

## 압전 수정 결정 미량 천평(PZ QCM) 바이오센서의 원리와 응용

김 의 락  
계명대학교 자연과학부 화학과  
(접수 : 2003. 2. 11., 게재승인 : 2003. 4. 29.)

## The Theory and Application of Piezoelectric Quartz Crystal Microbalance(PZ QCM) for Biosensor

Ui-Rak Kim  
Department of Chemistry, Keimyung University, 1000-Shyngdang-Dong, Dalshyu-Ku, Daegu 704-701, Korea.  
(Received : 2003. 2. 11., Accepted : 2003. 4. 29.)

This article contains an overview of acoustic wave devices, the theory and application of piezoelectric quartz crystal microbalances(PZ QCM) ; clinical analysis, gas phase detection, DNA biosensors, drug analysis, food microbial analysis and environmental analysis.

**Key Words** : Acoustic wave, SAW, TSM, piezoelectric quartz crystal microbalance(PZ QCM)

### 서 론

여러 가지 중요한 물리 및 화학반응 중에는 질량 변화가 수반된다. 이러한 질량변화를 측정하는 미량 천평에 관한 관심은 자연과학 기구들의 급속한 발달과 함께 더욱 크게 증가되었다(1). 30년 전만 하더라도 현재와 같이 미량 천평에 대한 전문가와 이들을 조립한 기구들이 많아질 줄은 예측하지 못하였다. 왜냐하면 그때만 하여도 결정(crystal)을 절단하여 일정한 두께의 박막(thin film)의 판상을 만드는 기술과 그 위에 금속 전극을 입히는(coating) 기술이 없었기 때문에 제작이 불가능하였다. 그러나 오늘날은 진동자용 수정결정의 박막을 대단히 정교하게 마이크로 프로세서(microprocessor)로 두께 조절이 가능하고, 자동적으로 디바이스 제작과 상품화가 가능하며, 또 진공과학과 기술 발달로 자연과학자나 기술자들의 연구에 필요한 요건에 만족되며, PZ QCM을 이용하는 많은 연구에 필요한 조건을 만족되게 제작할 수가 있게 되었다.

### 압전 수정 결정 미량 천평(piezoelectric quartz crystal microbalance, PZ QCM)의 이론

1880년 Jacques Curie와 Pierre Curie(2)가 처음으로 압전성

(piezoelectricity)에 대하여 연구하였다. 수정(quartz), rochelle salt( $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), tourmaline 같은 여러 가지 결정의 표면에 기계적인 압력을 가하였을 때, 결정의 양 표면사이에 전압이 걸리고, 그 크기는 가해진 압력에 비례하였다. 이를 압전효과(piezoelectric effect)라 한다. 또 결정의 양 표면사이에 전압을 가했을 때, 기계적인 압력이 생기며, 이는 결정구조의 변형을 야기시키는데, 이러한 변형은 탄성적이며, 같은 크기의 전압을 반대방향으로 걸어 주었을 때는, 크기가 같고 방향이 반대인 변형을 일으킨다는 것을 발견하였다. 그러므로 결정에 전압을 변갈아 걸어 주었을 때 결정은 표면에 평행한 방향으로 진동운동(vibrational motion)을 한다. 이를 역 압전 효과(converse piezoelectric effect)라 하며, 이런 진동운동은 가로파(transverse wave)를 생성시키는데, 이 파의 주파수는 결정이 갖는 고유한 공명 주파수(resonant frequency)가 되며, PZ QCM 시스템의 기본원리가 된다. 압전성 결정(piezoelectric crystal)은 대칭중심이 없는 비등성 천연결정(anisotropic natural crystal)내에 생성된 전기 쌍극자(electric dipoles)에 기계적 변형을 받게 한다. 천연 압전성 결정은 수정( $\text{SiO}_2$ ), lithium niobate( $\text{LiNbO}_3$ ), 산화아연( $\text{ZnO}$ ), gallium arsonide( $\text{GaAs}$ ), cadmium sulfide( $\text{CdS}$ ), lithium tantalate( $\text{LiTaO}_3$ ), tourmaline과 rochelle 염 등 20여 가지가 있고(3), 약간의 인공적으로 만든 ceramics와 고분자 물질도 압전성을 가지고 있다. 이들 중 수정(quartz)은 높은 경직성(high stiffness)과 수용액 속에서 화학적 안정성을 가지며, 소실 없이 고온까지 압전성을 유지하고, 대단히 예민한 공명을 하기 때문에 압전성 물질로 가장 널리 사용되어진다. 압전성(piezoelectricity)의 이용성에 관한 기본이론의 정립은

† Corresponding Author : Department of Chemistry, Keimyung University, 1000-Shyngdang-Dong, Dalshyu-Ku, Daegu 704-701, Korea.

Tel : +82-53-580-5181, Fax : +82-53-580-5164  
Email : kur@kmu.ac.kr

Raleigh(1885)에 의하여 처음으로 이루어졌다(4). 압전 수정 결정 진동자(piezoelectric quartz crystal resonator)는 자연 또는 합성 수정결정을 정교하게 판상(slab)으로 절단한 것이다. 순수한 자연산 수정 결정은 Fig. 1과 같이 비등성 결정이다.

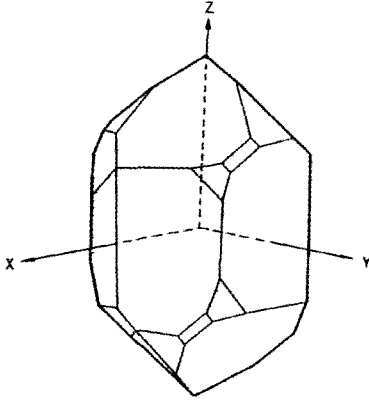


Figure 1. The assignment of axes to a quartz crystal.

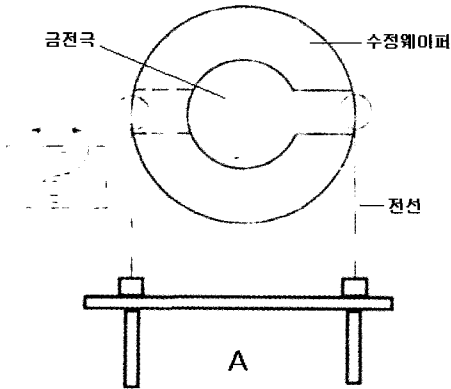


Figure 2. Top view of a TSM(PZ QCM) consisting of a quartz disc, metal electrodes and electric contacts. The small figure illustrates the wave motion and the direction of particle displacement.

PZ QCM은 Fig. 2와 같이 판형(plated) 전극을 가진 얇은 수정 원판으로 되어있다. PZ QCM은 압전 진동 전자장을 디바이스에 교차로 작용시킬 때, 진동 전자장은 결정을 통하여 전파(propagate)되는 음파(acoustic wave)를 생성시킨다. 그리고 디바이스의 두께가 음파의 반파장(half wavelength)의 배수가 될 때 최소 임피던스(impedence)가 된다. PZ QCM은 음파가 결정표면에 직각방향으로 전파되는 비틀림형 디바이스(shear mode device)이다(5). 그렇게 되기 위해서는 수정결정 판을 결정축에 대하여 특정한 방향으로 절단하지 않으면 안 된다. Fig. 3은 AT와 BT 절단을 나타낸 것으로, 이들을 회전된 Y-절단 집단(Y-cut family)이라 한다. 결정 표면 위에 물리나 화학적 흡착으로 측정물질의 박막(thin film)이 생성될 때, 박막 형성물의 질량에 비례하여 진동자의 진동수가 감소된다. 기본 진동수는 와이퍼(wafer)의 두께와 화학적 구조, 모양 그리고 질량에 의존하며 두께, 밀도 그리고 수정의 비틀림 계수(shear modulus)와 인접한 공기나 액체의 밀도 그리고 점도 같은 물리적 성질들도 진동수에 영향을 미친다.

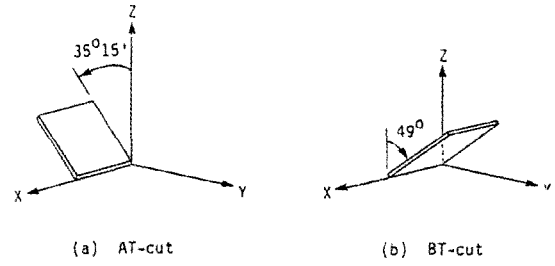


Figure 3. AT-and BT-quartz crystals.

Sauerbrey(6)는 공명 진동수의 변화가 결정 위에 축적된 물질의 질량에 의존한다는 것을 발표하였다.

$$\Delta f \propto k \Delta m \quad (1)$$

진동자 결정을 용액 속에 담구었을 때 진동수가 급격히 변하며 진동수는 사용된 용매에 의존하며, 진동수 결정에 미치는 영향에 대한 요인들의 연구는 용액 속에 포함된 측정하려는 물질의 측정용 센서 개발을 위해서나, 결정(crystal)의 진동기구(mechanism of oscillation)를 이해하는데 중요한 역할을 한다(7, 8). 결정 표면 위층(overlayer)이 두꺼우면 진동수( $f$ )와 질량차( $\Delta m$ )사이에는 (1)식을 만족하는 직선관계가 되지 않으므로 교정(correction)을 하여야 한다. 또 표면의 진동은 액체의 밀도( $\rho$ )와 점도( $\eta$ )를 곱한 양의 평방근( $\rho\eta$ )<sup>1/2</sup>에 비례하여 감소하며, 평면 라미나 흐름(plane-laminar flow)을 용액 내에 생성시킨다. 다시 말하면 진동수 변화량은 다음 식(2)과 같이 주어진다.

$$\Delta f = f_0^{3/2} \left( \frac{-\rho\eta}{\pi\mu_q \rho_q} \right)^{1/2} \quad (2)$$

여기서  $f_0$ ,  $\rho_q$ 와  $\mu_q$ 는 수정 진동자의 기본 진동수, 밀도 그리고 탄성률이다. 이 변형과의 침투 깊이(penetration depth)는  $(\pi f_0 \mu_q \rho_q)^{1/2}$ 에 의존하며, 20°C에서 물에 대한 결정진동자의 이 값이 2,500 일 때, 5 MHz파를 발생한다. Kanasawa와 Gordon(8)은 염용액(salts)이나 고분자 용액 이외 용액에서  $\Delta f$ 는  $(\eta\rho)^{1/2}$ 에 직선 관계를 가진다고 밝혔다. 실제로 그들은 점도, 밀도 그리고 전기 전도도의 차이를 가지는 여러 가지 용매를 사용하여,  $(\eta\rho)^{1/2}$ 에 대한 진동수 감소의 직선성(linearity)을 시험하였다. 실온에서 묽은 수용액에 한 면만 접촉되어 있는 10 MHz 수정 결정일 경우  $\Delta f$ 는 2 kHz이다. Bruckenstein과 Shay(7)는 결정 표면의 거칠기(roughness)도 액체상에 수 kHz의 진동수 변화를 일으키게 된다고 발표하였다. 압전성 물질로 AT-cut 수정 진동자를 사용한 압전 수정 결정 디바이스(piezoelectric quartz crystal device)에서는 진동수와 질량과의 관계는 Sauerberg 식으로부터 다음과 같은 (3)식을 얻는다.

$$\Delta f = \frac{-2f_0^2}{A\sqrt{\rho_q \cdot \mu_q}} \cdot \Delta m \quad (3)$$

여기서  $\Delta f$ 는 측정된 진동수 변화(Hz)이며,  $f_0$ 는 AT-cut 수정 진동자 표면의 고유진동수로서  $9 \times 10^6$  Hz이며, A는 금전극의 면적이고,  $\rho_q$ 는 수정자의 밀도로써  $2.65 \text{ g/cm}^3$ 이며,  $\mu_q$ 는 수정자의 탄성률로써  $2.95 \times 10^{11} \text{ dyne/cm}^2$ 이다. 이들 값을 (3)식에 대입하여 계산하면 (4)식이 된다(9).

$$\Delta f = -2.26 \times 10^{-6} f_0^2 \Delta m / A \quad (4)$$

만약 사용한 수정 결정 진동자의 진동수 1 Hz 변화에 대하여, 무게 변화가  $1.25 \pm 0.01 \text{ ng}$ 으로 변한다면 위의 식은 다음과 같이 (5)식으로 나타낼 수 있다.

$$\Delta m = -(1.25 \pm 0.01) \times 10^{-9} \Delta f \quad (5)$$

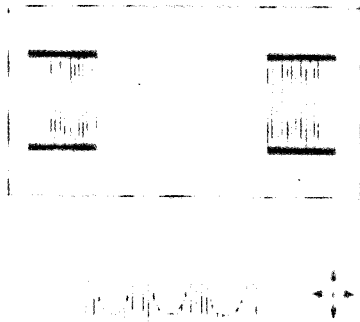


Figure 4. Top view of SAW delay line consisting quartz plate and interdigital metal transducers. The lower figure indicates the wave motion and direction of surface particle displacement.

수정 결정 미량 천평은 Fig. 2와 같이 판형(plated) 전극을 가진 얇은 수정 원판(disk)으로 되어있다. 전극으로 사용되는 금속은 수정 원판 위에 직접 진공 증착하여 만들며, 증착되는 금속의 양은 필요한 진동수에 따라 조절된다. 그러나 금속들이나 다른 고체들은 진동하는 결정에 크게 영향을 미치지 않는다. 이 때 금속전극은 두께가 대략  $3,000 \sim 10,000 \text{ \AA}$ 이며, 직경이 3-8 mm인 원형으로 만들며, 사용되는 금속은 금(Au), 은(Ag), 알루미늄(Al) 또는 니켈(Ni)을 사용한다. 이들 금속중 금(Au)은 여러 가지 화학물질에 대하여 불활성(inertness)이기 때문에 가장 많이 사용된다. 은(Ag) 전극은 수용액 속에서 장시간 사용할 경우 안정성(stability)이 떨어진 다. 그러나 팔라듐(Pd)으로 처리하면 이러한 문제를 해결할 수 있다. 그 외 양극 산화된 팔라듐 전극(+1.4 vs Ag/AgCl)은 처리하지 않은 팔라듐보다 더 높은 히드록시화 된 표면을 가지므로 생체물질을 고정화하는데 이용된다. 은(Ag) 전극도 산화 실리콘( $\text{SiO}_2$ )으로 처리할 수 있으나 생성된 표면은 진동하는 동안에 불안정하다. 진동자 센서(oscillator sensor)는 표면음파(surface acoustic wave, SAW)와 압전 결정(piezoelectric crystal, PZ)을 사용하여 만든 것으로 크게 두 종류가 있다. SAW 디바이스는 Fig. 4와 같이 고체 박막 경

계(solid thin-film boundaries)에서 Raleigh파 전파 법칙(Raleigh wave propagation principle)에 따르거나 벌크파(bulk wave) 압전 디바이스(piezoelectric device)와 같이 작용한다(10, 11).

PZ가 9-14 MHz의 진동수를 가지는 것에 비하여 SAW 결정은 수백 MHz의 진동수를 가진다. Sauerbrey 식에서 진동수 변화량은 수정 진동자 표면의 고유항의 2승에 비례하므로 PZ 검출기에서  $(10)^2=100$ 에 비하여 SAW 검출기에서는  $(100)^2=10,000$ 가 되므로 이론적으로는 더 높은 감도를 가진다. 그러나 실제로는 유효측정 진동수 범위를 넘어 (1)식을 정확하게 만족하지 않기 때문에 QCM은 미량 천평으로 작용할 수 없다. 그러므로 수정 결정의 다른 형태가 미량 천평으로 작용할 수 있다. 그 예로 후막 변형형 진동자(thickness-shear mode, TSM)는 압전성(PZ)으로써 더 정확한 디바이스가 된다. 이들은 모두 앞에서 언급한 바와 같이 결정표면에 부착된 박막 구성물질의 질량을 디바이스의 진동수 변화로 측정할 수 있다. 음파 디바이스는 압전 물질이나 그 외 물질을 통하여 벌크 또는 표면 발진 음파(surface launched acoustic waves)의 전파(propagation)들이다. 금속변환기들의 초음파 진동수를 가지는 음파 발진과 형태 그러한 파의 공명 진동수는 결정의 방향성, 압전 물질의 두께, 변환기의 형태에 의하여 결정된다. 입자 변위(particle displacement)가 전파 방향에 직각일 때 생성된 파들은 가로파(transverse wave)이거나 비틀림 파(shear wave)이다. 압축파나 종파(compressional or longitudinal wave)인 경우에는 입자변위가 전파(propagation) 방향과 평행하게 진행된다. 그런데 벌크파(bulk wave)는 압전 물질의 용적(volume)을 통하여 전파된다. 표면파의 전파는 압전 물질 표면으로부터 대략 1 음파 파장의 거리로 제한된다. 음파의 극성화에 의존한 비틀림 파는 생성되는 감성 표면(sensing)에 평행 또는 수직으로 일어난다. 가장 널리 사용되는 음파센서는 센서 표면에 평행하게 입자 변위를 하는 벌크 가로파(bulk transverse wave)를 생성시키는 후막 비틀림(thickness shear mode, TSM) 디바이스이다. 액체 속으로 전파되는 그러한 파들은 액체의 점성 때문에 음파 에너지가 감소하게 된다. 그리고 액체 속에 전파되는 음파는 매체(액체)의 점성뿐만 아니라 액체와 고체 계면이 가지는 특정한 조건에 따라서도 영향을 받는다. TSM은 사용된 변환기의 모양에 의하여 한쪽 사용 디바이스(one-port device)로 분류된다. 두께(thickness,  $t$ )는  $\lambda = 2t / n$  식을 만족하는 기본적(fundamental,  $n=1$ )이고, 조화(harmonic,  $n=3, 5, 7, \dots$ ) 공명의 파장으로 결정된다. 결과적으로, 기본형(fundamental mode)의 공명진동은 대략 5-20 MHz를 가지는 수정 와이퍼(wafer)의 두께를 가진다(12, 13). SAW 디바이스는 Figure 4와 같이 감성 표면(sensing surface)으로부터 대략 1 음파 파장 안에서 양 방향으로 Raleigh 파를 생성시키는 인터디지탈 금속 변환기(interdigital metal transducers)와 두꺼운 ST-절단 수정판(thicker ST-cut quartz plates)으로 구성되어 있다. SAW는 비틀림과 압축성분(shear and compressional components)으로 구성된 파이기 때문에 표면 입자들이 여러 겹으로 전파된다. 이 중 압축 성분은 액체 매질 속에서 감쇠 효과를 일으키므로 SAW 디바이스의 사용을 어렵게 만든다. 비틀림 파의 입자 변위는 표면에 수직이고, 전파 방향에 대해서 가로

(transverse)이므로, 생성된 파는 수직 비틀림(shear vertical) 파로 분류된다. 가장 널리 사용되는 IDTs(interdigital metal transducers) 구조는 압전 물질을 양쪽에 둔 입력과 출력 변환기로 되어있다. 이러한 구조를 2면 디바이스(two-port device)라 한다. SAW 디바이스의 진동은 30내지 500 MHz 영역을 가지며 IDTs의 양쪽 떨어진 거리(finger spacing)에 의하여 결정된다(12). 그 외 표면 발생 음파 센서로는 압전 물질의 두께가 음파 파장 크기에 대응하여 축소되어진 판 디바이스(plate device)로 되어있다. 비록 표면 여기(excited)이지만, 발생된 파들이 압전 물질의 벌크를 통하여 전파된다. 일정한 두께를 가지는 판에서 생성된 Lamb 파는 판의 중앙 면에서 보았을 때 대칭과 비대칭형 양쪽이다. 그러나 판의 두께를 최소로 하면 파의 속도가 용매 속에서 소리(sound)의 압축파보다 느려진다. 그런 까닭으로 음파에너지가 보다 적게 감소하여, 압축파는 용매에 작용하지 않는다. 이와 같은 파를 생성시키는 디바이스를 유동성 판파(flexural plate wave, FPW), Fig. 5 (A)라 하고, 용액 속에서 작동할 수 있다.

FPW 디바이스는 대단히 얇은 silicon 층이나 ZnO를 압전 층(piezoelectric layer)에 튀게만든(sputtered) 합성막(composite membrane)으로 미세제작(microfabricate)하여 만든다. 압전판(piezoelectric plate)은 대단히 얇기 때문에 FPW 디바이스의 작동진동들은 다른 표면 발생 음파 디바이스보다 대체적으로 낮다(2-7 MHz)(12, 13). 이 계통에서 다른 형태로는 Fig. 5 (B)와 같은 비틀림 수평 음파 판형 디바이스(shear horizontal acoustic plate, SH-APM)이다. 이는 입자 변위가 감지 표면에 평행한 파를 생성한다. 생성된 파는 다른 진동수를 가지는 판형 계열(a series of plate mode)을 형성하고, 그들의 파가 겹쳐지는 판 표면사이로 전파한다. 전형적인 SAW 디바이스와 유사한 구조를 가지는 SH-APM 디바이스는 25-200 MHz 영역에서 작동한다. 그리고 판의 두께와 변환기의 띠 간격(band width)(IDTs의 양쪽 쌍(finger pairs)수에 의하여 결정되어지는)을 조절하여 특이한 판형 모드(particular plate mode)를 생성시키도록 설계한다. 이 디바이스는 액체와 기체 매질 내에서 작동한다(12). 다른 결정 방향성(different crystal orientation)을 가지는 후막 수정 결정판(thick quartz plate)은 디바이스의 표면에 평행한 비틀림 수평 표면파(shear horizontal surface waves, SH)를 발생한다. Fig. 5 (C)에서 보는 바와 같이 이런 종류의 파를 발생시키는 구조를, 표면 가로파(surface transverse wave, STW) 디바이스라고 한다. 여기서 금속 회절발(metal grating)은 파의 회절(diffraction)을 막기 위하여 사용되어진다. 박막구조를 가지는 Love파 디바이스는 유도음파를 위하여 사용된다. 이들 음파 디바이스는 역시 인터디지탈 변환기를 가진다(12). 요즘은 음파의 전파를 발생시키기 위하여 압전물질을 사용하지 않는 음파 디바이스를 개발하고 있다. 가는 막대형 음파(thin-rod acoustic wave, TRAW) 디바이스는 음파의 파장보다 더 작은 반경을 가진 가는 섬유로 구성된 원통형 막대 안으로 음파를 전파시킨다. 압전 입력 변환기(piezoelectric input transducers)는 장치 내(delay line configuration)에서 가는 막대(thin rod)를 통하여 음파를 발생하던가 받아들인다. 막대(rod)는 음파전파가 단순히 역학적 과정(mechanical process)으로 이루어지므로 압전물질로 만들지 않아도 된다.

TRAW 디바이스는 유동성(flexural)파와 확장성(extensional)파의 두 가지 진동형태를 가진다. 유동성(flexural)파 변위는 가는 관 표면에 직각이 되지만 확장성(extensional)파는 감지 표면 면에 있으므로 액체 내 전파는 증가된 점성으로 감쇄된다. 섬유 반경(fibre radius)의 감소로 센서의 질량 감도(mass sensitivity) 증가 가능성은 특히 액체 매질이나 유동성 모드(flexural mode)에서, 이러한 종류의 음파 디바이스를 사용할 때, 계면전기화학 연구에 크게 기여하였다(14). 가는 막대(thin rod) 대신에 관벽(tube wall)의 얇은 두께에 의하여 높은 질량 감도(high mass sensitivity)를 가지는 관을 센서 제작에 이용하였다. 디바이스를 액체 매질에 담구었을 때 단지 관측 음파 소실(observed acoustic losses)을 최소로 하는 구조가 흐름 속에서(in flow) 물리적으로나 화학적 변화를 관측하는데 적당하다(15). 가장 최근 연구된 디바이스는 전자기(electromagnetic)와 음파의 성질을 결합하여 제작하였다. 자기-음파-공명센서(magnetic-acoustic-resonator sensors, MARS)는 비 압전 음파 판(non piezoelectric acoustic plate)으로 제작되었다. 비틀림 음파의 생성과 검출은 방사진동 신호(radiofrequency signal)와 강한 자기장(magnetic field)에 의하여 이루어진다. 공기중에서, MARS 디바이스에 들어있는 금속화된 유리판(metallized glass plate) 위에 올려진 질량은 TSM 디바이스와 같이 Sauerbrey 식으로 구할 수 있다.

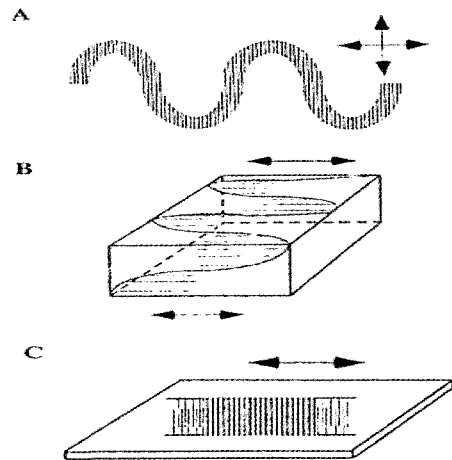


Figure 5. (A)FPW: Schematic diagram of a wave motion and direction of particle displacement, (B)SH-APM: Schematic diagram of a wave motion within the plate and direction of particle displacement for the  $n=1$  mode, (C)STW: The structure of the device and direction of particle displacement.

지금까지 논한 여러 가지 음파 디바이스의 특성을 정리하여 Table 1에서 비교하였다. 수정은 Fig.1에서 보는 바와 같이 직각좌표 축(cartesian axis)을 가지는 육각형의 결정이다. 결정은 회전되어질 수 있다. 그러나 X-축은 정점(vertex)을 통과하고 Y-축은 오른쪽 각도로 면을 통과한다. 장(field)은 결정(crystal)을 가로질러 X-축에 평행하게 작용시켰을 때 X-방향의 두께가 증가한다. X-축은 결정의 압축에 의하여 음 전하를 생성하는 쪽에서 양(positive)으로 정의된다. 만약 장(field)을 Y-축에 맞추면, 생성된 변형(deformation)은 Z-축을 따라 비틀어지며 전기적으로 중성이다. 수정결정을 센서에 응용하

Table 2. Commercial PZ Detectors

Model	Company	Dimension	Resolution Frequency	Mass	Application
EQCN-700 electrochemical QCM	Elchema, NY, USA	4.5×17×16.5 in.	0.1 Hz	0.1 ng	Adsorption, electroplating, corrosion, etching, gas sensing, biosensors, ion dynamics in conductive polymers
EQCN-900 electrochemical QCM	Elchema, NY, USA	6×17×16 in.	0.01 Hz	0.05 ng	Sensor development, in situ polymerisation studies, conductive polymers, batteries
Mark series cryogenic QCM	QCM Research, CA, USA	0.85×0.86×0.13 in.	0.1 Hz	4.42 ng/cm <sup>2</sup>	Contamination in vacuum environment
Mark series thermoelectric piezoelectric detector	QCM Research, CA, USA	1.25×0.30×2.95 in.	1 Hz	4.42 ng/cm <sup>2</sup>	Molecular flux measurement of gases; erosion and deposition rates on space-craft
QCA-917 quartz crystal analyzer	EG&G Princeton Applied, Research, NJ, USA	90×230×215 mm	0.1 Hz	1 ng/cm <sup>2</sup> ; 0.2 ng	Electrochemical deposition, corrosion, adsorption, batteries, electroplating, biosensor development
PM-700 series	Maxtek, CA, USA	89×216×235 mm	0.03 Hz at 5 MHz	0.7 ng/cm <sup>2</sup>	Plating, etching, corrosion, polymer growth adsorption
PZ-1000 immuno-biosensor system	Universal Sensors, LA, USA	12×23×27 cm	1 Hz	1 ng/cm <sup>2</sup>	Biosensor and non-biosensor adsorption
PZ-105 gas phase piezoelectric detector	Universal Sensors, LA, USA	12×23×27 cm	1 Hz	1 ng/cm <sup>2</sup>	Biosensor, adsorption

기 위하여 큰 결정을 와이퍼(wafers)들로 절단해야 한다. 비틀림 운동을 생성시키기 위해서는 장(field)이 와이퍼의 두 면(two faces)에 장착된 하전성 전극(charging electrodes)에 의하여 생성될 수 있도록 Y-축에 대하여 수직으로 절단하지 않으면 안 된다. 만약 절단이 X-축 주위로 회전되어졌다면 온도 계수가 현저하게 변한다. Fig. 3과 같이 AT-절단은 Y축에 대하여 수직이지만 Z-축으로부터 35.25°회전되어 있다. 이 각도에서 40℃에서, 온도계수(temperature coefficient)가 영(zero)이 되고, 진동수 조종이 이상적인, AT-절단(AT-cut)이 된다. 또 AT-절단은 대량생산이 가능하므로 결정의 가격이 싸다(inexpensive). 수정은 비등성이므로 대부분의 물리적, 전기적 성질이 방향에 의존한다. 유전상수(dielectric constant), 탄성(elasticity), 압전상수(piezoelectric constant) 그리고 다른 성질들이 매트릭스(matrix)들로 나타내어진다. AT-절단 와이퍼는 특정한 회전에서 절단되었고, 전자장이 와이퍼(wafer)를 가로질러 작용함으로 그 결과는 특정한 회전을 위하여 스칼라 성질을 가지는 한 세트(a set of scalar properties)가 된다.

**압전 수정 결정 미량 바이오센서의 응용**

압전 수정 미량 센서(piezoelectric quartz crystal microbalance sensor, PZ) 장치의 구성은 Fig. 6과 같다(16). 이 기구는 연구목적에 따라 여러 가지 방법으로 생체물질을 압전 수정 진동자 위에 고정화하여 A 부위에 장착한 후, PEEK tube를 통하여 측정하려는 물질을 흘려 보내어 피측정 물질과 측정 물질의 상호작용으로 진동자 표면의 질량 표면 밀도(mass surface density)와 공명 진동수 감소와의 관계를 이용하여 측정하려는 물질의 양을 계측하는 장치이다. 그러나 공명진동수(resonant frequency)는 표면질량의 무게에 의존할 뿐 아니라 온도나 압력 같은 주위 조건, 시험 용액(test solution)의 물리적 성질, 또 수용체 층(receptor layer)의 탄성(elasticity), 실험용액의 점도(viscosity)나 전도도(conductivity)에도 의존하므로 질량 축적(mass accumulation)을 정확하게 측정하려면 주의 깊게 이들을 조절하지 않으면 안 된다. 널리 응용되어지는 압전 면역센서는 첨가 약품없이 직접 면역

상호작용을 측정할 수 있다는 이점이 있으나, 표지(label)할 필요가 없고, 또 비특이적 결합물질로 인하여 측정값의 신뢰성이 떨어지는 단점이 있다. 만약 표지를 하지 않았을 경우 실제 면역 상호작용과 진동자 표면에 반응 매개물 중 어느 성분의 비특이성 결합인지 구별하기가 어렵다. 또 측정하려는 항원의 분자량이 큰 경우에 면역복합체(immunocomplex)의 형성으로 진동수 변화가 크지만 작은 분자량의 항원들(haptens)은 충분한 진동수 변화가 일어나지 않는다. 그러므로 압전 면역센서는 주로 비교적 큰 분자량을 가진 면역종의 측정에 응용되어진다.

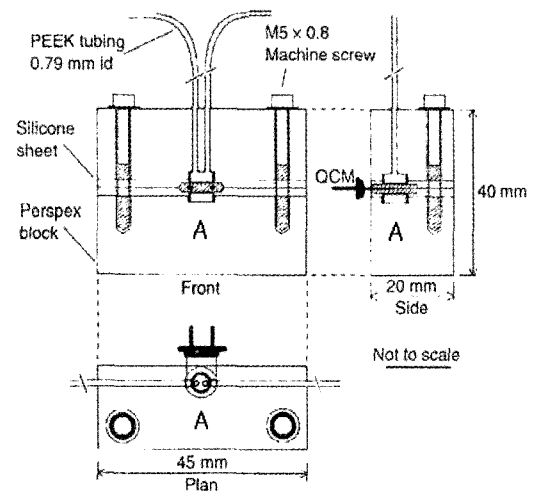


Figure 6. Flow cell system of PZ QCM. A: PZ crystal oscillator.

압전 수정 결정 미량 센서(piezoelectric quartz crystal microbalance sensor, PZ QCM)는 실시간(real time)으로 시약을 사용하지 않고(reagentless), 일회용(disposable), 재생(regeneration) 가능, 측정시간을 단축시키고, 감도를 증가시키며, 측정범위가 ng(nano gram)까지 가능하므로 임상, 환경,

식품공업 측정용 센서로서의 적용범위를 더 크게 넓힐 수 있고, 이외 분야에서도 다양하게 응용될 가능성이 크다. 현재 상품으로 생산되는 제품은 Table 2와 같다.

### 임상 분석(clinical analysis)

여러 가지 전염성 물질(infectious agents)을 이 수정결정 미량 바이오센서를 사용하여 측정되어졌다. Shones와 그의 공동연구자들은 수정 결정 표면에 nyeban C와 BSA로 먼저 도포시킨(precoated) 후 BSA 항체 검출에 사용되었다. 이것은 압전 수정 결정 면역 센서 제작의 처음이다(17). 그러나 결정 표면에 항체 고정화의 재현성이 좋지 않고, 또 액체 상이 점성을 가진 물질일 때 진동수 변화를 예측하기 힘들다. 이 문제를 해결하기 위하여 결정의 공명진동수를 시료를 넣기 전에 공기 중에서 먼저 측정하고, 시료를 넣어 작용시킨 후 건조시켜 진동수를 측정하면 생특이성 결합에 의한 공명진동수의 변화를 계산할 수 있다. 이들은 적십(dip) 또는 건조법으로 알려져있다(18, 19). König와 Grätzel에 의하여 Herpes simplex type 1 and 2, Varicella-Zoster 바이러스, Cytomegalo 바이러스 그리고 Epstein Barr등 다섯가지의 Herpes 바이러스를 검출하였다(19). 위의 바이러스에 대하여 항 바이러스성 항체(antiviral antibodies)들을 결정위에 고정화하여  $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^9$ 개의 세포들을 측정하였다. 이 때 이 센서들은 검출 활성도(activity)의 손실없이 18번이나 재사용이 가능하였다. 또한 이들은 급성설사(acute diarrhea)의 원인이 되는 Rota 바이러스를 대변시료(stool specimens)에서 검출하였으며, 이 외에도 *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* 그리고 *Yersinia*와 같은 바이러스나 박테리아를 검출하였는데 Rota 바이러스는  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{10}$ 범위까지 *Adenovirus*, *Enterobacteria*, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* 그리고 *Yersinia*는  $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ 까지 직선 관계를 가졌다(20). 또 이들은 장기간 안정성과 재현성이 좋은 사람의 혈액(whole blood)내 적혈구(erythrocytes) 측정을 위한 압전성 면역 센서도 연구하였다(21). 재사용 가능한 A형과 B형 간염(hepatitis A and B) 바이러스 측정용 압전 수정 결정 면역센서도 연구하였다(22). 10 MHz-AT 절단 결정위에 항 B-세포 항체(anti-B cell antibody)를 고정하여 혈액시료(blood samples)내의 B-림프구(B-lymphocyte) 측정용 압전 수정 결정 미량 면역센서는  $5 \times 10^3 \sim 5.6 \times 10^5$  세포수 사이에 직선 관계를 가지고, 고정화된 결정은 6주간의 긴 안정성과 검출 활성도의 손실없이 8번이나 사용이 가능하였다. Kosslinger와 그의 공동연구자들은 압전 수정 미량 바이오센서(piezoelectric quartz crystal microbalance, QCM)가 분자 수준에서 병원성 물질 측정용 바이오센서로서의 적격 심사(screening test)를 HIV 바이러스를 모델로 하여 실시하여 본 결과 높은 선택성과 감도가 있음을 보고하였다(23, 24). HIV에 대한 항체물질을 결정 표면 위에 흡착시켜 서로 다른 환자들로부터 얻은 11가지 시료에 대하여 측정하여 본 결과 효소가 결합된 면역 흡착 분석법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)으로 측정된 값과 QCM 측정값을 비교하여 본 결과 아주 좋은 상관관계를 나타내었다. 그리고 ELISA방법으로는 2시간의 측정시간이 필요하였지만 QCM은 불과 10분이면 전 과정이 끝나게 되고, 계의 특이성(specificity)을 조사하여 본 결과 비특이성 항체(non-specific

antibody)의 영향이 발견되지 않았다. Attili와 Suleiman은 cortisol 측정용 압전 면역 센서(PZ immunosensor)에 관한 연구 결과를 발표하였다. 항체를 10 MHz 압전 결정(PZ)위에 고정(immobilization)하여 30~3,500 ppb 농도의 표준용액 내 cortisol 검출에 성공하였다(25). 또 액체나 증기 상에 존재하는 결핵(*M. tuberculosis*) 항원 측정에도 응용되었으며, 배열 시스템(array system)으로 면역 글로브린 M(IgM)과 C-reactive protein(CRP)를 동시에 측정하는 방법을 연구하였다. 이는 각 결정 표면에 항-IgM (anti-IgM)과 항 CRP(anti-CRP)를 적당한 비로 혼합하여 고정된 후 다른 반응 조건하에서 작동하여 측정하도록 만들었다. Aberl와 그 동료들은 HIV의 비표지 항체측정을 위하여 압전 측정 원리를 이용한 유동 면역분석(flow through immunoassay)에 관하여 발표하였다(26). 압전 면역 센서에 의하여 작은 분자량을 가진 haptens들의 측정을 위하여 목표 분석물을 단백질 분자로 접합시켜 경쟁적 반응(competitive scheme)에 의하여 측정한다(27). Methamphetamine을 압전 면역 센서의 진동자 표면에 고정시키고, 분석과정은 비표지 항체와 목표 분석물(target analyte)을 반응용액에 넣고 methamphetamine 변형시킨 면역센서 표면에 항체와 목표 분석물과 경쟁적으로 결합시킨다(28). 이러한 방법은 haptens과 같이 작은 분자량을 가진 물질을 압전 면역 센서로 측정하는데 사용되어진다. 그 외 첨가물을 쓰는 방법이 있지만 직접 측정이라는 이점을 상실하게 된다. 압전 결정 표면 위에 항체의 고정화법은 많은 방법들이 연구되고 발표되었다. 그중 흡착법(adsorption)은 HIV항체 등 여러 가지 측정하려는 항체의 검출에 널리 이용되어졌다. Proten A는 살충제(pesticides), 박테리아(bacteria), 바이러스(virus), 그 외 측정 물질을 위한 항체 고정시 전처리 도포물질(precoating)로 많이 사용되어졌다. Protein G는 cocaine에 대한 항체고정(25)에, HEMA-MMA의 공중합체는 사람 IgG와  $\alpha$ -fetoprotein측정(29)에, 그 외 glutaraldehyde로 활성화한 polyethyleneimine, 전도성 고분자 막(electropoly merised films)이 사용되었고(30), Langmuir-Blodgett 막도 항-형광지방(anti-fluorescein lipids)검출(31)에, 금과 유황간의 강한 결합력을 이용하여 thiols과 disulphides의 자기 조립 단분자(self-assembled monolayers (SAM))는 압전결정의 금 전극 위에 항체고정을 위하여 사용되었다(32-34). 항체와 thiol 복합체를 형성시켜, 항체-SAM으로 고정화하기도 한다(35, 36). Ebersole와 그 외 동료들은 금 위에 avidin-streptavidin 단분자(monolayer)막의 스스로 형성가능성을 보이고 AMISA법을 개발하여 측정한계를 넓히는데 이용되었다(5). 일반적으로 면역종이 전극 표면에 충분한 양이 고정되어야 하고, 항체의 방향성(orientation)과 측정과정 중 안정화가 되어야 하므로, 비록 고정화 기술이 문헌에서 상세히 기술되어 있지만 주어진 측정을 위하여 적당한 방법을 선택하는 것은 매우 중요하다. 그러므로 상세한 설명은 여기서 생략한다. 또 압전 면역 센서는 결정 표면에 단일 또는 다층(multi step) 결합을 할 수 있다. 단층은 변형된 결정표면에 한 성분의 결합을 측정하고 다층법은 둘 또는 그 이상의 성분들이 계속 결합에 의하여 측정된다.

### 기체상 검출(gas phase detection)

King에 의하여 압전 수정 결정(PZ)이 처음으로 분석에 응

용되었다(37). 그는 수분을 0.1 ppm까지, xylene과 같은 탄화수소 화합물을 1 ppm까지 측정하는 방법을 개발하고 또 압전 수정 결정 검출기(PZ detector)를 상품화하였다. 그러한 후 몇 년 동안 유기 증기(organic vapors)검출기(10, 38)를 비롯하여, 환경오염물질(environmental pollutants)(10, 39) 및 크로마토그래피(chromatography) 검출기(40)의 개발을 위하여 많은 연구를 하였다. Guilbault와 Ngeh-Ngwainbi는 압전 수정 결정 표면 위에 도포한 parathion 항체를 이용하여 처음으로 기체상 면역센서에 대하여 발표하였다(41).

### DNA 바이오센서

Fawcett와 그의 동료들은 단일 가닥 DNA 항-수정 결정(single stranded DNA anti-quartz crystals)을 고정화하여 DNA 측정용 PZ 바이오센서에 대하여 처음으로 연구하였다(42). 그 후 지금까지 수정 결정 미량 천평(QCM)을 이용하여 DNA/RNA에 관한 바이오센서 연구가 계속되어지고 있다. Ito는 특이 고체상 DNA 반응(specific solid-phase DNA hybridization reaction)의 측정을 위하여 QCM 이용 가능성에 대하여 연구하였다(43). Aslanoglu는 QCM 위에 DNA의 흡착 그리고 QCM과 cyclic voltametry(CV)를 사용하여 고정화된 DNA의 금속 착화합물 결합 형상(metal complex binding projection)에 대하여 연구하였고, 그 결과로부터 두 방법을 비교 분석하였다(44). Caruso와 그의 공동연구자는 보체적인 30단위 DNA 소중합 뉴클레오티드(complementary 30 unit DNA oligonucleotide)의 혼성체 생성(hybridization)의 정확한 측정을 위하여 QCM의 적합성을 연구하였다(45). 또한 Fawcett와 그의 동료들은 용액 내에서 표면에 결합된 큰 RNA에 의해서 일어난 압전 수정 결정 미량 천평(QCM)의 공명진동 이동(resonance frequency shift, RFS)과 동일한 RNA 분자의 건조층(dry layer)에 의하여 생긴 공명진동 이동(resonance frequency shift, RFS)을 비교하여 RNA 검출에 QCM을 이용하는 방법을 연구하였다(46). 결국 Storri와 그의 동료들은 고정화된 단일가닥 소중합 뉴클레오티드(single stranded oligonucleotide)로서 혼성화물(hybridization)이 되는 DNA 측정용 압전 수정 결정 미량 천평 바이오센서를 개발하였다. 이는 Streptavidin이 도포된(coated) 압전 수정 결정 위에 25 뉴클레오티드 단일가닥 소중합 뉴클레오티드를 고정시킨다. DNA 바이오센서는 고정화된 소중합 뉴클레오티드에 보체인 DNA를 측정하고, 다른 길이를 가진 DNA 분자들 사이에 구별이 가능하다(47).

### 약품 분석(drug analysis)

특이한 흡착체를 도포한 압전 수정 결정을 이용하여 남용하는 약과 약물을 측정하는 방법은 새로운 연구분야로 각광을 받게 되었다. Nie와 그의 공동 연구자들은 압전 수정 결정 센서(QCM)를 이용하여 제약 조제품(pharmaceutical preparation)중에서 quinine을 0.015 µg 정도의 미량까지 측정하였으며(48, 49), 또한 그들은 cyclic voltametry(CV)에서 3.7%까지 측정할 수 있던 유향을 포함한 약품(sulfa drugs)인 sulfanilamide, sulfacetamide, sulfadiazine 그리고 sulfamethoxazole을 20~400 µM까지 측정하였다. Attli와 Suleiman은 10 Mz 금결정(gold crystal)위에 benzoylcyanine

항체를 고정화하여 cocaine을 29 nM~0.10 µM까지 측정할 수 있는 PZ QCM 면역센서를 연구하였으며(50), 그들은 cortisol 측정 면역센서에 관해서도 발표하였다(25). Wei는 cyclic voltametry(CV)로 1.03%까지 측정 가능하던 Aropine을 0.05~32 nM의 미량까지 측정할 수 있는 PZ QCM을 연구하였다(51). 그 외에도 Zhu와 Wang 그리고 Walton과 그의 공동 연구자들은 phenytoin, chlorpheninamine, vitamine들을 PZ QCM으로 측정하였다(52, 53).

### 식품 미생물 분석(food microbial analysis)

Muramatsu는 처음으로 PZ QCM을 이용한 면역중량 미생물 측정(immunogravimetric microbial assay)법을 발표하였다. 항체를 도포한 압전 결정(PZ crystal)을 이용하여 *E. coli*를 시료 1 mL당  $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8$  세포수를 측정하였다(54). Prusak-Sochakaczewski와 그의 공동연구자는 측정범위가 시료 1 mL당  $10^5 \sim 10^9$ 까지 측정 가능한 *Salmonella tryhimurium* 검출용 PZ 면역센서를 개발하였고(55), 결정 표면에 여러 가지 물질로 고정화하였는데 그 중에서 polyethyleneimine이 가장 좋았으며, 4°C에서 4일간 항체 활성이 유지되었으며 8번 계속하여 시료를 측정할 수 있었다(56). He와 그의 공동연구자들은 *E. coli* 박테리아를 분리된 전극 PZ QCM을 이용하여 측정하였다. 이 방법은 *E. coli*로 접종되었을 때 배양시간에 따른 공명진동 이동(resonant frequency shifts)을 기초로 하는 방법이다. 진동검출 시간(frequency detection time, FDT)이 시료 1 mL당  $10 \sim 10^6$  세포수까지는 직선관계를 가졌다. 순수 배양한 *E. coli* 수를 FDT법으로 측정한 값과 표준 평판 계산법(standard plate count method)과 비교 연구하였으며, 이 방법은 기존의 방법보다 더 측정시간이 빠르고 감성이 좋았다(57). Guilbault는 PZ QCM을 이용하여 식품의 미생물 오염 측정법을 총정리하여 발표하였다(58). Minunni와 Jacobs와 그의 연구자들은 *Listeria monocytogenes*의 검출용 압전 수정 결정 면역센서를 개발하였다. 여러 가지 고정화 방법을 이용하여 *Listeria*를 금표면(gold surface)위에 고정하였다. 액체 흐름 셀(liquid flow cell)을 사용하여 효소나 방사능 물질을 표지로 사용하지 않고, 항원-항체 결합의 직접 측정이 가능하였다. 이 방법은 비특이성 항원 *Serratia* 또는 *Listeria*를 주입한 우유(milk)에 측정한 결과 ELISA법과 거의 같은 감도로, 15분 이내의 짧은 시간에 측정되었다(59, 60).

### 환경오염 분석(environmental analysis)

대기 오염물질(atmospheric pollutants)의 측정을 위하여 단백질(효소나 항체)의 고정화는 응용성이 대단히 크다는 것이 입증되었다. Guilbault는 단백질을 고정화하여 가스화합물을 처음으로 직접 측정하였다. 9 MHz 결정 위에 formaldehyde dehydrogenase와 보조인자(cofactor)를 고정화하여, 다른 aldehydes, alcohol 또는 그 외 화합물의 방해 없이 가스상(gas phase)에서 formaldehyde를 1~100 ppb까지 측정하였다(38, 41). Parathion 항체를 압전 수정 결정(PZ crystal)위에 고정화하여 이 농약을 ppb 농도까지 측정하였다. 미량의 수분을 포함하는 공기 중에서 가스 상과의 면역반응이 잘 진행됨으로써 새로운 검출기의 개발이 가능하였다(61). 그 결과 유기인 신경물질(organophosphorus nerve agents)에 대한 항체를

Table 3. PZ immunosensors

Ref.	analyte	linear range	limit of detection	reusability	lifetime	Ref.	analyte	linear range	limit of detection	reusability	lifetime
68	2,4-D		ppb's			22	human erythrocytes			12 times	10 weeks
69	2,4-D		27µg/mL, 24µg/mL 2different Antibodies			82	human granulocytes	2×10 <sup>3</sup> -3×10 <sup>5</sup> cells			8weeks
70	2-phenoxazoline	10 <sup>-5</sup> -10 <sup>-8</sup> M				83	human T-lymphocytes	5×10 <sup>3</sup> -4.5×10 <sup>5</sup> cells			stable for 10weeks
88	african swine fever	Antigen 0.31µg/mL buffer 0.1 µg/mL in serum Antibody 0.1 µg/mL in buffer. 0.2 µg/mL in serum		23	36 days	30	IgG's	10 <sup>-6</sup> -10 <sup>-3</sup> mg/mL 30mins 10 <sup>-1</sup> -10 <sup>-2</sup> mg/mL 15mins		10 times	
71	alexandrium affine	10 <sup>2</sup> -13×10 <sup>3</sup> cells/mL				84	IgM	10 <sup>-5</sup> -10 <sup>-2</sup> mg/mL	10ng/mL		
72	APS-reductase		5ng/mL			29	IgM, C-reactive protein	0-52.4 µg/mL IgM, 0-37.8 µg/mL CRP			
18	atrazine	0.03-100 µg/mL		8-9 assays		70	immunoliposome-anti gen interaction	10 <sup>-5</sup> -10 <sup>-8</sup> M			
73	atrazine	0.01-1 ng/mL	0.00ng/mL	determined the reusability of the absobn		84	Insulin		1ng/mL	9-10regen eration	
74	Biotin			regenerate d without loss of activity		59	Listeria monocytogenes		5E5cells/mL -statif flow cell,1E5cells/ mL-dip/dry		
75	Bovine haemoglobin	0.001-0.1 mg/mL	10 <sup>-4</sup> mg/mL			60	Listeria monocytogenes	2.5×10 <sup>5</sup> -2.5×10 <sup>7</sup> cells/mL			
76	C4	5×10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-2</sup> g/L		10		28	methamphetamine	0.02-100 ppm	1ppm in urine	reproduci ble 10 times	
64	Chattonella marina (red tide plankton)	10 <sup>2</sup> -10 <sup>4</sup> cells/mL				61	parathion	2-35 ppb			18days
77	Cocaine		ppt		7days, 36% after 13 days	66	Ricin		0.5µg -antigen, 25µg/mL of antibody		
25	Cortisol	36-3628 ppb		not possible		55	Salmonella Typhimurium	10 <sup>6</sup> -10 <sup>9</sup> cells/mL	10 <sup>3</sup> cells/mL	6-8assays	4days
67	enterobacteria and enteroviruses	10 <sup>6</sup> -10 <sup>10</sup> viruses, 10 <sup>6</sup> -10 <sup>8</sup> bacteria		can remove all coatings can't remove antigen		35	Salmonella Typhimurium	9.9×10 <sup>5</sup> -1.8×10 <sup>8</sup> CFU/mL			
57	Escherichia coli	10-10 <sup>6</sup>				85	Staphylococcal enterotoxin B	1-10 µg mu g/mL	0.1µg/mL		
78	fibrin	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-2</sup> g/L		10 times	6 weeks	86	Staphylococcus aureus	5×10 <sup>5</sup> -10 <sup>8</sup> cells/mL		15	over a month without loss of activity
79	Hepatitis viruses	10 <sup>5</sup> -10 <sup>10</sup> cells	10 <sup>5</sup> cells	10 without loss of activity	4 weeks	65	vibreo cholerae 0139		10 <sup>5</sup> cells/mL		
19	Herpes viruses	5×10 <sup>4</sup> -10 <sup>9</sup>	5×10 <sup>3</sup> cells	18 times	4 days						
80	HSA	0.1-100 µg/mL									
56	HSA	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-1</sup> mg/mL		5 times							
81	HSA	112-878 µg/mL	112µg/mL	removed all coating and reused							
87	thyroxine		5.17×10 <sup>-12</sup> g								
20	various viruses and bacteria	10 <sup>6</sup> -10 <sup>10</sup> virus cells 10 <sup>6</sup> -10 <sup>8</sup> bacteria cells									

고정화하여 공기 중에 있는 이들 물질을 ppb 농도까지 측정 하였다. 물 속에 있는 농약(pesticide) 분석을 위한 바이오센서 도 Guilbault와 그의 동료들에 의하여 보고되었다. 그 예로 농약 특이항체를 압전 수정 결정(PZ crystal)위에 고정하고 흐름 주입 분석(flow injection assay, FIA) 장치를 부착시켜 몇 가지 triazine 제초제(atrazine, propazine, simazine)를 ppm 농도 까지 준 연속적 측정(quasi-continuous detection)을 하였다(18).

Steegborn과 Skladal은 압전 수정 결정(PZ crystal)의 금전극 위에 실란화(silanised)한 후, glutaraldehyde로 활성화하여, 간격

띄우게 분자(spacer molecule)로서 albumin을 사용하여 atrazine 생친화성 리간드(bioaffinity ligand atrazine)를 결합시킨다. 변형된 압전 수정 결정(PZ crystal)을 흐름 셀(flow cell) 속에 설치하여 모든 측정들이 흐름 용액 속에서 직접 측정되도록 하였으며, 결정을 재생하기 위하여 가성소다(sodium hydroxide)를 약 5분 동안 흘린 후 재사용 할 수 있었다(62). 바다의 색깔이 붉게 되는 적조현상은 바다 속에 작은 조류들(small algae)나 식물성 플랑크톤(phytoplankton)에 의하여 일어나며 어떤 적조들은 양식 물고기를 죽이게 한다. Chattonella는 적



조를 일으키는 많은 flagellate 중에서 대표적인 것 중 하나이다. 단일가닥 항체 MR-21 (monoclonal antibody MR-21)을 압전 수정 결정(PZ crystal)에 고정화한 면역센서는 *Chattellenella marina*의 세포질 막(cytoplasmic membrane)에 대하여 높은 특이 반응성(high specific reactivity)이 있음을 발견하였다. 이 면역센서를 이용하여 바다 속에 있는 *Chattellenella marina*를 1 mL 시료 속에  $10^2 \sim 10^6$ 개의 세포를, 직접 측정 가능하였다(63,64). Carter와 그의 동료들은 0139 Cholera serotype에 대하여 특이성을 가지는, 토끼 항 vibrio 콜레라 항체(rabbit anti-vibrio cholerae antibody)를 10 MHz 결정위에 도포하여 0139(특이성을 가지는)와 Ogawa(비특이성) serotypes가 결정당  $4 \times 10^3 \sim 4 \times 10^6$ 의 총수를 가지는 용액에서 측정된 결과  $4 \times 10^3$ 개의 세포를 검출하였다(65). 또 그들은 Ricin 측정용 PZ 검출기를 개발하였다(66). Ricin은 시안산(hydrogen cyanide)보다 몇 배나 치사력이 높고, 소량으로도 쉽게 오염이 되는 물질이다. 이 방법으로 0.5  $\mu$ g보다 낮은 농도까지 측정이 가능하였다. Plomer와 그의 공동연구자는 장내 박테리아 항원(enterobacterial common antigen)의 항체인 항 장내 항체를 protein A로 10 MHz 압전 결정 위에 고정하여 *Escherichia coli* k12를 1 mL당  $10^6 \sim 10^9$  세포수를 측정하였고 또 다른 종류의 장내 박테리아의 항원을 떼어내기는 어렵기 때문에, 결정의 재활용을 위하여 항원과 항체를 모두 떼어내어야만 하였다(67). Table 3은 지금까지 알려진 각각의 PZ 면역센서의 감도, 측정범위, 사용회수 그리고 사용시간을 비교한 것이다.

## 결론

압전 수정 결정 미량 천평(piezoelectric quartz crystal microbalance, PZ QCM)은 실시간(real time)으로 분석하려는 물질을 쉽게 검출할 수 있기 때문에 식품, 환경오염 그리고 임상분석에서 넓게 응용될 수 있다는 것을 알 수 있다. 항체와 항원을 결정표면에 고정화하는 압전 수정 결정 면역센서(piezoelectric immunosensor)는 식품, 환경오염 그리고 임상분석에 특히 높은 가능성을 나타낸다. 그 이유는 비표지 센서(label-less sensor)이고 직접 반응물을 측정할 수 있기 때문이다. 그러나 크게 성공한 pharmanica BIAcore instrument인 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR) 장치와 같은 기기들과 경쟁하여 상업화 가능한 장치로 생산하기 위해서는 아직까지 문제점들이 있다.

첫째로 항체 시험표면(antibody test surface)에 비특이성 단백질의 결합에 의하여 생기는 문제점을 극복하여야만 하는 것과 같이 결정 표면에 항상 똑같은 양의 생체 물질의 고정화 재현(reproducible)성이 어렵다는 것이 여러 연구자들에 의하여 지적되었다. 이를 해결하기 위하여 자기 조립 단분자층(self assembled monolayer, SAM), dextran thiol monolayer(SPR에서와 같이) 그리고 금전극에 유향을 포함하는 화합물로 SAM의 원리를 응용하여 높은 재현성을 얻었다.

둘째로는 PZ 결정의 재사용(reusability)이 어렵다. 앞으로 이를 해결할 방법이 개선되면 PZ QCM은 더 넓게 응용될 것이다.

## REFERENCES

- Czanderna, A. W. and C. Lu (1984), In Walsky, S. P., A. W. Czanderna, Eds. Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances. Elsevier, New York.
- Cruie, J. and P. Curie (1880), Développement par pression de l'électricité polarize des cristaux hemiedries et faces inclines. *Comp. Rendu.* **91**, 294-297.
- Cady, W. G. (1946), Piezoelectricity, p186. McGraw-Hill, New York.
- Raleigh, L. (1885), Quartz piezoelectricity, *Vacuum* **9**, 261.
- Ebersole, R., J. Miller, J. Moran, and M. Ward (1990), PZ quartz sensors for use in clinical analysis. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 3239-3243.
- Sauerbrey, G. Z. (1959), Use of quartz vibration for weighing thin films on a microbalance. *J. Physik.* **155**, 206-212.
- Brucken, S. and M. Shay (1994), Dual quartz microbalance oscillator circuit. *Anal. Chem.* **66**, 1847-1855.
- Kanasawa, K. K. and J. G. Gordon (1985), A liquid phase piezoelectric detector. *Anal. Chem.* **57**, 1771-1775.
- Suleiman, A. A. and G. G. Guilbault (1991), Piezoelectric(PZ) immunosensors and their applications. *Anal. Lett.* **24**, 1283-1292.
- Bastiaans, G. J. (1988), A surface acoustic wave guide device for measurements in liquids. *US Patent*, **735**(4), 906.
- Guilbault, G. G. and J. Jordan (1988), Analytical uses of piezoelectric crystals detectors. *CRC Rev.* **19**, 1-28.
- Thompson, M. and D. C. Stone (1997), Surface-launched Acoustic Wave Sensors. p34-52. John Wiley and Sons, New York.
- Rickert, J., G. L. Hayward, B. A. Cavic, M. Thompson, and W. Göpel (1999), In sensors update: Sensor Technology-Applications-Markets, ed. H. Baltes, W. Göpel and J. Hesse, Wiley-VCH. Weinheim, vol. **5**, 105-139.
- Paul. C. H. Li. and M. Thompson (1996), Mass sensitivity of the thin-rod acoustic wave sensor operated in flexural and extensional modes. *Anal. Chem.* **68**, 2590-2597.
- Paul. C. H. Li. and M. Thompson (1996), Mass sensitivity of the tube acoustic wave sensor in the extensional mode. *Anal. Chim. Acta.* **336**, 13-21.
- Sakai, G., T. Saiki, T. Uda, N. Miura, and N. Yamazoe (1995), Selective and repeatable detection of human serum albumin by using piezoelectric immunosensor. *Sensors Actuators, B* **24-25**, 134-137.
- Shons, A., F. Dorman, and J. Najarian (1972), The piezoelectric quartz immunosensor. *J. Biomed. Mater. Res.* **6**, 565-570.
- Guilbault, G. G., B. Hock, and R. Schmid (1992), PZ immunosensor for atrazine in drinking water. *Biosensors Bioelectron.* **7**, 411-419.
- König, B. and M. Grätzel (1994), A novel immunosensor for Herpes viruses. *Anal. Chem.* **66**, 341-348.
- König, B. and M. Grätzel (1993), Detection of viruses and bacteria with piezoelectric immunosensors. *Anal. Lett.* **26**, 1567-1575.
- König, B. and M. Grätzel (1993), Development of a piezoelectric immunosensor for the detection of human erythrocytes. *Anal. Chim. Acta.* **276**, 329-333.
- König, B. and M. Grätzel (1993), Long-term stability and improved reusability of a piezoelectric immunosensor for human erythrocytes. *Anal. Chim. Acta.* **280**, 37-41.
- Kösslinger, C., S. Drost, F. Aberl, H. Wolf, S. Koch, and P. Woias (1992), PZ immunosensors for HIV viruses. *Biosensors Bioelectron.* **7**, 397-401.
- Kösslinger, C., S. Drost, F. Aberl, H. Wolf, S. Koch, and P. Woias (1994), HIV detection with a PZ immunosensor. *Sensors*

- Actuators, B* **18-19**, 271-275.
25. Attili, B. S. and A. A. Suleiman (1995), Piezoelectric immunosensor for the detection of cortisol. *Anal. Lett.* **28**, 2149-2159.
  26. Aberl, F., H. Wolf, C. Kosslinger, S. Drost, P. Woias, and S. Koch (1994), HIV serology using piezoelectric immunosensors. *Sensors Actuators, B* **18-19**, 276-280.
  27. Yokoyama, K., K. Ikebukuro, E. Tamiya, I. Karube, N. Ichiki, and Y. Arikawa (1995), Highly sensitive quartz crystal immunosensor for multisample detection of herbicides. *Anal. Chim. Acta.* **304**, 139-145.
  28. Miura, N., H. Higobashi, G. Sakai, A. Takeyasu, T. Uda, and N. Yamazoe (1993), Piezoelectric crystal immunosensor for sensitive detection of methamphetamine (stimulant drug) in human urine. *Sensors Actuators, B* **13-14**, 188-191.
  29. Chu, X., J. H. Jiang, G. L. Shen, and R. Q. Yu (1996), Simultaneous immunoassay using piezoelectric immunosensor array and robust method. *Anal. Chim. Acta.* **336**, 185-193.
  30. Muramatsu, H., J. Dicks, E. Tamia, and I. Karube (1987), A piezoelectric biosensor modified with protein A for immunoglobulins. *Anal. Chem.* **59**, 2760-2763.
  31. Ebato, H., C. A. Gentry, J. N. Herron, W. Muller, Y. Okahata, H. Ringsdorf, and P. A. Suci (1994), Investigation of specific binding of anti fluorescein antibody and FAB to fluorescein lipids in langmuir-blodgett films using quartz crystal microbalances. *Anal. Chem.* **66**, 1683.
  32. Cohen, Y., S. Levi, S. Rubin, and I. Willner (1996), Modified monolayer electrodes for electrochemical and PZ analysis. Novel immunosensor electrodes. *J. Electroanal. Chem.* **417**, 65-75.
  33. Storri, S., T. Santorini, M. Minunni, and M. Mascini (1998), Surface modification for development of piezoelectroimmunosensors. *Biosensors Bioelectron.* **13**(3-4), 347-357.
  34. Vaughan, R., C. K. O'Sullivan, and G. G. Guilbault (1999), Self assembled monolayer for PZ immunosensors. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **364**, 54-57.
  35. Park, I. S. and N. S. Kim (1998), Thiolated Salmonella antibody immobilization onto the gold surface of piezoelectric quartz crystal. *Biosensors Bioelectron.* **13**, 1091-1097.
  36. Park, I. S., W. Y. Kim, and N. S. Kim (2000), Operational characteristics of an antibody-immobilized QCM system detecting Salmonella spp. *Biosensors Bioelectron.* **15**, 167-172.
  37. King, W. H. Jr. (1964), Piezoelectric sorption detector. *Anal. Chem.* **36**, 1735-1741.
  38. Guilbault, G. G. (1983), Determination of formaldehyde with an enzyme coated piezoelectric crystal. *Anal. Chem.* **55**, 1682-1684.
  39. Guilbault, G. G. and J. H. Luong (1988), Gas phase biosensors. *J. Biotechnol.* **9**, 1-10.
  40. Konash, P. L., and G. J. Bastiaans (1980), A SAW device for immunoreactions. *Anal. Chem.* **52**, 1929-1935.
  41. Guilbault, G. G. and J. Ngeh-Ngwainbi (1988), Use of protein coatings on piezoelectric crystals for assay of gaseous pollutants, In Guilbault, G. G., Mascini, M. Eds. Analytical Uses of Immobilized Biological Compounds for Detection, Medical and Industrial Uses. NATO reference series. Riedel.
  42. Fawcett, N. C., J. A. Evans, L. C. Chen, K. A. Drozda, and N. Flowers (1988), A quartz crystal detector for DNA. *Anal. Lett.* **21**, 1099-1110.
  43. Ito, K., K. Hashimoto, and Y. Ishimori (1996), Quantitative analysis for solid phase hybridization reaction and binding reaction of DNA using a quartz crystal microbalance. *Anal. Chim. Acta.* **327**, 29-35.
  44. Aslanoglu, M., A. Houlton, and B. R. Horrocks (1998), Functionalized monolayer for nucleic acid immobilization on gold surfaces and metal complex binding studies. *Analyst* **123**(4), 753-754.
  45. Caruso, F., E. Rodda, D. Furlong, K. Niikura, and Y. Okahata (1997), *Anal. Chem.* **69**, 2043-2049.
  46. Fawcett, N. C., R. D. Craven, P. Zhang, and J. A. Evans (1998), Quartz crystal microbalance response to solvated macromolecules. *Anal. Chem.* **70**(14), 2876-2880.
  47. Storri, S., T. Santorini, M. Minunni, and M. Mascini (1998), Surface modification for development of piezoelectroimmunosensors. *Biosensors Bioelectron.* **13**(3-4), 347-357.
  48. Nie, L., X. Zhang, and S. Yao (1992), Determination of quinine in some pharmaceutical preparations using a piezoelectric assays. *J. Pharm. Biomed.* **10**(7), 529-533.
  49. Nie, L., T. Wang, and S. Yao (1992), Determination of sulfa drugs with a piezoelectric sensor. *Talanta.* **39**(2), 155-158.
  50. Attili, B. S. and A. A. Suleiman (1996), A piezoelectric immunosensor for detection of cocaine. *Microchem. J.* **54**(2), 174-179.
  51. Wei, W. Z., C. W. Hu, W. H. Zhu, and S. Z. Yao (1993), Selective pharmaceutical analysis technique with sensitive piezoelectric quartz sensors. *Anal. Lett.* **26**(11), 2371-2383.
  52. Zhu, G. Y. and Y. Wang (1995), Application of the electrochemical quartz crystal microbalance. *Fenxi-Huaxue* **23**(9), 1095-1101.
  53. Walton, P. W., M. E. Butler, and M. R. O'Flaherty (1991), Piezoelectric based biosensors. *Biochem. Sur. Trans.* **19**(1), 44-48.
  54. Muramatsu, H., Y. Watanabe, M. Hikuma, T. Atka, I. Kubo, E. Tamara, and I. Karube (1989), Piezoelectric crystal biosensor system for detection of *Escherichia coli*. *Anal. Lett.* **22**, 2155-2166.
  55. Prusak-Sochazewski, E., J. Luong, and G. G. Guilbault (1990), Development of a piezoelectric immunosensor for detection of Salmonella. *Enzyme Microbial Technol.* **12**, 173-175.
  56. Prusak-Sochazewski, E., J. Luong (1990), A new approach to development of a reusable PZ biosensor. *Anal. Lett.* **23**, 401-410.
  57. He, F. J., Q. Geng, W. Zhu, L. H. Nie, S. A. Yao, and C. Meifeng (1994), Rapid detection of *Escherichia coli* using a separated piezoelectric crystal sensor. *Anal. Chim. Acta.* **289**, 313-319.
  58. Guilbault, G. G. (1995), Biosensors in Food Analysis. Marcel Dekker, Inc.
  59. Jacobs, M. B., R. M. Carter, G. J. Lubrano, and G. G. Guilbault (1995), Piezoelectric biosensor for listeria monocytogenes. *Am. Lab.* **27**, 11-26.
  60. Minunni, M., M. Mascini, R. M. Carter, M. B. Jacobs, G. J. Lubrano, and G. G. Guilbault (1996), A quartz crystal microbalance displacement assay for *Listeria Monocytogenes*. *Anal. Chim. Acta.* **335**, 169-174.
  61. Ngeh-Ngwainbi, J., P. H. Foley, S. S. Kuan, and G. G. Guilbault (1986), Parathion antibodies on piezoelectric crystals. *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 5444-5450.
  62. Steegborn, C., and P. Skladal (1997), Construction and characterization of a PZ immunosensor for atrazine operating in solution. *Biosensors Bioelectron.* **12**, 19-27.
  63. Nakanishi, K., A. Masao, Y. Sko, Y. Ishida, H. Muguruma, and I. Karube (1996), Detection of the red tide-causing plankton *Alexandrium affine* by a piezoelectric immunosensor using a novel method of immobilizing antibodies. *Anal. Lett.* **29**(8), 1247-1258.
  64. Nakanishi, K., I. Karube, S. Hiroshi, A. Uchida, and Y. Ishida (1996), Detection of the red tide-causing plankton *Chattonella marina* using a piezoelectric immunosensor. *Anal. Chim. Acta.* **325**, 73-80.
  65. Carter, R. M., J. J. Mekalanos, M. B. Jacobs, G. J. Lubrano, and G. G. Guilbault (1996), Quartz crystal microbalance detection of vibrio cholerae. *J. Immunol. Methods.* **187**, 121-125.
  66. Carter, R. M., M. B. Jacobs, G. J. Lubrano, and G. G.

- Guilbault (1995), Piezoelectric detection of ricin and affinity-purified goat anti ricin antibody. *Anal. Lett.* **28**(8), 1379-1386.
67. Plomer, M., G. G. Guilbault, and B. Hock (1992), Development of a PZ immunosensor for detection of enterobacteria. *Enzyme Microbial Technol.* **14**, 230-235.
68. Minunni, M., P. Skladal, and M. Mascini (1994), A piezoelectric quartz crystal biosensor as a direct affinity sensor. *Anal. Lett.* **27**, 1475-1487.
69. Horacek, J. and P. Skladal (1997), Improved direct PZ biosensors operating in liquid solution for the competitive label-free immunoassay of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. *Anal. Chim. Acta.* **347**(1,2), 43-50.
70. Yun, K., E. Kobatake, T. Haruyama, M. Laukkanen, K. Keinanen, and M. Aizawa (1998), Use of a quartz crystal microbalance to monitor immunoliposome-antigen interaction. *Anal. Chem.* **70**(2), 260-264.
71. Nakanishi, K., H. Muguruma, and I. Kaurbe (1996), A novel method of immobilizing antibodies on a quartz crystal microbalance using plasma-polymerized films for immunosensors. *Anal. Chem.* **68**, 1695-1700.
72. Ebersole, R. C. and M. D. Ward (1988), Amplified mass immunosorbent assay with a quartz crystal microbalance. *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 8623-8628.
73. Yokoyama, K., K. Ikebukuro, E. Tamiya, I. Karube, N. Ichiki, and Y. Arikawa (1995), Highly sensitive quartz crystal immunosensors for multisample detection of herbicides. *Anal. Chim. Acta.* **304**, 139-145.
74. Måsson, M., K. Yun, T. Haruyama, E. Kobatake, and M. Aizawa (1995), Quartz crystal microbalance bioaffinity sensor for biotin. *Anal. Chem.* **67**, 2212-2215.
75. Shao, B., Q. Hu, J. Hu, X. Zhou, W. Zhang, X. Wang, and X. Fan (1993), Determination of bovine haemoglobin by a piezoelectric crystal immunosensor. *Fresenius J. Anal. Chem.* **346**, 1020-1024.
76. Pei, R. J., J. M. Hu, Y. Hu, and Y. E. Zeng (1998), A PZ immunosensor for complement C4 using protein A oriented immobilization of antibody. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* **73**(1), 59-63.
77. Hahn, E. C. (1988), Ph D. Dissertation Piezoelectric Crystal Detectors and Their Applications. University of New Orleans.
78. Pei, R. J., J. M. Hu, Y. Hu, and Y. E. Zeng (1998), Studies of the piezoelectric immunosensor for detection of fibrin using protein A oriented immobilization of antibody. *Chem. J. Chin. Univ.* **19**, 363-367.
79. König, B. and M. Grätzel (1995), A piezoelectric immunosensor for hepatitis viruses. *Anal. Chim. Acta.* **309**, 19-25.
80. Muratsugu, M., F. Ohta, Y. Miya, T. Hosokawa, S. Kurosawa, N. Kamo, and H. Ikeda (1993), Quartz crystal microbalance for the detection of microgram quantities of human serum albumin: Relationship between the frequency change and the mass of protein adsorbed. *Anal. Chem.* **65**, 2933-2937.
81. Xia, C., S. Guoli, X. Feiye, and Y. Ruqin (1997), Polymer agglutination-based piezoelectric immunoassay for the determination of human serum albumin. *Anal. Lett.* **30**(10), 1783-1796.
82. König, B. and M. Grätzel (1993), Human granulocytes detected with a piezoimmunosensor. *Anal. Lett.* **26**, 2313-2328.
83. König, B. and M. Grätzel (1993), Detection of human T-lymphocytes with a piezoelectric immunosensor. *Anal. Chim. Acta.* **281**, 13-18.
84. Suri, C. R., M. Raje, and G. C. Mishra (1994), Determination of immunoglobulin M concentration by piezoelectric crystal immunobiosensor coated with protamine. *Biosensors Bioelectron.* **9**, 325-332. 535-542.
85. Hartevelde, J. L. N., M. S. Nieuwenhuizen, and E. R. J. Wils (1997), Detection of staphylococcal enterotoxin B employing a PZ immunosensor. *Biosensors Bioelectron.* **12**(7), 661-667.
86. Le, D., H. F. He, T. J. Jiang, L. H. Nie, and S. Z. Yao (1995), A goat-antihuman IgG modified piezoimmunosensor for *Staphylococcus aureus* detection. *J. Microbiol. Meth.* **23**, 229-234.
87. Muller-Schulte, D. (1996), *CA* **112**(7), 51807g, patent
88. Utenthaler, E., C. Kösslinger, and S. Drost (1998), Quartz crystal biosensor for detection of african swine fever disease. *Anal. Chim. Acta.* **362**, 91-100.