

원형 모세관과 사각형 단면의 미세채널에서 3차원 수력학적 집속유동 분석

윤성희* · 김경훈** · 김중경†

Analysis of 3-Dimensional Hydrodynamic Focusing in Circular Capillary Tube and Rectangular Microchannel

Seonghee Yoon, Kyunghoon Kim and Jung Kyung Kim

Abstract. Hydrodynamic focusing technique to generate focused flow has been used for flow cytometry in microfluidic devices. However, devices with circular capillary tubes made of glass are not suitable for flow visualization or optical signal detection because the rays of light are distorted at the curved interface. We devised a new acrylic chamber assembled with a pulled micropipette and a rectangular microchannel made of glass. This new channel geometry enabled us to visualize the three-dimensional (3D) flow characteristics with confocal imaging technique. We analyzed the 3D hydrodynamic focusing in a circular capillary tube and a rectangular microchannel over a practical range of flow rates, viscosities and pressure drops.

Key Words: Flow Visualization(유동가시화), Hydrodynamic Focusing(수력학적 집속)

기호설명

u : flow velocity [m/s]
 R : radius of flow or channel [m]
 μ : viscosity [g/cm·s]
 K : pressure drop [dP/dz]
 Q : flow rate [ml/h]
 D_s/D_b : diameter ratio
 Q_s/Q_b : flux ratio

첨자

s : sample flow
 b : buffer flow

1. 서론

산업적으로 또는 의생명과학 분야에서 활용되고 있

는 입자분석기나 흐름 속 세포를 자동으로 계수 및 분석하는 유세포 분석기에서는 샘플에 포함된 입자의 정렬된 이송을 위해 수력학적 집속유동을 주로 사용한다⁽¹⁾. 이러한 집속유동을 발생시키고자 샘플유동의 바깥쪽으로 버퍼유동을 형성시켜 샘플유동의 폭을 좁히는 방법⁽²⁾과 버퍼유동 없이 샘플이 흐르는 채널의 구조를 특수하게 설계하여 샘플을 집속시키는 방법이 있다⁽³⁾. Fig. 1은 버퍼유동을 이용한 샘플유동의 수력학적 집속법을 응용한 입자분석에 대한 개략도이다. 버퍼유동이 채널 가운데로 흐르는 샘플유동을 둘러싸면서 가늘게 형성된 샘플유동에 포함된 세포, 입자 및 섬유 등이 채널에 수직으로 입사된 레이저광을 한 개씩 통과한다. 이 때 발생하는 산란 또는 형광 신호 검출을 통해 샘플을 계수하거나 물리적 또는 생화학적 특성을 분석하게 된다. 채널의 구조 설계를 통해 샘플을 집속시키는 방법은 일정 구간을 지난 뒤 집속유동의 형태⁽³⁻⁵⁾를 보이는 경우와 샘플에 포함된 입자가 일자 채널 단면의 국소 지역으로 횡적이동(lateral migration)하는 경우⁽⁶⁾로 나눌 수 있다. 미세채널의 단일 유동 내에서 입자가 집속되거나 횡적으로 이동하는 현상은 버퍼유동 없이 원하는 형태의 유동을 발생시킬 수 있으므로 최근 관

†국민대학교 기계시스템공학부

E-mail : jkkim@kookmin.ac.kr

*국민대학교 대학원 기계공학과

**국민대학교 기계자동차공학부

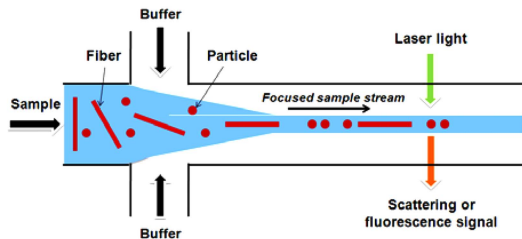


Fig. 1. Schematic of sample transport in single file by hydrodynamically focused flow.

런 유체역학적 연구가 활발히 진행되고 있으며 다양한 응용분야에 활용되고 있다^(3,4).

버퍼유동 없이 단일 유동을 통한 샘플 집속 기술은 유익이 크지만 집속 효과가 나타나기까지 상대적으로 오랜 시간이 걸리고 유속이 비교적 느리기 때문에 고속 및 고효율로 분석할 필요성이 있는 입자 및 유세포 분석기에는 여전히 버퍼유동을 이용하는 추세이다⁽⁷⁾. 버퍼유동을 사용하여 집속유동을 발생시키는 방법에는 주사기 펌프를 이용하여 일정한 유량을 발생시키거나 출구부분에서 음압을 걸어주는 방법, 전위차를 이용한 방법, 정수압을 이용한 방법 등이 있다⁽⁸⁻¹¹⁾.

수력학적 집속유동에서는 채널 중앙부로 흐르는 샘플유동을 기늘고 안정한 상태로 유지하는 것이 중요한데 채널 가장자리에서 샘플유동을 둘러싸는 버퍼의 유량을 증가시키거나 샘플용액의 점도를 높이는 방법이 있다. 폭이 작고 안정된 샘플유동을 생성시키기 위해서는 유량, 밀도, 압력, 점도, 채널의 길이뿐 아니라 용액의 특성에 따른 계면장력도 고려해야 한다⁽¹²⁾.

일반적으로 수력학적 집속유동은 원형 단면의 모세관에서 발생시킨다. 현미경을 통해 유동가시화를 하거나 레이저광학계로 샘플을 검출할 때 원형 단면의 집속유동은 빛이 굴절되어 측정 오차를 유발하는 문제점⁽²⁾이 있으므로 기하광학 해석을 통해 보정하거나 원형 관 재료와 동일한 굴절율을 가지는 액체 속에 관을 넣어 빛의 굴절로 인한 영상의 왜곡을 방지한다. 관의 곡면부에서 나타나는 빛의 굴절현상은 채널의 단면 형상이 사각인 경우 제거될 수 있는데, 사각형 단면의 채널에서 완전 발달된 2차원 집속유동에 대한 선행연구로는 직사각형의 단면을 갖는 미세채널에서 다층유동 해석에 관한 연구⁽¹³⁾가 있다.

본 논문에서는 아크릴 재료의 유동챔버를 제작하여 일반적인 원형 단면과 새로 고안한 사각형 단면의 미

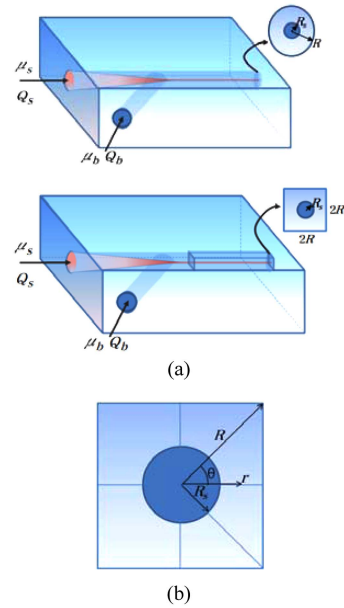


Fig. 2. (a) Schematics of the module-type chambers for hydrodynamic focusing in microchannels with circular and rectangular cross sections. (b) Coordinate system used for flow analysis.

세채널에서 버퍼유동을 사용하여 안정된 3차원 집속유동을 발생시키고 다양한 유동 조건에서 관찰한 실험 결과를 이론적 해석결과와 비교 분석하고자 한다.

2. 이론적 해석

Fig. 2(a)의 아래쪽에 도식적으로 나타난 사각형 단면의 미세채널에서 버퍼유동을 사용한 수력학적 집속유동을 이론적으로 분석하기에 앞서 원형 모세관에서 형성되는 완전발달된 집속유동의 속도분포를 계산하였다. 샘플유동과 버퍼유동의 압력구배와 점도가 다른 일반적인 경우에 대한 지배방정식 (1)과 (2)에 경계조건 (3)~(6)을 적용하여 해석해를 구하였다.

$$\frac{1}{r} \frac{d}{dr} \left(r \frac{du_s}{dr} \right) = -\frac{1}{\mu_s} \frac{dP_s}{dz} \quad (0 \leq r \leq R_s) \quad (1)$$

$$\frac{1}{r} \frac{d}{dr} \left(r \frac{du_b}{dr} \right) = -\frac{1}{\mu_b} \frac{dP_b}{dz} \quad (R_s \leq r \leq R) \quad (2)$$

$$\frac{du_s}{dr} = 0 \quad \text{at} \quad r = 0 \quad (3)$$

$$u_b = 0 \quad \text{at} \quad r = R \quad (4)$$

$$u_s = u_b \quad \text{at} \quad r = R_s \quad (5)$$

$$\mu_s \frac{du_s}{dr} = \mu_b \frac{du_b}{dr} \quad \text{at} \quad r = R_s \quad (6)$$

또한 사각 단면의 미세채널에서 버퍼유동을 사용한 수력학적 집속유동을 이론적으로 분석하기 위해 중심을 원점으로 하는 반경방향 좌표 r 과 시계 반대방향으로 회전하는 각도 θ 를 Fig. 2(b)에 나타내었다. 이 경우에는 원형 모세관에서의 달리 유속이 반경뿐만 아니라 각도에 따라서도 변화하게 된다. 지배방정식은 다음 식 (7)과 같고 위에서 고려한 경계조건 (3)-(6)에 식 (8)을 추가로 적용하면 속도분포에 관한 해석해를 구할 수 있다.

$$\frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial u}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2 u}{\partial \theta^2} = -\frac{1}{\mu} \frac{\partial P}{\partial z} \quad (7)$$

$$u = f(\theta) \quad \text{at} \quad r = R_s \quad (8)$$

3. 실험 장치 및 방법

미세채널에서 버퍼유동을 사용한 수력학적 집속유동을 발생시키기 위한 방법으로 선행연구에서는 주사기펌프를 사용하였는데, 스텝모터의 회전으로 인한 집속유동의 불안정성이 관찰되어 본 연구에서는 정수압을 이용하여 버퍼유동을 사용한 수력학적 집속유동을 형성시켰다. 정수압 조절장치의 샘플유동부와 버퍼유동부에는 각각 300 mm, 100 mm의 높이 조절부가 있어 정수압차에 의한 각 유동의 유량조절이 가능했다. 또한 일정한 정수압을 유지하기 위해 이중으로 된 튜브를 만들고 주사기펌프를 통해 일정한 유량을 흘려 보내도록 제작되었다. 스테레오 현미경(SZ61, Olympus), CCD 카메라(IMB-20FT, imi tech), 주사기펌프(KDS100, KD Scientific)로 구성된 집속유동 실험장치를 Fig. 3에 나타내었다. 수력학적 집속유동을 발생시키기 위해 아크릴로 제작한 모듈형 챔버를 Fig. 2와 같이 고안하였다. 챔버의 상단을 기준으로 좌측에 말단부 직경이 30 μm 인 원형 모세관, 하단에 직경이 1 mm인 버퍼유동부가 체결이 되며 샘플유동과 버퍼유동이 만나는 원관 및 사각 미세채널의 입구부분에서 집속유동이 형성된다. 버퍼용액으로 3차 증류수를 사용하였고 샘플용액은 증류수와 글리세롤, 검은색 잉크를 섞어 샘플과

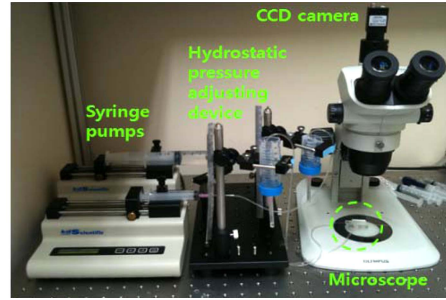


Fig. 3. Experimental setup for analysis of hydrodynamically focused flow generated by hydrostatic pressure.

버퍼의 점도비를 1, 10, 500으로 변화시켰다.

3차원 집속유동 가시화를 위해 직경 1 mm인 원형 채널에 버퍼유동을 사용한 수력학적 집속유동을 발생시켜 공초점 현미경으로 관찰하였다. 공초점 현미경은 IX71 (Olympus)과 CARV II (Atto Bioscience)로 구성되었고 CCD 카메라 (SensiCam QE, PCO)를 통해 영상을 획득하였으며 2 μm 크기의 형광입자 (F8827, Invitrogen)를 사용하여 집속유동을 가시화하였다. 버퍼유동의 유량은 각각 5, 10, 15, 20 ml/h로 변화시켰고, 샘플유동을 위한 형광용액의 유량은 1 ml/h로 설정하였다. 공초점 현미경을 사용하면 채널 내부에서 3차원적으로 집속되는 형광용액의 유동 구조를 다양한 각도에서 관찰할 수 있다.

4. 결과 및 토의

4.1 이론적 해석

원형 및 사각형 단면의 미세채널에서 집속유동을 이론적으로 분석하기 위해 샘플유동과 버퍼유동에 대한 속도와 유량을 식 (9)~(13)과 식 (14)~(15)에 각각 나타내었다. 식 (11)은 압력강하를 나타내고, R_s 는 원형 모세관 및 사각 미세채널 내 샘플유동의 반지름, R 은 원관의 반지름을 나타내며 μ_s 와 μ_b , K_s 와 K_b 는 샘플유동과 버퍼유동의 점도와 압력강하를 나타낸다.

$$u_s(r) = \frac{K_s}{4\mu_s}(r^2 - R_s^2) + \frac{R_s^2}{2\mu_b}(K_s - K_b) \ln\left(\frac{R_s}{R}\right) + \frac{R}{4\mu_b}(R_s^2 - R^2) \quad (9)$$

$$u_b(r) = \frac{K_b}{4\mu_b}(r^2 - R^2) + \frac{R_s^2}{2\mu_b}(K_s - K_b) \ln\left(\frac{r}{R}\right) \quad (10)$$

$$K_s = \frac{\Delta P_s}{L}, \quad K_b = \frac{\Delta P_b}{L} \quad (11)$$

$$Q_s = -\frac{\pi R_s^3 \left\{ K_s \mu_b + 2K_b \mu_s \left(\frac{R^2}{R_s^2} - 1 \right) \right\}}{8\mu_b \mu_s} - \frac{\pi R_s^3 \left\{ 4(K_s - K_b) \mu_s \ln \frac{R}{R_s} \right\}}{8\mu_b \mu_s} \quad (12)$$

$$Q_b = -\frac{\pi R_s^3 \left\{ \left(\frac{R^2}{R_s^2} - 1 \right) \left(2K_s + K_b \left(\frac{R^2}{R_s^2} - 3 \right) \right) \right\}}{8\mu_b \mu_s} + \frac{\pi R_s^3 \left\{ 4(K_s - K_b) \ln \frac{R}{R_s} \right\}}{8\mu_b \mu_s} \quad (13)$$

$$u(r, \theta) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} f(\eta) \frac{R_s^2 - r^2}{r^2 - 2R_s r \cos(\theta - \eta) + R_s^2} d\eta + \int_0^{2\pi} \int_0^{R_s} \frac{1}{\mu} \left(\frac{\partial P}{\partial z} \right) G(r, \theta, \xi, \eta) d\xi d\eta \quad (14)$$

$$G(r, \theta, \xi, \eta) = \frac{1}{4\pi} \ln \frac{r^2 \xi^2 - 2R_s r \xi \cos(\theta - \eta) + R_s^4}{R_s^2 [r^2 - 2r\xi \cos(\theta - \eta) + \xi^2]} \quad (15)$$

실험에 사용한 샘플용액과 버퍼용액의 실제 점도와 압력강하를 이론식에 대입하여 집속유동 및 버퍼유동의 유량비와 직경비를 실험값과 비교하였다.

3.2 집속유동 실험

미세채널에서 집속된 유동의 유량은 직접 측정할 수 있지만 직경의 경우 관찰자의 눈으로 유동 계면을 정확하게 측정하기 어렵다. 이러한 오차를 줄이고자 현미경과 CCD 카메라를 이용하여 유동영상을 획득한 후 ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>) 영상 분석 프로그램의 2진 대비 개선 기법을 사용하였다. 원본 영상과 이를 2진화한 영상을 Fig. 4에 함께 나타내었다.

원형 및 사각형 단면의 미세채널에서 완전발달된 수력학적 집속유동은 점도비를 고려하여 Fig. 5와 같이 유동비와 직경비의 관계 그래프로 나타내었다. 실험값은 점으로 나타내었으며 이론식으로 도출된 실선 그래프와 중첩하여 나타내었다. 유량비의 증가에 따라 직경비도 증가하는 모습을 보였으며 점도비에 따른 직경비의 변화율은 0.3 이하의 유량비에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 이론값에 대한 실험값의 오차가 발생하는 이유는 이론값의 경우 유량비와 직경비의 비교를 위해 압력강하를 동일하게 한 것에 비해 실험에서는 각 측정 위치에서 정수압차로 인한 압력강하가 모두 다르고, 미세채널에서의 마찰과 같은 물리적 손실을 또한 존재하기 때문인 것으로 판단된다. 유량비가 낮으면 안정적인 집속유동이 형성되지 않는데, 이는 샘플유동과 버퍼유동이 만나는 부분에 위치하는 자체 제작한 모세관 끝의 형상이 일정하지 않은 것 때문인 것으로 사료되며 더욱 정밀하게 제작된 모세관을 사용하면 개선될 것으로 판단된다.

Fig. 6은 버퍼유동을 사용한 수력학적 집속유동 가

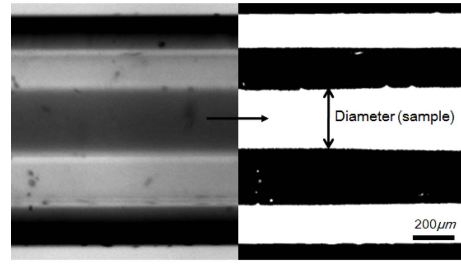


Fig. 4. Image processing method to measure the diameter of the core sample flow.

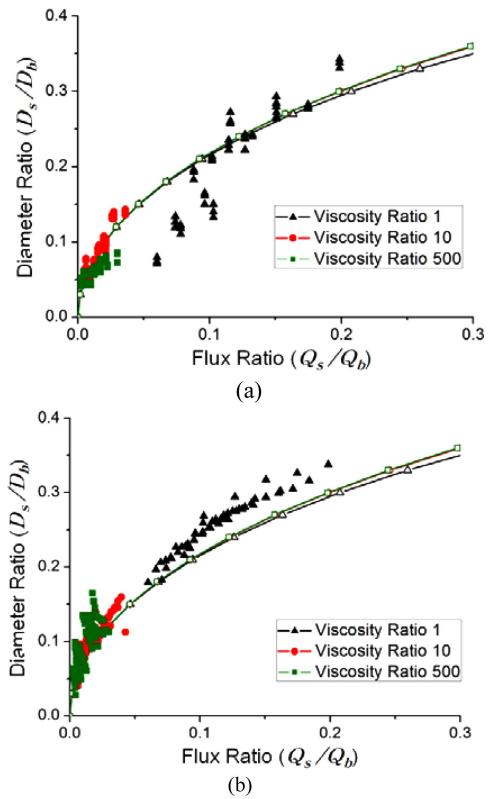


Fig. 5. Effects of flow rate and viscosity on the hydrodynamic focusing in (a) circular and (b) rectangular microchannels.

시화를 위해 공초점 현미경으로 관찰한 채널의 단면과 3차원 유동 구조를 나타낸 그림이다. 버퍼유동의 유량이 높을수록 가운데로 집속되는 형광용액의 지름이 감소하는 현상을 확인할 수 있다.

정수압을 이용하여 집속유동을 발생시키는 경우에는 압력강하가 중요한 요소로 작용하게 된다. 압력강

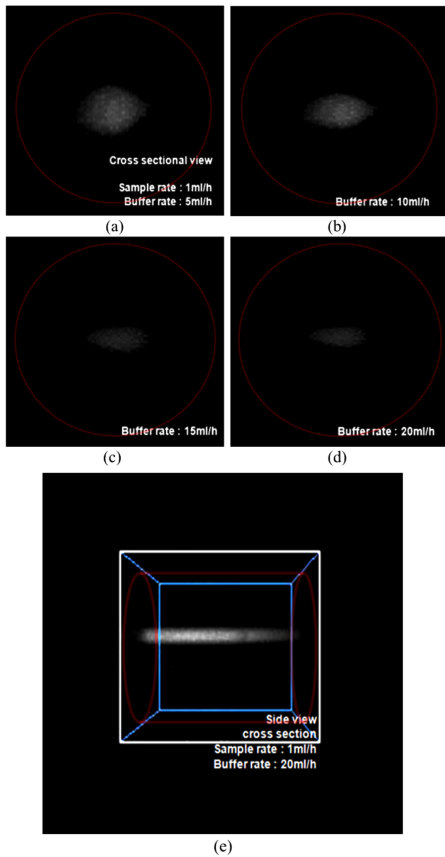


Fig. 6. Confocal images of the hydrodynamically focused flow using fluorescent solution. The cross sectional views at buffer fluxes of (a) 5, (b) 10, (c) 15 and (d) 20 ml/h and (e) the side view at buffer flux of 20 ml/h are shown.

하와 점도비가 유량비와 직경비에 미치는 영향과, 직경비를 기준으로 점도비, 유량비와 압력강하의 관계를 이론적으로 분석하여 Fig. 7의 (a)와 (b)에 각각 나타내었다. 압력강하의 비율이 커짐에 따라 유량비 증가에 따른 직경비의 증가율이 커짐을 Fig. 7(a)를 통해 확인할 수 있었으며 점도비 증가에 따른 유량비와 직경비의 관계에서도 직경비의 증가율이 커지는 것으로 나타났다. 또한, 동일한 직경비에서 점도비보다 압력강하의 비율에 대한 영향이 더 크다는 것을 알 수 있다. Fig. 7(b)는 특정한 직경비를 얻기 위해 필요한 유량비와 압력강하비의 관계를 점도비를 고려하여 나타낸 그래프이다. 이러한 계산결과는 샘플유동을 특정한 직경

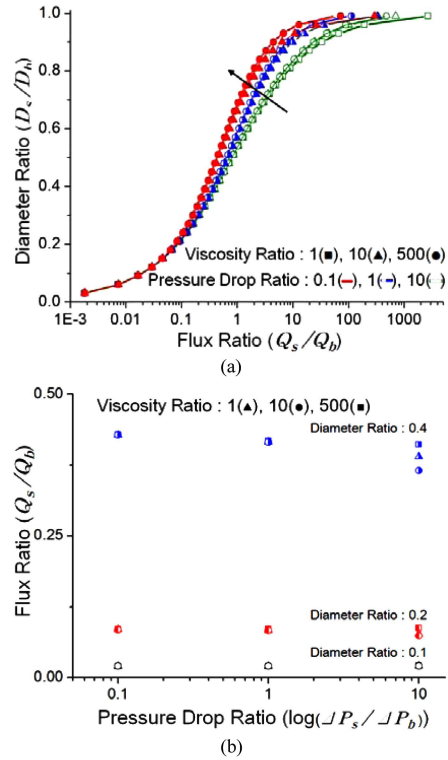


Fig. 7. Effects of variable parameters on the equation of hydrodynamic focusing. (a) Effect of viscosity on the ratios of flux and diameter at the pressure drop ratios of 0.1, 1 and 10. (b) Effects of diameter and viscosity ratios on the pressure drop and the flux ratio.

을 갖도록 집속시키려고 할 때 활용될 수 있다. 또한, 점도비에 따른 비교를 통해 각기 다른 점도를 가진 다양한 샘플용액에 대해서도 적용 가능하다.

미세채널의 집속유동은 채널의 종류와 사용되는 용액의 성질에 따라 온도, 계면장력, 샘플유동 및 버퍼유동의 입구 형상 등 고려할 변수가 많다. 본 논문에서 유도한 이론식에 이러한 조건들을 추가로 고려한다면 실제 측정값에 보다 근접한 결과를 얻을 수 있을 것이다. 추후 샘플용액에 형광입자 또는 용액을 첨가하여 유동가시화 및 공초점 현미경 관찰을 통해 집속유동의 속도분포와 3차원 유동구조를 획득하고 이를 수치해석 결과와 비교해보면 보다 정확한 분석이 가능할 것으로 기대된다.

원형 모세관 및 사각형 단면의 미세채널에서 형성되는 집속유동에 대한 연구결과와 이를 기반으로 제작되

는 각종 분석기기는 생화학, 생물리, 의학 및 약학 등 다양한 기초 연구 분야에 활용될 수 있을 것이다. 또한, 환경오염의 지속적인 모니터링을 위해 미생물의 스크리닝 및 다양한 광산관 신호를 이용한 미세입자의 선별적 분석과 더불어 석면 등의 섬유상 물질을 분리 검출하는 목적으로도 응용될 수 있을 것이다.

4. 결 론

본 연구에서는 유세포 분석기 등에 사용되는 원형 모세관에서의 집속유동을 가시화하거나 광 검출에 활용할 때 관의 곡면부에서 빛의 굴절로 인한 영상 및 광 신호의 왜곡을 제거하고자 사각형 단면의 미세채널을 이용한 3차원 집속유동 챔버를 제안하였다. 새롭게 고안한 유동챔버가 사용된 실험장치에서 정수압을 이용하여 안정된 집속유동을 형성시킬 수 있었다. 또한 원형 모세관 및 사각형 단면의 미세채널에서 형성되는 집속유동에 대한 측정 결과를 해석해와 비교하여 샘플 유동 및 버퍼유동의 점도비와 압력강하비의 변화가 유량비 및 직경비에 미치는 영향을 분석하였다.

후 기

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 휴먼인지환경사업본부-신기술융합형 성장동력사업의 지원(No. 2010K001148)과 한국연구재단 중견연구지원사업의 지원(No. 2010-0027599)을 받아 수행된 연구임.

참고문헌

- 1) Huh, D., Gu, W., Kamotani, Y., Grotberg, J. B. and Takayama, S., 2005, "Microfluidic for Flow Cytometric Analysis of Cells and Particles", *Physiol. Meas.*, Vol.26, pp.R73-R98.
- 2) Yoon, S., Cho, M. O. and Kim, J. K., 2010, "Visualization of Asbestos Fibers in Hydrodynamically Focused Flow", *Proc. ISFV14*, Daegu, Korea, pp.67.
- 3) Di Carlo, D., 2009, "Inertial Microfluidics", *Lab. Chip*, Vol.9, pp.3038-3046.
- 4) Choi, S. and Park, J. K., 2009, "Optically Coated Mirror-Embedded Microchannel to Measure Hydrophoretic Particle Ordering in Three Dimensions", *Small*, Vol.5, No.19, pp.2205-2216.
- 5) Choi, S., Song, S., Choi, C. and Park, J. K., 2008, "Sheathless Focusing of Microbeads and Blood Cells Based on Hydrophoresis", *Small*, Vol.4, No.5, pp.634-641.
- 6) Kim, Y. W. and Yoo, J. Y., 2008, "The Lateral Migration of Neutrally-Buoyant Spheres Transported Through Square Microchannels", *J. Micromech. Microeng.*, Vol.18, No.6, pp.065015-13.
- 7) Krishan, A., Krishnamurthy, H. and Totey, S., 2010, *Applications of Flow Cytometry in Stem Cell Research and Tissue Regeneration*, Wiley-Blackwell, New Jersey, pp.1-12.
- 8) Hou, H. H., Tsai, C. H., Fu, L. M. and Yang, R. J., 2009, "Experimental and Numerical Investigation into Microflow Cytometer with 3-D Hydrodynamic Focusing Effect and Micro-Weir Structure", *Electrophoresis*, Vol.30, No.14, pp.2507-2515.
- 9) Kim, J. K., Bang, H., Lee, Y., Chung, C., Yoo, J. Y., Yang, S. S., Kim, J. S., Park, S. and Chang, J. K., 2001, "Micro-imaging Techniques for Evaluation of Plastic Microfluidic Chip", *J. Semiconductor Technol. and Sci.*, Vol.1, No.4, pp.239-247.
- 10) Xuan, X. and Li, D., 2005, "Focused Electrophoretic Motion and Selected Electrokinetic Dispensing of Particles and Cells in Cross-Microchannels", *Electrophoresis*, Vol. 26, No. 18, pp.3552-3560.
- 11) Yoon, S., Cho, M. O. and Kim, J. K., 2010, "Stability Analysis of Hydrodynamically Focused Flow Field in Rectangular Microchannel", *Proc. NCFE6*, Vol.2, pp.290-291.
- 12) Knight, J. B., Vishwanath, A., Brody, J. P. and Austin, R. H., 1998, "Hydrodynamic Focusing on a Silicon Chip: Mixing Nanoliters in Microseconds", *Phys. Rev. Lett.*, Vol.80, No.17, pp.3863-3866.
- 13) Kim, J. K., Chung, C., Chang, J. K. and Yoo, J. Y., 2003, "Analysis of Fully Developed Multilayer Flow in Microchannel with a Rectangular Cross Section", *Trans. KSME B*, Vol.27, No.5, pp.644-654.