

과산화수소 농도와 전극에 따른 전기화학발광 특성

표 성열, 강 문식, 강 철구, 김 형일, 홍 석인, 민 남기  
고려대학교

ECL properties for concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and feature of electrodes

Seong-Yeol Pyo, Moon-Sik Kang, Chul-Goo Kang, Kim hyung-il, Suk-In Hong, Nam-Ki Min  
Korea University

**Abstract** - 본 논문은 혈당, 콜레스테롤센서에 적용이 가능한 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 검출방식인 전기화학발광(Electrochemiluminescence; ECL)법 사용에 필요한 전극특성에 관한 연구이다. 전기화학전극으로 Pt박막전극을 사용하였으며, luminol(5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalatedione)과 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)의 반응으로 발생한 빛을 포토다이오드(photodiode)를 사용하여 전류를 측정하였다. 사용된 전극은 직사각형(rectangular-type), 교차형(interdigitated-type)의 두 가지 형태를 사용하여, 전극간의 거리와 면적에 따른 ECL특성을 측정하였다. ECL 발광 특성은 전극 면적이 증가함에 따라, 전극거리가 감소함에 따라 증가함을 관찰할 수 있었다.

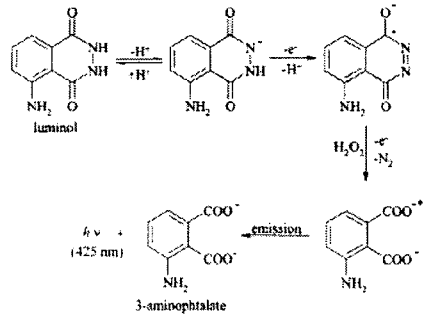


그림 1 Luminol과 과산화수소의 ECL 반응

1. 서 론

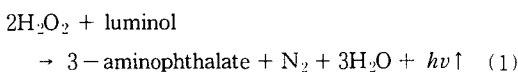
전기화학전극을 이용한 발광현상은 1927년 Grignard 합성의 빛 방사로부터, 1929년 luminol의 전기화학발광(ECL), 그리고 1960년대 초 fluorescent aromatic hydrocarbon 수용액의 전기분해에 의해 빛을 검출하는 등 오래 전부터 연구되어 왔으며[1,2], 최근 화학발광(chemiluminescence; CL)을 생물학적인 분야에 응용하면서 CL 특성을 여러 생체 물질 분석에 활용한 바이오센서 분야의 연구가 활발히 진행되고 있다[2].

CL 방법은 luminol과 과산화수소의 용액에 HRP(horseradish peroxidase) 등과 같은 촉매효소를 이용한 방법[3]과 luminol과 과산화수소사이에서 반응 촉매로써 일정한 전압을 인가하는 방법인 ECL이 있다.

본 논문에서는 ECL을 이용하여 과산화수소 농도와 전극에 따른 빛의 세기를 포토다이오드를 이용하여 전기적 에너지로 변환하여 농도를 검출하는 방식을 적용하였다.

그림 1은 luminol과 과산화수소의 ECL 반응을 나타낸 것으로, 알칼리성의 매개체인 luminol은 전기 화학적으로 산화된 음이온을 형성한다. 과산화수소에서 diazo 화합물의 산화는 excite 상태에서 3-aminophthalate를 생성한다. 부분적으로 적용된 potential에 의존할 때 다른 구조적인 경로는 luminol의 전극 산화와 관계가 있다. 과산화수소는 peroxide 음이온 HOO<sup>-</sup>로서 또는 전기 화학적으로 형성된 superoxide radical O<sub>2</sub><sup>-</sup>으로서 관여할 수 있다. 알칼리성 상태는 deprotonation을 필요로 하고, ECL 작용의 가장 최상의 결과를 생성한다.[1,5]

ECL 반응은 식(1)과 같은 화학 반응과 전압을 인가하면 과산화수소의 농도에 따라 발생한 빛의 양이 변하므로, glucose, lactate 또는 choline등을 측정할 수 있어 바이오센서 분야에 응용되고 있다[4]. 또한, ECL은 낮은 농도에서도 넓은 선형 영역이 나타나며, 감도가 높다[1].

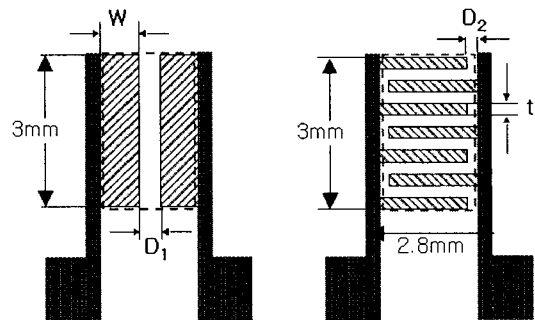


본 논문은 ECL반응을 혈당, 콜레스테롤용 바이오센서에 적용하기 위해 과산화수소의 농도와 전극 형태 및 면적을 변화시켜, 발생하는 빛의 세기를 전기적으로 측정하였다. 우선, 전극 형태는 가장 효율이 좋은 직사각형과 교차형을 선택하였으며, 전극 면적과 전극간의 거리를 변화시켜 빛의 세기를 측정하였고, 각 전극에 대해서 과산화수소의 농도를 변화시켜 빛의 세기를 측정하였다.

2. 실험 및 고찰

2.1 전극 설계 및 제작

전극 구조에 따른 특성, 전극간의 거리와 면적에 따른 특성을 조사하기 위해서 두 개의 구조로 설계하였다. 전극구조에 따른 특성의 경우 그림 2에서의 점선영역(3mm × 2.8mm) 내부에 직사각형(rectangular type)과 교차형(interdigitated type)의 두 가지 전극을 설계하였다. 그리고 그림 2(a)의 직사각형의 전극 구조를 이용해 전극간 거리 D<sub>1</sub>을 변화시킨 형태의 전극을 설계하였다.



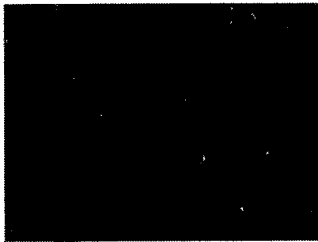
(a) 직사각형 전극 (b) 교차형 전극  
그림 2 설계된 전극의 형태

그림 2(a)의 경우 한쪽 전극 면적을 6mm로 고정하여 전극간의 거리를 100~400 $\mu$ m로 변화하여 전극을 설계했으며, 그림 2(b)의 경우 전극부분의 면적을 3mm로 고정하여 전극간의 거리를 40~100 $\mu$ m로 변화하여 전극을 설계하였다. 설계한 패턴을 lift-off공정을 적용하여 전극 패턴을 형성하였다. 전극제작용 기판으로 2mm두께의 soda-lime glass를 사용하였다.

100 $\times$ 100mm<sup>2</sup>의 크기의 유리기판은 RCA공정을 이용해 세척한 후 기판 표면의 탈수소화공정을 수행하기 위해 150 $^{\circ}$ C의 bake oven 안에서 1시간 동안 건조 공정이 이루어진다. 건조 공정이 완료된 기판은 먼저 유리기판에 photolithography 공정으로 포토레지스터(photoresist:PR)회생층을 형성시킨 후 RF sputter를 이용하여 금속박막 전극을 형성했다. 진공챔버 내의 기판 온도를 100 $^{\circ}$ C로 유지시킨 후 Pt(4,000 A)/Ti(200 A)를 증착하였다. 증착된 기판을 PR stripper를 이용해 60 $^{\circ}$ C에서 1시간동안 lift-off공정을 수행하여 전극패턴을 제작하였다. 본 실험에서 설계, 제작된 전극은 다음 그림 3과 같다.



(a) 직사각형 전극



(b) 교차형 전극

그림 3 Lift-off공정에 의해 제작된 Pt박막전극

## 2.2 포토다이오드를 이용한 ECL 측정

ECL검출을 위해 사용된 포토다이오드는 Kodenshi Co.의 SP-45ML(peak wavelength:900nm)를 사용하였으며, 전극 위에 주입된 luminol(Sigma-Adrich Co.)은 pH10, 0.2M의 carbonate buffer solution으로 희석시켜 2mM의 luminol 용액을 만들었다. 또한, ECL 효율을 높이기 위해 luminol의 활성도가 가장 높은 pH10을 유지하였다.

그림 4는 ECL측정을 위한 포토다이오드와 측정상치의 구성도이다. 그림 3과 같이 제작된 전극에 power supply를 연결하였으며, 포토다이오드의 출력 전류를 pA범위까지 측정하기 위해 potentiostat(EG&G Co., 263A)을 이용해 전류를 측정하였다. 그림 4와 같이 구성된 측정 시스템을 이용하였으며 luminol 용액을 주입하기 위해 마이크로채널에서 사용되는 PDMS(polydimethylsiloxane)계열의 물질을 이용해 5mm 지름의 원형 well을 제작하였다.

그림 4의 ECL 측정 시스템을 이용해 luminol과 과

산화수소의 농도에 따라 0.5mM, 1mM, 2mM, 4mM, 6mM, 8mM, 10mM을 사용하여 측정하였다. 과산화수소는 각 농도에 따라 매회 20 $\mu$ l씩 주입하여 각각의 전극에 따라 전류특성을 관찰하였다.

우선, 전극 구조에 따른 특성을 비교하기 위해 그림 2(a)와 2(b)의 직사각형과 교차형의 제작된 전극을 이용해 ECL 특성을 측정하였다.

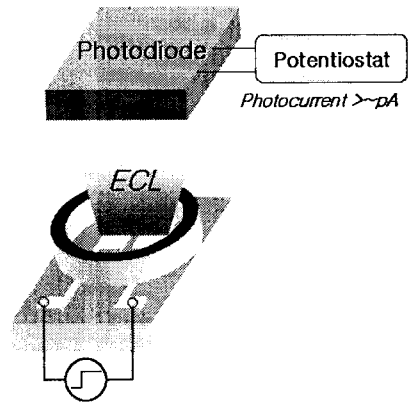
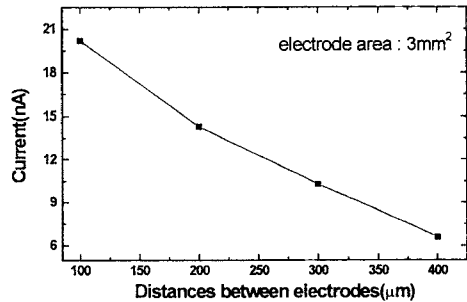
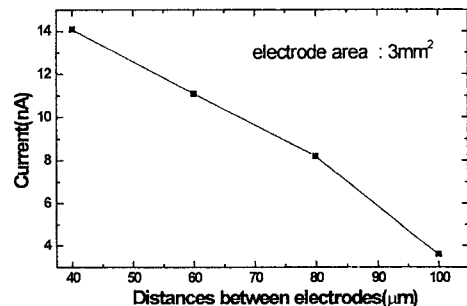


그림 4 포토다이오드를 이용한 ECL 측정 시스템

그림 5는 전극 구조에 따른 ECL 광 전류특성으로 한쪽 전극면적이 3mm<sup>2</sup>이며, 그림 5(a)는 전극간의 거리가 100~400 $\mu$ m인 직사각형 구조의 전극이며, 그림 5(b)는 전극간의 거리가 40~100 $\mu$ m인 교차형 구조의 전극에 대한 전류를 검출한 것이다. 두 그래프를 비교했을 때, 전극간의 거리가 100 $\mu$ m의 경우 직사각형의 전극 형태의 단위면적 당 전류 값이 7.03nA/mm<sup>2</sup>인데 비해 교차형 전극은 1.2nA/mm<sup>2</sup>의 특성을 나타내었다.



(a) 직사각형 전극



(b) 교차형 전극

그림 5 전극구조에 따른 ECL 특성

그림 6은 그림 5(a)의 직사각형 구조의 전극간의 거리 변화에 따른 광 전류특성 곡선이다. 전극간의 거리를 200 $\mu\text{m}$ 로 고정하고 전극 면적을 증가시켜 ECL 특성을 측정하였다. 그림 6에서 볼 수 있듯이 전극 면적이 증가함에 따라 전류가 선형적인 증가 특성을 나타내었다.

그림 7은 직사각형 전극에서 면적에 따라 과산화수소 수 농도 변화에 따른 ECL 특성에 광 전류특성을 나타낸다. 일정량의 용액 주입 시 발생하는 ECL의 경우 전극면적이 넓어짐에 따라 전극에 의한 촉매반응이 보다 활발히 일어나므로 보다 빨리 포화(saturation)영역에 도달하는 것을 알 수 있었으며, 전극면적이 작아짐에 따라 순간적으로 발생되어지는 빛의 세기는 약하지만 전극면적이 넓을 때에 비해 보다 더 일정 세기의 빛을 지속적으로 유지하는 특성을 나타내었다.

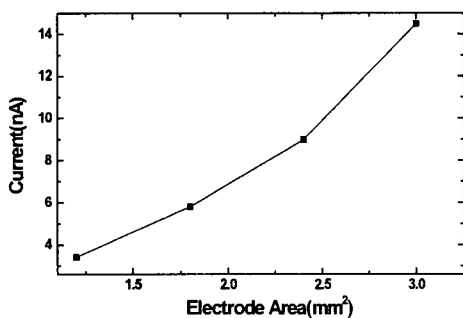


그림 6 전극 면적에 따른 ECL 특성

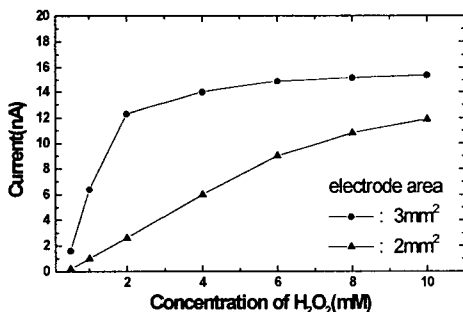


그림 7 과산화수소 농도변화에 따른 ECL 특성

### 3. 결 론

본 논문에서 혈당, 콜레스테롤센서에 적용되는 과산화수소 검출방식인 ECL 특성을 과산화수소의 농도와 전극의 형태 및 면적 변화에 따른 빛의 세기의 변화를 포토다이오드의 출력 전류로 측정하였다.

전극간의 거리를 100 $\mu\text{m}$ 로 유지시킨 후, 전극 형태에 따른 단위면적 당 전류는 직사각형의 전극일 때 7.03nA/mm이며, 교차형 전극은 1.2nA/mm으로 나타났다. 그러므로, 전류가 교차형 전극보다 직사각형 전극이 약 5.8배의 많은 전류가 흐르므로, 직사각형 전극간의 거리를 200 $\mu\text{m}$ 로 고정하고 전극 면적의 증가에 따른 전류출력 특성을 살펴보았다. 또한, 직사각형 전극의 면적에 따라 과산화수소수 농도 변화에 따른 ECL 특성을 측정하였다.

향후, 동일 전극 면적에서 최대 출력 전류를 얻기 위해 최적의 과산화수소의 농도와 전극간의 거리에 대한 조건을 확립할 예정이다.

#### 감사의 글

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

#### [참 고 문 헌]

- [1] Karsten, A., *et al.*, "Recent applications of electrogenerated chemiluminescence in chemical analysis", *Talanta*, Vol.54, pp.531-559, 2001.
- [2] John, G. B., "Chemi-and Bioluminescence", MARCEL DEKKER, INC. pp.263, 1985.
- [3] Milton, J. C., *et al.*, "An Investigation of the Mechanism of the Luminescent Peroxidation of Luminol by Stopped Flow Techniques", *Biological Chemistry*, Vol.243, No.18, pp.4706-4714, 1968.
- [4] Leca, B. D., *et al.*, "Screen-printed electrodes as disposable or reusable optical device for luminol electrochemiluminescence", *Sensors and Actuators B*, Vol.74, pp.190-193, 2001.
- [5] S. Sakura, "Electrochemiluminescence of hydrogen peroxide-luminol at a carbon electrode", *Anal. Chim. Acta* 262 (1992) 49.