

효소·기질 및 전극봉 요인에 따른 흐름주입식 바이오센서의 반응특성

Response Characteristics of Flow Injection Type Biosensor as Enzyme-Substrates and Electrode Variables

송대빈*
정회원

정효석*
학생회원

김성태*
정회원

D. B. Song

H. S. Jung

S. T. Kim

1. 서론

흐름주입식 바이오센서에서 기질 농도는 효소·기질 반응 후 발생하는 과산화수소수의 양을 측정하여 나타낸다. 따라서 효소·기질 반응에 관여하는 반응시간, 효소와 기질의 반응체적 비에 따라 반응생성물인 과산화수소수의 양이 달라진다. 효소와 기질은 인젝션 밸브와 같은 샘플링 기구에 의해 장치 내로 투입되며, 투입된 효소와 기질은 완충용액에 의해 이송되면서 확산 등의 요인에 의해 혼합되어 효소·기질 반응이 일어난다. 이때 반응 생성물인 과산화수소수 양은 반응 시간에 따라 달라지며, 이는 동일 농도의 기질에 대해 반응 시간에 따라 측정 전류값이 다르게 나타나는 것을 의미한다. 따라서 효소·기질의 반응 시간과 반응 체적 비에 대한 전류값 특성을 파악할 필요가 있다. 은과 백금전극봉으로 구성되는 전류 측정 장치의 전극봉 사이를 흐르는 과산화수소수는 백금전극봉의 촉매작용으로 이온화되고 이때 방출되는 전자의 이동으로 과산화수소수 양이 전류값으로 표시된다. 효소·기질반응의 경우와 같이 동일 농도의 기질에 대해 전극봉의 노출면적, 거리 등의 요인에 따라 전자 이동이 달라질 것으로 예상된다.

따라서 이 연구에서는 센서성능에 직접적인 영향을 미치는 효소·기질반응과 전극봉 요인에 따른 반응특성을 파악하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 실험 재료

1) 실험 장치

실험에 사용된 장치는 그림 1과 같은 주사기 펌프를 사용한 배치식으로 구성되었다. 1번의 주사기 펌프에 의해 토출된 이송완충용액은 2번 인젝션 밸브, 튜브 및 3번 전류 측정 장치를 순차적으로 통과한다. 인젝션 밸브는 유로 선택에 따라 기질과 효소가 차례로 투입된다. 인젝션 밸브를 통과한 기질과 효소는 인젝션 밸브와 전류 측정 장치 사이의 튜브 관로 내에서 혼합과 반응이 이루어지며 전류 측정 장치의 전극봉 사이를 통과하여 배출된다. 전류 측정 장치는 은과 백금으로 제작된 원형 전극봉과 전류계로 구성되었으며 측정된 전류값은 자료수집 장치(Lab VIEW)를 이용하여 컴퓨터로 저장하였다.

* 경상대학교 농업생명과학대학 농업시스템공학부 생물산업기계공학전공

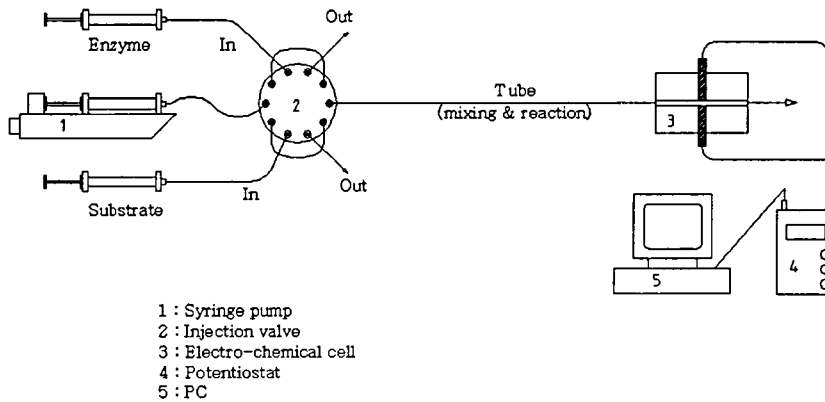


Fig. 1. Schematic diagram of a sensor.

2) 실험 재료

실험에 사용된 재료의 종류 및 상세한 규격은 표 1과 같다. 모든 용액은 증류수를 사용하여 제조하였다. Sodium phosphate(mono/dibasic), sodium chloride, 증류수를 사용하여 0.5M의 Sodium phosphate 완충용액(pH6.86, 10mM NaCl)을 제조하였다.

Table 1 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		Sigma Chemical Co.
Sodium Phosphate	Monobasic	Sigma Chemical Co.
Sodium Phosphate	Dibasic	Sigma Chemical Co.
Sodium Chloride		Sigma Chemical Co.

나. 실험 방법

1) 효소·기질 반응 시간에 따른 특성 파악

○ 인젝션 밸브와 전류 측정용 셀 사이의 유로 길이를 조절하여 기질과 효소의 반응 시간에 따른 특성을 파악하였다.

2) 반응 체적 비에 따른 특성 파악

○ 인젝션 밸브로 투입되는 효소와 기질의 투입량을 다르게 하여 반응 체적 비에 따른 특성을 파악하였다.

3) 전극 단면적(노출면적)에 따른 특성 파악

○ 전류값 측정용 전극봉 크기를 달리하여(Ø1.0, Ø1.4, Ø2.4, Ø3.4 mm) 단면적(노출면적)에 따른 특성을 파악하였다.

4) 전극 설치 형상과 거리에 따른 특성 파악

○ 전류값 측정용 전극봉 배치 형상(직교, 평행)과 전극봉 거리를 달리하여 전극 설치

형상과 거리에 따른 특성을 파악하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 효소·기질 반응 시간에 따른 특성 파악

그림 2는 전극봉 지름 1.4 mm, 유속 0.1179cm/s에서 인젝션 밸브와 전류 측정용 셀 사이의 유로 길이를 기준(1X), 2배(2X), 3배(3X), 4배(4X)로 달리하여 측정한 전류값의 특성을 나타낸 것이다. 효소(Glucose oxidase)와 기질(glucose)은 인젝션 밸브에서 혼합된 후 유로를 통과하면서 반응이 일어나게 된다. 따라서 유로의 길이를 길게하면 반응시간이 길어져서 전류값이 높게 나타날 것으로 예상된다. 그러나 그림 2에서 알 수 있듯이 유로 길이가 길어짐에 따라 전류값이 감소하는 것으로 나타났다. 이는 그림 3의 결과로 설명되어 질 수 있다. 그림 3은 각 유로길이에서 전류값의 변화를 나타내 주는 것으로 유로길이가 길어짐에 따라 최대 전류값까지 상승되는데 걸리는 시간이 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 유로 내에서 혼합된 효소와 기질 용액이 완충용액에 확산되지 않고 전극봉 사이를 통과 할 때 최대 전류값을 나타내지만, 시간이 너무 지연되면 유로 내에서 완충용액에 확산에 의해 희석되어져서 전류값 측정은 길게 일어나지만 최대 전류값은 낮게 나타나는 것으로 판단된다. 따라서 효소와 기질이 유로에서 혼합된 후 완충용액과의 혼합에 의한 희석이 일어나지 않는 적절한 유로길이를 선정할 필요가 있을 것으로 생각된다.

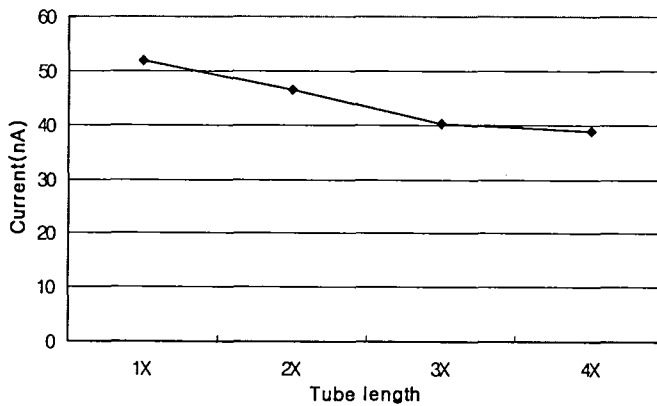


Fig. 3. Current of a sensor as tube length.

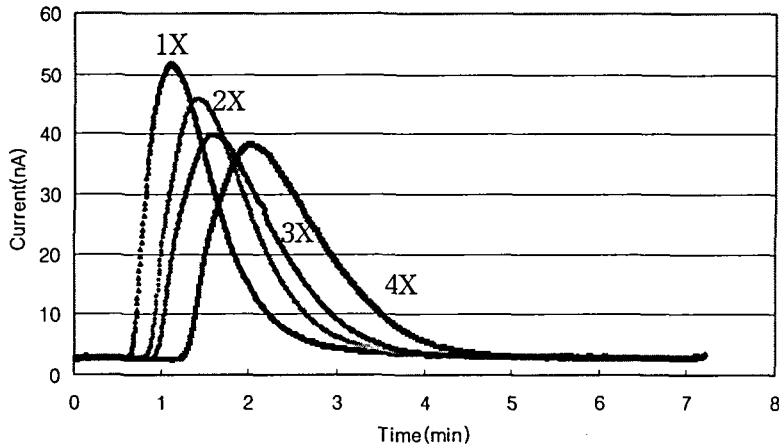


Fig. 4. Peak time of sensor as tube length.

나. 반응 체적 비에 따른 특성 파악

그림 4는 전극봉 직경 1.4 mm, 유속 0.0471 cm/s에서 효소(Glucose oxidase)와 기질(Glucose)의 혼합 비를 0.5, 1.0, 2.0으로 달리 하였을 때 측정된 전류값이다. 그림에서 혼합 체적비를 1.0으로 하였을 때에 비해 전류값이 적게 나타나는 것을 알 수 있다. 따라서 흐름 주입식 센서장치에서 효소 용액과 기질 용액의 혼합 시 서로 같은 체적으로 혼합해야 할 것으로 판단된다.

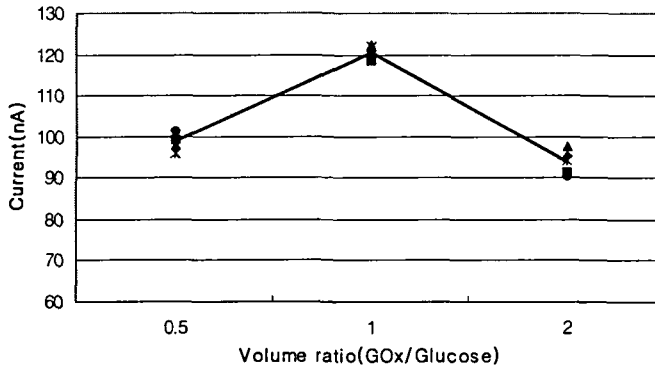


Fig. 5. Current of a sensor as volume ratio(Gox/Glucose).c

다. 전극 단면적(노출면적)에 따른 특성 파악

그림 5는 기질(Glucose) 용액 10 mM을 사용했을 때 전극봉 지름 1.0, 1.4 mm의 전류값을 나타낸 것이다. 그림에서 완충 용액 유속 0.1 cm/s 이하에서는 전극봉 지름이 큰 경우 전류값도 크게 나타났으나, 그 이상의 유속에서는 전극봉 지름에 관계없이 비슷하게 나타났다.

그림 6은 기질(Glucose) 용액 3 mM을 사용했을 때 전극봉 지름 2.4, 3.4 mm의 전류값을 나타낸 것이다. 그림 5와 같이 완충 용액 유속 0.1 cm/s 이하에서는 전극봉 지름이 큰 경우 전류값도 크게 나타났으나, 그 이상의 유속에서는 전극봉 지름에 관계없이 비슷하게 나타났다

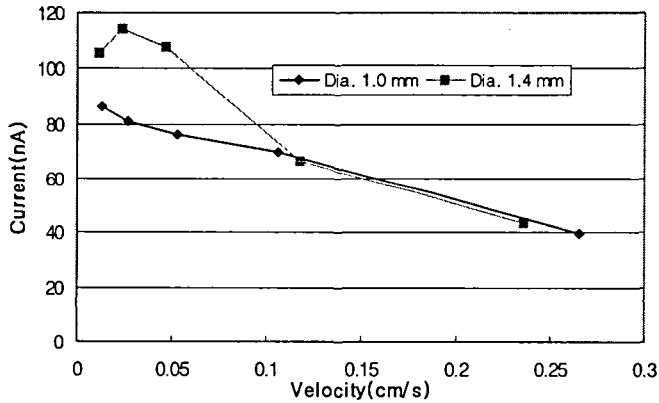


Fig. 6. Current of a sensor as electrode size.

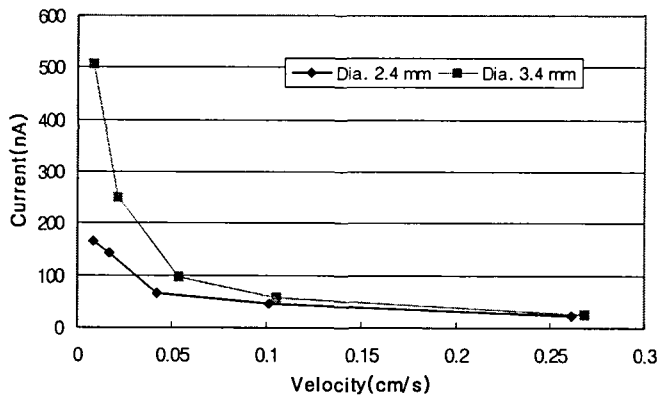


Fig. 7. Current of a sensor as electrode size.

라. 전극 설치 형상과 거리에 따른 특성 파악

그림 7은 전극봉 지름 1.4 mm, 완충용액 유속 0.0471 cm/s, 기질(Glucose) 용액 농도 10 mM에서 전극봉의 설치 형상에 대한 전류값을 측정하는 것이다. 직교(Cross)의 경우 전극봉 간의 간격은 1.5 mm, 평행(Parallel)의 경우는 4.5 mm, 9.0 mm로 하여 설치 형상과 전극봉 간격에 따른 전류값 특성을 살펴보고자 하였다. 전극봉 설치에 따른 문제로 평행한 형태의 경우 전극봉 간격을 직교의 경우와 같게 할 수 없었다. 그림에서 직교 형태로 설치한 경우가 평행하게 설치한 경우보다 큰 값을 나타냈는데 이는 전극봉 간격으로 인한 당연한 결과라 생각된다. 평행한 형태로 설치한 경우 전극봉 간격이 긴 경우가 짧은 것에 비해 전류

값이 높게 나타났는데, 이는 효소·기질 용액이 동시에 접촉되는 시간 때문인 것으로 판단된다. 즉 간격이 4.5 mm인 경우에 비해 9.0 mm인 형태가 전극봉에 접촉되는 시간이 길어 전류값이 높게 나타난 것으로 판단된다.

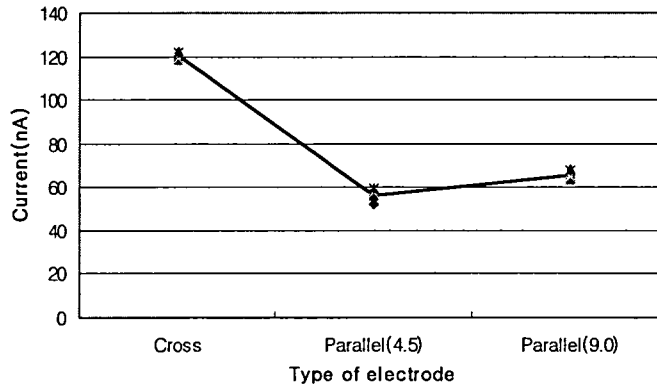


Fig. 8. Current of a sensor as type of electrode.

4. 요약 및 결론

흐름주입식 바이오센서에서 센서성능에 직접적인 영향을 미치는 효소·기질반응과 전극봉 요인에 따른 반응특성을 파악하기 위해 효소·기질 간 반응시간, 반응 체적 비, 전극 단면적 및 전극 설치 형상과 거리에 따른 전류값 특성을 알아보았다.

효소·기질간 반응시간이 길어짐에 따라 예상과는 달리 혼합과 회석에 따른 문제로 전류값이 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 효소·기질 간 반응시간은 센서 작동시간을 고려하여 적절한 길이를 선정할 필요가 있음을 알 수 있었다. 반응 체적 비를 달리한 실험결과 효소와 기질은 동일 체적으로 혼합해야 됨을 알 수 있었다. 전극봉 단면적에 따른 실험결과 유속이 0.1 cm/s 이하에서는 단면적에 비례하여 전류값이 크게 나타났으나 그 이상의 유속에서는 차이를 보이지 않았다. 전극 간 거리에 따른 실험 결과 거리가 적을수록 전류값이 크게 나타났으나, 전극봉을 평행으로 배치한 경우는 거리에 따른 전류값 차이는 나타나지 않았다. 전극봉 배치 형상은 교차형으로 해야 함을 알 수 있었다.

5. 참고문헌

- Song, D. B. and J. Irudayaraj. 2003. Measurement of glucose concentration using μ FIA biosensor. J. of KSAM. Vol. 28(5):465-468
- Song, D. B. 2004. Measurement of sucrose concentration using μ FIA biosensor. J. of KSAM. Vol. 29(6):553-557