

페로신카르복시산을 이용한 글루코스 산화효소의 표면개질에 의한 바이오 연료전지 성능향상

지정연 · 크리스트와르다나 마셀리너스 · 정용진[†] · 권용재[†]
서울과학기술대학교 에너지환경대학원

Performance Enhancement of Biofuel Cell by Surface Modification of Glucose Oxidase using Ferrocene Carboxylic acid

JUNGYEON JI, MARCELINUS CHRISTWARDANA, YONGJIN CHUNG[†],
YONGCHAI KWON[†]

Grad. School of Energy and Environment, Seoul National Univ. of Science and Technology,
232 Gongreung-ro, Nowon-gu, Seoul 01811, Korea

Abstract >> In this study, we synthesized a mediator immobilized biocatalyst([FCA/GOx]/PEI/CNT) by surface modification using ferrocene carboxylic acid(FCA), and evaluated its performance as anode catalyst for biofuel cell. Through the application of FCA on glucose oxidase (GOx), the free amine groups on the lysine residue of GOx surface reacted with carboxylic acid of FCA and make amide bond between GOx and FCA. As the result of that, the electron transfer of catalyst was increased up to 1.91 times($0.468 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$) than the catalyst without surface modification (GOx/PEI/CNT), and high maximum power density of $1.79 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ was gained.

Key words : Enzymed Bio Fuelcell(효소 바이오 연료전지) Glucose(글루코스), Glucose oxidase(글루코스 산화효소), Mediator(전자전달매개물질), Ferrocene Carboxylic acid(페로신 카르복시산)

1. 서 론

글루코스 산화효소(Glucose oxidase, GOx)는 높은 기전력과 낮은 가격을 바탕으로 효소기반 바이오연료전지의 산화극 촉매로 1964년부터 A.T.Yahiro 등에 의해 활용 가능성이 평가된 이래 많은 연구결과가 보고되고 있다¹⁾. GOx의 우수한 기질특이성 및 인체 내 안정성은 인체삽입형 기기로서의 활용가능성이 기대되고 있으나, 효소촉매의 특성상 금속촉매에 비

하여 낮은 촉매 담지량과 전자전달 문제에 기인한 낮은 전력량은 실용화의 걸림돌이 되고 있다²⁾. 이를 개선하기 위해 전극 표면과 효소의 활성부위 사이의 안정적 전자전달을 개선하기 위한 많은 시도가 있었으며, 담지지지체(supporter)의 및 전자전달매개물질(mediator)의 개선 등이 다소 보고되었다³⁾.

일반적인 효소 바이오촉매의 전자전달은 크게 직접전자전달(DET, Direct Electron Transfer)와 매개전자전달(MET, Mediated Electron Transfer)로 나뉘는데 이 차이점은 효소반응(enzymatic reaction)과 전극반응(electrode reaction)의 연결 방법에 따라 구분된다. 즉, DET는 효소의 활성부위가 산화되어 나온 전

[†]Corresponding author : kwony@seoultech.ac.kr

Received : 2016.10.5 in revised form : 2016.10.26 Accepted : 2016.10.30

Copyright © 2016 KHNES

자가 직접 전극으로 이동하여 전자전달이 되나, MET는 산화되어 나온 전자가 용액에서 자유롭게 존재하는 매개체의 산화환원반응을 이용하여 전자가 전달된다⁴⁾. 효소는 표면이 단백질로 구성되어 있어 전기 절연체의 특성을 가지고 있기 때문에 활성센터(redox center)와 전자전달 지지체(conductive support) 사이에서 전자전달이 잘 되지 않는다는 단점이 있으며⁵⁾, 이에 따라 DET로는 최대 성능 구현하기 어려운 단점이 있다. 이를 개선하기 위해 매개체(mediator)를 이용하면 효과적으로 효소의 active site와의 전자 전달을 용이하게 하여 바이오연료전지의 성능향상을 꾀할 수 있으나, 바이오연료전지의 주요 목표인 생체 삽입장치에서는 혈액 내에 매개체를 주입시킬 수 없기 때문에 활용이 불가한 단점이 있다⁴⁾. 기존 보고된 대부분의 연구는 매개체를 전해질에 용해시켜 MET를 촉진시킨 구조로서⁶⁾, 실용화를 위해서는 매개체를 지지체에 고정화하여 혈액으로의 용해를 방지할 필요가 있으며, 이를 위해 ferrocene dicarboxylic acid 등의 ferrocene 유도체를 이용하여 전극 표면을 개질한 사례 등이 최근 보고 되고 있다⁷⁾.

본 연구에서는 전자전달 매개체인 페로신카르복시산(FCA, Ferrocene Carboxylic acid)으로 효소 표면을 직접 개질하여 효소와 매개체 간의 전자전달을 촉진하고, 전해질에 용해되지 않은 상태로 MET를 구현한 매개체 고정형 촉매를 개발하였다. 지지체로 사용한 탄소나노튜브(CNT, Carbon nanotube)는 우수한 전자전달능력에 기반하여 GOx 기반 촉매에 널리 사용되고 있으나, 소수성에 기인한 약한 효소 담지력 및 세포 독성 문제를 개선하기 위해, 폴리에틸렌이민(PEI, Polyethyleneimine)을 이용하여 표면을 개질시킨 PEI/CNT 복합체를 지지체로 사용하였다. 이를 FCA에 의하여 지지체(CNT/PEI)를 표면개질하여 GOx를 담지시킨 촉매(GOx/[FCA/PEI]/CNT)와 GOx의 표면을 직접 개질한 후 지지체에 담지한 촉매([FCA/GOx]/PEI/CNT)를 합성하였으며, 바이오연료전지 산화극용 촉

매로서의 성능이 다수 보고된 GOx/PEI/CNT 촉매구조⁸⁾와 전자전달 능력을 상호비교하고, 바이오연료전지 산화극으로서의 적용 가능성을 평가 하였다.

2. 실험

2.1 시약

촉매의 담지체로는 탄소나노튜브(Multi Wall Carbon nanotube, M95, Carbon Nano-Material Technology, CNT)를 사용하였고, 정전기적 인력을 이용하여 GOx를 물리적 흡착으로 고정시키기 위해 전도성고분자인 폴리에틸렌이민(Polyethyleneimine, (Sigma Aldrich P3143) 50 wt% solution in water, MW 750,000, PEI)을 사용했다. 연료인 글루코스감지를 위한 효소는 글루코스 산화효소(Glucose oxidase, (Sigma Aldrich G7141), GOx)를, mediator로는 페로신카르복시산 (Ferrocene carboxylic acid, (Sigma Aldrich 46264), FCA)를 사용하였다.

전기화학 측정을 위해 전극에 촉매를 고정하기 위해 Nafion(Sigma Aldrich 70160)을 사용하였다.

2.2 촉매 제조

기존 구조의 촉매인 GOx/PEI/CNT를 합성하기 위해 우선 PEI/CNT를 합성하였다. PEI 수용액(2.5 mg·ml⁻¹ in DI water)에를 기준으로 CNT (2mg·ml⁻¹ in PEI solution)를 넣고 10분동안 초음파 분산기를 이용해 분산시킨다. 그 이후 1시간동안 교반하고 CNT에 붙지 않은 PEI를 세척한 후 최대의 GOx의 물리적 흡착을 위해 과량인 GOx 용액(5 mg·ml⁻¹ in PBS 1X)을 넣고 2시간동안 교반한 후 원심분리(14000 rpm, 10 min)를 한다.

FCA로 표면을 개질한 촉매는 FCA의 표면개질효과를 확인하기 위하여, 지지체의 표면을 개질한 촉매

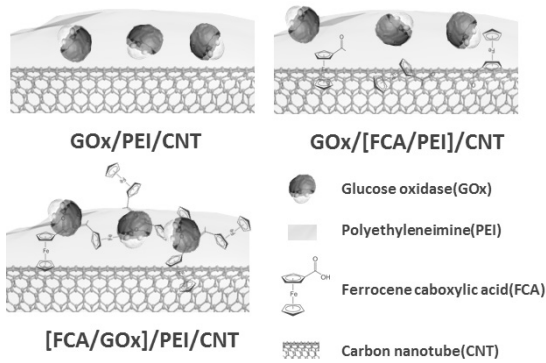


Fig. 1 Schematic illustrations showing fabrication of the biocatalyst GOx/PEI/CNT, GOx/[FCA/PEI]/CNT and [FCA/GOx]/PEI/CNT

(GOx/[FCA/PEI]/CNT)와 GOx을 표면을 개질한 촉매([FCA/GOx]/PEI/CNT)를 합성하였다. 우선 GOx/[FCA/PEI]/CNT 촉매 합성을 위해 FCA 용액($0.5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ in ethanol)을 CNT/PEI에 넣고 2시간동안 교반한 후 GOx 용액을 넣고 2시간 교반한다. [FCA/GOx]/PEI/CNT는 FCA와 GOx의 화학적 흡착을 위해 FCA용액에 GOx를 넣고 2시간 교반후 CNT/PEI에 넣고 2시간 교반을 하였다. 그 다음 원심분리 후 PBS 0.01M을 넣어 촉매를 완성하였으며 각 촉매의 구조는 Fig. 1과 같다. 실험 외엔 4°C 에서 냉장 보관하였다⁸⁾.

2.3 전기화학측정

시료 성능 평가를 위해 정전위기를 이용한 전기화학적인 측정을 진행하였다.

2.3.1 순환주사전류 및 시간대전류 측정

전기화학 측정을 위해 정전위기를(CHI 720D, CH Instrument, USA) 사용하였고 순환주사전류(Cyclic voltammogram, CV)와 시간대전류(Chronoamperometry, CA) 측정을 위하여 삼전극 실험을 진행하였으며, 상대 전극은 백금선, 기준전극은 Ag/AgCl(3.0 M NaCl)을 사용하였다. 작업전극을 만들기 위해서 촉매인크를 탄소전극(지름 5.0 mm, 면적 0.196 cm^2) 위에 $7.0 \mu\text{l}$

올려준 후 30분 정도 건조하였다. 그 후 Nafion(0.5 wt%) 용액 $4.0 \mu\text{l}$ 를 건조된 촉매 위에 올려준 후, 5분간 건조해서 사용하였고 전해질은 1M과 0.01M Phosphate 완충용액(PBS, pH 7.4)을 사용하였다¹⁰⁾.

2.3.2 완전지 측정

연료전지로서의 성능을 평가하기 위하여는 SP-240 (Bio-Logic, USA)을 정전위기로 사용하였다. 환원극 촉매는 Pt/C를 사용하며 멤브레인으로는 Nafion 117, 산화극 촉매는 카본페이퍼 SGL 10BC (Toray, USA)에 촉매 인크를 로딩한 후 건조하여, MEA (membrane electrode assembly)를 완성했다. 연료로는 글루코스를 0.01 M PBS (pH 7.4)에 용해한 0.2 M 글루코스 용액을 이용하였고 펌프를 가동하여 공급하며 순환시켰다. 산화극에는 공기를 $100 \text{ cc}\cdot\text{min}^{-1}$ 환원극에는 산소를 $100 \text{ cc}\cdot\text{min}^{-1}$ 로 공급했다.

3. 결과 및 고찰

3.1 전기화학적 특성 평가

각 촉매의 산화환원반응을 확인하기 위해 순환전압전류법(CV, Cyclic Voltammetry)에 의한 각 촉매의 전기화학적 특성을 질소 주입 조건에서 측정하였으며 그 결과는 Fig. 2와 같다. CV를 측정한 전압범위(0.46V vs Ag/AgCl)에서 나타난 피크전류밀도는 GOx내 공동인자인 Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)의 산화환원반응 ($\text{GOx}(\text{FAD}) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{GOx}(\text{FADH}_2)$)을 의미한다. 이 피크전류밀도가 클수록 담지체인 CNT와 GOx의 전자전달이 활발함을 알 수 있다. 산화피크전류밀도를 비교하였을 때 [FCA/GOx]/PEI/CNT 촉매가 $0.468 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 가장 높은 피크전류밀도를 보였고, GOx/[FCA/PEI]/CNT촉매는 $0.252 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$, GOx/PEI/CNT촉매는 $0.245 \text{ mA}\cdot\text{cm}^{-2}$ 로 FCA와 결합한 촉매의 피크전류밀도가 기존촉매에 비해 향상되었음을 알 수 있었으며, 특히 [FCA/GOx]/PEI/

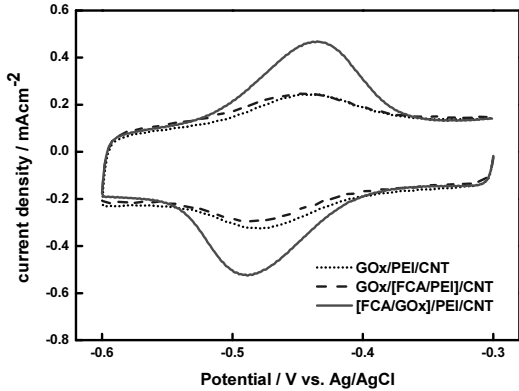


Fig. 2 The cyclic voltammograms of the GOx/PEI/CNT, GOx/[FCA/PEI]/CNT and [FCA/GOx]/PEI/CNT. For CV tests, 0.01M PBS (pH 7.4) was used as an electrolyte at N2 state and potential scan rate was 100 mV·s⁻¹

CNT는 전자전달이 GOx/PEI/CNT에 비하여 약 1.91 배 증가함을 알 수 있었다. 이는 FCA의 도입에 따라, 매개체로서의 효과뿐만 아니라, FAD에서 생성된 전자를 포집하는 특성 또한 증가되었음을 알 수 있는데, FAD와 CNT사이의 전자전달이 GOx 표면의 FCA에 의해 촉진되면서, 산화환원 피크가 급격히 상승되었음을 의미한다. 이는 기존의 연구결과에서 페닐구조에 의한 π -conjugation electron transfer의 향상효과와 유사한데, FCA에 존재하는 싸이클로펜타다이닐구조가 FAD에서 생성한 전자를 효과적으로 포집하고, CNT에 직접적으로 연결하면서 그 성능이 향상된 것으로 볼 수 있다¹²⁾.

반면, 유사한 구조인 GOx/[FCA/PEI]/CNT에서는 큰 변화가 없는 것을 확인할 수 있는데, 이는 지지체의 표면 개질이 GOx에서 생성된 전자의 직접전달을 개선시키지 못하는 것을 의미하며, FAD와 FCA사이의 거리가 멀어 직접전자전달을 촉진시키지 못한 것으로 추정할 수 있다. 즉, 직접전달개선 효과의 측면에서 PEI의 개질은 효과가 없으며, GOx 표면 개질을 이를 증폭시킬 수 있음을 확인하였다.

산소의 공급에 따른 변화를 확인하기 위해 각 촉매를 글루코스 주입 없이 질소 주입조건과 공기 주입 조건에서 CV변화를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 3

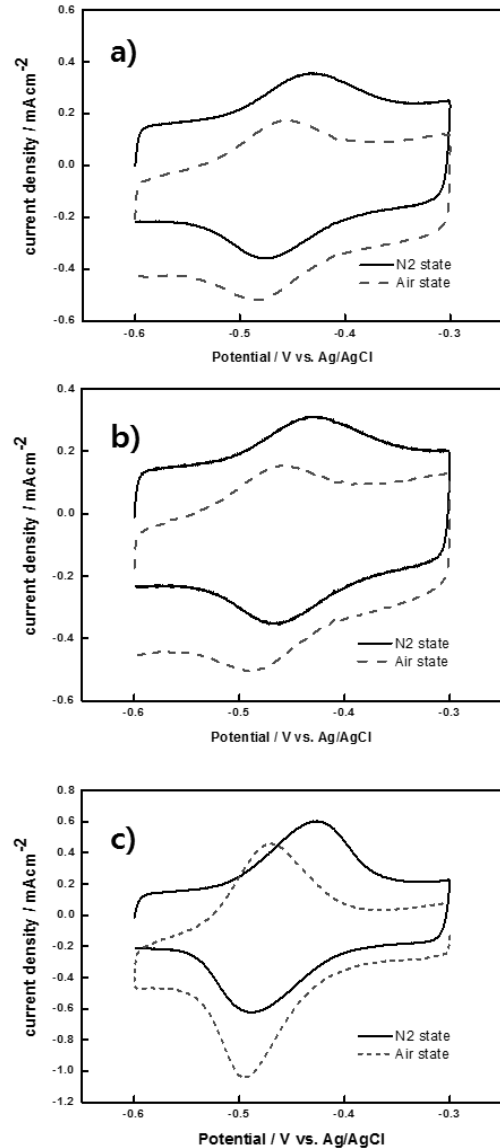


Fig. 3 The cyclic voltammograms of the (a) GOx/PEI/CNT, (b) GOx/[FCA/PEI]/CNT and (c) [FCA/GOx]/PEI/CNT catalyst. For CV tests, 0.01M PBS (pH 7.4) was used as an electrolyte at N2 state and Air state 100cc·min⁻¹ without supply of glucose and a potential scan rate was 100 mV·s⁻¹

와 같다. Fig. 3에서와 같이 모든 촉매에서 공기주입 조건의 CV가 전체적으로 아래로 내려간 것을 확인할 수 있으며 이는 산소의 환원반응(ORR, $O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$)과 이를 통해 생성된 과산화수소의 환원반응(HRR, $H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$)으로 인한 것으

로, 다수의 논문에서 보고 된 현상과 일치한다^{8,10-12}).

3.2 글루코스와의 반응 기작

산화극으로서의 적용가능성 및 각 촉매의 반응기작을 평가하기 위하여 글루코스 농도에 따른 촉매의 전류밀도를 측정하였으며 Fig. 4에 도시하였다. Fig. 4에서 볼 수 있는 바와 같이, -0.6~-0.3V 범위에서 글루코스의 농도가 증가함에 따라, GOx(FAD)의 환원 피크가 감소하는 경향을 보이는 데, Fig. 4에서 확인된 바와 같이 산소의 주입에 따라 CNT의 ORR 반응 및 HRR이 증가되어 아래로 처진 형태의 CV그래프가 GOx와 글루코스의 반응에 따라 전자와 수소이온이 생성되어서, 전극에서 받아들일 전자가 FAD (GOx(FAD) + 2H⁺ + 2e⁻ ↔ GOx(FADH₂))에 의해 공급되면서, 글루코스 농도의 증가에 따라 상향으로 변화함을 확인할 수 있다. 즉, ORR에서 필요한 전자 및 수소이온을 글루코스의 반응에 의해 공급하게 되면서 환원 피크가 상승하게 되는데 이는 그간의 연구결과와도 일치한다^{8,12}). 각 촉매의 글루코스 농도에 따른 반응

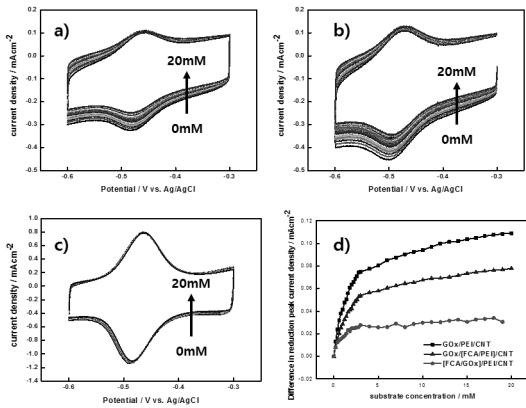


Fig. 4 The cyclic voltammograms for the (a) GOx/PEI/CNT (b) GOx/[FCA/PEI]/CNT and (c) [FCA/GOx]/PEI/CNT catalysts and (d) the relationship between glucose concentration and the difference in the reduction peak current of FAD gained from the CV curves of (a)–(c). For the tests, 1 M PBS (pH 7.4) was used as the electrolyte under an air atmosphere and the potential scan rate was 100 mV·s⁻¹. The glucose concentration provided was 0.2–20 mM

성을 평가하기 위하여 Michaelis-Menten 상수($K_{m,app}$)를 계산하였으며 결과는 Fig. 5와 같다. $K_{m,app}$ 는 라인 위버-버크 방정식(Lineweaver-Burk equation)을 이용해 기질농도에 따른 효소의 반응속도를 대수적으로 나타내는 방법이며 그 식은 다음과 같다.

$$\frac{1}{I_{ss}} = \frac{K_m}{I_{max} \cdot C_{glucose}} + \frac{1}{I_{max}} \quad (1)$$

이 식에서 I_{ss} 는 기질인 글루코스를 첨가한 후 정상상태(steady state)일 때의 전류, I_{max} 는 글루코스가 포화되었을 때 촉매가 생성할 수 있는 최대전류밀도 값, $C_{glucose}$ 는 용액 내 글루코스의 농도를 말한다¹³).

$K_{m,app}$ 은 기질에 대한 효소의 친화력을 나타내는 상수로 K_m 이 작을수록 효소와 기질간의 높은 친화력을 의미한다. 촉매의 $K_{m,app}$ 값은 각각 1.45 (GOx/PEI/CNT), 1.67 (GOx/[FCA/PEI]/CNT), 0.561 mM ([FCA/GOx]/PEI/CNT)이며 [FCA/GOx]/PEI/CNT 촉매의 $K_{m,app}$ 값이 가장 작은 값을 나타냈다. 이는 기질인 글루코스와 효소의 친화력 및 촉매의 전자전달이 높음을 알 수 있다. 그에 비해 기존촉매인 GOx/PEI/CNT와 GOx/[FCA/PEI]/CNT의 K_m 값이 유사한 것으로 나타났고, 이는 FCA의 PEI 표면 개질에 의하여 효소 친

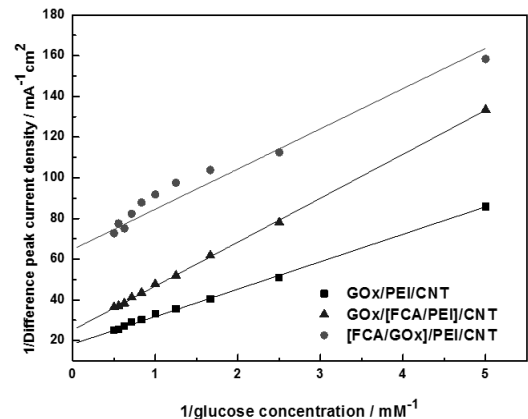


Fig. 5 Determination of the Michaelis-Menten constant (K_m) for the bio fuelcell. $K_m=1.45$ (GOx/PEI/CNT), $K_m=1.67$ (GOx/[FCA/PEI]/CNT), $K_m=0.561$ ([FCA/GOx]/PEI/CNT)

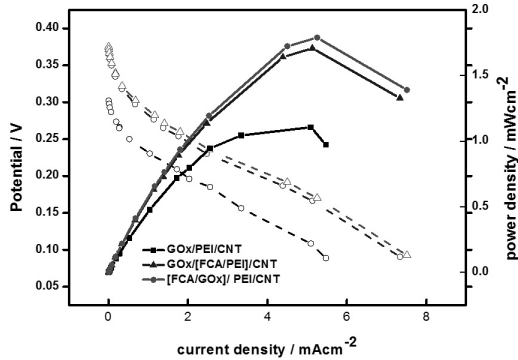


Fig. 6 The polarization curves for the EBCs adopting the GOx/PEI/CNT, GOx/[FCA/PEI]/CNT and [FCA/GOx]/PEI/CNT enzyme catalysts. In the test, a 0.2 M glucose solution was fed and circulated as a fuel from an external bottle to the anode chamber of the EBC at a rate of 1 rpm, while 50 cc·min⁻¹ of O₂ gas was fed to the cathode

화력 및 전자전달이 촉진되지 않았음을 알 수 있다. 반면 최대 전류밀도($J_{\max} = I_{\max} \cdot \text{area}^{-1}$)는 반대의 경향을 갖고 있는 것을 확인할 수 있는데, GOx/PEI/CNT의 경우 약 0.109 mA·cm⁻²를 나타낸 반면, GOx/[FCA/PEI]/CNT와 [FCA/GOx]/PEI/CNT는 각각 0.078 mA·cm⁻² 및 0.031 mA·cm⁻²로 J_{\max} 가 급격히 하락했음을 확인되었다. 이는 FCA의 매개전달효과에 의한 것으로서, 산소 대신 FCA에 의해 전자전달이 매개되면서, 글루코스 반응에 의한 CV의 상향효과가 한계를 갖는 것으로 볼 수 있다. 즉, FCA의 도입에 따라, GOx내 FAD와 전극 사이의 전자전달이 촉진되고, FCA의 전자전달효과에 따라, ORR에 따른 피크 감소효과를 최소화 됨을 알 수 있으며, 이는 고농도의 글루코스 환경에서 극대화 됨을 알 수 있다.

3.3 바이오연료전지 산화전극 적용 가능성 평가

실제 구동환경에서의 산화극 촉매의 성능을 확인하기 위해 완전지 실험을 진행하였고 최대전력밀도(Maximum power density, MPD)를 측정하였으며 그 결과는 Fig. 6에 나타내었다. 그 결과 기존에 전기적 인력을 이용해 제조된 촉매인 GOx/PEI/CNT의 MPD 값인 1.0 mW·cm⁻²에 비해 FCA를 첨가한 GOx/[FCA/

PEI]/CNT 1.7 mW·cm⁻²와 [FCA/GOx]/PEI/CNT의 1.79 mW·cm⁻²가 기존 촉매보다 약 1.8배 개선된 결과를 얻을 수 있었다. 이는 앞선의 결과로 FCA의 효과로 직접전자전달 뿐만아니라 매개전달효과가 증가했음을 확인하는 결과로서, PEI와 GOx표면의 FCA가 효과적으로 전자전달을 매개하면서 산화극 성능이 크게 향상되었음을 알 수 있었다. Shim 등이 보고한 Graphite Carbon felt/ferrocene dicarboxylic acid/GOx 구조의 13 μW·cm⁻² ⁷⁾, Park 등이 보고한 Nafion/Gox/Ferrocene/MWCNT/GC 구조의 29.4 μW·cm⁻² ⁹⁾ 등 유사 구조에 비하여 크게 개선된 결과이다.

4. 결 론

본 연구에서는 전해질에 용해되어 사용되었던 전자전달 매개물질인 FCA를 촉매 표면에 직접 담시시킨 고성능의 비용해성 매개체 고정 바이오연료전지 산화촉매를 개발하였다. 전기화학적 특성평가인 CV 및 글루코스와 반응성 평가를 통해 표면 개질 방법에 따른 전기화학적 반응 기작을 확인하였으며, GOx 표면 개질에 의한 [FCA/GOx]/PEI/CNT의 경우 효소와 전극 간의 직접적 전자전달이 1.91배 향상되었으며, 매개체를 전해질에 용해하지 않은 상태에서도 효과적으로 매개전자전달(MET)이 일어남을 확인하였으며, 완전지 측정을 통해 매개체를 담지시키지 않은 기존 촉매보다 그 성능을 1.8배 향상시킬 수 있음을 확인하였다. 이는 본 촉매의 생체삽입형 연료전지 개발 시 생체독성 없이도 그 성능을 크게 향상시킬 수 있는 가능성을 확인한 결과로서, 향후 다양한 종류의 효소 담지에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

후 기

이 연구는 2016년 서울과학기술대학교 교내 학술연구비 지원으로 수행되었습니다.

References

1. Yahiro AT, Lee SM, Kimble DO. "Bioelectrochemistry I, Enzyme utilizing biofuel cell studies.", *Biochim Biophys Acta* 1964;88:375-83.
2. J Kim, H Jia, P Wang, "Challenges in biocatalysis for enzyme-based biofuel cells", *Biotechnology Advances* 24 (2006) 296-308.
3. Calabrese Barton, "Enzymatic Biofuel Cells for Implantable and Microscale Devices *Chemical Reviews*", 2004, Vol. 104, No. 10.
4. A. Chaubey, B.D. Malhotra, "Mediated biosensors", *Biosensors & Bioelectronics* 17 (2002) 441-456.
5. E Katz, I Willner, AB Kotlyar, "A non-compartmentalized glucose | O₂ biofuel cell by bioengineered electrode surfaces" *Journal of Electroanalytical Chemistry* 479 (1999) 64-8.
6. H.J. Park, K. Won, S.Y. Lee, J.H. Kim, W.-J. Kim, D.S. Lee, H.H. Yoon, Mol. "Fabrication of CNT/Ferrocene/Glucose Oxidase/Chitosan-Layered Bioanode for Glucose/Oxygen Biofuel Cells", *Cryst.Liq. Cryst.* 539 (2011) 238.
7. J Shim, GY Kim, SH Moon, "Covalent co-immobilization of glucose oxidase and ferrocenedicarboxylic acid for an enzymatic biofuel cell", *Journal of Electroanalytical Chemistry* 653 (2011) 14-20.
8. Y. Chung, K. H. Hyun and Y. Kwon, "Fabrication of a biofuel cell improved by the π -conjugated electron pathway effect induced from a new enzyme catalyst employing terephthalaldehyde" *Nanoscale*, 2016, 8, 1161-61168.
9. Y. Tan, W. Deng, Y. Li, Z. Huang, Y. Meng, Q. Xie, M. Ma, S. Yao, "Polymeric bionanocomposite cast thin films with in situ laccase-catalyzed polymerization of dopamine for biosensing and biofuel cell applications" *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 5016.
10. Y. Chung, Y. Ahn, M. Christwardana, H. Kim and Y. Kwon, "Development of a glucose oxidase-based biocatalyst adopting both physical entrapment and crosslinking, and its use in biofuel cells", *Nanoscale*, Vol. 8, 2016, pp. 9201-9210.
11. I Noviadri, KN Brown, DS Fleming, J., "The Decamethylferrocenium/Decamethylferrocene Redox Couple : A Superior Redox Standard to the Ferrocenium/Ferrocene Redox Couple for Studying Solvent Effects on the Thermodynamics of Electron Transfer" *Phys. Chem. B* (1999), 103, 6713-6722.
12. A Le Goff, M Holzinger, P Cinquin, S Cosnier, "Mediatorless high-power glucose biofuel cells based on compressed carbon nanotube-enzyme electrodes", 2011, 10. 1038.
13. R. A. Kamin and G. S. Wilson, "Rotating ring-disk enzyme electrode for biocatalysis kinetic studies and characterization of the immobilized enzyme layer", *Analytical Chemistry*, Vol. 52, No. 8, 1980, pp. 1198-1205.