(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년02월19일
(11) 등록번호 10-1363297
(24) 등록일자 2014년02월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
H01M 8/16 (2006.01) *H01M 4/86* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0151726
(22) 출원일자 2012년12월24일
심사청구일자 2012년12월24일
(56) 선행기술조사문헌
X-C.Dong, et al., 3D Graphene-Cobalt Oxide electrode for High-Performance Supercapacitor and Enzymeless Glucose Detection, American Chemical Society 6(4) 2012, 3206-3213 (2012.3.21)
Y.Liu, et al., Biocompatible Graphene Oxide-Based Glucose Biosensors, Langmuir 2010, 26(9), 6158-6160 (2010.3.29)
C.Wang, et al., A novel hydrazine electrochemical sensor based on the high specific surface area graphene, Microchim Acta (2010) 169:1-6 (2010.2.20)
전체 청구항 수 : 총 10 항

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울시 성북구 안암로 145 (안암동)
(72) 발명자
김승욱
서울 노원구 공릉로46길 32, 104동 905호 (공릉동, 삼익아파트)
이희욱
경기 고양시 일산서구 송산로 420-81, (가좌동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한양특허법인

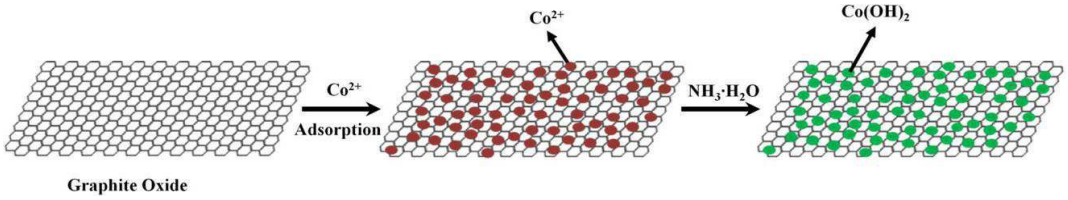
심사관 : 김명희

(54) 발명의 명칭 **산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물이 전기 증착된 효소연료전지용 전극, 그의 제조방법, 및 그를 포함하는 효소연료전지**

(57) 요 약

본 발명은 전극 기재; 상기 전극 기재 표면에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물; 및 상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 고정화된 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극, 그의 제조방법, 및 그 전극을 포함하는 효소연료전지를 제공한다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

박철환

서울 성북구 동소문로29길 63, B동 402호 (동선동5가, 동선빌라)

송윤석

경기 부천시 원미구 계남로 329, 503호 (춘의동, 아테리치빌아파트)

유하영

서울 성북구 오패산로 90, 123동 2002호 (하월곡동, 삼성래미안아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	20010031360
부처명	교육과학부 (연구재단)
연구사업명	글로벌프론티어 연구개발산업
연구과제명	바이오매스의 바이오디젤 및 고부가가치 화학물질 생산을 위한 전환 기술 개발
기 여 율	1/1
주관기관	고려대학교
연구기간	2010.10.22 ~ 2019.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

전극 기재;

상기 전극 기재 표면에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물; 및

상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 고정화된 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 전극 기재는 금, 은, 백금, 구리, 알루미늄, 탄소나노튜브 및 그라핀으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극.

청구항 3

(a) 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 전극 기재에 증착하는 단계; 및

(b) 전극 기재에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화하는 단계를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서,

상기 (a)단계에서 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 증착은 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 용해되어 있는 용액에 전극 기재를 담그고 상기 전극 기재가 (-) 전하를 띠도록 전기를 인가하여 상기 전극 기재의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착되게 하여 수행되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법.

청구항 5

청구항 3에 있어서,

상기 (a)단계에서 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소의 고정화는 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소와 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 가교화합물을 사용하여 수행되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법.

청구항 6

청구항 5에 있어서,

상기 가교화합물은 EDC 및 NHS인 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법.

청구항 7

청구항 4에 있어서,

상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 용해되어 있는 용액은 산화그라파이트/수산화코발트 합성물을 키토산 용액에 혼합하여 반응시킴으로써 제조되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

상기 키토산 용액은 용매로서 아세트산(acetic acid)을 포함하는 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극

의 제조방법.

청구항 9

청구항 7에 있어서,

상기 산화그라파이트/수산화코발트 합성물은 산화그라파이트를 분산시킨 용액에 $CoCl_2.H_2O$를 넣어 반응시킨 후, 상기 반응용액에 NH_4OH를 넣어 반응시켜서 제조되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법.

청구항 10

청구항 1의 효소연료전지(EFC)용 전극을 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물이 전기 증착된 효소연료전지용 전극, 그의 제조방법, 및 그를 포함하는 효소연료전지의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 효소연료전지(enzymatic fuel cell)는 최근 많은 연구자들의 관심을 받고 있다. 효소연료전지는 효소를 촉매로 사용하며, 상온, 상압, 자연 발생적 pH 등의 조건 하에서 작동이 가능하도록 인체에 무해한 물질을 이용하여 제조되며, 그 크기가 작다는 점에서 의학, 바이오연료센서(biosensor), 소형 전자제품의 배터리 등 실생활에서 많은 응용이 가능하다.

[0003] 이러한 효소연료전지에 있어서 효소의 안정도와 활성도를 높이고, 최적화된 전자전달 환경을 형성하는 것은 무엇보다도 중요하다. 따라서, 전자 전달체에 대한 다양한 연구가 진행하고 있다.

[0004] 그러나, 효소연료전지는 효소의 안정성과 관련하여 짧은 존속기간, 낮은 전류밀도, 낮은 출력밀도 등의 문제가 야기되기 때문에 이러한 문제를 해결하기 위한 지속적인 연구가 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제10-2012-0113085호

(특허문헌 0002) 일본 특개 제2012-178335호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상술한 종래기술의 문제를 해소하기 위하여 안출된 것으로서, 전자전달체로서의 역할 및 효소의 고정 역할을 수행하는 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물(graphite oxide/cobalt hydroxide/chitosan composite)을 전극 기재의 표면에 균일하게 증착시키고, 그 위에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화함으로써, 균일성과 안정성이 높고, 효소의 활성도가 향상된 효소연료전지용 전극, 그의 제조방법 및 그를 전극으로서 포함하는 효소연료전지를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은,

[0008] 전극 기재;

[0009] 상기 전극 기재 표면에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물; 및

[0010] 상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 고정화된 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극을 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한,

[0012] (a) 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 전극 기재에 증착하는 단계; 및

[0013] (b) 전극 기재에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화하는 단계를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법을 제공한다.

[0014] 본 발명은 또한,

[0015] 상기 효소연료전지(EFC)용 전극을 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지를 제공한다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 효소연료전지용 전극은 전자전달체로서의 역할 및 효소의 고정 역할을 수행하는 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물(graphite oxide/cobalt hydroxide/chitosan composite)을 전극 기재의 표면에 균일하게 증착시키고, 그 위에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화함으로써, 균일성과 안정성이 높고, 효소의 활성도가 향상된 효소연료전지용 전극을 제공한다.

[0017] 또한, 상기 효소연료전지용 전극을 포함하는 본 발명의 효소연료전지는 높은 출력밀도와 전류밀도를 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 제조과정을 모식적으로 도시한 것이며,

도 2는 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 전극 기재에 증착시키는 과정을 모식적으로 도시한 것이며,

도 3은 전극 기재의 표면에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화하는 과정을 모식적으로 도시한 것이며,

도 4는 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 패턴을 XPS(X-ray photoelectron spectroscope)를 이용하여 측정한 결과를 나타낸 그래프이며[(a): 산화그라파이트(graphite)의 패턴, (b): 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 패턴],

도 5는 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 표면을 FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)로 분석하여 나타낸 그래프이며[(a): 산화그라파이트, (b): 산화그라파이트/수산화코발트],

도 6은 산화그라파이트/수산화코발트 합성물을 TEM(transmission electron microscopy)으로 촬영하여 나타낸 이미지이며[(a): 산화그라파이트, (b)산화그라파이트/수산화코발트 합성물],

도 7 중 (a)는 Au 전극 표면을 SEM(Scanning electron microscopy)으로 촬영하여 나타낸 이미지이며, (b)는 상기 Au 전극의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착된 전극을 SEM으로 촬영하여 나타낸 이미지이며, (c)는 Au의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 코팅되고 그 위에 산화효소로서 글루코즈 옥시데이즈(glucose oxidase)가 고정화된 전극을 SEM으로 촬영하여 나타낸 이미지이며,

도 8은 Raman spectroscopy로 Raman을 측정하여 나타낸 그래프이며[(a): 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물, (B) 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물],

도 9는 Au 전극, Au 표면에 산화그라파이트/키토산 합성물이 증착된 전극, Au 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착된 전극, 및 Au 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물이 증착된 전극의 순환전압전류를 비교하여 나타낸 그래프이며,

도 10은 실시예 3에서 제작된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물이 증착된 전극에 대하여 전압을 측정한 결과를 나타낸 그래프이며,

도 11은 실시예 4에서 제작된 효소연료전지의 전류밀도(current density)와 출력밀도(power density)를 측정하여 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 본 발명은,

[0020] 전극 기재;

[0021] 상기 전극 기재 표면에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물; 및

[0022] 상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 고정화된 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극에 관한 것이다.

[0023] 상기 전극 기재로는 금, 은, 백금, 구리, 알루미늄, 탄소나노튜브, 그라핀 등 다양한 금속 소재 및 탄소 소재가 사용될 수 있다.

[0024] 그라펜(graphene)은 높은 표면적과 화학적 안정성, 전기전도성 및 열전도성이 매우 높기 때문에, 전기에너지의 전환/저장 시스템을 위한 탄소 물질로 많이 이용되고 있다. 이들 중에서 본 발명에서 사용하고 있는 산화그라파이트(graphite oxide)는 그라펜에서 파생된 다양한 표면 특성과 층 구조에 의한 특징을 갖는다. 특히 넓은 표면적을 가지고 있으며, 탄소 나노층에 형성 되어 있는 다양한 치환기에 의하여 금속 수산화물과 같은 활성 물질의 핵으로도 사용이 가능하므로 지지체로 많이 사용되고 있다.

[0025] 수산화코발트(cobalt hydroxide)는 전기화학적 산화환원 활성물질이며, 큰 층상 구조로 이루어져 있기 때문에 알카리 베터리, 연료전지, 2차전지, 슈퍼캐패시터의 소재로 많이 활용되고 있다.

[0026] 본 발명에서 사용되는 산화그라파이트/수산화코발트 합성물은 산화그라파이트와 수산화코발트가 결합되어 전기화학적인 특성을 증가시키는 효과를 제공한다.

[0027] 또한, 상기 산화그라파이트/수산화코발트 합성물에 키토산을 적용하여 이를 전극 기재에 전기증착시키고, 여기에 효소를 고정화시켜 효소연료전지용 전극으로 사용할 경우, 효소의 안정성과 활성도가 증가되므로, 효소연료전지의 출력밀도와 전류밀도를 향상시킨다.

[0028] 본 발명은 또한,

[0029] (a) 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 전극 기재에 증착하는 단계; 및

[0030] (b) 전극 기재에 증착된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화하는 단계를 포함하는 효소연료전지(EFC)용 전극의 제조방법에 관한 것이다.

[0031] 상기 (a)단계에서 상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 증착은 예컨대, 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 용해되어 있는 용액에 전극 기재를 담그고 상기 전극 기재가 (-) 전하를 띠도록 전기를 인가하여 상기 전극 기재의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착되게 하는 과정으로 수행될 수 있다.

[0032] 상기 (a)단계에서 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소의 고정화는 예컨대, 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소와 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 가교화합물을 사용하여 수행될 수 있다.

[0033] 상기에서 가교화합물로는 EDC 및 NHS를 들 수 있다.

[0034] 보다 구체적으로 설명하면, 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소와 가교화합물인 EDC 및 NHS를 혼합한 용액을 제조하고, 여기에 상기 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 표면에 증착된 전극 기재를 담가서 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소가 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 EDC 및 NHS를 매개하여 고정화 되게 하는 방식으로 수행될 수 있다.

[0035] 상기에서 EDC 및 NHS는 공유결합에 의해 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소와 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 결합시킨다.

[0036] 상기에서 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 고정시키는 방법은 상기 공유결합에 의한 방법 외에 이 분야에서 공지된 방법들이 제한 없이 사용될 수 있다.

[0037]

[0038] 상기 (a)단계에서 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 용해되어 있는 용액은 산화그라파이트/수산화코발트 합성물을 키토산 용액에 혼합하여 반응시킴으로써 제조될 수 있다.

[0039] 상기와 같은 방법에 의해 키토산은 산화그라파이트/수산화코발트 합성물 표면에 균일하게 고정되며, 높은 안정성을 갖는다.

[0040] 상기 키토산 용액은 용매로서 아세트산(acetic acid)을 사용하여 제조될 수 있다.

[0041] 상기 산화그라파이트/수산화코발트 합성물은, 전자전달체(mediator)의 역할을 수행하는 것으로서, 산화그라파이트를 분산시킨 용액에 $CoCl_2.H_2O$를 넣어 반응시킨 후, 상기 반응용액에 NH_4OH를 넣어 반응시켜서 제조될 수 있다.

[0042] 상기 (a) 단계에서 전극 기재로는 금, 은, 백금, 구리, 알루미늄, 탄소나노튜브, 그라핀 등 다양한 금속 소재 및 탄소 소재가 사용될 수 있다.

[0043] 상기 (b) 단계에서 산화반응용 효소 및 환원반응용 효소로는 이 분야에서 공지된 것들이 사용될 수 있다. 예컨대, 포도당을 기질로 사용하는 경우, 산화반응용 효소로는 글루코스 옥시다아제(glucose oxidase), 글루코스 디하이드로저네이즈(glucose dehydrogenase), 셀룰로오스 디하이드로저네이즈(cellobiose dehydrogenase), 디하이드로저네이즈(dehydrogenase) 등이 사용될 수 있으며, 환원반응용 효소로는 라케이즈(laccase), 홀스래디쉬 퍼옥시다아제(horseradish peroxidas), 빌리루빈 옥시다아제(bilirubin oxidase) 등이 사용될 수 있다.

[0044] 본 발명은 또한, 상기 효소연료전지(EFC)용 전극을 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 효소연료전지에 관한 것이다.

[0045] 상기 효소연료전지에 있어서, 효소연료전지(EFC)용 전극을 제외한 다른 구성요소로는 이 분야에서 통상적으로 사용되는 것들이 제한 없이 사용될 수 있으며, 이들을 통상적인 방법에 의해 조합하여 본 발명의 효소연료전지를 제조할 수 있다.

[0046] 본 발명의 효소연료전지는 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 이용하여 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소를 고정화하므로 높은 출력밀도와 전류밀도를 제공할 수 있다.

[0047] 이하, 본 발명을 실시예를 이용하여 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로서 본 발명은 하기 실시예에 의해 한정되지 않으며, 다양하게 수정 및 변경될 수 있다. 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위의 기술적 사상에 의해 정해질 것이다.

[0048] **실시예 1: 산화그라파이트/수산화코발트 합성물 합성**

[0049] 그라파이트(graphite)를 산화시키기 위하여 가장 잘 알려진 Brodie 방법을 사용하였다. 그라파이트 4g을 $NaClO_3$ 34g에 섞은 후 HNO_3 100ml를 넣고 24시간 동안 교반시켰다. 그 다음 세척을 위하여 3차 증류수 2000ml를 넣고 교반시킨 후, 원심분리기를 이용하여 산화그라파이트를 110℃에서 건조시켰다.

[0050] 도 1에 도시된 바와 같이, 상온에서 산화그라파이트/ 수산화코발트 합성물을 합성하기 위하여 산화그라파이트(graphite oxide) 0.1g을 3차 증류수 10ml에 넣고 1시간 동안 분산시켰다. 그 다음 $CoCl_2.H_2O$ (2M)을 3차 증류수 10ml에 녹였다. 이 두 용액을 혼합하여 24시간 동안 교반하면서 산화그라파이트에 코발트 이온이 흡착되게 하였다. 24시간 후 NH_4OH를 pH 9.0이 될 때까지 넣어 준 후 24시간 동안 다시 교반하여 산화그라파이트에 흡착된 코발트 이온들이 수산화코발트가 되게 하였다. 이렇게 형성된 산화그라파이트/수산화코발트 합성물을 3차 증류수로 세척한 후 60℃ 진공 오븐에서 2시간 동안 건조시켰다.

[0051] **실시예 2: Au 전극에 대한 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물 증착**

[0052] 키토산 0.1g을 25×TAE(Tris-acetate-EDTA) buffer 100ml와 3% 아세트산(acetic acid)이 혼합된 용액에 녹인 후 나일론 필터로 걸렀다. 그 다음 도 2에 도시된 바와 같이, 산화그라파이트/수산화코발트 합성물 3g과 키토산 용액 0.1 중량%(혼합물 총 중량 대비)를 혼합하여 산화그라파이트/수산화코발트 합성물에 키토산 용액이 코팅되게 하였다. 상기 혼합 용액에, 도 2에 도시된 바와 같이, 전원공급장치(power supply)의 Au 양극과 Au 음극을 담그고 50V를 인가하여 2분 동안 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 Au 전극에 증착시켰다. 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물은 용해된 키토산이 (+)전하를 띄므로 전기적으로 음극인 Au 극에 증착된다.

[0053] **실시예 3: 전자전달체인 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물 상에 산화반응용 효소 또는 환원반응용 효소의 고정화**

[0054] 도 3에 도시된 바와 같은 산화 또는 환원 반응용 효소가 고정화된 양극(anode) 또는 음극(cathode)을 제조하기 위하여, 0.1M 인산버퍼(phosphate buffer, pH 7.0)에 산화반응용 효소인 포도당 산화반응용 효소(glucose oxidase) 또는 환원반응용 효소인 라케이즈(laccase) 0.1mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml, 3mg/ml 및 4mg/ml를 각각 혼합 하였고, 0.12M EDC와 0.14M NHS를 같이 혼합한 후, 상기 혼합 용액에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착된 Au 전극을 8시간 동안 4℃ 상에서 담가두었다. 이 때 EDC/NHS 반응에 의해서 효소가 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물 상에 고정화된다. 이러한 반응은 효소에 있는 카르복실 그룹과 키토산의 아민 그룹의 공유결합에 의해 일어난다. 이렇게 고정화가 진행 된 후 0.1M 인산버퍼와 3차 증류수로 세척하였다.

[0055] **실시예 4: 산화반응용 효소가 고정화된 전극과 환원반응용 효소가 고정화된 전극을 이용한 효소적 연료전지의 구성 및 전압(V)-전류(I) 및 출력밀도(Power density)의 측정**

[0056] 도 3에 도시된 바와 같이, 상기 실시예 3에서 제조된 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물 상에 포도당 산화효소가 고정화된 전극을 양극(anode)으로 사용하고, 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물 상에 라케이즈 환원효소가 고정화된 전극을 음극(cathode)으로 사용하여 서로 연결시키고, 그의 연료가 되는 0.05M 인산버퍼(pH 7.0)에 0.1M 포도당(glucose)을 포함하는 전해질(electrolyte)을 사용하여 이온막이 없는 기본적인 효소연료전지를 제작하였다.

[0057] 그리고 이 효소연료전지를 potentiostat/galvanostat (WPG100, WonATech 주식회사, 한국)에 연결하고 WPG 프로그램(WPG100, WonATech 주식회사, 한국)으로 25℃에서 전압(V)-전류(I) 및 출력밀도(Power density)를 측정하였다.

[0058] 상기 실험결과, 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 사용하는 경우, 최대 517 μW/cm^2(1114.65 μA/cm2, 0.46V)의 출력 밀도가 얻어지는 것을 확인하였다.

[0059] **시험예 1: XPS 패턴 측정**

[0060] 실시예 1의 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 패턴을 XPS(X-ray photoelectron spectroscope)를 이용하여 측정하고 도 4에 나타내었다.

[0061] 도 4의 (a)는 산화그라파이트(graphite)의 패턴을 나타내며, XPS 범위의 결합에너지는 C1s와 O1s만 표시되고 다른 금속계 무기물은 존재 하지 않는 것이 확인 되었다.

[0062] 도 4의 (b)는 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 패턴을 나타내며, XPS 범위의 결합에너지는 Co2P인 780.9 eV와 796.5 eV만 존재하는 것이 확인되었다.

[0063] 상기 시험을 통하여 산화그라파이트/수산화코발트 합성물이 존재 하는 것을 알 수 있었다.

[0064] **시험예 2: FT-IR 표면 측정**

[0065] 실시예 1의 산화그라파이트/수산화코발트 합성물의 표면을 FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

로 분석하여 도면 5에 나타내었다.

[0066] 도 5의 결과로부터 (a)산화그라파이트와 (b)산화그라파이트/수산화코발트에 나타나는 wavenumber가 다른 것을 확인 할 수 있다. 이를 통하여 산화그라파이트 표면에 수산화코발트가 흡착되어 있음을 알 수 있었다.

[0067] **시험예 3: TEM 이미지 측정**

[0068] 실시예 1의 산화그라파이트/수산화코발트 합성물을 TEM (transmission electron microscopy)으로 촬영하여 도면 6에 나타내었다.

[0069] 도면 6에 나타낸 바와 같이, (a)산화그라파이트와 (b)산화그라파이트/수산화코발트 합성물은 이미지가 상이하며, (b)산화그라파이트/수산화코발트 합성물은 산화그라파이트 위에 막대 모양의 입자(수산화코발트)가 흡착되어 있는 것을 확인할 수 있었다.

[0070] **시험예 4: SEM 이미지 측정**

[0071] Au 전극의 표면, 상기 Au 전극의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착된 전극(실시예 2), 및 Au의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착되고 그 위에 산화효소로서 글루코즈 옥시데이즈(glucose oxidase)가 고정화된 전극(실시예 3)을 SEM(Scanning electron microscopy)으로 촬영하여 도 7에 나타내었다.

[0072] 도 7의 (a)는 Au 전극 표면을 나타낸다. Au 전극 표면은 약간 거칠기도 하지만 대체적으로 매끄럽고 편평한 것을 알 수 있었다.

[0073] 도 7의 (b)는 상기 Au 전극의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착된 전극을 나타낸다. 전기 증착법에 의해 상기 Au 전극 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착됨으로써 넓은 표면적과 울퉁불퉁한 표면이 형성된 것을 알 수 있다.

[0074] 도 7의 (c)는 Au의 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 코팅되고 그 위에 산화효소로서 글루코즈 옥시데이즈(glucose oxidase)가 고정화된 전극을 나타낸다. 상기 도 7의 (c) 이미지로부터 산화효소를 고정화함으로써 상기 도 7의 (b)의 울퉁불퉁한 표면의 빈 공간이 줄어든 것을 확인할 수 있었다.

[0075] **시험예 5: Raman 측정**

[0076] 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물(실시예 2)과 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물(실시예 3)의 전기 증착과 효소의 고정화를 비교 확인 하기 위하여 Raman spectroscopy로 Raman을 측정하여 도 8에 나타내었다.

[0077] 도 8 (a)는 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 측정한 결과를 나타낸다. 여기서 산화그라파이트의 Raman band 1354.5-1601.6 cm^{-1} 및 수산화코발트의 Raman band 520cm^{-1}가 함께 측정되었다.

[0078] 도 8 (b)는 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물을 측정한 결과를 나타낸다. 여기서 Raman band는 1347.8 ~ 1581.6 cm^{-1}에서만 측정되었다.

[0079] 상기의 결과로부터 전기 증착을 통해 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물의 표면에 효소가 고정화된 것을 확인할 수 있었다.

[0080] **시험예 6: 순환전류전압(CV cycle) 측정**

[0081] 도 9는 Au 전극, Au 표면에 산화그라파이트/키토산 합성물이 증착된 전극, Au 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물이 증착된 전극, 그리고 Au 표면에 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 합성물이 증착된 전극의 경우, 이들이 순환전압전류 값에 미치는 영향을 비교하여 나타낸 그래프이다.

[0082] 도 9로부터 확인되는 바와 같이, 산화그라파이트/수산화코발트/키토산-효소 전극은 산화환원 면적(redox area)

이 다른 전극들보다 큰 것으로 확인되었으며, 전자전달 능력도 다른 전극들에 비하여 우수함을 확인할 수 있었다.

[0083] **시험예 7: 고정화된 효소의 농도에 따른 음극 또는 양극의 전압(voltage) 측정**

[0084] 실시예 3에서 제작된 전극에 대하여 전압을 측정하고, 그 결과를 도 10에 나타내었다.

[0085] 도 10에 나타난 바와 같이, 포도당 산화효소의 농도가 1mg/ml일 때 그 최대 전압이 0.61V까지 증가 되는 것이 확인되었고, 라케이즈의 농도가 0.5mg/ml일 때 그 최대 전압이 0.59V까지 증가되는 것이 확인되었다.

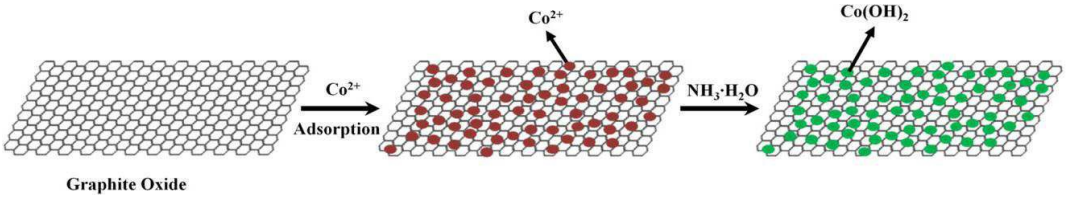
[0086] **시험예 8: 본 발명의 전극(음극과 양극)을 사용한 효소연료전지의 전류밀도(current density)와 출력밀도(power density) 측정**

[0087] 실시예 4에서와 같이 음극과 양극을 함께 이용하였을 때 효소연료전지의 전류밀도(current density)와 출력밀도(power density)를 측정하고 도 11에 나타내었다.

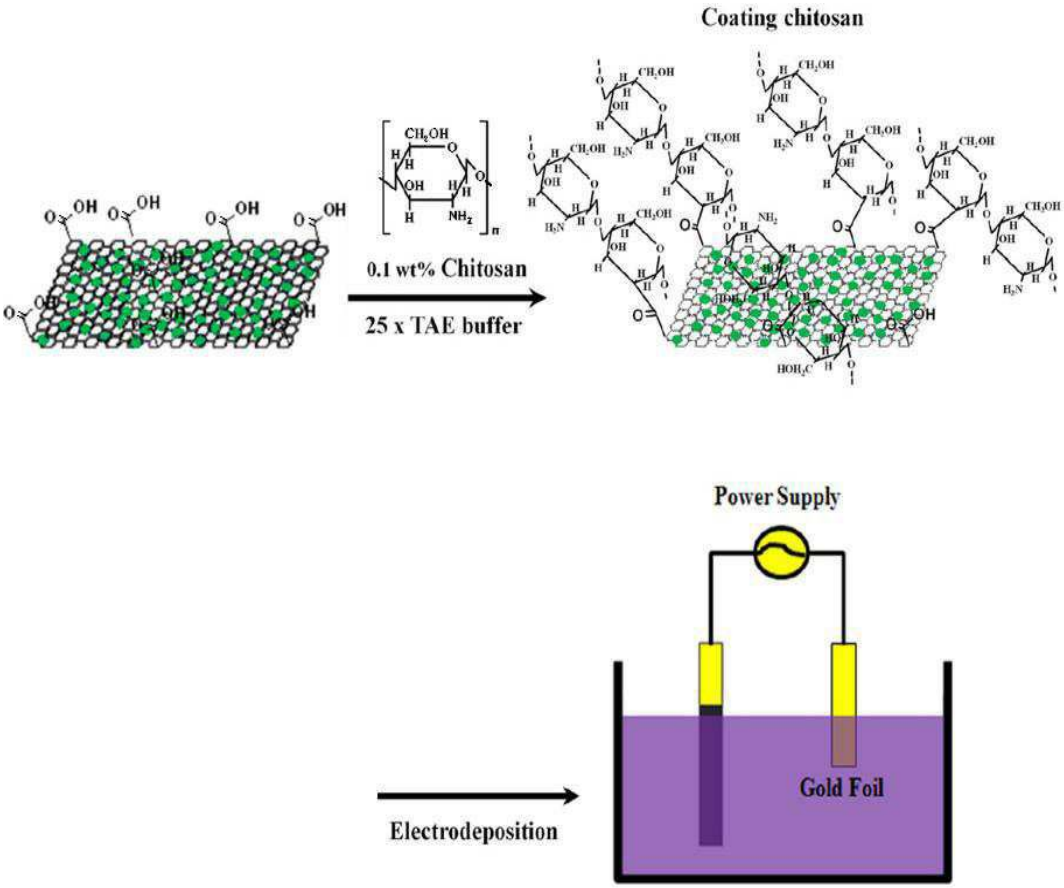
[0088] 도 11로부터 산화그라파이트/수산화코발트/키토산 합성물을 이용했을 때, 최대 517 μW/cm^2(1114.65 μA/cm2, 0.46V)의 출력 밀도가 생산되는 것을 확인하였다.

도면

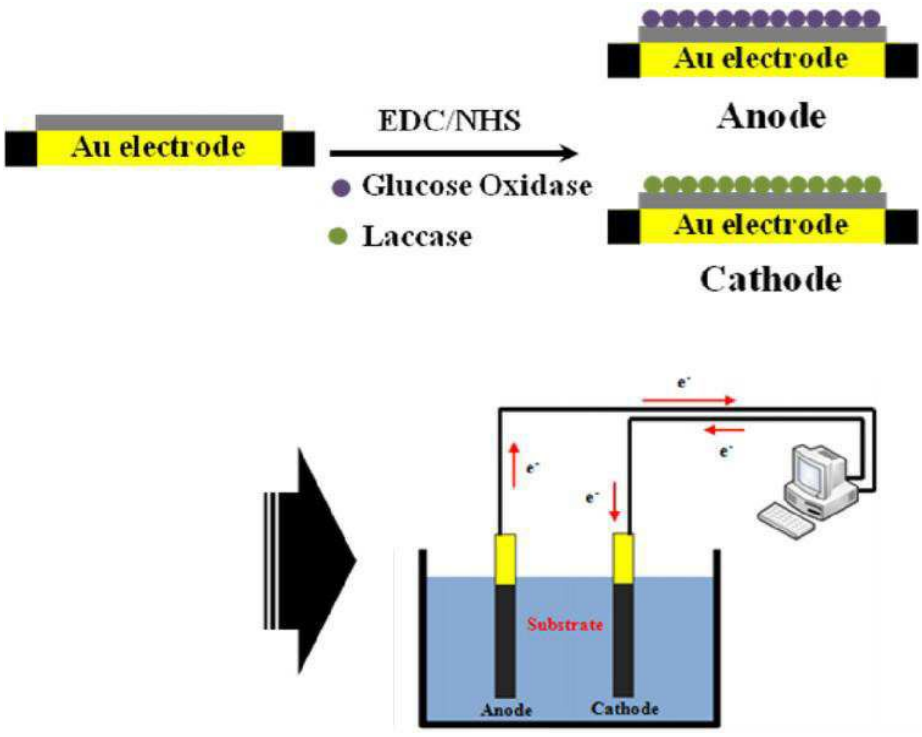
도면1



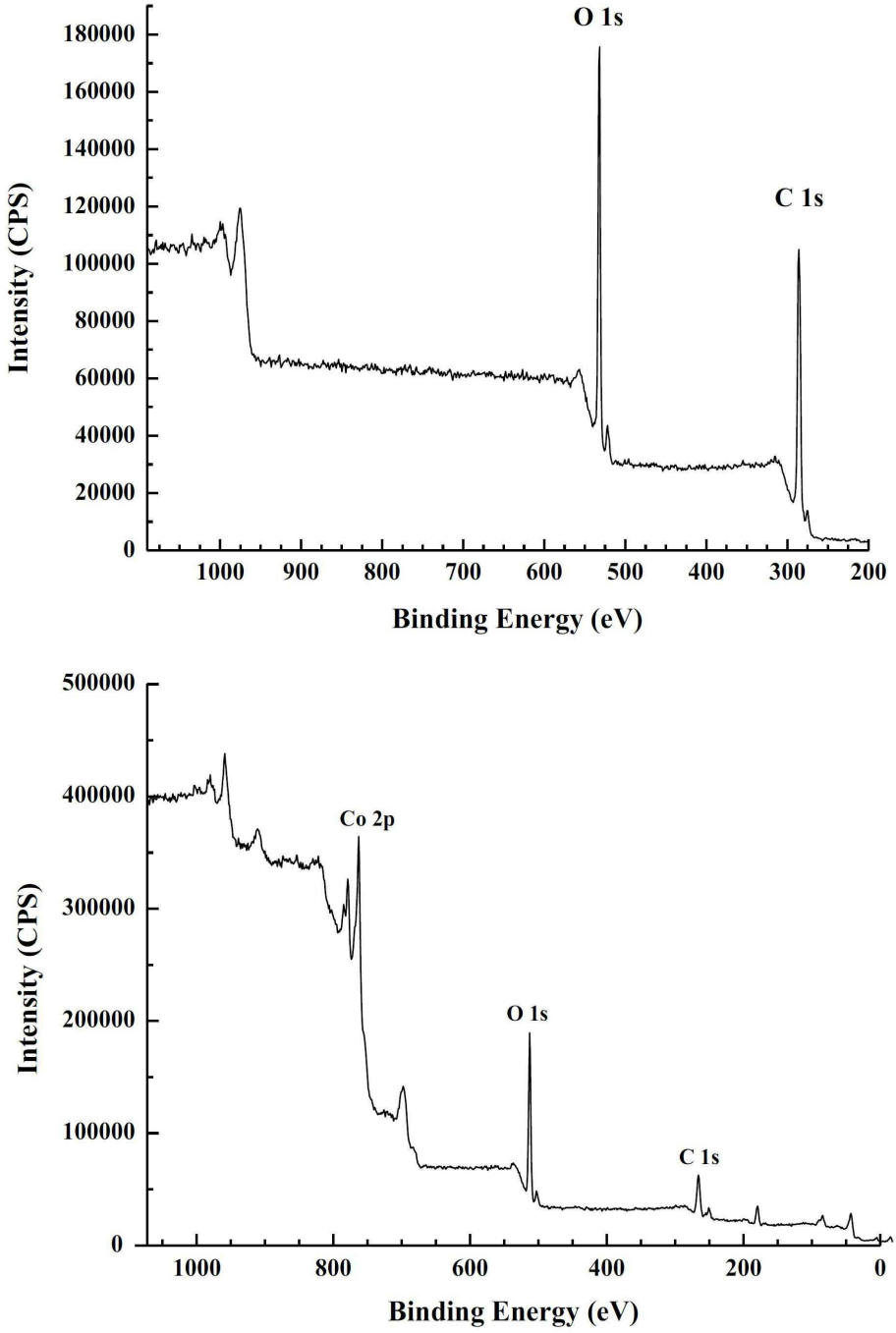
도면2


Coating chitosan
0.1 wt% Chitosan
25 x TAE buffer
Power Supply
Gold Foil
Electrodeposition

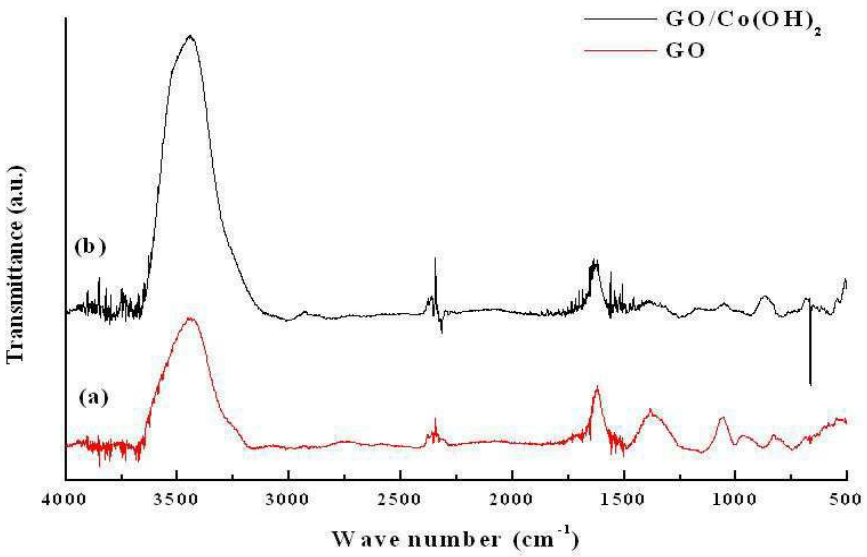
도면3


Au electrode
EDC/NHS
Glucose Oxidase
Laccase
Au electrode
Anode
Au electrode
Cathode
Substrate
Anode
Cathode

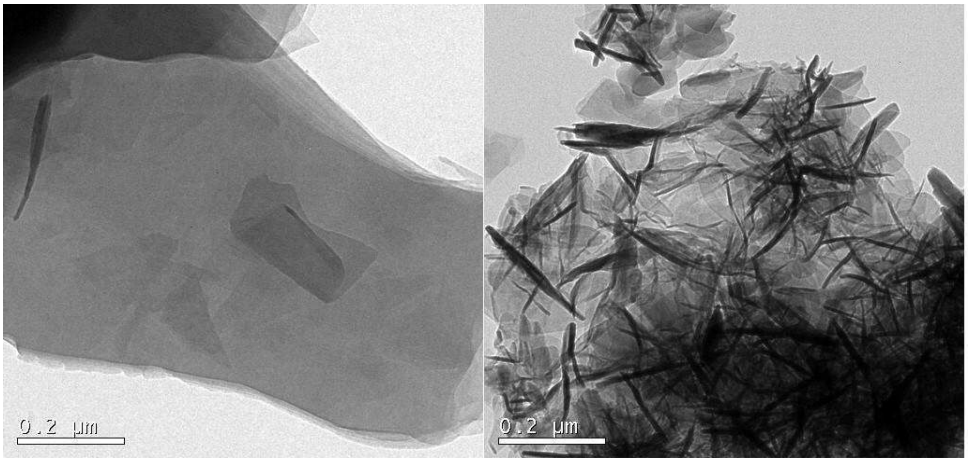
도면4


O 1s
C 1s
Intensity (CPS)
Binding Energy (eV)
180000
160000
140000
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
Co 2p
O 1s
C 1s
Intensity (CPS)
Binding Energy (eV)
500000
400000
300000
200000
100000
0
1000
800
600
400
200
0

도면5

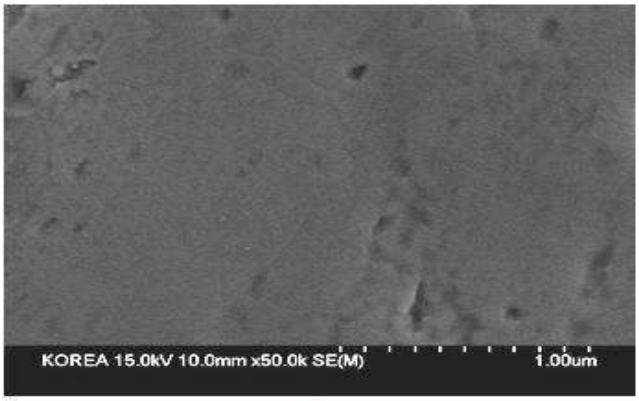

GO/Co(OH)2
GO
Transmittance (a.u.)
(b)
(a)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
Wave number (cm-1)

도면6

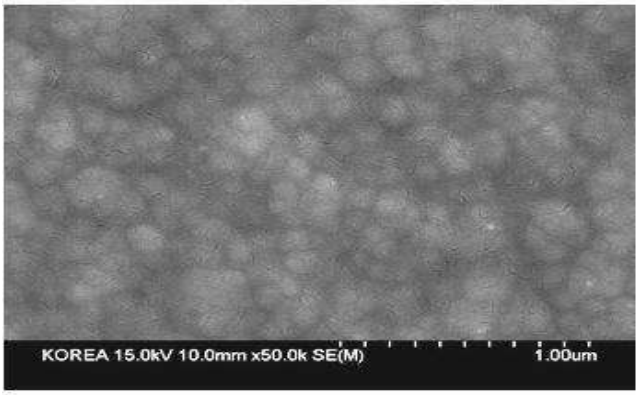

0.2 μm
0.2 μm

(a) (b)

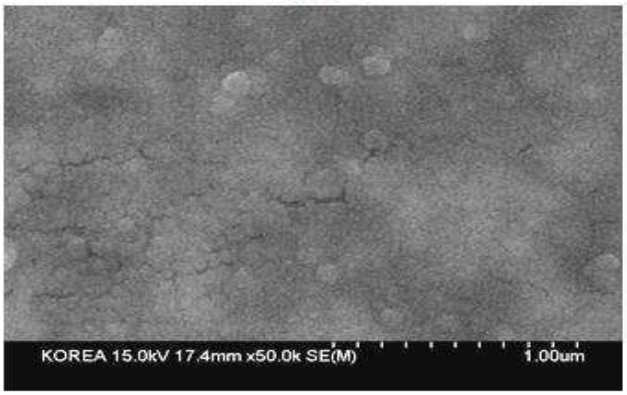
도면7


KOREA 15.0kV 10.0mm x50.0k SE(M)
1.00um

(a)

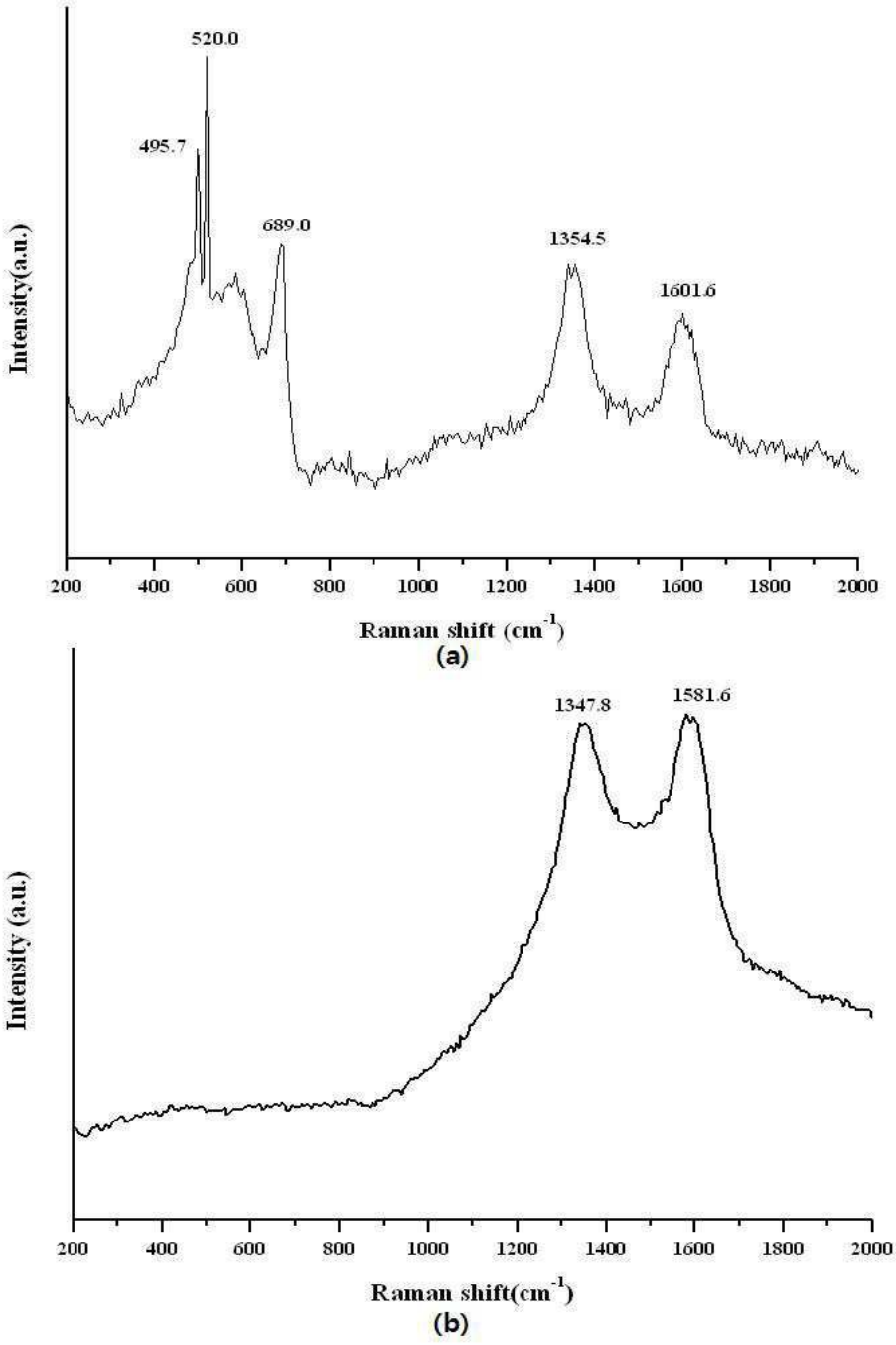

KOREA 15.0kV 10.0mm x50.0k SE(M)
1.00um

(b)

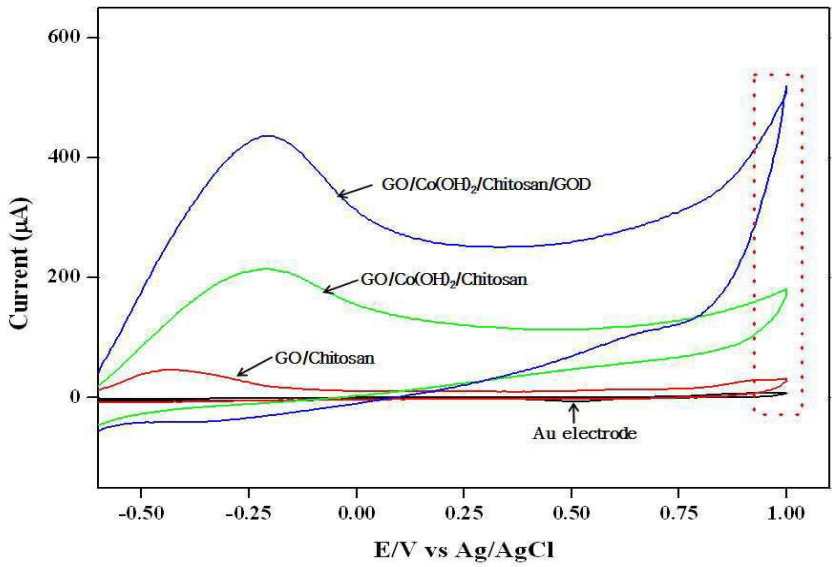

KOREA 15.0kV 17.4mm x50.0k SE(M)
1.00um

(c)

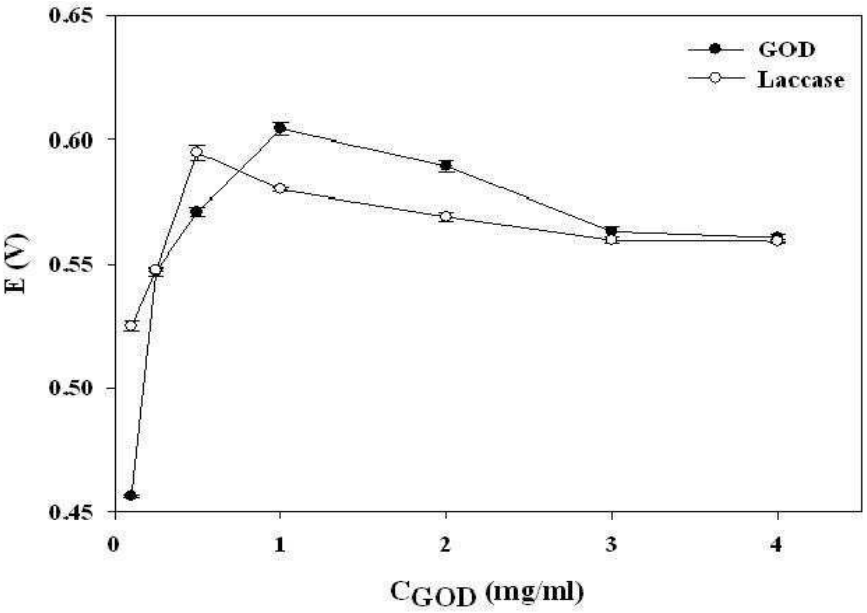
도면8


520.0
495.7
689.0
1354.5
1601.6
Intensity(a.u.)
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
Raman shift (cm-1)
(a)
1347.8
1581.6
Intensity (a.u.)
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
Raman shift(cm-1)
(b)

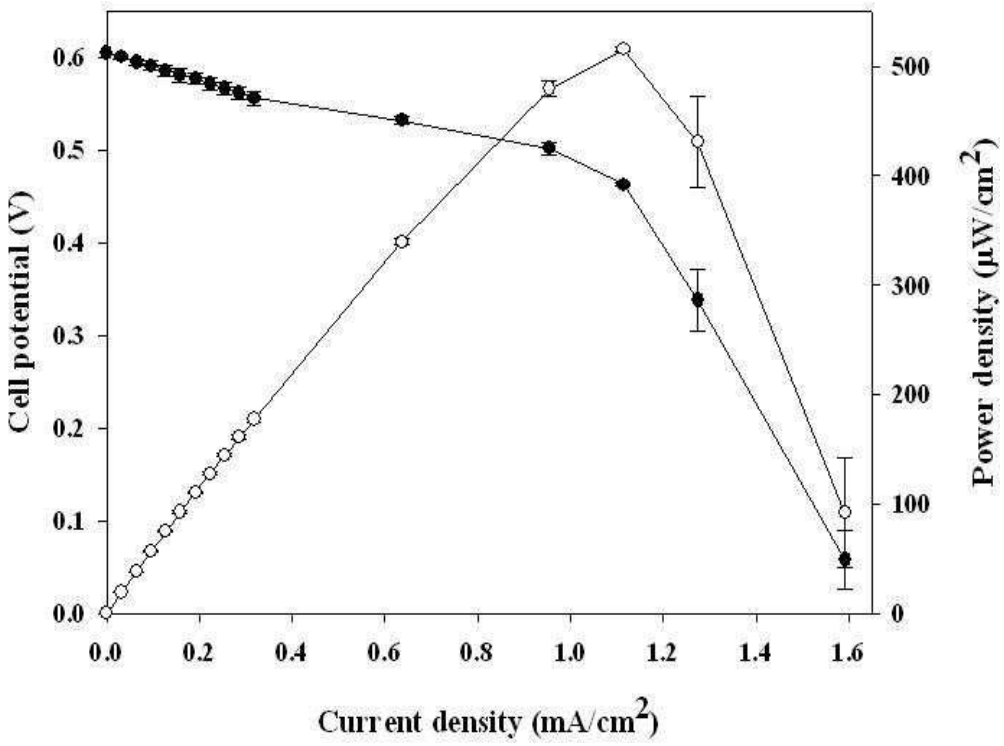
도면9


600
400
200
0
Current (μA)
GO/Co(OH)2/Chitosan/GOD
GO/Co(OH)2/Chitosan
GO/Chitosan
Au electrode
-0.50
-0.25
0.00
0.25
0.50
0.75
1.00
E/V vs Ag/AgCl

도면10


0.65
0.60
0.55
0.50
0.45
E (V)
GOD
Laccase
0
1
2
3
4
CGOD (mg/ml)

도면11


Cell potential (V)
Power density (μW/cm2)
Current density (mA/cm2)
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0
100
200
300
400
500
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
1.6