Rapid Detection Methods for Agro-Food Safety

Giyoung Kim

Food Quality and Safety Lab., NAAS, RDA, 150 Suinro, Gwonseon-Gu, Suwon, Gyeonggi-Do 441-857, Republic of Korea, e-mail: giyoung@korea.kr

Abstract

Frequent outbreaks of foodborne illness have been increasing the awareness of agro-food safety. Conventional methods for pathogen detection and identification are labor-intensive and take days to complete. The increasing use of rapid food safety testing is receiving more and more attention. The major reason for this trend is that the food industry requires quick and accurate results. The rapid detection of contaminants in food is critical for ensuring the safety of consumers. Recent advances in technology make detection and identification faster, more sensitive and more specific than traditional method. In this paper, technology trends and recent developments in rapid methods for agro-food safety are discussed.

Keywords : Agro-food safety, rapid method, biosensor, PCR

1. 서 론

국민소득 향상 및 건강에 관한 관심 증대 등으로 소비자의 고품질 및 안전 농산물에 대한 요구가 크게 증가하고 있다. 특히, 수입 농산물의 빈번한 식중독균, 독소, 기생충 알 등 각종 유해물질 오염 파동으로 인하여 농산물 안전성에 대한 관심이 크게 높아지고 있으며, 이들 유해물질 오염의 사전 진단에 대한 필요성이 커지고 있다. 하지만, 기존의 농식품 안전성 분석, 특히 식중독균 오염의 분석은 실험실에 설치된 고가 정밀 장비나 배양법에 의존하여 이루어져온 관계로 분석에 따른 비용과 시간이 많이 소요되었고, 농산물 안전성을 짧은 시간 내에 판정하여 오염 농산물에 대한 신속한 조치를 취하는데 많은 어려움이 있었다.

농식품 식중독균의 검출을 위한 기존의 방법은 선택배지를 이용한 배양법, 생화학 및 박테리아의 혈청학 방법, 효소면역측정 방법 등 다양한 방법들이 있다. 이들 방법들은 매우 감도가 좋지만 시료의 전처리나 방해물질 제거, 여러 차례의 배양 등 분석에 많은 시간이 소요되는 단점이 있다.

이에 따라, 농식품 안전성 검사 결과를 빠르게 제공하여 소비자의 안전을 확보하기 위하여, 식중독균의 오염을 신속하게 측정할 수 있는 기술 개발에 대한 관심이 갈수록 늘어나고 있다. 최근 개발된 농식품 안전성 신속진단 기술들은 오염 물질의 검출과 판정을 보다 빠르고, 감도 높고, 선택적으로 수행할 수 있게 해준다. 아래에서는 선택배지, 효소면역반응법, PCR, 바이오센서 등 농식품 안전성 신속진단 분야의 최신 기술들과 연구 현황에 대해 기술 하였다.

2. 신속진단 방법

최근의 바이오기술은 시간이 많이 걸리던 기존 농식품 안전성의 분석 과정을 크게 변화시켰다. 새로운 신속진단 방법은 보다 간단하고, 민감하며, 빠르게 식품 오염 물질을 검사할 수 있게 해준다. '신속'이란 의미는 종래의 미생물학적 방법보다 빠르다는 의미로, 신속진단 방법은 분석에 수 분이 걸리는 것에서부터 며칠이 걸리는 다양한 방법을 포함한다.

농식품은 조성이 복잡하고 각각의 차이가 심하기 때문에 신속진단 방법을 농식품에 적용하는데는 어느 정도 한계가 있다. 단백질, 지방, 유지 등의 물질들이 분석을 방해할 수도 있고, 농식품에 들어있는 일반적인 박테리아가 분석 작업을 방해하기도 한다. 농식품에 들어있는 적은 수의 병원균은 검출하기 힘들고, 식품의 가공은 박테리아 군락과 조성을 변화시킨다. 이런 모든 문제들은 시험전에 시료를 증균 배양시킴으로써 해결할 수 있지만, 시료 처리에 시간이 많이 소요된다.

각 신속진단 방법은 농식품 분석에 적용하기 전에 충분히 평가되어야 한다. 각 방법은 단지 추정 선발시험(Screening test)에 사용할 수 있으며, 음성 반응 결과는 그대로 수용하지만 양성 반응 결과는 표준 검사 방법을 사용하여 확인하여야 한다 (Toldra and Reig, 2006).

일반적으로 사용되는 신속 검출방법에는 중합효소연쇄반응 (PCR: Polymerase chain reaction), 효소면역측정법 (ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay), ATP (Adenosine Triphosphate) 생물발광법 등이 있다.

가. 중합효소연쇄반응

식품내의 미생물을 확인하는 최신 기술 중 하나인 중합효소연쇄반응은 유전자 DNA의 특정 영역을 검출하며, 개별 미생물에 아주 선택적인 유전자를 검출하는 장치가 개발되어 사용되고 있다.

DNA 시발체(Primer)라고 불리는 검출 요소를 잘 선택하면 살모넬라, 리스테리아, 대장균 O157과 같은 병원균을 선택적으로 판별할 수 있다. 검출 기작은 아주 선택적이어서 추가의 확인 단계가 필요없고, 최종 검사 결과는 30시간 이내에 가능하다.

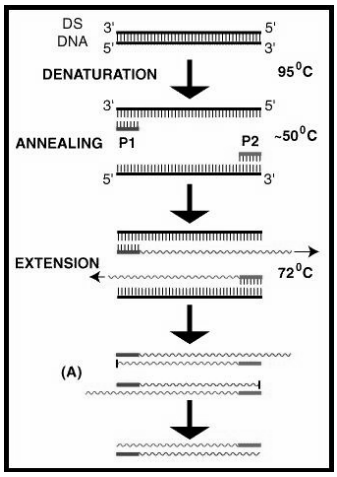

Fig. 1. PCR procedure

이 방법은 특정한 DNA 시발체와 이의 증폭을 이용하여 대상 유전자를 검출한다. 증폭 과정에서 효소중합반응이라고 알려진 기술에 의해 많은 복제 유전자가 만들어진다.

PCR은 특정 유전자 또는 배열 내의 반복되는 영역인 대상 배열의 핵산을 증폭한다. 식품 병원균의 일반적인 대상 DNA 영역은 독성인자, 독소, 세포내 대사물질, 다복제 리보솜 RNA 등이다. 식품 내의 유전자 변형 생물과 그로부터 유도된 물질을 선별하기 위한 PCR 기반 기술도 개발되었다.

후 PCR 검출 방법에는 젤 영동, 교잡 분석, 그리고 특수한 핵산 탐지자를 사용하는 것들이 있다. 탐지자는 젤 영동과 유사하게 단순히 PCR 산물을 검출할 경우도 있고, 특정 박테리아 만을 위해 별도로 선별하는 경우도 있다. 형광 또는 발색 표지 탐지자를 PCR 산물에 사용함으로써 막이나 마이크로웰 위에서 종이나 균주의 판별과 검출이 가능하다.

1) 이종 PCR

식품으로부터 다종 박테리아의 검출, 정량, 생균 분리를 하기 위해 다른 형태의 PCR들이 개발되었다 (Noble and Weisberg, 2005). 다종 박테리아는 각 박테리아 균의 특정 유전자를 대상으로 하는 여러 개의 시발체를 기반으로 하는 복합 PCR에 의해 동시에 분석될 수 있다. 동일 속에 속하는 혼합된 여러 종의 병원균을 판별할 목적으로도 복합 PCR이 사용되어 왔다.

역전사 PCR은 기존 PCR에서 박테리아 세포의 생사를 알 수 없었던 단점을 해결하여, 생균을 선택적으로 검출하기 위해 개발되었다. 이 방법은 역전사 효소를 기반으로 하여5'에서 3' 방향으로의 단일 가닥 DNA를 합성할 틀로서 전령 RNA를 사용한다. 이 기술은 민감하고 사전 배양 단계를 필요로 하지 않기 때문에 분석 시간을 단축할 수 있다. 시료의 박테리아 정량 검출은 정량 PCR을 사용하여 수행할 수 있는데, 이 기술은 반응이 진행되면서 생성되는 PCR 산물을 형광 탐지자나 염료를 사용하여 관찰하는 방법을 이용한다. 분자 표지물질은 배열에 선택적인 형광 탐지자의 예로서, 대상물에 교잡되었을 때 형광을 일으키는 형태 변형을 수반한다.

2) 실시간 PCR

PCR은 검사 대상인 미생물에만 있는 특정한 대상 DNA 배열을 증폭하는 것이다. 첫번째로 미생물의 세포벽을 깨뜨려서 DNA를 방출시키고, 적절한 시발체를 주입한다. 그다음, 형광 탐지자와 함께 DNA를 복제하는 효소인 중합 효소를 첨가한다.

두개의 상보 가닥으로 이루어져 있는 DNA분자는 95℃로 가열하여 분해시켜 서로 떨어뜨린다. 50℃로 냉각시켜 시발체를 대상 DNA 배열에 결합 시키고, 다시 72℃로 가열하면 중합효소는 새로운 DNA 가닥을 합성하기 시작한다.

분리, 결합, 합성의 세 단계로 이루어진 한 주기는 30에서 60회 반복되며, 대상 DNA의 양은 각각의 PCR 주기 마다 두 배로 늘어난다. 형광 탐지자는 양 끝단에 형광발생자와 소멸자 두 개의 표시자를 지닌 형태로 이루어 진다. 반응 혼합물에서 형광발생자와 소멸자가 인접한 상태로 있는 한 탐지자는 안정된 상태여서 형광을 발생하지 않는다. 하지만, PCR 증폭 과정 동안 중합효소는 탐지자를 서로 격리시켜 형광발생자를 풀어놓아 형광이 발생되고, 이 형광 세기를 측정하여 미생물의 수를 알아낸다.

복제된 수가 늘어남에 따라 증가하는 형광을 관찰하여 실시간으로 기록하면, 대상물의 존재를

초기에 알 수 있고, 경우에 따라선 초기 시료에 있던 미생물의 수에 대한 정보도 알 수 있다. 상용 실시간 PCR 장치로는 The BAX System (Dupont), Light Cycler (Roche Diagnostics) 등을 예로 들 수 있는데, 한번에 최대 96개의 시료를 동시에 분석할 수 있다. 또한 PCR 분석 절차를 단순화시키기 위해 분석에 사용되는 시약을 알약 형태의 키트로 만들어 사용하기도 한다.

Foodproof ® (Merck KGaA, BIOTECON Diagnostics) 나 Gene-Trak Assay (Neogen) 등은 살모넬라와 같은 특정 식중독균에 선택적인 DNA 탐지자와 발색 검출 시스템으로 이루어진 PCR 검출 키트를 개발하여 보급하고 있다. Foodproof ® 키트는 Salmonella, Listeria, Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157, Campylobacter, Enterobacter sakazakii., GMO등에 대한 검사가 가능하며, E. sakazakii 와 Enterobacteriaceae종 (Salmonella 포함)은 한 번의 반응으로 동시에 분석할 수 있는 특징이 있다. 이러한 실시간 PCR 검사 키트를 이용하면 18-24시간의 배양과 1.5-2시간의 분석 시간내에 결과를 얻을 수 있다. Gene-Trak 또한 Salmonella, Listeria, E. coli, Campylobacter, Staph. aureus 등 주요 식중독균을 검사할 수 있는 PCR 탐지자를 보급하고 있으며, 이들 키트는 특정 식중독균의 유무에 따라 변하는 흡광도를 미리 정해놓은 설정값과 비교하여 식품 시료의 식중독균 오염 여부를 판단한다.

나. 효소면역측정법

가장 간단한 면역학적 항체 검사는 고무구슬을 이용한 박테리아 세포의 결집과 독소와 같이 용해되는 항원에 대한 역수동 결집을 들 수 있다. 또 다른 방법인 면역형광은 항원과 항체 결합을 시각적으로 나타내기 위해 첨가되는 직접 형광물질로 표지된 항체 또는 형광물질로 표지된 혼합물에 의해 검출되는 항원을 기반으로 한다. 면역분석법은 항원뿐만 아니라 독소와 같은 대사물질도 검출하며, botulinum, cholera, Staphylococcal enterotoxin, C. perfringens enterotoxins, and B. cereus enterotoxins과 같은 것들의 분석 방법이 개발되어 있다. 박테리아를 분리해 내지 않고 보다 많은 양의 식품 시료를 보다 적은 시간과 노력으로 곧바로 분석할 수 있는 최신의 면역학적 방법들이 개발되어 왔다.

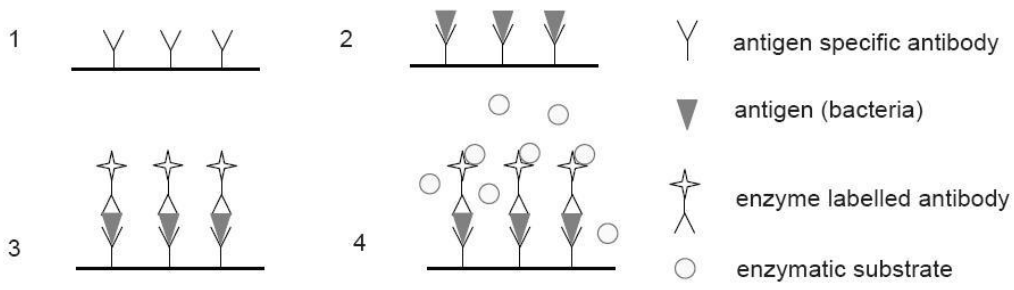

Fig. 2. Schematic presentation of the steps in the indirect enzyme-linked immunosorbent assay: 1) antigen-specific antibody immobilized to a surface; 2) addition of antigen; 3) addition of enzyme labeled antibody; 4) color detection by eye or spectrophotometer due to addition of substrate to enzyme.

현재 효소면역측정법은 면역 기술 중 가장 잘 정립되어 있으며, 간접 또는 샌드위치 ELISA 등이 병원균 검출에 널리 쓰인다(Frank and Hruska, 2005). ELISA 기술은 대상 항원 세포 전체나 B. cereus, Campylobacter spp., E. coli, and Salmonella spp.의 산물을 검출하기 위해 개발되었다.

샌드위치 ELISA 검사에선 1차 항원이 플레이트 웰에 부착된다. 시료에서 추출된 항원을 이 웰에다 첨가하면 항원은 항체에 결합되어 세척한 다음에도 플레이트에 부착 남아있게 된다. 그 다음 peroxidase와 같은 효소로 표지된 2차 항체를 웰에 첨가하고 다시 세척한다. 플레이트에 부착된 분석 대상물의 양은 특별한 기질로 배양한 다음, 배양 중에 변하는 색 변화를 마이크로 플레이트 측정장치로 측정한다. 색 변화는 시료에 포함된 분석대상물의 양에 비례하여 변화한다.

경쟁 ELISA 시험에서는 1차 항체가 플레이트 웰에 부착되고 항원을 포함하는 시료 추출물과 함께 배양한다. 평형상태에 다다르면 효소로 표지된 항원을 첨가한다. 이 결합물은 1차 항체의 비어있는 반응기에 결합되므로, 시료에 더 많은 항원이 있다면 효소가 결합된 항원이 보다 적게 결합된다. 적절한 특정 기질을 첨가하고 배양하면 플레이트는 발색하게 된다. 이 경우 발색과 시료에 포함된 분석대상물의 농도 사이에는 반비례 관계가 있다.

또 다른 효소면역측정법인 측방유동 면역발색법은 (Leake, 2007) 식중독균, 알러지 원인물질, 독소, 유전자 변형물질 등을 검출할 수 있다. 이런 유형 검사 키트의 일반적인 검사 방법은 그림 3과 같다.

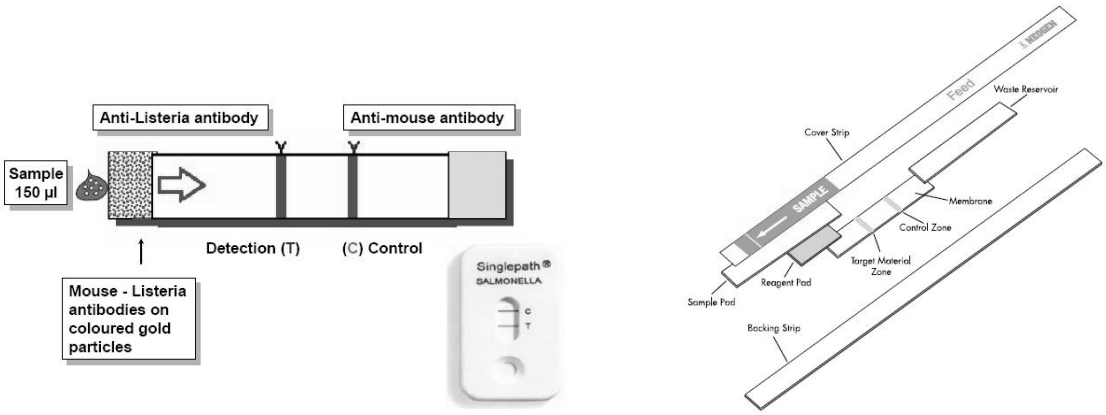

Fig. 3. Testing procedures of Lateral Flow Immunochromatic Assays

우선 증균 또는 추출된 시료를 장치의 시료 주입구에 넣는다. 시료는 발색 입자가 부착되어 있는 분석대상물에 선택적인 항체를 담고 있는 시약 영역을 통과하게 된다. 만약 분석대상물이 존재하면 항체와 결합물을 형성한다. 분석대상물-항체-발색입자의 결합물은 시약 영역을 지나 막을 통해 장치의 시험 영역으로 유입된다. 시험 영역은 이 결합물을 포획할 수 있는 분석대상물에 특이적인 항체를 지니고 있어, 눈으로 확인할 수 있는 색 띠를 표시한다. 나머지 시료는 계속 흘러가 막의 끝에 있는 폐액 저장소로 흘러 들어간다.

시약 영역은 또한 분석대상물의 유무와 관계없이 용리되는 콘트롤 면역 결합물을 포함한다. 이 콘트롤 결합물은 막을 통해 콘트롤 영역으로 이동하여 색 띠를 형성한다. 분석대상물의 유무에 상관없이 형성되는 색 띠로 검사의 성공적인 수행여부를 확인할 수 있으며, 이러한 유형의 키트

는 여러 회사에 의해 시판되고 있다. (Redline Alert (TetraCore Inc.), Singlepath (EMD Chemicals Inc.), Rapid Check (Strategic Diagnostics Inc.), Reveal (Neogen Corporation), 1-2 TEST (Biocontrol))

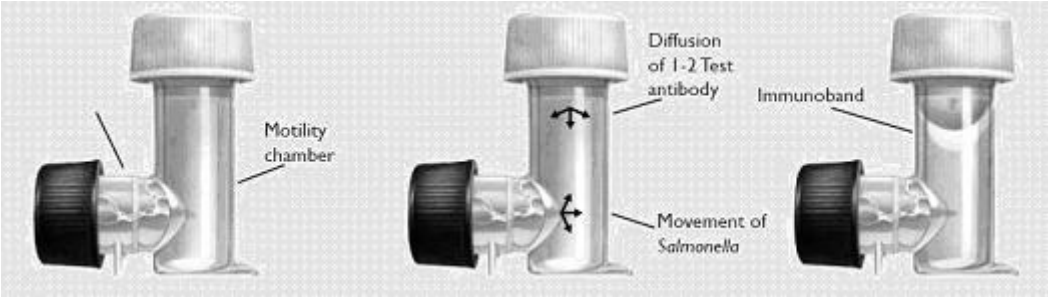

Fig. 4. Testing procedures of Immunoband assay.

다. 생물발광 ATP 방법

모든 살아있는 세포는 세포내의 저장된 대사 에너지의 조절, 효소 체계의 유지, 그리고 성장의 각 단계 동안 세포 조성물의 생합성에 필요한ATP를 함유한다. 죽은 세포에서는 ATP는 몇 분내에 자기분해에 의해 분해된다. 따라서 ATP는 미생물의 생체량 측정에 사용될 수 있다. 박테리아 및 효모의 양과 세포내 ATP 수준 사이에 선형 관계식이 있는 것으로 알려져 있다.
반딧불이(Photuris pyralis)의 ATP 발광 반응에 기반한 아주 신속하고 민감한 ATP 분석법이 식품과 음료수의 일상적인 미생물 분석을 위한 전통적인 평판 계수법의 대체방법으로 개발되었다. 반딧불이 발광효소는 ATP의존 루시페린의 산화적 탈탄산을 촉진시켜 빛을 생성한다.

$$(LH2) + ATP + O_2 \xrightarrow{Mg^{2+}} P + AMP + PPi + CO_2 + h\nu$$

상용 수동 또는 자동 발광분석기는 100 개의 박테리아 세포에 해당하는 큐벳당 0.1 pg 의 ATP를 측정할 수 있다. 다양한 미생물의 안정 상태의 ATP 수준 정량화 결과 박테리아에는 0.1 에서 4.0 fg/CFU (평균 1 fg /CFU), 효모에는 10 에서 100 fg/CFU 의 ATP 수준이 분포하는 것으로 밝혀졌다 (Dostalek and Branyik, 2005).

ATP 발광에 의한 식품 안전성 검사는 상용 발광측정기를 이용하여 현장에서 측정할 수 있는데, Lumac Hygiene Monitoring Kit , LuciPac W& Lumitester PD-10 등을 예로 들 수 있다.

3. 향후 전망

위에서 언급한 것과 같은 시장에서 구입 가능한 새로운 기술들은 식품오염 물질의 사전 검사가 늘어나면서 향후 그 사용과 시장이 증가할 전망이다. 이러한 신속검사 기술의 발전은 농식품 안전성 향상에 기여할 것으로 기대된다. 이미 개발되어 시판되고 있는 이러한 기술 이외에도 농

식품의 안전성을 확보할 수 있는 신속검사 기술로서 바이오센서, 유세포분석기(Flow cytometry), DNA 마이크로어레이 등이 주목받고 있다.

가. 바이오센서

바이오센서는 PCR, 면역반응법, 배양법과 비교했을 때 식중독균 검사를 위한 가장 빠르게 성장하고 있는 기술이다(Alocilja and Radke, 2003). 바이오센서는 DNA, 항체, 효소, 박테리오파지 단백질 등 생체물질, 생체에서 유래된 물질, 생체모방물질을 센서의 감지부로 사용하고, 이를 통해 감지된 신호를 측정 가능한 신호로 변환시키는 신호변환기에 결합시킨 측정 장치를 말한다. 바이오센서는 생물학적 분자식별부를 사용하기 때문에 선택성이 높아 측정 대상 물질과 유사한 물질을 잘 구분하며, 실시간 측정이 가능할 정도로 반응시간이 빠르고, 감지부와 신호변환기를 조합하여 작고 간편하게 만들 수 있으며, 측정 대상물에 영향을 주지 않고 연속적으로 측정이 가능한 장점을 지니고 있다.

바이오센서는 최근 들어 의료용을 포함한 여러 산업분야에서 높은 활용 가능성을 보여주고 있으며, 농식품 및 농산물 안전성 분야에서도 식중독균의 신속검출기술 개발을 가능케 할 기술로서 많은 기대를 받고 있다. 바이오센서는 시료에 들어있는 분석대상물의 유무나 이에 따른 물리화학적 변화를 측정 가능한 신호로 변화시킨다. 바이오센서로 측정할 수 있는 분석대상물의 범위는 매우 넓은데, 발암물질, 대기오염 물질, 농약, 독소, 식중독균, 바이러스 등 다양하며, 식중독균 검출을 위한 바이오센서 개발도 활발하게 진행되고 있다.

바이오센서는 감지물질로부터 얻어진 신호와 그 변환방법에 따라 광학식, 전기화학식, 압전식 등 여러 가지로 분류된다.

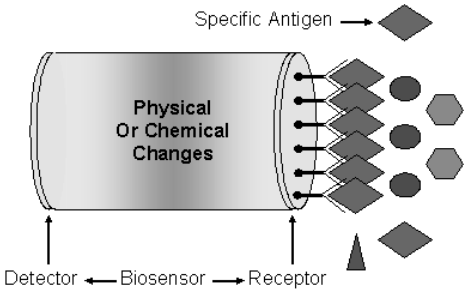

Fig. 5. Basic components of a biosensor.

1) 광학식 바이오센서

광학식 바이오센서는 광섬유, 표면플라즈몬공명(SPR: Surface Plasmon Resonance), 발광, 형광, 흡광도 등을 이용한다. 광섬유는 가격이 싸고, 소형이며, 다른 신호와의 간섭이 작고, 반응시간이 빠르고, 측정 대상 세균에 대한 선택성이 높아 많은 관심을 받고 있다. 광학식 바이오센서를 이용하여 육류나 가금류에 들어있는 살모넬라, 대장균, 리스테리아와 같은 세균을 검출하는 연구들이 농촌진흥청, 퍼듀대, 조지아 공대 등의 연구진들에 의해 보고된 바 있다.

광학식 바이오센서 중에서 광섬유 바이오센서는 낮은 검출한계, 재사용 가능성, 그리고 광통신 관련 전자 및 광학 부품의 지속적인 발전에 따른 성능향상 등으로 많은 분야에 걸쳐 활용되고 있다. 이 센서들은 특정 세균에 선택적으로 반응하는 항체를 이용하며, 여러 광섬유에 서로 다른 항원을 고정시켜 여러 종류의 세균을 동시에 측정하는 것도 가능하다. 경우에 따라 다르지만, 2시간 이내에 세균을 검출할 수 있으며, 작게는 100 CFU/mL 의 농도까지 검출이 가능하다. 최근엔 보스톤대학의 연구진들에 의해 박테리아 DNA 분석이 가능한 젭토몰(10^{-21} mol)의 측정 성능을 갖는 광학식 바이오센서도 연구되고 있다.

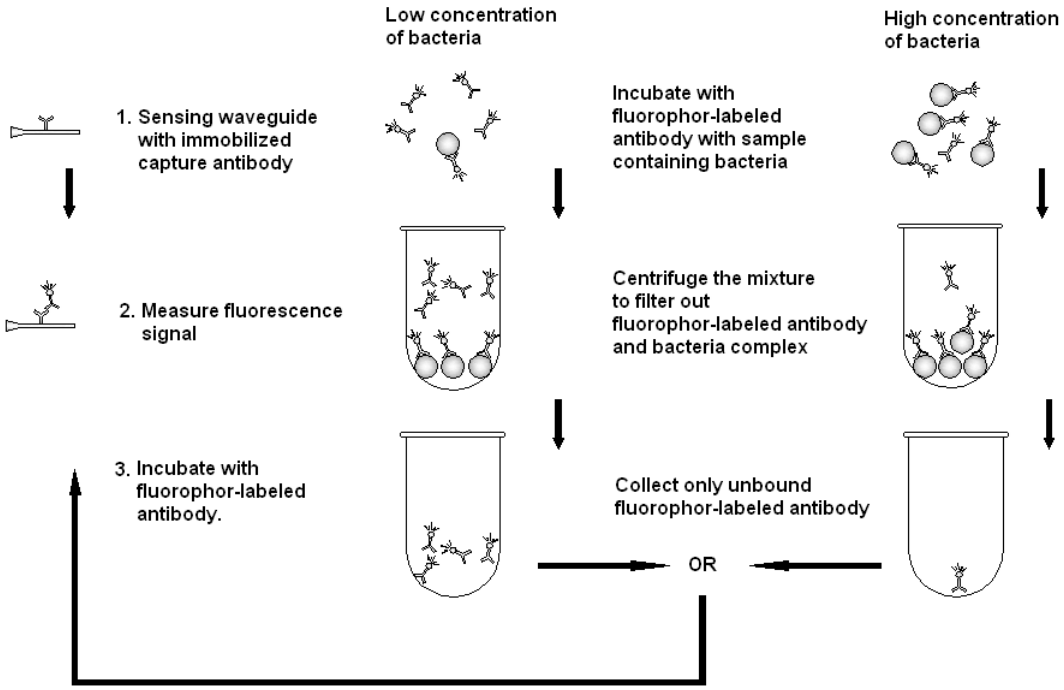

Fig. 6. Detection procedure for foodborne pathogens with a fiber-optic biosensor.

SPR 바이오센서는 금속박막 전자들의 집단적인 진동(Surafce Plasmon)을 광학적인 방법으로 유도하여 금속박막의 표면근처에서 일어나는 물리, 화학적 변화를 측정한다. SPR은 다른 바이오센서에 비해 계측시 샘플에 손상이나 변형을 작게 주며, 형광 측정법처럼 화학적인 표식자를 추가하지 않아도 고감도로 생화학적 반응을 계측할 수 있는 장점이 있다. SPR 바이오센서는 대장균 O157:H7의 측정, 해양 환경에서의 세균과 바이러스 검출, 토양의 세균오염, 농식품의 잔류농약 측정 등의 연구에 이용된 바 있다.

그 밖에도 형광, 발광, 흡광도, 굴절율의 변화를 측정하는 다양한 광학식 바이오센서가 있다. 형광 기술은 형광 물질의 형광을 직접 측정하거나, 형광공명에너지전이 (FRET: fluorescence resonance energy transfer) 바이오센서의 경우처럼 에너지 주게(donor)가 발생하는 단파장 형광이 에너지 받게(acceptor)의 여기광으로 작용하여 장파장 형광을 유도하는 방식으로 감도를 높이는 형식도 있다.

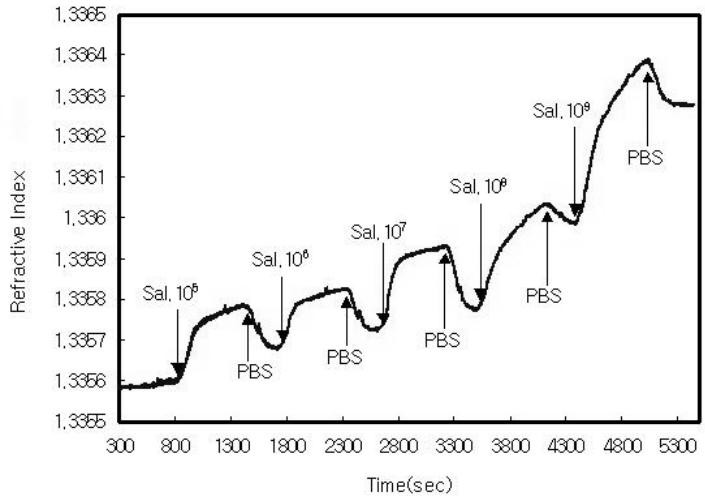

Fig. 7. Response of the biosensor to various concentrations of fragmented Salmonella cells in PBS.

2) 전기화학식 바이오센서

전기화학식 바이오센서는 센서와 시료 경계에서 변화하는 전류, 전압, 저항 등 전기적인 신호 변화를 측정한다. 전류나 전압의 변화를 측정할 경우, 일반적으로 효소가 고정화된 막과 이 막으로 둘러싸인 pH 전극을 많이 사용하며, 촉매반응을 통하여 발생하는 수소이온의 농도를 측정한다.

전기화학식 바이오센서는 세균 분석을 위하여 널리 사용되었는데, L-lactate를 이용하거나, DNA 염기서열을 이용하여 우유의 세균 오염을 분석하는 방법 등이 있다. DNA 합성과 관련된 전기화학적 검출은 일정한 전압을 가한 상태에서 변화하는 전류나 전기전도도 또는 정전용량의 변화를 이용한다. LAPS (light-addressable potentiometric sensors) 센서와 같이 EIS(Electrolyte insulator semiconductor) 구조의 반도체 표면에 광을 조사한 후 pH 변화에 의존하는 광전류의 변화를 감지하여 pH 변화값을 출력한다.

미국 농무부의 연구자들은 LAPS 센서에 면역 리간드를 조합한 장치를 이용하여 대장균 O157:H7을 30-45분 만에 검출할 수 있었다. 이 장치에서 세균은 특정 항체가 고정된 필터막에 걸리고, 막에 인접한 실리콘 센서에 빛을 조사함으로써 pH 의 변화를 검출하게 된다. 측정된 신호는 세균수에 비례한 결과를 나타내었고, 2.5×10^4 CFU/mL 의 E. coli O157:H7을 감지할 수 있었다.

마이크로 단위의 미세전극의 임피던스 값의 변화를 이용하여 식중독균을 신속하게 검출하는 기술도 개발되고 있는데, 임피던스 바이오센서는 전극 표면에 생물분자의 검출부를 형성하여 특정 생물재료의 정전용량과 저항 변화를 함께 분석할 수 있는 도구로서 많은 분야에서 활용되어 왔다. 임피던스 바이오센서는 폭넓은 교류 입력에 대한 측정 대상물의 임피던스 반응을 분석함으로써 재료의 특성을 다양하게 분석할 수 있다는 것과 전기적인 모델링을 통한 센서의 반응을 이론적으로 해석할 수 있다는 장점 때문에 다양한 생물재료의 특성을 분석하는 연구에 활용되어 왔다 (Felice 등, 1999). 농촌진흥청과 한양대학교에서는 임피던스 바이오센서를 이용하여 살모넬라 식중독균을 10여분의 분석시간 내에 10^3 CFU/mL 까지 검출한 바 있다 (Kim et al., 2009).

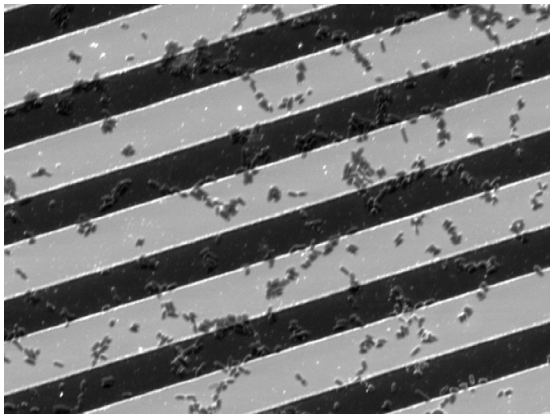

Fig. 8. SEM image of an impedimetric biosensor on which bacteria is bound to antibodies immobilized onto biosensor surface (1,100×).

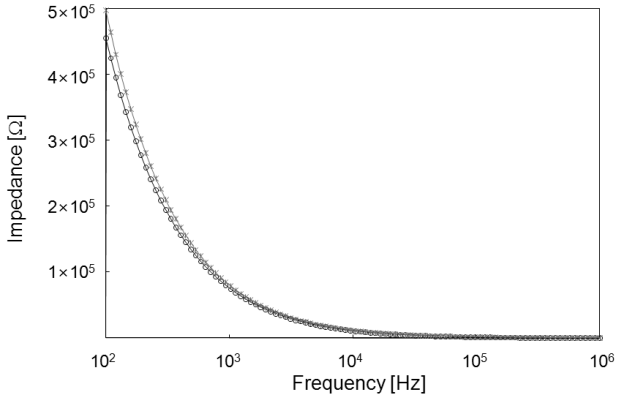

Fig. 9. An impedance spectrum of samples of pure PBS (O) and 10^9 CFU/mL (*.).

3) 압전형 바이오센서

압전형 바이오센서는 센서 표면을 따라 전파되는 음파의 속도나 크기의 변화를 진동수 변화 형태로 측정하여 대상물의 질량, 밀도, 점도 등의 변화를 감지하는 센서이다. 여러 연구자들에 의하여 압전형 바이오센서를 이용하여 미생물을 검출한 결과가 보고되었는데, PCR-압전 바이오센서를 이용한 대장균 O157:H7의 염기 서열 분석 연구에서는 PCR을 통하여 증폭된 대장균 O157:H7의 독특한 DNA를 압전 바이오센서 표면에 고정된 검지자를 이용하여 검출할 수 있었다.
또한, 폴리크로날 항체를 QCM(Quartz Crystal Microbalance) 표면에 고정시켜 살모넬라 식중독균을 검출할 수 있는 바이오센서도 개발된바 있다. 이 센서는 350 CFU/mL 의 농도까지 측정할 수 있었으며, 10^2-10^7 세균/ml 의 구간에서 선형 비례관계를 나타내었다.

나. 유세포 분석기(Flow cytometry)

유세포 분석기는 포유류 세포나 염색체 분석에 많이 사용되어 왔지만, 미생물 분야에 대한 응

용 연구가 계속 수행되어 왔으며, 이를 이용하여 박테리아의 검출이나 판별을 위한 기술을 개발할 수 있을 것으로 보인다.

유세포 분석기는 일반적으로 광원, 시료 주입을 위한 유로, 전자제어기, 컴퓨터의 네 가지 주요 구성품으로 이루어진다. 광학 렌즈는 광원으로 주로 사용되는 레이저광을 조사하여 세포와 같은 시료에 초점을 맞춘다. 세포가 유세포 분석기의 조명 영역을 통과하면 이를 둘러싼 유체가 레이저 광과 세포 사이를 일정하게 정렬시켜 준다. 분석 지점에서 렌즈는 세포로부터의 신호를 모아 광센서(광다이오드 또는 광자계수기)로 전달하여 광신호를 전기신호로 변환시킨다. 전기신호는 A/D 변환기에 의해 디지털 신호로 변환되어 컴퓨터 소프트웨어를 이용하여 적절한 분석 과정을 거치게 된다.

다. DNA 마이크로 어레이

DNA 마이크로 어레이는 형광 지시자가 결합된 시료의 대상 DNA와 교합할 수 있도록 유리, 실리콘, 나일론 재질과 같은 단단한 표면에 DNA 조각이나 올리고핵산(Oligonucleotide)과 같은 다수의 탐지자를 고정화시킨다. 대상체는 시료에서 분리된 유전체 DNA나 증폭된 PCR 산물이다. DNA 마이크로 어레이에는 유전적 마이크로 어레이나 올리고핵산 마이크로 어레이의 두 종류가 있다. DNA 마이크로 어레이는 탐지자가 미생물 균주의 완전한 유전자 또는 일부 조각을 사용하고, 올리고핵산 마이크로 어레이에서 대상 DNA는 18에서 70 개 정도 핵산 길이의 올리고핵산에 교잡한다. 식중독균 검출에 두 가지 마이크로 어레이 모두 사용될 수 있지만, 일반적으로 rRNA나 균력유전자의 유전 DNA를 직접 검출하거나 DNA 일부가 증폭된 PCR을 검출하는데 사용한다. 식중독 사고가 일어났을 때, 식중독균의 검증이나 여러 가지 다른 식중독균의 판별, 그리고 균력을 판별하기 위한 마이크로 어레이 들이 개발되어 왔다. 여러 가지 유전적 특징을 동시에 분석할 수 있고, 어떤 특정한 분석을 위해 유연한 어레이를 개발할 수 있기 때문에 DNA 마이크로 어레이는 식품 안전성 향상을 위한 매우 유용한 도구가 될 수 있다 (Janzten et al., 2006). 하지만, 실제 농식품 산업에서 국민의 건강을 증진시키기 위해서는 보다 경제성이나 실용성을 높일 수 있는 연구가 계속되어야 한다.

4. Reference

Alocilja, E.C., Radke, S.M., 2003. Market analysis of biosensors for food safety. Biosensors and Bioelectronics 18: 841-846.

Franek, M., Hruska, K., 2005. Antibody based methods for environmental and food analysis: a review. Vet. Med.-Czech 50: 1-10.

Janzten, M.M., Navas, J., Corujo, A., Moreno, R., Lopex, V., 2006. Review: Specified detection of Listeria monocytogenes in foods using commercial methods: from chromogenic media to real-time PCR. Spanish Journal of Agricultural Research 4(3): 235-247.

Kim, G., Moon, J.H., Hahm, B.K., Morgan, M., Bhunia, A., and Om, A.S., 2009. Rapid

Detection of Salmonella enteritidis in Pork Samples with Impedimetric Biosensor: Effect of Electrode Spacing On Sensitivity. Food Sci. Biotechnol. 18(1): 89-94.

Leake L.L., 2007. New worlds of microbiological testing. Foodtechnology 7: 90-94.

Noble, R.T., Weisberg, S.B., 2005. A review of technologies for rapid detection of bacteria in recreational waters. Journal of Water and Health 3(4): 381-292.

Pavel Dostalek and Tomas Branyik, 2005. Prospects for Rapid Bioluminescent Detection Methods in the Food Industry – a Review. Czech J. Food Sci. 23(3): 85–92.

Toldra, F., Reig, M., 2006. Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. Trends in Food Science & Technology 17: 482-489.