ISSN 1975-8359(Print) / ISSN 2287-4364(Online)
The Transactions of the Korean Institute of Electrical Engineers Vol. 65, No. 4, pp. 628~634, 2016
http://dx.doi.org/10.5370/KIEE.2016.65.4.628

자기조립단층과 농축 기술을 이용한 저농도 내분비계 장애물질 검출용 미소유체채널 기반 전기화학 센서

A Microfluidic Electrochemical Sensor for Detecting the Very Low Concentration Endocrine Disruptor with Self Assembled Monolayer and Preconcentration Technique

김 수 윤* · 한 지 훈** · 박 정 호†
(Suyun Kim · Ji-Hoon Han · James Jungho Pak)

Abstract - This paper demonstrates a microfluidic electrochemical sensor for detecting endocrine disruptor such as estradiol at a very low concentration by using preconcentration technique. In addition, self-assembled monolayer(SAM) was also employed on the working electrode of the electrochemical sensor in order to increase the estradiol capture efficiency of the sensor. SAM treatment on the working electrode enhanced the specific binding between the surface of the working electrode and the estradiol antibody. The estradiol antibody was applied on the working electrode at different concentrations(10, 20, 50, 100, 200 pg/ml) for observing the concentration dependency. The measured electrochemical redox current changed with the amount of the bound estradiol on the Au working electrode surface and the sensor can detect all the target material when the immobilized antibody amount is more than the estradiol amount in the water. The elecrochemical estradiol sensor without SAM treatment showed a low current of 7.79 nA, while the sensor treated with SAM resulted in 339 nA at 200 pg/ml, which is more than 40 fold higher output current. When combining the preconcentration technique and the SAM-treated electrode, the measured current became more than 100 fold higher than that of the sensor without neither SAM treatment nor preconcentration technique. The combination of these two techniques can would enable the proposed microfluidic electrochemical sensor to detect a very low concentration endocrine disruptor.

Key Words : Estradiol, Self assembled monolayer, Preconcentration, Ion exchange membrane, Electrochemistry

1. 서 론

급격한 인구 증가와 산업화에 따른 환경오염이 가속화되면서 발암이나 기형 유발과 같이 인간에게 심각한 영향을 미칠 수 있는 환경유해물질의 관리 시스템에 대한 관심이 커지고 있다. 그 중, 낮은 농도의 환경유해물질의 검지가 가능한 미소유체기반의 랩온어칩(lab-on-a-chip) 센서에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[1, 2]. 최근 환경호르몬 중 내분비계 장애물질 중 하나인 에스트로겐류(estrogens)가 국내 상·하수도에서 수 pg/ml로 검출되는 것이 보고되고 있다. 외부로 배출되는 에스트로겐류 물질은 사람 또는 가축의 배설물, 식품류 등에서 유발되며 이 중, 가장 활성도가 높고 외부로의 배출량이 많은 것은 에스트라디올(17β-estradiol, E2)이다. 에스트라디올은 생식 기능을 포함하여 신체 내 여러 기관에 영향을 끼친다. 에스트라디올이 낮은 농도로 환경 중에 존재하더라도 체내 유입 시 신체 대사에 영향을 미칠 수 있다고 알려져 있기 때문에 이를 정확하게 검지해낼 수 있는 연구가 필요하다[3].

에스트라디올을 검출하고 측정하는 방법에는 크게 기체 크로마토그래피, 액체 크로마토그래피, 광학적 분석법, 전기화학적 분석법으로 나눌 수 있고 이 방법을 표 1에 정리하였다[4].

표 1 네 가지 에스트라디올 측정 방법 비교
Table 1 Comparison of four estradiol detection methods

구 분	장 점	단 점
GC/MS	극소량의 시료로 분석 가능	복잡한 전처리 과정[5]
LC/MS	유속에 영향을 받지 않음	복잡한 전처리 과정[6]
광학적 분석법	육안으로 분석 가능	낮은 검출 한계[7]
전기화학적 분석법	전처리 불필요 높은 검출한계	낮은 선택성[8]

† Corresponding Author : Dept. of Electrical and Electronic Engineering, Korea University, Korea
E-mail : pak@korea.ac.kr
* Dept. of Micro/nanosystem Engineering, Korea University, Korea
** Dept. of Electrical and Electronic Engineering, Korea University, Korea
Received : January 8, 2016; Accepted : March 20, 2016

Copyright ⓒ The Korean Institute of Electrical Engineers
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/)which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

위에서 열거한 분석방법 중 전기화학적 분석방법은 다른 분석방법에 비해 저비용, 빠른 검출 시간, 낮은 검출 한계 등의 장점을 가진다. 전기화학적 분석법은 용액 상에서 전극과 측정 대상과의 전기화학적 반응에 의한 전위차, 전하량, 전도도 등의 변화를 전기적 신호로 측정하는 방법을 일컫는다. 여기서 전기화학적 반응이란 물질 간의 전자 이동에 의한 산화/환원 반응과 이와 연관된 여러 가지 현상을 뜻하며, 주로 전극 계면과 용액 사이에서 일어나는 반응이다[9]. 전기화학적 분석법은 크게 전위차법(potentiometry), 전도도법(conductometry), 전압전류법(voltammetry)으로 분류할 수 있다[10]. 본 연구에서 사용된 분석법은 작업전극의 전류 및 전위 특성을 측정하는 전압전류법으로서, 작업전극과 기준전극 간의 전위 또는 전류를 일정하게 유지하면서 작업전극의 계면에서 발생하는 화학적 반응에 따라 발생하는 전류 또는 전압차를 측정하는 방법이다. 전압전류법의 대표적인 방법으로는 순환전압전류법(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류법(square wave voltammetry)이 있으며 에스트라디올을 검출하고 분석하는 방법으로 네모파 전압전류법을 채택하였다.

연구에서는 2개 이상의 채널(sample channel, buffer channel)로 구성된 농축 시스템을 다룬 다른 논문[11, 12]과 같은 효과를 가지면서 보다 간단한 공정 과정으로 제작할 수 있는 단일 미소유체채널(single microfluidic channel)을 이용하였다. 단일 미소유체채널 시스템을 이용하여 측정이 불가능한 낮은 농도의 샘플을 전기화학적 방법으로 검출하기 위해 추가적으로 전극 표면 위에 자기조립단층(self-assembled monolayers, SAMs)을 형성하여 17β-에스트라디올을 작업전극 위에 고정한 후, 농축 기법을 이용해 감도를 향상시킬 수 있었다. 에스트라디올 검출용 전기화학 센서를 제작하기 위해 기본 반도체 제작공정으로 농축 기반의 센서를 구현하였고, 다양한 실험 조건에 따라 에스트라디올을 측정하였으며 이에 대한 결과를 분석하였다.

2. 실 험

2.1 시약 및 장비

농축 칩 제작공정 가운데 미소유체채널을 제작하기 위한 마스터몰드 제작은 음성감광액인 SU-8 3035(micro chem社)을 사용했고, 전극 제작에는 양성감광액인 AZ 1512(AZ electronic materials社)와 현상액 AZ 300 MIF를 사용했고 금 전극 패턴을 위한 식각은 시그마알드리치(sigma aldrich社)社에서 표준 금 식각액을 구매하여 사용하였다. 미소유체채널 제작에 사용되는 PDMS(polydimethylsiloxane) 혼합물(slygard A and slygard B)은 다우코닝(dow corning)社에서 구매하였으며, 농축현상 실험에 사용되는 형광표지물질(FITC-dextran, FD20S), 네피온 수지(5 wt. % nafion resin in mixture of lower aliphatic alcohols and water, contains 45% water)는 모두 시그마 알드리치社에서 구매하였다. 측정대상인 17β 에스트라디올(β-estradiol-water soluble) 또한 시그마 알드리치社에서 구매하였으며, 17β 에스트라디올의 고정화를 위한 항체(estradiol primary antibody solution)는 R&D SYSTEMS社에서 구매하였다.

농축현상을 발생시키기 위해 필요한 전압 인가는 소스미터(2400 source meter, keithley社)를 이용하였고, 농축현상의 관찰은 형광현미경(GX 71, olympus社)을 사용하였다. 또한, 에스트라디올의 전기화학적 분석을 위해 전위가변기(potentiostat, Dropsens社-μstat 200)를 사용하였다.

2.2 자기조립단층 원리

작업전극과 최대한 가까운 위치에 항체 및 17β 에스트라디올을 효과적으로 고정화시키기 위해 전극 표면에 자기조립단층을 형성하였다. 자기조립단층 방법은 금속이나 금속산화물의 계면 특성을 조절할 수 있는 방법으로 전극 표면 위에 유기 단분자막을 안정하게 정렬시켜 형성할 수 있는 기술이다. 또한, 자기조립단층 방법은 단분자막을 이루는 분자 특성이 고체 표면 특성에 바로 직결되어 표면 특성 조절에 유용하다는 장점을 가진다. 자기조립단층 방법으로 전극 표면 위에 유기 단분자막을 형성하기 위해 헤드기(head group)와 작용기(functional group) 분자구조가 사용된다. 헤드기는 전극 표면 위에 화학적으로 흡착되는 부분이며 모든 기판 표면에 흡착이 가능하다. 주로 규소 및 유리의 표면처리에는 실란(silane)이 사용되고, 금속 표면 처리에는 티올(thiol)이 사용되는데, 특히 알칸티올(alkanethiols)은 금속과 강한 친화력을 갖기 때문에 금속 위의 자기조립단층 형성에 가장 일반적으로 사용된다[13]. 금속 표면 위에 흡착된 알칸티올은 알칸티올 내의 알킬 사슬(alkyl chain)을 통해 반데르발스 힘(van der waals force)을 생성하며 발생된 반데르발스 힘으로 인해 단분자막이 형성되면 말단 부분에 다양한 작용기가 붙을 수 있게 된다. 본 실험에서는 금 전극 표면에 알칸티올 흡착 후 자기조립단층을 형성하여 에스트라디올 항체를 붙인 뒤, 에스트라디올의 고정화를 유도하여 에스트라디올의 산화반응이 최대한 전극에서 가깝게 할 수 있도록 하였다.

2.3 농축 기법

대상물질을 농축시키는 기술은 대부분 미소유체채널 기반의 장치에서 동전기적 힘(electrokinetic force)을 인가하여, 미소유체채널에서 발생하는 이온의 선택적 투과 현상을 이용한다. 선택적 이온 투과성(ion-perm selectivity)은 전기 이중층(electrical double layer, EDL)이 존재할 때, 서로의 전기 이중층이 인접하면서 발생하는 현상을 일컫는다[14]. 미소유체채널 내에 측정하고자 하는 대상물질을 주입하고 전압을 인가하면 전기삼투(electroosmosis)현상에 의해 대상물질 용액의 흐름이 발생하며, 미소유체채널 내부의 중앙에 위치한 선택적 이온 투과성 막(네피온 막)을 통과 한다. 이 때, 네피온 막은 음이온 차단막으로 작용하여 양이온만 통과 할 수 있다. 그림 1(a)는 전압이 인가되기 전 미소유체채널 내부의 이온 상태를 나타낸 것이다. 그림 1(b)는 미소유체채널에 전압이 인가된 상태를 나타낸 것으로 미소유체채널 중앙에 위치한 네피온 막이 음이온 차단막으로 작용하여 음이온이 양극 쪽으로 이동하지 못하고 네피온 막 부근에서 축적되며 농축 현상이 발생한다[15]. 네피온 막을 기준으로 음이온 풍부지역과 양이온 공핍지역으로 나뉜다.

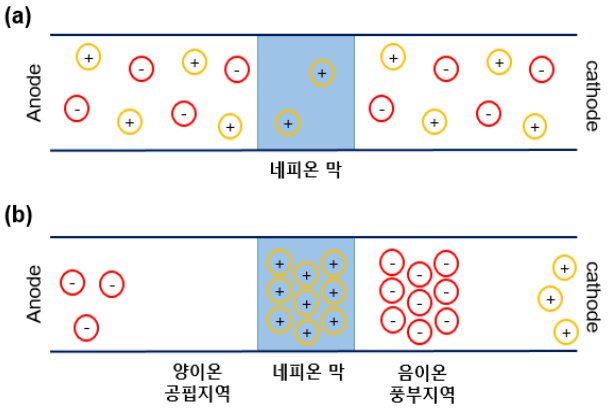

그림 1 농축 현상 모식도 (a) 전압 인가 전 미소유체채널 내부의 이온 상태. (b) 전압 인가 후 미소유체채널 내부의 이온 상태

Fig. 1 Schematic illustration of preconcentration phenomenon. The flow of ions in microfluidic channel (a) before the voltage is applied (b) after the voltage is applied

2.4 전기화학적 분석 조건

에스트라디올의 검출은 전기화학적 분석방법 중 하나인 전압전류법을 사용했으며, 그 중 네모파 전압전류법을 이용하여 에스트라디올의 산화 전류를 측정하였다. 측정을 위해 그림 2와 같이 농축 칩을 커넥터에 삽입하고 커넥터에 전위가변기를 연결하여 실험을 진행하였다. 측정 범위는 0 V부터 0.6 V, 진폭은 20 mV, 그리고 주파수는 10 Hz로 설정하여 측정하였으며 이 실험 조건을 표 2에 정리하였다.

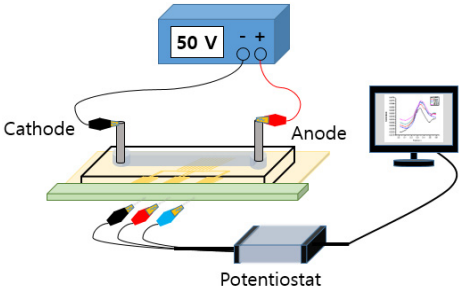

그림 2 실험 방법 모식도

Fig. 2 Schematic illustration of the experimental method

표 2 네모파 전압전류법 세팅 조건

Table 2 Setting parameters of square-wave voltammetry

네모파 전압전류법(SWV) 측정 조건	
측정 범위 (scan range)	0 V ~ 0.6 V
진폭 ($V_{amplitude}$)	20 mV
주파수 (frequency)	10 Hz

3. 결과 및 토의

3.1 농축 칩 제작

3.1.1 마스터몰드(master mold) 제작

농축 현상 관찰 실험에 필요한 미소유체채널 제작을 위해 사진식각(photolithography) 공정을 이용하여 실리콘 웨이퍼 위에 SU-8 3035를 스핀 코팅하고 핫플레이트 위에서 소프트 베이크를 진행한 후, 자외선으로 노광하여 패터닝하고 SU-8 현상액으로 현상하였다. 그림 3(a)은 4 인치 지름의 실리콘 웨이퍼에 제작된 SU-8 마스터 몰드의 개념도이다.

3.1.2 미세유체채널 제작

미소유체채널을 제작하기 위해 PDMS 혼합물인 sylgard 184A와 sylgard 184B를 10:1 비율로 섞어 제작된 미소유체채널용 마스터몰드 위에 부은 후 진공 챔버에 넣고 기포를 제거하였다. 그 후, 전체를 드라이 오븐에 넣고 경화한 후 PDMS를 SU-8 마스터몰드로부터 분리하여 그림 3(b)와 같이 미소유체채널을 얻었다. 미소유체채널 하부의 기판으로는 슬라이드 글라스를 사용하였는데, 미소유체채널의 중간에 네피온 막을 형성하기 위해서 PDMS 미소유체채널 구조를 슬라이드 글라스와 접합하기 이전에, 5 wt% 네피온 레진 용액으로 그림 3(c)와 같이 슬라이드 글라스 중앙에 멤브레인을 형성하였다. 마지막으로, 네피온 멤브레인이 형성된 슬라이드 글라스와 미소유체채널을 산소 플라즈마 처리하여 접합하였다. 그림 3(d)는 네피온 멤브레인이 형성된 슬라이드 글라스와 PDMS 미소유체채널을 접합한 모습이다.

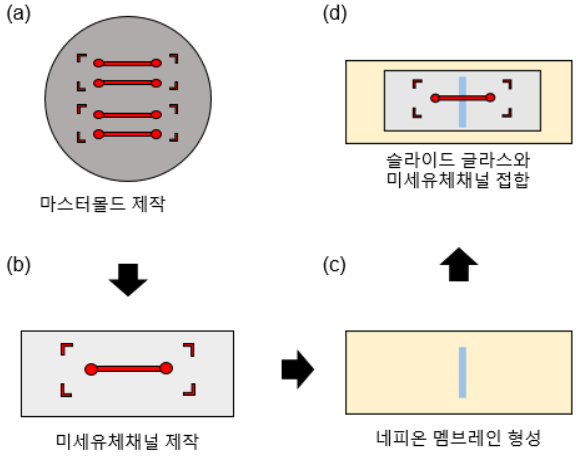

그림 3 농축 칩 제작 과정

Fig. 3 Illustration of the fabrication process of the preconcentration chip

3.2 농축 현상

농축 현상은 네피온 멤브레인 크기, PBS, 미소유체채널 크기

등 여러 가지 변수에 의해 영향을 받는다[16]. 본 연구에서는 변수의 영향을 최소화하기 위하여 표 3에서 명시한 바와 같이 폭 100 um, 두께 50 um, 길이 30 mm 조건의 미소유체채널과 폭 300 um, 두께 5 um, 길이 5 mm의 네피온 멤브레인, 0.01 M PBS, 그리고 100 ug/ml 농도의 형광표지물질(FITC-Dextran)을 이용하여 농축 현상을 관찰했다.

표 3 농축 칩의 채널과 네피온 막의 실험 조건

Table 3 Dimensions of the preconcentration chip and nafion membrane in the experiment

농축 칩 실험 조건			
농축 칩 구성	폭 (width)	두께 (thickness)	길이 (length)
미소유체채널	100 um	50 um	30 mm
네피온 막	300 um	5 um	5 mm

그림 4는 농축 칩 내 미소유체채널 내에 형광표지물질을 주입하고 50 V의 직류전압을 인가한 후 형광현미경으로 시간에 따른 농축 현상을 관찰한 모습이다. 미소유체채널에 전압을 인가한 직후에는 형광표지물질이 형광현미경으로 보이지 않았지만 1분이 지난 후 네피온 멤브레인으로부터 용액이 채널 내부를 흐르는 것이 관찰되었다. 전압 인가 2분 후부터 네피온 멤브레인을 기준으로 오른쪽으로부터 338.01 um 떨어진 곳에서 용액이 농축됨이 관찰되었다. 샘플의 소용돌이(vortex) 현상에 의해 시간이 지남에 따라 형광 강도가 세지면서 농축 위치가 변하고, 최종적으로 5분이 지났을 때 농축 현상이 안정되었는데 농축 현상의 지속시간은 약 1분 정도였으며 이후 농축 현상이 급격히 사라졌다. ZEN 2011(carl zeiss社) 프로그램을 이용해 형광 강도를 측정한 결과, 전압 인가 직후와 5분 후의 각각의 농축 형광 세기는 24.896과 254.467으로 5분 후 약 10.21 배로 농축된 것을 알 수 있었다. 이 실험을 통해 미소유체채널 내 대상물질 농축 위치를 예상할 수 있었고, 전극 삽입 위치를 선정하였다.

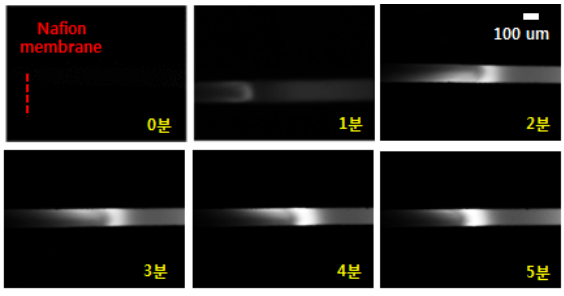

그림 4 농축칩 내에 형광표지물질 주입 후 전압인가 시간에 따른 농축 현상 관찰

Fig. 4 Observation of the preconcentrated phenomenon in accordance with the voltage application time after injecting fluorescence material into the preconcentration chip

3.3 전극 제작

금 전극을 제작하기 위해 원하는 크기로 다이싱(dicing)한 슬라이드 글라스를 세척한 후, E-beam 증착 장비를 이용해 Ti와 Au를 각각 250 Å, 1000 Å의 두께로 증착했다. Ti와 Au가 증착된 슬라이드 글라스위에 AZ 1512를 스핀 코팅한 뒤 사진식각 공정과 습식 식각 공정을 통해 전극을 패터닝하고 마지막으로 아세톤을 이용하여 남아있던 감광막을 모두 제거했다.

3.4 자기조립단층 및 고정화 방법

제작한 금 전극 위에 분석 대상을 고정화하기 위한 방법으로 그림 5와 같이 작업전극 표면에 자기조립단층을 형성하였다. 작업전극 위에 MPA(3-mercaptopropionic acid)를 떨어뜨린 후 금 전극표면과 반응시키면 카르복시기(-COOH)가 말단에 붙어있는 알칸티올이 전극 표면에 흡착되면서 작용기와 헤드기가 생성된다. 알칸티올이 흡착된 전극 위에, EDC(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide)와 NHS(n-hydroxysuccinimide)를 상온에서 반응시키면 카르복시기가 활성화되어 항체의 아민기($-NH_3$)와 결합 가능한 상태가 된다. 표면처리가 끝나면 전극표면 위에 에스트라디올 항체를 고정화시킨 뒤 17β 에스트라디올을 항체와 결합시킨다. 전극 표면과 최대한 가깝게 고정된 에스트라디올은 산화 시 발생되는 전자가 쉽게 전극으로 이동하여 감도 높은 전기적 신호를 얻도록 도와 준다[17-21].

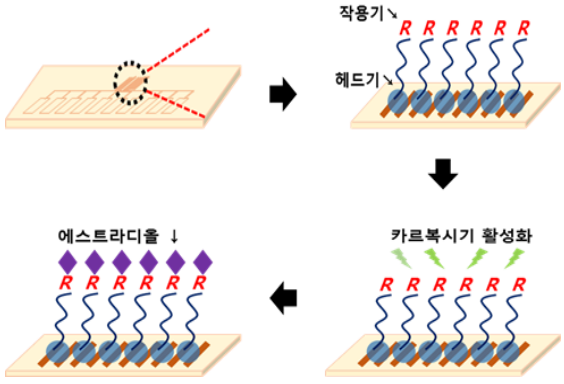

그림 5 전극 위 자기조립단층 형성 및 에스트라디올 고정화 순서 모식도

Fig. 5 Schematic illustration of the self-assembled monolayer process sequence and estradiol immobilization method on the electrodes

3.5 전기화학분석법을 이용한 에스트라디올 측정

3.5.1 에스트라디올의 전기화학 측정원리

에스트라디올이 전극 표면에서 산화되는 원리는 다음과 같다[22]. 전극에 전위차가 인가되면 에스트라디올이 전자와 수소를 잃으면서 페녹시기(phenoxy radical)를 생성하며 1차 산화반응을

일으킨다. 반응성이 높은 페녹시기는 추가적으로 전자를 잃으면서 페녹슘 이온(phenoxonium ion)으로 2차 산화반응을 유도한다. 최종적으로 페녹슘 이온은 화학적 반응을 통해 케톤(ketone)을 생성한다. 위의 과정을 통해 에스트라디올이 전극 표면에서 산화를 일으킬 때, 전류를 측정하여 농도별 에스트라디올의 검출이 가능하다.

3.5.2 네모파 전압전류법 측정

에스트라디올을 측정하기 위해 정량분석과 정성분석이 가능한 전압전류법인 네모파 전압전류법을 선택하였는데, 네모파 전압전류법은 오직 산화 반응만 측정하기 때문에 상대적으로 분석 시간이 빠르다는 장점을 가진다. 전극 표면 위에 자기조립단층처리로 농도 별 에스트라디올(10, 20, 50, 100, 200 pg/ml)을 고정한 후, 고정화의 유·무를 확인하기 위해 네모파 전압전류법으로 산화 전류를 측정하여 비교했다.

전류의 세기는 단위 부피당 이온의 수에 비례하며 이를 수식으로 표현하면 식 (1)과 같다. 아래 식에서 알 수 있듯이 대상물질의 농도가 높아질수록 산화 시 발생하는 전자 역시 증가하므로 전류는 증가하는 것을 알 수 있다.

$$I = \frac{Q}{A}, \frac{N \times e}{A} \quad (1)$$

e : 전자, N : 개수, A : 단위 면적

3.5.3 네모파 전압전류법을 이용한 에스트라디올 측정

자기조립단층 기법을 이용한 에스트라디올의 고정화와 농축현상이 에스트라디올의 전기화학 측정 감도에 미치는 영향을 분석하기 위해 순수 금 전극, 자기조립단층 표면 처리가 된 금 전극, 자기조립단층 및 농축을 적용한 금 전극을 이용해 측정한 결과를 비교하여 그림 6에 나타내었으며, 결과 그래프는 같은 스케일로 표기하였다. 먼저, 그림 6(a)의 측정값은 다른 조건에 비해서 전류가 너무 작아서 그래프에서 읽기 어렵기 때문에 y-축 단위를 변경한 그래프를 좌측 상단에 삽도로 첨부하였다. 여기서 그림 6(a)는 표면처리를 하지 않은 순수 금 전극을 이용한 측정 결과인데, 에스트라디올 농도가 200 pg/ml일 때 측정된 피크전류가 7.79 nA 수준이어서 전기적 잡음과 유사했다. 그림 6(b)는 에스트라디올을 표면에 고정한 전극으로 측정한 결과인데, 동일한 에스트라디올 농도에서 측정된 피크전류는 339 nA 정도로 (a)보다 약 43.47 배의 전류가 측정되었다. 마지막으로 그림 6(c)는 고정화 처리를 한 전극과 네피온 막으로 농축을 이용해 측정한 결과인데 (a)에 비해 100.29 배 더 높은 전류가 측정되었다. 이 결과는 표 4에 요약하여 표기하였다.

전극 표면 위 자기조립단층 형성 유·무에 따른 실험 외에 제작한 전극의 재현성을 검토하기 위해 에스트라디올 농도별로 각

표 4 전극의 표면 처리와 농축 기법 유무에 따른 에스트라디올 농도별 네모파 전압전류법 피크 전류 측정 결과 비교

Table 4 Comparison of the square-wave voltammetry peak current values at various estradiol concentrations depending on the electrode surface treatment or preconcentration

	에스트라디올 농도 및 측정 전류값				
	10 pg/ml	20 pg/ml	50 pg/ml	100 pg/ml	200 pg/ml
(1) 순수 전극[nA]	5.278	5.635	6.407	6.889	7.797
(2) 표면처리 전극[uA]	0.250	0.261	0.271	0.285	0.339
(3) 전극 표면처리 및 농축 [uA]	0.305	0.342	0.448	0.689	0.782
전류비 (2)/(1)	47.46	46.31	42.29	41.37	43.47
전류비 (3)/(1)	57.78	60.69	69.92	100.01	100.29

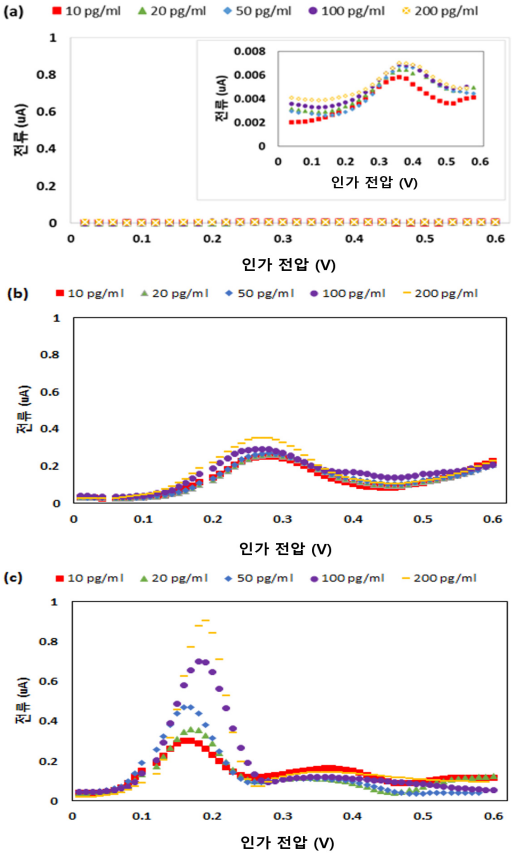

그림 6 전극의 표면 처리와 농축 기법 유무에 따른 에스트라디올 농도별 네모파 전압전류법 측정 결과 비교 그래프. (a) 순수 금 전극, (b) 고정화 처리 한 금 전극, (c) 고정화 처리 및 농축 기법 적용한 금 전극

Fig. 6 Comparison of square-wave voltammetry measurement results to evaluate the effect of the electrode surface treatment, preconcentration technique, and estradiol concentration. (a) Bare Au electrodes, (b) SAM treated Au electrodes, (c) With preconcentration on the SAM treatment Au electrodes

각 5개씩의 전극을 제작하여 같은 실험을 반복한 결과를 그림 7에 나타내었다. 순수 전극을 사용하여 수행한 재현성 실험의 결과는 그림 7(a)의 결과를 얻었으며, 상관계수는 R^2 = 0.9788으로 나타났다. 직업전극의 표면처리를 한 경우 측정 결과를 그림 7(b)와 같이 증폭된 출력신호를 얻었으며, 상관계수는 R^2 = 0.8222으로 나타났다. 표면처리 및 농축 기법을 적용한 실험으로부터 그림 7(c)의 출력신호를 얻었고, 상관계수는 R^2 = 0.9334으로 나타났다. 결과 그래프에서 볼 수 있듯이 전극 표면 고정화처리 및 농축 기법을 적용한 그림 7(c)가 가장 높은 피크전류 값을 나타내는 것을 알 수 있다.

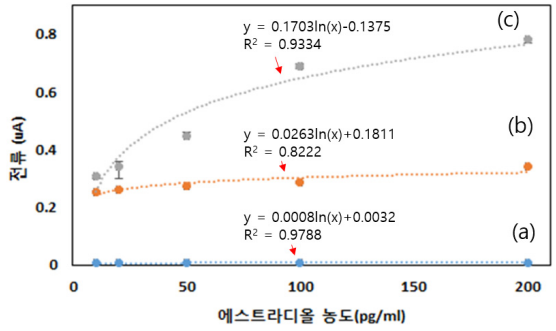

그림 7 에스트라디올 농도 별 피크 전류값 비교 검량선 (a) 순수 전극, (b) 고정화 처리 한 전극, (c) 고정화 처리 및 농축 기법 적용 전극

Fig. 7 Calibration curve of the square-wave voltammetry peak currents at the various concentration of estradiol (a) Bare Au electrodes, (b) SAM treated Au electrodes, (c) With preconcentration on the SAM treatment Au electrodes

4. 결 론

본 논문에서는 자기조립단층 형성 및 농축 기법을 이용하여 센서의 민감도 향상을 통해 낮은 농도의 에스트라디올의 검출이 가능한 단일 미소유체채널 기반의 전기화학센서를 구현하였다. 자기조립단층 기법을 이용해 금 전극 표면에 형성된 카르복시기는 아민기를 가진 에스트라디올의 항체가 달라붙을 수 있도록 하여 검출대상인 에스트라디올이 전극 표면 근처에서 고정화 될 수 있도록 하여 에스트라디올의 산화 시 전자가 전극으로 쉽게 이동될 수 있도록 하였다. 자기조립단층을 형성하여 전극 표면에 에스트라디올을 고정화시킨 전극은 아무 처리도 하지 않은 순수한 전극에 비해 에스트라디올의 산화 피크전류 값이 약 43.47 배 높게 측정되었으며, 농축 기법까지 적용한 전극의 경우에는 무려 약 100.29 배 높게 측정되었다. 자기조립단층과 농축 기법이 적용된 에스트라디올의 검출이 가능한 전기화학센서의 감도 및 재현성을 확인하기 위해 다양한 농도(10, 20, 50, 100, 200 pg/ml)의 에스트라디올을 제작된 센서에 주입하여 각 농도마다 5회씩 반복 측정하며 실험한 결과, 에스트라디올 농도가 높아질수록 산화 피크전류 값 또한 증가하였고 반복 측정 시에도 비슷한 결과를 확인할 수 있었다. 본 연구에서 제안한 자기조립단층 및 농축 기법이 적용된 미소유채채널 기반의 전기화학센서는 에스트라디올뿐만 아니라 다른 바이오-환경유해물질을 낮은 농도인 경우에도 검출할 수 있는 현장진단센서(point of care, PoC)분야에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 환경부 “차세대 에코이노베이션 기술개발사업 (GT-11-G-02-001-1)”으로 지원 받은 과제입니다.

References

[1] K.T. Liao, M. Tsegaye, V. Chaurey, C.F. Chou, N.S. Swami, “Nano-constriction device for rapid protein preconcentration in physiological media through a balance of electrokinetic forces, Electrophoresis”, *ELECTROPHORESIS*, vol. 33, pp. 1958-1966, 2012.

[2] J.H. Lee, J. Han, “Concentration-enhanced rapid detection of human chorionic gonadotropin (hCG) on a Au surface using a nanofluidic preconcentrator, Microfluid Nanofluidics”, *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 9, pp. 973-979, 2010.

[3] T. Tanaka, H. Takeda, F. Ueki, K. Obeta, H. Tajima, H. Takeyama, Y. Goda, S. Fujimoto, T. Matsunaga, “Rapid and sensitive detection of 17β-estradiol in environmental water using automated immunoassay system with bacterial magnetic particles”, *Journal of Biotechnology*, vol. 108, pp. 153-159, 2004.

[4] A. Penalver, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marce, “Method based on solid-phase microextraction - high-performance liquid chromatography with UV and electrochemical detection to determine estrogenic compounds in water samples”, *Journal of Chromatography A*, vol. 964, pp. 153-160, 2002.

[5] K. Edman, L. Svensson, B. Eriksson, P. O. Gunnarsson, “Determination of estramustine phosphate and its metabolites estromustine, estramustine, estrone and estradiol in human plasma by liquid chromatohraphy with fluorescence detection and gas chromatography and with nitrogen-phosphorus and mass spectrometric detection”, *Journal of Chromatography B*, vol. 738, pp. 267-279. 2000.

[6] J. Henion, E. Brewer, G. Rule, “Peer Reviewed: Sample Preparation for LC/MS/MS: Aanalyzing Biological and Environmental Samples”, *Anal Cemi*, vol. 70, pp. 650-656, 1998.

[7] A. Rachkov, S. McNiven, A. El’skaya, K. Yano, I. Karube, “Florescence detection of β-estradiol using a

molecularly imprinted polymer", *Analytica Chimica Acta*, vol. 405, pp. 23-29, 2000.
[8] A. J. S. Ahammad, J. J. Lee, M. A. Rahman, "Electrochemical sensors based on carbon nanotubes", *sensors*, vol. 9, pp. 2289-2319. 2009.
[9] I. N. Mefford, "Application of high performance liquid chromatography with electrochemical detection to neurochemical analysis: measurement of catecholamines, serotonin and metabolites in rat brain", *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 3, pp. 207-224, 1981.
[10] J. H. Kim, I. J. Yi, C. J. Kang, Y. S. Kim, "Disposable Microchip-Based Electrochemical Detector Using Polydimethylsiloxane Channel and Indium Tin Oxide Electrode", *The Korean Institute of Electrical Engineers*, vol. 5, pp. 227-231, 2005.
[11] S. H. Ko, Y. A. Song, S. J. Kim, M. Kim, J. Han, K. H. Kang, "Nanofluidic preconcentration device in a straight microchannel using ion concentration polarization", *Lab chip*, vol. 12, pp. 4472-4482, 2012.
[12] V. Liu, Y. A. Song, J. Han, "Capiilary-valve-based fabrication of ion-selective membrane junction for electrokinetic sample preconcentration in PDMS chip", *Lab chip*, vol. 10, pp. 1485-1490, 2010.
[13] J. H. Lee, Y. A. Song, S. R. Tannenbaum, J. Han, "Increase of Reaction rate and Sensitivity of Low-Abundance Enzyme Assay Using Micro/Nanofluidic Preconcentration Chip", *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 3198-3204, 2008.
[14] J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, "Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology", *Chemical Reviews*, vol. 105, pp. 1103-1169, 2005.
[15] D. Hlushkou, R. Dhopeshwarkar, R. M. Crooks, U. Tallarek, "The influence of membrane ion-permselectivity on electrokinetic concentration enrichment in membrane-based preconcentration units", *Lab Chip*, vol. 8, pp. 1153-1162, 2008.
[16] J. A. Manzanares, W. D. Murphy, S. Mafe, H. Reiss, "Numerical Simulation of the Nonequilibrium Diffuse Double Layer in Ion-Exchange Membranes", *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 97, pp. 8524-8530, 1993.
[17] S. J. Kim, Y. C. Wang, J. H. Lee, H. Jang, J. Han, "Concentration Polarization and Nonlinear Electrokinetic Flow near Nanofluidic Channel", *Physical review letters*, vol. 99, pp. 044501, 2007.
[18] H. Kuramitz, M. Matsuda, J. H. Thomas, K. Sugawara, S. Tanaka, "Electrochemical immunoassay at a 17β-estradiol self-assembled monolayer electrode using a redox marker", *Analyst*, vol. 128, pp. 182-186, 2003.
[19] J.E. Im, J.A. Han, B.K. Kim, J.H. Han, T.S. Park, S. Hwang, S.I. Cho, W.Y. Lee, Y.R. Kim, "Electrochemical detection of estrogen hormone by immobilized estrogen receptor on Au electrode", *Surface and Coatings Technology*, vol. 205, pp. S275-S278, 2010.
[20] D.Y. Lee, W.S. Choi, S.H. Park, Y.S. Kwon, "Electrochemical Detection of Self-Assembled Viologen Modified Electrode as Mediator of Glucose Sensor", *Jornal of Electrical Engineering & Technology*, vol. 4, pp. 106-110, 2009.
[21] N. S. Lee, J. S. Chang, Y. S. Kwon, "Determination of the NDR and Electron Transport Properties of Self-Assembled Nitro-Benzene Monolayers Using UHV-STM", *Jornal of Electrical Engineering & Technology*, vol. 1, pp. 366-270, 2006.
[22] M. M. Ngundi, O. A. Sadik, T. Yamaguchi, S. I. Suye, "First comparative reaction mechanisms of β-estradiol and selected environmental hormones in a redeox environment", *Electrochemistry communications*, vol. 5, pp. 61-67, 2003.

저 자 소 개

김 수 윤 (Suyun Kim)
2013년 광주대학교 신재생에너지공학과 졸업. 2014년～현재 고려대학교 마이크로/나노시스템 협동과정 석사 과정 재학.
E-mail : tndbs90@naver.com

한 지 훈 (Ji-Hoon Han)
2013년 고려대학교 전기전자전파공학과 석사 졸업. 2013～현재 고려대학교 전기전자공학과 박사 과정 재학.
E-mail : dafory@gmail.com

박 정 호 (James Jungho Pak)
1985년 미국 Purdue 대 전기공학과 졸업 (학사), 1988년 동 대학원.전기공학과 졸업 (석사), 1992년 동 대학원 전기공학과 졸업 (공학박사), 1992년～1995년 미국 Intel사 책임연구원, 1995년～현재 고려대 전기전자전파공학부 교수.
Tel : 02-3290-3238
E-mail : pak@korea.ac.kr