

타원계측을 이용한 나노바이오 융합기술

이 글에서는 편광을 이용한 광학계측기술인 타원계측방법의 나노 측정기술과 나노바이오 측정기술로의 응용에 대하여 소개한다.

글 · 조 현 모/한국표준과학연구원, 광기술표준부, 책임연구원
e-mail · hmcho@kriss.re.kr
조 용 재/한국표준과학연구원, 광기술표준부, 책임연구
제 갈 원/한국표준과학연구원, 광기술표준부, Post-D

타원계측(ellipsometry)은 독일의 Paul Drude 이후 약 110년의 역사를 가진 광분석 기술이며 반도체산업을 위주로 한 박막 및 재료 관련 산업에서 많이 사용되어 왔다. 타원계측의 기본 원리는 편광상태를 알고 있는 빛이 시료에 의해 반사되면서 그 편광상태가 변하게 되는 현상을 이용한 것이다. 즉, 시료면에 평행한 방향의 편광과 수직인 방향의 편광에 대하여 반사된 후의 위상변화의 차이와 반사율의 비와 같은 상대적인 물리량을 측정하므로 효과적인 분석기술로 인정되고 있다. 특히 얇은 박막에서는 박막의 두께가 편광방향에 아주 예민하게 변화하기 때문에 단일층(monolayer)이 채 형성되기 전에 그 변화를 감지할 수 있는 초박막 민감도를 가지고 있다. 타원계측 방법은 산화막 등 박막의 성장, 원자, 분자, 이온 등의 고체표면 흡탈착 및 물질변화, 표면 거칠기, 표면처리에 따르는 표면상태의 변화, 전기화학분야 연구, 그리고 표면 플라즈몬 여기 등에 관한 연구가 수행되고 있다. 타원계측기(ellipsometer)는 실시간 비파괴적 측정, 다층 박막 구조의 측정 가능성, 두께 및 굴절률의 고정밀 분해능 등의 장점들을 갖고 있기 때문에 반도체, 통신, 디스플레이, 바이오, 광산업 등에서 활용되고 있으며 특히 반도체 회사에서는 박막 성장공정의 상태를 검증하기 위하여 각 라인마다 여러 대의 타원계측기들을 설치하여 운영하고 있다. 최근 타원계측을 이용한 바이오 연구에

서는 imaging 타원계측 기술을 이용한 바이오칩의 특성 및 생체분자의 흡착특성이 연구되고 있으며, 생체물질 연구에서 광범위하게 사용되고 있는 표면 플라즈몬 공명(SPR : Surface Plasmon Resonance)현상과 타원계측 기술을 결합하여 측정 능력을 향상시키기 위한 방법, 타원계측기의 공간분해능 향상 방법 등이 연구되고 있다.

타원계측 기술을 이용한 나노 측정기술

최근 반도체 등 나노소자 산업에 대한 국제 기술 동향 보고서(ITRS, 2003)에 의하면 반도체소자의 고밀도화 및 소형화의 추세에 따라서 반도체 공정에서 사용되는 게이트 산화막(gate oxide) 등 박막의 두께가 분자 또는 원자 단위 수준으로 급격히 작아지고 있다. 2003년에 발간된 ITRS의 자료를 토대로 하면, 2008년 차세대 메모리용 반도체소자를 생산할 경우에 게이트 산화의 두께는 0.8 nm이어야 하고 두께 오차(3σ)는 4%, 측정 정밀도가 0.0032nm 이내에서 측정되어야 한다. 나노측정장치의 세계시장 규모는 2000년에는 3조 원, 2005년에는 약 11조 원, 2010년에는 13조 5,000억 원, 2020년에는 22조 원에 달할 것으로 전망되고 있다. (나노계측기술-2003 신기술동향 조사 보고서, 특허청). 나노측정장치들 중에서 적외선/자외선/가시광선 기술을 이용한 타원계



측 기술은 비접촉성, 비파괴성, 실시간 측정 가능성, 고분해능 및 고정밀성 등의 장점들로 인하여 반도체 소자, 평판 디스플레이, 휴대 전화기 등의 산업 현장에서 박막제조 공정을 제어 및 검사하기 위하여 널리 사용되고 있다. 그동안 가시광선 및 자외선 영역의 분광타원계측기가 개발되어 사용되어 왔으나 1999년 이후 진공자외선 분광타원계측기가 J.A. Woollam과 SOPRA 등의 회사에서 개발되어 반도체 산업 및 연구기관에 보급되고 있다.

미국의 표준기관인 NIST에서는 차세대 반도체 소자용 high-k 박막의 광학상수 측정 기술 개발 연구를 수행하고 있으며 초정밀 극자외선 분광타원계측기를 개발하여 박막두께 인증표준물질을 보급하고 있다.

현재 세계 1위의 시장을 차지하고 있는 우리나라 반도체 메모리 산업에서는 각 제조라인에 10여 대 이상의 타원계측기가 설치되어 박막의 성장 혹은 증착, 노광, 식각과정 등을 검사하고 있다. 반도체 공정용 타원계측기는 박막두께 인증표준물질(CRM : Certified Reference Material)을 사용하여 교정되고 있으며 표준과학연구원에서는 고정밀 극자외선 분광타원계측기를 자체 개발하여 삼성전자, 하이닉스반도체 등 국내 반도체 산업체에 인증표준물질을 보급하고 있다.

편광계측을 이용한 나노 바이오 연구

편광을 이용한 측정방법은 형광물질을 부착하지 않고 생체물질을 분석할 수 있는 기술이며 현재 활발하게 연구가 진행되고 있다. 편광을 이용한 측정방법으로 현재 광범위하게 사용되고 있는 SPR 기술은 고정화되는 분자층의 두께와 광학상수 결정을 통하여 생체물질에 대한 정량적 정보를 제공한다. 국제적인

연구추세를 보면 SPR과 타원계측 기술을 결합하여 두께 분해능을 향상시키기 위한 연구들이 발표되고 있다. 타원계측 방법은 박막의 두께와 굴절률의 미세구조분석이 가능한 분

광타원계측, DNA 및 단백질 칩 실시간 분석에 사용되는 imaging 타원계측, 표면의 비등방성 연구에 유리하고 자기조립 단층막 등 표면화학 분야의 응용이 기대되고 있는 Reflectance Anisotropic Spectroscopy (RAS) 등이 있다. 그 외 편광을 이용한 측정 방법으로 브루스터 각(Brewster angle)에서 입사하는 편광된 빛이 반사되지 않는 원리를 이용하여 극미세 박막의 유무에 따라 아주 민감한 상(image)을 얻을 수 있는 브루스터 각 현미경(brewster angle microscopy)이 많이 사용되고 있다. 이와 같은 계측방법들은 linker layer의 특성을 규명할 뿐 아니라, 생체물질의 고정화 및 고정화된 생체물질과 target 물질과의 상호작용을 엄밀하게 계측할 수 있는 검출방법이기도 하다.

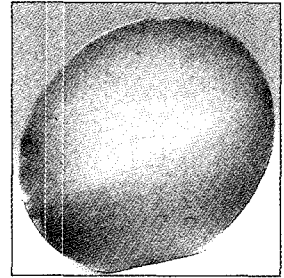


그림 1 한국표준과학연구원이 보급하고 있는 SiO₂ 박막두께 CRM 사진

Imaging 타원계측을 이용한 DNA/단백질 바이오칩 연구

일반적으로 DNA와 단백질은 형광을 나타내지 않으며 생체물질에 부착될 수 있는 표시자(marker)가 필요하다. 현재까지 형광 방법을 많이 사용하고 있으며 표시자를 붙이는 과정과 검출장치가 필요하다. 이 방법을 사용할 경우 생물학적 중합체(polymer)의 삼차



원 구조가 부착된 표시자에 의해서 변화할 수 있고 natural activity가 영향을 받을 수 있으며 비교적 측정시간이 많이 걸린다. 그러나 imaging 타원계측기술을 사용할 경우 표시자가 필요 없으며 비파괴적인 측정이 가능하며 공간분해능이 $1\sim 35\mu\text{m}$, 측정시간 1분 이내($20\times 30\text{mm}$)로 아주 우수하다. Imaging 타원계측 기술의 민감도는 $0.05\sim 0.2\text{nm}$ or $0.05\sim 0.2\text{ng}/\text{mm}^2$ 이고 비표지 생체분자들의 표면에서 실시간 측정이 가능하다. 또한 형광측정 방법을 사용할 때보다 측정장비의 가격이 저렴하여 향후 imaging 타원계측을 이용한 측정장치의 사용이 대폭 증가될 것으로 예상된다. 바이오칩에 사용하기 위해 고정되는 생체물질의 모든 spot은 균질하고 같은 크기를 가져야 이종교배(hybridization)할 수 있는 물질을 정량화하고 신뢰성 있는 결과를 얻을 수 있다. 현재 사용되는 기술들은 시간을 많이 소모하는 착색 과정을 이용하며 바

이오칩이 파괴될 위험성도 있다. 분자질량 67kDa 인 소혈청 단백질(bovine serum albumin) 단층막의 surface capacity는 $3\text{ng}/\text{mm}^2$ 이고 두께는 표면밀도($18,000\sim 27,000\text{molecules}/\text{mm}^2$)에 따라 $2\sim 3\text{nm}$ 이다. 따라서 약 $1\text{nm}/(\text{ng}/\text{mm}^2)$ 의 반응두께를 보인다. 올리고 뉴클레오티드의 표면밀도는 $70,000\text{ molecules}/\text{mm}^2$ 이고 strand length에 따라 0.8nm (20-mer oligo), 1.9nm (50-mer oligo), 5.8nm (150-mer oligo)의 두께를 가진다. 단백질 칩은 여러 종류의 단백질을 소형 기관 위에 배열해 단백질의 기능과 작용을 해석, 질병진단에 활용한다. 불완전한 spotting 문제해결을 위한 연구 개발이 활발하게 진행되고 있으며 spot의 품질관리가 필요하다. 즉 단백질 spot의 모양과 균질성, spotting solution의 첨가제의 영향, spotting process 직후 최적조건 분석 등이 요구되고 있다.

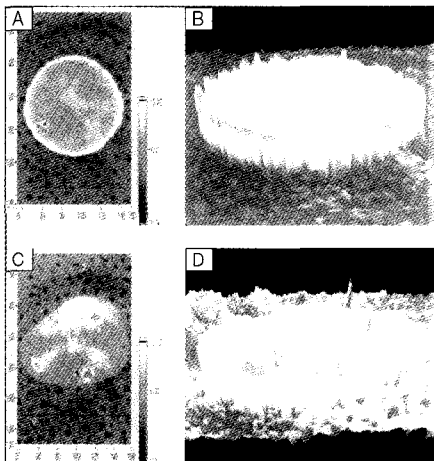


그림 2 Non-hybridized 50-mer 올리고 뉴클레오티드의 $200\mu\text{m}$ spot에 대한 타원계측 image의 두께 지도; A, C : DNA spot의 두께 지도; B, D : DNA spot의 3차원 형상(nanofilm)

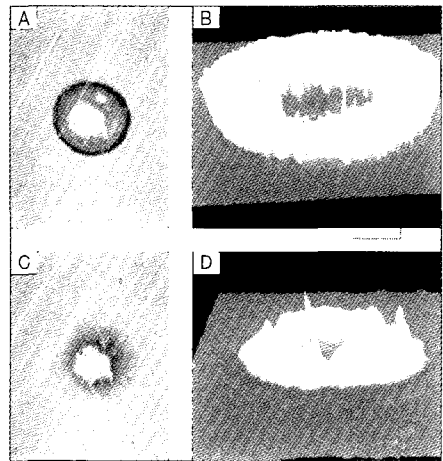


그림 3 Gold 위에 단백질 spot의 이미지(직경 $200\mu\text{m}$). 첨가제 없는 경우: A와 B, 첨가제 있는 경우: C와 D. A, C: elliptometric contrast image, C, D: 3차원 형상(nanofilm)



최근에 imaging 타원계측, SPR, 브루스터 각 현미경 등을 동시에 측정할 수 있는 장치들이 개발되어 보급되고 있다. 타원계측과 SPR, 브루스터 각 현미경 등은 정밀한 각도 측정을 통하여 편광측정이 이루어지는 공통점을 가지고 있기 때문에 편광자, compensator, 검광자 등의 배열 방향을 바꾸면 다른 측정장치로 쉽게 변환이 가능하다. 브루스터 각 현미경법은 브루스터 각에서 입사된 편광된 빛이 반사되지 않는 원리를 이용하여 극미세 박막의 유무에 따라 아주 민감한 영상을 얻을 수 있는 방법이다. 이를 이용하여 단층막, 위상, 광화학 반응, 고체 위에 LB-film, 중합체, 흡수 동역학, 실시간 중합반응 등의 연구에 사용되며 성능은 공간분해능이 $1\mu\text{m}$, 각도 0.01° , 시야각이 0.25mm 정도이다.

SPR과 타원계측기술을 융합한 바이오 연구 표면 플라즈몬 공명(SPR)을 이용할 경우 형광물질을 부착하지 않고 DNA 및 단백질 칩과 생체물질을 분석할 수 있다. 굴절률이 서로 다른 두 투명한 매질의 경계면에서 높은 굴절률을 가진 매질로부터 들어오는 광의 일부는 반사가 되고 부분적으로는 굴절이 된다. 그러나 어떤 특정한 입사각 이상에서는 모든 광은 다른 매질로 굴절되지 않고 전부 반사된다. 이때 비록 모든 광은 반사가 되지만 소실파(evanescent wave)라고 불리는 전자기파 성분이 굴절률이 낮은 매질로 한 파장 정도의 매우 짧은 거리만큼 투과된다. 만일 두 매질 사이가 매우 얇은 금속으로 코팅이 되어 있고, 입사광이 편광이며 단색광일 경우, 특정한 입사각도에서의 반사되는 광세기가 현저히 줄어드는 현상이 발생한다. 이러한 현상을 SPR(Surface Plasmon Resonance)라고 부르고 이때 입사각을

SPR각이라 부른다. SPR각은 전자기파가 파고드는 용액의 굴절률에 따라 달라진다. SPR 측정장치는 이러한 SPR현상을 감지하는 광학장치를 가지고 있고, 센서칩 표면의 굴절률 변화를 연속적으로 관찰 할 수 있다. 굴절률은 버퍼가 바뀔 때 따라 변하지만, 센서칩 표면의 질량 변화에 따라서도 달라진다. 따라서 센서칩 표면에 고정화된 물질(ligand)와 분석물질(analyte)이 결합하면 질량의 변화를 가져오고 따라서 SPR각이 처음과 달라지게 된다. 이러한 SPR각의 변화를 연속적으로 기록한 데이터를 sensorgram이라 부른다.

SPR은 펩티드-항체반응, 단백질-항체 반응, 단백질-DNA 반응, 단백질-다당류 반응, 단백질-바이러스 반응, 단백질-세포 반응, 단백질-T 세포 반응, DNA-DNA 반응 연구에 사용되고 있다.

SPR을 이용한 측정이 바이오 연구에서 광범위하게 사용되고 있지만 미량 생체물질의 측정을 위하여 SPR의 측정감도를 향상시키려는 연구가 활발하게 진행되고 있다. SPR을 타원계측기술과 결합한 타원계측 SPR이 그 대표적인 예이며 SPR의 측정감도를 향상

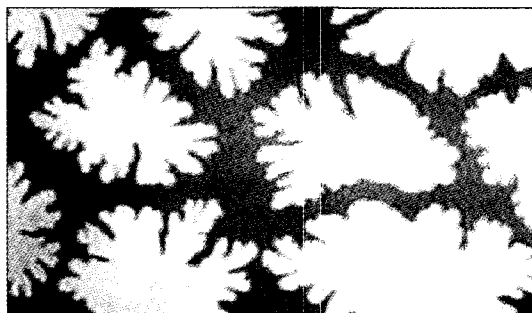


그림 4 DMPE(dimyristoyl phosphatidyl ethanol amine)의 BAM image(room temperature, water subphase)(nanofilm)

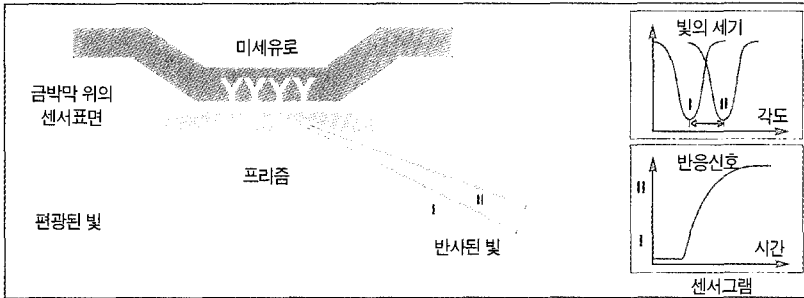
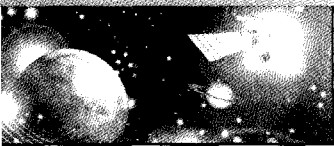


그림 5 SPR 측정장치의 개략도(BIACORE)

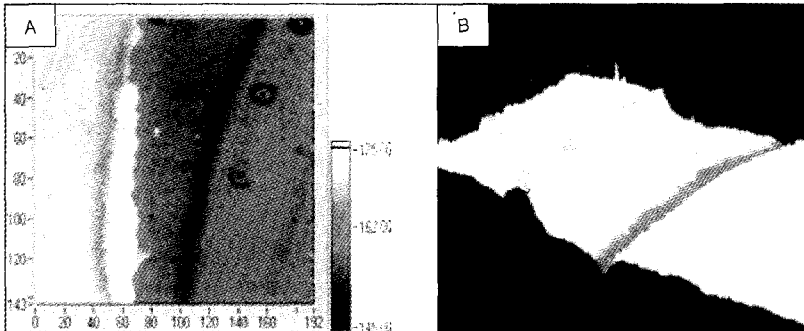


그림 6 Ellipsometric SPR로 측정된 gold SPR chip의 두께와 3차원 형상(nanofilm)

시킬 수 있다. 타원계측 SPR을 사용하여 타원계측상수인 진폭과 위상을 측정할 경우 진폭은 기존의 광세기를 이용한 SPR 측정결과와 거의 일치하지만 위상을 이용하면 SPR의 측정감도를 향상시킬 수 있다. SPR이 발생하는 각도에서 타원계측함수의 위상변화 기울기가 최대가 되도록 조절하면 180°의 위상변화가 발생하며 이 위치에서 미량 생체물질의 반응을 측정할 수 있다.

맺음말

편광을 이용한 측정방법은 형광물질을 부착하지 않고 생체물질을 분석할 수 있는 기술이며 현재 활발하게 연구가 진행되고 있다. 타원계측은 단일층이 채 형성되기 전에 그 변화

를 감지할 수 있는 초박막 민감도를 가지고 있으며 실시간, 비파괴적인 측정방법이기 때문에 반도체, 통신, 디스플레이 등의 산업뿐만 아니라 바이오산업에서도 활용범위가 점차 확대되고 있다. 다층 박막 구조의 측정과 두께 및 굴절률의 미세구조 분석이 가능한 실시간 분광타원계측, DNA 및 단백질 칩 실시간 분석에 사용되는 imaging 타원계측, 표면의

비등방성 연구에 유리하고 자기조립단층막 등 표면화학 분야의 응용이 기대되고 있는 Reflectance Anisotropic Spectroscopy (RAS) 등이 바이오 연구를 위해 많이 사용되고 있다. 최근에는 SPR 기술과 타원계측기술을 결합하여 SPR의 측정감도를 향상시키는 연구, AFM과 결합하여 타원계측기의 공간분해능을 20nm 이하로 향상시키는 연구 등 나노기술과 바이오 기술을 결합하여 바이오 물질의 검출한계를 극복하기 위한 노력이 활발하게 진행되고 있다. 반도체 산업현장의 박막 두께 측정을 위해 많은 타원계측기가 사용되는 것처럼 바이오산업이 활성화되면 각종 바이오칩의 실시간 특성평가를 위해 타원계측기의 활용도가 크게 증가할 것으로 전망된다.