

새로운 식물조직 바이오센서에 의한 글루타민의 정량

印權植[†] · 金肇元 · 全泳國
계명대학교 자연과학대학 화학과
(1990. 8. 10 접수)

Determination of Glutamine Utilizing New Plant Tissue Bio-Sensor

Gwon Shik Ihn[†], Bong Weon Kim, and Young Guk Jeon

Department of Chemistry, College of Natural Science, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

(Received August 10, 1990)

요 약. 장미 구성요소 중 꽃잎 부분을 NH_3 감응센서에 고정시켜서 글루타민 조직센서를 제조하여 pH, 온도, 완충용액, 조직 양 및 여러 가지 방해물질의 영향과 전극의 수명 등에 관하여 조사하였다. 그 결과 37°C 에서 pH 7.8, 0.2 M 인산완충용액을 사용하였을 때, $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ 글루타민 직선범위와 52 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. 이 때 사용한 조직 양은 50 mg이었다. 본 센서는 선택성이 탁월한 것으로 나타났다. 이 센서를 장미의 다른 구성요소와 비교하였다. 실제 글루타민의 정량에 유용하게 사용될 것으로 나타났다.

ABSTRACT. The bio-sensor for glutamine has been constructed by immobilizing petal of the rose structural elements on an ammonia gas sensor. This sensor was investigated for the effects of pH, temperature, buffer solution, tissular amounts, interferences and lifetime. As a result, the tissue sensor showed linear range of $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ glutamine with a slope of 52 mV/decade in pH 7.8, 0.2 M phosphate beffer solution at 37°C . The tissular amounts used for this sensor was 50 mg. This sensor showed excellent selectivity. This sensor was compared with other structural elements of rose. Actually, this tissue sensor appeared to be very useful for the determination of glutamine.

서 론

바이오센서는 생체관련물질인 효소, 미생물, 항원 및 동식물의 조직 등을 막에 고정시켜서 전기화학 장치와 연결하여 용액계에 있는 검출대상물질을 전 위치법과 전류법으로 측정한다. 이러한 생체물질은 측정대상에 대한 선택성이 탁월하고 감도가 예민하다. 특히 생체반응에 대하여 촉매로 작용하는 효소는 특정한 물질에 선택적으로 작용하기 때문에 효소센서에 대한 연구가 매우 활발히 진행되고 있다.

그러나 효소는 주로 미생물로부터 추출 정제하고 있으며, 단백질이기 때문에 불안정하며, 추출단계에서 활성을 잃을 수 있고 보관 관리에도 문제점이

지적되어 미생물 자체의 효소반응을 이용한 미생물 센서가 개발되었다². 효소에 비해서 박테리아가 활성이 더 지속되었고³ NH_3 와 CO_2 기체감응센서에 고정시켰을 때에는 CO_2 기체감응센서의 선택성이 훨씬 더 우수하였다⁴.

최근에는 효소의 활성이 좋으며, 장시간 안정하게 사용할 수 있고, 주위에서 쉽게 구할 수 있는 동식물의 조직을 이용한 조직센서에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다⁵⁻¹⁸.

최초의 동물조직센서는 Rechnitz 등⁹에 의해 보고되었으며, 이 센서는 아르기나아제 효소를 가지고 있는 소의 간조직을 이용하여 아르기닌을 정량하였

다. Ma 등⁶은 돼지 신장조직을 이용하여 *glucosamine-6-phosphate*를 정량하였으며, Arnold 등⁷은 쥐 소장 점막을 이용하여 아데노신을 정량하였다. 또한 Fiocchi 등⁸은 AMP 정량에 토끼의 근육을 이용하여 효소센서보다 감응기울기와 수명 면에서 현저히 좋은 결과를 얻었으며, 토끼의 간조직을 이용한 구아닌 바이오센서가 Arnold 등¹⁰에 의해 보고되었다.

한편 최초의 식물조직센서로는 호박의 종과피를 CO₂ 기체감응센서에 고정시켜 글루타마이트를 정량한¹¹ 이후 Kuruyama 등¹²은 옥수수 알맹이를 이용하여 피루브산을 정량하였고, Arnold 등¹³은 jack bean meal의 식물조직과 우레아제를 이용한 결과를 보고하였는데, 식물조직센서가 감응기울기와 수명이 월등히 우수하였다. Schubert 등¹⁴은 사탕무우를 이용하여 티로신을 정량하였고, Smit 등¹⁵은 오이 잎을 이용하여 시스테인을 정량한 바 있다. 최근에는 Riboflavin sensor¹⁶, flower sensor¹⁷ 등도 보고되었다.

한편 가장 보편적이고 생물학적으로 중요한 아미노산은 모든 생물에서 발견되는 폴리아미드의 거대분자인 단백질의 구성한다. 이러한 단백질의 아미드결합을 산 가수분해하면 얻어지는 아미노산 중에서 글루타민(Gln)은 생체속에서는 아미노트랜스페라아제(aminotransferase)의 기질이 되며²⁶, 또한 글루타미나아제에 의해 글루타마이트와 암모니아를 생성한다¹⁸.

바이오센서를 이용한 글루타민 정량법은 Guilbault 등¹⁹과 Huang²⁰에 의한 효소전극과 Rechnitz 등²¹, Mascini 등²²과 Ihn 등²³에 의한 미생물전극이 보고된 바 있다. 미생물전극은 *Sarcina flava*를 사용했을 때가 *Proteus vulgaris*를 사용했을 때 보다 좋은 결과를 나타내었다^{21,23}. 특히, Mascini는 *Sarcina flava* 박테리아를 이용하여 글루타민이 암모니아로 전환되는 것을 자동화된 flow system으로 측정하였다²². 특히 Arnold 등¹⁸은 돼지의 신장조직을 이용하여 글루타민을 정량한 동물조직센서를 보고하였으나, 글루타민 정량에 식물조직센서가 이용된 바는 없다.

따라서 본 연구에서는 글루타민을 정량하기 위해 아직까지 보고된 바 없는 장미조직을 이용한 식물조직센서를 제조하고, 이 식물조직센서를 사용하여 글루타민을 정량함에 있어서 분석의 최적조건을 찾

고자 한다.

장미조직센서로 글루타민 정량에 따른 pH, 온도, 완충용액 및 조직 양의 최적조건을 찾고, 이에 따른 아미노산 및 핵산에 대한 선택성 여부 및 장미조직센서의 수명을 조사하여 최적 장미조직센서를 찾았기에 이를 보고하고자 한다.

실 험

시약 및 기기

시 약. 글루타민은 Sigma제, 완충용액으로 사용한 Na₂HPO₄와 NaH₂PO₄는 Wako제, Tris(hydroxymethyl)aminomethane은 Sigma제 특급시약을 사용하였다. 또한 조직이 부패되는 것을 막기 위해 사용한 NaN₃는 Sigma제 특급시약을 사용하였다.

그 외 아미노산 및 핵산류 등은 Sigma제, Wako제, Fluka제 특급시약을 사용하였으며, 모든 용액은 탈염된 재증류수를 사용하였다.

식물조직. 본 실험에 사용된 장미는 new-carina (*Rosa-Hybrida*)로서 화원에서 구입하여 사용하였다.

기 기. 암모니아 기체감응센서는 Orion Research Model 95-12를, 전위 및 pH 측정은 Orion research Digital pH/millivolt meter 611와 Beckman Model 76 Century SS pH meter를 사용하였으며, 항온조는 Forma Scientific Model 2067를 사용하였다. 또한 투석막은 Millipore제(pore size 0.3 μm)를 사용하였다.

전극의 조립

장미의 꽃잎 부분 50 mg을 잘게 썰어 다진 후, 투석막과 기체투과막 사이에 놓고, 기존의 NH₃ 기체감응센서(φ 7 mm)의 하단부에 부착시켜서 장미조직센서를 Fig. 1과 같이 조립한다. 조립된 전극을 0.02% NaN₃가 포함된 완충용액에서 조직이 가지고 있는 NH₃를 제거하기 위해서 4~6시간 저장한다. 저장 후 이 전극을 시료용액 50 ml에 담그고 용액을 자석젓개로 저어가면서 기전력을 기록하였다.

결과 및 고찰

조직센서에 의한 글루타민의 검정선

용액 중의 글루타민은 투석막을 통과한 후, 조직이

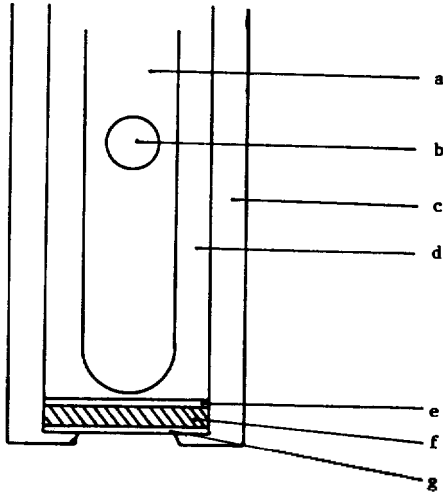
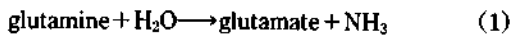
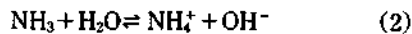


Fig. 1. Schematic diagram of the tissue sensor for glutamine: a. inner body, b. reference element, c. outer body, d. internal filling solution, e. gas-permeable membrane, f. tissular layer, g. dialysis membrane.

가지고 있는 글루타미나아제에 의해 글루타마이트와 NH_3 기체로 분해된다¹⁸.



이렇게 하여 생성된 NH_3 기체는 NH_3 기체만을 선택적으로 통과하는 가스투과막을 통과하여 NH_3 기체감응센서의 내부용액으로 확산되어 들어간다²¹. 내부용액으로 들어온 NH_3 기체는 다음과 같이 평형을 이루며 반응이 진행된다.



$$\frac{[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-]}{[\text{NH}_3]} = K \quad (3)$$

$$[\text{NH}_4^+][\text{OH}^-] = K \cdot [\text{NH}_3] \quad (4)$$

식 (4)에서 $[\text{NH}_4^+]$ 항은 내부용액 NH_4Cl 에 의해 일정하게 유지되므로 상수로 간주할 수 있다.

$$[\text{OH}^-] = \frac{K}{[\text{NH}_4^+]} [\text{NH}_3] = K'[\text{NH}_3] \quad (5)$$

곧 글루타민의 전위는 Nernst식에 의해 다음과 같다.

$$E = E_0 - S \log[\text{OH}^-] \quad (6)$$

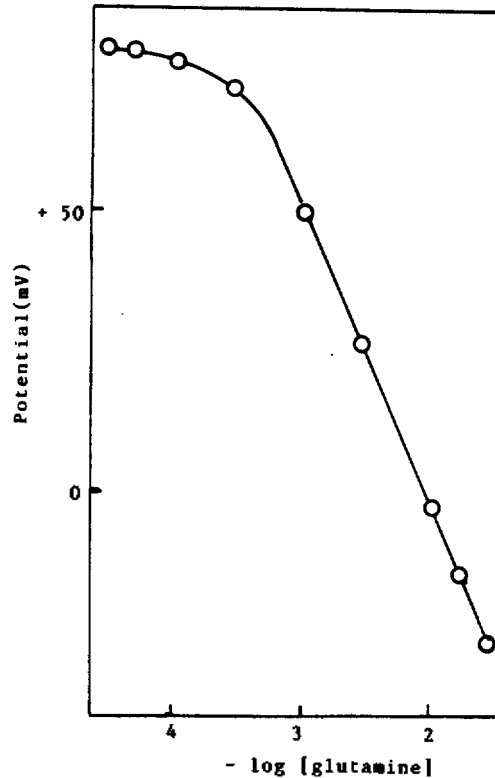


Fig. 2. Calibration curves on optimum conditions for glutamine

여기서 S 는 전극의 감응기울기이며, $[\text{OH}^-]$ 가 $[\text{NH}_3]$ 의 농도에 직접적으로 비례하므로 다음의 식이 된다.

$$E = E_1 - S \log[\text{NH}_3] \quad (7)$$

따라서 전위는 분해생성물인 NH_3 농도에 비례한다. 즉, 위의 과정에서 발생하는 NH_3 기체를 조직센서로 측정함으로써 글루타민을 정량할 수 있다.

글루타민을 정량하기 위한 최적조건은 pH 7.8, 온도 37°C, 조직량 50 mg, 0.2 M 인산완충용액으로 이 전극의 감응특성을 측정하여 구한 검정선은 상대오차 3.8%로 Fig. 2에 나타내었다.

Fig. 2로부터 알 수 있는 것처럼 글루타민의 농도가 $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 내에서 검정선이 직선이었으며 검출한계는 $5.0 \times 10^{-4} M$ 이었다. 감응기울기는 52 mV/decade였으며, 이 값은 글루타민의 정량에 사용한 박테리아센서의 48 mV/decade²¹보다 훨씬 좋은 값이었다.

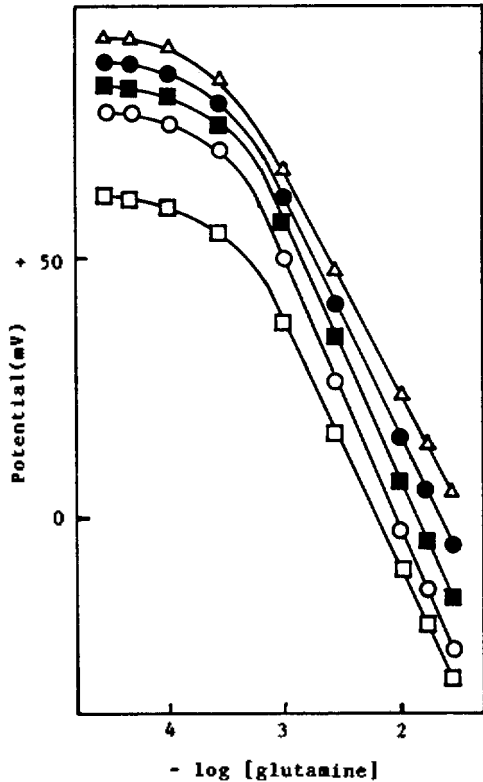


Fig. 3. Effect of pH in 0.2M phosphate buffer solution at 37°C. pH 7.2(△-△), pH 7.4(●-●), pH 7.6(■-■), pH 7.8(○-○), pH 8.0(□-□).

조직센서의 최적조건 조사

pH의 영향. 글루타민을 정량할 때의 식물조직의 활성이 가장 큰 pH를 찾기 위하여 식물조직센서에 대한 pH의 영향을 다음과 같이 조사하였다.

장미조직센서의 경우 꽃잎의 양 50 mg, 온도 37°C로 고정시키고, 0.2M 인산완충용액의 pH를 7.2에서 8.0까지 변화시켜서 측정된 장미조직센서의 감응특성을 Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 3을 보면 알 수 있는 바와 같이 pH 7.2에서는 글루타민의 농도가 $9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 농도범위내에서 직선이었고, 44 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. pH 7.4, 7.6, 7.8에서는 같은 $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 글루타민의 농도범위내에서 직선이었고, 각각 46, 50, 52 mV/decade의 감응기울기를 나타내어서 pH 7.8일 때가 가장 좋은 감응기울기를 나타내었다. 또한 pH 8.0에서는 $9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times$

Table 1. Effect of temperature on the activity of rose tissue in 0.2M phosphate buffer solution at pH 7.8

Temp. (°C)	Linear range (M)	Response slope (mV/decade) (negative slope)	Response time (mins)
30	$9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	37	17-20
33	$9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	42	17-20
35	$8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	48	15-18
37	$8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$	52	15-18

$10^{-2} M$ 글루타민의 농도범위내에서 직선이었고, 48 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. 가장 좋은 감응을 나타낸 pH 7.8은 돼지 신장 조직센서로 글루타민을 정량할 때의 최적 pH인 7.8과 같았다¹⁸.

온도의 영향. 글루타민을 정량할 때에 장미조직이 가장 좋은 활성을 나타내는 온도를 알기 위해 측정용액의 온도를 변화시켜서 각 센서의 감응특성을 조사하였다.

완충용액과 조직량 그리고 pH를 0.2M 인산완충용액, 50 mg, 7.8로 각각 고정시키고 용액의 온도를 30°C에서 37°C까지 변화시켜서 측정된 이 센서의 감응특성을 Table 1에 나타내었다.

Table 1로부터 알 수 있는 것처럼 30°C와 33°C에서는 글루타민의 농도가 $9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 범위에서 직선이었고, 각각 37 mV/decade, 42 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. 또한 35°C와 37°C에서는 같은 $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 글루타민의 농도범위내에서 직선이었으며 각각 48 mV/decade, 52 mV/decade로 나타내었다.

Table 1에서처럼 온도가 높아질수록 감응기울기가 증가하였으며, 37°C일 때가 가장 좋은 감응을 나타내었다. 이 온도는 글루타민 정량에 돼지 신장조직을 이용했을 때의 30°C일 때보다는 높은 온도였다. 그러나 37°C 이상에서는 기전력이 불안정하여 재현성 있는 결과를 얻을 수 없었기에 제외하였다. 따라서 본 조직센서를 사용할 때 용액의 온도를 37°C로 정하였다.

완충용액의 영향. 글루타민을 정량할 때에 최적

Table 2. Effect of buffer solution on the activity of rose tissue at pH 7.8, 37°C

Buffer	Linear range (M)	Response slope (mV/decade) (negative slope)	Response time (mins)
0.05 M phosphate	7.0×10^{-4} -5.0×10^{-2}	41	14-17
0.1 M phosphate	8.0×10^{-4} -5.0×10^{-2}	45	15-18
0.2 M phosphate	8.0×10^{-4} -5.0×10^{-2}	52	15-18
0.2 M Tris-HCl	9.0×10^{-4} -5.0×10^{-2}	48	16-19

감응특성을 나타내는 완충용액을 찾기 위해 장미조직센서의 완충용액의 영향을 다음과 같이 조사하였다.

pH, 온도 및 꽃잎의 양을 각각 7.8, 37°C, 50 mg으로 고정시키고, 인산완충용액의 농도를 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M로 변화시켰으며, 아울러 tris-HCl 완충용액에 대하여 측정한 이 센서의 감응특성을 Table 2에 나타내었다.

Table 2로부터 알 수 있는 것처럼 최적 감응을 나타낸 0.2 M 인산완충용액의 경우, 글루타민의 농도가 $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$ M의 범위에서 직선이었고, 52 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. 0.1 M 인산완충용액과 0.05 M 인산완충용액의 경우에는 감응기울기가 떨어졌다. 한편 0.2 M tris-HCl 완충용액의 경우에는 인산완충용액에서 보다 떨어진 값을 나타내었다. 따라서 0.2 M 인산완충용액이 최적 완충용액임을 알 수 있었다.

조직의 양에 의한 영향. 글루타민을 정량할 때의 최적 조직의 양을 알아보기 위해 조직센서의 조직 양에 따른 센서의 감응특성을 다음과 같이 조사하였다.

pH, 온도 및 완충용액을 각각 7.8, 37°C, 0.2 M 인산완충용액으로 고정시키고, 사용한 장미의 조직 양을 30~60 mg으로 변화시켜서 측정한 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

사용한 조직의 양이 30 mg일 때는 $1.0 \times 10^{-3} \sim 5.0 \times 10^{-2}$ M 글루타민의 농도범위에서 직선이었고, 41 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. 40 mg일

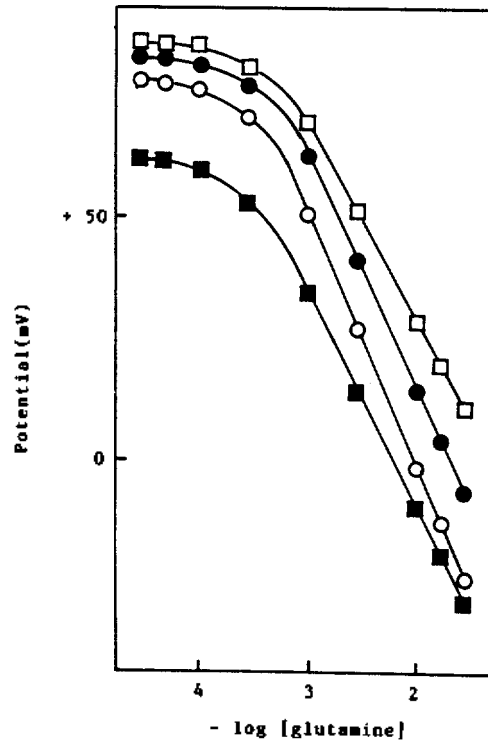


Fig. 4. Effect of tissular amounts in 0.2 M phosphate buffer solution at pH 7.8, 37°C. 30 mg (□-□), 40 mg (●-●), 50 mg (○-○), 60 mg (■-■).

때는 글루타민의 농도가 $9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$ M 범위에서 직선이었고, 감응기울기는 48 mV/decade였다. 가장 좋은 감응을 나타낸 조직의 양이 50 mg에서는 $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2}$ M 글루타민의 농도범위에서 직선이었고, 52 mV/decade의 감응기울기를 나타내었다. 한편 조직의 양이 60 mg일 때는 글루타민의 농도가 $8.0 \times 10^{-4} \sim 8.0 \times 10^{-2}$ M에서 직선이었고, 감응기울기는 44 mV/decade로서 조직의 양이 50 mg일 때보다 떨어진 값이었다. 따라서 본 조직센서의 최적 조직의 양이 50 mg임을 알 수 있었다.

아미노산과 핵산에 대한 선택성 조사. 글루타민을 장미조직센서로써 정량할 때에 이 센서의 감응에 방해물을 하는 방해물질을 알아보기 위해 아미노산 및 핵산이 기전력에 미치는 영향을 다음과 같이 조사하였다.

1.0×10^{-3} M 글루타민의 수용액에 각종의 아미

노산 및 핵산을 같은 농도가 되도록 첨가시켰을 때 방해하는 기전력 변화정도를 ΔmV 로 나타내어 Table 3과 4에 나타내었다.

이 결과 아미노산은 전혀 방해를 끼치지 않았으며, 핵산 중에서 시티딘과 2'-데옥시시티딘이 각각 6, 9 mV/decade를 방해하였다. 한편 측정된 요소도 4 mV/decade를 방해하였다.

글루타민의 정량에 이용된 박테리아 센서의 경우는 대부분의 아미노산에 방해를 받았지만²³ 본 조직센서의 경우는 아미노산에는 전혀 방해를 받지 않는 기존의 어느 전극보다도 선택성이 탁월한 장점이 있었다.

식물 구성요소에 따른 activity 측정. 본 실험에 사용한 장미의 각 구성요소를 앞에서 측정할 실험의 최적조건인 완충용액의 농도 0.2 M, pH 7.8, 온도 37 °C, 각 구성요소의 양을 50 mg으로 고정시키고, 측정된 결과는 다음과 같다.

꽃잎의 경우, $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 글루타민의 직선범위내에서 52 mV/decade의 감응기울기를 나

타내었고, 감응시간은 15~18분이었다.

엽신의 경우, $9.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 글루타민의 직선범위내에서 47 mV/decade의 감응기울기와 20~23분의 감응시간을 나타내었다.

또한 약편의 경우, $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$ 글루타민의 직선농도 범위내에서 50 mV/decade의 감응기울기와 15~18분의 감응시간이 측정되었다. 글루타민을 장미센서로써 정량한다면 꽃잎, 엽신, 약편 모두가 이용 가능하지만, 꽃잎의 경우가 가장 좋은 결과를 얻을 수 있다.

전극의 수명. 본 연구에서 개발한 식물조직센서를 어느 기간까지 유용하게 사용할 수 있는지 알아보기 위해 식물조직센서의 최적 실험조건에서 25 일 동안 4°C로 전극을 보관하면서 전극의 감응특성을 다음과 같이 조사하여 Fig. 5에 나타내었다.

Fig. 5로부터 알 수 있는 것처럼 직선농도범위는

Table 4. Effect of nucleic acids on the activity of rose tissue in 0.2M phosphate buffer solution at pH 7.8, 37 °C

Nucleic acids	Response (mV)	ΔmV
Adenine	+50	0
Adenosine	+50	0
Cytidine	+44	-6
Cytosine	+50	0
Guanosine	+50	0
Uracil	+50	0
2'-deoxycytidine	+41	-9
2'-deoxyadenosine	+50	0
2'-deoxyguanosine	+50	0
None	+50	0

Table 3. Effect of amino acids on the activity of rose tissue in 0.2M phosphate buffer solution at pH 7.8, 37 °C

Amino acids	Response (mV)	ΔmV
Glycine	+50	0
L-tryptophan	+50	0
L-lysine	+50	0
L-arginine	+50	0
DL-valine	+50	0
L-serine	+50	0
L-tyrosine	+50	0
L-cysteine	+50	0
L-alanine	+50	0
L-isoleucine	+50	0
L-asparagine	+50	0
L-leucine	+50	0
L-methionine	+50	0
DL-phenylalanine	+50	0
L-histidine	+50	0
L-threonine	+50	0
L-proline	+50	0
Urea	+46	-4
None	+50	0

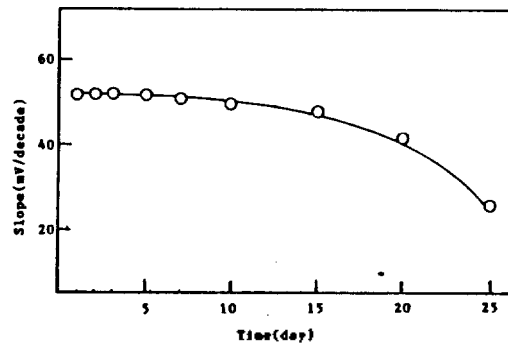


Fig. 5. Life time of the tissue sensors for glutamine.

10일까지는 변화가 없었으며, 15일 이후에는 다소 줄어졌다. 또한 시간이 지남에 따라 감응기울기는 조금씩 감소하였으며 감응시간은 길어졌다.

그러나 본 식물조직센서는 글루타민을 정량할 때에 사용한 효소센서의 수명 1일¹⁸과 마이크로솜을 이용하여 SO_3^- 을 정량할 때의 2일²⁴ 및 클로로플라스트를 이용하여 PO_4^- 을 정량할 때의 2시간²⁵보다는 길었다. 또한 글루타민 정량에 사용한 미토콘드리아전극의 1일¹⁸과 호박의 증과피를 이용하여 글루타민산을 정량할 때의 7일¹¹보다도 길게 나타났으나, 글루타민 정량에 사용한 *Sarcina flava* 박테리아전극의 20일²¹보다는 짧게 나타났다.

결 론

본 연구에서 장미(꽃잎)을 이용하여 식물조직센서를 개발하고, 수용액 속의 글루타민을 정량할 때의 최적 실험조건을 조사하였다.

장미 조직센서의 최적 실험조건은 0.2M 인산완충용액, pH 7.8, 온도 37°C, 조직의 양 50 mg이었다. 이 최적조건에서 정량이 가능한 글루타민의 직선농도범위는 $8.0 \times 10^{-4} \sim 5.0 \times 10^{-2} M$, 검출한계는 $5.0 \times 10^{-4} M$, 감응기울기는 52 mV/decade, 감응시간은 15~18분이었다.

본 전극은 선택성이 탁월하여 다른 아미노산의 방해를 전혀 받지 않았다. 또한 전극의 수명은 10일로서 이 기간내에는 직선농도범위가 전혀 변화가 없었다.

따라서 본 연구는 쉽게 구할 수 있는 식물조직인 장미를 이용함으로써 글루타민 정량에 기존의 사용된 센서보다 훨씬 좋은 감응을 나타내었고, 선택성이 탁월하므로 글루타민의 정량에 유용하다.

본 연구는 1989년도 한국과학재단의 목적기초연구비 지원에 의하여 이루어졌으므로 이에 감사료를 드린다.

인 용 문 헌

- G. G. Guilbault, "Analytical uses of Immobilized Enzymes", Marcel. Bekker, New York, (1984).
- G. A. Rechnitz, R. K. Kobos, S. J. Riechel, and C. R. Gebauer, *Anal. Chim. Acta*, **94**, 357 (1977).
- R. K. Kobos and G. A. Rechnitz, *Anal. Lett.*, **10**(10), 751 (1977).
- G. S. Ihn, B. W. Kim, M. J. Shon, and I. T. Kim, *J. Kor. Chem. Soc.*, **32**(4), 323 (1988).
- G. A. Rechnitz, *Chem. Eng. News*, **56**, 16 (1978).
- Y. L. Ma and G. A. Rechnitz, *Anal. Lett.*, **18**(B13), 1635 (1985).
- M. A. Arnold and G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, **53**, 515 (1981).
- M. A. Arnold and J. A. Flocchi, *Anal. Lett.*, **17**, 2091 (1984).
- M. A. Arnold, *Anal. Chem.*, **53**, 1837 (1981).
- M. A. Arnold, *ibid.*, **54**, 777 (1982).
- S. Kuriyama and G. A. Rechnitz, *Anal. Chim. Acta*, **131**, 91 (1981).
- S. Kuriyama, M. A. Arnold, and G. A. Rechnitz, *J. Membr. Sci.*, **12**, (1983).
- M. A. Arnold and S. A. Glazier, *Biotech. Lett.*, **6**, 313 (1984).
- F. Schubert, R. Renneberg, F. W. Scheller, and L. Kirstein, *Anal. Chem.*, **56**, 1677 (1984).
- N. Smit and G. A. Rechnitz, *Biotech. Lett.*, **6**, 209 (1984).
- Toshio Yao and G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, **59**, 2115 (1987).
- S. Uchiyama and G. A. Rechnitz, *Anal. Lett.*, **20**(3), 451 (1987).
- M. A. Arnold and G. A. Rechnitz, *Anal. Chem.*, **52**, 1170 (1980).
- G. G. Guilbault and F. Shu, *Anal. Chim. Acta*, **56**, 333 (1971).
- Y. Z. Huang, *Anal. Biochem.*, **61**, 464 (1974).
- G. A. Rechnitz, T. L. Riechel, R. K. Kobos, and M. E. Meyerhoff, *Science*, **199**, 440 (1978).
- M. Mascini and G. A. Rechnitz, *Anal. Chim. Acta*, **116**, 169 (1980).
- 인권식, 김인탁, 계명대학교 기초과학연구소 연구논문집, **6**(1), 157(1987).
- I. Karube, S. Sogabe, T. Matsunaga, and S. Suzuki, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **17**, 216 (1983).
- G. A. Rechnitz, M. A. Arnold, and M. E. Meyerhoff, *Nature*, **278**, 466 (1979).
- L. Stryer, "Biochemistry", 3rd. Ed., p.495, W. H. Freeman & Company, New York, U. S. A. (1988).