

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **220927**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **393196**

(22) Data zgłoszenia: **10.12.2010**

(51) Int.Cl.

H01M 4/36 (2006.01)

H01M 4/86 (2006.01)

H01M 4/88 (2006.01)

H01M 8/16 (2006.01)

(54) **Biokatoda, sposób wykonania biokatody i ogniwo cynkowo-tlenowe**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

18.06.2012 BUP 13/12

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

29.01.2016 WUP 01/16

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT CHEMII FIZYCZNEJ POLSKIEJ
AKADEMII NAUK, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**EWA ROŻNIECKA, Kampinos, PL
MARCIN OPAŁŁO, Warszawa, PL
MARTIN JÖNSSON-NIEDZIÓŁKA,
Warszawa, PL**

**JOANNA NIEDZIÓŁKA-JÖNSSON,
Warszawa, PL
KATARZYNA SZOT, Warszawa, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Jakub Siewiesiuk

PL 220927 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest biokatoda obejmująca elektrodę szklaną, pokrytą cienką warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, oraz co najmniej jedną warstwę nanocząstek tlenku metalu zawierającą nanocząstki tlenku indu domieszkowane tlenkiem cyny, ITO_{NP} charakteryzuje się tym, że na powierzchni elektrody znajduje się zaadsorbowany enzym w postaci oksydazy bilirubiny, BOD, zaadsorbowanej bezpośrednio na powierzchni elektrody szklanej pokrytej warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, modyfikowanej nanocząstkami tlenku indu domieszkowanymi tlenkiem cyny, ITO_{NP}. Wynalazek obejmuje także sposób wykonania takiej biokatody oraz ogniwo cynkowo-tlenowe, obejmujące taką biokatodę.

Bioogniwo paliwowe jest to urządzenie elektrochemiczne, w którym energia reakcji chemicznej jest przekształcana w energię elektryczną. Do tego celu, jako biokatalizatory reakcji elektrodowych, wykorzystuje się enzymy lub całe, żywe mikroorganizmy. W bioogniwie paliwowym na bioanodzie, w wyniku utleniania biopaliwa, wytwarzane są elektrony, które następnie wykorzystywane są do redukcji nadtlenu wodoru lub ditlenu do wody zachodzącej na biokatodzie. W większości przypadków bioanody i biokatody zawierają, oprócz enzymu, także mediator – przekaźnik elektronów, który wpływa na zwiększenie wydajności bioogniwa paliwowego. Jednak obecność mediatora może wpływać na skrócenie czasu życia (działania) bioogniwa, pogorszyć stabilność jego pracy, a także skomplikować konstrukcję bioogniwa i ograniczyć możliwość jego miniaturyzacji. Z tego ostatniego względu biokatalizatory muszą być trwale unieruchomione na powierzchni elektrody (bioanody lub biokatody), a konstrukcja elektrody powinna umożliwiać bezmediatorową bioelektrokatalizę. W stanie techniki do tego celu stosowane są elektrody modyfikowane filmami otrzymanych z nanocząstek o różnej architekturze i składzie, np. zawierających nanocząstki metali, tlenków metali lub węgla. Pomimo licznych doniesień literaturowych dotyczących modyfikacji elektrod nanocząstkami metali i węgla, wykorzystanie nanocząstek tlenków metali jest mniej popularne (Chen 2001, *The Analyst* **126**: 1728–1732, Jia 2005, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **580**(2): 213–221, Li 2006, *Analytical Biochemistry* **349**: 33–40, Salimi 2006, *Electrochemistry Communications* **8**(9): 1499–1508, Zong 2006, *Langmuir* **22**: 8915–8919, Salimi 2007, *Biophysical Chemistry* **130**(3): 122–131, Salimi 2007, *Biosensors and Bioelectronics* **22**(12): 3146–3153, Zong 2007, *Analytica Chimica Acta* **582**: 361–366, Moghaddam 2008, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **614**(1–2): 83–92, Moghaddam 2008, *Journal of Applied Electrochemistry* **38**: 1233–1239, Solanki 2008, *Applied Physics Letters* **93**: 163903, Szot 2008, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **612**: 1–8, Wang 2008, *Biosensors and Bioelectronics* **23**: 1781–1787, Kim 2009, *Enzyme and Microbial Technology* **44**: 129–134, Wang 2009, *Sensors and Actuators B: Chemical* **136**(2): 332–337, Alkasir 2010, *Biosensors and Bioelectronics* **in press**, Rahman 2010, *Sensors* **10**: 4855–4886).

Unieruchamianie enzymu na powierzchni elektrody modyfikowanej nanocząstkami tlenków metali realizowane jest poprzez jednoczesne elektroosadzanie nanocząstek i biokatalizatora (Salimi 2007, *Biosensors and Bioelectronics* **22**(12): 3146–3153, Salimi 2007, *Biophysical Chemistry* **130**(3): 122–131, Kim 2009, *Enzyme and Microbial Technology* **44**: 129–134, Alkasir 2010, *Biosensors and Bioelectronics* **in press**), elektroosadzanie nanocząstek i następnie sieciowanie na nich enzymu (Alkasir 2010, *Biosensors and Bioelectronics* **in press**), adsorpcję enzymu na nanocząstkach tlenków metali, na które następnie nanosi się warstwę polimeru z nanorurkami węglowymi (Wang 2009, *Sensors and Actuators B: Chemical* **136**(2): 332–337), unieruchomienie biokatalizatora w polimerze hybrydowym (Szot 2008, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **612**: 1–8) lub w nanokompozytach polimerowych (Chen 2001, *The Analyst* **126**: 1728–1732, Jia 2005, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **580**(2): 213–221, Li 2006, *Analytical Biochemistry* **349**: 33–40, Zong 2006, *Langmuir* **22**: 8915–8919, Zong 2007, *Analytica Chimica Acta* **582**: 361–366, Solanki 2008, *Applied Physics Letters* **93**: 163903, Wang 2008, *Biosensors and Bioelectronics* **23**: 1781–1787, Wang 2009, *Sensors and Actuators B: Chemical* **136**(2): 332–337).

W stanie techniki elektrody modyfikowane nanocząstkami tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny (ITO) stosowane są do adsorpcji cytochromu c (Frasca 2010, *ChemCatChem* **2**, 839–845) oraz do unieruchamiania lakazy w polimerze hybrydowym (Szot 2008, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **612**: 1–8). Pierwsza z wspomnianych elektrod wykorzystywana jest jako biocujnik do oznaczania anionu ponadtlenkowego (O₂⁻), druga zaś jako biokatoda do mediowanej ABTS redukcji ditlenu do wody.

Nieoczekiwanie okazało się, że osadzając w prosty sposób nanocząstki ITO_{NP} na powierzchni elektrody ITO i adsorbując na nich enzym, można uzyskać elektrodę, która charakteryzuje się o wiele lepszą wydajnością bezmediatorowego procesu biokatalitycznej redukcji tlenu w porównaniu do elektrody niemodyfikowanej nanocząstkami.

Zgodnie z wynalazkiem, biokatoda obejmująca elektrodę szklaną, pokrytą cienką warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, oraz co najmniej jedną warstwę nanocząstek tlenku metalu zawierającą nanocząstki tlenku indu domieszkowane tlenkiem cyny, ITO_{NP} charakteryzuje się tym, że na powierzchni elektrody znajduje się zaadsorbowany enzym w postaci oksydazy bilirubiny, BOD, zaadsorbowanej bezpośrednio na powierzchni elektrody szklanej pokrytej warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, modyfikowanej nanocząstkami tlenku indu domieszkowanymi tlenkiem cyny, ITO_{NP}.

Korzystnie, nanocząstki ITO_{NP} mają średnice od 10 nm do 100 nm, korzystniej ok. 20 nm.

Korzystnie, obejmuje od 1 do 12 warstw nanocząstek ITO_{NP}.

Korzystnie, biokatoda dodatkowo pokryta jest warstwą sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów aldehydu glutarowego, GA, surowiczej albuminy wołowej, BSA oraz buforu McIlvaine'a.

Korzystnie, biokatoda obejmuje warstwę sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów enzymu, aldehydu glutarowego, GA oraz surowiczej albuminy wołowej, BSA.

Wynalazek dotyczy także sposobu wykonania biokatody, w którym na powierzchnię elektrody szklanej pokrytej cienką warstwą ITO nanosi się z roztworu nanocząstki tlenku metalu zawierające nanocząstki tlenku indu domieszkowane tlenkiem cyny, ITO_{NP} charakteryzujący się tym, że adsorbuje się enzym bezpośrednio na powierzchni elektrody szklanej pokrytej cienką warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, modyfikowanej nanocząstkami tlenku indu domieszkowanymi tlenkiem cyny, ITO_{NP}, poprzez zanurzenie elektrody w roztworze enzymu, przy czym adsorbowanym enzymem jest oksydaza bilirubiny, BOD.

Korzystnie, roztwór enzymu ma stężenie od 0,1 mg cm⁻³ do 10 mg cm⁻³, korzystniej około 1 mg cm⁻³.

Korzystnie, czas etapu adsorpcji wynosi od 1 h do 24 h, korzystniej 2h.

Korzystnie, po etapie adsorpcji enzymu sposób obejmuje on etap pokrywania biokatody warstwą sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów aldehydu glutarowego, GA, surowiczej albuminy wołowej, BSA oraz buforu McIlvaine'a.

Korzystnie, stężenia GA i BSA wynoszą 1% wag., a stosunek objętościowy zmieszanych roztworów wynosi 1:1:1.

Korzystnie, sposób obejmuje etap pokrywania biokatody warstwą sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów enzymu, aldehydu glutarowego, GA oraz surowiczej albuminy wołowej, BSA.

Korzystnie, stężenia GA i BSA wynoszą 1% wag., stężenie enzymu wynosi 1 mg cm⁻³, a stosunek objętościowy zmieszanych roztworów wynosi 1:1:1.

Wynalazek dotyczy także ogniwa cynkowo-tlenowego, obejmującego anodę cynkową; elektrolit, którym jest bufor McIlvaine'a o stężeniu od 0,02M do 1M, korzystnie około 0,1; i pH od 4 do 8, korzystnie około 4,8; oraz biokatodę według wynalazku.

Nieoczekiwanym efektem modyfikacji powierzchni elektrody nanocząstkami ITO i następnie adsorpcją enzymu według wynalazku okazało się zwiększenie wydajności procesu bezpośredniego przeniesienia elektronu pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody przy jednocześnie prostej metodzie przygotowania biokatody.

Korzystne przykłady wykonania wynalazku

Obecny wynalazek zostanie bardziej szczegółowo przedstawiony w przykładach wykonania z odniesieniem do załączonego rysunku, na którym:

fig. 1 przedstawia schemat modyfikacji elektrody ITO nanocząstkami ITO_{NP} i oksydazą bilirubiny;

fig. 2 przedstawia schemat biokatody (A) z oksydazą bilirubiny zaadsorbowaną na elektrodzie ITO modyfikowaną nanocząstkami ITO_{NP} (ITO_{NP}|BOD), (B) BOD unieruchomioną w warstwie sieciującej (ITO_{NP}|BOD_{emb}, BSA, GA) oraz (C) z oksydazą bilirubiny zaadsorbowaną na elektrodzie ITO modyfikowaną nanocząstkami ITO_{NP} i pokrytą warstwą sieciującą (ITO_{NP}|BOD_{ads}, BSA, GA) według wynalazku;

fig. 3 przedstawia krzywe voltamperometryczne otrzymane dla elektrod ITO: niemodyfikowanej oraz modyfikowanych 1, 3, 6, 9 i 12 warstwami nanocząstek ITO_{NP} z zaadsorbowaną BOD zanurzonych w nasyconym ditlenem 0,1 M buforze McIlvaine'a pH 4,8;

fig. 4 przedstawia krzywe voltamperometryczne otrzymane dla elektrod ITO (A) niemodyfikowanej oraz (B) modyfikowanej 6 warstwami nanocząstek ITO_{NP} z zaadsorbowaną BOD zanurzonych w nasyconym ditlenem 0,1 M buforze McIlvaine'a pH 4,8 (DET) oraz w nasyconym ditlenem 0,1 mM roztworze ABTS pH 4,8 (MET);

fig. 5 przedstawia zależności gęstości prądu od czasu otrzymane dla elektrod: ITO_{NP}|BOD (—), ITO_{NP}|BOD_{emb}, BSA, GA (—) oraz ITO_{NP}|BOD_{ads}, BSA, GA (-"-) modyfikowanych 12 warstwami nanocząstek ITO_{NP} z zaadsorbowaną BOD zanurzonych w nasyconym ditlenem 0,1 M buforze McIlvaine'a pH 4,8;

fig. 6 przedstawia charakterystyki prąd-napięcie (■) oraz prąd-moc (o) ogniwa składającego się z anody cynkowej pokrytej cienką warstwą Nafionu oraz (A) ITO_{NP}|BOD_{ads}, BSA, GA lub (B) ITO_{NP}|BOD_{emb}, BSA, GA zanurzonych w nasyconym ditlenem 0,1 M buforze McIlvaine'a pH 4,8.

Odczynniki i stosowane materiały.

Do przygotowania katod użyto materiał elektrodowy – ITO (tlenek indu domieszkowany tlenkiem cyny) zakupiony w *Delta Technologies, Ltd.*, nanocząstki ITO_{NP} o średnicy 21 nm zakupione *Nanophase Technologies Corp.*, metanol zakupiony w *Chempur*, aldehyd glutarowy (GA) zakupiony w *Fluka*, surowicza albumina wołowa (BSA) oraz 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian) amonu zakupione w *Sigma-Aldrich*. Oksydaza bilirubiny otrzymana z *Amano Enzymes Inc.*

Do przygotowania anody użyto drut cynkowy o średnicy 0,25 mm zakupiony w *GoodFellow*, Nafion (5% roztwór w izopropanolu) zakupiony w *Sigma-Aldrich*, alkohol izopropylowy (C₃H₇OH) zakupiony w *Merck*.

Do przygotowania elektrolitów użyto wodorofosforan sodu (Na₂HPO₄) zakupiony w *POCH*, kwas cytrynowy (C₆H₈O₇·xH₂O) zakupiony w *Chempur*, wodę demineralizowaną (p > 15 MΩ cm) otrzymaną z systemu oczyszczania *Millipore Elix* oraz ditlen (99,99999%) – *Multax*.

Aparatura

Do pomiarów voltamperometrycznych, wyznaczenia charakterystyk prądowo-napięciowych i charakterystyk mocy ogniwo posłużono się elektrochemiczną stacją pomiarową Autolab PGSTAT30 wyprodukowanej przez *Eco Chemie*.

Do nanoszenia nanocząstek ITO wykorzystano urządzenie do nakładania warstw typu dip-coater wyprodukowane przez *KSV Instruments Ltd.*

Przygotowanie elektrod oraz elektrolitu

Elektrody ITO modyfikowane nanocząstkami ITO_{NP} będące biokatodami w prezentowanych przykładach zostały przygotowane zgodnie z procedurą opisaną wcześniej (Niedziolka 2007, *Electroanalysis* **19**: 155–160). Przed modyfikacją elektrody ITO były czyszczone zgodnie z procedurą opisaną przez Macdonald 2008, *Journal of Solid State Electrochemistry* **12**: 287–293 oraz Murata 2009, *Energy and Environmental Science* **2** (12): 1280–1285. Następnie warstwy nanocząstek ITO nakładano poprzez sekwencyjne zanurzenie i wynurzenie elektrod ITO w 3% wag. zawiesinie ITO_{NP} w metanolu z szybkością 85 mm min⁻¹ (fig. 1). Proces ten powtarzano od 1 do 12 razy. Po każdym etapie zanurzenia i wynurzenia elektroda była płukana w metanolu w celu usunięcia niezwiązanych nanocząstek ITO.

Kolejnym etapem modyfikacji była adsorbcja enzymu na powierzchni elektrody. W tym celu elektrodę ITO z naniesionymi warstwami nanocząstek ITO_{NP} zanurzano w 1 mg cm⁻³ roztworze BOD w 0,1 M buforze McIlvaine'a pH 4,8 przez 2 h w temperaturze ok. 5°C. Powierzchnia biokatody wynosiła 0,2 cm². Otrzymana w ten sposób biokatoda w dalszej części tekstu jest nazywana ITO_{NP}|BOD (fig. 2A).

Unieruchomienie enzymu w warstwie sieciującej wykonano dwiema metodami wykorzystując zmodyfikowaną procedurę opisaną wcześniej (Li 2008, *Electrochemistry Communications* **10**: 851–854). W pierwszej metodzie zmieszano w stosunku objętościowym 1:1:1 wodne roztwory BSA (1% wag.), GA (1% wag.) oraz 0,1 M bufor McIlvaine'a pH 4,8. 5 μl tej mieszaniny nakroplono na elektrodę modyfikowaną nanocząstkami ITO i z zaadsorbowaną oksydazą bilirubiny. Elektroda była następnie pozostawiana do wyschnięcia na 2 godzin w temperaturze pokojowej. W drugiej metodzie zmieszano roztwór BOD (1 mg cm⁻³) z wodnym roztworem BSA (1% wag.) i GA (1% wag.) w stosunku objętościowym 1:1:1. 5 μl tej mieszaniny nakroplono na elektrodę modyfikowaną nanocząstkami ITO i pozostawiono do wyschnięcia na 2 godz. w temperaturze pokojowej. Otrzymane w ten sposób biokatody w dalszej części tekstu są nazywane odpowiednio ITO_{NP}|BOD_{ads}, BSA, GA (fig. 2C) oraz ITO_{NP}|BOD_{emb}, BSA, GA (fig. 2B).

Anoda cynkowa została przygotowana w sposób podobny do opublikowanego wcześniej (Shin 2005, J. Am. Chem. Soc. 127: 14590-14591). Drut cynkowy ($\varnothing = 0,25$ mm) pokryto cienką warstwą Nafionu przez zanurzenie go do 0,5% roztworu Nafionu w izopropanolu i wysuszenie.

Elektrolitami były nasycone tlenem: wodny 0,1 M bufor McIlvaine'a pH 4,8 przygotowane podczas pH-metrycznego miareczkowania roztworu Na_2HPO_4 o stężeniu 0,2 M za pomocą roztworu kwasu cytrynowego o stężeniu 0,1 M lub wodny roztwór 0,1 mM ABTS w 0,1 M buforze McIlvaine'a pH 4,8.

Przykład 1

W celu zobrazowania wydajności procesu biokatalitycznej redukcji tlenu biokatod modyfikowanych nanocząstkami ITO_{NP} i enzymem przeprowadzono pomiary voltametrii cyklicznej elektrod zanurzonych do nasyconego ditlenem buforu McIlvaine'a pH 4,8. Krzywe voltametrii cyklicznej przedstawiono na fig. 3. Nieoczekiwanie okazało się, że osadzając nanocząstki ITO na powierzchni elektrody ITO i absorbując BOD, można uzyskać o wiele lepszą wydajność procesu biokatalitycznej redukcji tlenu w porównaniu do elektrody niemodyfikowanej nanocząstkami, na której zaadsorbowano BOD. Największą wydajnością wynoszącą ok. $110 \mu\text{A cm}^{-1}$ charakteryzuje się elektroda modyfikowana 12 warstwami nanocząstek ITO_{NP} , a najmniejszą, wynoszącą ok. $14 \mu\text{A cm}^{-1}$, elektroda niemodyfikowana nanocząstkami. Wydajność procesu biokatalitycznej redukcji jest proporcjonalna do liczby warstw nanocząstek ITO_{NP} (fig. 2), co sugeruje, że BOD jest zaadsorbowana nie tylko na zewnętrznej powierzchni nanocząstek ITO_{NP} , ale także w głębszych warstwach ITO_{NP} .

Przykład 2

W celu zobrazowania wpływu obecności mediatora na wydajności procesu biokatalitycznej redukcji tlenu biokatod modyfikowanych nanocząstkami ITO_{NP} i BOD postępowano analogicznie jak w przykładzie 1 zmieniając jedynie elektrolit na 0,1 M roztwór ABTS w buforze McIlvaine'a pH 4,8. Porównanie procesu bezpośredniego przeniesienia elektronu (DET) pomiędzy enzymem a powierzchnią elektrody i mediowanego przez ABTS (MET) przedstawiono na fig. 4. Można zauważyć, że zarówno dla elektrody modyfikowanej tylko BOD (fig. 3A), jak i dla elektrody modyfikowanej 6 warstwami ITO_{NP} i BOD (fig. 3B) wpływ mediatora jest niewielki. Jest to spowodowane tym, że BOD na powierzchni elektrody zorientowana jest w odpowiedni sposób, aby mogło zajść bezpośrednie przeniesienie elektronu pomiędzy centrum katalitycznym enzymu a elektrodą.

Przykład 3

W celu zobrazowania trwałości adsorpcji enzymu na powierzchni zmodyfikowanej elektrody postępowano analogicznie jak w przykładzie 1 z tym, że prowadzono chronoamperometrię przykładając potencjał $E=100$ mV (fig. 5). Można zauważyć, że po ok. 1 h gęstość prądu katalitycznego dla elektrody modyfikowanej 12 warstwami ITO_{NP} i BOD ($\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}$) spada o ok. 90%. Jest to spowodowane desorpcją enzymu. Trwałość adsorpcji została polepszona przez zastosowanie warstwy sieciującej, którą naniesiono na zaadsorbowaną BOD na elektrodzie z 12 warstwami ITO_{NP} ($\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{ads}}$, BSA, GA) lub w której unieruchomiono enzym ($\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{emb}}$, BSA, GA). Stwierdzono, że zarówno dla $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{ads}}$, BSA, GA jak i dla $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{emb}}$, BSA, GA w ciągu pierwszych 15 min. wzrasta gęstość prądu katalitycznego. Jest to spowodowane zwilżaniem warstwy sieciującej, dzięki czemu ułatwiona jest dyfuzja ditlenu rozpuszczonego w elektrolicie do BOD. Po około 105 min. obserwowany jest spadek prądu katalitycznego o ok. 33%, jednak trwałość adsorpcji BOD na tych elektrodach jest lepsza w porównaniu do takiej samej elektrody niemodyfikowanej warstwą sieciującą.

Przykład 4

W celu zobrazowania wydajności przykładowych ogniwi z biokatodą $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{ads}}$, BSA, GA lub $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{emb}}$, BSA, GA zarejestrowano ich charakterystyki prądowo-napięciowe. W tym celu umożliwiano przepływ przez ogniwa zadanego prądu za pomocą galwanostatu. Po czasie 100 s od przyłożenia zadanego prądu rejestrowano napięcie ogniwi, a następnie sporządzono wykresy zależności tego napięcia od gęstości prądu. Sporządzono również zależności gęstości mocy (iloczyn napięcia i gęstości prądu) od gęstości prądu. Charakterystyki prąd-napięcie oraz prąd-moc przykładowych ogniwi są przedstawione na fig. 6. Napięcie obwodu rozwartego dla ogniwi z biokatodą $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{ads}}$, BSA, GA lub $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{emb}}$, BSA, GA wynosi ok. 1,6 V. Wyższą gęstość mocy uzyskano dla ogniwa z $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{emb}}$, BSA, GA jako biokatodą wynoszącą $54 \mu\text{W cm}^{-2}$ przy 1,1 V, a niższe dla ogniwa z $\text{ITO}_{\text{NP}}|\text{BOD}_{\text{ads}}$, BSA, GA jako biokatodą wynoszącą $43 \mu\text{W cm}^{-2}$ przy 0,86 V.

Zastrzeżenia patentowe

1. Biokatoda obejmująca elektrodę szklaną, pokrytą cienką warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, oraz co najmniej jedną warstwę nanocząstek tlenku metalu zawierającą nanocząstki tlenku indu domieszkowane tlenkiem cyny, ITO_{NP}, **znamienna tym**, że na powierzchni elektrody znajduje się zaadsorbowany enzym w postaci oksydazy bilirubiny, BOD, zaadsorbowanej bezpośrednio na powierzchni elektrody szklanej pokrytej warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, modyfikowanej nanocząstkami tlenku indu domieszkowanymi tlenkiem cyny, ITO_{NP}.

2. Biokatoda według zastrz. 1, **znamienna tym**, że nanocząstki ITO_{NP} mają średnice od 10 nm do 100 nm, korzystniej ok. 20 nm.

3. Biokatoda według zastrz. 1 albo 2, **znamienna tym**, że obejmuje od 1 do 12 warstw nanocząstek ITO_{NP}.

4. Biokatoda według dowolnego z zastrz. od 1 do 3, **znamienna tym**, że dodatkowo pokryta jest warstwą sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów aldehydu glutarowego, GA, surowiczej albuminy wołowej, BSA oraz buforu McIlvaine'a.

5. Biokatoda według dowolnego z zastrz. od 1 do 4, **znamienna tym**, że obejmuje warstwę sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów enzymu, aldehydu glutarowego, GA oraz surowiczej albuminy wołowej, BSA.

6. Sposób wykonania biokatydy, w którym na powierzchnię elektrody szklanej pokrytej cienką warstwą ITO nanosi się z roztworu nanocząstki tlenku metalu zawierające nanocząstki tlenku indu domieszkowane tlenkiem cyny, ITO_{NP}, **znamienny tym**, że adsorbuje się enzym bezpośrednio na powierzchni elektrody szklanej pokrytej cienką warstwą tlenku indu domieszkowanego tlenkiem cyny, ITO, modyfikowanej nanocząstkami tlenku indu domieszkowanymi tlenkiem cyny, ITO_{NP}, poprzez zanurzenie elektrody w roztworze enzymu, przy czym adsorbowanym enzymem jest oksydaza bilirubiny, BOD.

7. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że roztwór enzymu korzystnie ma stężenie od 0,1 mg cm⁻³ do 10 mg cm⁻³, korzystniej około 1 mg cm⁻³.

8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że czas etapu adsorpcji wynosi od 1 h do 24 h, korzystniej 2 h.

9. Sposób według dowolnego z zastrz. od 6 do 8, **znamienny tym**, że po etapie adsorpcji enzymu obejmuje on etap pokrywania biokatydy warstwą sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów aldehydu glutarowego, GA, surowiczej albuminy wołowej, BSA oraz buforu McIlvaine'a.

10. Sposób według zastrz. 9, **znamienny tym**, że stężenia GA i BSA wynoszą 1% wag., a stosunek objętościowy zmieszanych roztworów wynosi 1:1:1.

11. Sposób według dowolnego z zastrz. od 6 do 8, **znamienny tym**, że obejmuje etap pokrywania biokatydy warstwą sieciującą otrzymaną z mieszaniny wodnych roztworów enzymu, aldehydu glutarowego, GA oraz surowiczej albuminy wołowej, BSA.

12. Sposób według zastrz. 13, **znamienny tym**, że stężenia GA i BSA wynoszą 1% wag., stężenie enzymu wynosi 1 mg cm⁻³, a stosunek objętościowy zmieszanych roztworów wynosi 1:1:1.

13. Ogniwo cynkowo-tlenowe, obejmujące anodę cynkową; elektrolit, którym jest bufor McIlvaine'a o stężeniu od 0,02M do 1M, korzystnie około 0,1; i pH od 4 do 8, korzystnie około 4,8; oraz biokatodę według dowolnego z zastrz. od 1 do 5.

Rysunki

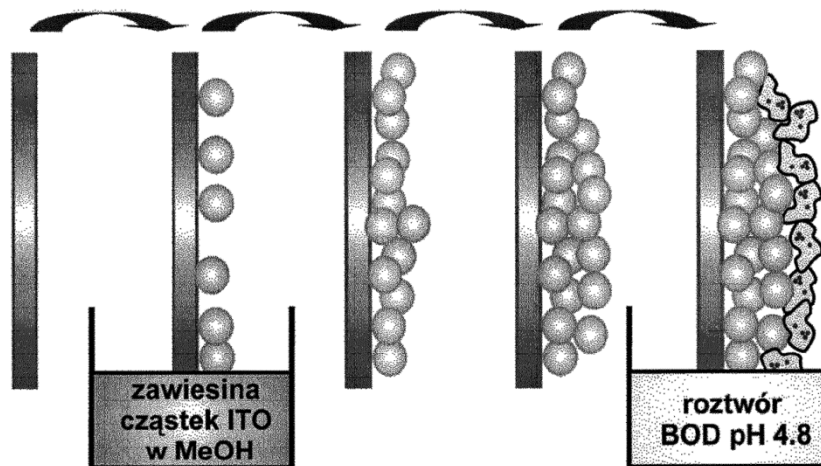


Fig. 1

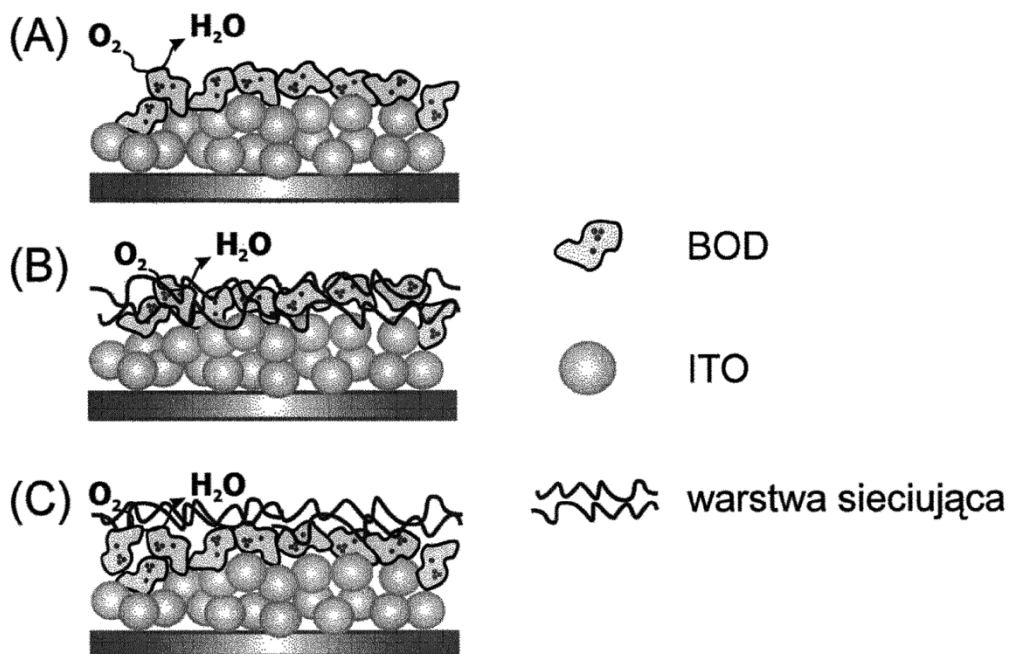


Fig. 2

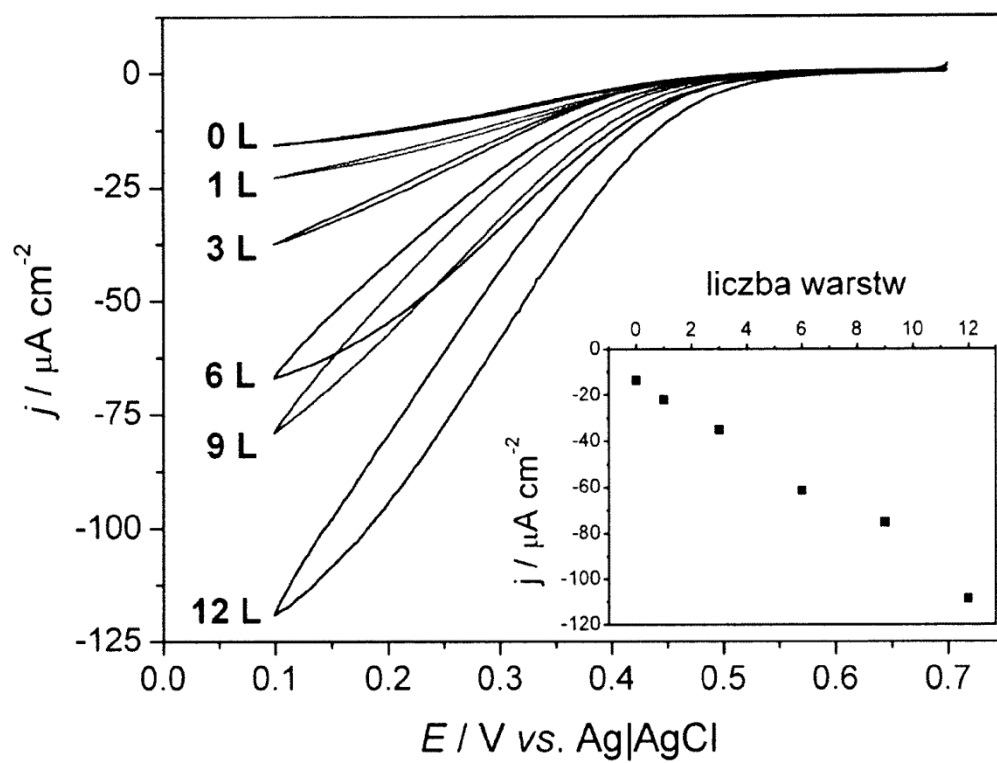


Fig. 3

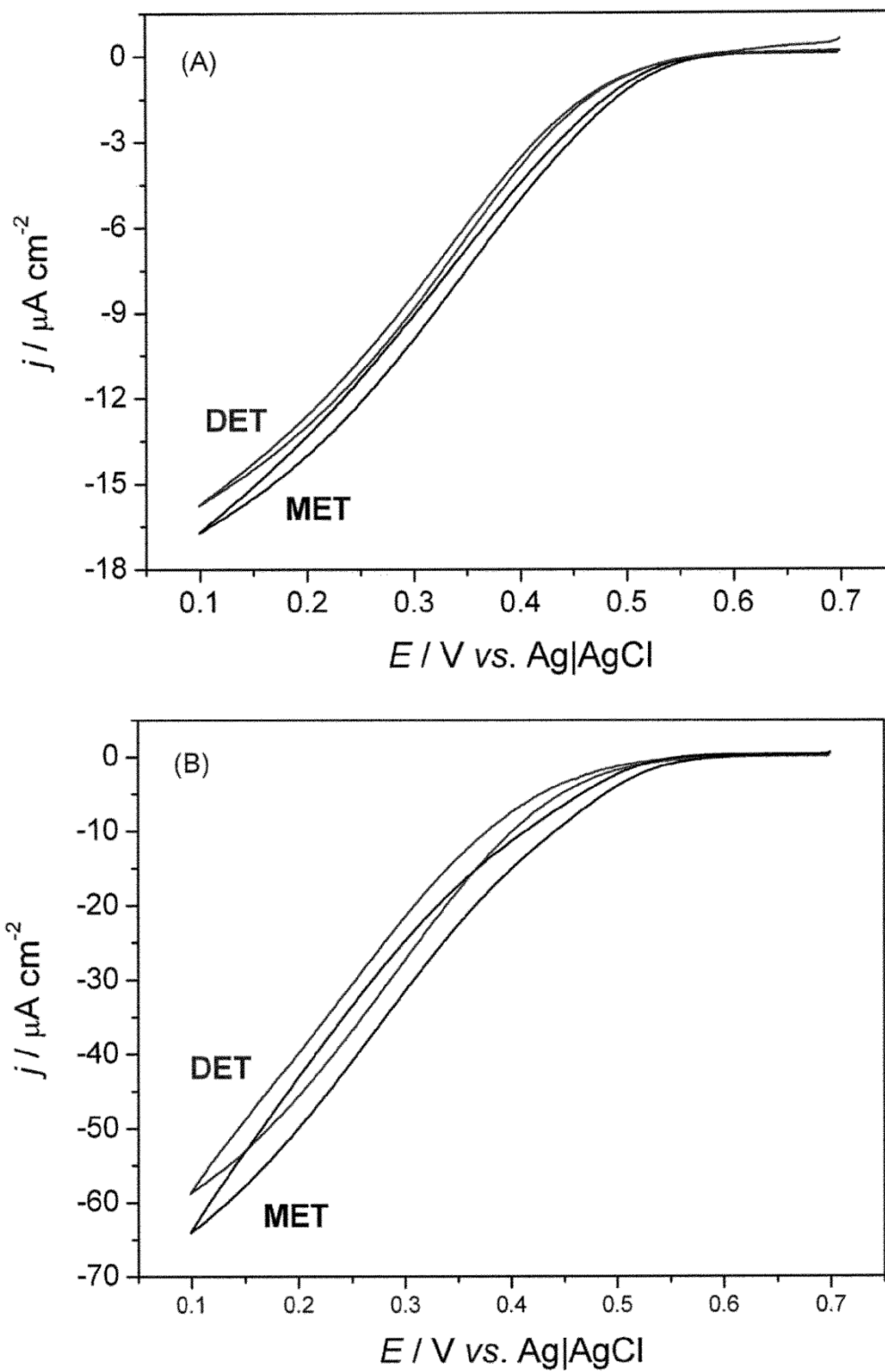


Fig. 4

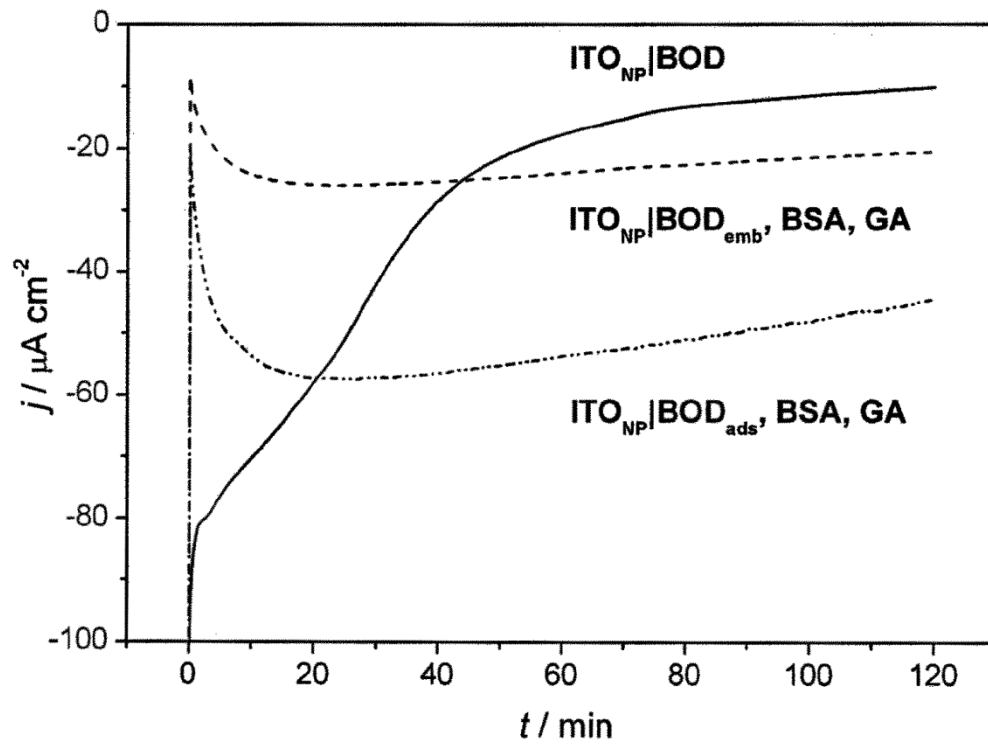


Fig. 5

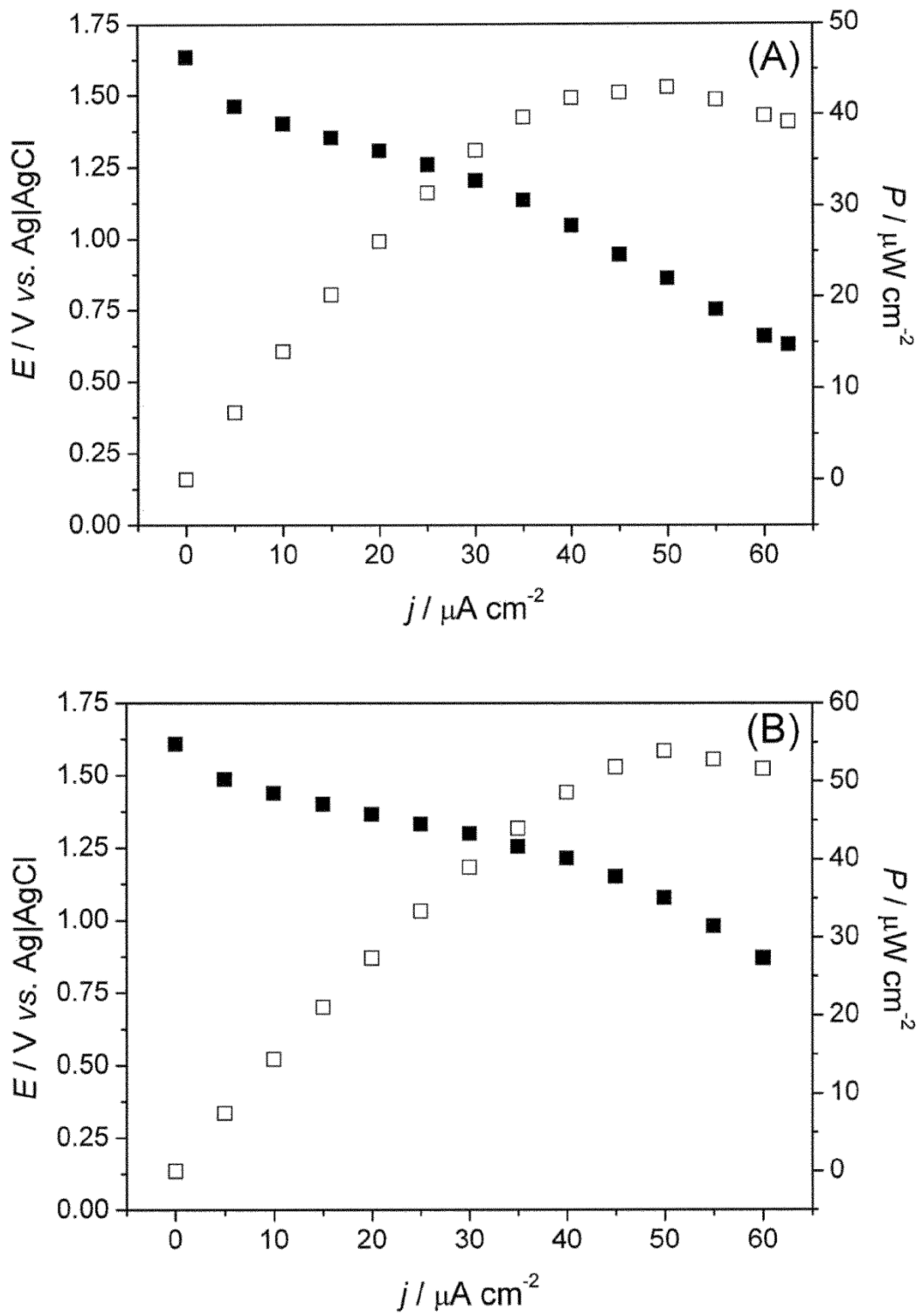


Fig. 6

