(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0115928
(43) 공개일자 2023년08월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 11/18 (2006.01) *G01N 23/2273* (2018.01)
G01N 27/327 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 11/18 (2013.01)
G01N 23/2273 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0010408
(22) 출원일자 2023년01월26일
심사청구일자 2023년01월26일
(30) 우선권주장
1020220012347 2022년01월27일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김중배
서울특별시 강남구 역삼로 309, 101동 1501호 (역삼동, 래미안펜타빌아파트)
김지현
서울특별시 강남구 언주로 332, 104동 604호 (역삼동, 역삼푸르지오아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인이룸리온

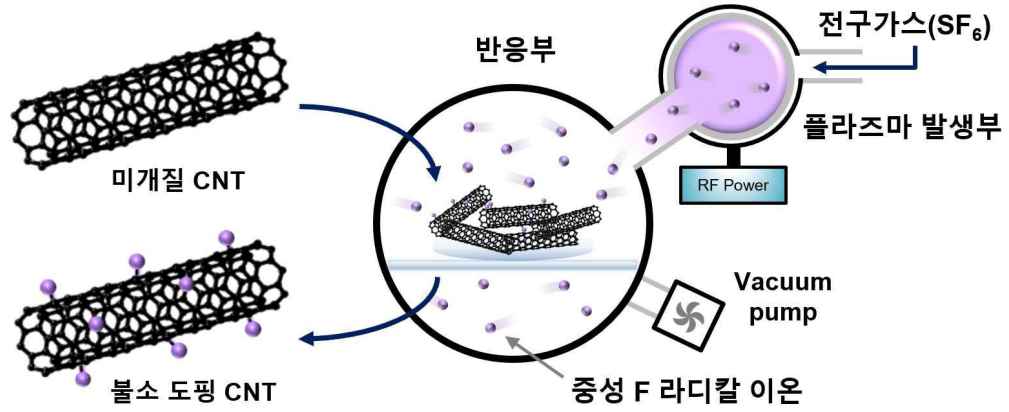
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **불소 도핑 탄소-효소 복합체 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

불소 도핑 탄소-효소 복합체 및 이의 제조방법이 제공된다. 이에 의하면, 탄소체는 효소를 더 높은 함량으로 로딩시키는 동시에 상승된 감도를 발현할 수 있도록 불소로 개질된 표면을 제공함에 따라서 효소와 복합화 시 상승된 감도를 갖는 효소 전극이나 바이오 센서를 구현하기에 적합하다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 27/327 (2021.01)
G01N 2223/085 (2013.01)
(72) 발명자
김수진
경기도 의정부시 범골로 60, 101동 1605호 (의정부동, 동화아파트)
이동렬
서울특별시 관악구 복은길 101, 101호 (신림동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711131022
과제번호 2020R1A2C3009649
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 효소 안정화를 위한 나노효소입자 개발 및 그 응용
기 여 율 50/100
과제수행기관명 고려대학교 산학협력단
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1415181681
과제번호 RS-2022-00154729
부처명 산업통상자원부
과제관리(전문)기관명 한국산업기술평가관리원
연구사업명 시장선도를 위한 한국 주도형 K-Sensor 기술개발(R&D)
연구과제명 극한환경용 산화갈륨 자외선 센서 기술 개발
기 여 율 50/100
과제수행기관명 한국항공대학교 산학협력단
연구기간 2022.04.01 ~ 2026.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

탄소 일부에 불소가 도핑된 불소 도핑 탄소체; 및

상기 불소 도핑 탄소체 상에 고정된 효소;를 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 탄소체는 그래핀, 산화그래핀, 탄소 나노튜브, 다중 벽 탄소 나노튜브, 플러렌 및 그라파이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 효소는 트립신, 키모트립신, 펩신, 리파아제, 당산화효소, 양고추냉이 과산화효소, 티록시네이즈, 탄산무수화효소, 포름알데히드 탈수소효소, 포름산 탈수소효소, 알콜 탈수소효소, 콜레스테롤 탈수소효소, 아실레이즈, 락토네이즈, 프로테이즈, 퍼옥시데이즈, 아미노펩티데이즈, 포스파테이즈, 트렌스아미네이즈, 세린-엔도펩티데이즈, 시스테인-엔도펩티데이즈 및 메탈로엔도펩티데이즈로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 효소를 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 불소 도핑 탄소체는 X선 광전자 분광법(XPS)에 의한 스펙트럼에서 결합에너지 685.5eV에서 피크를 갖는 제1 C-F결합을 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 불소 도핑 탄소체는 라만스펙트럼에서 파장 1350±10㎝$^{-1}$에서의 제1피크(A)와 1580±10㎝$^{-1}$에서의 제2피크(B) 간이 비율(A/B)이 0.78 ~ 8.2인 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 X선 광전자 분광법(XPS)에 의한 스펙트럼에서 결합에너지 687.5eV에서 피크를 갖는 제2 C-F결합을 더 가지며,

제1 C-F 결합에서의 피크강도(I_A) 및 제2 C-F 결합에서의 피크강도(I_B) 비율(I_B/I_A)이 1.056 ~ 1.223인 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 불소 도핑 탄소체는 라만스펙트럼에서 파장 1350±10㎝$^{-1}$에서의 제1피크(A)와 1580±10㎝$^{-1}$에서의 제2피크(B) 간이 비율(A/B)이 0.95 ~ 1.05이되 불소 도핑 전 동일 종류의 탄소체의 제2피크(B)와 대비해 레드 쉬프트가 발생하지 않은 것을 특징으로 하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 불소 도핑 탄소체는 1.57 ~ 2.07 중량%로 불소를 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 불소 도핑 탄소체는 접촉각이 155.5° ~ 156.7° 인 불소 도핑 탄소-효소 복합체.

청구항 10

제1항에 있어서,

불소 도핑 탄소-효소 복합체 내 효소 로딩량(L)에 대비한 하기 감도 평가방법에 따른 감도(S)의 비율(S/L)이 17.5 이상인 불소 도핑 탄소-효소 복합체:

<감도 평가방법>

불소 도핑 탄소-효소 복합체를 CNT 중량 기준 40㎍의 함량이 되도록 나피온® 용액과 혼합한 20㎕의 시료(시료 내 나피온 농도 0.5중량%)를 표면에 금 나노입자가 전착된 직경이 3㎜인 유리질 탄소 전극 상에 처리하여 건조시킨 효소전극을 100 mM PB pH 7.0 용액에서 상기 효소에 결합되는 기질의 농도를 1 mM씩 증가시키며 반응전류를 측정하여 기질의 농도 대비 전류의 초기 기울기를 통해 감도를 구함.

청구항 11

(1) 플라즈마 발생부로부터 생성된 소스 플라즈마에서 분리시킨 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 프로세스 플라즈마를 플라즈마 발생부와 공간적으로 분리된 다운스트림에 위치하는 반응부에 공급하여 상기 반응부 내 위치한 탄소체를 불소 도핑시켜서 불소 도핑 탄소체를 제조하는 단계; 및

(2) 불소 도핑 탄소체 상에 효소를 고정시키는 단계;를 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

(1) 단계는 플라즈마 발생부가 위치하는 플라즈마 챔버 압력 118 ~ 120 mTorr, 파워 8 ~ 12 W, 소스 가스 유량 8 ~ 12 sccm의 조건으로 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 소스플라즈마가 생성되는 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

(1) 단계에서 반응부로 공급된 밀도 제어된 중성 불소 라디칼 이온을 함유한 프로세스 플라즈마를 상기 탄소체에 처리하는 시간은 0 초과 ~ 5분 또는 45 ~ 60분인 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 효소는 흡착을 통해 고정되는 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법.

청구항 15

전극; 및

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 포함하는 센서층;을 포함하는 효소 전극.

청구항 16

제15항에 따른 효소 전극;을 포함하는 바이오 센서.

청구항 17

흡착을 통해서 효소가 고정되는 표면을 제공하기 위한 것으로서, 일부 탄소에 불소가 도핑된 효소 고정용 불소 도핑 탄소체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 불소 도핑 탄소-효소 복합체 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 전기화학 바이오센서란 전기화학 반응을 이용해 전극으로 바이오 물질의 특정정보를 신호로 변화시키는 센서를 의미하며, 구체적으로 전기화학적 생화학반응을 촉매 하는 물질인 효소를 이용해 바이오 물질인 기질을 생성물로 전환시키고, 전환된 생성물을 전기화학 반응으로 측정하는 전극을 이용해 바이오 물질의 특정 정보를 정량적인 신호로 변환시키는 바이오센서를 의미한다.

[0003] 바이오센서를 구현하는 많은 연구에서 효소는 그 자체로서 안정성이 부족해 다양한 형상, 재질, 구조를 가지는 수많은 종류의 지지체에 고정시켜 사용되어 왔다. 다만, 바이오센서는 상술한 것과 같이 전기화학 반응을 통해 발생된 신호를 검출함에 따라서 단순히 효소 만으로는 낮은 함량의 기질에 대해서 보다 빠른 속도로 검출에 필요한 신호로 기질을 변화시키기에 충분하지 않아서 최근에는 효소를 고정시키는 담체를 통해 감도를 높이고자 하는 시도가 많이 이루어지고 있다.

[0004] 한편, 그래핀은 전기적, 기계적, 화학적 특성이 매우 안정적이고 뛰어날 뿐만 아니라 우수한 전도성 물질로서 실리콘 보다 약 100 배 빠르게 전자를 이동시키며 구리보다도 약 100배 가량 더 많은 전류를 흐르게 할 수 있는 물질로서 이의 제조와 응용에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

[0005] 또한, 상기 그래핀 등의 탄소 물질은 별도의 작용기 없이도 효소를 고정시키기에 유리한 것으로 알려져 있다. 다만, 개질되지 않은 순수한 그래핀 등의 탄소 물질만으로는 더욱 큰 감도를 갖도록 하기 어렵고, 탄소 물질에 로딩되는 효소 양을 증가시키기에 한계가 존재한다.

[0006] 이에 최근에는 그래핀 등의 탄소 물질의 개질을 통한 효소 고정화 연구가 활발히 이루어지고 있다. 그러나 개질 시 수행되는 구체적 방법에 따라서 탄소 물질에 결함을 발생시키는 문제가 있다. 구체적으로 탄소 물질에 직접 가해지는 플라즈마 처리는 표면에 결함을 발생시키며, 결함은 전기전도성을 오히려 감소시킴에 따라서 목적하는 수준의 높은 전기화학적 특성을 가지거나 효소와 결합되어 상승된 전기화학적 특성을 발현하기에 충분하지 못한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2016-0004421호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 점을 감안하여 안출한 것으로, 효소를 더 높은 함량으로 로딩시키며, 더욱 높은 감도를 발현할 수 있도록 불소로 개질된 표면을 제공하도록 구현된 탄소체 상에 효소를 복합화한 불소 도핑된 탄소-효소 복합체 및 이의 제조방법을 제공하는데 목적이 있다.

[0009] 또한, 본 발명은 탄소체가 불소로 개질됨에도 불구하고 결함을 발생시키지 않아서 전기전도성 등의 물성 저하가 방지되는데 나아가 전기전도성이 더욱 개선됨에 따라서 효소와 복합화되어 더욱 우수한 감도를 갖는 효소 전극이나 바이오 센서를 구현하기에 적합한 불소 도핑된 탄소-효소 복합체 및 이의 제조방법을 제공하는데 다른 목

적이 있다.

[0010] 나아가, 본 발명은 높은 소수성 특성을 통해서 오염 및 습기에 강함에 따라서 극한의 습한 조건에서도 성능의 기능저하가 발생되지 않거나 최소화되는 물품을 제조하기에 적합한 불소 도핑된 탄소-효소 복합체 및 이의 제조 방법을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상술한 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 탄소 일부에 불소가 도핑된 불소 도핑 탄소체, 및 상기 불소 도핑 탄소체 상에 고정된 효소를 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 제공한다.

[0012] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 탄소체는 그래핀, 산화그래핀, 탄소 나노튜브, 다중 벽 탄소 나노튜브, 플러렌 및 그라파이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0013] 또한, 상기 효소는 트립신, 키모트립신, 펩신, 리파아제, 당산화효소, 양고추냉이 과산화효소, 티록시네이즈, 탄산무수화효소, 포름알데히드 탈수소효소, 포름산 탈수소효소, 알콜 탈수소효소, 콜레스테롤 탈수소효소, 아실레이즈, 락토네이즈, 프로테이즈, 퍼옥시데이즈, 아미노펩티데이즈, 포스파테이즈, 트렌스아미네이즈, 세린-엔도펩티데이즈, 시스테인-엔도펩티데이즈 및 메탈로엔도펩티데이즈로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 효소를 포함할 수 있다.

[0014] 또한, 본 발명의 제1 구현예에 따르면, 상기 불소 도핑 탄소체는 X선 광전자 분광법(XPS)에 의한 스펙트럼에서 결합에너지 685.5eV에서 피크를 갖는 제1 C-F결합을 포함할 수 있다.

[0015] 또한, 상기 불소 도핑 탄소체는 라만스펙트럼에서 파장 1350±10㎝$^{-1}$에서의 제1피크(A)와 1580±10㎝$^{-1}$에서의 제2피크(B) 간이 비율(A/B)이 0.78 ~ 8.2일 수 있다.

[0016] 또한, 상기 X선 광전자 분광법(XPS)에 의한 스펙트럼에서 결합에너지 687.5eV에서 피크를 갖는 제2 C-F결합을 더 가지며, 제1 C-F 결합에서의 피크강도(I_A) 및 제2 C-F 결합에서의 피크강도(I_B) 비율(I_B/I_A)이 1.056 ~ 1.223일 수 있다

[0018] 또한, 본 발명의 제2구현예에 따르면, 상기 불소 도핑 탄소체는 라만스펙트럼에서 파장 1350±10㎝$^{-1}$에서의 제1피크(A)와 1580±10㎝$^{-1}$에서의 제2피크(B) 간이 비율(A/B)이 0.95 ~ 1.05이되 불소 도핑 전 동일 종류의 탄소체의 제2피크(B)와 대비해 레드 쉬프트가 발생하지 않을 수 있다.

[0019] 또한, 상기 불소 도핑 탄소체는 1.57 ~ 2.07 중량%로 불소를 포함할 수 있다.

[0020] 또한, 상기 불소 도핑 탄소체는 접촉각이 155.5° ~ 156.7° 일 수 있다.

[0022] 또한, 불소 도핑 탄소-효소 복합체 내 효소 로딩량(L)에 대비한 하기 감도 평가방법에 따른 감도(S)의 비율(S/L)이 17.5 이상일 수 있다.

[0023] <감도 평가방법>

[0024] 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 CNT 중량 기준 40㎍의 함량이 되도록 나피온® 용액과 혼합한 20㎕의 시료(시료내 나피온 농도 0.5중량%)를 표면에 금 나노입자가 전착된 직경이 3㎜인 유리질 탄소 전극 상에 처리하여 건조시킨 효소전극을 100 mM PB pH 7.0 용액에서 상기 효소에 결합되는 기질의 농도를 1 mM씩 증가시키며 반응전류를 측정하여 기질의 농도 대비 전류의 초기 기울기를 통해 감도를 구한다.

[0025] 또한, 본 발명은 (1) 플라즈마 발생부로부터 생성된 소스 플라즈마에서 분리시킨 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 프로세스 플라즈마를 플라즈마 발생부와 공간적으로 분리된 다운스트림에 위치하는 반응부에 공급하여 상기 반응부 내 위치한 탄소체를 불소 도핑시켜서 불소 도핑 탄소체를 제조하는 단계, 및 (2) 불소 도핑 탄소체 상에 효소를 고정시키는 단계를 포함하는 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법을 제공한다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 의하면,

[0027] (1) 단계는 플라즈마 발생부가 위치하는 플라즈마 챔버 압력 118 ~ 120 mTorr, 파워 8 ~ 12 W, 소스 가스 유량

8 ~ 12 sccm 의 조건으로 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 소스 플라즈마가 생성될 수 있다.

[0028] 또한, (1) 단계에서 반응부로 공급된 밀도 제어된 중성 불소 라디칼 이온을 함유한 프로세스 플라즈마를 상기 탄소체에 처리하는 시간은 0 초과 ~ 5분 또는 45 ~ 60분일 수 있다.

[0029] 또한, 상기 효소는 흡착을 통해 고정될 수 있다.

[0031] 또한, 본 발명은 전극 및 본 발명에 따른 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 포함하는 센서층을 포함하는 효소 전극을 제공한다.

[0033] 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 효소 전극을 포함하는 바이오 센서를 제공한다.

[0035] 또한, 본 발명은 흡착을 통해서 효소가 고정되는 표면을 제공하기 위한 것으로서, 탄소 일부에 불소가 도핑된 효소 고정용 불소 도핑 탄소체를 제공한다.

발명의 효과

[0036] 본 발명에 의한 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법은 불소를 플라즈마를 이용해 탄소에 도핑시킴에도 불구하고 결함을 발생시키지 않아서 전기전도성 등의 물성 저하가 방지되고, 이에 나아가 전기전도성을 개선할 수 있다. 또한, 효소를 더 높은 함량으로 로딩시키는 동시에 상승된 감도를 발현할 수 있도록 불소로 개질된 표면을 제공함에 따라서 효소와 복합화 시 상승된 감도를 갖는 효소 전극이나 바이오 센서를 구현하기에 적합하다. 나아가, 구현된 불소 도핑 탄소-효소 복합체는 높은 소수성을 가짐에 따라서 오염 및 습기에 강해서 극한의 습한 조건에서도 성능의 기능저하가 발생되지 않거나 최소화되는 물품을 제조하기에 적합함에 따라서 각종 바이오 센서, 바이오 연료 전극 등 효소를 이용하는 다양한 산업 전반에 응용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 불소 도핑 탄소체의 제조방법 모식도,

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 불소 도핑 탄소-효소 복합체 제조방법 모식도,

도 3은 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조된 본 발명의 여러 실시예에 따른 불소 도핑 탄소체에 대한 라만 스펙트럼 그래프,

도 4는 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조된 본 발명의 여러 실시예에 따른 불소 도핑 탄소체에 대한 수 접촉각 그래프,

도 5는 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조된 본 발명의 여러 실시예에 따른 불소 도핑 탄소체에 대한 X선 광전자 분광법(XPS)에 의한 스펙트럼,

도 6은 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조된 본 발명의 여러 실시예 및 비교예2에 따른 불소 도핑 탄소체와 비교예 1에 따른 미개질 탄소체에 대한 TEM 사진,

도 7은 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조된 본 발명의 여러 실시예에 따른 불소 도핑 탄소체에 효소가 고정된 불소 도핑 탄소-효소 복합체 내 효소 로딩량 및 효소 활성도 그래프,

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 효소 전극의 제조 모식도와 효소 전극을 통한 센싱 메커니즘을 도시한 모식도,

도 9a 내지 도 9e는 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조한 불소 도핑 탄소체로 구현된 본 발명의 여러 실시예에 따른 효소 전극에 대한 전기화학적 특성 및 성능 평가 결과로서, 도 9a 및 도 9b는 주파수 대를 달리해 측정된 나이퀴스트 선도 그래프, 도 9c는 전하 이동 저항 그래프, 도 9d는 글루코오스 존재 하(실선) 또는 글루코오스 부존재 하(점선) 순환 전류전압법을 통해 측정된 볼타모그램, 도 9e는 타펠 기울기 그래프,

도 10은 플라즈마 처리 시간을 달리해 제조한 불소 도핑 탄소체로 구현된 본 발명의 여러 실시예에 따른 효소 전극을 포함하는 글루코오스 바이오 센서의 전류측정 그래프(amperogram),

도 11은 도 10의 전류측정 그래프에 대한 보정 플롯,

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 글루코오스 바이온 센서의 간섭물(프락토오즈, 수크로오스, 갈락토오스, 우레아)에 대한 항-간섭 효과(anti-interference effect)를 나타낸 그래프,

도 13은 본 발명의 여러 실시예에 따른 효소 전극의 전하 이동 저항 및 감도를 도시한 그래프, 그리고

도 14는 본 발명의 여러 실시예에 따른 효소 전극에 대한 효소 로딩량 대비 효소 감도의 비율을 도시한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 이하, 첨부한 도면을 참고로 하여 본 발명의 실시예에 대하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다.

[0040] 도 1 및 도 2를 참조하여 설명하면, 본 발명의 일 실시예에 의한 불소 도핑 탄소체-효소 복합체는 탄소 일부에 불소가 도핑된 불소 도핑 탄소체 및 상기 불소 도핑 탄소체 상에 고정된 효소를 포함하여 구현된다.

[0042] 본 발명의 일 실시예에 의한 불소 도핑 탄소체-효소 복합체는 (1) 플라즈마 발생부로부터 생성된 소스 플라즈마에서 분리시킨 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 프로세스 플라즈마를 플라즈마 발생부와 공간적으로 분리된 다운스트림에 위치하는 반응부에 공급하여 상기 반응부 내 위치한 탄소체를 불소 도핑시켜서 불소 도핑 탄소체를 제조하는 단계, 및 (2) 불소 도핑 탄소체 상에 효소를 고정시키는 단계를 포함하여 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0044] 먼저 본 발명에 따른 (1) 단계는 불소 도핑 탄소체를 제조하는 단계로서, 플라즈마 발생부로부터 생성된 소스 플라즈마에서 분리시킨 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 프로세스 플라즈마를 플라즈마 발생부와 공간적으로 분리된 다운스트림에 위치하는 반응부에 공급하여 상기 반응부 내 위치한 탄소체를 불소 도핑시켜서 불소 도핑 탄소체를 제조한다.

[0045] 본 발명의 일 실시예에 의한 불소 도핑 탄소체는 플라즈마를 통해서 불소 도핑된다. 다만, 플라즈마 발생부에서 생성된 소스 플라즈마를 직접 탄소체에 처리 시 소스 플라즈마 내 생성된 중성 불소 라디칼 이외에 이온, 전자 등이 탄소체에 함께 가해짐에 따라서 탄소체에 손상을 발생시킬 우려가 크며, 손상이 발생할 경우 전기전도도 등 탄소체 본래의 물리화학적 특성이 저하될 수 있어서 바람직하지 못하다. 이에 본 발명은 플라즈마 처리를 통해서 탄소체에 불소를 도핑시키되, 발생된 소스 플라즈마 내 존재하는 중성 불소 라디칼만을 선택적으로 분리한 플라즈마를 탄소체에 처리하며, 이를 통해 발생된 소스 플라즈마 내 이온, 전자 등이 탄소체에 처리될 기회가 차단됨에 따라서 탄소체 손상 유발을 방지할 수 있다.

[0047] 이를 위하여 상기 (1) 단계는 구체적으로 1-1) 플라즈마 발생부로 불소를 함유하는 전구물질을 포함하는 소스 가스를 공급하고, 전원에 파워 및 소정의 전압을 인가해 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 소스 플라즈마를 생성시키는 단계, 1-2) 소스 플라즈마 중 중성 불소 라디칼 이온이 선택적으로 분리되어 포함된 프로세스 플라즈마를 플라즈마 발생부와 공간적으로 분리된 반응부로 공급하는 단계, 및 1-3) 반응부 내에 장착된 탄소체에 소정의 시간동안 프로세스 플라즈마를 처리하는 단계를 통해 제조될 수 있으며, 1-1) 내지 1-3) 단계를 수행하기 위한 플라즈마 장치는 리모트 플라즈마 장치로 알려진 공지의 장치를 이용할 수 있다.

[0049] 리모트 플라즈마 장치를 이용할 때 상기 1-1) 단계는 플라즈마 챔버 내 플라즈마 발생부에서 수행될 수 있다.

[0050] 소스 플라즈마를 발생시키기 위하여 플라즈마 챔버 내로 불소 라디칼 이온을 생성하기 위한 전구물질에 해당하는 소스 가스가 공급되며, 전원인 RF 파워 공급부를 통해 파워가 인가될 수 있다.

[0051] 상기 소스 가스는 불소를 포함하는 가스인 경우 제한 없이 사용될 수 있으며, 일 예로 SF_6, CF_4, C_2F_8, 및 C_3F_8 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 가스를 포함할 수 있고, 바람직하게는 SF_6일 수 있고, 이를 통해 본 발명의 목적을 달성하기에 유리할 수 있다.

[0052] 한편, 공급되는 소스 가스의 유량, 플라즈마 챔버 내 압력과 인가되는 파워의 세기는 플라즈마 내 중성 불소 라디칼 이온의 밀도를 목적하는 수준이 되도록 결정될 수 있으며, 일 예로 플라즈마 발생부가 위치하는 플라즈마 챔버 압력 118 ~ 120 mTorr, 파워 8 ~ 12W, 소스 가스 유량 8 ~ 12 sccm의 조건으로 중성 불소 라디칼 이온을 포함하는 소스플라즈마가 생성될 수 있다.

[0054] 다음으로 1-2) 단계로서, 상술한 1-1) 단계에서 플라즈마 챔버 내 생성된 소스 플라즈마 중 중성 불소 라디칼 이온이 선택적으로 분리되어 프로세스 플라즈마로서 플라즈마 발생부와 공간적으로 분리된 반응부로 공급될 수 있다.

[0055] 상기 반응부는 일 예로 리모트 플라즈마 장치의 반응챔버 내 위치할 수 있고, 프로세스 플라즈마는 플라즈마 챔버와 반응챔버 간을 연결하는 유로를 통해 이동하여 반응챔버 내로 유입될 수 있다.

[0057] 다음으로 1-3) 단계로서, 반응부 내에 장착된 탄소체에 소정의 시간동안 프로세스 플라즈마를 처리하는 단계를 수행할 수 있다.

[0058] 상기 탄소체는 불소가 도핑되는 표면을 제공하며, 상기 탄소체는 일 예로 sp^2 결합을 포함하며, 바람직하게는 sp^2 결합으로 이루어진 것일 수 있다. 상기 탄소체는 탄소로 이루어지며 바람직하게는 sp^2 결합을 포함하는 공지의 탄소 재료의 경우 제한 없이 사용될 수 있고, 일 예로 그래핀, 산화그래핀, 탄소 나노튜브, 다중 벽 탄소 나노튜브, 플러렌 및 그라파이트로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0060] 또한, 반응챔버 내로 유입된 프로세스 플라즈마가 상기 탄소체에 처리되어 불소가 도핑되는데, 이때 프로세스 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 탄소체에 도핑되는 불소의 도핑량이 증가하며(표 2 참조), 다만, 일정시간, 예를 들어 60분을 초과 시 도핑되는 불소량이 포화에 이를 수 있음에 따라서 불소 도핑량 증가가 미미할 수 있다.

[0062] 한편, 본 발명의 바람직한 일 실시예에 의하면, (1) 단계에서 반응부로 공급된 밀도 제어된 중성 불소 라디칼 이온을 함유한 프로세스 플라즈마를 상기 탄소체에 처리하는 시간은 0초과 ~ 5분, 다른 일 예로 0.1분 ~ ~ 5분, 0.2분 ~ 5분, 0.3분 ~ 5분, 또는 0.5 분 ~ 5분일 수 있다. 또한, 다른 일 예로 45 ~ 60분일 수 있다.

[0063] 플라즈마 처리 시간에 따라서 탄소체의 불소 도핑량이 달라지는 것 이외에 탄소체에 결합된 불소의 결합모습이 달라지며, 이로 인하여 불소 도핑된 탄소체의 물리화학적 특징이 달라질 수 있다.

[0064] 일 예로 본 발명의 제1구현예에 의하면 플라즈마 처리 시간은 0.5 ~ 5분일 수 있고, 이를 통해서 탄소체에 도핑된 불소로 인해 증가된 소수성의 특성은 후술하는 (2) 단계에서의 로딩되는 효소량의 증가에 기여하는 동시에, 이온성을 띠는 C-F 결합(제1 C-F 결합)이 상대적으로 높게 형성됨에 따라서 다른 처리 시간대로 플라즈마 처리된 탄소체에 대비해 상대적으로 높은 전기전도성을 가질 수 있다. 이에 대해 구체적으로 설명하면, 이온성을 띠는 C-F 결합은 불소 라디칼 이온이 탄소체 표면에 물리적 흡착(physisorption) 되면서 탄소에서 불소로 충분한 전하 이동이 발생지 않으며, 이로 인하여 결과적으로 탄소체의 저항 감소 효과가 발현되며, 이는 0.5 ~ 5분 내 플라즈마 처리되는 탄소체에서 나타나는 급격히 낮아지는 전하 이동 저항 값을 통해 확인할 수 있다(도 9c 참조).

[0066] 이를 도 5를 참조하여 구체적으로 설명하면, 플라즈마 처리 시간이 각각 0.5분, 1분, 5분, 15분, 30분, 45분 및 60분 처리된 모든 실시예에서 결합에너지 687.5eV에서 피크를 갖는 제2 C-F 결합(극성 공유결합)이 우세한 것을 확인할 수 있다. 다만, 플라즈마 처리 시간이 0.5분(실시예1)에서 5분(실시예3)인 경우 685.5eV에서 피크를 갖

는 이온성을 띠는 제1 C-F 결합의 비율이 다른 처리 시간대에 대비해 우세했고 처리 시간이 1분을 넘게 되면 제1 C-F 결합의 비율이 다시 감소하다가, 처리시간 60분(실시예7)까지 길어질 경우 제1 C-F 결합이 존재하지 않고 제2 C-F 결합은 더욱 우세해지는 것을 확인할 수 있다. 달리 말하면, 제1 C-F 결합이 상대적으로 더 우세해지는 0.5 ~ 1분까지는 저항이 낮아져 탄소체의 전도도가 증가하다가 플라즈마 1분을 넘게 되면 저항이 다시 증가하기 시작하며, 플라즈마 처리시간이 5분을 경과하게 되면 물리적 흡착된 불소 라디칼과 탄소 간에 화학적 흡착(chemisorption)에 의해서 탄소의 전하가 완전히 불소로 이동하게 되고, 이로 인해 탄소체의 저항은 증가할 수 있다.

[0068] 한편, 도 9c를 참조하면, 플라즈마가 처리된 직후부터 전하 이동 저항이 급격히 감소하다가 플라즈마 처리 시간이 약 15분을 경과하게 되면 플라즈마 처리되기 전 탄소체의 전하 이동 저항과 유사한 수준의 저항값을 가지게 되며, 플라즈마 처리시간이 60분까지 계속 연장될 경우 전하 이동 저항은 계속 증가하며, 이러한 특성은 상술한 도 5에서 플라즈마 처리 시간에 따른 탄소와 도핑된 불소 간의 결합 형태에서 제1 C-F 결합과 제2 C-F 결합 비율 변화와 유사한 양상을 보이며, 이를 통해서 도핑된 불소 중 제1 C-F 결합 비율이 높을수록 해당 탄소체는 더 낮은 전하 이동 저항 값을 가질 수 있음을 예상할 수 있다.

[0070] 또한, 제1 C-F 결합이 존재하는 경우 탄소체의 낮은 전하 이동 저항 특성은 효소가 고정된 탄소체의 효소/기질 반응에서의 더 유리한 결과를 보이게 되는데 도 13 및 도 14에 도시된 것과 같이 전하 이동 저항이 낮게 형성되는 플라즈마 처리 시간이 5분까지 감도가 급격히 향상되며, 로딩된 효소 당 감도 역시 플라즈마 처리 시간이 장시간 수행된 경우에 대비해 매우 높았다. 일 예로 플라즈마 처리 시간이 30분 이상 장시간 수행되어 도핑된 불소량이 더 큰 경우에 대비해 플라즈마 처리시간이 0 초과, 다른 일 예로 0.1분 이상, 0.2분 이상, 0.3분 이상, 또는 0.5 분 ~ 5분으로 더 적은 불소량으로 불소가 도핑된 탄소체에 효소가 고정될 경우 효소 로딩량 대비 감도는 약 1.7배 가량 더 높을 수 있다. 또한, 제1구현예에 따른 불소 도핑 탄소체에 효소가 고정된 불소 도핑 탄소-효소 복합체 내 효소 로딩량(L)에 대비한 감도(S)의 비율(S/L)이 17.5 이상으로 고정되는 효소 당 감도가 매우 우수할 수 있다. 한편, 상기 감도는 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 CNT 중량 기준 40㎍의 함량이 되도록 나피온® 용액과 혼합한 20㎕의 시료(시료내 나피온 농도 0.5중량%)를 표면에 금 나노입자가 전착된 직경이 3㎜인 유리질 탄소 전극 상에 처리하여 건조시킨 효소전극을 100 mM PB pH 7.0 용액에서 상기 효소에 결합되는 기질의 농도를 1 mM씩 증가시키며 반응전류를 측정하여 기질의 농도 대비 전류의 초기 기울기를 통해 감도를 구한다. 일 예로 상기 효소가 당산화효소일 경우 기질은 포도당일 수 있다.

[0072] 이에 따라서 본 발명의 일 실시예에 따르면, 효소를 적게 로딩하면서도 높은 감도를 발현할 수 있도록 불소 도핑 탄소체는 제1 C-F 결합에서의 피크강도(I_A) 및 제2 C-F 결합에서의 피크강도(I_B) 비율(I_B/I_A)이 1.056 ~ 1.223일 수 있다. 만일 상기 비율(I_B/I_A)이 1.056 미만인 경우 제1 C-F 결합 비율이 과도하게 커짐에 따라서 탄소체 표면에 제1 C-F 결합으로 인한 극성의 표면이 제공될 수 있고, 이로 인하여 효소의 부착을 약화시키거나 부착량을 저하시킬 수 우려가 있으며 이에 따라서 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 장시간 사용하거나 재사용 시 유실되는 효소량이 증가하고 성능 저하를 유발할 수 있다. 또한, 만일 상기 비율(I_B/I_A)이 1.223을 초과 시 제1 C-F 결합 감소에 따라서 전하 이동 저항이 커질 수 있고, 이 경우 불소 도핑된 탄소체로 인한 효소/기질 반응에 미치는 상승작용이 감소하거나 발생하지 않을 수 있다.

[0074] 또한, 도 3을 참조하면 제1구현예에 따른 불소 도핑된 탄소체는 라만스펙트럼에서 파장 1350±10㎝$^{-1}$에서의 제1 피크(A)와 1580±10㎝$^{-1}$에서의 제2피크(B) 간이 비율(A/B)이 0.78 ~ 8.2일 수 있으며, 이를 통해서 불소 미도핑 상태의 탄소체에 대비해 효소 로딩량 및 로딩된 효소와 탄소체 간의 부착력을 보다 크게 할 수 있으면서도 효소와 불소 도핑된 탄소체 간의 전기화학적 상호작용으로 적은 양의 효소가 로딩되는 경우에도 우수한 감도를 달성하기에 유리할 수 있고, 불소 도핑을 위해 플라즈마 처리되었음에도 탄소체에 결함이 존재하지 않을 수 있다.

[0075] 또한, 도 7에 도시된 것과 같이 플라즈마 처리 시간이 0.5 ~ 5분인 제1구현예에 따른 불소 도핑된 탄소체는 효소의 로딩량을 증가시키면서도 효소 로딩량 증가에 대비해 활성도를 더 큰 수준으로 증가시키기에 유리하며 이

는 로딩된 효소에 전체적으로 기질이 작용할 수 있어서 더 우수한 물질 이동이 발생했음을 의미한다.

[0077] 한편, 제1구현예에 따른 불소 도핑된 탄소체는 도핑된 불소량이 0.1 ~ 0.9 중량%일 수 있고 수 접촉각이 150 ~ 152.1° 일 수 있으며, 이를 통해 본 발명의 목적을 달성하는데 유리할 수 있다.

[0079] 한편, 다른 예로 본 발명의 제2구현예에 의하면 플라즈마 처리 시간은 45 ~ 60분일 수 있고, 이를 통해서 탄소체의 표면에 도핑되는 불소량이 많아지고 일 예로 도핑되는 불소느 불소 도핑 탄소체에 1.57 ~ 2.07 중량%로 함유될 수 있고, 불소와 탄소 간의 결합형태가 제2 C-F 결합, C-F_2 결합, -CF_3 결합, -CF_2H, 등 여러 형태가 되면서 탄소체 표면에너지가 낮아져 높은 소수성 특성을 가지는 표면, 일 예로 수 접촉각이 155.5° ~ 156.7° 인 표면을 구현할 수 있다(도 4 참조).

[0080] 또한, 제2구현예와 같이 높은 소수성의 표면을 제공하는 탄소체는 도 7에 도시된 것과 같이 고정되는 효소량을 크게 증가시킬 수 있고, 이에 따라서 발현되는 효소 활성도 역시 높은 수준을 가지기에 유리하다.

[0081] 또한, 도 13을 통해 확인할 수 있듯이 고정되는 효소량이 커짐에 따라서 기질에 대한 높은 감도를 달성할 수 있는 효소전극, 바이오 센서 등을 구현하기에 유리하다.

[0083] 한편, 제2 구현예에 따른 불소 도핑 탄소체는 라만스펙트럼에서 파장 1350±10cm^{-1}에서의 제1피크(A)와 1580±10cm^{-1}에서의 제2피크(B) 간이 비율(A/B)이 0.95 ~ 1.05이되 불소 도핑 전 동일 종류의 탄소체의 제2피크(B)와 대비해 레드 쉬프트가 발생하지 않을 수 있으며, 이를 통해서 높은 소수성을 갖는 표면으로 구현되어 더욱 많은 양의 효소를 로딩시킬 수 있고, 장시간 효소가 탄소체에서 떨어져 나가지 않는 안정성을 가지기 유리하면서도 탄소체 표면에 결함이 발생하지 않음에 따라서 결함으로 인한 탄소체 표면의 저항 증가 등 불소 도핑에 따른 탄소체 본래의 물성이 변동되는 것을 방지할 수 있다.

[0085] 다음으로 본 발명에 따른 (2) 단계로서, (1) 단계를 통해 수득된 불소 도핑 탄소체 상에 효소를 고정시키는 단계를 수행한다.

[0086] 상기 효소는 공지된 효소의 경우 제한되지 않으며, 생물체에서 수득되거나 생물체에서 수득된 것과 동일하게 인공적으로 재조합된 것일 수 있고, 이들 효소의 본래 기능이 상실되지 않는 범위 내 이들의 자연적 또는 인공적 변이체 역시 포함될 수 있다. 일 예로 상기 효소는 트립신, 키모트립신, 펩신, 리파아제, 당산화효소, 양고추냉이 과산화효소, 티록시네이즈, 탄산무수화효소, 포름알데히드 탈수소효소, 포름산 탈수소효소, 알콜 탈수소효소, 콜레스테롤 탈수소효소, 아실레이즈, 락토네이즈, 프로테이즈, 퍼옥시데이즈, 아미노펩티데이즈, 포스파테이즈, 트렌스아미네이즈, 세린-엔도펩티데이즈, 시스테인-엔도펩티데이즈 및 메탈로엔도펩티데이즈로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 효소를 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0088] 또한, 상기 효소는 흡착을 통해 고정될 수 있고, 이를 통해 별도의 가교제를 사용한 고정이나, 공유결합을 통한 고정에 기인한 효소의 입체구조 변화 및 이로 인한 효소 활성 변동을 방지할 수 있다.

[0090] 또한, 상기 (2) 단계는 효소를 불소 도핑 탄소체와 혼합한 후 일정시간 교반을 통해서 효소를 불소 도핑 탄소체에 고정시킬 수 있고, 이후 1회 또는 다수 회 세척을 통해서 미흡착된 효소를 제거할 수 있다.

[0092] 또한, 본 발명은 상술한 제조방법으로 구현된 불소 도핑 탄소-효소 복합체를 이용한 효소 전극을 포함한다.

[0093] 상기 효소 전극은 전극 및 상기 전극 상에 피복된 센서층을 구비할 수 있고, 상기 센서층에 불소 도핑 탄소-효소 복합체이 포함된다.

[0094] 상기 센서층은 공지된 효소 전극에서 효소를 전극상에 고정 시 사용되는 바인더 등의 부재를 더 포함할 수

있고, 본 발명은 이에 대해 특별히 한정하지 않는다.

[0095] 또한, 상기 효소 전극은 보다 개선된 전기적 특성을 가지기 위하여 전극 상에 배치된 금 나노입자를 더 구비할 수 있고, 이를 통해서 일 예로 50% 이상 감소된 저항 특성을 가질 수 있다. 한편, 상기 금 나노입자는 증착을 통해서 형성될 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0097] 또한, 본 발명은 상술한 불소 도핑 탄소-효소 복합체 또는 효소 전극을 이용한 바이오 센서를 포함한다. 상기 바이온 센서는 공지된 바이오 센서에 구비되는 부재를 구비할 수 있으며, 본 발명은 이에 대해 특별히 한정하지 않는다.

[0099] 하기의 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기로 하지만, 하기 실시예가 본 발명의 범위를 제한하는 것은 아니며, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위한 것으로 해석되어야 할 것이다.

[0101] <실시예 1 ~ 6> - 불소 도핑된 CNT 제조

[0102] MW-CNT(PD30L15, 직경 30 ± 10 nm, 길이 1 ~ 5 μm)에 대하여 SF_6 리모트 플라즈마 처리를 수행해 불소 도핑된 CNT를 제조했다. 구체적으로 SF6 리모트 플라즈마 처리는 Tergeo 플라즈마 클리너(PIE Scientific, California, USA)를 이용했다. 플라즈마를 CNT에 처리하기 위하여 석영 보트에 놓여진 SiO_2/p^{++}-Si (300 nm/500 μm) 베어 웨이퍼 조각이 사용되었고, 미처리된 CNT를 로딩하기 위하여 석영 디쉬가 사용되었다. 플라즈마 처리는 SF_6 가스 유속 10 sccm, RF power 10 W, 펄스 비율 255 N, 압력 10 mTorr에서 수행했고, 이온을 포함하지 않는 중성 라디칼이 포함된 프로세스 플라즈마를 CNT에 각각 0.5, 1, 5, 15, 30, 45, 또는 60분으로 처리 시간을 다르게 실시하여 불소 도핑된 CNT를 제조했다.

[0104] <비교예 1>

[0105] 실시예 1에서 사용된 불소 도핑 전 CNT를 준비했다.

[0107] <비교예 2>

[0108] 실시예 1에서 사용된 불소 도핑 전 CNT를 프로세스 챔버가 아닌 플라즈마 챔버에 로딩시킨 후 동일조건으로 발생시킨 소스 플라즈마가 CNT에 15분 동안 직접 처리되도록 하여 불소 도핑된 CNT를 제조했다.

[0110] <실험예 1>

[0111] 실시예 1 ~ 6에서 제조된 불소 도핑된 CNT, 비교예 1의 미도핑 CNT 및 비교예2의 불소 도핑된 CNT에 대해 이하의 물성을 평가하였다.

[0113] 1. D 및 G 피크 변화 분석

[0114] 실시예 1 ~ 6 및 비교예 1에 대해서 532㎚ 파장 다이오드 펌핑 고체 레이져를 사용해 마이크로-라만 분광법을 통해서 D 및 G 피크 변화를 분석하고 그 결과를 하기 도 3에 나타내었다.

[0116] 도 3을 통해 확인할 수 있듯이,

[0117] 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 D 피크 강도 및 G 피크 강도 간의 비(I_D/I_G)가 커지는 것을 알 수 있고, 이를 통해서 플라즈마 처리를 통해서 CNT 표면 그라파이트 구조와 CNT 표면에 화학적 조성 변화로 해석할 수 있으며,

C-F 결합의 형성이 I_D를 상승시킨 것으로 예상된다.

[0118] 또한, 레이져의 열을 받으면 CNT에 불순물 등이 생성될 수 있는데, 플라즈마 처리 시간이 길어져도 G 피크의 레드 쉬프트가 나타나지 않았고 이를 통해서 레이져에 의한 열이 발생하지 않았음을 알 수 있다.

[0120] 2. 표면 소수성 평가

[0121] 불소 도핑된 CNT의 표면 소수성을 평가하기 위하여 실시예 2 ~ 6 및 비교예 1에 대해서 물 접촉각을 측정했다. 구체적으로 물 접촉각(°)은 불소 도핑된 CNT 멤브레인에 DI water 4 μL를 떨어뜨린 후 접촉각 측정기(OCA 15 EC, MCIK)를 이용해 측정했고 그 결과를 하기 표 1 및 도 4에 나타내었다.

표 1

[0123]

	플라즈마 처리시간(분)	물 접촉각(°)
비교예1	0	149.7
실시예2	1	150.6
실시예3	5	152.1
실시예4	15	154.1
실시예5	30	154.3
실시예6	45	155.5
실시예7	60	156.7

[0124] 표 1을 통해 확인할 수 있듯이,

[0125] 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 접촉각은 증가해 소수성이 강해지는 것을 알 수 있다.

[0127] 3. 원자상의 표면 결합에너지 분석

[0128] X선 광전자 분광법을 사용해 실시예 1 ~ 6에 따른 불소 도핑된 CNT의 원소 및 결합종류를 분석했으며, 구체적으로 400㎛ 시료 영역에 monochromator가 장착된 Al Ka μ-focused source (1486.6 eV, 12 kV, 3 mA)로 X-ray를 생성시켜서 측정하였고, 측정된 모든 결과 값은 C-C 결합에너지 C1s 피크인 284.8eV로 보정하였으며 그 결과는 도 5 및 표 2에 나타내었다.

표 2

[0130]

	플라즈마 처리시간(분)	C (중량%)	O (중량%)	F (중량%)
비교예1	0	97.55	2.45	0
실시예2	1	97.71	2.06	0.23
실시예3	5	97.81	1.32	0.86
실시예4	15	96.68	2.31	1.01
실시예5	30	94.53	4.13	1.34
실시예6	45	92.47	5.96	1.57
실시예7	60	95.52	2.4	2.07

[0131] 표 2를 통해 확인할 수 있듯이,

[0132] 플라즈마 처리시간이 길어질수록 도핑되는 불소 양이 증가하며, 표 1을 참조하면 도핑되는 불소 함량에 비례해 소수성의 특성이 강해진 것을 알 수 있다.

[0134] 또한, 도 5를 통해 확인할 수 있듯이,

[0135] 모든 실시예에서 결합에너지 687.5eV에서 피크를 갖는 제2 C-F 결합이 우세한 것을 확인할 수 있다. 한편, 플라즈마 처리 시간이 0.5분(실시예1)에서 5분(실시예3)으로 갈수록 결합에너지 685.5eV에서 피크를 갖는 제1 C-F 결합의 비율이 커지다 작아졌으며, 처리시간 60분(실시예7)까지 길어질 경우 제1 C-F 결합이 존재하지 않는 것을 알 수 있다. 반면에 $C-F_2$ 결합(결합에너지 692.5eV)은 실시예 1에서는 나타나지 않았으나 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 비율이 증가하는 것을 알 수 있고, 이를 통해서 임계 표면 장력이 감소하고, 소수성이 강해짐을 예상할 수 있고, 이러한 예상은 상술한 표 2를 통해서 뒷받침된다.

[0137] 한편, 결합에너지 687.5eV에서 피크를 갖는 제2 C-F 결합의 피크강도(I_B)와 제1 C-F 결합에서의 피크강도(I_A)의 비율(I_B/I_A)은 실시예 1(0.5분)에서 1.056, 실시예 2(1분)에서 1.223, 실시예3(5분)에서 1.054 였다.

[0139] 4. 플라즈마 처리에 따른 결함 생성 유무 확인

[0140] 실시예 2 ~ 6 및 비교예 1 ~ 2에 대해서 FE-TEM 사진을 촬영하여 플라즈마 처리에 따른 결함발생 여부를 확인했고 촬영된 사진은 도 6에 나타내었다.

[0142] 도 6을 통해 확인할 수 있듯이,

[0143] 실시예 2 ~ 6은 최장 60분까지 플라즈마 처리되었음에도 플라즈마 처리되지 않은 비교예 1과 같이 표면 탄소층의 결정 격자 손상이 발견되지 않았다. 그러나 비교예 2에 따른 불소 도핑 CNT는 플라즈마가 15분 간 처리되었음에도 플라즈마가 직접 처리됨에 따라서 CNT 표면의 다중-벽 영역의 일부에 비정질 탄소층 영역(빨간색 표시영역)이 형성되는 불연속이 발생해 표면에 손상이 발생했음을 확인할 수 있다.

[0145] <실시예 8> - GOx@F-CNT

[0146] 실시예 1에서 제조된 불소 도핑된 CNT(F-CNTs)에 당산화효소(GOx)를 흡착을 통해 고정시켰다. 구체적으로 100 mM phosphate buffer (PB, pH 7.0)에 5 mg/mL 농도로 GOx 가 혼합된 용액 2 mL에 실시예 2에서 제조된 F-CNTs 2 mg를 투입했다.

[0147] 이후 혼합물에 20초간 초음파를 가하고 200 rpm으로 쉐이킹 하면서 1시간 동안 인큐베이션 했다. 이후 시료를 PB buffer (pH 7.0)로 3회 세척하여 불소 도핑된 CNT 상에 당산화 효소가 흡착된 효소-불소 도핑된 탄소 복합체를 제조했고, 제조된 효소-불소 도핑된 탄소 복합체는 4℃ 온도로 PB buffer (pH 7.0)에 보관했다.

[0149] <실시예 9 ~ 14>

[0150] 실시예 8과 동일하게 실시하여 제조하되, 실시예 2에서 제조된 F-CNTs 대신에 실시예 2, 실시예 3, 실시예 4, 실시예 5, 실시예 6 또는 실시예 7에 따른 F-CNTs로 변경해 불소 도핑된 CNT 상에 당산화 효소가 흡착된 효소-불소 도핑된 탄소 복합체를 제조했다.

[0152] <비교예 3> - GOx@CNT

[0153] 실시예 8과 동일하게 실시하여 제조하되, 실시예 2에서 제조된 F-CNTs 대신에 비교예 1에 따른 불소 미도핑된 도핑 전 CNT로 변경해 CNT 상에 당산화 효소가 흡착된 효소-불소 도핑된 탄소 복합체를 제조했다.

[0155] <실험예 2>

[0156] 실시예 7 ~ 14 및 비교예 3에 대하여 하기의 물성을 평가했고, 그 결과를 하기 표 3 및 도 7에 나타내었다.

[0158] 1. 효소 로딩량 및 활성도 측정

[0159] 각각의 CNT 상에 로딩된 GOx 함량은 효소-탄소 복합체 제조 중에 수행된 3회의 세척과정에서 원심분리를 통하여 효소-탄소 복합체를 가라앉힌 후 세척액에 포함된 미흡착된 GOx의 함량을 BCA(bicinchoninic acid) 어세이법을 통해 간접적으로 측정하였다.

[0161] 또한, 효소 활성도는 GOx-촉매화된 글루코오스 산화를 통해 생성된 과산화수소를 이용해 TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)의 HRP-촉매화된 산화를 통해 측정했다. TMB 산화는 스펙트로미터(UV-2450, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용해 655 nm에서의 흡광도를 측정해서 평가했다. 이때 반응은 100 mM PB (pH 7.0)에 94 mM â-D-glucose, 0.15 mM의 TMB, 0.038 mg/mL의 겨자무과산화수소가 혼합된 반응 혼합물 900 μL가 담긴 석영 큐벳에 GOx-불소 도핑된 CNT 복합체 분취물 100 μL를 혼합한 후 큐벳을 스펙트로미터에 장착하고 655 nm에서의 흡광도 증가를 측정했다. 각 샘플의 활성도는 흡광도 증가 기울기를 통해 계산하였다.

표 3

[0163]

	플라즈마 처리시간 (분)	GOx 로딩량 (GOx 중량(mg)/복합체 중량(mg))	활성도 (unit/복합체 중량(mg))
비교예3	0	0.6	0.7
실시예8	0.5	0.7	0.9
실시예9	1	1.1	1.3
실시예10	5	1.5	1.5
실시예11	15	2.2	1.7
실시예12	30	2.9	2.0
실시예13	45	3.1	2.2
실시예14	60	3.2	2.7

[0164] 표 3 및 도 7을 통해서 확인할 수 있듯이,

[0165] 비교예 3에 대비해 실시예 14는 효소 로딩량이 5.3배, 효소 활성도가 3.9배 더 높게 구현된 것을 알 수 있다. 한편, 효소 로딩량의 증가는 GOx 분자의 소수성 영역과 불소 도핑 CNT 간의 소수성 상호작용에 기인한 것으로 예상된다.

[0166] 또한, 실시예 9(플라즈마 1분 처리된 불소 도핑 CNT 포함)는 효소 로딩량 및 효소 활성도에서 급격한 증가가 있는 것을 확인할 수 있고, 효소 로딩량에 대비해 활성도가 증가하는 속도도 빠른 것을 알 수 있는데, 이는 플라즈마 처리 1분 경과 시 CNT 상의 불소의 분산이 단위 표면 영역 당 효소 분자의 결합을 더욱 효과적으로 허용함을 나타낸다.

[0167] 다만, 플라즈마 처리시간이 길어지는 경우 효소 로딩량이 증가하나 증가하는 로딩량에 대비해 효소 활성도 증가폭이 적은 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 실시예9 또는 실시예 10에 해당하는 플라즈마 처리 시간이 길지 않은 경우 CNT에 흡착한 GOx가 겹치지 않아 모든 GOx에서 촉매작용이 발생하나, GOx 로딩량이 일정 수준을 넘어서면 GOx가 밀집되는 수준도 증가해서 고정됨에 따라서 기질과의 접촉 및 물질이동(mass transfer)이 어려워져 효소 로딩량에 대비해 활성도 증가 폭이 줄어든 것으로 예상된다.

[0169] <실험예 3> - 효소전극 제조

[0170] 효소 전극은 GCE(glassy carbon electrodes, 직경 3 mm, CH Instruments Inc., Austin, TX, USA)를 이용해 도 8에 도시된 것과 같이 구현했다. 먼저, GCE를 마이크로섬유 연마패드를 이용해 1.0, 0.3, 및 0.05 μm Al_2O_3 파우더로 연마한 후 각 연마 단계 후에 초순수로 완전히 세척했다. 세척 후 GCE를 0.4 mg/mL 농도로 $HAuCl_4$ 가 함유된 0.5 M H_2SO_4에 함침시켰다. 이후 금 나노입자(AuNPs)를 스캔 속도 50 mV/s에서 30 세그먼트 동안 -0.55 V to -0.95 V의 잠재적 스캐닝을 수행하여 전극증착시켰다. 이후 금 나노입자가 증착된 GCE를 초순수로 세척한 후

질소가스로 건조시켰다.

[0171] 한편, 불소 도핑된 CNT에 효소가 흡착된 실시예 8 내지 14에 따른 효소-불소 도핑된 탄소 복합체 및 비교예 3에 따른 효소-불소 미도핑 탄소 복합체 각각을 복합체 내 CNT 중량 기준 40㎍의 함량이 되도록 나피온® 용액과 혼합한 20㎕의 시료(나피온 농도 0.5중량%)에 30초 동안 초음파를 인가하고, 4℃에서 30분간 교반했다. 20㎕의 상기 시료를 GCE 표면 상에 떨어뜨린 후 대기조건에서 30 ~ 60 분 동안 건조시켰다. 효소 전극은 사용 전까지 4℃ 온도인 100 mM PB (pH 7.0)에 보관하였다.

[0173] 1. 효소 전극의 전기화학적 특성 및 성능을 평가

[0174] 순환 전압전류법(Cyclic voltammetry, CV) 및 임피던스 분광법(impedance spectroscopy, EIS)에 의한 전기화학적 특성 및 성능을 평가했다. 한편, 대조군으로써 금 나노입자가 증착된 GCE(GCE-AuNP) 및 GCE에 대해서도 동일하게 평가했다.

[0176] 구체적으로 GOx 효소전극에 대하여 CH 기구(CHI 760C, Austin, Texas, USA)로부터 전기화학적 워크스테이션을 사용해 측정하였다. 또한, 단일 채널 전위가변기(ModuLab XM ECS, Solartron Analytical, Leicester, UK)가 GOx 효소 전극의 전류측정에 사용되었다.

[0177] 표준 3-전극 시스템은 GCE (Ψ = 3 mm) 작동 전극, 백금 와이어 상대전극, 및 Ag/AgCl (1 M KCl) 기준 전극으로 구성했고, 백금 상대전극의 직경 및 길이는 각각 0.5 mm 및 37 mm이었다. 또한, 전기화학적 셀로써 10 mL 전해질이 담긴 유리병을 사용했다.

[0179] 전기화학적 임피던스 분광법은 5 mM $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$(1:1)이 함유된 0.1 M KCl 용액 상에서 주파수 0.1 Hz에서 10 kHz 범위에서 진폭 5 mV로 수행되었다. 또한, 전류측정 기구는 인가 전위 0.6 V vs. Ag/AgCl in 100 mM PB pH 7.0에서 수행되었다. 안정화 후 10 mL PB (pH 7.0)에 10 ㎕ 의 1M 글루코오스 표준 저장용액이 첨가되었고, 전류 반응은 250 rpm으로 1시간 동안 자석 교반 하에서 측정하였다.

[0181] 측정 결과로서, 나이퀴스트 선도를 도 9a에 나타내었고, 도 9a에서 빨간색 박스 영역인 고주파수 영역에서의 실시예 8 ~ 14 및 비교예 3에 기반한 효소전극에 대한 나이퀴스트 선도 확대도를 도 9b에 나타내었다. 또한, 실시예 8 ~ 14 및 비교예 3에 기반한 효소전극에 대한 전하 이동 저항(charge transfer registance, R_{ct}) 측정 결과는 도 9c 및 표 4에 나타내었다.

표 4

[0183]

사용 전극	효소-탄소 복합체	플라즈마 처리시간(분)	전하이동저항 (R_{ct}, Ω)
GCE-AuNP	비교예3	0	286.1
GCE-AuNP	실시예8	0.5	222.7
GCE-AuNP	실시예9	1	164.8
GCE-AuNP	실시예10	5	213.5
GCE-AuNP	실시예11	15	286.7
GCE-AuNP	실시예12	30	332.4
GCE-AuNP	실시예13	45	340.4
GCE-AuNP	실시예14	60	347.5
GCE	불포함	-	1110
GCE-AuNP	불포함	-	502

[0184] 도 9a 내지 도 99c 및 표 4를 통해 확인할 수 있듯이,

[0185] GCE 및 금 나노입자 증착된 GCE는 각각 전하 이동 저항(R_{ct})이 1110Ω 및 502 Ω이었고, 금 나노입자 증착을 통해서 전하 이동 속도가 개선된 것을 보여준다.

[0186] 또한, 실시예 8 ~ 14에 따른 효소-불소 도핑 탄소 복합체 및 비교예 3에 따른 효소-탄소 복합체가 포함된 모든 효소 전극에서 GCE 및 금 나노입자 증착된 GCE에 대비해 전하 이동 저항(R_{ct}) 값이 감소한 것을 확인할 수 있다.

[0188] 또한, 비교예 3을 이용한 효소 전극에서의 전도도는 100μS/cm인데 반하여, 60분간 플라즈마 처리된 실시예 14를 이용한 효소 전극에서의 전도도는 347 μS/cm로 3.5배 가량 전도도가 개선됨에 따라서 불소 도핑에 의해서 개선된 전도성이 전자 전달 개선에 기여할 수 있음을 알 수 있다.

[0189] 한편, 15분간 플라즈마 처리된 실시예 11을 이용한 효소 전극은 비교예 3을 이용한 효소 전극 대비 전도도가 2배 가량 개선되었으나, 45분 및 60분간 플라즈마 처리된 실시예 13 및 실시예 14에서 전도도는 각각 338μS/cm 및 347μS/cm로 전도도의 상승폭이 감소하는 것을 확인할 수 있다.

[0191] 한편, 실시예 14에 따른 효소-불소 도핑 탄소 복합체가 포함된 효소 전극은 전하 이동 저항이 실험된 효소 전극 중 가장 큰 것으로 나타났지만 GCE-AuNP에 대비해 전하 이동 저항 값이 30.7% 감소했다. 또한, 실시예 14에 따른 효소-불소 도핑 탄소 복합체가 포함된 효소 전극은 비교예 3에 따른 효소-탄소 복합체에 대비해 전하 이동 저항 값은 크지만, 상술한 표 3을 통해 확인할 수 있듯이 복합체 내 로딩된 GOx 양이 5.3배, 효소 활성도가 3.9배 더 높게 구현됨에 따라서 효소 전극으로써 비교예 3에 대비해 매우 유용한 것을 알 수 있다.

[0193] 한편, 플라즈마 처리 시간이 각각 0.5분, 1분 및 5분으로 처리되어 구현된 불소 도핑된 CNT가 사용된 실시예 8 ~ 10의 경우 가장 낮은 전하 이동속도를 보이는 것을 알 수 있다. 이러한 결과를 도 5를 참조하면 설명하면, 플라즈마 처리가 짧은 경우 불소 라디칼 이온은 물리적 흡착되어 탄소에서 불소로의 전하 이동이 충분하지 못하게 됨에 따라서 이온성을 띠는 C-F 결합(semi-ionic)인 제1 C-F 결합을 형성하는 비율이 크며, 이 경우 CNT에 전하가 일부 남아 있게 됨에 따라서 CNT 표면의 전하 이동 저항 감소, 달리 말하면 전기전도도의 향상을 가져온 것으로 해석할 수 있다. 또한, 다중 벽-CNT가 사용되었기 때문에 이온성을 띠는 제1 C-F 결합이 있는 맨 위 층뿐만 아니라 아래에 존재하는 층에도 연쇄적으로 영향을 미쳐서 결과적으로 전기전도도가 향상된 것으로 예상된다.

[0194] 이에 반하여 플라즈마 처리 시간이 15분 이상인 실시예 11 ~ 14는 비교예 3에 대비해 전하 이동 저항이 오히려 증가했다. 이러한 결과를 도 5를 참조하여 설명하면, 플라즈마 처리시간이 5분을 초과해 점점 길어지면 이온성을 띠는 C-F 결합인 제1 C-F 결합은 극성 공유결합인 제2 C-F 결합에 대비해 크게 감소하고, 불소는 결합된 탄소의 모든 전하를 가져오게 됨에 따라서 제2 C-F 결합이 더욱 우세하게 됨에 따라서 CNT는 저항이 더욱 증가하게 되어 표면의 전하 이동 저항이 실시예 8 ~ 10에 대비해 증가하는 것으로 해석할 수 있다.

[0196] 또한, 순환 전류전압법(CV) 평가는 스캔속도 50 mV/s에서 10 mM 농도로 글루코오스가 함유된 100 mM PB (pH 7.0) 10mL를 포함하거나 포함하지 않는 정지용액 하에서 측정되었고, 실시예 별로 글루코오스가 포함된 정지용액에서 측정결과와 글루코오스가 미포함된 정지용액에서의 측정결과를 하나의 그래프 내 함께 표현해 도 9d에 나타내었다.

[0198] 도 9d를 통해 확인할 수 있듯이,

[0199] 글루코오스가 존재하지 않는 경우(점선) 0.6V에서 피크 산화 전류가 관찰되지 않았으며, 글루코오스가 존재하는 경우(실선)에만 과산화수소의 산화에 따라서 나타나는 0.6V에서 산화 전류가 관찰되었다. 또한, 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 0.4V 이상에서 전류가 증가한 것을 확인할 수 있다. 반면에 비교예 3의 경우 글루코오스 존재 하에서도 전류의 상당한 변화가 관찰되지 않았다. 한편, 실시예 14의 경우 다른 실시예 8 ~ 13 및 비교예 3에 대비해 피크 산화 전류가 가장 큰 것을 확인할 수 있고, 이는 불소 도핑된 CNT에 흡착된 GOx 효소량이 실시예 14가 가장 큰 것(표 3 참조)에 기인한 결과로 예상된다.

[0201] 또한, 타펠 기울기(Tafel slope)는 10mM 글루코오스에서 측정되었고 그 결과는 도 9e 및 하기 표 5에 나타내었다. 여기서 타펠 기울기가 작다는 것은 동일하게 전류 밀도가 증가할 때 필요한 초과 전위가 작다는 것을 의미하고, 이는 작은 전위로 큰 전류 증폭이 가능하다는 것으로서, 타펠 기울기가 작을수록 전하 이동 속도가 빠르다는 것을 나타내며, 결국 타펠 기울기가 작은 경우 촉매 반응에 이점이 있음을 의미한다. 한편, 타펠 기울기는 이론적으로 최소값이 30 mv/dec 이며, 최대값은 120 mv/dec 이다.

표 5

[0203]

사용 전극	효소-탄소 복합체	플라즈마 처리시간(분)	타펠 기울기(mv/dec)
GCE-AuNP	비교예3	0	113.1
GCE-AuNP	실시예9	1	102.9
GCE-AuNP	실시예10	5	87.9
GCE-AuNP	실시예11	15	73.1
GCE-AuNP	실시예12	30	60.5
GCE-AuNP	실시예13	45	45.6
GCE-AuNP	실시예14	60	36.6

[0204] 도 9e 및 표 5를 통해 확인할 수 있듯이,

[0205] 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 타펠 기울기가 감소하는 것을 확인할 수 있고, 실시예 14의 경우 타펠 기울기의 이론적 최소값에 근접하는 것을 알 수 있는데, 이를 통해 비록 전하 이동 저항은 실시예 14를 이용한 효소 전극이 실시예 9를 이용한 효소 전극에 대비해 크나 전류밀도 증가시 요구되는 초과 전위가 적어 다른 실시예에 대비해 최소한의 전위로 가장 빠른 시간 내 바이오 센서를 작동시킬 수 있는 이점이 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 실시예 14가 효소 로딩량이 다른 실시예에 대비해 가장 크기 때문이며, 이로 인해 효소로부터 공급되는 총 전하량이 가장 크고 이를 통해 오프-상태를 온-상태로 가장 빠르게 전환하는 것으로 보여진다.

[0207] 2. 감도 평가

[0208] 실시예 8 ~ 14 및 비교예 3을 이용한 효소 전극에 대해서 전류측정에 의한 글루코오스 센싱을 평가했다. 전류측정 응답은 바이오 센서의 전반적인 성능을 확인하기 위하여 연속 교반 하 다양한 농도의 글루코오스를 주입하여 얻어졌고, 60초 간격으로 글루코오스 농도를 1mM 증가하도록 글루코오스를 지속적으로 첨가했을 때 0.6V의 인가 전위에서 시간당 전류측정 응답을 도 10에 나타내었다. 또한, 도 10의 전류측정 응답을 보정한 글루코오스 농도별 전류밀도 그래프를 도 11에 나타내었다. 또한, 글루코오스 농도 당 전류밀도 값을 하기 표 6에 나타내되, 표 4에서 평가된 전하 이동 전하를 함께 나타내었다.

[0209] 또한, 플라즈마 처리된 시간 별 감도와 전하이동 저항의 그래프를 도 12에 나타내었다. 또한, 플라즈마 처리된 시간 별 감도와 효소 로딩량의 비율을 도 13에 나타내었다.

표 6

[0211]

사용 전극	효소-탄소 복합체	플라즈마 처리시간(분)	감도 ($\mu A/mM\ cm^2$)	전하이동저항 (R_{ct}, Ω)
GCE-AuNP	비교예3	0	9.5	286.1
GCE-AuNP	실시예8	0.5	16.6	222.7
GCE-AuNP	실시예9	1	23.9	164.8
GCE-AuNP	실시예10	5	26.4	213.5
GCE-AuNP	실시예11	15	24.2	286.7
GCE-AuNP	실시예12	30	27.6	332.4
GCE-AuNP	실시예13	45	31.1	340.4
GCE-AuNP	실시예14	60	32.3	347.5

[0212] 도 10 및 도 11을 통해 확인할 수 있듯이,

[0213] 비교예 3을 이용한 효소 전극에 대비해 실시예를 이용한 효소 전극이 글루코오스 주입에 따른 전류 증가가 더 큰 것을 알 수 있다. 또한, 플라즈마 처리 시간이 길어질수록 전류 증가가 더 큰 것을 알 수 있다.

[0214] 한편, 글루코오스 농도 1mM에서 6mM까지 실시예들은 유사한 선형 동적 영역 영역을 보여주는데, 실시예 14를 이용한 효소 전극 구비 바이오 센서는 비교예 3을 이용한 효소 전극 구비 바이오 센서 대비해 3.4 배 증가한 감도를 가지는 것을 알 수 있다.

[0216] 도 12, 도 13 및 표 6을 통해 확인할 수 있듯이,

[0217] 플라즈마 처리 시간이 각각 0.5분, 1분 및 5분 처리된 불소 도핑 CNT가 이용된 실시예 8 ~ 10은 60분 처리된 실시예 14에 대비해 낮은 활성도를 가짐에도 불구하고(표 3 참조), 높은 감도를 갖는데 이는 전하 이동 저항 값을 봤을 때 전하 이동의 효과로 기인한 것으로 예상된다.

[0219] 또한, 플라즈마 처리 시간이 15분인 실시예 11은 활성도 증가보다 전하 이동 저항의 증가가 더 크게 이루어짐에 따라서 감도가 실시예 10 보다 저하된 것임을 예상할 수 있다.

[0221] 또한, 플라즈마 처리 시간이 각각 30분, 45분 및 60분인 실시예 12 ~ 14는 낮은 전하 이동 저항 값을 갖는데 반하여 감도가 증가했는데, 이는 효소 활성도 증가에 기인한 결과로 예상된다.

[0223] 한편, 도 12를 통해 확인되는 것과 같이 실시예 8 ~ 10의 경우 실시예 8에서 감도가 17.5배 이상이고, 실시예 9에서 감도가 21.6배로 최대치를 보이며, 실시예 10에서는 18.2배로 다소 낮아졌으나 도 7의 플라즈마 처리 시간 0.5 ~ 5분에서 효소 로딩량을 고려할 때 실시예 8 ~ 10은 매우 높은 감도를 갖는다는 것을 알 수 있다.

[0225] 3. 반응 특이성 평가

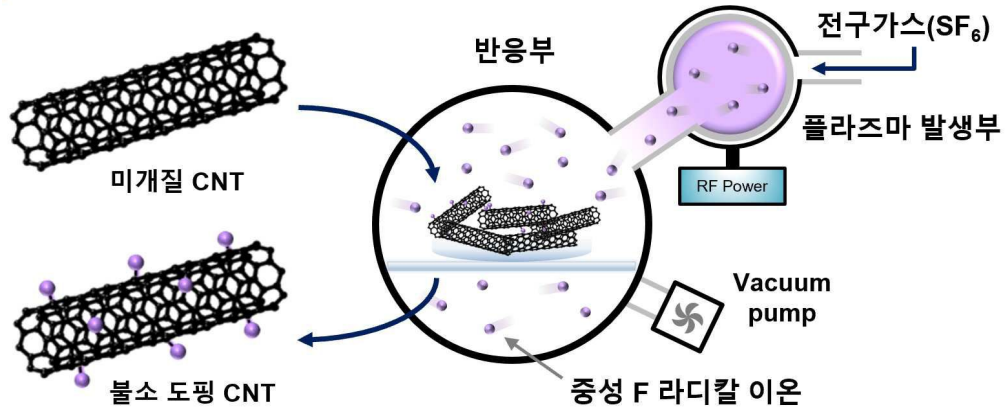
[0226] 프락토오스, 수크로오스, 갈락토오스 및 우레아인 각 분석물을 1mM의 농도로 주입했다. 이후 순차적으로 글루코오스를 주입하면서 반응을 확인했고, 그 결과를 도 14에 나타내었다.

[0228] 도 13을 통해 확인할 수 있듯이, 1mM의 농도의 프락토오스, 수크로오스, 갈락토오스 및 우레아를 주입 시 전류 반응은 관찰되지 않았다. 반면에 연속된 주입 후 4mM 및 2mM의 농도 주입은 각각 응답 전류의 명백한 피크를 생성했다.

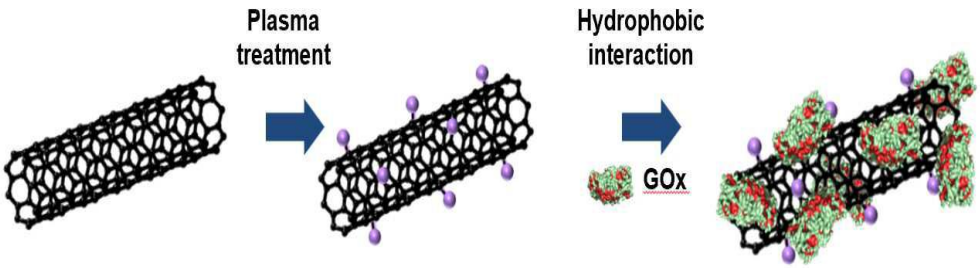
[0230] 이상에서 본 발명의 일 실시예에 대하여 설명하였으나, 본 발명의 사상은 본 명세서에 제시되는 실시 예에 제한되지 아니하며, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서, 구성요소의 부가, 변경, 삭제, 추가 등에 의해서 다른 실시 예를 용이하게 제안할 수 있을 것이나, 이 또한 본 발명의 사상범위 내에 든다고 할 것이다.

도면

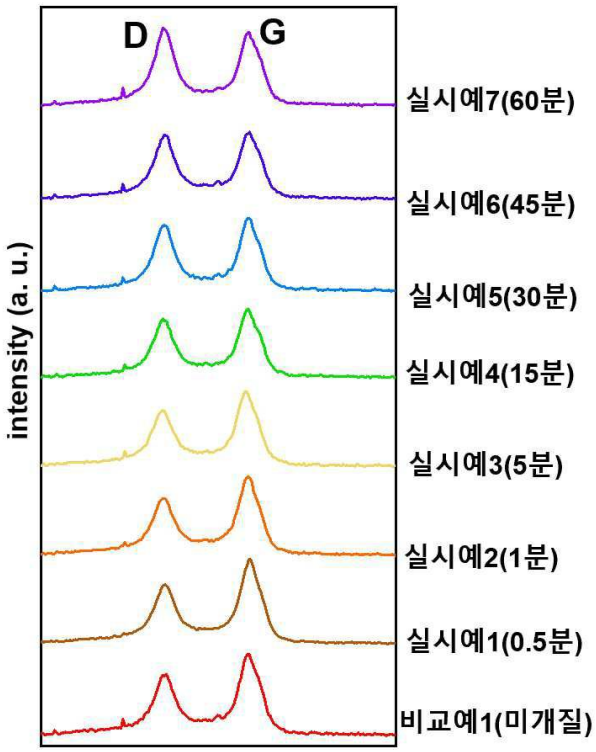
도면1



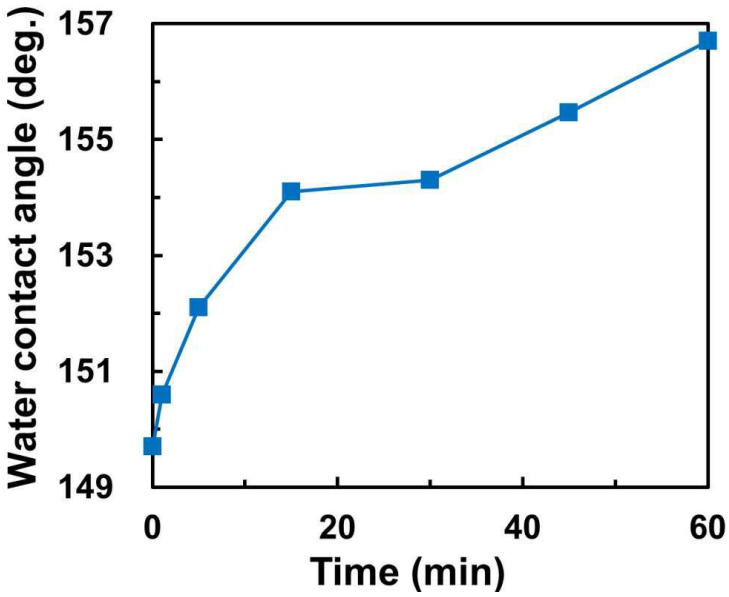
도면2



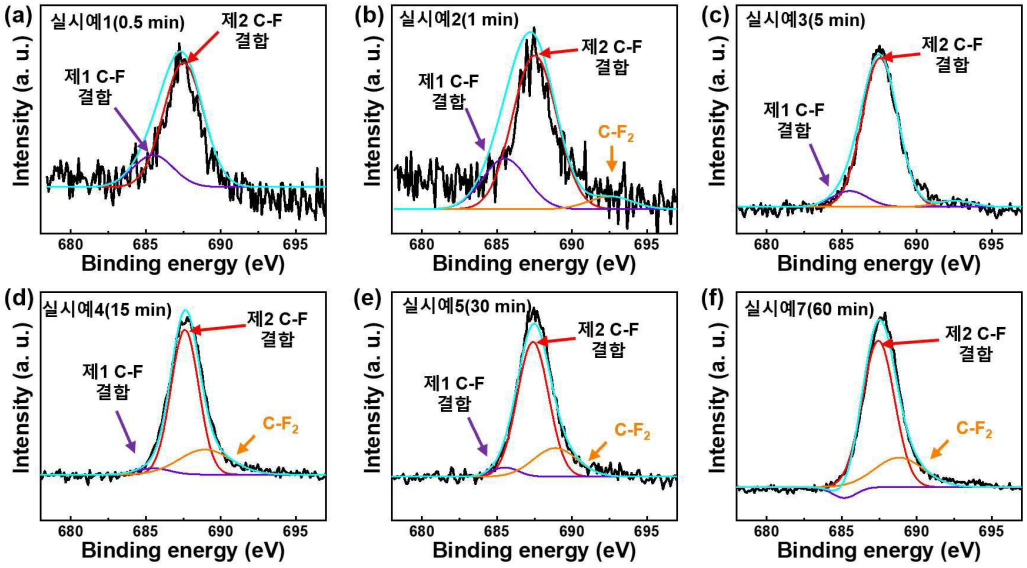
도면3



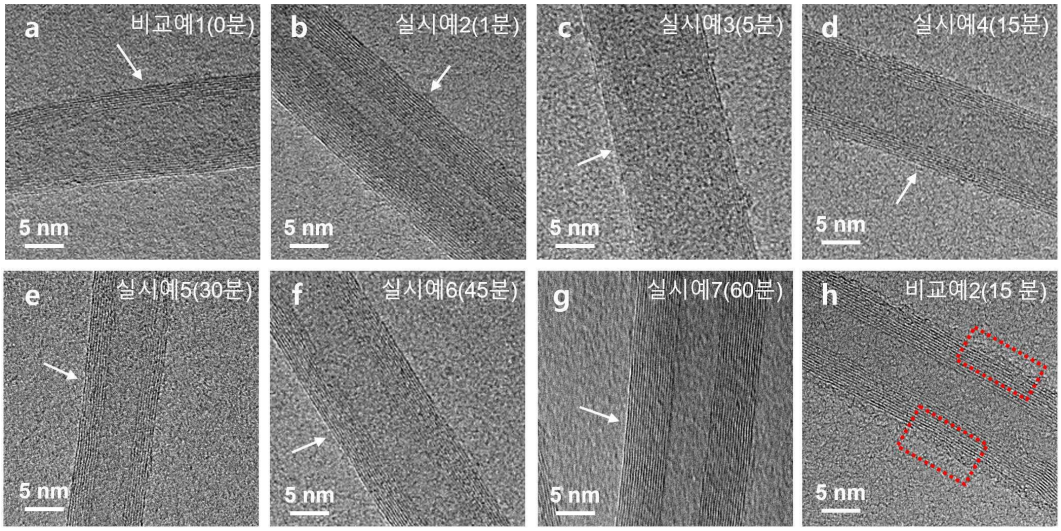
도면4


Water contact angle (deg.)
157
155
153
151
149
0
20
40
60
Time (min)

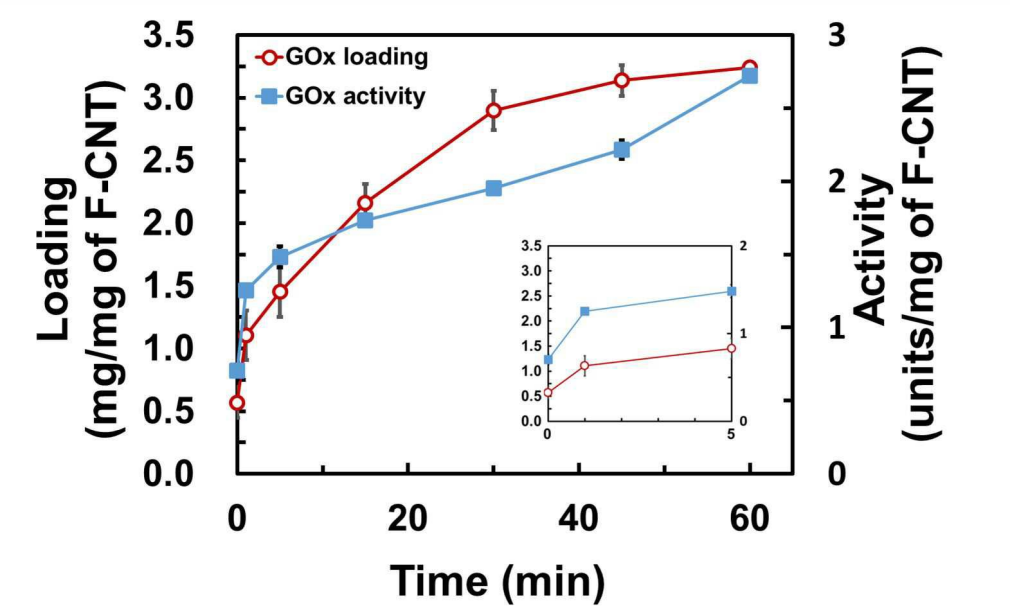
도면5


(a)
실시예1(0.5 min)
제2 C-F 결합
제1 C-F 결합
(b)
실시예2(1 min)
제2 C-F 결합
제1 C-F 결합
C-F2
(c)
실시예3(5 min)
제2 C-F 결합
제1 C-F 결합
(d)
실시예4(15 min)
제2 C-F 결합
제1 C-F 결합
C-F2
(e)
실시예5(30 min)
제2 C-F 결합
제1 C-F 결합
C-F2
(f)
실시예7(60 min)
제2 C-F 결합
C-F2
Intensity (a. u.)
680
685
690
695
Binding energy (eV)

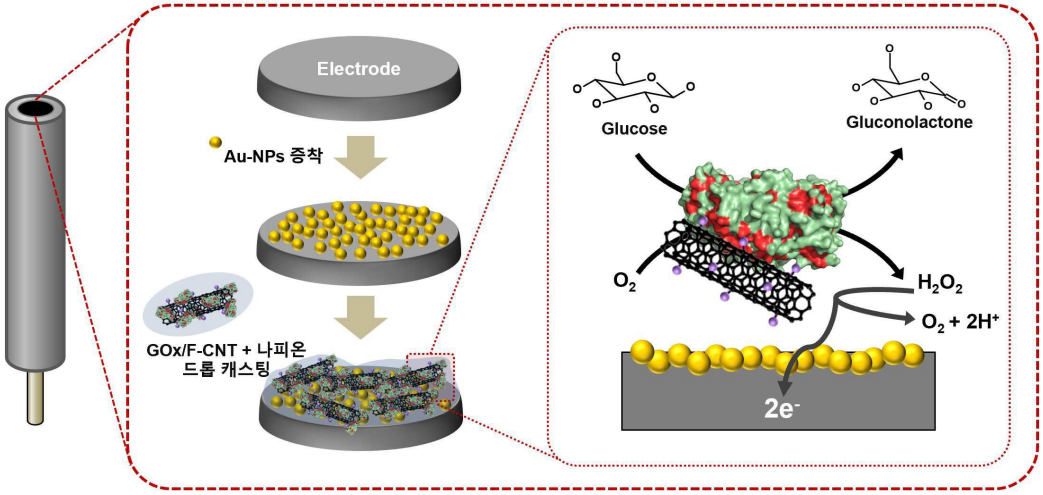
도면6


a
비교예1(0분)
5 nm
b
실시예2(1분)
5 nm
c
실시예3(5분)
5 nm
d
실시예4(15분)
5 nm
e
실시예5(30분)
5 nm
f
실시예6(45분)
5 nm
g
실시예7(60분)
5 nm
h
비교예2(15 분)
5 nm

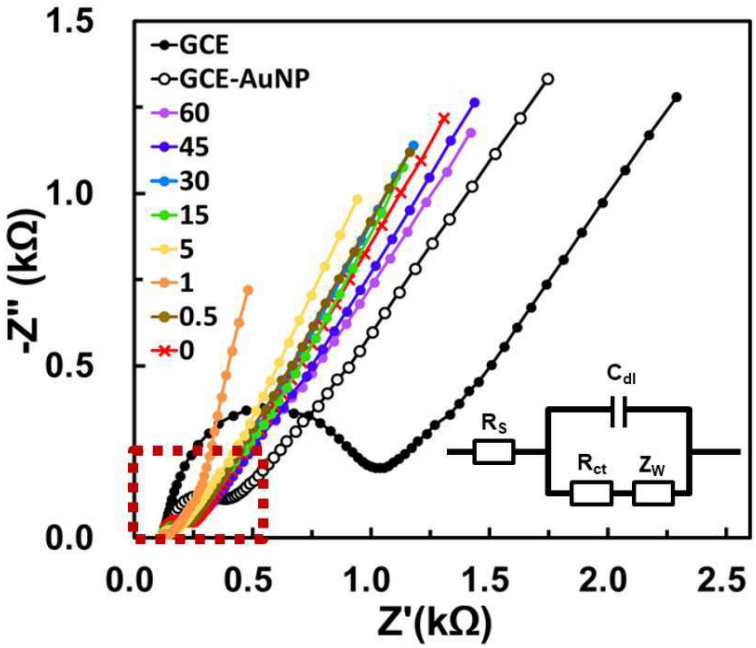
도면7


GOx loading
GOx activity
Loading (mg/mg of F-CNT)
Activity (units/mg of F-CNT)
Time (min)
0
20
40
60
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
0
1
2
3

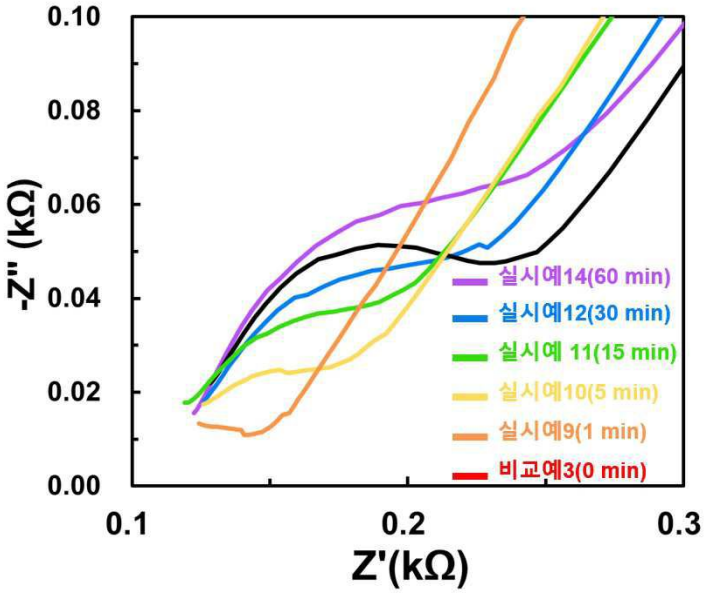
도면8


Electrode
Au-NPs 증착
GOx/F-CNT + 나피온
드롭 캐스팅
Glucose
Gluconolactone
O2
H2O2
O2 + 2H+
2e-

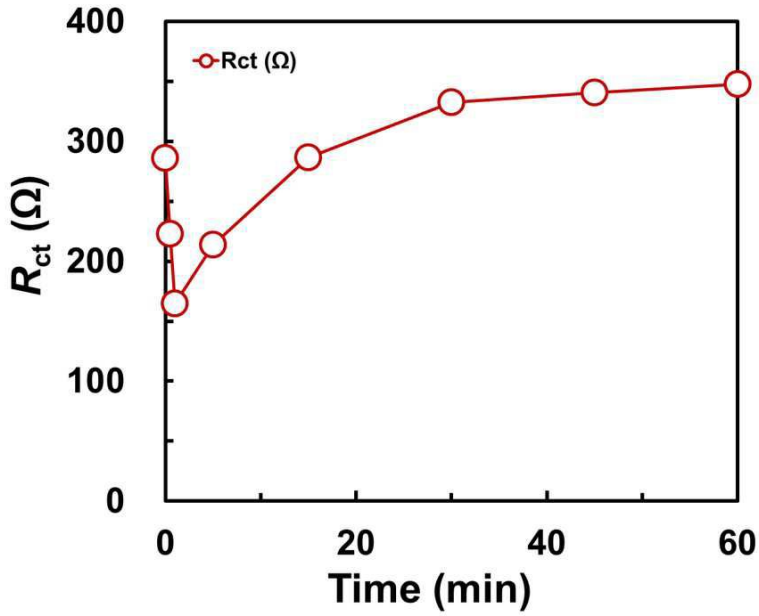
도면9a


GCE
GCE-AuNP
60
45
30
15
5
1
0.5
0
-Z'' (kΩ)
Z'(kΩ)
Cdl
RS
Rct
ZW
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5

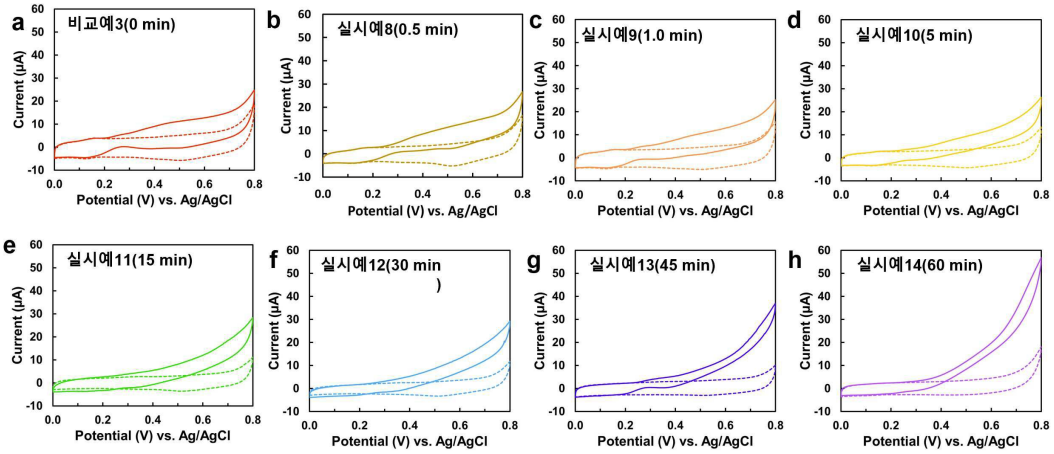
도면9b


0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
-Z'' (kΩ)
0.1
0.2
0.3
Z'(kΩ)
실시예14(60 min)
실시예12(30 min)
실시예 11(15 min)
실시예10(5 min)
실시예9(1 min)
비교예3(0 min)

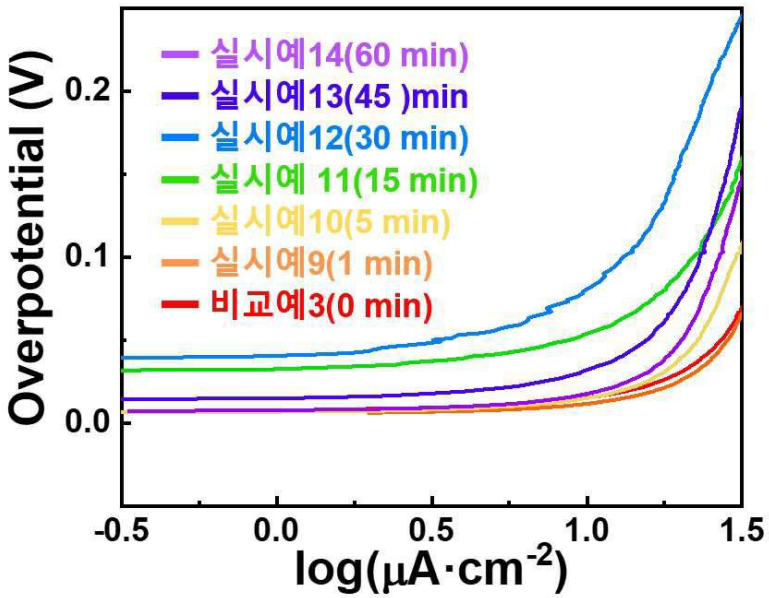
도면9c


400
300
200
100
0
R_{ct} (Ω)
Rct (Ω)
0
20
40
60
Time (min)

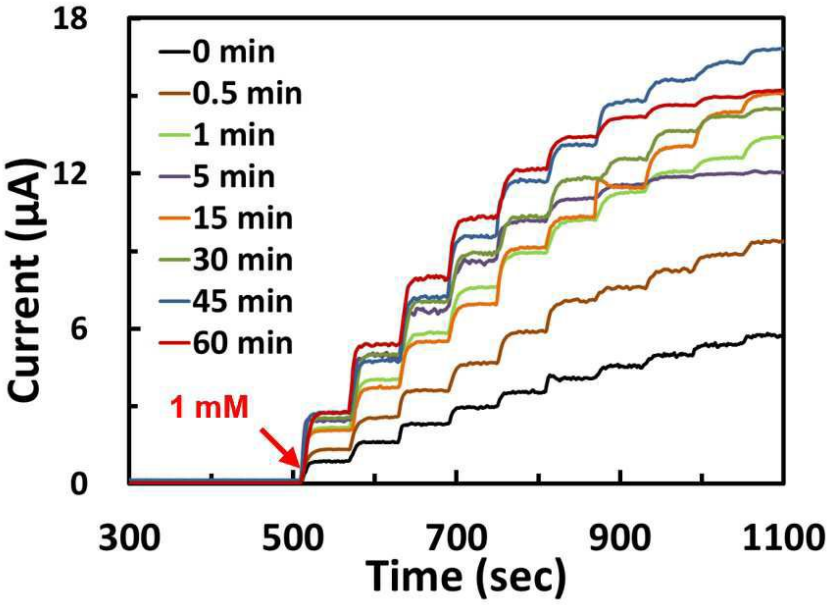
도면9d


a
비교예3(0 min)
b
실시예8(0.5 min)
c
실시예9(1.0 min)
d
실시예10(5 min)
e
실시예11(15 min)
f
실시예12(30 min
)
g
실시예13(45 min)
h
실시예14(60 min)
Current (μA)
Potential (V) vs. Ag/AgCl

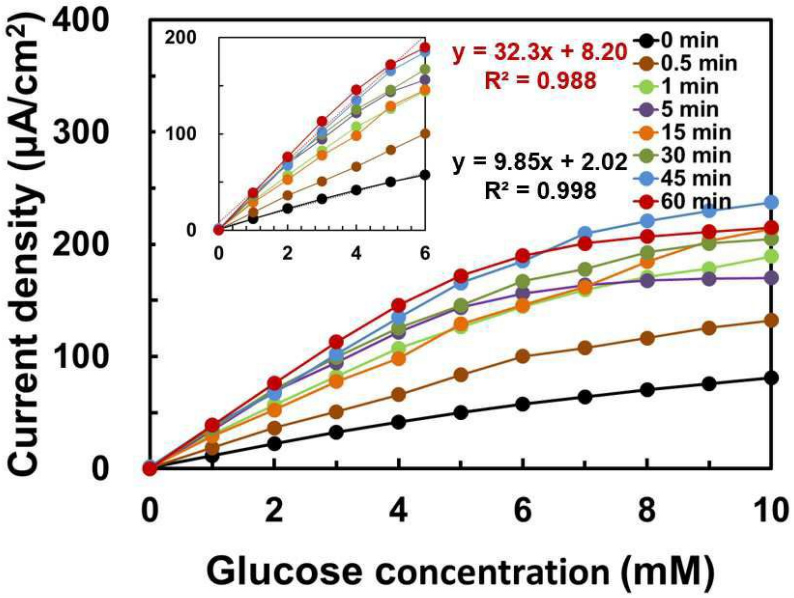
도면9e


실시예14(60 min)
실시예13(45)min
실시예12(30 min)
실시예 11(15 min)
실시예10(5 min)
실시예9(1 min)
비교예3(0 min)
Overpotential (V)
log(μA·cm-2)

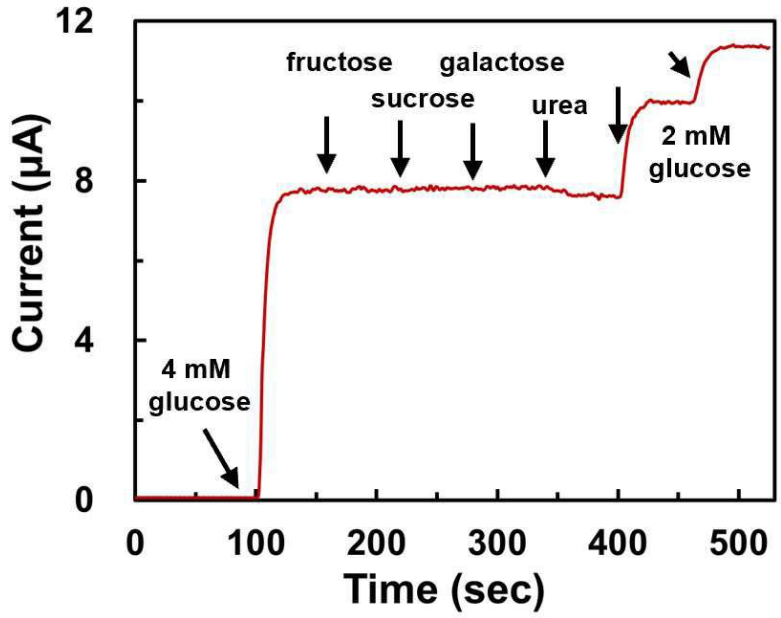
도면10


18
12
6
0
Current (μA)
0 min
0.5 min
1 min
5 min
15 min
30 min
45 min
60 min
1 mM
300
500
700
900
1100
Time (sec)

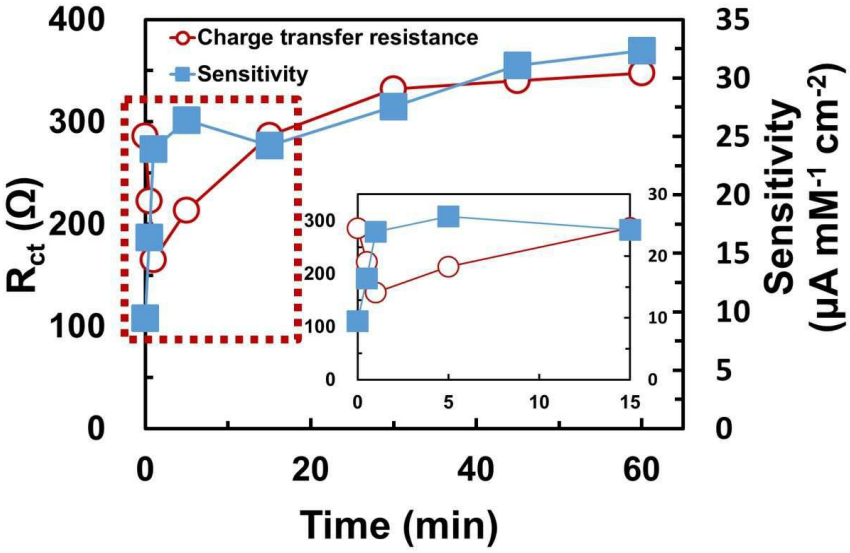
도면11


400
300
200
100
0
Current density (μA/cm²)
200
100
0
0
2
4
6
y = 32.3x + 8.20
R² = 0.988
y = 9.85x + 2.02
R² = 0.998
0 min
0.5 min
1 min
5 min
15 min
30 min
45 min
60 min
0
2
4
6
8
10
Glucose concentration (mM)

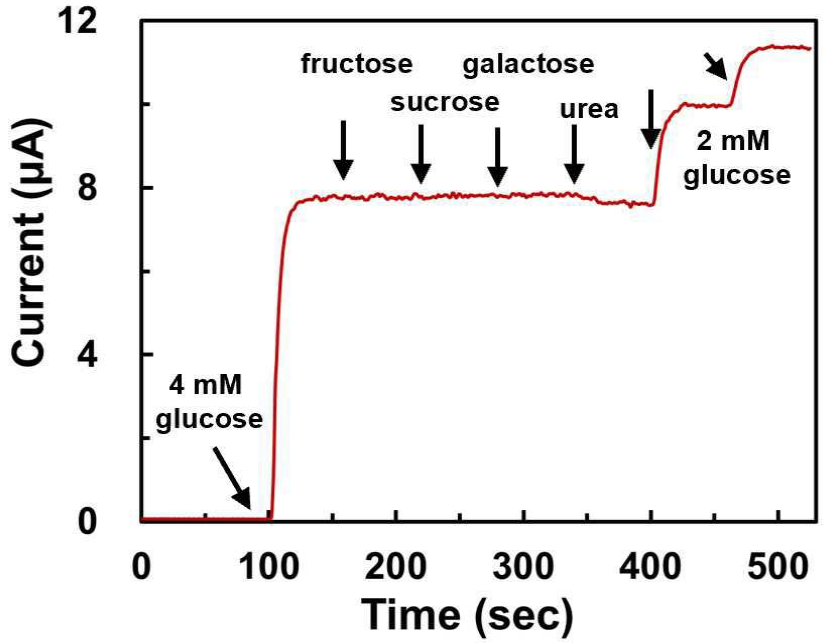
도면12


Current (μA)
Time (sec)
fructose
galactose
sucrose
urea
2 mM glucose
4 mM glucose

도면13


Charge transfer resistance
Sensitivity
R_{ct} (Ω)
Sensitivity (μA mM^{-1} cm^{-2})
Time (min)

도면14


12
8
4
0
Current (μA)
0
100
200
300
400
500
Time (sec)
4 mM
glucose
fructose
sucrose
galactose
urea
2 mM
glucose