

## 정밀여과에서 단백질 변성이 막투과량 감소에 미치는 영향

### ·Effects of Protein Denaturation on Permeate Flux Decline in Microfiltration

염정호\* · 김민정\*\*

\*충북대학교 화학공학부

\*\*충북대학교 화학공학부 및 한국화학연구소 분리소재연구실

#### 1. 서론

정밀여과 및 한외여과에 의해 단백질 등과 같은 거대분자 물질을 분리정제할 경우 피할 수 없는 문제점은 막에 의해 분리된 거대분자들이 막표면에 쌓이는 농도분극(concentration polarization) 현상과 이 누적된 거대분자가 막과의 상호작용에 의해 막표면 또는 막세공 내에 비가역적으로 침적되는 막오염(membrane fouling) 현상이 일어난다는 점이다. 특히 막표면 또는 막세공 내에 분리대상 물질이 비가역적으로 침적되어 발생하는 막오염은 상대적으로 가역적 침적 과정인 농도분극보다 제어 또는 억제가 어려워 최근의 막분리 분야 연구의 상당 부분이 막오염 유발요인의 해석, 막오염을 효율적으로 제어 또는 억제하기 위한 방법의 연구에 집중되고 있다[1].

최근 몇몇 연구자들[2,3,4]은 단백질의 한외여과 및 정밀여과시 단백질 변성에 의한 응집체 형성이 막오염 유발의 주요 원인이 된다는 연구결과를 발표한바 있다. 이들의 연구결과에 따르면 단백질 용액의 막분리시 펌프수송에 따른 강한 shear 또는 배관의 마찰에 의해 발생된 열에 의해 단백질이 변성되어 응집체가 형성되고, 이 응집체가 막표면 및 막세공 내에 침적되므로서 막오염이 이루어진다는 것이다. 한편 막표면에 침적된 단백질 응집체의 존재를 Kim 등[5]이 FESEM을 이용하여 확인한 바 있다.

본 연구에서는 단백질 용액의 정밀여과시 단백질 변성이 막오염에 미치는 영향을 체계적으로 규명하기 위한 연구의 일환으로서 BSA를 분리대상 물질로하여, BSA 용액을 미리 1) 기계적 shear(펌프 및 sonification), 2) 열, 3) 화학적 방법(pH 및 변성제)으로 변성시킨 후, 이 용액을 대상으로 회분식 정밀여과 실험을 수행하여 단백질 응집체 형성이 막투과량 감소에 미치는 영향을 실험적으로 검토하였으며, 각각의 막투과량 감소 특성을 아래의 4가지 blocking filtration law로서 해석하였다: 1) complete blocking law, 2) intermediate blocking law, 3) standard blocking law, 4) cake filtration law.

#### 2. 실험

정밀여과막으로는 미국 Millipore사의 PVDF 재질의 세공크기 0.22  $\mu\text{m}$ 인 소수성막을 사용하였다. 단백질로는 평균 분자량 67,000인 BSA(bovine serum albumin, Calbiochem Co.)를 사용하였으며, 순수로는 Milli-RO<sup>®</sup>/Milli-Q<sup>®</sup> 순수제조기(미국, Millipore Co.)로부터 생산된 초순수를 사용하였다. 정밀여과 실험에 사용된 투과 cell은 유효 막면적이 15.39  $\text{cm}^2$ , 유효 용적이

116 cm<sup>3</sup>인 회분식 장치를 사용하였으며, 막투과량은 전자저울에 의해 연속적으로 측정·기록하였다. 최초 BSA 용액의 제조는 먼저 BSA를 초순수에 용해시킨 후 MWCO 300,000인 polysulfone 막(독일 Sartorius Co.)으로 prefiltration 시켜 용액에 존재하는 BSA 응집체를 완전히 제거한 1 g/L 농도의 BSA 용액을 제조하였다. 다음으로 이 용액을 1) 화학적 변성제인 GuHCl( $2 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-4}$  M), 2) pH(2.5 ~ 10), 3) 온도(25 ~ 85°C), 4) sonification(강도 1 ~ 2 A), 5) 펌프(연동 및 원심펌프)로서 변성시킨 각각의 BSA 용액을 대상으로 정밀여과 실험을 수행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

BSA 용액을 prefiltration 시키면 BSA dimer와 같은 다량체인 단백질 응집체가 제거되어 prefiltration 시키지 않은 경우보다 막오염이 작게 나타났다. 변성시킨 BSA 용액의 정밀여과 실험결과 전반적으로 변성시킨 경우가 변성시키지 않은 경우보다 막투과량 감소가 크게 일어나 단백질 응집체 형성이 막오염에 크게 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 기계적 변성의 경우는 원심펌프를 사용한 경우가 연동펌프를 사용한 경우보다 막오염이 더 심하게 일어났으며, 열 변성의 경우는 높은 온도에서의 변성일수록 막오염이 심하였으며, 변성제인 GuHCl를  $2 \times 10^{-5}$  M의 농도로 첨가하였을 때 막오염이 가장 심하게 일어났다. 또한 용액의 pH가 4.8인 경우는 조작시간에 따른 막투과량 감소가 완만하였으나, 용액의 pH가 강산으로 이동할수록 변성이 심화되어 막투과량 감소가 크게 나타났다. 이상의 결과를 4가지 blocking filtration law로서 해석한 결과 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 대부분이 intermediate blocking law를 만족시켰다.

#### <참고문헌>

1. Marshall, A.D., Munro, P.A. and Trägårdh, G., *Desalination*, **91**, 65(1993)
3. Chandavarkar, A.S., Ph.D. Thesis, MIT, Cambridge, MA(1993)
4. Mereles, M., Aimer, P. and Sanchez, V., *Biotech Bioeng.*, **38**, 528(1991)
5. Kelly, S.T., and Zydney, A. L., *Biotech Bioeng.*, **44**, 972(1994)
6. Kim, K.J., Chen, V. and Fane, A.G., *Biotech Bioeng.*, **42**, 260(1993)

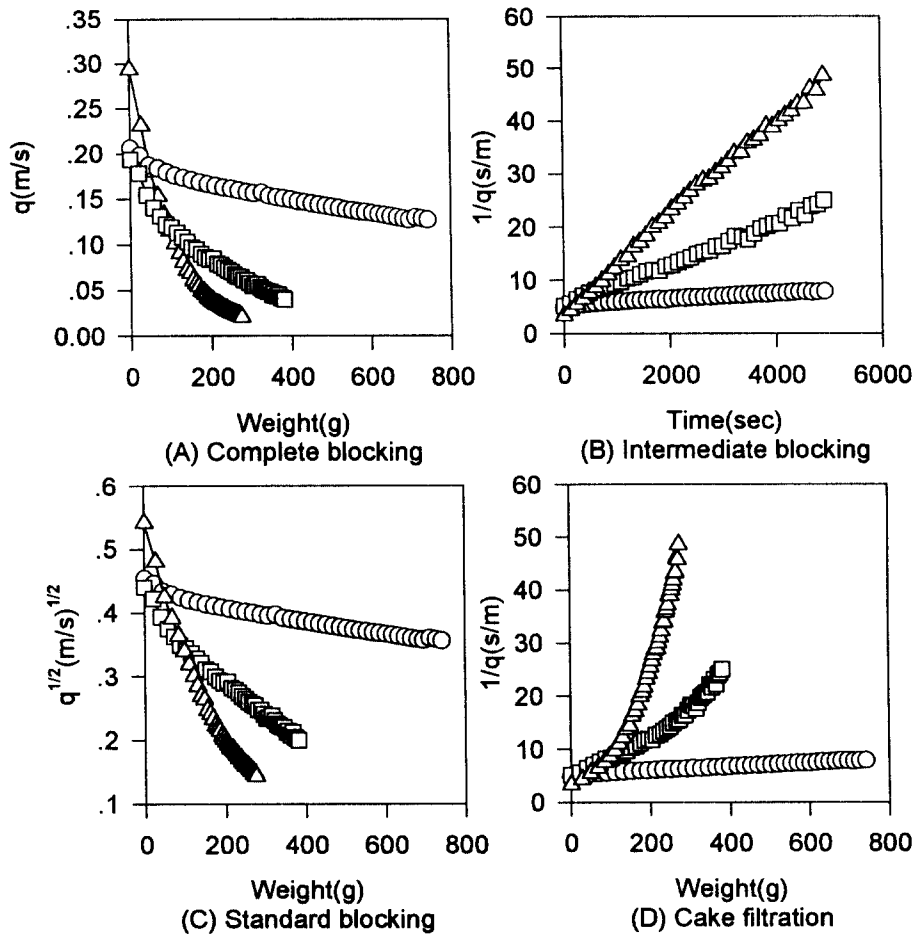


Fig. 1. Effect of pump type on permeate flux decline in microfiltration of BSA solution.

[ $T=25^{\circ}\text{C}$ ,  $P=0.5\text{ kgf/cm}^2$ ,  $\text{pH}=4.8(\text{IEP})$ ]

- No pump
- Peristaltic pump
- △ Centrifugal pump