



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0009176
(43) 공개일자 2008년01월25일

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0068799

(22) 출원일자 2006년07월22일

심사청구일자 2006년07월22일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

박은진

서울 송파구 거여2동 219-37 오성빌라 204

민남기

서울 서초구 서초동 삼호아파트 12동 402호

(74) 대리인

현종철

전체 청구항 수 : 총 9 항

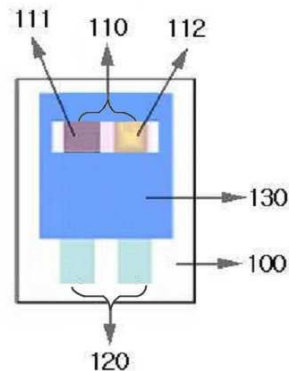
(54) 바이오센서 및 그 제조방법

(57) 요약

바이오센서 및 그 제조방법이 제공된다.

본 발명에 따른 바이오센서는 기관; 효소 반응이 발생하는 작업전극 및 상기 작업전극과의 전기적 출력 차이를 검출하기 위한 상대전극을 포함하는 검출부; 상기 검출부로부터의 전기적 신호를 전달하기 위한 접속부; 및 상기 검출부와 상기 접속부를 전기적으로 절연하는 절연부를 포함하며, 상기 상대전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층 및 상기 카본 전극층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하고, 상기 작업전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층, 상기 카본 전극층 상에 형성되고 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질층 및 상기 효소 반응 물질층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하는 것을 특징으로 하는데, 본 발명에 따른 바이오센서는 검출 대상 물질에 대한 감도를 획기적으로 향상시킬 수 있고, 검출 대상 물질을 산화시키는 효소의 활성을 극대화할 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

기관;

효소 반응이 발생하는 작업전극 및 상기 작업전극과의 전기적 출력 차이를 검출하기 위한 상대전극을 포함하는 검출부;

상기 검출부로부터의 전기적 신호를 전달하기 위한 접속부; 및

상기 검출부와 상기 접속부를 전기적으로 절연하는 절연부

를 포함하는 전기화학적 바이오센서로서,

상기 상대전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층 및 상기 카본 전극층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하며,

상기 작업전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층, 상기 카본 전극층 상에 형성되고 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질층 및 상기 효소 반응 물질층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 탄소나노튜브는 카르복실 관능기를 갖는 것을 특징으로 하는 바이오센서.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 효소 반응 물질층은 페리시안 화합물 (ferricyanide) 및 글루코오스 산화효소 (glucose oxidase)를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 효소 반응 보조 물질층은 히드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 메트로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증점제를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서.

청구항 5

(a) 기관 상에 한 쌍의 도선층을 패터닝하고, 상기 도선층의 각 말단부 상에 카본 잉크를 도포 및 건조하는 단계;

(b) 상기 도선층 및 카본 잉크 도포층 상에 절연성 잉크를 부분 도포 및 건조시킴으로써 한 쌍의 접속부 및 한 쌍의 카본 잉크 도포부를 형성하는 단계;

(c) 상기 카본 잉크 도포부 중 어느 하나에 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질을 포함하는 효소 반응 용액을 도포 및 건조하는 단계; 및

(d) 상기 (b) 및 (c) 단계를 거친 카본 잉크 도포부에 효소 반응 보조 물질을 포함하는 효소 반응 보조 용액을 도포 및 건조함으로써, 각각 상대전극 및 작업전극을 형성하는 단계를 포함하는 바이오센서의 제조방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 탄소나노튜브는 산 처리에 의하여 카르복실 관능기를 갖는 것을 특징으로 하는 바이오센서의 제조방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 효소 반응 용액은 완충용액, 페리시안 화합물 (ferricyanide) 및 글루코오스 산화효소 (glucose oxidase)를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서의 제조방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 효소 반응 보조 용액은 완충용액, 히드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 메트로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증점제 및 계면활성제를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서의 제조방법.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 산 처리는 탄소나노튜브 분말을 pH 1.5 내지 2.5의, 질산, 황산 또는 이들의 혼합용액을 사용하여, 90℃ 내지 120℃의 온도로, 12 내지 24시간 동안 수행되는 것을 특징으로 하는 바이오센서의 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <16> 본 발명은 바이오센서 및 그 제조방법에 관한 것으로서, 더욱 구체적으로는 작업전극의 감도 향상 및 분석물질을 산화시키는 효소의 활성을 극대화하기 위해서 탄소나노튜브를 채용한 바이오센서 및 그 제조방법에 관한 것이다.
- <17> 종래의 바이오센서에는 기관에 특정한 물질을 고정하고, 그에 특이적으로 결합하는 표적 물질을 결합시킴으로써 표적 물질을 검출 또는 분석하는 다양한 바이오센서들이 널리 알려져 있었다. 특히, 이러한 바이오센서 중에서도 효소 (enzyme)를 사용하여 효소-기질 간의 전기화학적 반응으로부터 야기되는 전기적 신호를 검출하기 위한 여러 가지 효소전극센서들이 알려져 있으며, 이는 혈중 포도당 농도 및 혈중 콜레스테롤 농도와 같은 수치들을 비교적 정밀하게 측정하는 것을 가능하게 한다.
- <18> 특히, 효소전극센서들 중 혈중 포도당 농도를 측정하기 위한 바이오센서에 대한 연구가 광범위하게 수행되고 있으며, 이는 하기와 같은 원리에 의해서 혈중 포도당 농도를 측정하게 된다. 즉, 작업전극 상에 포도당을 산화시킬 수 있는 효소인 글루코오스 산화효소 (glucose oxidase)를 고정시키고, 상기 글루코오스 산화효소는 측정 시료 중의 포도당을 글루콘산 (gluconic acid)으로 전환시키면서 그 자신은 환원형 글루코오스 산화효소로 변화하게 된다. 상기 환원된 글루코오스 산화효소는 다시 산소와 반응하여 과산화수소를 발생시키거나 또는 전자전달 매개체를 환원형으로 전환시키게 되는데, 이러한 과산화수소 또는 환원형 전자전달 매개체의 재산화 과정에서 측정되는 산화 전류 등을 측정함으로써 혈중 포도당 농도를 측정할 수 있게 된다. 예를 들어, 이러한 산화 전류의 발생을 야기하는 2가지 반응들을 하기 반응식 1 및 2에 나타내었다.

반응식 1

- <19>
$$\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$$

반응식 2

- <20> 전자전달 매개체 (환원형) → 전자전달 매개체 (산화형) + e^-
- <21> 미국특허 제5,437,999호 "Electrochemical Sensor"는 PCB 산업에서 통상적으로 사용되는 기술을 전기화학적 바이오센서 테스트 스트립에 적합하도록 새롭게 응용하여, 정밀하게 정의된 전극 영역을 가지는 전기화학적 바이오센서 테스트 스트립을 개시하고 있으며, 상기 전기화학적 바이오센서 테스트 스트립은 매우 적은 시료 양으로도 매우 정확한 전기화학적 측정을 수행할 수 있다. 또한, 미국특허 제5,540,828호, 대한민국 공개특허공보 제2001-64276호 및 제2001-49234호 등에서 이러한 전기화학적 작동원리에 기초한 다양한 바이오센서들을 개시하고 있다.
- <22> 상기와 같은 기존의 바이오센서들은 스퍼터링 (sputtering) 방법에 의해서 전극을 대량 제작하거나, 제조 비용의 절감을 위해서 스크린 프린팅 방법으로 전극을 제작하게 되며, 효소 고정을 위한 방법으로는 효소와 반응 보조 물질들을 혼합한 혼합물을 인쇄된 전극 표면에 코팅하는 방법을 사용하고 있다. 그러나, 전극 제작에 있어서 스퍼터링 방법을 사용하게 되면 제조 과정 중 원재료의 소모가 과다하여 많은 제조 비용이 소모된다는 문제

점이 있으며, 스크린 프린팅 방법의 경우에도 제조 단가는 비교적 저렴하지만 감도가 매우 낮아서 저농도의 검출 물질에 대한 바이오센서로 적용되기에는 한계점을 지니고 있었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<23> 따라서, 본 발명은 상기 종래기술의 문제점을 해결하고자, 스크린 프린팅 방법에 의해서 제작하더라도 작업전극의 검출 대상 물질에 대한 감도를 획기적으로 향상시킬 수 있고, 검출 대상 물질을 산화시키는 효소의 활성을 극대화할 수 있는 바이오센서 및 그 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

발명의 구성 및 작용

- <24> 본 발명은 상기 기술적 과제를 달성하기 위한 일 태양에서,
- <25> 기관;
- <26> 효소 반응이 발생하는 작업전극 및 상기 작업전극과의 전기적 출력 차이를 검출하기 위한 상대전극을 포함하는 검출부;
- <27> 상기 검출부로부터의 전기적 신호를 전달하기 위한 접속부; 및
- <28> 상기 검출부와 상기 접속부를 전기적으로 절연하는 절연부
- <29> 를 포함하는 전기화학적 바이오센서로서,
- <30> 상기 상대전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층 및 상기 카본 전극층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하며,
- <31> 상기 작업전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층, 상기 카본 전극층 상에 형성되고 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질층 및 상기 효소 반응 물질층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서를 제공한다.
- <32> 본 발명의 바람직한 일 구현예에 따르면, 상기 탄소나노튜브는 카르복실 관능기를 갖는다.
- <33> 본 발명의 바람직한 다른 구현예에 따르면, 상기 효소 반응 물질층은 페리시안 화합물 (ferricyanide) 및 글루코오스 산화효소 (glucose oxidase)를 포함한다.
- <34> 또한, 본 발명의 바람직한 또 다른 구현예에 따르면, 상기 효소 반응 보조 물질층은 히드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 메트로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증점제를 포함한다.
- <35> 본 발명은 상기 기술적 과제를 달성하기 위한 다른 태양에서,
- <36> (a) 기관 상에 한 쌍의 도선층을 패터닝하고, 상기 도선층의 각 말단부 상에 카본 잉크를 도포 및 건조하는 단계;
- <37> (b) 상기 도선층 및 카본 잉크 도포층 상에 절연성 잉크를 부분 도포 및 건조시킴으로써 한 쌍의 접속부 및 한 쌍의 카본 잉크 도포부를 형성하는 단계;
- <38> (c) 상기 카본 잉크 도포부 중 어느 하나에 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질을 포함하는 효소 반응 용액을 도포 및 건조하는 단계; 및
- <39> (d) 상기 (b) 및 (c) 단계를 거친 카본 잉크 도포부에 효소 반응 보조 물질을 포함하는 효소 반응 보조 용액을 도포 및 건조함으로써, 각각 상대전극 및 작업전극을 형성하는 단계를 포함하는 바이오센서의 제조방법을 제공한다.
- <40> 본 발명의 바람직한 일 구현예에 따르면, 상기 탄소나노튜브는 산 처리에 의하여 카르복실 관능기를 갖는다.
- <41> 본 발명의 바람직한 다른 구현예에 따르면, 상기 효소 반응 용액은 인산 칼륨 완충용액, 페리시안 화합물 (ferricyanide) 및 글루코오스 산화효소 (glucose oxidase)를 포함한다.
- <42> 본 발명의 바람직한 다른 구현예에 따르면, 상기 효소 반응 보조 용액은 인산 칼륨 완충용액, 및 히드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 메트로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증점제를 포함한다.

- <43> 또한, 본 발명의 바람직한 또 다른 구현예에 따르면, 상기 산 처리는 탄소나노튜브 분말을 pH 1.5 내지 2.5의, 질산, 황산 또는 이들의 혼합용액을 사용하여, 90℃ 내지 120℃의 온도로, 12 내지 24시간 동안 수행된다.
- <44> 이하, 도면 및 실시예를 참조하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다.
- <45> 본 발명은 종래 바이오센서들의 감도 저하 문제 및 이로 인한 저농도 검출 물질의 검출 불가 문제를 해결하기 위해서, 작업전극의 감도 향상 및 분석물질을 산화시키는 효소의 활성을 극대화하기 위한 탄소나노튜브를 채용한 작업전극을 사용한다.
- <46> 구체적으로, 본 발명의 일 태양에 따르면,
- <47> 기관; 효소 반응이 발생하는 작업전극 및 상기 작업전극과의 전기적 출력 차이를 검출하기 위한 상대전극을 포함하는 검출부; 상기 검출부로부터의 전기적 신호를 전달하기 위한 접속부; 및 상기 검출부와 상기 접속부를 전기적으로 절연하는 절연부를 포함하는 전기화학적 바이오센서로서,
- <48> 상기 상대전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층 및 상기 카본 전극층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하며, 상기 작업전극은, 도선층, 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층, 상기 카본 전극층 상에 형성되고 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질층 및 상기 효소 반응 물질층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오센서가 제공된다.
- <49> 도 1에는 본 발명에 따른 바이오센서에 대한 평면도가 도시되어 있다. 도 1을 참조하면, 본 발명에 따른 바이오센서는 기관 (100), 검출부 (110), 접속부 (120) 및 절연부 (130)를 포함한다.
- <50> 본 발명에서 사용하는 기관은 절연성 재료로 제작될 수 있으며, 이러한 절연성 재료로는 전기화학적 바이오센서를 동시에 대량으로 제조하기 위한 롤 방법(roll processing) 등의 제조방법에 적합한 유연성과 지지체로서의 강성을 지니는 것이면 어느 것이든 가능하다. 이에 대한 비제한적인 예로는, 폴리에스테르 (polyester), 폴리 카보네이트 (polycarbonate), 폴리스틸렌 (polystyrene), 폴리이미드 (polyimide), 폴리비닐클로라이드 (polyvinylchloride), 폴리에틸렌 (polyethylene), 폴리에틸렌테레프탈레이트 (polyethyleneterephthalate) 등의 고분자화합물을 들 수 있다.
- <51> 상기 기관 (100) 상에는 검출부 (110), 접속부 (120) 및 절연부 (130)가 형성되며, 상기 검출부는 검출 대상이 되는 물질과의 효소 반응을 수행하는 작업전극 (111) 및 상기 작업전극과의 전기적 출력 차이를 검출하는 상대전극 (112)을 포함한다. 도 2a 및 2b에는 각각 상기 작업전극 (111) 및 상대전극 (112)에 대한 단면도를 도시하였다.
- <52> 도 2a를 참조하면, 상기 작업전극 (111)은 도선층 (210), 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층 (220), 상기 카본 전극층 상에 형성되고 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질층 (230) 및 상기 효소 반응 물질층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층 (240)으로 이루어진 4개의 층을 포함하며, 도 2b를 참조하면, 상기 상대전극 (112)은 도선층 (210), 상기 도선층 상에 형성된 카본 전극층 (220) 및 상기 카본 전극층 상에 형성된 효소 반응 보조 물질층 (240)으로 이루어진 3개의 층을 포함한다.
- <53> 본 발명의 작업전극 (111) 및 상대전극 (112)에 공히 적층되는 도선층 (210)의 재료로는 팔라듐, 백금, 금, 은 등의 희귀금속 (noble metal)을 사용하는 것이 바람직한데, 이는 희귀금속은 전극 표면 영역에 있어 안정성 및 재현성이 우수하고 산화되기 어려운 성질 등, 전기화학적 성질이 우수하기 때문이다. 상기 도선층 (210)의 두께는 기관과의 접착성 및 경제성 등을 고려하여 적절하게 조절될 수 있으며, 대략 100nm 내외의 두께인 것이 바람직하다.
- <54> 한편, 상기 접속부 (120)는 상기 절연부 (130)에 의해서 상기 검출부 (110)와 전기적으로 절연되며, 실질적으로 상기 도선층 (210)의 연장 부분이 되므로, 그 재질 및 두께는 상기 도선층 (210)의 경우와 동일하다. 또한, 접속부 (120)와 검출부 (110)를 전기적으로 절연하는 절연부는 절연성 잉크 등을 사용하여 형성될 수 있으며, 이러한 절연성 잉크로는, 당업계에서 통상적으로 사용되는 것인 한 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어, Electrodag UV1017 (Acheson 사, UV curing type) 또는 PCD40252 (Mettech 사, heat curing type) 등이 사용될 수 있다.
- <55> 상기 도선층 (210)의 상층에 적층되는 카본 전극층 (220)은 작업전극 (111) 및 상대전극 (112)으로부터의 전기적 신호를 전달하기 위해서 도전성이 뛰어난 카본 물질로 이루어진다. 카본 전극층 (220) 역시 도전성, 접착성 및 경제성 등을 고려하여 적당한 두께로 적층된다.

- <56> 상대전극의 경우, 상기 카본 전극층 (220) 상부에는 효소 반응 보조 물질층 (240)이 형성된다. 상기 효소 반응 보조 물질층 (230)은 고정된 효소의 안정성 확보 (작업전극의 경우) 및 분석 대상이 되는 시료를 전극 표면에 고루 분산시키는 (작업전극 및 상대전극의 경우) 기능을 수행하며, 이러한 기능을 수행하기 위해서 증점제 또는 레벨링제를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명에 있어서 상기 증점제는 히드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 메트로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증점제이다.
- <57> 작업전극 (111)의 경우에는, 상기 카본 전극층 (220) 상부에 효소 반응 물질층이 형성되고, 그 위에 효소 반응 보조 물질층이 형성된다. 본 발명에 따른 효소 반응 물질층은 검출 대상이 되는 시료와 반응하는 효소, 산화환원반응 매개체 및 탄소나노튜브를 포함한다.
- <58> 사용되는 효소는 검출하고자 하는 시료에 따라 다양하게 선택될 수 있으며, 예를 들어 글루코오스 산화효소, 젖산 산화효소, 알코올 산화효소, 콜레스테롤 산화 효소 등을 검출하고자 하는 시료에 따라 적절히 사용할 수 있다. 특히, 혈중 포도당 또는 글루코오스를 검출하고자 하는 경우에는 글루코오스 산화효소 (glucose oxidase)가 사용될 수 있다. 또한, 사용되는 산화환원반응 매개체로는 칼륨 페리시아나이드 (potassium ferricyanide)와 같은 페리시아 화합물, 이미다졸 오스뮴 매개체 (imidazole osmium mediator) 등의 다양한 물질들이 사용될 수 있다.
- <59> 특히, 본 발명에 따른 바이오센서는 효소 반응 물질층에 탄소나노튜브를 포함시킴으로써, 상술한 바와 같은 검출 대상 물질에 대한 감도 향상 및 검출 대상 물질을 산화시키는 효소의 활성 극대화를 도모할 수 있다. 이는 첨가된 탄소나노튜브가 효소를 보다 안정적으로 고정하며, 효소 반응 결과물로서 생성된 전자 전달의 속도를 증가시키기 때문에 야기되는 효과인 것으로 판단된다.
- <60> 이러한 효과를 극대화하기 위해서, 첨가되는 탄소나노튜브는 화학적 처리에 의해서 카르복실 관능기를 갖는 것이 바람직하다. 도 3에는 화학적 처리에 의해서 카르복실 관능기를 갖게 되는 탄소나노튜브의 개략적인 모형을 도시하였다.
- <61> 탄소나노튜브에 대한 화학적 처리는, 후술하는 바와 같이, 탄소나노튜브 분말에 다양한 산 용액을 처리하여 줌으로써 수행될 수 있으며, 이러한 화학적 처리의 결과로 카르복실 관능기를 갖는 탄소나노튜브가 유도될 수 있다.
- <62> 한편, 본 발명에 따른 바이오센서를 사용하여 시료 중 검출하고자 하는 분석물질의 농도를 측정하는 원리는, 혈액 시료에서 글루코오스를 검출하고, 효소로서 글루코오스 산화효소를 사용하며, 산화환원 매개체로서 칼륨 페리시아나이드를 사용하는 경우를 예로 들면 다음과 같다. 즉, 글루코오스는 산화되고 페리시아나이드는 페로시아나이드로 환원되며, 이때, 글루코오스 산화효소가 이러한 반응의 촉매로 작용한다. 일정 반응 시간 후에, 전극원에 의하여 전압을 접속부 (120)에 걸어주면, 페로시아나이드의 재산화에 기인한 전자 전이에 의하여 전류가 발생한다.
- <63> 상기와 같은 방법으로 측정된 전류는 바이오센서의 검출부 (110) 및 접속부 (120)를 통하여, 별도의 측정기로 보내어지고, 이어서 상기 측정기 내에 저장된 알고리즘을 적용함으로써 전류값을 시료에서의 분석물의 농도와 관련시킬 수 있다.
- <64> 한편, 본 발명의 다른 태양에 따르면,
- <65> (a) 기판 상에 한 쌍의 도선층을 패터닝하고, 상기 도선층의 각 말단부 상에 카본 잉크를 도포 및 건조하는 단계; (b) 상기 도선층 및 카본 잉크 도포층 상에 절연성 잉크를 부분 도포 및 건조시킴으로써 한 쌍의 접속부 및 한 쌍의 카본 잉크 도포부를 형성하는 단계; (c) 상기 카본 잉크 도포부 중 어느 하나에 탄소나노튜브를 포함하는 효소 반응 물질을 포함하는 효소 반응 용액을 도포 및 건조하는 단계; 및 (d) 상기 (b) 및 (c) 단계를 거친 카본 잉크 도포부에 효소 반응 보조 물질을 포함하는 효소 반응 보조 용액을 도포 및 건조함으로써, 각각 상대전극 및 작업전극을 형성하는 단계를 포함하는 바이오센서의 제조방법이 제공된다.
- <66> 도 4a 내지 4e에는 본 발명에 따른 바이오센서의 제조방법에 대한 개략적인 공정도를 도시하였다.
- <67> 도 4a 내지 4e에 따르면, 먼저 기판 상에 한 쌍의 도선층 (410)을 패터닝하고 (4a), 상기 도선층의 각 말단부 상에 카본 잉크를 도포 및 건조하여 카본 잉크 도포부 (420)를 형성하는 단계 (4b)가 수행된다. 이때, 상기 도선층 (410) 및 카본 잉크에 대한 사항들은 전술한 바와 같다.
- <68> 다음으로, 상기 도선층 (410) 및 카본 잉크 도포층 (420) 상에 절연성 잉크 (430)를 부분 도포 및 건조시킴으로써 한 쌍의 접속부 (440) 및 한 쌍의 카본 잉크 도포부 (420)를 형성하는 단계 (4c)가 수행된다. 절연성 잉크

의 예는 전술한 바와 같다.

- <69> 이어서, 도전성 카본 잉크 도포부 (420) 상에 효소 반응 용액 및/또는 효소 반응 보조 용액을 도포 및 건조시킴으로써 상대전극 (450) 및 작업전극 (460)을 형성하는 단계가 수행되는데, 여기에서 작업전극 (460)에 대해서는 효소 반응 용액의 도포 (4d) 및 효소 반응 보조 용액의 도포 (4e)라는 2 단계 공정이 수행되고, 상대전극 (450)에 대해서는 효소 반응 보조 용액의 도포 (4e)라는 1 단계 공정만이 수행된다.
- <70> 도 5에는 이러한 2 단계 공정에 의해서 작업전극을 제조하는 것에 대한 개략적인 모식도가 도시되어 있다. 도 5를 참조하면, 효소 (510), 탄소나노튜브 (520) 및 산화환원반응 매개체 (530)를 완충용액 중에서 혼합하여 효소 반응 용액을 제조한 다음 카본 잉크 도포부 (540) 상에 코팅하고, 이어서 증점제 및 계면활성제를 완충용액 중에서 혼합하여 효소 반응 보조 용액 (550)을 제조한 다음, 그 위에 코팅함으로써 작업전극을 제조할 수 있게 된다.
- <71> 이때, 효소 반응 용액은 검출 대상이 되는 시료와 반응하는 효소, 산화환원반응 매개체 및 탄소나노튜브를 인산 칼륨 완충용액과 같은 완충용액 중에서 혼합함으로써 제조될 수 있고, 효소, 산화환원반응 매개체 및 탄소나노튜브에 대한 사항은 전술한 바와 같다.
- <72> 상기 효소 반응 용액을 제조하는 방법은 특별히 제한되는 것은 아니며, 예를 들어, $K_3[Fe(CN)_6]$ 0.78g/100ml 농도의 산화환원반응 매개체 용액을 제조한 후 이중 일정량을 취하여 1unit/1 μ l의 글루코스 산화효소 농도가 되도록 제조한 다음, 10 mg의 탄소 나노튜브를 0.5중량%의 나피온 용액 1ml와 혼합한 서스펜션 용액과 1:1의 비율로 혼합하여 제조할 수 있다.
- <73> 한편, 상대전극을 제조하기 위한 효소 반응 보조 용액은, 히드록시에틸셀룰로오스, 잔탄검, 메트로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 증점제 및 Triton X-100과 같은 계면활성제를 인산 칼륨 완충용액과 같은 완충용액 중에서 혼합시킴으로써 제조될 수 있다. 상기 효소 반응 보조 용액의 제조 방법 역시 특별히 제한되는 것은 아니며, 예를 들어 하이드록시에틸셀룰로오스(Natrasol) 0.03g과 Triton X-100 20 μ l를 100ml의 인산 칼륨 완충용액하에서 혼합하여 제조할 수 있다.
- <74> 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 바이오센서의 작업전극에는 탄소나노튜브가 포함되며, 이러한 탄소나노튜브는 산 처리에 의하여 카르복실 관능기를 갖는 것이 바람직하다.
- <75> 상기 탄소나노튜브에 대한 산 처리는 탄소나노튜브 분말을 pH 1.5 내지 2.5의, 질산, 황산 또는 이들의 혼합용액을 사용하여 수행될 수 있으며, 처리온도 및 처리시간은 90℃ 내지 120℃ 및 12 내지 24시간인 것이 바람직하다. 처리온도가 90℃ 미만이거나 처리시간이 12시간 미만인 때에는 탄소나노튜브 분말의 산화가 제대로 이루어지지 않을 염려가 있고, 처리온도가 120℃를 초과하거나 처리시간이 24시간을 초과하는 때에는 공정효율 면에서 바람직하지 않다.
- <76> 본 발명에 따른 바이오센서는 혈당 측정, 콜레스테롤 측정 등을 위한 다양한 바이오센서로서 사용될 수 있으며, 영구용 및 일회용 바이오센서로서 다양하게 응용가능하다.
- <77> 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- <78> 실시예 1
- <79> 본 발명에 따른 바이오센서의 제작
- <80> 125 μ m의 두께를 가지며, 10mm×20mm의 크기를 갖는 폴리에틸렌테레프탈레이트 (polyethyleneterephthalate) 재질의 기판 상에 15 μ m의 두께 및 1mm의 폭으로 한쌍의 Ag 도선층을 스크린 프린팅 방법에 의해서 패터닝하였다. 상기 도선층의 말단부에 카본 잉크 (Electrodag PF-407C, Acheson사 제조)를 25 μ m의 두께로 도포한 후, 100℃에서 1시간 동안 건조시켜서 카본 잉크 도포층을 형성하였다.
- <81> 이어서, 마스크를 사용하여 상기 도선층 및 상기 카본 잉크 도포층 상에 절연성 잉크로서 PCD40252 (Metech 사, heat curing type)를 50 μ m의 두께로 부분 도포한 다음 건조시킴으로써 한 쌍의 접속부 및 한 쌍의 카본 잉크 도포부를 형성하였다.
- <82> 한편, 글루코오스 산화효소(250,000 unit/g:시그마사 제조) 3.2mg을 100ml의 인산 칼륨 완충용액에 용해시켰다. 다음으로, 탄소나노튜브(일진나노텍)를 pH 2의 HNO₃ 및 H₂SO₄ 혼합용액으로, 100℃에서 24시간 동안 처리함으로

써 카르복실 관능기를 갖는 탄소나노튜브 100mg을 제조하고, 이중 10mg의 탄소나노튜브를 1ml의 나피온 0.5중량 % 수용액(Aldrich사 제조)에 혼합하여 서스펜전 용액을 제조하였다. 다음으로, 상기 글루코오스 산화효소 용액 1ml를 인산 칼륨 완충용액에 칼륨 페리시아나이드 0.78g/100ml가 용해되어 있는 용액 1ml와 혼합하여 글루코오스 산화효소가 1unit/1 μ l의 농도가 되도록 제조한 후 이중 1ml를 취하여 상기 탄소나노튜브 서스펜전 용액 1ml와 혼합하고 교반시킴으로써 효소 반응 용액을 제조하였다.

<83> 또 다른 한편으로, Natrasol (Aqualon) 0.03g 및 Triton X-100 20 μ l를 100mL의 인산 칼륨 완충용액 중에서 교반시키으로써 효소 반응 보조 용액을 제조하였다.

<84> 상기 제조된 효소 반응 용액 $2\mu\text{l}$ 를 상기 카본 잉크 도포부 중 어느 하나에 도포한 후, 40°C 에서 1시간 동안 건조시켰다. 마지막으로, 상기 제조된 효소 반응 보조 용액 $2\mu\text{l}$ 를 양 전극 모두에 도포한 후, 40°C 에서 1시간 동안 건조시킴으로써 각각 상대전극 및 작업전극을 갖는, 본 발명에 따른 바이오센서를 제조하였다.

<85> 비 교 예 1

<86> 종래기술에 따른 바이오센서의 제작

<87> 효소 반응 용액 중에 카본나노튜브를 포함시키지 않았다는 점을 제외하고는, 실시예 1과 동일한 방법으로 종래 기술에 따른 바이오센서를 제작하였다.

<88> 실험예 1

<89> 감도비교

<90> 상기 실시예 1에 따른 바이오센서 및 비교예 1에 따른 바이오센서의 글루코오스 농도에 따른 전류 세기를 측정함으로써 감도를 비교하였으며, 그 결과를 도 6에 도시하였다.

<91> 도 6에 따르면, 본 발명에 따른 바이오센서는 종래기술에 따른 바이오센서에 비해서, 동일한 글루코오스 농도에
서 2배 이상의 감도를 나타냄을 알 수 있다.

발명의 효과

<92> 본 발명에 따르면, 스크린 프린팅 방법에 의해서 제작하더라도 작업전극의 검출 대상 물질에 대한 감도를 획기적으로 향상시킬 수 있고, 검출 대상 물질을 산화시키는 효소의 활성을 극대화할 수 있는 바이오센서 및 그 제조방법을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 본 발명에 따른 바이오센서에 대한 평면도를 도시한 것이다.

〈2〉 도 2a 및 2b는 각각 본 발명에 따른 바이오센서에 대한 작업전극 및 상대전극의 단면도를 도시한 것이다.

〈3〉 도 3은 화학적 처리에 의해서 카르복실 관능기를 갖게 되는 탄소나노튜브의 개략적인 모형도를 도시한 것이다.

<4> 도 4a 내지 4e는 본 발명에 따른 바이오센서의 제조방법에 대한 개략적인 공정도를 도시한 것이다.

<5> 도 5는 2 단계 공정에 의해서 본 발명에 따른 작업전극을 제조하는 것에 대한 개략적인 공정도를 도시한 것이다.

<6> 도 6은 본 발명에 따른 바이오센서 및 종래기술에 따른 바이오센서의 글루코오스 농도에 따른 전류 세기를 측정함으로써 감도를 비교한 결과를 도시한 그래프이다.

<7> <도면 부호에 대한 간단한 설명>

<8>
기관: 100
검출부: 110

◁9▷ 접속부: 120, 440 절연부: 130

<10> 작업전극: 111, 460 상대전극: 112, 450

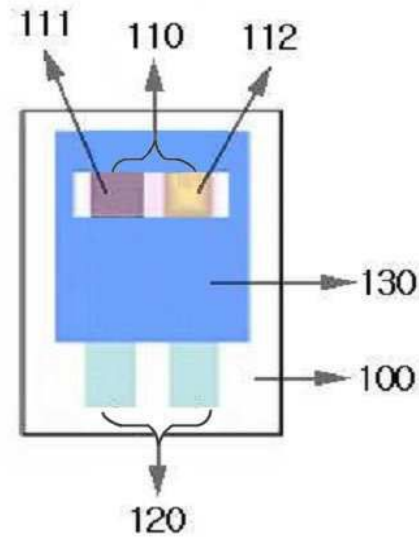
<11> 도서층: 210 카본 전극층: 220

<12> 효소 반응 물질층: 230 효소 반응 보조 물질층: 240

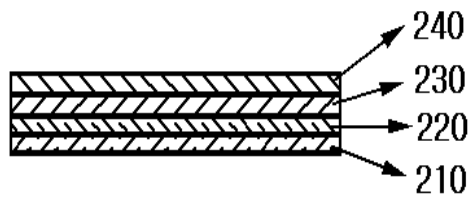
- <13> 효소: 510 탄소나노튜브: 520
 <14> 산화환원반응 매개체: 530 카본잉크 도포부: 540
 <15> 효소 반응 보조 용액: 550

도면

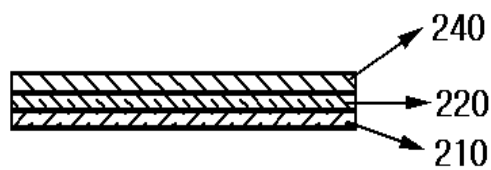
도면1



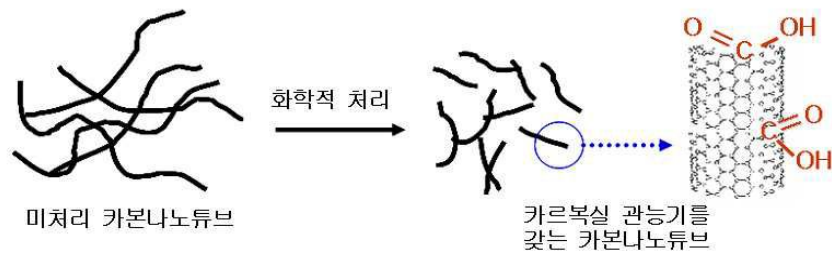
도면2a



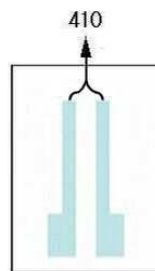
도면2b



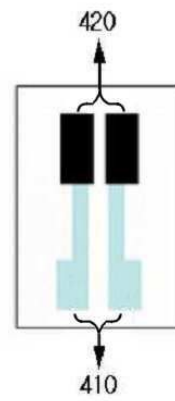
도면3



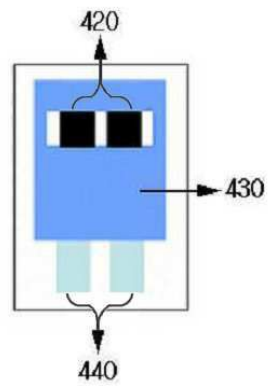
도면4a



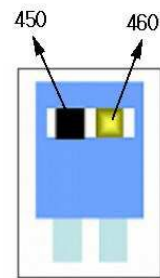
도면4b



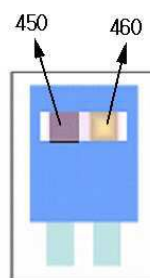
도면4c



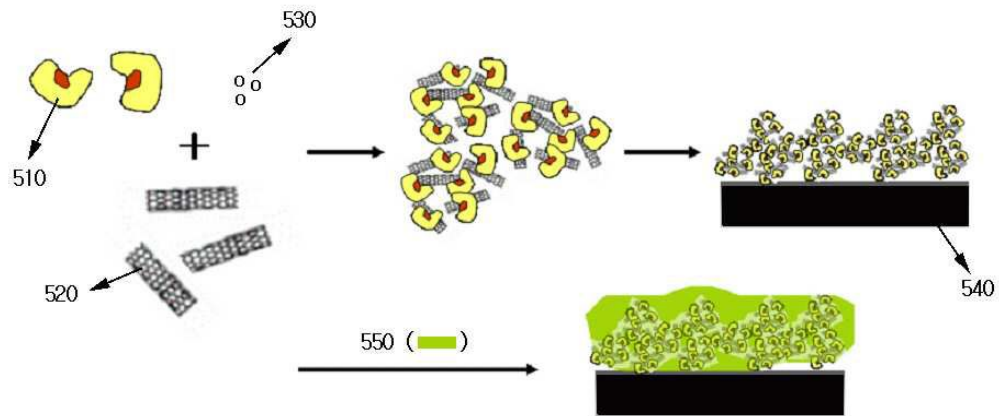
도면4d



도면4e



도면5



도면6

