

## 니켈(II)-거대고리 착물로 변성된 유리질 탄소 전극을 이용한 *L*-Dopa의 전기화학적 정량

이선용<sup>†</sup> · 조형화 · 김호식<sup>†</sup> · 배준웅<sup>\*</sup>

경북대학교 자연과학대학 화학과

<sup>†</sup>대구가톨릭대학교 자연과학대학 화학과

(2004. 6. 8 접수)

## Electrochemical Determination of *L*-Dopa Using Modified Electrodes with Ni(II)-Macrocyclic Complex

Seon-Yong Yi<sup>†</sup>, Hyung-Hwa Cho, Ho-Sik Kim<sup>†</sup>, and Zun-Ung Bae<sup>\*</sup>

Department of Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Department of Chemistry, Catholic University of Daegu, Kyungsan 712-702, Korea

(Received June 8, 2004)

**요 약.** 니켈(II)-거대고리 착물을 순환전압전류법을 이용하여 유리질 탄소전극에 전기 중합시켜서 폴리머 변성전극을 제작하였다. 제작한 폴리머 변성전극이 *L*-Dopa에 대하여 전기촉매 특성을 가지는지를 순환전압전류법으로 조사하였더니, 변성시키지 않은 전극에 비해 산화전위가 보다 음의 전위로 이동하였고, 산화전류도 증가하는 것을 확인하였다. 이런 전기화학적 성질을 *L*-Dopa 정량에 적용하기 위하여 최적조건을 순환 전압전류법으로 조사하였더니 다음과 같다: pH, 7.4, 온도, 35 °C, 사전농축시간, 90초, 폴리머 변성 전극 형성을 위한 전위 주사 횟수, 1회. 폴리머 변성전극의 장기 안정성은 2개월 정도 사용가능하였다. 시차 펄스 전압-전류법으로 작성한 *L*-Dopa의 정량범위는  $6.0 \times 10^{-7}$  M~ $4.0 \times 10^{-4}$  M이었고, 검출한계는  $9.0 \times 10^{-8}$  M이었다. 또한 본 방법을 생체 시료에 적용하는 경우, 예상되는 27종의 방해 물질에 대한 영향을 조사한 결과, dopamine을 제외한 모든 종에서 방해가 없었다.

**주제어:** *L*-도파, 폴리머 변성전극, 니켈(II)-거대고리 착물, 시차펄스전압전류법

**ABSTRACT.** The polymer modified electrode was manufactured by a cyclic voltammetric method using a synthesized Ni(II) complex with dianionic benzoN4 macrocycle. The electrocatalytic characteristics for the oxidation of *L*-Dopa at a polymer modified electrode was studied by cyclic voltammetry. The results showed that the oxidation peak potential was shifted to the lower potential and the oxidation peak current was increased in comparison with the unmodified electrode. The optimal experimental conditions for the voltammetric determination of *L*-Dopa were as follows: pH, 7.4; temperature, 35 °C; the number of scan for modification by cyclic voltammetry, 1; preconcentration time, 90s. The polymer modified electrode was stable to determine *L*-Dopa for more than 2 months. The calibration curve for *L*-Dopa that linear range is  $6.0 \times 10^{-7}$  M~ $4.0 \times 10^{-4}$  M, the correlation coefficient is 0.996, and the detection limit is  $9.0 \times 10^{-8}$  M. The effects of interferences were studied for 27 candidates which might exist in biological samples all the species except dopamine did not interfere the determination of *L*-Dopa.

**Keywords:** *L*-Dopa, Polymer Modified Electrode, Ni(II)-Macrocyclic Complex, Differential Pulse Voltammetry

## 서 론

지난 수십 년 동안 포르피린, dibenzocyclam 및 이들과 비슷한 고리형 화합물을 리간드로 이용하는 착물의 합성과 특성 및 촉매제로서의 이용 가능성에 대한 연구가 많이 보고되고 있다.<sup>1,2</sup> 거대고리 착물을 전기적인 촉매로 이용한 연구의 예로는 CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, 올레핀, 알코올, NO, N<sub>2</sub>O, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 히드라진 등을 기질로 사용하여 거대고리 착물의 전기화학적 촉매에 대한 효과를 알아본 것들이 있다.<sup>3,4</sup>

거대고리 착물을 전기화학 촉매로 이용하는 방법으로는 균일 촉매로 이용하는 방법과 불균일 촉매로 이용하는 방법이 있다. 후자의 방법은 단순 전극을 적합한 수식제로 변성시키는 것이다. 전극을 변성시키는 방법으로는 착물을 단순히 전극에 흡착시키는 방법,<sup>5</sup> 탄소 반죽 전극형태로 만드는 방법,<sup>6</sup> 그리고 전극 표면에 착물을 중합시키는 방법 등이 있다. 최근에는 단위체가 변성제인 물질을 이용하여 전기중합을 시킴으로서 촉매제로 변성된 전극의 안정성을 증대시킬 수 있었고 또한 변성전극을 쉽게 소형으로 제조할 수 있게 되었다.<sup>7,8</sup>

중합반응을 이용한 전극의 변성 방법은 많이 알려져 있고 상당한 연구도 진척되어 왔다.<sup>9-12</sup> 그러나 거대고리 착물을 전극에 중합시켜 변성한 전극을 이용하여 생체물질의 분석에 적용한 예는 많지 않다.

*L*-Dopa(*L*-3,4-dihydroxyphenylalanine)는 파킨슨병의 증상조절에 사용되는 기본 의약품이다. *L*-Dopa는 혈액 중에서 교감신경의 말단 chromaffin cell에 의해 섭취된 tyrosine으로부터 tyrosine hydroxylase의 작용으로 생성된 후 dopamine으로 전환되는 물질로서 구조적으로 phenylalanine과 비슷하며, 아미노산의 전이 시스템(transport system)을 거쳐 소장에서 흡수된다.<sup>13</sup>

파킨슨병의 치료제로서 *L*-Dopa에 대한 관심이 높아지게 됨으로서 *L*-Dopa를 신속하고 정확하게 측정할 수 있는 분석법의 개발이 요구되어 왔다.

*L*-Dopa 등의 방향족 아미노산의 정량에는 일반적으로 발광법을 검출수단으로 사용하는 분광광도법과 크로마토그래피법이 주로 이용되어 왔다.<sup>14</sup> 이러한 크로마토그래피법에 의한 *L*-Dopa의 검출은 시료의 양이 적게 들고 분석감도도 비교적 높지만 기기가 고가이고 전처리 단계가 복잡하며 검출시간이 긴 단점이 있다.

따라서 전처리가 단순하고, 분석시간이 짧으며, 감

도와 선택성이 우수한 전기화학적 방법으로 *L*-Dopa를 정량한 연구들이 보고 되고 있다.<sup>15-17</sup> 그러나 이들 연구자들의 연구 결과를 보면, 전극이 불안정하고 감도가 낮고 정량범위가 좁은 단점을 보였다. 이런 문제들을 개선하기 위하여 본 연구에서는 촉매능을 갖고 있으며 일정 전압을 인가하면 쉽게 폴리머가 되는 Ni(II)-거대고리착물을 변성제로 사용하였다. 이 착물을 아세트나이트릴 용매 하에서 순환 전압-전류법으로 유리질 탄소전극에 전기 중합시켜 변성전극을 만든다. 이렇게 제작한 변성전극을 이용하여 *L*-Dopa를 전압전류법으로 정량함에 있어서 기질용액의 pH, 온도, 중합체의 두께와 사전농축시간 등의 최적조건을 조사한다. 또 변성 전극의 안정성을 조사하고, 선정된 최적 조건하에서 펄스차이 전압-전류법으로 *L*-Dopa의 정량할 때의 감도, 선택성, 방해이온의 영향을 조사하였다.

## 실 험

**시약.** 본 연구에서 시료로 사용한 *L*-Dopa는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 실험 당일  $1.0 \times 10^{-3}$  M 저장용액을 만들어 암실에 냉동 보관하고, 실험직전에 적당한 농도로 희석하여 사용하였다. 완충용액을 만들기 위해서는 Merck사(New Jersey, USA)의 이수소인산나트륨(99.5%), 일수소인산나트륨(99.5%)과 인산(85%)을 사용하였다. 또, 방해이온 조사에 사용된 여러 가지 시약들과 이외의 모든 시약들은 특급시약과 일급시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 증류수는 Millipore사(Bedford, MA, USA)의 MILLI-Q Water System을 이용하여 제조한 전도도가  $1 \mu\text{S/cm}$  이하의 탈 이온수를 사용하였다. 전극제작을 위하여 사용한 용매는 Merck사의 아세트나이트릴이며, 아세트나이트릴의 정제는 Coetzee<sup>18</sup>의 방법에 따랐다. 지지전해질로는  $5.0 \times 10^{-2}$  M tetraethylammonium perchlorate(TEAP)를 썼다. TEAP는 Coetzee<sup>19</sup>의 방법을 따라 합성 및 정제하였다. 본 실험에 사용한 거대고리 착물은 문헌에 제시된 방법<sup>20</sup>에 따라 합성하여 사용하였다.

**측정기기.** 본 실험에서 순환 전압-전류곡선과 시차 펄스 전압-전류곡선을 얻기 위하여 Bioanalytical System(BAS) 100 B/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(Hyunju, Korea)에 연결하여 사용하였다.

먼저 비수용액에서 polymer-변성전극을 제작하기 위하여 본 실험실에서 제작한 유리질 탄소(직경 3 mm)전극을 작업전극으로 사용하였고, 기준전극으로는 EG & G PAR Model 19367(USA)의 비수용액용  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$  (0.01 M  $\text{AgNO}_3$  in acetonitrile)전극, 보조전극으로 백금선을 사용하였다. 그리고 수용액에서 L-Dopa에 대한 전기화학적 촉매효과 시험과 정량을 위해서는 작업전극으로 중합체 변성한 유리질 탄소전극을, 기준전극으로는 EG & G PAR Model K0077 SCE(USA)를 사용하였고, 보조전극으로는 백금선을 사용하였다. 측정용 전해용기는 EG & G PAR Model G0060(USA)의 실린더형의 전해용기를 사용하였다. 항온조는 NESLAB사(Newington, NH, USA)의 Model RTE-211 isotherm. digital circulator를, pH 측정을 위해서는 Orion사(Cambridge, MA, USA)의 EA 940 Ion analyzer를 썼다.

**Polymer-변성전극의 제작.** 전기화학적으로 중합체 변성한 전극을 얻기 위하여 다음의 방법을 이용하였다.<sup>21</sup> 먼저 유리질 탄소(Tokai Carbon사의 등급 GC-30s GC 막대, Tokyo, Japan) 전극의 표면을 alumina slurry로 수회 문질러 닦아 표면을 깨끗이 하고 증류수로 잘 씻어낸다. 전극을 건조시킨 후 아세토나이트릴이 담겨진 초음파세척기에 전극표면을 담그고 1분 동안 초음파를 가하여 표면을 다시 깨끗이 한다. 이렇게 표면을 깨끗이 한 전극을 다시 건조시킨다. 표면이 깨끗하게 된 전극을 비대칭 니켈(II)-거대고리착물  $5.0 \times 10^{-4}$  M과 지지전해질로  $5.0 \times 10^{-2}$  M TEAP가 들어있는 아세토나이트릴용액에 담근다. 이 용액에 고순도 질소를 약 20분간 통과시켜 용액 중 산소를 완전히 제거한다. 기준전극인 비수용액용  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$  전극과 보조전극인 백금선을 연결시키고 질소를 용액 속으로 통과시키던 것을 위로 통과시켜 측정 중에도 용액 속으로 산소가 들어오지 않는 상태로 하여 +1.80 V~2.00 V(vs.  $\text{Ag}/\text{Ag}^+$ )의 가전압 범위에서 주사속도 0.20 V/s로 1회 전위를 순환시켜 착물을 전극표면에 전기중합 시킨다. 이렇게 변성한 전극을 용액에서 분리해 내고 건조시킨다. 마르고 난 뒤 탈이온수로 충분히 씻는다. 다시 공기 중에서 말린다. 이렇게 하면 전극표면에 청남색의 막이 형성된 polymer-변성전극을 얻을 수 있다.

**측정과정.** 순환 전압-전류법으로 중합체 변성한 전극의 L-Dopa의 산화에 대한 전기화학적 촉매능을 알아보기 위한 측정과정은 다음과 같다. 먼저 기질용액으로는  $1.0 \times 10^{-3}$  M L-Dopa 저장용액을 만들어 사용하였다. 시료용액은 전기화학적 촉매 효과를 측정하기 직전에 필요한 농도로 희석하여 사용하였고, 이 때 시료 용액의 부피는 5.0 mL로 고정하였다. 먼저, 기질이 들어 있지 않은 인산염 완충용액에서 변성하지 않은 전극과 중합 변성한 전극의 바탕 전류값을 확인한다. 그리고 기질 L-Dopa가 들어있는 용액에서 변성하지 않은 전극과 중합 변성한 전극을 작업전극으로 사용하여 똑같은 조건으로 +1.00~-0.20 V(vs. SCE)의 가전압 범위에서 순환 전압-전류곡선을 얻었다. 각각의 순환 전압-전류곡선으로부터 봉우리전위의 이동과 봉우리전류의 변화를 측정하여, 중합체 변성한 전극의 전기화학적 촉매능을 조사하였다.

시차펠스 전압-전류법으로 L-Dopa를 정량하는 과정은 다음과 같다. 즉, 변성하지 않은 전극과 비대칭 니켈(II)-거대고리 착물이 중합체 형태로 입혀진 변성전극을 시료용액이 포함된 인산염 완충용액(0.1 M, pH 7.4)이 들어있는 전해셀에 담그고, -0.20~-0.60 V(vs. SCE)의 가전압 범위에서 펄스차이 전압-전류곡선을 얻고, 이 전압-전류곡선에서 L-Dopa의 봉우리전류를 측정하여 검정선법으로 L-Dopa의 양을 결정하였다.

시료용액 중의 용존 산소 제거를 위해 고순도의 시판 질소를 ammonium metavanadate와 zinc amalgam의 염산용액으로 된 환원기, pyrogallol 염기성용액, 진한 황산용액, 실리카겔, 오산화인, 실리카겔 등의 순서로 통과시켜 시료용액 속으로 20분 동안 통과시키고, 측정 시에는 용액 속으로 통과시키던 질소를 위로 통과시켜 측정 중에도 용액 속으로 산소가 들어오지 않는 상태에서 실험을 하였다.

## 결과 및 고찰

### L-Dopa의 산화반응에 대한 비대칭 니켈(II)-거대고리착물의 촉매작용

새롭게 합성한 1,5,8,12-tetraaza-2,4,9,11-tetramethylcyclotetradecinato-nickel(II) 착물의 L-Dopa에 대한 전기화학적 촉매 효과를 확인하기 위하여 순환 전압-전류법으로 다음과 같이 조사하였다. 즉, 변성하지 않은 유리질 탄소전극과 polymer-변성전극을 작업전극으로

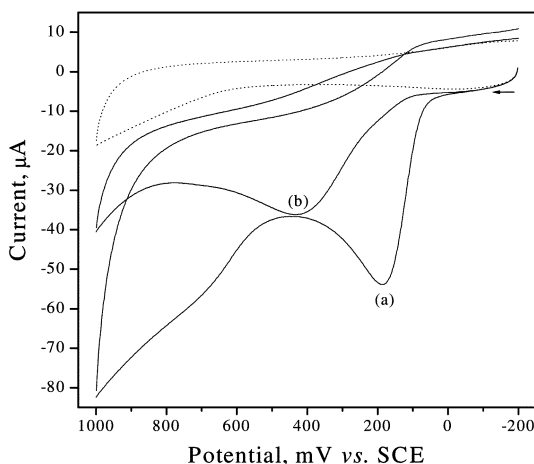


Fig. 1. Cyclic voltammograms of 1.0 mM *L*-Dopa at a polymer-modified electrode (a) and an unmodified GC electrode (b) in pH 7.4, 0.1 M phosphate buffer solution. Dotted line is for blank solution; temperature, 35 °C; scan rate, 100 mV/s.

사용하여 pH 7.4 인산염 완충용액으로 조절된  $1.0 \times 10^{-3}$  M *L*-Dopa 용액에서 전위범위 +1.00~ -0.20 V(vs. Ag/Ag<sup>+</sup>) 사이를 왕복 주사하여 순환 전압-전류곡선을 얻어서 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

이 그림에서 점선으로 나타낸 곡선은 아세트나이트릴 용매에서 Ni(II)-complex로 변성한 polymer-변성전극을 사용하여 바탕용액에서 얻은 순환 전압-전류곡선이다. 그림의 점선으로 표시한 곡선에서 알 수 있는 바와 같이, +1.00~ -0.20 V(vs. SCE) 범위에서는 산화-환원파가 없으므로 이 전위 범위에서 *L*-Dopa의 정량을 위한 작업전극으로 polymer-변성전극을 사용 가능함을 알 수 있었다. 실선(a)의 경우는 착물을 중합체 형태로 변성한 유리질 탄소전극을 작업전극으로 사용하여  $1.0 \times 10^{-3}$  M *L*-Dopa 용액에서 측정된 순환 전압-전류곡선으로서 *L*-Dopa의 산화봉우리전위가 +0.185 V에서 나타났다. 또, 실선(b)의 경우는 변성하지 않은 유리질 탄소전극을 작업전극으로 사용하여 같은 용액에서 측정한 것으로 +0.431 V에서 *L*-Dopa의 산화봉우리전위를 얻을 수 있었다. 그리고 이 봉우리가 *L*-Dopa에 의한 것이라는 것을 확인하기 위해 *L*-Dopa의 농도를 높여 가는 방법으로 실험한 결과, *L*-Dopa의 농도 증가에 따라 *L*-Dopa의 산화봉우리의 높이가 증가되었으므로 *L*-Dopa에 의한 산화봉우리임을 확인할 수 있었다.

즉, 변성하지 않은 전극에 비하여 변성한 전극에서

*L*-Dopa의 산화봉우리 전위가 약 0.240 V 음전위로 이동하였고, 또 봉우리 전류도 약 18 μA 더 커졌다. 이 결과로부터 Ni(II)-complex가 중합체 형태로 변성된 전극이 *L*-Dopa의 산화에 대하여 촉매 효과를 나타낸다는 것을 알 수 있다.

### 전압-전류법을 이용한 *L*-Dopa 정량의 최적 실험조건 선정

***L*-Dopa의 산화반응에 대한 pH의 영향.** Ni(II)-complex로 변성한 polymer-변성전극을 사용하여 *L*-Dopa를 정량함에 있어 시료 용액의 최적 pH를 선정하기 위하여 다음과 같이 조사하였다.  $1.0 \times 10^{-3}$  M *L*-Dopa 용액에 인산염 완충용액의 pH를 4.0~8.0까지 변화시키면서 순환 전압-전류곡선을 얻어서 pH 변화에 따른 *L*-Dopa의 산화 봉우리 전류 값과 산화 봉우리 전위를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 이 그림에서 알 수 있듯이 변성전극에서 pH가 증가할수록 산화 봉우리 전류는 증가하였고(Fig. 2A), 산화 봉우리 전위는 Fig. 2B와 같이 음으로 이동하였다. 그리고 pH의 증가에 따른 변성전극에서의 봉우리 전위 변화(Fig. 2B)는 -0.081 V/pH로 나타났다.

본 실험에서는 *L*-Dopa의 산화 봉우리에 대한 전위와 전류를 고려하고 실제 생체시료에 대한 적용을 고려하여 pH 7.4를 최적 pH로 결정하였다.

***L*-Dopa의 산화반응에 대한 온도영향.** Ni(II)-complex

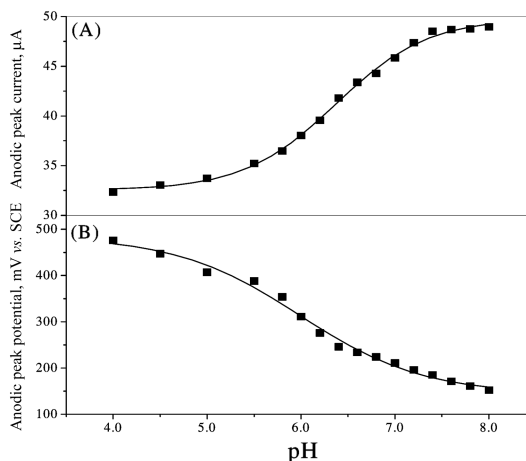


Fig. 2. Effect of pH on peak height (A) and peak potential (B) for the determination of 1.0 mM *L*-Dopa with a polymer-modified electrode (a) and an unmodified GC electrode (b); temperature, 35 °C; scan rate, 100 mV/s.

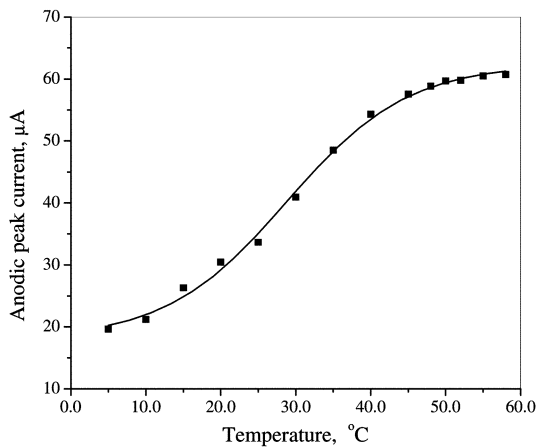


Fig. 3. Effect of temperature on peak height for the determination of 1.0 mM L-Dopa with a polymer-modified electrode: 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4; scan rate, 100 mV/s.

로 변성한 polymer-변성전극으로 L-Dopa를 정량할 때, 용액의 최적온도를 선정하기 위하여 다음과 같이 조사하였다. 곧, pH 7.4로 조절된  $1.0 \times 10^{-3}$  M L-Dopa 용액의 온도를 5.0~58.0 °C까지 변화시키면서 순환 전압-전류곡선을 얻어서 용액의 온도에 따른 L-Dopa의 산화전류 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 그림에서 보여지는 바와 같이 온도가 증가함에 따라 L-Dopa의 산화봉우리전류가 계속적으로 증가하였다. 이러한 실험결과는 기질용액의 온도 증가에 따라 L-Dopa의 활동도가 증가함을 의미한다. 40 °C 이상의 고온 실험조건에서는 전극의 손상속도가 빨라지게 되어 연속사용 가능횟수가 줄어들고, 사람의 혈액 및 뇨를 on-line 분석하기 위해서는 사람의 체온과 비슷한 온도에서 실험을 하는 것이 적당하므로, 생물학적 시료에 대한 적용을 고려하여 본 실험에서는 기질용액의 최적실험온도를  $35 \pm 0.1$  °C로 결정하였다.

**L-Dopa의 산화반응에 대한 polymer-변성전극의 중합체 두께영향.** L-Dopa를 정량함에 있어서 polymer-변성전극의 최적의 중합체 두께를 구하기 위하여, 잘 담여진 유리질 탄소전극을  $5.0 \times 10^{-2}$  M TEAP와  $5.0 \times 10^{-4}$  M Ni(II)-complex가 녹아있는 아세트나이트릴 용액에 담근다. 그리고 -2.00~ +1.80 V(vs. Ag/Ag<sup>+</sup>)의 전위범위를 1~20회까지 각각 주사하여 polymer 변성한 전극을 얻는다. 즉, 전극에 형성되는 중합체의 두께는 순환 전압-전류법으로 착물을 전극에 전기중합시킬 때 일정전위 범위에서 전위 scan 횟수에 의해 조

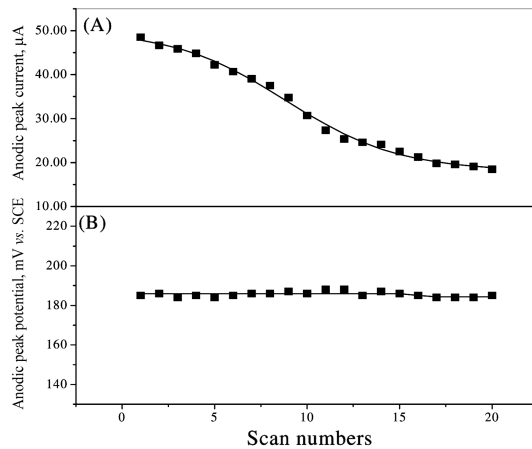


Fig. 4. Dependence of number of cyclic voltammetric scanning on peak height (A) and peak potential (B) for the determination of 2.0 mM L-Dopa with a polymer-modified electrode: 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4; temperature 35 °C; scan rate, 100 mV/s.

절되었다. 이렇게 얻어진 polymer-변성전극을 pH 7.4 인산염 완충용액으로 조절된  $1.0 \times 10^{-3}$  M L-Dopa 용액에 담그고 +1.00~ -0.20 V(vs. SCE)의 전위범위에서 전위를 주사하여 순환 전압-전류곡선을 얻었다. 이렇게 측정한 순환 전압-전류곡선으로부터 전위주사 횟수에 따른 L-Dopa의 산화 봉우리 전류값(Fig. 4(A))과 산화 봉우리 전위값(Fig. 4(B))을 구하여 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

그림에서 보여지는 바와 같이 잘 담여진 유리질 탄소전극에 중합체를 입힐 때, 주사 횟수를 증가시킬수록 L-Dopa에 대한 산화봉우리 전류값은 감소하고 산화봉우리 전위 값에는 거의 변화가 없었다. 이것은 전극에 입혀진 중합체 막이 얇을 때는 중합체가 L-Dopa의 산화에 촉매 역할을 하지만, 중합체 막이 두꺼워질수록 중합체가 오히려 저항으로 작용하기 때문으로 생각된다. 따라서 본 실험에서는 1회 주사하여 얻어진 polymer-변성전극을 L-Dopa의 분석에 이용하였다.

**L-Dopa의 산화반응에 대한 polymer-변성전극의 연속사용 가능 횟수.** Ni(II)-complex로 변성한 polymer-변성전극을 사용하여 L-Dopa를 연속 측정함에 있어서 실험결과와 재현성 및 활성화된 전극표면의 연속사용 가능 횟수를 조사함은 아주 중요하다. 따라서 순환 전압-전류법을 사용하여 L-Dopa를 연속 정량할 때, 기질 용액의 온도와 변성전극의 제작 시 전위주사속도에 따른 polymer-변성전극의 연속사용 가능 횟수를

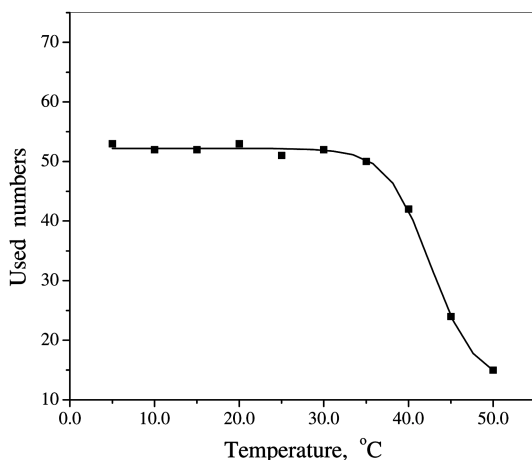


Fig. 5. Effect of temperature on electrode stability for the determination of 0.10 mM *L*-Dopa with a polymer-modified electrode: r.s.d., 5.0%; 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4; scan rate, 100 mV/s.

구하기 위하여 다음과 같이 조사하였다. 먼저, pH 7.4 인산염 완충용액으로 조절된  $1.0 \times 10^{-4}$  M *L*-Dopa 용액의 온도를 5~50 °C까지 변화시키면서 각각의 온도에 따른 polymer-변성전극의 연속사용 가능 횟수를 순환 전압-전류법으로 조사하여 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

그림에서 보여지는 바와 같이 온도가 5 °C에서 35 °C로 증가할 때, 전극의 연속사용 가능 횟수는 약 50회 (relative standard deviation, r.s.d. 5.0%)로 거의 동일하였다. 그러나 35 °C를 초과한 40 °C이상의 고온에서는 전극표면이 보다 빨리 손상되어 연속사용 가능 횟수가 40회 이하로 급격히 감소하는 것을 알 수 있었다. 그러므로 35 °C가 *L*-Dopa를 정량하기 위해서 가장 적절한 온도라고 생각한다.

***L*-Dopa의 산화반응에 대한 사전농축시간의 영향.** Ni(II)-complex로 변성한 polymer-변성전극으로 *L*-Dopa를 정량할 때, 전극에 전위를 걸기 전에 전극표면의 중합체와 *L*-Dopa의 상호 작용에 의해 중합체에 축적되는 *L*-Dopa의 양은 *L*-Dopa의 산화전류의 응답과 전극 사용의 재현성에 많은 영향을 미칠 수 있다. 따라서 변성전극에 전위를 걸기 전에 *L*-Dopa를 전극에 사전농축하는 최적의 시간을 구하기 위하여 다음과 같이 조사하였다. 즉, 변성전극을  $1.0 \times 10^{-4}$  M *L*-Dopa 용액에 담아 사전농축하고 사전농축시간에 따른 *L*-Dopa의 산화 전류값을 측정한 후 그 결과를 Fig. 6에 나타

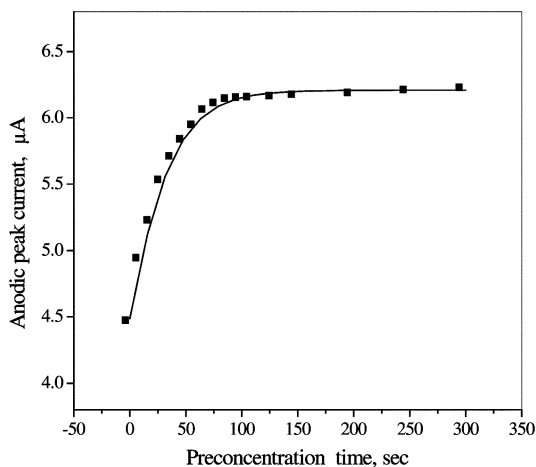


Fig. 6. Effect of preconcentration time on the peak height for 0.10 mM *L*-Dopa with a polymer-modified electrode: 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4; temperature, 35 °C; scan rate, 100 mV/s.

내었다.

그림에서 보여지는 바와 같이 사전농축시간이 90초로 증가할 때까지는 *L*-Dopa의 산화전류 증가는 뚜렷하지만, 사전농축시간이 90초 이상에서는 *L*-Dopa의 산화전류 증가가 완만함을 알 수 있다. 이러한 결과는 *L*-Dopa가 변성전극에 축적될 수 있음을 의미하며 사전농축시간이 *L*-Dopa의 산화전류의 감도에 영향을 미침을 의미한다. 따라서 본 실험에서는 *L*-Dopa의 산화전류의 감도와 분석 시간을 고려하여 사전농축시간을 90 초로 하였다. 그리고 낮은 농도의 *L*-Dopa 용액에서는 더 긴 사전농축시간이 선택되었다.

**시차펄스 전압-전류법에 의한 *L*-Dopa의 정량.** 순환 전압-전류법으로 조사한 최적 실험조건하에서 *L*-Dopa를 전압-전류법으로 정량함에 있어서 여러 가지 분석 특성을 조사하였다. 이 조사에서는 전압-전류법 중 감도가 뛰어난 펄스차이 전압-전류법 (pulse amplitude 50 mV, pulse interval 1.0 sec and scan rate 5 mV/s)을 써서 *L*-Dopa의 정량을 시도하였다.

pH 7.4 인산염 완충용액에서 변성하지 않은 유리질 탄소전극과 14π-Ni-complex를 이용하여 제작한 polymer-변성전극을 사용하여 *L*-Dopa에 대한 펄스차이 전압-전류곡선을 얻어 Fig. 7에 나타내었다. 이 때 온도는 35 °C 이었고, pH는 7.4, 사전농축시간은 90초 이었다. 이 때 polymer-변성전극에 대한 *L*-Dopa의 산화봉우리 전위는 0.095 V(vs. SCE) 이었다. 이 그림에

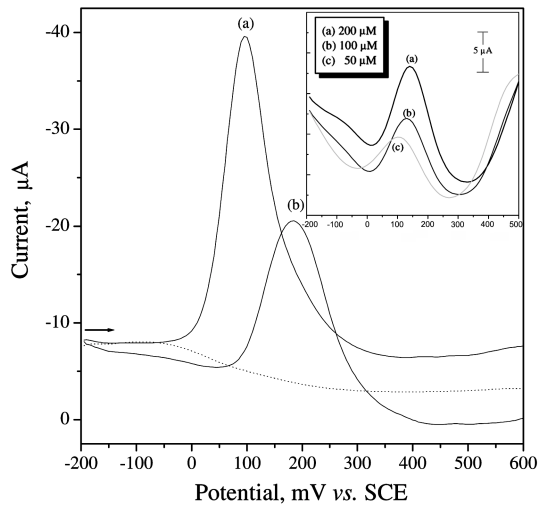


Fig. 7. Differential pulse voltammograms of  $2.0 \times 10^{-4}$  M L-Dopa at a polymer-modified electrode (a) and an unmodified GC electrode (b). Dotted line is for blank solution: 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4; temperature, 35 °C; pulse amplitude, 50 mV; pulse interval, 1 sec; scan rate, 5 mV/s. Inset curve: differential pulse voltammograms of various concentration L-Dopa at a polymer-modified electrode.

서 점선은 polymer-변성전극에서 바탕 용액의 펄스차이 전압-전류곡선이고, 실선(a)는 polymer-변성전극을 이용하여  $2.0 \times 10^{-4}$  M의 L-Dopa 용액에서 측정된 펄스차이 전압-전류곡선이며, 실선(b)는 변성하지 않은 유리질 탄소전극에서의 펄스차이 전압-전류곡선이다. 이렇게 얻은 펄스차이 전압-전류곡선으로부터 L-Dopa 농도에 대한 펄스차이 전압-전류곡선의 봉우리 전류를 측정하여, 변성전극과 변성하지 않은 전극을 작업 전극으로 사용하여 얻은 검정선을 Fig. 8에 나타내었다.

그림에서 보듯이 polymer-변성전극에서는  $6.0 \times 10^{-7} \sim 4.0 \times 10^{-4}$  M 사이에서 직선성이 성립하였으며, 검출 한계는 신호 대 잡음비의 3배로써  $9.0 \times 10^{-8}$  M 이었고, 직선성의 상관계수는 0.996 이었다. 그리고 변성하지 않은 전극에서는 직선 감응범위는  $2.0 \times 10^{-5} \sim 6.0 \times 10^{-4}$  M 이었고, 검출한계는 신호 대 잡음비의 3배로써  $7.5 \times 10^{-6}$  M, 상관계수는 0.996 이었다.

이상의 결과는 Sagar 등<sup>16</sup>의 carbon fiber로 제작된 미소 전극을 사용하여 L-Dopa를 정량한 결과를 보면, 선형 농도 범위인  $0.02 \mu\text{g/mL} \sim 4.0 \mu\text{g/mL}$ 보다 넓은 직선 범위를 가지며 검출한계 또한  $5 \text{ ng/mL}$ 인 결과와 비교해볼 때 polymer-변성전극이 더 우수하다고 할

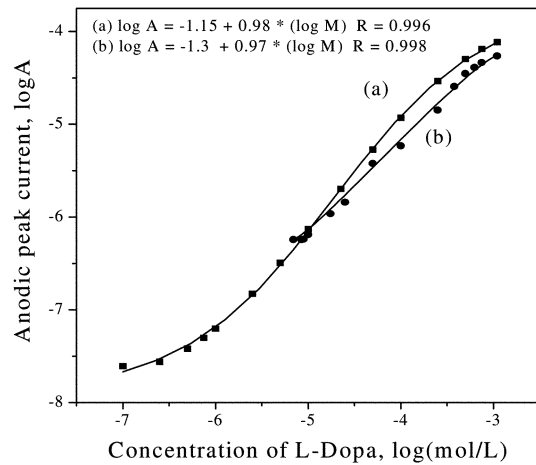


Fig. 8. Calibration curves for the determination of L-Dopa with a polymer-modified electrode (a) and an unmodified GC electrode (b) using differential pulse voltammetry: pH 7.4; temperature, 35 °C; pulse amplitude, 50 mV; pulse interval, 1 sec; scan rate, 5 mV/s.

수 있다. 또한 Agui 등<sup>17</sup>의 carbon fiber 미소 전극에 3-methylthiophene을 순환 전압-전류법으로 전기중합시킨 변성전극을 사용한 정량 결과인  $5.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$  M의 선형범위와  $2.1 \times 10^{-6}$  M의 검출 한계보다도 더 우수한 선형범위와 검출 한계를 가지는 것을 알 수 있다.

시차펄스 전압-전류법에 의한 L-Dopa 정량에 미치는 공존물질의 영향. 이상의 L-Dopa 정량 방법을 혈액 및 요 등의 실제시료에 적용하고자 할 때, L-Dopa의 정량에 방해될 수 있는 혈액 및 요 등의 실제시료에 공존하는 27가지 물질에 대한 영향을 펄스차이 전압-전류법으로 조사하였다.

먼저  $5.0 \times 10^{-6}$  M L-Dopa 표준용액에 공존물질의 농도를 L-Dopa의 농도 보다 10~100배로 첨가한 시험용액을 준비한다. 이 시험용액으로 앞에서 조사한 최적실험 조건하에서 펄스차이 전압-전류곡선을 구하여 봉우리전류값으로부터 회수율을 구하여 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 알 수 있듯이 혈액 및 요 등의 실제시료에서 흔히 L-Dopa와 공존하는 27가지 중에서 dopamine을 제외한 물질들은 본 실험에서 사용한 방법으로 L-Dopa를 정량할 때, 거의 방해를 일으키지 않는 것으로 관찰되었다.

실제 분석에서 dopamine의 방해를 제거하기 위하

Table 1. Interference study for the determination of *L*-dopa<sup>a</sup> with polymer modified electrode using differential pulse voltammetry

Interference	Concentration of additive ( $\mu\text{mol/L}$ )	Recovery $\pm$ s.d <sup>b</sup> (%)
Urea	500	102.3 $\pm$ 0.3
Oxalic acid	500	100.4 $\pm$ 0.7
Glycine	500	102.1 $\pm$ 0.7
<i>L</i> -Arginine	500	100.2 $\pm$ 0.2
Aspartic Acid	500	99.6 $\pm$ 0.4
<i>D,L</i> -Cystine	500	99.5 $\pm$ 0.3
Allantoin	500	98.7 $\pm$ 0.4
Glutamine	500	100.1 $\pm$ 0.2
Hypoxanthine	500	99.5 $\pm$ 0.5
Xantine	500	98.8 $\pm$ 0.2
<i>L</i> -Asparagine	500	100.1 $\pm$ 0.3
$\beta$ -D(+)-Glucose	500	100.1 $\pm$ 0.3
Cytidine	500	99.8 $\pm$ 0.1
<i>D,L</i> -Lysine	500	97.6 $\pm$ 0.6
Caffeine	500	101.5 $\pm$ 0.5
Guanosine	500	99.7 $\pm$ 0.2
Uric acid	250	99.5 $\pm$ 0.5
Guanine	500	99.6 $\pm$ 1.2
Sucrose	500	101.1 $\pm$ 0.3
Cystein	500	100.7 $\pm$ 0.4
Ascorbic acid	50	101.5 $\pm$ 1.4
Dopamine	5	141.5 $\pm$ 2.6
Cl <sup>-</sup>	500	99.8 $\pm$ 0.4
Br <sup>-</sup>	500	101.2 $\pm$ 0.3
Ca <sup>2+</sup>	500	98.9 $\pm$ 0.4
Mg <sup>2+</sup>	500	99.8 $\pm$ 0.4
Na <sup>+</sup>	500	101.8 $\pm$ 1.2

14 $\pi$ -Ni-complex polymer-modified GC electrode; pH 7.4; temperature, 35 °C; pulse amplitude, 50 mV; pulse interval, 1 sec; scan rate, 5 mV/sec.

<sup>a</sup>*L*-dopa of 5  $\mu\text{mol/L}$ .

<sup>b</sup>Average value of five measurements.

여, 먼저 크로마토그래피로 dopamine을 *L*-Dopa로부터 분리한 후 polymer-변성전극을 검출기로 사용하면, *L*-Dopa의 선택적인 검출에 대한 dopamine의 방해 를 제거할 수 있으리라 기대한다.

## 결 론

새롭게 합성한 거대고리 리간드를 가진 니켈(II)-거대고리착물의 기질에 대한 촉매능을 이용하여 *L*-Dopa의 분석에 응용하였다. 즉, 1,5,8,12-tetraaza-2, 4,9,11-

tetramethylcyclotetradecanatonickel(II) 착물이 녹아있는 아세트나이트릴 용매에서 순환 전압-전류법을 이용하여 전기적 에너지를 전극표면에 가하면 청남색의 중합체 막이 전극표면에 형성된다. 이렇게 얻은 중합체 막을 전기적 촉매로 사용할 수 있는 가능성을 기질 *L*-Dopa로 확인하였다.

순환 전압-전류법에 의한 *L*-Dopa의 촉매능 조사에서 중합체 막으로 변성한 전극은 변성하지 않은 유리질 탄소전극에 비하여  $1.0 \times 10^{-3}$  M *L*-Dopa에 대한 산화봉우리전위가 약 240 mV 음전위로 이동하였고, 산화봉우리전류도 약 18  $\mu\text{A}$  증가함을 보였다.

Ni(II)-complex를 중합체 형태로 피복하여 변성한 전극을 사용하여 *L*-Dopa를 펄스차이 전압-전류법으로 정량 하였다. 먼저, 순환 전압-전류법으로 *L*-Dopa를 정량하기 위한 최적 분석조건을 조사하여 본 결과, 최적 pH는 7.4 인산염 완충용액, 온도는 35 °C, 사전농축시간은 90초, 전극의 두께는 +1.80~2.00 V(vs. Ag/Ag<sup>+</sup>) 범위에서 1회 전위 scan한 것이 좋았다. 전극의 안정성 조사에서 주사 속도 0.20 V/s에서 polymer 변성한 전극은 온도 35 °C에서 약 50회(r.s.d. 5.0%) 정도까지 재현성 있게 사용 가능하였으며, 실리카겔과 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>이 들어 있는 갈색 메시게이터에 변성전극을 보관하였을 때 적어도 2달 이상의 기간 후에도 재현성 있는 전극응답을 얻었다.

이러한 최적 조건하에서 펄스차이 전압-전류법으로 *L*-Dopa에 대한 검정선을 작성하였을 때, 직선감응 범위는  $6.0 \times 10^{-7}$ ~ $4.0 \times 10^{-4}$  M 이었고, 직선의 상관계수는 0.996, 검출한계는  $9.0 \times 10^{-8}$  M 이었다. 실제 시료 속의 *L*-Dopa를 펄스차이 전압-전류법으로 정량하기 위해서 혈액 및 요 속에 공존하는 물질을 선정하여 조사하였을 때, dopamine이 뚜렷한 방해 를 일으켰으며 그 외의 물질들에 대한 방해는 거의 없었다.

이 논문은 경북대학교의 연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

1. Deronizer, A.; Mrques, M. J., *Electrochim. Acta.*, **1994**, 39, 1377.
2. Bernard, C.; Giselsbrecht, J. P.; Gross, M.; Vogel, E.; Lausmann, M., *Inorg. Chem.*, **1994**, 33, 2393.
3. Pang, D. W.; Deng, B. H.; Wang, Z. L., *Electrochim.*



- Acta.*, **1994**, 39, 847.
4. Ruiz, M. A.; Calvo, M. P.; Pingarron, J. M., *Talanta*, **1994**, 41, 289.
5. Beley, M.; Collin, J. P.; Ruppert, R.; Sauvage, J.-P., *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 7461.
6. Wang, Z. H.; Liang, Q. L.; Wang, Y. M.; Luo, G. A., *J. Electroanal. Chem.*, **2003**, 540, 129.
7. Hochgesang, P. J.; Bereman, R. D., *Inorg. Chim. Acta*, **1990**, 149, 199.
8. Bae, Z. U.; Park, J. H.; Lee, S. H.; Chang, H. Y., *J. Electroanal. Chem.*, **1999**, 468, 85.
9. Steiger, B.; Anson, F. C., *Inorg. Chem.*, **1994**, 33, 5767.
10. Zhao, H.; Zhang, Y. Z.; Yuan, Z. B., *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 454, 75.
11. Selvaraju, T.; Ramaraj, R., *Electrochem. Commun.*, **2003**, 5, 667.
12. Chen, S. M.; Peng, K. T., *J. Electroanal. Chem.*, **2003**, 547, 179.
13. Pecanac, D., *Anal. Lett.*, **1997**, 30, 1833.
14. Siddhuraju, P.; Becker, K., *Food Chem.*, **2001**, 72, 389.
15. Badawy, S. S., *Electroanalysis*, **1996**, 8, 1060.
16. Sagar, K. A.; Smyth, M. R., *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2000**, 22, 613.
17. Agüí, L.; Cortés, A. G.; Sedeño, P. Y.; Pingarrón, J. M., *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 401, 145.
18. Coetzee, J. F., *Anal. Chem.*, **1962**, 34, 1139.
19. Kolthoff, I. M.; Coetzee, J. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 1852.
20. Park, Y. C.; Bae, Z. U.; Kim S. S.; Baek, S. K., *Bull. Kor. Chem. Soc.*, **1995**, 16, 287.
21. Cataldi, Tommaso R. I.; Centonze, Diego; Guerrieri, Antonio, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 101.