

Polypyrrole과 poly(3-methylthiophene)을 전자 전달 매질로 한 요소 센서의 전기화학적 특성 고찰

진준형, 강문식, 송민정, 민남기, 홍석인
고려대학교

Electrochemical characterization of urea sensors based on Polypyrrole and poly(3-methylthiophene) as electron transfer matrixes

Joon-Hyung Jin, Moon Sik Kang, Min Jung Song, Nam Ki Min Suk-In Hong
Korea University

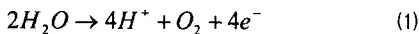
Abstract - Yoncyama 등이 2001년 기존의 potentiometry 형의 요소 센서보다 우수한 성능을 갖는 amperometry 형의 요소 센서를 제안한 이후, 전자 전달 매커니즘에 관한 관심이 집중되어 왔으나, urease로부터 전극 기질까지의 전자 전달 매질로서 전도성 고분자보다 쉽고 단순한 공정은 아직까지 제시된 바 없다.

본 논문에서는 전도성 고분자로서 polypyrrole(PPy)과 poly(3-methylthiophene)(P3MT)을 이용하여 다공성 실리콘(PS) 요소 센서를 제작하고 각각의 특성을 전기화학적으로 분석하였다. Urease 고정화 전압, 고정화 시간, 고정화 시의 효소 농도, 수소이온 농도 등이 감도에 미치는 영향은 PPy와 P3MT 각각의 경우 유사한 경향성을 보였다. 감도 특성의 경우, PPy는 다공질 실리콘 전극과 평면 전극 각각에 대하여 1.55 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 와 0.91 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 였고, P3MT의 경우는 각각 8.44 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 와 4.28 $\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 의 감도를 보였다. 즉, PPy가 P3MT 보다 일반적으로 높은 감도를 보였고, 다공질 실리콘 전극을 사용하는 경우, 그렇지 않은 경우보다 약 2배의 감도 향상 효과를 기대할 수 있었다. 재현성이나 안정성의 경우는 P3MT가 PPy보다 우수하였다.

사용 빈도에 따른 감도 저하는 다공질 실리콘 전극의 경우 직선적으로 감소하였으나 평면 전극의 경우는 지수함수적으로 감소하였다. 시간에 따른 감도 저하 현상은 만 15일 이후의 감도를 기준으로 하여, 10% 미만의 감도 저하를 보임으로써 PPy, P3MT 모두 우수한 특성을 보였다.

1. 서론

Urease에 의한 요소의 가수분해 반응에 의해 NH_4^+ 와 HCO_3^- 이온이 발생되며 용액의 pH가 증가하게 되는데 이때, 식 (1)에서 보는 바와 같이, 물이 분해되면서 전자가 방출되고 H^+ 이온이 생성된다 [1].



물의 산화 반응에 의한 산화 전류의 양은 요소 농도와 관련되므로, voltammetry법에 의한 요소 농도 측정이 가능하며, 생성된 수소 이온은 pH 증가분을 어느 정도 보상하는 역할을 한다. 일반적으로, voltammetry법은 potentiometry법에 비하여 상대적으로 검출 영역이 넓고 감도가 우수하기 때문에, 체내 정상치가 1.7~8.3 mmol/L 이며 높게는 100 mmol/L까지 오를 수 있는 요소 농도 측정에 보다 적합하다.

실제로, UV-visible spectroscopy [2], 암모늄 이온 선택성 field effect transistor [3], coulometry [4], amperometry [5] 등 여러 방법으로 urease 촉매 반응을 모니터링 하였으나, voltammetry법이 측정 범위, 응답 시간, 감도 등 여러 면에서 가장 우수한 결과를 보였다.

본 논문에서는 다공성 실리콘을 이용하여 제작한 요소 센서의 urease 고정화 전극에 대한 전기화학적 특성을

고찰하고 평면 구조의 백금 박막 요소 센서와 비교하여 감도 특성을 분석하였다. 또, 시간에 따른, 사용 빈도에 따른 감도 저하 현상을 각각 고찰하였다.

2. 실험

2.1 시약 및 재료

B을 도우핑한 p-형 실리콘웨이퍼(100, 14~17 $\Omega\cdot\text{cm}$, LG Siltron)는 Dooson(Korea)사로부터 구입하였고, Urease(EC 3.5.1.5, type III, Jack Beans)는 Sigma Chemical(USA)사로부터 구입하였다. 3-methylthiophene과 pyrrole은 각각 Aldrich Chemical사와 Acros organics 사로부터 구입하였다. 포화칼로멜전극(SCE, USA)과 Pt 상대전극은 각각 Aldrich Chemical사와 Metrohm(Switzerland)사로부터 구입하였다. Acetonitrile(EP급, 대정화금)을 제외한 모든 용매는 Milli-Q 순수 시스템을 이용한 2차 증류수를 사용하였다. GR급 순도의 요소는 대정화금(Korea)으로부터, EP급의 Sodium perchlorate monohydrate와 Sodium phosphate monobasic은 각각 Junsei chemicals(Japan)사와 Yakuri pure chemicals(Japan)사로부터 구입하였다. EP급의 Sodium chloride는 Showa Chemicals(Japan)사로부터, Sulfuric acid와 nitric acid는 각각 대정화금과 Duksan Pure Chemicals(Japan) 사로부터 구입하였다.

백금 박막 증착을 위한 Pt target(99.98%)은 희석 금속(Korea)으로부터 구입하였고, Clariant Industries(Korea)사로부터 Photolithography 공장에서 사용한 AZ1512(감광제)를 지원받았다.

2.2 실험 장치

모든 전기화학적 측정은 Potentiostat/Galvanostat (EG&G Princeton Applied Research, Model 263A), IBM호환 PC, Teflon 소재의 전기화학 전지 등으로 구성된 전기화학 측정 장치를 이용하여 수행하였다.

3. 본론

3.1 다공성 실리콘 요소 센서 제작

양극 산화법으로 p-type 실리콘 웨이퍼에 다공성 실리콘 층을 형성하고 photolithography 공정으로 3 전극 시스템을 패터닝한 후, 백금 박막을 스퍼터링하여 다공성 실리콘 백금 박막 전극을 제작한다. 그 위에 선택적으로 전도성 고분자(polypyrrole(PPy) 및 poly(3-methylthiophene)(P3MT))를 산화적 전기중합(anodical electropolymerization)한 후, urease를 전기화학적으로 고정화하여 다공성 실리콘 요소 센서를 제작한다.

그림 1에 3 전극 구조의 다공성 실리콘 백금 박막 전극과, 전도성 고분자 코팅 및 효소 고정화 이후의 다공성 실리콘 요소 센서에 대한 사진을 보였다.

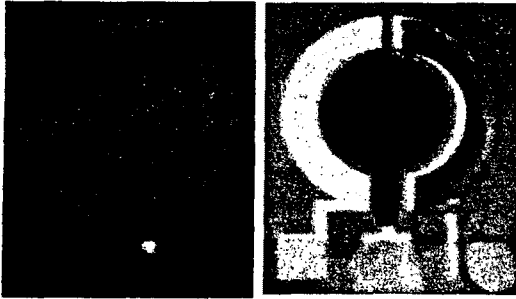


그림 1. 다공성 실리콘 백금 박막 전극(a)과 다공성 실리콘 요소 센서(b).

3.2 Urease 고정화 전극의 전기화학적 특성

소량의 고농도 요소 용액을 시료 용액에 일정 시간 간격으로 주입하여 제작된 요소 센서의 전류 응답 세기와 연속성을 관찰하였다.

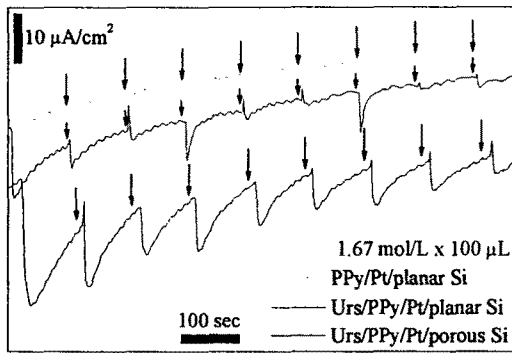


그림 2. 식염수에서 PPy를 전자 전달 매질로 한 요소 센서의 전류 응답 특성. 동작 전압은 SCE에 대하여 0.6V.

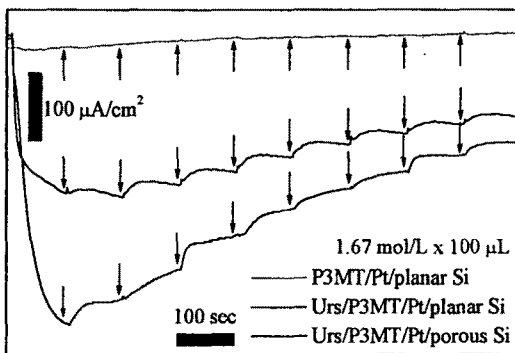


그림 3. 식염수에서 P3MT를 전자 전달 매질로 한 요소 센서의 전류 응답 특성. 동작 전압은 SCE에 대하여 0.6V.

그림 2에 식염수에서 PPy를 전자 전달 매질로 한 요소 센서의 전류 응답 특성을 보였다. 비교를 위하여 평면 백금 박막 전극과 효소를 고정화하지 않은 전극을 함께 보였다. 동작 전압은 SCE 기준 전극에 대하여 0.6V로 하였고, 100 μl의 1.67mol/L 요소 용액을 100초 간격으로 순차적으로 주입하였다. Urease/PPy/Pt/PS 전극과 Urease/PPy/Pt/planar 전극 모두 뛰어난 연속성을 보였고, 전자의 경우가 후자보다 응답 세기가 강하였다.

그림 3에 식염수에서 P3MT를 전자 전달 매질로 한 요소 센서의 전류 응답 특성을 보였다. 비교를 위하여 평면 백금 박막 전극과 효소를 고정화하지 않은 전극을 함께 보였다. 동작 전압은 SCE 기준 전극에 대하여 0.6V로 하였고, 100 μl의 1.67mol/L 요소 용액을 100초 간격으로 순차적으로 주입하였다. PPy의 경우와 마찬가지로 Urease/P3MT/Pt/PS 전극과 Urease/P3MT/Pt/평면 전극 모두 뛰어난 연속성을 보였고, 전자의 경우가 후자보다 응답 세기가 강하였다.

3.3 다공성 실리콘 요소 센서의 감도 특성

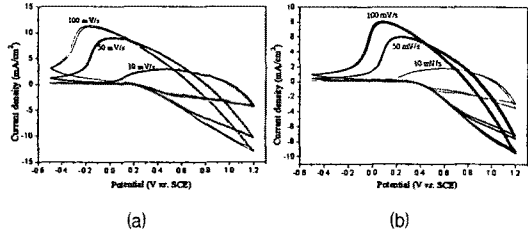


그림 4. P3MT를 코팅한 백금 박막 전극의 CV 곡선(a). Urease를 고정화 한 P3MT 백금 박막 전극의 CV 곡선(b). 용매는 acetonitrile이며 전해질은 0.1mol/L NaClO₄.

그림 4(a)는 0.1 mol/L NaClO₄를 전해질로 하는 acetonitrile 용액에서 P3MT를 코팅한 백금 박막 전극에 대한 CV 곡선이다. 전위 주사 속도를 증가시키에 따라 환원 피크 전류가 나타나는 전위 값이 음의 값으로 이동함을 볼 수 있다.

그림 4(b)는 0.1 mol/L NaClO₄를 전해질로 하는 acetonitrile 용액에서 urease가 고정화된 P3MT를 코팅한 백금 박막 전극에 대한 CV 곡선이다. 그림 4(a)와 비교했을 때, Urease/P3MT/Pt/평면 전극의 환원 피크 전류는 200 mV만큼 양의 전압에서 나타남을 볼 수 있다. 또한, 환원 전위 영역에서 매우 작은 환원 전류가 흘렀다.

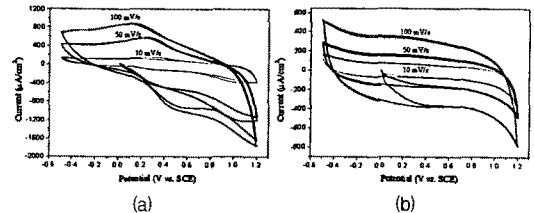


그림 5. PPy를 코팅한 백금 박막 전극의 CV 곡선(a). Urease를 고정화 한 P3MT 백금 박막 전극의 CV 곡선(b). 용매는 acetonitrile이며 전해질은 0.1mol/L NaClO₄.

그림 5(a)는 0.1 mol/L NaClO₄를 전해질로 하는 acetonitrile 용액에서 PPy를 코팅한 백금 박막 전극에 대한 CV 곡선이다. 전위 주사 속도가 증가함에 따라 충전 전류가 증가하며, SCE 기준 전극에 대하여 0.1V와 0.5V에서 각각 환원 피크 전류와 산화 피크 전류가 관찰되었다. 이러한 산화 환원 전류는 PPy 필름이 코팅된 백금 박막 전극과 전해질 용액 사이에서 이온 화학종의 산화 환원 거동에 의한 것이다.

그림 5(b)는 0.1 mol/L NaClO₄를 전해질로 하는 acetonitrile 용액에서 urease가 고정화된 PPy 필름을 코팅한 백금 박막 전극(Urease/PPy/Pt/평면전극)에 대한 CV 곡선이다. 그림 5(a)와 비교해보면, Urease/PPy/Pt/평면전극은 CV 곡선 상에 패러데이 전류가 관찰되지 않음을 알 수 있다.

이상에서와 같이, 일반적으로, 효소는 친수성 표면을 갖기 때문에 수용액에 쉽게 용해되며, 효소를 고정화한 전도성 고분자 필름을 수용액에 넣으면 효소가 수용액 상으로 쉽게 용해될 수 있다. 따라서 acetonitrile과 같은 비

수용액성 용매에 NaClO₄와 같은 소수성 전해질을 사용하여 효소의 탈착을 억제하고 효소 고정화 전극의 전기화학적 특성을 순환 전압전류법(Cyclic voltammetry)으로 분석하면, 효소가 고정화 된 전극과 그렇지 않은 전극의 특성 곡선으로부터 둘을 판별할 수 있다.

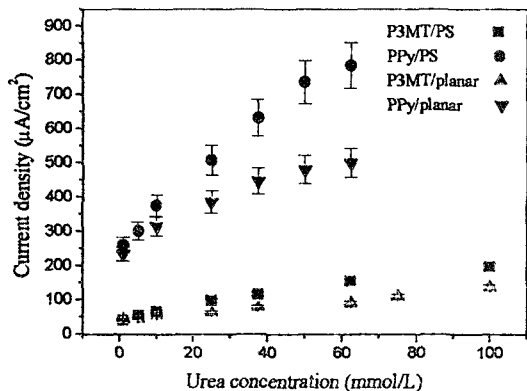


그림 6. P3MT와 PPy를 전자 전달 매질로 한 다공성 실리콘 요소 센서와 평면 전극 요소 센서의 감도 특성.

그림 6은 P3MT와 PPy를 전자 전달 매질로 한 다공성 실리콘 요소 센서와 평면 전극 요소 센서 각각의 감도 특성 곡선이다. PPy 필름을 이용한 센서의 경우 다공성 실리콘을 이용한 경우 약 8.44µA/mM.cm²의 감도를 보였고, 이용하지 않은 경우 약 4.28µA/mM.cm²로서, 다공성 실리콘을 이용하는 경우 2배의 감도 증가 효과를 기대할 수 있었다. P3MT 필름을 이용한 센서의 경우 다공성 실리콘을 이용한 경우 약 1.55µA/mM.cm², 이용하지 않은 경우 약 0.91µA/mM.cm²로서, 전자의 경우가 1.5배의 감도 증가 효과를 기대할 수 있었다.

3.3 다공성 실리콘 요소 센서의 감도 저하 특성

사용 빈도에 따른 감도 저하 특성은 24시간 간격으로 분석하였으며, 일단 사용한 센서 전극은 다음 사용 시까지 4 °C 냉장 보관하였다.

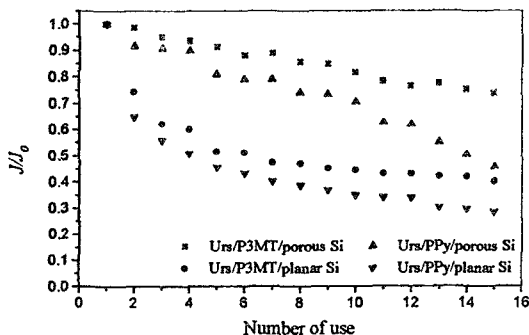


그림 7. Amperometry 형 요소 센서의 사용 빈도에 따른 감도 저하 특성. 동작 전위는 SCE 전극에 대하여 0.6 V, 동작 온도는 35°C, 요소 농도는 10mmol/L를 기준으로 하였다.

그림 7은 Amperometry 형 요소 센서의 사용 빈도에 따른 감도 저하 특성 곡선이다. 동작 전위는 SCE 기준 전극에 대하여 0.6 V, 동작 온도는 35 °C, 요소 농도는 10mmol/L로 하였다. 동 조건하에서, 사용 빈도가 증가할수록 출력 전류가 감소하였는데, 다공성 실리콘 요소 센서의 경우는 선형적으로 감소하였고, 평면 전극 요소 센서의 경우는 지수함수적으로 감소하였다. 또한, PPy 필름을 이용한 경우가 P3MT를 이용한 경우보다 상대적으로 큰 감도 저하 속도를 보였다.

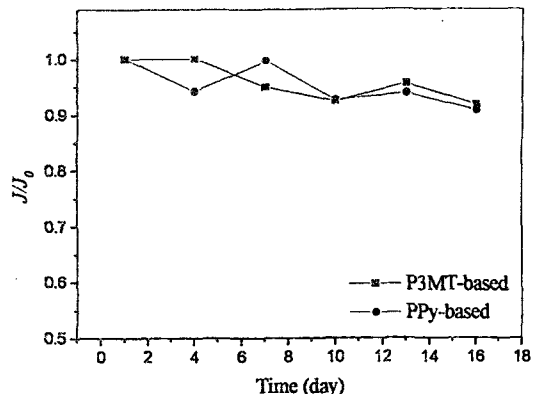


그림 8. Amperometry 형 요소 센서의 시간에 따른 감도 저하 특성. 동작 전위는 SCE 전극에 대하여 0.6 V, 동작 온도는 35°C, 요소 농도는 10mmol/L를 기준으로 하였다.

그림 8은 Amperometry 형 요소 센서의 시간에 따른 감도 저하 특성 곡선이다. 동작 전위를 0.6 V, 동작 온도를 35도, 요소 농도 10mmol/L를 기준으로 하였을 때, 4 °C이하 냉장 보관하는 경우, 약 2주 후에도 90% 이상의 감도가 유지됨을 알 수 있다.

4. 결 론

PPy와 P3MT를 전자 전달 매질로 하는 다공성 실리콘 요소 센서를 전기화학적으로 제작하고 분석하였다. Urease가 고정화된 전도성 고분자 전극의 CV 특성 곡선을 얻었으며, 다공성 실리콘 구조를 이용하여 센서를 제작하는 경우가 그렇지 않은 경우보다 약 2배 정도의 감도 증가 효과를 기대할 수 있었다. 비록 감도면에서는 PPy 필름을 전자 전달 매질로 이용하는 경우가 우수한 특성을 보였으나 안정성 재현성 면에서는 P3MT 필름을 이용하는 경우가 보다 우수한 특성을 보였다. 또한, 사용 빈도에 따른 감도 저하 면에서 다공성 실리콘 구조를 갖는 P3MT 필름 전극이 가장 우수한 특성을 보였고 시간에 따른 감도 저하면에서는 P3MT와 PPy 전극 모두 2주 후에도 90% 이상의 감도가 유지되는 우수한 특성을 보였다.

[참 고 문 헌]

- [1] Yoneyama, K., Fujino, Y., Osaka, T., Satoh, I. "Amperometric sensing system for the detection of urea by a combination of the pH-stat method and flow injection analysis", *Sensors and Actuators*, **B76**, 152-157, 2001.
- [2] Mustafaev, M., Bayulken, S., Ergen, E., "Radiation-induced formation of polyacrylic acid protein covalent conjugates", *Radiation Physics and Chemistry*, **60**, 567-575, 2001.
- [3] Yin, L. T., Chou, J. C., Chung, W. Y., "Characteristics of silicon nitride after O₂ plasma surface treatment for pH-ISFET applications", *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering*, **48**, 340-344, 2001.
- [4] Ary, K., Rona, K., "LC determination of morphine and morphine glucuronides in human plasma by coulometric and UV detection", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **26**, 179-187, 2001.
- [5] Jadhav, S., Bakker, E., "Voltammetric and amperometric transduction for solvent polymeric membrane ion sensors", *Analytical Chemistry*, **71**, 3657-3664, 1999.