

## 광 픽업 방식 형광스캐너를 이용한 미소유체 특성 분석

임 빛\* · 김재현\* · 이승엽\*\* · 박정열 †

(2008년 8월 6일 접수, 2008년 10월 23일 수정, 2008년 11월 14일 심사완료)

### Characterization of Microfluidic Channels using DVD Pick-up Fluorescent Scanner

Vit Yim, Jaehyun Kim, Seung-Yop Lee and Jungyul Park

**Key Words :** Microfluidics(미소유체), Optical Pick-up(광픽업), Biochip Scanner(바이오칩 스캐너)

#### Abstract

Microfluidics deals with the behavior, precise control and manipulation of fluids at a micro scale. It has become increasingly prevalent in various applications such as biomedical applications (diagnostics, therapeutics, and cell/tissue engineering), inkjet head, and fuel cells etc. The issue of inspection and characterization of microfluidics has emerged as a major consideration in design, fabrication, and detection of microfluidic devices. In this paper, we characterize a diffusion based mixing in Y-microchannel using a fluorescent optical scanner based on a DVD pick-up module, which is widely used in optical storages. Using fluorescent dye, we measure the fluorescent intensity that represents the mixing patterns in Y-microchannel. We also compare these experimental results with computational fluid dynamics (CFD) simulation ones. It is shown that the proposed optical scanner can be used as an alternative measurement system with high performance and cost-effectiveness, compared to conventional optical tools such as epifluorescent microscopes using high resolution CCD camera and confocal microscopes with photomultiplier (PMT) detectors

#### 1. 서론

미소유체시스템(microfluidics)은 진단(diagnostics), 치료(therapeutics), 세포 및 조직공학(cell/tissue engineering)과 같은 의공학 응용<sup>(1-3)</sup> 외에도 잉크젯 헤드,<sup>(4)</sup> 연료전지<sup>(5)</sup>와 같은 산업계에도 많이 응용되고 있다. 미소유체시스템은 작은 크기로 인해 적은 시료(analyte)의 소모 및 제작비용의 절감, 빠

른 응답시간과 같은 장점을 지니고 있어서,<sup>(6)</sup> 앞으로 계속적인 연구가 이루어지리라 예상된다. 이러한 미소유체시스템에 있어서, 미소유체의 정량적인 측정이 설계, 제작 및 검출에 있어서 중요한 변수가 된다. 그러나, 미소유체시스템은 적은 시료를 사용하기 때문에 검출(detection)하기가 쉽지 않다. 특히 전도도와 전위차에 기반한 전기화학적 검출 방법(electrochemical detection)은 대상 시료의 적은 양으로 인해 미소유체시스템에서 그 역할을 제대로 할 수 없을 수도 있다.<sup>(7)</sup> 그에 비해 형광검출(fluorescence detection)은 적은 시료에 대한 우수한 선택비(selectivity)와 감도(sensitivity)로 인해 미소유체 시스템에서 널리 사용되고 있다.<sup>(3)</sup> 현재는 고해상도의 CCD 카메라를 이용한 형광 현미경(epifluorescent microscope)이나 광전자 증배관

† 책임저자, 회원, 서강대학교 기계공학과

E-mail : sortpark@sogang.ac.kr

TEL : (02)705-8642 FAX : (02) 712-0799

\* 서강대학교 대학원 기계공학과

\*\* 회원, 서강대학교 기계공학과

(photomultiplier)을 이용한 공초점 현미경(confocal microscope)이 주로 미소유체시스템에서 형광검출 시스템으로 사용되고 있으나, 이들 장비가 상당히 고가이고 휴대성이 떨어지기 때문에 보다 쉽게 접근이 가능하면서도 가격경쟁력을 갖는 형광 검출 방법의 개발이 요구되고 있다.

본 연구에서는 PC 나 노트북 등에 장착되는 DVD 광픽업(DVD optical pick-up)에 기반한 광학스캐너를 이용하여 마이크로 채널 내의 유동 분석의 정량화가 가능함을 보인다. 선행연구로서 광학저장장치를 이용하여 DNA 칩을 검출하는 결과들이 보고 되었다. 콤팩트디스크(CD) 기술이 기존의 DNA 스캐너 기술에 필적할만한 성능을 보일 수 있으며,<sup>(8)</sup> CD disk 를 이용하여 DNA 분석이 가능한 랩온어칩(lab on a chip) 시스템이 선보였다.<sup>(9,10)</sup> 이 논문에서는 Y 형태의 마이크로 채널 내의 확산에 의한 유체 패턴의 변화를 소형이면서 저가의 상업적으로 쓰이고 있는 DVD 픽업 모듈을 사용하여<sup>(11,12)</sup> 정량적으로 측정하고, 이를 다중물리기반의 전산유체해석을 이용하여 그 결과를 비교하고자 한다. 또한, 현재 보급되어 있는 공초점 현미경과의 성능 비교를 통해 제안된 시스템이 가격경쟁력이 있으면서도 기존의 고가 장비를 대체할 수 있음을 보인다.

## 2. DVD 픽업을 이용한 광학스캐너

Fig. 1 은 본 연구에서 제안된 DVD 광픽업을 이용한 광학 스캐너의 개념도를 보여주고 있다. 650nm 파장의 적색 레이저 다이오드와 532nm 의 녹색레이저 다이오드를 사용하여, 보통 형광분석에서 사용되는 Cy3 과 Cy5 두 가지를 검출할 수 있도록 하였으며, 정밀한 x-y 선형 스테이지가 분석대상을 1 $\mu$ m 의 분해능으로 제어할 수 있도록 되어 있다. 레이저가 광 경로를 통해서 분석 시료

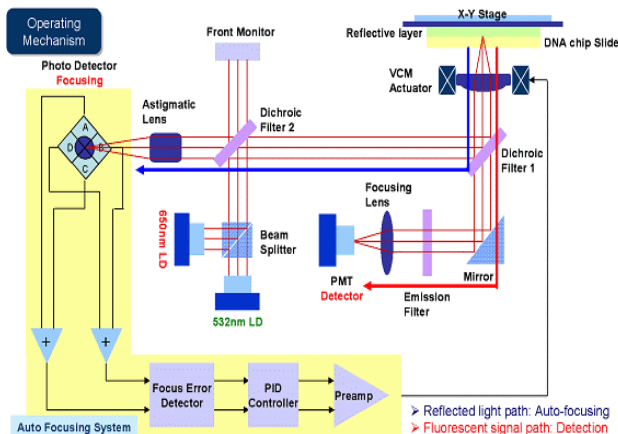


Fig. 1 Schematic of proposed optical scanner

에 조사되면 형광이 발광되는데 이 형광신호는 고감도의 광전자 증배관에 의해 검출되어지며, 반사된 레이저 신호는 DVD 광픽업 장치의 4 분할 포토다이오드(photodiode)를 통하여 자동초점 메커니즘을 구현하여 레이저가 시료 표면에 실시간으로 초점이 유지되도록 한다. 광학 스캐너 장치의 자세한 사양은 기존 논문에 나와있다.<sup>(11,12)</sup>

## 3. 미소유체시스템의 제작

광학 스캐너를 이용한 미소유체의 유동 분석을 위하여 소프트 리소그래피(soft lithography)를 이용하여 제작하였다. Fig. 2 는 Y 채널과 마이크로 채널 제작과정의 개략도를 보여준다. 먼저, CAD 프로그램을 이용하여, 마이크로 채널을 설계하고, 이를 필름형태의 마스크로 제작한다. 음성감광제인 SU-8 (MicroChem Inc. USA) 을 실리콘 웨이퍼에 스프인코팅한 후에 오븐을 이용하여 소프트 베이킹하였다. 그리고, SU-8 층에 UV 노광(expose) 후에 후감광베이킹(post exposure baking)한 후 현상용액(developer)에 담귀서, UV 에 노광되지 않은 SU-8 을 식각한 후에, 이소프로필 알코올(isopropyl alcohol, IPA)을 사용하여 세척한다. 제작된 SU-8 이 올려져 있는 실리콘 웨이퍼 위에 윤활제(tridecafluoro)를 진공 도포한 후에 Polydimethylsiloxane(PDMS)와 경화제를 10:1 로 혼합한 후에 SU-8 몰드 위에 도포하였다. PDMS 가 도포된 몰드를 베이킹 한 후, 몰드와 PDMS 를 분리하였다. 분리된 PDMS 에 필요한 부분을 절취하여 슬라이드 글라스에 올린 후에, 플라즈마(O<sub>2</sub> Plasma)에서 처리한 후에 본딩을 함으로써 미소유체시스템을 완성하였다

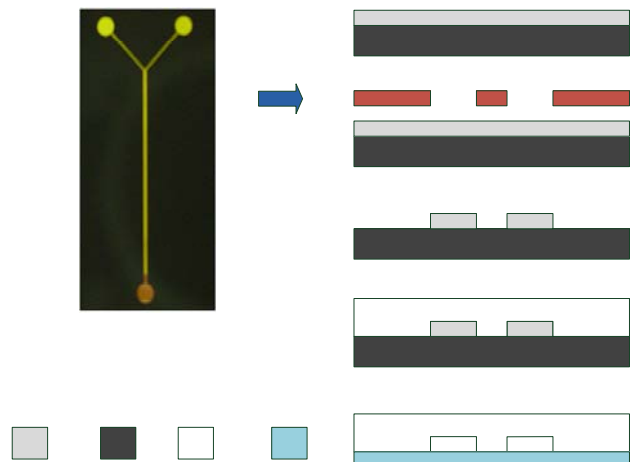


Fig. 2 Fabrication process of microfluidic devices

#### 4. 실험장치 및 방법

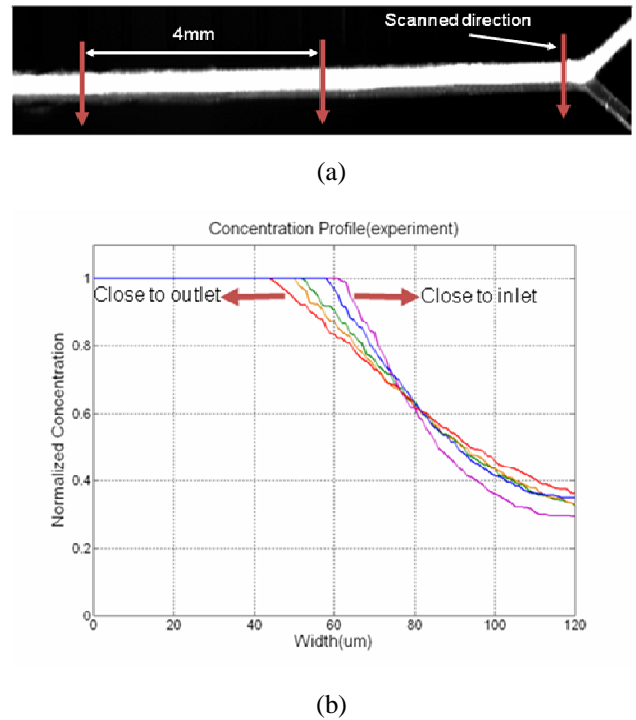
앞 절에서 소개된 광학스캐너에 제작된 미소유체 시스템을 장착한 후, 형광 염료를 마이크로 실린지 펌프를 사용하여 마이크로 채널 내에 흘려주어, 채널내의 mixing 패턴을 분석한다. 광학 스캐너는 데이터가 있고 없는 1 과 0 으로만 분석하는 것이 아니라 형광농도에 따른 강도의 세기 변화 또한 측정이 가능하다. 이는 형광 강도가 인가되는 빛의 세기 및 형광물질의 양에 선형적으로 비례하게 되기 때문이다. 따라서 이러한 성질을 이용하여, 마이크로 채널 내에서 형광 세기의 구배 (gradient)가 생성되도록 하고, 이러한 형광신호의 변화를 광학스캐너로 측정함으로써 마이크로 채널 내의 유동특성을 분석할 수 있는 것이다. 본 연구에서는 Cy5.5 에 해당하는 Dylight 680 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)을 사용하여 형광분석을 수행하였다. 광전자 증배관을 통한 형광신호의 분석은 이미지 데이터를 이용하여 Image J (NIH, USA) 프로그램을 사용하여 그 세기를 정량적으로 분석하였다. 마이크로 실린지 펌프는 유량/유속을 모두 제어할 수 있는 정밀한 New Era Pump Systems 사의 NE-1000 제품을 사용하였다.

#### 5. 실험결과

앞 절에서 제작된 Y-채널 (폭  $500 \mu\text{m}$ , 높이  $50 \mu\text{m}$  길이  $30 \text{mm}$ )을 이용하여, 한쪽에는 Dylight 680 형광염료를 흘려주고 다른 한쪽에는 DI water 를 같은 속도로 흘려주어 섞임 구간에서 두 유체가 만나 확산에 의한 혼합이 이루어 지도록 하였다. 이를  $10 \mu\text{m}$  의 해상도로 전체적인 윤곽을 검출하고 혼합이 이루어 지는 영역에  $1 \mu\text{m}$  의 해상도로 확대해서 검출 하였다. Fig 3 에서 볼 수 있듯이 형광 염료와 DI water 가 흐르면서 확산에 의해 형광의 세기 분포가 측정되는 채널위치에 따라 달라지는 것을 볼 수 있다. 이를 정량적으로 분석하기 위해서 Image J 를 사용하여,  $4\text{mm}$  간격으로 채널단면 방향에 따른 형광세기의 분포를 Fig. 3(b)와 같이 그려보았다. 상대적인 최고농도 ( $C_0=1$ ) 에서부터 DI water ( $C_0=0$ ) 쪽으로 확산이 일어날 때, 채널의 출구방향으로 갈수록 농도 구배가 완만해 짐을 볼 수 있다. 이론적으로는 DI water 가 최하 농도가 0 이 나와야 하나 실제적으로는 DI water 도 어느 정도의 형광세기를 갖기 때문에 완전한 0 가 나오지 않게 된다.

#### 6. 수치해석

층류유동 기반의 미소유체에서의 확산문제는 이론적으로나 실험적으로 잘 알려진 문제로서, 특히 두 가지 다른 농도의 미소유체를 Y 채널에 인



**Fig. 3** Measurements of concentration of Dylight 680 in Y-microchannel using the proposed optical scanner. (a) Fluorescent image of microchannel from the optical scanner (b) Profiles of fluorescent intensity from experiments (purple color is the closest to input of the main channel, red is the farthest to it)

가하였을 때 채널 내 두 유체의 경계면에서 확산효과에만 의존한 mixing 패턴에 대한 연구는 그 대표적인 사례이다. 본 연구에서는 Navier-Stokes 방정식과 convection-diffusion 방정식에 기반한 농도확산 효과를 동시에 고려한 다중물리 수치해석을 FEM Lab(Comsol Inc. USA)을 이용하여 수행함으로써 Y 채널 내의 다른 농도를 갖는 두 미소유체 사이의 농도 구배를 정량적으로 표현할 수 있었다. 수치해석 시 마이크로 채널 안의 유체는 비압축성 정상상태이며, 뉴턴 유체, 완전발달 유동이라고 가정하였고, 벽면의 탄성은 고려하지 않았으며, 고착 경계조건(no-slip wall condition)을 사용하여 해석하였다. 실험 시에 사용된 형광염료 Dylight 680 가 주로 에스테르(ester)로 이루어져 있기 때문에, 에스테르의 확산 계수를 형광염료의 확산계수 ( $D = 0.84 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$ ) 로 사용하여 농도구배를 구하였다.

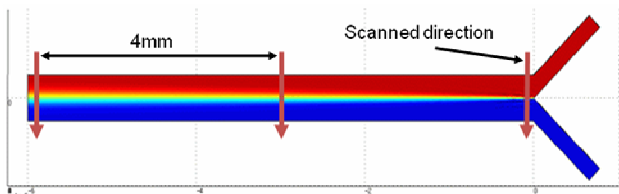
이러한 가정에 의한 Y 자형 마이크로 채널에 대한 확산 현상에 대한 결과는 Fig. 4 와 같다. 고농도( $C_0=1$ )의 유체와 DI water ( $C_0=0$ )가 모이는 확산 영역에서의 길이 방향에 따른 농도의 구배 현상을 확인 하기 위해 두 유체가 모이는 지점부터

실험 시와 동일하게 4mm 단위로 나누어 채널단면 방향으로의 농도 변화 데이터를 뽑아내어 하나의 그래프에 담은 결과를 Fig. 4 (b)에 나타내었다. 시뮬레이션과 동일한 간격으로 농도 변화의 데이터를 보이는 Fig. 3(b)와 비교했을 때, 실험 시에는 DI water 영역에 대해서 완전한 0의 농도를 보이지 못하는 것을 제외하고는 거의 유사한 패턴을 보이고 있음을 알 수 있다.

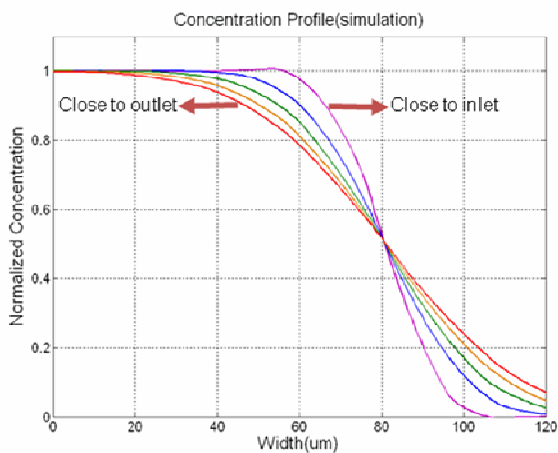
이러한 수치적인 농도 구배와 실험상에서 구현한 Y 채널에서의 형광세기에 대한 구배가 일치하는 결과를 보임으로써, 제안된 형광스캐너를 사용하면, 마이크로 채널 내에서의 mixing 패턴을 정량적으로 표현할 수 있음을 보였다.

### 7. 토의

실험 결과와 시뮬레이션의 비교에서 볼 수 있듯이 본 연구에서 제안된 DVD 광픽업 방식의 광학스캐너가 미소유체의 패턴 및 유동의 정량적 분석에 적용될 수 있음을 보였다. 제안된 광학 스캐너



(a)



(b)

**Fig. 4** Distributions and profiles of concentration using numerical analysis for a Y-shaped channel. (a) Multi-physics simulation results of concentration distributions using commercial software. (b) Profiles of concentration with 4mm interval (purple color is the closest to input of the main channel, red is the farthest to it)

의 성능이 기존 미소유체시스템의 형광분석에서 사용되는 형광 현미경 또는 공초점 현미경의 성능과 비교될 수 있는지 검증하기 위해서, 레이저 발광 방식이며, 본 연구에서 사용하는 광전자 증배관과 동일한 회사제품(Hamamatsu)을 사용하는 공초점 현미경(Carl Zeiss, German)과의 성능비교를 하였다. 일반적으로 두 광학 시스템의 비교는 광학 배율의 차이, 광경로의 차이, 핀홀(pinhole)의 존재 유무 등에 의해 직접적인 성능 비교는 어려우나, 본 연구에서는 성능의 수치적 비교를 위해, 새로운 성능지수(quality factor)를 다음과 같이 정의하고 두 장치의 성능을 산술적으로 비교해 보았다.

$$Q = NA \times \text{Sensitivity} \tag{1}$$

여기서, 개구수 NA(numerical aperture)는 렌즈의 밝기나 해상력을 표현하는 데 쓰이는 값으로서, Rayleigh 방정식에 따르면, 이 값이 클수록, 광학 시스템의 해상력이 우수한 값이고, 감도(sensitivity)는 본 연구에서 사용하는 광전자 증배관의 성능을 나타내는 값으로서, 그 값이 클수록 적은 빛의 양으로도 민감하게 신호를 읽을 수 있다. 따라서 두 값의 곱이 크면 클수록 전체적인 광학 시스템의 성능이 좋다고 정의할 수 있다.

제안된 광학 스캐너의 NA 값은 적색 레이저 광원 사용시에 0.64 이고, 녹색 레이저 광원을 사용할 때에 0.66 을 갖는다. 그리고 광학 스캐너에서 사용된 광전자 증배관의 민감도 값은 1800A/W 이다. 반면에, 공초점 현미경은 렌즈를 교체해 가면서 배율을 조절할 수 있으며, 그에 따라 NA 값도 변하게 된다. 배율이 낮은 것부터 NA 값이 각각 0.35, 0.55, 0.8 을 갖는다. 그리고 공초점 현미경에

**Table 1** Quality factor between optical scanner and confocal microscope

	Laser sources /Objective Lens	NA	Sensitivity (A/W)	Quality
Optical scanner based on DVD pick-up	Red laser (650nm)	0.64	18,000	11,520
	Green laser(532nm)	0.66	18,000	11,880
Confocal Microscope	1.5×O.L	0.35	24,000	8,400
	10×O.L	0.55	24,000	13,200
	20×O.L	0.8	24,000	19,200

서 사용된 광전자 증배관의 민감도는 2400 A/W 를 갖는다. 위의 변수에 따라 성능지수를 계산한 값을 Table 1 에 나타내었다. Table 1 에서 나타내 있듯이 광학 스캐너가 가지고 있는 장치의 성능 값이 공초점 현미경이 갖고 있는 성능값의 최고와 최소값 사이에 존재한다. 이를 통한 대략적인 비교를 통해 광학 스캐너의 성능이 공초점 현미경에 크게 뒤지지 않다고 평가할 수 있다.

## 8. 결론

본 논문에서는 PC 나 노트북에 쓰이는 DVD 픽업 장치를 활용한 광학 스캐너를 이용하여 기존의 고가의 형광 현미경이나 공초점 현미경에 의존했던 미세 유동에 대한 분석을 수행할 수 있음을 보였다. 형광염료를 Y-자 모양의 미소 채널에 첨가하여 미소유체의 mixing 패턴을 관측하고 이에 대한 형광 신호를 정량적으로 분석하였다. 이 결과를 다중물리기반의 전산유체해석을 통한 수치적 결과와의 비교를 통해 신뢰성 있는 형광 분석결과임을 검증하였다. 또한 상용화 되어 있는 공초점 현미경과의 성능 비교를 위해 성능지수 ( $Q = NA \times \text{Sensitivity}$ )를 도입하여 제안된 광학 스캐너가 형광 검출결과에 있어서 가격경쟁력이 있으면서 기존 시스템을 대체할만한 성능을 갖고 있음을 보였다. 이러한 시스템은 차후 차세대 광학저장장치인 블루레이(Blu-ray)나 HD-DVD 등이 상용화 된다면 이를 적용하여 나노급의 형광 분석이 가능해지리라 예상된다. 제안된 시스템은 차후 flow cytometry, particle image velocimetry (PIV), 단백질 형광분석 등의 미소유체 응용분야에 적용될 수 있을 뿐만 아니라, 레이저의 반사를 이용한 미소 구조물의 위상 분석에도 응용될 수 있다.

## 후 기

이 논문은 2007 년 서울시 기술이전 지원사업에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- (1) Brivio, M., Verboom, W. and Reinhoudt, D. N., 2006, "Miniaturized continuous flow reaction vessels: influence on chemical reactions," *Lab on a Chip*, Vol. 6, pp. 329-344.
- (2) Dittrich, P. S. and Manz, A., 2006, "Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery," *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 5, pp. 210-218.
- (3) Reyes, D. R., Iossifidis, D., Auroux, P.-A. and Manz, A., 2002, "Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology," *Analytical Chemistry*, Vol. 74, pp. 2623-2636.
- (4) Petersen, K. E., 1979, "Fabrication of an integrated, planar silicon ink-jet structure," *IEEE Transactions on Electron Devices*, Vol. ED-26, pp. 1918-1920.
- (5) Yamazaki, Y., 2004, "Application of MEMS technology to micro fuel cells," *Electrochimica Acta*, Vol. 50, pp. 663-666.
- (6) Becker, H. and Locascio, L. E., 2002, "Polymer microfluidic devices," *Talanta*, Vol. 56, pp. 267-287.
- (7) Kuswandi, B., Nuriman, Huskens, J. and Verboom, W., 2007, "Optical sensing systems for microfluidic devices: A review," *Analytica Chimica Acta*, Vol. 601, pp. 141-155.
- (8) Perraut, F., Lagrange, A., Poteau, P., Peyssonneaux, O., Puget, P., McGall, G., Menou, L., Gonzalez, R., Labeye, P. and Ginot, F., 2002, "A new generation of scanners for DNA chips," *Biosensors & Bioelectronics*, Vol. 17, pp. 803-813.
- (9) Matsuim T. and Shimonura, T., 2006, "DVD optical-head with fluorescent detection," *Optical data storage topical meeting*, pp. 103-105
- (10) Kido, H., Maquieira, A. and Hammock, B. D., 2000, "Disc-based immunoassay microarrays," *Analytica Chimica Acta*, Vol. 411, pp. 1-11.
- (11) Kim, K., Lee, S.-Y., Lee, S. H., Kim, S. and Jeong, S. G., 2007, "A new DNA chip detection mechanism using optical pick-up actuator," *Microsystem Technologies*, Vol. 13, pp. 1359-1369.
- (12) Kim, K., Lee, S.-Y., Kim, S. and Jeong, S. G., 2008, "DNA microarray scanner with a DVD pick-up head," *Current Applied Physics*, Vol. 8, pp. 687-691.