

Ta₂O₅ 감지막의 광지시 전위차형 페니실린 센서

이선영 · 장수원 · 김재호* · 권대혁** · 김응수*** · 강신원****†

Light addressable potentiometric penicillin sensor using Ta₂O₅ sensing membrane

Sun-Young Lee, Su-Won Jang, Jae-Ho Kim*, Dae-Hyuk Kwon**,
Eung-Soo Kim***, and Shin-Won Kang****†

Abstract

In this study, the light addressable potentiometric sensors (LAPS) with Si₃N₄/SiO₂/Si, and Ta₂O₅/SiO₂/Si structures were fabricated. The penicillinsae was immobilized on the devices to hydrolyze the penicillin using self-assembled monolayer (SAM) method. Then response characteristics according to the penicillin concentrations were measured and compared. The measuring system was simplified by using LabVIEW. The pH response characteristics of fabricated devices are 56 mV/pH (Si₃N₄ sensing membrane) and 61 mV/pH (Ta₂O₅ sensing membrane). The sensitivity of sensor by enzyme reaction result of the enzyme reaction were 60 mV/decade and 74 mV/decade for Si₃N₄/SiO₂/Si and Ta₂O₅/SiO₂/Si structure, respectively, in the range of 0.1 mM~10 mM of the penicillin concentration.

Key Words : LAPS, Ta₂O₅, penicillin, LabVIEW

1. 서 론

생명체의 체내에는 생명현상을 지속시키기 위한 여러 가지 전해질이 존재하며, 각 전해질은 생명이 지속 되는 동안 각각 일정한 범위의 농도 값을 유지한다. 생체 전해질 중의 하나인 수소이온 역시 생체 내에서 일정한 범위의 농도값을 가지므로 세포 주변의 pH 변화는 생명체의 상태를 관측하는데 매우 중요한 정보로 이용된다^[1,2].

이러한 pH의 변화를 측정하는 센서로는 ISFET(ion selective field effect transistor)^[2,3], ISE(ion selective electrode)^[4], LAPS(light addressable potentiometric

sensor)^[5-10] 등이 주로 연구되어지고 있다. 이들 중, EIS (electrolyte-insulator-semiconductor) 구조의 반도체에 광을 조사하여 전해질과 절연체 사이의 전위변화를 측정하는 LAPS는 FET형 센서에 비해 간단한 제조 공정, 전기·화학적 안정성 등의 장점을 가지며 국부적인 광조사에 의해 다양한 검체의 동시 분석이 가능하다^[5]. 이러한 LAPS는 pH 변화를 매개로 하는 바이오센서^[5-9], 가스센서^[7] 등에 활발히 이용되고 있으며, 최근에는 미생물의 분포 및 확산속도 검출을 위한 이미지 센서에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

본 연구에서는 LAPS의 감지막으로 기존에 사용하였던 Al₂O₃ 또는 Si₃N₄에 비해 고감도이며 안정성이 우수한 Ta₂O₅ 막을 사용하여 특성을 평가하였으며 의학 및 제약, 생화학 작용 검사 등에 광범위하게 사용되는 페니실린의 농도를 검출하기 위해 Ta₂O₅ 감지막 위에 자기조립단분자막(SAM)법으로 페니실리나제를 고정화하고, 페니실린 농도에 따른 응답 특성을 조사하였다.

2. 이 론

LAPS는 EIS 구조로 구성되며, 교류성분으로 변조된

경북대학교 대학원 전자공학과 (Department of Electronic Engineering, Kyungpook National University)

*아주대학교 분자과학기술학과 (Department of Molecular Science and Technology, Ajou University)

**경일대학교 전자정보통신공학부 (Department of Electronic and Information Engineering, Kyungil University)

***부산외국어대학교 디지털정보공학부 (Division of Digital and Information Engineering, Pusan University of Foreign Studies)

****경북대학교 전자전기컴퓨터학부 (School of Electrical Engineering and Computer Science, Kyungpook National University)

†Corresponding author: swkang@knu.ac.kr

(Received : December 19, 2005, Accepted : February 16, 2006)

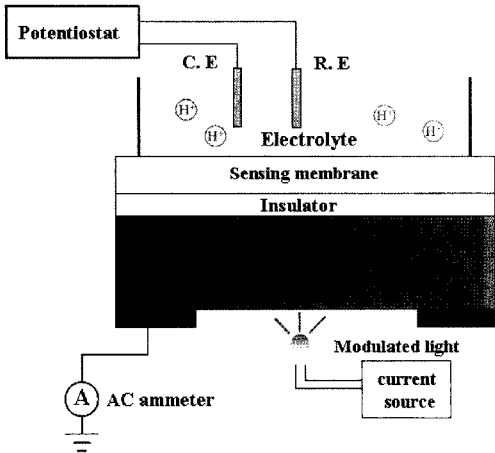


그림 1. LAPS 시스템의 개략도
Fig. 1. Schematic diagram of the LAPS system.

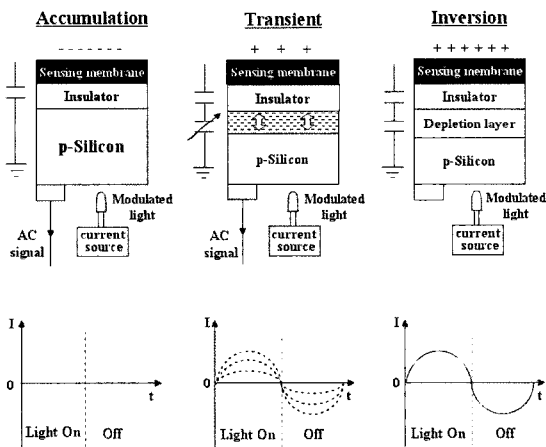


그림 2. LAPS의 동작원리
Fig. 2. Operating principle of the LAPS.

광을 반도체 표면에 조사하여 감지막과 전해질 계면에서의 표면전위를 측정하는 것을 그 원리로 한다^[10]. 그림 1은 LAPS 시스템의 개략도이며, 동작원리는 그림 2와 같다. 전극을 통해 전해질 내에 인가된 직류 바이어스 전압이 실리콘 웨이퍼 내에 공핍영역 또는 반전층을 형성시킨다고 가정하면, 실리콘 웨이퍼 뒷면에 조사된 변조된 광은 실리콘 내부에 전자·정공쌍(electron-hole pair)을 생성시킨다. 생성된 전자·정공쌍은 공핍영역 전계에 의해 분리되어 공핍영역과 절연층의 전하를 붕괴하는 역할로 일시적인 전류를 발생시키고, 이러한 전류는 인가된 전압이 축적상태를 형성시키게 되면 흐르지 않게 된다. 빛을 조사하지 않으면 본래의 공핍영역 폭으로 되돌아감으로써 반대 극성의 일시적인 전류를 발생

시킨다. 따라서, 조사된 광이 일시적인 전류의 감소 시간상수와 비교해서 주기적으로 짧게 인가되면 공핍 영역 폭을 충분히 변조시키기 때문에, 발생하는 전류에는 광변조 주파수를 반영하는 교류성분이 존재한다. 또한, 인가된 전압이 실리콘 웨이퍼 내에 평탄대역 또는 축적 상태를 형성시키면 빛에 의해 전자-정공쌍이 생성되어도 공핍영역이 없기 때문에 공핍영역의 정전용량의 변화가 발생하지 않는다. 그러므로 광 조사에 의한 광전류는 발생하지 않고, 바이어스 전압에 대한 광전류곡선은 축적 상태와 반전 상태 사이에서 급격한 변화를 보인다.

광전류곡선의 변곡점에서 실리콘의 표면전위를 ψ_p 라 하면 변곡점에서의 전압 V_p 는 식(1)과 같이 나타낼 수 있다^[10].

$$V_p = V_{FB} + \psi_p + \frac{\sqrt{2\epsilon_s q N_{dop} \psi_p}}{C_{ins}} \quad (1)$$

여기서, V_{FB} 는 평탄대역의 전압이고, C_{ins} 는 절연체의 정전용량, N_{dop} 는 실리콘의 도핑농도, ϵ_s 는 실리콘의 유전율이다.

V_{FB} 를 제외한 ψ_p 등의 변수들의 값이 일정하므로 V_{FB} 의 변화가 곧 V_p 의 변화로 나타난다. 또한, EIS 구조에서 평탄대역 전압은 전해질과 절연체의 계면에서의 표면전위 변화 ψ_0 에 의존한다. 따라서 평탄대역 전압과 사이의 관계는 식(2)와 같이 주어진다^[10].

$$V_{FB} = E_{ref} - \frac{\Phi_{si}}{q} - \psi_0 - \frac{Q_{ins}}{C_{ins}} \quad (2)$$

위 식에서, E_{ref} 는 기준 전극의 전위, Φ_{si} 는 실리콘의 일함수, Q_{ins} 는 절연체와 실리콘 계면에서의 전하를 나타낸다.

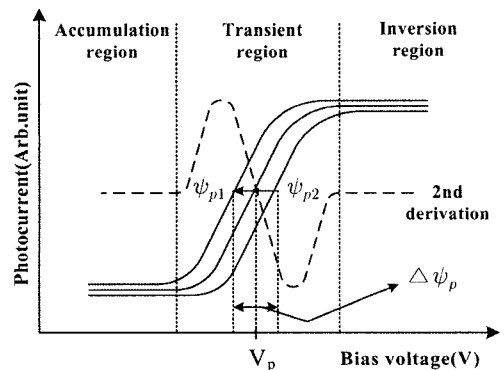


그림 3. pH 변화에 따른 LAPS의 I-V 특성곡선 변화
Fig. 3. Variation of I-V characteristics curve of LAPS according to pH change.

pH 변화에 따른 광전류곡선은 그림 3과 같이 전압축을 따라 이동하고, 이는 표면전위의 변화 $\Delta\psi_0 = \psi_{p2} - \psi_{p1}$ 로 표현할 수 있으며, 변곡점 전압의 이동으로 나타난다.

$$\frac{\partial \psi_0(pH)}{\partial pH} = \frac{\partial V_p}{\partial pH} \quad (3)$$

식(3)은 수소이온의 농도 변화에 따른 전해질과 감지막 계면사이의 전위차, 즉 감도 $\frac{\partial V_p}{\partial pH}$ 를 나타낸 것으로 광지시 전위차 센서에서 응답신호의 크기 및 동작 특성에 영향을 끼치게 되므로 매우 중요하다.

3. 실험 및 방법

3.1. LAPS 소자의 제작

광지시형 전위차 센서의 기관으로는 p형 실리콘 웨이퍼 ($\rho = 1 \sim 10 \Omega \cdot \text{cm}$, (100))를 사용하였으며, 수소이온 감지막으로는 기존에 주로 사용하였던 Si_3N_4 막과, Si_3N_4 에 비해 감지능력이 우수한 Ta_2O_5 막을 증착하여 소자를 제작하고, 그 특성을 비교하였다. 그림 4에 소자의 제작 공정 순서도를 나타내었다^{8,9)}. 우선, 웨이퍼를 초기 세척하고, 건식산화법으로 1050 °C에서 약 300 Å의 산화막을 성장시켰다. Si_3N_4 막은 LPCVD법으로 800 Å 증착하였고, Ta_2O_5 막은 RF 스퍼터를 사용하여

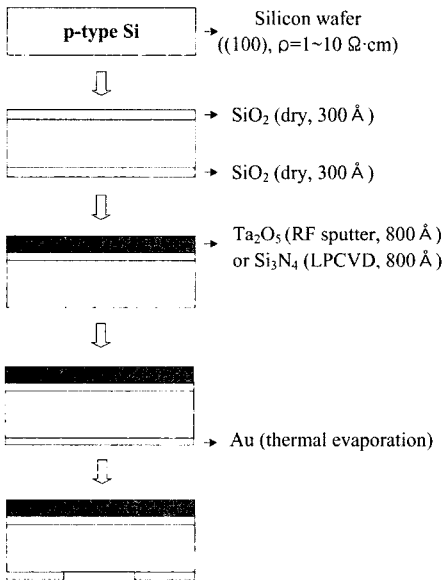


그림 4. LAPS 소자의 제작 공정도
Fig. 4. Fabrication process flow of LAPS device.

800 Å 증착하였다. RF 주파수는 13.56 MHz였고, 플라즈마 생성을 위한 아르곤 및 산소 가스는 MFC(mass flow controller)로써 그 흐름량을 정확히 조절하였다. 실리콘 웨이퍼 뒷면의 산화막은 BHF 용액을 이용하여 제거하였고, 열 증착법으로 Au 전극을 형성한 후, photolithography법으로 전극 패턴을 형성하였다. 형성된 전극은 360 °C, 질소 분위기에서 약 30분간 열처리하여 센서소자를 제작하였다. 제작된 센서의 크기는 20 × 20 mm²이며 감지영역은 10 × 10 mm²로 하였다.

일반적인 LAPS 시스템 구성은 Lock-in Amp., A/D 변환기, 전위차계 등의 비교적 복잡한 시스템을 요구한다. 본 연구에서는 기존의 복잡한 측정 시스템을 간략화하기 위해 LabVIEW(National Instrument. Ltd.)를 이용하여 복잡한 하드웨어부분을 소프트웨어적으로 처리하여 전체 시스템을 간략화 하였다. 제작된 시스템은 그림 5와 같이 구성되며, 광원은 830 nm의 pigtail된

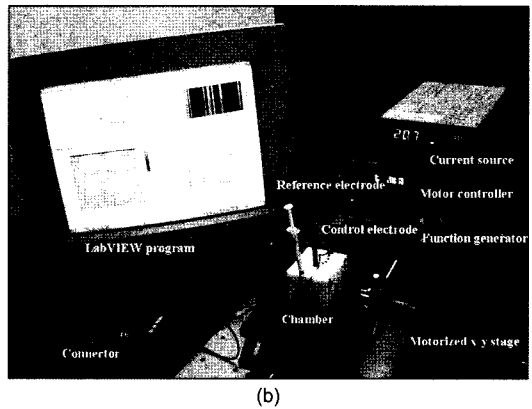
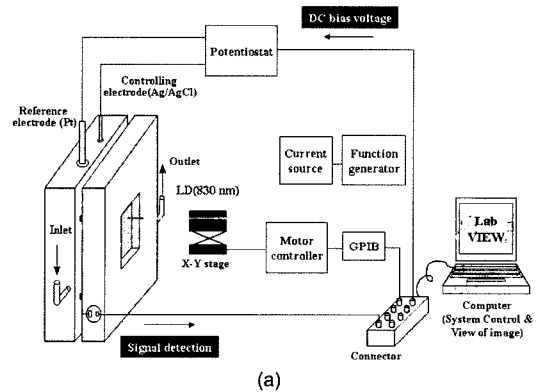


그림 5. 전체 측정 시스템 개략도 및 시스템 사진: (a) 전체 측정 시스템 개략도, (b) 시스템 사진
Fig. 5. Schematic diagram of the detecting system and photograph of the system: (a) schematic diagram of the detecting system, (b) photograph of the system.

LD를 사용하였다. 제어전극으로는 Pt, 기준전극으로는 Ag/AgCl 전극을 사용하였다. 또한, 센서에서 발생된 광전류를 PC내로 인가하고 고속의 신호처리를 위하여 DAQ 보드와 PCI 6110 보드를 사용하였다.

4. 결과 및 고찰

4.1. LAPS의 pH 응답 특성

일반적으로 LAPS는 지시광에 의한 전해질 용액 내의 pH 변화에 따른 표면전위 변화를 검출하는 것을 원리로 한다. 따라서 본 연구에서 제작된 소자의 기본적인 감지특성을 평가하기 위해서 pH 변화에 감도를 조사하였다. 먼저, 제작된 소자를 반응 챔버 내에 장착시키고 표준 pH 버퍼 용액을 농도별로 주입시켰다. 광원으로는 830 nm의 LD를 이용하여 1 kHz의 교류광을 조사하였으며, potentiostat을 통해 pH 용액 내에 인가되는 전압을 변화시키면서 광전류를 측정하고 신호처

리를 통해 광전류를 전압신호(광전압)로 변환하였다.

pH 변화에 따른 감지막 표면의 전위변화는 Nernst 방정식으로 표현되는데, 광지시 전위차 센서에서는 pH 변화에 따라 감지막인 Si₃N₄와 Ta₂O₅ 표면의 전위가 변화하므로 바이어스 전압축을 따라 광전압 곡선이 이동함을 알 수 있다. LAPS의 pH 변화에 대한 감도는 인가전압의 변화율에 대한 광전압의 변화율이 최대인 곳에서의 pH 변화에 대한 인가전압 차이를 측정함으로써 알 수 있다. 그림 6은 두 감지막을 가지는 센서의 인가전압에 따른 광전압 특성 곡선을 검출한 것으로 Si₃N₄ 감지막을 갖는 경우, 56 mV/pH의 감도를 보였으며, Ta₂O₅ 감지막을 갖는 경우 61 mV/pH의 높은 감도를 보였다.

4.2. 페니실리나제 고정화 된 감지막의 AFM 분석

Ta₂O₅ 감지막 위에 페니실리나제를 고정화 한 뒤

표 1. 페니실리나제 고정의 각 단계별 RMS roughness
Table 1. RMS roughness of such surfaces for penicillinase immobilization (단위 : Å)

Pretreated Ta ₂ O ₅	APTMS	GA	Penicillinase
2.12	2.60	5.59	8.06

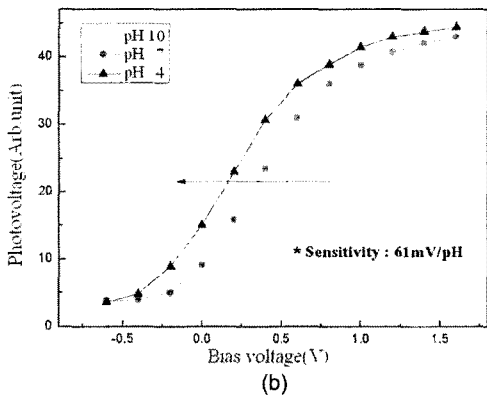
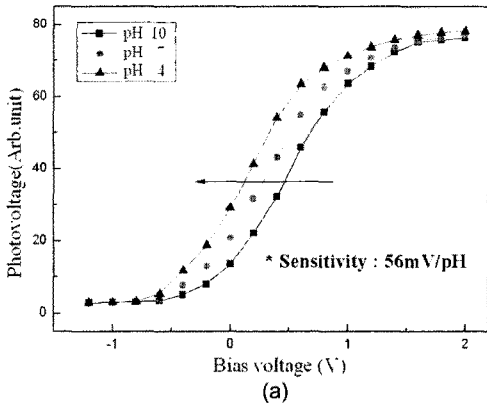


그림 6. pH 변화에 따른 소자의 감응 특성: (a) Si₃N₄ 감지막, (b) Ta₂O₅ 감지막

Fig. 6. Response characteristics according to the pH variation: (a) Si₃N₄ membrane, (b) Ta₂O₅ membrane.

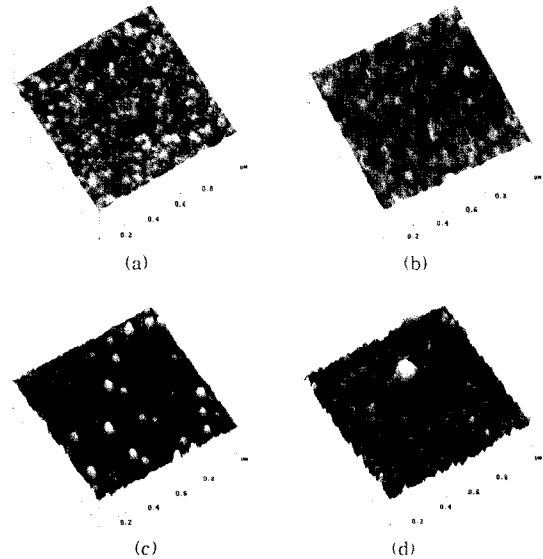


그림 7. 페니실리나제 고정화를 위한 각 단계 표면의 AFM 이미지: (a) Piranha 전처리, (b) APTMS 처리, (c) GA 고정, (d) penicillinase 고정

Fig. 7. AFM images for penicillinase immobilization: (a) Piranha pretreatment, (b) APTMS treatment, (c) GA monolayer, (d) immobilized penicillinase.

AFM(atomic force microscope) 측정을 통해 각 단계별 표면을 분석하였다. 표 1에서처럼 소자의 전처리 과정 후 RMS 거칠기가 2.12 Å으로 측정되었고, 페니실리나제 고정 후 8.06 Å으로 측정되어 페니실리나제의 고정화 되었음을 확인할 수 있었다. 그림 7에 페니실리나제 고정화 각 단계별 AFM 이미지를 나타내었다.

4.3. 페니실린의 감응 특성

페니실리나제가 고정된 LAPS 소자를 시료 충전 셀 내에 장착하고, 페니실린 G 용액을 농도별로 주입하여 인가전압에 대한 광전압 변화를 측정하였다. 사용된 페니실린 G 용액은 Tris-HCl buffer 용액(pH 7)에 페니실린 G(potassium salt, 1600 unit/mg, Aldrich)를 첨가하여 0.1, 0.5, 1, 5, 10 mM의 농도로 각각 제조하였다. 페니실린 농도에 따른 감응 특성의 관찰은 페니실리나제에 의한 페니실린 효소반응의 부산물로 생

성되는 수소이온의 변화가 표면 전위변화로 나타나기 때문에 페니실린 농도가 0.1 mM에서 10 mM로 증가함에 따라 광전압곡선이 인가전압축을 따라 이동하게 된다.

그림 8은 Si₃N₄ 감지막과 Ta₂O₅ 감지막을 사용하여 페니실린 농도에 따른 응답특성을 나타낸 것으로 Si₃N₄ 감지막의 경우 60 mV/decade, Ta₂O₅ 감지막의 경우 74 mV/decade의 감도를 보였으며 Ta₂O₅ 감지막을 가지는 센서가 뛰어난 감도를 보였다. 이러한 이유는 감지막 표면에서 이온의 흡·탈착에 근거를 둔 site-binding 모델을 적용시킬 경우 site Si₃N₄ 막에 비해 Ta₂O₅ 막 표면에서 수소이온이 흡착될 수 있는 확률이 크기 때문으로 사료된다.

5. 결 론

본 연구에서는 광시형 전위차 센서를 이용하여 고 감도의 바이오센서 및 검출 시스템을 제작하고 그 특성을 평가하였다. 또한, 감지막막에 대한 연구로 Si₃N₄ 막을 가지는 센서와 Ta₂O₅ 막을 가지는 센서를 제작하고, 각각의 pH 응답특성을 조사하였다. 특히, 이미지 감지능력을 향상시키기 위하여 실리콘 웨이퍼를 식각하여 소자를 제작하여 그 특성을 비교하였다.

pH 응답 특성을 조사한 결과 Si₃N₄의 감지막의 경우 약 56 mV/pH의 응답특성을 보였으며, Ta₂O₅ 감지막은 실리콘질화막보다 우수한 약 61 mV/pH의 감응 특성을 보였다.

감지막 위에 자기조립단분자법으로 페니실리나제를 고정된 뒤 페니실린 용액을 농도별로 반응시킨 결과 감응특성은 Si₃N₄ 감지막을 가지는 센서의 경우 60 mV/decade, Ta₂O₅ 감지막의 센서인 경우 74 mV/decade로 뛰어난 감도를 보였다.

따라서 제안된 Ta₂O₅ 감지막을 가지는 LAPS 센서는 페니실린 검출뿐만 아니라 pH 변화를 매개로 하는 단백질, DNA 센서에 응용 가능하다. 또한 제작된 센서는 감도가 뛰어나고 지시광을 이용하므로 다중의 물질을 동시에 검출할 수 있으며, 생체 세포의 증식, 확산속도, 분포 등을 측정할 수 있는 바이오센서에 충분히 응용 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

This study was supported by a Grant of the Korea Health 21 R&D Project. Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea.

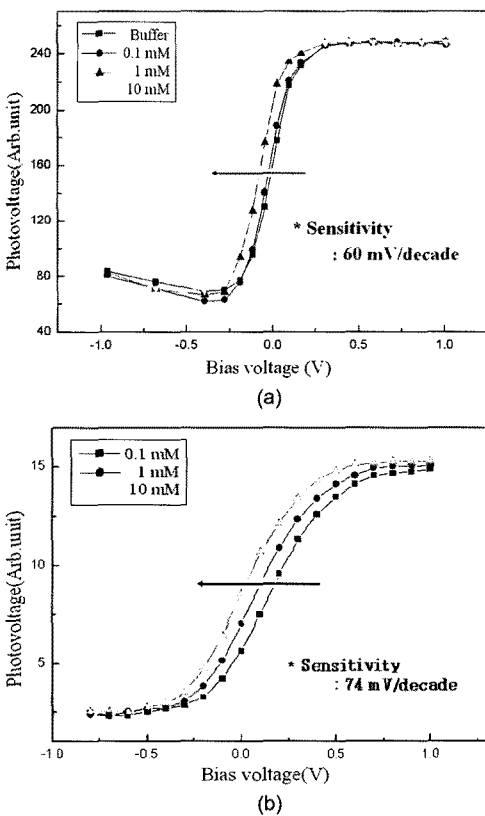


그림 8. 페니실린 농도에 따른 소자의 감응 특성: (a) Si₃N₄ 감지막, (b) Ta₂O₅ 감지막
 Fig. 8. Response characteristics according to the penicillin concentration: (a) Si₃N₄ membrane, (b) Ta₂O₅ membrane.

참고 문헌

- [1] S. Caras and J. Janata, "Field-effect transistor sensitive to penicillin", *Anal. Chem.*, vol. 52, pp. 1935-1937, 1980.
- [2] A. Poghossian, M. J. Schöning, P. Schroth, A. Simonis, and H. Lüth, "An ISFET-based penicillin sensor with high sensitivity, low detection limit and long lifetime", *Sensors and Actuators B*, vol. 76, pp. 519-526, 2001.
- [3] A. P. Soldatkin, J. Montoriol, W. Sant, X. Martelet, and N. Jaffrezic-Renault, "A novel urea sensitive biosensor with extended dynamic range based on recombination urease and ISFETs", *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 19, pp. 131-135, 2003.
- [4] J. Koita, "Ion-selective electrode", Cambridge Univ. Press, Cambridge, Chap 2, 1975.
- [5] A. Seki, S. I. Ikeda, I. Kubo, and I. Karube, "Biosensors based on light-addressable potentiometric sensors for urea, penicillin and glucose", *Analytica chimica Acta*, vol. 373, pp. 9-13, 1998.
- [6] 장수원, 정영희, 박진호, 김재호, 권대혁, 이승하, 강신원, "페니실린 농도 검출을 위한 광지시형 전위차 센서의 제작 및 감응특성", *센서학회지*, 제13권, 제5호, pp. 356-362, 2004.
- [7] F. Hafner, "Cytosensor microphysiometer : technology and recent applications", *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 15, pp. 149-158, 2000.
- [8] S. Inoue, M. Nakao, T. Yoshinobu, and H. Iwasaki, "Chemical-imaging sensor using enzyme", *Sensors and Actuators B*, vol. 32, pp. 23-26, 1996.
- [9] K. Dill, L. H. Stanker, and C. R. Young, "Detection of salmonella in poultry using a silicon chip-based biosensor", *J. Biochem. Biophys. Methods*, vol. 41, pp. 61-67, 1999.
- [10] L. Bousse, J. C. Owicki, and J. W. Parce, "Biosensors with microvolume reaction chamber", *Chemical Sensor Technology*, vol. 4, pp.145-166, 1992.



이 선 영

- 2004년 경북대학교 전자전기컴퓨터학부 졸업(공학사)
- 2006년 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학석사)
- 연구분야 : 광지시 전위차형 페니실린 센서



장 수 원

- 1994년 경일대학교 전자공학과 졸업(공학사)
- 1996년 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학석사)
- 2006년 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학박사)
- 연구분야 : 광도파로, 반도체 소자



김 재 호

- 1982년 아주대학교 화학공학과 졸업(공학사)
- 1989년 University of NebraskaLincoln 화학공학과 졸업(공학박사)
- 현재 아주대학교 분자과학기술학과 교수
- 연구분야 : 단백질 센서, 나노메카닉 디바이스들의 개발, 치과용 임플란트의 표면 개질, 분자 electronic 디바이스의 개발



권 대 혁

- 1984년 경북대학교 전자공학과 졸업(공학사)
- 1986년 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학석사)
- 1992년 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학박사)
- 1996년~1997년 미국 루이지애나주립대학 조빙교수
- 현재 경일대학교 전자정보통신공학 부교수
- 연구분야 : 반도체제조공정, 반도체센서, 디스플레이(TFT-LCD)



김 응 수

- 경북대학교 전자공학과 졸업(공학사)
- 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학석사)
- 일본 게이오대학교 대학원 물질과학과 졸업(공학박사)
- LG반도체 ULSI연구소
- 현재 부산외국어대학교 디지털정보공학부 부교수
- 연구분야 : 광센서, 비선형광학, 반도체 공정 및 광집적회로



강 신 원

- 1978년 경북대학교 전자공학과 졸업(공학사)
- 1980년 영남대학교 대학원 전자공학과 졸업(공학석사)
- 1993년 일본 게이오대학교 대학원 생체 의공학과 졸업(공학박사)
- 현재 경북대학교 전자전기컴퓨터학부 교수
- 연구분야 : 광전자기능성소자, 바이오센서, 디스플레이, 나노소자