


마이크로미터 단위 화학 반응 관찰 및 분석을 위한 미세 유량 제어 장치의 순환구조 제작 연구

장원준, 이남종, 정다운, 김홍석, 정승찬, 한재희 

가천대학교 신소재공학과

Fabrication of Circulation Structures of Microfluidic Devices for Observation and Analysis of Micrometer-Scale Chemical Reactions

Wonjun Jang, Namjong Lee, Dawoon Jung, Hong-Seok Kim, Seung Chan Jung, and Jae-Hee Han
Department of Materials Science and Engineering, Gachon University, Seongnam, 13120, Korea

(Received February 25, 2022; Revised March 7, 2022; Accepted March 8, 2022)

Abstract: In-situ analyzation and detection of real-time chemical reactions can be a significant part in interpreting the underlying mechanism in very reactive chemical reactions. To do this, first we have designed a microfluidic device (MFD) pattern for observation of synthesis of hierarchical nanostructures based on graphene oxide (GO), conjugating the well-known coupling reaction by which the solution of 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC)-mediated coupling is enhanced in the presence of n-hydroxysuccinimide (NHS) to make amide bonding, hereafter called as the EDC coupling. Then, we have manufactured microfluidic devices with multiple tens of micrometer-sized channels that can circulate those nanomaterials to be chemically reacted in the channels. These microfluidic devices were made by negative photo lithography and soft lithography. We showed the possibility of using Raman spectroscopy to reveal the basic mechanism of the energy storage applications.

Keywords: Microfluidic device, EDC coupling, Real-time analysis

1. 서론

최근 연구 동향을 보았을 때 화학 및 생물학 분야에서 사용하기 위한 미세 가공 시스템의 발전이 눈에 띄게 이루어졌다. 부피가 작은 샘플에 대한 신속한 측정이 필요해짐에 따라서 많은 발전이 이루어졌다 [1]. 그러나 보다 중요한 측면에서, 기구 치수가 마이크로미터 규모로 축소될 때 물리적 프로세스를 보다 쉽게 제어하고 활용할 수 있다는 사

실에 의해 분석 시스템의 소형화에 대한 관심이 집중되었다. 이러한 시스템은 새로운 제어 패러다임을 정의하고, 처리량이 많은 합성 및 화학 생산 분야에서 분자 합성이 어떠한 방식으로 발전할 수 있는지에 대한 예측을 제공한다.

보통의 샘플들은 둥근 바닥 플라스크, 튜브, 증류 칼럼, 환류 응축기 및 증류기를 포함한다. 이것으로 알 수 있는 사실은 지난 100년 동안 실험적이고 기계적인 유기화학의 발전에도 불구하고 기본적인 실험기술과 연결장비는 거의 변하지 않았다는 것이다. 앞서 언급한 장비에서 전통적인 합성 화학을 수행하는 데는 몇 가지 이유가 있지만, bench-top chemistry와 관련된 것보다 5~9배 적은 양으로, 또한 다조건으로 화학적 실험을 수행하는 것은 지금의 실험 방식보다 큰 실험적 이득을 가져다줄 것이 자명하다.

✉ Jae-Hee Han; jhhan388@gachon.ac.kr

Copyright ©2022 KIEEME. All rights reserved.
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.

Microfluidic device의 실현은 반도체 기업에서 배양된 기술의 적용으로부터 시작되었는데, 마이크로미터, 나노미터 규모의 분자 반응을 효율적으로 작동, 처리 및 분석할 수 있는 새로운 플랫폼의 생성을 가능하게 했다. 비록 microfluidic device의 플랫폼으로서의 효율성이 이제 막 주목받고 발전하기 시작했지만, 소형화로 인한 플랫폼의 장점은 집적회로가 지난 50년 동안 컴퓨터의 혁명을 이끌었던 방식으로 분자 합성에 지대한 영향을 미칠 것이다.

본 연구에서는 EDC coupling 반응을 구현하기 위한 microfluidic device를 제작하고, 반응이 진행 중인 동안 EDC coupling 반응에 해당하는 Raman peak를 검출하는 순환 구조를 제작하였다 [2,3].

2. 이론적 배경

2.1 EDC coupling reaction

1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC)는 염산염의 일종이며, 가용성 카르보디이미드이다. 이것은 에스테르를 활성화하고 아민을 카르복실산에 결합하는 EDC coupling reaction 실험에 주로 사용된다. 특히 큰 분자의 경우 N-hydroxysuccinimide (NHS)를 사용하여 카르복실산을 활성화하는 특징이 있다.

2.2 Microfluidic device

2.2.1 Photo lithography

Photo lithography는 기판이나 박막의 일부를 미세 패턴화하는 데 사용되는 공정이다 [4]. Photo lithography에는 두 가지의 방법이 있는데, 하나는 Positive photo lithography, 다른 하나는 negative photo lithography이다. 이 중에서 우리는 negative의 방법을 선택하였다 [5,6]. Negative photo lithography의 경우 현상액의 흡수로 인해 현상 과정에서 감광제의 부피가 커져 해상도가 떨어지기 때문에, 반도체 및 디스플레이와 같은 정밀한 가공이 필요하지 않은 유체소자 모드를 제작하는 데 일반적으로 사용된다. Negative 감광제의 경우 일반적으로 SU-8 제품을 사용하는데, 점성이 뛰어나 미세유체 모드를 제작하는 데 적합하기 때문이다 [5,7]. 그림 2는 negative photo lithography의 공정 과정을 보여준다. 기판 위에 감광제를 스핀 코팅하고, photo aligner를 통해 공정을 진행하는 방식이다.

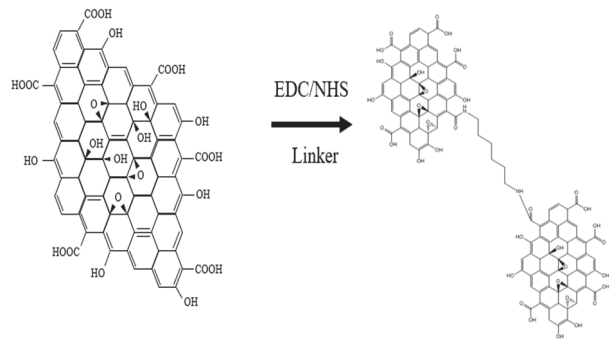


Fig. 1. Mechanism of EDC coupling reaction.

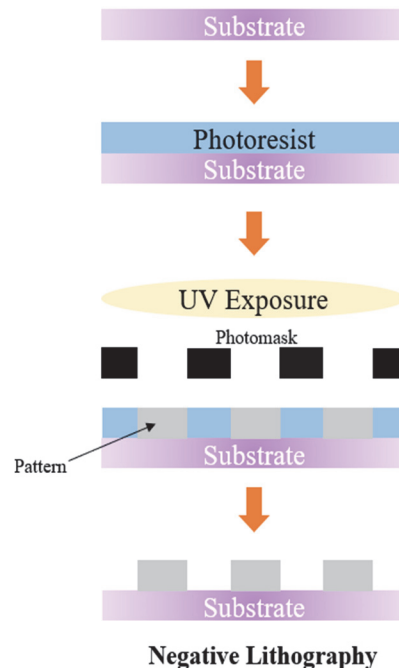


Fig. 2. Process sequence of negative photo lithography.

2.2.2 Soft lithography

Soft lithography는 PDMS (Polydimethylsiloxane)와 같은 탄성이 높은 재료를 사용하여 마이크로 패턴을 제작하기 위해 사용한다. 이것은 생명공학에서 미세유체장치로 이용되고 있으며, 일반적으로 lab on chip으로 사용된다 [8]. 이러한 플랫폼은 매우 적은 수의 샘플로 단기간, 다중 조건 기반으로 실험을 수행할 수 있다는 장점이 있다 [9].

그림 5는 soft lithography의 공정 과정을 설명한다. 미세유체 장치를 만들려면 먼저 패턴화된 PDMS를 만들어야 한다. 패턴화된 PDMS는 먼저 패턴화된 기판 위에 sylgard-184와 경화제를 10:1의 비율로 혼합한 용액을 부

은 다음 열을 가해 만들어진다. 미세유체장치는 패턴화된 PDMS와 quartz glass에 산소 플라즈마 표면 처리를 적용하여 수산기(-OH)로 변환하고, 따라서 결합될 수 있도록 하여 제작이 완료된다 [10,11].

2.3 Oxygen plasma bonding

플라즈마 클리너는 미세유체장치의 제조와 미세 채널에서 유용한 표면 기능을 제공하기 위해 광범위하게 사용된다 [14]. Oxygen plasma는 산소 함유 작용기를 생성하여 궁극적으로 실라놀기(SiOH)가 있는 장치 표면을 생성한다 [12]. 접촉하게 되면 실라놀 그룹이 반응하여 결합을 제공하는 실록상 브리지(Si-O-Si)를 형성한다 [13,16]. 이러한 결합 외에도 플라즈마 처리를 하게 되면 친수성을 증가시켜 마이크로 채널의 유체 흐름을 개선하게 되는 효과도 존재한다 [15].

2.4 Raman spectroscopy

빛이 매질을 통과할 때 가시광선의 특정 부분이 진행방향에서 벗어나 다른 방향으로 진행하도록 빛의 파장이 변하는 현상을 산란이라고 하고, 빛의 파장이 변경된 것을 라만 산란이라고 한다. 산란광 강도의 스펙트럼을 주파수에 따른 띠 또는 일련의 피크로 사용하는 라만 분광법은 분자의 진동 스펙트럼을 측정하여 분자의 진동 구성을 분석하거나 물질의 적격 및 질량 분석에 사용된다 [17].

이 라만 산란 효과를 통해 입사광선이나 물질 사이에 에너지 교환이 발생한다. 흡수되거나 방출되는 에너지는 각 물질의 분자 구조와 밀접한 관련이 있으며, 라만 산란으로부터 산란된 빛은 각 물질에 정의되어 있으므로 산란된 빛을 분석하는 것은 특정 분자 구조를 감지하는 효과적인 방법으로 사용되고 있다.

3. 실험 방법

Microfluidic device (MFD)는 negative photolithography 및 soft lithography 공정을 통해 생산하였다. EDC coupling 반응 패턴은 Auto CAD-2D를 이용하여 설계하였다. 총 21개의 패턴이 있다. 어떠한 패턴은 유체가 들어가고 나올 입구와 출구가 존재하는 단방향 채널이다. 또 다른 패턴은 출구가 없고 입구가 하나만 있는 채널이다. Graphene oxide (GO), EDC, NHS 및 linker 용액을 주입하기 위한 4개의 입구가 있는 패턴은 10개가 존재하고,

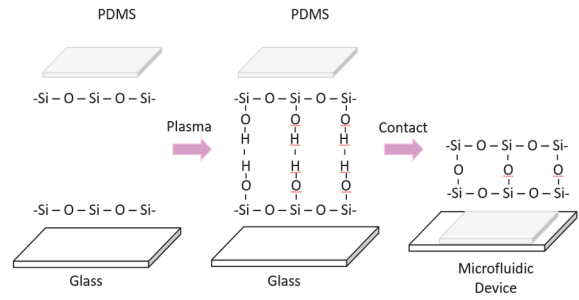


Fig. 3. Oxygen plasma bonding process to fabricate microfluidic device.

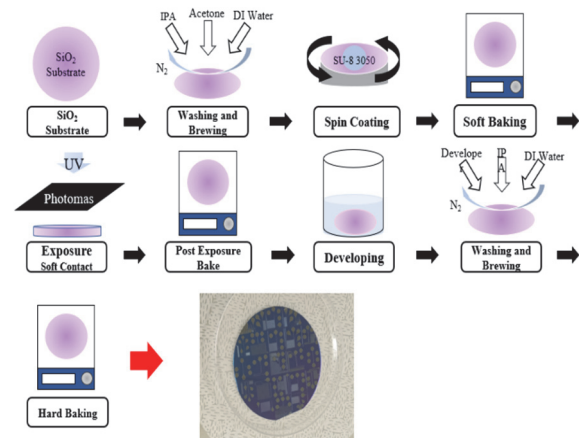


Fig. 4. Process of fabricating Si wafer mold through negative photolithography.

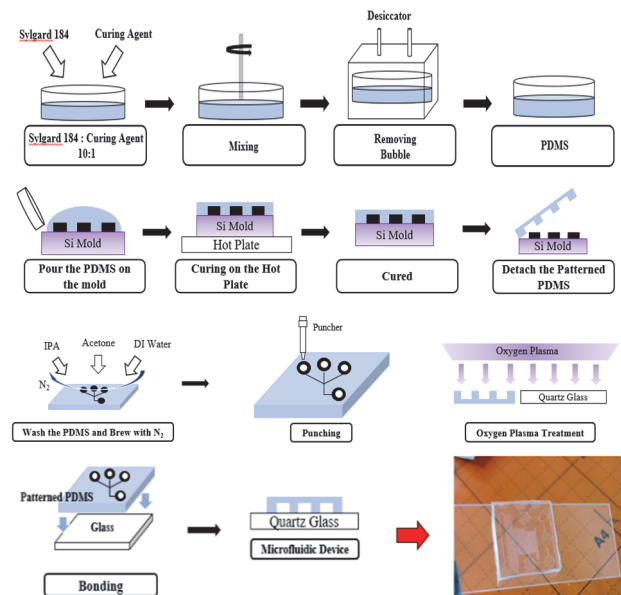


Fig. 5. Process of soft lithography to fabricate microfluidic device.

그중 몇 가지의 패턴을 선별하여 실험을 진행하였다.

EDC coupling 반응은 가장 잘 일어나는 반응이다. 비커에서 EDC coupling을 진행했을 때, EDC가 GO에 주입되자마자 즉시 벌크 반응이 일어났기 때문에, syringe pump를 사용하여 커플링 된 용액을 MFD에 주입하는 방식을 택하였다. MFD와 syringe pump 사이의 연결이 필요하여 입구, 출구와 syringe 바늘에 맞는 teflon tube를 준비하여 연결하였는데, GO의 크기가 teflon tube 내부와 패턴 내부의 흐름을 차단할 정도로 커졌다. 따라서 우리는 GO와 EDC가 MFD에 주입될 때까지 혼합되지 않아야 한다고 결론지었다.

그림 6은 제작하였던 순환구조에 대한 그림이다. Syringe를 3개를 사용하여 용액이 MFD 내로 주입되기 전 섞이는 것을 방지하였고, teflon tube와 Masterflex를 활용하여 용액을 흐르게 하였으며, 순환 펌프를 이용하여 tube에 용액이 다 찼을 때 구조 내에서 순환할 수 있게끔 설계하였다.

먼저, GO, EDC+NHS, linker의 각 용액을 3개의 주입구에 주입한 다음 MFD의 패턴을 채우고, 배출구로 나갈 때까지 용액을 주입하여 전체 튜브를 완전히 채운다.

그 다음으로 (a) syringe pump와 연결된 teflon tube를 빼내고, (b) Masterflex와 연결하여 순환구조가 완성되도록 하였다. 하나의 입구와 하나의 출구로 순환이 충분하고, 다른 입구는 출구처럼 작동하기 때문에 2개의 입구는 밀봉 처리하였다.

마지막으로 순환 펌프를 작동시켜 용액을 패턴과 튜브를 통해 순환시킨다.

MFD 내에서 EDC coupling 반응이 발생하였는지를 측정하기 위해 532 nm 레이저와 라만 분광기를 이용하였다. 그림 7 처럼 syringe 를 통하여 용액을 MFD 내에 주입한

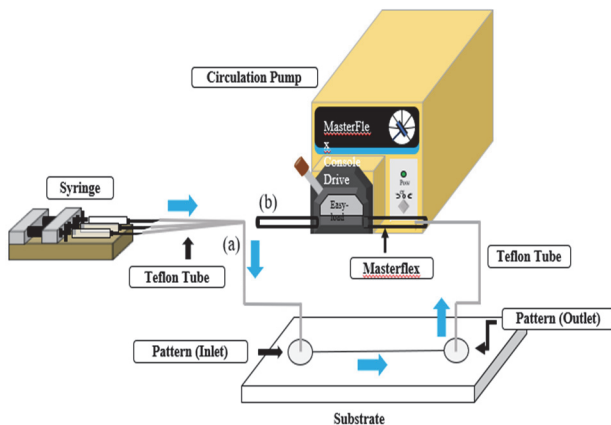


Fig. 6. Scheme of circulation structure (until fully fill up) [(a) teflon tube connected with syringe pump and (b) masterflex].

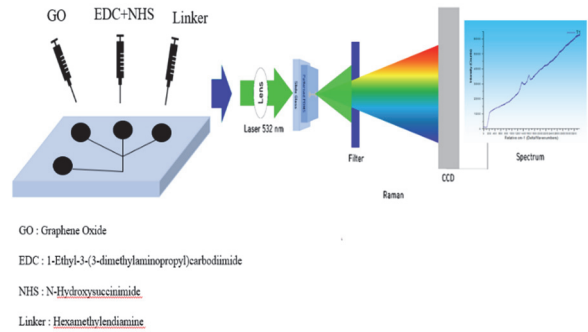


Fig. 7. Configuration of Raman spectroscopy for sample.

후, Raman spectroscopy를 통하여 반응이 이루어졌는지 측정하였다. 반응이 성공적으로 발생하였다면 D peak의 증가하는 것으로 GO의 구조가 sp^2 (2차원 구조)에서 sp^3 (3차원 구조)로 되었음을 알 수 있기 때문에, I_D/I_G 의 비율이 증가해야 한다.

4. 결과 및 고찰

MFD를 제작할 때, 몇 가지 패턴을 선정해야만 하였다. 선택된 패턴은 입구와 출구가 모두 있고, 입구에서 용액을 주입할 시에 용액이 채널을 통과하기 전에 서로 섞이지 않아야 한다는 조건을 만족한다.

총 4개의 패턴이 선택되었고, 각각의 패턴을 실험하여 어떤 패턴이 순환구조에 적합한지 검증하였다.

패턴 1, 2, 3은 구조상의 문제로 인해 순환구조에 적합하지 않았다. 패턴 1은 모든 inlet과 outlet이 연결되어 있어 용액 주입에 어려움을 겪었고, 패턴 2는 inlet으로부터 용액을 주입하는 시기가 달라 현재 장비로는 동시 주입이 불가능하였다. 패턴 3은 inlet에 비해 outlet의 크기가 작아 teflon tube와 호환되지 않아 실험을 진행하기 어려웠다. 패턴 4만이 용액을 적절히 순환시킬 수 있었다.

Soft lithography로 제작된 patterned PDMS의 채널 폭의 크기는 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 측정했다. 디자인했던 채널 폭의 크기와 거의 일치함을 확인할 수 있었다.

Si wafer는 negative photolithography에서 기판으로 사용되었다. 그림 6의 표는 Si wafer의 채널 두께가 이상적인 두께와 매우 유사함을 보여준다. 이는 negative photolithography를 사용한 MFD의 제작이 성공적으로 완료됐음을 의미한다.

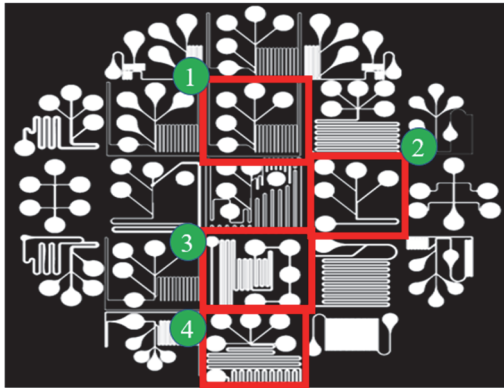


Fig. 8. 4 selected patterns (pattern number 1, 2, 3, and 4).

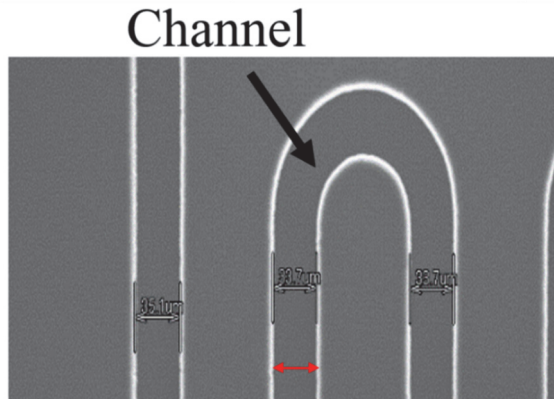
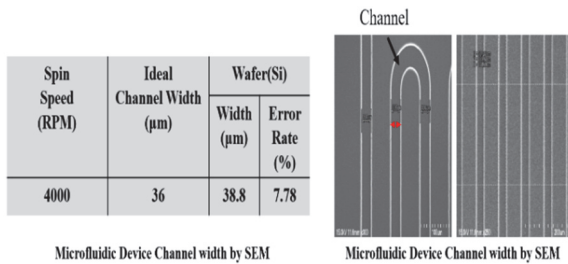


Fig. 9. Microfluidic device channel width by SEM and table with Ideal width.

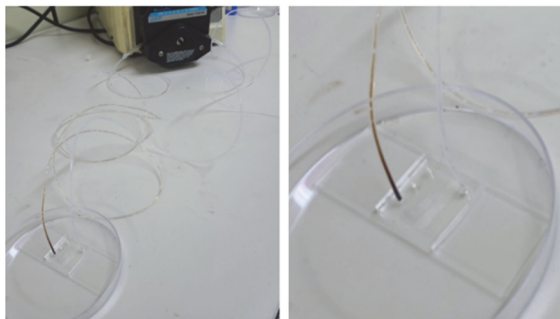


Fig. 10. Performing circulation with MFD.

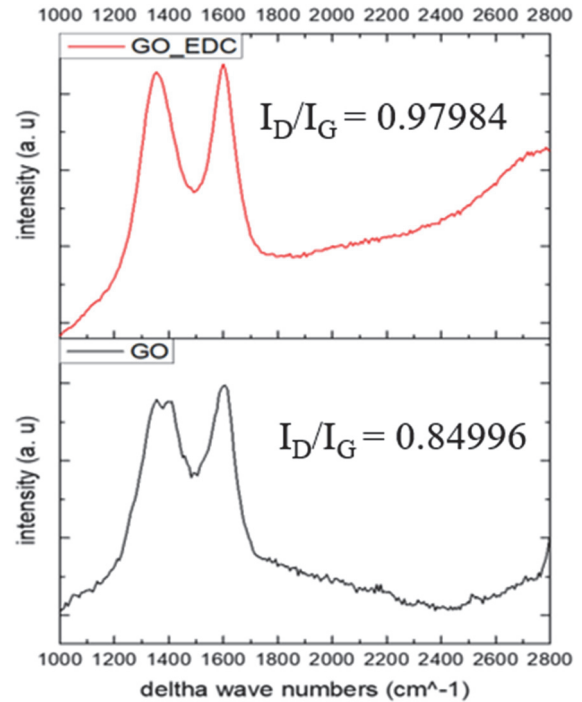


Fig. 11. Raman spectrum of GO, GO_EDC coupled solution and I_D/I_G ratio.

실험 설계에 따라 GO, EDC+NHS 및 linker 각 용액을 MFD에 주입한 후 용액이 패턴 및 튜브에 가득 차면 펌프를 작동시켜 순환을 수행하였다. 순환 구조는 처음 syringe pump로 용액을 주입한 후, inlet, pattern을 거쳐 outlet으로 빠져나와 teflon tube와 순환 펌프에 물려 있는 Masterflex에 용액이 모두 차면 순환펌프를 작동하여 용액이 구조 내에서 순환하도록 제작하였다. 순환 후 Raman spectroscopy를 이용하여 MFD 내부를 측정하였다.

GO (10 mg/ml) 용액을 MFD에 주입하여 라만 분광기가 내부의 GO를 측정할 수 있게끔 하였다. 그림 8은 D peak과 G peak의 결과에 따라 Raman spectroscopy가 GO를 성공적으로 측정했음을 보여준다.

그 다음 GO_EDC 용액을 주입하고 몇 분 동안 순환시킨 후 용액의 Raman spectrum을 측정하였다. Raman spectrum에서 우리는 GO만 측정했을 때와 비교하여 EDC coupling 반응 후에 I_D/I_G 비율이 0.84996에서 0.97984로 약간 증가했음을 발견했다. 이 결과를 바탕으로 MFD 내에서 EDC coupling 반응이 성공적으로 진행되었음을 확인할 수 있었다.

5. 결론

MFD 채널에 GO 용액을 주입하여 Raman spectrum을 측정할 때, PDMS와 유리로 인해 더 큰 오차를 볼 수 있었다. 그러나 D peak와 G peak의 존재를 통해 GO의 존재를 확인하는 데 성공하였고, 이를 바탕으로 I_D/I_G 비율을 비교하여 EDC coupling 반응 또한 이루어졌음을 측정하였다.

이는 화학반응의 real-time analysis의 가능성을 보여 주었고, 화학 반응의 시간 경과에 따른 분석을 통해 반응의 정도와 양을 정밀하게 제어하고 필요한 부분에 적용할 수 있을 것이다.

ORCID

Jae-Hee Han

<https://orcid.org/0000-0002-2676-4442>

감사의 글

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No.2020R1A4A407983711 and No.2021R1F1A106137611).

REFERENCES

- [1] A. J. deMello, *Nature*, **442**, 394 (2006). [DOI: <https://doi.org/10.1038/nature05062>]
- [2] S. Sayyar, E. Murray, S. Gambhir, G. Spinks, G. G. Wallace, and D. L. Officer, *JOM*, **68**, 384 (2016). [DOI: <https://doi.org/10.1007/s11837-015-1549-7>]
- [3] J. P. López-Alonso, F. Díez-García, J. Font, M. Ribó, M. Vilanova, J. M. Scholtz, C. González, F. Vottariello, G. Gotte, M. Libonati, and D. V. Laurents, *Bioconjugate Chem.*, **20**, 1459 (2009). [DOI: <https://doi.org/10.1021/bc9001486>]
- [4] U. Okoroanyanwu, T. Shimokawa, J. D. Byers, D. R. Medeiros, C. G. Willson, Q. J. Niu, J.M.J. Frechet, and R. D. Allen, *Proc. Microlithography '97*, **3049** (SPIE, Santa Clara, USA, 1997) p. 92-103. [DOI: <https://doi.org/10.1117/12.275867>]
- [5] E. F. Reznikova, J. Mohr, and H. Hein, *Microsyst. Technol.*, **11**, 282 (2005). [DOI: <https://doi.org/10.1007/s00542-004-0432-1>]
- [6] U. Okoroanyanwu, *Chemistry and Lithography* (Bellingham, WA: SPIE, 2010) p. 195.
- [7] T. Aida, Y. Hanbu, and T. Kato, *Proc. SPIE Photonics Europe*, **6993** (SPIE, Strasbourg, France, 2008). [DOI: <https://doi.org/10.1117/12.782157>]
- [8] H. Lorenz, M. Despont, N. Fahrni, J. Brugger, P. Vettiger, and P. Renaud, *Sens. Actuators, A*, **64**, 33 (1998). [DOI: [https://doi.org/10.1016/s0924-4247\(98\)80055-1](https://doi.org/10.1016/s0924-4247(98)80055-1)]
- [9] S. H. Huang, W. H. Tan, S. Takeuchi, and F. G. Tseng, *Proc. 2007 IEEE 20th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)* (IEEE, Hyogo, 2007) p. 449. [DOI: <https://doi.org/10.1109/memsys.2007.4433068>]
- [10] D. Mark, S. Haeberle, G. Roth, F. Von Stetten, and R. Zengerle, *Microfluidics Based Microsystems* (Springer, Dordrecht, 2010) p. 305. [DOI: https://doi.org/10.1007/978-90-481-9029-4_17]
- [11] V. Srinivasan, V. K. Pamula, and R. B. Fair, *Lab Chip*, **4**, 310 (2004). [DOI: <https://doi.org/10.1039/b403341h>]
- [12] M. A. Eddings, M. A. Johnson, and B. K. Gale, *J. Micromech. Microeng.*, **18**, 067001 (2008). [DOI: <https://doi.org/10.1088/0960-1317/18/6/067001>]
- [13] K. Kim, S. Park, J. B. Lee, H. Manohara, Y. Desta, M. Murphy, and C. H. Ahn, *Microsyst. Technol.*, **9**, 5 (2002). [DOI: <https://doi.org/10.1007/s00542-002-0194-6>]
- [14] S. Bhattacharya, A. Datta, J. M. Berg, and S. Gangopadhyay, *J. Microelectromech. Syst.*, **14**, 590 (2005). [DOI: <https://doi.org/10.1109/jmems.2005.844746>]
- [15] M. A. Eddings, M. A. Johnson, and B. K. Gale, *J. Micromech. Microeng.*, **18**, 067001 (2008). [DOI: <https://doi.org/10.1088/0960-1317/18/6/067001>]
- [16] S. H. Tan, N. T. Nguyen, Y. C. Chua, and T. G. Kang, *Biomicrofluidics*, **4**, 032204 (2010). [DOI: <https://doi.org/10.1063/1.3466882>]
- [17] P. Rostron, S. Gaber, and D. Gaber, *Laser*, **21**, 24 (2016).