

## 미세유체 기반의 플랫폼을 이용한 미지의 백색가루 간이식별 탐지방안

박재우<sup>\*1)</sup> · 송지영<sup>2)</sup> · 나상철<sup>2)</sup> · 변기식<sup>3)</sup> · 전누리<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 국방기술품질원 전투물자센터

<sup>2)</sup> 서울대학교 기계항공공학부

<sup>3)</sup> 국방기술품질원 기술진흥센터

## Simple Identification Methods for Unknown Suspicious White Powders using Microfluidic-based Platform

Jae Woo Park<sup>\*1)</sup> · Jiyoung Song<sup>2)</sup> · Sang Cheol Na<sup>2)</sup> · Kisik Byun<sup>3)</sup> · Noo Li Jeon<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Forces Support Systems Center, Defense Agency for Technology and Quality, Korea

<sup>2)</sup> School of Mechanical and Aerospace Engineering, Seoul National University, Korea

<sup>3)</sup> Technology Promotion Center, Defense Agency for Technology and Quality, Korea

(Received 17 August 2017 / Revised 31 October 2017 / Accepted 24 November 2017)

### ABSTRACT

Terrorists always threats the global security with the possibility of using prohibited warfare, NBCs(Nuclear, Biological and Chemical Warfare). Compared to other prohibited warfares, most of biological warfare agents (BWAs) have no physical properties and time delays from spread to affect. Therefore the early detection is important to protect and decontaminate from BWAs. On the preliminary detection stage for suspicious material, most of detection kits only serve to know weather the BWAs exists or not. Due to this reason, simple field confirmation testing for suspicious substances have been used to identify materials which show negative result on detection kits. Considering the current Lab on a Chip(LOC) technologies, we suggest simple identification platform for unknown suspicious substances based on paper fluidics. We hope that our research will envision the future direction for the specific point-of-view for LOC technologies on detection strategy of BWAs.

Key Words : Biological Warfare Agents(생물학 작용제), White Powders(백색가루), Paper Fluidics(페이퍼 플루이드스)

### 1. 서론

통상적으로 테러는 인간의 공포감을 극대화하여 테러리스트들이 원하는 바를 이룩하기 위한 수단으로서 사용되어지고 있으며, 특히 전투원 뿐 만 아니라 비전투원과 민간인에 대해서도 무차별적인 살상과 피해를

\* Corresponding author, E-mail: nickpjw@dtq.re.kr  
Copyright © The Korea Institute of Military Science and Technology

입히기에 그 공포와 위협은 날로 더해가고 있는 실정이다. 무엇보다도 가장 우려스러운 점은, 테러리스트들이 테러의 수단으로서 국제적으로 사용이 금지된 화학방 무기를 사용할 가능성이 있다는 것이다.

다른 금지 무기들과 비교했을 때, 생물학 무기는 무정형의 물리적 특징을 갖고 있으며, 살포와 효과 발생 사이에서의 시간 지연 현상이 발생하기에, 즉각적인 방호와 효과적인 제독을 위해서는 초기 현장 탐지가 무엇보다도 중요하다<sup>[1]</sup>. 현재까지 생물학 무기로 사용되는 작용제는 박테리아, 바이러스, 곰팡이, 리케차, 독소 등의 범주로 구분되어 지는데<sup>[2,3]</sup>, 이러한 작용제를 식별하기 위해서는 각 작용제의 생물학적 특이성을 이용하게 된다. 주로 적용되는 방식은 초기 현장에서 사용되는 항원-항체 반응을 이용한 식별키트<sup>[4]</sup>, 정밀 분석 시 사용되는 중합효소연쇄반응(PCR)을 이용한 DNA 증폭 방식<sup>[5]</sup> 등이 있다.

최초 현장 대응 시, 의심 물질에 대해서 간이진단키트를 이용하여 생물학 작용제 여부를 판별한 후, 시료를 전문 기관에 후송하여 정밀 분석 조치를 수행하는 과정을 거치게 된다. 하지만 작용제가 아닌 백색가루 또는 유사물질의 경우에는 진단키트를 통해서 식별되지 않기 때문에, 생물학 작용제로의 오인에 따른 혼란을 방지하고자 야전간이식별 방법<sup>[6]</sup>을 통해서 해당 물질을 찾아내야 한다.

생물학 작용제로 의심되는 백색가루 또는 유사물질의 발견 시, 생물학 작용제로의 오인에 따른 혼란을 방지하기 위하여 최초 현장에서의 간이식별을 수행하게 되며, 식별에 사용되는 원리는 대개 해당 물질의 물리·화학적 특성을 활용하여 수행되어진다.

물리적인 특성에 기인하는 판별법은 점도, 색깔, 입자의 크기 등에 의해서 수행되지만, 이를 통해서 정확한 식별이 불가능하다는 단점이 있다.

따라서 대부분은 현장 간이식별법은 화학적 특성에 의한 판별을 통해서 미지의 물질에 대한 식별을 수행하게 되는데, 그 원리는 물에 대한 용해도, pH 그리고 특정 시약과의 화학적 반응에 따른 색깔변화 등의 현상을 이용하게 된다<sup>[7,8]</sup>.(Fig. 1)

본 연구에서는 이러한 미지의 백색가루 식별을 위해서 사용되는 화학적 간이식별 방법에 대한 원리를 기초로 하여 최근에 대두되고 있는 미세유체 기반 랩 온어칩(lab on a chip) 기술을 응용하는 페이퍼 플루이딕스(paper fluidics) 플랫폼을 개발하였고, 이를 통해서 소량의 시료만으로도 다양한 오인물질을 한 번에 식

별 할 수 있도록 하였다.



Fig. 1. Preliminary detection method for suspicious materials; protein, saccharide, pH and starch (clockwise from upper left)<sup>[8]</sup>

## 2. 실험방법

### 2.1 실험재료

본 연구에서 사용된 화학 관련 시약들은 모두 Sigma Aldrich사에서 구매하였으며, 페이퍼 플루이딕스에 사용된 Filter paper는 Whatman®에서 구매하였다.

### 2.2 플랫폼 제단

플랫폼은 Auto-CAD를 통해서 디자인 하였으며, 실 제단은 Laser cutter 및 Cutting plotter(CraftROBO, Graphtec Aerica, Inc.)를 이용하여 구현하였다.

### 2.3 플랫폼 제작

미지의 시료를 검출하기 위한 화학반응을 유도하기 위한 시약(5종)를 각각 2 µL씩 제단 된 플랫폼에 흡착 시킨 뒤 건조 오븐(Dry oven) 내에서 85 °C로 1시간 동안 건조하여 제작하였다.

2.4 미지의 시료 검출 및 측정

제작된 플랫폼의 중앙부에 위치한 주입부에 물에 희석된 미지의 시료를 주입하여 시간에 따라서 나타나는 발색반응을 확인하여 시료의 성분을 검출하였다. 해당 결과는 고해상도 카메라(K5 II S, Pentax)와 캠코더(HDR-CX550, Sony)로 촬영하였다.

3. 실험결과 및 분석

3.1 플랫폼 설계 및 제작

제작된 플랫폼은 미지 시료에 대해서 총 5가지의 화학반응 테스트를 동시에 구현 가능한 구조로 설계, 제작되었으며, 그 형태는 Fig. 2와 같다.

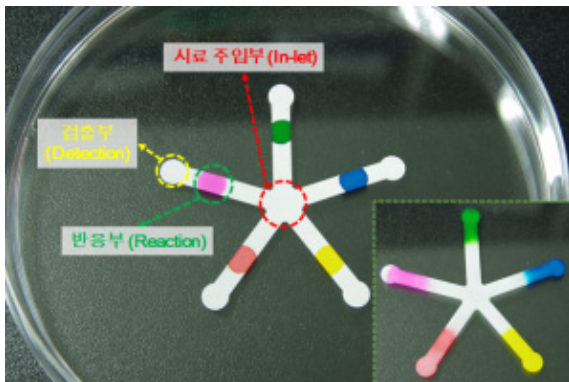


Fig. 2. Fabricated paper-fluidic platform and its application result

플랫폼의 구성은 크게 액상으로 용해된 미지의 시료를 주입하기 위한 “주입부(In-let)”, 화학 반응을 유도하는 물질이 흡착된 “반응부(Reaction center)” 그리고 유도된 발색반응을 통해서 미지의 시료를 특정하는 “검출부(Detection center)”로 구분된다. 플랫폼에 사용되는 최소 시료량은 100 μL이지만 그 이상에서도 원활한 검출이 가능하였으며, 최소 시료량 사용 시 반응에서 검출까지 2분 내에 확인이 가능하였다.

본 플랫폼에서 사용된 화학반응은 대부분 수초 이내에 즉각적인 반응을 이루는 경우가 대부분이기에 테스트 결과는 미지의 시료 검출에 대해서 충분히 적용가능 할 것으로 판단하였다. 이와는 별개로, 플랫폼을 Laminating film으로 코팅을 하게 되면 플랫폼 상에서의 유속을 제어 할 수 있었으며, 이러한 부분은 차

후 반응 대기시간이 필요한 화학반응을 플랫폼에 적용하는 기반기술이 될 것으로 기대된다.

3.2 적정 화학반응 탐색

서론에서 언급하였듯이, 생물학 작용제로 오인 가능한 백색가루는 대개 우리주변에서 흔히 볼 수 있는 물질들이 대다수이며, 그 종류와 주재료, 발색 반응을 위한 식별 방법은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Main component of white powders and their identification methods(\*applied method on this research)

주성분	적용 백색가루	식별 방식
당류	설탕 탈지분유 분유 커피프림	Benedict's solution (Carbonyl) Fehling's solution Sucrose test Catalase test Lactase test <u>Enzymatic colorimetric assay*</u>
다당류	밀가루 전분	Lugol starch test <u>Povidone test for starch*</u>
단백질	헬스 보충제 탈지분유 분유	BCA protein test Biuret protein test Bradford reagent Fluorescamine test for protein <u>Lowry protein test*</u> Nickel dimethylglyoxime-equilibrium solution Ninhydrin solution Nitric acid agent
차아 염소산	표백제 살균제 소독제	<u>Safranin O solution*</u> Diphenylamine indicator solution Hypohalogenite differentiation test Hypohalogenite test

먼저 적용 가능한 적정 화학반응을 찾기에 앞서 본 플랫폼에서 적용한 대상 물질은 설탕, 밀가루, 분유, 세제로 한정하여 진행하였다. 이에 선정된 각각의 반응들은 다음과 같다. 설탕을 찾기 위한 반응은

“Enzymatic colorimetric assay”, 밀가루는 “Povidone test”, 분유는 “Lowry protein test”, 세제는 “Safranin O solution”을 적용하였으며, 5종의 반응가운데 마지막은 pH를 측정하는 발색시약을 적용하였다.

### 3.3 발색 반응

선정된 각각의 발색반응에 대한 최저 검출 한계를 측정하기 위해서 표준정량 시약으로 포도당, 녹말, 알부민, 차아염소산칼륨을 해당 물질의 대표물질로 지정하였다.

먼저 설탕(포도당)의 경우에는 Potassium iodide와 Horse radish peroxidase에 의해 유도된 발색반응을 이용하였으며, 농도별로 Fig. 3과 같은 발색반응을 보였다. 실험결과는 극미량의 당류에서도 발색반응을 보여 주었다.

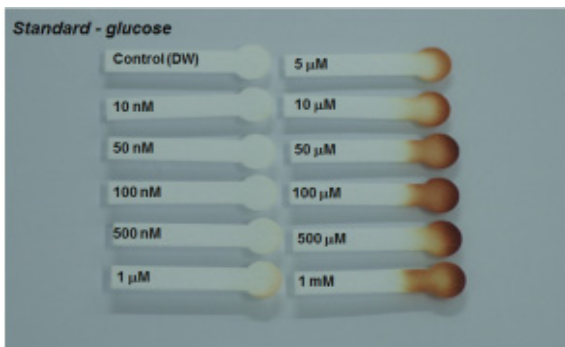


Fig. 3. Enzymatic colorimetric assay results for sugar (or glucose)

밀가루(녹말)의 경우에는 Iodine과 Potassium iodide에 의해 유도된 발색반응을 이용하였다. 녹말의 특성상 물에 잘 녹지 않고 불균일 혼합물 상태로 존재하기 때문에 농도별 발색반응은 확인하기 곤란하였으나, 해당 물질의 존재 유무는 판별 할 수 있었다(Fig. 4).

분유(알부민)의 경우에는 Tetraboromophenol blue(with citrate buffer)에 의해 유도된 발색반응을 이용하였으며, 단백질의 농도별로 Fig. 5과 같은 발색반응을 보여주었다. 실험결과와 단백질의 농도에 따라서 발색반응이 증가하는 경향을 보여주었으며, 극미량의 경우에도 미약한 발색반응(청색)을 보여주었다.

세제(차아염소산)의 경우에는 저농도 수준(500 ppm)에서는 발색반응이 관찰되지 않았지만, 그 이상의 농도에서는 즉각적인 발색반응이 확인되었다(Fig. 6).

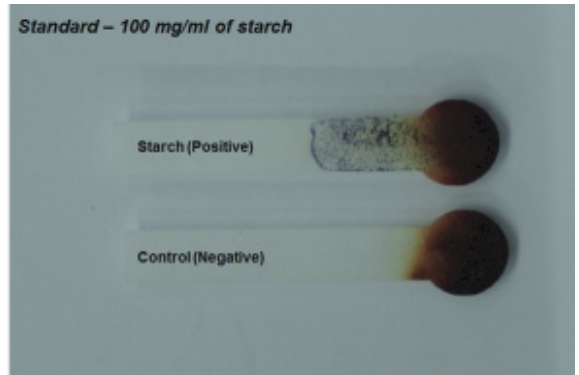


Fig. 4. Povidone test results for starch

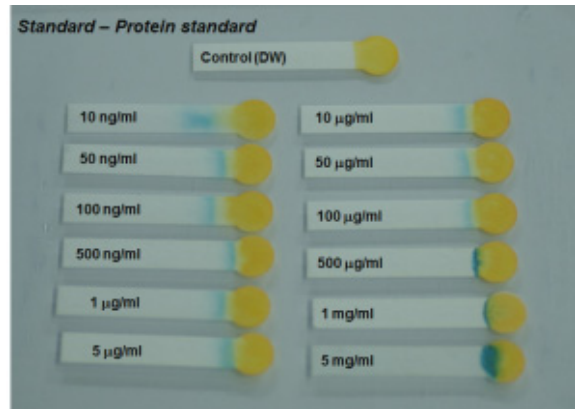


Fig. 5. Lowry protein test results for protein

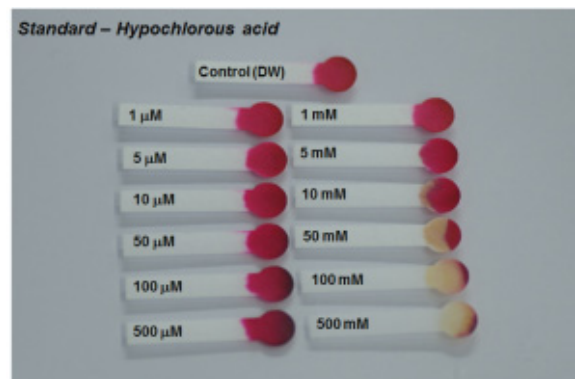


Fig. 6. Safranin O test results for hypochlorous acid

pH의 경우에는 산성, 중성, 염기성에 따라서 발색반응이 달라지는 특정 지시약인 Cresol red와 Bromothymol blue를 이용하여 확인하였다. 실험결과와 다양한 범위

의 pH에서 색상의 변화와 강도가 달라지는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 7).

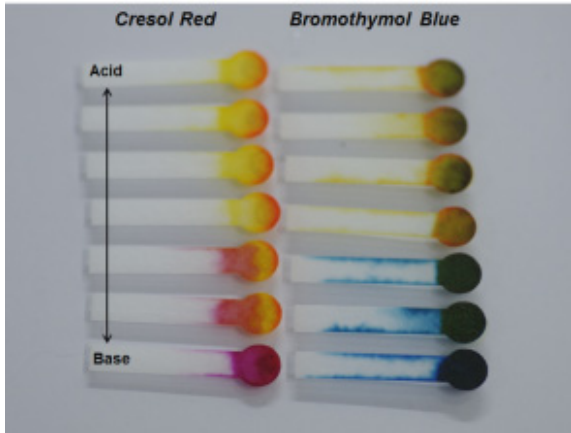


Fig. 7. pH test results

### 3.4 발색반응의 플랫폼 적용

앞서 선정된 각각 방식들은 단일 대표 성분에 대한 발색반응 검증을 통하여 간이 진단 플랫폼으로의 적용가능성을 확인 할 수 있었다. 따라서 최초 제작된 5종 동시 분석 플랫폼에 선정된 반응을 적용하여 다종의 백색가루 식별 적용 가능 여부를 확인하였다.

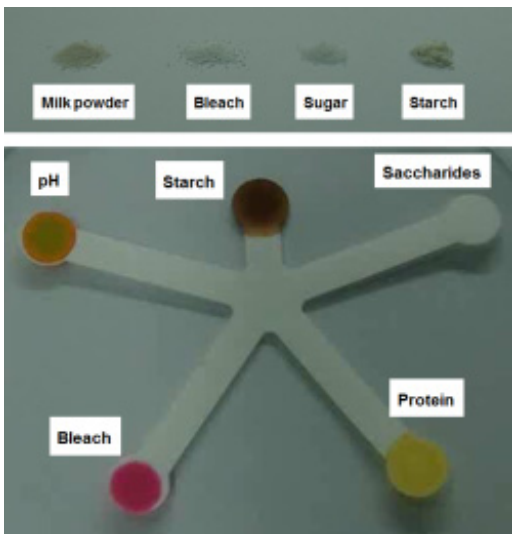


Fig. 8. White powders for test(top) and identification methods embedded paper-fluidic platform (bottom)

Fig. 8에서 나타난 것처럼, 테스트에 사용된 백색가루는 분유, 세제, 설탕, 밀가루이며, 제작된 플랫폼에서는 녹말, 당류, 단백질, 차아염소산, pH를 동시 분석할 수 있도록 발색 반응을 처리하였다(Fig. 8).

테스트는 준비된 4가지의 백색가루에 대한 혼합용액을 제조하여 시료주입부에 넣어 반응을 진행하였다(Fig. 9). 발색반응의 시작은 30초부터 확인 할 수 있었으며, 모든 반응의 종결은 1분 30초 내로 확인 할 수 있었다.

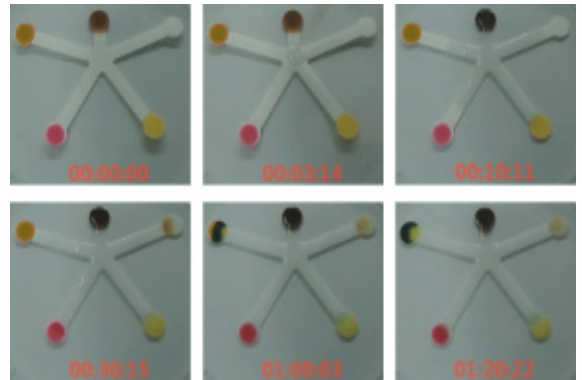


Fig. 9. Time-lapse images for identification process on paper-fluidic platform

Fig. 10은 최종 반응이 끝난 모습을 보여주고 있으며, 각각의 반응을 통해서 해당 물질들을 식별 할 수 있었다.

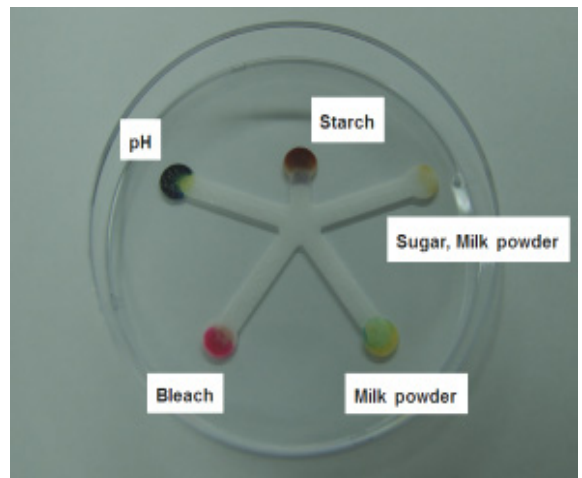


Fig. 10. Identification results for white powders

### 3.5 유사 생물학 작용제의 플랫폼 적용

본 플랫폼은 우리주변에서 흔히 볼 수 있는 생물학 작용제로 오인 가능한 백색가루를 주요 대상으로 지정하여 발색반응을 선별하여 제작하였기에, 백색가루 이외의 생물학 작용제에서 어떠한 반응을 보이는지를 확인하기 위한 추가 실험을 진행하였다. 실험 대상으로는 유사 생물학 작용제로 널리 사용되어 지는 발아 효모(*S. cerevisiae*)를 선정하여 플랫폼에 적용하였다. 반응결과, 단백질 검출부위에서 발색반응을 확인 할 수 있었다(Fig. 11).

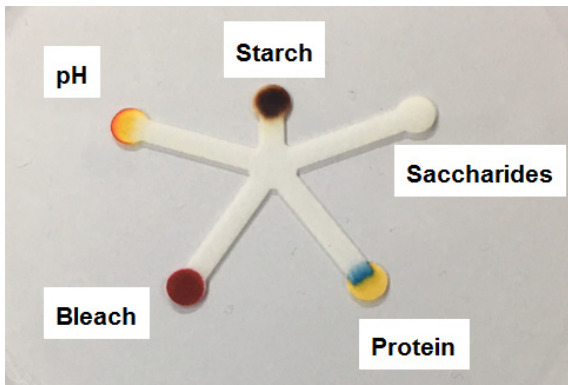


Fig. 11. Identification results for *S. cerevisiae*

일반적으로 생물체 및 생물유래 물질의 대부분은 단백질로 구성되어 있으며, 특히 유사 생물학 작용제로 선정한 발아효모의 경우 건조 중량의 60 %가 단백질로 구성<sup>9)</sup>되어 있기 때문에 플랫폼의 단백질 검출부에서 발색반응을 유도한 것으로 판단된다.

본 플랫폼은 생물학 테러 의심 현장에서 최초 진단 키트를 이용하여 작용제 여부를 먼저 판별한 후 식별되지 않은 미지의 시료를 대상으로 하고 있기 때문에, 생물학 작용제가 아닌 단백질을 주성분으로 하는 생물체 또한 본 플랫폼에서 식별 가능함을 확인 할 수 있었다.

## 4. 결론

국제적으로 사용이 금지된 화생방 무기 중에서 특히, 생물학 무기는 상대적으로 쉬운 제조방식과 작용 특성으로 인해서 “빈자의 핵무기”라는 별칭을 갖고 있다. 생물학 무기는 화학 및 방사능 무기에 비해서

물리적 특징이 존재하지 않으며, 살포에서부터 작용제의 효과가 발생까지의 시간적인 차이로 인해서 작용제의 효과가 사람 간에 전파되는 특성을 보이고 있기 때문에, 무엇보다도 초기 식별과 탐지가 중요하다. 지난 2001년 미국 911테러 당시 탄저균에 의한 테러 이후 전 세계적으로 생물학 테러에 대한 관심이 고조되고 있으며, 그에 대한 위협이 점차 현실화 될 가능성이 점점 증가하고 있는 실정이다<sup>2)</sup>.

생물학 작용제는 적은 제조비용으로 인해서 제약회사 혹은 맥주공장과 같은 시설에서 은밀하게 대량생산이 가능하다. 또한 톤당 생산비용도 핵무기의 경우보다 100배 적으며 그 살상 효과는 420배에 달하는 것으로 알려져 있다<sup>6)</sup>.

또한 공기나 물 등에 의한 살포가 가능하며, 한번 살포되면 자체변식을 통해서 기하 흡수적으로 확산되는 경향을 보이고 있다. 다른 재래식 무기와의 차별점은 기간시설의 파괴 없이도 오직 사람을 대상으로 하기 때문에 그 위협만으로도 사회적 불안과 혼란을 야기 시킬 수 있다<sup>1)</sup>. 때문에 미국의 경우 탄저균 편지에 대한 테러사건 이후, 수많은 모방범죄가 있었으며 우리나라에서도 백색가루에 대한 신고도 증가하고 있는 실정이다. 하지만 대부분의 경우에는 밀가루, 프림, 분유 등의 오인신고가 주를 이루고 있기 때문에, 현장에서의 빠른 작용제 확인과 식별이 초기 대응과 사회적 혼란 방지를 위해서 중요한 사항으로 고려되고 있다.

미세유체 기술을 이용한 랩온어칩 기술은 시공간적으로 제어되는 유체의 흐름을 이용하여 소량의 시료만으로도 물질을 탐지 할 수 있는 기본원리를 제공하여 주며, 무엇보다도 다량의 샘플을 한 번에 식별 할 수 있는 기술로서의 적합성을 지니고 있다<sup>10)</sup>.

서론에서 언급하였듯이 미세유체 기반의 랩온어칩 기술은 소량의 시료로 단 시간 내 여러 가지 시료에 대한 식별이 가능하다는 장점을 보유하고 있다. 최근 간이식별 분야에 있어서 새로운 패러다임으로 제시되고 있는 페이퍼 플루이딕스는 의료 진단, 환경, 군사용 목적으로 사용되어지고 있으며, 점차 그 활용도가 증가하고 있다<sup>11-13)</sup>.

본 연구의 결과는 페이퍼 플루이딕스를 이용하여 생물학작용제로 오인되기 쉬운 백색가루 4종(분유, 설탕, 밀가루), 생물체 및 생물유래 물질에 대한 신속한 정성분석이 가능하며, 플랫폼 형태로 제작하여 다종의 백색가루에 대한 동시 식별이 가능함을 보여

주었으며, 실제 현장에서 적용 할 수 있는 방안으로 도입될 수 있음을 확인하였다.

따라서, 본 연구에서 제시하는 플랫폼 및 관련 기반 기술은 생물학 테러 의심 현장에서 최초 진단키트를 이용 시 생물학 작용제로 판정되지 않은 미지의 시료를 식별하는데 소요되는 시간과 절차를 획기적으로 줄일 수 있게 되며, 그에 따라서 초기 대응과 사회적 혼란 방지를 위해서 중요한 역할을 하게 될 것으로 판단된다.

## 후 기

본 연구는 한국연구재단(NRF)의 ‘한-스위스 협력기반 확충사업(NRF-2015K1A3A1A14021299)’ 및 ‘이공계 분야 기초 연구사업(NRF-R1A2A1A09005662)’의 지원으로 수행되었습니다.

## References

- [1] J. Shah and E. Wilkins, “Electrochemical Biosensors for Detection of Biological Warfare Agents,” *Electroanalysis*, Vol. 15, No. 3, pp. 157-167, 2003.
- [2] W. Bae, “Biological Warfare Agents,” Sallimbooks Korea, pp. 14-41, 2003.
- [3] NIJ Guide, “An Introduction to Biological Agent Detection Equipment for Emergency First Responders,” U.S. Department of Justice, pp. 5-12, 2001.
- [4] D. Mark, S. Haeberle, G. Roth, F. von Stetten and R. Zengerle, “Microfluidic Lab-on-a-chip Platforms: Requirements, Characteristics and Applications,” *Chemical Society Reviews*, Vol. 39, pp. 1153-1182, 2010.
- [5] D. Ivnicki, D. J. O’Neil, A. Gattuso, R. Schlicht, M. Calidonna and R. Fisher, “Nucleic Acid Approaches for Detection and Identification of Biological Warfare and Infectious Disease Agents,” *BioTechniques*, Vol. 35, pp. 862-869, 2003.
- [6] Republic of Korea CBR Defense Command, Joint CBR Technology Information, Vol. 2, No. 3, pp. 29-35, 2002.
- [7] L. R. Houghton, “Emergency Characterization of Unknown Materials,” CRC Press, 2007.
- [8] L. R. Houghton, “Field Conformation Testing for Suspicious Substances,” CRC Press, 2009.
- [9] F. J. Delgado, N. Cermak, V. C. Hecht, S. Son, Y. Li, S. M. Knudsen, S. Olcum, J. M. Higgins, J. Chen, W. H. Grover and S. R. Manalis, “Intracellular Water Exchange for Measuring the Dry Mass, Water Mass and Changes in Chemical Composition of Living Cells,” *PLoS ONE*, Vol. 8, pp. e67590, 2013.
- [10] G. M. Whitesides, “The Origins and the Future of Microfluidics,” *Nature*, Vol. 442, pp. 368-373, 2006.
- [11] A. Martinez, S. Phillips, G. Whitesides and E. Carrilho, “Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices,” *Analytical Chemistry*, Vol. 82, pp. 3-10, 2010.
- [12] Y. Sameenoi, P. Panymeesamer, N. Supalakorn, K. Koehler, O. Chailapakul, C. S. Henry and J. Volckens, “Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Aerosol Oxidative Activity,” Vol. 47, pp. 932-940, 2012.
- [13] K. L. Peters, I. Corbin, L. M. Kaufman, K. Zreibe, L. Blanes and B. R. McCord, “Simultaneous Colorimetric Detection of Improvised Explosive Compounds using Microfluidic Paper-based Analytical Devices( $\mu$ PADs),” *Analytical Methods*, Vol. 7, pp. 63-70, 2015.