

벤조퀴논 포집 폴리에틸렌이민-탄소나노튜브 지지체 기반 효소촉매의 바이오연료전지로서의 성능평가

안연주 · 정용진[†] · 권용재[†]

서울과학기술대학교 에너지환경대학원
 01811 서울특별시 노원구 공릉로 232
 (2016년 9월 30일 접수, 2016년 11월 25일 수정본 접수, 2016년 12월 12일 채택)

Performance Evaluation of Biofuel cell using Benzoquinone Entrapped Polyethyleneimine- Carbon nanotube supporter Based Enzymatic Catalyst

Yeonjoo Ahn, Yongjin Chung[†] and Yongchai Kwon[†]

Grad. School of Energy and Environment, Seoul National Univ. of Science and Technology, 232, Gongreung-ro, Nowon-gu, Seoul, 01811, Korea
 (Received 30 September 2016; Received in revised form 25 November 2016; accepted 12 December 2016)

요 약

본 연구에서는 글루코스 산화효소(glucose oxidase, GOx), 고분자인 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine, PEI), 카본 나노튜브(carbon nanotube, CNT)와 벤조퀴논(benzoquinone, BQ)을 이용하여 글루코스 바이오연료전지를 위한 바이오 촉매를 합성하였다. 이를 위해, 지지체인 PEI/CNT 복합체에 BQ를 정전기적 인력을 통해 물리적으로 포집한 뒤, GOx를 담지시켜 합성하였다. 이는 기존에 전자 매개체로서 전해질에 풀어서 사용했던 BQ를 전해질이 아닌 촉매 내에 포집 하여 촉매를 구성하였다는 개선점이 크며, 그 결과, BQ가 포집되지 않은 촉매 대비, 1.9배 상승한 34.16 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 의 최대전류밀도를 얻음을 통해 촉매활성이 개선되었음을 증명하였고, 바이오연료전지의 산화극 촉매로 이용 시, BQ가 포 집되지 않은 촉매를 이용한 바이오연료전지에 비해 1.2배 상승한 0.91 mW/cm^2 의 최대출력밀도를 얻었다. 이를 통해 바이오연료전지의 산화극을 위한 촉매로서 GOx와 함께 담지된 매개체 BQ를 포함한 촉매 제조 가능성을 확인하였다.

Abstract – In this study, we synthesized biocatalyst consisting of glucose oxidase (GOx), polyethyleneimine (PEI) and carbon nanotube (CNT) with addition of p-benzoquinone (BQ) that was considered anodic catalysts of enzymatic bio-fuel cell (EBC). For doing this, PEI/CNT supporter was bonded with BQ by physical entrapping method stemmed from electrostatic attractive force ([BQ/PEI]/CNT). In turn, GOx moiety was further immobilized on the [BQ/PEI]/CNT to form GOx/[BQ/PEI]/CNT catalyst. This catalyst has a special advantage in that the BQ that has been usually dissolved into electrolyte was immobilized on supporter. According to the electrochemical analysis, maximum current density of the GOx/[BQ/PEI]/CNT catalyst was 1.9 fold better than that of the catalyst that did not entrap BQ with the value of 34.16 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, verifying that catalytic activity of the catalyst was enhanced by adoption of BQ. Also, when it was used as anodic catalyst of the EBC, its maximum power density was 1.2 fold better than that of EBC using the catalyst that did not entrap BQ with the value of 0.91 mW/cm^2 . Based on such results, it turned out that the GOx/[BQ/PEI]/CNT catalyst was promising and viable as anodic catalyst of EBC.

Key words: Benzoquinone, Glucose oxidase, Biofuel cell, Mediated electron transfer

1. 서 론

효소기반 연료전지는 연료로부터 전기에너지를 생산하기 위하여 효소를 촉매로 사용하는 전지로서, 효소로는 연료인 글루코스에 대한 기질선택성과 기전력(electromotive force)이 높으며, 대량생산

이 가능한 특성이 있는 글루코스 산화효소(glucose oxidase, GOx)를 주로 이용하고 있다[1,2]. GOx내부의 활성인자인 Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)는 글루코스와 반응하여 전자를 생산하는데, 이를 산화극 촉매로 이용하여 전력을 생산하는 연구가 다수 보고되고 있으며, 이러한 특성을 글루코스 센서에 적용하여 상업화한 사례도 보고되고 있다[3]. 이러한 효소기반 촉매의 성공적 활용을 위해서는 효소에서 생성된 전자를 효과적으로 전극으로 이동시키는 것이 가장 중요한 문제로, 이를 위하여 효소와 지지체와의 안정적 흡착을 통한 효소 담지량의 증대와 효율적 전하이동 경로 생성을 필요로 한다.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: yjchung@seoultech.ac.kr, 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.

전자이동 경로는 크게 직접전자전달(direct electron transfer, DET) 및 간접전자전달(mediated electron transfer, MET)로 구분할 수 있는데, DET는 매개체(mediator) 없이 전자가 전극으로 직접 이동하는 기작으로, 높은 개로전압(open circuit voltage, OCV)을 기대할 수 있으나, 효소와 전극(지지체)사이의 간극을 2 nm 이내로 유지해야만 가능한 터널링 효과(tunnelling effect)에 의한 기작으로, 매개체가 효소의 활성부위와 전극에의 자유로운 접촉을 통하여 전자를 운반하는 역할을 하는 MET에 비해 상대적으로 그 성능이 떨어지는 단점이 있다[4]. 즉, 매개체는 전극표면의 효소와의 직접적인 상호작용의 필요성을 제거하여 전극과 효소의 활성부위 간 전자 전달 속도를 증가시킬 수 있는 장점을 갖고 있으나, 효소기반 연료전지의 주요 목표인 생체삽입형 연료전지에는 혈액 내에 매개체를 용해시켜 사용하기 어렵고, DET 대비 낮은 OCV에 기인하여 사실상 적용이 힘들 것으로 평가되고 있다[5]. 이를 해결하기 위하여, 최근 ferrocenecarboxylic acid, osmium redox polymer 등의 금속기반 고정형 매개체로 전극 표면을 개질한 산화극 촉매가 보고되고 있으나, 매개체의 생체독성 및 고가의 공정비용 등에 따라 생체삽입형 연료전지로서의 실적용은 힘들 것으로 예상된다[6,7].

본 연구에서는 MET의 주요 단점인 낮은 OCV, 매개체 전해질 용해 문제, 고가격 공정 및 생체독성을 해결하기 위하여, 용해성 매개체로 널리 사용되고 있는 저가의 벤조퀴논(benzoquinone, BQ)을 지지체인 생체적합성이 높은 폴리에틸렌이민(polyethylenimine, PEI)-탄소나노튜브(carbon nanotube, CNT) 복합체(PEI/CNT)에 정전기적 인력을 이용하여 물리적으로 포집하여 낮은 OCV를 개선한 후, GOx를 담지시켜 DET와 MET의 장점이 혼합된 비용해성 전자 전달 매개체 기반 전자전달쇄(electron transfer chain, ETC)형 효소 촉매를 개발하고 전기화학적 측정을 통하여 포집에 의한 성능향상 효과를 평가하였으며, 실 구동환경 모사를 통하여 생체삽입형 연료전지 산화극으로의 적용가능성을 확인하였다.

2. 실험

2-1. 시약

촉매의 지지체로서 표면적이 크면서도 전기전도성이 높은 탄소나노튜브(carbon nanotube, MR99, Carbon Nano-Material Technology, CNT)를 사용했고, GOx나 전자전달 매개체를 CNT에 물리적 흡착시키기 위해 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine, 50 wt% solution in water, MW 750,000, PEI)을 사용했다. 전자전달 매개체로 벤조퀴논(p-benzoquinone, 98+%, Alfa Aesar, BQ)을 촉매에 고정하였다. 글루코스(glucose, ACS reagent)를 연료로 전력을 생산하기 위한 효소로는 글루코스 산화효소(Glucose oxidase, Type X-S, 138370 U/g Solid, GOx)를 사용하였다.

한편, 전기화학 측정 시 Nafion®117을 사용하여 촉매가 전극으로부터 탈락하는 것을 방지하고자 하였다. 완전지 실험에서 Cathode 촉매로는 Pt-C (platinum, nominally 40% on carbon black, Alfa Aesar)를, 전해질은 1.0 M phosphate 완충용액(pH 7.4)과 0.01 M phosphate 완충용액(pH 7.4, Life technology)을 사용하였다. 특별히 출처를 명시하지 않은 시약은 모두 Sigma Aldrich에서 구매하였다.

2-2. 촉매 제조

촉매 구조내 BQ의 유무에 따른 성능 비교를 위해 BQ를 사용하지

않은 GOx/PEI/CNT 구조의 촉매를 제조하였으며, 방법은 다음과 같다.

2.5 mg/ml의 PEI 용액 1 ml에 2 mg의 CNT를 용해한 후 CNT가 잘 분산될 수 있도록 10분 내외로 초음파분산한다. 이후 CNT에 PEI가 잘 붙을 수 있도록 1시간 교반한다. 이 분산된 용액을 원심분리기에 넣고 여분의 PEI를 2회 세척한 다음, 원심분리 후 얻은 잔여물(PEI/CNT)에 5 mg/ml의 GOx 용액을 1 ml 넣고 분산한다. 30 분간 교반하여 GOx가 PEI/CNT에 충분히 붙이고 1회 세척하였다.

BQ/[GOx/PEI/CNT] 구조를 제조하기 위해서는 GOx/PEI/CNT에 1 mg/ml의 BQ를 1ml 넣고 분산한 후, 1 시간 정도 교반하고, BQ를 1회 세척하였다.

GOx/[BQ/PEI]/CNT 구조는 PEI를 CNT와 섞기 전에 2.5 mg/ml의 PEI 1 ml에 BQ가 1 mg/ml 농도가 되도록 용해한 뒤 1시간 서로 교반한 후, 이를 통해 만들어진 BQ/PEI 용액 약 1 ml에 2 mg의 CNT를 용해하였다. 이후 GOx를 담지시키는 과정은 GOx/PEI/CNT와 동일하다. 모든 촉매는 세척을 위한 원심 분리 후 증류수를 넣고 분산하여 잉크 형태로 완성한다[5,6]. 촉매잉크는 실험 외엔 4 °C에서 냉장 보관한다.

2-3. 전기화학측정

촉매 성능을 평가하기 위해 정전위기를 이용하여 전기화학적 측정용을 진행하였다.

2-3-1. 순환주사전류 및 시간대전류 측정

삼전극 실험을 통해 순환주사전류(cyclic voltammogram, CV)와 시간대전류(chronoamperometry, CA)를 측정하였고, 상대전극은 백금전, 기준전극은 Ag/AgCl (3.0 M NaCl)을 사용하였다. 작업전극을 만들기 위해서 촉매잉크(증류수를 넣고 분산한 촉매)를 탄소전극(지름 5.0 mm, 면적 0.196 cm²) 위에 7.0 µl 올려준 후 30분 이상 건조하였다. 그 후 Nafion(0.5 wt%) 용액 4.0 µl를 건조된 촉매 위에 올려준 후, 5분간 건조해서 사용하였고, 작업 전극은 실험 시 항상 1,000 rpm으로 회전시켜 확산에 의한 변수를 통일시켰다. 전해질은 1.0 M Phosphate 완충용액(PBS, pH 7.4)을 사용했다. 전기화학 측정을 위해 정전위기를(CHI 720D, CH Instrument, USA) 사용하였다.

2-3-2. 전기화학 임피던스 측정

CV와 마찬가지로 삼전극 실험을 진행하였고, 작업전극을 만들기 위해서 촉매잉크를 백금전극(지름 12 mm) 위에 120 µl를 올리고 30분 이상 건조한 후, Nafion 용액 80 µl를 올려 건조했다. 전해질로 0.01 M PBS (pH 7.4)를 사용하였고 정전위기는 정전위기 모듈과 주파수 응답분석기(frequency response an-alyzer, FRA)를 가진 SP-240 (Bio-Logic, USA)를 사용하였다. DC potential은 70 mV, 주파수 영역은 10 Hz에서 3 MHz로, decade마다 10점씩 측정하도록 설정하였다.

2-3-3. 완전지 측정

양성자 이외의 물질이 침범하는 것을 방지하고자 Nafion 117 막을 사용하였고 Nafion 단면에 Pt-C를 스프레이 기법으로 0.05 mg/cm²를 고정하여 환원극(cathode)으로 사용하였다. 산화극(anode)은 Carbon paper (GDL 10BC, SGL)에 촉매잉크를 20 µL 올려 건조한 후 이를

스프레이하지 않은 쪽에 올려 사용하였다. 산소는 100 cc/min로 환원극에 공급하였고 0.2 M 글루코스 용액(0.01 M PBS, pH 7.4)은 펌프 유속 30 rpm으로 산화극에 공급하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 촉매 제조

GOx/PEI/CNT 구조는 그간 GOx 기반 촉매 및 연료전지에 널리 사용된 구조로서, PEI의 말단의 아민기에 의한 ~10.5의 높은 등전점(isoelectric point, PI)과 우수한 포집 능력 이용하여, 낮은 PI(~4.2)를 갖는 GOx를 물리적으로 흡착시키는 방법에 의해 제조할 수 있다[8]. 그러나 PEI의 화학구조 상 전자전달이 불가하여, CNT와 GOx의 직접적 전자전달에 과정에 절연체로 작용하게 되므로 개선이 필요하며, 이를 위하여 Terephthalaldehyde (TPA) 등의 가교제(cross linker)를 이용하여 전자전달경로의 형성한 사례가 보고되었다[9,10]. 그러나 그간의 연구는 GOx의 표면과 PEI의 말단을 화학적으로 개질하여 전기적으로 연결시켜 DET를 극대화한 구조로, 전자전달량의 증폭에는 한계가 있었다.

전자전달 매개체의 담지에 의한 성능개선 효과를 확인하기 위해 매개체로 널리 사용되고 있는 BQ를 GOx/PEI/CNT구조의 제조에서 이용한 정전기적 인력을 이용하여 PEI에 포집시켰다. BQ는 구조상 비공유 전자쌍(lone pair electron)이 많아 중성 분위기(pH ~7)에서 상대적으로 음전하를 나타내 GOx와 마찬가지로 PEI와 쉽게 물리적 흡착이 될 수 있으며, PEI 말단의 아민 관능기에 의한 국부적 환경 변화로 인하여 산화환원전위가 음의 방향으로 이동하는 것으로 알려져 있으며, 이는 D. Mandler 등에 의하여 확인된 바가 있다[11]. 특히, PEI의 포집 시 BQ-PEI의 산화환원전위는 약 -0.5 V (vs. Ag/AgCl)로, GOx(FAD)의 -0.46 V와 거의 같아 효소연료전지의 활용 시 OCV에도 영향을 미치지 않을 것으로 예상하였다.

BQ의 포집효과를 확인하기 위하여 Fig. 1과 같이 두 가지 방법으로 BQ 담지시켰다. 첫 번째로 BQ를 PEI와 일차적으로 섞은 후, 이를 CNT에 접착(grafting)시키는 방법으로 PEI 내부에 BQ가 담지되는

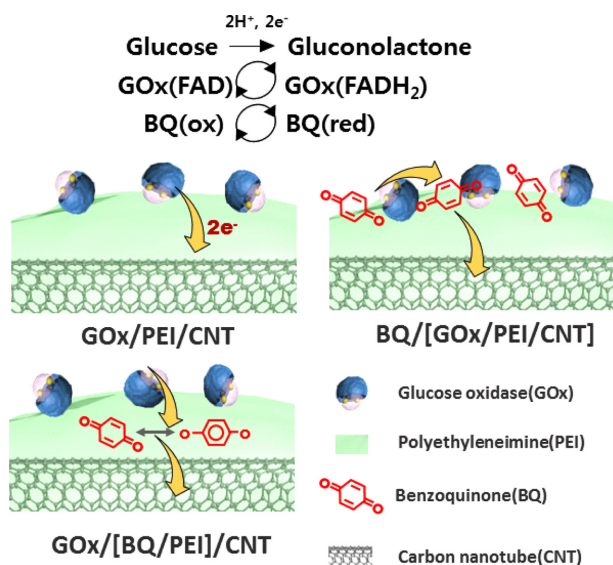


Fig. 1. Schematic Illustrations of catalytic structures and electron transfer mechanism of GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT] and GOx/[BQ/PEI]/CNT catalysts.

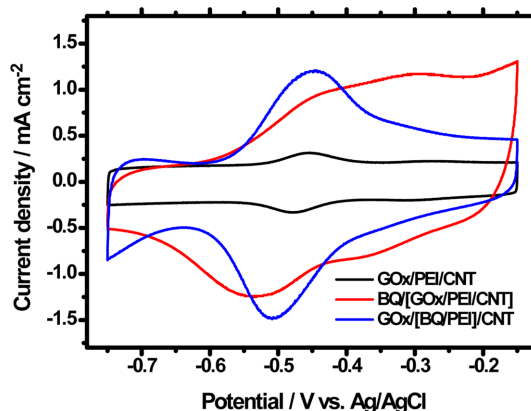


Fig. 2. Cyclic voltammograms of GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT] and GOx/[BQ/PEI]/CNT catalysts. 1.0 M PBS (pH 7.4) was used as electrolyte at N₂ saturated state, while potential scan rate was 100 mV/s and rotation rate of GCE was 1000 rpm.

형태를 합성하여, GOx (FAD)에서 생성된 전자가 PEI 내의 BQ들과 연속적으로 산화환원반응하면서 전극으로 이동되도록 구성된 촉매 (GOx/[BQ/PEI]/CNT), 두 번째로는 GOx/PEI/CNT 표면에 BQ를 분산시켜, GOx 주변에 BQ를 최대한 담지하여 GOx에서 생성된 전자의 포집을 최대화한 형태를 제조하였다(BQ/[GOx/PEI/CNT]).

3-2. 전기화학적 특성 평가

각 촉매의 산화환원반응 정도를 확인하기 위해 -0.8~-0.1 V 영역에서 CV 측정을 진행하였다. 질소로 포화된 1.0 M PBS에서 주사속도가 100 mV/s일 때 각 촉매들의 CV 측정 결과를 Fig. 2에 나타냈다. CV 결과에서 나타난 -0.5 V 부근의 산화 및 환원 피크는 GOx 내 활성인자인 Flavin Adenine Dinucleotide (FAD) 및 BQ의 산화환원반응을 의미하며, 피크전류가 증가할수록 GOx 및 BQ와 담지체 간 전자전달이 활발함을 나타낸다[12].

각 촉매의 CV 형태를 살펴보면, GOx/[BQ/PEI]/CNT에서 BQ가 PEI 내부에 포집되면서 예상된 바와 같이 산화환원피크가 -0.5 V 부근으로 이동하였다. 이는 기존의 연구결과와 같이 BQ/PEI 복합체가 형성되어, 전극과 BQ가 원활히 전자전달되고 있는 것으로 해석가능하다. 이와 달리 BQ/[GOx/PEI/CNT]의 경우, 같은 양의 촉매임에도, BQ의 산화환원전위가 넓은 영역에서 나타나면서 전극과 전해질 계면에서 생성된 전하전달이 원활하지 못해 기저전류(background current)가 커지고, 산화환원피크의 전압영역의 차 ($\Delta E_p = E_{pc} - E_{pa}$)가 급격히 커지는 현상을 확인할 수 있는데, 이는 BQ가 촉매 표면에 집중적으로 분포되고, PEI에 균일하게 포집되지 않으면서, -0.5 V 부근이 아닌 넓은 영역에서 전자전달이 일어나 OCV에 상대적으로 악영향을 미칠 것으로 예상할 수 있다. 즉, PEI의 BQ 포집에 의한 GOx와 CNT 간의 전자전달 효과를 극대화하기 위해서는 GOx/[BQ/PEI]/CNT 구조가 가장 효과적임을 확인하였다.

각 촉매의 산화환원 반응속도를 확인하기 위하여 10~210 mV/s의 주사속도에서 CV를 측정하고(Fig. 3) 이를 바탕으로 라비론 방정식(laviron's equation, $E_p = E^0 + (2.30RT/nF) \cdot \log(RT\kappa^0/nF) + (2.30RT/\alpha nF) \cdot \log v$)을 이용하여 전자전달속도상수를 계산하였다[13]. BQ/[GOx/PEI/CNT]와 GOx/[BQ/PEI]/CNT 촉매의 전자전달속도상수(K_s)값은 각각 0.122 ± 0.019/s, 0.761 ± 0.083/s로 0.785 ± 0.292/s인 GOx/PEI/CNT와 비교 시, GOx/[BQ/PEI]/CNT는 유사하였으나

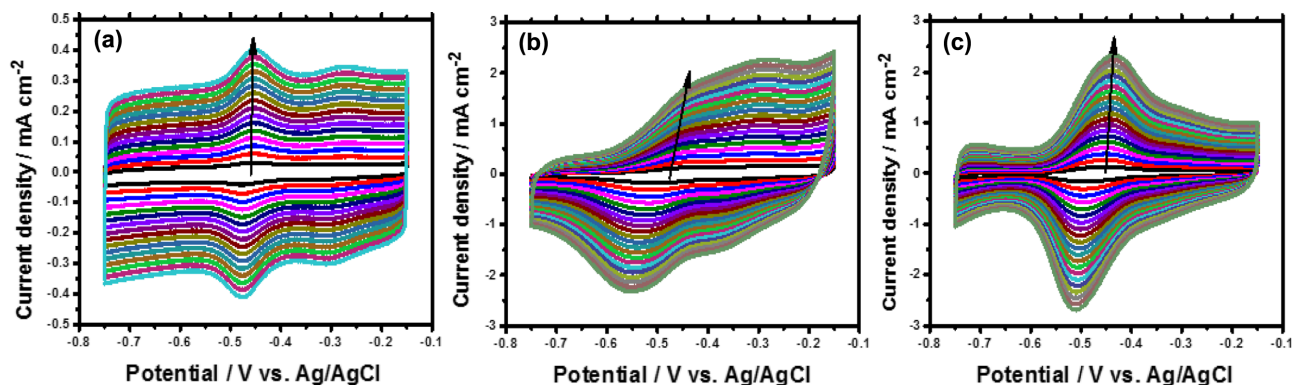


Fig. 3. Cyclic voltammograms of GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT] and GOx/[BQ/PEI]/CNT catalysts. 1.0 M PBS (pH 7.4) was used as electrolyte at N_2 saturated state, while potential scan rate was 10 (inner) to 210 (outer) mV/s and rotation rate of GCE was 1.000 rpm.

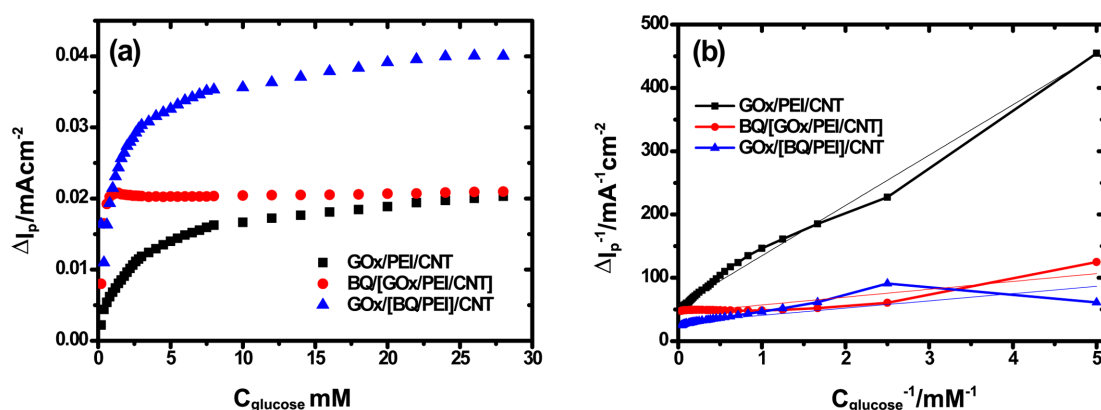


Fig. 4. (a) A plot representing how current density measured at -0.46 V was changed with an increase in glucose concentration. As a result, I_{max} of GOx/[BQ/PEI]/CNT was $34.16 \mu A/cm^2$. (b) Determination of the Michaelis-Menten constant (K_m) for the biosensor. the values in GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT] and GOx/[BQ/PEI]/CNT were 1.435, 0.277 and 0.391 mM, respectively.

BQ/[GOx/PEI/CNT]는 1/6 이하로 하락하였다. 이는 앞선 결과와 같이, BQ/[GOx/PEI/CNT] 내 BQ가 촉매 외부에 집중되면서 상대적으로 전자전달이 원활히 이뤄지지 않음을 확인해주는 결과로 볼 수 있다.

실제 구동환경에서의 글루코스 및 산소와의 반응성을 측정하기 위하여 공기포화조건에서 글루코스의 농도를 증가시키며, -0.46 V 부근에서의 전류응답(amperometric response)을 측정하였고 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 일반적으로 글루코스과 산소를 주입하게 되면, 환원 반응하던 산소가 글루코스의 산화반응($Glucose + O_2 \rightarrow Gluconolactone + H_2O_2$)에 사용되면서 -0.6 V에서 -0.3 V에 이르는 비교적 넓은 범위에서의 산소 환원반응은 줄어들어 환원전류 값은 감소한다. 특히, GOx/PEI/CNT의 경우 -0.46 V의 부근에서 산소와 글루코스의 반응에 따라 변화하는 산소 환원 전류 값은 글루코스 농도에 따라 현저히 변하게 되므로 이를 기준으로 상대비교하였다[8-10]. 전해질인 PBS 용액에 0.2 mM부터 29 mM까지 글루코스 용액을 23초마다 순차적으로 추가하여 전류값의 변화를 측정한 결과, 글루코스 농도에 따라 전류가 변하면서 생겨난 계단모양의 응답을 확인할 수 있었으며, Fig. 4(a)은 그 결과를 글루코스 농도 변화에 따른 전류 변화로 도식한 것이다. 그 결과, Fig. 4(a)에서 볼 수 있는 바와 같이 GOx/[BQ/PEI]/CNT 생성가능한 전류의 양이 GOx/PEI/CNT 대비 약 2 배 상승함을 확인하였다. 즉 PEI의 BQ포집에 따라, GOx/PEI/CNT에서 전자전달되지 못했던 다량의 전자

가 보다 쉽게 이동되면서, 글루코스과 산소의 반응에 따라 생성된 전자가 보다 쉽게 전극으로 이동되었음을 확인할 수 있다. 한편, BQ/[GOx/PEI/CNT]의 경우 저농도영역(> 0.4 mM)에서는 GOx/[BQ/PEI]/CNT와 유사한 경향이 나타났으나, 고농도영역에서 전류의 증가가 없음을 확인하였다. 이는 저농도 영역에서는 GOx/[BQ/PEI]/CNT 촉매의 BQ가 GOx에서 생성된 전자를 쉽게 이동시키는 것에 기여할 수 있으나, 고농도 영역에서는 그 효과가 급격히 감쇄됨을 확인할 수 있다.

상기 실험결과와 정량적 비교를 위하여 미카엘리스멘텐식(Michaelis-Menten equation)을 이용하여, 효소활성도와 최대전류 밀도를 계산하였으며, 그 결과는 Fig. 4(b)와 같다 미카엘리스멘텐 상수인 K_m 은 효소-물질 반응의 지표로, 고정화된 효소의 생물학적 활성도를 평가하는데 사용된다. 본 실험에서는 라인위버-버크(Lineweaver-Burk) 식 ($1/J_{ss} = K_m/(J_{max} \cdot C_{glucose}) + 1/J_{max}$)[14]을 수정하여 계산하였다.

이때 J_{ss} 는 반응물질 첨가 후 steady-state일 때의 전류, J_{max} 는 반응물질이 포화되었을 때 촉매가 생성해낼 수 있는 최대 전류, $C_{glucose}$ 는 용액 내 글루코스의 농도를 나타내며, 전류응답 결과를 선형회귀한 결과, J_{max} 값은 각각 18.06(GOx/PEI/CNT), 22.37(BQ/[GOx/PEI/CNT]), 34.16 $\mu A/cm^2$ (GOx/[BQ/PEI]/CNT)으로 GOx/[BQ/PEI]/CNT가 가장 큰 전류밀도 값을 보인다. 이를 통해 GOx/[BQ/PEI]/CNT 촉매를 적용한 완전지가 가장 높은 전력밀도를 보일

것으로 예측할 수 있다[9]. K_m 값은 1.435 (GOx/PEI/CNT), 0.277 (BQ/[GOx/PEI/CNT]), 0.391 (GOx/[BQ/PEI]/CNT) mM로 계산되었는데, K_m 값은 작을수록 고정화된 GOx가 높은 효소 활성도를 지닌다는 것을 의미하며 GOx가 담지된 전극이 글루코스에 높은 친화도를 가진다는 것을 의미한다. GOx/PEI/CNT와 BQ/[GOx/PEI/CNT] 및 GOx/[BQ/PEI]/CNT 비교시 BQ의 사용에 따라 촉매의 활성이 크게 향상되었음을 알 수 있으나, 예상과 달리 BQ/[GOx/PEI/CNT]의 활성이 가장 높은 것으로 계산되었다. 이는 Fig. 4(a)에서 확인할 수 있는 바와 같이 BQ/[GOx/PEI/CNT]가 저농도 영역 (0.3 mM)에서 급격하게 상승한 후, 낮은 농도에서 0.02 mA/cm²로 포화된 것에 기인한 것으로, BQ가 GOx 주위에 포집되면서, 저농도 구간에서 glucose에 대한 감도가 GOx/[BQ/PEI]/CNT와 유사하나, 저농도에서 빨리 포화되면서 완전지에서의 성능은 GOx/[BQ/PEI]/CNT가 가장 우수할 것으로 예상할 수 있다. 즉 BQ의 PEI 포집으로 인하여 저농도의 응답이 개선되고, 최대 전류밀도가 증가하면서 촉매의 글루코스 친화도가 상승했음을 확인하였으며, GOx/[BQ/PEI]/CNT가 글루코스 센서로도 성능이 크게 향상되었음을 확인하였다.

Fig. 5은 임피던스 법으로 GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT], GOx/[BQ/PEI]/CNT 전극을 각각 측정 한 후 임피던스 스펙트럼의 실수와 허수 부분을 나이키스트 그래프(Z_{im} vs. Z_{re})로 도시한 것이다. Fitting에는 Randle's equivalent model (Fig. 5에 내삽)을 적용하였고, 나이키스트 그래프 내 반원의 앞쪽 x절편은 전해질저항인 R_s 값을 의미하며, 본 촉매에선 평균적으로 1.537 Ω 이었다. 뒤쪽 x절편은 전해질저항(R_s)과 전하전달 저항(R_{ct})의 합을 의미하므로 뒤쪽 x절편과 앞쪽 x절편의 차를 통해 R_{ct} 를 계산할 수 있다. 측정결과, R_{ct} 는 7.83 (GOx/PEI/CNT), 7.298 (BQ/[GOx/PEI/CNT]), 7.776 (GOx/[BQ/PEI]/CNT) Ω 으로 촉매 간 차이는 크게 없으나 BQ를 사용하지 않았을 때 가장 저항이 크게 나타났으며, BQ/[GOx/PEI/CNT]의 저항이 가장 작게 나타났다. 즉 BQ가 GOx의 주위에 집중적으로 포집되면서, 전극 계면에서의 저항이 줄어들었음을 확인할 수 있었으며, GOx/[BQ/PEI]/CNT에서도 그 효과가 존재함을 확인하였다.

3-3. 완전지 평가

각 촉매를 산화극에 적용한 완전지를 제조 후, 최대전력밀도 평가를 각각 세 차례 진행하였고 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 이때 환원극은 Nafion 117에 Pt-C를 스프레이기법을 통해 분산하여

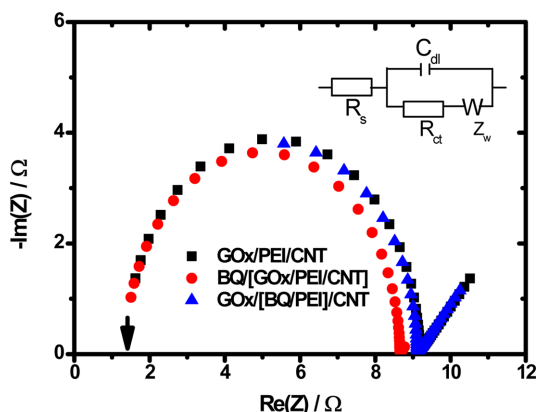


Fig. 5. Nyquist plots of GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT] and GOx/[BQ/PEI]/CNT to measure R_s and R_{ct} of the catalysts.

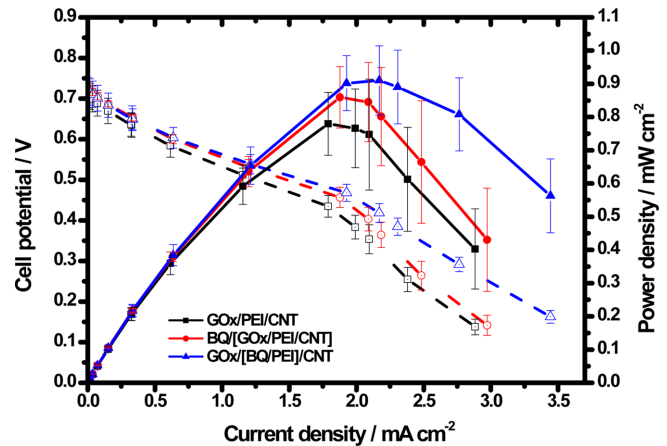


Fig. 6. Polarization curves of biofuel cells adopting GOx/PEI/CNT, BQ/[GOx/PEI/CNT] and GOx/[BQ/PEI]/CNT as anodic catalysts.

제조했으며 100 cc/min로 산소를 주입해주었다. 그 결과, GOx/PEI/CNT 전극의 경우 1.79 mA/cm²에서 0.78 ± 0.094 mW/cm², BQ/[GOx/PEI/CNT]는 0.86 ± 0.092 mW/cm², GOx/[BQ/PEI]/CNT는 0.91 ± 0.10 mW/cm²으로, 기대된 바와 같이 GOx/[BQ/PEI]/CNT에서 가장 높은 최대전력밀도(maximum power density, MPD)를 확인하였으며, 이는 GOx/PEI/CNT에 대비하여 16.7% 개선된 결과이다. 또한, 분극곡선(polarization curve)의 농도손실(concentration loss)영역에서도 낮은 기울기를 나타내며 높은 전류밀도를 형성하여, 실제환경 모사 실험에서도 BQ가 완전지 성능 향상에 기여함을 재확인하였다. 이는 GOx/PEI/CNT 경우 GOx의 담지량에 따라 0.4~0.7 mW/cm² [9,10], BQ를 전해질에 용해시켜 측정 한 GOx/CNT 구조의 경우 0.1 mW/cm² 내외로[15] 보고된 것도 비교할 시, 가장 우수한 결과임을 확인할 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 전자전달매개체인 BQ를 PEI에 포집시켜 개질된 CNT 기반 지지체([BQ/PEI]/CNT)에 GOx를 고정화하여, 촉매를 산화극에 적용하여 글루코스 바이오연료전지를 제작하였다. CV 측정에서 BQ의 사용으로 환원전류밀도 값이 크게 증가를 보였으며, GOx에서 생성된 전자가 효율적으로 전극으로 이동할 수 있음을 확인하였다. 또한 K_m 이 0.391 mM로 글루코스 센서로서도 활용 가능성이 매우 높음을 확인하였으며, 최대전류(34.16 μ A/cm²)와 완전지에서 높은 최대전력밀도(0.91 mW/cm²)를 생산해내 효소기반 연료전지 산화극 촉매로서 그 성능이 우수함을 확인하였다.

감 사

이 논문은 2016년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행한 연구입니다(No.2016M1A2A2937143).

Reference

1. Lee, S. H., Kim, Y. S., Chu, C. H., Na, I. C., Lee, J. H. and Park, K. P., "Effect of Fabrication Method of Cathode on OCV

- in Enzyme Fuel Cells," *Korean Chem. Eng. Res.*, **54**(2), 171-174(2016).
2. Lee, S. H., Hwang, B. C., Lee, H. R., Kim, Y. S., Chu, C. H., Na, I. C. and Park, K. P., "Effect of Fabrication Method of Anode on Performance in Enzyme Fuel Cells," *Korean Chem. Eng. Res.*, **53**(6), 667-671(2015).
 3. Wilson, R., "Glucose Oxidase: An Ideal Enzyme," *Biosens. Bioelectron.*, **7**, 165-185(1992).
 4. Ivnitski, D., Artyushkova, K., Rincon, R. A., Atanassov, P., Luckarift, H. R. and Johnson, G. R., "Entrapment of Enzymes and Carbon Nanotubes in Biologically Synthesized Silica: Glucose Oxidase-Catalyzed Direct Electron Transfer," *Small*, **4**(3), 357-364(2008).
 5. Barton, S. C., Gallaway, J. and Atanassov, P., "Enzymatic Biofuel Cells for Implantable and Microscale Devices," *Chem. Rev.*, **104**, 4867-4886(2004).
 6. Van Nguyen, K. and Minter, S. D., "Investigating DNA Hydrogels as a New Biomaterial for Enzyme Immobilization in Bio-batteries," *Chemical Communications*, **51**(66), 13071-13073(2015).
 7. Osadebe, I., Conghaile, P. Ó., Kavanagh, P., and Leech, D., "Glucose Oxidation by Osmium Redox Polymer Mediated Enzyme Electrodes Operating at Low Potential and in Oxygen, for Application to Enzymatic Fuel Cells," *Electrochimica Acta*, **182**, 320-326(2015).
 8. Hyun, K. H., Han, S. W., Koh, W. and Kwon, Y., "Fabrication of Biofuel Cell Containing Enzyme Catalyst Immobilized by Layer-by-layer Method," *Journal of Power Sources*, **286**, 197-203(2015).
 9. Chung, Y., Hyun, K. and Kwon, Y., "Fabrication of Biofuel Cell Improved by π -Conjugated Electron Pathway Effect Induced from a New Enzyme Catalyst Employing Terephthalaldehyde," *Nanoscale*, **8**, 1161-1168(2016).
 10. Chung, Y., Ahn, Y., Christwardana, M., Kim, H. and Kwon, Y., "Development of a Glucose Oxidase-based Biocatalyst Adopting Both Physical Entrapment and Crosslinking and its Use in Biofuel Cells," *Nanoscale*, **8**, 9201-9210(2016).
 11. Mandler, D., Kaminski, A. and Willner, I., "Application of Polyethyleneimine-quinone Modified Electrodes for Voltammetric Measurements of pH," *Electrochimica acta*, **37**(15), 2765-2767(1992).
 12. Wang, J., "Electrochemical Glucose Biosensors," *Chem. Rev.*, **108**, 814-825(2008).
 13. Laviron, E., "General Expression of the Linear Potential Sweep Voltammogram in the Case of Diffusionless Electrochemical Systems," *J. Electroanal. Chem.*, **101**, 19-28(1979).
 14. Kamin, R. A. and Wilson, G. S., "Rotating Ring-disk Enzyme Electrode for Biocatalysis Kinetic Studies and Characterization of the Immobilized Enzyme Layer," *Anal. Chem.*, **52**(8), 1198-1205(1980).
 15. Ayato, Y., Suganuma, T., Seta, H., Yamagiwa, K., Shiroishi, H., and Kuwano, J., "Synthesis and Application of Carbon Nanotubes to Glucose Biofuel Cell with Glucose Oxidase and p-Benzoquinone," *Journal of The Electrochemical Society*, **162**(14), F1482-F1486(2015).