

生物燃料电池的研究进展

宝 玥,吴霞琴*

(上海师范大学生命与环境科学学院,上海 200234)

摘要: 简要介绍生物燃料电池的工作原理、分类,归纳近年来国内外研究现状. 讨论了电子传递媒介体在生物燃料电池中的作用以及如何提高电池性能的对策. 最后,探讨了影响生物燃料电池研究进展的瓶颈,并展望其应用前景.

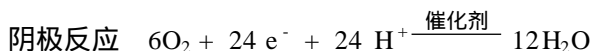
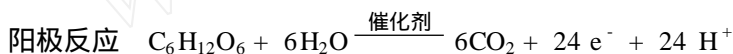
关键词: 生物燃料电池;酶;电子传递媒介体;修饰电极

中图分类号: TM 911.45

文献标识码: A

生物燃料电池(Biofuel cell)是利用酶(Enzyme)或者微生物(Microbe)组织作为催化剂,将燃料的化学能转化为电能.

生物燃料电池工作原理与传统的燃料电池存在许多相同之处. 以葡萄糖作底物的燃料电池为例,其阴阳极反应如下式所示:



1911 年植物学家 Potter 用酵母和大肠杆菌进行试验,发现微生物也可以产生电流,从此,开创了生物燃料电池的研究. 至今,在空间科学研究过程中,已开发出几种可用于空间飞行器的生物燃料电池,用飞行器中的生活垃圾作电池的燃料,可说是真正意义上的环保新能源. 这类电池占主导地位的是间接微生物电池,即利用发酵产物作为电池的燃料. 自上世纪 60 年代末以来,直接的生物燃料电池开始成为研究热点,主要的研究对象是以葡萄糖为阳极燃料、以氧为氧化剂的酶燃料电池. 但此时恰逢锂电池取得了突破性进展,因而使这类酶燃料电池又受到冷落. 80 年代后,由于氧化还原媒介体(Mediator)的广泛应用,生物燃料电池的输出功率有了较大的提高,使其作为小功率电源而使用的可行性增大,并因此推动了它的研究和开发^[1]. 另一方面,由于生物燃料电池中的阴极与其它燃料电池相似,也可以使用空气中的氧作为氧化剂,所以相关的研究大多集中于阳极,但同时,也出现了具有生物电催化功能的修饰电极代替常规的氧阴极. 有趣的是,以天然食物为燃料,能够自给自足的机器人(Gastrobots)研究也于近年来取得了某些进展^[2].

收稿日期:2003-07-19

* 通讯联系人, Tel: (86-021) 64322930, E-mail: xqwu @shtu.edu.cn

上海市教委自然科学基金(01D04-2)资助

生物燃料电池不仅在理论上具有很高的能量转化效率,同时它还有着一些自身的特点:

1) 原料来源广泛:可以利用一般燃料电池不能利用的各种有机物、无机物以及微生物呼吸的代谢产物、发酵的产物、光合作用^[3,4]甚至污水等作为燃料;

2) 电池的操作条件较温和:由于使用酶或微生物作为催化剂,一般只要求在近中性的常温、常压条件下工作;

3) 生物相容性好:由于可利用人体血液中的葡萄糖和氧气作燃料,一旦开发成功,便能方便地为植入人体的一些人造器官提供电能。

生物燃料电池按其工作方式可分为两类:一类是酶生物燃料电池,即先将酶从生物体系中提取出来,然后,利用其活性在阳极催化燃料分子氧化、同时加速阴极氧的还原;另一类是微生物燃料电池,就是利用整个微生物细胞作燃料,依靠合适的电子传递介体在生物组分和电极之间进行有效的电子传递。此外,也有根据电子传递方式进行分类的,简称直接的和间接的生物燃料电池。所谓直接的乃指燃料在电极上氧化的同时,电子直接从燃料分子转移到电极,再由生物催化剂直接催化电极表面的反应;但如果燃料是在电解液中或其它处所反应,而电子则通过氧化还原介体传递到电极上的就称为间接生物燃料电池。以下仅就目前研究较多的生物燃料电池分别作一介绍。

1 微生物燃料电池

这类电池是将发酵过程中产生氢气的微生物细胞直接固定在 H_2/O_2 燃料电池的阳极^[5,6]。如将卷筒式的铂电极放入含 *C. butyricum* 微生物的悬浮液中,悬浮液即与丙烯酰胺聚合形成凝胶。在电极表面进行的发酵过程直接提供了阳极所需的燃料 H_2 ,而发酵过程的副产物则可作为次级燃料进一步被利用。例如产生的蚁酸在凝胶中向阳极扩散,并在阳极电化学氧化生成氢离子和二氧化碳。对上述体系, H_2 是主要的发酵产物。但当发酵液通过阳极时,代谢产生的蚁酸也作为燃料在阳极直接氧化,因此氢并不是阳极电流的唯一来源。在最优化的操作条件下,含 0.4 g 湿微生物细胞(相当于 0.1 g 干细胞)的电池可以达到 0.4 V 的输出电压 (V_{cell}) 和 0.6 mA 的输出电流 (I_{cell})。

另一类硫酸还原蛋白 (*Desulfovibrio desulfuricans*) 由于其存在广泛、含量丰富,研究也较多^[7,8]。这种物质在厌氧条件下可形成一种特殊的基团,作为呼吸链终端电子受体。这些微生物利用营养物质(主要是乳酸盐)作为电子源产生还原态的硫,从而驱动阳极过程,代谢产生的硫化物在电极上直接氧化成 SO_4^{2-} 。由于产生的硫化物 (H_2S) 会与含铁的蛋白(如细胞色素)相互作用,从而抑制细菌的代谢、导致电子传递受阻;另一方面,由于硫化物在金属电极上容易发生强的不可逆吸附,易使电极中毒。为此,需要消除硫化物 (H_2S) 的毒性以使阳极能更好地将它氧化。一般采用掺杂适量氢氧化钴的多孔石墨电极(阳极)即可以达到预期的目的,原因是当存在 S^{2-} 时,该电极上会生成催化活性很强的氧化钴和硫化钴的混合物。为了满足厌氧条件,该阳极由阳离子交换膜与氧阴极隔开。

由于代谢产生的还原性物质被微生物的膜与外界隔离,从而导致微生物与电极之间的电子传递通道受阻,采用合适的中介体可有效地促进电子传递。例如用四氰基对醌基二甲烷 (TCNQ) 或聚甲基紫精 (polyviologen) 作介体,基于 *Desulfovibrio desulfuricans* 制作的微生物电

池效果更佳^[5,6]。用于这类微生物电池的有效电子传递介体,应该具备以下特性:

- 1) 介体的氧化态易于穿透细胞膜到达细胞内部的还原组分;
- 2) 其氧化还原式量电位 E_m^0 要与被催化体系的 E_s^0 相匹配;
- 3) 其氧化态不干扰其它的代谢过程;
- 4) 其还原态应易于传过细胞膜而脱离细胞;
- 5) 其氧化态必需是化学稳定的、可溶的,并且在细胞和电极表面均不发生吸附;
- 6) 其在电极上的氧化还原反应速率非常快、且有很好的可逆性。

一些有机物^[9]和金属有机物可以用作生物燃料电池的电子传递介体,其中,较为典型的是硫堇类、吩嗪类和一些有机染料。虽然硫堇很适合于用作电子传递介体,但是当以硫堇作介体时,由于其在生物膜上容易发生吸附而使电子传递受到一定程度的抑制,导致生物燃料电池的工作效率降低。

介体的功能依赖于电极反应的动力学参数,其中最主要的是介体的氧化还原速率常数(而它又主要与介体所接触的电极材料有关)。为了提高介体的氧化还原反应的速率,可以将两种介体适当混合使用,以期达到更佳的效果。例如对从阳极液 *Escherichia coli* (氧化的葡萄糖)至阳极之间的电子传递,当以硫堇和 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 混合用作介体时,其效果明显地要比单独使用其中的任何一种好得多。尽管两种介体都能够被 *E. coli* 还原,且硫堇还原的速率大约是 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 的 100 倍,但还原态硫堇的电化学氧化却比 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 的氧化慢得多。所以,在含有 *E. coli* 的电池操作系统中,利用硫堇氧化葡萄糖(接受电子);而还原态的硫堇又被 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 迅速氧化,最后,还原态的螯合物 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 通过 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}/\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 电极反应将电子传递给阳极^[10]。类似的还有用 *Bacillus* 氧化葡萄糖,以甲基紫精(Methyl viologen, MV^{2+})和 2-羟基-1,4-萘醌(2-hydroxy-1,4-naphthoquinone)或 $\text{Fe}(\text{ })\text{EDTA}$ 作介体的生物燃料电池^[11]。

为了将生物燃料电池中的生物催化体系组合在一起,需要将微生物细胞和介体共同固定在阳极表面。然而,微生物细胞的活性组分往往被细胞膜包裹在细胞内部,而介体则又被吸附在细胞膜的表面,因而无法形成有效的电子传递,很难实现共同固定。有机染料中性红^[12,13]是公认的一种具有活性的、能实现从 *E. coli* 传递电子的介体。它可通过石墨电极表面的羧基和染料中的氨基共价键合实现固定化,在厌氧条件下与电极键合的染料能促使微生物细胞与电极之间的电子传递,表明只有那些能到达电极表面的细菌才具有导电性。

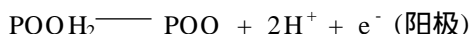
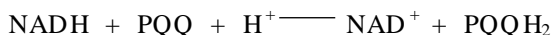
微生物细胞在多种营养底物存在下可以更好地繁殖、生长。研究结果证明,通过几种营养物质的混合使用能够提供更高的电流输出,故有人指出,改变碳的来源以使微生物产生不同的代谢有可能使生物燃料电池达到更大的功率^[14]。

2 酶生物燃料电池

由于微生物燃料电池中使用的生物催化剂实际上不是微生物细胞而是其中的酶,再则,微生物细胞与介体的共同固定较之氧化还原酶与介体的共同固定更加困难。因此,相对而言,直接使用酶修饰电极的生物燃料电池发展较快^[15~17]。

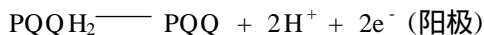
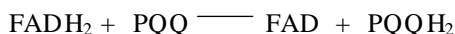
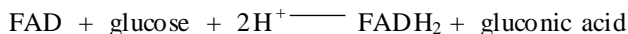
NAD^+/NADH ,作为电子的载体并在脱氢酶中具有生物催化活性,是一种非常重要的氧

化还原酶. 在生物燃料电池中, 可利用多种有机物作为底物^[18~22]. 在阳极部分生物催化氧化底物的同时, 电化学再生 NAD(P)H , 从而完成由酶到阳极的电子传递. 在中性的水溶液中, $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ 的热力学氧化还原电位为 $-0.56 \text{ V (vs. SCE)}$. 而 NAD(P)H 的电化学氧化乃一完全不可逆的过程, 过电位很高. NAD^+ 是 NADH 直接氧化的抑制剂, 吸附的 NADH 的氧化会产生 NAD^+ 的二聚体而使电极产生中毒现象. 因此, 只有在有效的电子传递介体作用下, 才能使 NAD^+/NADH 体系应用于生物燃料电池. 一般来说, 介体固定化技术的主要方法有: 直接吸附法, 即使介体吸附到电极上制得的修饰电极; 或将介体嵌入膜中得以固定; 或以功能性官能团共价键合到电极表面等. 金电极表面通过共价偶合氧化还原介体, 对制备多组分体系有较大的优势. 如将 PQQ (Pyrrolo-quinolinoquinone) 共价偶合在胱胺 (Cystamine, Cys) 单分子层组装的金电极 (PQQ-Cys/Au) 上, 即可有效地电催化氧化 NADH , 其反应机理设想如下:



基于 NAD^+ 的脱氢酶阳极在较低过电位下可电催化氧化底物再生 NAD^+ , 将该电极与氧阴极组成生物燃料电池, 其电池的总反应为甲醇被氧化, 可提供输出电压 $V_{\text{OC}} = 0.8 \text{ V}$. 在 0.49 V 的输出电压下, 最大输出功率 $W_{\text{max}} = 0.68 \text{ mW/cm}^2$. 然而, 由于 NADH 的成本较高, 人们希望利用人工合成的模拟酶, 来代替生物燃料电池中所用的 NADH ^[21].

此外, 氧化还原酶很难与电极之间进行直接的电子传递, 所以利用合成模拟酶, 或者利用具有生物催化活性的电子传递介体制备修饰电极是发展趋势. 修饰电极的功能不仅依赖于介体, 还与电极之间电子传递的步骤相关. 为了得到更好的电子传递, 必须将介体固定于靠近酶的氧化还原中心的最佳位置. 有报道利用黄素酶氧化还原中心与环境间建立以电连接的重组酶方法^[23]. $\text{PQQ} \rightarrow \text{FAD}$ 酶再生电极在葡萄糖底物存在时显示了电催化氧化电流, 表明电极表面和重组酶之间存在迅速的电子传递^[24]. PQQ 在电氧化葡萄糖的过程中起到了电子传递媒介体的作用. 电荷传递过程如下所示:



由于常规燃料电池氧阴极的操作条件要求较苛, 而且氧直接的电催化还原反应需要很高的过电位, 所以关于阴极的研究大多集中在以过氧化氢作为阴极的底物. 微过氧化物酶 MP-11 具有较小的分子尺寸、高的稳定性, 且其亚铁血红素暴露在溶液中可与电极进行直接的电子传递^[25, 26], 从而有效地催化过氧化氢的还原. 此外, 通过使用合适的催化剂还可以使氧发生直接还原为水的四电子传递反应^[27, 28]. 此外, 将多层酶体系应用于生物催化的阴极则前景更广阔^[29].

近年来也出现了阴、阳两极都是酶修饰电极的生物燃料电池研究报道^[30]. 例如, 基于 PQQ 和 MP-11 修饰电极的生物燃料电池^[31]. 这是利用 MP-11 对过氧化氢的还原和 PQQ 对 NADH 的电催化氧化, 从而组成以过氧化氢和 NADH 分别为阴极和阳极底物的生物燃料

电池. 在一定的底物浓度范围内, PQQ 修饰电极和 MP-11 修饰电极的电位分别随浓度的增加而出现正移和负移. 当上述底物浓度为 1 mmol/L 时, 50 k Ω 的负载下电压可达 310 mV. 电池的参数 $V_{OC} = 310$ mV, $I_{SC} = 100$ μ A, $i_{SC} = 30$ μ A/cm², 均比理论值小一个数量级. 这表明电极界面的生物催化动力学不是决速步骤 (rate determining step). 在 3 k Ω 负载下, 电池的最大功率 $W = 8$ μ W, 填充因子 (Fill Factor) 为 $f = 25\%$ ($f = W_{max} \cdot I_{SC}^{-1} \cdot V_{OC}^{-1}$).

阳极用葡萄糖氧化酶代替 PQQ 催化氧化葡萄糖以及阴极用 MP-11 修饰电极电催化还原过氧化氢也可组成生物燃料电池^[32, 33]. 同样, 一开始两电极的电位随底物浓度的增加而分别正移和负移, 当底物浓度为 1 mmol/L 时达到最大值, 且符合能斯特公式. 由此可估算电池的理论开路电压 $V_{OC} = 320$ mV, $I_{SC} = 342$ μ A, $i_{SC} = 114$ μ A/cm². 然而, MP-11 修饰电极和葡萄糖氧化酶电极的理论极限电流密度分别为 $i_{SC} = 270$ μ A/cm² 和 200 μ A/cm², 因此电池的短路电流可能是受葡萄糖的电催化氧化过程控制的. 所以, 提高葡萄糖氧化酶与电极之间直接的电子传递速率就可能提高电池的电流密度和输出功率.

近年来, 科学工作者还致力于开发无隔膜的生物燃料电池. 因为, 在电池的阴极与阳极之间用一隔膜隔开, 给实际操作带来许多不便, 也不利于电池的微型化. 已经有基于葡萄糖氧化酶和细胞色素 C (Cytochrome C, Cyt. C) / 细胞色素氧化酶 (Cytochrome oxidase, Cox) 修饰电极的无隔膜生物燃料电池的报道^[34]. 这是利用在 PQQ-FAD 单分子组装膜上重组葡萄糖氧化酶的修饰电极催化氧化葡萄糖, 而耦合的 Cyt C / Cox 电极则显示了对氧的催化还原特性^[35]. 将这两个电极组合成电池, 由于葡萄糖氧化酶在氧存在的条件下即能有效地催化葡萄糖氧化, 这样构成的电池在 0.9 k Ω 的负载下最大输出功率为仅 4 μ W, 如此低的输出功率乃因电池阴阳两极间小的电位差. 倘如同时修饰合适的介体, 则可望扩大其电位差, 从而提高电池的输出功率.

现今对无隔膜电池研究较多的是利用漆酶在阴极催化氧还原生成水^[36~38]. 漆酶对氧的还原有较好的催化活性, 但底物的 pH 值变化会对活性产生一定影响. 当 pH = 5 时, 电池具有较好的电流输出, pH = 7 时, 漆酶的活性下降到只有其最大值的 1%. 在优化的实验条件下, 可使漆酶达到最大活性的 50%^[39]. 然而, 目前这类电池的工作寿命较短, 一般只有几个小时或者几天, 所以还不适合于实际应用, 尤其是作为植入人体环境中使用的电能, 仍需进行深入细致的研究.

3 生物燃料电池发展的瓶颈和前景展望

生物燃料电池作为一种新能源的实际应用还比较遥远, 主要是因为它的输出功率密度远不能满足要求. 按照 Marcus 和 Sutin 提出的理论, 电子传递速率是由电势差、重组能和电子供体与受体之间的距离决定的^[29], 决定生物燃料电池输出功率密度的主要因素是相关的电子传递过程, 也就是说, 生物体系缓慢的电子传递速率是生物燃料电池发展的瓶颈. 理论和实验都表明, 随着电子传递途径距离的增加, 电子传递速率呈指数下降的趋势. 酶分子蛋白质的外壳对从活性中心到电极的直接电子传递产生了屏蔽作用, 引入介体一定程度上可提供有效的电子传递通道. 然而, 有时这样做无形之中又增大了电子传递的途径距离, 其总体的效果还不令人满意. 因而最理想的是通过借鉴生物电化学领域的直接电子传递的研究成果, 在生物燃料

电池中实现直接的电子传递,从而提高输出功率。目前,实现直接的电子传递主要有以下几种方法:1)对酶的外壳进行修饰,再将其固定到电极表面从而实现电子的直接传递;2)直接用导电聚合物固定酶,使导电聚合物深入到酶的活性中心附近,从而大大缩短电子传递的距离,实现电子的直接传递;3)通过在电极表面进行贵金属纳米粒子、以及碳纳米管等物质的修饰,利用纳米粒子的尺寸效应、表面效应等奇妙的特性来实现直接的、快速的电子传递^[40]。

随着生物和化学学科交叉研究的深入,特别是依托生物传感器和生物电化学的研究进展,以及对修饰电极、纳米科学等研究的层层深入,生物燃料电池研究必然会得到更快的发展。作者深信,生物燃料电池作为一种绿色环保的新能源,在生物医学等各个领域的应用的理想必然实现。

Progress in Research for Biofuel Cell

BAO Yue, WU Xia-qin *

(College of Life and Environment Sciences, Shnaghai Teachers University,
Shanghai 200234, China)

Abstract: In this article, research progresses of the biofuel cell in recent years were summarized. The operation principle and classification of the biofuel cells were described. The role of the mediator for promoting electron transfer in biofuel cells and the techniques for improving the electric properties of biofuel cells, such as output potential, were discussed with some attracting research instances. Finally, the choke points for research of biofuel cell were explored, and the application prospect of biofuel cells was forecasted.

Key words: Biofuel cell, Enzyme, Mediator, Modified electrode

References:

- [1] JIA Hong-fei, XIE Yang, WANG Yu-xin, Biofuel cell[J]. Battery(电池), 2000, 30(2):86.
- [2] Stuary Wilkinson. "Gastrobots" benefits and challenges of microbial fuel cells in food powered robot applications[J]. Autonomous Robots, 2000, 9:99.
- [3] Seiya Tsujimura, Akira Wadano, Kenji Kano, et al. Photosynthetic bioelectrochemical cell utilizing cyanobacteria and water-generating oxidase[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 29:225~231.
- [4] Torimura M, Miki A, Wadano A, et al. Electrochemical investigation of cyanobacteria synechococcus sp. PCC7942-catalyzed photoreduction of exogenous quinines and photoelectrochemical oxidation of water[J]. J. Electroanal. Chem., 2001, 496:21~28.
- [5] Isao Karube, Tadashi Matsunaga, Shinya Tsuru, et al. Biochemical fuel cell utilizing immobilized cells of clostridium butyricum[J]. Biotechnol. Bioeng., 1977, 19:1 727.

- [6] Shigeharu Tanisho, Nobuyuki Kamiya, Noriaki Wakao. Microbial fuel cell using enterobacter aerogenes[J]. Bioelectrochem. Bioenerg., 1989, 21:25.
- [7] Cooney M J, Roschi E, Marison I W, et al. Physiologic studies with the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio desulfuricans*: Evaluation for use in a biofuel cell[J]. Enzyme Microbial Technol., 1996, 18:358.
- [8] Park D H, Kim B H, Moore B, et al. Electrode reaction of *desulfovibrio desulfuricans* modified with organic conductive compounds[J]. Biotechnology Techniques, 1997, 11:145.
- [9] Tokuji Ikeda, Kenji Kano. Bioelectrocatalysis-based application of quinoproteins and quinoprotein-containing bacterial cells in biosensors and biofuel cells[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2003, 1647:121~126.
- [10] Tanaka K, Vega C A, Tamamushi R. Thionine and ferric chelate compounds as coupled mediators in microbial fuel cells[J]. Bioelectrochem. Bioenerg., 1983, 11:289.
- [11] Akiba T, Bennetto H P, Striling J L, et al. Electricity production from alkalophilic organisms[J]. Biotechnol. Lett., 1987, 9:611.
- [12] Park D H, Zeikus J G. Electricity generation in microbial fuel cells using neutral red as an electronophore[J]. Appl. Environm. Microbiol., 2000, 66:1 292.
- [13] Park D H, Kim S K, Shin I H, et al. Electricity production in biofuel cell using modified graphite electrode with Neutral Red[J]. Biotechnol. Lett., 2000, 22:1 301.
- [14] Kim N, Choi Y, Jung S, et al. Effect of initial carbon sources on the performance of microbial fuel cells containing *proteus vulgaris*[J]. Biotechnol. Bioeng., 2000, 70:109.
- [15] Karyakin A A, Morozov S V, Karyakina E E, et al. Hydrogen fuel electrode based on bioelectrocatalysis by the enzyme hydrogenase[J]. Electrochemistry Communications, 2002, 4:417.
- [16] Evelyne Simon, Catherine M Halliwell, Chee Seng Toh, et al. Immobilisation of enzymes on poly(aniline)-poly(anion) composite films. Preparation of bioanodes for biofuel cell applications[J]. Bioelectrochemistry, 2002, 55:13.
- [17] Ruzgas T, Csöregi E, Emneus J, et al. Peroxidase-modified electrodes: Fundamentals and application[J]. Anal. Chim. Acta, 1996, 330:123.
- [18] Long Yi-Tao, Chen Hong-Yuan. Electrochemical regeneration of coenzyme NADH on a histidine modified silver electrode[J]. J. Electroanal. Chem., 1997, 440:239.
- [19] Catherine M Halliwell, Evelyne Simonb, Toh Chee-Seng, et al. Immobilisation of lactate dehydrogenase on poly(aniline)-poly(acrylate) and poly(aniline)-poly(vinyl sulphonate) films for use in a lactate biosensor[J]. Anal. Chim. Acta, 2002, 453:191.
- [20] Evelyne Simon, Catherine M Halliwell, Toh Chee-Seng, et al. Oxidation of NADH produced by a lactate dehydrogenase immobilised on poly(aniline)-/poly(anion) composite films[J]. J. Electroanal. Chem., 2002, 538/539:253.
- [21] Palmore G T R, Bertschy H, Bergens S H, et al. A methanol/dioxygen biofuel cell that uses NAD⁺-dependent dehydrogenases as catalysts: application of an electro-enzymatic method to regenerate nicotinamide adenine dinucleotide at low overpotentials[J]. J. Electroanal. Chem., 1998, 443:155.
- [22] Catherine M Halliwell, Evelyne Simon, Chee-Seng Toh, et al. The design of dehydrogenase enzymes for use in a biofuel cell: the role of genetically introduced peptide tags in enzyme immobilization on electrodes[J]. Bioelectrochemistry 2002, 55:21.
- [23] Katz E, Riklin A, Heleg-Shabtai V, et al. Glucose oxidase electrodes via reconstitution of the apo-enzyme: tailoring of novel glucose biosensors[J]. Anal. Chim. Acta, 1999, 385:45.

- [24] Nicolas Mano , Fei Mao , Adam Heller. A miniature biofuel cell operating in a physiological buffer[J]. J. Am. Chem. Soc. , 2002 ,124: 12 962.
- [25] LI Xi-guang , GAO Ying , LU Tian-hong , et al. Electrocatalytic behavior of microperoxidase-11 adsorbed on activated carbon for reduction of oxygen and hydrogen peroxide[J]. Chinese Journal of Applied Chemistry(应用化学) , 2000 ,19(3) :285.
- [26] Willner I, Katz E, Patolsky F, et al. Biofuel cell based on glucose oxidase and microperoxidase-11 monolayer-functionalized electrodes[J]. J. Chem. Soc. , Perkin Trans. , 1998 ,2:1 817.
- [27] Tsujimura S, Tatsumi H, Ogawa J, et al. Bioelectrocatalytic reduction of dioxygen to water at neutral pH using bilirubin oxidase as an enzyme and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonate) as an electron transfer mediator[J]. J. Electroanal. Chem. , 2001 ,496: 69.
- [28] Tayhas G, Palmore R, Kim H H. Electro-enzymatic reduction of dioxygen to water in the cathode compartment of a biofuel cell[J]. J. Electroanal. Chem. , 1999 ,464: 110.
- [29] Willner I, Katz E. Integration of layered redox proteins and conductive supports for bioelectronic applications [J]. Angew. Chem. Int. Ed. , 2000 ,39: 1 180.
- [30] Willner I, Willner B. Biomaterials integrated with electronic elements: en route to bioelectronics[J]. Trends Biotechnol. , 2001 ,19: 222.
- [31] Willner I, Arad G, Katz E. A biofuel cell based on pyrroloquinoline and microperoxidase-11 monolayer-functionalized electrodes[J]. Bioelectrochem. Bioenerg. , 1998 ,44: 209.
- [32] Katz E, Filanovsky B, Willner I. A biofuel cell based on two immiscible solvents and glucose oxidase and microperoxidase-11 monolayer-functionalized electrodes[J]. New J. Chem. , 1999 , 23 :481.
- [33] Pizzariello A, Stred'ansky M, Miertus S. A glucose/ hydrogen peroxide biofuel cell that uses oxidase and peroxidase as catalysts by composite bulk-modified bioelectrodes based on a solid binding matrix[J]. Bioelectrochemistry , 2002 ,56: 99.
- [34] Katz E, Willner I, Kotlyar A B. A non-compartmentalized glucose/ O₂ biofuel cell by bioengineered electrode surfaces[J]. J. Electroanal. Chem. , 1999 ,479: 64.
- [35] Pardo- Yissar V, Katz E, Willner I, et al. Biomaterial engineered electrodes for bioelectronics[J]. Faraday Discussions , 2000 ,116: 119.
- [36] Scott Calabrese Barton, Hyug-Han Kim, Gary Binyamin, et al. Electroreduction of O₂ to Water on the "Wired" Laccase Cathode[J]. J. Phys. Chem. B , 2001 , 105 : 11 917.
- [37] Scott Calabrese Barton, Hyug-Han Kim, Gary Binyamin, et al. The "wired" laccase cathode: high current density electroreduction of O₂ to water at +0.7 V(NHE) at pH 5[J]. J. Am. Chem. Soc. 2001 ,123 :5 802.
- [38] Scott Calabrese Barton, Michael Pickard, Rafael Vazquez-Duhalt, et al. Electroreduction of O₂ to water at 0.6 V (SHE) at pH 7 on the 'wired' Pleurotus ostreatus laccase cathode[J]. Biosensors and Bioelectronics , 2002 , 17 :1 071.
- [39] Itamar Willner. Biomaterials for sensors, fuel cells, and circuitry[J]. Science , 2002 ,298 :2 047.
- [40] El- Deab, Mohamed S, Ohsaka Takeo. An extraordinary electrocatalytic reduction of oxygen on gold nanoparticles-electrodeposited gold electrodes[J]. Electrochemistry Communications , 2002 , 4(4) :288.