

Fiber optic 산소센서를 이용한 생물공정의 모니터링

이 종일¹, Andreas Comte², Lam Tuan Hung², 김 준홍¹

전남대학교, 화학공학부, 생물공정기술연구실 및 광응용기술연구소¹, Comte GmbH, Hannover, Germany² 전화 (062) 530-1847, Fax (062) 530-1847

Abstract

A fiber optic oxygen sensor has been employed to monitor the concentrations of dissolved oxygen in a bioreactor. The characteristics of fiber optic oxygen sensor was investigated, e.g. the dependency of agitation rate on the oxygen measurement and also the dependence of temperature on the performance of fiber optic oxygen sensor etc. We have also applied to monitor the concentrations of dissolved oxygen in real cultivation processes by using the fiber optic oxygen sensor. The fiber optic oxygen sensor can be applied to measure the concentration of metabolites by immobilizing some enzymes, e.g. glucose oxidase and also employed for the environmental technology.

서론

생물 반응기내 미생물의 성장 및 생산 특성을 직, 간접적으로 모니터링하기 위해 각종 물리 및 (생)화학적 센서등이 개발되어 각종 생물공정에 적용되고 있다. 최근 생물 공정 내 각종 매개변수 즉, pH, pO₂, O₂, cell mass 등을 모니터링하기 위해 생물 또는 화학적 발광현상을 이용한 광학 센서의 개발이 활발히 이루어지고 있다. 생물공정에서 중요한 측정 물질중의 하나인 기체 또는 액체상의 산소는 전위법, 전류법 및 광학센서등을 이용하여 측정할 수 있는데 본 연구에서는 산소가 형광 물질과 상호 작용하여 빛을 흡수, 발광하는 특성을 이용한 fiber optic 산소 센서의 특성 및 생물공정 모니터링에의 적용에 대해 고찰하고자 한다.

재료 및 방법

본 연구에서 사용한 optic fiber 는 600 μm 의 강한 수정 core 과 매우 얇은 고분자 피막으로 구성되어 있다. Fiber optic 산소센서의 중요한 부분인 센서 head 에는 형광 발색물질이 고정화되어 있어 분자 산소에 의한 발색물질의 형광현상을 일으킨다. 형광발색물질로는 주로 Ruthenium (II)-complex 를 사용하였는데, fiber optic 에 고정화 하기 위해 우선 1 g 의 화학적으로 안정하고 산소에 대한 투과율이 높은 무색 silicone 을 1.5 ml 의 toluene 에 혼합한 후 20 mg 의 형광물질과 섞는다. 균질의 혼합 용액을 센서 head 에 조심스럽게 pipetting 하여 고정화 시킨다. 또한, 외부로부터 빛을 보호하기 위해 sensor head 를 포함한 모든 fiber optic 부분을 검은 silicone 으로 피복하였다. 한편, excited light source 로는 blue

analysis”, *Analytica Chimica Acta*, 1997, 355 55-62

3. D.L. Wise, L.B. Wingard, “Biosensors with fiber optics” Humana Press, 1991, Clifton, New Jersey
4. L.J. Blum, P.R. Coulet, “Biosensor Principles and Applications” Marcel Dekker, Inc., 1991, New-York,
5. K. Schugerl, A. Lubbert, T. Scheper, “On-line-Prozessanalyse in Bioreaktoren” *Chem.-Ing.-Tech.*, 1987, 59, 701-720

오류! 책갈피가 정의되어 있지 않습니다.

schematic of the fiber optic oxygen sensor

Fig. 1 Set up of Fiber Optic Oxygen Sensor

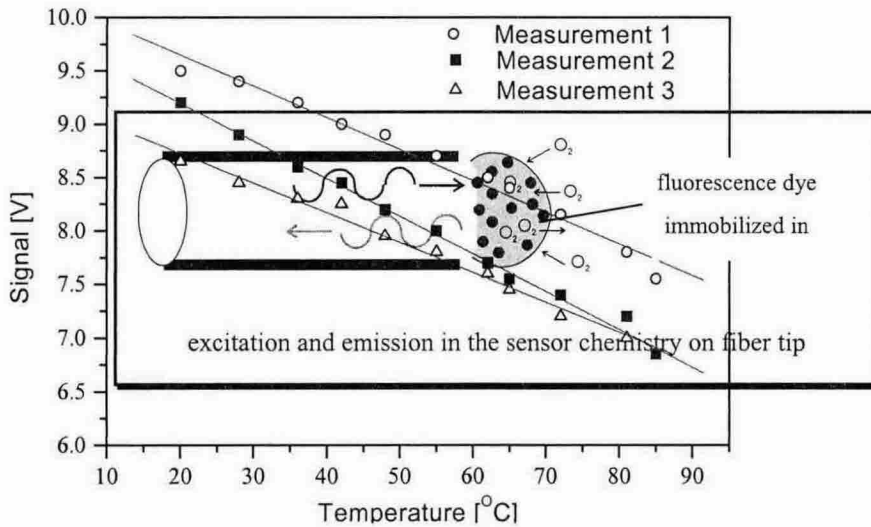


Fig. 2 Effect of temperature on signal of fiber optic oxygen sensor signals

light diode (LED) 를 사용하였으며 sensor head 부분에서 emitted 된 빛은 ball lens 를 통과한 후 dichroitic 거울에서 excited light 과 분리되어 photo multiplier 에 유입된다.

결과 및 고찰

Fiber optic 산소센서를 이용하여 생물 반응기내 배양액의 용존산소 농도의 변화를 측정하기 위해 200 ml 의 증류수가 채워진 항온 반응기를 사용하였다. Fiber optic 센서에 의한 용존산소 농도의 측정결과를 비교하기위해 전류형 산소 전극 (YSI 5331 형)을 사용하였다. 두 산소 전극에 의해 얻어진 반응기내 용액의 용존산소 농도는 거의 일치하였으며 특히 질소 및 공기의 반복적인 공급에 의한 용존산소 농도의 반복적인 변화에도 잘 일치하였다. 한편, *E. coli.*, *S. cerevisiae* 등을 발효하는 실제 생물공정에서 용존산소의 농도를 측정하였는데 특히 낮은 산소농도에서 매우 잘 측정할 수 있었다. 또한 대개의 생물 반응기에는 교반기를 사용하는데 교반 효과에 따른 용존산소 측정의 효과, 반응기 온도에 따른 fiber optic 산소센서의 성능에 대해 고찰하였다. 교반 속도에 따라 용존산소의 농도가 변화하는데 기존의 전류형 산소전극을 이용한 경우 낮은 농도에서는 구별하여 측정할 수 없었으나 fiber optic 산소센서를 이용한 경우 10 %이하에서도 잘 측정할 수 있었다. Fiber optic 산소센서의 온도 의존성을 용존산소 농도가 영일 때 행하였는데 온도가 상승할수록 기체상 및 용액상에서 형광도 세기가 선형으로 감소하였다. 이러한 감소현상은 Stern-Volmer 식에서 excited 분자의 life time 감소로 인한 상수 값의 감소에 의한 것으로 생각된다. 한편, fiber optic 산소센서를 생물공정의 모니터링에 적용할 때는 120 °C 가열하여도 그 특성이 크게 변화하지 않기 때문에 직접 반응기에 in-situ 형으로 사용할 수 있다 그러나 glucose oxidase 를 고정화하여 glucose 농도의 모니터링하고자 하는 경우에는 흐름주입분석 (FIA) 기술을 이용하여 온라인 측정을 하여야 한다.

요약 및 전망

Fiber optic 산소센서는 기존의 산소센서보다 많은 장점을 가지고 있다. 즉, 저 농도의 산소 측정이 가능하고, oil 과 같은 diffusion limited 시스템에서 산소를 측정할 수있을 뿐만 아니라, 분석중 산소 소모가 없다. 전기 또는 자기장에 의한 간섭이 없고 core 지름이 600 μm 로 소형이므로 생물대사현상의 연구등 그 응용 분야 가 매우 넓다. 본 연구에서 수행한 생물 반응기내 산소 농도의 분석이외 각종 산화 효소를 고정화하였을 때 반응기내 신진 대사물의 농도를 모니터링할 수 있다.

참고문헌

1. A. Comte, O. Kohls, T. Scheper, "Fasseroptische Chemo und Biosensoren" CLB Chemie in Labor und Biotechnik, 1995, 46, 18-22
2. J.I. Rhee, K. Schugerl, "The influence of metabolites on enzyme based flow injection