,6V, co jest korzystne z punktu widzenia zastosowania ich do konstrukcji bioogniwa paliwowego. W przypadku zastosowania ABTS do modyfikacji nanorurek wykazałem, że efektywność działania ABTS związanego na końcach nanorurki jako mediatora, jest wyższa, ale liczba jego cząsteczek związanych z powierzchnią nanorurek jest mniejsza, co przejawiało się

uzyskaniem niższej gęstości prądu katalitycznej redukcji tlenu w porównaniu do modyfikacji nanorurek węglowych na bokach. Ponadto rejestrowane woltamperogramy w obecności ABTS związanego z nanorurkami wykazywały mniejsze nachylenie krzywej prąd - potencjał w porównaniu do nanorurek niemodyfikowanych, co wskazuje na zmniejszenie ograniczeń związanych z oporem warstwy oraz procesu katalitycznego. Największe gęstości prądów katalitycznej redukcji tlenu w obecności lakazy, około $-420\mu\text{A}/\text{cm}^2$, obserwowałem dla jednościennych nanorurek modyfikowanych na bokach ABTS. Unieruchomienie kowalencyjne ABTS na nanorurkach spowodowało adsorpcję większej ilości cząsteczek lakazy oraz jej właściwą orientację na powierzchni elektrody, czego wynikiem była rejestracja większych gęstości prądów katalitycznych w porównaniu do niemodyfikowanych nanorurek węglowych.

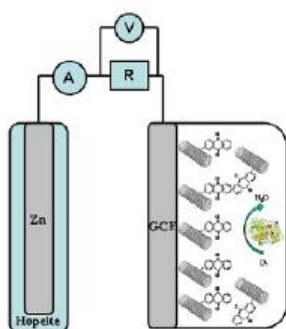
W strukturze enzymu można wyróżnić miejsce aktywne enzymu, w którym zachodzą przemiany redoks. Zastosowanie odpowiednio zmodyfikowanych materiałów elektrodowych związkami chemicznymi, pozwala na wymuszenie w enzymie właściwej orientacji cząsteczek enzymu względem powierzchni elektrody. Przyczynia się to do poprawy transportu elektronów pomiędzy enzymem i elektrodą, czego wynikiem jest otrzymanie większych gęstości prądów i trwałości bioelektrod. Centrum aktywne lakazy stanowi hydrofobowa kieszeń, która wykazuje duże powinowactwo do różnego rodzaju związków aromatycznych. Kształt centrum aktywnego enzymu najlepiej jest dopasowany do związków pierścieniowych, ponieważ jest to enzym lignolityczny. Taki sposób modyfikacji elektrod grafitowych grupami antracenyłowymi lub fenyłowymi posiadających układ sprzężonych wiązań podwójnych zastosowała grupa Armstronga i osiągnęła wysoki stopień uporządkowania cząsteczek lakazy na elektrodzie. Dzięki temu zaobserwowano znacznie efektywniejszy transport elektronowy⁷. W pracy [H4] rozwinąłem ideę Armstronga stosując do katalitycznej redukcji tlenu przez lakazę, wcześniej nieopisane nanorurki węglowe kowalencyjnie modyfikowane grupami antracenyłowymi lub antrachinonowymi. Unieruchomiłem na powierzchni elektrody z węgla szklanego (GCE) zarówno nanorurki, jak również lakazę i zbadałem wpływ kowalencyjnie modyfikowanych nanorurek węglowych grupami antracenyłowymi lub antrachinonowymi na końcach jak również na bokach ścian, na proces katalityczny redukcji tlenu w obecności lakazy. Zastosowanie każdej modyfikacji nanorurek umożliwiło uzyskanie większej wartości gęstości prądu katalitycznego redukcji tlenu w obecności lakazy, w porównaniu do niemodyfikowanych nanorurek. Wykazałem, że kowalencyjna modyfikacja nanorurek węglowych różnymi grupami antracenyłowymi lub antrachinonowymi na końcu jak również

na boku nanorurek, ma pozytywny wpływ na orientację cząsteczek enzymu względem powierzchni elektrody oraz skraca dystans tunelowania elektronu. Elektrody pokryte nanorurkami modyfikowanymi grupami antracenyłowymi lub antrachinonowymi na bokach oraz lakazą, wykazywały większe gęstości prądów katalitycznych redukcji tlenu w porównaniu do nanorurek węglowych modyfikowanych na końcach nanorurek. Było to związane prawdopodobnie ze zwiększoną populacją grup aryłowych, którymi nanorurki węglowe były zmodyfikowane na bokach w porównaniu do nanorurek modyfikowanych na końcach. W pracy porównano także trzy sposoby modyfikacji elektrod (Rys. 2A). Pierwsza z nich polegała na umieszczeniu na elektrodzie najpierw nanorurek a następnie odpowiedniej matrycy z lakazą. Druga procedura polegała na umieszczeniu bezpośrednio na elektrodzie mieszaniny nanorurek, lakazy i matrycy. Trzecia procedura polegała na nałożeniu na elektrodę najpierw nanorurek a następnie mieszaniny nanorurek, lakazy i matrycy. W badaniach stosowano różne matryce: lecytynę, chitosan, niemodyfikowany Nafion, Nafion modyfikowany według procedury Minter oraz Lo Gortona.

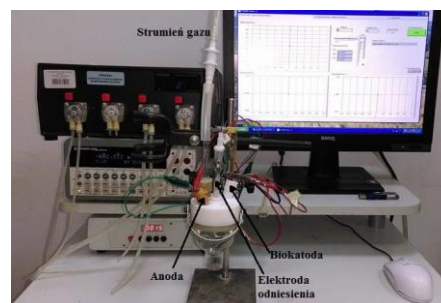
A)



B)



C)



Rys. 2 A) Trzy sposoby przygotowania modyfikowanych elektrod GCE nanorurkami węglowymi, matrycą i lakazą, B) Schemat dwuelektrodowy biobaterii, C) Zestaw pomiarowy składający się z opornicy, multimetru i komputerowego programu sterującego.

Największą wartość gęstości prądów redukcji tlenu, około $-250\mu\text{A}/\text{cm}^2$, uzyskano dla biokatody, do której konstrukcji użyto najpierw nanorurek modyfikowanym grupami antracenyłowymi na końcach, a następnie mieszaniny tych samych nanorurek, lakazy i

Nafionu przygotowanego według procedury Minteer. Najmniejsze prądy katalityczne obserwowano dla drugiej procedury modyfikacji elektrod. Największe prądy uzyskano na elektrodach modyfikowanych według procedury trzeciej, ale były one nieznacznie większe w porównaniu do pozostałych modyfikacji elektrod, a przygotowanie elektrod trwało bardzo długo. Z punktu widzenia zastosowania, ze względu na czas przygotowania i ilość zastosowanych odczynników, jak również ze względu na wartości otrzymywanych prądów katalitycznych, najbardziej optymalną procedurą była procedura pierwsza, w której na elektrodę nakładano bezpośrednio nanorurki węglowe, a po wyschnięciu Nafion z lakazą. Porównano stabilności wybranych, modyfikowanych elektrod. Na początku gęstość prądu katalitycznego szybko malała, a następnie stabilizowała się i utrzymywała się przez kilka dni np. po 12 dniach na poziomie 40% wartości początkowej prądu katalitycznego. Badane elektrody zastosowano do konstrukcji bioogniwa hybrydowego, zwanego biobaterią (Rys. 2B). Biobateria jest układem zbudowanym z jednej bioelektrody, zaś druga elektroda, nie zawiera związków biologicznych i najczęściej jest metaliczna (np.: platyna, cynk). W moich badaniach nad biobaterią jako elektrolit zastosowałem bufor McIlvaina pH 5,2, ponieważ dawał optymalne pH dla działania lakazy. Do wyznaczenia specyficznych parametrów ogniwa w trakcie pracy, takich jak ustalenie potencjału otwartego ogniwa (OCV), maksymalnej mocy, prądu, odporności elektrod na rozładowanie, były przykładane do biobaterii różne opory od $10\text{M}\Omega$ do $1\text{k}\Omega$, od wysokich wartości - odpowiadających obwodowi otwartemu, do bardzo niskich, w wyniku zastosowania których dochodziło do pracy ogniwa. W tym celu zaprojektowałem zestaw pomiarowy składający się z opornicy i multimetru, który był sterowany za pomocą specjalnego programu w komputerze (Rys. 2C). W układzie mierzono różnicę potencjałów pomiędzy anodą i katodą. Następnie korzystając z prawa Ohma, podstawiając wartości oporu i uzyskanego napięcia, obliczano natężenie generowanego prądu, zaś z iloczynu natężenia prądu i napięcia obliczano moc układu. Uzyskane krzywe zależności mocy od napięcia, prądu od napięcia, dają wgląd w proces redoks zachodzący w układzie. Metoda ta pozwala bardzo precyzyjnie określić wydajność prądową układu w porównaniu do podejmowanych przez część badaczy pomiarów galwanostatycznych, gdyż daje możliwość symulowania działania ogniwa w konkretnych warunkach imitujących pobór prądu przez urządzenie o określonych parametrach. W badaniach zastosowano jako anodę drut cynkowy ze względu na jego niski potencjał standardowy utleniania równy $-0,76\text{V vs. NHE}$. Mimo początkowego rozpuszczania cynku w roztworach wodnych, po pewnym czasie w buforze zawierającym jony fosforanowe (V), na

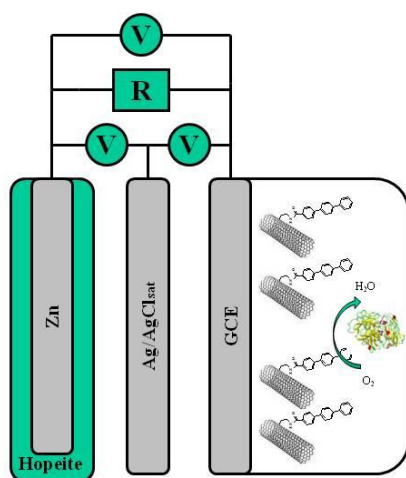
powierzchni elektrody tworzy się warstwa nierozpuszczalnego fosforanu (V) cynku tzw. hopeit, $(\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$. Zjawisko to zapobiega dalszej korozji cynku. Chociaż powstająca warstwa zewnętrzna nierozpuszczalnego fosforanu (V) cynku nie przewodzi prądu, to struktura ta jest przepuszczalna dla jonów Zn^{2+} . Dlatego jest możliwa wymiana ładunku pomiędzy roztworem a powierzchnią elektrody. Najlepszą procedurą przygotowania biokatod w bioogniwie okazała się procedura polegająca na pokrywaniu elektrody najpierw warstwą nanorurek węglowych, a następnie mieszaniną tych samych nanorurek z Nafionem i lakazą. Największe gęstości prądów jak również mocy uzyskano dla nanorurek węglowych modyfikowanych antrachinonem na boku. Gęstość mocy wynosiła $3,5\text{mW}/\text{cm}^2$ przy oporze $1\text{k}\Omega$ i różnicy potencjałów $0,5\text{V}$. Wszystkie badane biobaterie wykazywały potencjał otwartego ogniwa około $1,5\text{V}$. Podobnie jak w badaniach elektrochemicznych, biobaterie z zastosowaniem nanorurek modyfikowanych na bokach wykazywały wyższe gęstości prądu i mocy, od swoich odpowiedników modyfikowanych na końcach nanorurek. Jest to związane z większą populacją cząsteczek unieruchomionych na bokach nanorurek węglowych w porównaniu do tych unieruchomionych na końcach nanorurek. Badano także zależność mocy od czasu najlepszych biobaterii pod obciążeniem ich oporem $10\text{k}\Omega$. Na początku obserwowano gwałtowny spadek mocy, a następnie moc stabilizowała się po 64 minutach na poziomie około 20% mocy początkowej.

W pracy [H5] jako pierwszy zastosowałem nanorurki modyfikowane nieelektroaktywnymi grupami fenyłowymi (pojedynczą grupą fenyłową, potrójną grupą fenyłową (grupą terfenyłową)) oraz grupą naftyłową, do katalitycznej redukcji tlenu w obecności lakazy. W badaniach zastosowałem również dotychczas nieopisane w literaturze nanorurki węglowe kowalencyjnie modyfikowane ferrocenem i nanorurki węglowe modyfikowane jednocześnie GOx i katalazą. Przygotowane i scharakteryzowane bioelektrody zastosowałem do konstrukcji biobaterii oraz pełnego bioogniwa. Lakazę unieruchomiono w warstwie Nafionu na elektrodach pokrytych odpowiednio modyfikowanymi nanorurkami węglowymi. W obecności kowalencyjnie arylowanych jednościennych nanorurek węglowych na elektrodzie z węgla szklanego, fala redukcji tlenu na woltamperogramach rozpoczynała się przy takim samym potencjale jak przy zastosowaniu nanorurek węglowych niemodyfikowanych, ale gęstości prądu były o wiele wyższe. Było to związane z modyfikacją powierzchni nanorurek węglowych grupami aryłowymi, a w konsekwencji obecnością większej ilości molekuł lakazy odpowiednio zorientowanych względem powierzchni elektrody, aby mogło następować bezmediatorowe przeniesienie elektronu pomiędzy

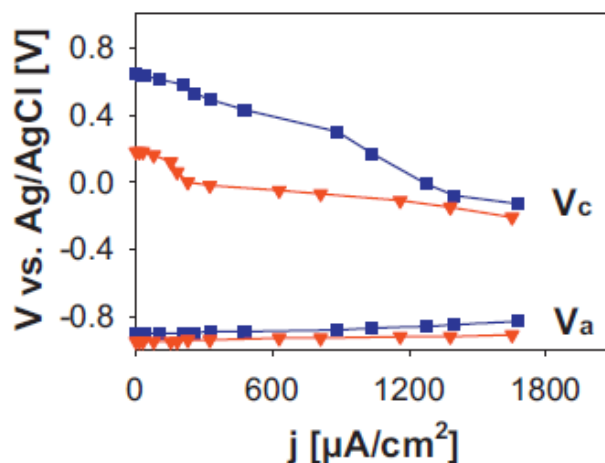
enzymem a powierzchnią elektrody. Najwyższą gęstość prądu redukcji tlenu, około $-400\mu\text{A}/\text{cm}^2$ przy potencjale 0,2V, otrzymano dla elektrody pokrytej jednościenneymi nanorurkami węglowymi modyfikowanymi terfenylem i lakazą w warstwie Nafionu. Kowalencyjne wiązanie enzymów oksydazy glukozy i katalazy do powierzchni jednościennej nanorurek węglowych umożliwiło uzyskanie dobrego kontaktu elektrycznego pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody, a w konsekwencji efektywniejsze przenoszenie elektronów z i do centrum aktywnego enzymu. Enzym GOx jest często stosowany w konstrukcji bioelektrod w bioogniwach paliwowych ze względu na niski potencjał utleniania glukozy przez GOx oraz wysoką aktywność specyficzną dostępnych preparatów enzymatycznych. Dodatkowo do modyfikacji elektrody zastosowano także wielościenne nanorurki węglowe modyfikowane ferrocenem (MWCNT-Fc). Do przygotowania bioelektrod z GOx stosuje się bardzo często niskocząsteczkowe mediatory np. ferrocen, chinony lub kompleksy osmu^{26,27}, aby umożliwić przepływ elektronów pomiędzy elektrodą a enzymem. Badane bioanody były stabilne przez kilka dni i obserwowano liniową zależność utleniania ferrocenu od stężenia glukozy aż do 160 mM glukozy. Podczas pracy z GOx, na anodzie powstaje nadtlenek wodoru w wyniku reakcji redukcji tlenu. H_2O_2 dezaktywuje GOx, a także wpływa również na zmniejszenie natężenia prądów płynących przez układ, poprzez zużywanie elektronów generowanych w części anodowej ogniwa. H_2O_2 powstający w moim układzie, nie zakłócał procesu, ponieważ ulegał reakcji dysproporcjonowania do H_2O i O_2 katalizowanej przez katalazę kowalencyjnie związaną z tymi samymi nanorurkami. Badany układ może być z powodzeniem stosowany jako czujnik glukozy. Badane elektrochemicznie biokatody pokryte nanorurkami węglowymi modyfikowanymi fenylem, naftylem, jak również terfenylem oraz lakazą w warstwie Nafionu zastosowano do konstrukcji biobaterii. Dodatkowo w konstrukcji biobaterii, jak również bioogniw, jako pierwszy celowo zastosowałem elektrodę odniesienia - chlorosrebrową (Rys. 3A), która pozwalała kontrolować potencjał każdej z elektrod podczas pracy ogniwa. Za pomocą elektrody odniesienia możliwe jest zdefiniowanie, która z elektrod jest elementem limitującym moc całego ogniwa. Można zdefiniować ograniczenia procesu czy określić, przy jakim napięciu generowana jest maksymalna moc. W badaniach wykazałem, że potencjał anody cynkowej był stały podczas obciążania biobaterii kolejnymi oporami, a jedynie potencjał biokatody ulegał zmianom. Także w układzie biobaterii wykazałem, że anoda cynkowa może być swojego rodzaju elektrodą odniesienia dla biobaterii, ponieważ zmiany mocy w biobaterii są kontrolowane zmianami potencjału biokatody. Potencjał otwartego

ogniwa badanych układów wynosił 1,5V. Spośród badanych układów największe gęstości mocy uzyskano dla biobaterii zbudowanej z katody pokrytej nanorurkami węglowymi modyfikowanymi fenylem oraz lakazą w warstwie Nafionu. Maksymalna moc wynosiła około $1,2\text{mW/cm}^2$ przy oporze $10\text{k}\Omega$ i potencjale $0,9\text{V}$. Przy gęstościach prądów mniejszych niż $1500\mu\text{A/cm}^2$ system pracował jak biobateria. Przy wyższych prądach enzym nie jest wystarczająco wydajny i katodowy proces odbywał się przy potencjałach bliskich 0V względem elektrody chlorosrebrowej tak, jak w przypadku elektrody pokrytej tylko nanorurkami (Rys. 3B). Obserwacja ta i wnioski były możliwe tylko dzięki zastosowaniu elektrody odniesienia. Udowodniłem także, że nanorurki węglowe z resztami aromatycznymi odgrywają rolę nierozpuszczalnych drutów molekularnych dla lakazy, przez co obserwuje się większe prądy katalitycznej redukcji tlenu, wyższe gęstości mocy i prądu w biobaterii. Związane jest to z lepszym dopasowaniem podstawników aromatycznych przyłączonych do nanorurek i hydrofobowej kieszeni centrum aktywnego enzymu.

A)



B)



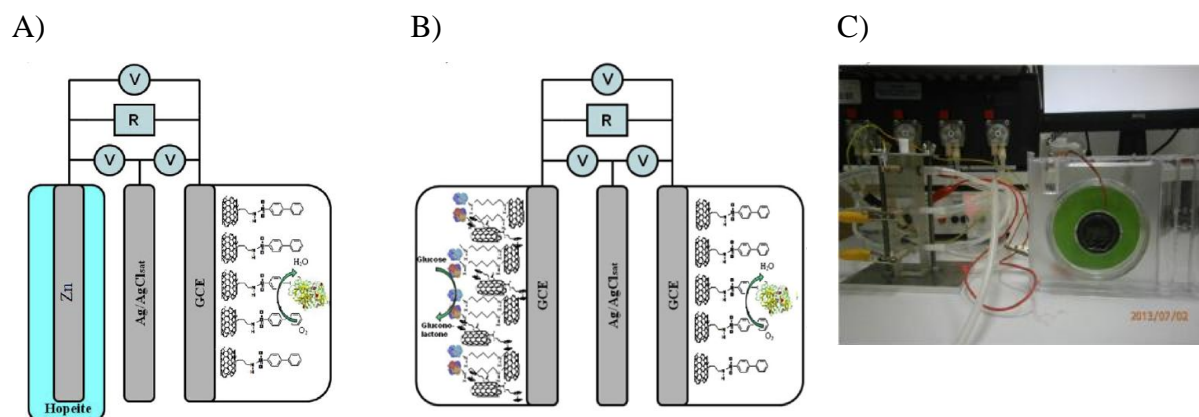
Rys. 3 A) Schemat biobaterii z elektrodą odniesienia, B) Zależność potencjału katody, V_c i anody, V_a vs. Ag/AgCl od gęstości prądu w biobaterii: katoda elektroda GCE pokryta jednościennejmi nanorurkami węglowymi modyfikowanymi grupami fenylowymi i Nafionem (■) z lakazą i (▲) bez lakazy. Elektrolit: natleniony bufor McIlvaina $0,2\text{M NaNO}_3$, pH 5,2.

W badaniach zamiast anody cynkowej zastosowałem również bioanodę zbudowaną z elektrody z węgla szklanego pokrytej nanorurkami węglowymi modyfikowanymi jednocześnie oksydazą glukozową i katalazą oraz nanorurkami modyfikowanymi ferrocenem.

W badanym układzie zastosowałem glukozę jako paliwo dla anody i tlen dla katody. Była to

pierwsza w mojej pracy naukowej konstrukcja pełnego bioogniwa. W badanym układzie osiągnąłem moce 30 krotnie niższe w porównaniu do biobaterii. Maksymalna moc wynosiła $41\mu\text{W}/\text{cm}^2$ przy różnicy potencjałów 0,24V i zadanym oporze $20\text{k}\Omega$, a potencjał otwartego ogniwa był dużo niższy niż w biobaterii i wynosił 0,41V.

W pracy [H6] jako pierwszy zbadałem wpływ różnego typu kowalencyjnego wiązania bifenyli z nanorurkami węglowymi na proces katalitycznej redukcji tlenu w obecności lakazy. Nanorurki były łączone z bifenyliem poprzez wykorzystanie reakcji grupy aminowej z grupą karboksylową lub grupą sulfonową. Wprowadzono jedno lub dwa takie wiązania pomiędzy nanorurkami a grupą bifenyliową i badano ich wpływ na katalityczną redukcję tlenu w obecności lakazy, jak również wpływ na gęstość mocy i prądu w biobaterii. Największe gęstości prądów katalitycznych redukcji tlenu w obecności lakazy obserwowałem na elektrodzie GCE pokrytej nanorurkami węglowymi połączonymi z bifenyliem za pomocą wiązania grupy aminowej z grupą sulfonową. Badane biokatody zastosowałem zarówno do konstrukcji trójelektrodowej biobaterii, gdzie anodą był drut cynkowy, jak również do trójelektrodowego bioogniwa z anodą - elektrodą z węgla szklanego pokrytej nanorurkami modyfikowanymi oksydazą glukozową oraz katalazą, jak również nanorurkami modyfikowanymi ferrocenem (Rys. 4).



Rys. 4 Schemat trójelektrodowy A) biobaterii, B) bioogniwa, C) układu trzech szeregowo połączonych przepływowych biobaterii zasilających zegar.

Pracowano zarówno w układzie stacjonarnym jak i w przepływowym biobaterii i bioogniwa. Układy przepływowe charakteryzowały się wyższymi gęstościami mocy w porównaniu do układów stacjonarnych. Połączyłem ze sobą szeregowo trzy układy przepływowe biobaterii i zasililem nim zegar elektroniczny (Rys. 4C). Zegar zasilany szeregowo połączonymi

przepływowymi biobateriami działał przez kilka dni. W szeregowo połączonym układzie trzech biobaterii uzyskałem trzy razy wyższą moc, jak równie trzy razy wyższy potencjał otwartego ogniwa w porównaniu do pojedynczej biobaterii.

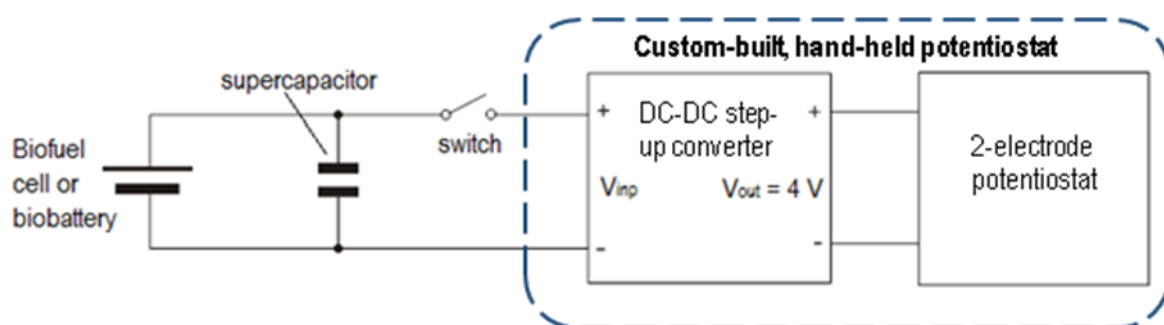
W ostatnim czasie intensywnie poszukuje się efektywnej bioanody, której potencjał byłby jak najbardziej ujemny, a więc w celu otrzymania jak największej różnicy potencjałów otwartego bioogniwa²⁸⁻³¹. Jednym z enzymów stosowanych w konstrukcji bioanody, który ma najlepsze dotychczas parametry przy konstrukcji bioanody, jest dehydrogenaza fruktozowa (FDH)^{12,32,33}. FDH jest bardzo obiecującym enzymem do zastosowaniach w bioogniwach. W moich badaniach [H7], jako pierwszy zastosowałem bardzo interesujący, nowy materiał, jakim jest kompozyt nanocelulozy/polipirolu do katalitycznego utleniania fruktozy w obecności FDH. Celuloza do tego kompozytu została pozyskana z alg *Cladophora*, które zostały zebrane w Morzu Bałtyckim. Jest to jeden ze sposobów zastosowania niekorzystnie rozrastających się w morzu alg, jako materiału elektrodowego w ogniwach. Badany kompozyt zastosowano do przygotowania elektrody – anody zawierającej dehydrogenazę fruktozy. Zastosowanie FDH w bioogniwie jest szczególnie korzystne, ponieważ enzym FDH nie jest wrażliwy na obecność tlenu, który jest często stosowanym paliwem dla biokatody w bioogniwie. Z powodu braku reakcji FDH z tlenem, możliwa jest konstrukcja bezmembranowego bioogniwa. Do przygotowania biokatody zastosowano dyskowe elektrody z węgla szklanego pokryte wielościennymi nanorurkami węglowymi modyfikowanymi grupami naftylowymi na bokach, a następnie lakazą w warstwie Nafionu. W badaniach elektrochemicznych wykazałem, że oba enzymy zachowały swoją aktywność katalityczną po adsorpcji na elektrodzie modyfikowanej kompozytem lub nanorurkami węglowymi i wykazywały proces bezmediatorowego, bezpośredniego przeniesienia elektronu. Dehydrogenaza fruktozowa utleniała fruktozę przy potencjale równym $-0,15V$ vs. $Ag/AgCl$. Dla tego układu uzyskano maksymalną gęstość prądu katalitycznego $14,1 mA/cm^2$ zmierzoną przy potencjale $0,5V$. Elektroda miała bardzo wysoką trwałość w czasie. Uzyskano jeden z najlepszych wyników opisanych w literaturze - zastosowania FDH w bioelektrokatalizie. W bioogniwie zastosowano dyskową elektrodę z węgla szklanego pokrytą łatwo dostępnym, przyjaznym dla środowiska kompozytem nanocelulozy/polipirolu (CPPy), na którym unieruchomiono fizycznie FDH. Opracowana bioanoda łączyła system bioelektrokatalityczny z dobrym materiałem superkondensatora, jako podłoża elektrodowego. Ta kombinacja bioelektrokatalitycznego układu opartego na kompozycie i zaadsorbowanej FDH spowodowała bardzo dobre działanie anody w bioogniwie. Jako biokatodę zastosowano

dyskową elektrodę węglową pokrytą nanorurkami węglowymi i lakazą oraz Nafionem. Przygotowane bioogniwo wykazywało właściwości systemu hybrydowego: połączenia właściwości superkondensatorów i bioelektrokatalitycznych. Przy różnicy potencjałów 0,76V uzyskano maksymalną gęstość mocy $1,6\text{mW}/\text{cm}^2$. Po fizycznej adsorpcji FDH na kompozycie nanoceluloza/polipirol: (1) FDH wykazuje proces bezpośredniego przeniesienia elektronów, tzn. bez udziału mediatorów; (2) CPPy działa jako matryca o dużej powierzchni umożliwiającej odpowiednią orientację enzymu; (3) bioogniwo zapewnia bardzo dużą gęstość mocy, $1,6\text{mW}/\text{cm}^2$; (4) bioanoda ma dużą pojemność i może przechowywać znaczne ilości ładunku; (5) potencjał anody pozostaje praktycznie stały, gdy ogniwo jest obciążane różnymi oporami zewnętrznymi. Można zatem stwierdzić, że kompozyt nanocelulozy/polipirolu jest bardzo dobrym materiałem do zastosowania w bioelektronice.

Zaprojektowane bioogniwa próbuje się zastosować do zasilania rzeczywistych urządzeń np. w medycynie. W zastosowaniach medycznych wymaga się, aby źródło energii było stabilne, miało długi czas życia i łatwo poddawało się miniaturyzacji. W literaturze opisano kilka bioogniw, które implantowano różnym organizmom żywym³⁴⁻³⁶. Jednakże urządzenia te nie dostarczają zbyt dużej gęstości mocy i prądu w dłuższym okresie czasu. Enzymatyczne ogniwa paliwowe dają napięcie otwartego ogniwa od około 0,6V do 1V, a biobaterii około 1,6V. Zasilanie urządzeń nawet o niewielkim poborze prądu jest dużym problemem. Problemy te rozwiązuje się poprzez łączenie szeregowo ogniw lub stosowanie superkondensatorów gromadzących ładunek. Połączenie superkondensatorów z ogniwem enzymatycznym może poprawić wydajność źródła energii³⁷⁻⁴⁰. W mojej pracy [H8] zastosowałem układ trzech połączonych bioogniw połączonych z superkondensatorem do zasilania urządzenia o większej mocy: potencjostatu, który zintegrowałem z czujnikiem. Jako urządzenie testowe zastosowano specjalnie skonstruowany domowej roboty minipotencjostat, zaprojektowany i skonstruowany przez prof. Sławomira Kalinowskiego, z Wydziału Chemii Uniwersytetu Warmińskiego – Mazurskiego w Olsztynie (Rys. 5A). W badaniach użyto specjalnie zaprojektowane i skonstruowane cylindryczne bioogniwo przepływowe, w którym zwiększono powierzchnię bioelektrod do $3,14\text{cm}^2$, a jako podłoże elektrodowe zastosowano papier węglowy (Rys. 5B). Bioanodę przygotowano przez nałożenie na papier węglowy kompozytu nanocelulozy/polipirolu (CPPy) oraz czerni acetylenowej w stosunku 95:5 pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie fizycznie zaadsorbowano FDH. W badaniach elektrochemicznych, w obecności 100mM fruktozy w buforze McIlvaina pH 5,3, obserwowano falę katalitycznego utleniania fruktozy rozpoczynającą się przy potencjale

około $-0,15\text{V}$, uzyskując maksymalny prąd $17,5\text{mA}$, a pojemność elektrody wynosiła $0,6\text{F}$. Uzyskano bezmediatorowe utlenienie fruktozy za pomocą FDH. Kompozyt CPPy służył nie tylko jako matryca przewodząca o dużej powierzchni ale także, jako materiał, który ułatwił osiągnięcie właściwej orientacji enzymu na powierzchni i umożliwił bardzo szybki transport masy do podłoża. Biokatodę przygotowano poprzez nałożenie wielościennych nanorurek węglowych modyfikowanych grupami naftyłowymi na papier węglowy pod zmniejszonym ciśnieniem a następnie zaadsorbowano fizycznie lakazę. Gdy roztwór buforowy nasycono tlenem, na krzywej woltamperometrycznej zarejestrowanej przy pomocy biokatody z lakazą obserwowano falę katalityczną redukcji tlenu rozpoczynającą się przy potencjale $0,6\text{V}$. W przypadku biokatody pokrytej naftyłowymi nanorurkami węglowymi i lakazą osiągnięto maksymalny katalityczny prąd redukcji tlenu $-938\mu\text{A}$, a pojemność elektrody $0,05\text{F}$.

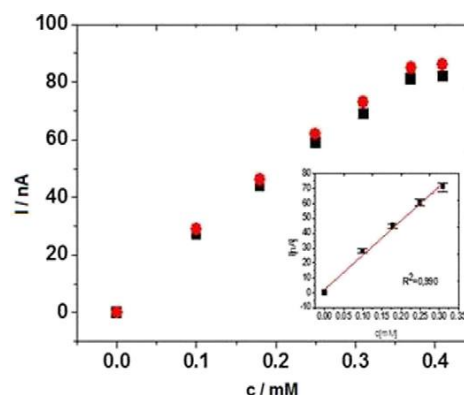
A)



B)



C)



Rys. 5 A) Schemat minipotencjostatu zasilanego przez układ superkondensatora i ogniwa, B) Układ trzech połączonych bioogniw, C) Krzywe kalibracyjne uzyskane dla tlenu w buforze McIlvaina pH 5,3 za pomocą (■) potencjostatu CHI 400B i (●) domowej roboty minipotencjostatu.

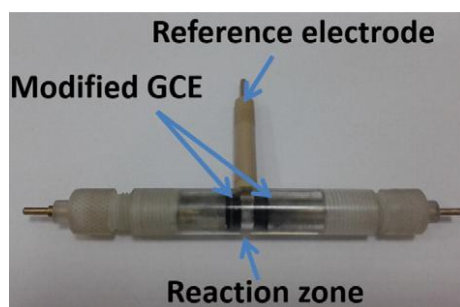
Zastosowano przepływowy układ cylindryczny do konstrukcji bioogniwa z badanymi bioelektrodami. Dodatkowo połączono szeregowo trzy bioogniwa i w całym układzie

bioogniw uzyskano potencjał otwartego ogniwa około 2V. Taki zestaw zastosowano do zasilania domowej roboty minipotencjostatu. W tym układzie bateria zbudowana z trzech połączonych bioogniw ładowała superkondensator, a superkondensator akumulował ładunek i w systemie pulsowym zasiliał minipotencjostat. Układ pracował w trybie pulsowym i został zastosowany do mierzenia dwuelektrodowego sensora tlenowego. W sensorze tlenowym elektrodę pomiarową stanowiła dyskowa elektroda z węgla szklanego pokryta wielościennymi nanorurkami węglowymi modyfikowanymi grupami naftyłowymi i zaadsorbowaną lakazą, a drugą elektrodą była elektroda odniesienia Ag/AgCl. Eksperymenty chronoamperometryczne wykonano zarówno przy użyciu potencjostatu CHI 400B, jak i specjalnie zaprojektowanego minipotencjostatu domowej roboty zasilanego układem szeregowo połączonych trzech bioogniw. Krzywe kalibracyjne zarejestrowane za pomocą potencjostatu CHI 400 B i minipotencjostatu były prawie identyczne. Prąd mierzono w funkcji stężenia tlenu od 0 do 0,4mM i obserwowano zakres liniowy do stężenia 0,3mM tlenu w roztworze badanym (Rys. 5C). Zaproponowany zintegrowany układ z powodzeniem można zastosować jako układ sprzężony do pomiarów stężenia tlenu. Badania te dają nadzieję, iż enzymatyczne ogniwa paliwowe rzeczywiście mogą być zastosowane do zasilania małych urządzeń.

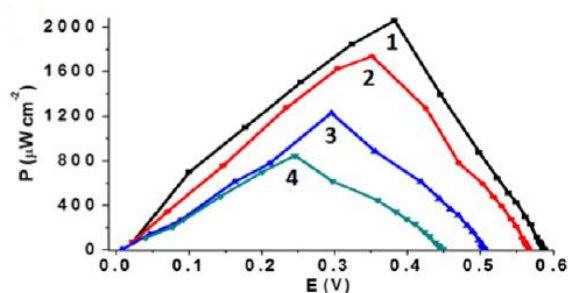
W pracy [H9] zastosowałem wyżej opisany kompozyt nanocelulozy/polipirol do przygotowania kolejnych bioelektrod. Materiał ten ma właściwości pojemnościowe i dzięki temu udoskonalono pracę bioogniw, to znaczy osiągnięto większe gęstości mocy i różnicę potencjałów. Urządzenie miało nie tylko właściwości generowania energii w reakcji katalitycznej, ale także możliwość akumulowania ładunku. Takie urządzenia nazywa się biosuperkondensatorami^{3,41}. Wykazałem jako pierwszy, że enzym lakazy po adsorpcji fizycznej na kompozycie nanocelulozy/polipirolu zachowuje aktywność katalityczną i wykazuje bezmediatorowe, bezpośrednie przeniesienie elektronu w reakcji redukcji tlenu. Na elektrodach z dehydrogenazą fruktozy proces katalityczny zachodził przy niewielkim nadpotencjale -0,15V względem Ag/AgCl i osiągnięto bardzo duży maksymalny prąd katalityczny około 8,6mA/cm². Elektroda odznaczała się także wysoką trwałością w czasie. Za pomocą katody modyfikowanej lakazą zredukowano tlen przy potencjale 0,41V vs. Ag/AgCl, a prąd katalityczny osiągał wartość 1,2mA/cm². W celu poprawy właściwości bioanody z kompozytem, do jej modyfikacji zastosowano kwas – α – pirolowy, wprowadzając dużą populację grup karboksylowych na powierzchni polimeru (CPPy-COOH-FDH). Ich obecność poprawiła stabilność elektrody poprzez lepiej zorientowaną adsorpcję cząsteczek FDH. Wynikiem był obserwowany wzrost maksymalnej gęstości prądu katalitycznego do

około $13,1\text{mA}/\text{cm}^2$. W celu poprawy potencjału katalitycznego oraz stabilności enzymu na katodzie, przeprowadzono elektroosadzanie ABTS i pirołu na powierzchni elektrody (CPPy-Lac-ABTS). Podczas tego procesu w sieci powstającego polimeru na powierzchni kompozytu pułapkowano enzym. Dzięki temu uzyskano poprawę stabilności pracy elektrody, wzrost potencjału katalitycznego o $0,09\text{V}$ oraz zwiększenie maksymalnego prądu katalitycznego. Za pomocą tak przygotowanej bioelektrody uzyskano gęstość prądu katalitycznego około $2,1\text{mA}/\text{cm}^2$ przy potencjale $+0,45\text{V}$ wobec Ag/AgCl. Elektroda wykazywała również aktywność katalityczną przez tydzień. Niestety trwałość tej elektrody w czasie, była niższa w porównaniu do bioanody. Elektrody zbadano w specjalnie zaprojektowanym ogniwie i wykonanym we współpracy z prof. Jerzym Golimowskim (Rys. 6A). Urządzenie było wykonane z przezroczystego pleksiglasu, co umożliwiło precyzyjne określenie odległości pomiędzy elektrodami.

A)



B)



Rys. 6 A) Urządzenie używane do pomiarów elektrochemicznych i w bioogniwie, B) Moc w funkcji napięcia bioogniwa dla różnych okresów kondycjonowania bioogniwa przed pomiarem; 1-24h, 2-8h, 3-6h, 4-0h.

Bioogniwo składające się z wyżej wymienionych bioelektrod wykazywało na początku OCV $0,45\text{V}$ i maksymalną moc ok. $0,8\text{mW}/\text{cm}^2$. W ogniwie spadek potencjału obu elektrod (katody i anody) był prawie symetryczny. Wykazano również, iż generowana przez ogniwo moc zależna jest od czasu ładowania ogniwa przed zastosowaniem (Rys. 6B). Ogniwo osiąga maksymalną moc po 24h, co można wyjaśnić procesem ładowania bioelektrod. W czasie pomiarów moc bioogniwa nie malała a rosła i po 24 godzinach osiągnęła OCV równe $0,6\text{V}$, maksymalną gęstość prądu $7,7\text{mA}/\text{cm}^2$ i maksymalną gęstość mocy $2,1\text{mW}/\text{cm}^2$ przy obciążeniu $1\text{k}\Omega$. To sugeruje, że prąd pojemnościowy jest istotną częścią całkowitej mocy elektrycznej i układ z czasem gromadzi ładunek. Zachowuje się jak biosuperkondensator. Zaprojektowane urządzenie pozwalało także na precyzyjne kontrolowanie odległości pomiędzy bioelektrodami. W przypadku bioogniwa CPPy-COOH-FDH / CPPy-ABTS-Lac uzyskałem największą gęstość mocy i OCV po czasie 24h, stosując najmniejszą odległość

między elektrodami, to jest 1mm. Po upływie tego okresu ładowania, ogniwo paliwowe mogło pracować przez cały tydzień z 60-procentową stratą początkowo generowanej gęstości mocy. Bioogniwo z zastosowaniem kompozytu nanocelulozy/polipirołu jest bardziej stabilne, charakteryzuje się dużą żywotnością i można osiągnąć dużo większe gęstości mocy w porównaniu do tych, gdzie zastosowano nanorurki niemodyfikowane czy też modyfikowane.

W pracy [H10] udoskonaliłem biokatody opisano przez Cavaco-Paulo oraz współpracowników⁴². Do unieruchomienia promazyny lub acetosyringonu zastosowałem nanorurki węglowe i przeprowadziłem proces katalitycznej redukcji tlenu w obecności lakazy. Promazynę stosuje się w psychiatrii jako lek uspokajający i antywymiotny⁴³. Acetosyringon pełni funkcję indykatora uszkodzenia tkanki w roślinach dwuliściennych, który informuje roślinę o potrzebie jej zregenerowania⁴⁴. Dzięki zastosowaniu nanorurek węglowych, uzyskałem 1000 krotnie wyższe gęstości prądu katalitycznego redukcji tlenu w obecności lakazy. Badane układy zastosowałem nie tylko do konstrukcji biobaterii ale także do konstrukcji czujnika tlenowego. Bioelektrody GCE przygotowano przez osadzenie wielościennych nanorurek węglowych. Następnie elektrochemicznie osadzono mediator acetosyringon (ASYR) lub promazynę (PRZ) i w kolejnym kroku lakazę. Dzięki temu uzyskano poprawę efektywności pracy biokatody, w porównaniu do elektrody GCE modyfikowanej tylko lakazą. Na krzywych woltamperometrycznych zarejestrowanych za pomocą elektrod pokrytych nanorurkami węglowymi, mediatorami i lakazą obserwowano dobrze wykształcone fale katalityczne oraz wzrost prądu redukcji tlenu. Użycie mediatorów doprowadziło do zwiększenia gęstości prądów katalitycznych o 40% dla unieruchomionej promazyny i lakazy oraz o 82% dla zaadsorbowanego acetosyringonu i lakazy, w porównaniu do elektrod GCE pokrytych nanorurkami węglowymi i lakazą. Badane biokatody użyto do konstrukcji biobaterii. Najlepszym mediatorem do przygotowania biobaterii był acetosyringon, ponieważ uzyskano największe wartości gęstości mocy $1853,9\mu\text{W}/\text{cm}^2$ przy oporze $5\text{k}\Omega$. Obserwowano także niski spadek napięcia w czasie 14 dni obciążania biobaterii różnymi oporami $10\text{M}\Omega$, 100 oraz $10\text{k}\Omega$. Badane układy zastosowałem również do konstrukcji czujników enzymatycznych do oznaczania tlenu w zakresie stężeń od $0,0$ do $0,3\text{mM}$.

IV. Podsumowanie cyklu publikacji.

Najważniejsze aspekty nowości naukowej:

- jako pierwszy pokazałem, że odpowiednio aktywowane elektrody diamentowe domieszkowane borem umożliwiają bezmediatorową, katalityczną redukcję tlenu przy potencjale około +0,6V vs. Ag/AgCl, a więc bliską potencjałowi formalnemu redukcji tlenu do wody. Katalizatorem była lakaza rozpuszczona w roztworze lub unieruchomiona w warstwie ciekłokrystalicznej, lipidowej mezofazy umieszczonej na elektrodzie.

- uzyskałem także proces katalitycznej redukcji tlenu przy potencjale około +0,6V względem elektrody chlorosrebrowej (a więc ok. +0,8V względem normalnej elektrody wodorowej) dzięki zastosowaniu niemodyfikowanych nanorurek węglowych i mikrocząstek węgla umieszczonych na elektrodzie z węgla szklistego w obecności lakazy. Gęstości prądu redukcji tlenu były od 10 do 40 razy większe w porównaniu do gęstości prądu osiąganego przy użyciu elektrody diamentowej domieszkowanej borem.

- jako pierwszy unieruchomiłem na elektrodzie nanorurki węglowe kowalencyjnie modyfikowane mediatozem - kwasem 2,2'-azobis-(3-etylobenzotriazo-sulfonowym) (ABTS) i zbadałem wpływ różnych modyfikacji nanorurek węglowych ABTS na katalityczną redukcję tlenu w obecności lakazy. Poprzez zastosowanie modyfikacji nanorurek ABTS znacząco zwiększają się prądy redukcji tlenu.

- dalszy postęp w zakresie gęstości prądu katalitycznej redukcji tlenu uzyskałem wprowadzając, jako pierwszy, nanorurki węglowe kowalencyjnie modyfikowane na bokach oraz na końcach nieelektroaktywnymi grupami fenyłowymi, grupami naftyłowymi, grupami terfenyłowymi, grupami antracenyłowymi lub elektroaktywnymi grupami antrachinonowymi. Te modyfikacje utrzymują bezmediatorowy mechanizm redukcji tlenu, ale znacząco zwiększają gęstość prądu katalitycznego. Chemicznie modyfikowane nanomateriały węglowe posłużyły jako „anten” do transportu elektronów pomiędzy enzymami a powierzchnią elektrody, co znacznie poprawiło wydajność katody.

- jako pierwszy zastosowałem nanorurki węglowe modyfikowane kowalencyjnie ferrocenem oraz nanorurki węglowe kowalencyjnie modyfikowane jednocześnie oksydazą glukozy i katalazą do katalitycznego utleniania glukozy i użyłem tę anodę w konstrukcji pełnego bioogniwa.

- opracowane elektrody zastosowałem w zintegrowanym układzie bioogniwa lub biobaterii (tak dla uproszczenia nazywam ogniwo hybrydowe z anodą cynkową), w którym w trakcie pomiaru ogniwo poddawane było zmianom oporu w szerokim zakresie. Dodatkowo zastosowałem w układzie – chlorosrebrową elektrodę odniesienia, która pozwoliła kontrolować potencjał każdej z elektrod podczas pracy ogniwa i ocenić, która z elektrod jest czynnikiem limitującym moc ogniwa. Najlepsza biobateria dawała gęstość $3,5\text{mW/cm}^2$ przy oporze $1\text{k}\Omega$ i różnicy potencjałów $0,5\text{V}$, co należy do najlepszych parametrów enzymatycznych ogniw hybrydowych opisanych w literaturze.

- zastosowałem bioogniwa przepływowe zintegrowane z superkondensatorem do zasilania specjalnie skonstruowanego domowej roboty minipotencjostatu. Bioogniwa ładowały superkondensator, a superkondensator akumulował ładunek i w systemie pulsowym zasiliał minipotencjostat. Cały zintegrowany system połączono z sensorem do mierzenia stężenia tlenu.

- we współpracy z grupą prof. Leifa Nyholma, jako pierwsi zastosowaliśmy do utleniania fruktozy nowy materiał kompozytowy: nanocelulozę z polipirolem i zaadsorbowaną na nim FDH. Kompozyt umożliwia odpowiednią orientację enzymu i bezmediatorowe przeniesienie elektronów. Bioogniwo z anodą zbudowaną z pseudopojemnościowego kompozytu nanocelulozy/polipirołu z FDH i lakazą na katodzie gromadzi ładunek, więc zachowuje się jak biosupekondensator. Uzyskano korzystne parametry pracy ogniwa: potencjał otwartego obwodu wynosił $0,6\text{V}$, maksymalna gęstość prądu wynosiła $7,7\text{mA/cm}^2$, a maksymalna gęstość mocy $2,1\text{mW/cm}^2$ (przy obciążeniu ogniwa oporem $1\text{k}\Omega$).

V. Literatura

¹ P.N Bartlett, Bioelectrochemistry, Chapter 1, Bioenergetics and Biological Electron Transfer, John Wiley&Sons (2008) 1 - 38,

² S. Cosnier, M. Holzinger, A. Le Goff, Recent advances in carbon nanotube-based enzymatic fuel cells, Frontiers in bioengineering and biotechnology 2 (2014) 45,

³ M. Zhou, Recent progress on the development of biofuel cells for self-powered electrochemical biosensing and logic biosensing: A review, Electroanal. 27 (2015) 1786 - 1810,

⁴ W.R. Grove, On voltaic series and the combinations of gases by platinum, Phil. Mag. 14 (1839) 127 - 130,

⁵ C.F. Schönbein, On the voltaic polarization of certain solid and fluid substances, Phil. Mag. 18 (1839) 43 - 45,

- ⁶ M.E. Himmel, J.O. Baker, R.P. Overend, G.T.R. Palmore, G.M. Whitesides, Microbial and enzymatic biofuel cells, Enzymatic conversion of biomass for fuels production, ACS Books, American Chemical Society (1994) 14,
- ⁷ J.A. Cracknell, K.A. Vincent, F.A. Armstrong, Enzymes as working or inspirational electrocatalysts for fuel cells and electrolysis, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2439 - 2461,
- ⁸ P. Cinquin, Ch. Gondran, F. Giroud, S. Mazabrard, A. Pellissier, F. Boucher, J.P. Alcaraz, K. Gorgy, F. Lenouvel, S. Mathe, P. Porcu, S. Cosnier, A glucose biofuel cell implanted in rats, *PLoS ONE* 5 (2010) e10476,
- ⁹ A. Heller, Miniature biofuel cells, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004) 209 - 216,
- ¹⁰ M. Sosna, J.M. Chrétien, J.D. Kilburn, P.N. Bartlett, Monolayer anthracene and anthraquinone modified electrodes as platforms for *Trametes hirsuta* laccase immobilisation, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (2010) 10018 - 10026,
- ¹¹ R.A.S. Luz, A.R. Pereira, J.C.P. de Souza, F.C.P.F. Sales, F.N. Crespilho, Enzyme biofuel cells: thermodynamics, kinetics and challenges in applicability, *ChemElectroChem* 1 (2014) 1751 - 1777,
- ¹² M. Kizling, R. Bilewicz, Fructose dehydrogenase electron transfer pathway in bioelectrocatalytic reactions, *ChemElectroChem* 5 (2018) 166 -174,
- ¹³ G.C. Zhao, Z.Z. Yin, L. Zhang, X.W. Wei, Direct electrochemistry of cytochrome c on a multi-walled carbon nanotubes modified electrode and its electrocatalytic activity for the reduction of H₂O₂, *Electrochem. Commun.* 7 (2005) 256 - 260,
- ¹⁴ B. Moghaddam, M. R. Ganjali, R. Dinarvand, T. Razavi, A.A. Saboury, A.A. Moosavi-Movahedi, P. Norouzi, Direct electrochemistry of cytochrome c on electrodeposited nickel oxide nanoparticles, *J. Electroanal. Chem.* 614 (2008) 83 - 92,
- ¹⁵ X. Zuo, S. He, D. Li, C. Peng, Q. Huang, S. Song, C. Fan, Graphene oxide-facilitated electron transfer of metalloproteins at electrode surfaces, *Langmuir* 26 (2010) 1936 – 1939,
- ¹⁶ B.M. Brena, F. Batista-Viera, *Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cell*, Humana Press, Totowa, Nowy Jork, 2006,
- ¹⁷ J. Xu, M.C. Granger, Q. Chen, J.W. Strojek, T.E. Lister, G.M. Swain, Diamond thin films could be an electrochemist's best friend, *Anal. Chem.* 69 (19) (1997) 591A - 597A,
- ¹⁸ P. J. McEvoy, J.S. Foord, Direct electrochemistry of blue copper proteins at boron-doped diamond electrodes, *Electrochim. Acta* 50 (2005) 2933 - 2941,
- ¹⁹ P.A. Nistor, P.W. May, Diamond thin films: giving biomedical applications a new shine, *J. R. Soc. Interface* 14 (2017) 20170382,
- ²⁰ F. Marken, C.A. Paddon, D. Asogan, Direct cytochrome c electrochemistry at boron-doped diamond electrodes, *Electrochem. Commun.* 4 (2002) 62 - 66,
- ²¹ J. Briggs, H. Chung, M. Caffrey, The temperature-composition phase diagram and mesophase structure characterization of the monoolein/water system, *J. Phys. II.* 6 (1996) 723
- ²² S.C. Barton, J. Gallaway, P. Atanassov, Enzymatic biofuel cells for implantable and microscale devices, *Chem. Rev.* 104 (2004) 4867 - 4886,
- ²³ G. Tayhas, R. Palmore, H.H. Ki, Electro-enzymatic reduction of dioxygen to water in the cathode compartment of a biofuel cell, *J. Electroanal. Chem.* 464 (1999) 110 - 117,
- ²⁴ I. Zawisza, J. Rogalski, M. Opallo, Electrocatalytic reduction of dioxygen by redox mediator and laccase immobilized in silicate thin film, *J. Electroanal. Chem.* 588 (2006) 244 - 252,
- ²⁵ P. Kavanagh, P. Jenkins, D. Leech, Electroreduction of O₂ at a mediated *Melanocarpus albomyces* laccase cathode in a physiological buffer, *Electrochem. Commun.* 10 (2008) 970 - 972,
- ²⁶ E. Katz, H. Sheeney, I. Willner, Electrical contacting of glucose oxidase in a redox-active rotaxane configuration, *Angewandte Chemie (English)* 43 (2004) 3292 - 3300,

- ²⁷ F. Gao, O. Courjean, N. Mano, An improved glucose/O₂ membrane-less biofuel cell through glucose oxidase purification, *Biosens. Bioelectron.* 25 (2009) 356 - 361,
- ²⁸ S. Tsujimura, K. Kano, T. Ikeda, Glucose/O₂ biofuel cell operating at physiological conditions, *Electrochem.* 70 (2002) 940 - 942,
- ²⁹ T. Ikieda, K. Kano, Bioelectrocatalysis-based application of quinoproteins and quinoprotein-containing bacterial cells in biosensors and biofuel cells, *Biochim. Biophys. Acta* 1647 (2003) 121 - 126,
- ³⁰ J. Okuda, K. Sode, PQQ glucose dehydrogenase with novel electron transfer ability, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314 (2004) 793 - 797,
- ³¹ D. Wen, X. Xu, S. Donga, A single-walled carbon nanohorn-based miniature glucose/air biofuel cell for harvesting energy from soft drinks, *Energy Environ. Sci.* 4 (2011) 1358 - 1363,
- ³² Y. Kamitaka, S. Tsujimura, N. Setoyama, T. Kajino, K. Kano, Fructose/dioxygen biofuel cell based on direct electron transfer-type bioelectrocatalysis, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007) 1793 - 1801,
- ³³ T. Miyake, K. Haneda, S. Yoshino, M. Nishizawa, Flexible, layered biofuel cells, *Biosens. Bioelectron.* 40 (2013) 45 - 49,
- ³⁴ K. MacVittie, J. Halamek, L. Halamkova, M. Southcott, W.D. Jemison, R. Lobel, E. Katz, From “cyborg” lobsters to a pacemaker powered by implantable biofuel cells, *Energy Environ. Sci.* 6 (2013) 81 - 86,
- ³⁵ A. Zebda, S. Cosnier, J.P. Alcaraz, M. Holzinger, A. Le Goff, C. Gondran, F. Boucher, F. Giroud, K. Gorky, H. Lamraoui, P. Cinquin, Single glucose biofuel cells implanted in rats power electronic devices, *Scient. Rep.* 3 (2013) 1516,
- ³⁶ M. Falk, M. Alcalde, P. N. Bartlett, A.L. De Lacey, L. Gorton, C. Gutierrez – Sanchez, R. Haddad, J. Killburn, D. Leech, R. Ludwig, E. Magner, D.M. Mate, P.O. Conghaile, R. Ortiz, M. Pita, S. Poller, T. Ruzgas, U. Salaj Kosla, W. Schuhmann, F. Sebelius, M. Shao, L. Stoica, C. Sygmond, J. Tilly, M.D. Toscano, J. Vivekananthan, E. Wright, S. Shleev, Self-powered wireless carbohydrate/oxygen sensitive biodevice based on radio signal transmission, *PloS ONE* 9 (2014) e109104,
- ³⁷ D. Pankratov, P. Falkman, Z. Blum, S. Shleev, A hybrid electric power device for simultaneous generation and storage of electric energy, *Energy Environ. Sci.* 7 (2014) 989 - 996,
- ³⁸ D. Pankratov, Z. Blum, S. Shleev, Hybrid electric power devices, *ChemElectroChem* 1 (2014) 1798 - 1807,
- ³⁹ S. Shleev, E. González-Arribas, M. Falk, Review article biosupercapacitors, *Curr. Opin. Electrochem.* 5 (2017) 226 - 233,
- ⁴⁰ F. Conzuelo, A. Ruff, W. Schuhmann, Review Article Self-powered bioelectrochemical devices, *Curr. Opin. Electrochem.* (2018) 1 - 8,
- ⁴¹ D. Pankratov, Z. Blum, D.B. Suyatin, V.O. Popov, S. Shleev, Self-charging electrochemical biocapacitor, *ChemElectroChem* 1 (2014) 343 - 346,
- ⁴² C. Fernandez-Sanchez, T. Tzanov, G.M. Gubitz, A. Cavaco-Paulo, Voltammetric monitoring of laccase-catalysed mediated reactions, *Bioelectrochem.* 58 (2002) 149 - 156,
- ⁴³ F.J. Lara, A.M. Garcya-Campana, F. Ales-Barrero, J.M. Bosque-Sendra, Determination of thiazinamium, promazine and promethazine in pharmaceutical formulations using a CZE method, *Anal. Chim. Acta* 535 (2005) 101 - 108,
- ⁴⁴ C.J. Baker, N.M. Mock, B.D. Whitaker, D.P. Roberts, C.P. Rice, K.L. Deahl, A.A. Aver' Yanov, Involvement of acetosyringone in plant-pathogen recognition, *Biochem. Biophys. Research Commun.* 328 (2005) 130 - 136.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.A Podsumowanie dorobku naukowego

Liczba publikacji: **33**

Liczba publikacji po uzyskaniu stopnia doktora: **28**

Sumaryczny Impact Factor: **83,824**

Raport cytowań (Web of Science, dane z dnia 09.01.2019r.)

Liczba cytowań = **400** (12,1 cytowań na publikację)

Liczba cytowań bez autocytowań = **337** (10,2 cytowań na publikację)

Indeks Hirscha H = **11**

5.B Publikacje stanowiące dorobek naukowy (poza cyklem publikacji wymienionych w punkcie 4) przed uzyskaniem stopnia doktora, opublikowane w czasopismach z bazy Journal Citation Reports

P1. K. Stolarczyk, R. Bilewicz*, L. Siegfried, T. Kaden, „The dual role of self assembled monolayers of tetraazamacrocyclic copper (II) complex in ascorbate oxidation catalysis”, *Inorganica Chimica Acta* 348 (2003) 129 - 134
IF(2003) = 1.578; liczba cytowań: 10

P2. K. Stolarczyk, R. Bilewicz*, A. Skwierawska, J.F. Biernat, „Functionalization of electrode surfaces with monolayers of azocompounds and gold clusters”, *Journal of Inclusion Phenomena* 49 (2004) 173 - 179
IF(2004) = 0.825; liczba cytowań: 6

P3. K. Stolarczyk, B. Pałys, R. Bilewicz*, „Catalytic properties of 4-hydroxythiophenol protected gold nanoclusters supported on gold electrodes”, *Journal Electroanalytical Chemistry* 564 (2004) 93 - 98
IF(2004) = 2.228; liczba cytowań: 15

P4. K. Stolarczyk, R. Bilewicz*, „Catalytic oxidation of ascorbic acid on 2D and 3D monolayers of 4-hydroxythiophenol”, *Electroanalysis* 16 (2004) 1609 - 1615
IF(2004) = 2.038; liczba cytowań: 7

P5. K. Stolarczyk, R. Bilewicz*, „Electron transport through alkanethiolate films decorated with monolayer protected gold clusters”, *Electrochimica Acta* 51 (2006) 2358 - 2365
IF(2006) = 2.955; liczba cytowań: 17

W tej części mojego dorobku naukowego [P1-P5] metodą samoorganizacji przygotowałem elektrody modyfikowane monowarstwami wybranych związków organicznych lub warstwami nanocząstek złota i nadałem przez to elektrodzie właściwości katalityczne lub funkcje rozróżniania molekularnego związków w roztworze.

W pracy [P1] wykazałem katalityczne właściwości tetraazamakrocyklicznego kompleksu miedzi unieruchomionego chemicznie na elektrodzie złotej. Układ ten katalizuje utlenianie askorbinianów. W obecności tlenu i askorbinianów, kompleks, unieruchomiony na elektrodzie pełni podwójną rolę, gdyż katalizuje zarówno elektROUTLENIANIE jak i autOUTLENIANIE askorbinianów. Jest to korzystne z punktu widzenia zastosowania, ponieważ askorbiniany można oznaczać na podstawie sygnału utlenienia kwasu askorbinowego, bądź też wykorzystując sygnał redukcji nadtlenu wodoru.

Badany w pracy [P2] związek azokoronowy, unieruchomiony za pomocą grupy tiolowej na elektrodzie, może być wykorzystany jako swoisty chemiczny „generator” nanocząstek złota i ich ugrupowań. Takie układy można zastosować do osadzania metalicznych kontaktów i tworzenia powierzchni przewodzących o zaplanowanej strukturze.

Istotnym i trudnym eksperymentalnie zagadnieniem było zastosowanie związków organotiolowych [P3-P5] do przygotowania uporządkowanych układów nanocząstek złota, unieruchomionych na elektrodzie poprzez wiązania kowalencyjne lub oddziaływania niekowalencyjne. Rezultatem przeprowadzonych w tych pracach badań było wykazanie zdolności nanocząstek złota do gromadzenia ładunku i do efektywnego transportowania go pomiędzy elektrodą a związkiem w roztworze. Wykazałem, że stężenie nanocząstek złota i czas adsorpcji mają wpływ na efektywność transportu elektronów pomiędzy elektrodą i elektroaktywnym związkiem w roztworze. Pojedyncza nanocząstka może być rozpatrywana jako kondensator kulisty, a układ nanoczątek złota można traktować jako układ połączonych kondensatorów. Te specyficzne właściwości badanego układu wykorzystałem w utlenianiu kwasu askorbinowego i 3,4-dihydroksyfenyloalaniny. W obu przypadkach obserwowałem wzrost prądu i zmniejszenie nadpotencjału utleniania związku, co może znaleźć zastosowanie w badaniach neurotransmiterów i w czujnikach elektrochemicznych tych substancji.

5.C Publikacje stanowiące dorobek naukowy (poza cyklem publikacji wymienionym w punkcie 4) po uzyskaniu stopnia doktora, opublikowane w czasopismach z bazy Journal Citation Reports

- tematyka prac związana z bioelektrodami i ogniwami

P6. K. Sadowska, E Jabłonowska, **K. Stolarczyk**, R. Wisler, R. Bilewicz, K.P. Roberts, J.F. Biernat*, „Chemically modified carbon nanotubes: synthesis and implementation”, Polish Journal of Chemistry 82 (2008) 1309 - 1313
IF(2008) = 0,518

P7. R. Bilewicz*, **K. Stolarczyk**, K. Sadowska, J. Rogalski, J.F. Biernat, „Carbon nanotubes derivatized with mediators for laccase catalyzed oxygen reduction”, ECS Transactions 19 (2009) 27 - 36
liczba cytowań: 6

P8. R. Bilewicz, E. Nazaruk, K. Żelechowska, J.F. Biernat*, **K. Stolarczyk**, K.P. Roberts, G. Ginalska, J. Rogalski, „Carbon nanotubes chemically derivatized with redox systems as mediators for biofuel cell applications”, Biocybernetics and Biomedical Engineering 31 (2011) 17 - 30
IF(2011) = 0.234; liczba cytowań: 6

P9. K. Żelechowska*, **K. Stolarczyk**, D. Łyp, J. Rogalski, K.P. Roberts, R. Bilewicz, J.F. Biernat, „Aryl and N-arylamide carbon nanotubes for electrical coupling of laccase to electrodes in biofuel cells and biobatteries”, Biocybernetics and Biomedical Engineering. 33 (2013) 235 - 245
IF(2013) = 0,157, liczba cytowań: 9

P10. K. Żelechowska, **K. Stolarczyk**, D. Łyp, J. F. Biernat, J. Rogalski, R. Bilewicz*, „Materials for mediator-free electron transfer in the enzymatic electrodes of biobatteries and biofuel cells”, ECS Transactions 45 (11) (2013) 1 - 8
liczba cytowań: 2

P11. D. Majdecka, S. Dramińska, **K. Stolarczyk**, M. Kizling, P. Krysiński, J. Golimowski, R. Bilewicz*, „Sandwich biobattery with enzymatic cathode and zinc anode for powering sensors”, ECS Transaction 61 (2014) 1 - 7
liczba cytowań = 0

P12. M. Skunik-Nuckowska, K. Grzejszczyk, **K. Stolarczyk**, R. Bilewicz, P.J. Kulesza*, „Integration of supercapacitors with enzymatic biobatteries towards more effective pulse-powered use in small-scale energy harvesting devices“, Journal of Applied Electrochemistry 44 (2014) 497 - 507
IF(2014) = 2,409, liczba cytowań: 18

P13. D. Majdecka, S. Draminska, **K. Stolarczyk**, M. Kizling, P. Krysinski, J. Golimowski, J.F. Biernat, R. Bilewicz*, „Sandwich biobattery with enzymatic cathode and zinc anode integrated with sensor”, Journal of The Electrochemical Society 162 (6) (2015) F555 - F559
IF (2015) = 3,014; liczba cytowań: 8

P14. I. Mazur, B. Rola, **K. Stolarczyk**, E. Nazaruk, R. Bilewicz, J. Rogalski*, S. Ohga*, „The large scale production of *Cerrena unicolor* laccase on waste”, *Agricultural Based Media Journal - Faculty of Agriculture Kyushu University* 60 (2) (2015) 297 - 302
IF(2015) = 0,216; liczba cytowań: 2

P15. M. Kizling, P. Biedul, D. Zabost, **K. Stolarczyk**, R. Bilewicz*, „Application of hydroxyethyl methacrylate and ethylene glycol methacrylate phosphate copolymer as hydrogel electrolyte in enzymatic fuel cell”, *Electroanalysis* 28 (2016) 2444 - 2451
IF(2016) = 2,851; liczba cytowań: 5

P16. M. Kizling, M. Dzwonek, B. Olszewski, P. Bącał, Ł. Tymecki, A. Więckowska, **K. Stolarczyk**, R. Bilewicz*, „Reticulated vitreous carbon as a scaffold for enzymatic fuel cell designing”, *Biosensors and Bioelectronics* 95 (2017) 1 - 7
IF(2017) = 8,173; liczba cytowań: 10

W badaniach [P6-P11] wykazałem, że modyfikacja nanorurek węglowych różnymi grupami aryłowymi lub mediatorami ma pozytywny wpływ na orientację cząsteczek enzymu względem powierzchni elektrody oraz skraca dystans tunelowania elektronu. Układy te służą jako „anteny” transportu elektronów pomiędzy enzymami a powierzchnią elektrody i znacznie poprawiają proces katalityczny, a mediatory nie wpływają do roztworu. Badane układy zastosowano do konstrukcji biobaterii i bioogniw.

Istotnym tematem tych badań [P12] było połączenie właściwości katalitycznych i pojemnościowych w jednym urządzeniu. Wraz z zespołem badawczym dr Skunik-Nuckowskiej zaprezentowałem połączenie superkondensatora węglowego z hybrydowym bioogniwem enzymatycznym, które zastosowałem do zasilania zegarka. W biobaterii napięcie otwartego ogniwa wynosiło 1,65V, a maksymalną moc 1,8mW/cm² osiągało pod obciążeniem 1kΩ i napięciu 0,7V. Wykazano, iż zastosowanie układu o wysokiej pojemności może wydajnie wspierać ogniwo enzymatyczne, znacznie poprawiając jego parametry prądowe przy pulsowym trybie działania, umożliwiającym ładowanie kondensatora i zasilania urządzeń zewnętrznych o wysokim poborze mocy takich jak zegarek z alarmem czy światłem.

W pracy [P13] zastosowałem biobaterię połączoną z superkondensatorem do zasilania domowej roboty minipotencjostatu, który zintegrowałem z czujnikiem do mierzenia stężenia katecholu. W układzie dwuelektrodowym sensora z elektrodą odniesienia Ag/AgCl wykazano, w badaniach amperometrycznych, że przy dodatku katecholu otrzymuje się liniową zależność prądu od stężeniem katecholu w zakresie od 0 do 2mM katecholu. Badania wykonane za pomocą domowej roboty minipotencjostatu porównano z badaniami wykonanymi za pomocą tego samego sensora, ale mierzonego za pomocą klasycznego potencjostatu firmy Autolab. Krzywe zależności prądu od stężenia katecholu wykonane za

pomocą dwóch różnych urządzeń były takie same. Nasz minipotencjostat zasilany biobaterią może z powodzeniem być używany do pomiarów z zastosowaniem różnych sensorów.

Z punktu widzenia zastosowania badanych układów ważne jest, aby w biobaterii lub bioogniwie zastosować stały albo pseudostały elektrolit. Jest to związane z bezpiecznym zastosowaniem tych urządzeń. W moich badaniach podjąłem skuteczne próby zastosowania elektrolitu zbudowanego z żelu do konstrukcji biobaterii i bioogniwa [P15]. Z powodzeniem zsyntetyzowano kopolimer 2-hydroksyetylometakrylanu (HEMA) i fosforanu 2-hydroksyetylometakrylanu (EGMP) aby zastosować je jako pseudostały elektrolit w enzymatycznych ogniwach paliwowych. Przygotowane hydrożele wykorzystano jako elektrolit w pomiarach elektrochemicznych elektrod enzymatycznych opartych na zmodyfikowanych nanorurkach węglowych. Maksymalna gęstość prądu wytwarzana przez anodę pokrytą jednościennejmi nanorurkami węglowymi (SWCNT) modyfikowanymi grupą aminową (SWCNT-NH₂), dehydrogenazą fruktozową wynosiła 5,7mA/cm² w 100mM fruktozy, a potencjał początkowy katalizy wynosił -0,12V względem Ag/AgCl. Katoda wykonana z nanorurek węglowych modyfikowanych grupami naftyłowymi i lakazą dawała maksimum gęstość prądu 0,9mA/cm² i potencjał początkowy katalizy 0,6V względem Ag/AgCl. W elektrolicie hydrożelowym nie zaobserwowano dodatkowego nadpotencjału reakcji katalitycznej, a spadek prądu elektrokatalitycznego osiągnął tylko 5% w porównaniu z elektrolitem wodnym. Pełne enzymatyczne ogniwo paliwowe z elektrolitem hydrożelowym wykazywało maksymalną gęstość mocy 0,198mW/cm².

Kolejnym moim ważnym osiągnięciem było zastosowanie do konstrukcji objętościowych bioelektrod z porowatego węgla (Reticulated Vitreous Carbon (RVC)) [P16]. Porowate elektrody użyto jako rusztowania do modyfikacji ich powierzchni nanocząstkami złota i enzymami. Zastosowanie materiału trójwymiarowego typu RVC spowodowało skuteczne, kowalencyjne unieruchomienie enzymu FDH i lakazy, a przez to zapewniło najlepszy kontakt cząsteczek białka z powierzchnią elektrody. Enzymy po kowalencyjnym związaniu z nanocząstkami złota zachowały swoją aktywność katalityczną. Dla elektrod modyfikowanych nanocząstkami złota i dehydrogenazą fruktozową początek fali katalitycznej rozpoczynał się przy potencjale -0,14V względem Ag/AgCl (potencjał osiągnął wartość bliską położeniu termodynamicznego potencjału FDH), a wartość graniczna gęstości prądu wzrosła do 15mA/cm³. Ten wynik wskazuje, że bardzo małe nanocząsteczki złota odgrywają kluczową rolę w efektywności transportu elektronów, prawdopodobnie ze względu na ich właściwości redoks. Podobne zachowanie zaobserwowano dla elektrod z adsorbowanym

enzymem lakazy. Po unieruchomieniu nanocząstek złota o średnicy 1,8nm i lakazy na elektrodzie RVC, proces katalityczny redukcji tlenu rozpoczął się przy potencjale 0,6V względem Ag/AgCl, a gęstość prądu wynosiła około 7mA/cm³. Zastosowanie objętościowych elektrod RVC (elektrod 3D) w bioogniwie pozwoliło na znaczące zwiększenie powierzchni każdej z elektrod, a tym samym zwiększenie liczby cząsteczek enzymu na tej powierzchni. Szerokie pory materiału pozwoliły na swobodny dostęp do nich substratów i efektywne odprowadzanie produktów procesu katalitycznego. W konsekwencji prądy katalityczne na katodzie i anodzie 3D znacznie się zwiększyły i znacząco wzrosła moc bioogniwa.

- publikacje we współpracy z Instytutem Farmaceutycznym w Warszawie i Warszawskim Uniwersytem Medycznym

P17. E.U. Stolarczyk*, K. Stolarczyk[^], „Perspektywy nanotechnologii w medycynie i farmacji i jej wpływ na przemysł farmaceutyczny. Perspectives of nanotechnology in medicine and pharmacy and its influence on Pharmaceutical Industry”, Przemysł Chemiczny 86/7 (2007) 797 - 799 (artykuł przeglądowy)
IF(2007) = 0,196; liczba cytowań: 0

P18. E.U. Stolarczyk*, **K. Stolarczyk*[^]**, M. Łaszcz, M. Kubiszewski, W. Maruszak, W. Olejarz, D. Bryk, „Synthesis and characterization of genistein conjugated with gold nanoparticles and the study of their cytotoxic properties”, European Journal of Pharmaceutical Sciences 96 (2017) 176 - 185
IF(2017) = 3,466; liczba cytowań: 6

P19. W. Maruszak*, E.U. Stolarczyka, **K. Stolarczyk[^]**, „CE method for the in-process control of the synthesis of activesubstances conjugated with gold nanoparticles”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 141 (2017) 52 - 58
IF(2017) = 2,831; liczba cytowań: 1

P20. E.U. Stolarczyk*, **K. Stolarczyk***, M. Łaszcz, M. Kubiszewski, A. Leś, O. Michalak, „Pemetrexed conjugated with gold nanoparticles – Synthesis, characterization and a study of noncovalent interactions”, European Journal of Pharmaceutical Sciences 109 (2017) 13 - 20
IF(2017) = 3,466; liczba cytowań: 1

P21. E.U. Stolarczyk*, M. Łaszcz, A. Leś, M. Kubiszewski, K. Kuziak, K. Sidoryk, **K. Stolarczyk**, „Design and molecular modeling of abiraterone-functionalized gold nanoparticles”, Nanomaterials 8 (2018) 641
IF(2017) = 3,504; liczba cytowań: 0

P22. E.U. Stolarczyk, K. Sidoryk, M. Cybulski, M. Kubiszewski, **K. Stolarczyk*[^]**, „Design of therapeutic self-assembled monolayers of thiolated abiraterone”, Nanomaterials 8 (2018) 1018
IF(2017) = 3,504; liczba cytowań: 0

W pracach [P18-P22] opracowano i zoptymalizowano syntezy oraz metody badań fizykochemicznych nowych koniugatów nanocząstek złota (AuNPs) z onkologicznymi substancjami aktywnymi (API): genisteiną [P18], pemetreksedem [P19,P20], abirateronem [P21]. Badane nanocząstki złota w połączeniu z substancjami aktywnymi stanowią potencjalne nośniki leków w terapiach antynowotworowych. Opracowane metody fizykochemiczne w pracach [P18-P21] pozwoliły na pełną charakterystykę unikalnych koniugatów. Opracowane metody wprowadzają nowe podejście do pełnej charakterystyki, w szerokim zakresie jakościowym i ilościowym, nowych produktów o przewidywanych właściwościach antynowotworowych, co potwierdzono wykonując wstępne testy cytotoksyczności w pracy [P18]. Podczas badań opracowano metodologie analityczne obejmujące pomiary: elektrochemiczne, wielkości cząstek technikami transmisyjnej mikroskopii elektronowej i dynamicznego rozpraszania światła, potencjału zeta techniką elektroforetycznego rozpraszania światła, pomiary technikami Ramana, IR, UV-Vis i NMR. Ponadto określone zostały mechanizmy oddziaływań AuNPs-API na podstawie opracowanej nowej metodologii analitycznej i obliczeń dla modeli teoretycznych.

5.D Monografie, publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych, innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports

P23. E.U. Stolarczyk*, **K. Stolarczyk**[^], M. Kubiszewski, „Właściwości i zastosowanie nanocząstek złota jako selektywnych nanonośników leków w transporcie antynowotworowych substancji czynnych”, Farmacja Polska 71(2) (2015) 111 - 118 (artykuł przeglądowy)

Krzysztof Stolarczyk