폴리감마글루탐산의 동결 건조 과정의 실험적 연구

An Experimental Study on the Freeze Drying Process for Poly 7 Glutamic Acid

강지수(Jisu Kang)¹, 심연호(Yeon-Ho Sim)¹, 변시예(Si-Ye Byun)¹, 장영수(Young Soo Chang)^{2†}, 강병하(Byung Ha Kang)²

'국민대학교 대학원 기계공학과, ²국민대학교 기계공학시스템공학부

¹Department of Mechanical Engineering, Graduate School of Kookmin University, Seoul, 02707, Korea

²School of Mechanical Systems Engineering, Kookmin University, Seoul, 02707, Korea

(Received April 28, 2015; revision received October 27, 2015; Accepted: October 30, 2015)

Abstract This paper presents an experimental study on the freeze drying process for poly γ glutamic acid. The physical properties of poly γ glutamic acid are measured during the freeze-drying process. The moisture contents of poly γ glutamic acid according to the glass transient temperature are obtained by DSC (Differential Scanning Calorimetry) analysis. The end point of primary drying for the poly γ glutamic acid with a thickness of 3 mm is obtained by measuring the thickness of the dried layer, the amount of moisture evaporation, the moisture content, and the pressure in the drying vacuum chamber during the freeze-drying process. By considering the variation in the glass transient temperature with respect to the moisture content of the material, a control schedule for the heating plate temperature is suggested during the secondary drying process.

Key words Vacuum freeze drying(진공 동결 건조), Biomaterial(바이오 소재), Poly γ glutamic acid(폴리감마글루탐산), Glass transient temperature(유리전이온도)

* Corresponding author, E-mail: yschang@kookmin.ac.kr

법

기호설명

C

하첨자

0	: 초기 시료의 무게
t	:시간 t에서의 시료 무게 [g]/
	시간 t에서의 함수율 [%]
dry	: 완전 건조된 시료의 무게 [g]
wt	: 시료에 함유된 수분의 무게 [g]

1. 서 론

진공동결 건조는 동결된 원료를 진공 환경에서 승화 시켜 수분을 제거하는 건조 방법으로 원료의 성분 및 형태의 변화가 적으며 일반적인 열풍 건조, 드럼 건조 방식에 비해 가온처리에 의한 제품 품질에 대한 영향이 적다. 저온과 진공 하에서 건조가 진행되는 진공 동결 건조는 현재로서는 가장 우수한 건조 품질을 얻을 수 있는 방법으로 생물학적 고유성의 손상 없이 건조가 가 능하며,⁽¹⁾ 물의 재공급을 통해 원상태로 복구할 수 있어 항생물질, 박테리아, 혈청, 백신, 검사 약물, 단백질을 포 함하는 생물공학 제품들, 섬유 화학제품 등에 널리 사 용되고 있다. 그러나 진공 동결 건조는 연속적인 작업 이 힘들고, 배치형(batch type)으로 운전되어야하기 때 문에 생산효율이 낮고, 에너지 소비가 높다는 단점이 있다.⁽²⁾

동결 건조 과정은 크게 동결, 1차 건조, 2차 건조 세 단계로 나누어진다. 동결 과정은 동결 건조의 대상이 되는 소재를 저온에서 동결 시키는 과정이며, 1차 건 조는 진공 조건, 일정한 저온의 온도에서 이루어지는 승화를 통한 건조 과정이다. 1차 건조 시 증기의 부분 압은 승화가 일어날 수 있도록 물의 3중점 압력이하로 유지 되어야 하며 물질의 안정성이 유지되는 용융 온 도(eutectic temperature) 및 유리 전이 온도(glass transient temperature) 및 유리 전이 온도(glass transient temperature) 혹은 붕괴 온도(collapse temperature) 아래에서 이루어져야 한다.⁽³⁾ 2차 건조는 물질 속에 무 작위로 퍼져있는 물, 세포 내부의 물 또는 건조물의 분자 구조에 흡착되어 있는 잔여 수분을 제거하는 과 정으로 동결점 이상으로 열판의 온도를 상승시켜 제품



Fig. 1 Temperature and pressure change during vacuum freeze drying process.



Fig. 2 Molecular structure of poly γ glutamic acid.

에 열을 가함으로서 잔여 수분의 제거가 이루어진다. 동결 건조 과정에서의 압력 및 온도의 변화는 Fig. 1과 같다.⁽⁴⁾

폴리감마글루탐산은 청국장 발효 미생물인 Bacillus subtilis균에 의해 분비 생산되는 물질로 안전성이 검증 된 기능성 소재이며 고도의 수용성 및 생분해성을 가 진 음이온성 폴리머로 Fig. 2와 같은 분자구조를 가진 다.⁽⁵⁾ 폴리감마글루탐산의 자연살해세포(natural killer cell) 활성화를 통한 면역증강 및 항암기능⁽⁶⁾을 바탕으 로 현재 자궁경부상피이형증 면역치료제 임상 2b상이 진행 중이며 고도의 보습효과 및 항염기능을 가지고 있어 화장품, 환경 의약품 등의 분야에서 이용이 기대 되는 바이오 소재이다. 현재 폴리감마글루탐산의 생리 활성의 유지 및 구조의 변화를 줄이기 위해 동결 건조 방식의 건조가 수행되고 있으나, 수분의 흡착 성능이 우수하여, 제조 시간 단축 및 제조비용 절감 등을 통한 제조공정 개선이 필요한 실정이다.⁽⁷⁾

본 연구에서는 폴리감마글루탐산 동결 건조과정의 실험적 연구를 통해 폴리감마글루탐산 동결 건조과정의 최적 건조 조건 설정을 위한 기초 연구를 수행하였다.

2. 진공 동결 건조 실험장치 및 방법

진공 동결 건조 실험장치는 건조가 이루어지는 진공 건조 챔버와 수분의 포집이 이루어지는 콜드 트랩(cold

Table 1 Specification of vacuum freeze dryer				
Item		Specification		
Freezing c	apability(kg/batch)	1		
	Heating method	Conduction		
Shelf	Heating temperature ($^{\circ}$ C)	-40~60		
Cold trap	temperature($^{\circ}C$)	-50~-75		
Drying	chamber(mm)	250×300×250		
Tray	Small stainless tray(mm)	50×80×40×24 ea		
Davage		0~760		
Pressu	e gauge(torr)	$1 \times 10^{-3} \sim 0$		

T-1.1. 1



Fig. 3 Schematic diagram of experimental equipment.

trap) 진공 챔버가 분리된 파일럿 타입(pilot type)의 형 태^(8,9)로 Table 1과 같은 조건으로 구성하였으며 장치의 개략도는 Fig. 3과 같다.

건조 과정에 큰 영향을 줄 것⁽¹⁰⁾으로 판단되는 열판과 콜드 트랩의 온도를 제어 할 수 있도록 설계하였으며, 건조 챔버 내부의 압력을 측정할 수 있도록 저진공 게 이지와 고진공 게이지를 건조 챔버에 설치하였다. 제 작된 진공 동결 건조 실험 장치는 Fig. 4와 같다. 챔버 의 상단 부는 기기 제어부이며, 제어부 하단의 두 챔 버는 좌측부터 각각 콜드 트랩 챔버와 진공 챔버이다. 수증기 포집을 용이하게 하기 위해 콜드 트랩 챔버 부 는 원통형으로 설계 제작되었으며, 건조의 용이성 및 공간 효율에 의해 건조 챔버는 사각형의 형태로 설계 제작되었다.

시료의 진공 동결 건조 실험 방법은 다음과 같다.

- (1) 시료를 소형 트레이에 3 mm 두께로 도포한다.
- (2) -40℃로 준비된 건조 챔버의 열판에 트레이를 올려 시료를 동결시킨다.
- (3) 콜드트랩 온도는 -75℃로, 열판의 온도는 -20℃로 냉각시킨 후 진공펌프를 작동 시켜 동결이 완료



Fig. 4 Experimental Vacuum freezing dryer.

된 시료의 1차 건조를 시작한다.

- (4) 열판의 온도를 상승시켜 1차 건조가 완료 된 시료의 2차 건조를 진행한다.
- (5) 필요에 따라 건조 시 샘플을 채취 획득한다.

3. 동결건조 조건 설정

3.1 시료의 물성 측정

-80℃ 냉동고에서 12시간 이상 동결한 폴리감마글루 탐산을 DSC(Differential Scanning Calorimetry) 분석하 여, 용융과정을 분석하였으며, Fig. 5에 분석결과를 나타 내었다. 폴리감마글루탐산의 융해열은 -15℃~3℃에 걸 쳐 발생하였다. DSC 분석 결과 폴리감마글루탐산이 융 해되기 시작하는 가장 낮은 온도였던 -15℃를 기준으 로 1차 건조시의 가열온도를 -20℃로 설정하였다.

저분자 올리고머, 잔류모노머, 수분과 같은 저분자량 의 물질이 섞여 있는 경우 고분자의 입체배열 변화 및 분자 운동이 쉬워지게 되어 유리전이온도는 낮아지게 된다. 진공 동결 건조에서 시료의 변성을 유발하는 유 리전이온도는 일반적으로 수분함량에 따라 변화하며, 수분함량이 높을수록 낮은 유리전이 온도를 갖는다.⁽¹¹⁾ 진공 동결 건조 과정의 반복 실험을 통해 다양한 함수 율 샘플을 획득하였으며 DSC 분석을 통해 함수율 별 유리전이온도를 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 함수율 34%일 때 유리전이 온도는 -7℃이었으며, 함수율 25% 일 때 유리전이 온도는 3℃로 함수율 감소에 따라 유





Fig. 6 Glass transient temperature according to moisture content.

리전이온도는 상승하는 경향을 보였다. 이는 유리전이 온도의 일반적인 경향과 동일하다.

3.2 함수율에 따른 가열 조건 설정

시료의 빠른 건조를 위해서는 시료의 온도를 높이는 것이 유리하나, 시료가 유리전이 온도에 도달하면 유리 질로 변하므로 동결 건조는 유리전이 온도보다 낮은 온 도에서 진행되어야 물질의 안정성이 유지된다.⁽¹²⁾ 각 함수율에서의 동결 건조 열판 온도는 각 함수율에서 유 리전이온도를 초과하지 않도록 설정되어야 한다. 따라 서 함수율과 유리전이 온도 사이의 관계를 기반으로 2차 건조 온도를 설정할 수 있으며, Fig. 6의 폴리감마글루 탐산의 함수율에 따른 유리전이 온도 자료를 기반으로 1차 건조 및 2차 건조의 열판 온도를 설정하였다.

열판의 온도가 높을수록 건조 시간이 단축되나, 유리 전이온도를 초과한 경우 시료가 변질되므로.^(13, 14) 가능 한 열판의 온도를 해당 함수율에서의 유리전이 온도에



Fig. 7 Glass transient temperature and heating plate temperature according to moisture content.



Fig. 8 Step control temperature of heating plate with respect to drying time.

근접하도록 안전율을 고려하여 설정하였다. Fig. 7은 각 함수율에 도달하기 위한 열판의 안정적인 온도를 유리전이온도 및 함수율과 함께 표시한 그래프이다.

열판의 온도를 변화시킨 반복적인 실험을 통하여 각 함수율에 도달하는 건조 시간을 예측하였으며, 유리전 이온도에 도달하지 않는 선에서 1차 및 2차 건조가 이 루어지도록 각 온도별 건조 시간을 설정하였다. 설정된 스텝 제어 온도와 건조 시간은 Fig. 8과 같다.

4. 동결건조 실험 결과

4.1 1차 건조과정 실험 결과

1차 건조과정 해석을 위해서 폴리감마글루탐산 시 료를 두께 3 mm로 도포 후 1차 건조 시 증발량 변화, 함수율 변화, 동결층의 두께 변화, 건조 챔버 내부의 압력 변화를 측정하였다. 소형 트레이에 폴리감마글루 탐산 시료를 3 mm 두께로 도포 후, Fig. 9와 같이 육안 관찰을 통해 건조층의 두께 변화를 확인하였고, 최소



Fig. 9 Picture of measuring the thickness of dried layer.



Fig. 10 Thickness of dried layer according to drying time.

단위 0.1 mm의 자를 사용하여 시료의 건조층 두께 변 화를 측정하였다.

건조 전 시료 내부의 수분은 자유수와 결합수의 형 태로 존재한다. 1차 건조는 시료 내 수분의 대부분을 차지하는 자유수가 증발하는 과정이며, 1차 건조가 진 행됨에 따라 동결되어 있는 시료의 상부부터 건조가 일어나 다공성 구조의 건조층이 형성되며 상대적으로 동결층은 얇아지게 된다. 1차 건조가 완료 될 경우 동 결층은 사라지고 건조층만이 남게 된다.⁽¹⁵⁾

폴리감마글루탐산의 건조층은 시간에 따라 표면에 서부터 용기의 바닥면을 향해 성장해 나갔으며, 건조 층의 두께는 Fig. 10과 같이 13~14시간 사이 건조 시작 전의 동결층 두께인 3 mm에 도달하였다. 동결층이 모 두 건조층으로 바뀐 시점을 1차 건조 완료 시점으로 판단할 수 있으므로 육안으로 관찰한 폴리감마글루탐 산 두께 3 mm 시료의 1차 건조 완료 시점은 건조 시 작 후 13~14시간 사이로 판단된다.

초기 시료의 무게를 측정한 후 시료를 건조 시켜 시

료의 무게 변화를 측정하였다. 건조 시 시료의 무게 변화는 승화된 수증기량에 의해 변하므로, 건조 전과 건조 후의 시료의 무게 변화를 통해 시료에서 증발된 수증기량을 역산하였다. 건조 시간에 따라 증발된 수 증기량은 건조 전 시료의 초기 무게로 무차원화하여 나타냈다. 수분 증발량의 정의는 식(1)과 같다.

$$E = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \tag{1}$$

Fig. 11과 같이 초기 무게 대비 각 건조 시점에서의 증 발량은 건조 3시간 후 0.326 g/g, 건조 6시간 후 0.613 g/g, 건조 9시간 후 0.901 g/g이다. 건조 9시간 이후 증 발량 변화는 급감하기 시작하여 건조 12시간 이후로는 증발량 변화가 미미해지는 것으로 나타났다. 시료 내 의 자유수는 결합수에 비해 쉽게 제거된다. 건조 초기 에는 상당량의 자유수가 증발하면서 증발량의 변화가 크나, 시료내의 자유수의 양이 감소하면 Fig. 11의 9시 간 이후처럼 증발량 변화가 서서히 감소하게 되며, 12 ~14시간 사이에 1차 건조가 완료되었다고 판단된다. 폴리감마글루탐산의 진공 동결 건조에서 함수율은 시료의 건조 상태를 나타내는 중요한 지표이다. 1차 건 조 시기 동안 폴리감마글루탐산의 함수율 변화를 관찰 하기 위해 건조 시간에 따른 시료를 획득하였다. 획득 된 시료는 저습도 환경에서 무게를 측정한 후, 오븐 내에 서 150℃ 이상으로 시료 내 수분을 모두 건조 시켰다. 오븐을 사용한 건조 전과 후의 무게 비교를 통해 건조 전 시료가 함유하고 있던 수분량을 구하여 식(2)와 같 이 각 건조 시간에서의 함수율을 구하였다.

$$W_t = \frac{M_{wt}}{M_t} \times 100 = \frac{M_t - M_{dry}}{M_t} \times 100$$
⁽²⁾



Fig. 11 Amount of moisture evaporation with drying time.

측정 된 함수율 변화를 Fig. 12에 나타내었다. 진공 동결 건조를 시작하기 전 액체 상태의 폴리감마글루탐 산의 함수율은 94%였으며, 1차 건조 시작 3시간 후 91%, 건조 6시간 후 84%, 건조 9시간 후 39%로 측정 되었다.

1차 건조 진행에 따른 건조 챔버 내부의 압력은 Fig. 13과 같이 변화하였다. 건조 챔버 내부의 압력은 건조 시간에 따라 감소하는 경향을 보였다. 건조 4시간 후 0.488 torr, 건조 8시간 후, 0.356 torr, 건조 13시간 0.14 torr에 도달한 이후 ±0.002 torr 변화 내외의 일정한 압 력을 유지하였다. 이는 건조 초기에는 증발되는 수분 량이 많아 건조 챔버 내부가 높은 압력을 유지하다가 건조 진행에 따라 건조되는 수분 량이 감소하며 챔버 내부의 수증기압이 평형을 이루어가기 때문이라 판단 되다.

동결 되었던 수분이 건조되어 동결층이 사라지는 시 점, 자유수가 대부분 승화되어 증발량의 변화가 미미해 지는 시점을 통하여 판단한 1차 건조 완료 지점은 챔버 내부의 압력 변화가 미미해지는 시점과 일치하였다.



Fig. 12 Moisture content according to drying time.



Fig. 13 Drying chamber pressure according to drying time.



Fig. 14 Drying pressure and Moisture content according to drying time.



Fig. 15 Cold trap temperature and Power according to drying time.

이를 통해 챔버 내부의 압력이 평형 상태에 도달하는 시 점을 1차 건조 완료 시점으로 추정할 수 있을 것으로 판단된다. 챔버 내부의 진공도 변화가 미미해지는 시 점을 1차 건조 완료 시점으로 판단 할 경우, 건조 13.2 시간(0.14 torr)에 1차 건조가 완료된 것으로 판단된다. 이때의 함수율은 35%로 예측된다.

4.2 2차 건조과정 실험 결과

Fig. 8을 기반으로 폴리감마글루탐산의 1차 및 2차 건조의 온도를 스텝 제어하였다. 총 건조 시간은 34시 간 이었으며 최종 건조 함수율은 4%로 측정되었다. 건 조 챔버의 압력 변화와 함수율 변화는 Fig. 14와 같았다. Fig. 14에서 압력이 급격하게 상승하는 지점은 건조 시 함수율 측정용 시료를 획득하기 위해 건조 챔버의 진 공을 잠시 해제함으로 나타난 현상으로, 전체 건조시 간에 비해 매우 짧은 시간으로 건조에 미치는 영향은 미미하다. 건조 챔버의 압력은 1차 건조 완료 시점인 건조 13시간까지 감소 후 일정해지는 것으로 확인되었 다. 건조 시간 동안 콜드 트랩의 온도 변화 및 수시 전 력은 Fig. 15와 같다. 열판 온도를 스텝 제어한 폴리감 마글루탐산 두께 3 mm의 건조과정에서 콜드 트랩의 평 균 온도는 -75℃로 유지되었다. 건조 시간동안 콜드 트 랩 부 냉동기의 적산전력을 측정한 전력량은 4.8 kWh 이었다.

5. 결 론

폴리감마글루탐산의 동결 건조과정을 실험적으로 연 구한 결과는 다음과 같다.

- (1) 1차 건조가 완료되는 시점을 기점에서 건조 챔버의 압력 변화는 일정 내지 미미해지는 경향을 보인다.
- (2) 폴리감마글루탐산의 1차 건조 후 함수율은 35%이
 며, 2차 건조 후에 4%의 함수율을 가지는 건조물
 을 얻을 수 있다.
- (3) 폴리감마글루탐산의 함수율 94%일 때 유리전이 온 도 -12.5℃, 25% 3℃, 5% 36℃로 함수율이 감소할 수록 유리전이 온도는 상승한다.
- (4) 2차 건조에서 함수율에 따른 유리전이온도를 고려 하여 열판의 온도를 설정할 수 있다.

후 기

본 연구는 2014년도 산업통상자원부의 재원으로 한 국 에너지 기술 평가원(KETEP)의 지원과(No.2013401 0200580) 한국 산업기술 평가 관리원(KEIT)의 지원을 받아 수행된 과제입니다(10049085, 바이오 소재의 장기 저장을 위한 저온/동결 건조 원천 기술 개발) 또한 본 연 구는 교육부와 한국연구재단의 BK21 플러스 사업(31Z 20130012959)의 일환으로 수행되었습니다.

References

- Franks, F., 1998, Freeze-drying of bioproducts : putting principles into practice, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Vol. 45, No. 3, pp. 221-229.
- Adams, G. D. J., Cook, I., and Ward, K. R., 2014, The Principles of Freeze-Drying, Methods in Molecular Biology, Vol. 1257, pp. 121-143.
- Kang, J. Y., 2004, Automatic control of pharmaceutical vacuum freeze dryer, Dongguk Graduate school.
- Park, S. J. and Song, C. S., 2003, Vacuum freezing dryer, Korean Journal of Air-Conditioning and Refrigeration Engineering, pp. 29-40.
- 5. Sung, M. H. and Park, C., 2009, New bioindustrial development of high molecular weight of poly-gam-

ma-glutamic acid produced by *Bacillus subtilis(chung-kookjang)*, Polymer Science and Technology, Vol. 20, No. 5, pp. 440-446.

- Jung, G. H., Moon, S. H., Choi, J. H., Lee, J. W., and Kim, N. I., 2011, Poly-y-glutamic acid modifies cytokine release in vitro, J Kyung Hee Univ Med cent, Vol. 27, No. 1, pp. 34-42.
- Ogunleye, A., Bhat, A., Irorere, V. U., Hill, D., Williams, C., and Radecka, I., Poly-y-glutamic acid production, properties and applications, Faculty of Science and Engineering, University of Wolverhampton, Wulfuruna street, Wolverhampton, UK.
- 8. Park, H. Y., 1990, Freezing dryer, The magazine of the Korea refrigerating and air conditioning technology association, Vol. 7, No. 9, pp. 42-57.
- Park, N. H., Kim, B. S., Kang, T. S., and Shin, D. H., 1998, Modification of conventional freeze dryer, Korean J. Food SCI. Technol, Vol. 20, No. 3, pp. 350-356.
- 10. Roy, M. L. and Pikal, M. J., 1989, Process control in freeze drying : determination of the end point of

sublimation drying by an electronic moisture sensor, Pharmaceutical Science and Technology, Vol. 43, No. 2, pp. 60-66.

- Bhandrari, B. R. and Howes, T., 1999, Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods, Journal of Food Engineering, Vol 40, pp. 71-79.
- Lee, S. J., 2004, Considertion for the optimum operation of vacuum freeze drying, Food Engineering Progress, Vol. 8, No. 3, pp. 147-157.
- Tang, X. and Pikal, M. J., 2004, Design of freeze drying process for pharmaceuticals : practical advice, Pharmaceutical research, Vol. 21, No. 2, pp. 191-200.
- Pikal, M. J., Shah, S., Roy, M. L., and Putman, R., 1990, International Journal of Pharmaceutics, The secondary drying stage of freeze drying : drying kinetics as a function of temperature and chamber preesure, Vol. 60, No. 3, pp. 203-207.
- Zhai, S., Taylor, R., Sanches, R., and Slater, N. K. H., 2003, Measurement of lyophilisation primary drying by freeze-drying microscopy, Chemical Engineering Science, Vol. 58, pp. 2313-2323.