Journal of Korean Society on Water Quality, Vol. 23, No. 1, pp.33-37 (2007)

질소화합물(NH_4^+, NO_3^-)의 모니터링을 위한 마이크로 센서의 작동에 미치는 온도 영향

이종원 · 전경미 · 장 암 · 유혜원 · 조재원 · 김인수†

광주과학기술원 환경공학과

The Effect of Temperature on Microsensor Chip for the Monitoring of Nitrogenous Compounds (NH_4^+, NO_3^-)

Jong-Won Lee · Kyongmi Chon · Am Jang · Hye-Weon Yu · Jaeweon Cho · In S. Kim†

Department of Environmental Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST)

(Received 3 August 2006, Accepted 20 November 2006)

Abstract

Microelectrodes for measuring nitrogenous compounds (NH_4^+, NO_3^-) that were applied into the microfluidics chips was investigated, and the effect of temperature was especially examined. In this specific research, microelectrodes were first calibrated to check the function, and then microsensor that was combined microelectrode with microfluidic chip was re-calibrated. Experimental results showed that there are no change in the function between microelectrode and microfluidic chip. The electro motive force (EMF) for the NH_4^+ microsensor was similar to the one theoretically calculated from Nernst equation, but the EMF for NO_3^- showed minor change.

keywords : Microelectrode, Microfluidics chip, Nitrogenous compound

1. 서 론

수계에 유출된 질소 · 인 등의 영양염류는 호소의 부영양화(eutrophication)을 가속화 시키며 수중 생물에게 직접적으로 독성을 미칠 수 있음이 보고되고 있다(Howard et al., 1995). 특히, 수중의 높은 농도의 NH_4^+는 NO_2^-, NO_3^-로 산화되는 과정에서 용존산소의 고갈을 초래함으로써 수생 동·식물의 생태계에 큰 영향을 미칠 수 있다. 또한 지하수 중에 존재하는 질산성 질소는 영아에게 청색증(methemoglobinemia)를 유발할 수 있기 때문에, 현재 대다수 하 · 폐수처리장에서 유해화학물질 처리와 더불어, 영양염류제거는 매우 중요한 문제로 인식되어 왔다. 하지만 예측되지 못한 사고가 발생하거나, 다른 비 점오염원 등에서 오염물질이 배출되었을 때 신속히 배출지점과 배출농도를 파악하지 못함으로써 예측되지 못한 문제점들이 발생될 수 있다. 따라서 효율적인 공정의 운전과 수중 생태계를 위하여 신속하고 정확한 질소 화합물의 모니터링이 요구되고 있다. 하지만, 기존 수질오염공정시험법에 제시되고 있는 측정방법으로는 이들 질소화합물의 즉각적인 측정이 불가능하다. 물론 현재 상업적으로 판매되고 있는 다양한 측정키트를 이용함으로 측정시간을 줄일 수 있지만, 실시간 모니터링에서는 샘플의 보관 및 운반 등의 문제점들이 야기될 수 있다. 따라서 본 연구에서 이들의 문제점을 해결하기 위하여 NH_4^+, NO_3^- 이온 선택성 미소전극(microelectrode)과 미세유동 칩(microfluidics chip)을 결합한 마이크로 센서의 제작에 대한 연구를 수행하였다. 연구에 사용된 이온 선택성 미소전극은 3~10 ㎛의 작은 tip size와 수초 이내 목적 이온을 짧은 시간에 측정할 수 있는 장점을 가지고 있다(APHA, 1986). 또한 미세유동 칩은 시료 측정 시 아주 작은 양을 요구하기 때문에 이들을 결합한 마이크로 센서는 수초 내의 response time으로 작은 양의 샘플양으로부터 질소화합물 농도를 정확하고 신속하게 측정할 수 있다. 미소전극의 작동에 영향을 미칠 수 있는 요인으로는 대상물질인 NH_4^+, NO_3^- 등과 동일한 전하를 가지고 있는 1가 양이온 및 음이온들과, 온도에 대한 영향을 들 수 있다. 하지만 NH_4^+ 미소전극의 경우 K^+, Na^+ 등의 이온, 그리고 NO_3^- 미소전극의 경우 NO_2^-, Cl^- 등의 이온들에 대해서 방해효과가 높지 않다고 이미 보고되었다(Jang, 2002). 하지만 온도변화에 대한 영향실험이 연구되어지지 않았고 특히 우리나라의 수계 온도변화는 최저 4°C에서 최대 28°C까지 수온의 변화가 관찰되었으므로(환경부, 2005), 실제 수계에 개발된 마이크로 센서를 적용시키기 위해서는 이에 대한 연구의 필요성이 대두되었다. 따라서 본 연구에서는 미세유동 칩 내에서의 미소전극의 작동여부를 확인하고, 온도 변화가 미소전극의 작동에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 연구하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 미소전극 실험장치

† To whom correspondence should be addressed.
iskim@gist.ac.kr

미소전극의 실험에는 전위차이를 발생시킬 수 있는 두 가지의 전극, 작동전극(working electrode)과 기준전극(reference electrode)이 필요하다. 실험에 사용한 모든 미소전극은 실험실내에서 직접 제작하여 사용하였으며, 제작과정은 다음과 같다(장 등, 2000). 작동전극의 경우 우선 glass capillary tubing (O.D. 1.2 mm, I.D. 0.69 mm, G120F-6, Warner Instrument Corp., USA)을 미소전극으로 사용하기 위하여 Micropuller (P-87, Sutter Instrument Co., USA)를 이용하여 미소탐침의 형태를 만든다. 그리고 특정 이온의 선택적 투과를 위한 LIX(liquid ion exchange) membrane을 위치시키기 위하여 tip 부분을 N,N-Dimethyltrimethylsilylamine(41716, Sigma-Aldrich, USA) 용액을 이용하여 소수성을 가지도록 처리한다. 처리된 capillary tubing은 200°C에서 24시간동안 가열한 후에 실온으로 냉각시킨다. 그 후 각각의 미소전극에 따라 알맞은 전해질 용액을 후충전(backfilling)한다. 예를 들면, NH_4^+ microelectrode인 경우 0.01M NH_4Cl, NO_3^- microelectrode인 경우 0.05M KCl+ 0.05M KNO_3 용액으로 후충전한다. 다음과정으로 LIX membrane을 장착하는 과정을 거친다. NH_4^+ microelectrode인 경우 Ammonium ionophore I cocktail A(09879, Fluka), NO_3^- microelectrode인 경우 Nitrate ionophore - cocktail A(72549, Sigma-Aldrich)를 사용한다. 마지막 단계로 LIX의 보존을 위하여 10% cellulose acetate 용액에 빠른 시간내에 접종시킨 후 BSA(Bovine Serum Albumin, A2153, sigma) 용액에서 경화시켜 팁 부분에 교차 연결된 단백질(cross-linked protein) 박막을 형성한다. 그리고 실험에 사용한 기준전극은 Ag/AgCl 기준전극이며, 전해질 용액으로는 3M의 KCl 용액으로 포화시켜 사용하였다. 작동전극과 동일한 glass capillary tubing을 사용하며, 제작과정은 다음과 같다. Ag wire(32703-4, 99+%, Aldrich)를 1N HCl 용액내에서 DC current source(6220 precision current source, Kiethely)에 연결하여 3V의 전압을 통하게 하여 Ag/AgCl 전선이 되도록 전기적인 도금을 한다. 이렇게 제작된 전선은 3M의 KCl용액에서 하루 이상 방치를 한 후 glass capillary tubing내부에 전해질용액과 함께 주입하여 사용한다. 이렇게 제작된 작동 및 기준미소전극은 1차 검량선(pre-calibration)을 작성함으로써 사용여부를 결정하게 된다. 여기서 선택된 미소전극을 실험에 사용한 후에 다시 2차 검량선(post-calibration)을 작성하여, 각각의 결과값의 평균을 최종 검량선으로 채택하여 미지시료의 농도를 결정하는데 사용한다.

2.2. 미세유동 칩 실험장치

최근 의료 및 생명, 화학 등 다양한 분야에서 사용되고 있는 미세유동 칩은 적은 양으로 측정대상물질을 측정할 수 있으며, 보관 및 휴대성이 뛰어나고 비교적 저렴한 제작비 등의 장점을 가지고 있다. 실험에서 사용된 모든 미세유동 칩은 직접 제작하여 사용하였다. 본 연구에서 사용된 미세유동 칩의 제작을 위하여 aromatic urethane diacrylate(UDA, SK UCB), triethylene glycol diacrylate(TEGDA, Satomer), acrylic acids, 1-hydroxycyclohexyl, phenyl ketone (Ciba, Switzland), tetraethylthiuran disulfate(Sigma-Aldrich)의 시약들이 사용되었으며, Kyongmi 등(2006)의 실험을 참고하여 LRPP(광학적 고분자 합성) 기술로 제작하였다.

2.3. 마이크로 센서의 제작 및 실험

제작된 각각의 작동 · 기준 미소전극들은 미세유동 칩내에 형성된 챔버안에서 측정할 수 있도록 위치시킨다. 전기적 신호를 측정하기 위한 signal processor (Chemical microsensor II, Diamond general, USA)에 그리고 내부로 주입된 대상물질이 외부로 유출되는 것을 막기 위하여 에폭시를 이용하여 각 틈을 막는다. 각각의 미소전극을 연결하고, 측정물질의 연속적인 주입을 위하여 syringe pump(kd Scientific)를 이용하여 일정 속도로 주입하였다. 모든 실험은 패러데이 케이지 안에서 수행되었다. 전체적인 실험의 모식도를 Fig. 1에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 기준전극에 따른 미소전극의 작동 평가

미소전극 실험에서 기준전극은 안정적이며, 고정적인 전극전위를 가지고 있는 전극으로서 전위차를 측정할 때 꼭 필요한 전극이다(Renata et al., 2006).

본 실험에서 마이크로 센서의 제작을 위해서는 기준전극(manual reference electrode)을 직접 제작하여 사용하였으며, 그 제작된 기준전극의 작동은 상업적으로 판매되고 있는 기준전극(commercial reference electrode)과 비교했을 때 유사한 결과 값을 나타내었다. 따라서 최초 상업적으로 판매되는 기준전극(MI-401, Diamond general Corp.)을 이용하여 실험을 한 후, 다시 동일한 작동전극과 직접 제작된 기준전극을 이용하여 비교실험을 하여 두 결과값 사이의 차이를 비교하였다.

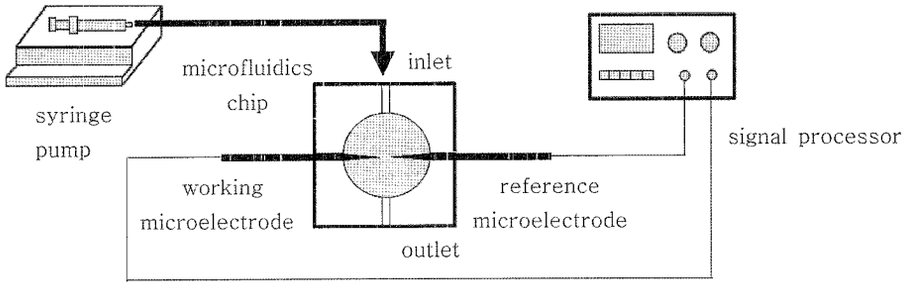

Fig. 1. Schematic diagram of microsensor measurement system.

Table 1과 Fig. 2에서의 결과에 의하면, 직접 제작된 기준전극을 사용하였을 때의 결과값은, Nernst equation에 따른 이론적인 값과 유사한 경향을 보였다. 그리고 각 농도에서의 응답시간(response time)은 보통 10~20초 내외였으며, 낮은 농도로 갈수록 응답시간이 길어지는 경향을 보였다.

또 제작과정 중 3M의 KCl 용액에 방치하는 안정화 과정이 중요하다는 것을 알 수 있었다. 적어도 하루 정도의 안정화 시간을 가진 Ag/AgCl 전선을 이용했을 때 얻어진 결과값이 더욱 이론적인 값에 가까웠으며, 선형성 역시 비교적 높은 편이었다.

Table 1. Comparison of manual and commercial reference electrodes

	Commercial ref. electrode		Manual ref. electrode		Theoretical value (mV)
NH_4^+	Slope	39.32	Slope	57.9	Slope 59.6 (as Nernst Equation)
	R^2	0.9638	R^2	0.9976	
NO_3^-	Slope	-56.53	Slope	-57.56	
	R^2	0.9964	R^2	0.9997	

3.2. 미세유동 칩에 적용된 미소전극의 작동

제작된 작동전극과 기준전극을 미세유동 칩에 결합시킨 후에 작동을 평가해 보았다. 지금까지 알려진 대로 미소전극 실험에 있어 비슷한 전하를 가지는 이온들(Na^+, Cl^- 등)이 미소전극의 작동에 영향을 미치는 것으로 알려져 있지만, 미세유동 칩의 제작에 사용되는 여러 가지 중합체들이 미소전극에 영향을 줄 수 있는 것에 대한 연구는 없으므로, 본 연구에서는 이에 대한 평가실험과 미세유동 칩에 적용된 미소전극의 지속성에 대한 실험을 동시에 수행하였다. 시간에 따른 미소전극의 작동의 변화는 나타났으며, 전체적으로 시간이 지남에 따라 전기적인 신호가 조금씩 감소하고 있는 것으로 확인되었다. 이는 기준전극의 문제로 생각되어진다. 기준전극에 채워진 전해질 용액의 누출을 완전히 막을 수 없어 소량의 전해질 용액이 외부로 연속적으로 누출되었다. 이런 문제로 전체적인 전기적 신호의 감도가 감소되어진다고 생각한다. Fig. 3에 그 결과들을 나타내었다.

3.3. 미소전극의 작동에 대한 온도의 영향

미소전극은 Nernst equation에 기초한 양 전극간의 전위차(EMF, electromotive force)를 측정함으로써 대상물질의 특정 이온의 농도를 측정할 수 있다. Nernst equation은 다음과 같은 형태를 가지고 있으며, 전위와 이온활동도 사이의 관계를 규명한 식이다.

$$E = E_o - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} log(a)$$

여기서 E: 작동전극과 기준전극의 전위차(mV), E_0: 비교

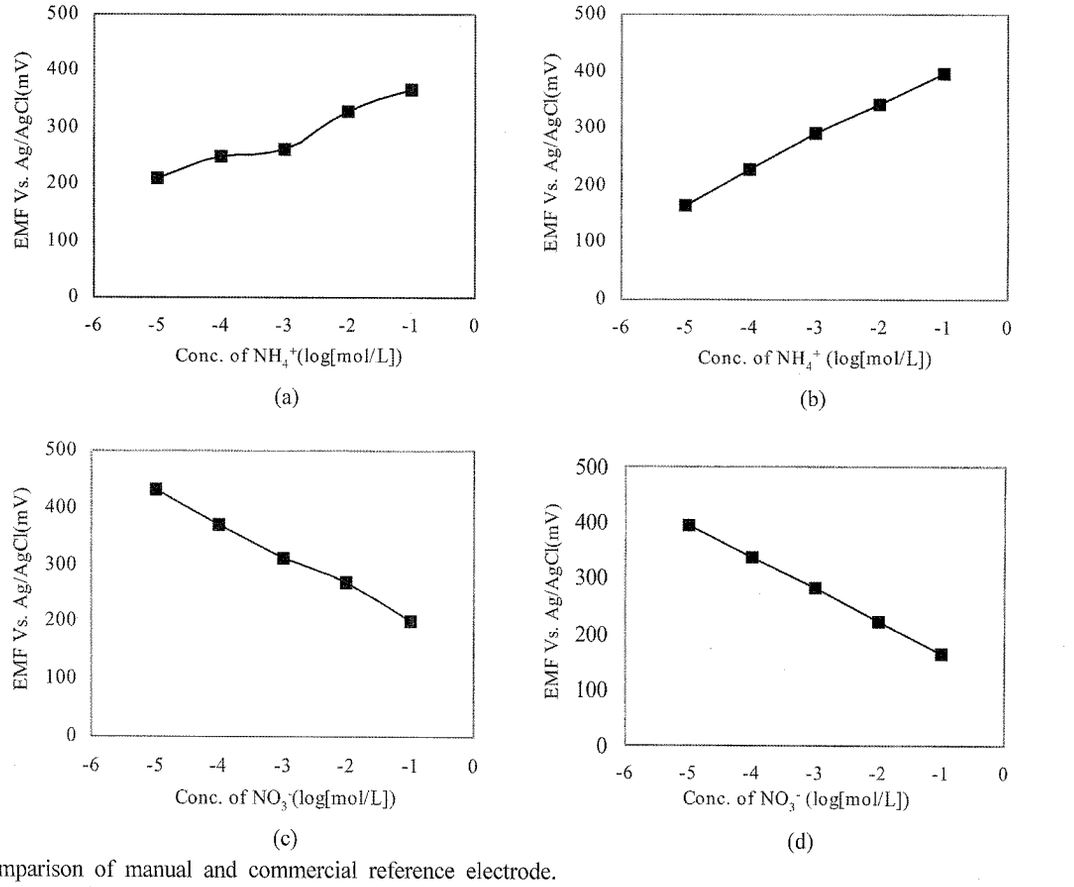

Fig. 2. Comparison of manual and commercial reference electrode.
(a), (c) NH_4^+, NO_3^- microelectrode with commercial reference electrode
(b), (d) NH_4^+, NO_3^- microelectrode with manual reference electrode

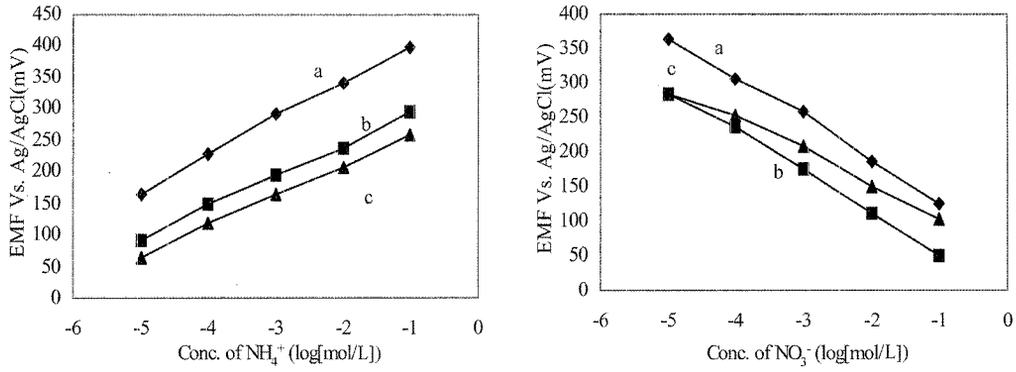

Fig. 3. Calibration of microelectrode.
((a) fresh; (b) after 5 hours; (c) after 1 day)

전극의 고유값(mV), R: 기체상수(1.987cal/mole), T: 절대온도(K), n: 전하량, F: faraday 상수(9,6485C), a: 이온활동도

Nernst equation식에 따르면 온도의 변화가 전위차에 영향을 미칠 수 있다. 하지만 그동안의 실험은 실내의 faraday cage내부에서 실험을 해왔으므로 수온의 변화가 거의 없어 온도의 영향은 무시하였다. 그러나 실험실내에서의 실험이 아닌 외부의 호소 · 하천등지에서 실험을 수행하게 되면 온도의 영향은 실험의 결과에 영향을 미치게 될 것이다.

그리고 우리나라는 계절에 따른 수온의 변화가 크기 때문에 온도변화에 따른 미소전극의 평가는 필수적인 것으로 사료된다. 환경부 자료에 의하면 최저 수온은 4~6°C정도에서 최고 수온은 26~28°C까지 증가하는 것으로 나타났다.

Table 2. Numerical data of micro-electrode as temperature variation

	5°C		30°C	
NH_4^+	Slope (mV)	52.36	Slope (mV)	61.45
	R^2	0.9973	R^2	0.9915
NO_3^-	Slope (mV)	-50.38	Slope (mV)	-73.12
	R^2	0.9974	R^2	0.985
Nernst equation	(-)55.2 mV		(-)60.2 mV	

따라서 본 연구에서는 5°C와 30°C의 온도를 가정하여 실험하였다. 그 결과는 Table 2와 Fig. 4에 나타내었다. 전체적인 그래프의 선형성은 0.99이상으로 높게 측정이 되었으며, 각각 미소전극의 측정은 온도에 따라 변화가 있었다. NH_4^+ 미소전극의 경우 각 농도 범위당 이론적인 값에 유사한 결과를 보였다. 하지만 NO_3^- 미소전극은 최소 5 mV에서 최대 10 mV까지의 오차를 보였다.

4. 결 론

본 연구에서는 이온 선택성 미소전극과 미세 유동칩을 이용하여 짧은 시간안에 작은 양의 대상물질을 측정할 수 있는 질소화합물 측정용 마이크로 센서의 제작에 대해 연구하였으며, 그에 대한 연구결과는 다음과 같다.

1) 직접 제작한 Ag/AgCl 기준전극의 작동은 일반적으로 판매하고 있는 Ag/AgCl 기준전극과 비교했을 때 높은 선형성과 빠른 응답시간을 가지므로 마이크로 센서의 구동에 문제가 없는 것으로 파악되었다.
2) 미세유동 칩을 제작하는 데 사용되는 중합체들은 미소전극의 작동에 영향이 없는 것으로 관찰되었다.
3) 미세유동 칩에 적용된 미소전극은 1일 이상의 수명을 가지고 있고, 경우에 따라서 1주일 이상의 수명을 가지

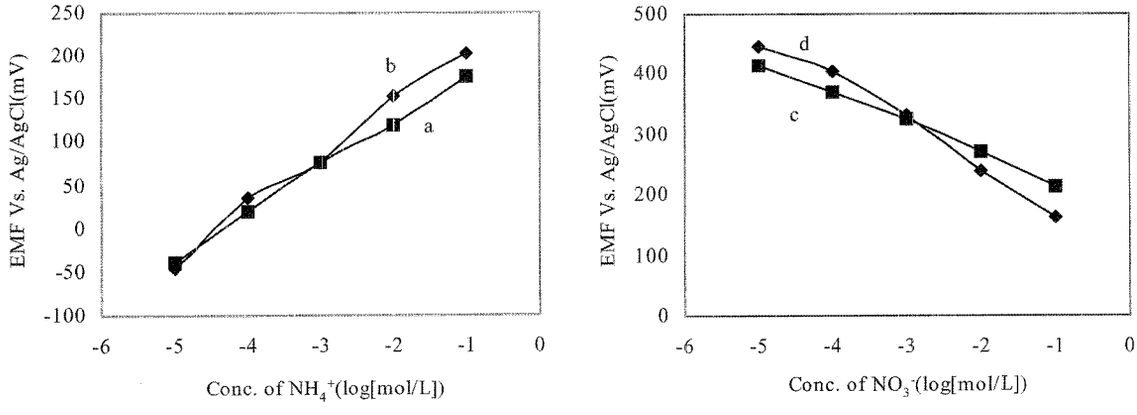

Fig. 4. Working of microelectrodes as temperature variation.
(a), (c) Working of NH_4^+, NO_3^- microelectrode at 5°C
(b), (d) Working of NH_4^+, NO_3^- microelectrode at 30°C

고 있는 것으로 확인되었으며, 시간에 따라 전기적인 감도는 다소 감소하는 것으로 나타났다.

4) 온도에 대한 영향은 확연히 나타났으며 NH_4^+ 미소전극의 경우 각 온도 범위에서의 EMF값이 Nernst equation에 따른 이론적인 값과 상당히 유사한 결과값을 보였지만, NO_3^- 미소전극의 경우는 약간의 오차가 있는 것으로 파악되었다.

사 사

본 연구는 21세기 프론티어 연구개발사업인 수자원의 지속적확보기술개발사업단의 지원(과제번호 4-1-2)과 일부 광주과학기술원 분산센서네트워크연구소의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

장 암, 이쌍구, 김성민, 김인수, 미소전극 센서를 이용한 탈질 생물막내의 이온 농도 측정, *대한환경공학회지*, **22**(10), pp. 1833-1841 (2000).

환경부, 환경통계연감 (2005).

APHA, Standard Methods for the Examination of Waters and Wastewaters, 16th ed., America (1986).

Howard, S. P., Donald, R. R. and George, T., Environmental Engineering, McGraw Hill, U.S.A. (1995).

Jang, Am, Characterization of Nitrifying Biofilm through the Technique of Microelectrodes and Fluorescence *in situ* Hybridization(FISH), Ph D. thesis, GIST, South Korea (2002).

Kyongmi, C., Jihee, M., Suhan, K., Kim, S.-D. and Cho, J. W., Bio-particle Separation using Microluidic Porous Plug for Environmental Monitoring, *Desalination*, In press, pp. 1-9 (2006).

Renata, M., Artur, D. and Wojciech, W., All-solid-state Miniaturised Plannar Reference Electrodes based on Ionic Liquids, *Sensors and Actuators B*, 115, pp. 552-557 (2006).