

부양형 탄소나노튜브 필름을 이용한 유기인 화합물 검출

김인태¹ · 안태창^{2,+} · 임근배^{1,3,+}

Organophosphorus Compounds Detection Using Suspended SWNT Films

Intae Kim¹, Taechang An^{2,+}, and Geunbae Lim^{1,3,+}

Abstract

We developed a one-step method for fabrication of addressable suspended SWNT films and demonstrate excellent detection performance of paraoxon based on OPH-immobilized SWNT films for environmental monitoring. For dispersed SWNT suspension, COOH-SWNT was prepared by the oxidation of carbon nanotubes using acid treatment and sonication. Suspended SWNT-film was fabricated between cantilever electrodes by dielectrophoretic force and surface tension of the water meniscus. After that, OPH were immobilized on suspended SWNT-films by nonspecific binding for enzymatic hydrolysis of paraoxon. The electrical properties of the SWNT films were measured in real time at room temperature. Structurally suspended SWNT films from substrate surface made possible rapid and highly sensitive detection of target molecules with increased convectional and diffusional fluxes of the molecules and with a large binding surface area. SWNT film FET resulted in a real-time, label-free, and electrical detection of paraoxon to the concentration of ca. 10 μM with a step-wise rapid response time of several seconds.

Keywords : Paraoxon detection, Suspended SWNT film, Carbon nanotube sensor

1. 서론

탄소나노튜브는 우수한 물리적, 화학적, 전기적 특성으로 인해 다양한 분야에 응용되고 있다. 특히 탄소나노튜브 표면에 부착되는 물질에 의해 전기적 특성이 매우 민감하게 변하기 때문에 센서 분야에 다양하게 적용되고 있다[1-5]. 탄소나노튜브를 이용한 센서는 한 가닥의 나노튜브를 이용한 형태와 여러 가닥의 나노튜브가 망을 이루는 형태 모두 연구 되고 있다. 나노튜브 한 가닥을 센서로써 이용하는 우수한 연구들이 발표되었지만[6, 7] 전기적으로 동일한 탄소나노튜브의 제작이 힘들며, 낮은 재현성 및 단일 탄소나노튜브의

위치제어의 어려움으로 인한 복잡하고 고비용의 제작 방법이 필요하다는 문제점 등이 해결되지 못했다. 여러 가닥의 나노튜브가 망을 이루는 탄소나노튜브 필름 형태의 센서는 이러한 단일 탄소나노튜브 센서의 단점들을 해결할 수 있다. 여러 가닥의 나노튜브로 이루어진 센서를 한 가닥의 탄소나노튜브로 이루어진 센서와 비교하면, 각각의 탄소나노튜브 결합에 따른 특성차이를 평균적으로 보상해 줄 수 있기 때문에 시스템 간의 편차를 최소화 할 수 있고 넓은 반응 면적을 제공하며 원하는 위치로 제어할 수 있는 방법이 다양한 장점을 가지고 있다[7]. 또한 센서의 성능적인 면에서도 향상된 신호 대 잡음비와 검출 한계를 보였다[8]. 이러한 장점들로 인하여 여러 가닥의 탄소나노튜브 필름으로 제작된 센서는 DNA, 단백질, 박테리아, 기체분자 검출과 같은 다양한 분야에 성공적으로 응용되었다 [9-13].

나노와이어기반의 센서는 향상된 신호대 잡음비 및 우수한 감도로 인해 단일 분자수준까지 측정할 수 있는 장점을 가지고 있다. 하지만 센서의 크기가 작아지면서 목표물질이 효과적으로 센서 표면에 전달되지 못해 반응시간이 길어지는 등의 문제점을 가지고 있다. 특히 현재 대부분의 탄소나노튜브 센서는 기판의 표면에 탄소나노튜브가 붙어있는 형태로 되어있다. 이러한 형태의 센서는 구조적으로 탄소나노튜브 주변의 대류에 의한 유동을 제한하게 되고 확산에 의한 물질이동에 의존하기 때문에 나노튜브 주변으로의 검출 물질

¹포항공과대학교 기계공학과(Department of Mechanical Engineering, POSTECH)

Hyoja-dong, Nam-gu, Pohang, Gyungbuk 790-784, Korea

²안동대학교 기계설계공학과(Department of Mechanical Design Engineering, Andong National University)

Gyeongdong-ro, Andong 760-749, Korea

³포항공과대학교 융합생명공학부(Division of Integrative Bioscience and Biotechnology, POSTECH)

Hyoja-dong, Nam-gu, Pohang, Gyungbuk 790-784, Korea

*Corresponding author: tcmerias@andong.ac.kr, limmems@postech.ac.kr

(Received : Aug. 9, 2013, Revised : Sep. 5, 2013, Accepted : Sep. 6, 2013)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이동이 원활하지 않게 되므로 센서 감도와 반응 속도가 제한되는 문제가 발생한다[14, 15]. 또한 기판 표면의 표면전하와 의도하지 않은 화학적 작용에 의한 노이즈의 발생은 센서의 성능을 저하시킬 수 있다. 최근 연구에 의하면 나노튜브가 기판 표면에서 떨어져 공중에 떠 있는 형태의 센서는 반응 속도와 감도가 향상될 수 있다고 보고되었다[11, 16]. 부양형 탄소나노튜브 필름 센서는 기판 바닥에 붙어 있는 센서와 비교하여 약 두 배의 반응 면적과 대류와 확산에 의한 원활한 물질이동을 제공하기 때문이다.

유기인 화합물은 매우 강한 독성에도 불구하고 살충제, 염료, 의약품 등 다양한 제품에 사용되고 있다[17, 18]. 이러한 상황으로 인하여 현재의 인류는 다양한 환경에서 유기인 화합물에 노출되고 있다. 따라서 인간의 생활에 직접적으로 영향을 미치는 환경에 대한 빠르고 간편한 유기인 화합물 검출 기술이 필요하다. 현재 가스 크로마토그래피, 면역분석기법 등과 같은 측정방법이 보고되었지만 [19] 검출시간이 오래 걸리고 고비용이라는 단점이 있다.

본 연구에서는 빠르고 간편한 유기인 화합물 검출을 위해 유기인 가수분해 효소가 흡착된 부양형 탄소나노튜브 필름 센서를 제작하고 성능을 시험하였다. 마주보고 있는 두 개의 외팔보 전극 사이에 기판 바닥에서 떠 있는 형태의 정렬된 부양형 탄소나노튜브 필름을 제작하였고 탄소나노튜브 표면에 유기인 가수분해효소를 부착하여 유기인 화합물 검출센서를 완성하였다. 또한 대표적인 유기인화합물 중 하나인 paraoxon을 이용하여 전기적 신호를 실시간으로 측정하여 센서의 성능을 시험하였다.

2. 연구 방법

2.1 탄소나노튜브 용액 제조

산처리를 통해 카르복시기가 표면에 생성된 탄소나노튜브 용액을 제조하였다[20]. 단일벽 탄소나노튜브(ASP-100F, Hanwha Chemical, Korea)를 50 ml의 $H_2SO_4:HNO_3$ (3:1, v/v) 혼합용액에 넣고 3 시간 동안 초음파 처리를 하였다. 이 과정을 통해 탄소나노튜브가 분산되고 표면에 카르복시기가 생성되어 친수성을 갖게 된다. 탄소나노튜브 용액을 탈이온수로 희석하고 12,000 rpm 으로 10 분 동안 원심 분리하여 탄소나노튜브를 침전시킨 후, 상부의 용액을 제거하고 다시 탈이온수로 희석한다. 이 과정을 반복하여 탄소나노튜브 용액이 중성이 될 때까지 실시한다. 마지막으로 초음파 처리를 통해 탄소나노튜브를 탈이온수 상에서 균일하게 분산시킨다.

2.2 외팔보 전극 제작

부양된 형태의 탄소나노튜브 필름을 제작하기 위한 마주보는 외팔보 전극은 일반적인 microelectromechanical systems

(MEMS) 기술을 사용하여 제작하였다(Fig. 1a). 우선 실리콘 기판 위에 low-pressure chemical vapor deposition (LPCVD) 를 이용하여 $1 \mu m$ 두께의 SiN을 형성시키고, SiN 층 위에 E-beam 증착법으로 2000 Å의 Au 층을 증착하고 lift-off 기법으로 전극 형상을 완성했다. 전극이 외팔보 형태가 되도록 SiN 층을 reactive-ion etching (RIE) 공정을 이용하여 식각한 후 등방성 습식 식각 방법으로 실리콘 기판을 식각한다.

2.3 유기인 가수분해효소가 부착된 탄소나노튜브 필름 제작

부양형 탄소나노튜브 필름은 dielectrophoretic force와 액체 계면의 표면장력을 이용하여 제작한다(Fig. 1b). 먼저 $5 \mu l$ 의 탄소나노튜브 용액을 마주보는 외팔보 전극 사이에 공급한 후 전극 양단에 전기장을 (1 MHz, 5 V_{pp}) 인가하여 탄소나노튜브를 전극 사이에 정렬시킨다. 다음으로 탄소나노튜브 용액을 제거하면 두 전극 사이에 남아있는 용액이 증발하면서 표면 장력에 의해 전극에 탄소나노튜브가 흡착하게 된다. 유기인 가수분해효소를 potassium phosphate buffer (50 mM, pH 7.4)에 넣어 유기인 가수분해효소 용액을 제작하고, 탄소나노튜브 필름에 유기인 가수분해효소 용액을 넣어주고 고정될 수 있도록 상온에서 2 시간 동안 처리한다.

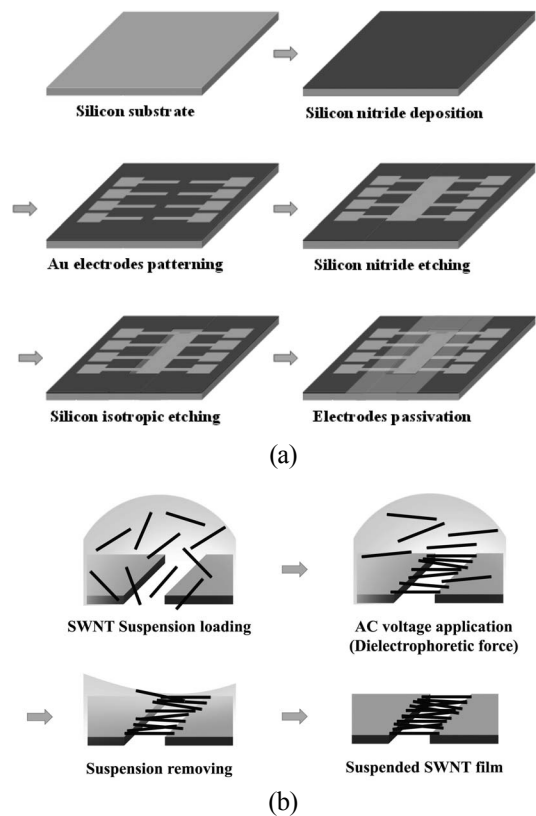


Fig. 1. Schematic view for (a) fabrication of cantilever electrodes and (b) fabrication of suspended SWNT-films by DEP and surface tension.

3. 결과 및 고찰

3.1 탄소나노튜브 필름 제작

탄소나노튜브 용액을 외팔보 전극에 떨어뜨린 후 교류전압을 가하면 dielectrophoretic force에 의해 마주보는 외팔보 전극 사이에 탄소나노튜브가 정렬된다. 탄소나노튜브 용액을 제거하면 남아 있는 용액이 증발되면서 계면을 형성하고, 이 계면에 의한 표면장력 때문에 정렬된 탄소나노튜브가 압축되는 동시에 전극과 Van der Waals force에 의해 부착된다(Fig. 1b). 탄소나노튜브 필름의 밀도는 가해진 전기장의 세기[21], 탄소나노튜브 용액의 농도, 전기장을 가하는 시간을 변화시키면 조절할 수 있다[22]. 탄소나노튜브 필름의 위치와 형상은 외팔보 전극의 위치와 전극 사이의 형상에 의해 결정된다. 이러한 제작 방법의 특성으로 인하여 원하는 곳에 원하는 형상으로 제작이 가능하다. Fig. 2는 제작된 부양형 탄소나노튜브 필름의 전자현미경 사진이다. 정렬된 탄소나노튜브들이 서로 얽혀 필름을 형성하는 동시에 마주보는 외팔보 전극 양단에 부착되어 있다. 탄소나노튜브와 전극간의 넓은 접촉 면적은 낮은 접촉저항과 높은 기계적 강도를 갖게하고 바이오센서 측면에서는 탄소나노튜브 트랜지스터의 주요 측정 원리 중 하나인 schottky barrier 효과를 최대화시킬 수 있다.

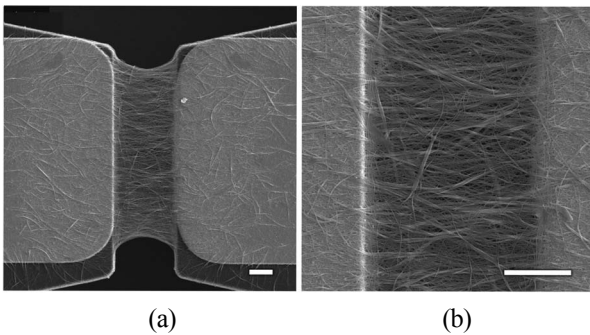


Fig. 2. SEM image of (a) suspended SWNT films and (b) high magnification view (scale bar : 2 μm).

3.2 탄소나노튜브 필름의 전기적 특성

탄소나노튜브 필름의 전기적 특성은 semiconductor parameter analyzer (HP 4156A)를 이용하여 상온에서 실시간으로 측정하였다. 탄소나노튜브 필름의 I-V 특성 측정은 50 mM의 potassium phosphate buffer solution 에서 이루어 졌다(Fig. 3a). 기준전극을 이용하여 용액에 게이트 전압을 가해주었다. Fig. 3a와 같이 게이트 전압이 증가할수록의 바이어스 전압을 증가시키면 source-drain 전류가 감소하는 것을 볼 수 있다. 이 결과로 부양형 탄소나노튜브 필름은 버퍼용액 상에서 p-type 특성을 보인다는 것을 알 수 있다[23]. Fig. 3b는 유기인 가수분해효소가 부착되기 전과 후의

I_D - V_G 곡선이다. 유기인 가수분해효소의 부착 후의 전류량 감소를 통하여 탄소나노튜브 필름에 유기인 가수분해효소가 부착되었음을 확인할 수 있다.

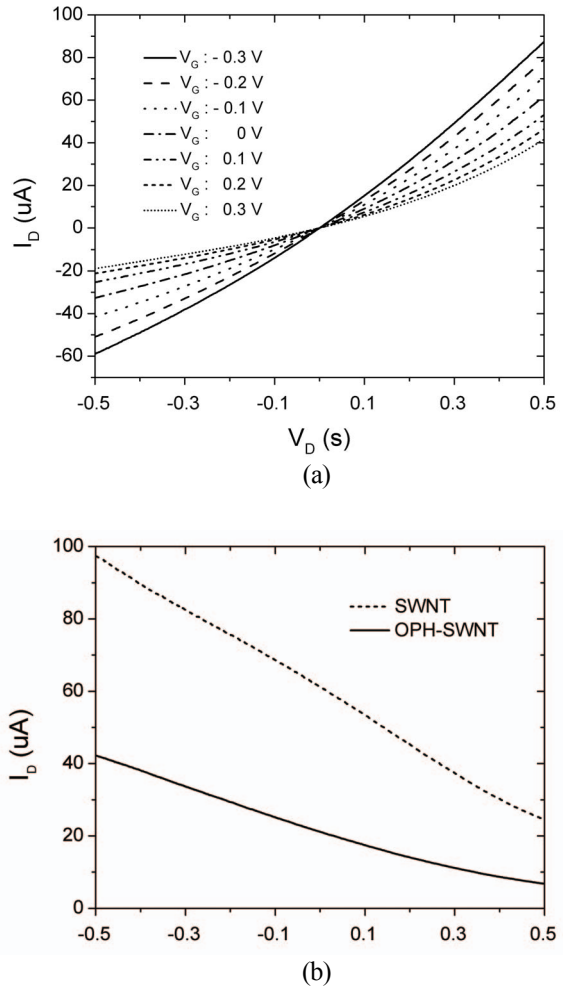


Fig. 3. Electrical properties of the suspended SWNT-film sensor; (a) I_D - V_D curve of the bare SWNT-film sensor and (b) I_D - V_G curves of the SWNT-film sensor before and after OPH immobilization.

3.3 유기인 화합물 검출 시험

유기인 가수분해효소가 부착된 탄소나노튜브 필름의 유기인 화합물 센서로서의 성능을 시험해 보았다. 모든 시료는 50 mM의 potassium phosphate buffer solution (pH 7.4)에 혼합하여 pH의 변화에 의한 요소를 배제할 수 있도록 했다. 목표 검출 물질로써 대표적인 유기인 화합물 중 하나인 paraoxon을 다양한 농도의 용액으로 제조하여 사용하였다. Fig. 4a와 같이 유기인 가수분해효소가 부착된 부양형 탄소나노튜브 필름의 양단에 bias 전압을 걸어주고 필름을 통해 흐르는 전류를 측정했다. 이 때 paraoxon이 유기인 가수분해효소와 접촉하게 되면 p-nitrophenol (PNP)과 diethyl

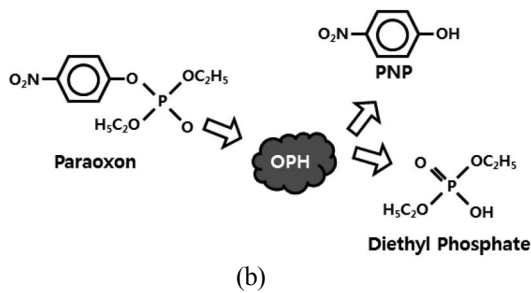
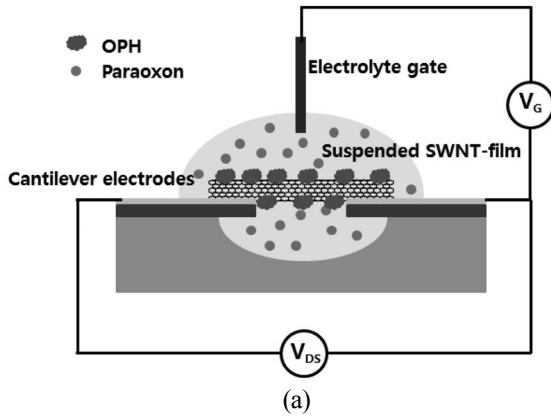


Fig. 4. (a) Schematic representation of paraoxon sensor platform using OPH-immobilized SWNT-film and (b) hydrolysis of paraoxon by OPH.

phosphate 로 분해된다(Fig. 4b).

Fig. 5는 paraoxon 용액을 농도에 따라 첨가시켜 주었을 때 탄소나노튜브 필름을 통해 흐르는 전류 값을 측정한 그래프이다. 버퍼 용액을 첨가했을 때는 반응이 전혀 없지만 paraoxon 용액이 첨가되었을 때는 매우 빠르게 전류 값이 감소되는 것을 볼 수 있다. 검출 원리는 아직 명확하게 밝혀진 바가 없다. 대표적인 부산물 중 하나인 PNP를 탄소나노튜브를 이용해 검출한 연구가 보고된 사례가 있다 [24]. 또한 유기인 가수분해효소가 촉매반응을 하는 동안 모양이 변하기 때문에[25] 이러한 변화로 인해 효소의 표면 전하 상태도 변화할 수 있다. 따라서 유기인 가수분해 효소가 paraoxon을 분해해서 발생한 부산물에 의한 전류 값의 변화와 탄소나노튜브에 부착되어 있는 유기인 가수분해효소의 분해작용 자체에 의한 변화가 복합적으로 작용했을 것으로 추측하고 있다.

기존에 연구들과 비교해보면 부양형 탄소나노튜브 필름은 빠른 반응시간과 높은 민감도를 보인다. 부양형 탄소나노튜브 필름은 paraoxon 검출에 있어서 기판에 붙어있는 탄소나노튜브 센서와 비교하여 (50 μM) 더 높은 민감도 (10 μM)와 빠른 반응시간을 보여준다[26]. 이것은 부양형 탄소나노튜브 필름이 기판 바닥에 붙어있는 경우에 비해 더 많은 반응면적을 제공할 뿐만 아니라 검출물질의 물질이동이 효율적이기 때문이다.

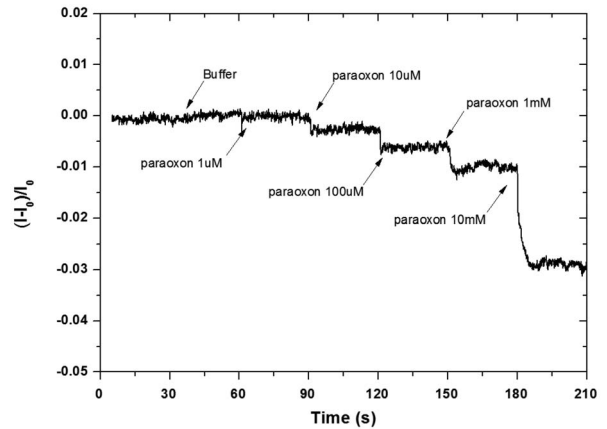


Fig. 5. Real-time electrical detection of paraoxon using the OPH-immobilized SWNT-film sensor.

4. 결론

유기인 가수분해효소가 부착된 부양형 탄소나노튜브 필름을 dielectrophoretic force와 용액의 표면장력을 이용해서 성공적으로 제작하였고 유기인 화합물 센서로서의 성능을 검증하였다. 대표적인 유기인 화합물인 paraoxon 검출을 통하여 기존에 보고되었던 기판 바닥에 붙어있는 형태의 센서에 비해 향상된 반응시간과 검출 한계를 갖는 다는 것을 증명하였다. 약 10 μM 농도의 paraoxon 을 실시간으로 검출할 수 있었다. 우수한 성능과 함께 제작방법이 간단하고 빠르기 때문에 실제 센서 시스템에 응용되기에 적합하다.

감사의 글

이 논문은 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2012R1A1A2007580, No. 2012R1A1A1012805)

REFERENCES

[1] P. G. Collins, K. Bradley, M. Ishigami, and A. Zettl, "Extreme oxygen sensitivity of electronic properties of carbon nanotubes", *Science*, Vol. 287, No. 5459, pp. 1801-1804, 2000.

[2] J. Kong, N. R. Franklin, C. Zhou, M. G. Chapline, S. Peng, K. Cho, and H. Dai, "Nanotube molecular wires as chemical sensors", *Science*, Vol. 287, No. 5453, pp. 622-625, 2000.

[3] K. Besteman, J. Lee, F. G. M. Wiertz, H. A. Heering,

- and C. Dekker, "Enzyme-coated carbon nanotubes as single-molecule biosensors", *Nano Lett.*, Vol. 3, pp. 727-730, 2003.
- [4] K. Maehashi, T. Katsura, K. Kerman, Y. Takamura, K. Matsumoto, and E. Tamiya, "Label-free protein biosensor based on aptamer-modified carbon nanotube field-effect transistors", *Anal. Chem.*, Vol. 79, pp. 782-787, 2007.
- [5] H. Ryu, W. Choi, T. An, J. Heo, and G. Lim, "Fabrication and calibration of pH sensor using suspended CNT nanosheet", *J. Sensor Sci. & Tech.*, Vol. 22, No. 3, pp. 207-211, 2013.
- [6] H. So, K. Won, Y. H. Kim, B. Kim, B. H. Ryu, P. S. Na, H. Kim, and J. Lee, "Single-walled carbon nanotube biosensors using aptamers as molecular recognition elements", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 127, pp. 11906-11907, 2005.
- [7] Q. Cao and J. A. Rogers, "Ultrathin films of single-walled carbon nanotubes for electronics and sensors: A review of fundamental and applied aspects", *Adv. Mater.*, Vol. 21, pp. 29-53, 2009.
- [8] E. S. Snow, J. P. Novak, M. D. Lay, and F. K. Perkins, "1/f noise in single-walled carbon nanotube devices", *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 85, pp. 4172-4174, 2004.
- [9] A. Star, E. Tu, J. Niemann, J. P. Gabriel, C. S. Joiner, and C. Valcke, "Label-free detection of DNA hybridization using carbon nanotube network field-effect transistors", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, Vol. 103, pp. 921-926, 2006.
- [10] H. R. Byon and H. C. Choi, "Network single-walled carbon nanotube-field effect transistors (SWNT-FETs) with increased Schottky contact area for highly sensitive biosensor applications", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 128, pp. 2188-2189, 2006.
- [11] T. An, K. S. Kim, S. K. Hahn, and G. Lim, "Real-time, step-wise, electrical detection of protein molecules using dielectrophoretically aligned SWNT-film FET aptasensors", *Lab Chip*, Vol. 10, pp. 2052-2056, 2010.
- [12] G. A. Zelada-Guillén, J. Riu, A. Düzgün, and F. Rius, "Immediate detection of living bacteria at ultralow concentrations using a carbon nanotube based potentiometric aptasensor¹³", *Angew. Chem.-Int. Edit.*, Vol. 48, pp. 7334-7337, 2009.
- [13] E. S. Snow, F. K. Perkins, E. J. Houser, S. C. Badescu, and T. L. Reinecke, "Chemical detection with a single-walled carbon nanotube capacitor", *Science*, Vol. 307, pp. 1942-1945, 2005.
- [14] P. E. Sheehan and L. J. Whitman, "Detection limits for nanoscale biosensors", *Nano Lett.*, Vol. 5, pp. 803-807, 2005.
- [15] P. R. Nair and M. A. Alam, "Performance limits of nanobiosensors", *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 88, pp. 233120-233123, 2006.
- [16] D. R. Kim and X. Zheng, "Numerical characterization and optimization of the microfluidics for nanowire biosensors", *Nano Lett.*, Vol. 8, pp. 3233-3237, 2008.
- [17] S. Chapalamadugu and G. R. Chaudhry, "Microbiological and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates", *Crit. Rev. Biotechnol.*, Vol. 12, No. 5-6, pp. 357-389, 1992.
- [18] W. J. Donarski, D. P. Dumas, D. P. Heitmeyer, V. E. Lewis, and F. M. Raushel, "Structure-activity relationships in the hydrolysis of substrates by the phosphotriesterase from *Pseudomonas diminuta*", *Biochemistry*, Vol. 28, No. 11, pp. 4650-4655, 1989.
- [19] J. Sherma, "Pesticides", *Anal. Chem.*, Vol. 65, No. 12, pp. 40R-54R, 1993.
- [20] J. T. Cang-Rong and G. Pastorin, "The influence of carbon nanotubes on enzyme activity and structure: investigation of different immobilization procedures through enzyme kinetics and circular dichroism studies", *Nanotechnology*, Vol. 20, p. 255102, 2009.
- [21] X. Q. Chen, T. Saito, H. Yamada, and K. Matsushige, "Aligning single-wall carbon nanotubes with an alternating-current electric field", *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 78, pp. 3714-3716, 2001.
- [22] M. Lu, M. Jang, G. Haugstad, S. A. Campbell, and T. Cui, "Well-aligned and suspended single-walled carbon nanotube film: Directed self-assembly, patterning, and characterization", *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 94, p. 261903, 2009.
- [23] K. Maehashi, T. Katsura, K. Kerman, Y. Takamura, K. Matsumoto, and E. Tamiya, "Label-free protein

- biosensor based on aptamer-modified carbon nanotube field-effect transistors”, *Anal. Chem.*, Vol. 79, No. 2, pp. 782-787, 2007.
- [24] T. An, I. Kim, and G. Lim, “Nitrophenol detection using suspended SWNT films for environmental monitoring”, *Proc. of IEEE Conf. on Sensors*, pp. 1514-1517, Hawaii, USA, 2010.
- [25] K. Besteman, J. O. Lee, F. G. M. Wiertz, H. A. Heering, and C. Dekker, “Enzyme-coated carbon nanotubes as single-molecule biosensors”, *Nano Lett.*, Vol. 3, No. 6, pp. 727-730, 2003.
- [26] N. Liu, X. Cai, Y. Lie, Q. Zhang, M. B. Chan-Park, C. Li, W. Chen, and A. Mulchandani, “Single-walled carbon nanotube based real-time organophosphate detector”, *Electroanalysis*, Vol. 19, pp. 616-619, 2007.