

식품위해물질 검출용 나노바이오센서

고 성 호

바이오제론연구단

Nanobiosensors for Detection of Food Hazards

Sungho Ko

Biogeron Food Technology Research Group

바이오센서 기술의 원리

바이오센서란 생체감지물질(bioreceptor)과 분석하고자 하는 물질간의 선택적인 인지로부터 유도되는 물리적 또는 화학적 변화를 감지하는 계측기를 통틀어 지칭한다. 일반적으로 생체감지물질은 특정 화학물질을 특이적으로 인지하는 효소와 이들을 포함하는 미생물, 동·식물의 조직 및 세포와 항원, 항체, DNA, 수용체 등이 사용되고 있으며, 분석 물질은 효소, 항체와 같은 생체물질뿐만 아니라 곰팡이독소, 잔류농약과 같은 화학물질도 포함된다.

바이오센서는 생체감지물질에 따라 면역, 효소, 세포, DNA 센서 등으로 분류되어지고, 측정방식에 따라 광학, 전기화학, 열 방식 등으로

분류되어 질 수 있으며, 측정하고자 하는 물질과 센서의 감지부나 신호 변환기의 종류에 따라 다양하다. 바이오센서는 1962년 clark의 투석막을 이용한 최초의 글루코스센서를 개발하면서 시작되어 초기 효소를 이용한 센서에서 분자생물학의 발달로 단일 클론 항체의 대량 생산이 가능해짐에 따라 항체를 이용한 센서가 개발되었다. 현재는 DNA나 단백질을 이용한 칩센서에 대한 개발이 빠른 속도로 진행되고 있다.

바이오센서는 분석할 물질을 인식하는 생체감지물질 부분과 분석물질사이의 특이적 반응을 전기화학(electrochemical), 형광, 발색, SPR(surface plasmon resonance), FET(field-effect transistor), QCM(quartz crystal microbalance)

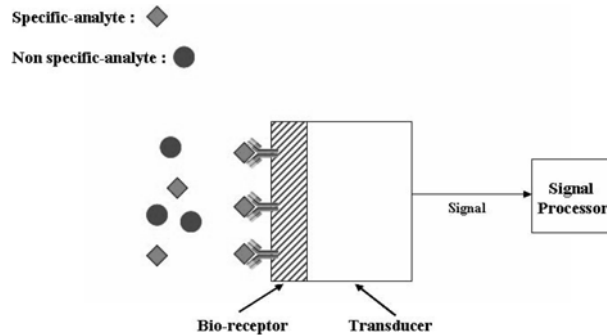


그림 1. 바이오센서의 모식도

등 다양한 물리·화학적 방법에 의해 검출 가능한 전기적신호로 변환시켜 주는 부분(transducer)으로 구성되어 있으며, 이들 신호는 분석물질의 농도와 비례하여 정성, 정량 분석이 가능하다. 그림 1은 바이오센서의 모식도를 보여준다. 생체감지물질은 막을 형성하도록 하여 사용하거나 나노소립자나 칩의 기관 등에 고정화시켜 특정 물질을 선택적으로 인지하도록 한다. 인지된 물질의 농도는 감지물과 반응물의 반응이 광반응일 경우 photon counter로 발열 또는 흡열 등의 열변화일 경우 thermistor로 진동수의 변화는 음파검출기로, 전기적 특성을 가질 때는 전극 또는 반도체소자를 통해 전기적인 신호로 변환시키게 된다.

유용한 바이오센서는 짧은 응답시간(response time), 특정물질에만 반응하는 높은 선택도(selectivity), 소량의 물질과도 결합하는 민감도(sensitivity), 열적 혹은 화학적 안정도(stability) 및 저비용 등의 조건들을 충족시켜야한다.

나노라는 말은 매우 작다는 것을 의미하는 고

대그리스어 나노스에서 유래되었으며, 1 나노미터(nm)는 10억분의 1 미터(m)로서 사람 머리카락 굵기의 약 10만분의 1에 해당한다. 최근에 바이오센서가 가지고 있는 한계들을 개선 혹은 극복하기 위하여 나노기술을 바이오센서에 접목하여 기존 바이오센서를 소형화하거나, 감도를 향상시키거나, 기존 기술로 불가능하였던 향상된 기능을 수행할 수 있는 시스템 개발이 시도되어지고 있다. 이러한 나노바이오센서는 의료, 환경, 바이오테러 뿐만 아니라 식품위해소스의 검출에도 이용될 수 있다.

나노 기술 뿐만이 아니라 최근 바이오센서는 MEMS(microelectromechanical system), μ -TAS, microfluidic 등의 기술이 도입되면서 검출 방법의 편의성이 증대되고 소형화가 이루어지고 있다.

바이오센서의 궁극적 목적 중 하나가 간단하고 편리하게 사용할 수 있도록 하여 공간과 시간의 제약 없이 소비자들이 이용할 수 있게 하는 것이다. 바이오센서는 감지물과 분석물간의 선택적 반응을 이용하여 검출하고자 하는 물질

외의 다른 물질에 의한 간섭을 줄일 수 있고, 측정 물질을 고감도로 구별해 낼 수 있는 장점을 가지고 있지만, 바이오센서의 면역 특이적 분석, 효소를 통한 분석 등은 분석하고자 하는 물질의 대부분이 혼합물의 형태로 존재하기 때문에 특정 물질의 분리를 위한 전처리 과정이 필요하여 실제 소비자들이 사용하는데 있어 제한성을 갖는다. 현재 다양한 바이오센서가 개발되고 있으나 한계성을 갖고 있는 실정이며, 이를 해결하기 위한 방안으로 'Lab-On-a-Chip' 개념이 제시되고 있다. 반응물질의 검출 뿐만 아니라 시료의 전처리 단계까지도 chip 상에서 한번에 이루어지게 함으로서 보다 간편하게 센서를 이용하도록 하여 바이오센서의 단점을 보완하고자 하는 기술이다.

이와 같이 여러 이론들과 다양한 바이오센서가 개발되고 있으나 아직까지 한계성을 갖고 있는 실정이다.

바이오센서의 시장 현황

다른 분야에 비하여 초기 단계인 바이오센서의 시장은 기존의 분석방법과는 달리 적은비용으로 신속, 정확하게 물질을 분석하는 장점뿐만 아니라 응용분야가 다양하여 높은 성장성이 전망되는 분야이다. 현재 세계 바이오센서 시장은 존스 앤 존슨, 바이엘, 로슈, 메디트로닉스 등 다국적 업체들이 세계 시장의 80% 이상을 장악하고 있으며, 1997년 6억 달러에서 2005년에

는 85억 달러로 8년간 무려 14배나 성장했다. 국내에서도 이들의 제품이 90% 정도를 점유하고 있다. Business Communications Company, Inc.(Norwalk, CT, USA) 보고서와 Theta 보고서(NewYork, NY)를 참고하면, 바이오센서 시장은 의료용 센서가 가장 많은 부분을 차지하며, 전체 바이오센서 시장의 80%를 혈당바이오센서가 차지하고 있다. 식품과 음료산업에서의 바이오센서 시장규모는 2005년도 기준 1억 5,000만 달러에 그치고 있지만 식중독균, 농약, 항생제 등 식품 유해잔류물질 및 유전자변형물질 검출과 식품의 기능성 평가에 바이오센서 기술이 보다 넓게 사용될 수 있을 것으로 보여 시장은 큰 폭으로 성장할 것으로 전망된다. 따라서 BT, NT, IT 기술 등의 융합을 통해 바이오센서 기술을 지속적으로 발전시켜 식품산업에 응용되는 나노바이오센서의 시장 성장을 촉진할 필요가 있다.

바이오센서에 의한 식품 위해물질 검출

대량 급식이 많아지고 가공식품이 홍수를 이루면서 빈번하게 발생함에 따라 식품위해요소의 신속, 정확한 검출에 의한 사고를 예방하거나 빠르게 대처할 필요성이 시급히 요구되고 있다. 식품 관련 위해요소는 미생물적 요인, 물리적 요인, 화학적 요인으로 크게 세 가지로 나눌 수 있다. 미생물적 요인은 설사, 구토, 복통

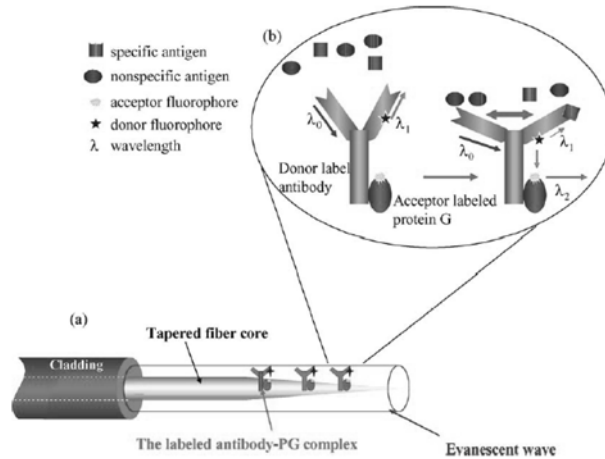


그림 2. 광섬유를 이용한 나노바이오센서

등을 일으키는 대장균(*E.coli*), 살모넬라균(*Salmonella*), 스타피로코쿠스균(*Staphylococcus*), 리스테리아균(*Listeria*), 캄파일로박터균(*Campylobacter*) 등과 같은 식품병원균이 이에 속한다. 미국의 경우 매년 7천 5백만 명이 식중독균으로부터 고통을 겪고 있으며, 이 중 33만여 명이 병원 치료를 받고, 5천여 명이 사망하고 있다. 국내의 경우 2000년 식중독 발생 환자의 수는 7천 3백여 명으로 총 104건이 발생하였으며, 이 중 미생물에 의한 발생은 40%가 넘으며 특히 살모넬라균에 의한 식중독이 30건(28.8%)으로 가장 많이 발생하였다. 또한 식중독균은 대량 살상용 무기는 아니지만 많은 사람들의 생명을 위협할 수 있는 테러용 무기가 될 수 있다. 따라서 전문가들은 테러리스트들이 식량이나 물에 대한 주요 공급원을 공격함으로써 수천 내지 수만 명의 사람들이 고통을 받을 수 있으며 특히 많은 수의 어린 아이들과 노인

들이 희생될 수 있다고 경고했다.

이러한 식중독균을 검출하는 기존의 방법은, 실험실에서 배양으로 자란 세균을 보고 확인하는데 적어도 이틀 이상 걸리기 때문에 현장에서 바로 사용될 수 있는 고감도 나노바이오센서의 개발이 시급하다. 이러한 시점에서, 한국식품연구원과 미국 미주리대학(University of Missouri-Columbia) 그룹은 서로 다른 색상의 형광을 내는 두 개의 나노입자가 10 nm 이내로 가까워지면 그 사이에 에너지전달이 생겨, 각각의 형광 스펙트럼이 달라지는 현상인 fluorescence resonance energy transfer(FRET) (형광공명에너지전이) 원리를 이용하여 나노바이오센서를 개발하였다. 그림 2에서 보듯이, 항체를 광섬유에 고정시키고 이 광섬유를 살모넬라균이 있는 용기에 단순히 침지시킴으로서 살모넬라균이 항체와 결합했을 때 두개의 형광 나노입자가 10 nm 내로 가까워져 둘 사이에 에너지전달이 일

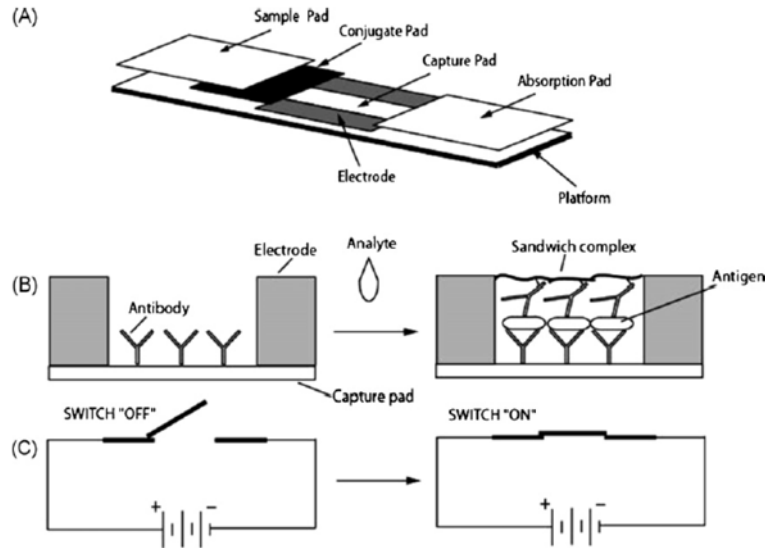


그림 3. (A) 바이오센서에서 막들의 배열, (B) 분석물질 첨가 전-후의 capture pad의 모식도, (C) 분석물질 첨가 전-후의 전기회로 모식도

어나고, 그 결과로 일어나는 빛의 세기 변화를 측정하는 방법으로 살모넬라균을 1,000 마리/ml 정도의 민감도로 간편하고, 초고속(5분 이내)로 실시간 검출할 수 있는 고감도 광학 바이오센서를 개발하였다.

그림 3에서 보듯이, 미국 미시간 주립대학교(Michigan State University)의 과학자들은 식중독균중의 하나인 바실러스균(*Bacillus cereus*)을 검출하기 위해, 나노와이어에 고정된 항체를 사용하여 6분 안에 약 10~100 개/ml의 균을 전기적 신호로 검출할 수 있는 고감도 나노바이오센서를 개발하였다.

이 바이오센서는 반응시간이 짧고, 민감하며, 사용하기가 편리하고 소형이라 실제 현장에서 사용이 아주 용이하다. 또한, 바이오테러에 이

용될 수 있는 탄저균을 신속 감지하는데도 이용될 수 있다.

하버드 대학의 Cui 그룹은 나노FET(field-effect transistor)와 바이오틴(biotin)으로 코팅된 실리콘 나노와이어(SiNW)를 이용하여 스트렙타비딘(streptavidin)을 1 pM 농도까지 측정할 수 있는 나노바이오센서를 개발하였다(그림 4).

이 바이오센서는 형광물질과 같은 라벨을 붙일 필요가 없고, 실시간으로 화학물질이나 바이오물질을 고감도로 검출할 수 있어 식중독균의 현장 검출용 나노바이오센서 개발에도 응용이 가능할 것으로 보인다.

또한, 농촌진흥청 농업공학연구소의 한 연구 그룹은 2006년에 임피던스 바이오센서를 이용하여 살모넬라 엔테르티스를 검출하는 기술을

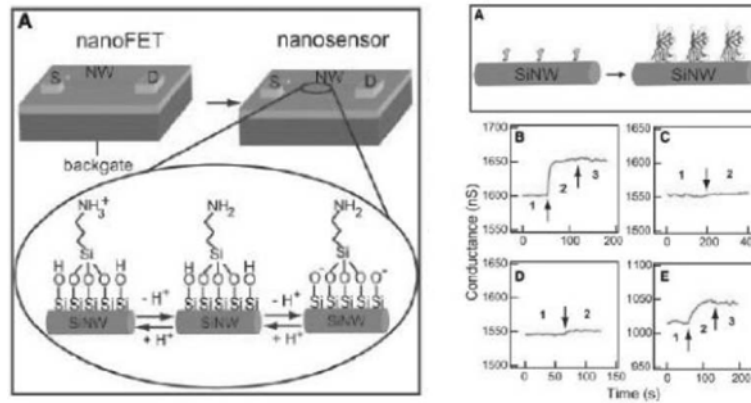


그림 4. 나노FET를 이용한 센서의 모식도(왼쪽)와 바이오틴이 코팅되어진 실리콘 나노와이어에 스트렙타비딘 반응의 모식도(오른쪽)

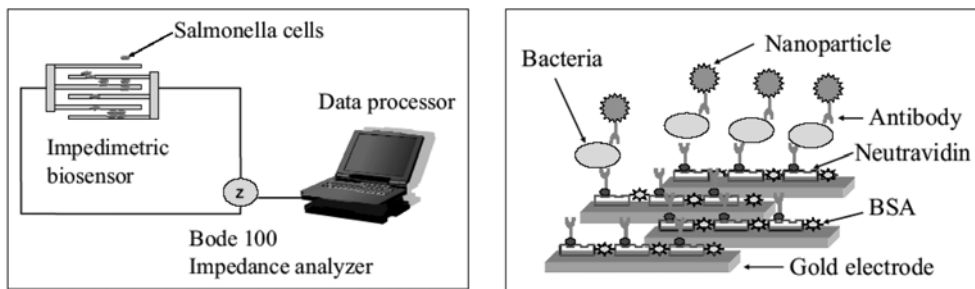


그림 5. 바이오센서 장비 모식도(왼쪽)과 나노입자에 의한 신호증가 및 검출 원리(오른쪽)

개발하였다. 그림 5에서 보듯이, gold electrode 표면 위에 뉴트라비딘(neutravidin), 항체, 살모넬라를 연속적으로 반응시킨 후 나노입자가 결합된 항체를 결합시키는 샌드위치 방법에 의해서 신호를 대폭 증가시켰다. 그 결과 살모넬라 엔테르티스를 3분이란 아주 짧은 시간에 10,000 마리/ml까지 검출할 수 있는 기술을 개발하였다.

물리·화학적 요인은 세 가지로 나누어 생각해 볼 수 있는데 중금속과 같은 환경오염물질, 농약이나 식품의 보관을 위한 방부제 등의 식

품 첨가물, 식품의 제조, 가공 또는 조리과정에서의 가열, 건조에 의한 성분간 화학적 반응을 통해 생성되는 신중유해물질이 이에 해당된다. 화학적 위해요소인 중금속, 벤젠, 벤조피렌 등은 식품을 통해 다량 섭취하게 될 경우 암, 신경질환 등의 질병을 유발시키고, 심한 경우 죽음까지 이르게 하는 물질들이므로 섭취 이전에 제조 과정 또는 유통 경로 상에서 손쉽고 빠르게 반응 물질을 검출하는 바이오센서의 개발이 필요하다.

잔류농약의 경우 국내 사용 중인 유기인계 농약 11종에 대해 한국인의 평균 식이 섭취량을 농약의 잔류량과 식품계수를 통해 산정한 결과 1인당 1일 31 μg , ADI값에 대한 섭취량의 합계가 18.7%에 달했다. 바이오센서를 통한 잔류농약의 검출은 농약의 종류와 무관하게 빠른 시간 내에 검출할 수 있는 장점이 있다.

유기인계 및 카바메이트계 농약을 측정할 수 있는 AchE-strip형 바이오센서가 2006년 제주대학교의 의과대학과 생명자원과학대학의 생물산업학부 및 생명공학부에서 연구 발표되었다. 곤충으로부터 분리한 신경전달계 효소인 acetylcholinesterase(AchE)는 1970년대에 유기인계 잔류농약을 검출하기 위해 활발히 연구되어져 왔다. AchE를 이용한 검출 방법은 농약추출액과 반응시켜 효소의 활성이 저해되는 정도를 통해 농약의 잔류 여부를 알아내는 방법으로 유전자재조합 AchE와 감광성 고분자물질을 수용액에 혼합하고, 광에 의한 가교화 반응에 의해 효소를 막 위에 고정화 시켜 기존의 용액형태의 효소에 의한 측정법보다 신속하고 간편하여 5분 안에 검출이 가능하고, chlorpyrifos, cabaryl, carbofuran, methidathion에 대해 정밀분석법에 의한 검출한계에 근접한 것으로 나타났다. 또한 4°C에서 6개월 동안 효소의 활성이 유지되어 바이오센서를 장시간 보관할 수 있게 되었다.

벤조피렌은 식품을 가열하거나 고온으로 조리할 때 유기물이 불완전연소 되거나 열분해되어 생성되는 물질로 DNA 염기서열의 사이

에 끼어들어가 유전자의 전사과정을 저해하며, 국제암연구소(IARC)에서 발암물질(Group1)로 분류하고 있다. 벤조피렌은 식용유지의 제조과정에서 생성되는 것 뿐만 아니라 삼겹살을 구웠을 때 탄 부위에서 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 생성되고, 담배 한 개피를 필 때 20~40 ng 정도가 발생한다. 식품의약품안전청은 식용유지 중 벤조피렌의 관리기준을 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 설정하고 있으며, 2009년 식약청의 긴급회수 식품품목 중 벤조피렌의 기준치 초과로 인해 회수된 참기름이 2달 동안 3종에 달했으며, 62개의 한약재 중 14종, 흑삼농축액 건강기능식품 4개 제품에서도 벤조피렌이 과다 검출되었다. 벤조피렌을 검출하기 위한 연구들은 1990년대에 들어서 활발히 진행되어져 왔고, 바이오센서로는 단일클론 항체-금 바이오센서 칩을 Duhachek이 2000년도에 발표하기도 하였다.

2001년 터키 dorp 대학(Ege university)의 과학자들이 송아지 흉선의 double strand DNA(dsDNA)의 구아닌이 벤조피렌과 공유결합을 통해 구아닌의 산화에 의한 음의 전위 신호는 감소하고 결합에 의한 대사물의 양의 전위 신호는 증가하는 것을 이용하여 벤조피렌 0.1~5 μM 다양한 농도범위에서 전류의 변화를 측정하여 벤조피렌을 검출하는 바이오센서를 개발하였다. 이들이 개발한 전기화학적 DNA 바이오센서는 이전의 형광을 이용한 면역센서에 비해 민감성이 높고, 단순하며, 사용하기 쉽고, 비용이 효율적이다.

결 론

인간은 누구나 살아가면서 식품을 소비하여야 한다. 그래서 전 세계적으로 식품산업은 눈부시게 발전하고 있다. 특히, 식품의 안전성 문제는 개인뿐만이 아니라 사회적, 크게는 국제적인 문제인 것이다. 식품은 사회가 발전함에 따라 그 종류와 양이 점차 증가하였고 그에 따라 식품 위해요소에 대한 품질의 규제가 강화되어져 왔다. 하지만 규제 및 단속의 강화에도 불구하고 매년 식품의 반환 및 감염에 의한 의료비의 지출이 계속되고 있다. 우리가 매일 먹는 식품이 식중독균과 같은 위해물질에 오염됐을 경우 식중독과 같은 급성질환을 유발하게 되며, 채소류의 잔류 농약은 신경계 질환 및 정신적 질환 등을 유발하게 된다. 현재 중금속의 경우 수은을 비롯한 납, 비소 등을 검출할 수 있는 바이오센서가 개발되어지고 있고, 잔류농약의 경우 국내에서 미생물을 이용한 바이오센서가 개발되었다. 또한, 식중독검출 바이오센서, 벤젠과 같은 방향성 환경오염물을 검출할 수 있는 바이오센서들이 개발되어지고 있다.

식품 위해요소로부터 발생하는 질병의 발생을 예방하고, 전염을 막기 위해 현장에서 실시간 위해요소를 고감도로 검출할 수 있는 휴대 가능한 소형화된 나노바이오센서 기술 개발을 위한 나노기술, 반도체공학, 전기화학, 광학, 폴리머화학, 미생물학, 생화학 등 다양한 분야의 전문지식과 기술의 융합을 통해 바이오센서 기술이 발전되고 있다. 국내 중소기업 개발업체들

의 자금능력 및 연구 능력 부족 등으로 인하여 다양한 종류의 외국 특허들을 피하여 경쟁력 있는 바이오센서를 개발하는 것은 현실적으로 쉽지 않다. 그러나 현재 전 세계의 다양한 연구그룹들 뿐만 아니라 국내에서도 나노바이오센서 개발을 위해 여러 그룹이 매진하고 있고 상대적으로 발달한 정보통신 기술을 잘 융합하여 노력한다면 가까운 미래에 식품으로 인한 여러 질환의 발생을 획기적으로 줄여 경제적 손실 감소와 국민건강향상에 크게 기여할 것으로 보고 있다. 이 뿐 아니라 바이오센서의 발달은 농산물 등의 발효상태, 성장 정도, 신선도, 맛, 세균에 의한 감염 등 식품관련 분야에서 다양하게 활용될 것으로 여겨진다.

참고문헌

1. Cui Y, Wei Q, Park H, Lieber CM, Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species, *Science*, **293**, 1289-1292, 2001
2. Kerman K, Meric B, Ozkan D, Kara P, Erdem A, Ozsoz M, Electrochemical DNA biosensor for the determination of benzo[a]pyrene-DNA adducts, *Analytica chimica acta*, **450**, 45-52, 2001
3. Kim G, Mun JH, Om AS, Nano-particle enhanced impedimetric biosensor for detection of foodborne pathogens, *J. Phys.*, **61**, 555-559, 2006
4. Kim YM, Kim JY, Cho MJ, Chang GM, Hyun HN, Cho SK, Acetylcholinesterase-based Biosensor

- for Detection of Residual Organophosphates and Carbamates Insecticides, *biol. chem.*, **49**, 315-321, 2006
5. Ko S, Grant SA, A novel FRET-based optical fiber biosensor for rapid detection of *Salmonella typhimurium*, *Biosen. Bioelectron.*, **21**, 1283-1290, 2006
6. Pal SE, Alocilja EC, Downes FP, Nanowire labeled direct-charge transfer biosensor for detecting *Bacillus* species, *Biosen. Bioelectron.*, **22**, 2329-2336, 2007

고성호 공학박사

- 소속 한국식품연구원 바이오제론연구단
- 전문분야 바이오센서
- E-mail shko7@kfri.re.kr
- TEL 031-780-9320