

Microtiter Plate형 전이금속 Optode 개발 연구

임채윤 · 팽기정 · 김현숙* · 이인숙*,†

연세대학교 화학과, *서울여자대학교 화학과

Development of Microtiter Plate-format Optode for Transition Metals

Chae Yun Lim, Ki-Jung Paeng, Hyun Sook Kim*, and Insook Rhee Paeng*,†

Department of Chemistry, Yonsei University, Wonju 220-710

*Department of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul, 139-774

The microtiter plate-format optodes prepared by casting bulk-response membranes into the standard 96-well polystyrene-based plate. An optimized composition of optode membranes gave reproducible and sensitive absorbance changes in the varying concentration of iron and nickel, respectively; Poly(vinylchloride) (PVC) as matrix, Bis(2-ethylhexyl) adipate (DOA) as plasticizer, potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate (KTPClPB) as lipophilic additive and chromoionophores. Two chromoionophores of 1,10-phenanthroline (for Fe²⁺) and F430 model compound (for Ni²⁺) were employed. The practical utility of microtiter plate-format optodes was examined with lab-waste solution.

Key words: microtiter plate optode, chromoionophore, Fe, Ni. Selectivity.

1. 서 론

화학센서 분야는 여러 가지 분석 임무를 수행하는데 비교적 저렴한 대응방법으로서 많은 관심과 발전을 이루어 왔다. 특히 연속 측정, 흐름측정, 일회용 분석 장비, 기기의 control 등의 분야에서 그 중요성을 인정받고 있다. 잘 알려진 바와 같이 화학센서에 주로 응용되는 이온 선택성 전극¹⁾은 분석 이온의 활동도를 측정함으로써 분석 작업을 수행한다. 이 경우 이온 선택성 전극은 용액 내의 모든 이온의 활동도에 감응하므로 선택성에 문제가 제기 될 수 있다. 이런 이온 선택성 전극의 대안으로 이온-센싱 시스템에 기초한 액체 고분자막(solvent polymeric membrane) bulk-optode가 크게 관심의 대상이 되고 있다.²⁾ 이온-선택성 optodes에서 거대고리분자와 같은 이온 운반 분자의 사용으로부터 막의 흡광도나 형광을 측정함에 따라, 이온의 정량분석이 가능하다. 이온-선택성 optical sensors는 ion-pair extraction process에 기초한다. 특히 이 optode는 이온 선택성 전극에 비하여 선택성 이외에도 비교적 특

특하고 검출한계를 낮출 수 있는 장점이 있는 반면, bulk-optodes에 기초한 분석 시스템은 몇 가지 단점을 가지고 있다. 즉, 측정동간의 정확한 pH 조절이 이루어져야 하고, 시료의 색과 탁도가 문제가 되며, 마지막으로 흐르는 분석 시스템에서의 짧은 반감기 등이다.^{3,5)} 이러한 단점을 보완하기 위하여 light-emitting diodes 나 diode lasers 등의 작은 광원을 사용하기도 하였으나, 실용화 면에서나 분석 수행에 있어서 뚜렷한 장점을 제시하지 못하였다.⁶⁻⁸⁾

특히, 전이금속 이온의 분석에 있어서 그 중요성에 비하여 각 금속들에 대한 높은 선택성을 가지면서도 현장에서 손쉽게 screening할 수 있는 분석 방법이 개발되어 있지 않다. 이는 전이금속들을 잘 구별하는 담체가 개발되어 있지 않아 이온 선택성 전극 등에서는 개별 분석의 어려움이 있다. 또한 발색 시약은 여러 가지가 개발되어 있으나 대부분의 발색 시약이 수용성이어서 금속이온 분석용 optode 등에 응용하기 위해서는 발색시약이 막에서부터 용액으로 녹아나오는 문제가 해결 되어야만 한다. 또한 이온선택성 전극이나 일반

†To whom correspondence should be addressed.

optode system의 경우 한번에 한가지이온만 측정이 가능하게 되어 여러 금속 이온을 screening 해야 할 경우 시간이 많이 소요되며 선택성에도 많은 문제점이 있다. 따라서 다양한 원소들을 동시에 screening 할 수 있는 정형화된 분석 방법의 개발이 요구되고 있다. 특히, 산업폐수와 다양한 유출 수에 함유되어 있어 소량으로도 독성을 띄는 니켈⁹⁻¹¹과 같은 전이금속의 검출을 신속하고 정확하게 많은 시료를 대상으로 분석할 수 있는 분석 시스템의 개발은 매우 중요하다. 현재 이온선택성 전극을 이용한 몇몇 금속이온의 분석시스템은 개발되어 상품화되어 있지만, 상기의 단점을 해결할 수 있을 것으로 기대되는 microtiter plate-format optode^{12,13}를 사용하는 전이금속이온의 분석에 관한 연구는 거의 전무한 수준이다. 특히 microtiter plate-format optode의 경우 다원소 혹은 다량의 시료를 단 시간에 동시 측정을 가능하게 하고, 표준화 및 대량생산을 용이하게 하며,¹⁴ 다양한 chromoionophore(발색 담체)의 도입 가능성을 열어 줄 것으로 기대된다.¹⁵ 따라서, 96 well의 microtiter plate reader를 도입하는 것과 함께, 이에 응용 가능한 발색 담체를 찾아내는 일도 중요하다. 이는 전이금속 optode용 발색 담체로 개발되어 시판되는 물질들이 매우 적기 때문이다. 그 이유로는 본 논문에서 언급한 바와 같이 대부분의 발색 시약이 leaching되는 문제점으로 인하여 membrane optode의 발색 담체로는 적합하기 않기 때문이다. 그러나 이 문제는 microtiter plate well 을 이용함으로써 해결이 가능할 것으로 판단하여 일단 leaching이 심각하게 일어나는 1,10-phenanthroline¹⁶을 발색 담체로 응용하여 leaching되는 수용성 발색 시약들의 발색 담체로의 사용 가능성을 확인 하였다. 또한 니켈 이온의 경우 d^8 전자배치를 갖는 금속으로서 square planar amine complex를 쉽게 형성한다.^{17,18} 따라서 열역학적으로 안정한 다양한 ring size를 가지고 있는 N_4 -macrocyclic amine 화합물의 합성은 주목되는 과제 중의 하나이며, 이렇게 디자인되고 합성된 macrocyclic amine 화합물은 이 금속이온에 대한 potentiometric 센서의 개발에 사용되어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 Ni 이온과 결합하는 효소인 F430의 모델 화합물을 합성하여 발색 담체로서의 사용 가능성을 확인함과 동시에 Ni 이온의 optode로서 제작하고자 한다.

본 연구는 대표적인 두개의 발색 시약을 가소제와 지용성 첨가제 등과 혼합한 액성고분자막을 제조하고 이를 microtiter plate를 이용한 optode에 도입함으로써

이온선택성 전극이나 휴대용 optode의 단점을 보완하며 특히 leaching되는 담체에도 적용이 가능한지를 확인하였다.

2. 실험

2.1. 시 약

1,10-phenanthroline은 Sigma Chemical Co(Saint Louis, MO)에서 구입하였으며, F430의 모델 화합물은 합성하여 사용하였다.¹⁹ 본 실험에서 사용한 발색 담체의 구조는 Fig. 1에 정리하였다. Poly(vinylchloride)(PVC), Bis(2-ethylhexyl) adipate(DOA), Bis(2-ethylhexyl) sebacate(DOS), 2-nitrophenyl octyl ether(NPOE) 그리고 potassium tetrakis(4-chlorophenyl)borate(KTpCIPB) 및 사용된 모든 시약들은 분석용 특급시약을 구입하여 정제 없이 사용하였으며, 초순수를 사용하였다.

2.2. Microtiter plate-format optode의 제조

PVC(matrix), DOA(plasticizer), KTpCIPB(additive), 발색 담체(F430 모델 화합물 혹은 1,10-phenanthroline)를 준비한다. 만들고자 하는 성분비(wt %)에 따라서 시험관(10 mL)에 각각의 시료를 정확하게 측정하여 둔다. 만들고자 하는 plate의 membrane은 200 mg의 총 질량에 700 μ L의 THF를 solvent로 사용하였다. 이에, 일정 비율에 맞춰서 따로 녹인 각각의 시료를 PVC가 담겨있는 시험관에서 합쳐주는 방식으로 진행하였다. 대표적인 성분비는 다음 표에 정리하였다.

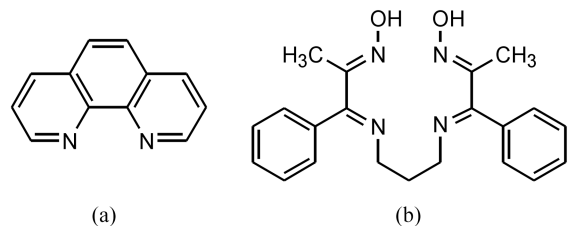


Fig. 1. Structure of chromoionophore. (a) 1,10-Phenanthroline, (b) F430 model compound.

Table 1. Membrane compositions for microtiter plate optodes

Plate #	chromoionophore	PVC	DOA	KTpCIPB
1 (for Fe ²⁺)	3.4%	13.7%	82.4%	0.5%
2 (for Ni ²⁺)	3.4%	13.4%	80.7%	2.5%

위의 표와 같은 plate 1의 조성을 갖는 막을 제조하고자 할 때, 200 mg scale에서는 PVC:27.4 mg, DOA:164.8 mg, KTpCIPB:1 mg 그리고 1,10-phenanthroline:6.8 mg을 취한다. 고려해야 할 점은 PVC를 녹일 때는 solvent의 양이 충분하지 않으면 시험관안에서 굳어, 녹이기 힘들어지게 되므로 가능한 PVC에 solvent가 많이 배분될 수 있도록 계산하는 것이 중요하다. additive(지용성 첨가제)와 발색 담체의 경우는 소량을 사용하기 때문에 무게 측정에 어려움이 있다. 따라서 시험관을 작은 vial(20 mL)에 넣고 저울에서 0점 조절을 한 다음 다시 그 시험관을 빼내어 필요한 양을 tube의 기벽에 묻지 않도록 조심스럽게 넣고, 다시 그 vial에 꽃아 무게를 측정하는 방법으로 진행하였다. 이때 필요량 이상으로 시료를 취하는 것이 좋다. PVC는 정확하게 질량 측정을 해야 하지만, 지용성 첨가제와 발색 담체의 질량을 정확히 측정하지 않아도 되는 이유는 각각 따로 녹인 후 PVC를 녹인 시험관안에서 합쳐줄 것이기 때문이다. Solvent의 배분은 취한 지용성 첨가제의 질량(mg)에 50을 곱한 값을 solvent의 부피(μL)로, 발색 담체는 그 질량(mg)에 10을 곱한 값을 solvent의 부피(μL)로 사용하였다. 여기서 주의해야 할 점은 solvent가 시료를 녹일 수 있는지, 배분된 solvent로 시료를 충분히 녹일 수 있는지 사전에 확인해야 한다. 지용성 첨가제와 발색 담체의 solvent 배분이 확정이 되면 남은 부피 [700 μL -(지용성 첨가제에 사용할 solvent부피 + 발색 담체에 사용할 solvent 부피)]를 PVC에 배분하면 된다. 발색 담체와 지용성 첨가제의 경우 필요량 이상으로 시료를 취했다면, 취한 시료의 질량에 각각 일정비의 수를 곱하여(지용성 첨가제의 경우 50배, 발색 담체의 경우 10배) 녹인 후 필요한 만큼만 취해서 쓰면 된다. Plasticizer(가소제)의 경우는 phase가 액체라는 점에 유의해야 한다. solvent를 700 μL 사용하는 것은 미리 정해 놓은 것이므로 이번 실험에 사용될 DOA에는 따로 solvent를 넣거나 시험관안에 미리 취하지 않고, PVC에 발색 담체와 지용성 첨가제를 넣어준 후에 최종적으로 필요한 질량에 상응하는 부피를 계산하여 넣어준다. 준비된 KTpCIPB, 1,10-phenanthroline는 THF에 잘 녹기 때문에 vortexing을 하지 않아도 되지만, PVC의 경우는 solvent를 넣어줌과 동시에 굳어버리지 않도록 vortexing을 하여야 한다. 또한, 다른 작업을 하는 동안에도 1500 rpm으로 계속 유지시켜주었다.

Microtiter plate를 준비하고, 위에서 제조한 mixture

를 5 μL 씩 각 well에 적가 한다. 이때 well의 한 가운데 5 μL 의 membrane이 위치하도록 하며, 모든 well에서 같은 모양의 membrane을 형성한다. 적가가 완료된 plate는 은박지로 덮고(공기순환이 되도록) 상온에서 약 12시간가량 방치 건조한다(solvent evaporation).

2.3. 흡광도의 측정

Fe 이온과 Ni 이온의 표준용액은 0.01 M의 sodium acetate(pH 5.00) buffer를 사용하여 제조하였다. Fe^{2+} 에 대한 표준용액으로는 ammonium iron(II) sulfate hexahydrate를 사용하였으며, Ni^{2+} 에 대한 표준용액으로는 Nickel(II) Chloride를 사용하였다. 측정은 $10^{-1} \sim 10^{-6}$ M의 영역에서 이루어졌다. 이때, 표준용액을 각 well에 100 μL 씩 적가한 후, Fe는 25분간 그리고 Ni는 60분간 shaking(150 rpm)한 후 흡광도를 측정한다. 흡광도 측정은 Molecular Device(Sunnyvale, CA)사의 Spectra MAX250, ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) reader기를 사용하여 이루어졌다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Fe^{2+} 이온에 대한 1,10-phenanthroline에 기초한 PVC 막 이온 선택성 bulk optode

3.1.1. 발색 담체로서의 1,10-phenanthroline

1,10-phenanthroline과 Fe^{2+} 이온 간의 complexation reactions에 대하여는 잘 알려져 있다. 흰색 결정분말인 1,10-phenanthroline은 수화물로 얻어진다. 이는 물에 잘 녹으며, 알코올에는 150배 가량 더 잘 녹는다. 물이나 알코올에 녹았을 때, 무색투명의 액체가 되며, 이에 Fe^{2+} 이온으로 작용하는 ammonium iron(II) sulfate hexahydrate를 첨가하였을 때, 강한 orange-red 색으로 506 nm에서 최대 흡수를 나타낸다. 1,10-phenanthroline은 bidentate ligand로서 배위수 6의 Fe^{2+} 이온과 complex를 형성한다. Fig. 2(a)는 1,10-phenanthroline과 그의 Fe^{2+} complex의 UV-Vis spectrum 이다.

3.1.2. Optode 막 제조의 최적화

주어진 발색 담체에 대하여 얻을 수 있는 감도와 선택성은 막의 조성, 용매의 특성 및 사용한 지용성 첨가제에 의하여 많은 영향을 받는다. 따라서 optical sensor로서의 response behavior와 leaching에 있어서 가소제의 종류 및 PVC와의 배율, 발색 담체의 양 및 지용성 첨가제의 양에 따른 영향이 조사되었다.

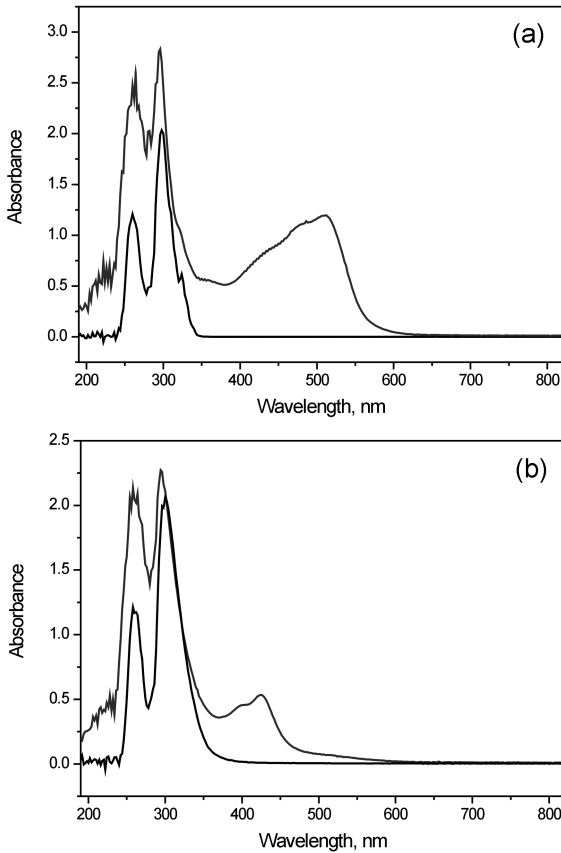


Fig. 2. Absorption spectra of (a) 1,10-Phenanthroline and its Fe^{2+} -complex; (b) F430 model compound and its Ni^{2+} -complex

Ion-sensors에 사용되는 liquid-membrane은 주로 33%의 PVC와 66%의 membrane solvent(가소제)로 구성되어 있다. 가소제는 polymer와 물리적으로 혼합하여도 화학반응을 일으키지 않는 것으로서 homogeneous organic phase를 가져야 한다. 본 실험에서는 DOA, DOS 그리고 NPOE를 가소제로 사용하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 NPOE는 측정된 100분에서도 계속 흡광도가 증가하는 것을 볼 수 있었다. 반면, DOS와 DOA는 20분까지 흡광도의 증가를 보이다가 그 후로는 평형에 도달함을 볼 수 있었다. 따라서 차후의 실험에서는 DOA를 가소제로 그리고 25분의 response time으로 실험하였다.

앞서 설명한 바와 같이 ion-sensors에서 사용되는 고분자 막은 PVC와 가소제 간의 wt%가 1:2인 것이 일반적이다. 본 실험에서의 막은 polystyrene 재질로 되어 있는 microtiter plate에 성형할 것이다. 또한, 본 bulk optical sensors의 제작에 있어서는 흡광도를 측정

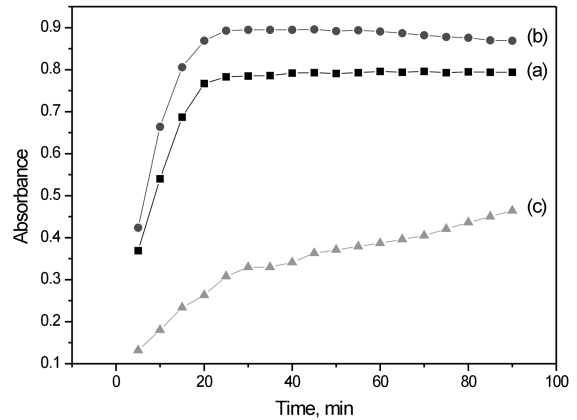


Fig. 3. Time-dependent absorbance changes by plasticizers for $2.0 \times 10^{-4} \text{ M Fe}^{2+}$; (a) DOA, (b) DOS, (c) NPOE.

하는 것이므로 막에 대한 투과성은 중요한 관건이다. 즉, 막의 두께를 낮추고 response time을 줄이는 동시에 빛의 투과에 대한 효율성을 높이기 위하여 최소한의 polymer를 사용한 막을 제작하고자 한다. 따라서 PVC(matric)와 DOA(가소제)의 ratio를 변화시켜 가면서 Fe^{2+} 이온에 대한 흡광도를 조사하였다. 각각 PVC와 DOA의 wt%의 비율 1:2, 1:4 그리고 1:6으로 실험한 결과들 사이에 큰 차이를 보이지는 않았으나 1:6 보다 더 비율의, 즉, 더 많은 함양의 가소제를 사용하였을 때에는 막의 성형에 문제가 있으므로 테스트에서 제외되었다. 따라서 PVC와 DOA 조성에 대한 본 실험을 통하여 PVC:DOA가 1:6이 되도록 하였다.

다음으로는 발색 담체의 성분비에 따른 흡광도의 영향을 조사하였다. 이 때, 발색 담체의 양은 전체 막 조성의 1.7 wt%를 X1로 하여 각각 X2(3.4%), X4(6.8%), X6(10.2%) 그리고 X8(13.6%)로 제작하여 사용하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이, 발색 담체의 양이 증가함에 따라, 같은 Fe^{2+} 이온농도에 대하여 506 nm에서의 흡광도가 점점 증가하는 것을 볼 수 있었다. X6 과 X8에서 흡광도 값이 비슷한 것으로 보아 X6까지 넣은 것이 현재 제조한 막에서 그리고 실험조건에서 최대 흡광도를 가질 수 있는 것으로 예상된다.

Fig. 5는 지용성 첨가제에 관한 실험으로서 0%, 0.5% 그리고 1.0%로 제작한 막으로부터 얻은 실험 결과이다. 이 때, 0.5%의 지용성 첨가제를 사용하였을 때 비교적 안정하고 높은 흡광도의 변화를 볼 수 있었다. 지용성 첨가제는 막 내부에 음이온 site를 형성하여 이

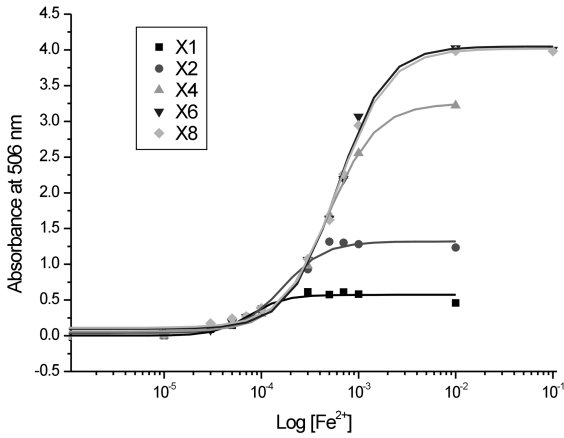


Fig. 4. Effect of the contents of chromoionophore (1,10-phenanthroline, wt%)

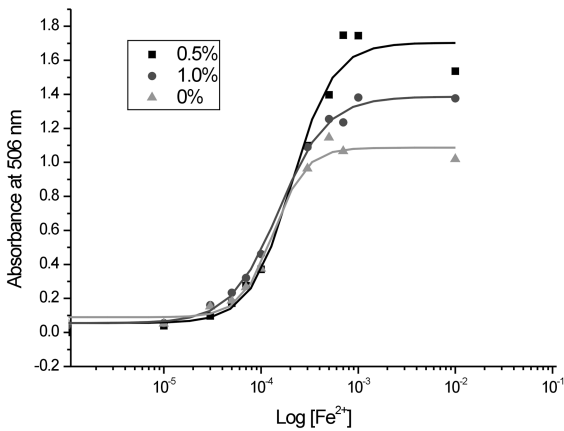


Fig. 5. Effect of the contents of additive (KTPcIPB, wt%)

온을 내부로 이동시켜 고 농도의 분석 시료의 경우 막 표면에 지나친 양이온의 농축에 의하여 정전기적 인력에 의한 분석 방해 효과를 최소화하는 역할을 수행한다. 이 결과로 보아 어느 정도까지는 지용성 첨가제가 역할을 수행하는 것으로 보이나 이 분석기전 중에 빠져 나온 이온 운반물질과 철의 complex의 흡광도도 분석에 기여하는 것으로 볼 때, 지용성 첨가제가 미치는 영향이 크지 않다고 생각된다. 그 이유는 상당수의 발색 담체가 용액 중으로 빠져나오는 leaching 현상으로 인하여 막 중의 이온의 이동도가 분석의 결과에 큰 영향을 미치지 않는데 기인한다고 생각된다. 이는 첨가제의 양이 흡광도가 최대가 되는 시간에 미치는 영향이 전혀 없는 결과와도 일치한다. 그러나 1×10⁻³ M의 농도에서 흡광정도가 가장 크게 나타난 0.5%를 본 실험에서 적용하여 실험을 진행하였다.

3.1.3. 검량선의 작성 및 선택성 조사:

막의 조성(matrix, 가소제, 발색 담체 및 지용성 첨가제)을 최적화 한 조건에서 Fe²⁺ 이온에 대한 검정곡선(Fig. 6)을 작성하였다. 검정곡선은 506 nm에서 Fe²⁺ 이온에 대하여 측정되었으며, Fe²⁺ 이온에 대한 optical membrane sensor의 검출 직선영역은 1×10⁻⁵ M에서 1×10⁻³ M 이다. 이 구간에서 R² 값은 0.992로 매우 양호한 값을 보였다. 바탕 값에 대한 3배의 표준편차에 의한 검출한계는 2.25×10⁻⁵ M 이다.

본 연구에서 제안된 방법에 대하여 다른 금속이온에 대한 선택성을 확인 하였다. 철이온이 5×10⁻⁴ M인 상태에서 1,10-phenanthroline 과 다른 금속 양이온들의 농도는 1×10⁻³ M로 만들었으며, 1,10-phenanthroline 은 methanol에 그리고 금속 양이온들은 buffer (0.01 M sodium acetate -pH 5.0)를 solvent로 사용하였다. 대부분의 알칼리 금속이나 알칼리 토금속의 경우 흡광도의 변화 10% 내외로 측정에 거의 영향을 미치지 않았다. 다만 선택한 금속 이온, Mn²⁺과 Co²⁺만이 20% 정도의 흡광 감소 현상을 보였다. 이 경우 pH의 변화나 이 금속의 사전 제거를 통하여 실험을 진행해야 할 것으로 생각된다.

3.2. Ni²⁺ 이온에 대한 F430 모형화합물에 기초한 PVC 막 이온 선택성 bulk optode

3.2.1. 막 제조의 최적화

앞선 1,10-phenanthroline을 이용한 ion-selective bulk optode의 예비 실험을 통하여 착물 형성을 통한 ion sensing system에 대하여 조사되었다. 이에 Ni²⁺

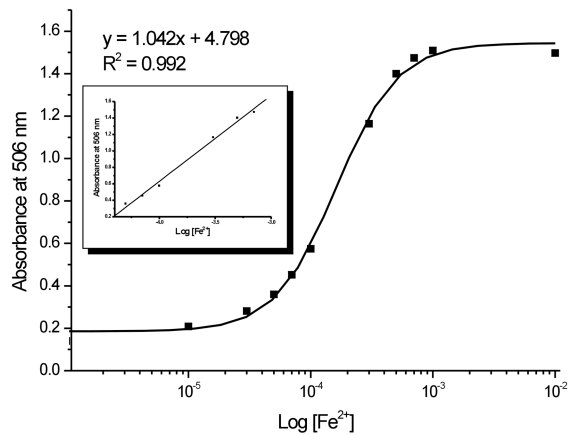


Fig. 6. Calibration Plot of iron-selective membranes cast in polystyrene-based microtiter plate.

이온에 선택성을 가지는 것으로 조사된 세로이 합성된 F430 모델 화합물을 발색 담체 로 사용한 연구를 시도 하였다. Fig. 2(b)는 F430 모델화합물과 그의 Ni^{2+} complex의 UV-Vis spectrum 이다. 이 모델화합물은 THF에 잘 녹으며 Ni과 착 화합물을 형성하여 노란색 용액이 된다. 또한, 425 nm에서 최대 흡광을 나타내므로, 본 연구에서는 이를 이용하여 실험을 진행하였다.

제조하려는 막의 조성을 최적화하기 위하여 철의 경우와 같은 일련의 실험을 시행하였다. 앞선 실험에서의 기본 조성인 PVC와 DOA는 1:6으로 그리고 발색 담체는 X2의 값으로 그리고 지용성 첨가제는 0.5%를 사용하는 막을 제조하여 예비실험을 하였다. 그 결과 response time 90분이 되어도 평형에 도달되지 않았고 흡광도는 계속 증가하는 것을 볼 수 있었다. 또한 발색 담체의 양을 X2, X4, 그리고 X6으로 하였을 때에도 흡광도 값의 큰 차이를 볼 수 없었으며, 1,10-phenanthroline에서 볼 수 있었던 leaching test를 하여 본 결과 leaching이 거의 일어나지 않았다. 이에 F430 모델 화합물은 1,10-phenanthroline 과는 다른 메커니즘으로 진행되는 것을 알게 되었다. 즉, 이는 막 내에서 일어나는 착물의 형성에 의한 흡광도를 나타낸다. 즉, 지용성 첨가제의 양을 늘리면 지용성 첨가제의 anionic site 때문에 정전기적 인력의 증가로 인하여 평형에 도달되는 시간을 줄일 수 있으리라고 생각하고 지용성 첨가제의 변화량에 의한 흡광도 값의 측정을 시도하였다. Fig. 7은 지용성 첨가제의 조성을 0, 0.5, 1.0 그리고 2.5%의 조성으로 제조한 membrane에 1.0×10^{-3} M Ni^{2+} 용액을 가한 후 시간에 따른 흡광도

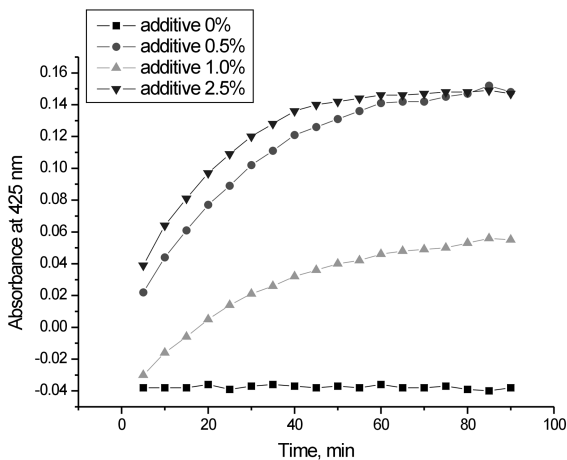


Fig. 7. Response time study by the contents of additive (KTpCIPB) for 1.0×10^{-3} M Ni^{2+} .

값을 측정 한 결과이다. 그림에서 보듯이 지용성 첨가제를 전혀 넣지 않았을 경우에는 감응이 전혀 없는 것을 볼 수 있었다. 그리고 지용성 첨가제를 0.5% 그리고 1.0%로 조성된 막은 측정 시간 90분에서도 흡광도 값이 계속 증가함을 볼 수 있는 반면, 2.5%의 지용성 첨가제로 조성된 막은 반응 후 40분에서 saturation 되어 평형에 도달함을 나타내주고 있다. 즉 1,10-phenanthroline과는 달리 모든 반응이 막 내에서만 진행되고 있다는 사실을 확인하였다. 따라서 첨가제가 분석에 미치는 효과가 매우 큰 것으로 나타났다. 그러나 2.5% 이상의 첨가제를 넣을 경우 막의 물리적 성질이 나빠져 성형에 어려움이 있어 표준 성형 조건은 2.5%의 첨가제를 넣는 것으로 결정하였다. 그 외 실험 조건은 철의 경우와 동일하였다.

3.2.2. 검량선의 작성

막의 조성 -matrix, 가소제, 발색 담체 및 지용성 첨가제-을 최적화 한 조건에서 Ni^{2+} 이온에 대한 검정곡선(Fig. 8)을 작성하였다. 검정곡선은 425 nm에서 Ni^{2+} 이온에 대하여 시료 주입 후 60분 후에 측정되었으며, Ni^{2+} 이온에 대한 optical membrane sensor의 검출 직선영역은 1×10^{-4} M에서 1×10^{-1} M 이다. 이 구간에서 R^2 값은 0.991으로 매우 양호한 값을 보였다. 바탕 값에 대한 3배의 표준편차에 의한 검출한계는 7.8×10^{-5} M 이다.

3.3. 실제 시료에의 적용

본 연구에서 개발한 microtiter plate optode의 실제 시료에 대한 사용 가능성을 확인하기 위해서 실험실

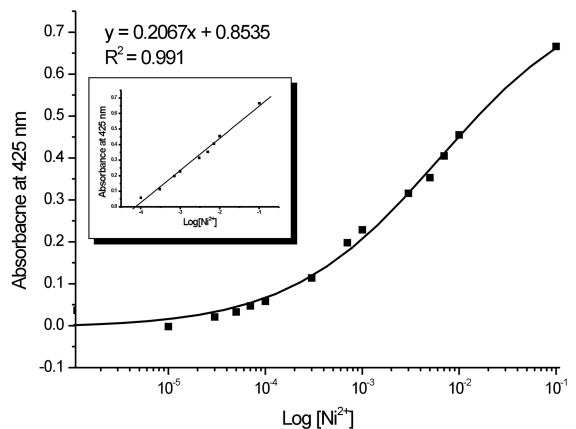


Fig. 8. Calibration Plot of nickel-selective membranes cast in polystyrene-based microtiter plate..

Table 2. The analytical data for lab-waste solutions

	Spiked concentration	Estimated concentration by this method	RSD (%)	AA data
Na ⁺ rich waste solution	5×10 ⁻⁴ M	4.5×10 ⁻⁴ M	4.690	5.3×10 ⁻⁴ M
K ⁺ rich waste solution	5×10 ⁻⁴ M	5.2×10 ⁻⁴ M	3.730	5.3×10 ⁻⁴ M

폐수에 대하여 적용하여 보았다. 대부분이 Na⁺인 폐수와 K⁺인 두가지 종류의 실험실 폐수를 선택하였으며, 두가지의 폐수 모두 색깔과 부유물이 없으며, Fe²⁺가 전혀 포함되지 않은 것을 선택하였다. 철은 5×10⁻⁴ M의 농도로 첨가 되었다. 비교 방법으로는 원자흡광분석법을 이용하였다. 실험결과를 Table 2에 정리하였다.

결과에서 보는바와 같이 Na⁺가 주로 함유된 폐수에서는 10% 정도 감소된 값을, K⁺가 주로 함유된 폐수에서는 3%정도 증가된 값을 보였으며, AA 결과와 비교한 결과 매우 잘 일치되는 결과로 판단되었다. 또한 서로 다른 optode에서 얻은 결과로부터도 상대표준편차 5% 이내의 좋은 재현성을 나타내었다.

철 분석용 optode의 경우 leaching의 문제로 재사용이 어려웠으나 제작 후 3개월까지는 사용에 문제가 없었다. 니켈 분석용 optode는 leaching의 문제가 나타나지 않아 EDTA처리 후 3회까지 사용에 전혀 문제가 없었으며, 보관성도 우수한 것으로 실험결과 나타났다.

4. 결 론

1,10-phenanthroline을 발색 담체로 사용한 microtiter plate-format optode의 membrane 조성은 PVC : DOA : 발색 담체(1,10-phenanthroline) : 지용성 첨가제(KTpCIPB) = 13.7 : 82.4 : 0.5 : 3.4 wt%로 최적화되었으며, 이때의 Fe²⁺ 이온의 검출영역은 1.0×10⁻⁵ M~1.0×10⁻³ M이었고, 상대표준편차는 5.0% 이내로서 우수한 재현성을 나타내었다. 알칼리 금속 및 알칼리 토 금속 등에 대하여 선택성이 우수하였다. Leaching 되는 상태에서 오히려 높은 감도를 나타내었으며 그동안 leaching의 문제로 이온 선택성 전극이나 bulk-optode에 사용이 어려웠던 이온 담체의 사용 가능성을 제시하였다.

세로이 합성된 F430 모델 화합물을 Ni²⁺ 이온에 대한 발색 담체로 사용한 microtiter plate bulk optode는 Ni²⁺ 이온에 대하여 선택성과 반응감응이 우수하였다. Ni²⁺ 이온의 검출영역은 1.0×10⁻⁴ M~1.0×10⁻¹ M이었고, 상대표준편차는 5.0% 이내로서 우수한 재현

성을 나타내었다. 본 발색 담체로 제작된 membrane의 경우는 지용성 첨가제의 양에 response time이 영향을 받았다. 2.5 wt%의 지용성 첨가제를 사용하였을 때, 40분에서 평형에 도달 하였다. 또한 이 membrane은 buffer 중에서 leaching이 일어나지 않으므로 EDTA로 처리 후 재사용이 가능하였다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R04-2001-000-00245-0) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. J. Janata, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 921A.
2. H. M. Widmer, *Anal. Methods Instrum.*, **1993**, 1, 60.
3. U. E. Spichiger, D. Freiner, E. Bakker, T. Rosatzin and W. Simon, *Sens Actuators, B*, **1993**, 11, 263.
4. R. Wild, D. Citterio, J. Spichiger and U. E. Spichiger, *J. Biotechnol.*, **1996**, 50, 37.
5. Y. K. Hong, G. S. Cha, D. S. Shin and H. Nam, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **1994**, 15, 836.
6. P. C. Hauser and J. C. Litten, *Anal. Chim. Acta.*, **1994**, 294, 49.
7. D. Freiner, R. E. Kunz, D. Citterio, U. E. Spichiger and M. T. Gale, *Sens Actuators, B*, **1995**, 29, 277.
8. A. E. Bruno, S. Barnard, M. Rouilly, A. Waldner, J. Berger and M. Ehrat, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 507.
9. A. K. Jain, V. K. Gupta, R. D. Singh, U. Khurana and L. P. Singh, *Sens. Actuators, B* **1997**, 40, 15.
10. M. F. Mousavi, N. Alizadeh, M. Shamsipur and N. Zohari, *Sens. Actuators, B* **2000**, 66, 98.
11. V. K. Gupta, R. Prasad, P. Kumar and R. Mangla, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 420, 19.
12. S. B. Kim, H. C. Cho, G. S. Cha and H. Nam, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 4860.
13. S. B. Kim, T. Y. Kang, H. C. Cho, M. H. Choi, G. S. Cha and H. Nam, *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 439, 47.
14. F. G. Sanchez, A. N. Diaz and J. Lovillo, *Anal. Biochem.*, **1996**, 239, 2.
15. N. Alizadeh, A. Moemeni and M. Shamsipur, *Anal.*

- Chim. Acta.*, **2002**, 464, 187.
16. H. Sugihara, K. Hiratani, *Coord. Chem. Rev.*, **1996**, 148, 285
17. B. Dietrich, P. Viout and J. M. Lehn, *Macrocyclic Chemistry*, VCH, Weinheim, **1993**.
18. E. Kimura, *Pure Appl. Chem.*, **1989**, 61, 823.
19. S. M. Lim, H. J. Jung, H. Won, N. Myung and K.-J. Paeng, *Anal. Sciences*, **2001**, 17, i1701.