

가교제를 첨가시킨 BSA고정 막의 분리특성

김재훈, 김 민, 김병식*

동국대학교 안전공학과, 동국대학교 생명·화학공학과*

Characteristics of separation using BSA immobilized membrane to append crosslinked with Glutaraldehyde

Jae-hun Kim, Min Kim, Byoung-sik Kim*

Department of Safety Engineering, Dongguk University

Department of Chemical and Biochemical Engineering, Dongguk
University*

1. 서론

광학이성질체는 물리적·화학적 성질이 같아 일반적인 증류법, 추출법 등과 같은 방법으로는 분리가 불가능하다. 이에 극성을 가진 단백질을 이용하여 이온교환기능을 부여함으로써 전하의 차이를 이용한 분리가 가능하다. 즉, 이온크로마토 그래피법에 의한 이성질체의 분리가 이루어지고 있다. 그러나, 이온크로마토 그래피법은 컬럼에 단백질을 충전시킨 이온교환 방법을 사용하기 때문에 단백질의 불가역흡착 및 비즈 내부에서의 확산속도에 지배를 받는다는 결점을 가지고 있다. 이러한 점을 극복하기 위해 공업적으로 널리 사용되고 있는 다공성 중공사막을 이용하여 방사선 그래프트 중합[1-2]을 한 후, 화학적인 개질 방법으로 양이온과 음이온교환기를 도입하였다. 방사선 중합법은 필름[3], 중공사막[4], 부직포[5]와 같은 여러 가지 형상과 재질의 기재를 취할 수 있으며, 확산 이동저항을 무시할 수 있다. 다공성의 중공사 정밀여과막에 방사선 그래프트 중합을 함으로써 이온교환기능을 가진 단백질 고정막을 합성할 수 있었다.

따라서, 본 연구에서는 단백질(BSA)고정막의 반복사용시에 용리되는 BSA를 고정화시키기 위해서 가교제인 GA(Glutaraldehyde)를 첨가하여 BSA를 음이온교환막에 고정화시킨 BSA-GA막을 작성하여 용리 문제를 해결하고 BSA-GA막의 D-, L-Tryptophan 흡착특성을 조사하였다.

2. 실험

2.1 BSA-GA막의 합성

기재로서, 방사선 그래프트 중합법을 정밀여과막으로서 사용되고 있는 폴리에틸렌 다공성 중공사막을 사용하였다. 중공사막의 내경, 외경, 공극율 및 평균공경은 각각 2.4mm, 3.1mm, 70%, 0.35 μ m이다. BSA-GA막의 도입 경로에 대해서 표 1에 나타내었다.

Base polymer	Radiation-induced graft polymerization	
↓	Irradiation dose	200kGy
GMA	Concentration of GMA	10v/v% in methanol
↓	Reaction temperature	313K
DEA-Eta	Function group	DEA-EtA
↓	Concentration of DEA	NH(C ₂ H ₅) ₂ 50v/v%
BSA	Reaction temp	313K
↓	Concentration of EtA	NHC ₂ H ₄ OH
BSA-GA	Immobilization of BSA	
	BSA concentration	2mg/mL
	pH	8.0
	Glutaraldehyde	0.05% C ₅ H ₈ O ₂

Table 1 preparation condition for BSA-GA fiber

2.2 D-, L-Tryptophan의 흡착성능

조건이 같은 BSA막과 BSA-GA막에 D-, L-Tryptophan을 50mL/h의 일 정유량으로 투과시켰다. 막을 투과한 액을 3mL씩 채취하여 용액중의 D-, L-Tryptophan의 농도를 280nm의 흡광도에서 측정하였으며, D-, L-Tryptophan의 흡착량을 아래 식에 의해 구하였다.

$$q = \int_0^{V_e} (C_0 - C) dV / W \quad (1)$$

여기서, C_0 와 C 는 각각 유입·유출되는 이온의 농도를 나타내며, V 는 유출량, V_e 는 C 가 C_0 에 도달하였을 때의 유출량을 나타낸다.

2.3 BSA-GA막의 반복실험

BSA-GA막에 D-, L-Tryptophan을 흡착시킨 후 용출용액을 투과시켰다. 용출용액으로는 0.5M NaCl을 사용하였다. 그리고, 다시 세정액으로는 0.02M pH=8의 Tris-buffer용액을 사용하였다.

3결과

3.1 BSA-GA막의 합성

반응시간 6hr전부터 전화율 92%로 일정하게 나타났으며, 이때 음이온교환기의 밀도는 3.1mmol/g으로 나타났다. (a)Base Polymer, (b)GMA, (c)DEA-EA, (d)BSA, (e)BSA-GA의 적외흡수 스펙트럼의 측정결과를 그

림 1에 나타내었다.

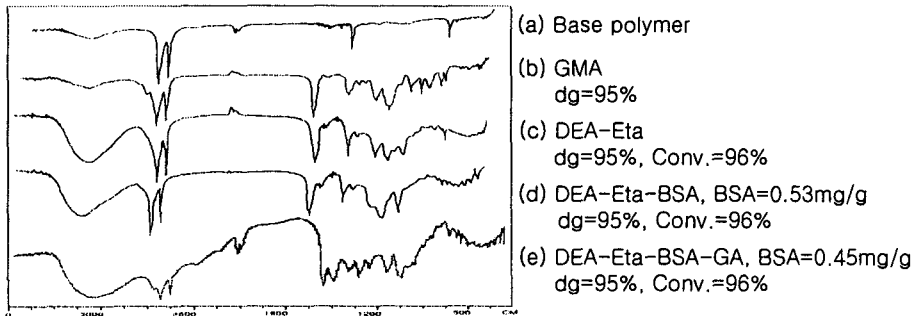


Fig 1 FTIR spectra of base Polymer, GMA, and chelate fibers ; (a)BP, (b)GMA, (c)DEtA, (d)BSA, (e)BSA-GA

그 결과, 폴리에틸렌 막에 GMA를 방사선 그래프트 중합함으로써 peak $848\sim 1255\text{cm}^{-1}$ 의 에폭시기가 생성됨을 알 수 있고, 가교를 시킴으로써 peak $1450\sim 1655\text{cm}^{-1}$ 의 crosslinking이 형성됨을 알 수 있다.

3.2 D-, L-Tryptophan의 흡착성능

BSA막과 BSA-GA막에 동일한 농도의 D-, L-Tryptophan을 투과시켰을 때의 BTC(Breakthrough curves)곡선을 각각 그림 2에 나타내었다.

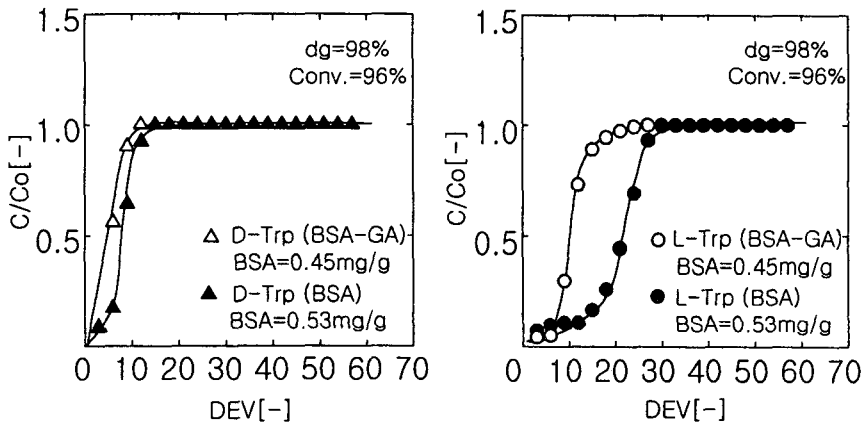


Fig 2 Breakthrough curves of D-, L-Tryptophan for BSA, BSA-GA memberane
BSA막과 BSA-GA막의 D-, L-Tryptophan의 흡착량을 계산한 결과 BSA막은 D-Tryptophan, 1.3mg/g, L-Tryptophan, 3.6mg/g, 이었고 BSA-GA막은 D-Tryptophan, 1.0mg/g, L-tryptophan, 1.8mg/g 으로 서로 다른 흡착량을 나타내었다. 이는 BSA막이 GA반응을 할때 BSA의 흡착

성능의 변화가 있었음을 알 수 있다.

3.3 BSA-GA막의 반복실험

그림 3은 용리시킨 막을 재사용하여 흡착용량을 측정하였다. 그 결과,

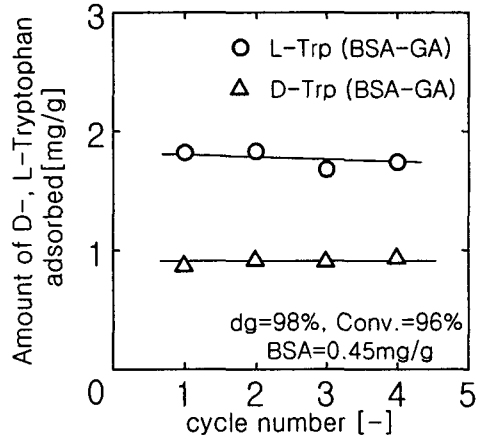


Fig 3 Amount of D-, L-Tryptophan adsorbed vs number of repeated uses BSA는 0.45mg/g으로 일정하였고, D-, L-Tryptophan의 흡착용량도 거의 변화가 없었다. 이것은 막을 반복 사용하여도 흡착성능의 저하가 없음을 알 수 있다.

4.참고문헌

- [1] Min Kim, K. Saito, *Reactive & Functional polymers*, 1999, 40, 275-279
- [2] K. Saito, s. Tsuneda, Min Kim, N. Kubota, K. Sugita, T. Sugo, *Radiation. Physical. and Chemistry*, 1999, 54, 517-525
- [3] S. Sugiyama, S. Tsuneda, Min Kim, N. Kubota, K. Sugita, T. Sugo K. Makuuchi, *React.Polym*, 1993, 21, 181-191
- [4] H Yamagishi, K. Saito, S. Furusaki, T. Sugo, I. Ishigaki, *Ind. Eng. Chem. Res.* 1991, 30, 2234-2237
- [5] M. Kim, M. Sasaki, K. Saito, K. Sugita, T. Sugo, *Biotechnol. Prog.* 1998, 14, 661-663