

식품 유래 박테리아 현장검출용 바이오센서

이원일³·김보영²·손영민³·김아리²·이내음^{1,2,3+}

Biosensors for On-the-spot Detection of Bacteria from Foods

Won-Il Lee³, Bo-Yeong Kim², Young-Min Son³, Ari Kim², and Nae-Eung Lee^{1,2,3+}

Abstract

Recently there have been extensive research activities on the development of on-the-spot detection technologies for bacteria from foods due to growing high demand for food safety. In particular, on-the-spot detection devices using biosensors with rapid, highly sensitive and multiplexed sensing capability are promising for portable or mobile applications. Firstly, issues related to on-the-spot bacteria detection are discussed. Then, detection methods for bacteria, types of biosensors depending on transducing principle and receptors, and platforms for integration of biosensors and signal readers are reviewed. Finally, prospects for development of on-the-spot detection devices are summarized.

Keywords: Biosensor, Bacteria, On-the-spot detection, Food safety

1. 서 론

식품 안전에 대한 관심이 증가하면서 식품의 안정성을 검사할 수 있는 식품안전 진단 기술에 대한 수요가 점점 더 증가하고 있다. 측정 대상물질은 농약, 항생제, 첨가물, 중금속, 가공 중의 형성물 등의 화학적 유해물질, 독소, 박테리아, 바이러스 등의 생물학적 유해물질을 포함한다. 현재 식품유해물질 분석방법으로는 식품 안전사고 발생 했을 때 해당 식품의 유해물질 검출을 전문 검사기관에 의뢰하게 되고, 화학적 유해물질의 경우 질량분석기와 같은 고가의 화학분석 장비, 그리고 생물학적 유해물질의 경우 주로 효소면역분석법(ELISA)과 같은 면역분석법, 중합효소연쇄반응(PCR)과 같은 분자진단법 등을 주로 활용

하여 분석하게 된다. 이러한 식품유래 유해물질의 분석의 경우 수일 내지 일주 정도의 장시간이 요구 되고 있다. 따라서, 식품 안전 사고의 원인을 파악하는데 소요되는 시간과 비용의 문제로 신속한 원인파악 및 대응에는 한계가 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 현장에서 바로 1-2 시간 내에 신속히 검출할 수 있는 유해물질 검사기술 개발이 필요하다.

그러나, 현장검출법 개발에 대한 요구가 증가하고 있지만 현재의 기술수준은 아직 민감도, 검출한계, 정확도의 확보, 신속한 샘플 처리 등의 문제점을 해결하지 못하고 있는 상태이며 아직 상용화에는 이르지 못하고 있다. 특히 식품에 존재하는 박테리아의 경우 매우 낮은 개체수의 박테리아를 검출하여야 하는 요구사항이 있다. 예를 들어 표준 샘플링 방법의 예로서 25g의 육류샘플을 225 ml의 용매 내에 균질화 후 10 CFU (colony forming units) 이내의 개체를 검출해야 하는 요구사항을 고려할 때, 1 CFU/ml보다 낮은 단일 개체 수준의 박테리아를 검출할 수 있는 기술이 필요하다. 현재 현장 신속 현장검출용으로 개발되고 있는 Lateral flow assay (LFA) 같은 플랫폼의 적용이 가능하나 낮은 검출한계로 인해 박테리아의 개체 수를 증식(pre-enrichment)시키는 단계가 필수적으로 필요하고 이를 위해 수십 시간에서 수일 이상의 시간이 소요된다. 따라서, 박테리아의 현장 검출기술 개발을 위해서는 샘플 내 박테리아의 추출, 포집, 농축, 고감도 센싱 등의 일련의 검출을 자동화하여 사용자가 특별한 기술 없이도 용이하게 작동시킬 수 있는 샘플주입부터 응답(sample-to-answer)까지의 일련의 과정을 한 기기에서 처리할 수 있는 기술 개발이 필요하다. 또한 소형화가 가능하여 휴대폰에 애드온(add-on) 형태 또는 개별(stand-alone) 휴대형 기기로 개발

¹성균관대학교 신소재공학부(Department of Advanced Institute of Nano Technology, Sungkyunkwan University)

2066 Seobu-ro, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do 16419, Korea

²성균관대학교 나노과학기술학과 (SAINT, SKKU Advanced Institute of Nano Technology)

2066 Seobu-ro, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do 16419, Korea

³성균관대학교 융합의과학과 (SAIHST, Samsung Advanced Institute for Health Sciences and Technology)

2066 Seobu-ro, Jangan-gu, Suwon, Kyunggi-do 16419, Korea

*Corresponding author: nelee@skku.edu

(Received: Sep. 25, 2016, Accepted: Sep. 30, 2016)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



Fig. 1. Global market of food safety diagnostics (left) and the market growth (right)

하여 휴대성 및 이동성이 우수한 제품을 개발할 필요성이 있다. 세계적으로 식품 안전에 대한 관심이 증가되면서 식품유래 박테리아, 첨가물 및 중금속, 농약 등을 측정하는 기술에 대한 개발이 엄청난 속도로 발전하고 있다. 2020년 까지 이러한 기술에 대한 시장규모가 161억불에 달할 것으로 예상되며 (Fig. 1, left), 빠르고 정확하며 경제적인 실시간 식품안전 테스트에 대한 소비자들의 요구에 따라 큰 국내의 기업들이 경쟁적으로 식품안전 테스트-진단사업을 수행하고 있다. 이 형성된 시장들 중, 식품유래 박테리아에 대한 시장 규모가 가장 큰 분포를 차지했으며, 농약, 유전자변형식품, 독소 등이 그 뒤를 잇고 있다. 현재는 유럽과 미국이 세계 식품안전진단 시장을 선도하고 있지만, 아시아의 인구성장 (2050 년까지)에 비례하는 식품 소비량과 그에 비례하는 식품안전진단 시장 성장이 크게 기대(Fig. 1, right)된다. 국내의 한 기업에서는 토탈 식품 안전 솔루션을 시장에 내놓으며 식품시료분석 및 이물분석, 환경모니터링 분석 서비스를 제공하며 1:1 맞춤형 식품 안전 솔루션을 소비자들에게 제공하고 국내시장을 이끌고 있다.

제2절에서는 식품유래 박테리아 검출의 방법을 설명하고 현장 검출을 위해 개발되고 있는 박테리아 검출용 바이오 센서기술에 대한 개발현황을 살펴보도록 한다. 3절에서는 신호변환 원리 (transducing principle)에 따라 대표적인 전기화학센서 및 광학센서에 대하여 개괄한다. 그리고 4절에서는 수용체 (receptor)에 따른 센서의 개발현황을 요약하도록 한다. 5절에서는 바이오 센서가 집적된 lab-on-a-chip (LOC) 카트리리지 또는 Lateral flow assay (LFA) 스트립 형태의 검출 플랫폼 및 휴대형 기기 개발 동향 및 방향에 대해서 알아본다. 6절에서는 전체를 요약하고

향후 개발 전망에 대해 논의한다.

2. 식품유래 박테리아 검출 방법

식품유래 박테리아 검출에 대한 기존의(conventional) 방법으로는 박테리아 수를 세는 배양/콜로니 계수법, 항원-항체반응을 이용한 면역분석법(Immunology-based methods), DNA 분석을 통한 PCR (polymerase chain reaction)이 있다. 이러한 방법들은 저렴한 비용으로 민감하면서 양적, 질적으로 뛰어난 박테리아 정보를 얻을 수 있다. 하지만 식품 내에 미량으로 존재하는 박테리아를 증식시키는 과정이 검출을 위해 필요한데 그 시간이 길다는 단점이 있다. 질병을 유발하는 식품유래 박테리아와 검출식품, 배양시간 등을 Table 1에 간단히 정리하였다.

2.1 배양 및 콜로니 기반의 방법

배양 검출법은 식품유래 박테리아 검출에 대한 가장 오래된 기술로 신뢰도와 정확도가 높은 기술이다. 이는 단일 박테리아를 검출하는 미생물학적인 표준 기술이며, 단일 세포의 성장으로 형성된 콜로니를 통해 증폭된 신호를 얻을 수 있다.

미생물학적 방법의 주요 결점은 시간 소모가 크고 노동집약적인 방법으로 검출까지 7~10일 이상 요구되어 실시간 현장 검출에 한계가 있다.

2.2 면역분석법

항원-항체 특이적 결합을 바탕으로 하는 이 검출법은 식품유래 박테리아 검출에 광범위하게 사용되고 있다. 이의 이용방법은 항체형(type)의 수와 방식(format)에 따라 다양하며, 다중클론항체, 단일클론항체, 재조합 항체들이 사용된다.

다중클론항체는 생산속도가 빠르고 비용 면에서 효율적이거나 [6,7] 다중클론항체는 여러 항체들의 특이적 결합이 어렵다는 점과 충분한 양을 얻는 데에 한계[8]를 가지고 있다. 하이브리도마(융합세포, 암세포와 정상 세포 결합으로 단일클론을 만듦) 기술의 발전과[9] 재조합항체 파지디스플레이 기술은 박테리아에

Table 1. Typical foods, symptoms and culturing time according to food-borne bacteria[1-5]

Food-borne bacteria	Foods	Symptoms	Culturing time
<i>Campylobacter jejuni</i>	unprocessed milk, meat, poultry, shellfish	fever, headache, myalgia, diarrhea, nausea	2-5days
<i>Salmonella spp.</i>	egg, poultry, meat, milk products, seafood, salad	stomachache, diarrhea, nausea, chill, fever	12-24hrs
<i>E. coli</i>	egg, poultry, meat, unprocessed milk, milk products, seafood, leafy vegetable	stomachache, diarrhea, nausea, fever, headache	2-4days
<i>L. monocytogenes</i>	cheese, unprocessed milk, icecream, leafy vegetable, poultry, meat	fever, chill, headache, diarrhea	2-3weeks
<i>Bacillus cereus</i>	meat, unprocessed milk, vegetable, fish, rice, pasta, cheese	diarrhea, gastrospasm, nausea	30min-15hrs

대한 면역분석법으로 인해 더욱 민감성, 특수성, 재현성, 신뢰성을 가지게 되었다[8].

단일클론항체는 단일항체의 무한한 공급이 가능하다는 점에서 다중클론항체에 비해 더욱 유용하다. *Listeria monocytogenes*(*L. monocytogenes*) 검출을 위한 단일클론항체 기반의 면역크로마토그래피(ICG) 스트립 테스트는 복잡한 과정 없이 20분 안에 그 결과를 보여준다[10]. 그러나 이는 숙련된 기술자와 조직 배양을 위한 전문적인 도구들이 필요로 하며 생산비용 또한 고가이다.

면역분석검출법에는 효소면역검정법(EIA)[11], 효소면역분석법(ELISA)[12,13], ICG 스트립 테스트[10], immunomagnetic separation(IMS)[14,15], 면역침강반응분석법[16], 응집반응검사[17], 방사면역측정법(RIA), 웨스턴 브롯 테스트(western blot test)[18], 라인면역분석법(LIA) 등이 있다.

배양 검출법에 비해 매우 짧은 시간에 검출이 가능하나 박테리아의 실시간 감지능력이 부족하며, 또한 낮은 민감도, 박테리아와의 낮은 친화력, 오염물질의 간섭 가능성[19] 등의 단점을 지닌다.

면역학 기반 검출은 PCR과 같은 핵산 기반 검출법에 비해 특이성과 민감도가 낮으나, 검출속도가 빠르고 오염된 박테리아 뿐 만 아니라 유전체(genome)에 발현되지 않는 생물독소까지도 검출이 가능하다는 장점[20]이 있다.

2.3 종합효소연쇄반응 (PCR)

PCR은 핵산 증폭 기술로 식품유래 박테리아 검출에 널리 쓰이는 방법이다. 이는 타깃 박테리아의 DNA 염기서열의 분리, 증폭, 정량화의 방법을 기반으로 열에 의한 외가닥 형성, 프라이머의 결합, DNA 상보결합의 과정을 거치는 1시간 안에 100만배 증폭이 가능한 기술이다[21,22]. PCR의 다른 방법으로는 real-time PCR[23], multiplex PCR[24], 역전사 PCR(RT-PCR)[25]이 있다. 이는 배양법이나 면역분석법에 비해 특이성 민감성, 신속성, 정확성이 뛰어나며, 일부 PCR은 검출 타깃의 증식과정이 필요하지 않는 다른 장점을 지닌다. Real-time PCR은 높은 민감도, 특이도로 인해 박테리아를 빠르게 식별하며, 많은 조작을 하지 않아 빠르게 결과값을 얻을 수 있다. Multiplex PCR은 타깃 박테리아 유전자의 여러 종류의 DNA 프라이머를 사용함으로써 동시에 여러 개를 검출[22]할 수 있다.

그러나 위의 PCR 기술들은 살아있는 세포와 죽은 세포 모두 DNA가 존재하기 때문에 검출에 사용된 세포의 실제 생존여부를 알 수 없다. 이에 단점을 극복하여 살아있는 세포만을 검출하는 기술이 RNA에서 단일 가닥 DNA를 합성하는 방법인 역전사 PCR(RT-PCR)이다[26]. 또한 역전사 PCR은 시간소모와 증식과정 없이도 높은 민감도[25]를 보이고 있다. PCR을 통한 검출법은 산업적인 관점에서 매우 고가이며, 복잡하고, 숙련된 기술자가 필요하다는 단점이 있다.

모든 기존의 방법들은 시간이 소모가 크기 때문에, 빠르고 신뢰성이 높으며 간단하고 특이도 민감도가 높으며 현장 신속검

출이 가능한 새로운 기술을 필요로 한다. 최근 식품유래 박테리아 검출 기술로서 바이오센서 (biosensor) 기술이 활발히 개발되고 있다.

3. 신호변환기 (Transducer) 종류에 따른 바이오센서 개발현황

식품 분석 바이오 센서를 포함한 모든 바이오 센서는 생물학적 반응을 전기적 반응으로 바꾸는 기술이 필요하다. 타깃으로 삼고 있는 물질 (박테리아, 항원, 독소, 잔류농약, 바이러스 등)을 수용할 수 있는 수용체와 이 수용체와 타깃과의 반응을 측정 가능한 신호로 변화시킬 수 있는 변환방법(transduction method)이 두 가지 중요한 구성 요소가 필요하다. 주로 유용하게 사용되고 있는 변환방법에는 전기화학적 방법과 광학적 방법이 있으며, 수용체로는 항체, DNA, 효소, 박테리오파지 등이 이용[27]된다.

3.1 전기화학 바이오센서

전기화학 바이오센서는 1953년 Clark LC의 효소를 사용한 첫 번째 amperometric 바이오센서 개발[28] 이후 활발하게 연구되어 오고 있다. 높은 감도와 선택성, 저렴한 생산 가격과 소형화가 용이한 점, 다양한 시료환경에서의 측정이 가능하며, 실시간 검출을 확인 할 수 있다는 점이 전기화학 바이오센서의 발전을 가속하고 있다[29]. 앞서 언급된 장점들은 전기화학 바이오센서가 식품유래 박테리아의 식별을 낮은 농도에서 가능하게 할 뿐만 아니라 정량화도 가능하게 하여 현장검출이나 병원, 학교, 가정 등 다양한 환경에서 소형화된 전기화학 바이오센서를 사용하여 식품유래 박테리아를 빠르게 검출을 할 수 있는 가능성을 보여준다[30]. 이러한 전기화학 바이오센서는 센서전극의 표면에서 이루어지는 생물학적 상호작용으로 인한 전류 또는 전압의 변화를 감지할 수 있도록 설계된다. 전류, 전압, 임피던스 그리고 컨덕턴스의 파라미터로 나누어지며 각각 Amperometry, potentiometry, impedimetry, conductometry 방법으로 분류 된다. Table 2는 전기화학적 방법을 이용한 여러 센서들과 타깃 식품유래 박테리아, 검출한계를 보여준다.

3.1.1 Amperometric 바이오센서

Amperometric 바이오센서는 전기 화학 센서 중 가장 많이 연구되고 있다. 앞서 말한 것과 같이 전류의 파라미터를 이용하며, 이 전류는 분석하고자 하는 타깃의 농도와 관계되어 있고, 전기적 활성도를 가지는 물질이 전극표면에 인가된 전압에 의해 산화 또는 환원반응(electron transfer reaction)을 일으켜 생성되는 전류(rate of electron transfer)를 측정하는 원리이다. 높은 검출 감도를 가지고 있는 amperometric 센서는 식품센서로서의

가능성을 보여준다. 최근에는 자성나노입자와 상용화된 스크린 프린팅 일회용 전극을 사용하여 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)를 검출하고, 증식과정 없이 Staphylococcal protein A (ProtA)와 *S. aureus*를 정량하고, *S. aureus*를 1 CFU/ml의 매우 낮은 측정한계까지 살균되지 않은 우유에서 검출 하는데 성공[31]했다.

3.1.2 Potentiometric 바이오센서

Potentiometric 바이오센서는 ion-selective electrodes (ISE)와 ion-sensitive field effect transistors (ISFET)에 기반을 두고 있으며, 출력되는 신호는 ion-selective 멤브레인 표면에서의 이온들의 축적으로 발생 된다. 전압의 파라미터를 이용하며, 분석하고자 하는 물질과 수용체와의 반응 과정이 Amperometric 바이오센서와 달리 전압의 신호를 읽는 방법이다. Potentiometric 바이오센서는 전위차가 대수의 농도 반응으로 발생되기 때문에 매우 적은 양의 농도변화도 검출 할 수 있다. 하지만, 이 방법으로 식품유래 박테리아를 검출한 연구는 많지 않다. 최근에는 LAPS (Light addressable potentiometric sensor) 기술을 이용하여 식물성식품에서의 10 Cells/ml의 *E. coli*를 30시간 증식과정을 거친 후 검출[32]했다.

3.1.3 Impedimetric 바이오센서

최근 들어 세포나 박테리아의 식별과 성장을 검출하는 데에 널리 이용되고 있는 방법으로, 식품유래 박테리아를 식별하고 정량화 하는데 유용하게 사용되고 있다. 분석물이 전극표면의 수용체들과 많이 결합할수록 전극표면을 가로지르는 impedance가 변하고 이 변화를 출력한다. 이 방법의 장점으로는 높은 검출 감도와 다른 분석물들과 타깃의 혼합물의 영향을 적게 받으며, 특히 label-free 검출이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 측정하고자 하는 분석물과 수용체와의 상호작용이 작업전극 표면에서의 electron transfer의 저항과 capacitance 사이의 변화를 유도한다. 하지만, 이 방법은 재현성이 좋지 않으며, 검출한계가 높고 불특정 분석물과의 결합에 대한 문제가 현재까지 존재[33]하고 있다. 미세유동소자와 나노단위의 다공성 멤브레인을 사용한 impedimetric 바이오센서를 집적화하여 24시간 전처리 후 2시간이내에 10^2 CFU/ml의 식품유래 박테리아인 *E. Coli* O157:H7와 *S. aureus*를 검출[34]했다.

전기화학센서가 가지고 있는 많은 장점으로 인해 오랫동안 연구되어 왔지만, 식품 센서로의 상용화에 앞서 한계[35]에 부딪히고 있다. 안정성과 소형화 민감도, 재현성의 문제를 해결해야

Table 2. Recent study of electrochemical biosensors for bacteria from food

Measurement type	Detected bacteria	Limit of detection and food sample	Reference
Amperometric	<i>E. coli</i>	Heat-killed bacteria after incubation 15 CFU/ml in culture media	[36]
Amperometric	<i>S. aureus</i>	Without pre-enrichment 1 CFU/ml in milk	[31]
Amperometric	<i>E. coli</i>	Without pre-enrichment 1.6×10^1 CFU/ml in ground beef	[37]
Amperometric	<i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , and <i>C. jejuni</i>	Without pre-enrichment 10-50 Cells/ml in milk and ground chicken	[38]
Amperometric	<i>Vibrio</i>	After 24hrs pre-enrichment 7.3×10^4 CFU/ml in culture media	[39]
Amperometric	<i>E. coli</i>	After 24hrs pre-enrichment 5×10^4 CFU/ml in wastewater	[40]
Amperometric	<i>E. coli</i>	Without pre-enrichment 55 Cells/ml, 100 Cells/ml in buffer solution and milk, respectively	[41]
Potentiometric	<i>E. coli</i> O157:H7	After 24hrs pre-enrichment 10^4 CFU/ml in buffer solution	[42]
Potentiometric	<i>E. coli</i>	After 30hrs pre-enrichment 10 Cells/ml in ground vegetable	[32]
Impedimetric	<i>E. coli</i> O157:H7	After 24hrs pre-enrichment 2 CFU/ml in culture media	[43]
Impedimetric	<i>E. coli</i> O157:H7	Without pre-enrichment 83.7 CFU/ml in milk	[44]
Impedimetric	<i>Listeria</i>	After 24hrs pre-enrichment 10^4 CFU/ml in culture media and milk	[45]
Impedimetric	<i>E. coli</i> O157:H7	After 24hrs pre-enrichment 10^2 CFU/ml in culture media	[34]

Table 3. Recent study of optical biosensors for bacteria from food

Measurement type	Detected bacteria	Limit of detection and food sample	Reference
Colorimetric	<i>E. coli</i>	After 18hrs pre-enrichment 5.0×10^4 CFU/ml in culture media	[52]
Colorimetric	<i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	After several hours pre-enrichment 10 CFU/cm ² , Bacteria spiked into ready-to-eat meat samples	[53]
Colorimetric	<i>E. coli</i>	Without pre-enrichment 5 CFU/ml in bathing water	[54]
Colorimetric	<i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. enterica</i>	After overnight pre-enrichment 3.0×10^2 CFU/assay	[55]
Colorimetric	<i>E. coli</i>	After 7hrs pre-enrichment 5.0×10^2 - 5.0×10^3 CFU/assay in buffer solution	[56]
Fluorescent	<i>E. coli</i> O157:H7	After 24hrs pre-enrichment 10^6 cells/ml in buffer solution	[57]
Fluorescent (FRET)	<i>S. Typhimurium</i>	After 48hrs pre-enrichment 10^5 CFU/g in ground pork	[58]
Fluorescent	<i>S. Enteritidis</i>	After 24hrs pre-enrichment 1.5×10^2 CFU/ml in milk	[59]
Plasmonic (Long-range SPR)	<i>E. coli</i> O157:H7	After 24hrs pre-enrichment 50 CFU/ml in buffer solution	[60]
Plasmonic (SPR)	<i>E. coli</i>	After 24hrs pre-enrichment 3 CFU/ml in buffer solution	[61]
Plasmonic (SERS)	<i>E. coli</i>	After 16hrs pre-enrichment 2.5×10^2 CFU/ml in buffer solution	[62]
Plasmonic (SERS)	<i>Mycobacterium avium</i> subspecies, <i>Paratuberculosis</i>	After 24hrs pre-enrichment 10^3 cells/ml in milk	[63]
Plasmonic (SPR and SERS)	<i>Staphylococcal enterotoxin B (SEB)</i>	Without pre-enrichment 3.6×10^{15} M	[64]

상용화에 한발 더 가까워 질 수 있다고 예상된다.

3.2 광학 바이오센서

광학 바이오센서는 전자기적 노이즈에 대한 반응성이 없고 낮은 검출한계와 다중측정이 가능하다는 장점이 있어 폭 넓게 활용되고 있다.[46] 일반적으로 기능화 된 나노물질과 박테리아 사이에서 일어나는 반응에 의해 광학적 신호가 변화하는 것을 모니터링 함으로써 센서로서의 기능을 수행한다. 광학 바이오센서는 신호발생 메커니즘에 따라 크게 비색분석법, 형광분석법, 플라즈모닉 분석법으로 구분할 수 있다. Table 3은 광학적 방법을 이용한 여러 센서들과 타깃 식품유래 박테리아, 검출한계를 보여준다.

3.2.1 Colorimetric 바이오센서

비색분석법을 활용한 colorimetric 바이오센서는 다른 분석 장비 없이 색의 변화를 눈으로 직접 확인함으로써 쉽게 즉각적으로 샘플 내 박테리아 존재의 유무를 확인할 수 있다는 이점[47]을 가진다. 또한 경제적이고 추가적인 분석장비가 필요하지 않아 휴대가 편해 현장검출용 기기에 쉽게 활용될 수 있다. 그러

나 낮은 감도와 다중검출 및 정량화 측면에서 한계가 보여 이를 극복하기 위한 연구가 필요하다. 그 예로, 최근 비색 센서를 통해 우유와 돼지고기에서 각각 식품유래 박테리아인 *L. monocytogenes*를 35°C에서 15~18시간 증식한 후에 11.7×10^2 CFU/ml, 13.8×10 CFU/g의 검출한계를 보여준 연구가 발표되었는데, 연구진은 스마트폰으로 촬영한 이미지를 소프트웨어로 처리하여 정량화함과 동시에 비색 센서가 현장검출용 기기에 적극 활용될 수 있음을 보여 비색 센서의 발전 가능성을 시사[48]하고 있다.

3.2.2 Fluorescent 바이오센서

일반적으로 형광체가 빛에 의해 들뜬 상태가 되었다가 최저 에너지 레벨로 안정화되는 과정 중에 방출되는 다른 파장의 빛을 형광이라 하는데 이 형광의 세기를 정량화함으로써 바이오센서에 활용되고 있다. 전통적으로 바이오센서에서 형광체로 사용되는 유기형광염료들은 열에 의한 노이즈를 비롯하여 자기흡수나 자기형광, 광퇴색 등이 일어나는 경향이 있다. 때문에 최근에는 양자점이나 형광 나노입자를 형광체로 대체하는 추세이다. 형광분석법은 위와 같은 형광체들을 다수 사용하여 이들이

발생시키는 다른 파장의 광학적 신호를 동시에 측정함으로써 다양한 타깃들의 다중 검출이 가능하다는 이점이 있다.[49] 이를 바탕으로 최근에는 형광센서를 이용하여 시금치, 닭고기, 우유에서 각각 *E. coli*, *S. thyphimurium*, *L. monocytogenes*를 37°C에서 18시간 증식 한 후, 5 CFU/ml의 낮은 검출한계로 검출하였다. 뿐만 아니라, 방출파장이 다른 3종류의 형광염료를 사용하여 다중검출을 통해 각각의 식품유래 박테리아를 검출하는 데에 성공[50]하였다. 하지만 박테리아를 증식시키는 사전 처리과정을 포함하여 형광분석까지 소요되는 시간이 길다는 부분이 한계로 지적받고 있어 이를 해결하기 위한 연구가 병행되어야 한다.

3.2.3 Plasmonic 바이오센서

플라즈모닉 분석법은 금이나 은 같은 귀금속류의 나노입자들에 빛을 조사했을 때, 나노입자 내 전도전자들의 집합진동에 의해 발생하는 Localized surface plasmon resonance (LSPR) 현상에 기반을 둔 분석법이다. 주로 바이오센서로 활용되는 기술로 Surface plasmon resonance (SPR)과 Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) 등이 있다. 플라즈모닉 센서는 무표지 상태임에도 불구하고 단분자 단위 수준의 우수한 감도를 가진다. 또한 다중 분석이 가능하여 의학, 환경 등의 분야에서 생물학적 분자나 미생물들을 분석하는 데에 주로 활용[51]되고 있다. 뿐만 아니라, 최근에는 플라즈모닉 센서를 이용하여 오이와 쇠고기에서 *E. coli* O157:H7을 12시간 증식 한 후, 3.0×10^4 CFU/ml 3.0×10^5 CFU/ml로 검출[51]하였다. 이처럼 플라즈모닉 센서는 최근 식품 분야에도 적용되고 있다. 그러나 침투깊이가 한정되어 있어 제한된 검출한계를 가지는 데다 복잡하고 부피가 큰 장비와 시스템이 필요하여 현장검출용 기기에 적용하기 위해서는 이를 해결할 필요가 있다.

4. 수용체에 따른 박테리아 검출용 바이오센서 개발현황

바이오센서에서 수용체는 생물화학적 반응을 인식할 수 있는 매우 중요한 요소로 검출하고자 하는 타깃 물질에 대해 큰 선택성을 가진다. 이 수용체를 이용하여 검출하고자 하는 물질을 검출하는 센서를 구성할 수 있다. 식품유래 박테리아의 측정을 위해 사용되는 생체수용체는 크게 항체, DNA, 효소 그리고 박테리오파지로 나눌 수 있다. 이 외에는 세포수용체, 생체모방 수용체 등이 있다.

4.1 항체

항체는 범용적으로 사용되는 생체 수용체 중 하나로 bioaffinity를 이용, 항원-항체 반응을 하여 바이오센서를 구성하는데 활용된다. 특정 검출의 목적에 맞게 효소나, biotin, 형광체 등으로

라벨링이 가능하여 많이 이용된다. 항원-항체를 사용하는 바이오센서는 측정하고자 하는 분석물질에 대해 높은 선택성을 가지는데, 이는 삼차원적 구조로 꼭 맞아 떨어지는 항원-항체의 모양의 결합 때문이다. 구조적 특이성을 가지는 항체 특유의 성질로 면역센서 뿐 만 아니라 식품센서에서도 측정하고자 하는 병원균을 DNA 또는 RNA를 추출하기 위해 필요한 세포용해과정 없이 온전한 세포를 측정할 수 있고, 높은 감도를 가지고 검출[65] 할 수 있다. 항원-항체 반응을 기반으로 한 lateral flow immunoassay 방법으로 따로 배양된 *E. coli* O157:H7를 간 쇠고기에 주입하여 10^2 CFU/ml의 검출한계까지 15분 내에 측정[26]했다. 그럼에도 불구하고 항원-항체반응을 사용하는 바이오센서는 박테리아의 생존여부를 인식하기 어려워 측정의 정확이 떨어지는 결점[66]이 있다.

4.2 압타머

압타머는 타깃 분자에 높은 친화성과 특이성을 가진 짧은 핵산 서열로 3차원적인 구조의 변형을 통해 analyte에 특이적으로 결합한다. 타깃에 대한 친화성은 항체와 큰 차이가 없지만 원하는 타깃에 대한 압타머의 생산이 자유롭고 *in vitro*에서 무제한적인 양의 합성이 가능하다.[51] 때문에 압타머를 다양한 분야에서 활용 가능하고 동물모델에서 생산되는 항체에 비해 생산성에서도 상당한 이점을 가지고 있다. 이러한 압타머의 활용성을 이용하여 최근에는 압타머를 이용한 형광센서로 육류, 어류, 우유 등 다양한 식품으로부터 얻은 샘플에서 *Sallmonella*, *E. coli*, *S. aureus* 등 10여 개의 식품유래 박테리아를 검출하였다.[67] 하지만 압타머의 불안정한 특성 때문에 압타머를 바이오센서에 활용함에 있어 어려움이 있다.[68-70] 때문에 최근에는 이를 화학구조적인 보안을 통해 안정성을 향상시키는 연구도 활발히 진행되고 있어 이를 극복할 시에는 다양한 바이오센서에 응용될 가능성이 높다고 할 수 있다.

5. 센서집적 플랫폼 및 검출기

기존의 박테리아 검출법은 정확한 결과를 얻기 위해 증식 등의 작업에 수 일이 소요된다는 점에서 현장에서 빠르고 정확한 박테리아 검출에 대한 필요성이 대두되었다. 이에 대한 해결책으로 현장에서 간편하게 식품 샘플로부터 한정된 수의 타깃 박테리아의 고감도 검출이 가능하도록 측정대상 타깃이 포함된 샘플용액 및 검출 프로브가 포함된 용액을 센서표면에 용이하게 결합시키며, 결합하지 않은 물질을 용이하게 씻어낼 수 있도록 고안된 lab-on-a-chip (LOC) 카트리지가 또는 Lateral flow assay (LFA) 스트립에 신호증폭 기술이 포함된 전기화학 또는 광학 센서를 결합하고, 이들로부터 얻어진 신호를 정량적으로 검출할 수 있는 휴대형 검출기의 개발이 빠르게 이루어지고 있다.

Table 4. Recent study of LFA test strips for bacteria from food by research groups

Research group	Detected bacteria	Limit of detection	Measurement type	Food sample
A. V. Amerongen [71]	<i>Listeria spp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	after 24hrs pre-enrichment 10cells in 25mL	Colorimetric	Milk
C. Lin[72]	<i>E. coli</i> O157:H7	after 24hrs pre-enrichment 5×10 ³ CFU/mL	Electro-chemistry	Milk
L. Zeng[73]	<i>E. coli</i> O157:H7	after 24hrs pre-enrichment 10 CFU/mL	Colorimetric	Drinking water, apple juice
DuPont™ (commercialized)	<i>E. coli</i> O157:H7	after 8hrs pre-enrichment 1 CFU /25g of sample	Colorimetric	Ground beef
SMART™II (commercialized)	<i>E. coli</i> O157:H7	after 8~10hrs pre-enrichment 3.3×10 ⁴ CFU/mL	Colorimetric	Various food sample
Quick™ (commercialized)	<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	Without pre-enrichment 10 ³ CFU/mL	Colorimetric	Drinking water

Table 5. Recent study of LOC-integrated biosensors for bacteria from food by research groups

Research group	Detected bacteria	Limit of detection	Microfluidic structure	Food sample
			Measurement type	
S. Jeon[74]	<i>E. coli</i>	Without pre-enrichment 100 CFU/mL	3D Helical Colorimetric	Milk
Y. K. Cho[75]	<i>Salmonella</i>	after 24hrs pre-enrichment 100 CFU/mL	Disk Fluorescent	Milk
K. L. Thong[76]	<i>Salmonella</i>	after 24hrs pre-enrichment 3.4×10 ⁴ CFU/mL	Disk Fluorescent	Tomato

5.1 LFA 기반 박테리아 검출 플랫폼

종이 멤브레인 필터의 모세관힘에 의해 액상샘플이 수동적으로 테스트존으로 전달되어 단시간 내에 항원-항체 결합을 일으켜 광학적 신호변화를 내는 LFA 검출 스트립은 90년대 소개되어 다양하게 응용되었지만 저감도 등의 문제로 제한적인 상용화가 이루어졌다. 하지만 최근에 연쇄증합효소를 이용한 타깃 핵산 증폭 및 금 또는 은 나노입자 사용 등의 전기화학적 및 광학적 검출 신호 증폭 기술이 도입되면서 식품유래 박테리아 검출용 LFA 스트립 개발이 활발히 진행되고 있으며 제품 또한 설계되어 시중에 나오고 있다. 예를 들어 Carolina Biological Supply에서 출시한 Quick™ 제품은 식수에 오염되어있는 *E. coli*, *Salmonella* 및 *Shigella* 등의 박테리아를 15분 내에 10³ CFU/mL 농도까지 검출이 가능하며 이와 관련된 연구 동향을 Table 4에 정리하였다.

LFA 플랫폼에 접목된 바이오센서의 경우 제작의 간단함 및 저비용의 소모 뿐만 아니라 사용의 간편함과 시간적 편리성을 갖춘 최적의 현장검출용 센서 플랫폼으로서 손색이 없으나 실제 샘플의 박테리아를 고감도로 검출하기 위해서는 타깃 핵산 증폭 및 금 또는 은 나노입자 사용과 같은 신호 증폭 수단 외에도 농축과 같은 추가적인 과정이 필요한데, 이는 LFA 기반 센

서에 주로 쓰이는 비색분석법의 내재적 저감도 특성과 멤브레인이라는 소재의 3차원 구조로 인해 LFA 스트립의 절대정량화가 어렵다는데 기인한다. 이러한 점은 LFA 기반 센서가 단시간 안에 sample-in/data-out이 가능한 진정한 의미의 현장검출형 식품유래 박테리아 센서로 발전하는데 걸림돌이 되고 있다.

5.2 LOC 기반 박테리아 검출 플랫폼

LOC 플랫폼은 직경 1 mm 이내 미세유체 채널로 구성되어 있으며 카트리지 형태로 주로 제작된다. LOC 내에서 각종 다양한 기능을 운영하기 위해 미세유체 채널들이 유기적으로 연결되어 작동한다. 너무 많은 기능의 탑재로 디자인이 복잡해질수록 제작비용이 증가할 수 있는 단점이 있지만 식품 샘플의 전처리, 분리 및 검출까지 한 플랫폼에서 이루어질 수 있기 때문에 현장 검출용 센서로 주목 받고 있다. 2015년 포항공과대학교 전상민 교수 연구팀은 3D 프린터를 이용하여 3차원 미세유체 소자를 제작하고 자성입자 및 나선형 운동을 통해 박테리아를 농축하여 증식 등의 전처리를 위한 추가적 시간소요 없이 우유 내에 존재하는 *E. Coli*를 100 CFU/mL까지 검출[75]하여 현장검출형 박테리아 센서로서 LOC 플랫폼의 효과적인 적용을 보고한 바 있다. 이외에도 모세관 튜브 내벽에 항체를 부착하여 유체 내 타깃 박테리아인 *E. Coli* O157:H7의 결합을 통한 검출

Table 6. Recent study of portable device-integrated biosensors for bacteria from food by research groups

Research group	Detected bacteria	Limit of detection	Portable device	Food sample
			Measurement type	
A. Ozcan[77]	<i>E. coli</i>	after 24hrs pre-enrichment 5~10 CFU/mL	Smartphone add-on Fluorescent	Milk
J. Y. Yoon[78]	<i>E. coli</i>	after 18hrs pre-enrichment 10 CFU/mL	Smartphone add-on Fluorescent	Ground beef
S. Paek[79]	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	after 18hrs pre-enrichment 1×10 ⁴ CFU/mL	Stand-alone Colorimetric	Shellfish, fish

[65] 그리고 디스크 형태로 LOC 소자를 제작하여 원심력을 통한 박테리아 분해 및 타깃 DNA를 증폭하여 우유 내 *Salmonella* 검출[76] 등의 연구가 진행되고 있으며 관련 연구 동향을 Table 5에 정리하였다.

LOC 플랫폼 내에 다양한 기능 및 측정 방식의 적용을 통하여 고감도로 박테리아 검출이 가능하여 현장검출형 센서 플랫폼으로서 중요한 후보 중의 하나이나 유체흐름 제어 등에 있어서 정량펌프(peristaltic pump) 등의 외부 기기에 대한 의존을 흡수 펌드 등을 이용한 수동형으로 대체하여 사용을 간편화 및 저가화하는 연구가 더욱 필요한 실정이다.

5.3 휴대형 검출기기

IT 기술의 발전으로 고성능 카메라, 무선통신, 컴퓨터의 기능이 통합된 스마트폰이 등장함에 따라 이를 이용한 휴대형 바이오센서 검출시스템 개발에 대한 관심이 날로 커지고 있다. 이 뿐만 아니라 고성능 소형화 광학부품 및 전기화학적 신호 검출 부품의 저가 이용이 가능해지면서 휴대형 stand-alone 타입의 검출기기 또한 등장하고 있다. UCLA의 Ozcan 연구팀은 스마트폰용 형광현미경 애드온과 모세관 튜브 LOC를 이용한 식품유래 박테리아 센서를 연구한 대표적인 그룹으로서 24시간 증식한 *E. coli* 박테리아를 우유에 첨가(spiking)하여 5~10 CFU/mL의 농도까지 검출[77]하였다. 또한 고려대학교 백세환 교수 연구팀은 CMOS Image Sensor (CIS)가 내장된 LFA 스트립 용 소형카드리지와 Internet of Things (IoT) 기능이 통합된 휴대형 리더기를 제작하여 18시간의 식품 전처리(식품 균질화 및 박테리아 증식) 시간 제외하고 15분 안에 조개 및 생선에 오염된 *Vibrio parahaemolyticus* 박테리아를 1×10⁴ CFU/mL 농도까지 검출하여 실제 현장에서 어떻게 식품센서가 IoT와 결합되어 비전문적인 사용자에게 유효한 정보를 전달[79] 할 수 있는지 보여주었다. 이와 관련된 연구는 Table 6에 정리하였다.

전 세계적으로 연구진들이 스마트폰 애드온 형태 또는 stand-alone 형태의 검출기기와 LFA 스트립 또는 LOC 카드리지 형태의 센서 플랫폼을 통합하여 차세대 바이오센서 시스템을 구성하는 연구개발이 활발하지만 기존 표준 방법으로 쓰이는 전통적 검출기기에 비해 재현성 부족 및 부정확성 등의 문제가 존

재하기 때문에 상용화를 위해서는 이를 타개하는 연구가 요구된다.

6. 요약 및 전망

세계적으로 식품 안전에 대한 관심이 증가하면서 식품유래 박테리아, 첨가물 및 중금속, 농약 등을 측정하는 기술이 요구되고 발전하고 있다. 기존의 식품유래 박테리아 검출법들은 민감성, 정확성 측면에서 우수하나 검출을 위한 증식 시간이 필요하다는 단점이 있다. 전기화학적, 광학적인 분석법은 기존의 분석 방법에 비해 빠른 분석이 가능하지만 고비용, 민감성, 정확성, 재현성 측면에서 한계를 지니고 있다. 전기화학적인 분석법은 비교적 간단, 간편하지만 재현성, 안정성, 소형화, 민감도 측면에서의 발전이 필요하다. 광학적 분석법은 전자기적 노이즈가 낮고 민감성, 정확성이 우수하며 다중검출이 가능하다는 장점을 지니나 비교적 높은 비용과 그 검출과정이 복잡하다.

기존의 오랜 시간을 요구하는 박테리아 검출법에 대한 해결책으로 검출방법이 용이하도록 설계된 LOC, LFA와 같은 플랫폼에 항체 및 압타머 수용체를 이용한 전기화학 및 광학 센서를 집적하는 연구 개발이 활발히 이루어지고 있다. LFA 플랫폼 기반 박테리아 센서는 제작의 간단함, 저비용, 간편함, 단시간 검출이 가능하나 고감도 박테리아 검출에 있어서 절대정량화가 어렵다는 한계가 있다. 검출 전 과정을 하나의 플랫폼에서 가능한 LOC 플랫폼 기반 박테리아 센서는 고감도 박테리아 검출이 가능하나 외부 기기에 대한 의존성으로 인해 간편화, 저가화의 발전이 요구된다.

박테리아로 오염된 식품의 현장 검출용 휴대형 센서에 대한 개발이 요구되고 있다. 현재 많은 제품들이 상용화가 되고 있으나, 민감성, 정확성, 신뢰성, 재현성 측면에서의 발전이 요구된다. 또한 저비용으로 비전문가도 손쉽게 간편하게 이용할 수 있고, 기존의 증식과정을 축소, 생략하여 신속하게 현장검출이 가능하며, 동시에 여러 가지 박테리아에 대한 검출이 가능한 현장 검출용 휴대형 센서 시스템 개발에 대한 연구가 지속적으로 필요하다. 이를 위해서는 식품 매트릭스로부터 매우 낮은 개체수의 박테리아의 추출 및 농축이 가능한 샘플 전처리 장치의 개발도 병행되어야 한다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단-나노·소재기술개발사업의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2016M3A7B4910554). 또한 이 논문은 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단-글로벌 박사 펠로우십 사업의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2015H1A2A1034159).

REFERENCES

- [1] J. M. Bosilevac, M. N. Guerini, D. M. Brichta-Harhay, and M. Koohmaraie, "Microbiological characterization of imported and domestic boneless beef trim used for ground beef", *J. Food Prot.* Vol. 70, No. 2, pp. 440-449, 2007.
- [2] L. Cabedo, L. Picart I Barrot, and A. Teixido I Canelles, "Prevalence of *Listeria monocytogenes* Salmonella in ready-to-eat food in Catalonia, Spain", *J. Food Prot.* Vol. 71, No. 4, pp 855-859, 2008.
- [3] S. D. Manning, A. S. Motiwala, A. C. Springman, W. Qi, D. W. Lacher, L. M. Ouellette, J. M. Mladonicky, P. Somsel, J. T. Rudrik, S. E. Dietrich, W. Zhang, B. Swaminathan, D. Alland, and T. S. Whittam, "Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 105, No. 12, pp 4868-4873, 2008.
- [4] J. I. Esteban, B. Oporto, G. Aduriz, R. A. Juste, and A. Hurtado, "A survey of food-borne pathogens in free-range poultry farms", *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 123, No. 1-2, pp 177-182, 2008.
- [5] M. Fricker, R. Reissbrodt, and M. Ehling-Schulz, "Evaluation of standard and new chromogenic selective plating media for isolation and identification of *Bacillus cereus*", *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 121, No. 1, pp 27-34, 2008.
- [6] A. Townsend, *Encyclopedia analytical science*, Academic Press, New York, pp.2057-2066, 1995.
- [7] F. Breitling and S. Dübel, *Recombinant antibodies*, John Wiley and Sons Inc, NewYork, pp 154, 1999.
- [8] P. Leonard, S. Hearty, J. Brennan, L. Dunne, J. Quinn, T. Chakraborty, and R. O'Kennedy, "Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water", *Enzyme Microb. Technol.* Vol. 32, No. 1, pp 3-13, 2003.
- [9] G. Kohler and C. Milstein, "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity", *Nature* Vol. 256, No. 5517, pp 495-497, 1975.
- [10] W. B. Shim, J. G. Choi, Z. Y. Yang, K. H. Lee, M. G. Kim, S. D. Ha, K. S. Kim, K. Y. Kim, C. H. Kim, K. S. Ha, S. A. Eremin, and D. H. Chung, "Production of monoclonal antibody against *Listeria monocytogenes* and its application to immunochromatography strip test", *J. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 17, No. 7, pp. 1152-1161, 2007.
- [11] B. Borck, H. Stryhn, A. K. Erbsoll, and K. Pedersen, "Thermophilic *Campylobacter* spp. In turkey samples: evaluation of two automated enzyme immunoassays and conventional microbiological techniques", *J. Appl. Microbiol.* Vol. 92, No. 3, pp 574-582, 2002.
- [12] R. W. Bennett, "Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by enzyme-linked immunosorbent assay-based methodology", *J. Food. Prot.* Vol. 68, No. 6. pp 1264-1270, 2005.
- [13] R. R. Beumer and E. Brinkman, "Detection of *Listeria* spp. With a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)", *Food Microbiol.* Vol. 6, No. 3, pp 171-177, 1989.
- [14] J. S. Dickson and J. A. Chen, "A fast and accurate detection method of *E. coli* O157H7 in beef", *Abstr. Gen. Meet. Am. Soc. Microbiol.* Vol. 101, pp 573 (2001).
- [15] J. A. Hudson, R. J. Lake, P. Scholes, and R. E. McCormick, "Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in ham samples using immunomagnetic separation followed by polymerase chain reaction", *J. Appl. Microbiol.* Vol. 90, No. 4, pp 614-621, 2001.
- [16] P. T. Feldsine, A. H. Lienau, R. L. Forgey, and R. D. Calhoun, "Visual immunoprecipitate assay (VIP) for *Listeria monocytogenes* and related *Listeria* species detection in selected foods: collaborative study", *J. AOAC Int.* Vol. 80, No. 4, pp 791-805, 1997.
- [17] G. M. Matar, P. S. Hayes, W. F. Bibb, and B. Swaminathan, "Listeriolysin O-based latex agglutination test for the rapid detection of *Listeria monocytogenes* in foods", *J. Food Prot.* Vol. 60, No. 8, pp 1019-1151, 1997.
- [18] A. Rasooly and R. S. Rasooly, "Detection and analysis of Staphylococcal enterotoxin A in food by Western immunoblotting", *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 41, No. 3, pp 205-212, 1998.
- [19] J. H. Meng and M. P. Doyle, "Introduction. Microbiological food safety", *Microbes Infect.* Vol. 4, No. 4, pp 395-397, 2002.
- [20] S. S. Iqbal, M. W. Mayo, J. G. Bruno, B. V. Bronk, C. A. Batt, and J. P. Chambers, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 15, No. 11-12, pp 549-578, 2000.
- [21] C. A. Batt, "Food pathogen detection", *Science* Vol. 316, No. 5831, pp 1579-1580, 2007.
- [22] A. Touron, T. Berthe, and F. Petit, "Detection of *Salmonella* in environmental water and sediment by a nested-multiplex polymerase chain reaction assay", *Res. Microbiol.* Vol. 156, No. 4, pp 541-553, 2005.
- [23] P. T. Desai, K. W. Marie, and C. W. Bart, "Solid-phase capture of pathogenic bacteria by using gangliosides and detection with real-time PCR", *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 74, No. 7, pp 2254-2258, 2008.
- [24] A. Joff'e, B. Martin, M. Garriga, and T. Aymerich, "Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by multiplex PCR in cooked ham", *Food Microbiol.* Vol. 22, No. 1, pp 109-115, 2005.
- [25] A. K. Deisingh, and M. Thompson, "Strategies for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in foods", *J. Appl. Microbiol.* Vol. 96, No. 3, pp 419-429, 2004.
- [26] I. H. Cho, A. Bhunia, and J. Irudayarai, "Rapid pathogen detection by lateral-flow immunochromatographic assay with gold nanoparticle-assisted enzyme signal amplification", *J. Food Microbiol.* Vol. 206, pp 60-66, 2015.
- [27] A. Ahmed, J. V. Rushworth, N. A. Hirst, and P. A. Millner,

- “Biosensors for whole-cell bacterial detection”, *Clin. Microbiol. Rev.* Vol. 27, No. 3, pp 631-646, 2014.
- [28] LC Clark, R. Wolf, D. Granger, and Z. Taylor, “Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography”, *J. Appl. Physiol.* Vol. 6, No. 3, pp 189-193, 1953.
- [29] V. Velusamy, K. Arshak, O. Korostynska, K. Oliwa, and C. Adley, “An overview of foodborne pathogen detection: in the perspective of biosensors”, *Biotechnol. Adv.* Vol. 28, No. 2, pp 232-254, 2010.
- [30] I. Palchetti, and M. Mascini, “Electroanalytical biosensors and their potential for food pathogen and toxin detection”, *Anal. Bioanal. Chem.* Vol. 391, No. 2, pp 455-471, 2008.
- [31] ÁB Esteban-Fernández, M. Pedrero, S. Campuzano, V. Escamilla-Gomez, and J. M. Pingarron, “Sensitive and rapid amperometric magnetoimmunosensor for the determination of *Staphylococcus aureus*”, *Anal. Bioanal. Chem.* Vol. 403, No. 4, pp 917-925, 2012.
- [32] C. Ercole, M. D. Gallo, L. Mosiello, S. Baccella, and A. Lepidi, “*Escherichia coli* detection in vegetable food by a potentiometric biosensor”, *Sens. Actuator B-Chem.* Vol. 91, No. 1-3, pp 163-168, 2003.
- [33] J. S. Daniels, and N. Pourmand, “Label-free impedance biosensors: opportunities and challenges”, *Electroanalysis* Vol. 19, No. 12, pp 1239-1257, 2007.
- [34] F. Tan, P. H. M. Leung, Z. Liu, L. Xiao, W. Ye, X. Zhang, L. Yi, and M. Yang, “A PDMS microfluidic impedance immunosensor for *E. coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* detection via antibody-immobilized nanoporous membrane”, *Sens. Actuators B-Chem.* Vol. 159, No. 1, pp 328-335, 2011.
- [35] Y. Wang, Z. Ye, and Y. Ying, “New trends in impedimetric biosensors for the detection of foodborne pathogenic bacteria”, *Sensors* Vol. 12, No. 3, pp 3449-3471, 2012.
- [36] Y. Li, L. Fang, P. Cheng, J. Deng, L. Jiang, H. Huang, and J. Zheng, “An electrochemical immunosensor for sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 using C60 based biocompatible platform and enzyme functionalized Pt nanochains tracing tag”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 49, pp 485-491, 2013.
- [37] M. Varshney, L. Yang, X. L. Su, and Y. Li, “Magnetic nanoparticle-antibody conjugates for the separation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef”, *J. Food Prot.*, Vol. 68, No. 9, pp 1804-1811, 2005.
- [38] S. Chemburu, E. Wilkins, and I. Abdel-Hamid, “Detection of pathogenic bacteria in food samples using highly-dispersed carbon particles”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 21, No. 3, pp 491-499, 2005.
- [39] G. Zhao, F. Xing, and S. Deng, “A disposable amperometric enzyme immunosensor for rapid detection of *Vibrio parahaemolyticus* in food based on agarose/Nano-Au membrane and screen-printed electrode”, *Electrochem. Commun.* Vol. 9, No. 6, pp 1263-1268, 2007.
- [40] M. Rochelet, S. Solanas, L. Betelli, B. Chantemesse, F. Vienney, and A. Hartmann, “Rapid amperometric detection of *Escherichia coli* in wastewater by measuring β -D glucuronidase activity with disposable carbon sensors”, *Anal. Chim. Acta* Vol. 892, pp 160-166, 2015.
- [41] O. Laczka, J. M. Maesa, N. Godino, J. del Campo, M. Foug-Hansen, J. P. Kutter, D. Snakenborg, F. X. Munoz-Pascual, and E. Baldrich, “Improved bacteria detection by coupling magneto-immuncapture and amperometry at flow-channel microband electrodes”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 26, No. 8, pp 3633-3640, 2011.
- [42] G. A. Zelada-Guillen, S. V. Bhosale, J. Riu, and F. X. Rius, “Real-time potentiometric detection of bacteria in complex samples”, *Anal. Chem.* Vol. 82, No. 22, pp 9254-9260, 2010.
- [43] M. Barreiros dos Santos, J. P. Aquil, B. Prieto-Simon, C. Sporer, V. Teixeira, and J. Samitier, “Highly sensitive detection of pathogen *Escherichia coli* O157:H7 by electrochemical impedance spectroscopy”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 45, pp 174-180, 2013.
- [44] C. K. Joung, H. N. Kim, M. C. Lim, T. J. Jeon, H. Y. Kim, and Y. R. Kim, “A nanoporous membrane-based impedimetric immunosensor for label-free detection of pathogenic bacteria in whole milk”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 44, pp 210-215, 2013.
- [45] J. C. Jokerst, J. M. Emory, and C. S. Henry, “Advances in microfluidics for environmental analysis”, *Analyst* Vol. 137, No. 1, pp 24-34, 2012.
- [46] R. Comparelli, M. L. Curri, P. D. Cozzoli, and M. Striccoli, *Nanotechnologies for the Life Sciences: Nanomaterials for Biosensors*, Wiley-VCH, Weinheim, pp 123-174, 2007.
- [47] S. M. Yoo, and S. Y. Lee, “Optical biosensors for the detection of pathogenic microorganisms”, *Trends Biotechnol.* Vol. 34, No. 1, pp 7-25, 2016.
- [48] S. Alhogail, G. A. Suaifan, and M. Zourob, “Rapid colorimetric sensing platform for the detection of *Listeria monocytogenes* foodborne pathogen”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 86, pp 1061-1066, 2016.
- [49] P. J. Vikesland, and K. R. Wigginton, “Nanomaterial enabled biosensors for pathogen monitoring – A review”, *Environ. Sci. Technol.* Vol. 44, No. 10, pp 3656-3669, 2010.
- [50] I.-H. Cho, L. Mauer, and J. Irudayarai, “In-situ fluorescent immunomagnetic multiplex detection of foodborne pathogens in very low numbers”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 57, pp 143-148, 2014.
- [51] Y. Wang, Z. Ye, C. Si, and Y. Ying, “Monitoring of *Escherichia coli* O157:H7 in food samples using lectin based surface Plasmon resonance”, *Food Chem.* Vol. 136, No. 3-4, pp 1303-1308, 2013.
- [52] C. Pohlmann, I. Dieser, and M. Sprinzi, “A lateral flow assay for identification of *Escherichia coli* by ribosomal RNA hybridization”, *Analyst*, Vol. 139, No. 5, pp 1063-1071, 2014.
- [53] J. C. Jokerst, J. A. Adkins, B. Bisha, M. M. Mentele, L. D. Goodridge, and C. S. Henry, “Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens”, *Anal. Chem.* Vol. 84, No. 6, pp 2900-2907, 2012.
- [54] S. M. Hossain, C. Ozimok, S. D. Aquirre, M. M. Ali, Y. Li, and J. D. Brennan, “Multiplexed paper test strip for quantitative bacterial detection”, *Anal. Bioanal. Chem.* Vol. 403, No. 6, pp 1567-1576, 2012.
- [55] J. G. Bruno, “Application of DNA aptamers and quantum dots to lateral flow test strips for detection of Foodborne

- pathogens with improved sensitivity versus colloidal gold”, *Pathogens*, Vol. 3, No. 2, pp 341-355, 2014.
- [56] K. Tram, P. Kanda, B. J. Salena, S. Huan, and Y. Li, “Translating bacterial detection by DNAzymes into a litmus test”, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* Vol. 53, No. 47, pp 12799-12802, 2014.
- [57] M. A. Hahn, P. C. Keng, and T. D. Krauss, “Flow cytometric analysis to detect pathogens in bacterial cell mixtures using semiconductor quantum dots”, *Anal. Chem.* Vol. 80, No. 3, pp 864-872, 2008.
- [58] S. Ko, and S. A. Grant, “A novel FRET-based optical fiber biosensor for rapid detection of *Salmonella typhimurium*”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 21, No. 7, pp 1283-1290, 2006.
- [59] Y. Song, W. Li, Y. Duan, Z. Li, and L. Deng, “Nicking enzyme-assisted biosensor for *Salmonella enteritidis* detection based on fluorescence resonance energy transfer”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 55, pp 400-404, 2014.
- [60] Y. Wang, W. Knoll, and J. Dostalek, “Bacterial pathogen surface Plasmon resonance biosensor advanced by long range surface plasmons and magnetic nanoparticle assays”, *Anal. Chem.* Vol. 84, No. 19, pp 8345-8350, 2012.
- [61] O. Torun, I. Hakki Boyaci, E. Temur, and U. Tamer, “Comparison of sensing strategies in SPR biosensor for rapid and sensitive enumeration of bacteria”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 37, No. 1, pp 53-60, 2012.
- [62] H. Zhou, D. Yang, N. P. Ileva, N. E. Mircescu, R. Niessner, and C. Haisch, “SERS detection of bacteria in water by in situ coating with Ag nanoparticles”, *Anal. Chem.* Vol. 86, No. 3, pp 1525-1533, 2014.
- [63] B. J. Yakes, R. J. Lipert, J. P. Bannantine, and M. D. Porter, “Impact of protein shedding on detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by a whole-cell immunoassay incorporating surface-enhanced raman scattering”, *Clin. Vaccine Immunol.* Vol. 15, No. 2, pp 235-242, 2008.
- [64] E. Temur, A. Zengin, I. Hakki Boyaci, F. C. Dudak, H. Torul, and U. Tamer, *Anal. Chem.* Vol. 84, No. 24, pp 10600-10606, 2012.
- [65] J. M song, and T. Vo-Dinh, “Miniature biochip system for detection of *Escherichia coli* O157:H7 based on antibody-immobilized capillary reactors and enzyme-linked immunosorbent assay”, *Anal. Chim. Acta*, Vol. 507, No. 1, pp 115-121, 2004.
- [66] K. E. Sapsford, C. Bradburne, J. B. Delehanty, and I. L. Medintz, “Sensors for detecting biological agents”, *Mater. Today* Vol. 11, No. 3, pp 38-49, 2008.
- [67] A. Huang, Z. Qiu, M. Jin, Z. Shen, Z. Chen, X. Wang, and J. W. Li, “High-throughput detection of food-borne pathogenic bacteria using oligonucleotide microarray with quantum dots as fluorescent labels”, *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 185, pp 27-32, 2013.
- [68] S. Tombelli, M. Minunni, and M. Mascini, “Aptamers-based assays for diagnostics, environmental and food analysis”, *Biomol. Eng.* Vol. 24, No. 2, pp 191-200, 2007.
- [69] T. Mairal, V. C. Ozlp, P. Lozano Sanchez, M. Mir, I. Katakis, and C. K. O’Sullivan, “Aptamers: molecular tools for analytical applications”, *Anal. Bioanal. Chem.* Vol. 390, No. 4, pp 989-1007, 2008.
- [70] M. Famulok, G. Mayer, and M. Blind, “Nucleic acid aptamers-from selection in vitro to applications in vivo”, *Acc. Chem. Res.* Vol. 33, No. 9, pp 591-599, 2000.
- [71] M. Blazkova, M. Koets, P. Rauch, and A. V. Amerongen, “Development of a nucleic acid lateral flow immunoassay for simultaneous detection of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in food”, *Eur. Food Res. Technol.* Vol. 229, No. 6, 867-874, 2009.
- [72] Y. H. Lin, S. H. Chen, Y. C. Chuang, Y. C. Lu, T. Y. Shen, C. A. Chang, and C. S. Lin, “Disposable amperometric immunosensing strips fabricated by Au nanoparticles-modified screen-printed carbon electrodes for the detection of foodborne pathogen *Escherichia coli* O157:H7”, *Biosens. Bioelectron.* Vol. 23, No. 12, pp 1832-1837, 2008.
- [73] W. Wu, S. Zhao, Y. Mao, Z. Fang, X. Lu, and L. Zeng, “A sensitive lateral flow biosensor for *Escherichia coli* O157:H7 detection based on aptamer mediated strand displacement amplification”, *Anal. Chim. Acta* Vol. 861, pp 62-68, 2014.
- [74] W. Lee, D. Kwon, W. Choi, G. Y. Jung, A. K. Au, A. Folch, and S. Jeon, “3D-printed microfluidic device for the detection of pathogenic bacteria using size-based separation in helical channel with trapezoid cross-section”, *Sci. Rep.* Vol. 5, pp 7717, 2015.
- [75] T. H. Kim, J. Park, C. J. Kim, and Y. K. Cho, “Fully integrated lab-on-a-disc for nucleic acid analysis of food-borne pathogens”, *Anal. Chem.* Vol. 86, No. 8, pp 3841-3848, 2014.
- [76] A. A. Sayad, F. Ibrahim, S. M. Uddin, K. X. Pei, M. S. Mohktar, M. Madou, and K. L. Thong, “A microfluidic lab-on-a-disc integrated loop mediated isothermal amplification for foodborne pathogen detection”, *Sens. Actuator B-Chem.* Vol. 227, pp 600-609, 2016.
- [77] H. Zhu, U. Sikora, and A. Ozcan, “Quantum dot enabled detection of *Escherichia coli* using a cell-phone”, *Analyst* Vol. 137, No. 11, pp 2541-2544, 2012.
- [78] P. Liang, T. S. Park, and J. Y. Yoon, “Rapid and reagentless detection of microbial contamination within meat utilizing a smartphone-based biosensor”, *Sci. Rep.* Vol. 4, pp 5953, 2014.
- [79] S. Seo, S. Kim, J. Jeon, J. Kim, H. Kim, J. Cho, W. Lee, and S. Paek, “Food contamination monitoring via internet of things, exemplified by using pocket-sized immunosensor as terminal unit”, *Sens. Actuator B-Chem.* Vol. 233, pp 148-156, 2016.