

탄소반죽에 썩 과산화효소를 고정한 과산화수소 감응 바이오센서

윤길중

청주대학교 응용화학과
(2015년 7월 3일 접수, 2015년 8월 4일 심사, 2015년 8월 15일 채택)

Hydrogen Peroxide Sensitive Biosensors Based on Mugwort-Peroxidase Entrapped in Carbon Pastes

Kil Joong Yoon

Department of Applied Chemistry, Cheongju University, Cheongju 28480, Korea
(Received July 3, 2015; Revised August 4, 2015; Accepted August 15, 2015)

초 록

호모게나이저로 파쇄한 썩 조직을 탄소반죽에 혼입시켜 과산화수소 감응 바이오센서를 제작하고 그것의 전기화학적 특성을 전압전류법으로 살펴보았다. Hanes-Woolf 도식의 좋은 직선성은 기질분해가 썩 과산화효소에 의하여 촉매화되고 있음을 보여 주었으며, 작은 값의 대칭인자(α , 0.28)는 전극전위의 변화가 반응속도변화에 미치는 영향이 대단히 민감한 것을 말하여 주었다. 이런 실험적 사실들은 과산화수소의 분해가 썩전극 표면에 있는 과산화효소의 촉매력에 의하여 정성적, 정량적으로 분해되고 있음을 보여 주는 것으로 서양 고추냉이로부터 추출된 고가의 시판 과산화효소를 썩 조직으로 대체할 수 있음을 확신하게 하는 것이다.

Abstract

A biosensor including the homogenized tissue of mugwort embedded in carbon paste, which senses hydrogen peroxide, was constructed and its electrochemical properties were validated using voltammetry. The good linearity of Hanes-Woolf plot implied that the reduction reaction of substrate was catalyzed by mugwort peroxidase at the electrode surface. Also the small value of symmetry factor, 0.28, indicated that electrochemical kinetics of the sensor is very sensitive to the change of electrode potential. Many experimental results collected above proved that the dissociation of hydrogen peroxide is dependent on the catalytic power of mugwort peroxidase qualitatively and quantitatively at the surface of the mugwort electrode. It is our firm belief that the marketed HRP can be replaced with mugwort tissue.

Keywords: mugwort, hydrogen peroxide, peroxidase, biosensor, CSM rubber

1. 서 론

과산화수소는 합성산업, 임상의학, 생활환경의 여러 분야에서 산화제나 촉매로 사용되고, 인체 내부에서도 생성되는 화합물로서 인간의 생활 및 생명 현상과 직접적으로 관련이 있는 중요한 물질이다. 따라서 이것의 검출과 정량분석은 대단히 중요하다. 과산화수소의 정량에는 다양한 방법이 있으나 효소전극을 센서로 사용하는 전기화학적 방법은 간편하기 때문에 분석에 소요되는 시간과 경제적인 측면을 고려할 때 대단히 효율적이라고 할 수 있다. 과산화수소 정량을 위한 효소전극 제작에는 여러 가지 방법이 있는데[1-4], 이들 중 탄소반죽법은 분석목적 상 전극이 원하는 특성을 나타내도록 무기물, 유기물 등, 각종 화합물을 쉽게 전극물질에 첨가할 수 있으며, 전극의 크기와 형태

를 원하는 대로 쉽게 성형할 수 있는 장점이 있다[5]. 또 매트릭스의 특성을 전기화학적으로 규명하고자 할 때 수용액 및 유기용매 속에서 그것이 나타내는 신호는 전극전위에 민감하고 안정하며[6], 다른 방법으로 제작된 효소전극에 비하여 비교적 긴 사용수명이 보장된다.

분말 형태의 탄소가루를 전극형태로 성형하려면 우선 탄소가루를 결합시키는 결합제를 사용하는데 지금까지는 일반적으로 미네랄오일을 사용하여 왔다[7]. 이 방법으로 제작된 전극은 효소의 전기화학적 감응특성을 연구하기에 최적이라 할 수 있지만 전극물질의 기계적 견고성이 없기 때문에 탄소반죽전극의 실용화는 절대로 불가능하다[8]. 이 문제를 근본적으로 해결하기 위하여 본 실험실에서는 톨루엔에 고무를 녹인 고무용액을 결합제로 사용하여 특성을 검토하고 그 결과를 수차례 보고한 바 있다[9]. 전극 제작 후 톨루엔이 휘발하면 전극물질은 기계적 강도를 가지게 되므로 고무용액을 결합제로 사용한 결과는 대단히 만족스러운 것이었다. 탄소반죽전극은 제작의 용이성만을 고려할 때 간편한 이점이 있지만 이것이 양산과정을 통하여 실용화되면 추가적으로 생산비용의 문제를 고려하지 않으면 안 된다. 탄소반죽은 탄소가루, 효소원, 결합제, 매개체, 클로로포름, 톨루엔 등의 여

Author: Cheongju University,
Department of Applied Chemistry, Cheongju 28480, Korea
Tel: +82-43-229-8540 e-mail: kjyoon@cju.ac.kr

러 물질로 구성되어 있고, 효소원으로 서양 고추냉이로부터 추출한 시판 과산화효소(horseradish peroxidase, HRP)를 사용하는 것이 지금까지 일반적이었다[10]. 그리고 그것이 안정한 신호를 주는 효소원으로 인식되어 왔다. 그러나 이것의 높은 가격은 전극 범용화의 저해요인이 된다. 생물체는 과산화효소를 포함하고 있으므로, 본 실험실에서는 효소원으로 다양한 동물 및 식물의 조직을 사용하여 전극을 제작하였고 그것들의 특성을 살펴 수차례 보고한 바 있다[11].

이 논문은 우리의 주거환경 주변에서 쉽게 구할 수 있는 썩 조직을 이용하여 전극을 제작하고 그 결과를 보고하고 있다. 다른 식물전극과[12] 마찬가지로 썩전극으로부터 얻은 Hanes-Woolf 도시는 좋은 직선성을 보여 주었고, 작은 대칭인자는 전극반응 속도론이 전극전위의 작은 변화에 효율적으로 의존하는 결과를 보여주었다. 이런 실험적 사실은 우리의 주변에서 쉽게 구할 수 있는 썩의 과산화효소가 고가의 HRP를 대신할 수 있다는 근거를 제공하고 있다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기구

호모게나이저로 파쇄된 썩 조직을 효소원으로, 흑연가루(Fluka, Anal. N. 378326/1 21698, ≤ 0.1 mm)를 전극물질로, 툴루엔(Sigma-Aldrich, HPLC grade, $\geq 99.9\%$)에 녹인 CSM 고무(chlorosulphonated polyethylene rubber, Denki Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha Mitsui C.) 용액을 전극물질 결합제로 사용하였다. 35% 과산화수소(Junsei Chem. Co. Ltd.)를 기질로, 페로센(dicyclopentadienyliron, Sigma, F-3375)을 매개체로 사용하였으며 전해질로 NaCl (Shinyo pure Chem. $\geq 95.5\%$)을 사용하였다. 순환전압전류 그림과 선형주사 전압전류 그림은 Ag/AgCl (BAS MF 2052) 기준전극과 Pt 보조전극(BAS MW 1032)이 장착된 BAS Model EPSILON (Bioanalytical System, Inc., U. S. A.) potentiostat를 이용하여 얻었고, 이외의 전류측정은 Kipp & Zonen X-t 기록계가 연결된 EG&G Model 362 (Princeton Applied Research, U. S. A.)를 사용하였다. 데이터의 시뮬레이션은 Origin 7 (ExpDec 1 & Boltzmann fit)을 이용하였다.

2.2. 전극 제작

CHCl_3 10 mL에 0.09 g의 페로센을 녹이고 여기에 0.91 g의 흑연가루를 넣어 완전히 혼합한 후 실온에서 건조시킨다. 이 가루와 1.5% CSM 고무용액을 1 : 1 (wt/wt)로 합하여 반죽하고, 이 반죽 1.0 g에 파쇄된 썩조직 0.2 g을 혼합시킨다. 오음 접촉을 갖는 길이 1 mm, 직경 6.67 mm의 원형 폴리에틸렌 튜브에 반죽을 채우고 시약 주걱 (spatula)으로 표면을 완전평면으로 성형한 후 작업전극으로 사용하며 [13], 사용하지 않을 때는 증류수에 담겨 4 °C의 냉장고에 보관한다.

3. 결과 및 고찰

환류 중이거나 정지된 용액 중에서 일어나는 전기화학반응의 예비 정보를 얻는데 순환전압전류 그림은 매우 유용하다. Figure 1은 환류 상태의 0.1 M NaCl 전해질 용액 중에서 썩전극의 거동이 기질 추가 전후 달라지는 것을 명료하게 보여주는 4분절 순환전압전류 그림이다. a는 기질 추가 전, b는 기질 추가 후에 얻어진 것이다.

음전위 주사 시 a는 바탕전류가 증가하는 것을 보여주고 있는데, 이것은 기질의 분해와 관계없는, 즉 본 계에서 근원이 확인되지 않은 전류가 존재함을 뜻한다. 여기서 사용된 전극의 구성 물질은 탄소가루

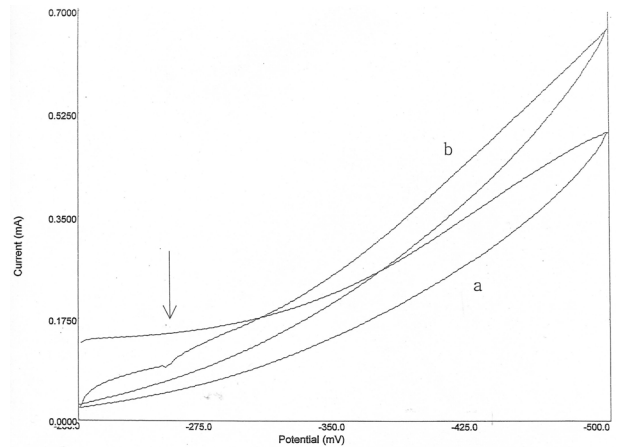


Figure 1. Convective amperometric response of the mugwort tissue embedded biosensor in the absence (a) and the presence (b) of 0.02 M hydrogen peroxide. Arrow indicates the addition of substrate.

외에 고무, 미취발 툴루엔, 페로센 및 썩 조직이다.

툴루엔이 위 전위 영역에서 전기화학적으로 안정한 것은 이미 확인된 바 있다[14]. 페로센은 SBR 고무를 사용한 전극의 경우 +197 mV (vs. Ag/AgCl)에서 산화-환원 봉우리를 보여준다[15]. CSM 계의 과전압이 SBR 계와 크게 다르지 않을 것을 가정하면 페로센은 +197 mV를 지나면서 이미 환원이 완성된 도체상태로 존재할 것이므로 Figure 1의 전류 a는 페로센의 전기화학에 의한 것이 아님을 알 수 있다. 한편 결합재 CSM 고무는 광촉매 존재 하에서 염소와 이산화황의 반응을 포함하는 Reed-Horn 반응의 생성물로 염소와 염화술폴닐 등이 포함된 혼합 생성물이다. 따라서 이 성분의 일부 또는 다수가 전기화학 반응에 참여할 경우 전류의 생성이 예상될 수 있다[16]. 그리고 파쇄된 썩 조직은 구성성분을 확인할 수 없는 혼합물이기 때문에 이로부터 산화-환원 전류가 생성된다면 이것도 바탕전류에 한 기여가 될 수 있다. 그러나 위 두 종류의 기여는 충전전류와 더불어 기질첨가 전후 상황에 공통적이므로, 두 전류의 차이를 신호로 간주하는 본 계에서 이것들의 존재는 문제되지 않는다.

Figure 1에서 -270 mV 부근의 화살표는 기질의 투입 시점을 나타내며, 이후 b의 형태는 a와 현격히 다른 것을 알 수 있다. 이런 사실들을 종합할 때 b는 a에 기질을 첨가한 것 외에 다른 조건의 변화 없이 얻어진 것이므로, a와 b의 전류차는 기질의 분해에 의한 것으로 보아도 무방할 것이다.

용액 중에 지지전해질을 사용하면 이동의 영향을 최소화할 수 있고, 정지된 용액이라면 대류의 영향은 무시될 수 있다. 이때 물질의 이동 속도 즉 전기화학반응 속도는 확산에만 의존한다. 기질의 확산거동을 살펴보기 위하여 정지된 0.1 M NaCl 용액 중에서 Figure 1의 b 및 a의 실험과 동일한 조건에서 선형주사 전압전류 그림(LSV)을 얻고, 전류차를 전극전위에 따라 도시한 것이 Figure 2이다. 측정이 음전위 -0.50 V로 제한되어 있기 때문에 Figure 2의 그림은 확산에 의존하는 S 파형의 일부분에 해당한다. 신호전류와 전극전위 사이의 관계를 볼츠만 방식으로 시뮬레이션한 함수식은 아래 식과 같다.

$$i = -0.01664 + 1.0466/[1 + \exp\{(E + 0.5045)/0.08979\}]$$

여기서 E 는 전극전위(V)이며, 신호전류(i , mA)는 유효 표면적이 0.316 cm^2 인 전극으로부터 얻은 것이다. $n = 1$ 일 때[17], 음전위의 극

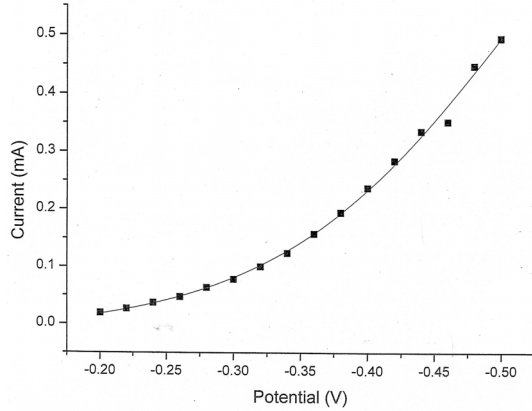


Figure 2. Net reduction current of hydrogen peroxide with electrode potential in a static solution. Other conditions are as in Figure 1.

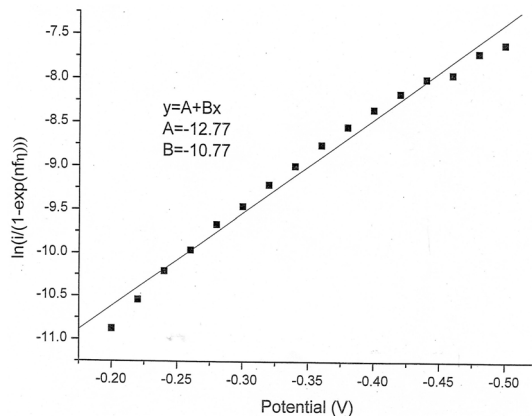


Figure 3. Tafel characteristics of the current in Figure 2.

한치($E \rightarrow -\infty$)에서 얻은 한계전류는 1.03 mA이었다. 이 값으로부터 도출되는 썩 전극계의 질량이동계수(mass transfer coefficient), m_0 와 질량이동저항(mass transfer resistance), R_{mi} 는 각각 3.38×10^{-3} cm/sec 및 25.0Ω 이다.

버틀러-볼머(Butler-Volmer) 식을 만족하는 전극전위 영역에서 전기 화학반응에 의한 전류의 대수와 과전압은 $\{\ln(i/(1-\exp(nf\eta)))\} = \ln i_0 - \alpha n f \eta$ 의 직선관계를 가지며, 이 도시의 기울기와 절편으로부터 각각 대칭인자와 교환전류밀도를 도출할 수 있다. Figure 3은 Figure 2로부터 도출한 Tafel 도시이며, 대체로 직선성을 보여주고 있고, 기울기(- $\alpha n f$), -10.77과 절편($\ln i_0$), -12.77로부터 얻은 대칭인자(α)와 교환전류(i_0)는 각각 0.28과 2.84×10^{-6} A이다.

전극전위 변화가 반응속도에 미치는 영향은 계면에 존재하는 활성화에너지 장벽의 높이 및 대칭인자의 크기에 의존한다. 즉 전극전위가 변할 때 봉우리 높이의 유효변화는 대칭인자의 크기가 0.5보다 작은 경우가 0.5보다 큰 경우에 비하여 더 크다. 식물조직 함유 효소전극의 대칭인자는 0.5보다 작은 경우가 일반적이다[18]. Figure 3으로부터 얻은 썩 전극의 대칭인자는 0.5보다 작은 0.28이었는데, 이것은 썩 전극의 감응속도가 전극전위 변화에 크게 의존함을 뜻한다.

전극의 콘덴서 전류는 RC 회로로 취급할 수 있으며 계단전위 E와 전류 i 는 $i = (E/R_s) \exp(-t/R_s C_d)$ 의 관계를 갖는다. 여기서 R_s 는 용액저항, t 는 시간이다. Figure 4는 썩전극의 전기적 이중층 특성을 살펴보기 위하여 0.1 M NaCl 전해질 용액 중에서 -500 mV의 계단전위를 인가하여 얻은 전류-시간 그림이며 동일한 방법으로 0.01 및 0.001 M

Table 1. Current Profiles by Potential Step at Three Different Electrolyte Concentrations. Step Potential : -500 mV (vs. Ag/AgCl). i (mA) = $A1 \cdot \exp(-t/t1) + y0$

log[NaCl]	A1	t1	y0
-1	1.03	0.059	0.73
-2	0.25	0.084	0.45
-3	0.035	0.086	0.12

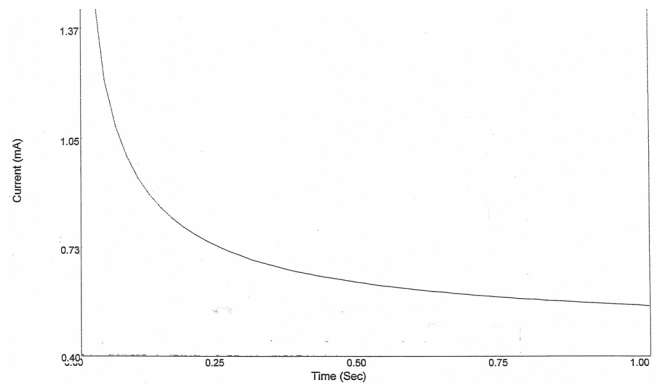


Figure 4. Current transients of mugwort electrode in the 0.1 M NaCl solution at -500 mV.

전해질 용액에서 얻은 시간-전류가 Table 1에 함께 주어져 있다. Table 2는 위 식으로부터 도출된 $i_{t=0}$, R_s , C , C_d , C_i 및 실측 시간상수, τ 를 포함하고 있다. 초기 순간전류($i_{t=0}$)는 실험적 측정이 불가능하므로 전류의 경향성을 시뮬레이션하고 $t = 0$ (s)로 외삽하여 얻었으며, 시간상수는 실측치이다. C_i 는 C_d 와 C 의 직류 등가회로 관계식으로부터 도출하였다.

전해질의 농도가 감소함에 따라 시간상수가 증가하는 것을 볼 수 있는데, 이것은 용액저항 증가에 따른 이중층 형성의 지연에 기인하는 것으로 볼 수 있으며, 축전용량(C)의 증가는 전해질 이온의 농도 감소에 의한 용액의 유전율의 증가로 설명될 수 있다. 계면의 전해질 쪽 이온들이 불균일하게 분산되어있는 확산이중층 모형을 제안한 Gouy-Chapmann의 이론[19]에 의하면 확산이중층의 커패시턴스, C_d 는 $T = 298$ K, $\epsilon = 78 \epsilon_0$, $\epsilon_0 = 8.854 \times 10^{-12}$ J⁻¹C²m⁻¹인 경우 $228 \sqrt{c'} \cosh(19.47z \varphi) \mu\text{Fcm}^2$ 가 된다. 썩전극으로부터 얻은 Table 2의 값들은 수용액에서 일반적으로 얻어지는 값 10-30 μFcm^2 보다 큰 것을 볼 수 있는데, 이것은 탄소가루를 둘러싸고 있는 CSM 고무에 의한 유전상수 증가에 기인하는 것으로 볼 수 있다.

용액의 환원상태에서 화학종의 질량이동 속도는 정지용액 중의 확산속도보다 훨씬 크고 확산층의 성장이 없기 때문에 전류의 포화상태에 이르는 시간이 단축된다. Figure 5의 a는 환류 중인 전해질 용액 10 mL에 0.1 M H₂O₂ 기질용액 50 μL 를 연속적으로 8회 가했을 때 신호 전류가 연속적으로 증가하는 것을 보여주고 있다. 그리고 b는 검출한계(S/N=2) 도출을 위한 과정에서 신호에 미치는 잡음의 효과를 보여주는 그림이며, 전류신호가 10 s 이내에 포화되는 것을 보여주고 있다.

Hanes-Woolf 도시는 기질농도([H₂O₂])에 대하여 기질농도/반응속도 ([H₂O₂]/ i)를 도시한 것으로 전 농도 범위에 걸쳐 오차가 일정한 장점을 갖는다. 그리고 이것이 직선일 때 화학반응은 효소의 촉매작용에 의한 것이다. Figure 6의 창에 주어진 검정곡선은 Figure 5-a의 누적농도에 대한 신호의 크기로부터 도출된 것이며, 이것으로부터 얻은

Table 2. Electrochemical Parameters of the Mugwort Electrode

log[NaCl]	$i_{t=0}$ (mA)	R_s (Ω)	τ (sec)	C	C_d	C_i
-1	2.76	1.8×10^2	0.07	3.9×10^{-3}	0.61	$\approx 3.9 \times 10^{-3}$
-2	0.70	7.1×10^2	3.7	5.2×10^{-3}	0.19	$\approx 5.2 \times 10^{-3}$
-3	0.16	3.1×10^3	60.0	1.9×10^{-2}	0.06	$\approx 1.9 \times 10^{-2}$

C : effective capacitance of the double layer ; C_d : capacitance of the diffuse double layer; C_i : capacitance of the diffuse double layer

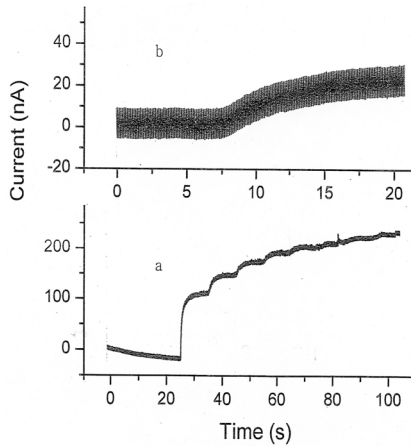


Figure 5. Amperometric response to the successive addition of 100 μL of 0.1 M H_2O_2 (a) and strip-chart recording resulted from the addition of 30 μL of 0.01 M H_2O_2 for the determination of detection limit (b). Electrode potential : -450 mV (vs. Ag/AgCl).

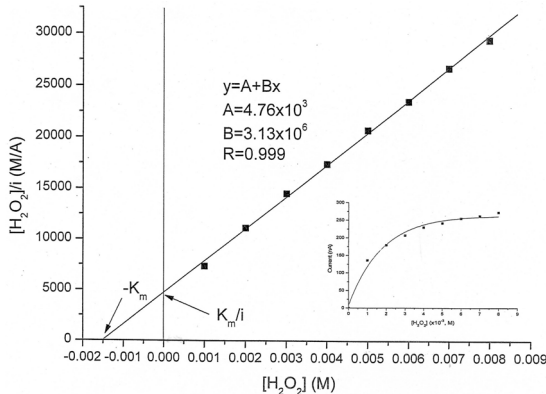


Figure 6. Plot of $[\text{H}_2\text{O}_2]/i$ versus $[\text{H}_2\text{O}_2]$ yielding a straight line. Insert shows calibration curve.

Hanes-Woolf 도사가 Figure 6이다. 좋은 직선성을 보여주고 있는데 이것은 본 계의 기질분해가 썩이 포함하고 있는 과산화효소의 촉매작용에 의하여 진행되는 것을 말하여 준다. 여기서 얻은 최대전류(i_m)와 Michaelis 상수(K_m)는 각각 3.19×10^{-7} A와 1.52×10^{-3} M이다.

Figure 5-b의 전류-시간 그림은 10 mL 전해질 용액에 1.0×10^{-2} M의 기질용액 30 μL 를 추가할 때 얻어진 것으로 $S/N=3$ 인 경우 3.0×10^{-5} M의 검출한계를 얻는다. 정량분석의 효율성은 정확성 및 경제적, 시간적인 요소 등을 종합적으로 고려하여 평가되어야 한다. 전기화학적 방법의 검출한계는 콘덴서 전류의 존재 때문에 제한적일 수밖에 없다. 전기화학적 방법이 분광학적 방법의 정확성을 뛰어 넘을 수 없으나 그림에도 불구하고 이 방법이 선호되는 이유는 분광학적 방법과 비교하여 경제적 및 시간적 측면에서의 탁월한 이점 때문이다. 여

Table 3. Currents during the Forward Step (i_f) and the Reversal Step (i_r) of the Double Step Technique

t_f ($\times 10^{-3}$, sec)	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
$i_{f,tf}$ (mA)	0.217	0.209	0.204	0.201	0.198	0.197	0.195	0.192
$i_{r,tr-\tau}$ (mA)	-0.053	-0.044	-0.039	-0.036	-0.033	-0.031	-0.029	-0.027
$-i_r/i_f$	0.245	0.210	0.191	0.179	0.166	0.158	0.149	0.141

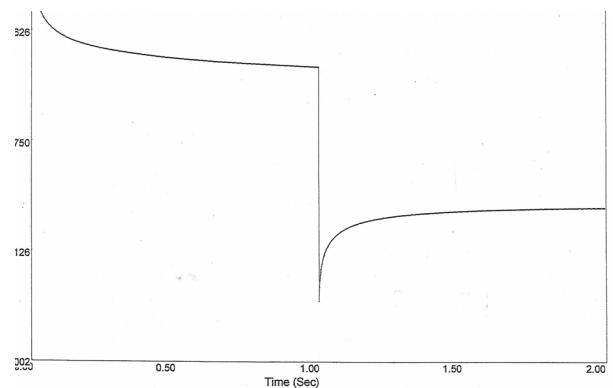


Figure 7. Current response in double-step chronoamperometry. Start potential : 0 (mV) ; first step E : -500 (mV) ; second step E : 0 (mV) ; $[\text{H}_2\text{O}_2]$: 6.7×10^{-3} M.

기서 얻은 검출한계는 우수한 것이라고 할 수 없다. 그러나 전극 제조 시 썩조직과 매개체의 함량, 측정 시 전압, 온도, pH 등의 인자를 최적화하면 향상될 수 있을 것이다.

이중계단 시간-전류법(double step chronoamperometry)은 반응의 가역성을 판단할 수 있는 아주 간결한 방법이다[20]. 전기화학반응 생성물이 전극 표면에서 생성된 직후 짧은 시간의 범위에서 확산되지 않고 표면에 머물러 있다고 가정하고 역반응이 일어날 수 있는 전극전위를 인가할 경우 역반응전류를 측정하여 정반응전류와 비교하는 방법이다. Figure 7은 0.1 M NaCl 용액 10 mL에 100 μL 의 0.67 M 기질 용액을 투입한 후 제1계단 전위 -500 mV와 제2계단 전위 0 mV (vs. Ag/AgCl) 전위에서 얻은 시간-전류 그림이다. 위 두 전위는 Figure 1을 고려할 때 각각 기질의 환원과 산화가 일어날 수 있는 전위이다. 전류채취시간 t_f 와 $t_f + \tau$ ($\tau = 1$ sec)는 정반응과 역반응 시 신호측정의 시점이며 i_f 와 i_r 는 각각 그 시점에서 측정된 전류이다. 전극전위 인가 후 t_f 와 $t_f + \tau$ 에서 측정된 i_f 와 i_r 가 Table 3에 주어져 있다. 썩 전극계가 이상적인 완전가역계라면 $-i_r/i_f$ 는 가역 이론치 $1 - (1 - \tau/t_f)^{1/2}$ 과 일치해야 한다. 그러나 Figure 8에서 볼 수 있듯이 이들은 현격한 차이를 보여주고 있다. $t_f = 0.001$ sec에서 $-i_r/i_f$ 의 최대값은 0.24이며 이후의 구간에서 이보다 작은 값을 보여주고 있다. Figure 1에서 볼 수 있듯이 계는 상당한 양의 바탕전류를 포함하고 있으며, 이 전류는 전위 역전 시에도 똑같이 적용된다. 전압이 역전될 때 신호전류에 역방향

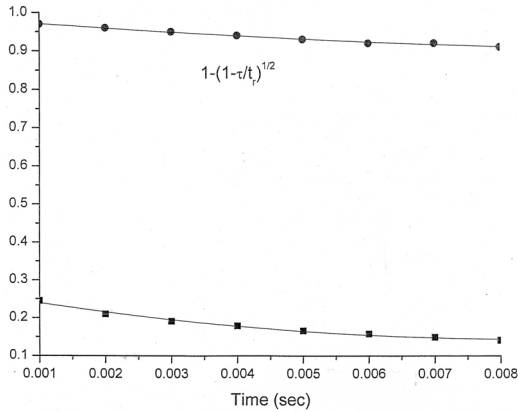


Figure 8. Ratio of anodic current (i_a) to cathodic current (i_c) with time.

충전전류가 포함되어 있을 것을 고려하면 0.24는 큰 값이라고 할 수 없다. 또 기질분해반응의 생성물이 계의 전해질인 물인 것을 고려할 때 본 계에서 산화반응은 없는 것으로 볼 수 있으며, 따라서 본 계의 역반응은 비가역이라 할 수 있다.

4. 결 론

썩전극에 감응하는 전류로부터 얻은 Hanes-Woolf 도시는 좋은 직 선성을 보여 주었다. 이것은 기질 분해가 바이오센서의 표면에 고정된 과산화효소에 의존하고 있음을 말하여 주는 것이며, 대칭인자가 작은 것은 인가 전극전위에 대하여 화학반응속도가 효율적으로 지배되고 있음을 보여준다. 이런 실험적 사실들은 썩전극이 포함하고 있는 과산화효소가 과산화수소의 분해반응에 정성, 정량적으로 촉매작용을 하고 있다는 사실을 보여 주는 것이다. 탄소반죽법으로 만든 과산화수소 정량 바이오센서가 실용화되기 위하여 여러 가지 조건이 해결되어야 한다. CSM 고무를 결합재로 사용하여 만든 썩전극이 기질의 분해에 정량적으로 감응하는 것은 고가의 HRP를 썩 과산화효소로 대체함으로써 전극 실용화를 위한, 한 문제를 해결한 것이다.

감 사

이 논문은 2015-2016학년도에 청주대학교 산업과학연구소가 지원한 학술연구 조성비(특별연구과제)에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. E. Casero, M. Darder, F. Pariente, and E. Lorenzo, Peroxidase enzyme electrodes as nitric oxide biosensors, *Anal. Chim. Acta*, **403**, 1-9 (2000).
2. B. Wang, J. Zhang, and S. Dong, Silica sol-gel composite film as an encapsulation matrix for the construction of an amperometric tyrosinase-based biosensor, *Biosensors & Bioelectronics*, **15**, 397-402 (2000).
3. S. Cosnier, S. Szunerits, R. S. Marks, A. Novoa, L. Puech, E. Perez, and I. Rico-Lattes, A rapid and easy procedure of biosensor fabrication by micro-encapsulation of enzyme in hydrophilic synthetic latex film. Application to the amperometric determination of glucose, *Electrochem. Comm.*, **2**, 851-855 (2000).

4. H. Olschewski, A. Erlenkötter, C. Zaborosch, and G. C. Chemnitz, Screen-printed enzyme sensors for L-lysine determination, *Enzyme Microb. Technol.*, **26**, 537-543 (2000).
5. Y. Miao and S. N. Tan, Amperometric hydrogen peroxide biosensor with silica sol-gel/chitosan film as immobilization matrix, *Anal. Chim. Acta*, **437**, 87-93 (2001).
6. (a) Y. H. Yang, M. H. Yang, H. Wang, L. Tang, G. L. Shen, and R. Q. Yu, Inhibition biosensor for determination of nicotine, *Anal. Chim. Acta*, **509**, 151-157 (2004). (b) H. S. Kwon, I. K. Park, K. J. Yoon, and M. L. Seo, Plant tissue-based amperometric sensor for determination of phenols in methylene chloride, *J. Kor. Chem. Soc.*, **44**, 376-379 (2000).
7. (a) M. S. Lin, S. Y. Tham, and G. A. Rechnitz, Pineapple-tissue based biosensor for the determination of hydrogen peroxide, *Electroanalysis*, **2**, 511-516 (1990). (b) J. Wang, X. J. Zhang, and M. Prakash, Glucose biosensor based on carbon paste enzyme electrodes modified with cupric hexacyanoferrate, *Anal. Chim. Acta*, **395**, 11-16 (1999).
8. H. S. Dho and K. J. Yoon, Electrochemical kinetic study of amperometric hydrogen peroxide biosensor fabricated using SBS, *J. Ind. & Eng. Chem.*, **17**, 254-258 (2011).
9. (a) K. J. Yoon, K. J. Kim, and H. S. Kwon, Electrochemical properties of the chicken small intestinal tissue based enzyme electrode for the determination of hydrogen peroxide, *J. Kor. Chem. Soc.*, **43**, 271-279 (1999). (b) B. G. Lee, K. B. Rhyu, and K. J. Yoon, Amperometric study of hydrogen peroxide biosensor with butadiene rubber as immobilization matrix, *J. Ind. & Eng. Chem.*, **16**, 340-343 (2010).
10. (a) B. Tang and Y. Wang, Spectrofluorimetric determination of both hydrogen peroxide and -O-O-H in polyethylene glycols (PEGs) using 2-hydroxy-1-naphthaldehyde thiosemicarbazone (HNT) as substrate for horseradish peroxidase (HRP), *Spectrochim. Acta A*, **59**, 2867-2874 (2003). (b) S. Gaspar, I. C. Popescu, I. G. Gazaryan, A. G. Bautista, I. Y. Sakharov, B. Mattisson, and E. Csöregi, Biosensors based on novel plant peroxidase: a comparative study, *Electrochim. Acta*, **46**, 255-264 (2000). (c) K. J. Yoon, Electrochemical properties of HRP immobilized biosensor bound with EPDM, *Elastomer*, **42**, 112-118 (2007).
11. (a) K. J. Yoon, Optimum pH of the reduction of hydrogen peroxide at a tobacco plant tissue based amperometric biosensor, *J. Kor. Chem. Soc.*, **48**, 654-658 (2004). (b) H. S. Kwon, E. H. Jin, K. J. Yoon, and Y. N. Pak, Mushroom-juice based gold electrode for the determination of phenols, *J. Kor. Chem. Soc.*, **49**, 224-228 (2005). (c) B. G. Lee, S. W. Park, and K. J. Yoon, Electrochemical properties of the mugwort-embedded biosensor for the determination of hydrogen peroxide, *Anal. Sci. & Tech.*, **19**, 58-64 (2006). (d) H. S. Kwon, H. J. Kim, K. J. Yoon, and Y. N. Pak, Chard root-tissue based biosensor for the determination of dopamine, *J. Kor. Chem. Soc.*, **51**, 291-297 (2007).
12. K. B. Rhyu and K. J. Yoon, Amperometric kinetics of hydrogen peroxide biosensor bound with natural rubber, *Appl. Chem. Eng.*, **21**, 689-693 (2010).
13. K. J. Yoon, S. Y. Pyun, and H. S. Kwon, Chicken liver tissue-based amperometric biosensor for the determination of hydrogen peroxide, *J. Kor. Chem. Soc.*, **41**, 343-350 (1997).
14. K. J. Yoon, Electrochemical investigation of animal tissue embedded biosensor bound with ethylene-propylene rubber, *Bull. Kor. Chem. Soc.*, **31**, 2913-2917 (2010).

15. K. B. Rhyu and K. J. Yoon, Electrochemical kinetic analysis of the carbon paste enzyme electrode bound with rubber, *Anal. Sci. Tech.*, **24**, 113-118 (2011).
16. J. A. Brydson, *Rubbery materials and their compounds*, p. 291, Elsevier Applied Science, London and New York (1998).
17. A. Mansouri, D. P. Makris, and P. Keflas, Determination of hydrogen peroxide scavenging activity of cinnamic and benzoic acids employing a highly sensitive peroxyoxalate chemiluminescence-based assay, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **39**, 22-26 (2005).
18. (a) B. G. Lee, K. B. Rhyu, and K. J. Yoon, A rapid and easy fabrication of plant-tissue biosensor using rubber binder and its practicability test, *Anal. Sci. & Tech.*, **22**, 355-359 (2009). (b) K. B. Rhyu and K. J. Yoon, A new amperometric carbon paste biosensor bound with chlorosulphonated polyethylene, *J. Kor. Chem. Soc.*, **55**, 323-327 (2011).
19. E. Gileadi, E. Kirowa-Eisner, and J. Penciner, *Interfacial electrochemistry*, pp. 3-13, Addison-Wesley Publishing company, Inc. U. S. A. (1975).
20. A. J. Bard and L. R. Faulkner, *Electrochemical Methodes*, pp. 176-182, John Wiley & Sons, Inc., Canada (1980).