

# 연속적인 모니터링이 용이한 실리콘 기반의 무효소 나노혈당센서에 관한 연구



이이재 석사과정 (광운대 전자공학과) | 박재영 교수 (광운대 전자공학과)

## 1. 서론

세계보건기구 (WHO)의 통계조사에 따르면 전 세계적으로 매년 당뇨병 환자들은 기하급수적으로 늘어나고 있는 상태이며, 미국은 전체 인구의 6.3%인 1,890만 명, 국내의 경우 2005년 당시 553만 명이 당뇨병자로 조사되었다. 생활양식과 식생활이 서구화됨에 따라 당뇨병환자가 급속하게 증가되는 양상 속에서 재사용이 용이하며, 연속적으로 혈당을 모니터링할 수 있는 초소형, 고감도 혈당센서 개발의 필

요성을 보여주는 통계 결과이다. 뿐만 아니라 의학의 발전에 힘입어 인간 수명이 급격하게 증가함으로써, 전 세계는 점차적으로 고령화 시대에 접어들게 되었다. 이러한 시대의 흐름은 거동이 불편한 노인들에게 원격으로 병을 진단하고 케어할 수 있는 시스템 도입의 필요성을 인식하게 하였다. 특히, 당뇨병 환자 및 노인에 대한 헬스 케어 시스템 개발을 위해서는 연속적으로 모니터링이 가능한 센서 연구개발이 필수적이다. 그림 1과 같이 연속적인 모니터링이 가능한 센서를 바탕으로 한 원격 진단 시스템의 구현은 삶의 질 향상에 크게 기여할 것으로 판단된다.

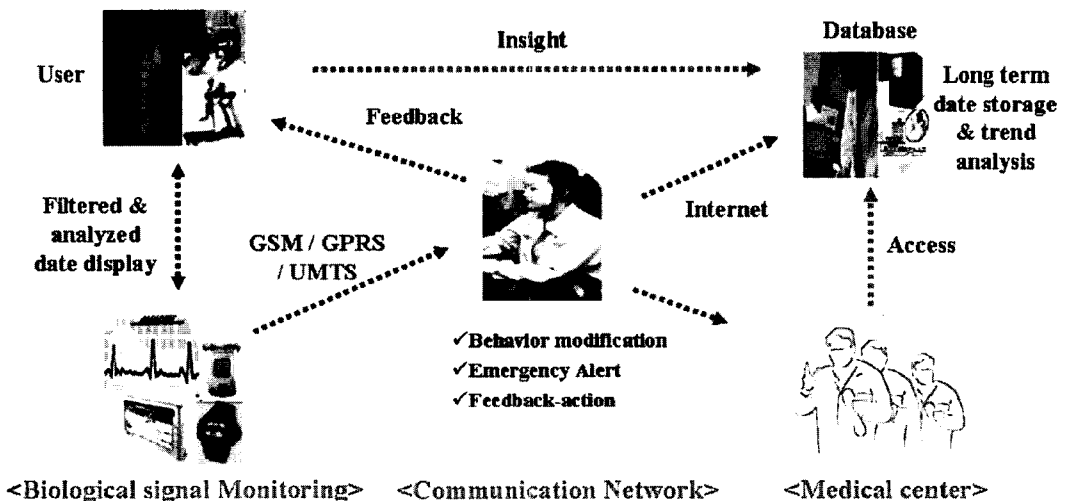
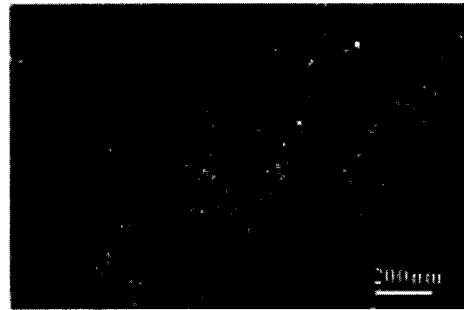


그림 1. 연속적인 혈당 모니터링 센서를 이용한 원격 진단 시스템.

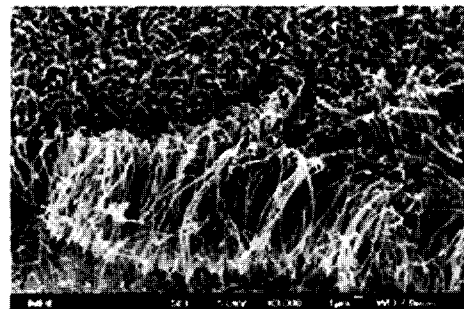


본고에서는 연속적으로 혈당을 모니터링할 수 있는 무효소 혈당센서의 연구에 대하여 논의하고자 한다. 전기화학적 (Electrochemical) 분석법에 기초한 혈당센서는 효소와 무효소 기반 센서로 구분할 수 있다. 현재 상용화되고 있는 효소기반 혈당센서의 대부분은 글루코오스 옥시다아제 (GOx)라는 효소를 전극 표면에 고정화하고, 혈중 글루코오스를 선택적으로 분해시켜 과산화수소를 생성하고 이때 발생한 과산화수소의 농도를 전기화학적 방법으로 측정하여 글루코오스의 농도를 감지하는 원리를 이용하였다. 한편, 무효소 혈당센서의 경우는 효소 고정화 공정 없이 전극표면의 특성에 따라 글루코오스의 직접적인 산화를 유발하고, 발생된 과산화수소의 측정을 통해 글루코오스 농도를 결정하는 원리를 이용한다. 수많은 연구들이 효소의 안정화를 위해서 연구를 거듭해 왔지만 생체물질에 기인한 효소의 특성상 연속적인 혈당 모니터링이 어렵다는 점, 효소의 불안정성, 보관 및 온도, 습도, pH 등에 많은 영향을 받는다는 점이 효소기반 센서의 문제점으로 대두되고 있다 [1]. 반면, 효소를 사용하지 않는 센서는 재사용이 가능할 뿐 아니라 연속적인 글루코오스 모니터링이 가능하며 환경에 대한 영향을 최소화할 수 있다는 점에서 크게 각광받고 있다.

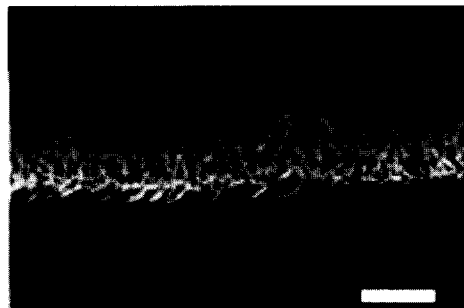
최근에 이러한 효소기반 센서의 단점을 극복하기 위해서 무효소 혈당센서에 대한 많은 연구들이 수행되어 왔다. Platinum (Pt), Gold, 또는 Pb, Pd, Rh Alloy 등의 전극 등이 시도 되었지만 [2-4], 중간생성물 (Intermediate)의 흡착 및 염화물에 의한 전극의 오염으로 Sensitivity, 선택성에 문제를 일으킨다는 결점을 보였다. 한편, 최근에는 그림 2와 같이 전극의 실효면적을 극대화하여 글루코오스의 전류응답 반응을 향상시킨 Carbon Nano-tube, Nano-particle, Pt, Au Nanoporous, Nano-tubule 등을 이용한 연구들이 활발히 진행되고 있다 [5-9]. 그 중 계면활성제의 Self-assembly 특성을 이용하여 Nanoporous Pt 구조물을 제작하는 방법이 1997년 G.S Attard [10]에 의해서 처음으로 발표된 이후, 무효소 혈당센서의 응용 가능성이 대두된 바 있다. Nanoporous Pt 전극에서 글루코오스는 전극 실효면적의 증가로 인해서 높은 Sensitivity를 보이는 반면 AA (Ascorbic



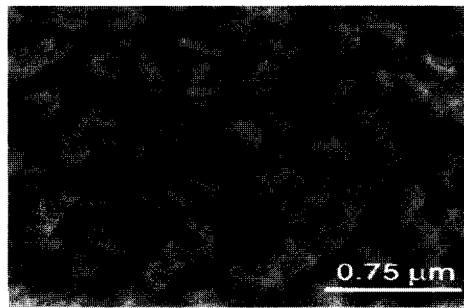
(a)



(b)



(c)



(d)

그림 2. (a) Pt-MWCNT, (b) MWCNT, (c) Au Nanopillar Array Electrode (AuNPE), (d) Platinum Nanotubule를 이용한 무효소 혈당 센서의 전극 SEM 이미지.

Acid), AP (Acetaminophen)과 같은 방해종은 글루코오스보다는 낮은 Sensitivity를 보인다. 이는 전극 표면에 형성된 전압인가로 인해 생성된 Diffusion Layer의 Depth가 형성된 Nano-pore 내에서 무시할 수 없는 변수로 작용함을 의미한다. 상대적으로 반응속도가 빠른 방해종에 비해 반응속도가 느린 글루코오스의 특성을 이용한 것으로서 반응속도가 빠른 방해종들이 전극에 형성된 Pore와 관계없이 전극 표면에서 빠르게 반응이 이루어지는 반면 반응속도가 느린 글루코오스는 Pore 내부에서도 많은 농도의 글루코오스가 남아 반응이 이루어지기 때문에 상대적으로 전극의 실효면적 증가의 영향은 방해종 보다는 글루코오스에 선택적으로 영향을 끼치게 된다.

본고에서 전기화학분석법에 기초하여 작동전극의 표면에 형성되는 Pore 사이즈에 따른 글루코오스의 전류응답 특성 영향을 분석하기 위해 Micro-pore와 Nano-pore Pt 전극을 제작하고 전기화학적 특성 뿐만 아니라 글루코스에서의 반응 특성을 측정 및 분석하였다. 제작된 전극은 실리콘 CMOS Readout 회로와 직접화되어 하나의 바이오센서 칩으로 구현하기 위하여 실리콘 기판 위에 제작되었다.

## 2. 본 론

### 2.1 Micro-pore와 Nano-pore Pt 전극 제작

Nano-pore 구조를 갖는 Pt 전극은 전해도금 (Electroplating)을 통해서 제작된다. 전해도금을 위해 비이온성 계면활성제  $C_{16}EO_8$  (Octaethylene Glycol Monohexadecyl Ether, 98 % Purity, Fluka) 42 %, 탈이온수 (18 MΩ cm) 29 %, 염화백금산 (Hexachloroplatinic Acid Hydrate, 99.9 % Purity, Aldrich) 29%로 구성된 도금액이 준비된다.

비이온성 계면활성제  $C_{16}EO_8$ 의 Lyotropic Liquid Crystalline Phases는 그림 3과 같이 친수성 부분과 소수성 부분으로 구성되며 넓은 범위에 걸쳐 2~15 nm의 간격으로 주기적, 반복적으로 분포하는 구조적 특성을 가진다.

그림 4는 계면활성제  $C_{16}EO_8$ 의 각기 다른 온도에

서의 Phase Diagram을 보여준다. 그림에서 보는 것과 같이 넓은 혼합 및 온도범위를 갖는 Hexagonal Phase는 안정적인 뿐 아니라 백금 도금액의 혼합 비율에 있어서 Hexagonal Phase의 혼합 비율과 맞게 선택되었다.

제안된 Micro-pore Pt 전극은 Pore 직경 10 μm, 높이 80 μm를 가지며, Nanoporous Pt 전극은 2.5 nm의 Pore 사이즈를 갖는다. 그림 5는 실리콘 기판 위에 제작된 (a) Micro-pore Pt 전극과 (b) Nano-pore Pt 전극의 제작 과정을 보여준다. 그림 5(a)에서 Micro-pore Pt는 먼저 실리콘 기판 위에  $SiO_2$  Layer를 증착하고 Photo Lithography를 실시한 후 Pore를 형성

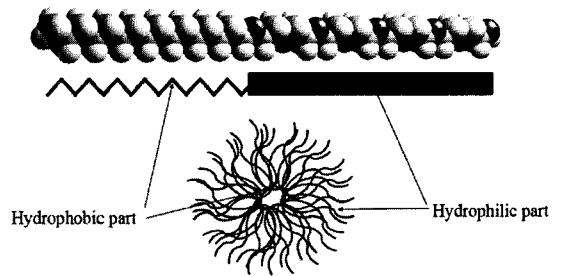


그림 3. 수용성 용액에서의 비이온성 계면활성제  $C_{16}EO_8$ 의 구조.

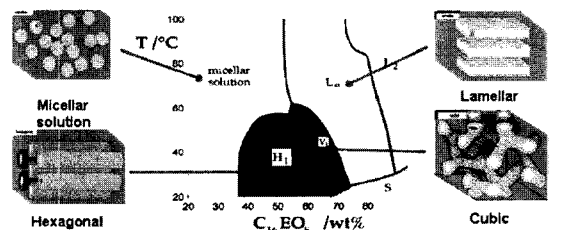


그림 4. 계면활성제  $C_{16}EO_8$  Mixture의 각기 다른 온도에서 Phase Diagram.



시킬 부분의 SiO<sub>2</sub>를 식각한다. 그 후 Deep RIE를 이용하여 실리콘 기판을 필요한 구멍의 깊이만큼 깎아낸 후 SiO<sub>2</sub>를 제거한다. 드러난 기판 위에 Ti/Pt를 증착하면 Micro-pore를 갖는 Pt 전극이 제작된다. 한편, 그림 5(b)에서 Nano-pore Pt 전극은 실리콘 기판위에 SiO<sub>2</sub> Layer를 형성하고, 바탕전극으로 사용하기 위해 Ti/Pt 증착, 준비된 계면활성제 C<sub>16</sub>EO<sub>8</sub>를 포함한 도금액의 온도를 85°C로 올려준 후 25°C로 내려주면 계면활성제가 전극 표면에 수직으로 배향되어 육각으로 배열된 원통형 몰드를 형성하게 된다. 그 후 전기화학 분석기를 이용한 Pt 전해도금을 실시한다. 전해도금 후 탈이온수로 계면활성제를

Cleaning 하게 되면 Nano-pore Pt 전극을 얻을 수 있다.

그림 6에서는 실리콘 기판 위에 제작된 Nano-pore Pt 전극 표면의 (a) AFM 및 (b) TEM 이미지를 보여준다. 그림 6(a)에서 Nano-pore Pt 전극의 Surface Morphology를 AFM (Atomic Force Microscopy, XE-100, Park System, Korea)를 통해서 분석하였으며 전극 표면 거칠기의 RMS (Root Mean Square) 값은 3.041 이었다. Nano-pore Pt 전극의 HR-TEM (High Resolution Transmission Electron Microscope, JEM-3010) 이미지에서 예상했던 Porous 나노 구조물을 확인할 수 있었다(그림

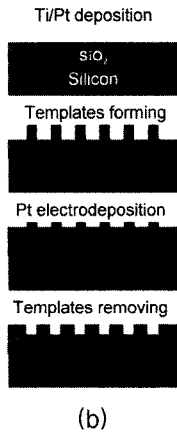
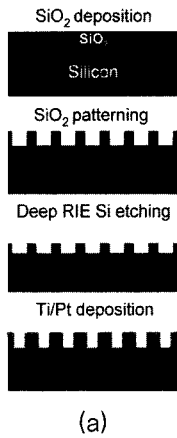


그림 5. 실리콘 기판 위에 (a) Micro-pore와 (b) Nano-pore Pt 전극의 제작과정.

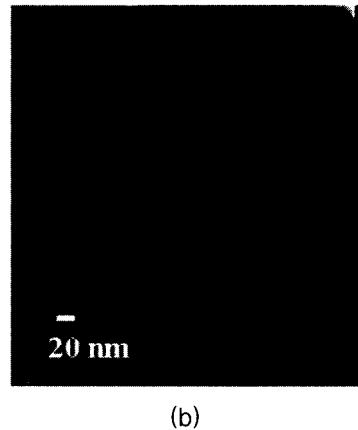
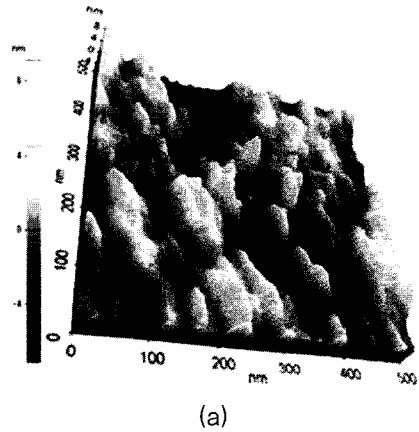


그림 6. 실리콘 기판 위에 제작된 Nano-pore Pt 전극 표면의 (a) AFM 및 (b) TEM 이미지.

6(b)). TEM 이미지의 밝은 영역은 계면활성제 몰드가 Cleaning된 후 남아있는 육방면의 Pore들을 의미하는 반면 어두운 영역은 전해 도금된 Pt를 나타낸다.

2.2 실험 결과 및 분석

모든 전기화학적 측정은 Electrochemical Analyzer (CHI 600B, CH Instruments Inc., USA)를 이용하여 3전극 시스템에서 수행되었으며 Ag/AgCl 전극을 기준전극으로 사용하였다. 제작된 Micro-pore 및 Nano-pore Pt 전극의 특성 평가를 위해서 전류응답 반응을 다양한 농도의 과산화수소와 글루코오스 용액에서 비교 분석하였다. 또한 인가전위는 글루코오스의 산화를 촉진하는 반면 방해종의 직접적인 산화를 막기 위해 0.4 V로 인가하였다.

전극 표면의 실효면적 변화를 확인하기 위해 2 M의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액에서 200 mV/sec의 Scan Rate로 제작된 각각의 전극의 Cyclic Voltammetry를 수행하였다. 그림 6에서 빛금 친 영역은 수소가 환원되는 영역으로서 전극의 Roughness Factor (RF)는 전극표면에서 수소의 흡착 Charge로 계산할 수 있다. 수소 Atom에 의해서 전극 표면에 흡착으로 형성된 수소 층과 관련된 수소의 흡착 Charge는 일반적으로 0.21 mC/cm<sup>2</sup>로 제시된 바가 있다 [11]. 제작된 전극의

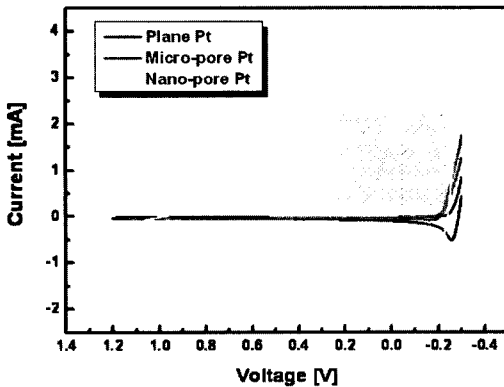


그림 7. 제작된 전극의 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액에서 Cyclic Voltammetry 응답 비교.

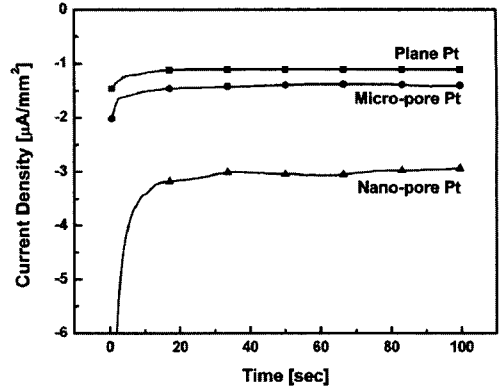


그림 8. 제작된 Micro-pore Pt와 Nano-pore Pt 전극의 1 mM 과산화수소에서 Chronoamperometry 전류응답 특성.

RF는 빛금 친 영역의 Charge를 0.21 mC/cm<sup>2</sup>로 나눈으로써 계산할 수 있다. 그림 7에서 보는 것과 같이 Nano-pore Pt 전극의 수소 환원 영역은 Micro-pore Pt 전극 및 Plane Pt 전극보다 월등히 큰 것을 확인할 수 있다. 제작된 Nano-pore Pt 전극의 계산된 RF 값은 374 이었다.

과산화수소는 글루코오스의 산화물질인 동시에 그것의 농도로서 글루코오스의 농도를 가늠할 수 있다. 그림 8은 0.1 M PBS (Phosphate Buffered Saline,

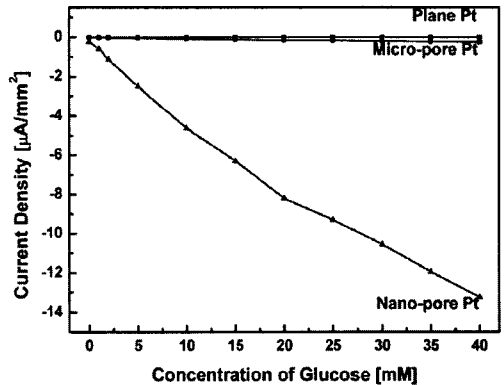


그림 9. 다양한 글루코오스 농도에서 제작된 Micro-pore와 Nano-pore Pt 전극의 전류 응답 비교.



pH 7.4) 용액에서 1 mM의 과산화수소 용액을 주입하고 제작된 전극의 전류응답 특성을 측정, 비교한 그래프이다. Nano-pore Pt 전극은 Micro-pore Pt 전극 및 Plane Pt 전극보다 더 높은 전류응답 반응을 보인다. 이는 전극의 실표면적 증가와 전류응답 반응의 관계를 보여주는 동시에 Nano-pore를 가진 전극의 실표면적이 제작된 다른 전극들에 비해 월등히 크다는 것을 증명한다.

그림 9은 다양한 농도의 글루코오스 용액을 연속적으로 주입하면서 전류응답 반응을 측정, 비교한 그래프이다. 각각 다른 농도의 글루코오스를 주입하고 60초 후 전류값이 충분히 안정화 되었을 때 측정값을 기록하였다. 제작된 Plane Pt, Micro-pore Pt, Nano-pore Pt 전극은 10 mM의 글루코오스 농도에서 각각 9.9 nA/mm<sup>2</sup>, 92.4 nA/mm<sup>2</sup>, 4600 nA/mm<sup>2</sup>의 Sensitivity를 보였다. 이러한 결과는 Nano-pore Pt 전극이 다른 Pt 전극보다 글루코오스 측정에 있어 가장 Sensitivity한 구조를 가지고 있음을 보여준다.

그림 10에서는 0.1 M PBS 용액에 동일한 샘플에 대해서 각각 10 mM 농도의 글루코오스, 0.1 mM의 AA, AP 용액을 주입했을 때, 각각의 전류응답 반응을 비교하였다. 그림 9에서 보는 것과 같이 10 mM

글루코오스 용액에서 Nano-pore Pt 전극의 전류 응답반응이 Micro-pore Pt 전극보다 월등히 컸다. 한편, 글루코오스의 전류변화에 비해 AA, AP와 같은 방해종에 대한 영향도를 비교해 보았을 때, Nano-pore Pt 전극의 전류응답 특성에 대한 방해종에 의한 전류응답특성은 무시할 수 있을 정도로 작았지만 Micro-pore Pt의 경우 방해종에 대한 영향은 무시할 수 없을 정도로 컸다. 따라서 이를 통해 전극의 Pore 사이즈는 Diffusion Layer의 Depth보다 작아야 하며 글루코오스 입자의 직경보다는 큰 조건에서 선택성을 크게 증가시킬 수 있음을 알 수 있다.

이러한 데이터는 Nano-pore Pt 전극이 유비쿼터스 헬스 케어 및 진단시스템 응용을 위해 실리콘 CMOS Readout 회로와 집적이 가능할 뿐 아니라 재사용이 가능하고 연속적인 모니터링이 가능한 바이오센서칩 개발에 유망하다는 것을 보여준다.

### 3. 결론

전기화학적 분석법에 기초한 혈당센서는 대부분 효소의 특성에 그 기능이 좌우된다. 생체물질에 기인한 효소는 온도, 습도, pH 등에 많은 영향을 받아 그 안정성에 많은 문제점이 제기되고 있다. 이러한 효소기반 혈당 센서는 연속적인 혈당 모니터링 및 재사용이 어렵기 때문에 무효소 혈당센서에 대한 관심이 고조되었었다.

본고에서는 무효소 혈당센서에 대한 많은 연구들이 다양한 접근방법을 이용하여 수행되어 왔음을 확인했었다. 또한 Micro-pore Pt 전극과 Nano-pore Pt 전극의 글루코오스에 대한 전류응답 반응을 전기화학적 분석법에 기초하여 비교, 분석해 보았다. 동일한 전극 사이즈를 갖지만 실표면적이 더 높은 거칠기를 가진 Nano-pore Pt 전극은 Plane Pt 및 Micro-pore Pt 전극에 비해서 다양한 농도의 과산화수소 및 글루코오스에서 월등히 높은 전류응답 반응을 보였다. 특히, 방해종에 대한 영향 비교에 있어서도 Nano-pore Pt 전극은 무시할 수 있을 정도의 특성을 보였다. 이는 실리콘 기반의 Nanoporous Pt 전극이 초소형 무효소 나노혈당센서로서 응용 가능성을 보

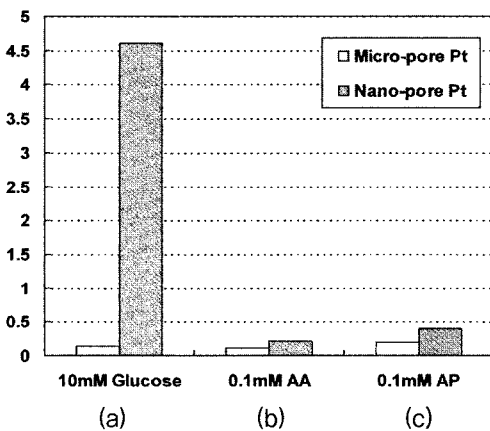


그림 10. 제작된 Micro-pore와 Nano-pore Pt 전극의 전류응답 특성 비교 (a) 10 mM 농도의 글루코오스 용액, (b) 0.1 mM AA 용액, (c) 0.1 mM AP.

여주는 결과라 할 수 있다. 또한 실리콘 기판 위에 제작함으로써 차후 실리콘 기반의 CMOS Readout 회로와 집적이 가능하며, 센서 사이즈의 소형화, 효소를 사용하지 않으므로 연속적인 혈당 모니터링 및 재사용의 가능성을 확인할 수 있었다.

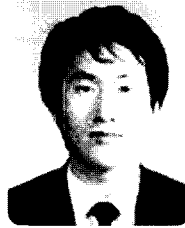
## 감사의 글

본 연구는 지식경제부 및 정보통신연구진흥원의 IT 핵심기술개발사업의 일환으로 수행하였음 [2005-S093-03, 생체신호 처리기반 Implantable System 개발].

## 참고 문헌

- [1] Sejin Park, Hankil Boo, Taek Dong Chung, *Analytica Chimica Acta* 556 (2006) 46.
- [2] B. Beden, F. Largeaud, K.B. Kokoh, C. Lamy, *Electrochim. Acta* 41 (1996) 701.
- [3] M.W. Hsiao, R.R. Adzic, E.B. Yeager, J. *Electrochem. Soc.* 143 (1996) 759.
- [4] Y. Sun, H. Buck, T.E. mallouk, *Anal. Chem.* 73 (2001) 1599.
- [5] Jian-Shan Ye, Ying Wen, Wei De Zhang, Leong Ming Gan, Guo Qin Xu, Fwu-Shan Sheu, *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 66.
- [6] Lian-Qihn Rong, Chen Yang, Qing-Yun Qian, Xing-Hua Xia, *Talanta* 72 (2007) 819.
- [7] Yu Bai, Hua Yang, Weiwei Yang, Yancai Li, Changqing Sun, *Sensors and Actuators B* 124 (2007) 179.
- [8] Hye-Kyoung Seo, Dae-Joon Park, and Jae-Yeong Park, *IEEE SENSORS JOURNAL*, 7 (2007) 945.
- [9] Jinhua Yuan, Kang Wang, Xinghua Xia, *Adv. Funct. Mater.*, 15 (2005) 803.
- [10] G.S. Attard, P.N. Bartlett, N.R.B. Coleman, J.M. Elliott, J.R. Owen, J.H. Wang, *Science*, 75 (1997) 838.
- [11] T. Biegler, D.A.J. Rand, R. Woods, *J. Electroanal. Chem.* 29 (1971) 269.

## 저|자|약|력



성 명 : 이이재

- ◆ 학 력
- 2007년
- 광운대 전자공학과 공학사

- ◆ 경 력
- 2007년 - 현재

광운대 대학원 전자공학과 석사과정



성 명 : 박재영

- ◆ 학 력
- 1992년
- 한국항공대 정보통신공학과 공학사
- 1995년
- 미국 조지아공대 전기 및 컴퓨터공학부 공학석사
- 1997년
- 미국 조지아공대 전기 및 컴퓨터공학부 공학박사

- ◆ 경 력
- 1994년 - 1997년
- 미국 조지아공대 전기 및 컴퓨터공학부 연구조원
- 1997년 - 1999년
- 미국 조지아공대 전기 및 컴퓨터공학부 연구과학자
- 1999년 - 2001년
- 엘지전자기술원 소재재료연구소 선임 연구원
- 2001년 - 2004년
- 엘지전자기술원 소재재료연구소 책임 연구원
- 2004년 - 2007년
- 광운대 전자공학과 조교수
- 2008년 - 현재
- 광운대 전자공학과 부교수

