Micro-PIV를 이용한 마이크로 튜브/채널 내에서의 혈장유동측정

고춘식* · 윤상열* · 지호성** · 김경천†

(2004년 1월 15일 접수, 2004년 4월 6일 심사완료)

Measurements of Plasma Flows in Micro-Tube/Channel Using Micro-PIV

Choon Sik Ko, Sang Youl Yoon, Ho Seong Ji and Kyung Chun Kim

Key Words : Plasma(혈장), Micro-PIV(마이크로 입자영상유속계), Droplet formation(액적 형성), Micro-tube(마이크로튜브), Microchannel(마이크로채널)

Abstract

In this paper, flow characteristics of plasma flow in a micro-tube were investigated experimentally using micro particle image velocimetry(micro-PIV). For comparison, the experiments were repeated for de-ionized(DI) water instead of plasma. Both velocity profiles of plasma and de-ionized water are well agreed with the theoretical velocity distribution of newtonian fluid. We also carried out generating plasma-in-oil droplet formation at a Y-junction microchannel. In order to clarify the hydrodynamic aspects involved in plasma droplet formation, Rhodamine-B were mixed with plasma only for visualization of plasma droplet. With oil as the continuous phase and plasma as the dispersed phase, plasma droplet can be generated in a continuous phase flow at a Y-junction. For given experimental parameters, regular-sized droplets are reproducibly formed at a uniform flow conditions.

기호설명

u : X 방향으로의 평균속도
U : X 방향으로의 최대평균속도
r : 마이크로 튜브 중심에서 횡방향으로 거리
R : 마이크로 튜브의 반경
Q : 마이크로 튜브/채널에 유입되는 유량

1. 서 론

MEMS(Micro Electro Mechanical System)기술의 발달로 인하여 바이오 기술과 마이크로 제작기술이 융합된 미세유체소자(Microfluidics)에 관한 많은 연구가 이루어지고 있으며 μ-TAS(Micro Total Analysis System)등에 많이 응용되고 있다. 미세유체소자의 대한 연구에서 혈류유동(blood flow)이 중요한 분야로 간주되며 혈류유동은 multi-phase flow, non-newtonian fluid, cardiac cycle 등과 같은 여러 가지 현상으로 인하여 비선형특성을 지니고 있으며 이에 관한 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 대부분의 미세유체소자에서의 혈류유동에 관한 실험적 연구는 유량과 압력강하의 관계에 의한 측정이 주된 연구대상이었다.

Micro-PIV 기법의 개발로 미세유체소자 내부의 수 마이크론 단위의 상세한 유속분포를 획득하는 것이 가능해졌으며 적용범위에 따라 다양하게 응용 개발되고 있다.[1] 최근 들어 Micro-PIV 기법을 적용하여 미세유체소자에서의 혈액유동 측정에 관한 연구가 진행되어지고 있으며[2,3] 국내에서도 혈액유동에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.[4]

미세유체소자에서의 화학반응에 관한 관심이 증가하면서, 화학/생화학 실험에서 반응분석을 위한 시료로 droplet 이 사용되고 있다. 시료로서 droplet 의 가장 큰 장점은 분석에 dead volume 이 줄어들면서 적은 양의 시료로도 분석이 가능하다

† 책임저자, 회원, 부산대학교 기계공학부
E-mail : kckim@pusan.ac.kr
TEL: (051)510-2324 FAX : (051)515-7866
* 부산대학교 대학원 기계공학과
** 부산대학교 기계기술연구소

는 점이다. 따라서 droplet 을 기반으로 하는 미세 반응기(micro reactor)가 매력적인 연구분야로 각광 받고 있다.

Organic phase fluid 와 water phase fluid 로써 water/oil two phase fluid를 사용하여 Y 자형 마이크로채널과 T 자형 마이크로채널에서의 표면장력에 의해 droplet 을 발생시키는 연구가 수행되고 있으며, Microchannel 의 설계가 간단하고 전기적 장치가 없으며 droplet 의 증발이나 오염현상이 없다는 장점이 있다.[5,6] 아주 최근 개별적으로 나누어진 droplet 을 기반으로 한 디지털 미세유체소자(digital microfluidics) 개념이 새로운 패러다임으로 제기되고 있다. 미세유체소자 공정은 단위 사이즈화된 다발들의 이송, 저장, 혼합, 반응, 분석 등이 개별/독립적으로 이루어지게 된다. 따라서 표준화된 여러 개의 공정이 동시에 이루어지는 것을 의미한다.[7,8]

본 연구에서는 미세유체소자 및 시스템 연구에 가장 응용이 많은 혈액에 대한 몇 가지 선행연구를 하고자 하였습니다. 마이크로 튜브 내부에서 두 종류의 작동 유체 즉, 사람의 혈액에서 분리한 혈장(plasma)과 증류수(de-ionized)에서 마이크로 튜브 내부에서의 유동 측정으로 newtonian 유체인 혈장의 유동 특성을 확인하고자 하였다. 또한 혈장을 droplet 으로 하는 미세반응기나 분석시스템을 제작하기 위한 선행 실험으로 혈장을 마이크로 채널 내부에서의 혈장(water phase)과 오일(oil phase)에 의한 plasma/oil phase 유체 유동에서의 표면장력에 의해 생성되는 droplet 형성에 관한 가시화를 연구하였다.

2. 실험장치 및 방법

2.1 실험장치

본 연구에 사용된 마이크로 튜브는 300 ㎛의 내경과 500 ㎛의 외경으로 이루어져 있으며 재질은 FEP(Fluorinated Ethylene Polymer)로 제작되었다.

Fig. 1 은 본 연구에 사용된 마이크로채널의 형상과 크기를 나타내고 있다. 그림에서와 같이 본 채널은 두 개의 다른 입구를 가지고 있어 각각 다른 유체가 다른 유량으로 유입되도록 하였다. 이때의 입구채널의 폭은 100 ㎛ 이었다. 그리고 하나의 채널로 모아지도록 하였으며 이때의 단일채널 폭 또한 100 ㎛이었다. 마이크로 채널 전체의 깊이는 90 ㎛로 제작되었으며, 측정을 위해 300 ㎛ 두께의 Pyrex 유리가 Si-wafer 로 제작된 채널에 본딩되었다. 측정영역 1 은 (Position 1)은 Y 채널의 두 유입채널이 합쳐지는 영역이며, 측정영역 2 는 측정영역으로부터 2㎜ 정도 하류방향으로 떨어진 위치에서 측정하였다.

Fig. 2 는 본 연구에서 사용된 Micro-PIV 장치의 개념도를 나타낸 것으로 Fig. 2(a)는 마이크로 튜브에서의 혈장유동측정을 Fig. 2(b)는 마이크로 채널에서의 droplet 측정을 위해 사용된 Micro-PIV 장치이다. 본 연구를 위한 Micro-PIV 장치는 형광현미경(fluorescence microscope), Nd-YAG 레이저, 12bit cooled CCD camera, synchronizer 로 구성되었다.

형광현미경(BX51, IX51, Olympus)의 내부에는 550 ㎚ 이상의 파장을 통과시키는 high pass filter 가 장착되어 입자로부터 형광되어 방출되는 영상만을 투과시켜 획득하도록 하였으며, 20× 의 objective lens 가 사용되었다. 광원으로는 Nd-YAG 레이저가 사용되었으며 레이저 빔은 beam expander 에 의해 확장되어 지고 dichroic mirror 에 의해 반사되어 대물렌즈(20X)를 통과한 후 마이크로 채널에 조사되도록 하였다. 화상 획득을 위하여 1280×1024 해상도의 12bit cooled CCD camera (PIVCAM 13-8, TSI)가 사용되었다. Micro-PIV 계측을 위해 사용된 입자는 500 ㎚ 직경의 형광입자(Excitation:542 ㎚ / Emission :612nm)와 1 ㎛ 직경의 형광입자(Excitation: 535 ㎚/ Emission: 560nm)가 사용되었으며 녹색파장의 빛을 흡수하여 오렌지 파장의 빛을 방출한다. 유동의 형성을 위해 syringe pump 가 사용되었다.

Fig .3 은 test section 을 나타낸 그림으로 굴절률에 의한 왜곡현상을 최소화하기 위해서 마이크로 튜브를 물에 잠기게 하였으며 물에서도 사용이 가능하도록 제작된 20× water immersion objective lens 를 사용하였다. 이때 마이크로 튜브의 굴절율은 1.338 로 물의 굴절율 1.33 과 거의 일치한다.

마이크로 튜브에서 Micro-PIV 에 의해 측정된 화상으로부터 속도벡터의 추출을 위해 실험실에서 자체 개발한 2-frame cross correlation 기법을 적용한 PIV-ACE 가 사용되었으며 화상해상도는 350 ㎚/pixel 정도이며 실제 속도벡터장은 가로 11.2 ㎛×22.4 ㎛의 벡터간격의 해상도를 가지며 300 장의 앙상블 개수로 평균을 구하였다.

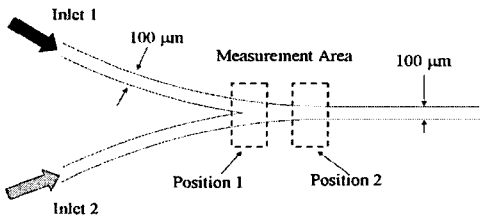
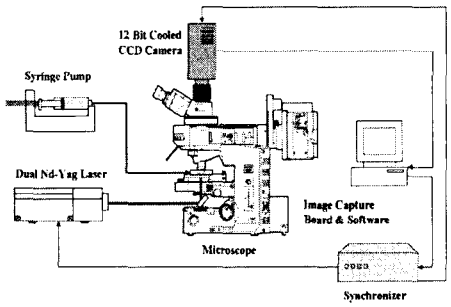


Fig. 1 Schematic of Y-junction microchannel and measurement area

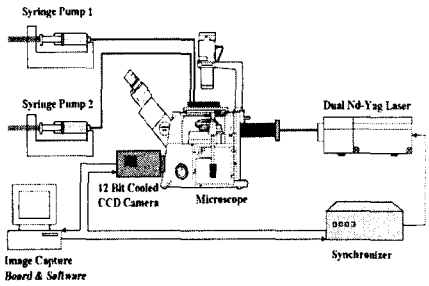
2.2 실험방법

본 연구에서 Micro-PIV 에 의한 마이크로 튜브 내부에서의 혈장(plasma)의 유동 측정을 위하여 500 ㎚의 형광입자가 사용되었으며, 유동 특성의 비교를 위해서 증류수에 1 ㎛ 형광입자를 혼합하였으며, 주사기펌프의 유량공급에 의해서 유동이 형성하였다.

또한 Y 자형 마이크로채널에서 oil phase 와 water phase 에 의한 droplet 가시화를 위한 실험으로 oil phase 에는 오일을 water phase 에는 혈장을 이용하였으며, 혈장의 droplet 형성 실험에서는 주사기펌프를 사용하여 오일의 유량을 3.0 ㎕/min 일정하게 유지하며, 혈장의 유량을 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ㎕/min 로 변화시켜 측정을 하였다. 가시화를 위해 극소량의 Rhodamin-B 를 혈장에 혼합하였다.



(a) Measurements of plasma flow in micro-tube



(b) Measurements of droplet formation

Fig. 2 Schematic of experimental setup

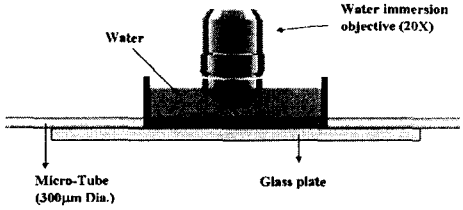


Fig. 3 Geometry of objective lens and test section in micro-tube

3. 실험결과

Fig. 4 는 Micro-PIV 에 의해 측정된 마이크로 튜브의 단면의 중간지점의 시간에 따른 평균 속도를 나타낸 그래프이다. 혈장과 증류수 대하여 유량이 25 ㎕/min 에 대한 속도분포를 측정하였으며, Micro-PIV 에 의한 전체 측정영역은 430 ㎛×300 ㎛이며 각 pixel 은 0.35 ㎛×0.35 ㎛의 크기를 가진다. 혈장과 증류수 모두 거의 동일한 속도분포를 갖는 것을 볼 수 있다.

Fig. 5 는 혈장과 증류수 에서의 마이크로튜브단면의 중간지점에서의 시간에 따른 평균속도의 측정결과와 이론값의 비교를 나타낸 그래프이다. 혈장과 증류수 모두 이론값과 일치하는 것을 볼 수 있으며, 혈장이 Newtonian 유체의 특성을 가진다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 벽면으로 갈수록 이론값과 실험값의 오차가 발생되는 것을 볼 수 있는데 물과 마이크로튜브의 굴절율이 거의 일치하지만 미세한 차이에 의해서 왜곡현상에 의한 오차가 발생한 것으로 볼 수 있다

Fig. 6 은 마이크로튜브에서의 속도장 측정시의 형광입자의 이미지를 나타낸 그림이다. Fig. 6(a)의 형광입자와는 다르게 Fig. 6(b)에서는 일정시간 이후 혈장에 혼합되어 있는 형광입자들의 응집현상이 발생하는 것을 볼 수 있으며, 시간의 경과에 따라서 응집되는 형광입자들의 덩어리가 커지는 것을 볼 수 있었다. 또한 응집된 형광입자로 인하여 Micro-PIV 에 의한 혈장유동 측정에 어려움이 있다. 그러나 혈장에서의 속도 측정은 혈장에 형광입자를 혼합한 직 후 초기에 측정이 이루어졌으며, 형광입자의 응집현상이 속도 측정에 미치는 영향은 적은 것으로 생각된다. 이러한 혈장에서의 형광입자의 응집현상은 음전하를 가지고 있는 형광입자들이 일정시간이 경과한 후에 혈장 내부의 단백질과 같은 물질들과 화학적 반응에 의해서 응집된다고 볼 수 있으며, 혈장과 같은 혈액에서의 Micro-PIV 를 적용하여 정확한 속도 측정을 위해서는 혈장에서 형광입자의 응집현상에 관한 연구가 필요하다.

Fig. 7은 Y자형 마이크로 채널에서의 droplet 형성 과정을 나타낸 그림이다. 측정영역은 Fig. 1의position 1로 마이크로채널에서 Y-junction 위치를 나타낸다. continuous phase flow로는 오일이 dispersed phase flow로는 혈장이 사용되었다. 두 유체의 계면을 통한 확산이 이루어지지 않기 때문에 표면장력과 전단력이 이 유체계면을 따라 형성되어지며 저 레이놀즈 수를 가진 유동일지라도 계면에서의 상호작용에 의해 유동은 비선형성을 지니게 된다. 따라서 미세한

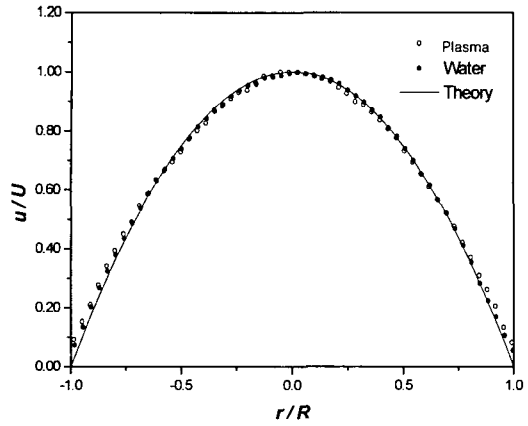
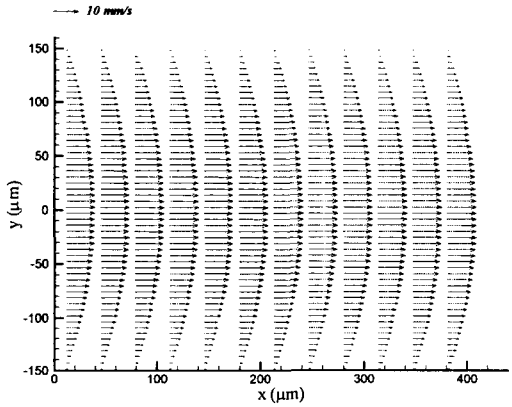
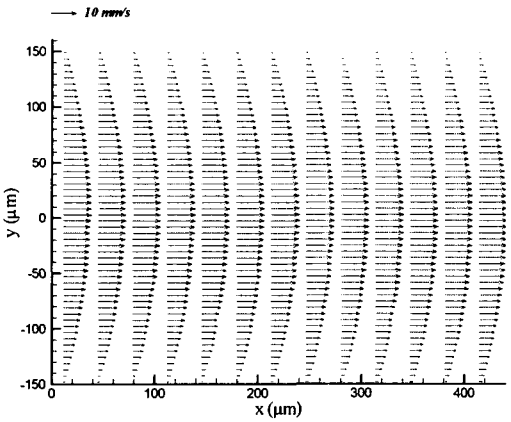


Fig. 4 Ensemble averaged velocity profiles at the center of the micro-tube (Q=25 $\mu\ell$/min)



(a) De-ionized Water

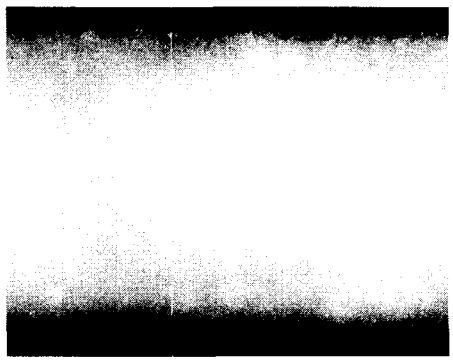


(b) Plasma

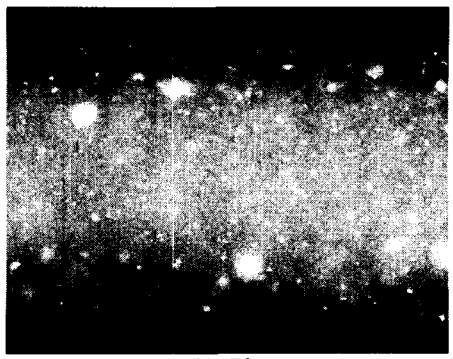
Fig. 5 Ensemble averaged velocity distributions in the center plane (Q=25 $\mu\ell$/min)

불균형에 의해 droplet 이 형성되어 늘어지고 떨어져 나가게 된다. 생성되는 droplet 은 규칙적으로 발생함을 실험과정에서 확인하였다.

Fig. 9 는 오일의 유량을 3 $\mu\ell$/min 로 일정하게 유지시켰을 때 혈장의 유량 변화에 따른 droplet 의 크기 변화를 보여 주고 있다. 오일의 유량이 일정한 경우 생성되는 droplet 의 크기는 혈장의 유량 증가에 비례하여 증가하였다. 또한 droplet 의 형상을 볼 때 혈장 유량의 증가에 따라서 선단과 후미의 경계면 형상의 차이가 있으며, 형상도 원형에서 탄환형으로 변화하는 것을 볼 수 있는데 이는 벽면전단응력에 의한 것이다. Fig. 10, Fig. 11, Fig. 12 에서는 오일의 유량이 일정한 경우에 대해서 혈장의 유량변화에 따른 droplet 의 크기, 공간적인 주기, 그리고 공간적인 주기와 평균유속에서 유추한 생성주파수를 나타낸 결과이다. 혈장의 유량 증가에 따라 droplet 의 크기와 생성주파수는 선형적으로 증가하며, droplet 사이의 간격 즉 공간적인 주기는 감소하는 것을 볼 수 있으며,



(a) De-ionized Water



(b) Plasma

Fig. 6 Image of fluorescence particles in micro-tube

혈장의 유량이 증가할 때 droplet 의 크기의 변화량보다 공간적인 주기의 감소량이 더 크기 때문에 생성주파수가 증가하는 것을 볼 수 있다.

이러한 데이터는 droplet 의 생성 크기 뿐 아니라 droplet 의 유동제어를 통한 시스템의 설계에 활용될 수 있을 것이다. Droplet 의 크기 조절로 인하여 분석에 필요한 최소한의 양을 파악하면 dead volume 을 최소화 할 수 있기 때문에 사용되는 시료의 양을 최소화 할 수 있으며, 공간적인 주기와 생성주파수를 적절히 조절하면 최적화된 분석시스템을 만들 수 있다.

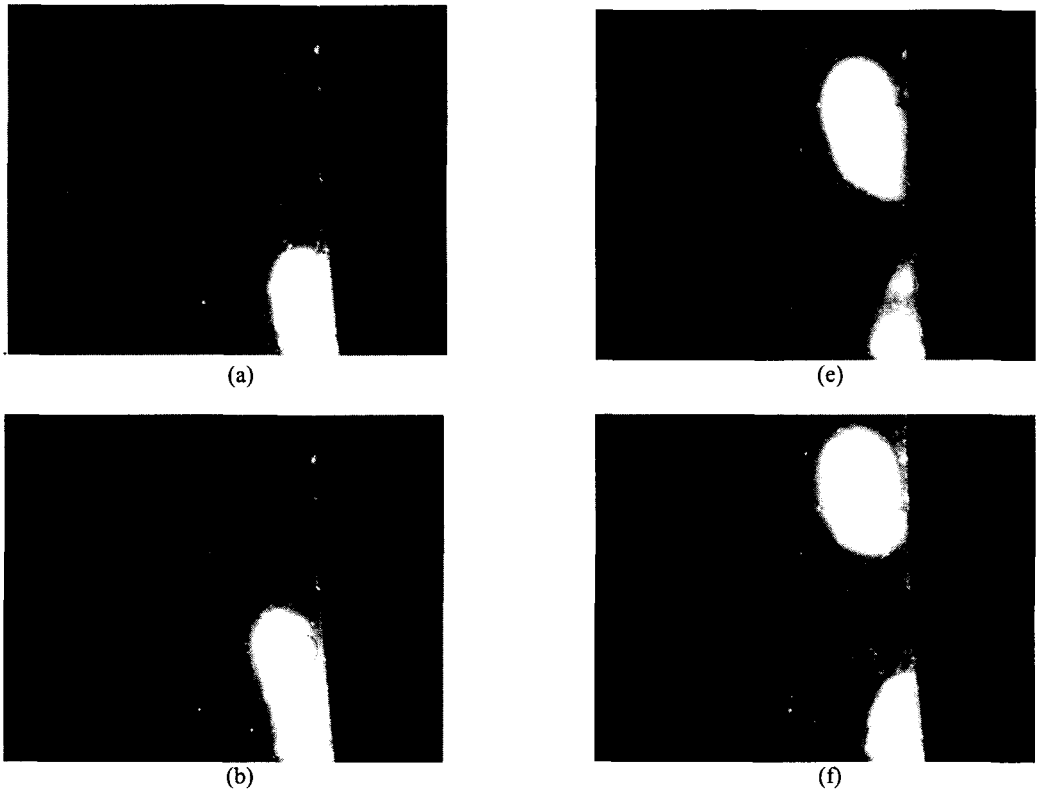


Fig. 7 Visualization of droplet formation (olive oil : 3 $\mu\ell$ /min, Plasma : 1.5 $\mu\ell$/min)

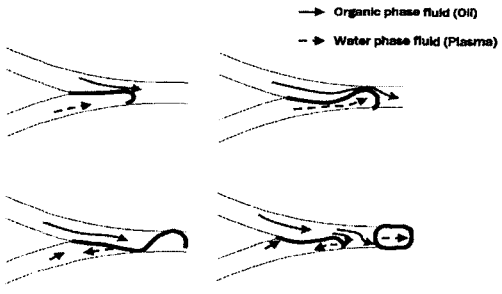
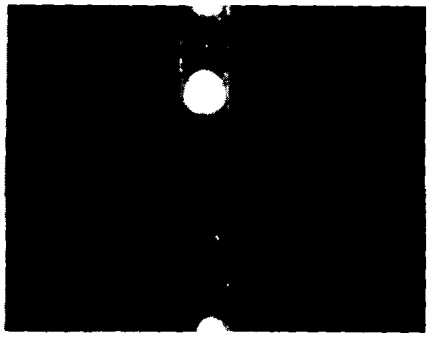
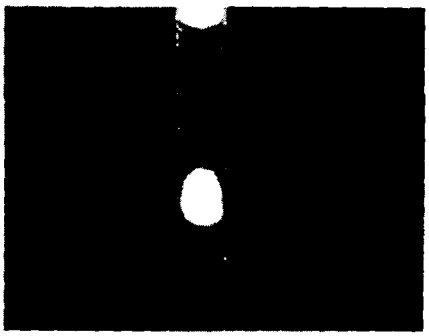


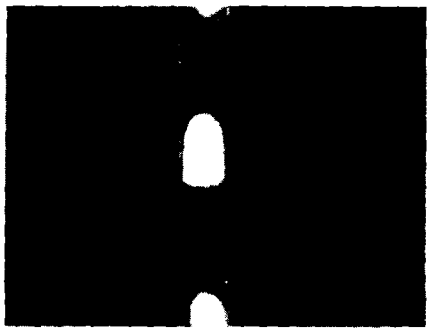
Fig. 8 Schematic diagram of droplet formation



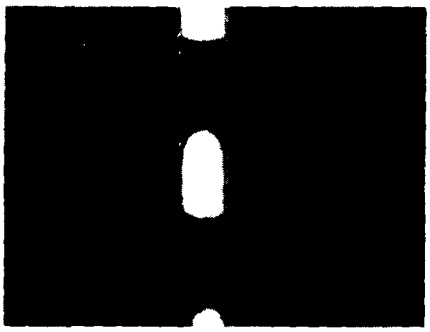
(a) 0.5 $\mu\ell$/min



(b) 1.0 $\mu\ell$/min



(c) 1.5 $\mu\ell$/min



(d) 2.0 $\mu\ell$/min

Fig. 9 Variation of droplet length according to plasma flow rate(olive oil : 3 $\mu\ell$/min)

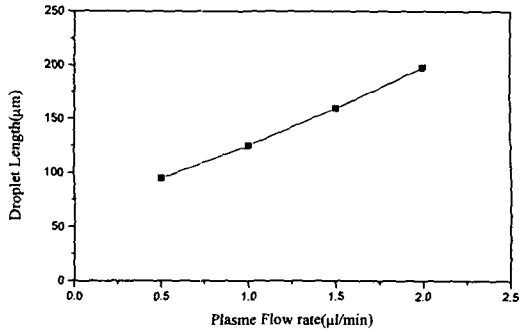


Fig. 10 Variation of droplet length according to plasma flow rate

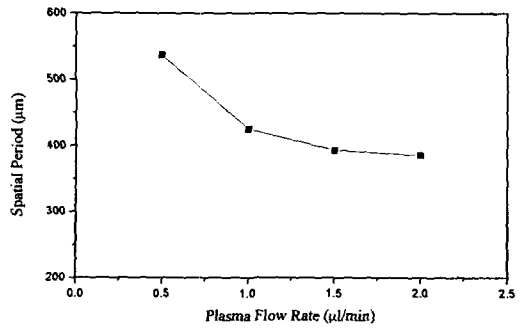


Fig. 11 Variation of spatial period according to plasma flow rate

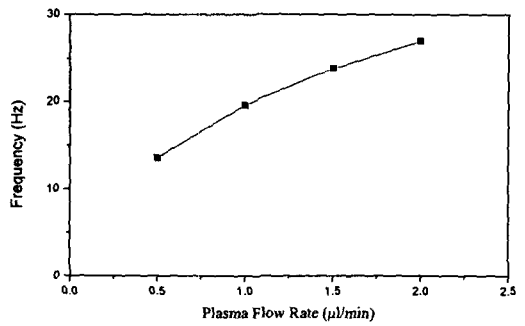


Fig. 12 Variation of frequency according to plasma flow rate

4. 결 론

마이크로 튜브/채널에서의 혈장 유동에 대한 Micro-PIV 를 이용한 유동측정 및 가시화 실험을 수행하였다.

마이크로 튜브에서의 유동측정으로 혈장이 Newtonian 유체의 특성을 가진다는 것을 확인 하였다. Micro-PIV 를 사용하여 혈장과 같은 혈액유동의 특성을 분석하기 위해서는 마이크로 튜브 벽면에서의 실험값과 이론값의 오차의 원인과 혈장 내에서의 형광입자의 응집현상에 대한 추가적인

분석이 필요하다.

마이크로 채널에서 혈장과 오일의 상호 계면에서의 높은 전단력과 표면장력으로 인하여 droplet이 규칙적으로 형성되는 것을 볼 수 있었으며, 혈장 유량의 변화에 따라서 droplet 크기를 조절하였다. droplet 의 형상은 유량의 증가에 따른 벽면 전단응력의 영향으로 원형에서 탄환형으로 변화하는 것을 확인하였고, droplet 의 크기와 생성주파수는 선형적으로 증가하는 반면 공간적인 주기는 비선형적으로 줄어들고 있음을 알 수 있다.

이러한 droplet 의 크기, 공간적인 주기, 생성주파수는 이를 활용한 Lab-on-a-chip 또는 μ-TAS의 설계에 중요한 기초자료가 될 수 있다. 그리고 이러한 혈장의 균일한 droplet 생성은 혈장을 이용한 혈액분석 시스템에 이용될 수 있다

후 기

본 연구는 과학기술부 국가지정연구실(NRL) 사업의 일환으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

(1) Santiago, J. G., Wereley, S. T., Meinhart , C. D., Beebe, D. J. and Adrian, R. J., 1998, "Particle Image Velocimetry System for Mmicrofluidics," *Experiments in Fluids*, Vol. 25, pp. 316~319.

(2) Nakano, A., Minamiyama, M., Sugii, Y. and Nishio, S., 2001, "Measurements of Red Blood Cell Velocity Profile in Microvessels Using Particle Image Velocimetry Combined with High-Speed Digital Camera," *Microcirc. Annu*, Vol. 17, pp. 159~160.

(3) Sugii, Y., Nishio, S. and Okamoto, K., 2002,"In Vivo PIV Measurement of Red Blood Cell Velocity Field in Microvessels Considering Mesentesy Motion," *Physiol. Meas*, Vol. 23, pp. 403~416.

(4) Cho, M. T., Roh, H. W., Suh, S. H. and Kum, J. S., 2002, "Pulsatile Flow Analyses of Newtonian Fluid and Non-Newtonian Fluid in Circular Tube," *KSME Journal B*, Vol. 26, No. 11, pp. 1585~1596.

(5) Nisisako, T., Torii, T. and Higuchi, T., 2002, "Preparation of Picoliter-Sized Reaction/ Analysis Chambers for Droplet-Based Chemical and Biochemical Systems," *Micro Total Analysis Systems* Vol. 1, pp. 362~367.

(6) Yoon, S. Y. and Kim, K. C., 2003, "Micro-PIV Measurement of Water/Oil Two Phase Flow in a Y-Junction Microchannel," *5th International symposium on Particle Image Velocimetry.*

(7) Pollack, M. G. and Shenderov, A.D., Fair, R. B., 2002, "Electrowetting-Based Actuation of Droplets for Integrated Microfluidics," *Lab on a Chip*, Vol. 2, pp. 96~101.

(8) Paik, P. , Pamul, V. K., Pollack, M. G. and Fair, R. B., 2003, "Electrowetting-Based Droplet Mixers for Microfluidic Systems," *Lab on a Chip*, Vol. 3, pp. 28~33.