

< 논문 >

자기영동을 이용한 자성입자 분리 마이크로 칩 제작 및 성능평가

고 정 상*

(2007년 1월 15일 접수, 2007년 3월 14일 심사완료)

Fabrication and Performance Evaluation of a Micro Separation Chip of Magnetic Beads Using Magnetophoretic Flow

Jeung Sang Go

Key Words : Magnetic Bead(자성입자), Separation(분리), CoNiP Alloy(CoNiP 합금)

Abstract

We developed a microfluidic platform able to control the trap and release of magnetic beads used for separation of a specific biomolecules. The magnetic beads can be trapped and released conditionally by controlling the difference between the Stokes force induced by the fluid flow and magnetic force resulting from a permanent magnet. The permanent magnet of CoNiP alloy is electroplated. It is characterized to have the 1369 Oe of coercivity, 1762 Gauss of remanence, and 0.603MGOe of (BH)max. Through the experimental and numerical investigation, the magnetic beads are trapped under the flow velocity of 17 $\mu\text{m/s}$ and are released perfectly above the velocity of 174 $\mu\text{m/s}$.

기호설명

- B : 자기장의 세기 [Wb/m^2]
- F : 자기력 [N]
- U : 자성입자의 자기에너지 [Oe]
- V : 자성입자 부피 [m^3]
- r : 자성입자의 반경 [m]
- u : 입자에 작용하는 평균유속 [m/s]
- χ_m : 매질의 부피자기화율
- χ_p : 자성입자의 부피자기화율
- η : 매질의 동점성 [m^2/s]
- μ_0 : 진공자기 투자율 [H/m]

1. 서론

생물 및 의과학 분야에서는 진단 및 치료의 목적으로 특정 단백질, 핵산 그리고 세포와 같은 생체 시료의 정보를 얻기 위해 선별적으로 이를 분리하는 과정이 요구된다. 현재 그 목적에 맞게 다양한 분리 기술들이 현장에서 사용되고 있다.⁽¹⁾ 일반적으로 고속 회전으로 얻어지는 원심력을 이용하여 서로 다른 질량이나 크기를 가진 생체 시료의 분리가 가능한 원심 분리 법이 있다.⁽²⁾ 또한 전하를 띄는 물질이 전기장에 놓이면 그 물질의 전하 및 분자 크기 그리고 모양 등에 따라 이동 속도가 다르게 나타나는데, 이와 같은 거동을 전기영동이라 한다.^(3,4) 알려진 아미노산, 단백질 및 핵산 등의 속도를 기준으로 해리성 생체 시료의 분리 및 분석에 사용되고 있다.

고체, 다공질 혹은 겔 입자 등이 충전된 컬럼에 용질을 함유한 용매를 통과시켜 시료가 컬럼에서 흡착, 분배, 이온 교환 및 분자 크기 배제 작용 등을 통해 혼합물로부터 특정한 용질을 분리하는 크

* 회원, 부산대학교 기계공학부
부산대학교 기계기술연구소(RIMT)
E-mail : micros@pusan.ac.kr
TEL : (051) 510-3512 FAX : (051) 512-5236

로마토그래피법이 사용되고 있다.⁽⁵⁾

Fig. 1에서 도시하였듯이 최근에는 자성체를 폴리머에 부착하여 제작된 기능성 입자가 개발되어 표면에 특정 항원과 면역반응하는 항체를 부착하고 용매에 넣어 반응을 시킨 후, 영구자석을 이용하여 자성입자를 고정 및 분리시킴으로써 고감도를 가지고 특정한 생체 시료를 선택적으로 분리하는 기술이 개발되어 사용되고 있다.⁽⁶⁾

특히 이러한 자성입자를 이용한 특정 생체 시료의 분리 기술들은 MEMS 기술과 미소유체기술 (Microfluidics)을 접목한 랩온어칩(Lab-on-a-chip)기술의 발달과 함께 플라스틱, 유리, 실리콘 등 다양한 재질의 표면에 마이크로 채널을 형성하여 생체 시료의 전처리, 혼합, 반응 및 분리 등을 하나의 칩에서 구현하고자 하는 연구들이 활발하게 이루어지고 있다. 특히 소형 영구자석이나 전자석을 이용하는 하이브리드 개념의 소형 분리 시스템이나 마이크로 코일을 도급하고 전류를 인가하여 유도된 자기장을 이용하여 자성입자를 분리하는 온칩 개념의 분리 기술들이 소개되고 있다.⁽⁷⁾

그러나 높은 자기장 세기를 갖는 소형 영구자석은 마이크로 크기의 채널에 비해 크기가 매우 커서 자기장이 자성입자 분리 소자 전체에 직접적으로 영향을 미칠 뿐 아니라, 높은 자기장으로 인해 취급이 어려운 단점이 있다. 뿐만 아니라 하이브리드 개념으로 소형 부품들을 어셈블리 해야 하는 어려운 점이 있다. 마이크로 코일을 이용하여 큰 자기장의 세기를 얻기 위해서는 높은 전류를 인가하여야 한다. 이는 코일의 저항과 인가 전류세기의 제곱에 비례하는 열을 발생시키기 때문에 세포나 단백질과 같은 열에 약한 생체 시료에 영향을 주는 문제점이 있다.

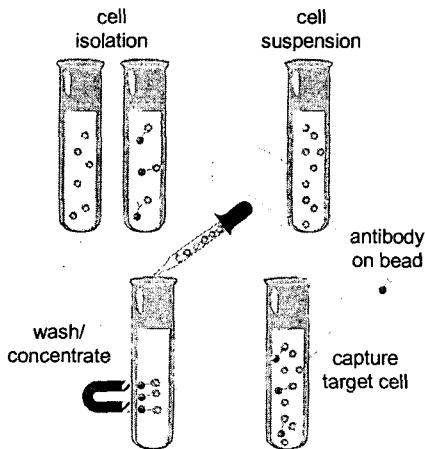


Fig. 1 Isolation process of specific bio-targets using magnetic beads

본 연구에서는 이러한 문제점들을 해결하기 위해 마이크로 채널 하부에 열을 발생시키지 않고도 자성입자의 부착이 가능한 마이크로 영구자석을 도급 기술을 이용하여 집적화하고 채널 내부에 형성되는 일정한 자기력과 유체 흐름에 의해 자성입자에 가해지는 유체력의 크기 차이를 조절하여 흘러가는 자성입자의 탈 부착이 가능한 자성입자 분리 칩을 제작하고, 그 성능을 실험 및 수치 해석을 통해 평가하고자 한다.

2. 작동원리

자기장이 형성되어 있는 마이크로 채널에 유체가 흐를 때 유체를 따라 이동하는 자성입자는 유체의 흐름에 의해 얻어지는 유체력과 자기장에 의한 자기력의 두 가지 외력을 받게 된다. 이러한 두 외력의 크기 차이를 이용하면 자성입자를 채널 내부에 고정시키거나 분리하는 것이 가능하다.

먼저 자기장의 세기가 B 인 곳에 부피 V , 부피 자기율 χ_p 인 자성입자의 자기에너지 U 는 다음과 같이 나타낼 수 있다.⁽⁸⁾

$$U = -\frac{(\chi_p - \chi_m)}{2\mu_0}VB^2 \tag{1}$$

여기서 μ_0 는 진공자기 투자율, χ_m 은 매질의 부피자기화율을 각각 나타낸다. 이때 하나의 자성입자에 작용하는 자기력의 세기 F 는 자기 위치에너지를 거리에 따른 변화율로부터 얻어진다.

$$F = -grad(U) = \frac{(\chi_p - \chi_m)}{2\mu_0}V(B \cdot \nabla) \cdot B \tag{2}$$

또한 마이크로채널 내에서 유체 유동에 의해 자성입자에 가해지는 유체력은 스톡스력(Stokes force)으로 구할 수 있다.⁽⁹⁾

$$F_D = -6\pi\eta ru \tag{3}$$

여기서 η 는 점성을, r 은 자성입자의 반경 그리고 u 는 입자에 작용하는 평균 유속을 각각 나타낸다. 여기서 평균 유속은 마이크로채널 유동의 레이놀즈 수가 매우 작고 실험에서는 비중이 1.2인 자성입자를 사용하기 때문에 유체와 자성 입자 사이의 상대속도가 없는 것으로 가정하였다.

자기력과 유체력의 차이를 이용하여 마이크로 채널에서 자성입자를 분리하는 원리를 Fig. 2에 도시하였다. 수식 (3)에 나타내었듯이 입력 유량을

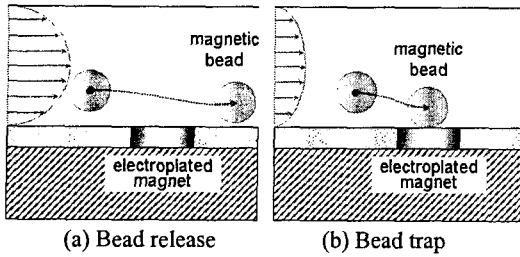


Fig. 2 Trap and release of magnetic beads by controlling the inlet flow velocity

조절하면 자성입자에 가해지는 유체력의 크기를 조절할 수 있다. 자성입자는 유체력이 자성입자를 당기는 자기력에 비해 크면 채널 바닥 표면에 부착하지 않고 채널을 따라 흘러가게 된다.

반대로 유체 유속을 낮추면 유체력이 자기력에 비해 작기 때문에 채널 표면에 부착하게 된다.

3. 자기력의 수치해석

마이크로채널 유동에서 얻어지는 유체력은 채널 내부에서의 평균 유속과 자성입자의 크기로부터 이론적으로 구할 수 있다. 그러나 마이크로 영구자석에 의해 자성입자에 미치는 자기력은 자장 분포와 방향성을 고려하여 상용 프로그램(ANSYS)을 이용하여 자기력의 세기를 계산하였다.

수치해석에 사용된 모델은 Fig. 3에서 도시하였듯이 축 대칭 원기둥 형상의 마이크로 영구자석에 높이, h 만큼 떨어져 있는 자성입자에 미치는 자기력을 2차원 맥스웰 응력 해석을 이용하여 구하였다. 해석에 사용된 자성입자의 크기는 직경이 $2.8\mu\text{m}$ 였으며, 또한 영구자석과 자성입자 사이의 거리는 채널의 바닥 면과 영구자석 상단 표면과의 거리를 고려하여 $20\mu\text{m}$ 로 하였다. 마이크로 영구자석은 실제 도금을 이용하여 제작된 CoNiP 영구자석을 사용하였고, 해석에는 실제 측정된 1762 Gauss 의 자속밀도를 입력조건으로 계산하였다.

Fig. 4는 자석의 크기 및 자성입자의 높이에 따라 자기장의 세기를 축대칭으로 수치 해석한 결과를 보여준다. 여기서 도금된 마이크로 영구자석과 채널 사이의 폴리머 막은 자기투과율이 매우 낮아서 자기장 분포에 영향을 미치지 않기 때문에 무시하였다. 자성입자와 영구자석 사이의 거리가 고정된 경우, 영구자석의 직경이 클수록 큰 자기력이 얻어지며, 영구자석의 높이에는 영향이 작다는 것을 알 수 있다. 그리고 영구자석의 크기가 정해진 경우는 영구자석과의 거리가 가까울수록 큰 자기력이 얻어짐을 수치 해석을 통해 얻어졌다.

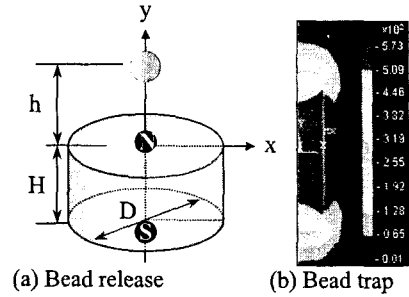


Fig. 3 Numerical evaluation of the magnetic force distribution

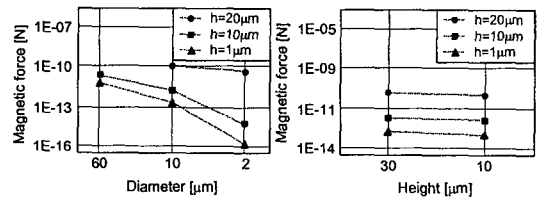


Fig. 4 Numerical analysis of magnetic forces by changing sizes of the permanent magnet

4. 디바이스 제조공정

자성입자 분리 온칩 디바이스 제조공정 순서는 Fig. 5에 도시한 바와 같다. 제조공정은 도금을 이용하여 마이크로 영구자석을 제작하는 공정과 마이크로채널을 형성하기 위한 폴리머 구조물 제작 및 접합공정 부분으로 나누어져 있다.⁽¹⁰⁾ 먼저 Fig. 5(a)에서는 전기 도금에 필요한 전극 층인 크롬과 금 박막을 200 \AA 및 1000 \AA 두께로 스퍼터링을 이용하여 각각 증착하였다. 다음으로 두꺼운 감광제 (PMER)를 회전시켜 $35\mu\text{m}$ 두께로 도포하였고, Fig. 5(b)에 나타내었듯이 반도체 사진 공정을 하여 마이크로 영구자석을 선택적으로 도금하기 위한 사각형의 열린 창을 제작하였다. Fig. 5(c)와 5(d)에서는 영구자석을 제작하기 위한 CoNiP를 전기 도금하고 버섯 모양으로 쏟아 올라온 부분과 감광제가 도포된 표면의 조도를 향상시키기 위해 기계적으로 표면을 연마하는 공정을 나타낸다.

Fig. 5(e)에서는 평탄한 표면 위로 폴리머 레진과 경화제가 10:1로 섞여진 열경화성 폴리머 (PDMS)를 4500 rpm 에서 1분 동안 회전시켜 두께 $20\mu\text{m}$ 로 도포하였고, 상부 폴리머 채널 구조물과의 접합하기 위해 $55\text{ }^\circ\text{C}$ 의 낮은 온도 분위기에서 25분간 열을 가하여 불완전 경화시켰다. 이때 사용된 온도 및 시간은 그림에서 도시한 상부 폴리머 구조물을 접합시킨 후 경화시켰을 때, 최대 접합력이 얻어지는 조건에서 이루어 졌다.⁽⁹⁾

하부 구조물과 접합하여 마이크로채널을 형성하는 상부 구조물은 초정밀 금형을 제작하고 폴리머 성형하여 제작되었다. 우선 Fig. 5(f)에서 기술하였듯이, 실리콘을 비등방성 반응이온 식각(Deep-RIE)을 이용하여 채널형상의 금형을 제작하였고, 여기에 Fig. 5(g)와 같이 폴리머를 붓고 표면에 잔류한 공기 방울을 진공상태에서 제거한 후 150°C에서 25분간 폴리머를 완전히 경화시켰다. 금형으로부터 폴리머 구조물을 분리하면 Fig. 5(h)와 같은 PDMS 마이크로채널이 얻어진다. 마지막으로 앞서 준비된 완전히 경화되지 않은 하부 PDMS 표면에 마이크로채널 구조물을 자중에 의해 접합시키고 70°C 분위기의 오븐에서 3시간 이상 경화시키면 Fig. 5(i)와 같은 높은 접합강도를 갖는 PDMS 채널 구조물과 영구자석이 일체형으로 집적된 자성입자 분리 온칩 디바이스가 제작된다(Fig. 6).

5. CoNiP 영구자석 특성 측정

Fig. 7은 전기 도금으로 제작된 CoNiP 영구자석의 SEM사진을 보여준다. 영구자석의 주요 크기는 채널의 넓이를 고려하여 폭과 길이가 동일하게 125 μ m, 높이는 35 μ m로 각각 제작하였다.

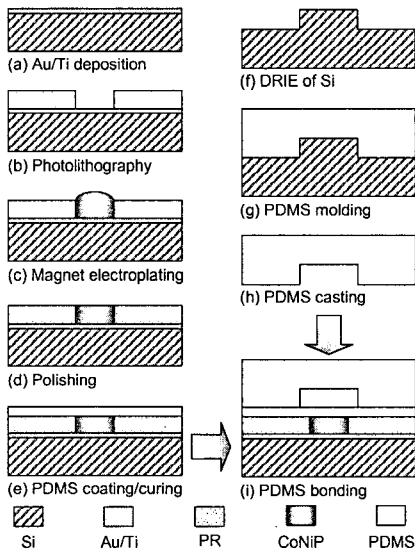


Fig. 5 Microfabrication of the magnetic bead separator

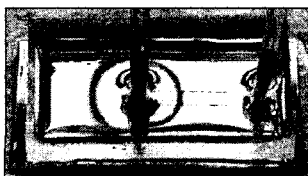


Fig. 6 Fabricated on-chip magnetic particle separator

제조공정에 사용된 주요 도금 공정 조건은 CoNiP 전용 도금액을 이용하여 산도 4, 온도 20°C 그리고 전류밀도 15mA/cm² 에서 이루어졌다. 제작된 CoNiP 합금에 자성을 부가하기 위해 진동자력계(VSM)를 이용하여 15kOe 이상의 자장을 인가하고 CoNiP를 자화시켜 영구자석을 얻었다.

Fig. 8은 자화된 CoNiP의 자기적 특성을 진동자력계를 이용하여 평가한 특성곡선을 보여준다. 감자곡선에서 볼 수 있듯이, 1369Oe의 보자력과 1762G의 자속밀도를 가지는 것으로 측정되었으며, 최대 에너지적은 0.632MGOe였다.

6. 자성입자 분리 성능 측정

제작된 자성입자 분리 온칩 디바이스의 성능을 평가하기 위해 Fig. 9에서 나타내었듯이 실리콘 튜브를 이용하여 입구와 출구를 각각 연결하였고 자성입자와 순수 물을 섞어 시린지 펌프를 이용하여 유량에 따른 자성입자의 채널 표면 부착 여부를 고찰하였다. 제작된 마이크로채널의 폭은 250 μ m, 높이는 35 μ m였으며, 이때 자성입자는 산화제2철(Fe₂O₃)이 10~14% 함유되어 있으며, 부피자기화율이 약 8 \times 10⁻³cgs의 특성을 가지고 있었다.

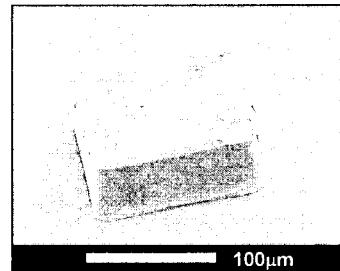


Fig. 7 SEM photo of the fabricated CoNiP permanent magnet

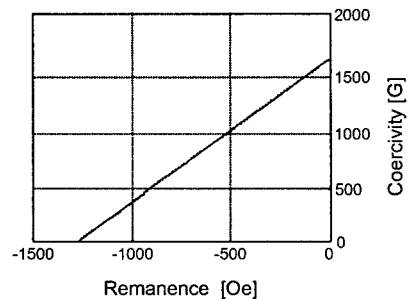


Fig. 8 Performance characterization of the CoNiP permanent magnet

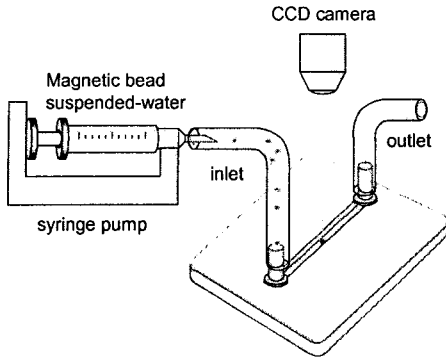
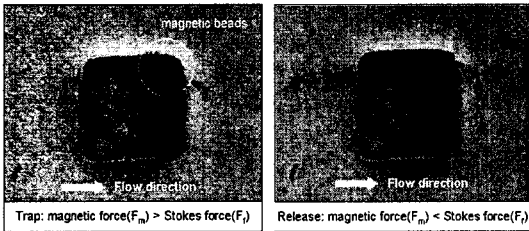


Fig. 9 Experimental evaluation set-up for the magnetic bead handling



(a) Trap of beads (b) Release of beads

Fig. 10 Visualization of on-chip trap-release of magnetic beads in the microchannel

제작된 CoNiP 영구자석과 채널 유동을 이용하여 자성입자의 부착 및 분리를 조절할 수 있는 임계 유속을 가지화 시험을 통해 측정하였다. 우선 유속이 $17\mu\text{m/s}$ 이하의 유속에서는 자성입자가 영구자석이 위치한 마이크로 채널의 바닥 표면에 완전히 부착되는 것을 볼 수 있으며, $174\mu\text{m/s}$ 이상의 유속에서는 반대로 자성입자에 가해지는 유체력이 자기력에 비해 크기 때문에 자성입자가 영구자석에 부착하지 않고 자유롭게 흘러가는 것을 볼 수 있다(Fig. 10). 그리고 완전한 자성입자의 분리 및 고정에 필요한 두 임계유속 사이의 유속에서는 자기력과 유체력의 차이가 크지 않고, 채널의 벽면으로 갈수록 유속이 감소하기 때문에 자성입자가 일부 부착되거나 혹은 자유롭게 흘러가는 것을 가지화 하였다(Fig. 12).

2 차원 맥스웰 응력해석을 이용하여 수치해석한 결과, 직경 $125\mu\text{m}$, 높이 $35\mu\text{m}$ 크기를 갖는 영구자석으로부터 $20\mu\text{m}$ 떨어져 놓여있는 자성입자가 받는 자기력은 543pN 으로 계산되었다. 그러나 자성입자를 완전히 분리하는데 필요한 임계유속인 $174\mu\text{m/s}$ 로부터 계산된 수평 방향의 유체력은 4.6pN 으로 계산되었다. 그러므로 실제 제작된 영구자석에 의해 자성입자에 가해지는 유체흐름 방향의 자기력 크기는 훨씬 작다는 것을 알 수 있다.

이러한 자성입자의 거동을 상용 전산해석 프로그램

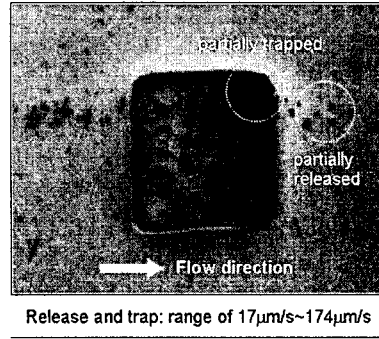
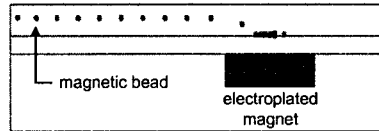
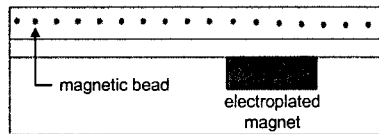


Fig. 11 Partial trap-release of magnetic beads in the range of $17\sim 174\mu\text{m/s}$



(a) At an inlet velocity of $17\mu\text{m/s}$



(b) At an inlet velocity of $174\mu\text{m/s}$

Fig. 12 Numerical evaluation of on-chip trap-release of magnetic beads

(CFD-ACE)을 이용하여 해석하였다. 속도 조건은 자성입자의 분리 및 고정에 사용된 $174\mu\text{m/s}$ 와 $17\mu\text{m/s}$, 자성입자의 부피자기화율이 약 $8\times 10^3\text{cgs}$, 그리고 물의 부피자기화율 $-7.19\times 10^7\text{cgs}$ 을 사용하였다. Fig. 12 에서 볼 수 있듯이 실제 가지화 시험의 결과와 동일하게 자성입자가 입력 유량 조건에 따라 분리 및 고정을 조절됨을 알 수 있다.

7. 결론

본 연구에서는 특정 세포, 핵산 혹은 단백질과 같은 생체 시료를 선택적으로 분리하기 위해 사용되고 있는 자성입자를 마이크로채널과 일체형으로 제작된 전기 도금된 영구자석에 의한 자기력과 유체 흐름으로 얻어진 유체력의 차를 이용하여 선택적으로 분리할 수 있는 마이크로 분리칩을 개발하였다. 특히, 영구자석으로는 소형화 및 집적화가 가능한 CoNiP 를 도금하여 자화 시켰으며, 진동자력계를 이용하여 특성을 측정된 결과 1369Oe 의 보자력과 1762G 의 자기밀도를 갖는 것으로 평가

되었다. 또한 제작된 영구자석을 이용할 경우, 자성입자의 분리에 필요한 임계유속은 $17 \mu\text{m/s}$ 이하에서 자성입자의 완전한 부착이 얻어졌으며, $174 \mu\text{m/s}$ 이상에서 자석으로부터 자성입자의 확연하게 분리되는 것을 실험 및 수치 해석을 통해 가시화하였다.

향후 이러한 일체형으로 집적화된 자성입자 분리칩은 각기 다른 자기력을 가진 영구자석을 제작하여 하나의 칩에서 다수의 특정 생체 시료를 동시에 분리할 수 있을 것으로 예상된다.

후 기

본 연구는 “부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음”을 밝힙니다.

참고문헌

- (1) Schutte, H., Kroner, K.H., Hummel W. and Kula, M.-R., 1983, “Recent Development in Separation and Purification of Biomolecules,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 413, pp.270.
- (2) Albright, C. D., Frost, J. K., Pressman, N. J., 2005, “Centrifugal Separation of Cells in Sputum Specimens from Patients with Undifferentiated Carcinoma,” *Cytometry*, Vol. 7, Issue 6, pp.536~543.
- (3) Patonay, G., Salon, J., Sowell, J. and Strekowski, L., 2004, “Noncovalent Labeling of Biomolecules with Red and Near-Infrared Dyes,” *Molecules*, Vol. 9, pp. 40~49.
- (4) Lee, S. Y., Seo, K. S. and Cho, Y.-H., 2004, “A DNA Microextractor Using Crossed Field Electrophoresis,” *Trans. of the KSME (A)*, Vol. 28, No. 8, pp. 1135~1139.
- (5) Cunico, R. L., Gooding, K. M. and Richmond, T.W., 1998, *Basic HPLC and CE of Biomolecules*, Bay Bioanalytical Laboratory.
- (6) Kemshead. J. T. and Ugelstad, J., 1985, “Magnetic Separation Techniques: Their Application to Medicine,” *Molecular and Cellular Biochemistry*, Vol. 67, No. 1, pp. 11~18.
- (7) Choi, J. W., Ahn, C. H., Bhansali, S. and Henderson, H. T., 2000, “A New Magnetic Bead-based, Filterless Bio-separator with Planer Electromagnet Surfaces for Integrated Bio-detection Systems,” *Sensors and actuators, Physical B*, Vol. 68, pp. 34~39.
- (8) Rong, R., Choi, J.-W. and Ahn, C.H., 2006, “An On-chip Magnetic Bead Separator for Biocell Sorting,” *J. Micromech. Microeng.*, Vol. 16, 2783~2790.
- (9) Nguyen, N.-T. and Wereley, S. T., 2006, *Fundamentals and Applications of Microfluidics*, Artech House.
- (10) Cho, C.-H., Cho, W., Ahn, Y. and Hwang, S.-Y., 2006, “PDMS/Glass Serpentine Microchannel Chip for PCR with Bubble Suppression in Sample Injection,” *Trans. of the KSME (A)*, Vol. 30, No. 10, pp. 1261~1268.