Biosensor의 식품공업적 응용

서울여자대학교 식품과학과 노 봉 수

I. 서 론

오늘날 식품공업분야에 있어서도 다른 산업분야와 마찬가지로 단일공정이 연속공정으로 바뀌거나 또는 공정이 자동화되는 추세를 보여주고 있다. 자동화 공정에서 기본적으로 요구되는 것은 최종 산물의 품질검사 뿐만 아니라, 수시로 중간산물의 품질을 관리할 수 있는 측정장치가 요망된다. 공정별로 시료를 채취하여 분석하는 방법의 하나로, 근적외선 반사에 의한 방법은 제품의 수분, 단백질, 지방 등을 동시에 측정할 수 있다(1). 이러한 방법은 시료에 손상을 입히지 않고, 또 위생적이기는 하나 특이성이나 감응도가 떨어져 각 제품마다 특별한 보정이 뒤따르게 된다.

식품은 유통기간이나 저장기간 중에서도 여러가지 화학적 변화가 일어난다. 따라서 품질을 변질시키거나 또는 품질에 영향을 주는 성분을 정확히 측정하여 그 제품의 수명(shelf-life)을 예측하는 일 또한 매우 중요한 일이다. 그러므로, 미량의 특이한 성분이라 할지라도 아주 정확하고 신속한 측정방법이 요망된다. 이러한 문제점을 해결할 수 있는 방안의 하나로서 바이오센서를 생각할 수 있는데, 본고는 이제까지 식품공업에 있어서 바이오센서의 이용실태가 어떠한 상황이며 아울러 앞으로의 이용방안을 모색하고자 한다.

II. 바이오센서의 장점

바이오센서는 분석하고자 하는 시료와 생체촉매와의 전기, 화학작용 등에 의해 형성되는 전자, 또는 전류, 가스, 수소이온농도, 열 등을 물리적 신호로 전환, 확대시킨 후 검출기에 의하여 정량할 수 있도록 만들어진 장치이다. 이러한 transducer의 생체촉매로서는 주로 효소나 미생물 또는 면역체 등이 사용되며 이미 의약, 임상분야에서는 널리 이용되고 있으나 식품분야에서는 많은 응용이 이루어지지 못한 실정이다. 이러한 바이오센서를 식품공업에 이용할 경우 다음과 같은 장점을 기대할 수 있겠다. 첫째, 높은 선택성과 특이성을 얻을 수 있어, 색소가 존재하거나 혼탁한 시료의 경우 특별한 전처리 과정을 통해 색소물질이나 혼탁물질을 제거할 필요가 없으며 그대로 측정할 수 있다. 둘째, 연속적으로 측정이 가능하여 같은 반응조에서 수시로 반복되는 측정의 경우 매 측정당 가격이 저렴하여 가격문제가 해결 가능하다. 세째, 시료를 마쇄하지 않고 측정할 수 있어 공정제어에는 용이하게 사용할 수 있다. 넷째, 숙련되지 않은 사람도 쉽게 분석할 수 있으며, 다섯째, 신속한 측정이 가능하고 재현성이 있다. 마지막으로 흐르는 액체의 경우 다양한 시료의 측정이 가능하다.

III. Biosensor의 이용

식품공업에 Biosensor가 이용된 경우는 크게 두 가지 영역으로 나누어 생각해 볼 수 있다. 그 중 하나는 공정제어분야이고 또다른 분야로는 품질관리를 위한 분석으로 나눌 수 있겠다.

1. 공정제어

주로 발효공정에서 발효산물 또는 중간생성물의 양을 측정함으로써 발효공정을 조절하는 장치에 이용된 경우라 할 수 있겠다. 앞에서 언급한 장점들 때문에 물리적 센서에 비해 보다 효과적일 수 있는데, 비교적 안정성이 높은 미생물센서를 이용

하여 공정제어에 사용한 경우로는 glucose sensor (2), total assimilable sugar sensor(3), 초산센서(4), 알코올센서(5), cell population을 측정하기 위한 센서(6), formic acid sensor(7), glutamic acid sensor(8) 등이 개발되었고 일부는 현재 공장에서 이용되는 것으로 알려졌다.

미생물센서의 경우와는 달리 효소반응에서 일어나는 열변화(Table 1)를 고정화한 효소와 thermistor 장치 등을 이용하여 측정하는 방법이 고안되었다(10, 11). 효소반응의 미세한 열변화라 할지라도 증폭장치를 거쳐 알고자하는 성분의 양을 측정하는 이러한 장치의 전극을 thermal enzyme probes(TEP)라고 부르는데, 혼탁한 시료나 진한 정색반응으로 분광광도계와 같은 장치를 사용하기 곤란한 공정에서 사용할 수 있다는 장점이 있으나, 기계장치가 비싸고 용기안에서 반응물질이 축적되는 경우 짧은 시간내에 연속적으로 측정하기에는 무리인 단점을 내포하고 있다. 그럼에도 불구하고, 발효공정에서 형성되는 단당류나 이당류 TEP에 의해 측정할 수 있으며, 따라서 발효공정을 조절할 수 있게 되는 것이다. 설탕의 경우 invertase(12)를 이용하여 0.005~100 mM 범위안에서 측정이 가능하고, 포도당을 함유한 유당이나 cellobiose와 같은 이당류의 경우에는 먼저 효소에 의해 이당류를 가수분해시키고 나서 glucose oxidase/catalase thermistor에 의해 측정함으로써 발효공정의 조절이 가능하다. Mandenius 등(13)은 자당센서 thermistor를 이용하여 에탄올 발효를 측정하고 조절하였다. 또, 자당으로부터 포도당을 생산하는 Bioreactor에서 자당·포도당 Enzyme thermistor를 이용, feedback control하는데 성공하기도 하였다(14).

Table 1. Molar Enthalpies of Enzyme-Catalyzed Reactions (9).

Enzyme	Substrate	$-\Delta H$ (kJ/mole)
Catalase	Hydrogen peroxide	100.4
Cholesterol oxidase	Cholesterol	52.9
Glucose oxidase	Glucose	80
Hexokinase	Glucose	27.3
Lactate dehydrogenase	Sodium pyruvate	62.1
Trypsin	Benzoyl-L-arginineamide	27.8
Urease	Urea	6.6
Uricase	Urate	49.1

2. 품질관리

중간공정의 산물 혹은 최종제품 중의 성분을 분석하여 품질을 관리하거나 저장 중에 변화되는 성분을 신속하고 정확하게 측정하여 제품의 shelf-life를 설정하기 위하여 이용되는 경우라 하겠다.

1) 식품 중의 sucrose

식품에 함유된 자당을 분석하기 위하여 glucose oxidase, catalase, 그리고 invertase를 고정화한 효소전극이 사용되어 왔으나, 안정성이 떨어지고 오랜기간 사용하는데 문제점이 있었다. Nabi Rahni 등(15)은 다음과 같은 효소 3가지를 돼지창자 membrane에 고정화시켜 효소센서로 사용하였는데, 이러한 효소센서의 경우 매우 안정할 뿐만 아니라 감응도로 좋고 특히 fructose, lactose, melibiose, 그리고 raffinose 등에 의하여

$$\text{Sucrose} + H_2O \xrightarrow{\text{invertase}} \text{Fructose} + \alpha\text{-D-Glucose}$$

$$\alpha\text{-D-Glucose} \xrightarrow{\text{mutarotase}} \beta\text{-D-Glucose}$$

$$\beta\text{-D-Glucose} + O_2 \xrightarrow[\text{oxidase}]{\text{glucose}} H_2O_2 + \text{Gluconic acid}$$

Table 2. Comparison of the sucrose electrode (y) and glucose electrode with invertase (x) when food products are analyzed.

Food sample	Sucrose found, mM	
	Sucrose electrode	Glucose electrode/invertase
Soft drink	36.6	44.2
Diet soft drink	0.0	0.0
Grape juice	88.8	116
Orange juice	262	274
Banana baby food	28.7	30.0
Peaches baby food	31.4	29.6
Apricot baby food	33.9	31.0
Wine A	214.0	241.0
Wine B	45.5	46.9

$y = 1.08x + 1.11$

$T = 0.98$

방해를 받지 않는 것으로 알려졌다. 각종 식품의 sucorse를 invertase로 가수분해한 후 glucose electrode로 측정한 결과와 위에서 언급한 sucrose electrode로 측정한 것과 서로 비교한 결과 매우 일치하고 있으나(Table 2) sucrose electrode의 경우 보다 오랜기간 사용이 가능하다.

2) 바나나의 성숙도 예측

바나나 과일은 숙성함에 따라 당농도가 증가되는데 이러한 증가는 시간에 따라 상당히 민감함으로 신속한 분석이 요망된다. HPLC에 의한 방법이나 효소 Kit를 이용하는 경우 전처리 과정을 위해 최소한 2~3시간이 소요되는 것으로 알려져 있으나 glucose biosensor를 이용하는 경우 불과 5분이내에 분석이 가능한 매우 유용한 방법이라 할 수 있겠다(16). 뿐만 아니라, 바나나 숙성과 관련하여 형성된 가용성 팩틴성분이나 페놀성분의 중합반응물은 HPLC에 의한 분석에서 영향을 미치는 것으로 알려져 glucose biosensor에 의한 방법이 기존방법보다도 월등함을 보여주었다.

3) 생선의 신선도

생선은 죽자마자 바로 ATP가 분해되며 이어 계속해서 다음과 같은 과정을 따라 uric acid로까지 변하게 된다.

ATP → ADP → AMP → IMP → HxR → Hx → X → U

ATP : adenosine triphosphate
AMP : adenosine 5′-phosphate
HxR : inosine
X : xanthine
ADP : adenosine diphosphate
IMP : inosine 5′-phosphate
Hx : hypoxanthine
U : uric acid

이러한 변화과정은 nucleotide의 양이 생선의 신선도와 밀접한 관계를 보며 주고 있는 것으로 알려져 있다(17). 이들 nucleotide의 농도는 급작스럽게 변화하기 때문에 각 nucleotide를 동시에 측정해야만 신선도를 신속하게 예측할 수 있게 된다. 많은 효소센서가 단일성분만을 측정하게 되어 있기 때문에 다중 효소센서(multienzyme sensor)로 여러가지 성분을 동시에 측정하는 것이 요망되었다. Karube 등(18)은 5′-nucleotidase membrane과 nucleotide phosphorylase-xanthine oxidase membranse을 산소전극에 연결하는 효소센서를 통하여 이들 IMP, HxR, Hx를 동시에 측정하고, 이를 바탕으로 생선의 신선도를 예측할 수 있었다.

IV. 앞으로의 방향

바이오센서는 특이성이 매우 월등하고 감응도가 높기 때문에 식품재료 성분 뿐만 아니라 미량물질, 첨가물, 농약성분, 그리고 독성물질까지도 분석하는데 용이하게 이용될 수 있을 것이다. 그리고 식품의 미생물상태라든가 산패에 의한 변질을 나타내주는 marker chemicals 농도를 1분이내에 측정함으로써 신속하게 품질관리를 이룰 수 있으리라 믿는다. 그러나 일반적으로 식품공정은 비교적 높은 온도에서 이루어지기 때문에 열에 안정한 생물체를 이용하여 Biosensor를 개발하는 것이 무엇보다도 중요한 관건이라 할 수 있겠다.

그리고 바이오센서를 micro-needle type으로 만든 후, 여러가지의 sensor joint를 동시에 고기나 생선부위에 찌름으로써 한 제품의 부위별 성분을 분석하게 되고 나아가 제품의 수명기간을 보다 정확하게 예측할 수 있는 자료를 제공할 수 있을 것이다. 아울러 여러 효소를 함께 고정화시키거나, 또는 새로운 장치의 시스템을 통하여 한 성분 뿐만 아니라 여러가지의 성분을 동시에 신속하게 분석할 수 있는 Biosensor 시스템을 개발한다면 식품공업의 자동화는 더욱 가속화될 것이다.

참고문헌

1. MaFarlane, I., "Automatic Control of Food Manufacturing Process", Applied Science Publishers, London, 1983.
2. Karube, I., Mitsuda, S. and Suzuki, S., *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **7**, 343 (1979).
3. Technicon Industrial Systems, No. 142-71A, 1972.
4. Hikuma, M., Kubo, T., Yasuda, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Anal. Chim. Acta*, **109**, 33

(1979).
5. Hikuma, M., Kubo, T., Yasuda, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 1845 (1979).
6. Matsunaga, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 117 (1979).
7. Matsunaga, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **10**, 235 (1980).
8. Hikunama, M., Obana, H., Yasuda, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Anal. Chim. Acta*, **116**, 61 (1980).
9. Guilbault, G.G. "Analytical Uses of Immobilized Enzymes", Marcel Dekker, New York, 1984.
10. Mosbach, K. and Danielsson, B., *Anal. Chem.*, **53**, 83A (1981).
11. Mosbach, K. Danielsson, B., Borgerude, A. and Scott, M., *Biochim. Biophys. Acta.*, **403**, 256 (1975).
12. Mandenius, C.F., Danielsson, B. and Mattiasson, B., *Acta. Chem. Scand. Ser. B.*, **34**, 463 (1980).
13. Madenius, C.F. Danielsson, B. and Mattiasson, B., *Biotechnol. Lett.*, **3**, 629 (1981).
14. Mandenius, C.F., Bulow, L., Danielsson, B. and Mosbach, K., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **21**, 135 (1985).
15. Nabi Rahni, M.A., Lubrano, G.J. and Guilbault, G.G., *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 1001 (1987).
16. D'Costa, E.J., Dillon, M., Hodgson, F.J.A. and Quantick, P.C., *Analyst*, **113**, 225 (1988).
17. Saito, T., Arai, A. and Matsuyoshi, M., *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **24**, 749 (1959).
18. Karube, I., Matsuoka, H., Suzuki, S., Watanabe, E. and Toyame, K., *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 314 (1984).