

물 환경 내 항생제 약물 분석을 위한 바이오센서 개발 연구 동향

고은서 · 이혜진[†]

경북대학교 자연과학대학 화학과 및 청정나노소재 연구소
(2016년 11월 15일 접수, 2016년 11월 21일 심사, 2016년 11월 23일 채택)

Development Trend of Biosensors for Antimicrobial Drugs in Water Environment

Eunseo Goh and Hye Jin Lee[†]

Department of Chemistry and Green-Nano materials Research Center, Kyungpook National University,
80 Daehakro, Buk-gu, Daegu-city 41566, Republic of Korea
(Received November 15, 2016; Revised November 21, 2016; Accepted November 23, 2016)

초 록

최근 국내 수질오염에 대한 높은 관심과 개선의 필요성이 요구되는 가운데 물 환경 속의 약물의 잔류는 인체를 포함한 생태계의 약물 내성을 일으킨다는 점에서 지속적인 모니터링의 필요성이 제기되고 있다. 특히 약물 중 큰 비율을 차지하는 항생제의 잔류는 하천을 통해 빠르게 생태계의 내성균 확산을 일으킬 수 있다는 점에서 매우 큰 위험요소라고 할 수 있다. 따라서 본 총설에서는 물 환경 속의 항생제 분석이 실시간으로 가능한 신속한 센싱 플랫폼 기반 기술을 서술하고자 하며 이와 관련한 국내/외 연구현황과 발전가능성 및 그에 따른 산업/경제적 효과에 대해 논의하고자 한다.

Abstract

While there have been great demands on improving domestic water pollution issues, the necessity for real time monitoring of particular drug residues in water resources has been raised since drug residues including antibiotics could provoke new trains of drug-resistant bacteria in water environments. Among many different types of drugs used for pharmaceutical treatment, antibiotics are considered to be one of the most hazardous to our ecosystem since they can rapidly promote the spreading of drug-resistant bacteria in water environments. In this mini-review, we will highlight recent developments made on creating in-situ sensing platforms for the fast monitoring of antibiotic residues in aquatic environmental samples focusing on optical and electrochemical techniques. Related recent technology developments and the resulting economy effects will also be discussed.

Keywords: antibiotics, water pollutant, optical biosensor, electrochemical biosensor, antimicrobials

1. 서 론

매년 전 세계적으로 70만 명이 약물의 내성으로 인해 사망한다. 영국 국가 항생제 내성 대책위원회는 2050년에 이르러서는 여러 항생제에 내성을 가진 슈퍼박테리아로 인해 연간 1000만 명에 달하는 사망자가 발생할 것으로 예측하고 있다[1]. 이 수치는 암으로 인한 사망자가 매년 820만 명인 것을 고려해봐도 매우 큰 숫자임에 틀림없다. 항생제 내성이 위험한 이유는 다른 대안이 없기 때문인데, Figure 1에서 볼 수 있듯이 항생제가 출시된 후 시간이 지나면서 항생제는 여러 환경에 노출되고 이에 해당하는 내성균의 비율은 계속해서 증가하는 추세이다[2-4]. 새로운 항생제 개발은 지속적으로 감소하는 데에 반해, 기존 약물에 대한 내성균은 계속 새로 생성되고 있으므로 가까운 미

래에는 더 이상 치료에 쓸 약이 없는 상황이 닥칠 수도 있다[5]. 항생제 내성균의 생성을 예방하기 위해서는 병원에서의 적절한 처방과 환자들의 올바른 섭취뿐만 아니라 약물이 자연환경에 최대한 노출되지 않도록 하는 게 중요하다[6-7]. 그러나 많은 의약품들이 병원이나 가정 또는 의약품 생산 공장에서의 폐기, 항생제가 함유된 사료의 폐기와 같은 직접적인 유출뿐만 아니라 사람이나 동물의 체내에서 미처 대사되지 못한 배설에 의한 유출 등 다양한 경로를 통하여 수중으로 유입되고 있다[8].

국립환경과학원의 조사에 따르면 우리나라에서도 4대강 유역에서 5종의 항생제가 검출되었는데, 특히 동물용 항생제인 chlortetracycline과 sulfathiazole은 하천수에서 각각 최고 5.404 $\mu\text{g/L}$ 와 1.882 $\mu\text{g/L}$ 로 다른 의약품보다 상대적으로 높게 검출되었으며 이 수치는 미국 FDA에서 발표한 하천수 환경생태계에 영향을 미치는 의약품질의 최저 농도 1 $\mu\text{g/L}$ 를 초과한 값이다. 하수처리장 방류수에서도 13종의 의약품질이 검출되었고 그중 neomycin의 농도는 최고 7.8 $\mu\text{g/L}$ 에 달하였다. 국내 하천에서는 항생제에 내성을 가진 내성균들도 검출되었는데, 전국 하천에서 가장 강력한 최후의 항생제로 알려진 vancomycin 내성균

[†] Corresponding Author: Kyungpook National University,
Department of Chemistry and Green-Nano materials Research Center, 80
Daehakro, Buk-gu, Daegu-city 41566, Republic of Korea
Tel: +82-53-950-5336 e-mail: hyejinlee@knu.ac.kr

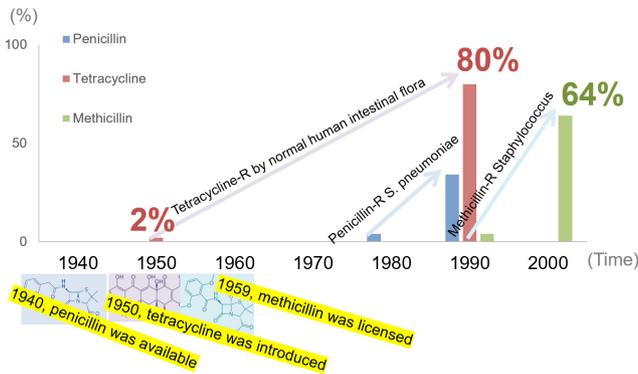


Figure 1. A graph showing the ratio of antibiotic-resistant bacteria increased over time since each antibiotic molecules were commercially available. Adapted from refs.[2-4].

(VRE)이 발견되었고, 특히 낙동강 분류지역에서는 타 지역의 하천들 대비 매우 높은 비율이 검출되었다. 이처럼 국내 하천에서 항생제 또는 항생제 내성균이 검출된다는 것은 우리가 항생제를 직접적으로 복용하지 않았음에도 불구하고 식수 또는 음식을 통해서 간접적인 섭취를 할 수 있다는 것을 의미하고 이것은 곧 추후 치료 및 수술에 사용될 항생제에 대한 내성을 가질 수 있다는 것을 내포한다[9-10]. 물 환경에서 측정되는 항생제 농도는 항생제가 생태계에 얼마나 노출되었는지를 알 수 있는 좋은 척도가 되므로, 이러한 잠재적인 위험성을 낮추려면 지속적인 강물의 모니터링을 통해 실시간으로 물 환경 속의 항생제 농도를 검출하고 신속한 대비책을 마련하는 것이 중요하다.

하천 또는 강물 속에서 항생제를 검출하기 위해 GC, LC, HPLC, MS, GC-MS/ECD 및 LC-MS 같은 비교적 이미 개발이 잘 되어 있는 전통적인 분석 장비를 사용할 수 있다[11-13]. 이러한 분석 기기들은 훌륭한 선택성과 감도 혹은 검출한계를 가지고 있지만, 샘플을 먼저 채취한 후 기기가 놓인 실험실로 운반해야 하며 위생 혹은 추출과 같은 복잡하고 반복적인 전처리 과정이 필요하므로 현장측정이 불가능하다. 또한 장비의 구입/유지비용이 많이 들고 분석자의 숙련된 노하우를 요구하는 등의 단점이 있다. 따라서 이러한 문제점을 보완 가능하면서도 물 환경에서의 초저농도 항생제 검출이 가능하도록 매우 높은 감도와 선택성을 갖춘, 더 나아가서는 빠른 분석시간과 기기의 소형화 및 다중측정이 가능한 새로운 플랫폼의 바이오센서 개발이 필요하다. 본 총설에서는 물 환경 속에 항생제 검출에 응용 가능한 여러 방법들 가운데 광학과 전기화학기반의 바이오센서를 중심으로 비교적 최근에 이루어진 몇 가지 연구사례를 통해 이들의 간단한 기본원리와 최근 연구동향을 소개하고 앞으로 나아가야 할 연구방향과 발전 가능성에 대해 논의하고자 한다.

2. 과학/기술 분야

바이오센서는 생물학적 또는 생화학적 반응을 이용해서 다양한 분석물질을 검출하는 기기로써 산업, 연구, 의료 및 환경 등 다양한 분야에서 사용되고 있다[14-18]. 바이오센서는 크게 분석하고자 하는 표적물질과 결합하는 바이오리셉터(예 : 효소(enzyme), 미생물, 항체(antibody) 및 aptamer), 조직, 세포기관 또는 화학수용체)와 그 결합을 측정 가능한 신호로 바꾸어 주는 변환장치(예 : 광학, 전기화학 및 온도, 압전기)로 구성되어 있다[19-21]. 이러한 바이오센서의 성

능을 좌우하는 요소로는 대표적으로 (i) 선택성(selectivity), (ii) 안정성(stability)과 (iii) 민감도(sensitivity) 또는 검출한계(limit of detection, LOD)를 들 수 있는데, (i) 선택성은 타겟별로 좀 더 선택적인 바이오리셉터를 선정함으로써 증대할 수 있으며, 최근에는 항체대비 높은 안정성과 선택성, 작은 크기 및 고정 비용이 있다는 여러 장점을 지닌 aptamer를 활용한 연구가 활발하게 이루어지고 있다[22]. (ii) 센서의 안정성은 선정한 바이오리셉터를 칩 표면에 좀 더 안정하게 고정하여 최대한의 바이오활성도를 유지시키는 고정화학을 개선하여 향상시킬 수 있는데 이를 위해 다양한 이중 기능기(heterobifunctional)를 이용한 커플링 제를 이용하여 연구적으로 리간드를 고정하거나 단백질의 한 종류인 아비딘(avidin, 예 : streptavidin)과 비타민의 한 종류인 바이오틴(biotin)의 강한 결합력을 이용하는 방법 등을 사용하고 있다[21,23]. (iii) 매우 낮은 농도로 존재하여도 생태계에 위협을 줄 수 있는 환경 호르몬, 약물, 중금속 등과 같은 환경독성물질의 검출이나 질병진단을 위한 생체물질의 분석을 위해서는 바이오센서의 감도를 증대하는 것이 요구되는데 이를 위해 최근 나노기술을 바이오센서에 도입하는 사례를 들 수 있으며, 특히 우수한 광학적/전기적 성질을 지니고 높은 표면 대 용량비를 갖는 금속성 나노입자들이 센서의 감도를 높이기 위해 많이 사용된다[24]. 본 섹션에서는 주로 항생제 약물을 좀 더 고감도 및 고선택적으로 검출할 수 있는 몇 개의 대표적인 광학 및 전기화학 기반의 바이오센싱 플랫폼에 대해 논의하고자 한다.

2.1. 광학 바이오센서

높은 민감도로 인해 가장 많이 사용되는 광학 바이오센서는 검출에 활용되는 빛의 성질에 따라 굴절법(reflection), 형광법(fluorescence), 흡광도측정법(absorbance), 라만 분광법(예 : surface enhanced Raman spectroscopy, SERS) 등으로 나눌 수 있으며 상기 분석법을 이용하여 항생제 약물을 분석한 대표적인 예들을 Table 1에 나타냈다. 그중 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR) 방법은 항생물질 검출 관련 바이오센싱 플랫폼으로 가장 많이 활용되고 있다[25]. 금 박막으로 구성된 칩에 표적물질의 흡탈착에 의한 굴절률의 차이를 반사계수(refractive unit, RU)로 측정하는 SPR분석법은 시료에 형광물질과 같은 별다른 표지를 하지 않아도 된다는 장점과 실시간 및 in-situ 측정이 가능하며, 농도변화에 따른 신호 감지 뿐 아니라 리간드-분석물 간의 평형상수나 속도상수와 같은 동역학적인 정보들을 얻을 수 있다는 장점이 있다.

앞서 말한 바와 같이 SPR 바이오센서에도 감도를 높이기 위해 나노입자를 많이 이용하는데[24] 그 예로서 40 nm 정도의 비교적 큰 금 나노입자를 사용하여 chloramphenicol (CAP)를 고감도로 검출한 Yuan et al.의 연구가 있다[26]. 즉, 금 박막 표면에 자가조립단막을 형성하고 oligoethyleneglycol (OEG)으로 컨쥬게이션한 ovalbumin (OVA)를 이용하여 분석 항생제인 chloramphenicol (CAP)를 고정화 후 CAP에 특이적으로 결합하는 anti-CAP antibody (mAb)와 금 나노입자에 코팅된 immunoglobulin G (IgG)를 순차적으로 흘려주어 금 표면에 복합체를 형성함으로써 CAP 검출에 있어서 0.74 fg/mL의 CAP 검출한계와 1-1000 fg/mL 농도영역에서 직선성을 얻었다. 이와 함께, Wilner 연구 그룹은 분석 표적 항생제가 존재할 때에만 복합체를 형성하는 방식으로 좀 더 선택적으로 aminoglycoside계 항생제를 검출한 결과를 보고 하였다[27]. Figure 2에 나타냈듯이, thioaniline을 이용하여 금 나노입자들이 서로 연결되어 폴리머를 형성할 수 있도록 한 후, mercaptophenylboronic acid를 이용하여 상기 금나노입자와 항생제가 선택적으로 결합하여 중합체를 만들었다. 이때 사용된 mercaptophenylboronic

Table 1. Summary of Different Optical Detection Platforms for a Wide Spectrum of Antibiotic Molecules with the Reported Limit of Detection (LOD) and Recognition Element

Detection platform	Recognition element	Target antibiotic molecules	LOD	Ref.
SPR	Antibody	Chloramphenicol	0.74 fg/mL	[26]
		Neomycin	2.00 pM	
	Boronic acid	Kanamycin	1.00 pM	[27]
		Streptomycin	200 fM	
	Antibody	Chloramphenicol	32.2 pg/mL	[44]
RNA aptamer	Neomycin B	5 nM	[45]	
SPR imaging	Antibody	Enrofloxacin	0.30 µg/L	[28]
		Sulfapyridin	0.29 µg/L	
		Chloramphenicol	0.26 µg/L	
		Neomycin		
		Gentamicin		
Surface enhanced Raman scattering	Antibody	Kanamycin	2 pg/mL	[47]
		Sulfapyridine	0.2 µg/L	[29]
		Vancomycin	10 nM	[30]
		Enrofloxacin	0.58 µM	[48]
		Penicillin	0.25 mM	[49]
Waveguide optical immunosensor	Antibody	Sulfapyridine	0.2 µg/L	[29]
Optical fiber long period grating	Molecularly imprinted polymer nanoparticles	Vancomycin	10 nM	[30]
Nanofilament-based optical sensors	Molecularly imprinted polymer	Enrofloxacin	0.58 µM	[48]
Fiber optic sensor	Enzyme	Penicillin	0.25 mM	[49]
Fluorescence	Fluorescent siderophore pyoverdinin	Ciprofloxacin	7.13 µM	[50]
	Enzyme	β-lactam	50-100 nM	[51-52]
Chemiluminescence	Ce(IV)-Ru(bpy) ₃ ²⁺	Ciprofloxacin	230 nM	[53]
		Norfloxacin	52 nM	
		Ofloxacin	78 nM	
Bacterial bioluminescence	Luminescent <i>Escherichia coli</i> strain	Tetracycline residues	2-35 ng/mL	[54]
Reverse phase high performance liquid chromatography-UV detector	-	Tetracycline	11.53-30.12 ng/mL	[55]
Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)	Antibody	Triclosan	0.1 µg/L	[56]
Chromatographic strip assay	Antibody	Chloramphenicol	0.5 ng/mL	[57]

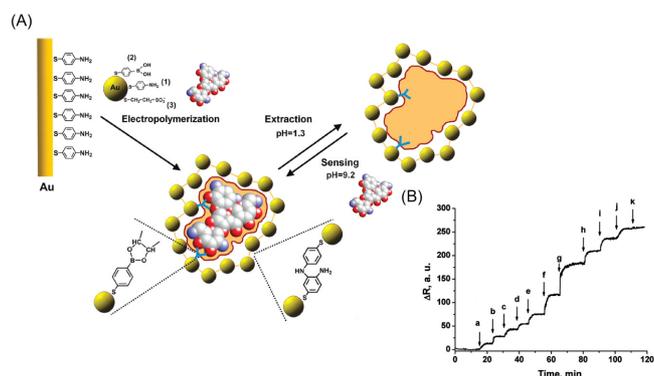


Figure 2. (A) Scheme showing a surface plasmon resonance (SPR) based sensing platform in conjunction with imprinting technology of molecular recognition sites for neomycin through the electropolymerization of a bisaniline cross linked gold nanoparticles composite on an Au thin film. (B) Representative SPR sensorgram for the detection of neomycin ranging from 2 pM to 200 nM. Reprinted with permission from ref.[27].

acid는 mercapto 그룹은 금 나노입자에 고정되고, boronic acid는 하이 드록실기를 가지고 있는 항생제인 neomycin, kanamycin, streptomycin 에 배위결합을 할 수 있어 센서의 선택성을 증대하는 역할을 제공하였다. 이렇게 만들어진 폴리머와 항생물질의 특이적인 결합반응과 함께 나노입자의 국소적인 플라즈몬과 금 표면에서의 플라즈몬의 커플링을 이용하여 매우 우수한 감도로 항생제 검출이 가능하게 했으며 neomycin, kanamycin, streptomycin에 대해 각 2, 1, 0.2 pM의 검출한계를 얻었다. 최근 연구의 관심사는 기기의 소형화와 빠른 검출시간과 더불어 한 번의 측정으로 다양한 물질의 검출이 가능한 분석의 다중화(multiplexing)에 있는데, 다양한 바이오리셉터를 어레이 형태로 금속 박막칩에 고정하여 charge-coupled device (CCD) 카메라를 통해 다양한 물질의 결합을 한 번에 스크리닝하는 SPR 이미징 플랫폼을 이용하여 Sabina 연구팀은 완충용액과 우유에서 7가지의 항생물질을 ppb 수준으로 검출한 결과를 보고하였다[28].

시료의 사전처리가 필요 없는 굴절률 측정에 기반을 둔 또 다른 광학 바이오칩 센서로는 도파관(waveguide)이 많이 이용되고 있다. Adrian et al.은 도파로 격자 칩을 사용하여 sulfonamide를 완충용액과 우유 속에

Table 2. Summary of Various Electrochemical Detection Platforms for a Wide Range of Antibiotic Molecules with the Reported Limit of Detection (LOD) and Recognition Element

	Detection platform	Recognition element	Target antibiotic molecules	LOD	Ref.
Potentiometry	Ion selective membrane	Aliquat336S	Flucloxacillin	70-80 μM	[58]
	Microfluidic platform with Pt electrode	Antibody, Enzyme	Tetracycline Pristinamycin	6.33 ng/mL 9.22 ng/mL	[31]
Voltammetry	Array of 32 gold electrodes	RNA Aptamer	Gentamicin Tobramycin Kanamycin	2-6 μM	[32]
	Interface between two immiscible electrolyte solutions	Dibenzo-18-crown-6	Streptomycin Kanamycin	80 μM 0.2 mM	[37]
		-	Tetracycline	5 μM	[39]
	Interdigitated array of gold electrode chip	DNA Aptamer	Oxytetracycline	1 nM	[59]
	Glassy carbon electrode	DNA Aptamer	Tetracyclines	1 ng/mL	[60]
Glassy carbon electrode	Enzyme	Penicillin V	50 nM	[61]	
Impedimetry	Glassy carbon electrode	Antibody	Ciprofloxacin	3 pM	[33]
	Printed circuit board with gold pattern	Antibody	Erythromycin	1 ppb	[62]

서 각각 0.2 g/L와 0.5 g/L까지 검출하였으며[29], Korposh 연구팀은 장주기 격자 광섬유(optical fibre long period grating, LPG)의 cladding 위에 분자각인 나노 고분자(molecularly imprinted polymer nanoparticles, nanoMIPs)를 고정시켜 바이오리셉터로 활용하여 vancomycin을 10 nM까지 검출한 결과를 보고하였다[30].

2.2. 전기화학 바이오센서

광학기반 바이오센서 다음으로 많이 사용되는 전기화학 바이오센서는 광학센서에 비해 감도는 다소 떨어질 수 있지만 가격이 저렴하고 매우 적은 양의 샘플로도 분석이 가능하다는 장점이 있다. Table 2는 항생제 검출을 위해 개발된 전기화학 기반의 센싱 플랫폼(측정방법: 전위차법, 전압전류법 또는 저항법)의 대표적인 예를 나타냈다. 특히 선택적인 항원-항체 결합에 의존하여 산화-환원반응이 일어날 때 변화되는 전류를 감지하는 전압전류법 센싱 플랫폼은 분석물의 농도에 측정신호가 직비례한다는 장점을 가지고 있어 그 응용연구가 많이 이루어져 왔다. 예를 들어 Kling et al.은 동시에 최대 8가지의 enzyme-linked assays (ELAs)를 할 수 있으며, 각 채널 당 수백 nL의 매우 작은 용량의 샘플이 필요하고 장기간(3개월 이상) 보관 가능하도록 센서 표면을 dry film photoresist (DFR)로 처리한 전압전류법 기반의 항생제 검출용 전기화학센서를 개발했다[31]. 이를 위해 먼저 전기화학적 활성을 갖는 fluorescein과 컨쥬게이션한 operator DNA의 fluorescein 부분과 결합하는 fluorescein-항체를 칩 표면 위에 고정하고, 이에 fluorescein-DNA와 biotin으로 컨쥬게이션한 항생제 억제단백질(TetR) 및 avidin으로 코팅된 glucose oxidase를 흘려주어 순차적으로 표면에 복합체를 형성한 후 tetracycline이 포함된 분석시료를 칩에 흘려주면, tetracycline에 특이성을 보이는 억제단백질(TetR)은 tetracycline를 만나 구조의 변화를 일으키고, 이로 인해 억제단백질(TetR)은 operator DNA (tetO)에 결합할 수 없게 되어 억제단백질(TetR)에 붙어 있는 클루코스 산화효소는 전극표면으로부터 떨어지게 된다. 이때 글루코스 산화효소까지 코팅된 전극을 글루코스 기질에 담그면 H_2O_2 가 생성되고 이를 Pt 작업전극에서 산화시켜 전류값을 측정하는 원리를 이용한 방법이며, 특히 tetracycline 농도가 높을수록 산화효소의 양이

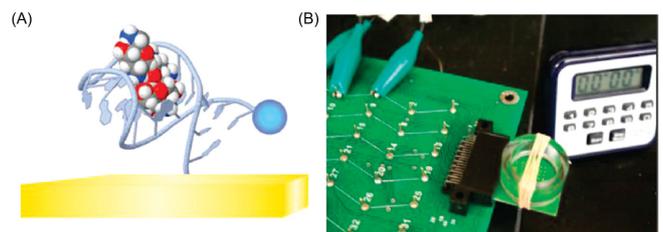


Figure 3. (A) Schematic showing an RNA aptamer based electrochemical biosensor for antibiotics. (B) A representative picture showing a 32 gold electrode array for the multiplexed detection. Reprinted with permission from ref.[32].

감소되고 따라서 전류 값도 감소되는 것을 측정함으로써 사람의 혈장에 존재하는 tetracycline과 pristinamycin항생제의 농도를 동시에 검출하였다. 뿐만 아니라, 다중 감지 성능을 도입한 다른 전기화학기반의 바이오센서에는 혈장에 존재하는 aminoglycoside계 항생제를 검출할 수 있는 RNA aptamer 센서를 개발한 Plaxco그룹의 연구 결과도 들 수 있다[32]. Figure 3에서 보듯이 RNA aptamer의 5'-말단에는 thiol을 붙여 금 전극 표면에 고정시키고 3'-말단에는 산화/환원 반응을 통해 전기화학적 신호를 낼 수 있는 methylene blue로 변형하여 사용하였다. 분석물(항생제)이 aptamer에 결합할 때 aptamer의 구조가 바뀌게 되고 이로써 methylene blue의 위치에도 변화를 주어 faradaic 전류값이 달라지는 것을 측정함으로써 항생제를 정량 분석하였다. 특히 어레이 형태의 32개의 금 전극을 제작하여 다중 검지를 시도하였으며, 이를 통해 gentamicin, tobramycin, kanamycin을 10 s 이내의 검출시간으로 약 2-6 μM 의 영역에서 검출할 수 있었다.

전류법 기반 외에 저항변화를 측정된 전기화학 바이오센서의 예로는 Cosnier와 Marco 연구그룹의 ciprofloxacin 검출을 위한 저항측정법 기반의 비표지방식 바이오센서를 들 수 있다[33]. 이는 전극표면을 전도성 고분자이면서 모델 항생제와 공유결합이 가능한 분자인식형의 poly(pyrrole-N-hydroxysuccinimide)로 처리하여 필름 형태로 제작하여 항생제에 특이적인 항체(예: anti-ciprofloxacin)에 노출시키면,

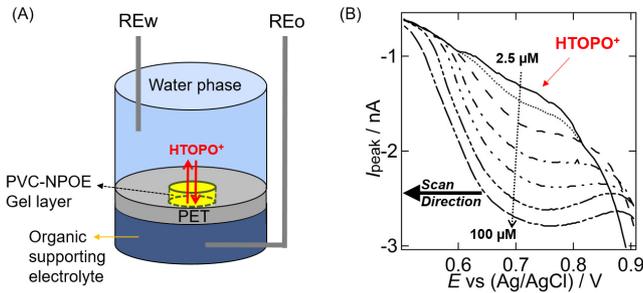


Figure 4. (A) Scheme showing an electrochemical cell set-up for a single microhole fabricated on a PET film supported ITIES. (B) Representative DPSVs for different concentrations of protonated topotecan (HTOPO⁺) from 2.5 to 100 μ M. Reprinted with permission from ref.[38].

항체와 고분자물질이 결합하고 있으나, 타겟 물질인 ciprofloxacin에 전극을 노출시키면 항체가 고분자 모형으로부터 떨어져 나가 ciprofloxacin과 결합하게 되어 전극 표면에서의 저항 값이 변하는 것을 측정하는 방법이다. 이때 임피던스 분광법을 이용하여 ciprofloxacin을 1×10^{-12} 에서 1×10^{-6} g/mL농도 범위에서 검출할 수 있었으며, 1×10^{-12} g/mL (3 pmol/L)의 검출한계를 얻을 수 있었다.

또 다른 전기화학 기반의 항생제 검출 센서의 예로써 혼합되지 않는 두 용액 사이의 계면(interface between two immiscible electrolyte solutions, ITIES)에서의 이온 이동 반응을 활용한 플랫폼을 들 수 있다[34-35]. 이것은 수용성 액체와 유기성 액체의 계면에서 각 계면에 존재하는 이온 화학종으로부터 생성되는 Galvani 전위차에 의해서 외부에서 전위를 걸어줄 때 분석 대상인 약물이온이 계면을 따라 이동할 때 변화되는 전류를 측정해서 약물의 농도를 정량적으로 검출하는 전압전류법 기반의 센서이다[35]. 이러한 수용액/액체 계면에서의 약물 이동반응 연구는 주로 한 개 이상의 pKa 값을 갖는 약물이 물의 pH 변화에 따라 어떤 전하를 가지고 어느 액체상에 좀 더 우세하게 분배되는지를 이해하는 pharmacokinetics 학문 분야에 주로 많이 활용되어 왔다[36]. 두 개의 서로 다른 액체상을 센서로 제작하기 위해서는 액체/액체 계면의 안정화 및 소형화가 중요하며 이를 위해 수 μ m 지름을 갖는 피켓 팁, 고분자 박막(예 : polyethylene terephthalate, PET) 또는 실리콘 기판에 μ m 지름을 갖는 홀을 제작하고 유기층을 polyvinylchloride (PVC)와 같은 plasticizer로 젤화하여 제작하는 방법이 개발되어 왔다[35]. 액체/액체 기반의 전류법 센서를 이용하여 streptomycin, kanamycin 등의 항생제를 검출하는 연구가 보고되었으며[37], 본 연구팀에서도 액체/액체 기반의 약물 검출용 센서를 개발하는 연구에 박차를 가하고 있다. Figure 4에는 그 대표적인 예로 topotecan이라는 항암제를 검출하는 센싱 플랫폼을 나타내었다[38]. 12 μ m 두께의 얇은 PET 필름에 바늘을 이용하여 마이크로 홀을 뚫고 2-nitrophenyloctyl ether 유기용매에 PVC를 넣어 마이크로홀 필름에 핫캐스팅 방법으로 젤화하여 수용액과 접촉시켜 수용액/유기성 젤 마이크로홀 계면 기반의 센서를 제작하였다. 세 개의 pKa 값을 갖는 topotecan의 경우, 선택적인 검출을 위해 수용액의 pH로 4로 고정하고 protonation 된 topotecan으로 전하를 띠게 하여 약물이 계면을 전이할 때 전류값이 증가하는 것을 측정하였다. 센서의 감도를 증대하기 위해 topotecan전이하는 전위에서 약 30 s간 홀딩하여 유기젤층으로 전이시켜 농축한후 전위를 양의 값에서 음의 값으로 빠르게 스캔하여 농축된 약물 이온을 다시 물층으로 전이시키는 방법인 시차펄스법

전위법(differential pulse stripping voltammetry, DPSV)을 이용하였으며 이를 통해 약 0.1 μ M의 topotecan을 검출할 수 있음을 확인하였다[38]. 또한 최근 위와 같은 액체/젤 계면에서의 이온 이동반응에 기반을 둔 센싱 방법을 이용하여 tetracycline 항생제를 약 5 μ M까지 검출할 수 있음을 시사하였다[39].

3. 경제/산업적 분석

물 환경 속에서의 잔류 의약품물질들은 1 ppt-1 ppb 수준의 매우 낮은 농도로 별다른 경각심을 일으키지 않으면서 지속적인 생태계 축적을 유발한다[40]. 약물의 종류별로 환경에 분포하는 비율은 비스테로이드 항염증제가 약 16%로 가장 많이 발견되었으며, 성호르몬제와 혈압완화제가 각각 12% 정도로 높았고, 특히 그중 항생제는 15%로 약물 중 두 번째로 높은 비율을 차지하고 있다[41]. 이러한 항생제의 잔류는 세균의 돌연 변이율을 증가시키는 직접적인 원인으로서[6] 감염질환의 치료를 어렵게 만든다는 점에서 매우 심각한 문제라고 할 수 있다. 특히 국내의 경우 가축의 질병 예방을 목적으로 사료에 첨가하는 항생제의 연간 사용량이 chlortetracycline과 oxytetracycline의 경우 2762 ton과 1549 ton으로 다른 나라에 비해 약 2배-10배 이상 높으며[42] 병원에서의 일일 항생제 사용량은 1000명 중 27.7명으로(2010 OECD Health data) 인체에 대한 항생제 처방률도 높아 우리나라는 OECD 국가 중 항생제 사용량 및 미생물의 항생제 내성률이 높은 국가로 분류되었다. 정부에서도 이러한 심각성을 인지하여 항생제 내성 안전관리 종합대책 1단계(2008년-2012년)를 시행하였으며 이에 따라 환경부는 4대강 하천수 및 축산폐수에 대해 의약품물질 오염을 조사하여 그 결과를 발표하였다. 상기 결과를 바탕으로 국립환경과학원은 생태계의 항생제 노출의 위험성을 감안할 때 지속적인 모니터링이 필요한 것으로 판단하였으며 현재 항생제 내성관리 종합대책 2단계(2013년-2017년)사업이 진행 중에 있다.

하지만 성공적인 항생제 내성관리를 위해서는 반드시 정확한 현황 파악이 선행되어야 하며 따라서 무엇보다 물 환경 속에서 항생제 농도를 올바르게 분석 및 모니터링 하는 것이 매우 중요하다. 의약품물질들은 기존의 살충제나 다른 환경오염물질과는 달리 물 환경에서 매우 낮은 농도로 존재하고 이렇게 낮은 농도로도 생태계에 큰 영향을 미치기 때문에 매우 높은 감도를 가진 검출방법이 필요하며 여러 대책들의 효과에 대해 적절한 피드백이 가능할 수 있도록 지속적이고 체계적인 모니터링이 반드시 이루어져야 한다. 이에 빠른 측정시간, 측정자의 고도의 전문성을 요구하지 않는 단순한 측정방법과 휴대성이 있어 현장측정이 가능한 장점을 갖는 바이오센서의 적용은 이상적인 솔루션이 될 수 있다.

전 세계적으로 현재 바이오센서 활용분야에서 가장 수요가 높고 기술개발이 많이 된 곳은 의료분야이다. 그중에서도 특히 혈당측정 관련 기술이 대부분을 차지하고 있으며 상업화도 가장 많이 되었다. 그에 비해 환경에 존재하는 환경독성물질들을 검출하는 환경분야는 2011년도에 한국환경산업기술원이 발행한 수질센서/환경검 기술동향보고서에 따르면 14.8%로, 의료 28.7%, 군사 24.8%, 연구분야가 23.4%를 차지하는 바이오 칩 전체 시장에서 아직까지는 가장 작은 비율을 차지하며 우리나라의 경우 기업의 투자보다는 정부의 R&D사업 투자를 기반으로 성장하고 있다. 또한 국내에는 바이오센서 연구에서 핵심적인 요소인 바이오 마커와 관련하여, 질병의 유무를 알려주는 진단관련 마커에 대한 연구는 수행되고 있으나 그 외 물질, 즉 약물의 대사체와 같은 환경유해물질에 관한 마커 연구는 거의 이루어지지 않고

있는 실정이다. 그러나 여러 환경오염문제나 먹거리에 대한 안전과 같은 잠재적 수요를 감안하면 환경 유해물질 검출과 관련한 바이오센서 시장은 사회적/경제적 가치가 매우 높으며 이러한 칩 기반 센서의 적극적인 활용은 결과적으로 많은 사회적비용을 절감시킬 수 있다. 농림수산물부의 2011년 자료에 따르면 2000년부터 구제역이나 조류 인플루엔자와 같은 감염성 질병으로 살처분한 가축으로 인한 피해금액은 총 2조 3000억 원에 다다르며 영국 항생제 대책 위원회는 2050년까지 항생제 내성 확산에 따른 세계 각국 대응비용이 연간 63조 파운드가 될 것이라고 예상했다[1]. 이러한 수치는 신속하고 정확한 현황 파악으로 인한 예방 및 대책의 중요성을 말해주며 따라서 바이오센서의 환경분야 검출에 대한 많은 기술개발이 지금보다 더 활발히 이루어져야 할 것으로 보인다.

4. 결 론

본 총설에서는 물 환경 속에서 항생제 농도를 측정하여 환경 모니터링에 초점을 맞춘 분석장비로서의 바이오센서의 기술 현황과 그 발전가능성에 대하여 논의하였다. 특히 현장중심의 측정기반 센서에서는 무엇보다 민감도와 선택성이 중요하며 이들을 높이기 위한 다양한 학문분야의 융합이 요구되고 있다. 또한 이들을 향상시킴으로써 발생되는 부작용(예 : 민감도 향상으로부터 오는 오작동과 같은 문제[43]) 등을 해결해야 한다. 이러한 환경 검출 센서에서는 비표지방식과 같은 측정의 간편함, 신속성이 요구되며 높은 민감도와 선택성이 필요하고 더 나아가서는 측정의 다중화와 저렴한 가격, 그리고 기기의 높은 내구성을 만족시키는 방향으로 발전할 것으로 보인다. 질병진단과 같은 의료분야의 칩 기반 센서와 달리 환경분야에서의 센싱 기술은 그 잠재적 수요가 매우 높음에도 불구하고 아직까지는 많은 연구가 활발히 이루어지지 않은 분야이다. 특히 강물에서의 항생제 검출 기술은 지속적인 수생태계 모니터링을 통해 수질오염을 예방하고 회복시키는데 결정적인 역할을 할 것이며 궁극적으로는 인류가 직면한 심각한 문제인 약물의 내성문제에 해결책을 가져다 줄 수 있을 것이다. 이를 위해서는 다양한 학문분야의 융합과 사회 각 분야에서의 지속적인 이고 적극적인 관심과 지원이 필요하다.

감 사

This research was supported by Kyungpook National University Research Fund, 2015.

References

1. J. O. Neill, *Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations*, 1st ed., 3-5, Review on Antimicrobial Resistance, London, UK (2014).
2. G. V. Doern, K. P. Heilmann, H. K. Huynh, P. R. Rhomberg, S. L. Coffman, and A. B. Brueggemann, Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999-2000, including a comparison of resistance rates since 1994-1995, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 1721-1729 (2001).
3. N. B. Shoemaker, H. Vlamakis, K. Hayes, and A. A. Salyers, Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp. and among *Bacteroides* and other genera in the human colon.

4. R. M. Kleven, J. R. Edwards, F. C. Tenover, L. C. McDonald, T. Horan, and R. Gaynes and National Nosocomial Infections Surveillance System, Changes in the epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units in US hospitals, 1992-2003, *Clin. Infect. Dis.*, **42**, 389-391 (2006).
5. M. E. Falagas and I. A. Bliziotis, Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era?, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **29**, 630-636 (2007).
6. S. Rodriguez-Mazaz and H. S. Weinberg, Meeting report: Pharmaceuticals in water-An interdisciplinary approach to a public health challenge, *Environ. Health Perspect.*, **118**, 1016-1020 (2010).
7. L. Zhao, Y. H. Dong, and H. Wang, Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China, *Sci. Total Environ.*, **408**, 1069-1075 (2010).
8. F. Baquero, J. L. Martínez, and R. Cantón, Antibiotics and antibiotic resistance in water environments, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **19**, 260-265 (2008).
9. A. J. Alanis, Resistance to antibiotics: are we in the postantibiotic era?, *Arch. Med. Res.*, **36**, 697-705 (2005).
10. S. B. Levy, *The Antibiotic Paradox; How the Misuse of Antibiotics Destroys Their Curative Powers*, 2nd ed., 1-14, Perseus Publishing, Cambridge, MA, USA (2002).
11. M. Seifrtová, L. Nováková, C. Lino, A. Pena, and P. Solich, An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters, *Anal. Chim. Acta*, **649**, 158-179 (2009).
12. A. van Wezel, M. Mons, and W. van Delft, New methods to monitor emerging chemicals in the drinking water production chain, *J. Environ. Monit.*, **12**, 80-89 (2010).
13. W. Giger, Hydrophilic and amphiphilic water pollutants: Using advanced analytical methods for classic and emerging contaminants, *Anal. Bioanal. Chem.*, **393**, 37-44 (2009).
14. V. Gubala, L. F. Harris, A. J. Ricco, M. X. Tan, and D. E. Williams, Point of care diagnostics: status and future, *Anal. Chem.*, **84**, 487-515 (2012).
15. E. B. Bahadir and M. K. Sezgenturk, Applications of commercial biosensors in clinical, food, environmental, and biotreat/biowarefare analyses, *Anal. Biochem.*, **478**, 107-120 (2015).
16. N. A. Mungroo and S. Neethirajan, Biosensors for the detection of antibiotics in poultry industry - A review, *Biosensors*, **4**, 472-493 (2014).
17. J. Kling, Moving diagnostics from the bench to the bedside, *Nat. Biotechnol.*, **24**, 891-893 (2006).
18. M. A. Burns, Everyone's a (future) chemist, *Science*, **296**, 1818-1819 (2002).
19. A. Rasooly, Biosensor technologies, *Methods*, **37**, 1-3 (2005).
20. H. Craighead, Future lab-on-a-chip technologies for interrogating individual molecules, *Nature*, **442**, 387-393 (2006).
21. H. Zhu and M. Snyder, Protein chip technology, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **7**, 55-63 (2003).
22. S. Song, L. Wang, J. Li, J. Zhao, and C. Fan, Aptamer-based biosensors, *Trends Anal. Chem.*, **27**, 108-117 (2008).
23. M. Uttamchandani, J. Wang, and S. Q. Yao, Protein and small molecule microarrays: Powerful tools for high-throughput proteomics, *Mol. BioSyst.*, **2**, 58-68 (2006).
24. H. J. Lee, S. Kim, H. Y. Han, and E. Kim, Synthesis of plasmonic

- gold nanoparticles with different shapes and their applications to surface plasmon resonance biosensors, *Polym. Sci. Technol.*, **26**, 9-15 (2015).
25. K. Reder-Christ and G. Bendas, Biosensor applications in the field of antibiotic research-a review of recent developments, *Sensors (Basel)*, **11**, 9450-9466 (2011).
 26. J. Yuan, R. Oliver, M. I. Aguilar, and Y. Wu, Surface plasmon resonance assay for chloramphenicol, *Anal. Chem.*, **80**, 8329-8333 (2008).
 27. M. Frasconi, R. Tel-Vered, M. Riskin, and I. Willner, Surface plasmon resonance analysis of antibiotics using imprinted boronic acid-functionalized Au nanoparticle composites, *Anal. Chem.*, **82**, 2512-2519 (2010).
 28. S. R. Raz, M. G. E. G. Bremer, W. Haasnoot, and W. Norde, Label-Free and Multiplex detection of antibiotic residues in milk using imaging surface plasmon resonance-based immunosensor, *Anal. Chem.*, **81**, 7743-7749 (2009).
 29. J. Adrian, S. Pasche, J. M. Diserens, F. Sanchez-Baeza, H. Gao, M. P. Marco, and G. Voirin, Waveguide interrogated optical immunosensor (WIOS) for detection of sulfonamide antibiotics in milk, *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 3340-3346 (2009).
 30. S. Korposh, I. Chianella, A. Guerreiro, S. Caygill, S. Piletsky, S. W. James, and R. P. Tatam, Selective vancomycin detection using optical fibre long period gratings functionalised with molecularly imprinted polymer nanoparticles, *Analyst*, **139**, 2229-2236 (2014).
 31. A. Kling, C. Chatelle, L. Armbrecht, E. Qelibari, J. Kieninger, C. Dincer, W. Weber, and G. Urban, Multianalyte antibiotic detection on an electrochemical microfluidic platform, *Anal. Chem.*, **88**, 10036-10043 (2016).
 32. A. A. Rowe, E. A. Miller, and K. W. Plaxco, Reagentless measurement of aminoglycoside antibiotics in blood serum via an electrochemical, ribonucleic acid aptamer-based biosensor, *Anal. Chem.*, **82**, 7090-7095 (2010).
 33. F. Giroud, K. Gorgy, C. Gondran, S. Cosnier, D. G. Pinacho, M. P. Marco, and F. J. Sanchez-Baeza, Impedimetric immunosensor based on a polypyrrole-antibiotic model film for the label-free picomolar detection of ciprofloxacin, *Anal. Chem.*, **81**, 8405-8409 (2009).
 34. P. Peljo and H. H. Girault, *Liquid/Liquid Interfaces, Electrochemistry at*, Encyclopedia of Analytical Chemistry, 2nd ed., 1-28, John Wiley & Sons, NY, USA (2012).
 35. H. R. Kim, S. H. Baek, and H. J. Lee, Creating Electrochemical sensors utilizing ion transfer reactions across micro-liquid/liquid interfaces, *Appl. Chem. Eng.*, **24**, 443-455 (2013).
 36. M. Velicky, A. N. J. Rodgers, R. A. W. Dryfe, and K. Tam, Use of voltammetry for in vitro equilibrium and transport studies of ionisable drugs, *ADMET DMPK*, **2**, 143-156 (2014).
 37. E. V. Vladimirova, A. A. Dunaeva, O. M. Petrukhin, and E. V. Shipulo, Study of the transfer of aminoglycoside antibiotics through the phase boundary water/o-nitrophenyl octyl ether by voltammetry at the interface of two immiscible electrolyte solutions, *J. Anal. Chem.*, **68**, 253-260 (2013).
 38. H. R. Kim, C. M. Pereira, H. Y. Han, and H. J. Lee, Voltammetric studies of topotecan transfer across liquid/liquid interfaces and sensing applications, *Anal. Chem.*, **87**, 5356-5362 (2015).
 39. H. Han, *Investigation on Antibiotic Transfer Processes across an Interface between Two Immiscible Electrolyte Solutions*, MS Thesis, Kyungpook National University, Daegu, Korea (2016).
 40. B. Halling-Sørensen, S. Nors Nielsen, P. F. Lanzky, F. Ingerslev, H. C. Holten Lützhøft, and S. E. Jørgensen, Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-a review, *Chemosphere*, **36**, 357-393 (1998).
 41. L. H. M. L. M. Santos, A. N. Araújo, A. Fachini, A. Pena, C. Delerue-Matos, and M. C. B. S. M. Montenegro, Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment, *J. Hazard. Mater.*, **175**, 45-95 (2010).
 42. Y. Kim, J. Jung, M. Kim, J. Park, A. B. A. Boxall, and K. Choi, Prioritizing veterinary pharmaceuticals for aquatic environment in Korea, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **26**, 167-176 (2008).
 43. X. Chen, D. Kim, and S. Hong, The carbon nanotube-based nanobiosensor: a key component for ubiquitous real-time bioscreening system?, *Nanomedicine*, **9**, 565-567 (2014).
 44. J. Yuan, J. Addo, M. I. Aguilar, and Y. Wu, Surface plasmon resonance assay for chloramphenicol without surface regeneration, *Anal. Biochem.*, **390**, 97-99 (2009).
 45. N. de-los-Santos-Alvarez, M. J. Lobo-Castanon, A. J. Miranda-Ordieres, and P. Tunon-Blanco, SPR sensing of small molecules with modified RNA aptamers: detection of neomycin B, *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 2547-2553 (2009).
 46. F. Fernandez, K. Hegnerova, M. Pilarik, F. Sanchez-Baeza, J. Homola, and M. P. Marco, A label-free and portable multichannel surface plasmon resonance immunosensor for on site analysis of antibiotics in milk samples, *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 1231-1238 (2010).
 47. A. Zengin, U. Tamer, and T. Caykara, Extremely sensitive sandwich assay of kanamycin using surface-enhanced Raman scattering of 2-mercaptobenzothiazole labeled gold@silver nanoparticles, *Anal. Chim. Acta*, **817**, 33-41 (2014).
 48. J. Zdunek, E. Benito-Pena, A. Linares, A. Falcimaigne-Cordin, G. Orellana, K. Haupt, and M. C. Moreno-Bondi, Surface-imprinted nanofilaments for europium-amplified luminescent detection of fluoroquinolone antibiotics, *Chemistry*, **19**, 10209-10216 (2013).
 49. B. G. Healey and D. R. Walt, Improved fiber-optic chemical sensor for penicillin, *Anal. Chem.*, **67**, 4471-4476 (1995).
 50. M. K. Pawar, K. C. Tayade, S. K. Sahoo, P. P. Mahulikar, A. S. Kuwar, and B. L. Chaudhari, Selective ciprofloxacin antibiotic detection by fluorescent siderophore pyoverdin, *Biosens. Bioelectron.*, **81**, 274-279 (2016).
 51. P. H. Chan, H. B. Liu, Y. W. Chen, K. C. Chan, C. W. Tsang, Y. C. Leung, and K. Y. Wong, Rational design of a novel fluorescent biosensor for β -lactam antibiotics from a Class A β -lactamase, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 4074-4075 (2004).
 52. P. H. Chan, P. K. So, D. L. Ma, Y. Zhao, T. S. Lai, W. H. Chung, K. C. Chan, K. F. Yiu, H. W. Chan, F. M. Siu, C. W. Tsang, Y. C. Leung, and K. Y. Wong, Fluorophore-labeled β -lactamase as a biosensor for β -lactam antibiotics: A study of the biosensing process, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 6351-6361 (2008).
 53. Y. M. Liu, Y. X. Jia, and W. Tian, Determination of quinolone antibiotics in urine by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection, *J. Sep. Sci.*, **31**, 3765-3771 (2008).
 54. J. Kurittu, S. Lonnberg, M. Virta, and M. Karp, A group-specific microbiological test for the detection of tetracycline residues in raw milk, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 3372-3377 (2000).
 55. P. Dzomba, J. Kugara, and M. F. Zaranyika, Extraction of tetracycline antimicrobials from river water and sediment: a comparative study of three solid phase extraction methods, *Afr. J. Pharm.*

- Pharmacol.*, **9**, 523-531 (2015).
56. K. C. Ahn, A. Ranganathan, C. S. Bever, S. H. Hwang, E. B. Holland, K. Morisseau, I. N. Pessah, B. D. Hammock, and S. J. Gee, Detection of the Antimicrobial Triclosan in Environmental Samples by Immunoassay, *Environ. Sci. Technol.*, **50**, 3754-3761 (2016).
57. C. Zhou, X. Zhang, X. Huang, X. Guo, Q. Cai, and S. Zhu, Rapid detection of chloramphenicol residues in aquatic products using colloidal gold immunochromatographic assay, *Sensors (Basel)*, **14**, 21872-21888 (2014).
58. A. L. Saber, M. A. Elmosallamy, H. M. Killa, and M. M. Ghoneim, Selective potentiometric method for determination of flucloxacillin antibiotic, *J. Taibah Univ. Sci.*, **7**, 195-201 (2013).
59. Y. S. Kim, J. H. Niazi, and M. B. Gu, Specific detection of oxy-tetracycline using DNA aptamer-immobilized interdigitated array electrode chip, *Anal. Chim. Acta*, **634**, 250-254 (2009).
60. J. Zhang, B. Zhang, Y. Wu, S. Jia, T. Fan, Z. Zhang, and C. Zhang, Fast determination of the tetracyclines in milk samples by the aptamer biosensor, *Analyst*, **135**, 2706-2710 (2010).
61. B. Chen, M. Ma, and X. Su, An amperometric penicillin biosensor with enhanced sensitivity based on co-immobilization of carbon nanotubes, hematein, and beta-lactamase on glassy carbon electrode, *Anal. Chim. Acta*, **674**, 89-95 (2010).
62. M. Jacobs, V. J. Nagaraj, T. Mertz, A. P. Selvam, T. Ngo, and S. Prasad, An electrochemical sensor for the detection of antibiotic contaminants in water, *Anal. Methods*, **5**, 4325-4329 (2013).