

## 마이크로 유체 원심분리기의 입구 조건과 챔버 크기에 따른 회전 유동 성능 평가

전형진\* · 권봉현\* · 김대일\* · 김형훈\* · 고정상<sup>+</sup>

### Performance Evaluation of Rotational Flow of a 2x2 Microfluidic Centrifuge with varying Inlet Conditions and Chamber Sizes

Hyeong Jin Jeon, Bong Hyun Kwon, Dae Il Kim, Hyung Hoon Kim, and Jeung Sang Go

**Abstract.** This paper describes the measurement of performance evaluation of rotational flow varying chamber size and Reynolds number. Through the experimental visualization of the flow rotation, the number and position of flow rotation in the 2x2 microfluidic centrifuge were examined. At a chamber width of 250  $\mu\text{m}$ , single flow rotation was obtained over at a Reynolds number of 300, while at a chamber width of 500  $\mu\text{m}$ , single flow rotation did not appear. For performance evaluation, the intensity in microchamber was measured during 20 sec. At a chamber width of 250  $\mu\text{m}$ , performance of rotational flow increased as Reynolds number increased. However, the variation of intensity in microchamber remained unchanged at a chamber width of 500  $\mu\text{m}$ . The numerical analysis showed that the threshold centrifugal acceleration to obtain rotational flow for ejected particles was 200g.

**Key Words:** Microfluidic centrifuge(마이크로 유체 원심분리기), Rotational flow(회전 유동), Centrifugal acceleration(원심 가속도), Visualization(가시화)

## 1. 서론

최근 건강에 대한 관심과 함께 질병의 조기 진단 및 치료에 대한 다양한 바이오 기술들이 주목 받고 있다. 특히, 그 중에서도 세포의 신호에 대한 연구인 세포 시그널링(Cell signaling) 분야에 대해서 많은 연구가 진행되고 있다. 세포는 주변 환경적인 변화가 나타나게 되면 주위의 세포들에게도 대비를 하라는 신호를 화학물질로 보내게 된다. 이 때 나오는 물질이 소낭(vesicle)이며, 이를 이용하여 질병의 조기 진단이 가능하다.

세포간의 정보 전달체인 소낭은 나노 크기를 가지며, 세포외부로 배출된 소낭을 세포와 분리하기 위한 다양한 연구들이 진행되고 있다. 대표적인 분리 기술로는 회전축을 중심으로 물질을 회전하여 발생하는 원심력을 이용

한 원심분리기<sup>[1]</sup>, 전기장이나 자기장의 영향을 받아 하전된 물질들이 유동성 매체 내에서 이동하는 전자기영동<sup>[2]</sup>, 그리고 이동상과 고정상에 대한 혼합 성분의 인력 차이를 이용한 크로마토그래피<sup>[3]</sup> 등이 사용 가능하다. 그러나 이러한 방법들은 추가적인 기계 장치와 많은 양의 시료가 필요할 뿐 아니라 현재까지 소낭에 대한 전자기적 물성치가 밝혀지지 않은 단점들을 가지고 있어 일반적으로는 초원심분리기를 이용하여 소낭 분리에 사용되고 있다.

초원심분리기는 고속 회전을 얻기 위해 다단의 기어로 구성되어 있으며, 수ml의 분리 시료 용량이 필요하고 가격이 높은 단점을 가지고 있다. 또한 혈청으로부터 수십에서 수백 나노 크기의 소낭을 크기 별로 분리하는 시간이 길고 분리 선택성이 떨어지며 세포의 손상을 줄 수 있다.

이러한 초원심분리기의 문제점을 보완하기 위해 마이

Corresponding Author: School of Mechanical Engineering, Pusan National University, 63 Beon-gil 2, Busandaehak-ro, Geumjeong-gu, Busan, 609-735, Korea, E-mail: micros@pusan.ac.kr, Tel: 051-510-3512

\* School of Mechanical Engineering, Pusan National University, E-mail: hjeon@pusan.ac.kr, Tel: 051-510-3221

\* School of Mechanical Engineering, Pusan National University, E-mail: memsbong@pusan.ac.kr, Tel: 051-510-3221

\* School of Mechanical Engineering, Pusan National University, E-mail: kdiwing@pusan.ac.kr, Tel: 051-510-3221

\* School of Mechanical Engineering, Pusan National University, E-mail: biohkim@pusan.ac.kr, Tel: 051-510-3221

크로 유체 유동에서 발생하는 스케일 효과를 이용하여 입자를 분리하는 방법들이 활발히 연구되고 있다. 예를 들어 곡관에서 발생하는 이차유동을 이용한 분리 방법<sup>[4]</sup>, 마이크로 필터 구조물을 이용한 입자들의 거동의 차이를 이용한 방법<sup>[5]</sup>과 마이크로 크기의 필터를 이용하여 입자를 분리하는 방법<sup>[6]</sup> 등이 소개 되었다. 하지만 이러한 방법들은 마이크로 크기의 입자를 분리에 주로 사용되어 나노 크기의 소낭 분리에 적용이 어렵다.

이를 보완하여 나노 크기의 입자를 분리하기 위해 단일 입-출구 마이크로채널에 챔버가 연결된 구조에서 챔버에서 발생하는 회전 유동을 이용한 마이크로 유체 원심분리가 제안되었다. 작동 원리는 원심분리 챔버가 부착된 마이크로채널에 빠른 유속으로 액체를 주입하면 채널과 챔버의 경계면에서 발생한 운동량 유속이 챔버로 전달되어 회전 유동을 발생한다. 이때 회전하는 액체에 입자가 현탁되어 있으면, 액체의 회전에 의해 원심가속도를 받게 되고 시간에 따라 입자들은 회전 중심으로부터 챔버의 가장자리로 이동한다.

이전 연구에서 Fig. 1 과 같이 입-출구가 하나인 원심분리 챔버에서 회전 유동이 발생함을 전산해석과 실험을 통해 확인하였다<sup>[7]</sup>. 그러나 단일 입-출구의 경우 회전 속도가 느리고 비대칭적이며, 유동의 회전 중심이 챔버 중심 일치하지 않는 단점이 있었다. 이를 개선하기 위해 본 연구에서는 두 개의 입-출구를 가진 2x2 마이크로 유체 원심분리기를 제안하였고, 그 형상 및 크기를 Fig. 2에 나타내었다. 또한, 새롭게 설계된 마이크로 유체 원심분리기에서의 가시화 실험을 수행하여 챔버 크기와 입구 조건에 따른 회전 유동 성능을 평가하고 고찰하였다.

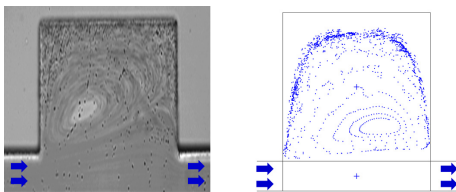


Fig. 1. Numerical and experimental visualization of centrifugation using flow rotation in the 1x1 microfluidic centrifuge.

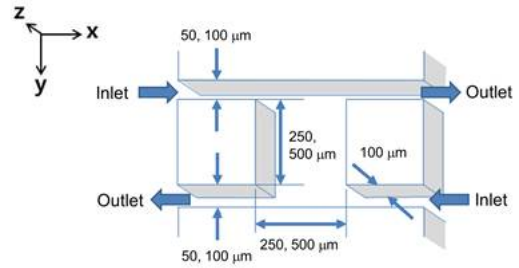


Fig. 2. Shape and sizes of 2x2 microfluidic centrifuge.

## 2. 챔버 크기에 따른 유동 성능 평가

마이크로 유체 원심분리기는 실리콘 기판에 사진작업을 이용하여 챔버와 채널 패턴을 형성하고, 건식 비등방성 반응이온 식각을 이용하여 선택적으로 채널과 챔버 그리고 입-출구 구멍을 식각하였다. 챔버 내부에서 회전 유동을 가시화 하기 위해 투명한 파이렉스 유리(#7740) 기판을 400℃ 에서 5분 동안 양극 접합하여 제작하였다.

또한 챔버 내부의 회전 유동 가시화를 위해 도립형 현미경(CKX-41, OLYMPUS)에 초당 1000 프레임 촬영이 가능한 고속카메라(MEMRECAM fx-K4, NAC)를 설치하였고, 입력 유량 조절이 가능한 실린지 펌프를 이용하여 유체를 주입하도록 구성하였다. 회전 유동 성능을 평가하기 위하여 입자의 분포를 측정하였으며, 이를 위해 초순수와 1 μm 크기의 형광 입자(ROI100, Duke Scientific Corp excitation wavelength 542 nm, emission wavelength 612 nm) 를 10:1 무게 비율로 혼합하여 마이크로 유체 원심분리기에 주입하였다.

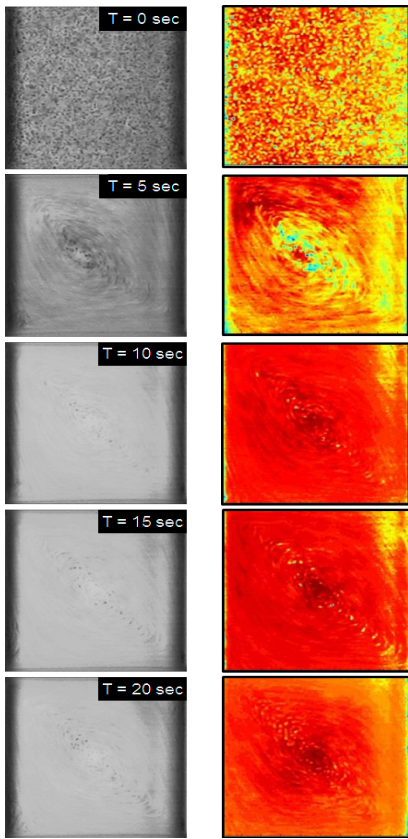


Fig. 3. Measurement of intensity in 2x2 microfluidic centrifuge during 20sec at chamber size of 250  $\mu\text{m}$ .

주입한 입자들은 고속 카메라를 이용하여 초당1000장의 속도로 촬영 후, 챔버 내부의 입자의 분포 정도를 정량적으로 평가하기 위하여 챔버 내부의 밝기를 측정하였다.

시간에 따른 입자의 분포를 측정하기 위하여 입구 조건을 유체가 주입되는 채널에서의 특정 길이를 이용하여 계산된 무차원수인 레이놀즈 수를 500으로 설정한 후, 20초 동안 챔버 내부의 밝기 변화를 측정하였다. Fig. 3 는 챔버 크기가 250  $\mu\text{m}$ 인 경우 챔버 내부의 밝기를 도시한 것이다. 처음에는 입자들이 챔버 내부를 채우고 있으나, 시간이 지남에 따라 입자들이 챔버 외부로 빠져나가는 것을 실험을 통하여 확인되었다. 또한, 회전 유동 중심이 챔버 중심에서 발생하였다. 이러한 결과로 챔버 내부에서 발생하는 회전 유동에 의하여 입자들이 외부로 빠져나가는 것을 알 수 있다. 하지만, Fig. 4에서 보듯이 챔버 크기가 500  $\mu\text{m}$ 에서는 입자들이 챔버 외부로 빠져나가지 못하여 밝기가 변화가 없으며, 회전 유동의 중심이 챔버 중앙에 발생하지 않았다.

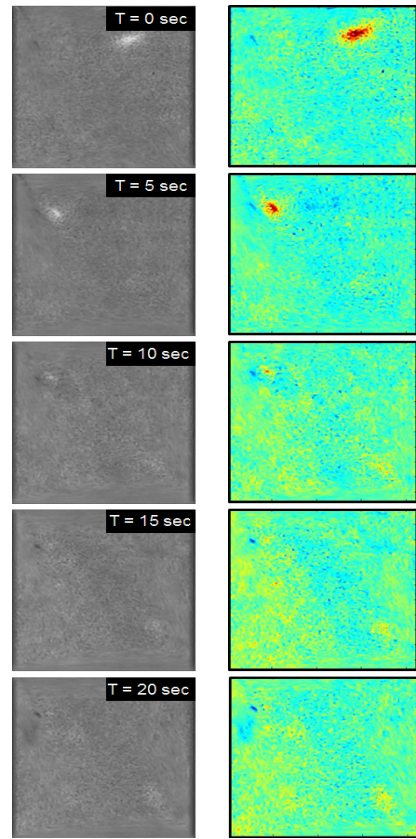


Fig. 4. Measurement of intensity in 2x2 microfluidic centrifuge during 20sec at chamber size of 500  $\mu\text{m}$ .

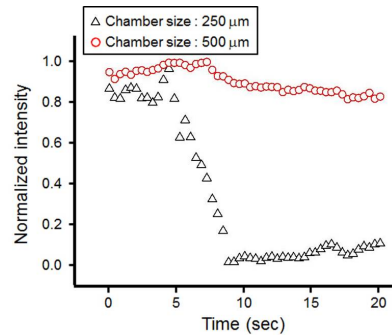


Fig. 5. Comparison of changed intensity in 2x2 microfluidic centrifuge during 20sec at different chamber size.

회전 유동 성능의 정량적인 평가를 위하여 입자가 가장 많을 때의 밝기를 1로 설정한 후, 입자가 빠져나감에 따라 밝기 변화를 챔버 크기별로 20초 동안 측정된 결과를 Fig. 5에 도시하였다. 그 결과 챔버 크기가 250 $\mu\text{m}$ 에서는 입자들이 5초가 경과한 후부터 챔버 외부로 빠져나가기

시작하며, 약 90% 이상의 입자들이 빠져 나갔지만, 500  $\mu\text{m}$ 인 마이크로 원심분리기에서는 7초 이후부터 입자가 빠져나가기 시작하며, 20초가 경과하여도 약 20% 미만의 입자들이 빠져나간 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 보아 동일한 입구 조건인 경우 챔버의 크기에 따라 회전 유동 성능이 달라지는 것을 알 수 있으며, 입자들이 빠져나가는 시간도 달라지는 것을 알 수 있다.

### 3. 입구 조건에 따른 회전 유동 평가

입구 조건에 따른 회전 유동을 평가하기 위하여 레이놀즈 수를 100에서 500까지 100씩 증가시키며 앞서 측정된 방법과 동일한 방법으로 챔버 크기가 250  $\mu\text{m}$ , 500  $\mu\text{m}$ 인 마이크로 원심 분리기에서 챔버 내부의 밝기를 20초 동안 측정하였다. Fig. 6은 챔버 크기가 250  $\mu\text{m}$ 인 마이크로 원심 분리기에서의 20초가 경과한 후의 각 입구 조건에 따른 챔버 내부의 밝기를 측정된 것이다. 레이놀즈 수가 증가함에 따라 챔버 내부에 남아 있는 입자의 양이 감소하였으며, 레이놀즈 수가 300이상 에서는 회전 중심이 챔버 중앙에 위치하는 것을 확인하였다. Fig. 7은 챔버 크기가 500  $\mu\text{m}$ 인 마이크로 원심 분리기에서의 20초가 경과한 후의 챔버 내부의 밝기를 측정된 결과를 나타낸 것이다. 모든 입구 조건에서 챔버 내부에 입자들이 빠져나가지 못하고 챔버 내부에 남아 있으며, 이로 인하여 챔버 내부의 밝기 변화가 없는 것을 확인하였다. 또한, 앞서 측정된 250  $\mu\text{m}$  챔버와는 다르게 회전 유동의 중심이 나타나지 않아 챔버 중앙에서 입자가 회전하는 지를 측정할 수 없었다.

입구 조건과 챔버 크기에 따른 회전 유동의 성능을 정량적으로 평가하기 위하여 앞서 측정된 방법과 동일하게 20초 동안에 측정된 밝기를 무차원하여 Fig. 8에 도시하였다. 그 결과 챔버 크기가 250  $\mu\text{m}$ 인 경우 시간에 따라 입자들이 회전 유동에 의해 5초 이후 빠져나가기 시작한다. 또한, 레이놀즈 수가 증가함에 따라 급격하게 빠져나가며, 존재하는 입자의 양이 감소하며, 레이놀즈 수가 200이상에서는 50% 이상의 입자들이 챔버 외부로 빠져나가는 것을 알 수 있다. 10초가 경과한 후에는 챔버 내부의 밝기 변화가 적게 발생하며, 이는 마이크로 유체 원심 분리기 내부의 회전 유동이 안정적으로 발생하는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 보아 챔버 크기가 250  $\mu\text{m}$ 에서는 입구 조건에 따라서 챔버 내부의 회전 유동 성능이 달라지게 되며, 채널에서 유입되는 유체의 속도가 빨라질수록 회전 유동의 성능이 증가하는 것을 알 수 있다.

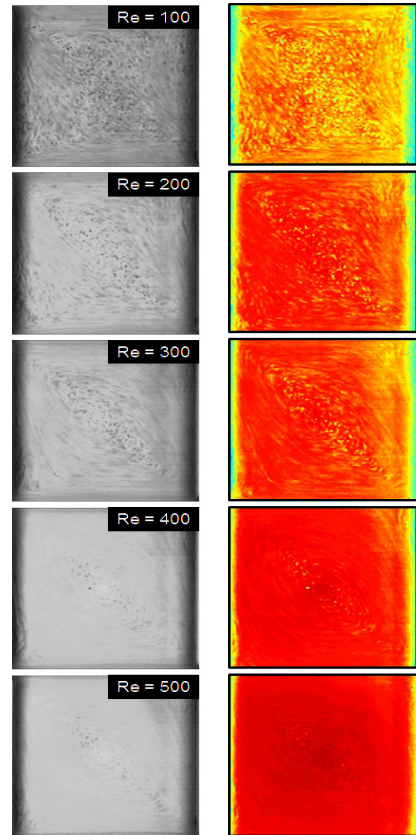


Fig. 6. Measurement of intensity in 2x2 microfluidic centrifuge after 20sec increasing Reynolds number at chamber size of 250  $\mu\text{m}$ .

하지만, 챔버 크기가 500  $\mu\text{m}$ 인 마이크로 유체 원심분리기의 경우 모든 레이놀즈 수에서 입자들이 느리게 빠져나가며, 유체 주입 후 20초가 경과하여도 빠져나가는 입자의 양이 20%를 넘지 못하였다. 또한, 레이놀즈 수와 무관하게 챔버 내부의 밝기의 차이가 없어 챔버 크기가 500  $\mu\text{m}$ 인 마이크로 유체 원심분리기에서는 입구 조건에 의하여 회전 유동의 성능의 차이가 크게 발생하지 않는 것을 알 수 있다.

이러한 결과를 바탕으로 마이크로 유체 원심분리기에 입구 조건과 챔버의 크기에 따라 회전 유동 성능이 달라지는 것을 알 수 있으며, 특정한 조건에서 챔버 외부로 빠져나가는 입자의 양과 시간을 조절 가능함을 본 실험을 통해 밝혀내었다. 이를 이용하여 실제 입자 분리 시 최적화된 조건을 이용하여 입자 분리가 가능할 것이며, 챔버 크기가 250  $\mu\text{m}$ 이며, 레이놀즈 수가 500인 조건에서 높은 성능의 회전 유동이 발생하게 된다.

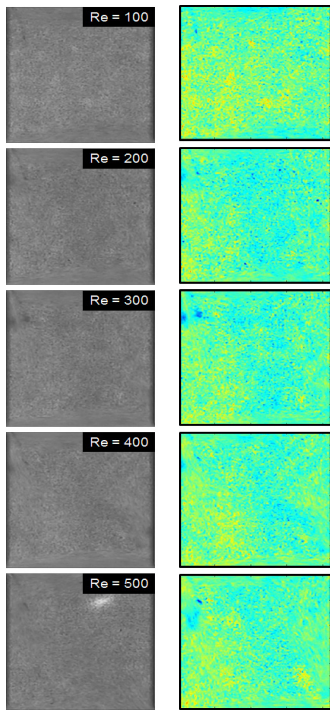


Fig. 7. Measurement of intensity in 2x2 microfluidic centrifuge after 20sec increasing Reynolds number at chamber size of 500 μm.

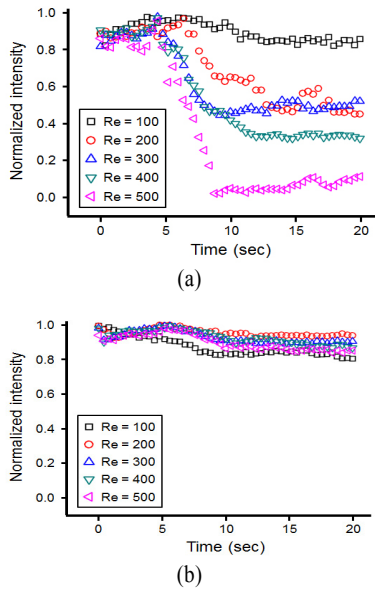


Fig. 8. Measurement of changed intensity in 2x2 microfluidic centrifuge during 20sec at different chamber size as increasing Reynolds number: (a) Chamber size of 250 μm, (b) Chamber size of 500 μm.

회전 유동의 성능이 챔버 크기와 입구 조건에 따라 달라지는 원인을 고찰하기 위하여 유동 해석을 이용하여 챔버 내부의 원심 가속도를 측정하였다. Fig. 9(a)에서 보듯이 실험과 동일한 크기와 형상의 마이크로 원심 분리기를 모델링 한 후, 동일한 입구 조건으로 설정하여 유동 해석을 수행하였다. 챔버의 중앙을 가로지르는 A-A' 선을 따라서 측정된 속도 분포를 이용하여 최대 원심 가속도를 아래 식을 이용하여 계산하여 Fig. 9(b)에 도시하였다.

$$\text{Centrifugal Acceleration} = \frac{V_{\max}^2 / r}{g} \quad (1)$$

여기서  $V_{\max}^2$ 는 A-A' 선에서의 최고 속도, r는 챔버 중앙에서 최고 속도 지점까지의 거리, g는 중력 가속도를 각각 나타낸다.

그 결과 챔버 크기가 250 μm인 챔버에서는 레이놀즈 수가 증가함에 따라 원심 가속도가 급격하게 증가하는 것을 알 수 있다. 하지만 500 μm인 챔버에서는 낮은 원심 가속도를 가지는 것을 알 수 있으며, 레이놀즈 수가 500인 경우 250 μm 크기의 챔버에서의 레이놀즈 수 100과 유사한 값을 가지는 것을 알 수 있다.

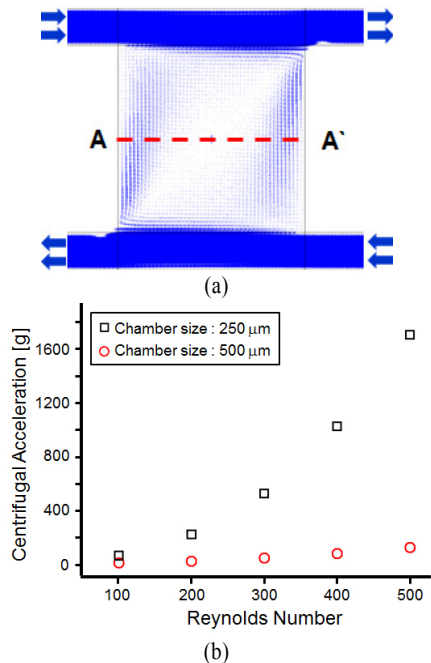


Fig. 9. Calculation of centrifuge acceleration varying Reynolds number at different chamber size using numerical analysis: (a) velocity distribution, (b) Comparison of Centrifuge acceleration.

이러한 결과로 보아 마이크로 유체 원심분리기에서 입자들을 챔버 외부로 빠져나가기 위해서는 최소 200 g 이상의 원심 가속도가 필요한 것을 알 수 있다. 또한, 원심 가속도가 증가함에 따라 챔버를 빠져나오는 입자의 양이 증가함을 확인하였다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 기계적 회전 없이 마이크로채널에 유체 주입만으로 챔버에서 발생하는 회전 유동을 이용하여 나노 입자를 분리하기 위하여 제안된 마이크로 유체 원심분리기의 설계에 있어서 회전 유동 성능을 평가하기 위하여 챔버 내부의 입자를 가시화하여 밝기를 측정하고 후 정량적으로 평가하였다. 동일한 입구 조건인 경우 챔버 크기에 따라 회전 유동 성능이 달라지는 것을 확인하였으며, 특정한 크기의 챔버에서는 레이놀즈 수가 증가함에 따라 회전 유동 성능이 증가하는 것을 실험적으로 측정하였다. 또한, 유동 해석을 이용하여 챔버 내부의 원심 가속도 크기가 증가하면 회전 유동 성능이 증가하여 입자들이 챔버 외부로 빠져나가는 것을 확인하였다. 또한, 분리를 위하여 입자를 챔버 외부로 빠져나가기 위해서는 최소 200 g 이상의 원심 가속도가 필요함을 실험과 유동 해석을 통해 밝혀내었다.

향후 유동 해석을 이용하여 원심 가속도를 계산을 우선 수행하여 마이크로 유체 원심분리기의 설계에 사용하기 대되며 이러한 연구는 다양한 크기를 갖는 세포 소낭의 분리에 사용이 가능할 것으로 예상된다.

#### 후 기

"이 논문은 2013년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 연구임(No. NRF-2013-021285)."

#### 참고문헌

- (1) K. K. Gunter, T. E. Gunter, A. Jarkowski, and R. N. Rosier, "A method of resuspending small vesicles from suspension by protamine aggregation and centrifugation," *Anal. Biochem.*, vol. 120, pp. 113-124, 1982.
- (2) J. Yang, Y. Huang, X. B. Wang, F. F. Becker, and P. R. Gascoyne, "Differential analysis of human leukocytes by dielectrophoretic field-flow-fractionation," *Biophys. J.*, vol. 79, pp. 2680-2689, 2000.
- (3) E. Chmela and R. Tijssen, "A chip system for size separation of macromolecules and particles by hydrodynamic chromatography," *Anal. Chem.*, vol. 74, pp. 3470-3475, 2002.
- (4) B. H. Kwon, H. H. Kim, J. Cha, C. H. Ahn, T. Arakawa, S. Shoji, and J. S. Go, "Improvement of the size-selective separation of microbeads in a curved microchannel using particle focusing," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 50, pp. 097301, 2011.
- (5) D. W. Inglis, J. A. Davis, R. H. Austinb, and J. C. Sturm, "Critical particle size for fractionation by deterministic lateral displacement," *Lab Chip*, vol. 6 pp. 655-658, 2006.
- (6) D. H. Yoon, Y. K. Bahk, B. H. Kwon, S. S. Kim, Y-D. Kim, T. Arakawa, J. S. Go, and S. Shoji, "Improvement of filtration performance using self-turning of flow resistance," *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 50, pp. 017201, 2011.
- (7) J. H. Lee, J. B. Ha, Y. K. Bahk, S. H. Yoon, T. Arakawa, J. S. Ko, B. S. Shin, S. Shoji, and J. S. Go, "Microfluidic centrifuge of nano-particles using rotating flow in a microchamber," *Sens. Actuators B*, vol. 132 pp. 525-530, 2008.