creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000241011

2011년 2월

석사학위 논문

Fabrication and Optical Characterization of DBR Porous Silicon Interferometer for Detection Biomoleculer

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 과

최 태 은

Fabrication and Optical Characterization of DBR Porous Silicon Interferometer for Detection Biomoleculer

DBR 다공성 실리콘의 광학적 특성을 이용한 바이오분자의 감지

2011년 2월 25일

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 과

최 태 은

Fabrication and Optical Characterization of DBR Porous Silicon Interferometer for Detection Biomoleculer

지도교수 손 홍 래

이 논문을 이학석사학위신청 논문으로 제출함.

2010년 10월

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 과

최 태 은

최태은의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 조 성 동 (인)

위 원 조선대학교 교수 이 범 규 (인)

위 원 조선대학교 교수 손 홍 래 (인)

2010년 11월

조 선 대 학 교 대 학 원

TABLE OF CONTENTS

TABLE OF CONTENTS i
LIST OF SYMBOLS AND ABBREVIATIONS iii
LIST OF TABLES v
LIST OF SCHEMES vi
LIST OF FIGURES vii

Abstract 1

1. Introduction 2

2. Experimental Section 4

2.1. Materials & Instrument 4

2.1.1. Materials 4

2.1.2. Instrument 4

2.2 DBR 다공성 실리콘의 합성 5

2.2.1. 다공성 실리콘의 합성 5

2.2.2. DBR 다공성 실리콘의 합성 조건 8

2.2.3. DBR 다공성 실리콘의 합성 9

2.3. 바이오칩으로의 개발 10

2.3.1. DBR 다공성 실리콘의 열적 산화 10

2.3.2. 산화된 DBR 다공성 실리콘 표면의 유도체화 10

2.3.3. DBR 다공성 실리콘을 이용한 CRP감지를 위한 단백질 유도체화 10

2.3.4. Rear time으로 바이오분자의 탐지한계 측정 11

3. Results and Discussion 12

3.1 다공성 실리콘의 합성 결과 12

3.1.1 DBR 다층 다공성 실리콘의 파장 측정 12

3.1.2. 전자주사 현미경(FE-SEM) 측정 13

3.2. 다공성 실리콘의 바이오칩으로 개발 결과 14

3.2.1. Biotin으로 유도된 다공성 실리콘 개발 결과 14

3.2.2. FT-IR 분석결과 16

3.3. DBR 다공성 실리콘을 이용한 단백질(CRP)의 탐지 결과 17

3.4. Rear time을 이용한 바이오분자의 탐지 한계 측정 결과 19

4 Conclusion 21

5 References 22

LIST OF SYMBOLS AND ABBREVIATIONS

PSi	Porous silicon
HF	Hydrofluoric Acid
μm	Micrometer
%	Percent
m^3	Cubic Meter
M	Molarity
FE-SEM	Field Emission-Scanning Electron Microscope
d	Density
A.U.	Arbitrary Units
FWHM	Full-Width at Half-Maximum
nm	Nanometer
THF	Tetrahydrofuran
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
mL	Milliliter
Ω	Ohm
λ	lambda
mmol	Millimole
V	Volume
μg	Microgram
π	Pi
δ	Delta

Mw	Molecular Weight
σ	Sigma
mg	Milligram
mA	Milliampere
A.U.	Arbitrary Units
ppm	Part per Million
ppb	Part per Billion
FWHM	Full-Width at Half-Maximum

LIST OF TABLES

Table 1 **Porosity and etch-rate of current**

LIST OF SCHEMES

Scheme 1 Bio-sensing process

LIST OF FIGURES

Figure 1	**Mechanism of Si oxidation during the formation of porous Si**
Figure 2	**Schematic diagram of the etch cell with the counter electrode(cathode) arranged asymmetrically, used to generate the porous silicon.**
Figure 3	**porosity and refletive index of Looyenga**
Figure 4	**Biomolecule Sensors Based on Light Sources**
Figure 5	**Reflectivity of DBR porous silicon**
Figure 6	**SEM image of PSi. (A) Surface of SEM image of DBR PSi. (B) Cross-sectional of SEM image of DBR PSi indicating that the thickness of DBR PSi is about 20 μm**
Figure 7	**Optical reflectivity spectra of oxidized DBR PSi, surface derivatized DBR PSi, biotin funtionalized DBR**
Figure 8	**Diffuse reflectance FT-IR spectra of (A) fresh DBR PSi, (B) thermally oxidized DBR PSi, (C) the wafer after functionalization of the DBR PSi layer with (3-aminopropyl)trimethoxysilane, and (D) DBR PSi functionalized with biotin**
Figure 9	**Optical reflectivity spectra Shift of surface derivatized DBR PSi**
Figure 10	**Decrease of reflectivity intensity for DBR PSi containing different concentrations of CRP in PBS**

Abstract

Detection of CRP Based on anti-CRP DBR Porous Silicon Interferometer

By Choi, Tae Eun
Advisor : Prof. Sohn, Honglae, Ph.D,
Department of Chemistry,
Graduate School of Chosun University

Distributed Bragg reflector (DBR) porous silicon (PSi) exhibiting unique reflectivity was successfully obtained by an electrochemical etching of silicon wafer using square current waveform. A biosensor was described an optical interferometric transducer scheme based on inexpensive and readily available optically flat thin films of DBR PSi. The system was probed with various fragments of an aqueous C-reactive protein (CRP) analyte. This CRP is so named because it is able to affect precipitation of somatic C-polysaccharide of Streptococcus pneumonia. The sensor operated by measurement of the reflection peak in the white light reflection spectrum from the porous silicon layer. Molecular binding was detected as a shift in wavelength of reflection peaks.

1. Introduction

생체감지물질(bio receptor)과 신호 변환기(signal transducer)로 구성되어 인식 가능한 신호로 변환 하여 분석하고자하는 물질을 선택적으로 감지하는 장치를 바이오센서라고 한다. 생체감지물질로 특정 물질과 선택적으로 반응 및 결합할 수 있는 효소, 항체, 항원, 호르몬 수요체(hormone-receptor) 등이 있으며, 신호 변환 방법으로는 전기화학(electrochemical), 형광, 발색, SPR(surface plasmon resonance), FET(fieldeffecttransistor), QCM(quartz crystal microbalance), 열 센서 등 다양한 물리화학적 방법을 이용한다[1-2]. 극미량의 분석물질을 감지하기 위해서는 센서의 광학적 전기적 신호변환의 개발이나 센서의 재료를 개발하는 방법으로 나노소재의 경우 그 광학적 특성이 현재 많이 사용되고 있는데 이는 저분자 유기 형광 감지체보다 매우 우수하며 안정성 또한 매우 우수하기 때문이다[3]. 금속 및 반도체 나노소자의 경우 그에 대한 광학적 특성에 관한 연구와 그들의 응용분야에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으나 생체에 응용되는 바이오칩으로는 독성 등의 이유로 적용하기가 어렵기 때문에 이에 생체에 가장 안정한 실리콘을 바탕으로 한 센서의 개발은 매우 중요하다고 할 수 있다[4]. 나노소재의 장점을 활용할 수 있는 나노과학의 한 분야로 다공성 실리콘을 들 수 있는데 반도체 재료인 실리콘 웨이퍼를 전기화학적인 식각[5-9]을 통하여 실리콘웨이퍼 표면에 나노 크기의 기공과 나노 입자를 갖게 하는 것이다. 다공성 실리콘이 형성되는 원리는 실리콘이 HF (Hydrofluoric acid) 하에서 전류를 흘려주었을 때 실리콘에 있는 홀의 도움을 받아 H_2SiF_6와 $H_2(g)$를 생성 하므로 실리콘 고체가 식각되어 실리콘 웨이퍼 표면에 일정한 패턴을 갖는 다공성 기공(pore)을 형성하게 된다[10]. 실리콘 웨이퍼는 형태에 따라 n-type 과 p-type으로 나누어지는데 이런 실리콘 웨이퍼를 식각하여 형성된 다공성 실리콘 칩은 독특한 두 가지 광학적 특성인 광 발광성 (photoluminescence)[11]과 광 반사성 (optical reflectivity)[12]을 지닌다. p-type 실리콘 웨이퍼 통해 합성된 다공성 실리콘은 백색광원을 이용해 반사스펙트럼을 측정하면 다공성 실리콘 층으로 인하여 반사된 파장들이 보강 또는 상쇄 간섭을 하여 Fabry-Pèrot fringe pattern을 준다. 이런 fringe pattern은 기공내부에 화학물질이 채워져 들어가거나 빠져나갈 때 다공성층의 굴절률의 변화를 초래하여 장파장 혹

은 단파장 방향으로 변위를 하게 된다. Fringe pattern은 원하는 파장의 반사피크를 만들 수 없다는 단점을 포함하고 있으며 이를 극복하기 위하여 다층의 다공성 실리콘을 제작하여야 한다. 다공성의 기공은 흘려주는 전류세기의 차이나 전기화학적 식각 시간, HF용매의 농도, 그리고 실리콘 웨이퍼의 형태에 따라 기공의 지름이나 깊이를 수 나노미터에서 수 마이크론 까지 원하는 용도에 맞게 조절할 수 있다[13-14]. 이러한 원리를 이용해 Fabry-Pèrot fringe pattern을 가지는 단층의 정 전류 대신 흘려주는 전류의 형태를 네모파(square wave)[15-16]나 사인파(sine wave)[17-18]와 같이 일정한 패턴으로 다른 전류를 반복적으로 여러 번 흘려주게 되면 한 가지 특정한 빛만 반사하는 독특한 광학적 특징을 가진 다층의 다공성 실리콘을 제조할 수 있다. 본 연구에서는 다층 다공성 실리콘의 한 종류인 네모파를 이용해서 합성되는 DBR(Distributed Bragg Reflectors) 다층 다공성 실리콘을 형성하는 원리와 원하는 반사파장을 갖도록 합성방법에 대해서 알아 볼 것이며 또한 이렇게 합성된 다층의 DBR 다공성 실리콘을 합성하여 바이오센서로 개발하여 심근경색의 항체인 CRP(C-Reactive Protein)을 탐지하는 연구를 수행하였다. 본 연구에서는 생체에 안정한 실리콘을 바탕으로 한 다층 다공성 실리콘의 반사피크는 원하는 파장에서 그 반사피크가 하나만 갖도록 조절하여 만들 수 있다는 장점을 이용하여 연구를 실시하였고, 정확성을 더 높이고, 정확한 감지한계를 얻기 위해 Rear Time 으로 측정할 것 이다.

2. Experimental Section

2.1. Materials & Instrument

2.1.1. Materials

나노(nm) 크기의 기공과 마이크론(㎛) 크기의 두께를 형성하는 DBR 다공성 실리콘을 합성하기 위해 0.08~0.12 mΩ 의 저항 값을 갖는 p++-type 실리콘 웨이퍼를 사용하였다. 전기화학적 부식을 시키기 위한 부식용매는 hydrofluoric acid (ACS reagent, Aldrich) 와 순수한 ethanol (ACS reagent, Aldrich)의 혼합용액을 사용하였다. 부식시키기 위한 Etching cell은 Teflon cell을 사용하였고, +전극에는 platinum wire로 -전극에는 aluminum foil을 사용하였다. DBR 다공성 실리콘을 바이오센서로 개발하기 위해 3-aminopropyltrimethoxysilane, Biotinamidohexanoyl-6-amino-hexanoic acid N-hydroxy-succinimide ester, minimum , streptavidin, anti-CRP, 그리고 CRP(Aldrich Chemicals) 를 구입하여 사용하였다.

2.1.2. Instrument

실리콘 웨이퍼에 전기화학적으로 부식(Electrochemical Etching)을 시키기 위해 Galvanostat(soucemeter2420)을 이용하였다. 합성된 DBR 다공성 실리콘은 UV-VIS integrated analysing system (Ocean Optics USB-2000 spectrometer)을 사용하여 샘플의 reflectivity를 측정하였다. 또한 부식된 표면을 측정하기 위해 전자주사 현미경(FE-SEM)을 사용하여 확인하였다. 식각된 표면 유도체의 유무를 확인하기 위하여 FT-IR spectroscopy는 diffuse reflectance (Spectra-Tech diffuse reflectance attachment)방식을 이용하여 Nicolet model 5700을 이용하여 측정하였다.

2.2. DBR 다공성 실리콘의 합성

2.2.1. 다공성 실리콘의 합성

다공성 실리콘은 반도체 재료인 실리콘 웨이퍼를 전기화학적인 식각을 통하여 실리콘 웨이퍼 표면에 나노 크기의 기공(pore)과 나노 입자를 갖게 한다. 다공성 실리콘이 형성되는 원리는 Figure 1에 나타와 있는 바와 같이 실리콘을 HF (Hydrofluoric acid) 하에서 전류를 흘려주었을 때 실리콘에 있는 홀의 도움을 받아 H_2SiF_6와 $H_2(g)$를 생성 하므로 실리콘 고체가 식각되어 실리콘 웨이퍼 표면에 일정한 패턴을 갖는 다공성 기공을 형성하게 된다.

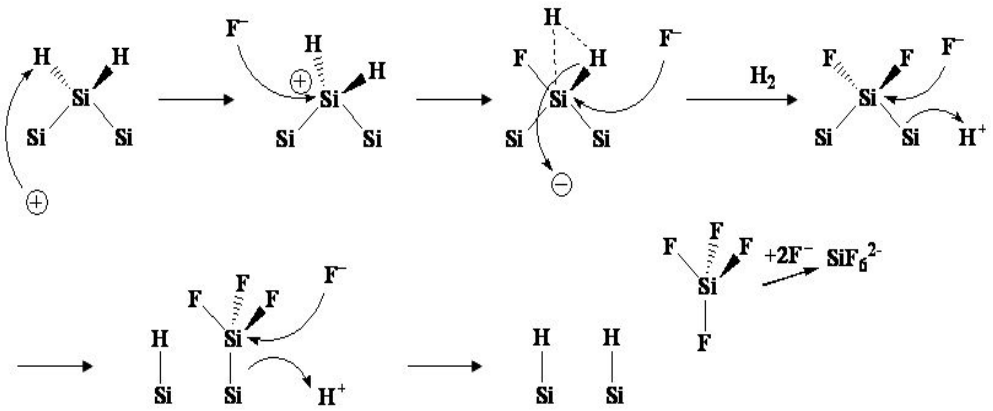


Figure 1. Mechanism of Si oxidation during the formation of porous Si

기공은 흘려주는 전류세기의 차이나 전기화학적 식각 시간, HF용매의 농도, 그리고 실리콘 웨이퍼의 형태에 따라 기공의 지름이나 깊이를 수 나노미터에서 수 마이크론 까지 원하는 용도에 맞게 조절할 수 있다. 합성된 다공성 실리콘은 백색광원을 이용해 반사스펙트럼을 측정하면 다공성 실리콘 층으로 인하여 반사된 파장들이 보강 또는 상쇄 간섭을 하여 Fabry-Pèrot fringe pattern을 갖는다. 이런 fringe pattern은 기공내부에 화학물질이 채워져 들어가거나 빠져나갈 때 다공성층의 굴절률의 변화를 초래하여 장파장 혹은 단파장 방향으로 변위를 하게 된다. 이러한 광학적 성질은 특히 센서로서의 응용분야에 널리 이용되어 많은 연구가 진행

되고 있다. fringe pattern은 Bragg 식(1)에 의하여 생성되며 분석될 수 있다.

$$m\lambda = 2nL \cdot \sin\Theta \quad (1)$$

이 식은 이번 연구에서 사용되는 빛의 입사각인 $\Theta=90°$일 때, $m\lambda = 2nL$이므로 보강 및 상쇄간섭을 하는 파장은 다공성 실리콘의 두께(L)와 굴절율(n)이 관여한다고 볼 수 있다.

단층의 다공성 실리콘은 원하는 파장의 반사피크를 만들 수 없다는 단점을 포함하고 있으며 이를 극복하기 위하여 다층의 다공성 실리콘을 제작하여야 한다. 다공성 실리콘 층을 다층으로 쌓을 경우 두 가지 방식이 있는데 이를 rugate 또는 DBR 구조를 갖는 다공성 실리콘이라 한다. 다층 다공성 실리콘은 부식과정 동안 전류량을 주기적으로 변화 시켜 합성할 수 있다. DBR 다공성 실리콘은 네모파 전류를 그리고 rugate 다공성 실리콘은 사인파 전류를 이용하여 합성한다. 여기서는 네모파를 이용한 DBR 다공성 실리콘의 합성하였으며 방법은 Figure 2과 같은 장치를 사용하여 서로 다른 두 전류를 이용하여 반복적으로 흘려주면서 식각하였다. 특정한 빛만을 반사하는 Bragg 식으로 나타내기 위해 정리하여 표현하면 다음과 같다.

$$m\lambda_{Bragg} = 2(L_1n_1 + L_2n_2) \quad (2)$$

여기에서 L_1 : 낮은 전류로 인해 생긴 다공성층의 두께, n_1 : 낮은 전류로 인해 생성된 굴절률, L_2 : 높은 전류로 인해 생성된 다공성층의 두께 n_2 : 높은 전류로 인해 생성된 굴절률로 볼 수 있다.

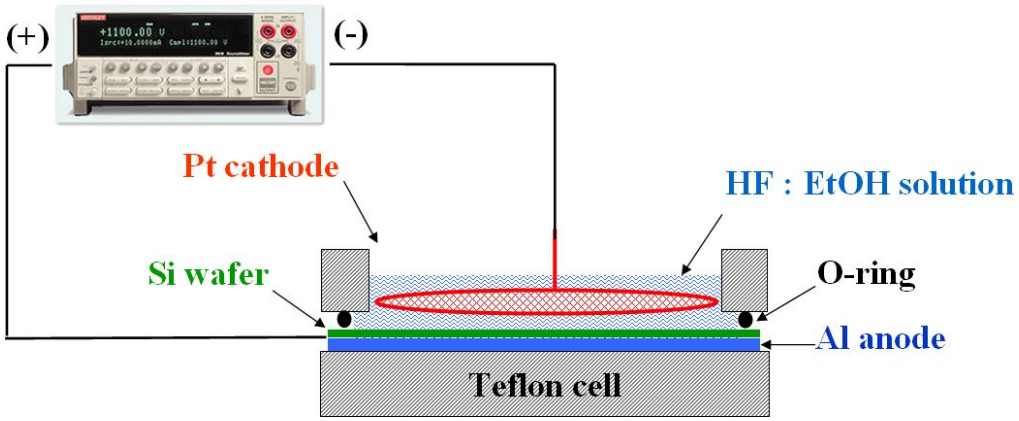


Figure 2. Schematic diagram of the etch cell with the counter electrode(cathode) arranged asymmetrically, used to generate the porous silicon.

p^{++}- type의 실리콘 웨이퍼(B dopped, <100>, 0.08~0.12 mΩ)를 백금전극을 이용하여 Galvanostat (Keithley 2420)을 통하여 전류를 흘려주면 전기화학적 식각과정을 거쳐 합성된다. 일정한 패턴의 기공(pore)과 깊이(depth)를 갖는 다공성 실리콘을 합성하기 위한 식각 용매로는 Hydro fluoric acid (48% by weight: Aldrich Chemicals)와 Ethanol (Aldrich Chemicals)을 3 : 1의 부피비로 혼합하여 사용하였으며 전류는 원하는 조건을 current power source사용하여 흘려주었다. 이 모든 공정은 Teflon cell에서 수행하였으며 식각 후에는 Ethanol 과 아르곤 가스를 이용하여 세척, 건조하였다.

2.2.2. DBR 다공성 실리콘의 합성 조건

DBR 다공성 실리콘은 서로 다른 두 종류의 전류를 반복해 줌으로서 제조된다. 이는 다른 두 층의 굴절률(n)과 부식된 층의 두께(d)에 의해서 얻어지며 그 곱은 반사파장(λ)의 4분의 1의 값을 갖게 된다.

$$dH \times nH = dL \times nL = \lambda / 4 \quad (3)$$

p++-type 단결정 실리콘 웨이퍼를 준비하고 부식용매는 HF와 Et OH를 3 : 1 부피비로 혼합하여 제조하였다. Galvanostat를 이용하여 전기화학적인 식각을 해주었다. 이때 사용한 식각 조건은 100 mA와 250 mA를 각각 300초 동안 정 전류를 흘려주어 식각하였다. 식각을 통하여 제작된 다공성 실리콘을 바탕으로 다공성도(porosity)와 식각률(etch-rate), 측정하였다. 전류에 대한 다공성의 값은 다음과 같은 식에 기인하여 구하였다.

$$P = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \quad (4)$$

m_1은 순수한 웨이퍼의 무게이고, m_2는 부식 후 웨이퍼의 무게, m_3는 부식부분을 제거하고 남은 웨이퍼의 무게이다. 무게를 측정하였으며 부식 부위의 다공성 필름을 제거하기 위해 0.1 M NaOH를 이용하였고 식각률 측정의 측정을 위해 전류의 시간에 따른 실콘 웨이퍼의 식각률 측정은 다음과 같은 식에 기인하여 구하였다.

$$S = \frac{m_1 - m_3}{s \times d} \quad (5)$$

s는 부식된 부분의 넓이(1 cm^2)이고, d는 실리콘의 밀도(2.33 g/mL)이다. Table 1은 100mA와 250mA의 전류를 흘려주었을 때 다공성과 식각률을 측정한 것이다.

Table 1. Porosity and etch-rate of current

전류	m_1	m_2	m_3	다공성도(%)	식각률(nm/s)
100	0.2375	0.2358	0.2322	32	71
250	0.2421	0.2395	0.2357	48.1	93

식각이 끝난 다공성 실리콘의 굴절률은 Looyenga의 그래프(Figure 3)를 이용하여 다공성도과 굴절율의 관계를 바탕으로 측정하였다.

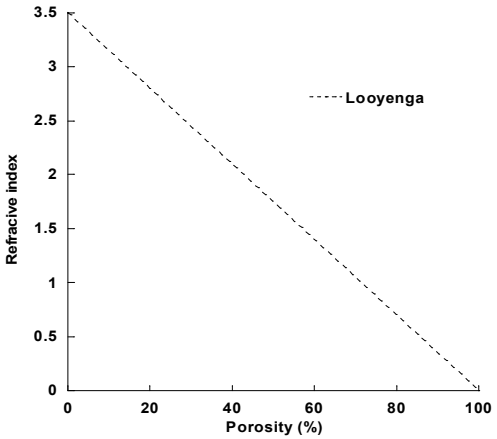


Figure 3. porosity and refletive index of Looyenga

2.2.3. DBR 다공성 실리콘의 합성

이를 통하여 얻어진 값을 통하여 610nm의 파장을 가지는 DBR 다공성 실리콘을 제작하는 조건을 구하여 합성하였다. p++-type 단결정 실리콘 웨이퍼를 준비하고 부식용매는 HF와 EtOH를 3 : 1 부피비로 혼합하여 제조하였다. Galvanostat를 이용하여 전기화학적인 식각을 해주었다. 이때 사용한 식각 조건은 100mA와 250mA를 교대로 50회 반복하여 전류를 흘려주어 식각하였다. 식각 후 EtOH로 세척하고 N_2가스로 건조하였다.

2.3. 바이오칩으로의 개발

2.3.1. DBR 다공성 실리콘의 열적 산화

전기화학적 식각을 통해 얻어진 다공성 실리콘은 열적산화를 통하여 그 표면이 Si-OH로 종결되어 산화된 다공성 실리콘을 제작하였다. 열적 산화는 furnace (Thermolyne F6270-26 furnace equipped with controller)를 이용하여 300℃에서 3시간 동안 산화시켰다. 산화가 끝난 후 얻어진 다공성 실리콘은 에탄올, CH_2Cl_2, 그리고 HF 순서대로 세척하고 Ar gas 하에서 사용하기 전 까지 건조하였다.

2.3.2.산화된 DBR 다공성 실리콘 표면의 유도체화

제작된 DBR 다공성 실리콘을 바이오센서로 응용하기위해 표면을 감지인식체로 유도하여 바이오 분자를 인식할 수 있도록 한다. 열적 산화된 다공성 실리콘과 3-aminopropyltrimethoxysilane(10 mmol, 99%, Aldrich Chemicals) 1.8 ml를 넣고 80℃로 20시간동안 가열하여 아민그룹을 갖는 다공성 실리콘 표면을 제작한다. 가열한 후 toluene, acetone, 그리고 ethanol 순으로 세척한 다음 질소가스로 건조시켜준다. 다음은 생물분자를 인식할 수 있는 감지인식체로서 biotin을 표면에 고착화시킨다. 3-aminopropyltrimethoxysilane, Biotinamidohexanoyl-6-amino-hexanoic acid N-hydroxy-succinimide ester, minimum(93%, Aldrich Chemicals) 10 mg을 THF에 녹이고, 그 다음에 1-(2-(dimethyl-amino)propyl)-3-ethylcarbodiimidehydro -chloride , EDC) 200 ㎎(1 ㎜ol)과 Triethylamine(TEA) 0.9 ml를 넣고 24시간동안 반응을 시킨다. 반응이 종결된 DBR 다공성 실리콘 칩을 빼내어, toluene, methylene chloride, 그리고 phosphate-buffered solution (PBS, pH = 7.4) 의 용액들로 3회씩 세척을 한다.

2.3.3. DBR 다공성 실리콘을 이용한 CRP감지를 위한 단백질 유도체화

Biotin으로 유도화된 DBR 다공성 실리콘 칩을 이용하여 바이오 물질을 선택적으로 탐지하는 연구를 수행하였다. flow cell에 다공성 실리콘을 고정시키고 바이오 물질로는 PBS에 20μM로 농도로 용해된 단백질(streptavidin)을 사용하여 0.8mL/min 유속으로 흘려주었다. 이와 같은 방법으로

Biotinamidohexanoyl-6-amino-hexanoic acid N-hydroxy-succinimide ester, anti-CRP를 순차적으로 흘려 보내준다.

2.3.4. Rear time으로 바이오분자의 탐지한계 측정

극미량의 바이오분자를 감지하기 위하여 400-1000 nm까지 발산하는 백색광원(Tungsten-halogen lamp)을 이용하여 감지하고자 하는 바이오 분자를 농도별로 실시간으로 감지하여 감지한계를 구하였다. anti-CRP로 유도화된 DBR 다공성 실리콘 칩을 flow cell에 고정된 상태에서 유속은 0.8 mL/min으로 하였으며, 감지할 바이오물질로는 CRP를 20 μM부터 순차적으로 10배씩 묽혀서 흘려주었다.

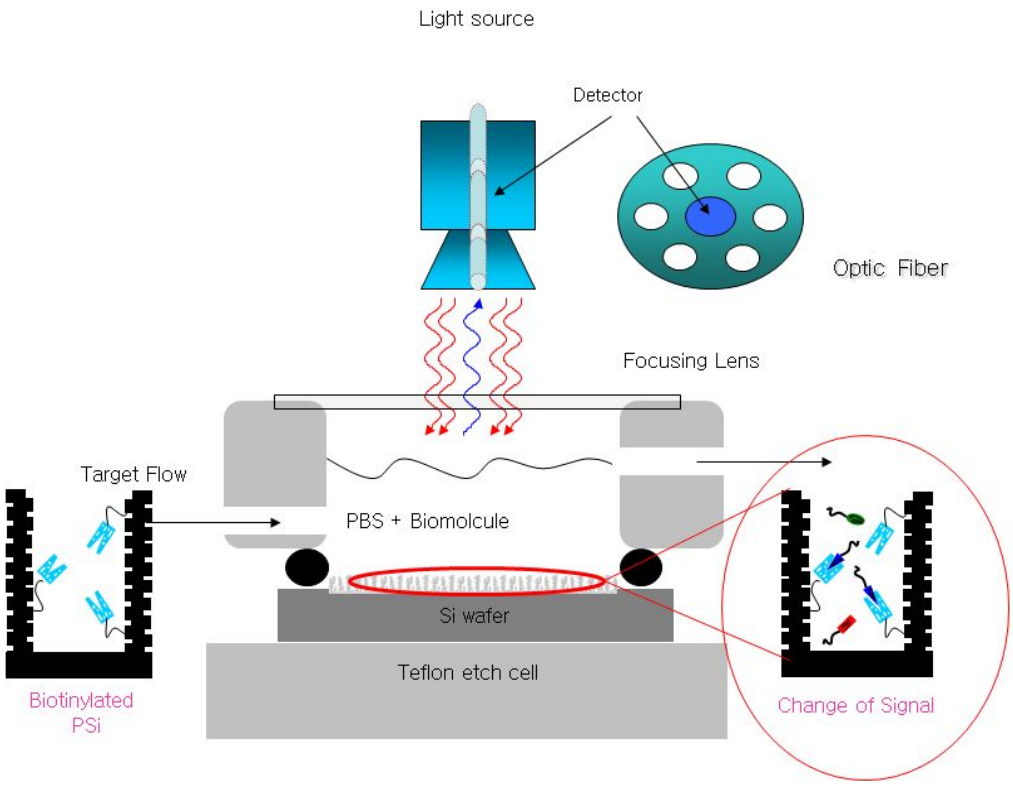


Figure 4. Biomolecule Sensors Based on Light Sources.

3.Results and Discussion

3.1. 다공성 실리콘의 합성 결과

3.1.1. DBR 다층 다공성 실리콘의 파장 측정

앞에서의 실험을 통해 특정 전류에 대한 다공성도, 식각률을 실험을 통해 구하였다. 이를 바탕으로 서로 다른 전류로 형성되는 두 층의 상호 보강, 상쇄간섭으로 하나의 특정 파장만을 반사하게 되는 DBR(Distributed Bragg Reflectors) 다층 다공성 실리콘을 합성하였다.

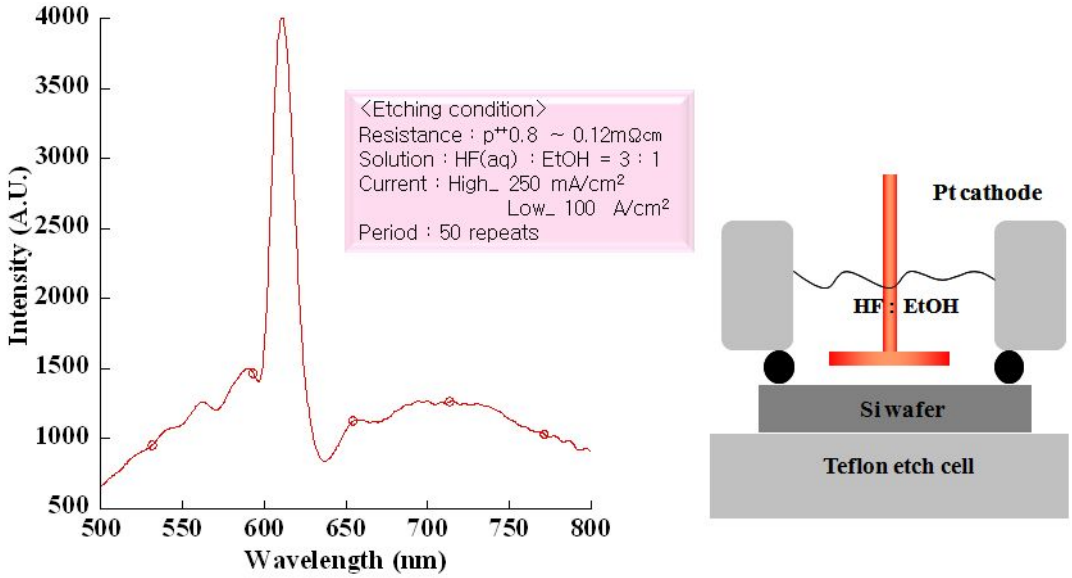


Figure 5. Reflectivity of DBR porous silicon.

이러한 조건을 바탕으로 실리콘 웨이퍼에 두 전류를 사용하여 부식조건을 흘려주게 되면 Figure 5과 같이 붉은색을 띠는 610 nm에서 하나의 파장만을 반사하며 유효띠넓이 23nm를 갖고 있는 DBR 다공성 실리콘을 합성할 수 있게 된다.

3.1.2. 전자주사 현미경(FE-SEM) 측정

DBR 다층 다공성 실리콘칩을 합성한 후 광학적 특성이 나타나는 이유를 알아보기 위해서 다공성 실리콘의 단면을 주사 전자 현미경을 이용해서 측정해 본 결과 표면의 기공 크기는 20-30nm 정도이며(Figure 6-(A)), 이 기공을 이용하여 54×58×48 Å의 크기를 갖는 streptavidin과 CRP의 탐지가 가능하게 되었다.

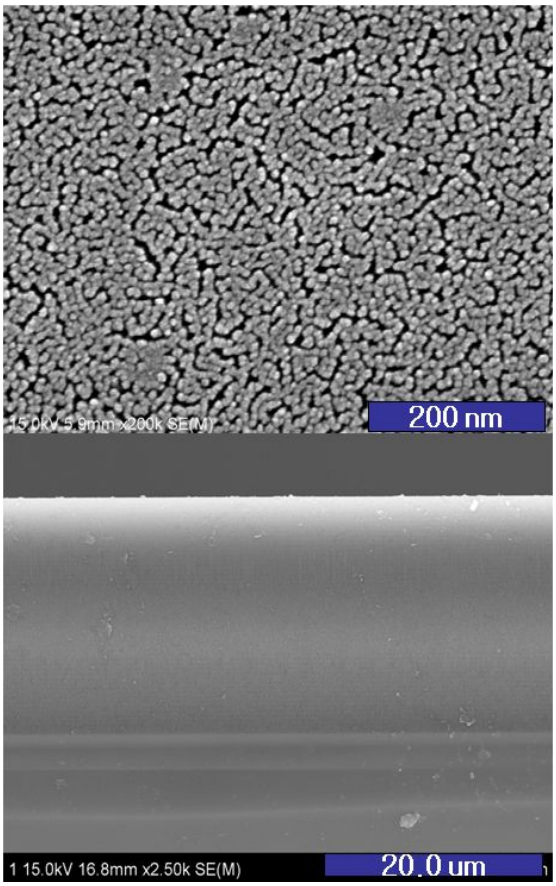


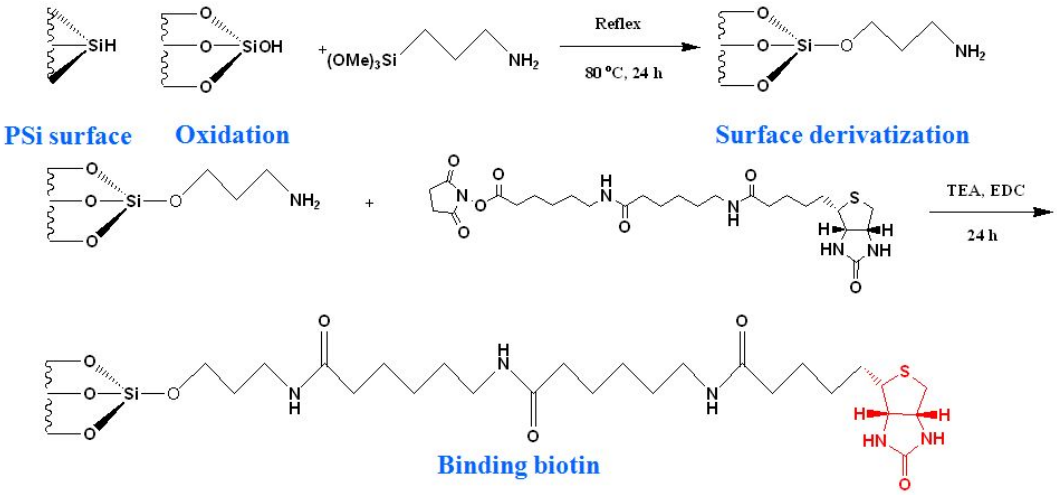
Figure 6. SEM image of PSi. (A) Surface of SEM image of DBR PSi. (B) Cross-sectional of SEM image of DBR PSi indicating that the thickness of DBR PSi is about 20 μm.

식각된 다공성 실리콘의 두께는 20 ㎛ 정도 되었다. 두께의 경우는 DBR을 합성 하는 과정에 있어서 더 많은 주기성만 있다면 조절이 가능하다. 그리고 낮은 전류와 높은 전류에 의해서 형성된 층을 확인 할 수 있었다.(Figure 6-(B)).

3.2. 다공성 실리콘의 바이오칩으로 개발 결과

3.2.1. Biotin으로 유도된 다공성 실리콘 개발 결과

합성된 DBR 다공성 실리콘을 바이오센서로 응용하기 위해 표면을 화학적으로 유도체화 시키기 위해 scheme 2과 같이 수행하였다.



Scheme 1. Bio-sensing process.

공기 중이나 수용액 상에서 불안정한 다공성 실리콘의 표면을 열적 산화를 통해 OH의 작용기를 갖도록 변화시켰다. 300 ℃에서 열적 산화된 다공성 실리콘의 표면은 Si-H에서 Si-OH로 변화된다. DBR 다공성 실리콘 필름이 열적 산화를 하게 되어 얻어진 결과로 반사 스펙트럼이 567nm 로 43nm정도 단파장으로 이동을 하였는데, 이는 Si에서 SiO_2로 변하면서 굴절률의 감소가 일어났기 때문이다. Si-OH로 표면을 유도체화 시키는 작업은 바이오 분자를 결합하는데 큰 기여를 한다.

아민그룹으로 치환된 다공성 실리콘 표면에 streptavidin 과 반응을 하기 위한 biotin 으로 유도체화 하기 위해서 Biotinamidohexanoyl-6-amino-hexanoic acid N-hydroxy-succinimide ester를 사용하여 Scheme 2에 의해 유도화 하였고, 반사 파장의 변화를 Figure 8에서 나타난 그림이다.

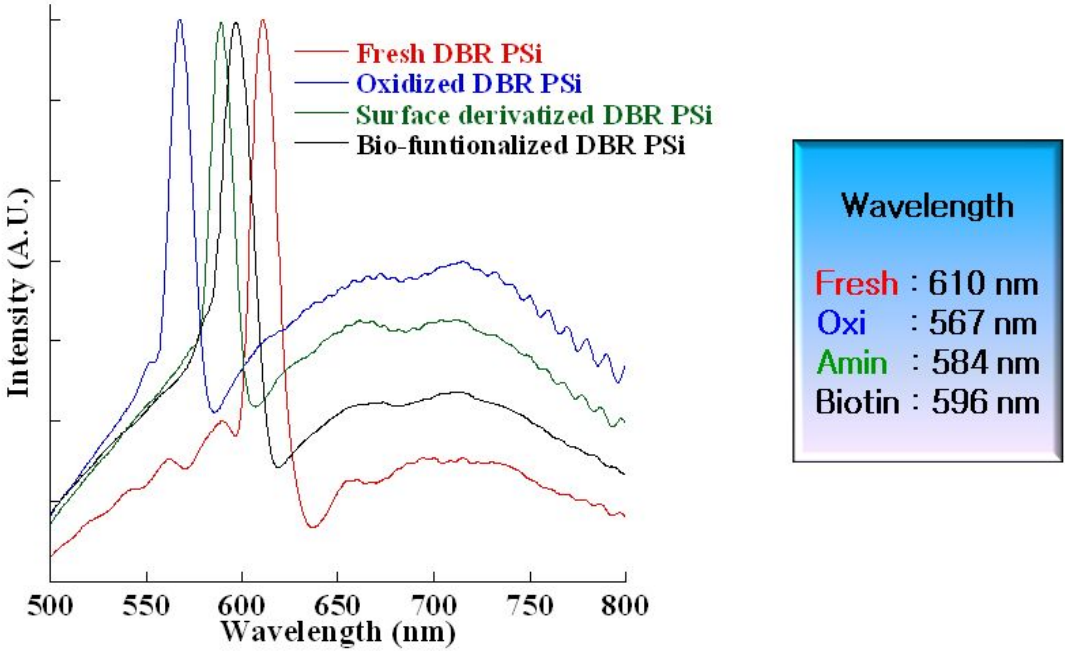


Figure 7. Optical reflectivity spectra of oxidized DBR PSi, surface derivatized DBR PSi, biotin funtionalized DBR.

3.2.2. FT-IR 분석결과

산화 및 유도체화의 여부는 FT-IR을 통해 확인하였다. Figure 14A는 식각된 다공성 실리콘의 FT-IR 스펙트럼이다. 2119와 914cm^{-1}에서 Si-H의 신축 진동과 굽힘 진동을 확인할 수 있다. 식각된 다공성 실리콘을 300℃의 furnace에서 3시간 동안 가열하면 Figure 14B 에서 보는 바와 같이 다공성 실리콘의 산화여부를 확인할 수 있다. Si-H의 신축 진동 영역인 2085-2150cm^{-1}의 피크가 줄어들게 되고 OSi-H의 신축 진동과 굽힘 진동이 각각 2200-2250 과 877cm^{-1}에서 나타나는 것을 확인할 수 있다. 그리고 Si-O-Si의 진동은 1000-1200cm^{-1}에서 강하게 나타난다.

Si-OH로 표면이 산화된 다공성 실리콘을 Scheme 6과 같이 3-(aminopropyl)trimethoxysilane과 함께 반응 시키면 표면이 아민그룹으로 유도체화 되며 Figure 14C는 치환된 다공성 실리콘의 표면을 FT-IR 스펙트럼 통해 확인된 결과이다. 아민결합의 신축진동은 3386cm^{-1}에서 굽힘진동은 1575cm^{-1}에서 피크를 확인할 수 있으며 체인형태의 C-H 신축진동은 2850, 2923, 2952cm^{-1}에서 확인할 수 있다. 아민그룹으로 치환된 다공성 실리콘 표면에 streptavidin 과 반응을 하기 위한 biotin 으로 유도체화 하기 위해서 Biotinamidohexanoyl-6-amino-hexanoic acid N-hydroxy-succinimide ester를 사용하였다. biotin의 머리에 해당하는 C-C 신축진동은 1652cm^{-1}에서 확인하였다. 또한 굴절율이 증가하면서 반사피크도 장파장으로 평균 18 nm 이동하였다.

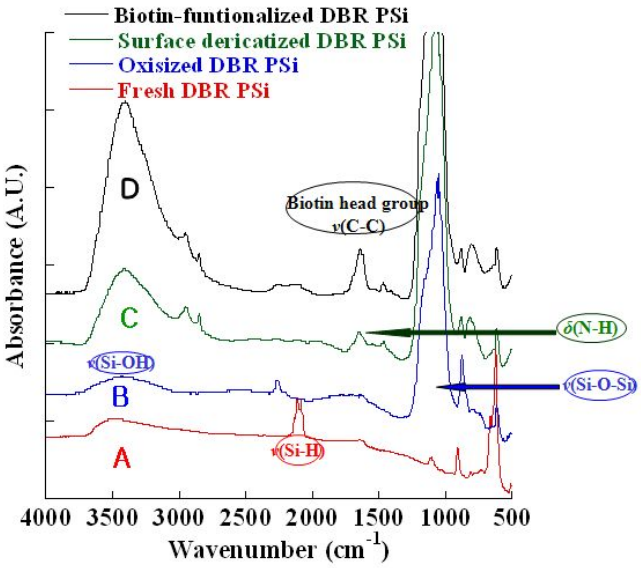


Figure 8. Diffuse reflectance FT-IR spectra of (A) fresh DBR PSi, (B) thermally oxidized DBR PSi, (C) the wafer after functionalization of the DBR PSi layer with (3-aminopropyl)trimethoxysilane, and (D) DBR PSi functionalized with biotin.

3.3. DBR 다공성 실리콘을 이용한 단백질(CRP)의 탐지 결과

유도체화된 다공성 실리콘을 flow cell에 고정시키고 Phospate buffer solution(PBS)을 흘려주며 최초의 반사파장을 측정한다. 다음 cell에 PBS에 streptavidin(20 uM)을 녹여 0.8mL/min의 속도로 흘려준다. 이와 같은 방법으로 Biotin물질, anti-CRP를 흘려보내주었을 때의 반사파장의 변화 결과를 Figure 9에서 나타내어 주었고, anti-CPR로 유도화된 DBR 다공성 실리콘의 칩에 CRP를 흘려주었을 때 반사 스펙트럼의 변화를 나타낸 그림이다.

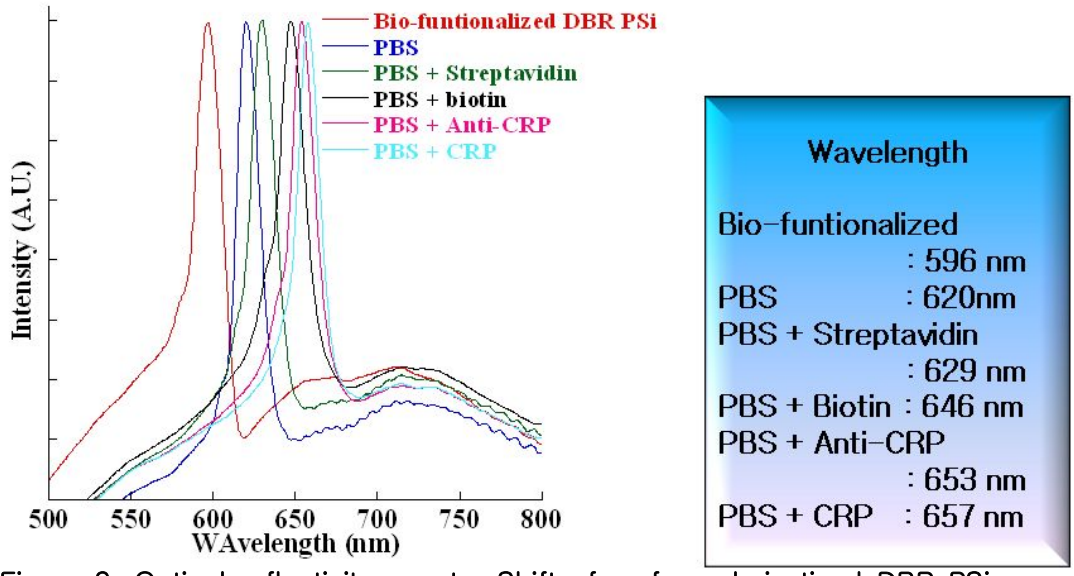


Figure 9. Optical reflectivity spectra Shift of surface derivatized DBR PSi.

반사 스펙트럼이 4 nm 증가를 관찰할 수 있었다. 이는 anti-CRP로 유도화된 다공성 실리콘 필름에 CRP과 결합하여 굴절률의 변화가 일어났기 때문이다. 이러한 증가는 수용액 상의 CRP의 결합으로 인해 발생되었다고 간주된다. 또한 순수한 PBS 용액을 흘려주었을 때에는 아무런 변화가 일어나지 않았다.

3.4. Rear time을 이용한 바이오분자의 탐지 한계 측정 결과

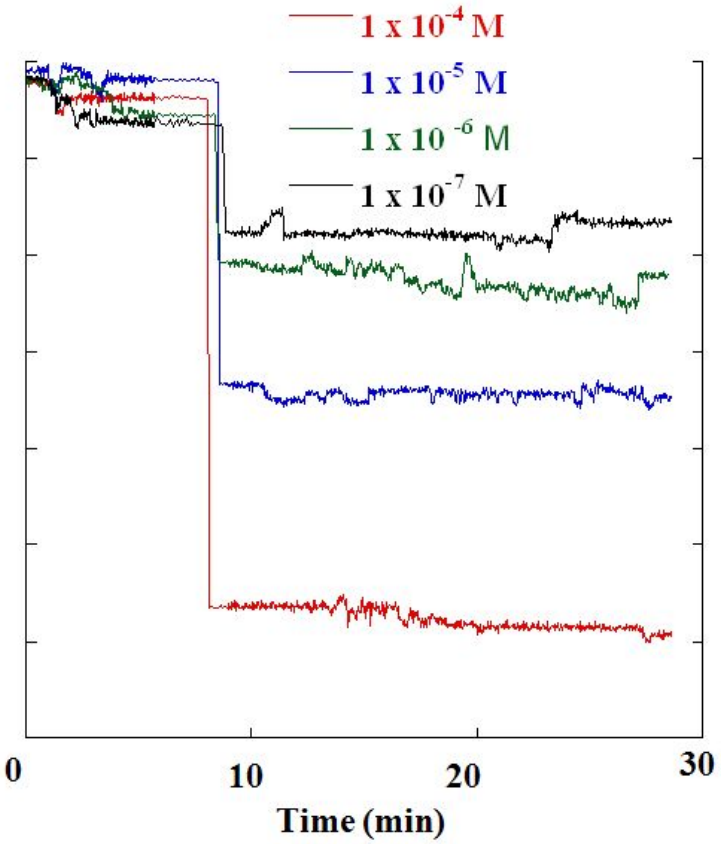


Figure 10. Decrease of reflectivity intensity for DBR PSi containing different concentrations of CRP in PBS.

바이오분자를 감지하기 위하여 400-1000 nm까지 발산하는 백색광원(Tungsten-halogen lamp)을 이용하여 농도별로 감지한계를 구하였다. anti-CRP로 유도화된 DBR 다공성 실리콘 칩을 flow cell에 고정된 상태에서 유속은 0.8 mL/min으로 하였으며, 감지할 바이오물질로는 CRP를 PBS에서 농도별로 얻어진 그래프를 다음과 같이 나타내었다. 100 μM을 시작으로 10배씩 순차적으로 묽혀서 농도별로 실시간으로 감지한계를 확인하였다.

CRP를 약 480초 정도 일정한 농도로 흘려주었을 때 세로축의 세기 값이 낮아짐을 확인 할 수 있다. CRP의 농도를 묽혀 줌에 따라 감소폭은 줄어든다. 이는 다공성 실리콘 칩에 감지하고자 하는 물질인 CRP가 최종적으로 자가 결합을 함에 따라 Bragg 식에서 증명되었듯이 바이오 분자가 결합함에 따라 다공성 실리콘 내부의 밀도가 증가하게 되고 굴절율의 변화를 초래하여 반사파장이 장파장으로 이동함을 확인 할 수 있다. 이러한 실험내용을 수행하여 우리는 감지한계를 100 nM까지 CRP를 감지하는데 성공하였다.

4. Conclusion

DBR 다공성 실리콘은 네모파 전류를 이용하여 전기화학적 부식을 통해서 합성한 것으로 p++-type Si wafer에 임의의 두 전류를 선택하여 전류의 다공성도, 굴절율을 측정하고 원하는 파장 영역에서 합성할 식각 조건을 구하여 DBR 다공성 실리콘을 제작할 수 있다. 제작된 DBR 다공성 실리콘은 매우 얇은 반사 스펙트럼을 가지고 있으며 전자주사현미경을 통해 표면에 20-30 nm의 크기의 기공과 낮은 전류와 높은 전류에 의해서 형성된 단면 층 또한 확인 할 수 있었다. 또한 합성된 DBR 다공성 실리콘을 이용하여 면역 단백질인 CRP를 탐지하는 바이오센서로 개발하였다. anti-CRP 유도화한 DBR 다공성 실리콘은 CRP와 자리결합을 하여 굴절율의 증가를 유도하여 4nm 장파장으로 이동함을 관찰할 수 있었다.

5. References

[1] J. Schmeltzer, M. Porter, M. P. Stewart, and J. M. Buriak, *Langmuir.* **18(8),** 2971-2974. (2002).

[2] D. Hamm, T. Sakka, and Y, H. Ogata, *Phys. Stat. Sol.* **197**, 175-179. (2003).

[3] A. Janshoff, K. Dancil, C. Steinem, D. Greiner, V. S. Lin, C. Gurtner, K. Motesharei, M, J. Sailor, and M. Ghadiri, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 12108-12116. (1998),

[4] M. Buriak, *Am. Chem. Soc.* **102**, 1272-1306. (2002).

[5] H. Sohn, S. Letant, M. J. Sailor, and W. C. Trogler, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 5399. (2000).

[6] A. Bsiesy, J. C. Vial, F. Gaspard, R. Herino, M, Ligeon, F. Muller, R. Romestain, A. Wasiela, A. Halimaoui, and G. Bomchil, *Surf. Sci.* **254**, 195-200. (1991).

[7] L. T. Canham, *Appl. Phys. Lett.* **57**, 1046-1048. (1990).

[8] A. G. Cullis, and L. T. Canham, *Nature,* **353**, 335-338. (1991).

[9] F. Gaspard, A. Bsiesy, M. Ligeon, F. Muller, and R. J. Herino, *Electrochem. Soc.* **136**, 3043-3046. (1989).

[10] H. Gerischer, P. Allogue, and V. Kieling, *Ber. Bunsenges. phys. chem.* **97**, 753. (1993).

[11] K. S. Dancil, D. P. Greiner, and M. J. Sailor, *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 7925-7930. (1999).

[12] R. Guerrero-Lemus, F. A. Ben-Hander. G. Fierro, and C. Hernadez-Rodriuez, *Phys. Stat. Sol.* **197**, 137-143. (2003).

[13] P. C. Searsonm J. M. Macaulay and F. M. Ross, *J. Appl. Phys.* **72**, 253. (1992).

[14] C. Levy-Clement, A. Lagoubi, and M. J. Tomkiewucz, *Electro-chem. Soc.* **278**, 840. (1997).

[15] J. Park, S. Cho, Y. C. Ko, and H. Sohn, *J. Korean Phys. Soc.* **50**, 695. (2007).

[16] S. Jang, J. Kim, Y. Koh, Y. C. Ko, H.-G. Woo, and H. Sohn, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **7**, 4049. (2007).

[17] B. -J. Lee, S. Jang, and H. Sohn, *Solid State Phenom*. **491**, 124. (2007).

[18] J. Kim, Y. Koh, S. Jang, Y. C. Ko, H. -G. Woo, and H. Sohn, *J. Nanosci. Nanotechnol*. **7**, 4165. (2007).

저작물 이용 허락서

학과	화학과	학번	20097032	과정	석사
성명	한글 최 태 은 한문 崔 太 銀 영문 Choi Tae Eun				
주소	광주 광역시 서구 상무 2동 1197-2번지				
연락처	e-mail : tae-eun@nate.com				
논문제목	한글 DBR 다공성 실리콘의 광학적 특성을 이용한 바이오분자의 감지				
	영문 Fabrication and Optical Characterization of DBR Porous Silicon Interferometer for Detection Biomoleculer				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함(다만, 저작물의 내용변경은 금지함)
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함

동의여부 : 동의(v) 반대( )

2010 년 10 월

저작자 : 최 태 은 (인)

조선대학교 총장 귀하

감사의글

본 연구논문이 이렇게 발간되기까지 저를 이 자리까지 인도해주신 손홍래 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 논문이 완성될 수 있도록 마지막 까지 검토해 주신 조성동 지도위원장님 그리고 항상 관심을 가져주신 이범규 교수님, 고문주 교수님 감사드립니다. 가족보다도 많은 시간을 같이 보내면서 희노애락을 함께 했고 항상 힘이 되 주었던 승현이형, 지훈이형, 영대형에게도 정말 감사하다는 말 과 형들과 함께 할 수 있어 정말 행복 했다는 말도 함께 전해 주고 싶습니다. 그리고 학위과정 중 가장 가까운 곳에서 힘이 되어주고 궂은 일도 마다하지 않고 함께 해준 동기 진석, 보민, 성용, 성훈에게 고맙다는 말을 해주고 싶습니다. 이제 막 대학원 생활을 하는 후배 희철, 민우, 보연, 현이 에게도 후회하지 않는 대학원 생활하길 바라며, 끝으로 오늘의 제가 있기까지 보살펴 주시고, 뒷바라지 해주신 부모님께 머리 숙여 감사드리며 고맙다는 말을 전하고 싶습니다. 지난 2년간 대학원 생활을 하면서 겪었던 모든 일들을 가슴에 간직하여 사회에 나가더라도 잊지 않고 저에게 배풀어 주신 은혜에 보답한다는 마음으로 열심히 살겠습니다.

마지막으로 학부 때부터 현재에 이르기까지 손홍래 교수님께서 저에게 베풀어 주신 관심과 지도로 인해 많은 것들을 배우고 좋은 추억들을 갖게 해주신 점 다시 한 번 감사드립니다.

2010년 11월

최 태 은