

## 오스뮴 착물들의 합성 및 전기화학적 특성에 관한 연구

김혁한 · 최영봉 · 태건식<sup>†,\*</sup>

단국대학교 첨단과학대학 화학과, <sup>†</sup>단국대학교 첨단과학대학 생명과학과

(2008년 8월 7일 접수 : 2008년 8월 22일 채택)

## Synthesis of Several Osmium Redox Complexes and Their Electrochemical Characteristics in Biosensor

Hyug-Han Kim, Young-Bong Choi, and Gun Sik Tae<sup>†,\*</sup>

Department of Chemistry, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

<sup>†</sup>Department of Biological Science, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

(Received August 7, 2008 : Accepted August 22, 2008)

### 초 록

본 연구에서는 8족 금속 원소인 osmium을 중심금속으로 4가지의 착물을 합성하였다. 합성한 착물은  $[\text{Os}(\text{bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ ,  $[\text{Os}(\text{dme-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ ,  $[\text{Os}(\text{dmo-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ ,  $[\text{Os}(\text{dcl-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ 이다. 합성된 착물을 순환전압전류법을 포함한 다양한 전기화학분석방법을 이용하여 전기적 성질을 조사하여 작용기에 따른 전위의 변화를 다음의 전위구간에서  $E_p$ :  $-0.06 \text{ V} \sim 0.313 \text{ V}$  vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  확인하였다. 합성한 화합물을 전기적 흡착방법으로 고정된 금 나노입자(gold nano-particles)를 전극 위에 자기조립방식으로 고정화를 시켰다. 당과 당 분해효소(Glucose Oxidase, GOx)에 의한 촉매반응의 전류를 확인하였고, glucose농도에 따른 변화하는 전류의 양도 확인하였다. 마지막으로 고정된 4가지의 osmium complex는 서로 다른 전위로 인하여 촉매전류의 양이 달라지는 것을 알 수 있었고, 이로 인해 redox complex의 전위가 촉매 반응에 미치는 영향을 확인 할 수 있었다.

**Abstract :** Redox complexes to transport electrodes from bioreactors to electrodes are very important part in electrochemical biosensor industry. A novel osmium redox complexes were synthesized by the coordinating pyridine group having different functional group at 4-position with osmium metal. Newly synthesized osmium complexes are described as  $[\text{Os}(\text{dme-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ ,  $[\text{Os}(\text{dme-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ ,  $[\text{Os}(\text{dmo-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ ,  $[\text{Os}(\text{dcl-bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ . We have been studied the electrochemical characteristics of these osmium complex with electrochemical techniques such as cyclic voltammetry and chronoamperometry. Osmium redox complexes were immobilized on the screen printed carbon electrode(SPE) with deposited gold nanoparticles. The electrical signal converts the osmium redox films into an electrocatalyst for glucose oxidation. Each catalytic currents were related with the potentials of osmium complexes.

**Keywords :** Redox complexes, Biosensor, Voltammetry, Chronoamperometry, Electrocatalyst.

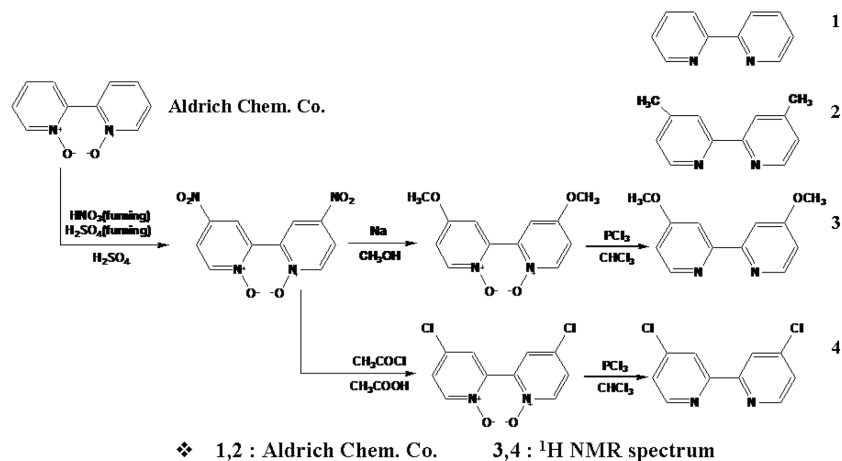
\*E-mail: gtae@dankook.ac.kr

## 1. 서 론

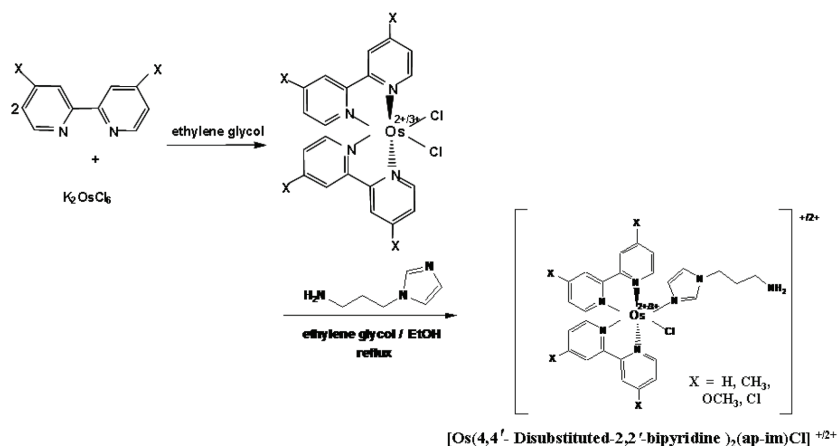
바이오센서의 연구가 활발해 지면서, 바이오센서의 상용화에 많은 관심을 갖게 되었다. 이러한 점에서 성공을 견을 수 있던 것이 혈당센서(glucose sensor)이며, 바이오센서의 가장 큰 단점이었던 선택성을 효소전극을 이용하여 해결할 수 있었다. 혈당센서에 사용되는 효소인 당 산화효소 (glucose oxidase)는 쉽고 값싸게 구할 수 있으며, 다른 효소보다 pH, 이온강도, 온도에 안정하며 또한 화학적/물리적 고정화에 잘 견디고 상온에서 높은 회전을 (turnover rate;  $\sim 10^3 \text{ s}^{-1}$ )로 인하여 상업화에 성공했다고 볼 수 있다. 이러한 혈당센서의 구조를 살펴보면 전기적인 신호변환을 할 수 있는 전극 (electrode)위에 glucose를 산화시키는 효소인 GOx를 고분자 (polymer)막에 고정화하여 전극에 흡착시킨 형태가 대부분이다. 하지만 glucose가 glucose oxidase에 의해 산화되어 발생하는 많은 전자들을 직접 전극에 전자를 전달하기에는 효소의 활성중심 (active center)과 거리가 너무 멀기 때문에 이러한 전자 전달 반응 (electron transfer reaction)을 용이하게 할 산화/환원매개체 (redox mediator)가 필수적으로 있어야 한다. 이러한 매개체는 우선 효소의 활성중심 (active center)에 쉽게 접근할 수 있게 작은 분자량을 갖는 산화·환원 전위 (redox couple)를 이뤄야 하며, 측정대상에 포함하고 있는 전기화학적인 간섭물질보다 낮은 산화·환원 전위 (redox potential)를 갖고 있어야 한다. 또한 전극이나 시료 속의 방해물질에 간섭에 영향을 받지 않고 바이오센서로서 전기적인 응답 (electric response)이 빨리 이루어져야 한다. 이러한 매개체는 우선 효소의 활성중심 (active center)에 쉽게 접근할 수 있게 작은 분자량을 갖는 산화·환원 쌍 (redox couple)을 이뤄야 하며, 측정대상에 포함하고 있는 전기화학적인 간섭물질보다 낮은 산화·환원 전위 (redox potential)를 갖고 있어야 한다. 또한 전극이나 산소의 간섭에 영향을 받지 않고 바이오센서로서 전기적인 응답 (electric response)이 빨리 이루어져야 한다.<sup>1-7)</sup> 지금까지는 페로센 (ferrocene)과 페로센의 유도체 같은 금속화합물, polyaniline과 polypyrrole 같은 전도성 폴리머, tetrathiafulvalene과 N-methylphenaziniumtetracyanoquinodimethane 같은 전도성 염 등이 매개체로 연구되었는데, 최근에 집중적으로 8족 금속인 iron, ruthenium, osmium 화합물들이 연구되어지고 있다. 이러한 금속들은 전자 상태가 II/III를 유지하고 있으며, 6배위 (hexa-coordination)를 할 수 있는 상태로 존재한다. 또한 피리딘 (pyridine)과 이미다졸 (imidazole) 고리에 있는 질소와 배위를 잘하고, 특히 2,2'-bipyridine complexes의 구조를 갖는 리간드와 배

위로 만들어지는 배위화합물은 화학적으로 안정한 산화·환원 쌍을 이루며 전기적으로 좋은 가역성 (reversibility)을 갖는 구조를 갖는다. 그리고 pyridine ring의 4번 위치에 전자를 끄는 치환기 (electron-withdrawing substituents)나 전자를 주는 치환기 (electron-donating substituents)를 더해 배위하며 여러 위치의 전위 (potential)로 조절이 가능하다. 대표적인 예로 ruthenium에 여러 치환기 (substituents)를 갖는 pyridine을 배위시켜 전기화학적인 특성을 알아본 연구가 발표되었다.<sup>8-10)</sup>

본 연구에 앞서 유사한 연구자료는 N. Madhiri와 H. Finklea의 연구진에 의한 금 전극 위에 자기조립 방식으로 고정된  $\text{HS}(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$ 를 이용하여  $[\text{Os}(\text{bpy})_2(4\text{-amonomethyl-pyridine})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ 을 고정하여 전위와 pH 변화에 따른 양상자를 포함하는 전자전달 반응에 대한 연구를 진행하였다.<sup>11,12)</sup> 4가지의 4,4'-disubstituted 2,2'-bipyridine ligand를 배위시키고, 이들의 산화·환원 전위를 측정하여 전기적인 특성을 조사하였다. 발표된 자료와 같은 방법으로 금 전극 위에 고정하기 위하여 일차아민을 포함하고 있는 1-(3-aminopropyl)-imidazole을 배위시킨 후에 각각의 osmium complex의 산화·환원전위가 약 300~400 mV 범위에서 있는 것을 확인하였다.<sup>13-15)</sup> 자기 조립 단분자막 (SAM) 제작실험을 위하여 금 나노입자 (Gold nanoparticles)를 전기적 흡착방법을 이용하여<sup>16,17)</sup> 스크린 인쇄방법으로 만든 탄소전극 (Screen Printed Carbon Electrodes, SPEs) 위에 고정화를 시킨 다음, 양쪽 끝에 각각 Mercapto 작용기와 카르복실기를 갖는 알킬분자로 자기 조립 단분자층 (SAM)을 제작한 후에 SAM층의 카르복실기 작용기와 일차 아민 작용기를 포함한 redox complexes를 아마이드결합으로 전극 위에 고정화시켰다.<sup>18)</sup> 금 나노입자 (Gold nano-particles)를 전기적으로 흡착시키고 SEM 이미지를 통해 전극 표면을 조사하여 전극위에 흡착된 gold particle의 형태학 (morphology)을 확인할 수 있었고,<sup>19,20)</sup> 전기적인 흡착 방법으로 고정된 금 나노입자 (Gold nano-particles) 위에 합성한 일차아민작용기를 갖는 osmium complexes를 자기 조립 단분자막 (SAM) 방법으로 고정화시키고 전기적인 특성을 알아보았다. 전자전달매체인 osmium complexes가 고정화된 전극을 이용하여 glucose와 당 산화효소 (GOx)의 반응을 촉매전류로 확인하고 glucose의 농도와 촉매전류 사이의 검정곡선을 얻었다.<sup>21)</sup> 이를 통하여 전극에 고정된 다른 전위의 4가지의 osmium complex가 glucose와 당 산화효소 (GOx)의 반응에 어떠한 영향을 미치는지 확인하였고, 바이오센서의 적용에 가장 적합한 osmium complex의 전위 범위를 예상 할 수 있었다.



Scheme 1. Synthesis of 4,4'-disubstituted 2,2'-bipyridine ligands.

Scheme 2. Synthesis of  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted } 2,2'\text{-bipyridine})_2\text{Cl}_2]^{2+/3+}$  and  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted } 2,2'\text{-bipyridine})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+2+}$ .

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 시약 및 시료

합성에 사용된 시약들은 2,2'-dipyridyl-*N,N'*-dioxide, sulfuric acid (fuming), nitric acid (fuming) (Aldrich Chem. Co.), sodium sticks (in mineral oil 97%), acetyl chloride, phosphorus trichloride (Aldrich ChemCo.), potassium hexachloroosmate(IV), 4,4'-dimethyl-2,2'-dipyridyl, 2,2'-dipyridyl, 1-(3-aminopropyl)-imidazole, sodium hydrosulfite (Aldrich Chem. Co.)는 정제 없이 분석시약 급을 그대로 사용하였고, 용매로 사용한 sulfuric acid, acetic acid (glacial), ethylene glycol (덕산약품) 또한 정제 없이 분석시약 급을 그대로 사용하였다. 그리고 ethanol, methanol, chloroform (덕산약품)은  $\text{MgSO}_4$

로 수분제거 후 사용하였고, 증류수는 3차 증류하여 사용하였다.

TLC는 aluminum oxide (60 F<sub>254</sub>, 0.2 mm, Merck) 판을 이용 하였으며, 관 크로마토그래피 (column chromatography)에 이용된 aluminum oxide는 50~200  $\mu\text{m}$  (Acrose)이다.

전기화학 실험에는 3-mercaptopropionic acid, potassium tetrachloroaurate(III), NHS (*N*-hydroxysuccinimide), EDC(*N*-(3-dimethylaminopropyl)*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride), D-(+)-glucose, glucose oxidase (192,000 units/g) (Aldrich Chem. Co.)를 정제 없이 분석시약 급을 그대로 사용하였고, 전해질로는 0.1 M NaCl을 포함한 PBS (pH 7.0, Phosphate Buffered Saline)를 사용하였다.

구조 확인을 위한 핵자기 공명 스펙트럼은 Varian Mercury plus Spectrometer (400 MHz)를 사용하여  $\text{CDCl}_3$ 을 용매로 사용하였으며 전극 표면의 확인을 위한 SEM (Scanning Electron Microscopy)으로는 S-4300 (Hitachi/일본)을 사용하였다. 전기화학 실험의 순환전압전류법 (Cyclic Voltametry)의 측정 및 시간전위차법 (Chronopotentiometry) 측정은 CH Instruments (미국, 텍사스)사의 model 660B Electrochemical Workstation을 사용하였다.

## 2.2. $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted-2,2'\text{-bipyridine})}_2(\text{aminopropyl-imidazole})\text{Cl}]^{+/2+}$ 의 합성

발표된 논문을 참조하여 4,4'-Dichloro-2,2'-bipyridine 리간드를 합성하였다.<sup>15)</sup> 4가지의  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted-2,2'\text{-bipyridine})}_2(\text{aminopropyl-imidazole})\text{Cl}]^{+/2+}$ 를 합성하기 위하여 인용된 논문을 이용하여<sup>13,14,21)</sup> 4배위의 오스뮴 착물과 1-(3-aminopropyl)-imidazole을 1:1의 몰 비로 ethylene glycol (10 ml)와 ethanol (10 ml)의 혼합물에 녹여 넣은 후 2 시간동안 반응하였다. 생성물을 정제하기 위하여 전개용매로 ethanol을 사용하여 관크로마토그래피로 정제하고 다시 용매를 회전증발기를 이용하여 증발시켜 얻었다 (Scheme 2). 합성물질의 확인은 400 MHz NMR과 원소분석 결과를 사용하였다.

## 2.3. 나노 금 전극 제조

Potassium tetrachloroaurate(III) ( $\text{KAuCl}_4$ , 7.56 mg, 0.02 mmol)을 1 M의  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (10 ml)에 녹여  $\text{KAuCl}_4$  (2 mM)용액을 제조하였다.<sup>16,17)</sup> 탄소전극 위에  $\text{KAuCl}_4$  용액 (40  $\mu\text{l}$ )를 올리고, 기준전극과 상대전극을 용액에 접촉시킨 후, 660B Electrochemical Workstation의 시간 전위차 법을 통해 반응시켰다. 반응 후 탄소전극 위에 고정된 나노 금의 모양과 양을 SEM을 통해 측정하였다.

## 2.4. Osmium redox complexes의 전극 고정화

금 나노입자들이 흡착된 SPEs 위에 3-mercaptopropionic acid (1 mM, 40  $\mu\text{l}$ )를 올리고 상온에서 1 시간동안 반응을 하였다. 반응 후 증류수로 SPEs 표면을 세척하고 상온에서 말린 다음 EDC (20  $\mu\text{l}$ /50 mg in PBS 300  $\mu\text{l}$ )와 NHS (20  $\mu\text{l}$ /30 mg in PBS 300  $\mu\text{l}$ , 20  $\mu\text{l}$ ) 혼합액을 SPEs 위에 올려 상온에서 1 시간 반응하였다. 반응 후 다시 증류수로 SPEs 표면을 세척하여 상온에서 말리고 일차아민을 포함하는 osmium complexes (1 mmol)를 올리고 상온에서 1 시간 반응하였다. 반응이 다 끝난 후 SPEs를 증류수로 세척 하고 말린 다음 PBS (40  $\mu\text{l}$ )를 올리고 기준전극과 상대전극을 용액에 접촉시킨 후, 660B Electrochemical Workstation의 순환전압전류법을

통해 osmium complexes가 SPEs 위에 고정화 되었는지를 확인하였다.

## 2.5. 농도별 Glucose의 촉매전류 측정

SAM 방법을 통해 osmium complex를 고정화 시킨 SPEs 위에 glucose를 산화시키는 glucose oxidase (5 mg/ in PBS 1 ml)는 농도를 고정시켜놓은 후 glucose (1 mM~30 mM)를 변화해 가며 660B Electrochemical Workstation의 순환전압전류법을 통해 촉매 전류를 확인하였다.

## 3. 결과 및 고찰

합성된 4 배위의  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted 2,2'\text{-bipyridine})}_2\text{Cl}_2]^{2+/3+}$ 와 최종 결과물인 5 배위인  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted 2,2'\text{-bipyridine})}_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ 를 확인하기 위하여 기준전극인 Ag/AgCl에 대하여, 전위 구간은 -0.4 V~0.8 V에서 순환전압전류법 (CV)을 이용하여 간단하게 합성 유무를 확인 할 수 있었다. Fig. 1의 CV에서 보여주는 것은 합성된 물질의 한 예인 같이 4배위인  $[\text{Os}(2,2'\text{-bipyridine})_2\text{Cl}_2]^{2+/3+}$  전위값이 -0.018 V (vs. Ag/AgCl)에서 나타나는데 전자주기 작용기인  $\text{Cl}^-$  리간드와 치환된 전자끌기 작용기인 imidazole 리간드에 의하여 전위가 약 200 mV 가량 증가하여 0.169 V (vs. Ag/AgCl)에서 5배위인  $[\text{Os}(2,2'\text{-bipyridine})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ 의 합성을 확인 할 수 있었다.<sup>22,23)</sup> 순환전압전류법을 통하여  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted-2,2'\text{-bipyridine})}_2\text{Cl}_2]^{2+/3+}$ 와  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted-2,2'\text{-bipyridine})}_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$  전위를 Table 1에 정리하였다. Table 1에서 전자주기 작용기인  $-\text{OCH}_3$ 에 비하여 전자끌기 작용기  $-\text{Cl}$ 로 치환된 Osmium 착물의 전위차가 약 400 mV가 차이가 있음

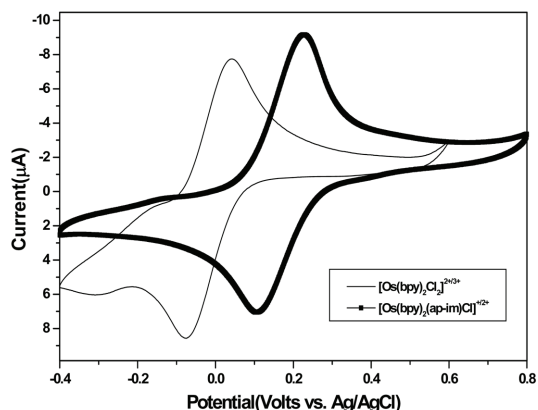
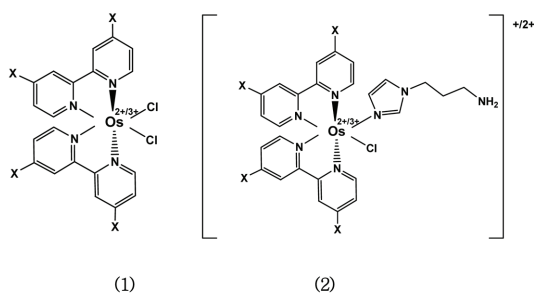


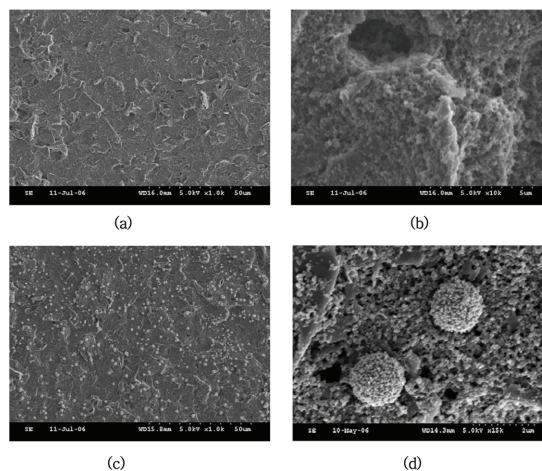
Fig 1. Cyclic voltammograms of  $[\text{Os}(2,2'\text{-bipyridine})_2\text{Cl}_2]^{2+/3+}$  and  $[\text{Os}(2,2'\text{-bipyridine})_2(\text{aminopropyl-imidazole})\text{Cl}]^{+/2+}$ .



**Table 1.** Os(II)/Os(III) redox data for [Os(4,4'-disubstituted 2,2'-bipyridine)<sub>2</sub>(ap-im)Cl]<sup>+2/+</sup> complexes

X	E <sup>0</sup> vs. Ag/AgCl, pH = 7.2	
	(1)	(2)
-OCH <sub>3</sub>	-0.252 V	-0.079 V
-H	-0.018 V	0.169 V
-CH <sub>3</sub>	-0.123 V	0.118 V
-Cl	0.139 V	0.313 V

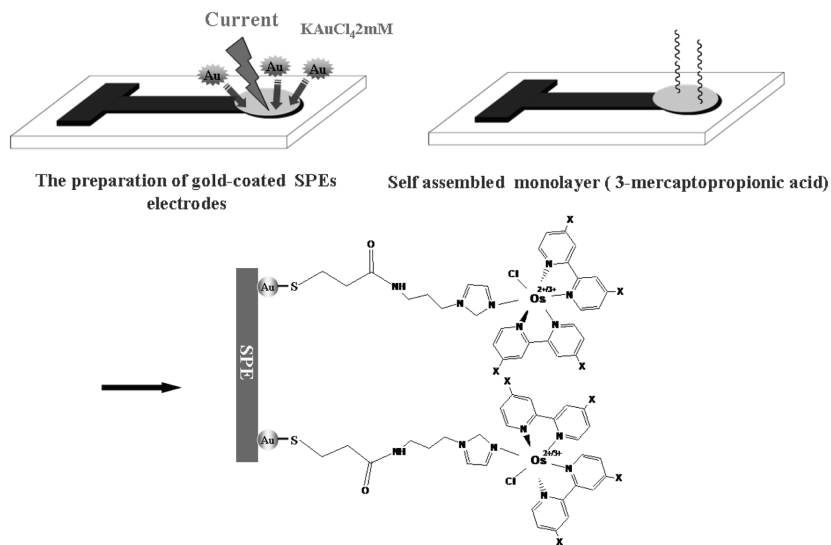
을 확인하였다. Scheme 3의 방법을 통하여 인쇄된 탄소 전극위에 금 나노입자를 고정하기 위해 KAuCl<sub>4</sub> (1 mM in 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 40l)용액을 Chronopotentiometry방법을 이용하여 1.0×10<sup>-5</sup>A의 환원전류를 일정 시간동안 가해 주게 되면 탄소전극위에 Au(III)가 환원전류에 의해 Au입자로서 전극 위에 흡착되었다. 이렇게 반응을 시킨 전극은 SEM을 통하여 나노 금이 흡착여부를 알 수 있었고, 이 때 약 200 nm size의 작은 금 나노입자들이 뭉쳐서 1 μm size의 큰 입자 뭉치들로 형성되는 것을



**Fig 2.** SEM images of screen printed carbon electrodes<sup>(a-b)</sup> and gold-coated screen printed carbon electrodes<sup>(c-d)</sup>.

SEM을 통해 확인 할 수 있었다 (Fig. 2).<sup>16,17)</sup>

금 나노입자가 흡착된 SPEs 위에 3-mercaptopropionic acid (1 mM, 40 μl)를 올리고 상온에서 1 시간 동안 반응을 시키면 mercapto group의 경우는 강한 결합력을 갖는 S-Au 결합의 자발적인 형성을 통하여 금속 박막 상에서 자기 조립 단분자막 (Self Assembled Monolayer; SAM)의 형성을 가능케 하였다. mercapto 반응 후 증류수를 이용하여 전극을 세척하고 EDC와 NHS를 섞은 혼합액 (40 μl)을 올리고 상온에서 1 시간 동안 반응을 시키면 3-mercaptopropionic acid의 mercapto 반대편의 작용기인 카르복실기가 EDC에 의해 활성화 되므로 일차 아민



**Scheme 3.** Modification procedure on the gold-coated electrode.

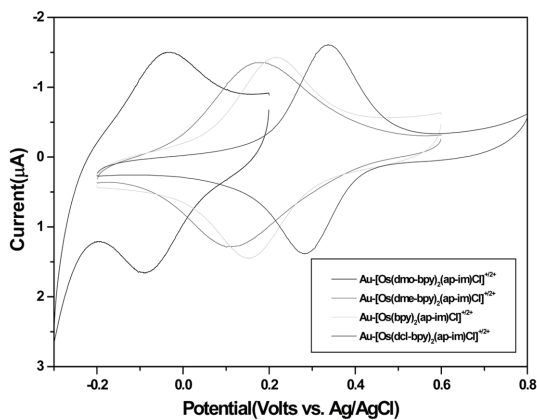


Fig. 3. Cyclic voltammograms of osmium complexes on granulated deposited gold particles.

과의 결합을 할 수 있는 조건이 생성되었다. 이 후 전극을 세척하고 일차 아민을 포함하고 있는 여러 종류의 osmium complex (40 μl)를 올리고 상온에서 1 시간 동안 반응을 시키면 carboxyl group과 complexes의 아민이 화학적 결합을 형성하게 되어서 전극위에 osmium complex를 고정화 시킬 수 있었다 (Scheme 3). Fig. 3는 최종적으로 순환전압전류법을 통해 네 개의 osmium complex가 SPEs위에 고정화 되었는지를 확인하였다. 그림에서 보듯이 4가지의 osmium complexes은 같은 농도를 사용할 시에 비슷한 양의 osmium complex가 고정화된다는 것을 current (anodic :  $-1.1 \mu\text{A} \sim -1.53 \mu\text{A}$ , cathodic :  $1.12 \mu\text{A} \sim 1.37 \mu\text{A}$ ) peak와 전기량을 적분하여 확인하였다. 또한 단위면적당 (surface coverage) mole 수는 약  $\Gamma_0 = 5.05 \times 10^{-10} \text{ mole/cm}^2$  값을 가지며 이러한 결과는 보고된 논문과 비슷한 결과를 얻었다.<sup>24)</sup>

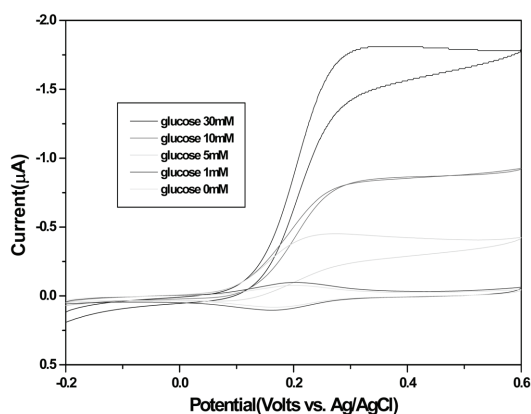


Fig. 4. Glucose concentration dependence of the catalytic anodic current. Osmium complex :  $[\text{Os}(\text{bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ .

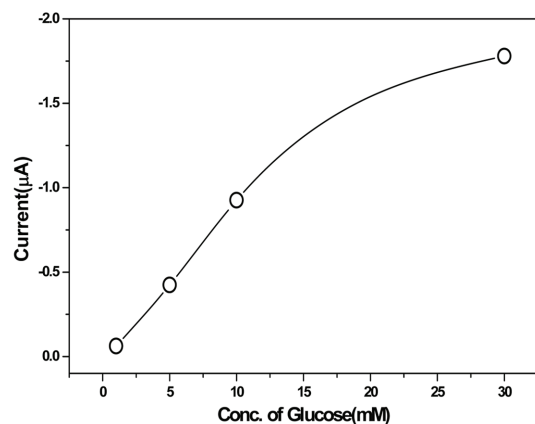


Fig. 5. Glucose concentration dependence of the current density ( $E = 0.6 \text{ V}$ ). Osmium complex :  $[\text{Os}(\text{bpy})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$ .

SAM 방법을 통해 osmium complex를 고정화 시킨 SPEs위에 glucose와 glucose oxidase (5 mg/ in PBS 1 ml)가 반응하여 나오는 전자를 매개체인 osmium complex가 전극에 전자를 전달할 때 발생하는 산화 촉매전류를 순환전압전류법을 이용하여 여러 가지 다른 glucose농도 (0 mM, 1 mM, 5 mM, 10 mM, 30 mM)별로 측정하였다. 이 때 가해진 전위의 범위는  $-0.2 \sim 0.6 \text{ V}$  이고, scan rate은  $5 \text{ mV/sec}$  이었다 (Fig 4). 촉매전류가 나타나는 전위의 위치 중 전류 값이 일정하게 유지되는 한 지점을  $0.6 \text{ V}$  (versus  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ )로 고정하고 검정곡선을 도시하여 glucose의 농도별로 발생하는 촉매전류의 상관관계를 확인 하였다 (Fig 5). 이때 glucose의 농도가 10 mM까지는 농도에 비례하여 일정한 전류의 양이 직선적으로 증가하는 것을 볼 수 있었으나 10 mM 이상이 반응하면 전극 상에서 glucose가 산화되는 최대값에 접근함에 따라, 즉 포화 (saturation)

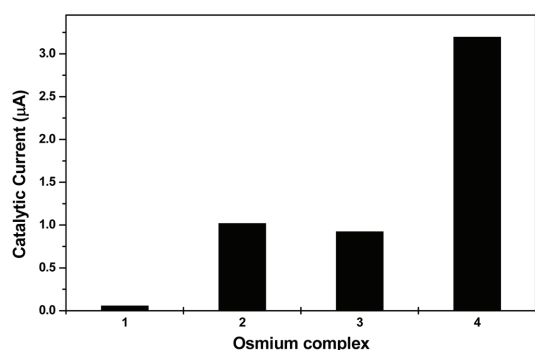


Fig. 6. Catalytic current data for  $[\text{Os}(4,4'\text{-disubstituted } 2,2'\text{-bipyridine})_2(\text{ap-im})\text{Cl}]^{+/2+}$  complexes (X : 1 =  $\text{OCH}_3$ , 2 =  $\text{CH}_3$ , 3 = H, 4 = Cl, glucose 10 mM, vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ).



상태에 도달함에 따라 전류의 증가폭이 점차 작아지면서 한계촉매전류에 도달하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 ligand에 따라 다른 전위 값을 갖는 4가지의 osmium complex에 대하여 glucose와 당 산화효소 (GOx)의 반응의 촉매전류를 측정된 결과 glucose농도 10 mM에 기준하여 갖는 전류 값을 비교할 수 있었다 (Fig 6). 이 결과에서 보면 가장 낮은 전위를 갖는  $[\text{Os}(4,4'\text{-dimethoxy-2,2'-bipyridine})_2(\text{aminopropyl-imidazole})\text{Cl}]^{+2+}$  가 약 0.06  $\mu\text{A}$ 를 갖고 전위가 positive쪽으로 증가함에 따라 촉매 전류의 값이 증가함을 알 수 있었다 (H: 0.93  $\mu\text{A}$ ,  $\text{CH}_3$ : 1.02  $\mu\text{A}$ , Cl: 3.2  $\mu\text{A}$ ). 즉 glucose가 산화되며 전자를 낼 때의 전위 값이 ( $E^\circ$ : -440 mV vs. NHE) negative 쪽에 위치하기 때문에 좀더 positive한 쪽의 전위 값을 갖는 redox complex가 더 원활한 전자이동으로 높은 촉매 전류 값을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었다.<sup>23,25-27</sup>

#### 4. 결 론

본 연구는 전자를 운반하는 매개체인 redox complex 중에 8족 금속원소인 osmium에 작용기를 변화시킨 4개의 pyridine ligand와 일차아민을 포함하고 있는 1-(3-aminopropyl)-imidazole을 배위 결합시켜 5배위를 하고 있는 4가지의 osmium complex를 합성하였다. 합성한 4가지의 osmium complex의 전기적 특성을 순환전압전류법을 통해 확인 할 수 있었고, 치환기에 따라 전위 값이 달라짐을 알 수 있었다. 합성한 4가지의 osmium complex를 전극위에 고정화하기 위해 제작한 SPEs위에 금 나노입자 (Au nanoparticle)를 시간 전위차 법을 이용한 전기적 흡착으로 올려 SEM을 통해 전극위에 흡착된 금 나노입자 (Au nanoparticle)의 크기와 분포에 대해 확인 할 수 있었다. 금 나노입자 (Au nanoparticle)로 고정된 전극에 SAM방법을 통하여 4가지의 Osmium complex를 고정화 시킬 수 있었고, 올라가는 osmium complex의 양이 일정하다는 것을 순환전압전류법을 통해 확인하여 재현성을 볼 수 있었다. 전자전달 매개체인 osmium complex가 고정화된 전극을 통하여 glucose와 glucose oxidase와의 반응을 순환전압전류법을 통해 촉매 전류가 발생됨을 확인하였고, glucose의 농도에 따라 일정하게 촉매전류가 변화함을 농도 직선을 통하여 확인할 수 있었다. 4가지의 osmium complex는 각각 특정 농도의 glucose에서 발생하는 촉매전류의 값이 차이를 나타내었고, 이는 glucose가 산화될 때 발생하는 전위 값보다 더 큰 positive전위를 갖는 osmium complex가 전자 전달 반응에 용이함을 확인할 수 있었다. 이를 통해 바이오센서의 제작에 있어서 전자 전달 매개체인 redox complex는 반응하는 효소와의 전위차가 중요하다는 것을 결론 얻을 수가 있었다.

#### 감사의 글

본 연구는 단국대학교의 교내연구과제지원사업의 연구비 지원으로 인하여 이루어 졌기에 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1. L. C. Clark Jr. and C. Lyons, "Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery" *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **102**, 29 (1962).
2. A. J. Cunningham, "Introduction to Bioanalytical Sensors" *John Wiley and Sons Inc.*, **46**, (1998).
3. B. Eggins, "Introduction to Biosensor" *John Wiley and Sons Inc.*, **3**, (1999).
4. M. V. Pishko, A. C. Michael, and Adam Heller, "Amperometric glucose microelectrodes prepared through immobilization of glucose oxidase in redox hydrogels" *Anal. Chem.*, **63**, 2269 (1991).
5. H. Yang, T. D. Chung, Y. T. Kim, C. A. Choi, C. H. Jun, and H. C. Kim, "Glucose sensor using a microfabricated electrode and electropolymerized bilayer films" *Biosens. Bioelectron.*, **17**, 251 (2002).
6. T. J. Ohara, R. Rajagopalan, and A. Heller, "Wired enzyme electrodes for amperometric determination of glucose or lactate in the presence of interfering substances" *Anal. Chem.*, **66**, 2451 (1994).
7. B. A. Gregg and A. Heller, "Redox polymer films containing enzymes. 2. Glucose oxidase containing enzyme electrodes" *J. Phys. Chem.*, **95**, 5976 (1991).
8. K. Yamamoto, H. Zeng, Y. Shen, M. M. Ahmed, and T. Kato, "Evaluation of an amperometric glucose biosensor based on a ruthenium complex mediator of low redox potential" *Talanta*, **66**, 1175 (2005).
9. E. Eskelinen, M. Haukka, J. J. Kinnunen, and T. A. Pakkanen, "The effect of bipyridine modifications on the electrochemical and electronic properties of Ru(II)-bipyridine carbonyls" *J. Electroanal. Chem.*, **556**, 103 (2003).
10. P. E. A. Ribeiro, C. L. Donnici, and E. N. Santos, "Cationic rhodium(I) complexes containing 4,4'-disubstituted 2,2'-bipyridines: A systematic variation on electron density over the metal centre" *J. Organometal. Chem.*, **691**, 2037 (2006).
11. N. Madhiri and H. O. Finklea, "Potential-, pH-, and Isotope-Dependence of Proton-Coupled Electron Transfer of an Osmium Aquo Complex Attached to an Electrode" *Langmuir*, **22**, 10643 (2006).
12. R. M. Haddox and H. O. Finklea, "Proton-Coupled Electron Transfer of an Osmium Aquo Complex on a self-Assembled Monolayer on Gold" *J. Phys. Chem. B*, **108**, 1694 (2004).
13. C. Taylor, G. Kenausis, I. Katakis, and A. Heller, "Wiring of glucose oxidase within a hydrogel made with polyvinyl imidazole complexed with  $[(\text{Os}-4,4'\text{-dimethoxy-2,2'-bipyridine})\text{Cl}]^{+2+}$ " *J. Electroanal. Chem.*, **396**, 511 (1995).

14. S. Anderson, E. C. Constable, K. R. Seddon, E. T. Turp, J. E. Baggott, and J. Pilling, "Preparation and characterization of 2,2'-bipyridine-4,4'-disulphonic and-5-sulphonic acids and their ruthenium(II) complexes" *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2247 (1985).
15. G. Maerker and F. H. Case, "The Synthesis of Some 4,4'-Disubstituted 2,2'-Bipyridines" *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 2745 (1958).
16. M. O. Finot, G. D. Braybrook, and M. T. McDermott, "Characterization of electrochemically deposited gold nanocrystals on glassy carbon electrodes" *J. Electroanal. Chem.*, **466**, 234 (1999).
17. M. O. Finot and M. T. McDermott, "Characterization of n-alkanethiolate monolayers adsorbed to electrochemically deposited gold nanocrystals on glassy carbon electrodes" *J. Electroanal. Chem.*, **488**, 125 (2000).
18. Y. Li and G. Shi, "Electrochemical Growth of Two-Dimensional Gold Nanostructures on a Thin Polypyrrole Film Modified ITO Electrode" *J. Phys. Chem. B*, **109**, 23787 (2005).
19. X. Ren, X. Meng, and F. Tang, "Preparation of Ag-Au nanoparticle and its application to glucose biosensor" *Sensors and Actuators B* **110**, 358 (2005).
20. Y.-B. Choi and H.-H. Kim, "Synthesis of osmium redox complex and its application for biosensor using an electrochemical method" *J. Kor. Electrochem. Soc.*, **10**, 152 (2007).
21. D. M. Fraser, S. M. Zakeeruddin, and M. Gratzel, "Towards mediator design II. Optimization of mediator global charge for the mediation of glucose oxidase of *Aspergillus niger*" *J. Electroanal. Chem.*, **359**, 125 (1993).
22. E. S. Dodsworth, A. A. Vleck, and A. B. P. Lever, "Factorization of Ligand-Based Reduction Potentials" *Inorg. Chem.*, **33**, 1045 (1994).
23. S. M. Zakeeruddin, D. M. Fraser, M.-K. Nazeeruddin, and M. Gratzel, "Towards mediator design: characterization of tris-(4,4'-substituted-2,2'-bipyridine)complex of iron(II), ruthenium(II) and osmium(II) as mediators for glucose oxidase of *Aspergillus niger* and other redox proteins" *J. Electroanal. Chem.*, **337**, 253 (1992).
24. A. Ulman, A. An Introduction to Ultrathin Organic Films from Langmuir-Blodgett to Self-Assembly, Academic Press: New York (1991).
25. G. T. R. Palmore and H.-H. Kim, "Electro-enzymatic reduction of dioxygen to water in the cathode compartment of a biofuel cell" *J. Electroanal. Chem.*, **464**, 110 (1999).
26. N. Mano, F. Mao, and A. Heller, "Characteristics of a Miniature Compartment-less Glucose-O<sub>2</sub> Biofuel Cell and Its Operation in a Living Plant" *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 6588 (2003).
27. S. C. Barton, H.-H. Kim, G. Binyamin, Y. Zhang, and A. Heller, "The "wired" Laccase Cathode: High Current Density Electroreduction of O<sub>2</sub> to Water at +0.7 V (NHE) at pH 5" *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 5802 (2001).