

# 식품산업에서의 분자 각인 고분자 (Molecularly Imprinted Polymer)의 활용

## Application of Molecularly Imprinted Polymer in Food Industry

이상희 | 식품분석센터  
Sanghee Lee | Food Analysis Center

### 기술명

이 고분자를 분자각인 고분자라고 한다.

분자 각인 고분자(Molecularly imprinted polymer)

### 식품분야 활용방안

### 원리

분자 각인 고분자(molecularly imprinted polymer, MIP)는 특정 물질을 인식하여 선택적 친화력을 가진 물질들만 분리해 낼 수 있는 기술로 알려져 있다.

MIP는 각인될 수 있는 분자(주형분자, 템플릿)와 수소결합, 전자적 상호작용, 금속이온의 배위결합에 의해 템플릿과 반응할 수 있는 기능을 가진 단위체(기능성 단분자)와 고분자 매트릭스를 가교 결합할 수 있는 기능을 가진 과량의 불활성 단위체(cross-linker) 혼합물을 중합함으로써 이루어진다. 이렇게 만들어진 고분자에서 주형분자를 제거함으로써 화학적 기능과 주형분자의 3차원적인 구조가 상호 보완적으로 구성된 결합자리가 형성되는데,

MIP는 선택성이 우수하고 분자인식 능력이 뛰어나 여러 영역에서 널리 응용되고 있으며 식품 분석 분야에서도 유용하게 활용할 수 있고, 특히 아미노산, 단백질, 탄수화물 등의 분리, 정제, 농축 등에서의 적용이 가능하다.

일반적으로 식품 분석분야에서의 MIP는 chromatography의 고정상으로 사용되며 시료의 전처리 과정을 통하여 분석 대상물질을 분리하는데 응용할 수 있다. MIP는 특이성, 인식성, 단일성 등의 특성을 갖고 있어서 분리하기 어려운 생리활성 물질들의 이성질체 분석에도 유용하게 적용할 수 있다. 또한 분자 각인 기술(molecularly imprinted technology)을 선택적 투과막 제조 방법에 접목하여 광학 분할(optical resolution)이 가능하고 단순 공정화 할 수

있으며 친환경적인 막 형태의 MIP가 개발되었다.

MIP는 합성이 간단하고 제조비용이 저렴하며, 넓은 온도 범위에서 사용할 수 있고 높은 압력에서 견딜 수 있는 장점을 가지고 있다. 그리고 우수한 물리적, 화학적 안정성이 있어 강염기, 강산, 유기 용매에서 사용이 가능하다.

## MIP 제조 및 특징

MIP는 인위적으로 부여된 인식자리를 갖고 있는 합성물질로 특히, 혼합되어 있는 유사물질에서 분석하고자 하는 특정 물질과 결합할 수 있으므로 유사 물질의 분석에 매우 유리하게 사용할 수 있다. MIP는 분석대상물질과 동일한 주형분자와 기능성을 갖고 있으며 가교 반응이 가능한 기능성 단분자를 사용하여 Fig. 1과 같이 제조된다. 사용되는 기

능성 단분자는 주형분자의 작용기와 상호작용할 수 있는 능력을 고려하여 선택된다. 중합반응이 완료되면 주형분자는 제거되고 분석 대상물질과 상호작용 할 수 있는 모양, 크기, 기능성을 가진 결합자리가 생성된다. 제조된 MIP는 안정성이 있고 단단하여 광범위한 pH 범위, 용매, 온도 조건에서 비교적 안정하게 분석이 가능하다.

MIP는 주형분자와 기능성 단분자의 결합형태에 따라 공유(covalent) 결합, 반공유(semi-covalent) 결합, 비공유(non-covalent)결합으로 나누어 볼 수 있다. 공유결합 형태는 중합반응 전에는 주형분자와 기능성 단분자의 가역적인 공유결합을 형성하며 중합반응 후에는 물질 분석을 위해 결합을 분해하여 주형분자를 제거해야 한다. 따라서 주형분자와 기능성 단분자의 높은 결합 안정성은 비특정 자리의 존재를 최소화하여 동종 집단의 결합자리를 만들게 된다. 그러나 분석에 적합한 공유결합의 특

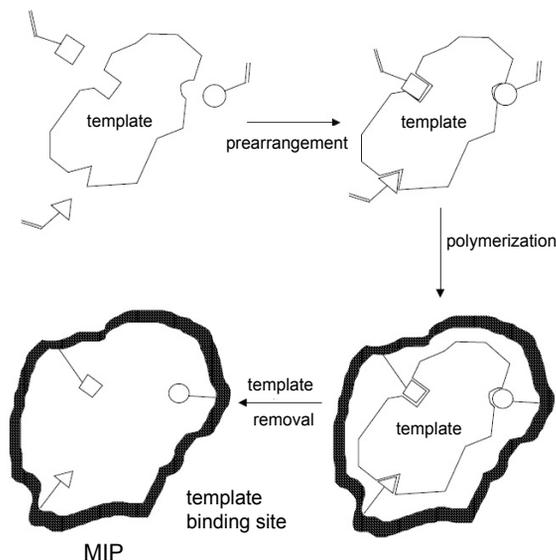


Fig. 1. Schematic diagram of molecularly imprinting polymer preparation (Suedee R *et al.*, J Chromatogr B, **811**, 2004).

성을 갖는 MIP를 찾기가 어렵다는 단점이 있다.

반공유 결합 형태는 주형분자를 형성하고, 기능성 단분자는 공유결합을 형성하나 주형분자의 재결합은 비공유 결합에 의해 진행된다.

비공유 결합 형태는 중합 반응 전에 주형분자와 기능성 단분자 사이에 상대적으로 약한 비공유 상호작용 형성을 기반으로 한다. 이러한 결합형태가 MIP 제조에서 가장 많이 사용된다. 제조 방법은 다소 간단하며 주형분자와 상호작용할 수 있는 광범위한 기능성 단분자를 상업적으로 이용할 수 있다. 그러나 주형분자와 기능성 단분자의 상호작용이 평형에 의해 지배되는 단점이 있다. 이러한 단점을 막기 위해 과량의 기능성 단분자가 사용되며, 따라서 과량 부분의 기능성 단분자가 무작위로 고분자 매트릭스(matrix)에 결합되어 결과적으로 비선택성 결합자리가 생성된다.

선택적인 선택물질로써 MIP는 최종적으로 분석하기 전에 시료를 전처리하는 단계에서 사용하여야 하며 SPE(solid phase extraction) 분야 특히 MIP가 사용된 MISPE는 가장 많이 발전된 분석 분야이다. 또한 지난 몇 년간 MIPS와 다른 분석기술과의 조합

에 대해서도 연구되고 있다.

## MIP를 이용한 전처리 분석법

### Molecularly imprinted solid-phase extraction(MISPE)

MISPE는 오프라인(off-line) SPE 방식과 온라인(on-line) SPE 방식이 있다. 오프라인 SPE 방식은 소량(15~500 mg)의 각인 고분자(imprinted polymer)를 폴리에틸렌(polyethylene) 카트리지에 충전하여 사용하며 액체 크로마토그래피, 가스 크로마토그래피, 모세관 전기이동 분석 시 이용된다. 지난 몇 년 동안 오프라인 SPE 방식은 식품류의 다양한 물질들을 분석하는데 많은 발전을 하였다. 온라인 SPE 방식은 각인 고분자(일반적으로 약 50 mg)가 충전된 작은 예비 컬럼을 사용한다.

다른 접근법으로는 molecularly imprinted micro solid phase extraction(MIMSPE)이 도입되었다. Fig. 2와 같이 MIMSPE 장치는 MIP 입자가 폴리프

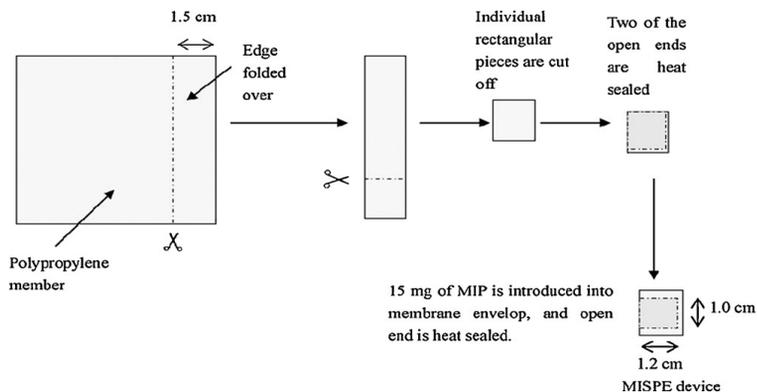


Fig. 2. Preparation of a MIMSPE device (Feng Q *et al.*, Anal Chim Acta, 650, 2009)

로필렌 멤브레인(polypropylene membrane)에 동봉되어 있으며 멤브레인은 작은 구멍들이 뚫려져 있다. 이러한 방법은 페놀성 화합물(phenolic compounds)을 분석하는데 적용할 수 있다.

현재 다른 분야에 비해서 식품분야의 MIPSE를 적용하여 발표된 논문들의 비율은 낮지만 발표된 논문들이 빠르게 증가하고 있으므로 가까운 시일 내에 좋은 논문들이 많이 발표될 것으로 예상된다. 현재까지 MISPE를 사용하여 식품분석에 적용한 사항을 Table 1에 정리하였다.

MISPE로 트리아진을 분석하면 과일, 야채, 주스의 세척에 활용할 수 있다. 일반적으로 높은 선택성으로 분석할 수 있지만, 일부는 시료의 복잡성으로 인해 모체성분과 동시에 추출된다. 이러한 문제점은 non imprinted polymer(NIP)를 사용하여 사전에 세정하여 해결할 수 있다.

MIPSE를 사용한 식품에서의 항생제 세정과 분석은 전통적인 분석에 비해 매우 우수하다. Fig. 3은 강한 음이온 카트리지(cartridge)와 MISPE를 사용하여 전통적인 SPE로 유아용 식품을 분석한 크로마토그램(chromatograms)이다. 이 크로마토그램에서 알 수 있듯이 미량 농도를 함유한 물질 분석 시 MISPE를 사용한 SPE 분석에서 깨끗한 기준선(baseline)을 얻을 수 있다.

### Molecularly imprinted solid-phase microextraction(MI-SPME)

SPME는 조작의 단순화, 무용매 특성, 상업용 섬유뿐만 아니라 전 공정의 자동화로 인하여 특정분야에 일상적으로 사용되고 있으며 분석 연구실에서 계속 사용될 것으로 예상된다. 그러나 SPME는 SPE

와 같이 추출과정에서 선택성이 부족하다. 이러한 관점에서 분자 각인(molecular imprinting)과 SPME의 결합은 모든 특성들(단순성, 유연성, 선택성)을 갖추었으며 이상적으로 강력한 분석도구로써 제공될 수 있다.

분자 각인 기술과 SPME의 결합된 분석방법이 아직은 초창기 단계이지만, 각인 섬유(imprinted fibers)에 의해 복잡한 시료에서 미량의 분석물질을 분석하였다는 논문들이 발표되고 있다.

### Matrix solid-phase dispersion(MSPD)

Matrix solid-phase dispersion(MSPD)은 분석하고자 하는 시료의 성분을 고체흡착제에 분산시키기 위해 시료(액체, 점성액, 반고체나 고체)의 완전한 분해에 기초를 두고 있다.

MSPD와 SPE의 차이점은 시료의 분산이 흡착제층에서 일어나는 대신에 컬럼(column)에서 일어나며 MISPE는 복잡한 생물학적 시료의 정제에 적용할 수 있으나 시료의 복잡성 때문에 전형적인 비선택 흡착제를 사용하여 사전에 정제하는 단계가 필요하다. 이러한 모든 절차를 단순화하기 위해 분자 각인 MIP를 사용한 MSPD를 사용하고 있다.

분산 흡착제로써 MIP는 MSPD에 의해 추출된 시료의 높은 수분함량 때문에 직접적인 사용에 대해서 간단하게 생각할 수 없으나 MSPD에서의 물과 혼합할 수 있는 MIP의 사용은 분석 시료의 정제와 선택적인 추출에 편리하게 사용할 수 있다.

### 액체막(Liquid membranes)과 MIP의 결합

일반적으로 MIP가 높은 선택성을 제공하지만,

**Table 1.** Relevant studies on the application of MISPE in food analysis

Analytes	Template/monomer/crosslinker	Porogen	Polymerisation method	Sample	MISPE mode
Thiabendazole	Thiabendazole/MAA/DVB	Toluene:acetonitrile	Precipitation polymerisation	Orange, lemon, grape and strawberry	In-line
Triazines	Propazine/MAA/EDMA	Toluene	Bulk	Corn	Off-line
Triazines	Ametryn/MAA/EDMA	Dichloromethane	Bulk	Grape juice	Off-line
Triazines	Simazine/MAA/EDMA	Dichloromethane	Bulk	Apple	On-line (C <sub>18</sub> +MIP)
Triazines	Propazine/MAA/EDMA	Toluene	Precipitation polymerisation	Corn, pea and potato	Off-line (NIP +MIP)
Triazines	Propazine methacrylate/EDMA	Toluene	Precipitation polymerisation	Corn and potato	Off-line
Fenuron	Fenuron/MAA/EDMA	Toluene	Precipitation polymerisation	Wheat, barley and carrot	Off-line
Phenylureas	Isoproturon/TFMAA/EDMA Linuron/TFMAA/EDMA	Toluene	Precipitation polymerisation	Potato, corn, pea and carrot	Off-line (NIP +MIP)
Phenylureas	Linuron/TFMAA/EDMA	Toluene	Polymerisation within the pores of silica beads	Potato, pea and corn	In-line
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin/MAA/EDMA	Methanol	Precipitation polymerisation	Baby food	Off-line
Chloramphenicol	Not available (Commercial MIP)			Milk samples	Off-line
Zearalenone and its metabolite	Cyclododecanyl-2,4-dihydroxybenzoate/1-allylpiperazine/TRIM	Acetonitrile	Bulk	Swine feed, wheat, corn, barley, rye and rice	Off-line
Chloramphenicol	Not available (Commercial MIP)			Honey; milk, plasma and urine	Off-line
Ochratoxin A	Ochratoxin A/N-phenylacrylamide/TRIM	Chloroform	Bulk	Wheat	MISPE-PE
Ochratoxin A	Ochratoxin A analogue/mixture of monomers/EDMA	Chloroform	Bulk	Wine	Off-line
Bisphenol A	Bisphenol A/4-VP/TRIM	Toluene, acetonitrile	Precipitation polymerisation	Shrimps	Off-line
Benzo[a]pyrene	Benzo[a]pyrene/4-VP/DVB	Dichloromethane	Bulk and suspension polymerisation	Coffee	Off-line
Cholesterol	Cholesterol/MAA/EDMA	Chloroform	Bulk	Cheese products	Off-line
Thiabendazole	Thiabendazole/MAA/EDMA	Toluene:iso-octane	Bulk	Citrus samples	In-line
Sulfonamides	Sulfamethazine/3-aminopropyltriethoxysilane/tetraethoxysilane	Acetonitrile	Polymerisation onto functionalised silica gel	Pork and chicken	On-line
Tetracyclines	Tetracycline/MAA/TRIM	Acetonitrile:methanol	Precipitation polymerisation	Lobster, duck, honey and egg	Off-line
17 $\beta$ -estradiol	17 $\beta$ -Estradiol/MAA/EDMA	Acetonitrile	Bulk	Fish and prawn tissue	Off-line
Enrofloxacin	Enrofloxacin/3-aminopropyltriethoxysilane/tetraethoxysilane	N,N-dimethylformamide	Polymerisation onto functionalised silica gel	Fish and chicken	On-line
Tetracyclines	Tetracycline/MAA/EDMA	Methanol:cyclohexanol:dodecanol	Bulk	Milk and honey	On-line
Melamine	Cyromazine/MAA/EDMA	Methanol/water	Bulk	Feed and milk	Off-line

(MAA: Methacrylic acid; EDMA: ethylene glycol dimethacrylate; 4-VP: 4-vinylpyridine; 2-VP: 2-vinylpyridine; TRIM: trimethylolpropane trimethacrylate; TFMAA: 2-(trifluoromethyl)-acrylic acid; HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate; DVB: divinyl benzene)

(Turiel E *et al.*, J Sep Sci, **32**(19), 3278–84, 2009)

분석 시료가 복잡한 경우 특정 성분에 대한 공추출(co-extraction)과 공용리(co-elution) 방법을 사용하여야 한다. 또한 특별한 경우로써 특정 성분이 폴리머 매트릭스(matrix)에 강하게 결합되어 각인 폴리머의 분석 능력이 줄어들어 회수(recovery)가 감소된다. 이러한 단점은 지지된 액체막(supported liquid membranes)을 사용한 사전 정제 단계의 도입을 통해서 방지할 수 있다.

막 액체-액체 추출(membrane liquid-liquid extraction, MLE)과 MIP의 결합은 특별히 제작된 추출장치에 의해 수행되며 추출 단위는 막에 의해 2개의

공간으로 분리되어 있다. 처음에 막은 물층과 물과 섞이지 않은 유기층으로 평형상태에 있으며 즉 수용액 용액이다. 추출 단위의 제조는 낮은 부분에서 수용액 시료의 초기 주입을 포함하고 있으며 막은 2부분의 경계에 위치하고 상층 부분에서 봉해진다. 최종적으로 상층부는 유기수용액(organic acceptor phase)로 채워져 있으며 소량의 MIP 입자가 뒤따르고 추출단위는 단히게 된다.

분석하고자 하는 물질은 수용액 계에서 유기계로 추출된다. 유기계에서 분석물질은 막에 의해서 계에 존재하는 각인 고체 지지체와 결합되어 있다.

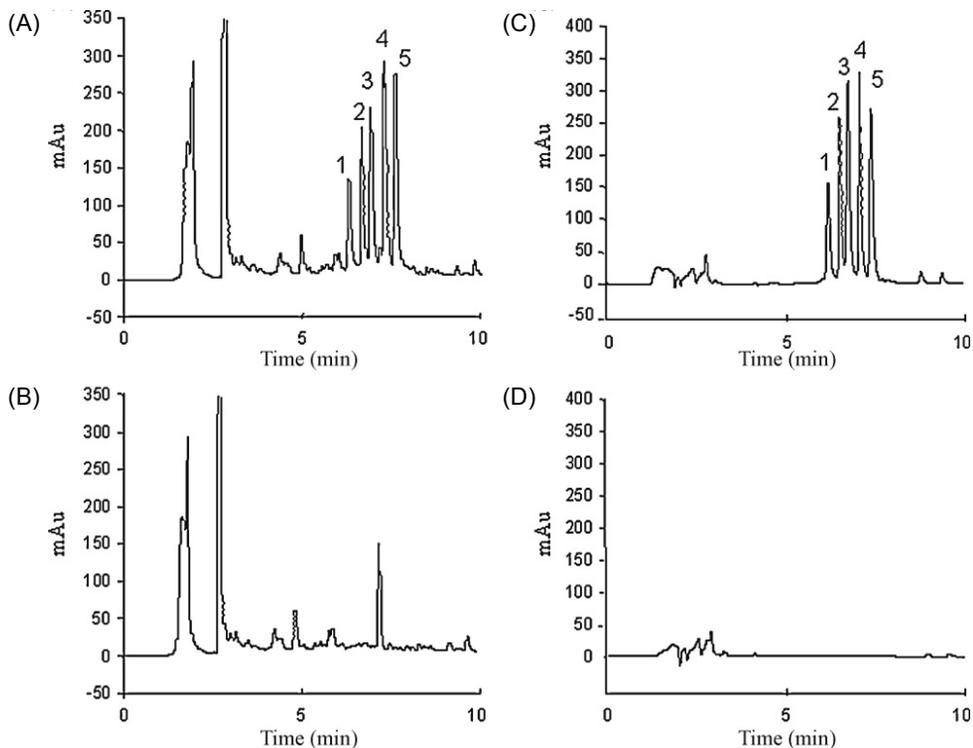


Fig. 3. Chromatograms obtained after ultrasound-assisted extraction of baby-food samples and clean-up using strong anion exchange(A and B) and MIP cartridges(C and D). (A and C) Sample spiked at 1 µg (B and D) unspiked sample. Peak assignment: 1 = Enoxacin; 2 = Norfloxacin; 3 = Ciprofloxacin; 4 = Danofloxacin; 5 = Enrofloxacin. (Díaz-Alvarez M *et al.*, Anal Bioanal Chem, **393**, 2009)

일정 추출시간 후에 MIP 입자는 유기계로부터 필터에 의해 분리되는데, 비 특이적 결합 물질은 수용계로 세척하여 제거하고 특이적 결합 물질은 적합한 용리 용매에 의해 입자로부터 방출할 수 있다.

최근 다공성 멤브레인-보호 MIP-코팅 실리카 fiber에 기반을 둔 새로운 액체-액체-고체 마이크로추출(liquid-liquid-solid microextraction, LLSME) 기술이 개발되었으며, 물과 혼합되지 않는 유기계로 채워진 구멍 난 폴리프로필렌 빈 섬유는 길이가 각인 고분자-코팅 실리카 섬유로 보호되고 있다. 전체의 장치는 Fig. 4와 같다. 초기 분석물질은 유기계를 통하여 수용액 시료로부터 추출되며 최종적으로 MIP fiber에서 추출된다. 이러한 분석방법은 낮은 검출 한계, 만족스러운 회수율, 좋은 재현성 등의 장점을 가지고 있다.

## 기대효과

분자 각인 고분자(molecular imprinting polymer)는 특별물질들을 인식할 수 있는 높은 선택성의 장점이 있으나 주형분자 선택의 어려움 등의 단점도 있다.

그러나 분자 각인(molecular imprinting) 기술은 가장 높은 선택적 분석 방법의 개발을 위한 가장 강력한 수단이다. 실제로 SPE에서 강력한 분석 도구로 MISPE를 만들어 선택적 분석물질로 우수하게 사용되고 있다. 일부 회사에서는 특정 물질의 분석을 위해서 MISPE 카트리지를 판매하고 있다. 또한 MIP 컬럼(column)과 검출시스템을 이용함으로써 간단한 분석방법으로 사용할 수 있다.

이와 더불어 다른 분석법과 MIPS의 제조뿐만 아니라 SPME 분석을 위한 각인 섬유(imprinted fiber)

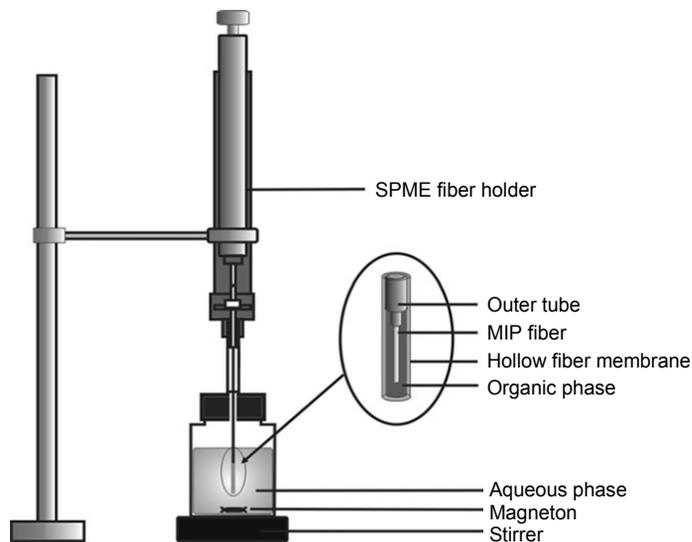


Fig. 4. Schematic representation of the liquid-liquid-solid microextraction(LLSME) device (Hu Y *et al.*, J Chromatogr A, 1216, 2009)

의 합성법이 개발되었다.

그리고 MIP 기술과 다른 기술과의 조합과 micro-MISPE 장치의 개발은 단순한 분석방법과 새로운 선택성을 가져다 줄 수 있을 것으로 기대한다.

### ● 참고문헌 ●

1. Suedee R, Srichana T, Chuchome T, Kongmark U, Use of molecularly imprinted polymers from a mixture of tetracycline and its degradation products to produce affinity membranes for the removal of tetracycline from water, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **811**(2), 191-200, 2004
2. Haginaka J, Molecularly imprinted polymers as affinity-based separation media for sample preparation, *J Sep Sci*, **32**(10), 1548-65, 2009
3. Lasakova M, Jandera P, Molecularly imprinted polymers and their application in solid phase extraction, *J Sep Sci*, **32**(5-6), 799-812, 2009
4. Turiel E, Martín-Esteban A, Molecularly imprinted polymers for solid-phase microextraction, *J Sep Sci*, **32**(19), 3278-84, 2009
5. Diaz-Alvarez M, Turiel E, Martín-Esteban A, Selective sample preparation for the analysis of (fluoro)quinolones in baby food: molecularly imprinted polymers versus anion-exchange resins, *Anal Bioanal Chem*, **393**(3), 899-905, 2009
6. Risticvic S, Niri VH, Vuckovic D, Pawliszyn J, Recent developments in solid-phase micro-extraction, *Anal Bioanal Chem*, **393**(3), 781-95, 2009
7. Ji Y, Yin J, Xu Z, Zhao C, Huang H, Zhang H, Wang C, Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for rapid determination of bisphenol A in environmental water and milk samples, *Anal Bioanal Chem*, **395**(4), 1125-33, 2009
8. Hu Y, Wang Y, Hu Y, Li G, Liquid-liquid-solid microextraction based on membrane-protected molecularly imprinted polymer fiber for trace analysis of triazines in complex aqueous samples, *J Chromatogr A*, **1216**(47), 8304-11, 2009
9. Feng Q, Zhao L, J-M Lin, Molecularly imprinted polymer as micro-solid phase extraction combined with high performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in environmental water samples, *Anal. Chim. Acta*, **650**(1), 70-6, 2009

#### 이 상 희 한의학박사

소 속 : 한국식품연구원 식품분석센터  
 전문분야 : 대사체학(약물이나 식품의 유효성 및 안전성 평가연구, 바이오마커도출 연구)  
 E-mail : shlee@kfri.re.kr  
 T E L : 031-780-9329