

새로운 가교제를 적용한 촉매를 이용한 글루코스 센서의 성능향상 연구

정용진 · 권용재[†]

서울과학기술대학교 에너지환경대학원
01811 서울특별시 노원구 공릉로 232
(2015년 8월 6일 접수, 2015년 9월 9일 수정본 접수, 2015년 9월 17일 채택)

A Study on Performance Improvement of Glucose Sensor Adopting a Catalyst Using New Cross Liker

Yongjin Chung and Yongchai Kwon[†]

Graduate School of Energy and Environment, Seoul National University of Science and Technology,
232 Gongreung-ro, Nowon-gu, Seoul 01811, Korea

(Received 6 August 2015; Received in revised form 9 September 2015; accepted 17 September 2015)

요 약

본 논문에서는 글루코스산화제, polyethyleneimine(PEI) 및 탄소나노튜브 간 물리적 흡착으로 제조된 촉매(GOx/PEI/CNT)에 새로운 가교제인 terephthalaldehyde(TPA)를 첨가하여 민감도 및 안정성이 개선된 글루코스 센서 촉매를 합성하여, 감지능 및 안정성 개선효과를 확인하였다. 새로운 가교제를 포함한 바이오 촉매는, 글루코스산화제 및 polyethyleneimine의 관능기와 TPA의 관능기인 알돌축합반응에 의해 생성되었고, 이를 통해 생성된 새로운 전자전달 구조는 글루코스의 산화반응을 촉진시켰다. 이러한 촉매활성은 전기화학적 평가를 통해 정량적으로 평가하였으며 그 결과 $41.1 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$ 의 글루코스 민감도를 얻을 수 있었다. 또한 가교제와 글루코스산화제 및 polyethyleneimine 간의 화학반응의 형성에 의해 글루코스 산화제의 외부 손실을 최소화 하여, 센서 안정성 향상에도 크게 기여하였다. 안정성 평가를 한 결과, 3주간의 주기적인 촉매 활성 측정후에 94.6% 활성이 유지됨을 확인하였다.

Abstract – In this study, we synthesized a new biocatalyst consisting of glucose oxidase (GOx), polyethyleneimine (PEI) and carbon nanotube (CNT) with addition of terephthalaldehyde (TPA) (TPA/GOx/PEI/CNT) for fabrication of glucose sensor that shows improved sensing ability and stability compared with that using other biocatalysts. Main bonding of the new TPA/GOx/PEI/CNT catalyst is formed by Aldol condensation reaction of functional end groups between GOx/PEI and TPA. Such formed bonding structure promotes oxidation reaction of glucose. Catalytic activity of TPA/GOx/PEI/CNT is evaluated quantitatively by electrochemical measurements. As a result of that, large sensitivity value of $41 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$ is gained. Regarding biosensor stability of TPA/GOx/PEI/CNT catalyst, covalent bonding formed between GOx/PEI and TPA prevents GOx molecules from becoming leaching-out and contributes improvement in biosensor stability. With estimation of the biosensor stability, it is found that the TPA/GOx/PEI/CNT catalyst keeps 94.6% of its initial activity even after three weeks.

Key words: Glucose Oxidase, Glucose Sensor, Terephthalaldehyde, Cross Linker

1. 서 론

국제보건기구(World Health Organization; WHO)의 통계자료에 따르면, 당뇨병은 1994년 1.1억명, 2003년 1.9억명으로 가파르게 증가하여, 2025년에는 3.3억명 수준으로 전세계 성인 인구대비 10%의 유병률을 기록할 것으로 예상되고 있으며, 우리나라 및 미국, 유럽

등 서방선진국을 중심으로 이미 성인인구의 10% 이상이 당뇨병으로 고통받고 있는 것으로 보고되고 있다[1]. 그러나 이러한 의학 발전에도 불구하고 당뇨병은 아직 미정복된 질환으로 남아 있어, 발병 후에는 평생토록 인슐린 등 각종 약물의 투여가 필요하며, 만성합병증 발병에 따른 사망위험도 미발병자 대비 2~4배 이상에 이르는 등 현대인에게 큰 위협이 되고 있다[2]. 이에 따라 당뇨병의 예방 및 검진을 위해서 혈액 내 글루코스(Glucose) 농도의 주기적 측정 수요가 증가하고 있으며, 정확한 측정을 위한 다양한 방법들이 연구되고 있다. 특히 글루코스 산화효소(Glucose Oxidase, GOx)를 이용한 글루코스의 전기화학적 측정은 글루코스에 대한 우수한 기질 특이성에 기반하여 가장 널리 연구되고 있으나, GOx의 전기절연적 특성에 따라 전기화

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kwonyc@seoultech.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

학적 신호의 검출이 어렵고, 효소의 특성 상 생체 외부에서 지속적인 안정성을 유지하기 어려워 실적용의 걸림돌이 되고 있다[3-5].

전기전도 문제를 해결하기 위하여 탄소계 재료에 대한 연구가 활발히 진행 중이며, 특히 탄소나노튜브(Carbon nanotube, CNT)는 SP² 결합으로 이루어져 있어, 비편재화된 π전자가 우수한 전기전도성을 부여하고, 단위면적당 부피가 매우 넓어 효소 담지에 최적적으로 평가되고 있다. 그러나 세포독성이 있는 것으로 알려져 있으며, 효소와의 결합력이 약하여 화학적 공정을 통한 표면 개질이 필요한 단점이 있다[6,7].

안정성 문제를 해결하기 위해서는 Glutaraldehyde(GA) 등의 가교제(Cross linker)를 도입하여, GOx의 안정성을 확보하는 방안이 연구되고 있다. 효소를 담지시키는 방법은 크게 흡착(adsorption) 또는 정전기적 인력(electrostatic attraction) 등을 이용한 물리적 흡착과 공유결합(covalent bond) 및 가교결합(cross-linking) 등을 이용한 화학적 결합이 있는데, 화학적 결합은 물리적 결합에 비하여, 효소의 장기안정성 및 사용 시 손실을 줄여줘, 바이오 센서(biosensor) 및 바이오 전자소자(bioelectronics) 뿐만 아니라, 식품공업 및 생물학에서의 세포 고정화에도 널리 사용되고 있으며, 주로 GA를 사용하여 GOx의 가교결합을 유도하거나, 담지체를 화학적으로 처리하여 GOx와 직접적으로 공유결합을 형성한다는 연구가 보고되고 있다. 하지만 공정이 복잡하고 인체에 해로운 화학물질이 사용되며, 가교가 효소의 활성인자를 막아 효소활성도를 떨어뜨리는 단점이 있다[8].

본 연구에서는 CNT를 기반으로, 인체안정성이 입증된 전도성 고분자인 Polyethyleneimine(PEI)로 표면을 코팅한 뒤, 새로운 고정화제이자 가교제인 Terephthalaldehyde(TPA)과의 반응을 통해 π 결합 전자가 비편재화된 전자전도경로를 생성하여, 감도, 측정범위 및 안정성이 개선된 우수한 성능의 글루코스 센서를 개발하였다. 또한 TPA 도입에 따른 개선을 확인하기 위하여, 물리적 흡착 및 GA에 의한 가교결합된 촉매와 전기화학적 성능 및 안정성을 비교 고찰하였다. 이러한 글루코스 센서의 개발을 발판삼아, 향후에는 쓰레기에서 나오는 폐기물이나 바이오매스에서 발생하는 유독한 미생물이나 바이오독소들을 민감하게 센싱할 수 있는 바이오 센서를 제작하고자 한다.

2. 실험방법

2-1. 시약 및 기기

합성에 쓰이는 재료 및 기기는 다음과 같다. 촉매의 담지체로 쓰인 물질은 탄소나노튜브(CNT(Carbon Nano - material Technology Co., Ltd.))이며, 담지체에 정전기적인 인력을 부여하기 위해 전도성 고분자인 Polyethyleneimine(PEI)(50 wt% solution in water, MW 750,000)를 사용하였다. 글루코스 감지를 위한 효소는 GOx(Glucose oxidase(Sigma Aldrich G7141))를 사용하였으며, 가교제로는 GA 및 TPA를 사용하였다.

전기화학 측정을 위해 정전위기를(CHI 7200, CH Instrument, USA) 사용하였다. 작업전극으로는 RDE 전극(AFE5T050GC, Pine, USA), 상대전극은 Pt wire 전극, 기준전극은 Ag/AgCl전극(NaCl 3.0 M)을 사용하였다. 촉매를 전극에 고정시키기 물질로 전도성고분자인 Nafion(Sigma Aldrich 70160)을 사용하였다.

2-2. 합성방법

실험재료의 전기적인 극성을 이용하여 물리적 결합을 통해 GOx/

PEI/CNT 구조의 촉매를 합성하였다. 우선 PEI를 CNT에 물리적으로 흡착시켜주기 위해서 적정량의 CNT를 10mL의 PEI 수용액(2.5 mg mL⁻¹)에 넣어주었다(2 mg mL⁻¹). 분산을 위해 10분 동안 초음파를 가해주고, 1시간동안 교반한 후 증류수를 이용하여 여분의 PEI를 세정하였다. PEI/CNT에 GOx수용액(2.0 mg mL⁻¹)을 가하여 20분간 교반하고 원심분리를 통해 물리적 흡착에 의한 GOx/PEI/CNT를 합성하였다. 그 다음, 가교제인 GA(0.5 w/v% in DIW) 및 TPA (0.5w/v% in Ethanol)용액에 2시간 동안 침지시켜, 상호결합을 유도하여, GA/[GOx/PEI/CNT] 및 TPA/[GOx/PEI/CNT]를 합성하였다.

2-3. 전기화학측정

시료 성능 평가를 위해 정전위기를 이용한 전기화학적 측정을 하였다. 순환주사전류(Cyclic voltammogram, CV) 측정을 위하여 삼전극 실험을 진행하였고, 상대전극은 백금줄, 기준전극은 Ag/AgCl(3M NaCl)을 사용하였다. 작업전극을 만들기 위해서 촉매인크를 카본전극 위에 10 μm 올려준 후 30분간 건조했다. 그 후 Nafion(0.5 wt%) 8 μm를 촉매 상층에 올려준 후, 5분간 건조해서 사용하였다.

3. 결과 및 토론

3-1. 촉매의 제조 및 화학구조

CNT 담지체 위에 음극성(-극) GOx를 담지시키기 위해 CNT 표면에 양극성(+)을 띠는 PEI를 물리적으로 흡착시켰다. 그 후 표면에 음극성(-극)을 띠는 GOx를 정전기적인 인력을 이용하여 PEI/CNT 층위에 흡착시켜 GOx/PEI/CNT 층을 완성하였다. 정전기적 인력에 의해 제조된 촉매는 GOx와 PEI 사이의 결합력이 약하여, 촉매의 보관 안정성이 낮을 수 있으므로, 이에 GA 또는 TPA를 가하여, GOx의 효소간 상호결합과 GOx-PEI간의 화학결합을 유도하였다 [9]. 물리적 흡착만으로 제조된 촉매(GOx/PEI/CNT)는 Hyun 등에 의하여 XPS, TEM, Electrophoretic light scattering spectrophotometer (Zeta-potential)으로 검증되었으며, 안정적으로 최대 담지가능한 GOx의 양은 CNT 2 mg당 2 mg으로 알려져 있다[10].

가교제 투입 효과를 확인하기 위하여 동일량의 GOx(CNT 2 mg 당 2 mg)가 물리적 흡착으로 담지된 촉매(GOx/PEI/CNT)를 GA 또는 TPA에 침지시켜 화학적 결합을 유도하였다. GA는 말단에 알데하이드기(Aldehyde group)가 있으며, GOx의 lysine residue 및 PEI 주쇄의 아민기(Amine group)와 알돌축합반응(aldol condensation)에 의하여 C=N bond를 형성하는 것으로 알려져 있다. 생성된 GOx-C=N-C₄H₈-N=C-PEI 구조는 물리적 흡착에 비하여 GOx를 담지체에 강하게 결합시키게 되므로 장기적 안정성을 기대할 수 있으며, 직접전자 전달(Direct Electron Transfer, DET)이 가능한 거리인 2 nm를 일정하게 유지시켜 줘, 촉매기능이 향상될 것을 기대할 수 있으나 GA에 의한 고정화는 앞서 논한 바와 같이, 글루코스가 GA에 접근할 수 있는 영역을 막는 부정적 효과도 있다[11,12].

TPA는 알돌축합반응에 따라 Fig. 1에 나타난 바와 같이 GOx-C=N-C₆H₄-N=C-PEI 구조를 만들며, C=N과 페닐그룹이 π-conjugation 되면서, GOx와 글루코스 반응에 따라 생성된 전자가 담지체(PEI/CNT)로 자유롭게 이동할 수 있는 새로운 전자전달경로를 생성할 수 있을 것으로 기대하였다. 또한 GOx 및 PEI의 아민기와 TPA의 알데하이드 간 반응에 의해 부분적으로 생성된 다양한 부산물 또한 주반응과 마찬가지로 페닐그룹과 π-conjugation이 가능할 것으로 기대하

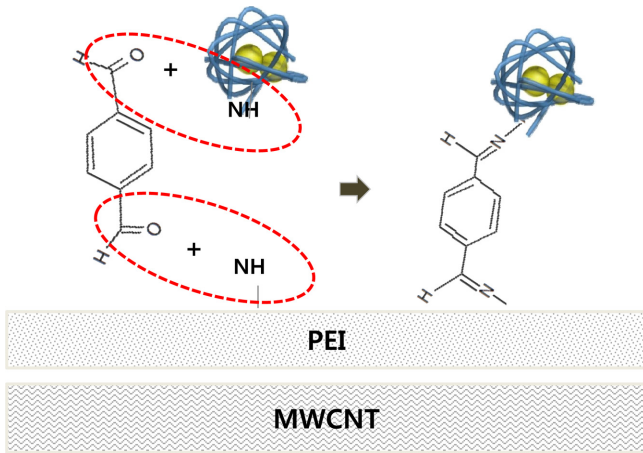


Fig. 1. Formation mechanism of electron transfer pathway between Amine group (lysine residue of GOx and PEI) and TPA by aldol condensation.

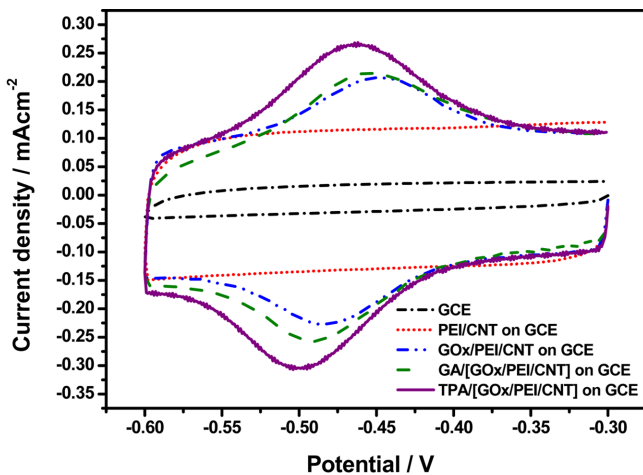


Fig. 2. Cyclic Voltammograms of GCE, PEI/CNT/GCE, GOx/PEI/CNT/GCE, GA/[GOx/PEI/CNT]/GCE and TPA/[GOx/PEI/CNT]/GCE. For CV tests, 0.01M PBS (pH 7.4) was used as an electrolyte at N2 state and potential scan rate was 100 mV s⁻¹.

었다. 이러한 화학구조는 Chung 등에 의해 Fourier transform infrared spectroscopy로 검증되었으며, GOx의 lysine residue 및 PEI의 아민기와 TPA와 반응하여 C=N 결합을 형성한 것을 확인할 수 있다[9]. 이와 유사하게 Yi Xiao 등은 금 필름과 GOx-금 나노입자(gold nanoparticle(Au-NP) 복합체 사이 π conjugated spacer를 형성하여 GOx에서 생성된 전자의 이동을 촉진한 기반 촉매를 제조한 바 있으며, 전도성 고분자의 합성에 TPA를 단량체로 사용한 사례도 다수 보고되고 있다[13-16].

3-2. 전기화학적 특성 평가

각 촉매에 담지된 GOx의 레독스 반응도를 CV를 이용하여 측정하였으며 그 결과는 Fig. 2와 같다[9]. CV 결과에서 나타난 산화 및 환원 피크전류밀도는 GOx 내 공동인자인 Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)의 레독스 반응(GOx(FAD) + 2H⁺ + 2e⁻ ↔ GOx + (FADH₂))을 의미하며, 피크전류가 증가할수록 GOx와 담지체 간 직접전자전달이 활발함을 나타낸다. 1.0 M PBS (pH 7.4), O₂-free 조건, 100 mV s⁻¹ potential scan rate에서, GOx/PEI/CNT의 산화 피크전류밀도는

-0.47 V 부근에서 약 -0.22 mAcm⁻²로 GOx가 담지되지 않은 PEI/CNT(-0.15 mAcm⁻²)와 비교할 시 약 0.07 mAcm⁻²의 피크전류밀도 절대값의 증가를 나타냈다. 반면 GA/[GOx/PEI/CNT]의 피크전류밀도는 -0.48 V 부근에서 -0.25 mAcm⁻²로 약 0.1 mAcm⁻² 증가하였으며, TPA/[GOx/PEI/CNT]는 -0.50V 부근에서 -0.30 mAcm⁻²로 0.15 mAcm⁻² 증가하여, 증가 피크전류밀도의 상대비교 시, 가교제 도입에 따라 GOx/PEI/CNT 대비 각각 42.9%(GA/[GOx/PEI/CNT]), 114.3%(TPA/[GOx/PEI/CNT])의 개선효과를 확인할 수 있었다.

즉, 본 실험에서 동일량의 GOx가 PEI/CNT에 담지되었음에도, 가교제의 종류에 따라 전류밀도의 상승이 가능함을 확인하였으며, 특히 TPA/[GOx/PEI/CNT]는 PEI/CNT 대비 산화 피크전류밀도 증가 절대값이 GOx/PEI/CNT에 비해 두 배 정도 증가함을 확인할 수 있었다. 이는 물리적 흡착에 의한 GOx의 담지의 경우 GOx에서 생성된 전자의 전자전달이 제한적임을 반증하며, TPA는 이를 효과적으로 개선시킬 수 있다는 것을 확인시켜 준다.

실제 글루코스 센서가 구동될 환경에서의 각 촉매 전기화학적 특성을 확인하기 위하여 산소가 존재하는 공기조건에서 글루코스 농도를 변화시키며 Amperometric response를 측정하였으며, 결과는 Fig. 3 및 4와 같다. 세 촉매 모두 3 mM 부근의 글루코스 농도에서 변곡이 일어나며, GOx/PEI/CNT는 0 mM 대비 46.6 μAcm⁻²(3 mM 기준)가량의 피크전류밀도가 확인되었으나, GA/[GOx/PEI/CNT]의 경우 53.5 μAcm⁻²(3 mM 기준), TPA/[GOx/PEI/CNT]의 경우 62.6 μAcm⁻²(3 mM 기준)로 각각 14.8%, 34.3%의 개선효과를 확인할 수 있었다. 특히 TPA/[GOx/PEI/CNT]는 GOx/PEI/CNT와 GA/[GOx/PEI/CNT]가 약 10 mM 부근에서 피크전류밀도의 상승이 멈춰 약 85 μAcm⁻²의 최대 피크전류밀도를 보여준 반면, TPA/[GOx/PEI/CNT]는 20 mM 부근까지 꾸준히 상승하여 21 mM 기준 129.3 μAcm⁻²의 최대 피크전류밀도를 나타내, GOx/PEI/CNT 및 GA/[GOx/PEI/CNT]대비 52.1%의 개선효과를 확인할 수 있었다. 특히, 가장 중요한 점으로서, 인체 내 글루코스 농도 범위(6~10 mM)에서 선형적 상승을 보이며, 측정값의 표준편차가 다른 촉매의 1/10 수준으로 정확도가 매우 높아, 인체삽입형 글루코스 센서 등으로의 활용도가 높을 것으로 기대된다.

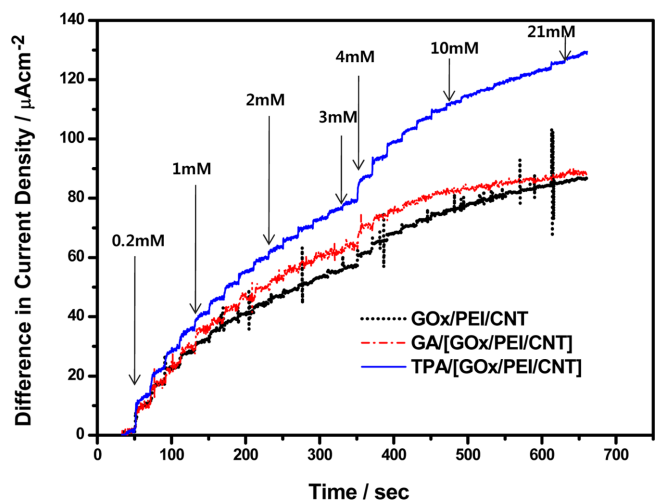


Fig. 3. Amperometric responses of glucose at GOx/PEI/CNT, GA/[GOx/PEI/CNT] and TPA/[GOx/PEI/CNT]. For the tests, 0.1 M PBS (pH 7.4) was used as electrolyte.

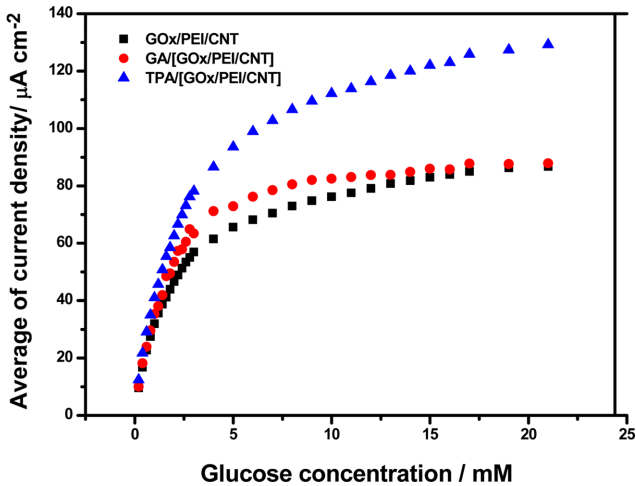


Fig. 4. A relationship between glucose concentration and average of current density. For the tests, 0.1 M PBS (pH 7.4) was used as electrolyte.

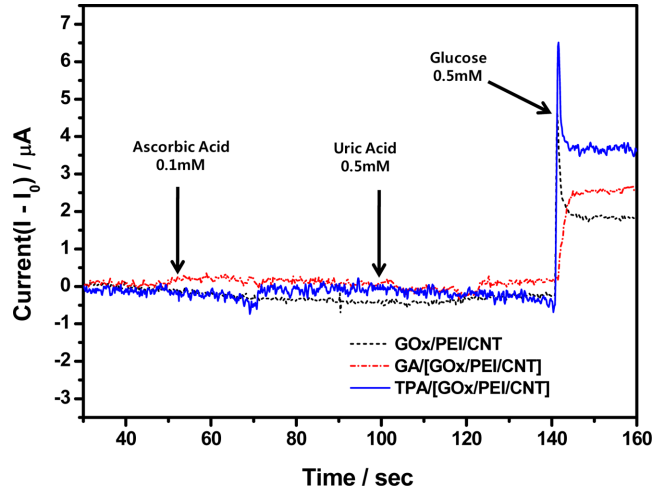


Fig. 5. Amperometric responses of the biosensor upon additions of glucose (0.5 mM), UA (0.5 mM), and AA (0.1 mM) in 0.1 M PBS at the working potential of -0.48 V.

상대비교가 가능한 저농도영역(0~1 mM)에서의 센싱 민감도는 GOx/PEI/CNT가 약 $31.9 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$, GA/[GOx/PEI/CNT]의 경우 $35.3 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$, TPA/[GOx/PEI/CNT]의 경우는 $41.1 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$ 로 가교결합이 된 촉매구조들의 민감도 향상 효과가 최대 30% 이상 개선됨을 확인하였으며, CNT 기반 GOx 다층구조(multilayer) 촉매 ($5.6 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$) [17] 및 CNT/CdTe/GOx 촉매($14.4 \mu\text{Acm}^{-2}\text{mM}^{-1}$) [18] 등 CNT 기반의 글루코스 센서 관련 선행연구에서 측정된 민감도에 비해 크게 개선되었다. 이에 반해, 저농도 영역에서 상대적으로 높은 센싱 민감도를 보인 GA/[GOx/PEI/CNT]는 8 mM 이상에서는 유의한 피크전류밀도상승을 보여주지 않아, 최대감지농도가 GOx/PEI/CNT에 비해 약화된 경향을 확인할 수 있는데, 이는 가교제가 기질(글루코스)의 효소로의 물질전달을 저해하는 일반적 경향에 기인하여, 최대감지능에 부정적 효과를 주는 것으로 판단된다. 즉, 저농도 영역에서는 GA에 의하여 담지체와 GOx의 화학적 결합에 의하여 직접전자전달을 촉진시켜 전자전달에 긍정적 영향을 줄 수 있으나, 일정농도 이상에서는 GOx의 활성부위를 GA가 막아, 물질전달 저해에 의한 부정적 효과가 더 큼을 확인 할 수 있다. 그러나, TPA에 의한 가교결합은 8 mM 이상의 농도에서도 지속적으로 상승하여, 20 mM 에서도 유의한 상승을 보여주는 등 오히려 GOx/PEI/CNT 비해 개선된 결과를 보여주는데, TPA에 의한 가교결합이 물질전달을 저해하지 않거나, 생성된 전자전달경로가 높은 전자전달로 물질전달 저해 효과를 상쇄시켜 주는 것을 확인할 수 있다. 즉, 물리적 흡착에 의한 GOx로 생성된 전자 중, 담지체(전극)로 이동하지 못했던 전자까지 전자전달경로를 통하여 전달되면서, 초기반응속도의 상승뿐만 아니라 절대적 전자전달량을 증가시키는 효과를 확인할 수 있다.

글루코스에 대한 선택도(selectivity)를 확인하기 위하여, 0.1 M PBS에 Ascorbic acid(AA) 0.1mM과 Uric acid(UA) 0.5 mM를 첨가한 후, amperometric response를 확인하였다. 세 촉매 모두 AA와 UA의 첨가에 대하여 특이적 변화를 보이지 않았으며, 글루코스(0.5 mM)에 대해서만 전류변화를 보여 우수한 선택적 반응성을 확인할 수 있었다. 글루코스 주입 시 GOx/PEI/CNT와 TPA/[GOx/PEI/CNT]는 즉각적으로 반응하여, 날카로운 피크를 보인 후, 안정한 전류를 생산하는데 비하여, GA/[GOx/PEI/CNT]는 피크 생성없이, 약

2초에 걸쳐 점진적으로 전류가 상승하는 현상을 보였다. 이 또한 GA의 물질전달 저해 현상을 뒷받침하는 증거이며, TPA는 저해효과가 없음을 다시 한번 확인할 수 있다.

반전지(half cell) Electrochemical impedance spectroscopy(EIS)를 사용하여 각 촉매의 전자전달저항(Charge Transfer resistance(R_{ct}))를 측정하였으며, 결과는 Fig. 6과 같다. CV 및 Amperometric response 실험 결과에서 예상된 바와 같이 각각 47.62Ω (GOx/PEI/CNT), 45.32Ω (GA/[GOx/PEI/CNT]), 43.59Ω (TPA/[GOx/PEI/CNT])로 전자전달경로가 생성된 TPA/[GOx/PEI/CNT]의 R_{ct} 가 가장 낮게 측정되었으며, GA/[GOx/PEI/CNT]도 GOx/PEI/CNT 보다 낮은 R_{ct} 를 나타내, GOx와 담지체의 직접전자전달을 촉진시켜 줌을 확인할 수 있었다.

3-3. 안정성 평가

GOx/PEI/CNT는 3주간 초기대비 20.4%의 활동도 감소를 나타냈으며, GA/[GOx/PEI/CNT] 및 TPA/[GOx/PEI/CNT]는 각각 12.1%, 5.4%의 활동도 감소를 확인하였다(Fig. 7). 즉, TPA/[GOx/PEI/CNT]는

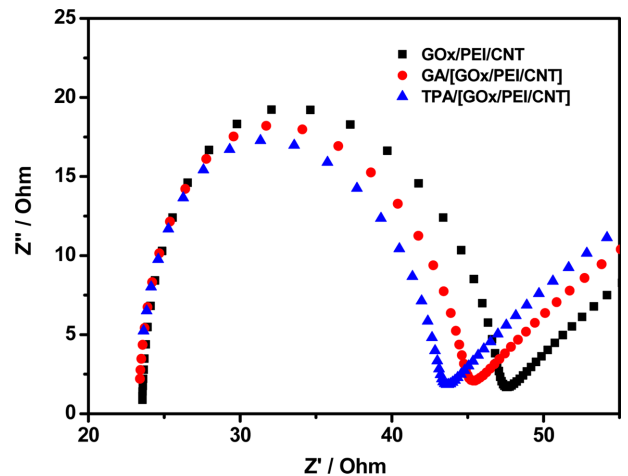


Fig. 6. Half cell EIS measurements of GOx/PEI/CNT, GA/[GOx/PEI/CNT] and TPA/[GOx/PEI/CNT].

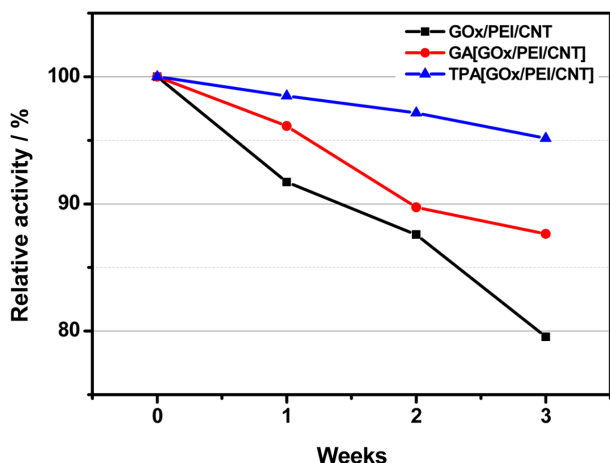


Fig. 7. Stability test results of GOx/PEI/CNT, GA/[GOx/PEI/CNT] and TPA/[GOx/PEI/CNT] during 3 weeks.

3주 후에도 초기 활성의 약 95%를 유지하며, 기존 고정화에 널리 사용되었던 GA보다도 높은 안정성 개선효과를 주는 것으로 확인되었다. 또한 GOx/CNT(초기 대비 86% 유지, 13일 후)[19] 및 Nafion/GOx/CNT(초기 대비 80% 유지, 20일 후)[20] 등 유사구조의 선행연구에 비하여 안정성이 획기적으로 개선되었다. 본 실험의 물리적 흡착에 사용된 PEI도 고정화된 단백질의 안정성 향상에 좋은 효과를 주는 것으로 알려져 있지만[21,22], 정전기적 인력에 의한 고정화 보다는 GA 및 TPA에 의한 화학결합이 GOx의 이탈 방지 및 활성 유지에 긍정적인 효과가 커, 안정성을 비약적으로 증가시키는 것으로 확인되었다.

4. 결 론

본 논문에서는 물리적 흡착으로 제조된 촉매(GOx/PEI/CNT)에 새로운 가교제인 TPA를 첨가하여 민감도 및 안정성이 개선된 촉매를 합성하고, 그 용도로 일반적으로 사용되고 있는 GA의 첨가 효과와 비교하였다. GA를 첨가한 촉매(GA/[GOx/PEI/CNT])의 경우, 저농도 영역에서의 전류밀도 상승효과를 확인할 수 있었으나, 응답시간 및 최대감지능에서 부정적 효과를 나타냄을 확인하였으며, TPA는 전자전달경로의 생성에 따라 기존 가교제의 단점을 효과적으로 개선할 수 있음을 확인하였다.

안정성 측면에서도 TPA를 첨가한 촉매(TPA/[GOx/PEI/CNT])가 가장 우수한 결과를 보였으며, 3주간 약 94.6%의 활성을 유지하여, GOx/PEI/CNT의 79.6% 대비 명확한 안정성 개선효과를 확인하였다.

감 사

이 논문은 2015년도 SL공사의 환경에너지대학원 인재양성 프로그램에서 지원 받아 수행된 연구임.

References

1. International Diabetes Federation, "Diabetes Atlas. 2nd ed.," International Diabetes Federation, 17-71(2003).

2. Yun, K. E., Park, M. J. and Park, H. S., "Lack of Management of Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetic Patients," *Int. J. Clin. Pract.*, **61**(1), 39-44(2007).

3. Bankar, S. B., Bule, M. V., Singhal, R. S. and Ananthanarayan, L., "Glucose Oxidase-an Over View," *Biotechnol. Adv.*, **27**, 489-501(2009).

4. Rad, A. S., Ardjmand, M., Jahanshahi, M. and Safekordi, A. A., "Self-assembly Electrode Based on Silver Nanoparticle Toward Electrogenerated Chemiluminescence Analysis of Glucose," *Korean J. Chem. Eng.*, **29**, 1063-1068(2012).

5. Park, H. G., Hwang, U. and Kim, I. H., "Biochemical Engineering, Energy/Environment: Purification Study of Glucose Oxidase from *Aspergillus Niger*," *Korean Chem. Eng. Res.*, **39**, 512-512(2001).

6. Kim, H., Jeong, N. J., Lee, S. J. and Song, K. S., "Electrochemical Deposition of Pt Nanoparticles on CNTs for Fuel Cell Electrode," *Korean J. Chem. Eng.*, **25**, 443-445(2008).

7. Yu H. R., Kim J. G., Im, J. S., Bae T. S. and Lee Y. S., "Effects of Oxyfluorination on a Multi-walled Carbon Nanotube Electrode for a High-performance Glucose Sensor," *J. Ind. Eng. Chem.*, **18**, 674-679(2012).

8. Sheldon, R. A., "Characteristic Features and Biotechnological Applications of Cross-linked Enzyme Aggregates (CLEAs)," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **92**, 467-477(2011).

9. Chung, Y., Hyun, K. H. and Kwon, Y., "Fabrication of Biofuel Cell Improved by π -conjugated Electron Pathway Effect Induced from a new Enzyme Catalyst Employing Terephthalaldehyde," *Nanoscale*. Accepted.

10. Hyun, K. H., Han, S. W., Koh, W.-G. and Kwon, Y., "Fabrication of Biofuel Cell Containing Enzyme Catalyst Immobilized by Layer-by-layer Method," *J. Power Sources.*, **286**, 197-203(2015).

11. Ramanavicius, A., Kausaite, A. and Ramanaviciene, A., "Biofuel Cell Based on Direct Bioelectrocatalysis," *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1962-1967(2005).

12. Kaczmarczyk, B., FTIR Study of Conjugation in Selected Aromatic Polyazomethines," *J. Mol. Struct.*, **1048**, 179-184(2013).

13. Kurihara, T., Oba, N., Mori, Y., Tomaru, S. and Kaino, T., "New Symmetrical Pi-conjugated Molecules Having Large Third-order Optical Nonlinearities," *J. Appl. Phys.*, **70**, 17-19(1991).

14. Dobrikov, G., "Photoluminescent Effects in Conjugated Polymer Layers," *Vacuum*, **76**, 227-230(2004).

15. Xiao, Y., Patolsky, F., Katz, E., Hainfeld, J. F. and Willner, I., "Plugging Into Enzymes": Nanowiring of Redox Enzymes by a Gold Nanoparticle," *Science*, **299**, 1877-1881(2003).

16. Zhang, S., Wang, N., Yu, H., Niu, Y. and Sun, C., "Covalent Attachment of Glucose Oxidase to an Au Electrode Modified with Gold Nanoparticles for Use as Glucose Biosensor," *Bioelectrochemistry*, **67**, 15-22(2005).

17. Yan, X. B., Chenn, X. J., Tay, B. K. and Khor, K. A., "Transparent and Flexible Glucose Biosensor Via Layer-by-layer Assembly of Multi-wall Carbon Nanotubes and Glucose Oxidase," *Electrochem Commun.*, **9**, 1269-1275(2007).

18. Liu, Q., Lu, X. B., Li, J., Yao, X. and Li, J. H., "Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Electrochemical Biosensing of Glucose on Quantum Dots/carbon Nanotubes Electrodes," *Biosens Bioelectron.*, **22**, 3203-3209(2007).

19. Hyun, K., Han, S. W., Koh, W.-G. and Kwon, Y., "Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase Immobilized on Carbon Nanotube

- for Improving Glucose Sensing," *International Journal of Hydrogen Energy*, **40**, 2199-2206(2015).
20. Cai, C. and Chen, J., "Direct Electron Transfer of Glucose Oxidase Promoted by Carbon Nanotubes," *Analytical biochemistry*, **332**, 75-83(2004).
21. Bahulekar, R., Ayyangar, N. R. and Ponrathnam, S., "Polyethyleneimine in Immobilization of Biocatalysts," *Enzyme Microb. Technol.*, **13**, 858-868(1991).
22. Xiong, M. P., "Poly(aspartate-g-PEI800), a Polyethylenimine Analogue of Low Toxicity and Gh Transfection Efficiency for Gene Delivery," *Biomaterials*, **28**, 4889-4900(2007).