

광학적 방법을 이용한 정색반응의 수치화

김아희[○], 김지선^{*}, 정구인^{*}, 최주현^{*}, 이태희^{*}, 박성준^{*}, 전재훈^{*}

[○]건국대학교 의학공학부

^{*}건국대학교 의공학 실용기술 연구소

e-mail: jjun81@kku.ac.kr^{○*}

Digitize color reaction using the optical method

A-Hee Kim[○], Ji-Sun Kim^{*}, Gu-In Jung^{*}, Ju-Hyeon Choi^{*}, Tae-Hee Lee^{*}, Sung-Joon Park^{*}, Jae-Hoon Jun^{*}

[○]Dept. of Biomedical Engineering, KonKuk University

^{*}College of Biomedical and Health Science, KonKuk University

● 요약 ●

본 논문에서는 광학적 방법을 이용하여 정색반응을 정량적으로 측정할 수 있는 방법을 제시한다. 정색반응은 발색, 변색의 현상을 일으키는 화학 변화로 시료 용액에 시약을 더하여 특수한 빛을 나타내게 하여, 물질을 정성적으로 검출하는데 이용된다. 하지만 정색반응 결과로 나타난 색상은 사람마다 색구별이 다르므로 정확한 양을 알 수는 없다. 본 연구에서는 시료의 양에 따라 색상 변화의 미세한 차이를 PICkit Serial Analyzer를 사용하여 색상을 수치화하여 시료의 양에 따른 색의 변화를 정량적으로 측정하였다.

키워드: PICkit™ Serial Analyzer, 정색반응(Color Reaction), Hue&Tone120, 스펙트럼분석법(Spectroscopic)

I. 서론

정색반응(Color reaction)은 일반화학, 생화학, 유기화학 등 많은 곳에서 시료를 검출하는데 사용되고 있다. 초, 중, 고등학교 과학, 화학시간에도 영양소 검출로 배우고 있으며 간단한 실험도 진행되고 있다[1]. 정색반응은 발색, 변색의 현상을 일으키는 화학 변화로 시료 용액에 시약을 더하여 특수한 빛을 나타내게 한다. 이 특징을 이용하여 국내에서 특정 물질을 식별하는데 사용하고 있다.

이 실험에서 사용한 반응은 베네딕트반응으로 청록색의 베네딕트용액을 포도당 수용액에 몇 방울 떨어뜨리고 가열하면 용액의 색깔이 황적색으로 변한다. 이런 포도당과 베네딕트용액의 반응을 이용해 포도당이 있는지 여부를 알 수 있는 반응이다. 베네딕트용액에는 2가의 구리이온(Cu^{2+})이 포함되어 있다. 2가의 구리 이온은 청록색을 띠기 때문에 베네딕트용액의 색깔은 청록색을 띤다. 그런데, 만약 베네딕트 용액 속의 구리 이온이 환원되어 전자를 얻으면 1가의 구리 이온(Cu^{+})이 되고 용액의 색깔도 바뀔 것이다. 포도당은 환원력을 갖고 있는 분자이기 때문에 다른 물질로부터 전자를 빼앗겨 자신은 산화되고 다른 물질을 환원시키는 능력이 뛰어나다. 즉, 베네딕트 용액과 반응하여 2가의 구리 이온을 환원시킬 수 있는 것이다. 따라서 베네딕트 용액과 포도당을 섞고 가열하면, 포도당이 베네딕트용액의 2가 구리 이온(Cu^{2+})에 전자를 주어 환원시키고, 1가의 구리 이온(Cu^{+})을 만든다. 이 때 산화구리(Cu_2O) 침전물이 생기면서 용액의 색깔을 황적색으로 변화시

키게 된다.

포도당을 생성하기 위해서는 아밀라아제 효소로 녹말을 분해하여 얻어야 한다. 녹말은 아밀라아제나 말타아제 등 효소에 의해서 가수분해 되어 포도당으로 소화된다.

II. 관련 연구

1.1 국내 동향

국내에서 정색반응은 화학, 생물학, 유전학, 목재식별 등 여러 분야에서 특정 물질을 포함하고 있는지의 여부를 판단하는데 많이 사용되고 있다. 가장 널리 사용되고 있는 것은 제지용 섬유 식별이다. 이는 'Hue&Tone120'의 방법을 사용하고 있다. 이 방법은 색상을 10가지로 나눈 후 명도를 9단계, 채도를 각 색상에 따라 다르게 만들어 최소 8단계, 최대 14단계로 나누어지는 방법이다. 이처럼 나누는데 복잡할 뿐만 아니라 기본배경지식이 없는 사람은 그 숫자만 보고 무슨 색인지 알기 힘들 것이다[2]. 그러므로 본 논문의 방법을 사용하여 전 세계적으로 사용하고 있는 RGB(Red, Green, Blue)값과 광장대역을 측정 한다면 배경 지식이 없는 사람이라도 값이 증가하거나 감소하는 것만으로도 포함된 시료의 대략적인 양을 판단할 수 있을 것이라 사료된다.

또한, 유전자 검사나 소변 검사에도 사용되고 있는데 유전자 검

사의 경우 특정 유전자가 어느 식물에 포함되어 있는지를 정색반응을 통해 알아보고 있고[3], 이 또한 포함여부를 알 뿐이며 본 논문의 방법을 사용한다면 더 나아가 같은 유전자를 갖더라도 어느 식물이 더 많이 포함하고 있는지를 알 수 있을 것이다. 요점사의 경우 스펙트럼분석법을 사용한다. 이는 작열시킨 광물시료로부터 나오거나 또는 어떤 외부에너지의 자극을 받고 나온 빛의 스펙트럼을 분해하여 그것에 존재하는 파장으로부터 요에 존재하는 원소(및 분자)를 측정하는 방법이다[4]. 하지만 이 경우는 장비가 크고 고가이며, 각 물질의 따라 반응 속도가 다르고 반사율이 측정하는 시간에 따라 변화하게 되므로 정확한 판단을 하기 어렵다. 이러한 한계점을 극복하기 위해 본 논문에서는 광학적 방법을 이용하여 기존 측정 장비의 단점을 개선하고 정색반응으로 나타나는 색변화를 이용하여 물질의 양을 간편하게 정량적으로 측정, 분석 할 수 있는 방법을 제시한다.

III. 본 론

3.1 실험재료

본 실험에서는 아밀라아제의 양에 따른 베네딕트 정색반응의 색변화를 측정한다. 베네딕트 용액은 포도당을 검출하는 지시약이다. 그러므로 포도당의 양을 다르게 만들기 위해서 일정 양의 녹말 용액(1%)에 α-아밀라아제 효소(1%)의 양을 다르게 하여 넣어주고, 가수분해를 돕기 위한 증류수를 넣어준다. 이때의 용액 색상은 투명이므로 사람의 눈으로 포도당의 양을 판단할 수 없다. 때문에 청록색을 띄는 베네딕트용액 지시약을 사용하였다. 또한, 베네딕트 정색반응은 가열을 필요로 하므로 이를 위한 가열도구가 필요하며, 아밀라아제는 적정온도에서 반응하므로 온도계로 온도를 측정하면서 적정온도를 유지하며 실험을 진행하였다.

본 실험의 결과를 측정하기 위해서 광학적 원리로 만들어진 PICKit™ Serial Analyzer를 썼으며 이는 시료샘플의 색상을 RGB로 ADC(Analog to Digital Conversion)하여 '0~255'라는 숫자로 나타내어 준다. 이때 나타난 숫자를 CIE 1931(국제조명기구)에 근거하여 Labview(National Instrument)로 프로그램을 만들고, 이를 사용하여 파장(wavelength)으로 나타내고 분석하였다.

3.2 실험 방법

표 1은 본 논문의 실험에서 쓰인 용액의 양을 나타낸다. 본 논문은 포도당의 양의 따라 정색반응 결과의 차이를 알아보기 위함 이므로 표 1과 같이 실험하는데 동일한 녹말용액 2ml를 5개의 시험관에 넣고 아밀라아제 효소의 양을 각각 1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml로 다르게 넣어준다. 녹말은 가수분해하기 때문에 이를 위한 증류수를 넣어주는데, 그 양을 아밀라아제와 반대로 하여 총 용액의 양을 8ml로 맞춘다. 아밀라아제 효소는 체온과 비슷한 온도에서 반응이 일어나므로 용액을 섞을 때 온도를 37도 정도로 맞춰 준다. 마지막으로 시약의 양에 따라 색차이가 나타날 수 있으므로

베네딕트 용액 역시 1ml씩 동일하게 넣어준다. 이 모든 용액을 잘 섞어준 후, 베네딕트 반응을 위해 가열을 해주면 용액의 색상이 청록색에서 황적색으로 변하게 된다.

표 1. 실험에서 쓰인 용액의 양

Table 1. Amount of the solution used in the experiments

녹말 [ml]	아밀라아제 [ml]	증류수 [ml]	베네딕트용액 [ml]	총합 [ml]
2	1	5	1	9
2	2	4	1	9
2	3	3	1	9
2	4	2	1	9
2	5	1	1	9

그림 1은 본 논문에서 사용한 정색 반응 측정하기 위한 실험셋업을 보여준다. 첨가된 양에 따라 색상이 변하는 용액을 PICKit™ Serial Analyzer로 ADC된 신호를 받아 구해진 RGB를 Labview를 통해 파장을 분석하여 결과를 나타내었다.

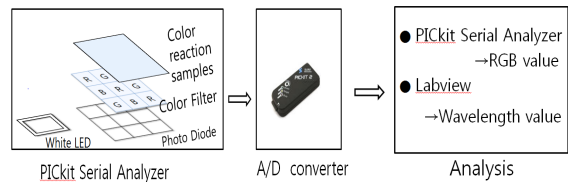


그림 1. 정색 반응 측정하기 위한 실험셋업

Fig. 1. Experimental setup for measuring the color reaction

3.3 실험 결과

표 2는 본 논문의 실험 결과 아밀라아제의 양에 따른 RGB 값과 파장 값을 나타내고 그림 2는 실험 결과 아밀라아제 양에 따른 RGB값의 변화를 그래프로 나타낸다.

표 2와 그림 2는 아밀라아제 양에 따른 RGB값을 나타낸다. 실험결과를 눈으로 보았을 때는 미묘한 차이만 보일 뿐 정확한 변화를 알 수 없었지만, PICKit™ Serial Analyzer를 사용한 결과 아밀라아제의 양이 많을수록 B(blue)값이 적어지는 것을 볼 수 있는데, 이는 베네딕트반응 시 청록색에서 황적색으로 변하는 양이 많다는 것을 의미하며, 그 뜻은 아밀라아제 효소가 많을수록 녹말이 포도당으로 분해된 양이 많다는 것을 알 수 있다.

그림 3은 본 논문의 실험결과 아밀라아제 양에 따른 파장변화 그래프를 나타낸다. 표 2와 그림 3을 보면 아밀라아제의 양이 많을수록 파장이 증가하는 것을 볼 수 있는데 552nm~569nm은 황적색 계열이며, 파장이 클수록 더욱 어두운 황적색이다. 그러므로 아밀라아제의 양이 많을수록 청록색이 사라지고 황적색이 짙어지는 것을 알 수 있다.

표 2.아밀라아제 양에 따른 RGB값과 파장
Table 2. The RGB value and wavelength according to the amount of amylase

아밀라아제[ml]	R	G	B	파장[nm]
1	255	255	222	552
2	255	255	174	567
3	255	255	166	567
4	255	255	152	568
5	255	255	138	569

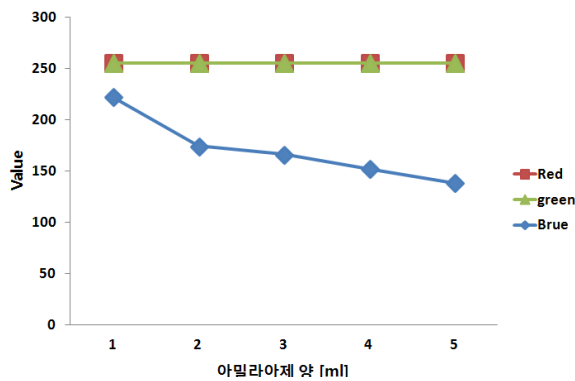


그림 2. 아밀라아제 양에 따른 RGB값 변화 그래프
Fig. 2. The RGB value change graph according to the amount of amylase

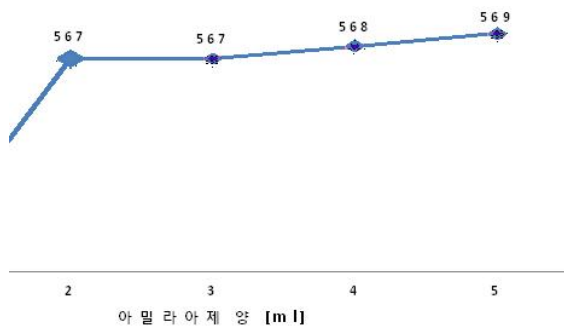


그림 3. 아밀라아제 양에 따른 RGB값과 파장 변화
Fig. 3. The wavelength change graph according to the amount of amylase

IV. 결론

본 논문에서는 PICKit™ Serial Analyzer를 사용하여 정색반응을 정량적으로 측정하는 방법을 제시하였다. 실험에서 저지는 정색반응을 통해 나타난 시약의 색을 PICKit Serial Analyzer를 사용하여 RGB 값의 변화를 얻고, 그 값을 Labview를 통해 파장을 분석하였다. 이 방법은 기존에 사용하고 있는 ‘Hue&Tone120’의 복잡하고 주관적이던 방법이나 ‘스펙트럼분석기’의 크고 고가의 비용을 보완할 수 있으며, 보다 빠른 시간에 간단하고 정확하게 판단 할 수 있도록 도와준다.

본 논문에서 제안한 방법을 사용하면 시약에 포함된 알고자 하는 시료의 양을 보다 객관적이고 세분화하여 분석 할 수 있을 것이다. 이는 정색반응을 사용하는 모든 분야에 적용될 수 있으므로, 앞서 언급한 요 검사나 유전자 검사 등에 적용할 수 있고 광학적 방법을 이용하여 수치화한 데이터를 스마트 헬스케어에 적용하여 사용하면 사용자가 편리하게 사용할 수 있는 시스템이 될 것이다.

감사의 글

“이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No.2010-0023158)”

“본 연구는 한국연구재단을 통해 교육과학기술부의 미래유망 융합 기술 파이오니어 사업으로부터 지원받아 수행되었습니다(No.2011-0027920)”

참고문헌

- [1] Eunae Jo and hongyi Park, "Improvement and analysis of biological experiments Middle School: Focusing on nutrient detection section", Yonsei University Graduate School of Education : Common science education majors, February. 2007.
- [2] Tae Ho Choi et al, "Identification of Paper making raw fiber by the color reaction", Academic Papers book, Vol.2005, pp. 599~604, 2005
- [3] Ki-young Kim et al, "Lox3 gene selection for mating affinity, reaction color reaction and SDS Page", Korean journal of plant biotechnology, Vol.33, No.10, 2006
- [4] Jae Hyung Kim, "The Spectroscopic Analysis of Urinalysis Strips", Natural Science, Vol.3, pp. 61~71, 1999