

## 전기방사로 제조된 PES-BSA 친화막의 흡착특성

홍 병 표 · 변 홍 식<sup>†</sup>

계명대학교 화학시스템공학과

(2008년 12월 19일 접수, 2008년 12월 24일 수정, 2008년 12월 24일 채택)

### Adsorption Characteristics of PES-BSA Affinity Membrane Prepared by Electrospinning

Byungpyo Hong and Hongsik Byun<sup>†</sup>

Department of Chemical System Engineering, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea  
(Received December 19, 2008, Revised December 24, 2008, Accepted December 24, 2008)

**요 약:** 전기방사법을 이용하여 제조된 polyestersulfone (PES)-bovin albumin serum (BSA) 친화막에 대하여 L-tryptophan에 대한 흡착특성을 연구하였다. FESEM과 Image Analyzer를 이용하여 방사조건에 따른 섬유 직경분포를 비교분석함으로써 섬유의 직경을 조절할 수 있음을 알았다. 또한, 2,2,3,4,4,4-Hexafluoro-1-butanol (HFB)와 BSA의 함량증가에 따른 미세섬유 발생빈도가 높아져서 Darcy 투과도, 기계적 물성, 발수성이 증가한다는 것을 알았다. L-tryptophan의 용출량은 tris-HCl 완충용액보다 borate-DMSO 완충용액에서 높았으며, A 8022형 BSA보다 A 7906형 BSA가 높은 용출량을 보였다. 이러한 결과는 BSA의 종류에 따른 그 특성에 기인하는 것으로 A 7906형은 A 8022형보다 순도가 높고 분자량 분포가 고르며, 사용 pH 환경이 더욱 안정적이기 때문이다.

**Abstract:** The adsorption characteristics of L-tryptophan of PES-BSA affinity membranes prepared by using electrospinning were investigated. It was found that the fiber diameters could be controlled by the comparisons of fiber diameters prepared by various spinning conditions through FESEM and Image Analyzer. Darcy's permeability constants, mechanical properties and hydrophobic properties were enhanced since micro-fibers increased by increasing the composition ratio of HFB and BSA. The elution capacity of L-tryptophan in borate-DMSO buffer solution was higher than that in tris-HCl buffer solution, while the elution capacity of A 7906 type BSA was higher than A 8022 type BSA. This is due to the characteristics of BSA type, i. e. higher purity and uniform molecular weight and better pH stability of A 7906 type BSA than those of A 8022 type BSA.

**Keywords:** PES-BSA, L-tryptophan, affinity membrane, buffer solution

#### 1. 서 론

경제성장과 더불어 인간에 대한 건강의 관심이 다른 무엇보다 부각되면서 제약 산업의 성장이 두드러지고 있다. 그 중 세계시장에서 판매되는 의약품의 절반이 키타 의약품이며, 향후 미국과의 FTA가 체결되면 국내의 키타 의약품 시장은 보다 빠른 성장이 예상된다. 따라서, 키타 의약품의 빠른 성장에 따른 약효 검증을 위한 기술 성장이 요구되며, 키타 의약품이 라세미 형태로 사용됨으로써 해서 그것을 분리, 정제하는 기술의 성

장이 요구된다.

특히 많은 의약품이 라세미체로 사용됨으로써 임상 효능이나 독성 등에 있어서 많은 문제점을 나타내었다 [1-4]. 그래서, Chemical and Chemical Engineering News지에 Stinson (1992)[5]은 미국의 FDA에서는 새로운 의약품을 허가하는 과정에서 그 의약품이 라세미체로 사용해도 좋은 충분한 근거가 없는 한 라세미체로는 제조 및 판매를 허가하지 않는 새로운 규정을 마련한다는 내용을 게재하였다. 현재 판매되고 있는 라세미체 약품의 시장 확대 또는 신생약품의 시장성을 갖추기 위해서는 라세미체의 약품에 대해서는 효능과 독성 등에

<sup>†</sup>주저자(e-mail : hsbyun@kmu.ac.kr)

대하여 검토하여야 하며, 이를 위해서는 분리, 정제 기술이 중요하다.

생명체 내에서 작용하는 20여 종의 아미노산은 키랄 탄소를 가지고 있어 D-아미노산과 L-아미노산의 형태가 가능하나, 알 수 없는 이유로 생명체 내에서는 L-아미노산만 발견된다. 인공적으로 아미노산을 합성하면 일반적으로 1:1의 D, L-아미노산이 만들어진다[6]. 합성된 아미노산은 라세미체이며, 이를 부분 입체 이성질체로 만들지 않고 직접 분리하는 방법을 광학 이성질체 분리의 직접 분할 방법이라고 하며, 그 주된 기술이 키랄 크로마토그래피이다. 액체 크로마토그래피를 이용한 직접 분리 방법은 키랄 선택자의 존재 형태에 따라 키랄 이동상(chiral mobile phase, CMP) 방법, 키랄 이동상 첨가제(chiral mobile phase additive, CMPA) 방법, 키랄 정지상(chiral stationary phase, CSP) 방법으로 나누어진다. CMP법은 용매 선택에 대한 제한성과 고가의 키랄 용매를 다량 사용하여야 하기 때문에 보편화할 수 없는 방법이며, CMPA 방법은 분리된 것이 키랄 이동상 첨가제와의 혼합물이므로 광학순도를 정확히 측정할 수 없는 방법이다. 그러나, CSP 방법은 일반 컬럼에 비해서 컬럼 가격이 비싸나 두 광학 이성질체가 직접 분리된다는 장점이 있다[2].

키랄 크로마토그래피 외에도, 리간드(ligand)와 리게이트(ligate)와의 특이적인 친화력을 바탕으로 목적 단백질 분리를 할 수 있는 방법인 친화 크로마토그래피(affinity chromatography)가 있다. 친화크로마토그래피는 매트릭스(비즈)에 광학이성질체를 분리할 수 있는 리간드, 즉 라세미혼합물에서 특정 형태의 리게이트를 흡착할 수 있는 리간드를 사용하여 리게이트를 분리하는 방법이다. McMenemy와 Oncley (1958)[7]는 bovine serum albumin (BSA)이 D-tryptophan보다 L-tryptophan과 보다 강한 상호작용을 한다는 것을 보고하였다. Stewart와 Doherty (1973)[8]는 이 원리를 이용하여 sepharose에 리간드 BSA를 고정시킨 친화크로마토그래피를 제조하여 D, L-tryptophan 라세미체를 광학분리 하였다. Lagercrantz (1979)[9]는 sepharose를 이용하여 혈청알부민 BSA를 고정시켜 tryptophan과 warfarin을 광학 분리하는 연구를 하였다. Yang과 Hage (1996)[10]는 실리카에 HSA를 고정시켜 D, L-tryptophan을 분리하는 연구를 하였다.

위와 같은 키랄 크로마토그래피나, 친화 크로마토그래피는 충전관을 사용함으로써 bead에 의한 막힘과 오

염 때문에 생산성이 낮다. 그리고, 충전관을 사용하기 때문에 대량생산을 위한 규모의 확대가 쉽지 않다[11, 12]. 충전관이 갖는 단점을 해결하기 위해서 다공성 막을 리간드의 고정화 담체로 사용하여 충전관보다 이동상의 흐름을 원활하게 하여 생산성을 높일 수 있는 친화성 막(affinity membrane)이 도입되었다[13-16].

Brandt 등[15]은 다공성 막을 이용한 친화성 물질분리의 개념을 최초로 도입하였고, Champluvier와 Kula [16]는 효소의 분리 정제에 나일론 평판막에 리간드를 고정화시킨 친화막을 이용하였다. 다공성 막을 이용하여 친화막으로 이용하기 위해서는 특별한 제조공정을 거쳐야 하며, 이 작업은 많은 시간과 비용을 발생하는 매우 복잡한 과정을 거치게 된다. 따라서 본 연구에서는 제조공정을 단순화하고, 리간드를 고정시키기 위해서 특정시약 사용문제와 리간드 고정량의 제한을 해결한 PES-BSA 친화막[17,18]을 전기방사법으로 제조하였으며, 제조된 친화막의 분리막 특성을 비교분석하고, 완충용액에 따른 흡착특성을 관찰하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 실험재료

친화막 제조를 위해서 두 가지 용질을 혼합 용매에 용해시켜 전기방사하였다. 첫 번째 용질은 polyethersulfone (PES)로 Solvay사의 Radel H-3000(Mn = 24,703 / Mw = 77,620)을 MeOH로 세척 후 180°C에서 3 h 건조하여 사용하였으며, 두 번째 용질은 리간드로 사용된 단백질로 Sigma-Aldrich사의 bovin albumin serum (BSA) A 7906형과 A 8022형을 정제 없이 사용하였다. 용매로는 Aldrich사의 1,1,1,3,3-Hexafluoro-2-propanol (HFP)과 2,2,3,4,4,4-Hexafluoro-1-butanol (HFB)를 정제 없이 사용하였다.

전기방사를 이용하여 제조된 친화막의 취급을 용이하게 하기 위해서 지지막(support membrane)으로 Chung Ah filter MFG, Co.에서 제조된 0.45 μm형 PES 막을 사용하였다.

친화막의 흡착특성을 관찰하기 위한 완충용액으로는 borate-DMSO buffer solution, tris-HCl buffer solution을 제조하였으며, sodium tetraborate (Sigma-Aldrich), dimethyl sulfoxide (DM SO) (Sigma-Aldrich), acetic acid (Aldrich), NaCl (Aldrich), trizma® base, HCl (Duksan Pure Chemical Co. Ltd., Korea)를 정제 없이

사용하였다. 그리고, 흡착특성을 분석할 단백질은 L-tryptophan (Sigma)을 이용하였다.

2.2. PES-BSA 친화막 제조

2.2.1. 방사용액

전기방사법을 이용하여 PES-BSA 친화막을 제조하기 위하여 Table 1과 같이 방사용액을 준비하였다. 방사조건은 Table 1과 같이 방사전압과 방사속도를 변화시켜 제조하였으며, 방사용액은 먼저 용질과 첫 번째 용매 HFP와 함께 150 rpm 속도로 72 h 이상 교반하여 용질을 완전히 용해시켰다. 그리고, 두 번째 용매 HFB를 혼합하고 36 h 이상 교반한 후 다음 과정인 안정화를 거쳐 기포를 완전히 제거시킨 상태에서 방사하여 친화막을 제조하였다.

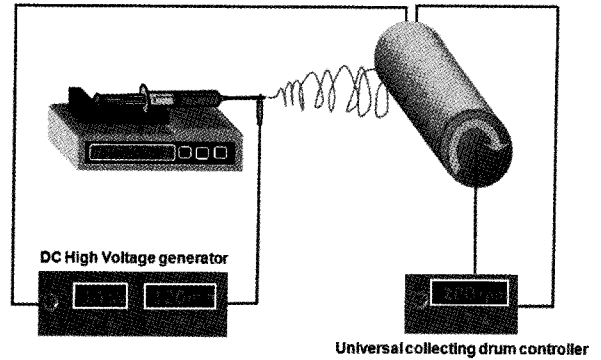
2.2.2. 전기방사

준비된 방사용액은 바늘 내경 22 Gage, 5 mL 주사기에 넣어 기포를 완전히 제거 후 KDS100 (KD Scientific Inc.)을 이용하여 방사용액 공급 속도를 조절하였다. 고전압장치로 CPS 60K02VIT (CHUNGPA EMT Co., Ltd.)를 사용하였으며, 전기방사장치의 도해와 실제 장치의 사진은 Fig. 1에 나타내었다. 용액의 농도, 방사거리(TCD, tip to collector distance), 용액의 방사속도(flow rate), 그리고 방사전압(voltage)을 조절함으로써 다양한 조건에서의 친화막을 제조하고 제조된 친화막의 섬유 직경분포를 분석함으로써 나노섬유의 직경을 조절하고자 하였다. 방사속도 0.5~1.2 mL/h, 방사전압 8~12 kV, 방사거리 10 cm로, 방사용액을 방사속도와 방사전압을 변화시켜 제조된 섬유의 물폴로지 변화를 관찰하고 최적의 제조 조건을 확립하고자 하였다.

2.3. PES-BSA 친화막의 분리막 특성분석

제조된 PES-BSA 친화막의 분리막 특성을 분석하기 위하여 기공특성, 기계적 특성(인장강도, 신장율), 발수성(접촉각)을 측정하였다.

기공특성을 분석하기 위하여 PMI Automated Perm-Porometer (Porous Materials, Inc.)를 이용하여 기공분포, Darcy 투과도, 두께를 측정하였다. 기공분포를 측정하기 위해서 capillary flow porometry method를 이용하였고, 측정용액으로는 16 dynes/cm의 값을 가지는 pore-wick을 사용하였다. Darcy 투과도는 측정기체로 공기를 사용한 gas permeability 법으로 측정하였다. 그



(a)



(b)

Fig. 1. Schematic diagram of electrospinning instrument (a) and real picture (b).

리고, Mitutoyo사의 두께 측정기를 이용하여 막의 두께를 측정하였다.

방사된 PES-BSA 친화막은 FESEM (S-4800/Hitachi)을 이용하여 5,000배율로 샘플을 관찰 후 Image Analyzer (i-Solution, IMTechnology Inc.)로 섬유의 직경을 측정하여 섬유의 직경분포를 비교분석하였다. 샘플을 관찰하기 위하여 ion coater로 gold coating한 후 물폴로지를 관찰하였다.

기계적 특성을 측정하기 위하여 한원-소웨이사의 Green PLN-970W 모델을 이용하여 인장강도와 연신율을 측정하였다. 측정 조건으로는 load cell: 187 kgf, speed: 25 m/min, sample size: 100 mm×30 mm로 3회 측정하여 평균값을 구하여 비교분석하였다. 측정샘플은 방사된 친화막과 압착(2,000 psi, 10 sec)된 친화막으로 구분하여 측정하였고, 압착 전후를 비교하기 위하여

SEM으로 관찰하였다.

고분자를 나노섬유로 제조하면 발수성이 높아진다 [19]는 보고에 의해 제조된 PES-BSA 친화막의 친수성 정도를 분석하기 위해서 접촉각계 Phoenix (SEO, Korea)를 이용하여 지지막 PES와 친화막을 증류수를 이용하여 이것에 대한 접촉각을 측정하여 발수성을 비교분석하였다.

#### 2.4. PES-BSA 친화막의 흡착특성

L-tryptophan의 흡착특성을 분석하기 위하여 borate-DMSO, tris-HCl 완충용액을 이용하였다. 흡착특성을 분석하기 위하여 흡착(adsorption), 세정(washing), 용출(elution)과정에서 투과된 용액을 UV/visible spectrophotometer (UV-1650PC, Shimadzu, Japan)를 이용하여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 비교분석하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. PES-BSA 친화막 제조

나노섬유 제조에서 일반적으로 발생하는 막힘현상(clogging)을 해결하기 위해서 HFB를 공용매로 사용하였으며, 이때의 방사조건을 Table 1에 나타내었다. #623 series는 최적의 온도(20~27°C)와 습도조건(45~65%)에서 성공적으로 방사할 수 있었으며, 1 h 이상 clogging 현상이 일어나지 않으면서 연속적으로 섬유가 제조되었다. 또한 PES 나노섬유에 BSA가 존재함을 여러 실험을 거쳐 증명할 수 있었다. 이의 결과는 다른 논문에서 이미 발표되었다[17,18]. 따라서, 전기방사법을 이용하여 리간드 고정공정이 생략된 만큼 친화막 제조공정을 단순화할 수 있었으며, 연속적으로 섬유가 제조됨으로써 해서 대량생산이 가능하리라 생각된다.

#### 3.2. PES-BSA 친화막의 물폴로지

방사속도와 방사전압을 변화시켜 제조된 PES-BSA 친화막을 제조한 후 FESEM으로 5,000배율에서 관찰된 이미지를 분석프로그램을 이용하여 비교분석하였고, Figs. 2, 3과 Table 2에 그 결과를 나타내었다. 섬유 직경분포를 분석하기 위하여 300 nm 이하의 섬유를 미세섬유로, 1,000 nm 이상의 섬유를 거대섬유로 정의하였다.

Figs. 2, 3과 Table 2는 #623 시리즈의 FESEM과 섬유 직경분포를 분석한 것이다. 미세섬유의 분포는 방사전압 8 kV에서는 방사속도 1.2 mL, 10 kV에서는 1.0

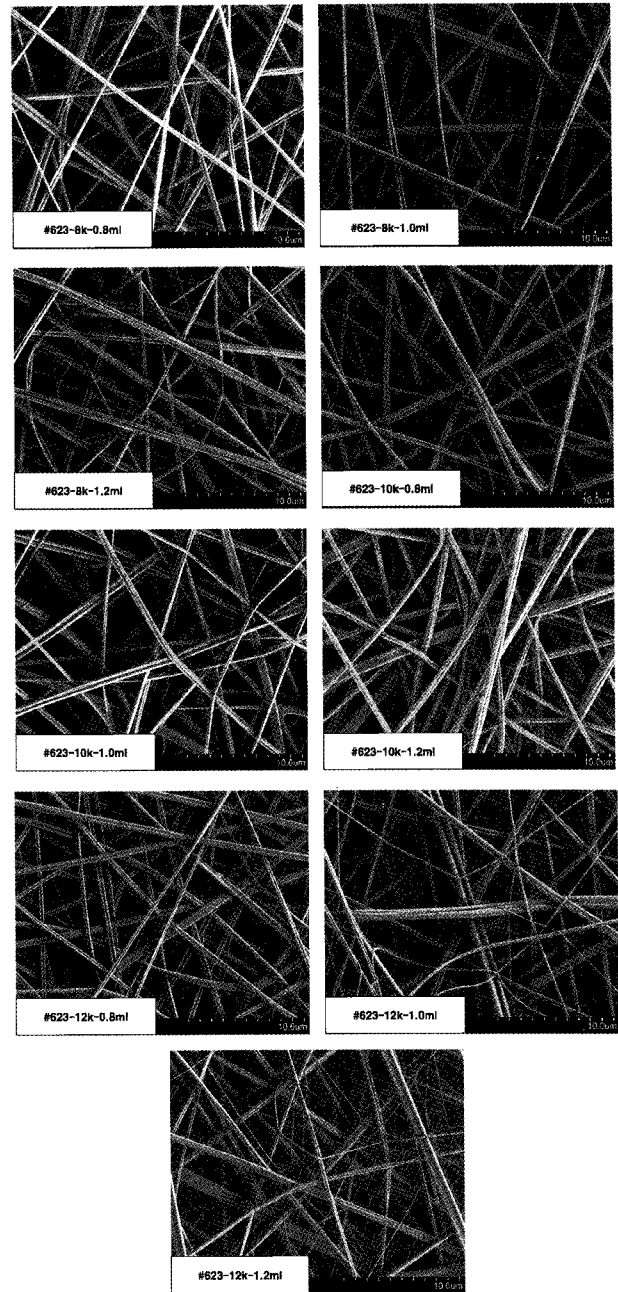


Fig. 2. FESEM of PES-BSA affinity membranes (#623 series,  $\times 5,000$ ).

mL, 그리고 12 kV에서는 1.2 mL에서 뚜렷했으며, 전체적으로 12 kV, 1.2 mL에서 가장 많이 관찰되었다. 거대섬유는 8 kV에서는 전체적으로 비슷한 값을 보였고, 10 kV에서는 1.0 mL, 그리고 12 kV에서는 1.0 mL에서부터 많이 관찰되었고, 12 kV, 1.2 mL에서 가장 많이 관찰되었다. #621~623에서 #623의 조건에서 미세섬유가 많이 나오는 이유는 HFB의 첨가량이 가장 많

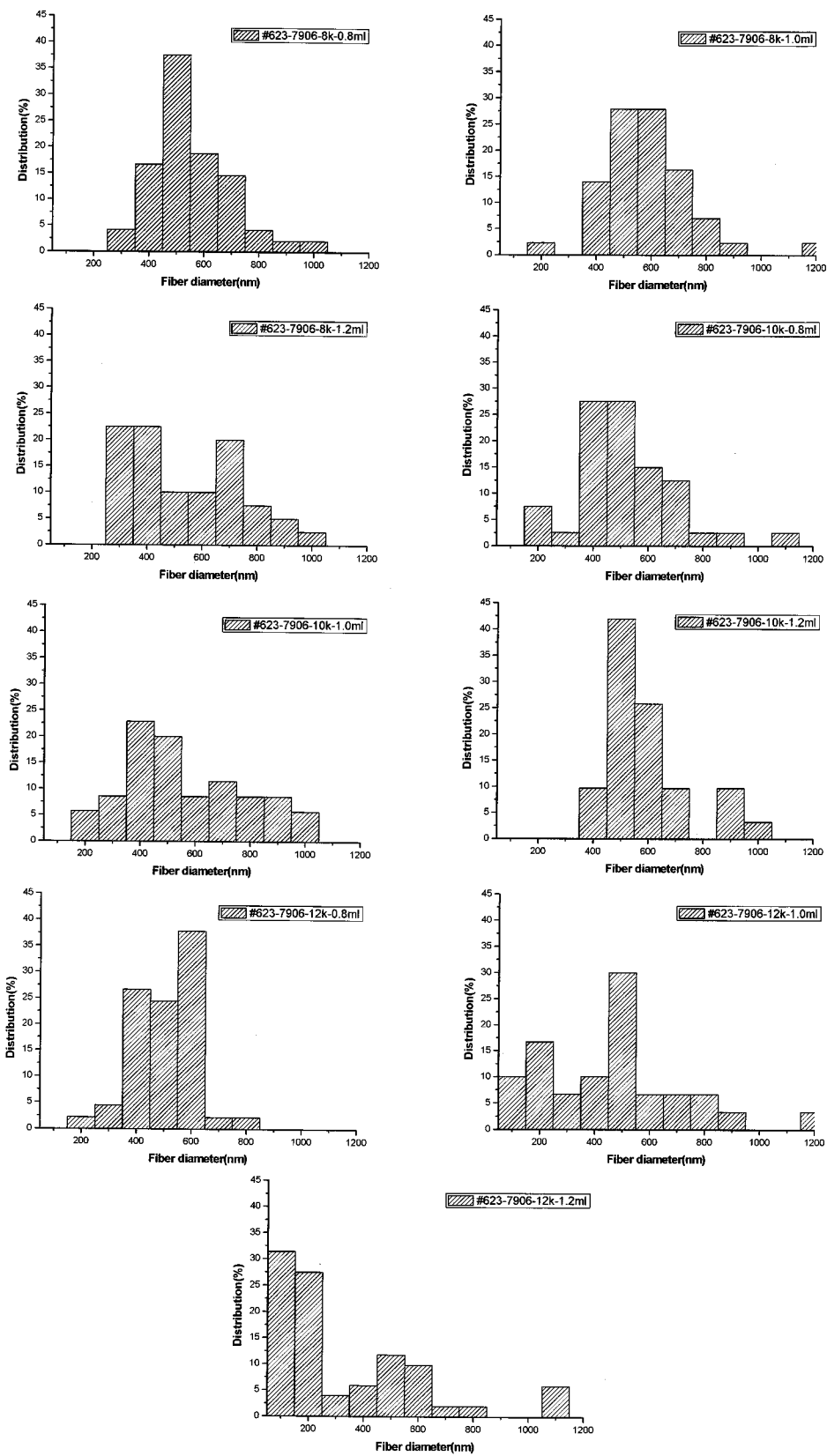


Fig. 3. The diameter distribution of nanofibers (#623 series).

**Table 1.** Spinning Conditions of PES-BSA Solution #6 Series Prepared by Using Mixed Solvent (HEP+HFB)

Sample code	Solvent (HFP:HFB)	Flow rate (mL/h)	TCD (cm)	Voltage (kV)
#6 <sup>a</sup> 1 <sup>b</sup> 1 <sup>c</sup>	85:15	0.50		
#612	80:20	0.80	10	10.0
#613	75:25	1.00		
#621	85:15	0.80		
#622	80:20	1.00	10	8~12
#623	75:25	1.20		

a : PES content, b : BSA content, c : HFP+HFB content

**Table 2.** The Diameter Distribution of Nanofibers (#623 Series, under 300 nm, over 1,000 nm)

under 300 nm	0.8 mL	1.0 mL	1.2 mL
8 kV	4.2	2.3	22.5
10 kV	10.0	14.3	0.0
12 kV	6.7	33.3	62.7

over 1000 nm	0.8 mL	1.0 mL	1.2 mL
8 kV	2.1	2.3	2.5
10 kV	2.5	5.7	3.2
12 kV	0.0	3.3	5.9

은 비율로 제조되었으며, 용매의 휘발속도가 가장 느리다. 따라서, 나노섬유가 형성되기까지 시간의 증가와 섬유가 늘어나는 성질이 증가하기 때문에 미세섬유가 증가하는 것이다.

### 3.3. PES-BSA 친화막의 분리막 특성분석

#### 3.3.1. 기공특성

제조된 친화막의 막 특성을 분석하기 위하여 식 (1), (2)를 이용하여 기공분포(최대기공, 평균기공) 결과를 얻었고, 식 (3)을 이용하여 Darcy 투과도를 얻었다.

최대 기공크기

$$d = C \tau / p \quad (1)$$

여기서  $d$ 는 max. pore diameter ( $\mu\text{m}$ )

$\tau$ 는 surface tension of liquid (dynes/cm) 16 dynes/cm

$p$ 는 differential pressure

$C$ 는 constant (0.415 when  $p$  is PSI.)이다.

평균 기공크기

$$Q = \frac{\text{wet flow}_h}{\text{dry flow}_h} - \frac{\text{wet flow}_l}{\text{dry flow}_l} \times 100, \quad (2)$$

$$D = \frac{Q - Q_L}{d_L - d}$$

여기서  $Q$ 는 filter flow percentage,

$l$ 는 lower pressure limit,

$h$ 는 higher pressure limit,

$D$ 는 pore size diameter,

$d$ 는 diameter,

$L$ 는 previous value이다.

Darcy 투과도는

$$C = \left( \frac{8FTV}{\pi D^2 (P^2 - 1)} \right) \quad (3)$$

여기서  $C$ 는 Darcy's permeability constant,

$F$ 는 flow,

$T$ 는 sample thickness,

$V$ 는 viscosity (air 0.0185),

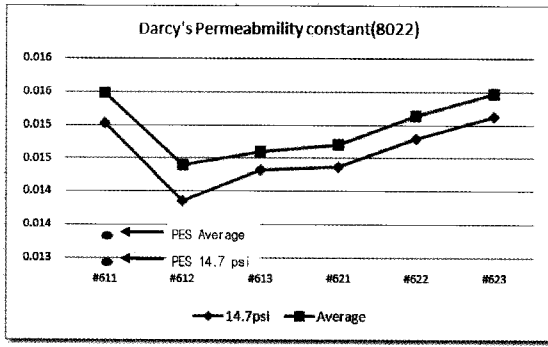
$D$ 는 sample diameter,

$P$ 는 pressure (atmospheres)이다.

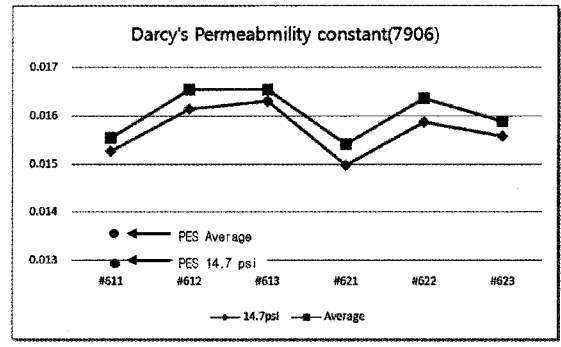
BSA의 종류(A 7906형, A 8022형)를 다르게 하여 다양한 조건에서 방사하여 제조된 친화막의 Darcy 투과도, 기공분포(최대기공, 평균기공)과 막두께 측정 결과를 Figs. 4와 5에 나타내었다.

Fig. 4(a)에서 친화막의 Darcy 투과상수는 지지막과 비교하여 14.7 psi와 30 psi까지의 평균 Darcy 투과상수 값 모두 높은 값을 보이고 있다. 이것은 Darcy 투과상수가 식 (3)에 의하여 두께에 비례하는 것으로 지지막과 지지막 위에 방사된 친화막의 총 두께가 Fig. 4(d)에서처럼 증가하며, 전기방사 나노섬유의 특징인 높은 기공도를 가지기 때문으로 생각한다. 평균기공 크기 Fig. 4(b)는 지지막과 비슷한 값을 보이나, 최대기공에 있어서 지지막보다 6.8~15.4% 감소함을 보였는데 이것은 전기방사에 의한 친화막 제조 시 기공의 크기를 조절할 수 있다고 판단할 수 있는 결과이다. HFB와 BSA의 함량이 증가함에 따라 Darcy 투과상수 또한 증가하는 경향을 보이는데, 이것은 HFB와 BSA의 함량이 증가함에 따라 평균 기공의 크기가 증가하기 때문이다.

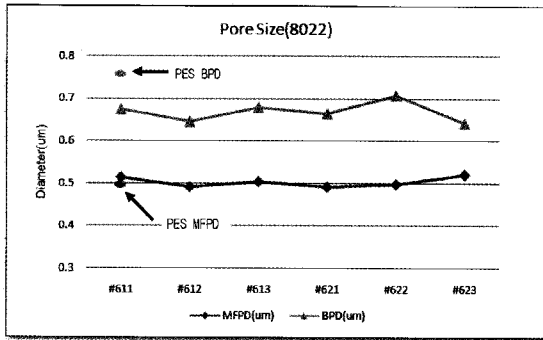
A 7906형 BSA가 함유된 친화막도 HFB의 함량과 BSA의 함량이 증가하면 투과도 또한 증가하는 것으로



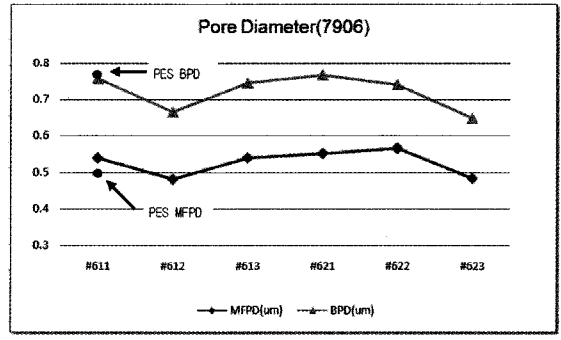
(a)



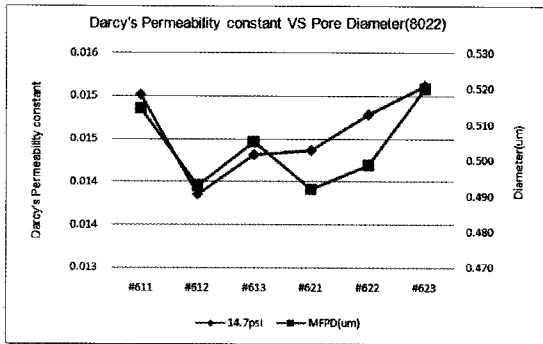
(a)



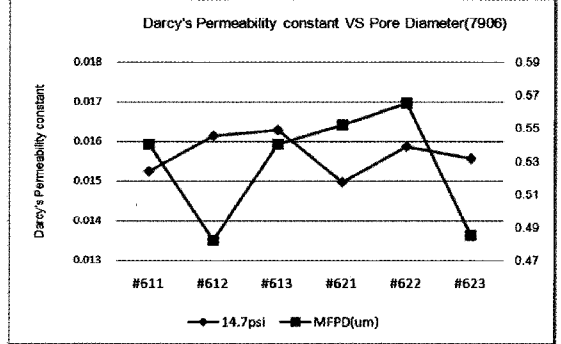
(b)



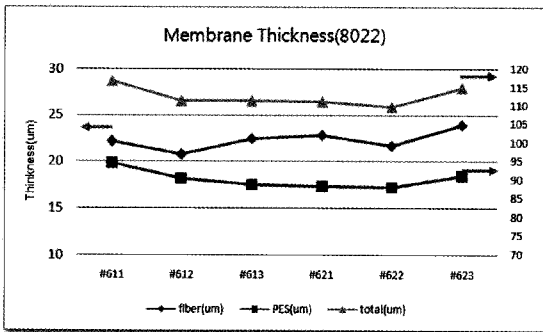
(b)



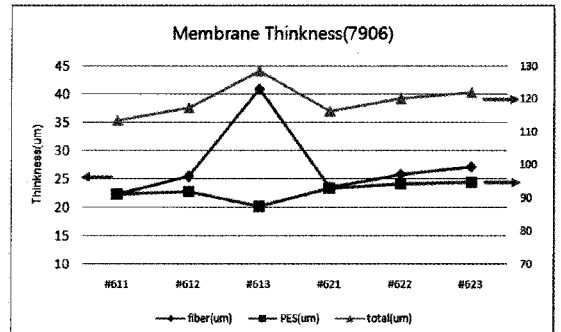
(c)



(c)



(d)



(d)

**Fig. 4.** The pore properties of PES-BSA affinity membrane prepared by using BSA type A 8022; (a) Darcy's permeability constant, (b) pore size, (c) Darcy VS pore diameter, (d) membrane thickness.

**Fig. 5.** The pore properties of PES-BSA affinity membrane prepared by using BSA type A 7906; (a) Darcy's permeability constant, (b) pore size, (c) Darcy VS pore diameter, (d) membrane thickness.

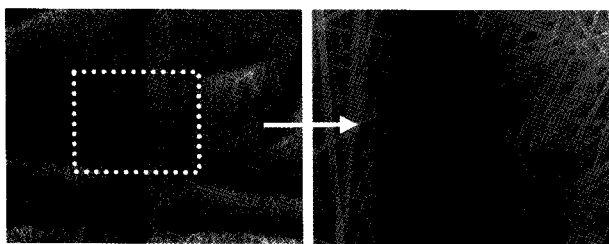


Fig. 6. SEM of pressed PES-BSA affinity membrane.

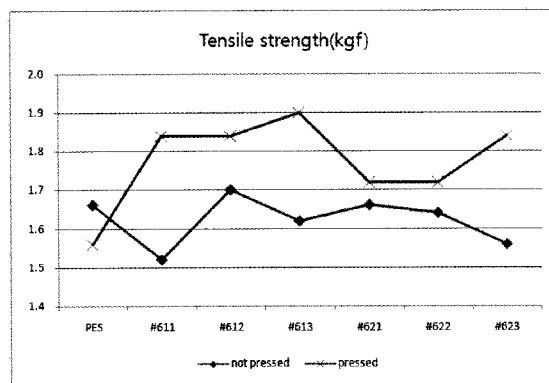
나타났으며 이는 A 8022형 BSA 친화막과 비슷한 경향을 보이고 있다. 최대기공의 경우 -1.1~14.5% 감소하는 경향을 보였다. Fig. 5(c)의 경우 기공 평균크기가 증가하면 Darcy 투과도 또한 증가할 것이라 예상하였으나, 평균기공이 비슷하거나 작음에도 높은 Darcy 투과도를 보였다. 이것은 나노섬유의 특성 중에 하나인 높은 기공도에 더 많은 영향을 받기 때문이라 생각하였다.

3.3.2. 기계적 물성

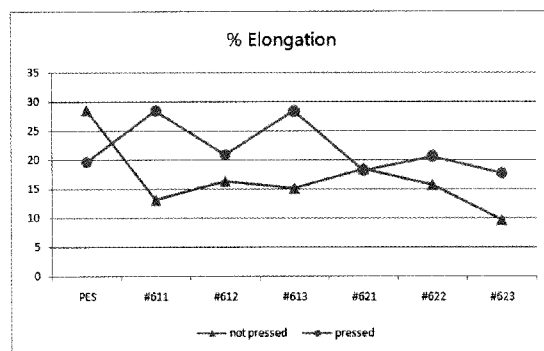
제조된 친화막의 기계적 물성을 측정하기 위하여 인장강도와 연신율을 측정하였다. 비교조건으로 비압착 지지막과 비압착 친화막의 비교, 압착 지지막과 압착 친화막의 비교, 비압착 지지막과 압착 친화막을 비교하여 아래와 같은 결과를 얻었다. 비압착 친화막은 비압착 지지막의 인장강도와 비슷하거나 오히려 낮은 인장강도(-8.4~0.0%)와 현저히 낮은 연신율(-66.2~-35.3%)을 보였으나, 압착 친화막은 비압착 지지막 기준 인장강도(3.6~14.5%), 연신율(-38.3~-0.7%)이 향상되었다. 그리고, 압착 지지막 비교 인장강도 10.3~21.8%, 연신율 -9.9~44.9% 향상되었다. 지지막의 경우 압착 후에 인장강도가 떨어지는 결과를 보였는데 이것은 압력에 의한 기공의 감소로 인하여 연신율(Fig. 7(b))이 감소하였기 때문이다. 하지만 PES-BSA 친화막은 압착 가공으로 인장강도 3.6~21.1% 향상되었으며, 연신율은 #621을 제외하고 27.2~116.6% 향상되었다. 이것은 나노섬유가 압착되어 섬유간의 물리적 결합력이 강해져 인장강도가 증가하며, 연신에 의하여 나노섬유가 복원되었기 때문인데, 이것은 일반적인 나노섬유의 특성으로 알려진 우수한 복원력을 잘 설명하는 것이다.

3.3.3. 발수성

Fig. 8은 친화막의 증류수에 대한 접촉각 결과로 지지막의 경우 소수성 막임에도 불구하고 미세한 기공이 많아 빠른 시간 내에 증류수를 흡수하여 측정이 불가하



(a)



(b)

Fig. 7. The mechanical properties of PES-BSA affinity membrane; (a) tensile strength (b) elongation.

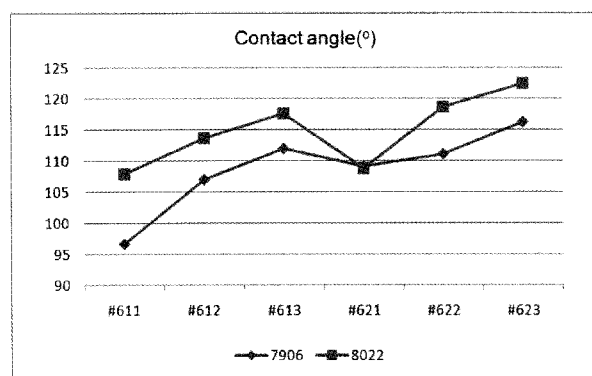


Fig. 8. The contact angle of PES-BSA affinity membrane.

였다. 하지만 전기방사에 의하여 제조된 친화막의 경우 높은 발수성(96.6~122.5°)을 보였으며 HFB와 BSA의 함량이 증가할수록 발수성 또한 증가하였다. 이것은 HFB와 BSA의 함량이 증가하면 미세섬유 발생빈도가 높아지면서 발수성이 증가하기 때문이다.



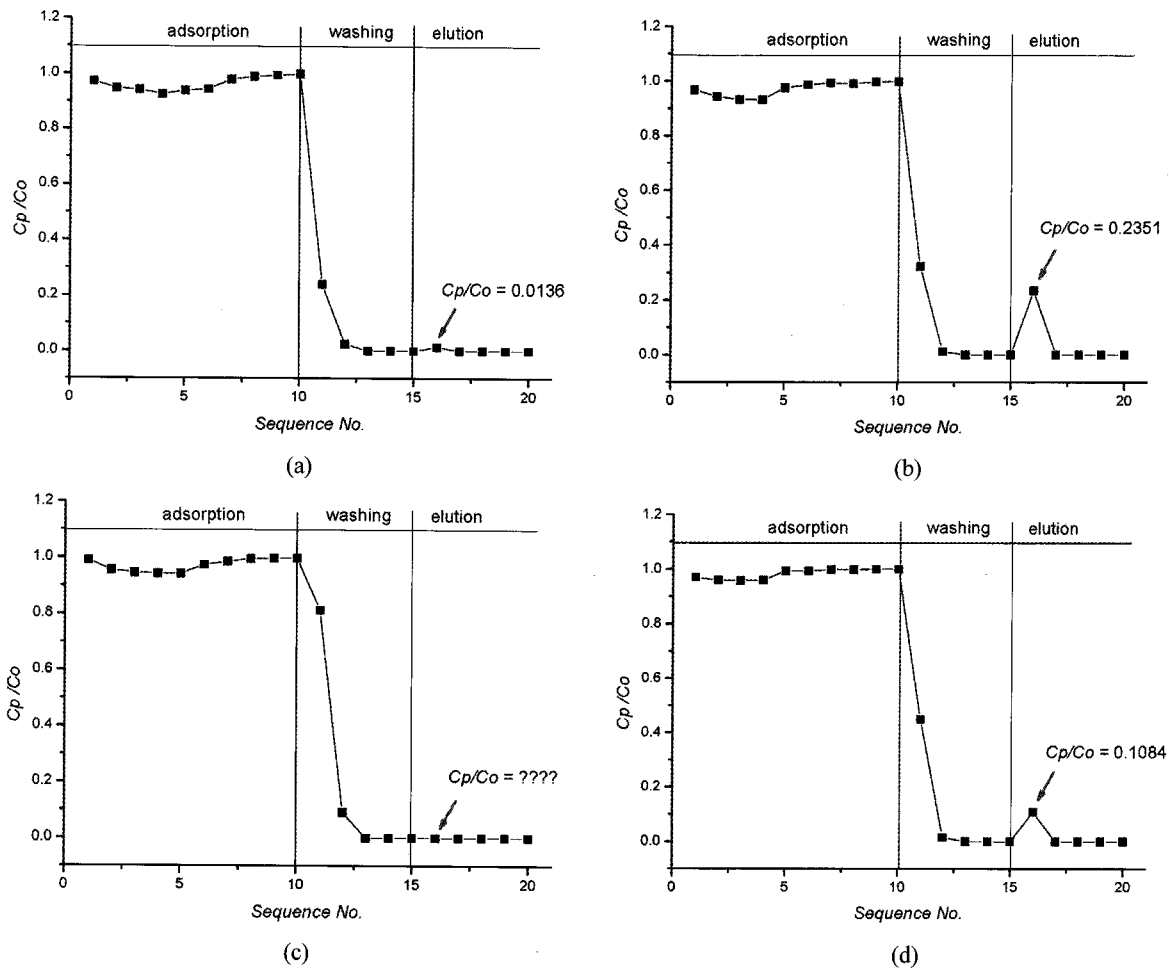


Fig. 9. Breakthrough curves of adsorbed L-tryptophan at the PES-BSA membranes; (a) buffer solution with borate-DMSO (#623-8022), (b) buffer solution with borate- DMSO (#623-7906), (c) buffer solution with tris-HCl (#623-8022), (d) buffer solution with tris-HCl (#623-7906).

3.4. PES-BSA 친화막의 흡착특성

제조된 친화막의 BSA 종류와 완충용액의 조성에 따른 흡착특성을 분석하였다. Breakthrough curve는 sequence number에 대하여 UV/visible spectrophotometer로 측정된 흡광도 값을  $C_p/C_o$  ( $C_p$ : 투과용액의 농도,  $C_o$ : 초기농도)로 나타내었다.

Fig. 9는 완충용액의 조성에 따른 A 7906형 BSA와 A 8022형 BSA를 이용하여 제조된 친화막 #623을 사용하여 흡착특성을 분석한 것으로 완충용액 borate-DMSO는 pH는 9.3, tris-HCl은 pH 8.0이며, 투과속도는 20 mL/h이었다. Figs. 9(a), (b)는 10 mM borate와 1% DMSO 완충용액을 사용하였으며 용출과정에서는 10 mM borate에 0.1 M acetic acid를 사용하였다. 그리고, Figs. 9(c), (d)는 tris-HCl 완충용액을 사용한 것으로 용

출과정에는 0.5 N의 NaCl을 첨가하였다. Figs. 9(a), (b)에서 모두 흡착이 일어나고, 세정과정을 거쳐 용출이 일어나는 것을 알 수 있다. Borate-DMSO 완충용액 조건에서 A 7906형으로 제조한 친화막이 A 8022형보다 매우 높은 용출량을 보여주고 있다. 이것은 BSA의 특성에 의하여 용출량의 차이가 발생하는 것으로 생각된다. 즉, A 7906형은 저분자 물질과 지질성분을 정제하여 제조된 순도가 높고 분자량 분포가 고른 시약이며, 용액의 pH는 7이하이다. A 8022형은 pH는 5.0~5.6이며, A7906형보다 순도가 다소 떨어진다. A 8022형은 다양한 분자량을 가지고 있으므로 나노섬유 제조 시 BSA의 일부(저분자 물질)가 나노섬유 내부에 결합되어 있으므로 A 7906형보다 tryptophan과의 흡착성이 떨어진다고 생각할 수 있다. 그리고, A 7906형은 지질성분

을 정제한 물질로 순도가 높으므로 tryptophan과 흡착할 가능성이 높다. 또한 두 BSA의 pH의 의한 차이로 borate-DMSO, tris-HCl 완충용액은 각각 9.3, 8.0의 pH를 나타내므로 A 7906형이 보다 더 안정된 조건에서 흡착과 용출이 일어날 수 있는 것이다. Borate-DMSO 완충용액 조건에서  $C_p/C_o$ 는 A 8022형의 경우 0.0136, A 7906형은 0.2351로 많은 차이를 보이며, tris-HCl 완충용액 조건에서는 각각 0.000과 0.1084의 값을 얻었으며, A 7906형과 A 8022형 모두 borate-DMSO 완충용액 조건이 유리하다는 것을 알 수 있었다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 라세미 혼합물인 tryptophan을 분리, 정제하기 위한 친화막 제조를 위해서 전기방사법을 이용하였으며, 전기방사용액의 조성, 방사조건 그리고 방사환경에 따른 다양한 직경의 섬유를 가지는 PES-BSA 친화막을 제조할 수 있었다. L-tryptophan을 이용하여 그 흡착특성을 분석함으로써 제조된 PES-BSA 친화막이 라세미 혼합물 tryptophan을 분리, 정제할 수 있었다. 본 연구의 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) #623 series에서는 방사속도가 증가하고 방사전압이 증가하면 미세섬유가 발생하는 경향이 더욱 뚜렷해졌는데, 이것은 #62 시리즈에서 HFB의 조성비가 가장 높기 때문이다. HFB의 조성비 증가로 인하여 용액의 용매 휘발속도가 감소하여 점도가 감소하게 되고, 고분자 용해도가 증가하여 용액이 늘어나는 성질이 증가하기 때문에 이러한 결과를 보이게 된다.

위와 같은 결과에서 방사용액의 조성, 방사속도, 방사전압을 조절함으로써 섬유직경의 분포를 조절할 수 있었다.

2) 전기방사에 의하여 지지막 위에 나노섬유 웹이 제조됨으로 인하여 Darcy 투과도가 증가하였는데, 이것은 나노섬유 웹으로 인한 막의 두께가 증가하고, HFB와 BSA에 의한 미세섬유의 증가로 기공도가 증가하였기 때문이다. 그리고, 평균기공의 변화는 거의 없었지만, 최대기공의 크기가 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 나노섬유로 친화막을 제조함으로써 기공의 크기를 조절할 수 있음을 알 수 있었다.

인장강도와 연신율은 지지막과 비교 시 낮은 인장강도와 연신율을 보였으나, 압착가공으로 인장강도와 연신율이 향상되었으며, 친화막의 압착전후 인장강도 3.6

~21.1%, 연신율은 #621를 제외하고 27.2~116.6% 향상되었다.

접촉각 실험에서는 친화막은 높은 발수성(96.6~122.5 °C)을 보였는데 이것은 HFB와 BSA의 함량증가에 따른 미세섬유 발생빈도가 높아졌기 때문이다.

3) 흡착특성을 분석하기 위하여 다양한 완충용액 조건에서 흡착, 세정, 용출 실험을 하였다. A 7906형은 borate-DMSO 완충용액에서는  $C_p/C_o$ 는 0.2351의 용출값을 나타내었고, tris-HCl 완충용액에서는  $C_p/C_o$ 는 0.1084의 값을 보여 주었다. 이는 A 8022형과 비교하여 매우 높은 값을 보였는데 이것은 BSA형에 따른 특성으로 A 7906형은 A 8022형보다 분자량 분포가 고르며, 사용 pH 환경이 높아 더욱 안정적이기 때문이다.

#### 참 고 문 헌

1. J. H. Brewster, Stereochemistry and the origins of life, *J. Chem. Ed.*, **63**, 667 (1986).
2. 현명호, LC에 의한 광학이성질체의 분리, 이갑수 외, 서울 (1992).
3. W. H. De Camp, In chiral chromatography, W. J. Lough, ed., Blackie, Glasgow and London (1989).
4. M. Simonyi, On chiral drug action, *Med. Res. Rev.*, **4**, 359 (1984).
5. S. Stinson, Chiral Drugs, *Chemical and Chemical Engineering News*, **Sep. 28**, 46 (1992).
6. 김인호, 한미 제약 FTA와 키랄 의약품 개발, *News & Information for Chemical Engineers*, **25**, 354 (2007).
7. R. H. McMenemy and J. L. Oncley, The Specific Binding of L-Tryptophan to Serum Albumin, *J. Biol. Chem.*, **233**, 1436 (1958).
8. K. K. Stewart and R. F. Doherty, Resolution of DL-Tryptophan by Affinity Chromatography on Bovine-Serum Albumin-Agarose Columns, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **70**, 2850 (1973).
9. C. Lagercrantz, T. Larsson, and H. Karlsson, Binding of some fatty acids and drugs to immobilized bovine serum albumin studied by column affinity chromatography, *Anal. Biochem.*, **99**, 352 (1979).
10. J. Yang and D. S. Hage, Role of binding capacity

- versus binding strength in the separation of chiral compounds on protein-based high-performance liquid chromatography columns Interactions of D- and L-tryptophan with human serum albumin, *J. Chromatogr. A*, **725**, 273 (1996).
11. F. H. Arnold, H. W. Blanch, and C. R. Wilke, Analysis of affinity separations II: The characterization of affinity columns by pulse techniques, *Chem. Eng. J.*, **30(1)**, B9 (1985).
  12. R. P. W. Scott, *Liquid chromatography column theory*, John Wiley & Sons, New York (1992).
  13. K. G. Briefs and M. R. Kula, Fast protein chromatography on analytical and preparative scale using modified microporous membranes, *Chem. Eng. Sci.*, **47**, 141 (1992).
  14. H. Ding, M. Yang, D. Schisla and E. L. Cussler, Hollow-fiber liquid chromatography, *AIChE J.*, **35**, 814 (1989).
  15. S. Brandt, R. A. Goffe, S. B. Kessler, J. L. O'Connor, and S. E. Zale, Membrane-based affinity technology for commercial scale purifications, *Bio/Technology*, **6**, 779 (1988).
  16. B. Champluvier and M. R. Kula, Microfiltration membranes as pseudo-affinity adsorbents: modification and comparison with gel beads, *J. Chromatogr. A*, **539**, 315 (1991).
  17. 홍병표, 변홍식, 전기방사법에 의한 친화막 제조, *멤브레인*, **17(1)**, 23 (2007).
  18. 홍병표, 변홍식, 친화막의 L-tryptophan의 흡착특성, *멤브레인*, **18(3)**, 214 (2008).
  19. 양성철, 김찬, 분리여과용 나노섬유 소재, *섬유산업 과학 기술*, **11**, 145 (2007).