

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁸
C12Q 1/26 (2006.01)

(45) 공고일자 2006년01월10일
(11) 등록번호 10-0541266
(24) 등록일자 2005년12월29일

(21) 출원번호 10-2003-0035005
(22) 출원일자 2003년05월30일

(65) 공개번호 10-2003-0047970
(43) 공개일자 2003년06월18일

(73) 특허권자 (주) 테크포엠
경기 성남시 중원구 상대원동 442-17 쌍용아이티트윈타워 에이동 407호

(72) 발명자 윤석호
서울종로구구기동230-19형인스카이빌303호

이동훈
서울송파구풍납동우성아파트5동905호

김홍석
서울시강남구개포동주공아파트601동1106호

송지혜
경기도성남시분당구이매동성지아파트702동1502호

정홍식
서울강남구포이동253-3번지아주빌라나동302호

김희찬
서울강동구명일2가44번지성동아아파트1동1302호

(74) 대리인 특허법인 율촌

심사관 : 장제환

(54) 경피 글루코스 측정용 전극의 조성

요약

역이온삼투 현상을 이용하여 피부 조직을 통해 체액을 추출하여, 추출된 물질 내의 글루코스 농도를 안정화로 체내 글루코스 농도, 즉 혈당량을 유추할 수 있는 기술을 구현함에 있어, 글루코스 산화효소를 포함하는 글루코스 측정 장치의 하이드로겔 내에서 발생하는 최종 화학 생성물인 과산화수소를 직접 접촉하는 전극의 성능은 전체 기기의 성능을 좌우하는 중요한 요소이다. 이에 본 발명에서는 전극의 성분 물질을 백금(Pt)과 탄소(C)로 정하고, 이들 물질의 조성에 따른 성능 변화를 관찰하여 최적의 조성을 찾아 글루코스 측정용 전극 물질의 성능을 최대화하였다.

대표도

도 2 작업전극의 조성에 따른 측정전하량 함수 곡선

색인어

역이온삼투압, 바이오센서, 전극, 경피추출, 과산화수소, 글루코스, 혈당, 백금, 탄소

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 역이온삼투압 경피 추출형 글루코스 모니터에 장착되는 전극 시스템으로

A는 추출전극

B는 작업전극

C는 상대전극

D는 기준전극이다.

도 2는 작업전극의 구성에 따른 측정전하량 함수 곡선이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 인체의 표피 근처에 존재하는 체액 중 일정 생화학 성분을 추출하여, 그 농도를 모니터하는데 사용되는 경피추출형 바이오센서의 구성요소 중 전기신호를 발생하는 작업전극(working electrode, WE), 상대전극(counter electrode, CE), 기준전극(reference electrode, RE)에 관한 것이다. 본 발명의 중요한 적용으로는 비침입식 경피 혈당 모니터 시스템이 있다.

당뇨병은 인슐린 분비 부족이나 인슐린에 대한 세포반응성 저하로 인해 음식물이 소화되어 얻어지는 글루코스(포도당)가 인체 내 혈액에 축적되며 동맥경화증 고혈압 뇌혈관 경색증과 같은 심혈관계 질환, 당뇨병성 신증과 같은 신장 질환, 당뇨병성 망막증이나 백내장과 같은 안질환, 농피증이나 괴저와 같은 피부질환, 치주농루와 같은 구강질환 등의 합병증을 유발하는 난치성의 질환이다. 사회 경제적인 발전이 이루어지면서 과식, 운동부족, 스트레스 증가 등으로 인하여 당뇨병 인구는 현저히 증가하는 추세이며, 선진화되어있는 국가의 경우 전체인구 대비 5~10%가 당뇨병 환자로 추정되고 있으며, 이들 중 50%가량은 본인이 당뇨병 환자임을 인식하지 못하고 있는 상황이다. 당뇨병환자는 기본적으로 공복시와(허용 최대치 140 mg/dL), 식후 2시간(허용 최대치 200 mg/dL) 혈당량을 주기적으로 모니터함으로써 자신의 혈당량을 관리하는 것이 권장되고 있다. 이 외에도 전신 상태, 섭취하는 음식물의 종류와 양, 나이, 합병증의 유무, 스트레스, 기타 동반된 질환 등 많은 여건들에 의하여 하루 중에도 혈당의 변동이 심하므로, 당뇨병환자의 자가혈당 검사 및 관리하는 환자의 건강 유지 및 합병증 예방에 매우 중요한 요소라고 할 수 있다.

종래의 혈액내 글루코스, 즉 혈당의 모니터 방법은 주로 채혈식에 의존해 왔다. 즉 손가락 끝이나 기타 신체 특정부위에서 채혈침을 사용하여 혈액을 채취하는 방식으로 단발성의 검사만 가능한 단점이 있다. 또한 채혈식 혈당 모니터 시스템은 채혈시의 고통이나 불편감으로 인하여 짧은 주기로 혈당을 측정할 수 없는 불편이 있다. 이러한 불편을 제거하고, 연속적인 혈당 측정을 시도하기 위하여 다양한 방법의 연속측정형 혈당측정 시스템이 개발 중에 있다. 피하조직에 삽입하는 미세바늘형 혈당센서(미국의 MiniMed사)와 역이온 삼투요법을 사용하는 피부패취형(Cygnus사)의 2가지 제품이 사용되고 있으나 개선의 여지가 남아있고 그 사용이 널리 확산되고 있지 못한 상황이다. 이밖에도 압축가스, LASER, MEMS 기술로 제작한 미세바늘 등을 이용하여 피부의 최상층(stratum corneum)에 미세 구멍을 내고 이를 통하여 세포간질액(Interstitial Fluid)을 연속적으로 추출하는 방식의 연구개발이 진행중에 있다.

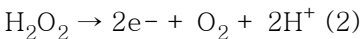
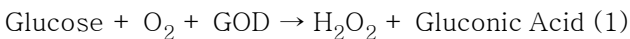
따라서, 간편한 비침습형 자가 혈당 측정 시스템의 발명 및 적용이 본 기술분야에서 요구되고 있으며, 특히 그 핵심 요소라고 할 수 있는 분석 전극의 발명이 요구되는 정도는 매우 크다고 할 수 있다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

피부조직에 미량의 직류 전류를 가하여 음극쪽 성분을 분석하면 Na^+ , K^+ 등의 양이온들과 중성의 글루코스 분자 성분이 추출되는 것은 잘 알려진 사실이다. 이러한 작용을 역이온삼투라 하며, 추출된 이들 글루코스 분자 성분은 혈액내의 글루코스 농도의 변화에 대해 상관 관계를 가지고 변화한다. 따라서 추출된 글루코스 농도를 측정하여 신뢰성 있는 혈당량을 추산하는 것이 가능하다.

전극에 전류를 인가하여 글루코스와 같은 생화학물질을 추출하고자 할 때, 전극과 피부사이에는 글루코스 산화효소 (Glucose Oxidase)와 같이 최종생성물이 과산화수소인 효소가 내부에 고정되어 있는 하이드로겔이 위치한다. 하이드로겔은 폴리에틸렌옥사이드, 폴리아크릴산, 폴리비닐알코올, 폴리아크릴아미도메틸프로판술폰산 등의 고분자 또는 이들의 공중합체로 이루어져 있다. 이들 고분자 하이드로겔은 공기에 과다히 노출되어 있지 않은 경우, 수 시간(약 12~24시간) 함수율을 유지하여 내부환경을 일정히 유지할 수 있다. 이 하이드로겔 내에 중성의 생리학적 완충용액(Phosphate Buffer Saline)이 존재할 경우, 약간 양 생성된 산이나 반응물의 농도에 관계없이 글루코스 산화효소의 활성을 유지할 수 있다. 따라서 수회(약 70회/1일 이상)에 걸쳐 유효한 추산 혈당량을 계측할 수 있다.

전기삼투압방식으로 피부를 통하여 체외로 추출되어 하이드로겔 내로 이동된 성분들 중 글루코스를 선택적 반응성이 있는 산화효소(Glucose oxidase)를 이용하여 아래의 반응식과 같이 과산화수소(H_2O_2)로 만들어 (1), 전기화학적인 방법으로 분석하면 (2), 체내의 글루코스를 추산할 수 있다.



이 방법을 적용하였을때, 생체로부터 추출된 글루코스를 분석할 수 있는 최소량은 수십 내지 수백분의 1 nmole 까지도 가능하다. 이때 감도, 분해능, 최소검출한도, 신호 대 잡음비(S/N) 등의 시스템 성능을 결정하는 요소에는 여러 가지가 있으나 그 중에서도, 생성된 과산화수소를 분해하여 전자를 생성하는 전극의 화학적 조성의 중요성은 매우 크다. (2)의 반응이 완결되기 위해서 작업전극, 기준전극, 상대전극 으로 구성된 포함하는 3상전극계를 이용한다. 이 3 종류의 전극들 중 (2) 반응이 직접 발생하는 위치는 작업전극의 표면이다. 작업전극으로는 백금 전극이 사용될 수 있으나, 백금전극을 단독으로 사용하는 것 보다 탄소를 첨가하는 것이 물리, 화학적인 잇점을 가져올 수 있다.

본 발명에서는 여러 가지의 백금 대 탄소 조성비를 가지는 작업전극을 스크린법으로 인쇄 제작하여 각각의 성능을 확인하여 글루코스 정량분석을 위한 최적의 조성을 얻는 것을 목적으로한다. 즉 피부를 통해 체액 에서 역이온삼투압으로 추출된 글루코스 양을 측정하는 바이오 센서 시스템에, 위에서 얻어진 최적의 조성을 갖는 작업전극을 적용하고자 한다.

발명의 구성 및 작용

전극은 도 1에 나타나 있는 형태와 같으며, A는 추출전극,B는 작업전극, C는 기준전극, 그리고 D는 상대전극이다. A와 C는 은/염화은(Ag/AgCl) 혼합물이 유기용매에 분산되어 있는 잉크를 스크린 프린트 방법으로 인쇄한 것이며, 그 두께는 100 μm 정도이며, B와 D는 적절한 비율로 혼합된 백금/탄소 혼합물이 유기 용매에 분산되어 있는 잉크를 스크린 인쇄법으로 그 두께가 100 μm 정도가 되도록 프린트한 전극이다. 이들 전극은 유전체인 세라믹이나 폴리머 물질의 기판위에 인쇄되어, 용매를 모두 휘발시킬 수 있는 온도에서 열처리하여 제작한다.

백금과 탄소의 비율은 다음 표1과 같이 정하여 B와 D전극을 제작하였다.

표 1

구분	백금(wt%)	탄소(wt%)
1	10	90
2	30	70
3	50	50
4	70	30
5	90	10
6	95	5
7	100	0

이와같이 제작되는 작업전극이 글루코스 분석 바이오센서용 전극으로 사용되기 위해서는 전기화학적으로 제한된 특성이 요구된다.

우선, 통상적인 3상전극계 일정전위 조건하에서, 하이드로겔이나 PBS 용액과 같은 매질이 전극위에 있을 때, 초기 구동시 포화되어 안정화되는 산화 전류값이 작을수록 바람직하다. 이는 피부 조직을 통해 추출된 글루코스 분자는 저농도로 검출되는 전기 신호가 작기 때문에 전류값을 바탕신호에서 효율적으로 구분하기 위해서는 안정화 전류값은 작을수록 바람직하다.

또한, 같은 농도의 글루코스 또는 과산화수소 양에 대해 상대적으로 높은 전류 신호를 발생시킬수록 좋은 전극이라고 할 수 있다. 이는 위에서 언급한 안정화값의 영향과 더불어 노이즈로부터 글루코스에 의한 전류 신호를 구분하는 것이 중요하기 때문이다.

마지막으로 같은 농도의 글루코스 또는 과산화수소 양에 대하여 작은 값의 노이즈를 가져야 한다. 통상 위와 같은 또는 유사한 전극 구조와 하이드로겔을 이용하여 경피 추출 글루코스에 의한 신호값은 대개 수 내지 수백 nA에 불과하므로, 수nA 크기의 노이즈도 결과 분석에 심각한 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 노이즈의 크기 또는 신호 대 잡음비(SNR)가 클수록 좋은 전극이라고 할 수 있다. 신호 대 잡음비는 다음 (3)식과 같다.

$$SNR = 10 \times \log_{10}(S/N) \quad (3)$$

여기서 S는 신호의 크기, N은 노이즈의 크기이다.

〈실시예1〉

글루코스용 바이오센서에서 전극 조성비에 따른 글루코스 산화전류 성능 평가 도 1과 같은 구조를 갖는 전극위에 동일한 두께의 동일 배치 하이드로겔을 이용하여 평가 장치를 구성하였다. 하이드로겔은 HPMA와 DMA의 공중합체이며, 여기서 HPMA/DMA의 공중합비는 1~9였다. 작업전극의 형태는 특별히 원형으로 한정하지는 않으나, 이 실시예에서 사용한 작업전극은 10mm의 직경을 가진다. 전기화학적 반응을 유도하고, 위의 반응을 통하여 발생한 전자의 흐름, 즉 전류를 측정하기 위하여 일정전위공급기(Potentiostat)를 사용하였다. 즉, 100μM의 글루코스가 (1), (2)의 반응을 통하여 GOD(Glucose Oxidase)와 반응하여 발생하는 과산화수소에 의한 전류변화를 통하여 글루코스 농도를 측정하였다.

이때 안정화 전류값은 충분한 시간이 지난 후 안정된 후에 얻었으며, 그 값은 아래 표2 와 같다.

표 2

구분	안정화전류 (nA)
1	-17.5
2	-19
3	-28
4	-33
5	-35
6	-51
7	-41

음의 안정화전류가 충분히 안정된 후에 100 μ M 글루코스 용액 일정량을 하이드로겔 위에 도포하였다. 이후에 하강한 후 다시 안정화값에 도달하였을 때, 안정화값 아래 곡선을 적분하여, 글루코스에 의한 전하량 생성량을 측정하였다. 이 전하 생성량은 같은 전극에 대해서는 주입한 글루코스의 농도와 직선적인 함수관계가 있다.

그 결과는 도 2에 나타내었다.

전류신호가 거의 안정화값에 도달하였을 때 모든 전극에서 노이즈 폭은 최대에 달하였고, 그 값은 아래 표3와 같다.

표 3

구분	노이즈 폭 (nA)	SNR(db)
1	1.5	10.6
2	2.1	9.6
3	1.8	11.9
4	2.3	11.6
5	4.2	9.2
6	6.5	8.9
7	10.0	6.1

신호 대 잡음 비는 백금이 탄소에 비해 50%, 70%일때 가장 좋았으며 백금의 함량이 많아 질수록 증가하였다. 노이즈 폭과 신호 대 잡음 비를 고려할 때에 백금이 50% 내지 70%의 함량일 때에 최적의 성능임을 알 수 있다.

발명의 효과

본 발명의 전극을 기준전극, 작업전극, 상대전극을 포함하는 3전극계 글루코스 추출용 바이오센서에 적용시킬 경우 최적의 생체 혈당 농도 분석을 수행할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

역이온삼투압 방식의 경피 바이오센서의 핵심 부분으로 최종생성물의 반응이 직접 일어나는 작업전극으로서, 직경이 10 mm인 원형의 작업전극을 사용할 때, 글루코스 산화효소가 내장된 HPMA(Hydroxypropylmethacrylate)와 DMA((N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate)를 HPMA/DMA비가 1~9로 공중합한 공중합체로 이루어진 하이드로겔을 부착하여 100 μ M 글루코스 용액 3 μ L를 가하여, 안정화 전류가 35nA이하, 노이즈는 4nA이하, 신호 대 잡음비는 9이상인 것을 특징으로 하는 역이온삼투압 경피 바이오센서용 작업전극.

청구항 2.

청구항 1에 있어서, 구성 성분이 백금과 탄소 혼합물인 것을 특징으로 하는 작업전극

청구항 3.

청구항 2에 있어서, 백금과 탄소의 조성비가, 백금의 중량비를 기준으로 50 ~ 70%인 것을 특징으로 하는 작업전극.

청구항 4.

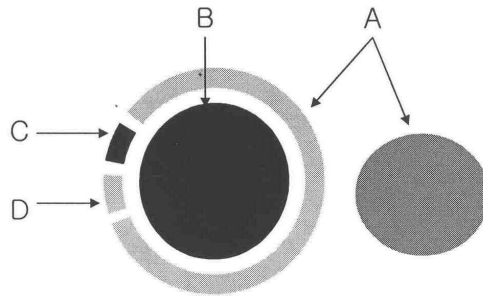
청구항 1에 있어서, 작업전극이 비전도성매체 위에 인쇄되어 있는 형태인 것을 특징으로 하는 작업전극.

청구항 5.
삭제

청구항 6.
삭제

도면

도면1



도면2

