

완충용액과 효소고정화막의 조성에 따른 pH-ISFET 포도당센서의 감응특성

이홍탁[†] · 양승태 · 정동숙 · 김창수* · 손병기*

경북대학교 자연과학대학 화학과, *공과대학 전자공학과

(1992. 6. 18 접수)

Optimization of Response Characteristics of pH-ISFET Glucose Sensor

Heung Lark Lee[†], Seung Tae Yang, Dong Sook Jung, *Chang Soo Kim, *Byung Ki Sohn

Department of Chemistry and *Department of Electronics, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

(Received June 18, 1992)

요 약. pH-ISFET와 glucose oxidase막으로 구성되어 있는 포도당센서를 제조하고 그 감응특성을 조사하였다. pH-ISFET 포도당센서는 pH-ISFET의 gate 위에 glutaraldehyde로서 bovine serum albumin과 glucose oxidase를 고정화시켜서 제작하였다. pH-ISFET 포도당센서의 감응에 미치는 완충용액의 pH 및 농도와 효소의 양의 영향에 대하여 조사하였다. 합성생리염수(pH 7.4)로 만든 포도당용액에 대한 감응특성은 다음과 같다. 곧, 직선감응농도 범위, 감응기울기(감도) 및 감응시간은 각각 $1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}M$, 4.1 mV/decade 및 12~15분이다.

ABSTRACT. A preparation method and response characteristics of a glucose sensor which consisted of pH-ISFET and glucose oxidase-immobilized membrane were investigated. The pH-ISFET glucose sensor was fabricated by immobilizing bovine serum albumin and glucose oxidase with glutaraldehyde on gate of the pH-ISFET. Effects of pH and concentration of working buffer and enzyme load on the potentiometric response of the pH-ISFET glucose sensor were examined. Response characteristics for the determination of glucose in synthetic physiological saline solution(pH 7.4) were as follows. That is, the concentration range of linear response, slope of linear response(sensitivity), and response time were $1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}M$, 4.1 mV/decade, and 12~15 min., respectively.

Key Words : Glucose sensor pH-ISFET

1. 서 론

생체관련물질인 포도당을 감지할 수 있는 생물전기 화학감응기(bioelectrochemical sensor or biosensor)에 대하여 많은 연구가 수행되어 왔다^{1,2}. 특히 효소는 특정한 기질에 대하여만 선택적으로 촉매작용을 하기 때문에 포도당에 대한 특이성 시약으로서 효소 이외에는 지금까지 알려져 있지 않다.

포도당의 분석법은 효소 glucose oxidase에 의하여

포도당이 산화될 때에 생성되는 글루콘산이나 과산화수소를 측정하는 방법이다³. 포도당센서는 유리전극(H⁺에 감응)⁴, 요오드화이온 감응전극⁵, 산소전극⁶ 등의 감응막 표면에 glucose oxidase를 고정화시켜서 만들거나, 효소반응기와 백금전극을 사용하는 전류법으로 포도당을 측정하는 방법⁷도 보고되고 있다. 그러나 이러한 포도당센서로서 생체시료 속의 포도당을 정량할 때에는 복잡한 전처리 과정을 거쳐야 하고, 바이오센서의 부피가 크고, 응답속도가 비교적 느릴 뿐만 아

나라 규격화 및 양산화가 어려운 점 등의 여러 가지 문제점이 많다.³

이러한 이온선택성전극이 가지고 있는 단점을 보완하면서 실제의 시료에 이용하기 편리한 소자로서 ISFET(ion-sensitive field effect transistor)가 가장 주목을 받고 있다.^{8, 9, 10}. ISFET는 감응시간이 매우 짧고, 집적회로 공정기술을 이용하므로 가격이 저렴할 뿐만 아니라 소형화 및 규격화할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이러한 ISFET를 이용한 바이오센서는 극소형이므로 소량의 시료로도 생체관련물질을 정량할 수 있고, *in-vivo*에서의 *in-situ* 측정에 매우 유리하다. 현재 요소^{8, 9} 및 페니실린¹⁰센서 등에 관한 연구논문이 다수 발표되고 있다.

지금까지 pH-ISFET와 glucose oxidase를 아울러 써서 포도당을 정량한 방법에는 다음과 같은 것들이 있다. 곧 Miyahara 등⁹은 glucose oxidase/PVA에 자외선을 조사하여 효소막을 형성시킴으로써 pH-ISFET 포도당센서를 만들었다. 이 효소막은 pH-ISFET의 감응막에 효소막이 물리적으로 부착되어 있으므로 막이 두껍고, 수명이 매우 짧은 단점이 있다. Kimura 등⁸은 pH-ISFET의 게이트 위에 glucose oxidase/bovine serum albumin을 glutaraldehyde로써 공유결합시킨 효소막을 입혀서 pH-ISFET 포도당센서를 만들었다. 이 센서는 수명이 길고 감응특성도 개선되었으나, 최적실험조건을 구체적으로 설명하고 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 pH-ISFET 포도당센서의 감응특성을 개선시키기 위하여 바이오센서의 감응에 영향을 미치는 인자들로서 효소막 속의 효소의 양, 시료가 들어 있는 완충용액의 pH 및 농도를 변화시킬 때에 pH-ISFET 포도당센서의 감응특성의 변화를 조사하여 보았다.

2. 실험

2.1. 시 약

포도당(Avondale제) 0.9008g을 정확히 달아서 50ml 들이의 메스플라스크에 넣고, 완충용액으로 완전히 녹인 다음, 표선까지 완충용액으로 묽혀서 0.10M 저장용액을 만들었다.

합성생리염수(pH 7.40)¹¹ 는 NaCl 137mM, KCl 2.7mM, Na₂HPO₄ 8.0mM, KH₂PO₄ 1.5mM이 되도록 이

들 염을 탈이온화한 증류수에 녹여서 만들었다.

3-APTES(3-aminopropyltriethoxysilane) 용액과 glutaraldehyde 용액(25% 수용액) 및 BSA(bovine serum albumin)은 Sigma제 특급시약을 썼고, 포도당의 산화 효소로서는 glucose oxidase(GOD로 줄임, Sigma, E.C. 1.1.3.4, 346 units/mg)를 썼다.

이외의 무기염들은 특급시약을 그대로 썼다. 모든 용액의 제조에는 탈이온화된 증류수($R > 17 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$)를 썼다.

2.2. 기기

전압-전류 측정기로서는 Digital Multimeter(Keithley제, Model 196 system DMM과 197 autoranging microvolt DMM)를, 기록기로서는 X-t recorder(Philips제, PM 8252A)를 썼다.

바탕소자인 Si₃N₄ gate ISFET의 크기는 0.4×1.4mm이며, 게이트의 면적은 20×300 μm 이다. 기준 전극로서는 Saturated Calomel Electrode(Beckman 68400)를 썼다.

탈이온화한 증류수의 제조에는 Milli-Q water system(Millipore제)을 썼고, 모든 실험은 25±0.2°C에서 수행하였다.

2.3. pH-ISFET 포도당센서의 제작

pH-ISFET 포도당센서의 제작과정은 다음과 같다. 곧 ISFET 게이트 이외의 부분을 용액으로부터 절연시키고, 효소막이 형성될 pool을 만들기 위하여 실리콘 고무로 encapsulation하였다. 수소이온에 대한 ISFET의 감응을 좋게 하기 위하여 ISFET 게이트를 50:1 HF 수용액으로 실온에서 1분간 표면처리하고, 게이트와 효소막의 부착성을 좋게 하기 위하여 1% 3-APTES 용액으로 80°C에서 10분간 Si₃N₄ 게이트의 표면을 실란화시켰다^{9, 12}.

효소의 고정화(immobilization)는 Kimura 등⁸의 방법으로서 다음과 같이 행하였다. 곧 0.010 M 인산염 완충용액(Na₂HPO₄-KH₂PO₄, pH 7.4) 500 μl 에 BSA 30mg과 GOD를 일정량 녹여서 효소막의 casting 용액을 만들었다. 이 용액 0.1 μl 를 microsyringe로써 gate 위에 떨어뜨린 후, 계속하여 25% glutaraldehyde 용액을 0.1 μl 떨어뜨리면 효소막이 형성된다. 상온에서 1시간 동안 건조시킨 후, 0.10M glycine 용액에 담갔다가 탈

이온화한 중류수로 씻으면, Fig. 1과 같은 pH-ISFET 포도당센서가 완성된다. Fig. 2는 pH-ISFET 포도당센서의 단면도를 나타낸 것이다. 사용하지 않을 때에는 포도당센서를 합성생리염수에 담가서 4°C의 냉장실에서 보관하였다.

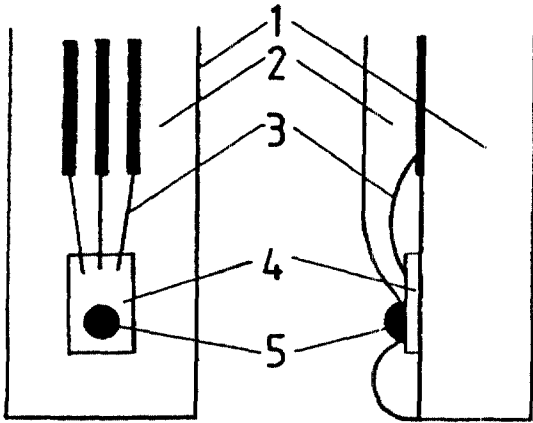


Fig. 1. Structure of the pH-ISFET glucose sensor.

- 1. alumina header, 2. silicone rubber,
- 3. bonding wire, 4. pH-ISFET,
- 5. enzyme membrane.

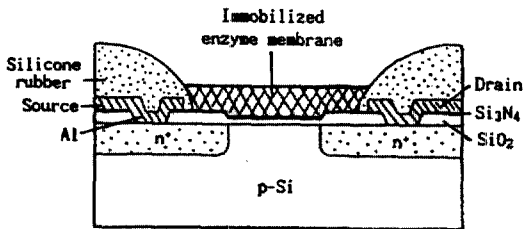
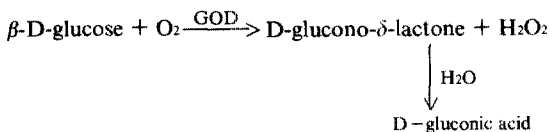


Fig. 2. Cross-sectional structure of the pH-ISFET glucose sensor.

2.4. 감응원리

pH-ISFET를 바탕소자로 쓴 포도당센서의 감응원리는 다음과 같다. 시료용액에 포도당센서를 담그면, 기질이 효소막 속으로 확산하여 들어와서 효소의 촉매작용으로 다음과 같이 포도당은 산화된다.



이와 같은 반응에 의하여 수소이온이 생성(gluconic acid가 해리하여)되므로 게이트 표면의 pH가 작아지게 된다. 이 pH 변화를 수소이온센서인 pH-ISFET가 감지한다. 이때 pH-ISFET의 감도(sensitivity, 또는 Nernst 기울기, Nernst slope)는 다음의 식과 같이 pH 변화에 대한 게이트 계면의 전위차 변화로 정의된다.^{13, 14.}

$$S = \frac{\partial V_{RS}}{\partial \text{pH}} \Big|_{V_{DS}, I_{DS}}$$

곧 pH-ISFET의 최적동작점이 되도록 source와 drain 사이의 전압(V_{DS})을 1.2 V, 전류(I_{DS})를 30 μA 로 고정하면, 절연층과 게이트 계면에 표면전하를 가지게 되는 전계효과(field effect)가 일어나므로 계면에 전위차가 생긴다. 이 계면의 전위차는 수소이온의 활동도에 따라서 변하고, 기준전극에 대한 출력전압의 변화(ΔV_{RS})가 측정된다. 이 출력전압이 포도당의 농도에 따라서 선형적으로 변하므로 이 출력전압으로부터 포도당의 농도를 구할 수 있게 된다. 수소이온감응센서인 pH-ISFET의 이론적인 감도는 25°C에서 Nernst 기울기 59.2 mV/pH인 것으로 알려져 있다.

2.5. 측정

pH-ISFET의 V_{DS} 와 I_{DS} 를 일정한 값으로 고정하고, 기준 전극에 대한 출력 전압의 값을 재는 영위법(null-balance method)⁹을 이용하여 측정하였다. 본 실험에 쓴 측정장치는 Fig. 3과 같다. 곧 측정온도는 25 \pm

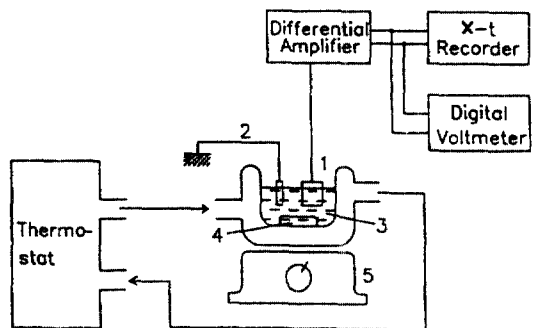


Fig. 3. Schematic diagram of measurement set.

- 1. pH-ISFET glucose sensor, 2. S.C.E.,
- 3. sample solution, 4. magnetic bar,
- 5. hot plate.

0.2°C로 고정하고, 400rpm으로 자석막대를 교반시키면서 완충용액 9.0ml에 포도당센서와 기준전극을 담근다. 최종 출력전압을 0.0V로 맞춘 후에 준비된 포도당 표준용액 1.0ml를 떨어뜨리면 Fig. 4와 같이 출력전압이 시간에 따라서 변화하는 곡선을 얻을 수 있다. 각 포도당용액에 대하여 출력전압이 일정한 값에 도달하면, 출력전압의 변화값(ΔV_{RS})을 구한다. 탈이온화한 증류수로 포도당센서와 기준전극을 씻고, 다시 완충용액 9.0ml에 포도당센서와 기준전극을 담가서 출력전압이 원래의 값으로 복귀하면, 다른 농도의 포도당용액 1.0ml를 넣고, 출력전압의 변화값을 측정한다.

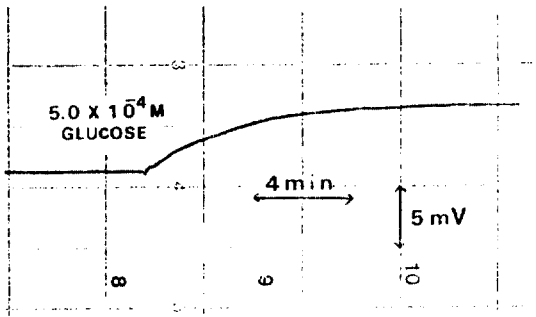


Fig. 4. Typical time response of pH-ISFET glucose sensor.

3. 결과 및 고찰

3.1. pH에 따른 감응특성

pH-ISFET의 게이트(수소이온 감응막) 물질로서는 SiO₂, Si₃N₄, ZrO₂, Al₂O₃ 및 Ta₂O₅ 등이 있다. 그 중에서 Si₃N₄ gate ISFET는 막 형성이 용이하며, 화학적으로 안정한 절연체이므로 게이트 누설전류 및 표면수화현상이 적어서 안정하게 동작하는 것으로 알려져 있고, 일반적으로 가장 많이 연구·보고되고 있는 ISFET이다^{14, 15}. 본 실험에서는 Si₃N₄ 게이트 ISFET와 이것을 바탕소자로 사용한 pH-ISFET 포도당센서의 pH에 따른 감응을 조사하여 Fig. 5에 함께 나타내었다. 완충용액의 이온세기는 0.050으로 고정하였으며, pH 2.0~12.0 범위의 완충용액은 문헌에 있는 방법대로 만들어서 사용하였다^{16, 17}. 이 그림으로부터 알 수 있는 바와 같이 Si₃N₄ gate ISFET(A)의 출력전압은 pH 2~12 범위

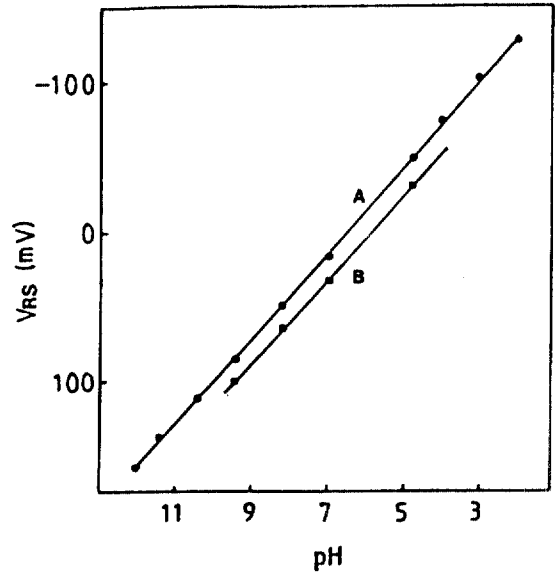


Fig. 5. pH response characteristics of the Si₃N₄ gate ISFET before(A) and after (B) forming enzyme membrane.

에서 좋은 직선성을 나타내었고, 감도(감응기울기)는 58.2mV/pH였으며, 감응시간은 1초 내외였다. 또한 pH-ISFET 포도당센서(B)는 측정 pH 범위에서 출력전압(V_{RS})이 조금 높아지지만, 직선성과 감응기울기는 거의 같은 값을 나타내었다.

본 실험에 사용한 pH-ISFET의 감응특성을 Miyahara 등⁹이 사용한 pH-ISFET의 직선감응범위 pH 2.0~11.2 및 감도 51.9 mV/pH와 비교하여 보면, 본 실험에서 쓴 pH-ISFET의 감응특성이 보다 우수함을 알 수 있다.

3.2. 시간응답특성

본 실험에 사용한 pH-ISFET 포도당센서의 시간응답특성을 조사하기 위하여 몇 가지 농도의 포도당 용액에 대한 시간에 따른 출력전압의 변화를 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 이 그림으로부터 알 수 있는 바와 같이 출력 전압이 평형에 도달하는 시간은 농도가 묽을수록 짧아지고, 실험농도 범위에서는 약 12~15분 정도였다.

이 감응시간은 Miyahara 등⁹의 30분보다는 훨씬 짧았으나, Kimura 등⁸의 15~20분보다도 감응시간이 비교적 짧았다. 이와 같이 pH-ISFET 포도당센서의 감응

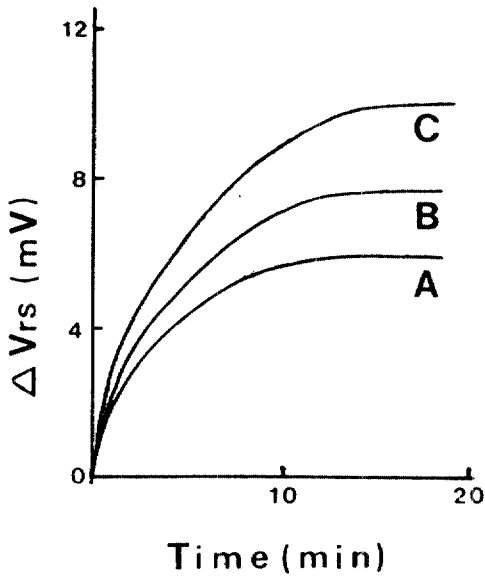


Fig. 6. Time responses for various concentration of glucose. (A) 5.0×10^{-4} M, (B) 1.0×10^{-3} M, (C) 5.0×10^{-3} M.

시간이 비교적 긴 이유는 포도당이 효소막 속으로 확산하여 들어가는 속도가 느리며(확산계수가 작다), 반응생성물인 글루콘산의 해리상수($pK_a=3.77$)가 작기 때문인 것으로 알려져 있다¹⁸.

3.3. GOD의 양에 따른 감응특성

본 실험에 쓴 포도당센서에서는 glucose oxidase막 속에서 효소의 작용에 의하여 포도당이 산화된다. 이 산화반응의 결과로 글루콘산이 생성되고, 이것이 해리되므로 게이트 계면에 수소이온의 농도가 커지게 되며, 따라서 센서의 출력전압의 변화가 커지게 되므로 효소의 양이 바로 포도당센서의 감응특성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹⁹.

따라서 본 실험에 사용한 pH-ISFET 포도당센서가 효소막 속의 효소의 양에 따라서 감응특성이 어떻게 달라지는가를 조사하여 보았다. Fig. 7은 효소막을 만드는 데에 쓴 casting 용액 중의 효소의 양을 15~60mg으로 변화시켰을 때, $5.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-2}$ M 범위의 포도당 시료용액에 대하여 효소량에 따른 출력전압의 변화값을 측정하여 도시한 것이다. 또 Table 1은 Fig. 7로부터 감응특성을 구하여 요약하여 나타낸 것이다.

Table 1. Effect of glucose oxidase quantity in enzyme membrane on response characteristics of pH-ISFET glucose sensor

enzyme quantity (mg/0.5ml)	linear range (M)	sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
15	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-3}$	3.6
30	$2.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-3}$	3.9
45	$1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$	4.1
60	$1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$	4.1

$V_{Ds} : 1.2V, I_{Ds} : 30 A$

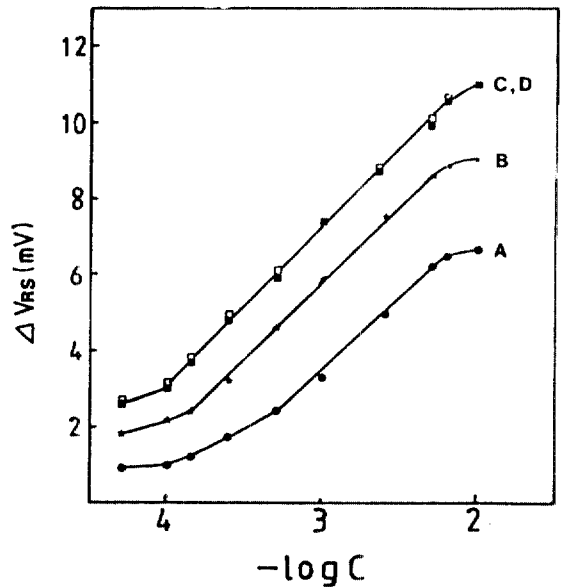


Fig. 7. Typical calibration curves of pH-ISFET glucose sensors with various amount of GOD. (A) 15mg, (B) 30 mg, (C) 45 mg, (D) 60 mg. condition ; physiological saline solution, pH 7.4

이 표로부터 알 수 있는 바와 같이 효소의 양을 증가시키수록 직선감응범위와 감도는 조금 향상되었으나, 다른 감응특성은 거의 변화하지 않았다. 곧 효소의 양이 45mg 및 60mg일 때에는 직선감응범위가 $1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$ M이고, 감도가 4.1mV/decade로서 최적실험 조건임을 알 수 있다.

이들 값을 pH-ISFET의 감응특성과 비교하여 보면, pH-ISFET 포도당센서의 감응특성이 매우 떨어짐을

알 수 있다. 이것은 포도당의 산화반응 생성물인 글루콘산이 약한 산이므로 제이트 계면에서 수소이온의 농도 증가가 작기 때문인 것으로 생각된다. 또한 포도당이 산화될 때에 산소는 보조기질로서 작용하므로 산소의 양이 센서의 감응을 제한하게 된다. 곧 약 20% O₂의 대기 중에서는 용액에 녹아 있는 산소의 평형농도가 약 0.23mM 정도이므로 이 값보다도 고농도의 포도당용액은 분해될 수 없기 때문에 전형적인 감응이 나타날 수 없게 된다. 그러나 포도당에 비하여 산소의 확산속도가 빠르고, 효소막 속에서 효소의 반응속도가 비교적 느리기 때문에 실제로는 이 농도 보다도 조금 진한 포도당 용액에 대하여도 직선적인 감응이 나타나게 되는 것으로 알려져 있다¹⁸.

Miyahara 등⁹의 pH-ISFET 포도당센서는 효소막을 만드는 데에 40mg/2m²의 효소를 사용하였다. 이 센서의 직선감응 범위는 $1.1 \times 10^{-3} \sim 1.1 \times 10^{-2}$ M이고, 감도는 8mV/decade로서 본 실험의 결과보다도 고농도쪽으로 직선감응 범위가 넓어졌고, 감도도 커졌다. 이것은 포도당용액을 가한 후, 5분 되었을 때의 기전력을 측정하였기 때문에 나타나는 결과로서, 포도당의 농도에 따라서 감응시간이 다르므로 평형 기전력을 측정하는 방법보다도 부정확한 방법임을 알 수 있었다. Kimura 등⁸의 포도당센서는 5mg/0.5m²의 효소를 써서 직선감응 범위가 $5.6 \times 10^{-5} \sim 2.8 \times 10^{-3}$ M이고, 감도는 4.5mV/decade였다. 이것을 본 실험의 감응특성과 비교하여 보면, 본 실험의 직선감응 범위가 2배 정도 고농도로 확장되었고, 감도는 거의 비슷하였다.

3.4. 시료용액의 pH에 따른 감응특성

가용성 효소는 특정한 pH 범위에서 최대의 활동도를 나타낸다. 그러나 효소를 지지체에 고정화시키면, 효소의 형태(conformation)가 변하므로 가용성 효소와는 다른 환경에 있게 되고, 최대의 활동도를 나타내는 pH가 이동하게 되며, 보다 넓은 pH 범위에서 최대의 활동도를 나타내는 것으로 알려져 있다²⁰. 가용성 glucose oxidase의 활동도가 최대로 되는 pH는 6.5~7.5인 것으로 알려져 있다^{21, 22}

본 실험에서는 이온세기(0.165) 및 인삼염 완충제의 농도(9.5mM)가 합성생리염수와 같다. 이 실험조건에서 $5.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-2}$ M 범위의 포도당용액에 대하여 pH가 6.0, 7.4 및 8.0일 때의 검정곡선을 구하여 Fig.

8에 나타내었으며, 이 그림으로부터 감응특성을 구하여 Table 2에 나타내었다. 이 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 pH가 7.4와 8.0일 때에 감응특성이 가장 좋았고, pH가 6.0일 때에는 감응특성이 조금 나빠졌다. 이것은 포도당이 산화될 때에 수소이온이 생성되므로 효소의 활동도가 최대로 되는 pH 6.5~7.5 부근으로 효소막 내부의 pH가 시료용액의 pH 7.4와 8.0보다도 낮아지게 되기 때문인 것으로 생각된다.

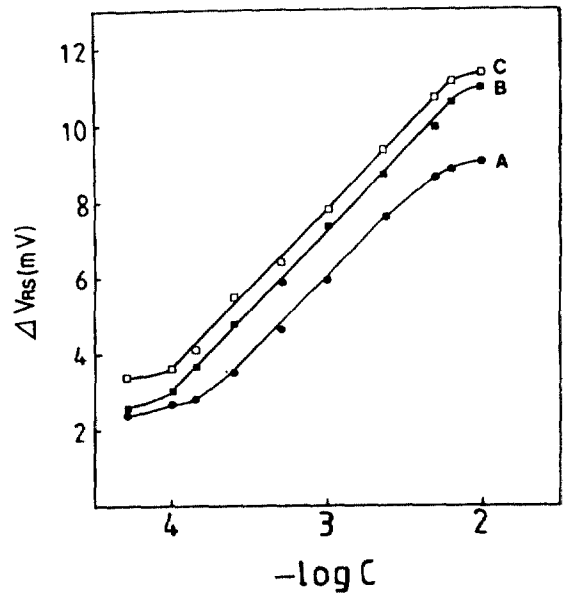


Fig. 8. Typical calibration curves of pH-ISFET glucose sensor for solution in 9.5 mM phosphate buffer.

(A) pH 6.0, (B) pH 7.4, (C) pH 8.0, condition; 45 mg GOD.

Table 2. Effect of pH glucose aqueous solution on response characteristics of pH-ISFET glucose sensor

pH	linear range (M)	sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
6.0	$3.0 \times 10^{-4} \sim 3.0 \times 10^{-3}$	3.8
7.4	$1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$	4.1
8.0	$1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$	4.1

V_{DS}: 1.2 V, I_{DS}: 30 A

3.5. 완충용액의 농도에 따른 감응특성

완충용액의 농도는 포도당센서의 감도에 직접적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹⁸. 따라서 본 실험에서는 이온세기(0.165) 및 pH(7.4)가 합성생리염수와 같고, $5.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-2}M$ 범위의 각 포도당용액에 대하여 인산염 완충제의 농도가 1.0, 2.5, 5.0 및 9.5mM인 용액을 만들었다. 이들의 각 용액에 대하여 출력전압의 변화값을 측정하여 Fig. 9에 나타내었으며, 이

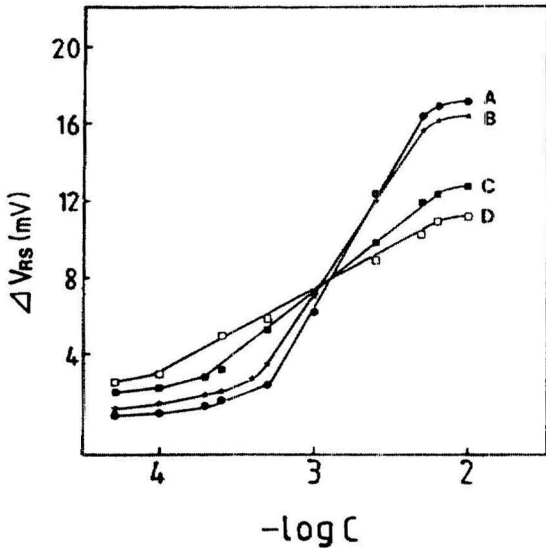


Fig. 9. Typical calibration curves of pH-ISFET glucose sensor for various concentration of phosphate buffer solutions(pH 7.4). (A) 1.0mM, (B) 2.5mM, (C) 5.0mM, (D) 9.5mM. condition; 45 mg GOD.

Table 3. Effect of concentration of phosphate buffer solution(pH 7.4) on response characteristics of pH-ISFET glucose sensor

buffer conc. (mM)	linear range (M)	sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
1.0	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-3}$	13.8
2.5	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-3}$	11.6
5.0	$2.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$	8.5
9.5	$1.0 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}$	4.1

$V_{DS} : 1.2 V, I_{DS} : 30 A$

그림으로부터 감응특성을 구하여 Table 3에 나타내었다. 이 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 완충용액의 농도가 묽을수록 직선감응 범위는 조금씩 좁아졌으나, 감도는 크게 커졌다. 포도당센서의 감도가 커지는 것은 완충용액의 농도가 묽을수록 완충용량이 작아지고, 게이트 계면의 pH 변화가 보다 크게 되기 때문인 것으로 생각된다.

Kimura 등⁸의 pH-ISFET 포도당센서는 pH 7.5의 0.01M 4-(2-hydroxyethyl)-piperazine-1-ethane-sulfonic acid(HEPES) 완충용액에서, Miyahara 등⁹은 pH 7.0의 0.01M 인산염 완충용액에서 센서의 감응을 조사하였다. 본 연구에서는 pH가 7.4이고, 완충제의 농도가 9.5 mM인 합성 생리염수를 본 실험에 사용하였으며, 이 용액에서 본 연구에서 개발한 pH-ISFET 포도당센서가 기존의 포도당센서의 감응특성보다도 낮음을 알 수 있었다.

4. 결 론

pH-ISFET에 GOD를 입혀서 포도당센서를 만들고, 감응특성을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 고평효소막을 만드는 데에 사용한 casting 용액 속의 효소의 양을 증가시킬수록 감응특성이 좋아졌고, 시료용액을 만드는 데에 사용하는 완충용액의 농도가 묽을수록 감도는 커졌다. pH 6.0~8.0 범위에서 시료용액의 pH 변화에 따른 감응특성을 조사하여 본 결과, pH 6.0~8.0 범위에서는 pH가 높을수록 감응특성이 좋았다. Casting 용액 속의 glucose oxidase를 45mg으로 하여 만든 pH-ISFET 포도당센서는 합성생리염수(9.5mM, pH 7.4)로 만든 시료용액에 대하여 직선감응 범위는 포도당의 농도가 $10 \times 10^{-4} \sim 6.0 \times 10^{-3}M$ 범위이고, 감도(감응기울기)는 4.1mV/decade였다. 감응시간은 농도에 따라서 다르며, 출력전압이 평형에 도달하는 시간은 12~15분 정도였으며, 약 4분 후이면 평형출력전압의 거의 90% 이상에 도달하였다.

감사의 글

본 연구는 경북대학교 센서기술연구센터와 과학기술처의 1990년도 연구비 지원에 의하여 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. R. P. Buck and J. Janata, "Proceedings of Physiological Sensors in Medicine: A Forum," Chap. 1. IVAC, San Diego, U.S.A., 1982
2. J. D. Czaban, *Anal. Chem.*, **57**, 345A(1985).
3. G. G. Guilbault, "Analytical Uses of Immobilized Enzymes," Chap. 1. Marcel Dekker, New York, U.S.A., 1984.
4. K. Mosbach, H. Nilsson, and A. Akerlund, *Biochem. Biophys. Acta*, **320**, 529(1973).
5. G. Nagy, L. H. von Storp, and G. G. Guilbault, *Anal. Chim. Acta*, **66**, 443(1973).
6. J. L. Romette, B. Froment, and D. Thomas, *Clin. Chim. Acta*, **95**, 249(1979).
7. C. Bertrand, P. R. Coulet, and D. C. Gautheron, *Anal. Chim. Acta*, **126**, 23(1981).
8. J. Kimura, T. Kuriyama, and Y. Kawana, *Sensors and Actuators*, **9**, 373(1986).
9. Y. Miyahara and T. Moriizumi, *ibid.*, **7**, 1(1985).
10. S. Caras, J. Janata, D. Saupe, and K. Schmitt, *Anal. Chem.*, **57**, 1917(1985).
11. G. Palleschi, M. A. Nabirani, G. J. Lubrano, J. N. Ngwainhi, and G. G. Guilbault, *Anal. Biochem.*, **159**, 114(1986).
12. S. Nakamoto, N. Ito, T. Kuriyama, and J. Kimura, *Sensors and Actuators*, **13**, 165(1988).
13. B. K. Sohn, *Proc. 2nd Seoul Int'l Symp. (Semicond)*, 149(1984).
14. 손병기, "감이온 전장효과 트랜지스트," *대한전자공학 회지*, **18**, 22(1982).
15. T. Matsuo and M. Esashi, "Methods of ISFET Fabrication," Department of Electronic Engineering, Tohoku University, Internal Report, 1980
16. R. G. Bates, "Determination of pH, Theory and Practice," 2nd Ed., Wiley, New York, U.S.A., 1973
17. D. D. Perrin and B. Dempsey, "Buffers for pH and Metal Ion Control," Halsted Press, New York, U.S.A., 1974
18. M. J. Eddows, D. G. Pedley, and B. C. Webb, *Sensors and Actuators*, **7**, 233(1985).
19. Y. Hanazato, M. Nakako and S. Shino, *IEEE Trans. Electron Devices*, **ED-33**, 47(1986).
20. T. T. Ngo and K. J. Laidler, *Biochim. Biophys. Acta*, **525**, 93(1978).
21. G. G. Guilbault and G. J. Lubrano, *Anal. Chim. Acta*, **64**, 443(1973).
22. T. Yao, *ibid.*, **148**, 31(1983).