

사진식각기술을 이용한 FET형 반도체 요소 및 포도당센서의 제조와 그 특성*

趙炳郁*, 金昶秀**, 徐華一**, 孫炳基***

Fabrication and Characteristics of FET Type Semiconductor Urea and Glucose Sensor Employing Photolithography Techniques

Byung Woog Cho, Chang Soo Kim, Hwa Il Seo, and Byung Ki Sohn

요 약

반도체 pH 센서인 pH-ISFET와 효소고정화막을 기술적으로 결합한 FET형 반도체 요소 및 포도당센서를 제조하고 그 동작특성을 조사하였다. 사진식각기술을 이용하여 pH-ISFET의 수소이온 감지막 위에 urease와 glucose oxidase를 감광성 고분자 물질인 PVA(polyvinyl alcohol)-SbQ(stilbazolium group)로 고정화(immobilization)시켰다. 제조된 요소센서와 포도당센서는 각각 0.5~50 mg/dl 범위의 요소농도와 10~1000 mg/dl의 포도당 농도를 정량할 수 있었다.

Abstract

pH-ISFETs, the semiconductor pH sensors, were combined with immobilized enzyme membranes to prepare FET type urea and glucose sensors and its operational characteristics were investigated. Photolithography techniques were applied to immobilize enzymes on the H⁺ sensing membrane of the pH-ISFET with photo-sensitive polymers, PVA-SbQ. Fabricated urea and glucose sensors could determine 0.5~50 mg/dl urea concentrations and 10~1000 mg/dl glucose concentrations, respectively.

I. 서 론

바이오센서^[1]는 의료진단, 환경과학, 생화학 등의 분야에서 광범위하게 사용되고 있으며, 최근 건강에 대한 관심이 점차 고조되면서 의료진단 분야에서 그 중요성은 더해가고 있다.

지금까지 여러가지의 생체 관련물질을 측정하기 위하여 ISE(ion-selective electrode),^[2] 가스감지전극^[3] 및 분광광도법^[1]을 이용한 바이오센서들이 주로 연구개발되어 왔다. 이중 일부는 현재 의료진단이나 화학공정 등에 사용되고 있으나 장비가 고가이며 부피가 클 뿐만 아니라 분석시간이 길고 사용하기 까다로운 것 등 여러가지 문제점이 있다. 또한 복잡한 생화학 공정의 모니터링이나 환경공학적인 감시 및 제어 등에 있어서 측정환경에 영향을 주지 않을 만큼 충분히 작으며 분석시간이 빠른 센서를 필요로 하고 있다. 이에 부응하여 기존 바이오센서들의 난점을 극복할 수 있는 새로운 형태의 센서들이 연구되고 있으나, 그 중에서 FET형 반도체 바이오센서^[4,5]가 큰 주목을 받고 있다.

FET형 반도체 바이오센서는 구조상으로 변환기

* 學生會員：慶北大學校 電子工學科
(Dept. of Electronics, Kyungpook Nat'l Univ.)

** 正會員：慶北大學校 센서기술연구소
(Sensor Technology Research Center, Kyungpook Nat'l Univ.)

*** 正會員：慶北大學校 電子工學科
(Dept. of Electronics, Kyungpook Nat'l Univ.)

※ 본 연구는 1991년도 센서기술연구소의 연구비 지원으로 수행되었음.

〈접수일자：1992년 7월 4일〉

(transducer)와 생체관련물질에 직접 반응하는 생체 기능성막(receptor)으로 이루어져 있다. FET형 반도체 바이오센서는 집적회로 공정 기술을 활용하여 제조되므로 소형화, 규격화 및 양산화가 가능할 뿐만 아니라 현장·현시적 모니터링에 유리하며, 측정회로를 함께 집적시킨 스마트센서 및 여러가지의 생체관련물질을 동시에 측정하기 위한 다기능 센서에 매우 적합한 형태이다.

본 논문에서는 ISFET와 생체기능성막인 효소고정화막(immobilized enzyme membrane)을 기술적으로 결합한 FET형 반도체 요소 및 포도당센서를 제조하였다. 현재까지 glutaraldehyde를 사용한 화학적 가교화 방법^[6]으로 수작업에 의해 제조하던 효소고정화막을 집적회로 공정기술 중의 하나인 사진식각기술을 응용하여 형성시킴으로써 그 규격화를 시도하였다. 요소는 단백질의 분해과정 중에 생기는 부산물로서 혈중의 요소농도는 신장(kidney) 기능의 지표가 되며, 포도당은 생체의 조직과 근육에 에너지를 공급하는 산진대사의 열원으로 의료분야에서 그 정량은 매우 중요한 일이다.^[7] 요소를 선택적으로 분해하는 효소인 urease와 포도당을 선택적으로 분해하는 효소인 glucose oxidase를 감광성 고분자 PVA-SbQ^[8]와 혼합하여, pH-ISFET의 수소이온 감지막인 Si₃N₄ 위에 사진식각기술을 이용하여 고정화하고 그 동작특성을 조사하였다.

II. 실험

1. ISFET 칩의 제조

일반적인 NMOS 제조공정을 기초로 하여 저항률이 6~9Ω·cm인 p형 실리콘 웨이퍼(100)를 사용하여 ISFET 칩을 제조하였다. 웨이퍼를 표준세척한 다음 1000℃에서 TCE(trichloroethylene)산화법으로 약 500Å의 산화막을 성장시킨 후, 110 keV의 에너지로 가속시킨 붕소이온을 1.5×10¹²cm⁻²양으로 주입시키고, 다시 925℃에서 습식산화법으로 약 5000Å의 산화막을 성장시켰다. 소오스와 드레인 창을 열고 900℃에서 2분간 POCl₃을 이용하여 인을 predeposition하고 925℃에서 50분간 drive-in시켰다. 이 때의 접합 깊이는 0.89 μm였다. 게이트 부분을 뚫은 후 1000℃에서 N₂:O₂:TCE=100:3:1의 분위기에서 약 60분간 열처리하였다. 여기서 TCE는 산화막중의 이동성 이온인 Na⁺

등을 제거하는 역할을 한다. 이 위에 Si₃N₄막을 800℃에서 LPCVD(low pressure chemical vapor deposition)로 약 700Å 정도 성장시켜서 수소이온의 감지막으로 이용하였다. 전극형성을 위한 접촉부분을 뚫기 위해 Si₃N₄막을 플라즈마 식각한 뒤, 남은 산화막은 6:1 BHF(6 H₂O:1 buffered HF)로 식각하였다. 그리고 알루미늄 전극을 스퍼터링법으로 형성하고 450℃에서 30분간 열처리함으로써 웨이퍼 공정을 마쳤다.

2. 효소고정화막의 형성

그림 1은 사진식각기술을 이용한 효소고정화막의 형성과정을 나타낸 것이다.

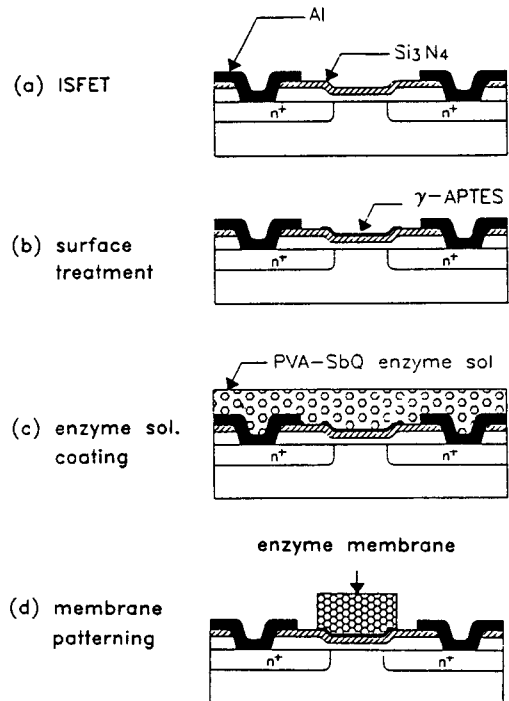


그림 1. 사진식각기술을 이용한 효소고정화막의 형성과정

Fig. 1. Immobilization of the enzyme membrane employing photolithography techniques.

ISFET의 pH에 대한 감도를 증대시키기 위하여 Si₃N₄ 표면을 50:1 HF 용액으로 1분동안 표면처리하였다.^[9] 또한 형성시킬 효소고정화막과의 부착성을 증대시키기 위하여 γ-APTES(γ-aminopropyltriethoxysilane) 용액에 15분간 담구었다. 합성생리수 (pH 7.4, 9.5 mM 인산완충용액, 이온강도 0.165)로 10% BSA

(bovine serum albumin) 용액을 제조하고, 이 용액에 효소(요소센서의 경우 urease, 포도당센서의 경우 glucose oxidase)와 감광성 고분자인 PVA-SbQ를 혼합하였다. 이 혼합용액을 ISFET의 Si_3N_4 막위에 회전도 포하여 5시간이상 진공 건조시킨 후, 자외선으로 광가교화반응을 시켰다. ISFET의 게이트 영역을 제외한 나머지 부분에 있는 효소를 제거하기 위하여 증류수로 현상하였다.

효소고정화막이 형성된 센서를 알루미늄 판 위에 장착하고 전기적 결선을 하였다. ISFET의 게이트 영역을 제외한 나머지 부분을 용액으로부터 절연시키기 위하여 실리콘 고무로 엔캡슐레이션(encapsulation)하였다.

Flow system에 적용하여 측정할 수 있는 센서 프로브를 제작하기 위하여 센서를 원형 테이퍼(taper) 형태의 플라스틱 팁에 삽입하여 에폭시로 고정시켰다. 완성된 센서를 합성생리수에 담구어 4°C 냉장고에 보관하였다.

3. 측정방법

모든 측정은 flow system을 이용하였으며, 용액의 온도는 항온조를 이용하여 인체와 같은 온도인 36°C로 유지하였다. 측정에 사용한 용액은 인체의 혈액과 유사한 장력을 가지는 합성생리수이며, 각 농도의 요소 및 포도당 표준용액은 이 용액을 사용하여 제조하였다. 센서를 측정장치에 장착시킨 후 각 농도의 표준용액과 합성생리수를 연동펌프(peristaltic pump)를 사용하여 교대로 흘려보내어 출력전압의 변화를 디지털 전압계와 Y-t recorder로 측정하였다. 하나의 표준용액을 측정 후 합성생리수를 가하여 소자의

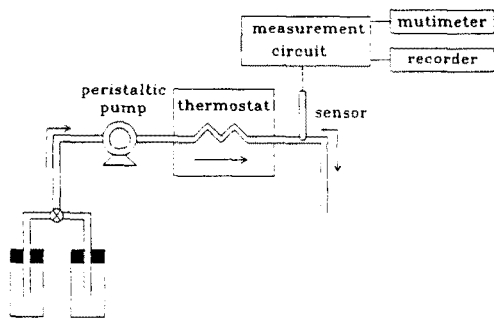


그림 2. 측정장치의 개략도

Fig. 2. Schematic diagram of the measurement set.

출력이 원래의 전압으로 회복되면, 다른 농도의 표준용액을 흘리는 방법으로 측정하였다. 기준전극으로는 Ag/AgCl전극을 제작하여 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

그림 3은 pH 7 용액 내에서 기준전극의 전위 V_r 에 따른 ISFET칩의 전류-전압 특성을 조사한 것으로서 일반적인 MISFET와 같은 형태의 전류-전압 특성을 나타내고 있다.

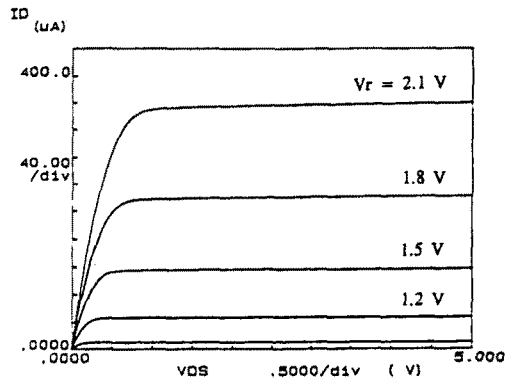


그림 3. pH 7 용액 내에서 ISFET의 전류-전압 특성

Fig. 3. $I_{DS}-V_{DS}$ characteristics of the ISFET in pH 7 solution.

ISFET칩의 크기는 $400 \times 1400 \mu m^2$ 이고 게이트는 $20 \times 300 \mu m^2$ 이다. 그림 4는 제조된 ISFET 칩의 게이트 영역에 사진식각기술을 이용하여 효소고정화막을 형성시킨 사진이다. 효소고정화막의 면적은 $140 \times 440 \mu m^2$ 로 설계하였다. 막의 두께는 센서의 응답시간에 큰 영향을 미치므로 빠른 응답을 얻기 위해서는 가능한 얇게 형성하는 것이 좋으나, 너무 얇을 경우 장기 안정성이 문제가 되므로 이를 고려하여야 한다. 본 실험에서는 감광성 고분자인 PVA-SbQ와 효소, 합성생리수의 양을 조절하여 약 $1 \mu m$ 두께의 효소고정화막을 얻을 수 있었다. 그림 5는 효소고정화막의 두께를 α -step으로 측정된 것이다.

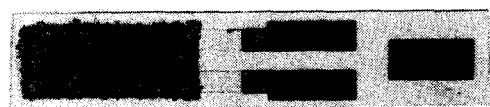


그림 4. ISFET 칩위에 형성된 효소고정화막의 사진
Fig. 4. Photograph of the immobilized enzyme membrane formed on the ISFET chip.

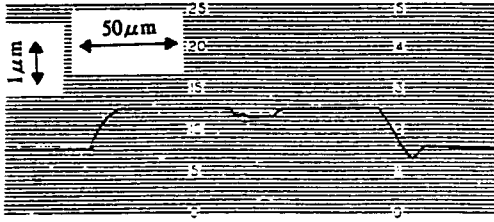


그림 5. α -step으로 측정된 효소고정화막의 두께
Fig. 5. Thickness of the immobilized enzyme membrane by α -step measurements.

일반적으로 효소고정화막과 ISFET의 Si_3N_4 표면과의 부착성을 증가시키기 위하여 γ -APTES 수용액으로 Si_3N_4 의 표면을 silanization 시키는 방법이 주로 사용되어 왔다.^[4,6] 효소고정화막과 Si_3N_4 표면과의 부착성을 조사하기 위하여, 1% γ -APTES 수용액으로 처리한 Si_3N_4 표면과 처리하지 않은 표면에 각각 50개의 효소고정화막을 형성시켜서 초음파 진동을 가한 후 남아 있는 효소고정화막의 수를 조사하였다. 그 결과 그림 6과 같이 γ -APTES로 처리한 표면에서의 부착성이 처리하지 않은 경우보다 현저히 향상됨을 알 수 있었다.

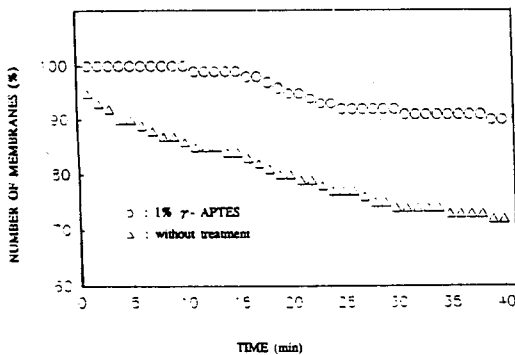


그림 6. 효소고정화막과 Si_3N_4 표면과의 부착성
Fig. 6. Adhesion between the enzyme membrane and Si_3N_4 surface.

그림 7은 2 mg/dl와 10 mg/dl의 요소농도에 대한 요소센서의 시간응답을 보인 것이다. 감응시간은 요소농도에 따라서 조금씩 차이를 보이나, 약 30초에서 1분으로 현시적 측정이 가능할 정도로 빠르게 나타났다. 마찬가지로 그림 8은 10 mg/dl와 50 mg/dl의 포도당 농도에 대한 포도당센서의 시간응답이다. 감응이 포화치에 도달하기까지는 농도에 따라서 다르나 5분 이상이 필요하므로 알 수 있다. 이 응답속도는 glucose oxidase 고정화막의 두께와 막 속에 고정화된

glucose oxidase의 농도, ISFET 자체의 pH 응답특성 및 반응으로 생성된 gluconic acid의 해리상수(dissociation constant)에 의존한다. 반응속도가 느린 이유는 다른 물질에 비해 반응부산물인 gluconic acid의 해리상수가 작기 때문인 것으로 알려져 있다.^[10]

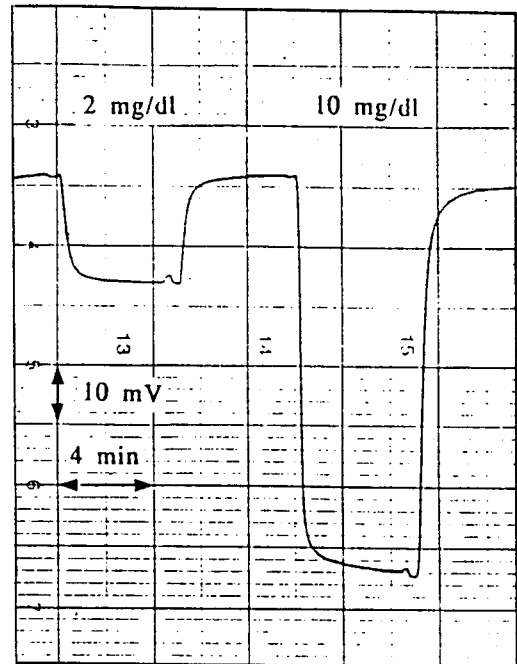
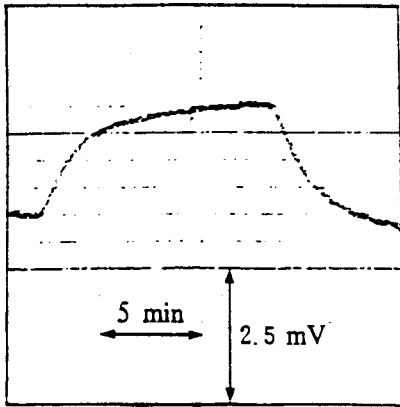
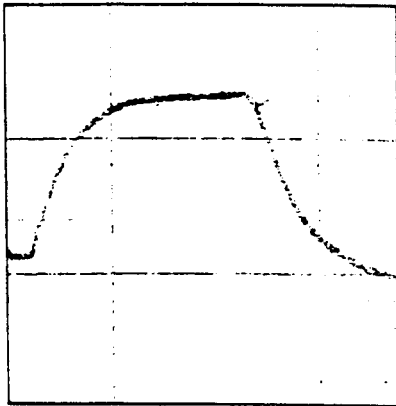


그림 7. 요소센서의 응답시간
(a) 2 mg/dl (b) 10 mg/dl
Fig. 7. Time responses of the urea sensor.
(a) 2 mg/dl (b) 10 mg/dl

그림 9와 그림 10은 각각 요소센서와 포도당센서의 표준용액에 대한 검정곡선이다. 요소의 경우 정량범위는 약 0.5~50 mg/dl이었다. 혈중 요소의 정상치가 8~15 mg/dl 정도이며 신장기능 장애등의 경우가 50 mg/dl 이상^[7]인 것을 고려하면 고농도 부분으로 직선영역이 더 확장될 필요성이 있다. 포도당의 경우는 10~1000 mg/dl까지의 넓은 범위에서 좋은 선형성을 보이고 있다. 혈당 정상치는 80~120 mg/dl^[7]이므로 제작된 센서는 충분히 넓은 정량범위를 가짐을 알 수 있다.



(a) 10 mg/dl



(b) 50 mg/dl

그림 8. 포도당센서의 시간응답

(a) 10 mg/dl (b) 50 mg/dl

Fig. 8. Time responses of the glucose sensor.

(a) 10 mg/dl (b) 50 mg/dl

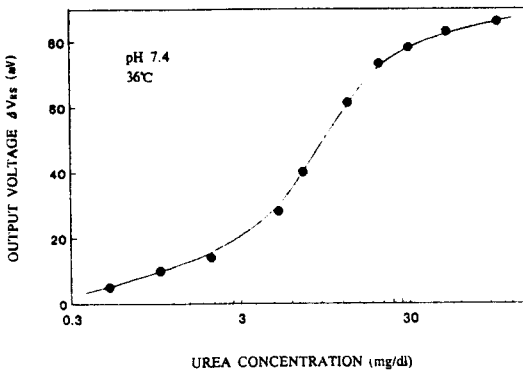


그림 9. 여러 농도에 대한 요소센서의 출력

Fig. 9. Urea sensor output to various concentrations.

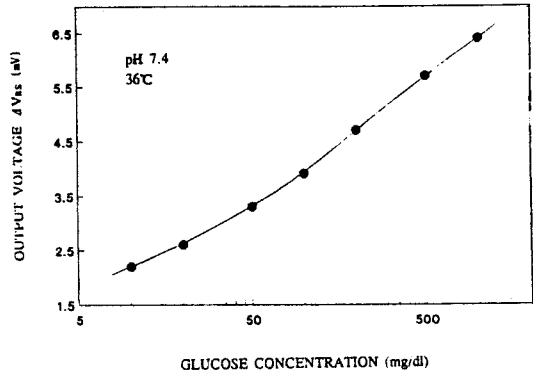


그림 10. 여러 농도에 대한 포도당센서의 출력

Fig. 10. Glucose sensor output to various concentrations.

IV. 결 론

사진식각기술을 이용하여 pH-ISFET의 수소이온 감지막 위에 urease와 glucose oxidase를 감광성 고분자인 PVA-SbQ로 고정화시킴으로써, 반도체 소자와 유기물인 효소고정화막을 기술적으로 결합한 FET형 반도체 요소 및 포도당센서를 제조할 수 있었다.

제작된 센서의 동작 특성을 조사한 결과, 요소센서는 0.5~50 mg/dl 범위의 요소를 정량할 수 있었으며 30초~1분 정도의 빠른 응답특성을 가졌다. 포도당센서의 경우는 10~1000 mg/dl의 넓은 농도 범위에서 좋은 선형성을 보였다. 따라서 감광성 고분자를 사용한 효소고정화막의 사진식각 형성법은 FET형 반도체 바이오센서에 적용이 가능하였으며, 이의 규격화 및 양산화에 적합한 형성법인 것으로 판단된다.

참고 문헌

- [1] A.P.F. Turner, I. Karube, and G.S. Wilson; *Biosensors Fundamentals and Applications*, Oxford Science Pub., Cranfield, preface, 1987.
- [2] G.H. Fricke, "Ion-selective electrodes," *Anal. Chem.*, vol. 52, pp. 259-275, 1980.
- [3] M. Mascini and G.G. Guilbault, "Urease coupled ammonia electrode for urea determination in blood serum," *Anal. Chem.*, vol. 49, pp. 795-798, 1977.
- [4] Y. Hanazato, M. Nakako, and S. Shiono, "Mu-

- liti-Enzyme Electrode Using Hydrogen Ion-Sensitive Field Effect Transistor." *IEEE. Trans. Electron Devices*, vol.ED-33, pp.47-51, 1986.
- [5] S. Caras and J. Janata, "pH-based enzyme potentiometric sensors, part 1~part 3." *Anal. Chem.*, vol.57, pp.1917-1925, 1985.
- [6] 김성진, 권대혁, 이종현, 손병기, "ISFET 및 Pt 기준전극과 차동증폭법을 이용한 요소감지소자 개발." 1988년도 전기·전자공학 학술대회 논문집, pp.356-359, 1988. 7.
- [7] 이귀녕, 김진규, 임상화학, 의학문학사, p.141, 1988.
- [8] K. Ichimura, "A Convenient Photochemical Method to Immobilized Enzymes." *J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed.*, vol.22, pp.2817-2828, 1984.
- [9] 서화일, 권대혁, 이종현, 손병기, "ISFET 이온 감지기구의 Site Binding 모형 확장과 그 Si₃N₄ 수소이온 감지막에의 적용." 전자공학회 논문지, 제25권 제11호, pp.85-93, 1988.
- [10] Y. Miyahara and T. Moriizumi, "Integrated Enzyme FETs for Simultaneous detection of Urea and Glucose." *Sensors and Actuators*, vol.7, pp.1-10, 1985.

著 者 紹 介



趙 炳 郁

1968年 7月 24日生. 1991년 2월 경북대학교 전자공학과 공학사 학위 취득. 1991년 2월 현재 경북대학교 전자공학과 석사과정 재학중. 주관심분야는 반도체 공정, 반도체 센서 등임.



金 昶 秀

1967年 7月 4日生. 1989년 2월 경북대학교 전자공학과 공학사 학위 취득. 1991년 2월 경북대학교 대학원 전자공학과 공학석사 학위 취득. 1991년 3월~현재 센서기술연구소 전임연구원. 주관심분야는 반도체 센서, 생체전자공학 등임.



徐 華 一

1961年 3月 26日生. 1984년 2월 경북대학교 전자공학과 공학사 학위 취득. 1986년 8월 경북대학교 대학원 전자공학과 공학석사 학위 취득. 1991년 2월 동대학원 전자공학과 공학박사 학위 취득. 1988년 9월~1991년 3월 경북대학교 전자공학과 조교. 1991년 3월~현재 센서기술연구소 선임연구원. 주관심분야는 반도체 센서, 반도체 집적회로 공정 및 설계 등임.

孫 炳 基 : 논문 92-10, p.92 참조.