

## Polypyrrole-Glucose Oxidase 효소전극의 배위자 크기에 따른 전기화학적 특성

### Electrochemical Properties of Polypyrrole-Glucose Oxidase Enzyme Electrode Depending on Dopant Size

김현철\*, 구할본\*, 사공 건\*\*

(Hyun-Cheol Kim\*, Hal-Bon Gu\* and Geon Sa-Gong\*\*)

#### Abstract

We synthesized polypyrrole (PPy) by electrolysis of the pyrrole monomer solution containing support electrolyte KCl and/or *p*-toluene sulfonic acid sodium salt (*p*-TS). The electrochemical behavior was investigated using cyclic voltammetry and AC impedance. In the case of using electrolyte *p*-TS, the redox potential was about -0.3 V vs. Ag/AgCl reference electrode, while the potential was about 0 V for using electrolyte KCl. It is considered as the backbone forms a queue effectively by doping *p*-TS. Therefore, it is possible to be arranged regularly. That leads to improvement in the electron hopping. The AC impedance plot gave a hint of betterment of mass transport. PPy doped with *p*-TS has improved in mass transport, or diffusion. That is because the PPy doped with *p*-TS has a good orientation, and is more porous than PPy with KCl.

**Key Words** : Polypyrrole, Enzyme electrode, *p*-TS, Glucose oxidase, Michaelis constant

#### 1. 서 론

기질의 산화환원 등의 전기화학적 특성을 이용하는 효소전극은 생화학적 반응에 아울러 전기화학적 반응을 수반한다. 그러므로 전극의 표면 부에 효소의 안정적인 고정화와 전기화학적으로 활성인 전극/효소의 복합체가 요구된다.[1,2]

도전성 고분자는 넓게 분포하고 있는  $\pi$ 전자로 인하여, 본질적으로 전기화학적 활성을 가지고 있으며, 또한 효소의 전기화학적 고정화는 물리적 고착뿐만 아니라 고분자 사슬과 효소간에는 정전 상호작용이 발생하여 전자수수 등 전기화학적 coupling을 유지하게 된다.[3]

도전성 고분자로 polypyrrole(PPy)을 이용하는 경우, 합성에 있어서의 지지전해질로 KCl을 사용하는

연구가 다수이다. 우리는 이러한 효소전극에 대한 전기화학 및 생화학적 특성과 고정화되는 효소의 영향에 대하여 발표한바 있다.[4] 지지전해질로 KCl을 사용하여 합성한 PPy는 전기화학적 산화환원 반응에 있어서 산화 포텐셜이 비교적 높고, 반응 속도상수가 충분히 빠르지 않다. 그러므로 고분자 내의 전자의 호핑에는 어느 정도의 장벽이 존재하게 되는데, 이것은 효소전극의 전류응답 특성에도 영향을 미치게 된다. 또한, 전해중합의 방법으로 합성과 동시에 효소를 고정화하기 때문에 크기가 작고 빠른 지지전해질의 음이온과 크고 느린 효소가 고분자 주쇄에 함께 배위하게 된다. 이 과정에서 전해질 음이온이 우선적으로 배위하게 되며, 일반적으로 알려진 바와 같이 작은 크기의 도판트는 고분자의 배향성을 저해하므로, 효소의 배위과정이 열세(劣勢)하게 되어 효소전극으로서 바람직하지 않다.

따라서, 우리는 PPy의 산화 포텐셜을 낮추고 반응속도를 개선하여, 효소전극의 포도당에 대한 전류응답 특성을 향상시키기 위하여 비교적 크기가 큰

\* 전남대학교 전기공학과

(광주광역시 북구 용봉동 300, Fax: 062-530-0077

E-mail : hbgu@chonnam.ac.kr)

\*\* 동아대학교 전기공학과

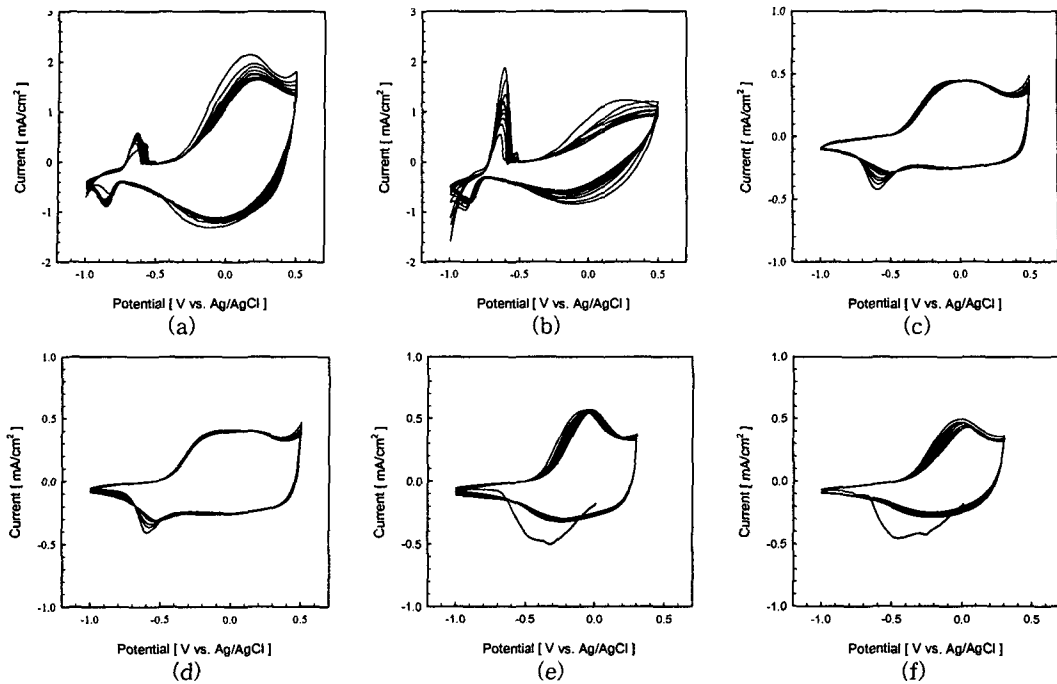


그림 1. PPy-GOx 효소전극의 순환전압전류 특성. (a) 지지전해질 KCl, 0.5 mg/ml GOx. (b) 지지전해질 KCl, 1.0 mg/ml GOx. (c) 지지전해질 p-TS, 0.5 mg/ml GOx. (d) 지지전해질 p-TS, 1.0 mg/ml GOx. (e) 지지전해질 PSS, 0.5 mg/ml GOx. (f) 지지전해질 PSS, 1.0 mg/ml GOx.

Fig. 1. Cyclic voltammograms of PPy-GOx enzyme electrodes. (a) Support electrolyte KCl and 0.5 mg/ml GOx. (b) KCl and 1.0 mg/ml GOx. (c) p-TS and 0.5 mg/ml GOx. (d) p-TS and 1.0 mg/ml GOx. (e) PSS and 0.5 mg/ml GOx. (f) PSS and 1.0 mg/ml GOx.

*p*-toluene sulfonic acid sodium salt (*p*-TS)와 poly(sodium 4-styrene sulfonate) (PSS)를 지지전해질로 하여 포도당 산화효소를 고정화한 효소전극을 제조하였다. 이 논문을 통하여 전기화학적 특성을 발표한다.

## 2. 실험 방법

도전성 고분자 PPy의 합성은 0.2 mol dm<sup>-3</sup> pyrrole 수용액에 지지전해질로 0.1 mol dm<sup>-3</sup> 농도의 KCl 또는 *p*-TS 및 PSS를 용해시킨 후, Ag/AgCl 전극에 대하여 0.8 V의 포텐셜로 300 mC/cm<sup>2</sup> 동안 1셀 3전극법으로 중합하였다. 작업전극으로는 ITO코팅 유리전극을 사용하였고, 기준전극과 대향전극은 각각 Ag/AgCl 및 백금선을 사용하였다.

순환 전압전류 특성은 0.5 mol dm<sup>-3</sup>의 KCl 수용액에서 -1.0 V ~ +0.3 V(또는 +0.5 V)의 영역에서 10 mV/s의 주사속도로 포텐셜을 순환하여 연구하였

다. 한편, 교류 임피던스 특성은 0.5 mol dm<sup>-3</sup>의 KCl 용액에서 주파수 2 MHz ~ 10 MHz이고 미소 교란 포텐셜 5 mV의 신호를 인가하여 연구하였다.

포도당 용액의 주입에 따른 효소전극의 전류응답은 0.1 mol dm<sup>-3</sup> phosphate 버퍼 수용액에 (pH 7.0) 1 mM *p*-quinone을 첨가한 후, +0.35 V의 포텐셜을 인가하여 전류의 변화를 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

그림 1은 KCl, *p*-TS 및 PSS 지지전해질을 사용하여 중합한 PPy-GOx 효소전극의 순환 전압전류 특성을 보여준다. 지지전해질이 KCl인 그림 1(a), (b)의 경우, 산화파의 피크가 Ag/AgCl 전극에 대하여 약 0 V 근처에서 관측되었다. 반면에 전해질을 *p*-TS 및 PSS를 이용한 경우에는(그림 1(c), (d), (e), (f)) 산화파의 피크가 약 -0.2 V 근처에서 나타나는 것을 알 수 있다. 또한 첨가한 GOx의 양을 증가시켜도, *p*-TS 및 PSS의 경우에 산화반응이 발생

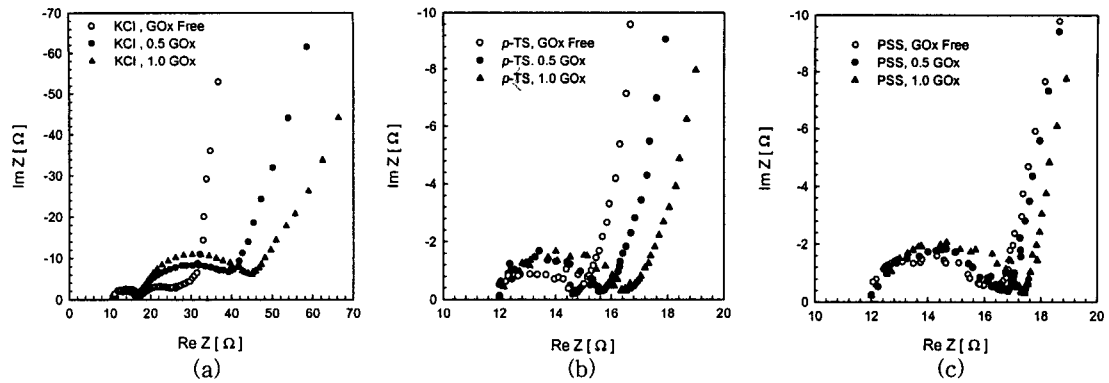


그림 2. PPy 및 PPy-GOx 효소전극의 교류임피던스 특성. (a) 지지 전해질 KCl. (b) 지지 전해질 *p*-TS. (c) 지지 전해질 PSS.

Fig. 2. AC impedance spectroscopy of PPy and PPy-GOx enzyme electrodes. (a) Support electrolyte KCl. (b) *p*-TS. (c) PSS.

하는 경향은 반응 개시포텐셜을 경계로하여 급속하게 발생하는 것을 관찰할 수 있다. KCl을 지지 전해질로 사용한 경우, 그림 1(a), (b)와 같이 GOx의 양을 증가시키면 산화피크의 크기가 감소하며, 반응속도 상수도 작아진다. 지지 전해질을 *p*-TS와 PSS를 사용한 경우, 산화 포텐셜이 낮아지고, GOx 첨가량의 증가에도 산화환원 반응에 있어서의 속도상수가 감소하지 않는 것은 PPy 내부에서의 전자 호핑 메카니즘의 개선을 의미한다. 크기가 작고 빠른 전해질보다 크고 물질이동이 늦은(비교적) *p*-TS 및 PSS의 도핑에 의하여 PPy 주쇄의 발달이 보다 고배향성을 갖게 되고, 그 결과 전자 호핑의 개선 등과 같은 전자수수에 대한 양자역학적 물성이 향상된다고 고찰해 볼 수 있다.

한편, 지지 전해질을 KCl을 사용한 경우에는 그림 1(a)와 (b)처럼 0V 근처의 산화피크 이외에 -0.7V 근처에서 새로운 피크가 나타난다. 이것은 이미 발표한 바와 같이[4] 고분자와 같이 크기가 큰 효소가 음으로 대전이 되어 PPy 주쇄와 배위하게 되는데, 순환 전압전류 과정에서 PPy의 사슬구조 때문에 음으로 대전된 효소가 빠져나가지 못하고, 전하 중성 상태를 유지하기 위하여 전해질 양이온이 PPy 쪽으로 이동하여 배위하게 된다. 중합액에 첨가하는 효소의 양을 증가시키면 이 영향도 증가하여 그림 1(b)와 같이 양이온에 의한 피크가 증가하면 전해질 음이온에 의한 피크가 감소하게 된다. 한편, *p*-TS 및 PSS를 지지 전해질로 사용하여 제조한 PPy-GOx 효소전극의 경우에는 새로운 피크가 관측되지 않는다. 이것은 크기가 비교적 큰 *p*-TS 또는 PSS의 배

위에 의하여 표면 구조에 있어서 다공성이 확보되었기 때문에, 산화환원 과정에서 고정화된 효소의 물질이동이 가능해지는 것이다. 또한 중합액에 첨가하는 GOx의 양을 증가시키더라도 피크의 위치가 크게 변화하거나 새로운 피크가 형성되지는 않는다. 다만, 절연성의 효소가 배위하기 때문에 피크의 크기는 약간 감소하는 것을 관찰할 수 있다.

그림 2은 PPy와 PPy-GOx 효소전극의 교류임피던스 특성을 나타낸 그림이다. 지지 전해질로 KCl을 사용한 경우에는 효소의 양을 증가시키기에 따라, 고주파수 영역의 반응성 임피던스가 증가하고, 저주파수 영역에서 물질이동의 제한이 심화되는 것을 관찰할 수 있다. 반면에, *p*-TS 및 PSS를 지지 전해질로 사용한 경우에는 고주파수 영역의 반응성 임피던스가 작고, 효소의 첨가량이 증가하여도 거의 증가하지 않는 것을 볼 수 있다. 저주파수 영역의 물질이동의 제한도 효소의 첨가량을 증가시켜도 거의 비슷한 양상을 보일 뿐이다. 이러한 결과는 크기가 큰 배위자인 *p*-TS 및 PSS를 지지 전해질로 사용한 PPy의 경우 주쇄의 배향성 증가에 따른 전자 호핑의 개선과 다공성 향상에 따른 물질이동의 향상을 뒷받침한다.

그림 3은 제조한 PPy-GOx 효소전극의 포도당 주입에 따른 전류응답이다. 주입된 포도당의 농도는 0.5, 1, 5, 10 및 20 mmol dm<sup>-3</sup> 이다. 그림에서 볼 수 있듯이, 포도당 주입과 거의 동시에 고감도의 전류응답을 얻을 수 있었으며, 각각의 포도당 농도에서 측정된 전류값을 (1)식을 이용하여 컴퓨터 계산을 통해 근사적으로 fitting시킨 후, 기질 친화력과

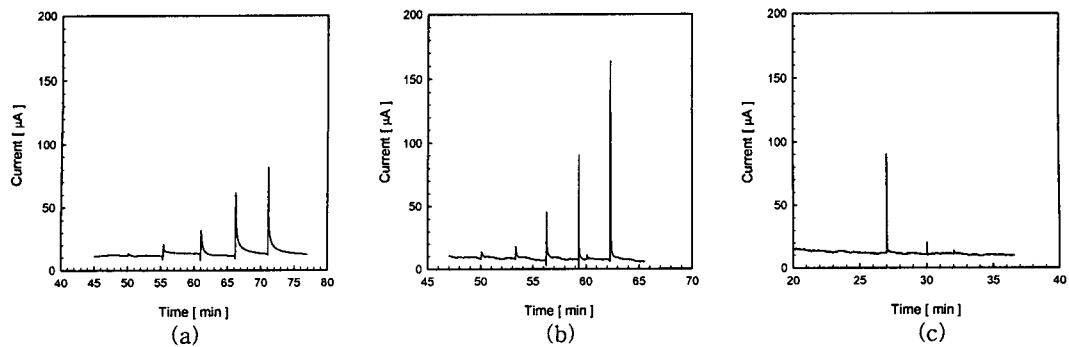


그림 3. PPy-GOx 효소전극의 포도당 주입에 따른 전류응답 특성. (a) 지지전해질 KCl. (b) 지지전해질 *p*-TS. (c) 지지전해질 PSS.

Fig. 3. Current response of PPy-GOx enzyme electrodes. (a) Support electrolyte KCl. (b) *p*-TS. (c) PSS.

최대전류 등의 kinetic parameter를 계산하였다.

$$I = \frac{I_{max} \cdot S}{K_M + S} \quad (1)$$

계산결과를 표 1에 정리하였다.

표 1 컴퓨터로 계산된 kinetic parameter  
Table 1 Kinetic parameters of the enzyme electrodes

	Michaelis 상수 mmol / l	최대전류 μA
KCl	16	116
<i>p</i> -TS	58	581
PSS	-	-

PPy의 배위자로 *p*-TS를 사용한 경우, 기질친화력과 관계되는 Michaelis상수 58 mmol dm<sup>-3</sup>을 얻었으며, 기질에 대한 반응속도와 관계되는 최대응답전류는 581 μA를 얻었다. 지지전해질 KCl을 사용하고 동일한 조건으로 행한 실험에서 얻은 최대전류 116 μA를 감안하면, 이는 괄목할만한 값이라 할 수 있다. 한편, PSS를 지지전해질로 사용한 경우의 효소전극의 전류응답은 0.5mM의 포도당 농도에서 약 85μA의 대단히 높은 전류응답을 얻었으나, 그 이후의 농도에서 전류응답이 급격히 감소하였다. 이것은 최초의 생화학적 반응 후에 발생하는 효소의 활동도 저하 또는 효소의 활동지점에 대한 구조적 블록킹 및 매개체로 사용하는 *p*-quinon의 문제로 생각된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서 우리는 *p*-TS를 지지전해질로 하여 중합한 PPy의 경우, 지지전해질 KCl을 사용한 경우에 비하여 주쇄의 고배향성과 표면구조의 다공성 때문에 전자의 호핑이 개선되고, 물질이동이 향상되는 것을 정성적으로 보였다. 포도당 산화효소를 고정화시킨 PPy-GOx 효소전극에 있어서도 이러한 전자적 물성의 개선에 기인하여, 포도당 주입에 의해 기질에 대한 반응속도와 관계되는 최대전류 581 μA를 얻었으며, 기질친화력에도 양호한 특성을 얻을 수 있었다.

#### 참고 문헌

- [1] G. F. Khan, M. Ohwa and W. Wernet, "Design of a Stable Charge Transfer Complex Electrode for a Third-Generation Amperometric Glucose Sensor", *Anal. Chem.*, vol.68, pp.2939-2945, 1996.
- [2] N. C. Foulds and C. R. Lowe, "Immobilization of Glucose Oxidase in Ferrocene-Modified Pyrrole Polymers", *Anal. Chem.*, vol.60, pp.2473-2478, 1988.
- [3] N. C. Foulds and C. R. Lowe, "Enzyme Entrapment in Electrically Conducting Polymers", *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, vol.82, pp.1259-1264, 1986.
- [4] 김현철, 구할본, 사공건, "Polypyrrole-Glucose Oxidase 효소전극의 전기화학적 특성", *한국전기전자재료학회 논문지*, 13권, 6호, pp.520-525, 2000.