

## 표면탄성파를 이용한 액적 내 마이크로입자의 농축

박광석\* · 박진수\* · 정진호\* · 굴람 데스트기르\* · 후스네인 아메드\* · 라헬 아마드\* · 성형진<sup>†</sup>

### In-droplet preconcentration of microparticles using surface acoustic waves

Kwangseok Park\*, Jinsoo Park\*, Jin Ho Jung\*,  
Ghulam Destgeer\*, Husnain Ahmed\*, Raheel Ahmad\* and Hyung Jin Sung<sup>†</sup>

**Abstract** In droplet-based microfluidic systems, in-droplet preconcentration of a sample is one of the important prerequisites for biochemical or medical analysis. There have been a few studies on preconcentration in a moving droplet, but they are limited to practical applications since 1) their method are time-consuming or 2) they require specific properties such as electric and magnetic properties. In this study, we demonstrated the position control of polystyrene particles of 5 and 10  $\mu\text{m}$  in diameter inside a moving water-in-oil droplet using traveling surface acoustic waves. Since the frequencies for effective control of each diameter were found, microparticles with no labels could be utilized. In addition, the proposed method enabled on-demand preconcentration inside a polydimethylsiloxane microchannel. In-droplet preconcentration of microparticles was realized by splitting a mother droplet with manipulated particles at a downstream bifurcation zone. Given these advantages, the proposed system is a promising acoustofluidic lab-on-a-chip platform for preconcentration inside a droplet.

**Key Words** : In-droplet particle preconcentration (액적 내 입자 농축), Surface acoustic waves (표면탄성파), Acoustofluidics (음향미세유체역학), Droplet microfluidic system (액적 기반의 미세유체 시스템)

### 1. 서론

통상적으로 마이크로유체 시스템은 연속유동 기반으로 많이 활용되었지만 수많은 라이브러리를 생성하여 동시에 실험을 수행하기에 적합치 않다는 한계를 지닌다. 이를 보완할 수 있는 것이 바로 액적 기반 마이크로유체역학 시스템이다. 서로

섞이지 않는 두 유체로 구성된 액적은 나노나 피코 리터 단위의 아주 작은 부피의 수많은 라이브러리를 생성하여 반복적인 분석을 수행하기에 적절하다. 액적을 활용하면 반응에 필요한 샘플의 양과 반응 시간을 크게 줄일 수 있으며, 연속 유동 기반에서 문제가 될 수 있는 유체 간의 교차 감염 및 테일러 분산(Taylor dispersion)의 문제점을 줄일 수 있다. 액적 기반 마이크로유체시스템은 PCR<sup>(1)</sup>, 약물 성분 전달<sup>(2)</sup>, 물질 합성<sup>(3)</sup>, 단백질 결정화<sup>(4)</sup>, 세포 실험<sup>(5)</sup> 등에 활용되고 있다. 이러한 응용을 위해서는 액적을 생성하고 그 크기와 위치를 제어하

<sup>†</sup> Dept. of Mechanical Engineering, KAIST  
E-mail: hjsung@kaist.ac.kr

\* Dept. of Mechanical Engineering, KAIST

거나 액적 내부의 물질을 섞거나 옮기는 과정이 필요하다.

생화학적 또는 의학적 분석 목적의 액적 기반 마이크로유체 시스템에서 액적 내 샘플의 농도를 농축(preconcentration)하는 것은 하나의 선행과정이다. 샘플을 충분히 농축하지 않으면 고감도의 분석이 불가능한 경우 감지 시그널이 제대로 측정되지 않을 수 있으므로 액적 기반의 적절한 농축이 필요하다. 액적 외부에서 농축을 먼저 하고 액적을 형성하더라도, 형성 과정에서 원하는 농도 이상의 샘플을 포함하지 못하는 경우가 있으므로 분석에 있어 액적 내 샘플의 농축도 필요하다. 액적 내 샘플의 농축은 액적 내부의 샘플의 위치를 제어하여 이루어진다. 마이크로유체역학의 발달로 입자나 세포를 액적 내부에서 제어하는 다양한 방법이 여러 문헌에 보고되었다. 이동 액적에서 입자의 위치를 제어하는 연구는 내부 메커니즘이 복잡하여 상대적으로 정지 액적 내에서의 경우에 비해 적게 연구되었다. 현재까지 이동하는 액적 내에서 입자의 위치를 제어하는 가장 간단한 방법은 어떠한 외력 없이 할 수 있는 정수역학적 방법이다. Hein *et al.*<sup>(6)</sup>은 액적 내외부의 유체의 점성 차이 및 속도를 조절하여 액적 후방에 정수역학적 침전을 유도하였다. 이는 간단하고 시스템의 제작이 쉽지만 침전을 위한 시간이 필요하여 즉각적인 조작이 가능하지 않다. 즉각적 조작을 가능하게 하고, 액적 내부의 제어 양상을 유연하고 다양하게 하기 위해서는 외력장을 도입해야 한다. 마이크로유체 시스템에 금속 전극<sup>(7)</sup>, 자석<sup>(8)</sup>, 레이저 시스템<sup>(9)</sup>, 피에조 트랜스듀서<sup>(10)</sup> 등을 통해 외력을 가할 수 있다. Cho *et al.*<sup>(11)</sup>은 전기적 극성의 입자와 극성이 낮은 입자를 전기영동으로 구분하였으며, Brouzes *et al.*<sup>(12)</sup>은 자성 입자를 자석 근처로 포집하였다. 전기력이나 자기력을 이용하는 방법은 외부 역장이 장 전체에서 시간에 따른 큰 변화 없이 형성되는 장점이 있다. 하지만 제어할 입자나 세포가 극성이거나 자성을 띄어야 하므로 비표지(label-free) 방법이 아니다. 액적 내부 샘플의 특별한 성질에 의존하지 않는 방법으로 음향방사력을 이용하는 방법이 있다. Fornell *et al.*<sup>(13)</sup>은 두 체적탄성파(bulk acoustic wave, BAW)를 정상파의 형태로 이용하여 채널 중

양부에 마디(node)를 형성하여 액적 내 입자의 위치를 마이크로채널 중앙으로 집중하였다. 후에 마이크로채널은 후류에서 세 갈래로 나누어져 가운데 이외 부분의 액적들은 내부에 입자가 거의 없고, 가운데 부분 액적에 입자가 집중되어, 입자가 더 농축됨을 보여주었다. 그러나 음향파로 BAW를 사용할 경우, 마이크로유체시스템에서 흔히 사용되는 polydimethylsiloxane (PDMS) 채널이 아닌 석영(quartz) 채널이 필요하고, 사용 주파수가 kHz 단위로 파장이 길기 때문에 입자를 포함하는 액적의 크기를 작게 할 수 없다.

본 연구에서는 정상체적탄성파가 아닌 진행표면탄성파(traveling surface acoustic wave, TSAW)의 음향방사력을 통해 이동하는 액적 내에서 두 사이즈의 폴리스타이렌 입자를 농축을 하고자 한다. 진행하는 음파가 입자에 미치는 음향방사력은 입자의 반지름의 6제곱에 비례한다.<sup>(14)</sup> 표면이나 체적에 비례하는 힘과 비교 볼 때 입자의 크기가 보다 더 힘의 세기를 많이 좌우하므로 음향방사력을 크기가 작거나 크기차가 작아도 효율적인 입자의 제어가 가능하다. 이러한 TSAW의 음향방사력을 활용하여 본 연구에서 개발한 액적 기반 시스템은 마이크로유체시스템에 많이 쓰이는 PDMS 채널 내부를 따라 이동하는 액적 내부의 입자의 위치를 즉각적으로 제어하였고, 액적 내 입자의 농축을 구현하였다.

## 2. 실험 장치 및 방법

### 2.1 실험 메커니즘 및 실험 장치 구성

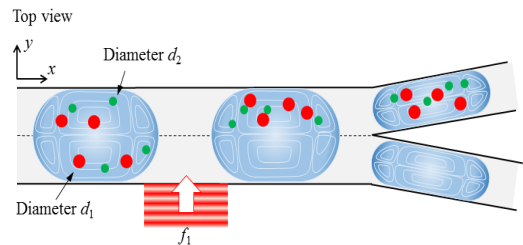


Fig. 1. Top view schematic of position control and in-droplet preconcentration of microparticles

액적 내 입자의 위치 제어 및 농축에 대한 전반적인 개략도는 Fig. 1과 같다. PDMS 마이크로채널의 높이는 50  $\mu\text{m}$ , 중앙부 폭은 200  $\mu\text{m}$ , 두 갈래로 나뉘지고 난 이후 폭은 100  $\mu\text{m}$ 이다. 실험에 사용한 액적은 water-in-oil 형태로 T자형 이음부(T-junction)에서 생성된다. 액적의 연속상 유체로 Novec 7500 오일, 분산상 유체로 탈이온수(deionized water)와 중수(heavy water)를 사용하였다. 액적 내부 샘플에는 일반적인 바이오 샘플의 농축을 모사하고자 지름 5, 10  $\mu\text{m}$ 의 폴리스타이렌 입자를 사용하였다. 실험 중 입자의 침전을 막기 위해 중수와 탈이온수를 섞어 폴리스타이렌 입자 밀도와 같은 밀도로 맞추었다. 채널을 따라 이동하는 액적 내부에 폴리스타이렌 입자는 처음에는 균일하게 분포한다. 액적 내부에 폴리스타이렌 입자 때문에 입자 주위에서 음파의 산란이 발생한다. 이로 인해 입자 주변으로 모멘텀 플럭스 차이가 발생하여 입자에 음향방사력이 작용한다. 채널을 따라 이동하면서 폴리스타이렌 입자는 음향방사력의 영향을 받게 되고, 액적 내부에서 위치가 옮겨진다. 이후 후류에서 갈라져 한쪽 갈래에 입자가 농축된다.

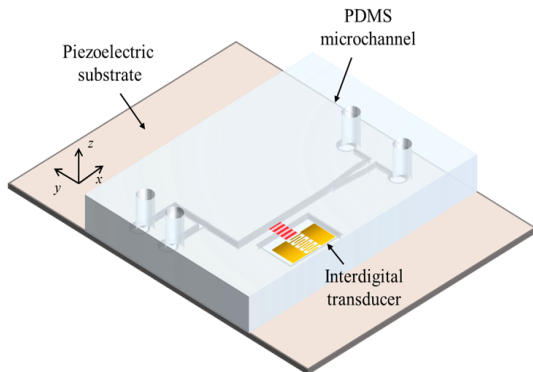


Fig. 2. The experimental device

Fig. 2는 실험 장치의 구성을 나타낸다. 압전 기관 위 빗살 모양의 금속 전극이 증착된 트랜스듀서(interdigital transducer, IDT)는 음향파를 발진하는 부분이다. 압전 기관은 지름 4인치, 두께 0.5 mm의 리튬니오베이트 압전기관을 사용하였다. IDT에 교류 신호가 인가되면 전극 사이 리튬니오베이트 기관 부분이 진동하게 되고 이것이 TSAW

를 발진시킨다. 이 때, 농축을 위해 마이크로입자를 음향력을 통해 효과적으로 제어하려면 임의의 주파수를 사용할 수 없으며, 마이크로입자 별로 적절한 주파수를 설정해주어야 한다. Destgeer *et al.*<sup>(15)</sup>은 폴리스타이렌 입자의 지름과 TSAW 주파수에 따른 무차원화된 음향방사력과의 관계를 규명하였다. 이를 참고로 하여 지름 5, 10  $\mu\text{m}$  입자 모두에게 효과적인 음향방사력을 줄 수 있는 주파수로 135 MHz를 예측하였다. 그러나 이 관계는 그래프는 연속유동 기반의 마이크로채널을 바탕으로 하므로 액적 기반의 시스템에서 실험했을 때 조금 달라질 수 있다. 그래프로 예측한 주파수 근방으로 주파수를 다르게 하여 효율적인 예비 농축이 가능하도록 제어할 수 있는지 여부를 간략하게 살펴보고 정리하면 Table 1과 같다. 이를 통해 입자 위치 제어를 위해 실험에 사용할 주파수로 130 MHz를 선택하였다.

Table 1. Affecting frequency to control polystyrene microparticles with the size of 5, 10  $\mu\text{m}$

$d_p$ ( $\mu\text{m}$ )	f (MHz)						
	125	127.5	130	132.5	135	137.5	140
5	X	$\Delta$	O	O	O	X	X
10	$\Delta$	O	O	$\Delta$	X	X	X

O: strongly effective,  $\Delta$ : weakly effective, X: not manipulated

입자의 효과적인 제어를 위한 130 MHz의 TSAW를 발진시키기 위해 크롬 30 nm, 금 100 nm의 바이메탈 전극을 압전 기관 위에 간격 8  $\mu\text{m}$ , 빗살모양에서 전극이 겹치는 부분의 길이가 1 mm인 40개의 전극쌍으로 증착하였다. 추가적으로 마이크로채널의 기관 위 부착 정도를 높이고, IDT에 미치는 피해를 줄이기 위해 압전 기관 위에 추가적으로 200 nm의  $\text{SiO}_2$  층을 덮었다.

액적 내부의 입자 위치 제어 과정은 현미경 (IX71, Olympus)에 고속 카메라(pco.1200 hs, PCO)를 설치하여 촬영하였다. 또한 형광 현미경(BX53, Olympus)과 형광 조명기(X-cite® 120Q, Excelitas)로 형광입자 이미지를 얻었다. 형광입자로는 5  $\mu\text{m}$  녹색 형광입자, 10  $\mu\text{m}$  적색 형광입자를 사용하였다. 농축 효율을 계산하기 위한 이미지 분석은 ImageJ 소프트웨어를 통해 수행하였다.

### 3. 결과 및 토의

#### 3.1 폴리스타이렌 입자의 위치 제어

TSAW가 발진되어 기판을 따라 이동하다 마이크로채널을 만나면 음파가 진행하는 매질이 달라지기 때문에 진행속도 차이가 발생하여 일부가 채널 내부로 굴절되어 진행한다. 실험에서 130 MHz의 TSAW가 채널 내부 액적의 입자에 음향방사력을 미친다. 액적의 속도가 이로 인해 액적 내부의 폴리스타이렌 입자의 위치가 시간에 따라 어떻게 제어되는지는 Fig. 3(a)와 같았다. TSAW의 진행방향의 벽 쪽으로 지름 5와 10  $\mu\text{m}$ 의 입자들의 위치가 변하는 것을 볼 수 있었다. 위치 제어 양상을 측면에서 보면 Fig. 3(b)처럼 기판에서 채널로  $\theta_t$ 의 각도로 굴절되어 채널 내부 TSAW가 진행한다. 리튬니오베이트 기판에서의 SAW의 전파 속도는 3900 m/s, 물에서 SAW의 전파 속도는 1464 m/s로 굴절각을 계산하면 22°이다. 그러므로 TSAW의 음향방사력으로 폴리스타이렌 입자는 PDMS 채널의 높이 방향 쪽으로 떠오르며 반대편 채널 벽을 향해 이동한다.

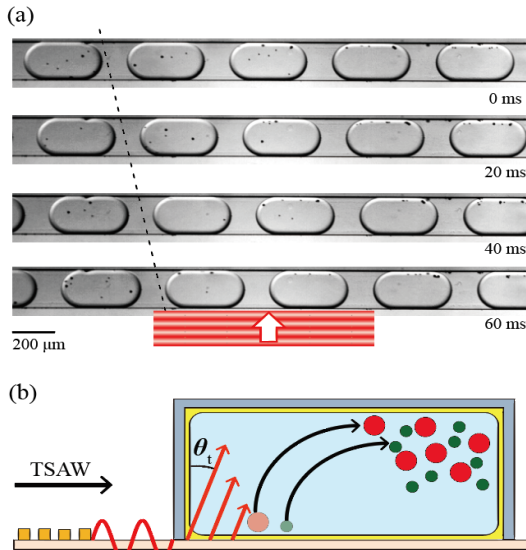
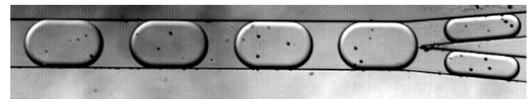


Fig. 3. (a) Top view snapshots for control of polystyrene particles inside the droplets (droplet velocity 12.5 mm/s). (b) Side view of in-droplet particle control.

내부에서 위치가 한쪽으로 몰린 폴리스타이렌 입자를 포함하는 액적은 후류에서 두 개로 분할되었다. 액적이 분할되면서 액적의 부피가 변하고 입자의 농도는 달라지게 된다. TSAW의 영향에 따른 분할된 액적에서 내부 입자의 분포 양상은 달랐다. TSAW가 작용하지 않을 때(Fig. 4(a)) 액적 내부의 폴리스타이렌 입자는 나뉜 두 액적 모두에서 퍼지게 된다. 반면 TSAW가 작용하면(Fig. 4(b)) 폴리스타이렌 입자가 액적 내부에서 밀려 분할되기 때문에, 두 개의 액적 중 TSAW 진행 방향 쪽으로 분할되는 액적에 입자들이 최종적으로 위치하였다. 그러므로 폴리스타이렌 입자들은 더 적은 부피에 담기게 되어 농축이 구현되었다.

(a) TSAW OFF



(b) TSAW ON

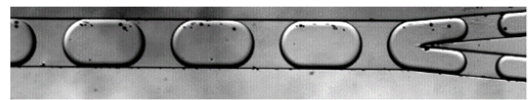


Fig. 4. In-droplet position control of PS particles near downstream bifurcation zone. (a) Without TSAW. (b) With 130 MHz TSAW.

#### 3.2 위치 제어 효율 및 농축도

실험에서 사용한 지름 5, 10  $\mu\text{m}$ 의 폴리스타이렌 입자의 위치 제어가 잘 되었는지 기능해보기 위해 위치 제어 효율을 입자가 몰리는 쪽 액적 내 각 크기의 입자 수와 원래의 모액적 내 각 크기의 입자 수의 비로 제어 효율을 정의하였다. ImageJ 소프트웨어를 활용하여 각각 총 5번 계수하였으며, 각 계수 당 크기별 형광입자 이미지 100장을 이용하였다. 모액적의 채널 내 진행 속도가 4.5 mm/s일 때, 각 시도별 제어 효율은 Fig. 5와 같으며, 5  $\mu\text{m}$ 은  $94.9 \pm 2.59\%$ , 10  $\mu\text{m}$ 은  $94.2 \pm 1.52\%$ 의 제어 효율을 보였다.

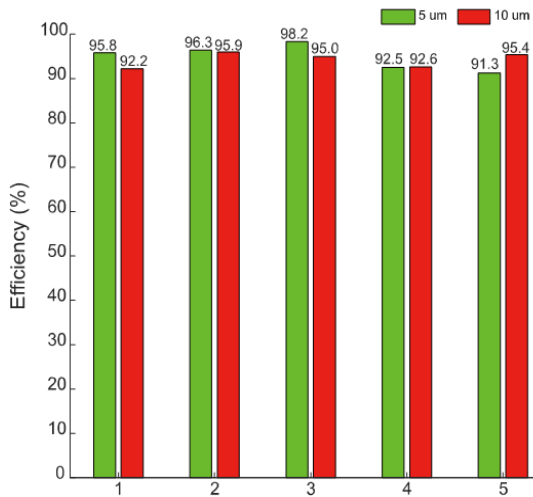


Fig. 5. Control efficiency of 5 and 10  $\mu\text{m}$  polystyrene microparticles under 130 MHz TSAW.

액적 내부에 있는 폴리스타이렌 전체 입자에 대한 농축이 어느 정도 되었는지 계산하려면 액적 내 입자의 총 개수와 액적의 부피를 계산해야 한다. 채널 내부를 따라 이동하는 액적을 펜케이크 형상으로 가정하여 고속 카메라로 촬영한 탐부 이미지로부터 면적을 계산하고 채널의 높이를 곱하여 부피를 계산하였다. 액적별 입자 농도 계산을 위한 총 입자 수 계수는 액적이 분할되기 직전과 두 개로 분할된 직후 기준으로 5번 하였으며 한 시도 당 50개의 액적을 기준으로 하였다. 음향방사력 작용여부에 따른 액적별 총 입자 농도 계산 결과는 Table 2와 같다. TSAW가 작용하지 않으면 두 갈래에서 나뉘는 두 액적이 부피는 비슷하지만, 액적 내 입자 개수가 비슷비슷하여 농도 차이가 크게 나지 않았다. 그러나 130 MHz의 TSAW가 두 크기의 폴리스타이렌 입자에 음향방사력을 작용하면 나뉘진 후의 두 액적 내 입자 농도가 약 58.9 배 차이가 났고, 입자가 몰린 쪽 액적은 원래의 액적에 비해 1.96배 더 농축이 되었다.

두 크기의 폴리스타이렌 입자는 대부분 TSAW의 음향방사력의 영향으로 액적 내부 위치가 한 쪽으로 제어되었다. 하지만 모든 입자의 위치가 제어되는 것은 아니었다. TSAW의 세기를 높이면 효율이 개선될 수 있으나 높은 세기의 TSAW는 액적 자체의 모습을 변형시키고 액적이 TSAW에 의해

분할될 수 있다.<sup>(16)</sup> 그러므로 액적의 변형 없이 효율을 높이기 위해서는 TSAW의 노출을 길게 해야 한다. 이는 IDT의 빗살모양 전극부의 중복되는 길이를 길게 하거나 액적의 이동 속도를 늦추면 가능할 것으로 판단된다.

Table 2. Comparison of total particle concentration with the size of 5, 10  $\mu\text{m}$ .

SAW	Run	Total particle concentration ( $\times 10^6$ of particles/mL)		
		M*	U**	L***
ON	1	2.58	5.07	0.09
	2	2.53	4.98	0.08
	3	2.46	4.83	0.07
	4	2.64	5.22	0.06
	5	2.53	4.94	0.11
	Avg	$2.55 \pm 0.07$	$5.01 \pm 0.15$	$0.085 \pm 0.02$
OFF	1	2.71	3.35	2.07
	2	2.61	2.76	2.47
	3	2.65	3.31	2.00
	4	2.64	2.97	2.31
	5	2.49	2.92	2.06
	Avg	$2.62 \pm 0.08$	$3.06 \pm 0.26$	$2.18 \pm 0.20$

\* M : the mother droplet

\*\* U: the 1st daughter droplet (upper)

\*\*\* L: the 2nd daughter droplet (lower)

#### 4. 결론

본 연구에서는 이동하는 액적 내에서 음향적으로 입자내 폴리스타이렌 입자의 위치를 제어하고, 액적을 나누어 입자를 농축하였다. 마이크로 시스템에서 많이 쓰이는 PDMS 채널에서 이동하는 액적 내부의 입자를 크기와 주파수에 따른 음향방사력의 정도를 활용하여 각 크기의 입자를 90% 이상 제어하였다. 또 이를 이용해 전체 입자 농도를 1.96배 더 농축하였다. 이러한 방법은 특별한 입자의 성질을 요구하지 않고 크기에 기반한 다른 액적 내 입자 제어 방법과 차별화된다. 또한 실험에 사용한 두 크기는 바이오 샘플을 모사할 수 있으므로 본 연구 결과는 추후 바이오 샘플의 액적 내 위치 제어 및 분석전 농축 가능한 음향 마이크로 유체 랩온어칩 시스템 개발에 활용될 수 있을 것으로 전망한다.

## 후 기

This research was supported by the Creative Research Initiatives (No. 2017-013369) program of the National Research Foundation of Korea (MSIP) and the KUSTAR-KAIST Institute, KAIST, Korea.

## REFERENCE

- 1) Leng, X. et al., 2010, "Agarose droplet microfluidics for highly parallel and efficient single molecule emulsion PCR", *Lab Chip*, Vol. 10(21), pp.2841-2843
- 2) Oh, J. K. et al., 2008, "The development of microgels/nanogels for drug delivery applications", *Prog. Polym. Sci.*, Vol. 33(4), pp.448-477
- 3) Millman, J. et al., 2005, "Anisotropic particle synthesis in dielectrophoretically controlled microdroplet reactors", *Nat. Mater.*, Vol. 4, pp.98-102
- 4) Zheng, B. et al., 2003, "Screening of Protein Crystallization Conditions on a Microfluidic Chip Using Nanoliter-Size Droplets", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 125(37), pp.11170-11171
- 5) Utech, S. et al., 2015, "Microfluidic Generation of Monodisperse, Structurally Homogeneous Alginate Microgels for Cell Encapsulation and 3D Cell Culture", *Adv. Healthcare Mater.*, Vol. 4(11), pp.1628-1633
- 6) Hein, M. et al., 2015, "Flow field induced particle accumulation inside droplets in rectangular channels", *Lab Chip*, Vol. 15(13), pp.2879-2886.
- 7) Link, D R. et al., 2006, "Electric control of droplets in microfluidic devices", *Angew. Chem. Int. Ed.*, Vol. 45(16) pp.2556-2560.
- 8) Chen, C. -H. et al., 2009, "Microfluidic Assembly of Magnetic Hydrogel Particles with Uniformly Anisotropic Structure", *Adv. Mater.* Vol. 21(31) pp.3201-3204
- 9) Enger, J. et al., 2004, "Optical tweezers applied to a microfluidic system", *Lab Chip*, Vol. 4(3) pp.196-200
- 10) Petersson, F. et al., 2007, "Free Flow Acoustophoresis: Microfluidic-Based Mode of Particles and Cell Separation", *Anal. Chem.*, Vol. 79(14), pp.5117-5123
- 11) Cho, S. K. et al., 2007, "Concentration and binary separation of micro particles for droplet-based digital microfluidics", *Lab Chip*, Vol. 7(4), pp.490-498
- 12) Brouzes, E. et al., 2015, "Rapid and continuous magnetic separation in droplet microfluidic devices", *Lab Chip*, Vol. 15(3), pp.908-919.
- 13) Fornell, A. et al., 2015, "Controlled Lateral Positioning of Microparticles Inside Droplets Using Acoustophoresis", *Anal. Chem.*, Vol. 87(20), pp.10521-10526.
- 14) Hasegawa, T. & Yosioka, K., 1969, "Acoustic-Radiation Force on a Solid Elastic Sphere", *J. Acoust. Soc. Am.*, Vol. 46(5B), pp.1139-1143
- 15) Destgeer, G. et al., 2015, "Microchannel Anechoic Corner for Size-Selective Separation and Medium Exchange via Traveling Surface Acoustic Waves", *Anal. Chem.*, Vol. 87(9) pp.4627-4632.
- 16) Jung, J. H. et al., 2016, "On-demand droplet splitting using surface acoustic waves", *Lab Chip*, Vol. 16(17), pp.3235-3243