

고분자 막이 코팅된 Boron doped diamond 전극에 의한 호르몬의 전기화학적 검출 효과

황진희, 조은인, 박수길, Takeyoshi Okajima¹, Takeo Ohsaka¹, Akira Fujishima²

충북대학교 공업화학과, ¹Tokyo Institute of Technology,

²The University of Tokyo

Electrochemical detection effect of hormone in body by using polymer coated boron doped diamond electrode

Jin-Hee Hwang, Eun-In Cho, Soo-Gil Park, Takeyoshi Okajima¹, Takeo Ohsaka¹, Akira Fujishima²

Dept. Industrial Chemical Engineering, Chungbuk National Univ.,

¹Tokyo Institute of Technology, ²The University of Tokyo

Abstract

The electrochemical oxidation of ascorbic acid(AA), serotonin(SE) and epinephrine(EP) have been performed at poly *N,N*-dimethylaniline(PDMA) film coated diamond electrode. This cationic polymer film is electrochemically deposited on boron-doped diamond electrode surface. Unlike the bard electrode, the polymer film-coated diamond electrode can well separate the oxidation potential of AA by 200mV. Thus this electrode can be successfully used for the simultaneoud detection of both species. Increases in the concentration of AA do not affect the reponse of EP and SE.

Keywords : Electropolymerization, Epinephrine, Ascorbic acid, serotonin, Diamond electrode.

1. 서론

인체에는 여러 가지 종류의 호르몬이 있으며, 이는 혈액 내 또는 뇌 조직에 다량 분포되어 있다. 이러한 호르몬들 중에는 함량에 따라 건강상태를 판단할 수 있다. 본 연구에서는 우울증을 유발하는 호르몬으로 알려진 에피네프린과 세로토닌을 실험에 이용해 보았다.

아드레날린으로 알려져 있는 에피네프린(C₉H₁₃O₃N)은 1901년 다카미네조키치에 의해 부신수질에서 염기성 물질로서 순수하게 분리되었다. 호르몬으로서 부신수질에 다량으로 함유되어 혈당량을 조절, 교감신경 흥분제, 혈관수축제, 혈압상승제로 사용되며 출혈을 멎게 하고 기관지 천식의 발작에 효과가 있다. 세로토닌은 혈관뿐만 아니라, 자궁·기관지 등의 근육근도 수축시키는 작용이 있으며, 화학구조는 5-히드록시트리프타민이라는 것이 밝혀졌다. 뇌 신경계에도 많은데, 뇌조직의 세로토닌은 뇌에서 만들어지며, 지나치게 많으면 뇌기능을 자극하고, 부족하면 침정작용을 일으킨다. 세로토닌의 대사산물은 5-히드록시인돌아세트산인데, 이것이 만들어지는 데는 효소의 일종인 모노아민옥시다아제가 관여하며,

몸에 악성종양이 있으면 오줌으로 다량 배설된다. 이처럼 세로토닌은 양이 많을 때 뇌기능 장애와 종양 등의 질병을 유발하며, 적을 땀 침정작용, 수면장애 등과 같은 정신질환계통의 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다.

많은 질병들은 이들 호르몬의 농도에 영향을 받는다고 알려져 생체 내 존재하는 이들 호르몬의 농도를 측정하는 센서 개발이 요구되어지고 있다.

세로토닌과 에피네프린은 특히 많은 의학자들에게 관심이 되어져 여러 검출 방법이 시도되어졌다.[1,2]

이번 실험에서는 호르몬의 전기적 성질을 이용하여 검출을 시도하였다. 전극으로 사용된 봉소가 도핑된 다이아몬드(BDD) 전극은 그 자체의 높은 전기 전도성, 넓은 전위창, 작은 오차 전류, 그리고 물리, 화학적 안정성에 따라 새로운 기능성 재료로서 많은 주목을 받고 있으며 특히 센서로서의 개발이 기대되어지고 있다. 그러나 BDD전극만으로는 이 두 호르몬(세로토닌, 에피네프린)과 비타민 C의 일종인 아스코르빅 산(AA)의 혼합용액에서 분리가 되지 않았다. 이는 AA의 산화물질이 전극 표면을 오염시키거나 산화피크가 겹쳐졌기 때문이라 사료된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 전극 표면에 여러 다른 막을 입힘으로써 전극의 선택성을 증가시키는 실험들이

이루어져왔다 [3-5]. N,N-dimethyl aniline의 고분자 필름은 전기활동성이 있고, 일반적으로 물과 유기 용매에는 불용성이다. 이 막이 탄소전극에 사용되었을 때에 호르몬에 대해 높은 감도를 보였으며 AA의 산화 물질에 의한 검출 방해 효과를 제거함으로써 혼합 용액에서의 AA 검출을 가능하게 하였다. [12].

본 연구에서는 poly-DMA film-coated BDD 전극을 이용하여 각각의 혼합용액 (EP+AA, SE+AA) 에서의 선택적 검출을 확인함으로써 코팅된 다이아몬드 전극의 센서로서의 응용을 보고자 하였다.

2. 실험

2.1 실험 장치

본 실험은 Rotating Disk Electrode(RDE)를 working electrode로 이용한 삼상전극계에서 진행되었다.

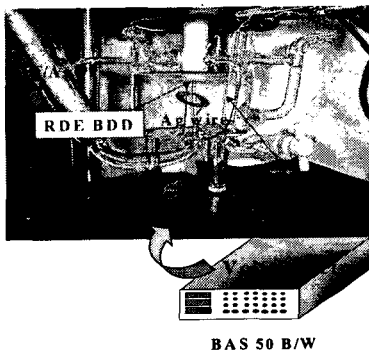


Figure 1. Three electrode system by using Rotating Disk Electrode(RDE)

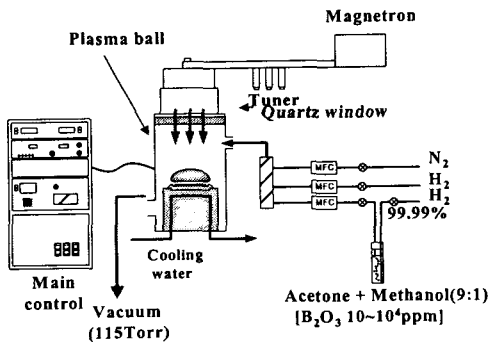


Figure 2. Preparation of BDD electrode by Microwave Plasma CVD

working electrode로는 붕소가 도핑된 다이아몬드 전극을, counter electrode는 Pt wire, reference electrode로는 Ag|AgCl 이 각각 사용되었다.

BDD 전극은 MP CVD system을 이용해 실리콘 paper에 다이아몬드를 성장시킨 후 붕소를 도핑함으로써 얻을 수 있다. Figure 2 는 system 모식도이다.

2.2 실험 방법

코팅 전 전극 표면의 불순물을 제거하기 위하여 아세톤이나 에탄올을 이용하여 2분간 초음파 세척과 다시 8분간 증류수 세척을 해줌으로써 총 10분간 표면 전처리를 해주었다. PDMA막은 0.1M Na₂SO₄ - H₂SO₄ (pH1)을 전해질로 사용하여 0.1M의 모노머 용액을 제조 후, 전극을 고정시켜 30분 동안 1.0~1.1V 범위에서의 정전압을 가해줌으로써 전극 표면에 침적시켰다. 마지막 단계로 전극 표면에 코팅된 막은 0.05M H₂SO₄ 용액과 pH 7인 0.2M의 인산버퍼 용액, 증류수로 각각 세척해주었다.

Figure 3 은 전극 표면에 고분자 필름을 코팅하는 전체 과정이다.

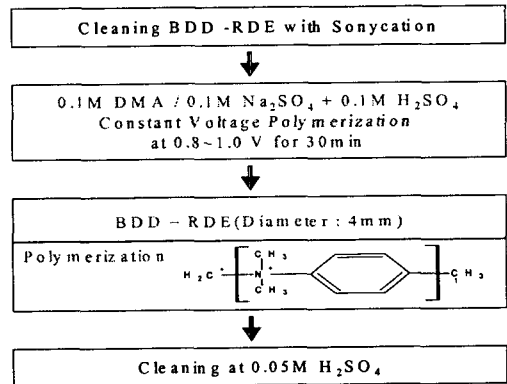


Figure 3. Process of polymer membrane on BDD electrode

모든 전기화학적 장치는 실험실 온도 (25 ± 1°C)에서 수행되었으며 용액내에 존재하는 산소를 제거해 주기 위해서 실험 전 15분간 N₂ bubbling을 해주었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 고분자 막에 의한 호르몬의 분리 효과

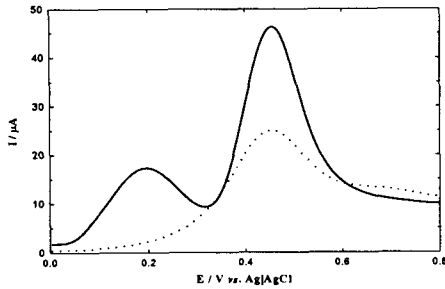


Figure 4. Square Wave Voltammograms(SWVs) for mixture of 0.5mM SE and 0.5mM AA in 0.2M phosphate buffer solution(PBS) at bare(dotted line), PDMA film-coated BDD electrode(solid line). Scan rate : 50mV/s.

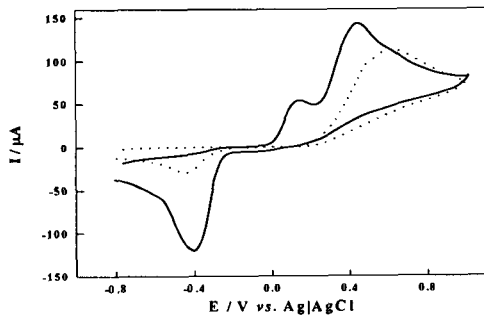


Figure 5. Cyclic Voltammograms(CVs) for mixture of 0.5mM epinephrine(EP) and 0.5mM AA in 0.2M PBS(pH 7) at bare(dotted line), PDMA film-coated BDD electrode(solid line). Scan rate 50mV/s.

Figure. 4.,5.는 코팅되지 않은 전극에서 서로 비슷한 산화 피크를 갖는 새 물질(serotonin, epinephrine, ascorbic acid - 0.5~0.6V)을 각각 ascorbic acid 존재하에 두 물질을 동일한 농도로 혼합한 용액에서 고분자막이 코팅된 BDD 전극에서의 전기화학적 특성을 측정 한 결과이다. 각각의 혼합용액에서 막이 코팅되지 않은 BDD 전극에서는 하나의 완만하고 분리되지 않은 산화 피크가 나타나지만 고분자 막의 코팅된 전극에서 측정 한 결과, 각각의 산화피크가 분리되어 두 개의 서로 다른 산화지점을 보임을 확인할 수가 있었다. 이는 양이온성을 갖는 고분자막과 음이온성을 갖는 ascorbic acid(AA)가 정전기적 현상에 의해 반응하여 AA의 산화지점을 약 0.25~0.3V 가량 앞으로 이동시킴을 확인할 수 있었으며, 소수성의 특징을 갖고 있기 또한 고분자막이 소수성

물질인 serotonin (SE), 그리고 epinephrine (EP)과 반응함으로써 코팅되지 않은 전극에서의 산화피크를 두 배 가량 상승시킴을 확인할 수 있었다. 뿐만 아니라 코팅되지 않은 BDD 전극에서 SE와 AA 혼합용액을 측정 한 결과 보이지 않던 환원피크가 막을 코팅함에 따라 나타남을 확인할 수 있었고 EP와 AA 혼합용액에서도 약 네 배 가량 증가된 환원피크를 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과에 의해 양이온성과 소수성을 갖는 고분자 막은 음이온성과 소수성을 갖는 혼합용액내의 각각의 물질을 분리할 수 있다는 결과를 확인할 수 있었다.

3.2. 혼합 용액에서 호르몬들의 독립성

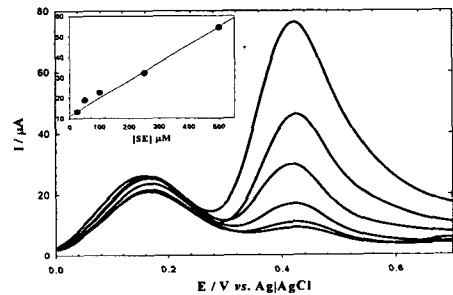


Figure 6. SWVs of AA and SE at PDMA film-coated BDD electrode in 0.2 M PBS (pH 7). [SE]was changed and [AA]was kept constant.(i.e., [AA]=500 μM, [SE]= 10, 25, 50, 100, 250, 500 μM.)

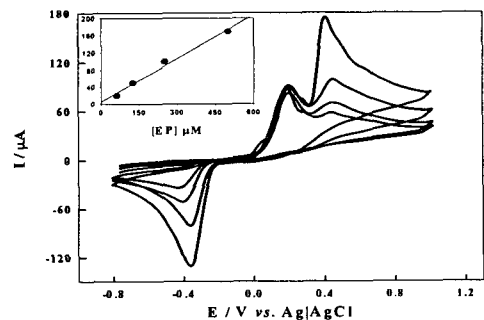


Figure 7. CVs of AA and EP at PDMA film-coated BDD electrode in 0.2 M PBS (pH 7). [EP] was changed and [AA] was kept constant.(i.e., [AA] = 500 μM, [EP]: 62, 125, 250, 500 μM).

Figure. 6.,7.은 AA와 SE, 또는 EP의 혼합용액에서

SE와 EP 호르본의 독립성을 보여준다. 먼저 SWVs를 이용하여 AA의 농도를 0.5mM(500 μ M)로 일정하게 유지시킨 상태에서 SE의 농도를 최소 10 μ M까지 변화시키면서 측정된 결과이다. PDMA 막이 코팅된 BDD 전극에서 SE의 산화 피크는 농도를 증가시키에 따라 그 전류량이 비례적으로 증가함을 보여주며, AA의 산화는 각각 다른 농도 하에서의 SE의 산화에 의해 영향을 받지 않음을 확인함으로써 혼합용액에서의 두 물질의 독립성을 확인할 수 있었다. 더 나아가 직경 4mm로 12.56mm²의 면적을 갖는 BDD전극으로는 혼합 용액 상태에서 최소 10 μ M의 SE의 검출이 가능함을 확인할 수도 있었다.

AA와 EP의 혼합용액에서의 CVs 측정 결과 그래프에서는 Figure. 6의 결과와 마찬가지로 EP의 농도 변화에 따라 그의 전류량이 비례함을 볼 수 있었으며 일정한 농도의 AA의 산화피크는 변화하는 EP의 농도에 거의 영향을 받지 않음을 확인할 수 있었다.

이와 같은 결과를 통해서 생체내에 SE나 EP에 비해 그양이 현저히 높은 AA가 다량 혼합되어 있을 때 millimolar 농도의 AA 하에서 micromolar 농도의 SE와 EP의 분리 검출이 가능함을 유추해 볼 수 있으므로, 센서로써 이용의 가능성을 기대해 볼 수 있다.

3.3. AA의 확산 계수

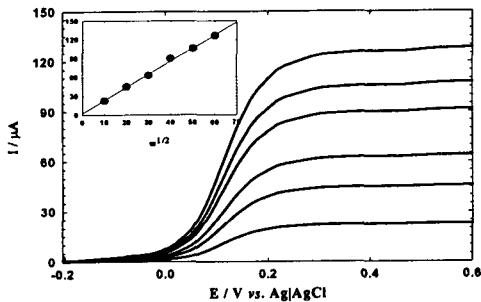


Figure 8. Linear Sweep Voltammograms(LSVs) for PDMA coated RDE electrode in 0.2 M PBS containing 0.5 mM AA. (number of rotations: 100, 400, 900, 1600, 2500, 3600 rpm). Scan rate 50mV/s. Levich plot of I_L vs. $\omega^{1/2}$

Figure. 8.은 회전이 가능한 RDE전극을 AA 0.5mM에서의 확산계수를 구하기 위해 LSV를 각각 10, 20, 30, 40, 50, 60의 제곱수로 회전수를 변화시켜 측정된 결과 그래프이다. 회전수가 증가할수록 AA의 산화 피크가 증가함을 확인할 수 있으며, 이때의 일정한

계 유지되는 전류값과 각각의 회전수를 이용하여 Levich 식, $i_{lc} = 0.620n \cdot F \cdot A \cdot D^{2/3} \cdot \omega^{1/2} \cdot \nu^{-1/6} \cdot C$ 에 대입하여 확산계수 D를 구할 수 있으며, 이렇게 해서 구해진 AA의 확산계수는 1.35×10^{-8} cm²/s 이다.

4. 결론

본 연구에서 사용된 PDMA 막은 전기화학적 방법에 의해 BDD 전극 표면에 코팅되었고 AA, SE 그리고 EP은 전극에 코팅된 막의 표면에서 반응하였으며, 이 실험에서는 이런 고분자 막이 코팅된 다이아몬드 전극을 이용하여 AA, SE의 혼합용액과 AA, EP의 혼합용액에서 각각의 물질이 분리 검출됨을 증명할 수 있었다. 이는 양이온성 막과 음이온성의 AA 사이의 유리한 정전기적 상호작용에 의한 결과이며, 또한 고분자 막은 소수성의 특성을 가지므로 소수성 물질을 끌어당겨 SE와 EP는 고분자 막이 코팅된 전극에서 증가된 전류 반응을 보여 주고 있다.

막이 코팅된 다이아몬드 전극에 의해 AA와 SE, 또는 EP의 산화 피크가 약 0.2V~0.3V정도의 차이를 보이며 분리됨을 확인할 수 있다. 즉, AA가 존재하는 상태에서 SE나 EP의 선택적 검출 효과에 대해 확인할 수 있었으며 따라서 고분자막이 코팅된 다이아몬드 전극의 센서로서의 응용을 기대할 수 있다. 또 전극의 회전 효과를 이용하여 검출된 산화피크와 물질의 농도를 이용하여 확산계수를 구할 수 있었다.

참고 문헌

- [1] A. Kojio, C.J. Martinez, *Anal.Chim. Acta*, 308 (1995) 334.
- [2] B.R. Copper, R.M. Wightman, J.W. Jogenson, *J. Chromatoger.B*, 653 (1994) 25.
- [3] F.B. Salem, Alexandria *J. Pharem. Sci.*, 9 (1995) 143.
- [4] S.Sasso, P. Pierce, R. Walla, A. Yacynych, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 111.
- [5] C. Malitesta, F.Palmisano, L. Torsi, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 2735
- [6] P.R. Roy, M.S. Saha, T. Okajima, T. Ohsaka, submitted in *Electroanalysis*.