

Boron doped diamond RDE에 의한 혈액내의 serotonin의 전기화학적 선택적 검출 효과

황진희, 조은인, 박수길, Takeyoshi Okajima*, Takeo Ohsaka*, Akira Fujishima**

충북대학교 공업화학과, Tokyo Institute of Technology*, The University of Tokyo**

Selective electrochemical detection effect of serotonin in blood by using boron doped diamond rotating disk electrode

Jin-Hee Hwang, Eun-In Cho, Soo-Gil Park, Takeyoshi Okajima*, Takeo Ohsaka*, Akira Fujishima**

Dept. Industrial Chemical Engineering, Chungbuk National Univ.,

Tokyo Institute of Technology*, The University of Tokyo**

Abstract

The electrochemical oxidation of ascorbic acid(AA), serotonin(StT) and epinephrine(EP) have been performed on poly *N,N*-dimethylaniline(PDMA) film coated diamond electrode. This cationic polymer film is electrochemically deposited on boron-doped diamond electrode surface. Unlike the bare electrode, the polymer film-coated diamond electrode can well separate the oxidation potential of AA by 330mV. Thus this electrode can be successfully used for the simultaneous detection of both species. Increases in the concentration of AA do not affect the response of EP and ST.

Key Words : Electropolymerization, Epinephrine, Ascorbic acid, serotonin, Diamond electrode.

1. 서 론

에피네프린($C_9H_{13}O_3N$)은 아드레날린 또는 에피네프린이라고도 하며 1901년 다카미네조키치에 의해 부신수질에서 염기성 물질로서 순수하게 분리되었다. 호르몬으로서 부신수질에 다량으로 함유되어 혈당량을 조절, 교감신경 흥분제, 혈관수축제, 혈압상승제로 사용되며 출혈을 멎게 하고 기관지 천식의 발작에 효과가 있다. 세로토닌은 혈관뿐만 아니라, 자궁·기관지 등의 민무늬근도 수축시키는 작용이 있다. 화학구조는 5-히드록시트리프타민이라는 것이 밝혀졌다. 뇌신경계에도 많은데, 뇌조직의 세로토닌은 뇌에서 만들어지며, 지나치게 많으면 뇌기능을 자극하고, 부족하면 침정작용을 일으킨다. 세로토닌의 대사산물은 5-히드록시인돌아세트산인데, 이것이 만들어지는 데는 효소의 일종인 모노아민옥시다아제가 관여하며, 몸에 악성종양이 있으면 오줌으로 다량 배설된다.

많은 질병들은 이들 호르몬의 농도에 영향을 받는다

다고 알려져 생체 내 존재하는 이들 호르몬의 농도를 측정하는 센서 개발이 요구되어지고 있다.

세로토닌과 에피네프린은 특히 많은 의학자들에게 관심이 되어져 여러 검출 방법이 시도되어졌다.[1,2]

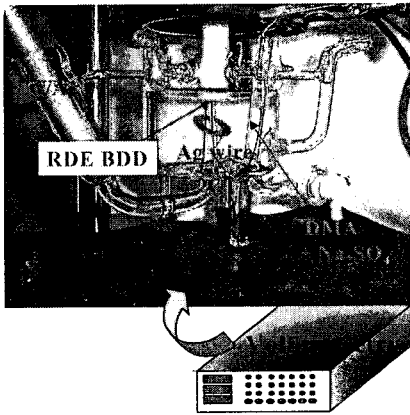
이번 실험에서는 호르몬의 전기적 성질을 이용하여 검출을 시도하였다. 전극으로 사용된 붕소가 도핑된 다이아몬드(BDD) 전극은 그 자체의 높은 전기 전도성, 넓은 전위창, 작은 오차 전류, 그리고 물리, 화학적 안정성에 따라 새로운 기능성 재료로서 많은 주목을 받고 있으며 특히 센서로서의 개발이 기대되어지고 있다. 그러나 BDD전극 만으로는 이 두 호르몬(세로토닌, 에피네프린)과 비타민 C의 일종인 아스코르빅 산(AA)의 혼합용액에서 분리가 되지 않았다. 이는 AA의 산화물질이 전극 표면을 오염시키거나 산화피크가 겹쳐졌기 때문이라 사료된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 전극 표면에 여러 다른 막을 입힘으로써 전극의 선택성을 증가시키는 실험들이 이루어왔다 [3-5]. *N,N*-dimethyl aniline의 고분자 필름은 전기활동성이 있고, 일반적으로 물과 유기

용매에는 불용성이다. 이 막이 탄소전극에 사용되었을 때에 호르몬에 대해 높은 감도를 보였으며 AA의 산화 물질에 의한 검출 방해 효과를 제거함으로써 혼합 용액에서의 AA 검출을 가능하게 하였다. [12]. 이번 실험에서는 poly-DMA film-coated BDD 전극을 이용하여 각각의 혼합용액 (EP+AA, ST+AA)에서의 선택적 검출을 확인함으로써 코팅된 다이아몬드 전극의 센서로서의 이용을 보고자 하였다.

2. 실험

2.1 실험 장치

모든 실험은 삼상전극을 이용하여 전기화학적 방법으로 측정되었다



BAS 50 B/W

그림 1. 삼상전극 구조.

붕소가 도핑된 다이아몬드 전극은 working electrode로 백금판은 counter electrode, Ag|AgCl 은 reference electrode로 각각 사용되었다.

BDD 전극은 CVD system을 이용하여 실리콘 paper위에 다이아몬드를 성장 시킨후 붕소를 도핑함으로써 얻을 수 있다.

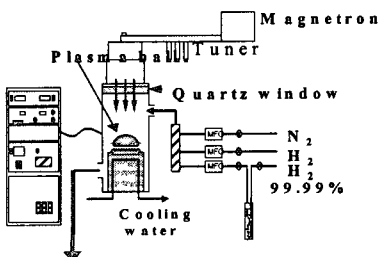


그림 2. MP CVD.

2.2 실험 방법

코팅 전 전극 표면은 아세톤과 증류수로 총 7~10분 초음파 세척을 시켜주었다. PDMA막은 0.5M Na₂SO₄ - H₂SO₄ (pH1) 용액에 0.1M의 모노머를 용해시킨 후 전극을 고정, 30분 동안 1.0V 전압을 걸어줌으로써 전극 표면에 침적시켰다. 전극 표면에 코팅된 막은 0.05M H₂SO₄ 용액과 pH 7인 0.2M의 인산버퍼 용액에 다시 세척하였다.

Figure 3.는 코팅전극을 만들기 위한 개략도이다.

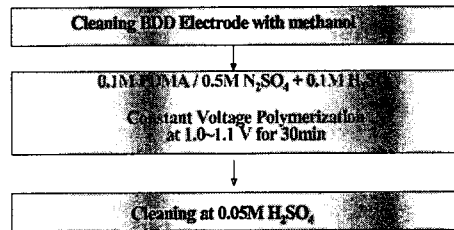


그림 3. 코팅 전극 제조.

모든 전기화학적 장치는 실험실 온도 (25 ± 1°C)에서 실행되었으며 모든 실험 용액은 N₂ bubbling 되었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 고분자 막에 의한 호르몬 검출 효과

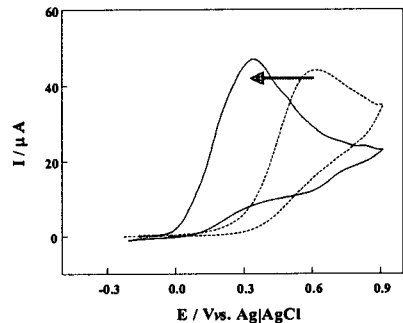


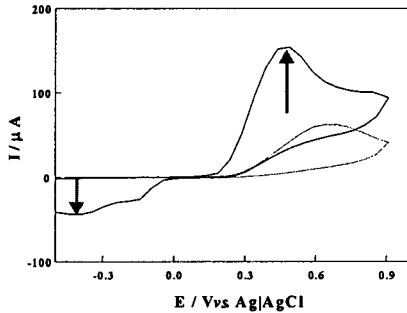
그림 4. Cyclic voltammograms(CVs) for 0.5mM ascorbic acid(AA) in 0.2M phosphate buffer solution(pH 7) at bare(dotted line) and PDMA film - coated BDD electrodes(solid line). Scan rate : 50mV/s.

Figure 4는 0.2M의 인산버퍼에 ascorbic acid (AA) 0.5mM이 함유되어 있는 용액을 전위 주사법을 이용하여 -0.2~0.8V의 범위에서, 주사속도 50mV/s로 측

정해 준 결과이다. 그래프에서 확인할 수 있듯이 막이 코팅되지 않은 bare BDD 전극에서의 AA의 산화 지점은 약 0.58V 부근이었으나, 고분자 막이 코팅된 BDD 전극에서는 산화 지점이 0.2V 부근으로 이동되었음을 확인할 수 있다. 이는 전극에 양이온성을 띄는 고분자 막이 음이온성인 AA와 보다 빠르게 반응하기 때문이라 생각된다.

지 않았던 환원 피크(약 -0.4V)가 나타남을 확인할 수 있었으며, EP (그래프 B)의 경우에는 산화(약 0.4V)와 환원 피크(약 -0.4V) 모두 약 2배로 늘어났음을 확인할 수 있었다. 두 생체 호르몬이 이와 같은 전위주사곡선을 얻게 되는 이유는 양이온성을 띄는 고분자 막이 소수성이라는 또 다른 특성을 갖고 있기 때문이다. 따라서 소수성인 두 물질이 같은 특성의 고분자 막과 반응함으로써 이와 같은 효과를 보여주었다.

(A)



(B)

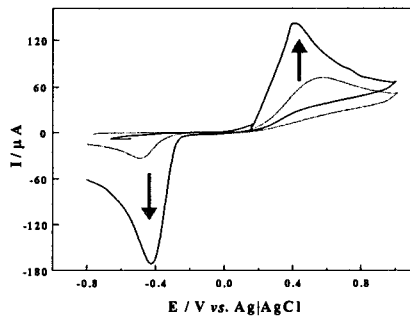
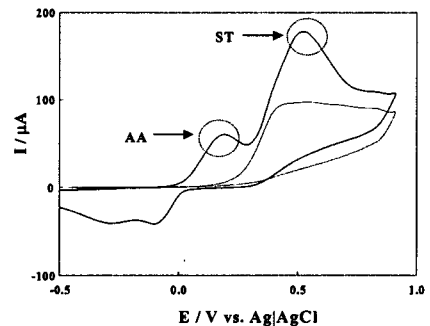


그림 5. (A) CVs for 0.5mM serotonin(ST) in 0.2M phosphate buffer solution(pH 7) at bare(dotted line) and PDMA film - coated BDD electrode(solid line). Scan rate : 50mV/s. (B) CVs for 0.5mM epinephrine(EP) in 0.2M phosphate buffer solution(pH 7) at bare(dotted line), PDMA film-coated BDD electrode(solid line). Potential rate 50mV/s.

Figure .5 의 실험조건은 Figure. 4과 같다. (A)의 그래프는 ST의 전위주사곡선을 보여준다. Bare BDD 전극에서 ST는 산화 피크가 낮을 뿐 아니라 환원 피크도 거의 나타나지 않았다. 그러나, 고분자 막에 의해 처리된 BDD 전극에서는 ST의 경우, 산화 피크(약 0.48V)의 높이가 약 2배로 늘어났으며 나타나

3.2 고분자 막에 의한 호르몬의 분리 효과

(A)



(B)

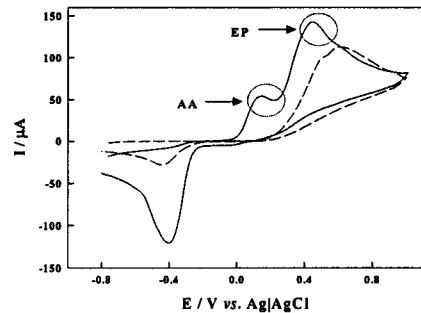


그림 6. (A) CVs for the mixture solution of 0.5mM ST and 0.5mM AA in 0.2M phosphate buffer solution(pH 7) at bare(dotted line), PDMA film-coated BDD electrode(solid line). Scan rate : 50mV/s. (B) CVs for the mixture solution of 0.5mM epinephrine(EP) and 0.5mM AA in 0.2M phosphate buffer solution(pH 7) at bare(dotted line), PDMA film-coated BDD electrode(solid line). Potential rate 50mV/s.

Figure. 6 는 서로 다른 산화 피크를 갖는 혼합 용액을 양이온성이고, 소수성을 띠는 고분자 막이 처리된 BDD전극으로 측정된 결과이다. 처리가 되지 않은 BDD전극에서는 하나의 완만한, 분리되지 않은 산화 피크가 나타나지만 고분자 막의 처리 결과, 고유한 특성을 갖는 ascorbic acid(AA)와 serotonin(ST), 그리고 epinephrine (EP) 각 물질들이 막과 반응함으로써 혼합 용액내에서의 두 물질의 분리 효과를 확인할 수 있다.

3.3 혼합 용액에서 호르몬들의 독립성

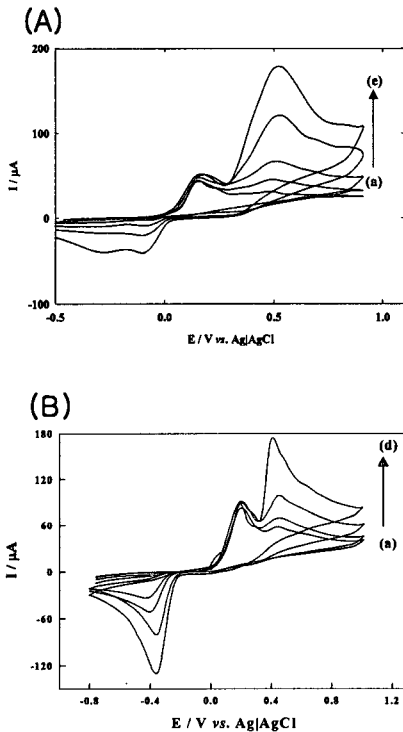


그림 7. (A) CVs of AA and ST at PDMA film-coated BDD electrode in 0.2 M phosphate buffer solution(pH 7). [ST] was changed and [AA] was kept constant(i.e., [AA] = 500 μ M, [ST]=(a) 25, (b)50, (c) 100, (d) 250 and (e) 500 μ M. (B) CVs of AA and EP at PDMA film-coated BDD electrode in 0.2 M phosphate buffer solution (pH 7). [EP] was changed and [AA] was kept constant (i.e., [AA] = 500 μ M, [ST]: (a) 62, (b) 125, (c) 250, and (d) 500 μ M).

Figure 7.은 혼합용액에서의 호르몬의 독립성을 보여 준다. 각각의 그래프는 AA를 고정시키고 ST와 EP의 농도를 변화하면서 AA의 산화피크의 변화를 본 것이다. 그래프에서 본 것과 같이 각각의 호르몬의 농도는 같이 용액내의 다른 호르몬에 영향을 미치지 못하고 자신의 농도에 맞는 피크를 유지했다. 또한 농도 변화와 산화 피크의 높이를 plot해 보면 거의 직선상태가 나타남을 볼 수 있었다.

4. 결론

본 연구에서는 고분자 막이 코팅된 다이아몬드 전극에서 AA와 ST, 또는 AA와 EP의 동시 검출을 증명할 수 있었다.

이는 양이온성 막과 음이온성의 AA 사이의 유리한 정전기적 상호작용에 의한 결과이며, 또한 고분자 막은 소수성의 특성을 가지므로 소수성 물질을 끌어당겨 ST와 EP는 고분자 막이 코팅된 전극에서 증가된 전류 반응을 보여 주고 있다.

막이 코팅된 다이아몬드 전극에 의해 AA와 ST, 또는 EP의 산화 피크가 약 0.2V~0.3V정도의 차이를 보이며 분리 됨을 확인할 수 있다. 즉, AA가 존재하는 상태에서 ST나 EP의 선택적 검출 효과에 대해 확인할 수 있었으며 따라서 고분자막이 코팅된 다이아몬드 전극의 센서로서의 응용을 기대할 수 있다.

참고 문헌

- [1] A. Kojio, C.J. Martinez, *Anal.Chim. Acta*, 308 (1995) 334.
- [2] B.R. Copper, R.M. Wightman, J.W. Jorgenson, *J. Chromatog.B*, 653 (1994) 25.
- [3] F.B. Salem, *Alexandria J. Pharem. Sci.*, 9 (1995) 143.
- [4] S.Sasso, P. Pierce, R. Walla, A. Yacynych, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 111.
- [5] C. Malitesta, F.Palmisano, L. Torsi, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 2735
- [6] P.R. Roy, M.S. Saha, T. Okajima, T. Ohsaka, submitted in *Electroanalysis*.