

바이오테크놀로지 분야에서의 전자코 이용

임 채 란 · 노 봉 수
서울여자대학교 식품과학부

(접수 : 2007. 11. 4., 게재승인 : 2007. 12. 21.)

Application of Electronic Nose in Biotechnology

Chae-Lan Lim and Bong Soo Noh

Division of Food Science, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

(Received : 2007. 11. 4., Accepted : 2007. 12. 21.)

It's not easy to detect the specific compounds from various compounds that fermented in bioreactor. The electronic nose was an instrument, which comprised of an array of electronic chemical sensors with partial specificity and an appropriate pattern recognition system, capable of recognizing simple or complex volatiles. It can conduct fast analysis and provide simple and straightforward results and is best suited for quality control and process monitoring in field of biotechnology. This review examined the application of electronic nose in biotechnology and brief explanation of its principle. In this minireview numbers of applications of an electronic nose in biotechnology include monitoring fermentation process, to overcome interference with alcohol, and to detect contaminant microorganism were discussed. The electronic nose would be useful for a wide variety of biotechnology when correlating analytical instrumental data with the obtained data from electronic nose.

Key Words : Electronic nose, biotechnology, fermentation, application

서 론

바이오테크놀로지 산업에서는 최종제품의 품질관리는 물론 발효공정에서 공정변수를 어떤 것으로 선택하여 평가하느냐가 매우 중요한 비중을 차지한다. 고부가가치 제품들이 발효에 의해 이루어지는 제품의 경우 신속하게 분석이 이루어지지 못한다면 공정을 조절해야 하는 순간을 넘기게 되므로 막대한 손실을 입히게 된다. 따라서 그 어느 공정보다도 신속하고 정확한 분석 자료를 제공해 주어야 한다.

포도당이나 젖산과 같은 성분의 분석은 다양한 기기 분석을 이용하거나 전처리 과정을 생략할 수 있는 바이오센서 등이 이용될 수 있을 것이다(1, 2). 이들은 비교적 신속한 분석이 이루어질 수 있는 반면에 경우에 따라서는 간단한 희석 작업이나 전처리 과정을 필요로 하며 또 생체 물질을 이용하기 때문에 외부 환경의 변화에 영향을 받을 수도 있다. 그리고 액상 상태에서 분석을 하게 되는 경우

fouling과 같은 문제로 인하여 고정화 효소나 chip을 수시로 바꾸어 주어야 하는 문제가 뒤따라 이에 따른 보정 작업이 이루어져야 한다.

또, 발효 공정 과정에서는 배지 원료나 반응물이 오염된 공기나 물 등에 의해 미생물 오염이 이루어지더라도 쉽게 파악하기가 어려우며 또 오염된 균의 성장이 상당히 이루어진 다음에야 비로소 사태를 파악할 수 있게 된다. 이와 같은 문제들을 해결할 수 있는 방법에 하나로 적은 양의 휘발 성분만으로도 손쉽게 분석을 할 수 있는 전자코 시스템이 활용되기 시작하였다. 전자코는 지난 10 여 년 동안 식품분야에서 가장 활발히 응용되어 왔고(3-7) 최근에는 cell line의 분석을 통하여 임상의학분야에서 병을 진단하는 수단으로까지 폭넓게 활용되기 시작하였다(8). 여기서는 바이오테크놀로지 산업에서의 전자코의 활용도와 향후 발전 방향에 대하여 알아보려고 한다.

전자코 시스템과 분석

식품을 비롯한 바이오산업의 제품들은 원재료로부터 최종 제품에 이르기까지 원료, 배양방법, 배양조건, 이용되는 미생물 등에 따라 각기 다양하고도 수많은 휘발성분을 생성하며 이 휘발성분의 측정방법으로 오랜 경험을 갖고 있

† Corresponding Author : Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University, Kongleungdong, Nowon-ku, Seoul 139-774, Korea

Tel : +82-2-970-5636, Fax : +82-2-970-5977

E-mail : bsnoh@swu.ac.kr

는 전문가들에 의해 이루어지는 관능검사법과 gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), GC를 이용하여 분석한다(9, 10).

GC/MS 등에 의한 기기분석 방법은 향에 관여하는 여러 성분의 종류와 농도를 밝힐 수 있어 화학적으로 의미있는 값을 재현성 있게 얻을 수 있다. 그러나, 적합한 전처리 방법으로 향추출을 잘 선택해야하며, 합당한 칼럼의 선택과 분리조건 등을 확립해야 한다. 그리고 무엇보다도 시간과 비용이 많이 소요된다. 이런 단점을 극복하고자 향을 인지하는 사람의 코처럼 복잡한 향과 냄새성분을 감지할 수 있는 보다 객관적이고 자동화된 전자코가 소개되었다. 무엇보다도 전처리 과정이 필요하지 않은 상태에서 패턴 분석을 통하여 판단할 수 있다는 점과 신속하고 간편하며 숙련된 전문가가 아니더라도 쉽게 다룰 수 있다는 장점이 있다.

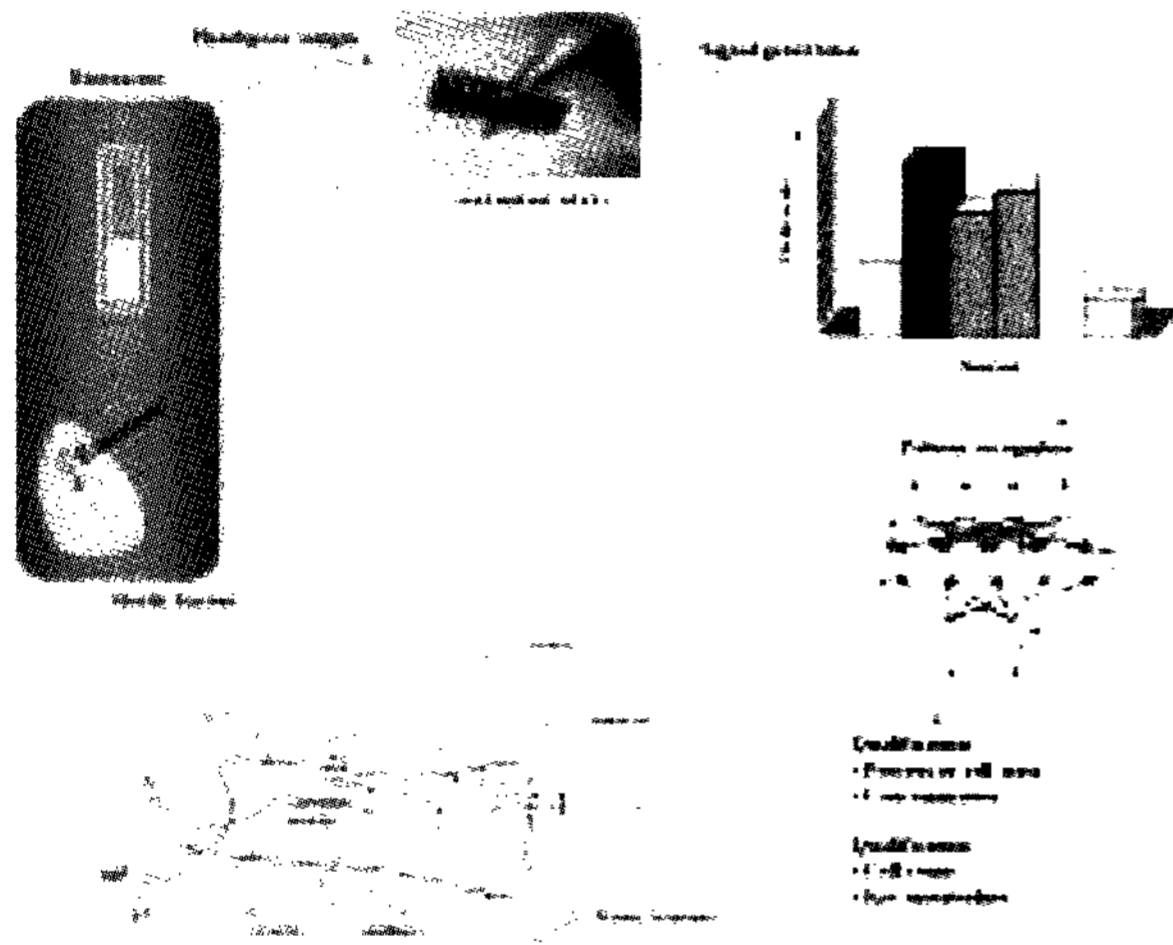


Figure 1. Process monitoring using electronic nose in bioreactor. Volatile compounds transferred to the gas-sensor array of electronic nose and used for analysis for pattern recognition. An artificial neural network can qualify or quantify culture variables-metabolic activity, biomass and nutrient concentrations(15).

전자코시스템

전자코는 다중센서배열 (multisensor arrays)을 이용해 특정 냄새 성분에 대하여 각각의 센서에서의 반응을 신호로 나타내, 이 신호를 패턴 화하여 인식하는 방법이다(11-14) (Fig. 1).

패턴은 일종의 fingerprint라 할 수 있으며(16, 17) 패턴인식 방법으로는 다변량 통계분석과 인공신경망방법이 사용되며 많은 수의 데이터를 확보하여야 두 시료간의 차별을 효과적으로 행할 수 있다(18, 19).

전자코에 이용되는 센서의 종류 및 특성이나 센서들이 갖고 있는 단점 및 이를 보상할 수 있는 다양한 방법 등에 대하여 총설에 언급하였다(7).

휘발성분 분석용 센서

센서로는 금속산화물 센서 (MOS: metal oxide semiconductor), 전도성 고분자 (CP: conducting polymer)센서, 압전성 센서로 수정진동자 (QMB: quartz crystal

microbalance)센서, 표면탄성파소자 (SAW: surface acoustic wave)센서가 활용되고 있는데 MOS센서는 감도가 높고 빠르게 응답하며 구동회로가 간단하여 시스템의 소형화가 가능하고 규격화하기가 용이한데 반하여 고온에서의 동작에 단점을 안고 있다. 그리고 온도, 습도가 휘발에 주는 영향이 크므로 이에 따른 보정작업이 필요하다. CP센서는 고분자물질, 용매, 대응하는 이온 등의 변화에 따라 선택성이 달라지며 이는 센서의 저항으로 나타나 이를 이용하여 시료간의 차이를 판별한다. MOS센서처럼 높은 온도를 요구하지 않고 실온에서 흡착과 탈착이 이루어진다는 장점을 안고 있으나 수증기와도 반응할 수 있어 상대습도를 조절하는 것이 중요하다.

최근에는 정량적인 분석을 수행하는 데에 제한이 있고 감도와 선택성에 한계를 갖고 있는 문제를 극복할 수 있는 센서들로 1 ng까지 측정이 가능한 QMB센서나 SAW센서 등이 이용되었고 특히 temperature programming에 의한 시간차 전달을 이용하여 한 개의 센서로 수백 개의 역할을 하도록 시스템이 구성되었다(20). 그리고 질량분석기와 연결되어 각 이온 fragment를 pseudo sensor로 이용하여 정량적인 분석이 가능한 전자코 시스템들이 활용되고 있다 (21, 22).

센서의 보상

전자코로 얻어진 데이터는 센서 자체의 수명으로 인하여, 잘못된 정보를 제공할 수 있다. 이러한 방해 요인에 대하여 몇 가지 가정을 설정함으로써 데이터 분석시 환경에 의한 영향을 최소화하거나 센서가 갖고 있는 문제를 해결할 수도 있다(23).

다른 방안으로 dynamic system으로는 센서 어레이를 만들어주고 센서 응답의 손실 부분을 보상에 계산하여 줄 수 있는 적절한 알고리즘을 도입하여 변화에 따른 응답의 편차를 최소화하는 방법을 적용하기도 한다(24). MOS센서의 경우 1년 반 내지는 2년마다 교체를 하여야 하며 교체에 다른 보정이 필요하나 최근에 공급되는 센서들의 경우 이런 문제들은 최소화할 수 있는 센서들을 공급하여 주고 있으며 또 인공신경망에서는 node를 한두 개 더 추가하여 알고리즘을 이용한 보정 소프트웨어를 개발하여 소개하기도 하였다. Labreche 등(25)은 아세톤, 프로판올, 이소프로판올 등의 순수 용매를 사용하여 52일간 저장 실험중 센서의 감응도 변화로 야기된 전자코의 결과를 보정하기도 하였다. 센서의 안정성에 관한 문제들은 이처럼 일부 보정이 가능하여 오차를 최소화할 수 있으며 환경적인 요인은 상대습도와 온도가 일정한 공간에서 분석함으로써 가능하나 기계적인 문제만이 아니므로 센서의 교체시 새로운 센서와 더불어 소프트웨어를 이용한 보정 작업이 함께 이루어져야만 할 것이다.

전자코 응용

발효공정

발효과정에서는 대사과정이 지속적으로 이루어지기 때

문에 생성되는 휘발성 성분들의 종류나 양이 매우 다양하다. 따라서 특정 성분을 선택적으로 분석하는 것이 간단치 않다. 그러나 온도나 pH, 용존산소 등과 같은 물리적 요인들은 측정 상에 큰 문제가 없다. 반면, 발효미생물에 의해 생산되는 다양한 성분들을 정량하기 위해서는 이들 성분 속에 포함된 다른 성분들을 분리해야하는 과정이 별도로 필요하며 그러한 절차 과정에서 시간이 소요되는 관계로 신속하게 바로 분석할 수 있는 방법이 요망되어 왔다.

전자코는 휘발 성분의 분석, 과실의 선도나 등급판정, 생산 공정의 감시, 공정의 제어 및 자동화 분야, 제품평가 등 식품산업 분야에서의 응용가능성(17, 19, 26-29)을 제시한 바 있으며 특히 품질관리나 공정관리의 도구로 그 활용 가능성이 높다. 만다린과 같은 과일은 수확후 12일간 저장을 하면서 어느 정도 과일이 익었는지를 여부를 전자코를 이용하여 판단하였는데 저장 일수에 따라 당도나 pH, 단단한 정도가 변화하며 이러한 변화 정도를 당도계나, pH meter, texture analyzer 등으로 분석한 결과가 전자코 분석 결과와 상당히 높은 상관관계를 보여 주고 있어 저장 기간을 예측하는데 유용함을 보여주었다(30). 과일의 숙성 중 변화는 마치 발효 과정 중 미생물의 대사활동과 마찬가지로 생화학적 변화가 일어나며 이때 생성물에 대한 변화를 추적하는 것이나 발효 공정을 관리하는 것은 유사하다.

된장의 발효숙성 기간 중 향기성분의 변화를 관찰한 결과, 수 십여 가지의 미량성분들이 생성되고 있으며 이들 중 methylbenzene, 2-propanol, 2-francarboxaldehyde, 3-methyl-1-butanol, ethyl acetate, hydroxy-2-butanone, 2,3-butanediol 등이 주요 향기 성분으로 관찰되었고(31) 이를 토대로 농도를 달리하여 6개의 MOS센서로 구성된 전자코의 감응도 변화를 분석하였다. 이들 휘발 성분의 농도 (0.1~100 ppm)에 따라 센서감응도의 차이가 각각 다르게 나타나 발효기간 중 생성되는 이들 성분을 관찰함으로써 된장의 숙성 정도를 예측할 수 있고 이것은 전통적으로 분석하는 변수 중에 하나인 아미노질소량의 변화와 상관관계가 비례적인 것 ($r^2 = 0.764$)으로 나타나 된장의 발효과정 중 숙성 정도를 예측하는 것이 가능함을 보여 주었다(32).

치즈의 경우 독특한 향기 성분에 따라 제품을 선택하게 되며 미생물에 의해 생성되는 다양한 휘발성 향기성분이 품질특성을 결정한다. 원산지가 어디인가 하는 문제와 더불어 발효숙성 정도를 파악하는 일은 휘발 성분의 분석을 통해 구별이 가능하다(33-36) 이 경우 주로 MOS, CP센서의 전자코를 주로 사용하여 왔으나 이들 센서들은 비특정 센서로 휘발 성분들이 나타내는 패턴의 차이로 구별할 수가 있으나 정량적인 분석을 하기에는 선택성이 떨어지는 것으로 알려져 있다. 이런 문제들도 최근에는 QMB 센서나 SAW센서, 또는 MS를 바탕으로 한 전자코를 사용함으로써 극복할 수 있다. Emmental cheese 숙성에 영향을 미치는 여러 성분 중 2-heptanone은 다양한 tetralactam macrocycles 등과 상호 반응하면서 독특한 향을 내는데 QMB센서를 사용함으로써 2-heptanone의 정량적인 분석은 물론 이들의 상호 작용까지 파악함으로써 3~12개월 된 Emmental cheese의 숙성 정도를 정확히 선별할 수 있었다.

전자코 시스템에 따라서는 많게는 40여개 이상의 센서를 사용하기도 하는데 이렇게 얻어진 많은 정보들로부터 필요한 정보만을 선별하는 작업 또한 많은 노력이 뒤따르는 문제로 필요한 정보만을 제공해주는 센서의 수를 줄이는 것이 또한 신속한 분석을 위해서도 바람직하다. QMB 센서와 같이 정량적인 분석이 가능한 센서를 사용함으로써 일반적으로 사용되는 센서의 수를 훨씬 줄여서 이용하는 것이 가능하다(35).

된장이나, 치즈, 포도주처럼 장기간 발효기간이 소요되는 경우처럼 monitoring 간격이 짧지 않으면 신속한 분석방법보다도 전처리 과정이 뒤따르는 기존의 분석 방법을 이용하여도 커다란 문제가 없으며 신속성에 대한 요구도가 적은 편이다.

수백 가지의 휘발성 성분과 비휘발성 성분을 갖고 있는 차제품의 경우, 발효에 의해 제조되는 우롱차, black tea 등은 발효시간이 5~8시간으로 매우 짧은 시간 내에 이루어지고 있으며 그 과정이 매우 복잡적으로 이루어져 있어 (Fig. 2) 중간생성물에 대한 분석이 신속하게 이루어져야 제품의 생산이 가능하다. 한편, 인도에서는 발효시 기기에 의한 분석보다도 오랜 경험이 많은 사람들의 경험을 바탕으로 이루어지고 있는데 5분 간격으로 40~80분 사이에 발효 시간을 멈추는 과정을 전자코 분석에 의해 대체할 수 있었다(37, 38).

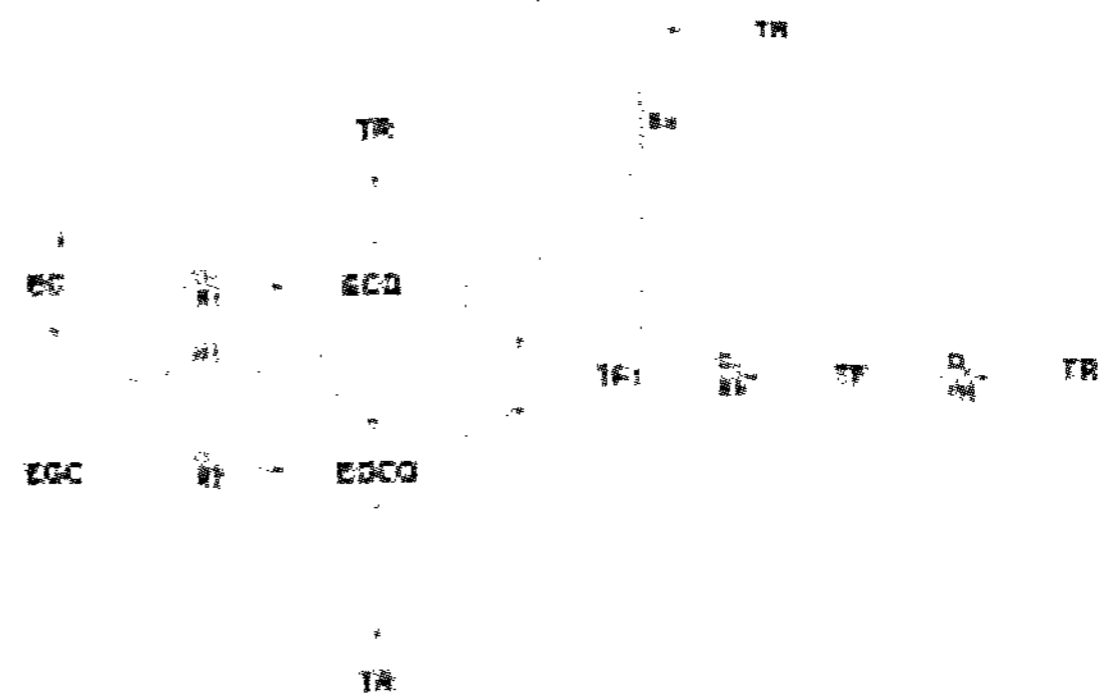


Figure 2. Biochemical reactions during fermentation process of black tea (EC: epicatechin; EGC: epigallocatechin; ECQ: epigallocatechin-quinones; EGCQ: epicatechin gallate-quinones; TF: theaflavins; TR: thearubijins; R1~R6 mean reaction serial numbers).

반응기에 장착되어 활용된 초기에는 통계적인 처리를 하지 않고 수십 개의 센서 응답 중 공정 변수와 일치하는 센서를 선택하여 해당 센서의 응답도를 바로 활용하였으나 미량 성분들의 역할도 고려하여 여러 센서로부터 얻어진 정보를 다변량 통계분석을 실시하였을 때보다 효율적으로 선택할 수 있었다(39).

일반적으로 다변량 통계분석시 전자코 분석결과만 사용하기 보다는 기존의 분석시스템에서 얻어지는 데이터를 전자코 분석 결과와 함께 통계 처리함으로써 보다 신뢰성이 높은 결과를 가져오기도 한다. 발효 과정에서 전자코에 의해 얻어진 정보를 바탕으로 먼저 1차적인 인공신경망을 실시하여 젓당, 갈락토오스, 젖산 등에 대한 정보를 학습한 다음, 학습된 자료와 함께 다시 비파괴분석에 의한 방

법에 하나인 적외선 분광광도법 (NIRS)에 의해 얻어진 몇 개의 파장에서의 응답정도와 함께 2번째 cascade 인공신경망에 적용하여 요구르트 발효시 응고, 생성물의 수거 시점 등을 토대로 발효 공정 중 최적의 조건에서 발효를 마칠 수 있는 공정 변수 정보 (P_{state})를 선택할 수 있었다(Fig. 3). 요구르트의 경우 수많은 향기 성분 모두에 대하여 관심을 갖는 것은 매우 어려운 일이다. 따라서 미량의 성분들도 그 의미가 부가될 수 있는 패턴인식을 통하여 최적의 발효 상황을 선택하고 공정을 관리하는 것이 보다 효율적이다(40).

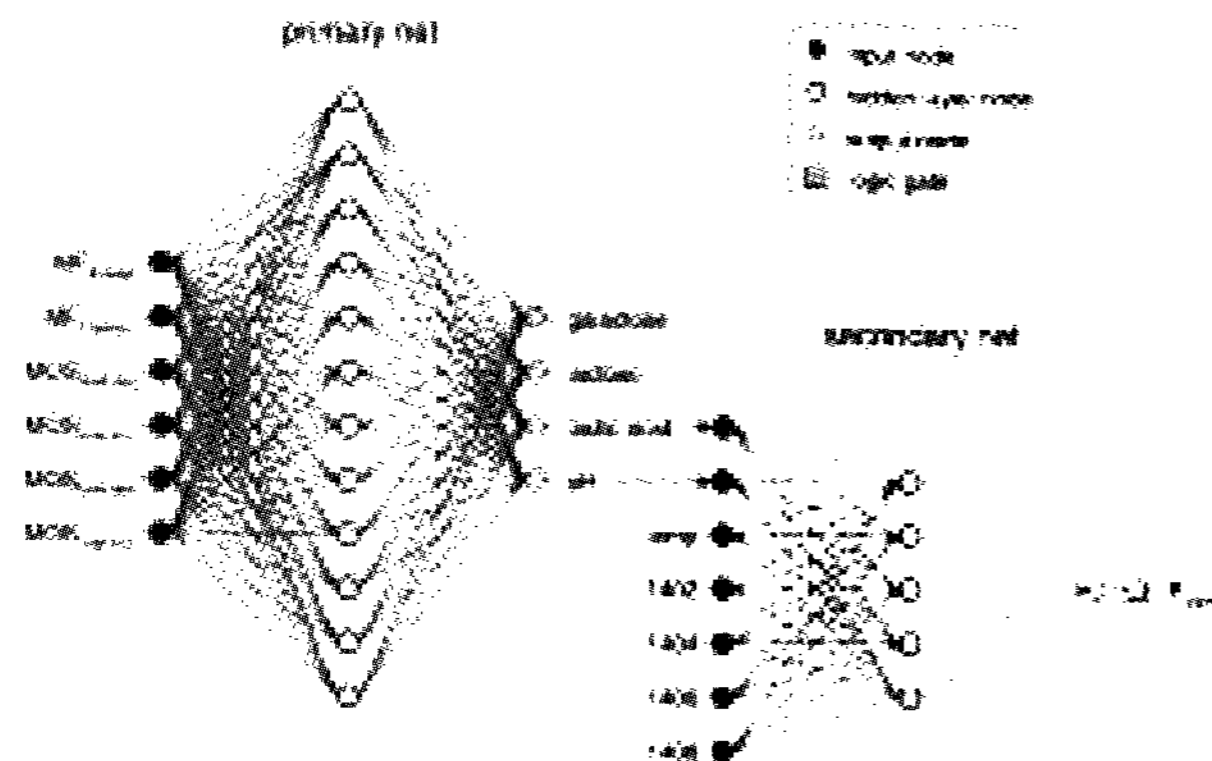


Figure 3. Neural network used for sensor-fusion. Primary network received six signal from electronic nose and cascaded by the secondary network. It received seven signal from electronic nose output, temperature and NIRS response. A logic gate made the final decision for the state variables (P_{state}).

알코올에 의한 영향

발효산물 중 휘발 성분이 다양하게 많이 함유된 것 중 대표적인 것이 포도주이다. 발효과정 중에도 변화가 일어나지만 저장 숙성 기간 중에도 미세한 변화가 지속된다. 포도주와 같은 생산품을 공정관리하거나 최종 제품의 진위 여부를 판단하는 것은 매우 복잡하고도 어려운 일이다. 그것은 800여 가지의 휘발성분이 동정되어 왔고 이들 휘발성분들이 극성, 용해도, 휘발도, pH 등이 상당히 넓은 범위에 걸쳐서 분포되어 있어 화학적 특성이 매우 다양한 형태라고 본다. 그리고 수많은 휘발성분들이 매우 적은 양 ($\mu\text{g/mL}$) 존재하기 때문에 농축 과정을 거쳐야 정확하게 정량할 수 있다. 뿐만 아니라 많은 종류의 벤젠핵을 갖는 성분들이 불안정하고 공기에 의해 쉽게 산화되기도 하고 열이나 지나친 pH에 노출되면 파괴되기도 한다(41).

다양한 향기를 포함하면서 높은 농도의 알코올 성분이 함께 구성된 경우, headspace에서 시료를 채취하는 동안 에탄올이 cosolvent로 작용하면서 방해하여 소수성 휘발향기 성분의 활성도 계수를 낮추어 주고 분할 (partitioning)을 감소시키기 때문에 MOS 전자코에 의한 측정에서 오차 가능성이 있을 수 있다(42). 포도주의 경우 전체적으로 muscatel 향에 미치는 정도가 성분과 농도에 따라 각기 다른데 Liden 등(43)은 *Saccharomyces cerevisiae* 발효 중 중요 대사 성분을 감지하였는데 저농도이면서 비휘발성인 성분들이 전자코에 잘 감지되지 않았지만 가스가 유출되는 과정 없이 on-line에서 얻어진 HPLC결과와 가스센서로부터 얻어진

데이터를 인공신경망을 통하여 학습, 훈련시킴으로써 감지가 가능하도록 유도하였다.

이처럼 solid state 가스센서에서 나타나는 간섭 요인으로 작용하는 것은 바로 알코올이며 주류의 발효과정에서 알코올의 농도가 너무 높은 반면, 다른 향기 성분들의 농도가 상대적으로 너무 낮다는 점이다. 이런 문제들 뿐만 아니라 CP센서나 MOS 센서가 갖고 있는 안정성이 떨어지는 문제나 감도상의 문제, 다양한 시료에 대한 응답의 한계 등의 불리한 점들이 있으나 질량분석기를 바탕으로 한 전자코 시스템에 의하여 해결이 가능하다는 점이다.

전자코의 장점이 전처리를 하지 않는다는 점이지만 알코올의 농도를 낮추고 다른 향기 성분의 농도는 높여서 전자코로 분석하는 방안을 제시하였다. 휘발성분이 너무 낮은 상태에서는 특별한 전처리 (dynamic head space, SPME)를 통하여 이들 미량의 향기 성분의 농도를 높일 수 있고 이에 대한 특성을 바탕으로 숙성 정도나 품질을 결정할 수가 있다. 또는 선택성 막을 이용하여 물보다는 덜 할지라도 에탄올보다는 친화성이 높은 막의 특성을 이용하여 휘발성 향기 성분을 농축할 수 있으며 농축된 향기 성분을 MOS 전자코나 MS를 바탕으로 한 전자코로 분석할 수 있다(44). 한편 이와 같이 알코올 농도가 영향을 미치는 경우 다양한 원산지의 포도주 시료에 대해서 알코올 농도를 일정하게 유지하여 준 다음 에탄올에 의한 영향을 무시하고 다른 향기성분에 대한 차이를 토대로 분석하기도 하였다(45).

미생물 오염 분석

세균의 증식 정도가 최고점에 도달할 때까지 전자코 결과와의 GC의 분석결과를 비교하여 균의 성장과의 상관관계가 있는 것을 바탕으로 제품수명기간을 결정하였는데 (25) 발효 공정관리를 목적으로 트립토판을 생산하는 대장균재조합균주의 예비발효조건에서 대수기, 산소결핍성장기, 포도당 부족시기 등 균의 성장단계가 전자코에 의해 파악할 수 있으며 이를 이용하여 예비발효과정단계(45, 46)와 미생물의 성장 정도를 예측한 바 있다(47).

원치 않는 경우 미생물의 번식은 오염이라고 간주하게 되고 이는 최종 제품 생산에 영향을 미치기도 한다. 기존의 많은 방법들이 상당한 시간을 요하고 있으며(Table 1) 또 1,000마리 이하의 미생물의 검출을 용이하게 관리하는데에는 아직도 한계점이 있어 이들 유해 미생물을 어느 정도 수가 도달할 때까지는 배양을 통해 증식시켜야 비로소 측정이 가능하고 그러한 증식 시간동안에 발효조에 치명적인 손해를 가져오는 경우를 고려한다면 증식시키기 이전에 미량의 물질만으로도 오염 여부를 판단하는 것이 가능한 계측 방법이 요망된다.

발효 과정 중에 관심 있게 관리되어야 하는 것은 원하지 않는 다른 미생물에 의한 오염 가능성을 최소화하는 것이며 특히나 식중독 관련 균의 오염은 심각한 피해를 초래하기도 한다. 따라서 일단 오염이 이루어졌을 경우 신속한 분석과 대처가 이루어지지 않으면 안 된다.

우유에 세균 (*Pseudomonas aureofaciens*, *P. fluorescens*, *Bacillus cereus*)과 효모 (*Candida pseudotropicalis*, *Kluyveromyces lactis*)를

접종하여 30°C에서 5시간 지난 후 이들 미생물에서 생성되는 휘발성분을 측정하여 접종하지 않은 우유와 미생물을 접종한 우유를 PCA분석을 통하여 그 차이가 뚜렷하게 구분되었고, *Pseudomonas aureofaciens*는 10⁶, 3.5 x 10⁸, 8 x 10⁸ cfu/mL인 상태를 구별할 수 있었다. 또, 10³~10⁴ cfu/mL를 접종된 *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas spp*의 경우 세균들 간에, 대조구, 효모 간의 특성을 85% 수준에서 구분이 가능하였다 (49). 이러한 분석 결과는 미생물이 오염된 정도를 파악하는데 도움이 되는 것을 의미한다.

Table 1 Various conventional and bio-molecular electronics-based techniques used to detect food borne pathogens(48)

Conventional method	Incubation time	Assay time
Microorganism detection		
FTIR		2~10 min
Raman		//
Pre-enrichment using suitable media	2~8 hr	
ELISA		2~4 hr
PCR		0.5~4 hr
Enrichment (needed for same samples)	2~6 hr (after enrichment)	
ELISA		2~4 hr
PCR		0.5~4 hr
Detection using molecular biology techniques		1~3 days
Microbiological method		1~3 days
Biochemical method		2~5 hr
Bio-molecular electronics-based method		
Biosensor(immunosensor)	No incubation	2~7 min (~20 min)
Electronic nose	//	1~2 min
Microarrays	//	
Nanobiosensor	//	10~15 min

결국 이러한 미생물들이 생성한 휘발성분의 특성을 인공신경망 (three-layer back propagation neural network)을 사용하여 판별할 수가 있어 유가공 제품의 식중독균의 초기 감염 여부를 진단하는데 전자코가 유용함을 보여 주었다. 85% 정도의 신뢰성을 더 향상시키기 위해서는 휘발성분에 대한 응답이 높은 센서를 발굴하거나 센서어레이를 적절히 조절한다면 가능할 것이다. 산업체에서 이를 적용을 위해서는 fuzzy neural network과 genetic algorithms neural network 기술을 접목시켜 보다 개선된 방안을 제안한다면 산업체에 자동화가 가능할 수 있을 것이다.

MOS, CP센서 등의 전자코에 의해 예상할 수 있는 미생물에 대하여 판별 작업을 하는 것은 이처럼 다변량 통계 분석 등에 의해 가능하다. 그러나 전혀 예상할 수 없는 상태에서 어떤 미생물인지 여부를 판단하기 위해서는 fingerprint와 같은 패턴으로 분석하는 것이 용이한데 Gardner 등(47)은 *Staphylococcus aureus*와 *E. coli* 사이의 차이점을 100% 정확하게 구분한 바 있고 GC-SAW를 바탕으로 한 전자코의 경우 미생물마다 각기 다른 대사물질을 생산함에 따라 이들 휘발성분의 향기패턴으로 이미지를 제시하고 있어 어떤 미생물인지 여부를 가늠할 수 있다 (Fig. 4) (50).

Keshri 등(51)은 곰팡이의 다른 종 (species)이 성장기 초기에 생성하는 산물을 이용하여 종간의 차이점을 밝힌 바 있으나 똑 같은 종중에서 변종 (strain)의 차이를 밝히지는 못하였지만 Younts 등(52, 53)은 *E. coli* O157:H7 4종과 *E. coli* O157:H7가 아닌 *E. coli* 4종을 이용하여 16시간동안 배양시키면서 5분 간격으로 MOS센서 전자코를 이용하여 생

성된 가스성분을 분석한 결과 두 변종간의 패턴 차이를 알 수 있었으며 back propagation 신경망을 이용하여 식품이나 농축산물에서의 미생물 오염 여부를 진단할 수 있었다.

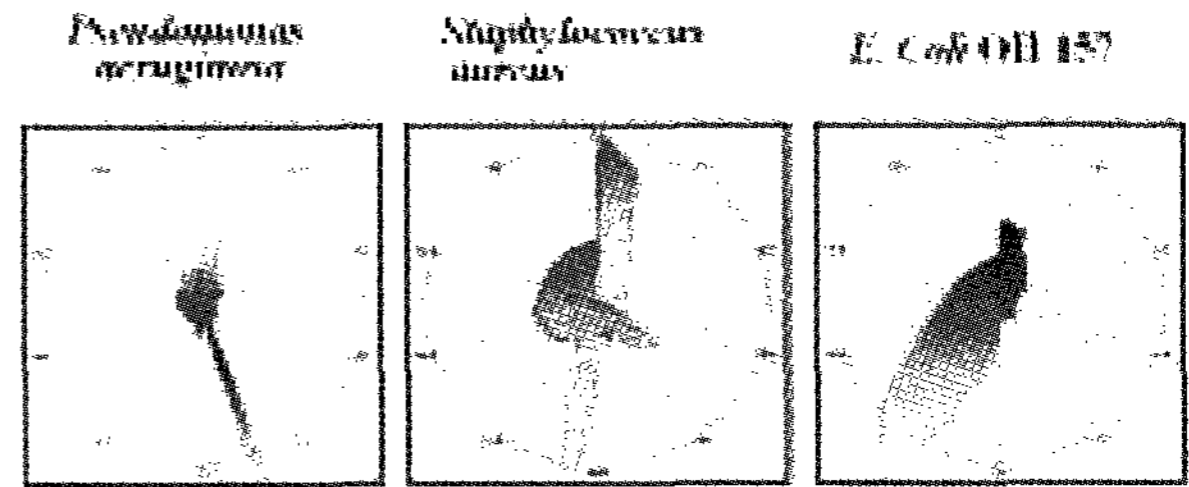


Figure 4. Frequency pattern of microorganisms analyzing by electronic nose based on GC-SAW sensor.

미생물은 대사과정을 통하여 다양한 대사물질을 생성하는데 극미량이라도 이를 이용한다면 미생물의 번식 정도를 알 수 있다. *Streptococcus aureus*, *E. coli*, *St. pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella catarrhalis* 등의 세균이 생성해 내놓는 휘발성 성분에 대하여 주성분 분석과 인공신경망을 통한 학습 훈련으로 74%의 확률로 이들을 구분한 바 있다. 이런 속성을 이용하여 현재 미국에서는 의료 목적으로 환자들의 진단에까지 활용이 되고 있는 실정이다(54). 균의 동정에 관련된 연구에 전자코가 도입되어 긍정적인 결과들을 제시하고 있는 가운데 균의 수까지도 예측하고자 하는 노력들이 시도되어지고 있다. 음용수에 오염된 미생물, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium spp* 등의 세균이 100 CFU/mL 오염된 것을 25°C에서 24시간 배양 후 구분하였다(55, 56). 미생물 분석에서도 어느 정도까지 배양을 시켜서 증식한 후 확인을 할 것인가가 중요한 문제인 바 이들은 24시간 배양을 하였으나 향후 보다 단축된 배양시간의 조건을 해결하는 문제가 남아 있다.

한편, 연어생선의 필레를 9일간 저장하면서 향기성분의 변화와 품질 변화를 측정하고 아울러 *Pseudomonas putrefaciens*와 *Moraxella spp*의 균수를 관찰하였더니 균수가 2.73 Log CFU/g에서부터 9.06 Log CFU/g까지 생성되었을 때 미생물의 성장과 휘발성분의 생성정도가 높은 상관관계를 보여주고 있어 미생물 균수의 측정에 오랜 시간이 소요되는데 비하여 신속한 결과를 토대로 전자코의 분석 결과만으로도 미생물의 번식정도를 예상할 수 있게 되었다(57). 이런 시도는 여러 대상 식품에서 적용되었는데 쇠고기의 경우, 미생물 활동에 기인한 이취를 전자코로 측정하여 저장수명을 예측하였고(58), 곡류에 생성되는 곰팡이의 이취 정도를 전자코로 분석하여 예측하는 것이 가능하였다(59, 60).

Headspace 내의 휘발성분만으로 미생물을 동정하는 연구(61)가 시작되었고 Coliform세균을 검출하는 데에도 활용된 바 있다(62). 살모넬라 식중독 균과 대장균의 배지 냄새를 이용하여 구분이 가능하였고 세균의 성장 시간에 따라서 차이가 확인되었으며 주성분분석과 세균별로 시간에 따라 데이터 군락이 분리되었다(63).

이러한 많은 연구들은 실험실 수준에서, 제한된 범위 내에서 이루어진 것으로 다른 미생물들과 함께 존재하는 복잡한 시스템이나 수많은 종류의 미생물이 번식하는 현장에서 또 다른 어려움이 예상된다. 물론 수많은 종류의 미생물로부터 어느 한 가지를 알아내기보다는 품질관리 공정에서는 충분히 생성될 가능성이 높은 몇 개의 미생물 종류로부터 예상되는 미생물을 구별하는 것이기 때문에 보다 용이하리라 예상된다. Proteomics나 immunomics 기술을 이용하여 식중독 미생물의 균수를 측정하는 경우 이미 살균되어 사멸된 균마저도 검출될 가능성이 높으나 전자코의 경우 대사산물로부터 야기되는 휘발성 물질만을 선택적으로 정량하게 되므로 오히려 더 효과적이라 생각된다. 그러나 균의 수를 어느 정도까지 증식을 해야만 하는지 이런 문제를 내포하고 있어 향후 이러한 문제점을 해결할 수 있는 방법으로 보다 짧은 시간 내에 적은 양의 균수만으로도 검출과 동정, 균수측정이 가능한 시스템이 개발되어야 할 것이다.

앞으로의 방향

전자코의 이용도가 다양하고 활발하여지자 야외 필드나 현장에서 간편하게 휴대할 수 있는 경제적인 전자코의 개발이 요구되었고 Personal Digital Assistants (PDA)를 이용하여 휴대용 전자코 시스템을 개발하기에 이르렀다(64-66). PDA를 이용하여 공정을 제어함으로써 사용자 인터페이스가 쉬워졌고 on-site 측정이 가능할 뿐만 아니라 인터넷과 연동이 가능하여 다양한 기능의 활용이 가능하게 되었다. 그러나 다른 분야에 비하여 상대적으로 낙후되어 있는 신호처리 분야를 발전시켜 전자코가 유비쿼터스 환경에서 사용되기 위해서는 냄새에 대한 정성적인 표현을 표준화할 수 있는 연구 등이 향후 선행되어야 할 것이다.

시료 채취의 경우 제한된 공간 내에서만 취하기보다는 노출된 환경에서 시료를 채취할 수 있는 시스템이 보급되어야 할 것이다. 이외에도 전자코 종류마다 차이가 있겠으나 MOS나 CP센서를 사용하는 시스템의 경우 정성적인 결과에 대하여 표준화시킬 수 있는 알고리즘이 뒷받침되어야 보다 저렴한 전자코 시스템의 보급이 이루어질 수 있고 하드웨어적인 센서의 안정화와 더불어 외적인 환경이나 시간 변화에 따른 차이를 보상하여 줄 수 있는 소프트웨어 개발과 보급이 함께 이루어진다면 과거의 많은 데이터를 활용하여 비교하는 것이 가능하여질 것이다.

전자코시스템을 목적에 따라 연구개발용, 공정관리용, 품질관리용 등으로 나뉘어 용이한 몇 개의 센서만으로 목적에 따라 활용될 수 있는 시스템을 개발한다면 소수의 센서를 사용하고도 충분히 응용될 수 있을 것이며 바이오 테크놀로지 분야 등 응용 범위도 더욱 확대될 수 있을 것이다.

요 약

전자코는 비특정센서를 이용하여 향기성분을 검출하는 분석 장치로 칼럼의 교체나 별도의 전처리과정 없이 사람

의 코와 마찬가지로 패턴을 인식하여 신속하게 향기를 분석하거나 이취여부를 판별해 준다. 다변량 통계에 의한 차별성을 토대로 향기성분의 특성간의 차이를 주로 판별할 수도 있고 인공신경망을 통하여 반복된 학습 과정을 통해 미지의 시료의 향기성분과 비교하여 판별할 수도 있다. 전자코는 된장, 치즈, 포도주 등의 발효공정 과정에서 발효 정도를 예측할 수 있으며 또 다른 미생물의 오염 여부를 판단할 수가 있다. 식품산업에서 많이 활용되어 왔던 전자코 시스템의 응용은 바이오 테크놀로지의 다양한 분야에도 보다 폭넓게 활용되어지기를 기대하여 본다.

감 사

본 연구는 2007년도 서울여자대학교 바롬연구비에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Kim, J. H., T. J. Kim, D. H. Rhie, and B. S. Noh (1998), Simultaneous determination of glucose, lactate and cholesterol using an oxygen electrode with multiple cathode system, *Food Sci. Biotechnol.* **7**, 28-34.
- Park, I. S., J. H. Kim, and B. S. Noh (1997), Simultaneous determination of glucose and maltose in Sikhe using oxygen electrode with dual cathode system, *Foods Biotechnol.* **6**, 209-213.
- Mielle, P. (1996), Electronic nose: Towards the objective instrumental characterization of food aroma, *Trends Food Sci. Technol.* **7**, 432-438.
- Noh, B. S. and S. Y. Oh (2002), Application of electronic nose based on GC with SAW sensor, *Food Sci. Ind.* **35**(3), 50-57.
- Ampuero, A. and J. O. Bosset (2003), The electronic nose applied dairy products : a review, *Sensors Actuators B* **94**, 1-12.
- Vazquez, M. J., R. A. Lrenzo, and R. Cela (2003), The use of an electronic nose device to monitor the ripening process of anchovies, *Int. J. Food Sci. Technol.* **38**, 273-284.
- Noh, B. S. (2005), Analysis of volatile compounds using electronic nose and its application in food industry, *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 1048-1064.
- Gendron, K. B., N. G. Hockstein, E. R. Thaler, A. Vachani, and C. W. Hanson (2007), In vitro discrimination of tumor cell lines with an electronic nose, *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* **137**, 269-273.
- Hodgkin, D. and D. Simmonds (1995), Sensory technology for flavor analysis, *Cereal Foods World* **40**, 186-191.
- Chou, U. D. (1995), Use and development of sensation sensor, *Bulletin Food Technol.* **8**, 122-131.
- DiNatale, C., A. Macagnano, R. Paolesse, and A. D'Amico (2001), Artificial olfaction systems: Principles and application to food analysis, *Biotechnol. Agrone Soc. Environ.* **5**(3), 159-165.
- Lee, D. D. (2003), Technology and application of olfactory sensor system, *Control and Instrumentation* **2**, 20-23.
- Kil, J. H. (2004), Electronic nose and artificial olfactory sensor, *Control and Instrumentation* **3**, 12-17.
- Hong, H. K., H. W. Shin, H. S. Park, D. H. Yun, C. H. Kwon, K. C. Lee, S. T. Kim, and T. Morizumi (1996), Gas identification using micro-gas sensor array and neural-network pattern recognition, *Sensors Actuators B* **33**, 68-71.
- Bachinger, T. and C. F. Mandenius (2000), Searching for process

- information in the aroma of cell cultures, *Trends Biotechnol.* **18**, 494-500.
16. Hong, H. K., H. S. Park, D. H. Yun, H. W. Shin, C. H. Kwon, and K. C. Lee (1995), Technical trend of electronic nose system, *J. Korean Inst. Electric. Electron. Material Eng.* **8**, 509-516.
 17. Bartlett, P. N., J. M. Elliott, and J. W. Gardner (1997), Electronic nose and their application in the food industry, *Food Technol.* **51**, 44-48.
 18. Harper, W. J. (2001), The strengths and weaknesses of the electronic nose, *Adv. Exper. Medical Biol.* **488**, 59-71.
 19. Deisingh, A. K., D. C. Stone, and M. Thompson (2004), Applications of electronic noses and tongues in food analysis, *Inter. J. Food Sci. Technol.* **39**, 587-604.
 20. Staples, E. J. (2000), Real time characterization of food and beverages using an electronic nose with 500 orthogonal sensors and VaporPrint™ imaging. Sensors Expo Convention. Lake Tahoe, CA. USA, May Available from: http://www.znose.com/tech_papers/papers/GeneralAnalysis/SenExpo2000C.pdf Accessed Aug. 12, 2005.
 21. Saevels, S., J. Lammertyn, A. Z. Berna, E. A. Veraverbeke, C. D. Natale, and B. M. Nicolai (2004), An electronic nose and a mass spectrometry-based electronic nose for assessing apple quality during shelf life, *Postharvest Biol. Technol.* **31**, 9-19.
 22. Noh, B. S., A. R. Youn, and N. Y. Lee (2005), Application of mass spectrometer based electronic nose for discrimination of *Angelicae gigantis Radix*, *Food Sci. Biotechnol.* **14**, 537-539
 23. DiNatale, C., E. Martinelli, and A. D'Amico (2002), Counteraction of environmental disturbances of electronic nose data by independent component analysis, *Sensors Actuators B* **82**, 158-165.
 24. Holmberg, M., F. A. M. Davide, C. DiNatale, A. D'Amico, F. Winqvist, and I. Lundström (1997), Drift counteraction in odor recognition applications: lifelong calibration method, *Sensors Actuators B* **42**, 185-194.
 25. Labreche, S., S. Bazzo, S. Cade, and E. Chanie (2005), Shelf life determination by electronic nose: application to milk, *Sensors Actuators* **106**, 199-206.
 26. Pisanelli, A. M., A. A. Qutob, T. Travers, S. Szyszko, and K. C. Persaud (1994), Application of multi array polymer sensors to food industries, *Life Chem. Reports* **11**, 303-308.
 27. Panigrahi, S., S. Balasubramanian, H. Gu, C. M. Logue, and M. Marchello (2006), Design and development of a metal oxide based electronic nose for spoilage classification of beef, *Sensors Actuators B* **119**, 2-14.
 28. Schaller, E., J. O. Bosset, and F. Escher (1998), Electronic noses and their application to food, *Lebensm. Wiss. Technol.* **31**, 305-316.
 30. Gomez, A. H., J. Wang, G. X. Hu, and A. G. Pereira (2007), Discrimination of storage shelf-life for mandarin by electronic nose technique, *Lebensm. Wiss. Technol.* **40**, 681-689.
 31. Park, J. S. (1992), Characteristics of quality and flavor components of Korean style soybean paste, Ph.D. thesis. Chosun University, Kwangju, Korea.
 32. Noh, B. S., Y. M. Yang, T. S. Lee, H. K. Hong, C. H. Kwon, and Y. K. Sung (1998), Prediction of fermentation time of Korean style soybean paste by using the portable electronic nose, *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 356-362.
 33. Chung, H. Y. (2004), Evaluation of light-oxidized off-flavors in reduced fat milk and Cheddar cheese using sensory evaluation and the electronic nose, Ph.D thesis, Michigan State University, East Lansing, MI, USA.
 34. Joe, K. D. (1997), Integrated analysis and pattern recognition Swiss cheese aroma by SPME/GC/MS and electronic nose. Graduate School of Food science and Nutrition, Ph. D thesis, Ohio State University, Columbus, OH, USA.
 35. Bargon, J., S. Braschoff, J. Florke, U. Herrman, L. Klein, J. W. Loergen, M. Lopez, S. Maric, A. M. Parham, P. Piacenza, H. Schaeffgen, C. A. Schalley, G. Silva, M. Schwierz, F. Vogtle, and G. Windscheif (2003), Determination of the ripening state of Emmental cheese via quartz microbalances, *Sensors Actuators B* **95**, 6-19.
 36. Schaller, E., S. Zenhausem, T. Zesiger, J. O. Bosset, and F. Escher (2000), Use of preconcentration techniques applied to a MS-based "Electronic nose", *Analisis* **28**, 743-749.
 37. Bhattacharyya, N., S. Seth, B. Tudu, P. Tamuly, A. Jana, D. Ghosh, R. Bandyopadhyay, and M. Bhuyan (2007), Monitoring of black tea optimum fermentation process using electronic nose, *J. Food Eng.* **80**, 1146-1156.
 38. Bhattacharyya, N., S. Seth, B. Tudu, P. Tamuly, A. Jana, D. Ghosh, R. Bandyopadhyay, M. Bhuyan, and S. Sabhapandit (2007), Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose, *Sensors Actuators B* **122**, 627-634.
 39. Bachinger, T., U. Riese, R. Eriksson, and C. F. Mandenius (2000), Monitoring cellular state transitions in a production-scale CHO-cell process using an electronic nose, *J. Biotechnol.* **76**, 61-71.
 40. Cimander, C., M. Carlsson, and C. F. Mandenius (2002), Sensor fusion on-line monitoring of yoghurt fermentation, *J. Biotechnol.* **99**, 237-248.
 41. Lozano, J., J. P. Santos, J. Gutierrez, and M. C. Horrillo (2007), Comparative study of sampling systems combined with gas sensors for wine discrimination, *Sensors Actuators B* **126**, 616-623.
 42. Pinheiro, C., C. M. Rodrigues, T. Schaffer, and J. G. Crespo (2002), Monitoring the aroma production during wine-must fermentation with an electronic nose, *Biotechnol. Bioeng.* **77**, 632-640.
 43. Liden, H., T. Bachinger, L. Gorton, and C.-F. Mandenius (2000), On-line determination of non-volatile or low-concentration metabolites in a yeast cultivation using an electronic nose, *Analyst.* **125**, 1123-1128.
 44. Marti, M. P., R. Boque, O. Busto, and J. Guasch (2005), Electronic noses in the quality control of alcoholic beverages, *Trends Anal. Chem.* **24**, 57-66.
 45. Cimander, C., T. Bachinger, and C. F. Mandenius (2002), Assessment of the performance of a fed-batch cultivation from the preculture quality using an electronic nose, *Biotechnol. Prog.* **18**, 380-386.
 46. Bachinger, T., P. Martensson, and C. -F. Mandenius (1998), On-line estimation of biomass and specific growth rate in a recombinant *E. coli* batch cultivation using a chemical multisensor array, *J. Biotechnol.* **60**, 55-66.
 47. Gardner, J. W., M. Craven, C. Dow, and E. Hines (1998), Prediction of bacteria type and culture growth phase by an electronic nose with a multiplane perception networks, *Measure. Sci. Technol.* **9**, 120-127.
 48. Arora, K., S. Chand, and B. D. Malhotra (2006), Recent development in bio-molecular electronics techniques for food pathogens, *Anal. Chim. Acta* **568**, 259-274.
 49. Magan, N., A. Pavlou, and I. Chrysanthakis (2001), Milk-sence: a volatile sensing system recognise spoilage bacteria and yeasts in milk, *Sensors Actuators B* **72**, 28-34.
 50. Anonymous. An Investigation of Infection Bacteria With a GC/SAW Electronic Nose. EST Internal Report. Available from: http://www.znose.com/tech_papers/papers/LifeScience/Bacteria.pdf Accessed Aug. 12, 2005.
 51. Keshri, G., N. Magan, and P. Voysey (1998), Use of an electronic nose for the early detection and differentiation between spoilage fungi, *Lett. Appl. Microbiol.* **27**, 261-264.
 52. Younts, S. M., E. C. Alocilja, W. N. Osburn, S. Marquie, and D. L. Groom (2002), Differentiation of *E. coli* O157:H7 from non-O157:H7 *E.coli* serotypes using a gas sensor-based, computer-controlled detection system, *Trans. ASAE* **44**, 1681-1685.
 53. Younts, S. M. (1999), Chapter 2: Development and evaluation of a gas sensor-based instrument for identification *E. coli* O157:H7 in a

- laboratory setting. MS thesis. Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA.
54. Dutta, R., E. L. Hines, J. W. Gardner, and P. Boilot (2002), Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose, *BioMedical Eng. Online* 1:4 Available from: <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/1/1/4> Accessed Aug. 12, 2005.
 55. Canhoto, O. and N. Magan (2003), Potential for the detection of microorganism and heavy metals in portable water using electronic nose technology, *Biosens. Bioelectron.* **18**, 751-754.
 56. Canhoto, O. and N. Magan (2005), Electronic nose technology for the detection of microbial and chemical contamination of portable water, *Sensors Actuators B Chem.* **106**, 3-6.
 57. Du, W. E., C. M. Lin, T. Huang, J. Kim, M. Marshall, and C. I. Wei (2002), Potential application of the electronic nose for quality assessment of salmon fillets under various storage conditions, *J. Food Sci.* **67**, 307-313.
 58. Blixt, Y. and E. Borch (1999), Using an electronic nose for determining the spoilage of vacuum-packaged beef, *J. Food Microbiol.* **46**, 123-134.
 59. Magan, N. and P. Evans (2000), Volatile as an indicator of fungal activity and differentiation between species and the potential use of electronic nose technology for early detection of grain spoilage, *J. Stored Products Res.* **36**, 319-340.
 60. Olsson, J., T. Borjesson, T. Lundstedt, and J. Schnurer (2000), Volatile for mycological quality grading of barley grains: Determinations using gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose, *J. Food Microbiol.* **59**, 167-178.
 61. Gibson, T. D., O. Prosser, J. N. Hulbert, R. W. Marshall, P. Corcoan, P. Lowery, E. A. Ruck-Keene, and S. Heraon (1997), Detection and simultaneous identification of microorganism from headspace samples using an electronic nose, *Sensors Actuators B* **44**, 413-422.
 62. McEntegart, C. M., W. R. Penrose, S. Strathmann, and J. R. Stetter (2000), Detection and discrimination of coliform bacteria with gas sensor arrays, *Sensors Actuators B* **70**, 170-176.
 63. Kim, G., M. W. Lee, K. J. Lee, C. H. Choi, K. M. Noh, S. Kang, and Y. C. Chang (2005), Identification of *Salmonella* pathogen using electronic nose, *J. Biosystems Eng.* **30**(2), 121-126.
 64. Kim, J. D., H. G. Byun, and Y. K. Ham (2004), Design of a portable electronic nose system using PDA, *J. Korean Sensors Soc.* **13**, 454-461.
 65. Byun, H. G., J. S. Lee, and J. D. Kim (2004), Implementation of a portable electronic nose system for field screening, *J. Korean Sensors Soc.* **13**, 41-46.
 66. Yang, Y. S., Y. S. Kim, S. C. Ha, Y. J. Kim, S. M. Cho, H. B. Pyo, and C. A. Choi (2005), A portable electronic nose (E-Nose) system using PDA device, *J. Korean Sensors Soc.* **14**(2), 69-77.