

요소측정용 바이오센서를 위한 Cu-doped PPy electrode의 제작

양 정훈, 진 준형, 송 민정, 윤 동화, 민 남기, 홍 석인  
고려대학교

Fabrication of Cu-doped PPy electrode for urea sensor

Jung-Hoon Yang, Joon-Hyung Jin, Min Jung Song, Dong-Hwa Yoon, Nam-Ki Min, Suk-In Hong  
Korea University

**Abstract** - 신장병의 조기진단을 위해서 체내의 요소 농도의 정확한 측정은 매우 중요하며, 이러한 이유에서 많은 연구자들은 보다 빠르고 정확한 체내의 요소농도 측정을 위한 바이오센서를 개발 중이다. 본 논문은 반도체 공정을 이용하여 산화막(4,000Å)이 성장된 p-형 실리콘 웨이퍼를 사용하였다. RF sputter를 사용하여 티타늄과 백금을 증착한 백금 박막전극을 제작하였다. 그 위에 전도성 고분자인 Polypyrrole(PPy)과 전도도를 증가시키기 위하여 구리를 도펀트로 사용, scan rate 40mV/S, 0.8~-0.8V 전위영역에서 산화적 전기 중합법(anodical electropolymerization)을 이용하여 전극을 형성하였다. 요소를 2개의 암모늄 이온과 1개의 탄산 이온으로의 가수분해반응을 촉매하는 효소로서 유레이즈(urease)를 전기적 흡착방법을 이용하여 고정화하고 이에 요소농도의 변화에 대하여 시간대 전류법(chronoamperometry;CA)을 사용하여 감도를 측정하였다. 최적화된 조건하에서, 요소농도에 비례하여 Cu-doped PPy electrode로부터 얻어진 확산한계전류는 4.5µA/decade의 기울기를 나타내었다. 전극의 표면은 SEM(Scanning Electron Microscopy)과 EDX(Energy Dispersive X-Ray Spectrometer)를 이용하여 분석하였다.

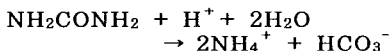
1. 서 론

바이오멤스(Bio-MEMS)는 마이크로 칩[1,2], 마이크로어레이[3,4], 바이오 칩[5~7]과 같은 다양한 응용 영역을 가지고 있다. 따라서 바이오멤스에 기본이 되는 바이오센서 또한 하나의 중요한 과제가 된다. 바이오센서는 실리콘 웨이퍼 위에 박막전극을 제작, 효소를 고정화함으로써 제작이 용이하며, 저비용등의 장점이 있다. 또한, 생체 신호를 전기적 신호로 빠르게 전환하기 때문에 응답에 대하여 보다 정확하고 안정하다.

전도성 고분자로서 PPy를 사용하고 범위 0~0.8V에서 산화적 전기 중합법을 이용하여 백금 박막전극에 고분자를 합성하였다. 그러나, 일반적으로 전도성 고분자의 경우 금속에 비하여 전도도가 떨어지므로 그 감도를 높이기 위하여 도펀트로 구리를 사용하였다. 구리는 용액내에서 전기적 흡착에 의해 PPy와 같이 중합하였다.

요소는 신장병진단을 위한 지표물질이다. 따라서 신장병의 조기진단을 위하여 많은 연구자들에 의해 보다 빠르고 감도가 정확한 요소센서가 개발되고 있다.

요소는 다음 반응식과 같이 가수분해 반응에 의해 2개의 암모늄 이온과 1개의 탄산이온으로 분해되며 이러한 반응을 촉진하는 효소로서 유레이제가 사용된다.



반응이 진행됨에 따라 pH의 증가에 따른 전극전위의 감소에 의하여 요소 농도에 따른 전극 전위변화를 감지

하는 potentiometric 요소센서에 대한 많은 연구가 있었다[8-10].

그러나, 본 논문에서는 일정한 전위하에서 전극계면에서 고정화된 효소에 의한 이온의 증가로 전류가 증가함을 이용하여 유레아 농도에 따른 확산한계전류를 측정하는 CA법을 사용하였다. 이것은 가역적 또는 비가역적에 관계없이 확산한계전류가 벌크농도에 비례하는 Cottrell 식으로부터 감도를 측정하였다.

2. 실험 및 고찰

2.1 센서 전극의 제작

본 논문의 센서전극은 면(100), 비저항 1~10Ωcm 인 p-형 실리콘 웨이퍼를 사용하였으며, 산화막과 백금(1,000Å) 사이의 부착력을 높이기 위하여 티타늄(200Å)을 증착하여 박막공정을 통해 작업전극을 제작하였다. 이 전극을 작업 전극으로 사용하고 백금 wire를 상대전극, SCE를 기준전극으로 하는 3전극 시스템에서 전도성 고분자인 pyrrole을 중합하였다.

용매로써 2차중류수를 사용하였고 전해질은 KNO<sub>3</sub> 0.1M, CuSO<sub>4</sub> 0.1M 그리고 PPy 0.2M의 시료용액을 사용하여 5분간 질소가스로 bubbling을 한 후 cyclic voltammetry(CV)법을 이용, 전위범위 -0.8~0.8V에서 고분자를 전기중합하였다.

일반적으로 CV법은 고분자 중합에 가장 보편적인 방법으로 scan rate과 cycle 수를 조절하여 고분자의 두께를 조절할 수 있는 장점이 있다. Scan rate은 40mV/s, cycle 수는 30회로 하였다(그림 1).

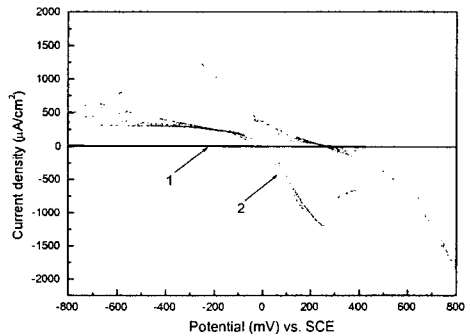


그림 1 백금박막전극을 이용한 수용액상에서의 PPy cyclic voltammogram  
(1) 전해질 0.1M KNO<sub>3</sub>  
(2) 전해질 0.1M KNO<sub>3</sub>, 0.1M CuSO<sub>4</sub>, 0.2M Pyrrole

## 2.2 효소의 고정화

Cu-doped PPy 전극위에 CA법을 이용하여 유레아제를 고정화하였다. 유레아제의 Isoelectric point(Ip)를 고려하여 pH 7.4에서 전극 계면에 0.6V를 인가하고 이에 900초 동안 효소를 공유결합시켰다 (그림 2).

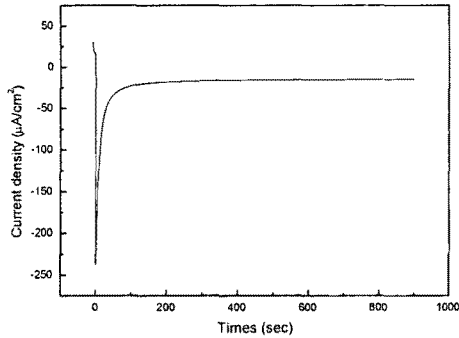


그림 2 1mM Phosphate buffer 용액(pH7.4)에서의 효소 고정화를 위한 chronoamperogram

## 2.3 전극의 표면 분석

그림 3은 Cu-doped PPy 전극에 대한 개요도이다. 산화막이 형성된 실리콘 웨이퍼 위에 부착력을 높이기 위하여 티타늄을 증착하고 이에 백금 박막전극을 형성하였다. 그 위에 CV법을 이용하여 구리와 PPy를 전기중합하고 효소를 고정화하여 전극을 제작하였다.

그림 4는 Cu-doped PPy 전극 표면의 SEM 사진이다. 일반적으로 PPy의 경우 다공질 형태의 표면을 가지나 구리를 도우핑한 경우 이러한 다공질 사이에 구리가 잘 흡착이 되어 있음을 알 수 있다. 또한, 용액속에서 PPy의 경우 4개의 단량체당 하나의 +전하를 가지고 구리 또한 +전하를 띄고 있기 때문에 CV법을 통하여 층을 형성하지 않고 고르게 분산되고 있음을 알 수 있다.

그림 5의 경우 SEM과 함께 분석한 EDX 결과이다. 성분 분석결과 Si, Pt, C, Cu 순으로 함유량이 분석되었으며, 이러한 EDX 결과를 기초로 하여 구리의 고착되어진 형태와 구리의 함유량을 확인할 수 있다.

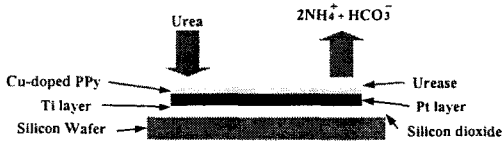


그림 3 Cu-doped PPy 전극의 개요도

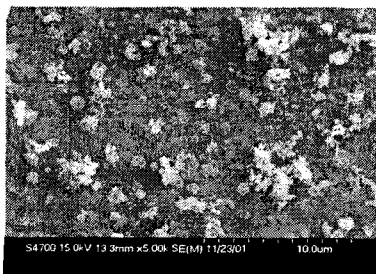


그림 4 백금 전극위에 구리와 PPy가 중합된 전극의 SEM 사진

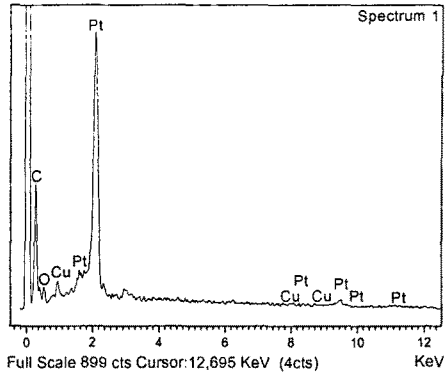


그림 5 구리가 중합된 PPy 전극의 EDX 분석

## 2.4 전극의 감도 측정

그림 6은 CA법에 의한 요소농도에 따른 센서전극의 감도를 나타낸 그래프이다. 요소농도 증가에 따라 확산한계전류도 증가함을 알 수 있다.

그림 7은 CA에 의한 감도를 보정곡선으로 나타낸 것이다. 이는 유레이즈의 존재 유무에 따른 감도의 특성을 알 수 있으며 또한, 요소농도에 따라 확산한계전류가 일정하게 증가함을 알 수 있다. 요소농도  $1 \times 10^{-3} \sim 10$  mM의 범위에서 감도는  $4.5 \mu\text{A}/\text{decade}$ 로 측정되었다.

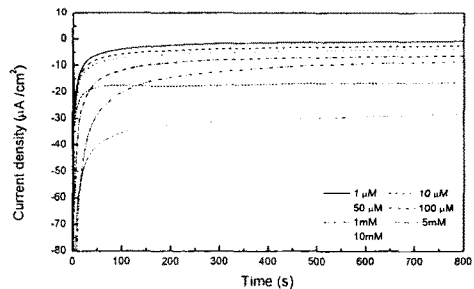


그림 6 CA에 의한 유레아 농도에 따른 전극의 감도 측정

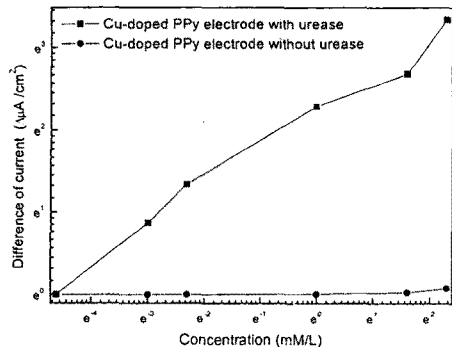


그림 7 CA법에 의한 감도의 보정곡선

## 3. 결론

전도성 고분자인 PPy의 전도도를 증가시키기 위하여 구리를 도펀트로 하고 이를 CV법에 의하여 중합, 그 위

에 유래이츠를 고정화함으로써 전극을 제작하였다. 이를 전기화학적 측정방법중의 하나인 CA법을 사용하여 요소 농도에 따른 전극의 감도를 측정하였다. 요소농도범위  $1 \times 10^{-3} \sim 10\text{mM}$ 의 영역에서 감도는  $4.5 \mu\text{A/decade}$ 를 나타내었고 전극의 표면은 SEM과 EDX로 분석하였다. 전도성 고분자에 비하여 감도는 두 배의 차이를 나타내었으며 좀더 안정한 전이금속에 대하여 더 많은 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 단독기초연구 (과제번호: 01-PJ1-PG3-31400-0083) 지원으로 수행되었음.

(참 고 문 헌)

- [1] Alarie J.P., Jacobson S.C., Culbertson C.T., and Ramsey J.M. 2000. Effects of the electric field distribution on microchip valving performance. *Electrophoresis* ,21, 100.
- [2] Hadd A.G., Paymond D.E., Halliwell J.W., Jacobson S.C., and Ramsey J.M., 1997, Microchip Device for Performing Enzyme Assays. *Anal Chem*, 69, 3407.
- [3] Arenkov P, Kukhtin A, Gemmell A, Voloshchuk S, Chu-peevea V, and Mirzabekov. 2000, Protein microchips: use for immunoassay and enzymatic reactions. *Anal Biochem*. 278, 123.
- [4] Ekins R, and Chu F.W., 1991, Multianalyte microspot immunoassay--microanalytical "compact disk" of the future. *Clin Chem*, 37, 1955.
- [5] Gilles P.N., Wu D.J., Foster C.B., Dillon P.J., and Chanock S.J., 1999, Single nucleotide polymorphic discrimination by an electronic dot blot assay on semiconductor microchips. *Nat Biotechnol*.17, 365.
- [6] Livache T, Fouque B, Roget A, Marchand J, Bidan G, and Teoule R, et al. 1998, Polypyrrole DNA chip on a silicon device: example of hepatitis C virus genotyping. *Anal Biochem*. 255, 188.
- [7] Westin L, Xu X, Miller C, Wang L, Edman C.F., and Nerenberg M. 2000. Anchored multiplex amplification on a microelectronic chip array. *Nat Biotechnol*. 18, 199.
- [8] Martorell D., Martinez-Fabregas E., Martorell D. and Valdes-Perezgasga F., 1993. urea potentiometric biosensor based on all-solid-state technology Sensor and actuators. B15-16, 448.
- [9] Saad S. M. Hassan, Ramadan M. El-Bahnasawy and Nashwa M. Rizk. 1997. Potentiometric determination of salicylhydroxamic acid (urinary struvite stone inhibitor) based on the inhibition of urease activity. *Anal. Chim. Acta*. 351. 91.
- [10] Alegret S., Bartroli J., Jimenez C., Martinez-Fabregas E., Martorell D. and Valdes-Perezgasga F., 1993. ISFET-based urea biosensor Sensors and Actuators . B15-16. 453.