

# 전도성고분자, 티로시나아제 효소 및 이온성 액체 전해질을 융합한 전압전류법 기반의 비스페놀F 검출 센서

지성은 · 이상혁 · 이혜진<sup>†</sup>

경북대학교 화학과

(2023년 3월 21일 접수, 2023년 4월 4일 수정, 2023년 4월 4일 채택)

## Voltammetric Sensor Incorporated with Conductive Polymer, Tyrosinase, and Ionic Liquid Electrolyte for Bisphenol F

Sung Eun Ji, Sang Hyuk Lee and Hye Jin Lee<sup>†</sup>

Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu-city 41566, Republic of Korea

(Received March 21, 2023; Revised April 4, 2023; Accepted April 4, 2023)

### 초 록

본 연구에서는 일회용 센서 칩으로 제작 가능한 스크린 프린팅된 탄소칩 전극(screen printed carbon electrode; SPCE) 표면에 전도성고분자 및 효소 티로시나아제(tyrosinase, Tyr)를 적층하여 전기화학적 방법으로 남성 질환, 갑상선 질환 등과 연관성이 입증된 내분비계 교란 물질인 비스페놀F (bisphenol F, BPF) 검출에 적용하였다. 산소 플라즈마 처리를 통해 음전하를 띠게 한 SPCE 작업전극 표면에 양전하를 띠는 전도성 고분자인 poly(diallyldimethyl ammonium chloride) (PDDA)과 음전하를 띠는 고분자 화합물 poly(sodium 4-styrenesulfonate) (PSS) 그리고 PDDA 순서대로 정전기적인 인력으로 층을 쌓고, 최종적으로 pH (7.0)를 조절하여 음전하를 띠게 한 효소, Tyr층을 올려 PDDA-PSS-PDDA-Tyr 센서를 제작하였다. 상기 전극 센서를 기질이 타겟분석물인 BPF 용액에 접촉하면, 전극 표면에서 Tyr 효소와 산화반응에 의해 4,4'-methylenebis(cyclohexa-3,5-diene-1,2-dione)가 생성되고, 순환전압전류법과 시차펄스전압전류법을 이용하여 생성물을 0.1 V (vs. Ag/AgCl)에서 환원하면 4,4'-methylenebis(benzene-1,2-diol)이 생성되면서 발생하는 피크 전류값의 변화를 측정함으로써, BPF의 농도를 정량적으로 분석하였다. 또한, 기존에 많은 연구에서 사용되는 인산완충생리식염수를 대체할 수 있는 이온성 액체 전해질을 사용하여 BPF의 검출 성능 결과를 비교하였다. 또한 BPF와 유사한 구조를 갖는 방해물질로 작용하는 비스페놀S에 대한 선택성을 확인하였다. 마지막으로 실험실에서 준비한 실제 시료 안의 BPF의 농도를 분석하는데 제작한 센서를 적용함으로써 센서의 실제 적용 가능성을 입증하고자 하였다.

### Abstract

In this study, conductive polymers and the enzyme tyrosinase (Tyr) were deposited on the surface of a screen printed carbon electrode (SPCE), which can be fabricated as a disposable sensor chip, and applied to the detection of bisphenol F (BPF), an endocrine disruptor with proven links to male diseases and thyroid disorders, using electrochemical methods. On the surface of the SPCE working electrode, which was negatively charged by oxygen plasma treatment, a positively charged conductive polymer, poly(diallyldimethyl ammonium chloride) (PDDA), a negatively charged polymer compound, poly(sodium 4-styrenesulfonate) (PSS), and another layer of PDDA were layered by electrostatic attraction in the order of PDDA, PSS, and finally PDDA. Then, a layer of Tyr, which was negatively charged due to pH adjustment to 7.0, was added to create a PDDA-PSS-PDDA-Tyr sensor for BPF. When the electrode sensor is exposed to a BPF solution, which is the substrate and target analyte, 4,4'-methylenebis(cyclohexa-3,5-diene-1,2-dione) is generated by an oxidation reaction with the Tyr enzyme on the electrode surface. The reduction process of the product at 0.1 V (vs. Ag/AgCl) generating 4,4'-methylenebis(benzene-1,2-diol) was measured using cyclic and differential pulse voltammetries, resulting in a change in the peak current with respect to the concentration of BPF. In addition, we compared the detection performance of BPF using an ionic liquid electrolyte as an alternative to phosphate-buffered saline, which has been used in many previous sensing studies. Furthermore, the selectivity of bisphenol S, which acts as an interfering substance with a similar structure to BPF, was investigated. Finally, we demonstrated the practical applicability of the sensor by applying it to analyze the concentration of BPF in real samples prepared in the laboratory.

**Keywords:** Bisphenol F, Voltammetric measurements, Tyrosinase, Screen printed carbon electrode, Ionic liquid

<sup>†</sup> Corresponding Author: Kyungpook National University  
Department of Chemistry, Daegu-city 41566, Republic of Korea  
Tel: +82-53-950-5336 e-mail: hyejinlee@knu.ac.kr

## 1. 서 론

## 2. 실 험

비스페놀류는 일상생활에서 플라스틱, 폴리카보네이트, 에폭시 수지 제조, 음료 및 식품의 캔 코팅, 고무 재료의 합성 등 다양한 제품들 속에 사용되는 물질 중 하나이다[1]. 그 중 주로 사용되었던 비스페놀 A (bisphenol A)는 인체내의 심각한 내분비계 교란과 다양한 질병을 야기시키는 등[2-6]의 유해성으로 인한 엄격한 규제가 적용되었기 때문에, 화학적 구조가 비슷한 비스페놀F (bisphenol F, BPF)가 대체물질로 사용되었다[7-9]. 하지만 비슷한 화학구조 때문에 내분비계의 교란 등 생식 독성이 그대로 보전될 수 있다는 연구 결과가 속출되며, 특히 남성의 테스토스테론 감소 및 에스트로젠 활성 증가에 영향을 미치고, 갑상선 호르몬, 면역체계, 운동 신경 발달의 감소 등의 영향을 끼치는 것으로 밝혀졌다[10-13]. 이처럼 BPF가 다양한 질병을 유발할 수 있음에도 불구하고 BPF의 위험성에 대한 인지나 모니터링이 활발히 이루어지지 않고 있기 때문에 이를 사전에 예방하기 위한 간편하고 경제적인 측정 센서의 개발이 필요한 상황이다.

비스페놀류의 검출은 주로 질량분석법을 이용한 액체 크로마토그래피[14-16] 및 가스 크로마토그래피[17-18] 방법을 통해 이루어져왔다. 이는 정확 정밀도 면에서 우수한 장점을 가지지만 훈련된 전문가를 필요로 하고 많은 시간과 비용을 소모하게 된다. 비교적 검출이 간편하고 이동성이 좋은 형광[19] 및 전기화학적 분석 방법[20] 또한 개발되어 왔으며, 그 중 전기화학을 이용한 검출방법은 신속한 분석, 우수한 감도 및 선택성의 추가적인 장점을 가지고 있다[21]. 비스페놀류 검출에서 전기화학적 방법의 감도 및 선택성 증대를 위해 페놀기와 특이적으로 반응하는 효소-기질 반응을 이용하거나 또는 이에 탄소소재[22], 금속성 나노 입자[23], 고분자 폴리머[24]를 도입하는 등의 다양한 연구가 수행되어왔다.

본 연구에서는 스크린 프린팅된 탄소 전극침에 전도성 고분자 폴리머를 물리적 흡착 방법으로 고정하여 전기 전도성을 높이고, 효소 티로시나아제(tyrosinase, Tyr)를 전극 표면에 도입하여 감도와 선택성을 증대함과 동시에 상온에서 이온으로 존재하며, 우수한 이온 전도도, 높은 열적 및 화학적 안정성 등의 장점[25-27]을 갖는 이온성 액체를 전해질로 활용하여 BPF 검출에 특이적인 바이오센서를 개발하고자 하였다. 본 연구에서 사용된 물리적 흡착 방법을 탄소 소재의 전극침에 융합할 경우, 기존의 공유적 방법을 이용한 경우[28-29]보다 실험 과정이 간단하고 시간을 단축시키며, 미량의 시료로 검출이 가능하다는 장점을 가진다. 개발한 바이오센서의 전극 표면에 도입된 Tyr 효소가 기질인 BPF와 접촉하였을 때 효소-기질 산화 반응에 의해 4,4'-methylenebis(cyclohexa-3,5-diene-1,2-dione)을 만들어지고, 이를 0.1 V(vs. Ag/AgCl)에서 환원하면 4,4'-methylenebis(benzene-1,2-diol)이 생성되는데 이 때 발생하는 피크 전류값의 변화가 BPF의 농도에 비례함을 기반으로 BPF를 정량분석하였다. 순환전압전류법(cyclic voltammetry, CV)과 시차펄스전압전류법(differential pulse voltammetry, DPV)의 방법을 사용하였으며, 이온성 액체와 PBS 전해질 조건에서 BPF의 정량검출 성능 결과를 비교하였다. 검출타겟인 BPF와 유사한 구조체를 가진 비스페놀S (bisphenol S, BPS)를 방해물질로 선정하여 이에 대한 BPF 센서의 선택성을 확보하였다. 최종적으로 개발한 센서를 실제 시료(예: 라텍스 장갑)에서 BPF의 농도를 분석하는 데 적용하였다.

### 2.1. 시약 및 재료

Benzyl chloride (ReagentPlus®, 99%, contains  $\leq$  1% propylene oxide as stabilizer, Sigma-Aldrich), 1-butylimidazole (98%, Sigma-Aldrich), ethyl acetate (ACS reagent,  $\geq$  99.5%, Sigma-Aldrich), potassium hydroxide (reagent grade, 90%, flakes, Sigma-Aldrich), bisphenol F ( $\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_4\text{OH})_2$ ), Sigma-Aldrich), tyrosinase from mushroom (lyophilized powder,  $\geq$  1000 unit/mg solid, 8503 units/mg, Sigma-Aldrich), poly(diallyl dimethylammonium chloride) solution (PDDA, 35 wt% in  $\text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich), poly(sodium 4-styrenesulfonate) (PSS, average Mw  $\sim$ 70,000, Sigma-Aldrich)를 사용하였다. 인산완충생리식염수(phosphate buffered saline, PBS)의 경우, PBS 10x (pH 7.4, Thermo Fisher)를 증류수로 10배 희석하여 제조하고, pH 7.0에 맞추어 고분자 물질 제작 및 전기화학 측정에 사용하였다. 모든 수용액은 Millipore 필터를 통하여 여과된 증류수를 사용하여 제조하였다.

### 2.2. 이온성 액체의 합성

본 연구에서 센서의 전해질로 사용하고자 하는 이온성 액체는 Salman *et al.*의 논문을 참고하여 합성하였다[30]. 먼저, 1-butylimidazole과 benzyl chloride의 몰 비율을 1:1로 유지하여 약 60 °C에서 천천히 20시간 동안 연속적으로 교반하면서 반응시킨 후, 이 때 생성된 용액(1-benzyl-3-butylimidazolium (BzBIM) chloride)을 에틸아세테이트 용매로 여러 번 세척하여 반응하지 않은 잔류물을 제거하였다. 상기 생성물 용액을 진공오븐에서 건조하여 과량의 용매를 65 °C, 4시간 동안 증발시키고, 이를 KOH 용액과 1:1 몰 비율로 혼합한 후 상온에서 12시간 동안 격렬하게 교반 반응을 하였다. 이때, 얻어진 생성물을 여과하고 에틸아세테이트 용매로 세척한 후, 약 90 °C에서 건조한 결과 황색을 띠는 이온성 액체 [BzBIM]OH를 얻었다.

### 2.3. BPF 측정용 전압전류법 센서 제작 및 측정방법

Screen printed carbon electrode (SPCE)침은 작업 전극(표면 넓이 = 1.6 mm<sup>2</sup>)으로 탄소잉크를, 보조전극으로 탄소잉크를, 기준전극으로 Ag/AgCl 잉크를 스크린프린팅 기술을 이용하여 제작하였다(Daeyoungsilk Co. Ltd). Figure 1에 BPF 측정용 센서 제작방법의 모식도를 간단히 나타내었다. 먼저 SPCE 표면을 에탄올과 증류수로 헹군 후 에어 블로워로 건조하고 산소 플라즈마 장비를 이용하여 100 W에서 2초 동안 처리함으로써 표면에서의 불순물을 제거하고 약간의 음전하를 띄도록 하였다(i). 작업 전극 표면 위에 양전하를 갖는 1.0% PDDA 수용액 (PBS, pH 7.0) 3  $\mu\text{L}$ 를 도포하고 자연 건조한 후 전극 표면을 증류수로 워싱 후 건조하였다(ii). 5 mg/ml PSS (PBS, pH 7.0) (iii)와 PDDA 수용액(iv)을 순차적으로 3  $\mu\text{L}$ 씩 도포하고 위와 같은 방법으로 건조하였다. 마지막으로, 상기 전극표면에 0.5 mg/ml Tyr 효소(PBS, pH 7.0)를 도포하고, 4 °C 차광조건에서 인큐베이션 하였다(v). 제조된 탄소전극 표면의 형태는 전계방출 주사전자현미경(Field Emission Scanning Electron Microscope, FE-SEM, Hitachi, SU8220 & SU8230)를 이용하여 조사하였다. 전기화학적 측정은 현장검사용 다채널 multichannel 정전위기(PalmSens OEM EmStat MUX8, Netherlands)와 Palm Sense (PS Trace) 프로그램(ver 5.3)을 이용하였으며, CV의 경우 스캔 속도는 50 mV/s였으며, DPV의 경우 스텝 전위는 10 mV, 스캔 속도는 50 mV/s의 조건에서 진행하였다. BPF 검출 반응은 [BzBIM]OH (pH 6.3) 이온성 액체 전해질과 PBS (pH 7.0) 완충용액

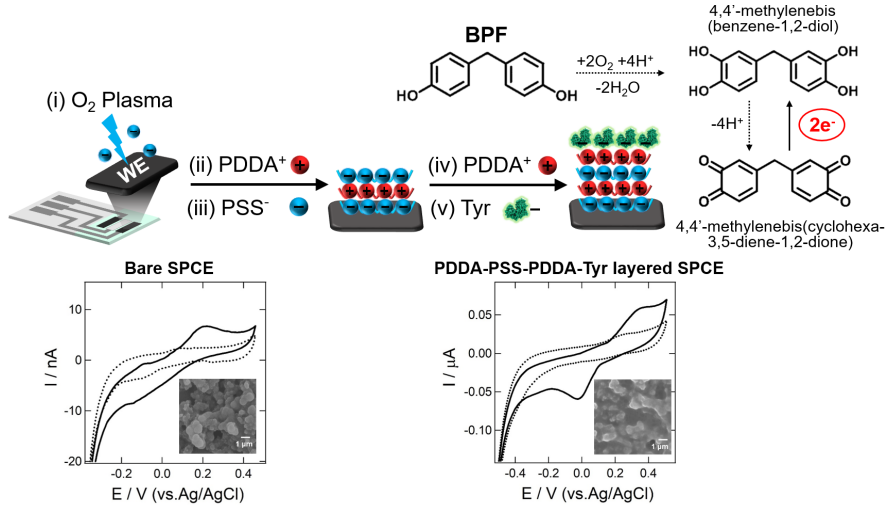


Figure 1. A simplified scheme showing the procedure of fabricating PDDA-PSS-PDDA-Tyr layered SPCE sensor. Representative SEM image of bare (i) and PDDA-PSS-PDDA-Tyr layered SPCE (v). CV data are also shown in the absence (.....) and presence (—) of 20 μM BPF in a [BzBIM]OH ionic liquid electrolyte.

을 이용하여 수행하였다.

2.4. 실제 시료 준비

실제 시료는 라텍스 장갑 0.1 g을 잘게 분쇄하여 에탄올 5.0 mL 안에서 30분간 초음파 분해를 진행한 후 4 °C, 차광 조건에서 24시간 동안 숙성시킨 후 상층액을 수거하고, 라텍스 장갑 재질이 포함된 하층액에 에탄올 5.0 mL을 넣어 24시간 다시 숙성하고, 상층액을 수거하여 제조하였다. 수거한 상층액을 모아서 실린지 필터(1.0 μm)를 이용하여 이물질을 제거하고, 에탄올 대신 5% (v/v) DMSO수용액에 보관하여 시료로 사용하였다[31].

3. 결과 및 고찰

3.1. 전압전류법을 이용한 BPF 검출

PDDA-PSS-PDDA-Tyr이 적층된 작업전극을 이용하여 전압전류법으로 BPF를 검출하는 분석법의 모식도를 Figure 1에 나타내었다. BPF의 정량분석 전에 먼저 전극표면을 100.0 k 배율로 SEM으로 측정할 결과 아무것도 처리도 하지 않은 탄소 전극칩에 비해 PDDA, PSS 및 Tyr이 적층되었을 때 칩의 표면 형태가 변하면서 좀 더 두꺼워지는 것을 관찰함으로써 PDDA-PSS-PDDA-Tyr 센서가 제작된 것을 확인할 수 있었다. 이와 함께, 플라즈마 처리를 한 탄소 작업전극 그 자체와 PDDA-PSS-PDDA-Tyr로 적층한 작업 전극을 이온성 액체를 전해질로 사용하여 CV를 측정할 결과, 패러데이 산화 및 환원전류의 변화가 거의 없는 전위창의 범위가 -0.4~0.37 V 및 0.4~-0.05 V로 거의 유사함을 확인할 수 있었다. 20 μM의 BPF를 상기 전해질에 첨가하여 BPF의 산화환원반응에 Tyr 효소의 역할을 CV로 조사하였다. Figure 1을 보면, 적층 전의 탄소작업전극을 사용하였을 때 BPF의 산화 또는 환원의 피크가 거의 무시할 정도로 작아서 관찰하기 어려웠다. 하지만, PDDA-PSS-PDDA-Tyr 적층된 작업 전극의 경우, BPF가 기질로 작용하여 Tyr 효소와 2단계의 효소-기질의 산화환원 반응을 통해 중간체 4,4'-methylenebis(benzene-1,2-diol)를 거쳐 4,4'-methylenebis(cyclohexa-3,5-diene-1,2-dione)가 생성되는 것을 0.38 V 및 -0.05 V에서 산화 및 환원반응에 의한 피크 전류값의 변화를 각각 확인할 수 있었

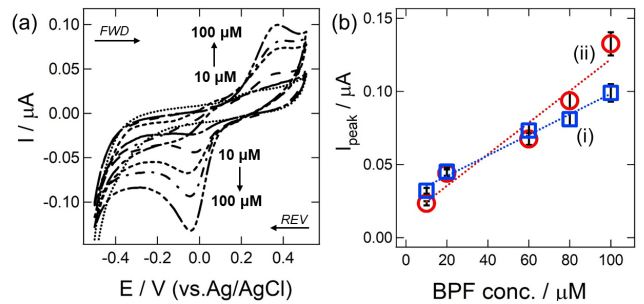
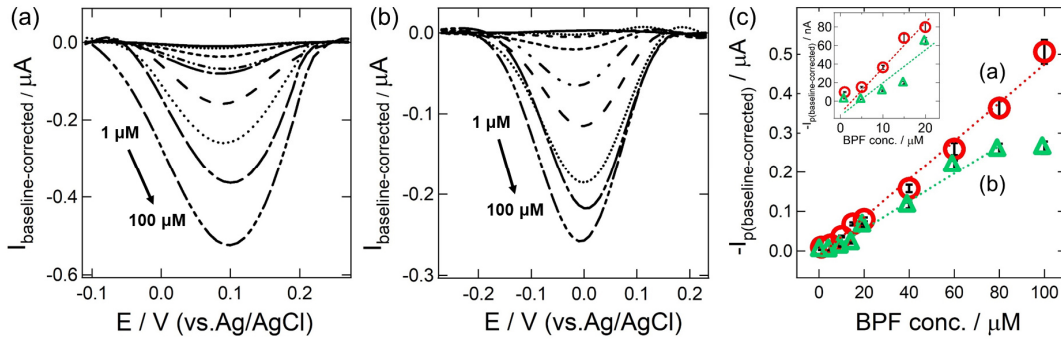


Figure 2. (a) A series of CV data for various concentrations of BPF from 10, 20, 60, 80 and 100 μM in [BzBIM]OH solution using PDDA-PSS-PDDA-Tyr layered SPCE sensor. (b) Linear plots showing the oxidation (i) and reduction (ii) peak currents versus the BPF concentration. The data points were taken from (a).

다. 이는 또한 정전기적 인력에 의해서 활성을 갖는 Tyr 층을 전극표면에 성공적으로 적층함과 함께, 이온성 액체를 전해질로 활용할 수 있음을 암시한다.

이를 바탕으로 PDDA-PSS-PDDA-Tyr 적층된 센서를 이용하여 표면에 고정된 Tyr 농도에서 BPF 농도 변화에 따라 이들의 효소-기질 반응에 의한 산화 및 환원반응으로 전류 값이 증가하는지를 CV로 측정하였다. Figure 2(a)에서 보듯이 BPF의 농도를 10 μM에서 100 μM까지 증가하였을 때 산화 및 환원 각 반응에서 전류 값이 비례하여 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 이는 상기 PDDA-PSS-PDDA-Tyr 적층된 센서를 BPF의 정량분석용으로 활용 가능함을 암시한다. 또한, BPF 농도 변화에 따라 산화 및 환원반응에 의한 피크 전류값의 증가 크기를 비교해 볼 때 기울기가 각각 0.0007 μA/μM과 0.0011 μA/μM로 환원반응에서 개발한 센서의 감도가 좀 더 우수한 것을 알 수 있었다(Figure 2(b)).

개발한 PDDA-PSS-PDDA-Tyr 센서를 이용하여 CV보다 좀 더 민감하게 BPF를 검출하기 위해 BPF 농도변화에 따라 피크 전류 변화가 좀 더 민감하게 변하는 환원반응의 DPV를 측정하고자 하였다. DPV는 주로 매 펄스마다 펄스를 걸기 전과 펄스 끝에서의 전류를 측정하



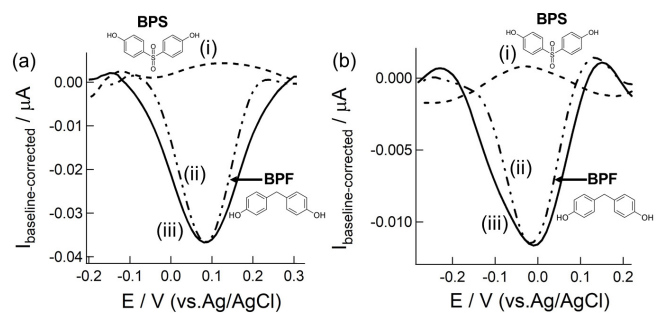
**Figure 3.** Representative DPV data for different concentrations of BPF ranging from 1, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80 and 100  $\mu\text{M}$  in (a) [BzBIM]OH and (b) PBS (pH 7.0) using PDDA-PSS-PDDA-Tyr layered SPCE sensor. (c) Comparison of linear plots of DPV peak currents as a function of BPF concentrations in (a) [BzBIM]OH and (b) PBS (pH 7.0). Data points in (c) are taken from (a) and (b).

여 이들 전류값의 차이를 선형적으로 증가하는 전압의 함수로 기록하는 방법으로 이를 통해 패러데이 전류의 증가와 비패러데이 충전전류의 감소를 통해 감도를 높일 때 사용되는 전압전류법 기술 중에 하나로 전압전류센서 개발에 감도 증대용으로 많이 활용되어왔다[32]. Figure 3(a)에서 보듯이 BPF의 농도를 1  $\mu\text{M}$ 에서 100  $\mu\text{M}$ 로 순차적으로 증가시켰을 때 DPV 환원전류 피크값이 증가함을 확인할 수 있었다. 이를 통해 민감도(직선성 기울기)는 0.0049  $\mu\text{A}/\mu\text{M}$  이고, 검출한계(limit of detection)는 3.03  $\mu\text{M}$ 이며, 정량한계(limit of quantitation)는 10.08  $\mu\text{M}$ 로 CV 측정법 대비 약 3.03배만큼 우수함을 알 수 있다. 이 때 검출한계 농도 값은 '3 sb/m' 및 정량한계 농도 값은 '10 sb/m'식을 이용하였다. 여기서 sb는 분석물을 첨가하지 않은 전류 값의 표준편차를 나타내고, m은 BPF의 농도변화에 따른 전류 값 변화의 선형방정식의 기울기를 나타낸다[33].

이와 함께, 본 연구에서는 Tyr 효소반응을 이용하는 분석법에 주로 사용되는 PBS 완충용액을 전해질로 하여 이온성 액체 전해질의 성능을 비교하였다(Figure 3). 이온성 액체에서와 비슷하게 PBS 전해질 조건에도 BPF 농도 증가(1~90  $\mu\text{M}$ )에 따라 Tyr 효소와의 반응에 의한 DPV 환원전류 피크값이 증가함을 관찰할 수 있었다. PBS 전해질 조건에서 민감도는 0.0035  $\mu\text{A}/\mu\text{M}$ 로 검출한계는 7.48  $\mu\text{M}$ , 정량한계 농도 값은 24.94  $\mu\text{M}$ 이었다. 이온성 액체를 사용할 경우 PBS 전해질보다 민감도와 검출영역이 약 1.4배 향상됨과 동시에 검출한계 및 정량한계도 약 2.5배 정도 낮아짐을 볼 수 있다. 상기 결과는 합성된 이온성 액체가 PBS 전해질과 유사하게 Tyr 효소의 활성을 유지하면서 효소기질의 전기화학적 반응을 이용한 센서 개발에 우수한 대체 전해질로 사용될 수 있음을 제시한다.

### 3.2. 선택성 조사 및 실제 시료 분석에 적용

최종적으로 개발한 센서를 실제시료에서 적용하기 위해서는 방해물질의 효과를 조사하는 것이 중요하다. 본 연구에서는 BPF와 구조가 비슷한 페놀기를 갖는 BPS를 방해물질로 선정하고, BPF의 양을 고정하여 BPS의 농도를 BPF 대비 100배 과량으로 넣어주고 DPV 데이터를 얻어서 비교하였다. Figure 4(a)에서 보듯이 이온성 액체 [BzBIM]OH를 전해질로 사용하였을 때, 1 mM BPS 방해물질만 있을 때 BPF 특이적인 환원 DPV 피크 전류[약 0.1 V (vs. Ag/AgCl)]의 신호가 거의 미비할 정도로 관찰되었으며, BPF 대비 약 100배의 농도인 1 mM의 BPS를 10  $\mu\text{M}$  BPF 용액에 넣은 후 측정하였을 때 BPF 특이적인 환원 DPV 피크 전류[약 0.1 V (vs. Ag/AgCl)]값이 10  $\mu\text{M}$  BPF만 있을 때와 거의 유사한 값으로 나타났다. 선택성 계수( $\log k_{ij}^{\text{amp}}$ )를 구



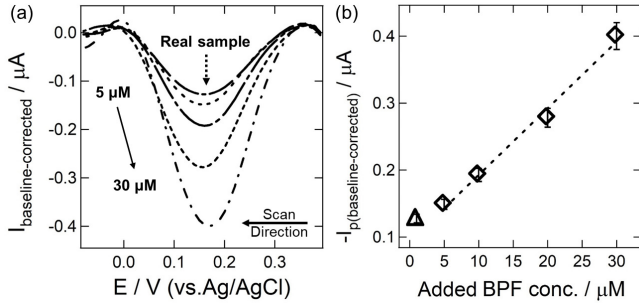
**Figure 4.** Representative DPV results for the selectivity test of PDDA-PSS-PDDA-Tyr layered sensor. (i) 1 mM BPS only, (ii) 10  $\mu\text{M}$  BPF only and (iii) a mixture of 1 mM BPS and 10  $\mu\text{M}$  BPF in (a) [BzBIM]OH and (b) PBS (pH 7.0) solution.

하는 식 (1)[34]을 이용하여 Figure 4(a)의 결과값을 기반으로 계산했을 때 선택성 계수는 -4.56이었으며, 이는 개발한 BPF 센서가 유사물질인 BPS에 대해 우수한 선택성을 갖고 있다는 것을 암시한다. PBS 전해질 조건(Figure 4(b) 참조)에서 실험한 결과에서 이온성 액체 전해질을 사용하였을 때와 유사하게 선택성 계수( $\log k_{ij}^{\text{amp}}$ )가 -3.76으로, 우수한 선택성을 나타내었다.

$$k_{ij}^{\text{amp}} = (I_r I_i) C_i / I_i C_j \quad (1)$$

여기서  $I_i$ 는 BPF (분석물질)와 BPS (방해물질)가 함께 존재할 때 측정된 전류값( $\mu\text{A}$ ),  $I_r$ 는 BPF만 있을 때 측정된 전류값( $\mu\text{A}$ )이며  $C_i$ 와  $C_j$ 는 각각 BPF와 BPS의 농도( $\mu\text{M}$ )를 나타낸다.

최종적으로 제작한 BPF 특이적 전압전류법 센서를 실제 시료(예: 라텍스 장갑)에서 BPF 농도를 분석하는 데 적용하였다. 실험실에서 흔히 사용하는 라텍스 장갑을 잘게 분쇄하여 에탄올 용액에 담근 후 추출하는 방식으로 시료용액을 제조한 용액 그 자체와 시료 용액에 BPF의 농도를 순차적으로 증가시켜 첨가한 용액을 각각 DPV로 측정하였다(Figure 5 참조). 실제 시료 그 자체를 측정할 경우, 전극에 적층된 Tyr 효소가 반응하여 생긴 생성물[4,4'-methylenebis(cyclohexa-3,5-diene-1,2-dione)]의 환원피크 전류는 약 0.18 V (vs. Ag/AgCl)에서 관찰되었으며, 실제 시료에 알려진 농도의 BPF를 점차적으로 증가하여 첨가하였을 때 해당 환원피크 전류값이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 이를 통해 상기 시료에서 얻은 피크 전류는 시료 안에 BPF가 존재하는 것



**Figure 5. (a)** A set of DPV data for the analysis of a sample containing components of latex gloves dissolved in [BzBIM]OH electrolyte using PDDA-PSS-PDDA-Tyr layered sensor. The added BPF concentration to the sample was 5, 10, 20, and 30  $\mu\text{M}$ . **(b)** A plot of DPV peak current versus added BPF concentration. The marker ( $\Delta$ ) is the sample only.

을 암시한다. Figure 5(a)의 피크 전류값을 첨가한 BPF 농도의 함수로 도시화하였을 때 선형 그래프가 얻어졌으며(Figure 5(b)), 이를 핏팅함으로써 실제 시료안에 0.09  $\mu\text{M}$  정도의 BPF가 있다고 예측할 수 있었다. 특이한 점은 PDDA-PSS-PDDA-Tyr이 적층된 BPF 특이적인 센서를 이용하고, 이온성 액체 전해질에 BPF를 첨가하여 얻은 환원 DPV 피크 전류가 나타나는 전위값(Figure 3(a))과 비교했을 때 실제 시료의 경우 약 0.08 V 정도 좀 더 양의 전위로 이동된 전위에서 DPV 환원피크 전류가 관찰되었다. 이는 실제 시료의 매트릭스 효과에 의한 방해 영향으로 인해 일어난 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

본 논문에서는 인간 내분비계를 교란할 수 있는 환경호르몬 물질 중에 하나인 BPF를 검출하기 위해 정전기적 인력에 의한 흡착 방법으로 PDDA-PSS-PDDA-Tyr 층을 탄소작업전극에 적층한 전압전류법 센서를 개발하였다. 기존의 주로 활용되는 완충용액 대신 상온에서 이온으로 존재하는 이온성 액체를 전해질로 사용하고, 제작된 센서와 DPV 방법을 이용하여 1  $\mu\text{M}$  에서 100  $\mu\text{M}$  농도 영역에서 BPF를 검출할 수 있었으며, 검출 한계 농도 값은 3.03  $\mu\text{M}$ 이었다. 상기 결과는 PBS 완충용액과 비교하였을 때 좀 더 우수한 감도(1.4배), 더 낮은 검출한계(2.5배) 그리고 좀 더 넓은 검출농도 범위이다. 또한 유사한 구조를 갖는 방해물질 BPS에 대해 상기 센서가 우수한 선택성을 갖는 것으로 확인하였다. 마지막으로, 실험실에서 이용한 실제 시료에서의 BPF 농도를 성공적으로 검출할 수 있음을 확인하였다. 이러한 결과를 통해 본 연구에서 개발한 센서 플랫폼이 다양한 환경시료 내에 존재하는 BPF를 실시간으로 신속하게 정량 분석하는 데 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

#### Acknowledgement

This study was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grants, funded by the Korean government (Ministry of Science and ICT, MSIT) (grant numbers NRF-2019R1A2C1002710 and RS-2023-00207831).

#### References

1. R. Bousoumah, V. Leso, I. Iavicoli, P. Huuskonen, S. Viegas, S. P. Porras, T. Santonen, N. Frery, A. Robert, and S. Ndaw, Biomonitoring of occupational exposure to bisphenol A, bisphenol S and bisphenol F: A systematic review, *Sci. Total Environ.*, **783**, 146905 (2021).
2. K. Moriyama, T. Tagami, T. Akamizu, T. Usui, M. Saijo, N. Kanamoto, Y. Hataya, A. Shimatsu, H. Kuzuya, and K. Nakao, Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**, 5185-5190 (2002).
3. Y. Ma, H. Liu, J. Wu, L. Yuan, Y. Wang, X. Du, R. Wang, P. W. Marwa, P. Petlulu, X. Chen, and H. Zhang, The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms, *Environ. Res.*, **176**, 108575 (2019).
4. N. Oliveira, H. Marcelino, R. Azevedo, and I. Verde, Effects of bisphenol A on human umbilical arteries, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **30**, 27670-27681 (2023).
5. G. Frenzilli, J. Martorell-Ribera, M. Bernardeschi, V. Scarcelli, E. Jonsson, N. Diano, M. Moggio, P. Guidi, J. Sturve, and N. Asker, Bisphenol A and bisphenol S induce endocrine and chromosomal alterations in brown trout, *Front. Endocrinol.*, **12**, 645519 (2021).
6. J.-O. Jo, K. Y. Choi, S. Gim, and Y. S. Mok, Atmospheric pressure plasma treatment of aqueous bisphenol A solution, *Appl. Chem. Eng.*, **26**, 311-318 (2015).
7. B. Liu, H. J. Lehmler, Y. Sun, G. Xu, Q. Sun, L. G. Snetselaar, R. B. Wallace, and W. Bao, Association of bisphenol A and its substitutes, bisphenol F and bisphenol S, with obesity in united states children and adolescents, *Diabetes Metab. J.*, **43**, 59-75 (2019).
8. J. R. Rochester and A. L. Bolden, Bisphenol S, and F: A systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes, *Environ. Health Perspect.*, **123**, 643-650 (2015).
9. S. Kitamura, T. Suzuki, S. Sanoh, R. Kohta, N. Jinno, K. Sugihara, S. Yoshihara, N. Fujimoto, H. Watanabe, and S. Ohta, Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds, *Toxicol. Sci.*, **84**, 249-259 (2005).
10. M. Hyun, L. Rathor, H. J. Kim, T. McElroy, K. H. Hwang, S. Wohlgemuth, S. Curry, R. Xiao, C. Leeuwenburgh, J. D. Heo, and S. M. Han, Comparative toxicities of BPA, BPS, BPF, and TMBPF in the nematode *Caenorhabditis elegans* and mammalian fibroblast cells, *Toxicology*, **461**, 152924 (2021).
11. S. Eladak, T. Grisin, D. Moison, M. J. Guerquin, T. N'Tumba-Byn, S. Pozzi-Gaudin, A. Benachi, G. Livera, V. Rouiller-Fabre, and R. Habert, A new chapter in the bisphenol A story: Bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound, *Fertil. Steril.*, **103**, 11-21 (2015).
12. X. Mu, S. Qi, J. Liu, H. Wang, L. Yuan, L. Qian, T. Li, Y. Huang, C. Wang, Y. Guo, and Y. Li, Environmental level of bisphenol F induced reproductive toxicity toward zebrafish, *Sci. Total Environ.*, **806**, 149992 (2022).
13. S. Lee, K. S. An, H. J. Kim, H. J. Noh, J. Lee, J. Lee, K. S. Song, C. Chae, and H. Y. Ryu, Pharmacokinetics and toxicity evaluation following oral exposure to bisphenol F, *Arch. Toxicol.*, **96**, 1711-1728 (2022).
14. C. A. Gely, A. Huesca, N. Picard-Hagen, P. L. Toutain, A. Berbebi, G. Gauderat, V. Gayrard, and M. Z. Lacroix, A new

- LC/MS method for specific determination of human systemic exposure to bisphenol A, F and S through their metabolites: Application to cord blood samples, *Environ. Int.*, **151**, 106429 (2021).
15. H. Gallart-Ayala, E. Moyano, and M. T. Galceran, Fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of bisphenol A-diglycidyl ether, bisphenol F-diglycidyl ether and their derivatives in canned food and beverages, *J. Chromatogr. A*, **1218**, 1603-1610 (2011).
  16. J. W. Choi and H. S. Lee, Decomposition characteristics of bisphenol A by a catalytic ozonation process, *Appl. Chem. Eng.*, **26**, 463-469 (2015).
  17. I. Jordáková, J. Dobiáš, M. Voldřich, and J. Postka, Determination of bisphenol A, bisphenol F, bisphenol A diglycidyl ether and bisphenol F diglycidyl ether migrated from food cans using gas chromatography-mass spectrometry, *Czech J. Food Sci.*, **21**, 85-90 (2003).
  18. J. L. Vilchez, A. Zafra, A. González-Casado, E. Hontoria, and M. del Olmo, Determination of trace amounts of bisphenol F, bisphenol A and their diglycidyl ethers in wastewater by gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, **431**, 31-40 (2001).
  19. G. Li, L. Zhao, P. Yang, Z. Yang, Z. Tian, Y. Chen, H. Shen, and C. Hu, Engineering 1,3-alternate calixcarbazole for recognition and sensing of bisphenol F in water, *Anal. Chem.*, **88**, 10751-10756 (2016).
  20. C. Liu, Z. C. Sun, W. Y. Pei, J. Yang, H. L. Xu, J. P. Zhang, and J. F. Ma, A porous metal-organic framework as an electrochemical sensing platform for highly selective adsorption and detection of bisphenols, *Inorg. Chem.*, **60**, 12049-12058 (2021).
  21. N. Ku, A. Byeon, and H. J. Lee, Electrochemical determination of bisphenol A concentrations using nanocomposites featuring multi-walled carbon nanotube, polyelectrolyte and tyrosinase, *Appl. Chem. Eng.*, **32**, 684-689 (2021).
  22. Y. Si, J. Li, S. H. Jhung and H. J. Lee, Recent research trends in voltammetric sensing platforms for hormones and their applications to human serum analyses, *Anal. Sci.*, **38**, 11-21 (2022).
  23. N. B. Messaoud, M. E. Ghica, C. Dridi, M. B. Ali, and C. M. A. Brett, Electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticle modified electrode for the sensitive detection of bisphenol A, *Sens. Actuators B Chem.*, **253**, 513-522 (2017).
  24. J. Huang, X. Zhang, S. Liu, Q. Lin, X. He, X. Xing, and W. Lian, Electrochemical sensor for bisphenol A detection based on molecularly imprinted polymers and gold nanoparticles, *J. Appl. Electrochem.*, **41**, 1323-1328 (2011).
  25. R. F. de Souza, J. C. Padilha, R. S. Gonçalves, and J. Dupont, Room temperature dialkylimidazolium ionic liquid-based fuel cells, *Electrochem. Commun.*, **5**, 728-731 (2003).
  26. B. Wang, L. Qin, T. Mu, Z. Xue, and G. Gao, Are ionic liquids chemically stable?, *Chem. Rev.*, **117**, 7113-7131 (2017).
  27. H. Lee, J. S. Lee, and H. S. Kim, Applications of ionic liquids: The state of arts, *Appl. Chem. Eng.*, **21**, 129-136 (2010).
  28. S. Güneý and O. Güneý, Development of an electrochemical sensor based on covalent molecular imprinting for selective determination of bisphenol-A, *Electroanalysis*, **29**, 2579-2590 (2017).
  29. R. Cai, W. Rao, Z. Zhang, F. Long and Y. Yin, An imprinted electrochemical sensor for bisphenol A determination based on electrodeposition of a graphene and Ag nanoparticle modified carbon electrode, *Anal. Methods*, **6**, 1590-1597 (2014).
  30. M. Salman and H. J. Lee, Synthesis and electrolyte characterization of 1-Benzyl-3-butylimidazolium hydroxide ionic liquid, *Appl. Chem. Eng.*, **31**, 603-606 (2020).
  31. J. Yang, X. Wang, D. Zhang, L. Wang, Q. Li, and L. Zhang, Simultaneous determination of endocrine disrupting compounds bisphenol F and bisphenol AF using carboxyl functionalized multi-walled carbon nanotubes modified electrode, *Talanta*, **130**, 207-212 (2014).
  32. O. N. Oliveira, F. Marystela, F. L. Leite and A. L. D. Róz, Electrochemical sensors. In: F. R. Simões and M. G. Xavier (eds). *Nanoscience and its Applications*, 1<sup>st</sup> ed., 155-176, Elsevier, Amsterdam, Netherlands (2016).
  33. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Fundamentals Of Analytical Chemistry*, 9<sup>th</sup> ed., 172-187, Cengage learning, Belmont, USA (2013).
  34. C. Maccà and W. Joseph, Experimental procedures for the determination of amperometric selectivity coefficients, *Anal. Chim. Acta*, **303**, 265-274 (1995).

#### Authors

Sung Eun Ji; B.Sc., Graduate Student, Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu-city 41566, Republic of Korea; aussie9408@gmail.com

Sang Hyuk Lee; Ph.D., Post-doctoral Researcher, Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu-city 41566, Republic of Korea; ycwys2@knu.ac.kr

Hye Jin Lee; Ph.D., Professor, Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu-city 41566, Republic of Korea; hyejinlee@knu.ac.kr