

이온 교환 크로마토그래피에서 온도가 당의 체류 특성에 미치는 영향

김진일 · 이종호* · 구윤모†

인하대학교 생물공학과, *초정밀생물분리기술연구센터
402-701 인천시 용현동 253
(2005년 9월 30일 접수, 2005년 11월 25일 채택)

Temperature Effect on the Retention Behavior of Sugars in Ion Exchange Chromatography

Jin-Il Kim, Chong-Ho Lee* and Yoon-Mo Koo†

Department of Biological Engineering, *ERC for Advanced Bioseparation Technology, Inha University,
253, Younghyun-dong, Nam-gu, Incheon 402-751, Korea
(Received 30 September 2005; accepted 25 November 2005)

요 약

Dow99Ca350, MFG-220, Finex CS-10GC는 이온 교환 수지로서, 당 분리에 주로 사용되며, 모두 poly styrene DVB를 기본 골격으로 술폰산염, 혹은 술폰산을 작용기로 하고 있다. 이 분리 수지들은 이미 제당 산업의 연속 분리 공정에서 사용되고 있으며, 이에 대해 본 실험은 온도의 영향으로 인한 Dow99Ca350, MFG-220과 Finex CS-10GC의 분리 수지에서 당의 체류 혹은 흡착 특성 변화를 알아보기 위하여 수행되었다. 당 분리의 시료로서 사용된 물질은 과당과 포도당으로써 위의 분리 수지와 함께 제당 산업에서 널리 사용된다. Dow99Ca350의 팽윤 시험, 공극률 시험, 펄스 시험, 전단 분석을 통해 온도에 대한 영향을 확인하였다. MFG-220, Finex CS-10GC의 경우, 펄스 시험을 통해 온도 변화에 의한 크로마토그램의 변화를 알아보았다. 실험의 결과 Dow99Ca350, MFG-220과 Finex CS-10GC는 과당과 포도당 각각 최대 1.76, 3.37%의 체류 시간 변화를 보임으로써 온도에 안정적인 경향성을 보였다.

Abstract – Dow99Ca350 (Dowex monosphere 99Ca/350 separation resin), MFG-220, and Finex CS-10GC are ion-exchange resins, and primarily used to separate sugars, and all of these resins have poly styrene DVB backbone, and sulfonfyl group. These resins are already used to separate sugars continuously at sugar industry at constant temperature. These resins are used in experiments for understanding temperature effect on retention or adsorption behavior. Using Dow99Ca350, swelling test, porosity test, pulse test, and frontal analysis at various temperatures were performed. In the cases of MFG-220, and Finex CS-10GC, the effect of temperature variation was verified by pulse test. The experimental results are shown that Dow99Ca350, MFG-220, and Finex CS-10GC, which are commercial resins for sugar separation, are stable to temperature variation because the maximum change of retention time of fructose, and glucose are 1.76, and 3.37% respectively.

Key words: Dow99Ca350, MFG-220, Finex CS-10GC, Fructose, Glucose

1. 서 론

크로마토그래피 공정에 있어 등온 흡착식은 용질과 고정상 사이의 상호 관계를 이해하기 위한 중요한 정보를 제공하며, 등온 흡착식은 주어진 분리 문제에 대해 적당한 고정상을 고르는데 가치가 있는 정보를 제공한다[1, 2]. 하지만, 일반적으로 등온 흡착식은 쉽게 예상할 수 없고, 정확한 값은 실험을 통해서 결정할 수 있다. 적용된 등온 흡착식이 실제 흡착식과 작은 편차를 보이면 크로마토그래피 칼럼의 계산된 내부 농도 단면과 실제와는 상당한 차이를 나

타내게 된다[3-4].

크로마토그래피법의 사용과 함께 많은 수의 등온 흡착식 측정법이 고안되었다[5, 6]. 등온 흡착식 측정법은 정적인 방법과 동적인 방법으로 나눌 수 있고, 그 중 가장 정확한 정적 측정법은 흡착-탈착법(adsorption-desorption method)이다. 하지만, 이 방법은 많은 노동력과 시간이 소비되므로 동적인 등온 흡착식 측정법이 고안되었다. 전단 분석은 동적 등온 흡착식 측정법 중 가장 많이 쓰이는 방법이고, 빠르고, 정확하며 쉽게 자동화할 수 있는 장점이 있다[5, 7]. 또한, 다른 측정법과는 다르게, 전단 분석은 수천의 이론단수를 가진 HPLC 칼럼 이외의 칼럼에도 적용이 가능하다는 장점이 있다[5, 8].

Dow99Ca350, MFG-220과 Finex CS-10GC는 주로 제당 산업에

† To whom correspondence should be addressed.
E-mail: ymkoo@inha.ac.kr

서 당 분리를 위한 분리 수지로 사용되고, 모두 숄폰산염 혹은 숄폰산이 작용기로 결합한 poly styrene-DVB를 기본 골격으로 가지고 있으며 각각 기본 골격 위에 Na⁺, Ca⁺⁺ 과 같은 양이온을 싣고 있다. 이 수지들은 제조 규모의 크로마토그래피법을 통해 포도당과 과당과 같은 단당류의 분리에 널리 이용된다[9, 10].

이 실험의 목적은 온도 변화에 따른 과당과 포도당의 체류 특성 변화를 Dow99Ca350, MFG-220, Finex CS-10GC의 분리 수지상에서 펄스 시험을 통해 측정하는 것이다. 특히, Dow99Ca350의 경우, 온도에 따른 흡착 특성을 보다 상세하고 정량적으로 알아보기 위해 전단 분석을 실시 하였다.

2. 실험

2-1. 시약 및 기기

당 분리 공정의 모델로 사용된 시료는 과당과 포도당으로 하였고, Samchun Pure Chemical. Co., Ltd에서 구입하여 사용하였다. 칼럼 충전제는 Dowex monosphere 99Ca/350 separation resin, MFG-220, Finex CS-10GC를 사용하였고, 칼럼 충전 방법은 slurry method를 사용하였다. 이동상은 Millipore의 Milli Q system을 통해 3차 증류수를 얻어 사용하였다. 길이 30.6 cm, 내경 1.0 cm의 규격을 가진 칼럼을 ACE Glass Incorporated사로부터 구매하여 사용하였다. 칼럼은 물재킷을 가지고 있어서, LAUDA사의 RC 6 CS를 사용하여 칼럼의 온도를 40, 50, 60 °C로 유지하였다. 실험에 사용된 용매 이송용 펌프는 Shimadzu사의 LC-10AD를 사용하였고, 검출기로는 Waters사의 Waters 410 Refractometer를 사용하였다. 사용한 시료와 이동상은 모두 여과와 기체제거를 한 후에 사용하였다.

2-2. 실험 방법

위에서 언급했듯이 온도의 변화에 의한 영향을 보기 위해서 40, 50, 60 °C의 온도를 선정하여, Dow99Ca350의 팽윤 시험, 공극률 측정, 펄스 시험, 전단 분석을 수행하였다. MFG-220, Finex CS-10GC의 펄스 시험도 이 온도 범위에서 실험을 수행하였고, 이 두 분리 수지는 Dow99Ca350와 유사한 구조 및 양이온을 갖고 있기 때문에, 추가 실험을 수행하지 않고 Dow99Ca350를 모델 시스템으로써 사용하였다.

Dow99Ca350의 공극률 측정은, Blue dextran(M.W. 2,000,000) 1 g/l와 NaCl(M.W. 58.5) 1 M을 500 μl로 펄스 주입하여 온도에 따른 체류 시간을 구하여, Blue dextran과 NaCl의 체류 시간으로 각각 입자간 공극률, 총 공극률을 추산하는데 사용하였다. 입자간 및 총 공극률은 (1)식에서 추산하였다.

$$U_s(T) = \frac{v}{1 + \left(\frac{1 - \epsilon_e}{\epsilon_e}\right)\epsilon_p K_d + \left(\frac{1 - \epsilon_e}{\epsilon_e}\right)(1 - \epsilon_p)\rho_s \left(\frac{\Delta q}{\Delta c}\right)} = \frac{L}{RT} \quad (1)$$

이때, 총 공극률 ϵ_t 는 (2)식으로 표현되는데, 입자 내 공극률은 위에서 구한 입자간 공극률과 총 공극률을 통하여 (2)식을 변형하여 추산하였다[11].

$$\epsilon_t = \epsilon_e + (1 - \epsilon_e)\epsilon_p \quad (2)$$

펄스 시험은 Dow99Ca350의 경우, 30 g/l의 과당과 포도당을 사

용하여 온도별 체류시간을 측정하였다. MFG-220, Finex CS-10GC의 경우, 각각 300 g/l, 100 g/l로 실험을 수행하였다. 온도는 공극률 측정 실험과 마찬가지로 40, 50, 60 °C의 온도 범위에서 각 펄스 시험을 수행하였다.

전단 분석의 경우, Dow99Ca350에서 과당과 포도당의 온도에 따른 등온 흡착 평형식 변화를 보다 자세히 관찰하기 위하여 수행하였으며, 10, 25, 40 g/l의 농도로 실험을 수행하였다. 등온 흡착 평형식은 (3)식을 통해 이동상 내의 농도 대 고정상 내의 농도의 관계를 통해 추산하였다[5].

$$Q_{i+1} = Q_i + \frac{(V_F - V_O)(C_{i+1} - C_i)}{V_a} \quad (3)$$

3. 결과 및 고찰

3-1. 온도 변화에 따른 Dow99Ca350 팽윤 시험

위에서 언급했듯이 다양한 온도 범위에서 실험을 수행하였다. 온도 변화에 따라 분리 수지의 팽윤에 의한 칼럼의 파손 또는, 실험에 대한 오차가 예상되었기 때문에, 본 실험에 들어가기 앞서 칼럼 충전제 Dow99Ca350의 팽윤 시험을 하였다. 충전제의 부피는 칼럼 부피 24.033 ml를 기준으로 측정하였다. Fig. 1에서 Dow99Ca350은 30, 40, 50, 60, 70, 75 °C의 온도 범위에서 팽윤 현상이 일어나지 않았다. 이는 실험의 온도 조건인 40, 50, 60 °C 보다 넓은 온도 범위에서도 충전제의 팽윤 특성이 안정함을 확인하였다.

3-2. 각 온도별 공극률 측정을 위한 회분식 크로마토그래피 법

온도의 변화를 통해 공극률과 같은 분리 수지의 물리적 특성의 변화를 예상할 수 있었으므로, 팽윤 실험 이후로 온도에 의한 Dow99Ca350의 공극률 변화 정도를 알아보기 위해 공극률 시험을 수행하였다. Fig. 2는 온도 변화에 따라 NaCl의 체류시간을 측정한 실험 결과를 나타내었다. 온도 변화에 따른 NaCl의 체류시간은 13.224~13.272분으로 큰 변화가 없었고, Blue dextran의 체류시간도 12.044~11.852분으로 약간의 변화만을 확인하였다. (1)식과 (2)식을 통해 추산할 수 있는 총 공극률과 입자간 공극률, 입자내 공극률도

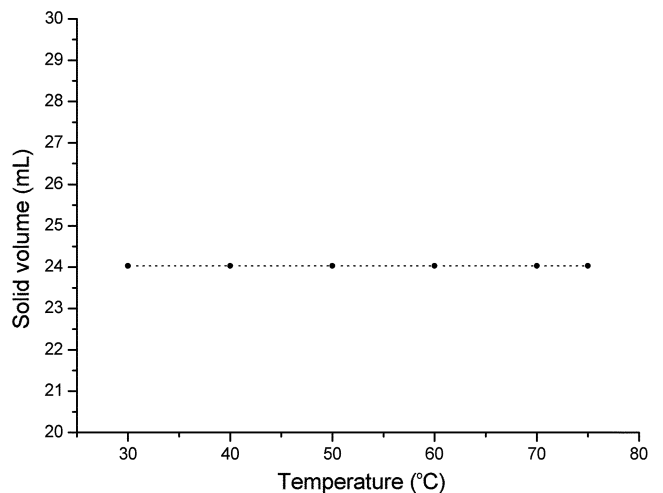


Fig. 1. Swelling test of Dow99Ca350 by temperature variation.

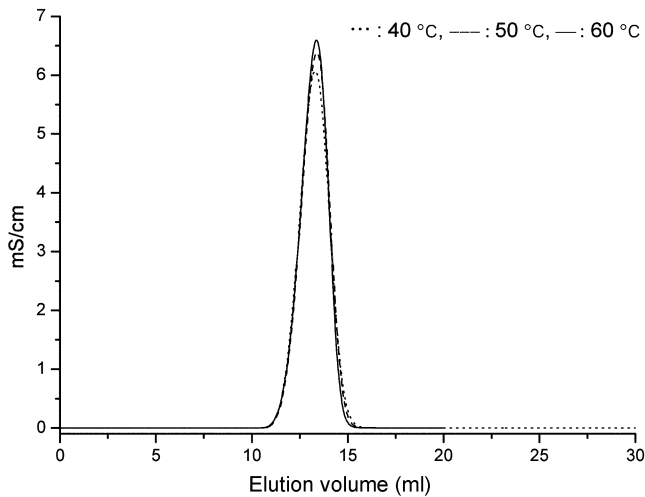


Fig. 2. Total porosity test using NaCl for Dow99Ca350.

비슷한 경향을 보이고 있다. Table 1에는 공극률 시험의 결과를 온도 변화에 따라 정리하였다. 온도가 증가함에 따라 입자내 공극률은 증가하였지만, 입자간 공극률은 감소하여 총 공극률의 변화는 크지 않았다.

3-3. 온도 변화에 따른 과당과 포도당의 펄스 시험

Dow99Ca350은 이미 제당 산업에서 당 분리용 분리 수지로써 이용되고 있고, 이 분리 공정은 일반적으로 고정된 온도 조건하에서 조업이 이루어진다. 이는 당 분리 공정에 특정 온도 조건에서 시료의 흡착식, 시료의 점도, 분리수지의 분리능 및 이동상의 소비량 등을 고려하여 설계하였기 때문이다. 이 고려 사항들 중 흡착식이 가장 큰 영향을 가지고 있으므로, 각 온도별 분리 수지와 과당, 포도당과의 흡착 경향성을 알아보기 위해 펄스 시험을 수행하였다. Fig. 3과 Fig. 4는 Dow99Ca350, MFG-220과 Finex CS-10GC의 온도 변화에 대한 펄스 시험의 크로마토그램이다. 모든 분리 수지에서 포도당은 40 °C에서 60 °C로 온도가 상승함에 따라, 체류시간이 약간씩 증가하는 경향을 보이는데 비해, 과당은 체류시간의 변화도가 크지 않았다. 또한, 온도 증가에 따라 피크의 대칭성을 보임을 확인할 수 있었고, 이는 시료의 점도 변화로 인해 이동상과 시료 간 이동속도의 차이가 발생하는 것이 원인으로 생각된다[12]. 분리 수지별 과당과 포도당의 온도별 체류시간은 Table 2에 정리하였다. 이를 통해, Dow99Ca350, MFG-220, Finex CS-10GC 모두 펄스 결과에서 온도 변화에 대해 체류시간의 변화가 적고, 안정적임을 확인하였다.

3-4. Dow99Ca350의 온도 변화에 따른 과당과 포도당의 전단 분석

펄스 시험에 이어 더욱 정확한 온도에 대한 등온 흡착 평형식을 얻기 위해 Dow99Ca350의 전단 분석을 하였고, 사용한 시료의 양

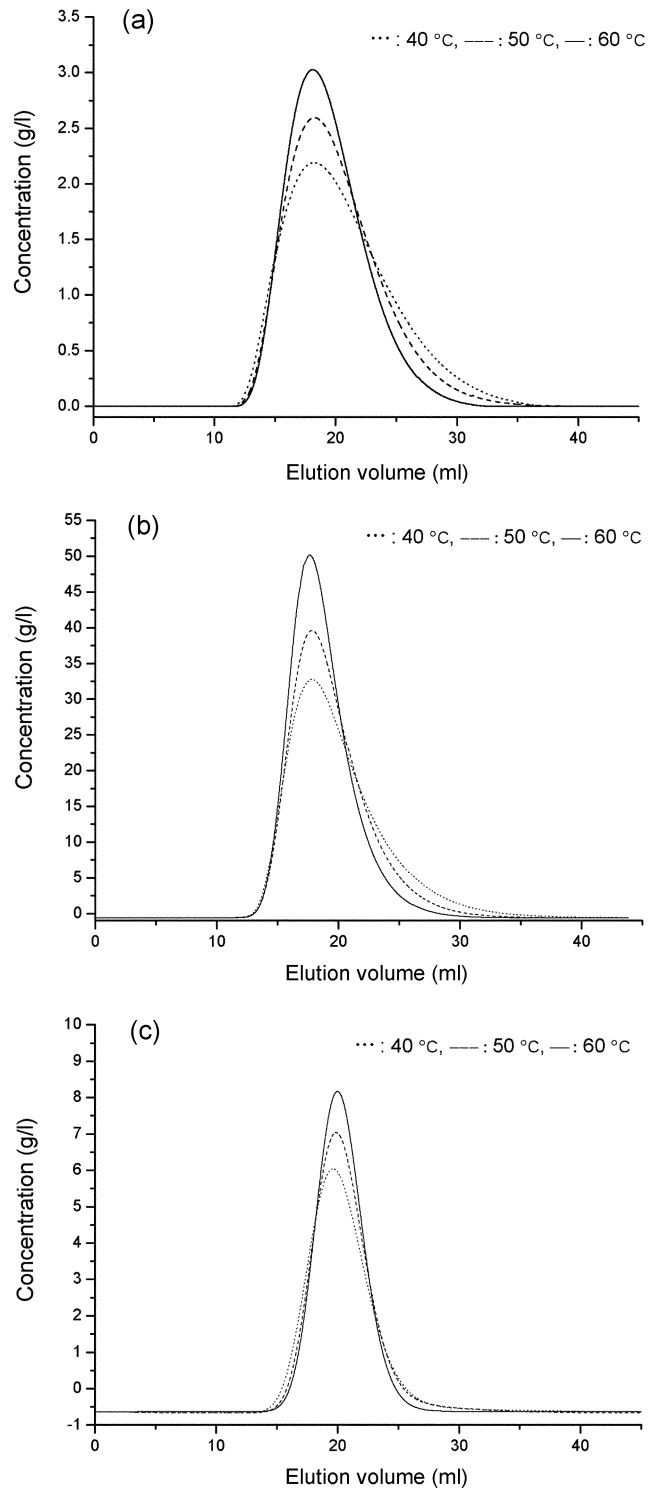


Fig. 3. Temperature effect on pulse experiments of fructose. (a): Dow99Ca350, (b): MFG-220, (c): Finex CS-10GC.

Table 1. Results of porosity test

Temperature (°C)	Retention time of NaCl (min)	Retention time of Bluedextran (min)	Total porosity	Inter porosity	Intra porosity
40	13.224	12.044	0.55	0.501	0.098
50	13.272	11.948	0.553	0.497	0.111
60	13.272	11.852	0.553	0.493	0.118

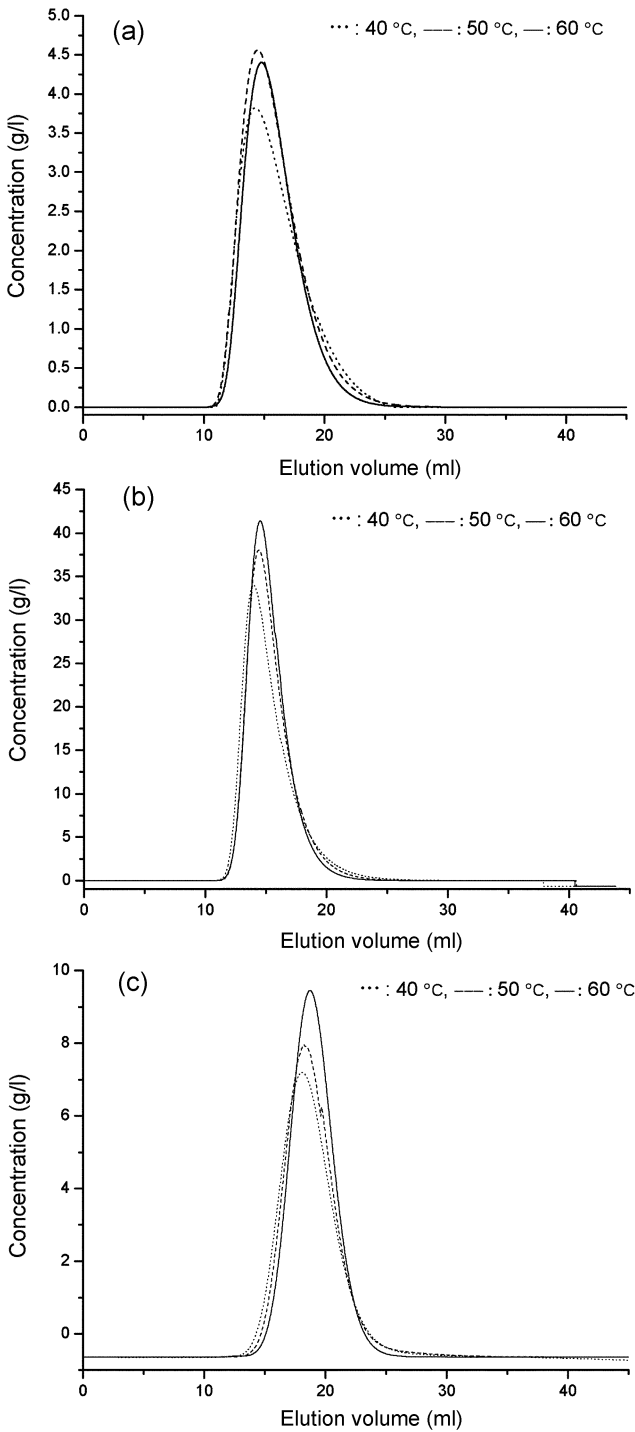


Fig. 4. Temperature effect on pulse experiments of glucose. (a): Dow99Ca350, (b): MFG-220, (c): Finex CS-10GC.

은 10, 25, 40 g/l로 하여 실시하였다. Fig. 5와 Fig. 6은 각각 과당과 포도당의 전단 분석 결과를 나타내었다. 전단 분석시의 크로마토그래프를 보면 온도가 40 °C에서 60 °C로 상승함에 따라, 펄스 시험과 같은 경향성을 보이며 흡착 곡선은 느려지고, 탈착 곡선이 점차 빨라짐을 확인하였다. 하지만, 그 변화 정도는 펄스 시험과 마찬가지로 크지 않았다. Fig. 7과 Fig. 8은 (3)식을 통해 얻은 이동상 내의 시료의 농도 대 고체상의 시료의 농도 관계를 나타

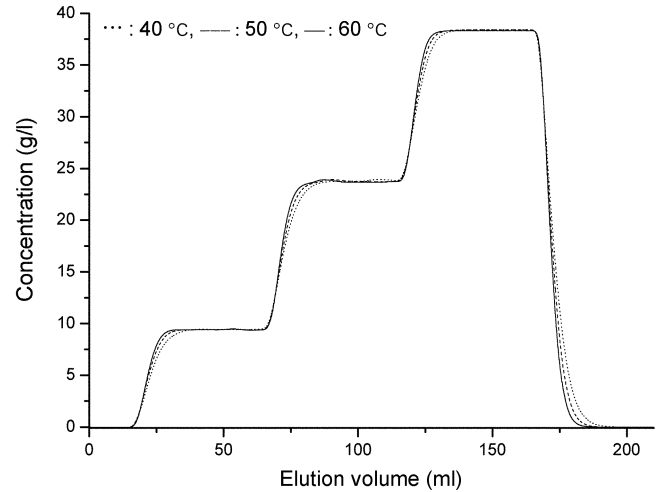


Fig. 5. Temperature effect on frontal analyses of fructose with Dow99Ca350.

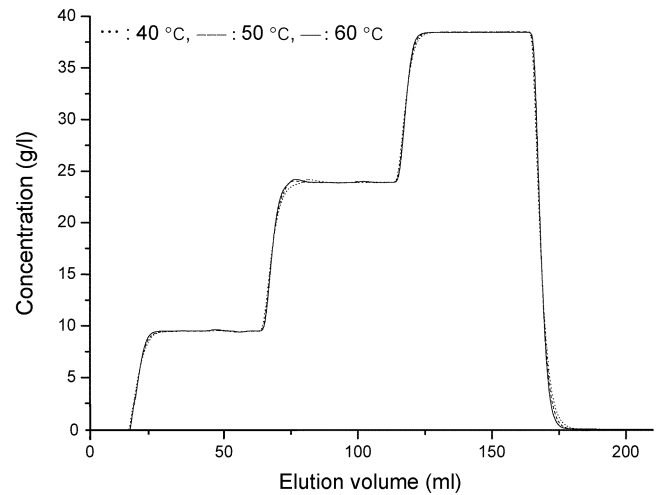


Fig. 6. Temperature effect on frontal analyses of glucose with Dow99Ca350.

Table 2. Results of pulse experiments of fructose and glucose by temperature variation

Temperature (°C)			40	50	60
Retention volume (ml)	Dow99Ca350	Fructose	19.025	19.133	18.975
		Glucose	15.133	15.335	15.642
	MFG-220	Fructose	19.754	19.775	19.581
		Glucose	15.926	16.349	16.467
	Finex CS-10GC	Fructose	19.625	19.872	19.977
		Glucose	18.086	18.217	18.718

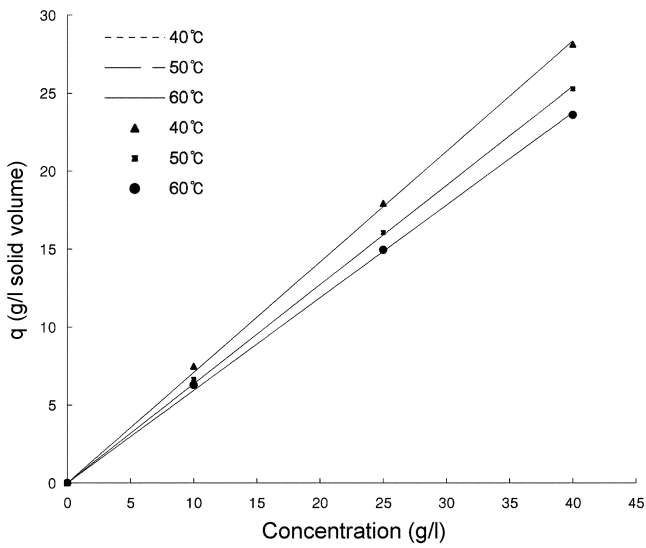


Fig. 7. Temperature effect on correlation of q vs. c of fructose (Dow99-Ca350).

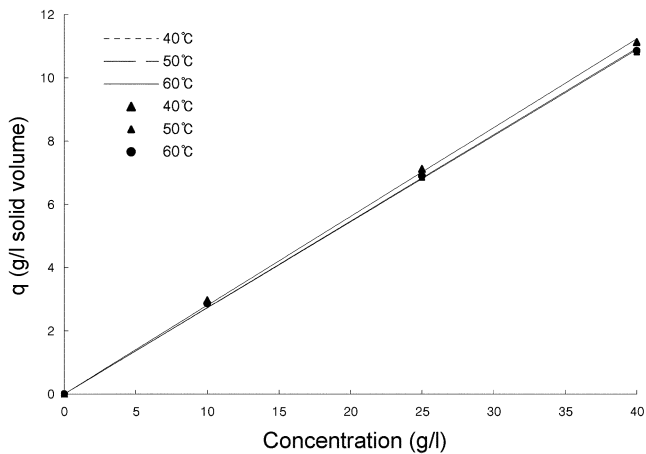


Fig. 8. Temperature effect on correlation of q vs. c of glucose (Dow99-Ca350).

Table 5. Comparison equilibrium isotherms of fructose and glucose

Temperature (°C)	a (l/l solid volume) of fructose	a (l/l solid volume) of glucose
40	0.7088	0.2808
50	0.636	0.2723
60	0.594	0.2733

내었다. 전단 분석을 통해 체류시간으로 얻은 등온 흡착 평형식은 과당과 포도당 두 시료 모두 실험 농도 범위에서 선형성을 가지는 것으로 확인하였다. 과당과 포도당의 온도별 등온 흡착 평형식을 보면, 두 도표는 모두 온도가 올라감에 따라 기울기의 감소를 확인하였다. Table 3과 Table 4는 각각 온도 및 이동상의 농도 변화에 따른 과당과 시료, 포도당의 체류 시간과 고체상에 흡착한 시료의 농도를 나타내었다. Table 3과 Table 4에서도 볼 수 있듯이 온도 증가로 고정상에 흡착된 시료의 양(q , g/l solid volume)이 감소하여, 두 시료의 체류시간이 빨라지는 것으로 생각할 수 있다. Table 5에는 Table 3, 4를 통해 얻은 관계식, 온도 변화에 대한 과당과 포도당의 등온 흡착 평형식의 기울기를 표시하였다.

4. 토의 및 결론

Dow99Ca350, MFG-220, Finex CS-10GC는 주로 당 분리에 이용되는 상용 분리 수지이며, 이미 제당 산업에서 널리 사용되고 있고 특히, 산업적 규모의 연속 분리 공정에 주로 사용한다. 산업적 분리 공정에서는 시료와 충전제 간의 흡착 특성, 당 시료의 점도 및 온도에 의한 시료의 변성, 향온 유지에 필요한 비용의 경제성 등을 고려하여 일정한 온도에서 운영되도록 설계된다. 하지만, 실제 공정 상에는 분리 수율, 순도에 영향을 미치는 혼란 요소들이 존재하고 이 혼란 요소들에 의해 조업에 영향을 끼치게 된다. 이 실험에서는 혼란 요소 중 하나인 온도의 변화가 Dow99Ca350, MFG-220, Finex CS-10GC의 충전제와 과당, 포도당의 흡착 특성에 미치는 영향을 확인하기 위해 온도에 따른 펄스 시험을 통해 각 분리 수지를 사용한 과당과 포도당의 흡착 경향성을 보았다. 변화량은 40 °C를 기준

Table 3. Temperature effect on correlation of q vs. c of fructose

Temperature (°C)	Retention time (min)			0 g/l	q (g/l solid volume)		
	10 g/l	25 g/l	40 g/l		10 g/l	25 g/l	40 g/l
40	23.07	22.51	22.33	0	7.482	17.928	28.125
50	22.19	21.79	21.65	0	6.646	16.056	25.271
60	21.8	21.26	21.25	0	6.283	14.953	23.61

Table 4. Temperature effect on correlation of q vs. c of glucose

Temperature (°C)	Retention time (min)			0 g/l	q (g/l solid volume)		
	10 g/l	25 g/l	40 g/l		10 g/l	25 g/l	40 g/l
40	18.19	17.97	17.87	0	2.969	7.119	11.13
50	18.18	17.87	17.89	0	2.913	6.85	10.815
60	18.13	17.94	17.88	0	2.866	6.901	10.852

으로 하여 과당과 포도당 각각 2%, 5%의 체류시간 변화를 보였고, 더 정량적인 온도의 영향을 알아보기 위해 Dow99Ca350에서 충전체의 팽윤 시험, 공극률 시험, 전단 분석을 통해 상용 분리 수지로서 온도에 안정함을 확인하였다. 이 전단 분석 결과에서도 펄스 시험과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 펄스 시험, 전단 분석 및 기타 실험의 결과를 종합해 볼 때, 실험 온도 범위의 당 분리 공정상에서 Dow99Ca350 및 MFG-220, Finex CS-10GC 등은 온도에 대해 안정함을 확인하였다.

감 사

본 연구는 한국과학재단과 인하대학교 초정밀생물분리기술연구센터(ERC)의 지원을 받아 수행하였습니다.

사용기호

ϵ_T	: total porosity
ϵ_e	: external void fraction (between particles)
ϵ_p	: intraparticle void fraction (within a particle)
U_s	: velocity of solute in the column
T	: temperature [°C]
v	: interstitial fluid velocity [m/min]
ρ_s	: structural solid density [kg/m ³]
q	: amount of solute adsorbed [kg/kg adsorbent]
c	: solute concentration of fluid [kg/m ³]
L	: column length [cm]
K_d	: fraction of interparticle volume species can penetrate
C_i	: solute concentration of fluid during the i th step in frontal analysis [g/l]
Q_i	: amount of solute adsorbed after the i th step in frontal analysis [g/l solid volume]
V_F	: retention volume of the inflection point of the i th breakthrough curve in frontal analysis [ml]
V_o	: column void volume [ml]
V_a	: volume of adsorbent in the column [ml]

참고문헌

1. Ruthven, D. M. and Ching, C. B., "Counter-Current and Simulated Counter-Current Adsorption Separation Processes," *Chem.*

- Eng. Sci.*, **44**(2), 1011-1038(1989).
2. Guiochon, G., "Preparative Liquid Chromatography," *J. Chromatogr. A.*, **965**(1-2), 129-161(2002).
 3. Guiochon, G., Golshan-Shirazi, S. and Jaulmes, A., "Computer Simulation of the Propagation of a Large-concentration Band in Liquid Chromatography," *Anal. Chem.*, **60**(18), 1856-1866(1988).
 4. Saska, M., Clarke, S. J., Wu, M. D. and Iqbal, K., "Glucose-Fructose Equilibria on Dowex Monosphere 99 CA Resin under Overloaded Conditions," *J. Chromatogr. A.*, **590**(2), 147-151(1992).
 5. Gorges, G., Sadroddin, G. S. and Antia, M. K., *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, New York(1994).
 6. Seidel-Morgenstern, A., "Experimental Determination of Single Solute and Competitive Adsorption Isotherms," *J. Chromatogr. A.*, **1037**(1-2), 255-272(2004).
 7. Lai, S.-M. and Lin, Z.-C., "Measurement of Adsorption Characteristics of Enantiomers on Chiral Columns: Comparison of the Frontal and Elution Chromatographic Techniques," *Sep. Sci. Technol.*, **34**(16), 3173-3196(1999).
 8. De Jong, A. W. J., Kraak, J. C., Poppe, H. and Nooitgedacht, F., "Isotherm Linearity and Sample Capacity in Liquid Chromatography," *J. Chromatogr. A.*, **193**(2), 181-195(1980).
 9. Hashimoto, K., Shirai, Y., Adachi, S. and Horie, M., "Effect of the Content of Divinylbenzene in Ion-Exchange Resins on the Chromatographic Separation of α -Cyclodextrin and Glucose," *J. Chromatogr. A.*, **448**, 241-248(1988).
 10. Vente, J. A., Bosch, H., De Haan, A. B. and Bussmann, P. J. T., in: Lee, C. H., *The Third Pacific Basin Conference on Adsorption Sciences and Technology*, World Scientific, Kyongju, South Korea, (2003).
 11. Wankat, P. C., *Rate-Controlled Separations*, Glasgow, London (1994).
 12. Castells, C. B. and Castells, R. C., "Peak Distortion in Reversed-Phase Liquid Chromatography as a Consequence of Viscosity Differences between Sample Solvent and Mobile phase," *J. Chromatogr. A.*, **805**(1-2), 55-61(1998).