



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0136613
(43) 공개일자 2024년09월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/26 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 27/26 (2020.05)
G01N 33/48 (2019.01)
(21) 출원번호 10-2023-0029770
(22) 출원일자 2023년03월07일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)
(72) 발명자
심봉섭
인천광역시 연수구 컨벤시아대로42번길 96 더샵
엑스포 6단지 601동 603호
부스라
인천광역시 미추홀구 인하로 122 402호
홍영범
인천광역시 미추홀구 한나루로477번길 98-1 303호
(74) 대리인
특허법인 공간

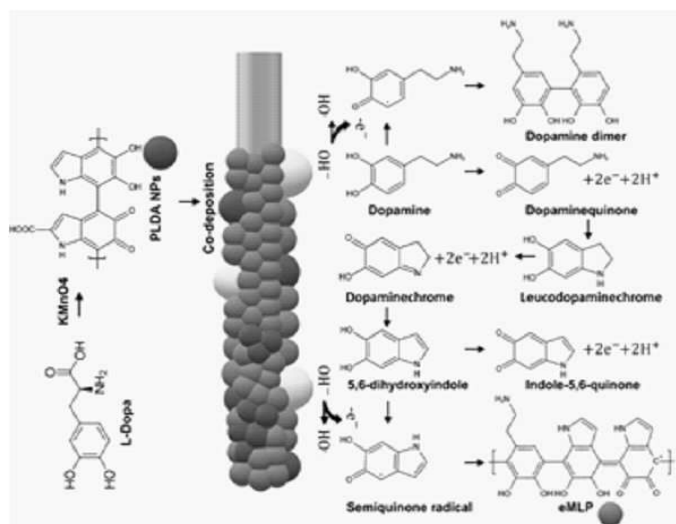
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 높은 전기전도성을 갖는 멜라닌 유사 고분자 복합재 및 이를 이용한 비효소 글루코오스 바이오센서

(57) 요약

본 발명은 비효소 포도당 검출 특성을 나타내는 전도성 및 전기화학적 코팅막에 관한 것으로서, 상세하게는 전기 전도성 멜라닌 유사 고분자 (eMLP)를 포함하고, 도파민, 멜라닌 또는 합성 도파민; 및 합성 멜라닌;을 포함하며 상기 코팅막은 모노머와 도파민이 동시 증착되어 공액 구조가 형성되는 것을 특징으로 하는, 효소 비의존적 포도당 바이오 센서 및 전도성 코팅막에 것에 관한 것이다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711168069
과제번호	2021R1A4A1022920
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	기초연구실육성사업(BRL)
연구과제명	Zero E-Waste를 위한 자연분해성 복합기능 전자소재 및 친환경공정 개발 기초연구실
기 여 율	1/1
과제수행기관명	인하대학교 산학협력단
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

청구범위유예 : 있음

임시명세서출원 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

합성 유사 멜라닌을 포함하고, 도파민, 멜라닌을 포함하는 유사 도파민; 및 공액 고분자를 형성하는 모노머;를 포함하며,

상기 멜라닌과 모노머는 기관상에 동시 증착되어 공액 구조가 형성되는 것을 특징으로 하는, 효소 비의존적 포도당 바이오 센서 및 전도성 코팅막.

청구항 2

제 2항에 있어서,

상기 유사 도파민은 도파민, 멜라닌, 합성 도파민 중 선택되는 어느 하나 이상으로 합성되어 공액을 갖는 것을 특징으로 하는, 효소 비의존적 포도당 바이오 센서 및 전도성 코팅막.

청구항 3

제 3항에 있어서,

상기 모노머는 공액 모노머 중 선택되는 어느 하나 이상으로 합성되어 공액을 갖는 것을 특징으로 하는, 효소 비의존적 포도당 바이오 센서 및 전도성 코팅막.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 높은 전기전도성을 갖는 멜라닌 유사 고분자 복합체 및 전기전도성 멜라닌 유사 고분자 (eMLP)의 고전도 코팅을 이용한 비효소 글루코오스 바이오센서에 관한 것으로서, 기관에 공액 구조의 형성을 촉진시키는 모노머를 도파민과 동시 증착하여 전기화학적 성능을 나타내고, 높은 감도와 낮은 검출 한계를 가지며 넓은 선형 범위와 생리학적 선택성을 가짐은 물론이고, 효소 비의존적 포도당 바이오 센서로 작용하며 모노머 함량을 조절을 통해 형태와 전기화학적 특성을 제어할 수 있는 높은 전기전도성을 가지는 멜라닌 유사 고분자 복합체 및 이를 코팅한 비효소 글루코오스 바이오센서에 것에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 전도성 고분자는 생체 공학 인터페이스 및 바이오 센서와 같은 생체 유기 전자 기술 개발에 큰 관심을 받고 있다. 전도성 고분자는 하이브리드 전자-이온 하이브리드 전도성 및 기계적 부드러움 및 쉬운 변형과 같은 고유한 특성을 제공하지만, 생체 적합성과 전기화학적 특성은 서로 상충되는 관계라는 제한으로 인한 한계를 가지고 있다.

[0004] 이를 해결하기 위해 멜라닌과 같은 천연 공액 고분자 및 그 복합체가 합성 고분자인 폴리아닐린, 폴리피롤 및 폴리-3,4-에틸렌 다이옥시티오펜과 같은 일반적으로 사용되는 전도성 고분자의 대체물로써 탐구되고 있다.

[0005] 천연 전구체에서 추출한 멜라닌과 전기 전도성 멜라닌 유사 고분자(eMLP)는 높은 생체 적합성으로 합성 고분자를 대체할 전도성 소재로 떠오르고 있다. 그러나 합성 방법과 모노머 구성에 따라 eMLP의 특성이 크게 달라지기 때문에 전기 전도도가 높은 eMLP를 합성하는 것은 어려운 과제이다.

[0006] eMLP의 합성과 관련하여, DL-β-디히드록시페닐알라닌 단량체를 사용하여 멜라닌을 합성한 후 이를 암모니아에 용해시키고 스핀코팅하여 전기 전도성 멜라닌 박막($2.5 \times 10^{-5} \text{ S cm}^{-1}$)을 형성한 연구결과가 발표된 바 있다(비특허문헌 1). 상기 문헌에 따르면 스핀코팅 과정에서 암모니아와 물이 증발하여 결함점과 크랙이 없는 균일한

전도성 멜라닌 박막이 형성된다고 한다. 또한, 산화화학기상증착 공정에서 황산과 함께 기체 도파민 단량체를 활용하여 0.4 S cm^{-1} 의 전기 전도도를 달성하였음이 보고된 적이 있다(비특허문헌 2). 그러나 상기 암모니아를 이용한 멜라닌의 스핀 코팅이나 도파민의 산화 화학 기상 증착과 같은 전도성 MLP를 만드는 기존의 방법은 범위와 성능이 제한적이다.

[0007] 따라서 첨단 생체 전자 및 바이오 센서로의 적용을 위한 전도성이 높고 기능적인 eMLP 코팅을 구현하기 위한 새로운 재료와 합성 접근법이 필요하다. 3,4-디하이드록시-L-페닐알라닌(dihydroxy-L-phenylalanine, L-DOPA)과 eMLP를 금 전극에 동시 증착하는 것으로 합성된 전기 전도성 멜라닌 유사 고분자는 공액구조 및 전도성 백본을 통해 전기화학 신호를 증폭시키고 π 결합을 통해 전하 이동을 증가시킴으로써, 포도당 바이오 센서에서 새로운 전기 촉매로 사용될 수 있다.

[0008] L-DOPA와 eMLP의 동시 증착을 통해 합성된 코팅층은 eMLP의 효율적인 전하 이동으로 인해 전기화학적 성능이 현저히 향상된다. 특히, 코팅층은 높은 민감도와 넓은 선형 범위, 생리적인 선택적인 전기화학적 특성을 갖는다. 이때 L-DOPA 함량을 변화시키는 것으로 코팅층의 형태와 전기화학적 특성을 제어할 수 있다. 또한, 코팅층은 효소 비의존적 포도당 바이오 센서로서의 특성을 보인다.

[0009] 따라서, 본 발명은 모노머와 도파민의 동시 증착을 통해 공액 백본의 확장된 형성을 촉진하여 높은 전도성을 갖는 코팅을 형성하여 효율적인 전하 이동을 통해 현저한 전기화학적 성능을 나타낸다. 특히, 높은 생체적합성을 가지는 것으로써, 바이오 센서에 적용할 수 있으며 높은 감도와 낮은 검출 한계를 가지며 넓은 선형 범위와 생리학적 선택성을 가지고, 동시에 효소 비의존적 포도당 바이오 센서 특성이 발현되는 새로운 구성과 합성 방식의 전기전도성 멜라닌 유사 고분자(eMLP) 및 이를 이용한 비효소 글루코오스 바이오센서를 제공한다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0011] (비특허문헌 0001) 비특허문헌 (0001): Bothma, J. P.; de Boor, J.; Divakar, U.; Schwenn, P. E.; Meredith, P., "Device-Quality Electrically Conducting Melanin Thin Films.", Adv. Mater. 2008, 20 (18), 3539-3542.

(비특허문헌 0002) 비특허문헌 (0002): Coskun, H.; Aljabour, A.; Uiberlacker, L.; Strobel, M.; Hild, S.; Cobet, C.; Farka, D.; Stadler, P.; Sariciftci, N. S. "Chemical Vapor Deposition-Based Synthesis of Conductive Polydopamine Thin-Films.", Thin Solid Films 2018, 645, 320-325.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위해 모노머를 동시 증착하여 공액 구조의 형성을 촉진하는 도파민의 합성 경로를 사용하는 것으로 생체 적합성을 유지하면서도 우수한 전기화학적 성능을 제공하며, 점진적인 포어 크기를 갖는 3차원 나노 다공 구조를 통해 효소 비의존적 포도당 감지 능력을 동시에 발현하는 멜라닌 유사 고분자 복합체 및 이를 이용한 바이오 센서를 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 고전도성 도파민 합성 방법 및 효소 비의존적 포도당 감지에 대한 촉매 활동을 제공하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, 합성 유사 멜라닌을 포함하는 유사 도파민; 및 공액 고분자를 형성하는 모노머;를 포함하며, 상기 모노머는 기관상에서 도파민과 동시 중합되어 높은 전기 화학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는, 효소 비의존적 바이오 센서 코팅막을 제공한다.

- [0016] 일 실시예로, 상기 유사 도파민은 도파민, 멜라닌, 합성 도파민일 수 있다.
- [0017] 일 실시예로, 상기 모노머는 전도성 모노머일 수 있다.
- [0018] 일 실시예로, 상기 모노머는 공액 모노머일 수 있다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명은 기관에 공액 구조의 형성을 촉진시키는 모노머를 도파민과 동시 증착하여 공액 구조의 형성을 촉진시킴에 따라 높은 전도성과 전기화학적 특성을 부여할 수 있다.
- [0021] 또한, 본 발명은 모노머 함량 조절을 통하여 코팅의 형태와 전기화학적 특성을 제어할 수 있으며, 생체적합성 소재인 도파민을 사용하므로 생체 인터페이스와 바이오 센서에 사용할 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명은 높은 고감도와 낮은 검출 한계를 가지며 넓은 선형 범위와 생리학적 선택성을 가짐은 물론이고, 효소 비의존적 포도당 감지에 대한 촉매 활동을 갖는 것으로 포도당 바이오 센서에 사용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0024] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 eMLP 코팅의 제조 과정에 대한 모식도다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 코드 포지션된 P/D와 순수 PDA 필름 형태의 eMLP의 SEM 이미지 및 EDX 원소 맵핑 이미지이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 eMLP 코팅된 전극에 대한 EIS 스펙트럼 및 CV 곡선이다.
- 도 4은 본 발명의 일 실시예에 따라 NaOH의 농도에 따른 CV 곡선이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 포도당 농도에 따른 전류-시간 곡선이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상 적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.
- [0026] 본 명세서 전체에서 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다. 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0027] 본 발명에 있어, 상기 모노머는 합성 유사 멜라닌(MLP)을 포함하고, 공액을 갖는 모노머로 중합됨에 따라 높은 전기 화학적 특성을 갖는다.
- [0028] 멜라닌은 유멜라닌의 형태로 5,6-디하이드록시인돌(DHI) 및 5,6-디하이드록시인돌-2-카르복시산(DHICA)로 구성된다.
- [0029] 전도성을 갖는 eMLP를 합성하기 위해서는 통제된 산화 조건 하에서 공안 백본 구조가 형성되어야 한다. MLPs는 일반적으로 수용성 완충액에서 도파민 (DA) 전구체의 자동 산화에 의해 합성된다.
- [0030] 일반적으로 전기화학 합성에서 기포의 존재는 활성 전극 면적을 감소시키고 전하 경로를 막아 합착 과정을 방해한다. 그러나 음향 전기화학에서는 기포가 음향 공해를 통해 반응 속도와 수율을 향상시키는 역할을 하는 중요한 역할을 한다. 또한, 초음파 유도 공해 기포는 티로신을 함유한 생체 분자와의 촉매 결합 부지로 작용하여 수산화 라디칼과 동시에 존재하는 티로신 결합 반응을 촉진한다. 이러한 기포는 표면에 흡착된 분자의 수산화 및 이중 고리화 반응을 유발하여 초분자 구조의 형성에 기여한다. 기포 붕괴 과정 중 생성되는 수산화 라디칼은 폴리도파민 형성과 같은 음향 화학 합성 과정에 참여한다. 더욱이 부착된 기포는 물의 산화를 시작하여 일반적으로 인식되는 마스킹 효과와는 반대로 전극의 산화력을 향상시킨다.
- [0031] 구체적으로, 상이하게 지역적으로 정렬된 공액 및 전도 구조를 갖는 전기 전도성 멜라닌과 유사한 고분자(eML

P)의 중합을 달성하기 위해 상당한 가스 발생을 동반한 고전기장을 활용할 수 있다.

- [0032] 본 발명에서는 도파민의 전기화학 중합 및 미리 합성된 PLDA NPs와 DA 전구체의 전기화학 공중합 두 가지 방법을 사용하여 고전도 멜라닌과 유사한 고분자(eMLP)를 생산하였다. 고전기장 하에서 형성된 기포에 의한 수산화 라디칼의 생성은 eMLP의 공안 백본 형성에 중요한 역할을 한다. 이러한 eMLP로 코팅된 모든 전극은 맨 처음의 금 전극과 비교하여 전기화학 임피던스 스펙트럼(EIS)이 낮아지고 전하 저장 용량(CSCs)이 향상된 전기화학 특성을 크게 향상시킨다.
- [0033] eMLP의 합성은 추가적인 지지 전해질이 없이 물을 침전 용매로 사용하여 금 전극에 전기화학적 합성 방법을 사용함으로써 달성된다.
- [0034] 상기 침전 용매로는 약산성 또는 염기성 조건과 함께 인산염 버퍼나 트리스 버퍼를 사용할 수 있다.
- [0035] 염기성 인산염 버퍼에서 HPO_4^{-2} 의 존재는 MLP의 수산화물 기능기와 수소 결합을 형성할 수 있으며, 이는 DA 모노머 간의 공유 결합을 억제할 수 있다. 비슷하게, MLP는 트리스의 일차 아민과 공유 결합할 수 있으며, 중합은 고체 기판보다는 용액 상을 선호한다. 한 번 용액에서 중합 또는 집적화가 발생하면 MLP가 기판에 부착되지 않는다. 따라서 라디칼 종은 MLP의 중합에 있어서 활성 중심으로서 중요한 역할을 한다.
- [0036] 본 발명에서는 비상호작용 침전 용매를 사용하여 전기 전극 표면에만 중합이 일어나도록 제한하고, 전극 기판에 가까운 높이에서 가스-물 인터페이스를 통해 연속적인 라디칼 공급을 통해 공액 방향을 조절한다. 이에 따라, eMLP는 임피던스 감소 및 향상된 CSC를 특징으로 하는 탁월한 전기화학 성능을 나타낸다.
- [0037] 이러한 새로 개발된 eMLP 필름은 우수한 전기적 특성과 고유한 생체 적합성을 갖고 있어, 약물 전달 시스템부터 바이오센서 및 생물 전자 공학에 이르기까지 다양한 생체 응용 분야에서 활용될 수 있는 유망한 후보로 고려될 수 있다. 또한, 그들의 표면에 풍부한 알코올 및 카르복시산 기기 때문에 eMLP 필름은 다양한 생체 분자로 수정될 수 있으며, 무수한 생체 전자 응용 분야에 대한 특정 기능성을 갖춘 플랫폼을 만들 수 있다.
- [0038] <실시예>
- [0039] 1. 도파민 코팅막 제조
- [0040] eMLP는 도 1에 나타난 두 가지 접근법을 사용하여 금 전극에 전기화학적으로 코팅되었다.
- [0041] 첫 번째 방법에서는 일정 전위를 적용하여 DA 전구체가 도파민퀴논으로 산화되고 그런 다음 이분자 사이클라이제이션을 통해 루코도파민크로姆으로 변환되며, 5,6-다이하이드록시인돌 및 5,6-인돌퀴논의 형성 및 중합이 추가적인 산화와 함께 이루어진 후 얻어진 eMLP 코팅은 순수 폴리도파민(PDA)을 얻었다.
- [0042] 두 번째 접근법에서는 물 DA 용액이 PLDA NPs와 혼합되고 일정한 전위가 적용된 상태에서 전기화학 공중합이 수행되었다.
- [0043] PLDA NPs는 표면에 카르복시산 기능기를 갖고 있기 때문에 이러한 NPs를 선택하여 카르복시산 기능기의 표면 농도를 조절하여 표면 모양을 제어하기 위한 목적으로 코드포지트 필름을 생성하였다. PLDA NPs, 즉 음이온성 생물 고분자인 PLDA NPs가 대이온의 역할을 하며 DA에서 PDA로의 전기 중합 과정 중에 동시에 성장 매트릭스에 통합되었다. 이 방법으로 달성한 eMLP 코팅은 침전 용매 내 PLDA NP 대 DA 무게 비에 따라 P/D (1:15), P/D (1:30) 및 P/D (1:60)과 같이 명명하였다.
- [0044] 전기침전 고전위와 강제 대류 하에서 표면 기포와 생성된 수산화 라디칼의 동시 작용으로 전기 전도성을 갖는 특성을 가진 eMLP의 합성이 이루어졌다. 수산화 라디칼의 존재는 단량체를 더 높은 에너지 상태로 이끄는 동시에 탄소 간 결합을 지향하여 전기 전도성 공안 백본을 형성시켰다.
- [0045] 전기화학 중합 과정을 이해하기 위해 적용된 전위, 전해질의 교반 속도, PLDA NP 대 DA의 공급 비율 및 침전 시간과 같은 다양한 변수가 최종 필름의 모양과 전기적 특성에 미치는 영향을 조사하였다.
- [0046] 적용 전위의 영향에 대해서는 2V에서 DA 중합이 불충분하였으며 침전 용액의 색상이 변하면서 중합이 액상에서 발생한 것으로 나타났다. 4V에서는 PLDA NPs가 포함된 eMLP가 관찰되었으며, 5V에서는 PLDA NPs의 통합이 억제되어 원하는 필름 모양이 나타나지 않았다. 전기화학 테스트 결과, 2V에서 4V까지 임피던스가 감소하고 CSC가 증가하였지만 5V에서는 임피던스가 증가하고 CSC가 감소하였다. 결과적으로, 최상의 전기침전 전위를 결정하기 위해 최상의 eMLP 모양과 전기적 특성을 달성하기 위해 최적의 전기침전 전위는 4V로 판단되었다.

- [0047] 전해질의 교반 속도에 대해서는 생성된 기포의 크기를 경계층 높이보다 낮게 유지하여 심각한 수력적 마찰을 피하기 위해 500 rpm이 선택되었고, 이로 인해 유사한 전기적 특성과 PLDA 및 PDA NPs의 균형 장소량이 나타났다.
- [0048] 2. 도파민의 전도성 및 전기화학 특성 코팅막 분석
- [0049] (1) SEM 분석
- [0050] 도 2는 코드포지션된 P/D와 순수 PDA 필름 형태의 eMLP의 SEM 이미지이다. P/D (1:30)의 단면 SEM 이미지 및 C (빨강), 질소 (녹색), 금 (파랑)의 동일 영역에 대한 EDX 원소 맵핑 결과가 도 2에 제공되었다.
- [0051] CV 곡선 분석
- [0052] 도 3은 모든 eMLP 코팅된 전극 (n=3)에 대한 EIS 스펙트럼 및 CV 곡선을 보여주며, P/D (1:30) 및 PDA (n=3)의 CSC 값도 제공한다.
- [0053] 도 4는 0.1M NaOH 내 12 mM 포도당의 존재 (파랑과 노랑) 및 부재 (빨강)에서 P:D (1:30) 필름 (파랑과 빨강) 및 베어 골드 (노랑)의 CV 곡선을 보여준다. 또한, P:D (1:30)의 0.1M NaOH 내 다양한 농도의 포도당 존재 시 CV 곡선 (Ag/AgCl 대비 0.1 V/s의 스캔 속도)이 도 4b에 제공되었다.
- [0054] 도 4는 0.1M NaOH에서 P/D (1:30) 코팅된 금 전극에서 기록된 크로노암페로그램을 보여준다.(내측: ICat/INaOH 대 t1/2에 대한 플롯)
- [0055] 도 5는 0.1M NaOH 용액에서 0.2 V의 적용 전압 하에서 다양한 농도의 포도당 첨가에 대한 P:D (1:30) 전극에서 얻은 전류-시간 곡선을 보여준다. 포도당 농도 대 전류의 대응 캘리브레이션 플롯이다.
- [0056] 도 5는 0.1M NaOH에서 P/D (1:30)의 amperometric 반응과 다른 방해물 중에 대한 관련 전류 단계 값을 3 mM의 포도당 (Glu), 프루토스 (Fru), 갈락토스 (Gal), 알부민 (Alb), 0.5 mM의 락테이트 (Lac) 및 다른 간섭 물질 0.3 mM에 대한 것을 보여준다.
- [0057] <실시예 1> PLDA NPs의 화학 합성
- [0058] PLDA NPs는 L-DOPA의 KMnO_4 산화를 통해 합성되었다. 간단히 말해서, L-DOPA (200 mg)는 치밀하게 저어가며 190 mL의 탈이온화 물에 용해되었다. 그런 다음, L-DOPA 수용액에 10 mM의 KMnO_4 용액 (10 mL)이 첨가되고 50°C에서 12시간 동안 교반시켰다. 혼합 용액은 Amicon Ultra 원심 필터 (EMD Millipore, Darmstadt, 독일)를 사용하여 4000 rpm에서 10 분 동안 원심 분리되고 탈이온화 물로 세 번 세척되었다. 수용액 용매는 동결 건조에 의해 제거되고 고체 PLDA NPs가 얻어졌다.
- [0059] 생산된 입자의 물리적 및 화학적 특성을 확인하기 위해 필드 방출 전자 현미경 (FE-TEM; JEM-2100F, JEOL, 미국), 푸리에 변환 적외선 분광법 (FTIR-ATR; Spectrum Two, PerkinElmer Co., Waltham, MA, 미국) 및 다이나믹 라이트 스캐터링 (Zetasizer Nano ZS 90, Malvern Instruments Limited, Worc., Malvern, 영국) 분석이 수행되었다.
- [0060] <실시예 2> eMLP의 전기 중합
- [0061] 전기 중합은 작동 전극으로 금 와이어 전극 (지름 0.1 mm, 길이 5 mm)을 사용한 삼전극 셀을 이용하여 AutoLab 포텐티오스탯/갈바노스탯트를 사용하여 수행되었습니다. 카운터 전극으로는 백금 판을 사용하고 참조 전극으로는 Ag/AgCl을 사용하였습니다.
- [0062] 모든 eMLP는 침전 용매로 정제된 물에서 전위정지 산화 하에 전기화학적으로 중합되었습니다. PDA 샘플은 3 mM 다모피린 염화수용액으로 제조되었다. 모든 P/D 샘플은 0.45 mg의 PLDA NPs를 25 mL의 수용성 다모피린 용액에 첨가하여 제조되었다. 이 방법으로 얻은 코팅은 침전 용매 내 PLDA NP 대 DA 무게 비에 따라 P/D (1:15), P/D (1:30) 및 P/D (1:60)과 같이 명명되었다.
- [0063] 3. eMLP의 분석
- [0064] (1) SEM 분석
- [0065] 도 2는 15 kV 운영 전압에서 eMLP의 필드 방출 주사 전자 현미경 (FE-SEM) 이미지이다(FE-SEM, S-4300SE, Hitachi).
- [0066] 도 2a-c에서 보듯이, DA 전구체의 양이 증가함에 따라 PDA NPs가 더 크고 과립 모양으로 형성되었다. 도 2b와 d

에 표시된 두 개의 필름은 침전 용매에 동일한 양의 DA를 포함하고 있다. 그러나 PLDA NPs를 첨가하면 PDA NPs의 직경이 감소하는 것을 볼 수 있었다. 또한, P/D (1:30) 코드포지트 필름은 더 밀도 있는 구조와 더 작은 기공 크기를 가지고 있다.

[0067] 도 2e에 표시된 것처럼 10 분 동안 침전된 P/D (1:30)의 단면 SEM 이미지는 약 2.5 μm 의 코팅 두께를 보여주었다.

[0068] (2) EDS 분석

[0069] 다양한 eMLP 코팅의 화학 조성은 EDS에 의해 분석되었으며, 질소의 백분율을 확인함으로써 PDA의 형성이 확인되었다. 침전 시간이 증가함에 따라 질소의 백분율은 2.14%에서 4.01%로 증가하였다.

[0070] 도 2e에 표시된 단면 영역의 원소 매핑은 표면에 유기 생물 물질의 존재를 확인하였으며, 이것은 그림 2f에 나타난 높은 탄소 강도로 나타났다.

[0071] (3) 전기화학 성능 분석

[0072] eMLP의 전기 활동을 분석하기 위해 인산염 버퍼된 신생활연구소 (PBS; pH: 7.4) 전해질을 사용하여 Autolab 포텐티오스택/갈바노스택트를 사용하여 순환 전압법 (CV) 및 전기화학 임피던스 분광법 (EIS)을 수행하였다. CV 측정을 위해 주기는 -0.4에서 +0.8 V 사이에서 0.1 V s^{-1} 의 스캔 속도로 수행되었다. 임피던스 측정의 크기는 0.1-105 Hz 범위에서 결정되었다.

[0073] eMLP 필름의 EIS 스펙트럼은 도 3a-b에 표시되어 있다. 모든 eMLP 코팅된 전극의 전기 임피던스는 특히 저주파 영역에서 벌어진 골드 와이어 전극 (GW)의 임피던스보다 크게 낮았다. 60분의 침전 시간으로 제조된 P/D (1:30) 및 순수 PDA는 다른 전극 중에서 임피던스가 가장 많이 감소한 것으로 나타났으며 이는 2개의 마이크로 단위 감소로 나타났다.

[0074] 도 3c-d에는 코드포지트 필름 및 순수 PDA 필름의 CV 곡선이 표시되어 있다. GW에는 산화 및 환원 피크가 관찰되지 않았으며, 반면 eMLP 코팅된 전극은 PDA 내 카테콜 및 퀴논 단위의 산화 및 환원과 관련된 +0.23 및 +0.11 V 주변에 두 개의 산화 및 환원 피크를 가지고 있었다. 모든 그룹에서 산화 및 환원 피크 전류는 전극 표면 영역이 커지면서 더 우수한 전하 이동으로 인해 침전 시간이 길어질수록 증가했다.

[0075] 전극의 CSC도 CV 곡선 아래의 면적을 계산하여 결정되었다. 코드포지트 필름 그룹에서 P/D (1:30)은 모든 시간 지점에서 가장 높은 CSC 값을 보였다 (도 3e). 또한, 침전 용매 내 동일한 양의 다모피린 전구체를 가지고 있는 P/D (1:30) 및 순수 PDA 필름의 CSC에는 유의한 차이가 없었다. 모든 eMLP 필름의 CSC 값은 맨 무덤의 GW (0.023 mC cm^{-2})보다 훨씬 높았다. 특히 P/D (1:30) 및 PDA 코팅된 전극은 맨 무덤의 GW와 비교했을 때 CSC가 60배 증가한 것으로 나타났다. 이것은 증가한 유효 표면 영역과 코드포지트 및 순수 PDA 필름 모두에서 효율적인 전하 이동으로 설명할 수 있다.

[0076] EIS 및 CV 곡선을 살펴보면, 더 많은 양의 PLDA NPs가 P/D (1:15)와 같이 eMLP 필름의 전하 이동에 상대적으로 부정적인 영향을 미쳤다. 그러나 P/D (1:30) 형태의 eMLP 필름은 순수 PDA 필름과 유사한 전기적 특성을 나타내어 다시 한 번 코드포지트 필름의 전기적 특성이 PLDA NPs의 첨가로 손상되지 않았음을 나타냈다. 코팅의 모양이 다른 PLDA NPs 대 다모피린 비율로 변화했기 때문에 이러한 접근 방식은 튜너블한 특성을 가진 eMLP의 합성에 사용될 수 있다.

[0077] (4) Electrocatalytic activity 분석

[0078] 모든 eMLP 필름의 전기 화학적 촉매 활동은 0.1 M NaOH 용액 내 12 mM 포도당 존재하에서 테스트되었다.

[0079] 전극 침전 시간이 10분인 전극 그룹에서 포도당의 흡착 및 산화에 대한 유사한 전류 응답이 얻어졌다. 그러나 더 긴 침전 시간으로 제조된 전극은 더 우수한 전기적 특성으로 인해 더 높은 전기 화학적 촉매 활동을 나타냈다. 이러한 결과를 고려하여, 30분 동안 침전된 P/D (1:30) 필름 전극은 제작의 용이성과 추가 실험에 사용하기 위해 선택되었다.

[0080] 포도당 산화에 대한 P/D (1:30) 코팅된 GW의 전기 화학적 촉매 활동은 0.1 M NaOH (도 4a)에서 포도당의 존재 (파랑) 및 부재 (빨강)를 기반으로 한 순환 전압법 응답을 통해 조사되었다. 포도당의 산화 전류를 맨 무덤 GW (노란색)과 P/D (1:30) 코팅된 GW (파란색)에서 비교하면, 후자는 15배 더 높은 전류를 가지고 있어 eMLP 필름의 전기 화학적 효과를 나타낸다. 포도당이 없을 때 나타나는 산화환원 반응은 P/D (1:30) 코드포지트 필름 내 카테콜 및 퀴논 단위의 산화 및 환원으로 귀속되었다. 피크 I은 헤미아세틸 수소 원자의 제거를 통해 eMNP 표면

에 포도당이 흡착되는 것으로 귀속된다. 이 탈수소 포도당 분자는 글루코놀락톤 중간체로 산화되거나 직접 글루콘산으로 산화된다 (피크 II). 더 양성 전위에서는 P/D (1:30) 필름의 카테콜 그룹이 산화되어 퀴논 그룹으로 변환되었으며 (피크 III), 이것은 또한 맨 무덤 GW (노랑색)의 CV 곡선에서 이러한 피크의 부재로부터 확인될 수 있다. 역전 스캔에서 P/D (1:30) 필름은 다시 환원되고 포도당의 두 번째 산화가 이어진다 (피크 IV).

[0081] 도 4b에서 P/D (1:30) 필름을 사용한 포도당의 양적 검출은 포도당 농도가 3에서 24 mM까지 증가함에 따라 산화 전류가 점진적으로 증가함으로써 나타난다.

[0082] P/D (1:30) 코팅된 GW의 전압법 행동에 대한 스캔 속도의 영향을 이해하기 위해 순환 전압법을 사용하여 전극 부위에서 포도당 산화의 운동학적 특성을 이해하기 위해 조사되었다 (도 4c).

[0083] 스캔 속도가 증가함에 따라 포도당의 흡착 (피크 I) 및 산화 (피크 II) 및 P/D (1:30) 필름의 산화 (피크 III)에 대한 전류 응답이 제공된 스캔 속도와 선형적으로 증가했다. 이러한 피크에 속하는 선형 회귀 방정식은 각각 $I_i(\text{mA}) = 0.0346v(\text{V/s})^{1/2} + 0.0307$, $I_{ii}(\text{mA}) = 0.4238v(\text{V/s})^{1/2} + 0.1781$, 그리고 $I_{iii}(\text{mA}) = 0.2188v(\text{V/s})^{1/2} + 0.078$ 이었다. 이러한 경향은 확산 제어 과정과 일치하는 행동을 나타냈다. 반면, 피크 IV는 다른 응답을 보여주었으며, 이는 원자 반응 과정으로 귀속될 수 있다.

[0084] 포도당의 P/D (1:30)에 대한 전기 촉매 속도 상수 (k_{Cat})는 시간별 전류법으로 추정되었다. 시간별 전류법 측정 은 +0.2 V 대 Ag/AgCl 대비 전위에서 다양한 농도의 포도당 (0-24 mM)을 포함하는 0.1 M NaOH 용액에서 수행되었다 (도 4d). 촉매 속도 상수 k_{Cat} 은 다음과 같은 방정식을 사용하여 계산되었다:

$$[0085] \quad I_{\text{Cat}}/I_{\text{NaOH}} = \pi^{1/2} \cdot (k_{\text{Cat}} \cdot C \cdot t)^{1/2}$$

[0086] 여기서 I_{Cat} 과 I_{NaOH} 는 포도당이 존재하는 경우와 존재하지 않는 경우의 전류이다. C는 포도당의 농도이고, t는 초 단위의 시간이다.

[0087] 촉매 속도 상수는 12 mM 포도당 농도에 대한 $I_{\text{Cat}}/I_{\text{NaOH}}$ 대 $t^{1/2}$ 그래프의 기울기를 사용하여 계산되었다 (도 4d의 삽입 그림). P/D (1:30)에 대한 값은 $47.31 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 으로 얻어졌으며, 이는 eMLP의 높은 촉매 활성과 포도당 감지를 위한 활성 표면으로의 잠재적인 사용을 나타낸다.

[0088] (5) 포도당 감지 성능 분석

[0089] P/D (1:30) 필름의 포도당 감지 성능은 0.2 V의 적용 전위에서 0.1 M NaOH에 연속으로 포도당을 주입하여 앰페로메트릭 전류 응답을 기록함으로써 추가로 평가되었다.

[0090] 검출 전위를 0.2 V로 설정하기 전에, 0부터 0.7 V까지 다양한 전위를 적용하여 최적화 연구를 수행했다. 이 중에서 0.2 V가 가장 높은 전류 응답을 보였으므로, 이 값을 선택하여 최저 검출 한계를 달성하고 아스코르빈산과 같은 가능한 간섭을 피하기 위해 선택되었다.

[0091] 그림 5a에서 볼 수 있듯이, P/D (1:30) 코팅된 금 와이어(GW)의 앰페로메트릭 전류 응답은 각 포도당 첨가 후 빠르게 증가하여, 빠른 물질 이동 및 전자 전달 특성을 갖는 우수한 전기화학적 성능을 시사한다.

[0092] 포도당 검출의 민감도 및 선형 범위는 전류 응답을 포도당 농도에 대한 그래프로 나타내면 (그림 5b), 이 곡선의 기울기를 통해 민감도는 $752.5 \mu\text{A mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ 로 계산되며, 선형 회귀 방정식은 $I_{\text{Cat}}(\text{mA}) = 0.01188C(\text{mM}) + 0.00090$ 이며, 포함 범위는 0.04 mM에서 70 mM까지로 넓다. P/D (1:30) 코팅된 금 와이어(GW)의 검출 한계(LOD)는 또한 $23 \mu\text{M}$ ($S/N = 3$)으로 계산되었다.

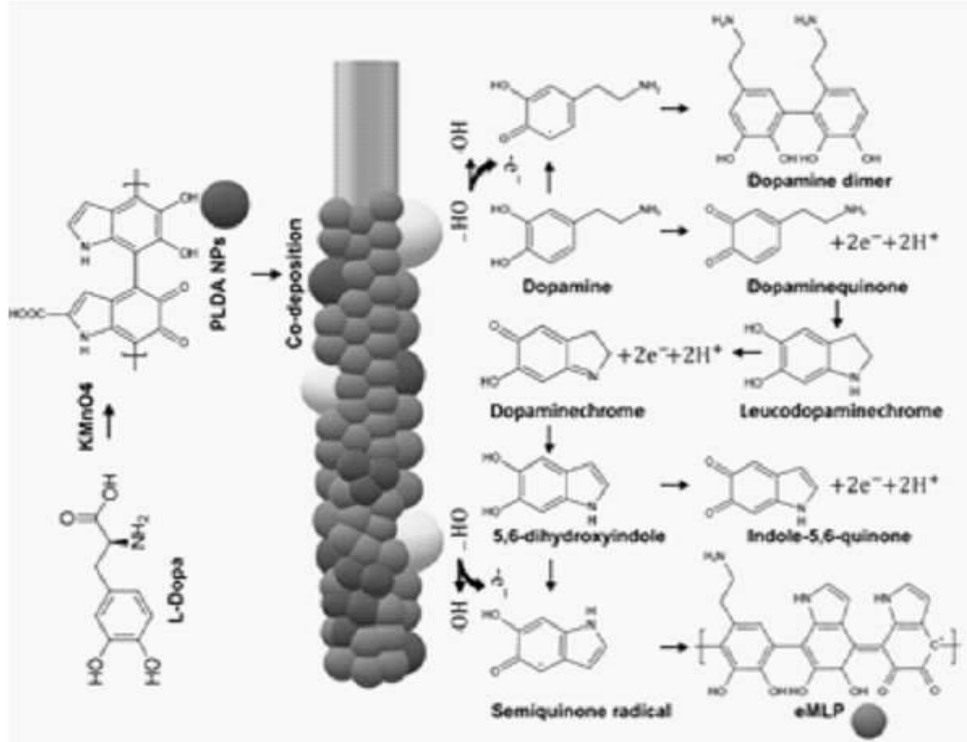
[0093] 비효소성 센서의 또 다른 중요한 성능 매개변수로서, P/D (1:30) 코팅 필름은 혈액에 함께 존재하는 간섭 물질인 프루토스 (Fru), 갈락토스 (Gal), 락테이트 (Lac), 알부민 (Alb), 아스코르빈산 (AA), 염화 칼륨 (KCl) 및 염화 나트륨 (NaCl)과 같은 다른 간섭 물질 존재 하에서도 포도당을 선택적으로 검출할 수 있어야 한다.

[0094] 인간의 혈액 중 생리학적 포도당 농도는 3-8 mM이며, 이는 간섭 물질의 농도보다 약 30에서 50배 높다. P/D (1:30) 코팅된 금 와이어(GW)의 선택성은 0.1 M NaOH에서 2.0 V의 적용 전위에서 위에 언급된 간섭 물질의 연속 첨가를 통해 조사되었습니다. 그림 5c-d에 표시된 바와 같이 간섭 물질을 추가하면 포도당의 급격한 신호에 비해 무시할 만한 전류 응답이 나타났으며, 갈락토스만 예외이다. 그러나 건강한 상태의 갈락토스 농도는 <1 mg/dL (약 0.056 mM)이다. 갈락토스혈증이라는 잠재적으로 치명적인 자동성 열성 유전자 재관 사례의 경

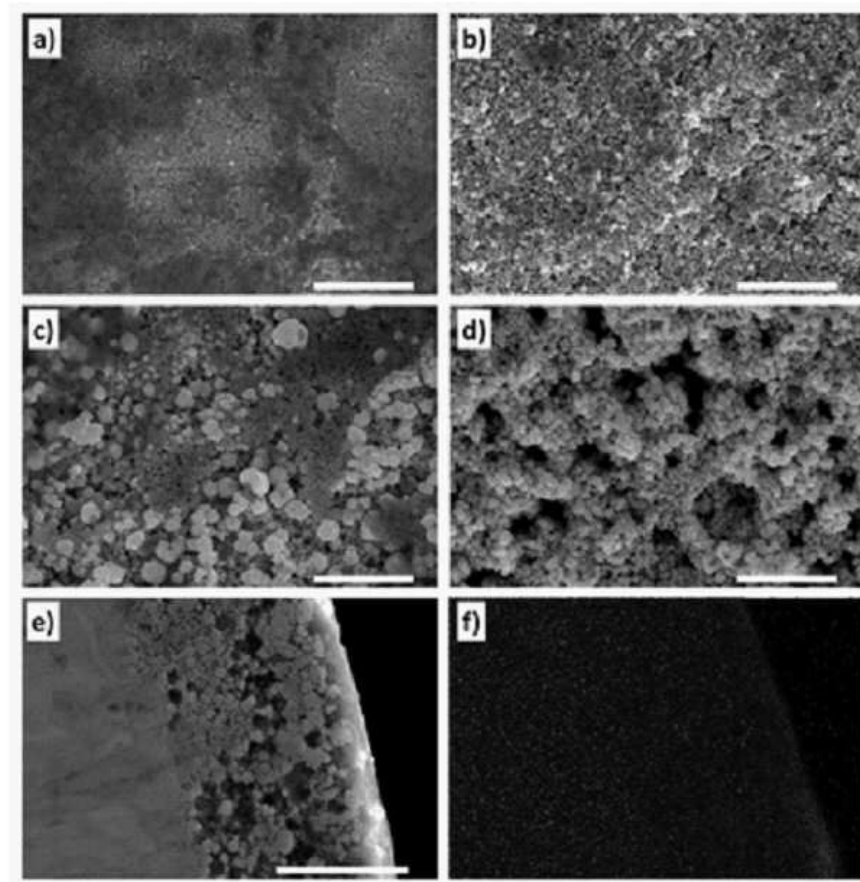
우에만 5-20 mM로 증가한다. 따라서 P/D (1:30) 코팅된 금 와이어(GW)는 비슷한 구조 또는 전기 활성을 가진 이러한 분자 대비 포도당에 대한 우수한 선택성을 나타냄을 확인할 수 있다.

도면

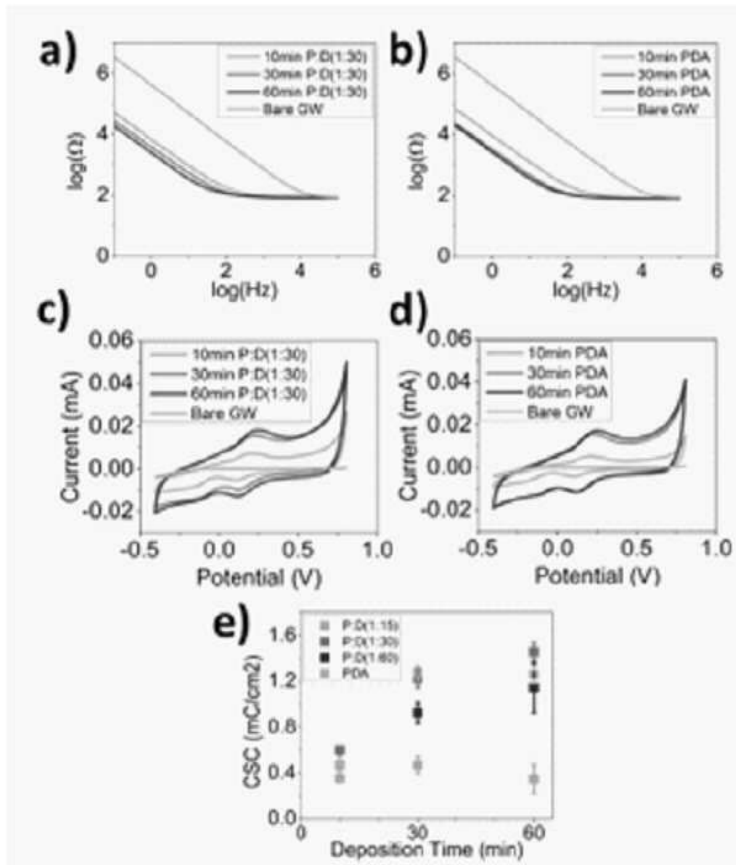
도면1



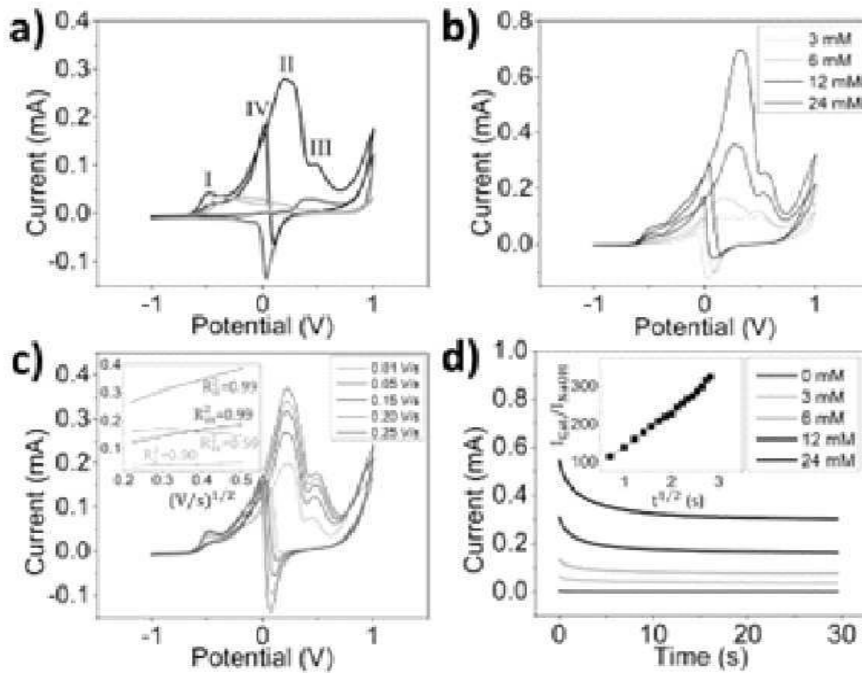
도면2



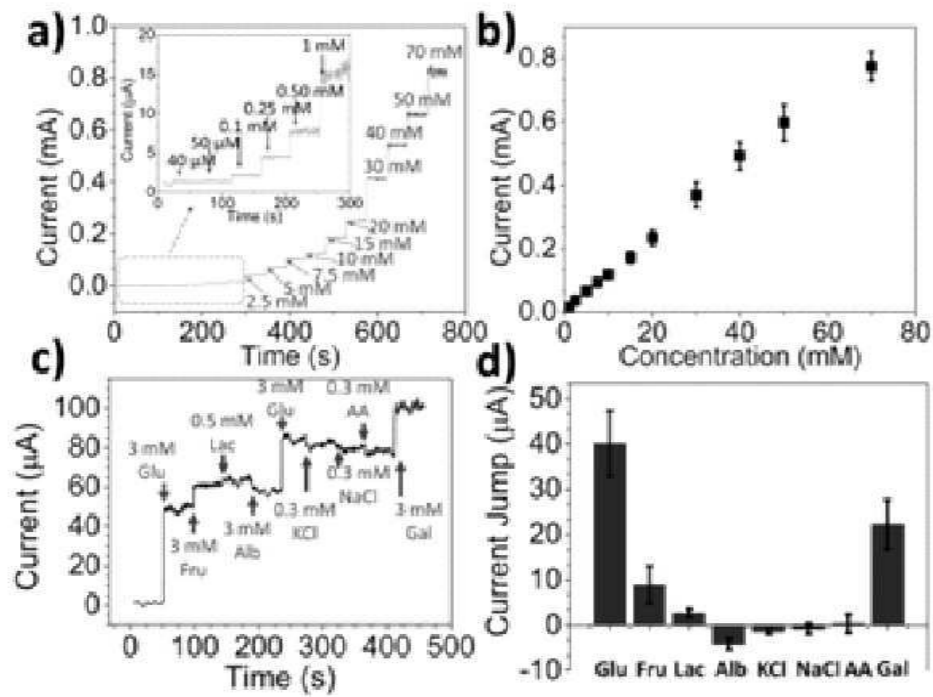
도면3



도면4



도면5



임시명세서(첨부)



아이콘을 더블 클릭하시면 임시명세서 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.