



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0062167
(43) 공개일자 2010년06월10일

(51) Int. Cl.

H01M 8/16 (2006.01) H01M 8/10 (2006.01)

C12N 11/14 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0120624

(22) 출원일자 2008년12월01일

심사청구일자 2008년12월01일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

김승욱

서울 노원구 공릉2동 737번지 삼익아파트 104동 905호

강성우

경기 구리시 토평동 961 한일아파트 204동 305호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이문섭

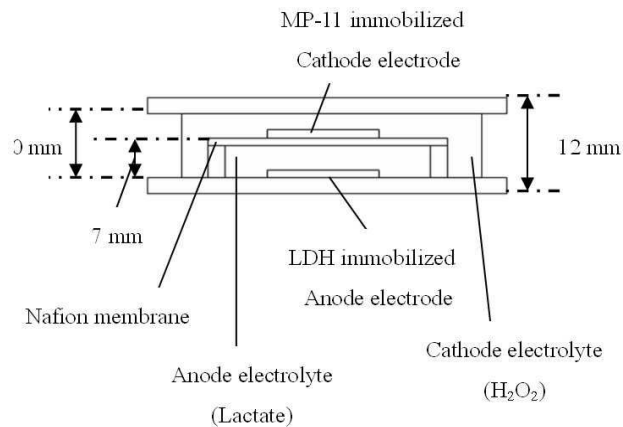
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물

(57) 요약

본 발명은 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 복합 인산-몰스버퍼(Phosphate-MOPS buffer)를 포함하는 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 효소 연료전지에 사용되는 전해질로서 복합 인산-몰스버퍼를 사용하는 경우 환원효소 활성도와 안정도를 높이고 적합한 전자전달 환경을 만들어줌으로써 연료전지의 전압, 전류 및 파워덴시티(power density)를 증가시킬 수 있다.

대표도 - 도1b



(72) 발명자

이진영

서울 성북구 석관2동 337-31번지 다솜오피스텔 40
3호

신현용

경기 군포시 재궁동 충무1차 아파트 208동 106호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 T0701322

부처명 서울시

연구사업명

연구과제명 유류식별재 개발

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2007년 4월 1일 ~ 2010년 3월 30일

특허청구의 범위

청구항 1

복합 인산-몐스버퍼(Phosphate-MOPS buffer)를 포함하는 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 복합 인산-몐스버퍼는 인산버퍼(Phosphate buffer)와 몐스버퍼(MOPS(3-morpholinopropanesulfonic acid) buffer)가 중량비 4:6 내지 6:4로 혼합된 것을 특징으로 하는 버퍼조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 복합 인산-몐스버퍼는 인산버퍼와 몐스버퍼를 각각 0.1 내지 100 mM 농도로 혼합된 것을 특징으로 하는 버퍼조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 복합 인산-몐스버퍼의 pH는 6.5 내지 7.5인 것을 특징으로 하는 버퍼조성물.

청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 따른 음극 전해질용 버퍼조성물을 포함하는 효소 연료전지.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 효소 연료전지의 음극전해질은 과산화수소(H_2O_2)와 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)를 포함하는 것을 특징으로 하는 효소 연료전지.

청구항 7

제 5항에 있어서, 상기 효소 연료전지의 음극은 마이크로 퍼옥시데이즈(microperoxidase)가 고정화된 것을 특징으로 하는 효소 연료전지.

청구항 8

제 5항에 있어서, 상기 음극 전해질은 효소 연료전지의 전압, 전류 및 파워덴시티를 향상시키는 것을 특징으로 하는 효소 연료전지.

청구항 9

하기 단계를 포함하는 효소 연료전지의 제조방법:

- 효소 연료전지용 양극과 음극 전극을 시스타민(cystamine)으로 처리하여 아민기(NH_2)기를 부착하는 단계;
- 상기 음극 전극의 아민기와 효소 연료전지용 환원반응 효소의 아민기를 아마이드(amide) 결합을 통해 고정화하는 단계;

- c) 상기 양극 전극의 아민기와 퀴논계 전자전달매개체의 카르복실기(COOH)를 아마이드 결합을 통해 고정화하는 단계;
- d) 상기 양극 전극에 고정화된 퀴논계 전자전달매개체의 또 다른 카르복실기와 효소 연료전지용 산화반응 효소의 아민기를 아마이드 결합을 통해 고정화하는 단계; 및
- e) 두개의 공간으로 분리된 연료전지용 용기에 양극 전해질과 전자전달매개체를 포함하는 음극 전해질을 각각 채운 후, 양극 전해질에는 상기 양극 전극을, 음극 전해질에는 상기 음극 전극을 장착하는 단계.

청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 아마이드 결합은 커플링제(coupling agent)인 엔에틸디메틸아미노프로필 카보디아미드 하이드로클로라이드(N-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, EDC)에 의해 유도되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제 9항에 있어서, 상기 b)단계의 환원반응 효소는 마이크로 퍼옥시데이즈(microperoxidase)이며, 상기 d)단계의 산화반응 효소는 젖산 탈수소효소(Lactate dehydrogenase)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제 9항에 있어서, 상기 d)단계의 양극 전극에 고정화된 퀴논계 전자전달매개체는 피롤로퀴놀린 퀴논(pyrroloquinoline quinone)이며, 상기 e)단계의 음극 전해질에 포함된 전자전달매개체는 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 9항에 있어서, 상기 e)단계에서 음극 전해질은 과산화수소(H₂O₂) 및 전자전달매개체를 포함하는 복합-인산 버퍼이며, 양극 전해질은 젖산, 니코틴아마이드 아데닌 뉴클레오티드(NAD⁺) 및 염화칼슘을 포함하는 트리스 버퍼(tris buffer)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 9항에 있어서, 상기 e)단계에서 연료전지용 용기는 나피온 막(nafion membrane)에 의해 두개의 공간으로 분리된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 9항에 있어서, 상기 음극 및 양극 전극은 금으로 된 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

본 발명은 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 효소를 이용한 효소적

[0001]

연료전지(enzymatic fuel cell)를 개발과 관련하여 연료전지의 파워덴시티(power density)를 증가시키기 위해 복합 인산-몹스버퍼(Phosphate-MOPS buffer)를 포함하는 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 연료전지(fuel cell)는 연료고갈과 환경문제가 부각되면서 대체에너지로서 많은 연구가 진행되고 있으며, 특히 효소적 연료전지(enzymatic fuel cell)는 연료전지에서 화학촉매 대신 생물학적인 효소를 이용하여 상온과 상압에서 작동이 가능하고 인체에 무해한 물질을 이용할 뿐만 아니라 그 크기가 작기 때문에 인체의학, 바이오센서(biosensor), 소형 전자제품의 배터리 등 실생활에 많은 응용이 가능하다.
- [0003] 그러나 효소 연료전지는 낮은 파워생산(power production)에 많은 문제점들을 가지고 있다. 그 원인은 전자전달과 효소의 안정성, 및 효소의 낮은 활성을 들 수 있으며, 특히 전해질에 포함되어 있는 연료(substrate), 전자 전달매개체(electron transfer mediator), 그리고 조효소(cofactor)의 상호작용 때문이며, 이를 위해 많은 연구자들이 다양한 방법으로 이 문제들을 해결하려고 노력하고 있다.
- [0004] 이러한 효소 연료전지의 낮은 파워덴시티가 극복된다면 효소 연료전지가 소형전지를 대체할 것으로 보인다. 2002년 전 세계 소형 2차 전지 시장의 규모는 34억 달러, 총 12억 700만개의 2차 전지가 판매되었으며, 2003년에는 시장 규모와 판매량이 각각 0.6%와 1.4% 성장할 것으로 추정되고 있다. 2차 전지는 부품산업이라는 특성으로 인해, 전반적인 IT 시장의 영향을 받으면서 성장하고 있으며, 2007년까지 시장규모가 38억 3,600만 달러에 이를 것으로 일본(Fuji Chimera)은 전망하고 있다. 그리고 비용이 저렴한 연료를 사용함으로써 높은 비용의 중금속을 이용한 기존의 2차 전지와 생산비용 면에서도 높은 경쟁력을 갖출 수 있으며 그러한 가격경쟁력을 바탕으로 수출기대효과도 클 것으로 기대된다. 또한 대중적으로 쓰이고 있는 소형 전자제품의 배터리로 제작될 수 있으므로, 그 시장성에 대한 파급효과가 높을 것으로 예상된다. 따라서 이러한 효소적 연료전지의 상용화가 실현되기 위해서는 효소의 안정도와 활성도를 높이고 최적화된 전자전달 환경을 만들어주는 것이 무엇보다 중요하다.
- [0005] 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 연구 노력한 결과, 효소 연료전지의 제작시 음극 전해질에 사용되는 버퍼를 인산버퍼와 몹스버퍼를 복합적으로 사용할 경우 효소의 안정성과 활성도가 증가되어 효소 연료전지의 전류와 파워덴시티가 향상됨을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0006] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 효소 연료전지의 효소 활성도와 안정도를 높이고 적합한 전자전달 환경을 만들어줌으로써 전압, 전류 및 파워덴시티를 증가시킬 수 있는 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물을 제공하는 것이다.
- [0007] 본 발명의 다른 목적은 상기 음극 전해질용 버퍼조성물을 이용한 효소 연료전지 및 그 제조방법을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

- [0008] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 복합 인산-몹스버퍼(Phosphate-MOPS buffer)를 포함하는 효소 연료전지의 음극 전해질용 버퍼조성물을 제공한다.
- [0009] 본 발명에 사용된 용어 ‘효소 연료전지(enzyme fuel cell)’는 기존의 연료전지의 촉매를 생체촉매인 효소로 대체하고 수소보다는 비용이 저렴하고 다루기가 편한 일반 알코올이나 젖산, 또는 포도당을 연료로 한 새로운 개념의 생물연료전지를 말한다. 여러 가지 생물체내에 존재하는 산화/환원 효소만을 이용하여 연료 물질로부터 전자가 발생하여 극을 통하여 이동할 수 있는 원리를 이용하여 다양한 효소적 생물연료전지를 구현할 수 있다. 이러한 생물학적 효소를 이용한 생물연료전지는 친환경적인 전지로서 생체 효소를 이용하기 때문에 상온에서 수행할 수 있으며 미생물을 이용한 생물연료전지와 달리 값싼 연료를 계속적으로 넣어줌으로써 연속적인 전기에너

지 발생장치가 용이하고 미생물의 성장패턴과 이차대사물의 영향을 고려하지 않아도 되는 장점을 가지고 있다.

- [0010] 또한, 상기 용어 ‘음극 전해질(cathode electrolyte)’은 연료전지의 캐소드(cathode)에 사용되는 전해질을 의미하는 것으로, 본 발명에서와 같이 연료전지의 용기를 이온교환 막(ion exchange membrane)을 이용하여 캐소드부(cathode system)와 애노드부(anode system)로 내부 공간을 구분할 경우, 상기 캐소드부에 채워지는 전해질을 의미한다 (도 1b 참조).
- [0011] 본 발명에 사용된 용어 ‘애노드(anode)’는 일반적으로 전지(cell)에서의 음극 전극을 말하는 것으로 전자를 연료로부터 얻는 전극을 의미하며, 또한 ‘캐소드(cathode)’는 전지에서의 음극 전극을 말하는 것으로 전자를 양극으로부터 받아서 전해조로 전달하는 전극을 의미한다.
- [0012] 본 발명에서는, 상기 음극 전극에 사용되는 전해질로서 복합 인산-몰스버퍼를 음극에 고정화된 효소의 활성도를 높이고 전해질 내의 전자전달 능력을 향상시키는데 적용하고자 하였다.
- [0013] 본 발명의 버퍼조성물에서, 상기 복합 인산-몰스버퍼는 각각 0.1 내지 100 mM 농도의 인산버퍼(phosphate buffer)와 몰스버퍼(MOPS(3-morpholinopropanesulfonic acid) buffer)를 중량비 4:6 내지 6:4로 혼합한 것을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 각각 중량비 1:1로 혼합한 것을 사용할 수 있다. 또한 혼합된 복합 인산-몰스버퍼는 최종 pH가 6.5 내지 7.5인 것이 바람직하다.
- [0014] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 음극 전해질용 버퍼조성물을 포함하는 효소 연료전지를 제공한다.
- [0015] 본 발명의 효소 연료전지에서, 상기 효소 연료전지의 음극 전해질은 바람직하게는 과산화수소(H_2O_2)와 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 H_2O_2 는 음극 전해질에서 전자를 받아들이는 물질이며 상기 ABTS는 H_2O_2 가 전자를 잘 받을 수 있도록 도와주는 전자전달매개체이다.
- [0016] 본 발명의 효소 연료전지에서, 상기 효소 연료전지의 음극은 바람직하게는 마이크로 퍼옥시데이즈(microperoxidase)가 고정화된 것을 특징으로 한다. 상기 마이크로 퍼옥시데이즈는 양극으로부터 오는 전자를 H_2O_2 가 받아서 환원되는 반응의 촉매 역할을 하는 효소이다.
- [0017] 본 발명의 효소 연료전지에서, 상기 음극 전해질은 효소 연료전지의 전압, 전류 및 파워덴시티를 향상시키는 것을 특징으로 한다. 음극 전해질로서 본 발명의 복합 인산-몰스 버퍼는 인산버퍼와 몰스버퍼가 중량비 4:6 내지 6:4로 혼합되어 제조되고 제조된 최종 pH가 7.0 내지 7.5 범위인 경우, 인산버퍼 또는 몰스퍼버만으로 구성된 음극 전해질보다 최고 전류값(I_{max})과 파워덴시티(power density)가 현저히 높게 나타났으며, 특히 인산버퍼와 몰스버퍼를 중량비 1:1로 혼합한 경우 가장 높은 최고 전류값과 파워덴시티를 나타내었다 (도 7 참조).
- [0018] 본 발명의 구체적인 실시예에서 상기 음극 전해질용 버퍼조성물을 포함하는 효소 연료전지는, 금(Au)으로된 마이크로 퍼옥시데이즈가 고정화된 음극 전극(cathode); 연료의 산화반응 효소와 퀴논계 전자전달 매개체가 결합된 양극 전극(anode); 과산화수소와 ABTS를 포함하는 복합 인산-몰스버퍼로 구성된 음극 전해질(cathode electrolyte); 젖산, 니코틴아마이드 아데닌 디뉴클레오티드(NAD^+) 및 염화칼슘($NaCl_2$)을 포함하는 양극 전해질(anode electrolyte); 및 나피온막(nafion membrane)으로 내부공간이 분할되어 상기 음극 전극과 양극 전극이 각각 장착되고 상기 음극 전해질과 양극 전해질이 각각 채워질 수 있는 연료전지 용기로 구성된다.
- [0019] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 하기 단계를 포함하는 효소 연료전지의 제조방법을 제공한다:
- [0020] a) 효소 연료전지용 양극과 음극 전극을 시스타민(cystamine)으로 처리하여 아민기(NH_2)기를 부착하는 단계;
- [0021] b) 상기 음극 전극의 아민기와 효소 연료전지용 환원반응 효소의 아민기를 아마이드(amide) 결합을 통해 고정화하는 단계;
- [0022] c) 상기 양극 전극의 아민기와 퀴논계 전자전달매개체의 카르복실기($COOH$)를 아마이드 결합을 통해 고정화하는 단계;
- [0023] d) 상기 양극 전극에 고정화된 퀴논계 전자전달매개체의 또 다른 카르복실기와 효소 연료전지용 산화반응 효소

의 아민기를 아마이드 결합을 통해 고정화하는 단계; 및

- [0024] e) 두개의 공간으로 분리된 연료전지용 용기에 양극 전해질과 전자전달매개체를 포함하는 음극 전해질을 각각 채운 후, 양극 전해질에는 상기 양극 전극을, 음극 전해질에는 상기 음극 전극을 장착하는 단계.
- [0025] 본 발명의 효소 연료전지의 제조방법에서, 상기 아마이드 결합은 다양한 커플링제(coupling agent), 예컨대 엔에틸디메틸아미노프로필 카보디아미드 하이드로 클로라이드(N-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodimide hydrochloride, EDC), dicyclohexylcarbodiimide (DCC), diisopropylcarbodiimide (DIC) 등에 의해 유도될 수 있으나, 바람직하게는 엔에틸디메틸아미노프로필 카보디아미드 하이드로클로라이드(N-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodimide hydrochloride, EDC)에 의해 유도되는 것이 바람직하다.
- [0026] 상기 연료의 산화 및 환원반응용 효소가 고정화된 양극과 음극의 구성은, 우선 양극은 전극에 시스타민(systamine)의 아민기(NH₂)를 고정화하고 상기 EDC에 의하여 피롤로퀴놀린 퀴논(PQQ)을 고정화한 다음 효소를 결합하였고, 음극은 전극에 시스타민의 아민기를 고정화한 다음 바로 효소를 결합하는 구성으로 이루어져 있다. 또한, 상기 커플링제는 안정된 아마이드 결합을 유도하기 위한 촉매역할을 하는 물질이다.
- [0027] 더욱 상세히 설명하면, 먼저 양극은 전극에 시스타민을 이용하여 NH₂기를 만들고 PQQ의 COOH기를 이용하여 아마이드 결합으로 고정화한 다음 효소의 NH₂기를 이용하여 PQQ의 남은 COOH기를 이용하여 다시 아마이드 결합으로 효소를 고정화하였다. 그리고 음극은 상기 양극과 마찬가지로 먼저 전극에 시스타민을 이용하여 NH₂기를 만들고 거기에 효소의 COOH기를 이용하여 아마이드결합으로 고정화하였다. 따라서 양극에서는 PQQ(양극 전자전달매개체)는 전극에 아마이드 결합으로 부착했고, ABTS(음극 전자전달매개체)는 용액에 존재하도록 하였습니다. 그리고 여기에서 커플링제는 이러한 아마이드 결합을 도와주는 촉매역할이자 링커역할을 한다.
- [0028] 본 발명의 효소 연료전지의 제조방법에서, 상기 b)단계의 환원반응 효소는 마이크로 퍼옥시데이즈(microperoxidase)이며, 상기 d)단계의 산화반응 효소는 젖산 탈수소효소(Lactate dehydrogenase)인 것을 특징으로 한다.
- [0029] 본 발명의 효소 연료전지의 제조방법에서, 상기 d)단계의 양극 전극에 고정화된 퀴논계 전자전달매개체는 피롤로퀴놀린 퀴논(pyrroloquinoline quinone)이며, 상기 e)단계의 음극 전해질에 포함된 전자전달매개체는 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt)인 것을 특징으로 한다.
- [0030] 본 발명의 효소 연료전지의 제조방법에서, 상기 e)단계에서 음극 전해질은 과산화수소(H₂O₂)와 전자전달매개체를 포함하는 복합-인산 버퍼이며, 양극 전해질은 젖산, 니코틴아마이드 아데닌 뉴클레오티드(NAD⁺) 및 염화칼슘을 포함하는 트리스 버퍼(tris buffer)인 것을 특징으로 한다.
- [0031] 본 발명의 효소 연료전지의 제조방법에서, 상기 e)단계에서 연료전지용 용기는 이온교환 막(ion exchange membrane), 예컨대 Nafion, Dow, Gore-select 및 membrane 등을 사용하여 두개의 공간으로 분리될 수 있으나, 바람직하게는 나피온 막(nafion membrane)에 의해 두개의 공간으로 분리된 것을 특징으로 한다.
- [0032] 본 발명의 효소 연료전지의 제조방법에서, 상기 음극 및 양극 전극은 연료전지의 전극으로 사용될 수 있는 한 어떠한 종류의 금속일 수 있으나, 상업적으로 많이 사용되고 있는 금, 백금, 니켈 또는 그들의 합금이 적당하며, 바람직하게는 금으로 된 전극을 사용할 수 있다. 금으로 된 것을 특징으로 한다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

- [0033] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

- [0034] 실시예 1. 음극 전극의 제조

[0035] 캐소드(cathode, 음극)의 금(Au) 표면에 아민기(NH₂)를 부착하기 위해, 먼저 왕수처리를 하고, 0.1 몰(M)의 시스타민(cystamine)으로 상온에서 12시간 동안 반응시켰다. 세척 후 0.05 몰(M)의 엔에틸디메틸아미노프로필 카보디아미드 하이드로클로라이드(N-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodimide hydrochloride, EDC)와 0.1 몰(M)의 마이크로퍼옥시데이즈 (microperoxidase, MP-11; Sigma-Aldrich) 용액을 넣어 4℃에서 4시간 반응시켜 MP-11 효소를 고정화시킨 음극 전극을 제작하였다.

[0036] 실시예 2. 양극 전극의 제조

[0037] 애노드(anode, 양극)의 금(Au) 표면에 아민기(NH₂)를 부착하기 위해, 먼저 왕수처리를 하고 0.1 몰(M)의 시스타민으로 12시간 동안 상온에서 반응시켰다. 세척 후 0.02 몰(M)의 EDC와 0.003 몰(M)의 피롤로퀴놀린 퀴논(pyrroloquinoline quinone, PQQ)을 pH 7.0인 0.01 몰(M)의 헤페스 버퍼(HEPES buffer; Sigma) 용액에서 상기 시스타민 처리된 애노드와 상온에서 1시간 반응시켰다. 다시 세척한 후, 0.05 몰(M)의 EDC와 15 mL의 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase, LDH; 238 mg/U, Fluka) 용액에 넣어 젖산 탈수소효소를 고정화하여 양극 전극을 제작하였다.

[0038] 실시예 3. 복합 몹스-인산 버퍼의 제조방법

[0039] 0.1 M 농도의 인산버퍼(phosphate buffer)와 0.1 M 농도의 몹스버퍼(phosphate-MOPS (3-morpholinopropanesulfonic acid) buffer; Sigma-Aldrich)를 상온에서 부피비 1:1로 혼합하여 최종 pH가 7.0이 되도록 제조하였다.

[0040] 실시예 4. 새로운 복합 인산-몹스 버퍼를 이용한 음극 바이오 연료전지의 제작

[0041] 상기 실시예 1에서 제작된 음극 전극(modified Au cathode)과 순수 금으로된 양극용 전극을 워터재킷(water-jacked cell)으로 제작한 전지에 삽입하고, 워터재킷 내부에 과산화수소(H₂O₂)와 전자전달 매개체인 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) 각각 1.0 mM과 상기 복합 인산-몹스 버퍼 용액을 넣어 음극 전해질을 만들고 이러한 음극 시스템을 이용하여 음극 바이오 연료전지 (water-jacked bio-electronical cell)를 제작하였다.

[0042] 여기서, '음극 바이오 연료전지'는 양극을 따로 만들지 않고 음극의 전기적은 성질을 알아보기 위해 reference(Ag/AgCl) 전극을 양극으로 하여 제작된 연료전지이며, 그 제작은 도 1a에 나타내었다. 즉, 도 1a는 워터재킷으로 제작된 음극 바이오 전지(bio-electronical cell)를 나타낸다.

[0043] 실시예 5. 새로운 복합 인산-몹스 버퍼를 이용한 효소 연료전지의 제작

[0044] 상기 실시예 1과 2에서 제작된 양극과 음극 전극(modified Au anode and cathode)을 나피온 막(Nafion membrane; Sigma-Aldrich)으로 분리되어 두 공간으로 구분된 공간을 갖는 연료전지용 용기에 각각 장착한 후, 한 쪽에는 각각 0.02 몰(M)의 젖산(연료, lactate), 니코틴아마이드 뉴클레오티드(전자전달매개체, NAD⁺), 그리고 염화칼슘(CaCl₂)을 pH 7.0인 0.1 몰(M)의 트리스버퍼(tris buffer) 용액에 넣어 만든 양극 전해질을 채우고, 다른 한쪽에는 음극 전해질로서 상기 H₂O₂와 ABTS가 포함된 복합 인산 몹스버퍼를 채움으로써 효소 연료전지(enzymatic fuel cell)를 제작하였다. 도 1b는 상기 효소 연료전지의 설계를 설명한 개략도이다.

[0045] 실시예 6. 복합 인산-몹스 버퍼를 이용한 음극 효소 연료전지의 순환 전압값과 MP-11 효소의 활성도 측정

[0046] 상기 실시예 4에서 제작된 연료전지를 potentiostat/galvanostat (WPG100, WonATech 주식회사, 한국)에 연결하고 WPG 프로그램 (WPG100, WonATech 주식회사, 한국)으로 25℃에서 질소(N₂) 가스를 충분히 충전시키면서 순환 전압전류값(cyclic voltammetry)을 측정하였다.

- [0047] 도 2는 음극 전해질에 사용된 여러 버퍼들에 따른 마이크로 퍼록시데이즈(MP-11) 효소를 이용한 시스템 (또는 상기 ‘음극 바이오 연료전지’)에서의 각각의 순환 전압전류값을 나타낸 그래프이다. 그 결과, 인산버퍼와 몐스버퍼의 복합 버퍼를 이용한 음극 바이오 연료전지의 환원면적(reduction area)이 크게 나타났으며 음극 전류 피크(anodic current peak)가 1.0 V에 533 μA 로서 다른 버퍼를 이용한 연료전지보다 높게 나타났다.
- [0048] 도 2에서, 순환 전압전류값 그래프에 나타난 환원면적이 나타내는 바는, 순환 전압전류값이라는 것은 임의로 전압을 걸어서 얼마만큼의 전류값이 나오는 지 측정하는 것으로 전자가 많이 이동하면 그 만큼 높은 전류값이 나오게 되며, 도 2의 그래프에서 위쪽은 산화, 아래쪽은 환원을 의미한다. 그리고 이 전압과 전류값의 곱은 그 만큼 발생하는 전력값이므로 그 면적이 클수록 전자전달의 양이 커져서 큰 전력값을 생산할 수 있다는 것을 의미한다. 또한 이러한 환원 그래프에서 가장 아래에 표시되는 점은 그 만큼 최대의 환원력을 의미하는 것이다.
- [0049] 따라서 복합 인산-몐스버퍼 (phosphate-MOPS (3-morpholinopropanesulfonic acid) buffer)를 이용한 음극 바이오 연료전지 (cathode biofuel cell)의 전자전달 능력이 다른 버퍼를 이용한 연료전지보다 우수했다는 것을 확인할 수 있었다.
- [0050] 도 3a는 효소 없이 음극 전해질에 사용된 복합 버퍼의 종류에 따른 순환 전압전류값을 비교한 그래프이다. 효소를 제외한 전해질로 사용된 버퍼의 종류에 따른 각각의 전자전달 능력을 보여주는 결과이다. 과산화수소가 없는 음극 전해질은 전자 환원력이 미미하였으나 (도 3b), 본 발명에서와 같이 과산화수소가 있는 전해질의 경우, 음극 바이오연료 전지는 인산버퍼를 이용한 음극 전해질의 환원면적(도 3a의 검정색)이 복합 인산-몐스버퍼(도 3a의 빨강색)와 몐스버퍼(도 3a의 파란색)보다 크게 나타났다. 따라서 효소의 유무와 무관하게 전해질에 따른 전자 환원력에서는 인산버퍼를 사용한 전해질이 다소 우수한 것으로 확인되었다.
- [0051] 도 4는 몐스버퍼(A), 복합 인산-몐스버퍼(B) 및 인산버퍼(C)에서 마이크로 퍼록시데이즈(MP-11)의 활성도를 도시한 그래프이다. 그 결과, 몐스 버퍼에서 MP-11의 활성도가 502 U/mg으로 가장 높았다. 이는 MP-11의 활성도 면에서는 몐스 버퍼의 역할이 인산 버퍼와 복합 인산-몐스 버퍼보다는 크다는 것을 의미한다.
- [0052] **실시예 7. 음극 전해질에 이용되는 복합 버퍼 조성의 최적화**
- [0053] 실시예 5에서 제작된 효소 연료전지에 사용할 음극 전해질을 개발하기 위해, 필수 요소인 인산 버퍼와 몐스 버퍼의 희석 비율과 pH를 실험을 통하여 최적화 하였다.
- [0054] 도 5는 인산버퍼와 몐스버퍼를 다양한 비율로 희석하여 제조한 음극 전해질이 상기 MP-11 효소가 고정화된 음극에서의 바이오연료전지에서 순환 전압전류값에 미치는 영향을 나타내는 그래프이다. 그 결과, 인산버퍼와 몐스버퍼의 희석비율이 4:6과 6:4일 때 환원면적 (각각 갈색과 파란색)과 순환 전압전류값이 1.0 V에서 700 μA (면적에서 가장 아래에 있는 점)로서 가장 높았다.
- [0055] 또한, 도 6은 음극 전해질에서 복합 인산-몐스버퍼의 pH에 따른 MP-11 효소가 고정화된 음극에서의 바이오연료전지의 순환 전압전류값을 나타내는 그래프이다. 그 결과, pH가 7.0 내지 7.3에서 환원면적과 순환 전압전류값이 다소 높았다(도 6a와 도 6b 비교참조). 그러나 pH에 따른 차이는 크지 않았다.
- [0056] **실시예 8. 최적화된 음극 전해질을 이용한 효소 연료전지에서 생산되는 전압-전류 및 파워덴시티의 측정**
- [0057] 실시예 7에서 최적화된 음극 전해질을 이용한 효소 연료전지의 파워덴시티를 측정하기 위해, 전압을 따로 설정하지 않은 상태에서 양극과 음극이 모두 제작된 효소적 연료전지를 사용하여 파워덴시티를 측정하였다.
- [0058] 도 7은 효소 연료전지의 음극 전해질에 사용된 복합 인산-몐스버퍼, 몐스버퍼 및 인산버퍼에 따라 효소 연료전지에서 생산되는 전압(V)-전류(I)와 파워덴시티를 나타낸 그래프이다. 그 결과, 복합 인산-몐스버퍼(최적화된 희석비율과 pH)에서 최고 전류값(I_{max})과 파워덴시티가 각각 888 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 와 62.7 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 로 가장 높게 나타났다. 이는 몐스버퍼와 인산버퍼를 단독으로 사용한 경우보다 각각 196 %와 213 %가 증가한 것이다.
- [0059] 결론적으로, 음극 전해질에 복합 인산-몐스버퍼를 이용하는 경우 최대(62.7 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$)의 파워덴시티를 얻을 수 있었으며, 이는 효소 연료전지에서 MP-11 시스템의 전자환원능력이 복합 인산-몐스버퍼를 사용하는 전해질에서 가장 효과가 크다는 것을 의미하며, 상기 복합 인산-몐스버퍼의 최적 희석비는 1:1 (w/w)이었다.

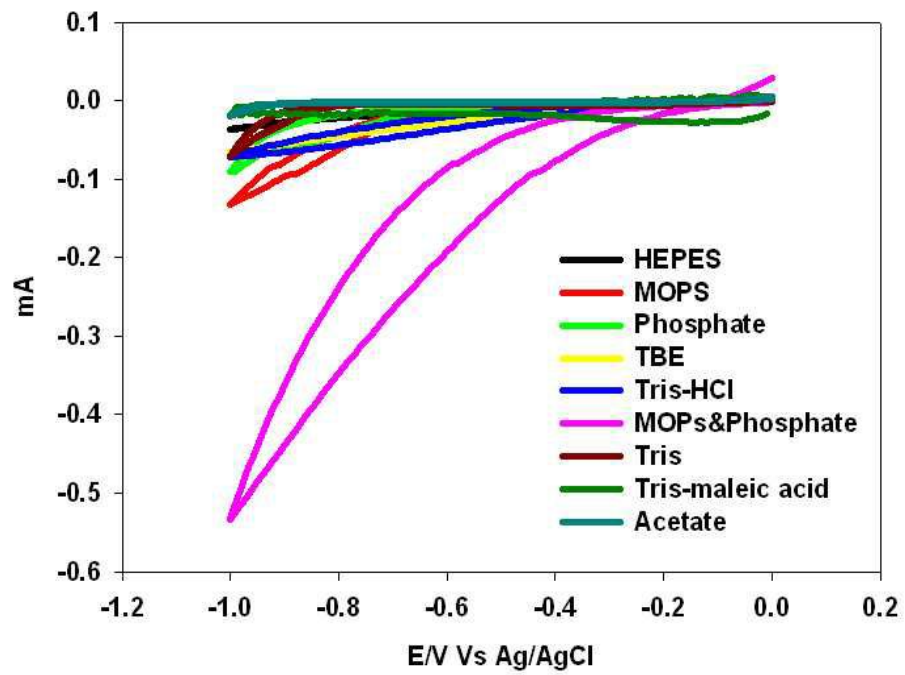
산업이용 가능성

- [0060] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 효소를 이용한 효소적 연료전지(enzymatic fuel cell)를 개발과 관련하여 연료전지의 파워덴시티 향상을 위해, 효소 연료전지에 사용되는 전해질로서 복합 인산-몹스버퍼를 사용하는 경우 환원효소 활성도와 안정도를 높이고 적합한 전자전달 환경을 만들어줌으로써 연료전지의 전압, 전류 및 파워덴시티를 증가시킬 수 있다. 따라서 본 발명의 음극 전해질용 복합버퍼 또는 이를 포함하는 효소 연료전지는 낮은 파워덴시티 문제에 봉착해 있는 효소 연료전지의 개발과 해당 산업분야에서 다양한 적용이 가능할 것으로 기대된다.

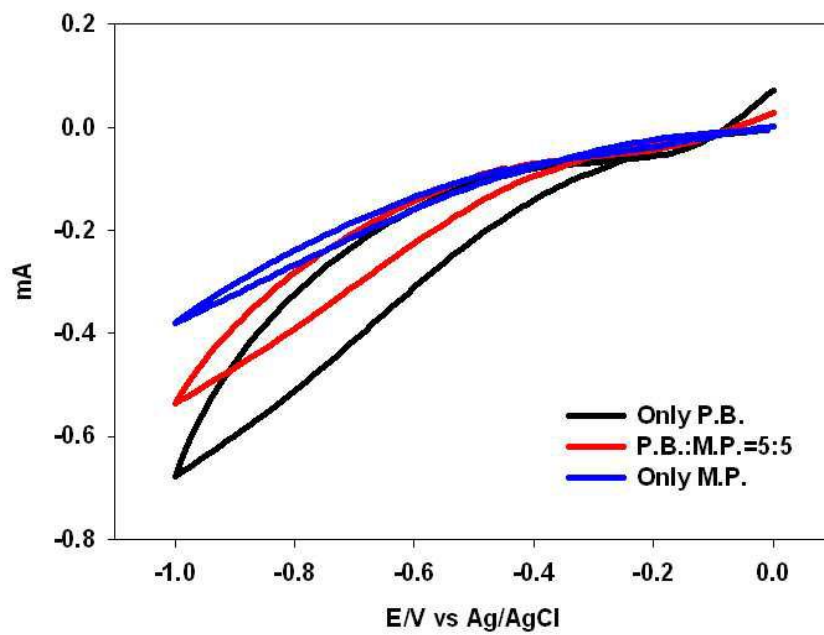
도면의 간단한 설명

- [0061] 도 1a는 워터재킷으로 제작된 음극에서의 바이오연료 전지 (bio-electronical cell)의 설계를 설명하는 개략도이다.
- [0062] 도 1b는 본 발명에 따른 효소 연료전지 (enzymatic fuel cell)를 설명한 개략도이다.
- [0063] 도 2는 음극 전해질에 사용된 여러 버퍼들에 따른 음극 바이오 연료전지에서 각각의 순환 전압전류값을 나타낸 그래프이다.
- [0064] 도 3a는 효소 없이 H₂O₂ 존재 하에서의 음극 전해질에 사용된 복합 버퍼의 종류에 따른 순환 전압전류값을 비교한 그래프이다.
- [0065] 도 3b는 효소와 과산화수소 없이 음극 전해질에 사용된 복합 버퍼의 종류에 따른 순환 전압전류값을 비교한 그래프이다.
- [0066] 도 4는 인산버퍼, 몹스버퍼 및 복합 인산-몹스버퍼에서 마이크로 퍼록시테이즈(MP-11)의 활성도를 도시한 그래프이다.
- [0067] 도 5는 인산버퍼와 몹스버퍼를 다양한 비율로 희석하여 제조한 음극 전해질이 음극 바이오 연료전지(MP-11 시스템)에서 순환 전압전류값에 미치는 영향을 나타내는 그래프이다.
- [0068] 도 6은 음극 전해질에서 복합 인산-몹스버퍼의 pH에 따른 음극 바이오 연료전지(MP-11 시스템)의 순환 전압전류값을 나타내는 그래프이다.
- [0069] 도 7은 효소 연료전지의 음극 전해질에 사용된 복합 인산-몹스버퍼, 몹스버퍼 및 인산버퍼에 따라 효소 연료전지에서 생산되는 전압(V)-전류(I)와 파워덴시티를 나타낸 그래프이다.

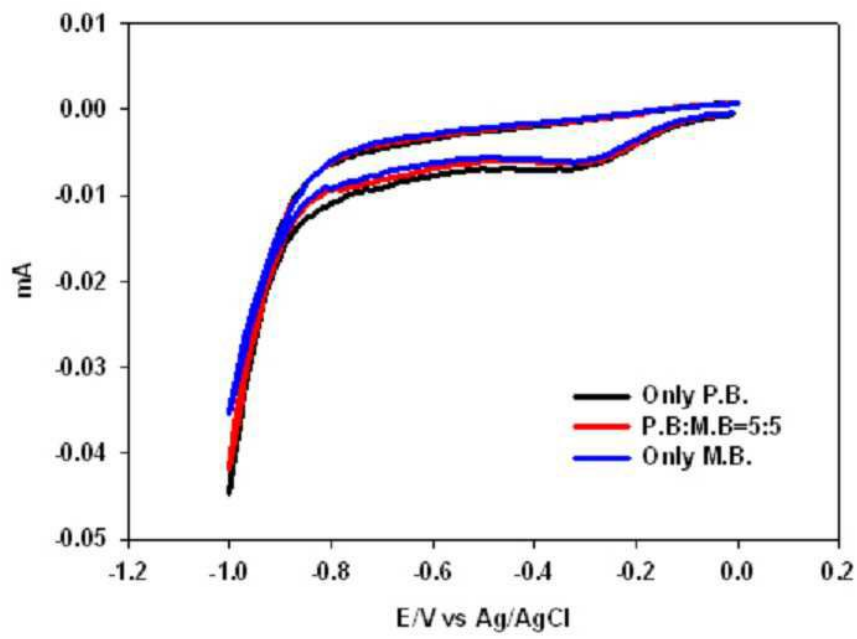
도면2



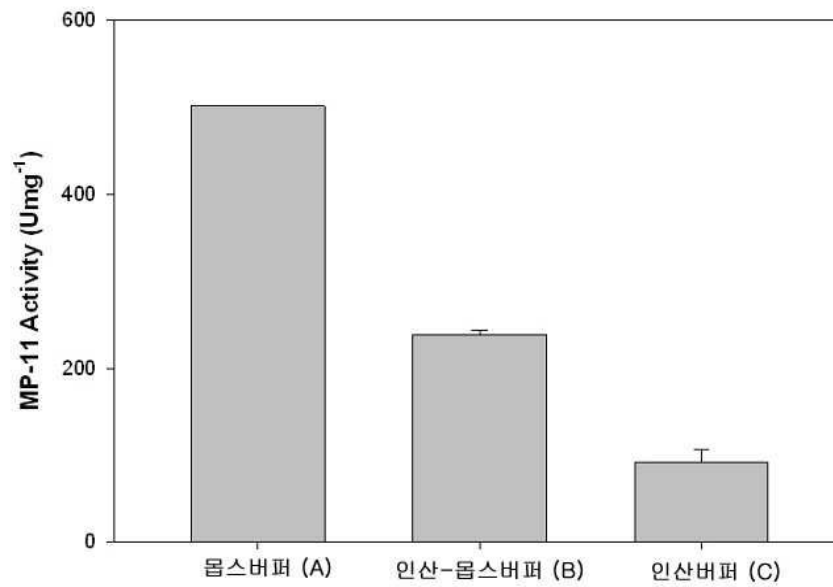
도면3a



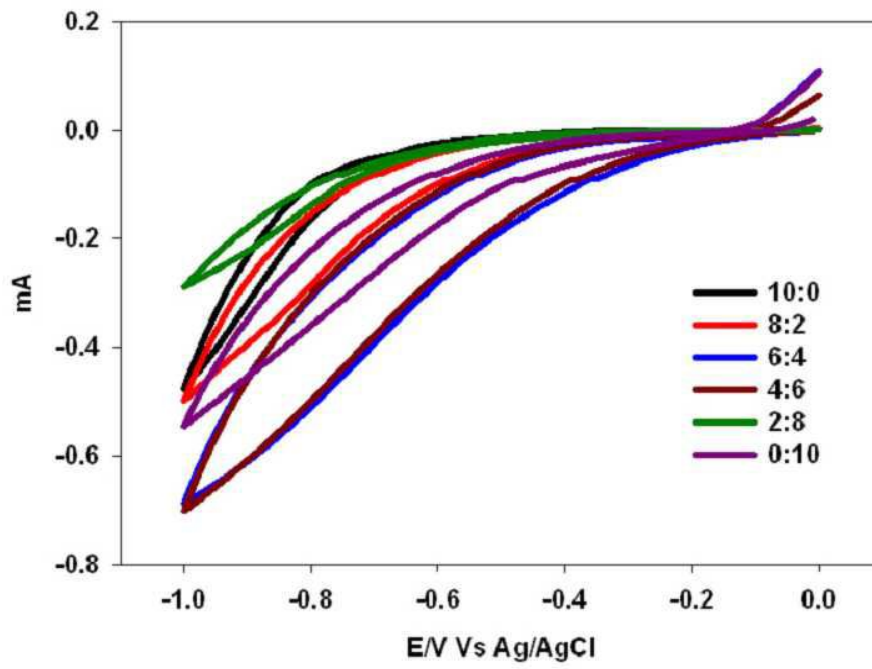
도면3b



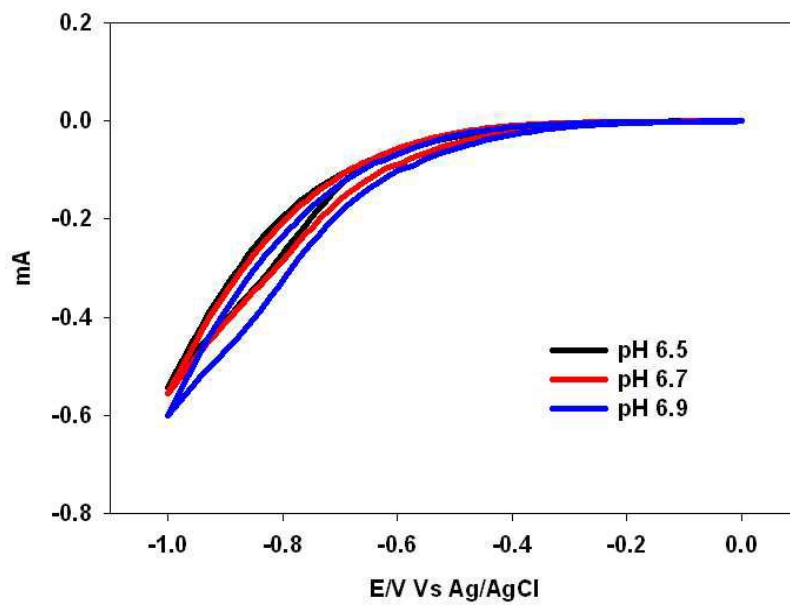
도면4



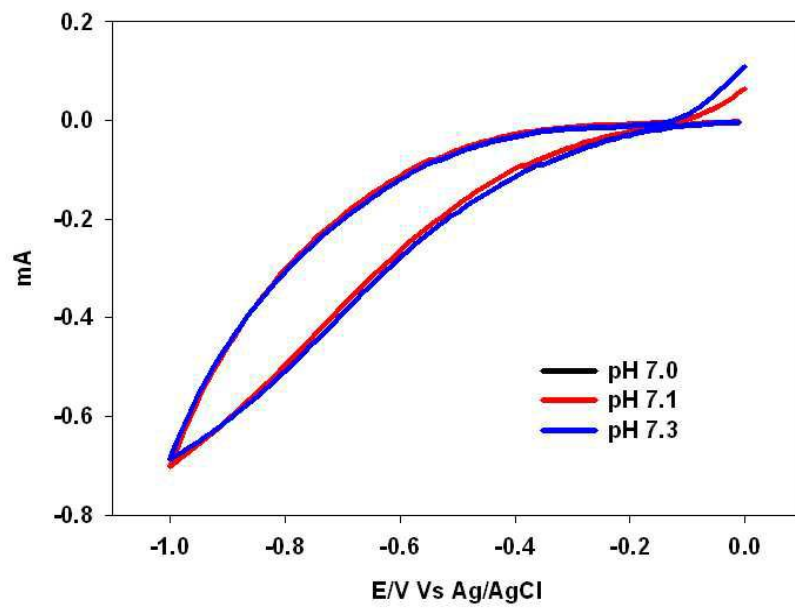
도면5



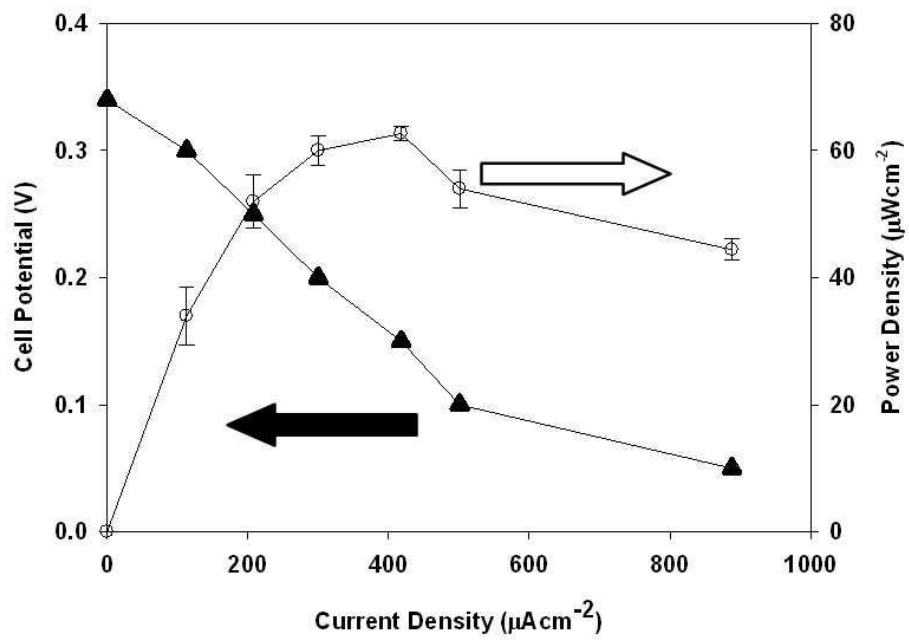
도면6a



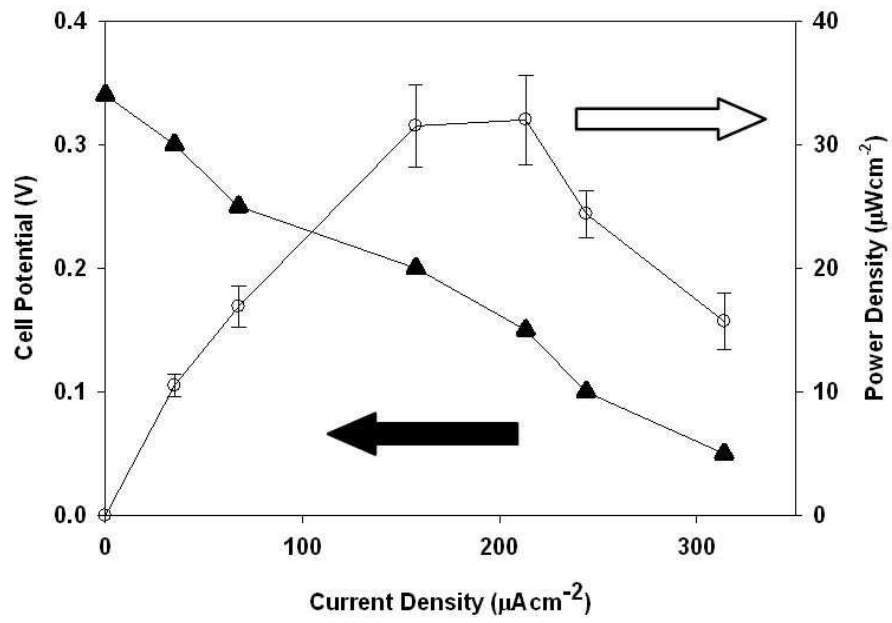
도면6b



도면7a



도면7b



도면7c

