

## 바이오 센서용 CNT/TiO<sub>2</sub> 나노 복합 전극의 전기화학적 특성

김한주 · 유선경 · 오미현 · Qin Shen<sup>†</sup> · Xuemei Wang<sup>†</sup> · 박수길\*

충북대학교 공업화학과

<sup>†</sup>State Key Laboratory of Bioelectronics, Southeast University, Nanjing 210096, China

(2008년 3월 18일 접수 : 2008년 4월 28일 채택)

## Electrochemical Characteristics of CNT/TiO<sub>2</sub> Nanocomposites Electrodes for Cancer Cell Sensor

Han-Joo Kim, Sun-Kyung You, Mi-Hyun Oh, Qin Shen<sup>†</sup>, Xuemei Wang<sup>†</sup>, and Soo-Gil Park\*

Department of Industrial Chemical Engineering, Chungbuk University, Korea

<sup>†</sup>State Key Laboratory of Bioelectronics, Southeast University, Nanjing 210096, China

(Received March 18, 2008 : Accepted April 28, 2008)

### 초 록

최근, 증폭되는 관심은 창조적인 방법에 따른 CNTs의 합리적인 기능화에 집중하고 있다. 하지만 CNTs의 적지 않은 독성은 아직 논쟁의 이슈가 되어 그 생물학적 응용이 제한되어왔다. CNT의 생체 적합성을 개선하기 위해 본 연구에서는 CNT와 유기적인 티타늄을 시작 물질로 나노 혼성의 CNT-TiO<sub>2</sub>를 제조하여 전기화학적 거동을 고찰하였다. 본 연구는 개질 된 접촉면이 이질의 전자 전송율을 가속하고, 그 결과, 관련 검출감도를 강화할 수 있었음을 확인하였다. 또한 암의 초기 진단을 위한 생물학적 적합성으로 멀티신호의 민감한 바이오센서의 개발에 새로운 전략으로서 그 잠재력의 응용을 제안하고자 한다.

**Abstract :** In the recent years, increasing interests are being focused on the rational functionalization of the CNTs by some creative methods. However, the considerable toxicity of CNT is still a controversial issue and limits its biological application. To improve the biocompatibility of CNT, in this work we prepared CNT-TiO<sub>2</sub> nanocomposites with CNT and organic titanium precursors. Our observations demonstrate that the modified interface could accelerate the heterogeneous electron transfer rates and thus enhance the relevant detection sensitivity, suggesting its potential application as the new strategy for the development of the biocompatible and multi-signal responsive biosensors for the early diagnosis of cancers.

**Keywords :** CNT-TiO<sub>2</sub> nanocomposites, Electrochemistry, Cancer cell, Bioanalysis.

### 1. 서 론

지난 10년 동안 카본나노 튜브(CNTs)는 산업 분야뿐만 아니라 여러 가지 연구 분야에서 물리화학적 특성과 잠재적인 응용으로 많은 연구가 진행되어왔다.<sup>1-4)</sup> 미세한 전자 특성은 CNTs가 전자기의 과정을 촉진함에 따라 전극의 재료로서 전기화학 반응에 넓게 사용되었음을 시사한다. 다른 형태의 카본 전극과 비교하면 CNT 전극은 전극의 larruping한 성능이 보고되고 있고, 대부분은 전자기구조, 튜브 본래부터 존재하는 채널과 튜브 표면에서의 위상적인 결합과 상호 관련이 있다.<sup>5-7)</sup> 최근, CNT에 대한 고조되는 관심은 창조적인 방법에 따른 CNTs의 합리적인 기능화에 집중하고 있다. 예를 들면 다양한 생물 정량을

위하여 공유결합 또는 비공유결합적인 상호작용을 통해 CNTs를 생체 분자에 결합시킨다. 하지만, CNTs의 적지 않은 독성은 아직 논쟁의 이슈가 되어 그 생물학적 응용을 제한되어왔다.<sup>8-14)</sup> 전형적인 생체 친화성 재료 중 하나로서 이산화 티탄(TiO<sub>2</sub>)의 나노 입자는 생의학적과 더불어 생명공학 영역에서 넓게 활용되고 있다.<sup>15-17)</sup> CNT의 생체 적합성을 개선하기 위해 본 연구에서는 CNT와 유기적인 티타늄을 선구로 나노 혼성의 CNT-TiO<sub>2</sub>를 제조하였다. 그리고 나노 복합체인 CNT-TiO<sub>2</sub>를 전극활물질로 사용하기 위하여 카본페이퍼를 기판으로 위에 코팅하였다. 본 연구의 목표는 개질 된 접촉면이 이질의 전자 전송율을 가속하고, 관련 검출감도를 강화할 수 있음을 확인하고자 한 것이다. 또한, 암의 초기 진단을 위한 생물학적 적합성으로 멀티신호의 민감한 바이오센서의 개발에 새로운 전략으로서 그 잠재력의 응용이 가능상을 제시하고자 한다.

\*E-mail: sgpark@cbnu.ac.kr

## 2. 실험

### 2.1. 개질 된 전극 준비

출발물질로 티타늄 이소프로폭사이드(Sigma)와 MWCNT는 70:30의 비율로 각각 2-propanol에 분산시켜 혼합한다.  $TiO_2$ 는 졸-겔법으로 CNT에 성장 시키고 마지막으로, 나노복합된 파우더를 얻기 위해 용매는 증발하여 제거한다. 코팅 물질은  $TiO_2$ /CNT 파우더 Ketjen black(도전재), poly(vinylidene fluoride)(PVDF) (Aldrich, Mr~530000, 바인더)를 85 : 10 : 5(w/w/w) 비율의 슬러리 혼성물은 N-metyl-2-pyrrolidone(Aldrich)에 혼합하여 준비한다. 제조된 슬러리를 카본 페이퍼에 코팅하고  $120^\circ C$ 에서 2시간 건조한다. SEM(LEO 1550, 독일) 분석을 통하여 개질 전후의 카본 페이퍼(Toray, Japan)의 형태를 확인하였다. 세포가 덮여진 전극을 제작하기 위해서, 일정한 농도( $5 \times 10^6 mL$ )의 세포는 10분간의 원심분리에 의해서 1.0 mL의 매체로 모아 분리하였다. 슬러리는 개질 된 전극에 코팅하고 15분간 대기 중에서 건조시켰다.

### 2.2. 전기화학 및 접촉각 검출

Cyclic voltammetry(CV)와 differential pulse voltammetry (DPV) 연구는 CHI660b electrochemical workstation (CH Inc, TX, 미국)로 실행되었다. 모든 측정은, working 전극으로 개질 된 카본 페이퍼, counter 전극은 Pt 와이어(=0.1 mm), quasi-reference 전극은 Ag 와이어(=0.1 mm)의 삼상전극의 전기화학 시스템으로, 대기 온도( $20 \pm 2^\circ C$ )에서 실행되었다. 10 L의 PBS 버퍼(pH 7.2)의 용액을 전해질로 사용하였다. Ag 와이어의 quasi-reference 전위차는 1.0 M pH 7.2 인산염 버퍼로 조정하였다.

고정된 접촉각 측정은 CAM200 optical contact angle analyzer(KSV Instruments, 핀란드)을 이용하여 개질 된 glassy 카본 전극(GCE) 각각 수행되었다. 모든 시스템을 위해서 방울의 이미지는 접촉면의 각각의 상태에 기록되고, 그 형태를 조절하기 위해서 접촉각 치수의 측정은 10초 동안 수행한다. 정확한 접촉각도를 측정하기 위해 Young-Laplace 방정식을 사용하였으며, 접촉각은  $\pm 0.5^\circ$ 의 정도로 측정되었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 개질 된 전극의 구조

Fig. 1을 보면 먼저 SEM을 통해 전극의 형태를 알 수 있다. Fig. 1(a)는 페이퍼 기판이 탄소 섬유(직경 10 m)로 되어있는 것

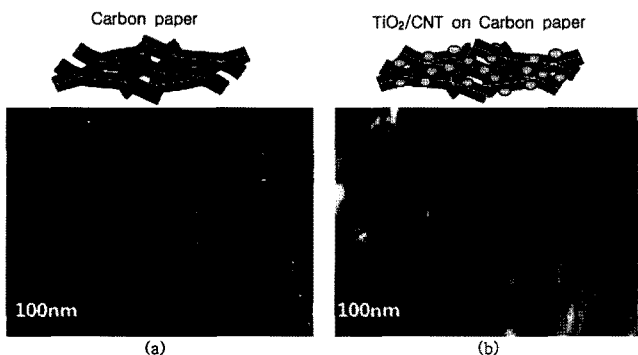


Fig. 1. SEM images of the bare carbon paper (a) and  $TiO_2$ /CNT nanocomposite modified carbon paper (b).

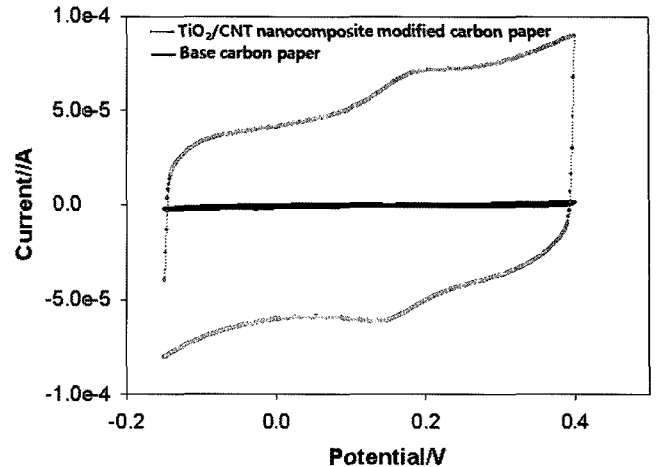


Fig. 2. Cyclic voltammetric(CV) study of 5 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  at the bare carbon paper (a) and  $TiO_2$ /CNT nanocomposite modified carbon paper (b). For cyclic voltammetry: scan rate: 50 mV/s. or differential pulse voltammetry: Increment: 0.004 V, amplitude: 0.05 V, pulse width: 0.05 s.

을 나타낸다. 페이퍼는 나노 혼성의 CNT- $TiO_2$ 로 개질 되었을 때, 복합물은 약 50 nm의 폭으로 기판 위에 균일하게 코팅되어 있다 Fig. 1(b). 폭은 CNTs보다 넓고 CNTs가 혼성물을 형성하기 위해  $TiO_2$  겔에 의해 둘러싸여진 것을 나타낸다.

### 3.2. 전극의 전기화학적 성능 평가

개질 된 카본 페이퍼의 나노 혼성 CNTs- $TiO_2$ 의 전기화학적 성능은 5 mM의  $K_3Fe(CN)_6$ 로 측정할 수 있다. 결과는 개질 된 전극(Fig. 2의 b커브)의  $K_3Fe(CN)_6$ 의 Redox 반응이 기본 카본 페이퍼 (Fig. 2, a커브)보다 약 6배정도 우수한 성능을 나타내었다. 이 주목할 만한 증가는 개질 된 나노 혼성에 의해 전극의 표면적에 있어서 증폭의 결과라고 생각할 수 있다. 또한 개질 된 카본 페이퍼를 위한 피크의 전위차( $\Delta E$ )는 기본 카본 페이퍼보다 작았고, 개질 된 카본 페이퍼로 보다 높은 Redox 가역

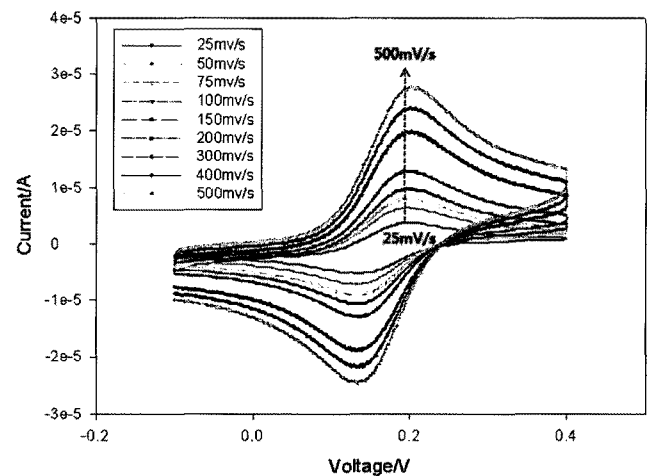
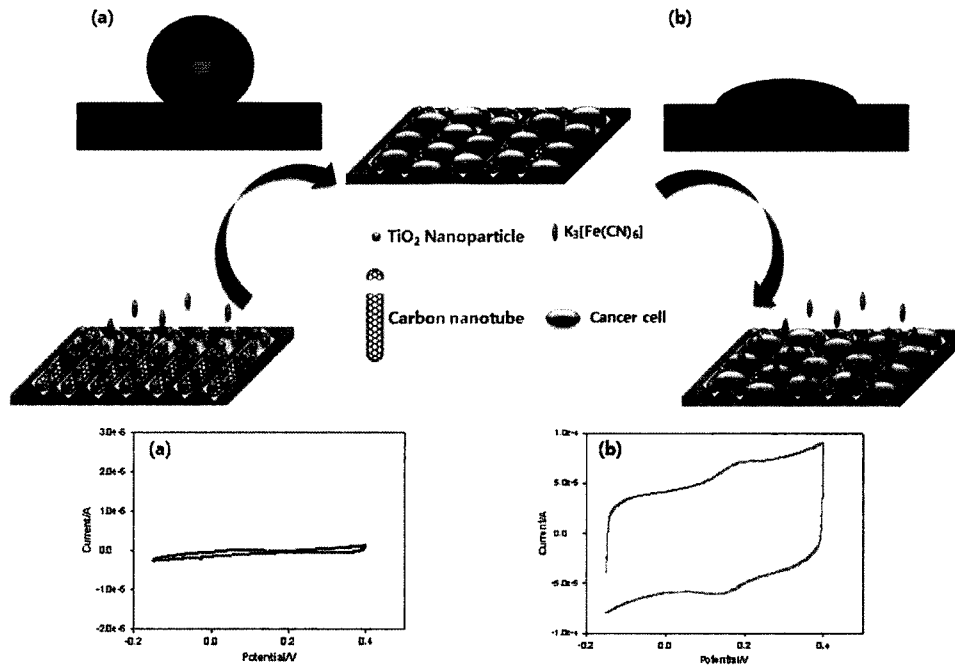


Fig. 3. Cyclic voltammetry of 5 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  at the  $TiO_2$ /CNT nanocomposite modified carbon paper at different scan rate: 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400, 500 mV/s. Inset: Calibration plots of the  $K_3[Fe(CN)_6]$  reduction peak current vs square root of scan rate at the modified electrodes.



Scheme 1. Schematic illustration of the nanocomposite modified carbon paper covering of the leukemia K562 cells. The contact angle of water modified electrode before (a) and after (b) the covering of cancer cells.

성을 나타내었다.  $K_3Fe(CN)_6$ 의 감소 피크는 주사 속도에 관해서 연구되었다.

3.3. 개질 된 전극이  $K_3Fe(CN)_6$ 의 전기화학적 반응

주사 속도의( $R=0.998$ ) 피크 전류와 평방근의 선형 관계는 Redox 전자 이동의 확산으로 제어된 과정(Fig. 3) 것을 나타내었다. 지금까지의 결과로 세포의 존재가 절연된 세포막과 전극의 저항 증가에 따라 전자 이동을 방해할 수 있다고 한다.<sup>22,23</sup> 그러나 본 연구는 개질 된 전극이  $K_3Fe(CN)_6$ 의 전기화학적 반응을 높이고(Scheme. 1), 피크의 전류는 암 세포(Fig. 4)가 없는 것보다 높고 통상의 세포(Fig. 5, b커브)에 의한 전극보다 약 10

배정도 높다.

개질 된 전극은 약  $135^\circ$ 의 접촉각에 의한 소수성 접촉면이다. 그리고 그것은 친수성 조사( $[Fe(CN)_6]^{3-}$ )와 전극 사이에 전자교환을 제한하고, 후에 전기화학적 반응에 도달한다. 경계면이 암 세포로 덮인 있던 후에, 그것은 친수성( $53^\circ$ 의 접촉각)이 되었다. 그리고 물방울과 전극 사이의 접촉면은 급격하게 증가한다. 뿐만 아니라 표면은 친수성 조사의 접근을 유리하게 하고 전자교환도 촉진한다. 이와 같이, 강화된 전기화학적 반응은 세포로 커버된 접촉면으로 찾을 수 있다.

또한 전극에 코팅된 백혈병 K562/ADM 세포(Fig. 4, c 커브)

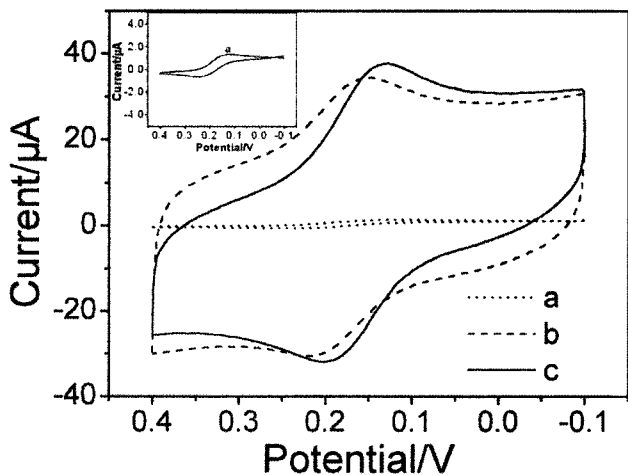


Fig. 4. Cyclic voltammetry (CV) study of 5 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  at the  $TiO_2/CNT$  nanocomposite modified carbon paper before (a) and after covering the leukemia K562/ADM cells (b) and K562/B.W. cells (c). The cell concentration is  $5 \times 10^6$  /mL. Scan rate: 50 mV/s. Inset: the amplification of curve a.

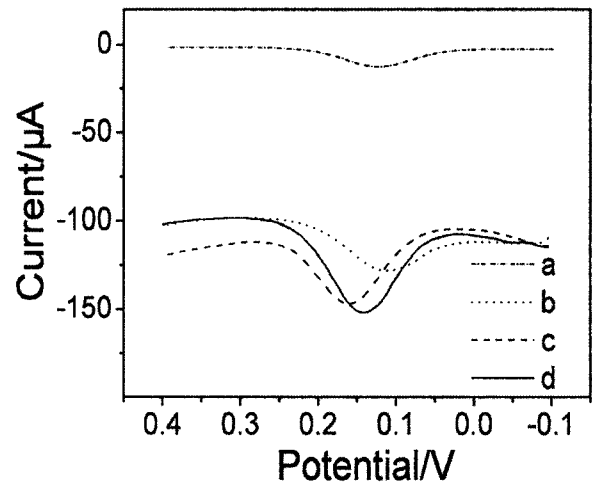


Fig. 5. Differential pulse voltammetric study of 5 mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  at the  $TiO_2/CNT$  nanocomposite modified carbon paper before (a) and after covering the normal cells (b) and leukemia K562/ADM cells (c) and K562/B.W. cells (d). The cell concentration is  $5 \times 10^6$  /mL. Pulse Amplitude: 0.05 V. Pulse Width: 0.05 sec. Pulse Period: 0.1 sec.

와 K562/B.W. 세포에  $[K_3Fe(CN)_6]$ 의 전기화학적 움직임을 조사한다. K562/B.W. 세포 필름의 전기화학적 반응은 K562/ADM 세포 필름보다 조금 강하며 포텐셜 피크를 30 mV 음극(negative)으로 시프트 시킨다. 알려져 있듯이, 백혈병 K562/ADM 세포는 약제저항의 원형질막은 P-glycoprotein (P-gp)과 같은 단백질을 과잉 발현시켰다. 단백질은 통상 소수성의 기관과 밀접한 관계가 있다.<sup>24)</sup> 그 결과 소수성의 CNT-TiO<sub>2</sub> 개질된 접촉면은 K562/B.W. 세포보다 용이하게 카본 페이퍼 표면 위에 흡착된 K562/ADM 세포를 만든다. K562/B.W. 세포와 비교해서 카본 페이퍼의 K562/ADM 세포는 높은 흡수량이 전자 이동을 방해한다. 그리고 그것은 2 종류의 백혈병 세포의 피크의 전류와 피크의 전위차의 이유다.

#### 4. 결 론

카본 페이퍼 위에 코팅된 나노 복합 CNT-TiO<sub>2</sub>의 전기화학적 특성은 전자들의 이동성을 촉진할 수 있다는 것을 나타내었다. 그 후, 암 세포의 개질된 전극의 페리시아니드 조사의 Redox 작용은 전기화학적 및 접촉 각의 측정하는 것에 의해 연구되었고 이러한 현상은 각각의 표면의 Redox에 제어된 변화와 같게 상대적인 친수성/소수성 특징과 wetting 특성을 설명 할 수 있었다.

요약하면, 나노 혼성의 CNT-TiO<sub>2</sub>는 개질된 전극 형태의 카본 페이퍼 기판에 코팅되어 준비하고, 이질의 전자 전송율을 가속할 수 있다.  $[Fe(CN)_6]^{3-}$ 의 Redox 피크 전류의 증가는 CNT-TiO<sub>2</sub> 전극 K562/ADM과 K562/B.W. 세포로 찾아 낼 수 있었다. 게다가, 2개의 접촉면은 구별 가능한 전기화학의 신호를 줄 수 있었다. 이러한 결과는 개질된 전극이 우수한 발견 감도와 셀 전체의 바이오센서의 제작과 같은 bioanalytical 응용으로 잠재적으로 사용될 수 있다 단 것을 시사한다.

#### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단에서 지원으로 수행하는 국제협력사업 중 한중국제협력사업으로 수행되었습니다.

#### 참고문헌

1. P. M. Ajayan, "Nanotubes from Carbon" *Chem. Rev.*, **99**, 1787 (1999).
2. R. H. Baughman, A. A. Zakhidov, and W. A. de Heer, "Carbon Nanotubes-the Route Toward Applications" *Science*, **297**, 787 (2002).
3. Y. P. Sun, K. Fu, Y. Lin, and W. J. Huang, "Functionalized carbon nanotubes : properties and applications" *Acc. Chem. Res.*, **35**, 1096 (2002).
4. L. Dai, P. Soundararajan, and T. Kim, "Sensors and sensor arrays based on conjugated polymers and carbon nanotubes" *Pure Appl. Chem.*, **74**, 1753 (2002).
5. P. J. Britto, K. S. V. Santhanam, and P. M. Ajayan, "Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine" *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **41**, 121 (1996).
6. E. Pennisi, "Simple recipe yields fullerene tubules" *Sci. News*, **142**, 36 (1992).
7. A. V. Ellis, K. Vijayamohan, R. Goswami, N. Chakrapani, L. S. Ramanathan, P. M. Ajayan, and G. Ramanath, "Hydrophobic anchoring of monolayer-protected gold nanoclusters to carbon nanotubes" *Nano Lett.*, **3**, 279 (2003).
8. V. Georgakilas, K. Kordatos, M. Prato, D. M. Guldi, M. Holzinger, and A. Hirsch, "Organic functionalization of carbon nanotubes" *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 760 (2002).
9. B. R. Azamian, J. J. Davis, K. S. Coleman, C. B. Bagshaw, and M. L. H. Green, "Bioelectrochemical single-walled carbon nanotubes" *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 12664 (2002).
10. J. M. Haremza, M. A. Hahn, T. D. Krauss, S. Chen, and J. Calcines, "Attachment of single CdSe nanocrystals to individual single-walled carbon nanotubes" *Nano Lett.*, **2**, 1253 (2002).
11. H. Li, B. Zhou, Y. Lin, L. Gu, W. Wang, K. A. S. Fernando, S. Kumar, L. F. Allard, and Y. Sun, "Selective interactions of porphyrins with semiconducting single-walled carbon nanotubes" *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 1014 (2004).
12. N. M. Dimitrijevic, Z. V. Saponjic, B. M. Rabatic, and T. Rajh, "Assembly and charge transfer in hybrid TiO<sub>2</sub> architectures using biotin-avidin as a connector" *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 1344 (2005).
13. B. M. Miller, E. Pujads, and E. Gocke, "Evaluation of the micronucleus test in vitro using Chinese hamster cells: results of four chemicals weakly positive in the in vivo micronucleus test" *Environ. Mol. Mutagen.*, **26**, 240 (1995).
14. R. W. Tennant, B. H. Margolin, M. D. Shelby, E. Zeiger, J. K. Haseman, J. Spalding, W. Caspary, M. Resnick, S. Stasiewicz, B. Anderson, and R. Minor, "Prediction of chemical carcinogenicity in rodents from in vitro genetic toxicity assays" *Science*, **236**, 933 (1987).
15. R. B. Mathur, P. H. Maheshwari, T. L. Dhami, and R. P. Tandon, "Characteristics of the carbon paper heat-treated to different temperatures and its influence on the performance of PEM fuel cell" *Electrochim. Acta*, **52**, 4809 (2007).
16. M. S. Saha, R. Y. Li, and X. L. Sun, *Electrochem. Commun.*, **9**, 2229 (2007).
17. R. B. Mathur, P. H. Maheshwari, T. L. Dhami, R. K. Sharma, and C. P. Sharma, "Processing of carbon composite paper as electrode for fuel cell" *J. Power Sources*, **161**, 790 (2006).
18. Y. Wang, C. Y. Wang, and K. S. Chen, "Elucidating differences between carbon paper and carbon cloth in polymer electrolyte fuel cells" *Electrochim. Acta*, **52**, 3965 (2007).
19. H. Chen, C. K. Heng, P. D. Pui, X. D. Zhou, A. C. Lee, T. M. Lim, and S. N. Tan, "Detection of Saccharomyces cerevisiae immobilized on self-assembled monolayer (SAM) of alkanethiolate using electrochemical impedance spectroscopy" *Anal. Chim. Acta*, **554**, 52 (2005).
20. L. Ding, D. Du, J. Wu, and H. X. Ju, "A disposable impedance sensor for electrochemical study and monitoring of adhesion and proliferation of K562 leukaemia cells" *Electrochem. Commun.*, **9**, 953 (2007).
21. M. M. Gottesman and I. Pastan, "Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter" *Annu. Rev. Biochem.*, **62**, 385 (1993).