

계면활성제를 이용한 생리활성물질의 분리

한국과학기술원 화학공학과

이 혼

I 서 론

계면활성제를 이용한 분리기술은 기존 산업계에서 운용중인 기술이 아닌 새롭게 관심이 집중되고 있는 기술이라 할 수 있다. 이 방법은 산업계에서 그 중요성이 점차 커지고 있으며, 그 응용성이 부각되는 산업 분야를 열거하자면 다음과 같다.

· 생물공학

여기서 생산되는 대부분의 물질들은 그 상태가 수용액상에 소량이 존재하는 경우가 많다. 또한 온유한 화학적, 열적 환경에서만 생산물의 특성을 유지할 수 있다는 특이성 때문에 계면활성제를 이용한 응집체의 형성을 통해 순도의 증가와 아울러 생산물의 활성 유지를 기대할 수 있다.

· 공해 물질의 처리

계면활성제를 이용한 미세에멀전은 폐수상에 존재하는 중금속과 공해 유기 물질에 대한 선택적인 분리에 이용될 수 있다. 또한 이 방법은 기존의 방법에 비해서 에너지가 적게 들며 잔존 물질로 인한 독성이 없다는 점에서 그 우수성을 찾을 수 있다.

· 에너지 저소비 공정

계면활성제에 기초를 둔 분리 정제 과정은 기존의 방법에 비해서 에너지 소모가 적으며 처리된 물질에 대한 부가적인 처리 과정을 요하지 않아 경제적이다. 이는 필요한 에너지가 기존의 분리 방법에서 요구되는 다량의 에너지에 비해서 저온에서의 상변이에 필요한 에너지만이 요구되기 때문이다.

여기서는 세가지중 특히 생물공학에서 계면활성제를 이용한 분리에 관한 내용을 다루고자 한다. 생리활성물질의 분리에 응용될 수 있는 방법들은 다음과 같다.

- 코아세르베이트를 이용한 물질의 분리
- 역미셀을 이용한 단백질의 분리
- 초임계상의 역미셀을 이용한 단백질의 분리
- Aphron을 이용한 물질의 분리
- Adsorptive bubble separation

II 코아세르베이트를 이용한 물질의 분리

1 코아세르베이트

계면활성제를 응용한 분리 기술의 하나로 코아세르베이트를 이용한 물질의 추출이 있다. 비이온성 계면활성제를 포함하는 수용액의 온도를 올리면 수용액이 뿌옇게 되는 점에 도달한다. 이 온도를 cloud point라고 한다. cloud point에서 용액을 정지시키면 용액은 두 상으로 갈라지며 이 때 계면활성제가 다량으로 존재하는 상은 코아세르베이트상(coacervate phase)이라 불리며, 계면활성제가 극히 소량 존재하는 상은 희석상(dilute phase)이라 한다. 이와 같은 경우의 cloud point를 LCST (Lower critical solution temperature) 라고 하며 온도를 올릴 때 두 상이 한 상으로 되는 경우에 발생하는 cloud point는 UCST (Upper critical solution temperature) 라고 한다. 코아세르베이트상에서 계면활성제의 농도는 20%이상인 경우가 대부분이며 희석상에서 계면활성제의 농도는 아주 낮지만 CMC (Critical micelle concentration) 이상인 경우가 많다. 비이온성 계면활성제 수용액의 상태도는 매우 복잡한 양상을 띄고 있는데 cloud point현상은 전체 상태도 중 일부분에서만 관찰이 되는 현상이다.

비이온성 계면활성제 수용액에 있던 물질은 상분리가 일어난 후 코아세르베이트상으로 농축된다. 코아세르베이트상과 희석상에서 물질의 분배 계수는 500까지 될 수 있음이 보고 되었다. 코

아세르베이트를 이용한 액액 추출 기법은 기존의 액액 추출 공정과 비교해서 다음과 같은 특징들을 들수있다.

- 계면활성제를 이용한 상분리
- 온도에 따른 상변화
- 높은 분배효율-온도 의존성
- 에너지 저소비 공정
- 유사한 액액추출공정

코아세르베이트를 이용해서 생리 활성 물질을 분리하고자 할 경우 계면활성제의 cloud point가 분리하고자 하는 물질의 활성도에 영향을 미치지 않는 범위의 온도에 있어야 한다는 제약 조건이 있다. 높은 cloud point를 가지는 물질에 대한 해결 방법으로는 수성 이상계에 염을 첨가하여 상변화를 유도하였던 것처럼 계면활성제 수용액에도 cloud point를 낮출 수 있는 염과 같은 물질을 첨가하는 방법을 들수있다. 생리 활성 물질을 분리할 때 비이온성 계면활성제가 이온성 계면활성제에 비해서 가지는 장점은 비이온성 계면활성제가 이온성 계면활성제에 보다 물질의 변성에 대한 영향이 훨씬 작다는 점을 들 수 있다. 이는 열적, 화학적 환경에 민감하여 변성이 오기 쉬운 생리 활성 물질에 대한 분리에 장점으로 작용한다.

2 코아세르베이트를 이용한 분리에서 고려될 인자

코아세르베이트를 이용한 분리에서 고려될 인자는 다음과 같다.

- 계면활성제에 따른 분리 효율
- 온도에 따른 분배 계수의 변화
- 압력에 따른 분배 계수의 변화

2.1 계면활성제에 따른 분리 효율

코아세르베이트를 이용한 물질의 분리에서 계면활성제의 LCST와 UCST 값과 물질간의 화학적 친화력 계면활성제의 친수가와 소수기 구조에 따라서 분리하는 물질의 종류, 장치의 안정성,

분리 효율 등이 결정 될 수 있다. 특히 LCST와 UCST는 조업 조건에 큰 영향을 미치는 변수이기 때문에 물질의 선정에 크게 고려해야 하는 문제이다. Table 1에는 계면활성제 종류에 따른 LCST와 UCST의 값을 나타 내었다. 여기에서 C_iE_j 는 Polyoxyethylene alcohol이며 Me는 Methane을 Et는 Ethane을 그리고 Ph는 Phenol을 나타낸다. 표에서 보는 바와 같이 계면활성제의 종류에 따라서 LCST와 UCST 값의 차이는 다양하며 원하는 분리 조건(상온 근처)에서 분리를 수행하기 위한 계면활성제의 선정이 중요하다. Table 2에는 계면활성제의 종류에 따른 물질의 분배계수를 나타내었는데 계면활성제에 따라서 분리가 가능한 영역의 차이가 있으며 또한 분배 계수의 차이가 큼을 알 수 있다. 계면활성제의 종류에 따른 조사 결과를 보면 소수성 부분인 탄화수소가 분자 구조에서 많은 영역을 차지하는 계면활성제의 경우 물에 대한 용해력이 떨어지는 물질에 대한 분배 계수가 높으며 또한 LCST도 낮아 우수한 계면활성제로 사용될 수 있으며 반면에 친수기 부분이 많은 계면활성제는 물에 대한 용해력이 큰 물질에 좋은 분리 효율을 보이고 있다.

Table 1. LCST and UCST of Nonionic Surfactants and Water System

System	LCST(°C)	UCST(°C)
$C_4E_1-H_2O$	45	130
$C_5E_2-H_2O$	35	>100
$C_6E_2-H_2O$	0	>100
$C_6E_4-H_2O$	60	>100
$C_8E_4-H_2O$	34	>100
$C_8E_6-H_2O$	75	>100
$C_{10}E_4-H_2O$	20	300
$C_{10}E_6-H_2O$	60	>100
$C_{12}E_4-H_2O$	5	-
$C_{12}E_8-H_2O$	80	>100
$C_{14}E_6-H_2O$	42	>100
$C_{16}E_8-H_2O$	63	>100
$p-C_9PhE_8-H_2O$	68	>100
$C_{10}Me_2PO-H_2O$	140	170
$C_{12}Et_2PO-H_2O$	25	>100
$C_{12}S(NH)_2Me-H_2O$	25	>100

2.2 온도에 따른 분배 계수의 변화

보통의 비이온성 계면활성제는 LCST현상을 보이기 때문에 온도가 증가함에 따라 분배 계수가 증가하는 경향을 보이고 또한 그 값의 차이가 크다. 그러나 실제로 온도를 계속 높일수 없는데 그 이유는 고온에서는 계면활성제 자체의 분해가 일어나기 때문에 일정 온도(>100℃) 이상에서는 분리가 불가능하다. LCST와 UCST가 공존하는 상태도에서는 온도에 따른 분배 계수에 최대값이 존재한다. 이러한 경우에는 LCST만을 보여주는 계에 비해서 분리 효율이 높지 않다. 코아세르베이트를 이용한 분리는 기존의 액액 추출에 비해서 월등히 큰 값을 보이고 있으며 온도에 따른 분배 계수값의 큰 변이는 역추출에도 중요한 잇점으로 작용한다.

Table 2. Dependence of Partition ratios on surfactants

Surfactant	x:y (CxEy)	Max. Partition Ratio
Triton X-100	10 : 8	110
Brij 30	12 : 4	200
C ₆ E ₂	6 : 2	200
C ₄ E ₁	4 : 1	290

2.3 압력에 따른 분배 계수의 변화

압력은 LCST의 변화에 별 영향이 없을 뿐만 아니라 분배 계수는 압력에 따라서 값이 감소함을 보여 상압에 조업을 수행하는 것이 최적의 조건이다. 이는 계면활성제와 물과의 혼합에서 발생하는 부피의 변화가 압력으로 인해서 분리에 역행되는 효과를 보이기 때문이다.

III 초임계 역미셀을 이용한 단백질의 분리

액-액 추출법은 현재는 항생제 산업에서 분리의 방법으로 많이 사용되고 있지만 생물공정의 다른 분야에서는 아직까지 그 사용이 크게 각광을 받고 있지는 못하다. 이러한 이유는 다음과 같다.

- 적절한 용매선정의 어려움

• 단백질이나 여러 생리활성물질들의 multi-ionic character

최근에 액체추출법을 사용해서 단백질이나 다른 생리활성물질을 분리, 정제, 농축, 회수하는데 많은 장점을 제공할 수 있는 새로운 계열의 용매가 나오기 시작했다. 이러한 용매의 특징으로는 유기용매상에서 응집체인 역미셀을 형성하는 계면활성제의 용해능력에만 영향을 받는다. 이 응집체는 내부에 물을 포함하고 그 외부에는 계면활성제에 의해서 layer를 형성한다. 계면활성제, 물, 유기상의 상대적인 농도의 차이에 의해서 이 혼합물은 보통의 미셀용액이 될 수도 있고 또는 역미셀, 육각기둥모양의 구조를 가질 수 있으며 lamellar나 액정의 형태를 취할 수도 있다. 단백질의 분리라는 관점에서 보면 관심있는 부분은 여러가지 구조중 두상이 존재하는 영역인데 이 두상중 한 상에는 묽은 상태의 용매와 계면활성제가 있는 수용액으로서 분리하려는 물질을 포함하고 있는 feed solution에 해당한다. 다른 상에는 단백질을 회수하는데 사용되는 역미셀이 들어있는 상이다. 현재까지의 모든 역미셀을 이용한 단백질의 분리에 관한 연구는 이 영역에 해당하는 역미셀안의 단백질의 농도를 높이는데 있다.

Table 3. Critical Properties of Several Fluids

Compound	Critical Temperature (°C)	Critical Pressure (bar)	Critical Density (g cm ⁻³)
Ammonia	132.4	112.5	0.235
Butane	135.0	37.5	0.228
Carbon Dioxide	31.3	72.9	0.443
Ethane	32.2	48.1	0.203
Ethylene	9.2	49.7	0.218
Dinitrogen Oxide	36.5	71.7	0.45
Pentane	196.6	37.5	0.232
Propane	96.6	41.9	0.217
Water	374.2	217.6	0.322

1. 초임계 유체

초임계 유체는 임계점을 벗어난 물질의 상태를 일컫는 것으로 임계 온도와 임계 압력 이상의 상태이다. Fig. 1의 상태도에서 그 영역을 보여주고 있다. 초임계 유체는 육안으로 관측하면 액체 처럼 보이나 그 중간적인 특성상 물질의 전달 계수는 기체와 유사한 값을 갖는다. 대표적인 물질들의 임계값을 Table 3에 나타내었다. Table 4에는 기체, 액체와 초임계 유체의 밀도와 여러 전달 물성치를 나타내었는데 여기서 보듯이 초임계 유체의 전달 물성치는 기체와 유사한 값을 가지며 물질의 분리에 중요한 요인으로 작용하는 밀도는 액체와 유사한 값을 가지고 있어 분리하려는 물질의 적제 가능량에 문제가 없다.

Table 4. Comparison of Physical Properties of Gases, Liquid and SCFs

Fluid state	Density (g cm ⁻³)	Viscosity (g cm ⁻¹ s ⁻¹)	Kinematic viscosity (cm ² s ⁻¹)	Diffusivity (cm ² s ⁻¹)
Gas	$(0.6-2) \times 10^{-3}$	$(1-3) \times 10^{-4}$	1×10^{-1}	0.1-0.4
Liquid	0.6-1.6	$(0.2-3) \times 10^{-2}$	1×10^{-2}	$(0.2-2) \times 10^{-5}$
SCF	0.2-0.9	$(1-9) \times 10^{-4}$	1×10^{-3}	$(2-7) \times 10^{-4}$

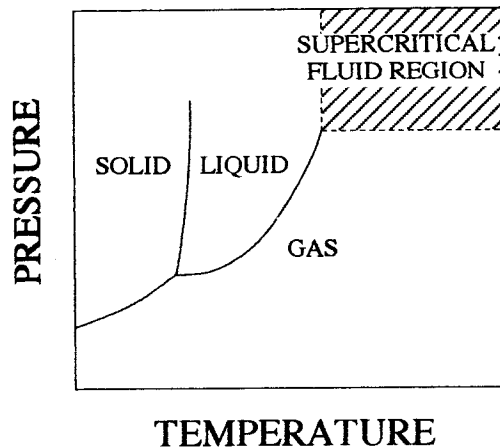


Fig. 1 Pressure-temperature diagram for a pure component

초임계유체는 그 특징으로 많이 언급되는 것이 임계점 근방에서의 물성치들의 급작스런 변화라고 말할 수 있다. 초임계유체는 이러한 특성을 이용하여 지금까지 주로 온도에 민감한 물질들의 분리에 많이 응용 되어왔다. 초임계유체를 이용하여 커피에서 카페인을 제거하는 공정은 세계적으로 널리 알려진 공정중의 하나이다. 이처럼 초임계 유체 기술이 최근에 관심의 초점이 된 이유는,

첫째로 에너지의 가격이 상승하여 기존의 증류공정의 경제성이 낮아졌기 때문이고 둘째로 환경에 대한 인식의 증가로 오염물질의 배출이 심한 공정의 운전이 어렵게 된 것, 마지막 세째로 기존공정으로는 고순도 분리가 어려운 물질에 대한 수요가 증대되고 있기 때문이다. 이러한 초임계 유체의 장점으로 아래와 같은 것을 들 수 있다.

- 높은 물질전달계수
- 낮은 점도
- 압력과 온도에 따른 물성치의 큰 변화
- 낮은 가격
- 적은 환경파괴
- 비독성
- 쉬운 가용성

2. 초임계 유체상의 역미셀

초임계 유체를 역미셀을 이용한 단백질의 분리에 이용하면 초임계 유체의 장점과 역미셀의 장점을 동시에 수용할 수 있다. 최근의 연구결과에 따르면 초임계유체 조건에서 이온 또는 비이온 계면활성제가 역미셀을 형성한다는 사실이 보고되었다. 초임계 유체가 역미셀 형성에서 유기상으로 작용하여 기존의 상압에서 형성되는 역미셀에 비해서 아래와 같은 장점이 있다.

- Stripping 과정의 단순화
- 생리활성물질의 활성도 유지
- 초임계 유체의 특성-Diffusivity limit이 없다.
- 추출 효율의 증대
- 추출 시간의 감소

2.1 계면활성제의 영향

초임계상에서 역미셀의 농도가 증가함에 따라 물질을 분리할 수 있는 용집체의 수가 증가한다. 이는 즉 분리하고자 하는 단백질등의 생리활성물질의 용해도가 증가한다는 의미이다. 그러므

로 물질의 분리를 수행하기 위해서는 계면활성제의 농도를 높게 해주는 것이 유리하다. 하지만 계면활성제의 농도는 역미셀을 이룰 수 있는 농도 범위에 있어야 하며 그 이상을 넘어서면 역미셀 외의 다른 물리적 구조를 갖기 때문에 용해도가 증가하지 않는다. AOT(bis(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate, 음이온성 계면활성제의 일종)의 농도가 28%에서 52%로 증가함에 따라 tryptophan의 농도가 1.3mM에서 3mM로 약 2.4배 증가했다.

2.2 W_0 의 영향

초임계 유체로 이루어진 역미셀의 W_0 (water to surfactant ratio)는 압력에 따라 급작스럽게 변한다. 이는 압력에 따른 초임계 유체의 밀도가 급작스레 변하기 때문인데 특히 임계점 근방에서는 그 정도가 더하다. W_0 는 물과 계면활성제 농도의 차이이므로 이것이 정확히 역미셀의 크기에 정확히 비례하지는 않지만 역미셀의 크기를 결정하는 중요한 인자이다. 압력이 초임계 상태인 150bar 이상에서 W_0 가 10.7에서 18.0으로 증가함에 따라 tryptophan의 역미셀내의 용해도가 22% 증가했다. 이는 계면활성제의 농도 증가에 따른 단백질의 농도 증가보다는 적은 값이다. 이 계에서는 계면활성제의 농도가 일정하므로 W_0 가 증가함으로 역미셀의 크기가 감소하지만 역미셀의 수는 증가한다. 결국은 전체적인 계면 면적은 별로 변하지 않는다. 주로 단백질이 계면의 면적에 용해도가 관계를 갖고 있기 때문에 W_0 의 변화가 계면활성제 농도의 변화에 비해 단백질의 용해도 차이가 적다.

2.3 단백질의 선택도

계면활성제로 이루어진 계에서 단백질의 용해도는 계면활성제의 친화력에 밀접한 관계를 가지고 있는데 여기서는 역미셀에 대한 단백질의 분리를 고려하므로 주로 수용성 단백질에 대한 것을 말한다. 수용성 단백질의 분리는 단백질의 물에 대한 용해도와 계면활성제의 인력에 따라서 분리가 달라진다. Fig. 2에서는 단백질사이의 선택도를 나타낸 것이다. 각각의 단백질의 화학적 구성에 따라서 선택도가 20이상 차이가 날 수 있음을 알 수 있다. 즉 분리하고자 하는 물질에 따라서 계면활성제와 초임계상의 선정은 중요한 인자가 된다.

2.4 공정도

Fig. 3에서는 친수성 물질의 분리에 응용될 수 있는 초임계 역미셀 추출의 공정도를 나타내었

다. 분리하려는 물질을 포함하고 있는 수용액상이 초임계상의 역미셀 용액과 Mixer에서 혼합이 된 후 Settler에서 상분리가 된다. 원하는 물질을 추출한 초임계 역미셀 상은 압력을 낮추어 Stripping과정을 거치고 난후 원하는 물질은 분리하고 나머지는 다시 Recycle된다. 기존의 액액 역미셀 추출은 Stripping과정에서 pH나 온도의 변화등 화학적 과정을 거침으로 인해서 단백질등의 물질에 변성이 오는 경우가 많고 공정이 복잡하지만 이 경우에는 감압하는 과정만을 요한다.

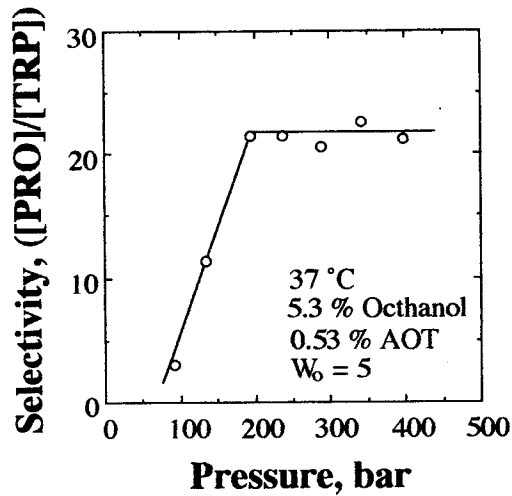


Fig. 2 Selectivity in supercritical ethane containing AOT reverse micelles. The discontinuity in each line indicates the visually observed dew point.

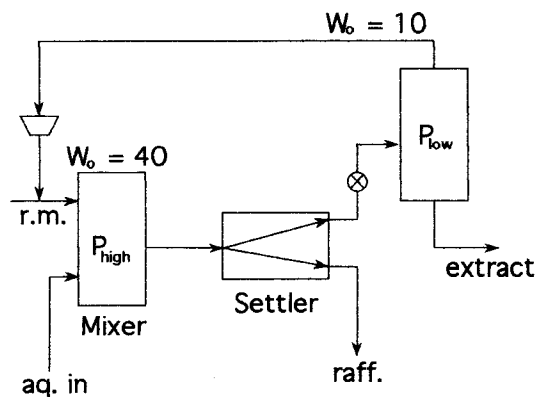


Fig. 3 Process for supercritical fluid reverse micelle separation from aqueous media

IV 역미셀을 이용한 Intracellular Enzyme 의 분리

상업적으로 유용한 생체물질들을 분리하기 위한 기술로써 역미셀을 이용한 추출은 80년대 초부터 서서히 개발되기 시작하여 많은 연구가 되어 왔으며 주로 미국과 유럽 그리고 최근에는 일본에서 많은 연구가 진행 되고 있다. 이러한 역미셀에 의한 추출법이 여태까지는 주로 세포외의 단백질 추출에 적용되어 배양액으로부터 추출에 관한 연구가 많이 수행 되었으나 80년대말 부터는 이 방법이 세포내 단백질의 추출에도 시도되고 있다. 최근에는 이러한 역미셀을 이용한 추출을 상용화 시키기 위해서 연속식 공정을 이용한 실험이 Dekker 등에 의해서 연속식 혼합기-침강기법으로 수행되었다. 하지만 이제까지의 역미셀의 연속 추출은 주로 혼합기 방식에 의한 추출 이었고 이 방법은 상분리의 어려움, 동력비등 여러 문제점을 가지고 있다. 추출과정의 개략도를 Fig. 4에 나타내었는데 수용액상에 있는 단백질이 계면활성제의 응집체인 역미셀로 용해되는 과정을 보여주고 있다. 수용액상의 단백질이 계면활성제를 이용해서 세포가 파괴된 후 세포밖으로 나오고 또 이것이 바로 역미셀로 포집된다.

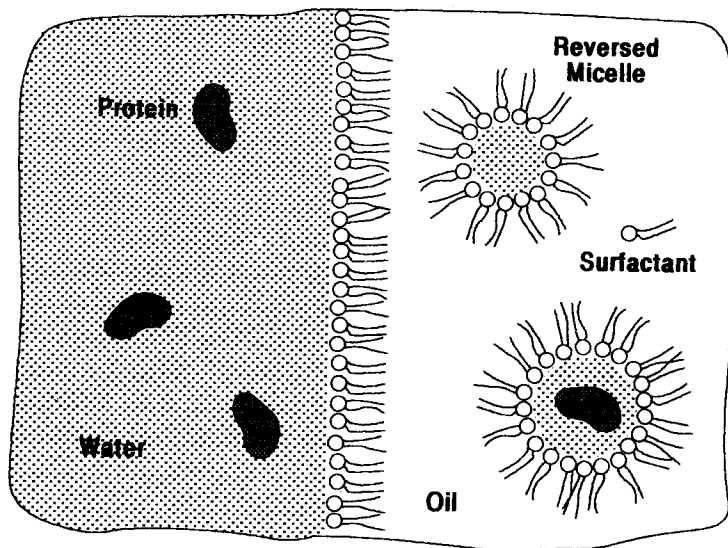


Fig. 4 Schematic Diagram of Reversed Micellar Extraction

1. 추출에 영향을 미치는 인자

1.1 계면활성제 농도의 영향

계면활성제의 농도는 단백질을 회수하는데 있어서 중요한 영향인자 중의 하나이다. 가용화의 측면에서 보면 계면활성제의 양이 증가할 때 우선 쉽게 생각할 수 있는 것은 역미셀의 숫자가 증가 하거나 혹은 그 크기가 커지는 현상이다. 그러나 주어진 조건에서 결집수 (aggregation number) 가 일정하다는 점에서 볼 때 역미셀의 크기는 그다지 변화가 없고 다만 역미셀의 갯수가 증가하여 나타나는 현상을 예측할 수 있다. 그 결과로 단백질의 전달량이 증가 한다.

1.2 계면활성제의 종류에 의한 영향

계면활성제는 보통 분리하고자 하는 단백질이 결정되면 그 단백질의 안정성 구역에 적당한 계면활성제가 선택 되어지는 것이 보통이다. 하지만 계면활성제도 그 구조에 따라 역미셀을 형성하기 쉬운 것과 미셀을 형성하기 쉬운 것등이 있으므로 그 계면활성제의 구조를 잘 파악해서 계면활성제를 선택하는 것이 중요하다. 또 이러한 계면 활성제의 선택시 중요한 것은 그 계면활성제의 HLB (Hydrophile-lipophile balance) 값이다. 이 값은 보통 여러가지 정의된 식에 의하여 정해지는 값으로 계면활성제의 유화 성향을 나타내는 값이다. 이 HLB 값을 나타내는 식중의 하나를 보면 다음과 같다

$$HLB = 7 + \Sigma(\text{친수기의수}) - \Sigma(\text{친유기의수})$$

위의 식을 보면 HLB 값의 의미를 명확히 알 수 있는데 즉 HLB 값이 크면 그 계면활성제는 친수적인 경향이 강하고 HLB 값이 작으면 친유적인 성향이 강하다. 그리고 전자는 O/W 에멀전의 형성에 적당하고 후자는 W/O 에멀전 형성에 적합하다. 그러므로 역미셀을 이용한 추출시 수용상과 유기상이 섞였을 때 HLB 값이 큰 계면활성제들은 수용상으로 계면활성제의 손실이 많고 이로 인해 두상의 분리에 많은 어려움이 있다. 그러므로 계면 활성제의 선택에 있어서 될 수 있으면 HLB 값이 작은 계면활성제를 선택해야 한다. 하지만 단백질의 안정화 pH 범위때문에 HLB 값이 큰 계면활성제를 선택해야할 경우에는 분무탑을 이용하는 것이 상분리가 훨씬 용이 할 것이다.

2. 미생물 벽 파괴효율에 영향을 미치는 인자

미생물 내부를 보호하고 있는 세포벽의 파괴는 미생물내에 있는 효소 및 생리활성 물질들을 분리하는 세포내 단백질의 분리에 있어 필요한 가장 중요한 단계이며 세포내 효소인 경우에는 특히 단백질의 회수량이 세포벽을 깨는 효율에 크게 의존하게 된다. 이러한 미생물의 벽을 파괴하기 위한 방법은 보통 기계적 방법과 화학적 방법으로 나뉘어 진다. 기계적인 방법에는 homogenizer, ball mill, sonicator 등을 사용하는 방법이 있고, 화학적 방법에는 효소를 이용하는 방법, 유기용매를 이용하는 방법, 세제를 이용하는 방법등이 있다. 보통 기계적인 방법에 비해서 화학적인 방법이 활성도의 감소를 줄이고 선택적인 분리를 가능하게 한다. 그렇지만 경제성면에 있어서는 기계적인 방법이 훨씬 유리하다. 이러한 방법들도 각각의 미생물의 종류에 따라 각각 장단점을 가지고 있다.

2.1 계면활성제의 농도의 영향

계면활성제는 위에서 언급한 바와 같이 미생물벽을 permeabilization 시키는 화학적 방법중의 하나이다. 그러므로 세포벽의 효과적인 permeabilization 을 위해서는 계면활성제의 농도를 높이는 것이 효율적일 것이라고 생각된다. 하지만 주어진 미생물 양의 한계가 있으므로 계면활성제의 낭비를 방지하기 위해서 적절한 계면활성제의 농도를 알아내는 것이 필요하다. 그리고 계면활성제가 미생물의 벽을 permeabilization 하는 것 뿐 아니라 그 자체가 역미셀을 형성하여 단백질을 추출해 내므로 이를 위해 필요한 계면활성제의 양도 함께 고려되어야 한다.

2.2 계면활성제의 종류의 영향

계면활성제는 각각의 종류에 따라 여러가지 특성을 가지고 있다. 즉 어떤 계면활성제는 세포 파괴에 좋은 성질을 가지고 있고 어떤 것은 역미셀의 형성에, 또 다른 것은 미셀의 형성에 좋은 구조적 성질을 가지고 있다. 그러므로 사전에 계면활성제의 구조적 특성을 조사하고 실험을 수행함에 의해 실험대상에 적절한 계면활성제를 선택하여야 한다. 또한 조업의 안정성등을 고려하여야 한다.

보통 세포내 단백질의 분리에는 음이온성 계면활성제 (SDS)와 비이온성 계면활성제 (Triton X-100) 가 주로 사용되어 왔으나 이 물질들은 역미셀의 형성에는 좋은 계면활성제가 아니므로 역미셀을 형성하는 성질이 좋은 AOT (Sodium di-2-ethylhexyl sulfosuccinate), CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) 같은 계면활성제도 사용함에 의해 세포내 단백질의 분리를 위해 필요한 계면활성제의 성질을 적절히 갖춘 계면활성제를 찾아내는 것이 중요하다.

2.3 환원제의 영향

환원제는 계면활성제로 부족한 Cell permeabilization 을 증대시키기 위하여 사용된다. 환원제는 보통 자신은 산화 되면서 다른 물질을 환원시키는 물질로 여기서는 효모의 세포벽을 구성하고 있는 mannoprotein layer 나 glucan layer 의 구성 단백질들의 구조를 파괴 시키는 역할을 한다. 즉 단백질은 기본적으로 아미노산의 선형적 결합 (peptide bond) 과 그 3차원적 구조를 형성하기 위한 S-S 결합 (Cysteine bond) 을 가지고 있는데 환원제는 이 S-S 결합을 환원시켜서 단백질의 3차구조를 파괴 시킴으로 세포벽을 permeabilization 시킨다. 환원제로는 보통 2-mercaptoethanol, dithiothreitol, 2-mercapto-1, 2-propanediol, 2-mercaptopropionate 등이 사용된다.

V 결론

계면활성제를 이용한 생리활성 물질의 분리 기술을 소개하였다. 코아세르베이트를 이용한 분리는 계면활성제 수용액의 상분리 현상을 응용한 분리 기술로서 그 분리 효율이 높은 값(~ 100 이상)을 보인다. 또한 온도에 따른 분배 계수의 변화가 크기 때문에 역추출도 용이하게 수행될 수 있다.

초임계 유체를 이용한 역미셀과 유기용질을 이용한 역미셀의 분리는 수용성 단백질이나 효소 등의 생리활성물질의 분리에 효과적인 분리방법이 될 수 있으며 각각 분리하려는 물질과 분리하려는 계와의 물리, 화학적 친화력을 고려한 각 계에 효과적인 분리방법을 모색하는 것이 중요하다.

이와 같이 계면활성제를 이용한 생리활성물질 분리에 대한 이해와 앞으로의 중요성에 대한 인지도를 높이고 앞으로 공정화에 대한 이해를 높이기 위해서 지금까지 계면활성제에 대한 기본적인 내용에 대한 소개와 이를 이용한 분리 기술을 개략적으로 언급하였으며 본 연구의 지속적인 발전이 있고 이를 이용한 실제 산업 현장의 응용에서 유용하게 사용될 것으로 본다.

참고 문헌

1. Leon M. Prince, "Microemulsions-Theory and Practice", Academic Press, New York, NY(1977)
2. Robert D. Vold and Marjorie J. Vold, "Colloid and Interface Chemistry", Addison-Wesley, Massachusetts(1983)
3. Arthur W. Adamson, "Physical Chemistry of Surfaces", 4th ed., John Wiley & Sons(1982)
4. John F. Scamehorn and Jeffrey H. Harwell ed., "Surfactant-Based Separation Process", Marcel Dekker, New York, NY(1989)
5. R. O. Dunn, J. F. Scamehorn and S. D. Christian, *Separation Sci. and Technology*, **20**, 257-284 (1985)
6. Robert O. Dunn Jr, Hohn F. Scamehorn and Sherril D. Christian, *Separation Sci. and Technology*, **22(2&3)**, 763-789, 1987
7. G. Morel, A. Graciaa and J. Lachaise, *J. of Membrane Sci.*, **56**, 1-12, 1991
8. Subray N. Bhat, George A. Smith, Edwin E. Turker, Sherrile D. Christian, John F. Scamehorn and Willie Smith, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **26**, 1217-1222, 1987
9. L. Lane Gibbs, John F. Scamehorn and Sherrile D. Christian, *J. of Membrane Sci.*, **30**, 67-74, 1987
10. Joseph Klepac, Donald L. Simmons, Richard W. Taylor, John F. Scamehorn and Sherrile D. Christian, *Separation Sci. and Technology*, **26(2)**, 165-173, 1991
11. Sherrile D. Christian, S. N. Bhat, E. E. Tucker, J. F. Scamehorn and D. A. El-Sayed, *AIChE Journal*, **34(2)**, 189-194, 1988
12. R. Lianos, M. L. Viriat, and R. Zana, *J. of Phys. Chem.*, **88**, 1098, 1984

13. Richard M. Lemert, Rob A. Fuller, and Keith P. Johnston, *J Phys. Chem.*, **94**, 6021-6028, 1990
14. Adamson, A. W., "Physical Chemistry of Surfaces", John Wiley & Sons, 4th ed. (1989)
15. Asenjo, J. A., "Separation Processes in Biotechnology", Marcel Dekker, Inc. (1990)
16. Deutsher, M. P. "Guide to Protein Purification", Academic Press Inc.
17. Giovenco, S. and Vergegehen, F., "Purification of intracellular enzymes from whole bacterial cells using reversed micelles", *Enzyme Microb. Technol.*, **9**, 470-473 (1987)
18. Jolival, C., Minier, M. and Renon, H., "Extraction of α - Chymotrypsin Using Reversed Micelles", *J. Colloid and Interface Sci.*, **135**(1), 85-96 (1990)
19. Kralova, B. and Dobransky, T., "Extraction of Uricase from *Candida Utilis*", *Biotech. Letters*, **8**(2), 99-102 (1986)
20. Krei, G. A. and Hustedt, H., "Extraction of Enzymes by Reverse Micelles", *Chem. Eng. Sci.*, **47**(1) 99-111 (1992)
21. Luisi, P. L. and Straub, B. E., "Reverse Micelles", Plenum Press. (1984)
22. Mahler, J. L., "A New Bacterial Uricase for Uric Acid Determination", *Analytical Biochemistry*, **38**, 65-84 (1970)
23. Myers, D., "Surfaces, Interfaces, And Collids.", VCH Publishers Inc. (1991)
24. Ohe, T. and Watanabe, Y., "Purification and properties of Urate Oxidase from *Streptomyces cyanogenus*", *J. Biochem.*, **89**, 1769-1776 (1981)
25. Sajiki, J., Fujishiro, Y. and Kumagai, A., "Method for Determination of Uric Acid in Viscera", *Analytical Biochemistry*, **104**, 425-431 (1980)
26. Scamehorn, J. F. and Harwell, J. H., "Surfactant-Based Separation

- Processes ", Marcel Dekker, Inc. (1989)
27. Stryer, L., " Biochemistry", Freeman company, 3rd ed. (1988)
 28. Watanabe, T., Motomura, Y. and Suga, T., " A New Colorimetric Determination of D-Amino Acid Oxidase and Urate Oxidase Activit", *Analytical Biochemistry*, **86**, 310-315 (1978)
 29. Wiseman, A., " Principles of Biotechnology ", Surrey Univ. Press, 2nd ed. (1988)
 30. Yokoyama, S., Ogawa, A. and Obayashi, A., " Rapid extraction of uricase from Candida Utilis cells by use of reducing agent plus surfactant ", *Enzyme Microb. Technol.*, **10**, 52-55 (1988)
 31. Zommer, E., Er-El, Z. and Rokem, J. S., " Production of intracellular enzymes by enzymatic treatment of yeast ", *Enzyme Microb. Technol.*, **9**, 281-284 (1987)
 32. 최 창균, 화학공업과 기술, 제3권, 제3호, 264 (1985)
 33. 탁 태문, 막분리 기술, 한국 과학 기술원 화공고분자부 심포지움, 33(1987)
 34. 민 병렬, 화학공학특론, 한국화학공학회, 24 (1987)
 35. 최평호, 류희욱, 이태호, 장용근, "역미셀을 이용한 리파아제의 분리", *한국생물공학회지*, **6**(4), 337-344 (1991)

