

## pH-ISFET 요소센서의 감응특성

李興洛\* · 梁昇泰 · 尹鍾勳 · 金昶秀† · 孫炳基†

경북대학교 자연과학대학 화학과, †공과대학 전자공학과  
(1992. 5. 1 접수)

## Response Characteristics of pH-ISFET Urea Sensor

Heung Lark Lee\*, Seung Tae Yang, Jong Hoon Yun, Chang Soo Kim†, and Byung Ki Sohn†

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

(Received May 1, 1992)

**요 약.** pH-ISFET와 urease막으로 이루어져 있는 요소센서를 제조하고, 그 감응특성을 조사하였다. pH-ISFET 요소센서는 pH-ISFET의 게이트 위에 glutaraldehyde로 BSA와 urease를 고정화시켜서 제작하였다. pH-ISFET 요소센서의 감응에 미치는 완충용액의 pH 및 농도와 효소의 양의 영향에 대하여 조사하였다. 합성생리염수(pH 7.4)로 만든 요소용액에 대한 감응특성은 다음과 같다. 곧, 직선감응농도범위, 감응기울기(감도) 및 감응시간은 각각  $5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ , 31.6 mV/decade 및 4~10분이다.

**ABSTRACT.** A preparation method and response characteristics of a urea sensor which consisted of pH-ISFET and urease-immobilized membrane were investigated. The pH-ISFET urea sensor was fabricated by immobilizing BSA and urease 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 urea sensor were examined. Response characteristics for the determination of urea 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  $5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ , 31.6 mV/decade, and 4~10 min, respectively.

### 서 론

생체촉매막과 전기화학장치로 구성되어 있는 생물전기화학감응기(bioelectrochemical sensor or bio-sensor)는 요소와 같은 생체관련물질을 선택적으로 식별·정량할 수 있기 때문에 생명과학, 식품영양학, 임상학 등의 분야에서는 매우 중요하다<sup>1,2</sup>. 특히 효소는 특정한 기질에 대하여만 선택적으로 촉매작용하기 때문에 요소에 대한 특이성 시약으로서 효소 이외에는 지금까지 알려져 있지 않다.

요소의 분석법은 효소 urease에 의하여 요소가 분해될 때에 생성되는 암모니아나 이산화탄소를 측정하는 방법이다<sup>3</sup>. 요소 바이오센서는 암모니아기체감응전극<sup>4</sup>, 암모늄이온선택성전극<sup>5</sup>, 유리전극(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>에 감응)<sup>6</sup> 및 이산화탄소기체감응전극<sup>7</sup> 등의 감응막

표면에 urease를 물리적이거나 화학적으로 고정화시켜서 만들며, 이것을 효소전극이라고 부른다.

그러나 전위차법으로 요소를 정량할 때에 사용하는 내부지시전극들은 다른 화학종의 방해를 받기 쉽다. 특히 유리전극(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>에 감응)은 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> 등<sup>8</sup>에 대하여 선택계수가 크며, 암모니아기체감응전극과 이산화탄소기체감응전극은 휘발성 아민이나 산종의 방해를 받기 쉽다<sup>9</sup>. 따라서 생체시료 속의 요소를 정량할 때에는 복잡한 전처리 과정을 거쳐야 하고, 바이오센서의 부피가 크고 응답속도가 비교적 느릴 뿐만 아니라 규격화 및 양산화가 어려운 점 등의 여러 가지 문제점이 많다<sup>3</sup>.

이러한 이온선택성전극이 가지고 있는 단점을 보완하면서 실제의 시료에 이용하기 편리한 소자로서

ISFET(ion-sensitive field-effect transistor)가 가장 큰 주목을 받고 있다<sup>9-11</sup>. ISFET는 감응시간이 매우 짧고, 집적회로 공정기술을 이용하므로 그 가격이 저렴할 뿐만 아니라 소형화 및 규격화할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이러한 ISFET를 이용한 바이오센서는 극소형이므로 소량의 시료로도 생체관련 물질을 정량할 수 있고, 생체내(*in vivo*)에서의 현장적(*in-situ*)측정에 매우 유리하다. 현재 요소<sup>9,10</sup>, 포도당<sup>9,10</sup> 및 페니실린<sup>11</sup> 센서 등에 관한 논문이 다수 발표되고 있다.

지금까지 pH-ISFET와 urease를 아울러 써서 요소를 정량한 방법에는 다음과 같은 것들이 있다. 곧 Miyahara 등<sup>10</sup>은 urease/PVA에 자외선을 조사하여 효소막을 형성시키므로서 pH-ISFET 요소센서를 만들었다. 이 효소막은 pH-ISFET의 감응막에 효소막이 물리적으로 부착되어 있으므로 막이 두껍고, 수명이 매우 짧은 단점이 있다. Kimura 등<sup>9</sup>은 pH-ISFET의 게이트 위에 urease/BSA를 glutaraldehyde로서 공유결합시킨 효소막을 입혀서 pH-ISFET 요소센서를 만들었다. 이 센서는 수명이 길고 감응특성도 개선되었으나, 최적 실험조건을 구체적으로 설명하고 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 pH-ISFET(Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> gate ISFET)를 이용하여 요소센서를 만들고, 이 pH-ISFET 요소센서의 효소막 속의 효소의 양, 시료가 들어있는 완충용액의 pH 및 농도 등의 바이오센서의 감응에 영향을 미치는 인자들을 조사하므로서 이 요소센서의 감응특성을 개선시키고자 하였다.

## 실 험

시 약. 요소(Sigma제) 0.3003 g을 정확히 달아서 50 ml의 메스플라스크에 넣고, 완충용액으로 완전히 녹인 다음, 표선까지 완충용액을 채우면 0.10 M(600.6 mg/dl)의 요소 저장용액이 된다.

합성생리염수(pH 7.40)<sup>12</sup>는 NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 8.0 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 mM이 되도록 염을 탈이온화한 증류수에 녹여서 만들었다.

3-APTES(3-aminopropyltriethoxysilane) 용액과 glutaraldehyde 용액(25% 수용액) 및 BSA(bovine serum albumin)는 Sigma제 특급시약을 그대로 썼

고, 요소의 탈아미노분해효소로서는 urease(Sigma, EC 3.5.1.5, 530 units/mg)를 썼다.

이외의 무기염들은 특급시약을 그대로 썼다. 모든 용액의 제조에는 탈이온화한 증류수( $R > 17 M\Omega cm$ )를 썼다.

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

바탕소자인 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> gate ISFET의 크기는 0.4×1.4 mm이며, 게이트의 면적은 20×300 μm이다. 기준적극으로는 Saturated Calomel Electrode(Beckman 69400)를 썼다.

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

pH-ISFET 요소센서의 제작. pH-ISFET 요소센서의 제작과정은 다음과 같다. 곧 게이트 이외의 부분을 용액으로부터 절연시키고, 효소막이 형성될 pool을 만들기 위하여 실리콘고무로 encapsulation 하였다. 수소이온에 대한 pH-ISFET의 감응을 좋게 하기 위하여 게이트를 50:1 HF 수용액으로 실온에서 1분간 표면처리하고, 게이트와 효소막의 부착성을 좋게 하기 위하여 1% 3-APTES용액으로 80°C에서 10분간 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 게이트의 표면을 실란화시켰다<sup>10,13</sup>.

효소의 고정화(immobilization)는 Kimura 등<sup>9</sup>의 방법으로서 다음과 같이 행하였다. 곧 0.010 M 인산염 완충용액(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.4) 500 μl에 BSA 30 mg과 urease를 일정한 농도로 효소막의 casting 용액을 만든다. 이 용액 0.1 μl을 microsyringe로써 게이트 위에 떨어뜨린 후, 계속하여 25% glutaraldehyde 용액을 0.1 μl 떨어뜨리면 효소막이 형성된다. 상온에서 1시간 동안 건조시킨 후, 0.10 M glycine 용액에 담그었다가 탈이온화한 증류수로 씻으면, Fig. 1과 같은 pH-ISFET 요소센서가 완성된다. Fig. 2는 pH-ISFET 요소센서의 단면도를 나타낸 것이다. 사용하지 않을 때에는 요소센서를 합성생리염수에 담그어 4°C의 냉장실에서 보관하였다.

감응원리. pH-ISFET를 바탕소자로 쓴 요소센서의 감응원리는 다음과 같다. 시료용액에 요소센서를

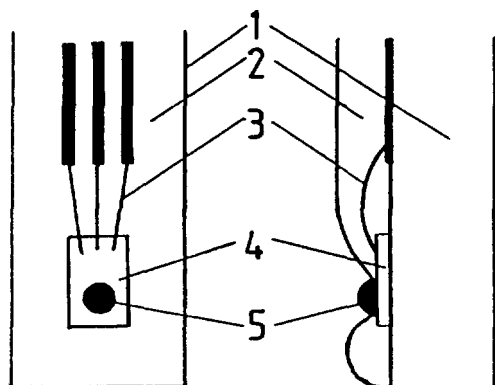


Fig. 1. Structure of the pH-ISFET urea sensor. 1. alumina header, 2. silicone rubber, 3. bonding wire, 4. pH-ISFET, 5. enzyme membrane.

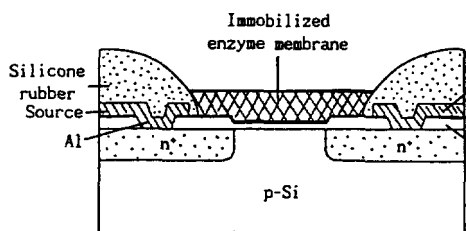
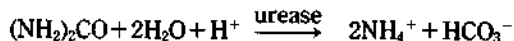


Fig. 2. Cross-sectional structure of the pH-ISFET urea sensor.

담그면, 기질이 효소막 속으로 확산하여 들어와서 효소의 촉매작용으로 다음과 같이 요소는 가수분해된다.



이와 같은 반응에 의하여 수소이온이 소비되므로 요소의 농도가 클수록 게이트 표면의 pH는 커지게 된다. 이 pH변화를 수소이온센서인 pH-ISFET가 감지한다. 이 때 pH-ISFET의 감도(sensitivity, 또는 Nernst 기울기)는 다음의 식과 같이 pH 변화에 대한 게이트 계면의 전위차 변화로서 정의된다<sup>14,15</sup>.

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

곧, pH-ISFET의 최적 동작점이 되도록 source와 drain 사이의 전압( $V_{DS}$ )을 1.2 V, 전류( $I_{DS}$ )를 30  $\mu\text{A}$ 로 고정하면, 절연층과 게이트 계면에 표면전하를 가

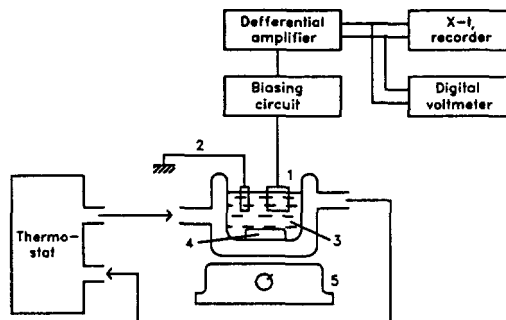


Fig. 3. Schematic diagram of measurement set. 1. pH-ISFET urea sensor, 2. S.C.E., 3. sample solution, 4. magnetic bar, 5. hot plate.

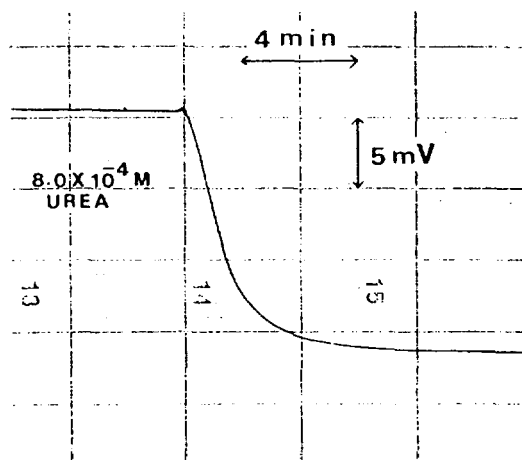


Fig. 4. Typical time response of pH-ISFET urea sensor.

지게 되는 전계효과(field-effect)가 일어나므로 계면에 전위차가 생긴다. 이 계면의 전위차는 수소이온의 활동도에 따라서 변하고, 기준전극에 대한 출력전압의 변화( $\Delta V_{RS}$ )가 측정된다. 이 출력전압이 요소의 농도에 따라서 선형적으로 변하므로 이 출력전압으로부터 요소의 농도를 구할 수 있게 된다. 수소이온감응센서인 pH-ISFET의 이론적인 감도는 25°C에서 Nernst 기울기 59.2 mV/pH인 것으로 알려져 있다.

측 정. pH-ISFET의  $V_{DS}$ 와  $I_{DS}$ 를 일정한 값으로 고정하고, 기준전극에 대한 출력전압의 값을 재는 영위법(null-balance method)<sup>10</sup>을 이용하여 측정하였다. 본 실험에 쓴 측정장치는 Fig 3과 같다. 곧

측정온도는  $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 로 고정하고, 400 rpm으로 자석막대를 교반시키면서 완충용액 9.0 ml에 요소센서와 기준전극을 담근다. 최종 출력전압을 0.0 V로 맞춘 후에 준비된 요소 표준용액 1.0 ml를 떨어뜨리면, Fig 4와 같이 출력전압이 시간에 따라서 변화하는 곡선을 얻을 수 있다. 각 요소용액에 대하여 출력전압이 일정한 값에 도달하면, 출력전압의 변화값( $\Delta V_{RS}$ )을 구한다. 탈이온화한 증류수로 요소센서와 기준전극을 씻고, 다시 완충용액 9.0 ml에 요소센서와 기준전극을 담그어서 출력전압이 원래의 값대로 복귀하면, 다른 농도의 요소용액 1.0 ml를 넣고, 출력전압의 변화값을 측정한다.

결과 및 고찰

**pH에 따른 감응특성.** 본 실험에서는  $\text{Si}_3\text{N}_4$  gate ISFET와 이것을 바탕소자로 사용한 pH-ISFET 요소센서의 pH에 따른 감응을 조사하였다. 곧 완충용액의 이온세기물 0.050으로 고정하였으며, pH 2.0~12.0 범위의 완충용액은 문헌에 있는 방법대로 만들어서 사용하였다<sup>17,18</sup>. 이 용액을 써서 바탕소자와 요소센서의 pH에 따른 감응특성을 조사하여 Fig. 5에 나타내었다. 이 그림으로부터 알 수 있는 바와

같이  $\text{Si}_3\text{N}_4$  gate ISFET(A)의 출력전압은 pH 2~12 범위에서 좋은 직선성을 나타내었고, 감도는 58.2 mV/pH이었으며, 감응시간은 1초 내외였다. 또한 pH-ISFET 요소센서(B)는 측정 pH 범위에서 출력전압( $V_{RS}$ )이 조금 높아지지만, 직선성과 감응기울기는 거의 같은 값을 나타내었다.

pH-ISFET의 게이트(수소이온 감응막) 물질로서는  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Si}_3\text{N}_4$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  및  $\text{Ta}_2\text{O}_5$  등이 있다. 그 중에서  $\text{Si}_3\text{N}_4$  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<sup>15,16</sup>. 본 실험에 사용한 pH-ISFET의 감응특성을 Miyahara 등<sup>10</sup>이 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.

**시간응답특성.** pH-ISFET 요소센서의 시간응답 특성을 조사하기 위하여 몇 가지 농도의 요소용액에 대한 시간에 따른 출력전압의 변화를 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 이 그림으로부터 알 수 있는 바와 같이 출력전압이 평형에 도달하는 시간은 농도가 높을수록 짧아지지만, 실험농도 범위에서는 약 4~

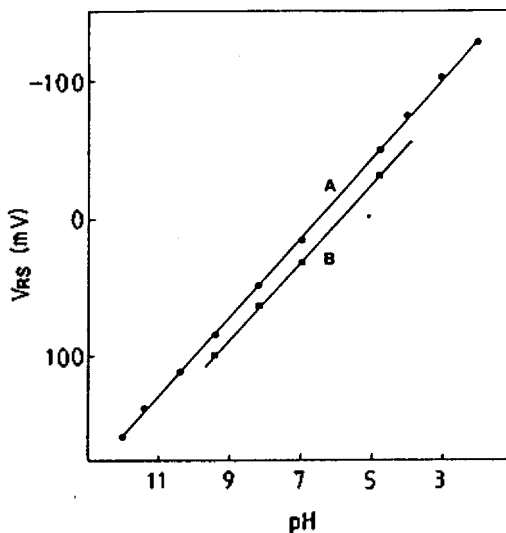


Fig. 5. pH response characteristics of the  $\text{Si}_3\text{N}_4$  gate ISFET before (A) and after (B) forming enzyme membrane.

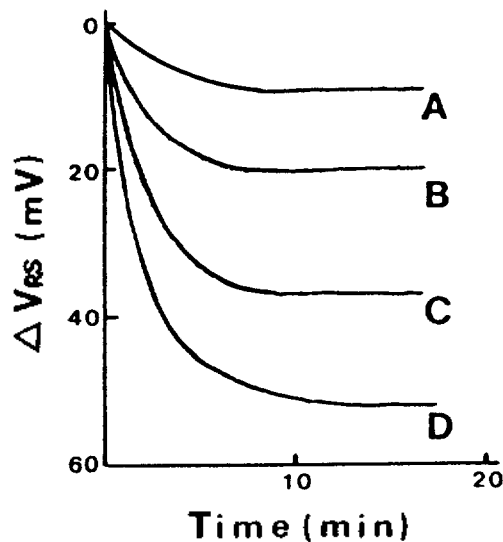


Fig. 6. Time responses for various concentration of urea. (A)  $5.0 \times 10^{-4} M$ , (B)  $1.0 \times 10^{-3} M$ , (C)  $5.0 \times 10^{-3} M$ , (D)  $1.0 \times 10^{-2} M$ .

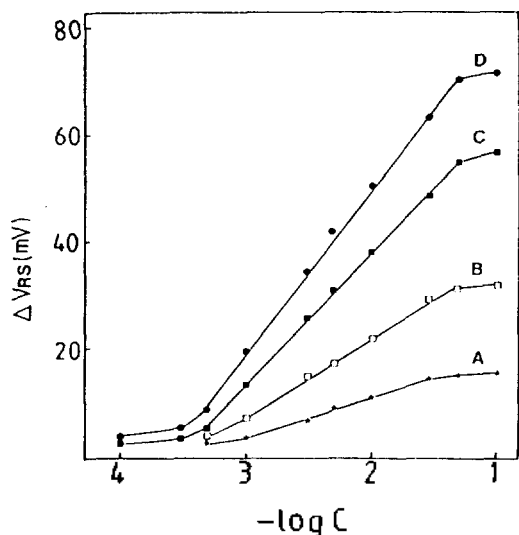


Fig. 7. Typical calibration curves of pH-ISFET urea sensors with various amount of urease. (A) 10 mg, (B) 30 mg, (C) 60 mg, (D) 90 mg, condition: physiological saline solution, pH 7.4.

10분 정도였다.

이 감응시간은 Miyahara 등<sup>10</sup>의 8~12분 보다는 비교적 짧았으나, Kimura 등<sup>9</sup>의 4~8분과는 거의 비슷하였다. 본 실험에서 처럼 수작업으로 형성시킨 막보다도 두께가 얇고 균일한 막을 만들면 감응시간은 더욱 짧아질 것으로 생각된다. ISFET 바이오센서의 응답속도는 효소막의 두께, 효소의 양 및 ISFET 자체의 감응특성에 의존하는 것으로 알려져 있다<sup>19</sup>.

**Urease의 양에 따른 감응특성.** pH-ISFET 요소 센서가 효소막 속의 효소의 양에 따라서 감응특성이 어떻게 달라지는가를 조사하여 보았다. 효소막을 만드는데 쓴 casting 용액 중의 효소의 양을 10~90 mg으로 변화시켜서 요소센서를 만들고, 이것을 사용하여  $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-1} M$  범위의 요소용액에 대한 출력전압의 변화값( $\Delta V_{rs}$ )을 측정하여 Fig. 7에 나타내었다. 또 Fig. 7로부터 감응특성을 구하여 Table 1에 요약하여 나타내었다. 이 표로부터 알 수 있는 바와 같이 효소의 양을 증가시킬수록 직선감응범위는 조금 넓어졌으며, 감도는 매우 증가하였다. 곧 효소의 양이 60 mg일 때와 90 mg일 때를 비교하여 보면, 직선감응범위는  $5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$

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

Enzyme quantity (mg/0.5 ml)	Linear range (M)	Sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
10	$1.0 \times 10^{-3} \sim 3.0 \times 10^{-2}$	6.5
30	$7.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	15.5
60	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	24.8
90	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	31.6

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

로써 같았으나, 감도는 24.8 mV/decade에서 31.6 mV/decade로 커졌다. 이것은 효소의 양을 증가시킬수록 효소반응의 속도가 커져서 소비되는 수소이온의 양이 많아지므로 감도가 커지는 것으로 생각된다. 또 예비실험의 결과에 의하면, 효소의 양이 90 mg보다 많을 때에는 효소막의 형성이 나빠므로 출력전압이 불안정하였다. 따라서 이하의 실험에서는 효소의 양을 90 mg으로 정하였다.

요소센서에서는 urease막 속에서 효소의 작용에 의하여 요소가 분해된다. 이 가수분해반응에 의하여 효소막 속에서 소비되는 수소이온의 농도변화가 센서의 출력전압을 감소시키므로 효소의 양이 바이오센서의 감응특성에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다<sup>19,20</sup>. Miyahara 등<sup>10</sup>의 pH-ISFET 요소센서는 효소막을 만드는 데에 40 mg/2 ml의 효소를 사용하였다. 이 센서의 직선감응범위는  $3.3 \times 10^{-3} \sim 3.3 \times 10^{-2} M$ 이고, 감도는 18 mV/decade로써 본 실험의 결과 보다는 감응특성이 떨어졌다. Kimura 등<sup>9</sup>의 요소센서에서는 10 mg/0.5 ml의 효소를 써서 직선감응범위가  $1.7 \times 10^{-4} \sim 1.7 \times 10^{-2} M$ 이고, 감도는 27 mV/decade라고 하였다. 이것을 본 실험의 감응특성과 비교하여 보면, 본 실험의 직선감응범위가 3배 정도 고농도로 확장되었고, 감도도 향상되었다.

**시료용액의 pH에 따른 감응특성.** 시료용액의 pH는 urease의 활동도에 영향을 미치므로 pH-ISFET 요소센서의 감응특성에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 다음과 같이 실험하였다. 곧 이온세기(0.165) 및 인산염 완충제의 농도(9.5 mM)는 합성생리염수와 같게 하였다. 이러한 실험조건에서 pH가 6.0, 7.4 및 8.0일 때에  $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-1}$

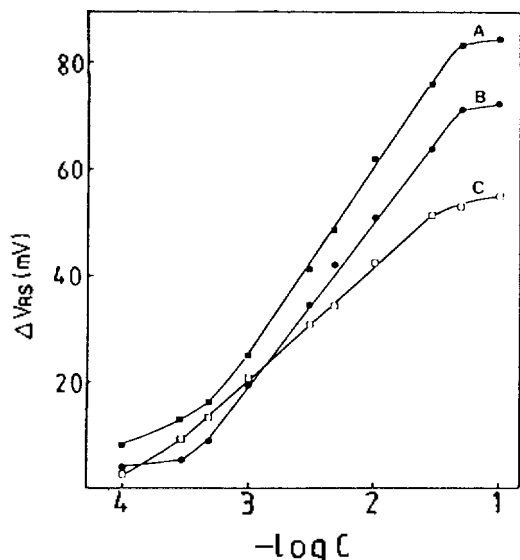


Fig. 8 Typical calibration curves of pH-ISFET urea sensor for solution in 9.5 mM urea sensor for solution in 9.5 mM phosphate buffer. (A) pH 6.0, (B) pH 7.4, (C) pH 8.0, condition; 90 mg urease.

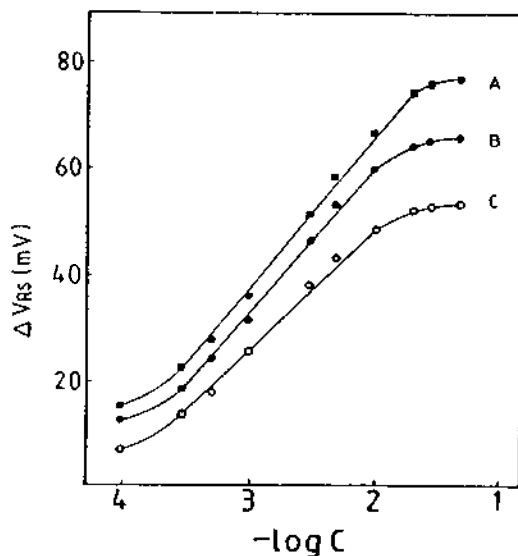


Fig. 9. Typical calibration curves of pH-ISFET urea sensor for solution in 9.5 mM phosphate buffer. (A) pH 6.0, (B) pH 7.4, (C) pH 8.0, condition; 90 mg urease, measurement; flow-through system.

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

pH	Linear range (M)	Sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
6.0	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	33.1
7.4	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	31.6
8.0	$3.0 \times 10^{-4} \sim 3.0 \times 10^{-2}$	22.2

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

M 범위의 요소용액의 검정곡선을 구하여 Fig. 8에 나타내었으며, 이 그림으로부터 감응특성을 구하여 Table 2에 나타내었다. 또 Fig. 9는 flow-through 장치계를 써서 연속·자동화법으로 측정된 검정곡선이다. 곧 완충용액과 요소용액을 연동펌프로써 교대로 흘리면서 각 요소농도에 대하여 출력전압의 변화값을 각각의 pH에서 구하여 도시한 것이다. 이 그림으로부터 구한 감응특성은 Table 3에 요약하여 나타내었다. 이 두 표로부터 알 수 있는 바와 같이 pH가 6.0일 때에 감응특성이 가장 좋았고, pH가 높아질수록 직선감응범위는 조금씩 줄어들었으나, 감도는 매우 나빠졌다.

Table 3. Effect of pH of urea aqueous solution on response characteristics of pH-ISFET urea sensor with flow-through system

pH	Linear range (M)	Sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
6.0	$3.0 \times 10^{-4} \sim 2.0 \times 10^{-2}$	28.4
7.4	$3.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-2}$	27.3
8.0	$3.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-2}$	22.3

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

가용성 효소는 특정한 pH 범위에서 최대의 활동도를 나타낸다. 그러나 효소를 지지체에 고정화시키면, 효소의 형태(conformation)가 변하므로 가용성효소와는 다른 환경에 있게 되고, 최대의 활동도를 나타내는 pH가 이동하게 되며, 보다 넓은 pH 범위에서 최대의 활동도를 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>21</sup>. 또 가용성 urease의 활동도가 최대로 되는 pH는 7.0~7.3인 것으로 알려져 있다<sup>22</sup>. 요소센서의 최적 pH(6.0)가 효소의 최적 pH 범위보다 낮은 것은 요소가 가수분해될 때에 수소이온이 소비되므로 시료용액의 pH가 6.0일 때에 효소막 내부의 pH가 7.0~7.5 부근으로 높아지게 되어서 효소가 최적

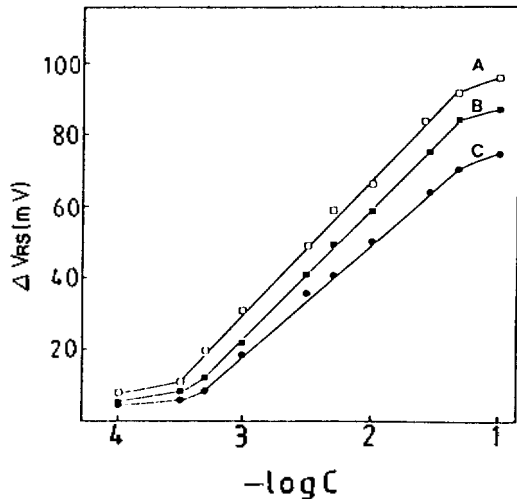


Fig. 10. Typical calibration curves of pH-ISFET urea sensor for various concentration of phosphate buffer solutions (pH 7.4). (A) 1.0 mM, (B) 5.0 mM, (C) 9.5 mM, condition; 90 mg urease.

상태에 있게 되기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 이하의 실험에서는 생체시료에 가장 적합한 pH인 7.4로 고정하였다.

Table 2와 3의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 flow-through 장치제를 써서 측정한 결과가 batch 법으로 측정한 결과 보다도 감응특성이 나쁘다. 이것은 urease의 반응속도가 느리므로<sup>23</sup> 감응막이 요소와 접촉하고 있는 시간 내(5분)에 평형출력전압에 도달하지 못하기 때문인 것으로 생각된다.

**완충용액의 농도에 따른 감응특성.** 완충용액의 농도가 요소센서의 감응특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 다음과 같이 실험하였다. 곧 이온세기 (0.165) 및 pH(7.4)가 합성생리염수와 같고, 인산염 완충제의 농도가 1.0, 5.0 및 9.5 mM인 완충용액을 만들고, 이것을 바탕용액으로 하여  $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-1} M$  범위의 요소용액을 만들었다. 이들 인산염 완충용액에서 요소농도에 따른 출력전압의 변화를 측정하여 Fig. 10에 나타내었으며, 이 그림으로부터 감응특성을 구하여 Table 4에 나타내었다. 이 표로부터 알 수 있는 바와 같이 완충제의 농도가 묽을수록 감도는 크게 증가하였으나, 완충용액의 농도가 1.0 mM일 때에 직선 감응범위는 저농도로 조금 확장되었다.

Table 4. Effect of concentration of phosphate buffer solution (pH 7.4) on response characteristics of pH-ISFET urea sensor

Buffer conc. (mM)	Linear range (M)	Sensitivity (Nernst slope) (mV/decade)
1.0	$3.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	40.2
5.0	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	35.6
9.5	$5.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	31.6

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

완충용액의 농도는 바이오센서의 감도에 직접적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다<sup>22,24</sup>. Kimura 등<sup>9</sup>은 pH 7.5의 0.01 M 4-(2-hydroxyethyl)-piperazine-1-ethane-sulfonate 완충용액에서, Miyahara 등<sup>10</sup>은 pH 7.0의 0.01 M 인산염 완충용액에서 pH-ISFET 요소센서의 감응을 조사하였다. 본 연구에서는 pH가 7.4이고, 완충제의 농도가 9.5 mM인 합성생리수를 실험에 사용하였으며, 이 용액에서는 기존의 요소센서의 감응특성 보다도 우수한 결과를 얻었다. 이와 같이 완충용액의 농도가 묽을수록 완충용량(buffer capacity)이 작아져서 게이트 계면의 pH변화가 보다 크게 되기 때문에 요소센서의 감응특성이 향상되는 것으로 생각된다.

## 인 용 문 헌

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. T. Anfalt, A. Graneli, and D. Jagner, *Anal. Lett.*, **6**, 969 (1973).
5. G. G. Guilbault, G. Nagy, and S. S. Kuan, *Anal. Chim. Acta*, **67**, 195 (1973).
6. J. G. Montalvo and G. G. Guilbault, *Anal. Chem.*, **41**, 1897 (1969).
7. G. G. Guilbault and F. Shu, *ibid.*, **44**, 2161 (1972).
8. Y. M. Fraticelli and M. E. Meyerhoff, *ibid.*, **53**, 1857 (1981).
9. J. Kimura, T. Kuriyama, and Y. Kawana, *Sensors*

- and Actuators*, 9, 373 (1986).
10. Y. Miyahara and T. Moriizumi, *ibid.*, 7, 1 (1985).
  11. S. Caras, J. Janata, D. Saupe, and K. Schmitt, *Anal. Chem.*, 57, 1917 (1985).
  12. G. Palleschi, M. A. Nabirani, G. J. Lubrano, J. N. Ngwainhi, and G. G. Guilbault, *Anal. Biochem.*, 159, 114 (1986).
  13. S. Nakamoto, N. Ito, T. Kuriyama, and J. Kimura, *Sensors and Actuators*, 13, 165 (1988).
  14. B. K. Sohn, *Proc. 2nd Seoul Int'l Symp. (Semicond.)*, 149 (1984).
  15. 손병기, "감이온 전장효과 트랜지스트" 대한전자 공학회지, 18, 22 (1982).
  16. T. Matsuo and M. Esashi, "Methods of ISFET Fabrication", Dept. Electronic Eng., Tohoku Univ., Internal Report, 1980.
  17. R. G. Bates, "Determination of pH, Theory and Practice," 2nd Ed., Wiley, New York, U.S.A., 1973.
  18. D. D. Perrin and B. Dempsey, "Buffers for pH and Metal Ion Control," Halsted, New York, U.S.A., 1974.
  19. Y. Hanazato, M. Nakako, and S. Shino, *IEEE Trans. Electron Devices*, ED-33, 47 (1986).
  20. J. Anzai, S. Tezuka, T. Osa, H. Nakajima, and T. Matsuo, *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 4373 (1986).
  21. T. T. Ngo and K. J. Laidler, *Biochem. Biophys. Acta*, 525, 93 (1978).
  22. J. Anzai, Y. Ohki, T. Osa, H. Nakajima, and T. Matsuo, *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 2556 (1985).
  23. 이홍락, 양승태, 대한화학회지, 36, 393 (1992).
  24. G. K. Chandler and M. J. Eddowes, *Sensor and Actuators*, 13, 223 (1988).