

## 음료수, 맥주 및 의약품 중에서의 구연산 이온 정량을 위한 이온 선택성 고체 접촉 전극

한원식 · 홍경희\* · 홍태기†

한서대학교 화학과, \*삼육보건대학 피부미용학과

## Ion Selective Solid Contact Electrodes for Citrate Ion Determination in Soft Drink, Beer and Pharmaceutical Products

Won-Sik Han, Kyung-Hee Hong\*, and Tae-Kee Hong†

Department of Chemistry, Haseo University, Seosan, Chung-Nam, Korea

\*Department of cosmetology & beauty, Sahmyook Health College, Seoul, Korea

The construction and performance characteristics of ion selective membrane electrodes for analysis of citrate ion (CIT) are described. The proposed sensors are based on the formation of the complex ion associated with bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium chloride and trisodium citrate dihydrates as an ionophores on poly vinyl chloride membrane (PVC). Several selective membranes were prepared with distinct mediator solvents (with quite different polarities) and, in some cases, p-tert-octylphenol (TOP) as an additive. The latter was used for selectivity increase. The analysis system using the electrode showed a linear and stable potential response with the near-Nernstian slope of 51.0 mV per decade over a wide range of concentration to  $10^{-5.07}$  M citrate with good reproducibility. The electrodes showed a fast response time of < 60 sec. and were used over a wide range of pH 3~7. The same membranes conducted as well to the best selectivity characteristics, assessed by the separated solutions method and for several chemical species, such as chloride, nitrate, ascorbate, glucose, fructose and sucrose. The selectivity coefficients indicated good selectivity for CIT over organic compounds and chloride ion. The proposed sensors are tested for the analysis of artificial blood serum, beer and soft drinks and the attained similar results with citrate in pure form. Standard deviation of these electrodes were  $\pm 0.8$  mV  $\sim \pm 4.4$  mV and correlation to the existing methods of 0.9998 were achieved.

**Key words:** citrate ion, pharmaceutical, soft drink, electrode

### 1. 서 론

구연산은 항균 작용과 pH 조절 기능이 있어 식품 산업에서 광범위하게 이용되고 있는 물질이다.<sup>1)</sup> 또한 의학적으로 신장 결석 방지, 제산성, 항 응혈성 등의 의학적인 기능 때문에 제약 분야에서 꾸준히 사용되어지고 있는 물질 중의 하나이다.<sup>2)</sup> 음료나 약품에 포함된 구연산은 금속염과 착물 형성 반응을 이용하여 정량적으로 분석하였다.

특히, Cu (II) 이온과의 착물 형성을 이용한 구연산의 정량방법은 꾸준히 이용되어져 왔는데, 일정량의 구연

산과 반응하고 남은 과량의 Cu (II) 이온을 분석함으로써 구연산의 농도를 결정한다. 이와 함께 490 nm에서 나타나는 Fe (III) 이온의 흡수 피크를 이용한 분석법과,<sup>3-5)</sup> 460 nm에서 최대 피크를 나타내는  $[\text{Fe}(\text{SCN})_2]^+$  분석법 역시도 일반적인 방법으로 알려져 있다.<sup>6)</sup> 이외에도 구연산과 Pb ion, Cs ion과의 착물 반응을 이용한 다양한 분석 방법들이 보고된 바,<sup>7-8)</sup> 다양한 종류의 산의 간섭 작용으로 인하여 오차가 발생할 수 있기 때문에, 그 방법의 복잡성에 비해 실효성이 낮다.<sup>9-12)</sup> 이와 같이 분석결과의 오차를 최소화 할 수 있는 방법이 적용되어도 독성화합물, 간섭물질 등에 의한 random 오차

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: wondo@unitel.co.kr

를 극복하는 것이 어렵다는 견해가 있다. 더욱이, 일반 시판 음료나 약품들에는 고유의 색이 있거나 부유되어 있는 입자들에 의해서 탁도가 높은 경우가 대부분이어서 광학적인 분석법으로는 오차가 동반되는 것이 일반적인 견해이며 더욱이 ascorbic acid와 같이 음료 내에 존재할 수 있는 물질들은 방해 요소로 작용하여 오차를 발생시킬 수 있는 원인이 된다. 이러한 이유로 오차를 최소화하기 위하여 효소를 이용한 방법들을 적용하였고 구연산을 pyruvic acid로 산화할 때 나타나는 polarography 펄스를 이용하는 분석 방법 등이 연구되었지만, 시간과 비용이 산업 현장에 적용하기에는 적합하지 않은 것으로 알려지고 있다.<sup>13-18)</sup> 이외의 구연산 농도 결정 방법들의 공통점은 전처리가 필요하다는 것이다.<sup>19-24)</sup> 이로 인해 분석과정이 복잡해 오차의 발생 가능성이 증가하고 분석 비용 또한 산업 현장에 적용하는데 부담요인이 될 수 있다. 따라서 polymeric membrane을 이용한 이온의 정성 및 정량 방법은 분석의 정확성, 정밀성, 속도, 측정 비용, 재현성 및 결과의 안정성 등에서 볼 때 매우 우수한 방법으로 사료된다. Solid Contact 형태(SCEs)를 이용한 전극은 표준 전위의 안정성, 감응도 등에서 우수한 것으로 보고된 바 있어 이를 선택하였으며, 내부 이온-전자 전도 층은 poly(aniline) 도전성 polymer를 이용하였고 외부의 감응체로는 bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium chloride와 trisodium citrate dihydrate가 이온 결합 쌍을 이룬 ionophore를 이용하였다. 이와 같은 전극의 형태는 다른 기기들을 이용한 분석법에 비하여 지속적이고 소량의 샘플로도 분석이 가능하며, 전극과 측정 장치의 크기가 작고 측정이 간단, 간편하여 이를 실험실뿐만이 아니라 이동하여 측정이 가능한 장점 또한 가지고 있다.

본 연구는 PVC 막 내의 다양한 Plasticizer의 조성을 변화함으로써 구연산의 농도에 따른 감응 최저 농도 범위, 감응 시간, 안정화 시간, 정확도, 방해 이온 작용, pH 안정성, 인공 혈청 내에서의 감응 특성 등을 최적화하기 위한 연구를 수행하였으며 구연산을 간편하고 정밀, 정확하게 측정하기 위하여 측정 가능한 검출 한계와 감응기울기와 전극이 나타내는 재현성들을 나타내고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 Ionophore의 합성

Aniline, 2-nitrophenyloctylether(2-NPOE), tetra-

hydrofuran(THF), bis(triphenylphosphoranylidene) ammonium chloride(BTPPIA-Cl), 4-(tert octyl phenol)(TOP)는 Aldrich사의 시약을 사용하였으며 polyvinylchloride(PVC, n=1,100)는 Junsei사의 시약을 사용하였다. Trisodium Citrate는 samchun 화학의 시약을 사용하였으며 이외에 실험에 사용된 시약들은 모두 분석급의 시약을 사용하였고 전 실험을 통하여 탈 이온수를 사용하여 실험하였다. Ionophore는 100 mL의  $1 \times 10^{-2}$  mol/L  $\text{Na}_3\text{CIT}$  용액과 100 mL의  $1 \times 10^{-2}$  mol/L BTPPIA chloride용액을 혼합한 후, BTPPIA-CIT를 침전시켰으며 이를 세척한 후, 냉암소에서 건조하여 이용하였다.

### 2.2. 전극의 제조

지름 1 mm, 길이 50 mm의 Pt wire를 작업 전극과 보조 전극으로 이용하였다. 기준 전극으로는 포화 칼로멜 전극을 사용하였으며 poly(aniline)의 전기화학적 합성에 사용된 용액은 아닐린 0.03 M에 대하여 염산을 0.06 M을 이용하였고 이 용액 내에서 백금 표면에 poly(aniline)층을 형성시키는 동안에는 산화 방지를 위하여 질소 가스를 계속 주입하면서 실험하였다. 이때 사용된 전위는 기준 전극에 대하여 0.0 V에서 1.0 V까지의 범위와 100 mV/s의 scan rate를 이용하였다. 이 scan 과정을 통하여 초기에는 poly(aniline)이 탈부착을 계속하다가 20회 scan 이후에는 poly(aniline) 층이 지속적으로 증대되었으며, 50회 cyclic 후에 1.0 V에서 scan을 멈추어 Pt-poly(aniline) 중간층을 제조하였다. 제조된 작업 전극은 탈염수 속에서 5시간 동안 담궈 놓았으며 60°C에서 10시간 건조시키다가 105°C까지 온도를 올려 1시간 건조시켰다. 혼합 용액은 Ionophore로 1.3~3.9 wt%의 BTPPIA-CIT를, 가소제로 66.0~70.0 wt%의 DOA, DBP, DOP, TEHP, DOS, NPOE를, 지지체로 30.0~3.30 wt%의 PVC를 섞어서 제조하였으며 보조 가소제로는 TOP를 6.0~7.9%까지 첨가하여 제조하였다. 이 네 가지 성분의 혼합 총량은 0.3 g이었으며 이것을 THF 5 mL에 용해시킨 후 THF가 자연 휘발되어 3 mL가 될 때까지 자석 젓개로 저어가며 제조하였다. 막이 형성된 전극은  $50 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 오븐에서 24시간 건조시킨 후, 완전 건조가 이루어지면 감응부 3 mm를 제외한 나머지 부분을 열 수축 튜브를 이용하여 110°C에서 1분간 수축시켜서 제조하였다.

### 2.3. 표준 용액의 제조와 감응 전위의 측정

CIT 표준 용액은  $3.3 \times 10^{-3}$  M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 를 ion strength adjustor로 사용하여  $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$  buffer 용액을 pH 3.2로 조정 한 후 이 용액을 이용하여 CIT용액을  $10^{-1}$  M에서  $10^{-6}$  M까지 제조하였다. 전극이 pH 시료 용액 내에서 나타내는 전위 값은  $20 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 에서 Ion analyzer와 EDS 시스템을 이용하여 측정하였다. 시료 용액에 있어서의 pH 측정은 Mettler-Toledo Inrab412 유리 전극을 이용하여 측정하였으며 외부 기준 전극으로는 double-junction 칼로멜 전극 Orion 90-20-00을 이용하였다. 전위의 측정은 전극의 안정화 이후에 변화되는 전위가 0.1 mV 이하가 1분 이상 지속되어지면 해당 pH에서의 상용 전위로 간주하였다.

### 3. 결과 및 고찰

Chloride ion이 도핑된 Poly(aniline)을 도전성 완충 층으로 하고, 여기에 다양한 구성비로 이루어진 혼합 용액(cocktail solution)을 최종 층으로 하여 Citrate ion selective SCEs를 제조하였다. Ionophore는 BTPPIA-CIT를 합성하여 이용하였으며 이 ionophore를 이용하여  $10^{-1}$  M에서부터  $10^{-7}$  M까지의 CIT 농도에 대한 감응성 특성을 측정하였다. DOA, DBP, DOP, TEHP, DOS, NPOE의 5가지 가소제를 이용하여 혼합 용액에 포함된 물질들의 비율을 변화시켰으며 감응 기울기와 감응 범위를 변화하며 구성비를 최적화하였다. 혼합 용액의 혼합 비율이 CIT 이온교환체 0.0130 g과 가소제 61.0 g, PVC 31.1 g, TOP 6.60 g을 첨가하였을 때 가장 우수한 결과를 나타내었다. Fig. 1에 나타낸 것처럼, 이 전극의 감응 기울기는 NPOE 가소제를 사용한 전극에서 51 mV를 나타내었으며  $\sim 10^{-5.07}$  M의 최저 감응 범위를 나타내고 있다. 여타의 이온 감응 특성과의 차이점은 이 전극의 경우, TOP와 보조 가소제가 사용된 것으로 TOP가 없는 전극의 경우 같은 가소제를 사용하고 같은 비율의 cocktail solution을 이용한 경우에도 34 mV의 감응 기울기를 나타내고 최저 감응 범위도  $10^{-4.08}$  M로 줄어드는 것을 알 수 있었다. TOP는 전극 내에서 감응 특성을 증진시키는 것으로 보이며 TOP 자체의 낮은 극성으로 유전상수 값이 큰 NPOE의 감응 특성을 증진시키는 역할을 하는 것으로 보인다. 이외에 낮은 유전상수를 갖고 있는 DOS(4.6), DOP(5.1), DBP(6.4), DOA(about 4.0), TEHP(about 4.0)는 낮은 감응 기울기를 나타내거나 최저 감응 농도 범위가 작아

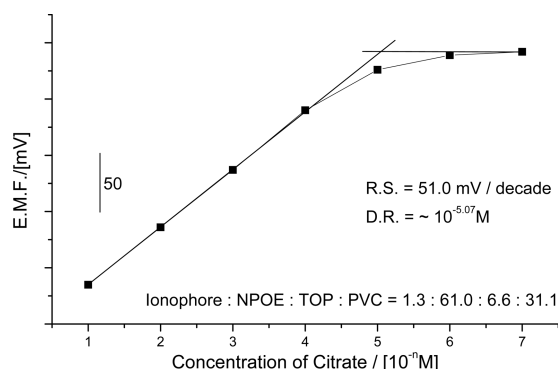


Fig. 1. The response characteristics of solid contact electrode containing BTPPIA-CIT ionophore in citrate ion sample solution.

지는 결과들을 나타내고 있다. 이는 기존의 논문에서 발표된 barrel type의 전극과 반대의 결과를 나타내어 높은 유전상수를 갖는 NPOE(23.6)만이 우수한 감응 특성을 나타내고 있는데, 이는 이온과 전자 전도가 함께 일어나고 있는 도전성 polymer층의 이온/전자 전도 현상과 기존의 barrel type의 형태에서의 차이와 이온쌍을 이룬 ionophore 해리도의 차이로 보인다. 즉, 이온쌍에서의 CIT의 해리 관계보다는 SCE에서는 Doping된 음이온의 이동과 CIT의 전극 표면에서의 탈 부착 현상의 차이인 감응 시스템의 차이와 함께 NPOE 가소제의 특성 그리고 TOP의 역할성의 결과로 보인다.

이 전극들이 나타내는 방해 이온의 영향성은 SSM (Separation Solution Method)을 이용하여 측정하였으며, 이에 대한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 이 전극들은 일반적으로 CIT 이온이 접할 수 있는 성분들에서 매우 약한 방해들만을 받고 있어서 별다른 지장없이 사용이 가능할 것으로 보이나,  $\text{NO}_3^-$  이온의 경우, CIT와 같은 정도의 방해를 나타내고 있어 이 이온의 존재 하에서 용액 내의 CIT이온의 농도를 측정하고자 할 때는 이를 Masking하거나 이 이온이 없는 상태에서 측정을 하여야 할 것으로 보인다. 하지만 나머지의 경우에는 10,000배~1,000,000배의 타 이온 존재 하에서 측정하여도 같은 정도의 감응을 보여서 사용에 큰 문제가 없을 것으로 보인다.

전극의 감응 속도는 전극이  $10^{-3}$  M CIT 용액과  $10^{-2}$  M CIT 용액을 번갈아 가며 전위를 측정 한 후 이 전극의 전위의 변화가 분당 0.1 mV 이하로 안정될 때를 이용하여 구하였다. 그 결과는  $10^{-2}$  M 용액에서 60 sec.,  $10^{-3}$  M 용액에서 47 sec를 나타내며 각기  $\pm 4$  sec와  $\pm 3$  sec의 오차 범위를 보이고 있다. 이는 이온

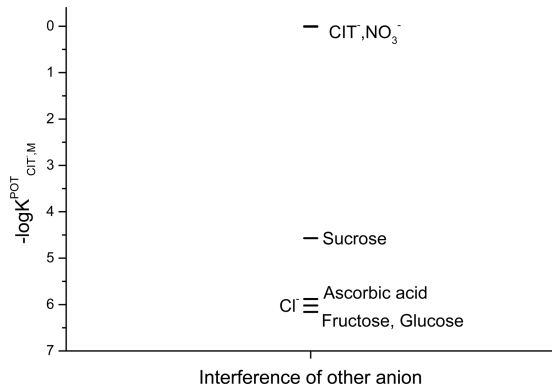


Fig. 2. Detection limit of citrate ion selective solid contact electrode containing BTPPIA-CIT ionophore for different interference cation

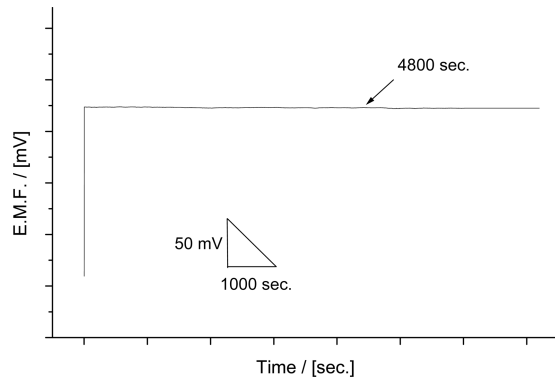


Fig. 3. The potential drift of solid contact electrode containing BTPPIA-CIT ionophore in citrate ion sample solution.

쌍 ionophore에서는 평균 이하의 감응 속도로서 비교적 빠른 시간에 감응 전위가 안정됨을 알 수 있었다. 이 전극의 전위 안정에 대한 재현성은 각 50번 이상 측정된 감응 시간의 감응 stop 전위들의 평균과 표준 편차를 이용하여 측정하였으며 이 결과는  $10^{-2}$  M 용액에서  $\pm 4.4$  mV,  $10^{-3}$  M 용액에서  $\pm 4.1$  mV의 차이를 나타내고 있어 비교적 적은 전극 전위의 변화를 보이며 이는 50회로 접근 할수록  $\pm 1.2$  mV와  $\pm 0.8$  mV로 오차가 줄어들음도 알 수 있었고 안정화시간이 길어짐에 따라서 표준 편차가 줄어들음도 확인할 수 있었다. 모든 실험 전에 본 전극의 안정화 시간은 약 6000 sec. 이상으로 조정하였으며 이는 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 48시간 이상  $60^{\circ}\text{C}$  오븐에서 완전 건조된 전극을 용액에 침지한 후, 4800 sec. 이내에서 전위가 안정화 되는 결과로 예상하여 행한 결과였으며, 전 실험을 통하여 실험 전에 일괄적으로 6000 sec. 이상을  $10^{-6}$  M CIT용액에서 안정화한 후 모든 실험을 실행하였다. 본 실험의 경우, 전극 침지 후 10 sec. 내에서는 매우 큰 전극의 전위 값이 변하는 것을 볼 수 있었지만, 60 sec. 지나게 되면 이 전극의 전위는 매우 변화가 미세하여 4800 sec.까지 진행되는 것을 알 수 있었으며 60 sec에서 4800 sec까지의 전위 변화는 전체적으로 1.1 mV 이하여서 거의 변화 없는 결과 치를 나타내는 것으로 보인다.

이 CIT는 pH 3.2, 4.6, 6.4에서  $pK_a$ 값을 나타내며 감응 전위 측정 시, pH의 변화에 따라 CIT 농도에 무관하게 감응 전위가 변화할 수 있어 pH 용액에서의 안정성을 측정하였다. 이 전극의 경우 Fig. 4에 나타낸 것처럼, 인산 완충 용액과 Tris 완충 용액 모두에서

pH 3에서 pH 7까지의 범위에서 pH에 무관한 값을 나타내고 있어 이 범위에서 CIT 이온 농도를 측정 시, pH가 변화여도 감응 농도의 전위에는 문제가 없을 것으로 보인다.

Fig. 5에 CIT용액의 존재 하에서 기존 시판 음료와 맥주, 인공 혈청 내에서의 감응성을 나타내었다. 이 감응성들을 보면 기존 CIT 용액 내에서의 감응 특성보다 감응 기울기나 감응 범위의 면에서 다소 떨어지는 것들을 알 수 있었다. 이는 일반적으로 시판 음료 내에서 CIT가 이미 존재하고 있는 경우가 대부분이지만 용액 내에  $\text{CO}_2$ 가 존재하거나 많은 방해 인자가 있는 경우가 대부분이어서 감응 특성의 결과가 낮게 나타나고 있는 것으로 보이며 이들 용액 내에서도 %로 환산하여 보면 일반적으로 0.0294%까지 측정이 가능한 것으로, 일반 시판 용액 내에서의 측정이 충분히 가능한 것으로 사료된다.

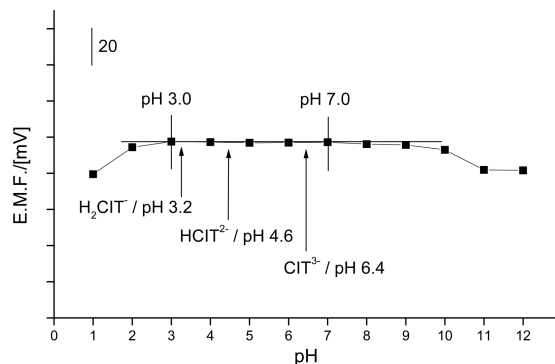


Fig. 4. The response characteristics of poly(aniline) solid contact electrode containing BTPPIA-CIT ionophore in Tris buffered pH sample solution.

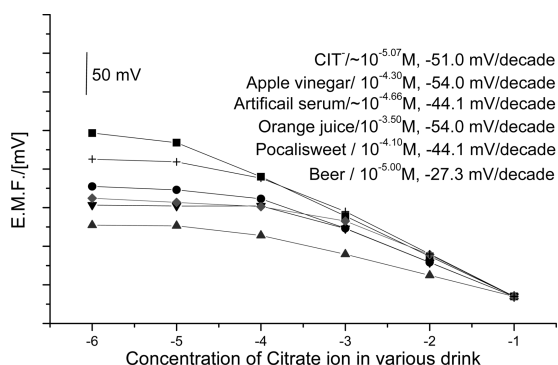


Fig. 5. The response characteristics of the solid contact electrode containing BTPPIA-CIT ionophore in artificial blood serum, beer, soft drinks and citrate in pure form.

#### 4. 결 론

Chloride ion이 도핑된 Poly(aniline)을 도전성 완충 층으로 하고, Ionophore로는 BTPPIA-CIT 음이온 교환체를 이용한 SCE를 제조하였다. 최종층인 PVC막에는 DOA, DBP, DOP, TEHP, DOS, NPOE의 5가지 가소제를 이용하여 혼합 용액에 포함된 물질들의 비율을 변화시킨바, CIT 이온교환체 0.0130 g과 NPOE 61.0 g, PVC 31.1 g, TOP 6.60 g을 첨가하였을 때 가장 우수한 결과를 나타내어 51 mV의 감응기울기와  $\sim 10^{-5.07}$  M의 최저 감응 범위를 나타내었다. 방해이온의 경우,  $\text{NO}_3^-$  이온을 제외한, 다른 이온들에서 거의 방해가 보이고 있지 않아서, 10,000배  $\sim$  1,000,000배의 타 이온 존재 하에서 측정하여야 같은 정도의 감응을 보이고 있다. 감응 속도는  $10^{-2}$  M 용액에서 60 sec.,  $10^{-3}$  M 용액에서 47 sec를 나타내며 이 농도에서의 표준 편차는 시간이 지남에 따라 각각  $\pm 1.2$  mV와  $\pm 0.8$  mV를 나타내었다. 안정화 시간은 약 4800 sec.이었으며 pH에 무관한 감응 범위는 pH 3에서 pH 7까지의 범위였다. CIT용액의 존재 하에서 기존 시판 음료와 맥주, 인공 혈청 내에서의 감응성은 감응 기울기나 감응 범위의 면에서 다소 떨어지는 것들을 알 수 있었지만 이들 용액 내에서도 0.0294%까지 측정이 가능한 것으로, 일반 시판 용액 내에서의 측정이 충분히 가능한 것으로 사료되어 구연산을 간편하고 정확하게 낮은 농도까지 측정할 수 있었다.

#### 참고문헌

1. R.J. Lewis, Food Additive Handbook, Van Nostrand Reinhold, New York, 1989.
2. E.L. Pres, A. Rios, N. Valcarcel, Anal. Chim. Acta 366 (1998) 231.
3. A. Olin, B. Wallen, Anal. Chim. Acta 151 (1983) 65.
4. J.L.F.C. Lima, C.D. Matos, M.C.V.F. Vaz, J. Silva, Fresenius' J. Anal. Chem. 364 (1999) 266.
5. X.R. Wang, Fenxi-Huaxue 25 (1997) 165.
6. A. Krug, R. Kellner, Mikrochim. Acta 113 (1994) 203.
7. D.G. Themelis, P.D. Tzanavaras, Anal. Chim. Acta 428 (2001) 23.
8. Y. Fujita, I. Mori, K. Fujita, T. Tanaka, Eisei Kagaku 33 (1987) 56.
9. F. Grases, A.C. Bauza, J.G. March, Analyst 116 (1991) 59.
10. F. Grases, C. Genestar, Talanta 38 (1991) 1353.
11. M.C. Yebra, R.M. Cespon, Fresenius' J. Anal. Chem. 365 (1999) 370.
12. Z.K. He, H. Gao, L.J. Yuan, S.F. Lu, H. Meng, X.Y. Li, Y. Zeng, Talanta 47 (1998) 301.
13. Z.L. Wang, L.F. Wang, Y.L. Liu, J.Z. Li, Fenxi-Huaxue 24 (1996) 1331.
14. E.L. Perez, A. Rios, M. Valcarcel, Anal. Chim. Acta 366 (1998) 231.
15. T.P. Ruiz, C.M. Lozano, V. Tomas, O. Val, Analyst 120 (1995) 471.
16. A.S. Perez, J.H. Mendez, J.A.G. Barez, Food Chem. 32 (1989) 69.
17. A.S. Perez, J.H. Mendez, J.A.G. Barez, Stud. Chem. Univ. Salamanca 9 (1984) 269.
18. K. Hasebe, S. Hikima, T. Kakizaki, H. Yoshida, Fresenius' J. Anal. Chem. 333 (1989) 19.
19. M.I. Prodomidis, S.M.T. Karayannis, M.I. Karayannis, P.M. Vадgama, Analyst 122 (1997) 1101.
20. K. Matsumoto, T. Tsukatani, Anal. Chim Acta 321 (1996) 157.
21. K. Matsumoto, T. Tsukatani, Y. Okajima, Electroanalysis 7 (1995) 527.
22. British Standards Institution, British Standard EN, vol. 1137, 1995, p. 12.
23. M. Planta, F. Lazaro, R. Puchades, A. Maquieira, Analyst 118 (1993) 1193. M.F. Ribeiro et al. / Analytica Chimica Acta 471 (2002) 41-49 49
24. A. Chalgeri, H.S.I. Tan, J. Pharm. Biomed. Anal. 14 (1996) 835.