

11

생성물의 회수와 정제

11.4 가용성 생성물의 회수 및 정제

항생제, 유기산, 용매, 아미노산, 그리고 세포 외 효소와 같은 대부분의 미생물에 의한 생성물은 가용성이고 세포 외부에 존재한다. 이러한 가용성 생성물을 회수하기 위한 방법으로 추출, 침전, 흡착, 한외여과, 역삼투, 투석, 크로마토그래피, 전기영동 등이 있다.

11.4.1 액-액 추출(용매추출)

추출(liquid-liquid extraction)이란 원료 용액(원용매에 용질이 녹아 있는 상태) 중에 함유된 용질을 추제로 용해하여 분리하는 조작이다. 추출조작에는 회분식과 연속식이 있으며 연속식에는 향류 다단추출(counter-current multistage extraction)과 병류 다단추출법(cocurrent multistage extraction)이 있다. 회분식은 원료와 추제를 탱크에 넣고 충분히 교반한 후 가만히 정치하여 추출상과 추잔상을 분리하는 방법이다. 이때 용질은 원료(추잔상)로부터 추출상으로 이동한다. 추출은 물질전달이 잘 일어날 수 있도록 두 개의 상이 잘 접촉하도록 하는 것이 중요하다.

원하는 추출을 수행하기 위하여 소요되는 단수를 구하는 방법은 다음과 같다. 우선 삼각도표상에 용질의 원용매 및 추제에 대한 용해도 곡선(solubility curve)을 도시한다. 그리고 물질 수지를 세워 조작선을 구한다. 그리고 용해도 곡선(평형선)과 조작선을 교대로 이용하여 이론 단수를 구한다.

이상적인 추제는 독성이 없고, 저렴하며, 발효액과 섞이지 않아야 한다. 그러나 추제

가 가져야 하는 가장 중요한 성질은 원료 중의 용질은 가능한 많이 용해하되 원용매는 되도록 용해하지 않는 것이다. 그 결과 추출상에 들어 있는 용질/원용매의 비율이 원료 중에 원래 들어있던 용질/원용매의 비율보다 커야만 추출이 가능하다. 즉, 다음과 같이 정의되는 선택도(β)가 반드시 1보다 커야 한다.

$$\begin{aligned} \beta &= \frac{\text{용질(성분 } A) \text{에 대한 추제의 분배계수}}{\text{원용매(성분 } B) \text{에 대한 추제의 분배 계수}} \\ &= \frac{K_A}{K_B} = \frac{y_A/x_A}{y_B/x_B} = \frac{y_A/y_B}{x_A/x_B} \\ &= \frac{\text{추출상에 들어 있는 용질/추출상에 들어 있는 원용매}}{\text{추진상에 들어 있는 용질/추출상에 들어 있는 원용매}} \quad (11.11) \end{aligned}$$

여기서, x 는 추진상에서의 중량분율이고, y 는 추출상에서의 중량분율이다.

예를 들어 페니실린 발효 후 생성물을 분리하기 위해서는 아밀아세테이트나 이소아밀아세테이트를 추제로 사용하여 추출한다.

한 성분 A 가 서로 섞이지 않는 두 액체 사이에 분배될 때 두 상(two phases)에서의 농도비를 분배계수(K_A)라 한다. 즉,

$$K_A = \frac{Y_A}{X_A} \quad (11.12)$$

여기서, Y_A 와 X_A 는 각각 추출상과 추진상에서의 용질(A)의 농도이다.

그림 11.3(a)에서 1단 추출에 대하여 K_A 가 일정하고 추출상과 추진상이 절대 섞이지 않으며 $R_0 = R_1$, $E_0 = E_1$ 이라고 가정하면, 추출되는 용질에 대한 물질수지식은 아래와 같다.

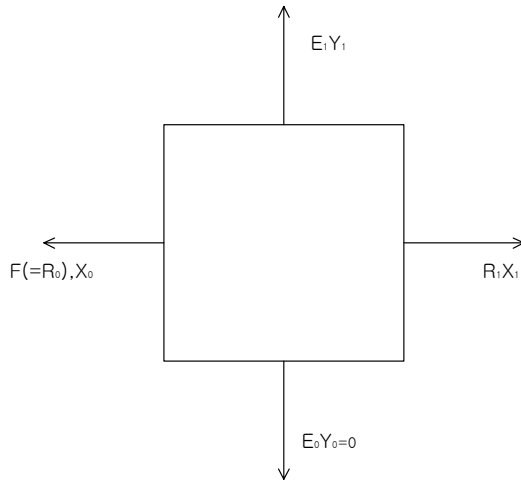
$$R(X_0 - X_1) = EY_1 \quad (11.13)$$

여기서, E 와 R 은 각각 추출상과 추진상의 양이다.

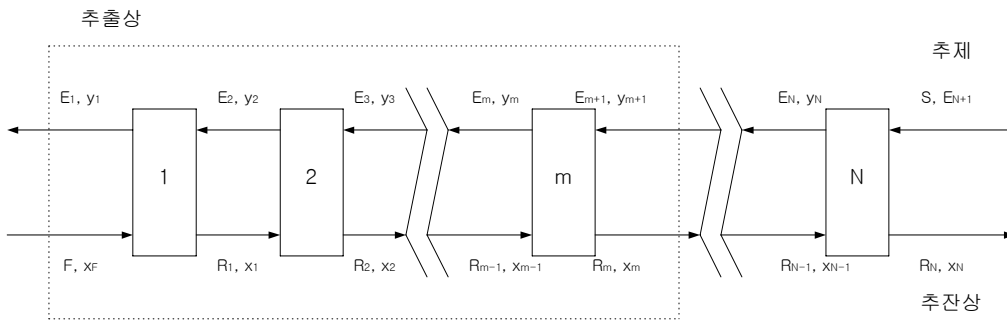
위 식을 정리하면

$$X_1 = X_0 - \frac{E}{R} Y_1 \quad (11.14)$$

그런데 식 (11.12)에 의하여 $K_A = \frac{Y_1}{X_1}$ 이므로



(a) 1단 추출



(b) 향류 다단추출

그림 11.3 추출의 모식도

$$X_1 = X_0 - \frac{EK_A}{R} X_1 \quad (11.15)$$

즉,

$$\frac{X_1}{X_0} = \frac{1}{1 + \frac{EK_A}{R}} \quad (11.16)$$

추출인자(extraction factor) e 를 다음과 같이 정의하여

$$e = \frac{EK_A}{R} \quad (11.17)$$

식 (11.16)에 대입하면 1단 추출에서 유출되는 추진상 내의 용질의 농도(X_1)와 유입되는 원료 중의 용질의 농도(X_0)비는 다음과 같다.

$$\frac{X_1}{X_0} = \frac{1}{1+e} \quad (11.18)$$

연속 향류 추출에 대하여 그림 11.3(b) n 단에서 유출되는 추잔상 내의 용질의 농도 (X_n)와 1단에 유입되는 원료 주의 용질의 농도(X_0)비는 다음과 같다.

$$\frac{X_n}{X_0} = \frac{e-1}{e^{n+1}-1} \quad (11.19)$$

위 식의 $\frac{X_n}{X_0}$ 을 가로축에 e 를 세로축에 표시하여 그래프로 그려서 단수 n 을 구하는데 사용한다.

수성 이성분계 추출

효소나 기타 단백질이 추체에 의해 손상되는 경우가 있기 때문에 추잔상뿐만 아니라 추출상 또한 주로 물로 구성되어 있는 추출 시스템이 개발되었으며 이것을 수성 이성분계 추출(aqueous two-phase extraction)이라 한다. 수성 이성분계 추출에 사용되는 추출상과 추잔상에는 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol, PEG)과 덱스트란(dextran)이 있다. 이때 PEG상과 덱스트란상 모두 75% 이상이 물로 구성되어 있다. PEG-Dextran 시스템에서 몇 개의 효소에 대한 분배계수 $K(\text{PEG-rich} / \text{Dextran-rich})$ 를 측정한 결과 1.0~3.7의 값을 가지는 것으로 보고되었다. 수성 이성분계 추출에 사용되는 다른 예로서 PEG-물/K인산염-물 시스템도 있다.

11.4.2 침전

침전(precipitation)은 세포파쇄 후 세포 내 생성물을 분리정제하기 위하여 사용하는 첫 번째 공정으로 단백질 또는 항생제 회수에 사용된다. 침전을 일으키는 첫째 방법은 Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 같은 무기염을 첨가하여 용액의 이온세기를 증가시켜 단백질을 염석(salting-out)시키는 것이다. 이때 첨가된 이온은 물과 더 강하게 상호 작용하여 단백질분자를 침전시킨다. 단백질의 용해도는 식 (11.20)으로 표시된다. 여기서, S 는 용액 내 단백질의 용해도, I 는 용액의 이온세기, S_0 는 $I=0$ 일 때의 단백질 용해도, 그리고 K 는 염석상수이다.

$$\log \frac{S}{S_0} = -K_S'(I) \quad (11.20)$$

여기서, 용액의 이온세기(I)는 다음과 같이 정의된다.

$$I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad (11.21)$$

여기서, C_i 는 이온성 물질의 몰농도(mol/L)이고, Z_i 는 이온의 전하이다.

침전을 일으키는 두 번째 방법은 저온($< -5^\circ\text{C}$)에서 유기용매를 첨가하여 단백질의 용해도를 감소시키는 방법이다. 용매를 첨가하면 용액의 유전상수가 작아지고 이에 따라 단백질분자간의 정전기적인 힘을 더 강하게 하여 단백질 침전을 촉진한다. 용매첨가는 또한 단백질과 물분자의 상호작용을 감소시켜 단백질의 용해도를 감소시킨다.

단백질의 용해도는 용액의 유전상수(dielectric constant)의 함수로서 다음과 같이 주어진다.

$$\log \frac{S}{S_0} = -\frac{K'}{D_s^2} \quad (11.22)$$

여기서, D_s 는 물-용매 용액의 유전상수로서 이 값이 작아지면 단백질의 용해도(S)는 감소한다.