

ISFET 포도당센서를 위한 GOD 고정화막의 사진식각 형성법

(Photolithographic Formation of GOD Immobilized Membranes for ISFET Glucose Sensors)

金 稔 秀*, 崔 誠 文**, 徐 華 一*, 金 宜 洛**, 孫 炳 基*

(Chang Soo Kim, Sung Moon Choi, Hwa Il Seo, Ui Rak Kim, and Byung Ki Sohn)

要 約

반도체 pH 센서인 pH-ISFET와 GOD (glucose oxidase) 고정화막을 기술적으로 결합한 ISFET 포도당센서를 제조하고 그 동작특성을 조사하였다. 사진식각 기술을 이용하여 pH-ISFET의 수소이온 감지막 위에 GOD를 감광성 고분자인 PVA (polyvinyl alcohol)-SbQ로 고정화(immobilization)함으로써 포도당 센서를 제조할 수 있었다. 제조된 센서는 10~1000mg/dl의 넓은 포도당 농도 범위 내에서 우수한 감지특성을 나타내었다.

Abstract

Photolithography techniques were applied for immobilization of GOD membrane on the pH-ISFET with photo-sensitive polymers to realize ISFET glucose sensor. This IC technology-compatible glucose sensor showed good sensing characteristics in the wide range of 10~1000 mg/dl glucose concentrations.

I. 서 론

반도체 이온센서인 ISFET (ion-sensitive field-effect transistor)^{1,2)}는 ISE (ion selective electrode)³⁾의 이온감지 특성과 MISFET의 전장효과 원리를 이용한 소자로서 꾸준한 연구발전을 거듭하여 왔다. ISFET는 집적회로 공정기술을 활용하여 제조되므로 마이크로화 및 규격화가 가능하며, 빠른 응답속도를

가진다. 따라서 기존의 ISE를 적용하기 어려운 국소 부위의 측정이나 현시적 모니터링 등에 매우 편리한 형태의 이온센서이다.

현재 ISFET는 이온센서 뿐만 아니라, 유기물인 생체기능성막과 결합된 형태로 여러가지 생체관련 물질을 측정하기 위한 바이오센서 (biosensor)^{4,5)}의 기본 변환기로 그 응용 범위를 확대해 나가고 있다. 생의학이나 화학등의 분야에서 생체관련 물질의 측정에는 주로 분광광도계가 사용되고 있으나, 이는 용적이 크고 긴 분석시간을 필요로 한다. 또한 장비가 매우 고가이며 사용이 까다로운 것 등 여러가지 문제점을 안고 있다. 그러나 ISFET를 바이오센서의 기본 변환기로 사용할 경우 ISFET의 장점을 그대로 살

*正會員, 센서 技術研究所

(Sensor Technology Research Center)

**正會員, 啓明大學校 化學科

(Dept. of Chemistry, Keimyung Univ.)

接受日字: 1992年 2月 12日

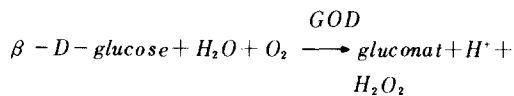
릴 수 있기 때문에 ISFET 바이오센서¹⁵⁾는 큰 주목을 받고 있다.

지금까지 ISFET 바이오센서의 생체기능성막은 glutaraldehyde를 사용한 화학적 가교화 방법¹⁶⁾으로 수작업에 의해 제조되었기 때문에 많은 시간과 노력이 필요하며, 동작특성의 재현성이나 표준화에 심각한 장애요인이 되어 왔다. 또한 후막 형태이기 때문에 센서의 응답시간이나 회복성(reversibility) 등에 문제가 있었다.

본 연구에서는 고체소자인 ISFET와 생체기능성막인 GOD (glucose oxidase) 고정화막을 기술적으로 결합한 ISFET 포도당센서를 제조하였다. 포도당은 생체의 조직과 근육에 에너지를 공급하는 신진대사의 열원으로 의료분야에서 그 정량은 매우 중요한 일이다.¹⁷⁾ 포도당을 선택적으로 분해하는 효소인 GOD를 감광성 고분자 PVA-SbQ¹⁸⁾와 혼합하여, pH-ISFET의 수소이온 감지막 위에 사진식각기술을 이용하여 고정화하고 그 동작특성을 조사하였다.

II. 감지 원리

ISFET 포도당센서는 반도체 pH 센서인 pH-ISFET의 Si₃N₄ 게이트 위에 포도당과 특이반응하는 GOD 고정화막이 형성된 구조를 가진다. 그림 1은 ISFET 포도당센서의 단면도를 나타낸 것이다. 센서가 포도당이 포함된 용액속에 들어가면 용액중의 포도당이 GOD 고정화막 내로 확산해 들어가면서 다음과 같은 특이반응이 일어난다.

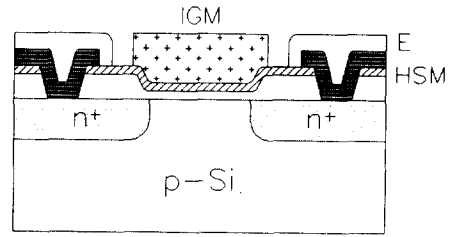


즉 수소이온 증가반응이 일어나게 되어 GOD 고정화막 내의 pH가 감소하게 되는데 이를 변환기인 pH-ISFET가 감지하여 용액 내의 포도당 농도를 전기적 신호로 변환·출력하게 된다.

III. 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°C에서 TCE(trichloroethylene) 산화법으로 약 500Å의 산화막을 성장시킨 후 110KeV의 에너지로 가속시킨 붕소이온을 1.5×10¹²cm⁻² 양으로 주입시키고 다시 925°C에서 습식산화법으로 약 5000Å의 산화막



IGM : immobilized GOD membrane
HSM : hydrogen ion sensing membrane
E : encapsulant

그림 1. ISFET 포도당센서의 단면도

Fig. 1. Cross-sectional structure of the ISFET glucose sensor.

을 성장시켰다. 소오스와 드레인 창을 열고 900°C에서 2분간 POC₁₃을 이용하여 인을 predeposition하고 925°C에서 50분간 drive-in 시켰다. 이때의 접합 깊이는 0.89μm였다. 게이트 부분을 뚫은 후 1000°C에서 TCE 산화법으로 약 500Å의 게이트 산화막을 성장시키고 1000°C에서 N₂:O₂:TCE=100:3:1의 분위기에서 약 60분간 열처리하였다. 여기서 TCE는 산화막의 이동성 이온인 Na⁺ 등을 제거하는 역할을 한다. 이 위에 Si₃N₄ 막을 800°C에서 LPCVD로 약 700Å 성장시켜 수소이온 감지막으로 이용하였다. 진극형성을 위한 접촉부분을 뚫기 위해 Si₃N₄ 막을 플라즈마 식각한 뒤 남은 산화막은 6:1 BHF(6H₂O:1 buffered HF)로 식각하였다. 그리고 알루미늄 전극을 스퍼터링법으로 형성하고 450°C에서 30분간 열처리함으로써 웨이퍼 공정을 마쳤다.

2. GOD 고정화막의 형성

그림 2는 집적회로 제조공정을 응용한 GOD 고정화막의 형성과정을 나타낸 것이다.

ISFET의 Si₃N₄ 게이트 영역에 PR을 사용하여 홈을 만들었다. ISFET의 pH에 대한 감도를 증대시키기 위하여 Si₃N₄ 표면을 50:1 HF 용액으로 1분동안 표면처리 하였다.¹⁹⁾ 또한 형성시킬 GOD 고정화막과의 부착성을 증대시키기 위하여 γ-APTES(γ-aminopropyltriethoxysilane) 용액에 15분간 담구었다. PR을 acetone 내에서 1분동안 초음파 세척기로 lift-off 하였다. 합성생리수(pH7.4, 9.5mM 인산완충용액, 이온강도 0.165)로 10% BSA(bovine serum albumin) 용액을 제조하고 이 용액에 GOD와 감광성 고분자인 PVA-SbQ를 혼합하였다. 이 혼합용액을 ISFET의

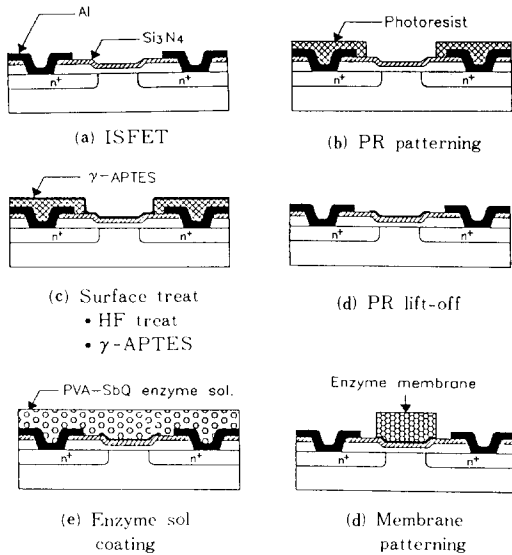


그림 2. 사진식각 기술을 이용한 GOD 고정화막의 형성과정
 Fig. 2. Immobilization of the GOD membrane using photolithography techniques.

Si₃N₄ 막위에 spin coating하여 5시간 이상 진공건조시킨 후 UV로 광가교화반응을 시켰다. ISFET의 게이트 영역을 제외한 나머지 부분에 있는 GOD를 제거하기 위하여 증류수로 현상하였다.

GOD 고정화막이 형성된 포도당센서를 알루미늄판 위에 장착하고 전기적 결선을 하였다. ISFET의 게이트 영역을 제외한 나머지 부분을 용액으로 부터 절연시키기 위하여 실리콘 고무로 엔캡슐레이션(encapsulation) 하였다.

3. 측정방법

포도당센서의 측정조건을 인체와 유사하게 하기 위하여 피측정용액은 합성생리수를 사용하였으며, 이 용액에 포도당을 녹여 각 농도의 포도당 표준용액을 제조하였다. 측정시 용액의 온도는 항온시스템을 사용하여 21°C로 유지하였다. 그림 3과 같이 센서를 flow system의 측정단에 삽입한 후 합성 생리수나 포도당 표준용액을 연동펌프(peristaltic pump)로 교대로 흘리면서 각 포도당 농도에 대한 응답특성을 기록계로 출력하였다. 기준전극으로는 Ag/AgCl 전극을 제작하여 사용하였다.

IV. 결과 및 고찰

그림 4(a)는 설계된 ISFET 칩의 layout과 그 등

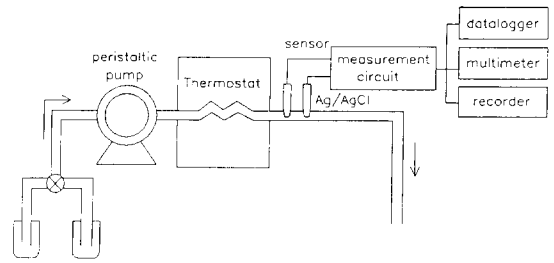


그림 3. 측정장치의 개략도
 Fig. 3. Experimental set-up.

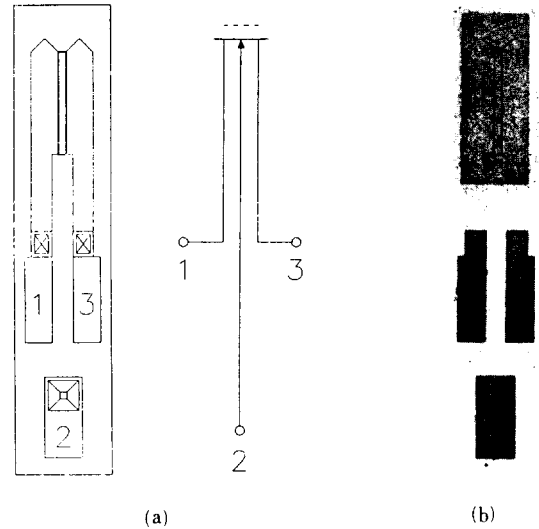


그림 4. (a) ISFET 칩의 layout과 등가회로
 1: 드레인 2: p형 기판 3: 소오스
 (b) GOD 고정화막이 형성된 모습
 Fig. 4. (a) Layout of the ISFET chip and its equivalent circuit,
 1: drain 2: p-substrate 3: source
 (b) Photograph of the GOD membrane on the ISFET chip.

가회로이다. 칩의 크기는 400×1400μm²이고 게이트는 20×300μm²이다. 그림 4(b)는 제조된 ISFET 칩의 게이트 영역에 집적회로 제조공정 중의 사진식각 기술을 응용한 GOD 고정화막이 형성된 사진이다.

GOD 고정화막의 면적은 140×440μm²으로 설계하였다. 막의 두께는 센서의 응답시간에 큰 영향을 미치므로 빠른 응답을 얻기 위해서는 가능한 한 얇게 형성하는 것이 좋으나 너무 얇을 경우 장기 안정성이 문제가 되므로 이를 고려하여야 한다. 본 실험에서는 3000rpm, 40초의 spin coating으로 약 0.3μm 두께의

고정화막을 얻을 수 있었다.

그림 5는 pH 7 용액 내에서의 기준전극 전위 V_r 에 따른 ISFET 칩의 전류-전압 특성을 조사한 것으로 일반적인 MISFET와 같은 형태의 전류-전압 특성을 나타내고 있다.

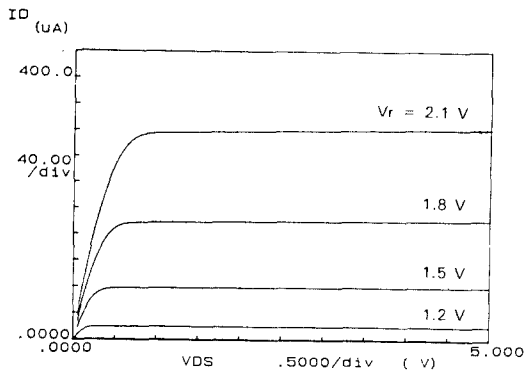


그림 5. pH 7 용액 내에서의 ISFET의 전류-전압 특성

Fig. 5. $I_{DS} - V_{DS}$ characteristics of the ISFET in pH 7 solution.

일반적으로 효소 고정화막과 ISFET의 Si_3N_4 표면과의 부착성을 증가시키기 위하여 γ -APTES 수용액으로 Si_3N_4 의 표면을 silanization 시키는 방법이 주로 사용되어 왔다.^{6,10} GOD 고정화막과 Si_3N_4 표면과의 부착성을 조사하기 위하여, 1% γ -APTES 수용액으로 처리한 Si_3N_4 표면과 하지않은 표면에 각각 50개의 GOD 고정화막을 형성시키 조음과 진동을 가한 후 남아있는 GOD 고정화막의 수를 조사하였다. 그 결과 그림 6과 같이 γ -APTES로 처리한 표면에서의 부착성이 처리하지 않은 경우보다 현저히 향상됨을 알 수 있었다.

그림 7은 10mg/dl와 500mg/dl의 포도당 농도에 대한 센서의 시간응답으로서 A와 B는 각각 포도당 용액과 합성생리수가 센서를 지나가는 순간을 표시한 것이다. 반응이 포화치에 도달하기까지는 농도에 따라 다르나 5분 이상이 필요함을 알 수 있다. 이 응답 속도는 GOD 고정화막의 두께와 막 속에 고정화된 GOD의 농도, ISFET 자체의 pH 응답특성 및 gluco-se-GOD 반응으로 생성된 gluconate의 해리상수(dissociation constant)에 의존한다. 반응속도가 느린 이유는 다른 물질에 비해 반응부산물인 gluconate의 해리상수가 작기 때문인 것으로 알려져 있다.¹¹

그림 8은 포도당 표준농도에 따른 센서의 출력용

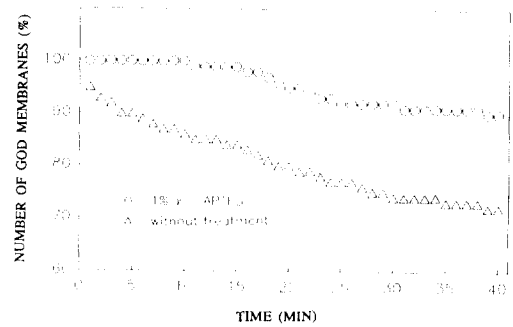
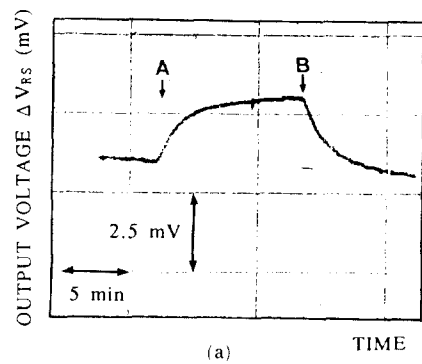
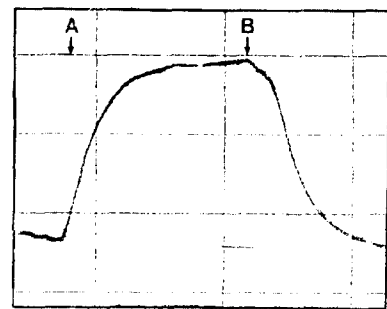


그림 6. GOD 고정화막과 Si_3N_4 표면과의 부착성
Fig. 6. Adhesion between the GOD membrane and Si_3N_4 surface.



(a)



(b)

그림 7. 센서의 시간응답

(a) 10mg/dl (b) 500mg/dl

Fig. 7. Time responses of the sensor.

(a) 10mg/dl, (b) 500mg/dl.

나타낸 것이다. 10~1000mg/dl까지의 넓은 포도당 농도내에서 우수한 선형성을 보이고 있다. 인체의 혈당 정상치가 100mg/dl 부근¹²이며 시판되는 분광광도계용 포도당 진단시약이 500mg/dl까지 선형성을 가지

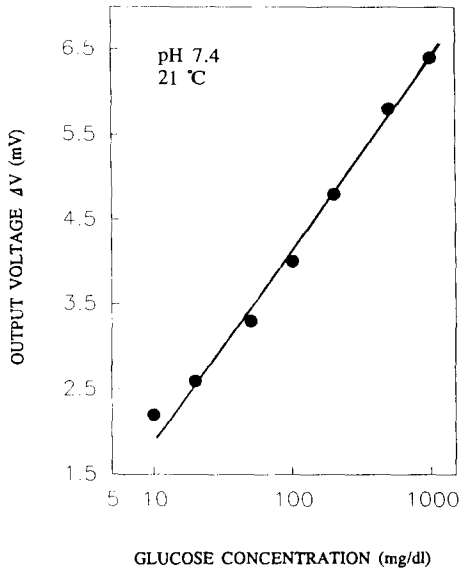


그림 8. 여러가지 포도당 농도에 대한 센서의 출력
Fig. 8. Sensor output to various glucose concentrations.

는 것을 고려하면, 제작된 포도당 센서는 충분히 넓은 정량범위를 가지는 것을 알 수 있다.

V. 결 론

사진식각기술을 이용하여 pH-ISFET의 수소이온 감지막 위에 GOD를 감광성 고분자인 PVA-SbQ 로 고정화함으로써, 고체상태의 반도체 소자와 유기물인 생체기능성막을 기술적으로 결합한 ISFET 포도당 센서를 실현할 수 있었다.

제작된 포도당 센서의 동작 특성을 조사한 결과 10~1000mg/dl의 넓은 농도 범위내에서 우수한 선형성을 보였다. 따라서 본 연구에서 제작된 포도당 센서는 넓은 정량범위를 가지며 임상 분야에 적용가능성이 높은 것으로 판단된다.

參 考 文 獻

- [1] L. Bousse, N.F. De Rooij and P. Bergveld, "Operation of chemically sensitive field effect sensors as a function of the insulator-electrolyte interface," *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. ED-30, no. 10, pp. 1263-1270, Oct. 1983.
- [2] 이 광만, 손 병기, "pH-ISFET 마이크로프로브의 제작과 그 생의학적 응용," 전자공학회 논문지, 제25권, 제11호, pp. 62-68, 1988.
- [3] G.H. Fricke, "Ion-selective electrodes," *Anal. Chem.*, vol. 52, pp. 259-275, 1980.
- [4] A.P.F. Turner, I. Karube and G.S. Wilson, *Biosensors Fundamentals and Applications*, Oxford Science Pub., Cranfield, preface, 1987.
- [5] S. Caras, J. Janata, "pH-based enzyme potentiometric sensors, part1~part3," *Anal. Chem.*, vol. 57, pp. 1917~1925, 1985.
- [6] 김 성진, 권 대혁, 이 종현, 손 병기, "ISFET 및 Pt 기준전극과 차동증폭법을 이용한 요소 감지소자 개발," 1988년도 전기·전자공학 학술대회 논문집, pp.356-359, 1988. 7.
- [7] 이귀녕, 김 진규, 임상화학, 의학문화사, pp. 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] 서 화일, 권 대혁, 이 종현, 손 병기, "ISFET 이온감지기구의 Site Binding 모형 확장과 그 Si_3N_4 수소이온 감지막에의 적용," 전자공학회 논문지, 제25권, 제11호, pp. 85-93, 1988.
- [10] Y. Hanazato, M. Nakako and S. Shiono, "Multi-enzyme electrode using hydrogen ion-sensitive field effect transistor," *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. ED-33, pp. 47-51, 1986.
- [11] 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



金 昶 秀 (正會員)

1967年 7月 4日生. 1989年 2月 경 북대 학교 전자공학과 공학사 학 위 취득. 1991年 2月 경북대학교 대학원 전자공학과 공학석사 학 위 취득. 1991年 3月~현재 세서 기술연구소 전임연구원. 주관 분야

야는 반도체 센서, 생체전자공학 등임.



崔 誠 文 (正會員)

1963年 8月 9日生. 1986年 2月 계 명대학교 화학과 이학사 학위 취 득. 1988年 2月 계명대학교 대학 원 화학과 이학석사 학위 취득. 1988年 3月~현재 계명대학교 대 학원 화학과 박사과정 재학중. 수

관심분야는 이온, 바이오센서 및 의용전자, 생체공학 등임.



徐 華 一 (正會員) 第28卷 A編 第12號 參照
현재 센서 기술연구소 선임
연구원.



金 宜 洛 (正會員)

1939年 5月 30日生. 1964年 2月 동 국대학교 화학과 이학사 학위 취 득. 1975年 2月 가톨릭 의과대학 생화학과 의학박사 학위 취득. 1976年 2月 동국대학교 대학원 화 학과 이학박사 학위 취득. 1977年

2月 미국 UTAH 대학 Post Doc. 1978年 3月 ~현재 계명대학교 화학과 교수. 주관심분야는 이온, 바이오 센서 및 의용전자, 생체공학 등임.



孫 炳 基 (正會員) 第 28卷 A編 第12號 參照
현재 센서기술연구소 소장및
경북대학교 전자공학과 교수