농식품 위해요소 신속 진단 기술 개발 현황과 전망

Current Status and Future Prospect of Rapid Detection Techniques for Hazard Analysis of Agro-Food

김기영*
Gi-Young Kim*

농촌진흥청 국립농업과학원 수확후관리공학과
Postharvest Engineering Division, Agro-Food Safety & Crop Protection Department, NAAS, RDA

1. 서 론

기후의 변화와 외식, 집단급식, 신선편이 식품 소비 증가와 같은 생활 양식의 변화에 따라 식품 안전사고에 대한 우려가 증가하고 있다. 대표적인 식품 안전사고인 식중독 사고의 발생건수와 환자 발생수는 2002년 77건 2,939명에서 2013년 235건 4,958명으로 크게 증가하는 추세에 있으며, 식중독균, 농약, 중금속과 같은 유해물질에 오염된 수입 농식품의 적발 증가로 인하여 식품 안전에 대한 관심이 더욱 커지고 있다. 이에 따라 정부는 농식품 안전성 향상을 위한 사전 예방적 조치로 농식품의 안전 검사를 확대하고 있다. 하지만, 현재의 농식품 유해물질 검사는 대부분 고가장비를 이용하여 실험실에서 수행하고 있기 때문에 전문가가 필요하고 시간이 오래 걸려, 오염 농식품의 조기 파악, 확산 방지, 그리고 회수와 같은 신속하고 효율적인 조치를 취하는데 어려움이 있다. 건강에 대한 관심이 어느 때 보다 높은 최근의 사회 분위기 속에서 소비자의 고품질 안전 농식품에 대한 수요 증가는 농식품 안전성의 사전 검사에 대한 관심과 관련 기술의 필요성을 불러일으키고 있다.

2. 신속진단 방법

여러 가지 유해물질 중 특히 식중독균은 그 피해 규모가 클 뿐만 아니라 검사 결과를 얻기까지 짧게는 수일에서 길게는 수주까지의 장시간이 소요되어 신속진단 기술 개발이 가장 필요한 분야이다. 최근의 바이오기술은 시간이 많이 걸리던 기존 농식품 안전성의 분석 과정을 크게 변화시켰다. 새로운 신속진단 방법은 보다 간단하고, 민감하며, 빠르게 식품 오염 물질을 검사할 수 있게 해준다. '신속'이란 의미는 종래의 미생물학적 방법보다 빠르다는 의미로, 신속진단 방법은 분석에 수 분이 걸리는 것에서부터 며칠이 걸리는 다양한 방법을 포함한다.

농식품은 조성이 복잡하고 각각의 차이가 심하기 때문에 신속진단 방법을 농식품에 적용하는데는 어느 정도 한계가

* Correspondence to: Gi-Young Kim
Postharvest Engineering Division, Department of Crop-Life Safety, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, 166, Nongsaengmyeong-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do 565-851, Korea
Tel: 82-63-238-4111 E.mail:giyoung@korea.kr

있다. 단백질, 지방, 유지 등의 물질들이 분석을 방해할 수도 있고, 농식품에 들어있는 일반적인 박테리아가 분석 작업을 방해하기도 한다. 또한, 농식품에 들어있는 적은 수의 병원균은 그 크기가 매우 작기 때문에 검출하기 어려워 시험 전에 시간이 많이 필요한 배양을 통한 증균이 필요한 경우가 대부분이다.

이러한 어려움을 극복하기 위해서 선진국을 중심으로 농식품의 유해물질 오염을 신속하게 검사하여 그 결과를 빠르게 제공할 수 있는 기술 개발에 대한 연구가 활발하게 수행되고 있다. 현재 사용이 늘어나고 있는 식품 안전성 신속진단 기술로는 중합효소연쇄반응 (PCR: Polymerase chain reaction), 효소면역측정법 (ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay), ATP (Adenosine Triphosphate) 생물발광법 등이 있으며, 이들 방법들은 식중독균과 같이 검사에 수 일 ~ 수 주가 소요되는 식품 유해물질의 검사를 보다 빠르게 수행할 수 있게 해준다.

식품내의 미생물을 확인하는 최신 기술 중 하나인 중합효소연쇄반응은 유전자 DNA의 특정 영역을 검출하며, 개별 미생물에 아주 선택적인 유전자를 검출하는 장치가 개발되어 사용되고 있다. DNA 시발체(Primer)라고 불리는 검출 요소를 잘 선택하면 살모넬라, 리스테리아, 대장균 O157 과 같은 병원균을 선택적으로 판별할 수 있다. 검출 기작은 아주 선택적이어서 추가의 확인 단계가 필요없고, 최종 검사 결과는 30시간 이내에 가능하다. PCR은 특정 유전자 또는 배열 내의 반복되는 영역인 대상 배열의 핵산을 증폭한다. 식품 병원균의 일반적인 대상 DNA 영역은 독성인자, 독소, 세포내 대사물질, 다복제 리보솜 RNA 등이다. 식품 내의 유전자 변형 생물과 그로부터 유도된 물질을 선별하기 위한 PCR 기반 기술도 개발되었다. 후 PCR 검출 방법에는 젤 영동, 교잡 분석, 그리고 특수한 핵산 탐지자를 사용하는 것들이 있다. 탐지자는 젤 영동과 유사하게 단순히 PCR 산물을 검출할 경우도 있고, 특정 박테리아만을 위해 별도로 선별하는 경우도 있다. 형광 또는 발색 표지 탐지자를 PCR 산물에 사용함으로써 막이나 마이크로웰 위에서 종이나 균주의 판별과 검출이 가능하다.

효소면역측정법은 면역 기술 중 가장 잘 정립되어 있으며, 간접 또는 샌드위치 ELISA 등이 병원균 검출에 널리 쓰인다. ELISA 기술은 대상 항원 세포 전체나 세균의 생성물을 검출하기 위해 개발되었다. 간단한 면역학적 항체 검사는 고무구슬을 이용한 박테리아 세포의 결집과 독소와 같이 용해되는 항원에 대한 역수동 결집을 들 수 있다. 또 다른 방법인 면역형광은 항원과 항체 결합을 시각적으로 나타내기 위해 첨가되는 직접 형광물질로 표지된 항체 또는 형광물질로 표지된 혼합물에 의해 검출되는 항원을 기반으로 한다. 면역분석법은 항원뿐만 아니라 독소와 같은 대사물질도 검출하며, 세균에서 유래된 독소와 같은 유해물질의 분석도 가능하다.

생물발광법은 모든 살아있는 세포는 세포내의 저장된 대사 에너지의 조절, 효소 체계의 유지, 그리고 성장의 각 단계 동안 세포 조성물의 생합성에 필요한 ATP를 함유한다는 사실에 근거한 방법이다. 반딧불이(Photuris pyralis) 발광효소는 ATP의존 루시페린의 산화적 탈탄산을 촉진시켜 빛을 생성하는데, 이 원리를 이용하면 생성되는 빛의 양을 이용하여 ATP양 및 이와 관련된 세포의 양을 예측할 수 있다. 박테리아 및 효모의 양과 세포내 ATP 수준 사이에 선형 관계식이 있는 것으로 알려져 있다. 죽은 세포에서는 ATP는 몇 분 내에 자기분해에 의해 분해되기 때문에, ATP는 미생물의 생체량 측정에 사용될 수 있다.

현재 사용되고 있는 이들 기술들은 빠르고 감도가 높지만 여전히 숙련된 전문가가 필요하고, 고가의 신호측정 장비가 필요하다는 점 때문에, 최근에는 의료분야에서 활발하게 연구되던 바이오센서에 대한 연구가 주목받고 있다. 바이오센서는 생체물질로 이루어진 감지부와 물리적인 신호변환부로 이루어진 장치를 말하며, 감지부를 생체물질을 사용하기 때문에 선택성이 높아 특정 측정 대상 물질을 잘 구분하며, 반응시간이 빠르고, 감도가 높은 장점이 있다.

바이오센서로 측정할 수 있는 분석대상물의 범위는 매우 넓은데, 발암물질, 대기오염 물질, 농약, 독소, 식중독균, 바이러스 등 다양하며, 식중독균 검출을 위한 바이오센서 개발도 활발하게 진행되고 있다. 바이오센서는 감지물질로부터 얻어진 신호와 그 변환방법에 따라 광학식, 전기화학식, 압전식 등 여러 가지로 분류된다.

2.1 광학식 바이오센서

광학식 바이오센서는 광섬유, 표면플라즈몬공명(SPR: Surface Plasmon Resonance), 발광, 형광, 흡광도 등을 이용한다. 광섬유는 가격이 싸고, 소형이며, 다른 신호와의 간섭이 작고, 반응시간이 빠르고, 측정 대상 세균에 대한 선택성이 높아 많은 관심을 받고 있다. 광학식 바이오센서를 이용하여 육류나 가금류에 들어있는 살모넬라, 대장균, 리스테리아와 같은 세균을 검출하는 연구들이 농촌진흥청, 퍼듀대, 조지아 공대 등의 연구진들에 의해 보고된 바 있다.

광학식 바이오센서 중에서 광섬유 바이오센서는 낮은 검출한계, 재사용 가능성, 그리고 광통신 관련 전자 및 광학 부품의 지속적인 발전에 따른 성능향상 등으로 많은 분야에 걸쳐 활용되고 있다. 이 센서들은 특정 세균에 선택적으로 반응하는 항체를 이용하며, 여러 광섬유에 서로 다른 항원을 고정시켜 여러 종류의 세균을 동시에 측정하는 것도 가능하다. 경우에 따라 다르지만, 2시간 이내에 세균을 검출할 수 있으며, 작게는 100 CFU/mL 의 농도까지 검출이 가능하다. 최근엔 보스톤대학의 연구진들에 의해 박테리아 DNA 분석이 가능한 젭토몰(10^{-21} mol)의 측정 성능을 갖는 광학식 바이오센서도 연구되고 있다.

SPR 바이오센서는 금속박막 전자들의 집단적인 진동(Surafce Plasmon)을 광학적인 방법으로 유도하여 금속박막의 표면근처에서 일어나는 물리, 화학적 변화를 측정한다. SPR은 다른 바이오센서에 비해 계측시 샘플에 손상이나 변형을 작게 주며, 형광 측정법처럼 화학적인 표식자를 추가하지 않아도 고감도로 생화학적 반응을 계측할 수 있는 장점이 있다. SPR 바이오센서는 대장균 O157:H7의 측정, 해양 환경에서의 세균과 바이러스 검출, 토양의 세균오염, 농식품의 잔류농약 측정 등의 연구에 이용된 바 있다.

그 밖에도 형광, 발광, 흡광도, 굴절율의 변화를 측정하는 다양한 광학식 바이오센서가 있다. 형광 기술은 형광 물질의 형광을 직접 측정하거나, 형광공명에너지전이 (FRET: fluorescence resonance energy transfer) 바이오센서의 경우처럼 에너지 주게(donor)가 발생하는 단파장 형광이 에너지 받게(acceptor)의 여기광으로 작용하여 장파장 형광을 유도하는 방식으로 감도를 높이는 형식도 있다.

2.2 전기화학식 바이오센서

전기화학식 바이오센서는 센서와 시료 경계에서 변화하는 전류, 전압, 저항 등 전기적인 신호변화를 측정한다. 전류나 전압의 변화를 측정할 경우, 일반적으로 효소가 고정화된 막과 이 막으로 둘러싸인 pH 전극을 많이 사용하며, 촉매반응을 통하여 발생하는 수소이온의 농도를 측정한다.

전기화학식 바이오센서는 세균 분석을 위하여 널리 사용되었는데, L-lactate를 이용하거나, DNA 염기서열을 이용하여 우유의 세균 오염을 분석하는 방법 등이 있다. DNA 합성과 관련된 전기화학적 검출은 일정한 전압을 가한 상태에서 변화하는 전류나 전기전도도 또는 정전용량의 변화를 이용한다. LAPS (light-addressable potentiometric sensors) 센서와 같이 EIS(Electrolyte insulator semiconductor) 구조의 반도체 표면에 광을 조사한 후 pH 변화에 의존하는 광전류의 변화를 감지하여 pH 변화값을 출력한다. 미국 농무부의 연구자들은 LAPS 센서에 면역 리간드를 조합한 장치를 이용하여 대장균 O157:H7을 30-45분 만에 검출할 수 있었다. 이 장치에서 세균은 특정 항체가 고정된 필터막에 걸리고, 막에 인접한 실리콘 센서에 빛을 조사함으로써 pH의 변화를 검출하게 된다. 측정된 신호는 세균수에 비례한 결과를 나타내었고, 2.5×10^{4} CFU/mL 의 E. coli O157:H7을 감지할 수 있었다.

마이크로 단위의 미세전극의 임피던스 값의 변화를 이용하여 식중독균을 신속하게 검출하는 기술도 개발되고 있는데, 임피던스 바이오센서는 전극 표면에 생물분자의 검출부를 형성하여 특정 생물재료의 정전용량과 저항 변화를 함께 분석할 수 있는 도구로서 많은 분야에서 활용되어 왔다. 임피던스 바이오센서는 폭넓은 교류 입력에 대한 측정 대상물의 임피던스 반응을 분석함으로써 재료의 특성을 다양하게 분석할 수 있다는 것과 전기적인 모델링을 통한 센서의 반응을 이론적으로 해석할 수 있다는 장점 때문에 다양한 생물재료의 특성을 분석하는 연구에 활용되어 왔다.

2.3 압전형 바이오센서

압전형 바이오센서는 센서 표면을 따라 전파되는 음파의 속도나 크기의 변화를 진동수 변화 형태로 측정하여 대상물의 질량, 밀도, 점도 등의 변화를 감지하는 센서이다. 여러 연구자들에 의하여 압전형 바이오센서를 이용하여 미생물을 검출한 결과가 보고되었는데, PCR-압전 바이오센서를 이용한 대장균 O157:H7의 염기 서열 분석 연구에서는 PCR을 통하여 증폭된 대장균 O157:H7의 독특한 DNA를 압전 바이오센서 표면에 고정된 검지자를 이용하여 검출할 수 있었다.

또한, 다클론 항체를 QCM(Quartz Crystal Microbalance) 표면에 고정시켜 살모넬라 식중독균을 검출할 수 있는 바이오센서도 개발된바 있다. 이 센서는 350 CFU/mL 의 농도까지 측정할 수 있었으며, 10^2-10^7 CFU/mL 의 구간에서 선형 비례관계를 나타내었다.

2.4 측방유동 면역 진단키트

측방유동 면역크로마토그래피 방법을 이용한 간이 진단키트는 사용이 쉽고 신속하게 결과를 분석할 수 있는 장점 때문에 임신 진단이나 혈당 측정과 같은 현장검사용 목적으로 널리 사용되고 있다. 측방유동 간이 진단키트는 액상의 시료가 다공질의 니트로셀룰로오스 막을 모세관 힘에 의해 이동하는 현상을 이용한다. 분석물질에 특이적으로 반응하는 항체를 니트로셀룰로오스 막 위에 고정시키고, 또 다른 항체를 색 변화를 나타내는 입자에 결합시킨 다음 분석물질과 반응하도록 하면 분석물질과 반응한 색입자가 니트로셀룰로오스 막의 항체 띠에 포획된다. 시료에 검출하고자하는 분석물질이 들어 있으면, 항체 띠에 포획된 분석물질과 이에 결합되어 있는 색 입자로 인해 짙은 색의 선이 나타나 분석물질의 포함 여부를 알 수 있게 된다.

측방유동 간이 진단키트는 일정 기준 이상의 분석물질이 포함되어 있는지를 분석하는 정성분석뿐만 아니라, 색의 강도를 측정할 수 있는 광학측정기기를 이용할 경우 정량분석도 가능하다. 측방유동 간이 진단키트는 분석비용이 저렴하고 값비싼 측정기기나 전문적인 인력을 필요로 하지 않기 때문에 반려동물의 건강 (Oh et al., 2006; Kang et al., 2007), 식품 안전성 (Sithigorngul et al., 2007; Hossain et al., 2009), 가축의 질병 (Cui et al., 2008), 환경 오염 (Tang et al., 2010) 등을 신속하게 검사하는 방법으로도 개발되고 있다.

농식품 분야에서는 Hossain 등(2009)이 우유나 사과 주스 등의 식품에 들어있는 잔류농약을 검사할 수 있는 간이 진단키트를 개발한 바 있다. 연구자들은 양방향 사용이 가능한 측방유동 센서를 이용하여 말라티온과 파라옥손 같은 잔류농약을 5분 이내에 각각 10 nM과 1 nM의 높은 감도로 검출할 수 있었다. Martin-Hernandez 등(2009)은 가짜 치즈에 들어가는 응유효소 유청을 신속하게 검사할 수 있는 측방유동 간이 진단키트를 개발하였다. 연구결과 측방유동 간이 진단키트를 이용하여 4% 이상의 응유효소 유청이 들어있는 우유를 정확하게 판정할 수 있었고, 이 결과는 기존검사 방법인 고성능액체크로마토그래피를 이용한 결과와 유사하였다.

3. 결 론

식품 안전성 향상을 위한 신속진단 연구는 현재의 실험실 중심의 고가장비를 이용한 분석에서 향후 현장에서의 간편한 분석으로 전환될 것으로 보여진다. 현장이용형 신속진단 기술은 비전문가라도 쉽게 사용할 수 있는 형태로 개발되고 있으며, 이미 많은 사람들이 보유하고 있는 휴대형 단말기를 이용하기 때문에 식품 안전성 검사를 크게 확대하는데 기여할 것으로 보인다.

식품 안전성 신속진단과 관련된 신기술은 개발될 경우 의료나 국방과 같은 타 분야에도 활용할 수 있어 그 부가가치가 높지만, 개발에 많은 시간이 소요되는 원천 기술이어서 우리도 이에 대한 기술 개발 투자를 계속하여 경쟁력을 키워야 할 필요가 있다. 기술 개발 투자와 함께 기술 개발이 완성될 경우 제품제작을 위한 산업화 지원과 기술 및 검사방법의 법제화와 같은 제도적 뒷받침을 통하여 개발된 신속진단 기술을 활용함으로써 정부의 식품안전 관리시스템을 보다 공고하게 확립할 수 있을 것으로 판단된다.

참고 문헌

1. Cui S., G. Tong. 2008. A chromatographic strip test for rapid detection of one lineage of the H5 subtype of highly pathogenic avian influenza. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 20: 567-571

2. Hossain Z.S.M., R.E. Luckham, M.J. McFadden, J.D. Brennan. 2009. Reagentless bidirectional lateral flow bioactive paper sensors for detection of pesticides in beverage and food samples. Anal. Chem. 81: 9055-9064

3. Kang B.K., J.S. Oh, C.S. Lee, B.K. Park, Y.N. Park, K.S. Hong, K.G. Lee, B.K. Cho, D.S. Song. 2007. Evaluation of a rapid immunodiagnostic test kit for rabies virus. Journal of Virological Methods. 145: 30-36

4. Martin-Hernandez C., M. Muñoz, C. Daury, H. Weymuth, A.E.M. Kemmers-Voncken, V. Corbaton, T. Toribio, M.G.E.G. Bremer. 2009. Immunochromatographic lateral-flow test strip for the rapid detection of added bovine rennet whey in milk and milk power. International Dairy Journal. 19: 205-208.

5. Oh J.S., G.W. Ha, Y.S. Cho, M.J. Kim, D.J. An, K.K. Hwang, Y.K. Lim, B.K. Park, B.K. Kang, D.S. Song. 2006. One-Step Immunochromatography assay kit for detecting antibodies to canine parvovirus. Clinical and Vaccine Immunology. 13(4): 520-524

6. Sithigorngul W., S. Rukpratanporn, N. Sittidilokratna, N. Pecharaburanin, S. Longyant, P. Chaivisuthangkura, P. Sithigorngul. 2007. A convenient immunochromatographic test strip for rapid diagnosis of yellow head virus infection in shrimp. Journal of Virological Methods. 140: 193-199

7. Tang Y., Y.F. Zhai, J.J. Xiang, H. Wang, B. Liu, C.W. Guo. 2010. Colloidal gold probe-based immunochromatographic assay for the rapid detection of lead ions in water samples. Environmental Pollution. 158: 2074 - 2077.