

**Капустин Александр Викторович**

**на правах рукописи**



**Электрокаталитические процессы на электродах  
биотопливных элементов**

**02.00.05 – электрохимия**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук**

**Москва 2005 г.**

Работа выполнена в Институте электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН

Научные руководители: доктор химических наук, профессор  
**Тарасевич М.Р.**

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор  
**Скундин А.М.**  
доктор химических наук  
**Решетилов А.Н.**

Ведущая организация: Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН

Защита диссертации состоится «*21*».....*июль*.....2005 г.  
в *10* часов на заседании диссертационного совета Д 002.225.01  
при Институте электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН по адресу:  
119071 г. Москва, Ленинский просп., 31.

Автореферат разослан «*17*».....*июль*..... 2005 г.

Ученый секретарь диссертационного совета Д 002.225.01  
кандидат химических наук

**Корначева Г.М.**

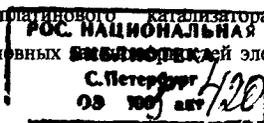
## Общая характеристика работы

**Актуальность проблемы.** В настоящее время наблюдается повышенный интерес к таким устройствам, как биотопливные элементы (БТЭ), имеющие принципиальные отличия от традиционных топливных элементов. В качестве катализаторов электродных процессов в БТЭ используют биологические объекты (микроорганизмы, ферменты и биомиметики), которые функционируют в мягких условиях (температура не выше 40<sup>0</sup>С, слабощелочные, нейтральные и слабокислые буферные растворы). В чем заключаются преимущества биокатализаторов? Во-первых, биокатализаторы осуществляют реакции с высокой скоростью, на порядки большей по сравнению с металлическими катализаторами. Во-вторых, биокатализаторы способны селективно окислять органические соединения (топливо) при низких анодных потенциалах. В-третьих, это воспроизводимый материал, так как источником биологических катализаторов служат живые организмы. В-четвертых, большое природное разнообразие биокатализаторов способствует развитию разных подходов в создании композитных материалов для электродов БТЭ.

Наиболее интенсивно проводятся исследования по созданию миниатюрных БТЭ в качестве источников питания для микрoeлектронных устройств. Особое внимание направлено на создание БТЭ для целей медицинской практики, используя их как источники питания вживляемых устройств, так и для мониторинга ряда жизненно важных органических соединений, таких как глюкоза, молочная кислота, спирты и т.д. Однако, имеются только единичные примеры успешной реализации БТЭ, так как необходимо приложить немало усилий для того, чтобы повысить эффективность, стабильность и продолжительность работы электродов на основе биологических катализаторов.

В процессе создания БТЭ можно выделить несколько важных этапов: исследование закономерностей биоэлектрокатализа с использованием биологических объектов в качестве катализаторов электродных процессов; создание эффективных композитных материалов на основе биокатализатора, обеспечивающих максимальное заполнение поверхности электропроводного носителя катализатором и участие его в электрохимическом процессе; развитие представлений о макрокинетики электродных процессов в системе биокатализатор/электрод, что позволяет определить направления в оптимизации электрода: повышение стабильности и продолжительности работы. В качестве отдельного направления можно рассматривать создание БТЭ, в которых совместно реализованы два направления: биоэлектрокатализ и электрокатализ.

**Цель настоящей работы** заключалась в создании эффективных катодных и анодных композитных материалах на основе ферментов: лакказы, гидрогеназы и глюкозооксидазы, в разработке анодного биметаллического небиоанодного катализатора для окисления низкомолекулярных спиртов; в установлении основных закономерностей электрокаталитических



процессов, протекающих на разработанных катодных и анодных нанокompозитных катализаторах; в проведении испытаний исследованных катодных и анодных катализаторов в БТЭ.

**Научная новизна работы.** Результаты исследования электрокаталитических свойств композитных материалов на основе лакказы и дисперсных углеродных носителей в реакции восстановления кислорода показали, что соотношение размеров глобулы фермента и частиц дисперсного углеродного материала является важным параметром, определяющим эффективность обмена электронами между электродом и активным центром лакказы (прямой биоэлектрокатализ). Проведена оценка влияния на скорость процесса восстановления кислорода иммобилизованной лакказой омических, диффузионных и перколяционных ограничений. Впервые установлена необходимость учета эффективности электронного переноса между углеродными частицами (перколяции) в пористой системе фермент/дисперсный углеродный носитель.

На основании электрокаталитических исследований установлена связь между гидрофобностью поверхности углеродного носителя и биоэлектрохимической активностью иммобилизованной на нем гидрогеназы в реакции окисления водорода, которая уменьшается в ряду: ацетиленовая сажа (АД) > канальная сажа (КС) > печная масляная сажа (ПМ) > высокодисперсный коллоидный графит (ВКГ). Показано, что реакции выделения и ионизации водорода в присутствии фермента обратимы.

Разработан композитный материал на основе фермента глюкозооксидазы (ГОД), медиатора ферроцееновой природы (Фц), нафтона и дисперсного углеродного материала. Изучена кинетика медиаторного процесса окисления глюкозы ГОД в составе композита. Полученные данные позволили оптимизировать состав композитного материала в отношении эффективного окисления глюкозы.

Разработан и оптимизирован RuNi/C катализатор, используемый в реакции окисления низкомолекулярных спиртов (метанол и этанол) в слабощелочных, нейтральных и слабокислых буферных растворах. Исследованы физико-химические свойства катализатора методами рентгеновского фазового анализа (РФА) и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС). Определено оптимальное соотношение металлов в составе катализатора (68 ат. % Ru : 32 ат. % Ni) и область его стабильной работы ( $E = 0.0 \div 0.5$  В (о.в.),  $pH = 4.0 \div 11.0$ ).

Проведены испытания макетов двух типов БТЭ: водородо-кислородного и спиртово-кислородного. В обоих типах БТЭ использовали катод на основе лакказы; анод в водородо-кислородном БТЭ на основе гидрогеназы, в спиртово-кислородном БТЭ на основе RuNi/C катализатора. Разработанные БТЭ являются оригинальными.

**Практическая ценность работы.** Разработаны катодные и анодные нанокompозитные катализаторы на основе ферментов лакказы, гидрогеназы и ГОД для БТЭ. Выяснение

закономерностей токообразования в пористых системах фермент/носитель позволило определить перспективные направления и провести оптимизацию исследованных композитных катализаторов. Разработан биметаллический неплатиновый катализатор (RuNi/C), который впервые предложен в качестве анода БТЭ. Испытания исследованных композитных катализаторов в макетах БТЭ показали реальную возможность создания источников тока с использованием ферментов, а также БТЭ, где объединены процессы биоэлектрокатализа и электрокатализа.

**Апробация работы.** Основные результаты работы были представлены на 53-м и 55-м симпозиумах Международного электрохимического общества (Дюссельдорф, Германия, 2002 г.; Салоники, Греция, 2004 г.), 3-й Балтийской конференции по электрохимии (Гданьск, Польша, 2003 г.), Международной конференции “Электрокатализ в электрохимической энергетике” (Москва, Россия, 2003 г.), II и III Международном симпозиуме “Приоритетные направления в развитии химических источников тока” (Плес, Россия, 2001 и 2004 гг.), I Международном конгрессе “Биотехнология – состояние и перспективы развития” (Москва, Россия, 2002 г.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, литературного обзора, описания объектов и методов экспериментального исследования, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов и списка литературы (175 наименования). Общий объем диссертации составляет 127 страниц машинописного текста, включая 34 рисунка и 12 таблиц.

**На защиту выносятся:**

1. Особенности механизма биоэлектрокаталитического восстановления кислорода лакказой, иммобилизованной на дисперсных углеродных носителях разного типа.
2. Экспериментальное и теоретическое обоснование структуры активного слоя катода на основе нанокompозита лакказа/дисперсный углеродный материал, учитывающее омические, диффузионные и перколяционные эффекты.
3. Кинетические закономерности анодных процессов окисления водорода и глюкозы, протекающих на композитных материалах с гидрогеназой и ГОД, соответственно.
4. Электрокаталитические (в реакции окисления низкомолекулярных спиртов) и структурные характеристики биметаллического RuNi/сажа – катализатора.
5. Результаты испытания разработанных нанокompозитных катализаторов в макетах биотопливного элемента.

## Основное содержание работы

**Во введении** обоснована актуальность работы, сформулированы ее цели, охарактеризована научная новизна и область применения полученных результатов.

**В обзоре литературы** представленный материал разбит на четыре части. В первой части дано понятие БТЭ, изложены основные принципы классификации. Вторая часть литературного обзора посвящена рассмотрению свойств биокатализаторов (лактазы, пероксидазы, билирубиноксидазы, цитохромоксидазы) и электрокаталитических характеристик композитных материалов на основе этих ферментов, используемых для катализа катодных процессов. В третьей части литературного обзора основное внимание уделено описанию ферментативных свойств ферментов, участвующих в реакциях окисления, и анализу электрокаталитических характеристик электродов на их основе. На основании анализа литературных данных можно выделить несколько основных способов иммобилизации ферментов в катодных и анодных композитных материалах: использование “редокс-полимеров”, “реконструкция” ферментов. В отличие от разработанного нами способа иммобилизации ферментов (лактазы, гидрогеназы и др.) на дисперсные углеродные материалы, методы иммобилизации, описанные в литературе, характеризуются большей сложностью и для их реализации требуются дорогостоящие и специально приготовленные реагенты. Четвертая часть литературного обзора посвящена описанию электрохимических характеристик реализованных в настоящее время и описанных в литературе БТЭ.

**Методика эксперимента.** Биоэлектрохимическую активность ферментов (лактазы, гидрогеназы, ГОД) исследовали на газодиффузионном модельном и пирографитовом электродах. Электрокаталитические характеристики RuNi/сажа – катализатора исследовали с помощью модельного электрода на основе золотой сетки. Эксперименты проводили в трехэлектродной электрохимической ячейке с разделенными электродными пространствами. Электродом сравнения служил насыщенный хлорсеребряный электрод (Ag/AgCl), относительно которого представлены все значения потенциалов. В качестве основных электрохимических методов использовали: методы потенциодинамических импульсов (метод поляризационных кривых, метод циклических вольтамперограмм), метод хроноамперометрических кривых. Ферментативную активность и концентрацию ферментов определяли, используя спектрофотометрический метод анализа. Иммобилизацию ферментов (лактазы, гидрогеназы, ГОД) на дисперсные углеродные материалы осуществляли адсорбционным способом. Структурные свойства биметаллических катализаторов (RuNi/сажа) исследовали в Институте физической химии РАН методами рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и рентгеновского фазового анализа.

## Результаты эксперимента и их обсуждение

### I. Биоэлектрокаталитические особенности нанокompозитного материала на основе лакказы.

Создание эффективного катода на основе фермента лакказы требует решения задачи достижения максимального заполнения ферментом поверхности электрода, в ориентации, обеспечивающей участие всех иммобилизованных молекул в биоэлектрокаталитическом процессе. Очевидно, ключевую роль в решении этой задачи играет природа и степень дисперсности углеродного материала, используемого для иммобилизации фермента.

1 Кинетические параметры реакции восстановления кислорода лакказой, иммобилизованной на различных дисперсных углеродных материалах.

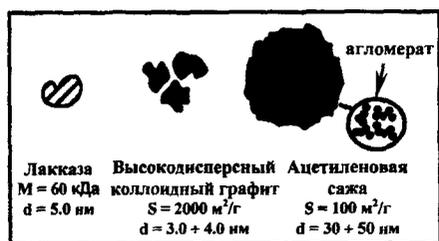


Рис. 1. Структурные элементы композитного материала на основе лакказы, ВКГ и АД.

Для того, чтобы выяснить, каким образом дисперсность углеродного носителя влияет на электрокаталитические характеристики композита на основе лакказы в процессе восстановления кислорода, в качестве дисперсных углеродных материалов использовали ВКГ и АД с размером частиц (средний размер углеродных частиц определяли на основании известных величин удельной поверхности), отличающихся на порядок (Рис. 1).

Средний диаметр частиц ВКГ составляет 3 + 4 нм, что сопоставимо с диаметром молекулы лакказы (~5 нм). Размер частиц сажи в 10 раз больше и составляет 30 + 50 нм.

В таблице 1 представлены данные по количеству прочно адсорбированного фермента на углеродных материалах и максимального кинетического тока восстановления кислорода, величина которого зависит от количества фермента и кислорода и определяется скоростью одной из стадий процесса образования фермент-субстратного комплекса. Показано, что на ВКГ количество адсорбированного фермента в несколько раз меньше, чем на ацетиленовой саже. Исходя из этих данных, были определены величины удельных токов восстановления кислорода, приведенные к количеству лакказы, адсорбированной на ВКГ и АД, которые отличаются между собой в 5 раз (Таблица 1).

Таблица 1. Величины адсорбции лакказы ( $\Gamma^*$ ) и электрохимические характеристики композитных материалов

Углеродный материал	$\Gamma$ , пмоль/мг <sub>уг</sub> ·мг <sub>л</sub>	$E_{ст}$ , В	$I_{пред}$ , мкА/см <sup>2</sup> ( $E \approx 0.30$ В)	$j$ , мкА/пмоль
ВКГ	25	0.705	373	29.8
АД	110	0.700	326	5.9

\* На электрод наносили аликвоту композитной смеси, содержащей 130 пмоль лакказы на 1 мг углеродного материала

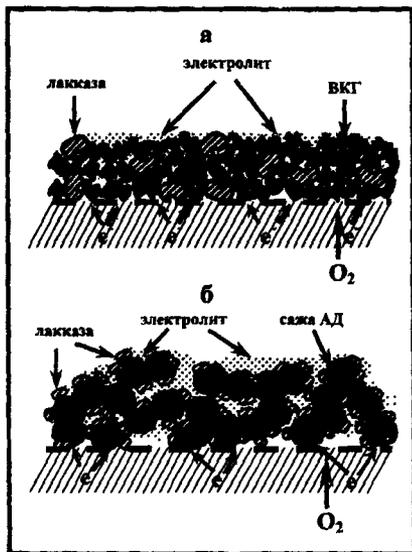
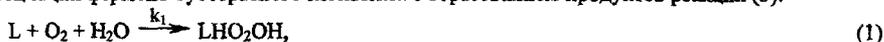


Рис. 2. Структура активных слоев на основе лакказы, иммобилизованной на ВКГ (а) и АД (б).

активном центре фермента, и включает: стадию образования фермент-субстратного комплекса (1), стадию синхронного переноса двух первых электронов (2), стадию переноса еще двух электронов и диссоциации фермент-субстратного комплекса с образованием продуктов реакции (3):



Одним из важных параметров, характеризующих каталитические свойства фермента, является каталитическая константа ( $k_{кат}$ ), соответствующая константе скорости лимитирующей стадии в процессе образования фермент-субстратного комплекса. В атмосфере кислорода в области предельного кинетического тока значение  $k_{кат}^2$  для реакции электровосстановления кислорода можно сопоставить с величиной  $k_{кат}^\phi$  для ферментативного катализа. В ферментативном катализе  $k_{кат}^\phi$  не зависит от природы второго (органического) субстрата и её величина составляет 120 – 130  $c^{-1}$ . Расчет  $k_{кат}^2$  реакции электровосстановления кислорода лакказой проводили согласно выражению:

$$I_{пред} = nF k_{кат}^2 \Gamma A, \quad (4)$$

где  $I_{пред}$  – предельный кинетический ток;  $n$  – число электронов, участвующих в реакции;  $F$  – число Фарадея;  $A$  – площадь поверхности электрода. Полученная величина  $k_{кат}^2$  для композита на основе ВКГ с адсорбированной лакказой составляет  $\sim 70 c^{-1}$ , что сопоставимо с величиной  $k_{кат}^\phi$  в

Вероятно, такое различие в величинах удельных токов восстановления кислорода лакказой в составе активного слоя на основе ВКГ и АД обусловлено структурой нанокompозитного материала (Рис. 2). Так как размер частиц ВКГ соизмерим с размером молекул лакказы (Рис. 1), то благодаря этому создается такая структура активного слоя, когда каждая глобула фермента находится в окружении частиц ВКГ. Было высказано предположение, что это увеличивает вероятность участия иммобилизованных молекул лакказы в процессе прямого переноса электрона между электродом, активным центром фермента и субстратом.

Реакцию биоэлектрокаталитического восстановления кислорода лакказой можно представить в виде упрощенной схемы, которая объединяет множество процессов, происходящих в

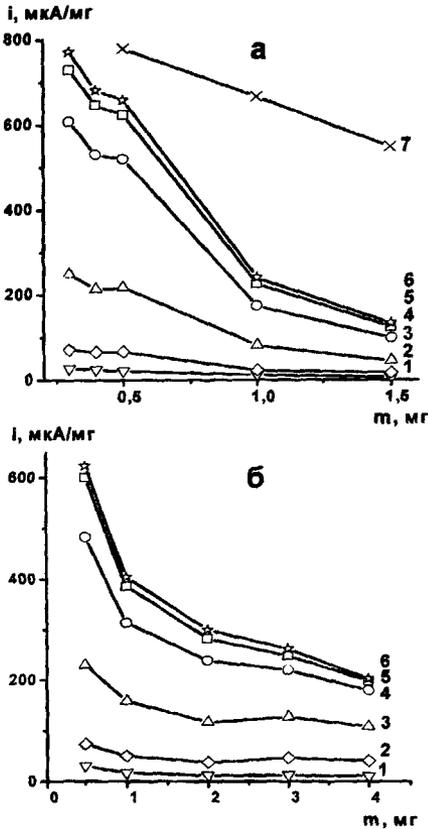


Рис. 3. Зависимость удельной активности электрода от массы (толщины) активного слоя при потенциалах, В: 1 – 0.68, 2 – 0.65, 3 – 0.60, 4 – 0.50, 5 – 0.40, 6 и 7 (расчетная кривая) – 0.30. Скорость наложения потенциала 0.1 мВ с<sup>-1</sup>. Атмосфера – кислород, а – лакказы, адсорбированная на ВКГ, б – лакказы, адсорбированная на АД 100.

от 0.3 до 0.5 мг/см<sup>2</sup>. При дальнейшем увеличении количества активной массы на электроде до 1.5 мг/см<sup>2</sup> удельный ток восстановления кислорода падает более чем в 3 раза (Рис. 3 а). Для композита на основе сажки величина удельного тока восстановления кислорода при увеличении количества композитного материала на электроде от 0.5 до 2.0 мг/см<sup>2</sup> уменьшается в 1.5 – 2 раза, и последующее увеличение толщины активного слоя практически не влияет на величину удельного тока (рис. 3 б). Исходя из характера полученных данных и обычно используемых подходов их

ферментативном катализе. Это дает основание предполагать, что в этих условиях практически все адсорбированные молекулы фермента на ВКГ участвуют в процессе прямого биоэлектрокаталитического восстановления кислорода. При адсорбции лакказы на сажке, имеющей размер частиц на порядок больший по сравнению с ВКГ (Рис. 1), только часть адсорбированных молекул фермента находится по отношению к электропроводной углеродной матрице в ориентации, обеспечивающей прямой перенос электрона между электродом и активным центром фермента (Рис. 2 б). В согласии с этим значение  $k^2_{кат}$ , определенное для активного слоя на основе сажки, составляет ~ 15 с<sup>-1</sup>.

## 2. Влияние количества активной массы на электроде на электрохимическую активность лакказы в составе композита фермент/дисперсный углеродный материал

Показано, что характер влияния количества нанесенного на электрод катализатора  $m$  на величину удельной активности сохраняется как в области потенциалов, близких к стационарному, так и при поляризации  $> 0.1$  В (Рис. 3), но отличается для катализаторов на основе ВКГ и АД. Для композита на основе ВКГ наблюдается слабая зависимость удельного тока восстановления кислорода лакказой при количестве композита

объяснения, можно предположить, что снижение удельной активности связано либо с омическим сопротивлением электролита или с ограничениями по диффузии кислорода в толще активного слоя.

### 3. Расчет омических и диффузионных ограничений.

Для того чтобы выяснить, связано ли снижение удельной активности с омическим сопротивлением электролита или ограничениями по диффузии кислорода в активном слое, совместно с Ю.Г. Чирковым были проведены расчеты, которые позволили оценить омические и диффузионные ограничения.

Для учета диффузионных ограничений необходимо определить величину характерной диффузионной длины:

$$L_{\text{диф}} = (nFD^*c_0/\dot{N}_A J)^{1/2}, \quad (5)$$

где  $n$  – число электронов, участвующих в реакции;  $F$  – число Фарадея;  $D^*$  – эффективный коэффициент диффузии;  $c_0$  – растворимость газа;  $\dot{N}_A$  – число молекул фермента, участвующих в электрохимической реакции, в единице объема активного слоя;  $J$  – ток, генерируемый молекулой фермента.

Для оценки омических ограничений необходимо знать величину характерной омической длины:

$$L_{\text{ом}} = (RTk^*/F\dot{N}_AJ_0)^{1/2}, \quad (6)$$

Где  $R$  – газовая постоянная;  $T$  – температура;  $k^*$  – эффективный коэффициент ионной электропроводности.

Используя выражения (5) и (6) и учитывая, что  $J \cong J_0$ , а  $D = 6.0 \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ ,  $c_0 = 9.5 \times 10^{-7} \text{ г-моль}/\text{см}^3$ ,  $k = 2.4 \times 10^{-2} \text{ Ом}^{-1}\text{см}^{-1}$ ,  $T = 298 \text{ К}$ , получаем  $L_{\text{диф}}/L_{\text{ом}} = 6.0 \times 10^{-2}$ . Поскольку диффузионная длина в данном случае существенно меньше омической, то в дальнейшем проводили оценку влияния только диффузионных ограничений.

Преобразовав уравнение (5), получаем:

$$L_{\text{диф}} = (nFD^*c_0\Delta/I)^{1/2}, \quad (7)$$

где  $\Delta$  – толщина активного слоя;  $I$  – ток, генерируемый ферментом. Для активного слоя на основе ВКГ при потенциале 0.30 В ( $I = 373 \text{ мкА}/\text{см}^2$  (Таблица 1) и  $\Delta = 5 \text{ мкм}$ ) получаем величину диффузионной длины, равную 12.1 мкм, что меньше  $10\Delta = 50 \text{ мкм}$ . Это указывает на то, что при больших катодных поляризациях электрохимический процесс восстановления кислорода лимитируется доставкой газа в область реакции. При малых поляризациях ( $E = 0.68 \text{ В}$ ) для активного слоя на основе ВКГ величина тока восстановления равна  $21.3 \text{ мкА}/\text{см}^2$  и полученная диффузионная длина соответствует величине 50.7 мкм, что сопоставимо с  $10\Delta$ . Следовательно, при потенциалах, близких к стационарному, процесс восстановления кислорода лакказой протекает в кинетическом режиме.

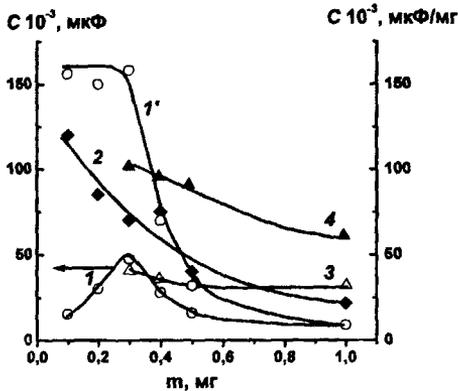


Рис. 4. Зависимость емкости электрода (1') и удельной емкости электродов (1, 2 – 4) от массы (толщины) активного слоя. 1, 1' – на электроде с ВКГ; 2 – на электроде с лакказой, адсорбированной на ВКГ; 3 – на электроде с АД 100; 4 – на электроде с лакказой, адсорбированной на АД 100. Атмосфера – аргон.

экспериментальная кривая лежит значительно ниже (Рис. 3 а, кривая 6). Это означает, что учет только диффузионных ограничений не позволяет объяснить полученные экспериментальные данные. Вероятно, кроме диффузионных ограничений существуют какие-то дополнительные факторы, влияющие на электрохимическую активность активного слоя при увеличении его толщины.

#### 4. Перколяционные эффекты в активном слое лакказы + дисперсный углеродный материал.

Таковыми факторами, по-видимому, могут быть перколяционные эффекты, обусловленные нарушением электронного контакта между углеродными частицами в композитном материале. Разобшение углеродных частиц может происходить благодаря прослойкам электролита и присутствию фермента, который не обладает электронной проводимостью. О наличии перколяционных эффектов можно судить по зависимостям удельной емкости от массы (толщины) активного слоя, представленным на рис. 4. Для ВКГ без лакказы независимость удельной емкости от толщины активного слоя сохраняется до  $0.3 \text{ мг/см}^2$ , но с увеличением количества композита емкость резко падает (Рис. 4, кривая 1). При введении лакказы в активный слой удельная емкость уменьшается постепенно с увеличением толщины активного слоя, причем абсолютная величина удельной емкости при толщине до  $0.5 \text{ мг/см}^2$  меньше величины удельной емкости, измеренной на чистом ВКГ (Рис. 4, кривые 1, 2). Вероятно, лакказа, которая не является проводником электронов, дополнительно вносит вклад в разобнение агломератов ВКГ. Для сажки наблюдается обратная картина: удельная емкость, измеренная на чистой сажке, в два раза меньше емкости, измеренной на

Зная точное значение характерной диффузионной длины и характерного диффузионного тока по уравнению (8):

$$I = I_{\text{диф}} \text{th}(\Delta/L_{\text{диф}}), \quad (8)$$

где

$$I_{\text{диф}} = (nFD^*c_0\check{N}_A J_0)^{1/2} \quad (9)$$

можно определить значения тока для активного слоя разной толщины (5 мкм – 389 мкА/см<sup>2</sup>; 10 мкм – 666 мкА/см<sup>2</sup>; 15 мкм – 820 мкА/см<sup>2</sup>). Приведа полученные значения тока к 1 мг активной массы, получаем расчетную кривую (Рис. 3 а, кривая 7), которая учитывает диффузионные ограничения. При этом

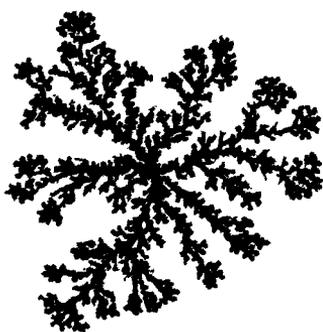


Рис. 5. Пример плоского кластера с фрактальной структурой.

комPOSITE из сажи с адсорбированной лакказой (Рис. 4, кривые 3, 4). Причиной этого может служить гидрофилизация поверхности сажи при адсорбции фермента. Но также, как и для ВКГ, величина удельной емкости постепенно уменьшается с увеличением толщины активного слоя.

Как было указано выше, причиной перколяционных эффектов при использовании композитного материала на основе ВКГ является гидратная оболочка вокруг частиц углеродного материала, которая затрудняет электронный транспорт. В случае композитного материала на основе АД причиной

перколяционных эффектов, приводящих к снижению удельной емкости, может быть образование кластерных структур с гидрофобными полостями недоступными для электролита. Другое предположение о природе перколяционных эффектов состоит в том, что углеродные агломераты могут представлять собой кластеры специфического типа, пример которого представлен на рис. 5. Если действительно углеродные частицы собираются в агломераты, представляющие собой объемные кластеры, то при соприкосновении двух таких агломератов непосредственный контакт между ними, а значит обмен электронами, становится проблематичным, так как периферийные части таких структур наиболее разрежены. При этом, вероятно, молекуле фермента трудно проникнуть в глубь агломерата, вследствие чего она адсорбируется на его поверхности.

Структуру композитного слоя на основе ВКГ и лакказы, которая представлена на рис. 2 а, можно рассматривать как оптимальную. В этом случае в единице объема при кубической гранецентрированной упаковке (пористость  $g = 0.2595$ ) можно разместить  $1.13 \times 10^{19}$  частиц/см<sup>3</sup> с диаметром частицы  $3 + 5$  нм. При условии, что каждая молекула фермента окружена углеродными частицами, то максимально возможное количество молекул фермента в композите с такой структурой составляет  $4.3 \times 10^{18}$  молекул/см<sup>3</sup>. Это более чем на два порядка больше концентрации молекул лакказы в активном слое, определенной из экспериментальных данных (Таблица 1), величина которой соответствует  $1.5 \times 10^{16}$  молекул/см<sup>3</sup>. Принимая кластерную структуру композитного материала в качестве реальной, и ограничения, не позволяющие ферменту проникнуть в глубь агломерата (диаметр  $\sim 0.1$  мкм), получаем  $1.2 \times 10^{17}$  молекул лакказы/см<sup>3</sup>, что соизмеримо с величиной количества лакказы, которая была получена на основе экспериментальных данных. Таким образом, эти расчеты могут указывать на справедливость предположения о кластерной структуре композита на основе лакказы и ВКГ.

## II. Анодные катализаторы на основе ферментов.

1. Влияние природы дисперсного углеродного носителя на биоэлектрохимическую активность гидрогеназы в реакции окисления водорода.

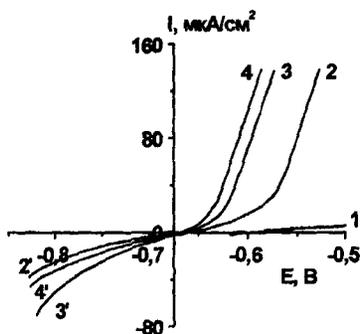
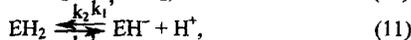
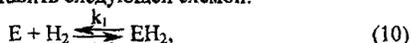


Рис. 6. Поляризационные кривые ионизации (1 – 4) и выделения водорода (2' – 4') в присутствии гидрогеназы адсорбированной на ВКГ – 1, ПМ – 2, 2'; КС – 3, 3' и АД100 – 4, 4'. Количество композитного материала 1 мг/см<sup>2</sup>. Скорость изменения потенциала 0.1 мВ/с. 0.15 М цитратно-фосфатный буферный раствор с рН 8.

масляную (ПМ) сажи и ВКГ. По убыванию степени гидрофобности поверхности углеродного материала их можно расположить в соответствующий ряд. АД > КС > ПМ > ВКГ. При адсорбции гидрогеназы на сажах в атмосфере водорода устанавливается стационарный потенциал, близкий к равновесному водородному потенциалу (Таблица 2). В случае адсорбции фермента на ВКГ стационарный потенциал смещается на 0.050 В (Рис. 6., кривая 1) в анодную область по сравнению с композитными материалами на основе саж. Вероятно, это связано со свойствами поверхности ВКГ, которая отличается высокой степенью гидрофильности. Наибольшая электрокаталитическая активность фермента в реакции окисления

Гидрогеназа относится к ферментам способным окислять водород при иммобилизации ее на углеродных материалах в условиях прямого биоэлектрокатализа. Механизм биоэлектрокаталитического восстановления водорода ферментом можно представить следующей схемой:



С целью исследовать влияние природы дисперсного углеродного материала на электрокаталитические параметры процесса окисления водорода ферментом использовали ацетиленовую (АД), канальную (КС), печную

Таблица 2. Кинетические параметры реакции окисления и выделения водорода гидрогеназой, иммобилизованной на разных типах сажи

Композит: сажа + гидрогеназа (0.012 мг фер/мг сажи)	$E_{ст}, V$	Окисление водорода, $\partial E/\partial \lg I, V$	Выделение водорода, $\partial E/\partial \lg I, V$	$j_0, \text{мкА/см}^2$
АД	-0.700	0.030; 0.060	0.030; 0.120	1.8
КС	-0.700	0.040; 0.068	0.026; 0.120	1.7
ПМ	-0.696	0.050; 0.070	0.030; 0.135	1.4

водорода наблюдается для композитных материалов на основе таких саж, как АД и КС (Рис. 6, кривые 3, 4). Возможно, это связано с гидрофобностью этих материалов, что благоприятно для адсорбции гидрогеназы в ориентации, обеспечивающий прямой обмен электронами между электродом и активным центром фермента.

Из тафелевских зависимостей были получены значения наклонов  $\partial E/\partial \lg i$  для реакций выделения и ионизации водорода, величины которых приведены в таблице 2. Вблизи стационарного потенциала для наиболее активных катализаторов на основе сажи АД и КС близкие величины наклонов  $(RT/2F)$  соответствуют близости механизма прямой и обратной реакций и указывает на обратимость процесса окисления и ионизации водорода. Ток обмена, определенный как точка пересечения анодного и катодного участков тафелевских наклонов (0.030 В) составляет для наиболее активного композита  $1.7 + 1.8 \text{ мкА/см}^2$  (Таблица 2).

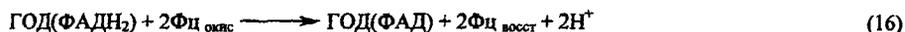
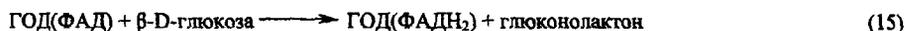
На основании совокупности всех данных можно сделать вывод, что механизм ионизации и выделения водорода аналогичный для всех саж с иммобилизованной гидрогеназой. В области относительно больших поляризации в случае катодной реакции замедленной стадией является перенос первого электрона, а в анодной – второго (Таблица 2).

## 2. Медиаторное биоэлектрокаталитическое окисление глюкозы на композите, включающем глюкозооксидазу.

Особенности структуры молекулы ГОД не позволяют проводить реакцию окисления глюкозы в условиях прямого биоэлектрокатализа. Поэтому сопряжение ферментативной и электрохимической стадий процесса окисления глюкозы осуществляли с помощью медиатора (медиаторный биоэлектрокатализ). В качестве медиатора использовали ферроцен (Фц), являющимся субстратом ГОД, электрохимически активным и химически стабильным соединением. В композитном материале на основе ГОД использовали ВКГ, позволяющий значительно увеличить фактическую поверхность электрода и нафийон, как связующий компонент.

Процесс медиаторного биоэлектрохимического окисления глюкозы в данной системе можно описать следующей схемой:

### 1) ферментативная стадия



### 2) электрохимическая стадия



На рис. 7 представлены ЦВА, измеренные на электродах с композитом, включающим ГОД, ВКГ, Фц и нафийон, при разных скоростях наложения потенциала. На вольтамперограммах наблюдаются анодные и катодные максимумы, отвечающие окислению и восстановлению двух редокс-систем, входящих в композитный материал: ФАД в составе молекулы ГОД, в интервале

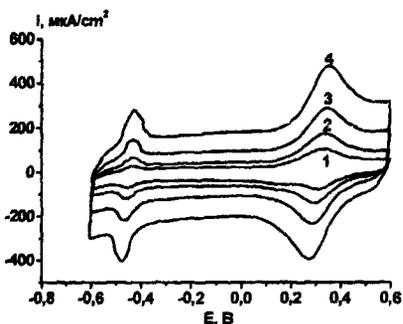


Рис. 7. ЦВА, полученные на электроде с композитом (0.5 мг ГОД + 0.5 мг ВКГ + 1.0 мкмоль Фц в 0.5% растворе нафiona), при различных скоростях наложения потенциала, мВ/с: 1 – 10; 2 – 20; 3 – 40; 4 – 80. Фосфатный буферный раствор с pH 7.0, атмосфера – аргон.

участвует только одна из двух простетических групп (ФАД), содержащихся в молекуле ГОД, полученная величина количества электричества соответствует  $\approx 1.50$  нмоль фермента. Это составляет  $\approx 50$  % от количества ГОД, внесенного в композит, что совпадает с данными, полученными спектрофотометрическим методом. Для Фц количество электричества соответствует 25 нмоль или 2.5 % от общего количества медиатора, внесенного в композитный материал (1 мкмоль). Вероятно, в процессе приготовления смеси нафion-Фц образуются кластеры медиатора, что приводит к снижению эффективности использования Фц. Возможно, также частичное вымывание слабо связанного медиатора.

Таблица 4. Величины редокс-потенциалов и наклонов ( $\partial E_{red}/\partial \lg v$ ) для компонентов композита при их нахождении в составе композита или в объеме раствора.

Компонент	$E_{red/окс}$ , В	$\frac{\partial E_{red}}{\partial \lg v} = \frac{\partial E_{окс}}{\partial \lg v}$ , В	$\partial E_{red}/\partial \lg v = \partial E_{окс}/\partial \lg v$ , В
ГОД в составе композита	-0.44	0.0 ( $v < 0.050$ В/с)	0.060 ( $v > 0.050$ В/с)
ФАД в составе композита	-0.43	0,0 ( $v < 0.010$ В/с)	0.060 ( $v > 0.010$ В/с) 0.120 + 0.140 ( $v > 0.070$ В/с)
ФАД в растворе	-0.42	0.0 ( $v < 0.025$ В/с)	0.060 + 0.070 ( $v > 0.025$ В/с) 0.120 + 0.150 ( $v > 0.150$ В/с)
Фц в составе композита	0.32	0.0 ( $v < 0.010$ В/с)	0.050 + 0.060 ( $v > 0.010$ В/с) 0.120 + 0.150 ( $v > 0.100$ В/с)
Фц в растворе	0.27	0.0 ( $v < 0.025$ В/с)	0.060 ( $v > 0.070$ В/с)

потенциалов (- 0.34) + (- 0.54) В и Фц, в интервале потенциалов 0.27 + 0.42 В. При последовательной записи ЦВА ( $v=0.02$  В/с) токи окисления и восстановления ГОД и Фц не менялись, что указывает на прочную иммобилизацию компонентов в композите. Количество электрохимически активной ГОД определяли по количеству электричества, пошедшему на ее окисление (площадь под анодным максимумом на ЦВА в интервале потенциалов (-0.45 – -0.55 В) с вычетом фоновой кривой). Поскольку при редокс-превращениях ФАД переносится два электрона, и, допуская, что в процессе окисления и восстановления

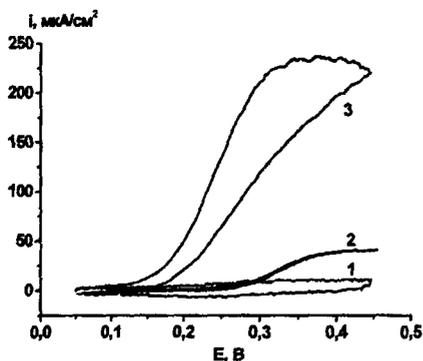


Рис. 8. Поляризационные кривые окисления ферроцена на электроде с композитом ГОД + ВКГ + Фц + нафийон в отсутствие – 1 и в присутствии – 3 глюкозы в объеме раствора (20 мМ). Кривая 2 измерена на электроде с композитом ГОД+ВКГ+нафийон при нахождении в объеме раствора глюкозы и Фц в концентрации 20 мМ и 67 мкМ, соответственно. Фосфатный буферный раствор, pH 7.0, атмосфера – аргон.

$v > 0.10$  В/с перенос электрона становится медленной стадией, на что указывает наклон  $\partial E/\partial \lg v$ , равный 0.12 В. Отсюда следует, что Фц может быть использован в качестве медиатора, поскольку его редокс-превращения в составе композита протекают практически обратимо.

На рис. 8 представлены поляризационные кривые окисления медиатора, измеренные на электроде с композитом (ГОД + ВКГ + Фц + нафийон) в отсутствие (кривая 1) и в присутствии (кривая 3) глюкозы в объеме раствора. Для сравнения приведена поляризационная кривая (кривая 2), измеренная на электроде с активным слоем на основе ГОД, не содержащем медиатор. Медиатор присутствовал в объеме раствора и представлял собой хорошо растворимый в водных растворах Фц-СООН.

Из литературных данных известно, что ферментативная стадия в процессе окисления глюкозы является более медленной, по сравнению с электрохимической стадией окисления Фц на электроде. Это позволяет применить некоторые уравнения ферментативной кинетики для расчета кинетических параметров процесса медиаторного биоэлектрохимического окисления глюкозы. В качестве основного уравнения использовали уравнение Михаэлиса – Ментен:

$$i = \frac{i_{\max} [S]}{K_m^{\text{набл}} + [S]}, \quad (18)$$

где  $i_{\max}$  – предельный ток;  $[S]$  – концентрация субстрата;  $K_m^{\text{набл}}$  – наблюдаемая константа Михаэлиса, мМ.

В таблице 5 приведены величины  $K_m^{\text{гн}}$  и  $K_m^{\text{фц}}$ , характеризующие образование фермент-субстратного комплекса ГОД с глюкозой и Фц, и максимального тока окисления ферроцена. В

В таблице 4 представлены величины наклонов  $(\partial E_{\text{к,н}}/\partial \lg v)$ , наблюдаемые для ГОД, ФАД и Фц. Прежде всего, следует отметить, что в случае ГОД независимость потенциалов максимумов от скорости развертки сохраняется в более широкой области скоростей. Наклон в 0.06 В, в случае ГОД и ФАД в рамках формальной электрохимической кинетики может указывать на замедленный перенос второго электрона, а при более высоких скоростях наложения потенциала медленной стадией становится перенос первого электрона. Фц, в редокс-превращениях которого участвует один электрон, вплоть до скоростей наложения потенциала 0.10 В/с обратимо окисляется и восстанавливается на электроде, как из объема раствора, так и в составе композита. Только при

процессе окисления глюкозы Фц используется как акцептор электронов, вместо кислорода, являющегося естественным субстратом ГОД – акцептором электронов. Для кислорода величина

Таблица 5. Влияние количества Фц в составе композита и концентрации глюкозы в объеме раствора на кинетические параметры процесса окисления медиатора (содержание Фц в составе композита изменяли от 0.5 до 4.0 мкмоль).

$\Gamma_{\text{Фц}}^{(1)}$ в нафине, нмоль/см <sup>2</sup>	$K_m^{\text{гл}}$ , мМ	$i_{\text{пр}}$ , мКА/см <sup>2</sup>	$c_{\text{гл}}$ , мМ	$K_m^{\text{Фц}}$ , мМ	$i_{\text{пр}}$ , мКА/см <sup>2</sup>
13.5	$8.4 \pm 0.7$	$240.8 \pm 3.9$	10	$0.5 \pm 0.1$	$246.6 \pm 7.2$
25.0	$7.2 \pm 0.5$	$274.4 \pm 5.3$	20	$0.9 \pm 0.2$	$439.5 \pm 8.5$
65.0	$14.5 \pm 0.4$	$459.7 \pm 5.9$	40	$1.1 \pm 0.3$	$548.5 \pm 5.7$
104.0	$15.4 \pm 0.5$	$580.2 \pm 7.5$	80	$1.1 \pm 0.3$	$573.9 \pm 8.5$

<sup>1)</sup> Величину  $\Gamma_{\text{Фц}}$  в нафине определяли из ЦВА, по количеству электричества, пошедшего на редокс-превращения медиатора.

$K_m^{\text{O}_2}$  составляет 0.2 мМ, что в 2.5 – 5.5 раза меньше величины  $K_m^{\text{Фц}}$ . Это указывает на то, что образование фермент-субстратного комплекса ГОД с Фц протекает с меньшей скоростью, чем комплекса ГОД с кислородом. Исследование влияния количества нафина в составе композита на электрокаталитические параметры процесса окисления глюкозы показало, что оптимальное количество нафина соответствует величине 0.42 мг/см<sup>2</sup>.

Таким образом, разработан композитный материал на основе ГОД, Фц, углеродного материала и нафина для эффективного медиаторного окисления глюкозы. При этом метод изготовления композита отличается простотой и позволяет получать воспроизводимые и стабильные характеристики.

### III. Биметаллический неплатиновый катализатор в реакции окисления простых спиртов.

#### 1. Электрокаталитические свойства RuNi/C катализатора.

В качестве одной из задач, поставленных в работе, является разработка металлического неплатинового катализатора для ускорения процесса окисления спиртов в условиях оптимальных для ферментов. Одним из достоинств таких каталитических систем может быть глубина окисления органических соединений, которая достигается металлическим катализатором, что определяет простую структуру и стабильную работу анода.

В качестве биметаллических неплатиновых катализаторов реакции окисления простых спиртов использовали катализаторы на основе Ru и Ni, термохимическим способом синтезированные на дисперсных углеродных материалах АД и ХС 72.

На рис. 9 представлены поляризационные кривые окисления метанола и этанола измеренные в потенциостатическом режиме в 0.2 М цитратно-фосфатном буферном растворе с разной величиной рН раствора. В таблице 6 представлены величины стационарного потенциала и удельной активности катализатора в зависимости от значения рН. Из поляризационных кривых

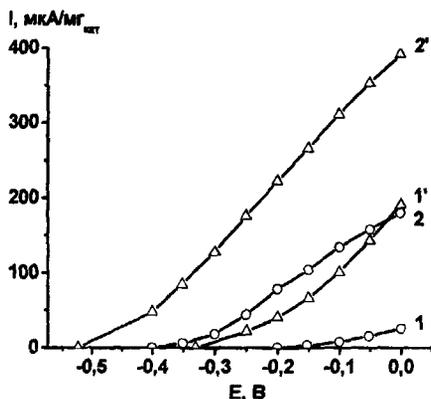


Рис. 9. Поляризационные кривые окисления 1 М метанола (1, 2) и 1 М этанола (1', 2') 15 мас. % RuNi/АД (68:32) в 0.2 М цитратно-фосфатном буферном растворе с разной величиной рН: 1, 1' – рН 4; 2, 2' – рН 7. 40<sup>0</sup> С, атмосфера аргона.

максимума при атомном соотношении Ru и Ni – 68:32. Величина удельной активности катализатора в максимуме в растворе 1 М этанола (190 мкА/мг<sub>катал</sub>) в 7.0 ÷ 7.5 раза больше по сравнению с активностью катализатора в растворе 1 М метанола (26 мкА/мг<sub>катал</sub>).

В случае катализатора на основе сажи ХС 72, на зависимости удельной активности в реакции окисления этилового спирта (1 М) от соотношения Ru и Ni наблюдается широкий максимум в пределах содержания Ni 25 ÷ 65 ат. % с величиной активности 260 ± 20 мкА/мг<sub>катал</sub> (Рис. 10 б).

Таблица 6. Некоторые электрокаталитические характеристики 15 мас. % RuNi/АД (68:32) катализатора в реакции окисления метанола и этанола.

Спирт	Метанол					Этанол				
рН	4	5	6	7	8	4	5	6	7	8
E <sub>ср</sub> , В	-0.20	-0.25	-0.35	-0.40	-0.50	-0.33	-0.38	-0.44	-0.52	-0.58
i, мкА/мг <sub>катал</sub> при E ≈ 0.0 В	26	56	96	180	260	190	258	296	392	379

С целью определения величины электрохимически активной поверхности катализаторов и выяснения того, как величина поверхности соотносится с активностью катализаторов в реакции окисления низкомолекулярных спиртов были проведены исследования адсорбции СО на RuNi/ХС 72 катализаторах с разным соотношением металлов, результаты которых представлены в таблице 7. Из этих данных следует, что введение Ni в каталитическую систему приводит к резкому уменьшению электрохимически активной поверхности доступной для адсорбции СО и, вероятно,

(Рис. 9) и данных таблицы 6 следует, что для обоих спиртов величина стационарного потенциала смещается на ≈0.06 В на единицу рН. Это указывает на участие ОН<sub>адс</sub> – частиц в электрохимическом процессе, концентрация которых определяет скорость процесса окисления спиртов (Таблица 6).

На основе измеренных потенциостатических кривых были получены зависимости активности RuNi катализаторов, осажденных на саже АД в количестве 15 мас. % от соотношения металлов при E = 0.0 В в растворах содержащих 1 М метанол или 1 М этанол (Рис. 10 а). Для обеих зависимостей характерно наличие хорошо выраженного

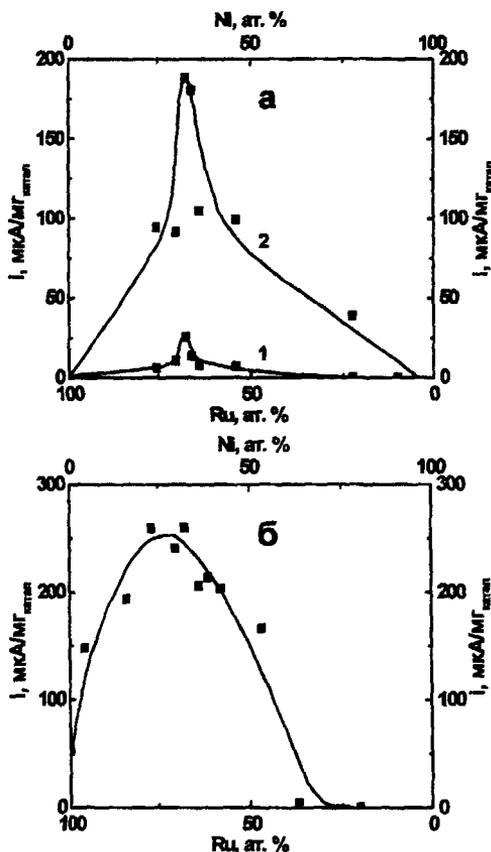


Рис. 10. Зависимость электрокаталитической активности 15 мас. % RuNi/АД и 15 мас. % RuNi/ХС72 (б) катализаторов в реакции окисления спирта от атомного соотношения Ru и Ni при  $E = 0.0$  В. (а): 1 – 1 М метанол, 2 – 1 М этанол; (б) – 1 М этанол. 0.2 М цитратно-фосфатный буферный раствор, pH 4,  $40^{\circ}$  С, атмосфера аргона.

сравнению с массивным Ru ( $E_{св} = 280.2$  эВ). Значения  $E_{св}$  и структура линии Ni  $2p_{3/2}$  для исследованных образцов отличаются незначительно и соответствуют частицам  $Ni^{2+}$ .

В таблице 8 представлены характеристики катализаторов с различным составом по данным РФА. Параметр "а" решетки фазы рутения сохраняется практически неизменным во всем интервале исследованных соотношений Ru и Ni. Введение Ni в систему приводит к уменьшению размеров (D) кристаллов Ru. Сопоставление данных, полученные методом рентгеновского фазового анализа, с результатами электрохимического определения удельной поверхности

спирта (Таблица 7). Наблюдается также влияние типа сажи АД или ХС 72 на дисперсность термохимически осажденных частиц металла. В цитратно-фосфатном буферном растворе происходит блокирование части поверхности катализатора анионами из электролита, о чем свидетельствует величина адсорбции CO, которая в несколько раз меньше по сравнению с величиной адсорбции CO, полученной в 1М КОН.

## 2. Физико-химические характеристики RuNi/C катализаторов.

С целью дальнейшей интерпретации полученных результатов были проведены исследования структурных параметров RuNi – катализаторов. Используя метод РФЭС, были получены характеристики основных спектральных линий Ru и RuNi – катализаторов с разным соотношением металлов на сажах АД и ХС 72. Из полученных данных следует, что Ru во всех исследованных образцах находится в металлическом состоянии. На это указывает близость экспериментально наблюдаемой  $E_{св}$  для Ru  $3d_{5/2}$  по

Таблица 7. Величины удельной поверхности RuNi/XC 72 катализаторов, определенные по количеству адсорбированного СО в 1 М КОН.

Катализатор	S, м <sup>2</sup> /г <sub>Ru</sub>
15 мас. % Ru/XC 72;	100
15 мас. % RuNi (92/8)/C	32
15 мас. % RuNi (84/16)/C	21
15 мас. % RuNi (68/32)/C	23
15 мас. % RuNi (58/42)/C	6

металла указывает на их различие. В случае чистого рутения, нанесенного на сажу, удельная поверхность металла выше при ее электрохимическом определении. Введение Ni в систему по данным рентгеновского фазового анализа приводит к диспергированию рутения. Однако снижение количества адсорбированного СО свидетельствует об уменьшении доступности металла для адсорбированных частиц.

Таким образом, структурные исследования RuNi систем, синтезированных на АД и XC 72, показывают, что Ni находится в окисленном состоянии, а Ru в металлическом. Учитывая достаточно хорошее совпадение экспериментальных значений энергий связи линий Ru 3d<sub>5/2</sub> с энергией связи этих линий для массивного металла, можно утверждать, что в поверхностных слоях образцов эффект электронного взаимодействия между никелем и рутением не выявляется. Следовательно, основным электрохимически активным компонентом катализатора служит Ru. Положительная роль Ni и его оксидов может заключаться в диспергировании Ru в процессе синтеза по сравнению с чистым Ru. При этом одновременно, видимо, происходит также декорирование и блокирование части Ru оксидами Ni. На это указывает уменьшение поверхности металла, доступной для адсорбции СО по мере роста содержания Ni.

Таблица 8. Характеристики RuNi/C катализаторов по данным РФА

Катализатор	Фазы	"a" (Ru), Å	D, нм
10 мас.% Ru/АД	C + Ru	2.712	5.9
15 мас.% Ru/XC 72	C + Ru	2.714	5.5
15 мас.% RuNi (68/32)/АД	C + Ru + Ni (оксид)	2.710	3.2
15 мас.% RuNi (68/32)/XC 72	C + Ru + Ni (оксид)	2.687	2.4
15 мас.% RuNi (22/78)/АД	C + Ru + Ni (оксид)	2.710	3.8
15 мас.% RuNi (37/63)/XC 72	C + Ru + Ni (оксид)	2.694	3.4

Появление резкого максимума электрохимической активности RuNi – катализаторов (Рис. 10) в области потенциалов, где сильно проявляется отравление Ru не может быть объяснено только тем, что этой области содержания Ni в составе катализатора соответствует минимальный средний размер частиц. По-видимому, существует иной промотирующий эффект оксидов никеля, обуславливающий электрокаталитические свойства RuNi – системы.

Таким образом разработан и оптимизирован RuNi/C катализатор, используемый в реакции окисления низкомолекулярных спиртов (метанол и этанол) в слабощелочных, нейтральных и слабокислых буферных растворах. Определено оптимальное соотношение металлов в составе катализатора (68 ат. % Ru/32 ат. % Ni) и область его стабильной работы ( $E = 0.0 + 0.5$  В (овз),  $pH = 4.0 + 11.0$ ).

#### IV. Биотопливный элемент.

Электрокаталитические характеристики исследованных в работе катализаторов на основе ферментов: лакказы, гидрогеназы, глюкозооксидазы (ГОД), ферментной системы: алкогольдегидрогеназа (АДГ) + диафороза; и RuNi/C системы представлены в таблице 9. Предполагая, что во всех возможных БТЭ в качестве активного слоя катода используется композит лакказа + дисперсный углеродный материал, а в качестве анода – электроды на основе катализаторов, представленных в таблице 9, была проведена оценка основных параметров (ЭДС и мощность, таблица 9) ряда БТЭ: водородо-кислородного (анод-гидрогеназа), глюкозо-кислородного (анод-ГОД), спиртово-кислородного (анод-АДГ или RuNi/C).

Таблица 9. Основные электрокаталитические характеристики исследованных катализаторов и некоторые параметры возможных БТЭ на их основе.

Электрод	Каталитическая система	$E_{ст}$ , В	Удельная активность, $mA/cm^2_{эл-да}$	Субстрат	ЭДС <sub>БТЭ</sub> , В	$W_{БТЭ}$ , $mW/cm^2_{эл-да}$
Катод	лакказа + АД (ВКГ), 0.5 мг/см <sup>2</sup> , 0.15М цитратно-фосфатный буферный раствор, pH 4	0.71	0.33+0.37, при 0.3 В	Кислород		
Анод	гидрогеназа + АД, 1.0 мг/см <sup>2</sup> , 0.15М цитратно-фосфатный буферный раствор, pH 8	-0.70	0.10, при -0.6 В	Водород	1.40	0.12 (E = 1.20 В)
	ГОД + ферроцен (4 мкмоль) + ВКГ, 0.75 мг/см <sup>2</sup> , 0.15М цитратно-фосфатный буферный раствор, pH 7	0.17	0.5, при 0.32 В	Глюкоза (80 мМ)	0.54	0.07 (E = 0.24 В)
	АДГ (1 ед) + диафороза (0.5 мг) + НАД <sup>+</sup> (1 мМ) + бензилвиологен (5 мМ), 0.15М цитратно-фосфатный буферный раствор, pH 7	-0.53	0.01, при -0.3 В	Этанол (0.5 М)	1.21	0.01 (E = 0.95 В)
	15 мас. % RuNi (68/32)/C, 1 мг/см <sup>2</sup> , 0.2М цитратно-фосфатный буферный раствор, pH 4, 40° С	-0.20	0.03, при 0.0 В	Метанол (1 М)	0.90	0.02 (E = 0.64 В)
		-0.33	0.19+0.26, при 0.0 В	Этанол (1 М)	1.04	0.13 (E = 0.50 В)

На основе расчетных величин параметров БТЭ, представленных в таблице 9, можно сделать вывод, что водородо-кислородный БТЭ (анод-гидрогеназа) имеет некоторые преимущества (ЭДС, мощность) перед БТЭ, в которых используют аноды на основе других ферментов. Особенностью водородо-кислородного БТЭ является разница в величинах pH католита и анолита, что предполагает использование мембраны для их разделения. Использование мембраны можно избежать в спиртово-кислородном БТЭ с анодным катализатором – RuNi/C, который тоже отличается высокими характеристиками, так как в этом случае, как катод, так и анод работают в электролите с одинаковой величиной pH. Поэтому в работе были испытаны водородо-кислородный (анод-гидрогеназа) и спиртово-кислородный (анод-RuNi/C) БТЭ.

В водородо-кислородном БТЭ для анода использовали катализатор гидрогеназа + АД, для катода – лакказы + АД. Для разделения катодного (pH 4) и анодного (pH 8) пространства использовали катионнообменную мембрану МФ 4 СК. Величина ЭДС разомкнутой цепи элемента составила 1.35 В. При напряжении 0.8 В мощность БТЭ соответствовала величине  $0.32 \text{ мВт/см}^2$ . В условиях поддержания постоянной величины pH в анодном и катодном пространствах БТЭ работал с сохранением своих характеристик в течение недели.

Испытание спиртово-кислородного БТЭ с катодом на основе лакказы и анодом на основе 15 мас. % RuNi (68/32)/АД катализатора проводили в 0.5 М цитратно-фосфатном буферном растворе с pH 4 при  $40^\circ \text{C}$  в присутствии 1 М метанола. ЭДС такого БТЭ соответствовала величине 1.02 В ( $E_{\text{ст. анода}} = -0.31 \text{ В}$ ). Удельная мощность при напряжении элемента 0.75 В составила  $0.45 \text{ мВт/см}^2$ .

#### **Выводы:**

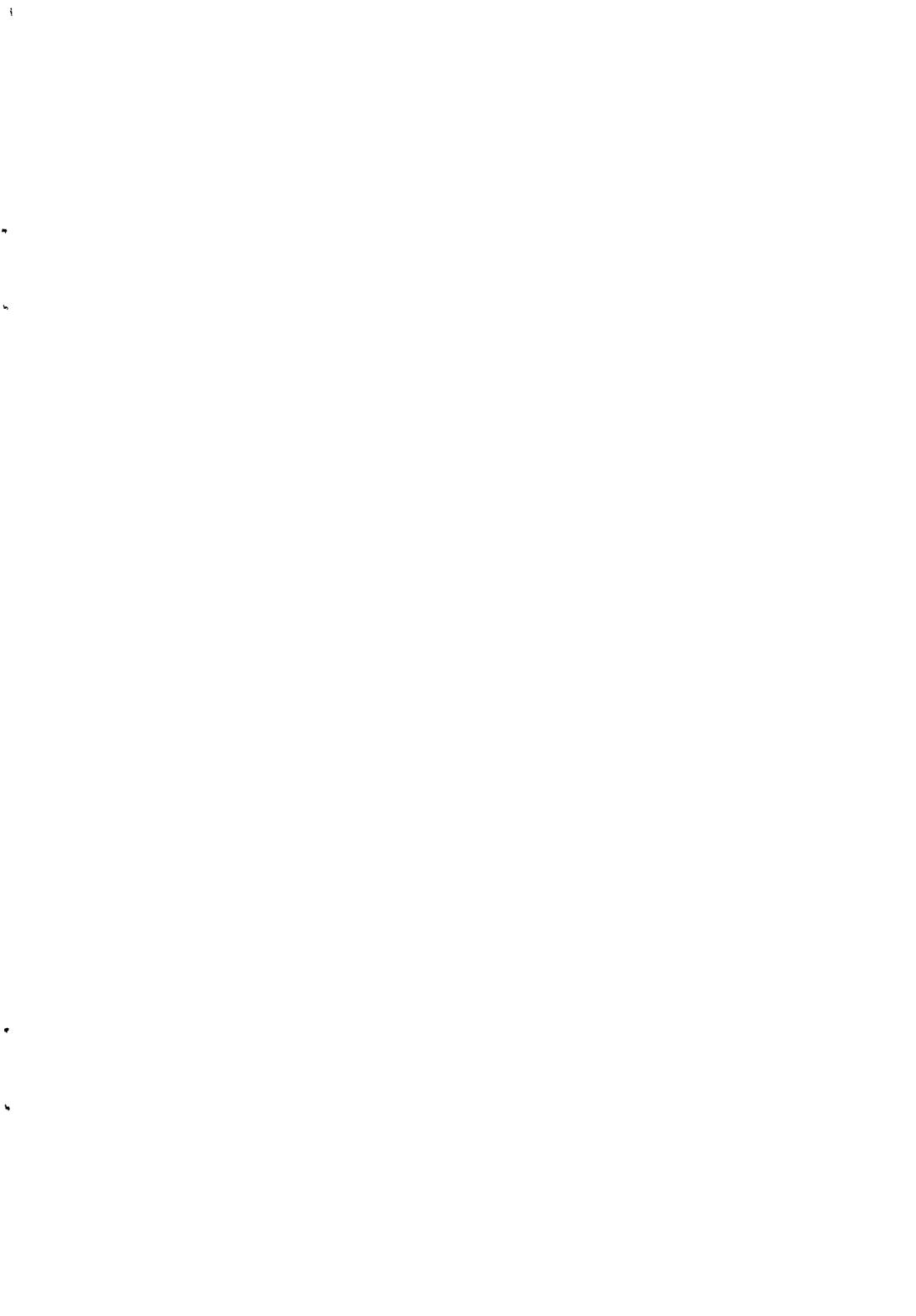
1. Исследованы особенности механизма биоэлектрокаталитического восстановления кислорода лакказой, иммобилизованной на дисперсных углеродных носителях. Определены условия протекания реакции в кинетическом режиме. Показано, что соотношение размеров глобулы фермента и частиц дисперсного углеродного материала является важным параметром, определяющим эффективность обмена электронами между электродом и активным центром фермента.
2. Проанализированы на основании экспериментальных данных и результатов компьютерного моделирования особенности процессов токообразования в пористых системах на основе фермента лакказы и дисперсного углеродного носителя. Проведена оценка влияния на эффективность процесса восстановления кислорода лакказой следующих транспортных ограничений: омические, диффузионные и перколяционные. Впервые установлено необходимость учета электронного транспорта между углеродными частицами (перколяции) в композите фермент/дисперсный углеродный носитель.

3. Исследован механизм окисления водорода гидрогеназой, адсорбированной на разных типах дисперсного углеродного носителя: АД, КС, ПМ и ВКГ. Установлена связь между гидрофобностью поверхности углеродного материала и активностью гидрогеназы, адсорбированной на них, в реакции окисления водорода. Показано, что механизм ионизации и выделения водорода аналогичный для всех саж с иммобилизованной гидрогеназой. В случае катодной реакции замедленной стадией является перенос первого электрона, а в анодной – второго.
4. Разработан композитный материал на основе фермента глюкозооксидазы, медиатора ферроценовой природы, нафiona и дисперсного углеродного материала. Изучена кинетика медиаторного процесса окисления глюкозы ГОД в составе композита. Оптимизирован состав композитного материала, обеспечивающий эффективное окисление глюкозы.
5. Разработан и оптимизирован RuNi/C катализатор, используемый в реакции окисления низкомолекулярных спиртов (метанол и этанол) в слабощелочных, нейтральных и слабокислых буферных растворах. Исследованы физико-химические свойства RuNi/C-катализаторов. Из данных РФА и РФЭС следует, что металлический Ru декорирован оксидами Ni. Сплав в составе катализатора не обнаружен. Определены оптимальное соотношение металлов в составе катализатора (68 ат. % Ru/32 ат. % Ni) и область его стабильной работы (0.0 + 0.5 В (овэ), pH = 4.0 + 11.0).
6. Разработаны катод на основе лакказы и ряд анодов, некоторые из которых испытаны в макетах БТЭ: водородо-кислородном и спиртово-кислородном. Разработанные БТЭ являются оригинальными, и их характеристики не уступают характеристикам БТЭ, описанным в литературе.

**Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:**

1. Тарасевич М.Р., Богдановская В.А., Загудаева Н.М., Капустин А.В. Композитные материалы для прямого биоэлектрокатализа водородной и кислородной реакций в биотопливном элементе // Электрохимия. 2002. Т. 38. С. 378.
2. Капустин А.В., Богдановская В.А., Тарасевич М.Р. Медиаторное биоэлектрокаталитическое окисление глюкозы на композите, включающем глюкозооксидазу // Электрохимия. 2003. Т. 39. С. 893.
3. Tarasevich M.R., Bogdanovskaya V.A., Kapustin A.V. Nanocomposite material laccase/dispersed carbon carrier for oxygen electrode // Electrochem. Comm. 2003. V. 5. P. 491.
4. Богдановская В.А., Капустин А.В., Тарасевич М.Р., Кузнецова Л.Н. Структура и свойства полимерных биокомпозитных материалов // Электрохимия. 2004. Т. 40. С. 360.

5. Капустин А.В., Тарасевич М.Р., Чирков Ю.Г., Богдановская В.А. Активный слой кислородного электрода на основе нанокompозитного материала: дисперсный углеродный носитель/лакказы // *Электрохимия*. 2004. Т. 40. С. 1049.
6. Капустин А.В., Загудаева Н.М., Богдановская В.А., Тарасевич М.Р. Биоэлектрокаталитическое восстановление кислорода лакказой, иммобилизованной на различных углеродных материалах // *Материалы II Международного симпозиума "Приоритетные направления в развитии химических источников тока"*, Плес. 2001. С. 31.
7. Tarasevich M.R., Bogdanovskaya V.A., Zagudaeva N.M., Kapustin A.V. Nanostructured composite materials for bioelectrocatalysis of electrode reactions in a biofuel cell // *53<sup>rd</sup> Annual meeting of the International Society of Electrochemistry "Electrochemistry in molecular and microscopic dimensions"*, Düsseldorf, Germany. 2002. P. 188.
8. Богдановская В.А., Загудаева Н.М., Капустин А.В. Тарасевич М.Р., Чирков Ю.Г. Биотопливные элементы и композитные биоэлектрокатализаторы для их реализации // *1-й Международный конгресс "Биотехнология- состояние и перспективы развития"*, Москва. 2002. С. 426.
9. Капустин А.В. Биоэлектрокатализатор кислородной реакции на основе фермента лакказы и дисперсного углеродного материала // *8-я Международная научно-техническая конференция студентов и аспирантов "Радиоэлектроника, электротехника и энергетика"*, Москва. 2002. С. 70.
10. Kapustin A.V., Chirkov Yu.G., Bogdanovskaya V.A., Tarasevich M.R. Percolation features of laccase/nanostructured carbon carrier system in the process of bioelectrocatalytic oxygen reduction // *55<sup>th</sup> Annual meeting of the International Society of Electrochemistry "Electrochemistry in molecular and microscopic dimensions"*, Thessaloniki, Greece. 2004. P. 796.
11. Капустин А.В., Богдановская В.А., Тарасевич М.Р. Спиртово-кислородный биотопливный элемент // *Материалы III Международного симпозиума "Приоритетные направления в развитии химических источников тока"*, Плес. 2004. С. 7.
12. Kapustin A.V., Bogdanovskaya V.A. Electrooxidation of glucose on composite material containing glucoseoxidase and mediator // *International Conference "Electrocatalysis in electrochemical energetics"*, Moscow, Russia. 2003. P. 60.
13. Tarasevich M.R., Kapustin A.V., Bogdanovskaya V.A., Zagudaeva N.M. Composite catalysts for anode and cathode of the biofuel cells // *The 3<sup>rd</sup> Baltic Electrochemical Conference "Corrosion and Materials"*, Gdansk, Poland. 2003. P. 36.





Принято к исполнению 12/05/2005  
Исполнено 13/05/2005

Заказ № 855  
Тираж 100 экз.

---

ООО «11-й ФОРМАТ» ИНН 7726330900  
Москва, Балаклавский пр-т, 20-2-93  
(095) 747-64-70  
[www autoreferat ru](http://www.autoreferat.ru)

РНБ Русский фонд

2006-4

9484

№ 1 0 4 8 1