

## 15-Crown-5-Anthracene 막을 이용한 요 중의 칼륨이온 분석에 미치는 초음파 전처리의 효과

이지영 · 장혜영<sup>†</sup> · 배준웅\*  
경북대학교 자연과학대학 화학과  
<sup>†</sup>경북대학교 기초과학연구소  
(2002. 9. 26 접수)

### Effect of Ultrasonic Pretreatment on Analysis of Potassium Ion in Human Urine Using 15-Crown-5-Anthracene-based Membrane

Ji-Young Lee, Hye-Young Chang<sup>†</sup>, and Zun-Ung Bae\*  
Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea  
<sup>†</sup>Institute of Basic Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea  
(Received September 26, 2002)

**요 약.** 요(urine) 시료 중의 칼륨 이온을 전위차법으로 분석하기 위한 전처리 방법을 개발하기 위하여 초음파의 분해 효과를 이용하였다.  $\text{NH}_4^+$ 의 농도가 상대적으로 높은 요 시료 속에서 첨가한  $\text{K}^+$ 에 대한 검정 곡선을 구하기 위하여  $\text{NH}_4^+$ 에 대한  $\text{K}^+$ 의 선택성이 좋은 N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine을 이온선택성 전극 물질로 사용하였다. 1.0 M  $\text{HNO}_3$ 으로 산성화시킨 요 시료를 초음파로 100 s 동안 전처리시키면 요 중의 단백질을 85.1%까지 제거시킬 수 있었다. 이렇게 전처리된 시료에서 얻은 막전극의 감응 전위에 대한 기울기는  $\log [\text{K}^+] = -5 \sim -1$ 의 직선범위( $r=0.9997$ )에서  $54.6(\pm 0.2, n=5)$  mV/decade였다.  $\text{HNO}_3$ 으로 초음파처리한 요 시료에 산화제인  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 첨가하면  $\text{HNO}_3$ 만으로 전처리시켰을 때보다 단백질 제거율이 10% 증가하여 최대 95%까지 제거되었다. 요 시료에 첨가한  $\text{K}^+$ 에 대한 감응 전위의 기울기 또한  $56.7(\pm 0.1, n=3)$  mV/decade로 증가하였다. 검정 곡선을 연속적으로 얻었을 때, 막전극 표면을 초음파로 세척하여 20회까지 안정한 감응 기울기를 얻을 수 있었다. 이 결과들로부터 초음파를 이용한 전처리법은 간단하고, 짧은 시간 내에 요 중의 단백질을 약 95%까지 제거시켜서 막전극의 감응 특성을 증진시킨 방법이었다.

**주제어:** 초음파 전처리, 15-crown-5, 칼륨이온, 요

**ABSTRACT.** The effect of ultrasonic decomposition was introduced to develop a pretreatment method for the analysis of potassium ion in human urine by potentiometry. N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine, which has a good selectivity coefficient for potassium against ammonium, was used as an ion-selective material for the determination of potassium in urine with relatively high concentration of  $\text{NH}_4^+$ . Proteins in urine could be removed by 85.1% when the sample acidified with 1.0 M  $\text{HNO}_3$  was pretreated for 100 s by sonication. Potential response of the membrane electrode in the pretreated urine had a slope of  $54.6(\pm 0.2, n=5)$  mV/decade over the linear range of  $\log [\text{K}^+] = -5 \sim -1$  ( $r=0.9997$ ). When an oxidant,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , was added to the urine sonicated with  $\text{HNO}_3$ , the deproteinization increased 10% more than that in case of only  $\text{HNO}_3$  and then the maximum ratio of ca. 95% was obtained. Moreover, the Nernstian slope for  $\text{K}^+$  added to the urinary sample increased to  $56.7(\pm 0.1, n=3)$  mV/decade. When the calibration curves were measured, the slopes did not vary even after the electrode was successively used 20 times with ultrasonic cleaning. The results showed that an ultrasonic pretreatment method provides simplicity in use, reduced treatment time and improved potentiometric characteristics of the membrane as the method effectively removes ca. 95% of proteins in urine.

**Key words:** Ultrasonic Pretreatment, 15-crown-5, Potassium Ion, Urine

## 서 론

요에 들어 있는  $K^+$ 을 정량적으로 분석하려면 생체 시료의 특성 때문에 전처리 과정이 필요하다. 특히 단백질은 분석물질의 이동도를 감소시키고, 분석 과정에 흡착되어 선택성을 감소시키므로 분석 오차의 주된 요인이 된다. 요 중의 수용성 단백질인 알부민을 제거하기 위한 전처리법으로는 추출법과 침전법, 마이크로파 삭임법 등이 이용되고 있다. 추출법<sup>1</sup>을 쓰면 단백질 제거율이 낮으며, 침전법<sup>2</sup>은 제거율이 낮을 뿐만 아니라 분석물질의 손실도 있다. 마이크로파 삭임법<sup>3</sup>을 쓰면 단백질 제거율은 높으나 처리 시간이 오래 걸린다. 그러므로 단백질을 제거하기 위한 전처리 방법은 분석물질의 손실이 없고, 분석물질을 오염시키지 않으며, 방법이 간단하여 처리시간이 짧고, 단백질의 제거율은 높은 방법이 바람직하다. 여기에 부합하는 방법이 초음파의 분해 효과를 이용한 전처리법이다. 초음파는 화학 반응,<sup>4</sup> 정량 분석의 전처리,<sup>5</sup> 폐수 처리,<sup>6</sup> 비파괴 분석,<sup>7</sup> 세척<sup>8</sup> 등의 목적에 널리 이용되고 있다.

요 중의  $K^+$ 을 분석하기 위한 방법으로는 이온선택성 막전극을 쓰는 전위차법을 이용하였다. 이온선택성 전극을 이용한 분석법은 분석 이온에 대한 선택성이 우수하고, 시료 용액의 색상, 탁도 등의 영향을 받지 않으며, 감응시간이 수 초 이내로 짧고, 막의 제조가 쉽다는 장점이 있다. 그러므로 요, 혈액 등과 같은 생체 시료에 들어 있는  $K^+$ 과  $Na^+$ 의 분석에 이온선택성 전극이 오랫동안 사용되고 있다.<sup>9-11</sup> 생체에서 매우 중요한 이온종인  $K^+$ 을 이온선택성 전극으로 정량하기 위하여 많은 화합물들이 이온선택성 물질로 사용되고 있는데, 대표적인 것은 valinomycin<sup>12</sup>과 이 물질과 유사한 구조를 가지는 mono(crown ether)<sup>13</sup>이다. 이 연구에서는 mono(crown ether)의 한 종류인 N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine를 이온선택성 물질로 사용하였는데, 이것은 알칼리 금속 및 알칼리 토금속 이온에 대하여  $K^+$ 이 높은 선택성을 가진다고 보고되었다.<sup>14</sup> 특히,  $NH_4^+$ 에 대한 선택계수( $\log K_{K^+,NH_4^+}^{pot}$ )는 -2.59로 valinomycin 막으로 측정된 값, -1.82와 bis(15-crown-5) 막으로 측정된 값, -2.00<sup>15</sup> 보다 선택성이 더 좋은 것으로 밝혀졌다. 그래서 요 시료는  $NH_4^+$ 의 농도(190-1200 mg/L)<sup>16</sup>가 상대적으로 높으므로  $K^+$  분석에 선택성이 우수한 anthracene을 포함하는 15-crown-5 유도체를  $K^+$ 에 대한 선택성 물질로 사용하였다.

특히 이 연구에서는 요 시료 중의  $K^+$ 를 정량하기보다는  $K^+$ 의 정량을 방해하는 성분인 단백질을 제거하는 방법에 초점을 두었다. 요 중의 단백질을 제거하기 위한 전처리법으로 초음파를 도입하였다. 요 시료를 초음파로 전처리하였을 때의 효율은 초음파로 처리된 시간, 산의 종류와 산화제에 따른 단백질 제거율과 첨가한  $K^+$ 에 대한 막의 분석 특성과의 관련성으로 조사하였다. 막의 분석 특성은 감응 전위 곡선의 기울기와 직선범위, 상관계수 및 막의 안정성으로 구하였다.

## 실 험

시약. 이온선택성 물질로 사용한 N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine(Fig. 1)은 대구대학교장 승현 교수의 연구실에서 새로 합성한 것이다. 막 제작에 필요한 가소제와 지지체, 용매는 Fluka사(Buchs, Switzerland)의 bis(2-ethylhexyl) adipate(DOA), poly(vinyl chloride)(PVC), tetrahydrofuran(THF)를 각각 사용하였다. 칼륨 표준용액은 Junsei사(Tokyo, Japan)의 특급 KCl을, 단백질 제거율 측정에는 Sigma사(St. Louis, USA)의 Coomassie Brilliant Blue G와 단백질 표준물질을 정제하지 않고 각각 사용하였다. 이 외의 모든 시약도 특급을 사용하였다. 용액 제조에 사용한 탈이온수( $\geq 18 M\Omega \cdot cm$ )는 Millipore사(Bedford, MA, USA)의 MILLI-Q Water system으로 제조하였다.

이온선택성 막전극의 제작. 막을 만들기 위하여 먼저, 1 mL의 THF에 DOA와 PVC, N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine을 각각 132 mg(66%), 66 mg(33%) 2 mg(1%)씩 넣어서 녹인다. 이 용액을 균일하게 혼합한 후, 유리판 위에 놓여 있는 유리로 된 고리(i.d. 24 mm,

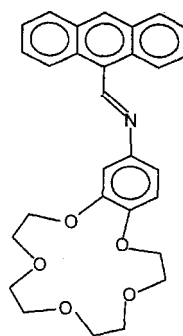


Fig. 1. The structure of N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine.

Fluka, Switzerland)에 부어 성형한 다음, 대기 중에 약 24시간 동안 방치시켜서 용매를 증발시킨다. 이렇게 만든 이온선택성 막을 직경 5.5 mm의 원형으로 잘라내어 Philips 전극몸체(ISE-561, Glasblaserei Moller, Zurich)에 장착시켰다.

**시료의 초음파 전처리.** 시료를 전처리시키기 위하여 매일 채취하여 냉장 보관한 요를 25.0 mL 취한 후, 실온에서 10분 동안 방치시킨다. 여기에 산을 0.2 mL 첨가한 후, Ultrasonic processor(VC-130, Sonics & Materials Inc., USA)로 일정한 시간 동안 초음파를 조사하여 단백질을 분해시킨다. 이 시료를 0.05 M tris-HCl 완충용액(pH 7.2)으로 묽혀서 250 mL로 만든 다음에 단백질 제거용과 전위차 측정에 사용하였다. 단백질 제거용은 Bradford method<sup>17)</sup>를 이용하여 시료를 초음파로 전처리하기 전과 후의 단백질 양을 분광광도법으로 정량하여 구했다. 전처리에 사용한 Ultrasonic processor의 탐침(dia. 6 mm)은 티타늄 합금으로 20 kHz의 주파수와 130 W의 최대출력을 가진다. 이 연구에 사용한 요 시료는 신장 기능에 이상이 있는 환자로부터 채취하였으므로 시료 중의 단백질 양이 정상인보다 훨씬 많다. 이러한 요를 시료로 사용한 것은 전처리 방법으로서의 초음파 효과를 극대화하기 위해서였다.

**전위차 측정.** 전위차를 측정하기 위한 전극계는 이온선택성 막을 장착한 작업전극과 0.1 M NaCl로 채워진 Ag/AgCl 내부 기준전극, double junction의 Ag/AgCl (Orion사, Model 90-02) 외부 기준전극으로 구성된다. 전처리한 요 시료 용액에 작업전극과 외부 기준전극을 담그면, 두 전극 사이에 발생하는 전위차는 high input impedance voltmeter로 측정되어 자체 제작한 증폭기와 A/D 변환기를 통하여 1초 간격으로 컴퓨터에 저장된다. K<sup>+</sup>에 대한 검정 곡선은 먼저 전처리한 요 시료를 완충용액으로 묽혀서 pH 7.2로 만든 용액에서 요 시료 자체의 전위차 값이 일정해질 때까지 막전극을 안정화시킨 후, K<sup>+</sup> 저장 용액을 첨가하여 K<sup>+</sup>의 농도 변화에 따른 감응 전위를 각각 측정하여 작성하였다.

## 결과 및 고찰

**초음파 전처리의 효과.** 요 시료를 초음파로 전처리하기 전과 후의 효과를 비교하기 위하여 N-(4'-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine 막전극으로 요 시료에 첨가한 K<sup>+</sup>의 농도 변화에 따른 전위차를 측정하여 Fig.

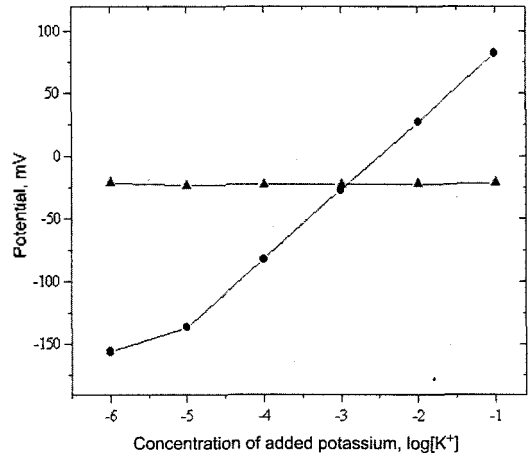


Fig. 2. Potential response of 15-crown-5-anthracene-based membrane electrode to potassium ion in urinary samples pretreated with (●) and without (▲) sonication. The urine that was not pretreated with sonication was also acidified with 1.0 M HNO<sub>3</sub> and followed by dilution with a pH 7.2 buffer solution. Sonication was performed for 100 s at 50 W and 20 kHz.

2에 나타내었다. 이 그림에서, 초음파로 전처리하지 않은 시료에서는 K<sup>+</sup>의 농도 변화에 대하여 감응 전위의 변화가 거의 없으나, 전처리한 후에는 큰 변화가 있다. 전처리하지 않은 경우에는 요 시료 중의 단백질이 막 표면에 흡착되어 K<sup>+</sup>의 감응을 크게 방해한다는 것을 알 수 있다. 초음파로 전처리한 시료에서는 검정 곡선의 기울기, 즉 Nernst 기울기가 log[K<sup>+</sup>] = -5~-1의 직선범위(r=0.9997)에서 이론적인 값, 59.2 mV/decade에 근사한 54.6(±0.2, n=5) mV/decade로 얻어졌다. 이러한 결과는 요 중의 단백질이 초음파로 전처리하는 과정에서 충분히 제거되었음을 의미한다. 또한, 좋은 감도와 넓은 직선범위가 얻어진 것은 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>의 농도가 상대적으로 높은 요 시료 중에서 15-crown-5-anthracene 막의 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>에 대한 K<sup>+</sup>의 선택성이 좋기 때문이라 생각된다. 이 결과는 K<sup>+</sup>을 이온선택성 막으로 분석하기 전에 요 시료 중의 단백질이 제거되어야 하며, 적절한 전처리 방법으로서 초음파가 이용될 수 있음을 보여준다.

**산과 단백질 제거용.** 초음파로 전처리하는 과정에서 요 시료를 산성화시키면 분석에 영향을 미치는 단백질을 제거하기가 더 쉬워진다. 즉, 단백질 제거 효율을 높이기 위하여 시료에 산을 첨가하여 전처리시켰을 때, 산의 종류에 따른 전처리 효과를 비교하기 위하여 K<sup>+</sup>에 대한 검정 곡선의 기울기를 구하여 Fig. 3에 나타내었다. 이 그림에서 1.0 M HNO<sub>3</sub>과 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서의

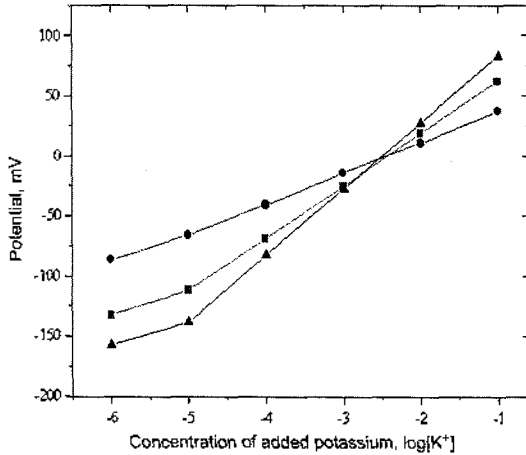


Fig. 3. Effect of acid added to urine before ultrasonic pretreatment on the potential response. Each concentration of HCl (●) and HNO<sub>3</sub> (▲) was 1.0 M and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (■) was 0.5 M. Ultrasonic condition was the same as in Fig. 2.

감응 기울기는  $\log[K^+] = -5 \sim -1$ 의 직선범위에서 각각 54.9, 43.2 mV/decade로 얻어진 반면, 1.0 M HCl에서는  $\log[K^+] = -6 \sim -1$ 의 직선범위에서 25.6 mV/decade로 얻어졌다. 그림에는 나타나지 않았으나 1.0 M HClO<sub>4</sub>는 HNO<sub>3</sub>과 거의 일치하는 값이었다. 같은 농도의 산으로 시료를 산성화시켜 초음파로 분해시켰지만 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>과 HCl에서보다 HNO<sub>3</sub>과 HClO<sub>4</sub>에서 이 값이 훨씬 더 크다는 것은 HNO<sub>3</sub>과 HClO<sub>4</sub>에서 K<sup>+</sup>에 대한 감도가 더 좋음을 의미한다. 즉, HNO<sub>3</sub>과 HClO<sub>4</sub>의 산화력에 의하여 단백질의 3차 구조가 변하게 되고, 초음파 효과에 의하여 그 분해 속도가 가속화되어 막전극 표면에 흡착된 양이 크게 감소한 것으로 생각된다. 이것을 뒷받침하기 위하여 HNO<sub>3</sub>으로 산성화시킨 요 시료를 초음파로 전처리한 시간을 증가시키면서 전처리 시간에 따른 단백질 제거율과 막전극의 감응 전위의 기울기를 구하여 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4a 그림을 보면, HNO<sub>3</sub>으로 산성화시킨 요 시료를 약 100초 이상 초음파로 전처리시키면 단백질 제거율은 일정해지며 최대 85.1%까지 제거시킬 수 있다. 또한, 초음파에 노출된 지 약 10초 만에 시료 중에 남아 있는 단백질의 양은 24.9%로 줄어드는 것을 볼 수 있다. Fig. 4b를 보면, 요 시료 중에 남아 있는 단백질의 양이 감소함에 따라서 K<sup>+</sup>에 대한 감응 전위의 감도가 증가한다. 또한, 단백질 제거율이 일정해지는 시간인 약 100초에서 막전극의 감응 기울기도 54.3 mV/decade로 일정한 값에 도달한다. 시료 중

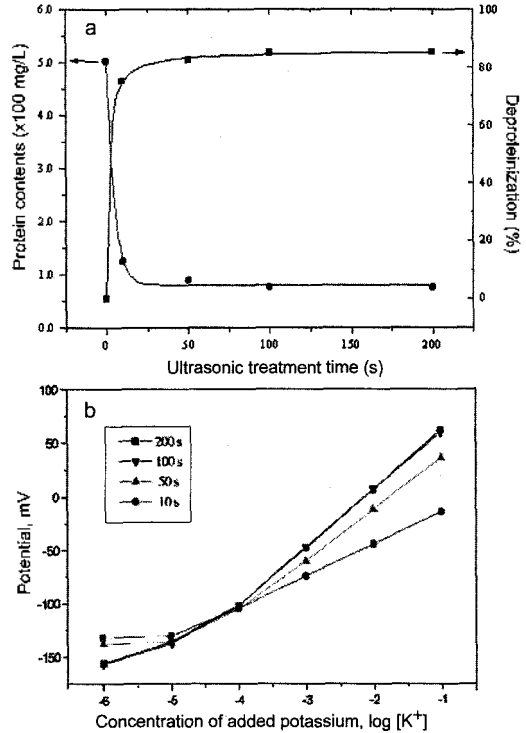


Fig. 4. (a) Deproteinization of urinary sample and (b) potential response of membrane to potassium ion in the sample according to ultrasonic treatment time. The sample was acidified with 1.0 M HNO<sub>3</sub> before sonication.

Table 1. Acid effect on the deproteinization of urinary sample by ultrasonic pretreatment

Acid <sup>a</sup>	After Pretreatment	
	Protein contents* (mg/L)	Deproteinization (%)
1.0 M HCl	486	3.2
0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	78.4	84.4
1.0 M HNO <sub>3</sub>	74.9	85.1
1.0 M HClO <sub>4</sub>	75.2	85.0

\*Initial contents of protein in the urine sample is 502 mg/L.

<sup>a</sup>Each acid is added to the urine by 0.2 mL.

의 단백질 양과 K<sup>+</sup>에 대한 감도와의 관련성을 다른 종류의 산에서 조사하였다. HNO<sub>3</sub>에서 얻은 최적의 초음파 전처리 시간 만큼 HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub>에서 각각 전처리한 후, 남아 있는 단백질의 양을 구하여 Table 1에 나타내었다. 단백질 제거율은 감응 기울기에서와 같이 HNO<sub>3</sub>과 HClO<sub>4</sub>이 HCl보다 훨씬 더 높다. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 경우에는 단백질 제거율과 감응 기울기와의 관련성이

Table 2. Oxidant effect on the deproteinization of urine by ultrasonic pretreatment and the potential response of the membrane to potassium ion

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (wt%)	After Pretreatment		Linear range of log[K <sup>+</sup> ]	Nernstian slope (mV/decade)	R <sup>†</sup>
	Protein contents(mg/L)	Deproteinization(%)			
0.0*	74.9	85.1	-5-1	54.9	0.9998
0.1	41.3	91.8	-5-1	54.6	0.9997
0.5	32.8	93.5	-5-1	55.8	0.9997
1.0	26.2	94.8	-5-1	56.6	0.9996
1.5	27.2	94.6	-5-1	56.8	0.9998
2.0	26.2	94.8	-5-1	56.7	0.9997

\*0.2 mL of 1.0 M HNO<sub>3</sub> was already added to each urine sample before 0.5 mL of each H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is added.

†Correlation coefficient.

완전히 일치하지는 않았지만 이 결과는 시료에 존재하는 단백질의 양이 첨가한 K<sup>+</sup>에 대한 막의 감응에 직접적으로 큰 영향을 미친다는 것을 보여준다.

**산화제 효과.** 산화력이 있는 산으로 산성화시킨 요 시료를 초음파로 전처리하면 마이크로 삼입법보다 방법은 보다 간단하고, 시간은 더욱 짧게 걸리지만 단백질 제거율은 낮다. 이 비율을 높이고 산화력을 가진 산이 요 중의 단백질 분해에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 산성에서 전처리한 요 시료에 다시 산화제를 첨가한 후 초음파로 다시 전처리를 시켰다. 이것은 최대 단백질 제거율을 구하기 위한 것으로 산화제가 단백질 제거율에 끼친 결과를 Table 2에 나타내었다. 이 표를 보면, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 농도가 증가함에 따라서 단백질의 농도는 크게 감소하다가 일정해진다. 즉 단백질 제거율은 크게 증가하다가 최대 95%로 일정해지는데, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 없을 때보다 제거율이 약 10%만큼 증가하였다. 이 비율은 같은 시간 동안 초음파로 전처리시켰으나 초음파와 HNO<sub>3</sub>의 산화력으로는 더 이상 분해되지 않던 단백질이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 강한 산화력과 초음파의 분해 효과에 의하여 방해하지 않는 성분으로 분해되었음을 의미한다. 요 시료에 첨가한 K<sup>+</sup> 분석에 대한 막의 감응도 좋아져 기울기 또한 산화제의 농도에 따라 증가하다가 56.7(±0.1, n=3) mV/decade로 일정해지는 것을 볼 수 있다. 이 결과로부터 요 시료의 전처리 과정에 초음파의 분해 효과와 화학적인 방법을 함께 사용하면 K<sup>+</sup> 분석을 위한 막전극의 성능이 더 좋아짐을 알 수 있다. 또한, 생체 시료의 전처리 방법으로서 초음파는 간단하고, 짧은 시간 내에 약 95%의 단백질 제거 효율을 가지는 방법임을 알 수 있다.

**막전극의 안정성.** 요 시료에 K<sup>+</sup>를 첨가하여 막전극

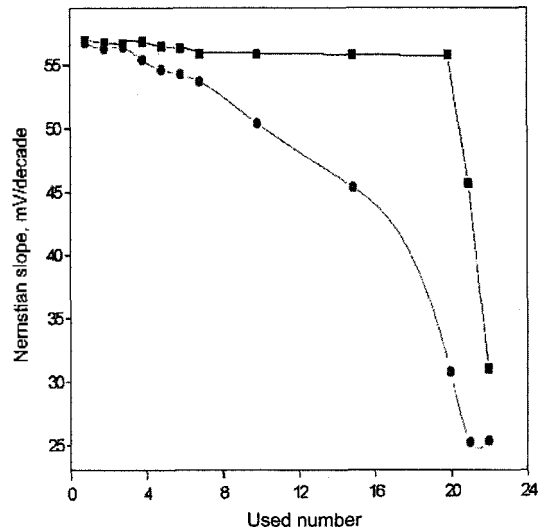


Fig. 5. Variance of Nernstian slope according to the used number after cleaning the membrane with (■) and without (●) sonication. Each number of times means one calibration curve for potassium ion obtained in a urinary sample.

으로 점정 곡선을 얻은 다음, 연속해서 점정 곡선을 다시 얻었을 때 몇 회까지 일정한 기울기 값을 얻을 수 있는지 조사하였다. 즉, 막전극이 안정하게 작동하는 횟수를 구하기 위하여 연속적으로 Nernst 기울기 값을 얻어서 Fig. 5에 나타내었다. 요 시료를 앞에서 구한 최적 조건에서 초음파로 전처리하였으나 시료 중에는 약 5%의 단백질이 남아 있다. 그러므로 감응 전위에 대한 기울기를 한 번 얻은 후, 막전극 표면을 초음파에 노출시켜 세척한 다음 다시 측정하였을 때의 효과를 비교하였다. 초음파로 세척한 경우, 약 20회까지는 3.5% 미만으로 기울기 값이 감소하였으나 21 회부터는 22.9%로 감

소한다. 그러므로 이 막전극을 초음파로 세척할 때 약 20 회까지 K<sup>+</sup>에 대한 점정 곡선을 얻을 수 있으며, 요 시료 중의 K<sup>+</sup> 분석에 15-crown-5-anthracene 막이 재현성이 있음을 보여준다. 21 회부터 감응 기울기가 크게 감소한 것은 단백질의 흡착 때문이 아니라 초음파에 노출된 시간이 길어져 막이 손상되었기 때문으로 생각된다. 이 막을 물로만 세척한 경우에는 4회부터 기울기 값이 거의 직선적으로 감소한다. 이것은 전처리 과정에 의하여 시료 중의 약 95%의 단백질이 분해되었으나 남아 있는 단백질이 막의 사용 횟수가 증가함에 따라 막 표면에 흡착된 양이 증가하여 K<sup>+</sup>에 대한 감응을 방해한 것으로 보인다. 이 결과로부터 요 시료 중의 K<sup>+</sup>를 분석할 때 시료를 초음파로 전처리하였더라도 미량의 단백질이 막전극의 안정성에 영향을 미치므로 막을 초음파로 세척할 필요가 있음을 알 수 있다.

## 결 론

요 시료 중의 K<sup>+</sup>를 전위차법으로 분석하기 위하여 시료 중의 단백질을 제거하기 위한 전처리 방법으로 초음파를 도입하여 단백질 제거율과 막의 분석 특성과의 관련성을 조사하였다. K<sup>+</sup>에 대한 선택성 물질로는 N-(4-benzo-15-crown-5)-anthracene-9-imine을 막전극으로 제작하였다. 전처리를 하지 않은 요 시료에서는 첨가한 K<sup>+</sup>의 점정곡선을 구할 수 없었으나, 초음파로 전처리한 후에는  $\log[K^+] = -5 \sim -1$ 의 직선범위( $r=0.9997$ )에서 54.6 ( $\pm 0.2$ ,  $n=5$ ) mV/decade의 Nernst 기울기를 얻었다. 이 결과로부터 초음파가 요 시료의 전처리 방법으로 사용될 수 있음을 알 수 있었다. 막전극의 감도를 높이기 위하여 요의 전처리 과정에 첨가하는 산의 영향을 조사하였을 때, HNO<sub>3</sub>에서 54.9 mV/decade로 가장 좋은 값을 얻었다. 그 이유는 HNO<sub>3</sub>의 산화력 때문이며, 이것은 각각의 산이 첨가된 시료를 초음파로 전처리한 시간에 따른 단백질의 제거율로부터 알 수 있었다. HNO<sub>3</sub>으로 산성화시킨 요 시료에서는 약 100초 동안 초음파로 전처리시키면 최대 85.1%까지 단백질을 제거할 수 있었다. 전처리 과정에 산화제인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 1.5 wt% 첨가하면 HNO<sub>3</sub>만으로 전처리시켰을 때보다 단백질 제거율이

10% 증가하여 최대 95%까지 제거되었다. 요 시료에 첨가한 K<sup>+</sup>에 대한 막전극의 감응 기울기 또한 56.7( $\pm 0.1$ ,  $n=3$ ) mV/decade로 증가하였으며, 점정 곡선을 연속적으로 얻었을 때 막전극 표면을 초음파로 세척하여 20 회까지 안정한 감응 기울기 값을 얻었다. 이러한 결과로부터 요 시료의 전처리 방법으로 초음파를 쓰면 간단하고, 짧은 시간 내에 약 95%의 단백질 제거시켜 막전극의 감응 특성을 증진시키는 방법임을 알 수 있었다.

## 인용 문헌

1. Barroso, M. B.; Jiménez, R. M.; Alonso, R. M.; Ortiz, E. *J. Chromatogr. B* **1996**, *675*, 303.
2. Khanshali, M. H.; Bhangar, M. I.; Khand, F. D. *J. Chromatogr. B* **1996**, *675*, 147.
3. Bohrer, D.; Pomblum, S. G.; Do Nascimento, P. C.; Bastianello, J. S.; Ramirez, A. *Anal. Lett.* **2000**, *33*, 1265.
4. Floate, Simon; Hyde, Michael; Compton, Richard G. *J. Electroanal. Chem.* **2002**, *523*(1-2), 49.
5. Capelo, J. L.; Lavilla, I.; Bendicho, C. *Anal. Chem.* **2001**, *73*(15), 3732.
6. Tietm, A.; Nickel, K.; Zellhorn, M.; Neis, U. *Water Res.* **2001**, *35*(8), 2003.
7. Nelligan, Thomas J. *Mater. World* **1996**, *4*(11), 637.
8. Seymour, I. J.; Burfoot, D.; Smith, R. L.; Cox, L. A.; Lockwood, A. *Int. J. Food Sci. Tech.* **2002**, *37*(5), 547.
9. Ladenson, J. H. *Clin. Chem.* **1979**, *25*(5), 757.
10. Khalil, S. A. H.; Moody, G. J.; Thomas, J. D. R. *Anal. Lett.* **1986**, *19*(17-18), 1809.
11. Heidrich, J. P.; Niemeier, A.; Seyfarth, M.; Dibbelt, L. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2000**, *38*(3), 215.
12. Cattrall, R. W.; Tribuzio, S.; Freiser, H. *Anal. Chem.* **1974**, *46*, 2223.
13. Petranek, J.; Ryba, O. *Anal. Chim. Acta* **1974**, *72*, 375.
14. Bae, Z.-U.; Lee, S.-B.; Chang, S.-H.; Kim, U.-R. *J. Kor. Chem. Soc.* **2001**, *45*, 31.
15. Tamura, H.; Kimura, K.; Shono, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, *53*, 547.
16. Mizobuchi, M.; Ohmae, H.; Umoto, F.; Tanaka, T.; Ichimura, K.; Ueda, E.; Itano, T. *Clin. Chem.* **1983**, *29*(2), 408.
17. Bradford, M. M. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248.