포도당 산화효소가 고정화된 Popyrrole Nanotubules 효소전극의 전기화학적 특성

Electrochemical Properties of Polypyrrole Nanotubules Enzyme Electrode Immobilized with Glucose Oxidase

김현철*, 구할본*, 사공 건**
(Hyun-Cheol Kim*, Hal-Bon Gu*, Geon Sa-Gong**)

Abstract

We synthesized polypyrrole (PPy) nanotubules by oxidative polymerization of the pyrrole monomer within the pores of a polycarbonate template. The electrochemical behavior was investigated using cyclic voltammetry. The redox potential was about -0.5 V vs. Ag/AgCl reference electrode, while the potential was about 0 V for PPy film. It is considered as the backbone grows according to the pore wall. Therefore, it is possible to be arranged regularly. That leads to improvement in the electron hopping.

By electrochemical doping of glucose oxidase (GOx) on PPy nanotubules, an enzyme electrode has been fabricated. The kinetic parameter of biochemical reaction with glucose was evaluated. The formal Michaelis constant and maximum current calculated by computer were about 11.4 mmol dm^3 and 170.85 μA respectively. Obviously, an affinity for the substrate and current response of the PPy nanotubules enzyme electrode are rather good, comparing with that of PPy film.

Key Wards(중요용어) : Polypyrrole(폴리피롤), Nanotubules(나노튜블), Enzyme electrode(효소전극), Glucose oxidase(포도당 산화효소), Michaelis constant(기질친화력)

1. 서 론

효소를 이용하는 바이오센서의 연구에 있어서, 전극물질에 효소를 고정화시킨 효소전극은 효소의 안정성, 가수분해로부터 효소의 보호 및 열화의 방지라는 장점을 가지고 있기 때문에 폭넓게 연구되고 있다.[1] 효소전극의 제조에 대한 요소기술은 첫째, 생화학적 반응의 증진을 위한 고정화양의 향상이고, 둘째, 기질과의 반응에 의한 응답전류의 증가이다. 또한, 고정화된 효소의 실효활동도 손실을 최소화하기 위하여 전극의 표면에 효소를 고정화시켜야 한다. 이러한 목적을 달성하기 위하여 다양한 방법으로 효소전극에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

효소 고정화양의 향상에 관하여, gel matrix법과 cross-linking법은 대체로 성공적인 방법이다. 그러나 이러한 방법들은 전극표면으로 기질의 확산이 제한되거나, 효소에 손상을 야기하여 실효활동도가 감소하며, 특히 cross-linking에 의한 방법은 고정화의 강도가 약하다는 문제점을 포함하고 있다.[2] 한편, 도전성 고분자에 전해중합으로 효소를 고정화시키는 연구도 폭넓게 진행되고 있지만, 고정화양의 향상이 고분자 필름의 성장에 역효과를 초래하기 때문에 고정화양의 증대에 제약이 있다. 이 문제를 개선하기 위하여 다양한 방법이 시도되고 있지만, 응답전류와 실효활동도 측면에서 볼 때, 현재까지는 주목할만한

* 전남대학교 전기공학과
(광주광역시 북구 용봉동 300, Fax: 062-530-1749
E-mail : hckim@hosanna.net)
**동아대학교 전기공학과

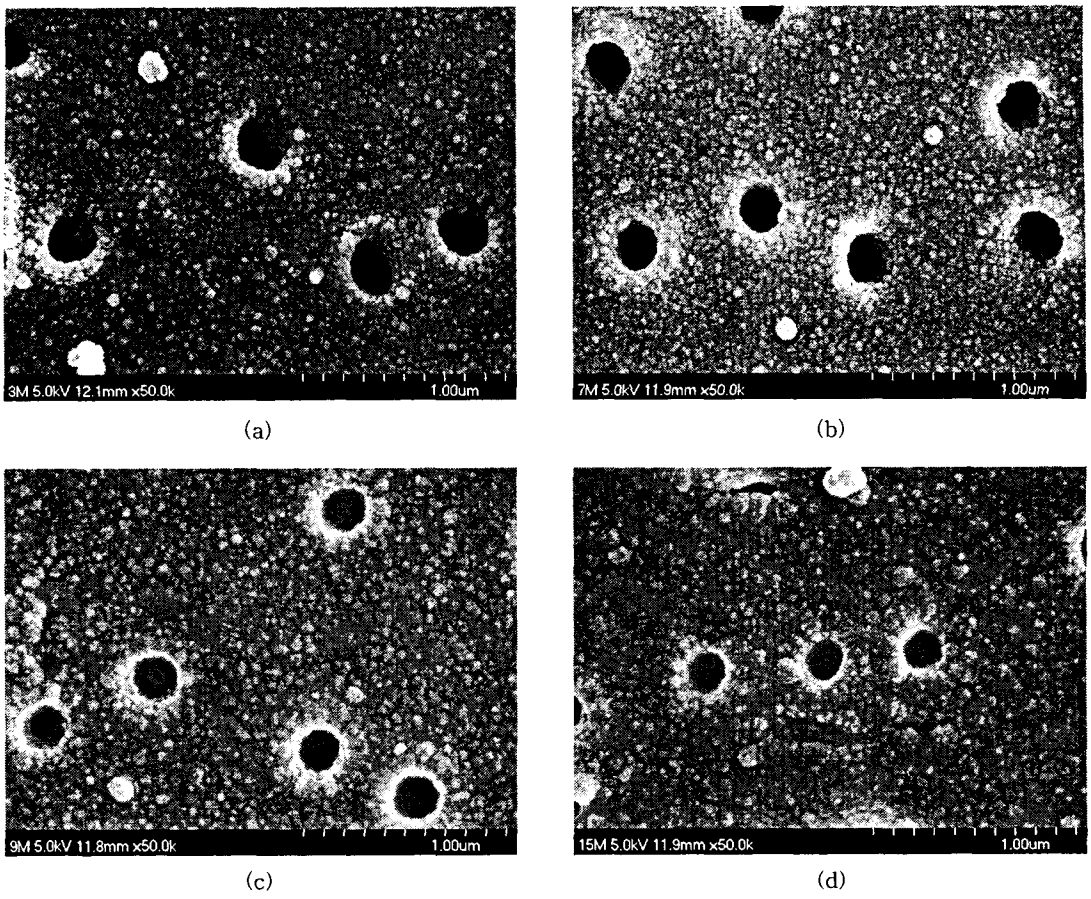


그림 1. PPy nanotubules의 FE-SEM 사진. (a) 중합시간 3분. (b) 중합시간 7분. (c) 중합시간 9분. (d) 중합시간 15분.

Fig. 1. FE-SEM photographs of PPy nanotubules. (a) Polymerization for 3 min. (b) For 7 min. (d) For 9 min. (d) For 15 min.

성과가 없다.

따라서, 우리는 효소의 실효활동도 증대와 이에 따른 기질친화력의 향상을 도모하고, 아울러 높은 응답전류의 달성을 목적으로 template를 이용하여 합성한 polypyrrole nanotubules에 포도당 산화효소를 전기화학적으로 고정화하여 효소전극을 제조하였다. 본 연구에서는 PPy nanotubules의 전기화학적 특성과 효소전극으로써 포도당 주입에 따른 전류응답 특성에 대하여 발표한다.

2. 실험 방법

PPy nanotubules의 합성을 위한 templae로는 pore 0.4㎛인 particle track-etched polycarbonate membrane (PT-PCM)을 사용하였다. 먼저 0.1 mol dm^{3} pyrrole 용액에 PT-PCM을 넣고, 산화제로 0.5 mol dm^{3} $FeCl_3$ 용액을 넣어 PT-PCM의 pore 벽에 PPy nanotubules를 합성하였다. 합성 후, methylene chloride에 넣어 PT-PCM를 녹이고, In_2O_3-SnO_2 (ITO) 코팅 유리에 부착시켜 사용하였다.

PPy nanotubules의 표면구조는 field emission SEM (Hitachi S-4700)을 이용하여 관찰하였다.

PPy nanotubules의 산화환원 거동을 연구하기 위하여 0.5 mol dm^{3} KCl 용액에서 순환 전압전류 특성을 관찰하였다.

효소전극은, ITO 유리전극에 부착된 PPy nanotubules를 2㎎/㎖의 포도당 산화효소를 포함하는 phosphate 완충용액(pH 8.00)에서 20분간 전기화학적으로 도핑하여 제조하였다. 참조전극으로 Ag/AgCl, 대향전극으로 백금선을 사용하여 0.7V의

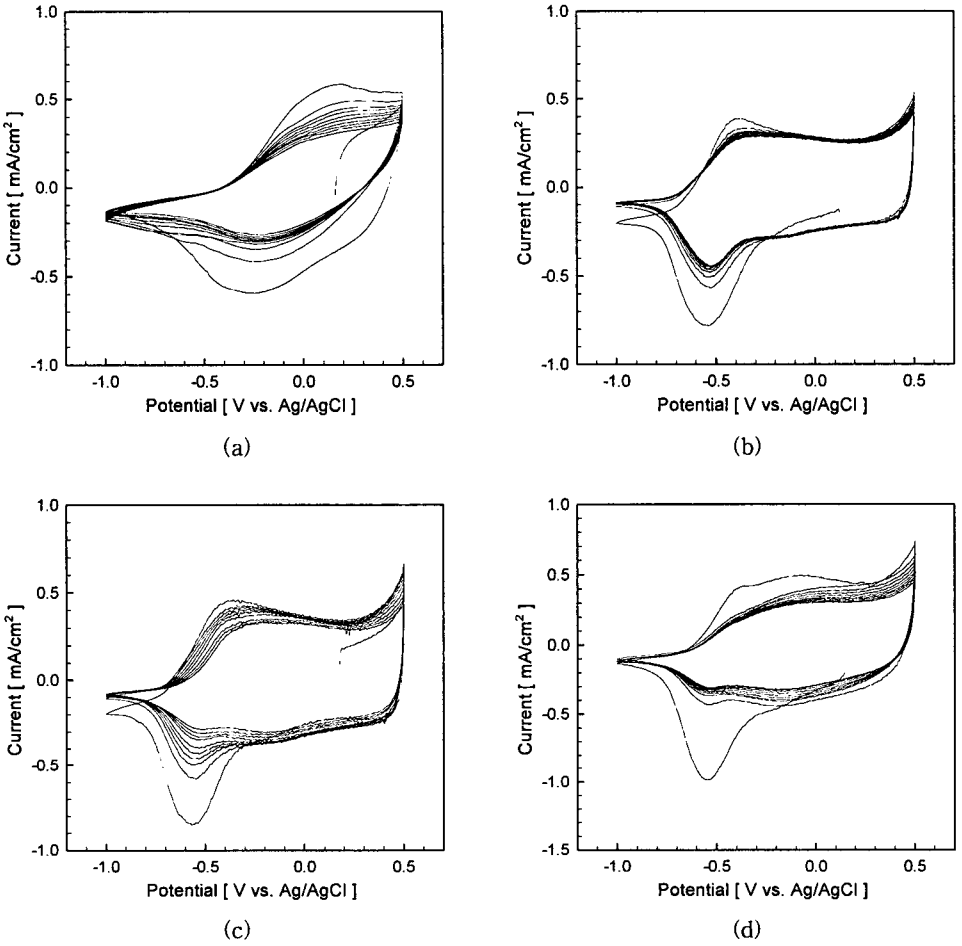


그림 2. PPy 필름 및 PPy nanotubules의 순환 전압전류 특성. (a) PPy 필름. (b) 7분 중합한 PPy nanotubules. (c) 9분 중합한 PPy nanotubules. (d) 15분 중합한 PPy nanotubules.

Fig. 2. Cyclic voltammograms of PPy film and PPy nanotubules. (*a*) PPy film. (b) PPy nanotubules synthesized for 7min. (c) PPy nanotubules synthesized for 9min. (d) PPy nanotubules synthesized for 15min.

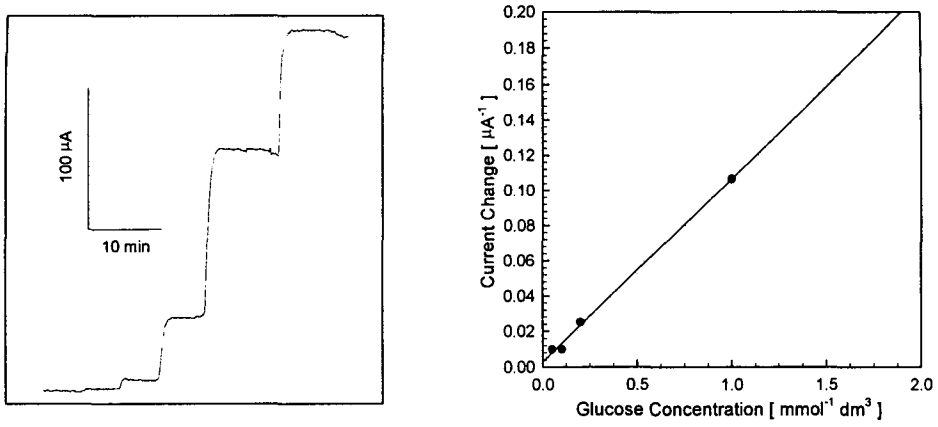
포텐셜을 인가하였다.

포도당 주입에 따른 효소전극의 전류응답은 1mmol dm^{-3} *p*-quinone을 포함하는 phosphate 완충용액(pH 7.00)에서 +0.35V의 포텐셜로 amperometric 방법을 이용하여 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

그림 1은 본 연구에서 합성한 PPy nanotubules의 미세 표면구조를 보여준다. 그림에서 알 수 있듯이 중합시간이 길수록 tubules의 두께가 두꺼워지며, pore를 채우게 되면 그림 1(d)와 같이 nanowire로 성장하게 된다. 본 연구에서 합성한 PPy nanotubules의 외경은 400nm이고, 내경은 중합시간에 따라 감소하여 250nm에서 20nm까지 관찰할 수 있었다.

그림 2는 PPy 필름과 nanotubules의 순환 전압전류 특성이다. PPy 필름의 전형적인 산화환원 거동은 그림 2(a)와 같다. 그림에서 알 수 있듯이 산화환원 피크는 0V 근처에서 나타난다. 한편, tubules 구조를 갖게 되면 그림 2(b), (c)와 같이 산화환원의 faradic 반응이 -0.5V에서 활발히 일어나 피크를 형성한다. 그 이후, +0.5V까지는 이중층 충전에 해당하는



(a) (b)

그림 3. 포도당 용액 주입에 따른 PPy nanotubules 효소전극의 전류응답 특성. (a) 포도당 감지전류, 주입된 포도당 농도는 각각 0.5, 1, 5, 10 및 20 mmol dm^{-3}. (b) Lineweaver-Burke plot.

Fig. 3. Current response of PPy nanotubules enzyme electrode. (a) Glucose sensing current according to injection of different concentration glucose solution. The concentration is 0.5, 1, 5, 10 and 20 mmol dm^{-3}. (b) Lineweaver-Burke plot.

capactive 영역이다. 이와 같이, tubules 구조에서 산화환원 포텐셜이 낮아지는 것은 PPy의 주쇄가 template를 따라 성장함으로써, π 공역계의 발달이 증대되고 또한 전자의 호핑 메카니즘에 개선을 가져오기 때문이다. 그림 2(b), (c) 및 (d)에서 주목할 만한 것은 중합시간의 증가로 tubules의 내경이 작아지고, 마침내 wire가 형성됨에 따라 PPy 필름에서 관측할 수 있었던 0V 근처의 산화환원 피크가 형성되기 시작한다는 것이다. 그래서 wire가 비교적 많이 형성된 그림 1(d)의 경우에는, 그림 2(d)에서 볼 수 있듯이 -0.5V의 피크와 0V의 피크가 공존하게 된다.

그림 3은 본 연구에서 제조한 PPy nanotubules 효소전극의 포도당 감지에 대한 전류응답과 Lineweaver-burke plot을 보여준다. 그림 3(a)에서 포도당 주입 후 수 분 이내에 정상상태에 도달하는 것을 볼 수 있다. 또한 응답전류의 크기도 필름상태의 PPy에 비하여 5배에서 많게는 100배정도 증가하는 것을 알 수 있다. 한편, 그림 3(b)를 이용하여 컴퓨터로 계산한 겉보기 Michaelis 상수 K_M과 최대전류 i_{max}는 각각 11.4 mmol dm^{-3} 과 170.85 μA이었다. 이 결과에서 알 수 있듯이 우수한 기질친화력과 생화학적 반응속도를 얻었다. 이러한 결과는 nanotubule의 얇은 관벽에 효소가 고정화됨으로 전극의 표면부에 고정화가 가능하고, 무엇보다도 효소의 활동지점으로 기질의 확산과 생성물의 제거가 원할하게 진행되기 때문이다. 또한 PPy nanotubules의 개선된 전자호핑 기구도 응답전류 향상에 상승효과를 부여한다.

4. 결 론

우리는 본 연구를 통하여 PPy nanotubules를 합성하고, 전기화학적으로 효소를 고정화시킴으로써 효소전극을 제조하였다. PPy nanotubules의 전기화학적 실험을 통하여 전자의 호핑이 개선됨을 보였으며, 얇은 pore 벽에 효소가 고정화됨으로써 기질과 생성물의 확산이 개선되고 효소의 실효 활동도의 손실을 최소화할 수 있음을 보였다. 또한 기질에 대한 효소의 친화력이 증대되었다. 따라서, 우리는 PPy nanotubules가 효소전극으로서 우수한 특성을 발현하는 것을 본 논문을 통하여 발표한다.

참고 문헌

[1] M. P. Byfield and R. A. Abuknesha, "Biochemical aspects of biosensor", Biosensors & Bioelectronics, Vol. 9, pp. 373-400, 1994.

[2] Brian R. Eggins, Biosensor: an Introduction, Wiley and Teubner, New York, 1996.