

# 잔류농약 검출을 위한 형광 측정 시스템 개발

## Development of the fluorescence measurement system for agricultural chemical residues

\*박효준, 안정호, 홍영주, 이종현, #김수현

\*H. J. Park, J. H. Ahn, Y. J. Hong, J. H. Lee, #S. H. Kim(soohyun@kaist.ac.kr)  
한국과학기술원 기계공학과

Key words : fluorescence measurement, agricultural chemical residues, nano-enzyme complex

### 1. 서론

최근 들어 생활전반에 노출되어 있는 환경유해물질의 지속적인 관리가 요구되고 있다. 이는 경제발전보다 환경 보전을 중요시하는 가치관이 급속도로 확산되고, 깨끗한 물과 공기의 확보, 식품 안전성 증진 등 안전하고 쾌적한 환경에 대한 국민 욕구가 증대되고 있는 현상과 밀접한 관련이 있다. 특히 최근 환경오염으로 인해 많은 수자원의 질이 저하 되고, 대부분의 국민들이 수돗물에 대한 불신이 증가함에 따라, 국민의 삶의 질과 밀접한 관련이 있는 수질오염 분석에 대한 요구가 증가하고 있다.

농약은 병해충을 방제하는 데에 사용되는 화합물로서, 대부분의 농약은 사람에게 해를 입힐 수 있다. 일부 농약은 독성이 강하여 소량에 노출될지라도 인체에 매우 해로운데, 사람은 매일 2~3 L의 물을 섭취하기 때문에 음용수에 포함된 미량의 유해 물질도 건강에 큰 영향을 미치게 된다. 따라서 수질 측정 시 잔류농약 측정이 대단히 중요한 문제로 부상하였으며, 수질의 잔류농약을 현장에서 정밀하게 측정할 수 있는 새로운 측정분석방법 도입과 고도의 측정분석 기술 확보가 필요하다. 극미량의 잔류 농약을 정밀하게 측정하기 위해서는 나노미터(nm) 영역의 계면에서 일어나는 현상을 고감도로 감지해야 하는데 본 연구에서는 이를 위해 형광(fluorescence) 측정법을 채택하였다. 나노-효소 복합체(nano-enzyme complex)가 잔류농약 성분과 반응함에 따라 형광량이 변화되는데, 이때 형광량의 변화를 측정하면 잔류농약의 농도를 알 수 있다.

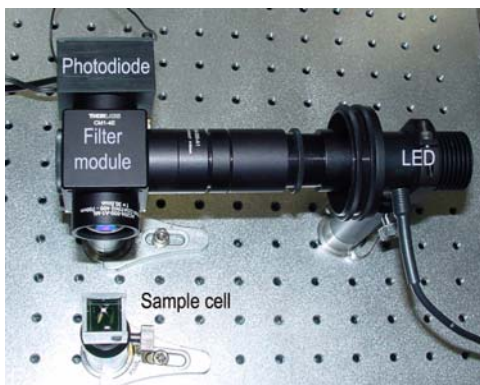
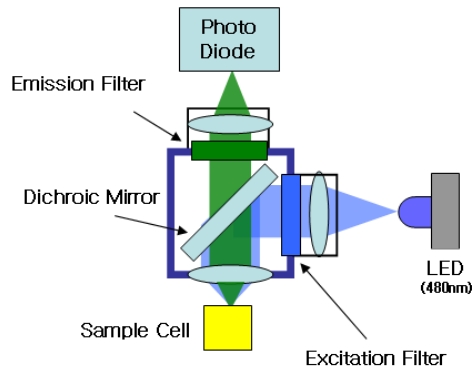


Fig. 1 Schematic diagram of the fluorescence measuring system (top) and experimental setup(bottom)

### 2. 형광 측정 시스템 제작

LED(480nm)에서 나오는 여기광(Excitation light)으로부터 형광을 분리해 내기 용이하도록 그림 1 과 같은 반사형 타입의 형광측정 시스템을 구성하였다. LED 앞부분에는 중심 파장이 480nm(bandwidth=10nm)인 대역통과(bandpass) 여기(Excitation) 필터를 사용하였고, 포토다이오드 앞쪽에는 여기광을 차단하고 샘플에서 나오는 순수 형광만을 검출하기 위해 차단 파장이 500nm 인 고역통과(Highpass) 필터를 사용하였다. 그 중간에는 이색거울(Dichroic mirror, reflection band=442~488nm, transmission band=502~730nm)을 사용하여 여기광과 방출광을 효율적으로 분리해낼 수 있게 하였다.

측정하고자 하는 형광 시료는 부피를 가지는 광원으로 가정할 수 있으며, 측정 시료와 형광 단백질의 반응에 따른 형광량의 변화를 측정하기 위해서는 형광량을 효율적으로 감지할 수 있는 위치에 광검출기가 위치해야 한다. 여기 광원으로 인하여 측정 샘플의 형광이 발하는 것을 그림 2 와 같이 산란(scattering) 체적 광원으로 모델링 하여 광학 설계 프로그램 상에서 형광의 측정 효율을 계산하였다.

산란 체적광원의 부피는 측정에 이용되는 시료의 양과 같은  $10 \times 10 \times 10 \text{ mm}^3$ 로 하였다. 초점 길이 15 mm 유효 구경 12.7 mm(1/2 inch)의 같은 렌즈 두개와 광분할기(5:5)를 이용하여, 시료에서 산란된 빛을  $5 \times 5 \text{ mm}^2$  크기의 광검출기에서 측정 하도록 모델링 한 후 광선 추적을 하였다.

그림 3 은 측정 시료의 총형광 발현량을 1 이라고 했을 때, 렌즈로부터 광검출기 위치에 따른 형광 측정 효율을 나타낸다. 그림 3 에서 나타난 것과 같이 렌즈로부터 약 15 mm 부근에서 출력효율이 가장 좋은 것을 확인할 수 있다.

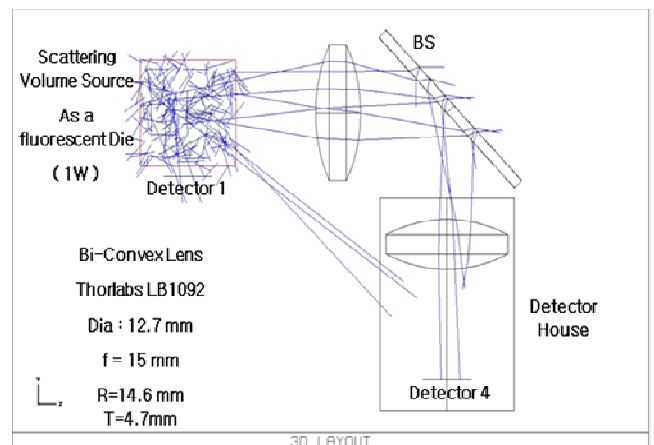


Fig. 2 Volume scattering source model for the fluorescent sample

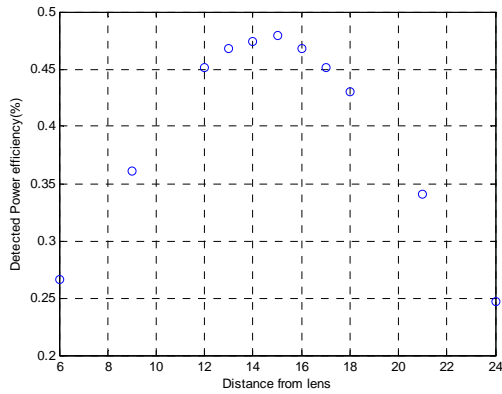


Fig. 3 Detection efficiency depending on the distance from lens

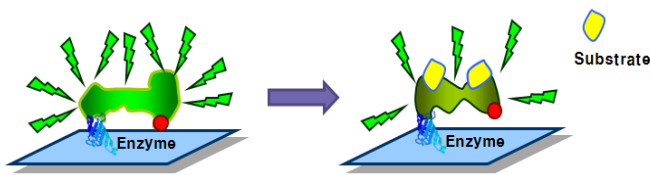


Fig. 4 Schematic of fluorescence intensity reduction by nano-enzyme complex

### 3. 잔류농약 농도 측정 실험

특정 농약성분에 저해(inhibition) 특성을 가지는 생화학적 나노-효소 복합체를 시료에 투입하면 잔류농약의 농도에 따라 효소반응이 일어나게 된다. 이때 효소반응을 대변할 수 있는 reporter 단백질로써 녹색형광단백질(EGFP)을 사용하게 되는데, 잔류농약의 농도가 진할수록 그림 4 와 같이 형광의 세기가 감소하는 반응이 일어나게 된다. 따라서 감소된 형광 세기를 측정하여 잔류농약의 농도를 추정한다.

그림 1 의 반사형 형광 측정 시스템을 이용하여 농도가 2.5 μg/mL 인 형광단백질 2.3 mL 를 샘플셀에 넣고 1 ppb 의 농약(스미치온)을 15 μL 씩 6 회 섞는 동안의 형광 세기변화를 측정하였다. 그 이후에 1 ppm, 20 ppm 의 스미치온 용액과 증류수에 대해서도 같은 실험을 반복하여 농약의 농도에 따른 형광의 세기 감소를 측정하였다.

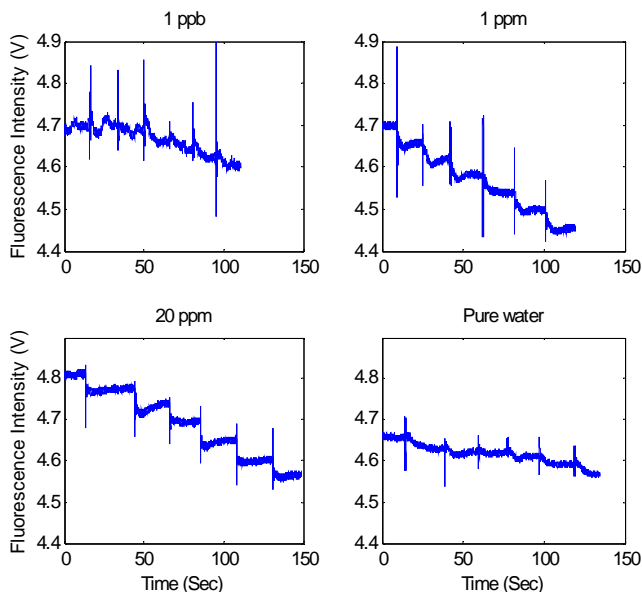


Fig. 5 The results of the fluorescence measurement experiments according to the concentration of Smithion

Table 1 Variation of the fluorescence intensity according to the concentration of Smithion

Concentration of Smithion	Variation of the fluorescence intensity (ΔV)
0 (pure water)	0.083
1 ppb	0.090
1 ppm	0.248
20 ppm	0.258

### 4. 결론

실험결과는 그림 5 와 같은데 서로 다른 농도의 용액을 각각 6 번 떨어뜨리는 동안의 형광의 세기를 전압으로 표현한 것이다. 표 1 에서 알 수 있듯이 스미치온의 농도가 증가할수록 형광의 세기가 감소하는 경향을 확인할 수 있었다. 증류수를 같은 양만큼 떨어뜨린 경우에도 형광의 세기가 감소한 것은 증류수 첨가로 인한 형광단백질이 희석되었기 때문이다. 따라서 본 실험을 통해 본 연구에서 개발한 반사형 형광측정 시스템으로 1 ppb 의 스미치온까지는 충분히 측정됨을 확인하였다. 향후, 여기/방출 필터의 최적 조합을 찾고 형광의 측정 효율을 개선하는 연구가 필요하다.

### 후기

본 연구는 2008 년도 환경부 차세대 핵심환경기술개발사업에 의해 지원되었습니다.

### 참고문헌

1. W. E. Moerner and David P. Fromm, "Methods of single-molecule fluorescence spectroscopy and microscopy," Review of Sci. Ins., **74**, 3597-3619, 2003.
2. Mathies, R.A., Peck, K. and Stryer, L., "Optimization of high-sensitivity fluorescence detection," Anal. Chem., **62**, 1786-1791, 1990.
3. Joseph M. Geary, "Introduction to lens design with practical ZEMAX examples," Willmann-Bell, Inc., 2007.
4. Albani, J.R., "Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy," Wiley-Blackwell, 2007.
5. Guilbault, G.G., Ed., "Practical Fluorescence, 2<sup>nd</sup> edi.," Marcel Dekker, 1990.