

식품안전을 위한 나노바코드의 응용

Application of Nano-barcode for Food Safety

최성욱 | 안전유통연구단

Sung-Wook Choi | Safety, Distribution and Marketing Research Group

기술명 및 배경

식품에 있어 안전은 믿을 수 있는 재료와 안전한 유통에서 출발한다고 해도 과언이 아니다. 최근 식품의 원산지를 속여 팔아 온 업체들이 2011년에만 21,000여 개가 적발된 것으로 보고되었으며 고급 양주, 꿀, 참기름 등은 위해물질이 첨가되어 위·변조되는 사건이 빈번히 발생하고 있다. 이러한 식품 위·변조 사고를 방지 위하여 식품 이력을 위치기반으로 추적할 수 있는 다양한 기술을 개발하고 있다. 이러한 기술 중 가장 기본이 되는 것이 식품과 같은 상품 인식기술이며 그 중 바코드는 가장 잘 알려진 기술 중 하나이다.

바코드는 우리 일상 중 사용하는 거의 모든 제품에서 쉽게 찾아볼 수 있을 정도로 친숙해져 있다. 최근 스마트폰을 이용하여 바코드나 매트릭스 코드를 인식하여 가격비교까지 해주는 바코드 리더용 어플이 등장하기도 하였다. 이러한 바코드 시스템은 컴퓨터 기술의 발전과 더불어 발전하여 왔으

며 물류산업에 혁명적 변화를 가져왔다.

일반적으로 바코드는 굵기가 서로 다른 흑백 막대로 조합시켜 만든 코드로 세계상품코드(universal product code, UPC) 등의 기준에 따라 상품의 종류, 매출정보 관리, 도서 분류, 신분 증명 등에 다양하게 이용된다. 바코드는 종이를 포함하여 다양한 재질에 인쇄할 수 있기 때문에 제작이 용이하고 포터블 타입의 바코드 리더를 이용하여 원하는 정보에 쉽고 빠르게 접근할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 그러나 다양하고 많은 정보를 코드화하기 어렵고 위조하기 쉽다는 단점을 가진다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 육각형이나 사각형의 점으로 1차원 선형 막대 형태에서 2차원 평면상에 표시되는 매트릭스 코드가 개발되었다. 대표적인 매트릭스 코드로 QR코드(텐소웨이브, 일본), PDF417(Symbol, 미국) 등이 있으며 바코드의 경우 20문자 정도의 정보량에 비해 숫자 7,089문자까지 표현할 수 있을 정도로 대용량 정보를 코드화할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 이러한 인식기술들은 손상이나 복제,

악성코드 노출에 자유롭지 못하다는 단점으로 인하여 식품 원산지 판별이나 이력추적에 어려움이 발생할 수 있다.

최근 마이크로와 나노기술을 접목하여 눈에 보이지 않는 미세한 분자수준 크기의 인식 식별자를 사용하여 위·변조가 불가능한 바코드 시스템에 대한 개념이 소개되었다. 인식기술에 있어 핵심은 식별자로는 바이오품질의 기본단위인 DNA, 바코드의 선형 바와 같은 나노와이어(또는 나노로드), 매트릭스 코드와 유사한 나노디스크가 이용되었다. 생물의 유전정보를 담고 있는 DNA 염기서열은 정보의 직접화와 세계적으로 통용될 수 있는 높은 신뢰성이 장점으로 인식기술 개발을 위해 가장 활발히 연구가 진행되고 있다. 나노와이어나 나노디스크는 무기 나노물질을 합성(bottom-up)하거나 조각(top-down)하는 방법으로 선택적 배열을 통해 암호화하는 것으로 견고성을 장점으로 장기간 지속가능한 인식기술에 사용할 수 있는 특징이 있다. 이러한 특징들을 갖는 나노물질을 이용한 차세대 바코드 기술 개발 현황에 대해 소개하고 향후 전망을 살펴보고자 한다.

원 리

바코드 정보체계

바코드의 정보체계는 (1) 정보의 습득 및 기록, (2) 기록된 정보의 저장, (3) 정보의 수집 및 판독, (4) 판독된 정보의 표시와 같은 정보 이론의 4단계로 이루어진다. 정보의 습득 및 기록은 상품에 대한 필요 정보들을 습득하고 암호화하기 위해 정보를 배정하고 기록하는 인코딩 단계에 해당한다. 기록된 정보의 저장은 배정한 정보를 암호화하여 실체에 기록하는 인크립팅 단계이며 인쇄된 바코드에 해당한다. 이후 암호화된 정보를 사용자 측면에서 확인하기 위해 암호를 해제하는 디크립팅 단계를 거쳐 가시적으로 표시하는 디코딩 단계가 된다. Fig. 1에서 나타낸 것과 같이 나노바코드 또한 동일 정보체계를 이용할 수 있다. 정보를 습득하고 기록하기 위해 암호화된 DNA 염기서열을 제작하거나 하나의 나노와이어에 길이와 재질이 서로 다른 물질을 번갈아 성장시켜 제작하여 암호화 한다. 정보를 저장하기 위한 인크립팅 단계에서 제작한 DNA 염기서열을 나노물질 상에 코팅하거나 캡슐화하여 나노바코드를 제작한 후 상품에 도포하여 암호화



Fig. 1. Code scheme of nanobarcode

고, 저장·전달 및 그 기능을 증가시킬 수 있다. DNA@무기 나노하이브리드 재료를 흑색 잉크에 분산시켜 바코드 잉크를 제조하여 순수한 스탬프 흑색 잉크와 바코드 잉크를 유리 슬라이드에 [S] 문자로 각각 날인하고, 광학 스캐너로 이미지를 스캔하였다. 순수한 잉크로 날인한 [S]는 형광물질을 포함하지 않았고, 바코드 잉크로 날인한 [S]는 녹색과 적색 형광체가 병합된 노란색 [S] 이미지를 나타내는 것을 확인할 수 있다. 이에 형광 [S] 이미지의 검출을 통해 광학DNA 나노캡슐을 제거하지 않은 상태에서 하이브리드 바코드 유무를 1차 관독하였으며 마이크로 에레이어/스캐너를 사용하여 2차 관독하는 시스템을 보고하였다.

나노입자 표면에 식별자를 붙여 개체를 인식하는 방법은 2003년 C. M. Mirkin 그룹에서 발표되었다(Fig. 3). 바코드 DNA를 고정시킨 금 나노입자와 검출물질의 프로브를 고정시킨 자성 마이크로입자를 이용하여 검출물질과 샌드위치 형태로 반응시켜 자석에 의해 선택적으로 분리/농축시킨 후 바코드 DNA를 관독하는 방법이다. PCR없이 코팅에

의해 표면 플라즈몬 공명 신호 강화현상을 이용하여 prostate-specific antigen(PSA)를 30 aM까지, PCR 수행 후 3 aM 까지 검출할 수 있다.

식별자를 나노입자로 사용하는 경우 나노입자가 지는 화학적, 광학적, 전기적 등과 같은 신호변환 성질을 이용하여 마이크로/나노 입자로 캡슐화하여 나노바코드에 이용된다. 인디애나 대학의 S. Nie 그룹은 식별자로 quantum-dot(QD)을 마이크로 비드에 캡슐화하여 다중검출에 이용하였다. CdSe/ZnS QD 나노입자는 크기에 따라 443~655 nm까지 선택적으로 형광 발광 파장을 조절할 수 있다. 각기 다른 발광파장을 갖는 QD의 농도를 조절하여 마이크로 비드를 제작하였을 경우 형광 현미경을 통해 각기 다른 세기를 가지며 이를 명확히 구분할 수 있다는 것을 보고하였다(Fig. 4).

식별자를 나노입자에 캡슐화하여 사용하지 않고 나노 물질 자체를 식별자로 이용하는 경우도 있다. M. J. Natan 그룹은 2001년 금속 나노와이어를 주형체 속에서 제작할 수 있다는 것을 보고하였으며 이를 이용하여 바코드를 제작하였다. 200 nm pore

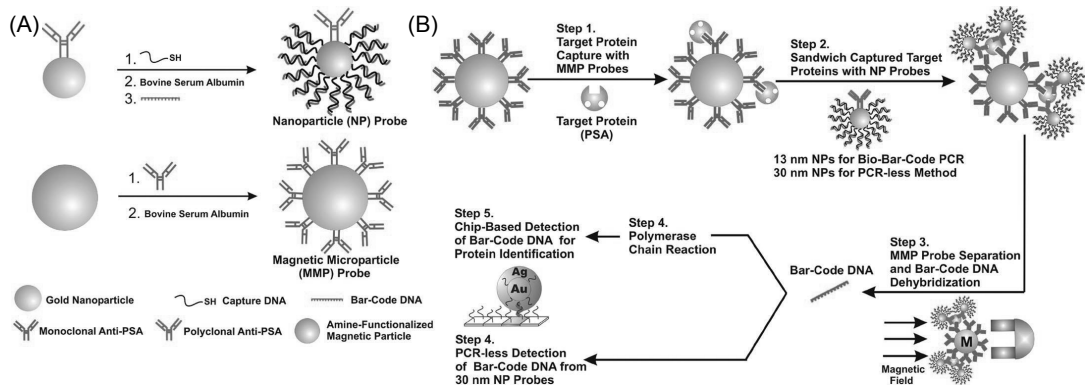


Fig. 3. The bio-bar-code assay method (Nam JM *et al.*, Science, 301, 1884, 2003).

size를 갖는 Al_2O_3 membrane filter를 주형체로 이용하여 Ag와 Au를 전기화학적 방법으로 주형체 속에서 성장시키는 방법을 사용하였다. 하나의 나노와이어에 Ag, Au 또는 Ni을 반복적으로 성장시키고 각 금속의 성장 길이 또한 조절하여 현미경을 이용하여 관독하였다(Fig. 5(a)). 또한 Au에 선택적으로 형광 표지된 단백질을 고정시켜 형광 현미경을 통해 다중 분석 가능성을 제시하였다(Fig. 5(b)).

나노디스크를 사용하여 바코드를 제작하는 방법은 2007년 C. M. Mirkin group에서 제시되었다. On-wire lithography(OWL)라는 방법을 이용하여 나노디스크를 제작하였고 디스크 사이의 간격을 이용하여 바코드를 제작하였다. 나노디스크를 제작하

는 OWL의 방법은 M. J. Natan이 고안한 나노와이어 제작방법에서 개량된 것으로 하나의 나노와이어 상에 Au와 Ni을 번갈아 성장시킨 후 Ni만을 선택적으로 제거하면 디스크 형상의 Au만 남게 된다. Au의 디스크 간격은 Ni 부분의 길이에 의해 조절될 수 있다. 이렇게 제작된 Au 디스크 바코드는 confocal Raman을 이용하여 관독을 위해 이미지화시킬 수 있다(Fig. 6).

디코딩기술

이상의 인코딩을 위한 다양한 나노기술을 소개하였다. 각각의 인코딩 기술에서 형광 스캐너,

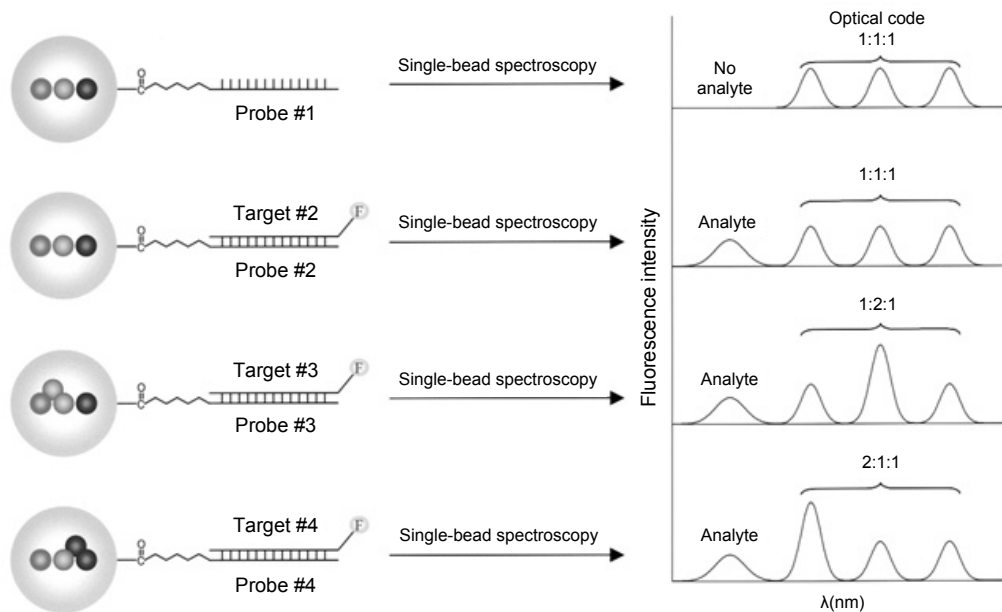


Fig. 4. Schematic illustration of DNA hybridization assays using QD-tagged beads. Probe oligos(No. 1–4) were conjugated to the beads by crosslinking, and target oligos(No. 1–4) were detected with a blue fluorescent dye such as Cascade Blue. After hybridization, nonspecific molecules and excess reagents were removed by washing (Han M *et al.*, Nature, **19**, 631, 2001).

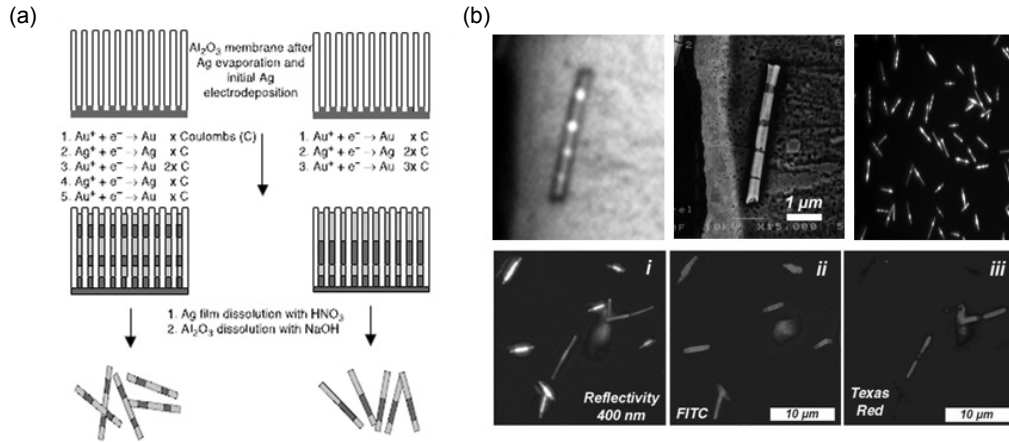


Fig. 5. Synthesis of barcoded particles (a) and Optical and FE-SEM images (b) of an Au-Ag multistripe particle with 550-nm Au stripes and Ag stripes of 240, 170, 110, and 60 nm (top to bottom). A simultaneous sandwich immunoassay performed on barcode wires. Panel (i) shows the reflectance optical microscopy image; (ii) and (iii) show the fluorescence readout with FITC and Texas Red filter sets, respectively (Nicewarner-Pena SR *et al.*, Science, **294**, 137, 2001)

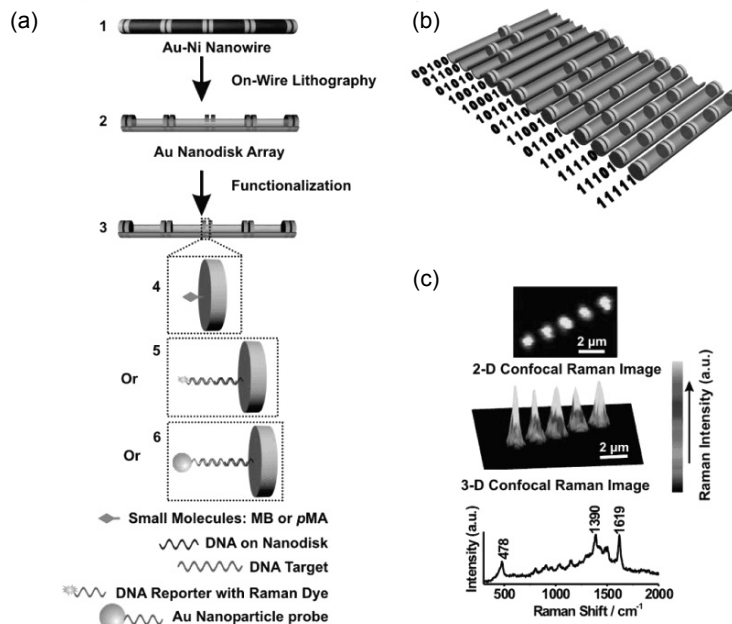


Fig. 6. Scheme of the nanodisk code (NDC) method. (a) Synthesis and functionalization. (b) Thirteen possible 5-disk-pair NDCs with corresponding binary codes. (c) 2D (top) and 3D (middle) scanning Raman microscopy images of a 11111 NDC. Representative Raman spectrum of methylene blue (bottom) taken from the center of the hot spot generated in the middle disk pair shown in the Raman maps above (Qin L *et al.*, Nano Lett, **7**, 3894, 2007).

한다. 현미경이나 형광스캐너 등의 검출기(또는 리더기)를 이용하여 DNA나 나노와이어에 포함된 암호를 해제하고 해독하여 암호를 최종 관독한다.

식품분야 활용방안

인코딩을 위한 나노기술

나노바코딩 기술은 인코딩과 인크립팅 부분에 주로 적용되는 기술이며 정보를 관독하기 위해서 나노물질을 검출하기 위한 센서 기술이 적용된다. 식품 개체를 인식하기 위해서 각각의 개체에 고유한 식별자를 부여한다. 가장 많이 사용되는 식별자가 DNA 염기쌍이며 그 외 나노입자, 나노선과 나노디스크 등이 보고되고 있다.

제작과정 중에 host로써 이용되는 마이크로 또는 나노 크기의 입자들은 식별자로서 DNA 염기쌍, 분자, 나노입자 등을 캡슐화하기 위해 사용되며 유효용매와 수용액상에서의 마이크로/나노 입자들의

swelling을 이용하여 식별자를 캡슐화하거나 층상형 무기 나노입자인 금속 이중층 수산화물을 이용하여 정전기적 인력에 의한 자가조립(self-assembly)을 통해 캡슐화 한다. 또 다른 방법으로 마이크로/나노 입자 표면에 식별자를 화학 반응을 통해 고정화시켜 제작한다. 캡슐화로 제작되는 마이크로/나노 입자들은 내부에 담지하고 있는 식별자들을 주변 환경으로부터 보호하고 디코딩 시 신호전달의 역할을 한다. 마이크로/나노입자 표면에 식별자를 고정시키는 경우 주로 마이크로 크기 입자를 사용하여 충분한 양의 식별자가 고정될 수 있게 하며 주로 polymer나 silica 재질의 비드들을 이용하고 있다.

식별자로서 DNA 염기 서열을 이용하는 것은 이화여대 최진호 교수 연구팀에서 DNA 유전자를 나노입자로 캡슐화하여 제작한 나노바이오 하이브리드 바코드가 있다. 2차원 나노시트 형태의 박리된 금속 이중층 수산화물과 DNA를 제조합시켜 DNA 코어@무기 셸 나노복합체를 제조하였다(Fig. 2). 박리화-제조합 방법에 의해 무기 담체에 거대한 DNA를 담지할 수 있으며, 외부 환경에 안정성이 뛰어나

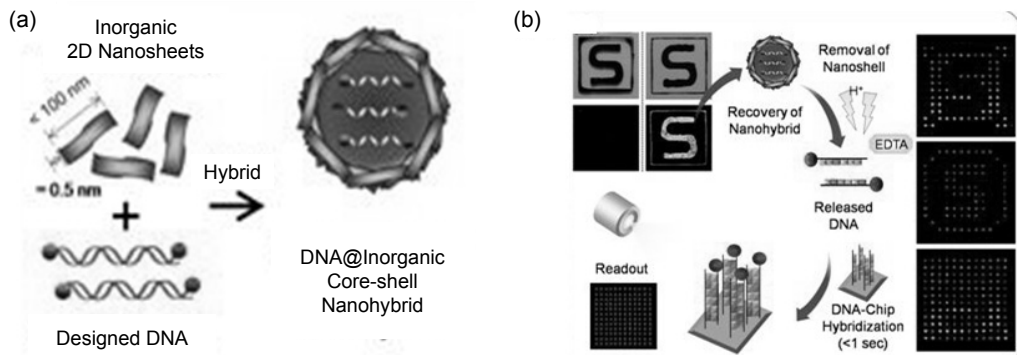


Fig. 2. Scheme for fabricating nanohybrid core-shell particle (a) and nano-forensics application using nanobio hybrid barcode (최진호, 바이오융합기술, 21, 2011).

형광 현미경, 전자현미경, 공초점 라만 현미경을 사용한 것을 알 수 있다. 이처럼 암호화된 나노바코드를 디코딩하여 판독하기 위해서는 이미지화를 할 필요성이 있다. 현재의 기술 수준에서 나노물질을 이미지화하기 위해서 극미량의 나노물질을 정밀하게 검출할 수 있는 형광 스캐너, 전자 현미경 등과 같은 수준의 테이블 탑 분석 장치가 사용되고 있다. 그러나 식품 생산 현장이나 유통현장에 이를 이용하기 위해서는 신속하게 극미량의 나노물질을 인식할 수 있는 고감도 포터블 타입의 센서들이 개발되어야 한다. 이는 나노바코드의 상용화를 위해 극복해야 할 문제점으로 지적할 수 있다.

기대효과

나노기술을 이용한 인식기술은 종래의 바코드와 유사한 정보체계를 갖고 있으며 10^4 문자 정도의 정보 저장량을 가지고 있다. 마이크로 또는 나노 크기라는 특수성으로 복제나 훼손이 어려워 위·변조는 방지할 수 있지만 판독을 위해 대형 고감도 분석장치가 사용되고 별도의 시료처리 과정이 요구되기 때문에 감도상이나 판독 시간상에 문제점을 가지고 있다. 또한 바코드 자체의 복제는 불가능하더라도 식품의 위·변조는 가능하다는 근본 문제점을 가지고 있다. 이를 해결하기 위해 식품 자체의 고유 인식 파라미터들을 분석하고 발굴하는 작업이 요구되며 그 결과에 적절한 나노바코드가 적용되어야 식품 안전을 위한 위·변조 사고는 근절될 수 있을 것으로 판단되며 향후 품질관

리에서 의료진단, 보안 분야까지 확대될 것으로 기대된다.

● 참고문헌 ●

1. 최진호, 나노바이오 하이브리드 바코드 시스템, 바이오융합기술, **21**, 2011
2. Finkel NH, Lou X, Wang C, He L, Barcoding the microworld, Anal Chem, **76**, 353A-359A, 2004
3. Han M, Gao X, Su JZ, Nie S, Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules, Nature, **19**, 631-635, 2001
4. Nam JM, Thaxton CS, Mirkin CA, nanoparticle-based bio-barcodes for the ultrasensitive detection of proteins, Science, **301**, 1884-1886, 2003
5. Nicewarner-Pena SR, Freeman RG, Reiss BD, He L, Pena DJ, Walton ID, Cromer R, Keating CD, Natan MJ, Submicrometer metallic barcodes, Science, **294**, 137-141, 2001
6. Qin L, Banholzer MJ, Millstone JE, Mirkin CA, Nanodisk codes, Nano lett., **7**, 3894-3853, 2007

최 성 욱 공학박사

소 속 : 한국식품연구원 안전유통연구단

전문분야 : 식품위해물질 신속검출

E-mail : swchoi@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9327