

(옆면)

(앞면)

118105-3

농
축
산
물
먹
거
리
안
전
을
위
한
이
력
및
품
질
관
리
기
술
개
발

2
0
2
1

농
림
축
산
식
품
부
농
림
식
품
기
술
기
획
평
가
원

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

발간등록번호

11-1543000-003736-01

농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발

2021. 12. 15.

주관연구기관 / 서울대학교
협동연구기관 / 경북대학교

농 립 축 산 식 품 부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발”(개발기간 : 2018.12.03 ~ 2021.09.02)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 12. 15.

주관연구기관명 : 서울대학교산학협력단 (대표자) 최해천 (인)

협동연구기관명 : 경북대학교산학협력단 (대표자) 김지현 (인)

참여기관명 : (주) 와이앤지 (대표자) 송호영 (인)



주관연구책임자 : 정 호 섭

협동연구책임자 : 곽 문 규

참여기업책임자 : 송 호 영

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서				보안등급					
				일반[√], 보안[]					
중앙행정기관명	농림축산식품부		사업명	농축산물안전생산유통 관리기술개발사업					
전문기관명 (해당 시 작성)	농림식품기술기획평가원		내역사업명 (해당 시 작성)						
공고번호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)						
			연구개발과제번호	118105-3					
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB1602	80%	LB1708	20%				
	농림식품과학기술분류	CA0102	100%		%				
총괄연구개발명 (해당 시 작성)	국문								
	영문								
연구개발과제명	국문	농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발							
	영문	Development of history and quality management technology for food safety							
주관연구개발기관	기관명	서울대학교		사업자등록번호	119-82-03684				
	주소	(08826)서울시관악구관악로1 940동311호		법인등록번호	1143710009224				
연구책임자	성명	정호섭		직위	연구교수				
	연락처	직장전화			휴대전화				
		전자우편			국가연구자번호				
연구개발기간	전체	2018. 12. 03 - 2021. 09. 02 (33개월)							
	단계 (해당 시 작성)	1단계	YYYY. MM. DD - YYYY. MM. DD(년 개월)						
		n단계	YYYY. MM. DD - YYYY. MM. DD(년 개월)						
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비	그 외 기관 등의 지원금				연구개발 외 지원금		
	현금	현금	현물	지방자치단체 현금	기타() 현물	합계 현금		합계 현물	
	459,000	15,400	138,600			474,400	138,600	613,000	
총계									
1단계	1년차	125,000	4,200	37,800			129,200	37,800	167,000
	2년차	167,000	5,600	50,400			172,600	50,400	223,000
	3년차	167,000	5,600	50,400			172,600	50,400	223,000
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)	기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고			
	경북대학교	곽문규	부교수			역할	기관유형		
	(주) 와이앤지	송호영	대표이사			공동	대학		
위탁연구개발기관 연구개발기관 외 기관									
연구개발담당자 실무담당자	성명	최성학		직위	선임연구원				
	연락처	직장전화			휴대전화				
		전자우편			국가연구자번호				

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2021 년 12 월 15 일

연구책임자: 정 호 섭

주관연구개발기관의 장: 서울대학교산학협력단장 (직인)
 공동연구개발기관의 장: 경북대학교산학협력단장 (직인)
 공동연구개발기관의 장: (주)와이앤지 송호영 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		농축산물안전생산 유통관리기술개발사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)		
내역사업명 (해당 시 작성)					연구개발과제번호		118105-3
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB1602	80%	LB1708	20%		%
	농림식품 과학기술분류	CA0102	100%		%		%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발					
전체 연구개발기간		2018. 12. 03 - 2021. 09. 02 (33개월)					
총 연구개발비		총 613,000천원 (정부지원연구개발비: 459,000천원, 기관부담연구개발비 : 154,000천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[<input checked="" type="checkbox"/>] 개발[] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용		<div style="text-align: center; font-weight: bold; margin-bottom: 10px;">최종 목표</div> <p>○ 웰빙 식단에 따른 고온조리를 하지않은 신선식품에 대한 수요 증가와 더불어 식품의 위해 인자를 복합적으로 신속하게 검출할 수 있는 고감도 부착 필름형 센서를 개발, 현장에서 유통되는 과정에서 신선육의 온도 관리 및 부패 여부를 신속하게 판별 원천적으로 유통 및 가정내 먹거리 안전망을 확보하기 위해 다음과 같은 목표로 연구를 진행</p> <p>(1) 색 변이 고분자 나노입자를 이용한 센서 프로브 개발 (주관기관)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 색변이 고분자를 이용한 베시클, 바이셀(bicelle)형태의 나노 센서 프로브 개발 /특허출원 ● 온도감응용 및 부패가스 감지 리셉터 탑재 베시클/바이셀 센서 프로브 효능평가 ● 다중 어레이를 통한 유통 중 발생하는 온도 변화 및 부패가스 분석을 통한 신선도 종합평가 <p>(2) 필름형 센서 시스템 개발을 위한 센서 프로브 탑재 및 안정성확보 필름 개발 (협동기관)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 나노 베시클, 바이셀 양산 기술 개발 ● 나노 프로브를 배열한 필름형 색변이 센서 제작 기술 개발 ● 필름형 센서 어레이 기술 및 안정성 확보 <p>(3) 센서 활성화를 위한 액티베이션 장치 및 유통단계 스마트폰 활용 데이터 수집 장치 개발 (참여기업)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 베시클, 바이셀 제작을 위한 특수 구조(나노 스텐실 등) 제작 ● 색변이 나노 센서 프로브의 액티베이션 장치 및 데이터 분석장치 개발 					
전체 내용							
		목표	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 주관연구기관(서울대학교) : 색변이 고분자를 이용한 베시클, 바이셀 나노 센서 프로브 개발 - 협동연구기관(경북대학교) : 나노 베시클 및 바이셀 양산을 위한 마이크로 유체칩 개발 - 참여기관(와이앤지) : 베시클, 바이셀의 대량 생산을 위한 특수 구조체 제작 <p><2차년도></p>				

- 주관연구기관(서울대학교) : 온도감응용 및 부패가스 감지 리셉터 탑재 베시클/바이셀 센서 프로프 효능평가
 - 협동연구기관(경북대학교) : 나노 프로브의 배열을 통한 필름형 다중 센서 제작
 - 참여기관 (와이앤지) : 색변이를 포함한 다중 센서 액티베이션을 위한 자외선 경화 장치 개발
- <3차년도>
- 주관연구기관(서울대학교) : 다중 어레이를 통한 유통 중 발생하는 온도 변화 및 신선도 평가
 - 협동연구기관(경북대학교) : 바이셀 최적화 및 롤투를 공정을 이용한 필름형 다중 센서의 양산 공정 개발 및 시제품제작
 - 참여기관 (와이앤지) : 다중 센서 액티베이션 최적 조건 도출 및 적용

● 1차년도

- (1) 색변이 고분자를 이용한 베시클, 바이셀 나노 센서 프로브 개발
- 1) 온도에 따른 색변이 민감도를 향상하기 위해 3가지 종류의 계면활성제를 첨가 :
- 음이온성, 양이온성, 비이온성 계면활성제의 종류에 따라 온도별 민감도의 차이를 보임
 - 비이온성 계면활성제인 Tween20의 경우 온도별 특히 냉장온도부근에서 민감성이 뛰어남
- 2) 사출성형 칩을 이용한 미세유체칩을 설계 제조하고 균일한 입자를 제조하기 위한 구조를 설계 및 제작
- PP 재질을 이용한 사출성형 일체형 칩을 이용하여 색변이 고분자 프로브 균일제조 확인
 - 나노포어 일체형 구조를 가진 사출성형 칩을 설계하고 이를 이용한 색변이 고분자 제조에 응용가능성 검토

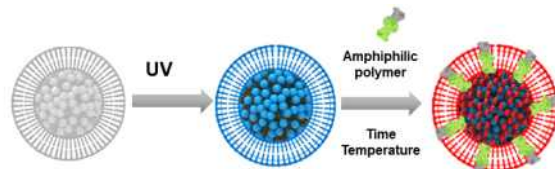


그림 6 양친매성 고분자 및 계면 활성제 첨가한 색변이 리포솜 제조

내용

- (2) 나노 베시클 및 바이셀 양산을 위한 마이크로 유체칩 개발
- 1) 바이셀과 완충액의 혼합 및 희석과정을 통하여 나노 베시클 연속 생산이 가능한 미세유체칩 설계 및 제작
- 최대 3종류의 용액의 동시 주입이 가능하며, 균일한 혼합 및 희석이 가능한 미세유체 구조 설계 완료
 - MEMS 공정을 이용한 PDMS 미세유체칩 제작 및 테스트 완료
- 2) 리피드 박막 기법을 이용한 바이셀 제작 및 미세유체칩을 이용한 베시클 제작
- 리피드 박막 기법을 이용한 바이셀 제작 조건 및 광학적 분석 기법 확보
 - 바이셀과 미세유체칩을 이용한 나노베시클의 연속적인 생산 공정 확보



그림 2. 미세유체칩 제조 공정

- (3) 2PP 3D 프린터를 이용하여 바이셀, 베시클 생산을 위한 스탠실 구조체 제작
- 1) 3D 모델링, 시뮬레이션, 3D 프린팅 제작 실시
- 다양한 종류의 구조체를 설계 후 시뮬레이션을 실시하여 적합한 구조체를 선정하고 제작 완료
- 2) 제작된 몰드를 이용한 스탠실을 제작하고 특성 분석
- 스탠실의 형상 및 타공 여부를 확인

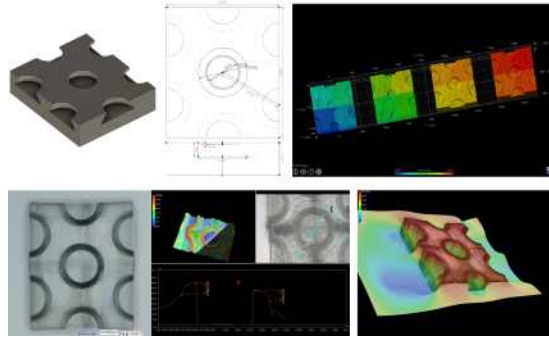


그림3. 스테인실 몰드의 설계, 시뮬레이션, 3D 프린팅, 형상학적 분석에 대한 개념도

● 2차년도

(1) 온도감응용 및 부패가스 감지 리셉터 탑재 베시클/바이셀 센서 프로브 효능평가

1) 온도 이력 감응형 베시클 및 바이셀 감도 향상을 위한 최적설계
 - 음이온성, 양이온성, 비이온성 계면활성제의 종류에 따라 온도별 민감도의 차이를 보임
 - 비이온성 계면활성제인 Tween20의 경우 온도별 특히 냉장온도부근에서 민감성이 뛰어남

2) 부패가스 고감도 검출을 위한 리셉터 나노센서 프로브 개발
 - PP재질을 이용한 사출성형 일체형 칩을 이용하여 색변이 고분자 프로브 균일제조 확인

나노포어일체형 구조를 가진 사출성형 칩을 설계하고 이를 이용한 색변이 고분자 제조에 응용가능성 검토

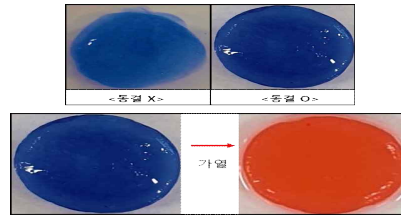


그림 4. 자극 감응형 색변이 고분자 필름

(2) 나노 프로브의 배열을 통한 필름형 다중 센서 제작

1) 온도 감응형 프로브인 PCDA의 바이셀 제작 공정 적용 조건 선정
 - 기존의 바이셀 제작 공정에 PCDA를 첨가하기 위하여 온도, 혼합 PRM, DMPC / PCDA 몰농도 비율 등의 다양한 공정 파라미터 선정

2) 폴리머 필름의 연속적인 생산을 위하여 롤투를 장치용 프로토타입 실험 실시

- 롤투를 프로토타입 장비를 고안하여 광 경화성 폴리머 필름 제작 테스트 실시

(3) 베시클, 바이셀의 액티베이션을 위한 기술 개발

1) PCDA 온도 프로브를 포함한 바이셀 제작

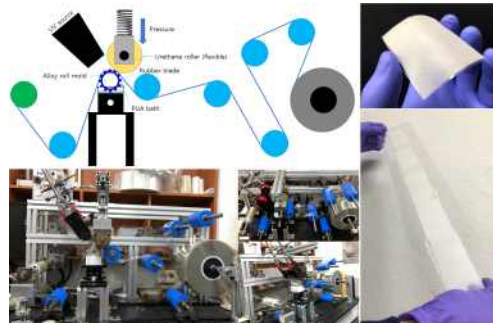


그림 5. 폴리머 필름 제작을 위한 롤투를 장비

● 3차년도

(1) 필름에 내장된 온도이력 감응형 색변이 센서 및 부패가스 반응 센서의 효능평가

- 생활 유통 환경조건에 따른 센서의 성능 최적화 및 효능 검증- 폴리디아세틸렌 고분자를 이용한 부패가스 (암모니아) 검출 어레이 제작
 - 온도별 신선도 변화 및 부패가스와의 상관관계 분석

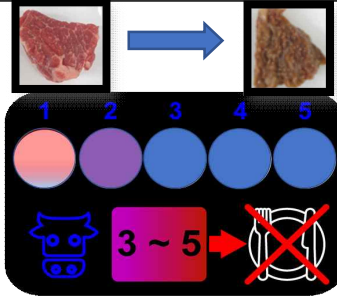


그림 6. 필름타입의 온도감응형 지시계

(2) 필름형 센서 양산 공정 기술 개발 및 시제품 제작

- 생산성 확보를 위한 다중 센서 연속생산 장비 설계 및 재료 선정
- 롤투를 장비 제작 및 온도 감응형 지시계의 최적화
- 롤장비를 이용한 온도 감응형 지시계의 연속생산



그림 7. 온도 감응형 지시계 연속생산 장치

(3) 센서 액티베이션 기술의 최적화를 통한 센서 성능의 증대

- 센서의 재료, 생산 장치, 센서 자체를 상용화 하기 위한 기술 완성도 보완
- 형광이미지 분석을 위한 광학 장치 최적화
- 스마트폰 인터페이스 모듈 및 사용 Application 제작



그림 8. 스마트폰 인터페이스를 이용한 센서의 액티베이션 분석

<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 기술적 측면: 축산물 유통과정을 정밀하게 추적 온도변화 및 신선도를 다중으로 모니터링 할 수 있는 기술 확보 ● 축산물 뿐만 아니라 각종 신선식품의 위해성 신속 판별이 가능한 신규 센서 시장 창출 ● 시장 확대에 따른 인력 보강을 위한 고용 창출 및 각종 전염성 가축질병의 조기진단 센서로 수출기대
<p>연구개발성과 활용계획 및 기대 효과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 미래원천기술 확보 및 현장적용 방안 - 식품 위해성 물질 감지용 휴대형 센서 및 시스템화 원천 요소 기술 개발 및 원천특허 확보 - 센서의 민감도, 선택성, 감지 속도 향상 기술 개발 및 IT 기술과의 융합을 통한 신호 외부 전송 기능 확보 - 현장적용을 위한 부패가스 검출 시스템 상용화 기술 확보 ○ 신속한 신선육의 위해성 판별 기술 제시
<p>연구개발성과의</p>	

비공개여부 및 사유												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
	4	3						생명 정보	생물 자원			정보
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	신선육		색변이센서		필름형		온도이력		부패가스			
영문핵심어 (5개 이내)	fresh meat		colorimetic sensor		film type		temperature history		putretion gas			

<< 목 차 >>

1. 연구개발과제의 개요.....	10
1-1. 연구개발의 개요.....	10
1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황.....	14
1-3. 연구개발의 목표 및 내용.....	30
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용.....	31
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도.....	33
1) 연구수행 결과.....	33
(1) 정성적 연구개발 성과.....	33
(2) 정량적 연구개발 성과.....	86
(3) 세부 정량적 연구개발 성과.....	86
(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항.....	100
2) 목표달성 수준.....	100
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성).....	101
1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용.....	101
2) 자체 보완활동.....	101
3) 연구개발 과정의 성실성.....	102
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도.....	102
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획.....	102

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 개요

- 전 세계적으로 인구의 증가와 더불어 고령화 사회에 접어들면서 건강한 삶을 지키기 위해 채소, 과일류와 같은 신선식품, 유제품, 축산물 식품등의 먹거리 안정성에 대한 수요가 꾸준히 증가하고 있는 만큼 웰빙 식재료의 생산뿐만 아니라, 사전에 식재료의 위험을 예방하여 건강한 생활을 영위할 수 있도록 도와주는 신속한 식품 안정성을 검사할 수 있는기술의 필요성이 대두되고 있음.
- 최근 고품질로 생산된 농축수산물과 신선가공식품이 적절한 포장과 유통 과정을 통하여 품질 열화 없이 소비자에게 전달되도록 하는 것이 매우 중요한 과제가 되었고, 소비자 측면에서는 최종적으로 구매되는 신선식품의 안전성과 품질 확인 방법이 필요하다.
- 이러한 필요를 만족시키는 수단으로서 스마트 안전유통 관련 기술이 주목받고 있다. 농축수산 식품을 담아서 유통경로를 따라 이동되는 포장은 기본적으로 품질을 보존하고 각 유통단계에서 정보를 전달하며 소비시에 편의성을 제공하는 기능을 가지고 있으며, 최근에 들어서 IT, BT, NT의 융복합적 응용기술에 의하여 과거에는 상상할 수 없었던 다양한 능력을 가지게 되었다.
- 농축수산 신선 식품의 안전성 확보와 관련된 문제로서 원산지과 재배조건 등에 관한 정보를 소비자들에게 정확하게 전달하는 문제와 유통과정 중에서의 품질을 관리하고 실시간적으로 판단하여 처리하는 것이 현재의 농축수산 식품 유통에서 가장 중요한 관심사인데, 현재의 포장기술이 이를 어느 정도 해결해나가고 있다. 이러한 분야의 기술들을 포괄적으로 스마트 지능형포장(smart intelligent packaging)이라고 부르고 있으며, 대표적으로 품질을 실시간으로 표현하는 신선도 지시계 등을 들 수 있다.
- 현재 알려진 신선도 지시계의 기본 원리는 온도 이외 다른 외부 환경조건들(빛, gas, pH 등)은 포장을 통해 극복할 수 있으며, 식품 품질 변화가 Arrhenius relationship을 따르는 온도 의존적 변화라는 가정에 기반 한다. 따라서 그림 1과 같이 대상 식품의 품질변화의 kinetic 특성과 사용자가 쉽게 인지할 수 있는 물리화학적 변화의 kinetic 특성을 기술적으로 matching 하여 그 물리화학적 변화를 통해 대상 식품의 품질을 예측하는 일종의 실시간 모니터링 시스템이다.

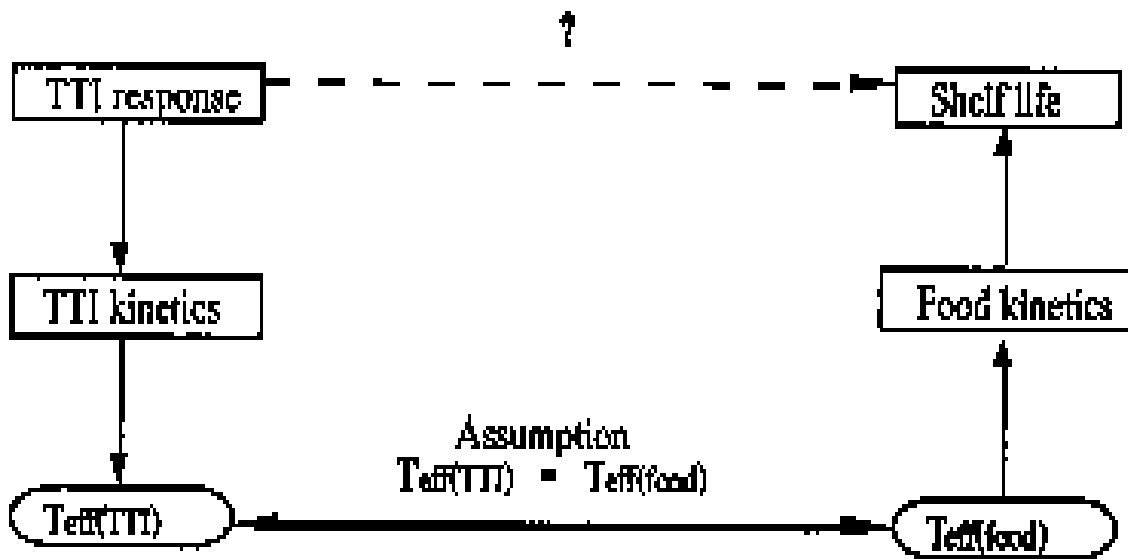


그림 1. 온도-시간 이력 지시계 (Time-Temperature Integrator, TTI)의 개념도
 (Bin Fu and T.P. Labuza, Journal of food distribution research 1998)

- 현재까지 알려진 분석기술의 한계로 인해 포장 가공되어 유통 중인 신선식품의 품질을 알기 위해서

는 그 포장이나 식품자체의 품질을 훼손하거나 많은 비용이 드는 것이 현실이다. 따라서 TTI는 상품에 영향을 주지 않고 그 품질을 모니터링 할 수 있는 차세대 포장 시스템으로 많은 주목을 받아오고 있으며, 많은 다양한 연구들이 진행되고 있으며, 일부는 상품으로 판매중이다.

- 유해 미생물에 의한 식중독 발생은 생활수준이 높은 선진국에서도 계속 증가하고 있으며, 일반적으로 신선 채소류는 가열하지 않고 신선한 상태로 섭취하기 때문에 병원성 미생물에 오염되어 있을 경우 식품 안전성에 위협이 될 수 있음
- 식품 안전을 위협하는 대표적인 위험요소로 식중독을 들 수 있다. 식중독이란 세균, 바이러스, 독소와 같은 식중독 유해인자에 오염된 음식물의 섭취로 인해 발생하는 모든 종류의 질병을 의미하며, 이로 인한 사회적 경제적 손실이 매년 1조3천억 원에 달하며 국민의 건강을 심각하게 위협하고 있음.
- 식중독 예방은 국가, 사회적으로 매우 중요하며 이를 위해 식중독 유해인자의 신속 정확한 검출 기술 개발이 이루어 져야 함.
- 하지만, 식중독을 유발하는 대표적인 유해인자인 병원성 대장균, 살모넬라, 황색포도상구균, 장염 비브리오균 등을 정성 정량적으로 분석하기 위해서는 현재 식품공정 방법인 한도시험 및 표준평판배양법, 건조필름법, 최확수법을 이용하고 있으나 분석의 번거로움 뿐만 아니라 정확한 판별을 위해 수 시간부터 몇 일이 요구되기도 함.
- 식중독을 유발하는 대표적인 유해인자인 병원성 대장균, 살모넬라, 황색포도상구균, 장염 비브리오균 등을 정성 정량적으로 분석하기 위해서는 현재 식품공정 방법인 한도시험 및 표준평판배양법, 건조필름법, 최확수법을 이용하고 있으나 분석의 번거로움뿐만 아니라 정확한 판별을 위해 수 시간부터 며칠이 요구되기도 함.
- 2014년까지 식품의약품안전처가 제시한 부패육 시험법의 판정기준에는 암모니아시험, 유화수소 검출시험, Walkiewicz반응, Trimethylamine 시험법, 휘발성 염기질소 시험법 등이 있었음.
- 그러나 육류의 종류에 따라 기본적으로 발생하는 휘발성염기질소 수치가 동일하지 않고, 숙성육의 경우 부패하지는 않았지만 휘발성염기질소 수치가 증가한다는 보고가 있음.
- 그에 따라, 2015년 10월 28일 식품의약품안전처에서는 축산물 중 부패육 시험법의 판정기준을 명확화하고 관련 시험법을 개정하기로 결정함에 따라, 부패육 시험항목 중 암모니아시험, 유화수소 검출시험, Walkiewicz 반응, Trimethylamine 시험법을 삭제하고 부패육 시험법인 휘발성 염기질소 시험법을 개선하기로 결정하였음.
- 휘발성 염기질소 시험법은 미생물학적 부패와 관련하여 식육의 휘발성 염기질소함량 (Volatile Basic Nitrogen, VBN)을 측정하는 가장 일반적인 방법으로, 암모니아질소와 트리메틸아민 등의 휘발성 아민을 합쳐서 VBN이라고 하고 고기의 신선도를 나타내는 지표로 활용되고 있음.
- 현행법상 부패육(신선도) 판정기준은 pH와 휘발성염기질소측정법 두 가지가 있음. 육류의 경우, 미생물의 번식에 의해 신선도가 저하되고 미생물의 번식에 의해 단백질이 분해되고 염기성 물질이 증가하여 pH 및 휘발성 염기질소함량이 상승함(그림 2). 특히, 부패도가 증가할수록 육류의 대사산물인 카다베린(Cardaverine), 푸트레신(Putrescine), 암모니아(NH3), 황화수소(H2S) 등의 가스가 발생함,
- pH6.2~6.3이면 부패초기로 의심하며, 휘발성 염기질소가 시료 100g 중 20mg 초과이면 부패했다고 판단함(「식품의 기준 및 규격」 식품의약품안전처 2018.05.01). 하지만 시장에 상용화되어 휘발성 염기질소를 선택적으로 감별해 낼 수 있는 기기가 전무한 상황.
- 많은 연구들이 현장의 상황을 고려하지 않은 실험실 수준으로, 기 개발된 많은 기술을 활용한 현장적용 기술 개발이 절실히 필요함. 식품은 저장 및 유통과정에서 미생물, 빛, 산소, 화학물질 등의 작용에 의해 맛, 냄새 등이 변질되면서 부패, 변패, 산패 등의 현상이 발생하게 됨.

식품공전법내 휘발성 염기질소 (VBN) 분석법

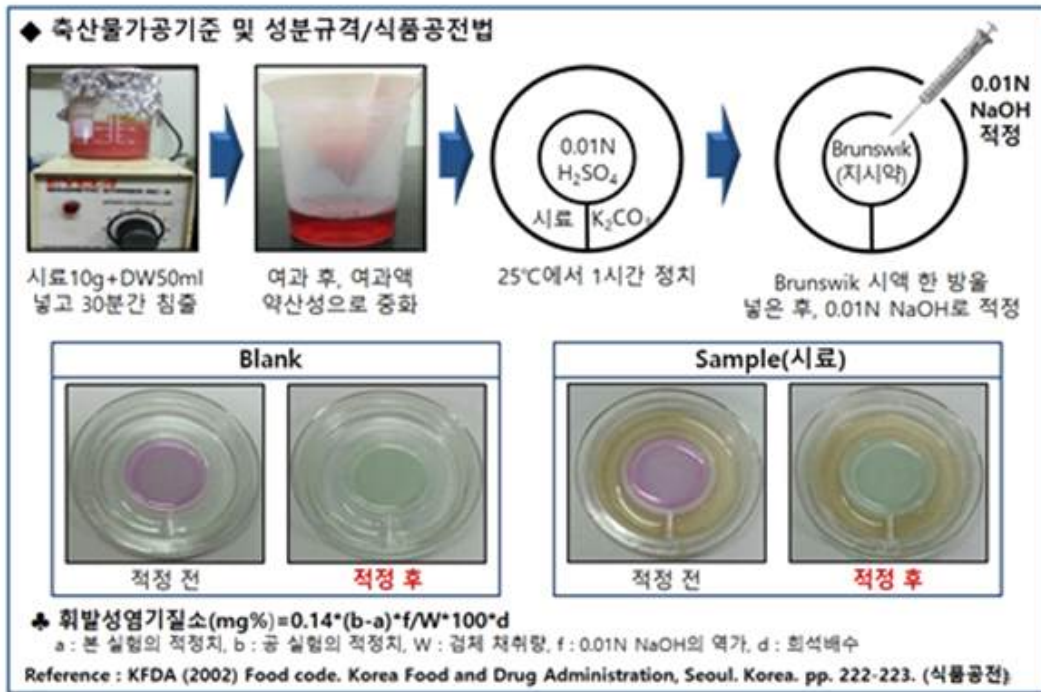


그림 2. 휘발성 염기질소(VBN) 분석법

- 식중독 유해인자에 선택적으로 결합하는 항체를 센서에 적용하여 유해인자를 고감도로 신속 검출을 가능하게 한다. 가장 널리 사용되는 면역 기법은 효소 결합 면역 측정법(ELISA; Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)으로 현재 다양한 종류의 제품이 키트 형태로 출시되어 식중독 유해인자 검출을 위해 사용됨.
- 하지만, 현장에서 신속하게 검출하기 위해 개발된 키트의 경우, 낮은 검출 감도로 인해 분석의 신뢰성 확보가 어렵고, 특정 미생물에 대해 반응하기 때문에 종합적으로 식재료의 안정성을 분석하기에는 한계가 있음. 또한 식품의 품질 변화와 TTI의 지시원리의 kinetical characteristics를 matching 하는 작업이 쉽지 않으며, 지시의 확실성, 작동 온도와 시간 범위, 낮지 않은 제품단가 등 아직 해결되지 않은 문제점들로 인해 현재까지 상품화된 TTI들을 다양한 식품들에 바로 적용하기에는 현실적인 어려움이 따르는 것이 현실이다.
- 상품정보에 관한 내용이 지금까지는 주로 포장에 인쇄된 바코드(bar code)에 의하여 유통경로에서 확인되고 이용되어 왔지만, 앞으로는 RFID(Radio Frequency IDentification)에 의하여 보다 많은 정보가 빠르고 쉽게 전달될 수 있을 것이며, 식품의 품질도 포장에 인쇄된 고정된 유통기한의 설정에 의하여 이루어져 왔지만 실시간적인 품질 측정이나 예측이 가능해지고 있다. 특히 다양한 센서와 결합된 RFID 시스템은 농축수산 식품의 저장성과 안전성을 확보하기 위한 유통단계에서의 여러 의사결정을 주도하여 식품폐기를 줄이며 소비자 만족도를 향상시킬 수 있다. 이러한 지능형 포장의 개념도는 그림 3.과 같다.

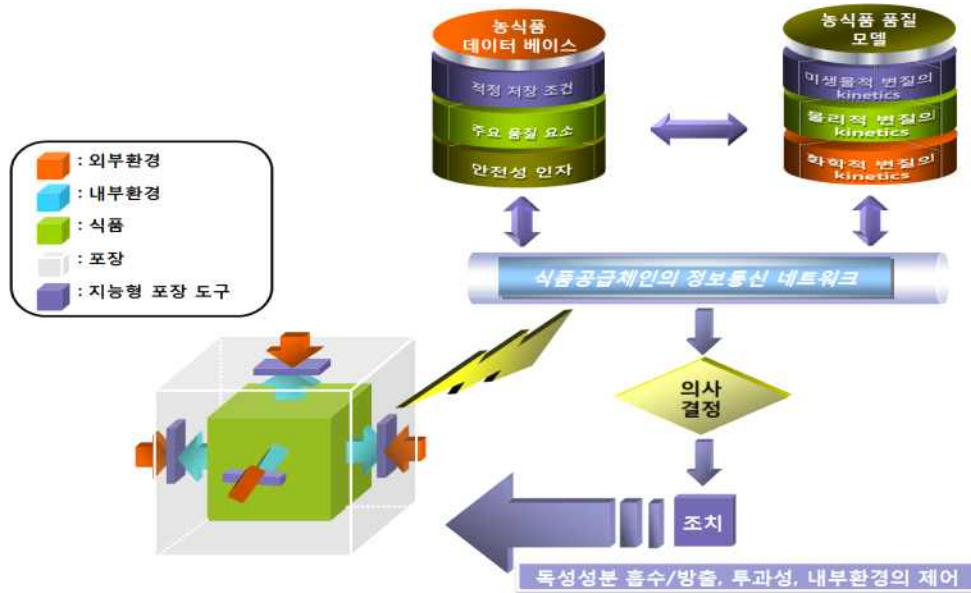


그림 3. 스마트안전유통 관리기술의 개념

○ 본 연구팀에서는 이와같은 현장에서 신속하게 누구나 식품의 위해성, 특히 신선도 관련 위해성을 신속 정확하게 검출할 수 있는 고감도 부착 필름형 센서를 개발, 현장에서 유통되는 과정에서 신선육의 온도 관리 및 부패 여부를 신속하게 판별 원천적으로 유통 및 가정내 먹거리 안전망을 확보하고자 다음 기술개발을 목표로 한다.

- 온도이력 감음형 센서 프로브 제작 기술
- 부패가스 반응 색변이 센서 프로브 제작 및 어레이 기술
- 색변이 센서 프로브 내장형 필름 제작 및 대량생산 시스템 개발 기술
- 센서 액티베이션 시스템 및 스마트폰 연동 기술
- 일반인들이 사용하기 편리한 센서 시스템 제공



그림 4. 본 연구팀의 연구개발 목표와 개요

1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

○ 식중독균 등 식품위해요소 신속 검출기술

- 산업체, 대학을 포함 정부출연기관 등에서 식품위해인자 검출보다 의료진단 분야의 검출에 집중되어 있으며 일부 식중독균 신속검출 기술이 개발되고 있음.
- 2016년 한국식품연구원은 기존 식중독균 검사시간을 최장 3시간 이내 검사 가능한 식품시료처리 자동화 시스템을 개발하였으며, 현재 식품기질에 따른 최적 프로세스 확립을 통한 식품 적용 대상 확대 연구를 수행 중
- 2017년 농촌진흥청은 대장균군/대장균 간이 검출법 및 검출장치를 개발했으며 기존의 검사법이 3~4일 소요되는 것을 12~18시간 배양 후 발색시약을 통해 대장균군 오염 여부를 육안으로 확인 가능
- 2016년 농촌진흥청, KAIST, 전북대 공동 연구팀은 식중독균 5종을 1시간 이내 검출할 수 있는 기술을 개발하였으며 검출한계 103으로 동시검사가 가능
- 국내 식품안전은 식품위생법에 따라 규제위주로 관리되어 왔고 국가차원의 식품안전기술 개발이나 연구지원은 부족한 상태
- 연구실 수준에서 식중독균, 잔류 동물성의약품, 중금속 등과 같은 부분적 기술개발이 진행되었으며 식자재 생산·제조 현장 및 집단 급식 시설 등에서 활용 가능한 기술개발이 필요한 실정임.
- 국내에서는 미생물 배양배지를 대량생산, 판매하는 생배지 제조 전문 업체로서 한일 코메드가 EASY 24E plus 제품을 생산하고 있으며 장내세균 및 비브리오의 신속, 정확한 동정을 위한 검사키트를 시판중이며 24종의 생화학적 검사를 한꺼번에 실시하여 보다 정확한 결과를 얻고 있으나, 역시 다른 식중독균 검출 키트 시스템과 같이 18~24시간 의 측정 시간을 요구하고 있음.



한일 코메드의 미생물 동정을 위한 Easy 24E Plus

그림 5. 코메드사의 EASY 24E plus 생화학 검사 키트

- 2007년 삼성에버랜드에서 multiplex PCR 을 통해 다양한 식중독균을 동시에 분석하는 방법을 정립한 후 국제위생학회(IAFP) 및 학술지, Journal of food protection 에 발표함. 이 방법에 의해 Escherichia coli O157:H7, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Listeria monocytogenes, Samonella 가 동시적으로 분석됨.
- 국내 다수의 산, 학, 연 의 연구자들 또한 다양한 융복합적인 기술을 이용한 고감도 바이오센서 개발을 통해 바이러스나 미생물 등의 식중독 유해인자의 고감도 검출을 위한 기술들이 개발되고 있으나, 식품 전처리 샘플에의 적용 및 현장 적용 등에 한계를 보이고 있어, 본 연구에서와 같이 소형 분

석기기의 현장적용 및 초고감도 분석 원천기술의 융합을 통한 통합적인 검출 시스템의 개발이 시급함.

- 항온 핵산 증폭 기술의 경우 KAIST의 박현규 교수 팀에서 국제 학술지에 많은 논문을 발표함 (Jung, et al. 2010. Anal Chem. 82, 5937-5943).
- 국내의 polymer matrix 개발은 POSTECH의 정규열 교수 연구팀에서 진행하였으며, CE-SSCP를 위한 PEO-PPO-PEO triblock copolymer 기반의 고해상도 polymer matrix에 대해 해외 학술지 논문과 특허를 갖고 있다. 현재 bench-top CE 수준에서 비슷한 길이를 갖는 10종의 DNA 타깃을 동시에 분석 가능한 해상도를 얻고 있으며, 이는 기존 PDMA 기반의 CE에서 보다 7배 이상의 해상도 향상을 갖는 것임 (Shin et al. 2010 J. Sep. Sci. 33, 1639-1643). 현재 고해상도 분석이 필요한 microchannel 의 경우 만족할만한 해상도를 얻기 위해 연구 중임.
- 국내의 식품 전처리의 경우 식품 중에 존재하는 미생물의 탈리를 위한 자체적인 기술은 연구된 바 없으며 이러한 기술은 국외 기술에 의존하고 있으며 KFDA에서도 식품의 미생물학적 검사를 위한 검체의 채취에 stomacher나 homogenizer를 사용하도록 제시함.
- 국립농업과학원에서는 형광나노입자 (Quantum dot)을 이용한 나노바이오융합 기술을 Immunoassay 기술에 응용하여 형광의 민감도를 측정함으로써 식중독균 검출 기술 발표하였음.
- 식품에서 미생물학적 검사를 위한 탈리법 중 Hand massage는 시료백에 담긴 식품을 30초 동안 손으로 마사지하여 식중독균을 탈리시키는 방법임 (K. H. Seo 외, 2003). 비교적 크기가 큰 식품에서 시료의 손상 없이 균을 분리해내고자 할 때 사용함.

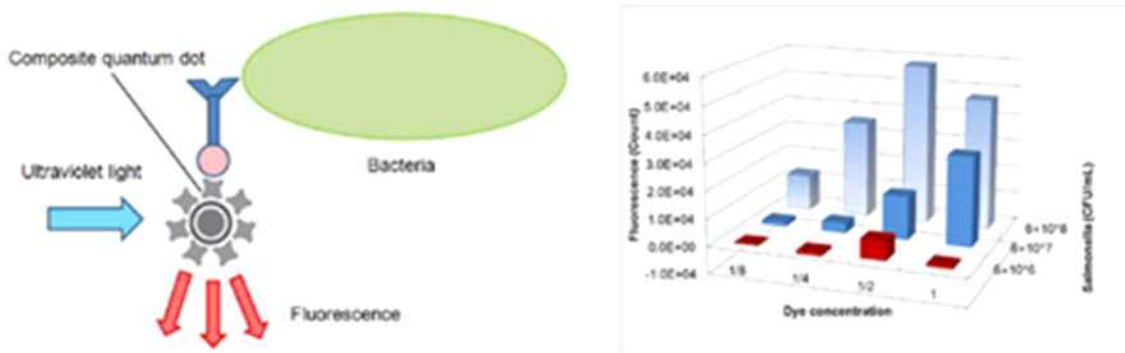


그림 6. 나노 바이오센서를 이용한 식중독균 검출 원리 (국립농업과학원)

○ 식품 유통 중 온도 변화 추적 센서 기술

- 농축산물 먹거리 유통과정 중 입고와 출고를 반복하는 과정에서 다른 온도대에 노출되어 신선도가 떨어져 부패하기 쉬운 품질로 변할 수 있으며 냉장-상온 간의 온도 변화는 품질 손상이 가속화 됨
- 국내의 농축산물 먹거리의 보관 및 유통 과정 중 신선도와 안전 및 품질 등의 유지를 위해 온도 중심의 물류시스템인 콜드체인의 중요성이 증가함
- 스마트 식품유통시스템은 콜드체인의 효율성 증대를 위해 스마트 기술이 적용되어 농축산물 먹거리의 유통 과정 중 발생하는 각종 정보를 생산자와 유통관계자 및 소비자에게 제공하고, 관리할 수 있게 하는 시스템으로 품질관리센서, 지능형식품포장, 식품유통환경제어장치, 스마트식품유통설비 등의 연구가 진행되고 있지만, 품질관리센서와 지능형식품포장에 대한 국내 연구는 미흡한 실정임
- 현재까지 농축산품 유통과정에서 RFID를 적용한 기술은 대부분 단편적인 기술 개발이나 시범사업의 형태로 현장에 적용되어 산업화된 기술은 미비하며, 소비자는 구매한 농축산물의 유통단계에서의 신선도와 안전 및 품질을 손쉽게 알 수 없는 실정임
- 스마트식품 유통시스템에서 지능형식품포장은 전통적인 식품포장의 기능에서 부가적으로 보존

향상, 품질유지, 온도 이력 등과 같은 다양한 정보 전달의 역할을 하며 시간-온도 지시계(Time temperature indicators)는 색 변화를 통해 식품의 품질 상태를 확인하고, 식품의 제조에서부터 최종 소비단계까지의 전체 혹은 부분적인 온도 이력의 효과를 기록하고 누적해 시각적으로 나타 내는 간단하고 저렴한 장치임

- 효소형 시간-온도 이력지시계는 효소안정화 기술이 적용된 ARCzyme의 산화-환원반응을 이용 해 온도가 변화하는 지시계로, 포장육제품, 우유 미 포장김치 등을 대상으로 테스트가 끝남



그림 7. 시판중인 효소형 시간-온도 이력지시계

* 출처 : FOODICON, <http://www.foodicon.co.kr/news/articleView.html?idxno=858>

- 미생물형 시간-온도 이력지시계는 미세 고정화된 내생성 유산균이 온도 변화에 따라 유산을 생성해 색이 변화하는 시간-온도 이력지시계로서 포장육제품, 김치 등을 대상으로 테스트가 끝남
- 인쇄형 시간-온도 이력지시계는 산화-환원 염료 및 반도체를 이용하여 잉크로 제작된 반응물질 계를 종이나 플라스틱, 유리, 금속 등의 다양한 지지체에 인쇄 가능한 지시계임
- 특히 시간-온도 지시계는 동국대학교 지능형 농식품 포장연구센터에서 활발한 연구를 수행중이며, 각 대학의 식품공학과에서도 다양한 지능형 포장을 연구하고 있음
- 효소형 시간-온도 이력 지시계의 경우 검출 가능온도 범위가 한정되어 있고 단순히 효소의 종류에 따라 온도변화 시간이 달라짐을 단순하게 이용, 신선육 판별에 어려움이 있음

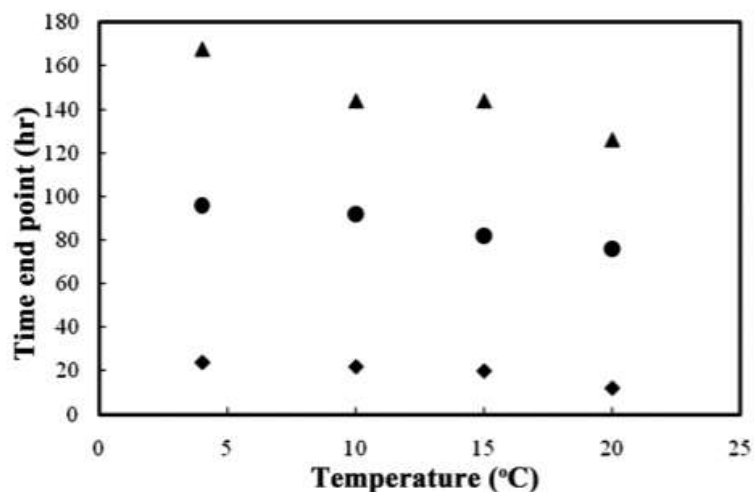


Fig. 1. The end points of the C1-type (◆), C4-type (●), and C7-type (▲) TTIs stored at different temperatures.

3가지 형의 효소를 이용한 효소형 시간 온도 지시계의 검출온도 범위 및 시간

- 효소형 시간-온도 지시계의 경우 신선육의 부패 판별에 있어서 단순히 시간만을 계산하기 때문에 정확한 부패의 정도를 확인하기 어려움

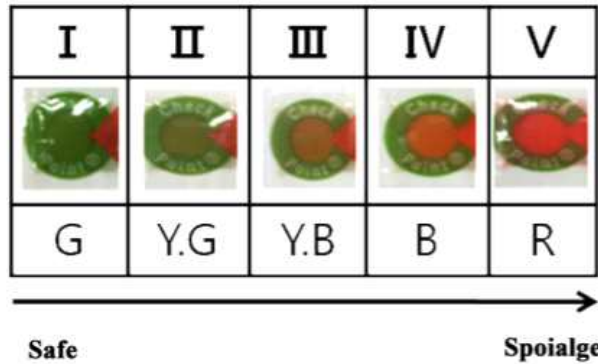


Fig. 3. The grade and the color change process of enzymatic C-type TTL. G, green; Y.G, yellowish-green; Y.B, yellowish-brown; B, brown; R, red.

효소형 시간-온도 지시계를 이용한 부패 판별 정도

- 연세대학교 박지용 교수 연구진은 냉동 냉장 식품의 보관상태 감시표식 시스템 개발을 통하여 시간-온도 지시계를 녹즙, 김밥 및 햄버거 패티에 대한 등온조건 및 변온조건에서의 온도별 시간에 따른 전개물질의 확산거리와 미생물 생육상태를 조사하여 그 적합성 확인함
- 강원대학교 이명구 교수 연구진은 종이에 다양한 녹는점을 가진 일정한 모양의 동결액포를 부착하고 일정온도 이상에 노출되면 동결액포가 녹으면서 종이를 적시는 원리로 이 길이를 측정해 일정 온도이상에서 얼마나 노출되었는가를 확인 할 수 있는 온도이력 측정 종이센서를 개발함

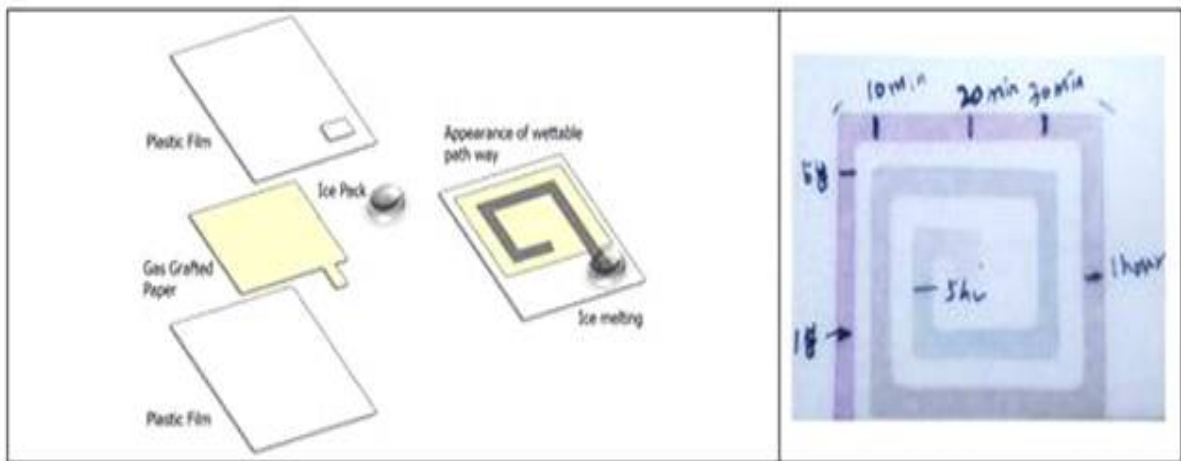


그림 8. 온도이력 측정이 가능한 종이센서 설명도

- 성균관대학교 이진기 교수 연구진은 nitro cellulose를 자른 전개지에 여러층을 라미네이션 공정을 통해 제작한 single-step 자동 시작 스위치가 삽입된 라미네이트 된 종이 기반 장치를 이용한 유연한 시간-온도 지시계를 개발함

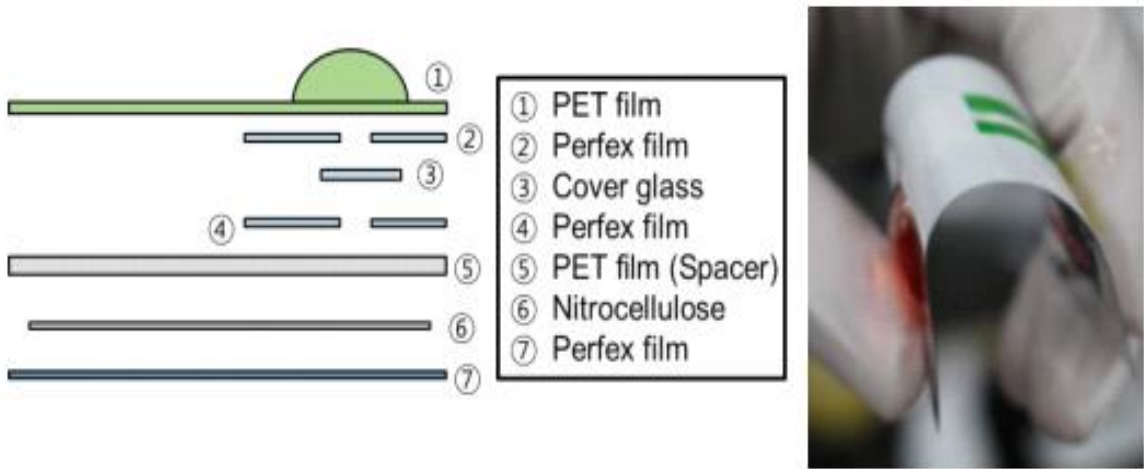
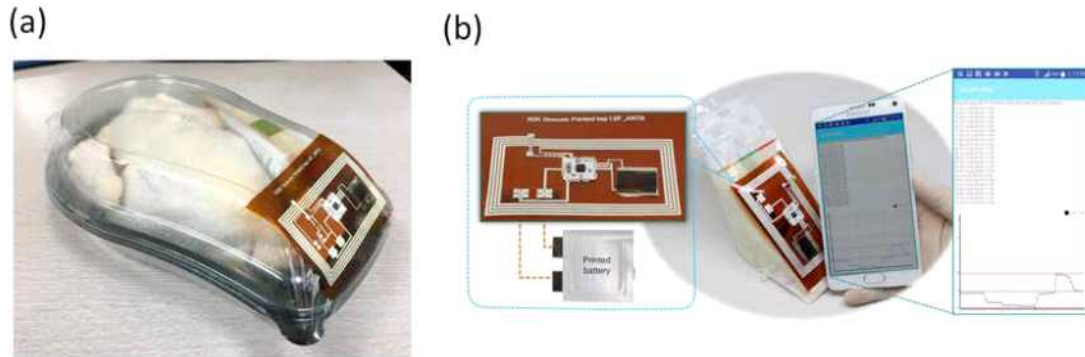


그림 9. 유연한 시간-온도 지시계의 제작과정 개략도(좌) 시간-온도 지시계의 유연 (우)

- 전도성 고분자를 이용한 실리콘 기반 온도검출 센서의 경우는 시각적 혐오감과 복잡한 회로 기판 및 배터리가 내재 되어야 하며 일반 소비자가 관능적으로 판단하기 어려움



실리콘 기반 냉장 생닭 및 샌드위치에 부착한 온도 검출 PEDOT 센서

- 디바이스넷과 부경대학교 안동현 교수의 연구진은 해동 유무에 따른 가시적인 변화를 시각적으로 감지할 수 있도록 냉동된 산성용 용액이 해동되었을 때 확산되어 색 변화를 관찰 할 수 있는 냉동 수산물의 온도관리를 추적하기 위한 시간-온도 지시계를 개발함

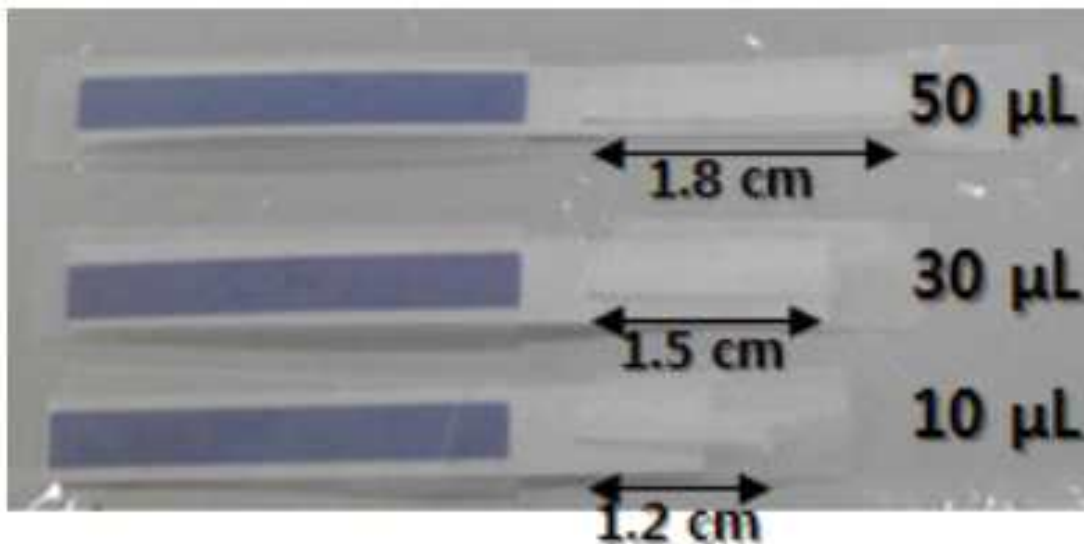


그림 10. 냉동수산물의 온도이력에 대한 튜브 길이 및 각각의 아세트산 양에 따른 시각적 인디케이터

○ 시장현황

○ 국내 · 외 식품위해 검출기술 시장 규모 및 전망

- 유해인자 검출 및 추적기술 시장(식품 안전 테스트) 시장은 2015년부터 약 CAGR 7.4%로 성장하여 2020년에는 약 \$1610 억 달러로 증가할 전망이다 (그림 11).

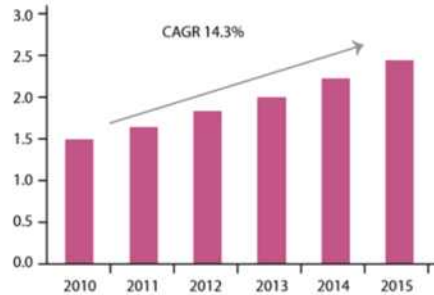


그림 11. 국내 식품안전 검사 시장 (출처: Marketsandmarkets)

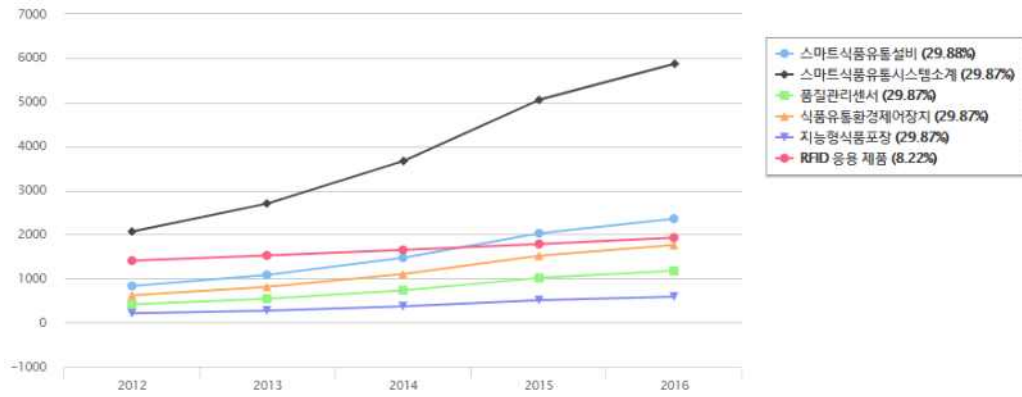
- 현대인의 식생활의 변화와 IT 기술의 발달로 인해 과거보다 농축수산물과 같은 온도변화에 민감한 신선식품의 수요는 꾸준히 증가하는 추세이며, 2012년 약 160조원이었던 시장 규모는 2020년 약 250조원으로 증가할 것으로 예상함
- 신선식품 시장규모가 커짐에 따라 생산자에서 유통관계자를 거쳐 소비자에게 전달될 때까지 여러 단계를 거쳐야함으로 신선물류 시장규모도 2012년 22.1조원에서 2020년 40.3조원으로 증가 할 것 이라 예상함

구분	신선식품 시장규모(조원)		물 류 비 비중(%)	신선물류 시장규모(조원)	
	2012년	2020년		2012년	2020년
농축수산업	71.1	101.1	14.9	10.6	15.1
식품제조산업	27.3	62.9	13.8	3.8	8.7
식품유통산업	61.5	130.9	12.6	7.7	16.5
계	159.9	294.9	13.7	22.1	40.3

그림 12. 국내 신선물류 시장규모 추정 (KMI 2015.12)

* 출처 : 한국해양수산개발원

- 신선물류의 일환인 스마트 식품유통시스템의 시장 규모도 증가하고 있으며 레드오션으로 치닫는 물류, 유통시장에서 부가가치를 향상시킬 수 있는 대안으로 부각되고 있음
- 본 기술은 스마트 식품유통시스템에서 지능형식품포장 시장이 가장 밀접하게 관련되어있음
- 지능형식품포장 시장은 전체 스마트 식품유통시스템 시장에서 가장 낮은 비중을 차지하지만, 2012년 206억원에서 2016년 586억원으로 5년동안 약 3배의 시장 크기를 형성하였고 시장 규모도 꾸준히 증가함



BCC Research(2009), World Markets for Fermentation Ingredients

그림 13. 연도별 국내 신선물류 시장 규모 변화 추이

* 출처 : 중소기업 기술 로드맵, 스마트 식품유통시스템

○ 경쟁기관현황

[표 1] 국내 연구 현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
한국생명공학연구원	초소형 SPR 이미징 기술 개발	초소형으로 현장적용이 가능한 SPR 이미징 기술 구축
중앙대학교 하상도 교수팀	신기술 검출 방법 개발	신기술을 이용한 효율적인 식중독균 검출
KAIST 김봉수 교수팀	금속 나노선 기술	높은 민감도를 가지는 바이오센서기술에 적용
KAIST 박현규 교수팀	등온 실시간 PCR 기술	전기화학적 검출 방법을 이용한 등온 Real-Time PCR 기술을 이용하여 효과적인 DNA 진단 기술을 확립
서울대 (본 연구진)	식품내 식중독균의 탈리 효율을 높이기 위해 새로운 탈리 기술인 스피들 개념의 특허를 획득함.	특허된 제품의 제품 생산 및 최적화 과정
포스텍 (본 연구진)	항체가 고정된 자성나노입자를 이용하여 다양한 식품 매트릭스에서 살모넬라균을 분리, 농축함	자성나노입자 클러스터로 우유에서부터 식중독균을 분리 후 이산화티타늄 나노입자를 이용하여 분광법 기반 식중독균 신속검출법 개발 (LOD : 102 cfu/mL)
코젠	Real-time PCR을 이용한 식중독균 검출 방법	상용화
삼성에버랜드	Multiplex PCR 기반 식중독균 동시검출방법	상용화
삼성종합기술연구원	소형화된 Real-time PCR 기기 개발	시제품 제작

○ 지식재산권현황

[표 2] 국내 특허 현황

출원(등록)번호	출원 기관	발명의 명칭
10-2014-0038453	유진곤, 유승곤	휴대용 식품 부패 검출 장치
10-2010-0062682	고려대학교 산학협력단	식품부패 원인균 신속 동시검출을 위한 진단 DNA 칩
10-2002-0032239	경북대학교 산학협력단	지능형 식품부패 감지시스템과 이를 이용한 식품부패 감지시스템
10-2016-0139103	계명대학교 산학협력단	인공지능 기반 식품부패예측 모델 개발 시스템 및 인공지능 기반 식품부패예측 모델을 이용한 식품부패예측 알림 시스템
1018684000000	동국대학교 산학협력단	자외선 활성화 인쇄형 시간-온도 이력지시계용 잉크 조성물 및 이를 이용한 자외선 활성화 인쇄형 시간-온도 이력지시계의 제조방법
1012245980000	동국대학교 산학협력단	미생물형 TTI용 인쇄 페이스트 및 이의 제조방법
1017777030000	티티아이 주식회사	시간 온도 지시 모듈 및 그 제조 방법
1004630750000	한국화학연구원	저온 유통 관리를 위한 온도-시간 검지 라벨
1014665790000	(주)인디텍코리아	온도 감지용 지시계
1017332850000	강원대학교산학협력단	온도 이력 측정용 센서 및 이의 제조방법(
1020180065291	진스 주식회사	공개 냉장 및 냉동 상품 신선도 확인용 인디케이터
1016080190000	인하대학교 산학협력단	갈변 효과를 이용한 시간 경과 온도 감지 캡슐

○ 표준화현황

- 콜드체인에서 발생하는 시행착오나 문제는 소비자의 건강에 심각한 위해를 끼칠 수 있고 기업의 치명적인 손실로 이어질 수도 있기에 미리 발견하고 예방 할 수 있는 설비 및 보관, 유통 등의 체계적인 표준화가 이루어져야 함
- 현재 콜드체인의 수송포장 관련 국제, 국가, 단체 표준안의 개발, 제정 작업이 한창으로 지난해 저온 물류 수송포장의 일반요건 및 시험방법에 대한 제안서가 ISO TC 122(Packaging)에서 통과된 이후 신규 설립된 WG16(Temperature controlled product packaging)에서 각국의 전문가들과 국제표준안 개발이 진행 중임
- 또한 콜드체인 택배 수송용기의 일반요건 및 시험방법과 식품용 저온물류센터의 운용 여건이 각각 KS, 단체 표준으로 제정됐으며 저온 모니터링의 사용자 지침에 대한 표준안이 개발 중임

○ 기타현황

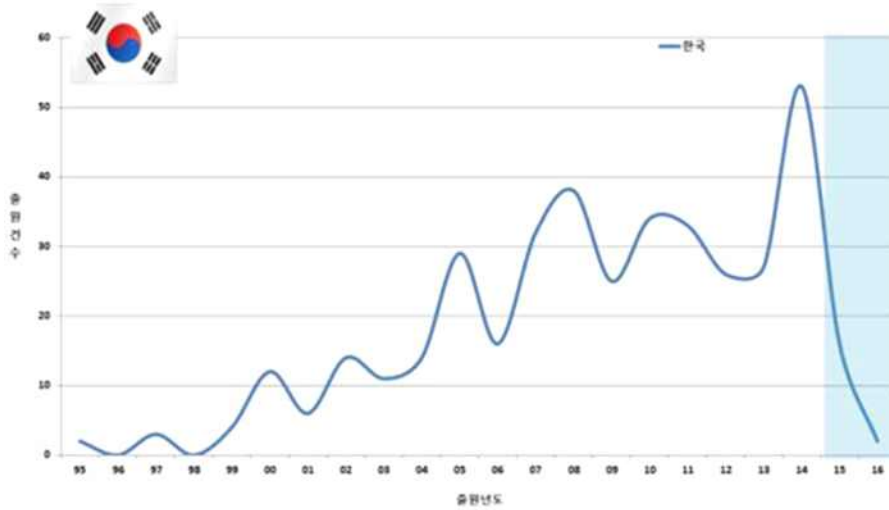


그림 14. 식품안전 기술 국내 출원 동향

- 2000년 초반부터 증가와 감소를 반복적으로 나타내고 있음 (그림 14).
- 식품안전 사고가 발생하면 그 해 또는 그 다음 해에 출원이 증가했다가 일정 시간이 지나면 다시 소강상태를 보이는 양상.
- 국내와 마찬가지로 미국, 유럽, 일본도 2000년 초반부터 증가와 감소를 반복적으로 나타내고 있음.
- 가장 눈에 띄는 성장세를 나타내는 국가는 중국이며 2008년 중국 멜라민 분유 파동 이후에 급격한 출원 증가 현상이 나타나고 있음.

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

○ 기술현황

- 식중독 세균의 신속 검출법 (rapid method) 으로는 ELISA (Enzyme Kinked ImmunoSorbent Assay) 기술이 주로 이용되고 있으며 최근에는 PCR (Polymerase Chain Reaction) 및 microarray 기술을 이용하여 검출방법이 응용되고 있음. 현재 수많은 외국계 바이오텍 회사들은 이들 검출방법을 이용한 현장검지 키트를 판매하고 있으나, 거의 모든 검지방범이 20시간 이상의 배양증폭단계를 요구하고 있음.

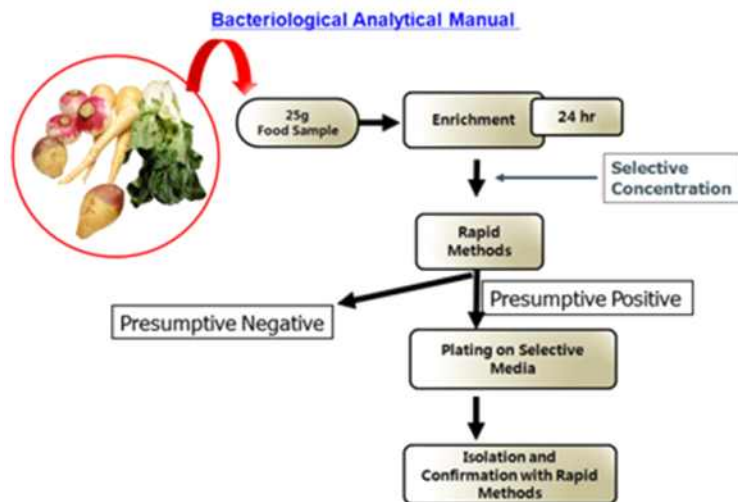


그림 15. 미국 식품 의약청에서 제시한 세균 분석 매뉴얼 (BAM)

- 현재 시판되고 있는 대표적인 식중독 세균의 신속 검출법 (rapid method) 으로, 3M™ Tecra™ 에서는 E. coli

O157, Listeria, Salmonella 균을 검출하기 위해 ELISA 기술을 도입하였으며 TECRA 제품으로 현재 시판 중에 있으며 42 시간 이내에 검출이 가능함. Neogen 에서는 3M™ Tecra™ 와 마찬가지로 3종류의 (E. coli O157, Listeria, Salmonella) 식중독 균을 검출하기 위한 Reveal kit를 시판 중에 있으며 Device 형태로 사용이 간편하게 제작되었음. 또한 높은 감도와 선택성으로 정확한 결과를 제공하고 8~24 시간 (E. coli O157 : 8시간, Listeria : 24시간, Salmonella : 20시간) 이내에 결과확인 가능함. Reveal KIT 와 유사한 형태로 BioSign 사의 식중독균 진단 KIT 가 있으며 Salmonella 균 및 E. Coli O157 의 경우는 24시간 이내, Listeria 의 경우는 2~3일 정도의 시간이 소요됨.

[표 3] 전 세계적으로 가장 많이 이용되는 식품병원성 균 신속 검출 장치 및 키트

검출방법 (회사명)	기본원리	검출한계	Enrichment 필요성	검출시간	기기 비용 (가격/앰플)
BAX System (Dupont)	PCR	10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	>24 hr	약 4시간	- 분석기기 : 약 40,000,000원 (27,500원)
GDS System (Biocontrol)	PCR	10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	>24 hr	약 4시간	- 분석기기 : 74,000,000원 (20,000원)
TECRA (Tetra)	Immuno assay based method	10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	>24 hr	약 3시간	- 병원균 종류별 kit (20,000원)
Biosign kit (Biosign)	Immuno assay based method	10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	>24 hr	약 10분	- 병원균 종류별 kit (15,000원)
Reveal kit (Neogen)	Immuno assay based method	10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	>24 hr	약 10분	- 병원균 종류별 kit (20,000원)
VIDAS (Biomereux)	Immuno assay based method	10 ⁴ ~10 ⁵ CFU/g	>24 hr	약 3시간	- 분석기기 35,000,000원 (20,000원)

- Immunoassay method 및 PCR 방식의 진단 키트의 경우는 대략 한 세트 당 비용은 30만원에서 50만원 선이며 정확도가 90% 이상으로 상당히 높은 편인 반면에 증폭배양 (enrichment)이 필요하기 때문에 많은 시간이 소요되는 한계가 있음.

Immunoassay Methods



① TECRA

- Salmonella : W360,000/96well, W310,000/48well
- Listeria, E. coli O157 : W 500,000/96well W 400,000/48well

② Biosign 신속검출 kit

- Listeria : W 300,000/35ea
- Salmonella, E. coli : W 265,000/35ea

③ Reveal kit (kit/set-20ea)

- E. coli : W284,000 / 377,000
- Listeria : W284,000 / 390,000
- Salmonella : W297,000 / 377,000

그림 16. Immunoassay 방식을 이용한 식중독 균 진단 KIT의 가격 비교

- PCR기반의 식중독균 검출기술을 이용한 Product의 경우 미국 국적의 글로벌 검출을 위해 Real-time PCR을 적용한 BAX System을 시판 하였으며 동시에 여러 균들을 한 번에 검출 할 수 있는 multiflex 검출이 가능함. 하지만 고가의 장비가 따로 필요하기 때문에 현장검출에 제한이 있고 Immunoassay 기술과 마찬가지로 Enrichment 과정이 필요하기 때문에 검출 결과를 확인하기까지 20 시간 이상의 시간이 소요됨.
- 주요 선진국에서는 식품의 미생물 위해인자에 대한 안전성을 확보하기 위한 식중독 원인 미생물의 신속 검출 및 오염원 추적 등에 PCR을 비롯한 첨단 분자생물학 기법을 적용하고 있음. 특히, 병원성 미생물의 신속 검출 및 정량에 real-time PCR 방법을 적용하고 있으며, 동일 식중독 세균간의 sub-typing을 수행하기 위하여 PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis), RAPD (Randomly Amplified

Polymorphic DNA) 및 MLVA (Multiple - Locus Variable-number tandem repeat Assay)를 이용한 방법 등의 다른 다양한 분자 생물학적인 기법들도 이용됨 (Shin et al. 2010. Electrophoresis 31, 2137-2153).

- 국외의 경우 식품으로부터의 미생물학적 검사를 위한 검체의 탈리에 있어 stomacher나 homogenizer, pulsifier, blender 등에 대한 연구가 이미 이루어졌으며 이러한 기술은 식품 공전에 등재되어 사용되고 있음. 중독균의 분리, 농축에는 자성나노입자에 항체를 고정하는 방법이 일반적으로 사용되고 있으며, 금-자성나노입자 2중 구조를 이용한 신호향상 연구가 일부 보고된 바 있으나 미미한 수준이며, 광촉매 자성나노입자의 하이브리드 나노입자를 이용한 연구는 아직 보고된 바 없음.
- 만약 핵산을 증폭시키는 기술을 소형화시킬 수 있는 기술이 개발된다면, 가장 노동집약적이고 많은 시간을 요하는 핵산 증폭 과정의 소형화는 분석공정을 단순화시키고 분석에 요하는 시간을 대폭 단축시킴으로써, 현장에서 실시간으로 검출대상을 분석할 수 있는 휴대용 센서 플랫폼 개발에 기여할 것임.
- 최근에는 미세유체역학(microfluidics)에 기반을 둔 lab-on-a-chip 기술을 이용, 유해 미생물을 검출하는 연구들이 진행됨. 지난 20여 년간, 랩온어칩 구축을 위한 수많은 요소기술들 (마이크로믹서, 마이크로밸브, 마이크로펌프, 시료의 전처리 시스템, 증폭 시스템, 검출 시스템 등)의 개발이 본격적으로 이루어졌고, 이를 위한 원천기술들이 많이 개발되어 왔지만, 정작 모든 요소기술들을 하나의 모듈로 집적화시킨 통합모듈시스템의 개발은 미진함.
- 시장현황
- 현재까지 다양한 미생물 신속검출법이 개발되었으나 대부분 의학용으로 개발된 기술이며, 농축산물의 경우는 신속검출 반응을 저해하는 다양한 물질들이 존재하므로 새로운 전처리 기술과 함께 농산물의 유해 미생물 오염 여부를 현장에서 소비자가 신속하게 판별할 수 있는 사용자 친화적 신기술 개발 필요함.
- 효율적인 모니터링을 위해서는 해당 소자의 광범위하고 일상적인 활용이 필수적이며, 이를 위해서는 소자를 가능한 낮은 가격에 충분한 수량으로 공급하는 것이 매우 중요함.
- 소자를 저비용으로 대량공급하기 위해서는, 미세유로 및 구조물과 같은 기계적 구조를 기반으로 한 플랫폼을 고려할 때, 양산성 및 비용 측면에서 큰 장점이 있는 플라스틱 소재를 적용한 사출성형공정을 기반으로 한 플랫폼 및 제조 기술 개발이 필요함.
- 현재, 바이오 및 진단/분석 소자의 경제성/보급성을 결정하는 플랫폼은 크게 다공성 기재 (종이 등), 미세유로 기반의 미세유로 플랫폼, 미세유로 및 전기/광 신호 처리 기능이 부가된 전기적 기능 미세유로 플랫폼의 세 가지 형태로 분류할 수 있음.
- 현재 전기적 기능이 부가된 미세유로 플랫폼을 기반으로 한 바이오 소자는 양산화된 사례가 보고된 바 없어 가격 산정은 불가하나, 현재 진행 되는 주요 연구 방향은 대량 생산에 의한 확보가 용이하지 않은 것으로 판단됨.
- 전기적 기능 내재형 미세유로 플랫폼 관련 기술로서, 미세유로 등 기계적인 구조와 전극, CMOS 등의 전기/전자 회로 구조가 융합된 소자에 관한 연구가 진행되고 있음.
- 세계 식품 안전 시장은 지속적으로 빠른 미생물 검출 방법의 출현과 함께 성장하고 있으며, 산업은 안정성 높은 식품 취급 신뢰성 높은 테스트 및 기술에 대해 엄격한 가이드라인을 규정하고 있음.
- 식품 안전 테스트 기술은 기본적으로 전통적인 방법 및 신속한 검사 방법이 포함되어 있으며, 전통적인 방법은 선택 한천 방법 및 문화 농축 과정을 포함. 식품 위해물질 신속검사기술은 바이오센서 기술과 관련되며 전 세계 바이오 위해물질 진단 및 모니터링 시장은 연평균 12.5% 증가율로 2016년 약 13,000억 달러 시장규모로 예측하고 있음.
- 식품 안전 테스트 시장은 전 세계적으로 높은 성장세를 보이고 있으며, 시장의 성장은 식품 안전 문제와 관련된 소비자 의식의 증대로 인해 식품 안전 검사에 대한 수요가 급증하고 있음.

- 식품 안전 테스트 시장은 기술, 오염물질, 용도 및 지역에 따라 분류되며, 신속 식품 검사 기술이 2015년 시장에서 큰 증가를 보이고 있으며, 육류 및 가금류는 시장에서 차지하는 비중이 가장 큰 분야로 앞으로도 시장에서 관련 기술이 가장 빠르게 성장할 것으로 전망되고 있음.
- 식품 안전 테스트 시장은 2015년 48억 달러에서 80.8억 달러로 연평균 7.8%로 성장할 것으로 예측되고 있음(그림 17).

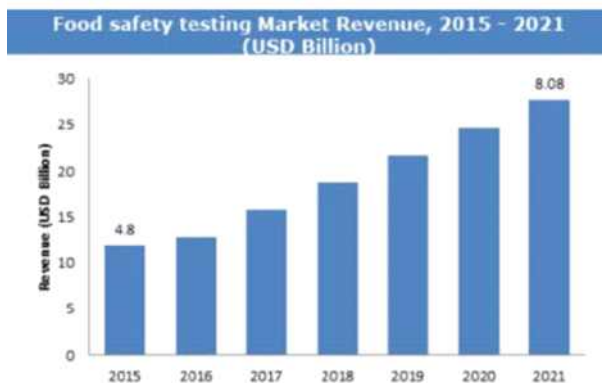


그림 17. 식품 안전 테스트 시장 전망 (출처 : Zion Research Analysis 2016)

- 영국은 2015년 25억 달러의 수입을 올린 영국과 독일의 식품 안전성 테스트를 주도하였으며, 캐나다 식품 검사청(Food inspection agency)은 화학 잔류물을 모니터링하고 허용 수준에 따라 건강 안전을 보장하기 위해 관련 검사를 확대하고 있으며, 이러한 조치를 통해 북미 지역 산업 성장을 가속화 시켰음.
- 경쟁기관현황
 - 독일의 Loessner와 Scherer 연구팀은 2002년도에 Molecular microbiology에 Listeria-targeting bacteriophage로부터 유래된 endolysin의 한쪽 protein domain인 cell-wall binding domain (CBD) 이 특이적으로 Listeria의 outermembrane에 결합한다는 것을 Gfp-CBD 융합단백질을 활용하여 처음으로 검증하였음 (Loessner et al. 2002. Mol. Microbiol. 44:335-349).
 - 스위스의 Kretzer와 Loesner 연구팀은 2007년 Applied and Environmental Microbiology 논문에서 Immuno-magnetic separation (IMS) 기술에 사용되는 antibody의 다양한 문제점을 인식하고 bacteriophage유래 endolysin의 CBD가 이러한 문제점 (low host specificity, agglutination 등)을 해결할 수 있다는 것을 실험적으로 증명하였음 (Kretzer et al. 2007. Appl. Environ. Microbiol. 73:1992-2000).
 - 식품으로부터의 미생물학적 검사를 위한 탈리법 중 Blender 방법은 10배로 희석한 시료를 2분간 8,000rpm에서 균질화하는 기구임. 균이 탈리되는 원리는 stomacher와 유사하지만, 매 실험마다 본체를 살균해야 함 (James S. Dickson, 1990).
 - 또한 Swab 방법은 식품 표면을 면봉 등으로 문지름으로써 큰 손상 없이 미생물을 detach 시킬 수 있는 방법으로, 균수가 적거나 균이 골고루 분포되어 있지 않은 경우에 적합함 (Richard Pepperell 외, 2005).

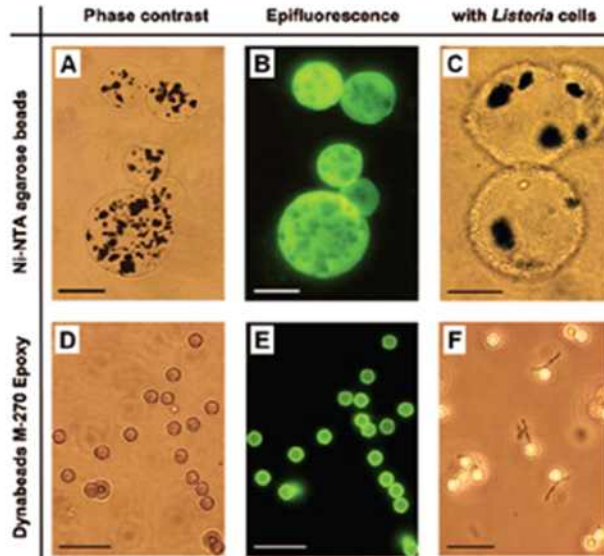


FIG. 1. Magnetic beads coated with GFP-tagged CBD proteins bind and immobilize bacterial cells. Ni-NTA agarose beads coated with CBD500 (A and B) immobilize *L. monocytogenes* Scott A cells onto their surface (C). Coating of M-270 Epoxy Dynabeads with CBD500 (D and E) and binding of *Listeria* cells to their surface (F) are shown. Bars in panels A to C are 20 μ m, and those in panels D to F are 10 μ m.

그림 18. Gfp-CBD 융합단백질을 활용한 endolysin의 cell-wall binding domain (CBD)의 특이적 결합에 대한 검증

○ CE 기반의 기술 중 단일쇄형태변환다형성 (single-strand conformation polymorphism; SSCP) 측정 기술은 동일 길이의 DNA라도 non-denaturing 조건에서의 단일쇄 DNA의 삼차원적 구조에 따라 분리가 가능한 기술임 (Anderson et al. 2003. Hum Mutat. 21, 455-65). 그러나 기존 CE 기기에서 CE-SSCP 분석에서 진단검사를 수행하는 경우, 서로 유사한 서열에 대한 분석 해상도가 낮은 점이 문제로 지적되어 이를 다양한 검사에 응용하기 어려움.

○ Harvard 의대의 Hakho Lee 연구팀은 CMOS/microfluidic hybrid system을 이용한 바이오 센서를 제작하여 미세유체 채널을 CMOS위에 올려 놓고 생물학적 환경을 CMOS를 통하여 제어 하는 방식을 적용하였으나, 대량생산에 어려움이 있음.

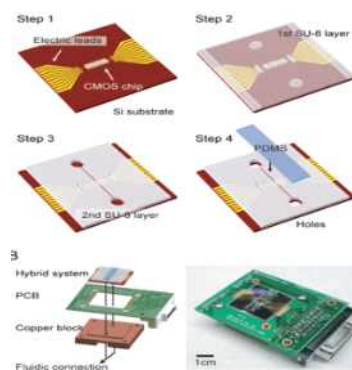


그림 19. CMOS 바이오 센서

○ Northwest A&F 대학의 Wang교수의 연구팀은 integrated microfluidic system을 선보임

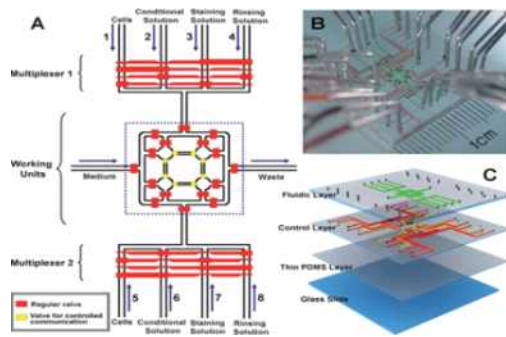


그림 20. Integrated Microfluidic System

○ 또한 Washington 대학의 Fiorini GS교수의 연구팀은 PCB 기판을 이용한 2차 capillary electrophoresis (CE) microfluidic device을 선보였음.

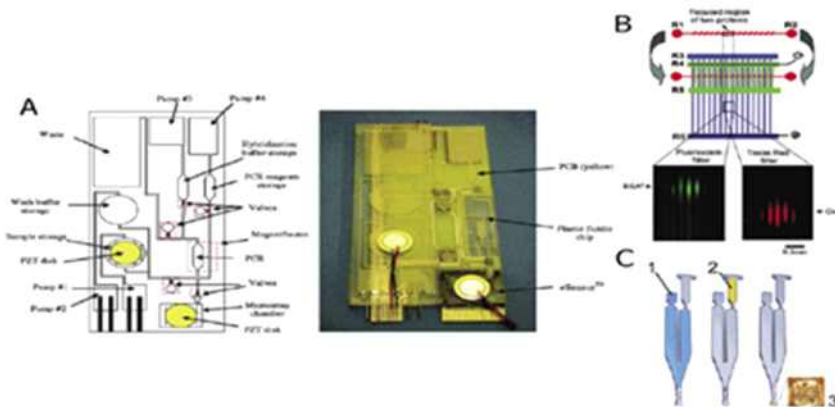


그림 21. On-chip DNA와 단백질 분석

○ 앞에서 기술한 바와 같이 현재 연구 중인 전기적 기능 내재형 플랫폼 기반 바이오 소자는 적용되는 소재 및 공정의 문제로 인해 양산화에 의한 경제성 확보는 어려움이 있어, 양산성이 우수한 사출성형 공정을 기반으로 한 전기적 기능 내재형 플랫폼 기술에 대한 연구가 진행되고 있음.

[표 4] 국외 연구 현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
미국 식품의약청	BAM 시스템	세계적으로 식품의 안전성 평가의 기준을 제공
3M™ Tecra™	식중독균 검출 시스템	정확한 식중독균 검출 기술 산업화
DuPont Qualicon	PCR 기법을 이용한 다중 식중독균 검출	여러종의 식중독균을 동시에 검출할수 있는 기술 산업화
Biacore	SPR 기술개발	비표지 방식으로 생체분자의 분석 가능 시스템 구축
Autonomous University of Barcelona (스페인)	항체가 고정된 거대 자성입자와 HRP 효소를 이용한 전기화학적 식중독균 바이오센서 개발	자성입자로 우유에서부터 식중독균을 분리 후 효소를 이용하여 식중독균 검출 시 전기적 신호 증폭에 활용 (LOD : 7.5 x 10 ³ cfu/ml)
Purdue University (미국)	항체가 고정된 자성-금 나노덴벨입자를 합성하여 식중독균 검출 및 열분해법 개발	자성-금 나노덴벨입자를 이용해 분광법으로 버퍼 용액 속의 식중독균을 검출하고 균을 photokilling 함 (LOD : 10 ² cfu/ml)
Institute of Food	CBD를 이용한 식품 중	개념 정립 단계임

Science and Nutrition, ETH Zurich, Switzerland	리스테리아 균 분리 및 검출	
University of Virginia	시료 전처리, 증폭, 및 검출 등 시스템을 연계시킨 통합 모듈 개발	군인 신원 확인 등의 군사적 목적에 활용
Panagene, AdvanDx, 경희대 등	DNA microarray나 FISH를 이용한 진단 기술 개발	특허 출원
UC Berkley R. A. Mathies 교수팀	DNA genotyping 및 sequencing chip, PCR chamber integrated microchannel 등의 개발	기반 기술 특허 출원 및 Lab-on-a-chip 장치를 이용한 외계생명체 단백질 분석 등
Harvard Univ. G. M. Whitesides 교수팀	Microfluidics를 바탕으로 한 다양한 Lab-on-a-chip device 개발	기반 기술 특허 출원 및 사업화
일본 Eiken Chemical 및 오사카 의대 연구팀	향온 핵산 증폭 기술 LAMP 개발	관련 기기 및 키트 상품화
New England Biolabs	향온 핵산 증폭 기술 HDA 개발	관련 키트 상품화
Becton Dickinson	향온 핵산 증폭 기술 SDA 개발	관련 키트 상품화
Stanford Univ. A. Barron 교수팀	CE polymer matrix 개발	특허 등록 및 상품화
NYU B. Chu 교수팀	CE polymer matrix 개발	특허 등록 및 상품화

○ 지식재산권현황

[표 5] 국외 특허 현황

출원번호	출원 기관	발명의 명칭
PCT/JP2011/002592	Takaaki Yamasaki Takaaki Harada Yoshihiro Saruwatari Shuichi Kamei	Food-poisoning bacteria detection carrier, and method for detecting food-poisoning bacteria
PCT/US1996/017535	THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA	METHOD FOR DETECTION OF PATHOGENS IN FOOD
PCT/US2013/025002	Lester F. Ludwig Pooncharas Tipgunlakant	MICROPROCESSOR-CONTROLLED MICROFLUIDIC PLATFORM FOR PATHOGEN, TOXIN, BIOMARKER, AND CHEMICAL DETECTION WITH REMOVABLE UPDATABLE SENSOR ARRAY FOR FOOD AND WATER SAFETY, MEDICAL, AND LABORATORY APPLICATIONS

○ 표준화현황

○ 상위 10위 출원인의 출원 동향

- 상위 10위 출원인의 비중은 중국이 80%로 가장 높으며, 그 다음은 미국(9%), 유럽(5%), 일본(4%), 한국(2%) 순으로 나타남.
- 식품안전과 관련된 상위 10개사의 연도별 출원 경향을 분석한 결과 전반적으로 2005년부터 출원이 증가세를 나타내고 있으며 증가 추세가 현재까지도 꾸준히 지속되고 있음을 알 수 있음.
- 이는 식품 안전의 문제는 개별 국가의 지역적인 문제가 아니며 글로벌하게 관심을 가지고 지속적으로 연구 개발이 이루어지고 있기 때문인 것으로 분석됨.

- 식품안전과 관련한 상위 20개사의 분포를 살펴보면 전체적으로 중국에 12개사(UNIV ZHEJIANG, UNIV JIANGNAN, CHINA AGRICULTURE UNIV, UNIV JIANGSU, UNIV NANJING AGRICULTURE, UNIV SHANGHAI JIAOTONG, UNIV JILIN, MENGNIU DAIRY IND GROUP CO LTD, CHINESE ACAD INSP & QURANTINE, UNIV CHONGQING, TEA INST CHINESE AGRICULTURE, UNIV FUDAN)가 분포하고 있음 (그림 9).

- 미국에는 4개사(DUPONT, UNIV CALIFORNIA, WASHINGTON UNIV, CEM)가 분포하고 있으며, 일본(SUNTORY HOLDINGS), 호주(COMMW SCIENT IND RES ORG), 네덜란드(PHILIPS CORP) 등이 각각 1개사 씩 분포하고 있음.

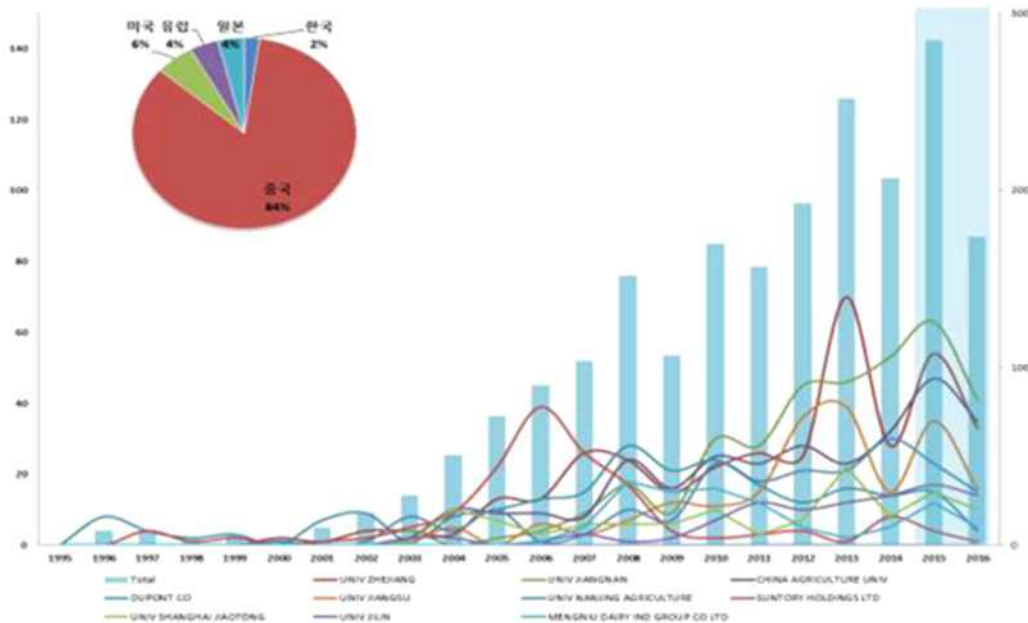


그림 22. 식품 안전 기술 상위 10위 출원인의 출원 동향

○ 기타현황

○ 식품안전 관련 기술의 주제어 분석

- 유효특허에 기재된 주제어 분석을 통해, 전체적인 기술의 관심도 변화를 확인한 결과 food, information, intelligent, safety, mobile, sensor, refrigerator 등이 최근 관심도가 높은 주제어로 나타남.
- 1990년대에는 Food 및 이와 관련한 영양, 다이어트, 스마트. 진단 등이, 2000년대에는 센서, 진단, 무선, 데이터 등의 키워드가, 2010년 이후 냉장고, 센서, 인공지능, 모바일, 안전 등의 키워드가 확인되고 있음.
- 관련 기술 분야에서 식품의 영양 분야에서 식품의 안전 기술 분야로 관심도가 변화하고 있는 것을 확인할 수 있음.

[표 6] 타사 제품 분석

제품명 (업체)	제품	타겟	방법	문제점	가격
CLEAN-TRACE (3M)		미생물	ATP test	느린 반응, 전처리 필요, 분석장치 필요	\$120

Ensure (Hygiena)		미생물	ATP test		\$500
Soleris (Neogen)		미생물	Optics		미정
Food Sniffer (Indiego)		온·습도, Ammonia, VBN	Si	정확성, 선택성, 배터리 문제 개선 필요	\$350
C2 sense (MIT)		Ethylene, Ammonia	CNTs with transition metal complex		\$80
VTT		Ethanol	AIN		미정
Crock (한발대)		온·습도, Ethanol, Ammonia	SnO ²		미정

1-3. 연구개발의 목표 및 내용

가. 최종목표

- 농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발을 위해 다음과 같은 목표로 연구를 진행
 - 현행법상 부패육(신선도) 판정기준은 pH와 휘발성염기질소측정법 두 가지가 있음. 이에 따른 육류의 경우 휘발성 염기질소가 시료 100g 중 20mg 초과이면 부패했다고 판단(「식품의 기준 및 규격」 식품의약품안전처 2018.05.01.)하는 기준, pH 및 휘발성 염기질소함량과 비교 검토하여 육류의 대사산물인 카다베린(Cardaverine), 푸트레신(Putrescine) 측정값과 비교 검토 하여 신선도 및 부패 여부를 판별하고자 함

(1) 색 변이 고분자 나노입자를 이용한 센서 프로브 개발 (주관기관)

- 색변이 고분자를 이용한 베시클, 바이셀(bicelle)형태의 나노 센서 프로브 개발/특허출원
- 온도감응용 및 부패가스 감지 리셉터 탑재 베시클/바이셀 센서 프로브 효능평가
- 다중 어레이를 통한 유통 중 발생하는 온도 변화 및 신선도 평가 (소고기, 닭고기)

(2) 필름형 센서 시스템 개발을 위한 센서 프로브 탑재 및 안정성 확보 필름 개발 (협동기관)

- 나노 베시클, 바이셀 양산 기술 개발
- 나노 프로브를 배열한 필름형 색변이 센서 제작 기술 개발
- 필름형 센서 어레이 기술 및 안정성 확보

(3) 센서 활성화를 위한 액티베이션 장치 및 유통단계 스마트폰 활용 데이터 수집장치 개발 (참여기업)

- 베시클, 바이셀 제작을 위한 특수 구조(나노 스텐실 등) 제작
- 색변이 나노 센서 프로브의 액티베이션을 및 데이터 분석장치 개발

나. 세부목표

○ 주관기관 (서울대학교)

- 색변이 고분자 폴리디아세틸렌 및 그 유도체를 이용한 베시클 및 안정성을 향상 시킨 바이셀 형태의 나노 센서 프로브 제조 및 센서 감도 향상
- 다양한 온도범위에서 반응하는 폴리디아세틸렌 유도체를 어레이화 시켜 넓은 범위의 온도영역에 대한 이력 추적 센서 제작
- 특정 부패가스를 민감하게 검출할 수 있는 리셉터를 고정한 색변이 고분자 베시클을 어레이 시켜 신선도 측정용 센서 프로브 개발

○ 협동기관 (경북대학교)

- 미세유체칩을 이용한 센서 프로브용 베시클 및 바이셀 균일 대량생산 기술 개발
- 나노프로브의 효율적인 배열을 통한 필름형 다중 센서 제작 기술 개발
- 롤투를 성형 장치를 활용한 필름형 다중 센서의 연속 생산 기술 개발

○ 참여기업 (와이앤지)

- 3D 프린팅을 이용한 베시클 및 바이셀 제작을 위한 특이구조 샘플 제작
- 적정 출력 자외선 노광 장치를 활용한 색변이 센서 액티베이션 조건 도출

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

[서울대학교]

연차	수행 과정	수행 내용
1년차	온도 이력 감응형 색변이 센서 프로브 개발	음이온성, 양이온성, 비이온성 계면활성제의 종류에 따라 온도별 민감도의 차이를 보임
		온도에 따른 색변이 민감도를 향상하기 위해 3가지 종류의 계면활성제를 첨가
		냉장온도에서 가장 민감한 계면활성제 선정
		미세유체칩을 이용한 PDA 색변이 고분자 균일 제조
2년차	균일한 나노센서 프로브 제조용 미세유체칩 설계 및 제조	사출성형 칩을 이용한 미세유체칩을 설계 제조
		균일한 입자를 제조하기위한 구조를 설계 및 제작
2년차	온도 이력 감응형 베시클 및 바이셀 감도 향상을 위한 최적설계	계면활성제의 종류에 따라 온도별 민감도 차이 검토
		비이온성 계면활성제인 Tween20 농도별 온도범위 검증
		PCDA 탐제 센서 필름 제작을 위한 알지네이트 필름 제작
		필름형 색변이 센서 온도감응성 검토 및 이력추적
2년차	부패가스 고감도 검출을 위한 리셉터 나노센서 프로브 개발	카다베닌 리셉터를 발굴하고, 나노디스크 형태로 제조
		나노포어일체형 구조를 가진 사출성형 칩을 설계하고 이를 이용한 색변이 고분자 나노디스크 제조

3년차	색 변이 고분자 나노입자를 이용한 센서 프로브 개발	색변이 고분자를 이용한 베시클, 바이셀(bicelle)형태의 나노 센서 프로브 개발/특허출원
		온도감응용 및 부패가스 감지 리셉터 탑재 베시클/바이셀 센서 프로브 효능평가
		온도 변화 및 부패가스 분석을 통한 신선도 종합평가

[경북대학교]

연차	수행 과정	수행 내용
1년차	고감도 센서 프로브 생산을 위한 제조칩 대량생산 기술 개발	나노 센서 프로브 (Lipid Vesicle)의 연속 생산을 위한 미세유체 채널 구조 설계
		포토리소그래피 (Photolithography) 공정을 통하여 마스터 몰드 제작
		제작된 마스터 몰드를 이용하여 PDMS 레플리카를 제작하고, 이를 PDMS 플레이트와 접합하여 PDMS 미세유체칩 제작
		제작된 다양한 구조의 미세유체칩을 이용하여 시약의 혼합 실험 실시 후 최적의 구조 선정
온도 감응형 물질(Thermo Sensitive Material)을 이용한 리포솜 생산 및 파라미터 연구	바이셀 제작 공정조건 설정 및 분석	
	바이셀과 PBS 완충액을 혼합 및 희석하여 나노 베시클 제작	
2년차	시간별 온도변화가 가능한 온도감응형 지시계 제작	저장안정성 확보 및 필름 탑재 성능 향상을 위하여 온도감응용 리셉터인 PCDA를 탑재한 PCDA/DMPC/DHPC 바이셀 제작
		기존에 확보한 바이셀 제작 기술을 응용하여 PCDA를 탑재한 기능성 바이셀 제작실험 실시
		PCDA 탑재 바이셀 제작을 위한 공정 조건 설정
		DMPC 혼합 비율 조절을 통한 바이셀 형성 경향성 확인
	제작된 PCDA/DMPC/DHPC 바이셀의 형상 분석 실시	
필름형 다중 센서 제작을 위한 폴리머 필름의 연속 생산 테스트 실시	롤투롤 장비의 프로토 타입 지오메트리 구성	
	구성한 지오메트리를 실제 구현하여 프로토타입 장비 제작	
	제작된 장비를 이용한 단순 폴리머 필름 제작 실험실시	
3년차	미세유체칩을 이용한 바이셀 연속적인 제작 공정 개발	유체집속을 이용한 혼합 공정이 가능한 PDMS 기반의 미세유체칩 제작
		미세유체칩을 이용한 바이셀 제작 실험 실시
	바이셀 형성의 안정성 확보를 위한 다양한 센서 프로브의 적용	체인 길이가 바이셀 멤브레인 형성에 미치는 영향에 대한 실험 실시
		DMPC 리피드와의 몰비율 및 공정 조건 설정을 위한 파라미터 실험실시
	생산성 확보를 위한 다중 센서 연속생산 장비 설계 및 재료 선정	롤투롤 장비의 구조 설계 및 사용 재료 선정
	롤투롤 장비 제작 및 온도 감응형 지시계의 최적화	롤투롤 장비 제작
롤장비를 이용한 온도 감응형 지시계의 연속생산	연속생산성 테스트 실시	

[와이지앤지]

연차	수행 과정	수행 내용
1년차	2PP 3D 프린팅을 위한 스탠실 몰드 설계 및 제작	3D 모델링, 시뮬레이션, 3D 프린팅 제작 실시
		다양한 종류의 구조체를 설계 후 시뮬레이션을 실시
	적합한 구조체를 선정하고 제작	
2년차	베시클, 바이셀의 액티베이션을 위한 기술 개발	색변이를 포함한 다중 센서 액티베이션을 위한 자외선 경화 장치 개발
		Roll to roll 혹은 roll to plate 공정중 자외선 경화를 위한 제어기 및 xyz 축 조절기 개발
	현상부와 PR도포부를 결합시켜 in-line으로 소자를 one step 제작할 수 있는 장치	
3년차	최적 센서 액티베이션 조건 도출 및 시제품 적용	PMT module을 이용한 photon 측정장비의 설계 및 다중 검출을 위한 로딩장치 설계
		Photon을 이용하는 방법은 여기되는 광원에 따라 방출되는 photon 광량만을 수집하는 특이적 반응만을 검출
3년차	최적 센서 액티베이션 조건 도출 및 시제품 적용	센서의 재료, 생산 장치, 센서 자체를 상용화 하기 위한 기술 완성도 보완
		형광이미지 분석을 위한 광학 장치 최적화

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

◆ 1차년도 정성적 연구개발성과

○ 온도 이력 감응형 색변이 센서 프로브 개발기술 개발

- 온도에 감응할수 있는 색변이 센서 프로브를 개발하기 위해 polydiacetylene(PCDA) polymer를 모노머로 하여, 다양한 계면활성제 첨가를 통해 온도의 민감성을 향상하고자 함
- 4종의 계면활성제 검토

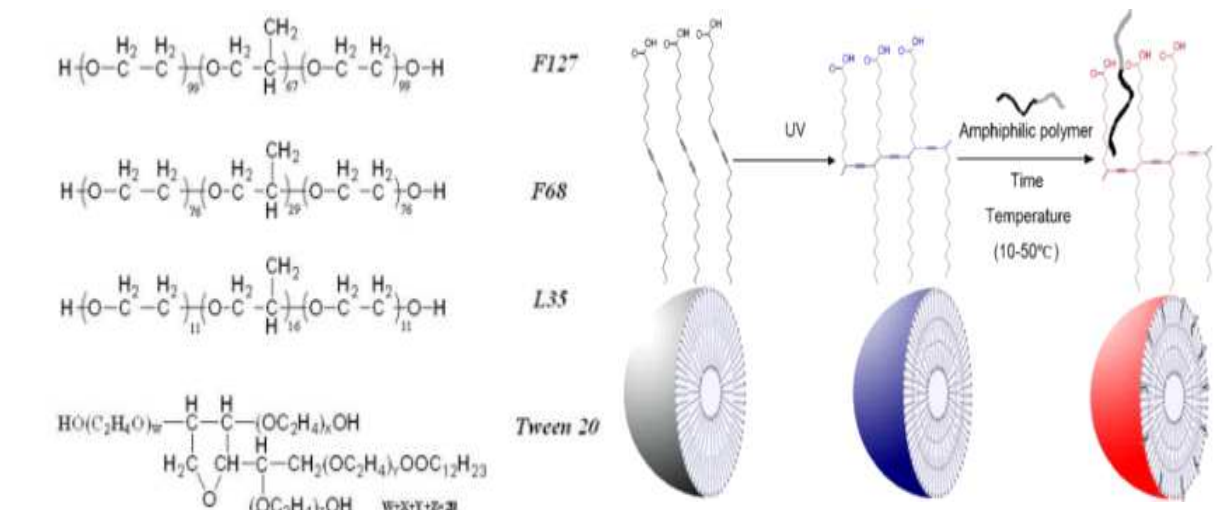


그림 23. 계면활성제 구조식 및 색변이 원리

- 계면활성제 종류에 따른 리포솜 색변화 검토
 - PCDA Liposome 40 uL와 4°C에서 보관한 각 농도별 계면활성제 40 mL(in DI Water)를 384well plate에서 혼합 후 온도와 시간에 따른 색 변화 관찰
 - F127, Tween20, Poloxamer 188 3종류 및 농도에 따른 온도별 색변이 민감도 검토
 - Tween20의 경우 가장 온도에 민감하게 반응하는 결과를 얻음

① F127

Time	Concentration (%w/w)				Temperature (°C)
	0	1	5	10	
0					4°C
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					
0					
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					
0					40°C
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					

② TWEEN20

Time	Concentration (%w/w)				Temperature (°C)
	0	1	5	10	
0					4°C
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					
0					
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					
0					40°C
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					

③ Poloxamer188

Time	Concentration (%w/w)				Temperature (°C)
	0	1	5	10	
0					4°C
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					
0					
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					
0					40°C
10 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
4 hr					
24 hr					

● Tween20 계면활성제 농도별 PCDA 리포솜 색변화 민감도 검토 검토

- PCDA Liposome 40 μ L와 0°C에서 보관한 각 농도별 계면활성제 40 μ L(in DI Water)를 384well plate에서 혼합 후 온도와 시간에 따른 색 변화 관찰
- Amphiphilic polymer : TWEEN 20, 농도 : 20, 30, 40, 50 %w/w

① 4°C

Time	Concentration (%w/w)				Temperature (°C)
	20	30	40	50	
0 min					4
5 min					
10 min					
20 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
3 hr					
4 hr					
6 hr					
8 hr					
24 hr					
48 hr					

② 25°C

Time	Concentration (%w/w)				Temperature (°C)
	20	30	40	50	
0 min					25
5 min					
10 min					
20 min					
30 min					
1 hr					
2 hr					
3 hr					
4 hr					
6 hr					
8 hr					
24 hr					

- 4°C에선 TWEEN20 50% 까지 농도를 높여도 색변화가 나타나지 않았음.
- 25°C에선 TWEEN20 50% 농도였을 때 5분 만에 색변화가 나타났음.

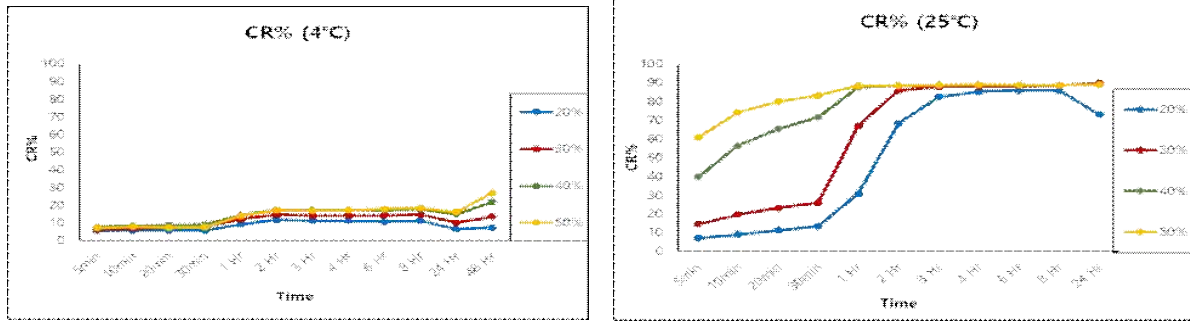


그림 24. Tween20 계면활성제 농도별 온도에 따른 색변이 감도 변화

- 4°C에선 50% 농도에서 48시간 후에 측정해도 CR% 값이 30%로 색변화가 매우 적었고, 냉장 보관 상태에선 색변화가 미미하였다.
- 실온에서 TWEEN20 50% 농도였을 때 5분 만에 CR 값이 60%까지 증가하는 것을 확인.

○ 균일한 나노 프로브 제조용 미세유체칩 설계 및 개발

- 사출 성형 법을 이용한 새로운 마이크로 플루이딕 칩 제조
 - PDMS를 이용한 칩은 대량으로 생산하기 어려운 문제가 있어 이 문제를 해결하기 위하여 사출성형법을 이용하여 대량으로 생산 가능한 폴리프로필렌 소재의 칩을 개발 하였다. 제작된 칩을 이용하여 cell 용액은 inlet1의 유량은 60ml/h로 고정하고 inlet2의 유량을 1.5-6.0ml/h로 변화를 주어 최적의 capsulation 효율을 찾았다.

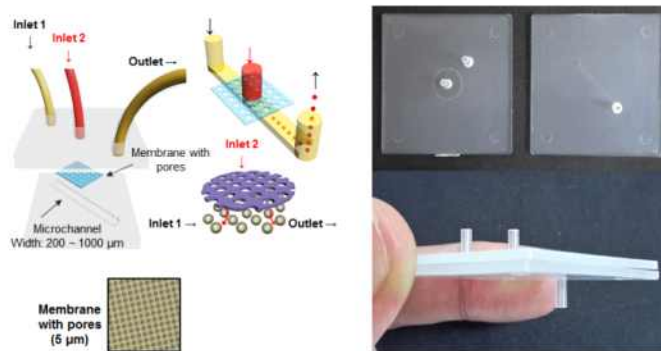


그림 25. cell 칩 구성 및 작동 원리(좌)와 사출성형으로 제작된 리포솜 칩(우)

- 다채널 대량 생산용 칩 및 패키징 기술 개발
 - 다양한 종류의 용액과 압력으로 인한 leaked 현상을 방지하기 위해, stencil과 channel 부분에 noa를 처리해 접착제가 organic solvent 및 높은 압력에도 견딜수 있도록 처리하였다. 다음은 이들 접착제를 처리하여 제작한 다채널 칩을 통해 보다 많은 양의 CTC를 분리할 수 있는 효율성을 향상하고자 한다.

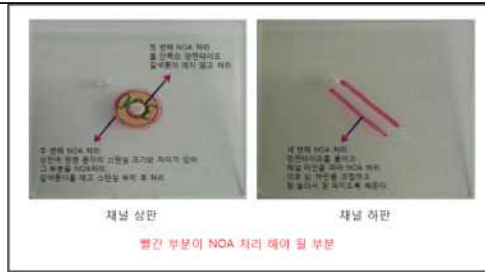


그림 26. NOA를 이용한 리포솜칩 패키징 처리

● 사출 나노포어 일체형 LOC 칩 설계

- 마이크로/나노 스텐실을 제작하여 미세유체칩에 장착하는 공정의 복잡성과, 안정적인 칩 생산의 어려움으로 인해, 스텐실 없는 새로운 LOC칩의 설계를 하였다. 본 칩은 사출성형 방법으로 사다리형 기둥을 만들고, 이를 통해 유체가 흘러가도록 설계하였으며, 기둥과 기둥사이의 포어 사이즈는 5 마이크로 미터 크기로 기존의 스텐실보다 작게 제작이 가능함.

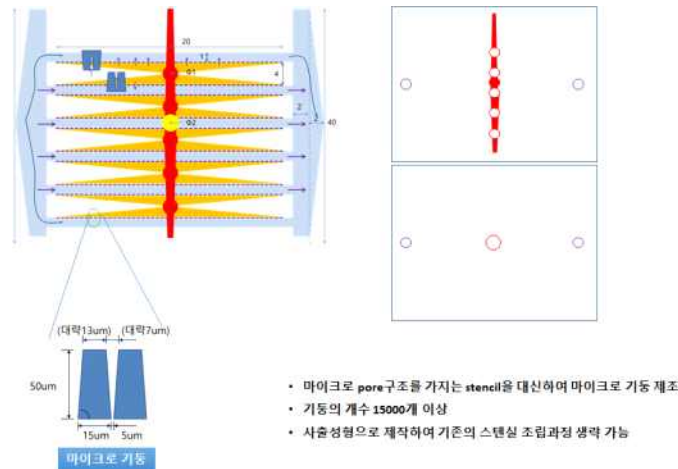


그림 27. 마이크로 기둥구조를 가진 차세대 LOC칩 설계

○ 고감도 센서 프로브 생산을 위한 제조칩 대량생산 기술 개발

- 나노 센서 프로브 (Lipid Vesicle)의 연속 생산을 위한 미세유체 채널 구조 설계
 - 구조 및 패턴에 따른 혼합 성능 비교를 위하여 다양한 종류의 미세유체 채널 설계
 - 마스터 몰드 제작에 필요한 포토마스크 (Photo mask) 제작
- 포토리소그래피 (Photolithography) 공정을 통하여 마스터 몰드 제작
 - SU-8 2050, SU-8 2100 (MicroChem) 감광액 (Photoresist)를 이용하여 미세유체칩 채널 높이 조절 (50 μm , 100 μm)
- 제작된 마스터 몰드를 이용하여 PDMS 레플리카를 제작하고, 이를 PDMS 플레이트와 접합하여 PDMS 미세유체칩 제작
 - 제작된 마스터 몰드를 이용하여 PDMS (Polydimethyl siloxane, sylgard 184, curing agent 10 : 1) 소프트 몰딩 (Soft molding)을 실시하여 PDMS 채널 제작
 - 플라즈마 클리닝 후 제작된 PDMS 채널을 패턴이 없는 PDMS 플레이트와 접합

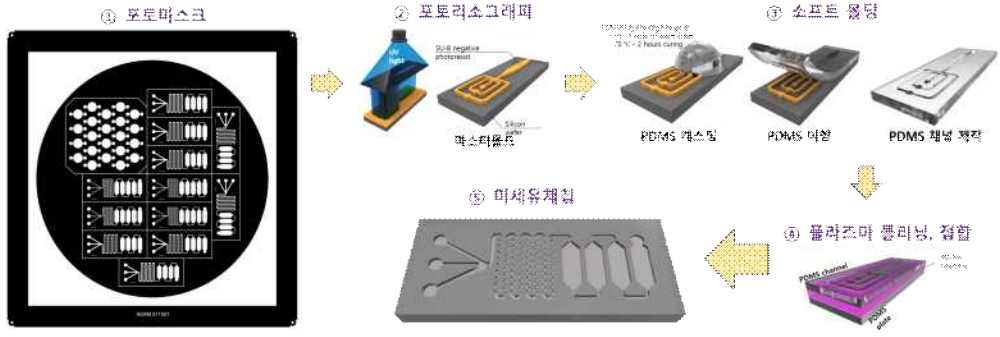


그림 28. 미세유체칩 설계 및 제작과정의 개념도

- 제작된 다양한 구조의 미세유체칩을 이용하여 시약의 혼합 실험 실시 후 최적의 구조 선정
 - 혼합 성능 평가를 위하여 형광 프로브가 함유되어있는 PBS 완충액과 형광프로브가 함유되어 있지 않은 PBS 완충액을 동시에 주입하고 형광 현미경을 통하여 혼합 성능 평가
 - 혼합 성능 평가 후 최적의 미세유체칩 구조 선정 완료

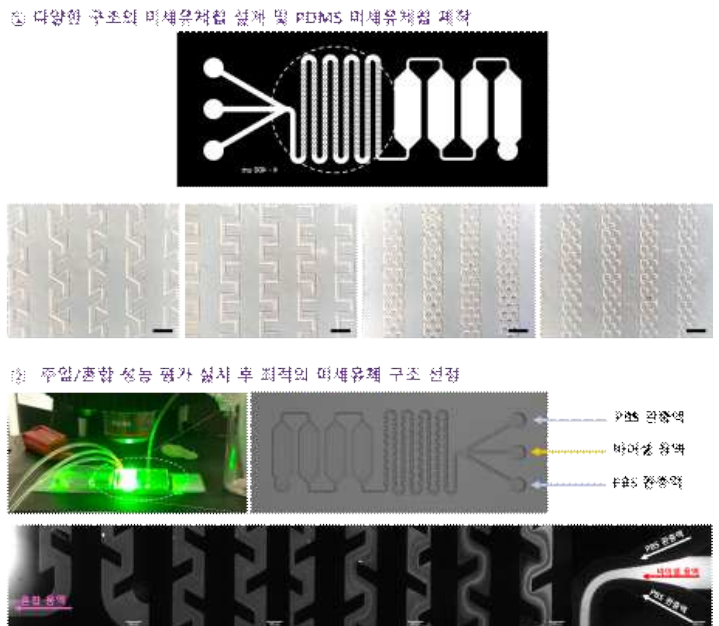


그림 29. 다양한 구조의 미세유체칩 제작 및 혼합 성능 평가 (Scale bar : 400 μm)

온도 감응형 물질(Thermo Sensitive Material)을 이용한 리포솜 생산 및 파라미터 연구

- 바이셀 제작 공정조건 설정 및 분석
 - 리피드 박막 (Lipid thin film) 공정을 통하여 두 종류의 리피드를 고르게 혼합
 - 솔벤트를 제거하기 위하여 탈기 과정 실시
 - 바이셀 형성을 위하여 PBS 완충액을 첨가하여 가열 교반 & 냉각 과정 반복
 - DLS (Dynamic light scattering, Size distribution), 막 유동성 (Membrane fluidity), 막 극성 (Membrane polarity) 측정을 통하여 비교적 일정한 크기와 일정한 막 특성을 보이는 바이셀이 형성됨을 확인

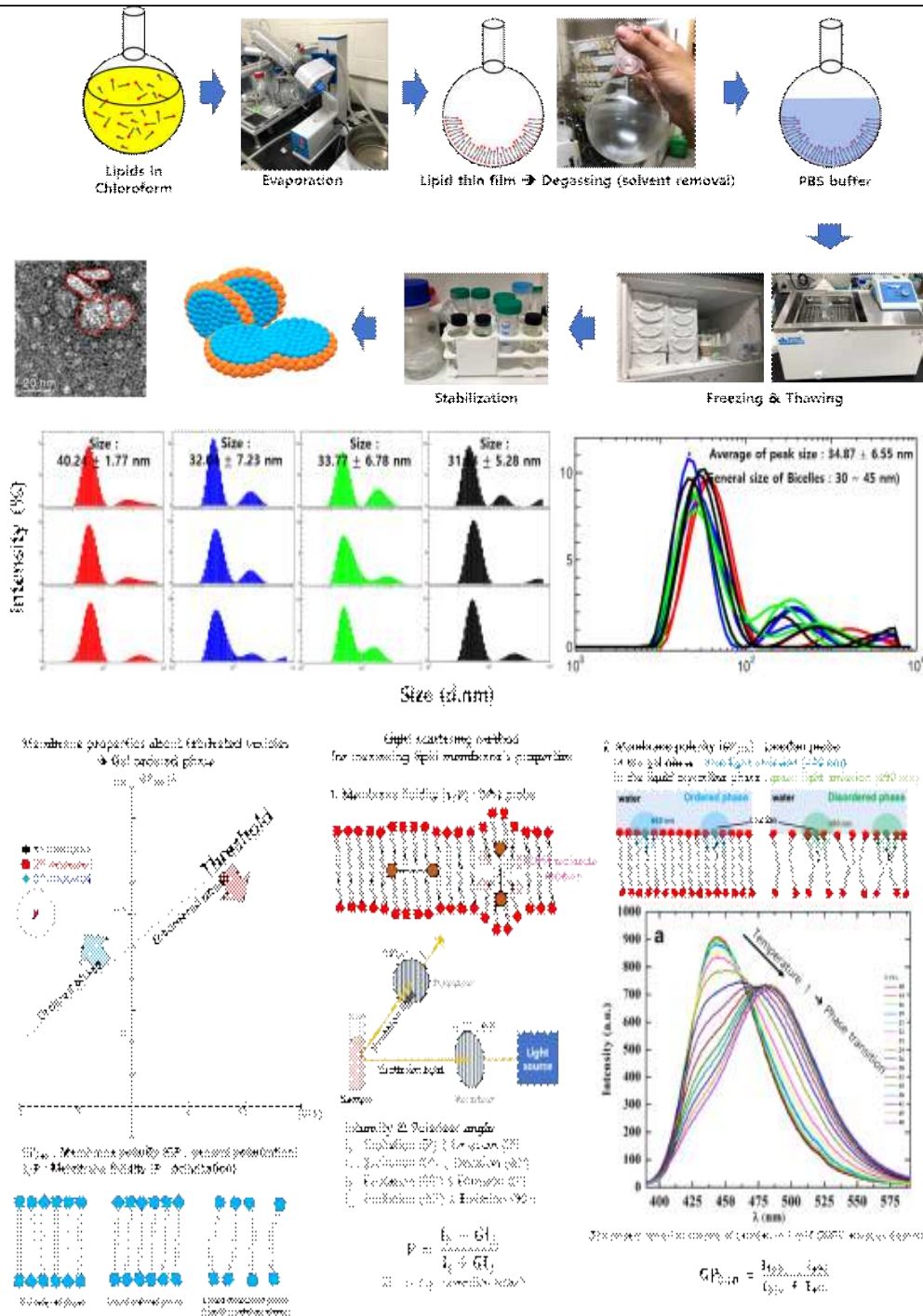


그림 30. 바이셀 제작 개념도 및 바이셀 크기 및 막 특성 분석

- 바이셀과 PBS 완충액을 혼합 및 희석하여 나노 베시클 제작
 - 제작된 PDMS 미세유체칩을 이용하여 바이셀 용액과 PBS 완충액의 혼합 공정 실시
 - 적정 주입 유속을 설정하고 유속에 따른 베시클 형성 경향을 DLS 측정을 통하여 분석한 결과, 유속 조건에 따라 80 ~ 110 nm 크기의 베시클이 형성됨을 확인

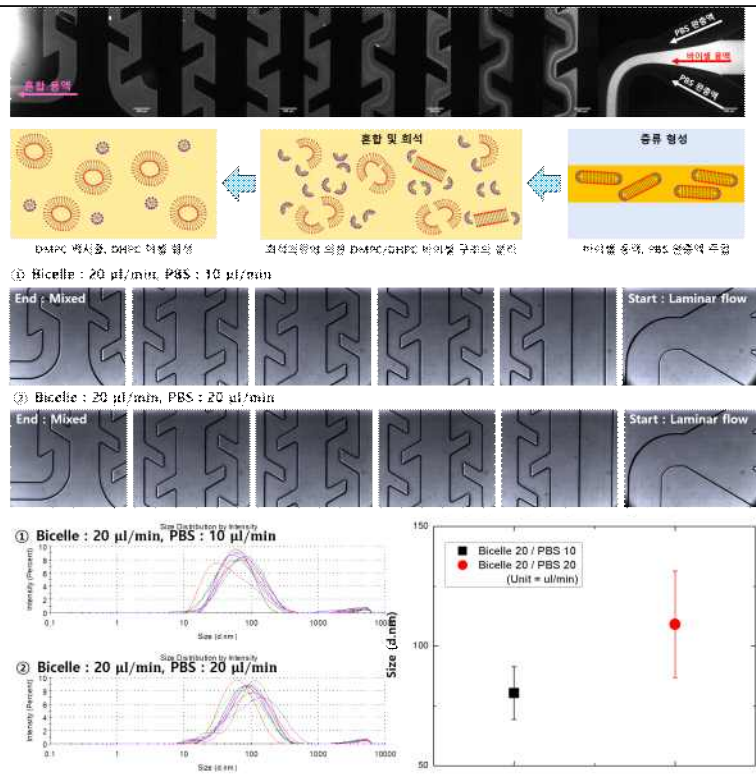


그림 31. 베시클 제작의 개념도와 제작된 베시클의 크기 분석

○ 3D 프린팅을 이용하여 베시클, 바이셀 제작에 필요한 특수 구조체 제작

- 2PP 3D 프린팅을 위한 스탠실 몰드 설계 및 제작
 - 2D 및 3D 모델링을 이용하여 스탠실 몰드 설계 및 시뮬레이션
 - 2PP 3D 프린터를 이용한 테스트 몰드 제작
 - 제작된 몰드의 형상학적 분석을 실시하여 적합한 형상의 구조체 선정

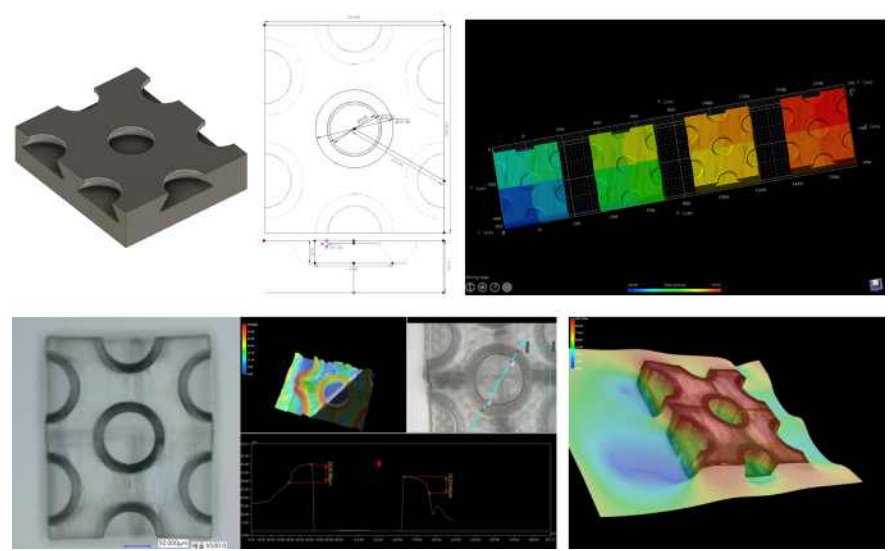


그림 32. 스탠실 몰드의 설계, 시뮬레이션, 3D 프린팅, 형상학적 분석에 대한 개념도

- 스탠실 몰드를 이용한 스탠실 제작
 - 제작된 몰드를 스탠실 제작에 적용
 - 열 경화성 폴리머 (PDMS), UV 경화성 폴리머 (PUA, NOA) 등의 다양한 재료를 이용한 스탠실 제작 실시
 - SEM 이미지 및 광학 현미경 이미지, 액체의 투과성 실험을 실시하여 스탠실의 타공성 및 효용성 확인

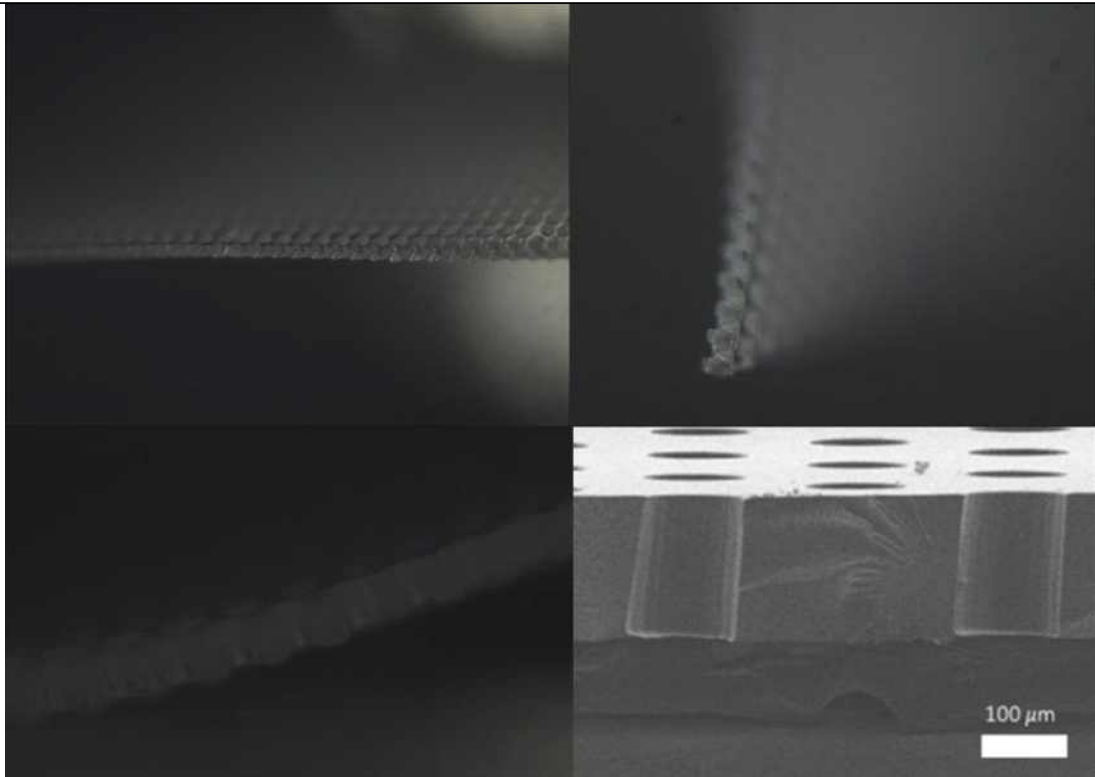


그림 33. 제작된 스텐실의 SEM, 광학 현미경 이미지

◆ 2차년도 정성적 연구개발성과

○ 온도감응용 나노 베시클 및 바이셀 감도 향상을 위한 최적설계

● 폴리디아세틸렌(PCDA) 리포솜 제조

- 1) 3~10 mM 농도의 polydiacetylene monomer를 isopropyl alcohol에 용해 시킨 다음 건조과정을 통해 용매를 제거한다.
- 2) DI water 또는 완충용액을 첨가하여 수화 시킨 다음, 초음파 분쇄법을 이용하여 리포솜을 제조한다.
- 3) 안정화 될 때까지 하루정도 냉장 보관을 한다.
- 4) 양친매성 고분자 F127, Poloxamer188, 비 이온 계면활성제인 tween20을 5~45% 첨가한 리포솜을 제조

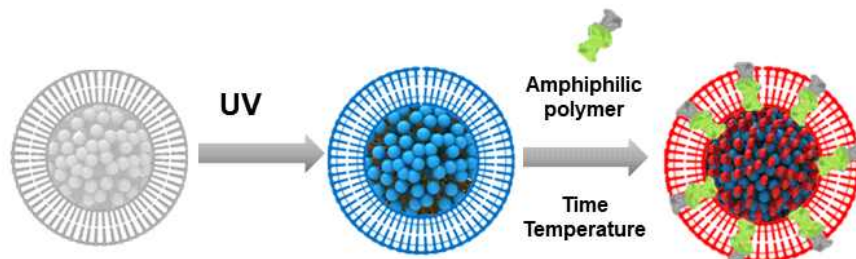


그림 34. 양친매성 고분자 및 계면 활성제 첨가한 색변이 리포솜 제조

① 첨가된 계면활성제 농도별 온도에 따른 색변이 정도

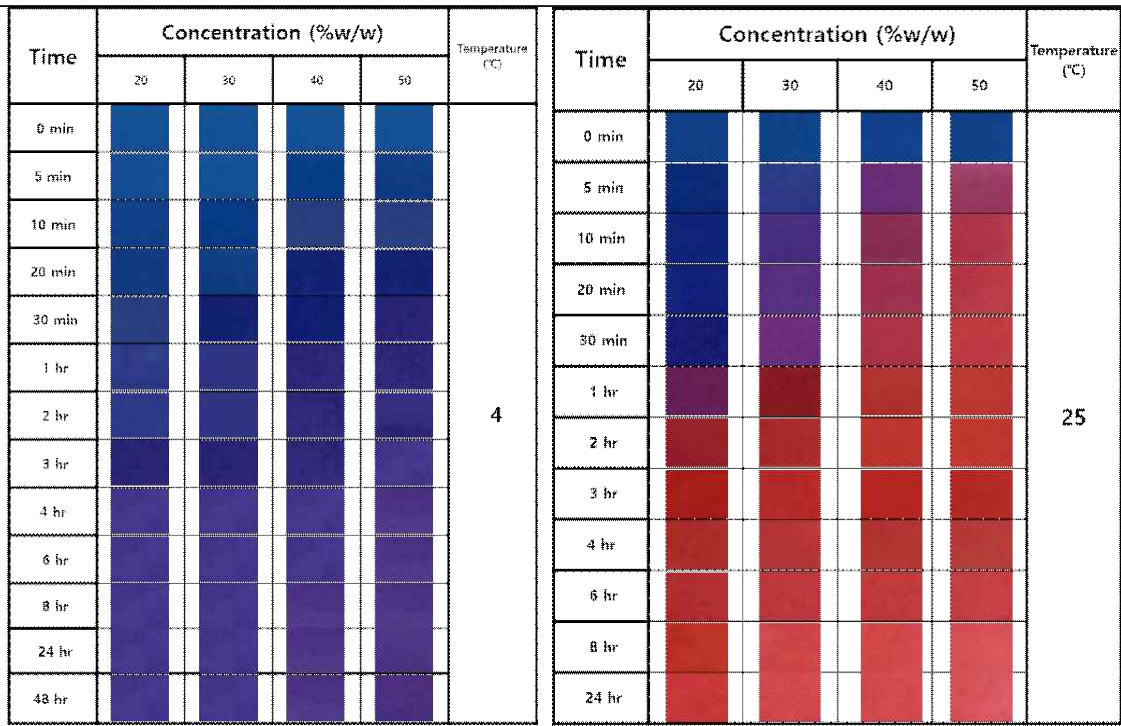


그림 35. 냉장 및 실온에서 계면활성제 농도에 따른 리포솜 용액의 색 변화 정도

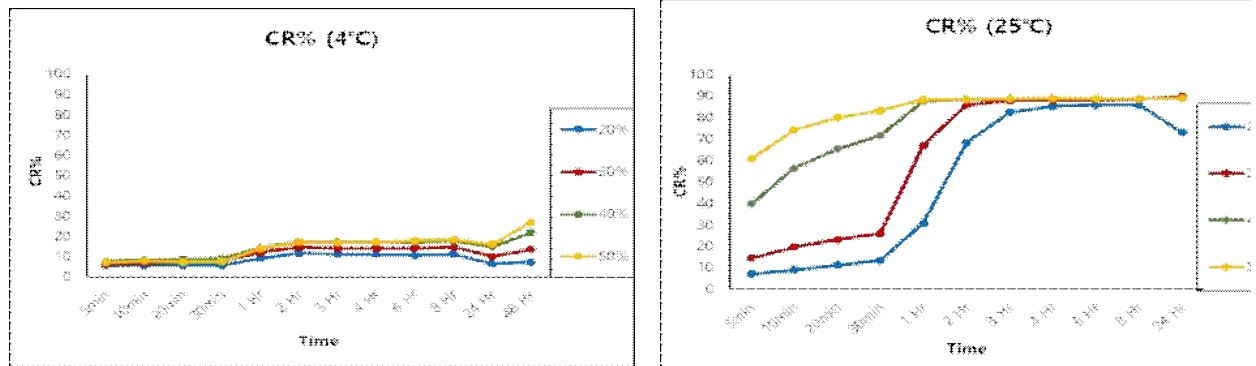


그림 36. Tween20 계면활성제 농도별 온도에 따른 색변이 감도 변화

- 4°C에선 50% 농도에서 48시간 후에 측정해도 CR% 값이 30%로 색변화가 매우 적었고, 냉장 보관 상태에선 색변화가 미미하였다.
- 실온에서 TWEEN20 50% 농도였을 때 5분 만에 CR 값이 60%까지 증가하는 것을 확인.

- 계면활성제 첨가 폴리디아세틸렌(PCDA) 리포솜 알지네이트 필름 제조

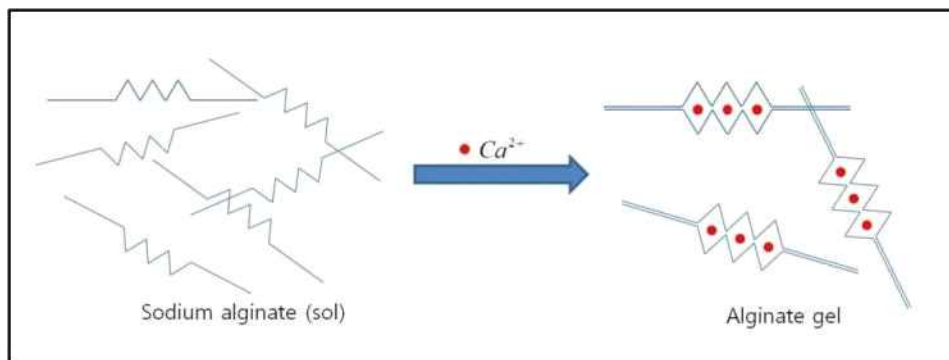


그림 37. Alginate NaCl 결합 과정

1) 위에서 제조한 PCDA 용액을 ice bath에서 UV lamp (254nm)를 이용 1~5 min동안 조사한다.

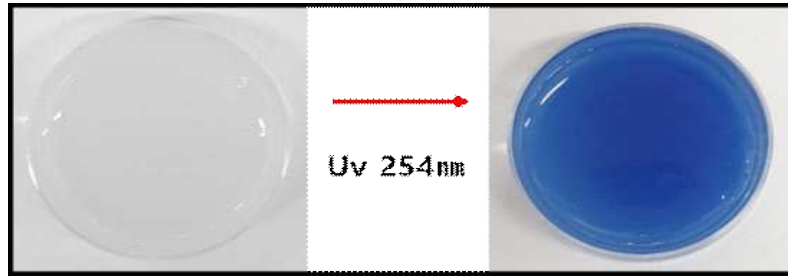


그림 38. UV조사 후 색변이된 폴리디아세틸렌 리포솜 용액



그림 39. UV조사전 계면활성제 첨가 후 리포솜 용액의 변화

- 계면 활성제 혼합과정에서 PCDA 용액에 UV를 조사하지 않고 계면활성제를 첨가할 경우 제조된 PCDA 리포솜의 이중막이 계면활성제로 인해 용해되어 리포솜이 분해되는 현상이 발생
- PCDA 용액에 UV를 먼저 조사하여 중합시키면 계면활성제를 첨가하여도 이중막이 분해되지 않고 안정한 상태가 유지되며, 색변이 관찰이 가능함

② 폴리디아세틸렌 알지네이트 필름 제작

- 위에서 제조한 계면활성제 첨가 PCDA 리포솜 용액과 알지네이트를 1:1 비율로 혼합함.
- 혼합 된 샘플을 고정틀에 주입(틀 모양에 따라 다양한 형태로 변형 가능)하고, 주입하는 양에 따라 필름의 두께를 조절할 수 있다.(그림6)
- 고정틀에 주입한 샘플을 냉동(1~3시간)한 다음 틀에서 분리한다.

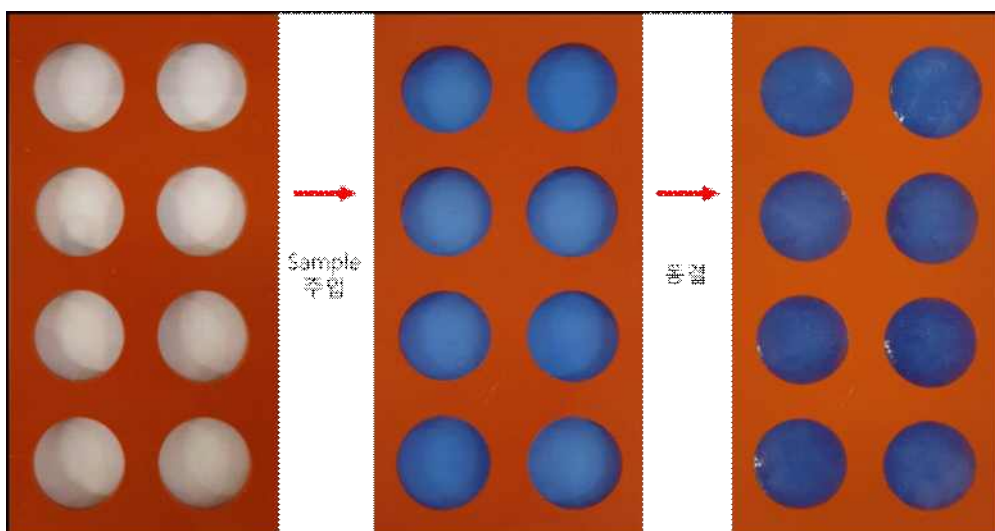


그림 40. 틀을 이용한 폴리디아세틸렌 리포솜 용액의 동결 과정

- 동결된 폴리디아세틸렌 리포솜을 CaCl_2 용액에 1분간 침전하여 필름형태로 제조한다. 이때 주입하는 폴리디아세틸렌 용액의 양에 따라 필름의 두께를 조절할 수 있다.

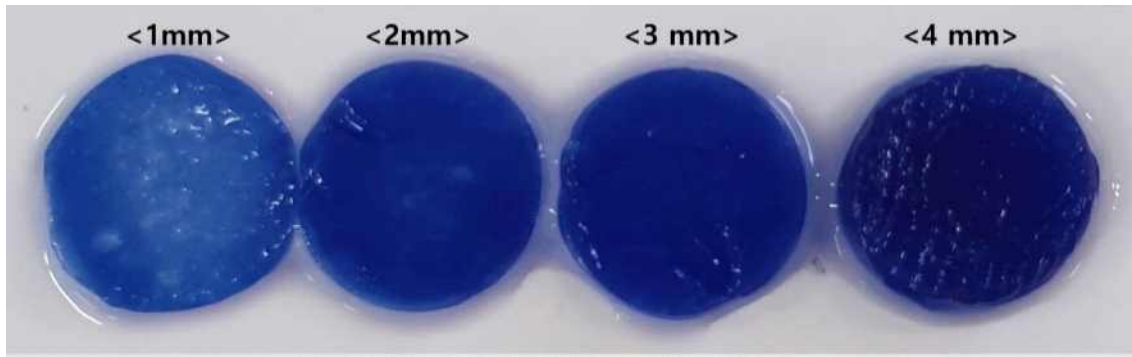


그림 41. 주입하는 폴리디아세틸렌 용액의 양에 따라 두께가 다른 필름제조

- 알지네이트 필름 제조시 동결하지 않으면 폴리디아세틸렌 알지네이트 혼합용액이 CaCl_2 용액에서 일어나는 가교결합 과정에서 일부 가장자리 부분이 단단하게 가교합이 일어나지 않고 불규칙한 형태의 필름으로 형성된다.
- 이는 용액의 형태로 CaCl_2 용액과 만나면 필름의 최 외곽 부분이 희석이 되어 알지네이트 농도가 낮아지고 모양이 흐트러지는 문제점(좌)이 발생한다. 그러나 동결한 폴리디아세틸렌-알지네이트 용액은 원하는 모양(우)대로 필름 제작이 가능하다.

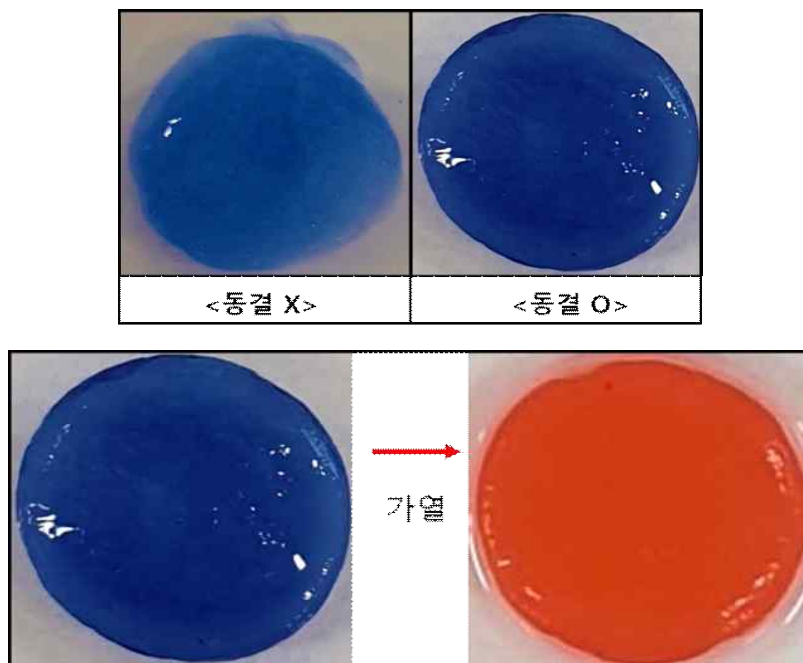


그림 42. 동결과정 유무에 따른 필름 형태의 변화 및 색변이

● PCDA 필름센서 성능 테스트

- Film 타입을 사용했을 때 감도 변화가 있는지 확인하기 위한 테스트
- 앞서 설명한 필름 제작방법으로 PCDA Liposome : TWEEN20 : Alginate = 1:1:1 비율로 혼합하여 CaCl_2 로 가교 시켜 필름 상태로 24시간동안 색변화 관찰한다.

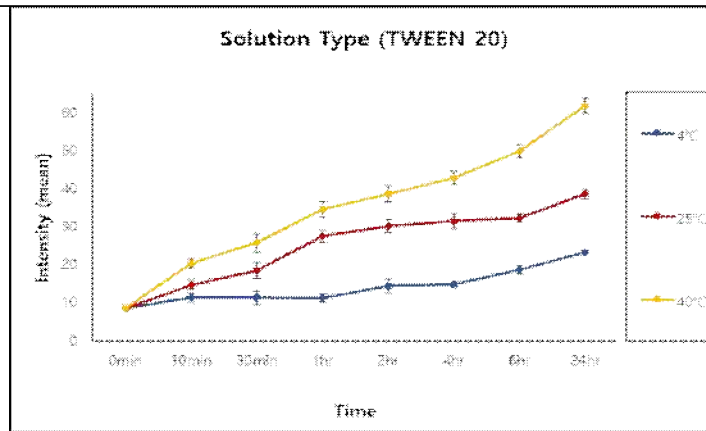


그림 43. 액상 타입 형광강도 변화 그래프

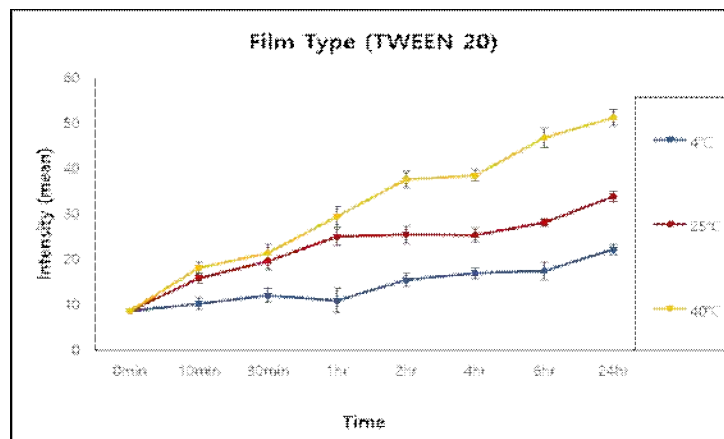


그림 44. 필름 타입 형광강도 변화 그래프

- 형광측정 하여 ImageJ로 분석한 결과, 액상과 필름타입의 시간에 따른 Intensity 변화는 위 그래프와 같이 비슷한 수치로 증가하였다.

● 30분 간격 실온(25°C 인큐베이터) 방치 테스트

- 운송과정 중 상하차시 유통상품이 실온에 노출 되는 경우가 종종 있는데, PCDA필름 센서를 이용하여 노출 시간을 확인 할 수 있도록 테스트를 진행하였다.

- 실온(25°C 인큐베이터)에 총 5회 까지 반복적으로 노출 시키며 테스트를 진행하였다.

- 앞서 설명한 필름 제작방법으로 PCDA Liposome : TWEEN20 : Alginate = 1:1:1 비율로 혼합하여 CaCl₂로 가교 시켜 필름 상태로 30분 간격으로 실온에 방치하고 냉장보관을 반복하였다.

① 1회 (25°C, 30분)

② 2회 (25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 25°C, 30분)

③ 3회 (25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 25°C, 30분)

④ 4회 (25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 25°C, 30분 -> 냉장 10분 -> 25°C, 30분)

⑤ 5회 (25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 25°C, 30분 -> 냉장 30분 -> 실온 30분 -> 냉장 30분 -> 실온 30분 -> 냉장 30분 -> 실온 30분)

Time + Number	Number					Time + Number	Number				
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5
0	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	0	Black	Black	Black	Black	Black
Once	Blue	Blue	Blue	Blue	Blue	Once	Black	Black	Black	Black	Black
Twice	White	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Twice	White	Black	Black	Black	Black
thrice	White	White	Dark Blue	Dark Blue	Dark Blue	Thrice	White	White	Dark Red	Dark Red	Dark Red
Four times	White	White	White	Dark Purple	Dark Purple	Four times	White	White	White	Dark Red	Dark Red
Five times	White	White	White	White	Dark Purple	Five times	White	White	White	White	Dark Red

그림 45. 실온 노출 횟수에 따른 색변화 사진 및 형광 사진

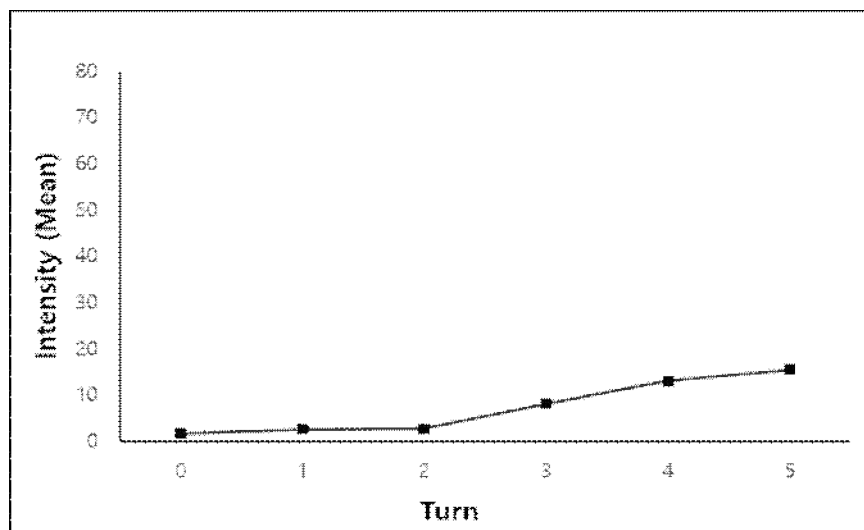


그림 46. 방치 횟수에 따른 형광강도 변화 그래프

- 방치 횟수가 증가함에 따라 형광 강도가 증가하였지만 센서로는 성능이 미미하여 센서의 감도 향상이 필요한 것으로 판단됨

● PCDA 필름 센서 감도 향상 테스트

















- PCDA Liposome의 색변화를 증가시키기 위해 TWEEN20 농도를 증가시키며 실험을 진행
- 60 wt%, 65 wt%, 70 wt%, 75 wt%, 80 wt%, 85 wt%, 90 wt%

* Film 두께 : 2 mm

















* Temperature : 25°C (인큐베이터)

* Time : 6분, 15분, 30분, 45분, 1시간, 1시간 15분, 1시간 30분, 1시간 45분, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 7시간, 8시간까지의 변화를 측정
















(25°C, 60wt%)

0 Hr	0.1 Hr	0.25 Hr	0.5 Hr	0.75 Hr	1 Hr	1.25 Hr	1.5 Hr
							
1.75 Hr	2 Hr	3 Hr	4 Hr	5 Hr	6 Hr	7 Hr	8 Hr
							





(25°C, 65wt%)

0 Hr	0.1 Hr	0.25 Hr	0.5 Hr	0.75 Hr	1 Hr	1.25 Hr	1.5 Hr
							
1.75 Hr	2 Hr	3 Hr	4 Hr	5 Hr	6 Hr	7 Hr	8 Hr
							













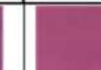



(25°C, 70wt%)

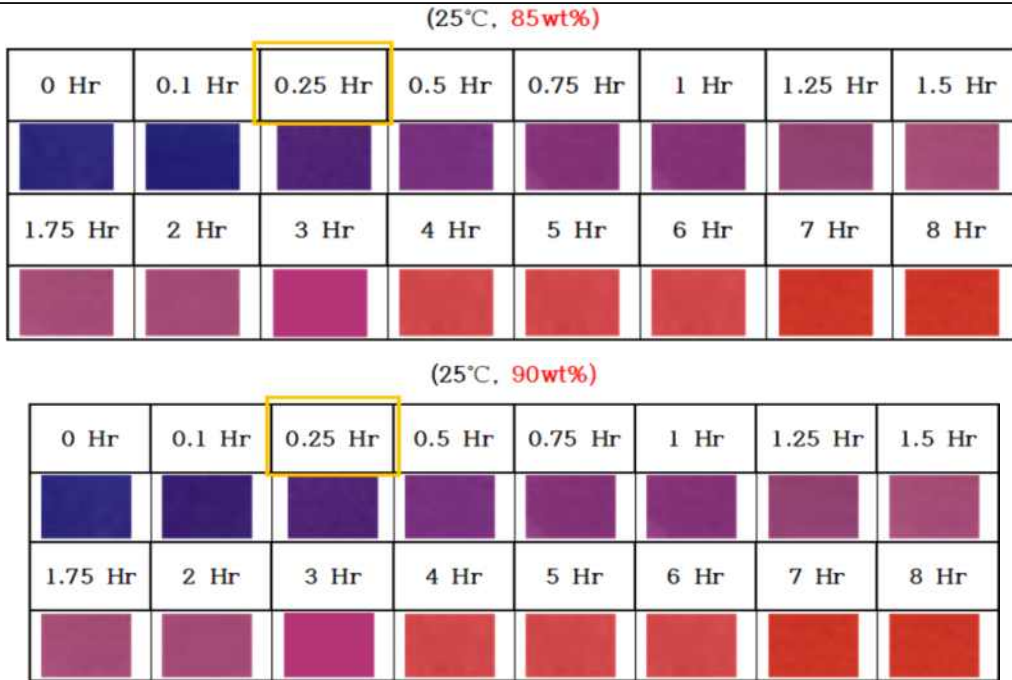
0 Hr	0.1 Hr	0.25 Hr	0.5 Hr	0.75 Hr	1 Hr	1.25 Hr	1.5 Hr
							
1.75 Hr	2 Hr	3 Hr	4 Hr	5 Hr	6 Hr	7 Hr	8 Hr
							

(25°C, 75wt%)

0 Hr	0.1 Hr	0.25 Hr	0.5 Hr	0.75 Hr	1 Hr	1.25 Hr	1.5 Hr
							
1.75 Hr	2 Hr	3 Hr	4 Hr	5 Hr	6 Hr	7 Hr	8 Hr
							

(25°C, 80wt%)

0 Hr	0.1 Hr	0.25 Hr	0.5 Hr	0.75 Hr	1 Hr	1.25 Hr	1.5 Hr
							
1.75 Hr	2 Hr	3 Hr	4 Hr	5 Hr	6 Hr	7 Hr	8 Hr
							



* 노란색 표기는 육안으로 색변화를 확인 가능한 경과 시간이다.

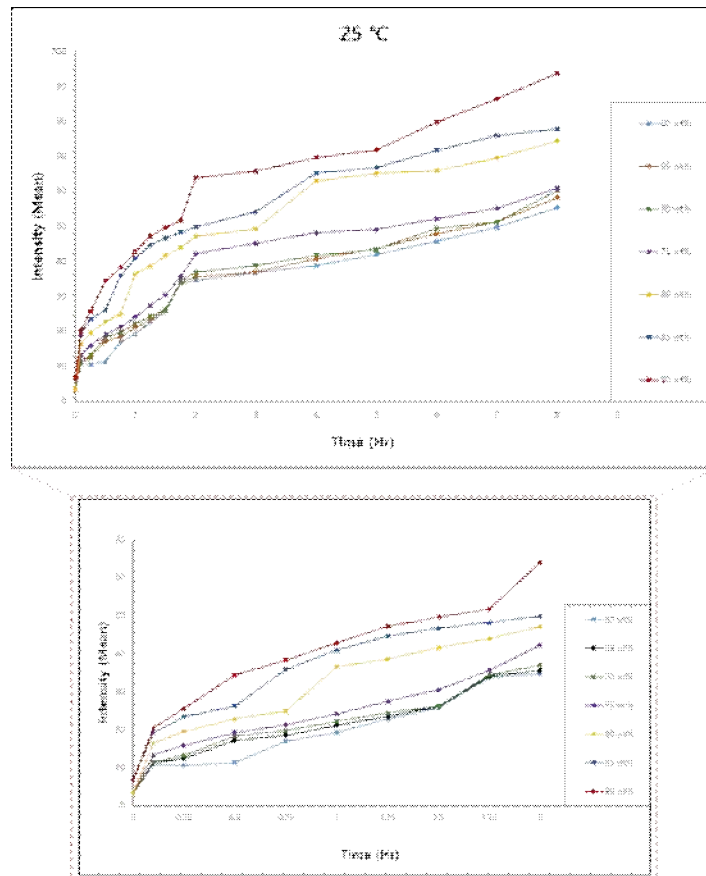


그림 47. (상) 25°C에서 TWEEN20 농도별 형광강도 변화 그래프 (하) 0~2시간까지의 형광강도 변화 확대

- TWEEN20의 농도를 증가 시켜 실험한 결과 TWEEN20 85, 90wt%농도의 샘플을 보면 실온 (25°C) 에서도 15분 (0.25시간)만에 색변화를 확인 할 수 있을 정도로 센서 감도를 크게 향상 시켰다.
- 위의 실험 데이터를 바탕으로 다양한 온도와 경과시간에 따른 센서 감도를 조절 할 수 있을 것으로

판단된다.

○ 부패가스 고감도 검출을 위한 리셉터 나노센서 프로브 개발

- 인간 감각계/신경계 수용체는 주로 G protein-coupled receptor (GPCR) 군에 속하는 세포막 단백질로 구조가 매우 복잡하고 소수성이 강해 이종 세포의 발현 및 분리/정제가 극히 어려운 것으로 알려진 카다베린 리셉터 발현을 협력기관과 함께 개발

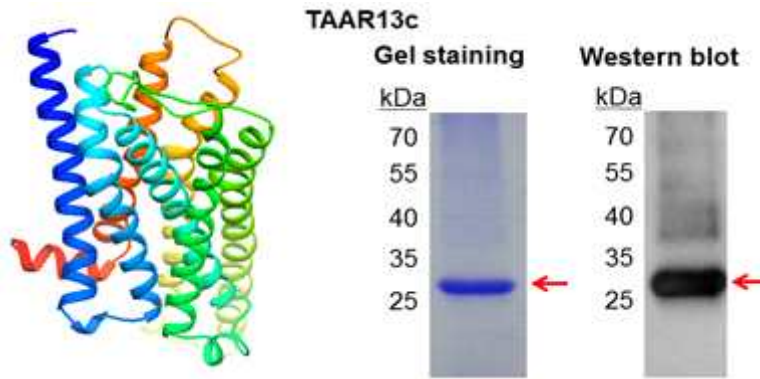


그림 48. 카다베린 리셉터 발현 정제 및 구조형성확인

- 미세유체칩 기술을 활용한 나노디스크제작 및 리셉터 고정화 기술 개발

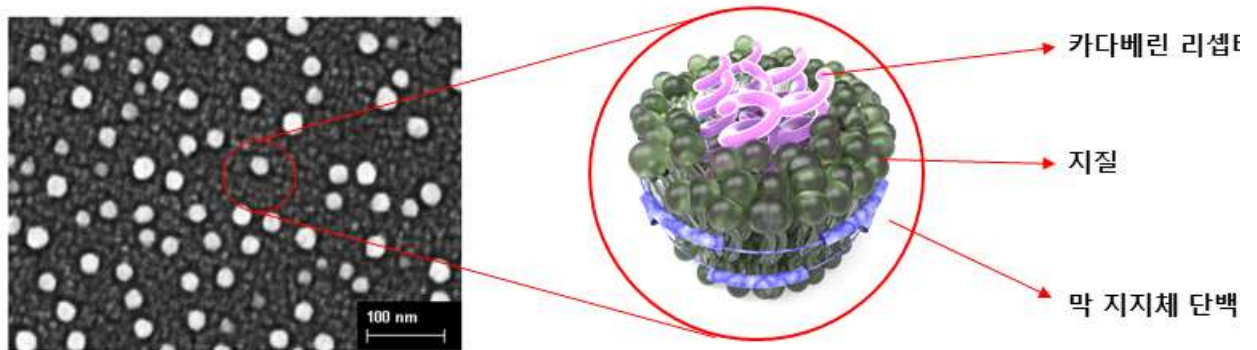
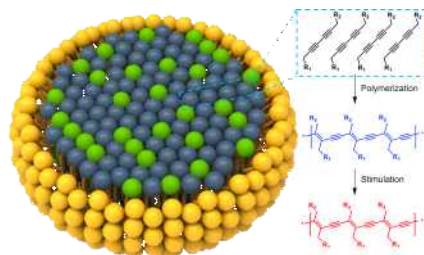


그림 49. 인지질을 이용한 카다베린 리셉터의 고정화 및 디스크 제조 확인

○ 시간별 온도변화가 가능한 온도감응형 지시계 제작

- 저장안정성 확보 및 필름 탑재 성능 향상을 위하여 온도감응용 리셉터인 PCDA를 탑재한 PCDA/DMPC/DHPC 바이셀 제작
- 기존에 확보한 바이셀 제작 기술을 응용하여 PCDA를 탑재한 기능성 바이셀 제작실험 실시



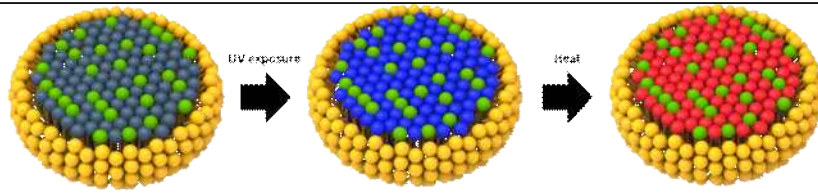


그림 50. 온도감응용 리셉터를 탑재한 바이셀의 색변이 과정의 개략도

- PCDA 탑재 바이셀 제작을 위한 공정 조건 설정
 - 3종의 리피드의 혼합으로 인한 새로운 공정 조건 설정을 위한 파라미터 실험 실시
 - PCDA의 상전이 온도 (phase transition temperature)를 고려한 혼합 시 온도 조건 설정에 따른 바이셀 형성 양상 분석 실험 실시
 - PCDA와 DMPC 리피드의 몰비율에 따른 바이셀 형성 양상 분석 실험 실시

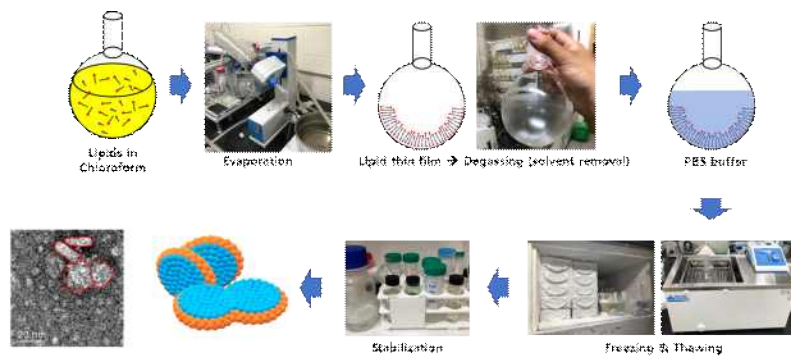


그림 51. PCDA/DMPC/DHPC 바이셀 제작 공정 개략도

- DMPC 혼합 비율 조절을 통한 바이셀 형성 경향성 확인
 - 제작한 바이셀 샘플의 사이즈 측정을 위하여 DLS (Dynamic Light Scattering) 분석 실시
 - 다양한 몰 비율 파라미터를 설정하여 동일한 공정 조건 하에 바이셀 제작 실험 실시
 - DMPC의 몰비율이 증가할수록 바이셀 형성 비율이 증가함을 확인
 - DMPC 혼합 비율이 30% 이상일 경우 안정적인 바이셀 형성이 가능함을 확인

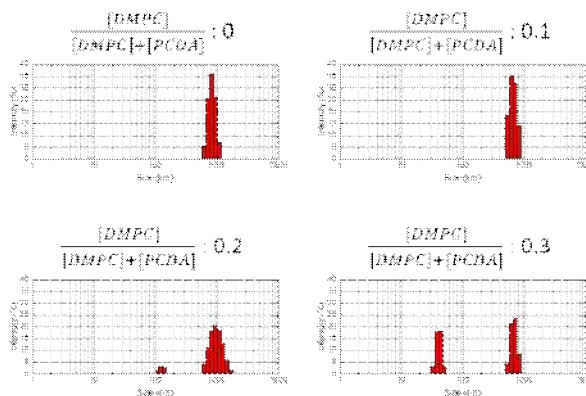


그림 52. DLS 분석을 이용한 바이셀 사이즈 측정

- 제작된 PCDA/DMPC/DHPC 바이셀의 형상 분석 실시
 - DLS 측정을 통하여 형상분석 실시가 가능한 샘플 분류
 - TEM (Transmission Electron Microscopy) 이미지 촬영을 통하여 형상 분석 실시
 - 형상 분석 결과, 디스크 형태의 나노 바이셀의 비교적 안정적인 제작이 가능함을 확인

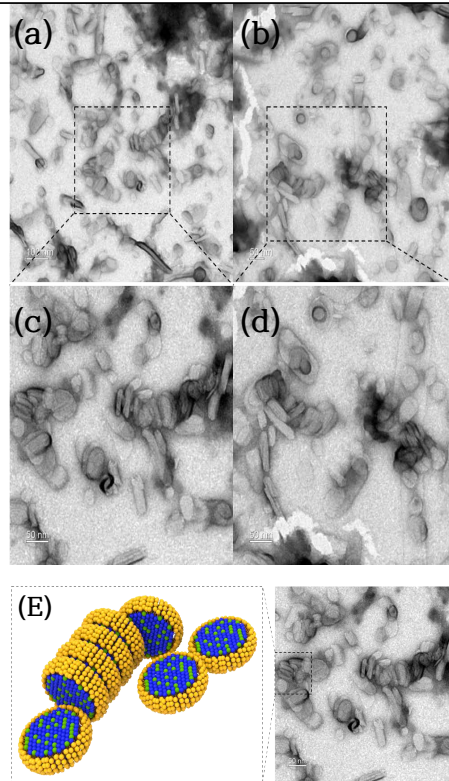


그림 53. 제작된 PCDA/DMPC/DHPC 바이셀의 TEM 이미지, (Scale bar : (a) - 100 nm, (b), (c), (d), (E) - 50 nm)

○ 필름형 다중 센서 제작을 위한 폴리머 필름의 연속 생산 테스트 실시

- 롤투롤 장비의 프로토타입 지오메트리 구성
- 구성된 지오메트리를 실제 구현하여 프로토타입 장비 제작
- 제작된 장비를 이용한 단순 폴리머 필름 제작 실험 실시
- 비교적 균일한 폴리머 필름 제작이 가능함을 확인

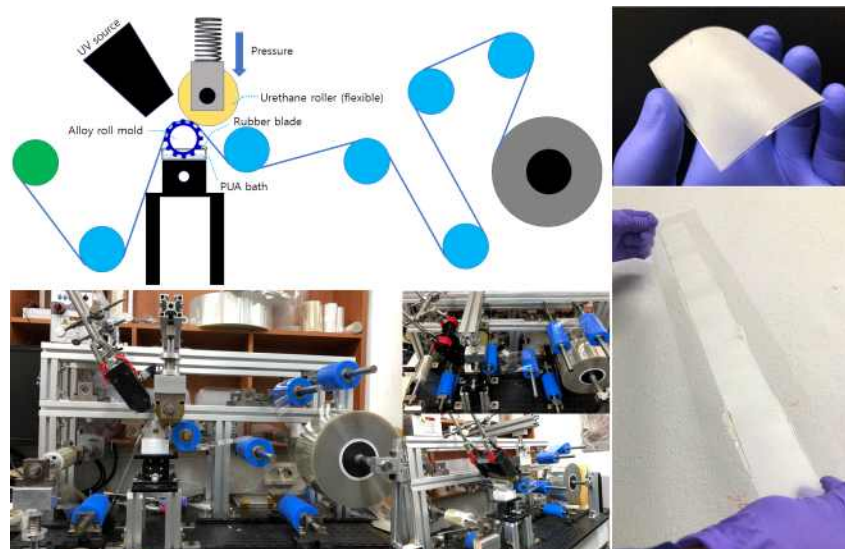


그림 54. 제작된 프로토타입의 롤투롤 장비와 장비를 이용하여 제작한 폴리머 필름

○ 색변이를 포함한 다중 센서 액티베이션을 위한 자외선 경화 장치 개발

- Roll to roll 혹은 roll to plate 공정중 자외선 경화를 위한 제어기 및 xyz 축 조절기 개발

- 투명한 율통형 roll을 제작 이를 통해 자외선이 필름에 전달 될 수 있도록 개량
- 연속 노광 뿐만 아니라 롤의 회전과 기판 이송사이의 속도비를 변화시켜 하나의 마스크로 다양한 크기의 패턴을 제작
- 현상부와 PR도포부를 결합시켜 in-line으로 소자를 one step 제작할 수 있는 장치

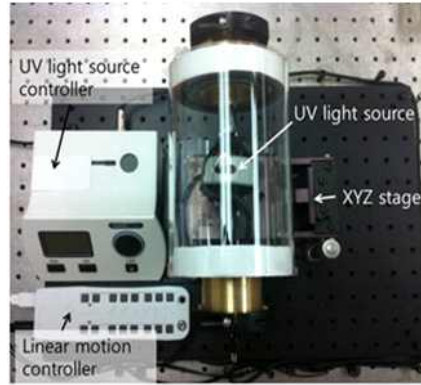


그림 55. 타입 포토리소그래피
프로토 타입 장비

- PMT module을 이용한 photon 측정장비의 설계 및 다중 검출을 위한 로딩장치 설계

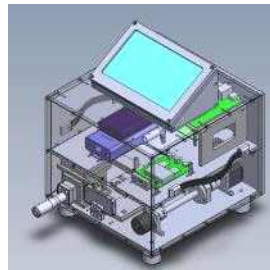


그림 56. Photon 측정장비의 외부 디자인 및 제품 형태

(2) Photon 측정 센서

기존의 폴리디아세틸렌을 이용하는 센서 칩의 경우는 대부분 UV/vis spectrometer를 이용, 특정 파장에서 감도의 변화를 검출함으로 목적물질을 검출하는 방식을 이용하고 있다. 이러한 방법으로 유의한 측정값을 얻기 위해서는 다량의 샘플용액이 필요한 단점이 있다. 반면에, Photon을 이용하는 방법은 여기되는 광원에 따라 방출되는 photon 광량만을 수집하는 기술로 센서 probe의 특이적 반응만을 검출할 수 있으며, photon 광량은 매우 민감하기 때문에 적은 양의 샘플 만으로도 충분한 유의성을 나타내는 데이터를 수집할 수 있다.

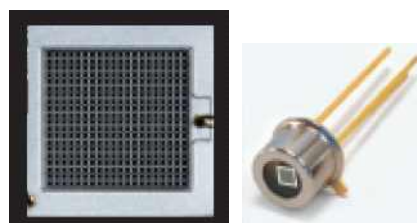


그림 57. Photon 측정 센서

◆ 3차년도 정성적 연구개발성과

- PCDA Liposome 계면활성제 종류, 농도, 온도에 따른 색변화

-온도 변화에 따른 명확한 센서의 성능 파라미터를 제시하기 위해 계면활성제의 종류와 농도에 따른 변화 측정

* Temperature : 4℃, 10℃, 20℃, 25℃, 30℃, 40℃, 50℃, 60℃, 70℃, 75℃, 80℃, 85℃, 90℃, 95℃, 100

* Time : 각 온도에서 10분 경과 후 측정

* 대물렌즈 20X

- 형광 현미경을 이용하여 온도, 농도 별로 촬영을 진행한다.

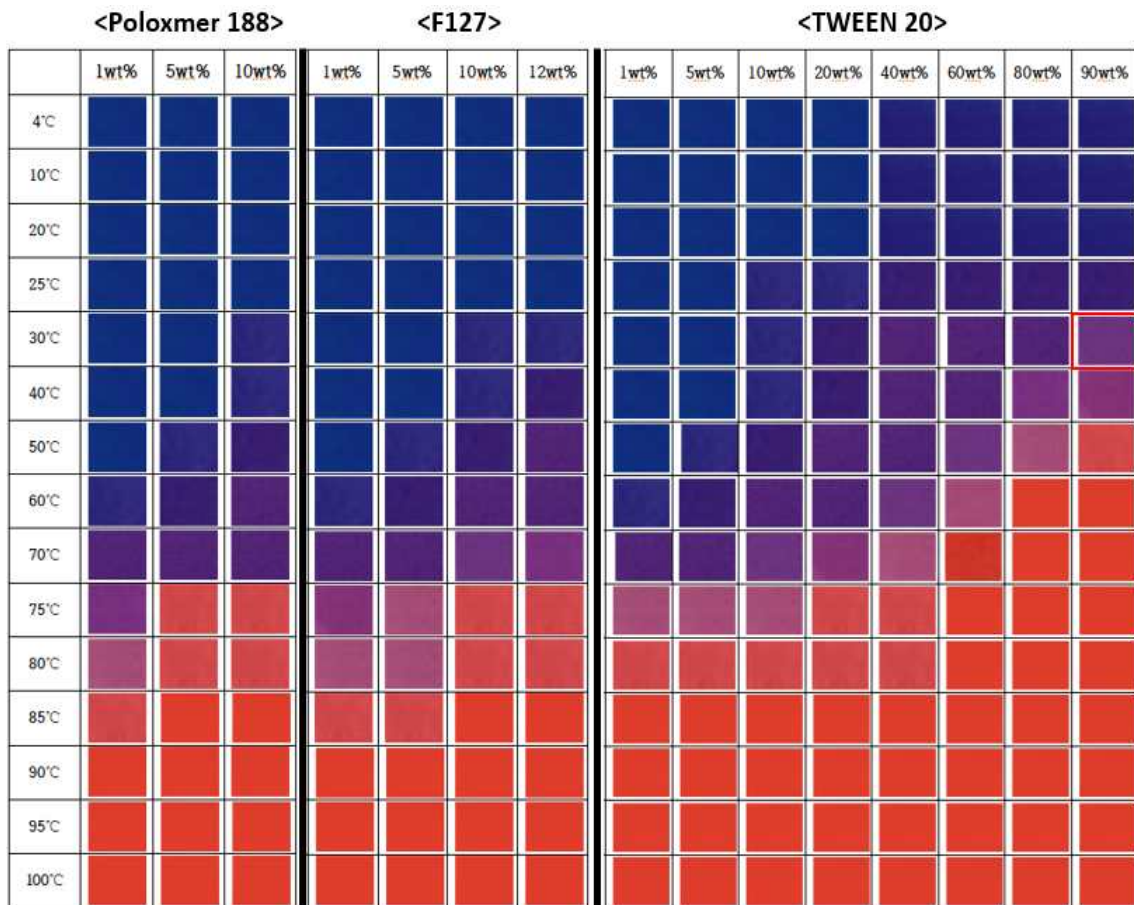


그림 58. 계면활성제의 종류와 온도에 따른 색변화 사진

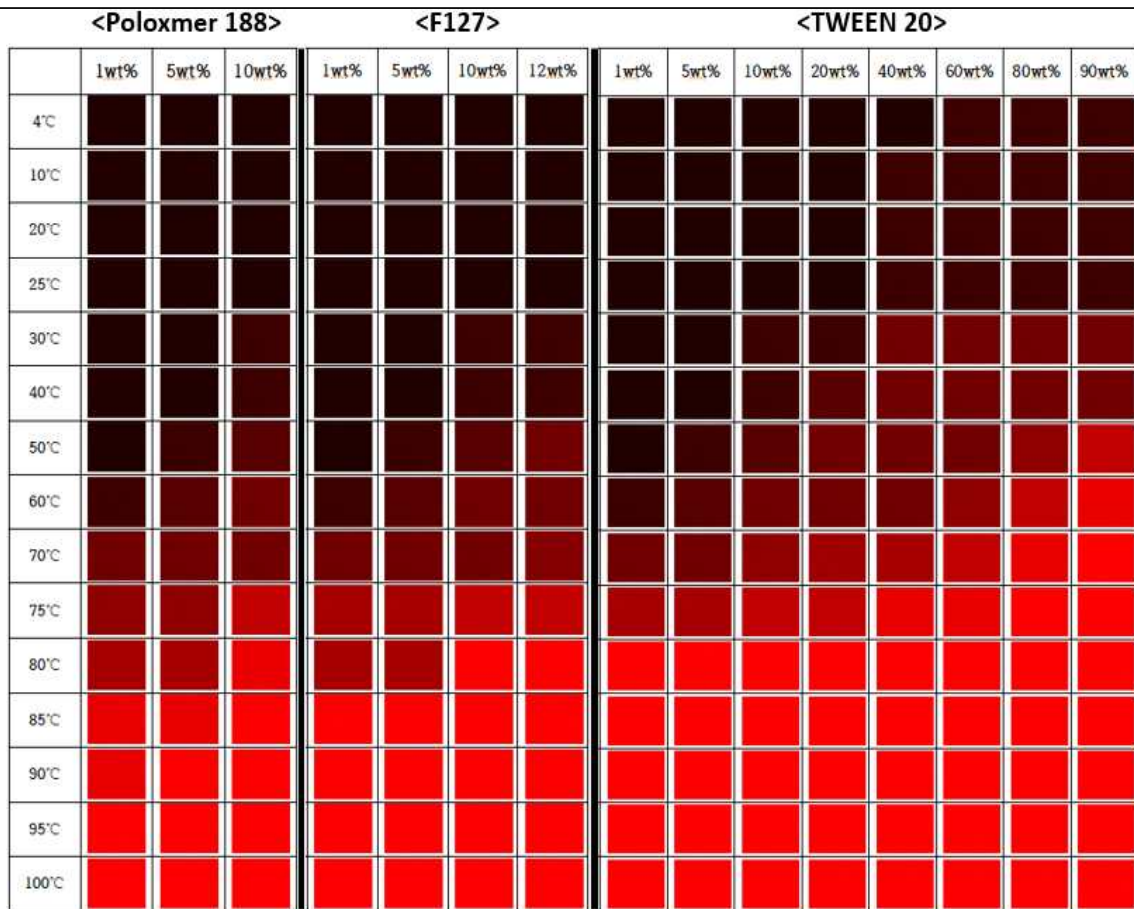


그림 59. 계면활성제의 종류와 온도에 따른 색변화 형광 사진

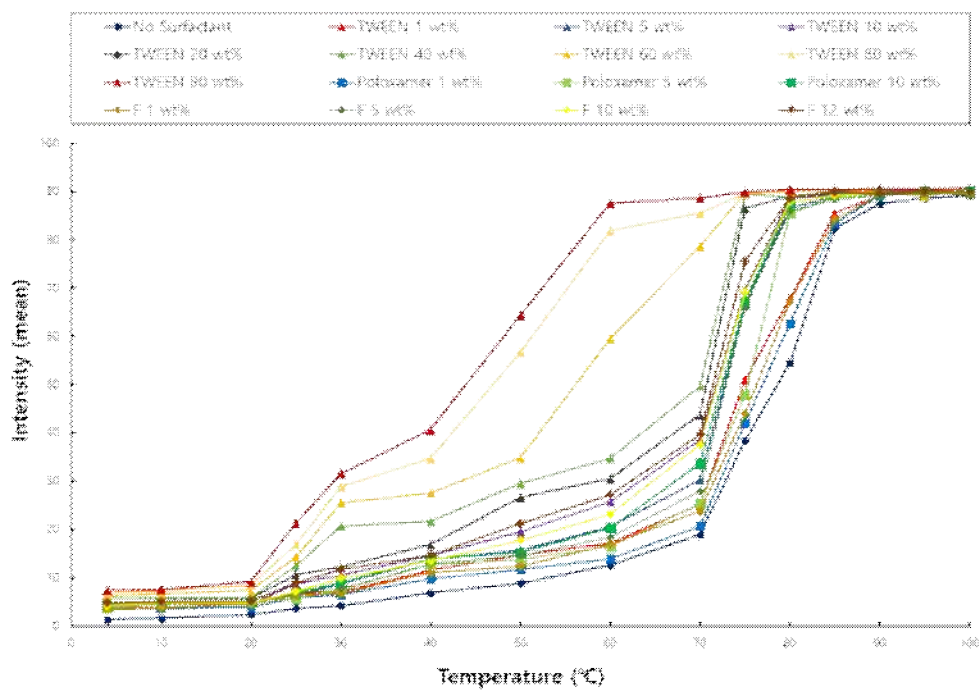


그림 60. ImageJ Mean값 측정 그래프

- 70°C 이후로는 모든 조건에서 10분만에 색변화 확인
- PCDA 멤브레인 센서 제작
- 제작 편의성 향상을 위해 멤브레인에 분주하는 형태의 센서 개발
- 멤브레인 선정

*PCDA 3mM

*Uv Exposure Time : 1 min

*Percent Change : 색변화량을 명확하게 계산하기 위해 ImageJ Mean 값을 변화량으로 변환

-> 계산식 : (변화된 센서의 Mean 값 - 변하기전 센서의 Mean 값) / 변하기전 센서의 Mean 값 x 100



그림 61. 멤브레인별 PCDA Liposome 분주 사진

ImageJ red mean Change Percent (Membrane Type)

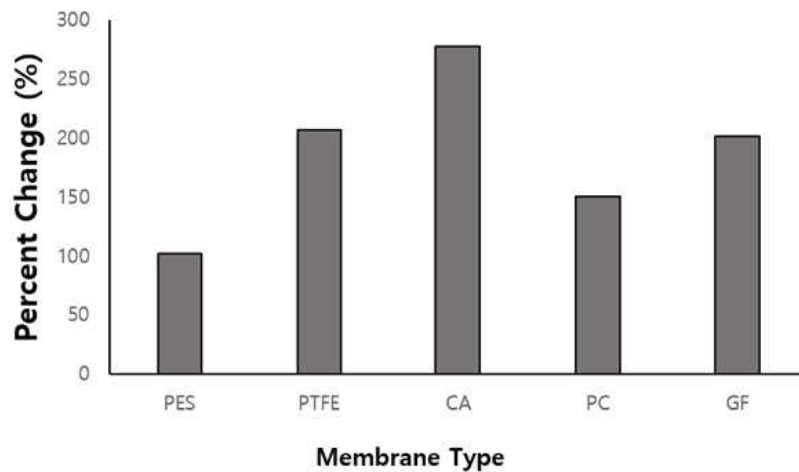


그림 62. 멤브레인별 색변화율 그래프

- 육안으로 확인하였을 때 Cellulose Acetate 멤브레인을 사용했을 때 고르게 분주되는 것을 확인하였고 색변화율도 높게 측정됨

● PCDA 멤브레인 센서 성능 평가

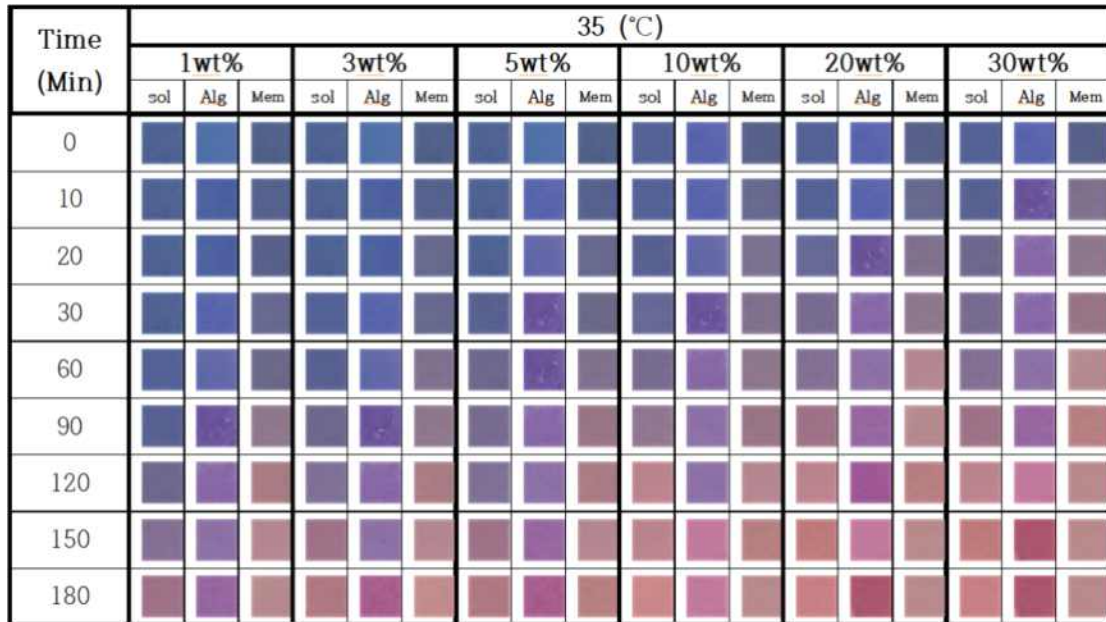
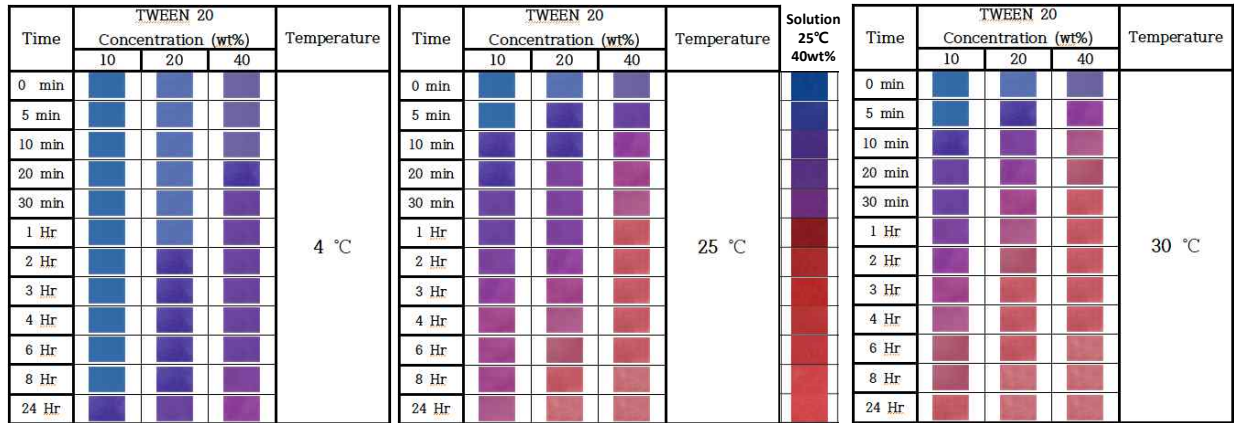
- Cellulose Acetate 멤브레인을 사용했을 때의 센서 성능을 평가하기 위해 실험 진행

- 온도별 소고기 균, 미생물 발생 시작 (신선도 하락) 시간

① 25℃ (실온) : 3 시간

- ② 35℃ (여름철) : 2시간
- ③ 45℃ (트렁크) : 1시간
- ④ 4℃ (냉장) : 3일
- ⑤ -18℃ (냉동) : 6 개월

- 각각의 미생물 발생 시작 시간 조건에 따른 다양한 온도범위에서 색변이 정도를 비교 검토하였음
 - 계면활성제의 적절한 농도 조절을 통해 1wt% 농도의 경우, 2시간에서 변화 되는 것을 관찰하였으며, 이 농도를 활용하면 여름철에 2시간 노출되었을 경우 색변이를 통해 부패의 위험성을 알릴 수 있음



각각의 온도별, 센서별 시간에 따른 색변이 정도 그래프

- 멤브레인 센서 35°C에서 연속, 반복 측정실험

① 35°C에서 2시간 경과 하였을 때 신선도가 하락하기 시작하기 때문에 35°C에서 2시간 경과 후에 색변화가 발생하는 농도를 기준으로 하기위해 실험 진행

② 연속측정은 35°C에서 센서를 지속적으로 노출 시키는 실험이며, 반복 측정은 유통과정에서 운반과정 중 냉장탑차의 문을 열어 실외 온도에 노출될 가능성이 있기 때문에 진행하였다.

- 실험 방법 및 조건

* 연속 측정 : 35°C에서 지속 노출

* 반복 측정 : 35°C에서 15분 노출 -> 4°C에서 15분 보관 -> 35°C에서 15분 노출을 반복

- * PCDA Liposome 농도 : 3mM
- * TWEEN20 농도 : 0, 0.05, 1, 2, 3, 4, 5 , 20 wt%
- * PCDA + TWEEN20 + DW 비율
1 : 1 : 1
- * Volume : 1uL
- * Membrane : Cellulose Acetate



그림 63. 멤브레인 센서의 연속측정, 반복측정 색변화 사진

Membrane Sensor (Continuous exposure)

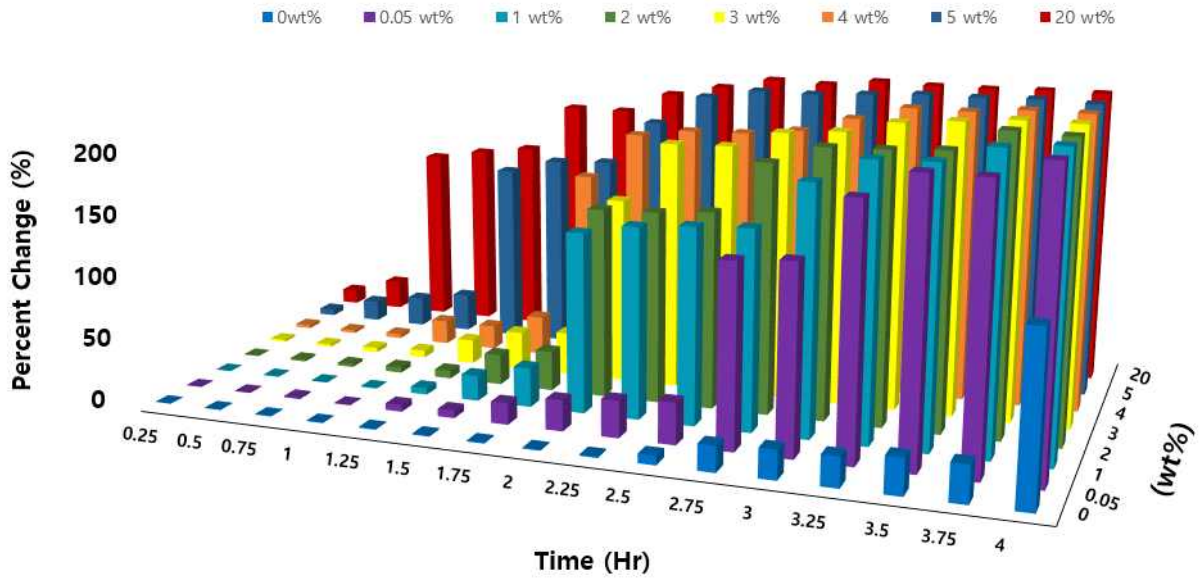


그림 64. 멤브레인 센서 연속측정 색변화율 그래프

Membrane Sensor (Repeated exposure)

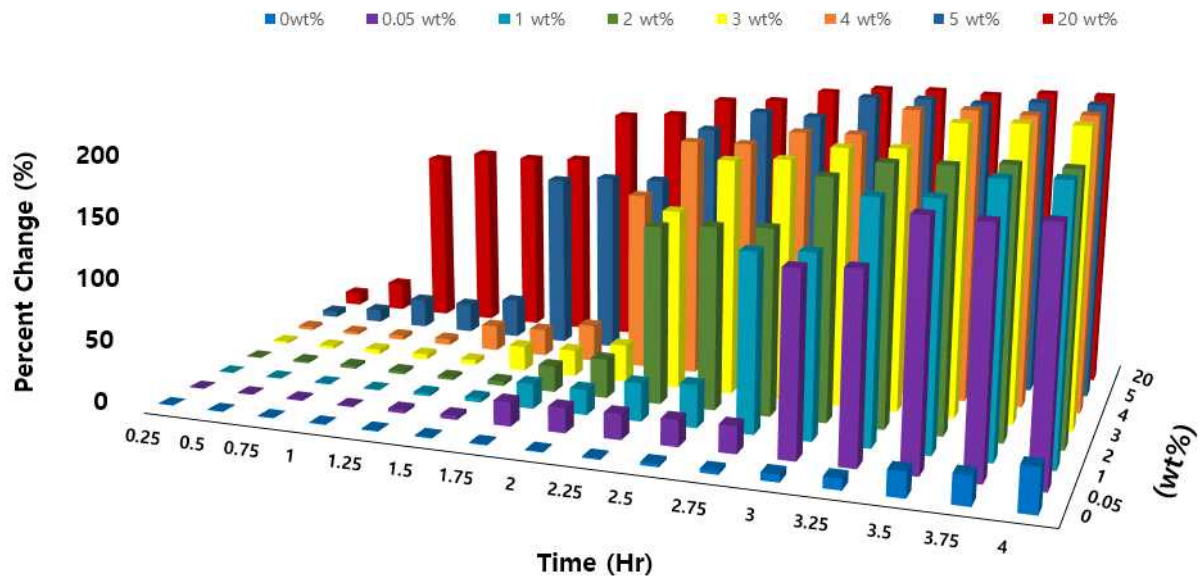


그림 65. 멤브레인 센서 반복측정 색변화율 그래프

- 측정 결과 2시간 경과하였을 때 TWEEN20 2~5 wt%에서 색변화가 시작 확인

● 4℃ 물주머니에 부착된 멤브레인센서 색변화 테스트

- 실제 소고기를 이용하여 실험하기 전 사전테스트로 물주머니에 PCDA 멤브레인 센서를 부착하여 색변화 확인

- 실험 방법 및 조건

- * 연속 측정 : 35℃에서 지속 노출
- * 반복 측정 : 35℃에서 15분 노출 -> 4℃에서 15분 보관 -> 35℃에서 15분 노출을 반복
- * PCDA Liposome 농도 : 3mM
- * TWEEN20 농도 : 0, 0.05, 1, 2, 3, 4, 5, 20 wt%
- * PCDA + TWEEN20 + DW 비율
1 : 1 : 1
- * Volume : 1uL
- * Membrane : Cellulose Acetate
- * 물주머니 용량 : 500g (4℃에서 보관된 물주머니)



그림 66. 500g 물주머니와 부착된 멤브레인 센서



그림 67. 물주머니에 부착된 멤브레인 센서의 연속측정, 반복측정 색변화 사진

Attached Water Bag (Continuous exposure)

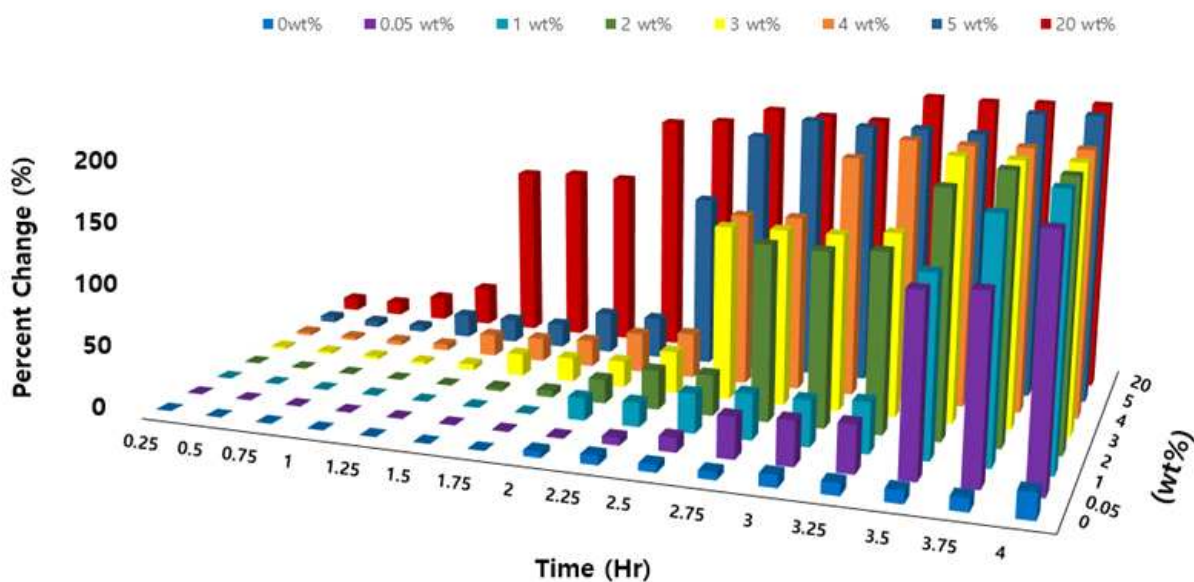


그림 68. 물주머니에 부착된 멤브레인센서 연속측정 색변화율 그래프

Attached Water Bag (Repeated exposure)

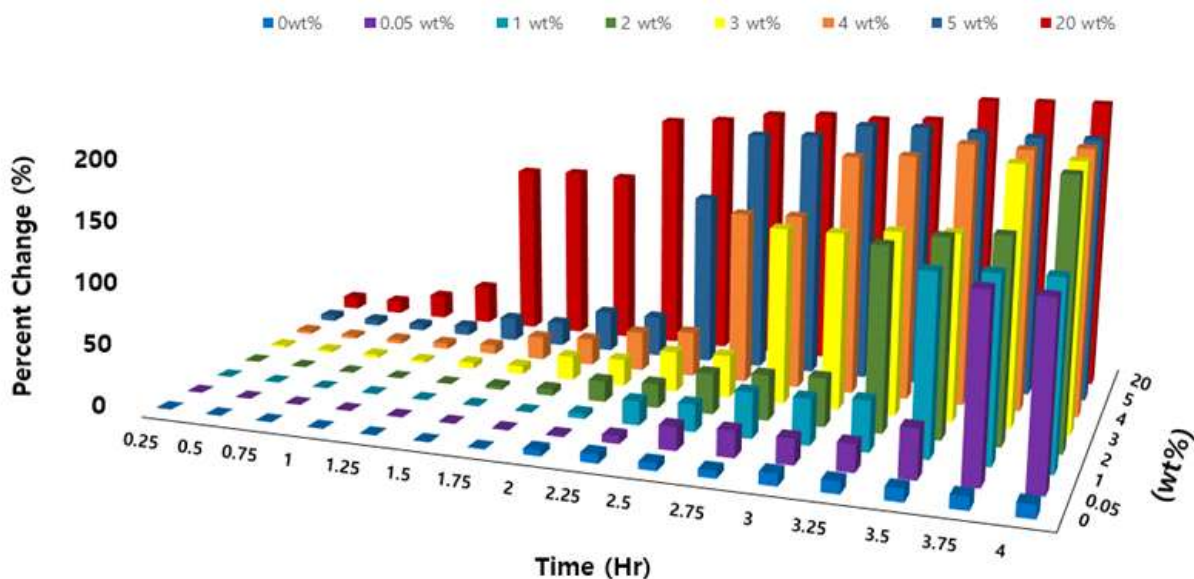


그림 69. 물주머니에 부착된 멤브레인센서 반복측정 색변화율 그래프

- 측정 결과 2시간 경과하였을 때 TWEEN20 2, 3, 4 wt%에서 색변화가 시작 확인

● 실제 소고기에 부착된 멤브레인센서 색변화 테스트

- 실제 소고기 표면에 PCDA 멤브레인 센서를 부착하여 색변화 확인

- 실험 방법 및 조건

- * 연속 측정 : 35°C에서 지속 노출
- * 반복 측정 : 35°C에서 15분 노출 -> 4°C에서 15분 보관 -> 35°C에서 15분 노출을 반복
- * PCDA Liposome 농도 : 3mM
- * TWEEN20 농도 : 0, 0.05, 1, 2, 3, 4, 5, 20 wt%
- * PCDA : TWEEN20: DW = 1 : 1 : 1
- * Volume : 1uL
- * Membrane : Cellulose Acetate
- * 소고기 중량 : 500g (4°C에서 보관된 소고기)



그림 70. 500g 소고기에 부착된 멤브레인 센서
(각 농도별로 색변화 차이)



그림 71. 소고기에 부착된 멤브레인 센서의
연속측정, 반복측정 색변화 사진

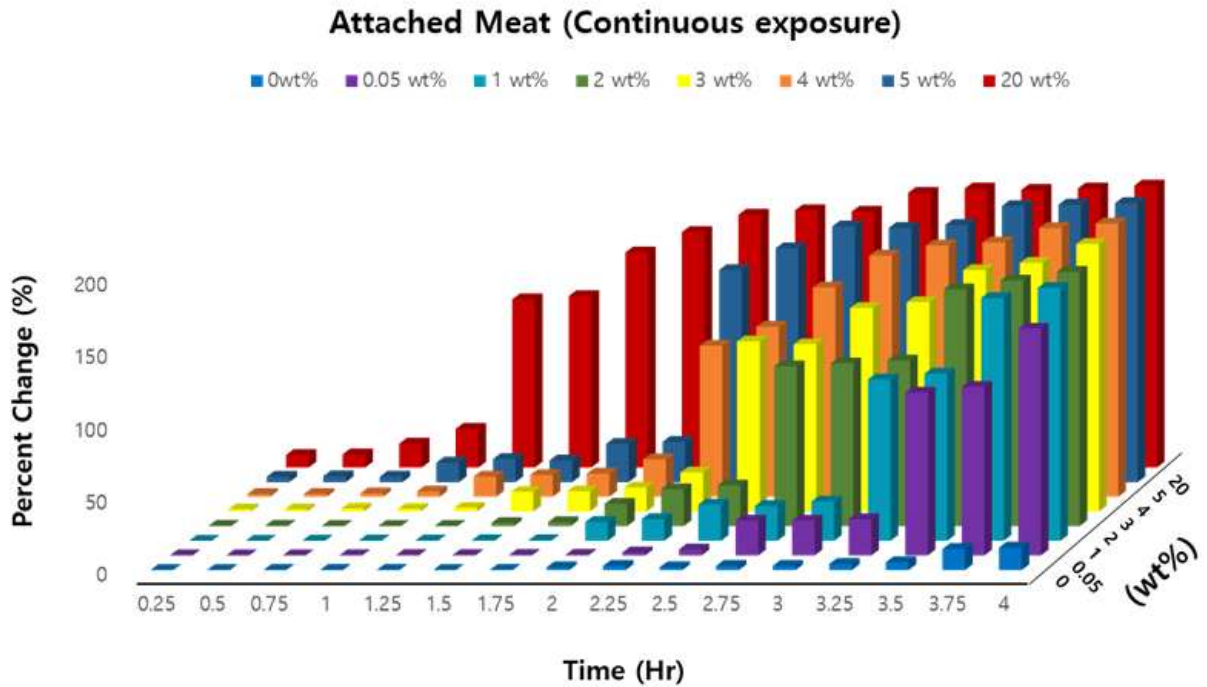


그림 72. 소고기에 부착된 멤브레인센서 연속측정 색변화율 그래프

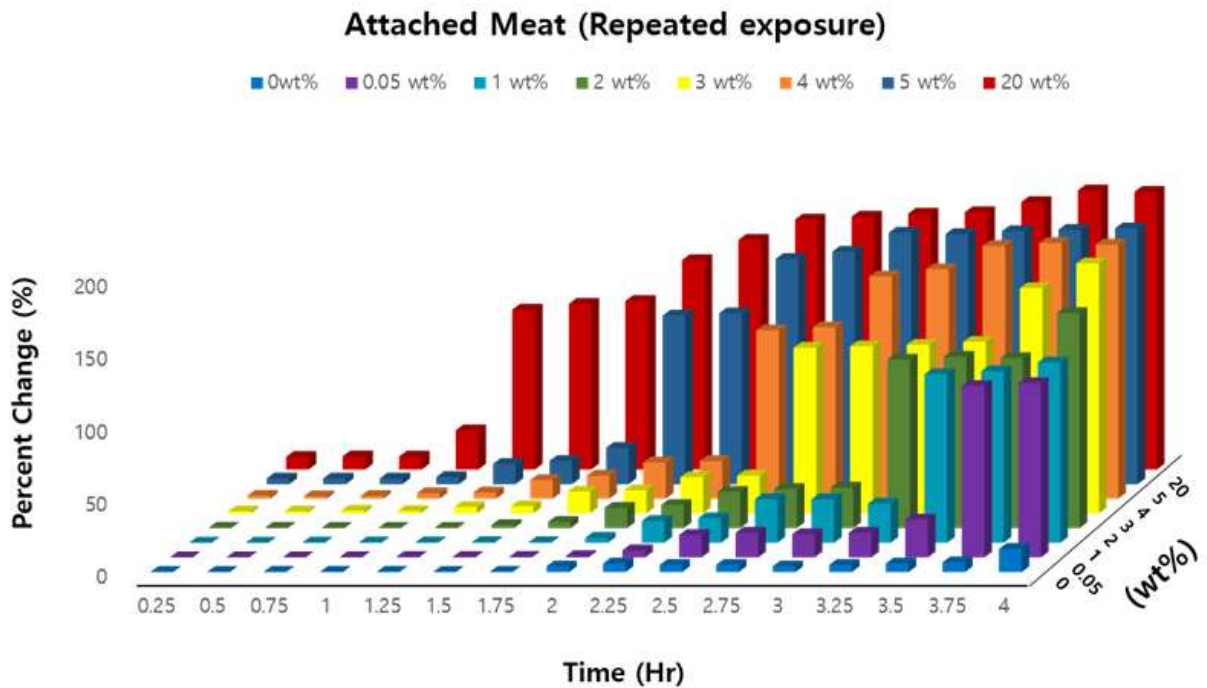


그림 73. 물주머니에 부착된 멤브레인센서 반복측정 색변화율 그래프

- 측정 결과 센서에 적합한 TWEEN20 농도는 2시간 경과하여도 색이 변화 하지 않는 0 wt%, 2시간 경과하였을 때 색변화가 시작된 3 wt%, 2시간 경과하였을 때 확실하게 색변화가 시작되는 5 wt%, 빠르게 색변화가 시작되는 20 wt% 이다.

● 멤브레인 센서 보관 테스트

- PCDA 멤브레인 센서를 장기보관 했을 때 센서의 유통기한을 확인하기 위한 실험

- * PCDA Liposome 농도 : 3mM
- * TWEEN20 농도 : 0, 0.05, 1, 2, 3, 4, 5 , 20 wt%
- * PCDA : TWEEN20: DW = 1 : 1 : 1
- * Volume : 1uL
- * Membrane : Cellulose Acetate
- * Storage Temperature : 4 °C, -18 °C
- * 센서를 빛 차단 및 밀봉하여 날짜별로 확인

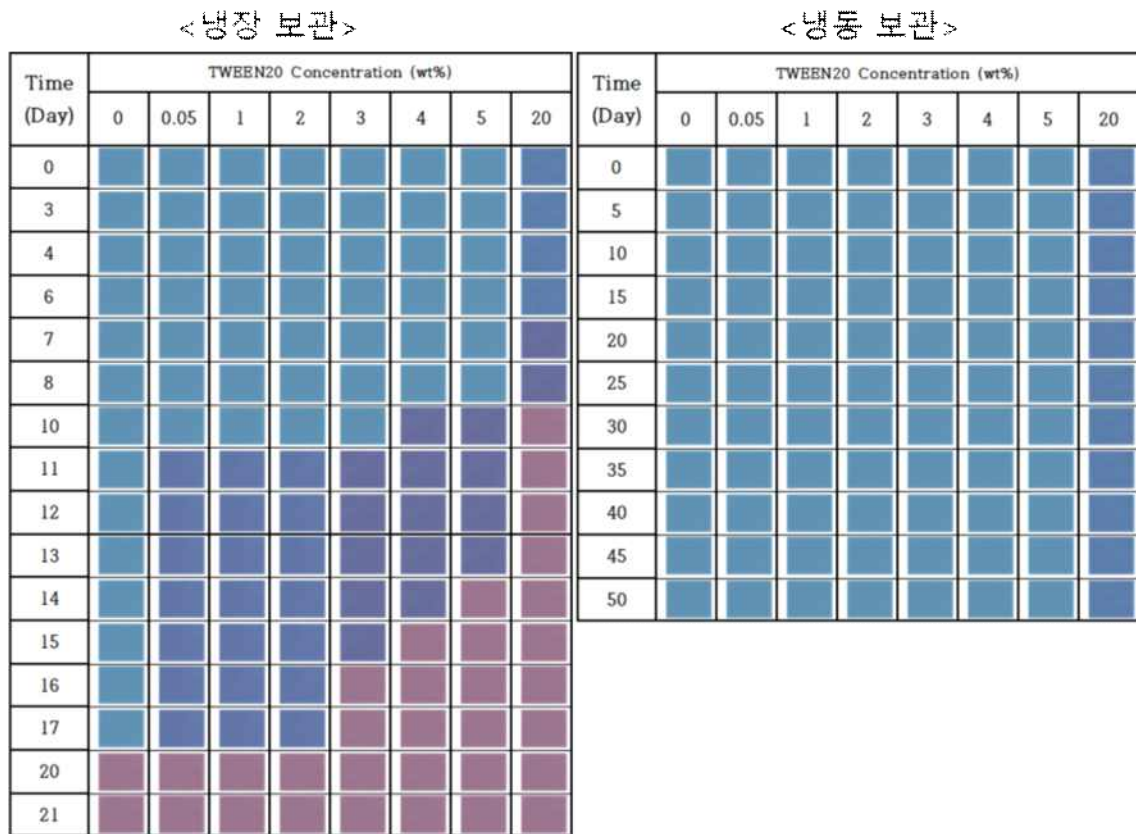


그림 74. 보관 기간, 온도에 따른 PCDA 멤브레인 센서의 색변화 사진

● 보관된 멤브레인 성능 테스트

- 10일동안 보관 했던 PCDA 멤브레인센서와 바로 제작한 멤브레인 센서를 동시에 35°C에서 노출 시켰을 때의 색변화를 확인

- * 35°C 축적 노출
- * PCDA Liposome 농도 : 3mM
- * TWEEN20 농도 : 0, 0.05, 1, 2, 3, 4, 5 , 20 wt%
- * PCDA + TWEEN20 + DW 비율
1 : 1 : 1
- * Volume : 1uL

* Membrane : Cellulose Acetate

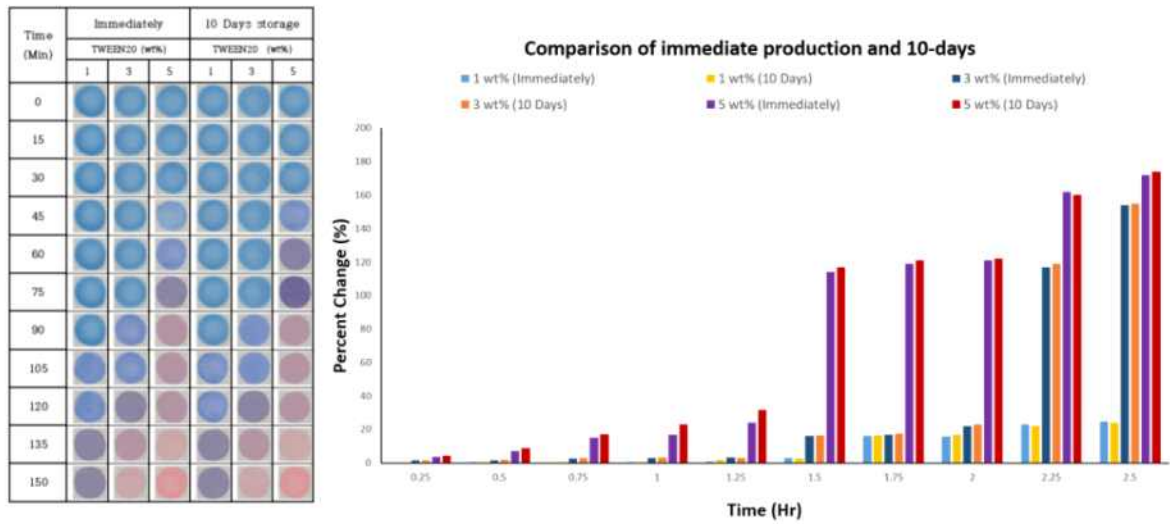


그림 75. 10일 동안 보관된 멤브레인 센서와 바로 제작한 멤브레인 센서의 색변화 사진(좌), 색변화율 그래프

- 10일 동안 보관된 멤브레인 센서와 바로 제작한 멤브레인 센서의 색변화율 그래프 그래프를 보면 각농도별 차이는 근소하며, 보관된 멤브레인의 성능도 문제 없는 것을 확인함

○ 부패가스 고감도 검출을 위한 리셉터 나노센서 프로브 개발

● PCDA 센서를 이용한 암모니아 가스 검출

- 육류의 유통간 신선도를 확인하기 위해 온도 외에 암모니아 가스 까지 한번에 확인 할 수 있는 센서 개발을 목표

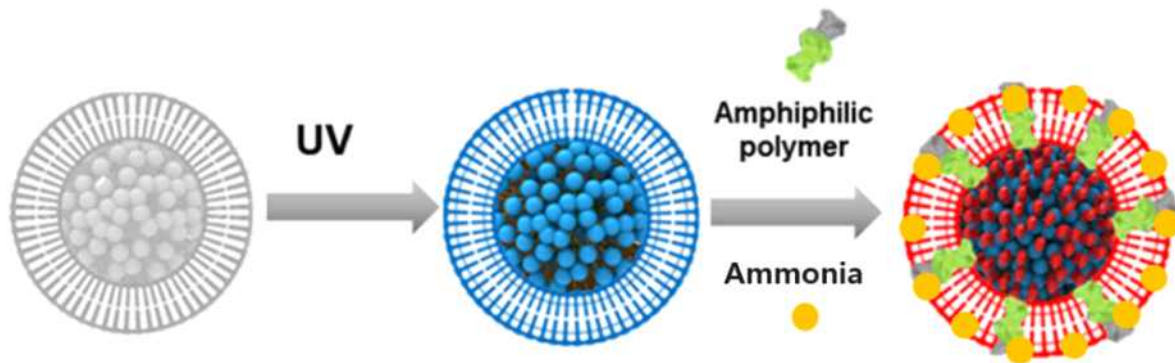


그림 76. PCDA 리포솜 센서를 이용한 암모니아 검출 메커니즘

- PCDA 센서의 검출 원리는 PCDA의 COO⁻와 Ammonia의 NH₄⁺ ions의 반응을 통해 PCDA Liposome에 자극을 가하여 색변화가 발생함

- 사람이 냄새로 확인 할 수 있는 암모니아 농도 : 5 ppm

- 액상

* PCDA Liposome Concentration : 3 mM

* PCDA Uv 조사 시간 : 1분 (2cm 거리)

- * TWEEN20 Concentration : 0 ~ 60 wt%
- * PCDA+TWEEN20+DW Solution Volume : 150 uL
- 멤브레인
- * PCDA Liposome Concentration : 3 mM
- * PCDA Uv 조사 시간 : 1분 (2cm 거리)
- * TWEEN20 Concentration : 0 ~ 20 wt%
- Gas Setting



그림 77. 암모니아 검출테스트 키트

- ① 총 1000ppm 농도로 계산된 Ammonia 수용액(10wt%)를 TEDLAR BAG 에 주입 후 모두 증발 시킨다.
 - ② TEDLAR BAG 에서 Syringe를 이용하여 각 농도별 부피의 가스를 흡입한다.
 - ③ 각 농도에 따른 Ammonia gas를 Syringe로 Container에 주입
- * Storage Temperature : 4 °C
 - * 암모니아 노출 시간 : 0 ~ 2시간
 - * Ammonia Gas Concentration : 1 ~ 10 ppm
- ① PCDA Liposome + TWEEN20이 혼합액 또는 멤브레인 센서를 Container안에 로딩한다.
 - ② Container를 밀봉한 후에 각 농도에 맞는 Ammonia Gas를 주입한다.
 - ③ TWEEN20의 농도별로 0 ~ 2시간 동안 Ammonia Gas (1 ~ 10ppm)에 노출된 Sample을 촬영한다.
 - ④ ImageJ 분석
- 각 조건들의 촬영 사진들을 모두 같은 영역으로 설정한 후 ImageJ를 이용하여 Red Mean 값으로 변환

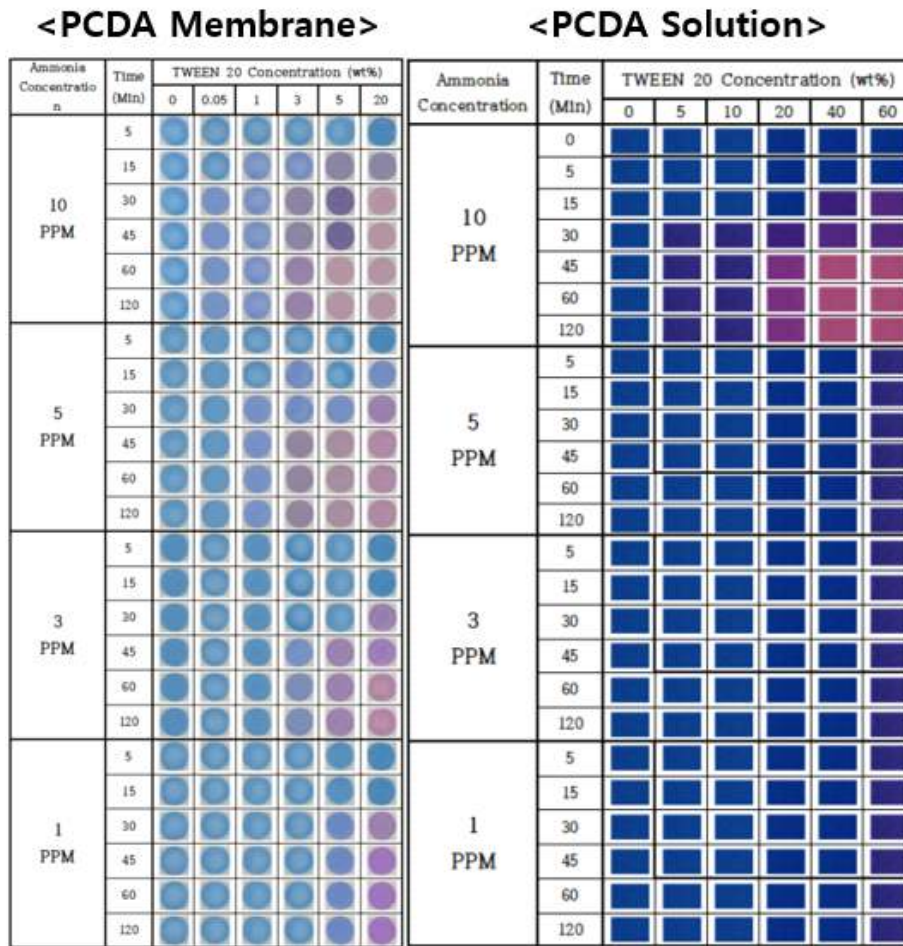


그림 78. 암모니아, TWEEN20 농도에 따른 멤브레인 센서와 액상 센서의 색변화 사진

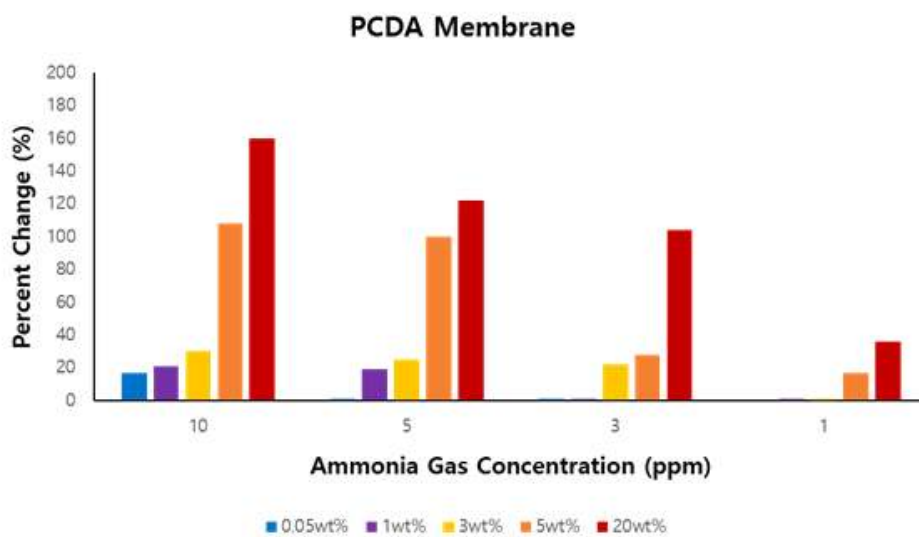


그림 79. 멤브레인 센서의 암모니아 측정 색변화율 그래프

PCDA Solution

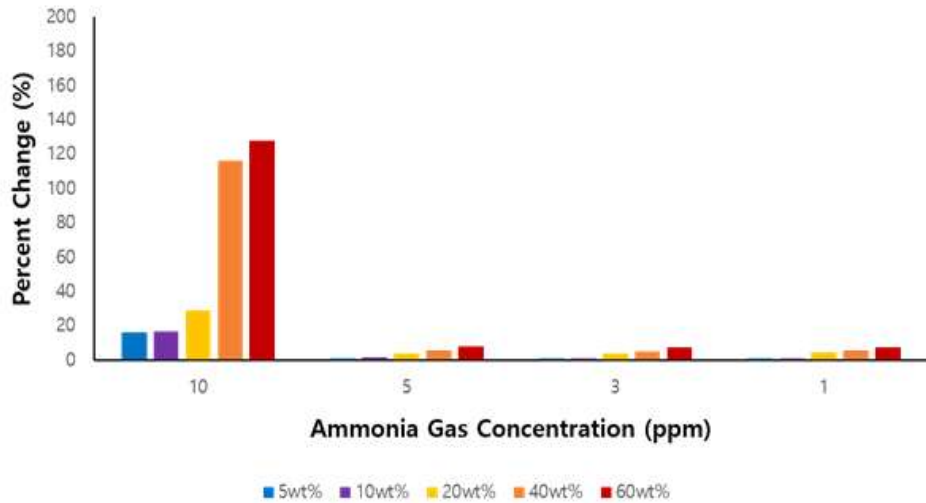
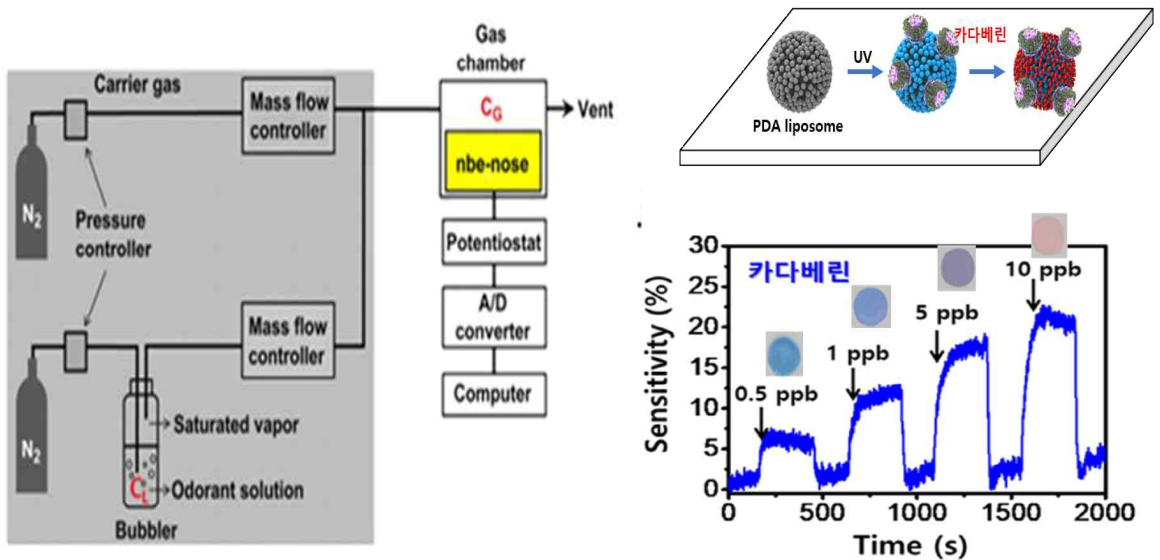


그림 80. 액상 센서의 암모니아 측정 색변화율 그래프

- 암모니아 가스 측정 결과 멤브레인 센서를 이용하였을 때 암모니아 가스 검출 민감도 성능이 더 좋았으며, TWEEN20 5, 20wt%의 멤브레인 센서는 암모니아 가스 농도 1 ppm 도 검출이 가능하다.
- 카다베린 리셉터가 달린 나노디스크를 이용하여 카다베린 검출 가능성을 검출하였다. 카다베린 가스는 다음과 같이 MFC를 이용하여 액상샘플에서 기체를 발생시켜 가스 농도를 조절하였다
- 생명공학연구원에서 개발한 전자코 센서 데이터를 활용하여 전기신호 변화량과 색변이를 관찰한 결과, 0.5 ppb 농도는 검출이 어려웠지만, 1ppb농도부터 색변이 일어남을 관찰 하였다.
- 전자코보다는 조금 감도가 낮지만, 육안으로 충분히 카다베린 가스를 검출가능성을 보여 주었다



● 소고기 보관 기간의 증가에 따른 암모니아 가스 발생량 측정

- PCDA 센서로 검출한 암모니아 가스 실제 소고기의 신선도가 하락할 때 발생하는 가스의 농도를 측정할 수 있는지 확인하기 위해, 4°C에서 소고기의 보관기간에 따라 발생하는 암모니아 가스를 측정

* 4°C에서 소고기 부패 시작 시간 : 7일 경과 후 부터

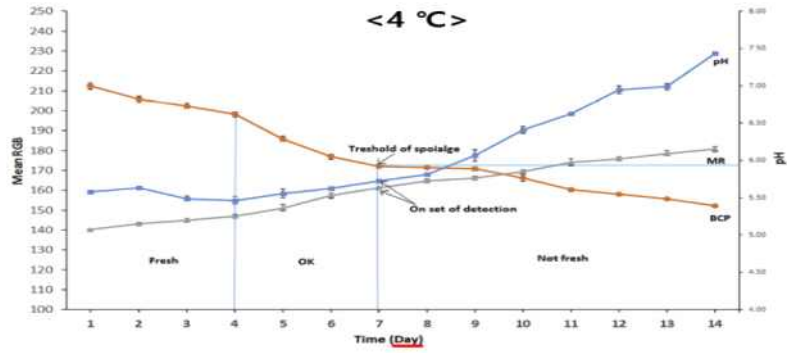


그림 82. ELSEVIER / 2017 , 91- 100/ 0956 - 7135
 On-package dual sensors label based on pH indicators for
 real-time monitoring of beef freshness
 / Bambang Kuswandi* 논문 참조 , 7일 경과 후 부패 시작



그림 83. 암모니아 가스 측정 펌프

Time	0	1	2	3	4	5	6	7
	Day	Day	Day	Day	Day	Day	Day	Day
Meat Photo								
Gas Sensor								
Ammonia Concentration	0.5 ppm 미만	0.5 ppm 미만	0.5 ppm 미만	0.5 ppm 미만	0.5 ppm 미만	0.5 ppm 미만	0.5 ppm 미만	0.5 ppm
Time	8	9	10	11	12	13		
	Day	Day	Day	Day	Day	Day		
Meat Photo								
Gas Sensor								
Ammonia Concentration	0.5 ppm	0.5 ppm	0.5 ppm	0.5 ppm	0.5 - 1 ppm	0.5 - 1 ppm		

그림 84. 소고기 보관기간에 따라 발생하는 암모니아 가스 측정 결과

○ 폴리디아세틸렌 리포솜을 이용 스티커형 저가 센서 제작

- 1) 3~10 mM 농도의 polydiacetylene monomer를 isopropyl alcohol에 용해 시킨 다음 건조과정을 통해 용매를 제거.
- 2) DI water 또는 완충용액을 첨가하여 수화 시킨 다음, 초음파 분쇄법을 이용하여 리포솜을 제조.
- 3) 안정화를 위하여 24시간 이상 냉장 보관 실시.
- 4) 비 이온 계면활성제인 tween20을 0~20% 첨가한 리포솜 제조 (양친매성 고분자 및 계면활성제를 UV조사 전에 첨가하게 되면 폴리디아세틸렌 리포솜이 이들에 의해 파괴되어 색변이가 생기지 않음).
- 5) 용액을 다양한 멤브레인에 도포한 다음 온도변화에 따른 색변이를 육안으로 관찰.
- 6) 셀룰로오스 아세테이트 (CA) 멤브레인을 이용할 경우, 용액의 균일한 도포 및 뚜렷한 색변이관찰이 가능하였음.
- 7) 스티커형 색변이 온도 센서를 제조한 후, 냉장 (4℃)과 냉동 (-18℃) 조건 에서의 센서의 보전성 검토를 실시 하였음 (계면활성제의 농도에 따라 차이가 있으나, 약 14 ~ 21일 가량 보존이 가능함을 확인, 냉동보관의 경우 50일 이상 색변이가 발생하지 않음).
- 8) 농도별 민감도 제어가 가능한 Tween 20 을 조건별로 첨가한 PCDA 리포솜의 온도변화 (4~35℃) 에 따른 색변이를 관찰 하였음 (35℃에 지속적으로 노출 / 4℃와 35℃ 에 반복적으로 노출 할 경우 유사한 색변이 양상을 관찰할 수 있음).
- 9) Tween 20 의 농도가 20 wt%인 경우 45분 가량 노출할 경우 색변이가 발생하고, 0 wt%의 경우, 200분이 경과한 후 색변이가 발생함을 확인. 결과적으로, 정상적인 신선육이 30 ℃ 이상의 온도에 30 분 이상 노출될 경우 미생물이 발현되는 것으로 볼 수 있으며, 이에 따라 육류의 신선도가 떨어짐을 예상할 수 있음.
- 10) 따라서, 본 연구에서 제한 센서를 활용하여 육류 유통 과정에서 특정 온도 이상으로의 노출 이력의 추적이 가능함을 확인 하였음.

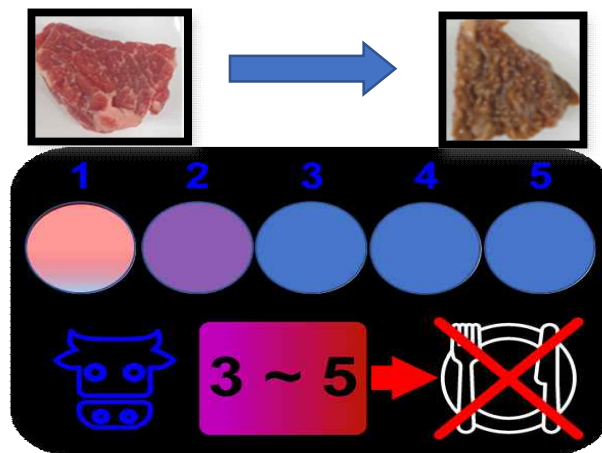








그림 85. 셀룰로오스 아세테이트 (CA) 멤브레인을 이용하여 제작한 스티커형 센서

- 11) 본 연구개발을 통해서 제작한 스티커형 센서의 경우 셀룰로오스 아세테이트 멤브레인을 왁스 프린터로 대량 프린팅 할 수 있으며, 이들 오픈 공간에 계면활성제의 농도를 조절한 폴리디아세틸렌 용액을 도포함으로써 저가형 센서 제작이 가능함
- 12) 제작 단가는 스티커형 센서 개당 10원 미만으로, 기존의 효소형, 종이 실리콘 기반형 센서에 비해 획기적으로 낮출 수 있어, 많은 식품 유통단계에 활용 가능할 것으로 기대됨
- 13) 다음은 현재 시판되고 있는 다양한 종류의 온도 data 기록형 태그 종류 및 가격을 보여줌

제품명	제조회사	가격(원)
 CEM dt-172	CEM	276,000
 OM-CP-TEMP101A	OMEGA	122,000
 TempTraq	SONO PLOT	60,000
 Tempmate S1 V2 Single-Use Temperature Data Logger	ONTEMP	33,600
 Thin Film Electronics - Temperature sensor - smart label	Thin Film Electronics	24,000
 Tempevent Temperature Data Logger	UIDEVICES	15,000

현재 시판되고 있는 온도 data logger 관련 태그 종류 및 가격

- 미세유체칩을 이용한 바이셀 연속적인 제작 공정 개발
- 유체집속을 이용한 혼합 공정이 가능한 PDMS 기반의 미세유체칩 제작
 - 솔벤트와 버퍼의 유체집속으로 발생하는 12 mm X 45 mm X 5 mm 치수, 80 μm X 80 μm (종횡비 = 1) 의 채널 단면을 가지는 PDMS 미세유체칩을 제작하였음.
 - 포토리소그래피 (Photolithography) 공정을 통하여 마스터 몰드 제작
 - SU-8 2050, SU-8 2100 (MicroChem) 감광액 (Photoresist)를 이용하여 미세유체칩 채널 높이 조절
 - 제작된 마스터 몰드를 이용하여 PDMS 레플리카를 제작하고, 이를 PDMS 플레이트와 접합하여 PDMS 미세유체칩 제작
 - 제작된 마스터 몰드를 이용하여 PDMS (Polydimethyl siloxane, sylgard 184, curing agent 10 : 1) 소프트 몰딩 (Soft molding)을 실시하여 PDMS 채널 제작
 - 플라즈마 클리닝 후 제작된 PDMS 채널을 패턴이 없는 PDMS 플레이트와 접합

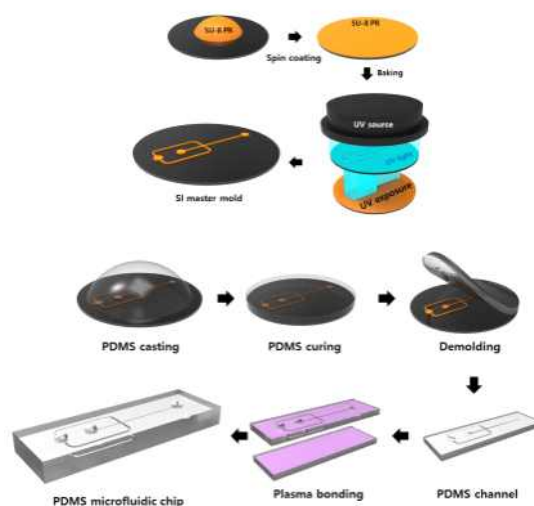


그림 86. 포토리소그래피 및 소프트 몰딩 공정을 이용한 미세유체칩 제작에 관한 개략도

- 미세유체칩을 이용한 바이셀 제작 실험 실시
 - 양친매성 고분자로는 합성 지질인 DMPC (C14:0, 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) 와 DHPC (C7:0, 1,2-diheptanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)를 사용 하였음
 - 아래 그림과 같이, DMPC 는 솔벤트인 메탄올 (MeOH) 에 용해하여 Inner phase 로 주입하고,

Outer phase 에는 20 mM 의 DHPC를 용해시킨 버퍼를 주입하여 유체 집속현상 (Hydrodynamic focusing)을 유도하였음.

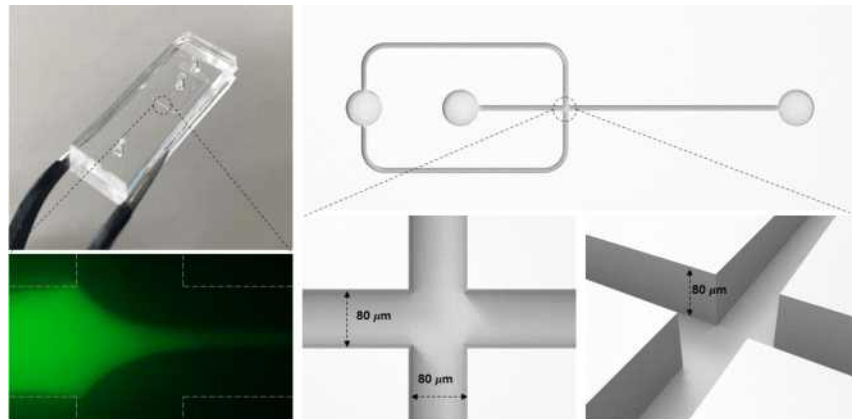


그림 87. PDMS 미세유체칩을 이용한 유체집속 혼합 과정에 대한 개략도.

- 솔벤트와 버퍼가 십자유로에서 만날 경우, 두 유체의 확산 지배적인 혼합 발생하게 되는데, 이때, 무극성 용매인 솔벤트에 용해되어 단량체 상태를 유지하며 안정적인 DMPC의 주변 환경의 극성이 증가하여 불안정한 상태로 전환되게 되고, DMPC의 자가조립 현상을 유도하게 됨.
- 자가조립에 의하여 DMPC는 인지질 이중층 도메인을 형성하게 되고, 도메인 가장자리의 소수성 탄소사슬이 물분자에 노출되어 준 안정적 상태가 되지만, 버퍼에 용해되어 있는 DHPC가 가장자리에 자가 조립하여 림을 형성하여 안정화하게 됨.
- 결과적으로 디스크 형태의 인지질 자가 조립체가 형성되며, 미세유체칩을 이용하여 일정한 조건 하에 연속적인 바이셀 형성이 가능하며, 이에 대한 개략도는 그림과 같음.

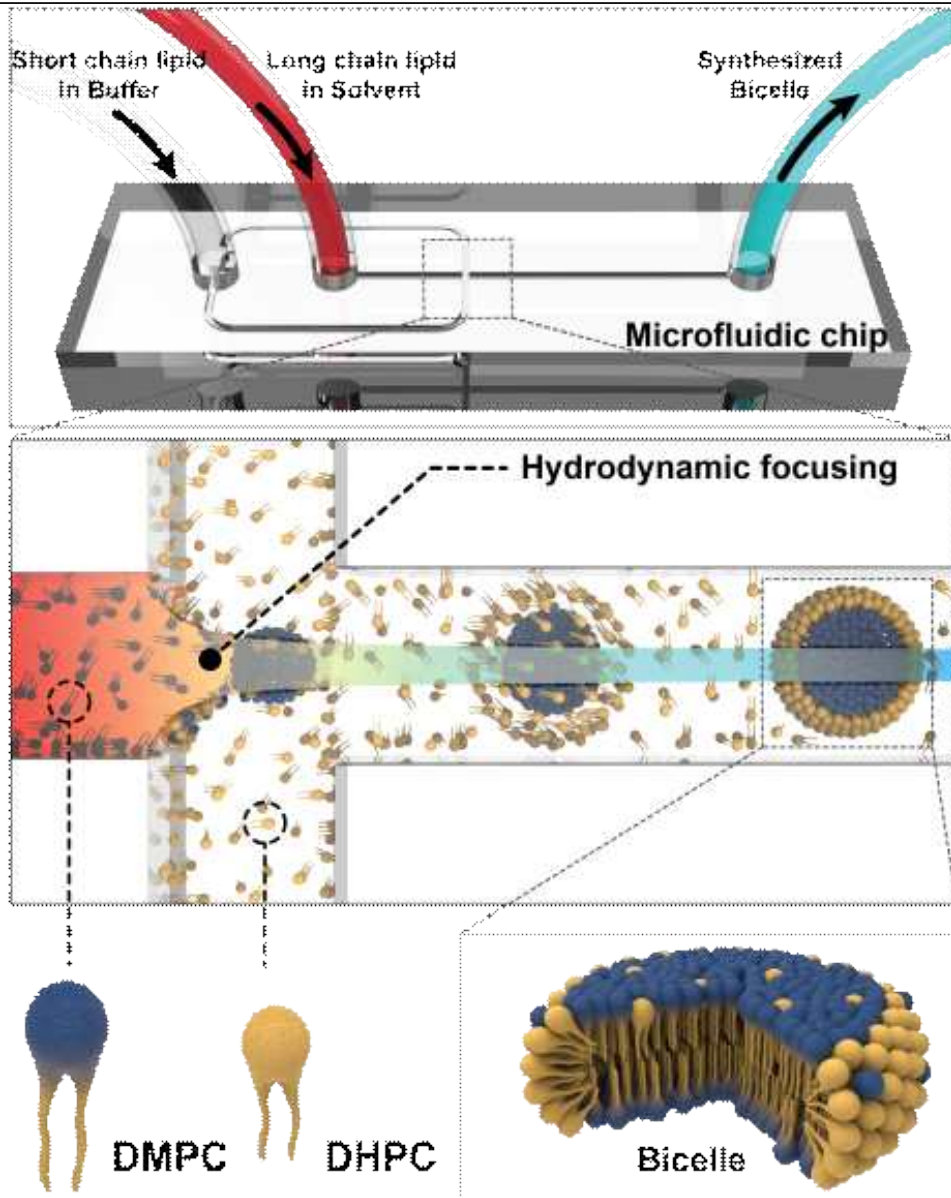


그림 88. 유체집속 미세유체칩에서 DMPC/DHPC 바이셀형성 메커니즘에 관한 개략도.

- 솔벤트와 버퍼의 유량비 (Flow Rate Ratio, FRR)을 19 로 고정 한 뒤, 다음과 같이 리피드 농도에 따른 인지질 자가조립체의 형성 양상에 대한 실험을 실시하였음.
- DMPC 농도변화에 따른 바이셀 형성 양상 : 버퍼 상의 DHCP 농도를 20 mM 로 고정 / DMPC 농도 조건을 파라미터로 설정하여 실험을 진행.
- DHPC 농도변화에 따른 바이셀 형성 양상 : 솔벤트 상의 DMPC 농도를 100 mM 로 고정 / DHPC 농도 조건을 파라미터로 설정하여 실험을 진행.
- 실험 결과, DMPC 의 경우 최종 인지질 농도 (Final Lipid concentration) 가 5 mM 이상에서, DHPC 의 경우 10 mM 이상의 농도에서 바이셀로 추정 가능한 크기의 자가조립체(10 ~ 20 nm)가 형성됨을 확인하였음.
- 바이셀 형성 여부 확인을 위하여 막 특성 분석 ($1/P_{DPH}$, GP_{340})과 TEM 이미지 촬영을 실시하였음.
- 분석 결과, $1/P_{DPH} < 6$, $GP_{340} > 0.5$ 의 높은 정렬도를 보이는 이중층 멤브레인임을 확인할 수 있었으며, 원판형의 자가조립체가 형성되었음을 TEMP 이미지 분석을 통해서 확인할 수 있었음.
- 크기 및 막 특성 분석 결과를 종합하여, 미세유체 시스템 내에서 바이셀 형성의 임계 농도조건에 관한 다이어그램을 작성할 수 있었음.

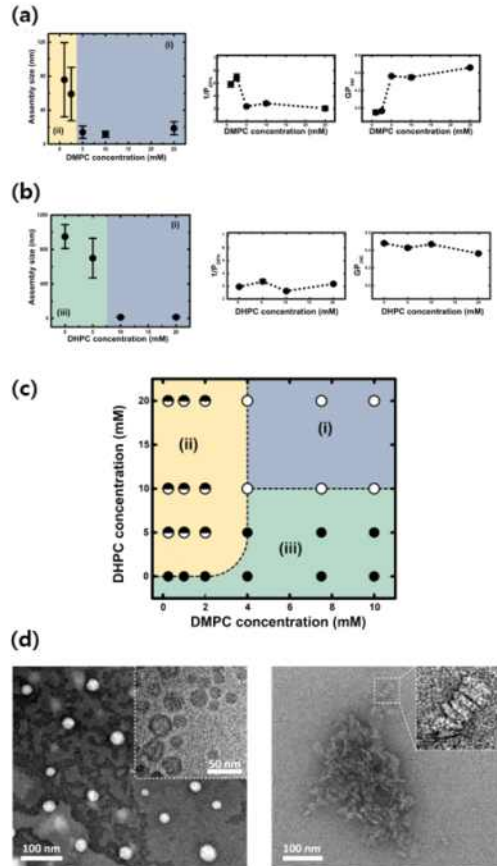


그림 89. DMPC 와 DHPC 농도 조건별 자가조립체의 크기 변화 양상 및 막 특성 분석. (a) DMPC 농도 조건별 자가조립체 형성 양상 (DHPC =20 mM). (b) DHPC 농도 조건별 자가조립체 형성 양상 (DMPC = 100 mM). (c) 어셈블리 크기와 막 특성 분석 결과를 종합한 자가조립체 형성 다이어그램. (d) 베시클과 바이셀의 TEM 이미지 (Scale bar = 100 nm).

- 본 미세유체 시스템에서 바이셀 형성에 주요한 영향을 미치는 또다른 파라미터는 솔벤트-버퍼의 혼합시간임.
- 미세유체칩에 의한 유체집속 현상에서 만나는 두 유체의 혼합 시간은 아래와 같은 수식으로 설명이 가능함.

$$\tau = \frac{\delta^2}{2D}$$

(τ : 혼합 시간, δ : 집속된 Inner phase의 두께, D : 확산계수)

- 위 수식을 통해서 유량비 (FRR) 에 따라 달라지는 inner phase 의 스트림 두께가 혼합 시간을 결정하는 주요한 요소임을 알 수 있고, 이는 아래와 같은 수식을 통해서 산출이 가능함.

$$\frac{\delta}{W} = \frac{1}{1 + 0.67 \Phi^{-2/3} \chi^{-1/2}}$$

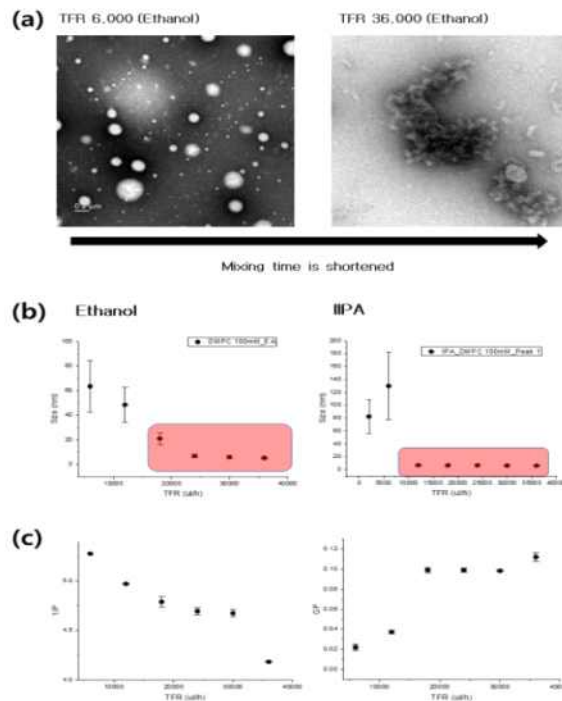
(W : 채널의 두께, Φ : 유량비 (본 연구에서는 19 로 고정), χ : 두 유체의 점도비 ($\mu_{\text{solvent}}/\mu_{\text{buffer}}$)).

- inner phase 의 두께를 혼합 시간의 주요 변수로 설정하고, 파라미터를 세분화 하기 위하여, 메탄올에 에탄올을 혼합하여 솔벤트 점도에 변화를 주었고, 이에 따른 주요 파라미터들의 변화 양상은 아래의 표와 같음.

[표 7] 솔벤트 혼합 비율에 따른 파라미터 변화 양상.

V_f of ethanol ($V_{ethanol}/V_{total}$)	Mixture viscosity ($\eta_{mixture}$, mPa·s)	Viscosity ratio ($\gamma: \eta_{mixture}/\eta_{buffer}$)	Stream width (δ , μm)	Diffusion coefficient ($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	Mixing time (sec)
0	0.522	0.588	11.076	18.147	0.034
0.25	0.627	0.706	11.978	15.007	0.048
0.5	0.753	0.848	12.944	12.887	0.065
0.75	0.906	1.020	13.976	11.599	0.084
1	1.090	1.228	15.078	10.713	0.106

- 실험 결과, 0~25% 의 혼합비에서는 바이셀이 형성됨을 확인할 수 있었고, 50~75% 의 혼합비에서는 바이셀과 베시클이 공존하는 구간임을 확인할 수 있었음. 100% 에탄올을 사용할 경우 어셈블리는 완전히 베시클이 형성되는 regime 으로 전환됨을 확인할 수 있었음.
- 이러한 특성을 바탕으로, 기존에 사용한 메탄올보다 점도가 높은 에탄올, IPA를 사용하여 혼합 시간 제어를 통해서 바이셀의 생산성 향상이 가능함을 유추할 수 있었고. 이에대한 실험을 실시하였음.
- 에탄올과 IPA를 사용하여 바이셀의 제작이 가능한 조건을 형성하기 위하여 6,000 $\mu\text{l/h}$ 으로 고정하였던 TFR (Total Flow Rate) 조건을 확장하여 36,000 $\mu\text{l/h}$ 까지 조정하였음.
- 실험 결과, 에탄올은 TFR = 18,000 $\mu\text{l/h}$ 이상에서, IPA 는 TFR = 12,000 $\mu\text{l/h}$ 이상에서 바이셀이 형성됨을 확인할 수 있었으며, TFR 이 증가함에 따라 막특성 역시 선형적으로 향상됨을 확인할 수 있었음.
- 또한 높은 TFR 조건에서 형성된 바이셀의 경우 7일 이상 경과에도 베시클로의 전환 없이 균일하게 분산되어 있음을 확인할 수 있었음.
- 결과를 종합하면, 미세유체시스템에서 바이셀의 연속적인 생산이 가능함을 확인하였고, 솔벤트-버퍼의 혼합 시간 제어를 통하여 생산성 향상이 가능함을 확인하였음.



(d) 7 days elapsed

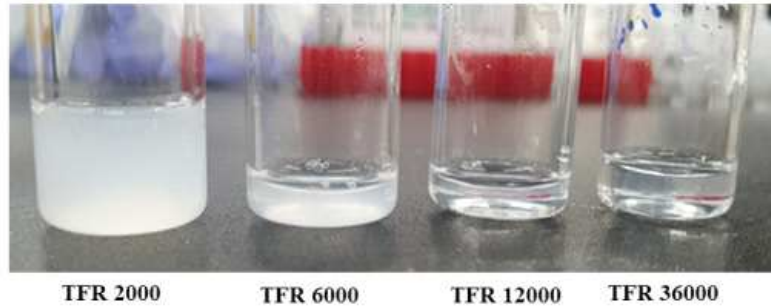


그림 90. 에탄올, IPA를 이용한 바이셀 제작 실험. (a) 낮은 TFR 조건에서 형성된 베시클과 높은 TFR 조건에서 형성된 바이셀의 TEM 이미지 (Scale = 200 nm, 50 nm). (b) TFR 조건 변화에 따른 자가조립체 형성 경향. (c) TFR 조건 변화에 따른 자가조립체의 막 특성변화 양상. (d) 조건별로 제작된 바이셀의 저장 안정성 비교.

○ 바이셀 형성의 안정성 확보를 위한 다양한 센서 프로브의 적용

- 다양한 체인길이의 PDA (Polydeacetylene) 센서 프로브를 이용한 바이셀 제작

- 타당성 검토 및 실제 적용을 통하여 적절한 센서프로브 선정

-->위 두 항목에 대해서는 실제 TCDA를 이용한 실험을 진행해보지 않았으므로, 목표미달로 작성해야 맞겠는지요?

● 체인 길이가 바이셀 멤브레인 형성에 미치는 영향에 대한 실험 실시

- DPPC (C16:0, 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine), POPC (C16:0-18:1, 1-palmitoyl-2-oleoyl-glycero-3-phosphocholine), Soy-PC (L- α -Phosphatidylcholine) 를 이용한 바이셀 제작 실험 실시

- 바이셀 중심의 이중층 멤브레인을 형성하는 리피드의 길이가 증가함에따라, 기존에 사용한 DHPC (C6:0) 보다 긴 탄소 사슬의 D7PC (C7:0, 1,2-diheptanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) 이용.

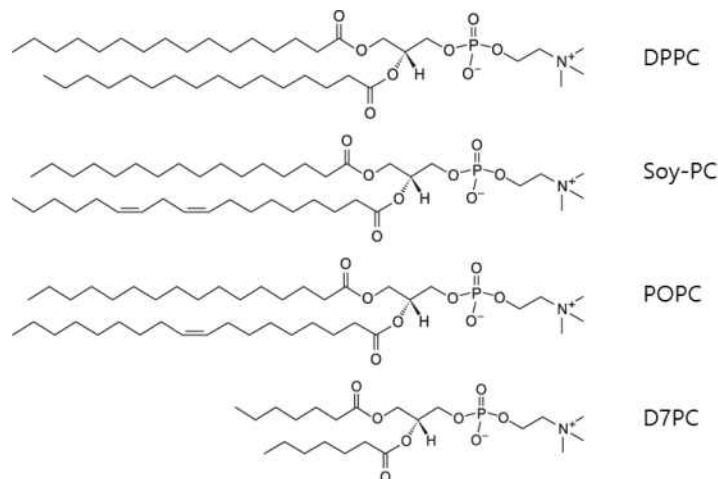


그림 91. 실험에 사용한 다양한 종류의 리피드.

- D7PC 의 농도를 8 mM 로 고정한 후, 각각의 리피드 농도에 따른 어셈블리 형성 양상을 비교.

- DLS (Dynamic Light Scattering)를 이용한 어셈블리 크기 측정 및 형광분광 광도계를 이용한 막 특성 분석을 통하여 바이셀 형성 조건 설정.

- DPPC : 그림 (a)에서 확인 가능하듯, 약 50 ~ 200 mM 의 조건에서 7~12 nm 크기의 어셈블리가 형성됨을 확인하였고, 그림 (b) 의 막 특성 결과에서 확인 가능하듯, 높은 정렬도의 바이셀이

형성됨을 확인할 수 있었음 (리피드 이중층의 정렬도 : $1/P_{DPH} < 6$, $GP_{340} > 0.5$).

- POPC : 그림 (a)에서 확인 가능하듯, 약 50 mM 이상의 조건에서 10 ~ 25 nm 크기의 바이셀이 형성됨을 확인하였고, POPC의 T_m 을 고려하여 8 °C 환경에서 막 특성 분석을 실시함. 그림 (b)의 막 특성 분석 그래프에서 확인 가능하듯 $1/P_{DPH}$ 값이 200 mM 조건에서 상승함을 확인하였음. 해당 경우는 막의 유동성이 매우 높은 상태로, 정렬도가 낮고 큰 직경의 베시클이 형성된 것으로 유추 가능. GP_{340} 값의 경우 일반적으로 0.3 이상의 값을 갖는 것이 정렬도 판단의 척도이나, 두 개의 소수성 탄소 사슬 중 한쪽이 불포화 이중결합으로 구성되어 기본적으로 heterogeneity가 높은 멤브레인을 구성하는 POPC 리피드의 특성상, GP_{340} 측정 데이터를 기준으로 정렬도가 떨어진다고 보기는 어려운 것으로 판단됨.
- Soy-PC : 그림 (a)에서 확인 가능하듯, 약 20 ~ 40 mM 조건에서 바이셀로 볼 수 있는 어셈블리가 형성됨을 확인하였으나, 한쪽 탄소사슬에 두 개의 불포화 이중결합을 형성하고 있는 Soy-PC의 낮은 상전이 온도 특성으로 인하여 적절한 온도에서 막 특성의 정확한 분석이 불가능하므로, 바이셀로 특정하기는 무리가 있다고 판단됨. 추후 적절한 분석 방법을 모색해야 할 것으로 판단됨.
- 다양한 종류의 리피드를 이용하여 바이셀 형성이 가능함을 확인하였으며, 이를 센서 프로브 탐제에 응용 가능할 것으로 판단함.

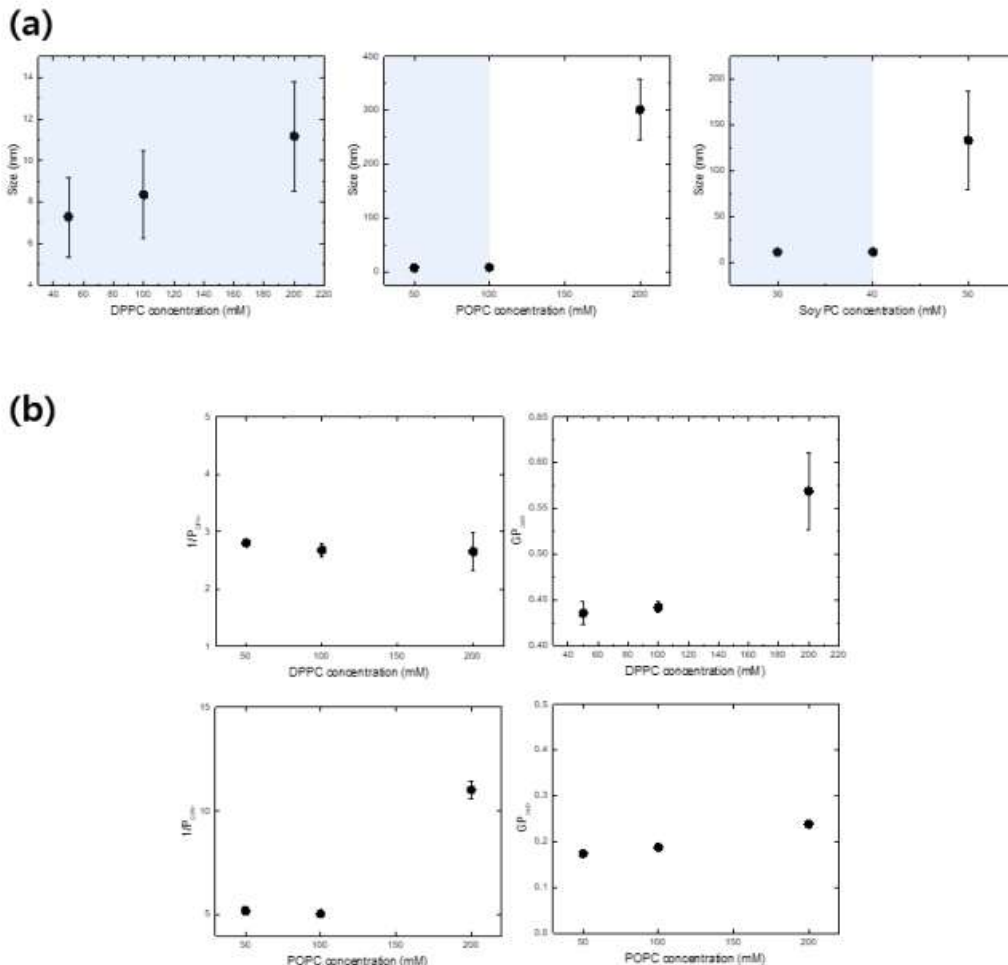


그림 92. PDA 센서 프로브를 이용한 바이셀 제작 실험. (a) DPPC, POPC, Soy-PC 농도 조건별 어셈블리의 크기 변화 양상. (b) 형성된 어셈블리의 막 특성 분석 결과.

● DMPC 리피드와의 몰비율 및 공정 조건 설정을 위한 파라미터 실험 실시.

- 유체집속 미세유체칩을 이용한 바이셀 제작 메커니즘을 PDA 센서프로브를 탐제한 바이셀 제작에 적용.

- 미세유체 시스템을 이용한 PDA 센서프로브 탑재 바이셀 제작 공정 조건 설정.
- Total flow rate : 6,000 μ l/h, Flow rate ratio : 19 조건 하에, 상 전이 온도 (Phase transition temperature, T_m) 가 높은 PCDA 센서 프로브의 응집을 방지하기 위하여 60 $^{\circ}$ C 의 온도로 가열.
- 보다 다양한 조건에서의 DMPC 와 PCDA 의 q-value ($[DMPC]/([DMPC]+[PCDA])$) 에 따른 어셈블리 형성 경향에 대한 실험 진행.
- $q = 0.75$ 이상의 조건에서 약 10 nm 크기의 바이셀 제작이 가능함을 확인.
- PDA 센서 프로브의 적정 비율을 고려할 경우 $0.3 \leq q \leq 0.7$ 범위에서 제작하는 것이 프로브 제작에 유리함을 확인.

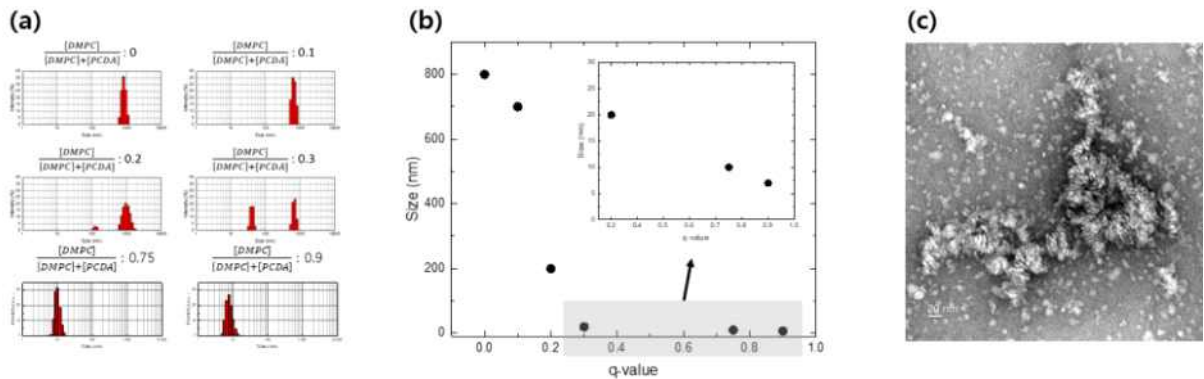


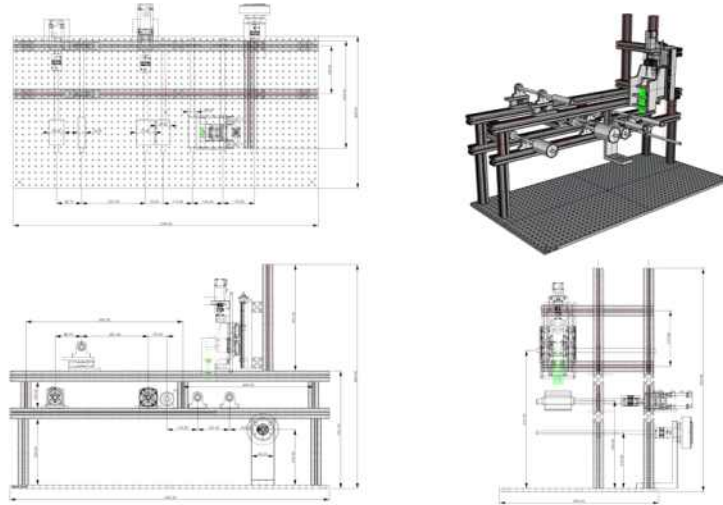
그림 93. PDA 센서 프로브를 이용한 바이셀 제작 실험. (a) DMPC 몰비율에 따른 리피드 어셈블리의 크기 변화 양상. (b) q-value 에 따른 어셈블리 크기 변화 양상. (c) 바이셀의 TEM 이미지 (Scale bar : 20 nm).

○ 생산성 확보를 위한 다중 센서 연속생산 장비 설계 및 재료 선정

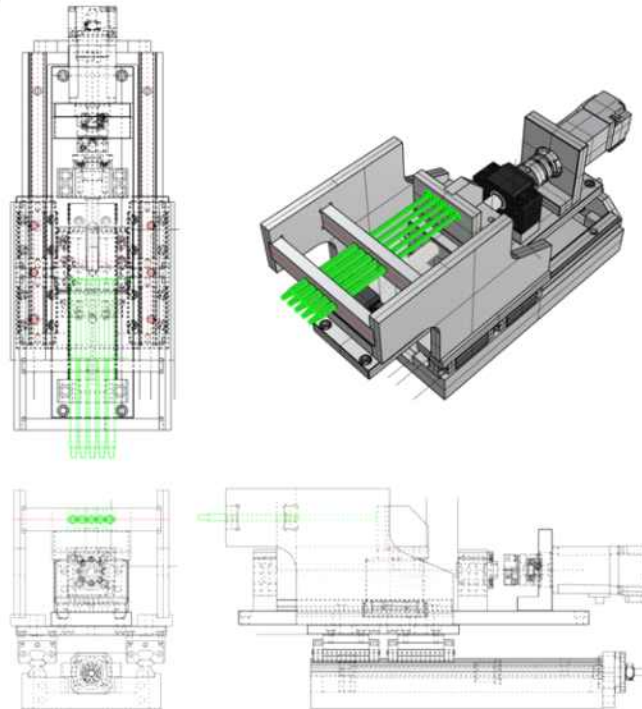
● 롤투를 장비의 구조 설계 및 사용 재료 선정

- 1200 mm X 600 mm X 842 mm 랩 스케일 규모의 필름 이송 시스템 프로토타입 제작을 위한 2D 및 3D 도면을 작성함.
- 장비의 원활한 수정을 위하여 40 mm X 40 mm 단면의 사각 프로파일을 프레임의 재료로 사용하였음.
- 롤러 회전축의 토크 제어 및 내구도를 확보하기 위하여 직경 15 mm, 길이 450 mm 의 스테인리스 샤프트 (SFJ15-450)를 사용.
- 필름의 압축 및 마찰력 확보를 위하여 우레탄 재질의 롤러를 사용하였음 (AXFME-D30-L120-V15).
- 필름의 수집 및 장력 제어를 위한 모터의 출력은 200 W 로 설정 하였으며, 미쯔비시사의 내장 브레이크가 포함되어 있는 모델인 HG-KR23B 서보 모터를 사용.
- 필름의 장력제어를 위하여 보라전기사의 18W 규격의 PRB-0.3Y4 공랭식 파우더 브레이크를 사용하였으며, 롤러 축에 로드셀을 설치하여 가해지는 하중의 수치를 파우더 브레이크의 토크제어와 연동하여 피드백 제어가 가능하도록 설정함.
- 리포솜 용액의 균일한 디스펜싱을 위하여 1ml 시린지 5개의 병렬 마운팅이 가능한 액추에이팅 헤드를 설계하였음.
- 액추에이팅 헤드는 2중의 리니어 액추에이터로 구성되었으며, 시린지 마운트를 Z 축 방향으로 움직여주는 마스터 액추에이터와 시린지를 압착하여 용액을 압출하는 압축 액추에이터로 구성하였음.
- 각 액추에이터는 50 W 출력의 HG-KR053 서보모터를 사용하였으며, 정밀한 위치제어가 가능하도록 설정하였음.

(a)



(b)



(c)

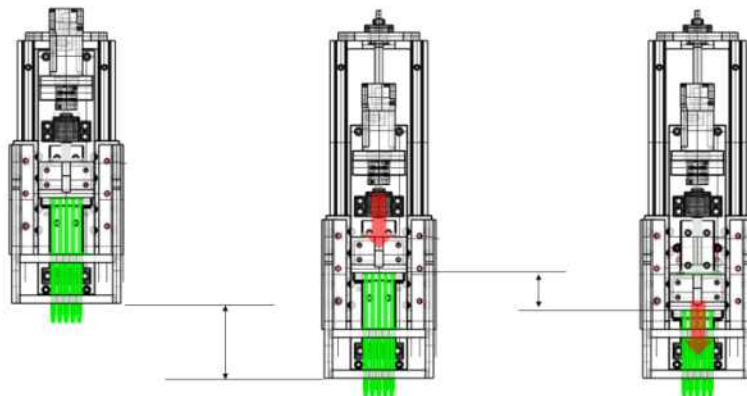


그림 94. 롤트를 연속생산장치의 설계도. (a) 롤트를 연속생산장치의 삼각도 도면. (b) 리포좀 용액의 디스펜싱을 위한 액츄에이팅 헤드. (c) 액츄에이팅 헤드의 구동 예시.

-
- 롤투를 장비 제작 및 온도 감응형 지시계의 최적화
 - 설계를 기반으로 롤투를 장비 제작 완료 (그림 .).



그림 95. 제작을 완료한 롤투를 연속생산장치.

- PLC 자동화 공정을 통한 온도 감응형 지시계의 연속생산성 및 감응형지시계의 품질 확보 가능.
- 미쯔비사의 PLC를 기반으로 수동 파라미터 설정 및 자동화 공정 알고리즘 설정 및 Ladder 프로그램을 작성함.

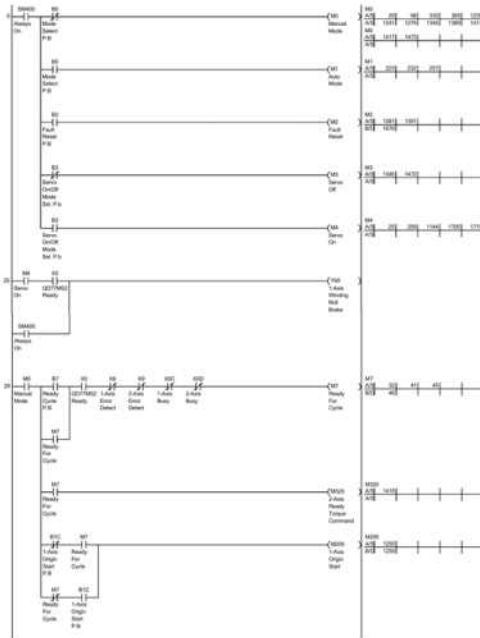


그림 96. 미쯔비시 사의 GXworks V2 소프트웨어를 이용하여 작성한 자동화 Ladder 프로그램.

- 필름 장력, 필름 이송 속도 등의 파라미터 수정 및 자동화 공정의 원활한 진행을 위하여 터치식 디스플레이 기반의 공정 제어 인터페이스를 제작함.



그림 97. 자동화 공정 제어 인터페이스.

- 상온 이상의 온도 노출 시간별로 순차적인 색 변화가 가능하도록 감응성에 차등을 둔 서로 다른 조성의 PCDA 리포좀 용액을 담지한 시린지를 액츄에이팅 헤드에 마운트 하였음. 앞측 액츄에이터를 이용한 정밀 정량 디스펜싱이 가능하며, 반복 실험을 통하여 최적의 디스펜싱 부피와 디스펜싱 거리를 확보할 수 있었음.

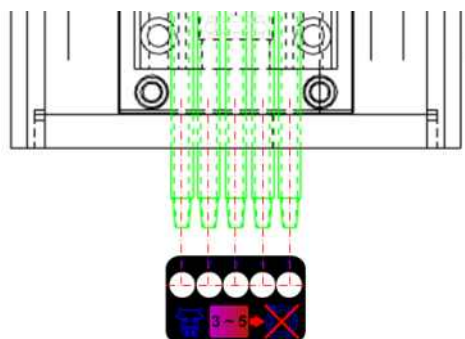


그림 98. 액츄에이팅 헤드에 마운트한 시린지의 중심축과 감응형.

○ 롤장비를 이용한 온도 감응형 지시계의 연속생산

- 자극 감응형 지시계 필름을 500 mm/min 의 속도로 전진시켜 순차차적으로 리포솜 용액의 디스펜싱을 실시 하였음.
- 필름 이송 속도에 맞추어 5 μ l 부피의 리포솜 용액이 시린지 니들 끝에 맺히도록 압축 액추에이터의 전진속도를 0.05 mm/s 로 설정 하였음.
- 시린지 니들 하단과 필름간의 거리는 약 5 mm 로, 마스터액추에이터의 Z 축방향 이동 속도를 5 mm/s 로 설정하였음.
- 리포솜 용액 디스펜싱 후 190 mW/cm^2 강도의 UV 노광장치를 거쳐 온도 감응형 지시계의 제작이 완료됨.
- 모든 생산적 변수를 고려할 경우 약 4초에 1개의 온도 감응형 지시계의 생산이 가능하며, 이는 프로토타이핑을 목적으로 한 속도이므로, 추후 심화된 최적화 과정을 거친 후 보다 높은 생산성을 기대할 수 있을 것으로 판단 함.

(a)



(b)

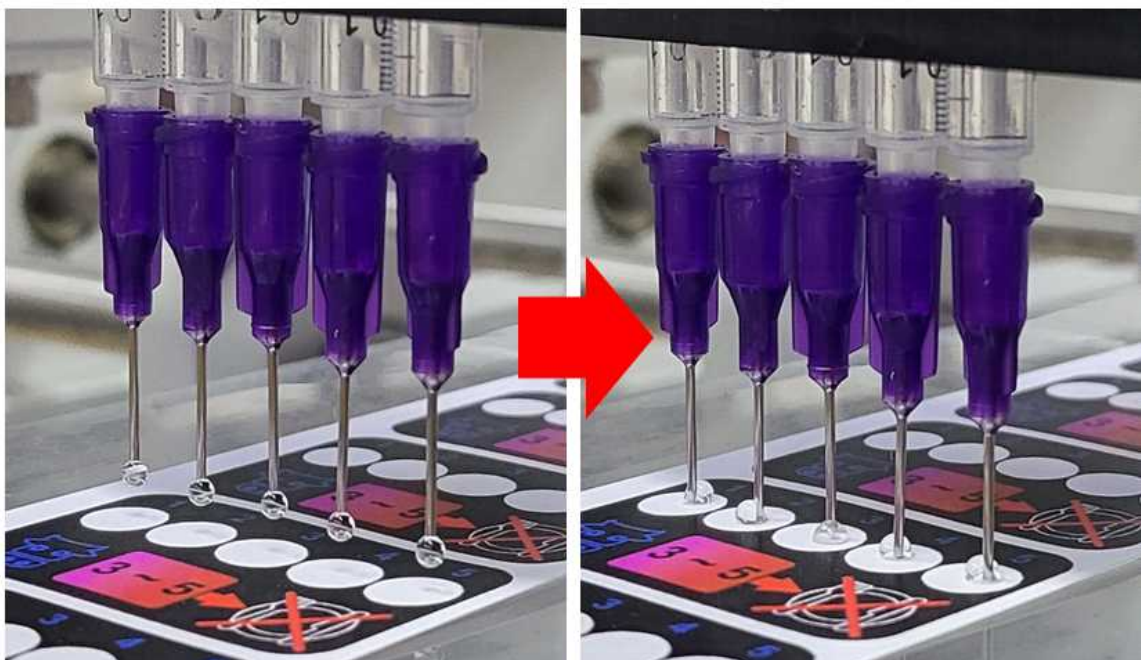


그림 99. 롤투롤 장비를 이용한 연속생산 공정 과정

○ PDA lipome 형광 장치의 검증실험 결과

- 표준 형광물질을 농도별로 희석하여 개발된 진단 장치와 PL spectrometer로 테스트를 진행하였다.
- 농도는 1배/10배/100배/200배/400배/800배로 데이터를 측정했다. 그림 19는 광학현미경으로 찍은 사진이고, 그림 20은 진단장치에서 캡처한 화면이다.

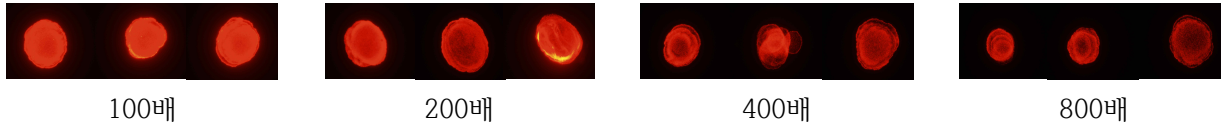


그림 100. 광학 현미경 사진

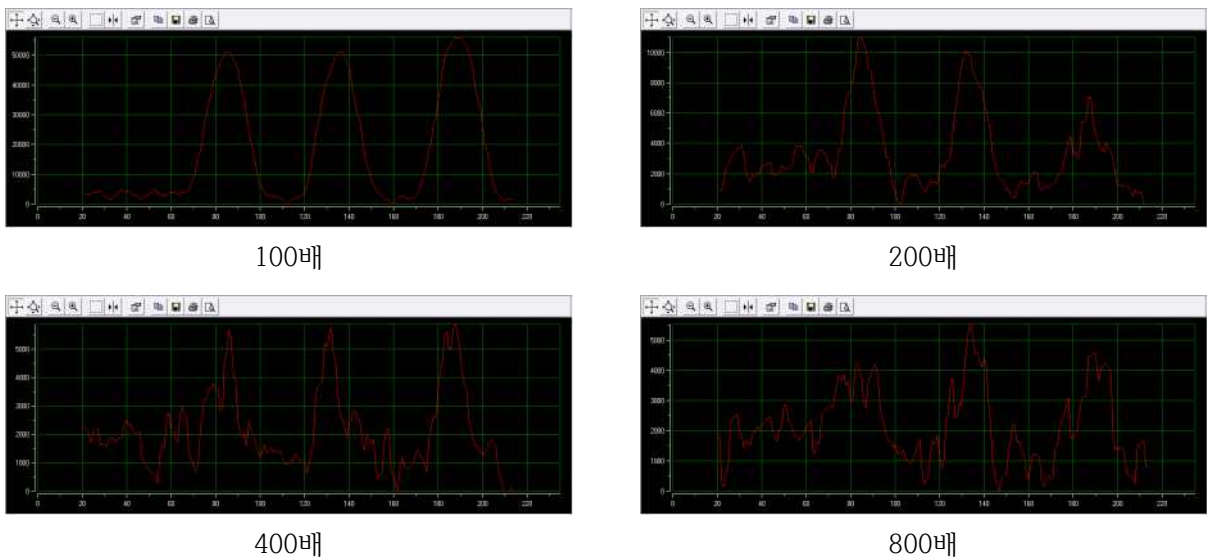


그림 101. 진단장치 측정 화면

○ 연결형 인터페이스 모듈과 애플리케이션 개발, 메인 프로세서 보드 및 시작품 제작

- 스마트폰 인터페이스 모듈 및 사용 Application 제작
- 휴대용 고감도 광학 검출장비로부터 측정되는 데이터는 사용자가 윈도우 기반 OS의 컴퓨터나 스마트폰으로 연결하여 측정이 가능하도록 구현하였음.
- Google의 안드로이드를 기반으로 하여, 자바 개발환경에서 스마트폰에 적용될 Application은 다음과 같은 기능을 개발하였음.
 - Application에서의 화상 디스플레이 구현
 - Application에서의 형광 분석 알고리즘 구현
 - Application에서의 정량 측정 데이터의 구현
- App 화면 및 메뉴의 구성
- 안드로이드 기반의 스마트폰에 잔류항생제 고감도 광학검출 앱은 다음 그림과 같은 기본 화면

구성을 가지고 있음.

- 그림 102 에서처럼 스마트폰 화면에서 DRA 아이콘을 클릭하면 오른쪽 그림처럼, 앱의 메인화면이 표시되고 먼저 “SET”을 클릭하면 맨오른쪽 화면과 같이 설정화면이 표시됨.
- R/G/B 값을 설정한 후 “SAVE”를 클릭하면 가운데화면처럼 측정방식(카메라/사진 등)의 선택이 가능함.
- 카메라를 선택한 후 오른쪽 화면처럼 측정하고자하는 타겟을 촬영하면, 그림 104 와 같이 줌을 조정하면 자동으로 초점 조절 가능.
- 이후 “CROP“을 클릭하면 오른쪽 그림처럼 측정 데이터가 표시된다. 이 측정데이터를 활용하여 데이터의 분석 가능.

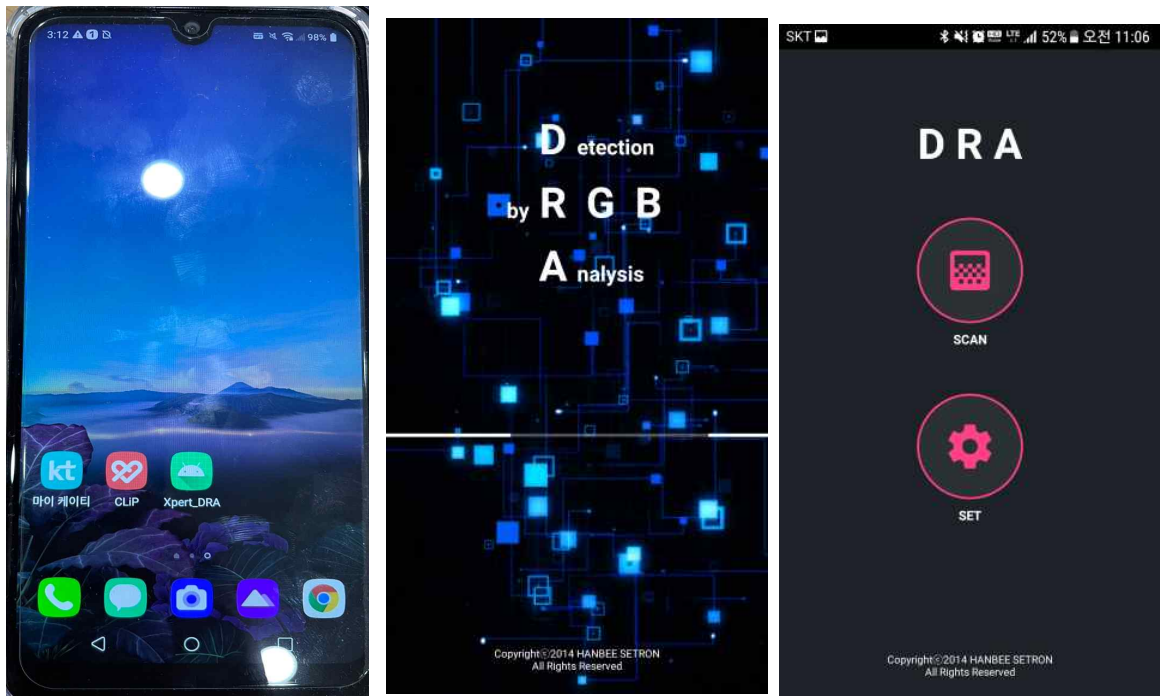


그림 102. 스마트폰 앱 실행화면

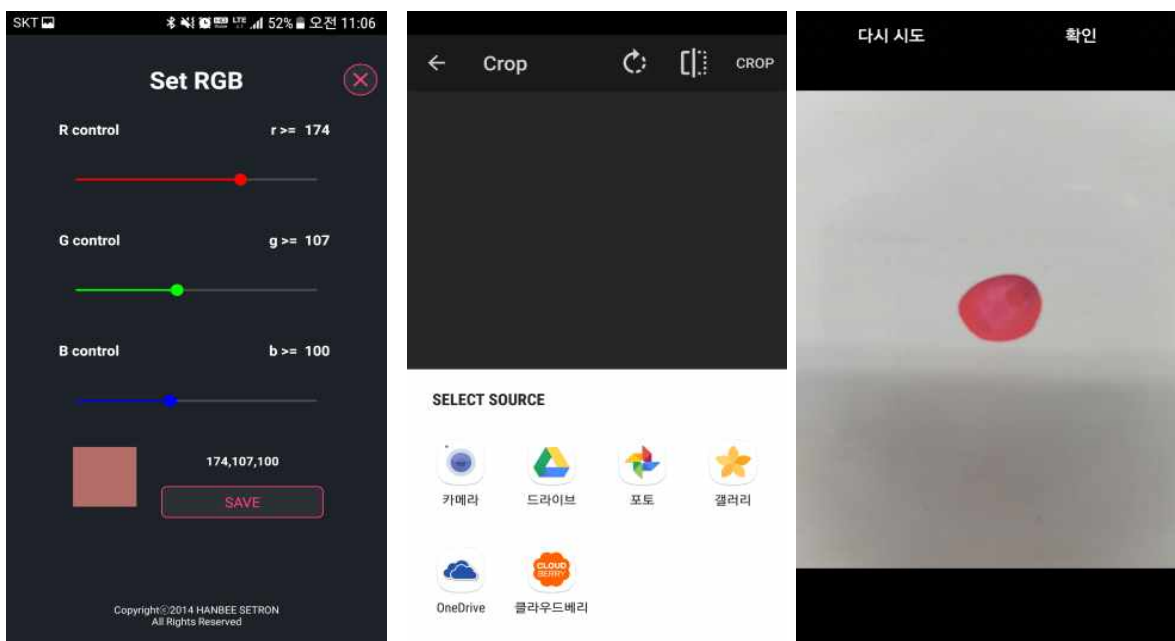


그림 103. 데이터 측정 화면

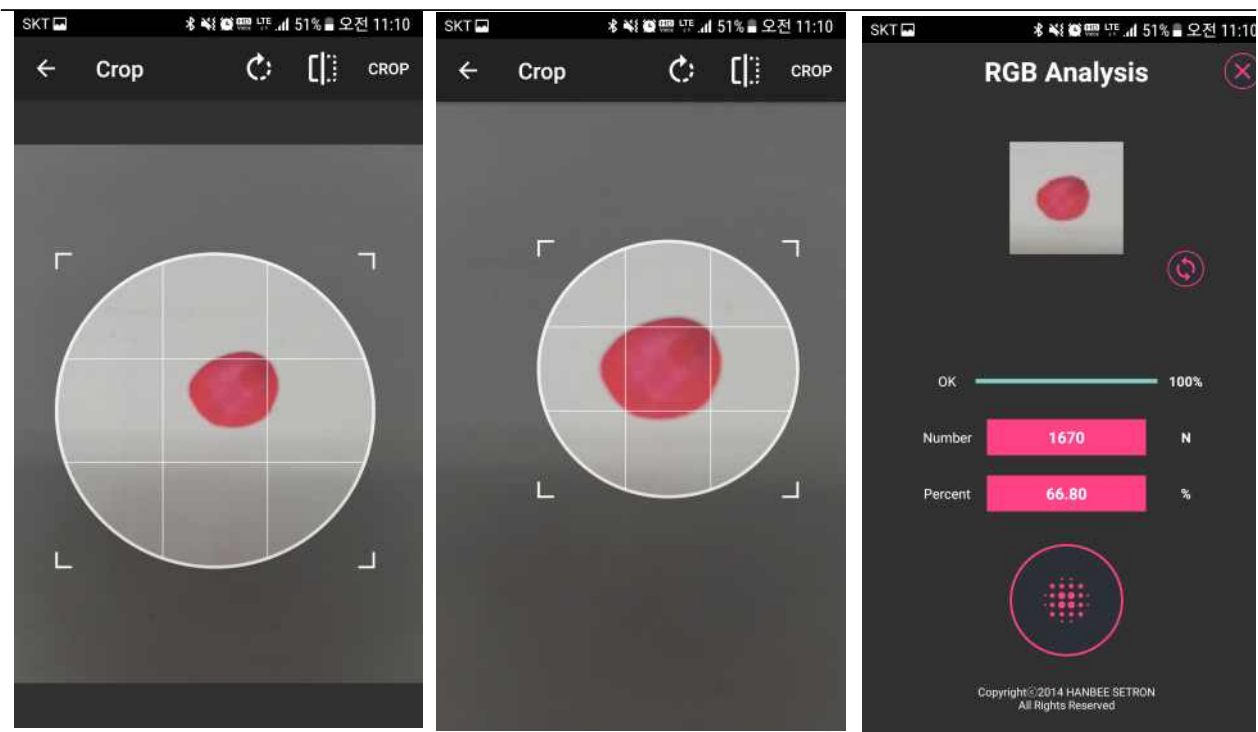


그림 104. 데이터 분석 화면

(2) 정량적 연구개발성과

< 정량적 연구개발성과표(예시) >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2018~2021)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문	목표(단계별)	6	6	-
		실적(누적)	4	4	-
	평균 IF (2020 IF 기준)	목표(단계별)	3.2	3.2	10
		실적(누적)	3.691	3.691	11.5
	특허	목표(단계별)	3	3	70
		실적(누적)	3	3	70
	학술대회	목표(단계별)	6	6	10
실적(누적)		9	9	15	
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	전문 인력양성	목표(단계별)	3	3	10
		실적(누적)	4	4	13.3
	계	목표			100
		실적(누적)			109.8

- * 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[에스시아이 Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구 시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신품 종 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.
- * 2) 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자 유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다 (연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

< 연구개발성과 성능지표(예시) >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (2018~2021)	n단계 (YYYY~YYYY)	
1	선 온도변화 검출	℃	40	미국/USDA	100	60	80	냉장유통온 도 정밀 탐지
2	센서 probe 균일도	nm	10	미국/MIT	100	80	100	나노디스크 균일도 향상
3	센서 대량 생산	ea	20	EU/ TTI sensor	90	50	80	R2R을이용 한 대량생산
2	광학 검출 신속도	point/ min	20	일본/AIST	100	80	90	스마트폰 분석속도향 상
3	관리 시스템 전달 속도	min	10	일본/AIST	100	80	90	실시간 데이터 전송
합계		100						

- * 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.
- * 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[주관연구개발기관(서울대학교)]

연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
1	PDA polymer 기반의 색변이 센서프로브 개 발 및 색변이 민감도 확보	건	(색변이 테스 트 후 색상 / 기존 색상) X 100	3	3종 이상의 계면활성제 에 대한 PDA리포좀의 색변이 민감도 측정	달성 * 정성 결과 참조

	사출성형 미세 유체칩 제조	건	사출성형 미세 유체칩 제조 여부	1	사출 성형 미세유체칩 제작 실물	1 건 * 정성 결과 참조
	사출성형 미세 유체칩 패키징 기술 개발	건	패킹 기술 개발 여부	1	패킹 시, 압력으로 인한 leakage 발생 여부	1 건 * 정성 결과 참조
	나노포어 일체형 LOC 칩 개발	건	구조 설계	1	미세유체칩의 설계 도면	1건 * 정성 결과 참조

연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
2	PCDA 리포좀 알지네이트 필름 제조	건	필름 제조 여부	1	필름 의 형태 및 색 변이 확인	달성
	PCDA 리포좀 알지네이트 필름 성능 테스트	건	(색변이 테스트 후 색상 / 기존 색상) X 100	3	특정 온도에 노출 후 시간 경과에 따른 필름의 색변이 형광 광도 측정	달성
	PCDA 필름 센서의 실온 (25 °C) 방치 테스트	회	(색변이 테스트 후 색상 / 기존 색상) X 100	5	필름을 30분 간격으로 실온에 노출	달성
	PCDA 필름 센서의 감도 향상 테스트	분	(색변이 테스트 후 색상 / 기존 색상) X 100	15	Tween 20 농도 (wt%) 조건에 따른 실온노출 시간별 색변이도 측정	달성
	부패가스 검출 리셉터 나노센서 프로브 개발	건	나노센서 프로브 개발	1	카다베린 리셉터 개발 및 나노디스크 고정화 기술 개발 여부	달성

연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
3	실제 소고기 에 PCDA 멤 브레인 센서 부착 시 성능 평가	건	(색변이 테스트 후 색상 / 기존 색상) X 100	Tween 20 농도 범위 : 0 ~ 20 w%	계면활성제 농도에 따른 온도 노출 시간별 색 변이도 측정	달성

	멤브레인 센서 장기 보관 테스트	건	(색변이 테스트 후 색상 / 기존 색상) X 100	Tween 20 농도 범위 : 0 ~ 20 w%	장기보관한 멤브레인센서와 제작 직후 멤브레인 센서와의 색변이 민감도 비교	달성
	부패가스 고감도 검출을 위한 리셉터 나노센서 프로브 개발	건	(색변이 테스트 후 색상 / 기존 색상) X 100	암모니아 노출시간 : 0 ~ 2 시간	계면활성제 농도별 암모니아 노출 시간에 따른 색변이도 측정	달성
	폴리디아세틸렌 리포솜을 이용한 스티커형 저가 센서 제작	건	색변이 확인	1	센서 제작 여부 위치별 색변이도 확인	달성

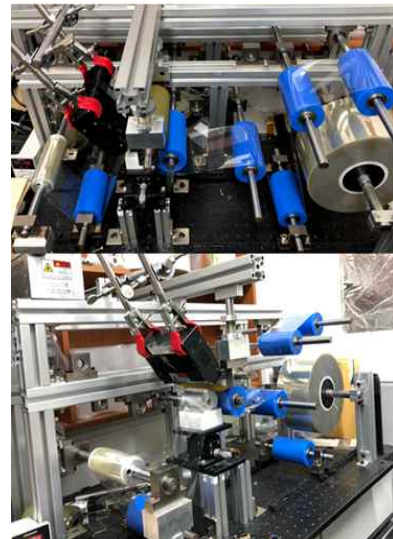
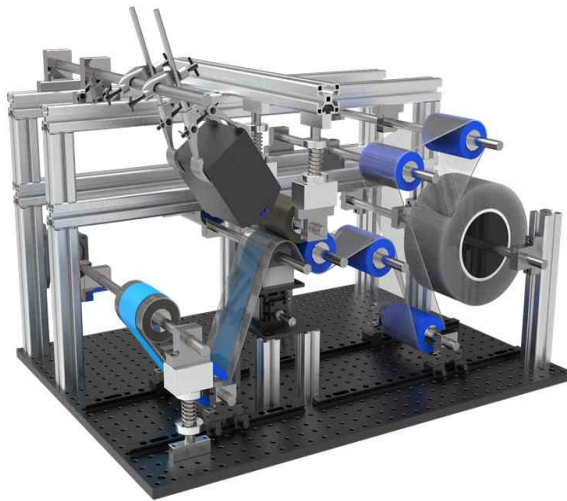
[공동연구개발기관(경북대학교)]

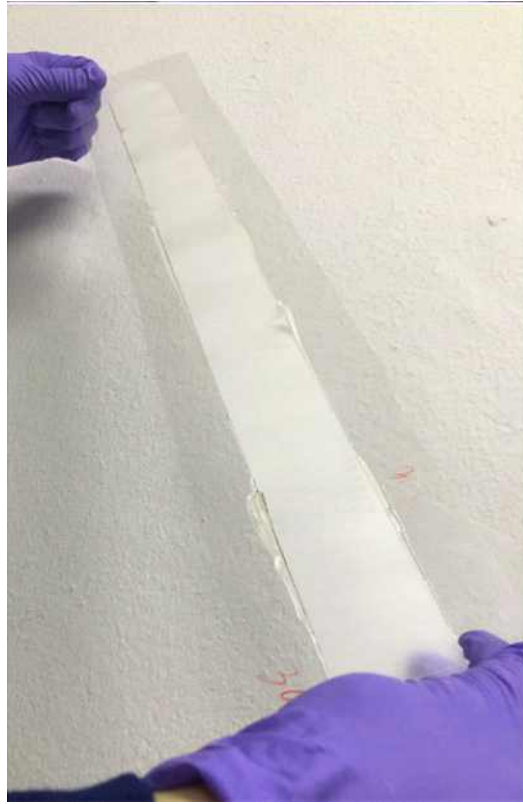
연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
1	미세유체칩 제조기술 개발	건	-	1	미세유체칩 제조에 필요한 모든 공정 확보	달성
	바이셀 제조 공정 설정	건	DLS 분석, 막 특성 분석, TEM 이미지 촬영	1	바이셀 형성 여부 확인	달성
	바이셀의 희석을 통한 나노베시클 제작	건	현미경 광학 분석, DLS 분석, 막 특성 분석, TEM 이미지 촬영	1	베시클 형성 여부 확인	달성

연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
2	PCDA 온도감응형 리셉터를 탑재한 바이셀 제작	건	DLS 분석, 막 특성 분석, TEM 이미지 촬영	1	바이셀 형성 여부 확인	달성
	온도감응형 리	건	q-value 에 따	1	바이셀 형성 여부 확인	달성

셉터 탑재 바이셀의 제조 공정 조건 설정		큰 DLS 분석, TEM 이미지 분석				
필름형 다중센서 제작을 위한 롤투롤 장비 제작	건	장비 제작	1	장비 제작 여부		1건 (테이블 아래 설명 참조)
연속적인 필름 제작 실험	m	150 mm 폭의 필름 길이 측정	1	필름 길이 측정		달성 (테이블 아래 설명 참조)

* 필름형 다중 센서의 연속 생산을 위한 프로토타입의 롤투롤 (Roll-to-Roll) 장비 설계 및 제작, 필름 연속 생산 테스트

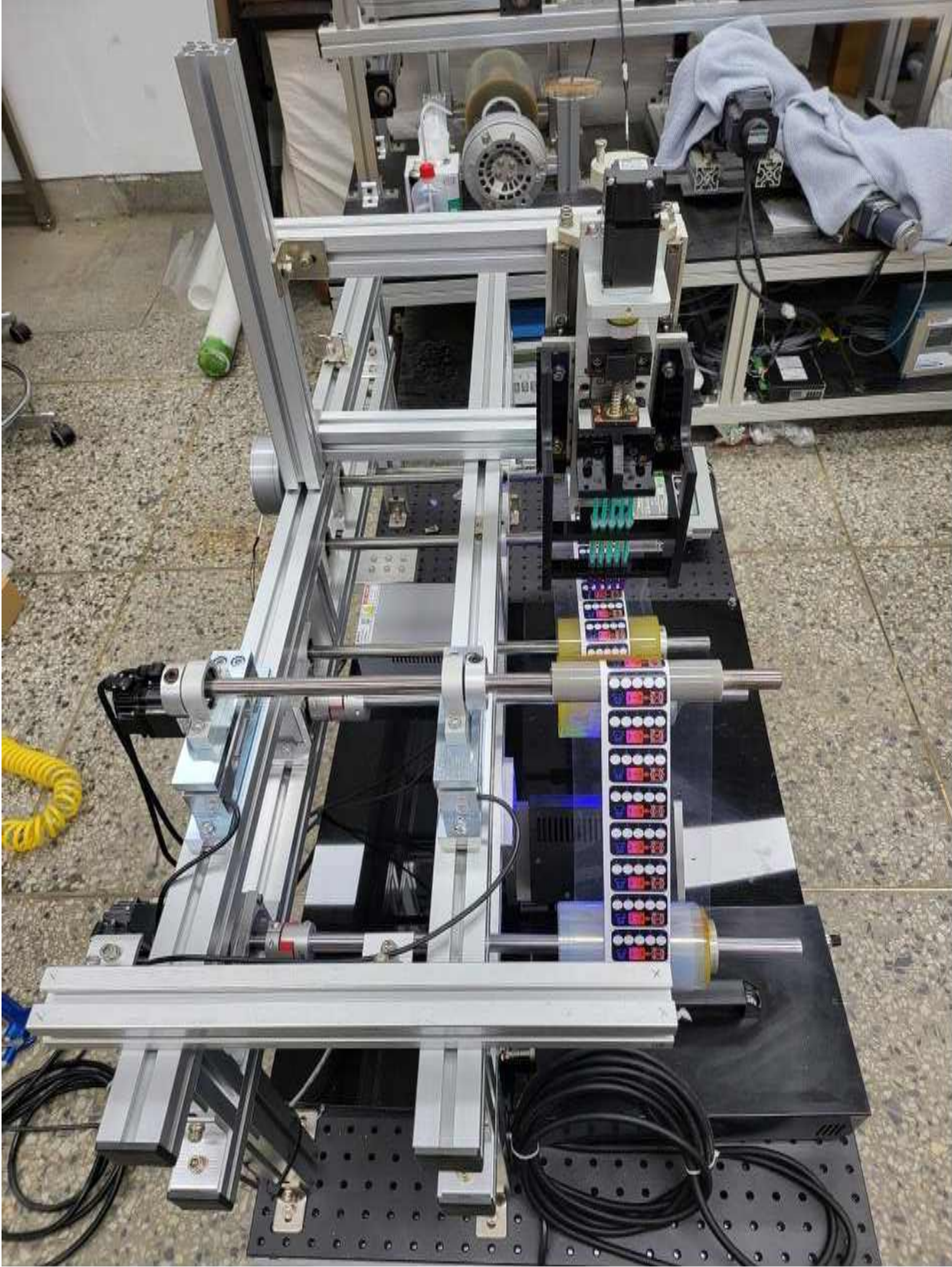




연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
3	미세유체칩을 이용한 바이셀의 연속생산공정 지표 제작	건	DLS 분석, 막 특성 분석, TEM 이미지 촬영	1	지질 농도 조건에 따른 자가조립체의 크기, 막 특성을 분석하여 바이셀 형성 여부 확인	달성
	솔벤트-버퍼의 혼합 시간 조건 조절을 통한 바이셀의 생산성 향상	건	$\tau = \frac{\delta^2}{2D}$	1	고점도 솔벤트의 혼합 시간 증가에 따른 자가조립체 크기 및 막 특성 분석	달성
	지질 체인 길이가 멤브레인 형성에 미치는 영향 분석	건	DLS 분석, 막 특성 분석, TEM 이미지 촬영	1	지질 종류 변화에 따른 바이셀 형성 여부 확인	달성
	다중센서 연속 생산 장비 설계 및 제작	건	장비 제작, 자동화 공정 테스트	1	실물 제작, 자동화 공정 시스템 제작 여부	달성 (테이블 아래 설명 참조)
	다중센서 연속 생산 테스트	m	폭 150mm 필름의 길이 측정	2	필름 길이 측정	달성 (테이블 아래 설명 참조)

--	--	--	--	--	--	--

*롤투롤 (Roll-to-Roll)를 이용한 다중센서 연속생산 공정 및 자동화 플랫폼



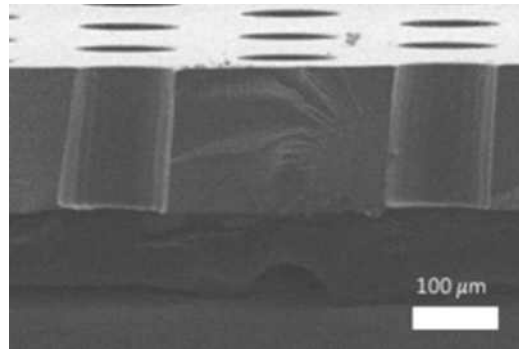


[공동연구개발기관(와이엔지)]

연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)

1	2PP 3D 프린터를 이용한 스탠실 몰드 설계 및 제작	μm	광학 현미경을 이용한 스탠실 몰드의 직경 측정	100 μm	직경 측정	달성
	스탠실 몰드를 이용한 스탠실 제작	건	SEM 이미지 촬영	1	SEM 이미지 분석을 통한 타공성 확인	달성 (테이블 아래 설명 참조)

*SEM 이미지 분석을 이용한 스탠실의 타공성 확인



연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
2	다중센서 액티베이션을 위한 자외선 경화장치 개발	건	3축 (xyz) 조절기, one step 제작, photon 측정 모듈 장착 여부	1	장치 제작 여부 확인	달성 * 정성 결과 참조

연차	평가항목 (주요성능, Spec 등)	단위	측정 산식	당해연도 목표치	평가방법	가중치(%)
3	연결형 인터페이스 모듈과 어플리케이션 개발	건	화상 디스플레이, 형광 분석 알고리즘, 정량 측정 데이터 구현	1	모바일용 어플리케이션을 이용한 색변이 센서 프로브의 정량 분석 실시	달성 * 정성 결과 참조

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Highly flexible and self-adaptive dry adhesive end-effectors for precision robotics	Soft matter	Sung Ho Lee	15	미국	RSC	SCIE	2019.07.17	1744-6848	80%
2	Precise Microfluidic Luminescent Sensor Platform with Controlled Injection System	ACS omega	Bong Su Kang	6	미국	ACS	SCIE	2021.09.02	2470-1343	50%
3	A Simple Method for Continuous Synthesis of Bicelles in Microfluidic Systems	Langmuir	Bong Su Kang	37	미국	ACS	SCIE	2021.10.13	0743-7463	50%
4	Continuous preparation of bicelles using hydrodynamic focusing method for bicelle to vesicle transition	Micro and Nano Systems Letters	Bong Su Kang	7	한국	KMEMS	비SCIE	2021.10.25	2213-9621	50%

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	생산제조학회 춘계 학술대회	정성화	2019.05.02	평창	한국
2	APOS 2019 :the 8th Asia-Pacific Optical Sensors conference	정호섭	2019.11.19	뉴질랜드	국제
3	바이오칩 춘계 학술대 회	최성학	2020.07.09	제주	한국
4	PRESM 국제 학술대 회	김민수	2020.11.15	온라인	국제
5	바이오칩 추계 학술대 회	최성학	2020.11.25	제주	한국
6	KMEMS 춘계 학술대 회	강봉수	2021.04.07	부여	한국
7	KMEMS 춘계 학술대 회	김민수	2021.04.07	부여	한국
8	한국생물공학회 춘계 국제 학술대회	강봉수	2021.04.14	제주	국제
9	바이오칩 춘계 학술대 회	최성학	2021.06.16	홍천	한국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	특허	색변이 고분자를 이용한 온도 이력 측정용 알지네이트 필름 제조법	서울대학교 산학협력단	20.08.05	10-2020-0098090					100	
2	특허	냉장유통 온도이력 비가역적 색변이 스티커형 그 제조방법	서울대학교 산학협력단	21.10.28	10-2021-0145901					100	
3	특허	형상 기억 고분자를 이용하여 목표 온도에서 변화 가능한 회절 광학 소자 제작	경북대학교 산학협력단	출원예정						100	
4	특허	포아송 효과를 이용한 3차원 미세구조의 복제법	경북대학교 산학협력단	출원예정						100	
5	특허	모세관력 유도 응집을 이용한 3차원 구조 제작기술	경북대학교 산학협력단	출원예정						100	

○ 지식재산권 활용 유형

* 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타

□ 저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

□ 신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 증질지(80g/m²)
(22쪽 중 8쪽)]

□ 표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제 표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

- * 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)
(22쪽 중 9쪽)]

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내			
	국외				
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획				
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			yyyy년	yyyy년	
합계					

고용 효과

구분			고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력		
		생산인력		
	개발 후	연구인력		
		생산인력		

비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)

(22쪽 중 10쪽)

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

□ 법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황												
			학위별				성별		지역별						
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타		
1		2020	2												
2		2021	1	1											

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

□ 국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 증질지(80g/m²)

(22쪽 중 11쪽)

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

<참고 1> 연구성과 실적 증빙자료 예시

성과유형	첨부자료 예시
연구논문	논문 사본(저자, 초록, 사사표기)을 확인할 수 있는 부분 포함, 연구개발과제별 중복 첨부 불가)
지식재산권	산업재산권 등록증(또는 출원서) 사본(발명인, 발명의 명칭, 연구개발과제 출처 포함)
제품개발(시제품)	제품개발사진 등 시제품 개발 관련 증빙자료
기술이전	기술이전 계약서, 기술실시 계약서, 기술료 입금 내역서 등
사업화 (상품출시, 공정개발)	사업화된 제품사진, 매출액 증빙서류(세금계산서, 납품계약서 등 매출 확인가능 내부 회계자료) 등
품목허가	미국 식품의약국(FDA) / 식품의약품안전처(MFDS) 허가서
임상시험실시	임상시험계획(IND) 승인서

<참고 2> 국가연구개발혁신법 시행령 제33조제4항 및 별표 4에 따른 연구개발성과의 등록·기탁 대상과 범위

구분	대상	등록 및 기탁 범위
등록	논문	국내외 학술단체에서 발간하는 학술(대회)지에 수록된 학술 논문(전자원문 포함)
	특허	국내외에 출원 또는 등록된 특허정보
	보고서원문	연구개발 연차보고서, 단계보고서 및 최종보고서의 원문
	연구시설·장비	국가연구개발사업을 통하여 취득한 3천만 원 이상 (부가가치세, 부대비용 포함) 연구시설·장비 또는 공동활용이 가능한 모든 연구시설·장비
	기술요약정보	연차보고, 단계보고 및 최종보고가 완료된 연구개발성과의 기술을 요약한 정보
	생명자원 중 생명정보	서열·발현정보 등 유전체정보, 서열·구조·상호작용 등 단백질체정보, 유전자(DNA)칩·단백질칩 등 발현체 정보 및 그 밖의 생명정보
	소프트웨어	창작된 소프트웨어 및 등록에 필요한 관련 정보
	표준	「국가표준기본법」 제3조에 따른 국가표준, 국제표준으로 채택된 공식 표준정보[소관 기술위원회를 포함한 공식 국제표준화기구(ISO, IEC, ITU)가 공인한 단체 또는 사실표준화기구에서 채택한 표준정보를 포함한다]
기탁	생명자원 중 생물자원	세균, 곰팡이, 바이러스 등 미생물자원, 인간 또는 동물의 세포·수정란 등 동물자원, 식물세포·조직 등 식물자원, DNA, RNA, 플라스미드 등 유전체자원 및 그 밖의 생물자원
	화합물	합성 또는 천연물에서 추출한 유기화합물 및 관련 정보
	신품종	생물자원 중 국내외에 출원 또는 등록된 농업용 신품종 및 관련 정보

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)
(22쪽 중 12쪽)]

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○	○	○
○	○	○

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

< 연구개발성과 활용계획표(예시) >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내 매년 목표치	
국외논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
국내논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
특허출원	국내		
	국외		
	계		
특허등록	국내		
	국외		
	계		
인력양성	학사		
	석사		
	박사		
	계		
사업화	상품출시		
	기술이전		
	공정개발		
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	118105-3		
사업구분	농축산물안전생산유통관리기술개발사업				
연구분야			과제구분	단위	
사업명	농축산물안전생산유통관리기술개발사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발		과제유형	(응용)	
연구개발기관	2018. 12. 03 - 2021. 09. 02 (33개월)		연구책임자	정호섭	
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2018. 12. 03. ~ 2019. 09. 02.	125,000	42,000	167,000
	2차년도	2019. 09. 03. ~ 2020. 09. 02.	167,000	56,000	223,000
	3차년도	2020. 09. 03. ~ 2021. 09. 02.	167,000	56,000	223,000
	4차년도	2018. 12. 03. ~ 2019. 09. 02.			
	5차년도				
	계		459,000	154,000	613,000
참여기업	(주)와이앤지				
상대국			상대국연구개발기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

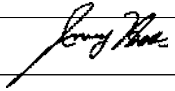
2. 평가일 : 2021.11.02

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
서울대학교	연구교수	정호섭

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.

확 약	
-----	---

1. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수)

지금까지 개발된 농축산물 신선도 이력검출 시스템은, 온도이력지시계 (Time temperature indicator)와 같이 단순한 형태로 이루어져 있으나, 아직까지 민감도, 사용편의성, 경제성, 안전성등의 문제로 상용화 된 제품은 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 나노디스크 형태의 색변이 고분자 센서 재료를 정밀하게 제조하고 막 특성 변화를 통해 다양한 범위의 온도에 대응 가능한 색변이 센서 스티커형을 제조하고, 이를 대량생산 할 수 있는 시스템을 개발하였다. 또한 온도변화 뿐만 아니라, 부패가스 검출에도 활용가능하여 먹거리 안전을 확보하기 위한 독창적인 기술이라고 판단된다.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

본 연구는 나노디스크 형태의 센서 프로브를 미세유체칩을 이용하여 정밀 제어 생산함으로써, 각종 나노 입자 제조에 응용이 가능하다. 특히 막 단백질과 같은 외부환경에 쉽게 변성이 되기 쉬운 생물학적 제제를 효과적으로 encapsulation할 수 있는 기술로 각종 기능성 식품 첨가물, 약물 전달체 연구에도 활용이 가능할 것으로 기대된다. 또한 롤투를 장비를 이용한 대량 생산 시스템은 다른 농업용 생분해성 필름 생산 산업에도 활용가능할 것으로 기대된다.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수)

본 과제에서 수행한 결과를 바탕으로 나노디스크형 vesicle 제조 기술은 다양한 신약 개발이나 질병 연구, 조직 배양 또는 인공장기의 개발에 관여하는 국내외 여러 연구그룹에 중요한 분석 및 시험 도구를 제공이 가능하며, 또한 이를 이용한 센서 probe 연구 그룹과도 연계하여 해당 분야 연구의 촉매제 역할을 할 수 있다는 점에서 큰 의의가 있다. 또한 미세유체칩을 이용하여 나노입자 제조 연구기관 뿐만 아니라, 식품, 기능성 건강식품제조, 의약품 제조 회사를 대상으로 연구 성과를 충분히 활용할 예정이다.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (우수)

나노디스크 제조관련 연구를 통해 국제학회 1회, 국내학회 5회, SCI 1편, 비SCI 1편의 실적과 현재 SCI 1편을 추가로 revision중이며, 또한 센싱 기술관련 연구를 통해 국제학회 1회, 국내학회 5회, SCI 2편의 논문 실적을 내었다. 그리고 이와 관련한 특허 3편을 통해 추가적으로 기술 이전을 이루기 위해 향후 추가적인 연구도 계속해서 실행해 가고 있는 중이다.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (우수)

- 1. 논문 : 논문4편 출간, 1편 투고중
- 2. 지적재산권 ; 3건 출원, 1건 등록준비중
- 3. 국제학회 : 2건 (APOS2019, AFM 2020)

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
신선육 유통과정중 온도변화 기록	40	100	신선육의 부패를 유발할 수 있는 실온 노출 2시간을 기준으로 색변이를 통해 판별할 수 있는 센서 제작완료
부패가스 정밀 검출센서	10	100	부패 시작과 함께 발생하는 암모니아가스를 1ppm미만에서 검출 가능
필름형 센서소자 연속대량생산	30	100	R2R장비를 이용 1분당 60개의 센서칩 연속 생산가능
RGB분석을 이용한 정량 분석 및 데이터 전송 시스템	20	100	스마트폰 연동 RGB앱 개발 및 데이터 전송장치 개발
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

33개월의 연구개발 기간 동안, 센서 재료의 선정과 신선유통과정에서 요구되는 온도범위를 결정하는데 있어서 자료의 기준이 매우 달라서, 센서 제작과 온도범위를 결정하는데 있어서 많은 시간이 필요하였다. 그러나 이 과정에서 미세유체칩을 이용한 나노디스크 형태의 리포솜 제조를 통해, 보다 안정적이고 고감도 색변이를 일으킬수 있는 센서 프로브를 개발하여, 이와 관련된 다양한 연구를 진행할 수 있었다. 특히 카다베린을 검출하기 위한 단백질 리셉터를 보다 효율적으로 탑재가 가능해서, 생명공학 연구원 센서팀에 제공하여 전기화학적 검출에도 활용 가능하였으며, 향후 추가적인 연구도 공동으로 진행을 할 예정에 있다. 또한 롤투를 장비로 저가의 멤브레인위에 색변이 센서 프로브를 점적하는 시스템을 개발해서 대량생산이 가능한 경제적인 스티커형 센서 칩을 개발함으로써 축산물 이력 추적 뿐만 아니라 냉장유통과정이 필수적인 식품, 의약품등의 유통과정을 모니터링 하는 곳에도 활용가능할 것으로 기대되며, 이들 기술을 참여기업, 그리고 수요기업을 발굴해서 기술이전을 실시하고자 한다.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

코로나 사태로 인해 공동연구기관인 경북대학교와 많은 교류를 할 수가 없어서, 상호 협력한 실험 수행이 매우 미흡하여, 시제품 형태의 센서칩 생산까지는 추가적인 연구가 필요하다. 특히 축산 전문가들의 자문과 현장 테스트를 진행하여야 했으나, 사회여건상 모임이 불가능해서, 개별적인 접촉을 통해 자문을 구할 수 밖에 없었던 점을 고려해 주시면 감사하겠습니다.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구결과를 바탕으로 상용화를 위해 기업체와 협력체계를 구축하고, 현재 상용화에 필요한 실질적 시 제품 생산을 위한 협의도 진행중이며, 제품으로 생산이 가능하다면 향후 미세입자 관련 연구 실험실 뿐만 아니라, 다양한 산업 분야에 활용일 가능할 것으로 기대 된다.

IV. 보안성 검토

○ 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구개발기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

해당사항없음

2. 연구개발기관 자체의 검토결과

해당사항없음

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	
연구과제명	농축산물 먹거리 안전을 위한 이력 및 품질관리 기술개발			
주관연구개발기관	서울대학교		주관연구책임자	정호섭
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	459,000천원	154,000천원		613,000천원
연구개발기간	2018. 12. 03 - 2021. 09. 02 (33개월)			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 신선육 유통중 상온노출 시간 기록	냉장, 냉동 온도에서 상온, 30도, 45도 범위에 대한 시간별 이력 추적 결과 도출
② 저가형 센서칩 대량생산 시스템 구축	멤브레인을 이용한 R2R장비로 연속생산 가능한 시스템 구축
③ 센서 신호 정량분석 및 데이터 전송시스템	스마트폰을 활용한 앱을 이용 정량분석 시스템과 데이터 자동전송 시스템 개발

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표										
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용액) (이전)		
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논 문	S C I			비 S C I	학 술 발 표		정 책 활 용	홍 보 전 시
단위	건	건	건	평균건수	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치																					
최종 목표	3	1										3	3	3.2	6	3					
당해 년도	목표	1																			
	실적	5										3	1	3.6 81	9	4					
달성률 (%)	166	0										100	33	112	150	133					

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	나노디스크 제조기술
②	멤브레인 센서 연속 제작 기술
③	스마트폰 연동 데이터 전송기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√				√	√			
②의 기술					√	√	√			
③의 기술					√			√		
·										

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	기능성 나노전달체 개발에 활용 및 의약품, 식품, 화장품, 농약등에 활용가능
②의 기술	연속 필름생산 공정을 통해 다양한 저가형 센서 제작가능
③의 기술	현장신속진단 센서 시장 확대 가능

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용예) (건수)	
	특허출원	특허등록	품종등록	S M A R T	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출		투자유치	논문 S C I	비 S C I			논문평균 I F	학술발표		정책 활용
단위	건	건	건	평균건수	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치		50				50														
최종목표		1				5														
연구기간내 달성실적	5																			
연구종료후 성과창출 계획	1					5														

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 종질지(80g/m²)]

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)

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 종질지(80g/m²)]

주 의

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