



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2012년11월23일  
 (11) 등록번호 10-1203898  
 (24) 등록일자 2012년11월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 G01N 27/327 (2006.01) G01N 27/26 (2006.01)  
 G01N 33/48 (2006.01) B82B 3/00 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2008-0118399  
 (22) 출원일자 2008년11월26일  
 심사청구일자 2008년11월26일  
 (65) 공개번호 10-2010-0059577  
 (43) 공개일자 2010년06월04일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 KR100729147 B1\*  
 KR1020080009176 A\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
 고려대학교 산학협력단  
 서울 성북구 안암동5가 1  
 (72) 발명자  
 송민정  
 서울특별시 영등포구 디지털로49길 5 (대림동)  
 황성우  
 서울특별시 강남구 남부순환로 3032, 한보미도맨  
 션 105-1407 (대치동)  
 황동목  
 서울특별시 송파구 가락2동 극동아파트 4동 106호  
 (74) 대리인  
 특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 14 항

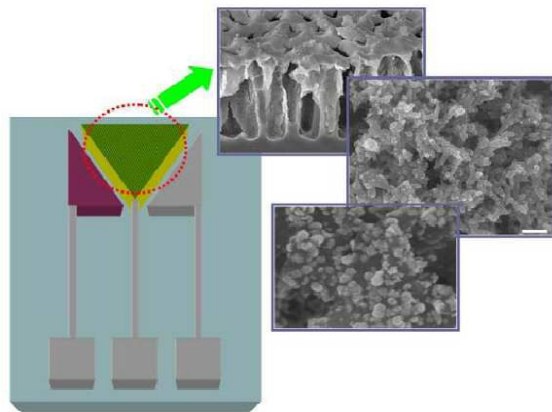
심사관 : 하정균

(54) 발명의 명칭 **전도성 고분자의 나노로드 구조를 포함하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서 및 그 제조 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서 및 그 제조 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서로서, 상기 작업 전극은 전도성 고분자의 나노로드(nanorod)를 포함하며, 효소가 고정되어 있는 것을 특징으로 하는데, 이에 따라 작업 전극의 면적을 극대화되어 디바이스 소형화에 따른 전극 면적의 축소 문제를 해결할 수 있으며, 감응 속도가 빠르고, 저농도의 글루코오스 까지 검출이 가능한 고감도 글루코오스 바이오센서를 제공할 수 있다.

**대표도** - 도1



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서로서, 상기 작업 전극은 골드(Au)층 상부에 형성된 전도성 고분자의 나노로드(nanorod)를 포함하며, 효소가 고정되어 있는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 2**

제 1항에 있어서, 상기 작업 전극은 다공성 실리콘 기재를 포함하는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 3**

제 2항에 있어서, 상기 실리콘 기재 상부에 골드(Au)층이 적층된 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 4**

제 3항에 있어서, 상기 실리콘 기재와 골드(Au)층이 사이에 티타늄(Ti)층이 적층된 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

제 1항에 있어서, 상기 전도성 고분자는 폴리아세틸렌(polyacetylene), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole), 폴리티오펜(polythiophene), 폴리설피르니트리드(poly sulfur nitride)로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 7**

제 1항에 있어서, 상기 효소는 글루코오스 옥시다아제인 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 8**

제 1항에 있어서, 상기 효소는 상기 전도성 고분자와 공유 결합을 통해 고정되어 있는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 9**

제 1항에 있어서, 상기 전도성 고분자의 나노로드에 백금(Pt) 나노입자가 삽입되어 분산되어 있는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 10**

제 9항에 있어서, 상기 백금(Pt) 나노입자의 크기는 50 nm 이내인 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 11**

제 9항에 있어서, 상기 효소는 상기 백금 나노입자의 표면에 고정되는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서.

**청구항 12**

기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서의 제조 방법에 있어서,

상기 작업 전극 상에 다공성 실리콘층을 형성하는 단계;

상기 다공성 실리콘층 상부에 전도성 고분자의 나노로드를 형성하는 단계; 및

상기 전도성 고분자의 나노로드와 효소를 결합시켜 고정하는 단계를 포함하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 제조 방법.

**청구항 13**

기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서의 제조 방법에 있어서,

상기 작업 전극 상에 다공성 실리콘층을 형성하는 단계;

상기 실리콘층 상부에 전도성 고분자의 나노로드를 형성하는 단계;

상기 전도성 고분자의 나노로드 사이에 백금(Pt) 나노입자를 분산시키는 단계; 및

상기 백금(Pt) 나노입자와 효소를 직접 결합시켜 고정하는 단계를 포함하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 제조 방법.

**청구항 14**

제 12항 또는 제13항에 있어서, 상기 다공성 실리콘층 상부에 골드(Au)층을 증착하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 제조 방법.

**청구항 15**

제 14항에 있어서, 상기 골드(Au)층 상부에 티타늄(Ti)층을 증착하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 제조 방법.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서 및 그 제조 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서로서, 상기 작업 전극은 전도성 고분자의 나노로드(nanorod)를 포함하며, 효소가 고정되어 있는 것을 특징으로 하는데, 이에 따라 작업 전극의 면적을 극대화되어 디바이스 소형화에 따른 전극 면적의 축소 문제를 해결할 수 있으며, 감응 속도가 빠르고, 저농도의 글루코오스 까지 검출이 가능한 고감도 글루코오스 바이오센서를 제공할 수 있다.

**배경기술**

[0002] 국내 바이오센서 중 90% 이상이 의료용 바이오센서로 혈당측정용이 대부분을 차지하고 있으며, 이러한 혈당 바이오센서의 국내 시장은 약 400억 원에 이르고, 당뇨병환자 수가 매년 늘어남에 따라 시장 규모도 지속 확대될 것으로 예측되고 있다.

[0003] 바이오센서는 특정 물질을 그와 반응할 수 있는 물질을 전극 표면에 고정화하여 이를 전기적 신호로 바꿔 그의 성분이나 정량 분석하는 시스템이다. 이러한 바이오센서에 있어서, 전극 표면에 고정화되는 반응 관련 물질의 양은 바이오센서의 감도에 영향을 미치는 중요한 요인들 중 하나이다. 그러나 최근 들어 바이오센서가 점차 소형화되어짐에 따라 특정 물질과 반응할 수 있는 물질들을 고정화할 수 있는 면적도 작아지면서 고감도의 소형화 센서 개발의 심각한 한계가 나타나고 있다.

[0004] 이런 한계를 극복하기 위해, 나노 기술을 접목한 센서들이 개발되고 있는데, 이런 센서들 중 하나가 나노로드를 이용한 것이다. 그러나 기존의 나노로드들은 대부분 반도체를 이용한 것으로 고온, 고압 하에서 고가의 장비를 이용하여 합성되어야 하며, 이와 같은 반도체 나노로드들의 대부분은 다공성의 멤브레인을 사용하지 않고서는 기관 위에서 수직으로 직접 합성하는 것이 쉽지 않다는 단점이 있었다. 반면 기존의 전도성 고분자를 이용한 바이오센서는 박막 구조가 많았으며, 이는 흡착을 이용하여 바이오 물질을 고정화함으로써 이들의 배향성 문제가 있었다. 또한 이들을 이용한 나노로드 바이오센서는 반도체 나노로드에 비하여 합성은 쉽지만 감도가 좋지 않은 문제점을 갖고 있었다.

[0005] 국내특허공개번호 제2000-8880호에는 고분자 음이온(AMPS)과 글루코오스 옥시다아제(GOD)를 접합시킨 단백질 복합체를 전도성 고분자의 도펀트로 이용한 글루코오스 센서가 개시되어 있다. 종래의 글루코오스 센서 제조에 사용된 단백질 고정화 방법의 문제점을 해결하기 위해, 상기 센서는 박막 전극 위에 고분자 박막 구조를 도핑한 형태의 센서 시스템을 구현하였다.

[0006] 또한 국내공개특허 제2005-104171호에는 Ag/AgCl 전극을 이용하여 글루코오스를 정량적으로 측정하는 방법이 개시되어 있으며, 국내공개특허 2004-26323호에는 중기공성 백금을 포함하는 바이오센서 및 이를 이용한 글루코오스 농도 측정방법이 개시되어 있다.

[0007] 그러나 상기 선행 발명들은 바이오센서에 효소를 고정화시킬 수 있는 전극 면적이 작아서 소형화가 어려울 뿐만 아니라 효소들의 배향성이 좋지 않기 때문에 전류의 흐름이 원활하지 않은 문제점이 있었다.

[0008] 한편 본 발명자는 특허등록 제10-729147호(등록일 2007. 6. 11)에서 고감도 바이오센서 및 이를 포함하는 복합 바이오센서에 관한 발명을 공개한 바 있다. 상기 발명은 본 발명과 같이 기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하며, 작업 전극의 상부에 효소고정부를 포함하는 바이오센서에 관한 것으로서, 작업 전극부를 복수개의 요철 형상으로 구성하여 표면적을 증가시킨 것이 특징이다. 이에 대한 후속 연구로서, 발명자는 바이오센서에 관한 연구를 계속 진행하여, 본 발명을 통해 작업 전극부에 나노로드 구조를 도입함으로써, 유효 작업 면적을 극대화시킬 수 있는 방법을 개발하였다.

### 발명의 내용

#### 해결 하고자하는 과제

[0009] 따라서 본 발명이 해결하고자 하는 첫 번째 과제는 작업 전극의 면적을 극대화함으로써 디바이스의 소형화에 따른 전극 면적의 축소 문제를 해결할 수 있으며, 감응 속도가 빠르고, 저농도의 글루코오스까지 검출이 가능한 고감도의 글루코오스 바이오센서를 제공하는 데 있다.

[0010] 본 발명이 해결하고자 하는 두 번째 과제는 상기 글루코오스 바이오센서를 제조하는 방법을 제공하는 데 있다.

#### 과제 해결수단

[0011] 상기 첫 번째 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서로서, 상기 작업 전극은 전도성 고분자의 나노로드(nanorod)를 포함하며, 효소가 고정되어 있는 것을 특징으로 하는 글루코오스 바이오센서를 제공한다.

[0012] 본 발명의 일실시예에 따르면, 상기 작업 전극은 다공성 실리콘 기재를 포함하는 것이 바람직하며, 상기 다공성 실리콘 기재의 공극의 깊이와 직경은 크기에 제한은 없으나 일반적으로 1 μm 내지 10 μm 정도이다.

[0013] 본 발명의 다른 일실시예에 의하면, 상기 실리콘 기재 상부에 골드(Au)층이 적층될 수 있으며, 상기 실리콘 기재와 골드(Au)층이 사이에 티타늄(Ti)층이 적층될 수 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 일실시예에 의하면, 상기 전도성 고분자의 나노로드는 상기 골드(Au)층 상부에 형성되는 것이 바람직하며, 상기 전도성 고분자는 예를 들어 폴리아세틸렌(polyacetylene), 폴리아닐린(polyaniline), 폴리피롤(polypyrrole), 폴리티오펜(polythiophene), 폴리설퍼니트라이드(poly sulfur nitride)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0015] 본 발명의 또 다른 일실시예에 의하면, 상기 효소는 글루코오스 옥시다아제일 수 있으며, 상기 효소는 상기 전도성 고분자와 공유 결합을 통해 고정된다.

[0016] 본 발명의 또 다른 일실시예에 의하면, 상기 전도성 고분자의 나노로드에 백금(Pt) 나노입자가 삽입되어 분산되어 있을 수 있으며, 상기 백금(Pt) 나노입자의 크기는 50nm 이내인 것이 바람직하다. 이와 같이 백금 나노입자가 분산된 바이오센서인 경우에, 효소는 상기 백금 나노입자의 표면에 고정된다.

[0017] 상기 두 번째 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서의 제조 방법으로서, 상기 작업 전극 상에 다공성 실리콘층을 형성하는 단계; 상기 다공성 실리콘층 상부에 전도성 고분자의 나노로드를 형성하는 단계; 및 상기 전도성 고분자의 나노로드와 효소를 결합시켜 고정하는 단계를 포함하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 제조 방법을 제공한다.

[0018] 또한 본 발명은 기준 전극, 상대 전극 및 작업 전극을 포함하는 글루코오스 바이오센서의 제조 방법으로서, 상

기 작업 전극 상에 다공성 실리콘층을 형성하는 단계; 상기 실리콘층 상부에 전도성 고분자의 나노로드를 형성하는 단계; 상기 전도성 고분자의 나노로드 사이에 백금(Pt) 나노입자를 분산시키는 단계; 및 상기 백금(Pt) 나노입자와 효소를 직접 결합시켜 고정하는 단계를 포함하는 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 제조 방법을 제공한다.

[0019] 본 발명의 일실시예에 의하면, 상기 다공성 실리콘층 상부에 골드(Au)층을 증착하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 상기 골드(Au)층 상부에 티타늄(Ti)층을 증착하는 단계를 더 포함할 수 있다.

**효과**

[0020] 본 발명에 따른 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서에 따르면, 다공성 실리콘 기체의 작업 전극상에 전도성 고분자의 나노로드 구조를 도입하여 작업 전극의 면적을 극대화함으로써, 디바이스의 소형화에 따른 전극 면적의 축소 문제를 해결할 수 있으며, 상기 나노로드 구조에 백금 나노 입자들을 분산시킴으로써 전자 전달 매개체로 그 감도를 크게 증가시킬 수 있다. 이에 따라 본 발명은 저농도의 글루코오스까지 검출이 가능하고, 빠른 감응시간을 갖는 고감도의 전기화학적 바이오센서를 제공한다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

[0021] 본 발명은 빠른 감응시간을 가지며, 저농도의 글루코오스까지 검출할 수 있는 고감도의 전기화학적 바이오센서 및 그 제조 방법에 관한 것이다. 본 발명은 나노테크놀로지와 바이오테크놀로지를 접목시킨 것을 특징으로 한다. 구체적으로 센서의 소형화에 따른 작업 전극 부분의 면적 증가를 위해 맵스 기술을 바탕으로 실리콘 기판을 이용하여 다공성 구조를 도입하였으며, 상온, 상압에서의 전기화학적 방법을 이용하여 전도성 고분자로 나노로드를 합성하여 그 면적을 극대화시켰다.

[0022] 또한 본 발명은 전도성 고분자 위에 백금 나노입자들을 분산시킴으로써 화학반응에 의해 생성된 전자 전달의 매개체 역할을 하도록 했다. 이렇게 준비된 전극 위에 공유결합 방법을 이용하여 바이오물질인 효소를 고정화함으로써 빠른 감응 시간과 저농도까지 감지할 수 있는 고감도의 바이오센서를 구현했다.

[0023] 도 1은 본 발명에 따른 바이오센서의 구조도이다. 도면에서 가운데 부분이 작업 전극이며, 다공성 실리콘 기체에 골드 박막을 증착한 후 전도성 고분자 나노로드를 형성하고, 그 위에 백금 나노입자를 분산시켰다. 상기 도면의 SEM 사진들은 작업 전극의 다공성 실리콘 구조에 골드 박막을 증착한 것과 전도성 고분자 나노로드, 그 위에 백금 나노 입자를 분산시킨 것이다. 한편 작업 전극의 좌측 전극은 Ag/AgCl의 기준 전극이고 우측 전극은 백금(Pt) 상대전극을 나타낸다.

[0024] 본 발명에서 이용된 금속 나노입자들이 분산된 전도성 고분자 나노로드의 다공성전극은 박막 구조의 전도성 고분자 평면 전극에 비해 전극 면적이 4.31배 증가하였으며, 이에 따라 바이오물질을 고정화할 수 있는 면적이 극대화되고, 금속 나노입자들을 전도성 고분자 위에 분산시킴으로 화학반응에서 생성된 전자 전달 효과를 증가시켜 감도에 있어 22.1배의 증가를 보였다. 또한 공유결합을 이용하여 바이오 물질을 고정화함으로써 배향성을 증진시키고, 10초 이내의 빠른 감응 속도를 가지며, 낮은 농도 구간까지의 검출을 가능하게 하였다. 따라서 본 발명은 고감도의 소형화 센서 개발의 기반 기술이 될 수 있을 것으로 예상된다.

[0025] 이하, 바람직한 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명하지만, 본 발명이 이에 의해 제한되는 것은 아니다.

**[0026] 실시예 1 : 전도성 고분자의 나노로드를 포함하는 실리콘 전극의 제조**

[0027] 먼저, 기체로 사용할 다공성 실리콘을 제조했다. 구체적으로, HF:C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH:H<sub>2</sub>O 용액(1:3:2 혼합액)을 사용하여 전류밀도 -6 mA/cm<sup>2</sup> 로 40분간의 애노드 에칭 과정을 통해 작업 전극 상에 다공성 실리콘층을 형성했다. 공극의 깊이와 직경은 각각 약 5 μm와 2 μm였다.

[0028] 다음 전도성 고분자의 나노로드를 포함하는 전극의 제조 단계는 다음과 같다. 먼저 골드 박막 증착에 앞서, 다공성 실리콘과 평면 실리콘 기체상에 RF 스퍼터링을 이용하여 티타늄(Ti)층 200Å을 증착했다. 그 후, 티타늄층이 적층된 전극에 골드(Au)층을 증착하여, 평면 골드 전극과 다공성 골드 전극을 각각 표시했다. 일반적으로 티

타늄은 하부층으로 사용되어 골드 박막과 실리콘 기재 사이의 접착 강도를 증진시킨다.

[0029] 다음으로, 일정 전압하에서 전기화학적 증착법을 사용하여 아닐린 중합이 수행되었다. 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 0.1 M 아닐린을 포함하는 전해질 용액에서 0.75 V 조건으로 720초동안 평면 실리콘 및 다공성 실리콘 기반의 골드 전극상에 폴리아닐린 나노로드를 전기화학적으로 증착했다. 그 후 증류수로 세척한 다음 40℃ 오븐에서 하룻동안 건조시켰다.

[0030] 실시예 2: 백금 나노입자 분산 단계

[0031] 상기 실시예 1에서 얻어진 평면 골드/폴리아닐린 나노로드와 다공성 골드/폴리아닐린 나노로드로 변형된 각 전극을 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 와 2.0 mM K<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub> 중에서 다중순환 전압전류방법(multi-cyclic voltammetry: CV)을 이용하여 50 mV s<sup>-1</sup> 속도로 0.40 내지 -0.25 V 전압 조건에서 처리하여 폴리아닐린 나노로드 중에 백금(Pt) 나노클러스터를 삽입시켰다. 이에 따라 골드/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자를 포함하는 평면 실리콘 전극 및 다공성 실리콘 전극이 각각 형성되었다. 최적화된 사이클수는 약 30이었다.

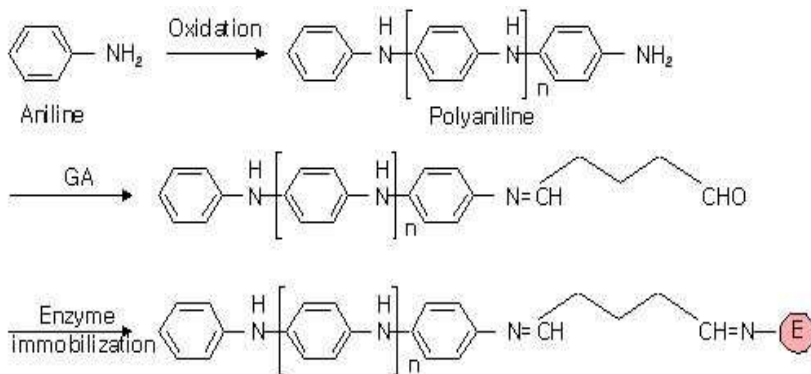
[0032] 도 2은 골드/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자를 포함하는 다공성 전극의 구성도이다. 도면에서 우측 상부 그림은 본 발명에 따라 변형된 작업 전극의 구조를 나타낸 것이고, 우측 하부의 사진은 백금 나노입자를 갖는 폴리아닐린 나노로드 상의 표면 SEM 이미지이다(scale bar: 100 nm). 본 실시예에서 측정된 백금 나노입자의 크기는 30 내지 40 nm였다.

[0033] 실시예 3: 효소 고정 단계

[0034] 폴리아닐린 나노로드로 변형된 골드 전극상에 효소를 고정했다. 하기 반응식에는 글루코오스 옥시다제이의 고정 과정을 주는 반응식이 도시되어 있다.

[0035] 하기 반응식 1에 따라, 먼저 백금(Pt) 입자가 없는 상태에서, 효소와 폴리아닐린을 결합시키기 위해 골드/폴리아닐린 나노로드 전극을 글루타알데히드(GA)로 처리한 다음 증류수로 행구고, 질소 가스 퍼지하에 건조시켰다. 다음 단계로, 효소를 포함하는 50mM 인산완충용액(pH 7.0)에 24시간동안 전극을 담금으로써 효소 분자의 N-말단과 글루타알데히드로 활성화된 전극 사이에 아마이드 결합을 형성시켰다.

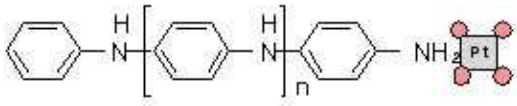
[0036] [반응식 1]



[0037]

[0038] 한편 백금(Pt) 나노입자가 분산된 전극의 경우, 하기 반응식 2와 같이 글루타알데히드로 변형시키는 과정 없이 흡착에 의해 효소가 백금(Pt) 입자의 표면상에서 직접 고정된다.

[0039] [반응식 2]



[0040]

[0041] 상기 효소층이 형성된 후에는, 흐르는 인산완충용액으로 행구어 잔류하는 단량체 또는 약하게 결합된 효소 분자들을 제거했다.

[0042] 시험예 1: 전극 구조의 형태 분석

[0043] 본 발명에 따라 계층 구조를 갖는 다공성 전극의 제조에 있어서, 각각의 전기화학적 과정에서의 표면 구조는 SEM에 의해 분석되었으며, 측정된 이미지는 도 3 및 도 4에 나타내었다. 도 3b에 보여지는 바와 같이, 다공성 실리콘층이 작업 전극에서 형성되었고, Ti/Au 층이 다공성 실리콘 기재상에 스퍼터링되어 있다. Ti층의 두께와 골드(Au) 박막층의 두께는 각각 200Å 과 2000Å이었다.(Scale bar: A 5μm , B 1μm)

[0044] 도 4는 백금 입자의 전기화학적 증착 전후의 폴리아닐린 나노로드의 SEM 이미지를 나타낸다.(Scale bar 1μm ) 도 4A는 직경이 약 200nm인 얽힌(entangled) 폴리아닐린 나노로드가 표면상에 형성된, 넓은 표면적을 갖는 3차원 나노다공성 구조를 보여준다. 계층 구조를 갖는 다공성 전극은 다공성 실리콘의 미세기공들로 구성되어 있으며, 폴리아닐린 나노로드의 나노다공성 네트워크는 다수의 백금 나노입자들과 효소 고정을 위한 이상적인 표면을 제공할 뿐만 아니라, 활성 부위에 분석체를 더 많이 수송할 수 있고 더 쉽게 접근시킬 수 있다. 도 4B에서 확인할 수 있는 바와 같이, 백금 나노입자들은 폴리아닐린 나노로드 표면에 잘 분산되어 부분적으로 삽입되어 있다. 이와 같이 잘 분산된 백금(Pt) 나노촉매는 효소 반응에 의해 생성된 과산화수소의 전기적 산화를 위한 전기촉매적 활성을 증가시킬 수 있다.

[0045] 시험예 2: 유효 전극 면적 비교 실험

[0046] 하기 실험에서, 모든 전류의 측정은 3개의 전극 셀이 연결된 auto-lab microAUTOBIII(Eco Chemie, 네덜란드)로 측정되었다. 3개의 전극 시스템은 백금(Pt) 상대전극, SCE 기준전극 및 평면 실리콘 또는 다공성 실리콘 기반의 골드 작업 전극으로 구성된다.

[0047] 변형 전극의 유효 작업 면적은 Randles' slope로부터 계산되었으며, 그 결과는 표 1에 요약되어 있다. 하기 결과는 나노로드 구조와 다공성 기재의 유효 표면이 박막 구조나 평면 기재의 표면에 비해 넓다는 것을 보여준다. 또한 전도성 고분자의 금속 나노입자는 전극의 유효 표면적을 더욱 증가시켰다. 하기 결과에 의하면 계층 구조를 갖는 다공성 전극(다공성 골드/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자)이 동량의 평면 골드 전극보다 5.48배 넓은 활성 면적을 갖는 것으로 나타났다.

**표 1**

[0048]

전 극	Linearity (R <sup>2</sup> )	Randles' slope	유효전극면적 (cm <sup>2</sup> )
평면 골드(Au)	0.99584	0.14536	0.6199
평면 골드/폴리아닐린 박막	0.99543	0.18464	0.7874
평면 골드/폴리아닐린 나노로드	0.99953	0.38255	1.6313
다공성 골드(Au)	0.99921	0.30519	1.3014
다공성 골드/폴리아닐린 나노로드	0.99356	0.77831	3.3189
다공성 골드/폴리아닐린 나노로드/백금나노입자	0.99562	0.79611	3.3948

[0049] 도 5는 백금(Pt) 분산된 계층 구조를 갖는 다공성 전극(다공성 골드/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자)을 포함하여 4가지 다른 유형의 전극에 대한 교정 곡선을 나타낸다. 도 5에서 (A)는 평면 골드(Au) 전극, (B)는 평면 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자 전극, (C)는 다공성 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드 나노입자 전극 및 (D)는 다공성 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자 전극의 교정 곡선을 나타낸다.

[0050] 시험예 3: 감도(Sensitivity) 비교 실험

[0051] 하기 표 2는 각 전극에 대한 글루코오스 농도의 결정 결과를 나타낸다. 하기 표에 나타난 바와 같이, 다공성 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자 센서는 평면 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드 센서보다 22.1배 더 민감하다.

**표 2**

전 극	농도 범위 (mM)	감도 ( $\mu A/mM$ )	상관계수 ( $R^2$ )
평면 골드/폴리아닐린 나노로드	0.6 ~ 10	1.61	0.9992
평면 골드/폴리아닐린 나노로드/백금나노입자	0.3 ~ 2.5	7.28	0.9986
다공성 골드/폴리아닐린 나노로드	0.15 ~ 5	13.66	0.9983
다공성 골드/폴리아닐린 나노로드/백금나노입자	0.0092 ~ 5	35.64	0.9996

[0053] 센서의 시그널은 필수적으로 센서 표면상의 고정된 효소의 양에 의존한다. 제한된 반응성을 갖는 글루코오스 옥시다아제 효소의 기능을 고려할 때, 본 발명에 따른 센서의 고감응성은 활성 표면의 확대에 의해 평면 전극 보다 다공성 전극에서 더 많은 효소가 고정 수 있다는 사실을 나타내는 결과이다. 또한 본 실시예에 의하면 전극에 잘 분산된 고밀도 백금 나노입자는 고르고 넓은 활성표면을 제공할 수 있고, 효소 반응에 의해 생성된 과산화수소의 전기적-산화를 위한 촉매 활성에서도 중요한 역할을 한다는 사실을 알 수 있다. 또한 나노구조화된 전도성 고분자는 전자 이동, 금속 입자의 분산 및 글루코오스 옥시다아제 고정을 위한 매트릭스로서 역할을 하는 것으로 추정된다.

[0054] 시험예 4: 효소 전극의 안정성 측정

[0055] 효소 전극의 안정성은 1mM 글루코오스를 포함하는 0.1M 인산완충용액 중에서 0.6 V 조건으로 시험되었다. 시험 결과 센서의 반응성이 초기 반응값의 80%까지 45일간 유지된다는 것을 보여주었다. 이와 같이 본 발명의 우수한 저장성은 백금(Pt)이 분산된 고밀도 다공성 표면이 고정된 효소와 상용가능할 뿐만 아니라, 글루코오스의 생물학적 활성의 유지를 용이하게 한다는 것을 암시한다.

**도면의 간단한 설명**

[0056] 도 1은 본 발명에 따른 고감도 다공성 글루코오스 바이오센서의 구조도 및 SEM 이미지이다.

[0057] 도 2는 본 발명에 따른 골드/폴리아닐린 나노로드 및 골드/폴리아닐린/백금 나노입자를 포함하는 다공성 전극의 단면도와 SEM이미지이다.

[0058] 도 3은 본 발명에 따라 계층 구조를 갖는 다공성 전극의 제조 과정에서의 표면 구조의 SEM 이미지이다.

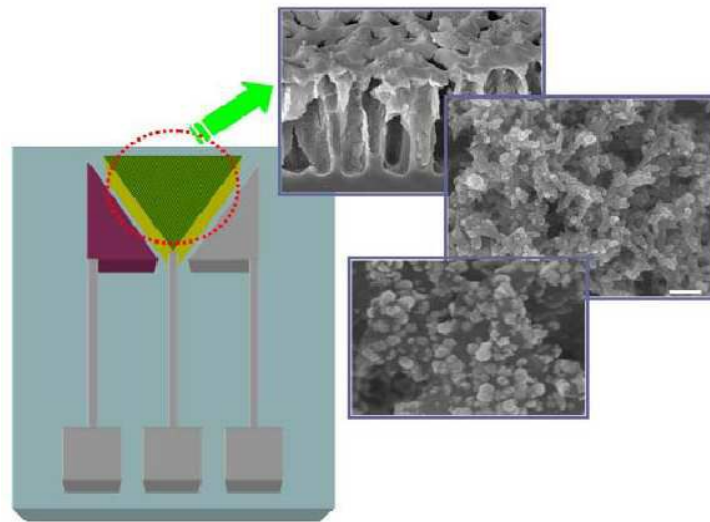
[0059] 도 4는 본 발명에 따른 백금 입자의 전기화학적 증착 후의 폴리아닐린 나노로드의 SEM 이미지를 나타낸다. (Scale bar: 1 $\mu$ m )

[0060] 도 5는 백금(Pt) 분산된 계층 구조를 갖는 다공성 전극(다공성 골드/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자)을 포함하여 4가지 다른 유형의 전극에 대한 교정 곡선을 나타낸다. 도 5에서 (A)는 평면 골드(Au) 전극, (B)는 평면 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자 전극, (C)는 다공성 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드 나노입자 전극 및 (D)는 다공성 골드(Au)/폴리아닐린 나노로드/백금 나노입자 전극의 교정 곡선을 나타낸다.

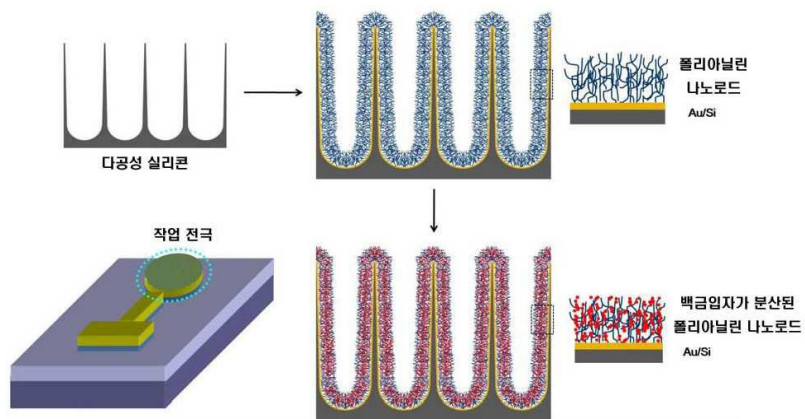


도면

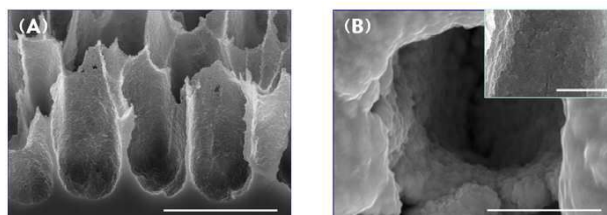
도면1



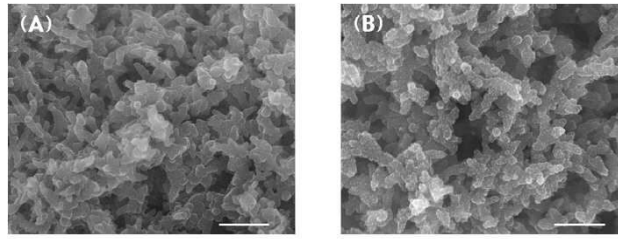
도면2



도면3



도면4



도면5

