

전기화학적 방법을 이용한 다공질 실리콘 구조 형성, 전도성 고분자 코팅, 및 urease 고정화와 감도 특성

진준형, 강문식, 송민정, 민남기, 홍석인
고려대학교

Electrochemical methodologies for fabrication of urea-sensitive electrodes composed of porous silicon layer and urease-immobilized conductive polymer film

Joon-Hyung Jin, Moon Sik Kang, Min Jung Song, Nam Ki Min Suk-In Hong
Korea University

Abstract - 본 연구는 요소 센서 제작을 위한 과정으로서, 전기화학적 방법을 이용한 다공질 실리콘 구조 형성과, PDV(Physical Vapor Deposition) 법에 의한 백금 박막 코팅 및 전기화학적 전도성 고분자 코팅과 urease 고정화 단계를 고찰하고 감도 특성을 제시 하였다.

전극 기질로서 B를 도우핑한 p-type 실리콘웨이퍼를 사용하였고, HF:C₂H₅OH:H₂O=1:2:1의 부피비를 갖는 에칭 용액에서 5분간 -7 mA/cm²의 일정 전류를 가하여 폭 2 μm, 깊이 10 μm의 다공질 실리콘(PS) 층을 형성하였다. 그 위에 200 Å의 Ti 층을 underlayer로서 증착하고, 2000 Å의 Pt를 증착하여 PS/Pt 박막 전극을 제작하고, 전도성 고분자로서 polypyrrole (PPy), 또는 poly(3-methylthiophene) (P3MT)을 전기화학적으로 코팅한 후, urease(EC 3.5.1.5, type III, Jack Bean, Sigma)를 고정화 하였다. 고정화 시 전해질 수용액의 pH는 7.4로 하여 urease표면이 음전하를 갖도록 하고, 전극에 0.6 V (vs. SCE(Saturated Calomel Electrode))의 일정 전압을 가함으로써 urease가 전도성 고분자 표면에 전기적으로 흡착되도록 하였다.

이상의 방법으로 제작한 요소 센서의 감도는 PPy와 P3MT를 전자 전달 매질로 사용한 경우, 각각 8.44 μA/mM·cm²와 1.55 μA/mM·cm²의 감도를 보였다.

1. 서 론

요소는 단백질 대사 산물로서 신장에서의 배뇨 작용 및 간에서의 해독 작용 등과 직접적 관련성이 있으므로 혈중 요소의 농도는 임상학적으로 매우 중요한 의미를 갖는다. 1993년 Adeloju는 PPy 필름에 urease를 고정화 한 potentiometry 형의 요소 센서를 제작한 바 있고[1], 1996년 Komaba는 PPy 필름을 코팅한 백금 전극에 urease를 고정화하여 Nernst 식을 보다 잘 따르는 요소 센서를 제작하였으며, Walcerz는 더욱 안정하고 고감도의 NH₄⁺ 및 HCO₃⁻ 이온 선택성 전극을 이용한 요소 검출용 효소 센서를 제작하였다.

최근에 바이오 맵스(Biomicroelectromechanical systems) 기술을 이용한 보다 집적화되고 초소형인 바이오센서를 개발하게 되었다[2]. 그러나 마이크로 바이오센서는 센서의 전극 면적이 매우 작아 감도, 안정성, 재현성 등에서 많은 문제점을 안고 있다. 특히 효소 센서의 경우 전자 전달 매질 및 효소 고정화 공정이 어렵다. 다공질 실리콘(PS)은 이러한 문제점을 해결할 수 있는 중요한 센서 소재가 될 수 있으며, PS을 이용한 Amperometry 형의 요소 센서에 대한 논문도 이미 발표된 바 있다[3, 4].

본 논문에서는 선행 연구 결과를 바탕으로 PS을 이용한 Amperometry 형 요소 센서의 제작 공정을 전기화학적 및 물리적으로 단계별 고찰하고자 한다.

2. 실험

2.1 시약 및 재료

B를 도우핑한 p-형 실리콘웨이퍼(100, 14~17 Ω·cm, LG Siltron)는 Dooson(Korea)사로부터 구입하였고, Urease(EC 3.5.1.5, type III, Jack Beans)는 Sigma Chemical(USA)사로부터 구입하였다. 3-methylthiophene과 pyrrole은 각각 Aldrich Chemical 사와 Acros organics 사로부터 구입하였다. 포화칼로멜전극(SCE, USA)과 Pt 상대전극은 각각 Aldrich Chemical사와 Metrohm(Switzerland)사로부터 구입하였다. Acetonitrile(EP급, 대정화학)을 제외한 모든 용매는 Milli-Q 순수 시스템을 이용한 2차 증류수를 사용하였다. GR급 요소는 대정화학(Korea)으로부터, EP급의 Sodium perchlorate monohydrate와 Sodium phosphate monobasic은 각각 Junsei chemicals(Japan)사와 Yakuri pure chemicals(Japan)사로부터 구입하였다. EP급의 Sodium chloride는 Showa Chemicals(Japan)사로부터, Sulfuric acid와 nitric acid는 각각 대정화학과 Duksan Pure Chemicals(Japan) 사로부터 구입하였다.

백금 박막 증착을 위한 Pt target(99.98%)은 희성 금속(Korea)으로부터 구입하였고, Clariant Industries(Korea)사로부터 Photolithography 공정에서 사용한 AZ1512(감광제)를 지원받았다.

2.2 실험 장치

모든 전기화학적 측정은 Potentiostat/Galvanostat (EG&G Princeton Applied Research, Model 263A), IBM호환 PC, Teflon 소재의 전기화학 전지 등으로 구성된 전기화학 측정 장치를 이용하여 수행하였다.

3. 본 론

3.1 다공질 실리콘 형성 및 전극 패터닝

PS 형성을 위한 전기화학 전지는 2cm×2cm 크기의 p-형 실리콘 웨이퍼를 산화전극, Pt (99.99%) 막대를 환원전극, HF:C₂H₅OH:H₂O = 1:2:1(부피비)의 에칭용액 등으로 구성하였다. 300초간 -7mA/cm²의 일정 전류를 가하여 양극 산화시킨 결과 그림 1과 같이 폭 2 μm 깊이 10 μm의 PS 구조를 얻었다.

Photolithography 공정을 이용하여 PS 구조가 형성된 부분을 작업전극으로 하고 그 이외에, 기준전극과 상대전극 등으로 구성된 3 전극 시스템을 웨이퍼 상에 패터닝하였다.

3.2 백금 박막 전극 증착

지름 9cm, 두께 1.5mm의 백금 target을 진공 증착 시스템(Leybold, LS560, 기초과학지원연구소 서울분소)을 이용하여 박막화 하였으며, 금속 박막 전극의 증착 조건은 표 1에 요약하였다.

감광제로서, 또한 마스크 물질로서 사용한 PR이 일반

적으로 고온에서 쉽게 산화되는 유기물이므로 증착 시 기질의 온도는 120 °C를 넘지 않도록 하였다. Ti 박막은 Pt 박막과 실리콘 기질사이의 증착력을 증가시키는 역할을 한다. 백금 박막의 두께가 3000 Å 이상인 경우 lift-off 공정 시 백금 박막이 탈착되는 단점이 있으며, 2000 Å 미만인 경우 백금 전극으로서의 특성을 얻기 어렵다. 금속 박막 증착 후 lift-off 공정을 거쳐 3 전극 즉, PS 백금 박막전극과 기준전극 및 상대전극으로 이용할 백금 박막 전극을 웨이퍼 상에 구현하였다.

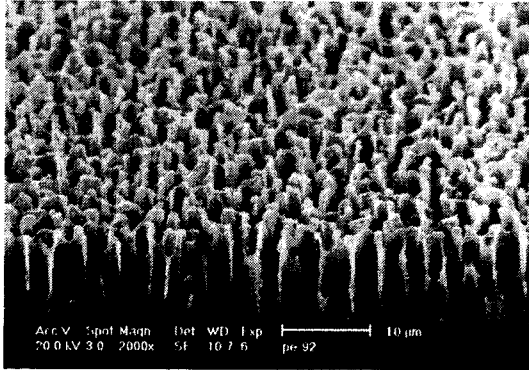


그림 1. 양극 산화법으로 300초간 -7mA/cm^2 의 일정 전류를 가하여 얻은 PS 구조. 폭=2 μm , 깊이=10 μm .

표 1. Ti와 Pt 박막 증착을 위한 증착 조건.

두께	Ti: 200 Å, Pt: 2000 Å
기질 온도	100°C
베이스 압력	2×10^{-5} mbar
기질-target 간격	40 mm
스퍼터링 압력	5×10^{-3} mbar
에너지	150 watt
속도	5 Å/sec

그림 2는 표 1의 조건에서 PS 층에 증착한 백금 박막 전극에 대한 SEM 사진이다. PS 내부에도 비교적 균일하게 백금 박막이 증착되었음을 볼 수 있다.

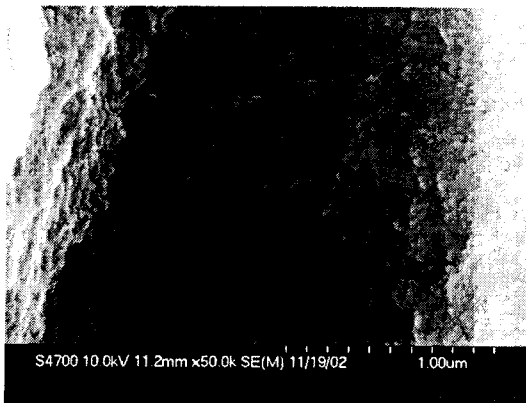


그림 2. PS층에 Ti 200 Å Pt 2000 Å을 증착한 후 얻은 하나의 pore에 대한 단면 SEM 사진.

그림 3은 PS 백금 박막 전극의 질소 가스로 포화된 0.5 mol/L 황산 수용액에서의 CV 특성 곡선이다. 이때의 주사 속도는 50 mV/s이며 주사 회수는 20회이다. 일반적인 고순도 백금 전극이 보여주는 특성 피크가 명확히

나타나지는 않으나 PS를 이용하지 않은 백금 박막 전극에 비하여 PS 백금 박막 전극은 대면적을 갖기 때문에 전류 스케일이 매우 큼을 알 수 있다.

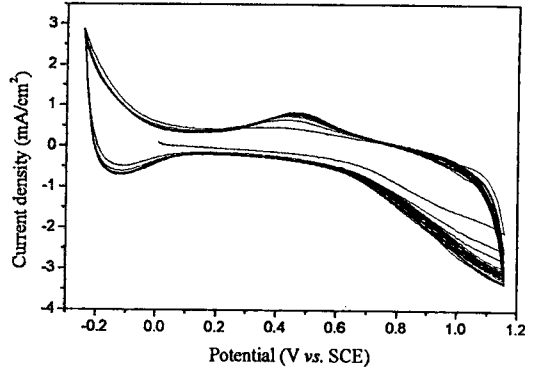


그림 3. PS 백금 박막 전극의 질소 가스로 포화된 0.5 mol/L 황산 수용액에서의 CV 특성 곡선. 주사 속도는 50 mV/s. 주사 회수는 20회.

3.3 전도성 고분자 코팅

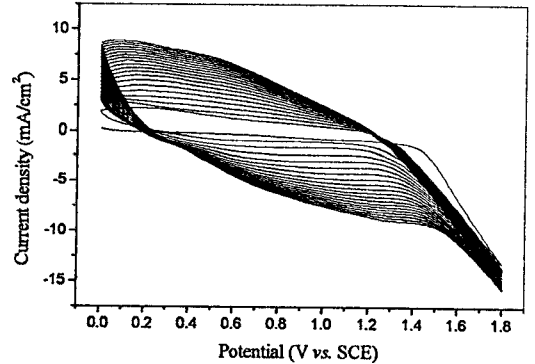


그림 4. PS 백금 박막 전극에 3-methylthiophene을 전기중합하는 과정에서 얻은 CV 곡선. 주사 속도는 20 mV/s. 주사 회수는 20회.

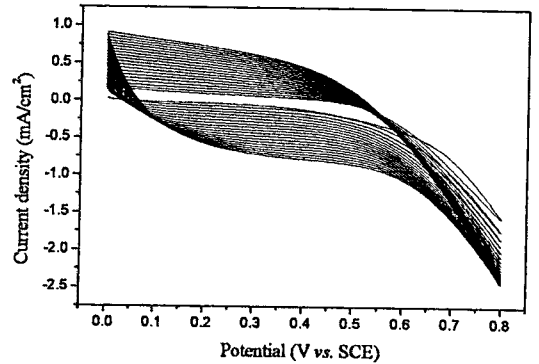


그림 5. PS 백금 박막 전극에 pyrrole을 전기중합하는 과정에서 얻은 CV 곡선. 주사 속도는 20 mV/s. 주사 회수는 20회.

그림 4는 PS 백금 박막 전극에 3-methylthiophene을 전기중합(electropolymerization)하는 과정에서 얻은 CV(cyclic voltammogram) 곡선이다. 이때의 전위 범위

는 SCE 기준전극에 대하여 0~1.8 V이며, 주사 회수는 20회이다. P3MT 필름의 성장에 따라 충전 전류(charging current)가 증가함을 볼 수 있다.

그림 5는 PS 백금 박막 전극에 pyrrole을 전기중합하는 과정에서 얻은 CV 곡선이다. 마찬가지로, PPy 필름의 성장에 따라 충전 전류가 증가함을 볼 수 있는데, 이 경우의 전위 범위는 SCE 기준전극에 대하여 0~0.8 V이며, 주사 회수는 20회이다.

3.4 Urease 고정화 및 감도

전도성 고분자를 코팅한 PS 백금 박막 전극에 시간대전류법(Chronoamperometry)을 이용하여 전기화학적으로 urease를 고정화 하였다. 고정화 시 전압은 SCE 기준 전극에 대하여 0.6V를 300초 간 일정하게 유지하였다.

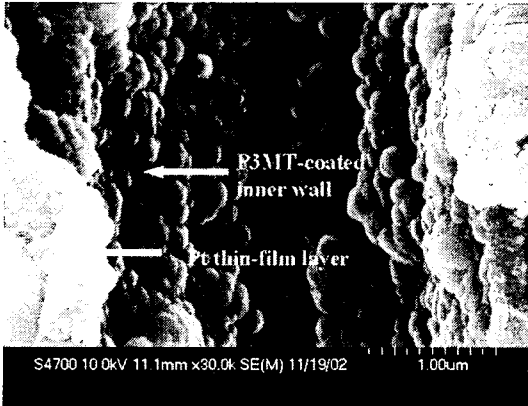


그림 6. P3MT 필름이 코팅된 PS 백금 박막에 시간대전류법으로 urease를 고정화 한 후 얻은 pore 한 개에 대한 단면 SEM 사진.

그림 6은 시간대전류법으로 P3MT 필름에 효소를 고정화 한 후 얻은 pore 한 개에 대한 단면 SEM 사진이다. 백금 박막이 코팅된 pore 안벽에 비교적 균일하게 효소를 고정화한 P3MT 필름이 성장하여 있음을 볼 수 있다.

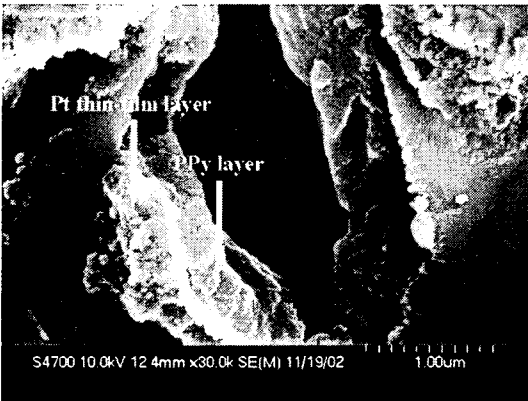


그림 7. PPy 필름이 코팅된 PS 백금 박막에 시간대전류법으로 urease를 고정화 한 후 얻은 pore 한 개에 대한 단면 SEM 사진.

그림 7은 시간대전류법으로 PPy 필름에 효소를 고정화 한 후 얻은 pore 한 개에 대한 단면 SEM 사진이다. 백금 박막이 코팅된 pore 안벽에 비교적 균일하게 효소를 고정화한 고분자 필름이 성장하여 있음을 볼 수

있는데, P3MT 필름의 경우에는 달리 PPy 필름은 보다 매끄러운 표면을 갖는다.

그림 8은 앞서 언급한 바와 같은 공정을 거쳐 제작한 요소 센서의 감도 곡선이다. 계산 결과 P3MT와 PPy를 코팅한 PS 백금 박막전극을 이용한 요소 센서의 감도는 각각 $1.55\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 와 $8.44\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 로서 PPy의 경우가 더 높은 감도를 보였으나, 안정성과 재현성 면에서는 P3MT의 경우가 더 우수한 특성을 보였다. 또한, 요소 농도 측정 범위면에서 P3MT 필름을 이용하는 경우 고농도 측정이 가능하였다.

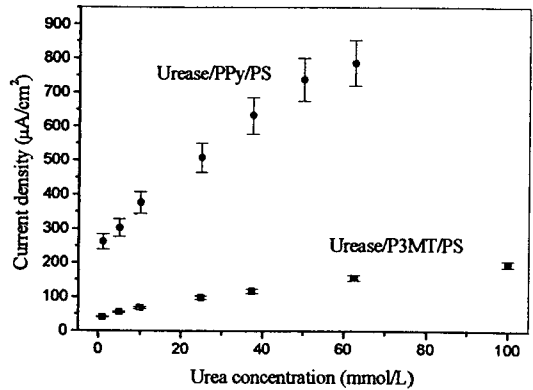


그림 8. P3MT와 PPy를 코팅한 PS 백금 박막전극의 요소에 대한 감도 특성. 전자의 경우 $1.55\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 의 감도를 보였고, 후자의 경우는 $8.44\mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$ 의 감도를 보였다.

4. 결 론

금속 박막 코팅을 제외한 모든 공정을 전기화학적인 방법을 이용하여 요소 센서를 제작하였다. 시간대전압법(Chronopotentiometry)으로 실리콘 웨이퍼에 PS 층을 형성하였고, 순환전압전류법(Cyclic voltammetry)을 이용하여 백금 박막 전극의 특성 분석, 전도성 고분자 코팅 등을 수행하였으며, 시간대전류법으로 효소 고정화 및 감도 측정을 하였다.

특히, 반도체 공정을 이용한 센서 어레이 전극 제작에 어와 같이 특정 전극에 선택적으로 전도성 고분자 코팅 및 효소고정화 등을 수행해야 하는 경우, 전기화학적 방법을 이용하면 보다 쉽게 기능성 전극을 제작할 수 있다.

[참 고 문 헌]

- [1] Adeloju, S. B., Shaw, S. J., Wallace, G. G., "Polypyrrole-based potentiometric biosensor for urea. Part 1. Incorporation of urease", *Analytica Chimica Acta*, **281**, 611-620 (1993).
- [2] Cunningham, B., Weinberg, M., Pepper, J., Clapp, C., Bousquet, R., Hugh, B., Kant, R., Daly, C., Hauser, E., "Design, fabrication and vapor characterization of a microfabricated flexural plate resonator sensor and application to integrated sensor arrays", *Sensors and Actuators B*, **73**, 112-123 (2001).
- [3] 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).
- [4] J. H. Jin, N. K. Min, S. H. Paek, C. W. Lee, and S. I. Hong, "Fabrication of Amperometric Urea Sensor Based on Nano-Porous Silicon Technology", *Journal of the Korean Physical Society*, **42**, S735-S738, (2003).