

종이 기반 미세유체 채널의 설계 및 제작기술*

Design and fabrication of paper microfluidic channel

이정현** · 황유선*** · 정효일****†

Jung-Hyun Lee** · Yoo-Sun Hwang*** · Hyo-Il Jung****†

연세대학교 나노메디컬 국가핵심연구센터**

Nano Medical National Core Research Center, Yonsei University**

한국언론진흥재단 연구센터***

Research Center, Korean Press Foundation***

연세대학교 기계공학과****

School of Mechanical Engineering, Yonsei University****

Abstract

Emotion is composed of various feelings such as pleasure, sorrow, comfortability, and so on. The complicated process of the measurement has long been recognized as a major hindrance for the studies of emotion. Previously, individuals' emotion has mainly been measured by means of self-report, interview, EEG (electroencephalogram), ECG (electrocardiogram), EOG (electroculography), and body temperature. With thanks to nano/micro technologies, the possibility in the development of emotion-on-a-chip (EOC) has begun to be proposed. EOC will make it possible to analyze one's psychological status by taking a drop of blood. Discovery of emotional biomarkers in body fluids, understanding of the correlation between those biomarkers and the results from brain science are prerequisites to validate the EOC technology. In this paper, paper microfluidics are introduced as a good candidate for the EOC. As paper microfluidics is cost-effective and easy to use it is expected to be a useful device for the emotion measurement. We present the design and fabrication process for the simple paper-based microfluidic device and discuss the possible application in the field of measuring the human emotion.

Keywords : Paper microfluidics, Emotion marker, Measurement, Body Fluid

요약

감성은 외부의 물리/화학적 자극에 대한 인간 내부의 고차원적인 심리적 체험으로 기쁨, 슬픔, 쾌적, 불쾌 등에 대한 복합적인 감정이라 할 수 있다. 감성연구의 가장 큰 어려움은 측정의 문제이다. 기존 감성측정은 자기보고, 인터뷰, 뇌파 및 자율 신경계 반응, 심장혈관 활동도 등에 국한되어 있다. 최근 나노마이크로 기술의 발달과 함께 미래에는 체액 내 감성 바이오마커를 찾아내고 그것의 유무와 뇌 과학 연구결과와의 상관관계를 규명하고 피 한 방울로 인간의 심리상태를 정확히 파악할 수 있는 초소형 감성진단칩(emotion-on-a-chip)

* 본 논문은 연세대학교 미래유망분야 지원사업의 융합감성과학 연구단(2011-1-0058)의 연구비 지원으로 작성되었음.

† 교신저자 : 정효일 (연세대학교 공과대학 기계공학부)

E-mail : uridle7@yonsei.ac.kr

TEL : 02-2123-5814

FAX : 02-312-2159

을 개발하게 할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 종이를 이용한 종이 미세유체(paper microfluidic) 기술이 발달하고 이를 이용한 질병진단을 할 수 있음이 보고된 바 있다. 종이기반 미세유체채널은 그 제작비용이 저렴하며, 누구나 손쉽게 사용할 수 있어서 미래에 감성진단을 위한 도구로 활용할 수 있다. 본지에서는 아직까지 감성측정분야에 도입되지 않은 종이 미세유체 기술을 소개하고 향후 다양한 감성지표를 측정할 수 있는 아주 간단한 구조의 종이 기반 미세유체 디바이스의 설계 및 제작에 대해 기술한다.

주제어 : 종이기반 미세유체역학, 감성지표, 측정, 체액

1. 서론

최근 인간 감성의 요소들인 우울, 불안, 화, 집착, 혐오, 스트레스 등을 정확하면서 편리하게 측정할 수 있는 방법인 미래형 바이오칩 기술 즉, 감성 진단칩(EOC; emotion-on-a-chip)의 개념이 제시된 바 있다(Jung et al, 2011). EOC 기술은 타액, 땀, 혈액 등의 체액 속에 존재하는 감성지표(주로 대사산물이나, 유전자, 단백질 등)를 아주 낮은 농도에서도 감지할 수 있어야 하기 때문에 아주 극미량의 시료를 처리할 수 있는 첨단 나노/마이크로 기술을 요구한다. 인간 체액을 통해서 감성을 측정하는 감성 진단칩(EOC)이 현대 사회에 중요하게 대두되는 이유는 최근 정신적인 측면과 신체적인 측면이 상호 보완적이라는 학문의 융복합적인 개념이 받아들여지고 있기 때문이다. 즉 신경과학이 인체의 면역계와 호르몬 작용을 다루는 내분비학과 연계되어 있다는 생각은 정신신경면역내분비학(psychoneuroimmunoendocrinology)이라는 새로운 학문을 탄생시켰다. 이 학문은 정신계, 신경계, 호르몬계, 면역계를 통합함으로써 마음의 인지작용을 규명하는데 활용되고 있다.

인간 감성을 측정하는데 가장 많이 사용되었던 생체 물질은 코티졸이다. 인간체액(타액, 혈액, 소변 등) 속에는 코티졸이 다양한 형태로 존재하고 있으며 이의 정확한 측정은 심적 외상 후 스트레스 장애(post-traumatic stress disorder, PTSD)를 진단하고 치료하는데 중요한 지표로 사용되고 있다(Hellhammer et al, 2009). 지난 수 십년간 코티졸을 측정하기 위한 장치와 디바이스들이 개발되어 왔으며 열거하면 다음과 같다. fluorimetry, high-performance liquid chromatography (HPLC)(Oka et al., 1987), gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS)(Horie et al, 2007, McCann et al, 2005), radioimmunoassay(Fahmy et al, 1979), enzyme immunoassay(Kobayashi et al, 2002, Chen et al, 2006

Mirasoli et al, 2002) 등이 있다. 그러나 이러한 방법들은 모두가 비용과 시간이 많이 요구되고 잘 훈련된 인력이 측정을 해야 하는 단점이 있다.

이에 반해, 종이 기반 미세유체 역학을 이용한 디바이스는 종이가 가진 장점으로 인해 진단분야에 많은 응용이 되고 있다. 값이 싸고, 진단을 위한 별도의 펌프가 필요 없으며, 크로마토그래피의 원리를 이용하여 유체가 흐르기 때문에 화학적인 물질을 분석하기에도 유용하여 색을 이용한 테스트 법에도 용이하게 이용되고 있다. 최근에는 photolithography (Martinez et al, 2007)이나 plotting (Bruzewicz et al, 2008), inkjet etching (Abe et al, 2008), plasma etching (Li et al, 2008), 그리고 wax printing (Lu et al, 2009, Carrilho et al, 2009)을 이용하여 종이 위에 패턴을 만드는 연구가 활발하게 이루어지고 있고, 이렇게 만들어진 디바이스로 glucose와 BSA(Bovine Serum Albumin)를 정량한 연구가 학계에 보고되어 그 성능을 증명하였다.

따라서 본 논문에서는 인간체액을 통해서 적 외상 후 스트레스 장애등을 검사할 수 있는 코티졸 등의 생리적 바이오마커를 손쉽게 저렴하게 측정할 수 있는 종이기반 미세유체 채널(paper microfluidic device)의 제작과 감성측정분야에 있어서의 그 응용 범위 등을 소개하고자 한다.

2. 종이기반 미세유체 채널의 제작방법

종이 미세유체 채널 제작의 핵심은 친수성과 소수성의 성질을 이용하여 특정 채널 형상을 종이 위에 만들어 주는 것이다. 소수성 부분이 경계를 형성하게 되는데 이때 채널 폭을 조절함으로써 적은 시료로 검출 가능한 채널을 만들 수 있다. 종이에 채널 형상을 제작하기 위해서 크게 두 가지의 방법으로 접근을 하였다. 하나는 마스크를 대고 photolithography 공정의 원리를 이용하여 제작하는 방법(Martinez, 2008)이고

다른 하나는 마스크 자체를 shadow mask로 공정하게 되면 틀로 사용할 수가 있는데 이를 이용하여 채널 형상을 코팅하는 방법이다(Figure 1).

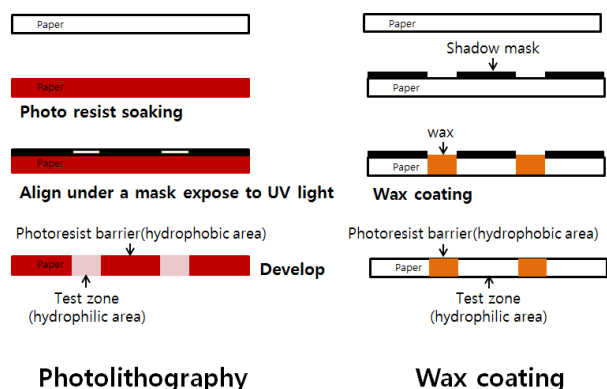


Figure 1. The fabrication process for microfluidic paper-based analytical devices

종이는 흡습성이 좋은 Whatman Paper No.1을 이용하여 실험을 수행하였다. photolithography를 이용한 방법은 종이를 우선 photoresist(감광제, PR)에 담가 충분히 스며들게 해준다. PR은 소수성의 성질을 가지고 있기 때문에 이를 이용하여 마스크에 의해 blocking의 여부에 따른 채널을 형상화 할 수 있게 된다. 마스크는 CAD를 사용하여 제작하였고 이후 검침을 위한 채널 폭의 최적화를 위하여 길이와 폭이 각각 다른 채널을 제작하였다. 초기 설계 시 채널의 길이를 800 μm , 1000 μm , 1200 μm 로 만들었으나, 만일 채널을 따라가는 속도가 매우 빠를 것에 대비하여 1000 μm , 1250 μm , 1500 μm 으로 제작하였다. 채널의 폭은 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 100 μm 으로 조절하여 마스크를 제작하였다.

Whatman Paper 용지를 photoresist종류의 하나인 AZ1512에 집어넣어 2분 동안 담갔다. 그 후에 photoresist에 있는 solvent를 날려주고 polymer를 안착시키기 위해 prebake를 85 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 동안 유지시켜 주었다. 잘 말려진 종이를 자외선(UV)하에서 30초 동안 노광 한 후 AZ 300 현상액에 1분 현상시켜 주었다. 현상액에 담겨진 종이를 마지막으로 hardbake를 반복하여 시료를 흘려보낼 친수성 채널과 UV 노광으로 인해 PR 형상이 남아 있는 부분인 소수성 경계를 만들어 줌으로써 시료를 측정할 μPADs (Microfluidic paper-based analytical devices)를 제작할 수 있었다(Figure 2).

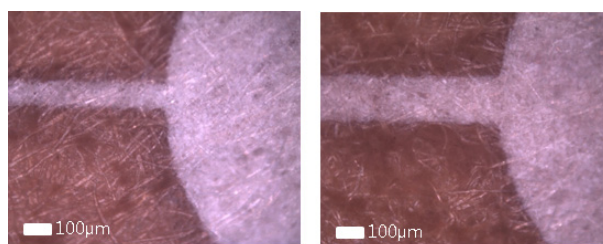


Figure 2. Image of the microfluidic paper-based analytical devices using photolithography. Channel widths are 50 μm (left) and 100 μm (right).

하지만 다공성인 종이의 특성 때문에 현상한 후 종이의 채널 패턴의 경계가 모호하여 잉크가 침투되었다. 그 후 파라핀 왁스를 녹여서 액체로 만들면 종이에 쉽게 스며들게 되는 점을 이용하여 보다 완벽한 경계를 만들고자 하였다. 파라핀이 채널을 만들게 되는 최적의 조건을 찾기 위해서 여러 가지 실험을 진행해 보았는데, 첫째로, 종이 위에 파라핀을 두고 200도 이상까지 가열함으로써 파라핀을 녹이는 실험을 진행하였다(Figure 3의 (a)). 그러나 이와 같은 방법은 파라핀이 표면에서만 녹아 종이에 스며들기 전에 이미 종이가 검게 변하는 단점이 있었다(Figure 3의 (a-1)). 그래서 녹는점이 44-55도인 파라핀에 오일이 첨부된 물질을 사용하여 여러 가지 모양을 틀을 이용하여 제작할 수 있었다(Figure 3. (b-1)).

마지막으로, 두꺼운 하드보드지에 각각 2cm x (2mm, 3mm, 4mm, 5mm)의 정사각형 모양을 각각 뚫고 그 후 파라핀을 구멍을 뚫은 부분으로 코팅하여 제작하였다. 이 공정은 shadow mask를 이용하여 코팅하는 원리와 동일하며, photolithography보다 제작 방식이 무척이나 간단하고 제작시간이 짧은 장점을 가지고 있다(Figure 3. (c)). 그 후 shadow mask를 이용하여 파라핀 오일을 종이 내부까지 충분히 코팅하여 다공성인 구역을 막아줌으로써 좀 더 확실한 경계를 만들 수 있었다.

또한 파라핀 오일의 온도 약 60도 수준 일 때 패턴이 가장 잘 형성되었으며 그 이상의 온도에는 점성이 낮아져 원하는 모양의 패턴을 유지하기가 힘들었고, 55도 미만에서는 점성이 높아져 종이에 잘 흡수되지 않았다. 종이 위 파라핀 오일이 굳기까지의 시간을 측정해 본 결과 약 10분이 경과된 후에야 종이와 같은 온도인 28.4도가 되었고 딱딱하게 굳어졌다. Figure 4의 그래프는 각각 3번씩 측정한 결과이다.

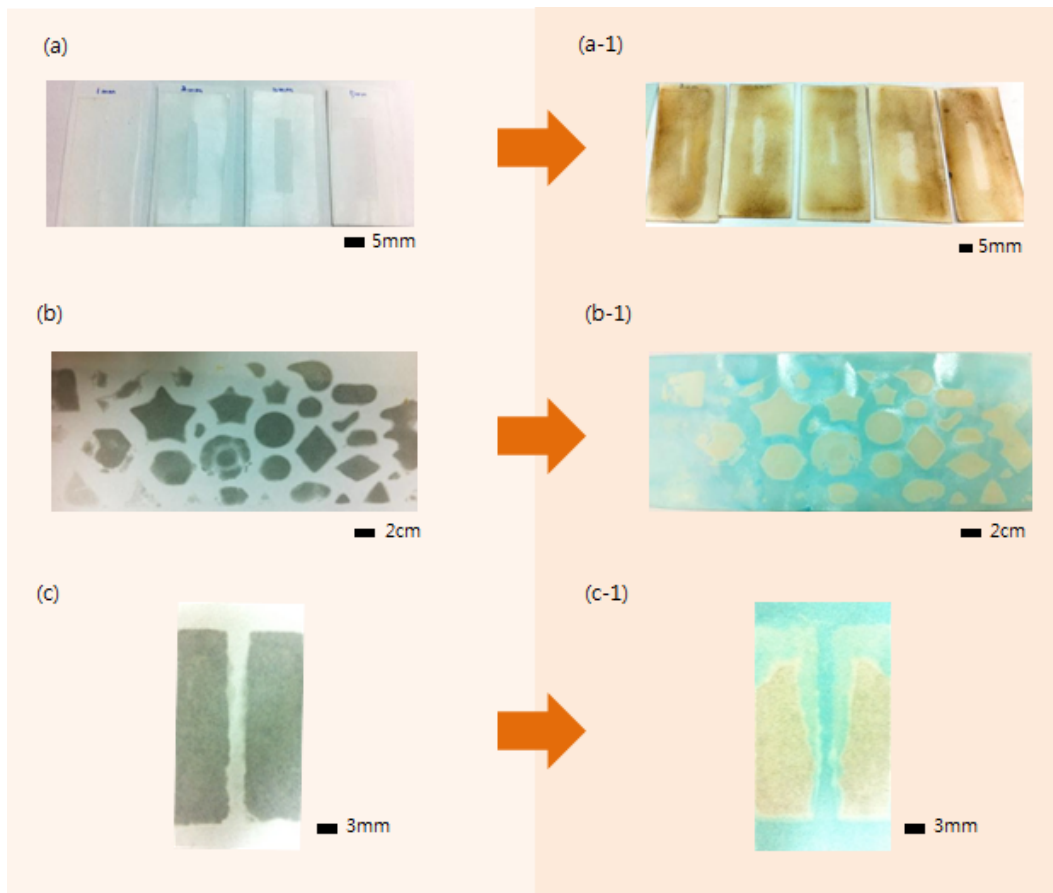


Figure 3. Photographic image of various patterns fabricated by Wax: (a) patterned parapin covered on paper (a-1) image of papers baked at 200°C (b) various patterns stamped by parapin-oil (b-1) image of patterns stained by blue-ink (c) paper microfluidic channel fabricated by shadow mask and hard-board paper (c-1) visualization of paper microfluidic channels by blue-ink

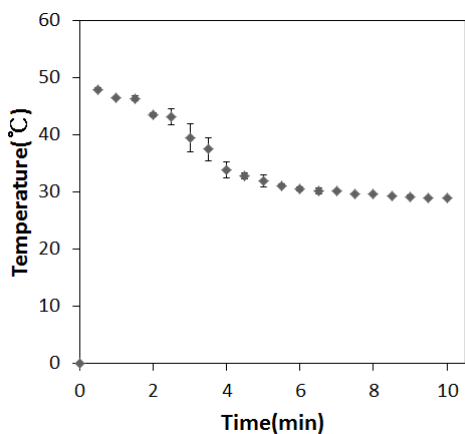


Figure 4. Temperature changes of parapin oil according to the time variation. Rapid fabrication process was needed as the temperature of parapin oil decreased quickly (start temperature : 60°C total volume : 1ml)

3. 인간 체액을 다루기 위한 유체확산 실험

제작한 채널에 10 μ l 각각 폭에 따라 1cm 가는데 걸리는 시간과 시간이 흐른 뒤 잉크가 퍼진 길이를 측정하였다(Figure 5). 실험은 총 네 번으로 하였으며 네 번의 실험을 통한 평균은 Table 1과 같다. 결과를 통하여 보았을 때, 채널의 폭은 작을수록 속도가 빠르고 채널에 올라가는 길이 또한 높이 올라가는 것을 알 수 있었다. 따라서 감성 진단칩 제작을 할 시, 채널의 폭을 작게 하여야 빠른 속도로 시료가 검침될 부분까지 올라갈 수 있다는 결론을 낼 수 있었다.

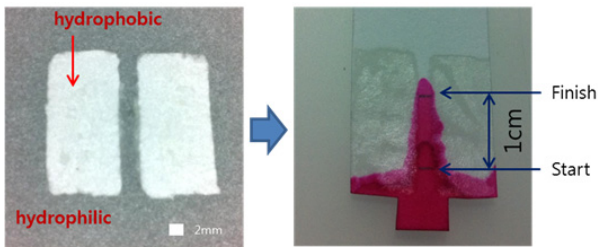


Figure 5. Microfluidic paper-based analytical devices for hydrodynamic diffusion test and the red-ink diffusion

Table 1. Summary of hydrodynamic diffusion test

Channel width	2mm	3mm	4mm	5mm
A length of time for ink to reach up to 1cm(s)	0.9	2.2	4.75	6.57
Total length of ink migration(cm)	3.25	2.89	2.24	1.96

4. 종이-미세유체채널을 이용한 감성지표 코티졸 측정 원리의 제안

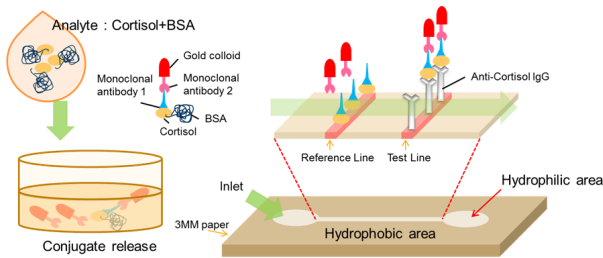


Figure 6. The cortisol detecting system using μ -PAD

코티졸은 부신피질에서 분비되는 스테로이드 호르몬의 일종이다. 질병이 아닌 일반인의 경우 신체적, 심리적 스트레스로 인해 분비가 증가가 된다(Vander et al, 1994). 스트레스가 증가하면 교감신경계를 활성화 시키고 부교감신경계를 억제하게 된다. 혈중 코티졸 양은 전완의 말초정맥을 통해 채취한 혈액을 radioimmunoassay 방법(RIA competitive method)으로 COAT-A-COUNT Cortisol (DPC) 시약을 이용하여 1470 Wizard(PerkinElmer, Finland)로 분석 할 때 코티졸의 정상 범위는 오전에 5~25 μ g/dl, 오후에 2.5~12.5 μ g/dl이다(Yang et al, 2009). 이 때문에 우리는 0.1 μ g/dl이하로 LOD(limit of detection)를 결정하고 정밀하게 측정하고자 한다. 원리는 항원-항체반응을 이용하는 것인데, 패턴 된 종이 미세 유로위에 Figure 6과 같이 한쪽 라인은 코티졸-BSA를 고정시키므로 반응이 진

행하면 항상 라인의 색이 나오도록 만들도록 하고자 한다. 이때 사용하는 BSA의 역할은 반응을 안정하게 만들 뿐 아니라 코티졸이 너무 작아 떨어질 경우를 대비한 안정장치이다. 다른 한 쪽 라인은 코티졸의 1차 항체로, 코티졸을 검출 가능하도록 고정 시키고 마지막으로 준비된 혼합물에는 2차 코티졸 항체와 골드가 코팅된 물질이 준비되어 있어서 코티졸이 들어오면 언제든지 반응할 수 있도록 해두어 코티졸을 검출하고자 한다.

5. 논의

지금까지는 인간의 감성 측정을 설문과 같은 개인의 주관적 판단이나 고도의 숙련된 기술이 요구되는 전문 장비를 사용한 감정 측정(인터뷰, 뇌파, 심혈관 활동 등) 기법에 의존해 왔다. 그러나 미래는 인간체액(혈액, 타액, 땀 등)을 통해 누구라도 현장에서 실시간으로 감성을 측정할 수 있는 감성 진단칩(EOC)의 시대이다. 더구나 인간의 행위는 자의적이면서도 연속적으로 발생하는 것이기 때문에 실험실 상황이 아니라 자연스러운 상호작용 과정 속에서 특정한 순간의 감성을 간편하고 정확히 측정할 수 있는 기술이 중요하다. 본 연구진은 감성지표의 일종인 코티졸, 알파-아밀레이즈, 케티콜아민 등을 동시 다발적으로 측정할 수 있는 다양한 형태의 디바이스를 설계 및 제작 중에 있으며 본지에서는 주로 손쉽게 사용할 수 있는 종이 기반 미세유체채널을 소개하며 향후 다양한 감성지표를 측정하는 결과를 보고 할 것이다. 종이 기반 미세유체채널(paper microfluidics)은 그 제작비용이 저렴하며, 누구나 손쉽게 사용할 수 있어서 미래에 감성진단을 위한 도구로 활용할 수 있다.

REFERENCES

Abe, K., Suzuki, K., & Citterio, D. (2008). Inkjet-Printed Microfluidic Multianalyte Chemical Sensing Paper, *Analytical Chemistry*, 80(18), 6928-6934.

Bruzewicz, D. A., Reches, M., & Whitesides, G. M. (2008). Low-Cost Printing of Poly(dimethylsiloxane) Barriers To Define Microchannels in Paper, *Analytical Chemistry*, 80(9), 3387-3392.

Carrilho, E., Martinez, A. W., & Whitesides, G. M. (2009). Understanding Wax Printing: A Simple

- Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics, *Analytical Chemistry*, 81(16), 7091-7095.
- Chen, H. L., Chen, Y. L., Wu, L. S., Kaphle, K., & Lin, J. H. (2006). Establishment and Application of Enzyme Immunoassay for Saliva Cortisol in Taiwanese Context, *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 27(3), 239-249.
- Fahmy, D. R., Read, G. F., Gaskell, S. J., & Hindwal, R. (1979). A simple, direct radioimmunoassay for plasma cortisol, featuring a ¹²⁵I radioligand and a solid-phase separation technique, *Clinical Chemistry*, 25(5), 665-8.
- Hellhammer, D. H., Wust, S., & Kudielka, B. M. (2009). Salivary cortisol as a biomarker in stress research, *Psychoneuroendocrinology*, 34(2), 163-171.
- Horie, H., Kidowaki, T., Koyama, Y., Endo, T., Homma, K., Kambegawa, A., & Aoki, N. (2007). Specificity assessment of immunoassay kits for determination of urinary free cortisol concentrations, *Clinica Chimica Acta*, 378, 66-70.
- Jung, H. I., Kihl, T., & Hwang, Y. (2011). Emotion-on-a-chip(EOC) : Evolution of biochip technology to measure human emotion, *Journal of the science of emotion&sensibility*, 14(1), 157-164.
- Kobayashi, N., Sun, P., Fujimaki, Y., Niwa, T., Nishio, T., Goto, J., & Hosoda, H. (2002). Generation of a Novel Monoclonal Antibody against Cortisol-[C-4]-Bovine Serum Albumin Conjugate: Application to Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Urinary and Serum Cortisol, *Anal Sci*, 18(12), 1309-1314.
- Li, X., Tian, J., Nguyen, T., & Shen, W. (2008). "Paper-Based Microfluidic Devices by Plasma Treatment", *Analytical Chemistry*, 80(23), 9131-9134.
- Lu, Y., Shi, W., Jiang, L., Qin, J., & Lin, B. (2009). Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay, *Electrophoresis*, 30(9), 1497-1500.
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Butte, M. J., & Whitesides, G. M. (2007). Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays, *Angewandte Chemie International Edition*, 46, 1318-1320.
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Wiley, B. J., Gupta, M., & Whitesides, G. M. (2008). FLASH: A rapid method for prototyping paper-based microfluidic devices, *Lab on a Chip*, 8, 2146-2150.
- McCann, S. J., Gillingwater, S., & Keevil, B. G. (2005). Measurement of urinary free cortisol using lipid chromatography-tandem mass spectrometry: comparison with the urine adapted ACS: 180 serum cortisol chemiluminescent immunoassay and development of a new reference range, *Annals of Clinical Biochemistry*, 42, 112-118.
- Mirasoli, M., Deo, S. K., Lewis, J. C., Roda, A., & Daunert, S. (2002). Bioluminescence Immunoassay for Cortisol Using Recombinant Aequorin as a Label, *Analytical Biochemistry*, 306(2), 204-211.
- Oka, K., Noguchi, M., Kitamura, T., & Shima, S. (1987). Liquid Chromatography and Radioimmunoassay Compared for Determination of Cortisol and Corticosterone in Plasma after a Dexamethasone Suppression Test, *Clinical Chemistry*, 33(9), 1639-1642.
- Vander, A. J., Sherman, J. H., & Luciano, D. S. (1994). Human Physiology, 6th ed. McGraw-Hill, New York.
- Yang, H. K., Lee, J. W., Lee, Y. J., Kim, K. S., Lee, K. H., & Choi, H. J. (2009). HRV Evaluation under Stress Condition by Using Patch Type Bipolar Activity Monitoring System, *Journal of the science of emotion&sensibility*, 12(2), 161-168.

원고접수 : 2011.08.02

수정접수 : 2011.09.08

게재확정 : 2011.10.05