



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0012463
(43) 공개일자 2011년02월09일

(51) Int. Cl.

C08L 83/00 (2006.01) C08L 5/08 (2006.01)

C08G 77/398 (2006.01) C08G 77/38 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0070189

(22) 출원일자 2009년07월30일

심사청구일자 2009년07월30일

(71) 출원인

서강대학교산학협력단

서울 마포구 신수동 1-1 서강대학교

(72) 발명자

신운섭

경기도 고양시 일산서구 일산동 후곡마을 309-402

나가탈레, 라자람 크리쉬나

서울특별시 마포구 신수동 1 서강대학교 R관 317호

이종명

경기도 부천시 원미구 중1동 무지개마을아파트 1203동 101호

(74) 대리인

한라특허법인

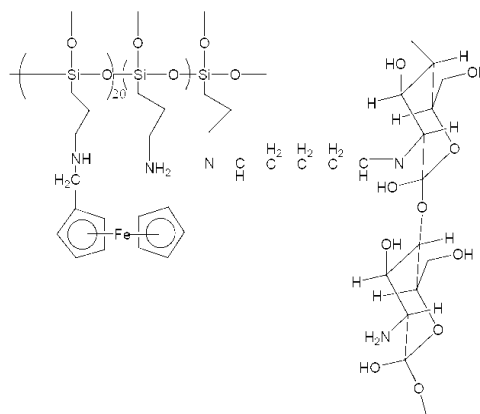
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 페로센 치환 폴리실록산과 키토산 나노복합체 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 페로센 치환 폴리실록산과 키토산 나노복합체 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 더 자세하게는 본 발명은 상기 페로센 치환 폴리실록산의 구조가 키토산 매트릭스 내에 균일하게 분포되는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 및 키토산의 복합체 및 이의 제조방법에 대한 것으로 본 발명의 신규한 복합체는 효소 및 생체분자의 고정화에 적용될 수 있고, 생체센서 및 생체 전기화학 장치의 개발을 용이하게 한다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

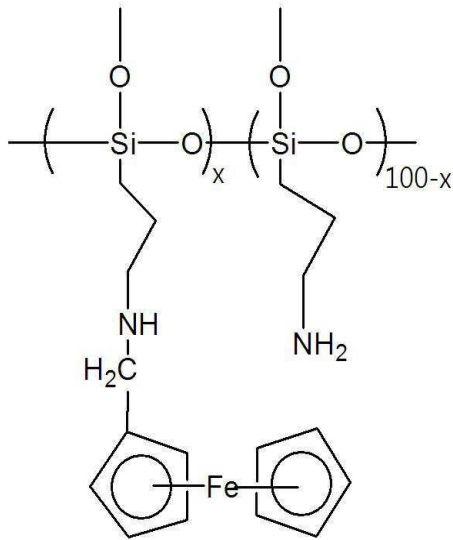
과제고유번호	0000
부처명	지식경제부
연구관리전문기관	한국산업기술진흥회
연구사업명	전략기술인력양성사업
연구과제명	융합바이오 인력양성사업
기여율	1/1
주관기관	서강대학교 산학협력단
연구기간	2008.09.01 ~ 2009.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1인 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체:

[화학식 1]



x는 페로센의 치환비를 나타내는 몰%이다.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 페로센 치환 폴리실록산인 구체는 키토산 매트릭스 내에 균일하게 분포되는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체.

청구항 3

상기 제 1 항 또는 제 2 항의 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체를 포함하는 전극.

청구항 4

유기용매 혼합액 하에서 페로센알데하이드와 3-아미노프로필트리메톡시실란의 쉬프 베이스 축합 후에 이민 환원하여 페로센 치환 실리카 전구체를 제조하는 1단계;

산성용액을 첨가하여 상기 페로센 치환 실리카 전구체를 가수분해하고 중합하고, 이민 환원하여 페로센 치환 폴리실록산을 제조하는 2단계; 및

키토산 용액과 상기 페로센 치환 폴리실록산을 용해시킨 유기용액을 혼합하고 교반하여 페로센 치환 폴리실록산과 키토산의 복합체를 제조하는 3단계;

를 포함하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 1단계의 유기용매 혼합액은 테트라하이드로퓨란/이소프로판올 혼합액 또는 톨루엔/에탄올 혼합액인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 6

제 4 항에 있어서,

상기 산성용액은 염산용액, 질산용액 및 황산용액 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 산성용액인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 7

제 4 항에 있어서,

상기 2단계의 이민 환원은 수소화붕소나트륨을 사용하는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 8

제 4 항에 있어서,

상기 키토산 용액은 아세트산 또는 포름산에 키토산을 용해시킨 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 9

제 4 항에 있어서,

상기 3단계의 유기용액은 에탄올 수용액, 테트라하이드로퓨란, 클로로포름 및 디클로로에탄 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 유기용액인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 10

3-아미노프로필트리메톡시실란을 산성용액에 페로센알데하이드 알코올 용액을 첨가하여 중합반응한 후에, 이민 환원하여 페로센 치환 폴리실록산을 제조하는 1단계; 및

키토산 용액과 상기 페로센 치환 폴리실록산을 용해시킨 유기용액을 혼합하고 교반하여 페로센 치환 폴리실록산과 키토산의 복합체를 제조하는 2단계;

를 포함하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 1단계의 알코올은 메탄올, 에탄올 및 프로판올 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 화합물인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 1단계의 이민 환원은 나트륨시아노브롬하이드리드를 사용하는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 바이오센서에 사용되는 폴리실록산 복합체에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근에, 실리카 기본 복합물질(silica based composite material)이 각광받고 있는데, 이는 제조방법이 간단하고, 생체분자 고정화의 용이성, 화학적인 비활성, 기계적 안정성 및 높은 생체적합성 때문이다. 이러한 실리카 기본 물질 중에 유기/무기 복합물질이 가장 중요한데, 이는 이들의 화학적 및 물리적 물성이 조정 가능하기 때문이다.

[0003] 몇몇의 효소는 유기/무기 매트릭스에 성공적으로 고정되고, 센서 장치에 사용된다. 전기화학적 생체센서의 개발에 있어서, 효율적인 전자 이동을 위해서는 매개체(mediator)의 도입이 필수적인데, 이는 대부분의 경우에 효소와 전극 간의 직접적인 전하이동은 비효율적이고, 활성 부위가 효소 내부에 깊이 위치하며 표면의 효소 조절 오리엔테이션(controlled orientation)이 어렵기 때문이다. 상기 매개체는 용액에 존재할 수 있고, 고분자 또는 졸-겔 매트릭스에 공유결합 할 수 있고, 생체센서의 감도를 조정하거나 증가시킬 수 있다.

[0004] 이러한 애플리케이션(application)을 위해서는 상기 고정 효소와 매개체를 갖는 졸-겔 매트릭스는 pH, 이온도, 농도 및 온도에 있어서 최적 조건을 만족해야만, 효소와 매개체 간의 전달을 최대화하고 포집 효소(entrapped enzyme)의 비활성을 최소화시키는 안정적이고 효과적인 시스템이 가능하다. 또한, 상기 매트릭스는 적합한 기공과 채널을 가져야만, 매트릭스에 기질이 쉽게 침투가능하고 효소와 상호작용이 가능하다. 따라서 매트릭스의 물리적, 화학적 조정은 포집 효소의 활성을 극대화하기 위하여 필수적이다.

[0005] TEOS(tetraethylorthosilicate) 또는 TMOS(tetramethylorthosilicate)의 졸-겔 전구체(precursor)를 사용하여 매트릭스를 제조하는 것은 용이하다. 매트릭스가 매개체 또는 기능성 모이어티(functional moieties)로 변형이 필요하다면, 효소 적합성, 물질 이동성과 같은 매트릭스의 물성은 전반적인 안정성과 센서 적합성을 최적화하기 위해서 정제될 필요가 있다.

[0006] 키토산은 널리 알려진 물질로, 우수한 막형성 능력, 높은 생체적합성, 높은 물 투과성, 접착성, 비독성 및 높은 기계적 강도를 갖는 선형 다당류(linear polysaccharide)이다. 이들의 물성은 생체 센서 애플리케이션에 있어서의 주된 효소를 위한 보조원으로 사용되게 한다. 페로센(ferrocene)이 공유 결합된 키토산 매트릭스는 전기화학적으로 활성을 갖게 되고, 이 구조는 글루코스 센서 및 과산화수소(Hydrogen Peroxide) 센서 그리고 전기촉매 반응에 의한 과산화수소의 분해에 이용될 수 있다.

[0007] 본 발명에서는, 폴리실록산과 키토산의 장점을 종합하여 생체 센서에 적합한 유용한 플랫폼의 제조를 목적으로 한다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0008] 본 발명은 전기화학적 생체센서에 있어서, 효율적인 전자 이동을 위해 사용되는 매개체(mediator)에 대하여, 우수한 효소와 전극 간의 직접적인 전하이동을 가능케 하는 매개체의 개발을 목적으로 한다.

과제 해결수단

[0009] 본 발명은 페로센 치환 폴리실록산 및 키토산의 복합체 및 그 제조방법에 관한 것이다.

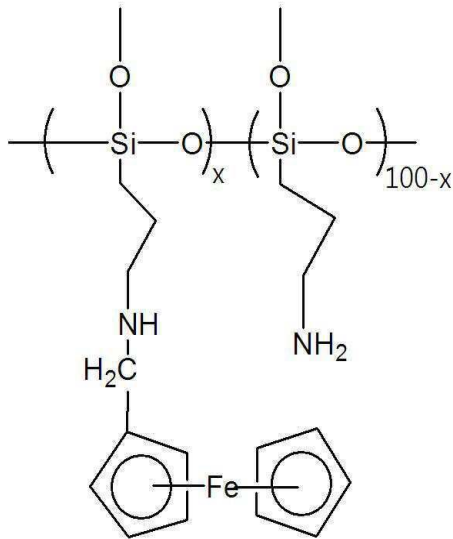
효과

[0010] 본 발명의 신규한 복합체는 효소 및 생체분자의 고정화에 적용될 수 있고, 생체센서 및 생체 전기화학 장치의 개발이 용이하게 한다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명에 있어서, 페로센 치환 폴리실록산과 키토산의 복합체를 제공한다. 자세하게는 본 발명은 하기 화학식 1인 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체에 관한 것이다.

화학식 1



[0012]

[0013] x는 페로센의 치환비를 나타내는 몰%이다.

[0014] 바람직하게는 본 발명은 상기 페로센 치환 폴리실록산인 구체는 키토산 매트릭스 내에 균일하게 분포되는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체에 대한 것이다.

[0015] 키토산 매트릭스에서의 페로센 치환 폴리실록산의 분산뿐만 아니라, 유기/무기 복합체의 친수성/소수성간의 균형 또한 생체분자 센서 애플리케이션에 사용되는 우수한 물질이동이 가능한 산화환원 활성 필름을 위해서 매우 중요하다. 본 발명의 신규한 복합체는 효소 및 생체분자의 고정화에 적용될 수 있고, 생체센서 및 생체 전기화학 장치의 개발을 용이하게 한다.

[0016] 특히, 페로센 치환 폴리실록산은 구체를 형성함으로써 초미립자(Submicron) 크기의 페로센 치환 폴리실록산은 구체와 키토산과 균일한 복합체의 특성 때문에 전하이동성이 증가하고, 복합체를 통한 이온이동성이 증가하게 되어 페로센 필름의 산화환원반응이 쉬워진다.

[0017] 합성된 고분자의 용해도는 페로센 치환율에 따라 결정된다. 페로센 치환 폴리실록산은 1: 1의 물/ 에탄올 혼합용액에 용해가 가능하지만, 페로센 치환율이 80 몰%을 넘는 경우에는 테트라히드로퓨란, 클로로포름 또는 디클로로에탄에 용해가 가능하다. 폴리실록산의 치환은 페로센의 모이어티의 존부를 측정하는 3095, 1130, 1000 및 824 cm^{-1} 의 IR 밴드로부터 모니터할 수 있다. δ 4.18 및 δ 4.12 ppm인 ^1H NMR로부터 페로센 치환이 재확인 가능하다. 또한, δ 3.42 ppm의 피크는 변형 폴리실록산의 $-\text{CH}_2\text{NH}-$ 에 대응하고, δ 2.58, 1.52 및 0.57 ppm의 피크는 프로필기에 대응한다.

[0018] 도 2A는 pH 7.0에서의 버퍼인 1:1의 에탄올과 0.1 M 인산염의 혼합물에서의 페로센 치환 폴리실록산(1mg/ 1mL)의 순환 전류전압 곡선(cyclic voltammogram)을 나타낸다. 상기 합성된 고분자는 제어된 환경의 특징적인 확산 조건 하인 $E^0 = +260 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$ 에서 우수한 가역 산화환원 행동을 보여준다.

[0019] 페로센 모노머와 유사한 상기 고분자의 전극 포텐셜과 우수한 가역성은 고분자 내에서의 페로센-모이어티가 고분자의 백본으로부터 입체장애(steric hindrance) 또는 정전기적 상호작용(electrostatic interaction)이 크지 않다는 것을 의미하고, 용액에서의 고분자의 물질이동이 매우 빠르다는 것을 알 수 있다.

- [0020] 드롭코팅으로 전극에 고정된 고분자의 경우에는 +470 mV(vs. Ag/AgCl)에서 페로센의 산화가 일어나며, 용액상태보다 210 mV 더 높은 값이다(도 2B).
- [0021] 종형태(bell-shaped) CVs(순환 전류 전압 곡선, cyclic voltammograms)와 피크 전류와 스캔율 간의 선형관계는 전극에서의 표면에 한정된 산화환원반응의 특징적인 행동이다.
- [0022] 고정된 상태에서의 산화환원의 210mV 양의 이동은 고정된 상태의 고분자의 페로센 치환체의 군집으로부터 유도된 증가된 소수성 특성에 따른 산화의 어려움으로 설명될 수 있다.
- [0023] 페로센 모이어티의 집합은 SEM 결과에 의해서 확인 가능하다.
- [0024] 소수성 특성의 증가는 산화된 양이온 폼보다 페로센의 환원된 폼을 안정화시키므로 산화를 어렵게 하고 이 결과 산화환원포텐셜을 양의 방향으로 이동하게 한다.
- [0025] 산화환원 곡선의 완만한 형태(broad-shaped)는 느린 전자이동 때문이고, 이러한 전자이동 속도는 필름의 산화환원 반응에 따른 이온 물질이동속도에 의해서 제한된다. 산화의 경우보다 조금 뾰족한 환원곡선은 산화종인 페로시니엄 이온(ferrocinium ion)의 친수성 특성의 증가에 기인하는 것으로 설명할 수 있다.
- [0026] 느린 전자이동 및 고정된 페로센 치환 폴리실록산의 높은 포텐셜 행동은 효소 전극을 제조하기 위해서 충분하지 않으므로, 페로센 치환 폴리실록산은 물성이 우수한 키토산과 혼합하여 사용한다. 제조된 페로센 치환 폴리실록산/키토산 복합체의 가능한 결합 모드와 분자 표현형은 도 3에 나타내었다.
- [0027] 또한, 본 발명은 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체를 포함하는 전극에 관한 것이다. 인쇄 탄소 전극에서의 상기 복합체는 수용액에서 안정적이고, $E^0 = +360 \text{ mV}$ 에서 가역 산화환원 행동을 보이고, 매우 높은 확산 계수 값인 $3.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ 을 갖는다. 글루코스산화효소(glucose oxidase)를 호스팅한 후에, 복합체 필름은 전기화학적 글루코스 센서에 성공적으로 적용할 수 있었다. 본 발명의 신규한 복합체는 효소 및 생체분자의 고정화에 적용될 수 있고, 생체센서 및 생체 전기화학 장치의 개발이 용이하게 한다.
- [0028] 본 발명은 유기용매 혼합액 하에서 페로센알데하이드와 3-아미노프로필트리메톡시실란의 쉬프 베이스 축합(Schiff Base Condensation) 후에 이민 환원하여 페로센 치환 실리카 전구체를 제조하는 1단계; 산성용액을 첨가하여 상기 페로센 치환 실리카 전구체를 가수분해하고 중합하고, 이민 환원하여 페로센 치환 폴리실록산을 제조하는 2단계; 및 키토산 용액과 상기 페로센 치환 폴리실록산을 용해시킨 유기용액을 혼합하고 교반하여 페로센 치환 폴리실록산과 키토산의 복합체를 제조하는 3단계;를 포함하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 관한 것이다.
- [0029] 바람직하게는 본 발명은 상기 1단계의 유기용매 혼합액은 테트라하이드로퓨란/이소프로판올 혼합액 또는 톨루엔/에탄올 혼합액인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.
- [0030] 더 바람직하게는 본 발명은 상기 산성용액은 염산용액, 질산용액 및 황산용액 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 산성용액인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.
- [0031] 또한, 본 발명은 상기 2단계의 이민 환원은 수소화붕소나트륨을 사용하는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.
- [0032] 바람직하게는 본 발명은 상기 키토산 용액은 아세트산 또는 포름산에 키토산을 용해시킨 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.
- [0033] 더 바람직하게는 상기 3단계의 유기용액은 에탄올 수용액, 테트라히드로퓨란, 클로로포름 및 디클로로에탄 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 유기용액인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.
- [0034] 본 발명의 페로센 치환 폴리실록산의 제조방법에 따른 반응식은 도 1에 자세히 나타내었다. 페로센 치환 폴리실록산의 용해도는 페로센 치환율에 따라 결정된다. 합성된 고분자의 용해도는 페로센 치환율에 따라 결정된다. 페로센 치환 폴리실록산은 1: 1의 물/ 에탄올 혼합용액에 용해가 가능하지만, 페로센 치환율이 80 몰%을 넘는 경우에는 테트라히드로퓨란, 클로로포름 또는 디클로로에탄에 용해가 가능하다.
- [0035] 또한, 본 발명은 3-아미노프로필트리메톡시실란을 산성용액에 페로센알데하이드 알코올용액을 첨가하여 중합반응한 후에, 이민 환원하여 페로센 치환 폴리실록산을 제조하는 1단계; 및 키토산 용액과 상기 페로센 치환 폴리

실록산을 용해시킨 알콜 수용액을 혼합하고 교반하여 페로센 치환 폴리실록산과 키토산의 복합체를 제조하는 2 단계;를 포함하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 관한 것이다.

[0036] 바람직하게는 본 발명은 상기 1단계의 알코올은 메탄올, 에탄올 및 프로판올 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 화합물인 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.

[0037] 더 바람직하게는 본 발명은 상기 1단계의 이민 환원은 나트륨시아노브롬하이드리드를 사용하는 것을 특징으로 하는 페로센 치환 폴리실록산 구체; 및 키토산의 복합체 제조방법에 대한 것이다.

[0038] 이하, 본 발명을 실시예에 의거하여 더욱 구체적으로 설명하겠는바, 본 발명이 다음 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

실시예

[0039] 제조예 1. 페로센 치환 폴리실록산(FC-20)의 제조

[0040] 페로센이 20 몰% 치환된 폴리실록산(FC-20)을 다음과 같이 제조하였다.

[0041] 둥근플라스크에서 3-아미노프로필트리메톡시실란(APS) 0.9 mL를 THF/이소프로판올(2/1) 30 mL와 혼합하고, 후에 페로센알데하이드 0.214 g을 포함하는 THF 용액 10 mL를 드랍와이즈(dropwise)로 첨가하여 1시간 동안 교반하였다. 그 후에 중합을 위하여 0.1 M HCl 2 mL를 첨가하였다. 추가로 2시간 동안 교반한 후에, 아민에 이민의 결합의 환원을 위해서 수소화붕소나트륨 100 mg을 추가하였다. 수소의 발생이 완료된 후에 부유하는 형성된 입자를 여과하고, 남은 용액에 고분자를 침강시키기 위한 아세톤을 20배의 양을 추가하였다. 상기 침강물을 아세톤으로 여러 번 세척하고, 진공에서 건조하여 페로센이 20 % 치환된 폴리실록산을 제조하였다.

[0042] 제조된 고분자는 FC-X라 명명하는 데, 여기서 X는 폴리실록산 고분자의 페로센 치환정도를 나타낸다. 이러한 치환정도는 FT-IR과 ^1H NMR을 사용하여 특정된다.

[0043] 페로센 치환정도에 따라, 유기용매 및 물에 대한 제조된 고분자의 용해도가 변한다. 상기 제조된 페로센이 20 % 치환된 폴리실록산(FC-20)은 에탄올 수용액에 대한 우수한 용해성 때문에 키토산 합성을 위한 용매로 사용하였다.

[0044] 제조예 2. FC-20/키토산 용액의 제조

[0045] 1% 아세트산 용액 20 mL에 키토산 분말 400 mg을 용해시켜 키토산 용액(20 mg/mL)를 제조하였다. 에탄올 수용액(에탄올: 물 = 1:1) 20 mL에 FC-20 400 mg을 용해시켜 FC-20 용액을 제조하였다.

[0046] 상기 제조된 키토산 용액 20 mL와 에탄올 수용액 20 mL를 혼합하고 1일 동안 교반하여 FC-20/키토산 용액을 제조하였다.

[0047] 제조예 3. FC-20 전극의 제조

[0048] 인쇄 탄소 전극(printed carbon electrode, PCE, id = 5 mm, area = 0.196 cm^2)에 FC-20 용액 2 μL 를 드랍코팅(drop-coating)하여 FC-20 고정된 전극을 제조하였다. 드랍코팅된 전극을 상온에서 건조하여, 25 % 글루타알데하이드(glutaraldehyde) 수용액에 12시간 동안 유지하였다. 그 후에, 상기 전극을 물로 완전히 세척하고 사용시까지 증류수에 보관하였다.

[0049] 제조예 4. FC-20/키토산 전극의 제조

[0050] 인쇄 탄소전극(printed carbon electrode, PCE, id = 5 mm, area = 0.196 cm^2)에 FC-20/키토산 용액 2 μL 를 드랍코팅(drop-coating)하여 FC-20/키토산 전극을 제조하였다. 드랍코팅된 전극을 상온에서 건조하여, 25 %

글루타알데하이드(glutaraldehyde) 수용액에 12시간 동안 유지하였다.

[0051] **제조예 5. FC-20/키토산/GOx 전극의 제조**

[0052] FC-20/키토산 용액(20 mg/mL) 10 mL와 pH 7 인산버퍼용액의 글루코스산화효소(Glucose oxidase, GOx) 용액(20 mg/mL) 10 mL를 혼합하고, 이러한 혼합용액 2 μ L을 인쇄 탄소 전극(printed carbon electrode, PCE, id = 5 mm, area = 0.196 cm²)에 드랍코팅(drop-coating)하여 FC-20/키토산/GOx 전극을 제조하였다. 드랍코팅된 전극을 상온에서 건조하여, 25 % 글루타알데하이드(glutaraldehyde) 수용액에 12시간 동안 유지한 후에, 냉장 보관하였다.

[0053] **제조예 6. 페로센 치환 폴리실록산(FC-20)의 제조**

[0054] 상기 제조예 1과는 다른 방법으로 페로센 치환 폴리실록산의 제조가 가능하다.

[0055] 둥근플라스크에서 3-아미노프로필트리메톡시실란(APS) 0.9 mL를 0.5 M HCl 50 mL에 용해시킨 후 상온에서 6 시간 동안 교반하였다. 중합을 위해서, 페로센알데하이드 0.214 g을 10 mL의 메탄올에 용해시켜 상기 3-아미노프로필트리메톡시실란 용액에 드롭와이즈(dropwise)로 첨가하였다. 첨가 후에, 상기 용액을 상온에서 12 시간 동안 교반하고, 나트륨시아노보로하이드리드(sodium cyanoborohydride) 100 mg을 첨가하여 이민 환원하여 아민결합을 형성하였다.

[0056] 수소의 발생이 완료된 후에 부유하는 형성된 입자를 여과하고, 남은 용액에 고분자를 침강시키기 위해 아세톤을 20배의 양을 추가하였다. 상기 침강물을 아세톤으로 여러 번 세척하고, 진공에서 건조하여 페로센이 20 % 치환된 폴리실록산을 제조하였다.

[0057] **시험예 1. FC-20/키토산의 순환 전류전압 곡선(cyclic voltammogram)의 측정**

[0058] CHI 900 정전위장치(potentiostat)를 사용하여 FC-20/키토산 전극의 전압, 전류를 측정하여 도 4에 순환 전류전압 곡선으로 나타내었다. FC-20/키토산 전극은 $E^0 = +360$ mV에서 우수한 가역 산화환원 행동을 보여준다.

[0059] FC-20/키토산이 코팅된 경우의 피크 전류는 FC-20이 코팅된 전극과 비교할 경우, 전극에서 반응하는 페로센의 실제양이 2분의 1임에도 불구하고 오히려 더 높은 값을 갖는다. 더 크고 샤프한 전류값은 페로센의 산화환원 반응이 FC-20/키토산 매트릭스에서 더 빠르다는 것을 의미한다.

[0060] FC-20/키토산의 경우에서 나타나는 더 빠르고 우수한 가역성 행동은 키토산의 도입으로 인한 구조의 변화에 의한 용이한 전자이동으로 설명될 수 있고, 이는 우수한 막형성이 가능하고 친수성 특성을 갖는 키토산 때문이다.

[0061] FC-20/키토산의 $E^0 = +360$ mV은 FC-20 전극에 비해서 110 mV 낮은 경우로, 이러한 전압의 감소는 페로센 모이어티의 산화를 더 쉽게하는 키토산의 아민기에 의한 양전하의 증가로 설명될 수 있다.

[0062] **시험예 2. FC-20/키토산 필름의 스캔율 변화에 따른 순환 전류전압 곡선(cyclic voltammogram)의 측정**

[0063] CHI 900 정전위장치(potentiostat)를 사용하여 1 mV/s에서 250 mV/s까지 스캔율(scan rate)을 변화시키면서 FC-20/키토산 필름의 전압, 전류를 측정하여 도 5에 순환 전류전압 곡선으로 나타내었다.

[0064] 도 5에 따르면, 100 mV/s 까지는 양극 피크 전류는 스캔율의 제곱근에 비례하는 직선을 나타내고, 그 이후에는 직선의 형태를 벗어난다. 이는 전극 표면에 제한되는 특성이 아니라, 제어된 환경의 확산 조건 하에 필름을 통한 전자이동이 가능하다는 것을 말해준다. 이러한 현상은 높은 친수성을 갖는 키토산 매트릭스에서 산화환원 반응성이 우수한 FC-20 현탁액(suspension)에 기인한 것이고, 전하이동성은 필름을 통한 FC-20 고분자 모이어티의 충돌적 확산(collisional diffusion)에 의해 결정된다.

[0065] 페로센은 고분자 매트릭스에 공유적으로 결합되고, 농도 구배에 따른 인접한 페로센의 산화환원 사이트 간의 전자 호핑(electron hopping) 또는 충돌을 통하여 전하(charge)는 전달된다. 이러한 경우에 있어서, 가역시스템에서의 반무한(semi infinite) 확산에 적용가능한 랜들-세빅 모델(Randles-Sevcik Model)에 의해 전자전달

모드의 예측이 가능하다.

[0066] 상기 랜들-세빅 모델과 도면 5의 기울기로부터 3.6×10^{-12} 의 $D^{1/2}C$ 의 값을 구할 수 있었다. 여기서 D는 산화 환원 고분자의 확산계수를 나타내는 것으로, 전극 필름 상의 페로센의 농도를 측정에 의하여 계산하였다. 상기 필름 상에서 산화되어 소비되는 전하는 1 mV에서의 CV 양극 곡선을 적분하여 계산하였다. 페로센의 모이어티의 양은 전자를 1로 가정하여 페러데이의 법칙을 이용하여 계산하였다. 드랍코팅에 사용된 용액의 양이 2 μ L이므로 이로부터 필름의 부피는 2 μ L로 가정한다. 이렇게 계산한 FC-20/키토산 필름에서의 페로센 확산계수는 3.5×10^{-6} cm²/s이었다. 기존의 알려진 페로센 치환 폴리에틸렌이민 히드로겔(hydrogel)의 페로센의 확산계수의 값은 $\sim 10^{-8}$ cm²/s (S.A.Merchant, D.T. Glatzhofer, D.W.Schmidtke, Langmuir 23, 2007, 11295)이고, Wang 등에 따르면 페로센의 확산계수의 값은 $\sim 10^{-9}$ cm²/s에서 $\sim 10^{-10}$ cm²/s의 값을 갖는다고 하고 있어 (J.Wang, M.M.Collinson, J.Electroanal.Chem.455, 1998, 127), 상기 계산한 FC-20/키토산 필름에서의 페로센 확산계수는 3.5×10^{-6} cm²/s으로 상당히 큰 값인 것을 알 수 있다. 본 발명의 확산계수의 높은 수치는 FC-20 네트워크 주변의 키토산의 높은 친수성 때문이다. 전해액에서의 스웰링(swelling) 이후에는, 용매분자는 FC-20 네트워크를 감싸고, 이는 전자 호핑이나 신속한 충돌 전하이동을 위한 FC-20의 체인의 자유로운 전파(傳播)를 도와준다.

[0067] 시험예 3. FC-20/키토산 필름표면의 SEM 측정

[0068] FC-20/키토산 복합체의 표면과 단면적을 SEM 측정하여 도면 6에 나타내었다.

[0069] 복합체의 표면(도 6A) 및 단면(도 6B)의 SEM 사진을 보면, FC-20/키토산의 복합체의 표면과 단면이 균일한 것을 알 수 있고, FC-20과 키토산의 혼합이 균일하게 이루어졌음을 예상할 수 있다.

[0070] 좀 더 근접한 단면(도 6C)은 평균적으로 500 nm 크기의 구체로 이루어짐을 알 수 있고, 그 구체는 200 nm ~ 1000 nm의 분포를 가짐을 알 수 있다. 상기 구체는 균일한 복합체를 구성하는 고분자에 의해서 둘러 쌓여있다. 이 구체는 페로센 치환된 폴리실록산을 성분으로 하는 것으로, 소수성 특성을 갖고, 주위의 고분자는 키토산으로 친수성 특성을 갖는다.

[0071] 만약에 FC-20만으로 제조된 경우라면, 구체는 생성되지 않는다. 즉, 키토산은 FC-20을 둘러 쌓아서 나노크기의 입자가 되도록 한다. 폴리실록산으로부터 형성된 구체는 음전하 표면을 갖고, 키토산 막은 제조시의 용액에서 약한 양전하를 띤다. 이러한 FC-20과 키토산 간의 정전기적 상호작용은 FC-20 입자의 뉴클레이션(nucleation)과 성장에 영향을 미치는데, 이는 균일한 복합체를 형성하는 가장 중요한 요인이 된다.

[0072] 결국 초미립자(Submicron) 크기의 FC-20과 키토산과 균일한 복합체의 특성 때문에 전하이동성이 증가하고, 복합체를 통한 이온이동성이 증가하게 되어 페로센 필름의 쉬운 산화성을 갖는다.

[0073] 시험예 4. FC-20/키토산/GOx에 의한 글루코스의 전기화학적 산화의 측정

[0074] 상기 제조예 5의 FC-20/키토산/GOx 전극을 0.1 M 인산염 버퍼용액(pH 7)에서 글루코스의 농도를 변화시켜 가면서(a) 0 mM, (b) 0.5 mM, (c) 2.0 mM, (d) 10.0 mM 글루코스의 전기화학적 산화를 CHI 900 정전위장치(potentiostat)를 사용하여 측정하여 도 7에 나타내었다.

[0075] 도 7은 글루코스의 전기화학적 산화에 대한 FC-20/키토산/GOx 전극의 촉매적 행동을 보여준다. 양극 피크 전류는 글루코스의 농도가 증가함에 따라 증가한다. 높은 글루코스 농도에서의 S자형 촉매 곡선은 효소와 페로센 치환 폴리실록산 간의 효과적인 전달을 나타낸다. 상기 촉매 곡선은 페로센 만의 경우와도 유사하다 (W.W.Yang, J.X.Wang, S.Zhao, Y.Y.Sun, C.Q.Sun, Electrochem. Commun.8, 2006, 665).

[0076] 일반적으로 이러한 전달은 낮은 스캔율(scan rate)에서는 명확하며, 환원형의 GOx에 의한 페리시니움 이온(ferricinium ion)으로부터의 페로센 재생을 나타낸다. 그 후에, 상기 GOx는 글루코스 기질의 존재하에서 환원형으로 유지된다.

[0077] 시험예 5. FC-20/키토산/GOx에 의한 글루코스 분취량의 투여에 따른 전기화학적 산화의 측정

[0078] 0.45 V의 동작 전위(working potential) 하에서 인산염 버퍼용액에 0.2 M의 글루코스의 분취량(aliquot)을 투입하면, FC-20/키토산/GOx 전극의 산화 전류는 급격하게 상승하고, 30초 내에 정상상태(steady state)에 도달하였다. 이러한 글루코스의 농도에 따른 FC-20/키토산/GOx 전극의 산화 전류 곡선을 도 8에 나타내었다. 상기 글루코스의 농도는 5.0×10^{-5} M에서 15×10^{-3} M 범위에서 조절되었다.

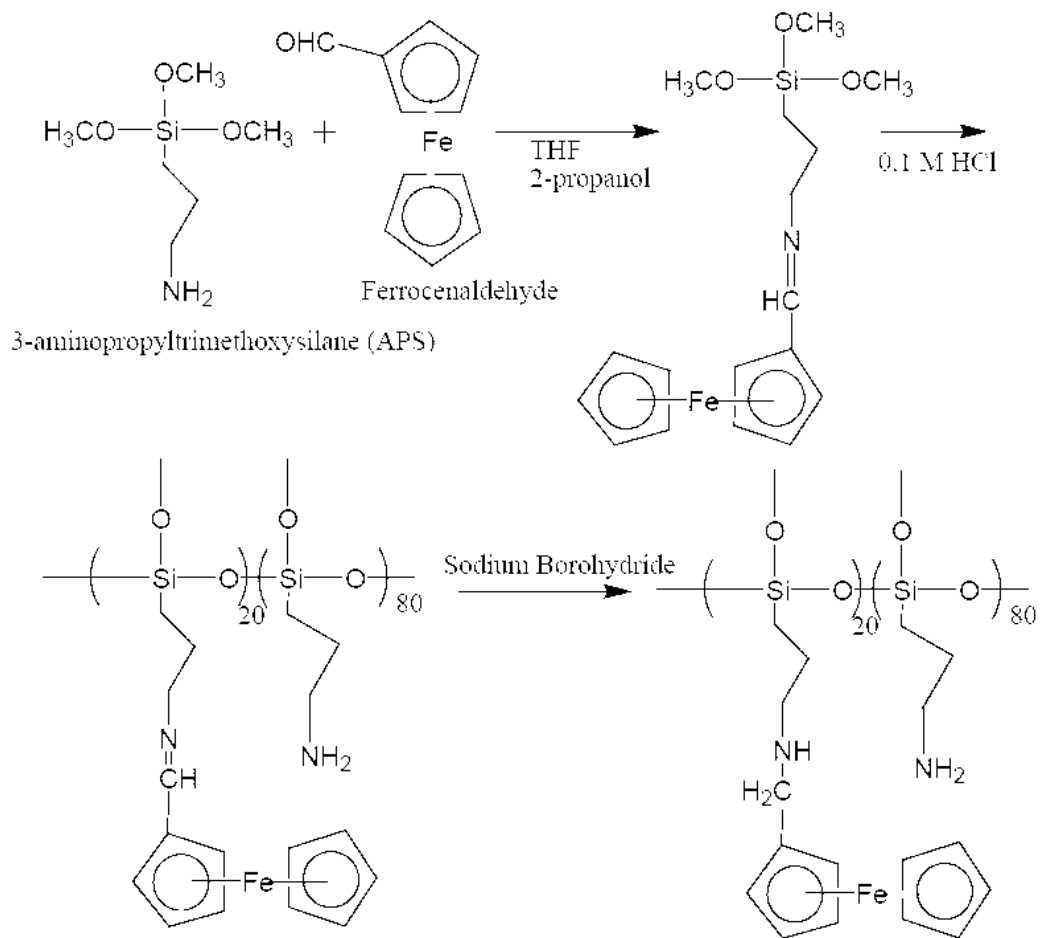
[0079] 도 8에 따르면, 글루코스 농도가 0.5에서 6 mM인 범위에서는 상기 전극은 선형의 응답을 보인다. 전극의 감도는 교정곡선(calibration curve)의 선형구간으로부터 계산하여, $0.86 \mu\text{A}/\text{mM}/\text{cm}^{-2}$ 값을 얻을 수 있었다. 상기 값은 졸-겔 ZrO₂/키토산 복합체 필름의 경우보다 높지만(Y.Yang, H.Yang, M.Yang, Y.Liu, G.Shen, R.Yu, Anal. Chim.Acta 525, 2004, 213), 페로센 치환 키토산의 경우보다 낮은 값을 갖는 것을 알 수 있다(W.Yang, H.Zhou, C.Sun, Macromol.Rapid Commun.28,2007,3882). 낮은 감도는 용해도에 의해 제한된 폴리실록산의 낮은 페로센의 농도에 기인한 것으로 보인다. 매개체의 페로센의 농도가 증가하면 전극의 감도도 증가할 것이다.

도면의 간단한 설명

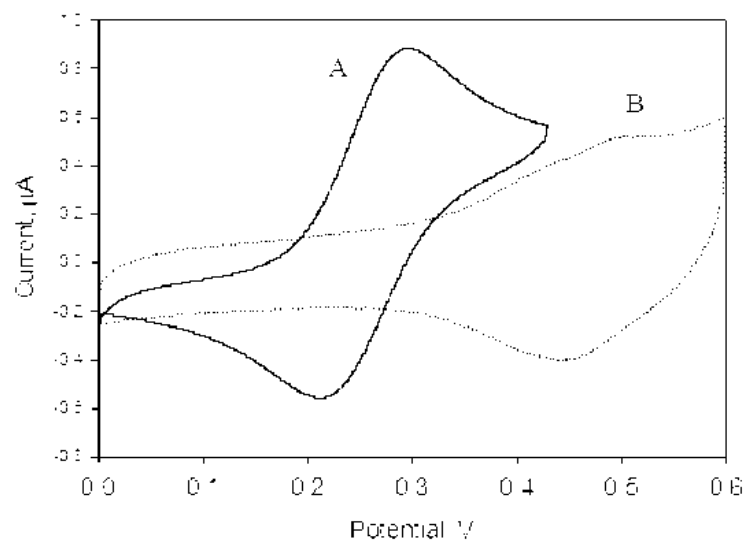
- [0080] 도 1은 페로센 치환 폴리실록산의 합성 스키마이다.
- [0081] 도 2는 FC-20 전극의 전압, 전류를 측정한 순환 전류전압 곡선이다.
- [0082] 도 3은 페로센 치환 폴리실록산/키토산 복합체의 표현식이다.
- [0083] 도 4는 FC-20과 FC-20/키토산의 전압, 전류를 측정한 순환 전류전압 곡선이다.
- [0084] 도 5는 FC-20/키토산 필름의 스캔을 변화에 따른 순환 전류전압 곡선이다.
- [0085] 도 6은 FC-20/키토산 필름표면의 SEM 이미지이다.
- [0086] 도 7은 FC-20/키토산/GOx에 의한 글루코스의 전기화학적 산화를 나타내는 순환 전류전압 곡선이다.
- [0087] 도 8은 FC-20/키토산/GOx에 의한 글루코스 분취량의 투여에 따른 전기화학적 정전위 전류측정 곡선이다.

도면

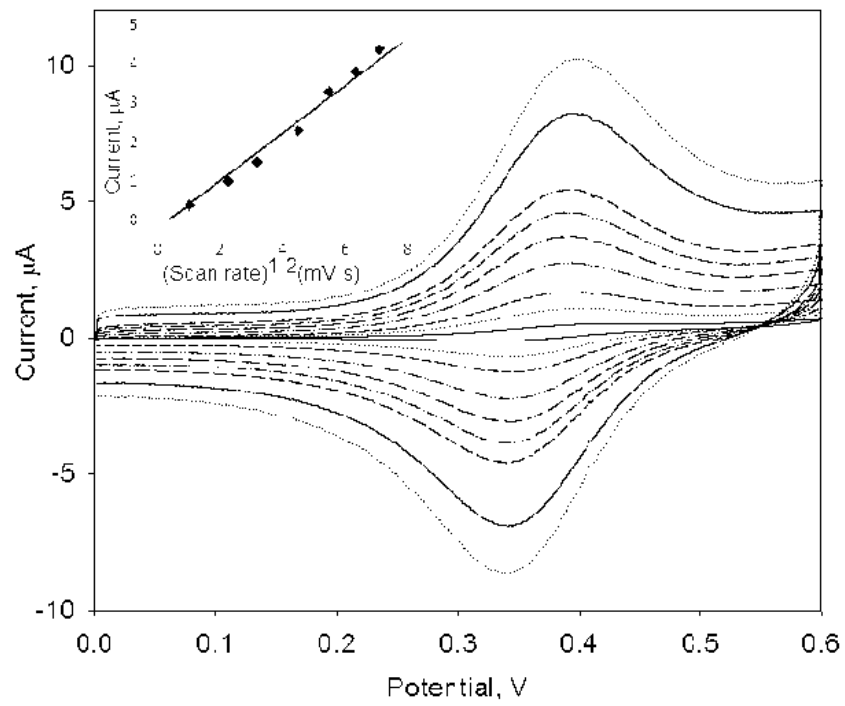
도면1



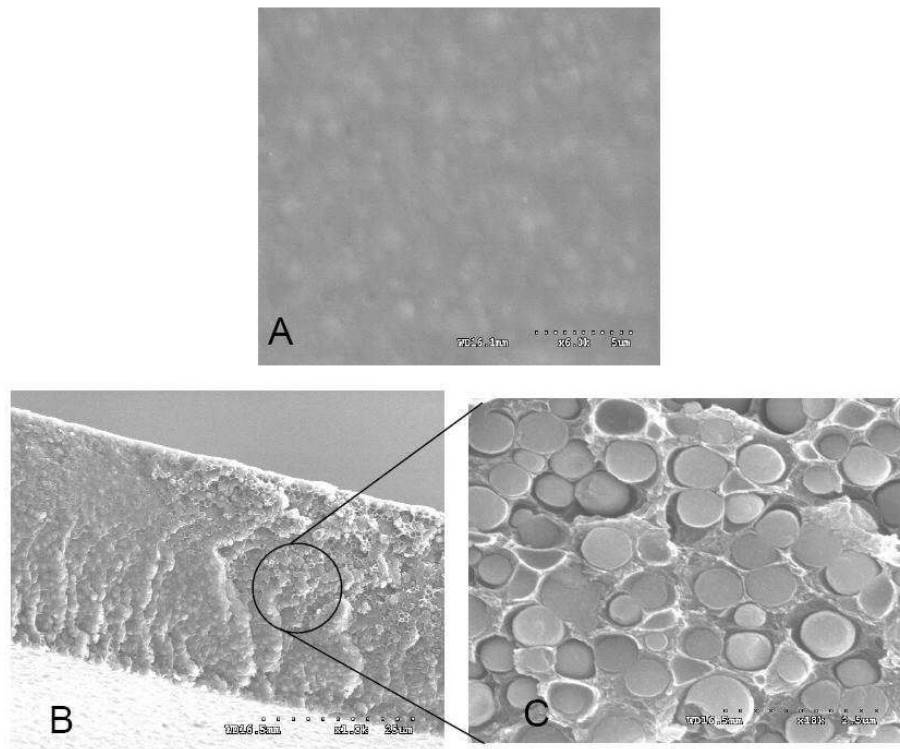
도면2



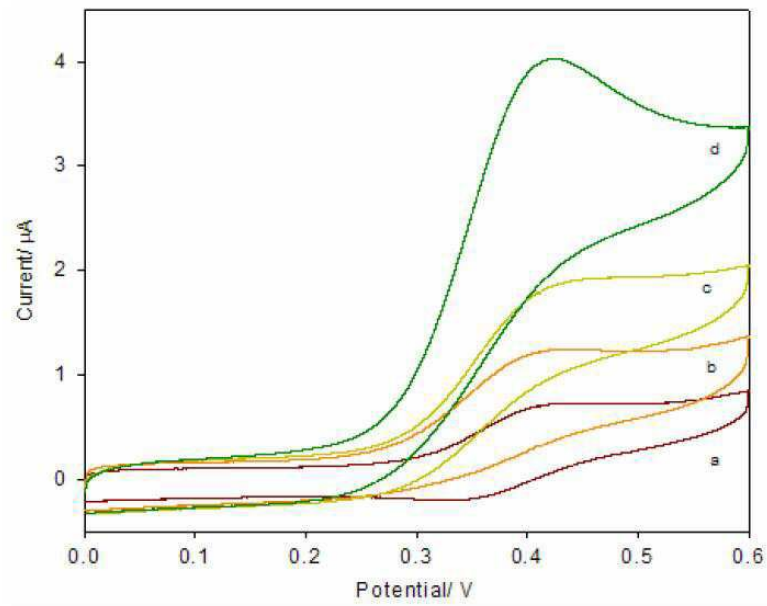
도면5



도면6



도면7



도면8

