2002년도 대한전기학회 하계학술대회 논문집 2002.7.10-12

화학 발광 검출을 위한 포토다이오드 제작

김 형 일, 강 철 구, 강 문 식, 박 정 호, 민 남 기
고 려 대 학 교

Detection of luminol chemiluminescence using photodiode

Kim hyung-il, Chul-Goo Kang, Moon Sik Kang, Jung Ho Park, Nam-Ki Min
Korea University

Abstract - 본 논문에서는 실리콘을 기초로 한 포토다이오드를 제작하여 현재 바이오센서에서 이용되고 있는 luminol 화학 발광을 전기적으로 검출하였다.

우선, 실리콘 웨이퍼에 이온주입을 통해 p-n 접합을 형성하고 Al 전극을 형성시켜 포토다이오드를 제작하였다. PDMS을 passivation 막으로 사용하여 horsera-dish peroxidase(HRP) 농도 변화에 따른 발광의 최적조건과 luminol, HRP가 섞인 용액에 서로 다른 양의 과산화수소를 넣어 발광이 최대로 발생하는 혼합비를 측정하였다. 최종적으로 2mM luminol, 25U HRP 조건 하에서 과산화수소 농도에 따른 화학 발광을 측정하였으며, 10μM부터 500μM 범위의 과산화수소 농도 변화에 따른 포토다이오드의 감도는 단위 면적당 23.429pA/ μM이다.

1. 서 론

화학 발광에 대한 분석 화학적 응용은 1970년대에 기체상의 화학 발광에서 시작되어 1980년대에 들어서부터 수용액상의 화학 발광 응용이 매우 활발히 진행되고 있다.[1] 화학 발광은 화학 반응에 의해 생성된 산화-환원종에 의해 일부 형광반응 물질이 여기 상태에서 바닥 상태로 에너지준위가 떨어지면서 빛을 발생하는 원리를 이용한 것이다. 이러한 화학 발광은 특정 물질에만 반응하여 매우 선택성이 높으며, 감도가 좋은 새로운 분석 측정 기술로서 생체물질 분석 방식으로 많이 응용되고 있다. 특히 면역 분석과 DNA 프로브 분석, 휴대용 환경 오염도 측정기기, 임상 분석용 바이오센서 등에 그 활용도가 높아지고 있다. 이러한 소형화된 센서에 적용하기 위해서는 화학 발광 검출에 필요한 광검출 시스템 또한 소형화되어야 한다.[2][3]

화학 발광 검출을 위한 기존 방식은 광학렌즈와 광증폭기, 광원과 단색광 장치를 사용하여 휴대가 어렵고 가격이 높고 소비전력이 크다는 단점을 가지고 있다. 그러나 소형화된 포토다이오드는 저전력, 소형화, 저가격으로 제작될 수 있고 박테리아 검출뿐만 아니라, 기타 휴대용 임상 분석용 바이오센서 등에 사용되어 보다 저렴하게 대량 생산할 수 있는 장점을 가지고 있다.

따라서, 본 논문에서는 실리콘 웨이퍼에 이온 주입을 통해 p-n 접합을 형성시켜 포토다이오드를 제작하여 과산화수소와 촉매의 농도에 따른 화학 발광을 측정하였다.

2. 실 험

2.1 포토다이오드의 제작

본 논문에서는 n-type, (100), 비저항이 1~10Ω·㎝인 실리콘 웨이퍼를 사용하였다. 그리고 3000Å의 산화막을 증착시킨 후, 리소그래피 공정으로 패턴링을 하였다. $1\times10^{15}cm^{-2}$ dose B, 70keV로 이온 주입을 하여 p-n 접합을 형성하였다. Al 박막을 2000Å 증착하고 리소그래피 공정을 거쳐 패턴을 형성시킨 후, 열처리를 하여 전극을 형성하였다. 모든 공정에서의 세척은 RCA 표준 세정법을 사용하였다.

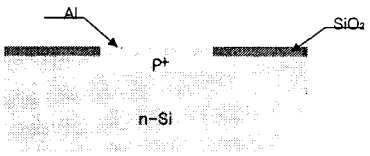

그림 1 제작된 소자의 단면도

2.2 화학 발광

화학 발광을 위해 luminol(5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione)을 사용하였다. luminol은 과산화수소와 반응하여 3-aminophalate의 들뜬상태로 생성되고 바닥상태로 되돌아올 때 420nm의 빛을 발생한다. 그리고 HRP 촉매를 사용함으로써 빛의 세기를 증가시켰다.[4]

본 논문에서는 luminol과 HRP 발광이 잘 일어나는 최적 조건인 pH10, 0.2M carbonate 완충 용액으로 2mM luminol과 pH 6.0, 10mM phosphate 완충 용액으로 희석시킨 HRP를 사용하였다.[5][6] 그리고 H_2O_2(30%)를 DI water로 희석하여 과산화수소의 농도를 변화시켰다.

2.3 실험 장치의 구성

그림 2와 같이, 최근 바이오센서에서 마이크로채널의 제작을 위해 사용되고 있는 PDMS를 포토다이오드 passivation 막으로 하여, 그 위에 luminol 화학 발광을 발생시켜 potentiostat를 이용하여 포토다이오드의 전류 특성 측정하였다. 산화제인 과산화수소의 양과 HRP의 농도를 조절하여 발생하는 광량을 변화시켜 그에 따른 전류 특성을 측정하였다.

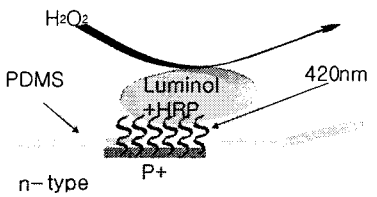

그림 2 포토다이오드를 이용한 화학 발광 검출 모식도

3. 결 과 및 고 찰

3.1 선행 실험

luminol는 농도가 증가할수록 발광의 세기 또한 증가한다.[7] 본 논문에서는 luminol의 농도를 2mM로 고정한 후, 실험을 수행하였다. 과산화수소 농도에 따른 소자의 출력 전류를 측정하기에 앞서, 발광이 최대로 일어나는 HRP 농도와 luminol, HRP 용액과 과산화수소의 혼합비에 대한 실험을 수행하였다.

3.1.1 HRP 농도에 따른 전류 특성

상온에서 2mM luminol과 20, 25, 30, 50U의 HRP를 각각 사용하였을 때, 과산화수소 농도에 대한 소자의 출력 전류 밀도를 비교하여 발광이 최대로 일어나는 HRP의 농도를 측정하였다.

그림에서 HRP의 농도가 25U일 때 가장 큰 전류가 출력됨을 확인할 수 있다. 따라서 HRP 농도는 25U으로 고정하고 실험을 수행하였다.

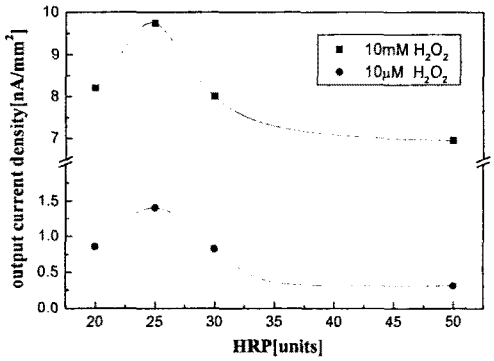

그림 3 HRP 농도에 따른 출력 전류 밀도 곡선

3.1.2 luminol, HRP 용액과 과산화수소의 혼합비에 따른 전류 특성

2mM luminol, 25U HRP 용액에 서로 다른 과산화수소의 양을 주입하여 발광이 최대로 하는 혼합비를 구하였다.

그림에서 혼합비를 1:1로 했을 때, 발광 특성이 최대이고, 과산화수소 농도가 증가함에 따라 출력 전류도 증가하였다. 1mM 과산화수소에서 전류가 거의 일정한 값에 도달함을 알 수 있다.

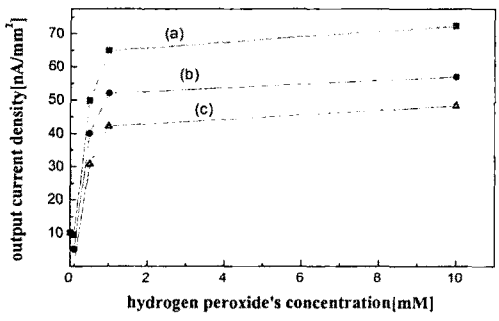

그림 4 과산화수소 농도에 따른 출력 전류 밀도 곡선
luminol+HRP:H_2O_2=1:1(a), 1:2(b), 1:3(c)

3.2 과산화수소 농도 변화에 따른 전류 특성

실험에서 얻은 최적의 발광 조건인 2mM luminol와 25U HRP 가 섞인 용액에 농도가 다른 과산화수소와 반응시켰을 때, 시간에 따른 출력 전류를 potentiostat로 측정하였다. 1μM부터 10mM까지 과산화수소 농도를 증가시켰을 때, 10μM부터 전류가 측정되었으며 농도가 증가함에 따라 출력 전류의 피크치도 증가하였다. 그림 6은 그림 5에서 얻은 전류의 피크치를 과산화수소 농도에 따라 나타낸 것이다. 과산화수소 농도가 증가함에 따라 전류값이 증가하였다. 과산화수소의 농도가 10μM에서 500μM까지 변화하였을 때, 출력 전류의 감도는 단위 면적당 23.429pA/ μM로 나타났으며, 센서로 사용되었을 때 과산화수소 검출에 대한 정량화가 가능한 측정 범위임을 알 수 있다.

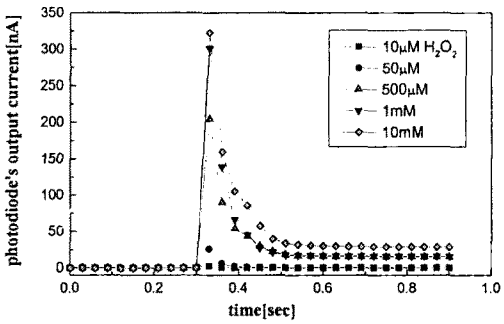

그림 5 시간에 따른 출력 전류 곡선

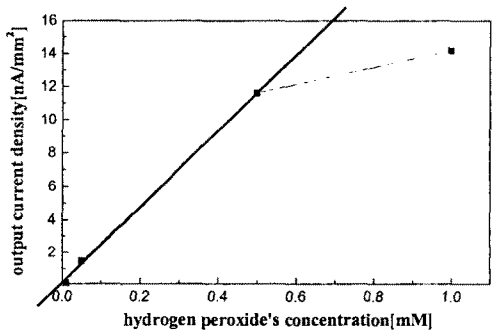

그림 6 과산화수소 농도에 따른 출력 전류 밀도 곡선

4. 결 론

기존의 화학 발광 검출을 위한 장치는 휴대가 어렵고 가격이 높고 소비전력이 크다는 단점을 가지고 있다. 그러나 소형화된 포토다이오드는 저전력, 소형화, 저가격으로 제작될 수 있는 장점을 가지고 있다.

본 논문에서는 화학 발광 분석 장치와 바이오 센서에 쓰이는 luminol 화학 발광을 검출하는 기존의 검출 방식을 대신할 수 있는 소형화된 포토다이오드를 직접 제작하여 발광을 검출하였다.

과산화수소의 농도에 따른 소자의 출력 전류는 농도에 비례하였으며, 10μM부터 500μM 범위에서 출력 전

류의 감도는 단위 면적당 23.429pA/ μM로 측정되었다. 따라서 향후 화학 발광에 대한 검출을 위한 장치에 사용될 수 있는 가능성을 확인하였다.

감사의 글
본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구사업 (과제번호:01-PJ1-PG4-01PT02-0009) 지원으로 수행되었음.

[참 고 문 헌]

[1] W. Y. Lee, "Chemiluminescence's applications", Chemworld, pp48-52, 1997.
[2] A. Taniguchi, Y. Hayashi, and H. Yuki, "Determination of cholesterol with a laboratory built chemiluminescence system", Analytica Chimica Acta, 188, pp95-100, 1986.
[3] M. C. Ramos, M. C. Torijas, and A. Navas Diaz, "Enhanced chemiluminescence biosensor for the determination of phenolic compounds and hydrogen peroxide", Sensors and Actuators, pp71-75, 2001.
[4] M. J. Cormier and P. M. Prichard, "An investigation of the mechanism of the luminescent peroxidation of luminol by stopped flow techniques", The J. of Bio. Chemistry, Vol. 243, No. 18, pp4706-4714, 1968.
[5] M. Nakamura and S. Nakamura, "One and two electron oxidations of luminol by peroxidase systems", Free Radical Bio. & Med., Vol. 24, No. 4, pp537-544, 1998.
[6] B. Li, Z. Zhang, and Y. Jin, "Chemiluminescence flow biosensor for hydrogen peroxide with immobilized reagents", Sensors and Actuators, pp115-119, 2001.
[7] I. Y. Sakharov, "Long term chemiluminescent signal is produced in the course of luminol peroxidation catalyzed by peroxidase isolated from leaves of African oil palm tree", Biochemistry, Vol. 66, No. 5, pp515-519, 2001.