

# 요산의 초음파 전기화학적 정량

조형화 · 배준웅<sup>†</sup>

경북대학교 자연과학대학 화학과

(2000년 10월 6일 접수 : 2000년 10월 20일 채택)

## Sono-electrochemical Determination of Uric Acid

Hyung-hwa Cho and Zun-ung Bae<sup>†</sup>

Department of Chemistry, Kyungpook National University

(Received October 6, 2000 : Accepted October 20, 2000)

### 초 록

전기화학적 방법으로 요산을 정량함에 있어서 전극의 활성을 증가시키기 위하여 초음파를 조사하여 요산의 정량을 시도하였다. 요산의 정량의 최적조건을 조사하기 위하여 초음파의 세기, 시간, 전해질 용액의 pH, 온도 등의 영향을 조사하였고 전극의 안정성에 대해서도 조사하였다. 최적 조건은 25.0°C, pH 7.0, 초음파의 파워 20 W/cm<sup>2</sup>의 조건이었으며 8.0×10<sup>-6</sup>~5.0×10<sup>-4</sup>M의 직선범위를 가졌고, 검출한계는 6.5×10<sup>-6</sup>M이었다.

**Abstract :** Determination of uric acid by electrochemical method using ultrasonic stimulation has been investigated. Effects of sonication power, sonication time, pH of the solution and temperature were studied to obtain the optimal analytical conditions. The stability of the electrode was also examined. The optimal conditions for the sonovoltammetric determination of uric acid were as follows: temperature, 25.0°C; pH 7.0; sonication power, 20 W/cm<sup>2</sup>. The calibration curve for the determination of uric acid by sono-LSV was linear over the range of 8.0×10<sup>-6</sup>~5.0×10<sup>-4</sup> M and the limit of detection was 6.5×10<sup>-6</sup> M.

**Key words :** Uric acid, Sonovoltammetry, Electrochemistry, Ultrasound, Cavitation, Voltammetry

## 1. 서 론

요산은 핵산의 종말 대사 산물로 생체 내에서의 핵산 및 핵단백질의 이상을 규명하는데 유용한 지표로 사용되는 물질이다. 요산은 합성장소가 불분명하지만 인체의 간 및 근육에서 합성되는 것으로 알려져 있으며 합성된 요산의 2/3는 신장을 통해 소변으로 배출된다. 혈 중의 요산은 요산의 생합성과 소변으로 배설을 통해 균형이 잘 유지되고 있지만 통풍환자에게 있어서는 이 균형이 깨어져 요산의 총량이 일반인의 3~30배까지 증가하므로 요산의 함량을 신속하고 정확하게 측정할 수 있는 분석법의 개발이 요구되어 왔다.<sup>1)</sup>

요산의 정량 방법은 효소를 이용한 분광 광도법을 이용하지만 이 방법은 아스코르빈산, bilirubin의 물질이 혼합된 시료에서는 방해 받는다.<sup>2)</sup> 또, 전기화학적 방법을 이용하여 정량하는데 분석감도와 선택성을 증가시키기 위하여 다양한 수식 전극들이 개발되어왔다.<sup>3-7)</sup>

최근에는 초음파를 이용하여 선택성과 감도를 높이기 위한 연구들이 행해지고 있다.<sup>8-13)</sup> 초음파의 조사는 전극반응에서 작업 전극의 활성증가와 질량이동메커니즘의 속도를 향상시켜 주며

수용액에서의 OH 라디칼의 생성을 도와주는 장점을 가지고 있어서 비가역적 반응, 전극에 흡착하는 물질 등의 정량이 어려운 물질들의 정량에 이용되어지고 있다. 현재 널리 응용되고 있는 분야는 시료속에 극미량 함유되어 있는 금속의 분석<sup>12,13)</sup>과 생체에 존재하는 전기활성물질이면서 산화환원반응의 속도가 느린 물질들에 응용이 되고 있다.<sup>8-11)</sup>

본 연구에서는 전기화학적 방법으로 요산을 정량함에 있어서 유리질 탄소 전극에 초음파를 조사하여 선택성과 감도를 증가시키기 위해 분석특성을 조사하고 검정선 및 실제 소변중의 요산의 정량에 적용하고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약

시료로 사용한 uric acid(Sigma, 99.0%, USA)는 2.0×10<sup>-4</sup>M 저장용액을 만들어 실험 직전에 적당한 농도로 희석하여 사용하였다. 완충용액을 만들기 위해서 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck, ACS, 99.5%, Germany)와 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(Merck, ACS, 99.5%, Germany)를 사용하여 pH를 조절하여 만들어 사용하였고, 이외의 모든 시약들은 특급시약과 분석등급의 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다.

<sup>†</sup>E-mail : zubae@knu.ac.kr

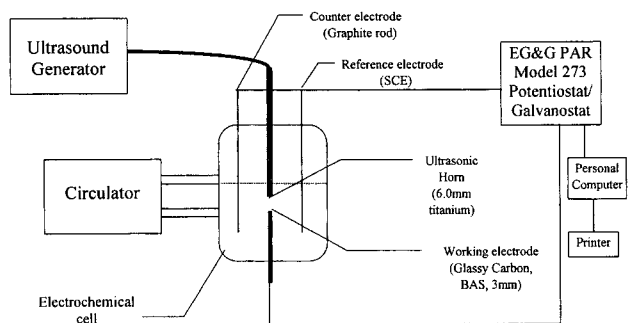


Figure 1. Schematic diagram of the sonoelectrochemical measurement system.

### 2.2. 기기

본 실험에서 초음파를 조사하기 위해 사용한 초음파기로는 Sonics & Material 사의 Model VC 130을 사용하였고, ultrasonic probe는 티타늄 horn 6 mm를 사용하여 20 KHz의 주파수를 가지는 것을 사용하였다. 또한 전압-전류곡선을 얻기 위하여 EG&G사의 Model 273 potentiostat/galvanostat을 270/250 software 와 연결하여 개인용 컴퓨터로 모니터링 하였다. 사용한 전극의 구성은 작업전극을 BAS Model MF 2012의 유리질 탄소전극(3 mm)을 사용하였고, 기준전극은 EG & G PAR Model K0077 SCE(USA)를, 보조전극으로는 탄소막대를 사용하였다. 그리고 일정 온도를 유지하기 위하여 NESLAB 사의 Model RTE-211 isotemp. digital circulator(Newington, NH, USA)를 사용하여 25±0.5°C로 조절하여 사용하였고, pH 측정을 위해서는 Orion사의 EA 940 Ion analyzer(Cambridge, MA, USA)를 사용하였다.

또한 작업전극의 세척은 전극 표면을 깨끗이 하기 위하여 Buehler사의 직경 1.0, 0.3, 0.05 micron alumina를 차례로 사용하여 Buehler사의 nylon 천에 전극을 닦아 사용하였다.

실험장치의 개략도를 Figure 1에 나타내었으며 실험은 시료 용액인 요산이 담겨진 전해용기에 초음파기의 probe와 5 mm의 거리를 두고 작업전극을 180°로 마주보게 배치하여 초음파의 효과를 크게 할 수 있도록 자체 제작한 전해용기를 사용하였고, 기준전극과 보조전극은 probe와 같은 방향으로 배치하여 전압전류곡선을 얻었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 요산의 전기화학적 특성

유리질 탄소전극에서 초음파 조사가 요산의 산화환원반응의 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 pH 7.0 인산염 완충용액으로 조절된 1.0×10<sup>-4</sup>M 요산용액에서 전위범위 -800~+800 mV (vs. SCE) 사이에서 선형주사 전압전류곡선을 얻어, 초음파를 조사하지 않은 경우(a)와 초음파를 조사했을 때의 결과(b)를 Figure 2에 나타내었다. 이 그림에서 관찰되는 산화전류는 uric acid가 산화되어 allantoin이 되는 것으로, 초음파 조사전의 요산의 산화전류가 3.67 μA인 반면, 초음파 조사함으로써 52.54 μA로 14배 이상 증가하였다. 변성전극을 사용한 이전의 연구<sup>2)</sup>와 비교해 보면 최소 5배 이상의 전류 증가를 보임을 확인하였다. 이는 작업전극에 수직으로 초음파를 조사함으로써 초음파에 의해 용액중의 요산이 작업전극 쪽으로의 질량이동을 도와주어 반응속도를 향상시켜 전극표면에 충분히 요산의 이동이 가능해졌기 때문이라 여겨진다.

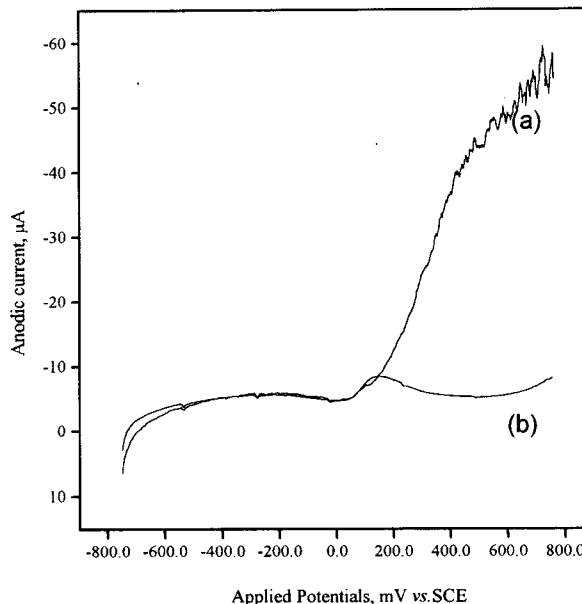


Figure 2. Linear sweep voltammograms of 1.0 × 10<sup>-4</sup>M uric acid at a glassy carbon electrode without sonic wave irradiation (a), and with sonic wave irradiation (b) in pH 7.0 phosphate buffer solution: temperature; 25°C, scan rate; 50 mV/s, sonication power; 20 W/cm<sup>2</sup>.

### 3.2. 분석 조건 조사

초음파 전압전류법으로 요산을 정량하기 위하여 여러 가지 분석조건을 조사하여 보았다. 먼저 pH에 대한 영향을 6.0~8.0까지의 pH범위에서 조사하였으며 pH 7.0에서 가장 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

온도에 대한 영향은 초음파 조사에 따라서도 주위의 온도가 증가하므로 별 영향을 미치지 않으나 40°C이상의 온도에서는 요산의 산화전류가 증가함을 확인은 하였으나 실제 시료의 적용에 쉽게 하기 위해서 거의 영향을 미치지 않는 25.0°C에서 실험을 실시하였다.

또, 20 kHz 초음파의 power에 대한 영향을 3~30 W/cm<sup>2</sup> 조사하였다. 그 결과 20 W/cm<sup>2</sup> 이상의 power에서 거의 일정해지는 곡선을 얻을 수 있어서 최적 조건을 20 W/cm<sup>2</sup>로 정하였다.

### 3.3. 검정선

위의 실험에서 조사한 최적조건인 25.0°C, pH 7.0, 20 kHz 초음파 power 20 W/cm<sup>2</sup>에서 요산의 정량범위를 조사하기 위하여 선형주사 전압전류법으로 검정선을 얻어보았다. 그 결과 초음파를 조사하지 않은 유리질 탄소 전극에서는 3.0×10<sup>-5</sup>M~5.0×10<sup>-4</sup>M의 직선범위와 상관계수 0.969의 값을 가졌으나 초음파 조사 전극에서는 8.0×10<sup>-6</sup>~5.0×10<sup>-4</sup>M의 직선범위와 상관계수 0.998을 가짐을 확인하였다. 검정선을 Figure 3에 나타내었다. 이 그림에서 알 수 있듯이 초음파를 사용함으로써 직선성이 증가하며 직선의 기울기도 크게 증가하여 정량의 오차를 줄일 수 있음을 확인하였다. 그리고 실제 시료인 소변이나 혈액속의 단백질 성분을 초음파가 분해하여 주므로 이에 대한 방해가 적을 것으로 예상되며 실제 시료의 적용에 유리하리라 여겨진다.

또, 검출 한계는 검정선이 곡선과 직선범위를 벗어나는 범위에서 직선이 서로 만나는 점을 외삽하여 결정하였는데, 이렇게 결정한 검출한계는 6.5×10<sup>-6</sup>M이었다. 이는 변성전극을 사용한 Cai등<sup>3)</sup>의 연구에서의 결과인 5.9×10<sup>-8</sup>~1.2×10<sup>-4</sup>M의 정량범위와 3.0×10<sup>-8</sup>M의 검출한계와 비교하면 좋은 결과가 아니지만,

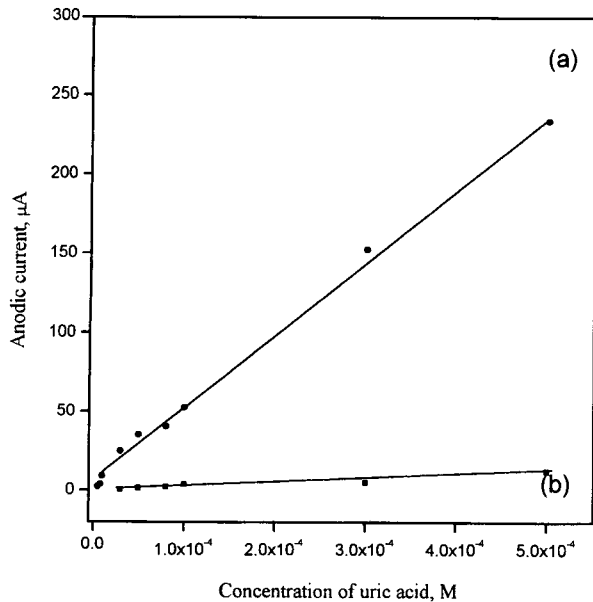


Figure 3. Calibration curve for the determination of uric acid at a glassy carbon electrode using sono-LSV (a) and LSV (b) : pH 7.0 phosphate buffer, temperature; 25°C, scan rate; 50 mV/s, sonication power; -20 W/cm<sup>2</sup>.

실제 임상시료의 정량에는 별 문제가 없는 것으로 생각한다.

### 3.4. 안정성

초음파 선형주사 전압전류법으로 요산을 정량함에 있어서 초음파를 사용함에 따라 전극의 세척과정을 생략하고 연속적으로 측정하였을 때에 연속 사용가능한 횟수를 조사하여 보았다. 그 결과 70회 이상을 사용하여도 상대 표준편차가 2.0% 미만으로 초음파를 계속 조사함에 따라 새로운 전극표면이 생성되므로 실제 시료인 소변 속에 있는 요산의 정량이 용이할 것으로 생각한다.

## 4. 결 론

초음파 선형전압전류법으로 요산을 정량하기 위하여 초음파

에 따른 요산의 전압전류법적 특성과 분석특성 그리고 검정선을 조사하였다. 그 결과 검정선은 초음파 조사를 하지 않은 전극과 비슷한 결과를 보였으나 초음파의 사용으로 질량이동의 촉진 그리고 새로운 전극표면의 생성이 요산의 산화환원반응을 도와주어 좋은 촉매 역할을 해 주는 것을 확인할 수 있었고, 이 방법을 사용한다면 혈액이나 소변속의 요산을 정량함에 있어서 가장 방해가 큰 고분자량의 단백질의 방해줄을 줄일 수 있어 전처리 과정없이도 손쉽게 요산의 정량에 이용이 가능하리라 여겨진다.

## 감사의 글

본 연구는 2000년도 경북대학교 공모과제 연구비의 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. M. K. Campbell, In "Biochemistry", Saunders College publishing, 480 (1991).
2. Patricia A. Kreutler, In "Nutrition", Prentice-Hall, 294 (1980).
3. T. Yao, Y. Taniguchi, T. Wasa, S. Musha, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **51**, 2937 (1978).
4. F. H. Keedy, P. Vaagama, *Biosen. Bioelec.*, **6**, 491 (1991).
5. X. Cai, K. Kalcher, C. Neuhold, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **348**, 660 (1994).
6. J. M. Zen, J. S. Tang, *Anal. Chem.*, **67**, 1892 (1995).
7. Y. Okawa, H. Kobayashi, T. Ohno, *Anal. Chim. Acta*, **315**, 137 (1995).
8. Ana Maria Oliveira Brett, Frank-Michael Matysik, *Bioelec. Bioenergetics*, **42**, 111 (1997).
9. R. P. Akkermans, R. C. Compton, *Electroanalysis*, **8**, 218 (1996).
10. R. P. Akkermans, M. Wu, R. C. Compton, *Electroanalysis*, **10**, 814 (1998).
11. J. Davis, R. C. Compton, *Anal. Chim. Acta*, **404**, 241 (2000).
12. R. P. Akkermans, J. C. Ball, F. Marken, R. C. Compton, *Electroanalysis*, **10**, 26 (1998).
13. R. P. Akkermans, J. C. Ball, F. Marken, t. O. Rebbitt, R. C. Compton, *Electrochim. acta*, **43**, 3443 (1998).