

◆ 특집 ◆ 첨단레이저 응용 미세가공기술

미세 유체 상 PDMS 고분자 필름의 펨토초 레이저 어블레이션 및 천공 임계치 연구

fs-laser Ablation and Optoperforation Threshold for PDMS Thin Film on μ -channel

우숙이¹, M.S. Sidhu¹, 윤태오¹, 정세채^{1,✉}, 박일홍²
 Suk-Yi Woo¹, M.S. Sidhu¹, Tae Oh Yoon¹, Sae Chae Jeoung^{1,✉} and Il-Hong Park²

¹ 한국표준과학연구원 첨단장비기술센터 (Center for Advanced Instrumentation, KRISS)

² ㈜한빛나노바이오테크 (HNBT)

✉ Corresponding author: scjeoung@kriss.re.kr, Tel: 042-868-5211

Manuscript received: 2009.10.30 / Revised: 2009.11.23 / Accepted: 2009.12.21

We have investigated fs-laser ablation as well as optoperforation threshold of PDMS (Polydimethylsiloxane) thin lid cover on μ -channel with changing the flow medium from water to hemoglobin. The ablation threshold is found to be independent of both PDMS thin film thickness and flow medium, but the optoperforation threshold is dependent on the films thickness. The observation that the ablation process is well described with simple two-temperature model supposed that the cover lid PDMS of μ -channel be processed with minimized thermal effects by fs-laser with low laser fluence.

Key Words: fs-laser (펨토초 레이저), Ablation (어블레이션), Optoperforation (광유발 천공), PDMS (폴리다이메틸실로세인), μ -channel (미세 유체관), Bio-mimicked Blood Vessels (모사혈관)

1. 서론

펨토초(femtosecond) 레이저 펄스와 물질과의 상호작용에 있어, 물질의 비선형 광학 특성 중 하나인 다광자 흡수(multi-photon absorption) 단면적의 효과를 무시할 수 없다. 선형 광흡수가 거의 없어 특정 레이저 파장에서 투명한 물체에서도 초고속 레이저와 적절한 집속(focusing) 광학계를 구성함으로써 충분한 밀도의 전자 및 이온들이 생성될 수 있다. 특히 물질 내부에 미시적으로 플라즈마 유사 상태를 초고속 레이저를 조사함으로써 임계 밀도 이상의 플라즈마가 발생하는 경우, 매우 국부적으로 대상 물질에 영구적인 손상을 가할 수 있다. 이 과정은 기존의 나노초(nanosecond) 혹은 연

속파(continuous wave) 레이저와 비교하여 열적-기계적인 손상의 영역을 매우 제한적으로 야기함으로써 살아있는 세포의 세포막뿐만 아니라 내부 미시적인 구조까지 매우 선택적으로 제어할 수 있는 새로운 수단을 제공한다.¹

이러한 이유로 최근에 펨토초 레이저가 기초 생물학적 연구에서 새로운 도구로 떠오르고 있다. 높은 피크(peak)의 광도로 초점을 맞추고 초단파, 적외선 레이저 광 펄스에 의해 생물학적 시료에서도 서브미크론(submicron) 깊이로의 절제가 가능하다. 최근 연구에서는 단일 세포 내에서 뿐만 아니라 생물체 기관 내에서도 섬세한 레이저 수술 실험을 이용하기 시작하였다.²

레이저를 이용한 초미세 공정 및 수술과 절제

에서, 임계 플루언스(threshold fluence), $F_{th}(J/cm^2)$ 는 효과적으로 물질 제거에 필요로 하는 최소한의 레이저 플루언스를 말한다. 특히 인가된 레이저 에너지와 손상된 부위의 지름 및 깊이와 같은 물리적인 크기와는 매우 밀접한 관계를 갖고 있다. 따라서 생물체 조직에 대한 초정밀 수술 및 절제를 수행하기 위해서는 생물 조직의 상태 및 형태에 따른 다양한 여건하에서 갖고 있는 초고속 레이저 유발 절제에 대한 임계치 결정 및 임계치에 미치는 인자들에 대한 정밀한 분석 및 측정이 반드시 선행되어야 한다. 이것은 실질적인 임상 및 필드에서의 적용에서 조직의 절제 및 수술 정밀도 향상을 하는데 결정적인 역할을 할 것으로 기대된다.

실리카(silica)와 같은 유전체물질과 각막 기질과 같은 부드러운 조직에서도 레이저 펄스에 의존적인 어블레이션(ablation) 임계치가 이미 보고되어 있다.³ 예를 들어, 각막 기질의 어블레이션 임계치는 레이저 펄스폭(pulse duration)이 나노초에서 피코초(picosecond) 정도로 짧아 짐에 따라 줄어든다가 1 피코초에서 100 펨토초의 경우에는 펄스폭에 큰 영향을 받지 않는다고 알려져 있다.⁴

한편 최근 본 연구실에서는 적출된 돼지 안구 내 망막 혈관 및 망막조직의 손상 임계 플루언스를 측정하여 보고하였다. 레이저 플루언스가 증가함에 따라 먼저 망막의 내부 한계층(inner limiting layer)이 최초 절제되고, 다음에는 혈관의 일부분이 어블레이션 되고 마침내 혈관이 천공이 일어난다. 이때 혈관 아래 부분을 구성하고 있는 망막 내부층에서는 어떠한 손상도 주지 않고 혈관만을 선택적으로 천공할 수 있음을 확인하였다.⁵ 이상의 일련의 과정에서 관측되는 초고속 레이저 유발 절제 및 천공에 관여하는 임계 플루언스와 변화 정도와 잘 일치함을 보여 주었다.

본 실험에서는 레이저 플루언스의 증가에 따른 혈관 벽 손상 및 천공과정에서 천공 및 절제 임계 플루언스가 혈관 내부의 혈액 특히 장파장에서 흡수가 매우 강한 헤모글로빈의 존재에 의하여 영향을 받는가와 혈관 두께가 혈관 천공 임계치에 미치는 영향을 정량적으로 측정하고자 하였다. 한편 예측되는 임계치의 결과가 생체 내에서 절제된 혈관의 경우 적출한 개체 및 생물학적인 상태에 따라 혈관의 물리 화학적인 구성에 따라 매우 상이할 것으로 판단되어 다음과 같은 혈관 모사 시스템을 제작 사용하였다. 즉, 혈관을 모사한 미세 유체 디바이스를 제작하여 덮개로 사용된 PDMS

(polydimethylsiloxane) 필름에 초고속 레이저를 집중하여 조사함으로써 환경을 조절하였다.

2. 실험 방법

Fig. 1(a)는 돼지 망막 혈관을 모사하기 위해 제작된 미세 유체 디바이스의 모식도이다. 디바이스의 상판과 하판은 투명한 아크릴로 제작하였다. 한편 상판의 중간에는 직경 20mm의 원형 모양을 천공하여 조사되는 레이저가 상판에 영향이 없도록 하였다. 미세 유체관을 형성하기 위하여 두께가 50 μ m인 PDMS 필름에 너비 200 μ m와 길이 30mm의 직사각형 모양의 유로를 초고속 레이저 공정법을 이용하여 제작하였다. Fig. 1(b)는 제작된 유로의 전자 현미경 사진이다. 단면의 세장비(aspect ratio)는 약 15 정도이다. 제작된 유로는 스핀코팅(spinner-coating)법으로 제작된 10 μ m 및 20 μ m의 두 다른 두께를 갖는 PDMS 필름을 덮개로 사용하여 미세 유로를 완성하였다.

4 개의 hemo group을 가진 혈액 단백질인 헤모글로빈(Sigma, 0.025g/ml) 실험군과 DI water를 유체로 사용하는 대조군을 만들고, 채널이 있는 PDMS 위에 두 다른 두께의 PDMS 필름을 덮어 펨토초 레이저에 의한 절제와 천공 실험을 수행하였다. 이때 미세 유체관(μ -channel) 입구에 미디엄(medium)을 가득 채우고 출구 쪽은 면(cotton)을 접촉함으로써 미세 유체관에 유체가 계속적으로 흐르게 하여 혈관을 좀더 잘 모사할 수 있도록 하였다. 또한 덮개로 사용된 PDMS 필름은 실험 전에 충분히 swelling 할 수 있도록 24 시간 동안 증류수 속에 담가 두었다가 실험 직전에 사용하였다.

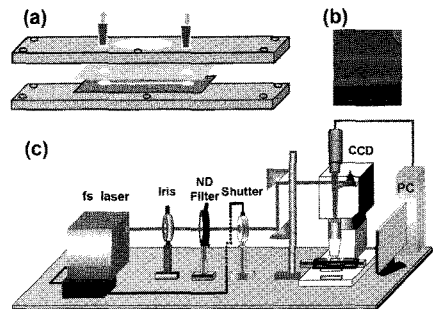


Fig. 1 (a) Schematic diagram of mimicked μ -channel device, (b) SEM images of processed μ -channel with 50 μ m thick PDMS plate, (c) schematic diagram for fs-laser ablation and perforation setup

어블레이션 및 천공을 위하여 사용된 광학장치를 Fig. 1(c)에서 보여 주고 있다. 실험에 사용한 레이저는 증폭된 Ti:sapphire 레이저로써(Quantronix, USA) 150fs의 펄스폭, 1kHz 반복률, 800nm 파장을 갖는다. 레이저 빔은 개구수(Numerical Aperture)가 0.4 값을 가지는 대물렌즈를 이용하여 PDMS 필름 표면에 초점을 맞춰 실험을 실행하였다. 1kHz의 레이저 펄스 열로부터 단일 펄스만을 뽑아내기 위해 열림 지연 시간이 0.6ms보다 빠른 광학 셔터를 사용하였다. 레이저의 플루언스는 ND 필터를 이용하여 조절하였다. 또한 레이저 파워는 한국표준과학연구원에서 교정된 ECPR(Laser probe, rsp-590)를 이용하여 교정된 파워 미터(Coherent, OP-2-vis)로 측정하였다. 교정된 실험장치의 플루언스 절대값은 실리콘 웨이퍼의 어블레이션 임계치를 결정함으로써 그 유용성을 확인하였다.

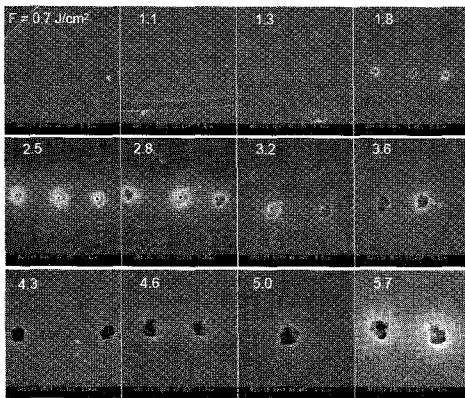


Fig. 2 SEM images of wetted 10µm thick PDMS films which directly contacted to hemoglobin solution in µ-channel during the laser process

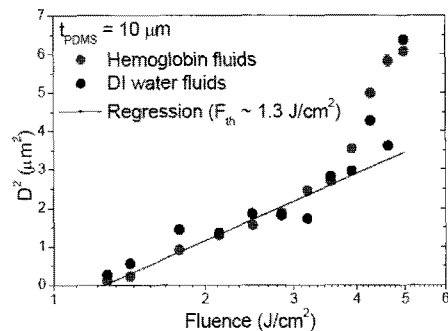
각각의 대조군(DI water)과 실험군(헤모글로빈)의 덮개로 사용한 PDMS 필름은 혈관의 상태를 고려하여 24 시간 동안 물에 담가 완전히 젖은 상태로 나뉘어서 실험을 진행하였고 이에 이용된 10µm 두께의 PDMS는 총 19 개, 20µm에서는 총 5 개를 사용하였다. 단일펄스 조건하에서 레이저 플루언스를 변화하며 레이저 빔을 PDMS의 표면에 집속하여 어블레이션과 천공실험을 수행하였다. 결과물은 주사전자 현미경(SEM, Hitachi, S-800)을 이용하여 어블레이션 직경을 측정하여 어블레이션 임계치를 결정하였으며, 레이저 조사된 PDMS의 후면을 동일한 SEM 이미지를 관찰하여 천공 임계

플루언스를 결정하였다.

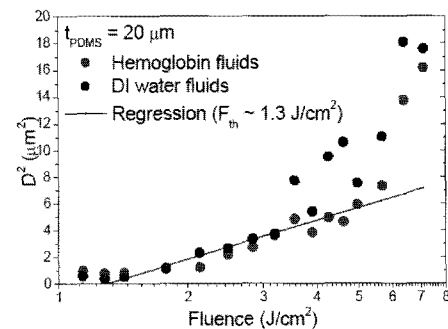
3. 결과

3.1 미세유체상 PDMS 필름 어블레이션

어블레이션 임계치 결정을 위하여 레이저 플루언스를 0.3-8 J/cm² 범위에서 조절하였다. Fig. 2는 실험군으로 사용한 헤모글로빈이 유체로 사용된 유로의 덮개로 사용된 10µm 두께의 PDMS 필름에 레이저를 단일 펄스로 조사 후에 관찰된 레이저 스폿(spot)의 SEM 이미지이다. 약 0.7J/cm² 이하에서는 스폿이 관찰되지 않았으나, 그 이상의 플루언스에서는 스폿이 관찰되기도 하였다. 그러나 또 다른 실험군에서는 이상의 SEM 이미지상 레이저 스폿이 2J/cm² 이상의 경우에서만 관찰되기도 한다. 한편, DI water를 유체로 사용한 경우에도 스폿이 관찰되는 경향 및 스폿 크기의 플루언스 의존성은 헤모글로빈의 경우와 거의 동일한 것으로 확인할 수 있었다.



(a)



(b)

Fig. 3 Square of spot diameter as a function of laser fluence measured from 10µm (a) and 20µm (b) thick PDMS films on µ-channel

Fig. 3(a)와 (b)는 본 연구에서 관측된 모든 실험군(헤모글로빈)과 대조군(DI water)에서의 레이저 플루언스에 대한 레이저 스폿의 평균 지름의 의존성을 두 다른 두께 즉 10 μ m 및 20 μ m 인 PDMS 필름의 결과를 각각 보여주고 있다. 레이저 플루언스가 4-5J/cm² 을 경계로 하여 레이저 스폿 크기는 logarithmic 플루언스에 대하여 각기 다른 기울기를 보여주고 있다. 이는 이미 잘 알려져 있는 바와 같이 광학적 침투 깊이(optical penetration depth) 및 열적확산 깊이(thermal diffusion depth)의 두 다른 초고속 레이저 공정 기작으로 설명될 수 있다. 한편 광학적 침투 깊이에 의하여 결정되는 초고속레이저 임계 플루언스 $F_{th}^{(6)}$ 는 레이저 스폿의 지름 D와는 다음과 같은 관계식을 만족한다.^{6,7}

$$D^2 = 2\omega^2 \ln(F/F_{th}^{(6)}) \quad (1)$$

이때 ω 는 가우시안(Gaussian) 형태로 가정된 레이저 빔의 반지름이다. 식(1)을 이용하여 결정된 어블레이션 임계치는 DI water 를 유체로 사용하는 경우는 1.3J/cm² 이며, 헤모글로빈을 넣은 경우 1.25 J/cm² 정도로써 그 차이는 거의 없다. 한편 PDMS의 두께가 20 μ m 인 경우의 레이저 플루언스에 대한 레이저 스폿 크기의 의존성은 전체적으로 10 μ m 두께의 PDMS 기관의 경우와 거의 일치하는 것을 알 수 있다. 즉, 20 μ m 의 두께의 PDMS 에서 임계치 값은 유체가 DI water 인 경우와 헤모글로빈의 경우 각각 약 1.2 J/cm² 과 1.4 J/cm² 으로 확인되었다.

3.1 미세유체상 PDMS 필름 천공

Fig. 4(a)와 (b)는 미세 유체관 위에서 유체로 사용한 헤모글로빈과 직접 접촉하고 있는 두께가 각각 10 μ m 와 20 μ m 인 두 다른 PDMS 필름 표면에 레이저를 집속하여 가공한 후 필름의 후면을 SEM으로 관찰한 결과를 각각 보여주고 있다.

DI water 를 미디엄으로 한 경우, 결정된 천공 임계 플루언스는 약 2.5-2.7J/cm²로써 헤모글로빈인 경우 결정된 값인 2.4-2.6J/cm²과 실험적인 오차 내에서 동일함을 보여주고 있다. 한편, 20 μ m 두께의 PDMS 에서의 천공에 대한 실험적인 관찰로부터 결정된 값은 DI water 나 헤모글로빈의 경우 4.2-4.3 J/cm² 이다. 한편 이 값은, 두께가 10 μ m 인 PDMS 필름의 결과보다 큰 값을 보여주고 있다. 이는 어블레이션 임계치에서 관찰된 경향과는 다르게, 천

공과정에서의 임계 레이저 플루언스는 미세 유체상 PDMS 필름의 두께에 의존적이라고 할 수 있다.

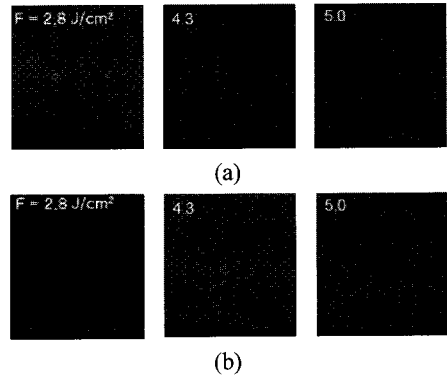


Fig. 4 SEM images of laser spot measured from the reverse surface of 10 μ m (a) and 20 μ m (b) thick PDMS films on μ -channel

4. 토의

본 실험에서는 초고속 레이저를 이용하여 혈관벽 절제 및 천공과정에서의 임계 레이저 플루언스 혈관 내부의 혈액의 존재, 특히 헤모글로빈의 존재에 의하여 영향을 받는가와 혈관 벽의 두께가 각각의 과정의 임계치에 미치는 영향을 정량적으로 측정하고자 하였다. 어블레이션 임계 플루언스는 유체와 직접 접촉하고 있는 PDMS 필름의 두께 뿐만 아니라 유체의 종류에 대하여서도 영향을 받지 않고 있음을 알 수 있었으나, 천공과정에서의 임계치는 PDMS 필름과 직접 접촉하고 있는 유체의 종류에는 큰 영향을 받지 않으나 필름의 두께에는 큰 영향을 받는 것을 실험적으로 관찰하였다.

한편, 낮은 레이저 출력 즉 광학적인 침투과정이 초고속 레이저 물질 공정에서 주된 기작으로 작용하는 경우에 레이저 스폿의 깊이 L 은 다음과 같은 식으로 표현된다고 알려져 있다.⁷

$$L = \delta \ln(F/F_{th}^{(6)}) \quad (2)$$

이때 δ 와 $F_{th}^{(6)}$ 는 광침투 깊이 및 광학적인 어블레이션 임계 플루언스이다. 한편 본 실험을 통하여 결정된 두께가 각각 L₁ 과 L₂ 인 PDMS 필름에서의 천공 임계치를 각각 F₁ 과 F₂ 로 표기하여 위 식을 정리하면 다음과 같다.

$$L_1/L_2 = \ln(F_1/F_{th}^{(6)})/\ln(F_2/F_{th}^{(6)}) \quad (3)$$

한편, 본 실험에서 두께가 20 μ m(L₁)와 10 μ m(L₂)인 PDMS 필름을 사용하였으므로 두께 비 L₁/L₂ 가 2 이다. 따라서 천공 임계 플루언스 F₁ 과 F₂ 는 F₁ = F₂²/F_{th}⁽⁶⁾의 관계식을 갖는다. 앞서 미세 유체 상 PDMS 필름에서 측정된 F₂ 및 F_{th}⁽⁶⁾는 각각 약 2.5 J/cm² 및 1.3 J/cm² 이므로 F₁ 을 예측하면 4.8 J/cm² 과 같다. 이는 실험적으로 관찰된 값인 4.3 J/cm² 와 매우 유사한 것을 알 수 있다.

5. 결론

본 연구에서 수행한 이상의 일련의 실험적인 관찰 결과 및 해석으로부터 다음과 같은 결론을 유추할 수 있다.

(1) 혈관을 모사한 미세 유체관 내부의 유체가 DI water 에서 헤모글로빈으로 치환되는 경우에도 혈관벽을 모사한 PDMS 필름의 절제 및 천공에 관여하는 임계 플루언스에는 영향을 미치지 못한다.

(2) 또한 혈관 벽의 초고속레이저를 이용한 천공 과정에서 적어도 레이저 파워를 낮은 상태에서 유지하는 경우 열적인 손상기작의 관여는 거의 없이 광학적인 어블레이션 기작이 주로 관여하여 열적-기계적인 손상을 최소화하며 초미세 혈관 수술이 가능하다.

(3) 혈관벽의 손상의 정도는 잘 알려진 광학적인 침투에 의한 어블레이션 기작 만으로도 어느 정도 예측 가능하다.

(4) 마지막으로 가장 중요한 사항은 이상의 결과를 이용하여 혈관벽의 두께가 각기 다른 종류의 혈관에 대한 천공을 레이저 플루언스를 제어함으로써 매우 선택적으로 수행할 수 있을 것으로 예측된다.

특히, 신생 혈관이 관여하는 망막질환 및 압과 같은 다양한 질병에서 발견되는 비정상적인 혈관의 벽은 정상적인 혈관에 비하여 얇은 것으로 알려져 있다. 본 연구의 결과로부터 초고속 레이저를 이용한 수술에서 절제 혹은 제거되는 조직의 깊이는 식 (3)에서 보여주는 바와 같이 어블레이션 임계 플루언스 및 광침투 깊이(δ)로 매우 간단하게 예측할 수 있다. 특히 레이저 플루언스의 증가에 따라 제거되는 조직의 깊이가 동일한 함수이므로 잘 조절된 레이저 에너지 조사를 통하여 절제 깊이를 매우 정교하게 제어할 수 있을 것이다. 이러

한 초고속레이저 수술법을 이용하여 얇은 벽을 갖는 비정상적인 혈관만을, 비교적 두꺼운 벽을 갖는 정상적인 혈관의 천공을 피하면서도 선택적이고 안전하게 제거 및 절제하는 수술에 매우 효과적일 수 있을 것으로 예측이 가능하다.

후 기

본 연구의 일부는 지식경제부 지원으로 산업원천기술개발사업을 통하여 수행되었음.

참고문헌

- Glezer, E. N. and Mazur, E., "Ultrafast-laser driven micro-explosions in transparent materials," Appl. Phys. Lett., Vol. 71, No. 7, pp. 882-884, 1997.
- Gabel, C. V., "Femtosecond lasers in biology: nanoscale surgery with ultrafast optics," Contemporary Physics, Vol. 49, No. 6, pp. 391-411, 2008.
- Stuart, B. C., Feit, M. D., Herman, S., Rubenchik, A. M., Shore, B. W. and Perry, M. D., "Nanosecond-to-femtosecond laser induced breakdown in dielectrics," Phys. Rev.(B), Vol. 53, No. 4, pp. 1749-1761, 1996.
- Giguère, D., Olivieri, G., Vidal, F., Toetsch, S., Girard, G., Ozaki, T., Kieffer, J. C., Nada, O. and Brunette, I., "Laser ablation threshold dependence on pulse duration for fused silica and corneal tissues: experiments and modeling," J. Opt. Soc. Am.(A), Vol. 24, No. 6, pp. 1562-1568, 2007.
- Sidhu, M. S., Kim, E. K., Woo, S.-Y, Song, M. C. and Jeoung, S. C., "Femtosecond laser assisted optoperforation of primary retinal blood vessels and retina tissue in porcine eyes," Journal of the Korean Physical Society, Vol. 55, No. 2, pp. 467-476, 2009.
- Choi, J. R., Park, M. I., Park, M. R., Choi D. S. and Jeoung, S. C., "Transition of femtosecond laser ablation mechanism for sodalime glass caused by photoinduced defects," Journal of the Optical Society of Korea, Vol. 7, No. 3, pp. 150-155, 2003.
- Park, M.-I. Park, C.-O., Kim, C. S. and Jeoung, S. C., "Characterization of femtosecond-laser-ablated a germanium single crystal in air by using x-ray diffraction," Journal of the Korean Physical Society, Vol. 46, No. 2, pp. 531-535, 2005.