

유전이동을 이용한 콜로이드 입자의 크기에 따른 분리

황 연[†]

서울산업대학교 신소재공학과

The Separation of Colloid Particles of Different Sizes by Dielectrophoresis

Yeon Hwang[†]

Department of Materials Science & Engineering, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743 Korea

(2007년 1월 21일 받음, 2007년 3월 14일 최종수정본 받음)

Abstract The separation of the small colloidal particles from the mixture of two different sized particles using AC dielectrophoresis phenomenon was studied. The spherical mono-dispersed polystyrene particles dispersed in pure water were put into a perfusion chamber on a substrate, and AC electric field was applied to the glass substrate with Au electrodes in 4 mm distance. The AC frequency was fixed at 1 kHz and the intensity of the field was varied from 25 V/cm to 160 V/cm. After applying the AC field, the degree of the chain formation that resulted from the particle movements by dielectrophoresis was observed by optical microscope. The mixture of the 1 μm and 5 μm sized polystyrene particles at 0.5 vol% concentrations for each size was set in the dielectrophoresis conditions of 1 kHz and 100 V/cm. At this condition large 5 μm sized polystyrene particles formed chains, on the contrary the 1 μm sized polystyrene particles formed no chains. After water flowing for 20 min, it was found that small particles that were floating in the chamber had been removed by the water flowing.

Key words Dielectrophoresis, Colloidal particle, Particle separation.

1. 서 론

최근 십여 년 동안 화학분석이나 생물학 분야에 적용하기 위한 마이크로 시스템에서 “Lab-on-a-chip”에 대한 많은 연구가 집중되고 있다.¹⁾ 이는 분리, 농축, 검출 등과 같은 여러 단위의 조작을 통합하여 하나의 칩에서 실현시키는 개념인데, 다양한 기능이 하나의 칩에서 구현되기 때문에 질병진단이나 라이브러리 구축에 매우 유용할 것으로 예상된다.

콜로이드나 생화학 공정에서 서로 다른 바이오 입자들을 임의로 다루거나 농축 또는 분리하기 위하여 여러 가지 방법이 개발되었는데, 예를 들어 광학 집게(tweezers), 초음파, 자기장, 전기장, 형광 등을 이용한 분리, 필터링, 원심분리 등의 방법이 있고,²⁻⁴⁾ 이러한 다양한 방법들이 하나의 칩 내에서 구현되도록 작은 크기로 만들어지고 있다. 나노 입자들을 움직이거나 분리하기 위하여 폭 넓게 사용되는 기술이 전기이동과 전기삼투이다. 여기서 DC 전압을 인가하여 도전성 전해질이나 대전된 입자들을 좁

은 채널을 통과하여 이동시킬 수 있다. 이러한 전기장을 기초로 한 입자조작 및 분리 기술은 마이크로 소자로 제조하는데 적합하여 “Lab-on-a-chip” 시스템에 성공적으로 적용하고 있다.

DC 전계를 이용한 입자나 유체의 제어는 100여년 전부터 정립되어온 반면에 AC 전계가 입자에 작용하는 방식 즉 AC 동전기학(electrokinetics)이 연구된 것은 30여년 밖에 되지 않는다.⁵⁾ “Lab-on-a-chip” 마이크로 소자에 AC 전계를 이용하기 위하여 AC 전계와 입자/유체 사이의 상호관계에 대한 많은 정보를 필요로 하고 있다.

지금까지 유전이동(DEP; dielectrophoresis)을 이용하여 콜로이드 입자를 분리하기 위하여 여러 가지 방법이 제안되었다. DEP 이동법은 마주보는 두 쌍의 전극이 발생하는 비균일 전기장을 이용하여 서로 다른 종류의 입자를 분리하거나 모으는 방법이다.^{6,7)} DEP 친화법은 전극의 모서리에서 발생하는 큰 DEP 힘을 이용하여 콜로이드의 흐름 속에서 특정한 입자를 고정시킴으로써 이들을 다른 입자와 분리하는 방법이다.^{8,9)} DEP 유동분류법은 가는 관 속으로 콜로이드 용액을 흘려 보내면서 중력의 반대 방향으로 DEP 힘을 작용시켜 입자들을 부유시킨 후 밀도 차이를 이용하여 분리하는 방법이다.¹⁰⁾ 이

[†]Corresponding author

E-Mail : yhwang@snut.ac.kr (Y. Hwang)

송과 DEP는 평행하게 배열된 여러 개의 전극에 순차적으로 전계를 걸어주어 입자를 이송시키는 방법이다.^{11,12)}

본 연구에서는 서로 다른 크기의 마이크로미터 입자들을 AC 유전이동을 이용하여 서로 분리하는데 있어서 다음과 같은 개념을 적용하였다. 유체에 분산된 입자에 AC 전계를 가하면 입자와 유체의 분극을 차이 때문에 입자 표면에 전기 쌍극자가 유도되고, 이들 쌍극자에 의하여 입자들은 사슬을 형성하게 된다. 그러나 사슬이 형성되는 AC 전계 및 주파수는 입자의 크기에 따라 결정된다. 즉 작은 입자와 큰 입자가 사슬로 형성되는 조건이 서로 다르므로 한 종류의 입자만 사슬을 형성하고 다른 입자가 사슬을 이루지 못하게 할 수 있다. 이 상태에서 유체를 강제 순환시키면 사슬을 형성하는 입자들 사이에는 상호 인력이 작용하고 있으므로 유체의 흐름에 영향을 받지 않는 반면에, 사슬을 형성하지 못한 입자들을 유체에 따라 시스템 밖으로 배출되게 된다. 본 고에서는 물에 분산된 1 μm 및 5 μm 크기의 단분산 구형 폴리스타이렌 입자에 AC 전계를 가하여 작은 입자를 분리한 결과를 소개하기로 한다.

2. 실험 방법

본 연구에서는 Fig. 1과 같은 구조의 chamber 및 전극을 사용하여 AC 유전이동 실험을 하였다. 슬라이드 유리(Fisher, Microscope Slides)에 Cr을 100 nm의 두께로 스퍼터링으로 증착 한 후 그 위에 Au를 20 μm 의 두께로 증착 하여 전극을 제작하였다. 전극 사이의 간격은 4 mm이었다.

입자 크기에 따른 분리를 위하여 두 가지 종류의 구형 폴리스타이렌 콜로이드 용액(Interfacial Dynamics Corp.)을 사용하였다. 각 콜로이드의 평균 입경은 $1.0 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 및 $4.9 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 이고, 고체농도는 8.2% 및 4.1% 이었다. 콜로이드 용액 내에 전해질이 존재하면 전기장이 작용하여 힘을 발생시키게 되므로 콜로이드 용액을 초순수(Millipore, RIO's16/Synergy185)에 1/10배로 희석시킨 후 원심분리기(Fisher, Marathon Micro-A)를 사용하여 콜로이드 입자만을 분리하는 작업을 3회 수행하여 용액을 깨끗이 하였다.

Fig. 1(a)와 같은 구조를 갖는 perfusion chamber (Grace Bio-Labs, CoverWell™)를 Au/Cr 전극이 증착된 슬라이드 유리에 부착한 후 100 μl 의 콜로이드 용액을 chamber 안에 주입하였다. Chamber의 직경은 20 mm, 깊이는 0.5 mm이었다. 이후 AC 전압 및 주파수를 조절하면서 광학현미경(Olympus, BX-61)으로 입자의 배열 형태를 관찰하였다. AC 유전이동이 일어나는 조건을 제어하기 위하여 AC 전압과 주파수를 각각 ramp generator (Exfo Burleigh, RG-91) 및 function generator(HP

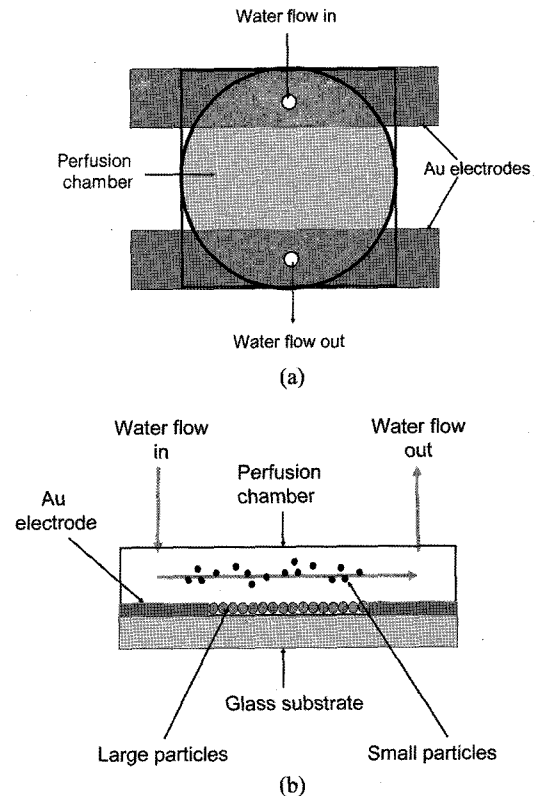


Fig. 1. The schematic diagram of the system for the dielectrophoresis setup. (a) Top view of the perfusion chamber and (b) side view that shows the concept of water flow removing the small colloidal particles.

Agilent, 33120 A)를 사용하여 조절하였다.

입자의 분리 실험은 다음과 같다. 두 가지 크기의 콜로이드 용액을 1:1의 부피 비율로 chamber 내에 넣은 후 큰 입자만 사슬을 형성하는 AC 전압 및 주파수에 고정시켰다. 이때 큰 입자는 Fig. 1(b)에서 보듯이 유전이동 힘에 의하여 전극 사이에 사슬을 형성하여 고정되게 되는 반면에 작은 입자는 사슬을 형성하지 못하고 용액 내에 분산되어 부유하는 상태로 된다. 이후 초순수를 chamber의 한쪽 입구를 통하여 한번에 2 μl 씩 마이크로 피펫(Fisher, Finnpiptette)을 사용하여 흘려주어 chamber에 부유하는 작은 콜로이드 입자들을 밖으로 배출시키면서 광학현미경으로 관찰하였다.

3. AC 유전이동 이론

유전이동은 작은 입자가 전해질 용액 속에 분산되어 있을 때 두 가지 물질의 전도도 또는 유전율의 차이 때문에 계면에서 발생한 전하의 분포에 기인하는 현상이다. 외부에서 전기장을 가하면 전하가 이동하여 입자와 전해질 사이의 계면의 어느 한쪽에 축적된다. 그 전하의 크기는 가해진 전기장의 강도 및 입자와 전해질의 전기적

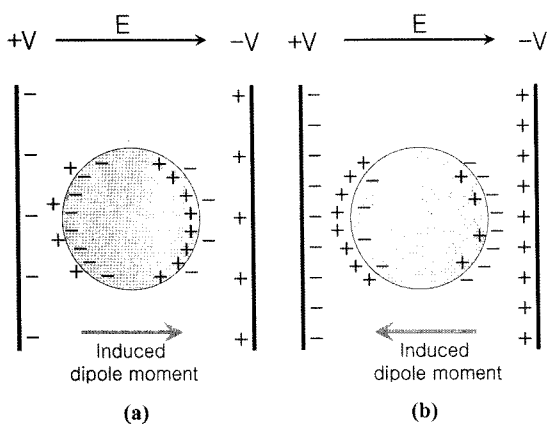


Fig. 2. Schematic diagram of how different particles polarize when they have a (a) much higher or (b) much lower polarisability than the surrounding liquid medium.

특성(전도도 및 유전율)에 의하여 결정된다. 물론 세포, 바이러스, 단백질 분자 등과 같은 실제 입자에서는 이온화 될 수 있는 카르복실산이나 아미노 그룹 등이 표면에 있기 때문에 전기 이중 층이 형성되고, 외부의 전기장에 의해 전기 이중 층이 힘을 받는다.

입자 주위의 전하 분포는 분극율로부터 정성적으로 설명할 수 있다. 첫째 입자의 분극율이 전해질보다 월등히 크다면 입자의 내부에 더 많은 전하가 존재하게 된다. 이는 계면을 중심으로 전하밀도가 차이를 의미하며, 이 때문에 전기장과 평행한 방향으로 유도 쌍극자가 형성된다 (Fig. 2(a)). 예를 들어 절연체 매질 내에 분포하는 금속 입자나 저유전율 절연체 매질 내에 분포하는 고유전율 입자가 여기에 해당된다.

두 번째는 첫 번째 경우와 반대되는 경우로서 입자의 분극율이 전해질보다 훨씬 작아서 전기 쌍극자가 외부 전기장과 반대 방향으로 형성된다(Fig. 2(b)). 이는 절연체 입자가 도전성 또는 고유전율 매질 내에 분포하는 경우이다.

외부 전기장이 제거되면 쌍극자는 소멸하므로, 이러한 계에서 쌍극자는 유도되었다고 한다. 외부 전기장의 방향이 반대로 바뀌면 유도 쌍극자의 방향도 함께 바뀌는데, 전하의 분포는 즉각적으로 평형에 이르는 것이 아니라 일반적으로 수 ms 정도의 시간이 필요하다. 저주파수에서 전하는 전기장의 변화를 따라갈 수 있으나, 주파수가 증가함에 따라 전하가 더 이상 따라가지 못하고 계면에 전하가 고정되어버리는 영역이 나타난다.

만약 외부 전기장의 분포가 균일하지 않다면 입자 내에 발생하는 쌍극자의 분포 또한 일정하지 않아서 입자에 힘이 작용하여 입자는 움직이게 된다. 이것이 유전이동을 발생시키는 원인이다. AC 전기장을 사용하면 매질의 전기분해나 전기삼투 현상을 억제할 수 있어서 DC보다 유리하다.

각각의 입자에 작용하는 유전이동 힘, F_{DEP} 는 다음과 같다.^{5,13)}

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_1 \text{Re}\{K(\omega)\}r^3\nabla E_{rms}^2 \quad (1)$$

여기서 r 은 입자의 직경, K 는 Clausius-Mossotti 인자이고, 힘은 전기장의 기울기 ∇E 에 의존한다. 이에 반하여 DC 전기장에 의한 전기이동(electrophoresis) 힘은 $F_{ep} = qE$ 로서, 전기장의 크기에 비례한다.

유전이동 힘의 크기와 방향은 Clausius-Mossotti 함수의 실수부에 의존하고, 다음과 같이 주어진다.

$$\text{Re}\{K\} = \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} + \frac{3(\epsilon_1\sigma_2 - \epsilon_2\sigma_1)}{\tau_{MW}(\sigma_2 + 2\sigma_1)^2(1 + \omega^2\tau_{MW}^2)} \quad (2)$$

여기서 ϵ_1 과 σ_1 은 매질의 유전율 및 전기 전도도이고, ϵ_2 와 σ_2 는 입자의 유전율 및 전기 전도도이다. 유전체 입자인 경우 주파수 $\omega_c = (\tau_{MW})^{-1}$ 에서 부호가 바뀐다.

각 입자들이 가지고 있는 쌍극자로 인하여 입자들이 사슬로 연결되는 힘은 전기장의 세기에 비례하고, 다음과 같이 일반화 시킬 수 있다.

$$F_{chain} = -C\pi\epsilon r^2 K^2 E^2 \quad (3)$$

입자간 거리에 따라서 상수 C 의 크기는 $3 \sim 10^3$ 정도이다.

본 실험에서 사용한 전극의 형태로부터 발생하는 AC 전기장의 분포를 고려하면 물에 분산된 폴리스타이렌 입자에 걸리는 유전이동 힘의 방향은 Fig. 3과 같이 기판의 수직 방향이 된다.

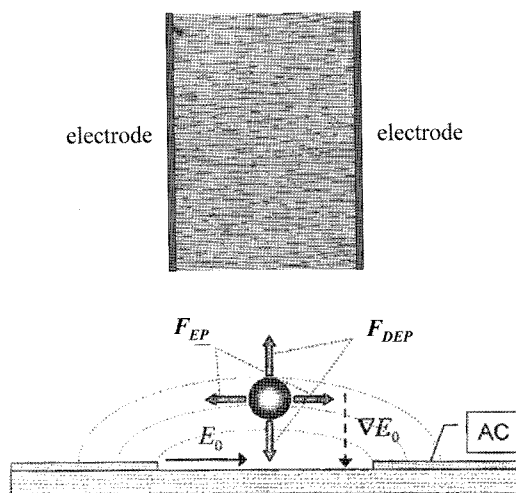


Fig. 3. Schematic diagram outlining the mechanism of AC dielectrophoresis. The direction of the forces owing to dielectrophoresis and dipole interaction appear in different ways.

4. 결과 및 고찰

Fig. 4는 $5\ \mu\text{m}$ 크기의 폴리스타이렌 콜로이드 입자가 1 vol%의 농도로 분산되어 있는 콜로이드 용액을 1 kHz, 25 V/cm인 조건에서 AC 전기장을 가한지 각각 30초, 1분, 3분이 경과한 후에 얻은 광학현미경 사진이다. 이때 전기장을 가한 방향은 사진의 상하 방향이다. 30초 후에 몇 개의 입자들이 연결되어 짧은 사슬을 형성하기 시작하는 것이 보인다. 그 후 시간이 경과함에 따라 더 많은 개수의 사슬이 형성되고, 길이도 길어지고 있다. 그러나 전기장의 세기가 작아서 긴 사슬은 형성되지 못하고 있다.

전기장의 세기를 50 V/cm로 증가시킨 결과 Fig. 5와 같이 관찰된다. 전기장을 가한 후 30초 만에 사슬이 형성되고 있음을 알 수 있다. 또한 3분이 경과하면 입자 내에 형성된 전기 쌍극자에 의한 사슬간의 상호인력이 작용하여 몇 개의 사슬들이 서로 붙은 형태를 보인다. 즉 AC 전기장의 세기를 조절함으로써 사슬의 길이, 사슬이 형성되기 시작하는 시간, 사슬간의 결합 등을 조절할 수 있음을 보여준다. 물론 AC 주파수도 사슬을 조절하는 인자인데, 본 실험에서는 주파수를 1 kHz에 고정시키고 전기장의 세기만을 조절하였다.

Fig. 6(a)는 $5\ \mu\text{m}$ 및 $1\ \mu\text{m}$ 크기의 폴리스타이렌 콜로이드 입자를 각각 0.5 vol%의 농도로 혼합한 콜로이드 용액을 1 kHz, 100 V/cm인 조건에서 3분간 유지한 후의 광학현미경 사진이고, Fig. 6(b)는 1 kHz, 160 V/cm에서 3분간 유지한 후의 사진이다. 가해진 AC 전기장의 세기가 100 V/cm일 때 $5\ \mu\text{m}$ 크기의 입자들은 사슬을 형성하여 서로 결합되어 있는데 반하여 작은 입자들은 사슬을 형성하지 못하고 용액 내에 분산된 상태로 관찰되고 있다. 이에 비하여 전기장이 160 V/cm로 증가하면 큰 입자들은 물론 $1\ \mu\text{m}$ 크기의 작은 입자들도 사슬을 형성함을 볼 수 있다. 식(3)에서 보듯이 입자들이 사슬을 형성하는 힘 F_{chain} 은 입자 직경의 제곱에 비례하므로 같은 크기의 전기장 하에서 큰 입자들이 작은 입자들보다 쉽게 사슬을 형성하게 된다.

Fig. 6(a)는 AC 전기장의 세기가 100 V/cm로서 50 V/cm 조건인 Fig. 5와 비교하면 여러 개의 사슬들이 서로 결합하여 있음이 다르다. 이는 사슬 사이에 결합력이 발생하였기 때문이다. 큰 입자의 사슬들이 결합하면 작은 입자들이 이동할 수 있는 통로를 제공한다고 예상되기 때문에, 작은 입자들이 사슬을 형성하지 못하는 전기장 범위 내에서 가능한 한 높은 전기장에서 사슬을 형성시키는 것이 바람직하다고 판단된다. 본 실험에서 폴리스타이렌 입자를 선택한 것은 첫째 구형 단분산 콜로이드를 쉽게 구할 수 있고, 둘째 밀도가 $1.05\ \text{g/cm}^3$ 으로 작아서 물에 쉽게 부유될 것으로 예상되기 때문이다. Fig.

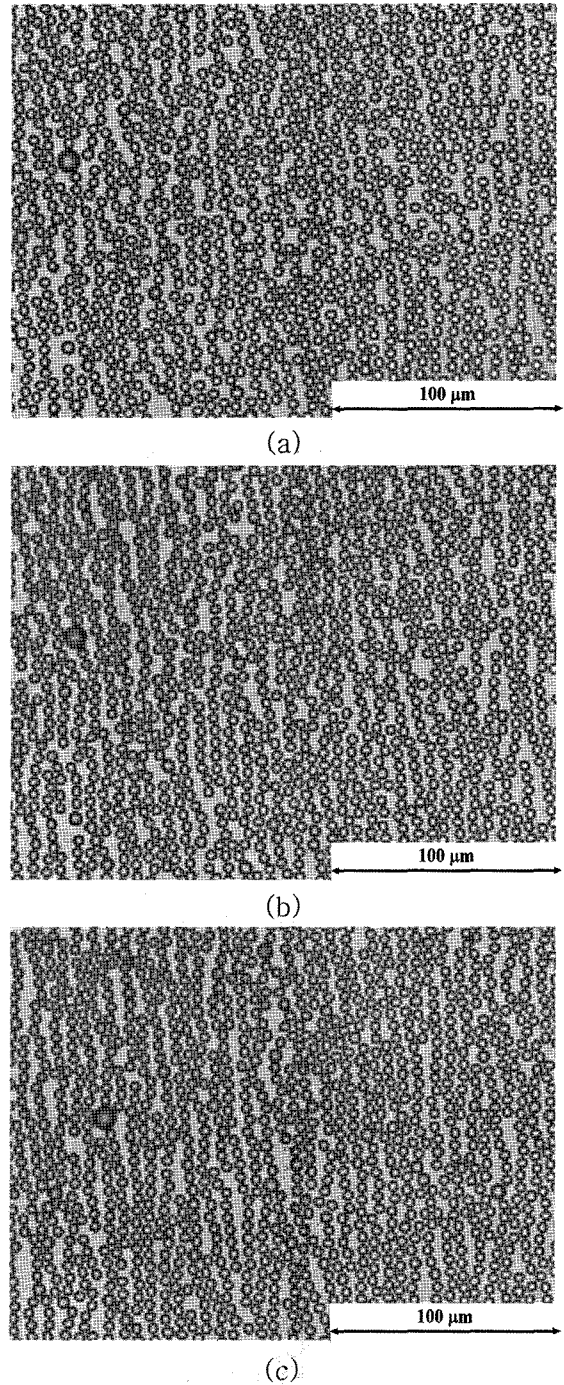


Fig. 4. Optical microscopy images that show the arrangement of the $5\ \mu\text{m}$ sized polystyrene particles at 1 vol% concentration. The dielectrophoresis condition was 1 kHz and 25 V/cm, and the images were taken at (a) 30 s, (b) 1 min, and (c) 3 min after applying the AC field.

6(a)에서 사슬을 형성한 큰 입자는 전기장의 구배에 의하여 기관에 붙어있음에 반하여 작은 입자는 아직 사슬을 형성하지 못하므로 chamber 내에 부유되어 있는 상태이다. 따라서 물에 떠있는 작은 입자들은 유체의 순환

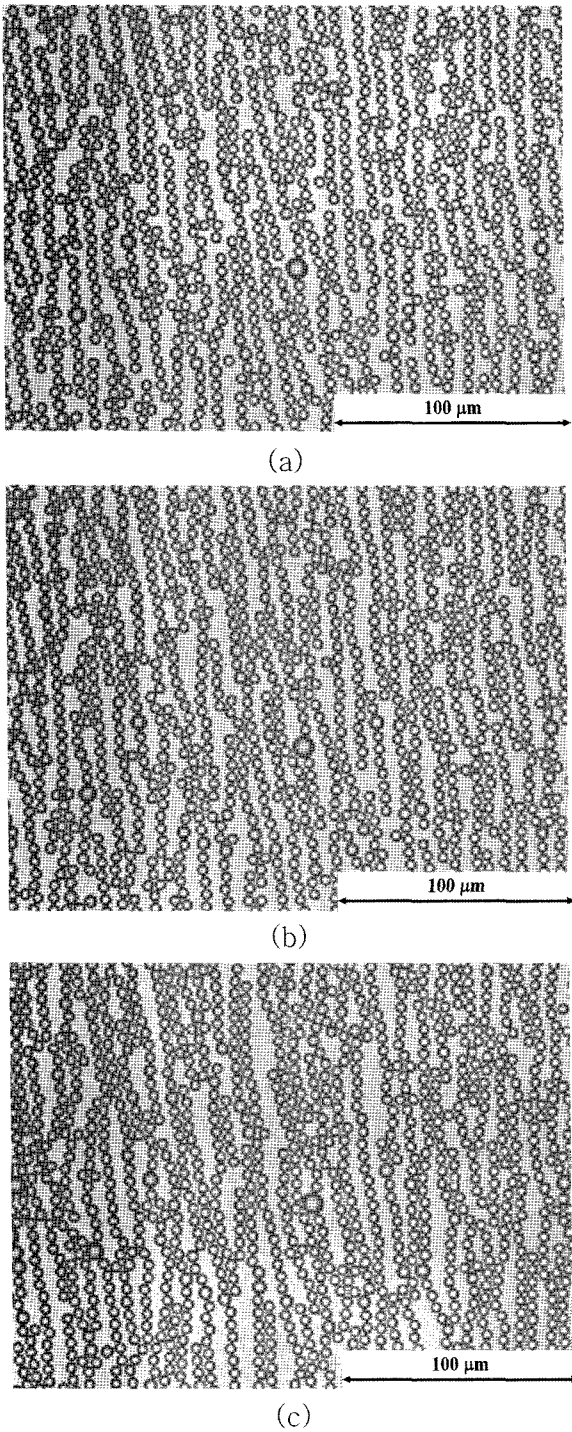


Fig. 5. Optical microscopy images that show the arrangement of the 5 μm sized polystyrene particles at 1 vol% concentration. The dielectrophoresis condition was 1 kHz and 50 V/cm, and the images were taken at (a) 30 s, (b) 1 min, and (c) 3 min after applying the AC field.

에 의하여 chamber 밖으로 배출될 것으로 예상할 수 있다.

Fig. 7은 Fig. 6(a)의 AC 유전이동 조건에서 초순수를 20분 동안 2분 간격으로 매회 2 μl 씩 나누어 10회 흘려

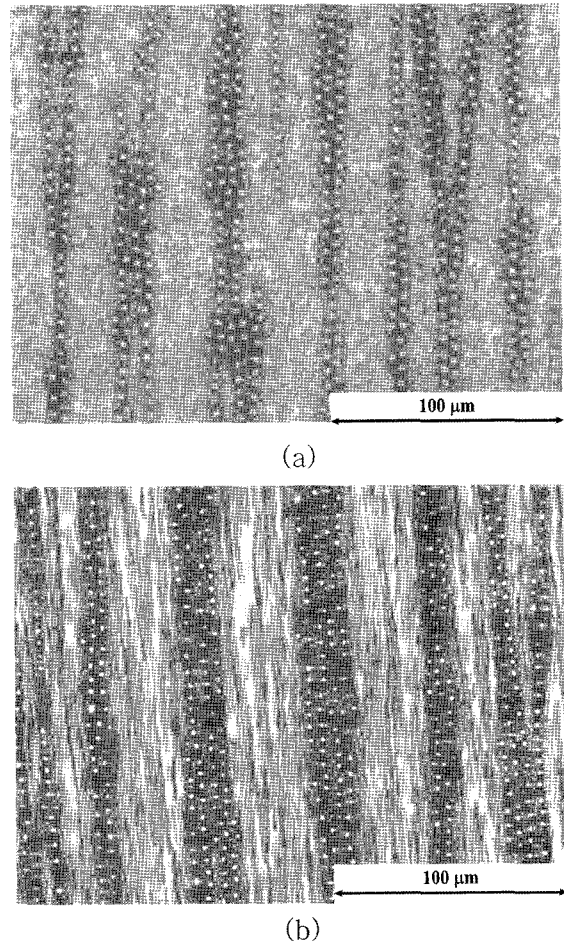


Fig. 6. Optical microscopy images that show the arrangement of the mixture of 1 μm and 5 μm sized polystyrene particles at 0.5 vol% concentrations for each size. The dielectrophoresis conditions were (a) 1 kHz and 100 V/cm, and (b) 1 kHz and 160 V/cm, and the images were taken at 3 min after applying the AC field.

보내준 결과를 보여주는 사진이다. 1 μm 크기의 작은 콜로이드 입자가 소수 남아 있는 것이 관찰되나 대부분의 작은 입자들은 제거되었음을 알 수 있다. 5 μm 크기의 큰 입자들이 형성한 사슬은 전기장을 걸어준 방향인 상하 방향에서 약간 어긋나 있는데, 이는 초순수가 chamber 내를 흘러갈 때 용액 내에 부유되어 있는 작은 입자들에만 영향을 미치는 것이 아니라 기판 표면에 형성되어 있던 큰 입자의 사슬에도 힘을 미치기 때문인 것으로 보인다.

본 실험의 결과로 AC 유전이동 현상에 의하여 크기가 서로 다른 입자들이 사슬을 형성하는 조건의 차이를 이용하면 콜로이드 입자를 크기에 따라 분리할 수 있음을 보여주었다. 그런데 큰 입자들이 사슬을 형성할 때 작은 입자가 사슬 사이에 함께 포함될 가능성이 있고, 용액을 제거하면서 사슬 구조가 파괴될 가능성도 있다. 따

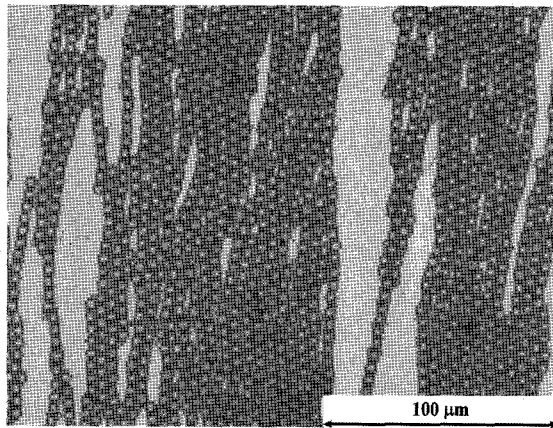


Fig. 7. Optical microscopy images that show the removal of the 1 μm sized polystyrene particles after water flowing for 20 min. The dielectrophoresis conditions were 1 kHz and 100 V/cm.

라서 보다 나은 분리를 위해서는 단속적인 용액의 제거가 아니라 연속적이고 정교하게 유체를 제어할 필요가 있다.

본 연구에서 사용한 유전이동에 의한 입자분리법의 특징은 다음과 같다. 우선 전극의 형태는 서로 마주보는 두 개의 전극으로서 형태가 매우 단순하다. DEP 친화법에서는 복잡한 형태의 전극이 사용되어야 하고,^{8,9)} 이송과 DEP법에서는 여러 개의 전극을 제조하여야 한다.^{11,12)} 따라서 Fig. 1과 같은 간단한 전극 구조는 장치의 소형화나 효율 측면에서 유리할 것으로 예상된다. DEP 이동법에서는 입자들이 두 쌍의 전극 표면에 이끌리게 되고 이들을 장치 밖으로 배출할 방법이 없다는 단점이 있으나,^{6,7)} 본 연구의 방법은 연속적인 유체의 흐름 속에서 분리가 이루어진다. 이와 같이 다른 유전이동 방법을 이용한 입자분리법과 비교할 때 본 연구에서 수행한 실험은 비교적 간단한 장치로 분리가 가능하다.

5. 결 론

AC 유전이동 현상을 이용하여 5 μm 및 1 μm 크기의 구형 단분산 폴리스타이렌 입자가 혼합되어 있는 콜로이드

용액에서 작은 입자를 분리 배출하여 큰 입자만 얻었다. 1 kHz의 AC 전기장을 가하여 작은 입자는 사슬을 형성하지 못하나 큰 입자는 사슬을 형성하는 전기장의 세기에 고정시킨 후 용매인 물을 순환시켜 배출시킴으로써 부유되어 있는 작은 입자들을 제거할 수 있었다. 대부분의 1 μm 크기의 입자들을 제거하였으나, 작은 입자가 큰 입자 사이에 결합되면 제거하기 어렵고 유체의 흐름이 사슬을 형성한 큰 입자에 힘을 미치므로 장시간 제거하면 큰 입자들의 사슬의 위치가 이동한다. 그럼에도 불구하고 AC 유전이동은 비교적 간단한 전극 구조 및 장치로 구동 된다는 점이 장점이어서, 앞으로 이를 보완할 연구가 기대된다.

참고문헌

1. E. Delamarche, D. Juncker and H. Schmid, *Adv. Mater.*, **17**(24), 2911 (2005).
2. E. Chmela and R. Tijssen, *Anal. Chem.*, **74**(14), 3470 (2002).
3. B. S. Broyles, S. C. Jacobson, and J. M. Ramsey, *Anal. Chem.*, **75**(11), 2761 (2003).
4. G. Chirica, J. Lachmann, and J. Chan, *Anal. Chem.*, **78**(15), 5362 (2006).
5. H. A. Pohl, *Dielectrophoresis*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK (1978).
6. P. R. C. Gascoyne, Y. Huang, R. Pethig, J. Vykoukal and F. F. Becker, *Meas. Sci. Technol.*, **3**, 439 (1992).
7. N. G. Green and H. Morgan, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **31**, L25 (1998).
8. P. R. C. Gascoyne, X. Wang, Y. Huang and F. F. Becker, *IEEE Trans. Ind. Appl.*, **33**, 670 (1997).
9. F. F. Becker, X. Wang, Y. Huang, R. Pethig, J. Vykoukal, P. R. C. Gascoyne, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**, 860 (1995).
10. X. Wang, J. Vykoukal, F. F. Becker and P. R. C. Gascoyne, *Biophys. J.*, **74**, 2689 (1998).
11. H. Morgan, N. G. Green, M. P. Hughes, W. Monaghan, T. C. Tan, *J. Micromech. Microeng.*, **7**, 65 (1997).
12. N. G. Green, M. P. Hughes, W. Monaghan, H. Morgan, *Microelectr. Eng.*, **35**, 421 (1997).
13. R. Pethig, Y. H. Huang, X. B. Wang and J. P. H. Burt, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **25**, 881 (1992).