Journal of the Korean Electrochemical Society
Vol. 10, No. 3, 2007, 190-195

니켈(II)-거대고리 착물과 폴리 우레탄으로 변성한 이중 전극에서 에피네피린의 전기화학적 정량

Guang-Ri Xu · 조형화† · 권수경† · 이상학† · 배준웅*†

해난 과학 기술 연구소, †경북대학교 자연과학대학 화학과

(2007년 5월 15일 접수 : 2007년 7월 2일 채택)

Electrochemical Determination of Epinephrine Using Doubly Modified Electrodes with Ni(II)-Macrocyclic Complex and Polyuretane

Guang-Ri Xu, Hyung-hwa Cho†, Soo-Geong Kweon†, Sang-Hag Lee†, and Zun-ung Bae*†

Henan Institude of Science and Technology, Xinxiang 453003, P.R.China
†Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

(Received May 15, 2007 : Accepted July 2, 2007)

초 록

본 연구는 뇨 속에 있는 에피네피린을 선택적으로 정량하기 위한 새로운 전기화학적 센서를 제작하고 그 특성을 연구한 것이다. 전극의 제작은 유리질 탄소전극에 촉매능이 있는 니켈(II)거대고리 착물을 전착시킨 후, 그 위에 생체적합성이 좋으며 음의 하전을 띤 polyuretane benzyl *L*-glutamate(PUBLG)로 막을 입힌 이중 폴리머 전극이다. 이 전극은 뇨 속에 있는 많은 방해물질에 대하여 좋은 선택성을 보였으며,우수한 장기 안정성을 보였다. 최적 실험조건하에서 이 전극을 이용한 에피네피린의 정량범위는 8.0×10^{-7} *M* 에서 2.0×10^{-4} *M* 이고, 검출한계는 1.0×10^{-7}*M* 이다. 완충용액으로 5 배 희석한 뇨 시료에서 에피네피린의 회수율은 6 회 측정에서 101.5(±3.2)% 이었다

Abstract : A new electrochemical sensor to selectively determine epinephrine was developed and its analytical characteristics has been investigated. A glassy carbon electrode was modified with Ni(II)-macrocyclic complex which has electrocatalytic effect. It was further modified with physiologically suitable and negatively charged polyuretane benzyl *L*-glutamate(PUBLG). The present electrode showed long term stability and it could be applied to the selective determination of epinephrine in urine sample with various coexisting compounds. Under the optimum experimental conditions the linear range was 8.0×10^{-7} - 2.0×10^{-4} *M* and the limit of detection was 1.0×10^{-7} *M*. The recovery of epinephrine in urine sample diluted 5 times with buffer solution was 101.5(±3.2)% for 6 measurements.

Keywords : Catecholamines, Epinephrine, Ni(II)-macrocyclic complex, Polyurethane, Polymer-modified electrode.

1. 서 론

도파민, 노르에피네피린, 에피네피린 등은 신경전달물질로서 카테콜 골격을 지닌 생체아민이다. 에피네피린은 심장병, 우울증과 같은 질병을 초래하는 물질로 알려져 있다.[1,2] 이러한 병의 임상학적인 진단을 위해서 에피네피린의 함량을 신속하고 정확하게 측정할 수 있는 분석법의 개발이 요구된다.

생체 내의 에피네피린을 정량하는 방법은 분광학적인 방법[3]과 크로마토그래피법[4,5]이 많이 이용되고 있다. 그러나 이 방법들은 시료의 전 처리 단계가 복잡하고 검출시간이 긴 단점이 있다. 따라서 이러한 단점을 보완하기 위하여 최근에는 측정이 간단하고 경제적이며 자동화가 용이한 전기화학적 방법으로 에피네피린을 정량 하는 연구가 많이 보고되고 있다.[6-8] 그러나 전극을 변성하지 않고 전압 - 전류법으로 정량할 때에는 에피네피린 뿐아니라 다른 카테콜아민류와 아스코르빈산의 산화전위가 매우 근접하여 방해를 일으키므로 생체시료 속의 에피네피린을 정량하기가 힘들다. 따라서 이 문제를 해결하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔다. Forzani 등[9]은 생체효소로 변성한 탄소반죽 전극을 사용하여 전류법으로 에피네피린을 정량하였다. 이 방법에서 아스코르빈산의 방해를 제거하기는 하였으나 전극의 장기 안정성이 부족하고 검출한계가 높으며 전극팽윤현상을 극복할 수 없는 단점을 확인할 수 있었다. Wang 등[10]은 자기조립 단분자막을 사용하여 시차펄스 전압 - 전류법으로 에피네피린을 정량하였다. 이들의 연구결과를 보면, 검출한계는 낮았으나 검정선의 직선범위가 좁은 단점이 있었다. Lv 등[11]은 탄소 섬유 마이크로 전극을 사용하여 음극벗김 전압-전류법으로 에피네피린의 정량을 시도하였으나 감도가 좋지 않았다.

생체시료 중에 다량으로 존재하며 방해현상이 가장 큰 아스

*E-mail: zubae@kyungpook.ac.kr

코르빈산의 방해를 제거하기 위하여 음전하를 띄고 있는 고분자막을 많이 사용하여 왔다. 가장 널리 사용하는 방법으로 nafion 막[12]을 입혀 음의 하전을 띠게하여 아스코르빈산의 방해를 제거하는 방법이 연구되었으나 전극의 제작과정이 복잡하고 재현성이 떨어지며 감도가 낮은 단점이 있었다.

본 연구에서는 유리질 탄소전극에 여러 가지 카테콜아민류에 대하여 촉매능을 갖는 거대고리착물[13,14]을 포함하는 아세토니트릴 용액 중에서 +1.8에서 −2.0 V *vs* SCE 전위범위에서 전위를 왕복주사하는 방법으로 폴리머 코팅하고 그 위에 음의 하전을 가지며 생체적합성이 우수한 benzyl *L*-glutamate를 포함하는 polyuretane(PUGLB)를 입힌 새로운 이중 폴리머 전극을 제작하였다. 제작한 전극의 전기화학적 특성을 조사하였으며, 이 전극으로 에피네피린을 정량하기 위하여 순환 전압 - 전류법으로 기질용액의 pH, 온도, 폴리머의 두께와 사전농축시간 등의 실험조건을 조사하였다. 최적 실험 조건하에서 시차펄스 전압 - 전류법으로 에피네피린을 정량함에 있어서 감도, 선택성, 방해이온의 영향과 전극의 안정성을 조사하였다.

2. 실 험

2.1 시약

본 연구에서 시료로 사용한 에피네피린은 Sigma사로부터 구입하여 실험 당일 2.0×10^{-3} *M* 저장용액을 만들어 암실에 냉장 보관하고, 실험 직전에 적당한 농도로 희석하여 사용하였다. 그리고 유리질 탄소전극을 활성시킬때 사용한 98%황산, 중크롬산칼륨 및 황산칼륨은 일급 및 특급시약을 사용하였다. 완충용액을 만들기 위해서는 Merck사의 이수소인산칼륨(99.5%), 수소인산칼륨(99.5%) 및 인산(85%)을 사용하였다. 또, 방해이온 검토에 사용된 여러 가지 시약들과 이외의 모든 시약들은 특급시약과 일급시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 증류수는 Millipore사의 Milli-Q Water System을 이용하여 제조한 전도도가 1 $\mu S/cm$ 이하의 탈 이온수를 사용하였다.

전극제작을 위하여 사용한 용매는 Merck사의 아세토니트릴이며, Coetzee[15]의 방법에 따라 정제한 후, P_2O_5를 넣어둔 갈색 데시케이터 속에서 보관하였으며 사용할 때는 전압 - 전류법으로 바탕시험을 하여 불순물의 존재여부를 확인한 후 사용하였다. 지지전해질로는 5.0×10^{-2} *M* TEAP를 사용하였다. TEAP는 Kolthoff[16]의 방법을 따라 합성 및 정제하여 사용하였다.

본 실험에 사용한 거대고리착물은 문헌[17]의 방법대로 합성하고 정제하여 사용하였다. 그 구조를 Fig. 1(a)에 나타내었다. 또, γ-Benzyl *L*-glutamate를 포함하는 polyuretane(PUBLG)는 경북대학교 고분자공학과에서 새롭게 합성한 것을 사용하였다.[18] 그 구조는 Fig. 1(b)에 나타내었다.

2.2 측정기기

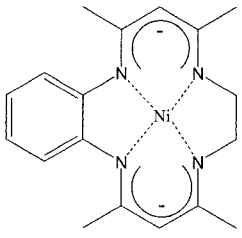
본 실험에서 순환 전압 - 전류곡선과 시차펄스 전압 - 전류곡선을 얻기 위하여Bioanalytical system(BAS) 100B/W electrochemical analyzer(West Lafayette, Indiana, USA)와 C2 cell stand(West Lafayette, Indiana, USA)를 Hewlett Packard HP Laserjet 4L printer(Boise Idaho, USA)와 486 computer (Sambo, Taegu, Korea)에 연결하여 사용하였다.

순환 전압 - 전류곡선과 시차펄스 전압 - 전류곡선을 얻기 위한 전극구성은 비수용액에서 폴리머 변성전극을 제작할 때는 본 실험실에서 제작한 유리질 탄소전극(직경 3.0 *mm*)을 작업전극으로 사용하였고, 기준전극으로는 EG & G PAR, Model 19367(USA)의 비수용액용 Ag/Ag^+(0.01 M $AgNO_3$ in acetonitrile)전극, 보조전극으로 백금선을 사용하였다. 그리고 수용액에서 에피네피린에 대한 전기화학적 촉매효과 시험과 정량을 위해서는 작업전극으로 변성한 유리질 탄소전극을, 기준전극으로는 EG & G PAR Model K0077 SCE(USA)를 사용하였고, 보조전극으로는 백금선을 사용하였다. 이때 모든 전극방식은 삼 전극방식을 사용하여 용액저항에 의한 Ohmic IR drop을 자동 보상하였다. 항온조는 isotemp. digital circulator(Neslab Newington, NH, Model RTE - 211,USA) 를, pH 측정을 위해서는 EA 940 Ion analyze(Orion, Cambridge, MA, USA)를 사용하였다.

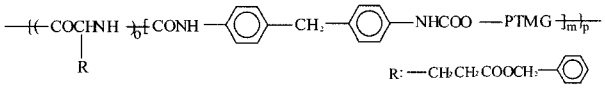
2.3 폴리머 변성전극의 제작

유리질 탄소전극(3.0 *mm*, Tokai Carbon, Japan)은 Buehler사(Lake Bluff, IL, USA)의 직경 1.0, 0.3 및 0.05 μm alumina slurry를 차례로 사용하여 Buehler사의 nylon천으로 전극을 깨끗이 닦은 후, 3 차 증류수와 아세토니트릴 용액 중에서 초음파 세척기로 깨끗이 씻는다. 그리고 증류수 중에서 다시 초음파 세척기로 깨끗이 씻은 후, 공기 중에서 건조시켜 사용하였다. 표면이 깨끗하게 된 전극을 활성화시키기 위하여 전극을 1.0 *M* 황산용액에 담그고, 0~2.50 *V* (*vs.* SCE)의 가전압 범위에서 주사속도 100 *mV/s*로 파의 모양이 일정하게 될 때까지 전위를 순환시킨다. 그리고 이 전극을 증류수로 깨끗이 씻고 데시커이터에서 건조시킨다.

이렇게 활성화시킨 전극을 변성시키기 위하여 비대칭 Ni(II) - 거대고리착물 5.0×10^{-4} *M* 과 5.0×10^{-2} *M* TEAP 가 들어있는 아세토니트릴용액에 담근다. 이 용액에 고순도 질소를 약 20 분 간 통과시켜 용액 중 산소를 완전히 제거한다. 기준전극인 비수용액용 Ag/Ag^+(0.01 *M* $AgNO_3$ in acetonitrile) 전극과 보조전극인 백금 선을 연결시키고 질소를 용액 속으로 통과시키던 것을 위로 통과시켜 측정 중에도 용액 속으로 산소가 들어오지 않는 상태로 하여 +1.80~−2.00 *V* (*vs.* Ag/Ag^+)의 가전압 범위에서 주사속도 200 *mV/s*로 1회 전위를 순환시켜 착물을 전극표면에 전기중합시킨다. 이렇게 변성한 전극을 용액에서



(a)



(b)

Fig. 1. The structures of asymmetric Ni(II)-macrocyclic complex(a) and polyuretane contained benzyl *L*-glutamate, PUBLG(b).

분리해 내고 건조시킨다. 이 전극을 다시 탈 이온수로 충분히 씻는다. 다시 공기 중에서 말린다. 이렇게 하면 GC 표면이 거대고리 착물로 변성된 폴리머 변성전극(GC/NC)을 얻을 수 있다. 이 GC/NC 위에 PUBLG : DMF(1 : 100, v/v)로 묽힌 PUBLG 용액을 주사기로 적하코팅한 후에 적외선 등 아래에서 24시간 건조시킨다. 이 변성전극을 4.0 *M* 수산화나트륨과 메탄올(1 : 3, v/v)의 혼합용액에 담그어 7분 동안 가수분해시켜 표면에 친수성의 카르복시기를 형성시킴으로서 이중 코팅한 최종전극(GC/NC/PUBLG)을 만들었다.

2.4 폴리머 변성전극의 전기화학적 특성조사와 에피네피린의 정량과정

에피네피린의 분석을 위한 최적실험조건 조사와 분석특성 조사를 위하여 순환 전압 - 전류법과 시차펄스 전압 - 전류법을 이용하였다.

변성한 폴리머전극이 에피네피린의 산화에 전기 화학적 촉매 효과를 나타내는지를 알아보기 위한 측정과정은 다음과 같다. pH 7.4로 조절한 2.0×10^{-3} *M* 에피네피린 용액 4.0 *mL* 를 전해셀에 취하고 고순도 질소를 사용하여 5분 간 용액 중의 산소를 제거한 후, 변성하지 않은 전극과 GC/NC/PUBLG변성전극을 작업전극으로 사용하여 +1.00~0.20 *V*(*vs.* SCE)의 가전압 범위에서 순환 전압 - 전류곡선과 시차펄스 전압-전류곡선을 얻었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 GC/NC/PUBLG 전극의 에피네피린에 대한 촉매능

에피네피린의 산화반응에 대한 GC/NC/PUBLG 전극의 촉매능을 조사하기 위하여 유리질 탄소전극, GC/NC 전극, 그리고 GC/NC/PUBLG 전극을 1.0×10^{-3} *M* 에피네피린이 포함된 인산완충용액(pH 7.4)에 담그고 전위범위 −0.1~1.0 V(*vs.* SCE)사이에서 순환 전압 - 전류곡선을 그려서 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2(a)에서 알 수 있는 것은 유리질 탄소전극과 GC/NC/PUBLG 전극에서 바탕용액의 경우에는 -0.1~1.0 *V* 범위에서 산화 - 환원파가 없으므로 이 전위 범위에서 에페네피린의 정량을 위한 작업전극으로 사용할 수 있음을 알 수 있다. 변성하지 않은 GC 전극(b)에서 에피네피린의 산화봉우리는 약 480 *mV* 에서 나타났으며, GC/NC 전극(c)에서는 에피네피린의 산화전위가 약 200 *mV* 에서 나타났다. 그리고 GC/NC/PUBLG 전극(d)에서 에피네피린의 산화전위가 약 270 *mV* 에서 나타났다.

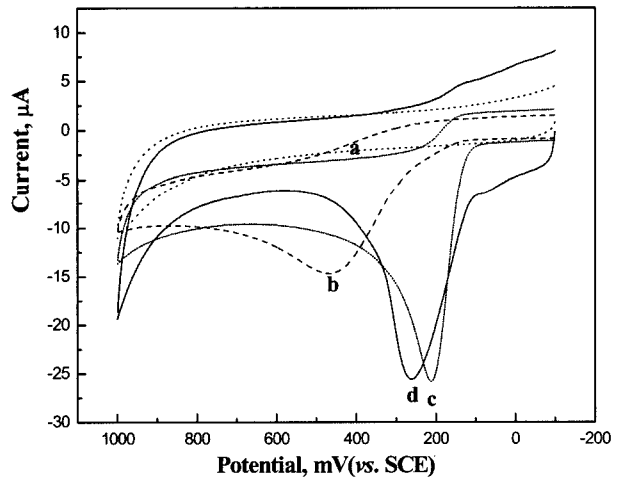


Fig. 2. Cyclic voltammograms of epinephrine. (a): blank solution, (b): 1.0 *mM* epinephrine at bare electrode, (c): 1.0 *mM* epinephrine at GC/NC electrode, (d): 1.0 *mM* epinephrine at GC/NC/PUBLG electrode. pH 7.4; temperature, 25℃; scan rate, 100 *mV*/*s*.

Fig. 2의 (c)는 (b)에 비하여 산화봉우리전위는 약 280 *mV* 정도 음전위로 이동하였고 전류도 약 2 배 정도 증가하는 것을 볼 수 있다. 이것은 Ni(II) - 거대고리착물이 에피네피린의 산화반응에 대하여 촉매능이 있다는 것을 보여 준 결과이다. 한편 Fig. 2(d)를 (c)와 비교하면, 전위는 약 70 *mV* 정도 양전위로 이동하였고 전류도 약 12% 작아졌다. 이러한 결과는 PUBLG의 코팅으로 인하여 Ni(II) - 착물로 변성한 전극에서 촉매의 반응자리가 감소되었으며 또 PUBLG의 낮은 전도성 때문인 것으로 생각한다.

이상의 결과를 유사한 연구를 한 Ni 등[19]과 Wang 등[10]의 결과와 비교해 보면, 본 연구에서 사용한 GC/NC/PUBLG 전극이 다른 연구자들이 사용한 변성전극보다 에피네피린의 산화반응에 대하여 보다 우수한 촉매능을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었다.

3.2 전압 - 전류법을 이용한 카테콜아민류 정량의 최적 실험조건 조사

3.2.1 에피네피린의 산화반응에 대한 pH의 영향

GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 에피네피린을 정량함에 있어 시료용액의 최적 pH를 선정하기 위하여, 2.0×10^{-4} *M* 의 에피네피린 용액에 인산염 완충용액의 pH를 4.0~9.0 까지 변화시키면서 순환 전압 - 전류곡선을 그려서 pH 변화에 따른 에피네피린의 산화전류를 측정하였던 바, 변성전극에서 pH가 증가할수록 산화전류는 증가하다가 pH가 9이상에서는 전류가 급격하게 감소하였다. 본 실험에서는 생체시료에 대한 적용을 고려하여 pH 7.4를 최적 pH로 결정하였다.

3.2.2 에피네피린의 산화반응에 대한 온도의 영향

GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 에피네피린을 정량할 때, 기질용액의 최적온도를 선정하기 위하여 pH 7.4로 조절된 2.0×10^{-4} *M* 의 에피네피린 용액의 온도를 5~45°C까지 변화시키면서 순환 전압 - 전류곡선을 그려서 온도에 따른 에피네피린의 산화전류 변화를 조사하였다. 온도가 30°C까지 증가함에 따라 산화전류가 계속적으로 증가하다가 그 이상의 온도에서는 큰 변화가 없이 일정한 값을 보였다. 이러한 실험결과는 기질용액의 온도 증가에 따라 에피네피린의 활동도가 증가함을 의미한다. 또한 40°C 이상의 고온 실험조건에서는 전극의 손상속도가 빨라지게 되어 연속사용 가능횟수가 줄어들 것이고, 생물학적 시료에 대한 적용을 고려하여 본 실험에서는 기질용액의 최적 실험온도를 35°C로 결정하였다.

3.2.3 에피네피린의 산화반응에 대한 사전농축시간의 영향

GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 에피네피린을 정량할 때, 전극에 전위를 걸기 전에 전극표면과 에피네피린의 상호작용에 의해 전극표면에 축적되는 에피네피린의 양은 에피네피린의 산화전류의 응답과 전극 사용의 재현성에 많은 영향을 미친다. 따라서 실험의 재현성과 감도를 증대시키기 위하여, 변성전극에 전위를 걸기 전에 에피네피린을 전극에 사전농축할 필요가 있다. 사전 농축하는 최적의 시간을 구하기 위하여 변성전극을 2.0×10^{-4} *M* 에피네피린 용액에 일정 시간 담그어 사전농축시간에 따른 에피네피린의 산화전류 값을 측정하여 산화전류가 일

정한 값에 도달하는 시간을 측정한 결과 90 초였다.

3.3 아스코르빈산의 존재 하에서 에피네피린의 전기화학적 특성

에피네피린을 정량함에서 있어서 가장 큰 방해가 되는 아스코르빈산의 영향을 알아보기 위하여, GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 1.0×10^{-3} *M* 의 아스코르빈산과 1.0×10^{-3} *M* 의 에피네피린이 포함된 pH 7.4 인산염 완충용액에서 에피네피린의 순환 전압-전류곡선을 얻어서 Fig. 3에 나타내었다. 그림에서 알 수 있듯이 음이온성 PUBLG 막에서 아스코르빈산의 피크가 나타나지 않음을 알 수 있다. 이를 좀 더 확인하기 위하여 아스코르빈산의 농도를 1,000 배 첨가하여도 에피네피린의 정량에 큰 영향을 주지 않았다(Table 1).

3.4 아스코르빈산의 존재하에서 에피네피린의 정량특성

1.0×10^{-3} *M* 의 아스코르빈산을 포함하는 pH 7.4 인산염 완충용액에서 GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 에피네피린의 농도를 변화시키면서 시차펄스 전압 - 전류곡선을 그려서 Fig. 4에 나타내었다. 이때 에피네피린의 산화전위는 0.05 *V*(*vs.* SCE)이었다. 이렇게 얻은 시차 펄스 전압 - 전류곡선으로부터 에피네피

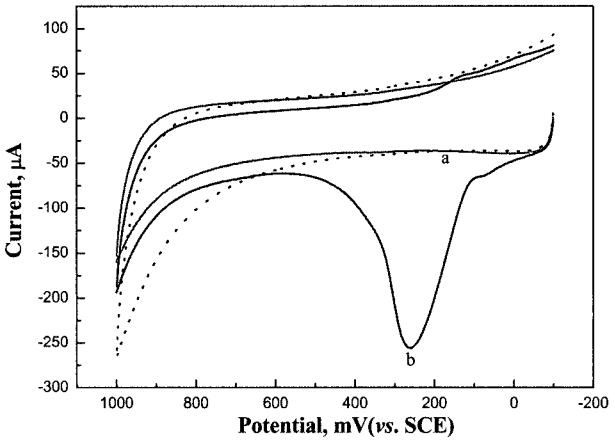


Fig. 3. Cyclic voltammograms of epinephrine in the presence of acetic acid at GC/NC/PUBLG electrode. Dot line is base line, (a) 2.0 *mM* acetic acid, (b) 2.0 *mM* epinephrine.

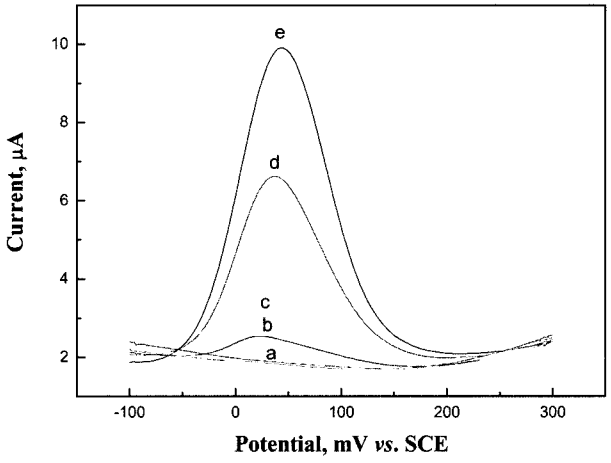


Fig. 4. Differential pulse voltammograms of epinephrine at GC/NC/PUBLG electrode in the phosphate buffer (pH 7.4), Temperature, 35 ℃, scan rate, 5 mV/s.[EP]: (a) 0.8; (b) 4.0 (c) 8.0 (d) 20 (e) 40 *M*. dot line is base line.

Table 1. Effect of interfering species in the epinephrine determination by differential pulse voltammetry at GC/NC/PUBLG electrode.

Interference	[Int]/[EP][a]	EP recovery %(± s.d.%)
Urea	100	102.2(± 0.4)[b]
Oxalic acid	100	99.8(± 0.1)
Glycine	100	98.9(± 0.4)
L-Arginine	100	99.2(± 0.3)
Aspartic acid	100	99.9(± 0.4)
D,L-Cystine	100	100.5(± 0.6)
Allantoin	100	99.8(± 0.3)
Glutamine	100	97.8(± 0.6)
Hypoxantine	100	99.7(± 0.3)
Xantine	100	99.9(± 0.2)
L-Asparagine	100	101.2(± 1.0)
β-D(+)Glucose	100	99.6(± 0.3)
Cytidine	100	101.9(± 0.5)
D,L-Lysine	100	100.8(± 0.6)
Caffeine	100	99.8(± 0.3)
Guanosine	100	100.6(± 0.2)
Ascorbic acid	1000	103.6(± 0.4)
Uric acid	1000	103.8(± 0.6)
Acetaminophen	100	101.8(± 0.3)
Guanine	100	101.1(± 0.5)
Sucrose	100	100.9(± 0.6)

pH 7.4; temperature, 35°C;
pulse amplitude, 50 *mV*; pulse interval, 1 sec; scan rate, 5 *mV/s*.
[a] Epinephrine concentration was fixed at 5.0 *μM*.
[b] Mean was taken after three independent measurements.

Table. 2. Recovery of epinephrine in 6 times diluted human urine sample by differential pulse voltammetry at a GC/NC/PUBLG electrode.

Number	[EP] added(μM)	[EP] found (μM)	recovery %(± s.d. %)
1	1.00	0.99	99.0
2	1.00	1.01	101.0
3	1.00	1.03	103.0
4	2.00	2.05	102.5
5	2.00	1.98	99.9
6	2.00	2.07	103.5
mean			101.5(± 3.2)

린농도에 대한 시차펄스 전압 - 전류곡선의 산화전류를 측정하여 GC/NC/PUBLG 전극에서의 검정선을 작성하였던 바, 직선범위는 8×10^{-7} M~2×10^{-4} M(상관계수 = 0.999)이었으며, 검출한계는 1.0×10^{-7} M(S/N = 3) 이었다.

3.5 시차펄스 전압 - 전류법에 의한 에피네피린 정량에 미치는 공존물질의 영향

혈액 및 뇨 등의 실제시료에 본 연구에서 개발한 방법을 적용하고자 할 때, 에피네피린의 정량에 방해를 일으킬 수 있는 혈액 및 뇨 등에 공존하는 21 가지 물질에 대한 영향을 시차펄스 전압 - 전류법으로 조사하였다. 먼저 5.0×10^{-6} M 에피네피린 표준용액에 공존물질의 농도를 에피네피린의 농도보다 100, 1000 배로 첨가한 시험용액을 준비한다. 이 시험용액으로 앞에서 조사한 최적실험 조건하에서 시차펄스 전압 - 전류곡선을 얻어 측정한 산화전류값으로부터 회수율을 구하여 Table. 1에 나타내었다. Table. 1에서 알 수 있듯이, 혈액 및 뇨 등의 실제시료에서 에피네피린과 공존할 것으로 생각는 21가지 물질이 거의 방해를 일으키지 않는 것으로 관찰되었다.

이상의 결과와 다른 연구자들의 결과[20]와 비교해 보면, 본 연구에서 사용한 GC/NC/PUBLG 전극은 아스코르빈산의 방해를 더욱 효과적으로 제거할 수 있음을 알 수 있었다.

3.6 GC/NC/PUBLG 전극의 연속사용 가능 횟수와 장기안정성

GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 에피네피린을 연속 정량할 때, 전극의 연속사용 가능횟수를 구하기 위하여 다음과 같이 조사하였다. 곧, pH 7.4 인산염 완충용액으로 조절된 에피네피린의 농도를 1.0×10^{-3} M 로 하여 변성전극의 연속사용 횟수에 따른 전류값의 변화를 측정였을 때, r.s.d. 5.0 % 미만의 결과를 보여 주는 연속사용 횟수가 약 35회 정도였다.

3.7 GC/NC/PUBLG 전극을 사용한 뇨 시료 중의 에피네피린의 정량

GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 뇨 시료 중의 에피네피린을 얼마나 효과적으로 그리고 간편하게 정량할 수 있는지를 알아보기 위하여, 사람의 소변시료를 pH 7.4 인산염 완충용액으로 5 배로 희석한 시료에 고순도 질소를 약 5분 동안 퍼징하여 용존산소를 제거한 후, 펄스차이 전압-전류곡선을 얻었다. 여기에 일정량의 에피네피린 표준물질을 첨가하여 그 회수율을 측정하여, 이를 Table 2에 나타내었다. 6회 측정한 평균 회수율이 101.5(± 3.2)% 였다. 이런 결과를 볼 때, 본 연구에서 개발한 GC/NC/PUBLG 전극으로 복잡한 메트릭스를 갖는 생체 시료에서도 간단하게 낮은 농도의 에피네피린을 효과적으로 정량할 수 있음을 알 수 있었다.

4. 결 론

유리질 탄소 전극에 Ni(II) - 거대고리착물을 전기중합시킨 후, 가수분해하면 음의 하전을 띠는 blenzyl *L*-glutamate 를 포함하는 polyuretane(PUBLG)을 적하코팅한 변성전극(GC/NC/PUBLG)을 제작하여, 다량의 아스코르빈산의 존재하에서 에피네피린을 전압-전류법으로 정량함에 있어서 에피네피린의 산화전류에 대한 촉매능과 아스코르빈산의 대한 선택성을 조사하였다.

GC/NC/PUBLG 전극을 사용하여 에피네피린을 정량하기 위한 최적 분석조건을 조사하여 본 결과, 최적 pH 는 7.4 , 온도는 35°C, 사전농축시간은 90 초 였다. 이러한 최적조건하에서 시차펄스 전압 - 전류법으로 에피네피린에 대한 검정선을 작성하였을 때, 직선감응 범위는 8.0×10^{-7}~2.0×10^{-4} M (상관계수 = 0.999)이며 검출한계는 1.0×10^{-7} M(s/n = 3) 이었다. 실제시료 속의 에피네피린을 시차펄스 전압 - 전류법으로 정량하기 위해서 뇨 속에 공존 가능한 21종의 물질을 선정하여 조사하였을 때, 방해물질의 농도가 100배 내지 1000 배 공존하여도 거의 방해가 없었다. 전극의 장기안정성과 재현성을 조사하였던 바, 이 전의 유사 연구 결과에 비하여 매우 우수하였다.

감사의 글

본 연구를 수행함에 있어 재정적으로 지원해 주신 경북대학교 당국에 감사함을 전합니다.

참고문헌

1. A. Sanchez, E. A. Toledo-Pintol, M. L. Menezes and O. C. M. Pereira, *Pharm. Research*, **50**, 481 (2004).
2. R. P. H. Nikolajsen and . M. Hansen, *Anal. Chim. Acta,* **449**, 1 (2001).
3. P. Caizares and M. D. L. Castro, *Anal. Chim. Acta,* **317**, 335 (1995).
4. R. Zhu and W. T. Kok, *Anal. Chem.*, **69**, 4010 (1997).
5. D. Talwar, C. Williamson, A. McLaughlin, A. Gill and D. St.J. O' Reilly, *J. Chromatogr. B*, **769**, 341 (2002).
6. J. Wang and L. D. Hutchins, *Anal. Chim. Acta*, **167**, 325 (1985).
7. M. R. Deakin, P. M. Kovach, K. J. Stutts and M. R. Wightman, *Anal. Chem.*, **58**, 1474 (1986).
8. M. R. Wightman, L. J. May and A. C. Michael, *Anal. Chem.*, **602**, 769A (1988).
9. E. S. Forzani, G. A. Rivas and V. M. Sols, *J. Electroanal. chem.* **435**, 77 (1997).
10. S. F. Wang, D. Du and Q. C. Zou, *Talanta*, **57**, 687 (2002).
11. S. Y. Ly, Y. H. Kim, I. W. Han, I. G. Moon, W. W. Jung, S. Y. Jung, H. J. Sin, T. K. Hong and M. H. Kim, *Microchem. J.*, **82**, 113 (2006).

12. E. W. Kristensen, W. G. Kuhr and R. M. Wightman, *Anal. Chem.*, **59**, 1952 (1987).
13. Guang-Ri Xu, H. Y. Chang, H. W. Cho, W. Meng, I. K. Kang and Z,U. Bae, *Electrochimica Acta* **49**, 4069 (2004).
14. S. Y. Yi, H. Y. Chang, H. W. Cho, Y. C. Park, S. H. Lee and Z. U. Bae, *J. Electroanal. Chem.*, **602**, 217 (2007).
15. J. F. Coetzee, *Anal. Chem.*, **34**, 1139 (1962).
16. I. M. Kolthoff and J. F. Coetzee, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 1852 (1957).
17. Y. C. Park, Z. U. Bae, S. S. Kim and S. K. Baek, *Bull. Kor. Chem. Soc.*, **16**, 287 (1995).
18. J. Y. Hyun, W. Meng, I. K. Kang and D. I. Song, *Polym. Adv. Technol.* **14**, 195 (2003).
19. J. A. Ni, H. X. Ju, H. Y. Chen and D. Leech, *Anal. Chim. Acta*, **378**, 151 (1999).
20. H. Zhao, Y. Z. Zhang and Z. B. Yuan, *Electroanalysis*, **14**, 445 (2002).