

폴리에테르술폰 중공사막을 이용한 단백질 정련액으로부터 세리신 분리

권자영, 박주영, 정보름, 이기훈*, 김인철, 이규호
한국화학연구원 신화학연구원 환경에너지연구센터, 서울대학교
바이오시스템공학부*

Separation of Sericin from Degumming Solution By PES hollow fiber Membranes

Ja-Young Kwon, Joo-Young Park, Bo-Reum Jeong, Ki-Hoon Lee*,
In-Chul Kim and, Kew-Ho Lee
Advanced Chemical Technology Division, Korea Research Institute of
Chemical Technology
Department of Biosystems & Biomaterials Science and Engineering*

1. 서론

본 연구는 단백질 정련공정에 함유되어 있는 단백질, 비누 등 여러 성분 중에서 폐수로 버려지고 있는 유용한 단백질 세리신[1]을 선택적으로 분리하고자 하였다. 세리신 정련액은 비누를 함유하고 있고 비누와 단백질이 마이셀을 형성하여 분리막을 이용하여 단백질만 선택적으로 분리가 어려우며 또한 비누가 함유되어 있을 경우 pH가 높아서 효소의 활성을 잃어 버리게 된다. 따라서 효소에 의한 세리신 펩타이드를 제조하기 위해서는 단백질만 선택적으로 분리해 낼 필요가 있고 이를 위해 세리신 정련액으로부터 세리신과 비누를 분리하기 위하여 열화칼슘을 이용하여 비누성분을 염석시키고 폴리에테르술폰 중공사 한외여과막을 제조하여 순수한 세리신 단백질은 투과시키고자 하였다.

2. 실험

2.1. 재료 및 시약

중공사막 제조에 사용된 폴리에테르술폰 (Utrason E6020, BASF)은 용매로는 N,N'-dimethylacetamide (DMAc, Aldrich)를 사용하였고 비용매로는 methyl cellosolve (MC, Aldrich)를, 기공형성제로는 polyvinylpyrrolidone K-30 (PVP, Wako)를 사용하였다.

세리신 추출을 위해서는 생사(raw silk)와 마르세이유 비누는 (주) 흥진에서 공급받아 사용하였으며 비누 침전을 위하여 CaCl₂ (Junsei)를 사용하였다.

2.2. 폴리에테르술폰 중공사막의 제조 및 특성평가

폴리에테르술폰 도프 용액을 제조하기 위해 DMAc 57 wt%와 MC 15 wt%를 섞은 후, PVP 10 wt%를 녹이고 PES 18 wt%를 첨가하여 온도를 40℃로 유지하였다. 100미크론 SUS 필터로 도프용액을 필터한 후 탈포하여 기어펌프로 방사노즐까지 이송시키고 내부용 고속으로는 25℃ 10 wt% DMAc 수용액을 사용하여 성형하였다. Air gap은 10 cm로 고정하였고 외부용 고속은 25℃ 증류수를 사용하였다. 질소압은 0.5~1.0 kgf/cm²이고, 내부 용고속의 정량펌프 속도는 2.0~4.0 ml/min이다. 제조된 중공사막의 표면특성을 평가하기 위하여

FE-SEM (JEOL, Japan)을 사용하였고 분획분자량을 측정하기 위하여 고성능액체크로마토 그래프 (Waters, Korea)를 이용하였다.

2.3. 세리신 추출 및 세리신 분리

고치 4 g, 물 100 g과 마르세이유 비누 0.3 g을 첨가하여 100℃에서 5시간동안 가열을 하여 정련액을 제조 하였다. 세리신과 비누가 혼합된 마이셀에서 세리신만 분리하기 위하여 염화칼슘을 1 wt% 첨가하여 교반하였다. 혼탁한 입자들이 형성되면 교반을 중지하였다. 위에서 제조된 폴리에테르술폰 증공사막을 가압형과 침지형 모듈로 제조하여 투과성을 살펴 보았다. 본 실험에서는 단백질과 비누 함량을 분석하기 위하여 혼합용액 200 ml에 1N 황산 용액 3 ml를 첨가한 후 4시간 동안 교반을 시켜 마르세이유 비누의 나트륨을 카르복시산으로 치환되도록 하였다. 이 후, 200 ml의 헥산을 수용액 내에 첨가하고 분별깔때기에 넣은 후 충분히 흔들어서 치환된 지방산을 헥산에 용해시켰다. 위 층에 존재하는 헥산을 증발시키고 70℃ 오븐에서 건조하여 지방산의 무게를 측정함으로써 비누성분의 함량을 측정 하였고 또한 아래층의 단백질 수용액도 70℃ 오븐에서 건조하여 그 함량을 측정하였다. 또한 세리신 농도의 정확성을 위하여 UV분광도계 (Mecasys, Korea)를 이용하였다. 세리신 용액을 10배 희석한 후, 파장 280 nm에서의 흡광도를 측정하여 (흡광도/0.79) 농도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 폴리에테르술폰 증공사막의 제조

폴리에테르술폰 증공사막의 경우 증공사막의 기공크기를 조절하기 위하여 도프용액 내의 비용매 MC를 사용하였다. 사용되는 고분자의 종류에 따라 비용매의 종류가 달라지며 폴리에테르술폰의 경우에는 기공 크기를 조절하는 데 있어 MC가 적당하였다. 폴리에테르술폰의 농도는 18 wt%로 고정하였고 MC와 PVP의 농도를 달리하면서 투과유량과 분획분자량을 살펴보았다. Table 1에 보여진 결과와 같이 MC의 함량을 증가시킬수록 분획분자량과 투과 유량이 증가하는 것으로 보아 기공이 커지거나 공극률이 증가한 것으로 예상할 수 있었고 이를 통해 MC와 PVP 각각은 투과량을 증가시키는데 기여를 하여 두 물질을 동시에 사용했을 때 상승효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다. Fig. 1은 세리신 분리를 위해 사용된 증공사막의 SEM 표면사진을 나타낸 것이고 본 연구에서는 분획분자량 200,000의 한외여과막을 사용하였다.

Table 1. 첨가제에 따른 폴리에테르술폰 증공사막 특성

MC(wt%)	PVP (wt%)	Flux (l/m ² hr)	분획분자량 (Da)
0	0	62	50,000
0	5	78	100,000
0	10	150	300,000
5	0	85	100,000
10	0	92	100,000
20	0	120	200,000
20	10	350	1,000,000

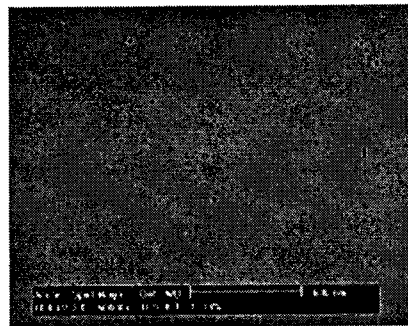


Fig. 1. PES 증공사막의 SEM 사진

3.2 분리막에 의한 세리신 분리

Fig. 2는 염화칼슘으로 세리신/비누용액을 염석시킨 후의 가압형 모듈과 침지형 모듈의 투과성능을 살펴본 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 가압형 모듈을 이용하여 운전한 경우 침지형 모듈을 이용하였을 때 보다 상대적 투과유량 감소율이 적은 것을 알 수 있었다. 본 연구에서는 침지형 모듈의 경우 막오염을 감소시키기 위하여 공기방울을 주입할 경우 거품이 발생하여 운전이 불가능하기 때문에 공기방울의 주입 없이 흡입하여 운전하였다. 가압형 모듈의 경우 피드용액의 흐름에 의해서 분리막 표면에 흡착되는 단백질과 염석된 입자의 농도분극층이 감소하여 막오염이 줄어드는 것으로 생각되었다. 침지형 모듈의 경우는 농도분극이 심하게 일어나고 막표면에서의 단백질 농도가 가압형 모듈보다 높으므로 투과되어 나오는 단백질의 함량도 높아진 것으로 생각되었다. Fig. 2의 결과를 바탕으로 가압형 모듈을 선정하여 염화칼슘에 의한 비누의 염석이 막성능에 미치는 영향을 살펴보았다. Fig. 3의 결과에서 보는 바와 같이 염화칼슘에 의하여 염석을 시킨 용액이 막오염이 적게 발생하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 세리신과 비누 및 염석된 입자들이 모두 막오염에 영향을 미치나 염화칼슘으로 염석을 하기전에는 비누 성분이 분리막 표면 및 기공에 흡착이 되고 이것이 단백질의 흡착을 증가시켜 막오염을 가속화 시키는 데 반해 염화칼슘에 의하여 염석된 입자들은 기공폐쇄를 시키지는 못하고 표면에서만 기공을 막으므로 막오염이 적게 발생하는 것이라고 생각되어진다.

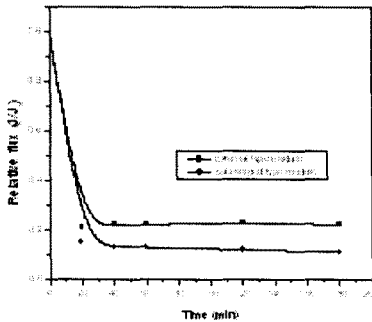


Fig. 2. 가압형 모듈과 침지형 모듈의 투과성능 비교

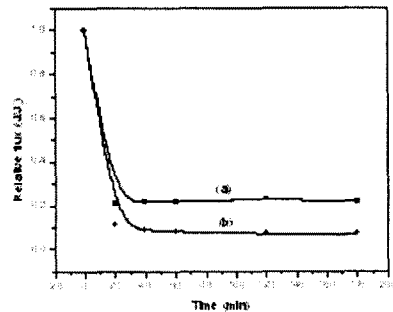


Fig. 3. 염화칼슘에 의한 염석이 막성능에 미치는 영향

(a) 염화칼슘에 의하여 염석된 세리신 용액

(b) 비누를 포함하고 있는 세리신 용액

Table 2. 폴리에테르술폰 중공사막에 의한 세리신, 비누, 세리신/비누 혼합용액, 세리신/비누/염화 칼슘 혼합용액의 제거율

Solution		Rejection rate (%)
Pure sericin		35
Pure soap		10
sericin/soap mixture	sericin	47
	soap	30
sericin/soap/CaCl ₂ mixture	sericin	50
	soap	79

Table 2는 위에서 나온 결과를 검증하기 위하여 폴리에테르술폰 증공사막을 이용해서 세리신과 비누성분을 단독으로 운전할 경우와 세리신/비누 혼합용액으로 운전할 경우, 세리신/비누/염화칼슘 혼합용액을 운전할 경우의 제거율을 나타낸 것이다. 본 결과를 통해 염화칼슘으로 염석할 경우 비누 성분의 높은 제거율을 얻을 수 있음을 알게되었다.

4. 결론

본 연구에서는 폴리에테르술폰 증공사막을 이용한 한외여과방법을 통해 2가 양이온인 염화칼슘을 이용하여 비누를 염석시키고 세리신을 회수하고자 하였다. 연구 결과 단백질의 회수율을 높이기 위해 사용된 비누성분을 염화칼슘을 이용해 염석시켜 비누성분의 높은 제거율을 얻을 수 있었다. 또한 침지형 분리막 모듈에 비해서 가압형 모듈의 막오염 저항성이 우수한 것으로 판명되었다.

5. 참고문헌

1. C. Fabiani, M. Pizzichini, M. Spadoni, and G. Zeddit, "Treatment of waste water from silk degumming processes for protein recovery and water reuse", *Desalination*, 105, 1 (1996).