

나피온을 이용하여 패키징된 무효소 혈당센서의 혈장 및 전혈에서의 특성 평가

이이재, 김정두, 박재영

마이크로/나노 소자 및 패키징 연구실, 전자공학과, 광운대학교, 서울

Characterization of Nafion Coated Non-enzymatic Glucose Sensor in Human Plasma and Whole Blood

Yi-Jae Lee, Jung-Doo Kim, Jae-Yeong Park

Micro/Nano Devices & Packaging Lab, Department of Electronic Engineering, Kwangwoon University, Seoul

Abstract - 본 논문에서는 nanoporous Pt (Platinum) 전극을 이용한 무효소 혈당센서의 생체 적합성 및 전류응답 특성 향상을 위해 다양한 패키징 방법이 제안되었다. 생체적합성을 갖는 Nafion 멤브레인을 dipping, spin coating, chemical bonding 방법으로 패키징 한 후, 다양한 글루코오스 농도의 혈장, 전혈에서 특성을 분석, 비교하였다. 단백질 등이 포함되지 않은 환경에서 spin coating 방법으로 패키징한 센서의 전류응답 특성은 가장 좋았지만, 혈장 및 전혈에서는 dipping, chemical bonding 방법으로 패키징한 센서의 전류응답 특성에 미치지 못했다. Nafion film을 센서와 chemical bonding한 센서의 혈장에서 sensitivity는 $0.32 \mu A / mM \cdot cm^2$ 이었다. 한편, 전혈에서 bare 센서가 급격한 bio-fouling 현상을 보이는 반면 패키징한 센서는 글루코오스 농도에 따라 일정한 전류변화를 보였다. 이는 Nafion을 이용하여 패키징한 무효소 혈당 센서가 생체환경에 적합할 뿐 아니라 생체이식형 및 연속 측정 가능한 시스템에 적용 가능함을 보여준다.

1. 서 론

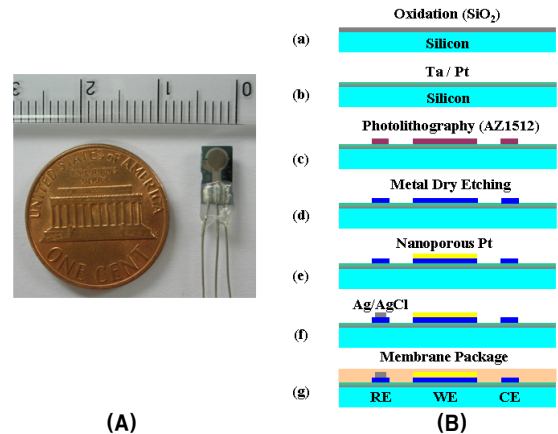
체내 연속적 혈당 모니터링을 위해서 높은 sensitivity, 신뢰성을 갖는 동시에 저가격으로 구현 가능한 효소기반 혈당 센서에 대한 많은 연구들이 진행되어 왔다. 하지만 생체 물질에 기인한 효소의 불안정성에 대한 확실한 해법을 제시한 연구결과는 아직도 요원하다. 이러한 불안정성을 극복하기 위한 대안으로 carbon nanotube, nano-particle, Pt, Au nanoporous 및 alloy Pt 전극 등을 이용한 무효소 혈당센서의 연구개발이 활발하다 [1, 2]. 한편, 무효소 혈당 센서 개발의 가장 큰 이슈로 bio-fouling을 들 수 있다. 이는 센서가 혈장 혹은 전혈 등의 바이오 환경에 노출 되었을 때, 전극 표면이 단백질 및 혈전 등에 의해서 급격한 흡착이 일어나 센서의 오작동 및 장기간 사용하는데 문제를 일으키는 주요 원인이 되고 있다.

본 논문에서는 nanoporous Pt 전극을 이용한 무효소 혈당센서를 제작하고, 생체적합성을 갖는 Nafion 멤브레인을 패키징하여 바이오 환경에서 생체적합성 및 전류응답 특성을 분석해 보았다. 효소 기반의 센서와 달리 nanoporous 전극을 갖는 센서의 멤브레인 패키징은 전류응답 특성에 민감하게 영향을 끼친다. 따라서 제작된 센서는 각각 dipping, spin coating, chemical bonding 방식으로 패키징하고 다양한 글루코오스 농도에서 전류응답 특성을 비교, 분석하였다. 또한, 각기 다른 글루코오스 농도의 혈장, 전혈에서 전류응답반응을 분석하고 생체적합성 및 실제적인 응용 가능성을 타진해 보았다.

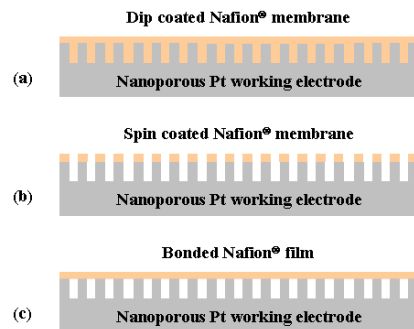
2. 본 론

2.1 센서 제작 및 Nafion 멤브레인 패키징

제안된 무효소 혈당센서는 비온성 계면활성제 $C_{16}EO_8$ 와 전해도금을 이용하여 실리콘 기판 위에 nanoporous Pt 전극의 구현으로 제작된다 [3]. 효소 고정화 공정 없이도 일정 전압 인가시, 글루코오스의 직접적인 산화를 유도하고 이때 발생된 과산화수소의 농도 변화를 감지하는 원리를 갖는다. Nanoporous Pt 전극은 전극의 실효면적을 극대화하여 전류응답의 큰 향상을 가져왔다 [1]. 그림 1은 Nafion 멤브레인이 패키징된 무효소 혈당센서(A, 3 mm × 3 mm)와 센서의 제작과정(B)을 나타낸다. 제작된 센서는 2~3 nm 의 나노 홀이 배열된 구조를 갖는다. 그림 2는 제안된 패키징 기술을 적용한 작동전극의 개념도를 나타낸다. 먼저 Nafion 멤브레인의 점성과 두께 조절을 위해서 Nafion과 에탄올을 1:8 비율로 혼합한 멤브레인을 센서에 dip coating하면 그림 2(a)와 같이 나노 홀을 채운 구조가 된다. 또한 Nafion spin coating을 통해 홀이 채워지는 현상을 막아보는 방법이 적용되었다 (그림 2(b)). 또 다른 방법으로 Nafion film을 에탄올을 이용하여 chemical bonding 하는 방법이 적용되었다 (그림 2(c)). 에탄올은 film과 전극 사이에 접착력을 높이기 위해서 사용되었다 [4].



<그림 1> (A) Nafion 멤브레인이 패키징된 무효소 혈당센서와 제작과정 (B) : (a) oxidation, (b) Ta/Pt sputtering, (c) photolithography, (d) metal dry etching, (e) electro-plating of nanoporous Pt, (f) Ag/AgCl screen printing, (g) Nafion membrane packaging.



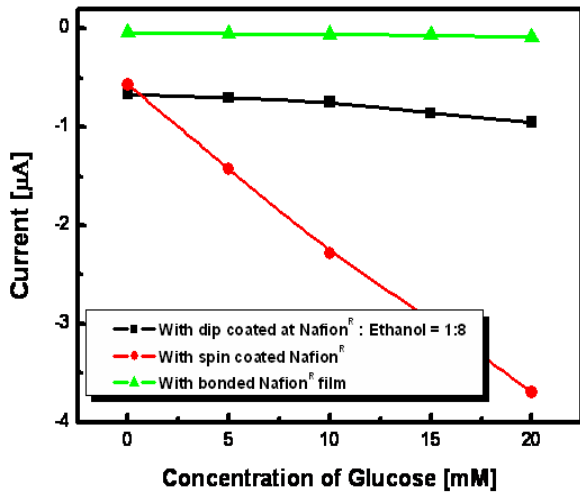
<그림 2> Nafion 멤브레인으로 패키징 된 nanoporous Pt 작동 전극의 개념도: (a) dip coating, (b) spin coating, (c) chemical bonding.

2.2 실험결과

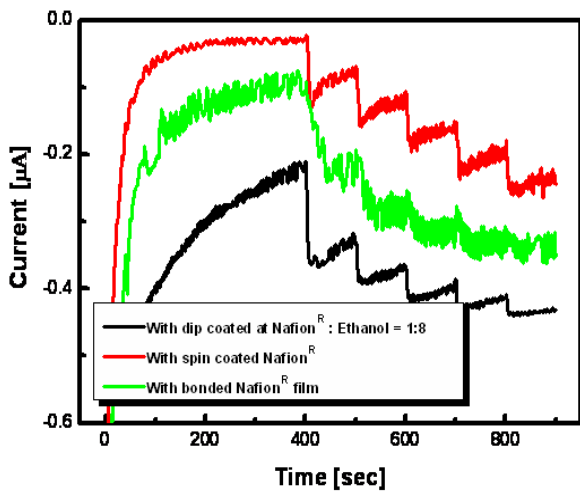
Nafion 멤브레인을 각기 다른 방법으로 패키징한 센서는 0.1 M, pH 7.4의 PBS(phosphate buffered saline) 용액에 다양한 글루코오스 농도를 갖는 혈장, 전혈을 5 mM 씩 100 초 간격으로 주입하여 전류응답 특성을 비교, 분석하였다. 인가 전위는 방해종의 직접적인 산화를 막을 수 있는 0.4 V로 선정하였다. 초기 전압 인가 시에 충분히 background 전류가 안정되는 시점에서 실험은 수행되었다.

그림 3은 다양한 방법으로 Nafion 멤브레인이 패키징된 센서의 글루코오스 농도별 전류응답 특성을 보여준다. 그림 2의 개념도에서 예상했듯이 나노 홀이 멤브레인에 의해서 채워지지 않았기 때문에 다른 센서에 비해서 탁월한 전류응답 특성을 보였다. 반면, 다른 방법으로 패키징된 센서의 전류응답 특성은 멤브레인이 가지는 저항성분에 기인하여 큰 전류응답을 보이지 못했다.

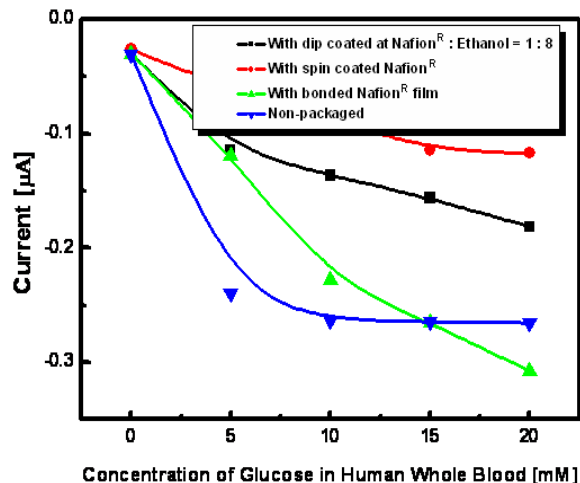
그림 4는 패키징된 센서의 다양한 글루코오스 농도의 혈장에서 chronoamperometric 전류응답 특성이다.



〈그림 3〉 다양한 방법으로 패키징된 무효소 혈당센서의 글루코오스 농도에 따른 전류 응답 특성.



〈그림 4〉 패키징된 무효소 혈당센서의 다양한 글루코오스 농도의 혈장에서 chronoamperometric 전류응답 특성.



〈그림 5〉 패키징된 무효소 혈당센서와 bare 센서의 다양한 글루코오스 농도의 전혈에서 전류응답 특성 비교.

각기 다른 방법으로 Nafion 멤브레인이 패키징된 센서는 혈장에 존재하는 단백질 및 여타 셀에 의한 흡착 없이 혈장내 글루코오스 농도별로 각기 다른 전류응답 특성을 보여주었다. 하지만 그림 3의 결과와는 다르게 spin coating 방법으로 패키징한 센서는 전류응답이 크지 않았다. 이는 혈장내 단백질이 나노 홀 내에 흡착되어 전류응답 반응을 저해시킨 것이라 판단된다.

〈표 1〉 패키징된 무효소 혈당센서와 효소기반 센서의 특성 비교

Reference	This work (packaged with bonded film)	[5]	[6]
Working electrode area (cm ²)	0.04	0.078	0.2
Sensitivity in plasma (µA / mM·cm ²)	0.32	0.03	0.14
Enzyme use	No	Yes	Yes

Nafion film을 이용해 chemical bonding한 센서의 경우 많은 노이즈가 발생했지만 글루코오스 농도별 가장 큰 전류응답특성을 보였다. 또한, 20 mM 글루코오스 농도에서 sensitivity는 0.32 µA / mM·cm² 이었다.

그림 5는 패키징된 무효소 혈당센서와 bare 센서를 다양한 글루코오스 농도의 전혈에서 전류응답을 비교한 결과이다. Bare 센서가 초기에 큰 전류응답 반응을 보이고 급격하게 단백질 및 혈소판 등에 의한 흡착이 일어난 반면, Nafion 멤브레인이 패키징된 센서는 글루코오스 농도변화에 따라 비교적 안정적인 전류응답 특성을 보였다.

표 1에서는 혈장에서 패키징된 무효소 혈당센서와 효소기반 센서의 sensitivity 특성을 비교하였다. 이러한 결과는 Nafion을 이용해서 패키징된 무효소 혈당센서가 효소기반 센서보다 작은 작동전극 면적을 갖는 동시에 큰 sensitivity를 가짐을 보여준다.

3. 결 론

본 논문에서는 실리콘 기판 위에 nanoporous Pt 전극을 이용하여 무효소 혈당센서를 제작하고, 생체적합성을 갖는 Nafion 멤브레인을 패키징하여 바이오 환경에서 그 전류응답 특성을 분석해 보았다. 제작된 무효소 혈당 센서는 Nafion을 이용하여 dipping, spin coating, chemical bonding 방식으로 각각 패키징 하였다. 다양한 글루코오스 농도에서 spin coating 방법으로 패키징된 센서의 전류응답특성은 다른 방법들에 비해 가장 좋은 특성을 보였다. 하지만, 실제 센서의 응용을 위해서 단백질 및 여타의 셀 등이 포함된 혈장 및 전혈에서의 특성 분석이 필수적이다. 혈장 및 전혈내 다양한 글루코오스 농도에서 Nafion 멤브레인이 패키징된 센서는 급격한 단백질 흡착을 보이는 bare 센서에 비해 비교적 안정적인 전류변화를 보였다. spin coating 방법으로 패키징한 센서는 나노 홀 내에 단백질 흡착으로 인해 혈장 및 전혈에서는 큰 전류응답을 보이지 않았다. 혈장에서의 chemical bonding 패키징된 센서의 경우 노이즈가 많았지만 0.32 µA / mM·cm² 의 sensitivity를 보였다.

본 결과는 Nafion 멤브레인을 이용하여 패키징된 센서의 생체이식형 및 연속 측정 가능한 시스템에 적용 가능성을 보여준다. 앞으로 동물 실험, long-term stability 및 신뢰성 실험을 통해서 체내에서 연속적으로 글루코오스 농도를 모니터링 할 수 있는 센서를 개발하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 및 정보통신연구진흥원의 IT핵심기술개발사업의 일환으로 수행하였음. [2005-S-093-03, 생체신호 처리기반 Implantable System 개발]

참 고 문 헌

- [1] Hye-Kyoung Seo et al., "Comparison of Micro- and Nano-Pore Platinum Working Electrodes for CMOS Integrated Nondisposable Biosensor Applications", IEEE SENSORS J., vol. 7, no. 6, pp. 945-946, 2007.
- [2] Lian-Qing Rong et al., "Study of the nonenzymatic glucose sensor based highly dispersed Pt nanoparticles supported on carbon nanotubes", Talanta, vol. 72, pp. 819-824, 2007.
- [3] G. S. Attard et al., "Mesoporous Platinum films from Lyotropic Liquid Crystalline Phases", Science, 278, pp. 838-840, 1997.
- [4] Jian-Hui Ye et al., "A Comparison of Two Post-casting Treatment Methods for Perfluorosulfonated Ionomer Films", Electrochimica Acta, vol. 40, no. 3, pp. 291-296, 1995.
- [5] T. Matsumoto et al., "A long-term lifetime amperometric glucose sensor with a perfluorocarbon polymer coating", Biosensors & Bioelectronics, vol. 16, pp. 271-276, 2001.
- [6] Monica Florescu et al., "Development and evaluation of electrochemical glucose enzyme biosensors based on carbon film electrodes", Talanta, vol. 65, pp. 306-312, 2005.