

논문 95-4-4-04

백금전극과 감광성 고분자를 이용한 ISFET 포도당 및 자당센서의 감지성능 개선

조병욱*, 장원덕**, 김창수***, 박이순****, 손병기****

The Improvement of Sensing Performance of ISFET Glucose and Sucrose Sensors by Using Platinum Electrode and Photo-crosslinkable Polymers

Byung-Woog Cho*, Won-Duk Jang**,
Chang-Soo Kim***, Lee-Soon Park****, Byung-Ki Sohn****

요 약

백금작업전극과 광가교화된 효소고정화막을 가진 ISFET 포도당 및 자당센서가 제조되었다. 효소반응의 부산물인 과산화수소수(H_2O_2)는 백금전극표면에서 분해되어 센서의 감지특성을 개선시키고, 광가교화 고분자(PVA-SbQ)가 효소고정화막으로 이용되어 센서의 응답시간을 단축하였다. 그리고 백금전극의 면적변화에 따라 센서의 응답크기는 증가하였다. 센서의 응답시간은 3~5분이었으며, 30~300mg/dl의 포도당 및 자당농도에서 센서의 선형적인 응답을 보였다.

Abstract

The ISFET glucose and sucrose sensors containing platinum electrode and photopolymeric enzyme membrane were fabricated. The platinum working electrode was used for the electrolysis of hydrogen peroxide, which was the other product of the enzyme reaction, to improve sensing characteristics of the sensors. In order to improve response time, photo-crosslinkable polymer(PVA-SbQ) was used to the matrix for the enzyme immobilized membrane. The characteristics of glucose and sucrose sensors were investigated according to the variation of platinum electrode area. The response time was about 3~5 minutes and determinations of glucose and sucrose in the range of about 30~300mg/dl could be possible.

1. 서 론

지금까지 ISFET 포도당 및 자당센서의 실용화에는 여러 가지 문제가 있었다. 일반적인 ISFET 포도당 센서에서는 포도당의 효소반응으로 생긴 gluconic acid가 헤리하르로써 막내부의 pH가 내려가게 되는데, 이를 기본변환기인 pH-ISFET가 전압으로 변환시켜서 포도당의 농도를 결정하게 된다. 그러나, 이러한 센서의 경우에 pH-ISFET의 성능은 우수한 반면, gluconic acid의 헤리상수가 작으므로 센서의 응답시간이 길고,

* 경북대학교 전자공학과
(Dept. of Electronic Eng., Kyungpook National University)

** LG 반도체 설계2실
(Design Dept. 2, LG Semicon Co., Ltd.)

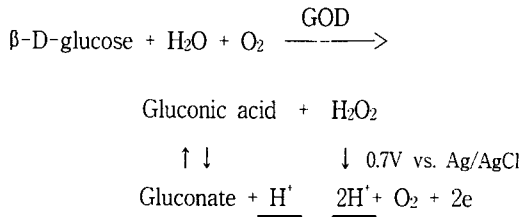
*** 경북대학교 센서기술연구소
(Sensor Technology Research Center, Kyungpook National University)

**** 경북대학교 고분자공학과
(Dept. of Polymer Science, Kyungpook National University)

<접수일자 : 1995년 10월 13일>

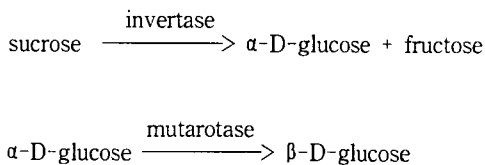
감도가 낮은 단점을 가지고 있다^[1,2].

본 연구에서는 두 가지 방법으로 이러한 문제점을 해결하고자 한다. 감도를 개선키 위해 백금전극^[3]을 도입하였으며, 빠른 응답 특성을 나타내도록 얇은 효소 고정화막을 형성할 수 있는 감광성고분자인 PVA-SbQ^[4]를 이용하였다. 다음은 포도당센서의 감지원리를 나타낸 것이다.



Ag/AgCl 기준전극에 대해 백금작업전극에 과산화수소수의 산화전압(0.7V)이 인가되면, 포도당 효소반응의 부산물인 과산화수소가 전기분해되어 gluconic acid의 해리로 생기는 수소이온 외에 과산화수소 하나당 두개의 수소이온이 부가적으로 발생된다. 이로 인해 ISFET 포도당센서의 감도가 증가될 것이다. 또한 일반적인 포도당센서는 효소반응이 계속 일어남에 따라서 시료내 산소의 농도가 감소되어 효소반응이 제한되나^[5], 과산화수소수의 전기분해를 이용할 경우에 산소 공급이 원활해져 측정범위가 넓어질 것이다.

백금작업전극에서 과산화수소의 전기분해원리는 자당센서에 그대로 적용될 수 있다. 자당은 두가지 효소 즉 invertase와 mutarotase에 의해 분해되어 포도당이 된다. 이후의 모든 분해과정은 포도당센서의 경우와 동일하다. 다음은 자당센서의 감지원리를 보인 것이다.



과산화수소의 전기분해는 백금전극의 표면전체에서 일어나므로 전극면적과 센서의 응답크기는 밀접한 관계를 가진다. 즉 백금전극 면적이 증가할수록 전기분해되는 과산화수소수는 더욱 많아지고, 수소이온의 발생도 증가된다. 이런 수소이온의 증가는 pH-ISFET의 감지 게이트주변의 pH를 더욱 많이 변화시켜 센서의

감도를 증가시키리라 기대된다.

일반적으로 ISFET 포도당 및 자당센서에서 효소 고정화막의 두께는 센서의 응답시간에 상당한 영향을 미친다^[6]. 효소막이 얇을 경우에 포도당 및 포도당의 분해에 의해 생성된 수소이온의 확산시간이 단축되어 센서의 응답속도가 빨라진다. 본 연구에서는 감도를 증가시키기 위해 백금전극을 도입하였을 뿐만 아니라, 센서의 응답시간을 단축시키기 위해 기존의 BSA와 glutaraldehyde를 이용한 화학적 가교화로 효소고정화막을 형성시키는 방법^[6]보다 훨씬 얇고 균일한 막을 형성할 수 있는 감광성고분자인 PVA-SbQ를 이용해 효소를 고정하였다.

II. 실험

포도당 및 자당센서의 기본변환기로 Si₃N₄ 수소이온 감지막을 가진 pH-ISFET를 사용하였다. 수소이온 감지 게이트 주변에 일정한 간격을 두고 백금작업전극을 형성하였다. 백금전극의 부착성을 개선시킬 목적으로 약 300Å의 두께를 가진 티타늄(Ti) 부착층을 형성하고, 그 위에 백금을 스퍼터링법으로 약 1200Å 두께로 형성하였으며, lift-off 방법으로 전극의 크기를 결정하였다. 그리고, 백금전극 면적에 따른 감도 변화를 조사하기 위해 5종의 다른 전극면적을 가진 센서를 제조하였으며, 모든 센서에서 효소고정화막의 면적은 일정하게 고정하였다. 포도당센서의 경우에 0.01M 인산염 완충용액(pH 7.4) 100μl에 GOD 20mg과 PVA-SbQ(10wt%)를 180mg를 첨가하여 효소용액을 제조하였으며, 자당분해를 위한 세가지 효소 invertase 2.857mg, mutarotase 0.9mg 및 GOD 15mg을 써서 포도당센서의 경우와 같은 방법으로 자당센서에 사용할 효소용액을 제조하였다. 이 효소용액은 백금전극을 내장한 pH-ISFET 웨이퍼 위에 회전도포되었으며, 10시간 건조되었다. 건조 후에 UV광을 조사하여 PVA-SbQ를 가교화시켜 효소를 고정하였으며, 가교화되지 않은 불필요한 부분은 탈이온수로 현상하여 제거하였다. 앞의 실험과정에 따라 제조된 ISFET 포도당 및 자당센서는 용액과의 전기적 절연을 위해 실리코노무로 encapsulation 된 후, 항상 4℃의 인산완충용액에 보관되었다. 그림 1은 제조된 센서의 단면도를 나타낸 것이다.

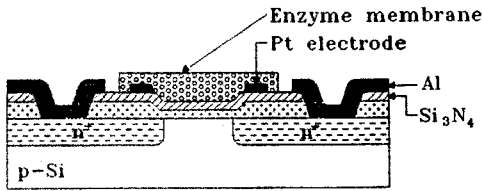


그림 1. 센서의 단면도

Fig. 1. Cross-sectional view of the sensor.

효소 반응에 의해 생기는 과산화수소수가 실제 제조된 백금전극 즉 효소막이 덮혀진 백금전극에서 분해되는 산화전압을 결정하기 위해 voltammogram을 조사하였다. Voltammogram은 반도체 파라미터 분석기인 HP4145으로 측정되었다. Voltammogram 측정시 두전극(백금전극, Ag/AgCl 기준전극)사이에는 0~1.2V 범위에서 7mV/sec의 간격으로 전압이 인가되었다. 그림 2는 측정 장치도이다. 모든 측정은 FIA(flow injection analysis) 시스템 내에서 이루어졌으며, 유속은 1ml/min이었다. 그리고, 측정온도는 항온조를 이용하여 25℃로 일정하게 유지하였다. 시료가 포함되어 있지 않은 완충용액과 포도당이나 자당용액을 교대로 flow cell에 주입하면서 센서의 출력전압의 변화를 기록계에 기록하였다.

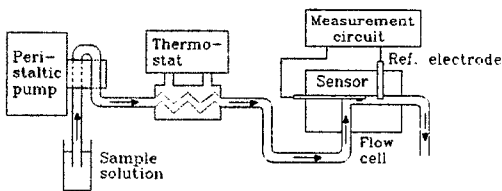


그림 2. 측정장치도

Fig. 2. The schematic diagram of a measurement setup.

III. 결과 및 고찰

3.1. 백금전극과 효소고정화막 형성

백금전극 면적에 따른 감도변화를 알아보기 위해 5가지의 서로 다른 면적을 가진 센서를 제조하였다. 백금면적은 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.24mm²로 설계되었다. 그리고, 감광성고분자인 PVA-SbQ로 형성된 효소고정

화막의 두께는 약 1μm였으며, 막전체의 균일성이 우수하였다(그림 3). 효소막의 면적은 0.255mm²으로 가장 큰 면적을 가진 백금전극(0.24mm²)이 완전히 덮히도록 설계되었다. 위의 규격으로 제조된 센서의 사진이 그림 4에 보여진다.

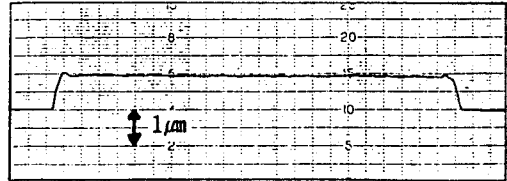


그림 3. 효소고정화막의 두께

Fig. 3. Enzyme membrane thickness profile.

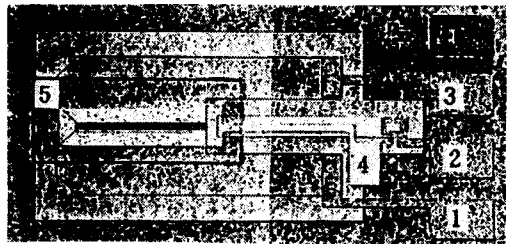


그림 4. 제조된 센서의 사진

- (1. 소오스, 2. 기판, 3. 드레인, 4. 백금 전극, 5. 효소고정화막)

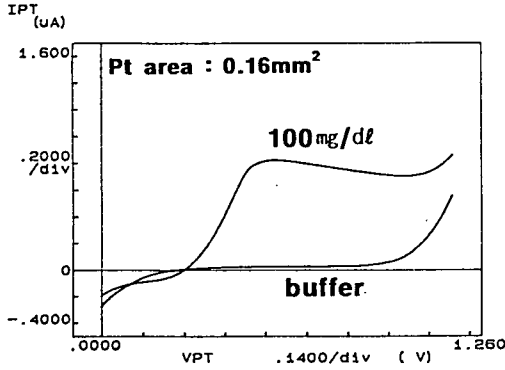
Fig. 4. Photograph of a fabricated sensor.

- (1. Source, 2. Substrate, 3. Drain, 4. Pt electrode, 5. Enzyme membrane)

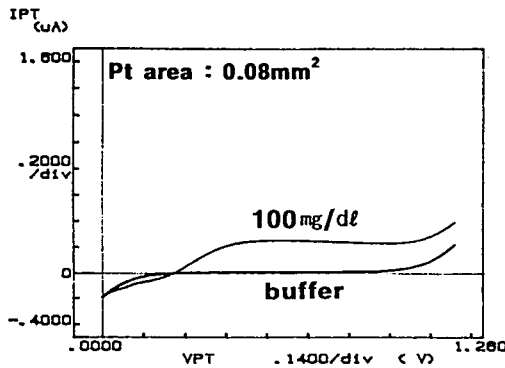
3.2. Voltammograms

전기분해를 이용하는 센서에서 voltammogram 측정^[7]은 필수적이다. Voltammogram 측정으로 특정시료의 산화·환원전압을 결정할 뿐만 아니라, 측정된 전류치로 전기분해효과가 센서의 감지 특성에 어느 정도 기여할 것인가를 예측할 수 있다. 그림 5는 포도당센서와 자당센서에 대한 voltammogram을 보인 것으로 0.6V 이상에서 평평한 부분 즉, 전기분해전류가 일정한 곳이 나타나는 것을 알 수 있다. 이로 부터 Ag/AgCl 기준전극에 대해 백금전극에 약 0.7V가 인가될 경우 효소반응에서 생기는 과산화수소가 효과적으로 분해됨을 알 수 있었다. 문헌에서 밝혀진 과산화수소수의 산

화전압(0.7V)^[8]과 비슷한 전압에서 과산화수소가 효과적으로 분해되는 것으로 보아 효소고정화막은 과산화수소의 산화전압에는 아무런 영향을 미치지 않았다.



(a)



(b)

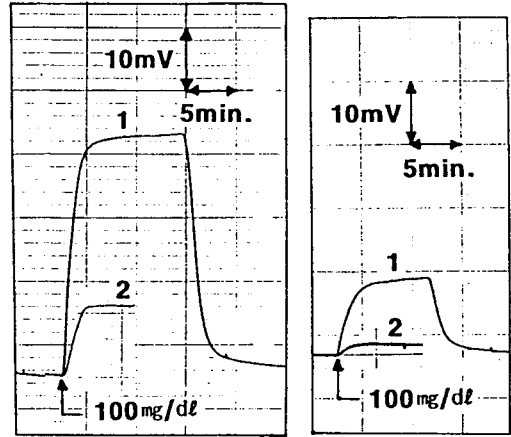
그림 5. 포도당 및 자당 센서의 voltammogram
(a) 포도당 센서, (b) 자당센서

Fig. 5. Voltammograms of the glucose and sucrose sensors.

(a) glucose sensor, (b) sucrose sensor

3.3. 감도와 응답시간

그림 6은 ISFET 포도당 및 자당센서의 응답을 기록해 그린 것이다. Voltammogram에서 예측된 것처럼 백금전극에 약 0.7V를 인가한 경우 즉, 과산화수소를 전기분해시킨 경우에 훨씬 큰 응답을 보였으며, 약 3분 이내에 센서의 응답이 완료되었다. BAS와 glutaraldehyde의 화학적 가교화로 효소고정화막을 형성한 센서는 효소고정화막이 두꺼우므로 응답시간이 10분 이상이었으나^[5], 본 연구에서는 감광성 고분자인 PVA-SbQ으로 약 1 μ m정도의 얇은 효소고정화막은 가진 센서를 제조하여 응답시간을 줄였다.



(a)

(b)

그림 6. 포도당 및 자당 센서의 시간 응답

(1: 백금 전극에 0.7V 인가, 2: 백금 전극에 전압 인가 안함)

Fig. 6. Time responses of the glucose and sucrose sensors.

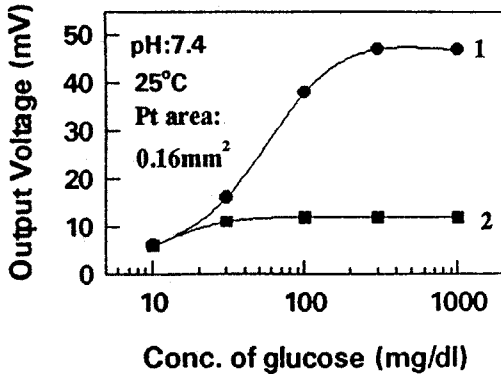
(1: 0.7V potential applied at Pt electrode, 2: Potential not applied)

포도당 농도에 따른 센서의 검정곡선은 그림 7(a)에 보인다. 그림 6의 시간응답에서 보인 것처럼 과산화수소의 전기분해로 감도가 상당히 증가되었고, 센서의 선형구간이 확장되었다. 그러나, 300mg/dl이상의 포도당 농도에서는 응답이 더 이상 증가하지 않았다. 선형구간이 제한되는 이유는 주로 효소반응의 제한 즉, 효소고정화막 내의 효소량이 부족한 것으로 알려져 있다. 선형구간을 확장하는 방법으로 효소고정화막 내의 효소농도를 증가시키는 것과 막의 두께를 두껍게 하여 절대적인 효소량을 증가시키는 방법이 있다. 위의 두가지 방법으로 센서의 선형응답구간을 넓힐 수 있음에도 불구하고, 응답시간이나 막의 제조공정 상에 문제를 가질 것이다.

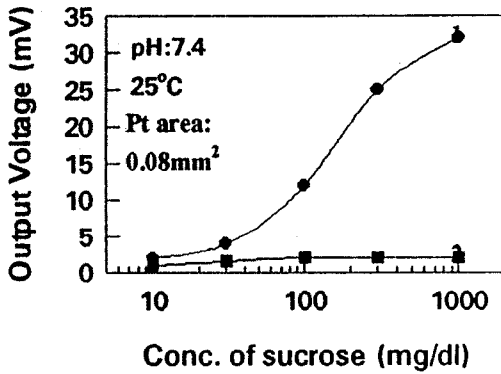
자당센서도 포도당센서와 거의 유사한 응답특성을 보였다. 그림 7(b)는 자당센서의 검정곡선이다.

3.4. 백금전극 면적에 따른 감지특성 변화

3.3에서 언급한 것처럼 백금전극의 도입으로 포도당 및 자당센서의 감지특성이 개선되었다. 또한, 백금전극의 면적변화에 따른 센서감지특성을 면밀히 조사



(a)



(b)

그림 7. 포도당 및 자당 센서의 검정곡선

(1: 백금 전극에 0.7V 인가, 2: 백금 전극에 전압 인가 안함)

Fig. 7. Calibration curves of the glucose and sucrose sensors.

(1: 0.7V potential applied at Pt electrode, 2: Potential not applied)

해야 한다. 백금전극의 면적에 따른 과산화수소의 전기 분해 전류는 그림 8에 나타나 있다. 백금전극 면적이 증가함에 따라 전기분해전류가 증가하였다. 전기분해전류의 증가는 막 내부의 pH변화와 직결되므로, ISFET 포도당 및 자당센서의 감도를 증가시킬 것이다. 그림 9는 백금전극 면적과 센서의 응답 크기의 관계를 보인 것이다. Voltammogram 측정에서 예측된 것처럼 백금 전극의 면적의 증가에 따라 센서 감도도 증가되었다. 또한 백금전극 면적이 이번 연구에서 설계된 것보다 더 커질 경우에 센서의 감도는 더욱 증가되리라 예측

되나, 센서 전체의 면적이 커져야 한다는 단점이 있다. 그러므로, 이를 고려하여 전극 면적이 설계되어야 한다.

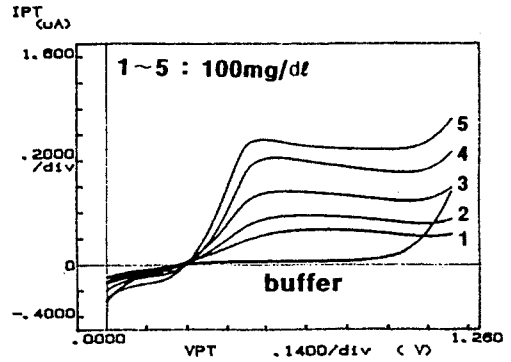


그림 8. 백금전극 면적에 따른 포도당 센서 voltammograms

(백금전극 면적 : 1-0.02mm², 2-0.04mm², 3-0.08mm², 4-0.16mm², 5-0.24mm²)

Fig. 8. Voltammograms of the glucose sensors having different electrode area.

(Pt electrode area : 1-0.02mm², 2-0.04mm², 3-0.08mm², 4-0.16mm², 5-0.24mm²)

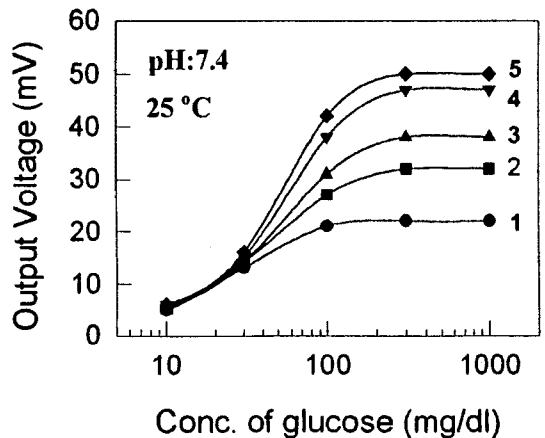


그림 9. 백금전극 면적에 따른 포도당 센서의 검정 곡선

(백금전극 면적 : 1-0.02mm², 2-0.04mm², 3-0.08mm², 4-0.16mm², 5-0.24mm²)

Fig. 9. Calibration curves of the glucose sensors having different electrode area.

(Pt electrode area : 1-0.02mm², 2-0.04mm², 3-0.08mm², 4-0.16mm², 5-0.24mm²)

IV. 결 론

기존의 ISFET 포도당 및 자당센서에 과산화수소를 산화시키는 백금전극을 도입해 센서의 감지 성능을 개선하였다. 또한 백금전극의 면적을 크게하여 센서의 감도를 증가시켰으며, 감광성 고분자인 PVA-SbQ를 matrix로 사용하여 얇은 효소고정화막을 형성시켜서 센서의 응답이 3분이내의 빠른 시간 내에 포화되게 하였으나, 감지범위가 30~300mg/dl의 포도당 및 자당농도로 제한되는 특성을 보였다. 센서의 감도와 크기를 고려하여 백금전극의 면적이 설계하여야 하며, 효소고정화막의 효소농도 및 막 두께는 고정화막의 응답시간 및 감도의 상호관계의 면밀한 검토를 통해 이루어져야 한다.

참고문헌

- [1] W. Göpel, J. Hesse and J. N. Zemel, *Sensors*, vol. 2. VCH, Weinheim, F.R.G., pp. 489~492, 1991.
- [2] 김창수, 남동현, 조병욱, 손병기, 최성문, 김의락, "FET형 반도체 바이오센서를 위한 웨이퍼규모의 효소 고정화막 형성기술," *센서기술 학술대회 논문집*, 제2권, 제1호, pp. 225~228, 1991.
- [3] C. S. Kim, S. K. Lee, H. I. Seo and B. K. Sohn, "High-performance ISFET glucose sensor by employing electrolysis of hydrogen peroxide," *Digest of technical papers of the 7th International Conference on Solid-state Sensors and Actuators*, pp. 502~504, 1993.
- [4] Y. Hanazato, M. Nakako and S. Shiono, "Multi-enzyme electrode using hydrogen-ion-sensitive field effect transistors," *IEEE Trans. on Electron Devices*, ED-33, pp. 47~51, 1986.
- [5] M. Eddowes, D. Pedley and B. Webb, "Response of an enzyme-modified pH-sensitive ion-selective device, experimental study of a glucose oxidase modified ion-selective field effect transistor in buffered and unbuffered aqueous solution," *Sensors and Actuators*, vol.7, pp. 233~244, 1985.
- [6] 김창수, 이수근, 권대혁, 손병기, "백금전극을 이용한 ISFET 포도당센서의 성능개선 연구." *센서학회지*, 제2권, 제1호, pp. 25~29, 1993.
- [7] M. Lambrechts and W. Sansen, *Biosensors: microelectrochemical devices*, Institute of Physics Publishing, Bristol, Philadelphia and New York, pp. 39~42, 1992.
- [8] M. Lambrechts and W. Sansen, *Biosensors: microelectrochemical devices*, Institute of Physics Publishing, Bristol, Philadelphia and New York, pp. 191~194, 1992.

著 者 紹 介

조 병 욱

『센서학회지 제1권 제1호』 논문92-08, p.101 참조
현재 경북대학교 전자공학과 박사과정

김 창 수

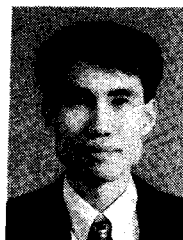
『센서학회지 제1권 제1호』 논문92-08, p.101 참조
현재 센서기술연구소 연구원

박 이 순

『센서학회지 제2권 제1호』 논문93-02, p.35 참조
현재 경북대학교 고분자공학과 부교수

손 병 기

『센서학회지 제1권 제1호』 논문92-08, p.101 참조
현재 경북대학교 전자공학과 교수, 센서기술연구소 소장



장 원 덕

1969년 6월 1일생. 1993년 경북대학교 전자공학과 졸업(학사). 1995년 경북대학교 대학원 전자공학과 졸업(석사). 1995년 ~ 현재 (주) LG 반도체 연구원. 주관심분야 : 반도체 공정, 반도체 센서 및 회로 설계.