

Cu/Ni/Au 전극을 이용한 일회용 포도당 센서 개발

이영태[†] · 이승로^{*}

Development of the disposable glucose sensor using Cu/Ni/Au electrode

Young-Tae Lee[†] and Seung-Ro Lee^{*}

Abstract

In this paper, we developed enzyme electrode of a new form to improve performance of disposable glucose sensor. We could fabricate electrode of Cu/Ni/Au structure which has very low electrical resistance (0.1Ω) by sticking copper film to plastic film with laminating method and electro-plated nickle and gold on it. The enzyme electrode was completed by immobilizing enzyme on the fabricated electrode. The fabricated glucose sensor has very quick sensing time as 3 seconds, and excellent reproducibility, fabrication yield as well.

Key Words : glucose, enzyme electrode, copper, nickle, gold, electro-plating, 3 second

1. 서 론

세계적으로 문제가 되고 있는 당뇨병은 노령인구의 증가 및 생활환경적인 요인 등으로 그 유병율이 더욱 증가할 것으로 예측되어 있기 때문에, 그에 따른 사회적, 경제적 문제가 심각하게 대두되고 있다. 환자들의 증가로 혈당치의 추적관찰에 주로 사용되는 자가혈당 측정기의 수요가 증가하고, 사용 빈도도 점차 증가하고 있는 실증이다. 국내에는 이미 여러 종류의 자가혈당 측정기가 소개되어 있고, 연구 개발도 활발하게 이루어지고 있다.

고정화 효소전극을 이용한 포도당센서는 사용이 간편한 amperometric 전기화학 전극이 일반적으로 가장 많이 사용되고 있다. 효소전극은, 기판 위에 다양한 공정을 이용하여 금속 전극을 형성하고, 그 위에 효소(enzyme)를 고정(immobilization)하는 방식으로 제작한다^[1,2]. 기판으로서, 세라믹스, 플라스틱, 종이 등이 주로 사용되며, 전극은 금, 백금, 은/염화은(Ag/AgCl), 카본 그라파이트(carbon graphite) 등이 사용되고 있다^[3-7]. 금속전극의 제조 방법으로는 진공증착(evapora-

tion), 스퍼터링(sputtering), 스크린인쇄(screen printing), 도전성 도료를 인쇄하는 등 다양한 방법들이 개발되어 있지만, 높은 전기 저항, 저항 값의 편차에 의한 수율(yield) 문제, 높은 생산단가 등 개선되어야 할 많은 문제점을 가지고 있다.

본 논문에서는 플라스틱 필름 위에 두꺼운 구리 필름을 접착한 후에 니켈과 금을 전기 도금(electro-plating)하는 방법으로 전기 저항이 매우 낮은 전극을 제작하고, 포도당을 선택적으로 분해하는 효소인 GOD(glucose oxidase), ferricyanide^[8], 안정제, 방부제 및 계면활성제 등을 적정 비율로 혼합하여 고정하는 방식으로 포도당센서를 제작하였다. 그 동작특성을 조사하였다.

2. 센서구조 및 측정원리

2.1. 센서의 구조

포도당센서의 구조를 그림 1(a)에 나타냈다. 본 포도당센서는 작업전극(working electrode)과 기준전극(reference electrode) 등 2전극으로 전류를 측정하는 방식(amperometric)으로 혈액 중의 포도당 농도를 측정한다. 그림 1(a)의 포도당센서는 플라스틱 재질의 상판, 중판 및 하판으로 구성되어 있다.

상판은 모세관 현상^[9]에 의하여 혈액이 주입될 수 있도록 공기 배기구가 형성되어 있다. 중판에는 혈액을 주입할 수 있는 채널(channel)이 형성되어 있다. 제작

안동대학교 정보전자공학교육과 (Department of IT&Electronics Education, Andong National University)

^{*}일본 토요하시기술과학대학 (Toyohashi University of Technology, Japan)

[†]Corresponding author: ytleee@andong.ac.kr

(Received : July 3, 2006, Accepted : July 25, 2006)

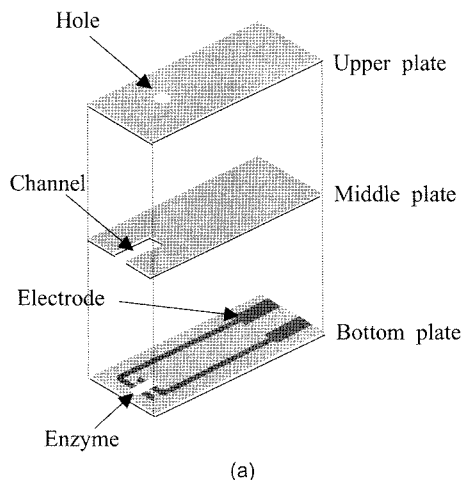


그림 1. 센서의 구조
Fig. 1. Sensor structure.

된 채널의 사이즈는 길이 5 mm, 폭 1 mm, 높이 50 μm 으로 0.25 μl 이하의 혈액량이 주입되도록 설계했다. 또한, 중판은 양면접착성 플라스틱으로, 상판과 하판을 접착하는 역할을 한다. 그림 1(b)에 하판의 단면 구조를 나타냈다. 전극의 두께를 증가시킬수록 전기저항은 낮아진다. 따라서 본 논문에서는, 두꺼운 구리(Cu) 층 위에 전기도금 기술로 매우 얇은 니켈(Ni) 층과 금(Au) 층을 형성하는 방법으로 구리(Cu)/니켈(Ni)/금(Au)의 3층 구조의 전극을 제작, 표면이 금(Au)인 비교적 두꺼운 전극을 얻을 수 있었다. 그림 1(b)의 전극 구조에서, 구리(Cu)는 전극의 두께를 증가시키기 위해서 사용되었으며, 니켈(Ni)은 구리(Cu)와 금(Au)의 접착력을 향상시키기 위해서 사용되었다. 제작된 전극 위에 효소막을 고정하여 하판을 구성하고, 중판을 이용하여 상판과 하판을 접착하여 포도당센서를 완성한다.

2.2. 측정원리

제작된 센서의 포도당 측정 원리를 그림 2에 나타냈다. 센서의 Cu/Ni/Au 전극 위에 형성된 효소 층은 GOD

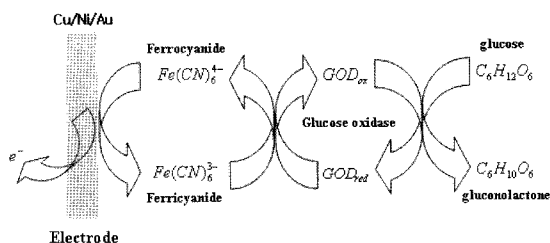
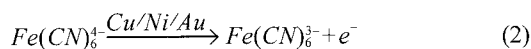
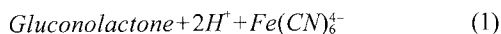
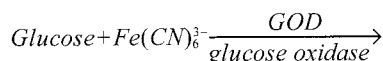


그림 2. 포도당 센서의 반응도
Fig. 2. Coupling reaction scheme of the glucose sensor.

(glucose oxidase)와 ferricyanide, 안정제, 방부제 및 계면활성제 등을 적정 비율로 혼합하여 제조된다. 식 (1)에 나타낸 것과 같이 ferricyanide는 전자 중개체(mediator)로 작용하여, GOD에 의하여 포도당(glucose)이 산화되어 gluconolactone이 되는 과정에 전자를 받아서 ferrocyanide가 된다. 식 (2)에 나타낸 것과 같이 ferrocyanide는 Cu/Ni/Au 전극에 전자를 전달하여 전류를 형성하고 ferricyanide로 돌아간다. 전류치를 측정하여 포도당 농도를 측정한다. 이 측정 방식은 아래 식에서 알 수 있는 것과 같이 전자 중개체를 사용하기 때문에, 반응에 산소가 필요하지 않고, 감도 및 직선성이 우수하다^[10].



3. 제작 공정

그림 1(b)에 나타낸 전극을 형성하기 위하여, 먼저 100 μm 두께의 A4 사이즈의 플라스틱 재질의 필름(폴리에틸렌 필름) 위에 70 μm 두께의 구리 필름을 라미네이팅 방식으로 접착한다. 접착된 구리 필름 위에 전기도금(electroplating) 방법으로 니켈(Ni)/금(Au)을 코팅 한다. 니켈은 구리와 금의 밀착력을 높이기 위해서 사용했다. 구리 필름이 접착된 플라스틱 필름을 세척 후에 니켈 도금을 실시한다. 표면에 남아있는 니켈 도금액을 세척한 뒤에 금을 도금한다. 금도금 후에 표면에 남아있는 도금 용액을 제거한 후에 건조시킨다. 다음은 전극 형성을 위한 포토리소그라피(photolithography)공정으로, 감광성 드라이필름(Dry film)을 금속필름 표면에 접착한다. 드라이필름 접착은 보통 100~120 $^{\circ}\text{C}$ 정도의 온도에서 롤링코팅(rolling coating) 방법

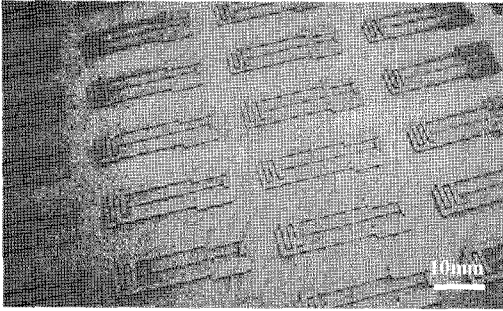


그림 3. 제작된 바이오센서 전극 배열사진
Fig. 3. Photograph of fabricated electrode of the glucose sensor.

으로 실시한다. 드라이필름 위에 마스크를 정합한 뒤에 자외선 광을 이용하여 노광한다. 노광 후에 탄산나트륨 (Na_2CO_3) 1% 용액과 소포제를 이용하여 현상한다. 다음은 습식식각(wet etching) 방법을 이용하여 Cu/Ni/Au필름을 식각하여 전극을 형성한다. 식각 용액으로는 CuCl_2 , FeCl_2 등을 사용하였다. 그림 3에 완성된 바이오센서용 전극 사진을 나타냈다.

새로운 방식으로 제작된 바이오센서용 전극은 약 0.1Ω 이하의 매우 낮은 전기저항을 나타내었다. 뿐만 아니라, 동시에 제작된 전극들의 저항 편차는 무시할 수 있을 정도로, 기존 방식(인쇄방식의 카본전극)과 비교하면 획기적으로 개선되었다. 본 연구에서는 A4 사이즈 플라스틱 필름 한 장에 총 126개의 전극이 제작 되도록 설계하였다.

제작된 전극에 포도당산화 효소를 고정하기 위하여 효소가 포함된 용액을 제조하였다. 먼저 PH7.3의 버퍼 용액에 0.1 mg/mL 의 소량의 GOD(glucose oxidase)와 ferricyanide^[8], 안정제, 방부제 및 계면활성제 등을 적정 비율로 혼합하여 제조한다. 제조된 용액은 안정화 시간을 가진 후에 전극 위에 고정화 한다. 제조된 효소 용액을 폴리우레탄 튜브의 수축팽창 현상을 이용한 로테이션 방식의 디스펜서(dispenser)로 제작된 전극 위에 정량 고정한다. 제작된 하판에 중판과 상판을 접착하여 일회용 포도당 센서를 완성한다. 제작된 센서의 사진을 그림 4에 나타냈다.

4. 결과 및 고찰

제작된 포도당 센서의 특성을 분석하기 위하여, 측정용액으로는 하트만용액과 텍스트로즈(글루코스)를 정량비율로 섞어서 제조한 용액(buffer, 2.5 mM, 5.5 mM, 8.5 mM, 11.5 mM, 13.5 mM, 16 mM, 21 mM,

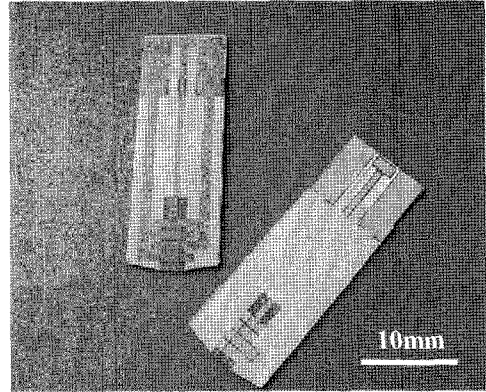


그림 4. 포도당센서 사진
Fig. 4. Photograph of glucose sensor.

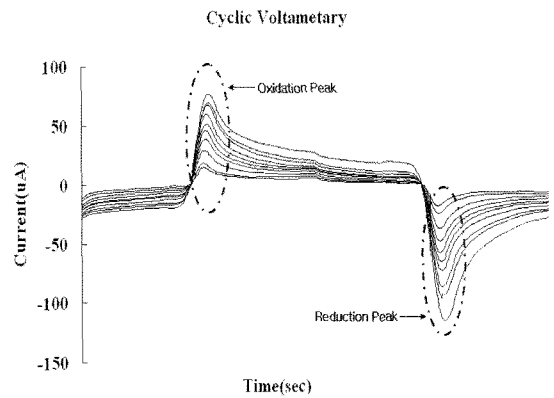


그림 5. 전류-전위 곡선
Fig. 5. Cyclic voltammogram.

25 mM, 33 mM)을 검체로 사용하였다. 그림 5에 순환 전압전류(cyclic voltammogram) 측정법으로 측정된 결과를 나타내었다. 측정 조건은 Scan Rate 25 mV/S, 전압범위는 $-0.9 \sim 0.9 \text{ V}$ 였다. 측정결과, 인가전압 약 0.055 V 부근에서 산화 피크(oxidation peak) 및 환원 피크(reduction peak)가 나타남을 알 수 있었고, 산화와 환원 피크가 이상적으로 대칭을 이루고 있는 것을 확인할 수 있으며, 농도별(buffer, 2.5 mM, 5.5 mM, 8.5 mM, 11.5 mM, 13.5 mM, 16 mM, 21 mM, 25 mM, 33 mM) 포도당 산화 피크가 명확히 구분됨을 알 수 있었다. 측정 결과를 표 1에 나타내었다.

그림 6에 제작된 포도당센서의 시간응답 측정 결과를 나타내었다. 인가전압은 0.055 V였다. 센서에 $0.25 \mu\text{l}$ 의 포도당측정 용액을 주입하고, 3초 후에 출력 전류 값을 측정하였다. 용액의 농도가 2.5 mM일 때 전류값은 $25.522 \mu\text{A}$ 였으며, 13.75 mM에서는 $35.034 \mu\text{A}$, 25 mM

표 1. 측정 결과

Table 1. Measurement result

Concentration (mM)	Current (μ A)
Buffer	15
2.5	18.562
5.5	29.289
8.5	38.930
11.5	45.865
13.5	51.427
16	59.997
21	67.474
25	69.4
33	76.909

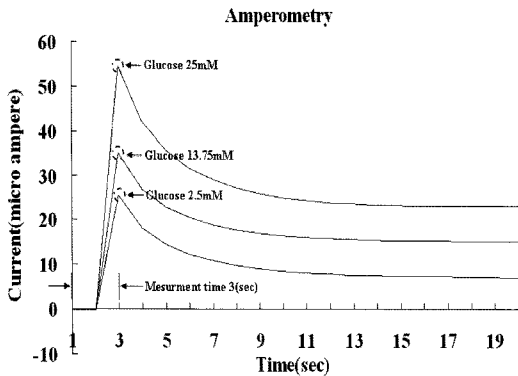


그림 6. 제작된 포도당 센서의 시간응답
Fig. 6. Time responses of the fabricated glucose sensor.

에서는 54.485 μ A로 나타났으며 농도별 전류 값의 구분을 명확하게 할 수 있었다. 반복 재현성은, 10개의 샘플을 측정 한 결과, 저, 중, 고, 즉 2.5 mM에서는 표준 편차 값이 3.36716E-08암페어(A)정도였고, 16.6 mM과 33 mM에서는 각각 6.71751E-08암페어(A)와 6.22254E-08암페어(A)를 나타냈다. 따라서 같은 농도의 포도당에 대한 반복측정의 오차가 매우 낮음을 알 수 있었다.

그림 7에, 포도당 측정용액을 주입한 후, 3초에서 측정 한 전류 값을 나타내었다. 측정 결과 선형성이 $r(n)=0.9893$ 로 매우 우수함을 알 수 있었다. 구리(Cu)/니켈(Ni)/금(Au) 구조의 전극은 충분한 두께(약 70 μ m 이상)를 얻을 수 있기 때문에 전기 저항을 매우 낮출 수 있는 것이 장점이다. 본 연구에서 제작한 전극은 저항이 0.1 Ω 으로 무시할 수 있을 정도이다. 따라서 인가전압(0.055 V)을 상당한 수준으로 저하시킬 수 있어, 높은 전압인가 시 발생할 수 있는 이온 간섭현상, 즉 이온

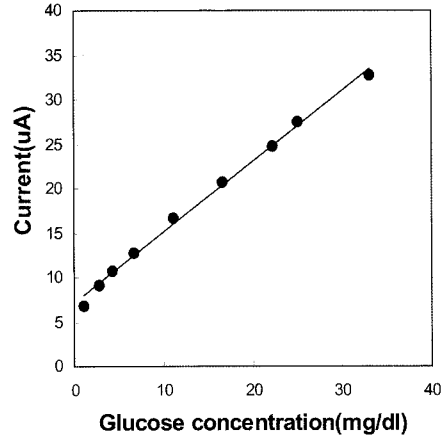


그림 7. 포도당센서의 특성 곡선
Fig. 7. Characteristic curve of the glucose sensor.

끌림 현상에 의한 재현성 방해 요소의 최소화 등이 가능하게 되어, 포도당 센서의 측정 시간을 3초 이하로 줄일 수 있었다. 시판되고 있는 포도당 센서의 측정 시간이 보통 10초 이상인 점을 감안한다면 매우 우수한 성능을 나타내고 있다.

전기화학적 측정방식을 이용하는 바이오센서용 전극 제조에 있어서, 많은 회사들이 생산 단가 절감과 대량 생산의 용이성을 확보하기 위해 시도 되어 왔던, 전극 재료인 카본(carbon) 전극, 금(gold) 전극, 은/염화은(Ag/AgCl) 전극 등 생체 시료측정용 전극의 성능에 있어서 저항 편차에 의한 측정 결과의 오차발생이 문제점으로 지적되고 있다. 이러한 오차발생 요인은 환자들이게 정확하지 않은 측정값을 제공할 수 있기 때문에 반드시 해결되어야 하는 문제점이었다. 본 논문에서는 바이오센서용 전극의 새로운 제조 방식을 개발하여, 기존의 바이오센서 제작 방식인 실크스크린 인쇄방식의 카본 전극, 은/염화은(Ag/AgCl) 전극, 스퍼터(sputter)를 이용한 금(Au) 전극 등과 비교할 때, 생산 설비비, 제조 단가, 전극의 저항편차에 의한 수율(yield) 등을 획기적으로 개선할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 본 연구에서는 A4 사이즈 플라스틱 필름 한 장에 총 126개의 전극을 제작하였으나, 생산 시에는 총 352개 혹은 그 이상의 전극이 제작할 수 있을 것으로 판단되어 대량생산에 적합할 것으로 기대하고 있다.

본 논문에서는 구리(Cu)/니켈(Ni)/금(Au) 구조의 저저항(0.1 Ω) 전극을 개발하여 0.25 μ l의 혈액량으로 3초 이내의 포도당 농도 측정이 가능하게 하여, 당뇨병 환자들에게 빠른 시간 내에 보다 정확한 측정이 가능하게 했다. 본 논문에서 제안한 방법으로 제조된 전극

은 포도당센서 뿐만 아니라 전기화학적 측정방식의 각종 바이오센서에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

5. 결 론

전기화학적 방식의 포도당센서를 제작했다. 센서의 전극은, 먼저 라미레이팅 방식으로 구리 박막을 접착시키고, 그 위에 니켈과 금을 전기도금 하는 방식으로 제작하였다. 금속 전극의 두께가 70 μm 이상으로 두껍게 제작할 수 있어서, 0.1 Ω 로 전기 저항을 상당히 저하시킬 수 있었다. 따라서 인가전압을 0.055 V로 최소화할 수 있어서, 전기화학적 바이오센서에서 문제가 될 수 있는 이온 끌림 현상을 현저하게 저하할 수 있었다. 제작된 포도당 센서는 측정 용액 용량이 0.25 μl , 측정 시간 3초 이하의 매우 우수한 성능을 나타내고 있어서, 자가진단용 혈당측정 시스템의 센서로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2003학년도 안동대학교 학술연구지원사업에 의하여 연구되었음.

참고 문헌

- [1] L. S. Kuhn, "Biosensors:Blockbuster or bomb?", The Electrochemical Society Interface Winter, p. 26, 1998.
- [2] L. C. Clark and C. Lyons, "Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular", *Annals New York Academy of Sciences*, vol. 102, pp. 29-45, 1962.
- [3] Y. Song, L. Wang, C. Ren, G. Zhu, and Z. Li, "A novel hydrogen peroxide sensor base on horseradish

peroxidase immobilized in DNA films on a gold electrode", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 114, Issue 2, pp. 1001-1006, 2006.

- [4] N. G. Patel, S. Meier, K. Cammann, and G. C. Chemntius, "Screen-printed biosensors using different alcohol oxidase", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 75, issues 1-2, pp. 101-110, 2001.
- [5] J. Anzai, Y. Kobayashi, Y. Suzuki, H. Takeshita, Q. Chen, T. Osa, T. Hoshi, and X. Du, "Enzyme sensors prepared by layer-by-layer deposition of enzymes on a platinum electrode through avidin-biotin interaction", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 52, issues 1-2, pp. 3-9, 1998.
- [6] B. W. Cho, C. S. Kim, H. I. Seo, and B. K. Sohn, "Fabrication and characteristics of FET type semiconductor urea and glucose sensor employing photolithography technology", *Journal of the Korean Sensors Society*, vol. 1, no. 1, pp. 101-106, 1992.
- [7] C. S. Kim, S. K. Lee, D. H. Kwon, and B. K. Sohn, "Improvement of sensing characteristics of ISFET glucose sensor by using platinum electrode", *Journal of the Korean Sensors Society*, vol. 2, no. 2, pp. 25-29, 1993.
- [8] S. Koide and K. Yokoyama, "Electrochemical characterization of an enzyme electrode based on a ferrocene-containing redox polymer", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 468, pp. 193-201, 1999.
- [9] T. S. Hug, D. Parrat, P. Kunzi, U. Stauffe, E. Verpoorte, and N. de Rooij, "Fabrication of nanochannels with PDMS, silicon and glass walls and spontaneous filling by capillary forces", *Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2003*, California, USA, vol. 1-1, pp. 29-32, 2003.
- [10] J.-R. Mor and R. Guarnaccia, "Assay of glucose using an electrochemical enzymatic sensor", *Analytical Biochemistry*, vol. 79, pp. 319-328, 1977.

이 영 태

- 1961년 12월 29일생
- 1989년 영남대학교 전자공학과 졸업(공학사)
- 1991년 영남대학교 대학원 전자재료전공 졸업(공학석사)
- 1995년 토요하시기술과학대학 시스템정보전공 졸업(공학박사)
- 1996년~현재 안동대학교 부교수
- 주관심분야 : 반도체 센서, MEMS

이 승 로

- 1975년 10월 22일생
- 2002년 경일대학교 전자공학과 졸업(공학사)
- 2005년 영남대학교 센서공학전공 졸업(공학석사)
- 2005년~현재 토요하시기술과학대학 전자정보공학전공 박사과정
- 주관심분야 : 반도체센서, 바이오센서