

Dopamine determination using a biosensor based on multiwall carbon nanotubes paste and burley tobacco-peroxidase

Hyoshik Kwon¹, Byong-Suk Jeon¹ and Yongnam Pak^{2, *}

¹Department of Chemistry Education, Chungbuk National University, Cheongju 362-763, Korea

²Department of Chemistry Education, Korea National University of Education,
Cheong-Won, Chungbuk 363-791, Korea

(Received February 11, 2015; Revised March 24, 2015; Accepted March 25, 2015)

담배 잎-peroxidase와 다중벽 탄소 나노튜브를 이용한 dopamine의 정량

권효식¹ · 전병숙¹ · 박용남^{2, *}

¹충북대학교 화학교육과, ²한국교원대학교 화학교육과
(2015. 2. 11. 접수, 2015. 3. 24. 수정, 2015. 3. 25. 승인)

Abstract: The development of an enzymatic biosensor for dopamine determination based on multiwall carbon nanotubes (MWCNTs) and peroxidase obtained from the crude extract of burley tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) was proposed. Peroxidase catalyzes the oxidation of dopamine to dopamine quinone. The influence on the response of analytical parameters of biosensors such as enzyme concentration, dopamine concentration, pH, and phosphate buffer solution concentration were investigated. The analytical parameters obtained, including sensitivity, linearity, and stability, were investigated. The proposed method for dopamine determination presented good selectivity even in the presence of uric acid and ascorbic acid. The sensor presented a higher response for dopamine in 0.010 M phosphate buffer at pH 6.50, with an applied potential of -0.15 V. The detection limit of the electrode was 2.7×10^{-6} M ($S/N=3$) and the relative standard deviation of the measurements, which were repeated 10 times using 5.0×10^{-2} M dopamine, was 1.3%.

요약: 버얼리종 담배에서 추출물에서 얻은 peroxidase와 다중벽 탄소 나노튜브를 이용한 dopamine 정량 바이오센서를 만들었다. Peroxidase는 dopamine을 dopamine quinone으로 산화시키는 반응의 촉매 역할을 한다. 이 논문은 효소의 농도, pH와 같은 바이오센서의 감응에 영향을 주는 parameter를 조사하였다. 또한, 전극의 감도, 직선성의 범위, 전극의 안정성을 조사하였다. 본 실험에 사용한 dopamine의 정량 센서는 pH 6.50, 0.010 M 인산 완충용액, -0.15 V의 가해진 전압에서 가장 좋은 감응을 나타내었다. 전극의 검출한계($S/N = 3$)는 2.7×10^{-6} M이었으며, 5.0×10^{-2} M dopamine을 이용하여 10회 반복 측정된 상대표준편차는 1.3%이었다.

Key words: burley tobacco biosensor, dopamine, multiwall carbon nanotube

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)43-230-3732 Fax : +82-(0)43-232-7176

E-mail : pakyn@knue.ac.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서 론

Dopamine은 인간의 몸에서 신경전달 물질로서 중요한 생물학적 아민으로 알려져 있다. 즉, dopamine은 파킨슨씨 병(Parkinson's disease),¹ 신경관 종양(neural crest tumor),² 근육 고정(muscular immobility), 그리고 마약 중독자의 정신분열적인 행동과 관련이 있다고 보고되었다.³ 따라서 dopamine의 정량은 약리적인 작용과 진단 및 모니터링에 매우 중요하다고 여겨져 왔다.

Biosensor에 사용되는 dopamine 정량의 첫 간행물 중의 하나는 Sidwell과 Rechnitz 등⁴에 의해 보고되었는데 흑연가루와 미네랄 오일, 소량의 바나나로 만든 바나나 전극이었다. 바나나에서 polyphenol oxidase 효소는 일반적인 current에서 나타나는 dihydroxy 형태에서 돌아온 quinone을 전기화학적으로 환원시키며 dopamine의 농도에 직선으로 비례하였다.

Dopamine 정량을 위한 바이오센서로서 tyrosinase, catechol oxidase 및 lactase와 같은 순수한 효소로 만든 dopamine 바이오센서와 바나나, 감자, 버섯, 사과, 아보카도 등의 식물조직을 사용한 dopamine 바이오센서가 보고된 바 있다.⁵⁻¹¹ Tyrosinase, catechol oxidase 및 lactase 전극은 예외적으로 낮은 특이성(specificity), 낮은 감도, 낮은 재현성을 나타내었으며, 전극의 수명은 3~4 일이었다.¹²⁻¹³

식물조직의 세포막은 세포막 속에 들어있는 효소들이 비활성화되는 것을 잘 보호해 주지만 효소가 빠르게 부패됨으로서 감응물질로서의 효용성이 크게 줄어들 수 있다. Tu 및 Chen 등¹⁴⁻¹⁵은 식물조직으로부터 부패 과정의 원인을 알아내어 생분해를 시키는 유기 물질들을 사전에 제거하는 전처리과정을 수행함으로써 이 문제를 해결하였다. 이들은 전 처리한 dopamine 센서를 사용한 결과 3 개월 이상 동안 센서의 특성을 나타났다고 보고하였다.

Caruso 등¹⁶은 Cara(*Dioscorea bulbifera*) 뿌리로부터 추출한 polyphenol oxidase를 이용하여 dopamine을 정량하였다. Pravda 등¹⁷은 고성능 액체크로마토그래피(HPLC)의 전기화학적 검출기로서 유리질 탄소전극과 tyrosinase를 고정한 고체 탄소 반죽 전극(SCPE)을 이용하여 dopamine을 정량하여 두 전극을 비교하였다. 검출기의 안정성과 선택성은 이동상의 pH에 크게 영향을 받는다는 것을 알았다. Karina 등¹⁸은 서양호박(zucchini)의 추출물을 이용하여 dopamine을 정량할 수 있는 방법을 보고하였으며 검출한계는 2.6×10^{-5} M임을 보고하였다.

근래에 물리학, 화학 및 재료 과학 분야에서 탄소 나노튜브(CNT)가 많은 관심이 집중되면서 글루코오스 바이오센서,¹⁹⁻²⁰ dopamine 정량 바이오센서,²¹ promethazine의 정량 바이오센서 등²²이 보고되었다. 이러한 관심은 CNT의 전기적, 화학적, 기계적 및 구조적인 면에서 독특한 행동을 하고 있기 때문이었다. CNT는 전자이동물질로서 사용될 때 전기촉매적인 효과와 더불어 전자전달 반응을 빠르게 할 수 있다.²³⁻²⁴ 따라서 CNT를 미네랄 오일과 혼합하여 만든 전극이 사용되기 시작하였는데 그 이유는 효소를 고정하기가 쉽고 재현성있는 전기화학적인 성질을 나타내었기 때문이었다. Zhao 등²⁵은 단일벽 탄소 나노튜브를 이용하여 phenol의 정량을 하였고, Yamamoto 등²⁶은 다중벽 탄소 나노튜브를 유리질 탄소전극의 표면에 고정하여 dopamine을 정량하였다.

또한, Ribeiro 등²⁷은 호박 추출물과 다중벽 탄소 나노튜브를 사용하여 순환 전압전류법, 네모파 전압전류법으로 dopamine을 정량하는 실험을 하였으며, 검출한계는 5.0×10^{-5} M임을 보고하였다. Han 등은 graphene oxide (GO)를 5,15-pentafluorophenyl-10,20-paminophenylporphyrin (P)과 축합 반응을 시켜 공유결합된 GO-P를 만든 다음, 포피린의 아미노기와 GO의 수산기 사이에 공유결합을 형성시켜 전극을 만들었다. 이 전극으로 dopamine을 정량한 결과 검출한계는 3.5×10^{-2} μ M이었다.²⁸ 이제까지 식물의 조직을 사용하여 dopamine을 정량하는 실험에서는 식물체로부터 효소를 완벽하게 추출하여 실험함으로써 시간이 많이 걸리는 단점이 있었으나 본 실험에는 전체 과정의 일부만을 도입함으로써 시간을 절약하는 효과를 가져올 수 있다. 본 연구에서는 담배 잎 추출물과 다중벽 탄소 나노튜브를 이용한 dopamine 센서의 전기화학적 특성을 조사하였다.

2. 실험

2.1. 시약

다중벽 탄소나노튜브(multi-walled carbon nanotube, MWCNT, 탄소함유량, 99%, O.D 6-13 nm, 길이 2.5-20 μ m)는 Aldrich (MO, USA)사의 것을 사용하였다. Graphite powder는 Kanto Chemical (Tokyo, Japan)회사의 제품을, 완충용액을 만드는데 사용한 KH_2PO_4 및 K_2HPO_4 는 Shinyo 회사(Osaka, Japan)의 시약을, 기질로 사용한 dopamine은 Aldrich 사의 제품을 사용하였다. 전극을 제작하는데 사용된 mineral oil은

Aldrich 사의 제품을 사용하였다. 시료에서 방해물질의 효과를 알기 위하여 사용된 ascorbic acid은 삼전 화공순약 공업주식회사(Seoul, Korea)의 제품을, uric acid와 acetaminophen은 Aldrich 사의 제품을 사용하였다.

2.2. 기기

본 실험은 20 mL들이의 부피를 갖는 BAS Model VC-2 Voltammetric cell을 사용하였다. 이 cell에 구멍 뚫린 teflon 마개로 막은 다음 작업전극, 기준전극 ((Ag/AgCl (Model Re-1 BAS)) 및 백금 보조전극을 마개의 구멍에 고정하였다. 일정전압에서 전류 측정은 EG&G Princeton Applied Research Model 353 Potentiostat를 사용하였으며, Kipp & Zonnen recorder를 사용하였다. 마이크로 피펫(100 μ L)은 Gilson 사의 것을 사용하였다. 완충용액의 pH 측정은 Orion Star A111 pH meter를 사용하였다.

2.3. 전극의 제작

전극제작에 사용된 담배는 충북대학교 농업생명과학대학의 잎담배 재배지에서 채취한 버일리종(burley tobacco, *Nicotiana tabacum L.*)을 사용하였다. 채취 시기는 5월 하순이었고, 키가 55 cm 정도 자란 푸른 잎담배에서 시료를 채취하였다. 시료는 4 $^{\circ}$ C 이하로 유지된 냉장고에 깨끗이 씻은 상태로 밀폐시켜 보관하면서 필요시 사용하였다. 완충용액은 pH는 0.050 M KH_2PO_4 용액과 0.050 M K_2HPO_4 용액의 부피 비를 적절히 조합하여 결정하였고 모든 용액은 증류수를 이용하여 제조되었으며 항상 실험 직전에 새로이 만들어 사용하였다.

전극 물질로 사용한 MWCNT(multi-walled Carbon Nanotube)는 금속성 불순물을 제거하기 위해 2.0 M HCl 용액을 사용하여 정제하였다. 10 g의 담배 잎을 50 mL의 0.010 M 인산 완충용액(pH 6.5)에 넣고 분쇄기로 잘게 부수었다. 이것을 4겹의 얇은 나일론 천으로 짠 다음, 2500 rpm에서 20분간 원심분리를 하였다. 상등액을 4 $^{\circ}$ C의 냉장고에 넣어서, 전체의 부피가 2 mL 정도가 될 때 까지 수분을 증발시켰다. 이 농축된 용액을 바이오센서의 효소로 사용하였다.

최종 바이오센서는 위에서 정제한 MWCNT와 1.0 mg의 graphite powder (~150 μ m, 99.99%), 30 μ L의 mineral oil, 및 10 μ L의 효소 농축액을 혼합한 것을 테플론 바디에 넣은 graphite rod (diameter 6 mm, 99.999%, Aldrich)의 표면에 1 mm 두께로 도포하여

만들었다. 한편 graphite rod의 다른 쪽 끝에는 구리선을 접촉시켰다.

2.4. 신호 측정

감응전류의 측정은 각각의 명시된 전극전위에서, 10 mL의 인산 완충용액을 포함하고 있는 유리 cell에 0.010 M의 dopamine 용액을 100 L씩 첨가한 후 첨가 전 후의 신호크기를 감응전류로 간주하여 측정하였다. 그리고 전류가 측정되는 동안 시료 용액은 300 rpm의 속도로 저어주었다. 필요에 따라서 담배 조직 농축물의 함량을 조절하였고, 제조된 전극을 사용하지 않을 때에는 완충용액에 넣어 4 $^{\circ}$ C에서 냉장보관 하였으며 모든 실험은 실온에서 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Dopamine의 농도에 따른 감응전류의 변화

Fig. 1은 인산 완충용액(pH 6.50), 10.0 mL에 1.0×10^{-2} M dopamine 용액 100 μ L를 누적적으로 17회 첨가할 때 감응전류 (-0.15 V vs. Ag/AgCl)의 변화를 보여주는 전형적인 예이다. Fig. 1에서 계단이 시작되는 곳은 dopamine의 첨가 시점을 나타낸다. 전극에 효소가 포함되지 않을 경우는 거의 감응을 보이지 않

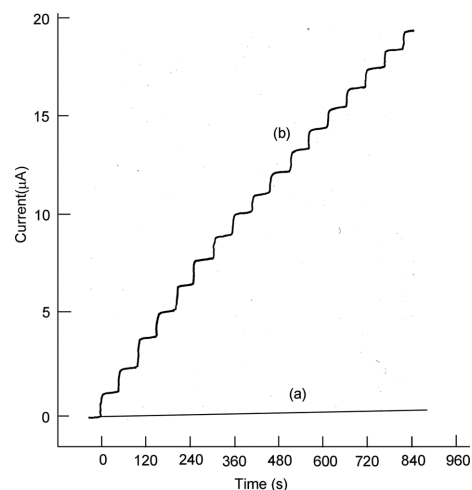
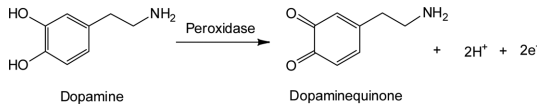


Fig. 1. Typical current-time recordings obtained at (a) unmodified (b) modified bioelectrode with stepwise additions of 1.0×10^{-2} mM dopamine steps in the 0.010 M phosphate buffer solution (pH 6.50), applied potential of -0.150 V (vs. Ag/AgCl) and 25 $^{\circ}$ C. In each experiment, the solution was stirred at 400 rpm.

았으나(Fig. 1(a), 본 실험에서 제작한 효소 전극의 경우에는 dopamine의 농도 변화에 대단히 빠른 감응을 나타내고 있으며, 11초 이내에 전류의 정류상태를 나타내고 있다. 이와 같은 빠른 감응은 담배 잎에 들어 있는 peroxidase(환원형)가 dopamine을 dopaminequinone으로 빠르게 잘 산화시키기 때문이다.

본 연구에서 사용한 다중벽 탄소 나노튜브-담배 전극의 메커니즘은 다음과 같다.



즉, 전극에 고정된 효소인 peroxidase는 dopamine을 dopaminequinone으로 산화시키고, potentiostat에 의해 다시 dopamine으로 다시 환원된다. 본 연구에서는 이 환원전류를 전류법으로 측정하였다.

3.2. 담배의 품종별 조직 부위에 따른 감응전류의 변화

Fig. 2는 버얼리종 담배의 각 조직 부위에 따른 감응전류의 변화를 나타낸 것으로 자란 잎(grown leaf), 새순(new leaf), 뿌리(root), 줄기(stem)순으로 감응도가 높았다. 감응전류(-0.15V vs. Ag/AgCl)를 측정할 때에 사용된 실험 조건은 완충용액(pH 6.50) 10.0 mL에 0.010 M dopamine 용액 100 μL를 첨가한 것이다. 따라서 본 연구에서는 감도가 가장 높은 담배의 자란 잎 조직을 이용하여 도파민 정량의 바이오센서를 제작하였다.

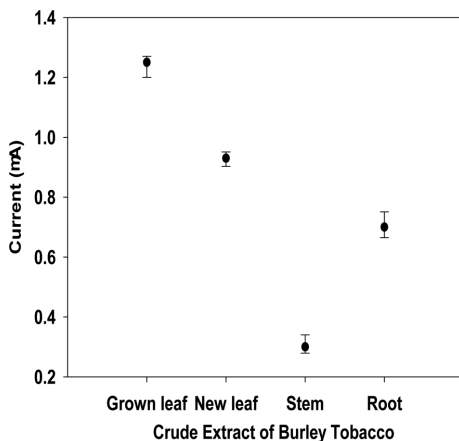


Fig. 2. Relative response of dopamine to crude extract of various tissues of the *Burley Tobacco*. Experimental conditions are the same as in Fig. 1.

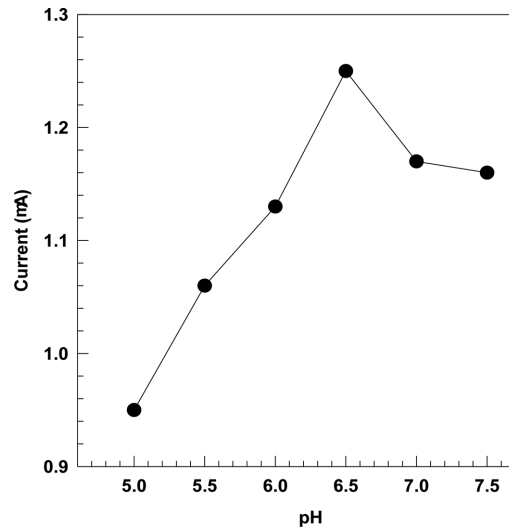


Fig. 3. Effect of pH on the response of the biosensor to 100 μL 0.010 dopamine in phosphate buffer. Experimental conditions are the same as in Fig. 1 except for pH.

3.3. pH에 따른 감응 전류의 변화

Fig. 3은 인산완충용액에서 담배 잎 조직 전극의 pH 의존성을 나타낸 실험이다. Tu 등¹⁴은 바이오센서의 감응은 주로 pH와 온도에 의해 영향을 받는다고 보고하였다. 이 연구에서는 32 °C, pH 6.0~8.0의 범위에서 peak current가 나타났다. Chen과 Tan 등¹⁵은 각 센서에 따라 용액의 pH도 달라졌는데, 감자는 pH 6.5, 사과는 pH 5.56, 바나나는 pH 5.56로 나타났으며, Lupetti 등¹⁸이 실험한 호박(zucchini)은 pH 5.0-7.5에서 좋은 감응전류를 나타냈다고 보고하였다.

본 실험에서는 작업 전극의 전위 -0.15 V에서 인산 완충용액(pH 6.50)에서 가장 좋은 감응전류를 보여주고 있었으며, 이 값보다 높거나 낮은 범위로 갈수록 반응전류 값은 감소하고 있었다. 따라서 본 실험에서 안정적이면서 가장 큰 감응전류를 나타낸 pH 6.50을 선택하였다.

3.4. 작업 전극의 전위에 대한 감응전류의 변화

Fig. 4는 작업전극의 전위에 대한 전류의 의존도를 보여주고 있다. pH 6.50인 0.010 M 인산 완충용액에 0.010 M의 dopamine 용액 100 L를 넣었을 때 나타난 작업전극의 전류를 측정하였다. 본 연구에서는 작업전극의 전위를 0.00 V에서부터 -0.35 V까지 0.05 V씩 변화시킬 때 -0.15 V의 환원전위에서 가장 큰 감응전류를 보인 후 감소하였다. 따라서 본 실험에서는 감응

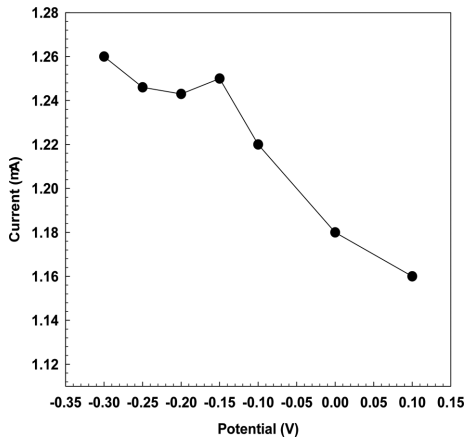


Fig. 4. Effect of the working potential on the response of the sensor. Experimental conditions are the same as in Fig. 1 except for potential.

전류가 높으면서 잡음이 적은 -0.15 V를 작업전위로 선택하였다.

3.5. 반응속도 분석

Fig. 5는 Fig. 7의 농도와 전류의 역수를 도시한 결과를 나타낸 것이다. Michaelis-Menten 식에 따라 기질 농도([S])를 변화시켜 효소 반응속도(v)를 실측하고 Lineweaver-Burk 도시를 할 때, 직선성이 얻어지면 이 반응은 효소 촉매에 의하여 조절되는 반응이다.²⁹⁻³¹ Fig. 5에서 직선의 상관계수가 0.9993으로 좋은 직선성을 나타내었다. 따라서 Fig. 5의 직선성은 전극의 반응이 촉매에 의해 조절되는 효소 반응임을 나타내

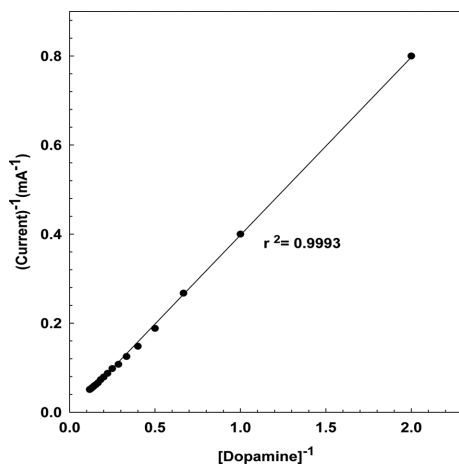


Fig. 5. Lineweaver-Burk plot for the biosensor. The response shows linear dependence, which means the electrode reaction is controlled by enzyme.

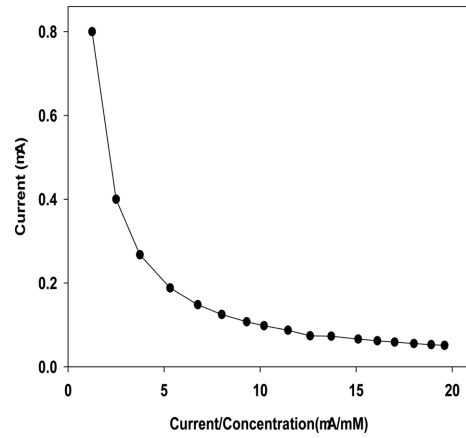


Fig. 6. Electrochemical Eadie-Hofstee plot for the bioelectrode using data of Fig. 7. The K_m^{app} value determined from this plot is 1.34 mM, which is a very low value, meaning the electrode has high affinity with the substrate.

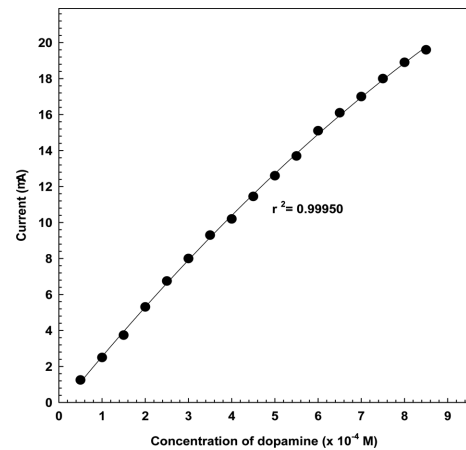


Fig. 7. Calibration plot between current and dopamine concentration. Experimental conditions are the same as in Fig. 1.

고 있다.

바이오센서로 사용할 수 있으려면 감응시간과 감도가 좋아야 한다. 많은 경우, 바이오센서의 반응속도론적 분석은 Michaelis-Menten 식의 한 형태인 Eadie-Hofstee 식을 사용한다.³²⁻³³ 전류법 바이오센서에서는 이 식에서 반응속도 대신 정류상태의 전류를 사용한다.

$$1/I_{ss} = 1/I^{max} - K_m^{app}/I_{max}/c$$

여기에서 I_{ss} 는 기질을 첨가한 후 정류상태의 전류이며 c 는 기질의 농도이다. I^{max} 는 기질을 포화시킨 상태에서 측정된 최대 전류이다. 또한, 겉보기 Michaelis-Menten

상수, K_m^{app} 는 dopamine의 농도 대 정류상태 전류의 역수를 도시한 그래프에서 얻은 절편과 기울기로부터 계산된다. Fig. 6에 효소전극의 Eadie-Hofstee 도시를 나타내었다. 이 센서의 K_m^{app} 값은 1.34 mM로 나타났으며 순수한 sol-gel 매트릭스에서 보고된 값 보다는 훨씬 더 작은 값이다. 보통 기질과의 친화력(affinity)이 높을수록 K_m^{app} 값은 작게 나타난다고 보고되어 있다.¹⁵

3.6. 방해물질의 영향

일반적으로 생물학적 시료에서 dopamine을 정량시에 ascorbic acid와 uric acid가 주요한 방해물질로 알려져 있다.²⁷ Sotomayor 등³⁴의 dopamine을 정량하는 연구에서 ascorbic acid, uric acid, acetaminophen 방해물질의 효과를 조사한 결과, ascorbic acid가 약간의 방해를 나타냈음을 보고하였다. 최근에 Ribeiro 등³⁵도 ascorbic acid, uric acid와 acetaminophen 모두 dopamine 정량 방해 효과는 1% 이하라고 보고하고 있다.

Table 1은 방해물질의 영향을 살펴보기 위하여, 분석물질에 존재할 경우 실험결과에 영향을 미칠 수 있다고 생각되는 물질 몇 가지를 선택하여 조사한 것이다. 결과의 신뢰도를 위하여 세 번 반복한 결과를 평균하여 나타내었다. 방해 물질 실험은 지금까지 조사한 최적의 조건에서 실험하였으며, 0.010 M의 dopamine 용액 100 μ L을 먼저 첨가한 후 여기에 0.010 M의 각 방해물질 용액을 같은 부피로 넣어주었다. 실험 결과 ascorbic acid와 uric acid는 dopamine의 신호에 영향을 주었으나 acetaminophen은 거의 영향을 주지 못하였다. 이 결과는 Ribeiro 등³⁵의 실험결과와 거의 일치하였다.

3.7. Dopamine의 정량에서 검정 곡선

Fig. 7에는 dopamine의 정량실험에 대한 검정곡선을 나타내었다. Dopamine의 양이 증가함에 따라 전류도 비례하여 증가함을 알 수 있다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 실험한 전체 구간에 대하여 직선의 상관계

Table 1. Interference studies of the proposed biosensor with possible interfering species (uric acid, ascorbic acid and acetaminophen) in the presence of dopamine

Interfering species	[Dopamine] expected (mM)	[Dopamine] found ^a (mM)	Relative response (%)
Ascorbic acid	5.00	5.07(\pm 0.03)	101.4%(\pm 0.9)
Uric acid	5.00	5.05(\pm 0.05)	101%(\pm 1)
Acetaminophen	5.00	5.00(\pm 0.02)	100%(\pm 1)

^aNumber of determination, $n = 3$

Table 2. Recoveries of dopamine standard solutions

Sensor ^a	Added (mM)	Recovered ^b (mM)	(%)
A	0.50	0.52(\pm 0.01)	104(\pm 1)
	1.00	1.02(\pm 0.02)	102(\pm 1)
	1.50	1.43(\pm 0.03)	95.3(\pm 0.4)
B	0.50	0.49(\pm 0.01)	98(\pm 1)
	1.00	1.07(\pm 0.02)	107(\pm 2)
	1.50	1.53(\pm 0.03)	102(\pm 1)
C	0.50	0.51(\pm 0.01)	102(\pm 1)
	1.00	0.96(\pm 0.02)	96(\pm 2)
	1.50	1.54(\pm 0.03)	103(\pm 1)

^aEach sensor was made from tobacco sample randomly chosen

^bNumber of determination, $n = 5$

수는 0.9995으로 매우 좋은 직선성을 나타내고 있다.

따라서 잎담배 생엽에서 분리한 polyphenol oxidase를 이용하여 만든 전극은 dopamine의 농도를 간편하고 정확하게 측정할 수 있다. 최적조건에서 분석 시료인 dopamine을 가했을 때 신호의 95%가 얻어질 때까지 걸린 시간, $t_{95\%}$ 는 11s였으며, dopamine의 검출한계는 2.7×10^{-6} M이었다. 이것은 Ribeiro의 검출한계인 2.0×10^{-6} M와 비슷하며, Lupetti의¹⁸ 2.6×10^{-5} M 보다는 더 좋은 결과를 나타내었다. 그러나 전극을 만드는 것이 간편한 본 정량 방법이 더 우수하다고 생각된다.

Table 2에 본 실험에서 제작된 바이오센서 A, B, C를 사용하여 얻은 회수율을 시험하고 결과를 나타내었다. 0.50, 1.00, 및 1.50 mM dopamine 표준 용액을 첨가했을 때 얻어진 신호로부터 구한 dopamine의 회수율은 95.3%~107%의 범위로 나타났다. 이러한 오차는 바이오센서가 갖는 한계이며, Lupetti 등¹⁸의 실험에서도 비슷한 결과를 보였다. 전극의 정밀도를 측정하기 위하여 5.0×10^{-2} M dopamine을 10회 반복 측정하여 얻은 상대 표준편차는 1.3%로서 매우 좋은 값을 보여주었다. 이 실험에서 측정 후 센서는 증류수로 씻은 다음 4 $^{\circ}$ C의 냉장조에 보관하였다. 이 센서를 5일이 지난 다음 측정하여보면 감응전류가 10% 정도 감소하였고, 2주일 후에는 감응전류가 25% 정도 감소하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 담배 잎에서 추출한 효소를 다중벽 탄소 나노튜브와 미네랄 오일로 만든 전극에 고정시킨 바이오센서를 만들어, 수용액에서 dopamine을 정

량 할 때의 최적실험 조건을 제시하였다.

전극은 pH 6.50 (0.010 M 인산 완충용액)에서 가장 좋은 감응을 나타냈고, -0.15 V의 환원전위에서 가장 안정되고 좋은 감응을 나타내었다. 최적 조건에서 분석 시료인 dopamine을 가했을 때 신호의 95%가 얻어질 때까지 걸린 시간, $t_{95\%}$ 는 11s였으며, dopamine의 검출한계는 2.7×10^{-6} M이었다. 또한 dopamine의 양이 증가함에 따라 전류도 비례하여 증가함을 알 수 있었고, 농도와 전류의 역수를 도시한 결과 좋은 직선성이 나타났다. 또한 5.0×10^{-2} M dopamine을 이용해 10 회 반복 측정한 결과, 전극은 좋은 정밀도(상대표준편차 1.3%)를 보여주었다. 담배 잎 추출물을 이용한 경우 전극의 우수한 안정성과 감도를 가지는 것으로 나타났다으며, 전극을 만들기 쉽고, 순수한 효소전극에 비해 매우 저렴한 가격으로 만들 수 있어 dopamine의 정량에 유용한 바이오센서임을 알았다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었기에 감사드립니다.

References

1. W. Birkmayer and P. Riederer, *Understanding the Neurotransmitters*, Springer, New York, 1-79 (1989).
2. G. Stenström, B. Sjögren and J. Waldenström, *Acta Med. Scand.*, **214**, 145-152 (1983).
3. J. R. Cooper, F. E. Bloom and R. H. Roth, *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, Oxford University Press, New York, pp. 259-311 (1986).
4. J. S. Sidwell and G. A. Rechnitz, *Biotechnol. Lett.*, **7**, 419-425 (1985).
5. M. P. Connor, J. Sanchez, J. Wang, M. R. Smyth and S. Mannino, *Analyst*, **114**, 1427-1429 (1989).
6. C. Petit, A. Gonzalez-Cortes and J. M. Kauffmann, *Talanta*, **42**, 1783-1789 (1995).
7. J. S. Sidwell and G. A. Rechnitz, *Biotechnol. Lett.*, **7**, 419-422 (1985).
8. M. P. Connor, J. Wang, W. Kubiak and M. R. Smyth, *Anal. Chim. Acta*, **229**, 139-143 (1990).
9. F. Mazzei, F. Botre, M. Lanzi, G. Lorenti and F. Porcelli, *Sens. Actuators B.*, **7**, 427-430 (1992).
10. T. C. Tan and Y. Chen, *Sens. Actuators B.*, **17**, 101-107 (1994).
11. Y. Chen and T. C. Tan, *Sens. Actuators B.*, **28**, 39-48 (1995).
12. N. H. Horowitz, M. Fling and G. Horn, *Methods in Enzymology*, Academic press, New York, Vol. XVIII, pp 615-620 (1970).
13. F. Ortega and E. Domnguez, *J. Biotechnol.*, **31**, 289-300 (1993).
14. Y. F. Tu, Z. Q. Fu and H. Y. Chen, *Sens. Actuators B.*, **80**, 101 (2001).
15. Y. U. Chen, T. C. Tan and T. C. *Chemical Engineering Science*, **7**, 1027 (1996).
16. C. S. Caruso, I. C. Vieira and O. Fatibello-Filho, *Anal. Lett.*, **32**, 39-43 (1999).
17. M. Pravda, C. Petit, Y. Michotte, J. M. Kauffmann and K. Vytras, *J. Chromatogr. A.*, **727**, 47-52 (1996).
18. K. O. Lupetti, L. A. Ramos, I. C. Vieira and O. F. Filho, *Il Farmaco*, **60**, 179-183 (2005).
19. Y. Zou, C. Xiang, S. Li-Xian and F. Xu, *Biosensors and Bioelectronics*, **23(7)**, 1010-1016 (2008).
20. S. Iijima, *Nature*, **354**, 56-58 (1991).
21. Z. Herrasti, F. Martnez and E. Baldrich, *Sens. Actuators B: Chemical*, **203**, 891-898 (2014).
22. P. Xiao, W. Wu, Y. Yu and F. Zhao, *International J. of Electrochem. Sci.*, **2**, 149-157 (2007).
23. H. Beitollahi, J. B. Raoof and R. Hosseinzadeh, *Electroanalysis*, **23**, 1934-1940 (2011).
24. X. Liu, Y. Peng, X. Qu, S. Ai, R. Han and X. Zhu, *J. of Electroanal. Chem.*, **654**, 72-78 (2011).
25. Q. Zhao, L. Guan, G. Zhennan and Z. Qiankun, *Electroanalysis*, **17**, 85-88 (2005).
26. K. Yamamoto, G. Shi, T. Zhou, F. Xu, J. Xu, T. Kato, J.-Y. Jin and L. Jin, *Analyst*, **128**, 249-254 (2003).
27. F. A. de Souza Ribeiro, C. R. T. Tarleyb, K. B. B. and A. C. Pereira, *Sens. Actuators B*, **185**, 743-754 (2013).
28. H. S. Han, H. K. Lee, J. M. You, H. Jeong and S. Jeon, *Sens. Actuators B*, **190**, 886-895 (2014).
29. R. A. Kamin and G. A. Wilson, *Anal. Chem.*, **52**, 1198 (1980).
30. C. S. Caruso, I. C. Vieira and O. F. Filho, *O. Anal. Lett.*, **32**, 39 (1999).
31. J. Wang and M. S. Lin, *Electroanalysis*, **1**, 43 (1989).
32. J. M. Frre and B. L. A. Renard, *J. of Theoretical Biology*, **101**, 387-400 (1983).

33. G. F. Fuhrmann and B. Vlker, *Biomembranes*, **1145**, 180-182 (1993).
34. M. D. P. T. Sotomayor, A. A. Tanaka and A. T. Kubota, *J. Electroanal. Chem.*, **536**, 71-81 (2002).
35. F. A. S. Ribeiroa, C. R. T. Tarleyb, K. B. Borgesa and A. C. Pereira, *Sensors and Actuators B*, **185**, 743-754 (2013).