

## 마이크로머시닝 기술을 이용한 3차원 마이크로 챔버형 글루코스 센서의 개발

김창교<sup>1\*</sup> · 김성호<sup>2</sup>

### Development of Three-dimensional Chamber-type Glucose Sensor Using Micromachining Technology

Chang Kyo Kim<sup>1\*</sup> and Sung Ho Kim<sup>2</sup>

**요 약** 3차원 실리콘 챔버를 갖는 15.8×15.8 mm<sup>2</sup> 크기의 칩을 바이오 센서용으로 마이크로머시닝 기술을 이용하여 개발하였다. 비등방성 식각기술을 이용하여 (100)방향의 p형 실리콘 웨이퍼위에 마이크로 챔버를 형성하였다. 마이크로 챔버를 갖는 웨이퍼와 백금전극이 도포된 Pyrex 유리를 DGF-48S 접착제를 이용하여 접합하였다. 백금전극과 Ag/AgCl 기준전극에 의한 전기화학적 특성을 조사하였다.

**Abstract** A micromachined biochip with a three dimensional silicon chamber was developed for the construction of biosensors. Anisotropic etching was used for the formation of the chamber on the p-type silicon wafer(100) and then was glued to the Pyrex glass bottom-substrate with pre-deposited platinum electrode. The electrochemical characterization of its Pt electrode and Ag/AgCl reference electrode was investigated.

**Key Words** : biochip, micromachining technology, biosensor, MEMS, glucose sensor

### 1. 서 론

1990년대 이후로 상업화 및 대량 생산이 가능하기 때문에 마이크로머시닝(micromachining) 기술을 이용한 화학센서와 바이오센서에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다[1-5]. 가스 센서, 이온 센서, 바이오센서를 제작하기 위해서 후막 또는 박막 공정이 많이 이용되고 있다. 그러나 후막 또는 박막 기술은 평판형 센서의 제작이 어렵고 충분한 기계적 강도를 얻기가 어렵다는 단점이 있다[6]. 마이크로머시닝기술을 이용하면 실리콘의 비등방성 식각 기술을 이용하기 때문에 3차원 바이오센서의 제작이 가능하게 되었다. 제작된 챔버는 감지부를 둘러싸고 있는 부분을 보호할 수 있도록 되어 있다[7, 8].

센서 소형화의 많은 개념은 평면 실리콘 기술을 기초로 하고 있다. 그러나 새로운 기술은 3차원 웨이퍼 기술에 의해 얻어질 수 있다. 비등방성 식각 공정을 이용하

는 마이크로머시닝 기술은 실리콘 마이크로 공정을 이용하여 센서 제작 분야에 많은 기여를 하고 있다[1-3]. 이러한 공정 기술은 3차원 마이크로 구조물을 제작하기 위해 유용하게 이용할 수 있다. 물리 센서와 화학 센서 분야에서 마이크로 머시닝기술을 이용한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 제작된 챔버 구조는 센서를 외부 환경으로부터 보호하고 제어하는데 이용할 수 있다. 이러한 기술은 센서의 화학적 간섭 효과를 감소시키는 역할을 한다[7, 9]. 제작된 마이크로 칩의 챔버 구조는 덮혀 있는 감지 멤브레인에게 더 많은 공간을 제공하고 기계적 강도를 보장해준다. 평면 실리콘 기술에서 멤브레인 재료와 효소는 평판형 센서의 상단에 박막으로 집적된다. 반대로 실리콘 피라미드형 용기(containment) 센서는 멤브레인과 생물학적인 성분을 위한 특별히 적용된 cavity를 갖고 있다. 한편 반응 구성물은 실리콘 칩내에 안전하게 부착되어 있다.

페로신(ferrocene)은 글루코스 산화 효소(glucose oxidase)에 전하 전달 과정에 효과적인 매개체 역할을 하는 것으로 알려져 있다[10-12]. 그러나 그것을 고정화된 효소 시스템에 결합시키는 것과 페로신의 낮은 용해도 때문에 누출되는 것을 피하기가 어려운 것으로 알려

이 논문은 산업자원부 지정 순천향대학교 차세대BIT무선 부품연구센터의 지원에 의하여 연구되었음.

<sup>1</sup>순천향대학교 정보기술공학부

<sup>2</sup>순천향대학교 응용과학부

\*교신저자: 김창교(ckkim1@sch.ac.kr)

져 있다. 페로신의 용해도가 cyclodextrin(CD)의 복합물을 첨가함으로써 증가되는 것으로 보고되었다[10-12].

본 연구에서는 실리콘 마이크로머시닝 공정을 이용하여 제작한 마이크로 글루코스 센서에 대한 연구를 진행하였으며, 멤브레인의 재료를 특정한 위치에 정확하게 고정화(place-selective immobilization)시키기 위해 효소 멤브레인을 이방성 식각을 통하여 얻어진 실리콘의 피라미드형 용기 속에 형성하였다. 본 연구에서는 사용상의 편리를 위해 Pt전극과 Ag/AgCl 기준전극을 한 개의 칩 상에 형성하여 센서의 제작 공정을 단순화하고 사용하기 편리한 센서를 얻었다. 이것은 대량생산이 가능한 방식이다. 멤브레인과 효소를 위한 증착공정 뿐만 아니라 센서 제작공정도 웨이퍼 레벨에서 가능하다. 또한 한 개의 웨이퍼상에 다른 종류의 효소를 갖는 센서를 제작하는 것도 가능하다. 더욱이 다른 효소를 이용한 여러 종류의 물질을 측정하는 센서도 추가적인 공정없이도 가능하다.

## 2. 실험

### 2.1 포도당 센서 제작 공정

글루코스 센서를 제작하기 위해 두개의 기판을 사용하여 두 가지 공정으로 나누어 기판을 제작하였고, 기판으로서의 윗 기판으로 5000Å 두께의 SiO<sub>2</sub>를 가진 p-type (100)웨이퍼를 사용하고 아래기판은 코닝사의 7740 Pyrex 글라스를 사용하였다. 그림 1은 글루코스

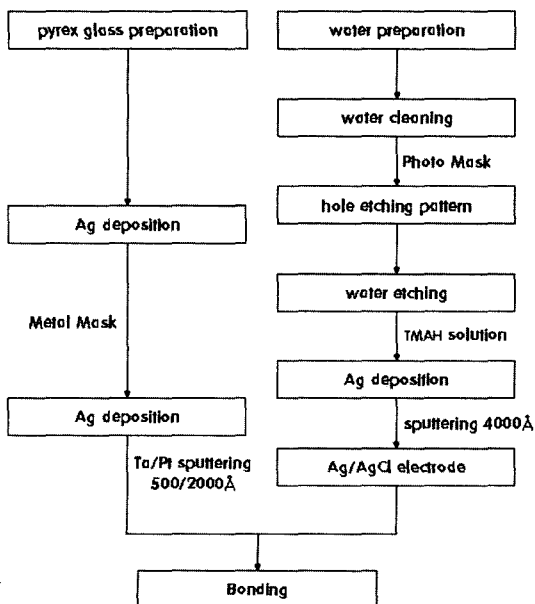


그림 1. 글루코스 센서의 제작 공정도

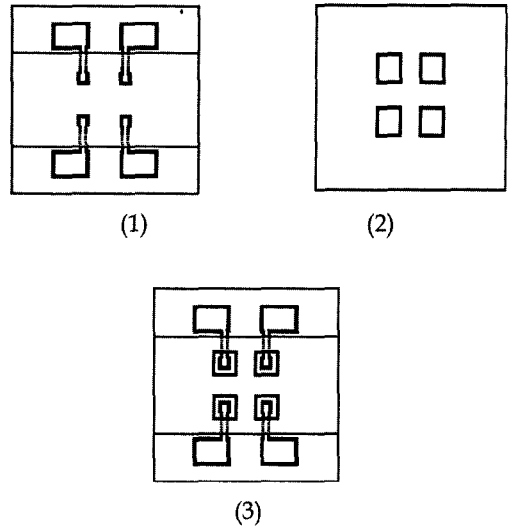


그림 2. 마스크 패턴 (1) 파이렉스 유리상에 형성하는 백금 전극용 금속 마스크 (2) 실리콘 웨이퍼에 형성한 피라미드형 미소용기용 광마스크 패턴 (3) 정렬된 마스크 패턴

센서의 제작 공정도를 보여주고 있다. 그림 2는 글루코스 센서의 제작을 위한 마스크를 나타내고 있다. 그림 2(a)의 금속마스크는 스퍼터링을 이용한 Pt전극용 패턴 마스크이고, 그림 2(b)의 포토마스크는 습식 식각에 의한 이방성 식각을 통해 피라미드형 용기 패턴을 형성하기 위한 마스크이다. 그림 2(c)는 두 기판의 정렬 상태를 나타낸 것이다.

1) 상부 기판으로는 (100)방향의 4" p형 실리콘 웨이퍼(두께: 500 μm)를 사용하였으며 PECVD(plasma enhanced chemical vapor deposition)를 이용하여 1.5 μm 두께의 SiO<sub>2</sub>를 성장시켰다.

2) 하부 기판으로 2" 7740 Pyrex 유리(두께: 300 μm)를 사용하였다.

3) 초기 세척 후 아래 기판인 2" 7740 Pyrex 유리 표면 위에 그림 1(a)의 금속 마스크를 가지고 Ta/Pt를 각각 500 Å 및 2000Å를 스퍼터를 이용하여 증착하였다. Ta는 Pt와 유리와의 접합성을 향상시키기 위해 사용하였다.

4) 상부 기판인 4" p형 실리콘 웨이퍼에 정방형 피라미드형 용기 패턴을 형성하기 위해 그림 1(b)의 포토 마스크를 이용하여 패턴을 형성하였다. 이때 사용된 감광제는 AZ512이었고 스펀코터를 이용하여 400 rpm에서 40초동안 스펀코팅하여 1.2 μm 두께의 감광제를 얻었으며 핫플레이트를 이용하여 95°C에서 40초동안 소프트 베이킹하였다. 패턴 형성을 위해 17 mW에서 2.5 초동안 노광한 후에 AZ300으로 현상하였으며 다시 핫플레이트에서 110°C에서 60초간 하드베이킹하였다.

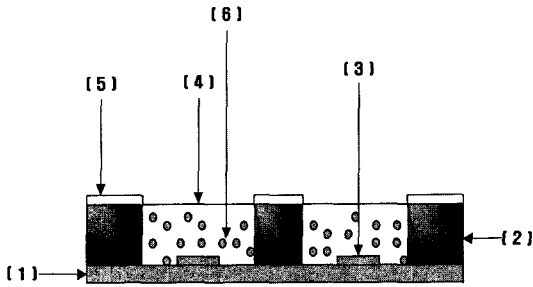


그림 3. 글루코스 센서를 보여주는 단면도 (1) 파라펙스 유리(7740), (2) 실리콘 웨이퍼, (3) 백금 일 전극, (4) 나피온(nafion) 확산 방지 멤브레인, (5) Ag/AgCl 기준 전극, (6) 효소 멤브레인

BOE(buffered oxide etchant)용액을 이용하여 SiO<sub>2</sub>를 식각하였으며 감광제를 제거하기 위해 AZ700제거제를 사용하였다. 마지막으로 정방형 피라미드형 용기를 형성하기 위해 TMAH (tetramethylammonium hydroxide)용액으로 90°C에서 이방성 식각을 행하였다. 이때 전면을 보호하기 위해 특수 제작된 테프론 덮개를 사용하였다. 이렇게 하여 제작된 정방형 홀의 크기는 1.9×1.9 mm<sup>2</sup> 이었다.

5) 식각된 웨이퍼 뒷면에 4000Å 두께의 Ag막을 증착한다.

6) Ag 막을 증착한 후 Ag/AgCl 전극을 형성하기 위해 0.25 molL<sup>-1</sup>법을 이용하여 FeCl<sub>3</sub> 용액 안에서 50분 간 30°C에서 염화처리 시킨 후 건조시킨다.

7) 최종적으로 상부기판과 하부기판을 접합하기 위해 glue(DGF-48S, Ec계 binder)를 이용하여 500°C에서 30분 동안 오븐에서 열처리하였다.

그림 3은 글루코스 센서의 모형을 나타내고 있다. 최종적으로 완성된 전체 센서의 크기는 15.8×15.8 mm<sup>2</sup>이며 정방형 홀의 크기는 1.9×1.9 mm<sup>2</sup>이다. 자체 제작 공정은 다음과 같다.

### 2.2 효소막 제조

효소는 생체 내에서 특정 생화학적 반응의 속도를 증가시키는 촉매 역할을 하는 단백질이다. 효소는 시료에 포함된 물질을 자신의 농도에는 변화시키지 않는 반면에, 반응을 통해 분석 대상물질을 센서의 신호 변환 장치가 인식할 수 있는 물질로 계속해서 변화시키므로, 연속적인 모니터링이 가능하므로 이 연구에서의 효소 제조법은 상당히 중요한 과정이다. 다음은 효소를 제조하고 고정화하는 방법이다. 0.05 g β-cyclodextrin(분자량: 1135 g)은 5% 글루타르 알데히드의 5 ml안에 첨가한다. 그리고 용해될 때까지 20분 동안 잘 섞는다. 공정

이 끝난 후 0.01 g ferrocene을 준비하여 β-CD용액 안에 첨가하고, 완전한 1 mM Fc-CD inclusion complex를 형성하기 위해 섞는다. ferrocene은 잘 녹지 않으므로, 초음파 세척기 안에서 2시간 동안 섞는다. 그것은 글루코스 감지 마이크로칩의 구조에서 매개물로 사용 된다.

### 2.3 효소막의 고정화

5 μl의 CD-Fc inclusion complex가 함유된 용액을 완성된 마이크로 칩의 용기(microcontainment)안에 넣고 건조되어질 때까지 기다린다. 이후에 기질용액인 GOD, BSA, 최적 비율을 가진 글루타르 알데히드의 혼합된 용액을 5 μl크기의 용기 안에 첨가한다. GOD는 첨가량에 상관없이 어느 정도의 양만 첨가하여도 무관하다. 여기서 BSA의 양은 분자량을 계산하여 위의 CD-Fc inclusion complex함유 비율과 유사하게 첨가한다. nafion 박막은 5 μl를 필요로 하는 1% nafion emulsion을 첨가하여 필름을 대고 고정화된 GOD 멤브레인의 표면 위에 코팅한다. 그리고 나서 필름을 제거하면 효소막 위에 nafion membrane을 형성시킬 수 있다.

### 2.4 센서 특성 측정

μ단위의 전류를 측정하기 위해 Labview 프로그램을 이용하여 단위시간 당 μ단위의 전류를 측정하였다. 그림 4는 실험 측정장치 모형을 보여주고 있다. 다음은 글루코스 센서의 감지에 대한 특성을 알아보기 위해 실험 절차를 통해 실험하였다.

1) 10 mV/s~400 mV/s까지의 시간에 대한 전위를 서로 다른 농도의 글루코스를 첨가한 후 출력전류를 조사한다.

2) 200 mM의 특정농도에 대한 각각의 전압을 인가하여 출력전류 특성을 조사한다.

3) 200 mM의 특정농도에 대한 글루코스를 가진 센

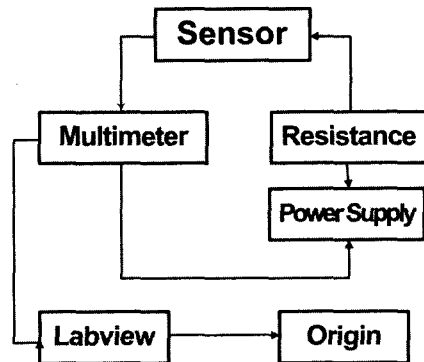


그림 4. 센서 특성 측정을 위한 실험 장치 구성도

서의 응답시간 특성을 조사한다(400 mV/s를 전압을 인가하여 응답시간과 출력전류 특성 조사).

4) 서로 다른 글루코스 농도에 따른 400 mV/s에서의 출력전류 특성을 조사한다.

5)  $F_c^+$ 의 유무에 따른 출력전류를 조사한다(글루코스의 농도: 200 mM, 전위: 400 mV/s).

### 3. 결과 및 고찰

그림 5는 scan rate에 따른 서로 다른 양(100, 150, 200, 250, 300 mM)의 글루코스를 첨가한 후 출력전류를 나타내고 있다. 글루코스 농도가 100 mM 일 때 scan rate가 10 mV/s에서는 출력전류가 22  $\mu$ A이고 20 mV/s일 경우에는 24  $\mu$ A, 100 mV/s일 경우에는 32  $\mu$ A로 증가하고 있음을 나타내고 있다. 이는 scan rate가 증가함에 따라 출력전류가 증가하는 것으로 시료 용액 중의 글루코스가 확산되면 고분자막에 고정된 글루코스 산화 효소에 도달하고 효소반응에 의해 글루코노락톤이 생성되어 산소가 소모되어 산소전극 위에 전류가 증가 되는 것을 나타내는 것으로 scan rate가 증가하면 더 많은 반응이 효소에 의해 일어난다는 것을 나타낸다. 또한 글루코스 농도가 증가함에 따라 출력전류가 증가하는 경향도 더 많은 반응이 일어난다는 것을 의미한다.

그림 6은 200 mM 글루코스와 400 mV의 전압을 인가한 후의 센서의 응답시간 특성을 나타내고 있다. 응답시간은 240초 이내에서 반응을 보였고, 출력전류가 안정된 상태로 회복되는 시간은 50초 이내에서 나타났다

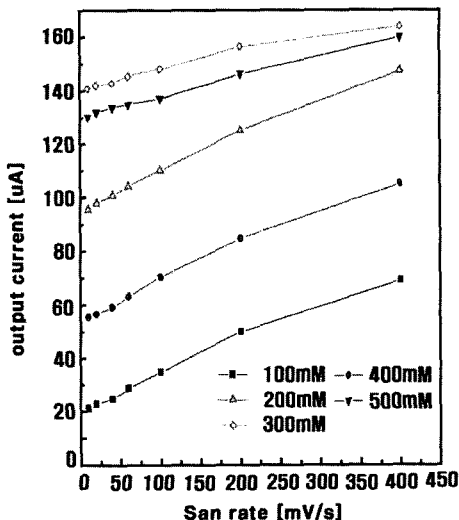


그림 5. 여러 글루코스 농도에서 scan rate 변화에 따른 센서의 출력전류 특성

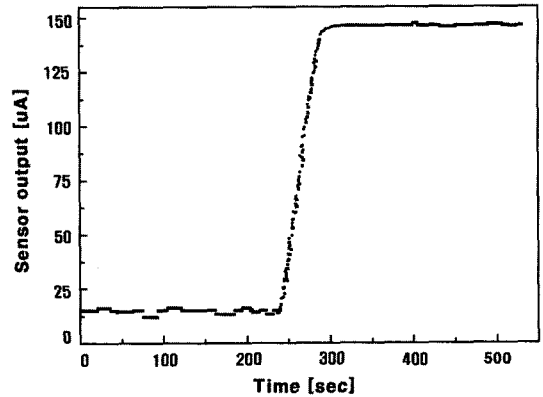


그림 6. 200 mM 글루코스가 센서로 주입되고 scan rate가 400 mV/s로 인가되었을 때 센서 출력의 변화 특성

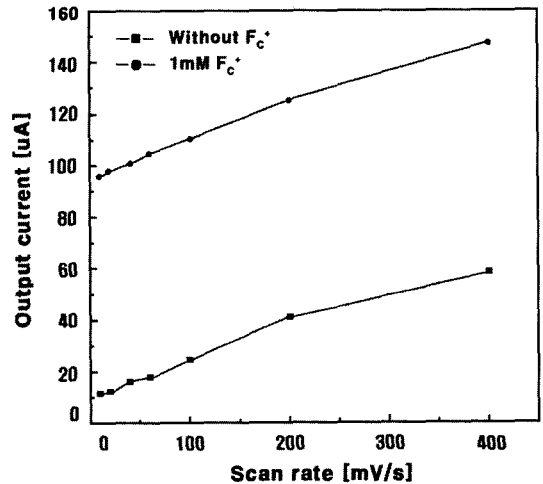


그림 7.  $F_c^+$ 의 유무에 따른 scan rate의 변화에 따른 센서의 출력 특성

다. 이러한 특성은 실용화 가능성을 충분하다는 것을 보여주고 있다.

그림 7은  $F_c^+$ 의 유무에 따른 출력전류값을 보여주고 있다.  $F_c^+$ 가 함유된 센서의 출력 전류값이  $F_c^+$ 가 함유되지 않은 센서의 출력 전류값보다 큰 전류값을 보여주고 있다. 결과적으로  $F_c^+$ 는 전극 활성 물질의 역할을 한다는 것을 확인하였다.  $F_c^+$ 는 glucose에서의 백금전극과 반응하여 전극 표면에서 발생하는 급의 전류를 활성화시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다[10-12].

### 4. 결 론

본 연구에서는 실리콘 마이크로 머시닝 공정을 이용하여 제작한 마이크로 글루코스 센서를 제작하였다. 맴

브레인 재료를 특정한 위치에 고정화시키기 위해 효소 멤브레인을 이방성 식각을 통해 얻어진 실리콘의 피라미드형 용기 안에 형성하였다. 사용상의 편리를 위해 Pt전극과 Ag/AgCl기준 전극을 한 개의 칩상에 형성하여 센서의 제작 공정을 단순화하였다. 그리고 효소의 제조법과 고정화하는 연구를 시행하였다. 최종적으로 칩의 전체 크기는  $15.8 \times 15.8 \text{ mm}^2$ 이며 이방성 대칭으로 인한 Si의 정방향 홀의 크기는  $1.9 \times 1.9 \text{ mm}^2$ 이었다. 각각의 전위와 서로 다른 글루코스 농도 등의 다양한 조건에서의 실험 결과에 따라 전극 표면에서 발생하는  $\mu\text{A}$  크기의 전류는 글루코스의 농도(100-300 mM) 범위에서 농도 변화에 비례하는 것을 알 수 있었다. 글루코스에 대한 응답 시간은 240초 이내에서 반응을 보였고 출력 전류가 안정된 상태로 회복되는 시간은 50초 이내에서 나타난다는 것을 알 수 있었다.  $\text{F}_2^+$ 는 글루코스 센서에서의 백금 전극과 반응하여 전극 표면에서 발생하는  $\mu\text{A}$  급의 전류 값을 더욱 활성화시키는 역할을 한다는 것을 확인 할 수 있었다.

### 참고문헌

[1] C. C. Liu, and Z. R. Zhang, "Research and development of chemical sensors using microfabrication technique", *Sel. Electrode Rev.*, Vol. 14, pp. 147-167, 1992.

[2] G. T. A. Kovacs, K. Petersen, and M. Albin, "Silicon macromachining-sensors to systems", *Anal. Chem.*, Vol. 68, 407A-412A, 1996.

[3] R. Hintsche, M. Paeschke, A. Uhlig, and R. Seitz, "Microbiosensors using electrodes made in Si-technology", in: F. W. Scheller, F. Schubert, J. Fedrowitz (Eds.), *Frontiers in Biosensorics*, Vol. 1, Brkhauser Verlag, Berlin, 1997, pp. 71-76.

[4] Jian-Juan Xu and Hong-Yuan Chen, "Amperometric glucose sensor based on glucose oxidase immobilized in electrochemically generated poly(ethacridine)", *Analytica Chimica Acta*, Vol. 423, pp. 101-106, 2000.

[5] C. Jimenez, J. Bartroli, N. F. de Rooij, and M. Koudelka-Hep, "Glucose sensor based on an amperometric microelectrode with a photopolymerizable enzyme membrane", *Sensors and Actuators B*, Vol. 26-27, pp. 421-424, 1995.

[6] E. Wilkins and P. Atanasov, "Glucose monitoring: state of the art and future possibilities", *Medical Engineering Physics*, Vol. 18, No. 4, pp. 273-288, 1996.

[7] M. Knoll, K. Cammann, C. Dumschat, J. Eshold, and C. Sundermeier, "Micromachined ion-selective electrodes with polymer matrix membranes", *Sensors and Actuators B*, Vol. 21, pp. 71-76, 1994.

[8] R. Steinkuhl, C. Dumschat, C. Sundermeier, H. Hinkers, R. Renneberg, K. Cammann, and M. Knoll, "Micromachined glucose sensor", *Biosensor and Bioelectronics*, Vol. 11, pp. 187-190, 1996.

[9] Z. R. Zhang, G. X. Zhang, J. Z. Zhu, and J. Hu, "The development of thick and thin film-based microbiosensors, in *Biosensors*", Vol. 4, JAI Press, London, 1999.

[10] S. Li, and W. C. Purdy, "Cyclodextrins and their applications in analytic chemistry", *Chemical Review*, Vol. 92, pp. 1457-1470, 1992.

[11] J. P. Desvergne, and A. W. Garnik (Ed.), "Chemosensors of Ion and Molecule recognition", Kluwer, Dordrecht, 1997.

[12] S. McCormack, N. R. Russel, and J. F. Cassidy, "Cyclic voltammetry of ferrocene carboxylic acid cyclodextrin inclusion complexes", *Electrochim. Acta*, Vol. 37, pp. 1939-1944, 1992.

김 창 교(Chang Kyo Kim)

[정회원]



- 1981년 2월 : 연세대학교 전기공학과 (공학사)
- 1983년 2월 : 연세대학교 전기공학과 (공학석사)
- 1992년 8월 : 벤더빌트대학교 전기공학과(공학박사)
- 1993년 3월~현재 : 순천향대학교 전기공학과 교수

<관심분야>

MEMS, 센서, FED, OLED, 디스플레이 가공 기술

김 성 호(Sung Ho Kim)

[정회원]



- 1980년 2월 : 연세대학교 화학과 (학사)
- 1987년 9월 : 연세대학교 화학과 (이학석사)
- 1991년 2월 : 연세대학교 화학과 (이학박사)
- 1993년 9월~현재 : 순천향대학교 화학과 교수

<관심분야>

분광분석, 도전성보호필름