

# 스마트 폰 기반 3D 프린팅 칩을 이용한 적혈구 변형성 측정

이수환\* · 홍현지\*\* · 염은섭\*\*\* · 송재민†

## Measurement of RBC (red blood cell) deformability using 3D Printed Chip combined with Smartphone

Suhwan Lee\*, Hyeonji Hong\*\*, Eunseop Yeom\*\*\*, Jae Min Song†

**Abstract** RBC (red blood cell) deformability is one of factors inducing blood shear thinning effect. Reduction of RBC deformability increases blood viscosity in high shear region. In this study, 3D printed chip with proper distribution of wall shear rate (WSR) was proposed to measure RBC deformability of blood samples. To fabricate 3D printed chip, the design of 3D printed chip determined through numerical simulation was modified based on the resolution of the 3D printer. For the estimation of pressure drop in the 3D printed chip, two bypass outlets with low and high WSR are exposed to atmospheric pressure through the needles. By positioning the outlet of needles in the gravity direction, the formation of droplets at bypass outlets can be captured by smartphone. Through image processing and fast Fourier transform (FFT) analysis, the frequency of droplet formation was analyzed. Since the frequency of droplet formation is related with the pressure at bypass, high pressure drop caused by reduction of RBC deformability can be estimated by monitoring the formation of blood droplets using the smartphone.

**Key Words** : RBC Deformability(적혈구 변형성) 3D Printer(3D 프린터) Micro channel(미세채널)

### 1. 서론

적혈구 변형성(RBC Deformability)은 적혈구에

외력이 가해질 때 나타나는 적혈구의 형태 변화를 의미한다. 적혈구는 세포질 유체(Cytoplasm fluid)를 변형 가능한 세포막(Membrane)이 둘러싼 구조로 이루어져 있으며, 표면적을 넓히기 위해 중앙이 패인 원반 형태(Biconcave-discoid shape)를 띤다. 외력이 가해지지 않으면 적혈구는 해당 형태를 유지하려는 성질을 나타낸다. 그러나 모세혈관(3~4  $\mu\text{m}$ )처럼 적혈구 지름(10  $\mu\text{m}$ )보다 작은 구간, 혹은 세동맥과 같이 높은 전단율이 발생하는 구간에서는 적혈구에 변형이 발생하고 다양한 거동을 보이면서 혈액의 유동성을 높이게 된다.<sup>1)</sup> 혈액은 약  $10\text{ s}^{-1}$  이상의 전단변형률에 노출되었을 때 적혈구 변형이 발생하며, 전단 박

† Department of Oral and Maxillofacial Surgery,  
Pusan National University (PNU),  
Associate Professor

E-mail: songjm@pusan.ac.kr

\* School of Mechanical Engineering, PNU,  
MS student.

\*\* School of Mechanical Engineering, PNU,  
PhD student.

\*\*\* School of Mechanical Engineering, PNU,  
Associate Professor.

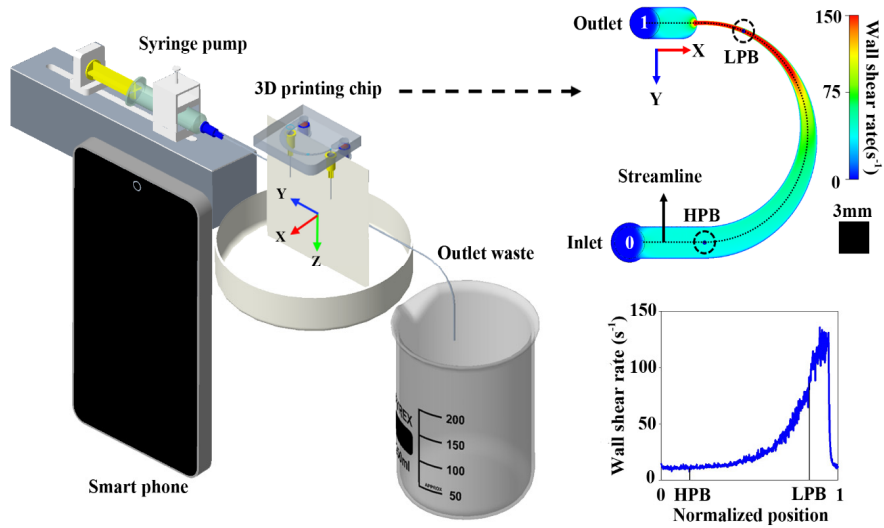


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental setup to monitor droplet

화 현상(Shear thinning effect)에 의해 점도가 떨어져 유동저항이 감소하게 된다.<sup>2)</sup>

적혈구 변형성 감소로 인한 혈액의 전단 박화 특성 약화는 혈액 점도 증가로 이어지며, 동맥의 혈압 증가 원인으로 보고되었다.<sup>3)</sup> 또한 말초혈관계에서 혈관성 과행증(vascular claudication)의 상관 성 역시 연구된 바 있어 적혈구 변형성은 의료적 활용을 위한 측정가치가 있는 혈유변학적 인자이다.<sup>4)</sup>

일반적으로 적혈구 변형성을 측정하기 위해 채널을 제작하는 과정에서 Lithography를 활용한 바이오 칩을 사용하는 경우가 많다.<sup>5)</sup> 그러나 이런 방법은 형상의 변화 및 대량생산에 부적합할 수 있다. 본 실험에서는 보다 저렴한 제작 비용과 짧은 제작 시간을 특징으로 하는 Polyjet 방식의 3D 프린터를 사용하여 적혈구 변형성을 측정할 수 있는 칩을 제작하고자 한다. 그리고 이를 스마트폰을 이용하여 측정하려 한다.

## 2. 실험 방법

### 2.1 시뮬레이션 설정

3D printed chip의 세부 설계를 위해서 CFX 16.1 (ANSYS, Inc., USA)를 활용하여 내부 형상

에 대한 해석이 진행되었다. 마이크로 단위에서는 층류 해석이 높은 정확도를 보여 시뮬레이션에 층류 해석을 적용하였다. 또한 모든 채널의 벽면에 대해 Non-slip condition을 적용하였다. 시뮬레이션에 사용된 액체는  $1060 \text{ kg/m}^3$ 의 밀도, 3 cP의 점도를 갖으며 일반적인 혈액의 물성치를 반영했다. 그 외의 조건은 상온에서 물을 기준으로 수행되었다. 점도 특성은 혈액의 전단 박화 현상으로 인한 점도 변화가 크지 않은 점과, Feedback 설계 과정에서 시뮬레이션의 용이성을 고려하여 Newtonian fluid를 조건으로 두었다. 시뮬레이션에 사용되는 채널의 가장 얇은 부분이  $140 \mu\text{m}$  인 점을 고려하여 Elements size는  $20 \mu\text{m}$ 로 설정하였으며, 벽면 유동이 중요한 점을 고려하여 출입구를 제외한 모든 채널의 벽면에 대해 7개의 층을 형성하는 Inflation을 적용하였다. Inlet의 혈액 유량은 주사기 펌프의 스펙을 고려하여  $30 \text{ mL/h}$ 를 기준으로 진행하였다. Inlet을 제외한 출구인 Outlet, Bypass들은 모두 대기압을 기준으로 Opening 조건으로 설정하였다.

### 2.2 실험 구성

그림 1과 같이 스마트폰을 활용한 영상 획득 시스템을 구성하여 액적이 생성되는 빈도를 측정

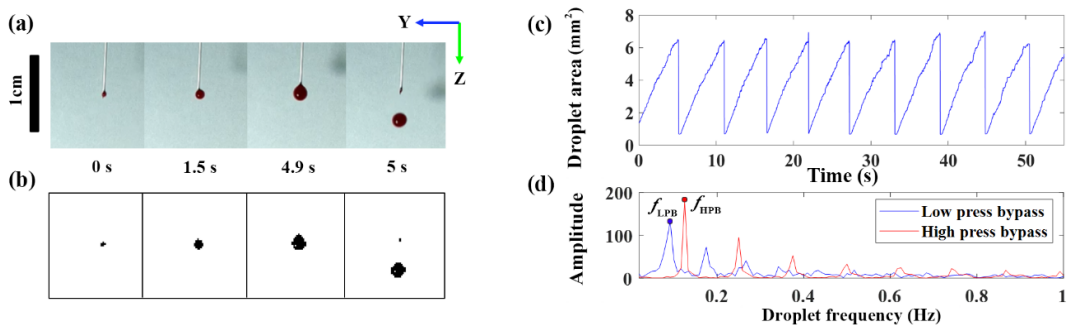


Fig. 2. Image processing & FFT for detecting droplet frequency

하였다. 촬영은 시판중인 스마트폰 카메라(Xiaomi, POCO F1)을 활용하였다. 영상 획득률은 60 fps이며, 영상 해상도는 0.103 mm/pixel이다. 3D printed chip 은 실제 실험 전 시뮬레이션을 활용하여 설계되었고, Polyjet 3D 프린터를 통해 제작되었다. 그림 1의 우측 상단에 LPB(Low pressure bypass), HPB(High pressure bypass)로서 표기된 Bypass 구조는 간접적인 점압력 변화를 측정하기 위한 구조이다. Bypass의 유출구의 존재로 인한 내부 유동 영향을 최소화하기 위해 Bypass에는 표준규격의 주사 바늘이 장착 가능하도록 설계되었으며, 바늘은 액적 크기 균일화를 위해 끝부분이 평평한 Blunt needle을 사용하였다. Bypass의 바늘 끝이 중력 방향을 향하게 장착하여, 혈액이 바늘을 통해 액적 형태로 배출시킨다. 이때 액적 발생 주기를 관찰하면 Bypass를 통한 유량 정보를 얻을 수 있다. 이를 통해 Bypass의 압력 변화를 파악한다.

실험용 혈액 샘플은 혈장 점도 및 Hematocrit 농도 차이가 영향을 주는 것을 방지하기 위해 원심분리 처리를 통해 적혈구를 추출하여 인산 완충생리식염수와 혼합해 20% Hematocrit을 지닌 샘플을 준비하였다. 또한 적혈구 변형성을 조절하기 위해 GA(Glutar aldehyde)용액을 각각 0.001%와 0.01% 농도로 첨가하여 적혈구를 경화시켰다.<sup>6)</sup> 샘플은 주사기 펌프 (neMESYS, Centoni GmbH)를 이용하여 30 mL/h의 일정한 유량으로 3D printed chip 내로 주사 되었다. 혈액 샘플은 부산대학병원에서 공급받았으며, 본 연구는 부산대학교 생명윤리위원회(H-1911-028-085)의 승인

을 거쳐 진행되었으며 실험 과정에서 헬싱키 선언의 규정을 준수하였다.

## 2.3 영상 처리

그림 2에 나타난 것과 같이 Bypass에 장착된 바늘에서 생성되는 액적의 빈도를 구하기 위해 이미지 프로세싱 처리와 FFT를 적용하였다. 스마트폰으로 촬영된 영상에서 액적 발생 영역을 관심영역으로 설정하였다 (그림 2a). 그림 2b는 각 영상에 Otsu 방법을 적용하여 임계 값을 얻고, 프레임 별로 이원화 처리된 비트맵 이미지로 변환하였다. 그 후 이원화 영상 내 흑색으로 표시된 픽셀의 개수를 액적의 면적 정보로 환산하여 액적의 면적의 시간에 따른 변화 정보를 획득한다 (그림 2c). 시간에 따른 샘플의 공급으로 액적의 크기는 증가하고 일정 크기 이상의 액적은 아래로 떨어지게 된다. 이러한 주기적 변화를 분석하기 위해 FFT(fast Fourier transform)를 적용하였다 (그림 2d). 가장 메인 주파수를 액적 발생 주파수( $f$ )로서 선정하였다.

## 3. 결 과

### 3.1 시뮬레이션을 통한 설계

그림 3에 나타난 것과 같이 혈액이 유입 지점인 Inlet(0), 혈액 유출 지점인 Outlet(1)이 구현된 U 형, J 형, S 형 세 모델을 제안하였다. Inlet과 Outlet 두 지점의 사이에는 채널 폭이 감소하여

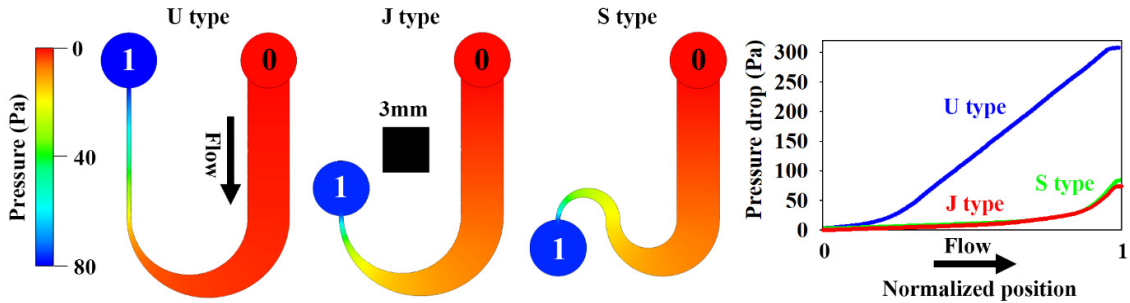


Fig. 3. Simulation pressure drop with various channel shape.

혈액의 전단변형률을 증가시켰다. 세 모델은 면적대비 내부 채널 길이의 최대화를 위해 곡선 형태의 채널을 가진다. 가장 먼저 제안된 U 형은 Inlet과 Outlet에 유동 안정화를 위한 직선 구간이 존재한다. J 형은 U 형에서 Outlet 측의 직선 구간을 삭제한 형태이다. S 형은 J 형에 대해 폭이 감소하는 곡선 채널을 추가한 형태이다. 채널 폭 감소 구간의 최대폭이 3mm, 최소 폭이 0.5mm이며 채널의 깊이는 공통적으로 0.3 mm이고, Inlet과 Outlet의 직경은 4mm, Inlet으로 주입되는 유량은 30mL/h이다.

실험결과는 그림 3과 같이 나타났으며, 우측의 그래프는 세 모델에 대해서 유선을 따라 나타나는 압력강하를 나타낸 것이다. U 형의 경우 다른 두 모델에 비해 압력강하가 빠르게 증가하며, 채널 폭 감소 구간보다 좁은 폭 구간에서 변화가 컸다. J 형의 경우 앞서 U 형에서 좁은 폭 구간을 제거한 형태이다. 그림 3에 나타난 것과 같이 U 형에 비해 좁은 구간에서 발생하는 급격한 압력강하가 사라지고, 전체적인 압력강하가 완만 해졌다. S 형은 J 형에서 채널 폭 감소 구간을 보다 가변적으로 조절하기 위해 곡선 채널을 추가한 형태이다. 시뮬레이션 결과 J 형과 유사한 압력 강하를 나타냈고, 두 개의 곡선 채널을 조절하여 구현 가능한 압력 기울기가 J 형과 큰 차이를 보이지 않아 해당 형상을 통한 개선은 큰 효과가 없다 판단하였다. 또한, Polyjet 채널을 제작할 때 곡선 채널의 곡률 반경을 최대화하는 것이 보다 나은 인쇄 정확도를 보여 지름이 더 큰 J 형을 선정하였다.

채널은 그림1의 우측 하단에 나타난 것과 같이  $10\text{-}150\text{ s}^{-1}$  전단 변형률을 나타내도록 설계되었다. 최소 폭 0.5mm, 채널 깊이 0.3mm는 Polyjet 방식의 인쇄 해상도를 고려하여 선정하였다. 반복 시뮬레이션을 통해 채널 폭 감소 구간의 커브 바깥 지름은 30mm, 최대 폭 3mm를 선정하였으며 그림1의 우측 상단 나타난 것처럼 Bypass는 HPB, LPB 두 곳에 위치한다. Bypass 구조의 내경은 Polyjet 방식의 원통형 형상 최소 해상도를 고려하여 0.6 mm의 지름을 가지고 있다. HPB는 채널폭 감소가 시작되는 지점에, LPB는 HPB와 최대한 멀리 배치하기 위해 채널 폭 감소 구간의 폭과 Bypass 내경이 일치하는 0.6mm인 구간에 배치되었다. HPB 및 LPB에서의 전단 변형률 약  $10\text{ s}^{-1}$ 과  $90\text{ s}^{-1}$ 이다.

### 3.2 Bypass 바늘 선정

채널로 주입된 혈액 일부는 Bypass를 통해 흘러나오게 되며, 흘러나오는 혈액의 액적 빈도를 스마트폰으로 관찰한다. 이때 Bypass를 통해 흘러나오는 유량이 과다할 경우 채널 내부에 의도한 전단변형률 분포를 망칠 수 있다. 따라서 혈액 유출로 인한 내부 유동 영향을 최소화할 수 있도록 적절한 바늘의 직경을 선정해야 한다. 이를 위해 표준 규격의 바늘을 바꿈에 따라 채널 내 압력 변화를 시뮬레이션을 통해 확인하였다.

그림 4는 Bypass를 통한 유출이 존재하지 않을 경우 및, 30G (0.15 mm), 23G (0.33 mm), 21G (0.51 mm)의 채널 내 압력 분포 결과이다.

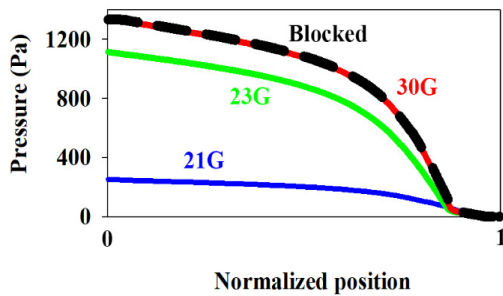


Fig. 4. Pressure normalized position for needle gauge

21G와 23G는 유출량이 과다하여 압력 분포가 이상적인 분포와 차이를 보이는 것을 알 수 있다. 한편 30G의 바늘을 장착한 경우에는 Bypass가 막힌 경우와 거의 동일한 압력 분포를 보이는 것으로 나타나, Bypass에 장착될 바늘을 30G로 선정하였다. 이때 Bypass를 통해 유출되는 유량을 Inlet의 유량으로 나눈 결과, Bypass를 통한 샘플 유출량은 3%로 나타났다.

### 3.3 적혈구 경화에 따른 비교

그림 5에 나타난 것은 20대 정상인 성인 남성의 2명의 혈액 대해 실험을 진행한 결과이다. 도표에는 GA 농도에 의해 발생한 적혈구 경화 정도에 따라 HPB액적 빈도를 LPB 액적 빈도로 나눈 빈도비의 평균과 편차가 나타나 있다.

층류 조건에서 마찰로 인한 관의 압력강하( $\Delta P$ )는 아래 식으로 표현할 수 있다.

$$\Delta P = \frac{128 \cdot \mu \cdot Q L}{\pi \cdot D^2} \quad (1)$$

위 식 1에서  $\mu$ 는 점도,  $Q$ 는 유량,  $L$ 은 관길이,  $D$ 는 관 직경을 나타낸다. Bypass를 통해 발생한 유량은 채널 내 압력과 대기압의 차이를 나타낸다. 따라서 스마트 폰을 이용하여 측정된 액적의 발생 주파수를 통해 채널 내 Bypass 위치에서의 압력을 유추할 수 있다. 두 Bypass에서 동일한 채널 형상에 바늘이 고정되어 있어, 두 Bypass에 발생한 액적의 발생 주파수의 비를 사용하면 두 위치에서의 압력 비를 확인할 수 있다.

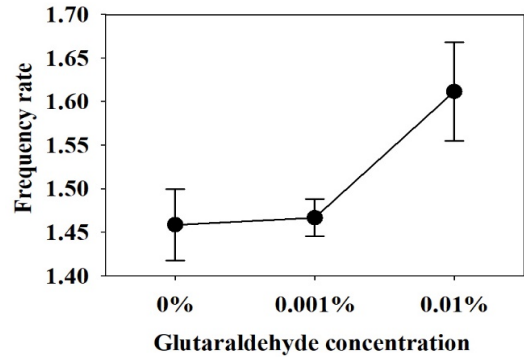


Fig. 5. Frequency ratio depending on GA concentration

그림 5는 GA 농도에 따른 HPB와 LPB에서 발생한 액적 발생 주파수의 비(Frequency ratio =  $f_{HPB}/f_{LPB}$ )를 보여준다. 경화를 위해 CA의 농도가 올라 감에 따라 발생 주파수 비가 증가하는 것을 보면 적혈구 경화에 의해 HPB의 압력이 LPB에 비해 상대적으로 크게 증가한 것을 확인할 수 있다. 이를 통해 적혈구 경화에 의해 유동 저항이 증가하여 압력이 증가되었음을 알 수 있다. 0.01% 처리된 혈액과 정상 혈액의 주파수 비는 약 0.15의 차이를 나타냈다. GA 처리가 적혈구 변형성에만 영향을 주었음을 관찰하기 위해  $10 \text{ s}^{-1}$  이하의 전단율에서 점도계를 통해 샘플을 측정하였다. GA 처리혈액과 정상 혈액의 점도차이는 0.1 cP 미만으로 나타났으며, 따라서 GA 첨가에 의한 영향은 전단 박화 현상 악화인 것을 알 수 있다.

한편, Bypass에서 유출된 양을 Inlet의 주입량으로 나눈 Bypass유출량은 약 10%로 앞서 3.2절에서 시뮬레이션에서 측정된 Bypass 유출량 3%와 차이를 보인다. 실제 실험 시 원활한 시료의 제거를 위해 Outlet에 연결된 내경 1.5mm, 길이 10cm의 실리콘관이 Outlet의 저항을 증가시켜, 실험에서는 Bypass의 유량이 증가한 것으로 예측된다.

## 4. 결론

적혈구 변형성이 혈액의 전단 박화 현상에 영향을 주는 전단율을 형성한 채널을 시뮬레이션

을 통해 설계하고, 3D printed chip 내에 구현하였다. GA처리된 혈액 샘플과 정상 샘플에 대한 실험을 진행하였고, 적혈구 변형성 감소가 Bypass의 액적 빈도비에 끼치는 영향을 관찰하였다. 액적 빈도 비율을 통해 바늘 내부의 의도치 않은 점도변화 의한 영향을 배제시키고, 적혈구 변형성 감소를 거시적으로 관찰하였다.

실험 결과를 해석할 때 Bypass의 유량이 내부 유동에 영향을 주지 않을 만큼 소량으로 가정하였다. 그러나, 실제로는 두 Bypass를 통한 유출이 약 10% 정도로 시뮬레이션으로 예측한 약 3% 와 차이를 보였다. 시뮬레이션으로 예측한 바와 달리 Bypass에서 발생하는 유량이 내부 전단 변형률 형성에 영향을 나타낼 수 있어 추후 실험에서 Bypass에서 발생하는 유량으로 인한 오차 발생을 보완할 필요가 있다.

## 후 기

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업 (2년)에 의하여 연구되었음.

## REFERENCE

- 1) Fischer T, M Stohr-Lissen, at al., 1978, "The red cell as a fluid droplet: tank tread-like motion of the human erythrocyte membrane in shear flow." *Science*, Vol. 202, pp.894~96.
- 2) Kim Jeongho, at al. 2015, "Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review" *Journal of Cellular Biotechnology*, vol. 1, no. 1, pp. 63~79.
- 3) Kaczmarska M., at al., 2013, "Erythrocyte membrane properties in patients with essential hypertension." *Cell Biochem Biophys.*, Vol. 67, 1089-102.
- 4) Dormandy, H. at al., 1973, "Prognostic significance of rheological and biochemical findings in patients with intermittent claudication." *Brit. Med. J.* Vol. 4, pp. 581.
- 5) Youngchan Kim, Kyoohyun Kim, YongKeun

Park, 2012, "Measurement Techniques for Red Blood Cell Deformability: Recent Advances" in *Blood Cell.*, pp.167~194.

- 6) Asena, A., at al. 2018, "Glutaraldehyde – A Subtle Tool in the Investigation of Healthy and Pathologic Red Blood Cells" *Front. Physiol.*, Vol.10, pp.514.