

## 바이오멤스기술을 이용한 세로토닌 검출용 바이오센서의 전기화학적 특성 분석

윤 동화, 송 민정, 김 중훈, 민 남기, 홍 석인  
고려대학교

### Electrochemical Analysis of Biosensor using Bio-MEMS Technologies for the Detection of Serotonin

Dong-Hwa Yun, Min-Jung Song, Jong-Hoon Kim, Nam-Ki Min, Suk-In Hong  
Korea University

**Abstract** - 본 논문은 신경전달물질 중 우울증, 신부전 증의 지표 물질인 세로토닌의 농도를 극미량의 시료를 사용하여 정량할 수 있는 방법을 개발하기 위해 초소형 효소 고정화 전극을 개발하였다. 전극은 실리콘 웨이퍼 상에 반도체 공정을 이용하여 마이크로 크기의 Pt 박막 전극을 제작하였고, 전기화학적 방법으로 pyrrole 단량체를 Pt 전극 상에 순환전압전류법을 이용하여 산화적으로 전기 중합하였다. 효소의 고정화는 일정 전압을 인가한 시간대 전류법으로 고정화하였다.

제작된 전극은 시간대 전류법으로 세로토닌의 농도에 따른 감도를 측정하였다. 세로토닌의 농도 범위 1.0 $\mu$ mol/L~10mmol/L에서의 감도는 7.0 $\mu$ A/decade를 나타내었으며, 실험결과에 따라 전극의 표면에서 발생하는 전류는 세로토닌의 농도에 비례함을 알 수 있었다. 전극의 표면분석은 Scanning Electron Microscopy(SEM), Energy Dispersive X-ray Spectroscopy(EDX) 그리고 Auger Electron Spectroscopy(AES)를 이용하여 분석하였다.

## 1. 서 론

MEMS(Microelectromechanical System)에 관한 연구가 활발히 진행되면서, Bio-MEMS을 이용한 센서 개발에 대한 관심이 높아지고 있다. 특히 이러한 기술은 혈액에 극미량의 농도로 존재하는 각종 질병의 지표물질 검출을 위한 목적으로 초소형 바이오센서의 제작에 이용되고 있다. 뿐만 아니라 실리콘 웨이퍼 상에 박막전극을 증착하고 전도성 고분자를 이용한 효소 고정화 방법은 제작이 용이하고, 대량생산이 가능하며, 비교적 저렴한 비용으로 바이오센서 제작이 가능할 뿐만 아니라 생체 신호를 전기적으로 바르게 변환할 수 있기 때문에 신속 정확하고 안정적인 감도를 얻을 수 있다는 장점을 가지고 있다[1,2].

현대과학은 20세기 말에 이르기까지 많은 발전을 이루어 인류문화 발전에 크게 공헌하였음에도 불구하고 현대 문명의 발달에 따라 파킨슨병, 우울증, 정신분열증 등의 정신질환 환자 발생률이 급격히 증가하는 부작용도 일으키고 있다. 인체의 질병 중 뇌에 관련된 질병에 대한 진단과 치료방법의 개발이 시급히 요청되고 있는데 뇌과학에 대한 연구는 매우 미비한 상태에 있는 것이 현실이다 [3-5].

세로토닌과 도파민은 대표적인 신경전달 물질 중 하나로써, 도파민은 파킨슨병에 의하여 비교적 많은 연구가 진척된 반면 세로토닌은 우울증 그리고 정신분열증에 관련이 되어 있지만 도파민에 비하면 아직 연구가 미비하다. 우울증이나 정신병이 세로토닌계가 잘못되면 일어난다고 하는 사실이 정설이 되면서 세로토닌 신경전달 물질계에 대한 연구는 최근에 많은 관심을 가지게 되었다. 따라서 본 논문은 세로토닌의 모노아민산화효소에 의한 산화반응의 결과로 발생하는 세로토닌 농도에 따른 전류차를 측정할 수 있는 고감도의 센서를 제작하였다.

## 2. 실험 및 고찰

### 2.1 센서 전극의 제작

#### 2.1.1 박막 전극의 제작

전도성 고분자를 증착하기 위한 작업전극과, 상대전극의 기질은 SiO<sub>2</sub> 절연층이 성장된 p-type (100) 4-inch 실리콘 웨이퍼를 사용하였다. 실리콘 웨이퍼는 RCA 표준공정으로 세척한 후 photolithography 공정을 통해 박막 전극을 패터닝하였다. SiO<sub>2</sub> 절연층과 Pt 박막층간의 접착력을 향상시키기 위해 200Å의 Ti를 스퍼터링한 후 Pt 박막 전극을 2000Å의 두께로 스퍼터링하였다. 이때 진공 챔버의 베이스 압력은 2 × 10<sup>-5</sup> mbar였으며 기판 온도는 100°C로 하였다.

기준전극의 제작을 위한 Ag 박막의 증착은 2000Å의 두께로 하였다. 금속 증착에 이어 약 400°C에서 2시간 동안 열처리 공정을 수행하였다.

#### 2.1.2 전도성 고분자 고정화

전기 중합법(anodical electropolymerization)은 전해질 용액상에 용해시킨 고분자를 전극에 코팅하는 방법으로서 전하량을 조절하여 코팅되는 고분자 필름의 두께를 쉽게 조절할 수 있다. 그러나 전도성 고분자 자체가 가지는 저항으로 인하여 신경전달물질의 농도 변화에 의존하여 감지되는 전류의 변화량을 측정하는 방법은 센서의 성능 저하를 가져오는 원인이 된다. 특히 세로토닌은 매우 낮은 농도로 존재하므로 저항 문제는 전체적인 센서의 성능에 많은 영향을 준다.

본 논문에서는 전도성 고분자를 전기중합하기 위한 단량체로서 pyrrole(ACROS)를 사용하였으며, 세로토닌에 대한 전류응답 속도 향상을 도모하기 위하여 ferricyanide(FCN)를 지지전해질로 하여 polypyrrole(PPy)를 증합하였다.

#### 2.1.3 Monoamine Oxidase 고정화

PPy의 전기중합에 이어, monoamine oxidase(MAO, M7316, SIGMA)를 PPy 필름에 도우평하였다. 1mmol/L의 인산완충용액(PBS)에 0.5mg/mL의 농도로 MAO를 용해시켜 고분자 필름에 도우평하기 위한 용액을 제조하였다. MAO가 고정화 될 수 있는 것은 MAO의 등전점이 5.0 정도 이므로 중성 또는 알칼리성 용액에서 표면에 음 전하를 띠게 되는데 이때의 정전기적 인력에 의하여 양전압이 인가된 박막 전극 표면으로 이동할 수 있기 때문이다.

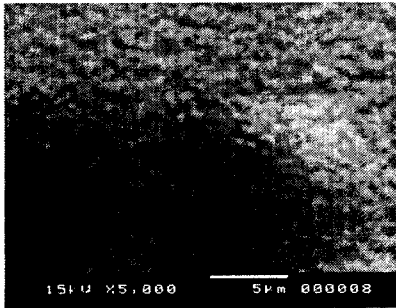
진공 증류한 pyrrole 단량체를 제외하고 모든 시약은 정제 과정 없이 사용하였으며, 탈 이온화한 증류수는 Milli-Q water 시스템을 썼으며, 모든 실험은 25±0.2°C에서 수행하였다.

## 2.2 결과 및 고찰

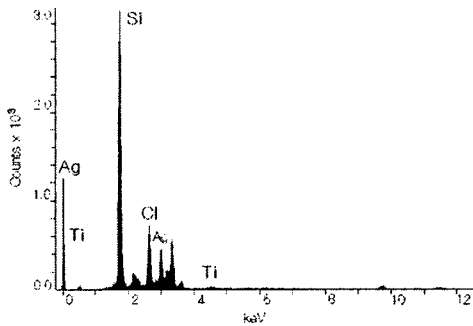
### 2.2.1 Ag/AgCl 기준 전극의 특성 분석

기준 전극은 Ag를 증착한 후 Ag/AgCl 층을 형성하기 위하여 2% FeCl<sub>3</sub> 용액으로 1분간 염화 처리 시킨 후, 증류수로 표면을 세척하고 100°C, 30분간 건조시켰다. Ag/AgCl의 표면색은 다양할 수 있으나, 세척 후에는 대개 분홍빛이 감도는 회색을 띤다. 그림 1에 Ag/AgCl 기준전극의 SEM 사진(a)과 표면에 대한 EDX 스펙트럼(b)을 보였다. Ag와 Cl 피크가 강하게 나타나는 것으로 보아, Ag/AgCl 층이 탈락되지 않고 전극 표면에 흡착되어 있음을 알 수 있다.

그림 2에는 AES를 이용하여 Ag/AgCl의 depth profile을 보였다. 전극의 표면에서는 Ag와 Cl의 상대량이 크지만 스퍼터링하여 감에 따라 Ag와 Cl의 양은 감소하며, 실리콘의 산화막에 의한 Si와 O의 양은 점점 증가하였다.



(a)



(b)

그림 1. Ag/AgCl 박막 기준 전극의 SEM 이미지(a)와 EDX 스펙트럼(b)

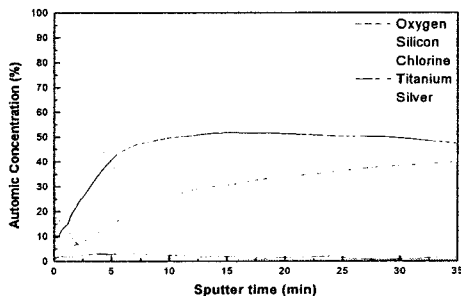


그림 2. AES에 의한 Ag/AgCl 박막 기준전극의 depth profile

### 2.2.2 감도 측정

그림 3은 시간대 전류법에 의한 세로토닌 농도에 따른 센서 전극의 감도를 나타낸 그래프이다. 세로토닌 농도의 증가에 따라 확산제한전류 또한 증가함을 알 수 있다. 이때, 전해질 용액의 조성은 KCl 0.1mol/L, PBS 1mmol/L이며, 수소이온 농도 7.4, 인가 전압은 600mV로 하였다.

그림 4는 시간대 전류법에 의한 감도를 보정곡선으로 나타낸 것이다. 이는 MAO의 존재 유무에 따른 감도의 특성을 알 수 있으며, 또한 세로토닌의 농도에 따라 확산제한전류가 일정하게 증가함을 알 수 있다. 세로토닌의 농도 1.0 $\mu$ mol/L~10mmol/L에서 감도는 7.0 $\mu$ A/decade로 측정되었다.

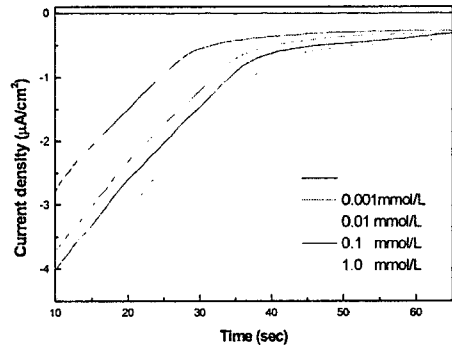


그림 3. 일정 전압(600mV) 하에 시간에 대한 세로토닌의 농도에 따른 전류의 변화

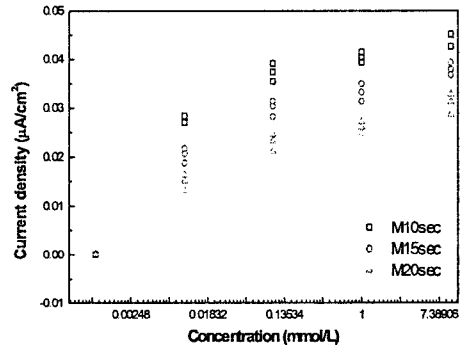


그림 4. 시간대 전류법에 의한 감도의 보정곡선

## 3. 결 론

Bio-MEMS 기술을 이용하여 미세 패턴의 효소 고정화 세로토닌 검출용 센서를 제작하였다. 제작된 센서는 세로토닌의 농도 1.0 $\mu$ mol/L~10mmol/L의 범위에서 직선성을 보여 주었으며, 감도는 7.0 $\mu$ A/decade로 측정되었다. 세로토닌의 농도가 증가할수록 전류의 양 또한 비례하여 증가하는 것을 알 수 있었다. Bio-MEMS 기술은 체내에 미소량으로 존재하는 각종 질병의 지표물질을 검출·측정하는데 유용한 기술이다. 뿐만 아니라 여러 가지 생체 분자를 동시에 검출할 수 있는 다중 어레이 센서의 제작에도 큰 역할을 할 것이다.

## 감 사 의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구  
(R01-2002-000-00591-0)지원으로 수행되었음.

## [참 고 문 헌]

- [1] J. H. Jin, N. K. Min, C. G. Kang, S. H. Park, S. I. Hong, "Characteristics of urea sensor based on platinum deposited porous silicon", *Journal of the Korean Physical Society*, 39, S67-s69, 2001
- [2] J. P. Alarie, S. C. Jacoson, C. T. Sulbertson, J. M. Ramsey, "Effects of the electric field distribution on microchip valving performance", *Electrophoresis*, 21, 100-106, 2000
- [3] M. Del Pilar Taboada Sotomayer, Auro Atsushi Tanaka, Lauro Tatsuo Kubota, "Development of a enzymeless biosensor for the detection of phenolic compounds", *Analytica Chimica Acta*, 455, 215-223, 2002
- [4] L. Zhang, Norio Teshima, Takashi Hasebe, Makoto Kurihara, Takuji Kawashima, "Flow-injection determination of trace amounts of dopamine by chemiluminescence detection", *Talanta*, 50, 677-683, 1999
- [5] I. C. Vieira, O. Fatibello-Filho, "Spectrophotometric determination of methyl dopa and dopamine in pharmaceutical formulations using a crude extract of sweet potato root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as enzymatic source", *Talanta*, 46, 559-564, 1998