

포도당 산화효소를 고정화한 Polypyrrole 효소전극의 배위자 변화에 따른 전기화학적 특성

Electrochemical Properties of Polypyrrole Enzyme Electrode Immobilized Glucose Oxidase with Different Ligand

김현철, 구할본
(Hyun-Cheol Kim, Han-Bon Gu)

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 π 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.

전남대학교 전기공학과
(광주광역시 북구 용봉동 300,
Fax : 062-530-0077
E-mail : hckim@hosanna.net)

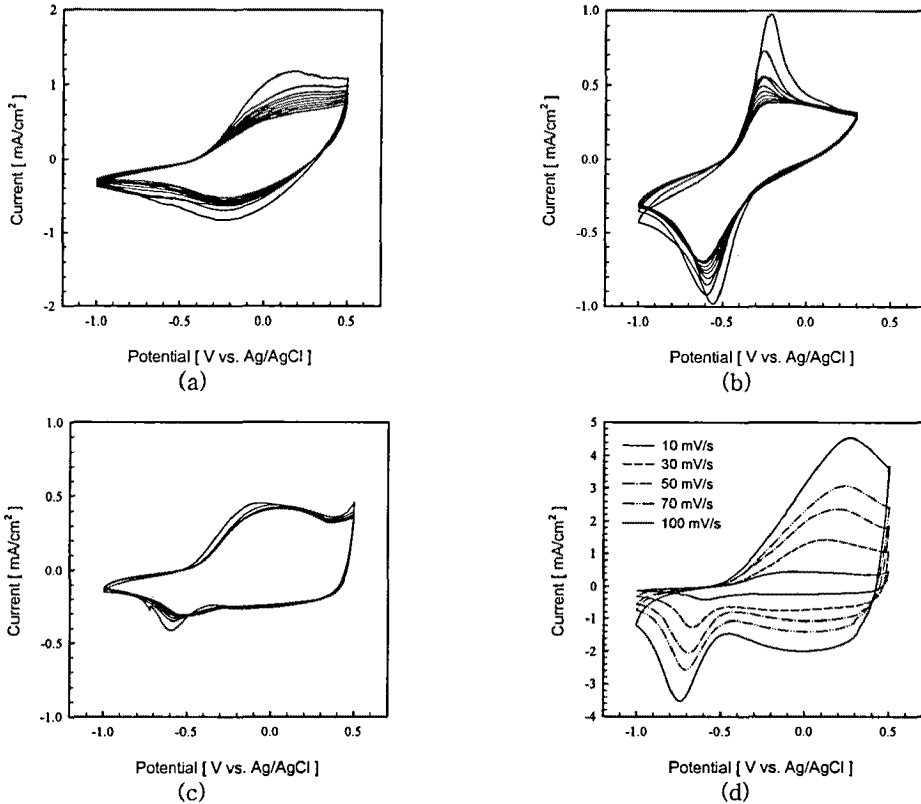


그림 1. 전해중합한 PPy 필름의 순환전압전류 특성. (a) 지지전해질 KCl, 순환전압전류 전해질 KCl. (b) 지지전해질 *p*-TS, 순환전압전류 전해질 *p*-TS. (c) 지지전해질 *p*-TS, 순환전압전류 전해질 KCl. (d) 주사속도에 따른 (c)의 순환전압전류 응답.

Fig. 1. Cyclic voltammograms of PPy films. (a) Support electrolyte KCl and CV electrolyte KCl. (b) *p*-TS and *p*-TS in the order of list. (c) *p*-TS and KCl. (d) Variable scan rate at the condition of (c).

따라서, 우리는 PPy의 산화 포텐셜을 낮추고 반응속도를 개선하여, 효소전극의 포도당에 대한 전류응답 특성을 향상시키기 위하여 비교적 크기가 큰 *p*-toluene sulfonic acid sodium salt (*p*-TS)를 지지전해질로 하여 포도당 산화효소를 고정화한 효소전극을 제조하였다. 이 논문을 통하여 전기화학적 특성을 발표한다.

2. 실험 방법

PPy의 합성은 0.2 mol dm⁻³ pyrrole 수용액에 지지전해질로 0.1 mol dm⁻³ 농도의 KCl 또는 *p*-TS를 용해시킨 후, Ag/AgCl 전극에 대하여 0.8 V의 포텐셜로 300 mC/cm² 동안 중합하였다. 작업 전극으로는 ITO코팅 유리전극을 사용하였고, 기준

전극과 대향전극은 각각 Ag/AgCl 및 백금선을 사용하였다.

순환 전압전류 특성은 0.5 mol dm⁻³의 KCl 및 *p*-TS 수용액에서 -1.0 ~ +0.3 (또는 +0.5)의 영역에서 다양한 주사속도로 포텐셜을 순환하여 연구하였다. 한편, 교류 임피던스 특성은 0.5 mol dm⁻³의 KCl용액에서 주파수 2 MHz ~ 10 mHz이고 미소 교란 포텐셜 5 mV의 신호를 인가하여 연구하였다.

포도당 용액의 주입에 따른 효소전극의 전류응답은 0.1 mol dm⁻³ 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 및 p-TS 지지 전해질을 사용하여 증합한 PPy 필름의 순환 전압전류 특성을 보여준다. 증합과 순환 전압전류 측정에 동일한 전해질을 이용한 경우가 그림 1(a), (b)이다. 지지 전해질과 측정 용액의 전해질이 KCl인 그림 1(a)의 경우, 산화환원 포텐셜이 Ag/AgCl 전극에 대하여 약 0 V 근처에서 관측되었다. 반면에 전해질을 p-TS를 이용한 경우에는 산화환원 포텐셜이 약 -0.5 V 근처에서 나타나는 것을 알 수 있다. 또한 산화 및 환원반응이 발생하는 경향도 반응 개시포텐셜을 경계로하여 급속하게 발생하는 것을 관찰할 수 있다. 이것은 반응 속도상수가 매우 빠른 경우이며, 이상적인 가역반응의 순환 전압전류 특성과 유사하다. 이와같이 산화 포텐셜이 낮아지고, 산화환원 반응에 있어서의 속도상수가 커지는 것은 PPy 내부에서의 전자 호핑 메카니즘의 개선을 의미한다. 크기가 작고 빠른 전해질보다 크고 물질이동이 늦은(비교적) p-TS의 도핑에 의하여 PPy 주쇄의 발달이 보다 고배향성을 갖게되고, 그 결과 전자 호핑의 개선 등과 같은 전자수수에 대한 양자역학적 물성이 향상된다고 고찰해 볼 수 있다. 한편, 지지 전해질을 p-TS를 사용하고, 순환 전압전류 측정용액의 전해질을 KCl을 사용한 경우의 전압전류 특성을 그림 1(c)에 나타낸다. 이 그림은 마치 그림 1(a)와 (b)를 겹쳐 놓은 듯한 인상을 준다. 그림에서 환원파의 경우 0V 근처의 둔한 모양과 -0.5V 근처의 피크를 관찰할 수 있으며, 산화파의 경우 KCl에 의한 피크와 p-TS에 의한 피크가 중첩되어 약 -0.3V 근처에서 산화피크를 관찰할 수 있다. 이와같이 산화포텐셜이 낮은 p-TS의 도핑을 통하여 합성한 PPy를 크기가 작은 KCl 용액에서 포텐셜을 순환시키더라도 산화포텐셜이 낮아지는 것을 알 수 있다.

한편, 그림 1(d)와 같이 주사속도를 달리하여 측정한 순환 전압전류응답을 통하여서도 전자적 물성 개선에 기여하는 p-TS의 영향을 관찰할 수 있다. 산화파의 경우는 KCl에 의한 피크가 우세하고, 환원파의 경우는 p-TS에 의한 피크가 우세하다. 그림에서와 같이 주사속도를 증가함에 따라 산화파는 피크위치가 높은 포텐셜 쪽으로 이동하게 되는데, 반응속도가 물질의 확산에 지배되는 확산을 속 단계에 해당한다. 반면에, p-TS의 영향이 우세한 환원파의 경우에는 주사속도가 증가하더라도 피크의 이동이 거의 없으며, 그 크기만 증가하는

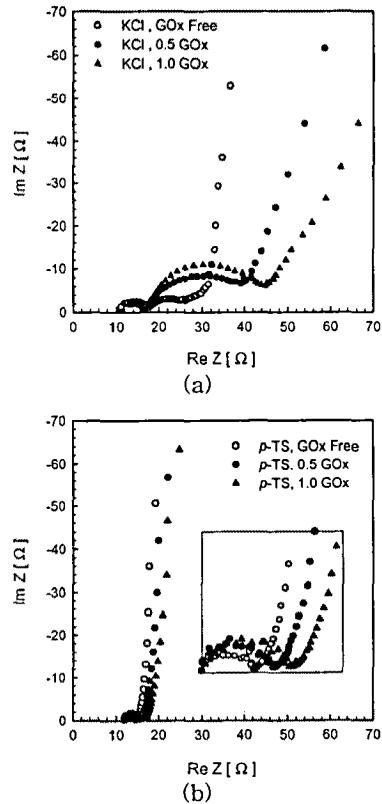


그림 2. PPy 및 PPy-GOx 효소전극의 교류 임피던스 특성. (a) 지지전해질 KCl. (b) 지지전해질 p-TS.

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

것을 볼 수 있다. 이것은 p-TS의 도핑에 의하여 주쇄의 배향성 및 표면의 다공성이 개선되는 것을 시사하고 있다.

그림 2는 PPy와 PPy-GOx 효소전극의 교류 임피던스 특성을 나타낸 그림이다. 지지 전해질로 KCl을 사용한 경우에는 효소의 양을 증가시키에 따라, 고주파수 영역의 반응성 임피던스가 증가하고, 저주파수 영역에서 물질이동의 제한이 심화되는 것을 관찰할 수 있다. 반면에, p-TS를 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

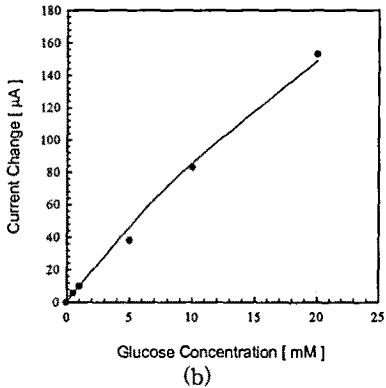
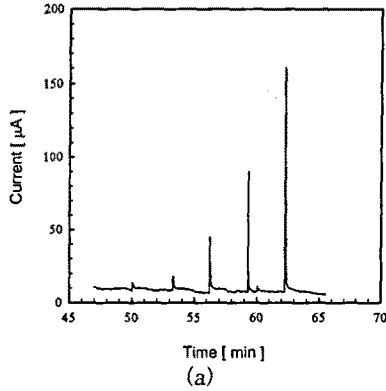


그림 3. p-TS를 도프한 PPy-GOx 효소전극의 포도당 주입에 따른 전류응답 특성. (a) 전류응답, 포도당 농도는 0.5, 1, 5, 10, 20mM. (b) Kinetic parameter 결정을 위한 수치해석에 의한 근사화.

Fig. 3. Current response of PPy-GOx enzyme electrode doped with p-TS. (a) Current response according to different concentration of glucose solution. (b) Curve fitting for the kinetic parameters.

비슷한 양상을 보일 뿐이다. 이러한 결과는 p-TS를 지지전해질로 사용한 PPy의 경우 주쇄의 배향성 증가에 따른 전자 호핑의 개선과 다공성 향상에 따른 물질이동의 향상을 뒷받침한다.

그림 3은는 지지전해질로 p-TS를 사용하여 제조한 PPy-GOx 효소전극의 포도당 주입에 따른 전류응답이다. 주입된 포도당의 농도는 0.5, 1, 5, 10 및 20 mmol dm⁻³이다. 그림 3(a)에서 볼 수 있듯이, 포도당 주입된 거의 동시에 고감도의 전류응답을 얻을 수 있었으며, 각각의 포도당 농도에서

측정한 전류값을 (1)식을 이용하여 컴퓨터 계산을 통해 근사적으로 fitting시킨 후, 기질 친화력과 최대전류 등의 kinetic parameter를 계산하였다. 계산된 값은 기질친화력과 관계되는 Michaelis상수 58 mmol dm⁻³을 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.

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.