

효율적인 Micromixer의 통합된 기능 평가 및 Glucose-Catalysts 반응에 적용

김덕중 · 백주열 · 이상훈[†]

Integrated function evaluation of efficient micromixer and application to glucose-catalysts reaction

Duck-Joong Kim, Ju-Yeoul Baek, and Sang-Hoon Lee[†]

Abstract

In this paper, the PDMS based micromixer having 3-dimension triangular structure has been developed for the reaction of samples in the micro volume. The mixing efficiency was measured according to the change of Reynolds number (Re: 0.08, 0.8, 8, 16) and channel height (100, 200, 300 μm). Total length of mixing region is 7.4 mm and the measured mixing efficiencies at the outlet were over 85 %. Within the mixing length 2.4 mm, the mixing efficiencies were more than 70 % at any Reynolds numbers, and this indicates the strong mixing has occurred inside the mixing channel due the triangular structures. By employing these 2 mixers, we have fabricated the microreactor to detect the glucose-catalysts reaction. The microreactor showed good reactivity of glucose and enzymes with the small amount of sample solution.

Key Words : micromixer, mixing efficiency, microreactor, glucose-catalysts reaction

1. 서 론

최근 초소형 공정기술의 발전으로 다양한 종류의 마이크로 시스템(micro system)이 제작되고 있으며, 이 중 유체를 적은 용량으로 조작할 수 있는 미세 유체 시스템(microfluidic system)이 많은 관심을 끌고 있다^[1,2]. 미세 유체 시스템의 가장 큰 응용 중 하나는 소량의 물질을 반응시킬 수 있는 마이크로반응기(microreactor)이다. 그러나 마이크로 단위에서는 낮은 유속으로 인해 유체가 서로 섞이지 않기 때문에 반응기의 제작이 쉽지 않다. 일반적으로 두 유체의 경계를 중심으로 확산에 의해 혼합이 일어나지만, 이는 좁은 영역에 이루어지며, 혼합에 필요한 마이크로 채널의 길이와 혼합 시간이 길어지기 때문에 혼합 효율과 상당히 떨어지며, 반응기의 크기가 증가된다는 문제점이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 많은 연구자들이 미세 유체 시스템 내에 서로 다른 유체가 섞일 수 있도록 하는 마이크로

믹서(micromixer)에 관한 연구를 시작하게 되었다^[3,4].

본 논문에서는 마이크로 단위의 유체 혼합을 위한 3차원적 마이크로믹서를 PDMS를 이용하여 제작하였으며, 그 성능을 평가하기 위해 Reynolds number(Re)와 높이에 따른 혼합 효율을 측정하였다. 제작된 마이크로믹서를 2개 사용하여 글루코스-측매 반응을 감지하기 위한 마이크로반응기를 구현하여 보았다^[5,6].

2. 혼합 원리 및 혼합효율 평가

그림 1(a)는 삼차원 구조를 가진 마이크로믹서의 내부 구조이며, 높이 100, 200, 300 μm 와 폭 300 μm 로 이루어진 단면이 사각형인 채널 모양이다. 내부는 삼각 모양의 구조물이 ZigZag로 놓여있으며, 각 상부(Top layer) 및 하부(Bottom layer)의 삼각구조는 높이 50, 100, 150 μm 를 가지고 있다. 입력 단으로 들어온 유체는 상부 및 하부의 삼각 구조물에 의해 모아지고 퍼지는 운동을 발생시킨다. 혼합 기전을 설명하기 위해 그림 1(b)와 같이 한 사이클의 삼각 구조물을 9등분하여 보았다. 채널의 단면('Y, Z' 평면)에 대한 유체 변화가

단국대학교 의공학과(Dept. of Biomedical Eng., Dankook University)

[†]Corresponding author: dbiomed@dankook.ac.kr

(Received : January 4, 2005, Accepted : February 28, 2005)

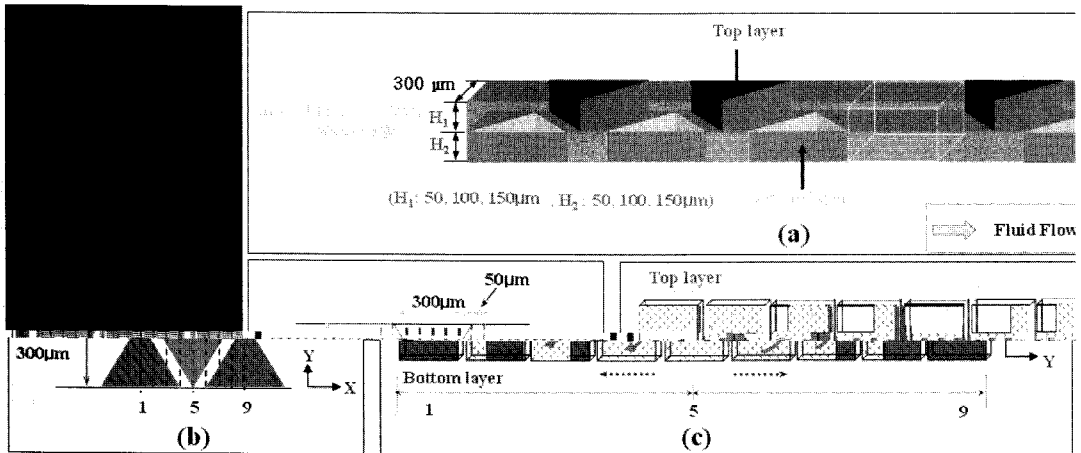


그림 1. 마이크로믹서 내부 구조 및 유체 흐름; (a) 3차원 내부구조, (b) 윗면 구조(9등분), (c) 9등분에 따른 유체 흐름
 Fig. 1. Schematic of mixing channel and mixing principle; (a) 3-Dimensional view of mixing channel, (b) The upper side, and (c) Changes of cross-sectional area during one period (from position 1 to 9).

채널 상부 및 하부의 삼각 구조물의 영향으로 인해 생성되면, 유체의 변화는 그림 1(c)와 같이 형성된다. '1~5'등분까지 유체는 삼각 구조물의 변화에 의해 위에서 아래 방향으로, '5~9'등분까지 유체는 아래에서 위로 흐름을 보여주고 있으며, 이런 현상에 의해 두 유체의 혼합이 일어난다.

혼합 효율 평가를 위해 Confocal 현미경(LSM 510 META, Carl Zeiss)으로 측정된 칼라 영상을 포토샵(photoshop)에서 Gray 영상으로 변환하였다. Gray 영상에서 효율을 측정하고자 하는 영역을 선택한 다음, 평균 필터의 개념을 이용하여 일정 영역에서의 명암 값과 전체 영역에서의 평균 명암 값 사이의 표준 편차(standard deviation)를 식(1)을 이용하여 계산하였다⁷⁾.

표준편차(standard deviation, σ)

$$= \sqrt{\sum_{i=1}^N (Xi - Xmean)^2} \quad (1)$$

(Xi: 각 픽셀의 명암도 값, Xmean: 픽셀에 대한 평균값)

식 (1)에서 계산된 표준편차 및 형광영역, 비 형광영역 값을 이용하여 채널 내의 두 유체의 혼합 효율 값을 식 (2)와 같이 구하였다.

$$\text{혼합 효율(mixing efficiency)} = \left(1 - \frac{2 \times \sigma}{If - Inf}\right) \times 100 \quad (2)$$

(If: 형광영역의 명암도 값, Inf: 비 형광영역의 명암도 값)

3. 제작 및 실험 방법

미세 구조물을 제작하기 위해 반도체 공정을 이용하였으며, 이는 실리콘 웨이퍼 위에 감광제(SU-8 resist, Microchem. Corp)를 얇게 스핀코팅한 후 마스크 패턴을 올려놓고 UV(365 nm)를 조사하고, 이후 현상하는 방법으로서 웨이퍼 위에 미세한 패턴을 만드는 것이다. 패턴 위에 유체상태의 폴리머인 DC 184 A와 경화제인 DC 184 B (Sylgard[®] 184 Silicone elastomer kit, Dow Corning)를 10 : 1 비율로 섞어 탄성 중합체인 PDMS를 제조하여 조심스럽게 붓고, 80 °C 2시간 동안 가열하여 Bottom layer(thickness: 1 cm)와 Top layer(thickness: 100 μm)를 만들었다. 제작된 두 Layer는 산소 플라즈마(O₂ plasma)의 노출을 통한 표면 개질을 통하여 접합하였으며, 접합 후 90 °C 8시간 동안 가열하여 접합 과정의 완료하였다. 두 Layer 사이의 접합 시 상하 Layer의 패턴을 서로 정렬(Aligning) 하여야 하는데, 본 논문에서는 본 연구진들이 제작한 Aligning 장치를 이용하였다⁸⁾. 그림 2(a)는 PDMS로 제작된 Top layer의 SEM 사진이며, 삼각 구조물 부분을 확대하여 찍은 사진은 그림 2(b)와 같다.

3.1. 실험 방법

그림 3은 전체 혼합 채널 구조를 도식적으로 나타낸 그림이며, 채널 길이 및 폭, 높이는 각각 20 mm, 15 mm, 10 mm이다. 그림 3(a)와 같이 혼합 영역(mixing region: M₁, M₂, M₃)의 총 길이는 7.4 mm이며, 삼각 구조물 사이에 측정 영역(detection window: 1, 2, 3, 4)을

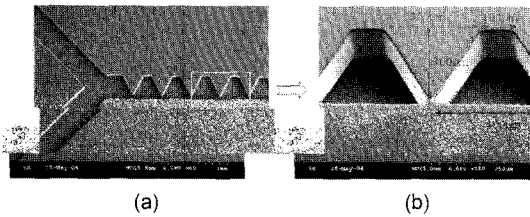


그림 2. PDMS로 제작된 Top layer의 SEM 사진; (a) 40배, (b) 180배
 Fig. 2. SEM Image of PDMS fabricated Top layer; (a) 40 magnification and (b) 180 magnification.

4곳에 설치하였다. 측정 영역은 삼각구조물에 의해 혼합되는 상태를 현미경을 관찰하기 위해 설치되었다. 입력 단에 FITC(Fluorescein-5-isothiocyanate) 형광 물질과 증류수(distilled water)를 실린지 펌프(KDS-200 Dual-Syringe Infusion Pump, KD Scientific)를 이용하여 흘려보낸다. Re(0.08, 0.8, 8, 16)와 채널 높이(50, 100, 150 μm)에 따른 형광 영상은 측정 영역에서 Confocal 현미경(Ar/HeNe, exciting 488 nm, emission 500~530 nm)을 이용하여 측정하였다.

그림 3(b)는 제안된 마이크로믹서의 원리를 이용하

여 글루코스-촉매 반응을 감지하기 위한 마이크로반응기의 개괄도를 보여주고 있다. 마이크로반응기의 '초기' 입력 단에는 glucose(GL, 50 mM)와 glucose oxidase(GOX, 10 mg/ml)을 실린지 펌프(3.5~4.5 μl/min)에 의해 흘려보낸다. 'MMX 1' 혼합 영역에서 두 유체를 섞이게 하였으며, 섞인 유체는 '2차' 입력 단으로 들어오는 amplex red(AM, 10⁻⁵ M)와 horseradish peroxidase(HRP, 1 mg/ml)을 섞은 용액과 그림 3(b)의 3번 위치에서 만나게 된다. 이들 용액들은 'MMX 2' 혼합 영역에 의해 서로 섞이게 하였다, 그림에서와 같이 7곳에의 측정 위치에서 Confocal 현미경(He/Ne laser, exciting 535 nm, emission 585 nm)으로 형광 영상을 측정하였다.

4. 결 과

4.1. 마이크로믹서

4.1.1. Reynolds number(Re)에 따른 혼합 효율

삼각 구조물의 높이 100 μm인 채널에서 낮은 유속(Re 0.08, 0.37 μl/min)과 높은 유속(Re 16, 74.6 μl/min)으로 유체를 흘린 후 혼합되는 모양을 측정 위치에 따라 비교 하였다. 그림 4는 측정 위치에 따른 형광 영상

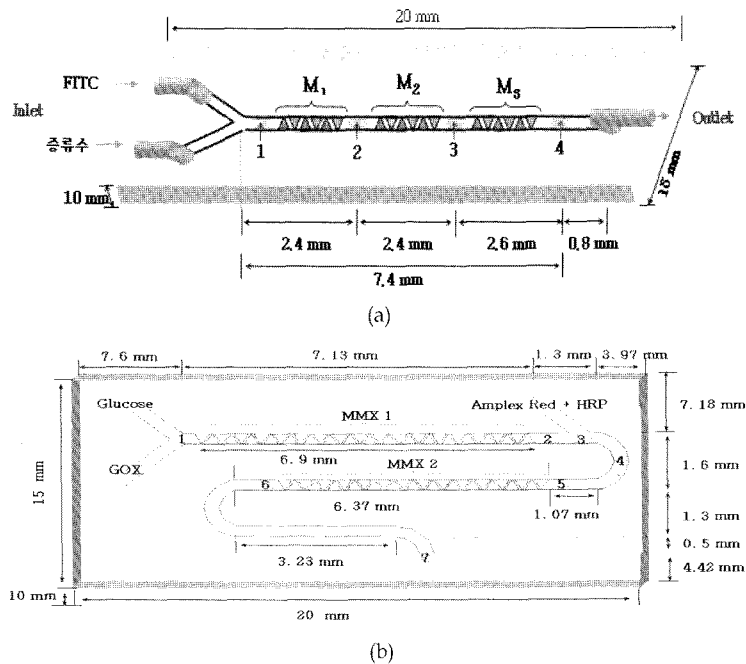


그림 3. 채널 구조; (a) 마이크로믹서 구조(측정 영역 : 1~4, 혼합 영역 : M₁, M₂, M₃), (b) 마이크로반응기 구조(측정 위치 : 1~7, 혼합 영역 : MMX 1, MMX 2)
 Fig. 3. Channel structure; (a) Schematic micromixer (monitoring regions : 1~4, mixing regions : M₁, M₂, M₃) and (b) Schematic microreactor (monitoring regions : 1~7, mixing regions: MMX1, MMX2).

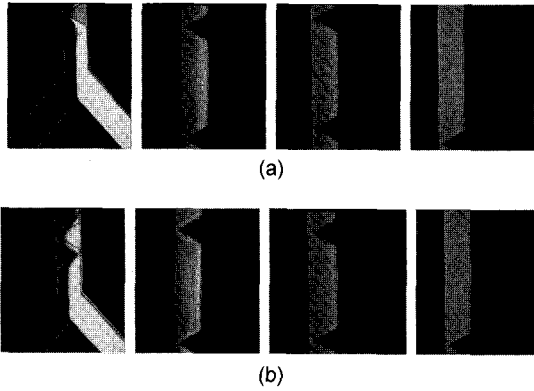


그림 4. Reynolds number에 따른 형광 영상; (a) Re 0.08, Pe 1.6×10^2 (Flow Rate : 0.37 μ l/min), (b) Re 16, Pe 3.2×10^4 (Flow Rate : 74.6 μ l/min).

Fig. 4. Fluorescent image along Reynolds number; (a) Re 0.08, Pe 1.6×10^2 (Flow Rate : 0.37 μ l/min), (b) Re 16, Pe 3.2×10^4 (Flow Rate : 74.6 μ l/min).

을 보여주고 있으며, 1번 측정 위치에서 두 유체는 섞이지 않았으나, 혼합 영역(M_1)을 통과한 2번 측정 위치에서부터 두 유체가 혼합되었음을 보여 주고 있다. 연속적으로 혼합 영역($M_1 \rightarrow M_3$)을 통과 할수록 두 유체의 혼합 정도가 커짐을 알 수 있다. 이는 일정 높이에서 유속 변화를 주었을 때 혼합 영역의 삼각 구조로 인해 두 유체가 많이 혼합 되도록 영향을 주었음을 알 수 있었다.

본 논문에서는 '1번 위치'의 높이를 기준으로 하여 Re의 변화에 따라 다르게 얻어지는 형광 영상으로부터 측정 위치에 따른 혼합 효율 값을 식 (2)를 이용하여 계산하고, 그 결과를 그래프로 나타냈다. 1번 측정 위치에서 두 유체가 거의 섞이지 않는 5% 미만의 혼합 효율을 가지며, 2번 측정 위치(2.4 mm)에서부터 혼합 효율(70%)이 급격히 증가 하는 그래프를 보여 주고 있다. 이는 혼합 영역(M_1)의 영향으로 급격히 혼합되었음을 알 수 있다. 또한 동일 유속에서 혼합 영역의 증가 ($M_1 \rightarrow M_3$)와 동일 측정 위치에서 유속이 빠를수록 혼합 효율이 높게 나타났다. 실제 확산 만에 의하여 100% 혼합이 일어날 경우 식 (3)과 같이 계산되어지며,

$$\Delta y_m \sim U_{mean} \times (L^2/D) = Pe \times l \quad (3)$$

(D: 확산 계수, Pe: Peclet Number, l: 채널 반경, U_{mean} : 평균 유속)

Pe가 1.6×10^2 , 1.6×10^3 , 1.6×10^4 , 3.2×10^4 일 경우, 확산에 의한 혼합이 완료되는 채널 길이는 48 mm, 480 mm, 4800 mm, 48000 mm이다. 실제 본 논문에서

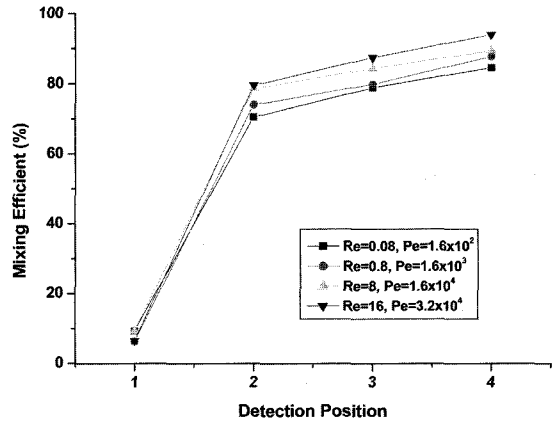


그림 5. Reynolds number에 따른 혼합 효율 그래프
Fig. 5. Mixing efficiency graph along Reynolds number.

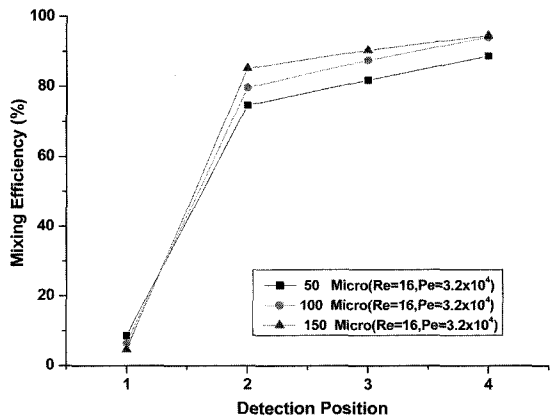


그림 6. 높이에 따른 혼합 효율 그래프
Fig. 6. Mixing efficiency graph along channel height.

제한한 마이크로 혼합기의 결과와 비교해 보면 채널 내부의 삼각구조물에 의해 강력한 혼합이 발생하였음을 알 수 있다.

4.1.2. 높이에 따른 혼합 효율

일정 유속(Re 16)에서 삼각 구조물의 높이(50, 100, 150 μ m)에 따른 혼합 효율 값을 측정하여 보았으며, 그림 6은 그 결과를 그래프로 보여주고 있다. 혼합 영역을 통과한 2번 측정 위치에서부터 급격히 혼합 효율이 증가함을 보여주고 있으며, 동일 측정 위치에서 높이가 높아질수록 혼합 효율이 높게 나타남을 알 수 있었다.

4.2. 마이크로반응기

'초기' 입력 단에 GL과 GOX를 실린지 펌프(3.5 μ l/min)로 흘려보내 'MMX 1' 혼합 영역에 의해 무색의

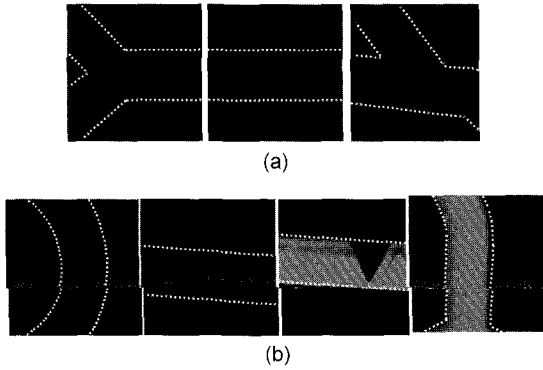


그림 7. 마이크로반응기; (a) '1~3' 측정 위치 영상, (b) '4~7' 측정 위치 영상

Fig. 7. Microreactor; (a) '1~3' monitoring regions fluorescent image and (b) '4~7' monitoring regions fluorescent image.

D-gluconolactone과 과산화수소(H₂O₂)를 생성시킨다. '2차' 입력 단에 1:1 비율로 섞은 AM과 HRP 용액을 실린지 펌프(4.5 μl/min)로 흘려보내면 '3~5' 측정 위치에서 두 유체는 경계면 확산에 의해 적색의 resorufin bend가 그림과 같이 생성되며, 이들 유체가 'MMX 2' 혼합 영역을 통과한 '6~7'의 측정 위치에서 모든 영역에 적색의 형광이 나타남을 그림 7에서 볼 수 있다. 이는 마이크로 혼합기에 의해 반응이 완전히 이루어졌음을 보여주고 있다.

5. 고찰 및 결론

본 논문에서 제안한 삼차원 구조를 갖는 마이크로믹서를 평가하기 위해 Reynolds Number(Re)와 채널 높이 변화에 따른 혼합 효율을 구현하였다. 일정 높이 (100 μm)에서 Re가 0.08~16으로 증가 할수록 '4번' 측정 위치에서 혼합 효율은 각각 84.60, 87.81, 89.45, 94.01로 증가 하였다. 이는 속도가 증가 할수록 확산에 의한 혼합보다는 혼합 영역(M₁~M₃)에 의한 채널 내부의 삼각 구조물 특성에 의해 혼합 효율이 증가하는 것으로 해석될 수 있다. 특히 순수한 혼합 부분(M₁+M₂+M₃) 만의 길이가 6 mm 미만임을 고려할 때 상당히 적은 마이크로믹서를 구현 할 수 있는 가능성을 보여주고 있다. 또한 넓은 영역의 유속에서도 2.4 mm 미만의 혼합 거리에서 70 % 이상의 혼합 효율을 보여주고 있으며, 이는 혼합 채널 내에서 상당히 강력한 혼합이 발생됨을 보여주고 있다. 또한, 유속을 고정한 상태(Re 16)에서 채널 높이가 50 μm, 100 μm, 150 μm로 증가 함에 따라 '4번' 측정 위치에서 혼합 효율은 88.65,

94.01, 94.46로 점차 증가 하였다. 이는 채널 높이가 높을수록 강력한 혼합이 발생되며, 88 % 이상의 혼합 효율을 나타내고 있다.

마이크로믹서를 2개 사용하여 글루코스-촉매 반응을 관찰할 수 있는 마이크로반응기를 구현해 보았다. '초기' 입력 단으로 들어간 GL과 GOX는 상단부에 있는 'MMX 1' 혼합 영역에 의해 혼합이 일어나 D-gluconolactone과 과산화수소(H₂O₂)를 생성한다. 한편 '2차' 입력 단에 위치에 있는 입력 부를 통해서 AM과 HRP 혼합 용액이 H₂O₂와 반응하여 그림 7(a)의 '3' 측정 위치에서와 같이 확산에 의한 경계면에 resorufin bend가 생성되며, 이 후 하단부에 있는 'MMX 2' 혼합 영역을 통과함으로써 잘 섞이게 되며, 그림 7(b)의 '6과 7'의 위치에서와 같이 넓은 영역에 완전 반응된 resorufin 발현됨을 볼 수 있다.

따라서 본 연구에서 제안된 3차원 구조를 가지는 마이크로믹서는 높은 혼합 효율과 마이크로믹서를 이용한 마이크로반응기로서 통합된 기능을 충분히 수행함을 알 수 있었다. 또한, 다양한 미세 유체 시스템에 구현이 가능할 것으로 예상되며, 분석뿐만 아니라 미량의 화합물 합성 등에 본 연구에서 제안된 시스템이 사용될 수 있을 것으로 예상된다.

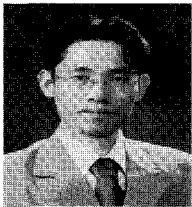
감사의 글

“본 연구는 환경부의 2004차세대 핵심환경기술개발 사업으로 지원에 의하여 이루어진 것임(052-041-037)”.

참고 문헌

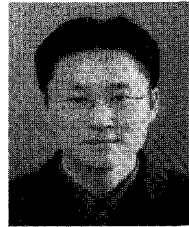
- [1] G. M. Whitesides, E. Ostuni, S. Takayama, X. Jiang, and D. E. Ingber, “Soft lithography in biology and biochemistry”, *Annu Rev Biomed Eng.*, vol. 3, pp. 335-373, 2001
- [2] R. H. Liu, M. A. Stremmer, K. V. Sharp, M. G. Olsen, J. G. Santiago, R. J. Adrian, H. Aref, and D. J. Beebe, “Passive mixing in a three-dimensional serpentine microchannel”, *J. Microelectromech. Syst.*, vol. 9, no. 2, pp. 190-197, 2000.
- [3] P. J. A. Kenis, R. F. Ismagilov, S. Takayama, G. M. Whitesides, S. Li, and H.S. White, “Fabrication inside microchannels using fluid flow”, *Acc. Chem. Res.*, vol. 33, no. 12, pp. 841-847, 2000.
- [4] A. D. Stroock, S. K. Dertinger, A. Ajdari, I. Mezic, H. A. Stone, and G. M. Whitesides, “Chaotic mixer for microchannels”, *Science*, vol. 295, pp. 647-651, 2001.

- [5] G. H. Seong and R. M. Crooks, "Efficient mixing and reactions within microfluidic channels using microbead-supported catalysts", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, no. 45, pp. 13360-13361, 2002.
- [6] H. Suzuki, N. Kasagi, and C. Ho, "Chaotic mixing of magnetic bead in micro cell separator", *Proc. 3rd Int. Symp. Turbulence and Shear Flow Phenomena*, pp. 817-822, Sendai, Japan, 2003.
- [7] D. J. Kim, H. J. Oh, T. H. Park, J. B. Choo, and S. H. Lee, "An easily integrative and efficient micromixer and its application to the detection of glucose-catalyst reactions", *The Analyst*, vol. 130, pp. 293-298, 2005.
- [8] J. Y. Kim, J. Y. Baek, K. A. Lee, and S. H. Lee, "Automatic aligning and bonding system of PDMS layer for the fabrication of 3D microfluidic channels", *Sensors and Actuators A*, vol. 119, pp. 593-598, 2005.
- [9] S. J. Park, J. H. Park, S. Chung, C. Chung, and J. K. Chang, "Rapid three-dimensional passive rotation micromixer using the breakup process", *J. Micromech. Microeng.*, vol. 14, pp. 6-14, 2004.
- [10] A. M. Jorgensen, K. B. Mogensen, J. P. Kutter, and O. Geschke, "A biochemical microdevice with an integrated chemiluminescence detector", *Sensors and Actuators B*, vol. 90, pp. 15-21, 2003.
- [11] 서희돈, 이영태, "Stereolithography를 이용한 마이크로 펌프 제작", *센서학회지*, 제10권, 제4호, pp. 232-238, 2001.
- [12] 이승기, 정승환, "MEMS 공정을 이용한 전도성 고분자 액추에이터용 마이크로 구조물의 제작", *센서학회지*, 제12권, 제4호, pp. 156-163, 2003.



김 덕 중 (Duck-Joong Kim)

- 2002년 단국대학교 재료공학과 졸업 (공학사)
- ~ 현재 단국대학교 의학레이저협동과정 석사과정
- 주관심분야 : MEMS, 고분자 합성 및 반응, 생체재료



백 주 열 (Ju-Yeoul Baek)

- 1992년 단국대학교 물리학과 졸업(이학사)
- 1994년 단국대학교 대학원 물리학과 졸업 (이학석사)
- 1999년 단국대학교 대학원 물리학과 졸업 (이학박사)
- 2001. 01 ~ 2001. 07 산업자원부 기술 표준원 광전재료과 위촉연구원
- 2001. 08 ~ 현재 단국대학교 의공학연구소 선임연구원
- 주관심 분야: Polymeric MEMS, 마이크로 밸브&펌프, Flexible microelectrode



이 상 훈 (Sang-Hoon Lee)

- 1983년 서울대학교 전기공학과 졸업 (공학사)
- 1987년 서울대학교 제어계측공학과 졸업 (공학석사)
- 1992년 서울대학교 의공학과 졸업 (공학박사)
- ~ 현재 단국대학교 의공학과 교수
- 단국대학병원 의공학과 과장
- 단국대학교 의과대학 의공학연구소 소장
- 주관심분야 : 인공심장, 생체재료, MEMS