



서울대학교
교육종합연구원
과학교육연구소

서울특별시교육청 수학·과학과 우수교사 위탁특별연수

개인 연구 보고서

- 개발년도 2011년
- 과 목 생 물
- 제 목 고등학교 '효소의 성질' 실험의 문제점 분석 및
개선방안 연구
- 개 발 자 박 성 은

이 자료는 서울대학교 교육종합연구원 과학교육연구소가 서울특별시교육청으로부터 위탁받아 진행하고 있는 「수학·과학과 우수교사 위탁특별연수」 사업에서 개발되었습니다.



서울대학교 교육종합연구원 과학교육연구소

Seoul National University Center of Education Research Science Education Research Institute



2011학년도 수학·과학과 우수교사 위탁특별연수
개인 연구 보고서

고등학교 ‘효소의 성질’ 실험의 문제점 분석
및 개선방안 연구
- pH와 감자의 catalase의 관계를 중심으로-

지도교수 이 준 규

2011년 8월

상암고등학교 박성은



2011학년도 수학·과학과 우수교사 위탁특별연수
개인 연구 보고서

고등학교 ‘효소의 성질’ 실험의 문제점 분석
및 개선방안 연구
- pH와 감자의 catalase의 관계를 중심으로-

지도교수 이 준 규

2011년 8월

상암고등학교 박성은

지	도	교	수	이	준	규	(인)
				<hr/>			
서울대학교	과학교육연구소장			조	한	혁	(인)
				<hr/>			
서울대학교	교육종합연구원장			정	상	권	(인)
				<hr/>			

<차 례>

I. 서론	
1. 연구의 필요성과 목적	1
2. 연구 문제	2
3. 용어의 정의	
(1) Buffer solution	3
(2) Spectrophotometer(분광광도계)	4
(3) 효소활성단위	6
(4) filter assay	6
(5) 감자의 갈변 억제	6
(6) 컴퓨터 기반 실험 (MBL)	9
II. 이론적 배경 및 선행 연구	
1. 이론적 배경	
(1) 효소의 역할	10
(2) 효소 활성에 영향을 미치는 요인	12
(3) catalase	13
2. 선행 연구	14
III. 연구 방법	
1. 교과서 분석 및 filter assay	17
2. 교사 설문 조사	18
3. 실험 연구 방법	
(1) H ₂ O ₂ 농도에 따른 흡광도 표준곡선 작성	18
(2) 정제된 catalase 최적 pH 조사	19
(3) 감자 catalase 최적 pH 조사	19
(4) 대안적 실험 연구	20
IV. 연구 결과 및 논의	
1. 교과서 분석 및 filter assay의 결과	
(1) 교과서 분석	22
(2) filter assay 결과 및 문제점	24



2. 교사 설문 조사의 결과	25
3. H ₂ O ₂ 농도에 따른 흡광도 표준곡선	26
4. 정제된 catalase 최적 pH	27
5. 감자 catalase 최적 pH 조사	34
6. 대안적 실험 연구	38
(1) filter assay 보완하는 실험 연구	39
(2) filter assay 대체하는 실험 연구	
1) 발생 기체의 높이 측정 실험	41
2) 산소센서를 이용한 MBL 실험	42
V. 결론 및 제언	47
VI. 참고문헌	49
국문요약	51
약력	52

I. 서론

1. 연구의 필요성 및 목적

실험은 과학교육의 핵심적 활동이다(Lazarowitz & Tamir, 1994). 여러 연구에서 초·중등학생들의 75% 이상이 과학교육에서 과학실험이 재미있다고 답하였고, 90% 이상이 과학시간에 실험수업을 많이 하고 싶다는 응답을 할 정도로(박승재 등, 1998 ; 2002) 과학수업에서 실험은 중요한 위치를 차지하고 있다고 생각할 수 있다. 그리고 실험활동은 학생들에게 동기를 부여하고 흥미와 열정을 불러일으키고, 학습자가 기억하는 것을 돕기 때문에 실제 많은 교사들은 흥미를 불러일으키는 목적으로 실험수업을 하고 있고(Wellington 1998), 우리나라에서도 실험수업에 대한 과학교사의 설문조사한 연구에서 비록 학교 급이 고등학교로 갈수록 실험수업의 실시 정도는 감소하긴 하지만 참가한 교사의 50%이상이 실험수업을 중시하고 있었으며, 30.6%의 과학교사가 교과서에 제시한 실험 수업을 실시하고 있는 것으로 나타났다(이진승 등, 2006). 그러나 교과서에 제시된 실험들 중에는 실험을 수행할 때 이론을 통해 예측한 결과와 차이가 나는 등의 오류가 발견되기도 했고(지재화 등, 2009; 김용진&박인근, 2007; 방정아 등, 2006; 고영신 등, 2004; 박동조 등, 2001; 류오현 등, 2001; 김경희 등, 1999), 생물체를 재료로 할 경우에는 변인 통제가 힘들거나 불가능한 부분이 있어 상대적으로 실험의 결과의 오차가 크게 나타날 수 있으며, 이에 따라 교과서에 제시된 생물학 지식과는 다른 결과를 얻게 될 가능성이 커진다. 이렇게 교과서의 내용과 실험의 결과가 다를 경우, 학생들에게 혼란을 가중시키며 이로 인해 학생들은 생물 실험을 불신하게 되고 교사들은 실험을 시범으로 대치하거나 결론만을 주입하는 교수 학습을 선택하게 된다(Nott & Smith, 1995; Nott & Wellington, 1996). 이러한 연구 결과들을 살펴보았을 때 교과서에 나오는 실험들은 이론적으로는 큰 문제가 없다고 하더라도 실제 학교 현장에서 실시하였을 때 발생할 수 있는 다양한 변인들을 최대한 제거할 수 있는 정확한 재료와 방법으로 이루어져야 한다.

중학교부터 개념이 다루어지고 있는 효소의 특성 단원은 중학교와 고등학교의 생물 1에서 주로 녹말과 요오드반응을 중심으로 최적온도와 최적 pH를 찾는 실험이 실시되고 있다. 이 실험에 대해서는 실험을 실시하는 조건의 부정확성 때문에 실험이 잘 이루어지지 않음을 지적하고 정확한 실시 조건을 제시해본 연구는 존재한다(지재화, 2009). 이러한 효소 특성에 대한 실험은 고등학교 생물 2에서는 catalase를 이용한 pH가 효소에 미치는 영향을 보는 것으로 대체되는데, 이 때 7차 교육과정에 의한 교과서 8종과 09년 개정 교육과정에 의한 교과서 1종의 50% 이상에서 감자의

catalase를 이용한 실험이 실시되고 있다. 그러나 이 실험을 실시했던 많은 교사들이 catalase가 중성에서 최적 pH를 나타내지 않았다고 의문을 제기하는 경우가 많아 이 실험의 문제점으로 지적되고 있다.

이러한 입장에서 이 연구는 실험의 문제점과 원인을 더 정확히 정량화하여 찾아보고, 그 문제점을 해결하기 위한 대안을 제시해보므로 학교 현장에서 실험이 더 원활하고 정확하게 이루어지는데 중요한 역할을 하고자 한다.

2. 연구 내용

이 연구는 현장에서 실제 실시되고 있는 pH에 따른 효소의 특성 변화 실험 중 감자의 catalase를 이용한 filter assay 경우에 나타나는 실험의 문제점 및 개선 방안에 대해 알아보려 하므로 연구 내용은 다음과 같다.

첫째, 감자의 catalase는 어떤 pH 조건에서 효소 활성도가 높게 나오는지를 알아본다.

둘째, 감자의 catalase를 이용한 효소의 최적 pH실험 중 filter assay 실험에서의 문제점은 무엇인지 알아본다.

셋째, 감자의 catalase를 이용한 효소의 최적 pH실험은 개선 방안을 제안해본다.

3. 용어의 정의

(1) Buffer solution

완충용액이란 외부에서 산이나 염기를 가해주어도 pH의 변화가 거의 없는 용액을 의미한다. 즉, pH농도를 일정하게 맞추어 주는 용액이라고 정의 할 수 있다. 완충용액은 pH를 유지하여, 생명체의 세포를 보호하기 때문에 생체 내에서 중요한 역할을 한다. 만일 세포질이나, 혈액 등이 완충용액의 상태가 아니라 산, 염기에 의해 pH가 쉽게 변한다면 오렌지 주스만 마시면 세포가 녹아버릴 것이다. pH가 7.0인 순수한 물에 소량의 산, 또는 알칼리를 가하면 그 양에 따라 물의 pH가 뚜렷하게 변하나, buffer는 산, 또는 알칼리를 가해도 완충 작용 때문에 pH가 거의 변하지 않는다. 그러므로 세포나 세포 내 추출물에 대한 실험을 할 때에는 보통 buffer를 사용한다. 이

연구에서처럼 다양한 pH에서 실험을 해야 하는 경우 해당 pH를 나타낼 수 있도록 buffer 제조할 때 buffer 성분의 비율을 잘 조절하는 것이 필요하다.

이 연구에서 사용된 buffer는 citrate-phosphate buffer(pH 2 ~ 7), phosphate buffer(pH 7 ~ 9), glycine-NaOH buffer(pH 9 ~ 11)을 사용하였다.

1) citrate-phosphate buffer 조성

A : 50mM solution of citric acid(9.6g in 1L)

B : 100mM solution of dibasic sodium phosphate(17.8 g of $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 1L)

→ A와 B를 적정 비율로 섞은 후 1/2 dilution.

2) phosphate buffer 조성

A : 100mM solution of monobasic sodium phosphate(13.8 g of $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in 1L)

B : 100mM solution of dibasic sodium phosphate(17.8 g of $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 1L)

→ A와 B를 적절 비율로 섞은 후 1/2 dilution.

3) glycine-NaOH buffer

A : 100mM solution of glycine(7.5 g in 1L)

B : 100mM NaOH(0.4 g in 1L)

→ A 50mL에 B solution 적정량을 섞은 후 Total volume을 200mL에 맞춘다.

(2) Spectrophotometer(분광광도계)

분광광도계는 오늘날 화학, 생명과학, 환경, 제약 등 거의 모든 실험실에서 사용되는 기본적인 분석 장비이다. 물질은 그 종류에 따라 빛 에너지를 흡수하여 전자전이 및 회전과 같은 여러 가지 분자운동을 일으키면서 고유의 흡수 스펙트럼을 나타내게 되는데, 분광광도계는 이 때의 스펙트럼을 측정하는 장비이다. 이 때 흡수하는 파장을 통하여 물질의 원자 또는 분자의 전자구조를 예측할 수 있고, 흡수하는 빛의 세기(흡광도)를 측정하여 그 물질의 농도를 결정할 수 있다.

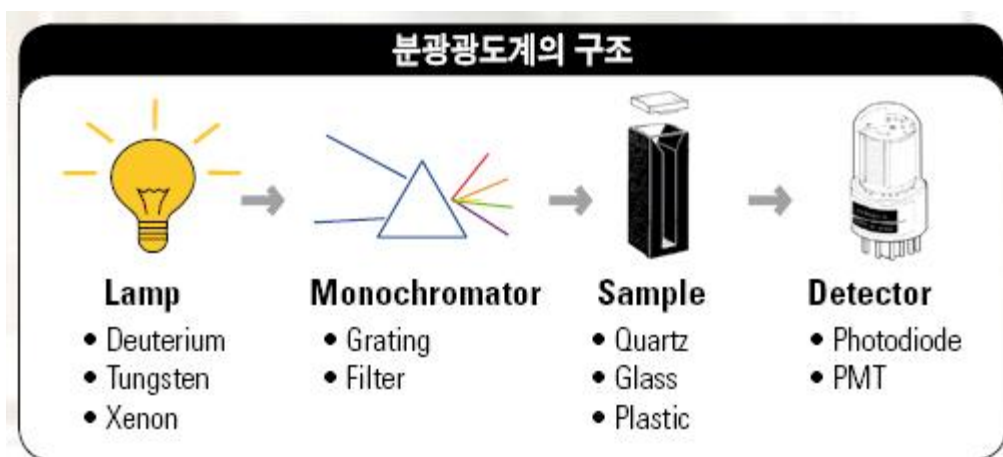
- 흡수파장 : 원자 또는 분자의 전자구조, 조성
- 흡수하는 빛의 세기 : 원자나 분자의 농도

이러한 원리를 이용하여 분광광도계는 물질마다 다른 흡수 스펙트럼 및 흡수하는

에너지 값의 차이를 기반으로 유기/무기 화합물의 정량, 정성분석에 주로 사용되고 있다. 또한 일정 파장에서의 흡광도 측정뿐만 아니라 시간의 추이에 따른 흡광도의 변화(효소의 활성 변화 연구), 일정 범위에 걸친 파장에 따른 흡광도의 변화(구조분석에 응용)등을 측정할 수 있다. 핵산, 단백질, 식재료, 제약, 발효물질, 미네랄오일, 페인트 등 다양한 시료의 측정이 가능하다.

분광광도계는 크게 전자기 복사선을 형성하는 광원, 복사선을 각 파장별로 분광시켜주는 단색화 장치, 샘플을 넣는 시료부, 샘플을 통과한 빛을 읽는 검출기로 나눌 수 있다. 즉, 광원(텅스텐, 중수소, 제논램프 등)에서 유래한 빛은 여러 개의 반사경과 필터, 단색화장치(monochromator/슬릿, 회절격자로 구성)를 통해 특정 파장의 빛으로 여과되고, 이 빛이 시료를 지나면 시료의 성분 및 농도에 따라 일부 빛이 흡수되고 나머지는 검출기(detector)에 전달되게 된다. 이때 빛의 조사량과 검출량의 차이를 이용하여 흡광도를 구할 수 있다.

광원에는 텅스텐 램프(320-2500nm영역의 복사선), 중수소 아크 램프(200-400nm영역의 자외선), 글로바(4000-200cm⁻¹)의 적외선 복사선, 헬륨-네온 레이저(638nm), 레이저 다이오드(680-1550nm의 근적외선) 등이 있다.



분광광도계의 종류는 크게 흡살형 분광광도계와 겹살형 분광광도계가 있다.

흡살형 분광광도계(single-beam spectrophotometer)의 분석원리는 광원에서 빛이 나와 단색화 장치에서 좁은 띠의 파장으로 분리되어 시료를 통과한 다음 검출기에서 측정하는 것이다. 흡살형의 단점은 시료와 기준을 빛살에 번갈아 가며 바꾸어 놓아야 하기 때문에 불편하고 광원의 세기와 검출기 감응이 둘 다 변화를 일으켜 시간의 함수를 측정하는 반응 속도 실험에는 부적합하다.

겹살형 분광광도계(double-beam spectrophotometer)는 회전 거울에 의해서 진행방향이 바뀌기 때문에 시료와 기준 큐벳에 빛이 교대로 지나간다. 이때 빛살은 1초당 수회 분할되며, 회로는 투광도와 흡광도를 얻을 수 있도록 자동적으로 P(시료로부

터 나오는 살의 조사도)와 p_0 (시료를 넣은 살의 조사도)를 비교한다. 즉 두 시료를 통과한 빛의 세기가 연속적으로 비교되기 때문에 시간과 파장에 따른 광원의 세기나 또는 검출기 감응의 변화를 자동적으로 보정한다. 겹살형의 단점은 흡살형보다 비싸다는 점이다

강도 I_0 의 단색광이 물질 층을 투과하여 강도 I 로 되었을 때, 물질 층의 흡수 강도는 다음과 같은 값으로 표시된다.

$$I/I_0 = T \text{ (투과도/transmission)}$$

$$100T = \%T \text{ (투과율)}$$

$$-\log T = A \text{ (흡수도/Absorbance)}$$

일반적으로 측정하는 용액 시료의 경우 다음의 법칙이 성립된다.

Lamberts-Beer's Law

흡광도 A 는 용액 층의 두께 l 에 비례(Lambert's law)하며, 용액의 농도 C 에 비례(Beer's law)한다.

$$A(\text{Absorbance}) = K \times B \times C \text{ (K : 흡광계수 / B : 시료의 두께)}$$

(3) 효소활성단위=unit

용액 내에 존재하는 효소의 양은 대체로 효소활성의 단위로 나타낸다. 공통적으로 사용되는 세 개의 단위는, International Unit (IU), Katal, Specific Activity이다. "Biochemistry Commission on Enzymes"에서는 International Unit (또는 Unit)을 표준단위로 사용하는 것을 추천하고 있다.

효소 1 IU는 특정조건 (pH, 온도, 이온의 정도, 기질농도 등)에서 분당 기질이 생성물 $1\mu\text{mol}$ 로 변환시키는 효소의 양을 의미한다. 본 연구에서 사용하는 catalase 1unit는 온도 25°C , pH 7.0에서 분당 $1.0\mu\text{mol}$ 과산화수소가 분해되는 것으로 정의한다.

(4) filter paper assay(or filter paper disc assay)

감자 catalase를 이용하는 여러 실험은 catalase가 과산화수소를 분해할 때 생기는 산소의 양을 정량적으로 측정하거나 시각적으로 관찰하는 방법을 많이 사용한다. 이 연구에서 언급하는 filter paper assay는 감자즙을 filter paper disc에 묻혀 과산화수소수에 넣었을 때 발생하는 산소 기포에 의해 disc가 떠오르는 데 걸리는 시간을 측정하는 실험을 지칭한다. 이 보고서에서는 간단히 filter assay로 언급하고자 한다.

(5) 감자 갈변의 억제 방법

1) 효소적불활성화 : 가열, Blanching

효소에 의한 갈변 반응을 억제하는 가장 효과적인 방법은 Polyphenoloxidase를 불활성화 시키는 것이다. 효소의 본체는 단백질이므로 가열에 의하여 쉽게 불활성화 된다. 대부분의 채소류나 과일류를 가공할 때 실시되는 데치기(blanching)는 그 본래의 목적이 통조림 또는 병조림할 채소류나 과일류 내부의 호흡가스를 제거하는 데 있으나 동시에 가열에 의한 효소들의 불활성화에 대해서도 효과적인 과정이 된다.

배 퓨레에 일정한 시간 8초 동안 가열 처리하였을 때 Polyphenoloxidase 활성에 미치는 온도의 영향은 80°C에서 8초 동안 가열하였을 때 효소 활성의 약 반이 손실되었으며, 90°C에서 8초 동안 가열하였을 때는 효소 활성이 완전히 소실되었다. 그러나 과일 및 채소류의 열 처리시 이취(off flavor)의 발생, 바람직하지 않는 조직의 변화 또는 연화(softening) 등을 가져오므로 효소를 불활성화 시키기 위해서는 고온에서 가열 시간을 주의 깊게 조절하는 것이 필요하다.

2) 최적조건변동 : pH저하, 저온, 적온수분함량

모든 효소들은 각각 효율적으로 작용할 수 있는 최적의 pH, 온도 및 기타의 조건들이 있다. Polyphenoloxidase의 경우 최적 pH는 일반적으로 5.8~6.8이다. 따라서 식품의 pH를 citric acid, malic acid, 염산, 인산 등을 가하여 산성으로 변동시키면 효소작용을 억제할 수 있다. Polyphenoloxidase는 pH 3.0 이하에서는 그 활성이 완전히 상실된다. 또한 식품 자체를 저온에 둬으로써 효소 작용을 억제할 수 있으나 저온에 둘 경우 효소 작용은 -10°C까지 계속되므로 식품의 온도를 -10°C이하로 유지하여야 한다.

한편, Polyphenoloxidase의 작용은 소금, thiourea 등에 의해서도 상당히 억제되나 실제로 사용되는 소금의 농도는 1% 내외이므로 그 억제 작용은 완전하지 못하다.

3) 산소의 제거

갈변 반응이 효소에 의한 것이거나 효소에 의하지 않은 것이거나 산소가 존재하지 않으면 갈변 또는 갈변 반응의 중요 과정인 산화 반응은 원칙적으로 일어나지 않는다. 따라서 잘 밀폐된 용기에 식품을 넣어 공기를 제거하거나 공기 대신에 탄산가스 또는 질소 등으로 대체시키면 갈변 반응을 효과적으로 억제할 수 있다. 이와 같은 목적을 위해서 각종 산소 제거제(oxygen scavenger)가 개발되어 왔으나 대부분의 경우 용기 내의 식품과 섞여져서는 안 되며 또한 액체 또는 액체와 고체의 혼합 식품에는 사용할

수 없는 난점이 있다.

한편, ascorbic acid도 산소를 강하게 흡수하는 성질이 있어서 이와 같은 목적을 위하여 매우 효과적이며 이상적이라고 할 수 있다. Ascorbic acid는 용기 내부의 식품의 상태가 액체이거나 고체이거나 관계없이 사용할 수 있는 이점을 가지고 있다. 또한 과일 가공품에 설탕을 첨가하면 용액 중의 산소의 농도가 저하된다. 그러나 동물 식물조직 중의 산소를 제거하게 되면 혐기적인 상태가 되고 또한 이 상태가 오래 지속되면 이상 대사 물질(abnormal metabolite)이 형성되는 동시에 세포의 파괴현상이 일어난다.

4) 환원성 물질첨가 : 아황산염, 붕산염처리, 비타민C첨가

아황산가스와 아황산염들은 갈변 반응 특히 효소에 의한 갈변 반응을 효과적으로 억제한다. 즉, 아황산염은 quinone과 부가화합물을 형성하여 산화가 더 이상 진행되는 것을 억제한다. 실제로 감자, 사과, 복숭아 등의 가공에 있어서 갈변 반응을 억제하기 위하여 아황산가스처리법(sulfuring)과 아황산염 용액 침지법이 이용된다. 아황산가스 처리법은 이들 식품들의 건조 또는 저장 중의 갈변을 억제하기 위해서 아황산가스를 노출 흡수시켜주는 방법이다. 이 방법은 비용이 적게 드나 건조식품에 흡수되는 아황산가스의 농도를 조절할 수 없고 부식성이 큰 아황산가스를 폐기가스로 처리하여야 하는 큰 단점이 있다. 한편, 아황산소다, 산성 아황산소다의 일정한 농도의 용액에 이들 식품의 절편들을 침지 한 후 건조 또는 냉동하는 아황산염 용액 침지법은 식품 속에 흡수된 아황산가스의 농도를 일정하게 조절할 수 있고 또한 부식성의 아황산가스가 발생하지 않는 등의 장점이 있으나 비용이 많이 든다. 이와 같은 아황산가스나 아황산염 용액의 처리는 미생물의 성장에도 강한 억제 작용을 갖고 있어서 부패방지에도 도움이 되며 vitamin C를 보존하는 효과도 가지고 있으나 반면에 vitamin B₁과 B₂를 파괴시키는 결점이 있다.

Cystenine, glutathione 등의 일부 SH화합물은 효소에 의한 갈변 반응을 억제하여 준다. 예를 들면, 파인애플에 함유된 어떤 SH화합물은 파인애플의 갈변을 크게 억제하여 준다. 이와 같은 SH화합물의 갈변 억제 작용은 일반적으로 chlorogenic acid, tyrosine 또는 3,4-dihydroxyphenylalanine등이 산화되어 형성하는 quinone 류와 부가화합물을 형성하여 산화가 더 이상 진행되는 것을 억제하는 데 있다. 실제로 cysteine 은 산화된 chlorogenic acid와 결합하여 옅은 황색의 착색 물질을 형성한다. 주석 이온은 강한 환원력을 가지고 있으며 갈변을 억제하나 이와 같은 목적으로 주석 산염을 식품에 첨가하는 일은 없다.

5) 기질의 제거 및 변화

효소 반응의 기질을 제거한다는 것은 어려우나 고구마와 같이 기질이 대부분 껍질에 존재할 때는 가공하거나 조리할 때 껍질을 벗기고 물에 담그면 Polyphenol화합물에 의한 갈변을 억제할 수 있다. 한편, 과일 및 채소류에 있어서 효소 반응의 기질을 변화시켜 갈변을 억제하는 방법이 있다. o-dihydroxy 구조를 효소에 의하여 methyl화 시켜 diphenol 의 반응을 차단시키는 것이다. 예를 들면, 식물 Pampas grass의 조직에는 효소 meta-o-methyl transferase를 함유하고 있는데, 이 효소는 S-adenosylmethionine 과 같은 methyl의 공여체와 o-disphenol 과 같은 methyl의 수용체의 존재 하에서 다음과 같이 그 기능을 나타낸다.

6) 금속이온 제거

Fe, Cu 등 금속 이온을 제거하고 이들 금속 이온이 존재하는 용기나 기구를 사용하지 않는 것이 갈변을 막을 수 있다.

(6) 컴퓨터 접속 실험(MBL)

컴퓨터 접속 실험(Microcomputer-Based Laboratory; MBL)이란 센서, 인터페이스, 컴퓨터를 이용하여 실험데이터를 수집하며 수집된 자료들을 처리하고 분석하는 작업에 컴퓨터를 이용하는 실험을 말한다. 컴퓨터 접속 실험(Microcomputer-Based Laboratory; MBL)은 Technical Education Research Center(TERC)에서 개인용 컴퓨터에 쉽게 연결할 수 있는 다양한 센서들을 개발함으로써 학교과학수업에 널리 보급되었다.

II. 이론적 배경 및 선행 연구

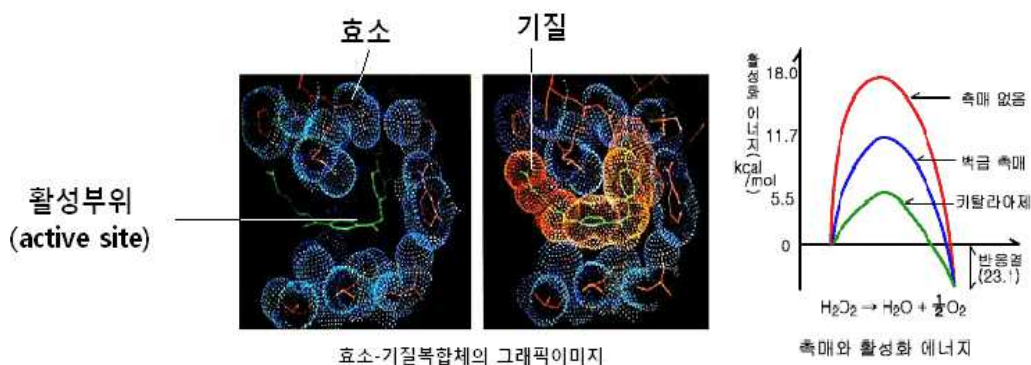
1. 효소의 역할

효소는 생물체가 만든 촉매작용을 하는 고분자 단백질로 그 분자량이 1만~수백만 da에 이른다. 이러한 효소란 명칭은 1871년 독일의 쿨네(Kuhne)가 효모 속(in yeast)에서 발견했다는 뜻에서 enzyme라고 명명하여 처음 사용하였는데, 그 존재는 1752년 프랑스의 레오뮈르(de Leaumur)가 기르고 있던 개에게 얻은 위액을 고기에 뿌려주었더니 고기가 연해지는 것을 알아내면서 연구가 시작되었다. 대부분의 세포 내에서 일어나는 반응들은 단백질 촉매인 효소에 의해 진행되는데 현재 알려진 효소는 약 2,500 여종으로 현재 계속 개발·연구되고 있는 중이다. 대부분의 효소들은 하나 이상의 소단위체를 가지고 있으며, 단백질 효소들은 효소 활성을 위하여 비단백질

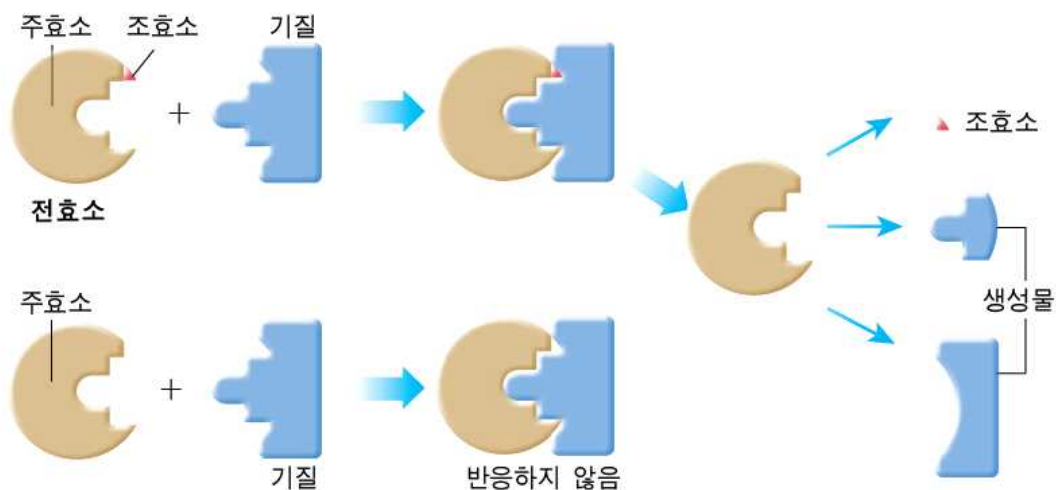
기를 필요로 한다. 그렇기 때문에 효소는 다음과 같은 구성을 보인다.

$$\text{완전효소} = \text{순효소} + \text{보조인자}$$

(holoenzyme) (apoenzyme) (cofactor)



이러한 효소와 결합하는 물질을 기질(substrate)이라 하는데, 효소는 기질과 결합하여 반응에 필요한 활성화 에너지를 낮추므로 반응이 빠르게 일어나도록 한다. 이 때 기질은 효소의 활성부위와 결합하여 효소-기질복합체(E-S complex)를 형성하게 되고 활성화 에너지가 낮아지면 반응이 이루어질 수 있다. 이 때 효소는 특정기질과만 효소-기질복합체를 형성하므로 기질특이성을 가지게 된다.



1890년 에밀 피셔(Emil Fisher)가 고안한 자물쇠와 열쇠모델(lock and key model)은 효소의 활성부위(자물쇠)는 특정한 모양의 기질(열쇠)만을 수용할 수 있다. 하지만 이 모델은 활성부위가 매우 고정되어 있고 탄력적이지 않아 효소의 구조가 탄력성이 있어서 활성부위에 구조적 변화를 가져올 수 있는 부분을 설명할 수 없었다.

다니엘 코쉬랜드(Daniel Koshland)가 1958년 기질이 효소에 결합할 때 효소 활성부위의 구조에 연속적인 변화가 일어난다는 유도적합모형(induced-fit model)을 제시했다. 이 모델에 따르면 어떤 효소는 기질과 효소의 활성 부위사이의 결합이 자물쇠와 열쇠처럼 처음부터 완벽한 것이 아니라, 기질이 활성부위에 부착하

면 기질과 보다 잘 맞도록 활성 부위가 변형되어 효소-기질 복합체를 형성한다.

효소는 산업과 의학에서 매우 유용하게 사용된다. 포도주의 발효, 효모에 의한 빵의 발효, 치즈의 응고, 맥주의 양조 방법 등은 훨씬 전에 알려졌지만 19세기까지는 이들 반응이 효소의 촉매작용에 의한 것임을 알지 못했다. 그 후 효소는 유기 화학반응을 포함 하는 산업과정에서 매우 중요하게 되었다. 의학 분야에서는 효소가 병원균의 살균이나 상처 치료의 촉진, 특정 질병의 진단에 이용된다. 몇 가지를 제외하고 효소의 이름 끝에는 '-ase'가 붙는다. 효소는 촉매하는 반응의 성질에 따라 분류된다. 예를 들면 산화환원효소(oxidoreductase)는 한 분자에서 다른 분자로 수소를 전달시키는 산화-환원 반응을 촉매한다.

2. 효소 활성화에 영향을 미치는 요인

효소 활성화도에 큰 영향을 미치는 요인으로는 효소의 농도가 일정하게 주어졌을 때 기질의 농도, 온도, pH를 들 수 있다.

(1) 기질의 농도

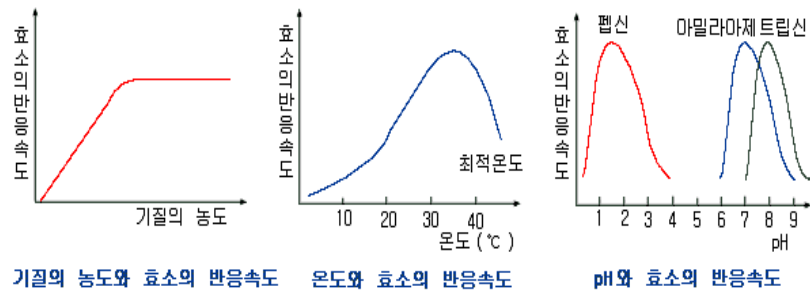
기질의 농도가 증가하면 기질과 효소가 결합할 수 있는 확률이 높아져 반응속도가 빨라지게 된다. 그러나 모든 효소가 기질과 효소-기질복합체를 형성하게 되는 포화상태에 이르면 반응속도는 더 이상 증가하지 않는다.

(2) 온도

효소의 주성분이 단백질이므로 일정 온도 이상 올라가면 효소의 구조가 변하게 되고, 효소의 활성 부위 변화는 기질과의 결합을 하지 못하게 하므로 효소가 촉매역할을 하지 못하여 효소 활성화도는 떨어지게 된다. 가장 높은 효소 활성을 보이는 경우 최적 온도라 한다.

(3) pH

효소 활성화는 pH에 따라 변하기 때문에 각 효소들은 가장 효소 활성을 높게 보이는 최적 pH를 가지게 된다. 이러한 효소 활성화의 pH에 대한 의존은 효소의 아미노산 잔기가 띠는 전하에 의해 pH가 달라지면 전하를 띠는 아미노산이 구조를 변화시키게 되는 경우와 기질의 이온 구조가 pH에 따라 변하는 경우에 의해 생기게 된다.

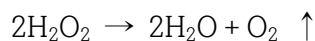


3. Catalase

(1) Catalase

과산화수소가 분해되어 물과 산소가 만들어지는 반응을 촉매하는 효소이며 우리 몸속의 간, 적혈구, 신장에 들어 있다. 과산화수소에 이산화망간을 넣으면 빠르게 기포가 발생한다.

그 이유는



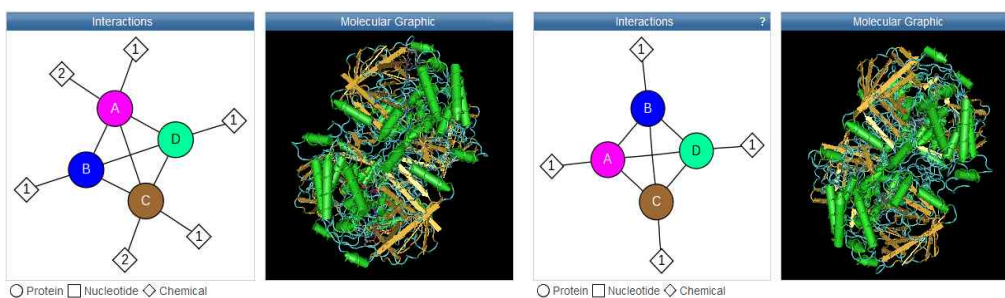
의 반응이 진행되기 때문이다. 과산화수소는 이산화망간 없이도 물과 산소로 분해될 수 있지만, 이산화망간은 반응이 일어나는 속도를 빠르게 해 주는 물질이다. 즉, 어떠한 반응을 촉진시키는 물질인 촉매인 것이다. 우리 몸속에도 이산화망간과 비슷한 역할을 하는 촉매가 있는데, 이것이 바로 catalase이다. 생체 내에서 일어나는 반응을 촉매하는 단백질을 효소라고 하는데, catalase 역시 효소의 일종이다.

과산화수소와 같은 과산화물은 세포막에 나쁜 영향을 끼치기도 하고 효소와 같이 몸속에서 중요한 기능을 하고 있는 물질들을 방해하기도 한다. 따라서 몸속에 과산화수소가 존재하면 이를 빨리 파괴시켜 주어야 하는데, catalase가 이 역할을 한다. 즉, 과산화수소가 물과 산소로 분해되는 반응이 빨리 일어나도록 도와주는 것이다. catalase는 간 속에 많이 존재하는데, 우리가 간의 주요기능으로 해독작용을 이야기하는 것은 바로 카탈라아제와 같이 몸에 해로운 물질을 빠르게 없애 주는 효소들이 간에 많이 들어 있기 때문이다.

Catalase는 우리 몸속의 간뿐 아니라 적혈구나 신장에도 들어 있다. 과산화수소는 세균을 소독하는 작용도 하기 때문에 몸에 작은 상처가 났을 때 흔하게 쓰인다. 그런데 만약 상처 부위에 묻은 과산화수소가 혈액에 들어와 분해되지 않고 몸속을 돌아다니게 되면 매우 위험하다. 따라서 혈액 속에 존재하는 catalase가 과산화수소의 분해 반응을 촉매한다. 상처 부위에 과산화수소를 발랐을 때 거품이 나는 이유가 바로 혈액 속에 있던 catalase에 의해 과산화수소가 분해되어 물과 산소기체를 내기 때문이

다.

Catalase는 Homotetramer 구조를 하고 있는 보통 490~492AA로 이루어진 효소로, Heme group이 보조인자로 작용한다. 세포 내에서는 보통 peroxysome과 glyoxysome에 존재하며, 여러 종의 catalase들은 chemical 들과의 interaction에 차이 가진다.



Human catalase structure

Bovine catalase structure

(2) Catalase activity 측정 -Bergmeyer(1974)의 방법

Hans Ulrich Bergmeyer(1974)에 의해 제시된 spectrophotometer법은 H_2O_2 는 240nm 파장의 빛에서 가장 높은 흡광도를 보인다는 사실을 이용한 Catalase 활성도 측정방법이다. catalase가 H_2O_2 를 분해하면서 생기는 기질의 양에 따른 흡광도 변화와 몰 흡광계수로 H_2O_2 의 농도를 구한 다음 효소 1mg 당 감소된 H_2O_2 의 μmole 수로 효소 활성도를 계산한다.

4. 선행 연구

실험수업에 대한 여러 가지 문제점을 지적하며, 그것을 개선하기 위한 다양한 과학 과목에서 선행연구들이 존재한다. 가장 많은 개선연구가 실시된 과학 영역은 화학부 분으로 화학물질의 사용이 더 정량적이어서 실험에 대한 개선사항이 많음을 알 수 있었다.

(1) 화학분야 선행연구

윤정아 등(2010)은 고등학교 화학II 교과서에 제시된 온도에 따른 고체의 용해도 측정 실험의 문제점을 파악하기 위하여 화학II 교과서의 고체의 용해도 측정 실험을 분석하고, 화학교사를 대상으로 고체의 용해도 측정 실험에 대한 설문 조사를 실시하여 개선 실험을 제시하였다.

지재화, 정대홍(2009)은 고등학교 과학교과서에서 「pH가 효소의 작용에 미치는 영향」실험의 문제점을 녹말과 요오드 반응을 중심으로 분석하여 정확한 농도와 사용량이 교과서에 명시되지 못함에서 오는 실험의 실패가능성을 제시하고, 실험에 적절한 농도와 사용 양을 제시해주기도 하였다.

방정아 등(2008)은 고등학교 과학 교과서에 제시된 화학반응속도 측정을 위한 실험을 수행할 때 관찰되는 현상을 이해함으로써 교과서 실험의 문제점과 그 원인을 분석하여 개선 방안을 제시하였다. 이를 위하여 화학반응속도 측정과 관련된 단원의 교과서 내용을 분석하였으며, 실험을 수행할 때 발견되는 문제점을 실험 분석을 통해 제시하였다.

박국태 등(2006)은 고등학교 과학 교과서에 제시된 염화구리(II) 수용액의 전기분해 실험의 문제점을 분석하여, 학생들이 실험을 용이하게 수행하게 하고 환기 장치가 없는 과학실 여건을 고려해 염소 기체 발생으로 인한 안전 문제의 발생을 줄이기 위한 개선 실험을 제시하였다.

고영신 등(2004)과 고지연 등(2004)은 이산화탄소 발생 실험과 수소 발생 실험에 대해 초등학교 교사들에게 설문 조사를 한 결과, 교사들이 실험 수행 상에 어려움을 느끼고 있는 것을 발견하였고 이를 개선하기 위한 실험 장치를 고안하였다.

류오현 등(2001)은 제 6차 교육과정에 의한 중학교 1학년 과학 교과서 분별 증류 실험의 문제점을 파악하고, 중학생들이 분별 증류 실험을 능률적으로 수행할 수 있는 실험 방법을 제시하였다.

(2) 화학 이외의 과학 분야 선행 연구

반면 화학 분야에 비해 생물분야나 지구과학분야는 상대적으로 적은 선행연구가 있다. 물리분야는 물리교육이나 물리실험자체에 대한 개선연구는 존재하지만 구체적인 실험의 문제점을 찾아 개선하려는 선행연구는 찾기 힘들었다.

대표적인 생물분야 선행연구는 다음과 같다.

문경원, 김영수(2008)는 광합성과 호흡 실험에서 기존의 교과서 실험이 결과를 얻기에는 부정확하고 시간이 오래 걸리는 점을 보완하기 위한 실험 자료를 개발하여 실험을 개선하고자 하였다.

김용진, 박인근 (2007)은 광합성 실험에 대하여 초.중.고등학교 과학 교과서에 제시된 실험 방법의 적합성과 실제 실험 과정에서 학교 현장 교사들이 느끼는 어려움을 조사하고, 적절한 실험이 이루어지도록 개선 방안을 제안하였다.

정효철(2005)는 고등학교 생물교과서 효소에 영향을 미치는 조건 모두에 대한 실험

험을 현장에서 직접 실시하기 어렵다는 점에 착안하여 catalase 반응속도에 영향을 미치는 요인들에 대한 실험을 컴퓨터 시뮬레이션으로 해볼 수 있도록 한 코스웨어를 개발하기도 하였다. 이 때 catalase 활성도를 산소센서를 이용하여 MBL로 산소압을 측정하였다.

김경희 등(1999)은 고등학교 생물교과서에서 침의 소화 작용에 대한 실험방법을 분석하여, 교과서에 제시된 실험 방법은 시약의 농도나 양이 정확히 제시되지 않아 실험 진행상의 문제가 있을 수 있어 이를 개선한 실험 형태를 제시하였다.

지구과학 분야의 선행연구로는 박동조 등(2001)이 5차 교육과정과 6차 교육과정의 중학교 과학 교과서에 제시된 구름발생 실험 내용을 실험 방법 및 실험 기구 등의 측면에서 비교 분석하여 열역학적 관점에서 문제점을 살펴보고, 그 문제점을 개선하기 위한 실험을 개발하여 교과서 실험 결과와 비교함으로써 그 효과를 알아보았다.

그리고 박동조 등(2001)도 5차, 6차 교육과정의 초등학교 자연교과서와 과학 교과서에 제시된 구름발생 실험 또는 수증기 응결 실험 내용을 실험 방법 및 실험기구 등의 측면에서 비교 분석한 결과 열역학적 관점에서 실험 방법 및 실험 기구에서 문제점이 있음을 발견하여, 열역학적 관점에서 보다 정확한 구름 발생 실험 장치를 개발하였다.

Ⅲ. 연구 방법

1. 교과서 분석 및 filter assay

(1) 교과서 분석

본 연구에서는 7차 과학과 교육과정 생물Ⅱ의 「세포의 특성」단원에서 제시한 효소의 특성에 대해 다루고자 한다. 그러기 위해 각 교과서를 대상으로 효소의 특성 관련 탐구 수업유형을 분석하기 위해 제7차 교육과정(교육부, 1998)에 의해 국내에 출판된 고등학교 생물Ⅱ 교과서 8종과 09년 개정 교육과정(교육과학기술부, 2009)에 의해 출판된 고등학교 생물Ⅱ 교과서 1종을 대상으로 하였다.

제 7 차 교육과정 생물2 교과서	09년 개정 교육과정 생물2 교과서
(주) 천재교육 (권혁빈 외)	(주) 천재교육 (이준규 외)
(주) 지학사 (이상인 외)	
(주) 금성출판사 (박희송 외)	
대학 서림 (이기태 외)	
(주) 교학사 (정완호 외)	
(주) 중앙교육진흥연구소 (김윤택 외)	
대한교과서(주) (조희영 외)	
도서출판 형설 (하영사 외)	

표 1. 분석 대상 교과서

(2) filter assay

09년 개정 교육과정에 의해 출판된 생물Ⅱ 교과서에 나온 감자의 catalase를 이용한 filter assay 방법을 기초로 하여 실험을 실시하였다. 교과서 실험방법을 사용한 경우에는 과산화수소를 희석시킬 때 PBS buffer 용액과 증류수를 각각 사용하여 측정하였다.

1) 사용 시약

: 생감자, 3% 과산화수소수, 초시계, 비커, 스포이트, pH미터, 펀치, 거름종이, 묽은 염산 용액, 묽은 수산화나트륨 용액, 증류수, 핀셋, 유리 막대

2) 과정

- ① 펀치로 거름종이를 뚫은 후, 감자즙이 들어 있는 페트리 접시에 담가둔다.
- ② 100mL 비커 3개에 3% 과산화수소수를 30mL씩 넣는다.
- ③ 각각의 비커에 묽은 수산화나트륨 용액, 묽은 염산 용액, 증류수를 5mL씩 넣어 준 후 pH 미터기를 이용하여 pH를 측정한다.(정확한 실험을 위해 HCl과 NaOH를 이용하여 pH를 대략 2, 7, 9, 11에 맞추었다.)
- ④ 각 비커에 감자즙을 적신 거름종이 조각 1개를 유리 막대로 가라앉힌다.
- ⑤ 거름종이 조각이 수면으로 떠오를 때까지 걸린 시간을 초시계로 측정하여 기록한다. 이 과정을 3회 반복, 평균값을 구한다.

2. 교사 설문 조사

본 연구의 필요성을 뒷받침하기 위해 서울과학교사모임 소속 교사 6명(중학교 5명, 고등학교 1명 : 생물전공 2, 화학전공 2, 지구과학 전공 2)과 과학전시관 첨단기자재 연수 수강 교사 12명(고등학교 생물교사 8명, 중학교 생물교사 4명)을 상대로 간단한 설문 형식의 인터뷰를 진행하였다. 질문은 크게 3가지였고, 최적 pH에 대한 질문에 대해 인터뷰를 하여 자유로운 발언을 들어 기록하였다.

3. 실험 연구 방법

(1) H₂O₂ 농도에 따른 흡광도 표준곡선 작성

catalase에 의해 분해된 H₂O₂의 양을 알기 위해서는 H₂O₂ 농도별 표준 흡광도를 작성하는 것이 필요하다. 이를 위해 5 ~ 30mM 농도의 H₂O₂를 50mM phosphate buffer(pH 7.0)를 이용하여 dilution을 시켜 만든 후 spectrophotometer와 석영 cuvet을 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이 때 50mM phosphate buffer(pH 7.0) 제조는 Na₂HPO₄ 4.68g과 KH₂PO₄ 2.28g을 3차 증류수에 녹인 후, HCl을 이용하여 pH를 7.0에 맞추고 증류수를 첨가하여 전체 부피가 1L가 되게 하였다.

(2) 정제된 catalase 최적 pH 조사

감자를 갈아 얻은 catalase는 순수 catalase만 있는 것이 아니기 때문에 이에 대조군의 역할을 할 수 있는 정제된 catalase를 이용하여 각 pH별 효소 활성도를 측정

하였다. 정제된 catalase(시그마제품)는 Bovine liver에서 추출한 것으로 3000units/mg의 specific activity를 가졌다. 이 효소 0.1g을 pH 7.0 phosphate buffer 10mL에 녹인 후 1/100 dilution하여 사용하였다.

만든 효소액을 흡광도 OD값 1을 전후하여 측정하기 위해 20mM H₂O₂ 사용하였고, pH에 영향을 주지 않기 위해 효소액은 20 μl만 사용하였다. 흡광도는 Bergmeyer가 제시한 spectrophotometer법을 이용하여 240nm 파장에서 측정하였다.

- ① 40mM H₂O₂ 제조 - 30% H₂O₂(시그마 제품)는 약 10,000mM 농도이므로 30% H₂O₂ 2 μl에 해당 pH 버퍼 480 μl를 넣어 총 부피를 500 μl가 되도록 한다.
- ② 석영 큐벳 1ml에 40mM H₂O₂ 500 μl, 해당 pH 버퍼 480 μl, 효소액 20 μl를 넣고 파라필름으로 큐벳의 입구를 막은 후 5회 정도 가볍게 흔들어 내용물을 섞어준다.
- ③ spectrophotometer 240nm 파장에서 30초 간격으로 3분 동안 OD값을 읽어 흡광도의 변화를 측정한다.
- ④ pH 2 ~ pH 11까지 pH 1간격으로 측정하도록 한다.

(3) 감자 catalase 최적 pH 조사

감자(*Solanum tuberosum* L.)의 pH에 따른 catalase 활성도를 조사하기 위하여 감자를 강판에 갈은 후 막자사발로 더욱 곱게 갈아 filter paper로 거른 감자 즙을 이용하였다. 그러나 이렇게 거른 감자 즙은 조직 수준이어서 이에 따른 여러 변인이 발생할 수 있으므로 순수하게 감자의 세포 외액에 존재하는 catalase를 얻기 위해 4°C 원심분리기를 이용하여 13,000rpm에서 15분 centrifuge시킨 후 상층액만을 얻어 사용하였다. 흡광도를 측정하는 데 있어 감자의 갈변 현상이 흡광도를 높여 측정이 어려운 점을 최소화하기 위해 감자의 갈변 현상 억제를 위해 저온방법을 선택하여 감자를 가는 강판과 막자사발 모두 얼음에 넣어 온도를 낮추었다.

이렇게 얻은 감자 액을 효소 액으로 하여 정제된 catalase 흡광도 측정방법과 동일한 방법을 사용하였다.

(4) 대안적 실험 연구

filter assay의 문제점을 pH별로 조사한 감자의 catalase 활성도를 통해 알아본

후 그것을 최소화시킬 수 있는 대안적 실험 방법을 찾아보았다. filter assay는 염기성에서도 초기 산소발생이 일어난다는 점과 pH가 높아지면 H_2O_2 에 대한 분해가 일어나기 때문에 의외로 감자의 catalase의 최적 pH를 알아내는 데 적절하지 못한 것으로 연구되었기 때문에 그것을 대체할 수 있는 실험에 대한 연구가 필요하였다. 대안적 실험 연구는 filter assay 방법을 보완하여 사용할 수 있을지 여부를 알아보는 실험과 filter assay 방법을 대체할 수 있는 실험을 개발하는 것으로 이루어졌다.

filter assay를 보완하는 방법으로는 H_2O_2 의 농도를 감소시켜보는 것과 효소의 농도를 감소시켜보는 것, 다른 채소의 catalase를 사용하는 것을 실시하였고, filter assay를 대체하는 실험 연구는 두 가지 실험 방법을 실시하였는데 그 하나는 시간별 발생하는 거품의 높이를 측정하는 방법이고, 다른 하나는 직접적으로 발생하는 산소를 측정하는 것으로 MBL을 사용하는 방법이다.

1) filter assay 보완하는 연구 방법

① H_2O_2 의 농도와 감자 효소액의 농도 변화 :

가. 3%, 2%, 1%, 0.5%로 H_2O_2 의 농도를 변화시킨 후, 시험관에 각 농도의 H_2O_2 2ml와 1ml의 감자 즙을 넣고 5분 동안 발생한 산소 거품의 높이를 측정한다. 가능성이 있는 농도를 찾아 그 농도에서 filter assay를 실시한다.

나. 감자 즙을 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{16}$ 로 dilution하여 filter assay를 실시한다.

② 당근을 이용한 filter assay 실시 :

감자 이외의 채소 중 당근이나 무에도 catalase가 들어있다. 이 연구에서는 당근을 강판에 간 후 filter paper로 걸러 당근 즙을 만든 후 filter assay 방법을 감자와 마찬가지로 실시한다.

2) filter assay 대체하는 연구 방법

① 발생 기체의 높이 측정 실험

가. 4개의 시험관을 준비한 후 3% H_2O_2 (30% H_2O_2 를 1/10 dilution)를 2ml씩 넣는다.

나. 한 시험관에 대조군으로 DW(pH 7) 1ml를 넣어주고, 나머지 시험관에 각각 0.1N HCl(pH 1.0), 0.004N NaOH(pH 8.7), 0.1N NaOH(pH 12.8)를 1ml씩 넣어준다.

다. 나)의 시험관에 중성 세제 1방울을 넣고 강판에 갈아 만든 감자 즙을 0.6 ml 각각 넣은 후 1분 간격으로 5분간 발생한 산소 거품의 높이를 측정한다.

② 산소 센서를 이용한 MBL 실험

- 가. 해당 pH의 buffer solution을 이용하여 희석한 3% H₂O₂ 10mL을 50mL 코니컬 튜브에 담는다.
- 나. 인터페이스에 산소 센서와 컴퓨터를 연결한다.
- 다. 산소 센서를 코니컬 튜브에 완전 밀봉되게 끼운 후 3분간 측정하여 pH별 자가분해가 일어나는 지 살펴본다.
- 라. 가)의 H₂O₂ 용액에 정제된 catalase 1mL을 넣은 후 잘 흔들어 섞어주고 다시 산소 센서를 역시 완전 밀봉되게 끼운 후 5분간 측정한다.
- 마. 라)의 활동을 이번에는 감자즙 1mL을 이용하여 측정한다. pH 2 ~ pH 11 까지 pH 1 간격으로 측정하도록 한다.

IV. 연구 결과 및 논의

1. 교과서 분석 및 filter assay의 결과

(1) 교과서 분석 결과

7차 교육과정 생물II 교과서 8종과 09년 개정 교육과정 생물II 교과서 1종의 총 9종 교과서를 분석한 결과 효소에 영향을 미치는 요인에 대한 효소의 활성도를 알아보는 실험에 감자의 catalase를 이용한 교과서는 4종이었다. 동물의 간 catalase를 이용한 교과서는 2종, amylase를 이용한 교과서는 3종으로 감자의 catalase를 이용한 실험이 가장 많았다. 이것은 동물보다는 식물이 실험에 사용하기 친근하고 쉬운데다, amylase를 이용한 실험은 중학교 때부터 많이 시행되어 왔기 때문에 색다르면서도 산소의 발생이 시각적으로 뚜렷한 감자 catalase 이용 실험이 많은 것이라 분석된다.

출판사	사용 시약	측정 요인	실험 방법
(주) 천재교육 (권혁빈 외)	생간, 끓인 간, 3% 과산화수소수, 1M HCl, 1M NaOH, 이산화망간	온도 pH	1. H ₂ O ₂ 2mL + HCl 1mL, NaOH 1mL / 생간→ 기포발생정도측정 2. H ₂ O ₂ 2mL + HCl 1mL, NaOH 1mL / 끓인 간→ 기포발생정도측정



(주) 지학사 (이상인 외)	감자, 3% H ₂ O ₂ 용액, 5% HCl용액, 10% NaOH용액, 증류수	pH (온도는 설계해 봄)	거름종이 위에 4조각의 감자 + 증류수 1 mL, HCl 1mL, NaOH 1mL / H ₂ O ₂ 2mL → 감자조각에서 일어나는 변화 관찰
(주) 금성출판사 (박희송 외)	5mm 두께 감자, 3% H ₂ O ₂ 용액, 얼음, 알코올램프, 왁스칠 한 거름종이	온도	스스로 계획하게 하는 실험방법 사용 [예시 방법] 감자조각 / 여러 온도 물 속에 감자조각 넣음→감자를 꺼내 표 면에 H ₂ O ₂ 한 방울 떨어뜨린 후 거름 종이가 떠오르는 시간 측정
대학 서림	생간, 수용성 세제, 3% H ₂ O ₂ 용액, 얼음, 10% NaOH 용액, 10% HCl 용액	온도 pH	1. 간 여과액(효소 원액) 5mL→ 0℃, 37℃, 100℃ 5분간 방치 후 세제 3~4 방울 떨어뜨림.+ H ₂ O ₂ 10mL 넣어 섞 은 후 반응 정도를 관찰 2. 효소 원액 5mL /HCl 2mL, NaOH 2 mL, 증류수 2mL→세제 3~4방울 떨어 뜨림.+ H ₂ O ₂ 10mL 넣어 섞은 후 반응 정도를 관찰
(주) 교학사	감자즙, 3% H ₂ O ₂ 용 액, 10% NaOH 용 액, 10% HCl 용액, 중성세제	온도 pH	1. 감자즙 3mL + 세제 1방울 + 10mL 증류수/ 얼음물, 60℃→H ₂ O ₂ 10mL 넣 고 일정 시간 경과 후 올라온 거품의 높이 측정 2. 감자즙 3mL + 세제 1방울/ 10mL 증류수, HCl 10mL, NaOH 10mL→35℃ 물 비 커 속 넣은 후 H ₂ O ₂ 10mL 넣고 일정 시간 경과 후 올라온 거품의 높이 측정
(주) 중앙교육 진흥연구소 (김윤택 외)	옛기름 물, 녹말용 액, 요오드-요오드 화칼륨용액	온도	1% 녹말 용액 2mL / 옛기름 물 1mL → 얼음물, 실온, 35℃, 60℃, 100℃ 에 각각 5분간 처리 후 섞은 직후 한 방울만 취해 요오드반응
대한교과서(주) (조희영 외)	5% 아밀라아제 용 액, 1% 끓인 녹말용 액, 묽은 요오드 용 액, 수산화나트륨 용 액, 아세트산 용액	온도 pH	1. 녹말용액 5mL+ 요오드 용액 여섯 방울 / 아밀라아제 1mL → 10℃, 상 온, 35℃에 각각 5분간 넣어 둔 후 섞 은 후 푸른색이 없어지는 시간을 측정 2. 5mL 녹말용액 + 수산화나트륨 1mL, 0.5mL, 아세트산 2mL, 4mL(증류수를 이용해 총 4mL에 맞춤) / 아밀라아제 1 mL → 한 방울씩 취해 요오드 용액을 떨 어뜨린 후 요오드의 푸른색이 없어지는 시간 측정

도서출판 형식 (하영사 외)	1% 녹말용액, 엿기름, HCl, NaOH용액, 요오드 용액	온도 pH	1. 녹말용액 10mℓ / 엿기름 물→ 10℃, 37℃, 100℃에 넣어둔 후 요오드 반응 2. 녹말용액 10mℓ + HCl 1mℓ, NaOH 1mℓ / 엿기름 물→37℃에 놓아둔 후 요오드 반응
--------------------	-----------------------------------	----------	--

표 2. 교과서 분석

(2) filter assay 결과

감자가 생체이기 때문에 PBS buffer(pH 7.0)를 이용하여 H₂O₂ 를 희석시킨 경우와 pH의 변화에 buffer가 영향을 미칠 것이라 생각되어 3차 증류수에 희석한 경우를 모두 이용하여 filter assay를 실시한 결과 pH 7과 pH 9에서는 비슷한 정도의 효소 활성도를 보인 반면 pH 11에서는 filter paper disc가 가라앉기 무섭게 떠오르는 현상을 관찰할 수 있었다. 그리고 pH 11에서는 감자 즙을 묻힌 disc가 들어가지도 않았을 때도 많은 양의 거품이 발생하였는데 이를 MBL 산소센서를 이용 확인한 결과 산소였다. 감자의 catalase가 들어가지 않았는데도 산소가 발생한 원인은 과산화수소의 자가분해반응 때문이다.

수용액 중의 과산화수소의 자가분해반응은 pH와 금속촉매(Cu) 유무에 크게 좌우되며, pH 10 이하에서는 자가분해반응은 미미하여 90%이상의 과산화수소가 잔류하지만 pH 12에서는 90분경과 시 잔류 과산화수소가 9%이하로 낮아진다는 연구결과가 그것을 뒷받침한다(이진영 외, 2002).

① PBS buffer 희석 후, HCl, NaOH로 pH 보정 후 disc 띄움.

(단위 : 초)

	1회	2회	3회
pH 2.0	52	50	50
pH 7.1	14	16	17
pH 9.1	16	15	18
pH 11.1	disc를 띄우기 전에 공기방울이 심하게 생성되어 disc가 가라앉지 않아 실험 불가		

② 증류수로 희석 후, HCl, NaOH로 pH 보정 후 disc 띄움.

(단위 : 초)

	1회	2회	3회
pH 2.0	40	34	37
pH 7.2	13	14	15
pH 9.3	15	12	14
pH 11.0	3	3	3

2. 교사 설문 조사의 결과

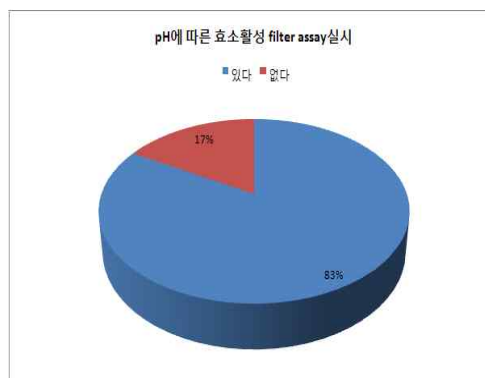
(1) 질문1 - filter assay 방법을 이용한 효소 실험을 해 본 적이 있는가?

	있다	없다
응답(명)	12	6



(2) 질문2 - 질문1에서 '있다'를 답한 12명 대상
- pH에 따른 실험을 한 적이 있는가?

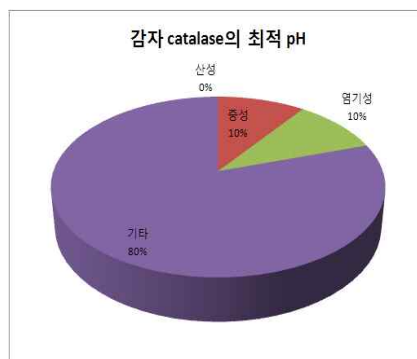
	있다	없다
응답(명)	10	2



→ '없다.' 답변의 이유 : pH에 따른 결과가 잘 나오지 않았다.
온도만 실험하였다.

(3) 질문 3 - 질문2에서 '있다'를 답한 10명 대상
- 실험 결과 감자의 최적 pH가 중성, 산성, 염기성 중 어디였었는지?

	산성	중성	염기성	기타
응답(명)	0	1	1	8



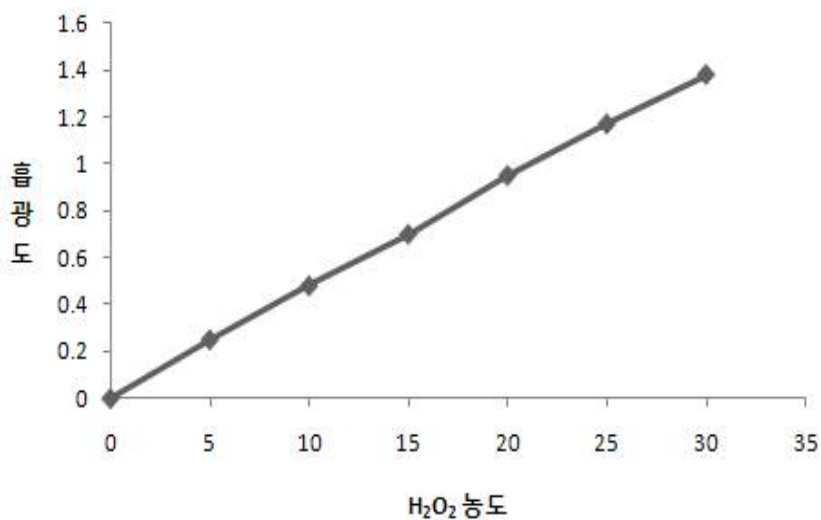
⇒ 기타의 답변

- ① 실험은 했으나 기억이 정확히 나지 않는다.(2명)
- ② 중성과 염기성에서 모두 결과가 좋았다.(4명)
- ③ 실험 실시 6개 실험 조 중 4개조는 중성에서 간발의 차로 빨리 떠올랐으나, 2개 조는 확실하게 염기성에 빨리 떠올랐다.(1명)
- ④ 염기성에서 더 빨리 떠올랐으나 변인통제를 잘못된 줄 알고 염기성은 빼고 실험을 시켰다.(1명)
- ⑤ 중성이라 알고 있지만, 염기성에서도 결과가 좋아 그 이유를 모르겠다.(2명)

최적 pH가 확실하게 중성이라 대답한 비율은 10%에 불과하였고, 중성 뿐 아니라 염기성에서도 결과가 좋게 나와 이론과 달라 최적 pH를 정확히 알 수 없었다고 대답한 비율이 60%이다. 실험 결과가 기억이 나지 않는다고 대답한 교사의 실험 결과가 중성이라고 하더라도 최적 pH를 중성 범위로 제대로 실험을 실시한 경우가 최대 30%로 실험결과가 제대로 나오지 않고 있음을 알 수 있다. 심지어 염기성이 최적 pH로 나왔다고 응답한 교사도 있음에 주목할 필요가 있다.

3. H₂O₂ 농도에 따른 흡광도 표준곡선

H ₂ O ₂ 농도	5mM	10mM	15mM	20mM	25mM	30mM
흡광도	0.25	0.48	0.70	0.95	1.17	1.38



얻은 결과로부터 흡광도(y)와 H₂O₂ 농도(x)와의 관계식을 구하면 다음과 같다.

$$y = \frac{1}{20} x$$

4. 정제된 catalase 최적 pH

(1) pH별 정제된 catalase 효소 활성도 측정

1) pH2

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.673	0.673	0.674	0.673	0.675	0.675	0.676
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	13.46	OD값의 증감은 H ₂ O ₂ 양과는 무관					
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0	-0.001	0.001	-0.002	0	-0.001
	unit	활성도 없음						
2회	OD값	0.684	0.684	0.684	0.685	0.686	0.688	0.688
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	13.68	OD값의 증감은 H ₂ O ₂ 양과는 무관					
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0	0	-0.001	-0.001	-0.002	0
	unit	활성도 없음						
3회	OD값	0.676	0.676	0.676	0.677	0.677	0.678	0.678
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	13.52	OD값의 증감은 H ₂ O ₂ 양과는 무관					
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0	0	-0.001	0	-0.001	0
	unit	활성도 없음						

평균 unit: 0

2) pH3



		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.762	0.762	0.762	0.762	0.762	0.763	0.763
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.24	OD값의 증감은 H ₂ O ₂ 양과는 무관					
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0	0	0	0	-0.001	-0.001
	unit	활성도 없음						
2회	OD값	0.762	0.762	0.762	0.762	0.762	0.762	0.761
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.24	15.24	15.24	15.24	15.24	15.24	15.22
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0	0	0	0	0	0.02
	unit	0						
3회	OD값	0.769	0.770	0.770	0.770	0.770	0.770	0.769
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.38	OD값의 증감은 H ₂ O ₂ 양과는 무관					
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		-0.001	0	0	0	0	0.001
	unit	활성도 없음						

평균 unit : 0

3) pH4

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.792	0.782	0.772	0.762	0.753	0.745	0.735
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.84	15.64	15.44	15.24	15.06	14.90	14.70
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.20	0.20	0.20	0.18	0.16	0.20
	unit	0.40						
2회	OD값	0.779	0.769	0.759	0.750	0.740	0.732	0.724
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.58	15.38	15.18	15.00	14.80	14.64	14.48
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.20	0.20	0.18	0.20	0.16	0.16
	unit	0.38						
3회	OD값	0.781	0.771	0.762	0.754	0.745	0.737	0.729
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.62	15.42	15.24	15.08	14.90	14.74	14.58
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.20	0.18	0.16	0.18	0.16	0.16
	unit	0.34						

평균 unit : 0.37

4) pH5



		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.792	0.771	0.751	0.733	0.713	0.693	0.677
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.84	15.42	15.02	14.66	14.26	13.86	13.54
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.42	0.40	0.36	0.40	0.40	0.32
	unit							
2회	OD값	0.816	0.795	0.775	0.755	0.736	0.716	0.698
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.32	15.90	15.50	15.10	14.72	14.32	13.96
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.42	0.40	0.40	0.38	0.40	0.36
	unit							
3회	OD값	0.805	0.784	0.762	0.741	0.721	0.702	0.684
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.10	15.68	15.24	14.82	14.42	14.04	13.68
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.42	0.44	0.42	0.40	0.38	0.36
	unit							

평균 unit :0.81

5) pH6

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.827	0.796	0.766	0.740	0.716	0.693	0.671
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.54	15.92	15.32	14.80	14.32	13.86	13.42
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.62	0.60	0.52	0.48	0.46	0.44
	unit							
2회	OD값	0.824	0.794	0.765	0.739	0.715	0.694	0.675
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.48	15.88	15.30	14.78	14.30	13.88	13.50
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.60	0.58	0.52	0.48	0.42	0.38
	unit							
3회	OD값	0.805	0.775	0.746	0.721	0.695	0.671	0.650
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.10	15.50	14.92	14.42	13.90	13.42	13.00
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.60	0.58	0.50	0.52	0.48	0.42
	unit							

평균 unit :1.10

6) pH7 citrate-phosphate buffe

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.803	0.762	0.721	0.686	0.656	0.625	0.600
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.06	15.24	14.42	13.72	13.12	12.50	12.00
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.82	0.82	0.70	0.60	0.62	0.50
	unit	1.52						
2회	OD값	0.800	0.758	0.720	0.685	0.657	0.634	0.607
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.00	15.16	14.40	13.70	13.14	12.68	12.14
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.84	0.76	0.70	0.56	0.46	0.54
	unit	1.46						
3회	OD값	0.797	0.754	0.720	0.684	0.659	0.636	0.607
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.94	15.08	14.40	13.68	13.18	12.72	12.14
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.86	0.68	0.72	0.50	0.46	0.58
	unit	1.40						

평균 unit : 1.46

7) pH7 phosphate buffer

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.817	0.774	0.738	0.700	0.670	0.643	0.613
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.34	15.48	14.76	14.00	13.40	12.86	12.26
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.86	0.72	0.76	0.60	0.54	0.60
	unit	1.48						
2회	OD값	0.810	0.767	0.729	0.693	0.664	0.635	0.608
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.20	15.34	14.58	13.86	13.28	12.70	12.16
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.86	0.76	0.72	0.58	0.58	0.54
	unit	1.48						
3회	OD값	0.807	0.769	0.726	0.696	0.667	0.641	0.609
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.14	15.38	14.52	13.92	13.33	12.81	12.17
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.76	0.86	0.60	0.59	0.52	0.64
	unit	1.46						

평균 unit : 1.47

8) pH8

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.867	0.827	0.793	0.743	0.713	0.683	0.654
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	17.34	16.54	15.86	14.86	14.26	13.66	13.08
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.80	0.68	0.60	0.60	0.60	0.58
	unit	1.28						
2회	OD값	0.835	0.787	0.751	0.717	0.682	0.653	0.627
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.70	15.74	15.02	14.34	13.64	13.06	12.54
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.96	0.72	0.68	0.70	0.58	0.52
	unit	1.40						
3회	OD값	0.842	0.794	0.747	0.714	0.682	0.651	0.633
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.84	15.88	15.14	14.48	13.84	13.22	12.70
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.96	0.74	0.66	0.64	0.62	0.52
	unit	1.40						

평균 unit : 1.36

9) pH9 phosphate buffer

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.788	0.756	0.726	0.688	0.659	0.624	0.602
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.76	15.12	14.52	13.76	13.18	12.48	11.84
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.64	0.60	0.76	0.58	0.70	0.44
	unit	1.36						
2회	OD값	0.828	0.783	0.744	0.713	0.679	0.648	0.620
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	17.56	16.66	15.88	15.26	14.58	13.92	13.40
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.90	0.78	0.62	0.68	0.62	0.56
	unit	1.40						
3회	OD값	0.804	0.761	0.732	0.693	0.660	0.629	0.606
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.08	15.22	14.64	13.86	13.20	12.58	12.12
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.86	0.58	0.58	0.56	0.62	0.46
	unit	1.16						

평균 unit : 1.31

10) pH9 glycine-NaOH buffer

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.792	0.753	0.719	0.683	0.652	0.629	0.607
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.84	15.06	14.38	13.66	13.04	12.58	12.14
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.78	0.68	0.72	0.62	0.46	0.44
	unit	1.40						
2회	OD값	0.779	0.747	0.717	0.689	0.665	0.640	0.618
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.58	14.94	14.34	13.78	13.30	12.80	12.30
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.64	0.60	0.56	0.48	0.50	0.46
	unit	1.16						
3회	OD값	0.755	0.722	0.691	0.666	0.644	0.626	0.606
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.10	14.44	13.82	13.32	12.88	12.52	12.12
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.66	0.62	0.50	0.44	0.36	0.40
	unit	1.12						

평균 unit :1.23

11) pH10

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	0.932	0.904	0.879	0.858	0.839	0.821	0.806
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	18.64	18.08	17.58	17.16	16.78	16.42	16.12
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.56	0.50	0.42	0.38	0.36	0.30
	unit	0.92						
2회	OD값	0.914	0.887	0.860	0.834	0.814	0.792	0.772
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	18.28	17.74	17.20	16.68	16.28	15.84	15.44
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.54	0.54	0.52	0.40	0.44	0.40
	unit	1.06						
3회	OD값	0.911	0.885	0.861	0.838	0.818	0.796	0.775
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	18.22	17.70	17.22	16.76	16.36	15.92	15.50
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.52	0.48	0.46	0.40	0.44	0.42
	unit	0.94						

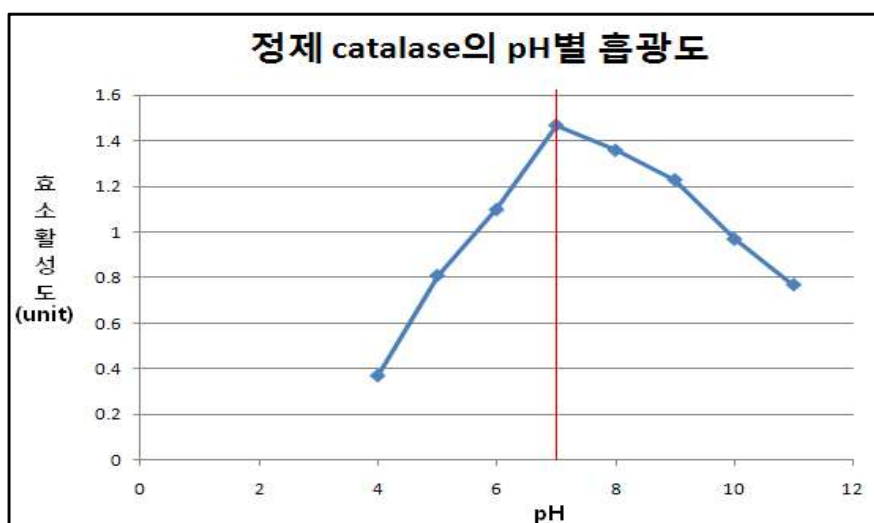
평균 unit :0.97

12) pH11

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.233	1.204	1.187	1.165	1.152	1.138	1.121
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	24.66	24.08	23.74	23.30	23.04	22.76	22.42
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.58	0.34	0.44	0.26	0.28	0.34
	unit							
2회	OD값	1.206	1.176	1.154	1.137	1.122	1.107	1.089
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	24.12	23.52	23.08	22.74	22.44	22.14	21.78
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.60	0.44	0.34	0.30	0.30	0.36
	unit							
3회	OD값	1.209	1.181	1.165	1.144	1.131	1.111	1.096
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	24.18	23.62	23.30	22.88	22.62	22.22	21.92
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.56	0.32	0.42	0.26	0.40	0.30
	unit							

평균 unit : 0.77

(2) 정제된 catalase 최적 pH



OD값에 해당하는 H₂O₂ 양 계산은 $y = x \frac{1}{20}$ 의 식에 대입하여 $x = 20y$ 로 하여 계산하면 얻을 수 있다.

효소의 활성은 초기 반응 속도가 중요하지만 흡광도를 측정하는 처음에는 240nm 파장의 빛이 주어지는 분광계 속 환경에서 여러 가지 변인이 작용할 가능성이 높기 때문에 효소 활성도 unit을 계산할 때 처음 30"동안은 버리고 효소 작용이 안정되었다고 여겨지는 30"~1'30" 사이의 효소 활성도를 가지고 unit을 계산하였다. 효소 활성도의 계산은 1 unit을 1분 동안 H₂O₂ 1μmole을 분해할 경우의 효소의 활성으로 정의하였고 전체 volume 1ml로 실험하였으므로 20mM/L = 20000μM/1000ml = 20μM/ml가 된다. 이로 인해 H₂O₂가 20mM 감소한 것을 20μM 감소한 것으로 환산하여 효소의

활성도를 계산할 수 있다.

계산된 효소의 활성도에 의해 정제 catalase의 최적 pH는 7임을 알 수 있다. 그러나 정제된 catalase에서도 염기성에서는 산성에 비해 효소가 활성이 약간 높아 보이고, pH 10과 11에서 초기 30초 동안 활성도가 꽤 높은 편인 것은 자가분해의 영향이 있음을 의미한다.

5. pH별 감자 catalase 효소 활성도

(1) pH별 감자의 catalase 효소 활성도 측정

1) pH2, pH3, pH4, pH5은 감자즙이 들어가자마자 뿌옇게 흐려져 흡광도 측정 범위를 벗어나 측정할 수 없었다.

2) pH6 (감자즙만의 OD값 = 0.600)

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.401	1.371	1.344	1.321	1.301	1.282	1.261
	보정 OD값	0.801	0.771	0.744	0.721	0.701	0.682	0.661
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.02	15.42	14.88	14.42	14.02	13.64	13.22
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.60	0.54	0.46	0.40	0.38	0.42
	unit							
2회	OD값	1.412	1.383	1.356	1.331	1.311	1.291	1.270
	보정 OD값	0.812	0.783	0.756	0.731	0.711	0.691	0.670
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.24	15.66	15.12	14.62	14.22	13.82	13.40
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.58	0.54	0.50	0.40	0.40	0.42
	unit							
3회	OD값	1.405	1.377	1.348	1.324	1.303	1.279	1.257
	보정 OD값	0.805	0.777	0.748	0.724	0.703	0.679	0.657
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.10	15.54	14.96	14.48	14.06	13.58	13.14
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.56	0.58	0.48	0.42	0.48	0.44
	unit							

평균 unit :1.06

6) pH7 citrate-phosphate buffer (감자즙만의 OD값 = 0.540)



		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.326	1.277	1.238	1.196	1.155	1.119	1.088
	보정 OD값	0.786	0.737	0.698	0.656	0.615	0.579	0.548
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.72	14.74	13.96	13.12	12.30	11.58	10.96
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.98	0.78	0.84	0.82	0.72	0.62
	unit							
2회	OD값	13.40	12.92	12.54	12.09	11.75	11.47	11.11
	보정 OD값	0.800	0.752	0.714	0.669	0.635	0.607	0.571
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.00	15.04	14.28	13.38	12.70	12.14	11.42
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.96	0.76	0.90	0.68	0.56	0.72
	unit							
3회	OD값	13.71	13.32	12.92	12.60	12.34	12.03	11.78
	보정 OD값	0.831	0.792	0.752	0.720	0.694	0.663	0.638
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.62	15.84	15.04	14.40	13.88	13.26	12.76
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.78	0.80	0.64	0.52	0.62	0.50
	unit							

평균 unit :1.57

7) pH7 phosphate buffer (감자즙만의 OD값 = 0.600)

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	14.10	13.74	13.38	13.04	12.78	12.53	12.21
	보정 OD값	0.810	0.774	0.738	0.704	0.678	0.653	0.621
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.20	15.48	14.76	14.08	13.56	13.06	12.42
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.72	0.72	0.68	0.52	0.50	0.64
	unit							
2회	OD값	14.39	14.02	13.65	13.37	13.11	12.82	12.56
	보정 OD값	0.839	0.802	0.765	0.737	0.711	0.682	0.656
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.78	16.04	15.30	14.74	14.22	13.64	13.12
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.74	0.74	0.56	0.52	0.58	0.52
	unit							
3회	OD값	14.45	14.18	13.71	13.46	13.16	12.85	12.61
	보정 OD값	0.845	0.818	0.771	0.746	0.716	0.685	0.661
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.90	16.16	15.42	14.92	14.32	13.70	13.22
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.74	0.74	0.70	0.60	0.62	0.48
	unit							

평균 unit :1.38

8) pH8 (감자즙만의 OD값 =0.540)



		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.419	1.373	1.328	1.289	1.250	1.217	1.187
	보정 OD값	0.879	0.833	0.788	0.749	0.710	0.677	0.647
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	17.58	16.66	15.96	14.98	14.20	13.54	12.94
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.92	0.90	0.78	0.78	0.66	0.60
	unit							
2회	OD값	1.413	1.367	1.333	1.297	1.261	1.230	1.198
	보정 OD값	0.873	0.827	0.793	0.757	0.721	0.690	0.658
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	17.46	16.54	15.86	15.14	14.42	13.80	13.16
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.92	0.68	0.72	0.72	0.62	0.64
	unit							
3회	OD값	1.404	1.357	1.316	1.282	1.249	1.213	1.182
	보정 OD값	0.864	0.817	0.776	0.742	0.709	0.673	0.642
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	17.28	16.34	15.52	14.84	14.18	13.46	12.84
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.94	0.82	0.68	0.66	0.72	0.62
	unit							

평균 unit :1.52

9) pH9 phosphate buffer (감자즙만의 OD값 =0.590)

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.415	1.372	1.338	1.302	1.272	1.245	1.224
	보정 OD값	0.825	0.782	0.748	0.712	0.682	0.655	0.634
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.50	15.64	14.96	14.24	13.64	13.10	21.68
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.86	0.68	0.72	0.60	0.54	0.42
	unit							
2회	OD값	1.420	1.375	1.337	1.302	1.270	1.250	1.230
	보정 OD값	0.830	0.785	0.747	0.612	0.680	0.660	0.640
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.60	15.70	14.94	12.24	13.60	13.20	12.80
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.90	0.76	0.70	0.64	0.40	0.040
	unit							
3회	OD값	1.378	1.341	1.303	1.274	1.247	1.222	1.200
	보정 OD값	0.788	0.751	0.713	0.684	0.657	0.632	0.610
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	15.76	15.02	14.26	13.68	13.14	12.64	12.20
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.74	0.76	0.58	0.54	0.50	0.44
	unit							

평균 unit :1.40

10) pH9 glycine-NaOH buffer (감자즙만의 OD값 =0.360)



		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.152	1.121	1.094	1.064	1.045	1.026	1.007
	보정 OD값	0.812	0.781	0.754	0.724	0.705	0.686	0.667
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	16.24	15.62	15.08	14.48	14.10	13.72	13.34
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.62	0.54	0.60	0.38	0.38	0.38
	unit							
2회	OD값	1.064	1.040	1.011	0.977	0.950	0.925	0.899
	보정 OD값	0.724	0.700	0.671	0.637	0.610	0.585	0.559
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	14.48	14.00	13.42	12.74	12.20	11.70	11.18
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.68	0.58	0.68	0.54	0.50	0.52
	unit							
3회	OD값	1.058	1.027	1.003	0.972	0.950	0.933	0.918
	보정 OD값	0.718	0.687	0.663	0.632	0.610	0.593	0.578
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	14.36	13.74	13.26	12.64	12.20	11.86	11.56
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.62	0.48	0.62	0.44	0.34	0.30
	unit							

평균 unit : 1.17

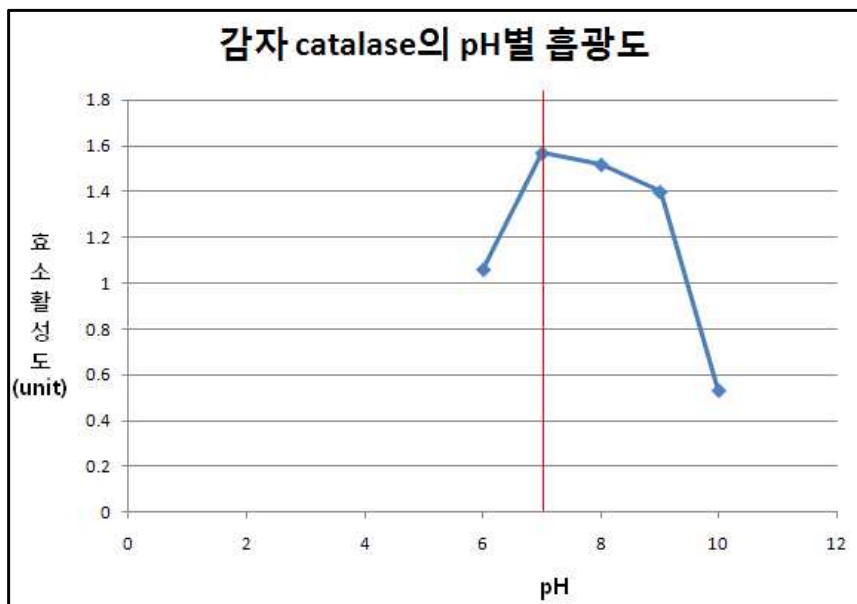
11) pH10 (감자즙만의 OD값 = 0.200)

		0	30"	1'	1'30"	2'	2'30"	3'
1회	OD값	1.149	1.135	1.108	1.100	1.190	1.185	1.080
	보정 OD값	0.949	0.935	0.908	0.900	0.890	0.885	0.880
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	18.98	18.40	18.16	18.00	17.80	17.70	17.60
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.58	0.24	0.16	0.20	0.10	0.10
	unit							
2회	OD값	1.160	1.134	1.115	1.106	1.094	1.088	1.083
	보정 OD값	0.960	0.934	0.915	0.906	0.894	0.888	0.883
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	19.20	18.68	18.30	18.12	17.88	17.76	17.66
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.52	0.38	0.18	0.24	0.12	0.10
	unit							
3회	OD값	1.210	1.182	1.167	1.150	1.134	1.125	1.114
	보정 OD값	1.010	0.982	0.967	0.950	0.934	0.925	0.914
	해당 H ₂ O ₂ 양(mM)	20.20	19.64	19.34	19.00	18.68	18.50	18.28
	감소한 H ₂ O ₂ 양(mM)		0.56	0.30	0.34	0.32	0.18	0.22
	unit							

평균 unit : 0.53

12) pH11-흡광도 측정 범위를 넘어서 측정 불가

(2) 감자의 catalase 최적 pH



감자의 catalase의 최적 pH도 정제 catalase와 마찬가지로 pH 7에서 최적 pH를 나타냈다. 감자의 갈변현상과 염기성에서 OD값이 증가하는 요인으로 측정 범위를 벗어나 pH 11을 측정할 수 없어 자가분해의 효과에 대해 spectrophotometer법으로는 알아볼 수 없었다.

감자의 catalase는 pH 7~9 사이는 정제 catalase 보다 활성이 좀 더 높은 것을 알 수 있다. 그러나 pH 10으로 넘어가면 급격히 활성이 떨어지는 것을 관찰할 수 있으나 활성이 0인 것은 아니며, 초기에 반응이 일어난 후 급격히 활성을 잃는 것을 알 수 있다. 감자의 catalase 활성도 pH 10과 11에서 초기 30초 동안

6. 대안적 실험 연구

catalase의 최적 pH는 중성임에도 불구하고, filter assay에서 filter paper disc가 떠오르는데 걸리는 시간이 강염기에서도 빠르게 떠오르는 경향이 나타난 것은 disc가 떠오르는 데 걸리는 시간이 30초가 채 안 걸리는 짧은 시간에 이루어지기 때문이다. 30초만을 비교해보면 다른 변인들의 영향을 받기는 하지만 초기 반응에 의해 산소 기체가 발생하여 거품을 이룬다. 이 거품의 영향을 disc가 어떻게 받느냐에 따라 중성에서도 잘 떠오르지만 초기의 기체 발생으로 충분히 떠오를 힘이 생기는 것으로 인해 염기성에서도 잘 떠오르는 결과가 나타나고 있다. 이러한 문제점에 의해 산소기체가 천천히 생성되도록 하여 disc가 빠르게 떠오르지 않게 하기 위한 방법을 사용하거나 catalase가 과산화수소를 분해하는 활성도 실험에서는 약간의 시간을 두고 관찰할 수 있는 실험 방법이 요구된다 하겠다. 이러한 관점에서 filter assay를 사용할 수 있도록 보완되는 지 여부를 알아보는 연구와 filter assay 대신 시간을 두고 관찰할 수 있

는 대체 방법을 알아보는 연구를 실시한 결과이다.

(1) filter assay 보완하는 연구

1) H₂O₂의 농도 변화 연구 결과(in pH 9)

	3%	2%	1%	0.5%
1분	3.80	3.60	1.00	0.70
2분	1.10	0.50	0.30	0.20
3분	0.65	0.25	0.20	0.15
4분	0.60	0.20	0.20	0.10
5분	0.40	0.10	0	0

(단위 : cm)

H₂O₂의 농도가 감소할수록 1분 동안 발생한 현저히 감소하는 것을 관찰할 수 있다. 이를 토대로 0.1%와 0.05%로 H₂O₂를 더 dilution시킨 후 감자 즙을 이용하여 filter assay를 실시한 결과는 다음과 같다.

	pH 7.0		pH 10.0	
	0.1% H ₂ O ₂	0.05% H ₂ O ₂	0.1% H ₂ O ₂	0.05% H ₂ O ₂
1회	31	62	28	60
2회	27	60	28	55
3회	29	58	28	50

(단위 : 초)

2) 감자 즙 희석한 filter assay 결과(in 3% H₂O₂)

		1/2	1/3	1/4	1/8	1/16
pH 7.0	1회	4	9	16	30	60
	2회	6	10	15	29	55
pH 9.2	1회	6	13	17	29	53
	2회	6	11	19	29	50
pH 10.3	1회	6	11	16	28	52
	2회	6	10	14	29	54

(단위 : 초)

3) 당근을 이용한 filter assay 결과

	pH 7.0		pH 10.0	
	0.1% H ₂ O ₂	0.05% H ₂ O ₂	0.1% H ₂ O ₂	0.05% H ₂ O ₂
1회	25	54	27	50
2회	26	48	24	52
3회	25	50	23	56

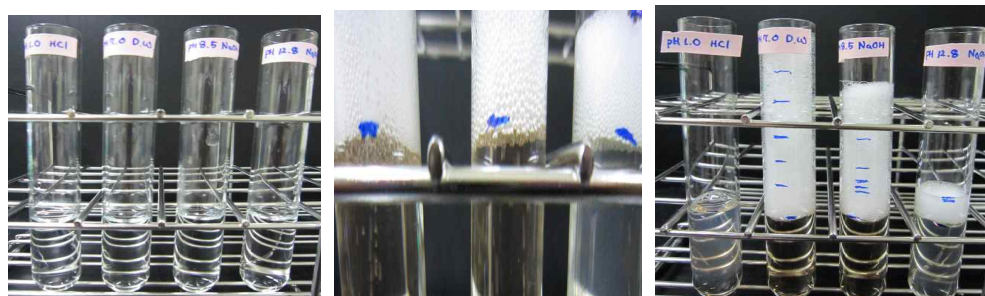
(단위 : 초)

효소 액을 희석하여 산소의 발생 양을 조절하여 본 결과 감자 즙을 희석할수록 filter disc가 떠오르는 시간이 길어지기는 하지만 pH에 의해 중성과 염기성의 차이를 크게 느낄 수 없고 심지어 염기성에서는 자가분해의 영향으로 pH 10에서 더 중성보다 잘 떠오르는 경향성을 보이고 있다. 이 경향성은 당근을 가지고 실험을 해도 마찬가지로 나오며, H₂O₂의 농도를 낮추어도 초기에 발생하는 산소가 크게 차이가 나지 않음으로 disc가 중성에서 최적으로 떠오르지 않음을 보여준다. 이러한 결과로 인해 filter assay는 pH에 따른 효소의 특성을 알아보는 데 적절하지 않다는 것을 알 수 있고, 보완이 힘든 탐구 방법이라는 것을 알 수 있다.

(2) filter assay 대체하는 연구

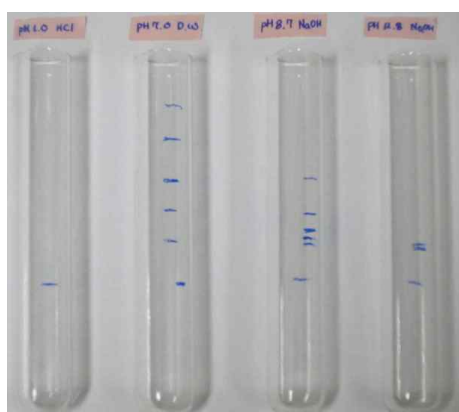
1) 발생 기체의 높이 측정 실험

5분간 산소기체가 발생하는 정도를 측정하였을 때 확실한 경향성을 보이고, 시각적으로도 효소가 영향을 받는 요인에 대해 정리하기가 수월한 실험이었다.



	0.1N HCl (pH 1.0)	DW (pH 7.0)	0.004N NaOH (pH 8.7)	0.1N NaOH (pH 12.8)
1분 경과	0	1.1	0.95	0.95
2분 경과	0	0.9	0.15	0
3분 경과	0	0.9	0.20	0.05
4분 경과	0	1.2	0.40	0
5분 경과	0	0.9	1.00	0.1

(단위 : cm)



초기 1분 동안 발생하는 산소 거품의 높이는 산성을 제외하고는 중성과 염기성의 각 pH에서 큰 차이를 보이지 않았다. 이것은 염기성에서도 초기에 반응이 일어나다 시간이 지남에 따라 효소의 활성도가 많이 떨어지는 염기성에서 disc가 중성에서처럼 잘 떠오르는 이유와 상관이 깊다. 그러나 1분씩 경과할수록 pH 9에서도 중성에 비해 눈에 띄게 거품의 발생 높이가 줄어드는 것을 통해 최적 pH를 적절하게 찾아낼 수 있다.

2) 산소센서를 이용한 MBL 실험

MBL은 컴퓨터와 센서를 이용하여 작은 값의 변화도 정량적으로 정확히 알아낼 수 있기 때문에 발생하는 산소를 직접적으로 측정하는 데 좋은 도구이다. 센서의 가격이 비싼 단점을 가지고 있기는 하지만 최근 많은 학교에서 MBL을 구입하는 점을 감안하면 현장에서 사용해 볼 만한 실험 방법이 될 수 있다.

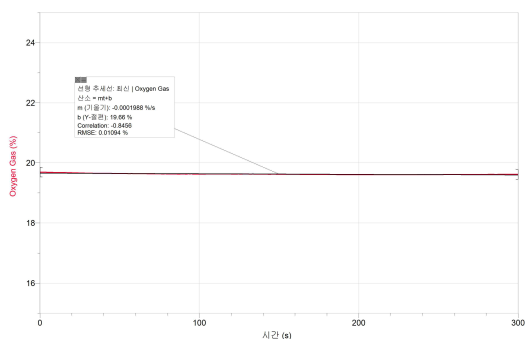
실제 측정한 수치를 비교하여 보면 정제 catalase의 경우에는 정확하게 pH 7에서 최적을 나타냄을 그래프의 추세선 기울기를 이용하여서도 쉽게 확인할 수 있었고, spectrophotometer로는 측정하기 쉽지 않았던 pH 11의 값도 수월하게 읽어내며, 자가 분해한 값까지 읽을 수 있는 장점이 있다.

① 산소 센서를 이용한 MBL 실험 결과(정제 catalase : bovine)

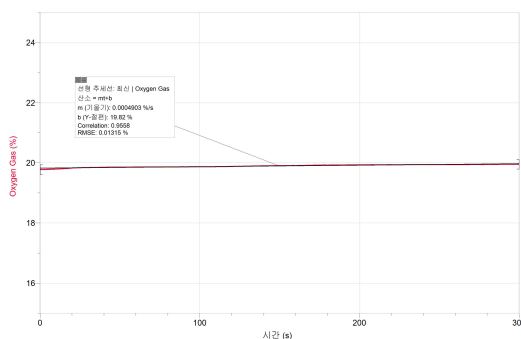
pH	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
기울기	-0.0002	0.0005	0.0061	0.016	0.028	0.066	0.036	0.032	0.030	0.036

(단위 : %/초)

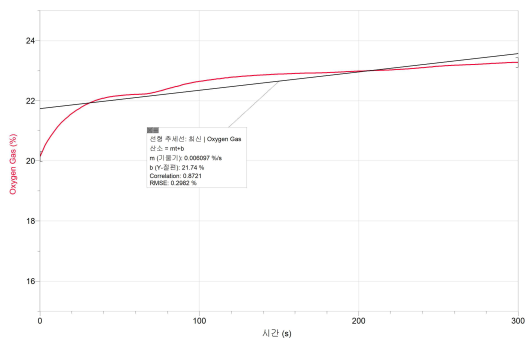
pH 9까지는 자체 분해 효과가 없으나 pH 10에서는 0.0006(%/초), pH 11에서는 최소 0.003~0.013(%/초)의 자가 분해가 일어난다. 그렇기 때문에 실제적으로 pH 11에서는 0.023~0.033(%/초)의 분해가 일어났다고 보아야한다.



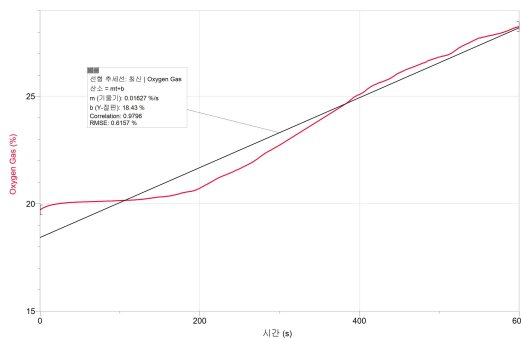
pH 2에서 정제 catalase 활성도 측정



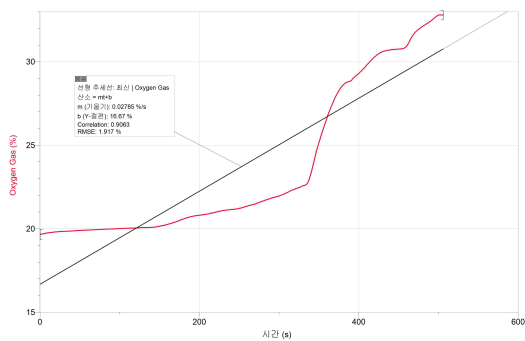
pH 3에서 정제 catalase 활성도 측정



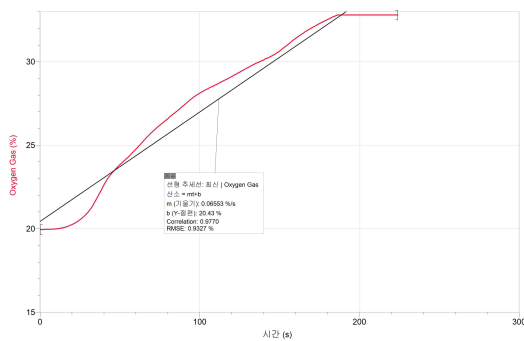
pH 4에서 정제 catalase 활성도 측정



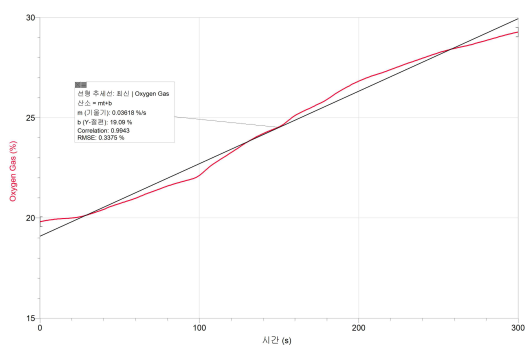
pH 5에서 정제 catalase 활성도 측정



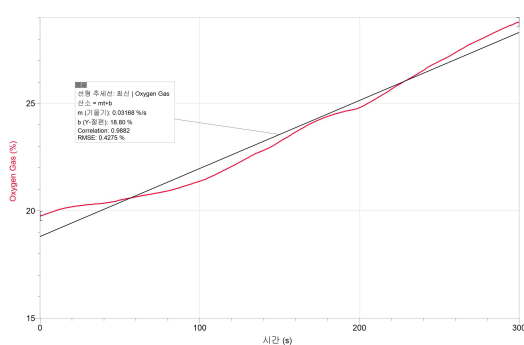
pH 6에서 정제 catalase 활성도 측정



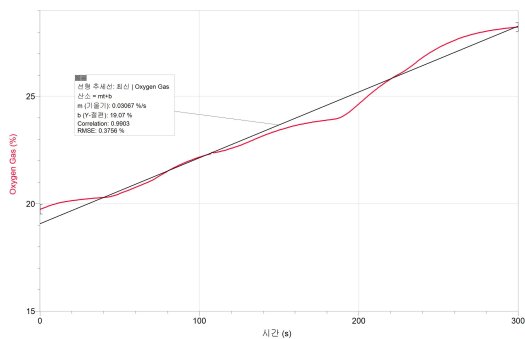
pH 7에서 정제 catalase 활성도 측정



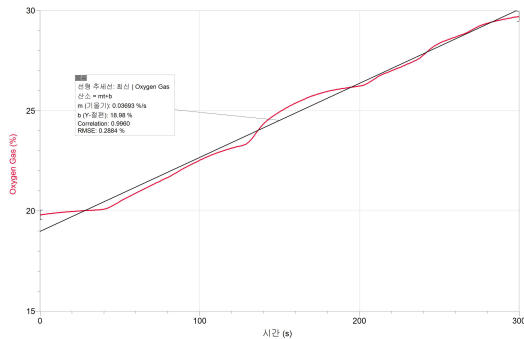
pH 8에서 정제 catalase 활성도 측정



pH 9에서 정제 catalase 활성도 측정



pH 10에서 정제 catalase 활성도 측정



pH 11에서 정제 catalase 활성도 측정

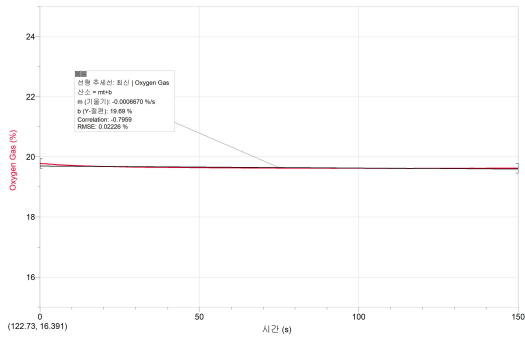
② 산소 센서를 이용한 MBL 실험 결과(감자 catalase)

pH	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
기울기	-0.00067	-0.00009	0.0008	0.0003	0.011	0.018	0.019	0.012	0.006	0.008

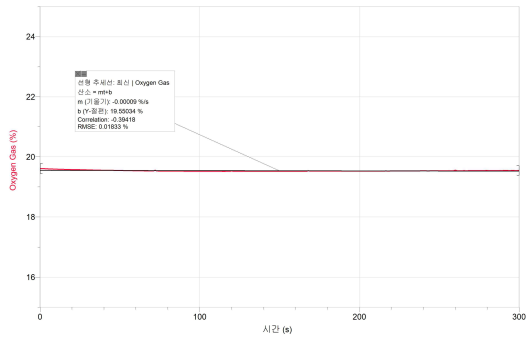
(단위 : %/초)

감자 즙을 이용한 실험에서 pH 7과 pH 8에서 거의 비슷하게 기울기가 나왔으나 근소한 차이로 pH 8에서 좀 더 나온 것은 감자가 pH 7~8사이인 것의 영향을 보여준

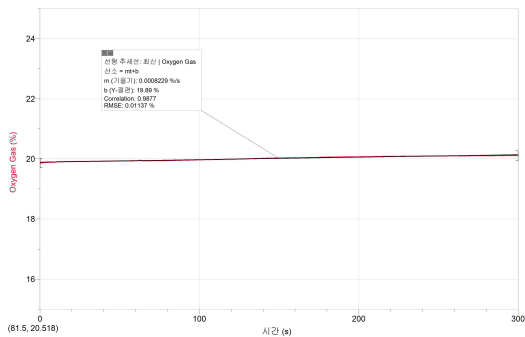
다. 역시 pH 11의 효소활성도를 나타내는 기울기는 pH 10에서 보다 더 높은 데 자가 분해를 생각하면 $-0.005 \sim 0.005$ (%/초)로 pH 10에서 자가 분해를 생각했을 때의 기울기 0.0054 (%/초)보다 훨씬 적은 효소 활성을 보인다는 사실을 알 수 있다.



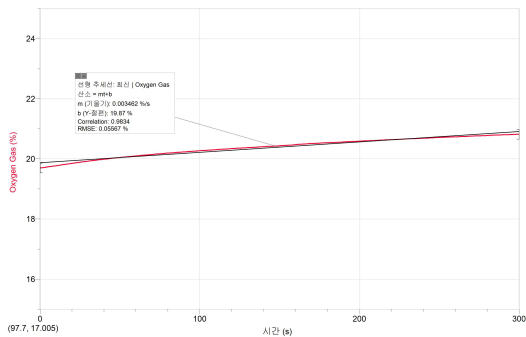
pH 2에서의 감자 catalase 활성도 측정



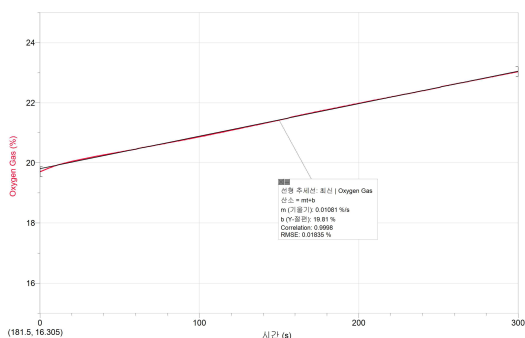
pH 3에서의 감자 catalase 활성도 측정



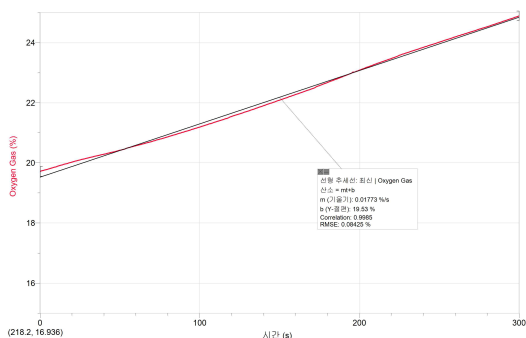
pH 4에서의 감자 catalase 활성도 측정



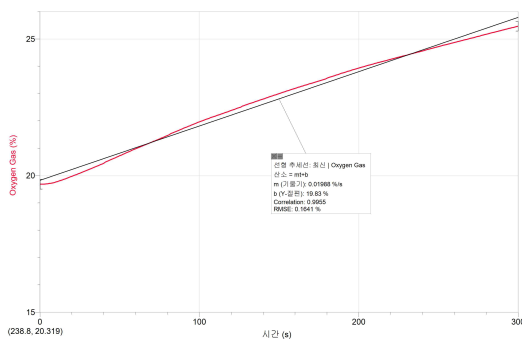
pH 5에서의 감자 catalase 활성도 측정



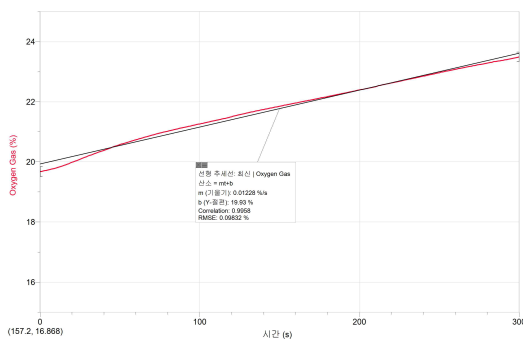
pH 6에서의 감자 catalase 활성도 측정



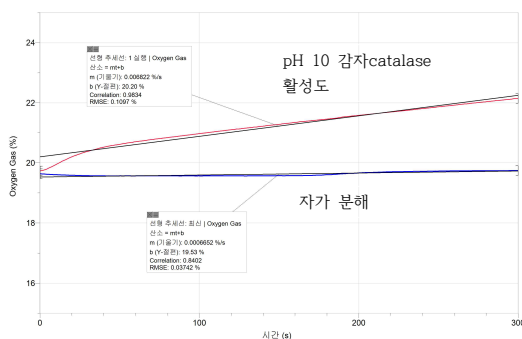
pH 7에서의 감자 catalase 활성도 측정



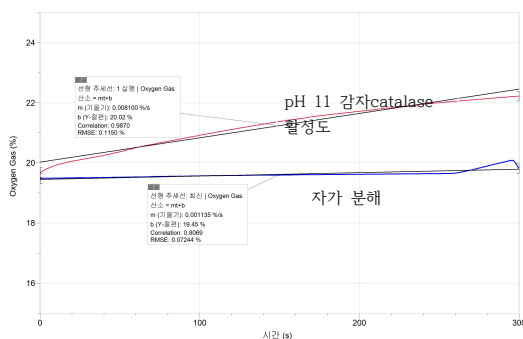
pH 8에서의 감자 catalase 활성도 측정



pH 9에서의 감자 catalase 활성도 측정



pH 10에서의 감자 catalase 활성도 측정
(자가 분해 그래프 포함)



pH 11에서의 감자 catalase 활성도 측정
(자가 분해 그래프 포함)

V. 결론 및 제언

본 연구는 생물 II 과정에 나오는 ‘효소의 특성’단원에서 효소에 영향을 미치는 요인

을 알아보는 filter assay 실험에 문제점이 있는 지를 살펴보고, 그 문제점에 대한 대안적 실험을 제시해보고자 하였다.

연구의 결론을 정리해보면 다음과 같다.

- (1) 감자 catalase의 최적 pH는 pH 7~8사이이며, pH 9까지 효소의 활성도가 좋은 편이다.
- (2) filter assay와 같은 감자의 catalase를 이용한 실험은 최적 pH가 중성범위임에도 불구하고 초기 반응에 의해 발생한 산소기체 거품에 의해 정성적으로 관찰하는 실험에 오류를 일으키기 쉬운 문제점을 가지고 있다.
- (3) 감자의 catalase가 과산화수소를 분해하여 발생하는 산소를 이용하여 효소 활성에 영향을 미치는 요인을 살펴보고자 한다면 초기에 관찰이 완료되는 실험보다는 3~5분 이상 관찰을 할 수 있는 실험 방법이 실험 결과의 오류를 방지할 수 있다.
- (4) filter assay를 실시하게 되는 경우에는 pH 10 이상에서는 자가분해 현상이 두드러지게 생기기 시작하므로, 약염기성을 잘 지켜 실험을 실시하여야 한다.

filter assay는 야채들의 달리기 등의 부제를 가지고 재미있는 실험 중 하나로 많이 소개된다. 하지만 살펴본 바와 같이 최적 pH를 찾는 데 있어서는 심각한 오류를 범할 수도 있기 때문에 연구자는 대안적 실험방법의 사용으로 실험의 오류를 최소화시킬 수 있도록 하는 방법을 제시하였다. 하지만 이 실험방법이 최선이 되기에는 단점도 가지고 있기 때문에 더 나은 대안적 실험방법을 찾기 위해 몇 가지 제언과 제한점을 언급하면 다음과 같다.

- (1) 기포의 높이를 측정하는 방법은 이론에 맞는 경향성을 보이고 거품 발생하는 과정이 적절한 시험관을 사용하면 눈에 띄게 보이는 등의 장점을 가지고 있지만 시간에 맞추어 줄을 긋는 단순한 작업을 5분이라는 긴 시간 동안 하는 데서 오는 학생들의 지루함이 있을 가능성이 있다. 정량적으로 보는 과정에서 시간이 3~5분 필요하기는 하지만 이 시간을 단축시켜도 결과가 잘 나올 수 있는 방법의 고안이 필요하겠다.

- (2) MBL실험은 컴퓨터를 사용하고, 컴퓨터가 그려준 그래프를 여러 가지 방법으로 해석할 수 있어 다양한 활동을 할 수 있고, 대체적으로 정확한 데이터를 얻을 수 있어 좋다. 하지만 센서와 인터페이스의 가격이 비싼 편이고, 산소 센서의 경우 사용방법을 잘 다루지 않았을 경우 고장의 위험성도 높은 제한점을 지닌다.
- (3) 감자 뿐 아니라 다른 야채나 대부분의 세포에는 catalase가 존재한다. 혈액 속 적혈구나 간에 catalase가 많이 존재하지만 동물보다 식물이 조직을 가는 등의 행동에 대한 거부감이 없고 친숙하여 많이 사용되고 있다. 감자 뿐 아니라 당근이나 무속에도 catalase가 많이 존재한다고 알려져 있는 만큼 다른 야채를 사용하였을 때는 어떠한 결과가 나오는 지 실험해 보지 못했는데, 다른 야채의 catalase 활성에 대한 연구가 이루어지면 대안적 실험 방법이 더 풍성해질 것이다.

VI. 참고 문헌

- 고지연, 김세경, 고영신 (2004). 수소 발생 실험의 개선에 관한 연구. 초등과학교육, 23(4), 318-325
- 고영신, 김세경, 이해경 (2004). 초등학교 과학과 이산화탄소 발생 실험의 개선에 관한 연구. 초등과학교육, 23(2), 152-158.
- 김경희, 박성호, 양홍준, 송방호, 정화숙, 권덕기, 정원우, 권용주, 손종경 (1999). 고등학교 생물교과서에서 침의 소화 작용에 대한 실험방법의 분석. 한국생물교육학회지, 27(1), 25-34
- 김용진, 박인근 (2007). 과학 교과서에 제시된 광합성 산물 실험의 적절성 연구. 한국생물교육학회지, 34(5)(특별호), 595-604.
- 류오현, 최문영, 송주현, 권중건, 백성혜, 박국태 (2001). 중학교 과학 교과서 분별 종류 실험의 비교 분석 및 개선. 대한화학회지, 45(5), 481-490.
- 문경원, 김영수 (2008). 광합성 실험과 호흡 실험에 대한 중·고등학생들의 실험 과정 이해도 및 실험 수행 능력 조사. 한국생물교육학회지, 36(4), 537-554.
- 박국태, 이지영, 박광서, 조영자 (2006). 고등학교 과학 교과서에 제시된 염화구리(II) 수용액의 전기분해 실험의 분석 및 개선. 대한화학회지, 50(4), 328-337
- 박동조, 백성혜, 강성주 (2001). 열역학적 관점에 근거한 구름발생 실험의 문제점 분석 및 개선방안에 대한 고찰. 한국과학교육학회지, 21(3), 547-557.
- 방정아, 윤희숙, 최원호, 정대홍 (2006). 기체의 부피변화를 이용한 화학반응속도 측정 실험의 이해 및 개선 연구: HCl 수용액과 고체 Mg의 반응에 대하여. 대한화학회지, 50(5), 404-414.
- 윤정아, 박세열, 황현숙, 백인환, 류상하, 박국태 (2010). 고등학교 화학II의 고체 용해도 측정 실험에 대한 분석 및 개선. 교원교육, 26(4), 1-16
- 정효철 (2005). 카탈라아제 반응속도에 대한 온도, 기질농도, pH의 영향 실험을 위한 시뮬레이션형 코스웨어의 개발과 적용. 서울대학교 대학원 석사학위 논문.
- 지재화, 정대홍 (2009). 고등학교 과학 교과서에서「pH가 효소의 작용에 미치는 영향」실험의 문제점 분석 -녹말과 요오드 반응을 중심으로-. 한국과학교육학회지, 29(8), 923-933
- 이진영, 윤호성, 김철주, 김성돈, 김준수 (2002). 과산화수소에 의한 시안의 분해특성(Characteristics of Cyanide Decomposition by Hydrogen Peroxide Reduction). 한국 자원 리사이클링 학회지, 11(2), 3-13

- Bradford, M.M. (1976). Anal Biochem
- Daniel C. Harris (2007). 분석화학, 자유아카데미, 468,469,523~528,534
- Lazarowitz, R., & Tamir, R. (1994). Research on using laboratory instruction in science. InD. Gabel (Ed.), Handbook of Research on Science Teaching and Learning, New York: MacMillan, 94-128.
- Nott, M., & Wellington, J. (1996). When the black box springs open : practical work in schools and the nature of science, *International Journal of Science Education*, 18, 807-818
- Nott, M., & Smith, R. (1995). 'Talking your way out of it', 'rigging', and 'conjuring' : what science teachers do when practical go wrong, *International Journal of Science Education*, 17, 399-410
- Putnam C., Arvai A., Bourne Y., Tainer J. (2000). Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *Journal of Molecular Biology*, 296, 295-309
- www.labplus.co.kr/실험실기본시리즈6_분광광도계.pdf
- www.ncbi.nlm.nih.gov/protein?term=potato%20catalase

국문 요약

고등학교 '효소의 성질' 실험의 문제점 분석 및 개선방안 연구 - pH와 감자의 catalase의 관계를 중심으로 -

본 연구는 생물Ⅱ 과정에 나오는 '효소의 특성' 단원에서 효소에 영향을 미치는 요인을 알아보는 filter assay 실험에 문제점이 있는지를 살펴보고, 그 문제점에 대한 대안적 실험을 제시해보고자 하였다.

7차 교육과정과 09년 개정 교육과정에 의한 생물Ⅱ 교과서를 분석해 본 결과에서 처럼 catalase의 과산화수소 분해 실험이 약 70%를 차지하고 있고, 그 중 감자의 catalase를 이용한 실험이 50%를 차지하고 있는 실정에서 감자 catalase 이용 실험에서 감자 catalase의 최적 pH가 중성임에도 불구하고 염기성에서 높은 효소 활성도를 보여 최적 pH가 중성이 아니라는 오개념이 실험을 통해 생길 수 있는 문제점을 가지고 있다.

이에 이 연구에서는 감자 catalase의 최적 pH를 정확히 파악하기 위해 Bergmeyer(1974)에 의해 제시된 spectrophotometer법을 이용하여 240nm 파장에서 H_2O_2 가 분해됨에 따라 흡광도에 차이가 나는 것을 통해 감자 catalase의 효소 활성도를 계산해내어 최적 pH를 구하였다. 그 결과 감자의 최적 pH도 다른 생체 내 많은 효소와 같이 중성 범위인 pH 7에서 가장 높은 활성을 보였다. 하지만 생각보다 염기성 범위에서도 초기 반응 속도가 좋아 filter assay와 같이 짧은 시간에 산소 기체에 의해 떠오르는 실험에서는 실험이 실패하는 경향성을 보임에 따라 감자를 이용하여 H_2O_2 가 분해되는 catalase의 효소 활성을 실험하고자 한다면 좀 더 시간을 길게 두고 확인할 수 있는 다른 실험 방법을 사용하는 것이 적절하다.

그러한 실험방법으로 본 연구에서는 발생 기체의 높이 측정 실험과 산소센서를 이용한 MBL 실험을 통해 최적 pH를 찾을 수 있음을 제시하였다.

주요어 : 감자, catalase, 효소, 최적 pH, 교과서 실험 개선

약 력

성명 : 박 성 은

전공 : 생 물

학력 : 1991년 이화여자대학교 과학교육과 생물전공 졸업
1995년 이화여자대학교 교육대학원 생물교육과 졸업

경력 : 1999년 생물 I. II 교과서 집필
2000년~현재 서울과학교사모임 연구회원
2004년~현재 제 5 권역 과학 중심학교(관악고) 지도교사
2005년 제3회 서울과학축전 체험마당 운영 금상 지도교사상 수상
2008년 묻고 답하는 과학 토크 카페 1, 2권 집필
2009년 제7회 서울과학축전 체험마당운영 우수동아리 지도교사상 수
상
2010년 시크릿 스페이스 집필
2010년~현재 서부 영재원 지도교사
2011년 서울특별시교육청 위탁 과학과 우수교사 특별연수
현재 상암고등학교 교사

이메일 : min1202@chol.com