

완충용액유속, 효소·기질 반응 및 전극봉 요인에 따른 발효공정 제어용 흐름주입식 효소센서의 전류값 특성

송대빈 정호석 김성태

Current Characteristics of a Flow Injection Type Enzyme-Sensor as the Variables of a Buffer Velocity, an Enzyme-Substrate Reaction and an Electrode for the Control of a Fermentation Process

D. B. Song H. S. Jung S. T. Kim

Abstract

The electric current of a flow injection type enzyme-sensor was measured to confirm the stable operating conditions of the sensor. The current of the sensor was decreased as the buffer solution velocity increased. Under the limitation of the cycle time to be below 10 minutes, the effective ranges of the buffer solution velocity were suggested 0.10~0.26, 0.12~0.24, 0.10~0.25 and 0.05~0.10 cm/s of 1.0, 1.4, 2.4 and 3.4 mm of the electrode diameters, respectively. As the reaction time of the enzyme and the substrate was increased, the current was decreased because of the dilution between the sample and buffer solution. Therefore, it could be recommended that the reaction time was able to be selected as shortly as possible in consideration of the total cycle time. As the result of the experiments using a different volume ratio of the enzyme to substrate, it was concluded that the substrate had to be mixed with the same amount of the enzyme. The current have increased remarkably in proportion to the electrode diameter under 0.1 cm/s of the buffer solution velocity but there was no difference over 0.1 cm/s of the buffer solution velocity. The cross type arrangement of the electrode was highly suggested for application and machining of the sensor.

Keywords : Fermentation, Automation, Electrode, Enzyme-sensor, FIA

1. 서론

흐름주입식 바이오센서에서 기질 농도는 효소·기질 반응 후 발생하는 과산화수소수의 양을 측정하여 나타낸다. 따라서 효소·기질 반응에 관여하는 반응시간, 효소와 기질의 반응 체적 비에 따라 반응생성물인 과산화수소수의 양이 달라진다. 효소와 기질은 인젝션 밸브와 같은 샘플링 기구에 의해 장치 내로 투입되며, 투입된 효소와 기질은 완충용액에 의해 이송되면서 확산 등의 요인에 의해 혼합되어 효소·기질 반응이

일어난다. 이때 반응 생성물인 과산화수소수 양은 반응 시간에 따라 달라지며, 이는 동일 농도의 기질에 대해 반응 시간에 따라 측정 전류값이 다르게 나타나는 것을 의미한다. 따라서 효소·기질의 반응 시간과 반응 체적 비에 대한 전류값 특성을 파악할 필요가 있다. Vijayakumar(1998)는 에탄올 농도 측정 실험에서 효소와 기질의 혼합량에 따른 전류값 특성을 분석한 결과 일정 혼합량 이상에서 오히려 전류값이 감소함을 밝혔다. Kriz 등(1998)은 효소 농도에 따른 전류값 특성을 분석한 결과 농도 1.0 이상에서는 전류값이 일정하게 나타

This article was supported by ARPC, Agricultural R&D Promotion Center. The article was submitted for publication in September 2007, reviewed and approved for publication by editorial board of KSAM in December 2007. The author are Dae Bin Song, Associate Professor, KSAM member, Hyo Seok Jung, Research Assistant, KSAM member, and Sung Tae Kim, Professor, KSAM member, Division of Agricultural Engineering, Gyeongsang National University/Institute of Agricultural & Life Science, Jinju, Korea. Corresponding author: S. T. Kim, Professor, Division of Agricultural Engineering, Gyeongsang National University/Institute of Agricultural & Life Science, Jinju, 660-701, Korea; E-mail: <kimsungat@gsnu.ac.kr>.

것을 확인하였다. Song 등(2005)은 5종의 효소를 사용하여 농도별 효소활성도를 실험하여 각 효소별 적정 사용 효소 농도를 제시하였다.

흐름주입식 효소센서에서 기질의 농도는 백금 전극봉의 촉매작용으로 과산화수소수를 이산화시켜 발생하는 전자를 양극에서 받아들임으로 전류값으로 표시된다. 이러한 효소센서의 전류측정 장치는 Updike와 Hicks(1967)에 의해 효소전극봉의 명칭으로 처음 소개되었다. 효소전극봉은 특정 효소를 세포막에 고정시키고 이를 전극봉에 부착시킨 형태로 전극봉에 접촉된 기질이 효소와 반응하여 과산화수소수 양을 측정하는 방식이다. 현재 사용되는 대부분의 전극봉은 효소를 전극봉에 고착시킨 효소 전극봉으로 사용이 간편한 장점이 있는 반면, 제작이 어렵고 반복 사용에 따른 효소활성도 저하로 성능이 떨어지는 단점이 있다. 이러한 문제점을 보완하기 위해 효소와 기질을 혼합한 후 반응용액을 전극봉 사이로 통과시키면서 과산화수소수 양을 측정하는 많은 시도가 진행되고 있다(Rong 등, 1998; Rajendran과 Irudayaraj, 2002; Song 등, 2003; Song, 2004). 전극봉 사이를 흐르는 과산화수소수를 측정하는 전류측정 장치의 경우는 효소전극봉과 달리 동일 농도 기질에 대해 전극 크기, 배치, 완충용액 유속 등 다양한 요인에 따라 전류값이 달라질 것으로 예상된다.

따라서 이 연구에서는 발효공정 자동제어를 위해 공정 중 기질의 농도를 측정하는 흐름주입식 효소센서를 개발하기 위한 전 단계 연구로, 완충용액 유속, 효소·기질반응 조건 및 전극봉 요인에 따른 전류값 특성을 파악하여 센서장치를 구성하는 완충용액 공급장치, 효소·기질용액 혼합장치 및 전류측정 장치 개발에 필요한 적정 완충용액 유속, 효소·기질 혼합 체적, 효소·기질 반응시간, 전극봉 크기, 전극봉 배치 형상 등 기초 요인을 구명하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 실험 재료

1) 실험 장치

실험에 사용된 배치식 완충용액 공급 장치의 흐름주입식 바이오센서는 그림 1, 연속식 완충용액 공급 장치는 그림 2와 같이 구성되었다. 2번 펌프(syringe, diaphragm pump)에 의해 토출된 이송완충용액은 4번 인젝션 밸브와 5번 전류측정 장치를 순차적으로 통과한다. 인젝션 밸브는 유로 선택에 따라 3번 펌프에 의해 기질과 1번 펌프에 의해 효소가 차례로 투입된다. 인젝션 밸브를 통과한 기질과 효소는 인젝션 밸브와 전류측정 장치 사이의 흐름 관로 내에서 혼합과 반응이 이루어지며 전류측정 장치의 전극봉 사이를 통과하여 배출된다. 전류측정 장치는 은과 백금으로 제작된 원형 전극봉과 전류계로 구성되었으며 기질과 효소 반응으로 생성된 과산화수소수의 양을 전류값으로 측정한다. 측정된 전류값은 자료수집 장치(Lab VIEW)를 이용하여 컴퓨터로 저장하였다. 실험에 사용된 장치의 상세한 규격은 표 1과 같다.

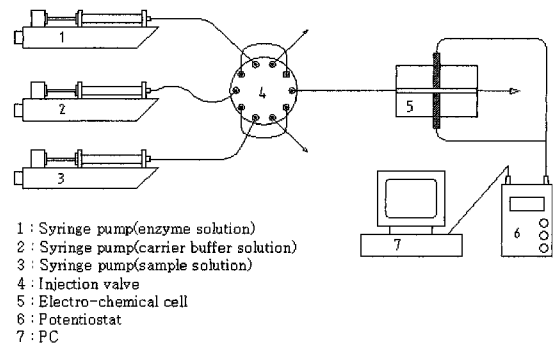


Fig. 1 Schematic diagram of batch type sensor.

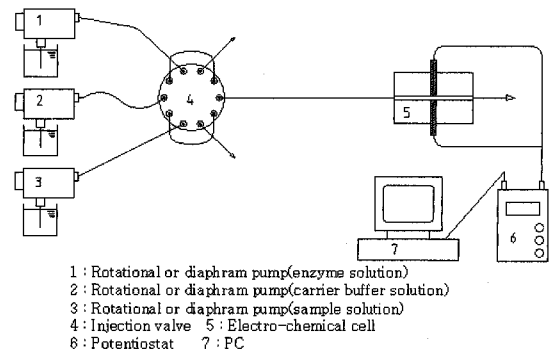


Fig. 2 Schematic diagram of continuous type sensor.

Table 1 Specifications of experimental apparatus

Component	Specification	Remarks
Syringe pump	2.5 L, 25 μ L/min	MD-1000/1001, BioAnalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN, USA
Diaphragm pump	0.03 - 30 mL/min.	FEM 1.03 KPRC, KNF Co., Wassermatte, Switzerland
Injection valve	10port	C22Z-3180E, Valco Instrument Co. Ins., Houston, TX, USA
Electrochemical cell	0.02, 0.016, 0.039, 0.092 mL	W. E.(platinum) R. E.(silver coated with AgCl)
Potentiostat	200 nA, +500 mV(Ag/AgCl).	LC-3D, BioAnalytical Systems, Inc., West Lafayette, IN, USA
Data acquisition	Lab VIEW	NI PCI-6014, National Instruments, Austin, TX, USA

2) 실험 재료

실험에 사용된 재료의 종류 및 상세한 규격은 표 2와 같다. 모든 용액은 증류수를 사용하여 제조하였다. Sodium phosphate (mono/dibasic), sodium chloride, 증류수를 사용하여 0.5 M의 Sodium phosphate 완충용액(pH 6.86, 10 mM NaCl)을 제조하였다.

나. 실험 방법

1) 완충용액 유속에 따른 전류값 특성

완충용액 유속에 따른 전류값 특성을 알아보기 위해 기질 (glucose)과 효소(glucose oxidase)를 사용하여 전극봉 직경과 유속에 따른 전류값을 측정하였다. 기질 농도는 전류계의 검출 상한치(199 nA)가 초과되지 않도록 전극봉 지름 1.0, 1.4 mm의 경우 10 mM, 2.4 mm의 경우 3 mM, 3.4 mm의 경우 1 mM로 하였다. 효소 농도는 0.5 mg/mL, 효소·기질 반응 체적비는 1.0으로 하였다. 유속은 전극봉 직경에 따른 유로 내경을 고려하여 주사기 펌프 및 연속식 펌프를 사용하여 0.001 ~ 0.500 cm/s의 범위에서 5 수준으로 선정하였다. 각 수준에서 5회 반복하여 전류값을 측정하였고 평균값을 각 유속에서의 대표 전류값으로 하였다.

2) 효소·기질 반응 시간에 전류값 특성

효소와 기질의 반응시간에 따른 전류값 특성을 알아보기 위해 효소와 기질이 혼합되는 인젝션 밸브와 전류 측정용 셀 사이의 유로 길이를 조절하여 기질과 효소의 반응 시간에 따른 전류값을 측정하였다. 유로길이는 표준길이를 기준으로 2배, 3배, 4배 길이의 4수준으로 하였다. 기질로는 5 mM Glucose 용액을 사용하였고, 효소는 0.5 mg/mL Glucose oxidase 용액을 사용하였다. 전극봉 직경은 1.4 mm, 전극봉 사이를 지나는 완충용액 유속은 0.1179 cm/s로 하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 측정하였으며 평균값을 대표 전류값으로 하였다. 상세한 실험 조건은 표 3과 같다.

3) 효소·기질 반응 체적 비에 따른 전류값 특성

효소와 기질의 적정 반응 혼합비를 알아보기 위해 인젝션

Table 3 Experimental conditions of substrate-enzyme reaction time

Variables	Levels	Remarks
Tube length	4 (1X, 2X, 3X, 4X)	1X : 60 mm(standard length) 2X : 120 mm 3X : 180 mm 4X : 240 mm
Repetitive No.	5	

밸브로 투입되는 효소와 기질의 투입량을 다르게 하여 반응 체적 비에 따른 전류값을 측정하였다. 기질로는 10 mM Glucose 용액을 사용하였고, 효소는 0.5 mg/mL Glucose oxidase 용액을 사용하였다. 전극봉 직경은 1.4 mm, 전극봉 사이를 지나는 완충용액 유속은 0.0471 cm/s로 하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 측정하였으며 평균값을 대표 전류값으로 하였다. 상세한 실험 조건은 표 4와 같다.

Table 4 Experimental conditions of volume ratio of substrate-enzyme

Variables	Levels	Remarks
Volume ratio	3 (0.5, 1.0, 2.0)	$Ratio = \frac{ml - enzyme}{ml - substrate}$
Repetitive No.	5	

4) 전극봉 크기에 따른 전류값 특성

전극봉의 노출 면적에 따른 전류값 특성을 알아보기 위해 전류값 측정용 전극봉 크기를 달리하여 전류값을 측정하였다. 기질로는 전극봉 지름이 1.0, 1.4 mm의 경우 10 mM, 전극봉 지름이 2.4, 3.4 mm의 경우 3 mM의 Glucose 용액을 각각 사용하였고, 효소는 0.5 mg/mL Glucose oxidase 용액을 사용하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 측정하였으며 평균값을 대표 전류값으로 하였다. 상세한 실험 조건은 표 5와 같다.

5) 전극봉 설치 형상과 거리에 따른 전류값 특성

전극봉 설치 형상 및 전극봉간 거리에 따른 전류값 특성을 알아보기 위해 전류값 측정용 전극봉 배치 형상(직교, 평행)과 전극봉 거리를 달리하여 전극 설치 형상과 거리에 따른 특성을 파악하였다. 기질로는 10 mM Glucose 용액을 사용하였

Table 2 Specification of the experimental materials

Descriptions	Specifications	Remarks
Glucose oxidase	EC 1.1.3.4, X-S, 245.9 U/mg	Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA
D-glucose		Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA
Sodium Phosphate	Monobasic	Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA
Sodium Phosphate	Dibasic	Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA
Sodium Chloride		Sigma Chemical Co., St, Louis, MO, USA

고, 효소는 0.5 mg/mL Glucose oxidase 용액을 사용하였다. 전극봉 직경은 1.4 mm, 전극봉 사이를 지나는 완충용액 유속은 0.0471 cm/s로 하였다. 각 실험 조건에서 5회 반복 측정하였으며 평균값을 대표 전류값으로 하였다. 상세한 실험 조건은 표 6과 같고, 직교형과 평행형 전극 배치 상세 사진은 그림 3과 같다.

Table 5 Experimental conditions of electrode diameter

Variables	Levels	Remarks
Electrode diameter (mm)	4 (Ø1.0, Ø1.4, Ø2.4, Ø3.4)	
Buffer velocity(cm/s)	5	Varied with the electrode diameter
Repetitive No.	5	

Table 6 Experimental conditions of distance & arrangement of electrode

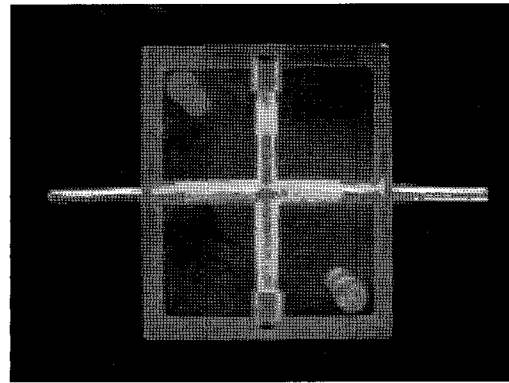
Variables	Levels	Remarks
Arrangement	2 (Cross, Parallel)	
Distance(mm)	2 (4.5, 9.0)	
Repetitive No.	5	

3. 결과 및 고찰

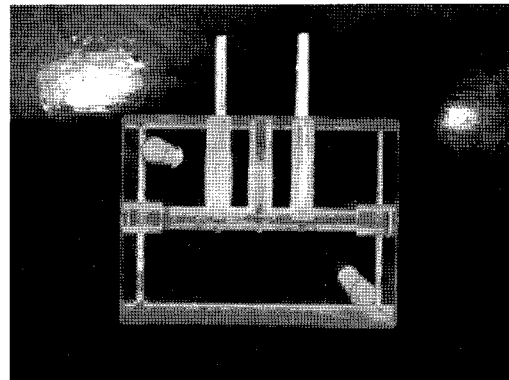
가. 완충용액 유속에 따른 전류값 특성

그림 4, 5, 6, 7은 전극봉 직경 1.0, 1.4, 2.4, 3.4 mm와 전극봉 간격 각각 1.8, 1.5, 2.5, 3.5 mm에서 기질(glucose)과 효소(glucose oxidase)를 사용한 실험에서 측정된 전류값과 작동시간을 각각 나타낸 것이다.

각 실험 조건에서 5회 반복 측정하여 평균값을 대푯값으로 사용하였으며, 표준편차는 전극봉 직경 1 mm의 경우 전 유속 구간에서 0.04 ~ 2.69, 1.4 mm의 경우 3.05 ~ 5.43, 2.4 mm의 경우 0.69 ~ 4.36, 3.4 mm의 경우 0.60 ~ 6.20로 비교적 안정적으로 나타났다. 각 그림에서 전류값은 유속이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였다. 이는 유속이 증가함에 따라 효소·기질 반응 용액이 전극봉에 접촉하는 시간이 짧아져 전극봉에서 전자를 충분히 받아들이지 못하기 때문이다. 반면 유속이 감소함에 따라 전류값이 높게 나타났는데 이는 유속이 느릴 경우 효소와 기질의 반응 시간이 길어지기 때문이다. 그림 4에서 전극봉 직경이 1.0 mm의 경우 유속 0.26 cm/s에서 전류값이 상승하는 것을 알 수 있다. 적정 유속은 최대 전류값을 나타내는 점에서 선택하는 것이 좋으나 이렇



(Cross arrangement)



(Parallel arrangement)

Fig. 3 Photography of the type of electrode.

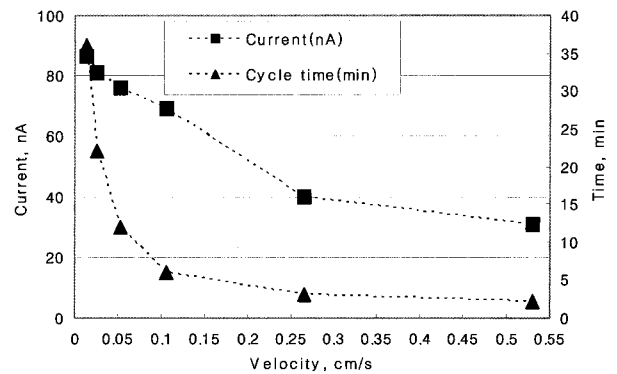


Fig. 4 Current and cycle time of the sensor by the buffer velocity (Ø1.0 mm).

경우 작동시간이 길어지는 문제가 있다. 따라서 작동시간 10 분 이내에서 전류값 변화가 급격하게 발생하는 점을 적정 유속 구간으로 설정하는 것이 합리적으로 판단된다.

이상 유속에 따른 전류값 측정 실험결과 작동시간과 전류값 변화를 기준으로 각 전극봉에서 적정 유속은 전극봉 직경 1.0 mm의 경우 0.10 ~ 0.26 cm/s, 1.4 mm의 경우 0.12 ~ 0.24 cm/s, 2.4 mm의 경우 0.10 ~ 0.25 cm/s, 3.4 mm의 경우 0.05 ~ 0.10 cm/s의 구간으로 판단되었다.

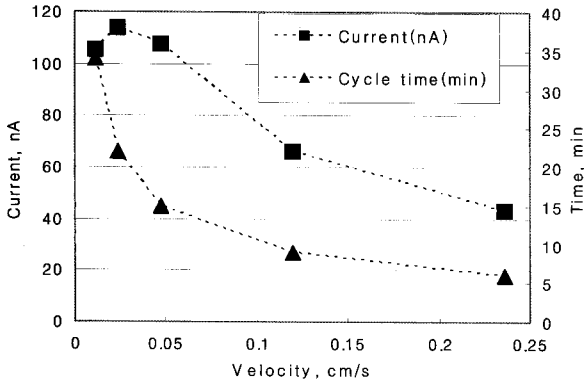


Fig. 5 Current and cycle time of the sensor by the buffer velocity ($\varnothing 1.4$ mm).

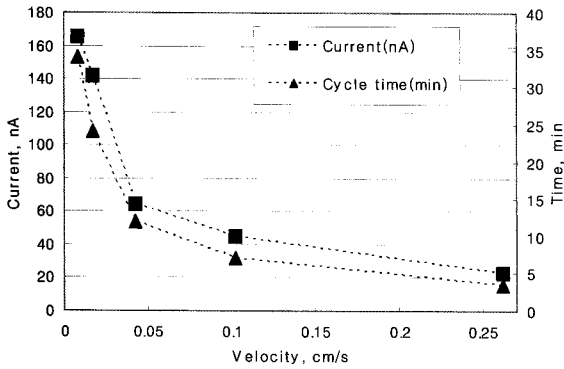


Fig. 6 Current and cycle time of the sensor by the buffer velocity ($\varnothing 2.4$ mm).

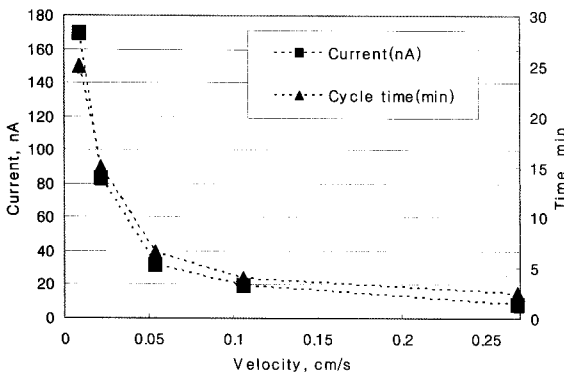


Fig. 7 Current and cycle time of the sensor by the buffer velocity ($\varnothing 3.4$ mm).

나. 효소·기질 반응 시간에 따른 전류값 특성

그림 8은 전극봉 지름 1.4 mm, 유속 0.1179 cm/s에서 인젝션 밸브와 전류 측정용 셀 사이의 유로 길이를 기준(1X), 2배(2X), 3배(3X), 4배(4X)로 달리하여 측정한 전류값 및 평균값을 연결하여 나타낸 것이다. 효소(Glucose oxidase)와 기질(glucose)은 인젝션 밸브에서 혼합된 후 유로를 통과하면서 반응이 일어나게 된다. 따라서 유로의 길이를 길게 하면 반응 시간이 길어져서 전류값이 높게 나타날 것으로 예상된다. 그러나 그림에서 알 수 있듯이 유로 길이가 길어짐에 따라 전류값이 감소하는 것으로 나타났다. 이는 그림 9의 결과로 설명되어 질 수 있다. 그림 9는 각 유로길이에서 전류값의 변화를 나타내 주는 것으로 유로길이가 길어짐에 따라 최대 전류값까지 상승되는데 걸리는 시간이 증가하는 것을 알 수 있다. 이는 유로 내에서 혼합된 효소와 기질 용액이 완충용액에 확산되지 않고 전극봉 사이를 통과 할 때 최대 전류값을 나타내지만, 시간이 너무 지연되면 유로 내에서 완충용액에 확산에 의해 희석되어져서 전류값 측정은 길게 일어나지만 최대 전류값은 낮게 나타나는 것으로 판단되었다. 따라서 효소와 기질이 유로에서 혼합된 후 완충용액과의 혼합에 의한 희석이 일어나지 않는 적절한 유로길이를 선정할 필요가 있을 것으로 생각된다.

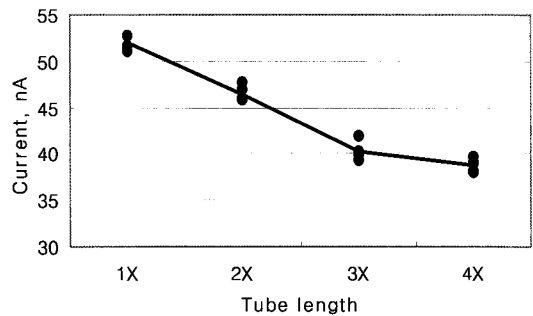


Fig. 8 Current of the sensor as a tube length.

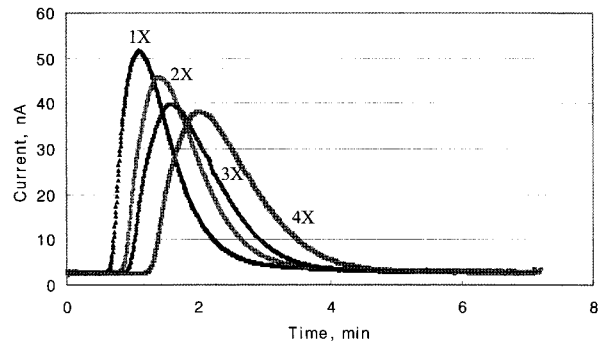


Fig. 9 Peak time of the sensor as a tube length.

다. 효소·기질 반응 체적 비에 따른 전류값 특성

그림 10은 전극봉 직경 1.4 mm, 유속 0.0471 cm/s에서 효소(Glucose oxidase)와 기질(Glucose)의 혼합 체적비를 0.5, 1.0, 2.0으로 달리 하였을 때 측정된 전류값 및 평균값을 연결하여 나타낸 것이다. 그림에서 체적비가 0.5, 1.5 일 때 전류값은 약 98.76, 93.84 nA로 비슷하게 나타났으며, 체적비 1.0 일 때는 120.40 nA로 가장 크게 나타났다. 일반적으로 효소는 기질과 결합하여 반응을 일으킨 후 다시 기질과 연속적으로 반응한다. 따라서 기질보다 적은 효소량을 이용해도 충분한 반응을 기대하였으나, 오히려 효소량을 많게 한 경우와 비슷한 경향을 나타냈다. 이는 반응이 안정적인 상태에서 충분한 시간을 두고 진행된 것이 아니기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 흐름주입식 센서장치에서 효소 용액과 기질 용액은 서로 같은 체적으로 혼합해야 할 것으로 판단되었다.

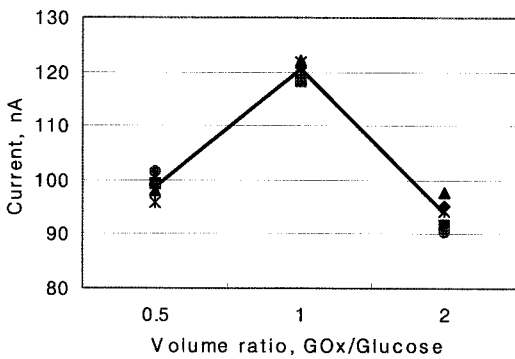


Fig. 10 Current of the sensor as a volume ratio.

라. 전극봉 크기에 따른 전류값 특성

그림 11은 기질(Glucose) 용액 10 mM을 사용했을 때 전극봉 지름 1.0, 1.4 mm의 전류값을 나타낸 것이다. 그림에서 완충 용액 유속 0.1 cm/s 이하에서는 전극봉 지름이 큰 경우 전류값도 크게 나타났으나, 그 이상의 유속에서는 전극봉 지름에 관계없이 비슷하게 나타났다.

그림 12는 기질(Glucose) 용액 3 mM을 사용했을 때 전극봉 지름 2.4, 3.4 mm의 전류값을 나타낸 것으로 전극봉 지름 1.0, 1.4 mm의 경우와 같이 완충 용액 유속 0.1 cm/s 이하에서는 전극봉 지름이 큰 경우 전류값도 크게 나타났으나, 그 이상의 유속에서는 전극봉 지름에 관계없이 비슷하게 나타났다.

전극봉 지름 1.0 mm의 경우 각 유속에서 전류값의 표준편차 범위는 0.04~2.70, 전극봉 지름 1.4 mm의 경우는 1.08~4.43, 전극봉 지름 2.4 mm의 경우는 0.69~4.36, 전극봉 지름 3.4 mm의 경우는 0.60~6.20으로 나타났다.

전극봉 직경은 센서의 감도와 관련이 있다. 저 농도 범위 용액의 경우 적은 농도 변화를 충분하게 검출하기 위해서는 가능한 발생하는 전자를 많이 흡수할 수 있는 큰 단면적의 전극봉 사용이 필요하다. 그러나 고 농도의 경우는 발생하는 전류값이 전류계 측정 범위를 초과하는 경우가 발생되기 때문에 검출 정도가 변하지 않는 범위에서 전극봉의 크기를 선정하여야 한다. 실험에 사용된 전류계의 측정 상한값이 199.99 nA임을 감안할 때 전극봉 직경이 2 mm를 넘는 경우는 전류계 측정 상한값이 큰 것을 사용해야하는 문제가 발생되므로 적절한 전극봉 직경은 1.0~1.5 mm 사이에서 결정되는 것이 타당할 것으로 생각된다.

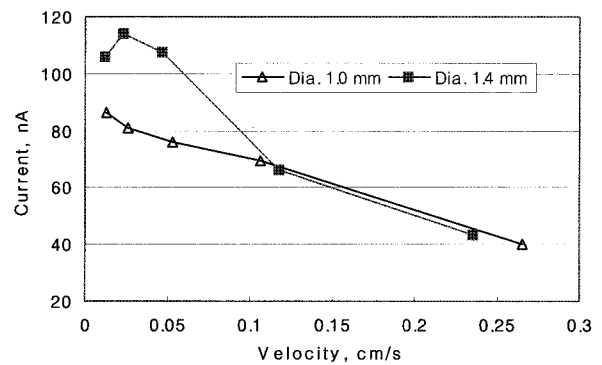


Fig. 11 Current of the sensor as an electrode diameter for the 10 mM glucose solution.

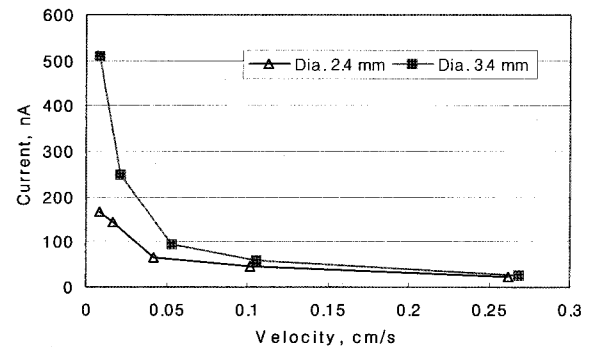


Fig. 12 Current of the sensor as an electrode diameter for the 3 mM glucose solution.

마. 전극봉 설치 형상과 거리에 따른 전류값 특성

그림 13은 전극봉 지름 1.4 mm, 완충용액 유속 0.0471 cm/s, 기질(Glucose) 용액 농도 10 mM에서 전극봉의 설치 형상에 대한 전류값 및 평균값을 연결하여 나타낸 것이다. 직교(Cross) 형태의 경우 전극봉 간의 간격은 1.5 mm, 평행(Parallel) 형태의 경우는 4.5 mm, 9.0 mm로 하여 설치 형상과 전극봉 간격

에 따른 전류값 특성을 살펴보고자 하였다. 전극봉 설치를 위한 전류측정 장치 셀 제작에 따른 문제로 평행한 형태의 경우 전극봉 간격을 직교의 경우와 같이 1.5 mm로 동일하게 할 수 없었다.

그림에서 직교 형태로 설치한 경우가 평행하게 설치한 경우보다 큰 값을 보였는데 이는 전극봉 간격이 짧으면 전자의 이동이 긴 경우보다 용이하여 나타나는 당연한 결과로 생각된다. 그러나 평행한 형태로 설치한 경우 전극봉 간격이 긴 경우가 짧은 것에 비해 전류값이 높게 나타났는데, 이는 효소·기질 용액이 동시에 접촉되는 시간 때문인 것으로 판단되었다. 즉 간격이 4.5 mm인 경우에 비해 9.0 mm인 경우가 효소·기질 혼합용액이 전극봉에 접촉되는 시간이 길어 전류값이 높게 나타난 것으로 판단된다.

전류측정 장치에는 양극과 음극의 전극봉이 동시에 설치되어야 하므로 전기가 통하지 않는 플라스틱을 이용하여 제작하며, 전극봉 설치 부분과 완충용액이 통과하는 부분은 드릴 및 리머를 사용하여 가공한다. 그러나 사용되는 전극봉 직경이 2.0 mm 이하로 작고 유로역시 유속에 따라 다르지만 전극봉 크기와 동일하게 제작 되어야한다. 소형 드릴의 가공 깊이는 직경의 10배 이하로 제한되어 있기 때문에 평행한 형태의 전류측정 장치의 제작은 한계가 있다. 따라서 전류값에 큰 유의성이 없는 경우 가능한 직교형으로 전극봉을 배치하는 것이 전류측정 장치 제작에 유리할 것으로 생각된다.

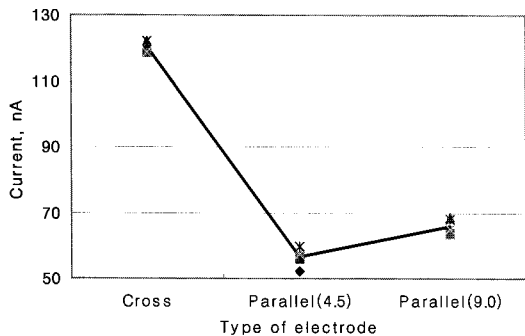


Fig. 13 Current of the sensor as the installation type of an electrode.

4. 요약 및 결론

발효공정 자동제어를 위해 공정 중 기질의 농도를 측정하는 흐름주입식 효소센서의 단위장치를 개발하기 위한 기초 연구로, 완충용액 유속, 효소·기질반응 조건 및 전극봉 요인에 따른 전류값 특성을 알아보았다.

동일 효소농도, 기질농도, 반응시간 및 전극봉 크기에서 전류값은 완충용액 유속이 증가함에 따라 감소하였고, 유속이

감소함에 따라 증가하였다. 작동시간과 전류값 변화를 기준으로 각 전극봉에서 적정 유속은 전극봉 직경 1.0 mm의 경우 0.10~0.26 cm/s, 1.4 mm의 경우 0.12~0.24 cm/s, 2.4 mm의 경우 0.10~0.25 cm/s, 3.4 mm의 경우 0.05~0.10 cm/s의 구간으로 판단되었다.

효소·기질 간 반응시간이 길어짐에 따라 예상과는 달리 혼합과 희석에 따른 문제로 전류값이 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 효소·기질 간 반응시간은 센서 작동시간을 고려하여 적절한 길이를 선정할 필요가 있음을 알 수 있었다. 반응체적 비를 달리한 실험결과 효소와 기질은 동일 체적으로 혼합해야 됨을 알 수 있었다.

전극봉 크기에 따른 실험결과 유속이 0.1 cm/s 이하에서는 크기에 비례하여 전류값이 크게 나타났으나, 그 이상의 유속에서는 차이를 보이지 않았다. 전극 간 거리에 따른 실험 결과 거리가 짧을수록 전류값이 크게 나타났으나, 전극봉을 평행으로 배치한 경우는 거리에 따른 전류값 차이는 나타나지 않았다. 전극봉 및 유로 직경을 고려할 때 전극봉은 교차형으로 구성하는 것이 제작에 유리할 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Kriz, D., C. Berggren, A. Johansson and R. J. Ansell. 1998. Sire-technology. Part I. amperometric biosensor based on flow injection of the recognition element and differential measurements. *Instrumentation Sci. & Tech.* 26(1):45-57.
2. Rajendran, V. and J. Irudayaraj. 2002. Detection of glucose, galactose, and lactose in milk with a microdialysis-coupled flow injection amperometric sensor. *J. Dairy Sci.* 85:1357-1361.
3. Rong, W. M., R. Vijay, L. Niklas, L. Gorton, P. Jordi and H. H. Barbel. 1998. Simultaneous monitoring of glucose and L-lactic acid during a fermentation process in an aqueous two-phase systems by on-line FIA with microdialysis sampling and dual biosensor detection. *Anal. Chim. Acta.* 366:127-135.
4. Song, D. B., S. H. Cho, J. H. Chung and H. S. Jung. 2005. Characteristics of Enzyme Activity as Buffer Solution and Enzyme-Substrates Reaction Conditions. *Proceedings of the KSAM 2005 Summer Conference* 10(2):331-336.
5. Song, D. B. 2004. Measurement of sucrose concentration using μ FIA biosensor. *J. of KSAM* 29(6):553-557.
6. Song, D. B. and J. Irudayaraj. 2003. Measurement of glucose concentration using μ FIA biosensor. *J. of KSAM* 28(5):465-468.
7. Updike, S. J. and G. P. Hicks. 1967. The enzyme electrode. *Nature* 214(92):986-988.
8. Vijayakumar, A. R. 1998. Amperometric Carbon Paste Biosensors Based on Horseradish Peroxidase and Oxidases. Ph. D. Thesis. Lund University, Sweden.