Clean Technol., Vol. 28, No. 4, December 2022, pp. 323-330

청정환경기술

양면 인쇄법을 이용한 중금속 검출용 3D 종이 기반 분석장치 제작

최진솔, 정헌호*

전남대학교 공학대학 화공생명공학과
59626 전라남도 여수시 대학로 50

(2022년 10월 21일 접수; 2022년 11월 14일 수정본 접수; 2022년 11월 17일 채택)

Fabrication of 3D Paper-based Analytical Device Using Double-Sided Imprinting Method for Metal Ion Detection

Jinsol Choi and Heon-Ho Jeong*

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, Chonnam National University,
50 Daehak-ro, Yeosu-si, Jeollanam-do 59626, Republic of Korea

(Received for review October 21, 2022; Revision received November 14, 2022; Accepted November 14, 2022)

요 약

미세유체 종이-기반 분석 장치는 최근 현장 진단 및 환경 물질 감지를 포함한 다양한 적용가능성으로 주목을 받고 있다. 본 연구는 적은 비용과 간단한 검출 방법으로 중금속을 빠르게 검출할 수 있는 3D-μPAD를 제작하기 위해 PDMS 양면 인쇄 방법을 제안하였다. 3D-μPAD 디자인은 레이저 커팅으로 아크릴 스탬프에 적용할 수 있으며, 제작된 스탬프에 PDMS 고분자를 스핀 코팅 후 양면접촉인쇄 방식 도입을 통해 3차원 형태의 소수성 장벽 형성에 필요한 조건을 확인하였다. 구체적으로 소수성 장벽 형성 조건인 고분자 농도, 스핀 코팅 속도 및 접촉 시간에 따라 PDMS 소수성 장벽 면적과 친수성 채널의 면적 변화를 분석함으로써 3D-μPAD 제작 공정 조건 최적화를 수행하였다. 최적화된 μPAD로 니켈, 구리, 수은 이온, pH를 다양한 농도에서 검출하였고 이를 ImageJ 프로그램으로 분석하여 grayscale 값으로 정량화 하였다. 이를 통해 3D-μPAD를 제작함으로써 특별한 분석 기기 없이 다양한 중금속 비색 검출을 수행함으로써 조기진단 바이오 센서로의 응용 가능성을 증명하였다. 이 3D-μPAD는 휴대가 간편한 다중 금속이온 검출 바이오센서로서, 신속한 현장 모니터링이 가능하므로 개발도상국 같은 자원이 제한된 지역에서 유용하게 사용 가능하다.

주제어 : 미세유체 종이-기반 분석장치, 양면인쇄, 3D구조, 금속이온 검출

Abstract : Microfluidic paper-based analytical devices (μPADs) have recently been in the spotlight for their applicability in point-of-care diagnostics and environmental material detection. This study presents a double-sided printing method for fabricating 3D-μPADs, providing simple and cost effective metal ion detection. The design of the 3D-μPAD was made into an acryl stamp by laser cutting and then coating it with a thin layer of PDMS using the spin-coating method. This fabricated stamp was used to form the 3D structure of the hydrophobic barrier through a double-sided contact printing method. The fabrication of the 3D hydrophobic barrier within a single sheet was optimized by controlling the spin-coating rate, reagent ratio and contacting time. The optimal conditions were found by analyzing the area change of the PDMS hydrophobic barrier and hydrophilic channel using ink with chromatography paper. Using the fabricated 3D-μPAD under optimized conditions, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}, and pH were detected at different concentrations and displayed with color intensity in grayscale for quantitative analysis using ImageJ. This study demonstrated that a 3D-μPAD biosensor can be applied to detect metal ions without special analysis equipment. This 3D-μPAD provides a highly portable and rapid on-site monitoring platform for detecting multiple heavy metal ions with extremely high repeatability, which is useful for resource-limited areas and developing countries.

Keywords : Paper-based microfluidics, Double-sided imprinting, 3D structure, Metal ion detection

* To whom correspondence should be addressed.
E-mail : jeonghh29@jnu.ac.kr; Tel: +82-61-659-7298; Fax: +82-61-659-7299

doi: 10.7464/ksct.2022.28.4.323 pISSN 1598-9712 eISSN 2288-0690

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

1. 서 론

중금속은 체내의 세포와 쉽게 결합하여 축적되며 심각한 질병 및 장애를 유발할 수 있는 수질오염 물질이다[1-3]. 예를 들어 납이 축척 되는 경우 근육과 신경을 마비시키며, 카드뮴은 뼈를 무르게 하고 폐암을 발생시킬 수 있다[4,5]. 망간(Manganese, Mn)은 간과 뇌에 축적되는데 성장 부진, 생식 능력 저하를 유발하기도 한다[6]. 따라서 환경에서 중금속 탐지와 모니터링을 하기 위해 고감도 센서가 필요하다[7].

기존 중금속 검출 방법으로는 원자 흡수 분광법(Atomic absorption spectroscopy, AAS), 유도 결합 플라즈마 원자 방출 분광법(Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, ICP-AES), 유도 결합 플라즈마 질량 분광법(Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, ICP-MS) 등이 있다[8-10]. 이 기술은 감도, 정확도, 특이성 등이 매우 높지만 분석 시간이 오래 걸리고 훈련된 전문 인력과 고가의 장비가 필요하다는 단점이 있다. 그러므로 개발 도상국이나 적절한 환경이 갖춰지지 않은 지역에서는 중금속 검출이 어렵기 때문에 간편하고 비용 효율적이며 휴대 가능한 분석 장치가 요구된다.

미세유체 종이 기반 분석 장치(microfluidic paper-based analytical device, μPAD)는 현장 현시 화학물질 검출과 질병 진단을 위한 기기로서의 요건에 잘 부합되는 기술로 주목을 받고 있다[11-13]. μPAD는 종이의 모세관 힘을 이용하여 유체를 흐르게 함으로써 추가적인 외부 장치 없이 구동이 가능하며, 휴대가 간편하고 전문 인력 없이 현장에서 즉각적으로 적용할 수 있다[14-16]. 또한, μPAD는 제조의 간편함, 낮은 비용, 사용 편리성 등의 장점으로 금속 이온을 현장에서 즉각적으로 검출하기 위해 사용되고 있다[17]. 지금까지 μPAD를 기반으로 중금속 이온을 검출하는 방법에는 비색 검출[18-20], 형광 검출[21], 전기화학적 검출[22]이 있다. 비색 변화 기반 μPAD는 현장에서 대상 물체를 신속하게 식별하고 정량화할 수 있는 직관적인 방법으로 철과 니켈 이온을 동시에 검출할 수 있는 μPAD가 개발되었다[18]. 또한 금 나노 입자 및 형광 물질은 면역 크로마토그래피 센서의 가장 일반적인 추적 물질로 종이 기반 센서에 적용하여 15분 만에 크롬(Cr^{3+})을 검출할 수 있다[21]. 이 금 나노 입자 기반 형광 센서는 낮은 배경 신호, 향상된 감도로 검출 신호가 분자 농도와 양에 대해 상관관계가 있음을 확인하였다. 더 나아가, μPAD의 화학 물질의 식별 및 정량화를 더욱 정교하게 하기 위해 휴대용 multimeter를 사용하여 소량의 샘플에서 다양한 화학 물질을 간단하고 신속하게 식별하고 정량화를 수행할 수 있는 종이 기반 정전식 센서(PCSs)를 개발하였다[22]. 개발된 PCSs는 중금속 이온의 정량적 검출을 가능하게 하였고, 이 접근법은 전기화학적 방법과 종이 기반 방법을 통합하여 검출 과정 중 대규모 장비의 필요성을 제거하였다.

종이 기반 분석 장치를 제작하기 위해서는 종이에 유체 흐름 채널을 형성하기 위한 소수성 장벽 제조와 간편한 분석 물질 감지 기술이 필요하다[23]. 첫번째로 종이 기반 분석 장치에서 검출영역까지 시약을 잘 전달하기 위해 친수성 종이에 소수성 장벽을 패터닝하여 원하는 친수성 채널을 형성하는 것이 필수적이다. 종이에 친수성 채널을 형성하기 위한 방법으로는 포토리소그래피(photo-lithography)[24], 잉크젯 인쇄[25,26], 왁스 프린팅[27,28], 플라즈마 처리[29], 종이 절단 및 성형[30,31], 스크린 인쇄[32,33], 레이저 처리[34] 등이 있다. 포토리소그래피는 고해상도 μPAD를 생성할 수 있지만 제작과정이 복잡하고 자외선(ultra violet, UV) 노출 및 유기 용매를 통한 세척 과정이 필요하므로 용지의 기계적 유연성이 손상될 수 있다. 또한, 왁스 프린팅 방법은 저렴한 비용과 손쉬운 제작, 적합한 해상도의 장점으로 가장 많이 사용되어 왔지만 왁스와 유기 용매와의 비호환성으로 세포 용해 분석이나 유기 용매를 이용하는 분야로의 적용이 제한된다[35,36]. 둘째로 간편한 분석 물질 감지 기술은 분석 장치의 성능에 중요한 요소이다. 주로 사용되는 감지 기술은 비색법[37-41], 화학 발광[42], 전기화학[43], 형광[44], 전기화학발광(Electrochemiluminescence, ECL)[45] 등이 있다. 비색 검출(colorimetric detection)은 특정 파장의 빛에 대한 흡광도를 기반으로 유색 화합물의 농도를 결정하는 데 가장 널리 사용되는 분석 방법으로써, 검출 구역에 형성된 유색 화합물을 육안으로 쉽게 관찰 가능하다. 따라서 비색 검출 방법은 간단한 조작으로 현장에서 표적 물질을 신속하게 검출할 수 있는 직관적인 방법을 제공한다.

본 논문에서는 양면 인쇄 방법을 적용하여 PDMS(polydimethylsiloxane)를 이용한 삼차원 미세유체 종이 기반 분석 장치(microfluidic paper-based analytical device, μPADs)를 제작하였고, 중금속 이온의 정량 검출을 수행하였다. 최적의 3D-μPAD 제작 조건을 찾기 위해 PDMS 용액의 시약 비율, 종이와의 접촉 시간, 스핀 코팅 속도 조절을 통해 각 조건에 따른 친수성 채널 면적과 소수성 장벽 면적을 확인하였다. 또한, 3차원의 채널 구조를 갖는 3D-μPAD 제작을 위해 양면 인쇄법을 이용하여 제작하였다. 제작된 3D-μPAD를 바탕으로 비색 검출 방법을 적용한 결과 여러 금속 이온을 농도에 따른 정량적 검출이 가능함을 증명하였다. 따라서 양면 인쇄 방식으로 패터닝이 수행된 3D-μPAD는 환경 물질 검출, 조기 진단 및 치료 분야에 다양하게 응용될 수 있다.

2. 실험 및 방법

2.1. 재료

μPAD 제작을 위해 크로마토그래피종이(Whatman 3MM chromatography)에 polydimethylsiloxane(PDMS, Sylgard 184, Dow corning, USA), hexane, silicone elastomer curing agent을 10:1.5:1 비율로 혼합하여 소수성 장벽을 형성하였다. 니켈 이온(Ni^{2+}), 구리 이온(Cu^{2+}), 수은 이온(Hg^{2+}) 검출을 위해 Dimethylglyoxime (DMG), potassium iodine(KI), michler's thioketone (MTK)과 $NiSO_4$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $HgCl_2$를 사용하였다. pH 검출을 위해 hexadecyltrimethylammonium bromide(CTAB)와 chlorophenol red, sodium hydroxide를 사용하였다. 모든 시약은 시그마 알드리치(sigma-aldrich, Nation)에서 구매하였다.

2.2. 3D-μPAD 제작

크로마토그래피 종이에 PDMS를 이용한 소수성 장벽 형성하기 위해 스핀 코팅 방법을 채택하였다. 원하는 친수성 채널 형성을 위해 AutoCAD 프로그램으로 디자인하여 레이저 기기(NOVA24, Thunder laser Laser Co., Ltd. USA)를 이용해 아크릴을 커팅하여 프레임을 제작하였다(Figure 1A). 스핀 코팅을 하기 위해 유리 슬라이드에 아크릴 프레임을 부착하였고, PDMS와 경화제를 10:1 비율로 혼합하여 준비한 아크릴 프레임 위에 분주 후 스핀 코팅을 이용하여 용액의 두께를 조절하였다(Figure 1B). 이 상태에서 유리 슬라이드에 부착된 아크릴 프레임을 분리함으로써 선택적인 소수성 장벽을 형성할 수 있다(Figure 1C). PDMS 용액이 존재하는 프레임을 제작된 틀에 끼워 종이와의 배열을 맞추고(Figure 1D), 위쪽에서 아크릴 플레이트로 압력을 주어(Figure 1E) 종이에 PDMS 용액을 패턴화 한다(Figure 1F). 패턴화된 PDMS 용액을 100°C hotplate 위로 3분동안 열 경화 시킴으로써 μPAD를 제작한다. 제작된 μPAD의 친수성 채널을 확인하기 위해 methylene blue 용액을 떨어트려 μPAD의 앞면과(Figure 1G) 뒷면(Figure 1H)의 패턴을 확인하였다. μPAD의 앞면에는 샘플 로딩 구역과 각 이온과 반응 시 발색을 나타내는 검출 구역이 있다. 뒷면에는 각 이온들과 반응하는 시약들을 고정시키는 4개의 저장소가 있고, 샘플 로딩 구역에서 검출 구역으로 샘플이 흐를 수 있는 친수성 채널이 존재한다.

2.3. 분석방법

PDMS 장벽 형성 조건에 따른 소수성 장벽의 변화를 확인하기 위해 제작된 μPAD에 methylene blue 용액을 흡수시켰다. 친수성 채널의 면적은 μPAD의 표면에서 파란색으로 염색된 면적을 측정하였고 소수성 장벽의 면적은 μPAD를 자른 단면에서 PDMS 용액이 종이에 침투한 면적을 측정하였다. 이미지 분석은 현미경(Stereo zoom microscope, Amscope, Nation)으로 촬영하였으며 이를 데이터화 시켜 ImageJ 프로그램으로 분석하였다. μPAD 기반의 비색 분석을 위한 검출 대상은 니켈 이온(Ni^{+2}), 구리 이온(Cu^{+2}), 수은 이온(Hg^{+2}), pH로 선정하여 수행하였다. 니켈 이온 검출을 위해 먼저 비색 시약인 에탄올에 용해된 DMG(10 mg ml^{-1})를 니켈 검출 구역에 2 μL 흡수시킨 후 95°C에서 30분간 건조시킨다. 구리 이온 검출을 위해 0.4 M KI를 2 μL 흡수시킨 후 실온에서 3시간동안 건조시킨다. 수은 이온 검출을 위해 아세톤에 용해된 MTK(10 mg mL^{-1})를 수은 검출 구역에 2 μL 흡수시킨 후 건조하여 준비한다. pH 검출 구역에는 3.17 mg chlorophenol red와 0.1 M NaOH, 10.93 mg CTAB 혼합 용액을 pH 검출 구역에 2 μL 흡수시킨 후 건조하여 준비한다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 단면인쇄법을 이용한 μPAD 제작

모든 친수성 채널과 소수성장벽의 면적은 제작된 μPAD에 methylene blue 용액을 떨어트려 정확한 측정이 가능하였다. Figure 2A에서 사용된 프레임은 친수성 채널 간의 간격이 3 mm로 설계되었고, 파란색으로 염색된 친수성 채널 사이에 소수성 장벽이 형성된 것을 확인할 수 있다. 접촉 시간에 따른 소수성 장벽 형성을 관찰하기 위해 μPAD의 단면을 확인한 결과 5분부터 용액이 흐를 수 없는 완전한 소수성 장벽이 형성된 것을 확인하였다(Figure 2B). 종이에 패터닝되는 소수성 장벽은 스핀 코팅 및 접촉 시간 등에 의해 조절될 수 있으므로, μPAD

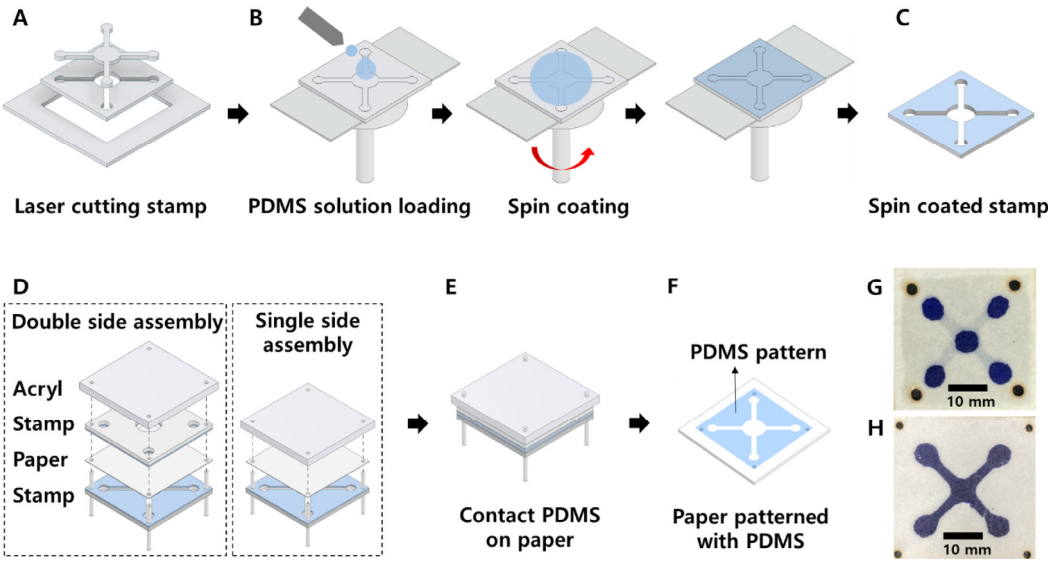

Figure 1. Schematic diagram of μPAD fabrication in the chromography paper by double-sided imprinting method. (A) Fabrication of acryl frame using laser cutting machine. (B) Loading PDMS solution onto the frame and spin coating for formation of thin PDMS layer. (C) Disassembly of PDMS spin-coated stamp. (D-E) Assembly between paper and PDMS coated stamps for double-sided contact printing. (F) Formation of hydrophobic barrier after disassembly of paper and stamps. (G) Photograph for (G) front side and (H) back side of PDMS patterned μPAD. Channel width is 1.5 mm.

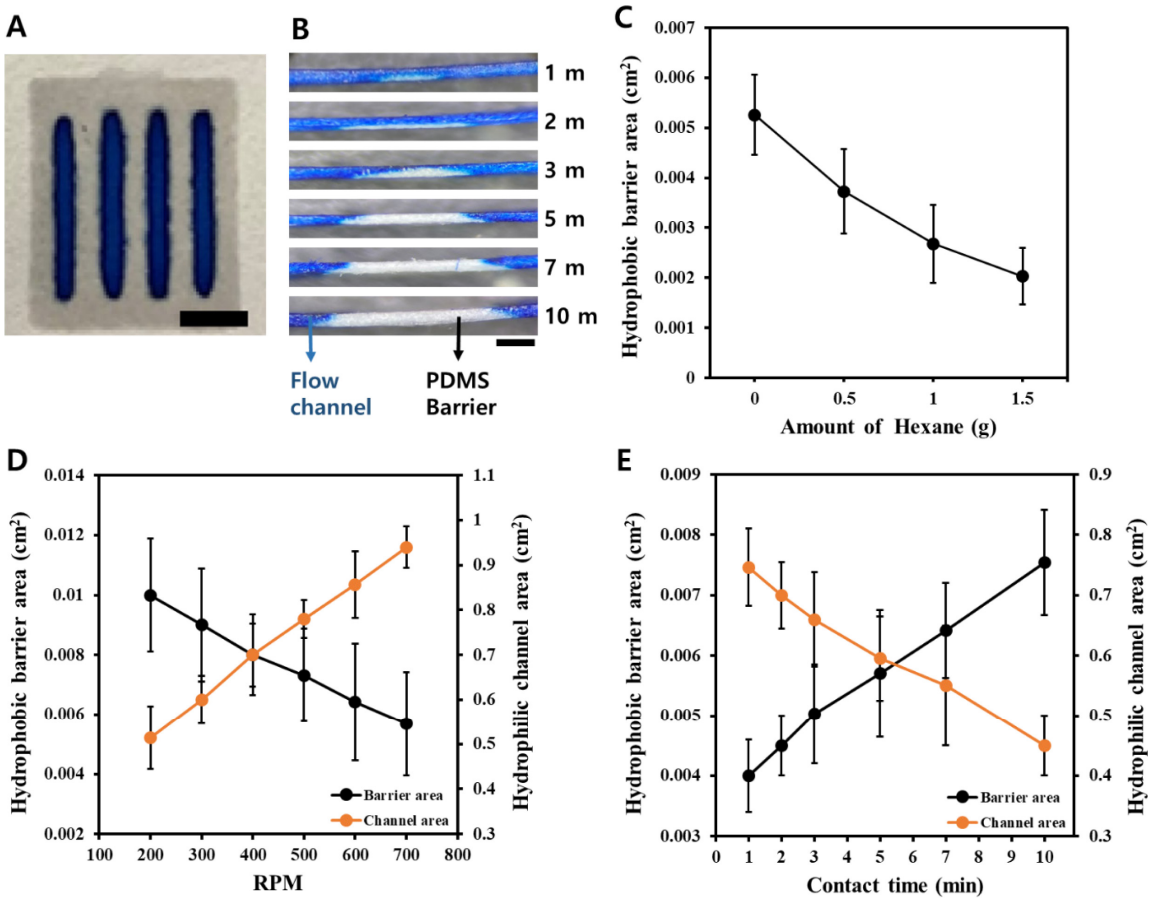

Figure 2. Optimization of μPAD fabrication by single-sided imprinting. (A) Top views of the PDMS patterned paper (400 RPM and 10 min contact time). No PDMS patterned regions stained with blue dye, indicating the hydrophilic channels. No staining region indicates the PDMS hydrophobic barriers. Scale bar indicates 10 mm. (B) Cross-sectional views of the patterned PDMS within the paper as different contact time (5 g hexane and 400 RPM). Scale bar indicates 1 mm. (C) Effect of the amount of hexane on formation of hydrophobic barrier area. (D) Quantitative results for hydrophilic channel area and hydrophobic barrier area in the paper as different RPM (1.5 g hexane and 2 min contact time). (E) Quantitative results for hydrophilic channel area and hydrophobic barrier area in the paper as different contact (1.5 g hexane and 400 RPM).

제작을 최적화 하기 위해 3가지 조건들을 조절하여 소수성 장벽과 친수성 채널의 면적을 확인하였다. 첫째로 스핀 코팅 되는 용액의 점도 변화에 따른 패턴 형성 경향을 확인하기 위해 hexane 양을 조절하여 PDMS 용액의 점도를 조절하였다. 스핀 코팅 조건은 RPM 500, 접촉 시간 1 분으로 고정하고 hexane 양을 0, 0.5, 1, 1.5 g으로 설정하였을 때 각각 종이 내에 형성되는 소수성 장벽의 면적을 측정하였다(Figure 2C). Hexane 양이 증가할수록 소수성 장벽의 면적은 줄었으며, hexane 1.5 g일 때 형성되는 장벽 크기의 균일성이 가장 높으므로 μPAD 제작을 위한 hexane 양을 1.5 g으로 선택하였다. 둘째로 RPM을 조절하여 스핀 코팅 후 아크릴 프레임 위에 남아있는 PDMS 두께를 조절하였다. Hexane 양 1.5 g, 접촉 시간 2 분으로 고정하고 RPM을 200부터 700까지 조절한 결과 RPM이 증가할수록 코팅되는 PDMS 용액의 두께가 얇아져 소수성 장벽을 형성할 수 있는 용액이 감소하므로 더 좁은 면적의 소수성 장벽이 관찰되었고, 용액이 흐를 수 있는 친수성 채널의 면적은 증가하는 것을 확인하였다(Figure 2D). 마지막으로 접촉 시간 조절을 통해 PDMS 용액이 종이에 침투되어 소수성 장벽을 형성할 수 있는 최적의 시간을 확인하였다. Hexane 양 1.5 g, RPM 400으로 고정한 후 접촉 시간을 1분부터 10분까지 조절하였을 때 소수성 장벽과 친수성 채널의 면적을 확인하였다(Figure 2E). 접촉 시간이 증가할 수록 PDMS 용액의 종이 침투율이 증가하므로 더 큰 면적의 소수성 장벽을 관찰하였고, 친수성 채널 면적은 줄어드는 것을 확인하였다.

3.2. 양면인쇄법을 이용한 3D-μPAD 제작

단면인쇄법은 인쇄 용액이 종이 접촉 지점으로부터 단방향으로 퍼지는 수직 수평흐름으로 인해 종이의 앞면과 뒷면에 형성된 장벽의 크기가 다르게 형성되어 해상도가 떨어진다는 단점이 있다. 반면, 양면 인쇄법은 종이의 양쪽 면에서 용액을 인쇄하여 소수성 채널의 해상도를 높일 수 있을 뿐만 아니라 제작 시간을 단축시킬 수 있다. 또한, 종이의 양쪽 면에 다른 패턴을 인쇄하여 다양한 형태의 3차원 패턴을 형성할 수 있다는 장점이 있다. Figure 3에서는 친수성 채널 간의 간격이 1.5 mm로 설계된 프레임으로 양면 인쇄법을 이용하여 프레임을 종이의 양쪽에 동시에 정렬시켜 3차원 소수성 장벽을 형성하였으며,

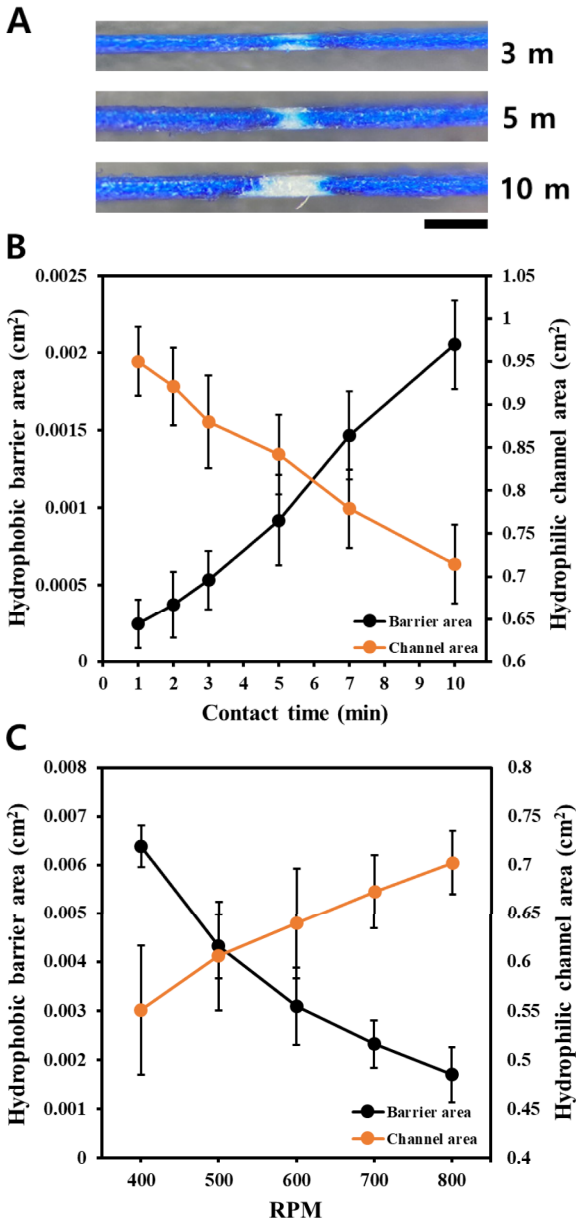

Figure 3. Optimization of μPAD fabrication by double-sided imprinting. (A) Cross-sectional views of the patterned PDMS within the paper as different contact time (1.5 g hexane and 700 RPM). Scale bar indicates 1 mm. (B) Quantitative results for hydrophobic barrier area and hydrophilic channel area in the paper as different contact time (1.5 g hexane and 700 RPM). (C) Quantitative results for hydrophobic barrier area and hydrophilic channel area in the paper as different RPM (1.5 g hexane and 5 min contact).

접촉 시간과 스핀 코팅 RPM에 따른 패턴의 크기 변화를 분석하였다. 먼저 접촉 시간에 따른 소수성 장벽 면적을 확인하기 위해 친수성 부분에 메틸렌블루 용액을 종이에 흡수시켜 종이의 측면을 관찰하였다(Figure 3A). 그 결과 접촉 시간 3 분부터 유속의 흐름을 조절할 수 있는 3차원 장벽이 형성되기 시작하였고 5분 이후부터는 소수성 장벽이 종이 내부 전체에 형성되어 유체가 통과되지 않는 것을 통해 시료 샘플의 흐름을 막는 완전한 소수성 장벽이 형성되었을 확인하였다. 이 결과를 정량적으로 분석하여 종이의 내부에 형성된 소수성 장벽의 면적과 친수성 채널 면적을 접촉 시간에 따라 나타내었다(Figure 3B). 그 결과 접촉 시간이 증가할수록 PDMS 용액의 침투율이 증가하므로 소수성 장벽 면적은 점차 증가되는 경향을 보였고, 반면 소수성 장벽 면적이 증가할수록 친수성 채널 면적은 감소하는 것을 확인하였다. 다음으로 PDMS 용액의 두께에 따라 종이에 패터닝 되는 소수성 장벽과 친수성 채널의 면적을 확인하기 위해 스핀 코팅 RPM을 제어한 결과 RPM이 증가할수록 PDMS 용액의 두께가 줄어 형성되는 소수성 장벽 면적이 감소하는 경향을 보였고, 친수성 채널 면적은 증가하는 것을 확인하였다 (Figure 3C). 이러한 결과를 통해 접촉 시간과 RPM을 조절하여 단일 패드 내에서 3차원 구조 형성이 가능함을 증명하였다. 본 연구에서는 3차원 구조를 형성하면서 친수성 채널을 제외한 부분에 완전한 소수성 장벽 형성을 위해 RPM 600, 접촉 시간 5분으로 중금속 이온 검출을 위한 3D-μPAD를 제작하였다.

3.3. 3D-μPAD를 이용한 중금속 이온 검출

중금속 이온 검출을 위해 제작된 3D-μPAD의 앞쪽 면에는 4개의 검출 구역과 1개의 용액 로딩 구역이 있고 반대 면에는 용액이 흐를 수 있는 채널이 있어 가운데 용액 로딩 구역에 샘플을 첨가하면 모세관 현상으로 인해 유체가 검출구역으로 이동하게 된다(Figure 4A). 최적화된 조건으로 제작된 3D-μPAD의 검출 능력을 확인하기 위해 3가지 종류의 금속 이온과 pH 검출을 수행하였다. 4개의 검출 구역에 검출하고자 하는 이온과 반응할 수 있는 비색 시약이 고정되어 있으며, 샘플 용액이 채널을 따라 검출 구역에 도달하면 비색 시약과 화학적 반응한 후 색 변화로 인해 특별한 분석 기기 없이 검출이 가능하다. 검출하고자 하는 이온의 농도는 니켈 100~2000 μg mL^{-1}, 구리 100~10000 μg mL^{-1}, 수은 1~500 μg mL^{-1}, pH 3~11 범위에서 실험을 진행하였다. 모든 실험은 샘플 용액을 첨가한 후 10분 후에 촬영된 사진으로 분석하였다. Figure 4B는 가장 고농도인 니켈 2000 μg mL^{-1}, 구리 10000 μg mL^{-1}, 수은 500 μg mL^{-1}, pH 11의 농도범위에서 실험한 비색 결과를 보여준다. 니켈은 진한핑크색을 나타냈고 구리는 진한 갈색, 수은에서는 진한노란색을 나타내었다. Figure 4C는 니켈 500 μg mL^{-1}, 구리 3000 μg mL^{-1}, 수은 120 μg mL^{-1}, pH 11의 농도범위에서 수행하였고, Figure 4D는 니켈 100 μg mL^{-1}, 구리 100 μg mL^{-1}, 수은 1 μg mL^{-1}, pH 11의 농도범위에서 수행하였다. 그 결과 각 이온의 농도가 낮아질수록 발색 강도가 낮아지는 것을 확인하였다. 3D-μPAD를 이용하여 금속 이온과 pH를 검출한 결과를 정량화 하기 위해 각 농도에 따른 grayscale를 측정하였다. 먼저 니켈이온농도 100~2000 μg mL^{-1} 범위에서 실험한 결과, 농도가 증가할수록 비색 시약과 반응하는 이온이 많아져 발색 강도가 커지므로 회색 이미지로 변환하여 측정한 grayscale은 감소하는 경향을 나타내었다(Figure 4E). 구리이온농도 100~10000 μg mL^{-1} 범위에서도 비슷한 경향을 확인하였고(Figure 4F), 수은이온농도 1~500 μg mL^{-1} 범위에서도 농도가 증가할수록 grayscale이 감소하는 것을 확인하였다(Figure 4G). pH 3~11 범위에서 실험한 결과 pH가

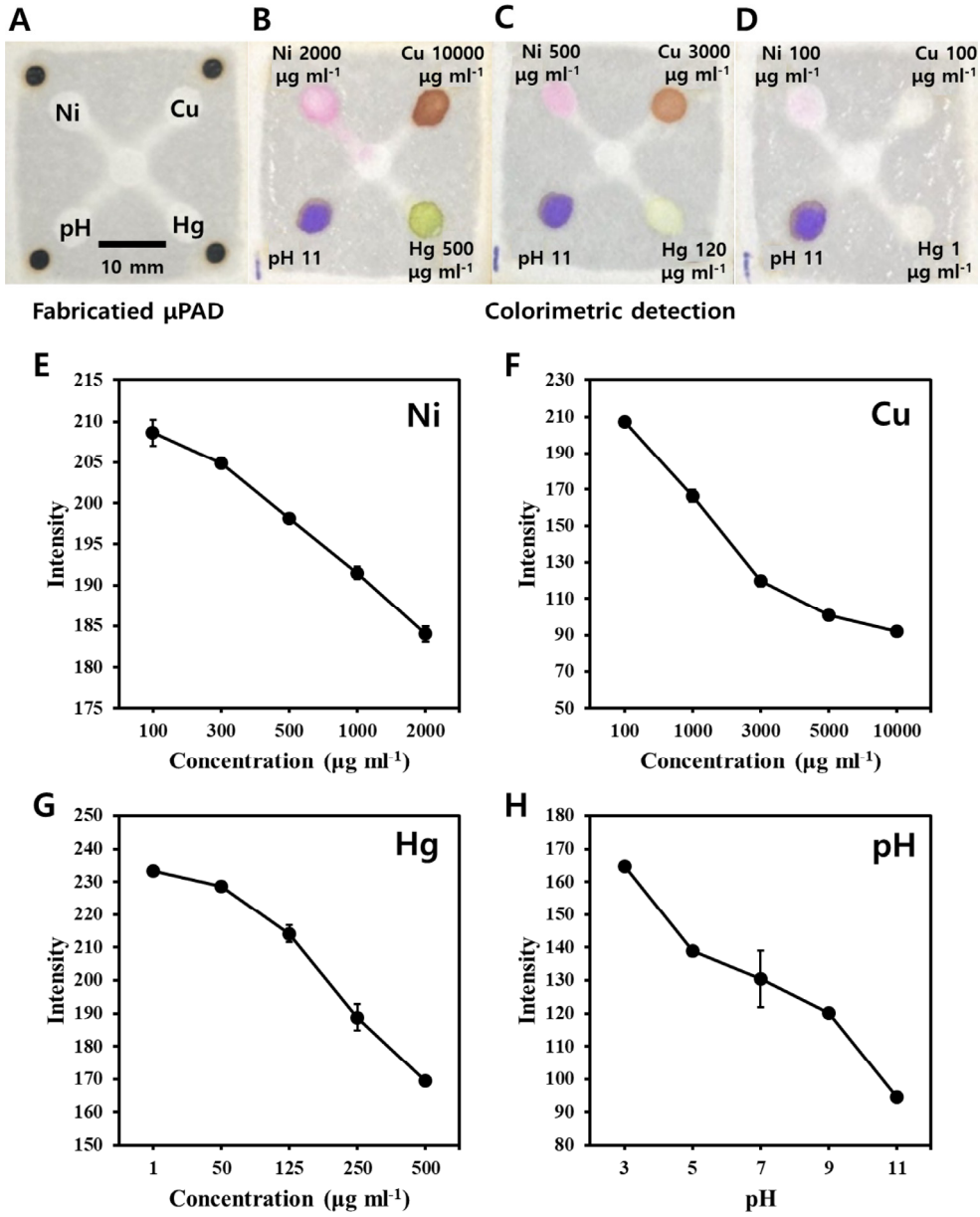

Figure 4. Colorimetric detection of various metal ions (A) Top view of fabricatied μPAD with metal ion detection zone (B) Optical images showing the colorimetric detection of metal ion at different concentration for 2000 μg mL^{-1} Ni, 10000 μg mL^{-1} Cu, 500 μg mL^{-1} Hg, pH 11, (C) 500 μg mL^{-1} Ni, 3000 μg mL^{-1} Cu, 120 μg mL^{-1} Hg, pH 11, (D) 100 μg mL^{-1} Ni, 100 μg mL^{-1} Cu, 1 μg mL^{-1} Hg, pH 11. (E-H) Quantitative results for intensity of grayscale as different concentrations ; Ni, Cu, Hg, pH, respectively.

클수록 진한 보라색을 나타내어 grayscale은 감소하는 것을 확인하였다(Figure 4H). 따라서, 본 연구에서 제작한 3D-μPAD를 이용해 중금속 이온의 검출이 가능함을 증명하였으며, 기존 연구의 보고에 따르면 비색법에서 각 중금속의 검출 한계(Limit of detection, LOD) 농도는 Ni^{2+}= 0.24 μg/mL, Cu^{2+} = 0.00035 μg/mL, Hg^{2+} = 0.19 μg/mL이며, 본 연구에서 제작된 3D-μPAD에서 중금속 이온 농도는 보고된 검출 한계 농도까지 검출이 가능할 것으로 예상된다[46].

4. 결 론

본 연구에서는 고해상도의 3차원의 채널을 갖는 종이 기반 미세유체 분석 장치 제작을 위해 양면인쇄 방법을 개발하였으며, 완전한 소수성 장벽 형성을 위한 조건들을 최적화하였다. 양면 인쇄를 위해 레이저 커팅을 통해 정교한 스탬프를 제작하였으며, 이를 이용해 PDMS 소수성 장벽을 형성하였다. 장벽의 형성은 PDMS 인쇄 용액의 스핀 코팅 조건, hexane 용매의 양, 접촉 시간을 조절하여 최적의 조건을 확인한 결과, hexane 용매 1.5 μg, RPM 600, 접촉 시간 5분에서 가장 안정적인 소수성 장벽을 형성하였다. 제작된 3D-μPAD를 이용하여 농도에 따른 금속 이온의 비색 검출을 수행한 결과 농도가 증가할수록 발색 정도가 커지는 것을 정량화를 하였다. 상기의 최적화된 방법을 바탕으로 3D-μPAD를 제작하여 특별한 분석 기기 없이 금속 이온의 비색 검출이 가능함을 증명하였다. 따라서, 본 연구를

통해 제작한 3D-μPAD를 이용하여 환경 물질 검출, 진단 및 치료 분야에 다양하게 응용될 것으로 기대한다.

감 사

이 논문은 과학기술정보통신부의 재원으로 한국 연구재단-신진연구지원사업(No. NRF-2020R1C1C1005505)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Li, M., R. Cao, A. Nilghaz, L. Guan, X. Zhang, and W. Shen. ""Periodic-table-style" paper device for monitoring heavy metals in water," *Anal. Chem.*, **87**(5), 2555-2559 (2015).
2. Boyd, R. S., "Heavy metal pollutants and chemical ecology: exploring new frontiers," *J. Chem. Ecol.*, **36**(1), 46-58 (2010).
3. Johri, N., G. Jacquillet, and R. Unwin. "Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney," *Biometals.*, **23**(5), 783-792 (2010).
4. Sanders, T., Y. Liu, V. Buchner, and P.B. Tchounwou. "Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review," *Rev. Environ. Health.*, **24**(1), 15-45 (2009).
5. Lopez Marzo, A. M., J. Pons, D. A. Blake, and A. Merkoçi. "All-integrated and highly sensitive paper based device with sample treatment platform for Cd^{2+} immunodetection in drinking/tap waters," *Anal. Chem.*, **85**(7), 3532-3538 (2013).
6. Normandin, L. and A. S. Hazell. "Manganese neurotoxicity: an update of pathophysiologic mechanisms," *Metab. Brain Dis.*, **17**(4), 375-387 (2002).
7. Hossain, S. M. and J. D. Brennan. "β-Galactosidase-based colorimetric paper sensor for determination of heavy metals," *Anal. Chem.*, **83**(22), 8772-8778 (2011).
8. Lemos, V. A. and A. L. de Carvalho. "Determination of cadmium and lead in human biological samples by spectrometric techniques: a review," *Environ. Monit. Assess.*, **171**(1-4), 255-265 (2010).
9. Butcher, D. J., "Advances in inductively coupled plasma optical emission spectrometry for environmental analysis," *Instrum Sci. Technol.*, **38**(6), 458-469 (2010).
10. Feldmann, J., P. Salaün, and E. Lombi. "Critical review perspective: elemental speciation analysis methods in environmental chemistry-moving towards methodological integration," *Environ. Chem. Lett.*, **6**(4), 275-289 (2009).
11. Martinez, A. W., S. T. Phillips, G. M. Whitesides, and E. Carrilho. "Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices," *Anal. Chem.*, **82**, 3-10 (2010).
12. Yamada, K., T. G. Henares, K. Suzuki, and D. Citterio. "Paper based inkjet printed microfluidic analytical devices," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**(18), 5294-5310 (2015).
13. Yamada, K., H. Shibata, K. Suzuki, and D. Citterio. "Toward practical application of paper-based microfluidics for medical diagnostics: state-of-the-art and challenges," *Lab Chip.*, **17**(7), 1206-1249 (2017).
14. Martinez, A. W., S. T. Phillips, M. J. Butte, and G. M. Whitesides. "Patterned paper as a platform for inexpensive, low volume, portable bioassays," *Angew. Chem.*, **119**(8), 1340-1342 (2007).
15. Kim, D. H., S. G. Jeong, and C. S. Lee. "Angular-based Measurement for Quantitative assay of Albumin in three-dimensional Paper-based analytical Device," *Korean Chem. Eng. Res.*, **58**(2), 286-292 (2020).
16. Jeong, H.-H. and C. Park. "Fabrication of Paper-based Biosensor Chip Using Polydimethylsiloxane Blade Coating Method," *Korean Chem. Eng. Res.*, **59**(1), 100-105 (2021).
17. Li, F., Y. Hu, Z. Li, J. Liu, L. Guo, and J. He. "Three-dimensional microfluidic paper-based device for multiplexed colorimetric detection of six metal ions combined with use of a smartphone," *Anal. Bioanal. Chem.*, **411**(24), 6497-6508 (2019).
18. Xu, W., X. Chen, S. Cai, J. Chen, Z. Xu, H. Jia, and J. Chen. "Superhydrophobic titania nanoparticles for fabrication of paper-based analytical devices: An example of heavy metals assays," *Talanta.*, **181**, 333-339 (2018).
19. Sadollahkhani, A., A. Hatamie, O. Nur, M. Willander, B. Zargar, and I. Kazeminezhad. "Colorimetric disposable paper coated with ZnO@ ZnS core‐shell nanoparticles for detection of copper ions in aqueous solutions," *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **6**(20), 17694-17701 (2014).
20. Li, J.-j., C.-h. Ji, C.-j. Hou, D.-q. Huo, S.-y. Zhang, X.-g. Luo, M. Yang, H.-b. Fa, and B. Deng. "High efficient adsorption and colorimetric detection of trace copper ions with a functional filter paper," *Sens. Actuators B Chem.*, **223**, 853-860 (2016).
21. Fu, Q., Y. Tang, C. Shi, X. Zhang, J. Xiang, and X. Liu. "A novel fluorescence-quenching immunochromatographic sensor for detection of the heavy metal chromium," *Biosens. Bioelectron.*, **49**, 399-402 (2013).
22. Hu, J., C.-H.T. Yew, X. Chen, S. Feng, Q. Yang, S. Wang, W.-H. Wee, B. Pingguan-Murphy, T.J. Lu, and F. Xu. "based capacitive sensors for identification and quantification of chemicals at the point of care," *Talanta.*, **165**, 419-428 (2017).
23. Chiang, C.-K., A. Kurniawan, C.-Y. Kao, and M.-J. Wang. "Single step and mask-free 3D wax printing of microfluidic paper-based analytical devices for glucose and nitrite assays," *Talanta.*, **194**, 837-845 (2019).
24. Martinez, A.W., S.T. Phillips, B.J. Wiley, M. Gupta, and G.M. Whitesides. "FLASH: a rapid method for prototyping paper-based microfluidic devices," *Lab Chip.*, **8**(12), 2146-2150 (2008).
25. Yu, W.W. and I.M. White. "Inkjet printed surface enhanced Raman spectroscopy array on cellulose paper," *Anal. Chem.*, **82**(23), 9626-9630 (2010).
26. Xu, C., L. Cai, M. Zhong, and S. Zheng. "Low-cost and rapid prototyping of microfluidic paper-based analytical devices by

inkjet printing of permanent marker ink," *RSC Adv.*, **5**(7), 4770-4773 (2015).
27. Lu, Y., W. Shi, J. Qin, and B. Lin. "Fabrication and characterization of paper-based microfluidics prepared in nitrocellulose membrane by wax printing," *Anal. Chem.*, **82**(1), 329-335 (2010).
28. Cai, L., Y. Wu, C. Xu, and Z. Chen. "A simple paper-based microfluidic device for the determination of the total amino acid content in a tea leaf extract," *J. Chem. Educ.*, **90**(2), 232-234 (2013).
29. Li, X., J. Tian, T. Nguyen, and W. Shen. "Paper-based microfluidic devices by plasma treatment," *Anal. Chem.*, **80**(23), 9131-9134 (2008).
30. Fenton, E. M., M.R. Mascarenas, G. P. López, and S. S. Sibbett. "Multiplex lateral-flow test strips fabricated by two-dimensional shaping," *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **1**(1), 124-129 (2009).
31. Fu, E., P. Kauffman, B. Lutz, and P. Yager. "Chemical signal amplification in two-dimensional paper networks," *Sens. Actuators B Chem.*, **149**(1), 325-328 (2010).
32. Dungchai, W., O. Chailapakul, and C. S. Henry. "A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing," *Analyst.*, **136**(1), 77-82 (2011).
33. Sun, J.-Y., C.-M. Cheng, and Y.-C. Liao. "Screen printed paper-based diagnostic devices with polymeric inks," *Anal. Sci.*, **31**(3), 145-151 (2015).
34. Chitnis, G., Z. Ding, C.-L. Chang, C. A. Savran, and B. Ziaie. "Laser-treated hydrophobic paper: an inexpensive microfluidic platform," *Lab Chip.*, **11**(6), 1161-1165 (2011).
35. Chen, B., P. Kwong, and M. Gupta. "Patterned fluoropolymer barriers for containment of organic solvents within paper-based microfluidic devices," *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **5**(23), 12701-12707 (2013).
36. Dornelas, K. L., N. Dossi, and E. Piccin. "A simple method for patterning poly (dimethylsiloxane) barriers in paper using contact-printing with low-cost rubber stamps," *Analytica chimica acta.*, **858**, 82-90 (2015).
37. Jahanshahi-Anbuhi, S., A. Henry, V. Leung, C. Sicard, K. Pennings, R. Pelton, J. D. Brennan, and C. D. Filipe. "Paper-based microfluidics with an erodible polymeric bridge giving controlled release and timed flow shutoff," *Lab Chip.*, **14**(1), 229-236 (2014).
38. Jahanshahi-Anbuhi, S., P. Chavan, C. Sicard, V. Leung, S.Z. Hossain, R. Pelton, J. D. Brennan, and C. D. Filipe. "Creating fast flow channels in paper fluidic devices to control timing of sequential reactions," *Lab Chip.*, **12**(23), 5079-5085 (2012).
39. Renault, C., X. Li, S.E. Fosdick, and R.M. Crooks. "Hollow-channel paper analytical devices," *Anal. Chem.*, **85**(16), 7976-7979 (2013).
40. Giokas, D. L., G. Z. Tsogas, and A. G. Vlessidis. "Programming fluid transport in paper-based microfluidic devices using razor-crafted open channels," *Anal. Chem.*, **86**(13), 6202-6207 (2014).
41. Verma, M. S., M.-N. Tsaloglou, T. Sisley, D. Christodouleas, A. Chen, J. Milette, and G.M. Whitesides. "Sliding-strip microfluidic device enables ELISA on paper," *Biosens. Bioelectron.*, **99**, 77-84 (2018).
42. Liu, F. and C. Zhang. "A novel paper-based microfluidic enhanced chemiluminescence biosensor for facile, reliable and highly-sensitive gene detection of Listeria monocytogenes," *Sens. Actuators B Chem.*, **209**, 399-406 (2015).
43. Renault, C., M. J. Anderson, and R. M. Crooks. "Electrochemistry in hollow-channel paper analytical devices," *J. Am. Chem. Soc.*, **136**(12), 4616-4623 (2014).
44. Qi, J., B. Li, X. Wang, L. Fu, L. Luo, and L. Chen. "Rotational paper-based microfluidic-chip device for multiplexed and simultaneous fluorescence detection of phenolic pollutants based on a molecular-imprinting technique," *Anal. Chem.*, **90**(20), 11827-11834 (2018).
45. Wu, L., C. Ma, X. Zheng, H. Liu, and J. Yu. "Paper-based electrochemiluminescence origami device for protein detection using assembled cascade DNA-carbon dots nanotags based on rolling circle amplification," *Biosens. Bioelectron.*, **68**, 413-420 (2015).
46. Devadhasan, J. P. and J. Kim. "A chemically functionalized paper-based microfluidic platform for multiplex heavy metal detection," *Sens. Actuators B Chem.*, **273**, 18-24 (2018).