

## 흐름주입분석 기술을 이용한 젖산의 온라인 모니터링

김준홍, 이종일, 김미선

전남대학교, 물질·생물화공과, 화학공학부, 한국에너지기술연구원, 바이오매스연구팀

전화(062)530-0847, FAX(062)530-1847

### Abstract

On-line monitoring technique for the concentration of lactate by a FIA(Flow Injection Analysis) system was studied. The lactate oxidase(LOD) was immobilized on VA-Epoxy carrier and integrated into the FIA system. The pH, buffer flow rate and temperature for the LOD-FIA were optimized, and the effects of salts and metabolites dissolved in the sample on the activity of immobilized enzyme were investigated. The LOD-FIA has been applied to monitor the concentrations of lactate in a simulated bioprocess. The on-line monitoring data by the LOD-FIA agreed with the off-line data measured by a fluorescence spectroscopy well.

### 1. 서론

젖산발효는 당으로부터 EMP 경로를 따라서 젖산만을 생성하는 homo 젖산발효와 EMP 경로상의 key enzyme의 하나인 aldolase가 결여되어 phosphoketolase의 경로에 따라서 젖산 이외에 에탄올과 초산 등의 부산물을 생성하는 hetero 젖산 발효로 나눌 수 있다. 젖산 발효공정에서 젖산의 농도를 온라인 모니터링하는 것은 공정의 효율을 증대시킬 뿐만 아니라 부산물의 생성을 억제하는데 매우 중요하다. 최근 생물반응기내 기질이나 생산물의 농도를 온라인 모니터링하기 위해 흐름주입 분석(Flow Injection Analysis ; FIA) 기술이 활발히 연구되고 있다. FIA는 단시간에 많은 시료를 자동적으로 측정할 수 있고 다양한 생물센서와 결합하기 쉬운 장점으로 인해 그 적용범위가 넓다.

본 연구에서는 lactate oxidase(LOD)를 고분자 담체에 고정화하여 소형 생물 반응기를 제작하고 이를 이용하여 젖산 생산공정의 온라인 모니터링을 위한 흐름주입 분석 기술을 개발하고자 한다.

### 2. 재료 및 방법

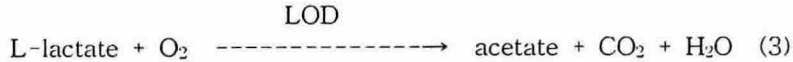
#### 1) FIA 장치 구성 및 원리

FIA 장치는 선택기(selector), 연동펌프(peristaltic pump), 주입기(injector) 및 검출기(detector)로 구성되어 있다(1,2). 선택기에서 시료를 운반용액으로 운반하여 젖

산을 젖산 산화효소와 효소반응을 수행하게 한 후 소모된 산소농도를 검출기에서 검출하였다. 시료주입기, 검출기등의 자동화 및 결과분석을 위해 컴퓨터 소프트웨어를 사용하였다.

## 2) 효소반응

젖산을 산화할 수 있는 효소로 lactate oxidase(GOD)를 사용하였다.



본 연구에 사용된 LOD는 VA-Epoxy 고분자 담체에 고정화하여 사용하였으며 산소 농도는 Clark-type 산소전극을 이용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

본 실험을 위한 표준매개변수는 Table 1에 나타났다. 고정화된 LOD의 최적조건을 확인하기 위하여 운반용액의 유속, pH, 온도 및 생물공정상에서 배양액 가운데 존재하는 염 그리고 신진대사의 결과로 생성되는 대사물질의 영향등을 조사하였다. 또한, 실제 소형 CSTR 반응기를 이용하여 8시간 가량 온라인 모니터링하였고, lactate dehydrogenase와 NAD 등의 효소를 이용한 젖산의 오프라인 분석과 비교한 결과 평균 6% 이내로 잘 일치하였다(Figure 1).

## 4. 요약 및 전망

젖산을 생산하는 공정의 온라인 모니터링을 위해 젖산 산화효소를 이용한 흐름주입분석 기술을 개발하였다. FIA의 pH, 조작온도 및 대사물질의 농도 등의 물리적인 변수에 따라 고정화되어 있는 효소의 활성도가 변화함을 알 수 있었다. 향후, 본 연구에서 서술한 FIA 기술을 미생물에 의한 실제 젖산 발효공정에 도입하여 젖산 생산과 미생물의 대사현상의 관계를 규명하고자 한다.

## 5. 참고문헌

1. 김준홍, 이종일(2001), 흐름주입분석 기술을 이용한 글루코스와 전분의 온라인 모니터링, 한국생물공학회 춘계학술발표, 한국생물공학회, P103:115-116
2. Ruzika, J, and E. H. Hansen (1988), Flow Injection Analysis, 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York
3. Jürgens. H, R. Kabuß, T. Plumbaum, B. Weigel, G. Kretzmer, K. Schügerl, K. Andres, E. Ignatzek and F. Giffhorn (1994), *Anal. Chim. Acta.*, 298:141-149

Table 1. Standard operating conditions of a LOD-FIA

Parameter	Values
Buffer flow rate (ml/min)	1.3
pH of the standard buffer solution	7
Sample flow rate (ml/min)	0.25
Cycle time(sec)	350
Injection volume( $\mu\ell$ )	75

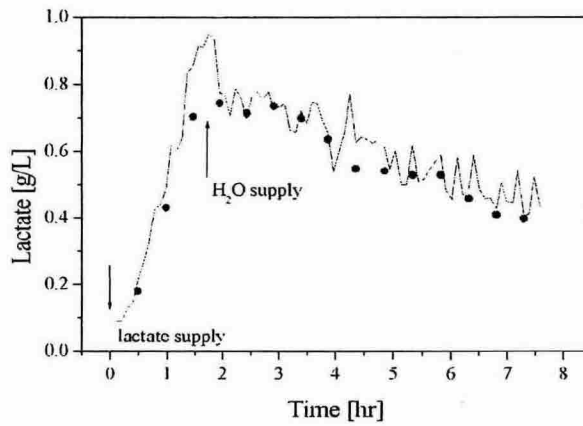


Figure 1. On-line monitoring of lactate in a simulated bioprocess by a LOD-FIA system