

포도당수소페기효소와 적혈염을 리용한 1회용포도당 수감부의 제조조건에 대한 연구

리정심, 김철호

1회용포도당수감부는 당뇨병의 진단과 치료에서 필수적인 혈당계의 개발에서 중요한 의의를 가진다.[2, 4]

포도당수소페기효소는 포도당에 대한 특이성이 높으면서도 용존산소의 영향을 받지 않으므로 1회용포도당수감부에 많이 리용된다.

우리는 *Aspergillus oryzae* 기원의 포도당수소페기효소(GDH)와 대표적인 전자전달중매체인 적혈염($K_3Fe(CN)_6$)을 리용하여 1회용포도당수감부를 만들기 위한 연구를 하였다.

재료 및 방법

GDH는 *Aspergillus oryzae* 39의 배양상청액으로부터 얻은 정제효소(10U/mg)[5]를 리용하였으며 $K_3Fe(CN)_6$, 포도당을 비롯한 시약들은 분석순이었다.

1회용탄소전극은 선행방법[1]에 따라 제조하였으며 1회용탄소전극의 2mm×2mm의 구역에 GDH와 $K_3Fe(CN)_6$ 을 일정한 농도로 섞은 용액을 2μL 떨 구고 4℃에서 통풍건조시켰다.

정전위분석을 위하여 폴라로그래프(《PA-2》)를 리용하였으며 탄소전극과 효소전극을 각각 대조전극과 작업전극으로 하는 2전극체계를 구성하였다. 시료용액은 0.1mol/L 린산완충액(pH 6.0)에 풀었으며 정전위분석[6]은 측정전위 +0.4V, 응답시간 0~30s의 조건에서 진행하였다.

결과 및 논의

먼저 포도당농도에 따르는 전류응답의 선형성이 성립하는 응답시간을 결정하기 위하여 GDH를 50mg/mL로, 적혈염을 100mmol/L로 푼 용액으로 만든 1회용포도당수감부의 전류응답특성을 보았다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 1회용포도당수감부의 응답전류값은 응답시간이 증가하는데 따라 급속히 감소하다가 일정한 한계에 이르러 더 변화되지 않았으며 포도당농도가 증가하는데 따라서는 증가하였다. 한편 응답시간에 따르는 포도당농도와 응답전류의 선형상관성을 검토한 결과 응답시간이 10s일 때 선형상관결수가 0.99로서 제일 높았다.

이로부터 포도당농도측정을 위한 1회용포도당수감부의 응답시간을 10s로 정하였다. 이것은 일반적인 혈당계의 응답시간(5~20s)구간에 들어가며 선행연구[3]의 응답시간과도 일치한다.

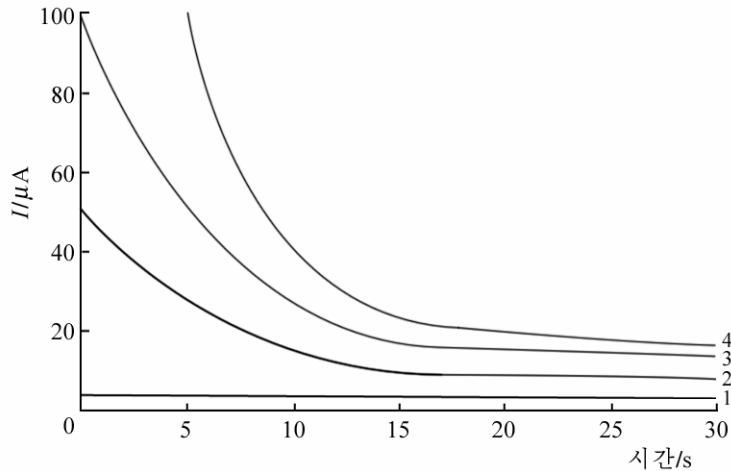


그림 1. 각이한 포도당농도에서 1회용포도당수감부의 전류응답특성

1—4는 포도당의 농도가 각각 0, 10, 20, 30mmol/L일 때

다음으로 GDH농도에 따르는 1회용수감부의 포도당에 대한 전류응답특성은 표 1과 같다.

표 1. GDH농도에 따르는 1회용수감부의 포도당에 대한 전류응답특성

GDH농도 $/(mg \cdot mL^{-1})$	포도당에 대한 감도 $/(μA \cdot L \cdot mmol^{-1})$	선형 구간 $/(mmol \cdot L^{-1})$
5	0.11 ± 0.04	30~100
25	0.43 ± 0.06	10~80
50	1.25 ± 0.05	1~30
100	2.53 ± 0.10	0.5~10

응답시간 10s, 적혈염 100mmol/L

표 1에서 보는바와 같이 GDH의 농도가 높아질수록 포도당에 대한 감도는 높아지지만 선형구간의 아래한계와 윗한계가 다 낮아진다. 혈당계로 리용하자면 선형구간이 1~30mmol/L 사이에 있어야 하므로[6] GDH농도를 50mg/mL로 하는것이 적합하다고 보았다. 한편 GDH의 비활성이 10U/mg라는것을 고려하면 전극 1개당 고정되는 GDH의량은 1U라는것을 알 수 있다.

중매체($K_3Fe(CN)_6$)의 농도에 따르는 1회용포도당수감부의 전류응답특성은 표 2와 같다.

표 2. 각이한 중매체농도에 따르는 1회용포도당수감부의 전류응답특성

$K_3Fe(CN)_6$ 농도 $/(mmol \cdot L^{-1})$	포도당에 대한 감도 $/(μA \cdot L \cdot mmol^{-1})$	선형 구간 $/(mmol \cdot L^{-1})$
10	0.25 ± 0.05	1~4
50	0.56 ± 0.04	1~10
100	1.25 ± 0.05	1~30
200	0.42 ± 0.15	1~50

응답시간 10s; GDH 50mg/mL

표 2에서 보는바와 같이 중매체의 농도가 증가함에 따라 포도당에 대한 감도가 증가하다가 200mmol/L에서는 감소하였다. 이것은 중매체의 농도가 높은것으로 하여 효소가 불활성화된 결과라고 볼수 있다. 그러므로 1회용포도당수감부의 제조에 적합한 중매체의 농도는 100mmol/L라고 보았다.

GDH농도 50mg/mL, 중매체농도 100mmol/L의 조건에서 1회용포도당수감부를 제조하고 측정온도와 pH에 따르는 전류응답특성을 보았다.(그림 2)

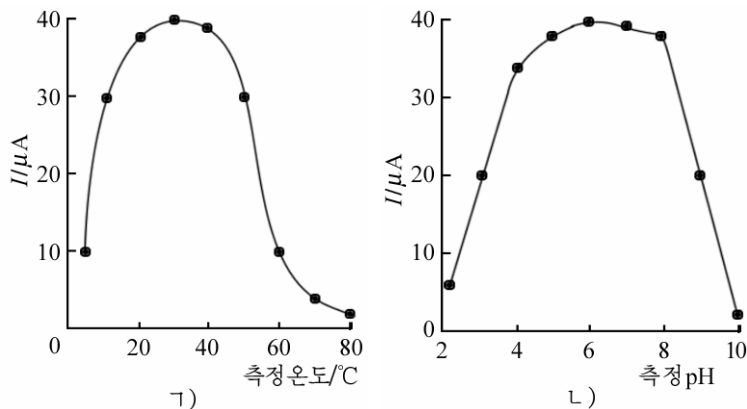


그림 2. 측정 온도(ㄱ))와 pH(ㄴ))에 따르는

1회용포도당수감부의 전류응답특성

포도당농도 30mmol/L, 응답시간 10s

그림 2에서 보는바와 같이 전류응답이 최대로 되는 측정온도와 pH는 각각 30°C, 6.0이었으며 전류응답이 최대응답의 95%이상 되는 온도구간은 20~40°C, pH구간은 5~8이었다.

우에서 제조한 전극으로 농도가 1~30mmol/L인 포도당용액에 대한 전류응답특성을 조사한 결과는 그림 3과 같다.

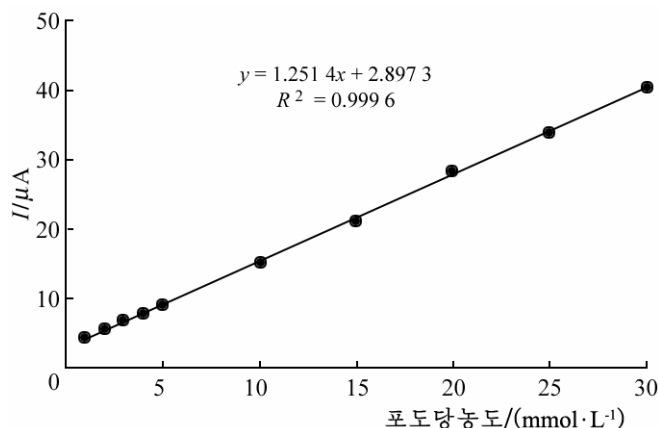


그림 3. 포도당농도에 따르는 1회용수감부의 전류응답특성

온도 30°C, pH 6.0

그림 3에서 보는바와 같이 1회용포도당수감부는 포도당농도 1~30mmol/L의 구간에서 선형성이 높은 전류응답특성을 보여주었으며($R^2=0.9996$) 이 구간에서 포도당에 대한 감도는 $(1.25 \pm 0.05) \mu A / (mmol/L)$ 로서 선행연구[2, 3, 6]의 감도($0.5 \sim 1 \mu A / (mmol/L)$)보다 높았다.

맺 는 말

1회용포도당수감부의 제조에 적합한 GDH의 농도는 50mg/mL이며 적혈염의 농도는 100mmol/L이다.

우의 조건에서 제조한 1회용포도당수감부는 응답시간이 10s일 때 측정온도 20~40°C, 측정pH 5~8의 범위에서 최대응답의 95%이상에 해당하는 전류응답을 나타내며 포도당농도 1~30mmol/L의 구간에서 포도당농도와 전류응답사이에 선형관계가 성립한다. 이때 포도당에 대한 감도는 $(1.25 \pm 0.05) \mu\text{A}/(\text{mmol/L})$ 이다.

참 고 문 헌

- [1] 문충혁 등; 기술혁신, 10, 33, 주체106(2017).
- [2] W. J. Guan et al.; Biosensors and Bioelectronics, 21, 508, 2005.
- [3] K. Lan et al.; Journal of Diabetes Science and Technology, 5, 5, 1108, 2011.
- [4] V. Mani et al.; Int. J. Electrochem. Sci., 10, 691, 2015.
- [5] C. Sygmund et al.; Microbiology, 157, 3203, 2011.
- [6] S. Tsuijimura et al.; Biosci. Biotechnol. Biochem., 70, 3, 654, 2006.

주체108(2019)년 1월 5일 원고접수

Study on Manufacturing Conditions of Disposable Glucose Test Strip Based on Glucose Dehydrogenase and Ferricyanide

Ri Jong Sim, Kim Chol Ho

The concentration for manufacturing of disposable glucose test strip is GDH of 50mg/mL and ferricyanide of 100mmol/L.

The disposable glucose test strip made by above condition has more than 95% of maximum electric current response at the measuring temperature of 20~40°C and the measuring pH of 5~8 in response time of 10s, and has linear relation between glucose concentration and electric current response in the range of 1~30mmol/L. Then the sensitivity for glucose is $(1.25 \pm 0.05) \mu\text{A}/(\text{mmol/L})$.

Key words: glucose dehydrogenase, disposable glucose test strip, biosensor