



BioMEMS에 적용되는 미소유체역학의 가시화기법

글 ■ 이 인 섭 / 나노옵틱, 대표이사

e-mail ■ islee@nanoptic.net

■ 성재 용 / LG전자 디지털어플라이언스 연구소, 선임연구원

e-mail ■ jysung70@lge.com

■ 이 인 원 / LG전자 디지털어플라이언스 연구소, 선임연구원

e-mail ■ inwonlee@lge.com

이 글에서는 미소유체역학의 개요를 설명하고 미소유체속도장 가시화, 미소유체 농도장 가시화 그리고 미소유체 온도장 가시화에 대해 소개한다.

○ 미소유체역학

MEMS(Micr Electro Mechanical System) 기술 분야 중에서도 특히 주목 받고 있는 분야가 미소유체역학(micro-fluidics)이다. 미소유체역학은 유체를 사용하여 추력이나 에너지를 만들어 내기 위한 연구 분야와 극미량의 유체흐름의 반응, 혼합, 펌핑, 모니터링 혹은 센싱을 제어하는 미소유체소자(microfluidic device)나 미소유체장치(microfluidics system)를 개발하거나 연구하는 분야를 통칭한다. 미소유체역학은 다양한 분야에 걸쳐서 관련성을 가지고 연구가 진행되고 있으나, 특히 BioMEMS 분야와의 연관성은 매우 밀접한 관계에 있고, 관련 학제간의 다양한 공동 연구가 대단히 중요하게 요구되고 있다. 최근 들어서 산업적인 관점에서 BioMEMS 분야가 갖고 있는 성장 잠재력이 높게 평가되면서, 관련 연구자 혹은 사업가들의 벤처회사 창업도 급속히 늘어나고 있다. 그러나 이들

BioMEMS 연구 결과물이 제품으로서 모습을 갖추기 위해서 제품의 신뢰성이나 성능 검증은 연구단계의 시제품이 산업화로 진입하는 길목에서는 대단히 중요한 부분이고 이들에 대한 연구 요구들 중 많은 부분들이 미소유체역학 분야의 전문가들이 담당해야 할 몫으로 남는다. 왜냐하면 BioMEMS 관련 소자나 장치들의 최종 목표인 극미량 생체시료의 분석 및 처치가 미소유체흐름의 정확한 제어 없이는 원천적으로 불가능하기 때문이다.

미소유체역학과 BioMEMS의 유기적인 결합으로 탄생되는 lab-on-a-chip, μ -TAS(micro Total Analysis System), DNA/Protein chip, HTS(High Throughput System) Drug delivery system 등의 제품군은 생명공학 분야에서 완전히 새로운 거대한 산업 및 시장을 창출해 낼 것으로 전문가들은 예측하고 있다. 그림 1은 Drug delivery system의 예를 보여 준다.

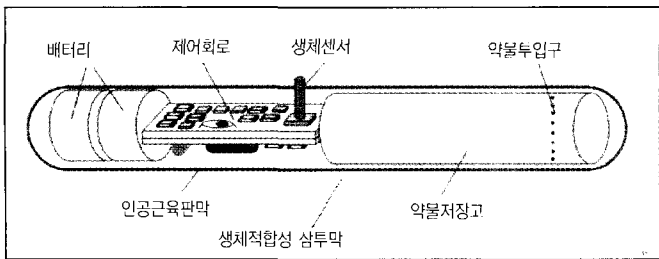


그림 1 Drug delivery 시스템

○ 미소유체 속도장 가시화

MEMS가 바이오 분야와 결합되면서 미소유체유동의 정량적 가시화에 대한 관심은 폭발적으로 증가하고 있다. 유체요소 내 속도장의 계측 기법은 X선 미소화상법(X-ray micro imaging), Caged-dye PAF법(Photo Activated Fluoro-phore), micro PIV(particle image velocimetry) 등이 주로 사용되고 있다. 이 중 micro PIV는 1998년 Meinhart 그룹에서 발표된 후 가장 보편적인 미소유체 속도장 가시화 기법으로 사용되고 있다. 특히 최근 $1\mu\text{m}$ 이하의 분해능이 실현되면서 상용화된 패키지 제품이 등장하였고, 측정 기법의 개발 단계를 넘어서 점차 응용분야로 확대 연구되고 있는 추세이다.

Micro-PIV 계측기법의 가장 큰 특징은 마이크로 척도의 유동을 포착하기 위하여 직경 $1\mu\text{m}$ 이하, 일반적으로는 $100\sim 300\text{nm}$ 의 추적입자를 사용하며, 고배율 광학현미경을 통하여 영상을 취득한다는 것이다. 또한 광원으로서는 마이크로 두께의 평면광(sheet illumination)을 만들기 어려우므로 체적광(volume illumination)을 사용한다. 따라서 입자 영상의 강도가 매우 약해질 뿐만 아니라 입자 영상이

배경에 의한 반사광에 완전히 파묻히게 되는 어려움이 있다. 이를 해결하기 위하여 비탄성산란(inelastic scattering)의 일종인 epi-fluorescence를 이용하여 배경에 의한 영상 노이즈를 제거하게 된다. 즉, 형광안료를 도포한 polystyrene 입자를 사용함으로써 입사광과는 다른 파장의 산란광을 얻고 원래 입사광은 광학 필터를 이용하여 차단하는 방법이다. 한편, 체적조명은 초점평면에 있지 않은 입자들도 CCD 카메라에 기록되어 벡터 계산시 오차를 발생시키는 원인이 되나 초점평면에서 멀리 떨어질수록 영상에 나타난 입자의 크기가 커지고 희미해지므로 그 영향이 줄어든다. 따라서 초점심도(depth of focus)가 매우 얇은 현미경 대물렌즈를 사용하면 초점을 벗어난 입자들이 더욱 더 희미하게 나타나므로 오차를 최소화할 수 있다. 이와 같이 측정평면에서 벗어나 벡터 계산에 영향을 미치는 두께를 측정심도(measurement depth)라고 칭하는데 입자직경과 산란광의 파장에 비례하고, 대물렌즈의 개구수(numerical aperture)에 반비례한다. 적절한 측정을 위하여 투영되는 입자의 크기를 CCD 화소크기의 약 3~4배로 유지하고 측정심도는 가능한 한 최소화하는 것이 바람직하다.

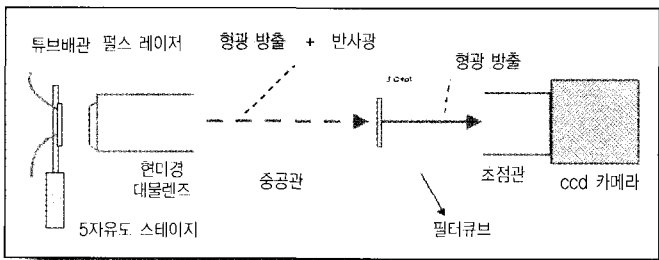


그림 2 Micro-PIV 시스템 구성도

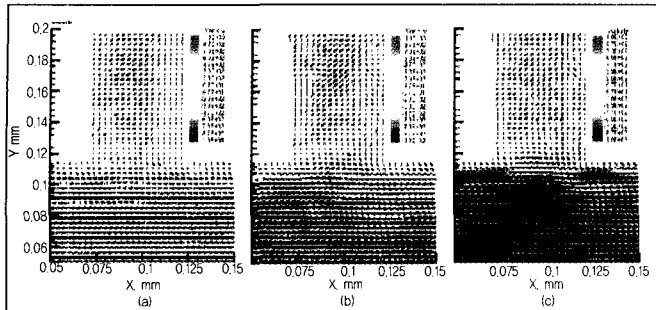


그림 3 T형 마이크로 채널에서의 속도장 계측 결과

○ 미소유체 농도장 가시화

Lab-on-a-chip과 같은 바이오 응용 제품들은 대부분 극미소량의 샘플을 채취하고 시약과 반응시켜 그에 대한 데이터를 획득하게 된다. 그러나 수십 μm 의 얇은 유로에서 유체의 흐름은 레이놀즈수가 매우 작아 대개 층류 유동 영역에 해당되므로 샘플과 시약의 혼합이 주로 확산에 의해 지배된다. 따라서 충분한 반응을 위해서는 매우 긴 유로를 통과하여야 한다. 유로가 길어지면 칩 크기가 증가할 뿐만 아니라 유체를 구동하기 위한 압력이 증가하여 여러가지 문제들이 많이 발생하기 때문에 유체의 혼합을 증진시키기 위한 다양한 설계들이 제안되어 왔다. 이러한 마이크로 혼합기는 크게 능동 및 수동 제어 방식으로 분류될 수 있으며, 개발된 혼합기의 성능은 형광 또는 색소 염료를 이용하여 주로 정성적인 측정에 의존하였다. 효율적인 혼합기의 개발 및 평가를 위해서는 혼합 특성에 대한 정량적인 가시화 및 계측 기법을 필요로 하며, 유체 혼합에 따른 농도 변화를 엄밀하게 계측함으로써 실현이 가능하다.

현재 미소유체요소의 농도장을 가시화하는 방법으로서 공초점 형광현미경(confocal fluorescence microscope)이 가장 널리 사용되고 있다. 공초점 현미경은 원래 물질

대사 현상과 같이 살아 있는 세포의 입체 구조의 변화를 시간에 따라 관찰하기 위하여 개발되었으나, 최근 들어 반도체 부품 및 재료의 3차원 미세구조 관측 등의 목적으로 널리 응용되고 있다. 공초점 현미경의 원리는 시료로부터 대물렌즈(objective lens)를 통하여 광검출기(detector)에

이르는 빛의 경로 상에 핀홀(pinhole)을 설치하여 시료의 특정한 단면을 통과하는 빛, 즉 특정 단면의 영상만을 핀홀로 걸러내는 것이다. 이때 핀홀을 시료의 두께 방향으로 적절히 이동시키면 입체적인 영상을 재구성할 수 있으며, 핀홀을 이동시키는 방식에 따라 Stage scanning 방식, Beam scanning 방식, Spinning disk 방식 등으로 구분된다. 공초점 현미경의 장점은 광산란에 의한 영상의 흐려짐이 적어 유효 분해능이 증가하며, 단면 영상을 두께 방향으로

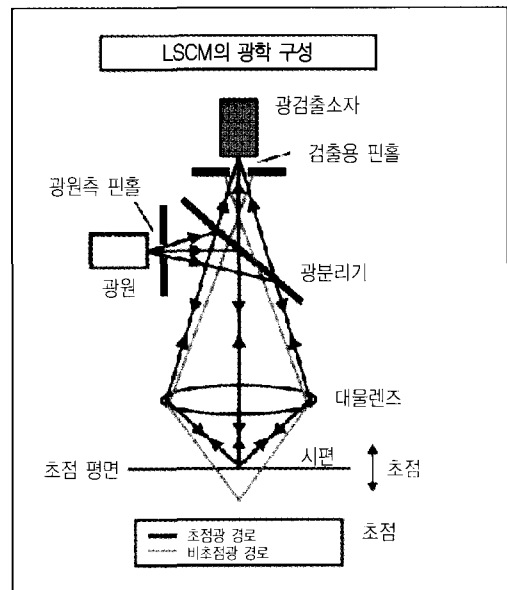


그림 4 Laser Scanning Confocal Microscope(LSCM)의 구성도

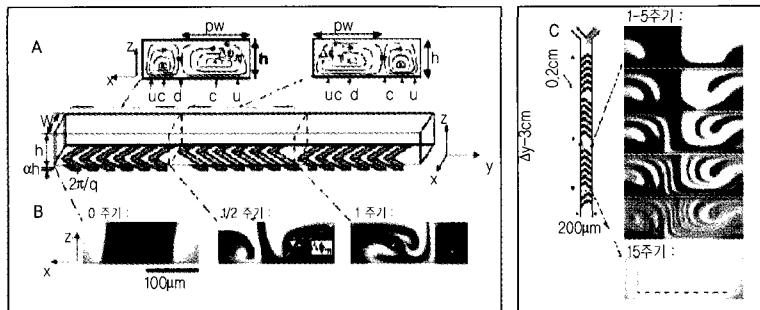
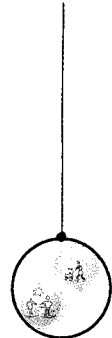


그림 5 공초점 현미경을 이용한 미소 혼합기 내부의 농도장 가시화

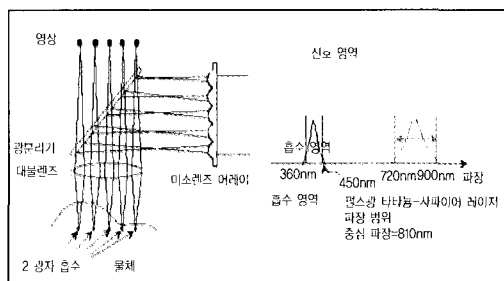


그림 6 Multi-focal Multi-photon Microscope의 원리

측정하는 것이 가능하다는 것이다. 이를 농도장의 정량적 가시화에 응용하기 위해서는 측정하고자 하는 대상 유체에 형광물질을 섞어 유동 단면에서의 형광 영상의 강도 분포를 계속하면 된다.

그러나 공초점 현미경의 가장 큰 단점은 단면을 스캐닝하여 데이터를 취득하므로 실시간 영상을 얻을 수 없다는 것이다. 그 대안으로서 MMM(Multi-focal Multi-photon Microscope)이 등장하였다. MMM은 형광물질을 발색하기 위하여 두 개 또는 세 개 이상의 광자를 사용하는 것으로 다광자 형광이론에 근거를 두고 있다. 이는 형광물질에 에너지 준위가 낮은 적외선영역의 레이저를 조사하면 기저상태에서 여기상태로 광자가 자극 받지 못하고 떨어져 형광을 볼 수 없으나, 기저상태로 떨어지기 전 femto초 정도의 매우 짧은 시간 내에 다시 한 번 같은 파장의 레이저를 조사하면 여기상태가

가능하다는 이론이다. 뿐만 아니라 미소렌즈열(micro-lens array)을 사용하여 샘플 속 평면 위에 동시에 수십 개의 초점을 맞추게 하고, 미소렌즈열을 빠르게 회전하는 방법으로 그 평면만을 선택적

으로 여기시킬 수 있으며, 그 평면에서 발생하는 이 광자 흡수 형광신호로 2차원 이미지를 얻을 수 있다. 따라서 MMM의 가장 큰 장점은 장파장의 적외선 레이저를 사용하므로 샘플이 가시광선에 대해서 어느 정도 불투명해도 샘플의 내부를 들여다 볼 수 있으며, 스캔 시간이 매우 짧아서 초당 30프레임 이상의 실시간 삼차원 영상을 얻을 수 있다.

○ 미소유체 온도장 가시화

미소유체요소가 복잡화되고 시스템화될수록 유체유동뿐만 아니라 열유동적 특성이 고려되어야 한다. 예를 들어 DNA를 분리, 정제한 후 분석하기 전에 이를 증폭하기 위하여 PCR(Polymerase Chain Reaction)이 사용되는데, 이때 온도를 정밀하게 제어하여 melting, extension, annealing 과정을 거치면 DNA가 두 배로 증폭되고 여러 사이클을 반복하면 기하급수적으로 DNA의 수를 늘일 수 있다. 이 과정에서 가장 어려운 문제는 온도를 얼마나 빠르게 변화시킬 수 있으며, 얼마나 안정되게 유지시킬 수 있느냐 하는 것이다. 최근에는 이러한 일련의 과정을 마이크로 유로에서 DNA 분자를 흘리면서 가열 및 냉각의 각 단계를 수행하는

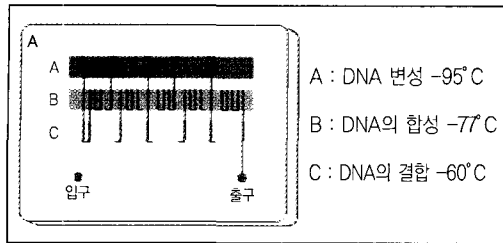


그림 7 온도조절용 구리 열선을 이용한 마이크로 PCR 칩 레이아웃

기법이 발표되었다. 그림으로써 거대한 고정 장치이던 PCR을 마이크로 칩 위에 올려놓을 수 있게 되었고, DNA 증폭을 위한 시간을 획기적으로 줄일 수 있었다. 이와 관련하여 미소유체의 온도장을 정량적으로 가시화하기 위한 여러가지 기법들이 중요한 이슈로 부각되고 있다.

온도의 정량적 가시화기법으로서 온도 변화에 따라 방사광의 파장 혹은 강도가 변화하는 물질을 이용하여 유동장 내 벽면의 온도분포를 가시화하는 기술이 널리 사용되어 왔다. 최근에는 온도변화에 따라 방사광의 강도가 변화하는 형광물질을 미소유로 내 벽면에 도포하여 온도분포를 측정하는 사례가 보고되고 있다. 형광물질로부터 방사되는 빛의 강도는 일반적으로 온도뿐 아니라 형광물질의 농도 및 여기광(excitation light)의 강도 및 시간에 따라서 변화하므로 측정 직전에 일정한 온도조건 하에서 관측된 형광강도에 근거한 보정작업이 이루어져야 한다.

그 외에도 micro-PIV를 응용하여 유동장 내부의 온도장을 측정하는 방법으로 산란입자의 불규칙한 Brownian 운동의 크기가 절대온도에 비례함을 이용하는 방법이 제안되어 있다. PIV에서 사용되는 속도

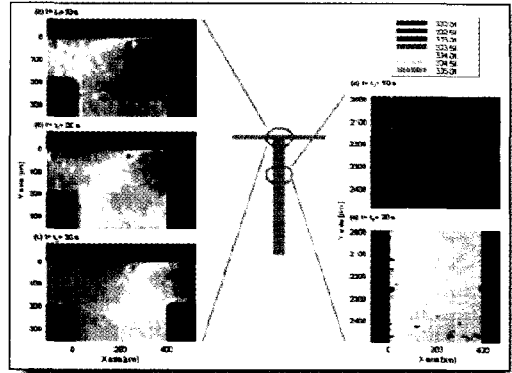


그림 8 T자형 미소유로 내에서의 온도분포의 시간적인 변화

추정 알고리즘은 연속하여 계측된 두 개의 입자영상 쌍 사이의 상호상관함수(cross-correlation function)가 최대가 되는 변위벡터를 찾는 방법이다. 유체의 절대온도가 증가할수록 산란입자의 불규칙한 Brownian 운동이 증대되는데 증대된 불확실도에 비례하여 상호상관함수의 peak의 폭이 증가한다. 이와 같은 방식을 응용하면 미소유체요소에 추가적인 변경을 가하지 않고 동시에 속도분포와 온도분포를 측정할 수 있다. 최근의 연구결과에 따르면 이 방법에 의한 온도 측정의 불확실도는 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 정도로서 micro-PIV에서 이루어지는 체적조명에 의한 비초점평면 상의 입자영상으로 인한 불확실도를 최소화하는 것이 요구된다.

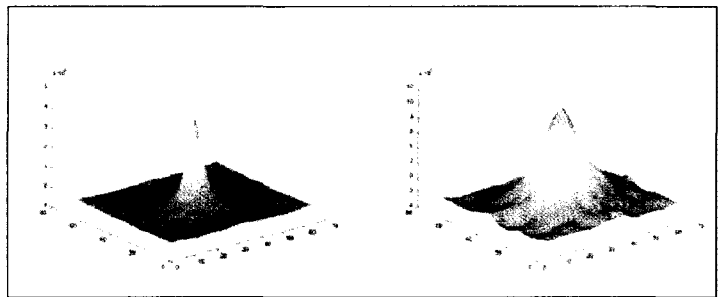


그림 9 유체의 Brownian 운동에 따른 상호상관함수 peak 폭의 변화