

819034-02

IoT 기반 현장형 농약 신속 검출 시스템

2021

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
농식품연구성과후속지원사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003438-01

IoT 기반 현장형 농약 신속 검출 시스템

2021. 04. 09.

주관연구기관 / 압티지엠제이 주식회사

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “ IoT 기반 현장형 농약 신속 검출 시스템” (개발기간 : 2021. 09. ~ 2020.12)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021.04.09

주관연구기관명 : 압티지엠제이 주식회사 (대표자) 문효영



주관연구책임자 : 문 효 영

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	819034-02	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.09.01.~ 2020.12.31	단 계 구 분	2/2
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품연구성과 후속지원사업 바우처지원사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	IoT 기반 현장형 농약 검출 시스템			
연구 책임자	문 ○ ○	해당단계 참여연구원 수	총: 6 명 내부: 2 명 외부: 4 명	해당단계 연구개발비	정부: 75,000천원 민간: 25,000천원 계:100,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 6명 내부: 2 명 외부: 4 명	총 연구개발비	정부: 150,000천원 민간: 50,000천원 계:100,000천원
연구기관명 및 소속 부서 명	압티지엠제이 주식회사 연구개발 1부				
국제공동연구	해당사항없음				
위 탁 연 구	연구기관명: 경상대학교 산학협력단 식품공학과			연구책임자: 심○○	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유					

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	1	1	1								

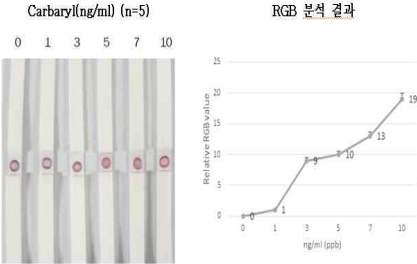
국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ (배경) - 잔류 농약 및 농약 살포 환경 내 급성 농약 중독으로 인한 문제 발생 <ul style="list-style-type: none"> - PLS 법 강화로 인한 농산물 내 잔류 농약으로 인한 농가의 수익 문제 발생 가능성 대두 ○ (목적) 농산물 내 잔류 농약의 신속한 검출로 인한 농산물 위험도 감소 및 농약 살포 환경 내 급성 농약 중독 방지책 수립 ○ (내용) 현장에서 이용자의 편의성이 높은 농약 현장 검출 시스템 개발 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 핵심 연구 성과로는 농약을 임신진단키트와 유사한 형태로 현장에서 손쉽게 검사 할 수 있는 플랫폼 개발 ○ 현장에서 시료 채취 후 채취 시료를 기반으로 하여 농약을 추출, 추출된 농약 오염물을 적용 검출에 소요되는 시간이 15분 이내임 ○ 기존에 방법이 최소 30분 정도 소요되었던 것에 비해 50%의 시간 절감 효과 확보 ○ 기존의 제품군이 수입제품이 대다수였으며 비교적 고가(7000원/test)임에 반해 본 개발 제품의 경우 1000원/test로도 수익성을 확보 할 수 있으며 저가형임으로 농가에 보급이 용이할 것으로 보임 ○ 특허 1건 출원 (10-2020-0185429) 및 1건의 관련 논문 확보 ○ 주관 기업이 해당 기술의 파생 형 제품을 별도 개발하여 매출 확보 (3천 5백 4십만원) <div style="text-align: center;">  <p>Carbaryl(ng/ml) (n=5)</p> <p>RGB 분석 결과</p> <p>대표성과물</p> </div>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 주요하게는 해당 제품의 경우 농약에 노출된 사람 혹은 동물에서의 검사도 가능한 시스템으로 개발된 것이며 이는 농약 살포시 노출되는 농민의 건강의 관리에 사용 될 수 있을 뿐 아니라 농약 음독사고 및 농약과 유사한 구조를 기반으로 하는 사린 가스 혹은 VX 같은 생화학무기에 대한 대처도 신속하게 할 수 있는 제품으로의 확장성을 가지고 있음 ○ 또한, 급식소 등 대량으로 농산물을 사용하는 곳에서는 잔류 농약 검사를 손쉽게 수행할 수 있게 됨으로서 보다 안전한 먹거리를 커가는 아이들에게 제공 할 수 있음 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>농약</p>	<p>현장검사</p>	<p>신속검사</p>	<p>사용자편의성</p>	<p>측방유동</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>Pesticide</p>	<p>POCT</p>	<p>Rapid</p>	<p>user-friendly</p>	<p>LFA</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	
2. 연구수행 내용 및 결과	
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	
4. 연구결과의 활용 계획 등	
붙임. 참고 문헌	

1. 연구개발과제의 개요

1. 개발기술 개요 및 필요성

○ 농약의 위험성

- 농약은 인류가 농업을 시작하면서부터 농작물 병해충으로부터 보호하기 위한 노력의 과정에서 발달 되었음.
- 19 세기 후반에 살충효과가 있는 피레트린이라는 물질이 함유된 제국충 (Insect flower)을 이용하여 벌레를 쫓는 것이 현재 사용하는 농약의 시작임

표. 농업의 발전에 따른 다양한 농약 발전

시기	농약의 발달
기원전	황, 소금, 재, 식물 가루, 기름
18세기까지	비소, 미네랄 오일, 제충국, 담배, 비누, 원유
19세기	살충제: 무기 석회유황합제, 비산납 성분 살충제, rotenone, Paris Green (비소와 구리 성분의 살충제) 살균제: 보르도(Bordeaux)액, 시안화수소 훈증소독제,
1930년대까지	비산칼슘 살충제 훈증제 (methyl bromide, ethylene oxide)
1940년대	유기염소계 살충제 (DDT, chlordane, BHC, toxaphene, aldrin, dieldrin, endrin, heptachlor)유기인계 살충제 (parathion, TEPP 등) 디카복시마이드계 살균제 (captan)디치오카바메이트계 살균제 (zineb)페녹시계 제초제 (2,4-D, 2,4,5-T)
1950-60년대	제초제 (paraquat, atazine, alachlor), 살충제 (cabaryl) 살균제 (benomyl)
1970-80년대	제초제 (glyphosate, sulfonyleureas-요소계) 합성 피레트로이드계 살충제 생물농약 살충제 (Bt ^c)
1990년대	살충제 (fipronil, imidacloprid-니코티노이드계) 다양한 생물농약 개발

- 오늘날 일반적으로 사용하는 농약으로서 인식되는 유기합성농약들은 1930년대 후반 부터 볼 수 있음.
- 이후 다양한 형태의 농약들이 개발 사용되었으나 생태계 및 인간에게 미치는 영향이 사회적 문제로 대두되면서 일부 농약들은 사용 및 제조가 금지되었음.
- 금지된 사유는 고독성으로 인한 급성농약중독, 만성농약중독 등으로 두통, 무력증, 구토 등의 증세가 나타나다가 심지어 심한 경우 사망에 이르게 하기 때문임.
- 또한, 농약과 구조적으로 유사한 형태의 일부 물질의 경우에는 대량살상무기(WMD)에 속하는 사린가스, VX 가스 같은 것들이 속해있음.
- 농약으로 인한 중독에 대한 건강보험급여자료를 이용하여 농약 중독 환자에 대한 직

접의료비, 간접의료비, 간접경비 등에 대하여 조사한 결과, 2009년 발생한 급속 농약 중독 환자는 11,453명이고 이 중 1,311명이 사망하였음.(치명률 11.4%) · 급성농약중독으로 인한 총 비용은 약 1,908억원으로 추계하였으며, 이 중 직접의료비용은 약 161억원(8.5%), 직접 비의료비용은 약 18억원, 간접비용은 약 1,729억원(90.6%)을 차지하였다. 모든 비용항목 중 가장 비중이 큰 것은 조기사망으로 인한 생산성 손실로서 약 1,690억원 (88.6%) 이었음.

표. 농약 출하량에 따른 ha당 농약 사용량 추정(출하량 기준)

(단위 : 천ha, kg)

	전		는	
	면 적	사 용 량	면 적	사 용 량
79	2.909	5.0	1.233	5.2
80	2.765	5.8	1.233	5.2
85	2.592	7.0	1.237	5.7
90	2.409	10.4	1.244	6.8
95	2.197	11.8	1.056	4.6
99	2.116	12.2	1.066	6.8
00	2.098	12.4	1.072	5.9
01	2.089	13.5	1.083	6.2
02	2.020	12.8	1.053	5.5
03	1.936	12.7	1.016	4.8
04	1.941	13.1	1.001	5.0
05	1.921	12.8	980	4.7
06	1.860	12.9	955	4.7
07	1.856	13.1	950	4.5
08	1.834	13.8	936	4.3
09	1.873	12.2	924	3.9
10	1.820	11.2	892	3.4
11	1.797	10.6	854	3.0
12	1.767	9.9	847	2.8
13	1.749	10.9	832	2.7
14	1.754	11.3	815	2.8
15	1.681	11.6	799	2.5

자료 : 식량정책관 농기자재정책팀(한국작물보호협회)

- 물론 현재는 각급 기관에서 독성이 강한 농약에 보관 및 관리 실태에 대한 조사를 강화하여 농약에 대한 사고 비율이 낮아지고는 있고 친환경 농법의 발달로 인해 농약에 대한 사용 빈도를 낮추는 과정 중에 있지만 농약의 사용량은 위의 표에서도 확인할 수 있듯이 단위 면적 당 사용량은 증가되고 있는 형태를 띄고 있음.
- 미국에서는 현재 '수확 후 저장'을 목적으로 살균, 살충 등의 일반 농약의 사용(Post-Harvest Pesticide)이 인정되고 있다. 밀가루의 원료인 밀을 예로 들면, 살균제로 구아자닌, 디페노코나졸 따위가 사용되고 있으며 벌레나 알을 죽이기 위해서 메치오카브, 벤디오카브, 마라치온, 아레스린 시화화칼슘, 염화메칠렌과 같은 살충제가 사용되고 있고 방부제로는 클로로포름, 클로로파크린 등 21가지의 농약을 사용할 수 있음.
- 이들 농약은 비록 미량이지만 인체 내에서 축적되어 암 유발, 기형아 출산, 신경증상 등의 치명적인 문제를 일으킬 수 있음.

○ 농약과 식량 생산량

- 현재 지구촌은 72억에 다르는 인구가 살고 있으며 2050년에는 의료기술 등의 발달로 90억의 인구가 지구에 살고 있게 됨. 이처럼 많은 수의 사람을 먹이기 위해서는 다양한 방식의 노력이 필요로 함.
- “식량 주권”이라는 단어가 있을 만큼 근본적으로 식량에 공급은 매우 중요한 요소 중

하나임. 식량안보는 모든 사람이 건강하고 행복한 삶을 위하여 영양상의 필요와 식품 선호를 충족시키기 위해 안전하고 영양 있는 식료에 언제든지 물리적 및 경제적으로 접근할 수 있는 상태를 말하며 (FAO의 정의) 식량안보는 식량의 안정적 공급뿐만 아니라 식품의 안전성 보장까지 포함하는 개념임.

- 식량안보를 달성하기 위해서는 충분한 농업생산력, 식량의 원활한 유통과 무역, 구매력의 적절한 분배가 필요함.
- 즉, 효율적 식량의 생산을 위해서는 농약에 대한 사용의 빈도를 낮출 수는 있겠지만, 무조건적인 사용금지는 어려움.
- 현 시점에서는 농약에 대한 사용에 대한 인식 전환이 필요로 하며 어떻게 하면 안전하게 관리하며 적절한 양을 사용할 것인가에 대한 의문을 가져야 함.

○ 관리용 실시간 농약 현장진단 시스템 및 모니터링 시스템의 필요성

- 앞서 언급하였듯이 농약을 사용하지 않고 식량의 생산량을 증가하는 방안은 쉽지 않음.
- 고령화 사회로 접어들수록 농약의 순기능으로 병충해를 막아주며 잡초를 제거하여 농산물 생산량 증대 및 노동력을 절감할 수 있기 때문임.
- 그리고, 실제 농약에 대한 오해는 대부분 농약이 고독성이라고 생각하는 것임, 실제 시판되는 농약은 보통 독성과 저독성만 판매 사용되게끔 허가됨.
- 특히, 농약에 대한 위험도가 가장 높은 사람은 농약 취급자, 농작업자에 해당되며 식품에 잔류 농약은 평생 섭취해도 안전한가를 따지는 만성독성을 확인해야함.
- 만성 독성이란 지속적으로 농약에 노출 빈도가 높아져서 인체에 위해를 끼치는지를 의미함.
- 하지만, 현재 이러한 농약에 만성 노출되는 경우에 대한 검사 모니터링 시스템은 구축되어 있지 않음.
- 또한, 토양, 지하수, 농산물 원부자재에 대한 검사는 간이 검사 kit을 이용하여 검사가 이루어지고 있으나 비용적 측면에서 아직은 고가임. (1회 5000원 이상)
- 다양한 시료 및 다양한 환경에서 측정을 진행해야함에도 불구하고 고가의 비용으로 모니터링에 용이하지 않음
- 본 사 및 본 연구진은 저렴하고 농가에서도 쉽게 사용이 가능하며 제품이 확장성을 가지고 사람의 농약 노출도를 모니터링 할 수 있는 시스템을 구축하여 국민보건 및 식품안전에 대한 오해를 불식시키는 역할을 담당하고자 함.

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 저분자 유해물질 검출과 관련하여 UV-visible 흡광분광검출기, 전기화학 검출시스템이 상용화되어 시판되고 있으나 대부분이 실험실에서 사용할 수 있는 대형장비이고, 휴대용으로 정량분석이 가능한 분석 장치는 개발된 바가 없음
- 현재 판매 중인 잔류농약 키트는 각 농약별 감도가 달라 농약 중 일부는 과량이 있어야

만 검출이 가능하며 정성분석에 용이한 스크리닝 키트이므로 정량적인 분석을 위해서는 기기분석 실험을 추가로 수행해야 함

○ 시장현황

- 국내의 경우 국산 바이오센서가 상용화 되고 있으나, 아직 외국 제품의 의존도가 높은 실정임. 국내에서는 혈당 바이오센서 제품 외에는 시장이 매우 미미하나, 최근 들어 건강에 대한 관심이 고조되고 있으므로 젯산이나 콜레스테롤, 농약 등 다양한 바이오센서 관련 수요가 커질 것으로 전망됨
- 국내 바이오센서 내수시장은 2012년 54억 달러 규모에서 2020년 99억 달러 규모로 연평균 10.4% 성장할 전망이다. 정부는 첨단 스마트 센서 육성사업 등을 추진하여 2020년 기준 42억 달러 생산과 21억 달러 수출을 달성할 계획임. 국내 나노 기술 연구 등의 활성화에 따른 연구용 바이오센서의 수요 증가를 고려할 때 국내 시장 성장률은 세계 시장 성장률보다 더 클 수 있을 것으로 예상됨
- 우리나라의 바이오센서 시장은 (주)에스디, (주)올메디쿠스, (주)인포피아 (주)아이센스, (주)바이오포커스 등 몇 군데의 벤처기업에서 제품을 출시하고 있는 상태로 최근 매출이 상승하고 있음
- 그러나 국내 바이오센서 기업들이 주로 관심을 가지고 있는 분야는 90% 이상이 의료용 바이오센서로, 아직 식품분석용과 환경용 및 그밖에 다른 분야의 바이오센서에 대한 관심 정도가 상대적으로 낮은 상태임

○ 경쟁기관현황

- 국내의 경우 진성 유니텍에서 잔류농약 간이속성 검사 kit를 자체적으로 개발하였으며, 개발한 kit의 Agri-Screen Ticket, 간이속성 검사 Kit, 농약단일 성분 정량 Kit 및 잔류농약 사용 kit 등의 농약 검출 kit를 국외로부터 수입하여 판매하고 있음

표. 진성유니텍에서 현재 판매 중인 잔류농약 키트

제품명			
			
Agri-Screen Ticket 미국, Neogen	간이속성 검사 kit 대만, TARI	농약 단일성분 정량 kit 미국, SDI	잔류농약 검사용 kit 대만, Metertech

- 그 밖에 국내 기업에서도 여러 가지 잔류농약 kit에 대한 개발 및 판매를 시도하고 있으나, 대부분 수입에 의존하고 있는 상황임

○ 지식재산권현황

- 국내외 특허를 분석해본 결과 대부분 특허의 경우 용액 내에서 반응을 보내고 확인하는

기술로 현장성을 가지기 어려움

- 표. 개발대상 기술 관련 지식재산권 현황

지식재산권명	지식재산권출원인	출원국/출원번호
1) 마이크로플루이딕스 칩 기반의 잔류농약 검출용 전처리 키트 및 이를 이용한 잔류농약 검출 방법	박동현	한국/10-1475906
1) 잔류 농약 검출용 키트 및 이를 이용한 잔류농약 검출방법	주식회사농심	한국/10-1050421
1) 콜린에스테라제 저해성 물질 검출 키트	주식회사 넥스바이오	한국/10-2019-0007895

- 현재 원천 기술인 '역 Y 자를 이용한 농약 검출 기술'의 경우 본 연구기관인 경상대학교 산학협력단에서 해당 특허를 보유 중에 있음 (특허등록번호: 1017084730000)

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 최근까지 효소를 이용한 분석법 및 바이오센서의 개발이 진행되고 있고, 핵산 압타머 기반 마이크로 어레이, 바이오센서 및 바이오칩의 개발이 보고되고 있으나 아직 상용화되어 있지 않음
- 전기화학적 검출법, 형광분석법 등은 소규모 형태로 개발되어 바이오칩 검출 시스템으로 적용된 바 있으나 휴대용 수준으로 소형화되지 못하고 생화학적 물질의 경우 측정한계가 수 $\mu\text{g/ml}$ 의 수준임

○ 경쟁기관현황

- 미국 EPA(Enviromental Protection Adgency)에서 사용되고 있는 효소 기반 테스트 키트는 EcloxT-Pesticide Strips (Severn Trent Services), Neuro-IQ Tox Test KitT (AquaSurvey, Inc.), OP-Stick Sensor (Protein-Biosensor), Organophosphate/Carbamate Screen Kit (Abraxis LLC)가 대표적임
- 이 외에도 SDI(Strategic Diagnostics Inc. USA)에서 생산하고 있는 각종 잔류농약 성분에 따라 단일 EnvironGard® 96-well plate 또는 EnvironGard® 20 Tube Kit가 있음

2. 연구수행 내용 및 결과

2.1 기술개발 최종목표

1) 최종목표

본 사 및 연구진은 농약을 검출하는 것에 멈추지 않고 '지속적이고 안정적으로 농약을 관리할 수 있는 검출 진단 모니터링 할 수 있는 시스템을 구축'하여 잔류농약에 대한 우려 불식을 통한 농가의 안정적인 수입향상 및 농업종사자의 건강관리를 통한 사회적 비용의 감소를

목표로 한다.

2) 주요 개발물

- ① 현장용 농약 측정 시스템
 - 전혈 기반 시료 검출 시스템 개발
 - 복합 시료 기반 검출 시스템 개발
- ② 현장용 농약 시료 전처리 시스템
 - 현장형 시료 검출용 저해 인자 및 억제 인자 제거
- ③ IoT 기반 농약 검출 시스템
 - 스마트폰 기반 광학 분석 장치 알고리즘

<표> 성능지표 목표 및 측정방법

< 주요 성능지표 개요 >						
주요 성능지표 ¹⁾	단위	최종 개발목표 ²⁾	기술개발전 수준	세계최고수준 또는 수요처 요구수준 ³⁾ (해당기업)	전체항목에서 차지하는 비중 ⁴⁾ (%)	평가방법 ⁵⁾
신속 현장 측정	min	7min	10min	10min	40	외부평가 (농업기술센터)
농약 측정 감도 및 재현성	ppb/%	50ppb/95%	50ppb/85%	50ppb/90%	30	외부평가 (농업기술센터)
시료 신속분리	5min	2min	5min	3min	20	외부평가 (농업기술센터)
시료 분리 효율	%	10~15%	5%	5%	10	의료기기인증
< 시료 정의 및 측정방법 >						
주요 성능지표	시료정의	측정시료 수 ⁶⁾ (n≥5개)	측정방법 ⁷⁾ (규격, 환경, 결과치 계산 등)			
신속 현장 측정	토양, 지하수, 농산물, 원부자재	100	- 현장에서 전처리 키트와 개발 시스템을 이용한 현장 측정 - 검출 장치를 기반으로 한 분석 실시 (기존 제품과 비교 평가)			
농약 측정 감도 및 재현성	토양, 지하수, 농산물, 원부자재	100	- 현장에서 전처리 키트와 개발 시스템을 이용한 현장 측정 - 검출 장치를 기반으로 한 분석 실시 (기존 제품과 비교 평가)			
시료 신속분리	토양, 지하수, 농산물, 원부자재	100	- 시료를 기반으로 한 전처리 실시 후 분석 - 이물질 감소 효과 확인 (HPLC 등 분석 방법 병행)			
혈액 분리 효율	임상 혈액	100	- 전혈 시료를 이용한 혈액 분리 실시 - 상온			

2.2 기술개발 내용

1. 연구방법

1) 건조 조건에서 금나노입자(gold nanoparticle; GNP) 안정화 조건 확립

- 일반적으로 GNP는 lateral flow assay(LFA)에 사용되는 마커로서 특유의 선홍색을 띠는 나노입자로 단백질이나 펩타이드 및 뉴클레오타이드(DNA 또는 RNA)와 결합시켜 안정화 하지 않으면 멤브레인이나 패드, 그리고 일반 종이 등에 처리 시 재질에 흡착되거나 흡착에 따른 응집현상으로 인해 선홍색을 유지하지 못하고 자주색으로 변하게 되는 성질을 띠고 있음
- 농약 검출용 LFA 개발에서는 마커로 사용되는 GNP에 단백질이나 펩타이드 및 뉴클레오타이드를 처리하지 않고 사용하기 때문에 안정적인 처리를 위해 bare GNP 사용 가능 여부, GNP 안정화 조건, GNP 처리에 적합한 재질 등을 확인하였음

(1) Bare GNP의 건조 및 LFA 적용

- 연구에 앞서 예비실험의 개념으로 LFA에 conjugate pad로 주로 사용되는 glass fiber(3 mm x 5 mm, Bore Da Biotech, Seongnam, Korea)에 bare GNP를 10 μ l 와 20 μ l를 분주하고 37°C에서 15분동안 건조시킨 후 LFA에 적용하여 그 결과를 확인하였음

(2) GNP 안정화를 위한 blocking 시약 선정

- Bare GNP를 다른 처리 없이 LFA 적용하였을 경우 건조과정에서 침착 또는 자주색으로 변하여 안정화 조건을 확립할 필요성이 제기되었음
- 따라서, 일반적으로 GNP의 잔여활성 부위를 blocking 하는 bovine serum albumin(BSA), skim milk, PVP, casein, gelatin를 안정화 시약으로 선정하였음
- Bare GNP 1 ml에 각 시약의 최종 농도가 1%가 되도록 첨가한 후 실온에서 1시간 동안 반응시키고, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 1% BSA와 sucrose가 들어있는 2 mM borate buffer 100 μ l로 부유하여 LFA에 사용하였음
- 안정성 효과를 확인하기 위해 각 시약으로 처리된 GNP 용액을 glass fiber 패드에 10 μ l 분주하여 37°C에서 15분~20 동안 건조시킨 후 LFA 스트립 상에 올려 응집 및 전개 가능 여부를 확인하였음

(3) Sucrose를 이용한 bare GNP 안정화 효과 확인

- 기존의 blocking 시약을 이용하여 GNP를 처리하고 glass fiber 패드에 적용 후 건조하였을 때 안정화 효과는 확인되었으나, 농약의 존재 여부에 따른 GNP의 응집 현상은 관찰되지 않아 농약 검출용 LFA개발에 사용은 부적합하였음
- 따라서, 항체 등과 같은 바이오센서 시약의 안정화에 사용되는 sucrose를 이용하여 bare GNP의 안정화를 시도하였음
- 먼저 bare GNP 1 ml을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 0.5, 1, 2, 3% sucrose가 들어있는 2 mM borate buffer 100 μ l로 부유하여 glass fiber 패드에 10 μ l 분주하여 37°C에서 15분~20 동안 건조시킨 후 LFA를 농약 양성과 음성시료로 확인하여 안정화 효과를 확인하였음

(4) 버퍼에 따른 안정화 영향 확인

- Bare GNP 1 ml을 12,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 1% sucrose가 들어있는 증류수, MES (0.1M, pH 6.0), PBS (100 mM, pH 7.4), TBS (100 mM, pH 7.6), borate 버퍼 (20 mM, pH 7.4) 또는 Tris-HCl (0.1M, pH 6.8)을 6종 100 μ l에 각각 다시 부유하고 LFA에 적용하여 sucrose로 안정시킨 GNP(suGNP)의 버퍼별 영향을 확인하였음

(5) 안정화된 suGNP 처리를 위한 패드 및 멤브레인 선정

- LFA 상에 suGNP를 처리할 재질로 glass fiber 패드 이외에 5 종의 소재 absorbance pad(Bore Da Biotech, Seongnam, Korea), sample pad(Bore Da Biotech), filter pad(whatman™, Kent, UK), mixed matrix membrane(MMM; Pall, New York, USA), nitrocellulose membrane(NCM, Nupore Filtration Systems pvt ltd., Uttar Pradesh, India)를 테스트하였음
- 증류수, MES, borate 버퍼 3종에 부유시킨 1% suGNP를 각 재질에 5 μ l씩 분주하여 건조시킨 후 응집없이 건조되는 재질의 패드를 LFA에 적용하여 패드 및 멤브레인별 결과를 확인하였음

2) 농약 검출 및 농약 노출정도 측정용 LFA 스트립의 최적화

- 앞서 설명한 LFA의 원리는 아세틸티오콜린(acetylthiocholine; ATC)은 휴먼시럼(human serum; HS, Sigma, 도시, 나라) 내에 존재하는 아세틸티오콜린에스테라이스(acetylcholinesterase, AChE)에 의해 +전하와 -전하를 가진 양극성 thiocholine으로 분해되는데, 이때 발생한 +전하가 표면에 -전하를 띄는 GNP와 반응하면서 응집을 일으키게 됨
- 반면, 유기인계 및 카바메이트계 농약이 존재할 경우 HS내에 AChE의 활성이 저해하여, ATC를 thiocholine으로 분해하지 못하기 때문에 금 나노입자의 응집현상이 발생하지 않게 됨
- 그러므로, 안정화된 suGNP를 이용하여 농산물 및 농업환경 중 농약측정 또는 농업인의 농약노출 정도를 확인할 수 있는 LFA를 최적화하기 위해 suGNP 점적량, HS 희석배수, ATC 농도, 를 포함하여 전개용매 선정 및 유기용매 종류와 농도 등을 확인하였음

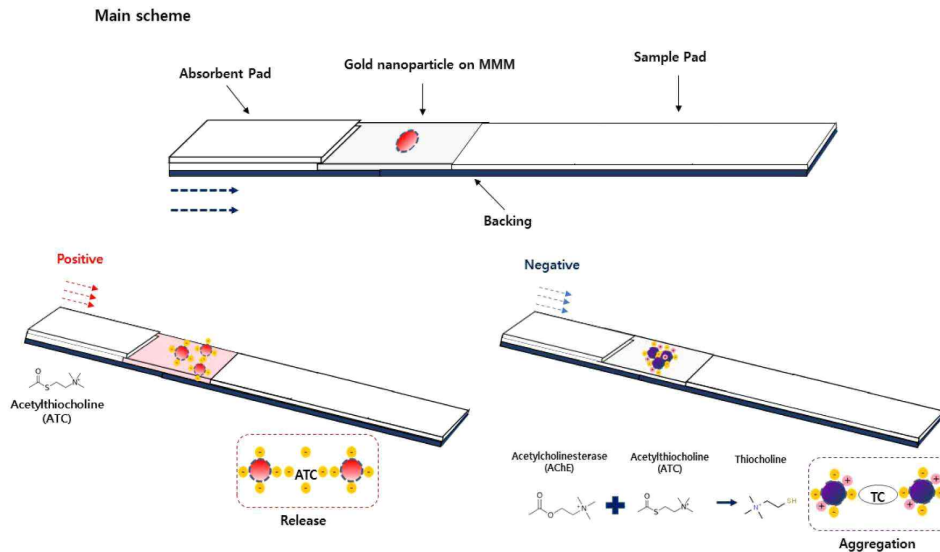


그림. 농약 기반 일자 스트립 기술 모식도

(1) LFA 스트립 최적화를 위한 suGNP 점적량 선정

- 먼저 안정화된 suGNP를 앞서 선정된 패드에 1 ~ 5 μl 분주하여 건조 후 LFA에 적용 후 농약의 음성과 양성을 측정 한 후 응집 여부 및 색 변화를 관찰하였음
- suGNP 최적화에 사용한 표준농약은 디아지논(diazinon)을 이용하여 실험에 사용하였음

(2) LFA 스트립 최적화를 위한 혈청 희석배수와 ATC 농도 선정

- HS 희석배수(10-1 ~ 10-3)와 ATC (25, 50, 75 mM) 농도를 각각 처리하여 LFA를 조립한 후 혈청이 있는 경우 음성(적자색), 혈청이 없는 경우 양성(붉은색)으로 패드 상의 GNP 색 변화를 확인하였음

(3) LFA 스트립 최적화를 위한 전개용매 선정

- LFA 상의 GNP 색 변화는 전개용매의 pH, 양이온 량, salt의 양에 따라 차이를 나타낼 수 있으므로 LFA의 전개용매를 다음과 같이 10%(v/v) 메탄올을 포함하는, 증류수, 0.1 M MES (pH 6.0), 20 mM borate(pH 7.4), 10 mM PBS (pH 7.4), 10 mM TBS (pH 7.6) 또는 0.1M Tris-HCl(pH 6.8) 선정하여 그 결과를 확인하였음
- 농약 디아지논 0과 100 ng/ml(ppb)를 위에 제시한 버퍼로 준비한 후 LFA로 측정하여 양성 과 음성의 GNP 색 변화가 큰 버퍼를 선정하였음

(4) LFA 스트립 최적화를 위한 유기용매 선정

- 농산물 중 농약의 추출을 위해서 유기용매를 주로 사용하고 있으며, 식품공전 상에서도 아세트니트릴을 사용하는 것으로 제시하고 있음
- 따라서, 유기용매의 종류에 따른 LFA의 영향을 확인하기 위해 농약 디아지논을

10%(v/v) 메탄올, 아세톤, 아세토니트릴, 에탄올을 포함하는 10 mM TBS (pH 7.6)로 양성 (100 ng/ml)과 음성(0 ng/ml)시료를 준비한 후 LFA에 적용하여 양성과 음성의 GNP 색 변화가 큰 유기용매를 선택하였음

3) LFA 결과 분석을 위한 RGB 알고리즘 구축

- LFA 상의 GNP 색 변화를 수치화하기 위한 알고리즘을 구축하였음
- 구글 play 스토어에서 제공하는 'Rgb color picker'라는 휴대폰 어플을 사용하여 RGB 값을 측정하였고 디아지논 양성(100 ng/ml)과 음성(0 ng/ml) 분석결과에 RGB 값의 차이가 가장 높게 나타나는 알고리즘 확립하였음



그림. RGB 분석 방법

4) suGNP 기반 농약 측정용 LFA의 특성 확인

(1) LFA 민감도 확인

- 최적화된 LFA의 조건은 아래 표와 같음

표. 농약 신속측정용 LFA의 최적화 조건

실험 인자	처리 및 희석 조건	처리량
금나노입자	10배 농축과 1% sucrose 처리	2 µl
휴먼시럼	1/10 ² in DW	63.5 µl
아세틸티오콜린	50 mM in DW	20 µl
시료 전개용매	10% acetonitrile in 10 mM TBS	83.5 µl

- 유기인계 농약 디아지논(diazinon)과 카바메이트계 농약 카바릴(carbaryl) 표준농약을 0, 1, 3, 5, 7, 10 ng/ml (ppb)로 각각 제조하여 최적화된 LFA 스트립 실험방법으로 실험하였음
- 유기인계와 카바메이트계 표준농약을 이용하여 비색으로 민감도를 확인하고 RGB를 측정하여 그래프로 나타내었음

(2) 시판 농약 100 종에 대한 특이성 확인

- 최적화된 LFA의 특이성을 확인하기 위해 시판 중인 100 종의 농약을 구입하였으며, 유기인계(24 종)와 카바메이트계(9 종) 농약이 포함되어 있는 것으로 확인됨
- 시판 농약 100 종은 Kemidas(suwon, Korea)에서 구입하였으며, 0과 100 ng/ml (ppb)로 희석하여 LFA로 분석하였음

표 . 카바메이트 유기인계를 포함한 표준농약 100종 수집 목록

No.	표준 농약	용도	계열	No.	표준 농약	용도	계열
1	Acephate	살충제 (insecticide)	organophosphate	51	Metolachlor	제초제 (herbicide)	chloroacetami de
2	Acetamiprid	살충제 (insecticide)	neonicotinoid	52	Metaflumizone	살충제 (insecticide)	semicarbazon e
3	Alachlor	제초제 (herbicide)	chloroacetanilide	53	Oxadiazon	제초제 (herbicide)	oxidiazole
4	Amisulbrom	살균제 (Fungicide)	sulfonamide	54	Oxadixyl	살균제 (Fungicide)	Phenylamide
5	Azoxystrobin	살균제 (Fungicide)	strobilurin	55	Parathion-methyl	살충제 (insecticide)	organophosph ate
6	Benalaxyl	살균제 (Fungicide)	phenylamide	56	Pencycuron	살균제 (Fungicide)	phenylurea
7	Bifenthrin	살균제 (Fungicide)	pyrethroids	57	Phenthoate	살충제 (insecticide)	organophosph ate
8	Bitertanol	살균제 (Fungicide)	triazole	58	Picoxystrobin	살균제 (Fungicide)	acetanilide
9	Boscalid	살균제 (Fungicide)	carboxamide	59	Pirimicarb	살충제 (insecticide)	carbamate
10	Carbendazim	살균제 (Fungicide)	carbamate	60	Prochloraz	살균제 (Fungicide)	imidazole
11	Carbofuran	살충제 (insecticide)	carbamate	61	Pyraclostrobin	살균제 (Fungicide)	strobilurin
12	Carbosulfan	살충제 (insecticide)	carbamate	62	Pyriminobac-met hyl(E)	제초제 (herbicide)	pyrimidinylox ybenzoic
13	Chlorfenapyr	살충제, 살비 제 (insecticide)	Pyrrole	63	Pyriminobac-met hyl(Z)	제초제 (herbicide)	pyrimidinylox ybenzoic
14	Chlorfenvinphos	살충제 (insecticide)	organophosphate	64	Spinetoram	살충제 (insecticide)	spinosym
15	Chlorothalonil	살균제 (Fungicide)	chloronitrile	65	Spiromesifen	살충제 (insecticide)	tetramic acid
16	Chlorpyrifos-me thyl	살충제 (insecticide)	organophosphate	66	Tebuconazole	살균제 (Fungicide)	triazole
17	Clomazone	제초제 (herbicide)	isoxazolidinone	67	Tebufenpyrad	살비제 (Acaricide)	pyrazolium
18	Cymoxanil	살균제 (Fungicide)	cyanoacetamide	68	Tebupirimfos	살충제 (insecticide)	organophosph ate
19	Cypermethrin	살충제 (insecticide)	pyrethroid	69	Tefluthrin	살충제 (insecticide)	pyrethroid
20	Cyhalothrin	살충제 (insecticide)	pyrethroid	70	Terbufos	살충제 (insecticide)	organophosph ate
21	Deltamethrin	살충제 (insecticide)	pyrethroid	71	Thiamethoxam	살충제 (insecticide)	neonicotinoid
22	Dicofol	살충제 (insecticide)	organochlorine	72	Tolclofos-methyl	살균제 (Fungicide)	organophosph ate
23	Difenoconazole	살균제	triazole	73	Triazophos	살충제	organophosph

24	Dimethenamid	(Fungicide) 제조제	chloroacetamide	74	Trifloxystrobin	(insecticide) 살균제	ate strobilurin
25	Dinotefuran	(herbicide) 살충제	neonicotinoid	75	Trifluralin	(Fungicide) 제조제	dinitroaniline
26	EPN	(insecticide) 살충제	organophosphate	76	Vinclozolin	(herbicide) 살균제	oxazole
27	Ethaboxam	(insecticide) 살균제	thiazole	77	Chlorobenzilate	(Fungicide) 살충제	organochlorin
28	Ethalfluralin	(Fungicide) 제조제	dinitroaniline	78	Chlorantraniliprol e	(insecticide) 살충제	e diamides
29	Ethoprophos	(herbicide) 살충제	organophosphate	79	Dimethipin	(insecticide) 제조제	-
30	Fenoxaprop-ethyl	(insecticide) 제조제	aryloxyphenoxyp ropionate	80	Ethion	(herbicide) 살충제	organophosph
31	Fenpropathrin	(herbicide) 살충제	Pyrethroid	81	Glyphosate	(insecticide) 제조제	ate phosphonogly
32	Fipronil	(insecticide) 살충제	phenylpyrazole	82	Amitraz	(herbicide) 살충제	cine formamidine
33	Flonicamid	(insecticide) 살충제	pyridine compound	83	Bendiocarb	(insecticide) 살균제	carbamate
34	Flubendiamide	(insecticide) 살충제	diamides	84	Chlorfluazuron	(Fungicide) 살충제	benzoylurea
35	Fluopicolide	(insecticide) 살균제	benzamide	85	Captan	(insecticide) 살균제	phthalimide
36	Fluopyram	(Fungicide) 살균제	benzamide, pyramide	86	Fenvalerate	(Fungicide) 살충제	Pyrethroids
37	Fluquinconazole	(insecticide) 살균제	triazole	87	Malaoxon	(insecticide) 살충제	organophosph
38	Glufosinate-am monium	(Fungicide) 제조제	phosphinic acid	88	Malathion	(insecticide) 살충제	ate organophosph
39	Hymexazol	(herbicide) 살균제	oxazole	89	Diazinon	(insecticide) 살충제	ate organophosph
40	Imicyafos	(Fungicide) 살충제	phosphonothioate	90	Fenitrothion	(insecticide) 살충제	ate organophosph
41	Indoxacarb	(insecticide) 살균제	oxadiazin	91	Dichlorvos	(insecticide) 살충제	ate organophosph
42	Iprodione	(insecticide) 살균제	dicarboximide	92	Phorate	(insecticide) 살충제	ate organophosph
43	Iprovalicarb	(Fungicide) 살균제	carbamate	93	Pirimiphos-meth yl	(insecticide) 살충제	ate organophosph
44	Kresoxim-meth yl	(Fungicide) 살충제	strobilurin	94	Monocrotophos	(insecticide) 살충제	ate organophosph
45	Lufenuron	(Fungicide) 살충제	benzoylurea	95	Trichlorfon	(insecticide) 살충제	ate organophosph
46	Metalaxyl	(insecticide) 살균제	Phenylamide	96	Methidathion	(insecticide) 살충제	ate organophosph
47	Metconazole	(Fungicide) 살충제	Pyrethroids	97	Methamidophos	(insecticide) 살충제	ate organophosph
48	Methomyl	(insecticide) 살충제	carbamate	98	Fensulfothion	(insecticide) 살충제	ate organophosph
49	Methoxyfenozid e	(insecticide) 살충제	diacylhydrazine	99	Carbaryl	(insecticide) 살충제	carbamate
50	Metrafenone	(insecticide) 살균제	benzophenone	100	Oxamyl	(insecticide) 살충제	carbamate

5) LFA을 이용한 시료(농산물, 토양 및 지하수) 분석

(1) 농약 추출용매 아세트니트릴의 농도 및 matrix effect 확인

- 농약이 오염되어 있지 않은 고추에 디아지논(diazinon) 표준용액을 0 ng/g(ppb)와 100 ng/g(ppb)로 오염시킨 후 빛이 차단된 암실에서 1시간 동안 방치하였고 아세트니트릴

30%와 60%이 포함되어 있는 TBS를 추출용매로 사용하여 swab법과 진탕법으로 추출하였음

- 추출액 83.5 μ l와 1/102 희석한 HS 63.5 μ l를 혼합하고 5분간 반응시킨 후 ATC 20 μ l를 넣고 1분간 추가 반응시키고 LFA에 적용하여 음성과 양성의 GNP 색 차이를 확인하였음



그림. 농산물 시료 추출방법

(2) 회수율 확인

- 앞서 설명한 전처리법을 이용해 시료를 추출하고 추출법에 대한 회수율을 확인하였음
- 본 연구에서 개발한 LFA법과 시판 중인 농약진단 키트 “Pesticide Detection Cards”(RenekaBio, USA)를 이용하여 비교평가 하였으며, 시판키트의 경우 monocrotophos (유기인계), carbaryl (카바메이트)에 대한 검출한계를 제시하고 있어 이들 2 종 농약을 방울토마토에 0, 10, 20, 40, 2000, 4000, 8000 ng/g 되도록 오염시키고 시료와 추출버퍼를 1:2 비율로 추출하여 최종 농도가 0, 5, 10, 20, 1000, 2000, 4000 ng/ml 되도록 하였음
- 추출액을 시판키트와 본 연구에서 개발한 LFA법으로 분석한 후 그 결과를 비교 평가하였음
- LFA 스트립 분석 방법은 혈청 63.5 μ l와 농약이 포함되어 있는 시료 추출액 83.5 μ l를 넣고 5분간 반응시킨 뒤 ATC 용액을 20 μ l 넣고 1분간 반응 시킨 후 조립한 스트립에 5~10분간 반응시켜 결과를 확인하였음
- 시판 분석 키트 사용방법은 샘플을 1g 에 2 ml 세정액을 이용하여 잔류물을 추출하고 보호필름을 제거하여 흰색 디스크에 샘플용액을 점적 (또는 분주)하여 10 후에 빨간색 디스크와 마주보도록 눌러 사람의 체온으로 온기를 유지시켜 흰색 디스크 색상변화를 관찰하였음
- 분석법 비교평가에 사용된 LFA 스트립과 분석 키트는 RGB 분석법을 이용하여서 수치화

시킨 후 그래프로 나타내었음



시중에 판매중인 잔류 농약진단키트

예상 실험 결과

그림. 회수율 비교평가에 사용한 농약분석 시판키트

(3) 농산물과 농업환경 시료 분석

- 실제 시료에 대하여 농약 잔류 여부를 확인하고자 농산물, 토양 및 지하수 등의 시료를 총 100점 수집하여 분석하였음
- 시료는 진주 인근의 각 농가로부터 수집하였으며, 그 중 농산물(고추, 깻잎, 상추, 감 등) 50점, 토양(상토) 42점, 용수(지하수) 8점을 수집하여 30% 아세트니트릴로 시료를 추출하였음

표 . 농산물, 토양 및 지하수 시료 수집 목록

번호	시료명	번호	시료명
1	파리고추	농산물1	51 토양 토양19
2	깻잎	농산물2	52 토양 토양20
3	청양고추	농산물3	53 토양 토양21
4	방울토마토	농산물4	54 토양 토양22
5	방울토마토	농산물5	55 토양 토양23
6	적상추	농산물6	56 토양 토양24
7	청양고추	농산물7	57 토양 토양25
8	청상추	농산물8	58 토양 토양26
9	청상추	농산물9	59 토양 토양27
10	고추	농산물10	60 토양 토양28
11	쪽파	농산물11	61 토양 토양9
12	오이	농산물12	62 토양 토양10
13	상추	농산물13	63 토양 토양11
14	상추	농산물14	64 토양 토양12
15	고추	농산물15	65 토양 토양13
16	배추	농산물16	66 토양 토양14
17	배추	농산물17	67 토양 토양15
18	쌈배추	농산물18	68 토양 토양16
19	고추	농산물19	69 토양 토양17

20	치커리	농산물20	70	토양	토양18
21	양파	농산물21	71	토양	토양33
22	양파	농산물22	72	토양	토양34
23	고추	농산물23	73	토양	토양35
24	케일	농산물24	74	토양	토양36
25	깻잎	농산물25	75	토양	토양37
26	양파	농산물26	76	토양	토양38
27	깻잎	농산물27	77	토양	토양39
28	케일	농산물28	78	토양	토양40
29	양파	농산물29	79	토양	토양41
30	고추	농산물30	80	토양	토양42
31	감	농산물31	81	토양	토양8
32	감	농산물32	82	토양	토양29
33	감	농산물33	83	토양	토양30
34	감	농산물34	84	토양	토양31
35	감	농산물35	85	토양	토양32
36	배추	농산물36	86	토양	토양1
37	치커리	농산물37	87	토양	토양2
38	깻잎	농산물38	88	토양	토양3
39	고추	농산물39	89	토양	토양4
40	케일	농산물40	90	토양	토양5
41	적상추	농산물41	91	토양	토양6
42	고추	농산물42	92	토양	토양7
43	오이고추	농산물43	93	용수	용수1
44	양파	농산물44	94	용수	용수2
45	고추	농산물45	95	용수	용수3
46	양파	농산물46	96	용수	용수4
47	적양파	농산물47	97	용수	용수5
48	고추	농산물48	98	용수	용수6
49	케일	농산물49	99	용수	용수7
50	적상추	농산물50	100	용수	용수8

6) 개발된 LFA를 이용한 농약 노출정도 측정

- 최적화된 LFA분석법으로 생체 혈청에 존재하는 AChE 활성이 측정가능한지를 확인하고자 하였음
- 먼저 실험용 마우스에 농약 투여하였고, 농약 투여 전후 혈액을 취하여 그 혈액 내 AChE 활성정도를 개발한 LFA로 확인하였음
- 실험 방법은 관련논문(Eom, et al. 2005)을 참고하여 4-5주령의 수컷 Balb/c 마우스에 유기인계 디아지논, 카바메이트계 카바릴을 복강 내 주사하여 2시간 단위로 채혈을 실시하였음
- 마우스에 농약 주입량은 5 범위로 나누어 마우스 평균 무게를 23 g임을 감안하여 6.9,

4.6, 2.3, 0.00046, 0 mg/mouse 으로 주사하였음

- 실험결과는 LFA 색 변화를 관찰하고 RGB 분석법으로 측정하여 수치화시켜 그래프로 나타내었음

표 . 마우스 혈청을 이용한 농약 노출정도 측정 방법

디아지논		카바릴	
범위	주입량	범위	주입량
1	6.9 mg/마리	1	6.9 mg/마리
2	4.6 mg/마리	2	4.6 mg/마리
3	2.3 mg/마리	3	2.3 mg/마리
4	0.00046 mg/마리	4	0.00046 mg/마리
5	0 mg/마리	5	0 mg/마리

마우스 평균 23 g

2. 연구결과

1) 건조 조건상에서 금나노입자(gold nanoparticle; GNP) 안정화 조건 확립

(1) Bare GNP의 건조 및 LFA 적용

- 농약 검출용 LFA 개발에서 마커로 사용되는 GNP의 안정화 조건, GNP 처리에 적합한 재질 등 확인하기에 앞서 bare-GNP를 conjugate pad(glass fiber)에 10 와 20 μ l를 분주하여 37 $^{\circ}$ C 인큐베이터에서 15분~20분 동안 건조하여 LFA 스트립에 적용하였음
- LEF 스트립 적용결과, bare GNP에 다른 처리 없이 분주하였을 때 연한 보라색으로 침착 또는 자주색으로 변하여 안정화 조건을 확립할 필요가 있는 것으로 확인되었음



GNP 10 μ l



GNP 20 μ l

그림. Bare GNP의 건조 후 결과

(2) GNP 안정화를 위한 blocking 시약 선정

- Bare GNP에 bovine serum albumin(BSA), skim milk, PVP, casein, gelatin를 최종 농도가 1%가 되도록 첨가하고 안정화 시킨 후 glass fiber에 분주하였음
- Glass fiber에 처리하고 건조 후에 1% BSA와 Gelatin, PVP만 색상이 유지되는 것이 확인되었고, LFA 스트립상에 올려 응집 및 전개 가능 여부를 확인하였음



그림. 안정제가 처리된 GNP의 건조결과

- 건조 후 응집이 일어나지 않은 BSA, gelatin, PVP를 이용하여 스트립에서 전개 여부를 확인한 결과, 반응용액이 모두 전개되었음에도 glass fiber 패드에 색 변화 없이 고정되어 반응성이 없는 것으로 나타났음
- 따라서, BSA, gelatin, PVP의 처리에 의해 GNP 건조 후 안정성 효과는 확인되었으나, LFA를 이용한 농약 검출에는 적합하지 않은 것으로 판단되었음

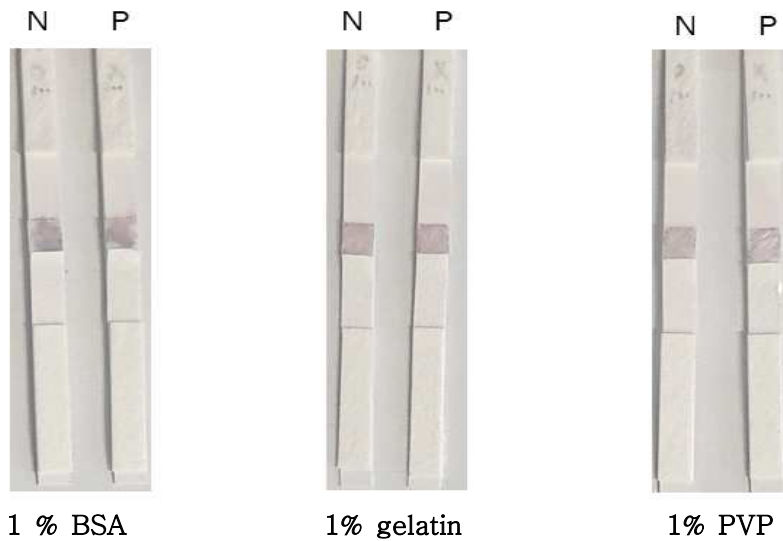


그림. Blocking 처리한 GNP 전개결과

(3) Sucrose를 이용한 bare GNP 안정화 효과 확인

- 바이오센서 시약의 안정화에 사용되는 sucrose를 이용하여 최종 농도 0.5, 1, 2, 3%가 되도록 첨가하여 bare GNP 안정화를 실시하고, LFA에 적용한 후 농약의 존재여부에 따른 결과를 확인한 결과 농약검출용 LFA의 원리와 같이 음성 테스트에서는 보라색의 응집이 나타났고, 양성 테스트는 bare GNP의 고유 색상인 붉은색으로 유지된 것을 확인되었음
- 따라서 sucrose로 처리하였을 때 GNP가 건조 후 안정화되고 농약측정용 LFA에 이용이 가능한 것으로 판단되었음
- 그러나, 0.5% sucrose를 포함하는 bare GNP의 경우 건조과정에서 응집이 현상이 확인되어 1% suGNP를 사용하여 안정화를 실시하였음

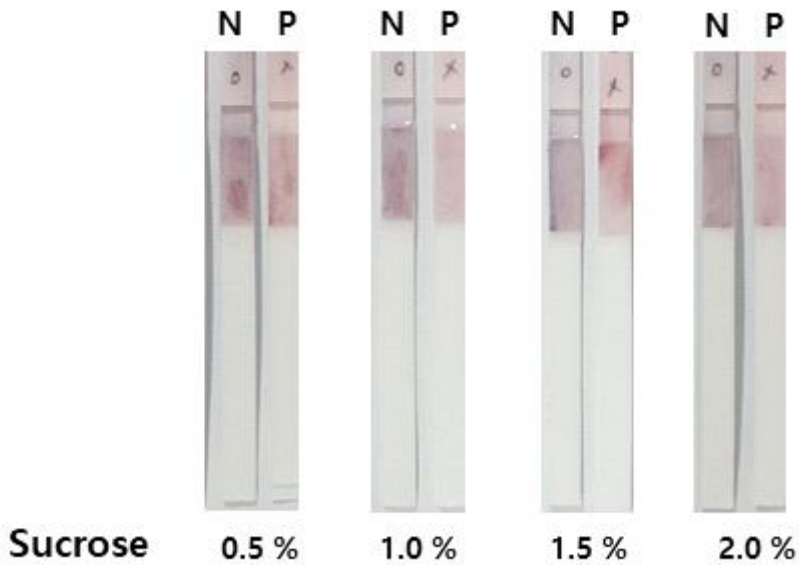


그림. Sucrose 처리에 따른 GNP의 안정화 및 LFA 결과

(4) 버퍼에 따른 안정화 영향 확인

- Bare GNP에 sucrose의 용매로 증류수, MES (0.1M, pH 6.0), PBS (100 mM, pH 7.4), TBS (100 mM, pH 7.6), borate 버퍼 (20 mM, pH 7.4) 또는 Tris-HCl (0.1M, pH 6.8)을 6종을 사용하였고 glass fiber 패드에 분주 결과건조 후 3종 용매(증류수, MES, borate 버퍼)는 안정화 결과를 보였으나, 상온에서 30분 보관하였을 때 모두 응집된 것으로 확인되었음
- 따라서 LFA 상에 suGNP 처리가 가능한 glass fiber 이외에 소재를 이용하여 GNP 안정화를 연구하였음

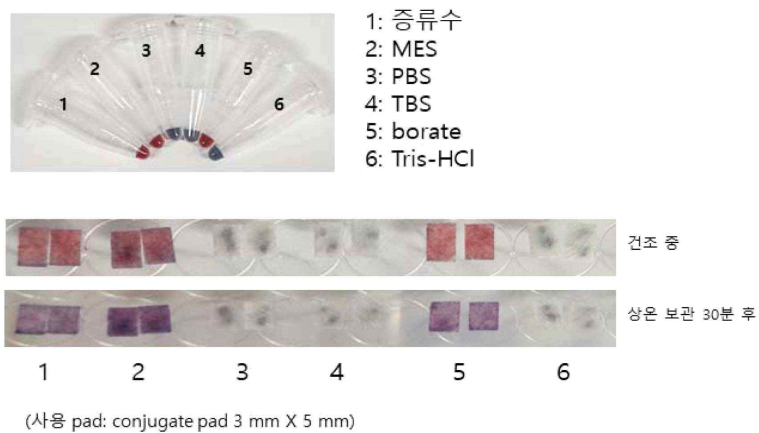


그림. Sucrose 용매별 GNP 안정화 효과 확인

(5) 안정화된 suGNP 처리를 위한 패드 및 멤브레인 선정

- LFA 상에 안정화된 suGNP가 glass fiber 패드에 처리되었을 때 건조 직후는 안정적이었으나, 상온에 보관하는 동안 응집하는 현상이 발생하여 glass fiber 패드 이외에 5 종의 소재 absorbance pad, sample pad, filter pad, mixed matrix membrane(MMM), nitrocellulose membrane(NCM)에 3종 용매(3종 용매(증류수, MES, borate 버퍼)로 부유시킨 suGNP를 5 μ l씩 분주하여 건조시킨 후 각 재질의 패드를 LFA에 적용하여 패드 및 멤브레인별 결과를 확인하였음
- 그 결과, 패드 상에서 bare GNP를 사용할 경우 6종의 패드 소재 모두에서 응집 현상이 나타났고, sucrose가 포함된 suGNP의 경우 붉은색으로 유지되는 것을 확인하였음

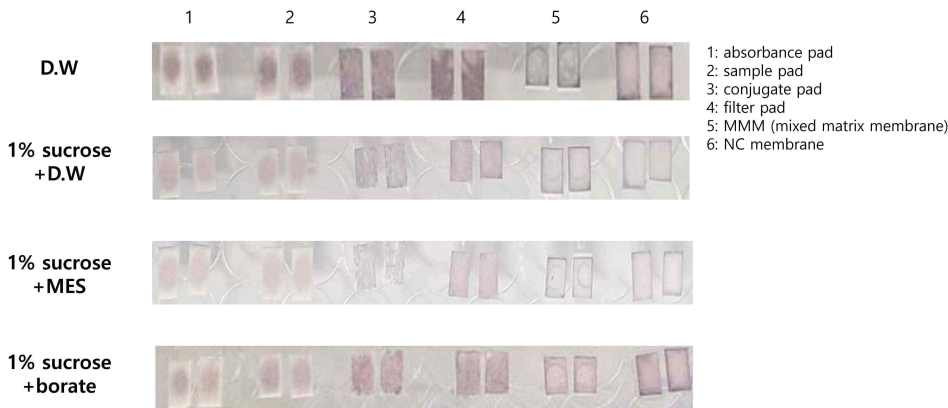


그림. suGNP 건조에 사용되는 재질에 따른 안정화 효과 확인

- 고유의 GNP 색을 잘 유지하는 filter pad, MMM 2종과 conjugate pad(기존, control)를 선정하여 LFA에 적용한 결과, MMM을 이용하였을 때 양성과 음성테스트에서 차이가 가장 큰 색 차이가 확인되었음
- 특히, 3종의 sucrose 용매 중 borate 버퍼에 안정화하고 MMM 패드를 이용하였을 때 양성과 음성의 색 차이가 뚜렷하여 이후 suGNP 안정화 조건으로 선정하였음

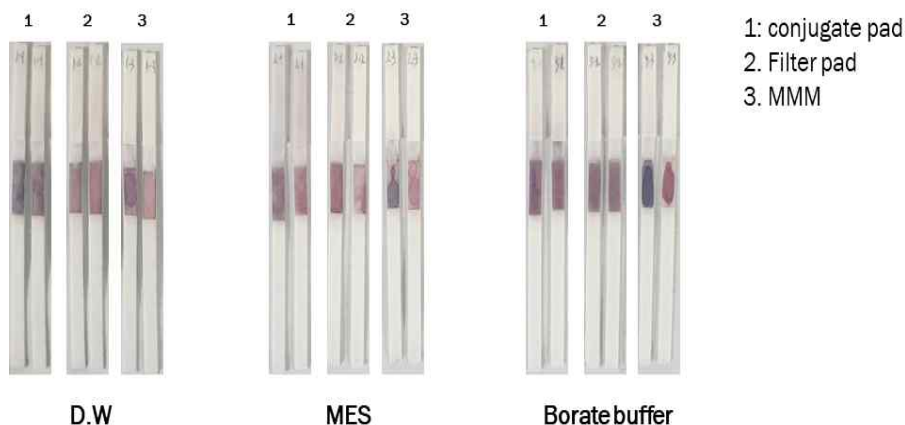


그림. Sucrose 용매별 및 suGNP 처리 재질별 LFA결과 확인

2) 농약 검출 및 농약 노출 정도 측정용 LFA 스트립의 최적화

(1) LFA 스트립 최적화를 위한 suGNP 점적량 선정

- 안정화된 suGNP를 선정된 MMM에 1 ~ 5 μl 분주하여 건조 후 LFA에 적용 후 농약의 음성과 양성의 응집 여부 및 색 변화를 관찰하였음
- MMM 패드에 3 μl 이상의 suGNP를 분주하였을 때 반응성이 없는 것으로 나타났으나, 1~2 μl 를 분주하였을 때 양성과 음성의 차이가 확인되어 suGNP 점적량을 2 μl 로 선정하였음

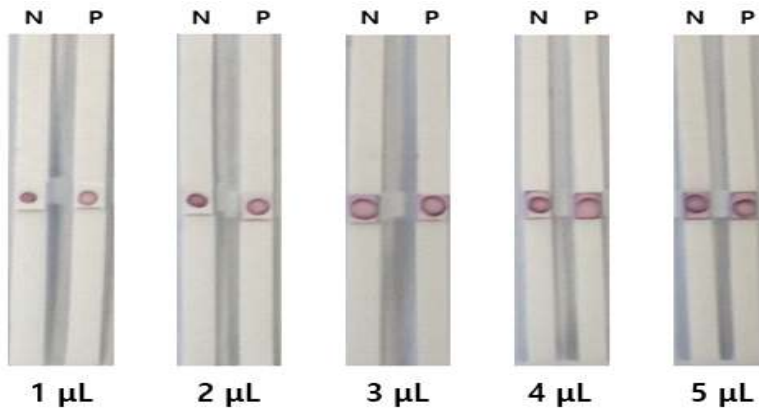
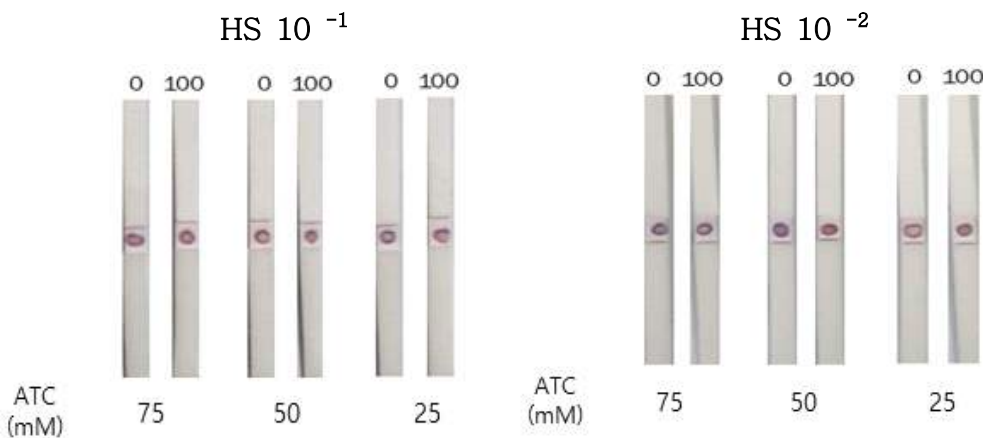


그림. suGNP 점적량에 따른 LFA 결과

(2) LFA 스트립 최적화를 위한 혈청 희석배수와 ATC 농도 선정

- 희석한 HS($1/101 \sim 1/102$)에 농약(0, 100 ng/ml)을 첨가하여 ATC 농도를 확인한 결과, 혈청 $1/101$ 희석배수와 ATC 25 mM 조건과 $1/102$ 희석배수와 ATC 50 mM 조건에서 음성(0 ng/ml)과 양성(100 ng/ml)에서 각각 적자색과 붉은색의 GNP가 확인되었고, 색 차이가 가장 크게 나타나는 혈청희석배수 $1/102$, ATC 50 mM을 최적화 조건으로 선정하였음



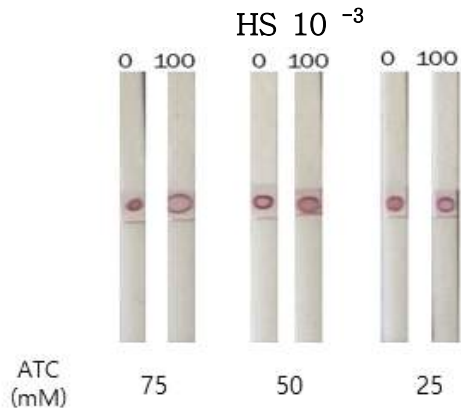


그림. 휴먼시럽(HS)과 ATC의 농도별 LFA 결과

(3) LFA 스트립 최적화를 위한 전개용매 선정

- LFA의 전개용매를 10%(v/v) 메탄올을 포함하는, 증류수, 0.1 M MES (pH 6.0), 20 mM borate(pH 7.4), 10 mM PBS (pH 7.4), 10 mM TBS (pH 7.6) 또는 0.1M Tris-HCl(pH 6.8) 선정하여 LFA 스트립 확인 결과 PBS와 TBS 버퍼를 사용하였을 양성과 음성 시료의 구분이 명확하게 나타났으며, 10 mM TBS를 전개용매로 사용하였을 때 가장 안정화된 붉은색을 나타내어 최적화 전개용매로 선정하였음

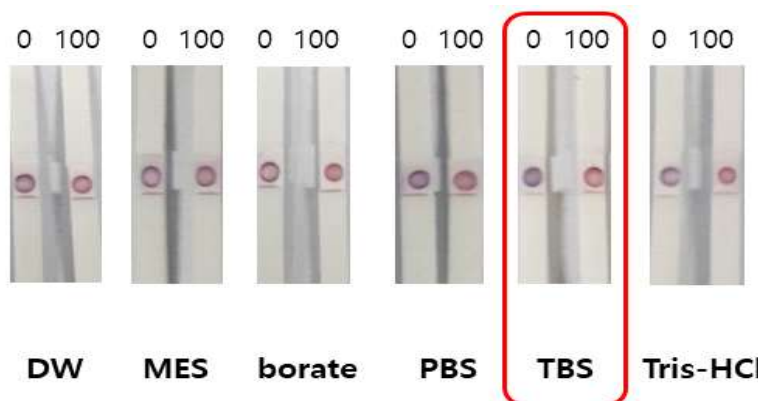


그림. 전개용매에 따른 LFA 결과

(4) LFA 스트립 최적화를 위한 유기용매 선정

- 유기용매의 종류에 따른 LFA의 영향을 확인하고자 10%(v/v) 메탄올, 에탄올, 아세톤, 아세토니트릴을 포함하는 10 mM TBS (pH 7.6)로 선정하고 suGNP가 처리된 LFA로 분석 후 GNP의 색 차이를 확인하였음
- 4종의 유기용매로 디아지논을 0 ng/ml 와 100 ng/ml로 제조하였을 때 에탄올과 아세토니트릴에서 GNP의 색 변화가 크게 나타났으며, 그 중 농약 표준품 희석 또는 베이스 유기용매로 사용되는 아세토니트릴을 최적의 유기용매로 선정하였음

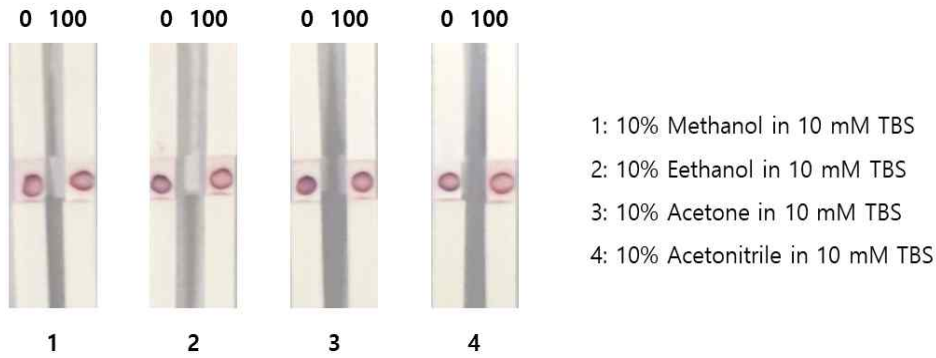


그림. 농약측정용 LFA 최적화를 위한 유기용매 선정 결과

3) LFA 결과 분석을 위한 RGB 알고리즘 구축

- LFA 분석결과에서 비색 정도를 수치화하기 위해 어플로 RGB 값을 측정한 결과 아래의 그림과 같이 양성인 경우 수치상 Red 값이 평균 160으로 확인되었으며, 음성의 경우 평균 130 수준으로 낮게 나타났음
- Blue 값과 Green의 경우 양성인 경우와 음성인 경우의 큰 차이는 없었으나 Blue 값이 음성에서 더 높게 측정된 것을 확인하였음

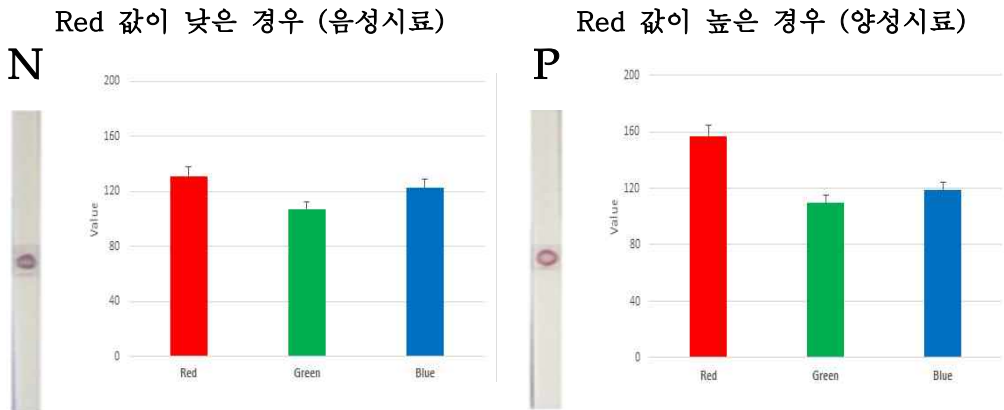


그림. 앱을 이용한 농약 양성인 경우와 음성인 경우 테스트 RGB 측정 결과

- 본 연구에서는 다양한 방식을 통해 양성시료와 음성시료 간에 RGB 값의 차이가 가장 높게 나타나는 알고리즘을 확인하고자 하였음
- LFA 스트립의 양성인 경우와 음성인 경우 차이 값이 수치상 높게 나타나는 알고리즘을 구축하기 위하여 다양한 조건의 알고리즘을 비교하여 가장 이상적인 방법을 적용하고자 하였음
- 스트립의 특성상 음성 대비 양성인 경우의 색을 비교하기 때문에 알고리즘 값의 평균값을 계산하여 N-P 값을 적용하였음 [예시: (음성 Blue-Red 평균) - (양성 Blue-Red 평균)]

표 . 다양한 조건의 알고리즘

1	2	3	4	5	6
Blue-Red	Red-Green	Green-Red	Blue-Gren	Red-Blue	Green-blue

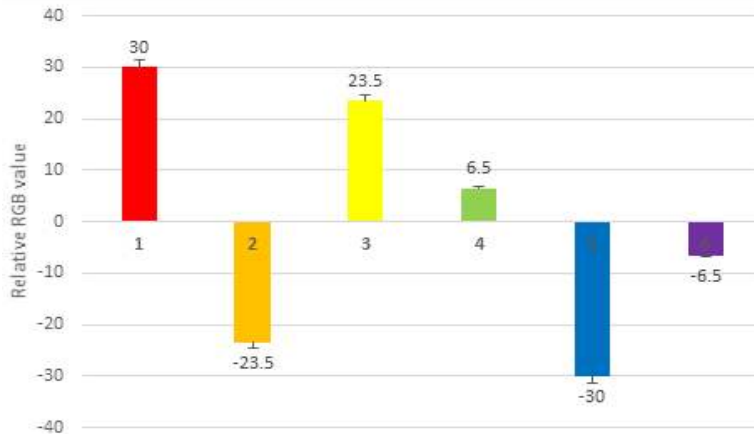


그림. RGB 값을 이용한 알고리즘 구축

- 결과 앞서 언급한 알고리즘에 따라 양성과 음성 차이 값을 수치화 하였을 때 N-P 값이 최대 +30에서 -30 까지 나타나는 것을 확인하였음
- 알고리즘 중 [Blue-Red] 값(알고리즘 1)을 적용하였을 때 +30 값 차이를 확인하였으며, 수치상 차이가 최대치로 나타나는 것을 확인하였음
- 따라서 본 연구에서는 RGB 값 중 [Blue-Red] 값을 이용하여 알고리즘을 구축하는 것으로 결정하였음

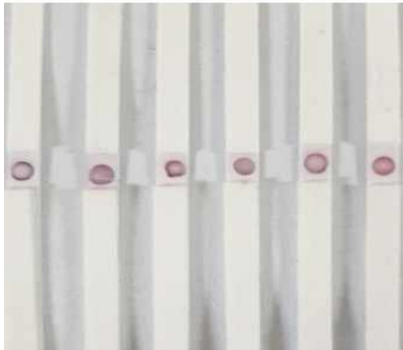
4) suGNP 기반 농약 측정용 LFA의 특성 확인

(1) LFA 민감도 확인

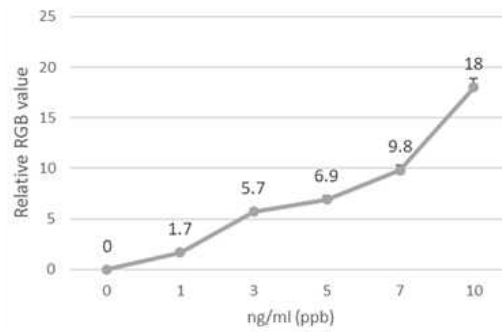
- 본 연구에서는 LFA 스트립상에서 확립한 최적화 조건을 이용하여 표준농약 분석 민감도를 확인하고 알고리즘 수치화를 통해 확립한 RGB 분석법을 검증하고자 실험을 진행하였음
- 유기인계 농약 디아지논과 카바메이트계 카바릴 표준농약을 이용하여 10 ng/ml(ppb) 이하의 농도에서 스트립의 검출능을 확인하였음
- 육안으로 관찰하였을 때 10 ppb 이하로 디아지논과 카바릴이 오염된 경우 검출이 가능한 것으로 나타났으며, RGB를 이용하여 분석한 그래프에서 PLS 제도를 기반으로 제시된 10 ppb 까지 농약 검출이 가능할 것으로 판단되었음

Dizainon(ng/ml) (n=5)

0 1 3 5 7 10

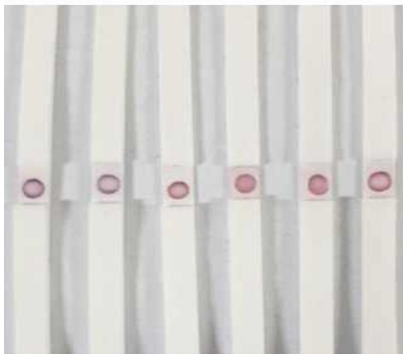


RGB 분석 결과



Carbaryl(ng/ml) (n=5)

0 1 3 5 7 10



RGB 분석 결과

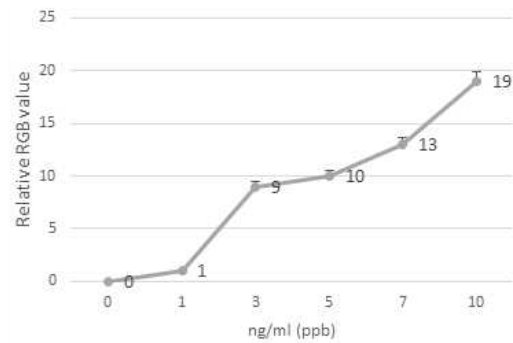


그림. 유기인계와 카바메이트계 농약에 대한 LFA 검출한계 확인

(2) 시판 농약 100종에 대한 특이성 확인

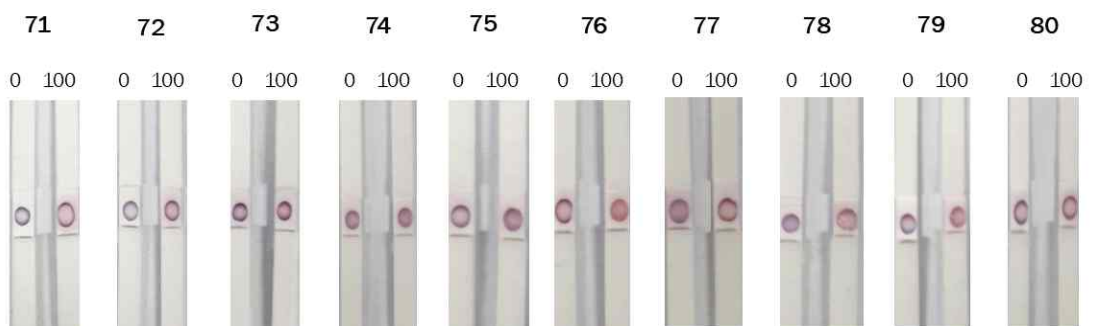
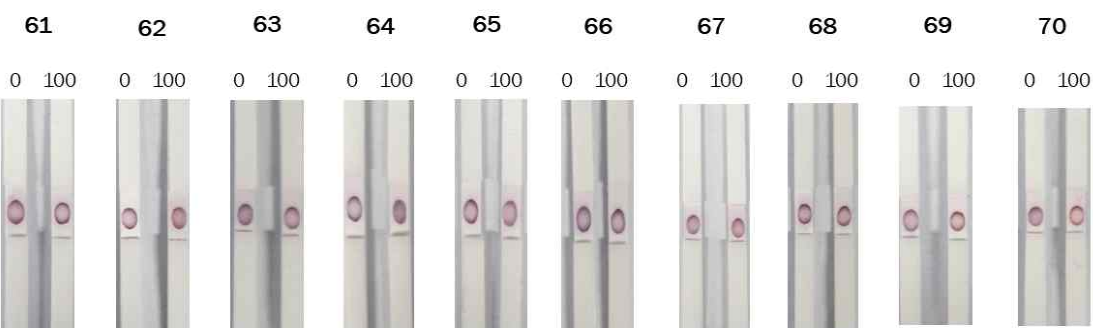
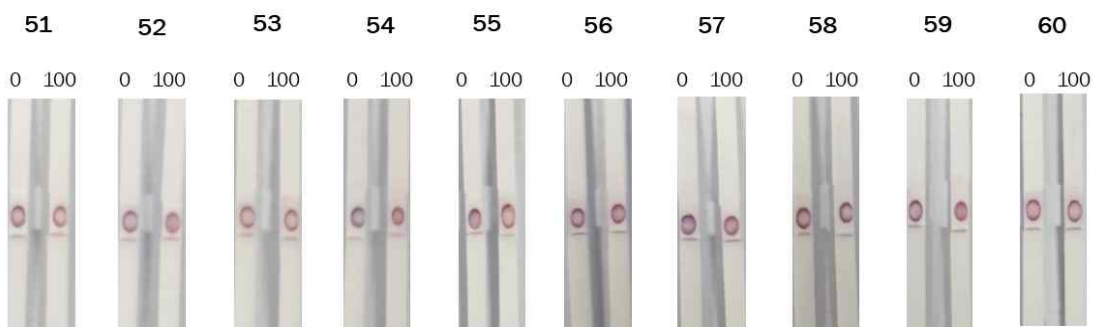
- LFA 스트립을 이용하여 기기검사의 시험항목에 등록된 표준농약 100종(카바메이트 9 종, 유기인계 24 종 포함)을 0과 100 ng/ml (ppb)로 희석하여 실험을 진행하였음
- LFA 상에 GNP의 색이 보라색 또는 적자색으로 변할 경우 음성, 붉은색을 유지한 경우 양성으로 판정하여 카바메이트 9종과 유기인계 24종 모두 분석이 가능하며, 카바메이트계와 유기인계 외에 oxidiazole 등과 같이 제조제 또는 살균제로 사용되는 농약과 반응성이 있는 것으로 확인되었음
- 따라서 본 연구에서 개발한 LFA 스트립 검출법으로 농약의 잔류정도 확인하는데 유용할 것으로 판단되었음

그림. LFA를 이용한 시판 농약 100종 분석 결과

표. 시판 농약 100 종에 대한 특이성 확인 결과 요약

번호	농약	분류	실험결과	번호	농약	분류	실험결과	
0	1	Acephate	organophosphate	0	51	Metolachlor	chloroacetamide	0
	2	Acetamiprid	neonicotinoid	x	52	Metaflumizone	semicarbazone	0
	3	Alachlor	chloroacetanilide	0	53	Oxadiazon	oxidiazole	0
	4	Amisulbrom	sulfonamide	x	54	Oxadixyl	Phenylamide	0
	5	Azoxystrobin	strobilurin	x	55	Parathion-methyl	organophosphate	0
	6	Benalaxyl	phenylamide	x	56	Pencycuron	phenylurea	0
	7	Bifenthrin	pyrethroids	x	57	Phenthoate	organophosphate	0
	8	Bitertanol	Triazole	x	58	Picoxystrobin	acetanilide	X
1	9	Boscalid	carboxamide	0	59	Pirimicarb	carbamate	0
0	10	Carbendazim	carbamate	0	60	Prochloraz	imidazole	X
	11	Carbofuran	carbamate	0	61	Pyraclostrobin	Strobilurin	X
	12	Carbosulfan	carbamate	0	62	Pyriminobac-methyl(E)	pyrimidinyloxybenzoi c	0
	13	Chlorfenapyr	Pyrrole	0	63	Pyriminobac-methyl(Z)	pyrimidinyloxybenzoi c	0
	14	Chlorfenvinphos	organophosphate	0	64	Spinetoram	spinosym	0
	15	Chlorothalonil	chloronitrile	X	65	Spiromesifen	tetramic acid	0
	16	Chlorpyrifos-methyl	organophosphate	0	66	Tebuconazole	triazole	X
	17	Clomazone	isoxazolidinone	0	67	Tebufenpyrad	pyrazolium	X
2	18	Cymoxanil	cianoacetamide oxime	0	68	Tebupirimfos	organophosphate	0
0	19	Cypermethrin	pyrethroid	0	69	Tefluthrin	pyrethroid	X
	20	Cyhalothrin	pyrethroid	X	70	Terbufos	organophosphate	0
	21	Deltamethrin	pyrethroid	0	71	Thiamethoxam	neonicotinoid	0
	22	Dicofol	organochlorine	X	72	Tolclofos-methyl	organophosphate	0
	23	Difenoconazole	triazole	X	73	Triazophos	organophosphate	0
	24	Dimethenamid	chloroacetamide	X	74	Trifloxystrobin	strobilurin	0
	25	Dinotefuran	neonicotinoid	0	75	Trifluralin	dinitroaniline	X
	26	EPN	organophosphate	0	76	Vinclozolin	oxazole	0
	27	Ethaboxam	thiazole	0	77	Chlorobenzilate	organochlorine	0
	28	Ethalfuralin	dinitroaniline	0	78	Chlorantraniliprole	diamides	0
3	29	Ethoprophos	organophosphate	0	79	Dimethipin	-	0
0	30	Fenoxaprop-ethyl	aryloxyphenoxypropion ate	0	80	Ethion	organophosphate	0
	31	Fenpropathrin	Pyrethroid	0	81	Glyphosate	phosphonoglycine	0
	32	Fipronil	phenylpyrazole	0	82	Amitraz	formamidine	0
	33	Flonicamid	pyridine compound	0	83	Bendiocarb	carbamate	0
	34	Flubendiamide	diamides	0	84	Chlorfluazuron	benzoylurea	X
	35	Fluopicolide	benzamide	X	85	Captan	phthalimide	X
	36	Fluopyram	benzamide, pyramide	X	86	Fenvalerate	Pyrethroids	0
	37	Fluquinconazole	triazole	0	87	Malaoxon	organophosphate	0
	38	Glufosinate-ammonium	phosphinic acid	0	88	Malathion	organophosphate	0
	39	Hymexazol	oxazole	0	89	Diazinon	organophosphate	0
	40	Imicyafos	phosphonothioate	0	90	Fenitrothion	organophosphate	0
	41	Indoxacarb	oxadiazin	X	91	Dichlorvos	organophosphate	0

42	Iprodione	dicarboximide	X	92	Phorate	organophosphate	0
43	Iprovalicarb	carbamate	0	93	Pirimiphos-methyl	organophosphate	0
44	Kresoxim-methyl	strobilurin	X	94	Monocrotophos	organophosphate	0
45	Lufenuron	benzoylurea	X	95	Trichlorfon	organophosphate	0
46	Metalaxyl	Phenylamide	X	96	Methidathion	organophosphate	0
47	Metconazole	Pyrethroids	0	97	Methamidophos	organophosphate	0
48	Methomyl	carbamate	0	98	Fensulfothion	organophosphate	0
49	Methoxyfenozide	diacylhydrazine	0	99	Carbaryl	carbamate	0
50	Metrafenone	benzophenone	0	100	Oxamyl	carbamate	0



81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100



91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100

0 100



5) LFA를 이용한 시료(농산물, 토양 및 지하수) 분석

(1) 농산물 및 농업환경시료 평가를 위한 추출용매 아세트니트릴의 농도 및 추출방법 선정

- 현장적용이 가능하도록 시료를 간편하게 추출할 수 있는 2가지 방법을 이용하여 실험을 진행하였음
- 시료 추출버퍼로는 30% 또는 60% 아세트니트릴을 포함하는 10 mM TBS로 제조하였으며, control 조건으로 각각의 농약 0, 100 ppb (ng/ml), 농약을 오염시키지 않은 시료(농약 free)와 100 ppb (ng/ml) 수준으로 오염시킨 시료를 진탕추출과 면봉 스왑방법으로 추출하였음
- 각각의 농약으로 실험을 실시한 결과, 진탕추출과 swab 추출방법을 비교하였을 때 2가지 방법 모두 적용이 가능하지만 30%와 60% 모두 육안으로 판별이 가능하면서 현장에서 시료를 간편하게 추출할 수 있는 진탕추출을 추출법으로 선정하여 회수율 확인과 현장평가 시료추출방법으로 사용하였음

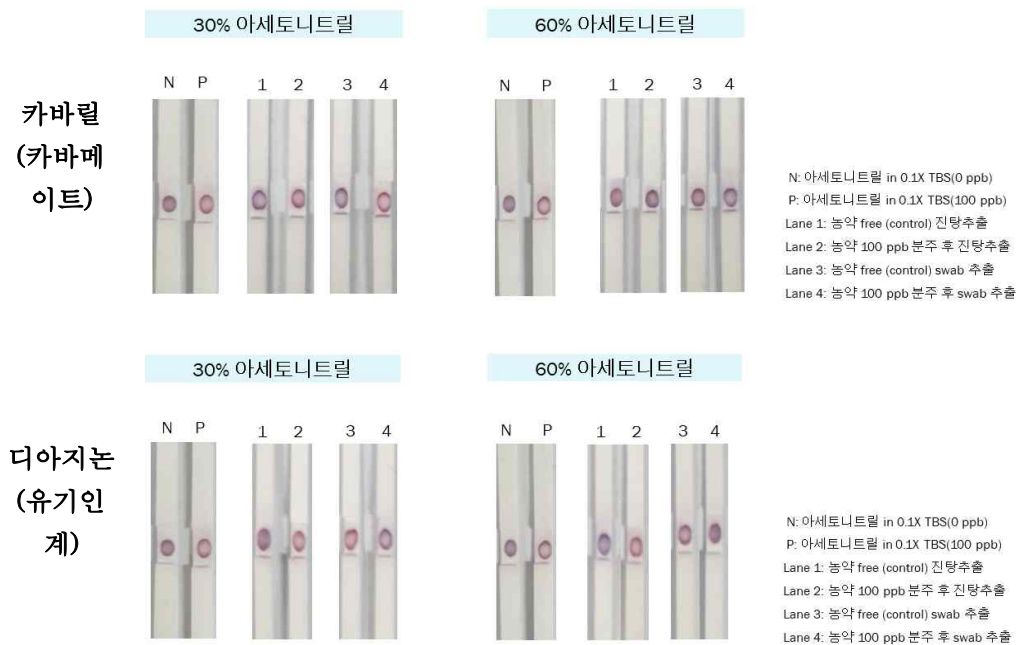


그림. 농업환경시료 평가를 위한 추출 버퍼 농도 및 추출방법 선정

(3) 회수율 확인

- LFA를 이용한 회수율 확인 실험결과, 유기인계와 카바메이트 모두 육안으로 확인하였을 때 카바메이트와 유기인계 모두 10 ng/ml(ppb)까지 시료추출액에서 검출이 가능한 것을 확인하였음
- 추가로 시판되는 잔류농약 검사키트로 확인한 결과, 유기인계 4000 ng/ml 농도에서 흰색(양성, 고농도)으로 확인되었고 그 이하의 농도에서는 연한 하늘색, 또는 하늘색으로 나타나 저농도 또는 음성의 결과로 나타나 저농도의 농약을 진단하기 어려울 것으로 판단되었음
- 진단키트 비색 정도를 RGB 분석법으로 분석한 결과, 카바메이트 5~1000 ng/ml(ppb) 농

도간에 RGB값이 5~7 사이로 큰 차이 없이 나타나 검출한계는 2000 ng/ml(ppb) 초과하는 농도에서 검출이 가능한 것으로 확인되었음

- LFA를 RGB 값으로 분석한 결과에서도 카바메이트와 유기인계 모두 검출한계는 5 ng/ml(ppb)로 확인되었음

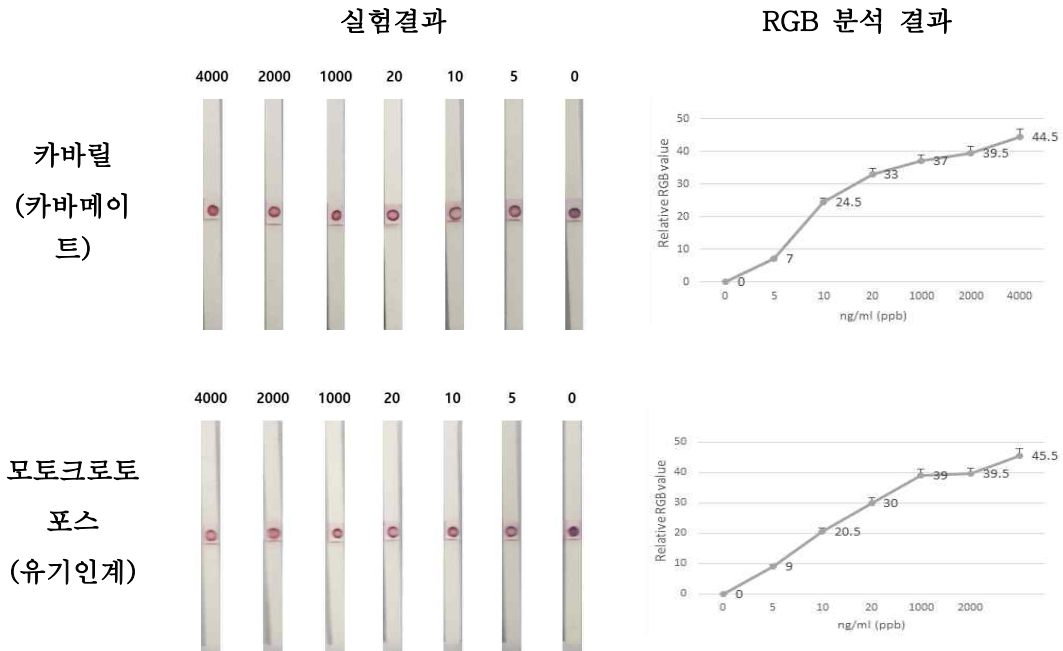


그림. LFA 분석법을 이용한 회수율 확인 결과

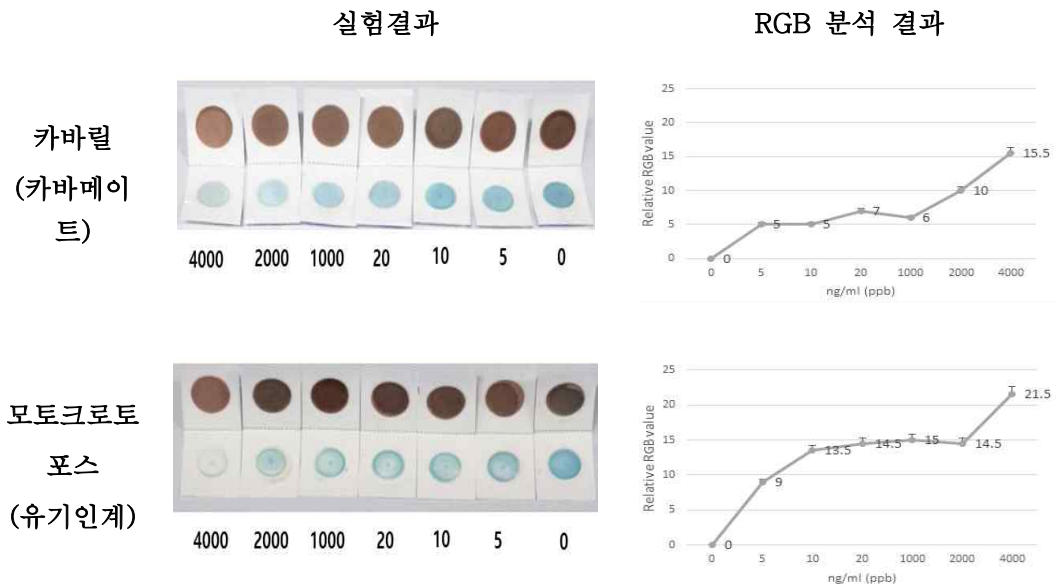
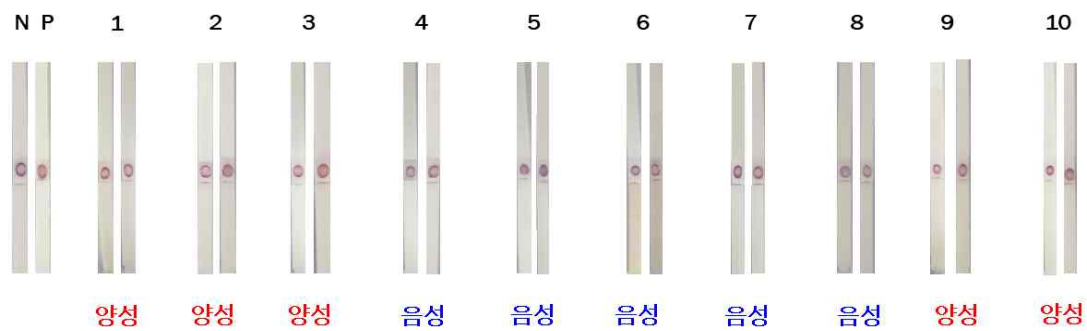


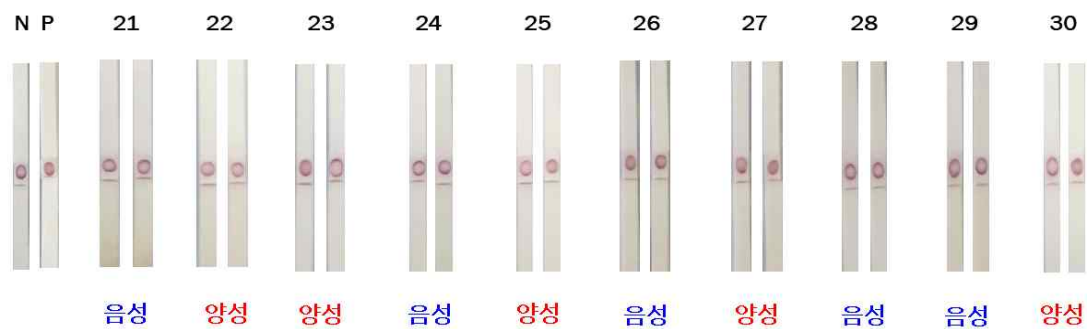
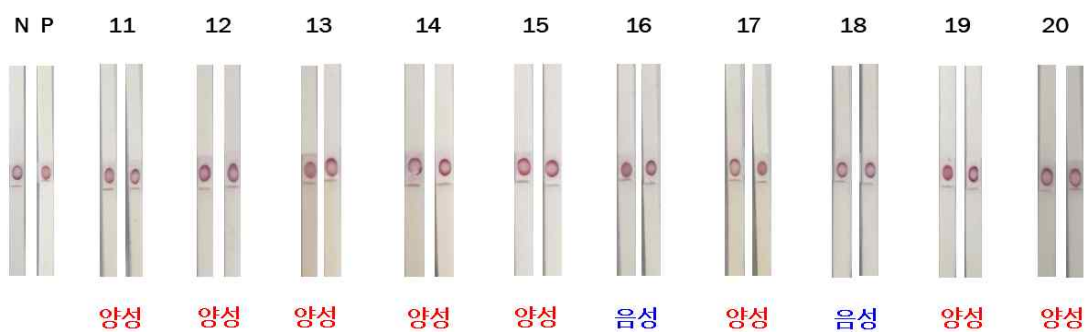
그림. 시판키트를 이용한 회수율 확인 결과

(4) 농산물 및 농업환경 시료 분석

- 농가 방문을 통해 현장시료 100점(농산물 및 농업환경 시료)을 수집하여 LFA 분석법으로 현장적용 평가를 실시하였음
- GNP 색 변화를 농약 표준용액 0과 100 ng/ml과 비교하였을 때 적자색 또는 보라색으로 나타나는 시료는 음성, 붉은색으로 나타나는 시료는 양성으로 판단하였음
- 총 100 종의 현장 시료 분석결과 음성 53점, 양성 47점으로 확인되었으며, 결과 요약에서 양성결과는 '+', 음성결과는 '-'로 표기하여 나타내었음
- 최종적으로 본 연구진이 개발한 LFA 분석법은 현장에서 농산물, 용수, 토양 등의 원부재료에 농약이 오염되어 있는 경우 분석이 가능한 것으로 확인되었음



(계속)



N P	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	음성	양성	음성

N P	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	음성	음성	음성	음성	음성	양성	음성	음성	음성	음성

(계속)

N P	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
	양성	양성	양성	양성	양성	양성	양성	양성	양성	양성

N P	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
	양성	음성	양성	음성	양성	음성	음성	양성	양성	양성

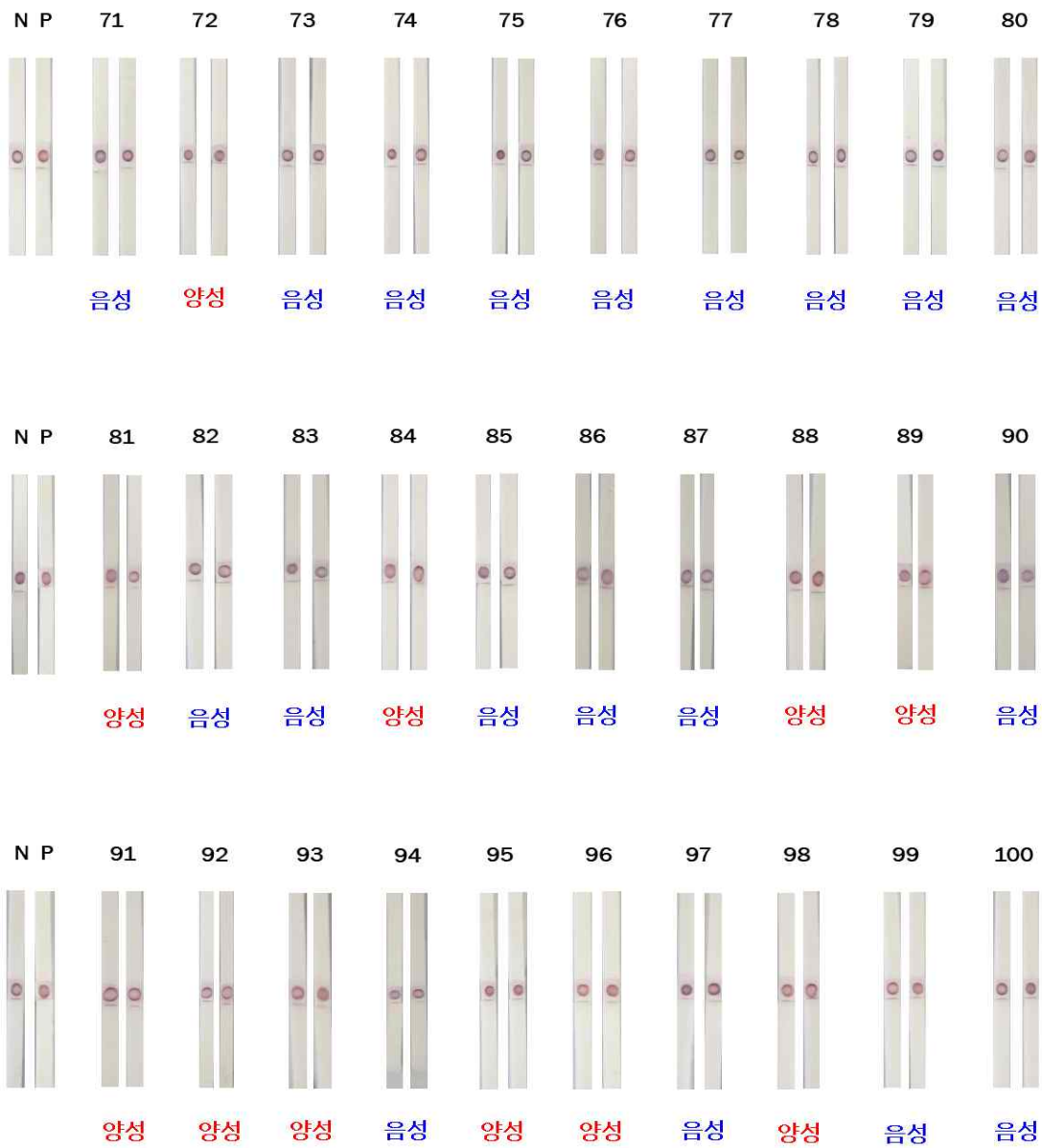


그림. 농산물 원부자재를 포함한 토양 및 지하수 100 종 실험결과

표. 현장시료 분석 결과 요약

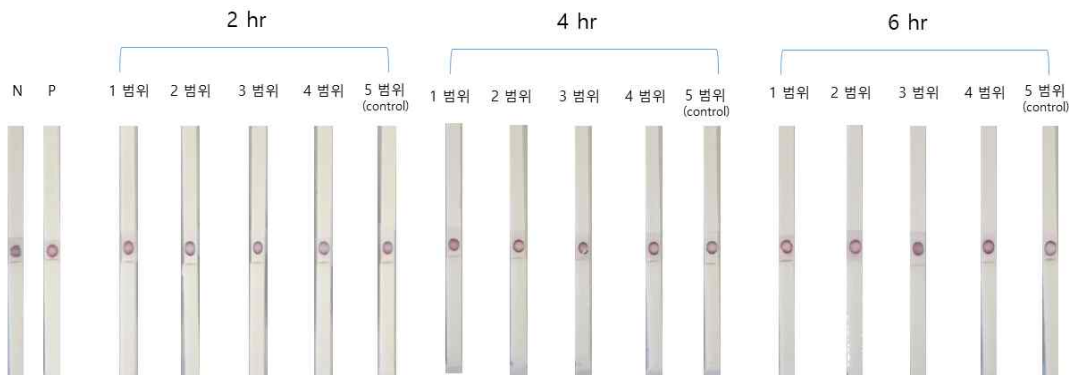
번호	시료명	실험결과	번호	시료명	실험결과	번호	시료명	실험결과	번호	시료명	실험결과
1	파리고추	+	26	양파	-	51	토양	+	76	토양	-
2	깻잎	+	27	깻잎	+	52	토양	+	77	토양	-
3	청양고추	+	28	케일	-	53	토양	+	78	토양	-
4	방울토마토	-	29	양파	-	54	토양	+	79	토양	-
5	방울토마토	-	30	고추	+	55	토양	+	80	토양	-

6	적상추	-	31	감	-	56	토양	+	81	토양	+
7	청양고추	-	32	감	-	57	토양	+	82	토양	-
8	청상추	-	33	감	-	58	토양	+	83	토양	-
9	청상추	+	34	감	-	59	토양	+	84	토양	+
10	고추	+	35	감	-	60	토양	+	85	토양	-
11	쪽파	+	36	배추	-	61	토양	+	86	토양	-
12	오이	+	37	치커리	-	62	토양	-	87	토양	-
13	상추	+	38	깻잎	-	63	토양	+	88	토양	+
14	상추	+	39	고추	+	64	토양	-	89	토양	+
15	고추	+	40	케일	-	65	토양	+	90	토양	-
16	배추	-	41	적상추	-	66	토양	-	91	토양	+
17	배추	+	42	고추	-	67	토양	-	92	토양	+
18	쌈배추	-	43	오이고추	-	68	토양	+	93	용수	+
19	고추	+	44	양파	-	69	토양	+	94	용수	-
20	치커리	+	45	고추	-	70	토양	+	95	용수	+
21	양파	-	46	양파	+	71	토양	-	96	용수	+
22	양파	+	47	적양파	-	72	토양	+	97	용수	-
23	고추	+	48	고추	-	73	토양	-	98	용수	+
24	케일	-	49	케일	-	74	토양	-	99	용수	-
25	깻잎	+	50	적상추	-	75	토양	-	100	용수	-

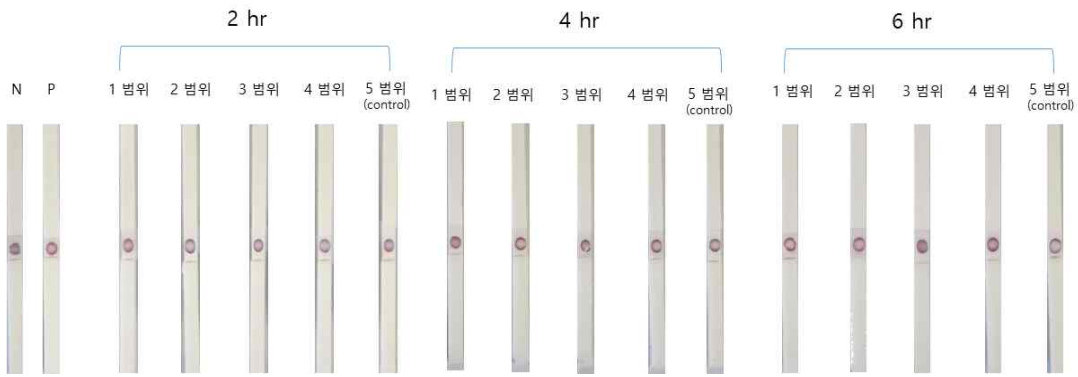
6) 개발된 LFA를 이용한 농약 노출정도 측정

- 농약을 복강에 투여한 마우스(카바메이트: 카바릴, 유기인계: 디아지논, 각 5범위로 나누어 접종)의 전혈을 이용한 적용 가능성을 확인하고자 투여 후 0시간부터 2시간 마다 총 6시간까지 혈청 노출 전·후 혈액 채취 및 LFA 분석법을 실시하였음
- RGB 분석 결과를 그래프로 나타내었을 때 디아지논을 투여한 마우스는 6시간 후 0 mg 을 제외한 모든 범위에서 농약의 노출에 의해 AChE가 억제된 것으로 확인되었으며, 카바릴의 경우 6.9 mg/ 마리를 투여한 마우스에서만 검출된 것을 확인하였음
- 따라서, 본 연구에서 개발한 LFA가 농산물 및 농업환경 시료 중 농약 뿐만 아니라 마우스 등의 생체의 농약노출 정도의 측정이 가능한 것으로 판단되었음

유기인계(Diazinon)



카바메이트계(Carbaryl)



RGB 분석 결과

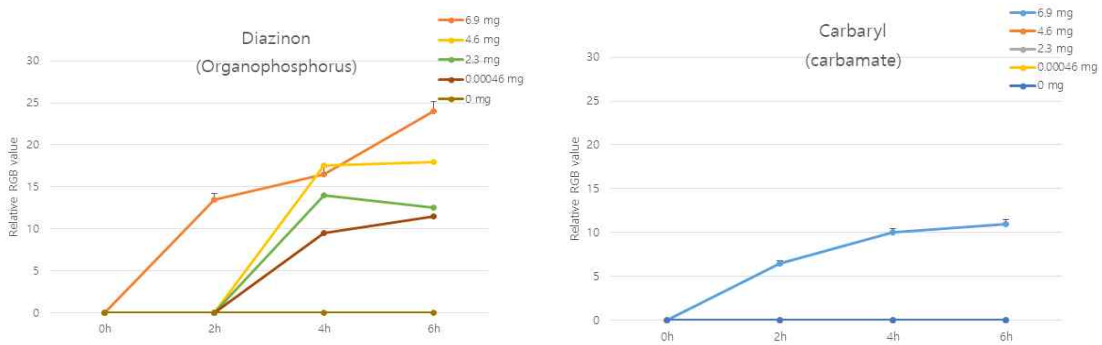


그림. 마우스 전혈을 이용한 농약 노출정도 측정

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

: 특허 1건 출원 (10-2020-0185429) 및 1건의 관련 논문 확보

: 주관 기업이 해당 기술의 파생형 제품을 별도 개발하여 매출 확보 (3천 5백 4십만원)

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	2~3년			
	소요예산(백만원)	100			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		0.354	3	10	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0.01%	6%	20%
국외		-	1%	4%	
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	- 생화학 무기 현장 검출 제품 - 음독사건 및 사고 현장 검출용 제품			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	0.354	3	10	
	수 출	-	4~5	15	

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

본 사 및 연구진은 농약을 검출하는 것에 멈추지 않고 '지속적이고 안정적으로 농약을 관리할 수 있는 검출 진단 모니터링 할 수 있는 시스템을 구축'하여 잔류농약에 대한 우려 불식을 통한 농가의 안정적인 수입향상 및 농업종사자의 건강관리를 통한 사회적 비용의 감소를 목표로 함

3-2. 목표 달성여부

- 본 연구진은 처음 과제 제안 시 언급했던 성과지표를 대다수 달성함
- 특히, 매출 부분에서는 초과달성하여 사업화 전망이 밝음을 확인하였음
- 고용도 4명을 추가로 하는 등 사업의 확장을 진행하고 있음

표. 목표 달성여부 확인표

성과지표		계획(A)	달성(B)	목표달성률 (C:B/A)	지표달성률 (C≒C)
사업화	제품화(건)	0	1.0	-	-
	매출액(백만원)	20	35.0	1.8	100.0%
	수출액(백만원)			-	-
	고용창출(명)	0	4.0	-	-

투자유치(백만원)			-	-
소계	20	40	2.0	100.0%
지식재산권(출원)	1	1.0	1.0	100.0%
지식재산권(등록)	1	0.0	0.0	0.0%
논문(SCI)	0	0	-	-
논문(비SCI)	1	1	-	-
학술발표			-	-
기술이전	1	1.0	1.0	100.0%
교육지도			-	-
기술인증			-	-
인력양성	1	1.0	1.0	100.0%
정책활용			-	-
홍보전시			-	-
기타(영농활용)			-	-

- 특허 등록 미달성 사유 : 현재 특허청의 코로나19 관련 업무 가중으로 인한 업무 지연

3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 해당 사항 없음

4. 연구결과의 활용 계획 등

4-1. 연구개발 결과의 활용방안

- 기존 진단기법보다 신속하고 간편하게 농약을 검출할 수 있는 농약 검출 기술을 통해 비용 절감과 동시에 시간과 장소에 구애받지 않고 비전문가도 쉽게 사용하여 농산물 원부자재를 포함한 토양 및 지하수에서 농약의 오염 여부를 확인할 수 있음
- 최근 ‘농약 허용물질목록 관리제도 (PLS)’ 가 시행됨에 따라 농약의 안전관리 중요성이 높아지고 있으며, 본 연구를 통하여 개발된 신속 정밀 농약 검출 기술을 활용한다면 농산물 출하 전 농약 간이 검사 시스템 확보로 농업인의 보호와 소비자가 안심하고 소비할 수 있는 농산물의 안전관리가 가능함

4-2. 기대성과 및 파급효과

○ 기술적 측면

- 최근 시행된 PLS 제도를 기반으로 하여, 10 ppb 이하 농도의 농약을 검출할 수 있는 정밀 진단 기술을 개발함으로써 농산물 외의 농업환경 등의 다양한 부분에 적용할 수 있음
- 농업의 복지향상을 위한 제도의 도입으로 인해 농약과 관련한 농촌의 사고 등에 신속히 대응할

수 있는 기술의 개발이 필요함

- 개발하고자 하는 역 Y자 기술의 경우 스마트폰을 이용하여 현장에서 빠르게 적용 및 분석할 수 있는 기술로 비전문가인 현장 작업자도 빠르게 기술을 습득하여 농산물 중 농약과 농약 작업 후 농약 노출 검사를 진행할 수 있음

○ 경제적·산업적 측면

- 농업인이 농산물에 대한 잔류농약 자가 분석이 가능해지기 때문에 출하시기 조절이 가능하며, 안전한 농산물 출하를 통해 시장의 안정성을 향상시킬 수 있음
- 농업인의 농약 노출정도를 확인할 수 있는 측정시스템은 추후 농약으로 인한 독극물 사고 및 국방 분야로의 확장성이 있음

○ 사회적 측면

- PLS 제도 도입에 따른 출하된 농산물의 잔류농약 오염여부를 사전에 파악하여 출하 후 폐기 등을 방지할 수 있고 이를 통해 농가의 소득보존을 유도할 수 있음
 - 농약이 관리된 농산물 출하를 통해 소비자가 농산물에 대한 안전성 우려를 해소할 수 있음
- 붙임. 참고문헌

6. 참고문헌

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) IoT 기반 현장형 농약 검출 시스템				
	(영문) IoT based POCT technique for detection of pescideti				
주관연구기관	압티지 엠제이 주식회사		주 관 연 구	(소속) 총괄부	
위탁연구기관	경상대학교 산학협력단		책 임 자	(성명) 문효영	
총연구개발비 (200,000천원)	계	200,000	총 연구 기간	. . ~ . . (년 월)	
	정부출연 연구개발비	150,000	총 참 여 원 수	총 인원	6
	기업부담금	50,000		내부인원	2
	연구기관부담금	-		외부인원	4

○ 연구개발 목표 및 성과

- 농산물 내 잔류 농약의 신속한 검출로 인한 농산물 위험도 감소 및 농약 살포 환경 내 급성 농약 중독 방지책 수립
- 핵심 연구 성과로는 농약을 임신진단키트와 유사한 형태로 현장에서 손쉽게 검사 할 수 있는 플랫폼 개발
- 현장에서 시료 채취 후 채취 시료를 기반으로 하여 농약을 추출, 추출된 농약 오염물을 적용 검출에 소요되는 시간이 15분 이내임
- 기존에 방법이 최소 30분 정도 소요되었던 것에 비해 50%의 시간 절감 효과 확보
- 기존의 제품군이 수입제품이 대다수였으며 비교적 고가(7000원/test)임에 반해 본 개발 제품의 경우 1000원/test로도 수익성을 확보 할 수 있으며 저가형임으로 농가에 보급이 용이할 것으로 보임

○ 연구내용 및 결과

- 본 연구진이 개발한 LFA 분석법은 현장에서 농산물, 용수, 토양 등의 원부재료에 농약이 오염되어 있는 경우 분석이 가능한 것으로 확인
 - 본 연구에서 개발한 LFA가 농산물 및 농업환경 시료 중 농약 뿐만 아니라 마우스 등의 생체의 농약노출 정도의 측정이 가능한 것으로 판단
- 특허 1건 출원 (10-2020-0185429) 및 1건의 관련 논문 확보
- 주관 기업이 해당 기술의 파생 형 제품을 별도 개발하여 매출 확보 (3천 5백 4십만원)

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 주요하게는 해당 제품의 경우 농약에 노출된 사람 혹은 동물에서의 검사도 가능한 시스템으로 개발된 것이며 이는 농약 살포시 노출되는 농민의 건강의 관리에 사용 될 수 있을 뿐 아니라 농약 음독사고 및 농약과 유사한 구조를 기반으로 하는 사린 가스 혹은 VX 같은 생화학 무기에 대한 대처도 신속하게 할 수 있는 제품으로의 확장성을 가지고 있음
- 또한, 급식소 등 대량으로 농산물을 사용하는 곳에서는 잔류 농약 검사를 손쉽게 수행할 수 있게 됨으로서 보다 안전한 먹거리를 커가는 아이들에게 제공 할 수 있음

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		819034-02	
사업구분	농식품연구성과 후속지원사업 바우처지원사업사업				
연구분야	바이오			과제구분	단위
사업명	농식품연구성과 후속지원사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	IoT 기반 현장형 농약 검출 시스템			과제유형	개발
연구기관	압티지엠제이 (주)			연구책임자	문효영
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	2019. 09. 30 - 2020. 04. 29	75,000	25,000	100,000
	2차연도	2020. 04. 30 - 2020. 12. 30	75,000	25,000	100,000
	3차연도				
	4차연도				
	5차연도				
	계				
참여기관	경상대학교 산업협력단				
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021.02.02

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
압티지엠제이 주식회사	대표이사	문효영

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 아주우수

- 현재 농약의 검출 과정은 HPLC 등의 고가의 장비를 기반으로 하여 In-house에서만 가능함
- 본 연구 개발은 임신 진단 테스트기와 같은 원리를 이용하여 개발을 완성하였으며 가격, 현장에서의 활용성이 매우 우수함
- 시중 판매 농약 100 종 중 70여종의 농약에 검출능을 보유하고 있으며 대략 15분 내 검출 결과를 확인할 수 있음
- 스마트폰 기반 app을 이용하여 검출 결과를 확인할 수 있으며 이를 기반으로 관리감독 기관에 결과를 송출 관리할 수 있게 함

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

- 기존 진단기법보다 신속하고 간편하게 농약을 검출할 수 있는 농약 검출 기술을 통해 비용 절감과 동시에 시간과 장소에 구애받지 않고 비전문가도 쉽게 사용하여 농산물 원부자재를 포함한 토양 및 지하수에서 농약의 오염 여부를 확인할 수 있음
- 최근 '농약 허용물질목록 관리제도 (PLS)'가 시행됨에 따라 농약의 안전관리 중요성이 높아지고 있으며, 본 연구를 통하여 개발된 신속 정밀 농약 검출 기술을 활용한다면 농산물 출하 전 농약 간이 검사 시스템 확보로 농업인의 보호와 소비자가 안심하고 소비할 수 있는 농산물의 안전관리가 가능함

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수)

- 주요하게는 해당 제품의 경우 농약에 노출된 사람 혹은 동물에서의 검사도 가능한 시스템으로 개발된 것이며 이는 농약 살포시 노출되는 농민의 건강의 관리에 사용 될 수 있을 뿐 아니라 농약 음독사고 및 농약과 유사한 구조를 기반으로 하는 사린 가스 혹은 VX 같은 생화학 무기에 대한 대처도 신속하게 할 수 있는 제품으로의 확장성을 가지고 있음

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

- 본 연구진은 코로나19로 인해 제약된 환경 내에서도 주관기관과 위탁기관이 수시로 과제관련 내용에 대한 협의를 진행하였으며 이를 기반으로 저가의 제품화에 성공하였음

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

- 현재 발표된 지적 소유물인 특허의 경우에는 해당 기술의 원천기술이며 이를 바탕으로 하여 저가 (1000원 미만)의 제품을 구성할 수 있을 뿐 아니라 현장에서 15분 내 추출 및 검출 결과를 확인할 수 있음
- 또한, 논문은 식품위생안전성학회에 게재될 예정임

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
매출액 20백만원	40	100	- 35백만원으로 초과 달성
특허 출원 1건	30	100	- 특허 1건 출원 완료
특허 등록 1건	15	0	- 심사 지연으로 인한 특허 미등록
논문 비SCI 1건	5	100	식품위생안전성학회지 게재 예정
고용창출 0명	-	-	4명의 고용창출
인력양성 1명	10	100	위탁 기관에서 석사 1명 배출
합계	100점	85	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 본 과제의 기술적 연구성과 및 사업적 성과는 분명히 달성하였음
- 또한, 본래의 기술이 아닌 신규 기술을 확보함으로써 인해 기술의 사업화 가능성을 확장할 수 있었을 뿐 아니라 소비자의 사용편의성 및 가격 저항선에 대한 고려를 통해 사업화 가능성을 높였음
- 본 기술은 농업 외에도 국방, 안보 같은 영역으로의 활용이 가능한 결과물로 추가 연구가 필요로 할 것으로 사료됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 본 과제의 경우 주관 기관의 역할이 미비할 수 밖에 없던 상황에서도 주관기관과 위탁기관이 사업화로의 진행하기 위한 노력을 지속적으로 하였음을 인지해주시길 바람
- 또한, 농약의 현장 검출 사업화를 위해 처음 제시했던 기술이 아닌 새로운 기술을 주관기관과 위탁기관이 각각 개발함으로써 사업화를 강화하였음

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 주관기관인 압티지엠제이는 본 과제의 산물 혹은 부산물을 기반으로 하여 국방 안보에 관련된 제품으로의 확장을 진행할 계획이 있음
- 또한, 연계하여 경찰의 음독사건 조사 등에 사용될 수 있는 제품군으로의 확대
- 농민이 농약을 살포할 때의 농약 중독 정도에 대한 모니터링 시스템으로의 확대를 진행할 계획임

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

- 해당 기술은 사린 가스, VX 가스과 같은 생화학 무기를 검출할 수 있는 기술임
- 현장에서 5분 이내 혈액을 통해 쉽게 검출을 유도할 수 있어 보안이 필요로 함

2. 연구기관 자체의 검토결과

--

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	농업바이오
연구과제명	IoT 기반 현장형 농약 검출 시스템			
주관연구기관	압티지엠제이 주식회사		주관연구책임자	문효영
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	150백만원	50백만원		200백만원
연구개발기간	2019.09.01.~2020.12.31			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(사업화) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 현장형 농약 검출 시스템 개발	- 현장형 농약 검출 시스템 개발 완료
② 저가형 농약 검출 시스템 개발	- 1000원 미만의 제조 원가를 가지는 농약 검출 시스템 제조 완료
③ IoT 기반 농약 검출 시스템 개발	- 스마트폰 기반 app 개발을 통해 농약의 검출능 확인 완료

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시		
												SC I	비 SC I						논 문 평 균 IF	
단위	건	건	건	건	백 만	백 만	백 만	백 만	명	백 만	건	건	건		건	명	건	건		

															IF					
단위	건	건	건	건	백만 원	건	백만 원	백만 원	명	백만 원	건	건	건		건				명	
가중치		40																		
최종목표	1	1		1			530		4			1							1	
연간내 달성실적	1			1			35		4				1						1	
연간 종료 후 성과창출 계획							495	900					1		2					

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.