Korean Chem. Eng. Res., 54(2), 171-174 (2016)
http://dx.doi.org/10.9713/kcer.2016.54.2.171
PISSN 0304-128X, EISSN 2233-9558

효소연료전지의 Cathode 제조조건이 OCV에 미치는 영향

이세훈 · 김영숙* · 추천호* · 나일채** · 이정훈** · 박권필†

순천대학교 화학공학과
57922 전남 순천시 매곡동 412
*(주)ETIS
10122 경기도 김포시 고천읍 풍곡리 431-1
**(주)CNL Energy
57922 전남 순천시 매곡동 412
(2015년 9월 22일 접수, 2015년 10월 9일 수정본 접수, 2015년 10월 14일 채택)

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

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

Department of Chemical Engineering, Sunchon National University, 412, Maegok-Dong, Suncheon, Jeonnam, 57922, Korea
**ETIS Co, 431-1, Punggok-ri, Gochon-eup, Gimpo, Gyeonggi, 10122, Korea*
***CNL Energy Co, 412, Maegok-Dong, Suncheon, Jeonnam, 57922, Korea*
(Received 22 September 2015; Received in revised form 9 October 2015; accepted 14 October 2015)

요 약

효소 전극 cathode와 PEMFC용 전극 anode를 이용하여 효소연료전지를 구동하였다. 효소 cathode는 그래파이트 분말과 효소로서 Laccase, 산화환원 매개체로서 ABTS를 혼합해 압축해서 만들고 Nafion 이오노머로 코팅하였다. cathode 제조조건을 변화시키며 OCV를 측정해 효소 cathode 제조 최적조건을 찾았다. 효소 cathode 압축 시 최적 압력은 4.0 bar 였다. 효소 cathode에서 그래파이트가 95%일 때 최고의 OCV를 나타냈다. cathode기질 용액의 최적 글루코스 농도는 0.4 mol/l이었다.

Abstract – Enzyme fuel cells were composed of enzyme cathode and PEMFC anode. Enzyme cathode was fabricated by compression of a mixture of graphite particle, laccase as a enzyme and ABTS as a redox mediator, and then coated with Nafion ionomer. Open circuit voltage (OCV) were measured with variation of cathode manufacture factors, to find optimum condition of enzyme cathode. Optimum pressure was 4.0 bar for enzyme cathode pressing process. Highest OCV was obtained at 95% graphite composition in enzyme cathodee. Optimum glucose concentration was 0.4 mol/l in cathode substrate solution.

Key words: Enzyme fuel cells, OCV, Pressing cathode, Fabrication method, Laccase

1. 서 론

생물연료전지(Biological fuel cell)는 금속 촉매 대신 효소나 미생물을 촉매로 사용하여 화학에너지를 전기에너지로 전환하는 저온 연료전지다[1]. 생물연료전지로써 효소연료전지(enzyme fuel cell)는 효소를 사용하여 연료를 선택적으로 산화하는 anode와 산소를 환원하는 cathode, 분리판 등으로 구성되는데, 효소를 anode와 cathode에 고정하는 것이 가능할 경우, 연료의 케이싱과 막이 불필요해져서 연료전지의 소형화가 가능하다[2-7]. 따라서 원격 휴대용 전자장치, Biosensor, 다양한 이식용 의료 장치 등에 적용될 수 있다.

인체 자체의 연료인 포도당(glucose)을 소비하고 산소를 환원시켜 의료장치에 동력을 제공할 수 있는 이식 가능한 효소연료전지에 관심이 증가하고 있다. 하지만, 아직은 초기 단계로 효소와 전극사이에 전자 전달 개선을 통해 장치의 동력생산을 증가시키고 안정성을 향상시키는 것이 해결해야 할 가장 큰 과제이다.

효소연료전지의 성능과 안정성을 향상시킨 연구들을 보면, Kulys 등[8]은 산소 소비량을 증가시키는 폴리머를 포함하여 laccase의 불활성화를 방지하였고, Yuhashi 등[9]은 단백질이 변형된 pyrroloquinoline quinone (PQQ) glucose dehydrogenase 돌연변이체를 사용하여 온도 안정성을 증가시키고 전지의 수명을 6배 이상 연장시켰다. 가장 일반적으로 사용된 촉매는 anode에 glucose oxidase 또는 glucose dehydrogenase 이며 cathode에는 laccase[10]나 bilirubin[11]이다. Jenkins등[12]은 기존 방법과 다르게 anode에 aldose dehydrogenase를 사용하여 성능

†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.

과 안정성을 향상시키기도 했다.

다양한 효소와 더불어 산화환원 효소와 전극 지지체 사이의 전기적 접촉을 증가시키기 위해 오스뮴을 비롯한 다양한 전자 매개체(electron mediator)가 보고되었다[2,13,14]. 화학적으로 무해한 2-methyl-1,4-naphthoquinone (Vitamin K3)-based 고분자를 매개체로 이용하여 인체 이식용으로서의 가능성을 높였으며 glucose dehydrogenase외에도 다양한 NAD^+의존 효소의 사용을 가능하게 하였다.

다양한 적용을 위해, 효소는 효소자체 또는 redox 매개체와 함께 고정하는 방법을 사용하였으며, 그 방법에는 물리적 흡착, entrapment, 가교화(crosslinking)등이 이용되고 있다[6]. 효소 고정을 위해 Kim 등[15]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[16,17]. 전형적인 효소 전극은 전도성 표면의 기능에 중점을 두는 반면, 기계적 압착 방법은 그래파이트 분말, 효소, 매개체 자체가 단순히 압착을 통해 효소전극을 구성한다. 따라서 각 요소들 사이에 화합적 결합이 형성되지 않으며 화학적 접착에 따른 물질의 변형도 발생하지 않는다. 또한 수용성 전해질에 불용성인 매개제의 사용도 가능해 졌다.

본 연구에서는 환원 효소인 laccase, 그래파이트, 매개체를 기계적으로 압착해서 만든 cathode, PEMFC용 Pt/C 촉매를 적용한 anood와 고분자 전해질 막을 사용해 단위전지를 구성하였다. 효소 cathode 제조 조건에 따라 달라지는 OCV를 측정하여 최적의 효소 cathode 제조 조건을 찾고자 하였다.

2. 실 험

2-1. 전극 제조

Cathode 효소 전극 제조는 다음과 같다. 그래파이트(Aldrich), laccase (Sigma),2,2-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, Fluca), 글리세롤(Crown Guaranteed Reagents)을 혼합해 균일한 상태가 되게 하였다. 몰드에 이 혼합물을 넣고 상온에서 프레싱으로 성형하였다. 상온에서 건조한 후에 Nafion 용액(5 wt%, Aldrich)으로 액침(dipping)하고 Nafion 이오노머로 표면을 코팅하였다. lead 선은 구리선을 몰드에서 프레싱 할 때 혼합물 중간에 삽입해 연결하였다.

Anode는 PEMFC anode와 같은 형태로 제작하였다. 백금이 카본 블랙에 40 wt% 담지된 Pt/C(Alfa Aesar, 42204)촉매를 사용하였다. Pt/C 촉매 : 물 : IPA : Nafion solution을 1 : 3 : 6.5 : 8의 중량비로 혼합하여 균일한 상태가 될 때까지 교반하여 촉매 용액을 제조하였다. 전사 필름으로 폴리이미드 필름을, 전해질 막으로 Nafion 212를 사용하였다. 두께가 50 μm가 되도록 블레이드(blade) 높이를 조절하고, 제조된 촉매 용액을 0.4 mg/cm^{2}의 Pt가 로딩 되도록 전사 필름 상에 코팅하였다. 전해질 막 한 쪽에 촉매 층이 형성된 전사 필름을 위치시킨 후, 100 °C의 온도 150 kgf/cm^{2}의 압력으로 5분 동안 열간 압착(hot-pressing)하였으며, 이후 전사 필름을 조심스럽게 분리시켜 닥터 블레이드 및 열간 압착에 의해 형성된 전해질 막-anode 접합체를 제조하였다.

2-2. 측정 및 분석

효소 cathode와 막-anode 접합체를 Fig. 1과 같은 cell에 설치해

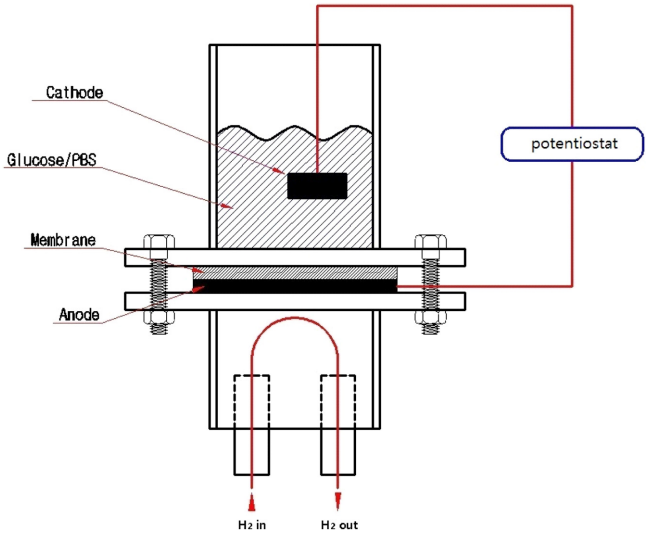

Fig. 1. Schematic diagram of enzyme fuel cell.

OCV를 측정했다. 막-anode를 합체를 개스킷과 함께 플랜지 사이에 넣고 고정해 용액이 새지 않게 하였다. cathode는 막 바로 위에 위치시키고 글루코스(99.5%, Sigma)와 버퍼용액(BioWhittaker)을 cell에 투입하였다. anode에 수소를 100 ml/min 속도로 유입하면서 상온에서 potentiostat (Solartron)으로 성능을 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. Cathode 제조 조건에 따른 OCV

Cathode 구성 성분으로 Laccase와 ABTS, 그래파이트를 2 : 10 : 300의 중량비로 혼합해 몰드에 넣고 프레싱 압력을 변화시키면서 cathode를 제조하고 OCV를 측정한 결과를 Fig. 2에 나타냈다. 4.0 bar 압력에서 최고 OCV 645 mV를 보이고 있다. 2.0 bar와 같은 낮은 압력으로 제조한 cathode는 그래파이트 입자간의 거리가 멀어 접촉저항이 커져 OCV가 감소한 것으로 판단된다. 그리고 6.0 bar와 같은 높은 압력으로 제조한 cathode는 기공이 작아 글루코스 용액이 cathode 내부까지 전달되는 물질전달 저항이 커 OCV가 감소한 것으로 보인다. 이와 같은 경향은 anode에서도 유사했는데[18], anode는 그래파이트 양이 작아서 cathode 제조 시보다 높은 약 90 bar에서 최고의 OCV를 나타냈었다.

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

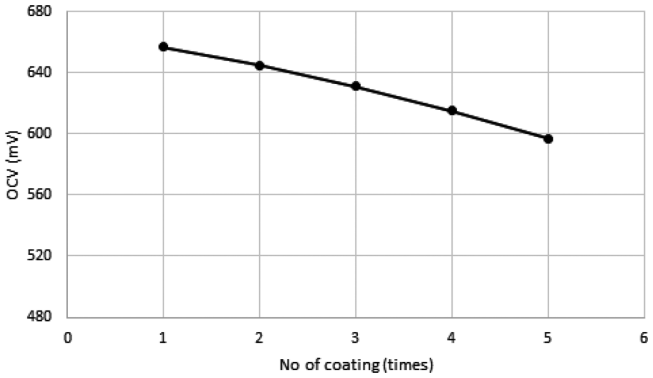

Fig. 3. OCV of enzyme fuel cell as a function of Nafion coating times.

프레싱 하여 성형한 anode가 기질 용액 중에서 풀어지지 않게 Cosnier등[16]은 실리콘 접착제 등을 전극 표면에 사용했는데 본 연구에서는 Nafion 용액을 이용했다. Nafion 용액에 cathode를 담근 후 건조시킴으로써 Nafion 이오노머가 표면을 코팅해, 접착제 역할을 하면서 이온을 전달하는 역할도 한다. 실리콘 접착제를 사용한 Cosnier등[16]의 결과는 OCV가 0.63 V 였으나 anode에 Nafion 이오노머를 이용한 연구결과는 OCV가 1.0 V를 넘었다[18]. cathode에서 Nafion 코팅횟수에 따라 OCV가 어떻게 변하는지 측정한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 코팅을 1회 했을 때 OCV가 657 mV 였으나 코팅횟수가 증가하면서 OCV가 감소해 5회 코팅했을 때는 597 mV까지 감소하였다. Nafion 이오노머의 두께가 두꺼워지면서 기질인 글루코스 용액이 cathode 내부까지 침투하는데 저항이 커져 OCV가 감소하는 것으로 보인다.

최적 그래파이트 함량을 결정하기 위해 그래파이트 : (효소+ABTS) 비를 변화시키면서 OCV를 측정하였다(Fig. 4). 효소와 매개체 비는 1 : 5로 고정시켜 효소와 매개체비에 의한 영향은 받지 않게 하였다. 그래파이트 함량이 증가할수록 OCV가 증가하여 그래파이트가 95%일 때 653 mV를 나타냈다. anode에서는 60% 그래파이트에서 최고 OCV를 보인 후 70%로 그래파이트 양이 증가하면서 OCV는 감소하였다[18]. cathode는 anode에 비해 낮은 압력으로 프레싱했기 때문에 전자이동을 위해 그래파이트 입자간 접촉력 향상이 OCV 증가를 위한 주요 인자가 된 것으로 판단된다.

최적의 효소와 매개체비를 결정하기 효소와 매개체 비를 변화시키면서 OCV를 측정하였다(Fig. 5). 그래파이트는 95%로 고정시켜 그래파이트와 효소+매개체 비에 의한 영향은 받지 않게 하였다. 효소와 매개체 비가 효소 : 매개체 = 85 : 15 일 때 최고의 OCV 658 mV를 나타냈다. 효소 : 매개체 = 90 : 10 일 때는 OCV가 489 mV로, 효소에 비해 매개체양이 너무 적어 글루코스 산화 반응 속도가 감소해 OCV가 감소한 것으로 판단된다. 그리고 효소 : 매개체 = 75 : 25 이상 일 때는 효소에 비해 매개체 양이 많아 전자전달이 잘 안되어서 OCV가 감소한 것으로 보인다. 이와 같은 경향은 효소 anode 전극에서도 같았다[18].

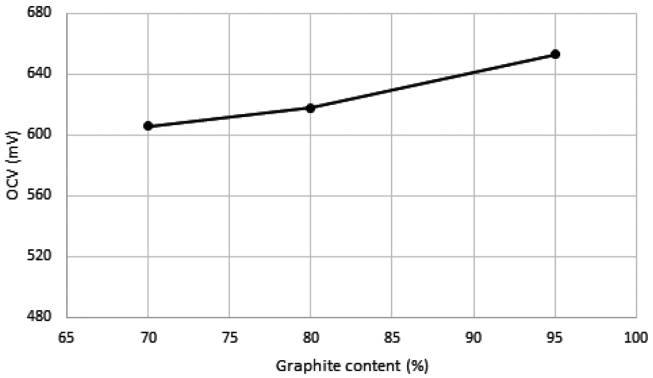

Fig. 4. Effect of Graphite content on the OCV of enzyme fuel cell.

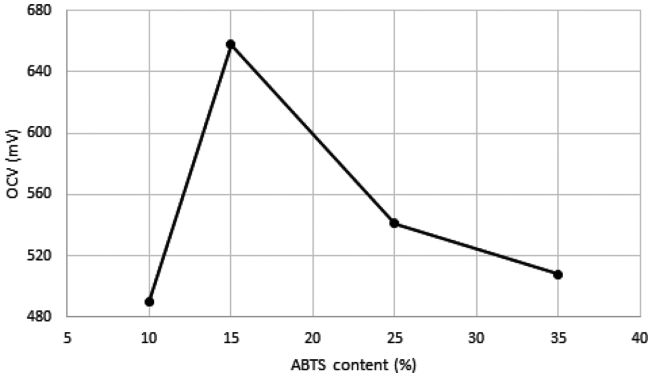

Fig. 5. OCV of enzyme fuel cell as a function of ratio of Laccase : ABTS.

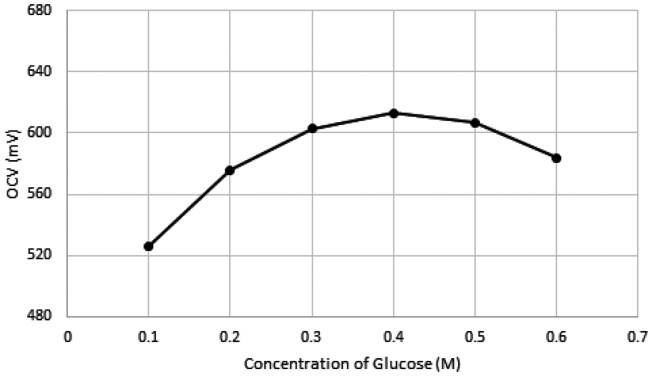

Fig. 6. Effect of glucose concentration on the OCV of enzyme fuel cell.

3-2. Cathode 기질 용액의 농도에 따른 OCV

글루코스의 농도를 변화시키면서 OCV를 측정한 결과를 Fig. 6에 나타냈다. 글루코스 농도가 증가할수록 OCV가 증가하는 것이 아니라 0.4 mol/l에서 최고의 값을 나타내고 이후 감소하는 추세를 보이고 있다. 글루코스 농도가 너무 높아지면 점도가 높아져서 cathode 내부로 글루코스가 이동하는 물질전달 저항이 커져 OCV가 감소하는 것으로 판단된다. 최적의 글루코스 농도가 있는 것은 anode 전극에서도 동일하였는데 anode에서는 1.7 mol/l에서 최고 OCV가 나타났다[18].

3-3. OCV 안정성

효소 및 cathode 전극의 안정성에 대해 연구하기 위해 시간 경과에 따라 OCV를 측정했다(Fig. 7). 초기 60분까지는 OCV가 증가하다 13시간까지 440 mV로 감소하고 이후 완만하게 감소해 20시간에 420 mV에 도달하고 이후 일정한 OCV로 안정화 되었다. 20시간 동안에 OCV가 680 mV에서 420 mV로 38% 감소했다. Luo 등[18]은 최고 OCV가 402 mV로 우리 결과보다 낮았지만 150시간 정도까지

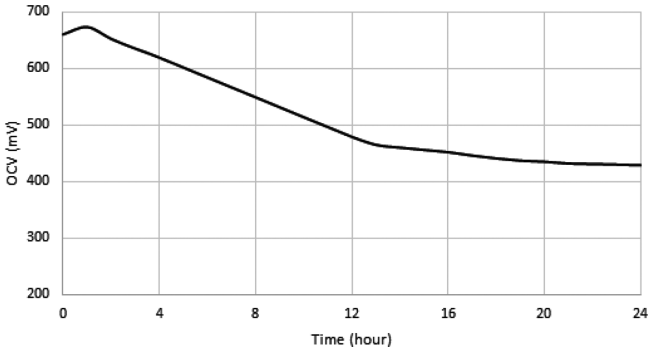

Fig. 7. Change of OCV in enzyme fuel cell.

안정적인 OCV를 보였다. 우리 실험결과는 20시간 이후에는 420 mV를 유지 하는 경향이어서 Luo등의 최고값보다 높은 값을 유지 하므로 더 우수하다고 볼 수 있다. anode는 6시간 만에 40%감소한 것에 비해 cathode가 더 안정적이라고 할 수 있다[19]. 이와 같은 OCV 감소는 효소 및 cathode 전극의 안정성 감소에 의한 것도 있지만 전해질 막과 anode의 성능 변화에 따른 영향도 있을 수 있다. 셀이 수직방향으로 되어 있어 중력에 의해 글루코스가 anode에 잘 전달 될 수 있는 구조이므로 Pt 촉매 오염에 의한 수소 산화 활성이 감소해 OCV 가 감소한 것으로 판단된다[20].

4. 결 론

Laccase 효소와 그래파이트를 압착해서 만든 cathode에 PEMFC용 anode와 전해질 막을 사용해 단위전지를 구성한 효소연료전지의 개회로전위에 대해 실험한 결과를 다음과 같이 정리하였다.

(1) cathode 구성 성분으로 그래파이트와 Laccase, ABTS를 혼합해 몰드에 넣고 프레싱할 때 최적 압력은 4.0 bar 였다.

(2) cathode 표면을 Nafion 코팅하여 cathode가 글루코스 용액에서 용해되는 것을 방지하였는데, 코팅을 1회 했을 때 OCV가 657 mV 였으나 코팅횟수가 증가하면서 OCV가 감소해 5회 코팅했을 때는 597 mV까지 감소하였다.

(3) cathode에서 그래파이트가 90% 조성일 때 최고의 OCV를 나타냈고, 최적의 효소 : 매개체 비는 85 : 15 이었다.

(4) cathode 기질 용액의 최적 글루코스 농도는 0.4 mol/l 이었다.

References

1. Bruce, E. L., Bert, H., Rene, R., Uwe, S., Jurg, K., Stefano, F., Peter, A., Willy, V. and Korneel, R., "Microbial Fuel Cells : Methodology and Technology," *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 5181-5192(2006).
2. Adam, H., "Miniature Biofuel Cells," *Physical Chemistry Chemical Physics*, **6**, 209-216(2004).
3. Nicolas, M., Fei, M. and Adam, H., "Characteristics of a Miniature Compartment-less Glucose-O_2 Biofuel Cell and Its Operation in a Living Plant," *Journal of the American Chemical Society*, **125**, 6588-6594(2003).
4. Nicolas, M., Fei, M. and Adam, H., "A Miniature Biofuel Cell Operating in A Physiological Buffer," *Journal of the American Chemical Society,* **124**, 12962-12963(2002).
5. Nicolas, M., Fei, M., Woonsup, S., Ting, C. and Adam, H., "A Miniature Biofuel Cell Operating at 0.78 V," *Chemical Communications*, 518-519(2003).
6. Donal, L., Paul, K., Wolfgang, S., "Enzymatic Fuel Cells: Recent Progress," *Electrochimica Acta*, **84**, 223-234(2012).
7. Bruce, E. L., "Microbial Fuel Cells," *Wiley-Interscience*(2007).
8. Juozas, K., Regina, V. and Palle, S., "Laccase Catalyzed Oxidation of Naphthol in the Presence of Soluble Polymers," *Enzyme and Microbial Technology*, **32**, 455-463(2003).
9. Noriko, Y., Masamitsu, T., Junko, O., Satoshi, I., Kazunori, I. and Koji, S., "Development of a Novel Glucose Enzyme Fuel Cell System Employing Protein Engineered PQQ Glucose Dehydrogenase," *Biosensors and Bioelectronics,* **20**, 2145-2150 (2005).
10. Zebda, A., Gondran, C., Le Goff, A. and Holzinger, M., "Mediator-less High-power Glucose Biofuel Cells Based on Compressed Carbon Nanotube-enzyme Electrodes," *Nat.Commun.* **2**, 1-6(2001).
11. Ross, D. M., Fabien, G. and Alfred, E. T., "Glucose Oxidase Progressively Lowers Bilirubin Oxidase Bioelectrocatalytic Cathode Performance in Single-compartment Glucose/oxygen Biological Fuel Cells," *Electrochimica Acta*. **140**, 59-64(2014).
12. Peter, J., Saara, T., Anu, V., Matti, V., Maria, S. and Donal, L., "A Mediated Glucose/oxygen Enzymatic Fuel Cell Based on Printed Carbon Inks Containing Aldose Dehydrogenase and Laccase as Anode and Cathode," *Enzyme and Microbial Technology*, **50**, 181-187(2012).
13. Seiya, T., Kenji, K. and Tokuji, I., "Glucose/O_2, Biofuel Cell Operating at Physiological Conditions," *Electrochemistry*, **70**, 940(2002).
14. Fuyuki, S., Makoto, T., Mohammed, K. I., Tomokazu, M., Junichi, K., Noboru, F., Satoshi, K. and Matsuhiko, N., "Enzyme-based Glucose Fuel Cell Using Vitamin K3-immobilized Polymer as An Electron Mediator," *Electochemistry Communication*, **7**, 643-647(2005).
15. 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," *Biosensors and Bioelectronics*, **26**, 3908-3913(2011).
16. Cosnier, S., Shan, D., 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," *Electrochemistry Communications*, **12**, 266-269(2010).
17. Abdelkader, Z., Chantal, G., Philippe, C. and Serge, C., "Glucose Biofuel Cell Construction Based on Enzyme, Graphite Particle and Redox Mediator Compression," *Sensors and Actuators B*, **173**, 760-764(2012).
18. Luo, H., Jin, S., Fallgren, P. H., Park, H. J. and Johnson, P. A., "A Novel Laccase-catalyzed Cathode for Microbial Fuel Cells," *Chemical Engineering Journal,* **165**, 524-528(2010).
19. Kim, Y. S., Lee, S. H., Chu, C. H., Na, I. C., Lee, H. and Park, K. P., "Effect of Fabrication Method of Anode on OCV in Enzyme Fuel Cells," *Korean Chem. Eng. Res.,* **53**, 6-10(2015).
20. 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).