

## 초소형 분석장치 구축을 위한 검출기법의 연구동향

(본고는 Recent developments in detection methods for microfabricated analytical devices, On line news letter of Lab-on-a-Chip.com, 2001, 1, 1-6 에서 발췌 번역된 내용입니다.)

1990년대 초  $\mu$ TAS(Total Analytical System)으로 불리워지는 전기영동 분리장치를 위한 미세채널(micromachined channel)을 적용한 초소형 분석장치에 대한 개념이 도입된 이후부터 초소형 분석장치 기술은 반도체 공정에 사용되는 기법을 적용함으로써 인해 비교적 단기간내에 많은 발전을 이룩해왔다[1]. 이 기술은 기존에 사용되고 있는 모세관 전기영동기법과 비교해 보았을 때 분석시간의 현저한 단축이 이루어짐이 보고되고 있다. 모세관 전기영동기법도 HPLC에 비해 적은양의 시료를 소비하고 빠른 분석을 자랑하지만 초소형화된 시스템에 적용된 모세관 전기영동은 더 뛰어난 성능을 갖는다. 부피가  $25\mu\text{l}$  밖에 안되는 채널에서도 단백질을 쉽게 분리할 수 있으며, 한 개의 모세관을 이용하는 대신 병렬의 구조로 여러 채널을 사용할 수도 있다. 많은 경우, 형광검출기법의 높은 감도특성이 미량시료의 검출에 유리하기 때문에 형광검출기법이 현재까지 적용되고 있으나, 다양한 검출기법이 시도되고 있고, 범용 상업적 기기에 기반한 시료검출이 현재까지 많이 구현되어 왔다. 분석하고자 하는 시료는 대부분 그 자체내에 형광특성을 지니고 있지 않으며, 형광검출을 위해서는 작용기 치환이 선행되어야 한다. 형광검출기법의 성패는 분석하고자 하는 대상 시료의 성질이 생화학적으로 적절한 물질인가의 여부와 아미노산 및 관련 화학종이 형광작용기(예 fluorescein isothiocyanate)에 잘 치환될 수 있어야 한다. DNA의 경우는 표식자를 쉽게 끼워넣을 수 있으나, 다른 분석종의 경우, 제시된 기술은 쉽게 구현될 수 없으며 일반적인 접근방법으로 간주되지 않는다. 초소형 분석장치의 응용범위를 확대하기 위해서는 현재까지 사용된 기법이 아닌 다른 검출기법에 주목할 필요가 있다. 이러한 이유는 현재까지 제시된 형광검출장치의 소형화를 현실적으로 구현해 내기 어려운 부분이 많기 때문이다. 많은 연구들이 전기화학적 검출기법을 중심으로 수행된 바 있다. 전기화학적 검출기법은 신호변환에 대해 직접적인 접근방법을 제시한다는 점에서 많이 선호되고 있다. 본 고에서는 이러한 전기화학기법을 이용한 측정기법에 대해 살펴본다.

### 전기화학적 검출기법(Electrochemical Detection Methods)

모든 전기 화학적 검출기법을 위해 화학적 신호는 직접적으로 전극을 통해 전기적 신호로 변환된다. 따라서 전체 시스템의 구조를 간단하게 할 수 있고, 향후 목적하는 소형화와 잘 부합될 수 있다. 반면, 실제 모세관전기영동분석을 위한 상업적 기기들은 형광분석

기법 또는 자외선 흡광분석기법을 대부분 기초로 하고 있다. 전체적으로 모세관 전기영동을 위해 인가되는 높은 전압과 분석물질의 분석을 위해 적용되는 민감한 전극의 적용이 서로 상충되는 것으로 간주되기 때문에 전기화학적 검출기법이 결합되기 어려운 것으로 생각되어 질 수 있고, 소형화 목적도 실험실 수준에 한정된 것으로 받아들여질 수 있다. 그러나 아래와 같이 구현하고자하는 높은 인가전압과 서로 간섭되지 않는 검출셀(detector cell)의 적절한 설계를 통해 이러한 문제를 해결할 수 있다. 이러한 기법들은 최근들어 기존 모세관 전기영동기법과 결합되어 점차 널리 사용되는 추세이며, 현재까지 축적되고 있는 많은 know-how가 칩(chip)형태의 초소형화를 구현할 것으로 전망된다.

### 전류측정법(Amperometry)

전류측정기법은 전극에서 분석하고자 하는 물질의 산화 또는 환원을 통한 전류의 흐름을 측정하는 것을 기초로 하고 있다. 전류측정법은 일반적으로 우수한 감지능을 가지고 있으나, 전기활성(electroactive)물질만으로 한정되는 단점이 있다. 기존에 이용되는 모세관 전기영동기법과 전기화학적 검출기법을 결합시킨 연구가 다수 보고되어 있으며, 미세 채널(microchannel)에 기반한 분석장치의 구현도 성공사례가 보고되어 있다.

시료 검출을 위해 인가된 전기장에 의해 발생하는 간섭현상을 제거할 수 있는 방법으로 검출기 앞면에 디커플러(decoupler)장착하여 이용한다. 디커플러는 전기영동에 사용되는 접지전극(ground electrode)과 접촉하고 있는 다공성 물질로 구성된다. Rossier 등[2]과 Chen 등[3]은 이러한 기법을 마이크로 머쉬닝(micro-machining)된 전기영동칩에 적용하였고, 모델물질을 사용하여 성능을 시험하였다. 반면에 다수의 연구자들은 전기적 간섭현상을 제거하기 위해 보다 간단한 기법을 적용하였다. 그 결과 검출전극앞 채널 횡단면이 급격히 확장된 전극구조를 적용하는 것이 전기영동전압에 의한 간섭현상을 효율적으로 차단할 수 있음이 밝혀졌다. 이것은 용액상에서 작용전극과 접지전극 사이에 낮은 저항을 유도하여 검출전극(detector electrode)에 소요되는 전압을 최소화 할 수 있음을 의미한다. 이러한 접근은 전류검출기법을 초소형 분석장치에 이전하려는 다수의 연구 그룹들이 선호하는 접근법이다.

Woolley 등은 전기영동을 위한 유리칩(glass chip)위에 패터닝된 백금전극상에 DNA 단편들과 신경전달물질의 검출을 수행하였다. Liu 등은 초소형 전기영동 칩(electrophoretic microchip)구성을 위한 동적 표면코팅의 효과에 관한 연구를 수행하던 도중 금전극위에서 hydroquinone과 dopamine을 검출하였다. Lunte와 공동연구자들은 전류측정전극이 결합된 여러 장치들을 소개하였고, 다양한 생화학적 물질군의 분리검출을 수행하였다[4]. 그들은 탄소전극(carbon electrode)을 마이크로 머쉬닝된(micro-machined) 분리 장치와 결합시키는 기법을 개발하는데 성공하였으며[5], 두 개의 전극을 이용한 측정기법도 소개하였다[6]. 전극물질로서 탄소는 넓은 양극 전위창(anodic potential window)으로 매우 유용

하나, 일반적인 미세가공기법으로는 가공되지 않는 단점이 있다. 쌍전극(dual electrode)을 이용한 검출기법은 전극들이 여러 다른 전위에 놓여있을 때 분석물질에 관한 다양한 정보를 얻을 수 있다.

전기영동분석장치에 직접적으로 검출전극을 결합시키는 것 대신에 Wang과 공동연구자들, 그리고 Hilmi와 Luong은 다른 구성을 고안해냈다. 분석채널(separation channel)은 분석기기의 끝 부분에서 넓게 확장되어 외부측정셀이 말단부분과 함께 적절한 각도로 정렬될 수 있다. 이러한 접근법은 한층 복잡한 시스템을 요구하고 사용자에게 의한 정렬작업을 필요로 하나, 채널 시스템(channel system)의 마이크로 머쉬닝과 양립될 필요가 없을 뿐더러 전체분리과정을 거친 후 분리장치를 교체하지 않아 측정전극을 재활용할 수 있는 장점이 있다. 일반적으로 측정전극의 수명은 분리장치의 수명보다는 짧기 때문에, 교체가 가능한 외부 검출셀(detector cell)이 더욱 선호된다. 물론 전체 분석기기의 대량생산을 통해 제조원가를 낮출 경우 이러한 고려사항은 제외된다. Wang과 공동연구자들은 개발된 분리장치를 이용하여 화학적, 생화학적 유해 물질 및 환경오염물질을 측정하는 여러 응용사례를 소개하였다[7]. Hilmi와 Luong 또한 trinitrotoluene(TNT)과 유도체의 측정을 수행하는 연구결과를 발표하였다.[8]

또한, Wang과 공동연구자들은 아미노산을 금 작용전극(gold working electrode)에서 측정가능하도록 하기 위해 예비컬럼(pre-column)이 결합된 형태의 분석장치를 고안하였다. 또한 최근 이들은 고정된 전류측정기법을 전위차 측정기법으로 확장하는 연구를 수행중에 있다. 이 기법은 분석물질의 산화환원 포텐셜(redox potential)에 관한 정보를 제공할 뿐만 아니라, 양극성 제거 전위측정법(anodic stripping voltametry)과 같은 전해질을 이용한 기법을 응용하여 감도를 향상시킬 수 있다.

Schwarz 등은 최근 전기화학적 측정전극(amperometric detector electrode)과 전기영동 접지전극(electrophoretic ground)에 기초한 간단한 형태의 측정기법의 사용가능성을 보였다[9]. 접지전극은 검출기에 카운터(counter)와 유사기준(pseudo-reference)전극으로 작용한다. 단순, 소형화의 관점에서 기존 기준전극을 제거하는 것은 내부 전해질 용액과 액체 접합에 요구되는 장치를 단순화시킬 수 있다는 점에서 중요하다. 그들은 탄수화물과 아미노산의 칩상(on-chip) 검출을 위해 구리전극의 응용사례를 보고하였으나 다양한 생화학적 물질의 칩상에서의 신속한 키랄(chiral)분리를 위한 전류측정기법의 응용 및 다른 물질에 기초한 전극에서는 그다지 좋은 결과를 보여주지 못했다. Fig. 1은 제시된 기법을 이용한 두 전극의 성능을 비교제시하고 있다.

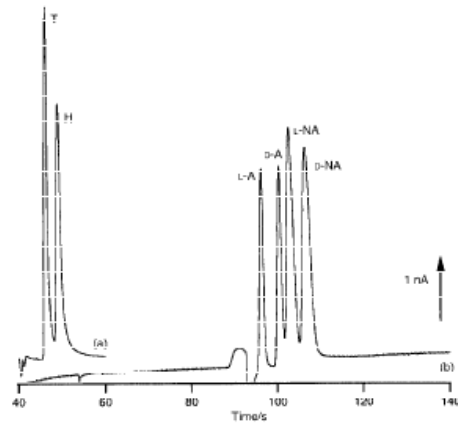


Fig. 1. Two electropherograms illustrating amperometric on-chip detection. (a) Direct detection of the amino acids tryptophan (T) and histidine

(H) at copper electrode. (b) Rapid chiral separation of adrenaline (A) and noradrenalin (NA) employing a cyclodextrin with detection at a gold electrode.

### 전도도 측정법(Conductimetry)

전도도 측정 기법을 이용한 검출법은 칩을 기반한 분석기술에 상당수 시험되어 왔고, 무기 이온 검출에 특히 잘 적용될 수 있는 것으로 알려져 있다. 최근 기존 모세관 전기영동 기법에 전도도 검출 기법을 응용한 사례가 다수 보고되고 있다. Glass와 공동연구원들은 polymethylmethacrylate (PMMA) 내 장치 구축을 위해 마이크로 머쉬닝 기법의 응용 사례를 보고한 바 있다[10]. 이 장치들은 기존의 가공(machining) 기법을 이용하여 isotachopheresis를 위한 채널에 기반한 시스템의 소형화 분석 장치로 간주될 수 있다. 개발된 마이크로 머쉬닝 장치들은 기존 장치들과 거의 비슷한 성능을 보였다. Prest 등은 isotachopheresis를 위한 유사한 장치를 고안하였는데, 소위 포텐셜 구배 기술(potential gradient technique)를 이용하여 시료의 검출이 수행되었다[11]. Isotachopheresis 기술은 그 높은 감지 영역 때문에 널리 수용되는 기술은 아니지만, 소형 장치 구축을 가능하게 한다면 실용 가능성이 있으리라 예상된다. Guijt 등은  $\mu\text{M}$  미만 영역에서 유기산의 측정을 가능하게 하는 집적화된 전도도 측정 장치와 결합된 전기영동 분석 기법을 소개하였다[12]. 결과를 Fig. 2에 소개한다.

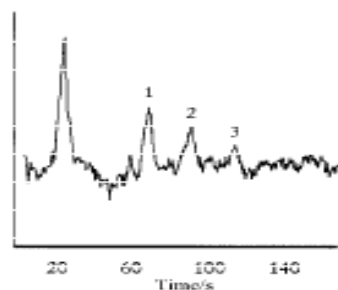


Fig. 2. Conductimetric detection of fumaric (1), malic (2) and citric (3) and (all at  $10 \mu\text{M}$ ) on a microfabricated electrophoresis device.

## 전위측정법(Potentiometry)

미세가공된 흐름채널(flow channel)내 소형화 이온선택성 전극(ion-selective electrode)을 기반으로 한 전위측정기법을 이용한 검출기술은 Manz 와 공동연구원들에 의해  $Ba^{2+}$  이온의 측정을 위해 개발되었다. 일련의 이온검출을 위해 특별한 멤브레인 막이 사용되었다. 그러나 이러한 종류의 측정시스템은 표준 모세관 전기영동기법에서 널리 사용되지 못하였다. 그러나 낮은 전도도를 가지며 광학적 측정기법으로는 측정이 불가능한 시스템에 대해 꾸준히 개발이 진행되고 있다.

## 결언

앞서 소개한 바와 같이, 칩상(on-chip) 소형 분석장치를 구현하기 위한 여러 가지 기법이 제시되고 있다. 그러나 현재까지 제시된 전기적 분석기법은 상당히 초보적인 수준에 머물러 있으며, 많은 경우, 검출기의 성능을 평가하기 위한 화학물질들이 단지 수 종류에 한정되어 왔다. 그러나 낮은 검출 부피에서도, 검출한계가 점진적으로 개선되고 있음이 보고되고 있다. 따라서 전류측정법(amperometry), 전도도측정법(conductimetry)등의 전기적 검출기법이 현재 직, 간접적인 형광물질에 의존하는 검출기법을 대체할 수 있을 것으로 전망되고, 앞으로도 활발한 연구활동이 전개되리라 예상된다.

## References

1. D.J. Harrison, A. Manz, Z. Fan, H. Ludi and H.M. Widmer, *Anal. Chem.*, 1992, **64**, 1926.
2. J.S. Rossier, R. Ferrigno and H.H. Girault, *J. Electroanal. Chem.*, 2000, **492**, 15.
3. D.C. Chen, F.L. Hsu, D.Z. Zhan and C.H. Chen, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 758
4. R.S. Martin, A.J. Gawron, B.A. Fogarty, F.B. Regan, E. Dempsey and S.M. Lunte, *Anlayst*, 2001, **126**, 277.
5. A.J. Gawron, R.S. Martin and S.M. Lunte, *Electrophoresis*, 2001, **22**, 242.
6. R.S. Martin, A.J. Gawron, S.M. Lunte and C.S. Henry, *Anal. Chem.*, 2000, **72**, 3196.
7. J. Wang, M.P. Chatrathi and B. Tian, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 1296.
8. A. Hilmi and J.H.T. Luong, *Anal. Chem.*, 2000, **72**, 4677.
9. M.A. Schwarz, B. Galliker, K. Fluri, T. Kappes and P.C. Hauser, *Analytst*, 2001, **126**, 147.
10. B. Grass, A. Neyer, M. Johnck, D. Siepe, F. Einsenbeiss, G. Weber and R.

Hergenroder, *Sens. Actuators, B*, 2001, **72**, 249.

11. J.E. Prest, S.J. Baldock, P.R. Fielden and B.J. Traves Brown, *Analyst*, 2001, **126**, 433
12. R.M. Guijr, E. Baltussen, G. van der Steen, R.B.M. Schasfoort, S. Schlautmann, H.A.H. Billiet, J. Frank, G.W.K. van dedem and A. van den Berg, *Electrophoresis*, 2001, **22**, 235