

BSA고정막에 의한 Tryptophan 이성질체의 분리

김재훈·나원재·김병식*·김민†

동국대학교 안전환경시스템공학과, *동국대학교 생명화학공학과
(2006년 5월 4일 접수, 2006년 6월 5일 채택)

Chiral Separation of Tryptophan by Immobilized BSA(bovine serum albumin) Membrane

Jae-Hun Kim, Won-Jae Na, Byoung-Sik Kim, and Min Kim†

Department of safety environmental system engineering, Dongguk university

*Department of chemical engineering, Dongguk university

(Received May 4, 2006, Accepted June 5, 2006)

요약: 방사선 그래프트 중합법을 적용하여, 폴리에틸렌 다공성 중공사막에 전자선을 조사시킨 후, glycidyl methacrylate (GMA)를 그래프트 중합하였다. 그 후, 음이온 교환기로서 diethylamine (DEA), triethylamine (TEA)를 도입시켜 2종류의 음이온 교환막을 합성하였다. DEA막과 TEA막의 이온교환 밀도는 3.4 mmol/g, 1.74 mmol/g으로 DEA막이 TEA막보다 높은 이온교환기를 얻을 수 있었다. 이 2종류의 음이온교환막에 단백질(bovine serum albumin, BSA)을 투과법에 의해 고정시켜 BSA 고정막을 만들었다. DEA-BSA막의 경우, 그래프트 체인에 BSA가 8층 이상으로 다층 흡착하였으나, TEA-BSA막의 경우, 강한 음이온에 의해 다층 흡착이 이루어지지 않았다. DEA-BSA막의 경우, BSA 다층 흡착성 고정을 나타내기 때문에 L-Trp가 D-Trp 보다 더 강한 흡착 특성을 나타내었다. L, D-Trp 이성질체 혼합물을 투과시킨 BTC에 있어서, DEA-BSA 막의 경우, BSA에 대한 L-Trp와 D-Trp의 키랄 인식이 다르기 때문에 2단계의 BTC곡선을 얻을 수 있었다.

Abstract: A hollow fiber membrane containing BSA as ligand was prepared by radiation-induced grafting GMA onto a porous polyethylene hollow fiber and subsequent reacting with DEA and TEA. The density of the DEA and TEA of the membrane were 3.4 mmol/g, 1.74 mmol/g, respectively. The DEA membrane exhibited a higher amount of than the TEA membrane. BSA was immobilized by the graft chains during the permeation of BSA solution through the DEA and TEA membrane. The BSA was adsorbed in multilayer binding of 8 onto the DEA membrane whereas adsorption onto the TEA membrane remained constant. A two-stage stepwise BTC was observed due to independent chiral recognition for L, D-Trp solution by DEA-BSA membrane.

Keywords: chiral separation, radiation-induced grafted polymerization, BSA (bovine serum albumin), microfiltration, DL-tryptophan

1. 서론

이성질체는 서로 거울상의 관계를 가지며, 동일한 물성, 화학적 성질을 가지고 있어서 보통의 혼합물을 분리하는 방법으로는 분리가 불가능하다. 또한 이성질체 중 하나는 인체가 원하는 생리활성을 나타내지만 다른 거울상의 관계에 있는 이성질체는 아무런 생리활성을 나타내지 않거나 인체에 부작용을 일으킬 수 있다고 많

이 알려져 있다[1].

광학 이성질체 분리의 필요성은 약제학, 약리학뿐만 아니라 의학, 식품과학, 농학, 유기화학, 분석화학 등 입체 화학에 관련된 모든 분야에 있어서 아주 크다. 광학 이성질체의 키랄 분리는 용점, 비점, 용해도 등의 물성치가 동일하기 때문에, 재결정법, 증류법, 추출법 등의 방법으로는 분리가 불가능하다[2].

현재 이러한 광학 이성질체를 분리하기 위하여 액체 크로마토 그래피법을 사용한 리간드를 고정한 비즈를 충전시킨 컬럼들이 사용되어 왔다. 이러한 광학 이성질

†주저자(e-mail : kimmin@dongguk.ac.kr)

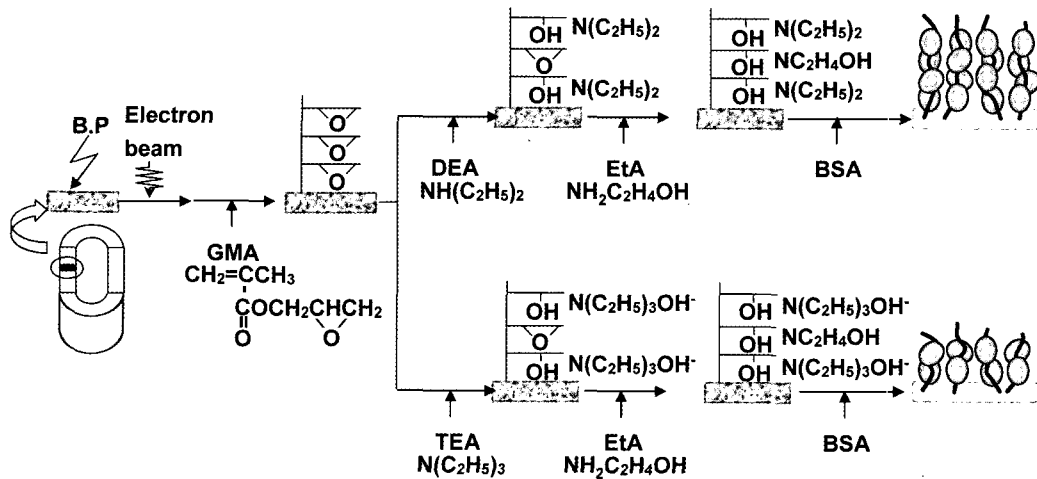


Fig. 1. Preparation scheme of immobilized BSA membrane.

체 분리에 적당한 리간드로서는 알부민(BSA), 혈청알부민(HSA) 등이 있다. Hagimaka 등은 실리카에 BSA를 고정화 후 benzoin과 warfarin을 분리하였고[3], Yang 등은 실리카에 HSA를 사용하여 DL-tryptophan (Trp)을 분리하는데 이용하였다[4]. 또한 Hofstetter 등은 PS-DVB에 BSA를 고정하여 아미노산 유도체로서 ibuprofen과 kynurenine 분리에 대한 연구를 수행하였다[5].

그러나 비즈를 충전한 컬럼을 사용하면, 활성의 물질 이동속도가 비즈 내에서의 광학이성질체의 확산이 지배 받음으로서, 처리속도에 제한을 받는다는 결점을 가지고 있다. 이러한 결점을 보완하기 위하여 비즈를 대신하여, 다공성 막을 이용한 분리 수법이 제안되었다[6]. 다공성막의 내부 pore면에 리간드를 고정하여, 그것에 대상물질을 포함한 용액을 투과시킴으로서 확산 거리를 짧게 하여, 확산이동 저항을 무시할 수 있는 분리가 실현될 수 있다[7,8]. Saito는 방사선 그래프트 중합법을 사용하여 BSA 고정막을 사용하여 효과적으로 DL-Trp을 분리할 수 있다는 것을 제시하였다[9,10]. 그러나, 각종 이온 교환기에 따른 BSA의 흡착적층 수 [11], BSA의 고정량에 따른 DL-Trp의 흡착 특성에 대해서는 부족함을 나타내고 있다.

따라서, 본 연구에서는 방사선 그래프트 중합법을 적용하여, 다공성 중공사막에 전자선을 조사시킨 후, glycidyl methacrylate (GMA)와의 그래프트 중합법에 의해 GMA 그래프트막을 만들었다. 그 후, GMA 그래프트 막에 각종 음이온 교환기로서 diethylamine (DEA), triethylamine (TEA)를 도입시켜 2종류의 음이온 교환

막을 합성하였다. 이 막에 BSA를 투과시켜 BSA 고정막을 만들었다.

본 연구의 목적은 다음과 같다. (1) 방사선 그래프트 중합법에 의해 작성된 각종 음이온 교환기 DEA, TEA에 따른 BSA의 고정량의 특성을 조사한다. (2) GMA 그래프트율을 변화에 따른 BSA의 고정 특성 (3) BSA 고정량에 따른 이성질체 D-, L-Trp의 흡착 특성을 조사한다.

2. 실험

2.1. 기기 및 시약

기재(base polymer 이하 B.P)로는 내경 1.95 mm, 외경 3.01 mm, pore size 0.34 μ m, 공극율 71%인 폴리에틸렌다공성 중공사 정밀여과 막(Asahi Chemical)을 사용하였다. 음이온교환기 도입반응에 사용된 시약으로는 DEA, TEA를 사용하였고, 이온교환기 도입 반응 후 잔존 에폭시기를 제거하기 위하여 ethanolamine (EtA)을 사용하였다. 고정용 단백질로서는 bovine serum albumin (M=67500, pI=4.9, Sigma A 7030)를 사용하였고, 이 BSA를 20 mM Tris-HCl buffer (Sigma T 6791)에 용해시켜 사용하였다. D, L-Trp은 Sigma 5936제품을 사용하였다. 그 외 다른 시약은 특급이나 그 이상의 등급의 것을 사용하였다.

각종 막의 물성을 측정하기 위해 FT-IR (Bomen, Model MB100-10)과 SEM (Philips, Model XL-30S-FEG)을 측정하였다. 또한, BSA용액은 분광광도계(UV-VIS spectrophotometer, Model UV-1201, Shimadzu)로 분

석하였다.

2.2. BSA 고정막의 합성

방사선 그래프트 중합법에 의해 만들어지는 BSA의 고정막은 다음의 4단계에 의해 이루어진다. 즉, (1) 기재 막에 전자선 조사 반응 (2) GMA의 그래프트 중합 반응 (3) 음이온 교환기의 도입반응 (4) BSA의 고정 반응으로 분류되며, 도입경로를 Fig. 1에 나타내었다.

2.2.1. 기재 막에 전자선 조사 반응

길이 10 cm의 중공사막을 질소 분위기 하에서 전자선을 조사하여, 라디칼을 발생시켰다. 전자선 조사는 가속전압 2.0 MeV, 전자선 전류 15 mA, 콘베이어 속도 2.3 m/min의 조건으로 조사선량을 200 kGy로 하고, 조사 후, 중공사 막은 냉동실에 보존하였다.

2.2.2. GMA그래프트 중합 반응

전자선 조사가 끝난 후, 막을 10 v/v% GMA- methanol 용액에 넣어 소정 시간 반응시켜, GMA 그래프트 중합을 시켰다. 그래프트 중합 후, 생성된 호모폴리머를 제거하기 위해 dimethylformamide (DMF) 용액에 침적시켰다. 그 후 메탄올로 막을 세척 한 후, 진공 건조하여 중량을 측정하였다. 그래프트율(degree of grafting, dg)은 다음과 같이 정의하였다.

$$\text{Degree of grafting} = (W_1 - W_0) / W_0 \times 100 [\%] \quad (1)$$

여기서, W_0 , W_1 은 각각 기재, 그래프트 중합 후의 막의 중량을 나타낸다.

2.2.3. 음이온 교환기의 도입반응

GMA 그래프트 중합막에 음이온교환기로서 DEA과 TEA를 도입하였다. DEA는 50 v/v% 수용액에 303 K에서, TEA는 100 v/v% 용액에 343 K에서 소정시간 반응시켜, 음이온교환 막을 얻었다. 이 때 얻어진 막의 이온교환기 함량 및 전하율은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{이온교환기밀도} = (W_2 - W_1) / W_2 M_2 \times 1000 [\text{mmol/g}] \quad (2)$$

$$\text{전하율} = M_1(W_2 - W_1) / M_2(W_1 - W_0) \times 100 [\%] \quad (3)$$

여기서, W_0 , W_1 , W_2 는 기재, GMA막, 이온교환막의

무게를 나타내고, M_1 , M_2 는 각각 GMA와 반응에 사용된 이온교환기의 분자량을 나타낸다. 또한, 이온교환기 도입 반응 후 막에 잔존 에폭시기를 제거하기 위하여 EtA을 5시간 반응시켰다. 이 때 얻어진 막을 DEA, TEA막이라 하였다.

2.2.4. BSA의 고정 반응

BSA고정은 Fig. 2(b)에 나타난 실험 장치를 사용하였다. 20 mM의 Tris-HCl buffer (pH 8)에 BSA를 녹여 단백질 용액을 만든 후, 일정유량으로 DEA-EtA, TEA-EtA막에 투과시켜 BSA 고정 막을 만들었다. 이 때 얻어진 BSA 고정량은 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$Q = \int_0^{V_e} (C_0 - C) dV / W [\text{g/g}] \quad (4)$$

여기서, V_e 는 C가 C_0 에 도달하였을 때 투과체적이고, W는 건조된 막의 중량이다. BSA농도는 분광광도계를 이용하여 280 nm에서 측정하였다. 단백질을 투과시킨 후, 막 중에 잔존하는 단백질을 제거하기 위해 Tris-HCl buffer (0.02 M, pH=8)를 투과시켜, BSA 고정막을 세정하였다. 이 때 얻어진 막을 DEA-BSA, TEA-BSA 막이라 하였다.

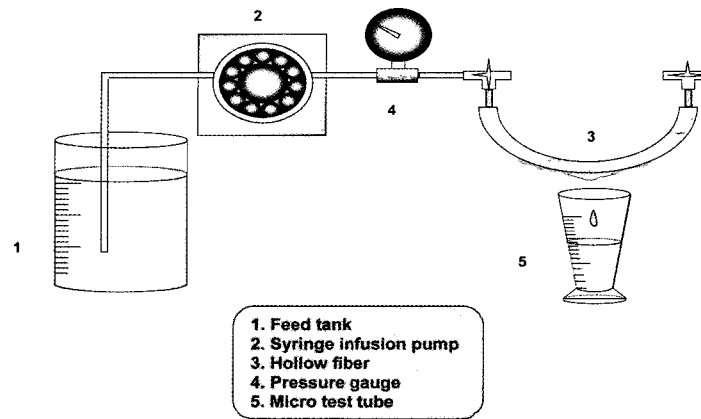
2.3. 음이온교환막의 투과특성

막의 투과특성을 조사하기 위하여 Fig. 2(a)에 나타난 실험 장치를 사용하였다. 길이 10 cm의 중공사 막을 U자형으로 하여 물을 0.1 MPa의 압력으로 막의 내면에서 외면으로 투과시켰다. 정해진 시간 내에 투과한 용액의 체적을 측정하여 막 내면을 기준으로 투과유속을 계산하였다.

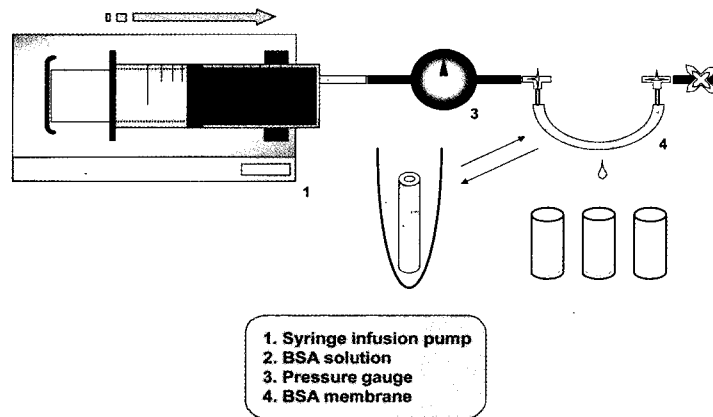
$$\text{Flux}[\text{m/h}] = \frac{(\text{투과한 물의 양})}{(\text{막의 내면적}) \times (\text{투과 시간})} \quad (5)$$

2.4. BSA 고정막에 Trp의 흡착

이성질체 Trp의 흡착 실험은 투과법으로 수행하였다. Trp은 D-, L-, DL-Trp을 사용하였다. Fig. 2(b)의 장치를 이용하여 0.05 mM의 Trp을 BSA고정막에 투과시켰다. 이때 용매 또한 pH 8의 Tris buffer 용액을 사용하였다. 투과 액의 흡광도(280 nm)를 측정하여 D-, L-, DL-Trp의 흡착량을 구하였다.



(a) Experimental apparatus for the water flux.



(b) Experimental apparatus for the BSA adsorption.

Fig. 2. Experimental apparatus.

흡착 조작에 이어, Trp의 용출 조작을 수행하였다. 세척액으로 Tris buffer용액을, 용출액으로는 0.5 M NaCl을 포함한 Tris buffer용액을 사용하였다. 얻어진 값으로부터 공급액 농도에 대한 각각의 Trp을 식(4)를 이용하여 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 음이온 교환막의 합성

GMA 그래프트율 175%의 다공성 중공사막을 이용하여 음이온교환기 도입에 있어서 반응시간에 따른 이온교환밀도와 전하율의 관계를 Fig. 3에 나타내었다.

DEA막과 TEA막은 각각 최종전하율 100%, 47%로 나타났으며, 이때 이온교환밀도는 3.4 mmol/g, 1.74 mmol/g으로 나타났다. 그 결과 DEA가 TEA보다 높은 이온교환막을 얻을 수 있었다. 여기서 TEA막의 전하율

이 낮은 이유는 TEA가 4급 암모늄기로서 에폭시기 개환반응에 참가할 수 있는 수소를 포함하지 않기 때문으로 생각된다.

GMA 그래프트율 변화에 따른 DEA와 TEA의 이온교환밀도를 Fig. 4에 나타냈다. 그래프트율이 증가함에 따라 이온교환밀도가 증가하는 것을 볼 수 있다. 이것은 그래프트 체인이 증가할수록 이온교환기의 도입도 높아짐을 알 수 있다.

Fig. 5에 B.P, GMA그래프트막, DEA, TEA막의 SEM (Scanning Electronic Microscopy)사진을 나타내었다. 음이온교환기가 도입되면서 각각의 막들은 matrix가 팽윤되었지만 pore는 거의 변화가 없음을 알 수 있었다. 이는 음이온교환기가 도입되어도 막의 물리적 변화는 거의 없음을 알 수 있다.

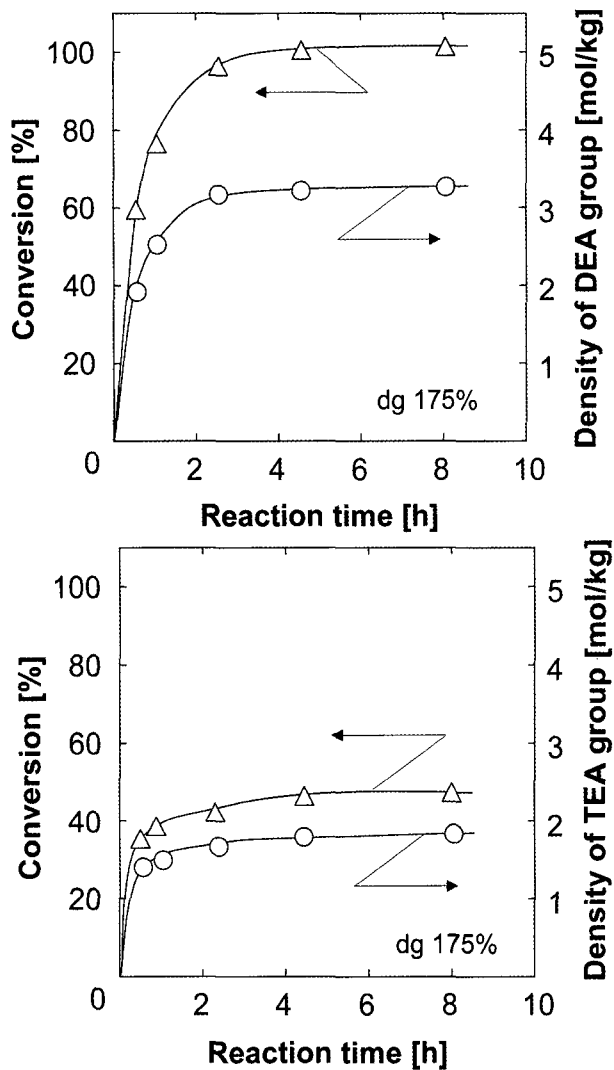


Fig. 3. Conversion and density of anion group as a function of reaction time.

3.2. 음이온 교환막의 투과특성

전화율에 따른 음이온 교환막의 순수투과특성을 Fig. 6(a)에 나타내었다. DEA막의 경우 순수투과유속이 전화율 50% 이상에서 부터 급격히 감소하고 TEA막의 경우도 조금씩 감소하는 것을 볼 수 있다. 이것은 이온교환기의 전하에 따라 투과 유속이 감소함을 알 수 있었다.

음이온 교환막의 그래프트율 변화에 따른 투과 유속을 Fig. 6(b)에 나타내었다. 그래프트율이 증가함에 따라 순수투과특성이 감소하는 것을 알 수 있었다. 이는 그래프트율이 증가함에 따라 막의 표면에 도입되어진 그래프트 체인의 도입이 증가하면서 물의 투과유속이 그래프트 체인에 영향을 받는다는 것을 알 수 있었다

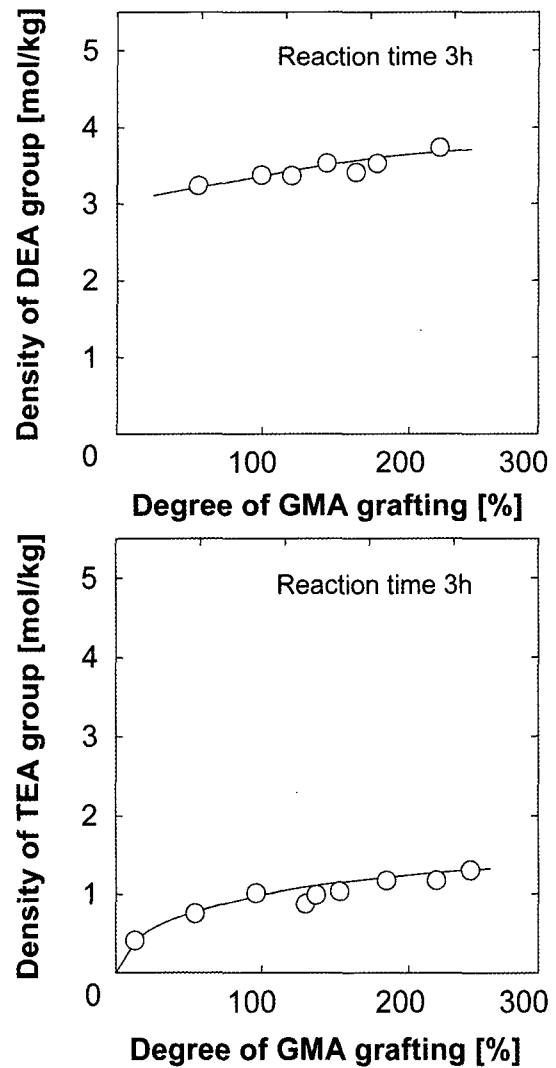


Fig. 4. Density of anion groups as a function of the degree of GMA grafting.

[12].

pore의 유효 직경의 변화를 투과 유속과 관계에 따라 다음의 Hagen-poiseuille 식으로 계산할 수 있다.

기체에 순수를 투과 시험 하였을 때,

$$F_{p,w}[\text{m/s}] = n_0 \pi r_0^4 \Delta P / (8\mu D_0) \quad (6)$$

음이온 교환막에 순수를 투과 시험 하였을 때,

$$F[\text{m/s}] = n \pi r^4 \Delta P / (8\mu D) \quad (7)$$

위 식으로부터 각 항을 나누어 보면 다음과 같은 식

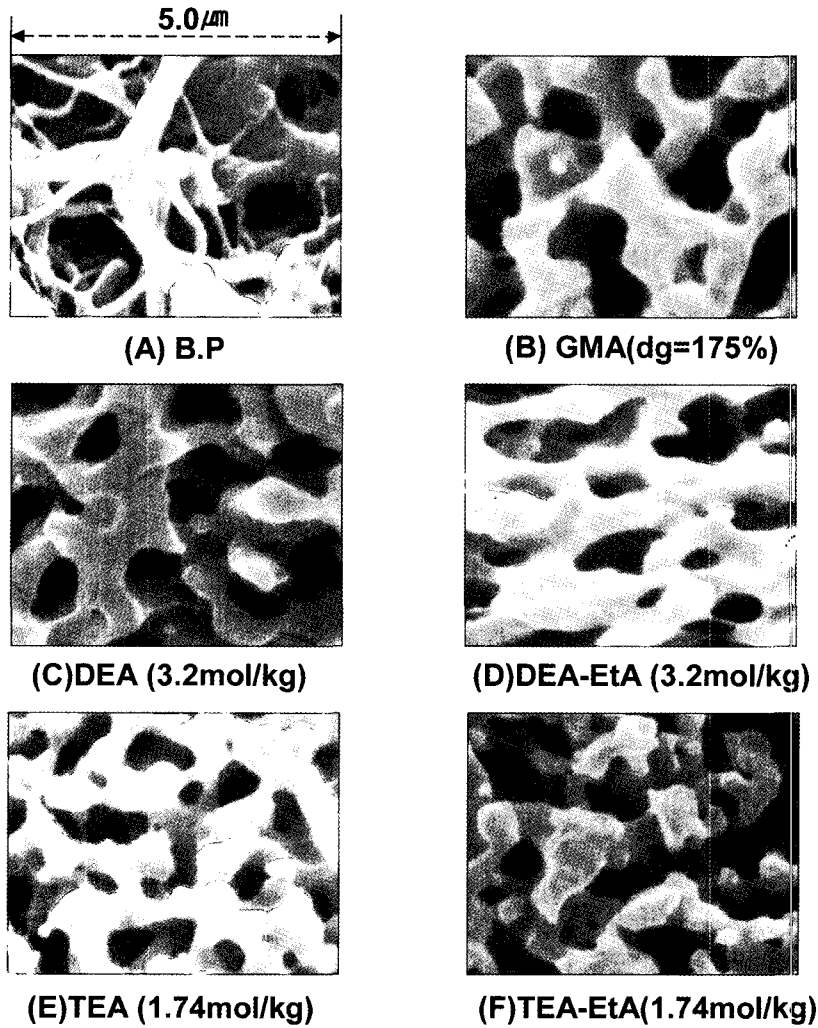


Fig. 5. SEM images of anion exchange membrane; B.P, GMA, DEA, DEA-EtA, TEA, TEA-EtA.

이 유도된다.

$$F/F_{p,w} [m/s] = (n/n_0) (r/r_0)^4 (D_0/D) \tag{8}$$

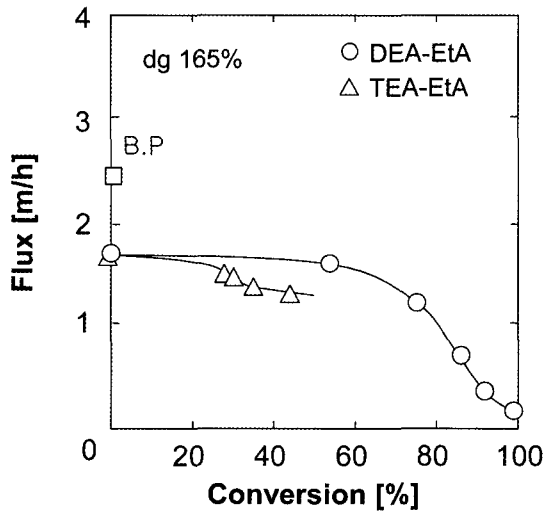
여기서, 하첨자 p, w, 0는 순수와 기체를 나타낸다. F, n, r, D는 각각 투과유속, pore의 수, pore의 유효직경, 막의 두께를 나타낸다. 그 결과, GMA 그래프트율 150%를 이용하여 도입한 DEA막의 pore 유효 직경은 0.155 μm로 알 수 있었고, TEA막의 pore 유효 직경은 0.276 μm로 알 수 있었다.

3.3. BSA 고정막의 합성

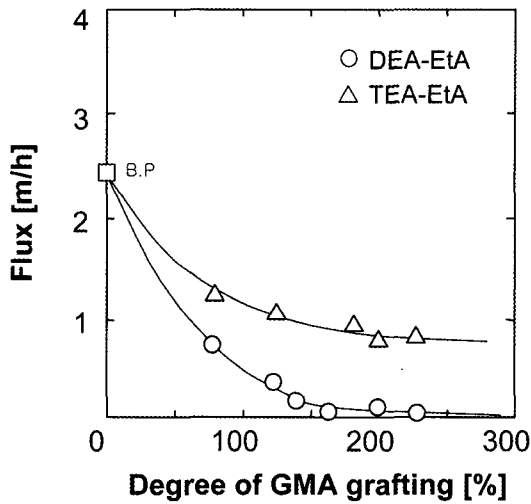
음이온교환기인 DEA, TEA를 도입시킨 후, 다공성 중공사막에 BSA를 흡착시켜 BSA고정량을 조사한 결

과를 Fig. 7에 나타냈다. BSA의 흡착, 세척, 용리과정에 따라, BSA와 고정된 막이 세척과정에 의해 100% 용리시킬 수 있었다. 이것은 BSA의 고정량과 용리의 조절이 가능하다는 것을 알 수 있었다. M. Nakamura는 막의 반복사용에 있어서, BSA의 탈리를 방지하기 위해 glutaraldehyde를 사용하여, BSA를 가교시키는 방법을 사용하였다[13]. 그러나, glutaraldehyde에 의해 가교를 시켰을 경우, 고정량이 150 mg/g으로 가교를 사용하지 않았을 경우의 고정량 180 mg/g에 비해 약 80% 낮은 고정량을 나타내고 있었다. 그래서, 본 연구에서는 BSA의 최대 고정량에 따른 Trp의 흡착 특성을 보기 위해 glutaraldehyde에 의한 가교 방법을 사용하지 않았다.

이온 교환막의 그래프트율을 변화시켰을 때, BSA의



(a)



(b)

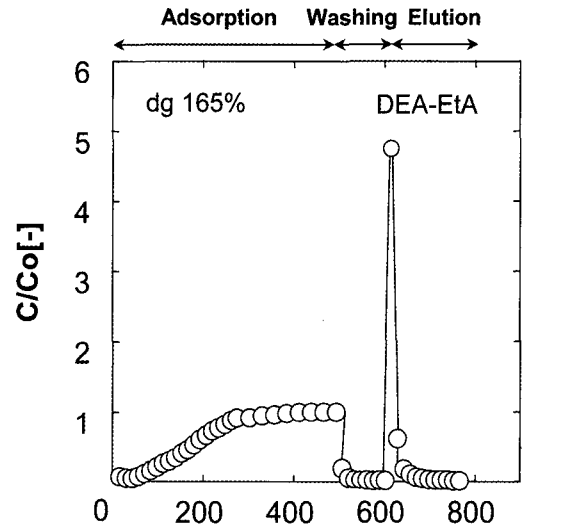
Fig. 6. Flux as a function of conversion (a) and degree of GMA grafting (b) at the anion membrane.

고정량을 Fig. 8에 나타냈다. DEA 막의 경우가 TEA막의 경우보다 높은 고정량을 나타내는 것을 알 수 있었다.

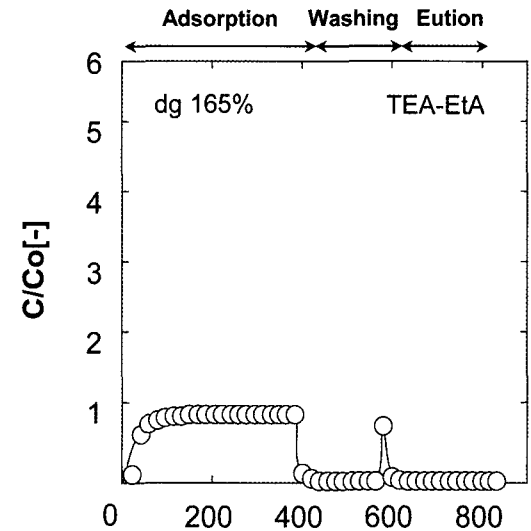
다공성막의 외면으로 나오는 유출액의 액량과 그 단백질 농도와의 관계를 측정하고, 파과곡선을 적분하여, 단백질의 고정량을 산출하였다. 다음의 식으로부터, 고정량을 흡착 적층수로 환산하였다.

$$\text{흡착적층수[-]} = (\text{고정량}) / (\text{단층고정량}) \quad (9)$$

여기서, 단백질의 단층고정량은, 다공성막의 중량당 표면적(비표면적)을 단백질의 점유면적으로 나눔으로서 산출하였다.



DEV = effluent volume / membrane volume [-]



DEV = effluent volume / membrane volume [-]

Fig. 7. Breakthrough curves of adsorbed BSA at the DEA, TEA membrane.

$$\text{단층고정량[g/g]} = (\text{막의 비표면적}) \times (\text{단백질의 분자량}) / [(\text{단백질1분자의 점유면적}) \times (\text{아보가드로수})] \quad (10)$$

다공성 중공사막에 BSA가 end-on결합으로 단층 흡착을 한다고 가정할 때의 흡착용량을 계산하였다. 식(10)을 이용하여, 점유율에 의해 4.0×4.0×11.5 nm의 직경을 가진 BSA의 점유면적을 1.39×10⁻¹⁷ m²으로 하여 단백질이 다공성 중공사막에 단층 흡착을 한다고 가정하여 계산한 결과를 Table 1에 나타냈다. DEA막의 경우, 그라프트율이 높아질수록, 그라프트 체인이 신장하기

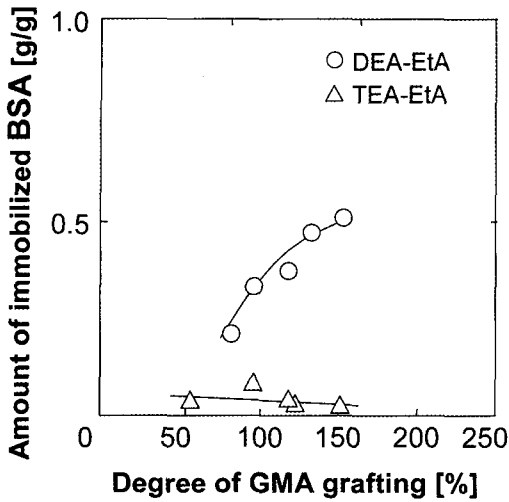


Fig. 8. The amount of immobilized BSA as a function of degree of GMA grafting.

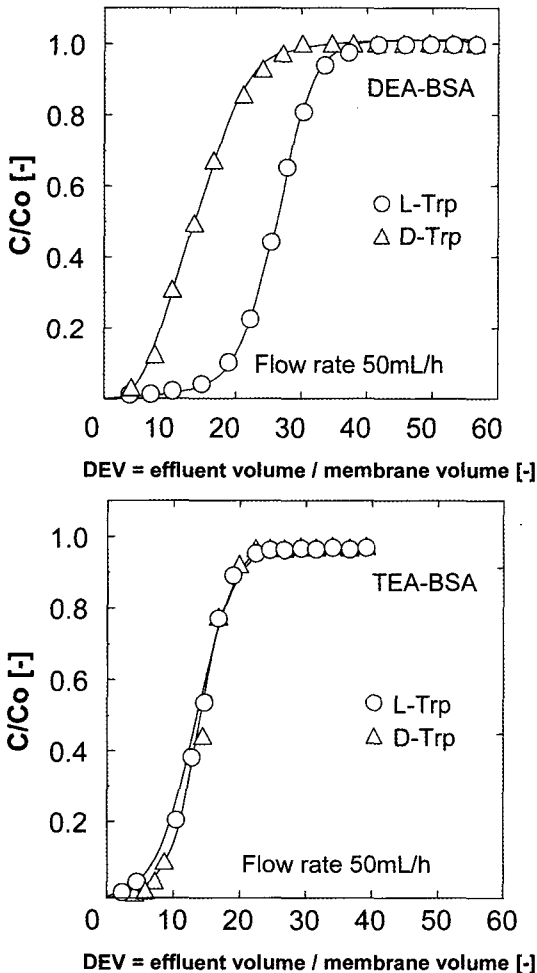


Fig. 9. Breakthrough curves of Tryptophan at the immobilized BSA membrane.

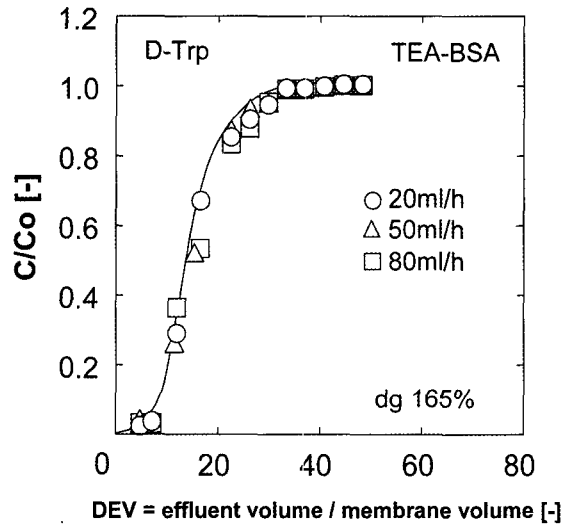
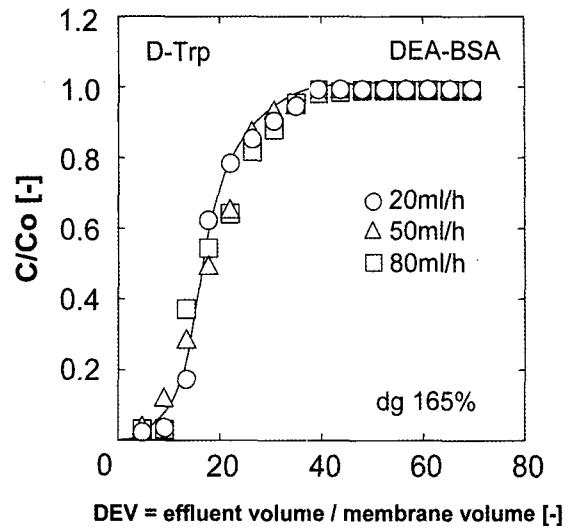


Fig. 10. Dependence of breakthrough curves on the permeation of the D-Tryptophan solution.

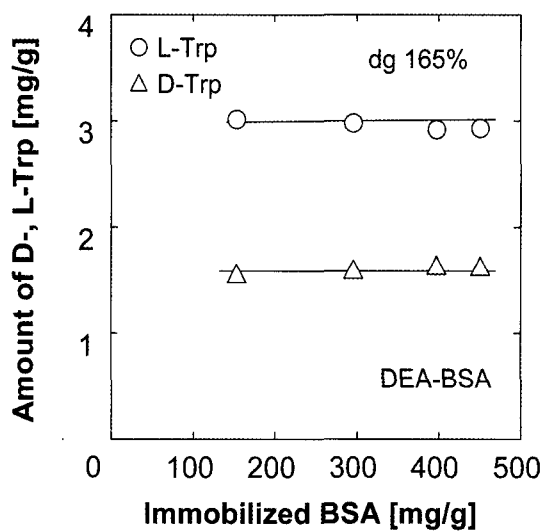
때문에, 그래프트 체인에 단백질이 8층 이상으로 다층 흡착하여, 흡착용량이 증가하는 것을 알 수 있었다. 그러나, TEA 막의 경우, 다층 흡착이 이루어지지 않는 것을 알 수 있었다.

3.4. BSA 고정막에 Trp의 흡착

0.05 mM의 D-Trp, L-Trp을 각각 BSA고정막의 내면으로부터 외면으로 투과시킨 다음, 얻어진 breakthrough curve (BTC)곡선을 Fig. 9에 나타냈다. TEA-BSA막보다 DEA-BSA막의 경우 L-Trp이 D-Trp보다 BSA와 더 강한 상호작용을 나타내었음을 알 수 있었다. DEA막의 경우 D-, L-Trp의 상호작용이 서로 다르다는 것을 통해

Table 1. The Amount of Immobilized BSA as a Function of Degree of GMA Grafting

Degree of grafting [%]		75	95	125	155
DEA-EtA	Binding amount of BSA[g/g]	0.19	0.34	0.46	0.55
	Theoretical monolayer binding capacities of BSA[g/g]	0.06	0.06	0.06	0.06
	A degree of BSA multilayer binding	3.2	5.6	7.7	8.2
TEA-EtA	Binding amount of BSA[g/g]	0.07	0.07	0.06	0.06
	Theoretical monolayer binding capacities of BSA[g/g]	0.06	0.06	0.06	0.06
	A degree of BSA multilayer binding	1.15	1.13	0.98	1.06

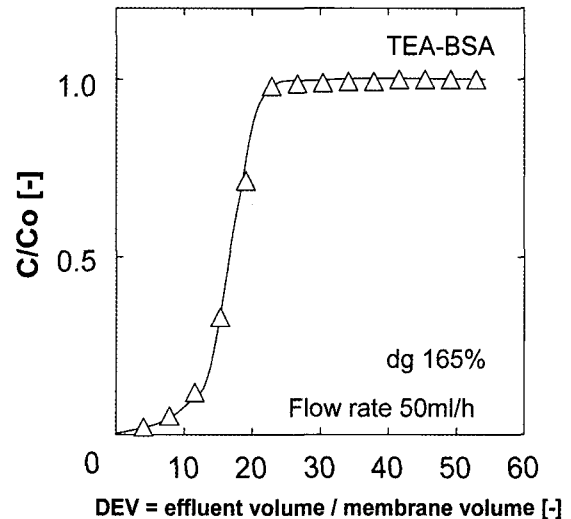
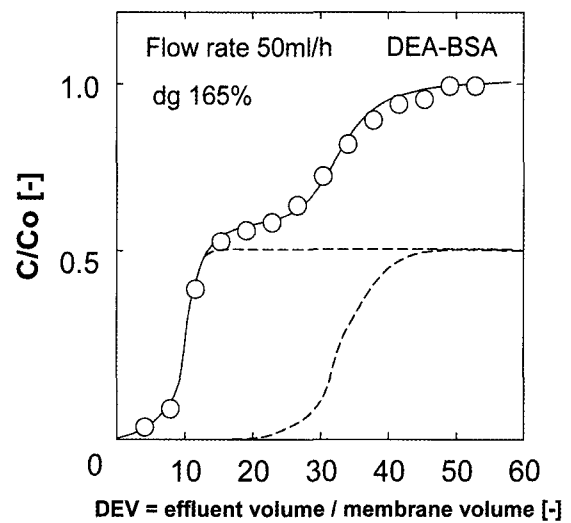
**Fig. 11.** The amount of adsorption of D-, L-Tryptophan as a function of immobilized BSA.

두 이성질체의 분리가 가능하다는 것을 알 수 있었다.

BSA 고정 막에 D-Trp의 투과 속도를 20~80 mL/hr로 변화시켰을 때 파과 곡선을 Fig. 10에 나타내었다. 투과 속도를 변화시킨다는 것은 막에서의 체류시간을 변화시키는 것이다. 체류 시간은 다음과 같이 나타냈다.

$$\text{residence time} = [\varepsilon\pi(d_o^2 - d_i^2)L] / \{4(\text{permeation rate})\} \quad (11)$$

여기서 ε , d_i , d_o , L 은 porosity, 내경, 외경, 막의 길이를 나타낸다. 이때 막에서의 체류 시간은 10~50 sec로 계산되어진다. 그 결과 DEA-BSA와 TEA-BSA막의 경우 투과유속 즉 체류 시간이 변화하여도 D-Trp의 흡착량에는 변화가 없다는 것을 알 수 있었다. 이는 광학 인식능을 가진 BSA가 유속에 영향을 받지 않는다는 것을 나타낸다.

**Fig. 12.** Breakthrough curves of DL-Tryptophan at the immobilized BSA membrane.

3.5. BSA 고정량에 따른 D-, L-Trp의 흡착량

DEA-BSA막에 있어서, BSA 고정량을 변화시켰을 때 D-, L-Trp의 흡착량을 Fig. 11에 나타내었다. BSA 고정량을 변화시켜 이성질체를 흡착시킨 결과 BSA의 고정량이 증가하여도 이성질체의 흡착량은 일정함을 나타내었다. 따라서 많은 양의 BSA보다는 이성질체를 흡착하는데 있어 일정한 BSA 고정량을 유지하는 것이 좀 더 효과적인 것을 알 수 있었다.

3.6. BSA 고정막에 DL-Trp의 흡착

DL-Trp의 혼합물을 투과시킨 다음, 얻어진 BTC 곡선을 Fig. 12에 나타내었다.

DEA-BSA 막의 경우, 2단계의 BTC곡선을 얻을 수 있었다. 처음에는 DEV 약 5에서, 2번째는 DEV 약 25 정도에서 농도가 증가하는 것을 알 수 있었다. 이것은 처음에 D-Trp가 DEV 약 5에서 포화 흡착한 후, L-Trp가 DEV 약 25에서 포화 흡착하는 것으로, BSA에 대한 L-Trp와 D-Trp의 키랄 인식이 다르기 때문에 2단계의 BTC곡선을 얻을 수 있었다[13]. 그러나 TEA-BSA 막의 경우는 2단계의 BTC곡선을 얻을 수 없었다.

4. 결 론

본 연구에서는 방사선 그래프트 중합법을 적용하여, 다공성 중공사막에 전자선을 조사시킨 후, GMA 그래프트막을 합성하였다. 그 후, GMA 그래프트 막에 2종류의 음이온 교환기로서 DEA, TEA를 도입시켜 음이온 교환막을 합성하였다. 그 후, BSA를 투과시켜 BSA 고정막을 만들었다. 이 BSA고정막에 DL-Trp를 투과 흡착시켜 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) DEA막과 TEA막의 이온교환밀도는 3.4 mmol/g, 1.74 mmol/g으로 DEA막이 TEA막보다 높은 이온교환기를 얻을 수 있었다.

2) DEA막의 경우, 그래프트 체인에 BSA가 8층 이상으로 다층 흡착하였으나, TEA 막의 경우 다층 흡착이 이루어지지 않았다.

3) DEA막에 BSA를 고정시킨 막의 경우, BSA의 고정량이 증가하여도 Trp의 흡착량은 증가하지 않고 일정함을 나타내었다.

4) L-, D-Trp 혼합물을 투과시킨 BTC에 있어서, DEA-BSA 막의 경우, BSA에 대한 L-Trp와 D-Trp의

키랄 인식이 다르기 때문에 2단계의 BTC곡선을 얻을 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Nihon Kagaku Kai ed.: Kikan Kagaku Souetus. 6th ed. p2 Gakkai Shuppan Center, Tokyo, Japan (1989).
2. H. Nakamura, "Chiral Separations by HPLC", Hirokawa Publishing Co., Tokyo, Japan (1997)
3. J. Haginaka, and N. Kanasugi, "Enantioselectivity of bovine serum albumin-bonded columns produced with isolated protein fragments", *J. Chromatogr.*, A 694, 71 (1995).
4. J. Yang and D. S. Haga, "Role of binding capacity versus binding strength in the separation of chiral compounds on protein-based high-performance liquid chromatography columns Interactions of - and -tryptophan with human serum albumin", *J. Chromatogr.*, A 725, 273 (1996).
5. H. Hofstetter, O. Hofstetter, and V. Schurig, "Rapid separation of enantiomers in perfusion chromatography using a protein chiral stationary phase", *J. Chromatogr. A* 764, 35(1997).
6. N. Kubota, S. Miura, K. Saito, K. Sugita, K. Watanabe, and T. Sugo, "Comparison of protein adsorption by anion-exchange interaction onto porous hollow-fiber membrane and gel bead-packed bed", *J. Membrane Sci.*, 117, 135 (1996).
7. H. Iwata, K. Saito, S. Furusaki, T. Sugo, and J. Okamoto, "Adsorption characteristics of an immobilized metal affinity membrane", *Biotechnol. Prog.*, 7, 412 (1991).
8. S. Matoba, S. Tsuneda, and K. Saito, and T. Sugo, "Highly efficient enzyme recovery using a porous membrane with immobilized tentacle polymer chains", *Bio/Technology*, 13, 795 (1995).
9. M. Nakamura, S. Kiyohara, K. Saito, K. Sugita, and T. Sugo, "High resolution of DL-tryptophan at high flow rates using a bovine serum albumin-multilayered porous hollow-fiber membrane", *J. Chromatogr.*, A 822, 53 (1998).
10. S. Kiyohara, M. Nakamura, K. Saito, K. Sugita,

- and T. Sugo, "Binding of DL-tryptophan to BSA adsorbed in multilayers by polymer chains grafted onto a porous hollow-fiber membrane in a permeation mode", *J. Membrane Sci.*, **152**, 143 (1999).
11. S. Tsuneda, K. Saito, T. Sugo, and K. Makuuchi, "Protein adsorption characteristics of porous and tentacle anion-exchange membrane prepared by radiation-induced graft polymerization", *Radiat. Phys. Chem.*, **46**, 239-245 (1995).
12. S. Tsuneda, K. Saito, S. Furusaki, T. Sugo, and I. Ishigaki, "Water/acetone permeability of porous hollow-fiber membrane containing diethylamino groups on the grafted polymer branches", *J. Membr. Sci.*, **71**, 1-12 (1992).
13. M. Nakamura, S. Kiyohara, K. Saito, K. Sugita, and T. Sugo "Chiral separation of DL-tryptophan using porous membranes containing multilayered bovine serum albumin crosslinked with glutaraldehyde", *J. chromatogr. A*, **822**, 53-58 (1998).
12. S. Tsuneda, K. Saito, S. Furusaki, T. Sugo, and I.