

고무 기술자를 위한 바이오센서의 원리와 응용

송성훈·박강민·손진언·장상목

1. 서론

한 가지 물리적 변수를 측정하는 물리센서와는 달리 여러 화학물이 섞여져 있는 혼합물 가운데 특정 화학물질을 선택적으로 측정하는 화학센서에서는 선택성과 감도를 동시에 향상시켜야 하는 문제가 있다. 생활이 윤택하여짐에 따라 건강관리, 환경보전, 농업, 화학공업 등 여러 분야에서 화학물질의 계측기기가 요망되고 있다. 즉, 자기 건강을 자가 진단하고자 하며, 자기가 사는 환경의 안전성 여부를 스스로 확인하고자 하는 욕구가 증대되고 있다. 뿐만 아니라 고령화 사회에 진입함에 따라 노인들의

원격 진단도 요망되고 있는 실정이다. 이들 분야에는 여러 종류의 화학물질이 공존하고 있고, 이들 화학 물질을 측정하기 위해 각종 물리화학 장치가 사용되고 있다. 일반적으로 이들의 측정에는 복잡한 조작과 긴 시간을 필요로 하기 때문에 이들을 직접, 신속, 간단하게 측정할 수 있는 방법과 장치가 강력하게 요망되어 왔다. 화학 물질은 단독으로 존재하지 않고 보통 여러 종류의 화학 물질이 섞여있다. 이런 계로부터 특정한 화학 물질을 선택적으로 측정하기 위해서는, 이들 화학 물질에 대하여 선택적으로 응답하는 소자를 이용하지 않으면 안된다.

이미 몇 가지 화학 센서가 실용화되고 있으



송성훈

1997 동아대학교 화학공학과 학사
1999 동아대학교 화학공학과 석사
2003~ 동아대학교 화학공학과 박사
현재 동아대학교 재료금속화학공학부 시간강사



손진언

전 고무학회 부회장
현재 동아대학교 재료금속화학부 교수



박강민

2004 동아대학교 재료금속화학부 학사



장상목

1982 서울대학교 화공과 학사
1984 한국과학기술원 화공과 석사
1990~ 일본 동경공업대학 박사
현재 동아대학교 화학공학과 교수

나, 이들 센서의 분자 인식 기능, 즉 분자 식별 기능은 충분하지 않다. 화학 물질의 엄밀한 식별이 가능한 센서를 제작하기 위해서는, 생체계로부터 많은 것을 모방하지 않으면 안된다. 세균 등의 단세포 생물에서부터 고등 생물과 같은 다세포 생물에 이르기까지 각종의 생체계는 각종 자극물에 대하여 감각 기관을 가지고 있다. 이 덕택으로 생체계는 신체를 일정 상태로 유지하며, 혹은 신체가 정상적으로 기능을 발휘할 수 있도록 반응을 진행시킬 수 있으며, 환경을 측정하거나, 혹은 적으로부터 신체를 보호한다. 이런 감각기관을 모델로 하여, 생체소자를 화학 물질식별소자로 이용한 바이오센서는 바이오테크놀로지의 성과의 하나로써 각종 분야에 있어서 현재의 분석 기술의 대응으로 주목받고 있다.

본 총설에서는 바이오센서의 기본원리와 응용, 특히 수진진동자를 이용한 각종 계측원리를 소개하고자 한다.

2. 바이오 센서의 기본원리

생체는 효소, 세포, 각종 조직, 수용체, 항체, 핵산 등으로 구성되어져 있다. 이 중에서 효소는 생체 내의 분자를 선택적으로 식별하여 생체내의 반응을 촉매한다. 특정한 화학 물질을 식별하고 촉매하는 효소를 이용한, 특정한 화학 물질의 측정이 분석 화학 분야에서 이용되고 있다. 최근 바이오 산업의 발전에 힘입어 다양한 효소가 생산되고 있고 그 대부분이 시판되고 있다. 따라서 효소는 분석시약으로 광범위하게 의료와 식품 분석 등에 이용되고 있지만 아직 복잡한 조작 등 개선의 여지가 많다. 만약이 효소 화학반응에 의해 물리화학 디바이스로 측정할 수 있는 화학 물질의 생성과 소비가 수반되는 경우에는 이들 반응에 의한 화학 물질을 물리 화학 디바이스로 측정함으로써 본래의 화학 물질, 즉 기질의 농도를 알 수가 있다. 이 경우 효소는 분자를 식별하는 소자로 이용되고

물리화학 디바이스는 트랜스듀서로 이용된다. 이와 같이 효소를 이용하면 화학 물질을 선택적으로 식별할 수가 있다. 이식별 결과를 전기 신호로 변환시키는 것이 물리화학 디바이스이다.

각종 물리화학 디바이스가 센서의 트랜스듀서로 이용되고 있으며 그 중에서 가장 많이 이용되는 것은 전극이다(그림 1).

효소의 촉매 기능을 이용하여 화학 물질을 식별하는 경우에는 이들의 반응에서 생성, 혹은 소비되는 화학 물질을 측정하기 위해 전극이 사용된다. 물리화학 디바이스로 전극을 이용할 경우 전기 신호로 변환하는 방식으로는 전위 측정형과 전류 측정형의 두 가지 방법으로 대별된다(그림 2).

전위 측정형(potentiometry)이란 각각의 이온 선택성 감응막에서 생기는 막전위차로 효소 반응에 관여하는 각종이온의 농도 등을 측정하는 방식으로, 전극으로는 수소이온 전극, 암모늄이온 전극 혹은 암모니아 가스 전극, 이산화탄소 전극 등이 사용된다.

한편, 전류 측정형(amprometry)이란 효소 반응에 의해 소비 혹은 생성되는 물질, 즉 전극에 쉽게 반응하는 물질 혹은 감응하는 물질의 전극반응에서 얻어지는 전류 값을 측정하는 방식으로, 전극으로는 산소 전극, 과산화수소 전극, 연료전지 등이 사용된다.

전류 측정형의 경우에는 전류값이, 전위 측정형의 경우에는 전위값이 얻어진다. 효소를 고정화한 전극을 기질이 포함된 용액에 담그면

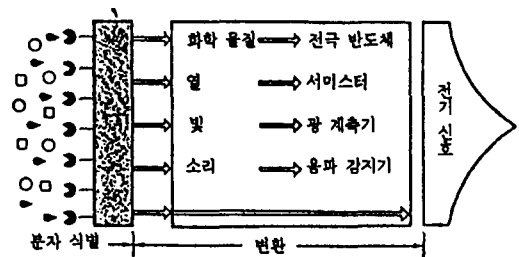
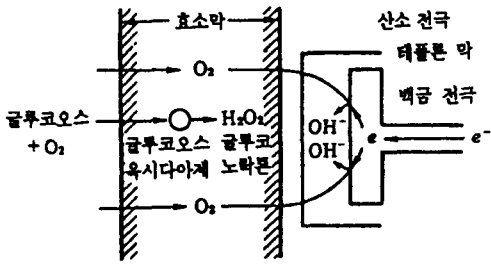
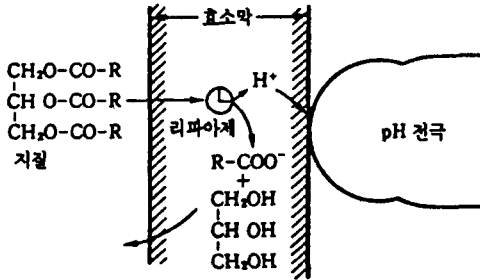


그림 1. 바이오센서의 원리.



(전류 측정형, 글루코오스 센서)



(전위 측정형, 지질 센서)

그림 2. 전기신호로 변환시키는 방식.

그 때 얻어지는 전류값 혹은 전위값은 어느 정상값에 도달한다. 이것은 효소막으로의 화학물질, 즉 기질의 확산량 및 소자위에서 생성 혹은 소비되는 기질 혹은 생성물 사이에 평형이 성립하기 때문이다. 따라서 정상 전류값 혹은 정상 전위값을 측정하여 화학 물질농도와의 검량선을 구하여 두고, 이 검량선을 기준으로 미지 농도의 화학물질 농도를 측정하는 것이 정상법으로 자주 이용된다.

한편, 전류 혹은 전위의 증가 내지 감소속도와 화학물질 농도와의 관계로부터 미지 농도의 기질을 측정하는 속도법도 잘 이용된다.

일반적으로 바이오센서를 플로우 셀(flow cell) 속에 삽입하여 여기에 완충액 등을 연속적으로 흘려보내면서 연속적으로 측정할 수 있도록 되어 있다. 이 경우에는 일정량의 시료를 일정 시간 안에 시스템에 주입하기 때문에 극대의 전위값 혹은 전류값이 얻어진다. 이것은 이미 설명한 속도법의 일종으로 생각할 수 있다.

한편, 반도체 기술을 이용해서도 효소 반응

에서 소비되는 화학 물질 혹은 생성되는 화학 물질을 측정할 수 있다. 예를 들면 이온 감응성 전계효과형 트랜지스터(ion selective field effect transistor, ISFET)는 수소이온 농도를 측정하기 위해 개발된 트랜지스터이다. 이 트랜지스터의 게이트 표면에 이온 농도 변화를 일으키는 효소를 고정화하면 바이오 센서로 이용할 수 있다. 이 센서의 원리는 효소 반응에서 생성되는 수소 이온 혹은 수산이온을 이 트랜지스터로 측정하는 것이다.

또 화학 반응에는 열의 변화가 반드시 수반되기 때문에 이것을 서미스터로 측정하는 센서도 개발되어 있다. 고정화효소를 채운 반응기와 서미스터를 조합한 바이오센서를 플로 시스템에 적용하여 시료를 주입하면 극대의 온도변화가 측정된다. 이 극대 온도 변화값과 화학 물질의 농도사이의 상관관계를 이용하여 미지의 화학 물질 농도를 구할 수 있다.

또한 효소 반응은 화학 발광 반응과도 관련하고 있다. 즉, 효소 반응에서 생성되는 화학 물질이 화학 발광 반응을 일으키는 것은 주지된 사실이다. 예를 들면 루미놀(luminol)- 과산화수소계에 페로옥시다아제를 첨가하면 발광하므로, 이 발광을 광증배관(photon counter) 혹은 포토다이오드(photodiode)로 측정할 수 있다. 즉 고정화 효소와 발광계측 디바이스를 이용하여 센서를 제작할 수 있다. 이 센서시스템의 경우에도 배치(batch) 방식과 플로우(flow) 방식이지만 일반적으로 플로우 방식이 많이 이용된다. 그밖에 효소 반응을 음파, 마이크로파, 레이저 광선 등을 이용하여 측정할 수도 있다. 뿐만 아니라 우리 인간의 화학수용기와 같이 자극 물질에 의해 막전위가 직접 변화할 수 있는 인공막을 구성하는 것도 가능하다. 이상과 같이 각종 트랜스듀서를 사용함으로써 매우 다양한 원리의 바이오 센서를 제작할 수 있다.

한편 이용하는 생체 재료의 종류에 의해서도 각종 바이오센서를 제작할 수 있다. 생체 내에는 효소 이외에도 화학 물질을 식별할 수 있는

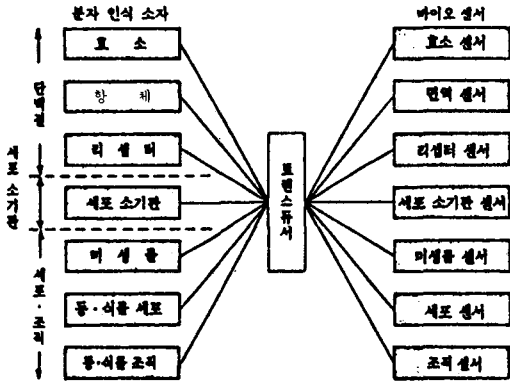


그림 3. 분자인식소자와 바이오센서.

물질이 많이 존재한다.

예를 들면, 항체 혹은 항원, 리셉터도 특정한 화학 물질을 인식하는 기능을 가지고 있다.

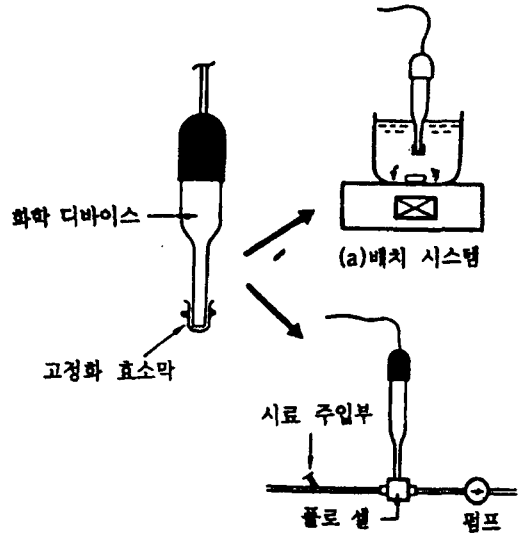
이들은 모두 이미 설명한 각종전극과 트란스듀서와 조합함으로써 센서를 구성할 수 있다. 이미 이런 원리에 기초한 각종 센서가 개발되어 있다. 예를 들면 리셉터를 이용하는 리셉터 센서, 항원·항체반응을 이용하는 면역 센서, 동·식물 세포를 이용하는 세포센서 및 동·식물 조직을 이용하는 조직 센서 등이 있다(그림3).

따라서, 특정 화학 물질에 선택성을 가지는 생체재료를 찾아 이것을 사용하여 센서를 구성할 수 있다. 또 이들 생체 재료의 대부분은 수용성이고 이들을 센서의 소자로서 사용하기 위해서는 효소의 경우와 마찬가지로 고정화할 필요가 있다.

고정화 방법에 대해서는 좋은 책들이 많이 출판되어있으니 참고 바란다.

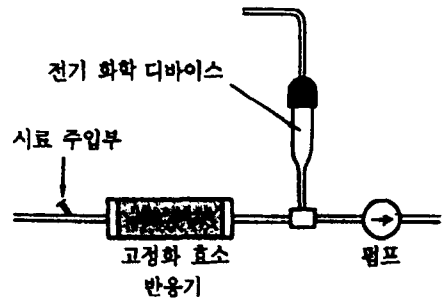
3. 바이오 센서의 기본구성

바이오센서는 고정화 생체 촉매와 전극 등의 물리화학 디바이스로 구성되고 조다. 효소 고정화막을 산소 전극의 가스 투과성 테플론 막 위에 부착하고, 이 효소막 위에 다시 셀룰로오스막을 덮어 '0'-링으로 고정시켜 전극형 효소센서를 제작할 수 있다(그림 4).



(A) 전극 장착형

(b) 플로우 시스템



(B) 반응기형

그림 4. 효소센서의 형태.

보통 이 센서를 시료액 안에 넣어 측정한다. 그러나, 연속 측정 혹은 다수의 시료를 측정할 경우에는 플로우 시스템 쪽이 적합하다. 이 경우에는 이 효소 센서를 플로우 셀 안에 넣는다. 이 셀 안에 완충액을 연속적으로 흘려 보내면서 시료 주입구로 시료액을 주입한다. 이 시료액은 플로우 셀에 도달하여 효소막과 접촉한다. 여기서 효소 반응에 의해 산소가 소비되고 이의 농도 변화를 전극으로 측정하면 시료중의 화학 물질을 전류값으로 측정할 수 있다. 또 배치 방식과 플로우 방식 센서의 중간에 위치하는 배치-플로우 방식도 많이 이용된다. 이 방법은 셀 안에 완충액을 채워 여기에 시료액을 주

입하여 교반과 동시에 측정한다. 측정 후에는 자동적으로 셀이 세정되고 다음 시료의 측정이 가능하도록 준비된다.

뿐만 아니라 입자 모양의 고정화 생체 촉매, 예를 들면, 고정화 효소를 채운 소형 반응기와 전극으로 구성된 센서시스템도 제작되고 있다. 이 시스템은 특히 저활성 효소의 경우에 채용된다. 효소를 유리비드(grass bead) 등에 고정하여 소형 반응기에 채운다. 이 시스템에 완충액을 흘려 보내두고 여기에 시료를 주입한다. 이 시료는 반응기에 도달하여 여기에서 효소 반응에 의해 전극 활성물질의 생성 혹은 소비가 일어난다. 이 때 생성 혹은 소비된 전극활성물질을 반응기에 결합된 전극으로 측정하면 이로부터 본래의 화학 물질 농도를 계산할 수 있다. 이 반응기 시스템과 서미스터를 조합한 시스템도 잘 이용되고 있다. 이와 같이 바이오센서에는 전극에 효소 고정화막을 직접 장착하는 형식과 효소 반응부분 즉, 반응기와 전극을 분리한 형식의 두 가지 방법이 이용되고 있다.

4. 효소센서

효소는 극히 선택적으로 화학 물질을 식별하여 반응한다. 효소를 화학 물질의 분석에 응용하고자 하여 1940년대부터 분석화학에 응용하여 왔다. 현재 2000종류 이상의 효소가 알려져 있으며 200종류 이상이 시판되고 있다. 이들 효소는 식품 제조 공정, 공업 프로세서, 의약품 등에 이용되고 있으며, 임상 검사분야에서는 시약으로 대량 이용되고 있다.

효소 센서는 효소 고정화막과 물리화학 디바이스로 구성된다. 물리 화학 디바이스로는 전극, 트랜지스터, 서미스터, 광계측 장치 등이 이용되고 있다. 최근 당뇨병 환자가 급증하고 있으며, 당뇨병을 진단하기 위하여, 혈액 중의 포도당 농도 측정이 불가피하여, 이들 혈당값을 간단히 측정할 수 있는 센서가 필요하였다. 이런 추세에서 글루코오스 센서가 시급히 요구되

었으며, 글루코오스 센서가 최초로 실용화되었던 것이다. 따라서 여기서는 전극을 이용한 글루코오스 센서에 관해서 서술하겠다. 클라크(Clark)와 리온즈(Lyons)에 의해 처음으로 효소 전극의 원리가 제안되었다. 그들은 혈액 중의 포도당을 측정하기 위하여 글루코오스 센서의 원형을 제안하였다. 투석막 사이에 효소를 함유시켜, 이 투석막을 혈액과 접촉시키면, 함유된 효소가 포도당과 반응하면서 산소를 소비하게 된다. 이 때 소비된 산소를 산소 전극으로 측정함으로써, 혈액 중 포도당 농도를 계산할 수 있을 것이라고 제안하였다. 업다이크(Updik)와 히क्स(Hicks)에 의해 이들의 제안이 센서로 구체화되었다. 그들은 포도당을 산화시키는 글루코오스산화 효소(glucose oxidase)를 폴리아크릴아미드 겔 막에 포괄 고정화시켜, 이 막을 격막 산소 전극부위에 부착시켜 글루코오스 센서를 제작하였다. 이것이 최초로 제작된 효소센서이며, 최근에는 그림 5와 같은 형태의 효소센서가 제작되고 있다.

이 센서를 시료 용액 속에 넣으면 시료 용액 중의 포도당이 확산하여, 고분자막에 고정되어 있는 글루코오스산화 효소에 도달하고, 효소 반

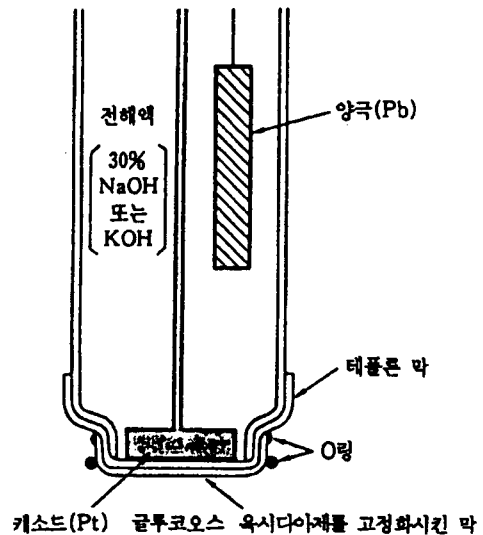


그림 5. 글루코오스 센서.

응에 의해 글루코노락톤이 생성되면서 산소가 소비된다. 이 때 소비된 산소량은 산소전극위에 전류 변화로 나타나며, 이 전류값의 변화로부터 포도당의 농도를 계산할 수 있다. 즉 효소 반응에 의해 효소막 부근의 산소 농도가 감소되고, 이에 따라 전극으로 확산되는 산소량이 감소되므로, 결과적으로 전극의 전류값이 감소하게 된다. 막에서 소비되는 산소량과 용액중에서 확산되는 산소량 사이의 평형 상태가 성립하게 되므로, 전류값은 어떤 정상값에 도달하게 된다. 이 정상 전류값의 변화는 시료 용액 중의 포도당 농도에 비례한다. 결과적으로 전류값의 변화와 포도당 농도와의 상관관계에서 미지의 포도당 농도를 신속히 측정할 수 있다. 한편, 산소가 소비될 때 생성되는 과산화수소를 측정하여도, 포도당 농도를 계산할 수 있다(그림 6). 이 경우에는 과산화수소 전극을 변환기로 이용한다. 즉 백금전극을 양극(anode)으로 하여 포화 수은 전극에 대하여 전극 전위를 +0.6V로 설정하면, 과산화수소가 전극표면에서 산화되면서 산화 전류가 발생하게 되는 원리를 이용한 것이다. 또 같은 원리로 인베르타아제(invertase), 무타로타아제(mutarotase), 글루코오스 산화 효소의 세 종류의 효소를 동시에 고정화시킨 막을 산소 전극 혹은 과산화수소 전극 위에 부착시키면, 설탕(sucrose) 농도를 측정할 수 있

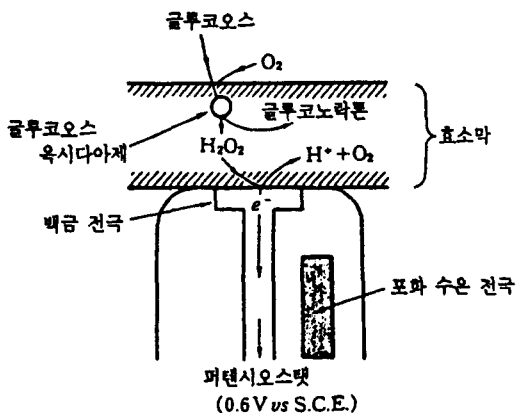


그림 6. 과산화수소 감지형 글루코오스 센서의 원리.

는 센서를 제작할 수 있다.

최근 효소 센서의 연구 개발이 매우 활발하게 진행되고있으며, 여러 가지 효소 센서가 개발되어 각종 분야에 응용되고 있다. 이들 효소 센서들을 표 1에 요약하였다.

한편, 효소센서의 연구 개발 방향은 센서의 미소화로 향하고 있다. 센서를 미소화하게 되면, 생체내에 삽입한다든지, 많은 센서를 집적화하는 것이 가능하게 된다. 이런 목적에서 마이크로 전극을 이용한 효소 센서의 개발이 활발하게 연구중이다. 예를 들면, 실리콘 비등방성에칭을 이용한 마이크로 효소센서의 제작이 시도되고 있으며, 실리콘 가공기술을 이용하면 미소한 마이크로 전극의 제작이 가능하며, 이에 따라 효소 센서의 미소화가 가능하게 될 것이다.

5. 미생물센서

앞 장에서는 분자 식별 소자로 효소를 이용하는 센서에 대해서 설명하였다. 효소는 일반적으로 가격이 비싸고 불안정하므로, 가격이 싸고 안정한 화학 센서의 개발이 여러 분야에서 요망되어 왔다. 대부분의 경우 효소는 미생물로부터 추출, 정제되고 미생물 자체는 다수의 효소를 포함하고 있다. 따라서 효소 대신 미생물 자체를 분자 식별소자로 이용하는 미생물 센서가 제안되었다. 미생물 센서는 경제적이고 안정성도 우수하기 때문에 공업 프로세스, 환경계측에 응용되어 주목되고 있다. 여기에서는 주로 전극을 이용한 미생물 센서의 원리와 응용에 대해서 설명하기로 한다. 미생물의 호흡과 대사 기능을 이용하면 화학 물질을 선택적으로 식별할 수 있다. 미생물 센서는 효소 센서와 마찬가지로, 미생물 고정화막과 전극으로 구성된다. 즉, 미생물을 분자 식별 소자로 사용하기 위해서는 이것을 물에 녹지 않는 고분자막에 고정화할 필요가 있다. 미생물을 고정화함으로써 기능이 안정화되어 장기간 반복하여 사용할 수

표 1. 효소 센서의 특성

센서	효소	고정화법	전기화학장치	안정성 (일)	반응시간 (분)	측정범위 (mg/l)
glucose	glucose oxidase	공유결합법	산소전극	100	1/6	1~5 × 10 ²
maltose	glucoamylase	공유결합법	백금전극	-	6~7	10 ⁻² ~10 ³
galactose	galactose oxidase	흡착법	백금전극	20~40	-	10~10 ⁸
ethanol	alcohol oxidase	가교화법	산소전극	120	1/2	5~10 ³
phenol	tyrosinase	포괄법	백금전극	-	5~10	5 × 10 ⁻² ~10
catechol	catechol 1,2-dioxygenase	가교화법	산소전극	30	1/2	5~2 × 10 ³
pyruvic acid	pyruvate oxidase	흡착법	산소전극	10	2	10~10 ³
uric acid	uricase	가교화법	산소전극	120	1/2	10~10 ³
L-amino acid	L-amino acid oxidase	공유결합법	암모니아전극	70	-	5~10 ²
D-amino acid	D-amino acid oxidase	포괄법	암모니아전극	30	1	5~10 ³
L-glutamine	glutaminase	흡착법	암모니아전극	2	1	10~10 ⁴
L-glutamic acid	glutamate dehydrogenase	흡착법	암모니아전극	2	1	10~10 ⁴
L-asparagine	asparaginase	포괄법	암모니아전극	30	1	5~10 ³
L-tyrosine	L-tyrosine decarboxylase	흡착법	탄산가스전극	20	1~2	10~10 ⁴
L-lysine	L-lysine decarboxylase amine oxidase	가교화법	산소전극	-	1~2	10 ³ ~10 ⁴
L-alanine	alanine decarboxylase	가교화법	산소전극	-	1~2	10 ³ ~10 ⁴
	L-phenylalanine	-	암모니아전극	-	10	5~10 ²
L-methionine	methionine ammonia lyase	가교화법	암모니아전극	90	1~2	1~10 ³
urea	urease	가교화법	암모니아전극	60	1~2	10~10 ³
cholesterol	cholesterol oxidase	공유결합법	백금전극	30	3	10~5 × 10 ³
neutral lipid	lipase	공유결합법	pH전극	14	1	5~5 × 10
phospholipid	phospholipase+choline oxidase	공유결합법	백금전극	30	2	10 ² ~5 × 10 ²
monoamine	monoamine oxidase	포괄법	산소전극	7이상	4	10~10 ²
penicillin	penicillinase	포괄법	pH전극	7~14	0.5~2	10~10 ²
amygdalin	β-glucosidase	흡착법	시안이온전극	3	10~20	1~10 ³

있다. 미생물 센서의 경우, 고정화 상태에서도 살아 있는 미생물을 이용할 때가 많고 센서에 관여하는 생화학 반응 메카니즘은 일반적으로 복잡하다. 이 중에서 미생물의 호흡활성을 지표로 하는 센서를 호흡 측정형 센서라고 한다(그림 7).

호기성의 미생물은 호흡에 의해 산소를 소비하므로 격막 산소 전극을 이용하여 미생물의 호흡 활성을 측정할 수 있다. 예를 들면, 시료액 중에 미생물의 호흡을 촉진 또는 억제하는 물질이 존재하는 경우에 미생물 고정화막을 격막 산소 전극의 가스 투과성막 위에 부착하여 제작한 미생물 센서를 시료액상에 넣으면 호흡

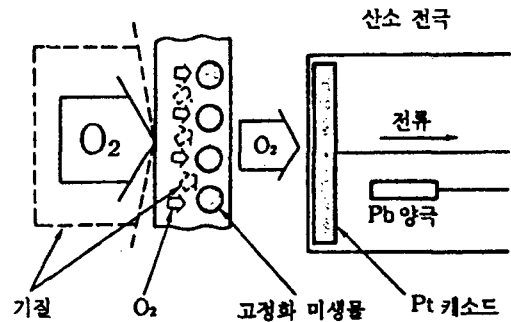


그림 7. 호흡활성 측정형 미생물 센서.

활성을 지표로 특정한 화학 물질을 측정할 수 있다. 유기화합물이 존재하지 않는 포화 용존 산소 상태의 시료액 중에 센서를 넣으면, 미생

물막에 확산하는 산소가미생물의 호흡으로 소비되고 남은 산소 사이에 평형이 성립하여 정상 전류값이 얻어진다. 이 때 얻어지는 전류값은 포화 용존 산소 때의 격막 산소 전극 자체의 전류값보다 낮다. 다음, 이 미생물센서를 포화 용존 산소상태의 시료액 안에 넣으면 시료액 중의 유기 화합물에 의해 미생물의 호흡이 촉진되기 때문에 전극에 확산하는 산소량이 감소하고 이에 따라 전류값도 급속히 감소된다. 그러나 미생물막으로 유기물의 확산이 정상 상태에 도달하기 때문에 산소 소비량도 정상 상태에 도달한다. 이에 따라 산소의 확산 속도와 미생물에 의해 소비되는 산소의 소비속도와의 사이에 평형이 성립하여 정상 전류값이 얻어진다. 이 정상 전류값과 시료액 중의 유기 화합물 농도 사이의 상관 관계를 이용하여 각종 유기 화합물과 가스상 화학물질을 측정할 수 있다.

한편, 미생물의 대사 작용에 의해 각종 대사 산물이 생성된다. 이 대사 산물 중에는 전극 활성물질(전극 위에서 쉽게 반응하는 물질과 전극에 감응하는 물질)이 포함되어있다. 수소, 포름산, 각종 환원형 조효소 등의 대사 산물은 전류값 측정 방식으로 측정할 수 있다. 한편, 이산화탄소, 유기산 등의 대사 산물은 전위차 측정 방식으로 측정할 수 있다. 따라서 미생물의 대사 작용에 의해 측정 대상물질이 전극 활성 물질로 변환되는 경우, 미생물막과 전극을 조합함으로써 이들 물질을 측정할 수 있다. 이와 같이 대사 산물을 지표로 하는 형식의 센서를 전극 활성 물질측정형 센서라고 한다(그림8).

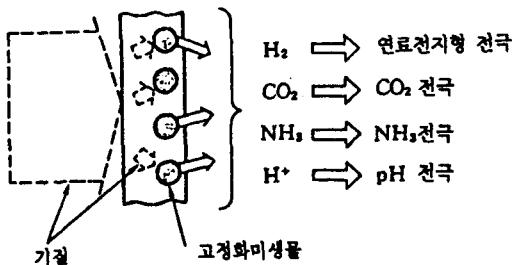


그림 8. 전극 활성 물질 측정형 미생물 센서.

예를 들면, 수소 생산균 고정화막을 연료 전지형의 양극전극 표면에 부착하여 미생물 센서를 제작할 수 있다. 연료전지형 전극이란, 백금 전극을 양극으로, 과산화는 전극을 음극으로, 인산 완충액을 전해액으로 사용하고, 이온 교환막의 액락(liquid junction)을 가지고 있는 전극으로 양극에 수소 등이 반응하면 전류값이 얻어진다. 이 미생물센서를 유기물을 포함하는 시료액 안에 넣으면 수소 생산균에 의해 유기물이 반응하여 수소가 생성된다. 이때 생성된 수소는 겔 막 안으로 확산하여 백금 전극 표면에서 산화되기 때문에 전류값은 서서히 증가한다. 그러나 유기물의 확산속도가 정상상태가 되면 수소 생성 속도도 정상상태로 된다. 즉, 용액으로부터 유기물의 확산 속도와 미해 속도 사이에는 평형이 성립하므로 전극 표면으로부터의 수소 확산 속도가 정상 전류값이 얻어진다. 이 정상 전류값과 시료액 중의 유기물농도와의 상관관계를 이용하여 시료액 중의 유기 화합물을 측정할 수 있다. 다음에 이 미생물 센서의 응용 예를 설명하기로 한다.

BOD(biological oxygen demand: 생물학적 산소 요구량)는 국제적인 수질 오염 지표로서 일본에서도 일본 공업규격05-K0101)으로 BOD의 측정법이 규정되어 있다. 이 방법은 조작이 복잡하고 측정 시간도 5일이나 요하는 등의 문제점이 있으므로 BOD의 온라인 측정이 매우 어려워 신속한 측정법이 요구되고 있다. 이에 따라 미생물 센서의 원리를 응용한 BOD센서 제작을 시도하였다. 폐수 처리시설에 자주 사용되는 효모인 트리코스포론 브라시카에를 다공성인 아세틸 셀룰로오스 막 위에 흡착, 고정화한 후 산소 전극에 부착하여 센서를 제작하였다. 이 미생물 센서를 폐수에 넣으면 극소 전류값이 얻어지고, 이것은 폐수의 BOD값에 비례함을 알았다. 이 원리에 기초하여 미생물 센서를 이용한 폐수의 BOD 측정시스템이 제작되었다(그림 9).

이 시스템으로 폐수의 BOD를 신속하고 연속

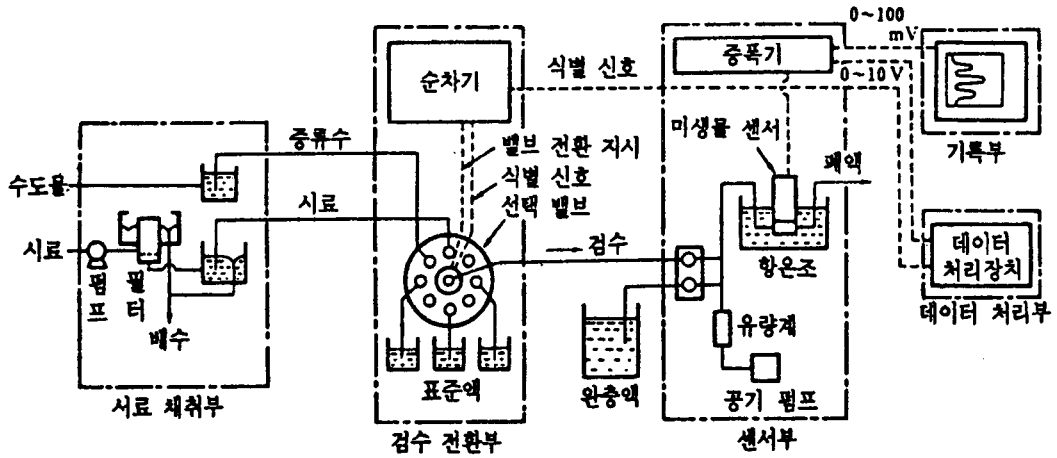


그림 9. BOD 센서.

표 2. 미생물센서의 특성

센서	고정화미생물	전극	측정범위(mg/l)	응답시간(분)	안정성(일)
전류측정방식					
글루코오스	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	산소전극	3~20	10	14
자화당	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>	산소전극	20~200	10	20
아세트산	<i>Trichosporon brassicae</i>	산소전극	10~200	15	30
암모니아	질화균	산소전극	3~45	5	20
메탄올	미동전균	산소전극	3~22	15	30
에탄올	<i>Trichosporon brassicae</i>	산소전극	3~30	15	30
나이스타린	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	산소전극	1.2~800	60	-
변이원	<i>Bacillus subtilis</i>	산소전극	1~10	60	-
아질산염	<i>Nitrobacter sp.</i>	산소전극	51~250	4	24
비타민 B ₁₂	<i>Escherichia coli</i>	산소전극	$5 \times 10^{-3} \sim 2.5 \times 10^{-2}$	2	25
메탄	<i>Methyromonas flagellata</i>	산소전극	0.2~100	0.5	30
BOD	<i>Trichosporon cutaneum</i>	산소전극	3~30	10	30
균주	-	연료전지	$10^3 \sim 10^{11}$ *	1.5	60
비타민 B ₁	(<i>Lactobacillus fermenti</i>)	연료전지	$10^3 \sim 10^2$	360	60
포름산	<i>Clostridium butyricum</i>	연료전지	1~1000	10	30
전위측정방식					
세팔로스포린	<i>Citrobacter freundii</i>	pH전극	60~500	10	7
니코틴산	<i>Lactobacillus arabinosus</i>	pH전극	$10^{-2} \sim 5$	60	30
글루탐산	<i>Escherichia coli</i>	CO ₂ 전극	8~800	5	20
리신	<i>Escherichia coli</i>	CO ₂ 전극	10~100	5	20

*균주/ml

적으로 측정할 수 있으며 현재 실용화되어 공장 폐수의 BOD 측정에 이용되고 있다.

이외에도 미생물 센서의 연구는 현재 활발히

진행되고있다. 이것은 미생물 센서가 매우 안정하여 공업 프로세스나 환경 측정에 이용할 수 있기 때문이다. 이들 미생물센서의 특성을 표 2

에 요약하였다.

전극 이외의 물리화학장치를 이용한 미생물 센서가 연구 개발되고 있으며, 그의 진전이 기대된다. 특히 새로운 미생물 기능을 발견하여, 이들 물리화학 장치와 조합함으로써 더욱더 많은 화학물질을 측정할 수 있는 미생물 센서의 제작인 가능하리라 생각된다.

6. 미각, 후각센서

미각과 후각의 감지 시스템에 대해서 아직 그 메카니즘이 명확히 규명되어 있지 않다. 그러나 미각과 후각 등의 복잡한 여러 화학 물질의 혼합물을 인식하는 다기능 센서의 개발은 우리 과학자들의 꿈이다. 실제로 매우 기초 단계의 실험들이 시도되고 있다. 아직은 미각 센서, 혹은 후각 센서라고 하기에는 무리가 있으나 장차 미각과 후각센서 연구의 기초 자료로 소개하고자 한다.

미각이나 후각 센서의 제작 시도에는 세 가지 방법이 있다.

첫째, 집적형 센서로 마이크로 컴퓨터 및 생체의 정보처리를 모방한 신호처리, 알고리즘을 조합하여 식별 정량하는 방법이다.

둘째, 생체막에서 이루어지는 맛이나 냄새의 인식을 모방한 것이다. 예를 들면 리셉터 등을 지질 2분자막 안에 포괄 고정화하여 화학물질의 수용을 전기 신호로 변환하려는 시도로서 생체 재료 및 그 기능을 모방한 방법이다.

셋째, 맛과 냄새의 주요 성분을 각각 현재의 화학 센서로 측정하여 맛, 혹은 냄새의 패턴을 구하려는 방법이다. 물론화학 센서로 측정할 수 있는 맛이나 냄새 물질은 한정되어있기 때문에 막대한 양의 센서를 이용하지 않으면 그들의 패턴을 인식할 수 없다. 현재 시도되는 몇 가지 실험 중 후각센서에 대하여 소개하고자 한다.

후각의 인식은 냄새물질의 비특이적 흡착과 그 응답패턴의 뇌에 의한 패턴인식이라는 가설이 주목받고 있다(그림 10).

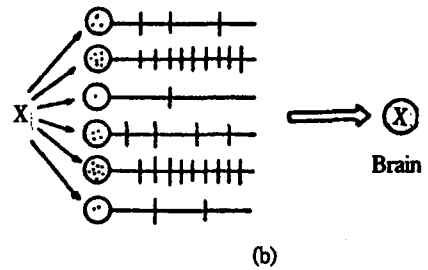
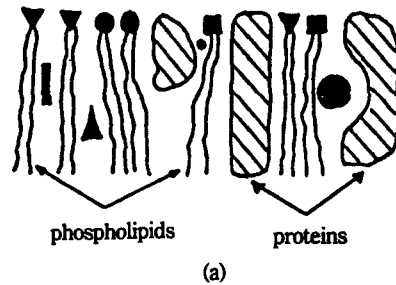


그림 10. 후각의 냄새인식 메카니즘.

이 가설에 기초하여 센서의 감응성막으로 천연지질막을, 센서의 트랜스듀서로 SAW(Surface Acoustic Wave: 표면탄성파) 디바이스를 사용하여, 각종 냄새물질에 대한 응답패턴을 back-propagation 알고리즘을 사용하여 패턴인식을 한 결과, 냄새물질의 패턴인식 가능성을 시사할 수 있었다.

7. 바이오센서의 응답증폭

바이오 센서를 이용하여 극미량의 물질을 측정하기 위하여 각종 응답 증폭에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 특히 라텍스 비드를 이용한 응답증폭 연구는 최근에 활발하게 본 연구그룹에서 수행하여 왔다.

라텍스 비드를 이용한 응답증폭 메카니즘은 그림 11과 같이 PSP(Porphyrin Sandwiched Peptide)를 자기집합화한 단분자막과 표면에 PSP가 결합된 라텍스 비드를 결합시킴으로써 결합되는 양을 증가시키는 방법으로 기존의 측정 방법의 1000배에 가까운 증폭효과를 얻을 수 있었다.

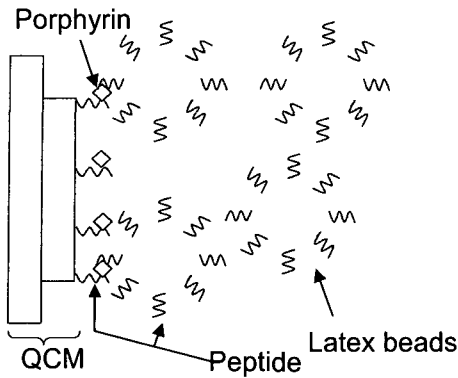


그림 11. 라텍스 비드를 이용한 응답속도 메카니즘.

8. 바이오센서의 개발과제

앞에서 각종 생체 물질을 이용하는 바이오센서에 대해서 설명하였다. 바이오센서를 다른 화학 센서와 비교하면 선택성이 우수하다는 장점이 있는 반면, 무기 물질을 분자식별 물질로 이용하는 화학 센서와 비교하면 안정성에 문제점이 있다. 현재 생체 물질을 고정화한다든지 혹은 화학 수식하여 센서 소자로 사용할 수 있도록 안정화를 꾀하고 있지만 이들의 방법으로는 센서를 장기간 사용할 수 없는 것이 현실이다. 그래서 호열성 미생물 및 이들로부터 추출한 효소를 분자 식별 소자로 이용하려는 연구가 행하여지고 있다. 그러나 이들 모두가 안정화될 수는 없다. 호열성 세균에 대해서도 장기간 이용하는 것은 상당히 어렵다. 그래서 장차 바이오센서의 소자를 분자 레벨로부터 설계, 합성하는 기술이 필요하리라 생각한다. 이것은 최근에 진전되고 있는 단백질 공학에 의해 가능하게 되리라고 예상된다. 즉, 천연 단백질의 구조나 기능을 충분히 해명하고 이들에 관한 데이터 베이스를 기초로 하여 완전히 새로운 단백질, 혹은 단백질의 일부를 개량하여 설계도를 만들고, 이것에 근거하여 유전자 산물을 만드는 기술이다. 이러한 방법을 이용하면 자연에 존재하지 않는 안정한 단백질을 대량으로 생산하는 것도 가능하다. 이와 같은 단백질을 설계, 합성

하여 극히 안정한, 즉 내열성, 내알칼리성, 내산성, 내금속성인 효소를 만들어 낼 수 있다. 이리하여 극히 안정한 바이오센서의 소자를 합성할 수 있다고 생각된다. 또 바이오 소자 등 생물공학 전반에 이용될 수 있는 단백질을 합성하기 위해서도 단백질 공학은 필수 불가결하다.

현재 바이오센서의 개발이 미소화로 향해지고 있고 이미 설명했듯이 반도체 소자와 반도체의 가공기술을 이용하여 만든 미소 전극을 사용하는 센서의 개발이 활발히 진행되고 있다. 이들 센서를 고도로 집적화함으로써 장차 다기능형 바이오센서가 실현되리라 생각되지만 센서의 트랜스듀서가 작아짐에 따라 게이트나 전극의 특정 부분에 선택적으로 효소를 고정화하는 것이 점점 곤란하게 된다. 따라서 극히 고효율성인 효소박막을 형성하는 고정화 기술이 매우 중요시되고 있다. 예를 들면, LB막과 같은 단분자막의 형성 기술을 이용하여 게이트와 전극 위에 효소박막을 형성시키는 기술이 앞으로 개발되리라고 생각된다. 또 인쇄기술과 잉크 제트(ink jet)기술 등을 이용하여 특정 게이트 혹은 전극 위에 특정 효소를 고정화시키는 기술의 개발도 필요하게 되리라고 예상된다.

이상 바이오센서의 개발 과제에 대해서 설명하였다. 이런 문제점들을 해결함으로써 극히 다종 다양한 바이오센서가 고안되고 현재의 고도 정보화 사회에 이들 바이오센서가 화학 물질의 측정에 크게 활약하리라 생각된다. 바이오센서를 이용하여 건강진단이 가정에서 행하여지고 측정 결과는 INS를 경유하여 병원의 전문가에게 보내어져 자동적으로 건강을 관리하는 것도 가능하게 될지 모른다. 또 미각 센서, 후각 센서가 실현되어 이와 같은 인공 감각기관을 가진 로봇이 조리를 한다든지 식품 공장에서 활약하는 것도 그리 멀지 않은 장래에 실현될 것으로 기대해마지 않는다.

감사의 글

본 총설의 자료 수집과 정보교환은 동아대학교 교내연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- 1.鈴木周一편 「イオン電極と酵素電極」 講談社 (1981).
- 2.鈴木周一편 「バイオセンサー」 講談社 (1984).
3. Isao Karube "Microbial sensor" *J. Biotechnology*, **15** (1990).
4. S. M. Chang, B. Ebert, E. Tamiya and I. Karube, "Detection of chemical vapor using a lipid-coated SAW resonator oscillator" *Journal of Biotechnology*, **16**, 211-220 (1990).
5. P. F. Turner, I. Karube, and G. S. Wilson, "Biosensors fundamentals and applications", Oxford, Oxford University Press, London, 1987
6. C. Nakamura, S. H. Song, S. M. Chang, N. Sugimoto and J. Miyake, "Quartz crystal microbalance sensor targeting low molecular weight compounds using oligopeptide binder and peptide-immobilized latex beads", *Anal. Chim. Acta*, **469**, 183 (2002).