

환경호르몬 검출을 위한 모세관 전기영동-전기화학적 검출 시스템

하곤, 이인제, 강치중, 김용상
 명지대학교 나노공학과

Capillary Electrophoresis Electrochemical Detector For the Sensing of Endocrine Disruptors

Kon Ha, In-Je Yi, C. J. Kang and Yong-Sang Kim

Department of Nano Science and Engineering, Myongji University

Abstract - 모세관 전기 영동법을 이용한 전기화학적 검출기로 환경호르몬을 분리, 검출하는 연구를 수행하였으며 여러 가지 전극들간의 감도를 포함한 경제성과 효율을 비교하였다. 검출기에 사용된 전극으로는 Indium Tin Oxide (ITO) 전극과 bare ITO 전극 위에 Prussian blue (PB) 용액을 전착한 전극이 사용되고 검출기는 3전극을 사용하는 형식으로 제작하였다. PB전극이 사용된 검출기를 이용하여 비스페놀 A를 측정 한 결과, bare ITO 전극을 사용한 검출기보다 우수한 민감도를 얻었다.

1. 서 론

최근 몇 년 동안 환경호르몬을 전기화학적 검출기로 검출하는 연구가 많은 연구그룹에 의해 진행되고 있다[1, 2]. 환경호르몬은 발암, 피부병(아토피 피부염), 생식장애, 성장장애 등을 일으키며 우리 주변에서 흔히 볼 수 있는 플라스틱, 일회용품 등에서 발견된다. 그러므로 환경호르몬을 빠르고 경제적으로 분리, 검출 할 수 있는 장치가 요구되고 있다[3]. 본 연구에서 사용된 PB/ITO전극은 일반적으로 널리 사용되는 Au전극보다 공정비가 저렴한 반면 감도는 Au보다 우수한 특성을 가진다[4]. 본 논문에서 PB/ITO 전극과 비교되어지는 ITO 물질은 금속의 증착과 유기물의 흡착에 잘 견디는 고유한 성질을 가지고 있고 PB는 전기촉매제로써 검출에 감도를 향상시킨다[5].

기존에 널리 사용되는 화학적/생화학적 분석은 이온의 검출과 분석, 세포 분석, 면역 분석 등은 분석 시간이 길고 조작이 번거롭고, 값 비싼 항체 시약을 다량으로 필요로 한다. 반면, 미세 유체 제어 시스템을 사용할 경우, 반응 효율이 증가하고, 공정이 간단해지고, 분석 시간이 줄어들며, 시료와 에너지의 소비가 줄어드는 등의 효과를 볼 수가 있다. 대신 시간 전압법, 전도도법, 전기량법, 전위차2법, 전압전류법, 폴라로그래피 등 여러 가지 검출법 중 전압이 일정한 상태에서 전류의 변화를 반응의 지표로 보고 검출을 하는 전류법을 사용하였다. 유량주입분석 시 가스, 액체 크로마토그래피 등이 있으나 더 낮은 검출 특성을 보이는 모세관 전기영동의 방법을 사용하였다. 최근에 와서 여러 연구 그룹에서 마이크로 유체 시스템을 일반적인 반도체 물질 대신 PDMS (polydimethylsiloxane) 물질을 사용하여 제작한 연구가 보고 되고 있다. PDMS는 폴리머 물질이므로 가격이 싸고 평면의 구조를 간단하게 제작할 수 있으며 투명한 장점을 가지고 있다. 또한 기존에 전극으로 많이 쓰이는 Au는 값이 비싸고 공정이 어려운 단점이 있다. 그에 비해 ITO는 가격이 싸고 투명하며 전기적으로 좋은 도전율을 가지는 장점이 있다. 또한 PB를 ITO전극에 전착해 주면 그 반응성이 더 커진다는 이점이 있다. 모세관 전기영동-전기화학적 검출 시스템 (CE-ECD)은 간단한 제조 공정과 높은 신뢰성 및 낮은 가격 등으로 인해 기존의 전기 화학적 검출 장치를 대신 할 수 있다.

전기화학적 검출법에는 여러 가지가 있으나 그 중 전류법 (amperometry)을 사용하였다. 전류법은 다양하게 응용할 수 있고, 높은 감도를 가진다. 전류법은 전극에 일정 전압 또는 펄스 형태의 전압을 가하고 그에 따른 전류값 변화를 기록하는 방법으로 직류법과 펄스 전류법으로 나눌 수 있다. 직류 전류법은 전극에 일정한 전압을 가하면서 분석하려는 물질의 농도변화에 따른 전류값의 변화를 기록하여 시료를 검출 및 정량한다.

2. 본 론

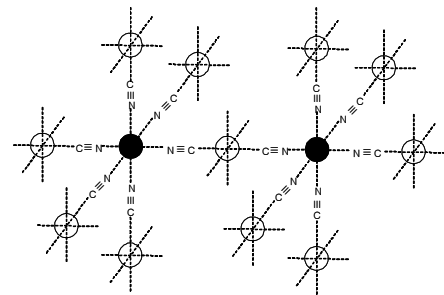
2.1 Prussian blue (PB)

PB는 FeCl₃ (97%), K₃[Fe(CN)₆] (99%), KCl (32%)와 HCl (32%)를 혼합한 용액으로 ITO물질에 전기증착 된다. PB는 전기촉매제의 일종으로 ITO전극과 검출물질 사이의 산화환원반응을 촉진한다. PB의 화학적 구조는 그림 1과 같다.

2.2 Microchip의 제작공정

그림 2에서는 PB가 전착된 ITO 전극을 이용한 전기화학적 검출기의 사진과 유리 기판 위의 3전극시스템이 보여지며 그림 3은 검출기 제작

공정을 나타내고 있다. 검출기에 사용된 ITO 전극은 유리 기판 위에 R. F. magnetron sputtering에 의하여 증착하였다. ITO 층의 두께는 340 nm이고, 10 Ω/square의 면저항을 가진다. ITO 전극을 제작하기 위하여 PR 패터닝공정을 하고 FeCl₃/HCl 혼합용액을 이용하여 식각하였다. 전기 화학적 검출 시스템은 작업전극 (100 μm 넓이), 기준 전극 (50 μm 넓이), 그리고 대 전극 (200 μm 넓이)의 3전극 시스템으로 구성된다. 미세 채널을 만들기 위하여, 40 μm 두께의 PR (SU-8 50)을 Si-wafer위에 spin-coating 하였다. 패터닝된 PR의 높이는 PDMS 층에 만들어질 미세 채널의 깊이와 같은 40 μm이다. PDMS는 Sylgard 184 silicone elastomer and curing agent를 10:1의 비율로 섞어 SU-8 패터닝된 실리콘 Si-wafer에 부은 후 72 °C에서 1시간 동안 curing하였다. UV-Ozone cleaner를 사용하여 PDMS와 유리 기판을 접합하였다.



〈그림 1〉. Prussian Blue의 격자구조. ○와 ●는 Fe^{II}와 Fe^{III}를 나타내고 질소와 탄소의 삼중결합으로 구성되어있고 말단에서 수소에 의한 산화환원반응이 진행된다.

2.3 PB film의 전착

전기촉매제 역할을 위한 PB 박막은 전극에 전착되었다. PB박막 전착 전, ITO 유리기판을 10분 동안 염산에 담가둔 후 암모니아수, 과산화수소 그리고 3차 증류수의 혼합물 (1:1:5)에 1시간 동안 세척을 하였다. PB 박막이 전착된 ITO 전극은 3차 증류수로 세척한 후 N₂ 가스를 이용해 건조되었다.

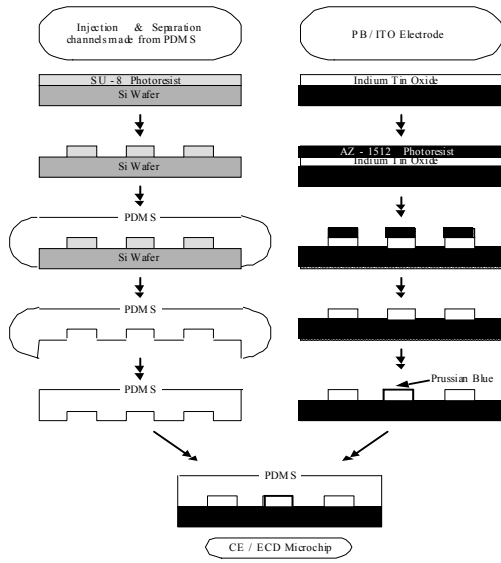
2.4 측정방법

완충용액은 10 N NaOH를 이용하여 pH가 6.5로 조정된 10 mM MES 완충용액이 사용되었다. 미세채널의 세척을 위해 아세톤과 3차 증류수를 미세 채널에 흘려주고, 완충용액을 1시간가량 채널에 흘려주어 채널 내에 채워주었다. 모든 reservoir들과 채널들이 완충용액으로 채워져 있을 때, sample reservoir에 검출하고자 하는 물질 (비스페놀 A과 부티페놀)을 주입하였다. 검출물질들을 주입한 후 미세채널이 교차되는 부분에 검출물질을 전기영동으로 주입하기 위하여 sample reservoir와 sample waste reservoir사이에서 50 V/cm의 전계를 7초 동안 인가해주었다. 검출물질의 분리를 위해 buffer reservoir와 detection reservoir사이에서 60 V/cm의 전계를 인가해주었고 작업전극과 기준전극 사이의 검출전위는 +700 mV의 DC 전압을 인가하였다. 모든 측정 데이터는 컴퓨터를 통해 바로 저장하였다.

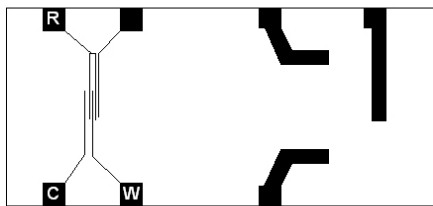
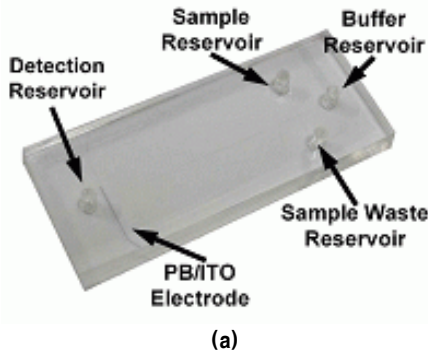
2.5 결과

그림 4(a)는 비스페놀 A가 bare ITO전극을 이용한 장치에서 검출된 전기영동도를 나타내고 그림 4(b)는 비스페놀 A가 PB/ITO전극을 이용한 장치에서 검출된 전기영동도를 보여준다. 검출된 전류값을 비교해 볼 때, bare ITO전극의 그것보다 PB/ITO전극에 의한 그것이 6배 이상 높은 것을 보여준다. 이는 환경호르몬인 비스페놀 A가 PB/ITO전극과 산화환원반응을 더 잘 보여 감도가 뛰어나다는 것을 말한다. 또한 검출 시간은 PB/ITO전극을 이용하였을 시 bare ITO전극을 이용하였을 때의

그것보다 더 짧다는 것을 알 수 있다. 그림 5 는 비스페놀 A와 부틸페놀의 전기영동도를 보여준다. 비스페놀 A의 검출 시간과 검출된 전류의 값을 그림 3과 비교해보면 그 위치와 크기가 비슷하다는 걸 확인할 수 있다.



<그림 2> PB/ITO 전극을 이용한 검출기 제작 과정



(b)

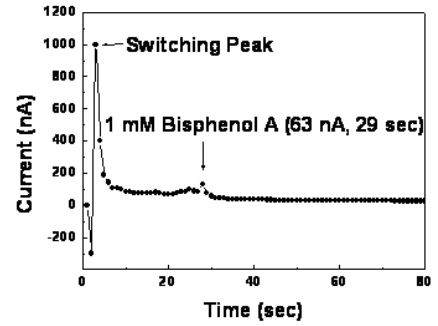
<그림 3> 모세관 전기영동을 이용한 전기화학적 검출기의 구조. (a) 검출기 사진 (b) 유리 기판 위의 3전극 시스템.

3. 결 론

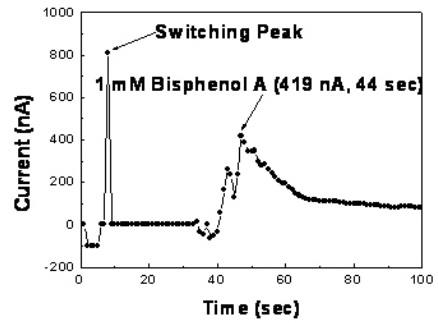
저비용, 고효율의 모세관 전기영동-전기화학적 검출기 제작을 위하여 기존의 널리 쓰이는 전극을 포함하여 여러 전극들의 특성을 비교하였다. PB/ITO 전극의 경우, 기존의 널리 사용되는 전극인 Au보다 경제적인 면에서 더 뛰어나고 쉽고 간단한 전극 제작이 가능하고 또한 bare ITO 전극보다 높은 감도를 보였다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 2단계 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었음.

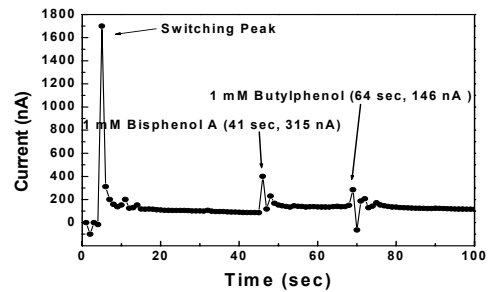


(a)



(b)

<그림 4> Bare ITO전극을 이용한 전기화학적 검출기에 의한 비스페놀 A의 전기영동도. (a) PB/ITO전극을 이용한 전기화학적 검출기에 의한 비스페놀 A의 전기영동도 (b).



<그림 5> PB/ITO전극을 이용한 전기화학적 검출기에 의한 비스페놀 A와 부틸페놀의 전기영동도.

[참 고 문 헌]

- [1] Z. Liu, "Analysis of environmental biomarkers in urine using an electrochemical detector", J.Chromatography B, Vol. 819, pp. 155-159, 2005.
- [2] P. D. Voegell, "Electrochemical detection in capillary electrophoresis", Electrophoresis, Vol. 18, pp. 2267-2278, 1997.
- [3] D.J. Harrison et al, "Chemical analysis and electrophoresis systems integrated on glass and silicon chips", Anal. Chem., Vol. 64, pp. 110-113, 1992.
- [4] R. S. Martin, "In-Channel Electrochemical Detection for Microchip Capillary Electrophoresis Using an Electrically Isolated Potentiostat", Anal. Chem., Vol. 74, pp. 1136-1143, 2002.
- [5] C. Qijin, "Amperometric biosensors based on the immobilization of oxidases in a Prussian blue film by electrochemical codeposition", Anal. Chem. Acta, Vol. 310, pp. 429-436, 1995.