

urease고정막에 의한 urea의 가수분해

나원재, 김 민, 김병식*

동국대학교 안전공학과, 동국대학교 생명 화학 공학과*

Hydrolysis of urea by immobilized urease membrane

Won-Jae Na, Min Kim, Byung-Sik Kim

Department of Safety Eng, Dongguk Univ.

Department of Chemical and Biochemical Eng, Dongguk Univ.*

1. 서론

생체 내에서의 요소 형성은 단백질이 아미노산으로 분해되어 인체에 남은 요소는 오줌으로 배출된다. 그러나 고농도의 urea의 경우 단백질을 변형시키게 된다[1-2]. 이러한 고 농도의 urea를 단백질 공정을 통해서 제거시키는 기술이 최근의 투석 과학이다. 그러나 이러한 방법은 urea의 제거와 함께 많은 양의 단백질과 양이온이 유출 및 오염의 문제가 많이 발생하고 있다[3]. 이러한 노력의 일환으로 urea를 제거하기 위해 흡착에 의한 방법과 urease를 사용하여 가수분해시켜 제거하는 방법이 이용되어 왔다. 흡착을 이용한 방법[4]은 활성탄을 사용하여 urea를 직접 제거한다. 그러나 이 경우는 크레아티닌, 요산 및 중간 분자량 노폐물 등이 잘 제거 됨이 밝혀졌으나, 요소의 제거에는 많은 양의 활성탄이 소요됨이 밝혀졌다[5]. 본 연구에서는 urea의 가수분해를 위한 urease고정막을 작성하기 위하여 방사선 그래프트 중합법을 도입하였다. 방사선 그래프트 중합법은 여러 가지 관능기의 도입이 용이하기 때문에 urease고정을 위한 DEA(diethylamine)막을 작성하여 urease를 고정시켰다. 즉, 폴리머 체인에 고정되며 방사선 그래프트 중합법에 의해 작성된 다공성 막은 빠른 속도의 이동이 가능하기 때문에 유속에 의한 urease고정막의 가수분해 성능을 조사하였다.

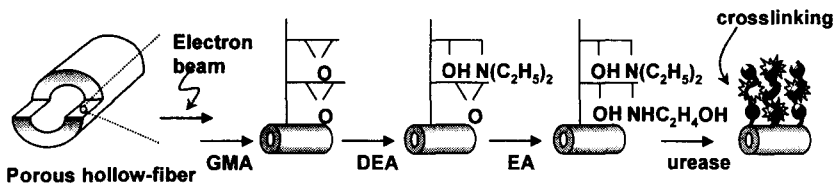


Fig. 1 Scheme of immobilization of urease onto anion-exchange membrane

따라서, 본 연구의 목적은 다음과 같다. 방사선 그래프트 중합법에 의해 작성된 음이온 교환막을 이용하여 urease의 흡착특성 및 제조된 막의 urea 가수분해 특성을 검토한다.

Table 1. Properties of Anion-exchange membrane for immobilizing urease

degree of GMA grafting(%)	140
functional group density(mmol/g)	
diethylamino group - hydroxyethylamino group	3.2
size(mm)	
inner diameter	1.9
outer diameter	3.1

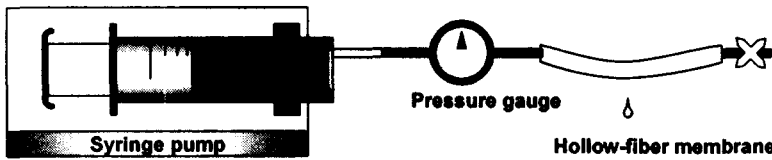


Fig. 2 Experimental apparatus for urease membrane and urea hydrolysis

2. 실험

2.1 urease막의 작성

실험에 사용된 막은 내경은 1.9mm 외경은 3.1mm 공극율은 70% 인 다공성막을 사용하였다. 사용된 막의 특성은 표 1에 나타내었으며, urease를 흡착하기 위하여 음이온기(DEA)를 도입하고 친수화를 위해(EA)를 도입하였다. 도입과정은 그림 1에 나타내었다.

그래프트율(dg)과 음이온 교환기 밀도는 다음의 식으로 정의하였다.

$$dg = (W_1 - W_0) / W_0 \times 100 \quad [\%] \quad (1)$$

$$\text{음이온 교환기 밀도} = \text{음이온 교환기 몰수} / W_2 \quad [\text{mol/kg}] \quad (2)$$

여기서, W_0 , W_1 , W_2 은 각각 기재, GMA막, 음이온 교환기가 도입된 막의 중량을 나타낸다.

urease고정은(그림 2) 투과법을 이용하여 투과해 나온 urease(5g/L in Tris-buffer solution)농도를 UV를 이용하여 측정하였다.

urease의 고정량은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{고정량 } Q = \int_0^{V_e} (C_0 - C) dV / W \quad [\text{g/g}] \quad (3)$$

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. 가교제는 0.04% glutaminase를 사용하였다. 이후 urease의 탈리 현상을 조사하기 위해 0.5M NaCl 사용하였으며 가교된 후 고정량을 조사하였다.

2.2 막에 urea 가수분해성능

urease고정막의 urea 가수분해성능을 측정하기 위해 4M의 urea를 막의 내면에서 외면으로 그림 2의 장치를 이용해서 투과시켰다. 유속은 1-5mL/h 로 변화시켰으며, 투과해 나온 용액은 디아세틸모노 옥심법을 사용하여 측정하였다.

3. 결과

3.1 urease고정막의 작성

음이온 교환기가 도입된 다공성 막에 urease흡착 곡선과 탈리 곡선을 그림 3에 나타내었다. urease의 고정화 과정에서 urease가 음이온 교환기에 고정되었으나, 세척 과정에서 탈리현상이 발생하였다. 이러한 탈리현상을 방지하고자 가교제를 첨가하였다. (A)는 가교시키기 전, (B)는 가교시킨 후의 탈리 곡선이다. 가교시키기 전의 urease의 고정량은 2.1g/g 이었고 가교제 첨가후 urease의 고정량은 1.1g/g 으로, 5시간 가교시켰을 경우 urease의 고정량이 81%이상 고정된다는 것을 알 수 있었다. 결과, 가교시켰을 때 urease의 고정량이 일정하게 유지되며 탈리현상이 일어나지 않았다.

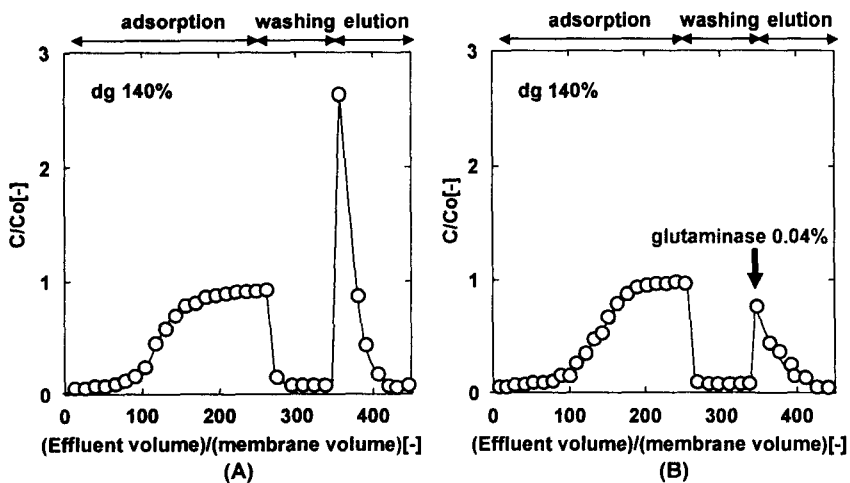


fig. 3 Breakthrough cuves of immobilized urease by DEA-EA membrane

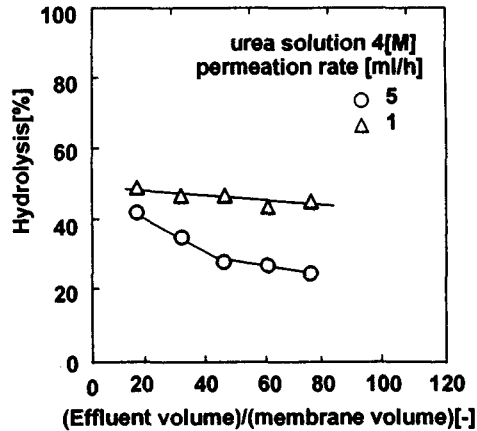


fig. 4 Percentage hydrolysis of urea and permeation rate vs effluent volume

3.2 urea의 가수분해

urease고정막을 사용하여 urea의 가수분해 성능을 조사하여 그림 4에 나타내었다. urea의 농도를 4M로 하였을 때, 가수분해 성능이 50%이상 나타났다. 즉 고농도의 urea용액에서도 다공성막에 urease를 고정시킨 경우 urea의 가수분해 성능이 50%이상 나타나는 것을 알 수 있었다. 투과 유속을 1-5ml/h로 변화시켰을 때에는 가수분해 성능의 저하가 발생하였다.

따라서 urease고정막에 의한 urea의 가수분해는 고농도의 urea의 가수분해가 가능하였으며, urease가 urea를 가수분해시키는 데에는 유속에 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

4. 참고문헌

- [1] W. J. Kolff et al., *Kidney Int. Suppl.*, 1976, 7, 300
- [2] T. M. S. Chang and N. Malave, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organ.*, 1976, 16, 141
- [3] W. D. Huang and R. E. Sparks, *Proc. Annu. Conf. Eng. Med. Biol.*, 1976, 18, 294
- [4] Goldberg, M.E.; Rudolph, R.; jaenicke, R. A Kinetic Study of the Competition between Renaturation and Aggregation Lysozyme. *Biochemistry* 1991, 30, 2790-2797
- [5] Bates, B.; Chaudhuri, J. B. Protein Refolding at High Concentration Using Size-Exclusion Chromatography. *Biotechnol. Bioeng.* 1996, 50, 16