

바이오 미세먼지 고속감지 소형시스템 개발

○ 오재호 | 연세대학교 대학원 기계공학과 박사과정

E-mail : inkfish5@yonsei.ac.kr

안상권 | 연세대학교 대학원 기계공학과 박사과정

E-mail : dkstkdrrnjs92@naver.com

황정호 | 연세대학교 기계공학부 교수

E-mail : hwangjh@yonsei.ac.kr

변정훈 | 영남대학교 기계공학부 교수

E-mail : postjb@yu.ac.kr

1. 서 론

바이러스, 박테리아, 곰팡이와 같은 대기 중 부유한 생물학적 입자상 물질인 바이오 미세먼지(bio-aerosol)는 독성 효과와 환경 교란을 일으키는 독소의 유도로 인해 인간의 건강과 환경에 악영향을 미친다(1,2). 특히, 최근 코로나바이러스 감염증(coronavirus disease 2019, COVID-19)의 세계적 규

모 확산 사례와 같이 바이오 미세먼지의 직접적인 흡입 및 노출로 인한 건강영향은 전염병 및 알레르기성 질환 등과 밀접한 관련이 있다(3,4). 또한, 바이오 미세먼지는 공기 중에 오랫동안 부유한 상태로 존재하고, 휘발성유기화합물 및 일반 부유먼지와 함께 주요한 실내공기 오염물질(일반적으로 5 % ~ 34 %)로 분류되며(5,6), 곰팡이(fungi), 바이러스(virus) 및 세균(bacteria)을 포함한다(그림 1).

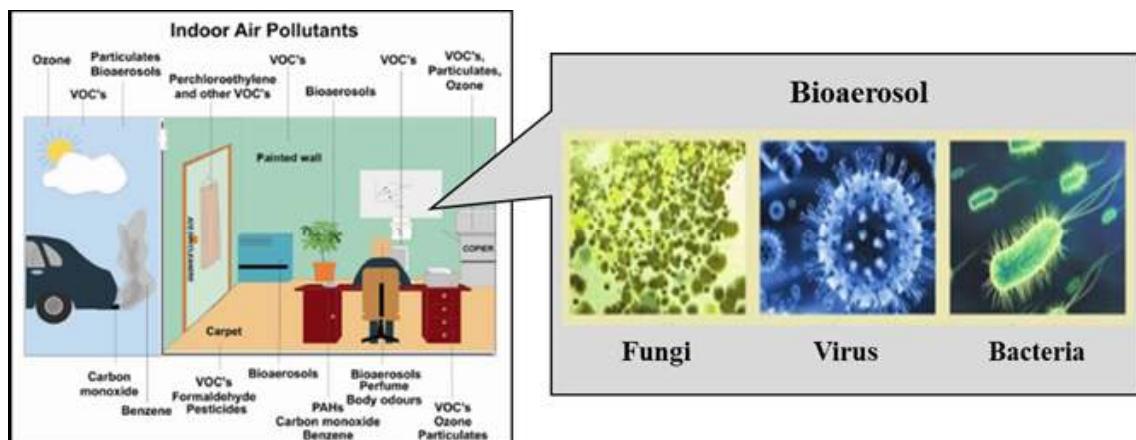


그림 1. 실내공기 오염물질 내 바이오 미세먼지

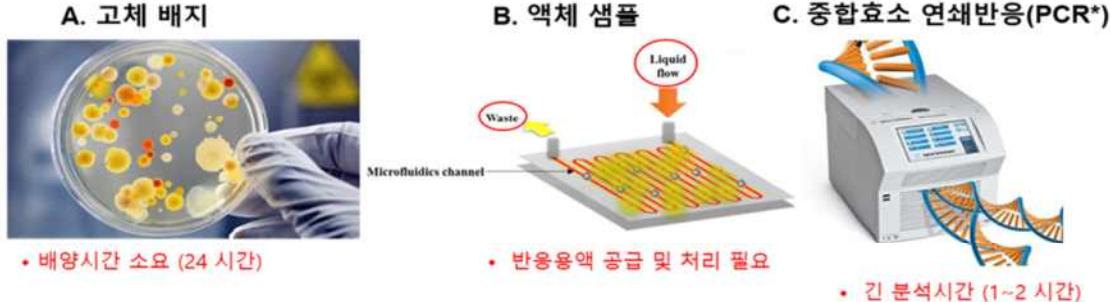


그림 2. 바이오 미세먼지의 기존 측정기법 및 한계

유해 바이오 미세먼지로부터 인간과 환경을 보호하기 위해 바이오 미세먼지의 포집, 비활성화 및 모니터링 기술 전반에 걸쳐 다양한 연구들이 수행되고 있다.

특히, 바이오 미세먼지의 포집 및 비활성화를 통한 실내공기질 관리 및 개선을 위해서는 고속감지 기술 개발이 선행되어야 한다.

그럼에도 불구하고, 현재의 기술 수준은 고체 배지를 이용한 군집계수법이 주로 사용되고 있고, 최소 24시간 이상의 배양을 필수로 하기 때문에 고속감지 기술로의 활용에는 한계가 있다(그림2(A)).

그림 2(B)는 마이크로 유동을 기반으로 하는 최신의 연구를 보여주는데, 이 방법 또한 장시간의 바이오 미세먼지 포집, 지속적인 반응용액의 공급 및 처리에 대한 기술적 한계가 존재하여 고속감지 기술로 활용되기에는 많은 후속연구가 필요하다.

중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용한 감지 기술은 병원균에 대한 정보를 비교적 정확하게 알 수 있는 정밀 계측법이지만, 본 기술 또한 1시간 이상의 분석시간이 필요하여, 실시간 고속감지 기술로 활용되기에는 한계가 있다(그림1(C)).

위에 제시된 한계 극복을 위한 대안 중 하나로, 생물발광(bioluminescence)을 이용할 수 있다. 생물발광은 생체요소 내 유기화합물이 효소의 작용으로 산화되면서 방출되는 에너지가 광에너지의 형태로

방출되는 일종의 생물화학반응으로 보다 구체적으로는 세포 내 생명활동에 이용되는 에너지 저장물질인 아데노신삼인산(adenosine triphosphate, ATP)이 효소인 루시페라아제(luciferase)의 촉매작용에 의해 아데노신일인산(adenosine monophosphate, AMP)으로 분해되는 과정 중 발광물질인 루시페린(luciferin)을 만나면서 형광을 방출하는 현상이다.

대부분의 미생물들은 필수 에너지원으로 ATP를 함유하기 때문에, 상기 반응을 이용할 경우, 단시간 내에 공기 중 미생물의 농도를 고속으로 정량화함으로써 바이오 미세먼지 고속감지 기술로 활용할 수 있다.

본 고에서는, 생물발광 분석의 주요한 두 가지 쟁점인 편리한 샘플링 절차(convenient sampling procedure) 및 해석가능한 생물발광신호(readable bioluminescence signal) 획득을 통해, 빠르고 안정적인 바이오 미세먼지 종도 감지할 수 있는 최신 연구 사례와 동향을 소개하고자 한다.

2. 본 론

2.1 면봉 샘플러(swab sampler)

본 고에서는, 면봉 샘플러를 활용한 바이오 미세먼지 고속감지 소형 시스템을 소개한다. 면봉 샘플

러는 기존의 ATP 키트에서 샘플링을 담당하는 면봉을 그대로 활용하여 공기 중 바이오 미세먼지를 직접 샘플링함으로써, 면봉 표면에 포집된 바이오 미세먼지의 생물발광 반응으로 생성되는 형광도를 RLU(relative light unit) 단위로 출력하는 소형 샘플러이다.

그림 3(A)는 해당 면봉 샘플러의 실물을 보여준다. 면봉 샘플러는 스테인리스강의 재질로 제작되었으며, 직경 50 mm, 높이 55 mm로 휴대가 용이한 소형 샘플러이다. 내부는 면봉을 삽입할 수 있도록 면봉 모양의 흡이 파여 있으며, 면봉 삽입 시에 압착이 원활히 이루어져 흡입 기류가 새어나가지 않도록 원형의 고무링과 클램프를 결합한 구조이다.

그림 3(B)는 샘플링 중인 면봉 샘플러의 모식도를 보여주며, 흡입 공기가 면봉을 통과 시에 공기 내의 입자상 물질은 기계적 여과에 의해 면봉 표면에 포집된다.

포집된 입자상 물질 중 생물성 입자 내의 ATP 추출을 위해 세포용해(cell lysis) 용액 액적이 샘플링 후반에 소량 자동으로 주입된다.

상기 면봉으로부터 생성되는 생물발광신호의 증폭을 위해, 광전자증배관(photomultiplier tube, PMT) 방식의 발광 측정기를 사용할 수 있다.

이의 검증을 위해 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*; *S.aureus*)을 포집하는 실험을 수행하였으며, 샘플링 전과 후 그리고 세포용해 용액과 반응 후의 면봉 표면을 주사전자현미경(scanning electron microscope, SEM)을 통하여 확인하였다. 포집된 물질의 원소 분석을 위해 에너지 분산형 분광분석법(energy dispersive X-ray spectroscopy, EDS)를 수행하였다.

샘플링 전의 면봉에서는 입자상 물질이 발견되지 않았으며 면봉의 주성분인 탄소(C)와 산소(O)만 검출되었다. 샘플링 후의 면봉에서는 구형 입자상 물질들이 면봉을 뒤덮고 있는 이미지가 발견되었으며, *S.aureus*의 주성분인 질소(N)가 검출된 것으로 보아 구형 입자상 물질들이 *S.aureus*를 포함한다고 판단

하였다. 또한 세포용해 용액과 반응 후에는 세포용해 용액의 주성분인 황(S)이 검출되었고, 이미지 역시 매끄러운 표면이 보여 용해되었음을 확인하였다 (그림 3(C)).

2.2 면봉 샘플러를 통한 실내외 바이오 미세먼지 측정

군집형성단위(colony forming unit, CFU)와 RLU 간의 상관도를 확인하기 위해, 그림 4와 같은 실험 실 수준(lab-scale test)의 연구가 수행되었다.

바이오 미세먼지 입자로 *S.aureus*를 사용하였고, 분무식 입자 발생장치(atomizer)를 이용하여 *S.aureus*를 공기 중에 분산시켰다. 발생시킨 생물성 입자는 팬이 장착된 $4 \times 4 \text{ cm}^2$ 크기의 덱트에서 깨끗한 공기와 혼합 후 공기역학적 입자 측정기(aerodynamic particle sizer; APS)와 면봉 샘플러, 그리고 CFU를 계측할 수 있는 임팩터 내로 동시에 흡입시켜 상관도가 측정되었다. CFU-RLU의 상관도는 $R^2 = 0.8$ 이상의 값으로 선형적 상관관계를 보였다.

또한, 현장검증 수준(field test)의 평가를 위해 실내 공간 5 장소와 실외 공간 3 장소를 선정하여 CFU 와 RLU의 상관도를 측정하였으며, 이 역시 $R^2 = 0.8$ 이상으로 확인되었다. 그림 5와 같이 면봉 표면에서 샘플링 후와 발광반응 후의 주사전자현미경 사진을 보면 밀도와 모양은 다르지만 실험실 수준의 연구 결과와 유사함을 알 수 있다.

현장평가에서는, 실험실 조건과 달리 바이오 미세먼지의 농도가 낮은 환경적 요소에 의해, 결과치가 100 RLU 미만으로 측정되었는데, 이는 측정기의 측정 하한에 근접하는 수치로 해당 값으로 실험결과를 일반화하기에 한계가 있다는 문제가 있었다.

RLU값이 낮게 측정되는 원인은 측정기기 자체의 감도와 관련되어 있을 수 있으나, 일반 입자상 물질과 바이오 미세먼지의 공존으로 인한 발광신호 감쇄를 대표적 원인으로 고려할 수 있다.

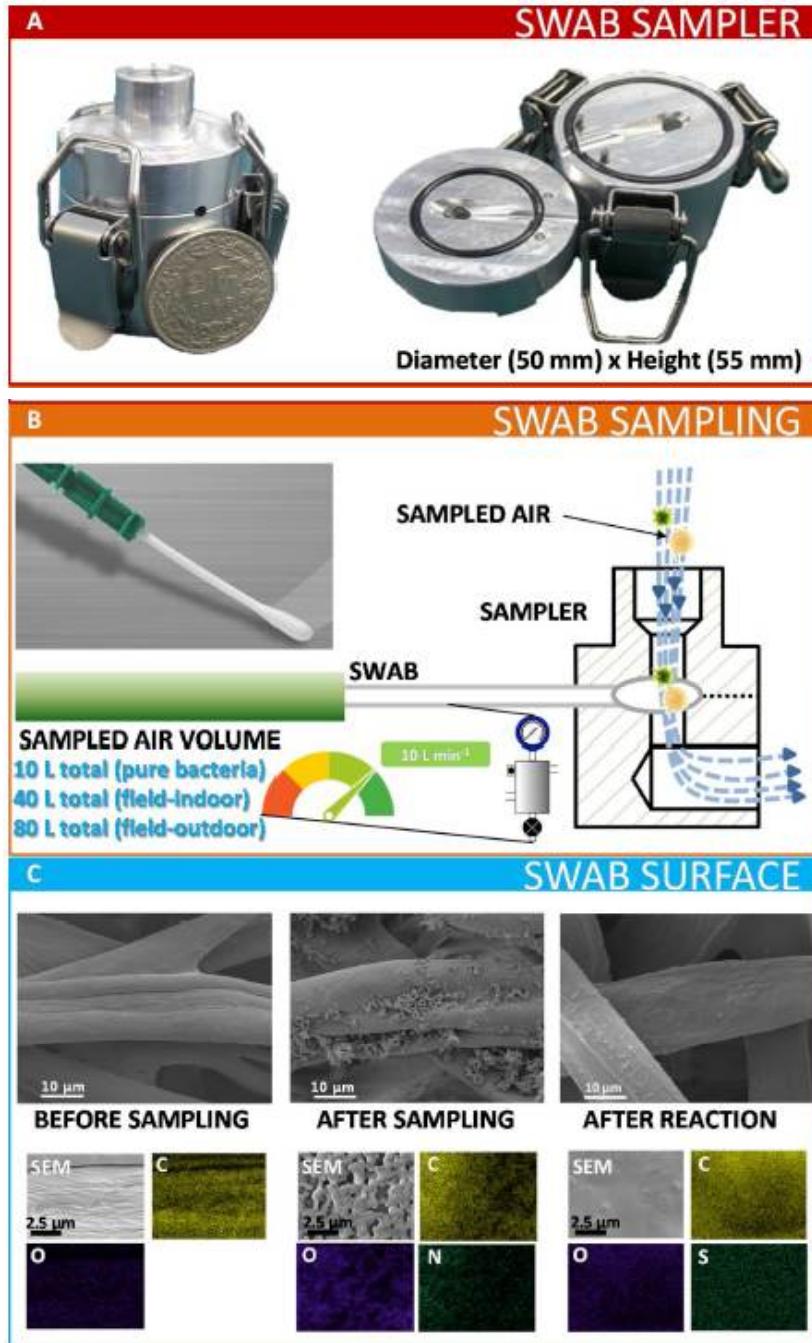


그림 3. 제작된 면봉 샘플러의 (A) 실물, (B) 샘플링 모식도 및 (C) 샘플링 전후 및 생물발광반응 후 면봉 표면의 주사전자현미경 사진

특집 : 실내 공기정화 신기술

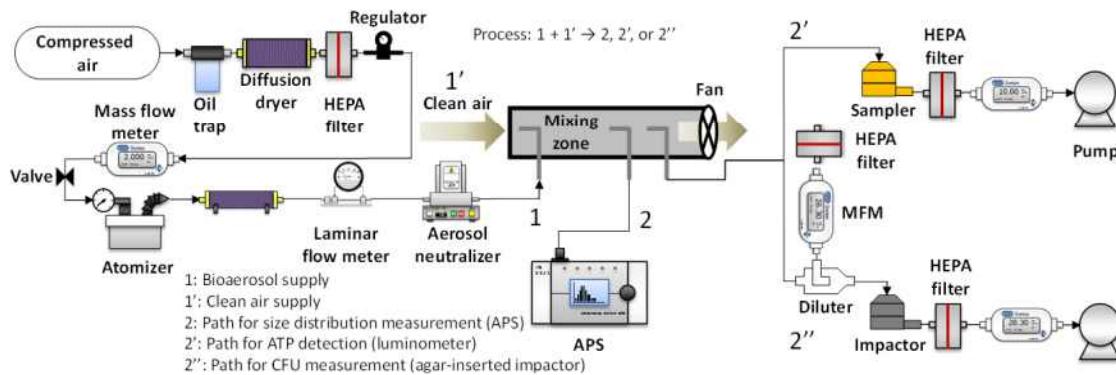


그림 4. RLU-CFU 상관도 평가를 위한 실험 개요도

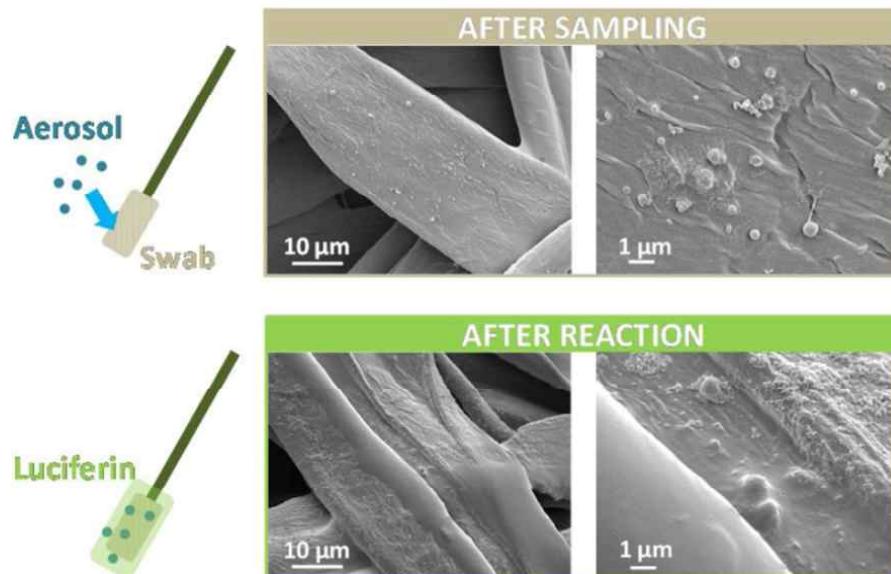


그림 5. 현장평가 실험에서의 생물발광반응 전후의 면봉표면에 대한 주사전자현미경 사진

이러한 공존 조건을 모사하기 위해 실험실 수준에서 일반 입자상 물질로 PSL(polystyrene latex)과 바이오 미세먼지로 *S.aureus*를 여러 비율로 혼합하여 공기 중에 분산시킴으로써, 일반 입자상 물질의 간

섭에 의한 생물발광 신호 감쇄정도를 측정하였다 (그림 6(A)). 실험결과를 통해, PSL의 비율이 높아짐에 따라 생물발광 신호가 과소평가될 수 있다는 것을 확인하였다.

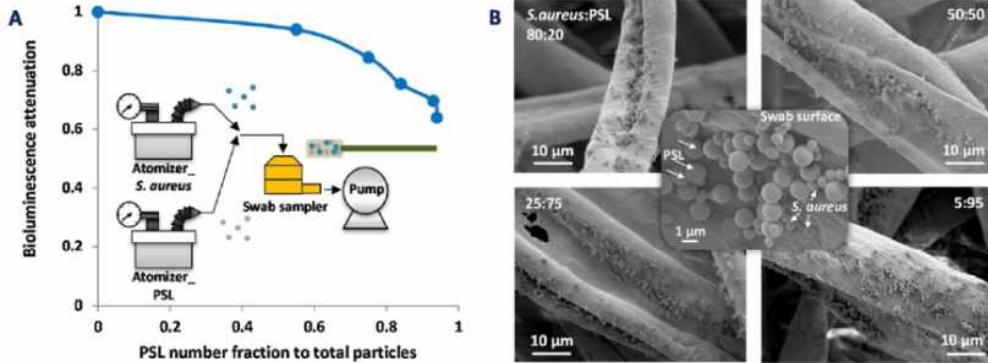


그림 6. PSL(입자상 물질 모사체)과 바이오 미세먼지의 혼합비에 따른 (A) 생물발광 신호 감쇄 및 (B) 해당 조건의 주사전자현미경 사진

또한, 실험 시에 일반 입자상 물질과 바이오 미세먼지의 공존 조건 모사를 확인하기 위하여 주사전자현미경사진을 통하여 PSL 입자와 *S.aureus*의 공존을 확인하였다(그림 6(B)).

2.3 개선된 면봉 샘플러

본 연구에서는 측정기의 사양 상의 문제로 포집한 바이오 미세먼지의 과소평가 가능성과 입자상 물질과 바이오 미세먼지의 공존으로 인한 생물발광

과소평가 문제를 해결하기 위하여 샘플링 과정의 개선을 수행하였다.

샘플링 후반에 Arduino-Bluetooth 스마트 폰 컨트롤러와 연결된 진동 노즐을 통해 세포용해액 액적을 일정량 공급하였고, 입자상 물질을 효과적으로 포집하기 위해서는 기존 샘플러의 포집원리와 같이 $1 \mu m$ 의 절단직경(cut-off diameter), 포집효율 96.8 %를 가지는 임팩터를 이용하였다. 검출기는 PD(photo-diode)방식에서 PMT(photomultiplier)방식의 검출기로 교체하여 측정감도를 개선하였다(그림 7).

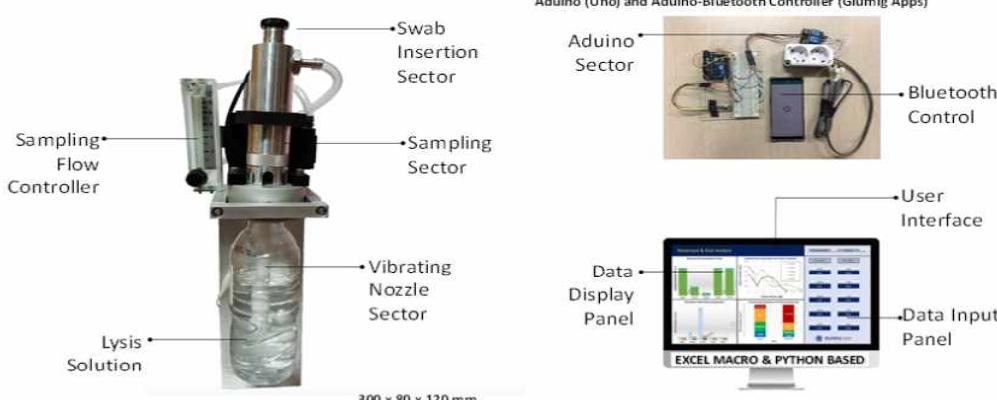


그림 7. 세포용해액 공급과 샘플링방식이 변경된 시스템

(특집 : 실내 공기청정 신기술)

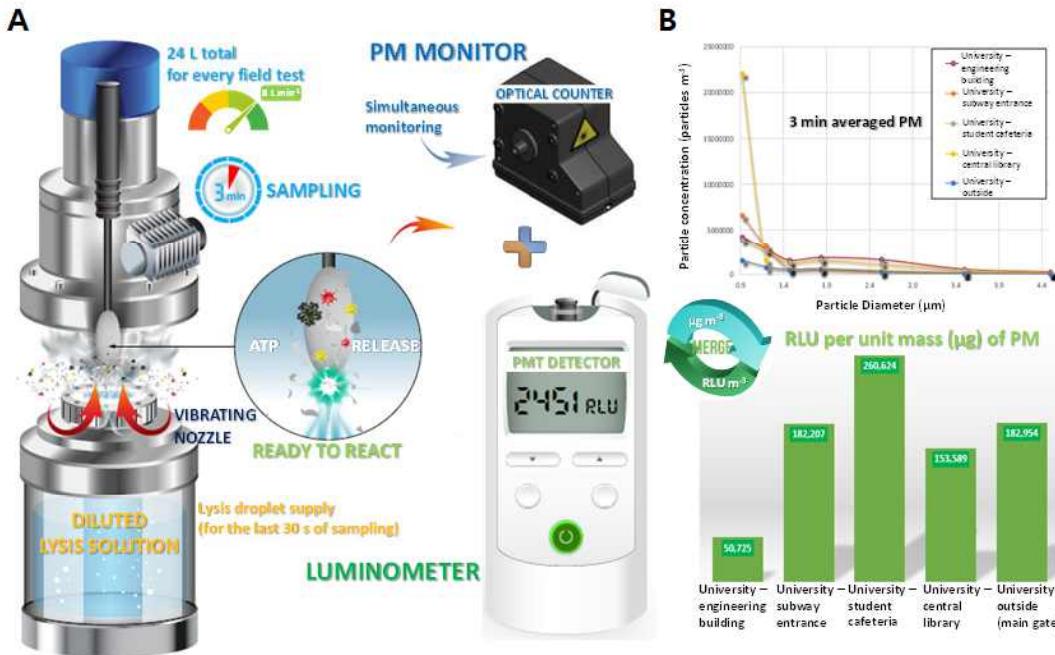


그림 8. 단위 입자상 물질당 바이오 미세먼지의 양을 산출하기 위한 (A) 통합 시스템 개요도 및 (B) 산출 데이터

이러한 결과로 모든 측정 장소에서 104 RLU 이상의 값을 획득함으로써, 기구 및 절차적 개선을 통하여 출력되는 생물발광정도를 증가시킬 수 있음을 확인하였다. 또한, 상기 개선 시스템을 통해, CFU-RLU 상관식을 식 (1)과 같이 도출할 수 있었다.

$$CFU(m^{-3}) = 3.2 \times RLU^{0.34}(m^{-3}) \quad (1)$$

식 (1)을 이용하여 PMT 검출기의 데이터와 PD 검출기의 데이터를 사용하여 획득한 RLU 값과 CFU 값을 비교할 때 PMT는 항상 PD보다 현저히 높은 RLU 결과를 도출하였다.

이러한 결과는 개선된 시스템이 바이오 미세먼지 측정을 과소 평가할 가능성성이 적다는 것을 보여준다.

그럼에도 불구하고, 이러한 시스템을 이용하여 산출되는 RLU값을 통해 바이오 미세먼지의 위험성에 대해 의미있는 평가를 제시하기는 어렵다.

따라서, 본 연구에서는 RLU 대 입자상 물질의 비율을 수치화함으로써, 단위 입자상 물질의 농도당 바이오 미세먼지의 양을 출력함으로써, 해당 공기 가 지니는 위험성의 척도를 제시하였다(그림 8).

입자상 물질의 농도를 측정하기 위해서 광학 입자 계수기를 추가로 도입하였으며, 소프트웨어적으로 입자상 물질의 농도와 바이오 미세먼지의 농도를 결합함으로써, 입자상 물질 중 생물성 물질의 상대적 비로 결과 값을 출력하였다.

이 시스템을 활용하여 산출된 데이터는 장소별 바이오 미세먼지 비율의 특성을 보여준다(그림 8(B)).



그림 9. 바이오 미세먼지의 크기분포 측정을 위한 4채널 소형 시스템

특히, 치과 진료소는 낮은 입자상 물질의 농도를 가지고 있음에도 다른 장소들보다 더 큰 RLU 값을 보여주는데, 이는 치과 진료소 내부의 입자상 물질들이 주로 바이오 미세먼지로 구성되어 있음을 시사한다.

이러한 정보들은 특정 장소에서 공기질의 생물학적 위험도를 용이하게 판단할 수 있는 근거를 제시하기 때문에, 그에 대한 대응을 효율적으로 수행하는데 도움이 될 수 있다. 이 연구에 대한 구체적인 설명은 Journal of Hazardous Materials의 369권, 폐이지 684-690의 논문에 제시되어 있다(7).

3. 결 론

바이오 미세먼지의 감지에 있어서 다양한 기술들이 존재하지만, 본고에서 소개한 연구의 사례를 통해 고속감지를 할 수 있는 소형 시스템의 구현에 대해 다루었다.

면봉 샘플러의 개선을 통하여 효율적으로 공기

중 바이오 미세먼지의 양을 측정할 수 있는 플랫폼을 구축하였고, 또한 광학 입자 계수기의 도입으로 단위 입자상 물질 농도 대비 바이오 미세먼지의 농도를 산출함으로써 해당 장소의 생물학적 위험도를 제시할 수 있는 근거를 산출해 보았다.

바이오 미세먼지의 종 분석 등 심화된 부분에 있어서 해결해야 할 과제가 여전히 존재하지만, 소개된 연구를 통해 측정이 필요한 현장에서 바이오 미세먼지의 농도를 고속으로 편리하게 계측할 수 있는 시스템 구현 가능성을 제시하였고, 효율적인 공기질 관리를 위한 근거 자료를 제공할 수 있다.

본 연구팀에서는, 면봉 샘플러와 입경분리기를 결합함으로써, 입경별 (PM_1 , $PM_{2.5}$, PM_{10} , TSP(총부유분진)) 바이오 미세먼지의 농도와 입경별 입자상 물질 농도를 결합함으로써, 바이오 미세먼지의 크기별 분포까지 확인하는 연구를 수행 중이며(그림 9), 해당 연구결과를 통해 공기의 생물학적 위험도의 효과적 제거를 위한 방법론을 제시할 수 있을 것으로 기대된다.

- 참고문헌

1. Caruana, D. J. (2011). Detection and analysis of airborne particles of biological origin: present and future. *Analyst*, 136(22), 4641-4652.
2. Yao, M. (2018). Bioaerosol: A bridge and opportunity for many scientific research fields. *Journal of Aerosol Science*, 115, 108-112.
3. Walser, S. M., Gerstner, D. G., Brenner, B., Bünger, J., Eikmann, T., Janssen, B., Kolb, S., Kolk, A., Nowak, D., Raulf, M., Sagunski, H., Sedlmaier, N., Suchenwirth, R., Wiesmuller, G., Wollin, K-M., Tesseraux, I., & Herr, C. E. W. (2015). Evaluation of exposure-response relationships for health effects of microbial bio-aerosols - a systematic review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(7), 577-589.
4. Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dao, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z., (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269.
5. Ghosh, B., Lal, H., & Srivastava, A. (2015). Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environment International*, 85, 254-272.
6. Humbal, C., Gautam, S., & Trivedi, U. (2018). A review on recent progress in observations, and health effects of bioaerosols. *Environment International*, 118, 189-193.
7. Kim, H. R., An, S., Hwang, J., Park, J. H., & Byeon, J. H. (2019). In situ lysis droplet supply to efficiently extract ATP from dust particles for near-real-time bioaerosol monitoring. *Journal of Hazardous Materials*, 369, 684-690.