

효소연료전지의 Anode 제조조건이 OCV에 미치는 영향

김영숙* · 이세훈 · 추천호* · 나일채** · 이 호** · 박권필†

순천대학교 화학공학과
540-742 전남 순천시 매곡동 315

*(주)ETIS
415-813 경기도 김포시 고천읍 풍곡리 431-1

** (주)CNL Energy
540-742 전남 순천시 매곡동 315

(2014년 6월 11일 접수, 2014년 7월 1일 수정본 접수, 2014년 7월 16일 채택)

Effect of Fabrication Method of Anode on OCV in Enzyme Fuel Cells

Young-Sook Kim*, Se-Hoon Lee, Cheun-Ho Chu*, Il-Chai Na**, Ho Lee** and Kwon-Pil Park†

Department of Chemical Engineering, Suncheon National University, 315 Maegok-dong, Suncheon-si, Jeonnam 540-742, Korea

*ETIS Co, 431-1 Punggok-ri, Gochon-eup, Gimpo-si, Gyeonggi 415-813, Korea

**CNL Energy Co, 315 Maegok-dong, Suncheon-si, Jeonnam 540-742, Korea

(Received 11 June 2014; Received in revised form 1 July 2014; accepted 16 July 2014)

요 약

효소 전극 anode와 PEMFC용 전극 cathode를 이용하여 효소연료전지를 구동하였다. 효소 anode는 그래파이트 분말과 효소로서 글루코스 산화제, 전자매개체로서 페로센을 혼합해 압축해서 만들고 Nafion 이오노머로 코팅하였다. anode 제조조건을 변화시키며 OCV를 측정해 효소 anode 제조 최적조건을 찾았다. 효소 anode 압축 시 최적 압력은 9.0 MPa였다. 효소 anode에서 그래파이트가 60%일 때 최고의 OCV를 나타냈다. anode 기질 용액의 최적 글루코스 농도는 1.7 mol/l이었으며, anode의 효소 활성은 7일 동안 안정적으로 유지되었다.

Abstract – Enzyme fuel cells were composed of enzyme anode and PEMFC cathode. Enzyme anodes was fabricated by compression of a mixture of graphite particle, glucose oxidase as a enzyme and ferrocene as a mediator, and then coated with Nafion ionomer. Open circuit voltage (OCV) were measured with variation of anode manufacture factors, to find optimum condition of enzyme anode. Optimum pressure was 9.0 MPa for enzyme anode pressing process. Highest OCV was obtained at 60% graphite composition in enzyme anode. Optimum glucose concentration was 1.7mol/l in anode substrate solution and enzyme activity of anode was stable for 7 days.

Key words: Enzyme Fuel Cells, OCV, Pressing Anode, Fabrication Method, Glucose Oxidase

1. 서 론

생물연료전지(Biological fuel cell)는 금속 촉매 대신 효소나 미생물을 촉매로 사용하여 화학에너지를 전기에너지로 전환하는 저온 연료전지다. 이 중 효소연료전지(enzyme fuel cell)는 촉매로 효소를 사용하여 연료를 선택적으로 산화하고 산소를 환원하는 것으로 구성된다. 효소를 anode와 cathode에 고정하는 것이 가능할 경우에는 연료의 캐이싱과 막이 불필요해져서 연료전지의 소형화가 가능하다

[1-5]. 따라서 원격 휴대용 전자장치, Biosensor, 다양한 이식용 의료장치 등에 적용될 수 있다. 최근에 효소와 전극사이에 전자 전달을 개선하여 인체 자체의 연료인 글루코스(포도당)를 소비하고 산소를 환원시켜 의료장치에 동력을 제공할 수 있는 이식 가능한 효소연료전지에 관심이 증가하고 있지만 아직은 초기 단계로 장치의 동력생산을 증가시키고 안정성을 향상시키는 것이 해결해야 할 가장 큰 과제이다.

효소연료전지의 성능과 안정성을 향상시킨 연구들을 보면, Yuhashi 등[6]은 단백질이 변형된 pyrroloquinoline quinone (PQQ) glucose dehydrogenase 돌연변이체를 사용하여 온도 안정성을 증가시키고 전지의 수명을 6배 이상 연장시켰다. 가장 일반적으로 사용된 촉매는 anode에는 glucose oxidase 또는 glucose dehydrogenase이며 cathode에는 laccase나 bilirubin이지만 Jenkins 등[7]은 anode에 aldose

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: parkkp@sunchon.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.

dehydrogenase를 사용하여 성능과 안정성을 향상시키기도 했다. 다양한 효소와 더불어 산화환원 효소와 전극 지지체 사이의 전기적 접촉을 증가시키기 위해 오스몼을 비롯한 다양한 전자 매개체 (electron mediator)가 보고되었다[1,8,9]. 화학적으로 무해한 2-methyl-1,4-naphthoquinone(Vitamin K3)-based 고분자를 매개체로 이용하여 인체 이식용으로서의 가능성을 높였으며 glucose dehydrogenase 외에도 다양한 NAD^+ 의존 효소의 사용을 가능하게 하였다.

다양한 적용을 위해 효소는 효소자체 또는 redox 매개체와 함께 고정되었으며 그 방법에는 물리적 흡착, entrapment, 가교화 (crosslinking) 등이 이용되고 있다[5]. 효소 고정을 위해 한 가지 이상의 방법이 이용되며 Kim 등[10]은 흡착, 침전, 가교화의 연속과정을 통해 효소의 안정성을 향상시켜 출력 밀도를 높이고 수명을 연장시켰다. 최근에는 그래파이트 분말, 효소, 매개체 혼합물을 기계적인 압착에 의해 쉽고 빠르게 전극을 만들 수 있는 방법이 소개되었다[11,12]. 전형적인 효소 전극은 전도성 표면의 기능에 초점을 두는 반면, 기계적 압착 방법은 그래파이트 분말, 효소, 매개체 자체가 단지 압착을 통해 효소전극을 구성하므로 각 요소들 사이에 화학적 결합이 형성되지 않으며 화학적 접촉에 따른 물질의 변형도 발생하지 않는다. 또한 수용성 전해질에 불용성인 매개체의 사용도 가능해 졌다.

본 연구에서는 글루코스 산화제(GO_x), 그래파이트, 매개체를 압착해서 만든 anode에 PEMFC용 cathode와 전해질 막을 사용해 단위전지를 구성하고 OCV를 측정했다. 효소 anode 제조 조건에 따라 달라지는 OCV를 측정함으로써 최적의 효소 anode 제조 조건을 찾고자 하였다.

2. 실험

2-1. 전극 제조

Anode 효소 전극 제조는 다음과 같다. 그래파이트(Aldrich), 글루코스 산화제(GO_x , Sigma), ferrocene(98%, Aldrich), 글리세린(Crown Guaranteed Reagents), 증류수를 혼합해 균일한 상태가 되게 하였다. 몰드에 이 혼합물을 넣고 상온에서 프레싱으로 성형 하였다. 상온에서 건조한 후에 Nafion 용액(5 wt%, Aldrich)에 액침(dipping)하고 건조한 다음 Nafion 이오노머로 표면을 코팅하였다. lead 선은 구리선을 몰드에서 프레싱할 때 혼합물 중간에 삽입해 연결하였다.

Cathode는 PEMFC cathode와 같은 형태로 제작하였다. 백금이 카본 블랙에 40중량 % 담지된 Pt/C(Alfa Aesar, 42204) 촉매를 사용하였다. Pt/C 촉매 : 물 : 이소프로필알코올 : Nafion 이오노머 용액을 1 : 3 : 6.5 : 8의 중량비로 혼합하여 균일한 상태가 될 때까지 교반하여 촉매 용액을 제조하였다. 전사 필름으로 폴리이미드 필름을, 전해질 막으로 Nafion 211을 사용하였다. 두께가 $50 \mu\text{m}$ 가 되도록 블레이드(blade) 높이를 조절하고, 제조된 촉매 용액을 0.4 mg/cm^2 의 Pt가 로딩되도록 전사 필름 상에 코팅하였다. 전해질 막 한 쪽에 촉매층이 형성된 전사 필름을 위치시킨 후, 100°C 의 온도 150 kgf/cm^2 의 압력으로 3분 동안 열간 압착(hot-pressing)하였으며, 이후 전사 필름을 조심스럽게 분리시켜 닥터 블레이드 및 열간 압착에 의해 형성된 막-cathode 접합체를 제조하였다.

2-2. 측정 및 분석

효소 anode와 막-cathode 접합체를 Fig. 1과 같은 cell에 설치해

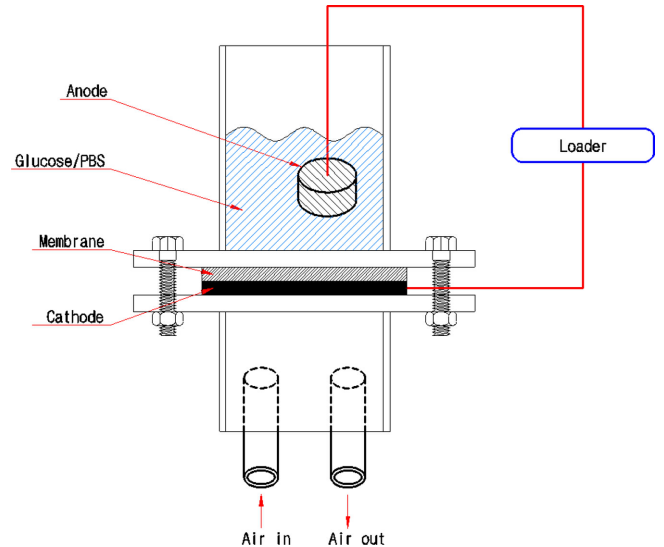


Fig. 1. Schematic diagram of enzyme fuel cell.

OCV를 측정했다. 막-cathode 접합체를 가스켓과 함께 플랜지 사이에 넣고 고정해 용액이 새지 않게 하였다. anode는 막 바로 위에 위치시키고 글루코스(99.5%, Sigma)를 포함한 버퍼용액(BioWhittaker)을 cell에 투입하였다. cathode에 산소를 200ml/min 속도로 유입하면서 상온에서 Electronic loader(CNL ESL-300Z)에 의해 OCV를 측정하였다.

Anode 전극의 효소 활성은 일반적인 glucose oxidase 분석법[13]을 이용해 측정하였다. 100 mM PBS(pH 7)에 glucose(555 mM), horseradish peroxidase(6units/ml) *O*-dianisidine(0.21 mM)을 혼합하여 반응액을 준비하였고 여기에 효소를 포함한 anode를 액침하고 실온에서 활성을 측정하였다. glucose oxidase에 의해 개질된 glucose의 산화율은 UV 분광광도계(500 nm, Simadzu UV-1650PC)를 사용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. Anode 제조 조건에 따른 OCV

Anode 구성 성분으로 그래파이트와 GO_x (Glucose oxidase), Ferrocene을 180 : 20 : 200 비로 혼합해 몰드에 넣고 프레싱 압력을 변화시키면서 anode를 제조하고 OCV를 측정한 결과를 Fig. 2에 나타냈다. 9.0 MPa 압력에서 최고 OCV 1,028 mV를 보이고 있다. 2.5 MPa와 같은 낮은 압력으로 제조한 anode는 그래파이트 입자간의 거리가 멀어 접촉저항이 커져 OCV가 감소한 것으로 판단된다. 그리고 15 MPa와 같은 높은 압력으로 제조한 anode는 기공이 작아 글루코스 용액이 anode 내부까지 전달되는 물질전달 저항이 커 OCV가 감소한 것으로 보인다.

프레싱 하여 성형한 anode가 기질 용액 중에서 풀어지지 않게 Cosnier 등[11]은 실리콘 접착제 등을 anode 표면에 사용했는데 본 연구에서는 Nafion 용액을 이용했다. Nafion 용액에 anode를 담근 후 건조시킴으로써 Nafion 이오노머가 표면을 코팅해, 접착제 역할을 하면서 H^+ 이온을 전달하는 역할도 한다. 실리콘 접착제를 사용한 Cosnier 등[11]의 결과는 OCV가 0.63 V였으나 Nafion 이오노머를 이용한 본 연구결과는 OCV가 1.0 V를 넘었다. Nafion 코팅횟수에

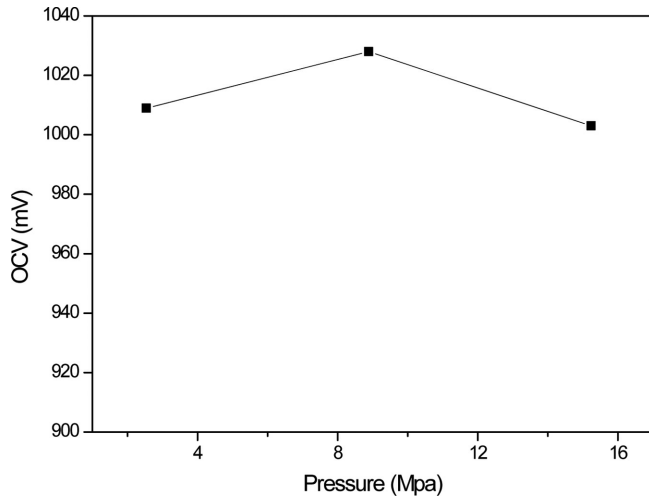


Fig. 2. Effect of pressing pressure on the OCV of enzyme fuel cell.

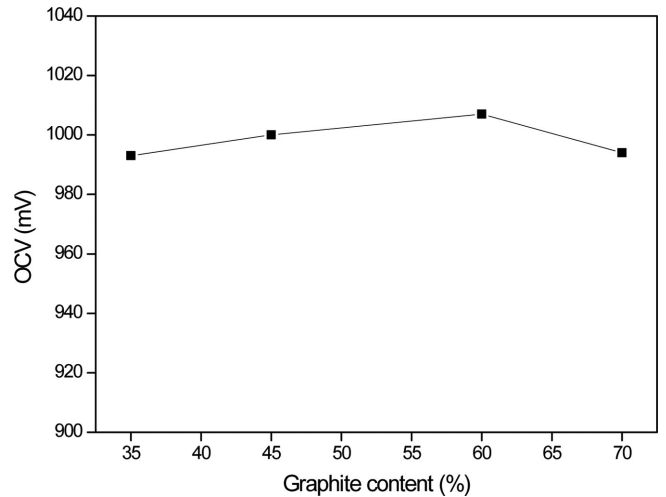


Fig. 4. Effect of graphite content on the OCV of enzyme fuel cell.

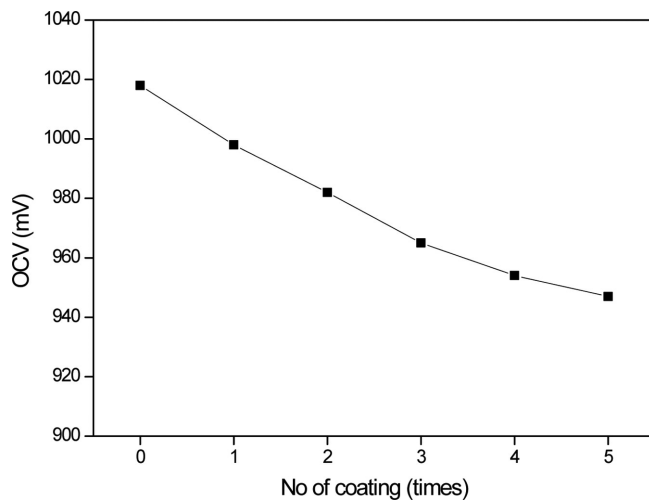


Fig. 3. OCVs of enzyme fuel cell as a function of Nafion coating times.

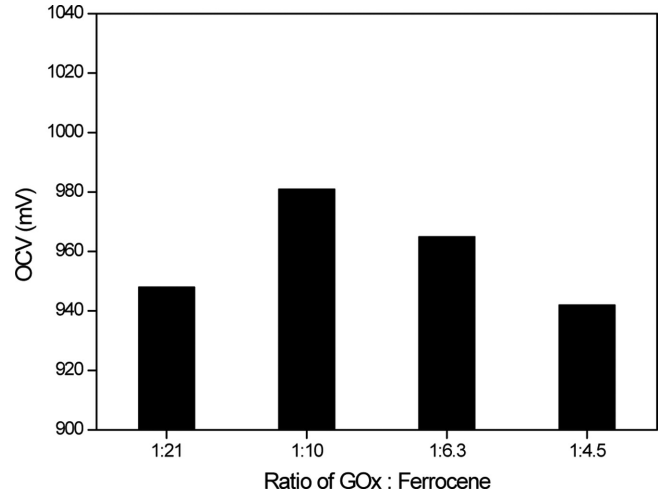


Fig. 5. OCVs of enzyme fuel cell as a function of ratio of GOx : ferrocene.

따라 OCV가 어떻게 변하는지 측정된 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 코팅하지 않았을 때 OCV가 1,018 mV였으나 코팅횟수가 증가하면서 OCV가 감소해 5회 코팅했을 때는 947 mV까지 감소하였다. Nafion 이온노머의 두께가 두꺼워지면서 기질인 글루코스 용액이 anode 내부까지 침투하는데 저항이 커져 OCV가 감소하는 것으로 보인다. 최적 그래파이트 함량을 결정하기 위해 그래파이트 : (효소+매개체) 비를 변화시키면서 OCV를 측정하였다(Fig. 4). 효소와 매개체 비는 1 : 10으로 고정시켜 효소와 매개체비에 의한 영향은 받지 않게 하였다. 그래파이트가 60%일 때 최고의 OCV 1,007 mV를 나타냈다. 그래파이트가 35%이면 993 mV로, 9.0 MPa의 압력으로 프레스했을 때 그래파이트 양이 작아 접촉 저항이 커져서 OCV가 감소한 것으로 판단된다. 그리고 그래파이트가 70%일 때는 효소와 매개체 양이 부족해서 글루코스를 산화해 발생한 전자의 운반능력이 감소하고 또 수소 이온을 발생시키는 능력이 약해 OCV가 감소한 것으로 보인다.

최적의 효소와 매개체비를 결정하기 효소와 매개체 비를 변화시키면서 OCV를 측정하였다(Fig. 6). 그래파이트와 효소+매개체 비는 180 : 220으로 고정시켜 그래파이트와 효소+매개체 비에 의한 영향은 받지 않게 하였다. 효소와 매개체 비가 효소 : 조효소=1 : 10 일 때

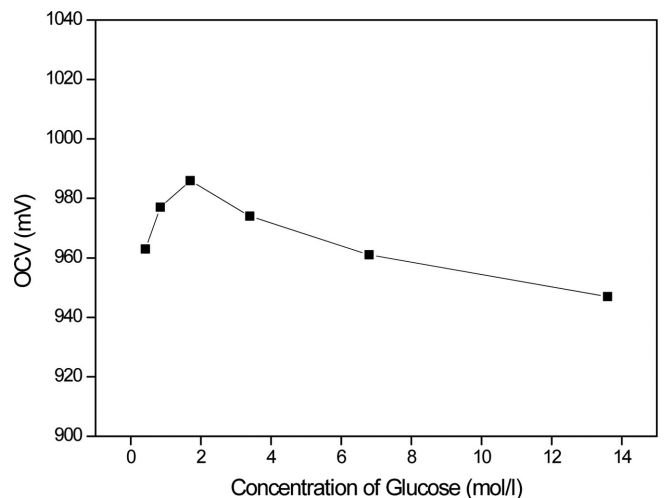


Fig. 6. Effect of glucose concentration on the OCV of enzyme fuel cell.

최고의 OCV 981 mV를 나타냈다. 효소 : 매개체 = 1 : 21 일 때는 OCV가 948 mV로 효소에 비해 매개체양이 너무 많아 글루코스 산

화 반응 속도가 감소해 OCV가 감소한 것으로 판단된다. 그리고 효소 : 매개체 = 1 : 4.5일 때는 효소에 비해 매개체 양이 부족해 전자 전달이 잘 안되어서 OCV가 감소한 것으로 보인다.

3-2. Anode 기질 용액의 농도에 따른 OCV

글루코스의 농도를 변화시키면서 OCV를 측정한 결과를 Fig. 6에 나타냈다. 글루코스 농도가 증가할수록 OCV가 증가하는 것이 아니라 1.7 mol/l에서 최고의 값을 나타내고 이후 감소하는 추세를 보이고 있다. 글루코스 농도가 너무 높아지면 점도가 높아져서 anode 내부로 글루코스가 이동하는 물질전달 저항이 커져 OCV가 감소하는 것으로 판단된다.

3-3. OCV 안정성

효소 및 anode 전극의 안정성에 대해 연구하기 위해 시간 경과에 따라 OCV를 측정했다(Fig. 7). 30분까지는 OCV가 비교적 일정하게 유지되다 2시간 30분까지 감소하고 이후로 6시간까지 또 일정한 OCV를 나타냈다. 6시간 동안에 OCV가 1,000 mV에서 600 mV로 40% 감소하였다. 이와 같은 OCV 감소는 효소 및 anode 전극의 안정성 감소에 의한 것도 있지만 전해질 막과 cathode의 성능 변화에

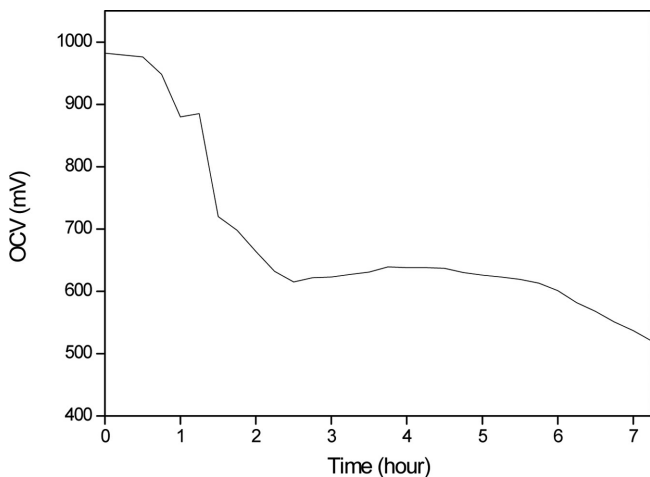


Fig. 7. Change of OCV in enzyme fuel cell.

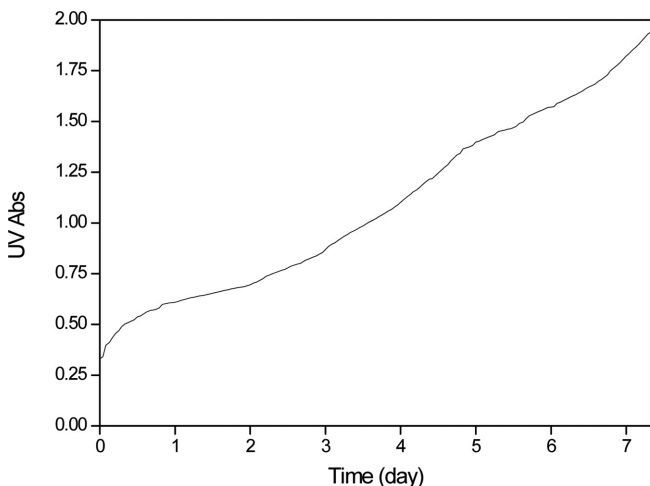


Fig. 8. Change of enzyme activity(UV Abs) in enzyme fuel cell.

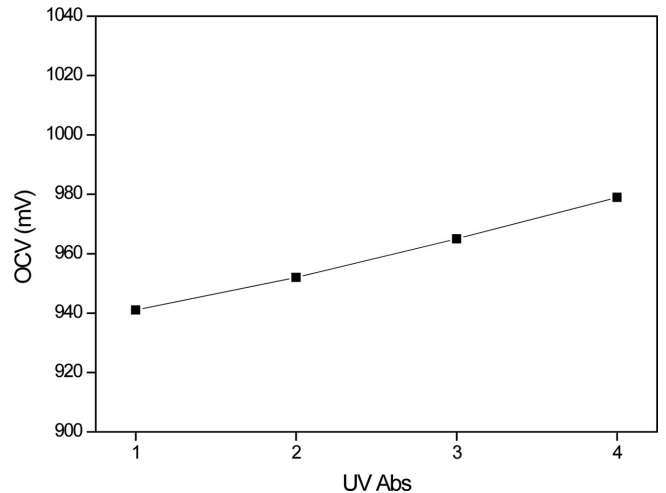


Fig. 9. OCV as a function of enzyme activity (UV Abs) in enzyme fuel cell.

따른 영향도 있을 수 있다. 그래서 anode의 효소활성 변화를 전해질 막과 cathode의 영향을 받지 않은 상태에서 측정하기 위해 셀 외부에서 측정했다. 즉 글루코스 용액이 담겨져 있는 용기에 anode를 침지시킨 후 각 시간별로 용액의 UV 흡광도를 분석해 효소 활성 변화를 측정한 것이다.

효소 활성 변화를 측정한 결과를 Fig. 8에 나타냈는데 효소활성을 나타내는 500 nm에서[13] 흡광도가 일정한 속도로 증가해 효소 활성은 7일까지 안정적인 모습을 나타냈다. 따라서 Fig. 7의 OCV 감소는 Anode의 문제는 아니라는 사실을 확인할 수 있었다. 글루코스 용액에 Na, Ca, Fe과 같은 양이온들이 없기 때문에 이들 이온의 이온교환에 따른 막 전도도 감소는 없다고 생각되어 막의 문제는 아니라고 생각되었다[14]. 셀이 수직방향으로 되어 있어 중력에 의해 글루코스가 cathode에 잘 전달될 수 있는 구조이므로 Pt 촉매 오염에 의한 산소환원 활성이 감소해 OCV가 감소한 것으로 판단된다[15].

제조 조건을 변화시켜 만든 anode의 OCV와 효소 활성을 나타내는 UV 흡광도의 관계를 Fig. 9에 나타냈다. OCV 측정은 10분 내에 진행되어 OCV 감소가 일어나기 전에 측정함으로써 cathode 오염에 의한 영향을 받지 않게 하였다. OCV 측정 직후에 글루코스 용액을 샘플링하여 UV 흡광도를 측정하였다. UV 흡광도가 증가함에 따라 OCV도 증가했다. 그래서 본 실험에서 anode의 OCV 감소는 anode의 효소 활성 감소가 아니라 cathode의 오염에 의한 촉매 활성 감소에 의한 것임을 확인하였다.

4. 결 론

효소(GOx)와 그래파이트를 압착해서 만든 anode에 PEMFC 용 cathode와 전해질 막을 사용해 단위전지를 구성한 효소연료전지의 개회로전위에 대해 실험한 결과를 다음과 같이 정리하였다.

(1) anode 구성 성분으로 그래파이트와 GOx, ferrocene를 혼합해 몰드에 넣고 프레싱할 때 최적 압력은 9.0 MPa이었다.

(2) anode 표면을 Nafion 코팅하여 anode가 글루코스 용액에서 용해되는 것을 방지하였는데, 코팅하지 않았을 때 OCV가 1,020 mV였으나 코팅횟수가 증가하면서 OCV가 감소해 5회 코팅했을 때는

948 mV까지 감소하였다.

(3) anode에서 그래파이트가 60% 조성일 때 최고의 OCV를 나타냈고, 최적의 효소 : 매개체 비는 1 : 10 이었다.

(4) 최적의 anode 제조조건은 효소:매개체를 1:10비로하고 그래파이트 60% 조성으로 혼합하여 9.0 Mpa 압력으로 프레싱하여 Nafion 이오노머로 2회 코팅하는 것이다.

(5) anode 기질 용액의 최적 글루코스 농도는 1.7 mol/l 이었다.

(6) UV에 의해 분석한 결과 anode의 효소 활성은 일정하게 유지되어 OCV 감소에 영향을 주지 않았으나 cathode의 촉매활성 감소에 의해 OCV는 6시간 후에 초기의 60%로 감소하였다.

References

- Heller, A., "Miniature Biofuel Cells," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 209-216(2004).
- Mano, N., Mao, F. and Heller, A., "Characteristics of a Miniature Compartment-less Glucose-O₂ Biofuel Cell and Its Operation in a Living Plant," *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 6588-6594(2003).
- Mano, N., Mao, F. and Heller, A., "A Miniature Biofuel Cell Operating in A Physiological Buffer," *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 12962-12963(2002).
- Mano, N., Mao, F., Shin, W., Chen, T. and Heller, A., "A Miniature Biofuel Cell Operating at 0.78 V," *Chem. Commun.*, 518-519(2003).
- Leech, D., Kavanagh, P. and Schuhmann, W., "Enzymatic Fuel Cells: Recent Progress," *Electrochim. Acta*, **84**, 223-234(2012).
- Yuhashi, N., Tomiyama, M., Okuda, J., Igarashi, S., Ikebukuro, K. and Sode, K., "Glucose of a Novel Glucose Enzyme Fuel Cell System Employing Protein Engineered PQQ Glucose Dehydrogenase," *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 2145-2150(2005).
- Jenkins, P., Tuurla, S., Vaari, A., Valkiainen, M., Smolander, M. and Leech, D., "A Mediated Glucose/oxygen Enzymatic Fuel Cell Based on Printed Carbon Inks Containing Aldose Dehydrogenase and Laccase as Anode and Cathode," *Enzyme Microb. Technol.*, **50**, 181-187(2012).
- Tsujimura, S., Kano, K. and Ikeda, T., "Glucose/O₂ Biofuel Cell Operating at Physiological Conditions," *Electrochemistry*, **70**, 940(2002).
- Sato, F., Togo, M., Islam, M. K., Matsue, T., Kosuge, J., Fukasaku, N., Kurosawa, S. and Nishizawa, M., "Enzyme-based Glucose Fuel Cell Using Vitamin K₃-immobilized Polymer as An Electron Mediator," *Electrochem. Commun.*, **7**, 643-647(2005).
- Kim, H., Lee, I., Kwon, Y., Kim, B., Ha, S., Lee, J. and Kim, J., "Immobilization of Glucose Oxidase into Polyaniline Nanofiber Matrix for Biofuel Cell Applications," *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 3908-3913(2011).
- Cosnier, S., Shan, D. and Ding, S. N., "An Easy Compartment-less Biofuel Cell Construction Based on the Physical co-inclusion of Enzyme and Mediator Redox Within Pressed Graphite Discs," *Electrochem. Commun.*, **12**, 266-269(2010).
- Zebda, A., Gondran, C., Cinquin, P. and Consier, S., "Glucose Biofuel Cell Construction Based on Enzyme, Graphite Particle and Redox Mediator Compression," *Sens. Actuators B-Chem.*, **173**, 760-764(2012).
- Bergmeyer, H. U., Gawehn, K. and Grassl, M., "Methods of Enzyme Analysis," second ed., Academic Press Inc., New York, 457-458 (1974).
- Song, J., Woo, M., Kim, K., Kim, S., Ahn, B., Lim, T. and Park, K., "Decrease of PEMFC Performance by Ion Contamination," *Korean Chem. Eng. Res.*, **50**, 187-190(2012).
- Lee, H., Kim, T. H., Sim, W. J., Kim, S. H., Ahn, B. K., Lim, T. W. and Park, K. P., "Pinhole Formation in PEMFC Membrane After Electrochemical Degradation and Wet/dry Cycling Test," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**, 487-491(2011).