

은 표면의 이중층 지질막에 의한 구리 이온 농도 측정용 마이크로플루이드 시스템

정범승 · 김도현[†]

한국과학기술원 생명화학공학과 초미세 화학공정시스템연구센터
305-701 대전시 유성구 구성동
(2009년 9월 22일 접수, 2009년 10월 28일 채택)

Microfluidic System for the Measurement of Cupric Ion Concentration using Bilayer Lipid Membrane on Silver Surface

Beum Seung Jeong and Do Hyun Kim[†]

Department of Chemical and Biomolecular Engineering and Center for Ultramicrochemical Process Systems,
Korea Advanced Institute of Science and Technology(KAIST), Daejeon 305-701, Korea
(Received 22 September 2009; accepted 28 October 2009)

요 약

구리 이온 농도를 측정하기 위하여 생체재료를 사용하여 마이크로플루이드 시스템을 제작하였다. 은 전극에 세포막을 모방한 이중층 지질막(bilayer lipid membrane; BLM)을 피복하여 제2 구리 이온 농도를 감지하도록 하였다. 은 전극에 지지된 BLM은 그 안정성이 증대되었다. 은에 지지된 이중층 지질막(s-BLM)은 은 전선을 지질(phosphatidylcholine; PC) 용액에 담갔다가 KCl 용액에 담글 때 자기조립 특성에 의하여 용이하게 형성할 수 있다. 이 지지된 이중층 지질막(s-BLM)은 Cu^{2+} 의 농도와 s-BLM을 통과하는 전류 간의 상관 관계를 결정하기 위하여 사용되었다. 얻어진 상관관계는 선형을 보였으며 높은 재현성을 가졌다. Cu^{2+} 농도가 10~130 μM 인 범위에서 Cu^{2+} 농도와 전류의 상관관계를 나타내기 위하여 보정 곡선을 구축하였다. 이 보정 곡선을 미지 시료의 Cu^{2+} 농도 측정에 사용하였다. 지지된 이중층 지질막이 구비된 마이크로플루이드 시스템은 PDMS(polydimethyl siloxane)를 사용하여 전형적인 연질 포토리소그라피와 몰딩 기법으로 제작하였다. 집적된 마이크로플루이드 시스템은 은 전선을 절단하지 않고도 은 표면을 활성화시키는 기능, 은 표면에 이중층 지질막을 피복하는 기능, KCl 완충 용액을 주입하는 기능, Cu^{2+} 를 포함한 시료를 주입하는 기능, 시료 중의 Cu^{2+} 농도를 측정하는 기능 등 다중 기능을 가지도록 하였다.

Abstract – A microfluidic system has been developed using biomaterial for the measurement of cupric ion concentration. The cell-membrane-mimicking bilayer lipid membrane(BLM)-coated silver electrode was used for the sensing of cupric ion concentration. The silver-supported BLM could increase its stability. A silver-supported bilayer lipid membrane(s-BLM) was easily obtained using its self-assembling characteristics by immersing silver wire into lipid(phosphatidylcholine; PC) solution and then dipping into aqueous KCl solution. These s-BLMs were used to determine the relationship between Cu^{2+} concentration and current crossing s-BLM. Their relationship showed high linearity and reproducibility. The calibration curve was constructed to express the relationship between Cu^{2+} concentration and current in the Cu^{2+} concentration range of 10 and 130 μM . This calibration curve was used to measure Cu^{2+} concentration in an unknown sample. Microfluidic system with s-BLM was made of PDMS(polydimethyl siloxane) using typical soft photolithography and molding technique. This integrated system has various functions such as activation of the silver surface without cutting silver wire, coating of BLM on silver surface, injection of KCl buffer solution, injection of Cu^{2+} sample and measurement of Cu^{2+} concentration in the sample.

Key words: Microfluidic System, Bilayer Lipid Membrane, Cupric Ion, Phosphatidylcholine

1. 서 론

최근 수 십 년 간 생화학공학, 임상분석, 환경분석, 농업분석, 공정 제어 감시 등의 분야에서 바이오센서가 개발되었고 사용되어 왔다.

대부분의 바이오센서는 효소나 항체 등 생물적으로 활성을 가지는 물질을 전기화학적 혹은 광학적 트랜스듀서 표면에 부착하여 사용한다. 가장 일반적인 방법은 화학적으로 선택성이 있는 효소를 사용하여 분석 대상 물질을 확인하는 것이다. 효소-기질 반응은 촉매 작용에 의하여 2차적인 화학 신호를 만들어 낸다. 이 신호는 감지되고 적당한 트랜스듀서에 의하여 전위차나 전류 등과 같은 정량적인 전기 신호로 변환된다.

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: DoHyun.Kim@kaist.ac.kr

[‡]이 논문은 KAIST 장호남 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.

세포 수준의 신호 전달과 관련되는 분자 인식과 신호 변환 시스템을 바이오 센서의 제작에 도입할 수 있다. 고유한 생물학적 분자 인식은 분자와 수용체 사이트의 결합을 통하여 상보적 구조 간에 비공유결합의 가역적 상호 반응에 의하여 실현된다. 이러한 분자 인식에는 자연적으로 수용체의 구조적 변화가 수반된다. 이는 이온 채널의 즉각적인 개방과 세포막 전위의 편극 소거를 유발하거나 2차적 전달자의 형성을 촉진시키는 효소 시스템을 활성화한다. 2차적 전달자 시스템은 효소 신호 변조의 캐스케이드를 개시하여 최초 신호가 증폭되고 분배되는 효과를 가져온다. 실제 바이오센서에서는 생물학적 분자 인식 시스템은 사용되지만 자연적인 신호변환 원리는 사용되지 않고 있다.

능동적, 적응형, 지능형, 매직 혹은 스마트 재료로 불리는 생체 물질은 최근 그 연구가 활발하며 그 중에 이중층 지질막(bilayer lipid membrane; BLM)과 구형의 리포솜이 포함된다. 이중층 지질막(BLM) 중 특히 고체 지지체에 자기조립된 이중층 지질막(s-BLM)은 지질 이중층에 기반을 둔 바이오센서로 사용되어 왔다. 나노 스케일과 초분자 구조를 가지는 s-BLM은 기초적인 탐구와 실용적인 장치 개발에 적합한 스마트 재료라고 할 수 있다. 평면 형태의 BLM은 생체막의 실제적인 모델에 해당한다. 이 BLM은 이온 선택성, 생체 막에서의 전달 현상, 에너지 변환, 전기적 피자극성, 산화환원 반응 등을 분자 수준에서 규명하는 데 사용되었다.

안정성과 기타 특성의 개선에 의하여, 농약, 중금속, 포도당, 감미료 등을 감지하는 s-BLM의 능력에 대한 연구가 최근 활발하게 진행되었다. 이 연구에서는 BLM의 구리에 대한 선택성을 조사하였다. 구리는 효소 대사 반응을 위하여 인체에 필수적인 금속이지만 과량으로 존재할 때는 독성을 나타낸다. 이온 교환 공정[1] 중공사 공정[2]과 같은 수처리 공정에서 구리 양의 측정은 필수적이다. 지난 20년간 다수의 구리 이온 감지 방법이 개발되었다. 그 중에는 미생물을 사용한 전류측정 센서[3], 박막 센서[4,5], 구리 전극을 사용한 전위차 측정 전도성 고분자 센서[6,7], 구리에 대한 선택성 지시약이 고정화된 광학 센서[8] 등이 있다. 그러나 이러한 방법들은 시료 전처리의 필요성, 긴 분석 시간, 장비의 높은 가격 등 단점을 가지고 있다.

이 연구에서는 은에 지지된 이중층 지질막(s-BLM)으로 제2구리 농도를 측정하도록 하는 마이크로플루이딕 시스템을 제작하였다. BLM에 기초한 바이오센서의 원리는 매우 간단하다. 이는 어떤 성분에 특유한 구조를 초래하는 수용체-리간드 상호작용[9,10]에 의거한다. 이 BLM의 구조 변화는 BLM 주변의 정전기장에 변화를 주거나 막에 바늘 구멍을 생성하게 된다[11]. 구조 변화에 따른 전도성이나 전기저항과 같은 전기적인 성질 혹은 전류의 변화는 쉽게 측정할 수 있다. 벌크 시스템에서 이중층 지질막을 사용하여 제2구리 농도를 측정하는 사례는 보고된 바 있다[12,13]. 그러나, 벌크 시스템은 다량의 시료를 필요로 하고 전극 부근에서 구리 이온의 국부화를 막기 위하여 강력한 교반이 필요하다. 벌크 시스템에서의 이러한 문제는 구리 이온 측정에 마이크로플루이딕 시스템을 적용함으로써 해결할 수 있다.

2. 실험

2-1. 재료와 장치

특별한 언급이 없으면 모든 재료는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO)에서 구입하였다. 연구에 사용된 지질은 egg phosphatidylcholine 화학공학 제48권 제1호 2010년 2월

이다. 이 지질은 부가적인 정제 없이 사용하였다. BLM을 피복한 전극으로 쓰기 위하여 사용된 Teflon이 코팅된 은 전선의 직경은 1 mm 이었다.

사용된 탈이온수는 Milli-Q cartridge filtering system(Milli-Q, Millipore, El Paso, TX)로 정수하였고 최소 전기 저항은 18 MΩ 이었다. 마이크로플루이딕 시스템의 구조를 만들기 위하여 사용된 PDMS(polydimethylsiloxane)는 Dow Corning Co.에서 구입하였다. 모든 시약은 analytical-grade의 것을 사용하였다.

이 연구에서는 2전극 시스템을 사용하였다. Ag/AgCl 전극은 기준 전극으로 사용되었고, 감지 전극은 BLM으로 코팅되었다. 이온 전류는 두 전극 사이에 dc 전위차 25 mV를 가한 상태에서 디지털 전류계로 측정하였다. 기준 전극은 전류계에 연결되어 있고, 감지 전극은 전원 공급 장치에 연결되어 있다. 감지 전극에 가하여지는 전위는 접지에 대하여 음의 값을 가진다.

2-2. 방법

Phosphatidylcholine의 분자 구조는 Fig. 1에 나타냈다. Phosphatidylcholine이 금속 표면과 접촉하면 친수성 머리(phosphate and alcohol part)는 금속 면을 향하고 소수성 꼬리는 서로 마주 보며 이중층 막을 형성하게 된다. 이 과정에서 오염된 금속 면은 균일한 BLM의 형성을 방해하기 때문에 청결한 금속 면을 준비하는 것이 매우 중요하다.

Phosphatidylcholine BLM의 특정 물질에 대한 선택성은 어떤 종류의 첨가제를 첨가할 때 나타나는 분석 대상 물질에 대한 상대적인 반응도의 차이에 의한다. Phosphatidylcholine 분자가 특별한 첨가제나 화학적인 처리가 없이도 atrazine, cyclamate, propazane, saccharin, simazine, aflatoxin, acesulfame-K 등에 선택성을 가지는 것은 주목할 만 하다. 한편 phosphatidylcholine의 Fe³⁺와 Cu²⁺에 대한 특이성은 보고된 바 있다[14].

지질 용액은 1 ml normal hexane(CH₃(CH₂)₄CH₃)에 2.5 mg PC를 넣어 준비하였다. 용제로서의 n-hexane은 BLM에 적절한 용동성을 부여한다. N-decane(CH₃(CH₂)₈CH₃)과 같은 긴 사슬 용제는 긴 막의 두께로 인하여 불안정한 전류 신호를 초래하거나 과도한 BLM의 용동성의 원인이 되므로 본 연구의 목적에는 적합하지 않다. 만들어진 투명한 지질 용액은 -4°C에서 질소 분위기 아래 저장된다. 미리 만들어진 지질 용액이 -4°C에서 12 시간 동안 안정하다고 보고는 되

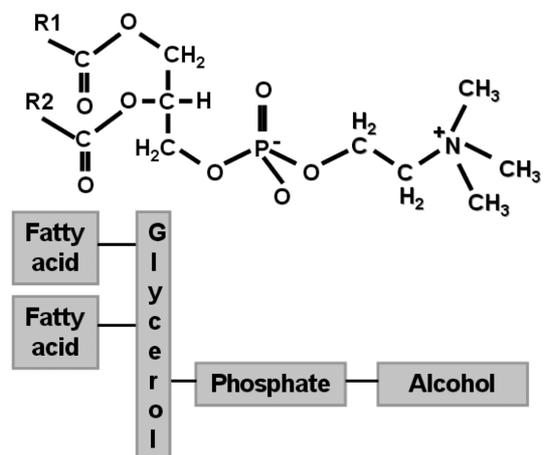


Fig. 1. Structure of phosphatidylcholine molecule.

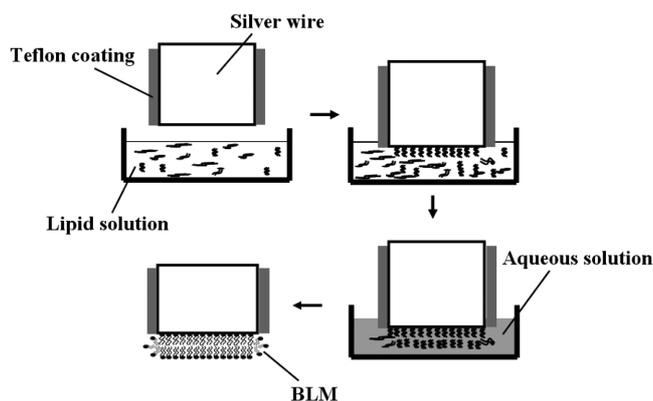


Fig. 2. A schematic process for the formation of metal supported-BLM.

어 있지만 필요할 때 즉석에서 만드는 것이 phosphatidylcholine 분자의 산화를 막을 수 있기 때문에 더 낫다고 할 수 있다.

s-BLM은 이전에 발표된 방법으로 제조하였다[14-16]. 이 방법에 따라 Fig. 2에 도식적으로 보인 바와 같이 Teflon이 코팅된 활성이 있는 금속 기판을 지질 용액에 7~10 분간 담갔다 꺼내어 0.1 M KCl의 수용액에 담근다. BLM의 자기 조립 특성에 의하여 BLM은 자발적으로 형성된다.

본 연구에서는 BLM 코팅을 위한 활성 은 표면을 얻기 위하여 새로운 방법을 시도하였다. 은 전선으로 미리 만든 활성 은 표면을 전기로 침착시키거나 0.1 M FeCl₃ 용액에 담가 우선 AgCl로 코팅한다. 표면에 AgCl이 코팅된 은 전극은 마이크로플루이딕 시스템 안에 설치하였다가 필요할 때 1 M Na₂S₂O₃ 용액과 접촉시켜 AgCl을 제거하고 활성 표면을 회복한다. 이 AgCl 막은 오염물로부터 활성 은 표면을 보호한다. 일반적으로 AgCl은 물에 녹지 않으나 AgCl이 Na₂S₂O₃와 반응하여 얻어진[Ag(S₂O₃)₂]⁻ 착이온은 물에 녹는다. 이 방법을 사용하여 마이크로플루이딕 시스템에서 은 표면의 AgCl을 쉽게 제거할 수 있고 활성 은 표면을 얻을 수 있다.

마이크로플루이딕 시스템은 Fig. 3에서와 같이 polydimethylsiloxane(PDMS)으로 연결 포토리소그래피[17,18]에 의하여 제작하였다. 첫 단계로 스펀코터를 사용하여 포토레지스트(PR)를 실리콘

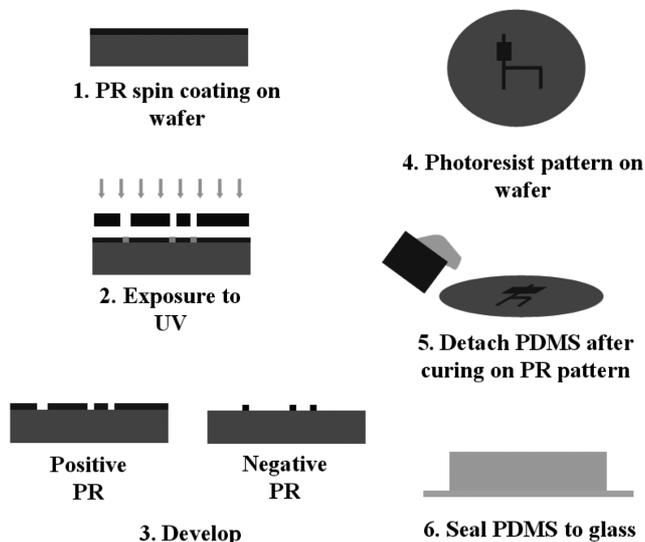


Fig. 3. A schematic procedure for the soft lithography.

Table 1. Photolithographic method using AZ9260 positive photoresist

Step	Process	Condition
1	HMDS (Hexamethyldisilazane) treatment	Wafer coating with HMDS
2	Spin coating	2,400 rpm, 60 sec.
3	Soft-baking	165 sec. at 110°C
4	Exposure	Exposure to UV(8 mJ/cm ² .s) for 100 sec.
5	Developing	Developing with AZ9260 developer
6	Washing	Washing with deionized water

웨이퍼에 피복시킨다. 베이킹을 한 후 패턴이 있는 포토마스크를 사용하여 PR을 자외선에 선택적으로 노출시킨다. 그 후 현상에 의하여 PR이 원하는 패턴을 가지도록 한다. 패턴이 된 PR 위에 경화제가 포함된 PDMS를 붓는다. PDMS를 80 °C에서 2시간 동안 경화시킨 후에 경화된 PDMS 구조체는 실리콘 웨이퍼로부터 분리하고 PDMS 표면을 플라즈마 산화시킨 후에 유리 기판에 부착시킨다. 연결 포토리소그래피의 자세한 조건은 Table 1에 실었다. 여기서는 포토레지스트로 포지티브 PR(AZ9260, Clariant Co. USA.)을 사용하였다.

제작한 마이크로플루이딕 시스템에는 Ag/AgCl 기준 전극, BLM이 피복된 감지 전극 등 전극과 Na₂S₂O₃ 용액, 메탄올, 지질 용액, 공기, KCl 용액, 구리 이온 용액 등의 용액을 주입할 수 있는 주입구가 구비되어 있다. 용액들은 마이크로시린지 펌프(Model 100, KD Scientific inc. USA)에 의하여 마이크로플루이딕 시스템에 주입된다. 구리 이온 농도를 측정하기 위하여 제작한 마이크로플루이딕 시스템의 도식적인 모습과 실제 제작된 모양을 Fig. 4에 보였다. 전극과 주입구는 용이하게 조작하기 위하여 각각 시스템의 상부와 측면에 설치하였다. 각 주입구는 개별적으로 마이크로시린지 펌프에 연결되어 있다. 마이크로플루이딕 시스템의 크기는 50 mm×23 mm×11 mm이다. 마이크로플루이딕 채널의 폭과 깊이는 각각 300 μm와

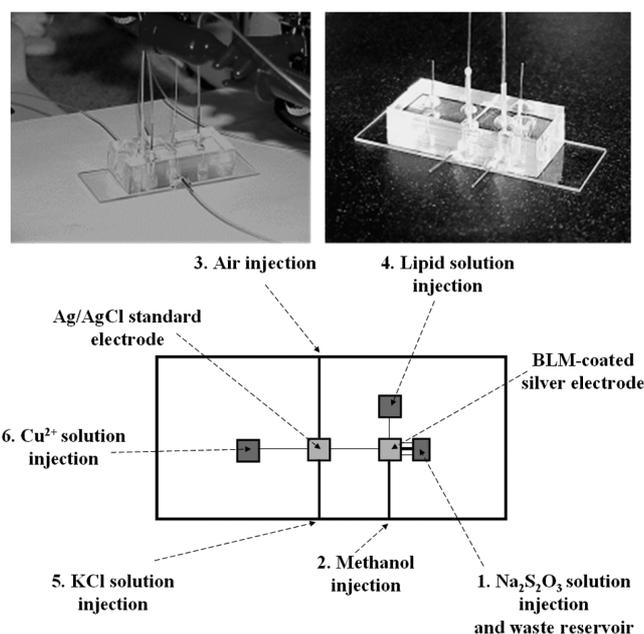


Fig. 4. Picture and schematic diagram of microfluidic system for the measurement of cupric ion concentration.

Table 2. Operation procedure of microfluidic system

Solution injection procedure	(1) 1M Na ₂ S ₂ O ₃ Solution	(2) Methanol	(3) Air	(4) Lipid solution	(5) 0.1 M KCl solution	(6) Cu ²⁺ solution
Function of solution	Elimination of AgCl film on silver wire surface	Cleaning of Na ₂ S ₂ O ₃ solution	Drying of silver wire surface	BLM formation on silver wire surface	Buffer solution	Sample
Injection rate (μl/min)	20	150	6	0.5	2	2

50 μm이며 마이크로플루이드 시스템의 각 챔버의 크기는 4 mm×4 mm×2 mm이다. 조작하는 순서는 Table 2에 실었다. 첫 번째로 1 M Na₂S₂O₃ 용액을 60초 동안 흘려 주어 AgCl 막을 제거함으로써 은 전선을 절단하지 않고 활성 은 표면을 준비한다. 그리고 메탄올로 남아 있는 Na₂S₂O₃ 용액을 세척한다. 이 후 공기를 주입하여 반응 챔버를 건조시킨다. 그 다음 단계로 25 °C에서 BLM을 형성하기 위하여 지질 용액을 주입한다. 이 단계에서 지질 분자들을 은 표면에 충분히 물리적으로 부착시키기 위하여 3~5분이 걸린다. 그리고 나서 0.1 M KCl 용액을 주입하여 BLM을 형성하고 안정시킨다. 이때 BLM의 저항을 측정해 보면 BLM이 시간에 따라 두께가 줄어드는 것을 관찰할 수 있다. BLM이 안정화되면 마지막 단계로 미지 시료의 구리 이온 농도를 연속적으로 측정할 수 있는데 이때 미리 준비한 보정 곡선을 사용한다.

3. 결과와 고찰

3-1. Na₂S₂O₃ 용액을 사용한 활성 은 표면의 준비

오염된 은 표면은 안정되고 균일한 BLM의 형성을 방해하고 BLM이 형성되는 시간을 늦추기 때문에 은 표면의 활성을 유지하는 것은 매우 중요하다. 활성 은 표면이 지질 용액에 노출되면 phosphatidylcholine(PC) 분자의 친수성 머리는 활성 은 표면의 매우 높은 친수성에 기인하여 은 표면으로 향하게 된다. PC 분자의 소수성 꼬리들 사이에는 서로 끄는 힘이 작용한다. 이 BLM 구조는 형성될 때마다 조금씩 달라지게 되는데 이는 지질 분자들의 균일도, 용액의 물리적인 조건, 금속 표면의 결합 등이 동일하지 않기 때문이다.

이러한 문제를 해결하기 위하여 금속 기판과 지질 사이의 화학적 결합을 통하여 높은 재현성을 가지도록 하는 방법이 제안된 바 있다. 그러나, 이 방법은 BLM이 분석 대상 물질과 결합하는 것에 반응하여 그 구조를 변화시키는 것을 저해한다. 결과적으로, 특정한 분석 대상 물질에 대한 감도가 심하게 감소할 수 있다. 그러므로 이 방법은 신중하게 사용하여야 한다.

AgCl로 덮은 은 표면(위 그림)과 60초 동안 1M Na₂S₂O₃ 용액으로 처리한 은 표면(아래 그림)에 대한 XRD 분석 결과를 Fig. 5에 보였다. 은 표면에 덮인 AgCl 박막(두께: 7 μm)은 Na₂S₂O₃ 용액에 의하여 완전히 제거되었음을 알 수 있다. 이 방법에 의하여 활성 은 표면은 은 전선을 절단하지 않고서도 얻을 수 있었다. 여기서 은 전선은 직경이 1 mm인 것을 사용하였다. 은 전선의 직경은 실험으로 측정하는 전류의 잡음과 BLM의 안정성에 영향을 미치기 때문에 중요한 변수이다. 실제로 직경이 0.127 mm와 0.5 mm인 은 전선을 사용하였을 때 전류 잡음은 20 nA 내지 30 nA 정도이었으며 BLM이 안정화되는 데에 걸린 시간은 직경이 1 mm인 경우에 비하여 20~30분이 더 소요되었다.

3-2. BLM의 형성과 제2구리 이온 농도 측정

금속 이온과 같은 화학물질이 전극에서 환원될 때 전극의 전자 화학공학 제48권 제1호 2010년 2월

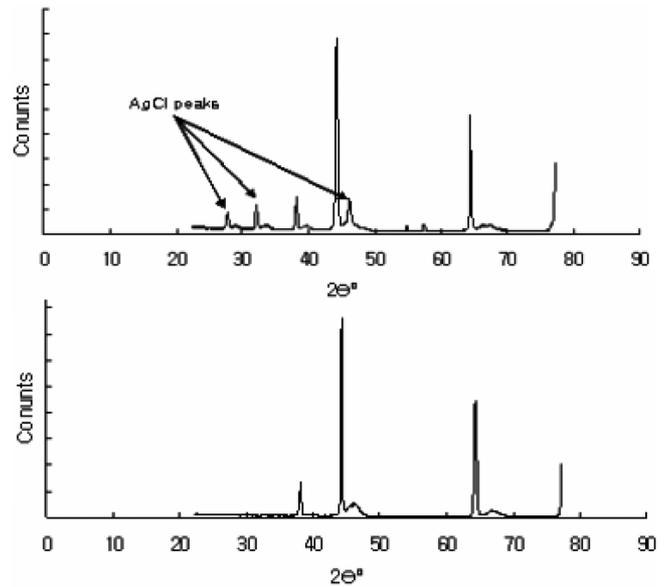


Fig. 5. XRD patterns for the silver surface coated with AgCl(upper) and silver surface treated with 1 M Na₂S₂O₃ solution for 60 sec (lower) in a microfluidic system.

에너지 준위가 용액의 것보다 낮으면 전극의 전자 에너지 준위는 용액의 것과 같아지도록 증가한다. 전극의 에너지 준위가 용액의 것과 같아질 때까지 전자가 산화-환원 반응에 참여하지 않고 전극의 표면에 축적된다. 동시에 양이온은 전기 중성을 만족시키기 위하여 용액 쪽에 축적된다. 전극과 용액 사이의 계면에 존재하는 이 전기 이중층은 커패시터를 형성한다. 즉, 산화-환원 반응에서 첫 번째 단계는 전기 이중층에 충전하는 단계이고, 충전에 의하여 전극의 전자 에너지가 용액의 것을 초과하면 이때 비로서 산화환원 반응이 일어난다. 그러므로 이 시스템은 커패시터와 저항이 평행하게 위치한 등가 회로로 나타낼 수 있다.

이 현상은 BLM으로 덮인 음극에서도 볼 수 있다. BLM으로 덮인 은 표면은 서로 마주 보고 있는 구조의 저항과 커패시터라고 볼 수 있다. 그러나 BLM으로 덮이지 않은 전극에 비하여 등가 저항은 매우 크다. 마이크로플루이드 시스템에서 BLM의 얇아지는 거동은 Fig. 6에서와 같다. 초기 2~4분 동안 BLM은 두 개의 평평한 막 사이에 전하를 수집한다. 이후 BLM이 얇아짐에 따라 전기 저항은 감소하여 특정한 값에 접근하게 된다. 대략 3~5분 후에 마이크로플루이드 시스템 내에서 안정한 BLM이 형성된다.

Fig. 7에서 보면 BLM은 pH 값이 4~8.5 범위에서 안정하며 이는 이전의 보고[19]와 부합한다. 또한 pH 값이 8.5까지 이온 전류의 변화는 매우 작아 10 nA보다 작다. 따라서 구리 이온의 농도를 측정할 때 있을 수 있는 작은 pH 변화에 의한 오차는 안전하게 무시할 수 있으며 실험은 pH 값이 4~8.5 범위에서 안정되게 수행하였다.

은 표면에 지지된 BLM에 흐르는 전류가 가한 전위차에 의존하는 관계도 조사하였다. Fig. 8에서 보면 이온 전류는 전위차가 50 mV

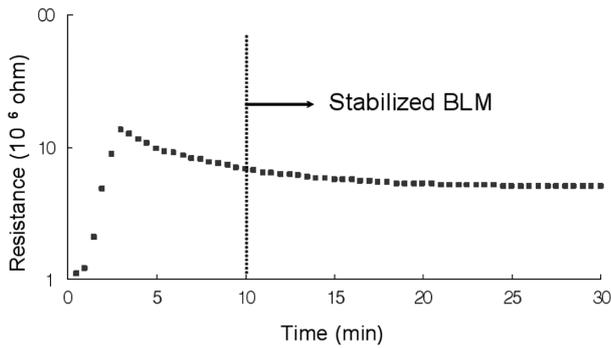


Fig. 6. Change of the resistance when BLM forms initially in a microfluidic system (electrolyte : 0.1 M KCl, temperature: 25 °C, pH: 5.8, applied potential: 25 mV).

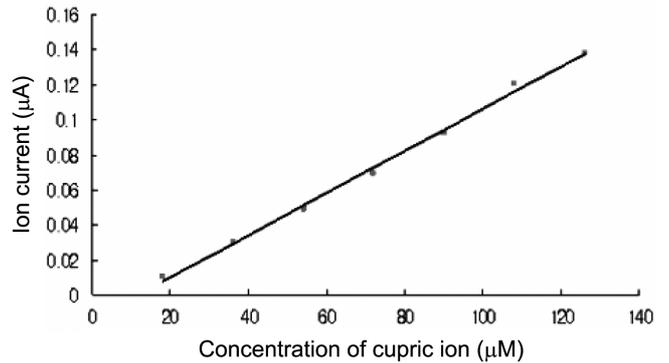


Fig. 9. Ionic current depending on cupric ion concentration in a microfluidic system using silver-supported BLM (electrolyte: 0.1 M KCl, temperature: 25 °C, pH: 6.0, applied potential: 25 mV, cupric ion source: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$). Each point corresponds to the sample which has different cupric ion concentration.

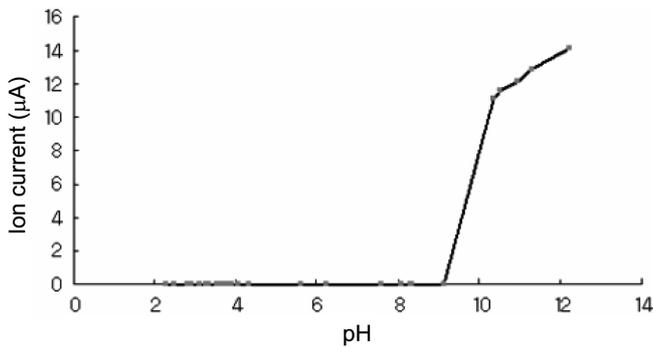


Fig. 7. Dependence of the silver-supported BLM stability according to pH change (electrolyte: 0.1 M KCl, temperature: 25 °C, applied potential: 25 mV).

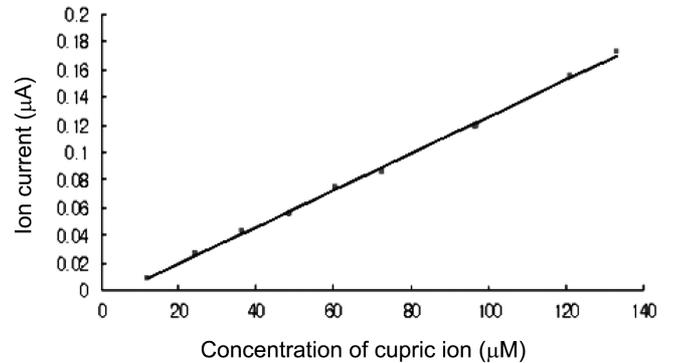


Fig. 10. Interference effect of the other positive ions. Each points corresponds to the sample which has different cupric ion concentration and has basically the same concentration of other positive ions (Co^{2+} :0.58 mM, Ni^{2+} :7.45 mM, Mn^{2+} :6.42 mM, Cd^{2+} :9.84 mM, Na^+ :39.18 mM) except the cupric ion (electrolyte: 0.1 M KCl, temperature: 25 °C, pH: 6.0, applied potential: 25 mV, cupric ion source: $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$).

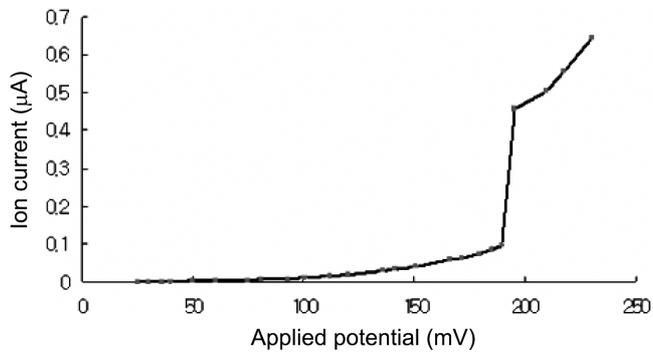


Fig. 8. Dependence of the silver-supported BLM stability according to applied potential (electrolyte: 0.1 M KCl, temperature: 25 °C, pH: 6.28).

서 안정한 전류 신호를 얻을 수 있었다. Fig. 9와 10을 비교해 볼 때 구리 이온 농도 측정에 있어서 다른 종류의 금속 양이온에 의한 간섭 효과가 미미하며 이온 전류가 주로 구리 이온 농도에 의존하는 것을 알 수 있다. 이러한 결과는 이 연구의 결과로 얻어진 이온 전류와 구리 이온 농도 사이의 선형 식 [Fig. 9: $I(\mu\text{A})=0.0012C(\mu\text{M})-0.0143$, $r^2=0.99$, Fig. 10: $I(\mu\text{A})=0.0013C(\mu\text{M})-0.0072$, $r^2=0.99$]이 구리 이온이 10 μM -130 μM 인 농도 범위 내에 존재하는 미지의 시료의 구리 이온 농도를 측정하는 데에 유용하게 사용될 수 있음을 보여 준다.

까지는 20 nA 미만의 매우 작은 변화를 보였으며 50에서 100 mV까지는 옴의 법칙을 따랐다. 이 BLM은 파괴 전압이 190 mV이었다. 일반적으로 BLM의 파괴 전압은 정해지지 않았고 어떤 값 부근 ± 50 mV 범위에 존재한다고 알려져 있다. Fig. 8의 결과와 이온 전류의 적절한 값을 고려하여 이 연구에서는 전위차 25에서 50 mV 사이의 값을 사용하였다.

Fig. 9에서는 구리 이온 농도에 따라 이온 전류가 선형적으로 변하는 것을 알 수 있으며, Fig. 10에서는 이온 전류와 구리 이온 농도 사이의 관계에 있어서 다른 종류 이온의 간섭 효과가 무시할 만함을 확인할 수 있다. 시료 용액을 마이크로플루이딕 시스템에 주입하고 나서 10초가 지나면 전류 잡음 수위가 7 nA 이내의 범위에

일단 마이크로플루이딕 시스템을 사용하여 보정 곡선을 만든 후에는 미지의 용액 속의 구리 이온 농도는 그 용액을 마이크로플루이딕 시스템에 흘려 줌으로 쉽게 측정할 수 있다. 이 장치에서 1 μl 의 시료 양이면 측정에 충분하고 분석 시간은 단지 10초 정도가 필요하다. 고체 표면에 지지된 BLM이 48시간 동안 안정하다고 알려져 있지만 [19] 실제 측정에 있어서는 미지 시료의 구리 이온 농도를 측정할 때마다 새로운 BLM을 준비하는 것이 바람직하다. 이렇게 매 측정마다 새로이 BLM을 준비하는 것은 BLM의 변질에 따른 심각한 오차를 막을 수 있게 해 준다. 지지되지 않고 매달려 있는 BLM과 비교할 때 고체 표면에 지지된 BLM은 단지 활성 금속

표면을 지질 용액과 수 분 동안 접촉시킴으로 보다 쉽게 제조할 수 있다. 더욱이 지질 용액의 가격이 높지 않기 때문에 새로운 BLM은 쉽게 준비할 수 있다.

4. 결 론

제2 구리 이온 농도를 측정하기 위하여 지지된 BLM을 사용한 마이크로플루이딕 시스템을 제작하였다. 이 시스템을 사용하여 미지의 시료의 구리 이온 농도는 10~130 μM 범위에서 신뢰성 있게 측정할 수 있었다. 이 연구에서 제작한 시스템은 구리 이온 농도 측정에 있어서 높은 감도, 재현성, 빠른 응답 속도를 보였고, 다른 종류의 금속 이온에 대하여 무시할만한 간섭 효과를 보였다. 이 마이크로플루이딕 시스템은 여러 가지 기능을 가지도록 용액 처리와 지지된 BLM 형성에 대한 부분을 한 기관 위에 집적화시켰고, 활성은 표면을 준비하기 위하여 종래의 방법을 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액으로 처리하는 방법으로 대체하였다. 이 마이크로플루이딕 시스템을 더욱 실용화시키기 위해서는 트랜스듀서, 전원공급 장치, 디스플레이, 여러 종류의 화학물질을 감지하기 위한 복수의 감지 전극 등도 함께 집적화시킬 필요가 있다.

감 사

이 논문은 한국과학기술원 장호남 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다. 장호남 교수님의 화학공학에 대한 지도와 조언에 감사드립니다. 또한 학술진흥재단의 후원을 받은 BK21 사업의 연구비 지원과 한국과학재단 지정 초미세화학공정시스템연구센터의 연구비 지원에 감사를 드립니다.

참고문헌

- Rengaraj, S., Kim, Y., Joo, C. K. and Choi, K. and Yi, J., "Batch Adsorptive Removal of Copper Ions in Aqueous Solutions by Ion Exchange Resins: 1200H and IRN97H," *Korean J. Chem. Eng.*, **21**, 187(2004).
- Prakorn, R., Kwanta, N. and Ura, P., "One-through Selective Separation of Copper, Chromium and Zinc Ions by Hollow Fiber Supported Liquid Membrane," *Korean J. Chem. Eng.*, **21**, 1212 (2004).
- Somasundrum, M. and Bannister, J. V., "Amperometric Determination of Copper Using Screen-printed Electrodes," *Sens. Actuators B-Chem.*, **15**, 203(1993).
- Bychkov, E., Bruns, M., Klewe-Nebenius, H., Pfenning, G., Raptis, K., Hoffmann, W. and Ache, H. J., "Copper(II)-ion response of Cu-As-Se Thin-film Sensors in a Flow-through Microcell," *Sens. Actuators B-Chem.*, **27**, 384(1995).
- Ali, M. B., Lemiti, M., Jaffrezic-Renault, N., Martelet, C., Chovelon, M. and Ben Ouada, H., "Thin Film Microfabrication of Gold Microelectrodes Functionalized with Thiocalix Arene Layer: Applications to Copper Ion Sensor," *Thin Solid Films*, **383**, 292 (2001).
- Pandey, P. C., "Copper (II) Ion Sensor Based on Electropolymerized Undoped-polyindole Modified Electrode," *Sens. Actuators B-Chem.*, **54**, 210(1999).
- Prakash, R., Srivastava, R. C. and Pandey, P. C., "Copper(II) Ion Sensor Based on Electropolymerized Undoped Conducting Polymers," *J. Solid State Electrochem. Curr. Res. Dev. Sci. Technol.*, **6**, 203(2002).
- Barna, K. and Nagy, G., "Opto-electrochemical Planar Waveguide Sensor for Copper (II) ion," *J. Biochem. Biophys. Methods.*, **53**, 177(2002).
- Dimitrios, P. N. and Krull, U. J., "Direct Electrochemical Sensing of Insecticides by Bilayer Lipid Membranes," *Anal. Chim. Acta*, **288**, 187(1994).
- Siontorou, C. G., Dimitrios, N. P., Krull, U. J. and Chiang, K. L., "Triazine Herbicide Minisensor Based on Surface-stabilized Bilayer Lipid Membranes," *Anal. Chem.*, **69**, 3109(1997).
- Krull, U. J., Seethaler, S. L., Brennan, J. D. and Nikolelis, D. P., "Bilayer Lipid Membranes as Electrochemical Switches in Reactions Involving Alteration of Surface Charge," *Thin Solid Films*, **244**, 917(1994).
- Doe, H., "Selective Ion Transfer of Alkali and Alkaline Earth Metal Ions Facilitated by Naphtho-15-Crown-5 Across Liquid-Liquid Interfaces and a Bilayer Lipid Membrane," *Surf. Sci.*, **95**, 629(2001).
- Becucci, L., Moncelli, M. R. and Guidelli, R., "Ion Carriers and Channels in Metal-Supported Lipid Bilayers as Probes of Transmembrane and Dipole Potentials," *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, **19**, 3386(2003).
- Tien, H. T. and Ottova, A. L., "From Self-assembled Bilayer Lipid Membranes (BLMs) to Supported BLMs on Metal and Gel Substrates to Practical Applications," *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, **149**, 217(1999).
- Siontorou, C. G., Nikolelis, D. P., Miernik, A. and Krull, U. J., "Rapid Methods for Detection of Aflatoxin M1 Based on Electrochemical Transduction by Self-assembled Metal-supported Bilayer Lipid Membranes (s-BLMs) and on Interferences with Transduction of DNA Hybridization," *Electrochim Acta*, **43**, 3611 (1998).
- Katrivanos, P. L., Purnell, A. J., Aleksandridis, A. A., Siontorou, C. G. and White, C., "An Integrated System Connected to Biosensing Systems Based on Self-assembled Metal-supported Bilayer Lipid Membranes," *Laboratory Robotics and Automation*, **10**, 239(1998).
- Whitesides, X. Y. and George M., "Soft Lithography," *Annu. Rev. Mater. Sci.*, **28**, 153(1998).
- Malaquin, L., Carcenac, F., Vieu, C. and Mauzac, M., "Using Polydimethylsiloxane as a Thermocurable Resist for a Soft Imprint Lithography Process," *Microelectron. Eng.*, **61**, 379(2002).
- Ottova, A. L. and Tien, H. T., "Self-assembled Bilayer Lipid Membranes: from Mimicking Biomembranes to Practical Applications," *Bioelectrochem. Bioenergetics*, **42**, 141(1997).