

생물공정 모니터링을 위한 Fiber Optic 생물센서 개발

손옥재¹, 이종일²

전남대학교, 물질·생물화학부, 화학공학부

전화(062)530-0847, Fax(062)530-1847

Abstract

In this study a fiber optic biosensor has been developed to on-line monitor the concentrations of oxygen and glucose. The oxygen concentrations in solution and gas phase monitored by the fiber optic sensor has been compared with those by a dissolved oxygen electrode and an IR-type O₂ analyzer. The fiber optic glucose sensor has been made by immobilizing glucose oxidase on the tip of the optic fiber and used to on-line monitor the concentration of glucose in a fermentation process.

서론

최근, 생물공정, 환경분석에서 각종 생화학적 성분을 신속하게 측정할 수 있는 바이오센서의 개발에 대해 관심이 높아가고 있다. 특히 생물공정에서 미생물의 성장에 따른 기질의 소모나 생산물의 농도를 실시간으로 온라인 모니터링함으로써 생물공정의 생산성을 증대할 수 있을 뿐만 아니라 각종 부산물의 생산을 억제하고자 한다.

Fiber optic 생물센서는 미생물에 의해 생성되는 산물 또는 소비되는 기질의 변화를 생물화학적 반응을 통해 전기적 신호로 언어냄으로써 시료의 농도를 분석하는 장치이다. 특히, 광학센서는 고온살균이 가능하며, 센서의 크기가 작으므로 생물공정내에 장착하여 물질을 온라인 모니터링 하기가 용이하다. 본 연구에서는 산소가 형광발색물질과 반응할 때 빛을 흡수, 발광하는 특성을 이용한 fiber optic oxygen sensor를 사용하여 생물공정내 산소농도를 모니터링하고, glucose oxidase (GOD)를 optic fiber의 말단에 고정화한 글루코스센서를 제작하여 생물공정내 글루코스 농도의 모니터링에 적용하고자한다.

재료 및 방법

1) 기기 구성

본 연구에서는 600 μm 의 광섬유에 두께 200 μm 의 검은색 고분자 막으로 피복되어 있는 optic fiber를 사용하였다. Optic fiber에 의하여 받아들이는 광학신호는 COMTE사(독일)의 검출기를 이용하여 검출하였고, 검출기의 데이터 및 결과분석을 위해 컴퓨터 소프트웨어 (LABTECH NOTEBOOK, labtech 사)를 사용하였다. 산소 센서는 Fig. 1(a)과 같이 optic fiber의 말단에 산소분자와의 반응할 때에 형광을 발생시키는 형광발색물질인 Ruthenium(II)-complex를 고정화시킨 후 검정색 실리콘과 톨루엔으로 피막을 형성하여 외부 빛을 차단하였다. 한편, 글루코스센서는 Fig. 1(b)과 같이 산소센서를 제작한 후 센서 probe에 아크릴아미드 레진 성분으로 제조된 접착제를 이용하여 glucose oxidase (SIGMA 사)를 고정화 시켰다.

2) 실험방법

공정내 산소의 농도를 모니터링하기 위해 2.5 L 발효조 (한국발효기)를 온도 35 $^{\circ}\text{C}$ 교반속도 300 rpm의 조건하에서 사용하였다. 발효조내 용액중의 용존산소 측정에는 fiber optic 산소센서와 전류형 산소전극 (METTLER TOLEDO 사)을 사용하였고, 배가스중의 산소농도 측정에서는 fiber optic 산소센서와 적외선형 산소 분석기 (LOKAS 사)를 사용하였다. 한편, 용액중의 글루코스의 농도 측정은 소형생물 반응기 (200 mL, 24 $^{\circ}\text{C}$)를 사용하였으며 연속흐름 형식으로 물 또는 글루코스를 주입 및 배출하여 반응기내의 글루코스의 농도를 변화시키면서 그 농도를 온라인 모니터링 하였다.

결과 및 고찰

1) 산소농도의 모니터링

2.5 L 발효조내 용존산소 및 배가스에서의 산소 농도를 fiber optic 산소센서를 이용하여 모니터링 하였다. 용액중의 산소 농도를 측정하였을 때 fiber optic 산소센서는 측정결과가 전류형 산소센서와 거의 일치하였으며, 특히 낮은 농도에서 매우 민감하게 측정할 수 있었다. 배가스내의 산소농도 측정에서도 fiber optic 산소센서는 적외선형 산소 분석기와 거의 일치하는 결과가 나왔으며, 낮은 농도 범위에서도 잘 측정할 수 있었다 (Fig. 2). 그러나 고농도에서는 전류형 산소센서와 적외선형 산소 분석기가 빠른 시간에 응답하여 fiber optic 산소센서보다 더 효과적이었다.

2) 글루코스 농도의 모니터링

fiber optic 산소센서에 효소를 고정화하여 제작한 optic fiber 글루코스센서를 이용하여 소형생물반응기에서 글루코스의 농도를 온라인 모니터링 하였다.

fiber optic 글루코스센서는 고정화한 glucose oxidase의 양에 따라 측정범위가 변화하나 낮은 글루코스 농도(0.05 g/L)범위에서도 잘 측정할 수가 있었다.

3) 고정화 GOD의 안정성 및 온도 의존성

GOD가 고정화된 optic fiber 생물센서는 제작 후 0.1 M phosphate 용액에 담귀 4 ℃ 냉장보관 하였을 때 약 4주 동안은 효소의 활성저하를 볼 수 없었으나 그 이후로는 활성의 감소를 조금씩 보였다. 또한 제작한 fiber optic 글루코스센서의 온도에 대한 특성을 살펴본 결과 낮은 온도(실온)에서 보다는 35 ℃ 부근에서 더 활성이 높았다.

요약 및 전망

본 연구에서는 생물공정의 온라인 모니터링을 위한 fiber optic 생물센서를 개발하였다. 본 연구에서 개발한 fiber optic 생물센서에 각종 산화효소를 고정화 시켜 생산 또는 소모되는 물질의 농도를 동시에 온라인 모니터링할 수 있도록 다중채널로 구성된 바이오센서로 개발하고자 한다.

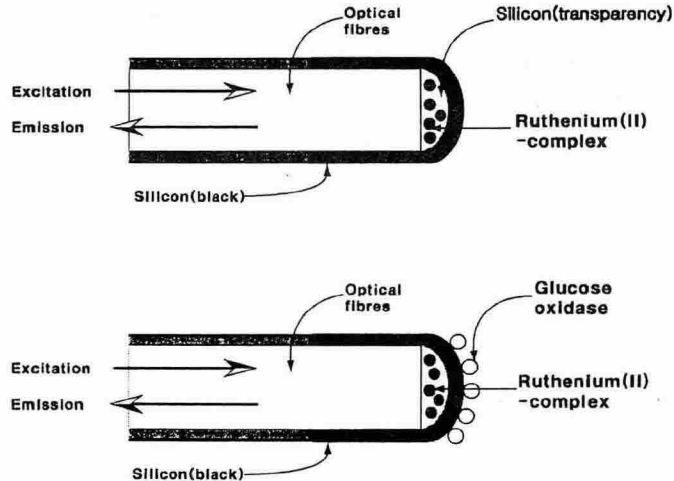


Fig 1. Set up of Optic Sensor. (a) Fiber Optic Oxygen Sensor. (b) Fiber Optic Glucose Sensor

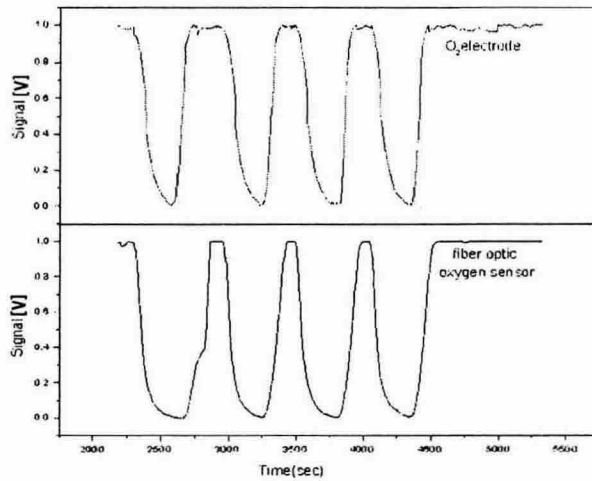


Fig 2. Comparison of O_2 concentrations between Fiber Optic Oxygen Sensor and O_2 Electrode.

참고문헌

1. Brian E (1996), *Biosensors An Introduction*, John Wiley & Sons, New York.
2. Stefan. M, C. Lindemann, R. Ulber and Thomas Scheper (1999), *Trends in Biotechnology*, 17:30-34.
3. Bambang. K, R. Andres and R. Narayanswamy (2001) *The Royal Society of chemistry*, 126:1469-1491.