

바이오 센서(μ FIAS)를 이용한 Glucose 농도 측정

Measurement of Glucose Concentration Using a Bio-Sensor(μ FIAS)

송 대 빈* Joseph Irudayaraj**

정회원

D. B. Song

1. 서론

바이오 센서는 생물학적 인식 반응(Biological recognition reaction)이나 생물 촉매 공정(Bio-catalytic process)을 측정 가능한 전기적 신호로 변환시켜주는 적절한 변환기(Transducer)와 같은 생물학적 인식 요소로 이루어진 감지 장치를 의미한다. 1962년 효소를 이용한 Glucose 전극봉의 개발이후 이 분야에 대한 수많은 연구와 기기의 개발이 진행되어왔다. 분석도구로서 바이오 센서는 효소, 항체, 수용체, 세포, 조직 등과 같은 생물학적 인식 요소들에 광범위하게 적용 가능하다는 장점이 있는 반면, 위에 열거한 생물학적 인식 요소들의 불안정성으로 인해 신뢰성이 유지되지 못하는 단점을 동시에 지니고 있다. 이러한 이유로 임상, 생물반응공정, 식품, 환경감시, 농업 분야에 적용되는 많은 바이오 센서들이 개발되었으나, 센서 성능 안정화와 관련된 제조 기술상의 문제 때문에 상업적으로 적용된 예는 거의 없는 실정이다. 현재 SIRE(Sensors with injectable recognition elements), MEMS(Microelectromechanical system), μ TAS(Micro total analysis system) 등과 같은 센서 성능 향상을 위한 많은 연구들이 진행되고 있다.

이 연구는 자동 샘플링 기구(Microdialysis probe)를 사용하여 반응 공정 중 특정 물질의 농도를 실시간으로 측정할 수 있도록 고안된 μ FIAS(Microdialysis coupled flow injection amperometric sensor)의 성능을 검증하고자 수행되었다.

2. 재료 및 방법

가. 실험 재료

1) 실험 장치

실험에 사용된 μ FIAS는 그림 1과 같이 구성되었다. 펌프에 의해 토출된 운반 용액은 인젝션 밸브와 전극봉 사이를 통과하여 배출된다. 인젝션 밸브의 유로 선택에 따라 샘플 용액과 효소가 차례로 투입되고 흐름 관로 내에서 혼합되면서 전극봉 사이를 통과하여 배출된다. 상세한 구성 기기의 규격은 표 1과 같다.

* 경상대학교 농과대학 농업시스템공학부 생물산업기계전공

** Department of Agricultural & Biological Engineering, The Penn State University

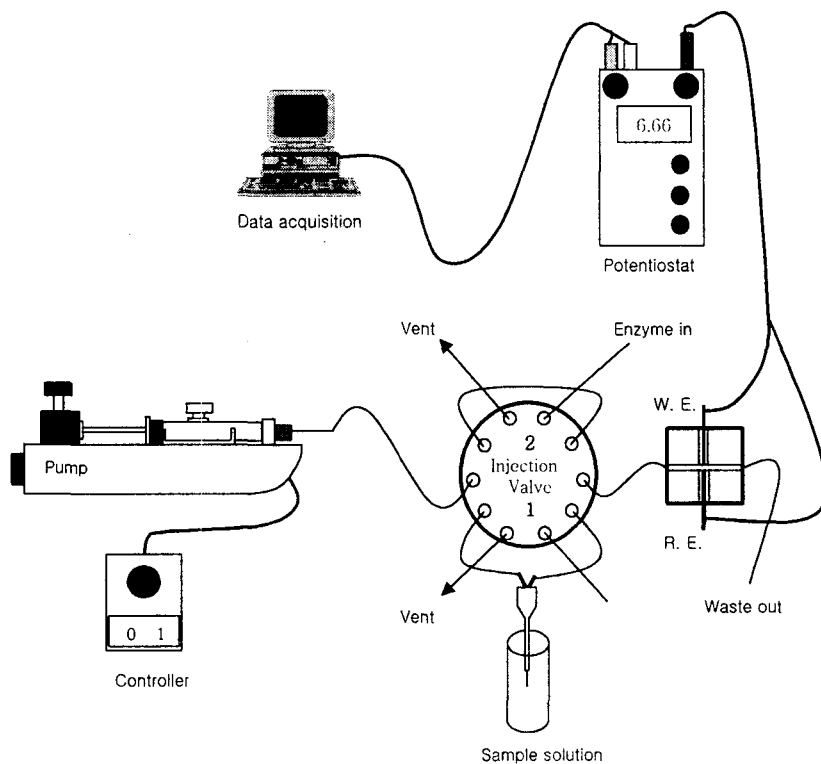


Fig. 1 Schematic representation of the μ FIAS.

Table 1 Specification of μ FIAS

Descriptions	Specifications	Remarks
Pump	2.5 l , 25 μ l/min. Baby bee syringe	BioAnalytical Systems, Inc.,
Injection valve	10port, C22Z-3180E	Valco Instrument Co. Ins.,
Sampling system	2.5 μ l, CMA/12	CMA/Microdialysis,
Electrochemical cell	5 μ l	W. E.(platinum. \varnothing 1mm) R. E.(silver coated with AgCl. \varnothing 2mm)
Potentiostat	200nA, +500mV(Ag/AgCl). LC-3D	BioAnalytical Systems, Inc.,
Data acquisition	Lab VIEW	National Instruments.

2) 실험 재료

실험에 사용된 재료의 종류 및 상세한 규격은 표 2와 같다. 모든 용액은 증류수를 사용하여 제조하였다.

Table 2 Specification of the experimental materials

Descriptions	Specifications	Remarks
Glucose oxidase	EC 1.1.3.4, X-S, 245.9U/mg	Sigma Chemical Co.
D-Glucose		Mallinckrodt Baker, Inc.,
Sodium Phosphate	Monobasic	EM Industries, Inc.,
Sodium Phosphate	Dibasic	EM Industries, Inc.,
Sodium Chloride		EM Industries, Inc.,

나. 실험 방법

1) 센서 작동

고안된 센서는 샘플링, 효소 용액 투입, 전류값 측정의 3개 사이클로 구성되어있다. 샘플링 사이클은 인젝션 밸브의 유로가 1의 위치로 펌프에서 토출된 운반 용액이 Microdialysis probe를 통과하면서 삼투 작용으로 probe내에 흡입된 샘플 용액을 인젝션 밸브 밖으로 이송하는 사이클이다. 효소 용액 투입 사이클은 인젝션 밸브 위치를 2의 위치로 샘플링 사이클 도중 외부에서 투입된 관로내 효소를 인젝션 밸브 밖으로 이송시키는 사이클이다. 전류값 측정 사이클은 인젝션 밸브를 통과한 샘플 용액과 효소 용액이 혼합·반응하여 생성된 과산화수소수가 전극봉 사이에서 분해되어 발생하는 전류값을 측정하는 사이클이다. 샘플링과 효소 용액 투입 사이클은 동시에 이루어지며 나머지는 전류값 측정 사이클로 이루어진다. 실험에서 샘플링과 효소 용액 투입은 8초, 전류값 측정은 292초로 1 사이클은 300초로 하였다

2) 농도 측정 및 성능 검증

샘플 용액 농도를 전류값으로 환산하기 위해 7 수준(10, 20 30, 40, 50, 60, 70mM)의 glucose 용액을 사용하여 각 샘플 농도에서 전류값을 측정하였다. 각 농도에서 5회 측정하여 평균값을 사용하였다. 센서의 성능을 검증하기 위해 시판되는 2종류 제품(Orange juice, Pineapple juice)의 glucose 농도를 측정하고 이를 HPLC의 측정값과 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 농도 측정

각 glucose 농도에서 측정된 전류값의 평균치, 표준 편차는 표 3과 같다. 반복간의 표준편차는 센서의 성능을 나타내는 중요한 인자로 1이하를 유지하는 것이 바람직하다. 이 실험에서는 10mM을 제외하

고는 모두 1 이상의 편차를 나타냈다. 특히 60mM에서는 4.8의 높은 편차를 보였다. 실험에서 편차가 높게 나타난 이유는 샘플링 시간의 변동에 따른 것으로 향후 시스템의 자동화를 통해 개선이 가능할 것으로 판단된다. 그림 2는 10mM에서 센서의 반복 작동 상태를 나타내는 것으로 비교적 안정적인 성능을 나타내는 것을 알 수 있다. 그림 3은 glucose 농도와 전류값의 상관관계를 나타낸 것으로 R^2 0.99로 매우 높은 상관 관계를 보였다.

Table 3 Peak current as the glucose concentration(nA)

Repetition	10mM	20mM	30mM	40mM	50mM	60mM	70mM
1	30.26	39.79	63.16	77.05	92.04	97.38	118.64
2	30.80	39.38	62.02	77.58	89.32	100.11	114.72
3	30.30	42.43	63.65	80.58	92.77	109.62	118.90
4	29.50	45.31	66.51	81.30	93.37	104.74	111.87
5	30.14	42.97	62.59	78.43	89.44	105.79	111.08
Mean	30.20	41.98	63.59	78.99	91.39	103.53	115.04
S. D.	0.46	2.44	1.74	1.87	1.89	4.83	3.66

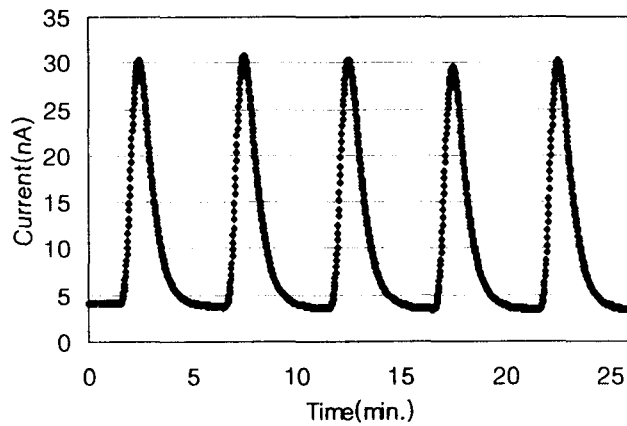


Fig. 2 Measured current of glucose solution(10mM)

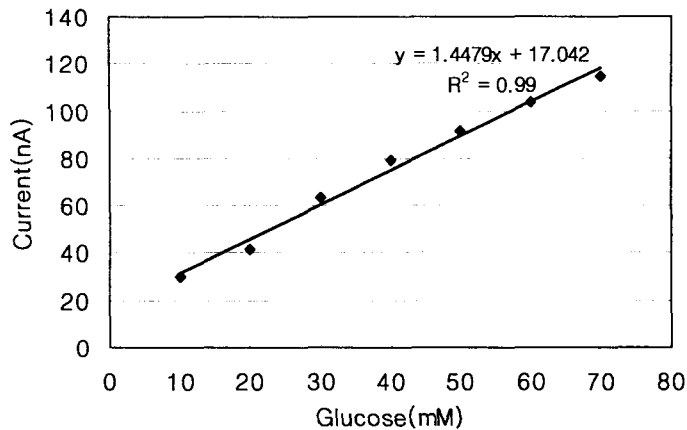


Fig. 3 Calibration of the sensor.

나. 성능 검증

센서의 성능 검증을 위해 시판되는 오렌지, 파인애플 주스의 glucose 농도를 비교한 결과는 표 4와 같다. 실험 결과 HPLC의 측정값을 기준으로 두 제품 모두 약 12%의 오차율을 나타냈다. 이처럼 비교적 큰 오차율을 나타낸 이유는 제품에 포함된 고형분에 의한 샘플링 문제, HPLC 작동상의 문제 등으로 판단되며, 향후 이러한 문제들을 보완한다면 오차율을 크게 낮출 수 있을 것으로 생각된다.

Table 4 Current comparison between the sensor and HPLC

Product	Sensor					HPLC	Error
	Measured (nA)	Ratio of dilution	Corrected (nA)	Calibrated (mM)	Concentration (% , g/100ml)	Concentration (% , g/100ml)	%
Orange juice	30.22	20	604.40	405.66	7.31	6.48	12.87
Pineapple juice	39.15	20	783.00	529.01	9.53	8.44	12.89

4. 요약 및 결론

반응 공정 중 특정 물질의 농도를 실시간으로 측정할 수 있도록 자동 샘플링 기구(Microdialysis probe)를 사용한 μ FIAS(Microdialysis coupled flow injection amperometric sensor)의 성능 검증을 위한 실험을 수행하였다. 7개 샘플의 glucose 농도를 측정된 결과 반복간 표준오차는 1 이상으로 비교적 높게 나타났으며, 농도와 전류값은 R^2 0.99로 매우 높은 상관관계를 보였다. 오렌지, 파인애플 주스를 사용한 검증 실험결과 HPLC와의 오차율은 약 12%로 역시 높게 나타났다. 이러한 반복간 표준편차 및 HPLC와의 오차율은 실험 장치의 개선, 실험 방법의 표준화 등으로 낮출 수 있을 것으로 판단되었다.

5. 참고문헌

1. Habermüller. K, Mosbach. M and W. Schuhmann. 2000. Electron-transfer mechanism in amperometric biosensors. *Fresenius J. Anal. Chem.* 366:560-568
2. J. Wang, 2001. Glucose biosensors:40 years of advances and challenges. *Electroanalysis.* 13:983-988
3. A. E. G. Cass. 1990. *Biosensors-A Practical Approach.* Oxford University Press, New York
4. Rui. C. S, Sonomoto. K, and Y. Kato, 1992. Amperometric flow-injection biosensoer system for the simultaneous determination of urea and creatinine. *Anal. Sci.*, 8:845-850
5. Obrenovitch. T. P, and E. Zilkha, 2001. Microdialysis coupled to online enzymatic assays. *Methods*, 23:63-71
6. T. D. Gibson, 1999. Biosensors-The stability problem. *Analysis.* 27:630-638