

펌프의 작동요인에 따른 흐름주입식 바이오센서의 성능 검증

송대빈 정효석 이승규

Performance Evaluation of Flow Injection Type Biosensor According to Operating Variables of Pump

D. B. Song H. S. Jung S. K. Lee

Abstract

A flow injection type biosensor was tested to confirm the performance of a batch and a continuous type flow injection unit. Reproducibility and consistence of the biosensor were investigated to determine the effect of pulsations and air bubbles, and the applicability of on-line monitoring. The air bubbles affected the performance of the sensor irrespective of the location, and also the pulsations of the pump influenced the performance of the sensor. The applicability of on-line motoring was accepted as the result of the repeated and long-term measurements.

Keywords : Pump, Air bubble, Pulsation, Biosensor, FIA

1. 서론

흐름주입식 분석(FIA, Flow Injection Analysis)은 화학분석 시 사용되는 샘플링의 문제를 획기적으로 개선시킨 방법으로 특히 샘플 혼합에 의한 복합분석에 효과적으로 적용되는 기법으로 인식되고 있다. 흐름주입 분석 장치에서 가장 중요한 요소는 용액을 공급하는 펌프로 장치의 반복성, 안정성 및 정밀성에 직접적인 영향을 끼친다. 흐름주입식 분석에 관행적으로 사용되는 펌프는 연동펌프(Peristaltic pump), 주사기펌프(Syringe pump) 및 가스압력(Pressured bottle)을 이용한 펌프로 분류된다(Karlberg 등, 1989).

연동펌프는 회전하는 다수의 구슬이 튜브를 압축하여 용액을 토출하는 연속식 용액공급 장치로 흐름주입식 분석에 가장 많이 적용되어온 펌프로 최근에는 캠 회전형, 피스톤 왕복형 및 막 신축형 등 다양한 형태의 펌프가 적용되고 있다. 연속식 공급 장치는 용액을 연속적으로 공급하는 장점이 있는

반면, 용액의 흡입·토출에 의한 기계적 메카니즘으로 맥동이 발생된다. 흐름주입식 분석에서 펌프에 의한 맥동은 용액의 흐름을 불균일하게 하여 성능을 저하시키는 주요인이 된다. Francis 등(2002)은 맥동을 완화시키기 위해 최근에 적용되고 있는 다양한 방법(Sequential injection analysis, lab-on-value technology, bead injection, multi-commutation)들을 제시하였으며, Weeks 등(1996)은 기계적 메카니즘에 의한 맥동의 영향을 완화시키기 위해 솔레노이드 구동식 막 펌프(Solenoid-driven diaphragm pump)를 사용한 실험을 통하여 그 성능을 검증하였다.

주사기 펌프는 일정량의 원충용액을 주사기에 투입하고 피스톤을 전진시켜 공급하는 형태로 주사기 용량에 따라 공정이 단속되는 배치식 용액공급 장치로 맥동 발생의 우려는 없으나 용액 재 충전 시 부압으로 인해 공기방울이 장치 내로 흡입되는 문제가 발생된다. 공기방울은 압축 성질로 인해 기계적 메카니즘에 의한 것처럼 크지는 않지만 맥동을 발생시키며

This article was supported by ARPC, Agricultural R&D Promotion Center and submitted for publication in August 2005, reviewed and approved for publication by editorial board of in September 2005. The authors are Dae Bin Song, KSAM member, Associate Professor, Division of Agricultural Engineering, Gyeongsang National University/Institute of Agricultural & Life Science and Seung Kyu Lee, KSAM member, Professor, Division of Agricultural Engineering, Gyeongsang National University/Institute of Agricultural & Life Science. The corresponding author is S. K. Lee, Professor, Division of Agricultural Engineering, Gyeongsang National University, Jinju, 660-701, Korea; Fax : +82-55-762-0610; E-mail : <leesgyu@gsnu.ac.kr>

흐름 단면적을 감소시켜 유속을 증가시키는 문제를 일으킨다.

특히 효소를 사용하는 흐름주입식 바이오센서에서 공기방울과 맥동 현상은 센서의 성능에 직접적으로 영향을 미치는 중요한 작동 요인으로 공기방울의 형성과 발생정도, 맥동의 크기와 주기는 장치의 구성 형태, 작동 시간 및 반복 사용 등의 요인에 따라 다양하게 나타날 것으로 생각된다.

따라서 이 연구에서는 배치식과 연속식 완충용액 공급 장치의 성능 검증을 위해 공기방울과 맥동에 의한 영향 정도와 온라인 측정 기능 여부를 판단하기 위해 반복 및 재현성을 알아보았다.

2. 재료 및 방법

가. 실험 재료

1) 실험 장치

실험에 사용된 배치식 완충용액 공급 장치의 흐름주입식 바이오센서는 그림 1 및 2, 연속식 완충용액 공급 장치는 그림 3 및 4와 같이 구성되었다. 그림 1과 3에 표시된 2번 펌프 (syringe, diaphragm)에 의해 토출된 이송완충용액은 4번 인

젝션 밸브와 5번 전류측정 장치를 순차적으로 통과한다. 인젝션 밸브는 유로 선택에 따라 3번 펌프에 의해 기질과 1번 펌프에 의해 효소가 차례로 투입된다. 인젝션 밸브를 통과한 기질과 효소는 인젝션 밸브와 전류측정 장치 사이의 흐름 관로 내에서 혼합과 반응이 이루어지며 전류측정 장치의 전극봉 사이를 통과하여 배출된다. 전류측정 장치는 은과 백금으로 제작된 원형 전극봉과 전류계로 구성되었으며 기질과 효소 반응으로 생성된 과산화수소수의 양을 전류값으로 측정한다. 측정된 전류값은 자료수집 장치(Lab VIEW)를 이용하여 컴퓨터로 저장하였다. 실험에 사용된 장치의 상세한 규격은 표 1과 같다.

2) 실험 재료

센서성능은 포도당(D-glucose)과 효소(Glucose oxidase)를 사용하여 측정하였으며, Sodium phosphate(mono/dibasic), sodium chloride, 증류수를 사용하여 0.5 M의 Sodium phosphate 완충용액(pH 6.86, 10 mM NaCl)을 제조하였다. 포도당 용액과 효소용액은 증류수를 사용하여 제조하였다. 실험에 사용된 재료의 종류 및 상세한 규격은 표 2와 같다.

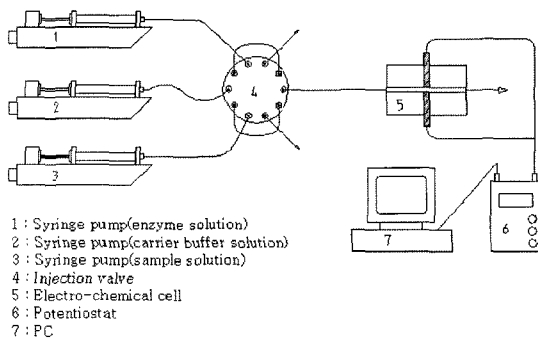


Fig. 1 Schematic diagram of batch type sensor.

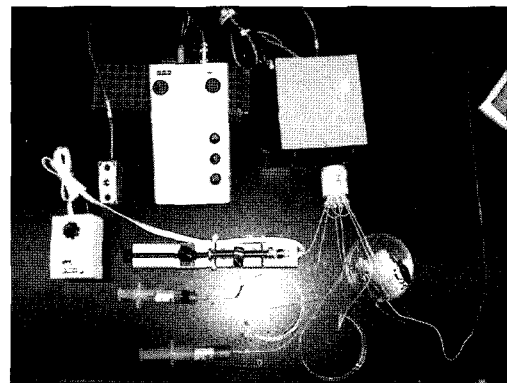


Fig. 2 Photograph of batch type experimental apparatus.

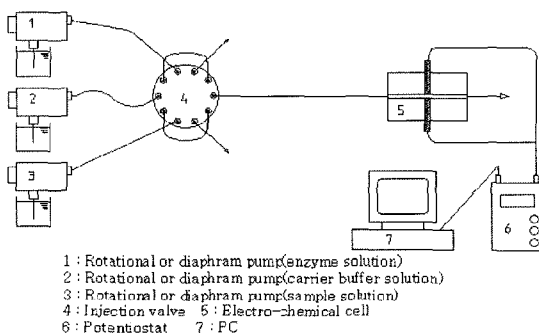


Fig. 3 Schematic diagram of continuous type sensor.

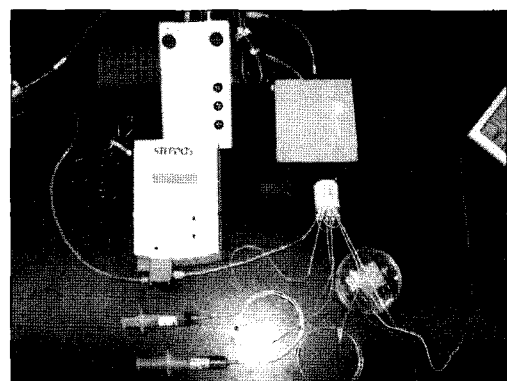


Fig. 4 Photograph of continuous type experimental apparatus.

Table 1 Specifications of experimental apparatus

Component	Specification	Remarks
Syringe pump	2.5 L, 25 μ L/min	BioAnalytical Systems, Inc.
Diaphragm pump	0.03-30 ml/min.	KNF Flodos
Injection valve	10port, C22Z-3180E	Valco Instrument Co. Ins.
Electrochemical cell		W. E. (platinum) R. E. (silver coated with AgCl)
Potentiostat	200 nA, +500 mV (Ag/AgCl). LC-3D	BioAnalytical Systems, Inc.
Data acquisition	Lab VIEW	National Instruments.

Table 2 Specification of the experimental materials

Descriptions	Specifications	Remarks
Glucose oxidase	EC 1.1.3.4, X-S, 245.9 U/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) 배치식 원충용액 공급 장치 성능 검증

- 공기방울에 의한 영향 파악

인젝션 밸브와 전류 측정용 셀 사이 유로와 전류 측정용 셀 내에 완전한 공간이 형성될 정도의 한 개의 공기방울을 만들어 동일 작동 조건(기질 농도, 유속)에서 전류값을 측정하여 공기방울에 의한 영향 정도를 파악하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 실험하였으며 상세한 실험 조건은 표 3과 같다.

- 온라인 측정가능 여부 판단

온라인 측정에 필요한 실험 장치의 재현성과 내구성 성능을 파악하기 위해 동일 작동 조건(기질 농도, 유속)에서 장시간 반복 측정(1일 1시간씩 6시간)과 장기간 반복 측정(1일 1시간씩 6일)을 실시하여 반복 및 장시간 사용에 따른 전류값 변화를 측정하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 실험하였다.

2) 연속식 원충용액 공급 장치 성능 검증

- 펌프 맥동에 의한 영향 파악

동일 작동 조건(기질 농도, 유속)에서 맥동이 없는 주사기 펌프와 맥동이 발생하는 연속식 펌프의 전류값을 측정하여 맥동에 의한 영향을 파악하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 실험하였으며 상세한 실험 조건은 표 4와 같다.

- 온라인 측정가능 여부 판단

온라인 측정에 필요한 실험 장치의 재현성과 내구성 성능

을 파악하기 위해 동일 작동 조건(기질 농도, 유속)에서 장시간 반복 측정(1일 1시간씩 6시간 동안 6회 반복 측정)과 장기간 반복 측정(1일 1시간씩 6일 동안 6회 반복 측정)을 실시하여 반복 및 장시간 사용에 따른 전류값 변화를 측정하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 실험하였다.

Table 3 Experimental conditions of bubble effect

Variables	Levels	Remarks
Electrode dia. (mm)	2 (\varnothing 1.0, \varnothing 1.4)	
Bubble	3 (Tube, Cell, None)	
Buffer velocity (cm/s)	1	\varnothing 1.0 : 0.1061 cm/s \varnothing 1.4 : 0.1179 cm/s

* Tube : bubble located in the tube between injection valve and electro-chemical cell.

* Cell : bubble located in electro-chemical cell.

* None : no bubble.

Table 4 Experimental conditions of pulsation effect

Variables	Levels	Remarks
Electrode dia. (mm)	2 (\varnothing 2.4, \varnothing 3.4)	
Pulsation	2 (With pulse, No pulse)	With pulse : diaphragm pump No pulse : syringe pump
Buffer velocity (cm/s)	1	\varnothing 2.4 : 0.0849 cm/s \varnothing 3.4 : 0.0433 cm/s

3. 결과 및 고찰

가. 배지식 완충용액 공급 장치 성능 검증

1) 공기방울에 의한 영향

완충 용액 주입펌프 및 센서장치 유로 중간에서 공기 흡입 시 공기방울에 의한 센서 성능의 변화를 파악하기 위해 유로 중간, 전류 측정 셀 내에 공기방울을 형성시켜 공기방울이 없었을 때의 전류값과 비교하였다. 표 5는 전극봉 지름 1.0, 1.4 mm에서 공기방울 영향에 의한 전류값을 측정할 결과로, 전극봉 지름 1.0의 경우 공기방울이 없을 때 전류값은 67.5 nA로 셀 내의 57.9 nA 보다는 크게 유로 중간의 74.0 nA 보다는 작게 나타났다. 전극봉 지름 1.4 mm의 경우 전류값 역시 111.5, 95.0, 125.9 nA로 동일한 경향을 보였다. 이처럼 공기방울은 전류값에 직접적인 영향을 끼치는 것을 알 수 있으며, 특히 전류 측정 장치 셀 내에 공기방울이 유로 내에 있을 때보다 더 많은 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이는 공기방울이 유로 단면적을 감소시켜 나타나는 현상으로 단면 감소는 유속의 변화를 초래하고, 유속의 변화에 따라 전류값이 변하는 것으로 판단된다. 유로중간에 공기방울이 있는 경우는 공기방울 부근에서 단면적 감소로 증가된 유속이 전극봉에 도달하기 전에 단면적 증가로 원래 유속으로 회복되지만, 셀 내에 공기방울이 있는 경우는 공기방울에 의한 단면 감소로 증가된 유속으로 전극봉을 지나기 때문에 전류값이 작게 나타난 것으로 판단되었다. 유로중간에 공기방울이 있

는 경우 전류값이 크게 나타난 이유는 공기방울 통과 전 흐름의 정체로 인한 효소와 기질의 반응시간이 길어졌기 때문으로 판단된다.

따라서 흐름 주입식 센서 장치에서는 외부 공기가 관로 내부로 흡입되지 않도록 주의 해야 하며 흡입된 공기를 장치 외부로 배출시키는 장치가 반드시 설치되도록 해야 할 것으로 판단된다.

2) 온라인 측정가능 여부 판단

그림 5 및 표 6은 센서장치의 반복 측정 성능을 위해 전극봉 지름 1.4 mm, 유속 0.1179 cm/s에서 1시간에 5회씩 5번에 걸쳐 측정한 전류값 변화를 측정값 분포와 각 시험구에서의 평균값으로 나타낸 것이다. 그림에서 첫 번째 1시간의 측정값 이외 나머지는 거의 동일한 값을 나타내는 것을 알 수 있다. 각 시험구 평균값의 표준편차는 2.40, 평균값은 99.01 nA로 나타났다.

그림 6 및 표 7은 센서장치의 장시간 사용 시 성능의 일관성을 확인하기 위해 전극봉 지름 1.4 mm, 유속 0.1179 cm/s에서 1일 1시간에 5회씩 6일에 걸쳐 측정한 전류값 변화를 측정값 분포와 각 시험구에서의 평균값으로 나타낸 것이다. 각 시험구 평균값의 평균은 99.02 nA, 표준편차는 2.74로 나타나 장시간 사용에 따른 측정 성능에 문제가 없음을 확인할 수 있었다. 특히 반복성 측정의 평균값과 장시간 측정의 평균값이 99.01, 99.02 nA로 거의 동일하게 나타나 센서의 반

Table 5 Currents of a sensor as air bubble

Electrode dia. (mm)	Bubble	Buffer velocity (cm/s)	Current (nA)					S. D.	Mean value (nA)
			1	2	3	4	5		
1.0	Tube	0.1061	72.3	68.2	77.4	77.7	74.5	3.9	74.0
	Cell	0.1061	61.1	59.2	56.1	55.6	57.5	2.2	57.9
	None	0.1061	63.3	71.7	70.4	65.4	66.5	3.5	67.5
1.4	Tube	0.1179	131.9	114.6	128.6	122.6	131.7	7.3	125.9
	Cell	0.1179	95.5	95.7	89.5	95.7	98.7	3.3	95.0
	None	0.1179	113.2	112.2	109.8	105.9	116.2	3.8	111.5

Table 6 Current of reproducible experiments

Current (nA)					S. D.	Mean value (nA)
1st	2nd	3rd	4th	5th		
102.90	96.36	98.12	98.68	99.00	2.40	99.01

Table 7 Current of consistent experiments

Current (nA)						S. D.	Mean value (nA)
1st	2nd	3rd	4th	5th	6th		
102.90	101.82	99.90	97.74	100.74	94.92	2.74	99.02

복 성능과 장기간 사용 시 내구성이 충분히 확보됨을 알 수 있었다.

나. 연속식 완충용액 공급 장치 성능 검증

1) 펌프 맥동에 의한 영향

표 8은 연속식 펌프를 사용하는 경우 수반되는 완충 용액의 맥동에 의한 영향을 알아보기 위해 전극봉 지름 2.4, 3.4 mm에서 맥동이 없는 주사기 펌프와 맥동이 있는 연속식 펌프의 전류값을 측정하는 것이다. 표에서 맥동 유무에 따라 전류값이 약 20 nA 정도로 매우 큰 차이를 나타내고 있음을 알 수 있다. 맥동이 있는 경우가 없는 경우에 비해 전류값이 크게 나타난 것은 전극봉 부근에서 효소기질 반응용액이 맥동의 영향으로 전·후진을 함에 따라 체류시간이 길어져서 나타나는 것으로 판단되었다. 따라서 연속식 펌프를 사용하는 센

서장치의 경우 맥동이 발생되지 않도록 펌프 선택에 주의를 기울여야 할 것으로 생각된다. 특히 전극봉 직경이 작은 경우 (1.5 mm 이하)에는 적은 유량에서도 맥동이 쉽게 일어나므로 주의해야 할 것으로 생각된다.

2) 온라인 측정가능 여부 판단

그림 7 및 표 9는 센서장치의 반복 측정 성능을 위해 전극봉 지름 2.4 mm, 유속 0.0849 cm/s에서 1시간에 5회씩 5번에 걸쳐 측정된 전류값 변화를 측정값의 분포와 각 시험구에서의 평균값으로 나타낸 것이다. 배치식의 경우와 동일하게 첫 번째 1시간의 측정값 이외 나머지는 거의 동일한 값을 나타내는 것을 알 수 있다. 각 시험구 평균값의 표준편차는 2.80, 평균값은 140.00 nA로 나타났다.

그림 8 및 표 10은 센서장치의 장시간 사용 시 성능의 일관

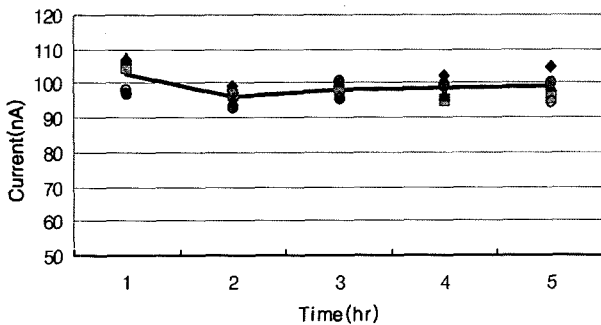


Fig. 5 Reproducible characteristic of batch type sensor.

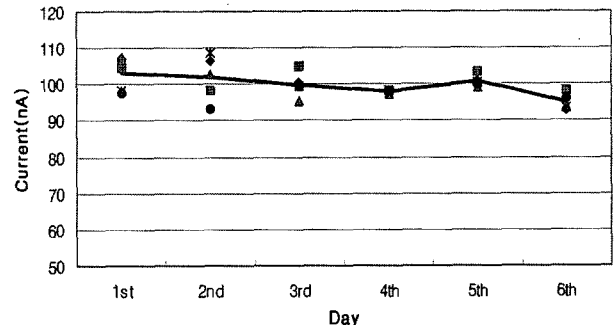


Fig. 6 Consistent characteristic of batch type sensor.

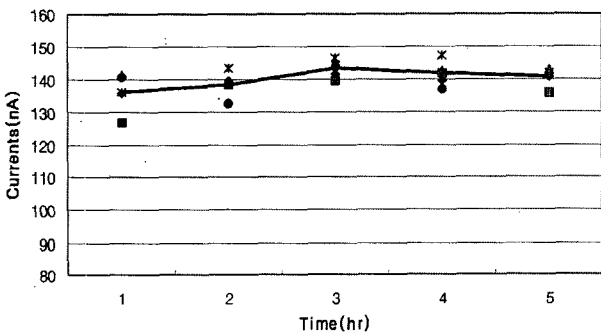


Fig. 7 Reproducible characteristic of continuous type sensor.

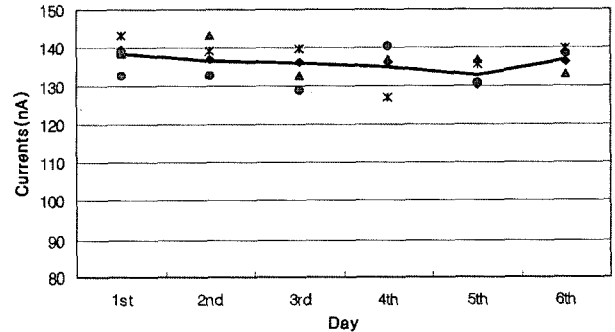


Fig. 8 Consistent characteristic of continuous sensor.

Table 8 Currents of a sensor as pulsation of diaphragm pump

Electrode dia. (mm)	Pulse	Buffer velocity (cm/s)	Current (nA)					S. D.	Mean value (nA)
			1	2	3	4	5		
2.4	no pulse	0.0849	120.1	125.9	123.7	119.5	124.5	2.8	122.7
	with pulse	0.0849	140.6	135.5	143.0	141.5	142.0	2.9	140.5
3.4	no pulse	0.0433	31.5	28.2	30.6	27.4	28.2	1.8	29.2
	with pulse	0.0433	47.9	40.2	48.9	46.9	46.4	3.4	46.1

Table 9 Current of reproducible experiments

Current (nA)					S. D.	Mean value (nA)
1st	2nd	3rd	4th	5th		
136.06	138.48	143.22	141.68	140.52	2.80	140.00

Table 10 Current of consistent experiments

Current (nA)						S. D.	Mean value (nA)
1st	2nd	3rd	4th	5th	6th		
138.48	136.54	135.96	135.12	132.66	136.86	1.68	135.43

성을 확인하기 위해 전극봉 지름 2.4 mm, 유속 0.0849 cm/s 에서 1일 1시간에 5회씩 6일에 걸쳐 측정된 전류값 변화를 측정값 분포와 각 시험구에서의 평균값으로 나타낸 것이다. 각 시험구 평균값의 평균은 135.43 nA, 표준편차는 1.68로 나타나 장시간 사용에 따른 측정 성능에 문제가 없음을 확인할 수 있었다. 따라서 배치식 주입장치의 경우와 마찬가지로 센서장치의 반복성과 내구성에 아무런 문제가 없음을 다시 확인할 수 있었다.

4. 요약 및 결론

흐름주입식 바이오센서에서 배치식과 연속식 완충용액 공급 장치 성능 검증을 위해 공기방울과 맥동에 의한 영향 정도와 온라인 측정 가능 여부를 판단하기 위해 반복 및 재현성능을 알아보았다.

배치식 장치에서 발생 가능성이 큰 공기방울의 경우 발생 위치에 관계없이 센서 성능에 큰 영향을 미치는 것으로 나타나 유로 내 공기 배출 장치가 필요한 것으로 확인되었다. 연

속식 장치에서 나타나는 맥동 역시 센서 성능에 큰 영향을 미치는 것으로 나타나 완충용액 유속 선택 시 주의해야 할 것으로 확인되었다. 반복 및 장시간 측정에 따른 실험 결과, 반복 간 및 장시간 사용에 따른 전류값의 변화는 배치식과 연속식 모두 큰 차이를 나타내지 않아 온라인 측정 가능성을 확인할 수 있었다.

참고 문헌

- Francis, P. S., Lewis, S. W., Lim, K. F., Carlsson, K. and Karlberg, B. 2002. Flow analysis based on a pulsed flow of solution : theory, instrumentation and applications. *Talanta*. 58: 1029-1042.
- Karlberg, B. and Pacey, G. E. 1989. *Flow Injection Analysis-A Practical Guide*. Elsevier Sci. Pub. Co. Inc.
- Weeks, D. A. and Johnson, K. S. 1996. Solenoid pumps for flow injection analysis. *Anal. Chem.* 68:2717-2719.