

ISFET 및 pt 기준전극과 차동증폭법을 이용한 요소감지소자 개발

°김성진 · 권대혁 · 이철현 · 손병기
 경북대학교 전자공학과

Development of urea sensor using the ISFET and Platinum reference electrode and by employing the differential amplification

°Sung-Jin Kim, Dae Hyuk Kwon, Jong-Hyan Lee, Byung-Ki Sohn
 Dept. of Electronics, Kyungpook National University

(Abstract)

An FET type urea sensing device has been developed using the ISFET and platinum reference electrode and by employing the differential amplification.

The performance characteristics of the fabricated sensor show a good linearity in the urea concentration range of 5×10^{-5} to 10^{-3} g/ml and a stable response.

1. 서 론

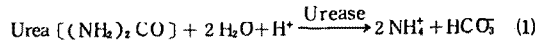
현재까지 여러 형태의 Bio-Sensor 들이 개발되어져 왔으며, 그 중 일부는 의학 및 기타 분야에서 사용되고 있다. 최근 의학적인 분야에서 소형화된 Bio-Sensor 의 개발에 대한 요구가 증대되고 있다. ISE (ion selective electrode), gas sensing electrode 등의 전기화학적 소자를 응용한 재래의 Bio-Sensor 는 크기가 크고 소모되는 효소의 양이 많은 등 여러가지 단점이 있다. 이러한 단점들을 개선하기 위해 여러가지 Bio-Sensor 들이 연구되고 있으나, 그중에서 ISFET (ion sensitive field effect transistor) 를 응용한 FET 형 Bio-Sensor 가 가장 큰 주목을 받고 있다. ISFET 는 반도체 이온센서로서 응답속도가 빠르고, 집적회로 제조공정을 이용하므로 규격화가 가능하며, 크기가 초소형이므로 특성면이나 경제적인 면에서, Bio-Sensor 의 바탕소자로서 많은 잇점이 있다.

본 연구에서는 ISFET 와 고정효소막을 이용해서 요소 감지소자를 제작하고 그 특성을 측정하는데 있어 차동증폭법을 이용함으로써 가격이 비싸고 크기가 큰 상용 기준 전극을 단일금속과 효소감지막을 가지지 않는 ISFET 로 대체하는 방법을 개발하였다.

2 이 론

2-1 Urea Sensor 의 동작원리

ISFET 는 MISFET 의 금속게이트가 용액과 기준전극으로 대체된 형태를 하고 있으며 용액과 게이트 절연물질인 Si_3N_4 막의 계면에서 수소이온의 농도에 따라 전기화학적 전위차를 발생시킨다. 본 연구에서 제작된 요소 감지소자는 이 ISFET 의 Si_3N_4 게이트 막 위에 Urease 가 고정된 형태를 하고 있다. 이 소자가 요소를 함유하는 용액 속에 들어가면 용액중의 요소가 immobilized Urease 막 속으로 확산해 들어가면서 다음과 같은 촉매반응이 일어난다.



이로 인해 immobilized Urease 막 내에서의 pH 가 변화하게 된다. 반응속도는 H^+ 또는 NH_4^+ 의 시간적 농도 변화로 정의되며 요소의 농도가 클수록 이 반응속도는 빨라진다. 그러므로 immobilized Urease 막 내에서의 pH 변화로 인한 ISFET 의 Si_3N_4 게이트 표면의 전기 화학적 전위의 시간변화율을 측정함으로써 요소의 농도를 결정할 수 있다.

2-2 차동증폭법을 이용한 요소 감지소자

지금까지 기준전극은 수용액 속에서 전극전위가 일정한 상용 Ag/AgCl 전극이나 Calomel 전극 등을 사용하고 있으나 이러한 전극들은 소형화하기가 어려울 뿐만 아니라 유지하는 데에도 많은 문제점이 있다. ISFET 를 사용한 Bio-Sensor 의 경우 차동증폭법을 이용하여 상용 기준 전극을 하나의 효소 감지막이 형성되지 않은 ISFET 와 단일금속 (pt, Au) 으로 대체할 수 있다.

본 연구에서는 제작된 요소 감지소자는 ENFET (enzyme FET) 와 REFET (reference FET) 로 구성되어지는데, ENFET 는 효소 감지막이 형성되어 Urea 에 응답하는 ISFET 를, REFET 는 효소 감지막이 형성되어 있지 않아 Urea 에 의한 응답이 없는 ISFET 를 나타낸다.

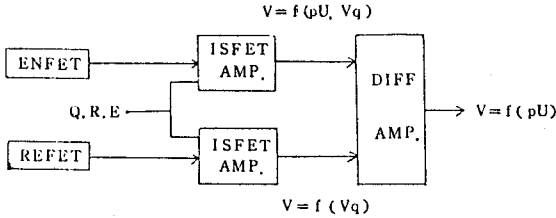


Fig.1. Schematic diagram of urea-sensor using differential amplification.

그림 1은 이러한 차동증폭을 이용한 Urea - Sensor의 개략도를 나타내고 있다. Q.R.E (quasi - reference electrode)는 단일금속 (pt, Au) 기준전극으로 용액 내에서 불안정한 특성을 나타낸다. 용액내의 Urea 농도를 pU, 유사 기준전극에 의한 용액의 불안정한 전위를 V_q 라 하면, ENFET에 의한 출력 전압 V_{oe} 는 pU, V_q 의 함수가 되며, REFET는 pU에 반응하지 않으므로 그 출력전압은 V_q 만의 함수가 된다. 이러한 ENFET와 REFET의 출력 전압이 차동 증폭 장치를 거치게 되면 pU만의 함수인 최종적인 전압을 얻을 수 있으므로 용액내의 Urea 농도를 측정할 수 있다.

이와 같이 수용액 속에서 불안정한 pt를 기준 전극으로 사용하더라도 두개의 FET가 전기적 특성이 같다면 pt 전극의 불안정성은 2개의 ISFET에 공통되기 때문에 차동 회로에 의해 자동적으로 제거된다.

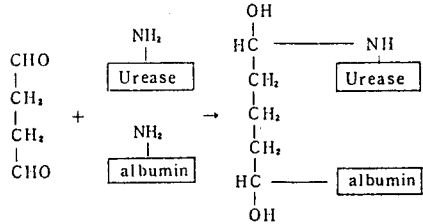
3. 실험

3-1 요소 감지소자의 제작

ISFET의 게이트 위에 ENFET와 REFET의 제조공정은 다음과 같다.

먼저 ISFET의 게이트 영역을 제외한 모든 부위를 epoxy로 encapsulation 한 후 형성시킬 막과 Si_3N_4 막과의 부착성을 좋게 하기 위하여 ISFET의 Si_3N_4 표면을 Silanization 시켰다.

ENFET의 경우, 0.2M pH 8.5 Tris-HCl 완충용액에 BSA (bovine serum albumin)를 녹여 15% BSA 용액을 제조하고 이 용액 10 μ l에 약 2mg의 Urease (530U/11.5mg)를 녹여 ISFET의 gate 위에 약 0.1 μ l를 떨어뜨리고 그 위에 약 0.1 μ l의 25% glutaraldehyde 용액을 떨어뜨려 아래와 같이 crosslinking 반응을 시켰다.



15분후 소자를 15분간 증류수에 담근 후 0.1M glycine 용액에 15분간 담가서 불필요한 glataraldehyde를 불활성화시켰다.

REFET의 경우는 Urease만 제외시키고 ENFET와 똑같은 공정을 거치므로써 완성하였다.

그림 3은 완성소자의 단면을 나타내고 있다.

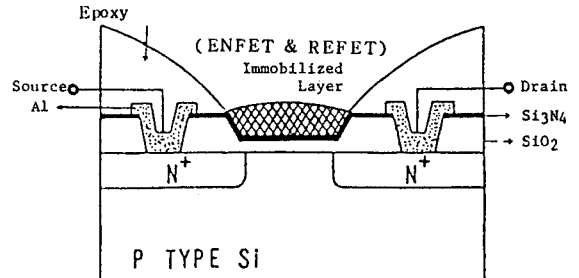


Fig.2. Cross-sectional structure of the sample of ENFET&REFET.

3-2 측정

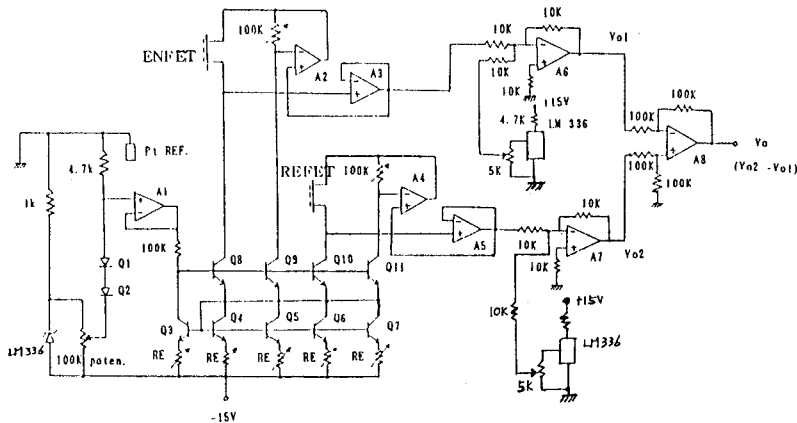


Fig.3. Measuring circuit including differential amplifier.

측정시 용액의 온도를 항온조를 사용하여 30℃로 유지시키고 용액을 약 80 rpm으로 magnetic stirring 했다.

피측정용액은 0.01M의 Tris-HCl 완충용액을 pH 7으로 조정하여 0.1M의 NaCl로 이온 강도를 맞추었다. 여기에 요소를 녹여 각 농도의 요소 표준 용액을 제조하였다. ENFET, REFET 및 pt 전극을 0.1M의 NaCl을 녹인 pH 7 Tris-HCl 완충용액에 담근후 제일 낮은 농도의 요소 표준 용액 1ml를 가하고 ENFET, REFET 출력 및 차동 증폭 장치의 거친 출력전압의 변화를 디지털 전압계와 X-t 기록기로 측정한다. 측정이 끝난후 소자를 다시 완충용액에 담그고 출력이 원래의 전압으로 회복되면 다음 농도의 요소 표준 용액 1ml를 가하고 측정한다.

그림 3은 실험에 사용된 차동 증폭기를 포함한 측정 장치를 나타내고 있다. 여기서 A8이 차동 증폭기이며 V_{o1}은 ENFET의 출력, V_{o2}는 REFET의 출력, V_o는 차동 증폭 장치를 거친 최종출력을 나타낸다.

4. 결과 및 고찰

완충용액에서 요소 표준 용액을 가한 시점부터 한 특정요소농도 (5 × 10⁻⁴ g/ml)에 대해 ENFET에 의한 전압, REFET에 의한 전압 및 차동된 출력응답의 시간적 변화는 그림 4에 나타냈다.

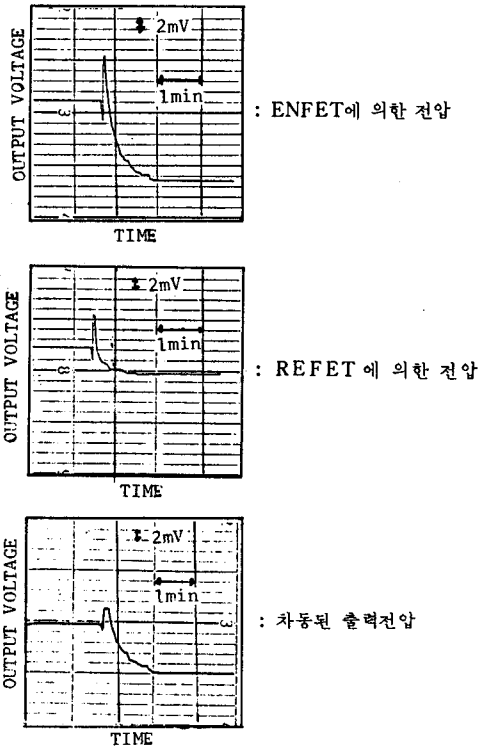


Fig.4. Time response of ENFET, REFET and differential amplifier.

그리고 각 요소 농도에 대한 차동출력전압의 시간 변화를 그림 5에 나타냈다.

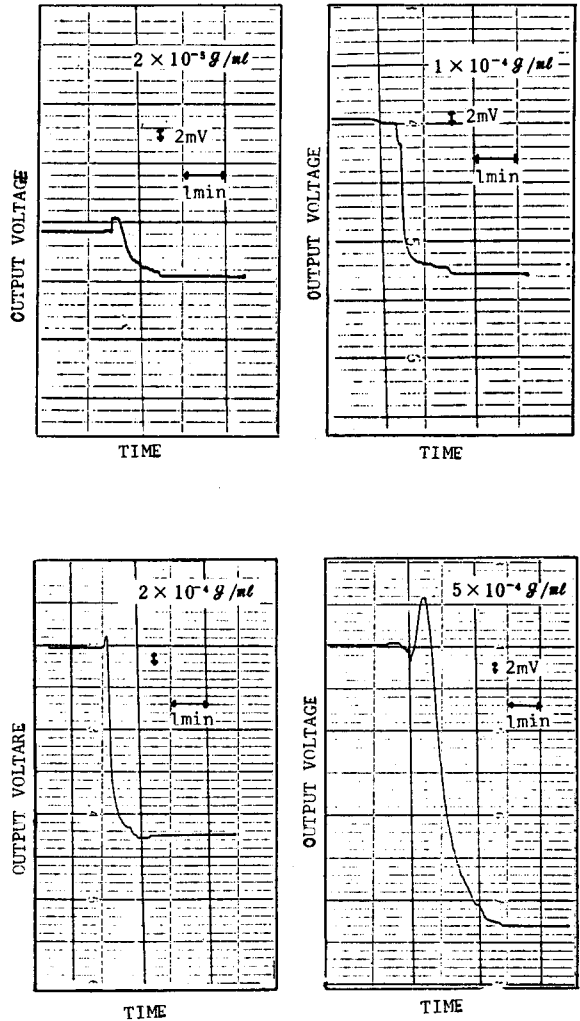


Fig.5. Time responses for various concentrations of urea.

요소 표준 용액을 가한 순간부터 차동 출력전압은 감소하기 시작하여 약 2분 후에 평형상태에 도달하였다. 이러한 응답은 immobilized Urease 막의 두께와 막에서의 Urease 양 그리고 ISFET의 특성에 의존한다.

그림 6은 각 요소 농도에 대한 시간응답으로 2분후의 차동 출력 전압을 나타낸 calibration curve이다.

저농도에서의 응답은 소자 자체의 감지능력 한계에 의해 제한되며 고농도로 갈수록 Michaelis-Menten 방정식에서 예견되는 바와 같이 출력전압이 점차 포화치에 이르렀다.

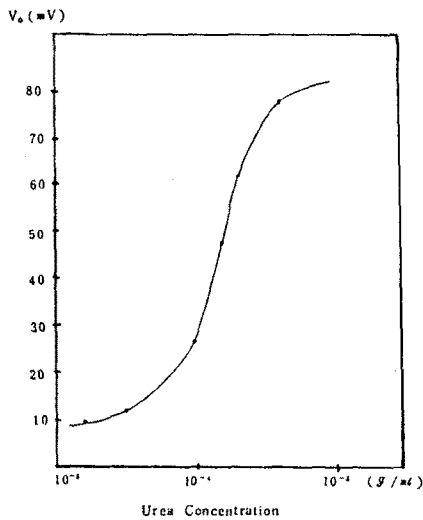


Fig.6. Calibration curve.

5. 결 론

ISFET와 고정화 효소막을 이용해 요소 감지 소자를 제조하였다. 상용기준 전극 대신 단일금속 및 하나의 ISFET와 차동 증폭장치를 이용하는 새로운 측정방법을 개발하여 제작된 요소 감지 소자를 측정할 결과, $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-3}$ 요소 범위에서 거의 선형적이고 안정한 응답특성을 보였다.

따라서 본 연구에서 개발한 차동 증폭장치를 이용한 요소 감지 소자가 실제 요소 측정에 사용될 수 있음을 확인하였다. 다만 효소 감지막 형성에 대해서는 좀 더 추가적인 연구가 요구된다.

ISFET와 차동 증폭 장치를 이용한 요소 감지 소자는 electrode형 감지 소자에 비해 특성 및 경제적인 면에서 여러 잇점을 가지므로 그 활용이 크게 기대되며 특히 소자의 소형화 및 multi-biosensor를 위해서는 필수적인 것이라 하겠다.

참 고 문 헌

1. Jun Kimura, Toshihide Kuriyama & Yoshie Kawana. "An Integrated SOS/FET Multi-Biosensor" Sensors & Actuators. 9(1986) 373-387.
2. M. Mascini & G.G. Guibault. "Urease coupled Ammonia Electrode for urea Determination in Blood serum" Analytical chemistry. VOL.49. No.6. May 1977.

3. Yoshio Hanazato, Mamiko Nakako, & Satoru shiono. "Multi-Enzyme Electrode using Hydrogen-Ion-Sensitive Field-Effect Transistors" IEEE, Trans, Electron Devices, VOL. ED-33, No.1. January 1986.
4. Yuji Miyahara & Toyosaka Morizumi. "Integrated Enzyme FETs for Simultaneous Detections of urea & Actuators. 7 (1985)1-10.