

산소 미세 펌프가 내장된 미세 세포 계수기

손상욱[†] · 최요한^{**} · 이승섭^{*}

(2004년 1월 10일 접수, 2004년 6월 14일 심사완료)

Micro Cell Counter Integrated with An Oxygen Micropump

Sang Uk Son, Yo Han Choi and Seung Seob Lee

Key Words: Micro Cell Counter(미세 세포 계수기), Oxygen Micropump(산소 미세 펌프), Microchannel(미세 채널), Sizing(크기별 분류)

Abstract

This paper describes fabrication of a micro cell counter integrated with an oxygen micropump and counting experiment with Sephadex G-25 beads (70~100 μm). The pumping part consisted of a microheater, catalyst (manganese dioxide) enveloped with paraffin, hydrogen peroxide, and microchannel, and the counting part consisted of collimated light, a microwindow, and a phototransistor including an external circuit. The micropump generated oxygen gas by decomposing hydrogen peroxide with manganese dioxide, which was initiated by melting the paraffin with the microheater, and pumped beads in the microchannel. When the beads passed the microwindow, they shaded the collimated light and changed the illumination on the phototransistor, which caused the current variation in the circuit. The signals, according to the bead size, reached up to 22 mV with noise level of 2 mV during 50 seconds and the numbers of peaks were analyzed by magnitude.

1. 서 론

세포 계수기는 생물학이나 의료진단 분야에서 세포 관련 실험의 정량적인 결과를 제공하기 위해, 일정한 부피의 샘플 내에 있는 세포의 수를 헤아리는 장비이다. 상용으로 사용되고 있는 장비는 가격이 비싸고 부피가 크며 조작이 복잡해서 많은 유지 비용과 숙련된 조작자를 필요로 한다.⁽¹⁻³⁾ 미세 세포 계수기는 세포의 수송과 계수 기능을 MEMS 기술을 이용해서 하나의 소자에 구현한 것으로서, 실험실 밖에서도 사용이 가능할 정도로 작기 때문에 랩온어칩(lab-on-a-chip)이나 마이크로 타스(micro-TAS, total analysis systems)의 분야에서 활발하게 연구 되고 있다.^(4,5)

세포 계수는 광학적인 방법과 전기적인 방법으로 주로 이용되고 있는데, 전자는 형광 마커

(marker)가 부착된 세포가 감지부를 지날 때 일정한 파장의 빛을 조사한 후 형광 마커로부터 방출된 빛을 감지하는 방법이며,⁽⁶⁾ 후자는 교류 전기장을 세포가 지날 때 발생하는 교란을 감지하거나⁽²⁾ 미세한 구멍(aperture)을 세포가 통과할 때 구멍 양쪽의 전기 저항 차가 발생하는 것을 측정하는 방법⁽⁶⁾이다.

세포 수송은 주사기 펌프를 이용하는 방법⁽⁷⁾이 일반적이지만 비용과 부피면에서 미세 세포 계수기에 적절하지 않으므로, 미세 밸브(micro-valve),^(8,9) 전기삼투(electroosmosis),⁽¹⁰⁾ 분극전기영동 (dielectrophoresis),⁽¹¹⁾ 자석(magnet),^(12,13) 또는 가스(gas)를⁽¹⁴⁻¹⁷⁾ 이용한 미세 펌프들이 대안으로 연구되어 왔다.

이와 같은 세포 계수와 수송 방법들은 세포에 직접 전기장을 가하므로 세포막을 손상시킬 위험이 있고, 수송 과정의 에너지 소모로 인해 휴대용 장비로의 개발에 제약이 될 수 있다. 또한, 형광 마커 사용에 따른 비용과 조작의 번거로움이 있다. 그러므로, 세포 계수와 수송 과정의 에너지 효율이 높고, 세포에 가해지는 영향이 작으면서도 사용이 쉬운 미세 세포 계수기의 개발이 요구된다.

[†] 책임저자, 회원, 한국과학기술원 기계공학과
E-mail : chairson@kaist.ac.kr
TEL : (042)869-3086 FAX : (042)869-5046

^{*} 회원, 한국과학기술원 기계공학과

^{**} 한국과학기술원 기계공학과

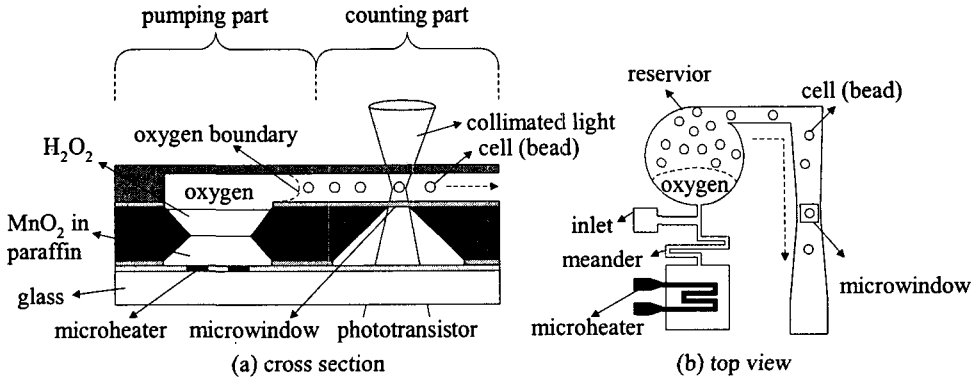


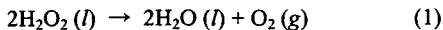
Fig. 1 Schematic view of a micro cell counter integrated with an oxygen micropump

본 논문에서는 감지부와 미세 펌프를 일체화한 산소 미세 펌프가 내장된 미세 세포 계수기의 제작과 비드(bead) 계수 실험 결과를 소개하였다. 단, 세포를 사용하기 어려운 여건으로 인해 지름 70~100 μm 인 Sephadex G-25 비드 (Amersham Pharmacia Biotech, UK)를 대신 사용하였다.

2. 원리

산소 미세 펌프가 내장된 미세 세포 계수기의 세포 수송과 감지 원리를 Fig. 1에 개략적으로 나타내었다. 미세 펌프는 미세 히터(microheater), 촉매인 이산화망간(MnO_2), 과산화수소수(H_2O_2 , 30% (w/w)), 그리고 미세 채널로 구성하였고, 세포 감지부는 광원(collimated light), 미세 창(microwindow), 그리고 포토트랜지스터(photo-transistor)로 구성하였다.

미세 펌프의 동작 원리는, 화학식 (1)과 같이 과산화수소수를 이산화망간으로 분해 시켜서 산소(oxygen) 가스를 발생시키고, 유체에 대해 경계면(oxygen boundary)을 형성하면서 팽창시켜 저장 공간(reservoir) 내의 세포를 미세 채널을 따라 수송한다.⁽¹⁸⁾



이산화망간 가루와 파라핀을 섞어서 과산화수소수와 접촉을 막고 있다가, 아래에 있는 미세 히터를 가열해서 이산화망간을 감싸고 있던 파라핀을 녹이면 이산화망간과 과산화수소수의 접촉에 의해 반응이 시작된다. 가열을 중지해도 접촉면은 유지되고 반응은 지속된다. 이 방법은 파라핀을 녹일 때만 에너지가 사용되므로 에너지 효율이 높고 주입된 과산화수소수 부피에 비해 약 100 배 이상의 산소 가스가 발생되므로 효율이 높은 수송 방법이다. 하지만, 일단 반응이 시작되면 정지시킬

수 없다는 단점이 있다.

세포의 감지를 위해, 빛을 미세 창을 통해 포토트랜지스터로 조사시키고 세포가 미세 창 위를 지나면서 빛을 가릴 때, 포토트랜지스터로 구성된 회로에 흐르는 전류의 변화량을 전압으로 변환하여 측정한다. 전압의 크기는 세포의 크기에 비례하므로 세포의 크기별 계수가 가능하다.

광원으로는 발광소자(LED)를 사용하거나 감도를 높이기 위해 광섬유(optical fiber)를 사용하는 illuminator를 현미경에 부착하여 포커싱한다. 빛의 투과성을 높이기 위해서 채널은 투명한 폴리머 재질인 polydimethylsiloxane(PDMS)으로 제작하고, 미세 히터는 글래스 기판 위에 제작한다. 미세 창은 실리콘 층을 에칭하여 생성한 두께 1.5 μm 의 질화 실리콘막으로 제작한다.

3. 제작

Fig. 2는 미세 세포 계수기 제작을 위한 공정도를 나타낸다. 공정은 미세 창 (A), 미세 히터 (B), 그리고 미세 채널 (C) 각 부분을 제작한 후 조립에 의해 완성하는 순서로 구성되었으며 제작된 미세 세포 계수기는 Fig. 3과 같다. 각 부분의 제작과 조립 과정을 다음에 기술하였다.

3.1 미세 창

실리콘 웨이퍼 ($2 \times 2 \text{ cm}^2$ (100) n-type)에 low-pressure chemical vapor deposition (LPCVD) 공법으로 질화 실리콘(Si_3N_4)을 1.5 μm 두께로 증착한 후 reactive ion etching (RIE)으로 양면 패터닝을 하였다. 실리콘 층을 tetramethyl ammonium hydroxide (TMAH, wt. 25%, 90 $^\circ\text{C}$)로 에칭하여 $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ 의 질화 실리콘막을 형성하고 이를 미세 창으로 이용하였다. 동시 공정으로 $2 \times 3.5 \times 0.5 \text{ mm}^3$ 부피의 과산화수소수 저장 공간을 형성하였다. 패터닝 면적의 크기와 에칭 시간은 실리콘 층의 두께

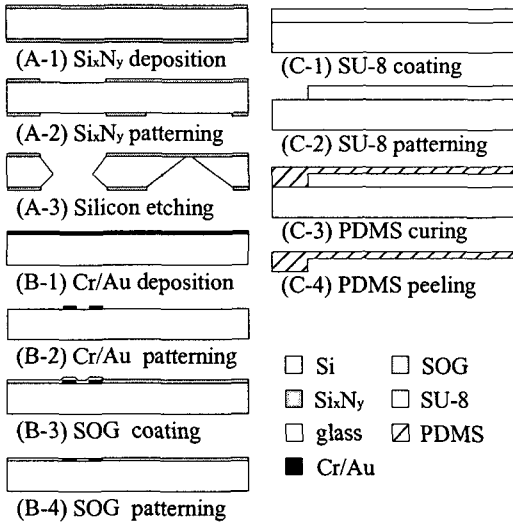


Fig. 2 Fabrication process.

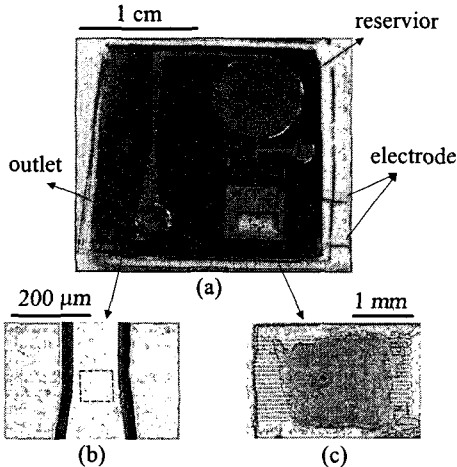


Fig. 3 Fabricated device after assembling: (a) overall view; (b) the microwindow (dash-line area) aligned with the microchannel; (c) MnO₂ (black) enveloped with paraffin on the microheater.

고려해서 결정하였고 미세 창 크기는 실험에 이용할 비드의 크기를 고려해서 제작되었다.

3.2 미세 히터

미세 히터는 빛의 투과를 위해서 2.2 × 2.2 cm² 면적과 1 mm 두께를 가지는 글래스 기판 위에 제작되었다. 150/3000 Å 두께로 Cr/Au 막을 열증착하고, 리프트-오프 공정으로 30 μm 선폭으로 패터닝하여, 240 Ω의 미세 히터를 제작하였다. Spin-on-glass (SOG)를 0.8 μm 두께로 스핀 코팅하고 열처리하여 절연층을 형성하였고, 전극으로 사용할 패드를 1 × 2 mm² 크기로 제작하였다. SOG 막은 조립과정에서 PDMS와의 접합성을 높이는 역할을 하였다.

3.3 미세 채널

미세 채널은 몰드 성형법을 이용해서 빛 투과성이 우수한 PDMS(Sylgard184, Dow Corning, USA)로 제작하였다. 미세 창과 정렬되는 부분은 약 140 μm의 폭과 사다리꼴 형상으로 제작[Fig. 3(b)]하여 비드가 미세 창 위로 지나가도록 하였다.

몰드 제작을 위해, 실리콘 웨이퍼 위에 SU-8 50 (Microchem, USA) 음성 감광제를 100 μm 높이로 스핀 코팅하고 핫 플레이트를 이용해서 65/95 °C에서 10/30 분간 베이킹 하였다. 자외선 노광량을 500 mJ/cm²로 하였고 다시 65/95 °C에서 3/10 분간 베이킹 한 후 10 분간 현상하여 몰드를 완성하였다. 몰드와 PDMS와의 분리를 쉽게 하기 위해 trimethylsilane (DC(R) 9-5170, Dow Corning, USA)을 진공 챔버에 몰드와 함께 24 시간 동안 두어 표면에 이형막이 증착되도록 하였다.

채널 제작을 위해, base와 curing agent를 10:1 (w/w)로 섞은 다음 진공 챔버에서 가스를 제거한 후, 몰드에 1 mm 두께로 붓고 오븐 (65 °C)에서 5 시간 동안 경화시켰다. 경화 시간 동안 수평을 유지해서 액체상태의 PDMS가 흐르는 것을 방지하고 일정한 두께의 채널을 제작하였다. PDMS의 두께가 얇을수록 빛 투과성이 좋아지지만, 과산화수소수와 비드를 주입할 때 막이 찢어지거나 저장부(reservoir) 윗부분의 굽힘이 일어나 접합시 바닥면에 닿게 되는 문제가 있어서 1 mm 이상의 두께가 적절하였다.

3.4 조립

미세 세포 계수기는 제작된 미세 창, 미세 히터, 그리고 미세 채널 층을 접합에 의해 조립하여 Fig. 3과 같이 제작하였다.

첫 번째, 미세 히터 (Fig. 2B-4)의 SOG 층 위에 SU-8 2를 5000 rpm으로 스핀 코팅하고 미세 창 (Fig. 2A-3)과 정렬한 후, 핫 플레이트를 이용해서 95 °C에서 1 분 동안 경화시켰다. 실리콘 기판을 글래스 기판보다 2 mm 작게 제작하여 전극(electrode)을 노출시켰다.(Fig. 3a)

두 번째, 이산화망간(M-3138, Sigma-Aldrich, USA)을 약사발을 이용해서 분말로 만들고 파라핀 왁스 가루 (317659, Sigma-Aldrich, USA)와 섞은 후, 미세 히터 (Fig. 2B-4) 위에 놓고 핫 플레이트로 파라핀 (m.p. 54~56 °C)을 녹여서 저장 공간 내에 위치시켰다 [Fig. 3(c)]. 파라핀은 열에 의해 부피 팽창이 일어나고⁽⁸⁾ 질화 실리콘막에 닿게 되면 PDMS와 접합성이 나빠져서 누수의 원인이 되므로 소량의 이산화망간과 파라핀을 사용하였다.

세 번째, 미세 채널 (Fig. 2C-4)을 기판에서 잘라내고 토출구(outlet) 제작을 위해 펀치로 지름 3 mm의 구멍 [Fig. 3(a)]을 낸 후 플라즈마 클리너 (PDC-32G, Harrick, USA)로 1 분 동안 표면을 산화시켰다. 메탄올을 질화 실리콘막 위에 뿌리고

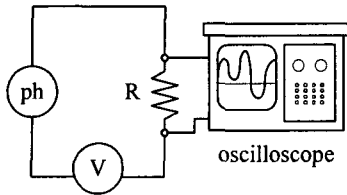


Fig. 4 Configuration of measurement circuit with phototransistor (ph), load resistor (R), reverse voltage source (V), and oscilloscope

운활제로 사용하면서 현미경을 이용하여 미세 창과 정렬하였다[Fig. 3(b)]. 메탄올이 휘발한 후 오븐(70 °C)에서 24 시간 이상 두어 집합을 하였다. 상온에서 72 시간 이상 집합 상태를 유지하는 경우 누수 방지에 효과적이었다.

4. 실험

4.1 예비 실험

산소 미세 펌프가 내장된 미세 세포 계수기의 비드 계수 실험에 앞서, 세포 계수와 수송 기능을 각각 테스트 하였다. 측정 회로는 Fig. 4 와 같고, 포토트랜지스터(ST-1KLA, Kodenshi, Korea), 역방향 전압, 저항, 그리고 오실로스코프 (DL1540C, Yokogawa, Japan)로 구성하였다.

세포 계수 테스트를 위해, peristaltic 펌프(LKB P-1, Pharmacia, Sweden)로 70~100 μm 크기의 Sephadex G-25비드 샘플을 약 1 ml/h 의 유량으로 수송하면서 신호를 측정하였다. 광원은 950 nm 파장의 적외선 다이오드(SI3311-H, AUK, Korea)를 사용하였고 포토트랜지스터에 인가된 역방향 전압은 3 V, 저항은 1 kΩ 이었다. 최대 약 10 mV 크기의 신호가 Fig. 5와 같이 측정되었으며, 이로부터 빛이 PDMS 채널, 유체, 질화 실리콘막, 그리고 글래스 기판을 지나서 포토트랜지스터로 전달되며, 비드 계수에 적용 가능함을 확인하였다.

세포 수송 테스트를 위해, 과산화수소수 (30 % (w/w))를 주사기로 미세 히터 윗부분의 저장 공간에 주입한 후, 물을 주입구 (inlet)를 이용해서 세포 저장부로 주입하였다. 과산화수소수를 미세 히터로 직접 가열[Fig. 6(a)]하거나, 이산화망간과 반응[Fig. 6(b)]을 시켜보았으며, 두 가지 방법 모두 온전지(9 V)를 히팅 에너지로 이용하였다.

직접 가열하는 경우, 전류의 공급을 조절함에 따라 산소 발생을 조절할 수 있었지만, 전류를 계속 공급해야 하고 실험 도중 히터가 단선되는 문제가 있었다. 미세 히터의 선폭 30 μm 보다 작은 크기의 산소 가스 버블(bubble)이 히터 위에 생성 되는 것이 관찰[Fig. 6(a)]되었으며, 이 방법은 미세한 크기의 가스 버블 생성에 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

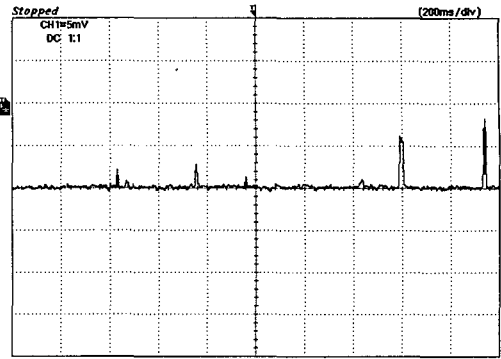


Fig. 5 Signals when beads passed the microwindow with peristaltic pump

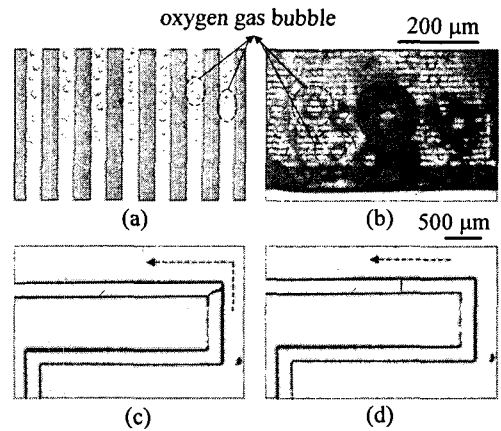


Fig. 6 Oxygen gas generation: (a) heating H₂O₂; (b) melting paraffin and exposing MnO₂ to H₂O₂. Pumping of microfluid: (c,d) flow at velocity of 150 μm/s during 5.3 s with the oxygen gas generation by method (b)

촉매 반응을 이용하는 경우, 미세 히터로 파라핀을 녹이면서 이산화망간이 과산화수소수와 접촉하게 되고, 이로 인해 산소 가스 발생이 시작되었다. 가열을 중지한 이후에도 접촉 부분이 유지되었고 산소 가스 발생은 지속되었다.

파라핀이 바닥면에 밀착되어 있지 않을 때는, 과산화수소수가 미세 히터로부터 직접 가열되고 이때 발생한 산소에 의해, 파라핀이 바닥면에서 떨어져 나가는 현상이 관찰되었다.

촉매 반응을 이용하는 방법에 의해, 폭 200 μm, 높이 100 μm 인 채널에서 반응 초기에 약 150 μm/s 의 속도로 물을 수송[Fig. 6(c),(d)]하는 것이 가능하였다. 반응이 계속되면서 유속이 감소하는 현상이 관찰되었는데, 이는 과산화수소수의 농도가 낮아지면서 산소 발생 속도가 감소한 것으로 추측된다.

4.2 비드 수송과 계수 실험

예비 실험의 결과를 이용해서, 산소 미세 펌프로 비드를 수송하고 포토트랜지스터로 비드를 감지하여, 비드를 계수하는 실험을 수행하였다.

우선, 과산화수소수 7 μl 를 미세 히터 위 공간에 주사기로 주입한 후, 비드는 de-ionized water 와 약 1:30 (v/v)로 섞어서 30 μl 의 샘플을 저장부에 주사기로 주입하였다. 미세 히터를 가열해서 촉매 반응을 개시하였고 발생한 산소 가스가 팽창되면서 저장부 내의 비드를 채널을 따라 수송 하였다.[Fig. 7(a),(b)] 채널 속의 비드가 미세 창을 지나 가면서 빛을 가리자 [Fig.7(c),(d)]신호가 발생하였다.(Fig. 8)

광원으로는 10^4 lx 밝기의 fiber optic illuminator (LS-F150HSR, Koeraoptron, Korea)를 사용하였고 빛의 포커싱을 위해 현미경의 배율을 390 배로 하였다. 인가된 역방향 전압은 9V, 저항은 1k Ω 이었다.

비드가 미세 창을 지나면서 발생한 신호를 오실로스코프로 50 초 동안 측정된 결과, Fig. 8 과 같이 크기는 0~22 mV, 노이즈 레벨은 약 2 mV 인 신호가 측정되었다. 발생한 노이즈는, 70~100 μm 크기의 비드에 비해 상대적으로 아주 작은 크기의 비드가 미세 창을 통과하거나, 빛이 PDMS 나물에 의해 산란 되면서 나타나는 것으로 추정된다.

비드의 이송 속도가 일정하지 않으므로 Fig. 8 의 펄스의 시간 간격이 균등하지 않게 나타났다. 비드의 이송 속도는 과산화수소수의 농도, 이산화망간과의 접촉 면적, 그리고 저장 공간 내의 비드 분산 정도 등에 의해 결정되며, 반응 시간이 길어질수록 과산화수소수의 농도 감소로 인해 속도는 감소하였다.

측정된 펄스의 크기는 미세 창을 통과한 비드의 부피에 비례하므로 펄스의 크기별 수를 구하면 비드의 크기별로 구분하여 계수(sizing)할 수 있다. Fig. 8 의 측정 결과를 분석해서, 펄스의 크기별로 구해서 Fig. 9 에 막대그래프로 표시하였고, threshold 값은 2 mV 이상으로 하였다. Fig. 9 에서 펄스의 크기별 수는 비드의 상대적인 크기별 수를 나타내는 것으로 추측된다.

5. 고찰

미세 창보다 작은 크기의 비드들이 동시에 미세 창을 통과하는 것이 실험 도중 관찰되었으며, 이는 부정확한 계수나 노이즈의 한 원인으로 추정된다. 비드 사이의 거리가 미세 창보다 크도록 비드의 밀도를 낮추면, 문제를 해결할 수 있을 것으로 판단된다.

감도를 높이기 위해 비드가 미세 창을 지나가도록 채널의 형상을 사다리꼴로 제작했지만, 채널의 형상만으로는 미세 창의 중심을 지나도록 하는데 한계가 있었다.

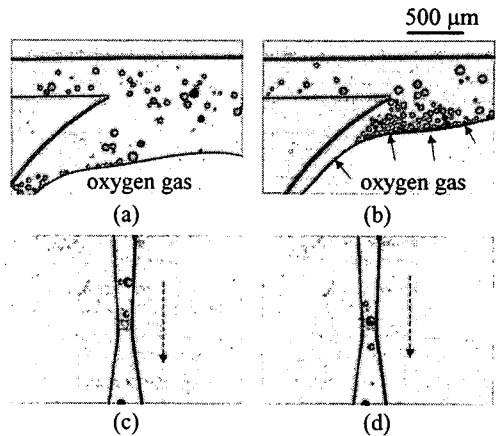


Fig. 7 Beads pumping and counting: (a,b) the inflation of oxygen gas boundary and pumping beads; (c,d) the beads passing the microwindow in the microchannel. The dashed-line arrow notes the flow direction

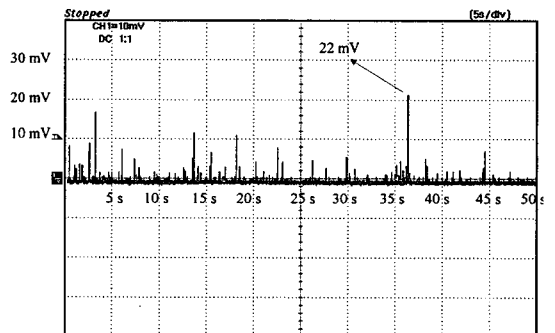


Fig. 8 Signals when 30 μl of beads sample passed the microwindow by the oxygen micropump during 50 seconds

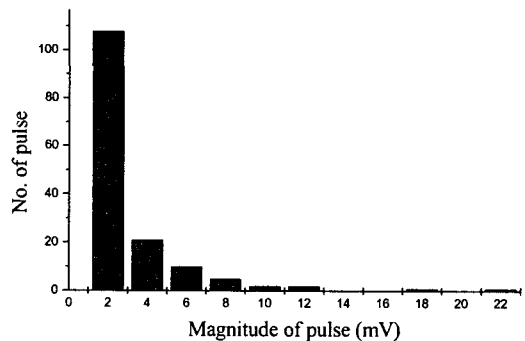


Fig. 9 Distribution of the numbers of peaks (in Fig. 8) by magnitude, which notes the number of beads in relative size

본 연구의 특징인 높은 에너지 효율과 부합하면서도 채널의 폭을 가변적으로 제어할 수 있는 방법이 필요하며, 가스를 생성하고 팽창시키는 방법을 연구하고 있다.⁽²⁰⁾

비드의 sizing 을 위해서는, 비드의 실제 크기에 해당하는 신호의 크기를 threshold 값으로 미리 측정해야 하며, 감지부와 연결이 가능한 분류기를 추가해야 한다. 적절한 분류 방식으로는 traveling wave dielectrophoresis(TWD)나 flow switch 가 고려되고 있다.

본 연구를 응용한 세포 분류는, 세포의 크기가 다르고 동일한 종류이거나, 크기가 같고 종류가 다른 경우에 적합한 것으로 판단된다.

6. 결론

본 연구를 통해 산소 미세 펌프가 내장된 미세 세포 계수기를 제작하였고, 비드를 이용한 계수 실험을 수행하였다. 미세 펌프는 과산화수소수를 이산화망간으로 분해시켜 발생한 산소 가스의 팽창으로 구동되며, 7 μl 의 과산화수소수로 30 μl 의 비드 샘플을 수송하였다. 미세 채널 속의 비드가 질화 실리콘막으로 형성한 미세 창을 지나면서 광원으로부터 포토트랜지스터로 조사되는 빛을 가리자, 비드의 크기(70~100 μm)에 비례하는 신호가 펄스(~22 mV)의 형태로 측정되었고, 펄스의 크기별 수를 분석해서 비드의 상대 크기별 수를 유추할 수 있었다.

본 연구에 의한 산소 미세 펌프가 내장된 미세 세포 계수기는, 미세 채널과 미세 펌프의 동시 공정이 가능하고, 수송 과정의 에너지 효율이 높으며, 포토트랜지스터를 사용한 간단한 회로로 세포 감지가 가능하므로, 제작과 사용이 쉬운 장점이 있다. 비드의 크기에 해당하는 펄스의 threshold 값을 이용해서 크기별로 분류(sorting)하는 연구와, 감지부인 미세 창 위로 비드가 지나가도록 하는 포커싱 연구가 진행 중이다.

후기

본 연구는 과학기술부가 주관하는 21 세기 프론티어연구개발사업의 일환인 나노메카트로닉스 기술개발사업단의 연구비 지원(02-K14-01-005-1-2)에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

(1) Larsen, U.D., Blankenstein, G. and Branebjerg, J., 1997, "Microchip Coulter Particle Counter," *Proc. Int. Conf. On Solid-State Sensors and Actuators (Transducers '97)*, pp. 1319~1322.

(2) Gawad, S., Schild, L. and Renaud, Ph., 2001, "Micromachined Impedance Spectroscopy Flow Cytometer for Cell Analysis and Particle Sizing," *Lab on a Chip*, Vol. 1, pp. 76~82.

(3) FACS Vantage SE User's Guide, Becton, Dickinson and Company, USA, p. 176.

(4) Onoda, H., Takamura, Y. and Horiike, Y. 2002, "Electric Damage Free Separation Chip of Lymphocytes Sub-Unit Employing High Pressure Electroosmosis Pump," *Proc. Int. Conf. On Micro Total Analysis Systems ($\mu\text{TAS}'02$)*, pp. 955~957.

(5) Wolff, A., Perch-Nielsen, I. R., Larsen, U. D., Friis, P., Goranovic, G., Poulsen, C. R., Kutter, J. P. and Telleman, P., 2003, "Integrating Advanced Functionality in a Microfabricated High-Throughput Fluorescent-Activated Cell Sorter," *Lab on a Chip*, Vol. 3, pp. 22~27.

(6) Roberts, K., Parameswaran, M., Moore, M. and Muller, R.S., 1999, "A Silicon Microfabricated Aperture for Counting Cells Using the Aperture Impedance Technique," *Proc. IEEE Canadian Conf. On Electrical and Computer Engineering*, pp. 1668~1673.

(7) Altendorf, E., Zebert, D., Holl, M. and Yager, P., 1997, "Differential Blood Cell Counts Obtained Using a Microchannel Based Flow Cytometer," *Proc. Int. Conf. On Solid-State Sensors and Actuators (Transducers '97)*, pp. 531~534.

(8) Carlen, E. T. and Mastrangelo, C. H., 2000, "Paraffin Actuated Surface Micromachined Valves," *Proc. IEEE Int. Conf. On Micro Electro Mechanical Systems (MEMS '00)*, pp. 381~385.

(9) Wang, X., Zhou, Z., Ye, X., Li, Y. and Zhang, W., 1998, "A PZT-Driven Micropump," *Proc. Int. Sym. On Micromechatronics and Human Science*, pp. 269~272.

(10) Chujo, H., Matsumoto, K. and Shimoyama, I., 2003, "A High Flow Rate Electroosmotic Pump with Small Channels in Parallel," *Proc. IEEE Int. Conf. On Micro Electro Mechanical Systems (MEMS '03)*, pp. 351~354.

(11) Morgan, H., Green, N. G., Hughes, M. P., Monaghan, W. and Tan, T. C., 1997, "Large-Area Travelling-Wave Dielectrophoresis Particle Separator," *J. Micromech. Microeng.*, Vol. 7, pp. 65~70.

(12) Hatch, A., Kamholz, A. E., Holman, G., Yager, P., and Bohringer, K. F., 2001, "A Ferrofluidic Magnetic Micropump," *J. Microelectromech. Sys.*, Vol. 10, No. 2, pp. 215~221.

(13) Jang, J. and Lee, S.S., 2000, "Theoretical and Experimental Study of MHD (Magnetohydro Dynamic) Micropump," *Sen. and Act. A*, Vol. 80, pp. 84~89.

(14) Xie, J., He, Q., Tai, Y.-C., Liu, J. and Lee, T., 2002, "Integrated Electrospray Chip for Mass Spectrometry," *Proc. Int. Conf. On Micro Total Analysis Systems ($\mu\text{TAS}'02$)*, pp. 709~711.

(15) Choi, Y. H., Son, S. U. and Lee, S. S., 2003, "Novel Micropump Using Oxygen as Pumping Source," *Proc. IEEE Int. Conf. On Micro Electro Mechanical Systems (MEMS '03)*, pp. 116~119.

(16) Hong, C. -C., Murugesan, S., Kim, S., Beaucage,

- G., Choi, J. -W. and Ahn, C. H., 2003, "A Functional On-chip Pressure Generator Using Solid Chemical Propellant for Disposable Lab-on-a-Chip," *Proc. IEEE Int. Conf. On Micro Electro Mechanical Systems (MEMS'03)*, pp. 16~19.
- (17) Son, S. U., Choi, Y. H. and Lee, S. S., 2003, "Fabrication of Micro Cell Counter Integrated with Oxygen Pump," *Proc. Korean MEMS Conf.*, pp. 436~440.
- (18) Chang, R., 1981, "Chemistry," 2nd ed., Random House, New York, p. 63, p. 591
- (19) Atanasov, P. A. and Imamova, S. E., 2000, "Optical Parameters of Silicon Carbide and Silicon Nitride Ceramics in 0.2~1.3 μm Spectral Range," *J. Applied physics*, Vol. 88, No. 8, pp. 4671~4675.
- (20) Son, S. U. and Lee, S. S., 2003, "Narrowing Microfluid Width in Microchannel Using Air Boundaries," *Proc. Int. Conf. On Micro Total Analysis Systems ($\mu\text{TAS}'03$)*, pp. 147~150.