Cyclic olefin copolymer (COC) 폴리머 프리즘을 사용한 광섬유 기반 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 바이오 센서

윤성식 · 이수현* · 안종혁** · 이종현†

A fiber optic surface plasmon resonance (SPR) sensor using cyclic olefin copolymer (COC) polymer prism

Sung-Sik Yun, Soo Hyun Lee*, Chong H. Ahn**, and Jong-Hyun Lee†

Abstract

A novel fiber optic surface plasmon resonance (SPR) sensor using cyclic olefin copolymer (COC) prism with the spectral modulation is presented. The SPR sensor chip is fabricated using the SU-8 photolithography, Ni-electroplating and COC injection molding process. The sidewall of the COC prism is partially deposited with Au/Cr (45/2 nm thickness) by e-beam evaporator, and the thermal bonding process is conducted for micro fluidic channels and optical fibers alignment. The SPR spectrum for a phosphate buffered saline (0.1 M PBS, pH 7.2) solution shows a distinctive dip at 1300 nm wavelength, which shifts toward longer wavelength with respect to the bovine serum albumin (BSA) concentrations. The sensitivity of the wavelength shift is $1.16 \text{ nm} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. From the wavelength of SPR dips, the refractive indices (RI) of the BSA solutions can be theoretically calculated using Kretschmann configuration, and the change rate of the RI was found to be $2.3 \times 10^{-5} \text{ RI} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. The realized fiber optic SPR sensor with a COC prism has clearly shown the feasibility of a new disposable, low cost and miniaturized SPR biosensor for biochemical molecular analyses.

Key Words : fiber optic, cyclic olefin copolymer (COC), surface plasmon resonance (SPR) sensor, polymer prism

1. 서 론

최근 나노 바이오 센서분야의 핵심 기술로 검출 대상에 대해 민감도가 상대적으로 높고($\sim 1 \text{ pg/mm}^2$), 형광 염료 등의 라벨 과정이 필요 없으며, 실시간으로 반응 정도를 모니터링할 수 있는 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR) 바이오 센서 연구가 진행되고 있다^[1]. 특히, 광섬유 기술을 이용한 SPR 바이오 센서는 센서의 구조가 간단하고, 소형화 및 가격 단가를 낮출 수 있어, 일회용 사용의 휴대 가능한 분야에 적용할 수 있다. 전통적인 광섬유를 이용한 SPR 바이오

센서는 광섬유의 클래딩 층을 비대칭적으로 갈아내어서 코어에 근접한 부분까지 제거하고 측면에 금속막을 증착하여 제작한 방법^[2]과, 클래딩 층을 불산(HF)에 식각하여 코어 부분을 노출시키고, 코어 측면에 금속막을 증착하여 제작한 방법이 있다^[3]. 뿐만 아니라, 최근에는 금속막을 증착하는 대신 나노 크기의 금속입자를 광섬유의 코어 표면에 형성하여 국소화된 표면 플라즈몬 공명 현상을 얻어내는 방법도 있다^[4,5]. 이러한 방법들로 SPR 바이오 센서를 제작하기 위해서는 끊어지기 쉬운 재료의 광섬유를 세심하게 다루는 기술과 클래딩 층만을 제거하는 제작 기술이 필요하다. 또한 기존의 광섬유 SPR 바이오 센서들은 프로브(probe) 타입으로 제작되어 측정하고자 하는 시료에 소자를 담가야 하는데, 제한된 샘플 시료를 실시간으로 측정하기 위해서는 마이크로 유체 소자와의 결합이 필수적이다. 더불어, 최근 바이오 멤스 분야에서 각광을 받고 있는 재료로, 기계적 강도가 우수하고 내열성, 내화학적 및 광학적으로 우수한 특성을 갖는 cyclic ole-

광주과학기술원 정보기전공학부(School of Information and Mechatronics, Gwangju institute of science and technology)

*한국과학기술연구원 나노바이오시스템 센터(Nano-bio system center, Korea institute of science and technology)

**신시내티 대학 전기컴퓨터공학과(Electrical and computer engineering, University of Cincinnati)

†Corresponding author: jonghyun@gist.ac.kr

(Received : August 6, 2008, Accepted : August 28, 2008)

그림 1. COC 프리즘을 사용한 광섬유 SPR 센서의 개념도, (a) 제안된 SPR 센서 칩의 3차원도, (b) 정면도
Fig. 1. Schematic of the COC prism based fiber optic SPR sensor. (a) 3-D view of the proposed SPR sensor chip, (b) Top view.

fin copolymer (COC) 폴리머를 사출성형으로 가공하면, 대량 생산이 가능한 저가의 마이크로 유체 소자를 제작할 수 있다^[6].

본 논문에서는 COC 폴리머를 사용한 광섬유 기반의 평면형 SPR 센서를 그림 1과 같이 제안하였다. COC 폴리머를 사용해 프리즘과 광섬유 정렬 홈 및 마이크로 유체 채널을 평면형으로 제작하고, 광섬유의 코어 부분을 SPR의 검출 부위로 사용하지 않는 대신, COC 폴리머 프리즘의 측면에 금속을 증착하여 SPR 현상이 일어나도록 설계하였다. 또한 SPR이 발생하는 금속 표면은 일체로 제작된 COC 마이크로 유체 채널 안에 노출되어 측정 물질의 반응을 실시간으로 측정할 수 있도록 하였다. 광원은 광섬유를 통해 프리즘 측면의 금속박막으로 입사하고, 특정 입사각도에서 SPR 현상이 발생하는 특정 파장을 찾아, 검출 물질의 농도에 따른 파장의 이동으로 반응 정도를 결정할 수 있다.

2. 설계 및 제작

2.1. 설계

COC 폴리머 측면의 금속 표면에 표면 플라스몬 공명 (SPR) 현상을 일어나는 조건은 우선, 프리즘을 통

그림 2. COC SPR 센서의 파장 스펙트럼. SPR dip 이 검출 표면의 굴절률 증가에 따라 긴 파장으로 이동하였다. n_s 는 검출 표면의 굴절률이고, buffer 수용액의 굴절률은 1.333이다

Fig. 2. The wavelength spectrum of the COC SPR sensor. The SPR dip is shifted with respect to different refractive indices of the sensing layer in a micro channel. The variable, n_s is a refractive index of sensing layer, and the refractive index of the buffer is 1.333.

해 금속 막에 입사하는 빛이 프리즘과 금속 사이의 계면에서 전반사 되어야 한다. 이 전반사에 의해 두 매질의 계면에서 에바네스cent(évanescent) 파가 발생하고, 금속 표면에서 생기는 표면 플라스몬(surface plasmon) 파와 에바네스cent 파의 파수 벡터가 일치하면 공명 현상이 발생하게 된다. 표면 플라스몬 파는 금속 막의 굴절률 및 두께, 금속 계면을 이루는 유전체의 굴절률들의 함수이고, 금속 표면에서의 굴절률의 변화가 SPR을 형성하는 공명 조건에 매우 큰 영향을 미치게 된다. 제안된 SPR 바이오 센서는 COC 폴리머를 이용한 크레취만(Kretschmann) 구조로 광섬유의 고정으로 빛의 입사각도가 정해지기 때문에 금속 표면에서의 굴절률의 변화는 공진 파장의 이동으로 확인할 수 있다^[7]. 금속 표면의 굴절률은 검출할 물질들이 금속 표면에 달라 붙을 때, 표면 밀도가 변화므로 표면의 굴절률도 변화가 된다.

SPR을 위해 COC 폴리머 프리즘의 측면에 증착되는 금속은 용액 상태에서 금속의 성질이 변하지 않는 금(Au)을 사용했고, 증착 강도를 높이기 위해 크롬 층을 5 nm 두께로 얇게 증착하였다. 금속 박막의 두께는 SPR 파장 스펙트럼의 형태에 많은 영향을 주므로 최적화된 두께를 사용해야 한다. 금속 표면의 굴절률이 물과 같을 때, 제안된 COC 폴리머 SPR 센서의 증착된 금의 최적 두께는 45 nm이고, 이때 빛의 최적 입사각도는 62도이다. 주어진 조건에서 이론적인 계산을 통해 금속 표면의 굴절률에 따른 공진 파장의 변화를 그

림 2에 나타내었다. 금속 표면의 굴절률이 증가할수록 공진파장은 대략 2×10^{-5} RI/nm의 민감도를 가지고 진파장 영역 쪽으로 이동하였다.

2.2. 제작

SPR 바이오 센서를 위한 크레취만 구조를 갖는 프리즘은 COC 폴리머를 이용한 사출 성형(injection molding) 방식으로 그림 2같이 제작되었다. COC 폴리머의 사출 성형을 위한 금속 몰드로 1.5 mm 두께의 3인치 직경의 니켈 디스크를 미세 연마하여 준비하였다. 연마된 니켈 디스크를 클리닝 한 후, 120°C 오븐에서 2시간 동안 건조시켰다. 니켈 전기도금(electroplating)을 수행하기 전에 음성 감광액인 SU-8 2075 (Microchem Corp., MA, USA) 사용해 양각 패턴을 만들고, 전기도금을 하면 니켈 디스크 위에 니켈 음각 패턴이 형성되게 된다. 우선, 니켈 디스크와의 접착력을 높이기 위해서 Omnicoat™ (Microchem Corp., MA, USA) 층을 300 rpm, 30 s 조건으로 스핀코팅하고, 200°C에서 1분간 baking하였다. Omnicoat 층 위의 SU-8 2075층은 200 mm 두께를 갖기 위해 650 rpm 으로 30초 동안 스핀코팅하고, 65°C에서 10분, 95°C에서 1시간 45분 동안 soft baking으로 제작되었다. Soft baking 후 니켈 디스크 위의 SU-8 층을 375 nm의 UV 파장에서 340 mJ/cm² 에너지로 노광하였다. 노광 공정 후 baking 공정 (post exposure baking)을 65°C에서 10분, 95°C에서 20분 동안 수행하고 노광된 SU-8층을 현상(development) 하였다(그림 3(a)). SU-8패턴이 제작된 니켈 디스크에 사출 성형을 위한 몰드를 제작하기 위해 니켈 전기도금 공정을 수행하였다(그림 3(b)). 10 mA/cm²의 전류 밀도와 시간당 10 mm 두께로 150 mm 두께의 니켈 구조가 증착되었다. 니켈 전기도금 공정 후 SU-8 패턴을 제거하고 음각 니켈 패턴을 남긴 다음, 사출 성형을 통해 COC 폴리머 플라스틱 판에 양각 패턴의 센서 칩을 제작하였다(그림 3(c)). SPR 현상이 일어나는 COC 플라스틱 칩의 센서 검출 부위에 금을 45 nm 두께로 e-beam evaporator를 사용해 증착하고(그림 3(d)), 열 접합공정(thermal bonding)을 통해, 사출성형에 의해 제작된 COC칩과 패턴이 되지 않은 COC 칩을 접합하였다(그림 3(e)). SPR 검출 부위에 백색광을 입사하기 위해, 미리 제작된 흡으로 멀티모드 광섬유를 삽입하고 고정하였다(그림 3(f)). 그림 4(a)는 전기도금에 의해 제작된 COC 폴리머 SPR 센서 칩을 위한 니켈 몰드이다. 사출 성형에 의해 제작된 COC 칩은 그림 4(b)와 같이 센서 검출 부위에 금 도금을 한 후 접합되었다. 그림 4(c)는 COC 프리즘과 검출 부위에 대한

그림 3. COC 폴리머 프리즘을 사용한 광섬유 기반 SPR 센서의 공정 순서도

Fig. 3. Fabrication sequence of the fiber optic SPR sensor using the COC polymer prism.

그림 4. (a) 전기도금 공정이 수행된 SPR 센서의 니켈 몰드 사진, (b) 센서 측면에 금 도금된 후 사출성형 및 열 접합 공정으로 제작된 COC SPR 센서 사진, (c) COC 폴리머 프리즘 부분을 확대한 사진, (d) 광섬유 정렬되고, 샘플 테스트를 위한 폴리머관이 고정된 SPR 센서의 전체 사진

Fig. 4. (a) the electroplated Ni mold, (b) the COC SPR chip with partially-gold-deposited sidewalls fabricated by injection molding and thermal bonding, (c) the magnified view of the COC prism of the proposed SPR sensor chip, (d) the overall view of the proposed SPR sensor aligned with optical fibers and fixed with tubing pipes for the sample test.

현미경 사진이다. COC 프리즘 양쪽에 광섬유를 정렬하기 위한 홈이 있고, COC 프리즘 옆으로 마이크로 유체 채널이 붙어있다. 그림 4(d)는 광섬유가 COC 프리즘과 정렬되고, 마이크로 유체 채널의 입구와 출구에 인터페이스 튜브가 고정된 COC폴리머 SPR 센서의 사진이다.

그림 5. COC 폴리머 SPR 센서의 실험 기구 배치도
Fig. 5. Experimental set-up.

3. 특성 평가 실험

제작된 SPR 센서는 텅스텐-할로겐 램프를 사용한 백색광(Spectral products, ASB-W-020R) 과 광 스펙트럼 분석기(Agilent, 86140B)를 그림 5와 같이 배열해 평가되었다. 백색광은 램프로부터 1300 nm 파장용 62.5/125 μm 규격의 멀티모드 광섬유를 사용해 COC 폴리머 프리즘까지 입사되고, 금 표면에서 반사된 빛을 스펙트럼 분석기까지 보냈다. COC 프리즘에 입사하는 빛의 각도가 SPR 신호에 결정적인 역할을 하기 때문에, 광섬유의 정렬에 주의해야 한다.

SPR 센서의 특성을 평가하기 위해서 Bovine serum albumin (BSA) 농도에 따른 SPR dip의 파장 스펙트럼 변화를 그림 6과 같이 측정하였다. BSA는 생화학 및 생물학 분야의 실험에서 세포 배양을 할 때, 세포의 영양분으로 첨가해 주거나, 단백질 정량에서 검정 곡선을 얻기 위한 표준물로 사용되는 대표적인 단백질이다. 또한, 특정 항체를 검출하고자 하는 단백질이 검출 부분에 붙기 전에 원치 않는 단백질이 달라붙는 비특이적 결합을 막아 주기 위해 사용되기도 한다. 따라서, SPR 파장 스펙트럼의 변화로부터 BSA의 농도를 검출함으로써, 제작된 SPR 센서가 바이오 센서로서의 적용 가능한지 평가할 수 있다. 이를 위해, 버퍼 수용액(0.1 M PBS, pH 7.2)과 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 농도의 BSA 수용액에 대한 SPR 파장 스펙트럼을 측정하였고, 농도가 증가할수록 SPR dip 이 긴 파장 영역으로 이동하는 것을 확인 할 수 있었다. 그림 7은 BSA 농도에 따른 SPR dip의 파장의 이동을 통해, 금 표면에서의 굴절률의 변화를 크레취만 구조를 이용해 계산한 것이다. BSA 농도가 증가함에 따라 금 표면의 굴절률이 증가하는 것을 확인할 수 있다. SPR dip의 파장 변화의 민감도는 약 $1.16 \text{ nm} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ 으로 측정되었고, BSA 농도에 따른 금 표면의 굴절률 변화는 $2.3 \times 10^{-5} \text{ RI} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{l}^{-1}$

그림 6. 버퍼용액 및 BSA 수용액의 농도에 따른 광 스펙트럼 실험결과. BSA 수용액은 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 와 100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도로 희석되었다

Fig. 6. The experimental optical spectrum with respect to concentrations of buffer and BSA solution. The BSA solutions are diluted as the concentration of 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ and 100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

그림 7. SPR 스펙트럼 dip의 파장 변화 및 BSA 농도에 따른 검출 표면의 굴절률 예상치

Fig. 7. The wavelength shift of SPR spectrum dips and the estimated refractive index of the sensing layer according to BSA concentrations.

로 계산되었다. 측정된 검출 민감도는 기존의 SPR 센서들의 보여주는 민감도($1 \times 10^{-5} \text{ RI} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{l}^{-1}$)에 근접한 결과를 보였다¹¹. 하지만, 측정된 SPR 파장 스펙트럼은 이론적으로 계산된 값에 비해 SPR dip이 완만하게 퍼져있고, dip파장에서 흡수되는 빛의 양도 상대적으로 적음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과의 원인으로서는 SPR 현상이 일어나는 부분의 수직도 및 표면 거칠기 등의 형태적 결함과 입력 광섬유로 사용된 멀티모드 광섬유를 들 수 있다. 형태적 결함은 SU-8 몰드의 측면과 전기도금 공정으로 증착된 니켈 구조물의

측면에서 발생하는데, 대략 200 nm(rms) 이상의 표면 거칠기와 2~3도 수직도 오차로 측정되었다. 이 결함을 개선하는 방법으로 SU-8 몰드를 제작할 때, 노광 공정을 개선하여 측면 거칠기를 줄이고, 전기도금을 할 때 증착 속도를 늦춰 니켈 입자의 사이즈를 줄이는 방법 등을 고려할 수 있다. 한편, 멀티 모드 광섬유를 사용해 입력 광섬유와 출력 광섬유 사이의 빔 퍼짐 현상을 개선할 수 있었으나, 멀티모드 광섬유는 여러 각도로 광선이 출력되기 때문에 각 광선이 여러 각도로 프리즘에 입사하므로 이로 인해 공진파장이 달라져 SPR dip의 sharpness가 나빠지는 원인을 제공한다. 이를 개선하기 위해, 입출력 광섬유 사이의 빔 퍼짐 현상을 줄이면서, 단일 모드 광섬유의 특성을 갖게 하는 방법으로 입력 광섬유에는 열 확산 광섬유를 사용하고^[8], 출력 광섬유에는 코어 직경이 큰 멀티모드 광섬유를 사용해 해결할 수 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 COC 폴리머 프리즘을 이용한 저가 일회용의 광섬유 기반 SPR 센서에 대해 연구하였다. 본 논문에서 제안한 SPR 센서는 기존의 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)나 전기화학적 바이오 센서에 비해 실시간 검출이 가능하고, 염료를 이용한 라벨링 과정이 필요 없으며, 상대적으로 검출 민감도도 높다. 또한 제안된 SPR 센서의 원리는 사출성형으로 제작된 COC 폴리머 플라스틱 칩에 구현되었고, 광섬유를 이용해 프리즘까지 빛을 전달함으로써 SPR 바이오 센서를 구현하였다. SPR 파장 스펙트럼에서 BSA 농도에 따른 SPR dip의 민감도는 대략 $1.16 \text{ nm} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ 으로 측정되었고, 이로부터 BSA 농도에 따른 금 표면의 굴절률 변화는 $2.3 \times 10^{-5} \text{ RI} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ 으로 계산되었다. 제작된 SPR 센서를 통해 얻은 검출 민감도는 기존의 SPR 센서들의 성능에 근접한 값을 가졌고, 제작 상의 문제로 기인한 센서 표면의 거칠기 문제를 개선한다면, 경제성이 있는 SPR 바이오 센서의 가능성이 있음을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 광주과학기술원의 분산 센서 네트워크 센

터의 지원을 받아 수행되었습니다.

참고 문헌

- [1] X. D. Hoa, A. G. Kirk, and M. Tabrizian, "Toward integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress", *Biosensors and bioelectronics*, vol. 23, pp. 151-160, 2007.
- [2] M. Piliarik, J. Homola, Z. Manikova, and J. Ctyroky, "Surface plasmon resonance sensor based on single-mode polarization-maintaining optical fiber", *Sensors and Actuators B*, vol. 90, pp. 236-242, 2003.
- [3] L. A. Obando, D. J. Gentleman, J. R. Holloway, and K. S. Booksh, "Manufacture of robust surface plasmon resonance fiber optic based dip-probes", *Sensors and Actuators B*, vol. 100, pp. 439-449, 2004.
- [4] 이훈, 이승기, "광섬유 국소화 표면 플라즈몬 공명 센서를 위한 광섬유 표면상의 금속 나노 입자 형성", *센서학회지*, 제17권, 제2호, pp. 95-99, 2008.
- [5] L. Chau, Y. Lin, S. Cheng, and T. Lin, "Fiber-optic chemical and biochemical probes based on localized surface plasmon resonance", *Sensors and Actuators B*, vol. 113, pp. 100-105, 2006.
- [6] J.-W. Choi, S. Kim, R. Trichur, H. J. Cho, A. Puntambekar, R. L. Cole, J. R. Simkins, S. Murugesan, K. S. Kim, J. B. Lee, G. Beaucage, J. H. Nevin, and C. H. Ahn, "A plastic micro injection molding technique using replaceable mold-disks for disposable microfluidic systems and biochips", *Proceedings of the 5th International Conference on Micro Total Analysis Systems (micro-TAS 2001)*, pp. 411-412, Monterey, CA, Oct. 21-25, 2001.
- [7] E. Kretschmann and H. Rather, "Radiative decay of nonradiative surface plasmons excited by light", *Z. Naturforsch. A* vol. 23, pp. 2135-2136, 1968.
- [8] K. T. Kim, K. H. Lee, E. S. Shin, H. S. Song, K. B. Hong, S. Hwangbo, and K. R. Sohn, "Characteristics of side-polished thermally expanded core fiber and its application as a band-edge filter with a high cut-off property", *Optics communications*, vol. 261, pp. 51-55, 2006.

윤 성 식

- 2001년 전남대학교 기계공학과 졸업 (공학사)
- 2003년 광주과학기술원 기전공학과 졸업 (공학석사)
- 2008년 광주과학기술원 기전공학과 졸업 (공학박사)
- 2008년~현재 광주과학기술원 기전공학과 Post Doc.
- 주관심분야 : MEMS/NEMS 센서, (110) 실리콘 가공, 바이오 및 광 MEMS 소자 등

이 수 현

- 2002년 고려대학교 전기공학과 졸업 (공학사)
- 2004년 미국 신시내티 대학 전기컴퓨터 공학 및 컴퓨터과학과 졸업(공학석사)
- 2007년 미국 신시내티 대학 전기컴퓨터 공학 및 컴퓨터과학과 졸업(공학박사)
- 2007년~현재 한국과학기술연구원 나노바이오시스템센터 연구원
- 주관심분야 : 바이오 MEMS, On-chip PCR, optical detection for LOC, polymer waveguide sensor and SPR device

안 종 혁

- 1980년 인하대학교 전기공학과 졸업 (공학사)
- 1983년 서울대학교 전기공학과 졸업 (공학석사)
- 1993년 미국 Georgia institute of technology 전기 컴퓨터 공학과 졸업 (공학박사)
- 1993년~1994년 Center for Electrochemical Technology and Microfabrication Post Doc.
- 1994년~현재 미국 신시내티 대학 전기 컴퓨터공학 및 컴퓨터과학과 교수
- 주관심분야 : Disposable biochips/Bio MEMS, Microfluidic devices & systems, Plastic material & Micromachining 등

이 종 현

- 1981년 서울대학교 기계공학과 졸업 (공학사)
- 1983년 한국과학기술원 기계공학과 졸업 (공학석사)
- 1986년 한국과학기술원 기계공학과 졸업 (공학박사)
- 1986년~2000년 한국전자통신연구원 책임연구원
- 2000년~2004년 광주과학기술원 기전공학과 부교수
- 2004년~2005년 미국 신시내티 대학 방문교수
- 2005년~현재 광주과학기술원 기전공학과 교수
- 주관심분야 : Optical MEMS, Bio-MEMS, Nanophotonics, Micro/Nano machine, MEMS/NEMS process