

## 소산파 생체 광 센서

박선희,

한국전자통신연구원 원천기술연구본부

shp@etri.re.kr

### I. 서론

생체 센서 (biosensor)란 생체 인식 요소를 구체화시킨 감지기 라고 정의할 수 있다. 생체 센서 중에서도 특히 혈액, 소변, 침 과 같은 생체 액체 성분이나 내쉬는 숨과 같은 기체 생체 성분을 분석하고 정량화하기 위한 생화학적 생체 센서는 최근에 급속한 발달을 하고 있고 이에 따라 이제까지는 시도해 볼 수 없었던 새로운 개념의 질병 진단 체계가 도입되고 있다. 이제까지 병원의 임상 병리에서 주로 쓰이고 있는 생체 성분 분석은 방사선 동위원소 면역 분석<sup>(1)</sup> (Radio immunoassay) 방법인데 이는 항체 등에 붙인 방사선 동위원소의 붕괴 시 나오는 감마선의 세기를 감지하여 성분을 정량화한다. 여기에는 방사선 물질 취급상 사용자가 제한적인 불편함이 있다. 두 가지 방법 모두 장비가 고정 배치되어 사용되기 때문에 휴대성과 같은 편리함이 없어서 일반 의사도 사용하기 어려운 점이 있다. 높은 감도, 실시간성, 경제성, 휴대성을 추구하는 생화학적 생체 센서는 이제 진단에 도입되기 시작하여 무한한 가능성을 열고 있다.

생화학적 생체 센서는 여러 형태로 구현되지만 일반적으로 두 가지 요소로 구성되어 있다. 하나는 생화학적 요소로서 목표 물질을 인식하기 위한 한 가지 혹은 그 이상의 생체 분자 (Biomolecule)와 신호 생성용 분자이다. 생체 센서에 흡착시키는 생체 분자에는 항체, 효소, 수용기 (Receptor), DNA probe, 이온투과 담체<sup>(2)</sup> (Ionophore)등이 있고 신호 생성용 분자에는 형광 물질이나 도핑용 염색재료 등이 있다. 다른 한 가지 요소는 변환기 (Transducer)로서 생체 성분과 생체 분자의 결합의 정도를 측정하는데 이에 따라 크게 3 종류의 센서가 존재한다. 하나는 음향파 (Acoustic wave)를 이용하여 주로 생체 성분과 생체 분자의 결합 전 후의 질량의 차이를 재는 압전<sup>(3,4)</sup> (Piezoelectric) 센서, 그리고 항체가 코팅된 전극 (Electrode)과 기준 전극의 전위차를 재는 전기 센서<sup>(5)</sup>, 마지막으로 생화학적 센서로서는 가장 역사가 짧지만 최근에 눈부신 발달을 하고 있는 광학 기술과 광 통신 기술의 응용 분야로서 활발한 연구가 진행되고 있는 광 센서<sup>(6,7)</sup>이다. 광 센서는 생체 성분과 생체 분자의 결합물의 광 특성을 이용하는데 앞의 두 가지 센서가 지니고 있는 전자기파 복사에 의한 영향, 간섭 등의 결점이 없고 또한 실시간성, 고감도, 소형화 가능성의 광 특성으로 차세대 생체 센서로서 주목을 받고 있다. 이 글에서는 생체 광 센서에서도 고감도의 특성을 지닌 소산파<sup>(8)</sup> (evanescent wave) 광 센서의 기본 개념과 관련 실험 장비 및 장치에 관하여 소개하기로 한다.

### II. 소산파 광 센서: 파이버형 광 센서 및 표면 플라즈몬 공명 센서

생체 광 센서의 가장 대표적인 양상으로서 광 파이버 센서가 있다. 광 파이버 자체가 빛을 운반하면

서 센서의 역할을 하고 있다. 센싱 부분은 광 파이버의 클래딩(cladding) 을 벗겨내어 코어(core) 부분을 표면처리 한 후 항체 등의 생체 분자나 형광 물질 등의 신호 생성 분자를 코어 표면에 고정화하게 (Immobilize) 된다. 광 파이버 센서는 소산파 (evanescent wave)의 흡수나 형광 원리에 기반한다. 광 파이버의 코어를 따라 가이드 되는 빛이 코어와 클래딩 접면에서 전반사 되는 곳에서 양자 효과에 의하여 굴절률(refractive index)이 낮은 클래딩에 정상파 (Standing wave)인 소산파를 남기게 된다. 소산파는 정상파로서 접면에서 지수함수적으로 세기가 감소한다. 즉, 투과깊이

$$d = \frac{\lambda}{2\pi\sqrt{(n_1^2 \sin^2 \theta - n_2^2)}} \text{로 존재하게 된다.}$$

여기서  $\lambda$  는 입사광의 파장,  $\theta$ 는 입사광의 각도, 그리고  $n_1$  및  $n_2$ 는 각각 코어와 클래딩의 굴절율 이다. 클래딩이 벗겨진 부분의 코어는 측정하고자 하는 혈액 등에 노출되게 되는데 이 때 코어 밖으로 나온 소산파가 흡수되게 된다. 가장 간단하게는 흡수되는 소산파의 양에 따라 측정하고자 하는 생체 성분의 양도 달라지는 소산파 흡수 분석 방법과 그리고 이보다 최고 100배 정도의 감도를 향상시킬 수 있는 소산파 형광 분석<sup>(9,10)</sup> 방법이 있다. 이러한 고감도로 소산파 형광 분석 방법은 광 센서에서 가장 널리 쓰이고 있는데 대표적인 방법은 그림 1과 같다. 우선 광 파이버의 클래딩을 벗긴 다음 코어를 점점 가늘어 지게 (tapered) 만든다. 이는 소산파를 코어 밖으로 더 많이 유도하기 위해서 인데 여기에 타원으로 표시된 항체 등의 생체 분자와 형광 물질을 고정화 시킨다. 생체 성분과 생체 분자가 결합을 하게 되면 형광 물질이 활동하여 흡수한 소산파 보다는 더 긴 파장의 빛을 낸다. 이 형광 빛의 세기를 광 검출기 (Photodetector) 등으로 검출하여 생체 성분의 양을 측정하게 되는 것이다.

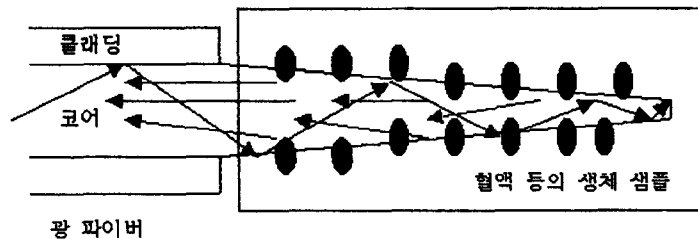


그림 1: 광 파이버 형광 분석

이와 같은 파이버형 광 센서는 사용의 편리성 때문에 혈액 속의 Ph 농도, 산소 농도, 특정 단백질 농도 등의 의료 진단 관련 측정 뿐이 아닌 환경, 식품 검사 등에도 사용되고 있다. 즉 바닷물의 적조 정도, 대기 중의 이산화탄소 농도, 식품 속의 살모넬라 균의 농도, 독극물 농도 등의 측정에 매우 광범위하게 사용될 수 있는 가능성이 있어서 이에 대한 연구가 폭 넓게 진행되고 있고 일부는 상용화되어 있다. 이러한 파이버형 뿐 아니라 사용목적에 따라 광 도파로 형, 원통형 등 여러 가지 형태로 구현될 수 있으며<sup>(11,12)</sup> 샘플의 특징에 따라 흡수, 형광, 간섭 등의 다양한 감지 모드로도 구현된다.

소산파를 이용한 광 센싱의 또 다른 대표적인 양상은 표면 플라즈몬 공명<sup>(13,14)</sup> (SPR: Surface Plasmon Resonance) 방법이다. 광 도파로를 지나는 빛의 내부전반사에 수반되는 소산파는 그 세기의 수직거리에 따른 지수함수적인 감소로 인해 액체/기체의 농도 및 고체시료의 두께 (굴절율)에 매우 민감한 변화를 보인다. 특히 광도파로 표면에 수십 nm 정도의 매우 얇은 Au, Ag 등의 금속 (Free-electron

model이 적용 가능한 금속)을 입혔을 때 표면 전자기파가 생성되는데 이 표면 전자기파와 소산파의 진동수의 한 성분이 일치할 때 소산파의 대부분이 표면 전자기파로 흡수되는 현상을 이용한 것이다. 이렇게 소산파가 금속표면의 플라즈몬 모드에 공명 흡수되는 현상을 표면 플라즈몬 공명 (Surface Plasmon Resonance: SPR)이라 한다. 그리고 이 공명이 일어나는 조건 (입사각, 입사파의 파장, 입,반사파의 위상차 등)은 금속표면에 접촉하고 있는 시료의 농도에 따라 민감한 변화를 보이는데, 이를 이용하여 생체 성분의 농도변화를 측정하는 것이 SPR을 이용한 센서기술의 원리이다. 물론 SPR은 시료의 물리적 성질에만 변화를 보이므로 화학센서로서의 기능을 하려면 센서 표면에 시료에 대한 특이성을 부여할 수 있도록 항원-항체 반응 등의 표면처리를 하여야 한다.

SPR 측정에서는 각도 변화에 대한 반사율의 측정이 resolution  $10^{-7}$ RIU 로서 감도가 뛰어난 방법이다. 본 글에서는 액체 샘플의 SPR 측정을 위하여 본 실험실에서 수행된 실험 장비 및 조건을 소개한다. 우선 입사광의 운동량을 플라즈몬의 x-축 파수벡터에 맞추기 위한 유전체로서 프리즘이 필요하다. 프리즘 위에 금속 코팅을 직접 할 수 있지만 경제성에 비추어 Microscope cover glass 등을 일반적으로 사용한다. 본 실험실에서는 코팅, 증착공정, 두께측정 등에 thermal evaporator, quartz crystal thickness monitor, alpha-step을 각각 이용하였다. 금속코팅 된 cover glass를 프리즘에 붙이는 데는 저 점도의 index matching fluid를 사용하였고 프리즘과 cover glass, 그리고 sample cell등을 하나의 센서 모듈로 만들기 위해 Acetal로 프리즘의 지지 및 액체 샘플의 순환을 위한 inlet/outlet을 장착한 sample holder를 제작하였다. 그림 2는 본 실험실에서 제작한 SPR 센서 모듈이다. 액체시료의 이송을 위하여는 digital setup이 가능한 연동펌프를 사용하였다. 실험 setup으로는 먼저 입사광의 광원으로 He-Ne laser를 사용하였고, 이를 polarizing cube beam splitter에 투과 시켜 TM-mode light를 SPR-module에 입사 시켰다. SPR-sensor 모듈은 PC로 제어되는 4-channel DC-drive motion controller를 이용한 두 개의 rotation stage로 이루어진 마운트 중 아래에 위치한 stage위에 고정시켰으며, 반사율 측정을 위한 Si-photodiode는 위 쪽의 stage에 고정시켰다. Optical power meter를 이용하였고 GPIB bus를 이용하여 power meter의 data buffer에 기록된 값을 PC로 읽게 하였다. Sequential motion control/data acquisition을 동시에 조절하기 위해서 LabView를 이용한 DAQ시스템이 구성되었다. 이 DAQ시스템에서는 최소 이동각도, scan되는 각도의 범위, 속도, 운동모드 등의 파라미터 설정이 가능하다.

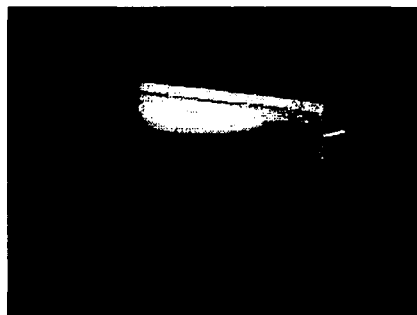


그림 2 : SPR 센서모듈

SPR 센서모듈 및 각도를 변환시키는 구동장치 등은 모두 표면 플라즈몬의 공명 흡수에 의한 반사율의 최소점을 잘 나타내어야 하는데 여기에는 몇 가지 어려운 점이 있다. 첫번째로, 이론적인 계산에 의하면 예를들어  $n=1.33$ 인 DI-water의 경우, 공명각이 약  $72.2^\circ$ 로 액체 샘플의 경우에는 비교적 넓은 측정 각의 window를 지녀야 한다. 따라서 SPR 센서모듈과 각도 구동의 방법 (Rotation stage의 조합 방

법 등)을 가능한 넓은 범위의 각도를 scan할 수 있도록 하거나 프리즘과 cover glass, index matching fluid등의 유전체를 고 굴절율을 가진 매질들을 사용하여야 한다. 두 번째로는 공명 최소값을 낮추기 위하여 주변광으로 인한 noise를 적절히 차단하고 TM-mode/TE-mode (P-/S-mode)의 광량의 비(ratio)를 규격화로 정하는 것이 적절하다. 세 번째로는 입사 및 반사광의 각도에 대한 절대값의 측정에 대한 정확성을 높이기 위하여 광원, iris, lense, beam splitter등의 광학 부분의 정렬과, SPR 센서 모듈의 rotary stage위에서의 정렬의 정확도를 지키는 것이 중요하다. 이외에도 SPR측정에서 중요한 요인은 얇은 유전체 필름의 종류나 두께가 있다.

이 상에서 본 바와 같이, 광을 이용한 금속/유전체의 경계면에서 나타나는 표면 플라즈몬의 공명 흡수 현상을 이용하여 측정할 수 있는 입사광의 파장이나 입사각을 변화 시킴으로써 이의 정량적인 측정이 가능하다. SPR 광 센서는 외국의 몇 개의 회사들에 의하여 상용화 되어 아직은 매우 제한적인 범위이긴 하지만 생화학 및 생체분자 상호작용 연구에 사용되고 있다. SPR 센서는 굴절율에 매우 민감하며 그 원리상 항체, 항원, 효소와 같은 생체 분자의 코팅 없이 생체 성분을 측정할 수 있어서 성공시에는 경제적인 센서로서 파급효과가 매우 크다.

일반적으로 거의 모든 센서에서, 특정 analyte를 측정할 때 특정한 반응 scheme을 이용하여 센서를 설계하게 된다. 이는 어떠한 반응 scheme을 취하는가는 측정하고자 하는 analyte의 intrinsic properties, 또는 extrinsic method를 이용하느냐에 따라 달라지게 된다. 어느 경우든 실질적인 고정화방법과 그 modification에 의해 제작된 센서의 성능이 크게 좌우된다. 우선 고정화의 기판이 되는 지지체의 선택이 중요하다. Glass는 transparency, chemical inertness, inexpensive manufacturing procedure 그리고 glass의 물리적특성과 geometric configuration를 조절 가능하다는 잇점들이 결합되어 특히 diagnostic (bio)chemistry를 위한 유용한 지지체가 되어왔다. 하지만, 지금까지 유리보다 열등한 광학성질에도 불구하고, 보다 간단한 고정화 절차 때문에 많은 고분자 지지체가 많이 사용되어 온 것도 사실이다. 이러한 관점에서 본 실험실에서는 이 두 가지의 지지체를 사용하였다. 지지체의 선택은 상용화 단계에서는 매우 중요한 요소가 되기 때문에 연구 초기 단계부터 충분한 고려가 되어야 한다. 생체 물질의 경우 기판을 반복 사용시 오염 (contamination)이 가장 심각한 문제로 대두되기 때문에 미래의 연구 방향은 1회용 플라스틱 기판이 많이 고려되고 있다.

표면처리에서는 충분한 감도를 갖는 센싱층의 제작을 위하여, 광손실이 적은 매우 smooth한 층의 제작과 소산과의 다발생성을 위해 매우 얇은 (<1-2 mm) 센싱층이 요구된다. 보다 높은 감도의 실현을 위해 다양한 refractive index values를 갖는 유무기고분자를 이용한 센싱층 제작도 필요하다. SPR sensor 모듈에서는 gold layer가 쉽게 peeling out되므로 이를 보완하기 위해, Cr이나 Ti등의 sandwich layer나, glass substrate와 gold layer에 모두 결합력이 좋은 organosilicone compound가 필요하다. 또한, 고감도의 실현을 위해서는 특이적인 반응 scheme을 이용하는 것이 바람직하며, 이를 위해, gold layer 상에 surface chemical derivatisation (예를 들면, organosilane compounds의 polymerisation) 과 self-assembly monolayer, biotin-avidine등의 생체특이반응을 이용하는 방법도 이용되고 있다.

### III 결론

정확성, 소형화, 실시간성을 만족시키는 차세대 생체 정보 감지의 핵심 기술은 빛을 이용한 인체내부의 변화를 측정하는 기술이다. 특히 감응도가 탁월하고 편리성을 보이고 있어서 현재 연구가 중점적으로 진행되고 있는 소산과 감지 방법은 세계적으로도 활발히 연구가 시작되고 있는 분야이다. 생체 광 센서의 현재의 연구는 주로 한 가지 질병 진단을 위한 생체 성분 분석이지만 여러 질병을 동시에 간단

히 진단할 수 있도록 여러가지 복합적 성분을 동시에 정량화할 수 있는 소형화 된 광 센서 연구가 시작되고 있다. 이를 위하여 생체 분자 고정화, 광 센싱 기술의 다각화, 그리고 여러 생체 신호를 분류할 수 있는 소프트웨어적 신호처리 기술에 관한 복합적 연구가 이루어지고 있다. 생체 광 센서에서 많은 연구자들이 바라는 연구 목표는 보다 간편하게 타액이나 눈액에 있는 생체 성분 분석이 가능한 센서 개발에 있다. 더 나아가서는 이러한 체액 없이도 비침습적으로 (noninvasive) 피부 주위에만 대어서 성분을 정량화 할 수 있는 센서의 개발이다. 편리한 생체 광 센서가 널리 보급된다면 현재 시간과 비용이 많이 드는 진단 과정이 매우 단순해질 뿐 아니라 이제 어느 누구나 자신의 건강을 간단히 수시로 체크할 수 있는 길이 열릴 것이다. 또한 아직까지는 화상만을 전송하는 원격진료 시스템에서 이제는 개인의 질병 상태까지도 간단히 센싱하여 전송할 수 있는 의미있는 원격 의료가 활성화 될 것이다. 특히 고령화 사회에 접어드는 우리나라에서도 재택 의료가 시급히 해결되어야 하며 여기에서의 핵심 기술은 고감도성, 편의성, 경제성, 실시간성을 갖춘 자가 진단용 센서 기술 개발이다.

#### 참고문헌

1. Yalow, R. S. and Berson, S. A., "Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods", *Nature* 184, 1648-1649 (1959)
2. Ligler, F. S. and Rabbany, S. Y., "Biological microstructures in biosensors." In: Schnur, J. M. and Peckerar, M., Eds., *Synthetic Microstructures in Biological Research*, New York, 67-75 (1992)
3. King, W. H., "Piezoelectric sorption detector", *Anal. Chem.* 36, 1735-1738 (1964)
4. Guildbault, G. G. and Schmid, H. D., "Electrochemical, piezoelectric and fiber-optic biosensors." In *Biosensors*, Vol. 1, JAI press Ltd., 257-289 (1991)
5. Wingard, L. B., Jr., and Castner, J., "Potentiometric biosensors based on redox electrodes" In: Turner, A. K. F., Karube, I., and Wilson, G. S., Eds., *Biosensors: Fundamentals and Applications*, Oxford, Oxford University Press, 153-162 (1987)
6. Freeman, T. M. and Seitz, W. R., "Chemiluminescence fiber optic probe for hydrogen peroxide based on the luminol reaction", *Anal. Chem.*, 50, 1242-1246 (1978)
7. Peterson, I. J., Goldstein, S. R., Fitzgerald, R. V., and Buckhold, D. K., "Fiber Optic PH probe for physiological use", *Anal. Chem.*, 52, 864-869 (1980)
8. Anderson, G. F., Golden, J. P., and Ligler, F. S., "An evanescent wave biosensor-PartI: Signal acquisition using step-etched fiber optic probes, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 41, 578-584 (1994)
9. Golden, J. P., Anderson, G. P., Rabbany, S. Y., and Ligler, F. S., "An evanescent wave biosensor-partII: Fluorescent signal acquisition from tapered fiber optic probes", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 41, 585-591 (1994)
10. Andrade, J. D., Van Wagenen, R. A., Gregonis, D. C., Mewby, K., and Lin, F. N., "Remote fiber-optic biosensors based on evanescent-excited fluoro-immunoassay: Concept and progress", *IEEE trans. Elect. Dev.*, 32, 1175-1179 (1985)
11. Glass, T. R., Lackie, S., and Hirschfeld, T., "Effects of numerical aperture on signal level in cylindrical waveguide evanescent fluorosensors, *Applied. Optics*, 26, 2181-2187 (1987)
12. Hirschfeld, T. E. and Block, M. J., "Fluorescent immunoassay employing optical fiber in capillary tube", U.S. Patent No. 4,447,546 (1984)

13. Liedberg, B., Nylander, C., and Lundstrom, I., "Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing", *Sensors and Actuators*, 4, 299-304 (1982)
14. Jorgenson, R. C. and Yee, S. S., "A fiber-optic chemical sensor based on surface plasmon resonance", *Sensors and Actuators A*, 12, 213-220 (1993)