한국정밀공학회지 제 33 권 제 1 호 pp. 69-75 January 2016 / 69
J. Korean Soc. Precis. Eng., Vol. 33, No. 1, pp. 69-75 http://dx.doi.org/10.7736/KSPE.2016.33.1.69
ISSN 1225-9071(Print), ISSN 2287-8769(Online)

입자 영상 해석을 이용한 고분자 지지체 변형 측정

Deformation Measurement of Polymer Scaffold Using Particle Image Analysis

강민제 [1], 오상훈 [1], 이계한 [1,✉]
Min Je Kang[1], Sang Hoon Oh[1], and Kyehan Rhee[1,✉]

1 명지대학교 기계공학과 (Department of Mechanical Engineering, Myoungji University)
✉ Corresponding author: khanrhee@mju.ac.kr, Tel: +82-31-330-6426

Manuscript received: 2015.11.5. / Revised: 2015.12.23. / Accepted: 2015.12.24.

Polydimethylsiloxane (PDMS) is used as a scaffold for cell culture. Because both the stress and strain acting on the substrate and the hemodynamic environment are important for studying mechano-transduction of cellular function, the traction force of the surface of a substrate has been measured using fluorescence images of particle distribution. In this study, deformation of the cross-sectional plane of a PDMS block was measured by correlating particle image distributions to validate the particle image strain measurement technique. Deformation was induced by a cone indentor and a shearing parallel plate. Measured deformations from particle image distributions were in agreement with the results of a computational structure analysis using the finite-element method. This study demonstrates that the particle image correlation method facilitates measurement of deformation of a polymer scaffold in the cross-sectional plane.

KEYWORDS: Deformation measurement (변형 측정), Finite element analysis (유한요소해석), Polymer scaffold (고분자 지지체), Particle image correlation (입자영상 상관관계)

1. 서론

대부분 세포는 세포외 기질을 포함하는 표면에 부착되어 생존하므로, 세포의 기능에 관한 연구를 수행하기 위해 세포가 부착할 수 있는 다양한 종류의 지지체나 기질이 필요하다. 생체 내에서 세포는 혈액의 유동이나 조직의 운동에 의한 다양한 물리적 자극을 받으며, 이러한 기계적 힘은 세포의 기능 변화에 중요한 자극으로의 역할을 한다.[1] 따라서 세포의 기능 변화를 연구하기 위한 마이크로 채널 등의 생체외 배양 시스템에서는 세포가 생체 내에서와 유사한 유동 및 응력을 받을 수 있는 물리적 미세 환경 유지가 필요하다.[2] 세포가 부착된 기질은 주변 조직의 운동과 성장 및 혈액 유동 환경에 의해 변형과 응력을 받고,[3,4] 이는 세포의 기능에 영향을 미칠 수 있으므로 기질이 받는 변형 및 응력은 세포의 기계적 전달 현상을 연구하기 위해 중요하다.

세포는 유연한 기질에 부착되어 있으므로, 기질을 구조적으로 지지하는 다양한 고분자가 세포 배양을 위한 지지체로 사용되고 있다. 세포 주변 조직의 운동 및 혈액 유동에 의한 복잡한 물리적 응력이 세포에 인가되나 응력의 생체내 측정은 매우 어렵다. 생체외 세포 배양에서 생체내와 유사

Copyright ⓒ The Korean Society for Precision Engineering
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

한 응력을 인가하여 세포의 기능 변화를 유도하는 연구가 수행되고 있으며, 이를 위한 지지체에 작용하는 응력의 정확한 측정은 중요하다. 최근에는 세포가 기질에 가하는 견인력을 측정하는 TFM (traction force microscopy) 기술이 개발되었다. 이 방법은 세포가 부착된 유연한 기질의 변형을 측정하고, 이를 이용하여 세포의 견인력을 예측하는 측정 방법이다.[5] 기질에 삽입된 미세 형광 입자의 변위를 광학적으로 입자영상의 변위 분포를 기록하고, 이를 이용하여 다양한 해석적 방법으로 견인력을 계산할 수 있다.[6,7] 이 방법은 수 마이크로 뉴톤 이하의 미세한 표면력의 측정이 가능하므로, 신경세포의 성장,[8] 피부의 건조,[9] 표면의 미세 균열[10]에 의해 표면에 가해지는 응력의 측정에 활용되고 있다.

본 연구에서는 세포의 지지체 및 마이크로 채널 등에 활용되는[11] PDMS (polydimethylsiloxane) 고분자 블록에 외부의 물리적 자극에 의해 발생하는 변형을 측정하고 유한요소 해석을 통한 변형 해석 결과와 비교하여 변형 측정 방법의 유효성을 검증하고자 한다. 이를 위해 압입 또는 전단 변형을 PDMS 블록에 인가하여 탄성계수 및 변형을 입자영상을 이용하여 측정하고, 이를 유한요소법을 이용한 전산구조해석과 비교하여 입자영상을 이용한 변형 측정 방법의 유효성을 연구하고자 한다.

2. 방법

2.1 하중인가 및 물성치 측정

변형 및 물성을 측정한 고분자 지지체로 PDMS (Sylgard 184, Dow Corning, U.S.A.)를 사용하였다. PDMS의 주제와 경화제를 혼합하여 다양한 물리적 특성을 갖는 탄성 중합체를 제작 할 수 있다. 본 연구에서는 주제와 경화제의 혼합비를 30에서 40 대 1로 조절하여 혈관 내막의 탄성과 유사한 수십 kPa의 탄성계수를 갖도록 제작하였다. PDMS 주제에 경화제를 혼합한 후 고온 진공용기에서 기포를 제거하고, 한 변의 길이가 25 mm인 플라스틱 틀에 원하는 높이만큼 혼합 물질을 붓고 60℃에서 4시간 동안 열경화하였다. 높이가 20 mm인 블록은 압입 실험에 사용되었으며, 높이가 5 mm, 10 mm인 블록은 전단 실험에 사용하였다. 입자영상 실험을 위해 직경이 15 μm인 폴리스티렌 입자 (FF1015-01, EBM Corp., Japan)를 부피비로 0.1 % 정도 추가하였으며, 고분자 중합체의 탄성계수를 변화하기 위해 주제와 경화제 비율을 30:1, 35:1, 40:1로 조절하였다.

점착력이 크고 유연한 PDMS 블록의 탄성계수를 측정하기 위해, 생체재료나 유연한 수화성 고분자의 탄성계수 측정에 사용되는 미세 압입 실험을 수행하였다. 이 방법은 구, 원통, 원추 등 다양한 모양의 구조물에 하중을 가하고, 두 표면에서의 탄성 변형을 이용하여 탄성계수를 계산하는 방법이다.[12,13] 본 연구에서는 알루미늄으로 직경 20 mm, 원추각 (2α, 110°) 인 원추를 제작하고 이를 하중 센서(GS-100, Transducer Techniques, U.S.A.)에 부착하였다. 원추를 선형 이송장치를 이용하여 일정한 속도로 0.5 mm 에서 2 mm 깊이만큼 블록 표면을 압입하고 이때 가해지는 힘을 측정하였다. PDMS 블록은 비 압축성이므로 포아송비 (ν)는 0.5 정도이고, 이때 압입력 (F)와 압입 깊이 (δ)와 블록의 종탄송계수 (E)는 아래와 같은 관계가 성립한다.

$$F = \frac{2E\delta^2 \tan\alpha}{\pi(1-\nu^2)} \tag{1}$$

횡탄성계수 (G)는 아래 식으로 계산할 수 있다.

$$G = \frac{E}{2(1+\nu)} \tag{2}$$

단순 전단 변형을 인가하기 위해, 제작된 PDMS 블록의 윗면에 한 변의 길이가 25 mm, 두께가 5 mm인 아크릴판을 부착하고, 이 판을 선형 이송장치를 이용하여 수평 방향으로 수 mm 이동하며 가해지는 힘을 측정하였다. 이때 블록은 단순 전단 변형을 받도록 상하의 움직임을 제한하였다. 측정된 힘을 면적으로 나누어 평균 전단 응력을 구하고, 블록의 높이와 윗면의 이송 거리를 이용하여 전단변형을 계산하여 탄성 블록의 횡탄성계수를 계산하였다.

2.2 입자영상을 이용한 변형 측정

하중인가에 의한 블록의 변형을 실험적으로 측정하기 위해 입자 영상을 이용한 광학적 방법을 사용하였다. 변형을 측정하고자 하는 평면인 PDMS 블록의 중앙에 파장 532 nm인 레이저 (500 mW, PB 256-C, Optoelectronics Tech Co., China)를 원통형 렌즈를 이용하여 평면광으로 펼쳐서 조사하였다. 선형 이송장치에 의해 연속적으로 변형되는 2차원 평면의 입자 분포 영상을 CCD 카메라 (VC-4MC-M180EO, Vieworks Co., Korea)를 사용하여 초당 10

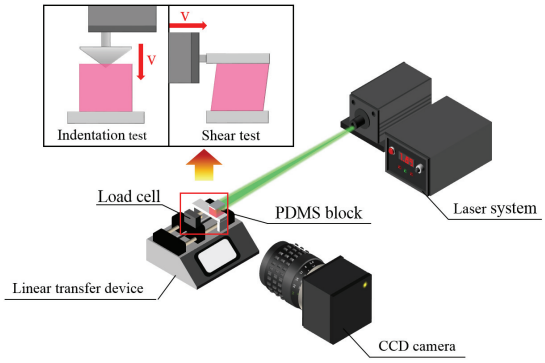

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental set up of the indentation test and pure shear test

프레임의 속도로 영상을 획득하였다 (Fig. 1). 변형이 발생하기 전 입자 영상과 최대 변형이 발생한 후 입자 영상을 각 각 수십 개의 픽셀 크기를 갖는 격자 (interrogation spot)로 나누고, 각 격자내의 입자 분포의 상호 상관 관계를 이용하여 격자의 이동 변위를 각 각 구하였다. 상호 상관관계를 이용한 변형 계산은 상용 소프트웨어 (Insight-4G, TSI Inc., U.S.A.)를 사용하였으며, 해석 결과는 후처리 소프트웨어 (Tecplot Focus, Tecplot Inc., U.S.A.)를 이용하여 나타내었다.

2.3 유한 요소 해석

입자 영상 실험으로 측정한 변위 분포의 정확성을 검증하기 위하여, 유한요소방법을 이용한 전산구조해석을 사용하여 실험에서 발생하는 변형을 해석하였다. 압입 실험을 시뮬레이션 하기 위해 PDMS 블록과 원추형 압입부를 SolidWorks (Dassault Systems, U.S.A.)를 이용하여 3차원 모델링 하였으며 (Fig. 2), 중앙을 기준으로 1/4 블록만을 모델링하고, 중앙부 대칭면은 대칭 경계조건을 주었다. 구조해석은 상용 소프트웨어 (Ansys Workbench, ANSYS Inc., U.S.A)를 사용하였다. 원추와 블록 표면이 접촉하는 부분이 생기게 되는데 원추면은 contact, PDMS 블록 윗면은 target면으로 설정하였고, 원추의 끝에 달려있는 원통형 부분에 frictionless support조건을 주어 원통 벽면에 수직한 방향으로 구속시켰다. 이는 원추의 상하 운동만 가능하도록 하는 조건이다. 바닥면은 고정되어 있으므로 모든 자유도에 대한 구속조건 (fixed support)를 설정하였다. 유한요소해석을 위해 7,200개의 육면체 요소를 사용하였으며, 격자의 수를 더 이상 증가시켜도 최대 변형

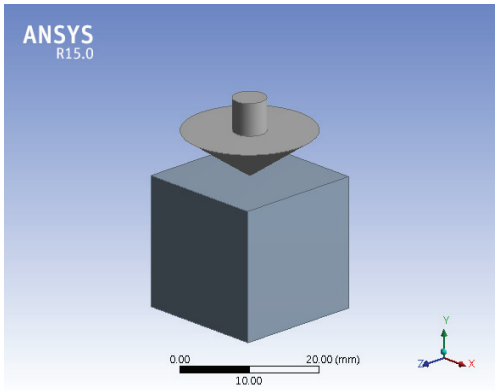

Fig. 2 Three dimensional solid model of the cone and PDMS block for indentation test

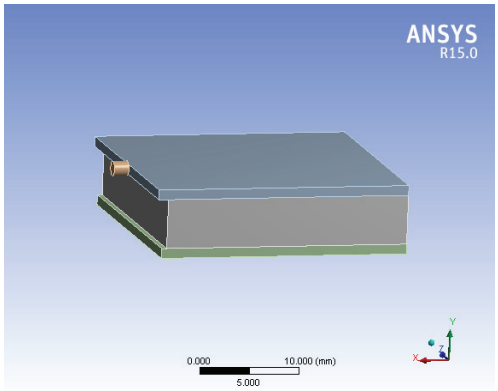

Fig. 3 Three dimensional solid model of the top plate and PDMS block for pure shear test

의 1% 이내로 변화하여, 유한요소 해석의 노드 수의 의존성을 무시할 수 있었다.

전단 변형 실험을 시뮬레이션 하기 위해 PDMS 블록을 모델링하고, 윗면과 아랫면에 같은 넓이의 아크릴 판 모형을 고정 (bonded) 조건을 주어서 부착시켰다. 또한 원통형 모양인 로드셀의 끝부분이 윗면 아크릴을 미는 판과 원통 부분도 모델링 하였다 (Fig. 3). 실험 시 측정된 힘을 원통형 끝 단에 하중 (load) 조건으로 주고, 바닥면 아크릴은 모든 자유도로 구속하였다.

3. 결과

3.1 물성치 측정

PDMS 주제와 경화제의 비율을 변화하여 블록을 제작하고 원추형 기구를 이용하여 0.5 mm, 1.0

Table 1 Elastic modulus obtained from the indentation test of PDMS blocks of various curing agent concentrations (*denotes the mixture with particles)

Depth (mm)	Young's modulus (kPa)			
	30:1	35:1	40:1	40:1*
0.05	148±4.1	88.1±3.7	46.3±6.1	52.2±1.0
0.15	133±2.2	68.4±1.4	34.6±0.5	39.1±3.5
0.2	118±2.0	62.4±2.2	27.2±0.2	33.3±1.5

mm, 2.0mm 를 각 각 압입하였을 때 힘을 측정하였다. 식(1)을 이용하여 구한 탄성계수 값은 Table 1에 나타나있다. 각 실험은 5회 이상 실시하였고, 표에서는 평균값과 표준 편차를 나타내었다. 경화제의 비율이 적을수록 탄성계수 값이 감소하였고, 입자영상 측정을 위한 0.1 % 미세 입자의 첨가는 탄성계수에 큰 영향을 미치지 않았다. 압입 깊이가 커질수록 탄성계수 값은 감소하였으며, 이는 초탄성 고분자의 일반적 특성이다. 경화제 비율이 적어 질수록 고분자가 더욱 유연해지고 응력과 변형 곡선의 기울기가 줄어드는 특성을 나타내므로, 탄성계수가 감소한다. 따라서 40:1의 혼합비의 PDMS 블록은 변형의 증가에 따른 탄성계수의 감소가 크게 나타났다.

PDMS 주제와 경화제의 비가 1:40인 고분자 중합체는 20-30 kPa의 탄성계수를 나타내었다. 단순 전단 변형을 이용하여 전단응력계수를 측정하기 위하여 한 변의 길이가 25 mm인 정사각형 단면을 갖고 높이(H)가 5 mm와 10 mm인 PDMS 블록을 제작하였다. 블록의 높이가 높아지면 윗면에 평행한 방향으로 힘을 가하기 어려웠다. 블록의 전단 변형은 윗 판의 이송 거리를 블록의 높이로 나누어 구하였으며, 이때 윗 판에 가해진 수평한 힘을 측정하고 이를 단면적으로 나누어 전단 응력을 계산하였다. 비교적 작은 전단 변형에서 (<0.15), 전단 응력과 변형의 비례적 관계를 이용하여 전단응력 계수를 구하였다. Table 2에서 나타난 대로 변형 의 증가에 따라 횡탄성계수는 감소하였으며, 높이가 10 mm 인 블록의 전단응력계수 값이 약간 작게 나타났다. 이는 전단 변형의 증가에 따라 탄성계수가 감소하는 초탄성 고분자의 특성과 일치한다. 블록의 높이에 따른 탄성계수의 차이는 수평 한 힘을 가하기 어렵고, 일부 힘이 윗 판에 수직 방향의 힘으로 작용하기 때문이라고 생각된다.

Table 2 Shear modulus obtained from the pure shear test of PDMS blocks

Shear strain	Shear modulus (kPa)	
	H = 5mm	H = 10mm
0.05	7.29 ± 0.36	7.33 ± 0.34
0.10	7.01 ± 0.31	6.87 ± 0.25
0.15	6.88 ± 0.23	6.73 ± 0.20
0.2	6.74 ± 0.17	6.66 ± 0.19

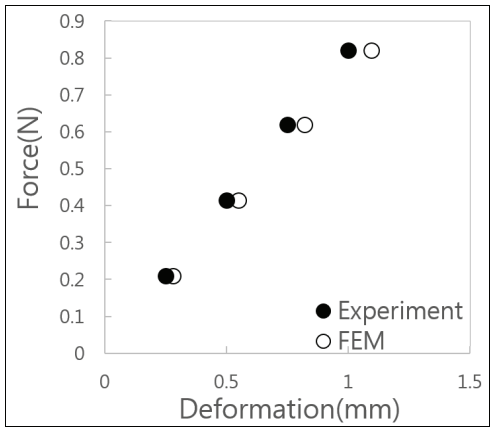

Fig. 4 Measured and simulated maximum indentation displacements of the indentation test

3.2 유한요소해석

압입 실험을 이용해서 얻은 탄성계수값을 이용하여 압입 실험에서의 변형을 유한 요소 해석하였다. 실험 장치 및 블록의 1/4을 모델링하고, 실험에서 측정된 원추에 가해진 힘의 1/4 값을 원추형 기구 모델에 블록에 수직한 방향으로 인가하였다. 0.5 mm, 1.0 mm, 2.0 mm 압입 시 인가된 힘과 유한요소해석 결과 발생한 최대 변형이 Fig. 4에 나타나 있다. 측정된 최대 변형 값은 해석된 변형 값과 유사하게 나타났으며 오차는 1.5 % 이하이었다. 이 결과는 압입 실험으로 측정된 탄성계수를 이용한 유한요소 구조 해석의 유효성을 나타낸다.

단순 전단 실험에서 측정된 전단응력 계수를 블록의 횡탄성계수로 사용하여 높이 5 mm PDMS 블록의 변형을 유한요소 해석하였다. 실험에서 측정된 평판을 미는 힘을 모델의 윗 판을 미는 힘으로인가하였다. 윗 판에 가해진 힘에 의한 블록의 최 대 변위의 측정값과 유한 요소해석 값이 Fig. 5에 나타나있다. 유한요소해석 결과로 얻은 윗 판의 최대변위는 실험값이 근사하였으며 오차는 9.0 % 이하이었다. 단순 전단 실험으로 측정된 횡

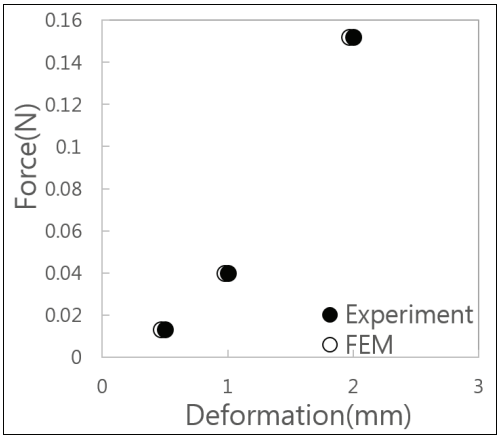

Fig. 5 Measured and simulated maximum displacement of the pure shear test

탄성계수 값은 압입 실험에서 측정된 종 탄성계수 값을 식(2)를 이용하여 환산한 종탄성계수 값과 다르게 나타났다. 이는 두 실험이 변형 인가 방법 및 인가된 변형의 크기가 다르기 때문이다.[14]

3.3 입자영상실험

PDMS 블록의 중앙 대칭 축을 원추의 축과 정렬하고, 원추가 압입되는 평면을 레이저 평면광을 조사하여, 입자 영상을 획득하였다. 원추는 선형 이송 장치에 의해 0.0335 mm/s 속도로 압입되었으며, 디지털 카메라로 입자의 분포가 초당 10 프레임씩 저장되었다. 압입 시작 후 15초, 30초, 60 초에 획득된 영상을 이용하여 0.5 mm, 1.0 mm, 2.0 mm 압입 시 입자분포를 획득하였다. 원추 중심을 기준으로 대칭되는 레이저가 입사되는 반 평면의 영상을 발췌하여 32 x 32 픽셀 격자로 나눈 후, 압입 전과 후의 영상에서 각 격자의 입자 분포의 변위를 상호 상관관계를 이용하여 계산하였다. 1 mm 압입 실험에서 입자영상 분포를 이용하여 측정된 변위 분포와 유한요소 해석을 이용하여 계산된 변위분포가 Fig. 6에 나타나있다. 원추에 의한 최대 변위는 실험과 해석 결과가 유사하게 나타났으나, 해석결과 변형이 압입 위치 5 mm 이내에서 집중되어 나타났으나, 입자영상 실험을 이용한 변위 분포는 압입 위치 1 mm 이상에 걸쳐 넓게 나타났다. 이는 입자 영상의 잡음 및 격자의 공간 해상도에 의한 영향으로 판단되며, 이를 해결하기 위한 입자의 영상처리 방법 및 상관관계 해석 방법의 개선이 필요하다. 단순 전단 실험에서는 윗 판

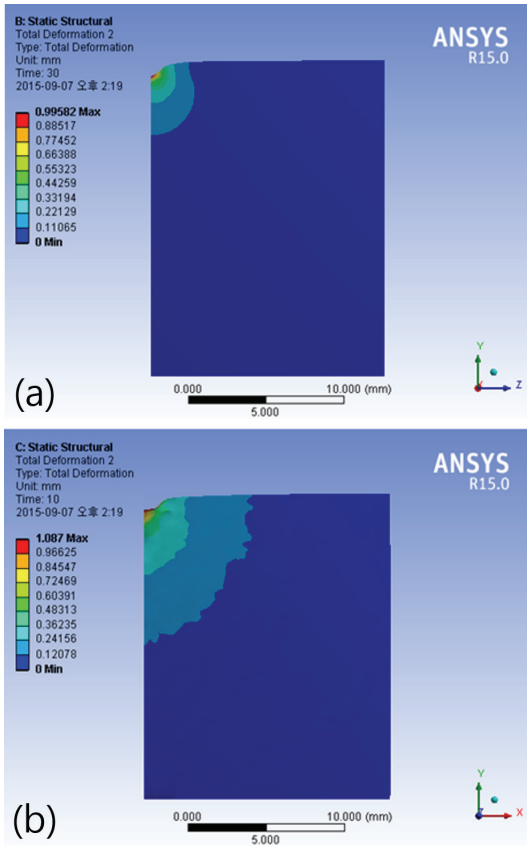

Fig. 6 Comparison of the displacement distributions of finite element analysis (a) and particle image analysis (b) in the indentation test

을 선형 이송 장치에 의해 0.067 mm/s 속도로 이송하였으며, 평판 레이저 광이 조사되는 평면에서의 입자의 분포를 디지털 카메라로 초당 10 프레임씩 획득하였다. 저장된 영상 중에 초기 영상과 윗 판이 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mm 이동 후 획득된 영상을 32x32 픽셀의 격자로 나눈 후 각 격자의 이동 변위를 계산하여 변위 분포를 측정하였다. 측정된 변위 분포는 수평 방향으로 높이에 따라 선형적으로 증가하였으며 이는 단순 전단력을 주었을 때 발생하는 일정한 전단 변형을 나타낸다. Fig. 7은 높이 5 mm인 블록의 윗면에 1 mm 의 수평 변위를 주었을 경우 입자영상을 이용하여 측정한 변위 분포와 유한요소 해석 결과를 나타낸다. 실험 및 해석 결과 모두 바닥으로부터 선형적으로 증가하는 단순 전단 변형과 질 일치하는 결과를 나타내었다.

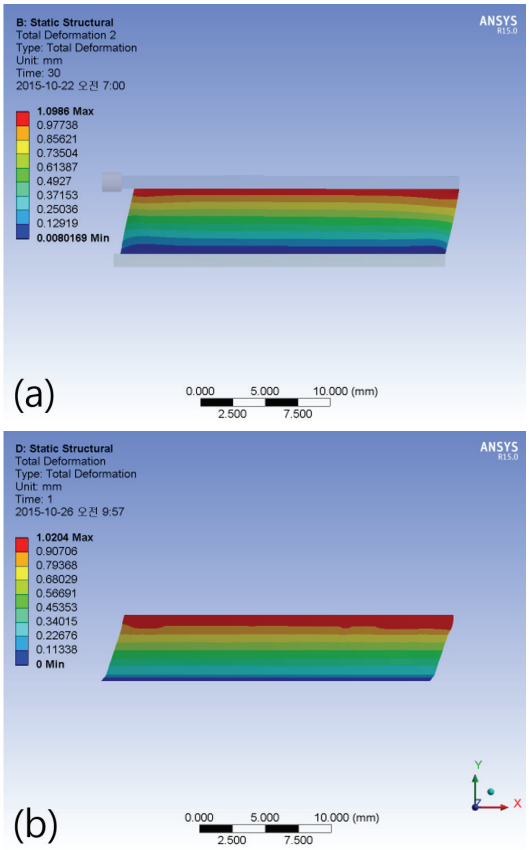

Fig. 7 Comparison of the displacement distributions of finite element analysis (a) and particle image analysis (b) in the pure shear test

4. 결론

본 연구에서는 압입 또는 전단 변형을 PDMS 블록에 가하고, 블록 단면의 변형을 입자 분포영상을 이용하여 광학적으로 측정하였다. 원추의 압입에 의해 발생 한 최대 변형의 입자영상 측정 값은 유한요소 해석 결과와 9.0 % 이하로 대체로 일치하였으나, 압입부와 떨어진 위치에서의 변위 분포는 유한요소 해석결과와 잘 일치하지 않았다. 단순 전단 변형 실험에서는 입자영상 측정 결과가 유한요소 해석 결과와 잘 일치하였으며, 최대 변위의 오차는 7.0 % 이하이었다. 변형의 공간적 구배가 큰 압입 실험의 입자 영상 측정의 정확도 향상을 위한 영상 신호의 처리 및 공간 해상도 증가를 위한 실험 방법의 개선이 향후 연구 되어야 할 것이다.

후 기

본 연구는 한국연구재단 (NRF - 2014 R1A2A1A 11051357)의 지원으로 수행되었습니다.

REFERENCES

1. Hsiai, T. K., “Mechanosignal Transduction Coupling between Endothelial and Smooth Muscle Cells: Role of Hemodynamic Forces,” American Journal of Physiology-Cell Physiology, Vol. 294, No. 3, pp. C659-C661, 2008.
2. Huh, D., Torisawa, Y.-S., Hamilton, G. A., Kim, H. J., and Ingber, D. E., “Microengineered Physiological Biomimicry: Organs-on-Chips,” Lab on a Chip, Vol. 12, No. 12, pp. 2156-2164, 2012.
3. Günther, A., Yasotharan, S., Vagaon, A., Lochovsky, C., Pinto, S., et al., “A Microfluidic Platform for Probing Small Artery Structure and Function,” Lab on a Chip, Vol. 10, No. 18, pp. 2341-2349, 2010.
4. Song, J. W., Gu, W., Futai, N., Warner, K. A., Nor, J. E., et al., “Computer-Controlled Microcirculatory Support System for Endothelial Cell Culture and Shearing,” Analytical Chemistry, Vol. 77, No. 13, pp. 3993-3999, 2005.
5. Style, R. W., Boltyanskiy, R., German, G. K., Hyland, C., MacMinn, C. W., et al., “Traction Force Microscopy in PHysics and Biology,” Soft Matter, 2014.
6. Dembo, M. and Wang, Y.-L., “Stresses at the Cell-to-Substrate Interface during Locomotion of Fibroblasts,” Biophysical Journal, Vol. 76, No. 4, pp. 2307-2316, 1999.
7. Yang, Z., Lin, J.-S., Chen, J., and Wang, J. H., “Determining Substrate Displacement and Cell Traction Fields: A New Approach,” Journal of Theoretical Biology, Vol. 242, No. 3, pp. 607-616, 2006.
8. Betz, T., Koch, D., Lu, Y.-B., Franze, K., and Käs, J. A., “Growth Cones as Soft and Weak Force Generators,” Proc. of the National Academy of Sciences, Vol. 108, No. 33, pp. 13420-13425, 2011.
9. German, G., Engl, W., Pashkovski, E., Banerjee, S., Xu, Y., et al., “Heterogeneous Drying Stresses in Stratum Corneum,” Biophysical Journal, Vol. 102, No. 11, pp. 2424-2432, 2012.

10. Xu, Y., German, G. K., Mertz, A. F., and Dufresne, E. R., “Imaging Stress and Strain in the Fracture of Drying Colloidal Films,” Soft Matter, Vol. 9, No. 14, pp. 3735-3740, 2013.
11. Lee, J. N., Jiang, X., Ryan, D., and Whitesides, G. M., “Compatibility of Mammalian Cells on Surfaces of Poly(Dimethylsiloxane),” Langmuir, Vol. 20, No. 26, pp. 11684-11691, 2004.
12. Domke, J. and Radmacher, M., “Measuring the Elastic Properties of Thin Polymer Films with the Atomic Force Microscope,” Langmuir, Vol. 14, No. 12, pp. 3320-3325, 1998.
13. Ng, S. S., Li, C., and Chan, V., “Experimental and Numerical Determination of Cellular Traction Force on Polymeric Hydrogels,” Interface Focus, Vol. 1, No. 5, pp. 777-791, 2011.
14. Stammen, J. A., Williams, S., Ku, D. N., and Guldberg, R. E., “Mechanical Properties of a Novel PVA Hydrogel in Shear and Unconfined Compression,” Biomaterials, Vol. 22, No. 8, pp. 799-806, 2001.