

모세관 전기영동 및 전기화학적 검출 시스템을 위한 일회용 마이크로칩

김주호, 강치중, 김용상
 명지대학교 전기공학과, *명지대학교 물리학과

Microfabricated Disposable Microchip with a Capillary Electrophoresis and Integrated Amperometric Detection

Ju-Ho Kim, C. J Kang*, and Yong-Sang Kim
 Department of Electrical Engineering, *Department of Physics, Myongji University

Abstract - 모세관 전기영동 및 전기화학적 검출 시스템을 마이크로 시스템에 적용하여 ITO 유리기판과 polydimethylsiloxane (PDMS)로 제작하였다. 제작된 모세관 전기영동 및 전기화학적 검출 시스템은 일회용으로 사용가능하며 전기화학적 검출에 아주 적합한 특성을 보인다. 모세관 전기영동 및 전기화학적 검출 시스템은 주입과 분리 채널 (80 μm 폭 X 40 μm 깊이)을 가진 PDMS 층과 유리기판 위에 검출 전극으로 사용되는 ITO가 형성된 층으로 구성된다. PDMS 층과 ITO 유리 기판은 UV-O₃ cleaner를 사용하여 접합하였다. 완충용액은 10 mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES)를 사용하였고 분석물질은 1 mM 농도의 dopamine과 1 mM 농도의 catechol을 사용하였다. 60 V/cm 전계로 주입 및 분리를 하였으며 작업전극과 기준전극 간의 전위는 +600 mV로 유지하며 분석물질의 농도에 비례하는 전류량범으로 측정하였다. 전기화학적 검출 회로는 전기영동 전체의 간섭으로부터 분리하였다. 10 mM MES 완충용액에서 바탕 전류의 크기가 ~10 pA일 때 측정전류 값은 10 nA이다. 측정된 피크 값은 기존의 Au 전극과 비교하여 선택성, 감도, 분해능이 유사한 특성을 보여준다.

polydimethylsiloxane (PDMS)를 사용하여 제작하였기 때문에 실리콘에 비해 대량 몰딩 생산이 가능하고 물질 및 공정비용 모두가 저렴하다. 본 논문에서는 모세관 전기영동 및 검출 시스템을 위한 일회용 마이크로칩을 제작하였고 Au 전극을 사용한 마이크로칩과 특성을 비교, 분석하였다.

2. 실험

2.1 시약 및 재료

주입, 분리 및 검출을 위한 분석 물질로 1 mM 농도의 dopamine과 1mM catechol과 완충 용액으로 사용된 10 mM 농도의 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid (MES)는 모두 Sigma (St. Louis, USA)에서 구입하였다. MES는 0.1 N NaOH를 이용하여 pH 6.5인 10 mM MES 완충용액으로 제조하였다. PDMS는 Sylgard 184을 사용하여 제작되었으며 Dow Corning Corp. (Midland, MI, USA)에서 구입하였다. PDMS 몰딩을 위해 음성감광막 SU-8과 XP SU-8 현상액을 사용하였고 MicroChem Co.에서 구입하였다. 모든 용매는 Milli-Q 순수 시스템을 이용한 3차 증류수를 사용하였다.

1. 서 론

지난 10년간, 바이오 및 화학 응용 분야에서 시료 준비, 주입, 분리 및 검출을 포함하는 시스템을 소형화시키는 연구가 여러 연구 그룹에 의해 진행되고 있다 [1,2]. 미세 가공 기술은 고성능, 저비용, 소량의 폐기물 생산, 휴대용, 일회용의 모세관 전기영동 장치를 가능하게 하였다. 기존의 모세관 전기영동 장치에서 검출 방식으로는 고감도성 때문에 레이저 유발형광법이 가장 많이 사용되었다 [3]. 그러나 레이저 유발형광법은 측정 및 기타 장치를 소형화하는데 한계가 있으므로 lab-on-a-chip에 적용하기 어려운 단점이 있다. 전기화학적 검출은 레이저 유발형광법에 비해 휴대용/일회용 모세관 전기영동 시스템에 많은 이점을 가진다. 미세제작된 모세관 전기영동 시스템에서 전기화학적 검출은 많은 그룹에 의해 연구되었다 [4]. 기존의 연구그룹에서는 분리를 위한 전압을 인가하기 위하여 외부의 전원 공급기로부터 Au 또는 Pt 전선들을 reservoir에 위치하였다 [5]. 이것은 소형화의 장점을 절감시킨다. 일반적으로 마이크로칩 방식의 전기화학적 검출 시스템에서 사용되는 Au에 비해 가격이 매우 저렴하며 제작 공정도 간단하다. 채널은

본 연구에서 제안하는 전기화학적 검출기를 가지는 모세관 전기영동 마이크로칩은 비용이 매우 저렴한 물질로 구성되어 있고 공정도 매우 간단하다. 전기영동 및 전기화학적 검출을 위한 전극으로 indium tin oxide (ITO)를 사용하여 일반적으로 쓰이는 Au에 비해 가격이 매우 저렴하며 제작 공정도 간단하다. 채널은

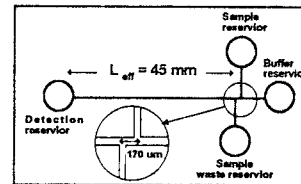
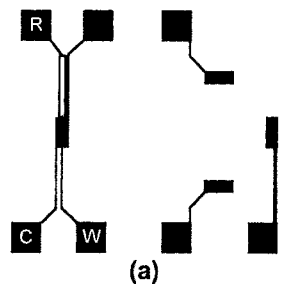


그림 1. 제안된 마이크로칩의 구조. (a) 유리 기판 위의 ITO 전극, (b) 주입 및 분리 채널.

2.2. 제안된 마이크로칩의 구조

그림 1은 제안된 마이크로 칩의 구조를 보여준다. 그림 1(a)는 유리 기판 위의 ITO 전극 평면도이며 작업 전극(W), 기준 전극(R), 대전극(C)과 전기영동을 위한 4

개의 전극으로 구성되어 있다. 전기화학적 검출 회로는 전기영동을 위한 전제로부터 분리되었다. 작업 전극의 폭은 100 μm , 기준 전극의 폭은 50 μm 이고 대전극의 폭은 200 μm 이다. 그림 1(b)는 PDMS 채널 층의 평면도이고 채널의 폭은 80 μm 이고 깊이는 40 μm 이다. 170 μm offset을 가지는 이중-T 인젝터 구조를 사용하였으며 1 cm 주입 채널과 5 cm 분리 채널로 구성된다. 4개의 reservoir가 형성되어 있고 각각 reservoir에는 내경이 1 mm인 실리콘 튜브가 연결되어 있다.

2.3 마이크로칩 제작

그림 2는 제안된 마이크로칩의 제작 공정을 나타내고 있다. 제안된 마이크로 칩의 제작 공정과정은 집적연구를 목적으로 이전에 발표된 마이크로 밸브 [6], 마이크로 펌프 [7]와 같은 방법으로 제작되었다. 제안된 마이크로 칩은 2개의 다른 층 (ITO 전극, PDMS 채널)을 조립하여 제작한다.

ITO 전극 공정은 먼저 유리 기판 위에 sputter 장비를 사용하여 ITO를 340 nm 두께로 증착하였다. 증착된 ITO의 면저항은 10 Ω/\square 이다. ITO 전극을 제작하기 위해 PR 패터닝공정을 실시하였다. 그 후 ITO는 FeCl_3/HCl 용액에서 식각하였다. 마지막으로 PR을 제거하여 ITO 전극을 완성하였다. Au 전극 공정은 유리 기판 위에 AZ-1512 PR을 코팅 한 후 Ti/Au를 evaporator 장비를 사용하여 340 nm 두께로 증착하였다. 그 후 PR 패터닝 공정을 실시하여 Au 전극을 완성하였다.

본 실험에서는 PDMS와 유리와의 접착을 위해 UV- O_3 cleaner를 사용하였다. 그림 2과 같이 ITO 전극이 패터닝된 유리 기판과 채널이 형성된 PDMS 층을 UV- O_3 cleaner를 이용하여 접착하였다. 그림 3은 완성된 마이크로칩의 사진이다.

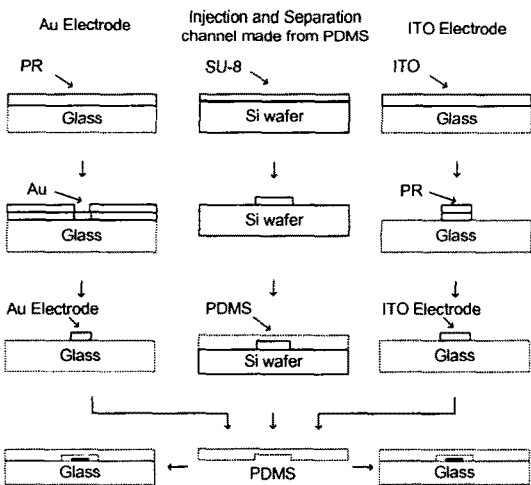


그림 2. 제안된 마이크로칩의 제작 공정.

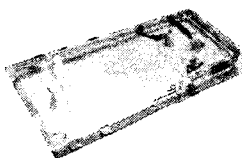


그림 3. 완성된 마이크로칩의 사진

2.4 전기영동 및 전기화학적 검출

실험 전, 모든 용액은 여과기를 통해 여과되었으며 채널 내부에 초순수를 통과시켰다. 모든 reservoir와 채널은 완충 용액으로 채우고 "sample reservoir"에 분석 시료를 10 μl 주입하였다. "Sample reservoir"와 "sample waste reservoir" 사이에 50 V/cm 전계를 인가하여 분석 시료를 주입 후 "detection reservoir"와 "buffer reservoirs" 사이에 60 V/cm 전계를 인가하여 분석 시료를 분리, 이동시켰다. 작업 전극과 기준 전극 사이의 검출 전위는 +600 mV로 일정하게 유지시켰다.

3. 결과 및 토의

모세관 전기영동 및 전기화학적 검출 시스템을 위한 일회용 마이크로칩을 제작하고 dopamine과 catechol을 분석 시료로 사용하여 Au 전극과 특성을 비교, 분석하였다. 그림 4(a)는 50 V/cm 주입 전계를 인가한 후 60 V/cm의 분리 전계를 인가하여 1 mM 농도의 dopamine을 측정된 결과이다. 작업 전극과 기준 전극 사이의 전위를 +600 mV로 일정하게 유지 시킨 상태에서 dopamine을 주입 후 38초 후에 약 10 nA의 피크 전류를 측정하였다. 그림 4(b)는 dopamine과 같은 조건 하에서 catechol을 주입한 후 59초 후에 약 4.5 nA의 피크 전류를 측정하였다.

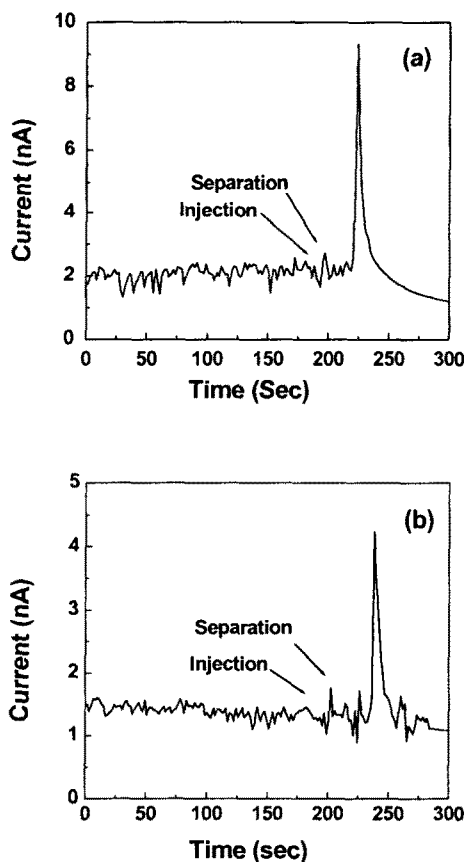


그림 4. pH 6.5 MES 완충 용액, +600 mV 하에서의 Electropherogram. (a) 1 mM 농도의 dopamine, (b) 1 mM 농도의 catechol.

그림 5는 1 mM 농도의 dopamine과 1 mM 농도의 catechol 혼합물을 주입하여 측정된 것을 보여준다. 스위칭 피크가 발생한 후 측정 전류는 빠르게 정상 상태를 회복하였다. 두 혼합물은 쉽게 분리되고 측정되었다.

그림 6은 0.1 mM 농도의 dopamine과 0.1 mM 농도의 catechol 혼합물의 분리 및 검출 결과이다. 위와 같은 결과는 60 V/cm의 전계를 인가하여 80초 이내에 두 혼합물을 빠르고 간편하게 분리하고 검출할 수 있다는 것을 보여준다. 측정된 전류 값은 분석 시료의 농도에 비례하는 것을 보여준다. ITO 전극의 특성을 Au 전극과 비교하기 위하여 같은 조건에서 Au 전극을 사용하여 측정하였다. 그림 7은 같은 분석 시료를 사용하였지만 바탕전류가 증가한 것을 보여준다. 이것은 Au의 저항률이 ITO의 저항률보다 훨씬 작기 때문이다. Au 전극으로 실험한 결과, 측정된 전류 피크는 기존에 여러 연구 그룹에서 연구된 것과 유사한 특성을 보였다 [8]. 바탕전류의 크기를 제외한 감도, 안정성, 분해능의 ITO 전극 특성은 Au 전극을 사용한 결과와 비교하여 비슷하다는 것을 알 수 있다.

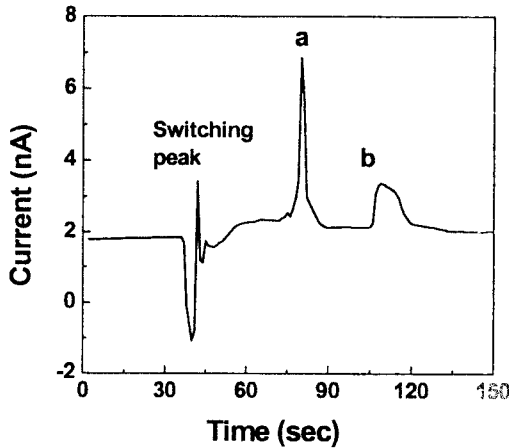


그림 5. 1 mM 농도의 dopamine과 1 mM 농도의 catechol 혼합물의 Electropherograms.

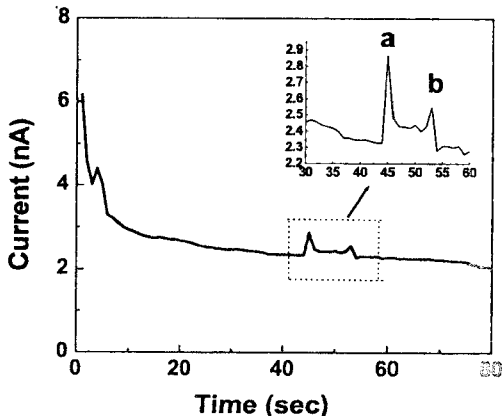


그림 6. 0.1 mM 농도의 dopamine과 0.1 mM 농도의 catechol 혼합물의 Electropherograms.

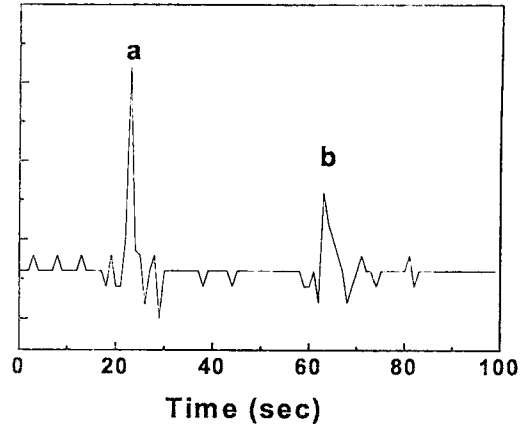


그림 7. Au 전극을 사용한 1 mM 농도의 dopamine과 1 mM 농도의 catechol 혼합물의 Electropherograms

4. 결 론

본 연구에서는 ITO 전극과 PDMS를 사용하여 모세관 전기영동 및 전기화학적 검출 시스템을 위한 일회용 마이크로칩을 제작하고 특성을 분석하였다. 일회용 전기화학적 검출기는 일반적으로 사용되는 Au 전극과 비교하여 감도, 안정도, 분해능, 그리고 피크 곡선과 같은 특성이 매우 비슷한 것을 보였다. 이러한 특성들은 일반적으로 쓰이는 Au 전극을 대신하여 ITO 전극을 사용할 수 있으며 일회용으로 사용가능하기 때문에 번거로운 표면 재처리 작업이나 작업 전극의 reconditioning 필요성을 제거할 수 있음을 보여준다.

[참 고 문 헌]

- [1] Manz, A., Graber, N., Widmer, H. M., "Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing," *Sens. Act. B*, 1, 244-248, 1990.
- [2] Woolley, A. T., Lao, K., Glazer, A. N., Mathies, R. A., "Capillary Electrophoresis Chips with Integrated Electrochemical Detection," *Anal. Chem.* 1998, 70, 684-688.
- [3] Dolnik, V., Liu, S., Jovanovich, S., "Capillary electrophoresis on microchip," *Electrophoresis*, 21, 41-54, 2000.
- [4] Stephen C. Jacobson, Roland Hergenroder, Lance B. Koutny, J. Michael Ramsey, "High-Speed Separations on a Microchip," *Anal. Chem.*, 66, 1114-1118, 1994.
- [5] Martin, R. S., Ratzlaff, K. L., Huynh, B. H., Lunte, S. M., "In Channel Electrochemical Detection for Microchip Capillary Electrophoresis Using an Electrically Isolated Potentiostat," *Anal. Chem.*, 74, 1136-1143, 2002.
- [6] Jin Ho Kim, Kwang Ho Na, Yong Sang Kim, "Thermopneumatic actuated PDMS Microvalve," *Microelectronic Engineering*, vol.71, pp.119, 2004
- [7] Jin Ho Kim, Kwang Ho Na, Yong Sang Kim, "A disposable thermopneumatic actuated microvalve stacked with PDMS layers and ITO coated glass," *Microelectronic Engineering*, Vol. 73-74, pp.864-869, 2004.
- [8] Wu, C. C., Wu, R. G., Chang, H. C., "Three Electrode Electrochemical Detector and Platinum Film Decoupler Integrated with a Capillary Electrophoresis Microchip for Amperometric Detection," *Anal. Chem.*, 75, 947-952, 2003.