

pH-ISFET 마이크로프로브의 제작과 그 생醫學的 應用

(Fabrication and Its Biomedical Application of the pH-ISFET Microprobe)

李 光 萬,* 孫 炳 基**

(Kwang Man Lee and Byung Ki Sohn)

要 約

ISFET(SL- IIS) 칩과 毛細管 薄膜基準電極을 조합하여 生體測定을 위한 pH-ISFET 마이크로프로브를 製作하였다. 그리고 ISFET의 安定도와 溫度依存性을 改善하기 위하여 게이트酸化膜을 위한 二段階 TCE 酸化法을 적용시켰으며, 실리콘고무와 에폭시를 이용하여 多重層 엔캡슐레이션하였다. pH-ISFET 마이크로프로브의 感度, 應答速度 및 溫度依存性은 각각 50mV/pH, 1초 미만 및 $-0.01\text{pH}/^{\circ}\text{C}$ 를 보였으며 40일 이상 계속 동작시킨 결과 0.016pH/day의 우수한 長期安定度를 나타내었다. pH-ISFET 마이크로프로브로 토끼의 大腿部動脈血의 pH를 시험측정한 결과 이는 血液가스分析値와 거의 一致하였다.

Abstract

A pH-ISFET microprobe for in vivo measurements has been fabricated by combining ISFET (SL-IIS) chip and capillary thin film reference electrode. A two-step TCE oxidation for the gate oxide layer and multilayer encapsulation using silicone rubber and epoxy were specially used for the improvement of the stability and temperature dependence of the ISFET's. The measured sensitivity, response time and temperature dependence of the pH-ISFET microprobes are 50 mV/pH, less than one second, and $-0.01\text{pH}/^{\circ}\text{C}$, respectively. By operating continuously more than 40 days, a long term stability of 0.016 pH/day is obtained. The result of pH monitoring of femoral arterial blood in a rabbit is fairly good agreement with the value of blood gas analysis.

I. 序 論

各種 이온들로 구성된 生體의 體液이나 血液을 迅速·正確하게 분석하는 것은 生醫學的으로 매우 중요하며 또한 絶실히 要求되고 있다. 현재 혈액분석

은 電氣化學的인 센서인 ISE (ion selective electrode)를 써서 체액이나 혈액을 生體外로 抽出하여 行해지고 있다. 따라서 患者의 病態를 間接的으로 파악할 수 밖에 없고, 또한 환자의 부담도 매우 크다. 이러한 生體外的 測定方法은 現場·現時的 測定이 아니므로 生體內에서의 狀態와는 상당히 差異가 있어서 많은 문제가 되고 있다. 만약 이와 같은 化學分析裝置를 小形化하여 체내에 직접 插入 가능하고 응답속도가 빠르며 現場·현시적이고 持續的인 측정이 가능하다면 疾病의 診斷 및 治療를 위한 중요한 정

*正會員, 濟州大學校 電子工學科
(Dept. of Elec. Eng., Cheju Nat'l Univ.)

**正會員, 慶北大學校 電子工學科
(Dept. of Elec. Eng., Kyungpook Nat'l Univ.)
接受日字: 1988年 7月 28日

보를 얻을 수 있을 것이다. 이는 특히 應急 및 重患者의 진단에 크게 기여할 것이다. 이러한 마이크로 측정장치의 改發은 生醫學分野에서 오래 전부터 요청되어온 課題이다.

지금까지 사용되어온 ISE는 小形化에 難點이 있고 또한 지속적으로 변화하는 量을 순간적으로 알아 보는데 어려움이 있다. 이에 비해 半導體集積回路工程技術을 이용하여 製造되는 ISFET (ion sensitive field effect transistor)는 極小形이고 超輕量의 이온感知素子이므로 이를 생체의 局所 部位에 직접 插入하여 현장 顯示적측정이 가능하다. 뿐만 아니라 이는 감도, 안정도 및 信賴度가 높은 소자이므로 이러한 요구에 잘 부응하는 半導體이온센서로써 크게 기대된다. ISFET는 機能的으로 이온選擇性電極 (ISE) 과 MISFET (metal-insulator-semiconductor FET)가 組合된 것으로서 ISE가 가지는 感이온 特性과 이온選擇能力을 지니고 있고, MISFET의 電場效果作動原理를 따르면, 高度로 발달한 IC 製造技術의 活用으로 만들어지는 감이온 반도체裝置이다.

生體內 測定이 가능한 ISFET 마이크로프로브를 제작하기 위한 시도가 Moss,^[1] Comte,^[2] Harame^[3] 등에 의하여 이루어져 왔다. 이러한 마이크로프로브를 이용한 생의학적응용의 例로서 Bergveld,^[4] Matsuo,^[5] Janata^[6] 등은 쥐, 토끼 및 개 등의 血中이온濃度를 측정하는 動物實驗을 行하였다. 그러나 만족할 만한 結果를 얻지 못하고 있다.

本 研究에서는 生體測定用 pH-ISFET 마이크로프로브를 考案·製作하고 그 動作 特性을 조사하였으며 이를 이용하여 토끼의 動脈血의 水素이온濃度를 시험측정하였다.

II. pH-ISFET 마이크로프로브의 製作

그림 1은 마이크로프로브를 만들기 위해 製造된 ISFET (SL-ⅡS) 칩 패턴과 그 等價回路를 나타내고 있다. ISFET 칩의 크기는 400×1400(μm²)이고 감

이온게이트의 크기는 20×300(μm²)였다. 본 연구에서는 標準 NMOS 製造工程을 기초로 하여 抵抗率 이 6-9(Ω-cm)인 p形 실리코웨이퍼(100)를 사용하여 제조하였다. 특히 게이트絶緣層의 質을 높이기 위하여 1000℃에서 그림 2의 二段階 TCE酸化 (two-step trichloroethylene oxidation)法^[7,8]을 이용하여 500Å의 SiO₂를 성장시켰다. 이 경우 TCE 내에 존재하는 鹽素이온이 SiO₂내의 移動性이온인 나트륨이온을 除去하는데 이용되었다. 이때 형성된 게이트 산화막의 表面電荷 密度와 移動性 이온의 密度는 각각 2.5×10¹⁰(cm⁻²) 및 3.2×10¹⁰(cm⁻²)였다. 그리고 이 위에 800℃에서 LPCVD 법으로 700Å의 Si₃N₄를 형성시켜 水素이온感知膜으로 이용하였다.

그림 3은 제작된 pH-ISFET 마이크로프로브의 概略圖로써 (a)는 프로브전체이며 (b)는 프로브끝의 확대도를 나타낸 것이다. 여기서 ISFET와 함께 装着된 基準電極은 毛細管 鹽化銀 (Ag/AgCl) 薄膜電極^[9]을 사용하였으며 프로브의 끝은 內徑이 0.6mm 정도인 파이렉스관을 사용하였다. 마이크로프로브의 電氣的 絶緣과 機械的고정을 위하여 실리코 고무 (Shinetsu

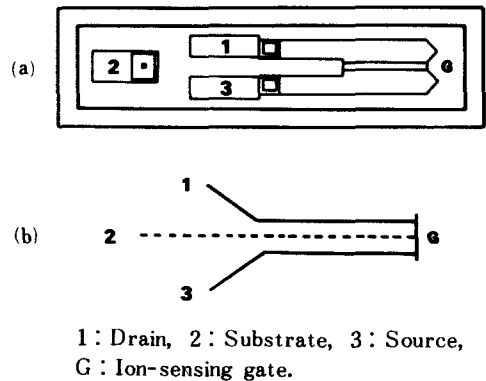


그림 1. (a) ISFET (SL-ⅡS) 칩 패턴, (b) 等價回路
Fig. 1. (a) ISFET (SL-ⅡS) chip pattern, (b) Equivalent circuit.

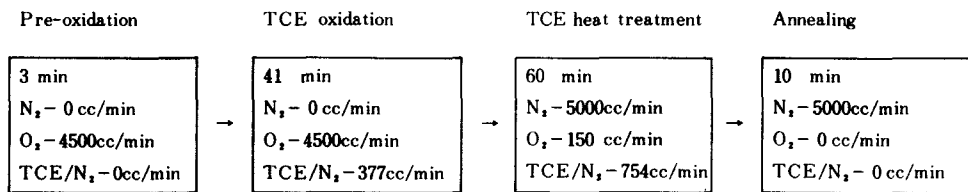


그림 2. 게이트酸化膜을 위한 二段階 TCE 酸化法
Fig. 2. Two-step TCE oxidation for the gate oxide layer.

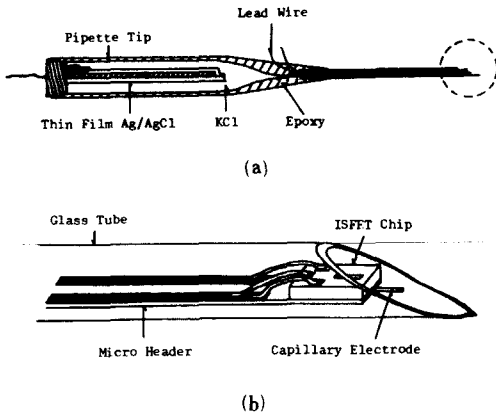


그림 3. pH-ISFET 마이크로프로브의 개략도
 (a) 마이크로프로브의 개략도
 (b) 그림(a)의 점선원으로 나타낸 끝부분의 확대도

Fig. 3. Schematic diagram of a pH-ISFET microprobe.
 (a) Longitudinal section of microprobe.
 (b) Enlarged tip-view of the part of dotted circle in (a).

KJR-4050) 및 에폭시 수지 (Shell Epon 825와 Jefferson D-230) 를 이용하여 多重層 엔캡슐레이션 하였다.

그림 4 는 실제 제작된 마이크로프로브의 사진이다.

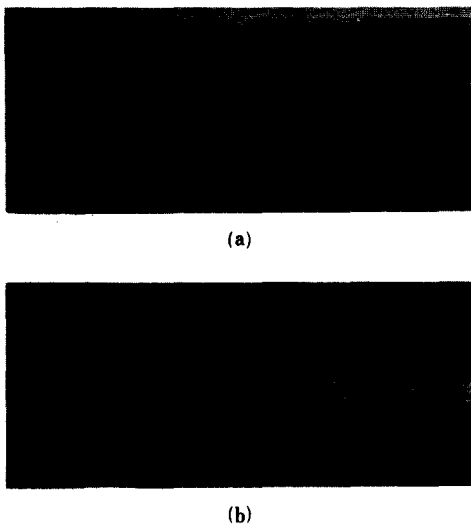


그림 4. 그림 3의 제작된 마이크로프로브의 사진
 Fig. 4. Photograph of fabricated microprobe in Fig. 3.

그림 5 는 마이크로프로브의 動作特性 및 動物實驗을 위하여 본 연구에서 설계한 測定回路이다. 여기서 R_1 과 R_2 를 조절하여 I_D 와 V_{DS} 를 설정한다. 그리고 R_3 을 조절하여 pH 7.0에서 기준점을 설정한다. 특히 이 회로는 I_D 를 一定하게 유지하면서 기준전극전압 V_{RS} 의 變化를 측정해 냄으로서 수소이온농도의 변화에 따른 電氣化學的 變化를 곧 바로 읽어낼 수 있는 長點이 있는 null-balance 回路⁽¹⁰⁾ 이다. 그리고 外部電場이나 靜電氣 등의 雜音에 민감한 V_{RS} 변화 측정회로를 安定化 시키기 위하여 기준전극을 接地 하였다.

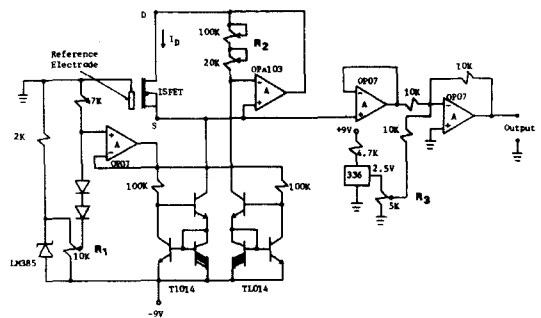


그림 5. 기준전극이 接地된 Null-balance 法의 回路圖
 Fig. 5. Circuit diagram of the null-balance method with grounded reference electrode.

그림 6 은 제작된 pH-ISFET 마이크로프로브의 長期安定度를 기준전극전압의 變化로 나타낸 것이다. 마이크로프로브를 pH 7.0 緩衝溶液에서 $V_{DS} = 1.2V$, $I_D = 40 \mu A$ 로 유지하면서 40일 이상 V_{RS} 의 變化를 측정하였다. 이때 測定溫度는 약 $10^\circ C$ 로 유지하였다. 약 10일까지는 기준전극전압의 變化가 $1.83mV/day$ 로 유지하다가 10일 이후에는 $0.6mV/day$ 의 매우 안정된 變化를 보였다. 이것을 pH로 환산하면 $0.016 pH/day$ 가 된다. 이결과가 이미 報告된 結果⁽¹¹⁾ 와 비교할때 상당히 改善되었음을 알 수 있다. 이는 본 研究에서 二段階 TCE 酸化法을 이용하여 게이트 산화막을 성장하였고, 실리콘고무와 에폭시를 사용하여 다중층 엔캡슐레이션 한 결과로 생각된다.

다음은 제작된 마이크로프로브의 感度特性을 조사하기 위하여 恒温槽 (HAAKE) 의 온도를 生體測定溫度인 $37^\circ C$ 로 유지시켜 놓고 pH 6.12에서 pH 9.08까지 變化시켜가면서 기준전극전압의 變化를 측정하였다. 그리고 flow-system⁽¹²⁾ 내에서 마이크로프로브의 時間應答特性을 pH 변화에 따른 드레인전류의 變化

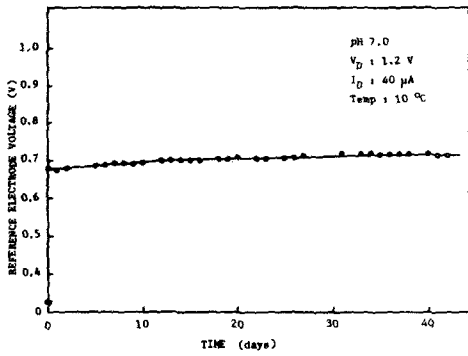


그림 6. pH-ISFET 마이크로프로브의 長期安定度
Fig. 6. Long term stability of the pH-ISFET microprobe.

로 측정하였다. 또한 pH 7.0 완충용액에서 온도를 10°C에서 50°C까지 변화시켜 가면서 온도특성을 조사하였다.

Ⅲ. 토끼의 動脈血의 pH 測定

動物實驗은 장차 人體에 적용하기 위한 基礎的인 실험으로서 生理學的으로 인체와 특성이 비슷한 점과 血管의 굵기 등을 고려하여 본 연구에서는 손쉽게 구할 수 있는 토끼¹³⁾를 生體實驗의 대상으로 선정하였다. 지금까지 알려진 토끼 동맥혈의 pH는 Wyler 등¹⁴⁾에 의하면 7.44(7.36-7.60) 정도이므로 인체혈액의 pH 7.40과 비슷하다. 먼저 항온조를 37°C로 고정시켜 주고 그림 5의 기준전극이 接地된 null-balance 측정회로를 이용하여 標準 pH 緩衝溶液으로 pH-ISFET 마이크로프로브를 校正하였다.

그림 7은 pH-ISFET 마이크로프로브를 이용한 토끼의 大腿部動脈血의 pH 측정을 나타낸 것이다. 토끼를 마취시키기 위하여 우레탄(30%)을 5ml/kg의 양으로 사용하였다. 마이크로프로브를 혈관에 용이하게 삽입하기 위하여 MEDICUTR를 사용하였다. 또한 토끼동맥혈의 pH 측정을 시도하면서 인위적으로 혈액의 산-염기평형¹⁵⁾을 깨뜨려 이때 나타나는 현상을 함께 알아 보았다. 산-염기 평형에 변화를 주기 위하여 CO₂ 가스(1.6l/min)와 NaHCO₃ 용액(0.1몰)을 각각 사용하였다. CO₂ 가스는 呼吸性酸過多症(respiratory acidosis)을, NaHCO₃ 용액은 新陳代謝 症, 非呼吸性 알카리血症(nonrespiratory alkalosis)을 유발할 것으로 예측된다. 이 실험에서 사용된 기기는 전압계(FLUKE 8800A)와 Y-t 기록계(Toshin DB-2)였다.

그림 8은 pH-ISFET 마이크로프로브를 이용한 토

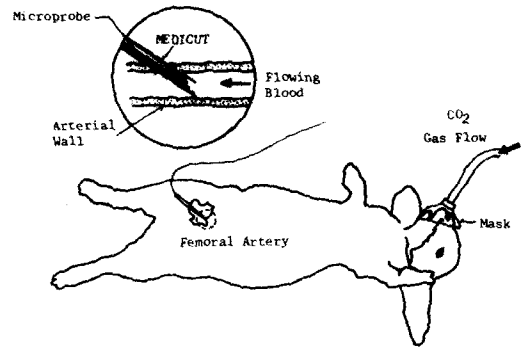


그림 7. pH-ISFET 마이크로프로브를 이용한 토끼의 大腿部動脈血의 pH 측정
Fig. 7. pH monitoring of femoral arterial blood in a rabbit using a pH-ISFET microprobe.



그림 8. pH-ISFET 마이크로프로브를 이용한 토끼의 大腿部動脈血의 pH 측정사진
Fig. 8. Photograph of pH monitoring for femoral arterial blood in a rabbit using a pH-ISFET microprobe.

끼의 대퇴부 동맥혈의 pH 측정사진이다.

Ⅳ. 結果 및 考察

그림 9는 pH-ISFET 마이크로프로브의 溫度依存性을 나타내고 있다. V_{DS}=1.2V, I_D=40 μA로 고정시키고 pH 7.0 완충용액에서 온도를 10°C에서 50°C까지 변화시켜 가면서 기준전극전압의 變化分을 측정하였다. 이 결과 기준전극전압의 온도의존성은 -0.35 mV/°C를 나타내었다. 이를 pH로 환산하면 -0.01pH/°C로 나타낼 수 있다. 一般的으로 ISFET의 溫度依存性을 正確하게 알아낸다는 것은 무척 어렵다. 이러한 어려움 때문에 이 ISFET의 온도의존성

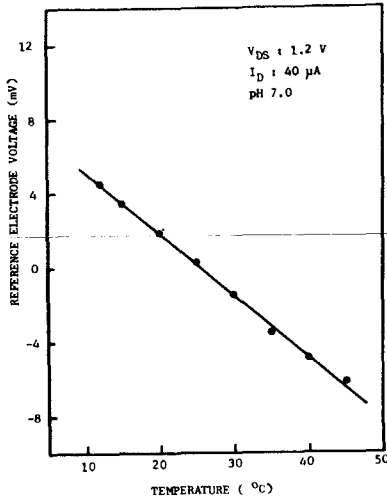


그림 9. pH-ISFET 마이크로프로브의 温度依存性
Fig. 9. Temperature dependence of pH-ISFET microprobe.

을 밝히려는 구체적인 研究의 實例¹¹⁶⁾는 매우 드물다고 할 수 있다.

그림10은 pH-ISFET 마이크로프로브의 時間應答特性을 나타낸 것이다. 마이크로프로브가 裝着된 flow-system에 pH 7.09, 6.05 및 7.09順으로 용액을 흐리면서 드레인전류의 시간응답을 나타낸 것이다. 용액의 유입량을 0.27ml/sec로 하였을 때 90% 응답속도는 1초미만의 빠른 응답을 보였다.

그림11은 pH-ISFET 마이크로프로브를 pH에 대해서 校正한 것이다. 37°C에서 pH 6.12에서 pH9.08까지 변화시키면서 V_{RS} 의 변화를 측정하였다. 이때 $V_{DS}=1.2V$, $I_D=40\mu A$ 의 飽和領域에서 動作시켰다. 이 그림에서 직선의 기울기로 나타난 마이크로프로

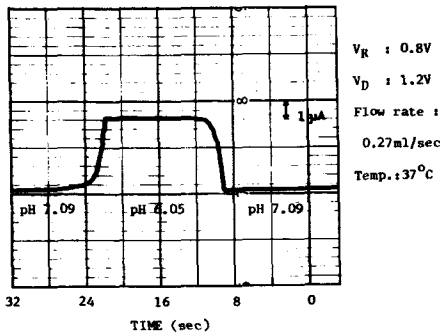


그림10. pH-ISFET 마이크로프로브의 時間應答特性
Fig. 10. Time response of pH-ISFET microprobe.

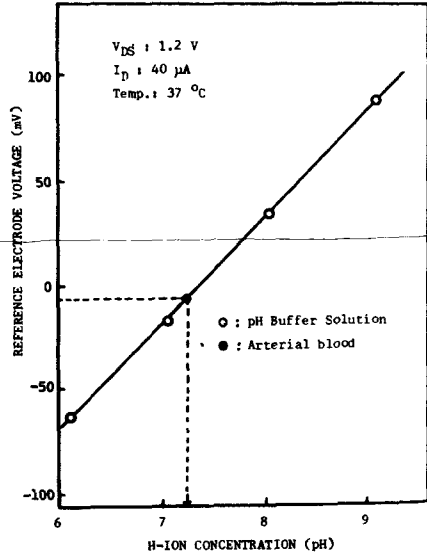


그림11. pH-ISFET 마이크로프로브의 V_{RS} 와 pH의 관계 (점선의 지시치가 측정된 토끼동맥혈의 pH 임)

Fig. 11. Relationship between V_{RS} and pH of pH-ISFET microprobe. (Marked value by dotted line is the measured pH of arterial blood in a rabbit).

브의 감도는 50 mV/pH의 매우 뛰어난 直線性을 보였다(이론적으로 감도는 실온에서 59mV/pH임). 이렇게 교정된 마이크로프로브를 이용하여 생체측정을 시도하였다.

그림 12는 토끼의 대퇴부동맥혈의 pH 측정시 시간에 따라 지속적으로 모니터링한 혈중 pH의 변화를 나타내고 있다. 이때 동맥혈의 산-염기평형의 변화에 따른 현상도 함께 알아 보았다. 이 결과에서 定常狀態의 혈중 pH는 7.23으로 그림 11의 점선으로 지시한 값이 된다. 이때의 혈액가스분석치는 pH 7.32였다. 측정을 시작한 뒤 32분경에 CO_2 가스(1.6 l/min)로 토끼를 呼吸시키다가 다시 46분과 62분경에 $NaHCO_3$ (0.1 몰) 용액을 20cc씩 혈관에 각각 주입하여 보았다. 이 결과 최종적인 혈중 pH도 역시 7.23을 유지 하였으며, CO_2 가스와 $NaHCO_3$ 용액에 대한 영향은 감지하기 어려웠다. 이는 아직까지 生理學的인 실험방법이 미숙하고 생체측정의 어려움 때문으로 사료되며 이점에 대한 계속적인 연구가 필요하다고 본다. 그리고 그림 12에서 전반적으로 나타난 雜音現象은 그 크기가 약 2mV(침단지) 이내로 그 직접적인 원인은 아직 알 수 없으나 생체전위(약 100mV)에 비해 매우 작음을 알 수 있었다. 그러나

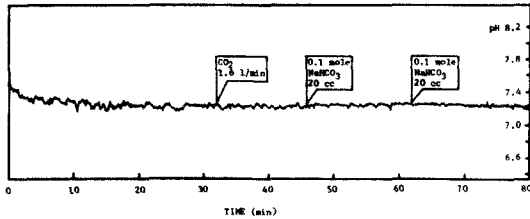


그림 12. 마이크로프로브를 이용한 토끼 동맥혈의 pH 모니터링 (32분부터 CO₂ 가스 호흡, 46분 및 62분에 NaHCO₃ 용액을 20cc씩 주입)

Fig. 12. pH monitoring of femoral arterial blood in a rabbit using a microprobe (Respiration of CO₂ gas from 42minute, injection of NaHCO₃ solution at 46 and 62 minutes by the amounts of 20 cc).

본 연구에서 목적했던 동물실험을 통한 생체내에서의 혈중 pH를 측정할 수 있었으며, 그 결과(pH7.23)가 기존의 측정방법인 혈액가스분석치 (pH 7.32)와 비교할 때 약 0.1 pH의 차이를 보이는 비교적 양호한 결과였다.

V. 結 論

半導體集積回路製造技術을 이용하여 제조된 400×1400(μm²) 크기의 ISFET (SL-II) 칩과 毛細管 Ag/AgCl 薄膜基準電極을 이용하여 pH-ISFET 마이크로프로브를 제작하였다. 제작된 마이크로프로브의 感度는 50mV/pH였으며, 40일간 측정된 長期安定度는 0.016 pH/day로 매우 良好하였다. 이는 二段階 TCE 酸化法과 多重層 엔캡슐레이션 기술에 의한 결과라 생각된다. 측정된 마이크로프로브의 溫度依存性은 -0.01 pH/°C였다. 또한 제작된 마이크로프로브를 이용하여 토끼의 혈관에 직접 삽입하여 血中 pH를 시험측정하였다. 그 측정결과(pH 7.23)를 이 때의 혈액가스분석치 (pH 7.32)와 대비할 때 비교적 양호한 편으로서, 이 마이크로프로브가 생체측정용으로 활용가능함을 보였다. 다만 생체측정시 나타난 잡음의 원인규명과 혈액의 산-염기평형에 관한 실험방법의 개선이 본 연구가 남긴 과제라 하겠다.

參 考 文 獻

[1] S.D. Moss, J. Smith, P. Comte, C. Johnson and L. Astle, "A microelectronic pH sensor," *J. Biomed. Eng.*, vol. 1, pp. 11-20,

1976.

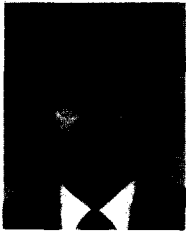
- [2] P.A. Comte and J. Janata, "A field effect transistor as a solid-state reference electrode," *Analytica Chimica Acta*, vol. 101, pp. 247-252, 1978.
- [3] D. Haramé, J. Shott, J. Plummer and J. Meindl, "An implantable ion sensor transducer," *IEEE IEDM*, pp. 407-410, 1981.
- [4] P. Bergveld, "Development, operation, and application of the ion-sensitive field-effect transistor as a tool for electrophysiology," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. BME-19, pp. 342-351, 1972.
- [5] M. Esashi and T. Matsuo, "Integrated micro multi ion sensor using field effect of semiconductor," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. BME-25, pp. 184-191, 1978.
- [6] B.A. Mckinley, J. Saffle, W.S. Jordan, J. Janata, S.D. Moss and D.R. Westernskow, "In vivo continuous monitoring of K⁺ in animals using ISFET probes," *Med. Instrumentation*, vol. 14, pp. 93-97, 1980.
- [7] C. Hashimoto, S. Muramoto, N. Shiono and O. Nakajima, "A method of forming thin and highly reliable gate oxides-Two step HCl oxidation," *J. Electrochem. Soc., Solid-Science and Technology*, vol. 127, pp. 129-135, 1980.
- [8] B.Y. Liu and Y.C. Cheng, "Growth and characterization of thin gate oxides by dual TCE process," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 131, pp. 683-686, 1984.
- [9] 孫炳基, 李光萬, "ISFET 用 Ag/AgCl 薄膜基準電極," *慶北大學校 電子技術研究誌*, vol. 7, pp. 23-28, 1986.
- [10] S.D. Yu, J.K. Shin, Y.H. Lee and J.H. Lee, "Measurement circuits of an ISFET for applications," *Research Rev. KNU*, vol. 36, pp. 461-468, 1983.
- [11] T. Matsuo and M. Esashi, *Methods of ISFET fabrication, Dept. E.E. Tohoku Univ. Japan*, p. 12, 1980.
- [12] 李光萬, "ISFET 마이크로프로브를 이용한 血中 水素이온 濃度測定," *濟州大學校 論文集*, vol. 25, pp. 85-103, 1987.
- [13] 정순동, 양일석, "가축과 실험동물의 생리자료(II) -1 토끼(The rabbit)," *대한생리학회지*, vol. 9, pp. 84-90, 1975.
- [14] Wyler, F., Neutee, J.M. and Rudolph, A.M., "Effects of endotoxin on distribution of

cardiac output in unanesthetized rabbits," *Am. Physiol.*, vol. 219, pp. 246-251, 1970.

[15] R.F. Schmidt and G. Thews, *Human physiology*, New York, pp. 331-357, 1983.

[16] 孫炳基, 南泰喆, 李鍾德, "ISFET動作特性에 미치는 溫度效果, 崔宗洛教授 回甲紀念論文集, pp. 350-364, 1982.*

著 者 紹 介



孫 炳 基 (正會員)

1936年 3月 1日生. 1960年 경북대학교 사범대학 물리학과 졸업. 1962年 同 대학원 물리학 이학 석사 및 1981年 同 이학박사 학위 취득. 1967年~1968年 미국 University of Arizona 물리학과 수학.

1965年~현재 경북대학교 조교~전자공학과 교수 (현). 1979年~1980年 미국 아리조나대학교 전기공학과 객원교수. 1983年 일본 上智대학 전기·전자공학과 객원교수. 1982年~1983年 한국전자기술연구소 위촉책임연구원(겸). 경북대학교 공과대학장 및 전자계산소장. 대한전자공학회 대구·경북지부장(현) 및 반도체·재료 및 부품연구회 전문위원장. 주관심분야는 ISFET 및 반도체 센서, 반도체 집적회로제조공정 및 전자재료 기술분야 등임.



李 光 萬 (正會員)

1956年 2月 2日生. 1978年 2月 경북대학교 전자공학과 졸업. 1980年 2月 경북대학교 대학원 전자공학 공학석사 학위 취득. 1987年 2月 경북대학교 대학원 전자공학과 공학박사 학위 취득. 1987

年 3月~현재 제주대학교 전자공학과 전임강사. IEEE 회원. 주관심분야는 집적회로제조공정, 반도체 Chemical Sensor 및 Biosensor 등임.