Journal of the Korean Electrochemical Society
Vol. 17, No. 3, 2014, 164-171
http://dx.doi.org/10.5229/JKES.2014.17.3.164

ITO 전극 위에 고정된 니켈 나노 입자를 이용한 무효소 혈당센서에 관한 전기화학적인 연구

오인돈[1] · 김사만다[2] · 최영봉[1]*

[1]단국대학교 자연과학대학 화학과
[2]경기수원외국인학교

(2014년 7월 14일 접수 : 2014년 7월 24일 채택)

The Electrochemical Studies of Non-enzymatic Glucose Sensor on the Nickel Nanoparticle-deposited ITO Electrode

In-Don Oh[1], Samantha Kim[2], and Young-Bong Choi[1]*

[1]*Department of chemistry, College of Advanced Science, Dankook University, Anseo-dong, Cheonan, Chungnam, 330-714, Republic of Korea*
[2]*Gyeonggi Suwon International School, 451 YoungTongRo, YoungTong-Gu, Suwon City, Gyeonggi-Do, 443-808, Republic of Korea*

(Received July 14, 2014 : Accepted July 24, 2014)

초 록

무효소 혈당센서는 높은 선택성과 민감성을 가지고 저비용으로 체내 혈당(glucose)을 검출할 수 차세대 기술이다. 현재 시판되고 있는 혈당센서는 당을 산화시켜주는 당산화효소와 전극과 효소 사이에 전자 전달을 원활하게 해주는 산화/환원 매개체를 이용하여 효소센서로 제작된다. 그러나 이러한 효소센서는 pH, 온도, 습도, 화학적 독성물질 등에 영향을 많이 받아 안정성이 떨어지고, 제작에 비용이 많이 드는 단점을 가지고 있다. 본 논문은 위와 같은 단점을 해결하고자 환원제인 당에 의하여 환원되는 니켈 나노입자를 전기화학적 흡착방법을 이용하여 산화 인듐 주석 전극 (ITO)에 고정시켰다. 고정된 니켈 나노입자는 전극의 표면적을 넓혀 신호를 증폭시키는 효과를 가지고 있으며, 당에 의하여 계속적으로 니켈이 환원됨에 따라 전극 반응에서는 촉매산화전류 반응으로 나타낸다. 당의 농도에 따라서 선형적으로 감응 할 수 있는 최적 조건의 니켈 나노입자를 이용하여 혈당센서를 제작하였다. 또한 체내에 존재하는 방해 인자인 아스코브산의 간섭을 억제하기 위해 음이온 고분자의 표면처리를 통하여 상대적으로 당에 선택적으로 감응하도록 하였다. 제작된 전극을 통하여 당 농도 별 산화 촉매 전류를 순환 전압 전류 법으로 측정한 결과 650 mV (vs. Ag/AgCl)에서 최대 전기적 신호가 발생되었으며, 포도당 0~6.15 mM 의 농도 범위에서 전기적 신호가 선형 증가함을 확인할 수 있었다.

Abstract : A highly sensitive and selective non-enzymatic glucose sensor has gained great attention because of simple signal transformation, low-cost, easily handling, and confirming the blood glucose as the representative technology. Until now, glucose sensor has been developed by the immobilization of glucose oxidase (GOx) on the surface of electrodes. However although GOx is quite stable compared with other enzymes, the enzyme-based biosensors are still impacted by various environment factors such as temperature, pH value, humidity, and

*E-mail: chem0404@dankook.ac.kr

toxic chemicals. Non-enzymatic sensor for direct detecting glucose is an attractive alternative device to overcome the above drawbacks of enzymatic sensor. Many efforts have been tried for the development of non-enzymatic sensors using various transition metals (Pt, Au, Cu, Ni, etc.), metal alloys (Pt-Pb, Pt-Au, Ni-Pd, etc.), metal oxides, carbon nanotubes and graphene. In this paper, we show that Ni-based nano-particles (NiNPs) exhibit remarkably catalyzing capability for glucose originating from the redox couple of $Ni(OH)_2$/NiOOH on the surface of ITO electrode in alkaline medium. But, these non-enzymatic sensors are nonselective toward oxidizable species such as ascorbic acid the physiological fluid. So, the anionic polymer was coated on NiNPs electrode preventing the interferences. The oxidation of glucose was highly catalyzed by NiNPs. The catalytically anodic currents were linearly increased in proportion to the glucose concentration over the 0~6.15 mM range at 650 mV versus Ag/AgCl.

Keywords : Non-enzymatic sensor, Nickel nanoparticles, glucose

1. 서 론

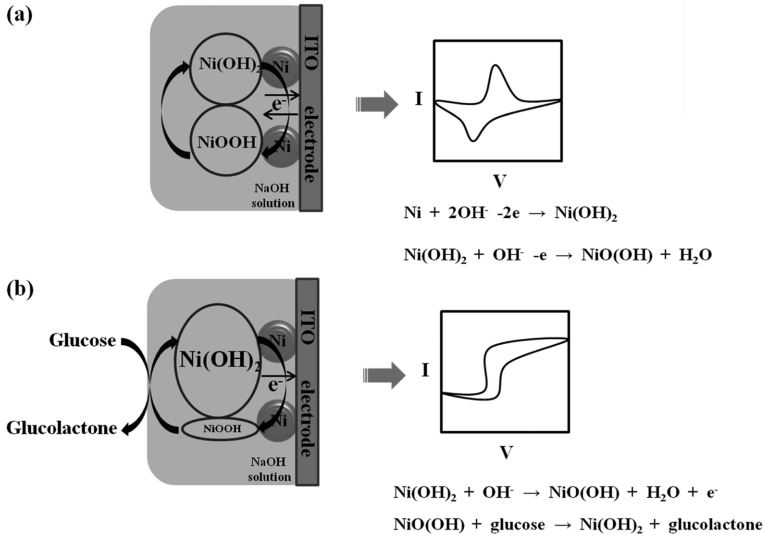
체내의 혈당 (blood glucose)을 정량적으로 측정하기 위한 혈당센서는 많은 연구를 통해 발전되어왔다. 1960년대 개발되었던 1세대 혈당센서는 당을 산화시키기 위한 당산화효소가 산소와 반응하여 생성된 과산화수소의 농도를 측정함에 따라 당의 농도를 측정하는 방식이었다.[1-3] 하지만 이 방법은 사람과 지역에 따라 산소의 분압 차이가 발생되므로 농도가 다르다는 문제점을 가지고 있기 때문에 이를 해결하고자 산화/환원 매개체를 이용하는 2세대 바이오센서가 개발되었다. 이 센서는 과산화수소대신 산화/환원 매개체를 사용하는 방식으로 전극과 효소 사이의 전자전달 능력을 높여주며, 낮은 전위에서도 측정 가능하여 다른 방해물질의 신호와 겹쳐지지 않으며 민감도를 증가시키는 장점을 가지고 있다.[4-7] 하지만 산화/환원 매개체와 효소를 사용하여 센서를 제작하면 많은 비용이 발생하며 효소의 특성상 pH와 온도, 습도, 산소, 독성화합물 그리고 효소 분자가 가지고 있는 불안전성과 같은 환경적인 요인에 영향을 많이 받기 때문에 센서의 수명이 낮아지는 단점을 가지고 있다. 이를 해결하기 위해서는 효소나 매개체를 사용하지 않고 간단히 혈당을 측정할 수 있는 새로운 센서를 개발할 필요성이 증대되고 있다.[8]

직접적인 혈당 측정을 위한 무효소 센서는 효소가 갖는 단점들을 해결할 수 있는 매력적인 대체 가능한 기술이다. 이러한 연구는 최근에 지속적으로 증가하고 있다. 특히 다양한 나노 금속 (Pt, Au, Pd, Ni)[9-12], 합금 (Pt-Pb, Pt-Ir 등)[13,14], 금속산화물(CuO, Co_3O_4)[15,16], Carbon nano tube[17], graphene[18] 등을 이용하여 직접적으로 혈당을 검출하는 전극 개발에 대한 활발한 연구가 진행되고 있다. 그러나 Pt와 Au 로 제작한 금속 전극은 제한된 표면적과 표면에 흡착된 중간체로 인한 낮은 민감도와 선택성을 가지며 전극제작에 높은 비용을 필요로 하는 단점을 가지고 있다. 반면 다른 금속에 비해 니켈은 값이 저렴하며, 쉽게 구할 수 있고, 탄수화물과 반응하는데 있어 전기적 산화 활성이 매우 좋기 때문에 최근에 많은 관심과 지속적인 연구가 이루어지고 있다.[19-20] 니켈을 이용한 무효소 혈당센서의 단점은 알칼리 수용액 조건하에서 측정이 가능하며 fructose, sucrose와 같은 다당류에 비선택적이나, 빠른 응답, 높은 민감도, 낮은 검출한계를 갖는 장점도 가지고 있다. 또한 효소 센서 보다 다른 환경적인 요인에 대해서 안정한 장점을 가지고 있다.[21] 혈당과 산화반응이 일어날 수 있는 이유는 환원제인 혈당이 무효소 상태에서 전기화학적 산화가 Ni, NiO, $Ni(OH)_2$ 전극에서 반응이 일어난다. 반응의 기작은 알칼리 수용액 하에 전극 표면에서 형성되는 $Ni(OH)_2$/NiOOH의 전기화학활성 물질의 존재 때문이다. 반응기작은 Scheme. 1에서 보는 바와 같이 당의 산화로 인하여 높은 원자가 수산화물인 $Ni(OH)_2$이 생성됨에 따라 산화촉매전류가 증가된다.[22,23] (Scheme. 1).

본 연구에 사용된 니켈 나노 입자는 그들이 가지고 있는 화학적, 물리적 특성 때문에 많은 연구가 이루어지고 있으며, 화학적 촉매, 의학적 진단 등에 많이 응용된다. 니켈 나노 입자의 제작 방법으로는 Ball milling, electrodeposition, thermal plasma, polyol process, chemical vapor deposition (CVD), decomposition, reduction등 많은 방법들이 존재하지만 니켈 나노 입자는 쉽게 산화되기 때문에 제작하는데 많은 어려움이 있는 것이 사실이다.

이 중 1950년대부터 발달하기 시작했으며 일반적으로 금속의 제조뿐만 아니라 복합 코팅에도 사용되는 electrodeposition방법은 전 처리 과정이 복잡하지 않으며, 제작 시간이나 방법이 간단하고, 경제적으로 우수하다는 장점을 가지고 있다.[24]

본 연구에서는 혈당을 검출하는데 있어 방해요인으로 존재하는 ascorbic acid 의 간섭을 줄이기 위한



Scheme. 1. (a) Schematic fabrication procedures of the nickel nanoparticles (NiNPs)-modified electrode. (b) NiNPs-electrodeposited electrode can catalyze the electrooxidation of glucose to glucolactone.

음이온 고분자에 관한 연구도 진행하였다.[25] 당의 전기적인 신호를 얻을 때 방해 요소들로 인하여 수치가 겹쳐 나오게 되므로 당에 대한 정확한 신호를 얻기가 어렵다. 비록 체내 혈액의 혈당 함량은 다른 방해 요소에 비해 30배 가량 많은 양을 가지고 있지만, 오직 glucose에 선택적인 센서를 만들기 위해서는 방해요소들은 전극 표면에 반응하지 못하도록 전극 표면 처리가 필요하다.

본 논문에서는 순환 전압 전류법에 의한 전기증착 방법 (electrodeposition)을 이용하여 cycle 수, $NiCl_2$ 농도 별로 최적화된 니켈 나노 입자를 ITO (Indium Tin Oxide) 전극 위에 고정화 하였다. 제작된 전극은 NaOH 용액 하에서 $Ni(OH)_2$/NiOOH의 산화/환원 신호를 확인하였고, 전자현미경 (SEM)을 통해 일정 크기의 니켈 나노 입자를 확인하였다. 또한 방해 요소들의 간섭을 억제하기 위해 염기성 하에서 음이온을 띄는 고분자를 흡착시켜 고분자의 흡착에 따른 간섭물질 신호 대비 당의 산화 신호 비를 이용해 최적화된 조건에서 당 산화 촉매 전류를 측정하였다.

제작된 전극은 다른 방해 요소들의 간섭을 받지 않고 당에만 선택적으로 감응한다는 것을 증명하였고, 복잡하지 않은 간단한 방법으로 효소로 제작된 센서의 한계성을 극복할 수 있는 혈당센서를 개발하였다.

2. 실험 방법

2.1 시약 및 시료

실험에 사용된 시약인 Nickel(II) chloride hexahydrate, Poly(acrylamide-co-acrylic acid), partial sodium salt, D-(+)-Glucose, Sodium hydroxide는 Aldrich(Milwaukee, WI)사의 제품을 정제 없이 그대로 사용하였고 위에 사용된 모든 시약은 분석시약 급이었다. 모든 용액의 제조와 실험을 위하여 3차 증류수 (Millipore, Bedford, MA; 저항 18 M·Ωcm)를 사용하였다.

전기화학 실험에서 작업 전극으로 ITO (Indium Tin Oxide) 전극판을 일정한 크기 (7 cm×2.5 cm)로 자른 후 에탄올과 증류수로 3번 세척하여 상온에서 건조시킨 후에 Pirana solution ($H_2SO_4 : H_2O_2$: 증류수 = 1 : 3 : 3)으로 다시 세척하였다. 세척 후 즉시 증류수로 세척한 다음 상온에서 건조시켜 사용하였다. 상대 전극과 기준 전극으로는 백금 (Platinum)선과 Ag/AgCl 전극 (ESA, EE009)을 사용하였다.

순환 전압 전류법 (Cyclic Voltammetry; CV)을 측정을 하는데 사용된 기기는 CH Instruments (Austin, TX, USA)의 model 660B Elctrochemical workstation을 사용하였다. 전극 표면의 구조를 확인하는데 사용된 기기는 SEM (Scanning Electron Microscopy, JEOL/JAPAN)을 사용하였다..

2.2 ITO전극 위에 니켈 나노 입자의 고정화

최적화된 순환 전압 전류법을 사용하기 위해 $NiCl_2$ (1.19 mg, 5 mmoL)을 NaOH (0.2 g, 100 mM, 50 mL)에 녹여 100 mM $NiCl_2$ 용액을 제조하여 cycle 수 별로의 전기화학실험과 전극구조를 관찰하였다. 실험방법은ITO전극 위에 $NiCl_2$ 용액 40 μL를 올

리고, 순환 전압 전류법을 이용하여 cycle 수 별 (2~50 cycles)로 electrodeposition하여 니켈을 고정시켰다. 그리고 증류수로 3번 세척한 후 상온에서 건조시켰다. cycle 수에 따른 니켈이 ITO전극 위에 얼마나 고정되었는지 확인하기 위해서 순환 전압 전류법을 이용하여 알칼리 수용액 조건하에서 $Ni(OH)_2$/NiOOH의 산화/환원 신호를 확인함으로써 각 전위 값에 따른 전류의 신호 크기를 비교하였다. 이 때 가해준 전위의 범위는 0.350~0.700 V이고, scan rate은 100 mV s^{-1} 이었다. 두 번째 최적화 실험은 농도 별 $NiCl_2$ (10.0~500 mM)별로 NaOH (0.2 g, 100 mM, 50 mL) 용액에 녹여 각 용액을 제조하였다. 작업전극인 ITO전극 위에 $NiCl_2$농도 별 용액 40 μL를 올리고, 순환 전압 전류법을 이용해 40 cycles 전기증착방법 (electrodeposition)을 통하여 니켈을 고정시켰다. 같은 방법으로 $NiCl_2$ 농도에 의해 니켈이 작업전극 위에 얼마나 고정되었는지 확인하기 위해서 순환 전압 전류법을 이용하여 알칼리 수용액 조건하에서 $Ni(OH)_2$/NiOOH의 산화/환원 신호를 확인함으로 서 각 전위 값에 따른 전류의 신호 크기를 비교하였다. 이 때 가해준 전위의 범위는 0.200~0.650 V이고, scan rate은 10 mV s^{-1}이었다. 최종적으로 최적화된 전극 표면의 니켈 나노 입자 구조는 전자현미경 (SEM)을 통해 구조 확인하였다.

2.3 니켈 나노 입자가 고정된 ITO (NiNP-ITO) 전극을 이용한 glucose 촉매전류 측정 실험

NiNP-ITO 전극을 이용하여 산화촉매전류 실험을 위해서는 최적의 알칼리 용매 조건이 충족되어야 한다. 따라서 D-(+)-Glucose (63.1 mg, 0.35 mmoL)을 NaOH 농도 (0.01~4.00 M; pH 12~14.602)별로 각각 50 mL에 녹여 NiNP-ITO 과 glucose간의 전기화학적 산화를 이용한 산화촉매전류 실험을 하였다. NiNP-ITO 전극 위에 NaOH (0.01~4.00 M; pH 12~14.602)용액에 녹인 7 mM glucose 40 μL를 올리고, 순환 전압 전류법을 이용하여 산화 촉매 전류를 측정하였다.

2.4 NiNP-ITO 전극에 음이온 폴리머 흡착

Poly(acrylamide-co-acrylic acid), partial sodium salt 음이온 폴리머는 wt% 농도 (0.01~10.0 wt%)별로 D.W에 녹여 상온에서 전극 표면의 니켈 양 전하와 흡착시켰다. 각각 음이온 폴리머의 농도별로 20 μL씩 니켈이 고정된 ITO전극 위에 올리고 시간별 (0~60분)로 측정하였다. 농도 별, 시간 별로 흡착된 니켈-폴리머 전극의 신호를 확인하기 위해서 NiNP-ITO 전극 위에 NaOH를 농도별 (0.01~4.00 M)로 용액 40 μL를 올리고, 순환 전압 전류법을 이용하여 $Ni(OH)_2$/NiOOH의 산화/환원 신호를 확인함으로 서 각 전위 값에 대한 전류의 신호 크기를 비교하였다.

2.5 니켈 나노 입자-음이온 폴리머가 고정된 ITO전극 (NiNP/polymer-ITO)에서 glucose의 반응 실험

NiNP-ITO 전극 위에 음이온 폴리머를 농도별 (0.01~10.0 wt%)로 흡착 시킨 후, 각 농도별 폴리머가 흡착된 NiNP/polymer-ITO 전극에 50 mM NaOH에 1 mM ascorbic acid가 포함된 용액 속에서 농도 별 glucose 40 μL (0~6.15 mM) 를 올리고 순환 전압 전류법을 이용하여 glucose 산화 촉매 전류를 측정하였다. 그리고 이 전류의 크기와 50 mM NaOH 바탕 용액의 전류 측정치와 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 ITO전극 위에 니켈 나노 입자의 고정화를 위한 최적화

ITO전극 위에 100 mM $NiCl_2$ 용액 40 μL를 올리고, cycles 수 별 (2~50 cycles) 전기증착방법 (electrodeposition)으로 니켈을 고정시켰다. 제작된 니켈 나노 입자가 고정된 전극을 알칼리 용액 하에서 전기화학적인 신호를 측정한 결과 Ag/AgCl에서 470 mV의 $Ni(OH)_2$/NiOOH 산화/환원 신호가 나타나는 것을 확인 할 수 있었으며, 40 cycles 에서 가장 적합한 신호를 나타내는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 1(a)). 이는 낮은 cycles에서 니켈 나노 입자의 형성이 적어 작은 산화/환원 전류신호를 갖고, 또한 40 cycles 이상에서는 니켈 나노 입자가 전극 표면적당 형성될 수 있는 최대 한계를 넘어 신호의 증가가 적게 되고 50 cycles 이상에서는 니켈 나노 입자가 서로 뭉치게 (aggregation)되어 전극 표면적 (surface area)이 오히려 감소되어 작은 $Ni(OH)_2$/NiOOH 산화/환원 전류신호를 얻었다. (Supplementary Fig. 1(a))

두 번째 최적화 실험은 $NiCl_2$ 용액의 농도 별로 10~500 mM의 $NiCl_2$ 용액을 ITO전극 위에 40 μL를 올리고, 40 cycles 전기증착방법 (electrodeposition)으로 니켈을 고정시켰다. 알칼리 용매 하에서 고정된 니켈 나노 입자의 전기화학적인 신호를 측정한 결과 Ag/AgCl에서 470 mV의 $Ni(OH)_2$/NiOOH 산화/환원 전류 신호가 나타나는 것을 확인 할 수 있었으며, 100 mM $NiCl_2$ 농도 조건에서 가장 좋은 전기화학적인 신호를 확인할 수 있었다 (Fig. 1(b)). 이는 낮은 농도의 $NiCl_2$ 용액은 니켈 나노 입자의 형성이 적어 전류 신호를 감소시키고, 100 mM 이상의 $NiCl_2$ 용액은 니켈 나노 입자의 형성이 서로 뭉치게 (aggregation)되어 전극 표면 위에 나노 입자 형성이 되지 않고, 니켈 박막이

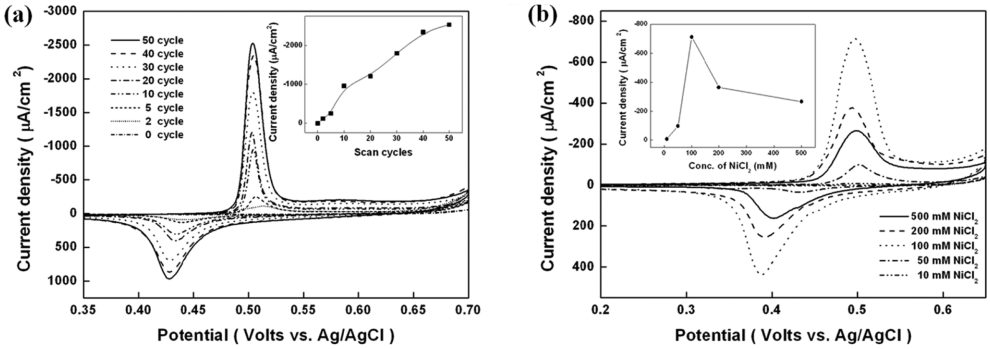
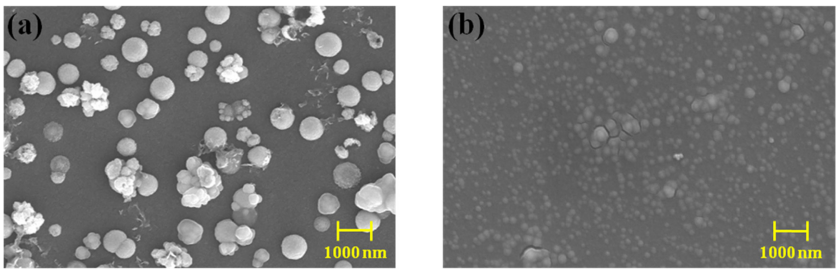


Fig. 1. (a) Cyclic voltammograms of 50 mM NaOH on the electrodeposited NiNPs-ITO electrodes at different scan cylces (2~50 cycles). Inset: plot of obtained anodic currents versus number of voltammetric cycles. Reaction condition : fixed $NiCl_2$ concentration of 100 mM at a scan rate of 100 mV s^{-1} on ITO electrodes. (b) Cyclic voltammograms of the 40 cycles electrodeposited NiNPs-ITO electrodes in 50 mM NaOH solution at different concentration of $NiCl_2$ (10.0~500.0 mM) at a scan rate of 10 mV s^{-1} on ITO electrodes. Inset: plot of obtained anodic currents versus $NiCl_2$ concentration.



Supplementary Figure 1. FE-SEM images showing (a) the surface of the electrodeposited nickel-nanoparticles on ITO electrode at 50 cycles in 100 mM $NiCl_2$ and (b) the surface of the electrodeposited nickel-nanoparticles on ITO electrode at 40 cycles in 500 mM $NiCl_2$. The scale bars were 1000 nm.

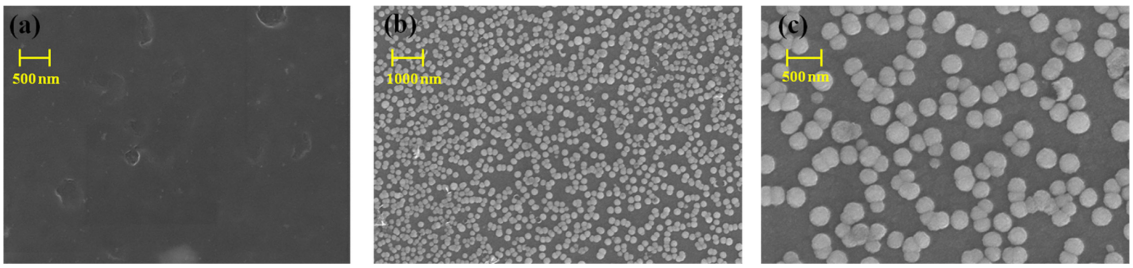


Fig. 2. FE-SEM images on bare ITO electrode of ×50 K (a), and those of electrodeposited nickel-nanoparticles on ITO electrode of ×10 K (b), ×30 K (c) from 100 mM solution of $NiCl_2$ in distilled water. The number of cycles was 40 cycles using the cyclic voltammetric technique.

형성 되 표면적이 감소하여 적은 전류 신호를 얻었다. (Supplementary Fig. 1(b)) 두 실험조건으로 형성된 ITO전극 표면의 니켈 나노 입자 구조확인을 위해 SEM (scanning elecctron microscopy)으로 측정한 결과 100 mM $NiCl_2$ 용액, 40 cycles로 전기증착방법 (electrodeposition)으로 고정된 니켈 나노 입자의 크기가 100~150 nm로 균일하며 고르게 분포된 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2(b,c)).

3.2 NiNP-ITO 전극에서 알칼리 용매의 농도 별 산화촉매전류 측정

NiNP-ITO 전극에 다양한 농도(0.01~4.00 M; pH 12~14.602)의 알칼리 용매에 녹인 7 mM 당을 포함한 용액을 측정할 결과, pH가 낮아질수록 $Ni(OH)_2$/NiOOH 산화촉매전류는 크게 나오다가, 0.01 M NaOH 용액 (pH 12) 조건에서 당의 산화촉매전류는 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3(a)). 이는

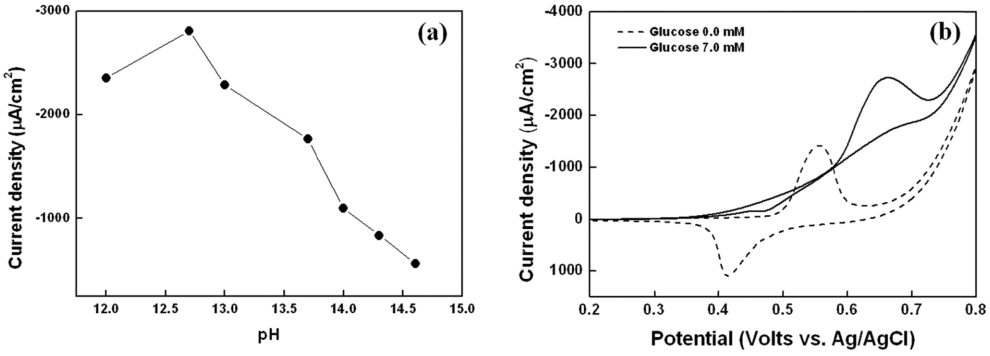


Fig. 3. (a) Anode currents at 650 mV versus Ag/AgCl as a function of pH ranging between 12 and 14.602. Reaction condition : fixed glucose concentration of 7 mM at a scan rate of 10 mV s^{-1} on ITO electrodes. (b) Cyclic voltammograms of glucose 7 mM using nickel-nanoparticles deposited ITO electrode at a scan rate of 10 mV s^{-1}.

염기성 용매 하에서 전극 표면에 형성된 $Ni(OH)_2$/NiOOH 쌍은 당을 의하여 환원되어 $Ni(OH)_2$로 변환되고, 이는 다시 전극에 전자를 제공하며 NiOOH를 생성된다. 즉 환원제인 당에 의해 생성된 Ni^{2+}가 Ni^{3+}로 전환되면서 산화 촉매 전류 신호가 생성된다.[26] 그러나 농도가 0.01 M (pH 12) 이하의 NaOH에서는 적은 OH^- 이온에 의하여 산화 촉매 전류 신호가 감소 하고, NaOH의 농도가 0.10 M 이상에서는 과량의 OH^- 이온에 의해 전극 표면의 대부분의 니켈이 NiOOH의 형성이 일어남에 따라 $Ni(OH)_2$/NiOOH 의 산화/환원 신호 자체가 낮아져 glucose에 의한 산화 촉매 전류 신호가 감소함을 알 수 있다. 따라서 실험 결과 50 mM NaOH 용액 상태에서 산화촉매전류가 강하게 나오는 것을 확인하였다. 이때의 scan rate는 10 mVs^{-1}였다. (Fig. 3(b)).

3.3 NiNP-ITO 전극에 음이온 폴리머 흡착을 위한 최적화

NiNP-ITO 전극을 이용하여 체내에 존재하는 혈액 속의 당 검출에 있어 방해요소인 ascorbic acid를 피하기 위해, 음이온 고분자를 제작된 전극에 흡착시켜 선택적으로 당과 반응하도록 준비하였다. 농도별 poly (acrylamide-co-acrylic acid)는 wt% 농도 (0.05 ~10 wt%)별로 증류수에 녹여 상온에서 전극 표면의 니켈 이온의 양 전하와 정전기적인 방법으로 흡착시켰다. 제작된 polymer/NiNP-ITO 전극에 50 mM NaOH 용액 상태에서 $Ni(OH)_2$/NiOOH 의 산화/환원 신호를 측정한 결과 고분자의 농도가 높아질수록 신호가 감소하는 것을 확인 할 수 있었다 (Fig. 4). 전극 표면 위에 존재하는 고분자의 wt%가 증가 될수록 전극 표면 위의 음이온 고분자에 의해 OH^- 음이온과의 정전기적인 반발 효과로 $Ni(OH)_2$/NiOOH 의 산화/환원 반응이 방해하여 신호가 감소하였다. 또한 각각 음이온 고분자의 농도 별로 20 μL씩 니켈이 고정된 전극 위에 올리고 시간 별 (0~60분)로 측정한 결과 20분 이상에서 $Ni(OH)_2$/NiOOH의 산화/환원 전류신호가 현저히 감소 하는 것을 확인하였다.

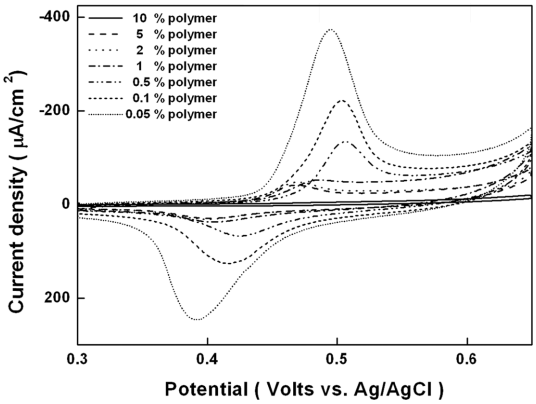


Fig. 4. Cyclic voltammograms of the polymer-modified NiNPs-ITO electrodes at different concentrations of polymer (0.05~10.0 wt%). The scan rate was 10 mV s^{-1} in 50 mM NaOH solution.

3.4 Polymer/NiNP-ITO 전극에서 당의 반응 실험

NiNP-ITO 전극 위에 고분자를 농도 (0.05~10 wt%) 별로 흡착시킨 뒤 50 mM NaOH에 녹인 7 mM 당을 포함하는40 μL 용액을 올려 전기화학적인 방법으로 측정하였다. 고분자 농도 별로 ascorbic acid 신호감응 정도를 알아보기 전에 당의 감응을 알아보기 위한 실험으로 고분자를 흡착시키기 전과 비교하여 0.05~2.00 wt%농도 별로 각각 58%, 48.7%, 25.6%, 19.7%, 15.9%로 당의 신호감응 크기가 감소한 것을 확인 할 수 있었다. 이 후 전극 위에 고분자 농도 별로 방해 요소인 ascorbic acid의 신호를 확인하

기 위해서 50 mM NaOH에 녹인 1 mM ascorbic acid를 전극 위에 올린 뒤 순환 전압 전류법을 이용하여 측정한 결과 5~10 wt%의 폴리머 농도에서는 니켈 산화/환원 신호가 나타나지 않았다. 이는 두꺼운 고분자막에 인하여 전자전달반응을 완전히 막기 때문이다. 낮은 농도인 0.05~2.00 wt%의 농도 범위에서는 고분자의 농도가 높아질수록 방해요소에 상대적으로 적게 감응하였다. 고분자막이 없는 NiNP-ITO 에서 ascorbic acid의 신호 응답을 100%로 잡았을 때 각 고분자 농도 별 ascorbic acid의 응답 신호는 25.9%, 18.3%, 7.5%, 6.9%, 4.6%의 수치를 나타내었다. 앞서 실험으로부터 얻은 결과와 종합하여 고분자 농도가 증가할수록 ascorbic acid의 반응을 잘 막지만 당과의 산화/환원 반응하는 정도도 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 0.5 wt% 고분자를 사용하였을 때는 0.1 wt% 일 때 보다 10.8% ascorbic acid를 막지만 산화촉매

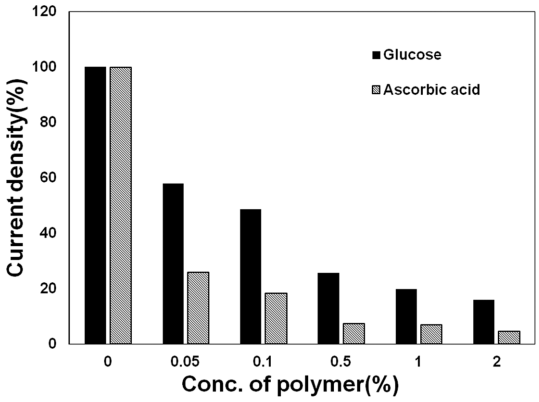


Fig. 5. The graph comparing the glucose signal and ascorbic acid signal in the polymer-modified NiNPs-ITO electrodes. Reaction condition: fixed glucose concentration of 7 mM and ascorbic acid of 1 mM at a scan rate of 10 mV s^{-1} on ITO electrodes.

전류의 크기도 23.2% 감소한다. 결과적으로ascorbic acid신호 대비 당 신호 크기는 0.1 wt% 고분자가 흡착된 전극에서 상대적으로 가장 크게 나타났다. 즉 0.1 wt% 고분자가 흡착된 전극에서 당의 응답 크기에 비하여 ascorbic acid에 대한 검출 신호가 낮은 것을 확인 하였다 (Fig. 5). 따라서 100 mM NaOH 용액에 녹인 100 mM $NiCl_2$를 40 cycles 전기증착방법 (electrode-position)으로 제작된 전극에 0.1 wt%의 음이온고분자를 20분 흡착하여 전극을 제작하였다. 제작된 전극을 이용하여 1 mM의 ascorbic acid를 포함하는 50 mM NaOH용액 에서 당 농도 (0~6.15 mM)별로 산화 촉매 전류를 측정하였다. 이 때 가해준 전위 범위는 0.3~0.65 V 이고, scan rate은 10 mV s^{-1} 이었다. 산화촉매전류가 나타나는 전위의 위치 중 전류 값이 일정하게 유지되는 한 지점을 650 mV (versus Ag/AgCl)로 고정하고 검정곡선을 도시하여 당농도 별로 발생하는 촉매전류의 상관관계를 확인 하였다 (Fig. 6(a)). 그 결과 농도 별 당에 대해 0.9983의 선형이 나타나는 것을 확인하였다 (Fig. 6(b)). 또한 당의 정량적 측정을 위한 검출 한계 (detection limit)는 0.10 mM 이었고, 이는 다른 전극으로 5회 실험하여 반복적인 재현성 (reproducibility)을 얻을 수 있었다.

4. 결 론

본 연구는 당에 의해 직접 산화되는 니켈 나노 입자를 사용하여 무효소 방법을 통해 당을 검출하였다. 알칼리 용매 하에서 전기증착방법으로 고정된 니켈 나노 입자 (NiNPs)는 표면적을 크게 증가시켜 전기신호 증폭효과를 갖게 된다. 낮은 농도의 알칼리 수용액에선 니켈 나노 입자의 산화/환원 전위가 높아서 아스코브산 같은 방해 요소도 같이 산화되게 된다. 이를 개선하기 위하여 음이온성 고분자를 흡착시켜 전극에 고정

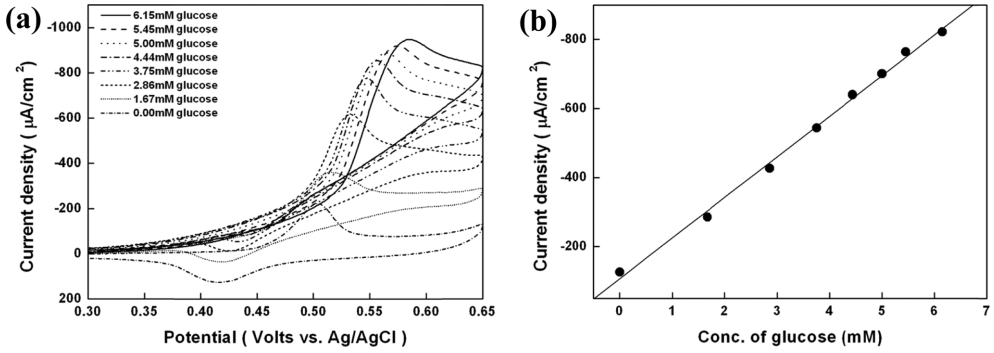


Fig. 6. (a) Cyclic voltammograms of the 0.1 wt% polymer-modified NiNPs-ITO electrodes in 50 mM NaOH containing 1mM ascorbic acid at scan rate of 10 mV s^{-1}. (b) Anode currents at 650 mV versus Ag/AgCl as a function of glucose concentration ranging between 0 and 6.15 mM.

하였다. 0.1 wt%의 고분자를 고정된 니켈 나노 입자에 흡착시켜 1 mM 아스코브산을 포함하는 당 0~6.15 mM 용액의 농도 구간에서 선형 범위의 산화 촉매 전류를 얻을 수 있었다. 본 연구를 통하여 니켈 나노 입자가 고정된 전극에서 당의 측정이 가능한 것을 확인하였다. 이는 간단한 혈당 바이오센서의 개발에 응용될 수 있을 것이라 예상된다.

References

1. L. C. Clark Jr. and C. Lyons, 'Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery' *Ann. N.Y. Acad. Sci*., **102**, 29 (1962).
2. J. Wang, 'Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges' *Electroanalysis., Interfacial Electrochem*., **13**, 983 (2001).
3. K. Wang, J. J. Xu, and H. Y. Chen, 'A novel glucose biosensor based on the nanoscaledcobalt phthalocyanine-glucose oxidase biocomposite' *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1388 (2005).
4. A. P. F. Turner, 'Diabetes mellitus: biosensors for research and management' *World Biotech. Rep*., **1**, 181 (1985).
5. M. A. Lange and J. Q. Chambers, 'Amperometric determination of glucose with a ferrocene-mediated glucose oxidase/polyacrylamide gel electrode' *Anal. Chim. Acta.*, **175**, 89 (1985).
6. B. A. Gregg and A. Heller, 'Redox polymer films containing enzymes. 2. Glucose oxidase containing enzyme electrodes' *J. Phys. Chem.*, **95**, 5976 (1991)
7. B. P. Giordano, W. Thrash, L. Hollenbaugh, W. P. Dube, C. Hodges, A. Swain, C. R. Banion, and G. J. Klingensmith, 'Performance of seven blood glucose testing systems at high altitude' *Diabetes Educ*., **15**, 444 (1989).
8. T. Kohma, D. Oyamatsu, S. Kuwabata, 'Preparation of selective micro glucose sensor without permselective membrane by electrochemical deposition of ruthenium and glucose oxidase' *Electrochem. Commun*., **9**, 1012 (2007).
9. S. Park, T. D. Chung, H. C. Kim, 'Nonenzymatic glucose detection using mesoporous platinum' *Anal. Chem*., **75**, 3046 (2003).
10. B. K. Jena, C. R. Raj, 'Enzyme-free amperometric sensing of glucose by using gold nanoparticles' *Chem. Eur. J*., **12**, 2702 (2006).
11. H. Y. Bai, M. Han, Y. Z. Du, J. C. Bao, and Z. H. Dai, 'Facile synthesis of porous tubular palladium nanostructures and their application in a nonenzymatic glucose sensor' *Chem. Commun.*, **46**, 1739 (2010).
12. L. M. Lu, L. Zhang, F. L. Qu, H. X. Lu, X. B. Zhang, Z. S. Wu, S. Y. Huan, Q. A. Wang, G. L. Shen, and R. Q. Yu, 'A nano-Ni based ultrasensitive nonenzymatic electrochemical sensor for glucose: Enhancing sensitivity through a nanowire array strategy' *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 218 (2009).
13. J. P. Wang, D. F. Thomas, and A. C. Chen, 'Nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on nanoporous PtPb networks' *Anal. Chem*., **80**, 997 (2008).
14. P. H. Hindle, S. Nigro, M. Asmussen, and A. C. Chen, 'Amperometric glucose sensor based on platinum-iridium nanomaterials' *Electrochem. Commun.*, 10, 1438 (2008).
15. X. J. Zhang, G. F. Wang, X. W. Liu, J. J. Wu, M. Li, J. Gu, H. Liu, and B. Fang, 'Different CuO nanostructures: synthesis, characterization, and applications for glucose sensors' *J. Phys.Chem*. C., **112**, 16845 (2008).
16. Y. Ding, Y. Wang, L. Su, M. Bellagamba, H. Zhang, and Y. Lei, 'Electrospun Co_3O_4 nanofibers for sensitive and selective glucose detection' *Biosens. Bioelectron*., **26**, 542 (2010).
17. P. P. Joshi, S. A. Merchant, Y. Wang, and D. W. Schmidtke, 'Amperometric biosensors based on redox polymer-carbon nanotube-enzyme composites' *Anal. Chem.*, **77**, 3183 (2005).
18. Y. Liu, D. Yu, C. Zeng, Z. Miao, and L. Dai, 'Biocompatible graphene oxide-basedglucose biosensors' *Langmuir.*, **26**, 6158 (2010).
19. Y. Mu D. L. Jia, Y. Y. He, Y. Q. Miao, and H. L. Wu, 'Nano nickel oxidemodified non-enzymatic glucose sensors with enhanced sensitivity through an electrochemical process strategy at high potential' *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 2948 (2011).
20. M. Shamsipur, M. Najafi, and M. R. Milani Hosseini, 'Highly improved electrooxidation of glucose at a nickel(II) oxide/multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode' *Bioelectrochemistry*., **77**, 120 (2010).
21. N. Qiao and J. Zheng, 'Nonenzymatic glucose sensor based on glassy carbon elec-trode modified with a nanocomposite composed of nickel hydroxide andgrapheme' *Microchim. Acta*., **177**, 103 (2012).
22. K. E. Toghill, L. Xiao, M. A. Phillips, and R. G. Compton, 'The non-enzymatic determination of glucose using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron-doped diamond electrode or nickel foil electrode' *Sens. Actuator. B: Chem*., **147**, 642 (2010).
23. A. Safavi, N. Maleki, and E. Farjami, 'Fabrication of a glucose sensor based on a novel nanocomposite electrode' *Biosens. Bioelectron*., **24**, 1655 (2009).
24. E. Scavetta, S. Stipa, and D. Tonelli, 'Electrodeposition of a nickel-based hydrotalciteon Pt nanoparticles for ethanol and glucose sensing' *Electrochem. Commun*., **9**, 2838 (2007).
25. J. Wang, J. Liu, L. Chen, and F. Lu, 'Highly selective membrane-free, mediator-free glucose biosensor' *Anal. Chem.*, **66**, 3600 (1994).
26. H. Nie, Z. Yao, X. Zhou, Z. Yang, and S. Huang, 'Nonenzymatic electrochemicaldetection of glucose using well-distributed nickel nanoparticles on straightmulti-walled carbon nanotubes' *Biosens. Bioelectron.*, **30**, 28 (2011).