

고감도 열전생화학센서에 적용을 위한 미세유체기반 전처리 농축장치의 설계 및 제작

Design And Fabrication of Microfluidic Preconcentration Device for High-Sensitivity Thermoelectric Biochemical Sensor

*최용환, 윤승일, #김용준

* Yong-Hwan Choi, Seung-Il Yoon, # Yong-Jun Kim (yjk@yonsei.ac.kr)
연세대학교 기계공학부

Key words : Thermoelectric biosensor, Split-flow, Preconcentration, Dielectrophoresis

1. 서론

열전기반의 생화학센서는 지백효과를 이용하여 생화학 반응으로부터 발생하는 미세한 열역학적 변화를 측정함으로써 해당 물질을 검출한다. 또한 별도의 전처리 과정의 필요 없이 무표지·무고정화 방식의 검침이 가능하기 때문에, 생체 분자간의 반응, 효소 반응 등 다양한 생화학 물질의 측정에 사용될 수 있다. 하지만 기존의 열전생화학센서는 비교적 대량의 시료가 필요하고, 측정 소요 시간이 길다는 단점이 있다[1].

최근 MEMS 를 비롯한 나노·마이크로 가공 기술이 발전함에 따라, LOC(Lab-on-a-chip) 형태의 열전생화학센서에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 일반적으로 열전센서는 양단의 온도차를 전기적 신호로 변환시켜 주기 때문에, 고감도의 측정을 위해서는 양단 간의 온도차를 안정적으로 확보하는 것이 중요하며, 이를 위해 벌크 마이크로머시닝, 박막형 가열기의 삽입, 미세유로의 도입 등 다양한 나노·마이크로 기술이 사용되어 왔다. 이들 중, 미세 분배유로는 미량의 시료를 정밀하게 제어하는 한편, 복잡한 공정이나 추가적인 장치 없이 열전센서의 zero-offset 을 제거할 수 있으며, 동시에 외부의 영향에도 안정적인 특징을 갖도록 한다[2]. 그러나 분배유로를 통해 유입되는 시료의 대부분이 반응하지 못하고 낭비되는 경향이 있으며, 이는 고가의 시료를 다루는 의생물학 분야로의 적용에 있어 큰 한계점으로 지적된다. 따라서 시료의 낭비를 막고, 미세유체기반 열전생화학센서의 고감도 검침을 위하여, 주입되는 생화학 시료의 농축 및 관리가 필요하다.

본 논문에서는 미세유체기반의 열전생화학센서에 적용하기 위하여, 유전영동을 이용한 전처리 농축장치를 제안한다. 제안하는 장치는 제작이 간단하면서도 유전영동의 특성상 연속적인 고속의 농축이 가능하며, 추가적인 표지화 과정 없이도 바이오 물질의 파괴 없이 그 특성에 따라 분리 및 농축이 가능하다[3]. 설계된 소자를 이용하여 유전영동에 의한 힘과 미세 유로 내에서의 바이오 입자의 예상 이동 경로에 대한 수치해석을 수행하였으며, 실제 제작된 소자를 이용하여 농축 효율을 확인하였다.

2. 이론적 원리

2.1 미세분배유로의 원리

분배유로는 하나의 반응챔버와 두 개의 비교챔버로 이루어져 있으며, 각각 열전대의 Hot junction 과 Cold junction 에 위치한다. Inlet₁ 으로부터 유입된 생화학 시료는 모든 챔버에 동시에 분배됨으로써, 열전대 내부에 존재하는 온도 구배를 제거해 주는 역할을 한다(Fig.1(a)). 그 이후, 반응물질이 Inlet₂ 를 통해 반응챔버로 유입되면 Inlet₁ 으로부터 연속적으로 흐르는 시료와 반응하게 되고, 이때 발생하는 열역학적 변화량 만큼 효과적으로 검침할 수 있다. 그러나 생화학 물질의 반응이 반응챔버 내에서만 발생하는 만큼, 분배유로를 통해 비교챔버로 유입되는 시료의 낭비가 발생하는 단점이 존재한다.

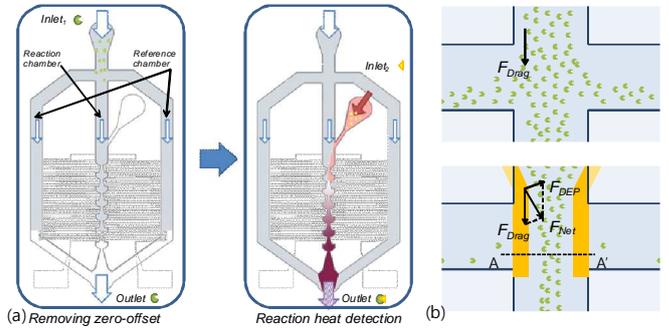


Fig. 1 Schematic view and principles of (a) split-flow microchannel (b) preconcentration device using negative dielectrophoresis.

2.2 유전영동의 원리

유전영동(Dielectrophoresis)은 극성이 없는 입자가 균일한 매질 속에 존재할 때, 불균일한 전기장에 노출되면 일정한 힘을 받게 되는 현상을 말하며 이는 다음과 같은 수식으로 표현될 수 있다.

$$F_{DEP} = 2\pi r^3 \epsilon_m \text{Re}[k(\omega)] |\nabla | E_{rms} |^2 \quad (1)$$

$$k(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \quad (2)$$

이때, F_{DEP} 는 유전영동에 의한 힘, r 은 입자의 반지름, ϵ_m 은 입자의 유전율, ω 는 각 진동수, $K(\omega)$ 는 Clausius-Mossotti factor, $\text{Re}[k(\omega)]$ 는 Clausius-Mossotti factor 의 실수부를 나타내며, E_{rms} 은 전기장 벡터의 RMS(Root-Mean-Square) 값을 나타낸다. ϵ_p^* 와 ϵ_m^* 는 각각 입자와 매질의 복소유전율을 나타내며, 복소 유전율은 $j^2 = -1$, ϵ 는 상대 유전율, σ 는 유전체의 전도도를 나타낼 때, $\epsilon^* = \epsilon - j(\sigma/\omega)$ 로 정의된다. 식(2)에 의해 Clausius-Mossotti factor 의 실수부 즉, $\text{Re}[k(\omega)]$ 값은 (-0.5~1.0)의 분포를 갖게 되고, 이 값이 양수일 때 양의 유전영동에 의해 입자들은 전기장이 증가하는 방향으로 이동하게 되며, 음수일 때 음의 유전영동에 의해 전기장이 감소하는 방향으로 이동하게 된다. 이렇게 발생한 유전영동력은, 미세 유체 내에서 입자들이 받는 항력과 상호 작용을 통해 입자의 이동방향을 결정하게 된다. 미세유체의 항력에 의해 미세유로를 따라 흐르는 입자는 전처리 농축장치의 전극에서 수직방향으로 발생하는 음의 유전영동력을 받게 되며, 이에 따라 입자들은 채널 중앙으로 집중 되게 된다.

3. 설계 및 제작

3.1 전처리 농축장치의 설계

본 연구에서 제안하는 농축장치는 바이오 입자들을 미세유체기반의 열전생화학센서의 반응챔버에 농축시키도록 설계되었다. 이를 위해 두 개의 평면전극이 상호대칭을 이루도록 설계 되었으며(Fig. 1(b)), 이로부터 수직방향의 유전영동력을 받은 입자는 유체의 항력과 상호작용을 통해

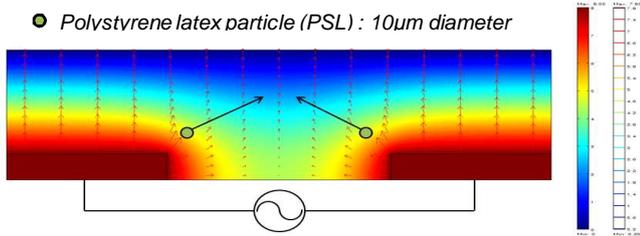


Fig. 2 Numerical simulation of electric field at the μ Fluidic channel cross section (A-A' of Fig. 1(b)) filled with DI water (0.01mS/m), showing the direction of PSL movement.

채널 중심부로 집중된다. 미세유체의 층류유동 특성에 따라 채널의 중심부를 따라 이동하는 바이오 입자는 분배유로의 시작 지점에서 반응챔버로 유입되게 되고, 비교챔버로는 매질만이 유입되게 된다 (Fig. 1(b)). 따라서, 일정 농도의 시료를 주입하였을 때 반응챔버의 상대 농도가 증가하게 되는 효과를 얻게 되고, 이를 통해 고가인 시료의 절약 및 센서의 감도 향상을 기대할 수 있게 하였다.

전처리 농축장치의 성능을 예측하기 위하여 미세유로 내에서 전기장 분포에 따른 유전영동력 및 입자의 이동경로를 유한요소법 기반의 상용 소프트웨어를 이용하여 수치 해석을 수행하였다. COMSOL Multiphysic[®]의 AC/DC -in plane electric currents 모듈을 이용하여 미세유로 내의 전기장을 해석하면 Fig. 2 와 같은 분포를 갖는다. 이때 polystyrene 입자는 음의 유전영동력을 받아 전기장의 밀도가 가장 낮은 채널의 중앙 부로 이동하게 된다.

3.1 전처리 농축장치의 제작

농축장치의 전극을 제작하기 위하여, glass wafer 를 기반으로 Ti/Au 을 전극으로 사용하였다. 전극 형성 과정은 PR 을 이용한 lift-off 를 통해 이루어 졌으며 형성된 전극의 두께는 110nm 이다(10nm/100nm). 열전대는 농축장치의 하단에 위치하게 되며, Cr-Cu 를 이용하여 제작되었고, 각각 200nm 의 두께로 형성 되었다. 분배 유로를 포함한 미세유체시스템은 PDMS 를 기반으로 제작되었다. Si wafer 위에 SU-8 2050 으로 정의된 주형을 제작한 후 PDMS Molding 기법을 이용하여 폭과 높이가 각각 350 μ m 와 100 μ m 인 미세채널을 형성하였다. 앞서 제작된 glass wafer 기반의 전극구조와 PDMS 미세유체시스템의 결합을 위해 Plasma bonding 기법을 사용하였으며, 열처리를 통해 안정화 하였다(Fig. 3)

4. 실험 및 결과

제작된 소자의 성능 평가를 위하여, 직경이 10 μ m 인 polystyrene latex particle(PSL)을 사용하였으며, 전도도가 0.01S/m 인 DI water 에 10⁵/ml 로 희석하였다. Polystyrene 의 전도도가 매질인 DI water 에 비하여 현저히 낮기 때문에, 식(2)에 의해 $Re[k(\omega)]$ 는 일정 주파수 이상에서 고정 값(-0.5)를 유지하게 된다(Fig. 4). 따라서, $Re[k(\omega)]$ 와 유체의 항력을 고려하여 전압신호는 1MHz, 8V_{pp} 의 사각파를 사용하였고, 2.5mm/s 의 유량 조건을 사용하였다. 농축효율을 비교하기 위하여 분배유로가 시작되는 지점에서 관찰된 입자의 분포도 및 수 농도를 정리하였다(Fig. 5). 관찰된 결과와 식(4)를 통해 농축효율 즉, 농도의 증가량을 예측할 수 있으며, 실험 결과 약 80%의 농축이 가능한 것으로 측정되었다.

$$Concentration\ Increase = \left(1 - \frac{3C_{reaction}}{C_{reference1} + C_{reaction} + C_{reference2}} \right) \times 100 \quad (4)$$

($C_{reaction}$ and $C_{reference}$: 반응챔버와 비교챔버 내부 입자의 수 농도(Fig. 5))

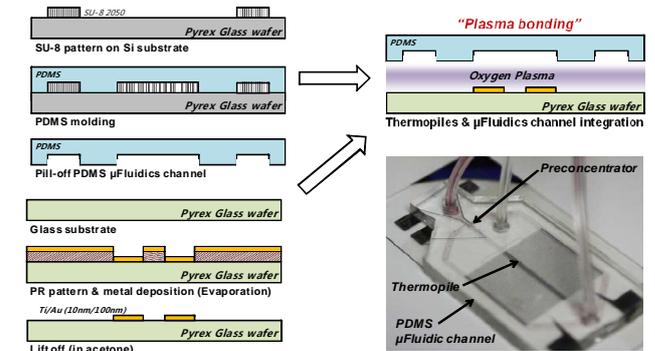


Fig. 3 Fabrication process and the result of the preconcentrator

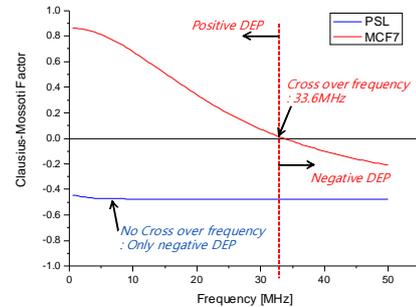


Fig. 4 Real Clausius-Mossoti factor of the PSL particle and MCF7

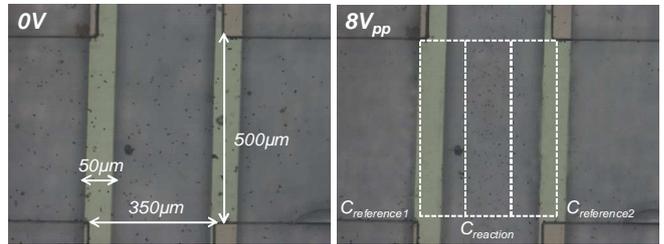


Fig. 5 Photograph of the preconcentration device showing focusing of PSL particle with voltage applied with 8V_{pp} at 1MHz.

4. 결론

본 연구에서는 미세유체기반의 열전생화학센서에 적용하기 위하여 유전영동기반의 농축장치를 제안하였고, 이를 설계 및 제작하였으며 실험을 통하여 검증하였다. 제안한 농축기는 10 μ m 의 직경을 갖는 PSL 입자의 농축 실험을 통해, 고속의 연속적인 유량조건에서 80% 이상의 농도증가 효율을 갖는 것으로 평가되었다. 제안된 농축기는 열전센서와 집적된 LOC 형태로서, 바이오 시료의 농축을 통해 고가의 생화학 시료의 낭비를 감소시킬 것으로 예측되며, 반응챔버에서의 반응효율을 높임으로써 열전센서의 감도 향상에 기여할 것으로 기대된다.

Acknowledgment

본 연구는 KRIBB(KGM2510911) 주요사업의 연구비 지원과 연세대학교 NCRC(R15-2004-024-00000-0)의 지원을 통하여 수행 되었습니다.

참고문헌

1. W. Lee *et al.*, "High-sensitiviy microfluidic calorimeter for biological and chemical applications", Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **106**, 15225–15230, 2009.
2. Seung-II Yoon *et al.*, "A micromachined microcalorimeter with split-flow microchannel for biochemical sensing applications", Sensors and Actuators B, **134**, 158–165, 2008
3. Ronald Pethig, "Dielectrophoresis : Using Inhomogeneous AC Electrical Fields to Separate and Manipulate Cells" Critical Reviews in Biotechnology, **16(4)**, 331-348, 1996.