

## 글루코스 기반 바이오연료전지를 위한 다양한 분자량의 폴리에틸렌이민을 이용한 글루코스 산화효소 고정화

안연주 · 정용진<sup>†</sup> · 권용재<sup>†</sup>

서울과학기술대학교 에너지환경대학원  
01811 서울특별시 노원구 공릉로 232  
(2016년 5월 16일 접수, 2016년 6월 29일 수정본 접수, 2016년 7월 13일 채택)

## Immobilization of Glucose Oxidase using Branched Polyethyleneimines of Various Molecular Weights for Glucose Based Biofuel Cell

YeonjooAhn, Yongjin Chung<sup>†</sup> and Yongchai Kwon<sup>†</sup>

Graduate School of Energy and Environment, Seoul National University of Science and Technology, 232, Gongreung-ro,  
Nowon-gu, Seoul, 01811, Korea

(Received 16 May 2016; Received in revised form 29 June 2016; accepted 13 July 2016)

### 요 약

본 연구에서는 탄소나노튜브(CNT), 글루코스 산화효소(Glucose oxidase, GOx) 및 다양한 분자량의 가지달린 폴리에틸렌이민(Polyethyleneimine, branched, bPEI)을 물리적으로 결합하여 GOx/PEI/CNT 구조를 제조한 뒤, 가교제인 테레프탈알데하이드(Terephthalaldehyde, TPA)와 알돌축합반응을 통해 TPA/[GOx/bPEI/CNT] 구조의 촉매를 합성하였으며, 각각의 전기화학적 특성 및 장기안정성 등을 평가하였다. GOx/PEI/CNT의 경우, PEI의 분자량의 증가에 따라 유의한 차이를 확인할 수 없었으나, TPA 도입한 TPA/[GOx/bPEI/CNT]는 PEI 분자의 증가에 따라 전자전달 및 장기안정성은 향상되며 글루코스의 물질전달은 감소함을 확인하였다. 또한 효소연료전지 음극 촉매로서의 최적 bPEI 분자량을 확인한 결과, 750 k PEI를 이용한 촉매(TPA/[GOx/bPEI-750k/CNT])에서 최고의 최대전력밀도( $0.995 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ )를 얻을 수 있음을 확인하였다.

**Abstract** – In this study, we fabricated the catalysts for enzymatic biofuel cell anode with carbon nanotube (CNT), glucose oxidase (GOx) and various molecular weights branched poly(ethyleneimine)(bPEI) and terephthalaldehyde (TPA) as cross-linker. In case of GOx/bPEI/CNT using only physical entrapments for immobilization, the molecular weights of bPEI didn't affect to electrochemical performances and long term stability. but that of the catalysts cross linked via TPA (TPA/[GOx/bPEI/CNT]) improved and the mass transfer of glucose to FAD was interrupted as increasing of the bPEI's molecular weights. Furthermore, it was confirmed that the optimum molecular weight of PEI for TPA [GOx/bPEI/CNT] structure is 750k that showed marvelous high performance (maximum power density of  $0.995 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ )

**Key words:** Polyethyleneimine, Biofuelcell, Glucose oxidase, Glucose, Protein immobilization

### 1. 서 론

1962년 Clark와 Lyons[1]에 의해 글루코스 효소 전극이 제안된 이래, 바이오센서(Biosensor) 및 바이오연료전지(Biofuel cell)에 글루코스 산화효소(Glucose oxidase, GOx)를 적용하기 위한 연구가 지속적으로 수행되고 있다. 특히, 이의 성능을 극대화 하기 위하여 GOx에서 생성된 전자가 전극으로 원활히 이동할 수 있도록 우수한

담지체를 개발하는 것이 중요한 과제로 탄소계 재료 및 금속재료 등의 활용이 기대되고 있다. 탄소계 재료로서는 탄소나노튜브(Carbon nanotube, CNT)가 가장 각광받는 소재로, 우수한 전기전도성에 기반한 전류밀도 향상[2] 및 넓은 표면적을 지니는 특성에 기인하여 GOx의 전기적 성능을 극대화 할 수 있는 재료 중 하나로 평가되나, 소수성 표면 때문에 효소와의 친화성이 떨어져 고정화를 위해 화학적 공정을 통해 표면 개질을 해야 하는 단점이 있다[3,4].

효소 고정화 방법에는 크게 물리적 결합과 화학적 결합으로 나눌 수 있는데, 물리적 결합은 흡착이나 정전기적 인력 등을 이용한 방법으로 공유결합 및 가교결합 등을 이용한 화학적 결합에 비하여 효소와 담지체 간의 결합력이 약해 장기적으로 효소를 안정적으로 고정화시키는 능력이 떨어지는 단점이 있다. 화학적 결합을 위해서는

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ychung0110@gmail.com, kwonyc@seoultech.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

주로 가교제를 이용하여 효소를 군집화 하거나 담지체와의 직접적 화학결합을 유도하게 되는데, 가장 널리 사용되는 가교제는 Glutaraldehyde (GA)로서 GOx의 고정화에도 널리 사용된 사례가 보고 되고 있으나 GA를 이용할 경우, 가교가 효소의 활성인자 (FAD)를 막아 효소활성을 저하시키는 단점도 갖고 있다[5].

본 연구에서는 효소고정화의 극대화를 위하여 다양한 분자량을 갖는 가지달린 폴리에틸렌이민(branched Polyethyleneimine, bPEI)으로 표면을 코팅한 CNT 표면에 GOx를 물리적으로 담지 시킨 뒤, GOx의 가교제로 신규 보고된[6] 테레프탈알데하이드(Terephthalaldehyde, TPA)와의 화학반응을 통해 효소 연료전지용 산화극촉매를 합성한 뒤, bPEI의 분자량별 GOx 활성, 전기화학적 특성 및 산화극촉매로서의 성능을 평가 하여 상호 비교하였으며, 이를 통해 bPEI의 최적 분자량을 확인하였다.

## 2. 실험

### 2-1. 시약

탄소나노튜브(Carbon nanotube, MR99, Carbon Nano-material Technology, CNT) 및 폴리에틸렌이민(branched Polyethyleneimine, bPEI)의 복합체(bPEI/CNT)를 담지체로 사용하였다. bPEI의 분자량에 따른 담지효과 및 전기화학적 특성을 평가하기 위하여 다양한 분자량의 bPEI를 사용하였으며, 이는 다음과 같다. bPEI 25 k(Polyethyleneimine, branched, average Mw ~25,000), bPEI 750 k(Polyethyleneimine solution, 50%(w/v) in H<sub>2</sub>O, MW 750,000), bPEI 2,000 k(Polyethyleneimine, branched, 25% soln. in water, MW 2,000,000, Polysciences, Inc.). 가교제로는 테레프탈알데하이드(Terephthalaldehyde, TPA)를 사용하였다. CNT 및 bPEI 2000 k를 제외한 모든 시약은 Sigma-Aldrich (MI, USA)에서 구매하였다.

### 2-2. 효소를 담지한 전극 제조

bPEI를 증류수에 녹여 2.5 mg·mL<sup>-1</sup>농도의 bPEI 용액을 제조한다. 이 용액 1 mL당 2 mg의 CNT를 넣은 후, 10분간 초음파 분산 및 1 시간 교반을 시켜 bPEI/CNT 복합체를 제조한다. 원심분리기로 여분의 bPEI를 분리시킨 bPEI/CNT에 GOx 용액(5 mg·mL<sup>-1</sup>)을 1 mL를 가한 후 1시간 교반시켜 GOx/bPEI/CNT 촉매를 제조한다. TPA 가교제의 효과를 확인하기 위해 0.5 w/v% TPA 용액을 가한 후, 1시간 동안 상온에서 교반시킨다(TPA/[GOx/bPEI/CNT]). 각 촉매는 세척 및 원심분리 한 후, 물에 넣고 분산하여 촉매잉크 제조하여 사용하며 4 °C 이하에서 냉장보관한다.

### 2-3. 반전지 및 완전지

순환주사전류(Cyclic voltammogram, CV)를 측정하기 위하여 삼전극 실험을 진행하였으며 이때 상대전극은 백금선, 기준전극은 Ag/AgCl (3.0 M NaCl)을 사용하였다. 작업전극을 만들기 위해서 촉매잉크를 탄소전극(지름 5.0 mm, 면적 0.196 cm<sup>2</sup>) 위에 7  $\mu$ L 올려준 후 30분 이상 건조했다. 그 후 Nafion 212 (0.5 wt%)용액 4  $\mu$ L를 건조된 촉매 위에 올려준 후 5분간 건조해서 사용하였고, 작업 전극은 실험 시 항상 1,000 rpm으로 회전시켰다. 전해질은 1.0 M Phosphate 완충용액(PBS, pH 7.4)을 사용했으며, 전기화학측정을 위해 정전위기를 (CHI 720D, CH Instrument, USA) 사용하였다.

연료전지로서의 성능을 평가하기 위하여 SP-240(Bio-Logic, USA)

을 정전위기로 사용하였고, 환원극 촉매는 Pt-C를 이용했다. 멤브레인으로 Nafion 212를, 산화극 촉매는 앞서 만든 촉매잉크를 카본페이퍼 GDL 10BC (SGL Carbon, Germany)에 로딩한 후 건조하여 MEA (membrane-electrode-assembly)를 완성했다. 연료로는 0.1 M PBS (pH 7.4)에 용해해 만든 0.2 M의 글루코스 용액을 펌프를 가동하여 공급하며 순환시켰다. 산화환원 양극 모두 산소를 100cc min<sup>-1</sup>으로 공급했다.

### 2-4. 임피던스 측정

CV와 마찬가지로 삼전극 실험을 진행하였고, 작업전극을 만들기 위해서 촉매잉크를 백금전극(지름 12 mm) 위에 120  $\mu$ L를 올리고 30분 이상 건조한 후, 촉매의 탈락을 방지하기 위하여 Nafion 212 용액 84  $\mu$ L를 올려 건조했다. 전해질은 약 pH 7.4의 0.01 M PBS를 사용하였고 정전위기는 potentiostat모듈과 주파수 응답분석기(frequency response analyzer, FRA)를 가진 SP-240 (Bio-Logic, USA)를 사용하였다. modulating potential은 70 mV, 주파수는 10 Hz에서 3 MHz로 가해 decade 마다10 점을 측정하도록 설정했다.

### 2-5. 분광분석

GOx의 상대적인 고정화량을 비교하기 위해서 가시-자외선 분광분석기(V-560, JASCO, USA)를 사용하여 상층액의 흡광 영역대를 분석하였다. 5 mg·mL<sup>-1</sup>의 GOx 용액과 6가지 촉매를 원심분리하여 얻은 상층액을 각각 분석시료로 이용하였다[7].

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 촉매 제조

pH 7.0 부근에서 (-) 극성을 띠는 GOx와 (+) 극성을 띠는 bPEI 사이의 정전기적 인력을 이용하여 GOx/bPEI/CNT 구조를 완성하였다. 정전기적 인력만으로 제조된 촉매는 GOx와 bPEI 사이의 결합력이 약하여 촉매의 탈락 가능성이 높아, 이에 가교제로 TPA를 가하여 GOx의 효소간 상호결합 및 GOx와 PEI간의 화학결합을 유도하였으며(TPA/[GOx/bPEI/CNT]), [8] 촉매 합성과정은 Fig. 1에 도식하였다. 가교제 효과를 확인하기 위해 PEI (CNT 2 mg 당 PEI 2.5 mg) 및 GOx (CNT 2 mg 당 GOx 5 mg)는 모두 동일한 양을 사용했다. 본 논문에서는, bPEI 25 k, 750 k, 2000 k를 사용한 GOx/bPEI/CNT 구조를 각각 25R, 750R 및 2000R로 칭하였으며, 각각에 TPA를 첨

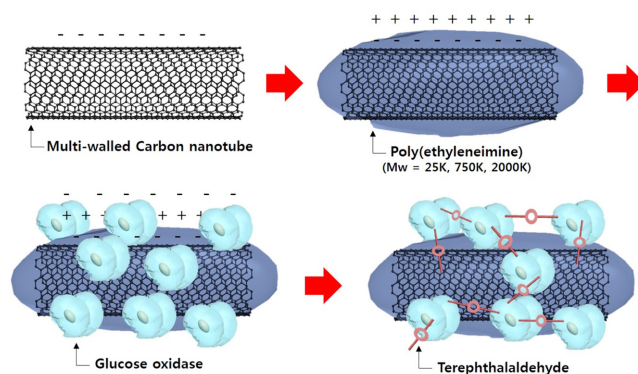


Fig. 1. Schematic illustrations showing the fabrication of the catalysts.

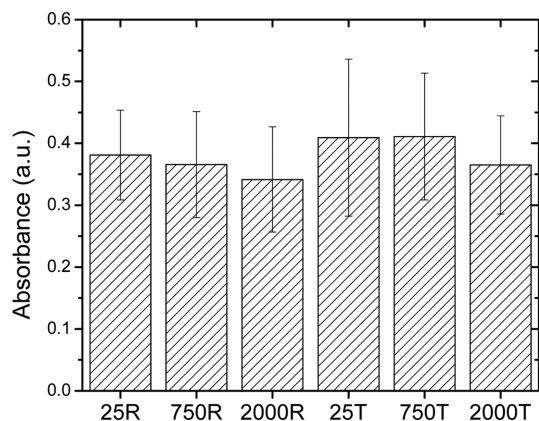


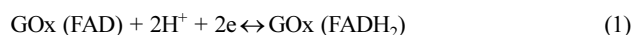
Fig. 2. UV-vis spectrum peaks representing GOx activities of three different GOx/PEI/CNT (25R, 750R and 2000R) and TPA/[GOx/PEI/CNT] (25T, 750T and 2000T) enzyme catalysts.

가한 TPA/[GOx/bPEI/CNT] 구조를 각각 25T, 750T 및 2000T로 칭하였다.

각 촉매의 상대적인 효소 고정화량을 비교하기 위해 GOx/bPEI/CNT 구조 촉매의 가시-자외선 분광분석기를 이용한 흡광분석을 실시한 결과, PEI 분자량이 증가함에 따라 효소 고정화는 감소하는 경향을 보였다. 즉, TPA를 사용하지 않은 경우, 0.381 (25R), 0.366 (750R), 0.342 (2000R)였고, TPA를 사용한 경우엔 0.409 (25T), 0.411 (750T), 0.365 (2000T)로 동일한 bPEI를 쓴 TPA를 사용하지 않은 촉매에 비해서 높은 GOx 고정율이 이루어진 것을 확인할 수 있다(Fig. 2).

### 3-2. 전기화학적 특성 평가

합성한 촉매에 담지된 GOx의 산화환원반응 정도를 확인하기 위해 CV 측정을 진행했다. GOx 내 공동인자(cofactor)인 Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)의 산화 및 환원반응에 따라 CV 결과에서 산화 및 환원피크전류밀도가 형성되며, 피크전류가 증가할수록 GOx와 담지체 간 직접전자전달이 활발함을 나타낸다. FAD의 산화환원반응식은 다음과 같다.



질소로 포화된 1.0 M PBS에서 주사속도가 100 mV·s<sup>-1</sup>일때 각 촉매들의 CV 측정 결과를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3b에 따르면 정전기적 인력에 의해 제조된 촉매(GOx/bPEI/CNT) 간의 피크 전류는 서로 큰 차이를 보이지 않았으나, TPA로 가교한 경우(TPA/[GOx/bPEI/CNT]), GOx/bPEI/CNT보다 피크 전류가 눈에 띄게 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이때 환원전류 피크값은 2000T가 -0.099±0.0027 mA·cm<sup>-2</sup>로 가장 크고, 나머지 샘플들은 -0.096±0.007(750T), -0.087±0.0094(25T), -0.052±0.0024(2000R), -0.0510±0.0083(750R) 그리고 -0.046±0.0042 (25R) 순서로 작은 값을 가졌다. 이는 가시-자외선 분광분석결과와 비교 시, TPA에 의하여 고정화량이 약 5~10% 내외로 증가했음에도 전극과 GOx의 전자전달은 50%가량 상승하여, TPA 도입이 전자전달에 크게 기여했음을 확인할 수 있다. bPEI의 분자량에 있어, 고분자량의 bPEI를 사용 시 상대적으로 적은 GOx가 담지 되었음에도, 2000 k의 bPEI를 사용한 TPA 도입 촉매(2000T)에서 가장 높은 피크전류를 나타낸 것은, bPEI 말단의 다량의 amine group이 TPA와 가교되면서 더 높은 전자전달능력을 나타낸 것으로 볼 수 있다.

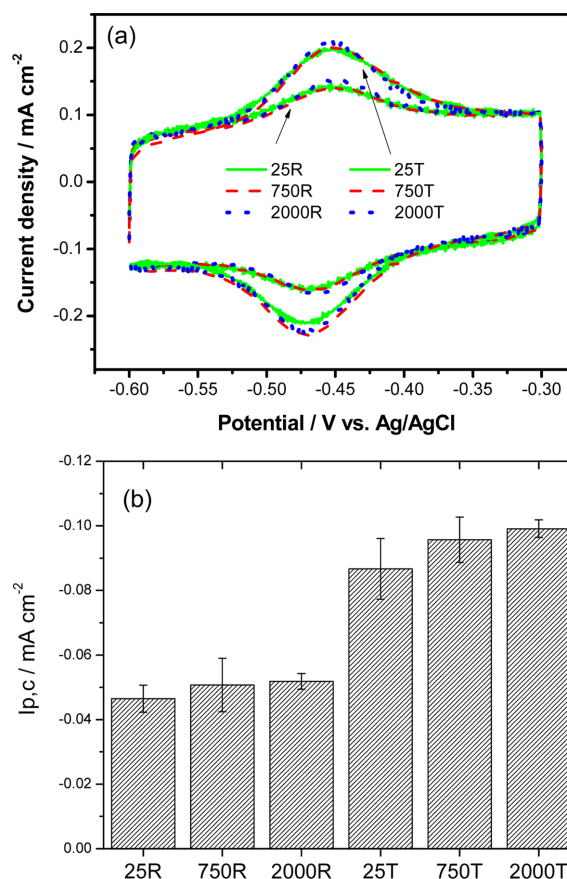


Fig. 3. (a) Cyclic Voltammograms of three different GOx/PEI/CNT (25R, 750R and 2000R) and TPA/[GOx/PEI/CNT] (25T, 750T and 2000T) enzyme catalysts and (b) their cathodic peak current densities. For the tests, 0.01 M phosphate buffer solution (PBS, pH 7.4) was used as electrolyte and scan rate was 100 mV·s<sup>-1</sup>.

정전기적으로 활성화된 GOx의 표면 평균 농도( $\Gamma$ , mol·cm<sup>-2</sup>)는 다음 식에 의거하여 CV 환원 피크의 전하 적분(charge integration)을 통해 추정할 수 있다[9].

$$Q = nFA\Gamma \quad (2)$$

이때 Q는 CV결과를 통해 계산할 수 있는 전하 값이며 F는 패러데이 상수, n은 전달된 전자수, A는 카본전극의 면적(cm<sup>2</sup>)을 뜻한다. 전자전달이 제대로 이루어졌다고 가정(n=2)하면 Q를 제외한 나머지는 모두 상수이다. 결국, 근소한 차이이기는 하나, CV 환원 피크 값이 가장 컸던 2000T가 가장 높은 활성 GOx 농도를 갖는다고 볼 수 있다. 그러나 TPA를 사용하지 않았던 세 촉매의 경우에, 환원 피크값에서의 큰 차이가 없어, PEI의 분자량 변화가 GOx의 고정화에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. 한편 TPA를 첨가한 경우에는 GOx의 담지량 증가에 비해 전류 상승이 크게 나타나 TPA가 GOx와 담지체 간의 전자전달을 활성화하거나 GOx의 고정화에 도움을 주는 것으로 볼 수 있다.

PEI 분자량 및 가교제 도입에 따른 임피던스 변화를 측정하기 위해 EIS (Electrochemical impedance spectra)결과를 비교하였다. 등가 전기회로 중 바이오 연료전지의 전기적 특성 해석에 적용된 사례가 많은 Randles 모델을 적용하였으며, 등가회로 구성은 Fig. 4(a) 안에

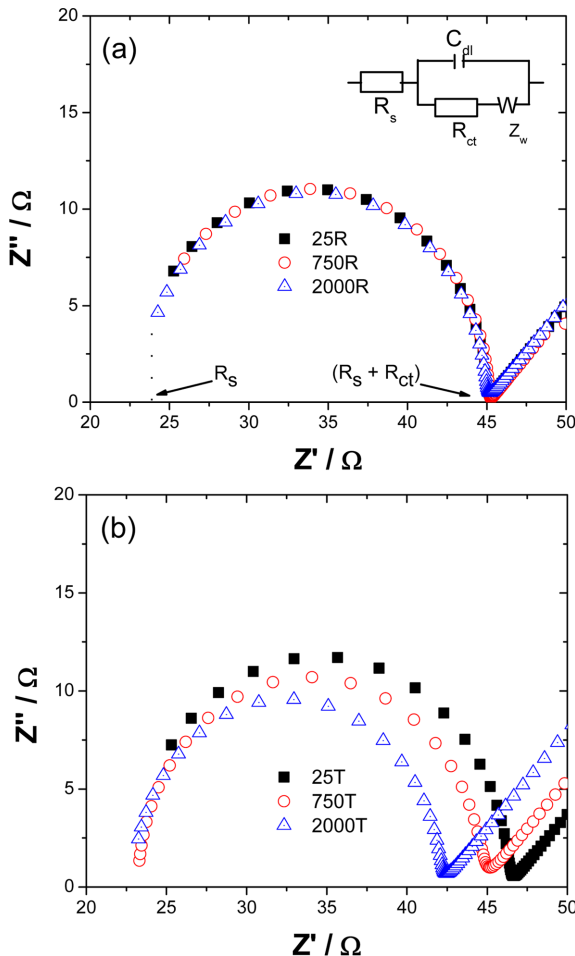


Fig. 4. Nyquist plots of (a) three different GOx/PEI/CNT (25R, 750R and 2000R) and (b) TPA/[GOx/PEI/CNT] (25T, 750T and 2000T) enzyme catalysts. For the tests, amplitude was 70 mV and frequency was ranged from 10 Hz to 3 MHz (Inset in (a): Randles equivalent circuit of EIS).

표기하였다[10]. 패러데이 반응저항과 이중층 전기용량 ( $C_{dl}$ )의 병렬 연결과 전해질 저항( $R_s$ )의 직렬 연결로 구성되어 있으며, 이때 패러데이 반응은 전하전달 저항( $R_{ct}$ )과 와버그 임피던스( $Z_w$ )로 구성된다. Fig. 4와 같은 나이퀴스트 선도(Nyquist plot)의 반원은  $R_{ct}$ 와  $C_{dl}$ 의 병렬 조합으로 생겨나며 이때 반원의 지름은  $R_{ct}$ 를 의미한다. 전해질 저항인  $R_s$ 는 약 23.0 Ω로 6개 측정 촉매에서 모두 같은 값을 나타내었는데, 이는 촉매의 종류와 관계없이 전해질 특성에 기인한 값으로서 본 실험에 사용된 전해질 용액의 고유한 값으로 해석할 수 있다.  $R_{ct}$ 의 경우 전하전달 저항으로 합성된 촉매의 전하전달 특성에 기인하여 변동되는데, 물리적 결합에 의해 제조된 25R, 750R, 2000R은 각각 22.3 Ω, 22.3 Ω, 21.9 Ω로 서로간의 큰 차이를 확인할 수 없었다. 그러나 TPA에 의해 가교되어 GOx와 담지체 간의 전자전달경로가 형성된 25T, 750T, 2000T는 각각 23.9 Ω, 22.3 Ω, 19.3 Ω를 나타내 bPEI 분자량의 증가에 따라 전하전달 저항이 감소하는 경향을 확인할 수 있는데, 이는 GOx/PEI/CNT 구조에 비해 다량의 GOx가 담지되어 있음에도 고분자량의 bPEI에 존재하는 다량의 free amine group과 GOx가 TPA에 의해 가교되며  $\pi$  결합 전자가 비편재화된 전자전달경로를 형성하여, GOx에서 글루코스와 FAD의 화학반응에서 생성된 전자가 bPEI/CNT 담지체 및 전극으로 보다 쉽게 이동할 수

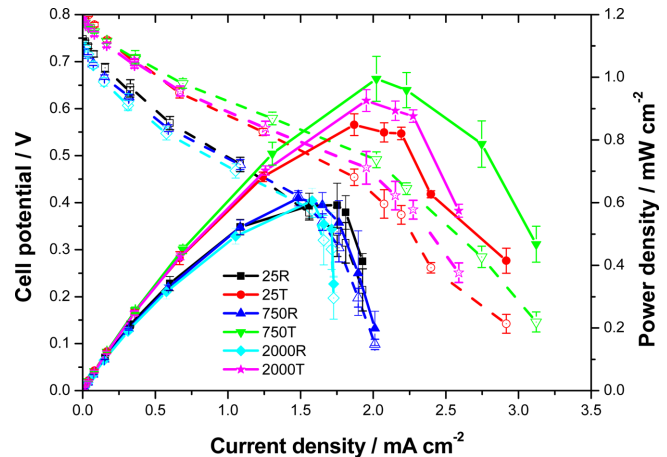


Fig. 5. Polarization curves of EBCs adopting three different GOx/PEI/CNT (25R, 750R and 2000R) and TPA/[GOx/PEI/CNT] (25T, 750T and 2000T) enzyme catalysts. In the tests, 0.2 M glucose solution was fed and circulated as a fuel from an external bottle to the anode chamber of the EBC at a rate of 0.1 rpm, while 100 cc·min<sup>-1</sup> of O<sub>2</sub> gas was fed to the cathode.

있음을 알 수 있으며, 전하전달 측면에서는 2000T가 가장 우수한 촉매임을 확인하였다.

### 3-3. 완전지 성능 평가 및 안정성 평가

GOx/PEI/CNT 및 TPA/[GOx/PEI/CNT]의 산화극 효소로서의 효과 및 성능을 확인하기 위해 TPA를 사용하지 않은 3개의 촉매와 TPA를 사용한 3개의 촉매를 이용해 완전지 실험을 진행하였다. 실험의 정확성을 위해 각 효소촉매를 이용한 완전지 테스트는 3번씩 진행하였고 그 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 완전지 테스트 결과, bPEI 750 k를 전도성고분자로 사용하고 TPA를 첨가해 합성한 촉매(750T)를 이용한 전지의 최대전력밀도(Maximum power density, MPD)는 0.995 mW·cm<sup>-2</sup>으로 가장 우수한 값을 보였으며, 이는 정전기적 결합에 의해 제조된 촉매에 비해 약 1.5배 개선된 결과를 얻을 수 있었다. 이외에 TPA를 사용한 촉매를 사용한 연료전지의 MPD는 0.926(2000T), 0.850(25T) mW·cm<sup>-2</sup>이었으며, TPA를 사용하지 않은 촉매를 적용한 연료전지의 MPD는 0.614(750R), 0.606(2000R), 0.592(25R) mW·cm<sup>-2</sup>순으로 TPA를 사용한 전지에 비해 상대적으로 낮은 성능을 보였다. 분자량에 따른 효과를 비교하면 CV 및 EIS 결과와는 상반되는데, 이는 알려진 바와 같이 Cross linker가 GOx의 활성인자를 막으며, 물질전달을 방해하는 효과로 볼 수 있다. 즉, 고분자량의 PEI를 사용한 경우, 다량의 전자전달 경로의 형성에 따라, 전극과 GOx의 전자전달을 촉진되나 Glucose의 물질전달이 방해가 되면서 두 효과의 경합이 발생하며, 이 두 효과의 경합에 따른 최적의 PEI 분자량은 750 k임을 확인할 수 있었다. 이에 비해 전도성 고분자로 polyaniline과 가교제인 GA를 사용하여 합성된 GA/[GOx/PANI/CNT] 촉매를 이용한 연료전지의 MPD는 0.29 mW·cm<sup>-2</sup>[11]이고, 실크 필름과 GOx를 가교제인 GA로 결합시킨 구조체를 매개체인 ferrocene과 CNT가 결합된 구조와 서로 결합한 산화극 촉매(SF-GOx/Fc-CNT)를 이용한 연료전지의 MPD 값은 50.70 μW·cm<sup>-2</sup>[12]로, 본 연구에서 개발한 촉매의 MPD가 상당히 좋은 값을 지님을 확인할 수 있다.

산화극 촉매 효소들의 장기간 안정성을 평가하기 위해, 4주간 각 촉매들의 촉매활성을 측정하여 안정성 평가를 진행하였다(Fig. 6).



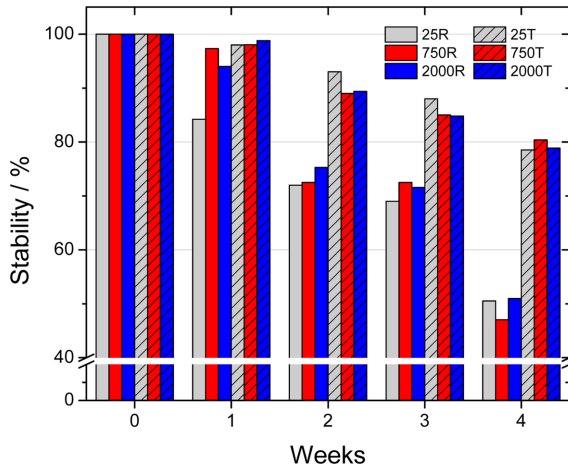


Fig. 6. Stability test results of three different GOx/PEI/CNT (25R, 750R and 2000R) and TPA/[GOx/PEI/CNT] (25T, 750T and 2000T) enzyme catalysts performed for 4 weeks.

25R의 경우 4주 후, 초기 활성에 비하여 50.53%로 감소하였고 750R과 2000R는 각각 47.05%, 51%로 비교적 비슷한 수준으로 활동도가 감소하였다. bPEI는 고정화된 단백질의 장기 안정성에 긍정적 효과를 주는 것으로 알려져 있으나[10], 분자량에 따른 변화는 없는 것을 확인하였다. 한편, 25T는 78.5%, 750T의 경우, 80.39%, 2000T는 78.88% 정도로, 이미 입증된 바와 같이[6,8] 4주 후에도 TPA를 사용하지 않은 촉매에 비해 안정적으로 활동도를 유지하여 TPA의 가교에 따른 장기 활성 유지 효과를 확인하였다.

#### 4. 결 론

본 연구에서 여러 분자량의 가지 달린 PEI (bPEI)를 이용하여 글루코스 바이오센서를 위한 산화효소 촉매를 제조했다. 이때 정전기적 인력으로 각 성분을 결합시켜 합성하였고, UV-Vis와 CV, EIS, 완전지 등 다양한 전기화학적 측정법을 통해 각 촉매의 성능을 측정하였다. 분자량의 증가에 따라 TPA에 의한 가교량이 상승하면서 다량의 전자전달경로가 형성되면서 담지량, 전극-촉매간 전자전달, 장기안정성은 개선되었으나, 연료전지의 최대전력밀도는 TPA 도입에 따른 물질전달 방해 효과와 경합하면서 750k의 분자량의 bPEI를 이용하여 TPA로 가교한 촉매에서 가장 높은 결과를 나타내었다. 즉, PEI의 분자량 증가에 따른 전자전달경로의 효과와 물질전달 방해 효과를 모두 확인하였으며, 두 효과의 경합에 따른 bPEI의 최적 분자량은 750 k임을 확인하였다. 최적 촉매로 얻은 최대전력밀도는 평균  $0.995 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ 로, 물리적 결합에 의해 제조된 촉매의 약 1.5배의 상승을 나타냈으며, 4주간 약 80%의 장기안정성 유지하여 약 60%의 개선효과를 확인할 수 있었다.

#### 감 사

이 논문은 2016년도 SL 공사의 환경에너지대학원 인재양성 프로그램에서 지원받아 수행된 연구임.

#### Reference

- Clark, L. C. Jr. and Lyons, C., "Electrode Systems for Continuous Monitoring in Cardiovascular Surgery," *Ann. NY Acad. Sci.*, **102**, 29-45(1962).
- Gao, F., Viry, L., Maugey, M., Poulin, P. and Mano, N., "Engineering Hybrid Nanotube Wires for High-power Biofuel Cells," *Nat. Commun.*, **1**, 1-7(2010).
- Kim, H., Jeong, N. J., Lee, S. J. and Song, K. S., "Electrochemical Deposition of Pt Nanoparticles on CNTs for Fuel Cell Electrode," *Korean J. Chem. Eng.*, **25**(3), 443-445(2008).
- Yu, H. R., Kim, J. G., Im, J. S., Bae, T. S. and Lee, Y. S., "Effects of Oxyfluorination on a Multi-walled Carbon Nanotube Electrode for a High-performance Glucose Sensor," *J. Ind. Eng. Chem.*, **18**, 674-679(2012).
- Sheldon, R. A., "Characteristic Features and Biotechnological Applications of Cross-linked Enzyme Aggregates (CLEAs)," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **92**, 467-477(2011).
- Chung, Y. and Kwon, Y., "A Study on Performance Improvement of Glucose Sensor Adopting a Catalyst Using New Cross Linker," *Korean Chem. Eng. Res.*, **53**(6), 802-807(2015).
- "Enzymatic Assay of Glucose Oxidase," Sigma Aldrich, <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/enzymatic-assay-of-glucose-oxidase.html> (accessed May 1, 2016).
- Chung, Y., Hyun, K. H. and Kwon, Y., "Fabrication of a Biofuel Cell Improved by the  $\pi$ -conjugated Electron Pathway Effect Induced from a New Enzyme Catalyst Employing Terephthalaldehyde," *Nanoscale*, **8**, 1161-1168(2016).
- Deng, C., Chen, J., Chen, X., Xiao, C., Nie, L. and Yao, S., "Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Biosensing for Glucose Based on Boron-doped Carbon Nanotubes Modified Electrode," *Biosens. Bioelectron.*, **23**(8), 1272-1277(2008).
- Kashyap, D., Dwivedi, P. K., Pandey, J. K., Kim, Y. H., Kim, G. M., Sharma, A. and Goel, S., "Application of Electrochemical Impedance Spectroscopy in Bio-fuel Cell Characterization: A Review," *International Journal of Hydrogen Energy*, **39**(35), 20159-20170 (2014).
- Christwardana, M. and Kwon, Y., "Effects of Multiple Polyaniline Layers Immobilized on Carbon Nanotube and Glutaraldehyde on Performance and Stability of Biofuel Cell," *J. Power Sources*, **299**, 604-610(2015).
- Liu, J., Zhang, X., Pang, H., Liu, B., Zou, Q. and Chen, J., "High-performance Bioanode Based on the Composite of CNTs-immobilized Mediator and Silk Film-immobilized Glucose Oxidase for Glucose/O<sub>2</sub> Biofuel Cells," *Biosens. Bioelectron.*, **31**(1), 170-175(2012).
- Xiong, M. P., "Poly(aspartate-g-PEI800), a Polyethylenimine Analogue of Low Toxicity and Gh Transfection Efficiency for GeneDelivery," *Biomaterials*, **28**, 4889-4900(2007).