

전기투석법을 이용한 아미노산으로부터 전해질 분리정제에 관한 연구

김 석 곤 · 한 정 우* · 김 한 성 · 전 경 용 · 조 영 일

연세대학교 공과대학 화학공학과

*한화그룹 종합연구소 3그룹

(1994년 3월 22일 접수, 1994년 6월 3일 채택)

A Study on the Separation of Electrolyte from Amino Acid Solution through Electrodialysis

Seok-Gon Kim, Chung-Woo Han, Han-Seong Kim, Kyung-Yong Jeon, and Young-Il Choi

Dept. of Chem. Eng., Yonsei Univ., Seoul 120-749, Korea

*Hanwha Group Research & Engineering Center 3 Group

(Received March 22, 1994, Accepted June 3, 1994)

요 약 : 본 연구에서는 전기투석법을 이용하여 아미노산 수용액중에 존재하는 전해질인 무기염의 분리 정제에 관하여 고찰하였다. 생물 분리기술로서 아미노산의 등전위점을 이용한 전기투석법의 적합성을 검토하기 위하여 음이온교환막, NEOSEPTA AM1(Tokuyama Soda Co. Ltd., Japan)과 양이온교환막 CM1 (Tokuyama Soda Co. Ltd., Japan)막을 사용한 전기투석조를 설계하였고 아미노산 발효공정과 유사한 계를 만들어서 무기염인 NaCl의 분리실험을 하였다. 즉, 운전조건을 설정하기 위해 pH에 따른 아미노산의 누설량, 한계전류 밀도를 측정후, 이를 바탕으로 회분식과 연속식 실험으로 염의 제거량과 아미노산의 누설량을 정량적으로 고찰하고 전류효율을 구하였다. 회분식 장치에서 아미노산 수용액별로 11시간 동안 운전한 결과 NaCl의 제거효율은 96.1~96.2%이었고, 아미노산의 누설율은 glycine의 경우 2.5%, methionine의 경우 1.7%, alanine의 경우 2.0%이었으며, 전류효율은 44.5~44.6% 범위이었다. 연속식 장치에서는 아미노산 수용액별로 dilution rate을 1.0~3.9 h⁻¹로 변화시켜 실험한 결과, 120~150분 사이에 정상상태에 도달하였고, 유속이 작을수록 염의 제거효율은 증가하였으나 전류효율은 감소하였다. 이때 아미노산의 누설은 거의 없었다.

Abstract: The separation of inorganic salt from amino acid solution using was performed electro dialysis. In order to review the availability of electro dialysis using isoelectric point of amino acid as a bio-separation technique, electro dialysis stacks were designed using ion exchange membrane. Separation of NaCl from amino acid solution was performed in the condition similar to amino acid fermentation process. To obtain optimum conditions of separation, leakage of amino acid depending of pH and limiting current density were measured. On the basis of optimum condition, removal of NaCl and leakage of amino acid were investigated quantitatively in batch and continuous process, and current efficiencies were also obtained. As a result of batch experiment for 11 hours each amino acid solution, removal efficiencies of NaCl were in the ranges of 96.1~96.2%. Amino acid leakage rate of glycine, methionine, alanine were 2.5, 1.7, 2.0% respectively. Current efficiencies were in the ranges of 44.5~44.6%. As a result of continuous experiment in various flow rate of each amino acid solution, it took 120~150 min to reach to steady state. Removal efficiency of NaCl

was increased as the flow rate was decreased, but current efficiency was decreased. At the steady states, there were no leakage of amino acid.

1. 서 론

생물공정의 상류공정 (upstream processing)에서 생화학반응, 효소반응, 화학합성 등을 통하여 생산한 조(粗)제품은, 다음 단계인 하류처리공정 (downstream processing)에서 목적물의 분리, 정제를 중심으로 마감처리된다. 이러한 생물분리, 정제분야는 생물화학공학의 거의 모든 분야와 연관되어 있는 중요한 분야라고 할 수 있다[1].

특히, 이러한 바이오 생산물은 인간의 생명과 관련된 있는 제품이 많아 극미량의 불순물의 존재도 허용되지 않는 경우가 대부분으로 고도의 분리기술을 요하고 있는데, 이와 연관된 분리기술의 대부분은 일본과 미국, 독일 등 선진국에 편재되어 고부가가치의 산업으로 각광을 받고 있다.

현재, 주로 염수의 전해에 의한 가성소다의 제조, 해수의 농축에 의한 소금의 제조, 해수 탈염에 의한 공업용수 및 음료수의 제조, 도금공장의 폐수처리, 연료전지의 전해질 등에 활용되고 있는 이온교환막 공정은 식품 및 약품공업 분야 등에서 생물 분리기술로서도 광범위하게 이용되고 있다. 아스피린 제조시 카르복시산의 제거, 아미노산과 같은 유기산의 수용액상에서의 전기적 특성을 이용한 무기염의 분리 및 정제를 그 예로 들 수 있다[2].

이 중 아미노산은 의약품계에서 수술 후의 치료제로 쓰이고 있으며 식품 첨가물, 화장품 원료, 사료 첨가물 등 그 용도가 매우 다양하며 현재 그 수요는 급격히 증가하는 추세에 있다[3, 4]. 아미노산의 공업적 제조방법으로는 단백질 원료를 염산 등의 산으로 가수분해하여 분리정제하는 산분해법, 화학반응을 이용하는 합성법, 미생물로 발효하여 만드는 발효법이 있으며, 현재는 발효법이 가장 많이 사용되고 있다[5, 6]. 현재 국내에서는 발효공정에 의한 아미노산 제조시에 발생하는 무기염류(salt)는 이온교환 수지탑을 이용하여 제거하고 있으나 이 방법은 공정효율이 낮고 다량의 용리액 사용에 따른 폐수처리문제, 수지탑 운전애 따른 가스 발생 등으로 제반 환경, 공해문제가 따르는 실정으로 대체공정이 요구되고 있다.

한편, 전기투석공정은 종래의 이온교환 수지탑에 비해 재생공정이 필요없으며, glycine, methionine, alanine 등의 아미노산에서 무기염류를 제거하기 위해서는 이들 아미노산의 등전위점(isoelectric point)을 이용한 전기투석법이 유효한 것으로 나타나 있다[2, 7, 8].

본 연구에서는 이와 같은 전기투석공정을 생물 분리기술에 적용하여 무기염의 분리효율을 향상시키고 동시에 아미노산의 누설로 인한 손실을 개선시키고자 다음과 같이 실험을 수행하였다. 탄화수소계 음이온 교환막인 NEOSEPTA AM1(Tokuyama Soda Co. Ltd.)과 양이온교환막 CM1(Tokuyama Soda Co. Ltd.)을 사용한 전기투석조를 설계하고, 아미노산의 발효공정과 유사한 계를 설정한 후[1, 8], 전기투석 시 운전조건을 확립하기 위하여 한계전류밀도를 측정하고 아미노산인 glycine, methionine, alanine에 대하여 pH 변화에 따른 누설량을 측정하였다. 그리고 회분식 전기투석조를 이용하여 아미노산 수용액별로 측정된 한계전류밀도보다 낮은 전류밀도에서 탈염실의 pH를 등전위점으로 조절하면서 전기투석실험을 진행시켰다. 또한 이때의 염의 제거량, 아미노산의 누설량을 정량적으로 고찰하였으며 전류효율을 구하였다. 마지막으로, 회분식에서 얻은 조건을 기초로 연속식 전기투석조에 적용하여 아미노산 수용액의 유속을 2.2~8.5ml/min(dilution rate : 1.0~3.9h⁻¹)으로 변화시키며 연속식으로 전기투석조를 운전하였다.

2. 실 험

2. 1. 실험장치

실험에 사용된 투과셀은 아크릴수지판으로 제작하였으며 Fig. 1에 나타내었다. 모든 실험은 온도를 30℃로 유지하여 수행하였고 투과장치의 각 셀의 부피는 130cm³, 막간의 간격은 3.5cm, 막과 전극간의 거리는 5.5cm, 막의 유효면적은 10.2cm², 셀의 바닥은 평평하게 제작하였으며, 자력 교반기를 이용하여 500rpm으로 용액을 충분히 교반시켜 막에서의 경막 저항을 감소하고 위치에 따른 농도구배를 제거하였다.

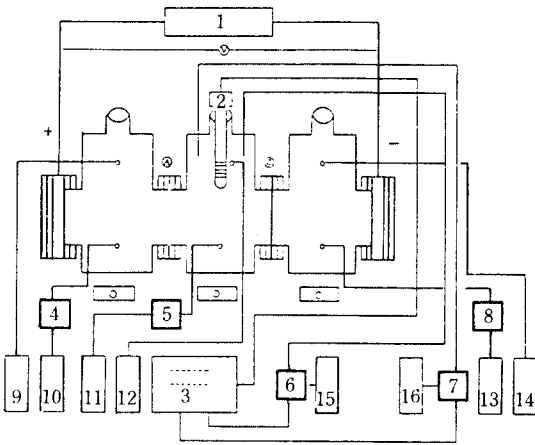


Fig. 1. Schematic flow diagram of experimental apparatus for electrodialysis.

전극액의 유입과 배출에는 미량 정량 펌프를 사용하였으며, Cathode는 Ni-Mesh, Anode는 DSA(Dimensionally Stable Anode)를 사용하였고 전극판의 크기는 각각 10.2cm^2 이었다. 한편, pH controller와 1N HCl, 1N NaOH를 사용하여 pH를 조절하였으며, 한계전류밀도 측정을 위한 막전위(membrane potential) 측정에는 기준전극(reference electrode)으로 Ag/AgCl 전극을 사용하여 digital volt meter(Fluke 8020B)에 연결하여 막전위를 측정하였다.

전류공급은 regulated DC power supply(Tae Han Electronics Co.)를 이용하였으며, 사용가능한 전류범위는 0~3A, 전압범위는 0~30V이었다.

2. 2. 실험방법

실제 아미노산 생산과정인 발효공정과 유사한 계를 선정하기 위하여 단일성분 아미노산 별로 생산균주에 의한 아미노산 생성농도를 적용하고, 발효에 의한 아미노산 제조시 발생되는 불순물인 무기염류를 대표하여 NaCl을 사용하여 Glycine의 경우 Glycine 70g/l 과 NaCl 20g/l 의 용액을 전기투석하였고 methionine은 methionine 25g/l 과 NaCl 20g/l, Alanine은 Alanine 11.8g/l 과 NaCl 20g/l 의 용액을 전기투석하였다[9].

전기투석 실험시 전극액은 0.3N의 NaCl의 용액을 미량 정량펌프를 이용하여 2.8ml/min로 유입 및 배출을 시켰으며, 한계전류밀도를 측정하기 위하여 DC power supply를 이용하여 전류를 변화시켜 공급하였으며, 설치한 X-Y recorder(Yokogawa Type 3078)

로 전류와 전압을 연속적으로 측정하여 전압의 급상승이 일어나는 전류값을 한계전류밀도로 정의하였다[11].

pH에 따른 아미노산의 누설량을 측정하기 위하여 회분식 실험으로 염의 플릭스 실험과 동일한 방법으로 진행하였다. 이때 회분식 실험에서는 염의 제거와 동시에 아미노산 누설의 최소화를 위하여 탈염실의 pH를 아미노산의 등전위점 부근으로 조절하여 실험을 진행하였다. 즉, glycine, methionine, alanine의 등전위점 범위는 5.8~6.1, 5.6~5.9, 5.9~6.15로 하여 pH controller에 setting하였다. 연속식 실험에서 다른 조건은 회분식 실험과 동일하고, feed의 유속에서 glycine 용액은 2.2, 5.2, 8.5 ml/min, methionine 용액은 2.2, 4.4, 8.5 ml/min, alanine 용액은 2.2, 5.6, 8.5 ml/min로 하였다.

시료의 채취는 desalting cell 농도 영향을 고려하여 0.5ml를 채취한 후, 분석에 적합한 범위로 희석하여 Na^+ 는 A.A(AA-845, Nippon Jarell Ash), Cl^- 은 Argentometric method[12]로 분석하였고 아미노산 누설량은 ninhydrine 시약으로 발색시켜 UV(Shimadzu UV-160A)로 분석하였다[13]. 전류밀도는 한계전류밀도보다 낮은 $9\text{mA}/\text{cm}^2$ 를 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. 한계전류밀도

용액과 막의 계는 근접한 부근에 대류혼합이 미치지 않는 경막이 존재함이 일반적으로 인정되고 있으며, 전기투석시 전류밀도가 커짐에 따라 막에 근접한 경막층에서는 전해질의 농도가 낮아져 전해질의 농도가 거의 0이 되는 탈염된 층이 생기게 된다. 이러한 현상은 일반적인 전극반응에서 나타나는 분극현상과 같은 것으로 농도분극현상이라 하며, 전압의 급상승이 일어난다. 이때의 전류밀도를 한계전류밀도[2, 14, 15]라 하며 한계전류밀도를 넘는 전류가 흐르게 되면 전압의 손실이 급증하여 전력손실에 의한 비용이 증가한다. 또한 물의 분열로 인한 용액의 pH 변화에 따른 지장도 있다. 예를 들면 해수를 농축하는 경우에는 해수중의 Mg^{2+} , Ca^{2+} 등이 알칼리성 부분에 석출되어 막면에 스케일을 형성할 뿐만 아니라 막 내부에도 석출되어 막의 성능을 저하시키기도 한다. 그러므로 전기투석조는 한계전류밀도보다 낮은 전류에서 운전되어야 한다[2].

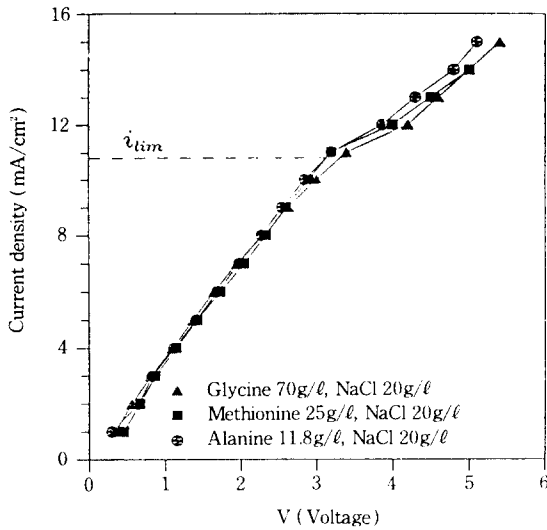


Fig. 2. Experimental current-voltage characteristic of a three compartment cell.

Fig. 2는 본 실험조건에서 전기투석시 전류밀도와 전압간의 관계를 나타낸 것으로써 세 가지 종류의 아미노산 수용액 모두 거의 비슷하게 11mA/cm²에서 전압이 급상승하였으므로 이 값이 본 실험의 조건에서의 한계전류밀도임을 알 수 있었다. 그러므로 모든 실험은 한계전류밀도보다 낮은 9mA/cm²의 전류밀도에서 실험을 행하였다.

3. 2. pH에 따른 아미노산 누설량의 변화

아미노산은 pH가 변함에 따라 전하의 부호가 달라지는 양극성으로 낮은 pH에서 전하가 +, 높은 pH에서는 -가 되며 등전위점(isoelectric point)이라고 부르는 어떤 중간 pH에서 쌍극성되어 하전량이 0이 된다. 그러므로 등전위점(isoelectric point)하에서의 전기투석은 아미노산의 투과가 가장 적고 수용액상의 무기염류의 탈염에 가장 유리하다[2, 4, 7, 8]

Fig. 3은 pH에 따른 아미노산의 누설량을 살펴본 것으로 세 가지 아미노산 수용액 모두 pH 6 부근에서 아미노산의 누설량이 최소를 나타내었으며, 이 pH에서 벗어날수록 누설량은 증가하였고, pH 3 부근에서도 아미노산별로 조금씩 차이는 있지만 16~30%의 누설량을 나타냈다. 이러한 결과는 각 아미노산의 등전위점(glycine : 5.8~6.1, methionine : 5.6~5.9, alaine : 5.9~6.15)과 비교하면 거의 일치된다는 사실을 알 수 있었다.

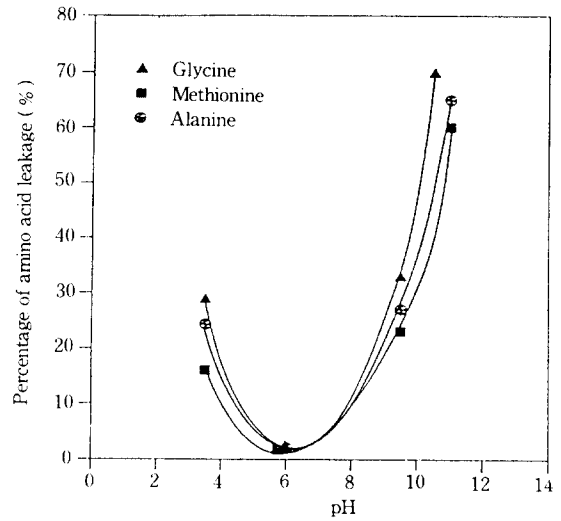


Fig. 3. Effect pH on amino acid solution.

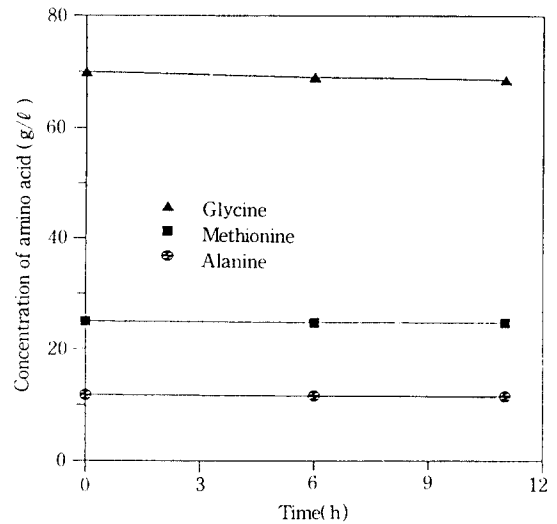


Fig. 4. Change of amino acid concentration during the operating time in batch system.(setting pH range : glycine solution 5.8~6.1, methionine solution 5.6~5.9, alanine solution 5.9~6.15).

Fig. 4는 glycine, methionine, alanine의 등전위점 부근으로 pH를 조절하여 전기투석 경과시간에 대한 아미노산의 농도변화를 나타내고 있다. glycine은 2.5%, methionine은 1.7%, alanine은 2.0%의 설정도를 보이는 바, 이는 아미노산의 등전위점에서는 하

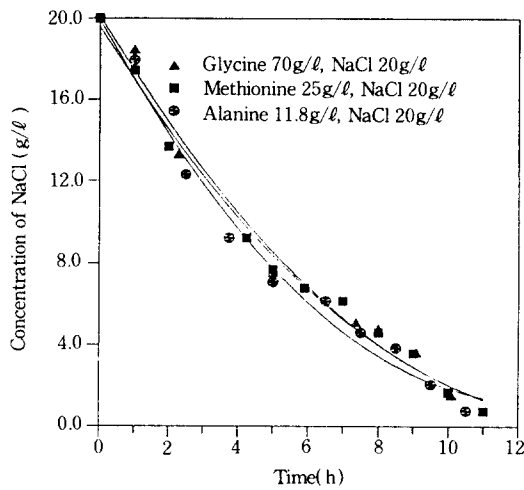


Fig. 5. Change of NaCl concentration on the operating time in batch system.

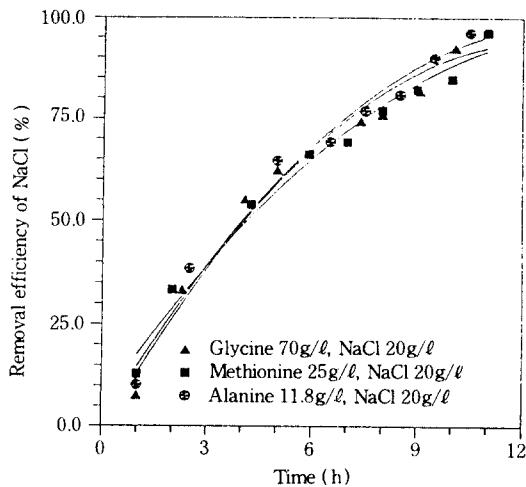


Fig. 6. Removal efficiency of NaCl during the operating time in batch system.

전이 0이 되어 투과가 최소로 됨으로써 주로 탈염만이 이루어졌음을 알 수 있다. 일부 소량의 손실은 장시간 운전 때 따른 pH의 부분적인 이탈거동에 의한 누설로 사료된다.

한편, 연속식 실험인 경우에는 각 아미노산 수용액에 대하여, 유속별로 30분 간격으로 150분까지 채취한 사료를 대상으로 아미노산의 농도를 측정하여 결과 누설량은 거의 없었다. 이 결과로부터 등전위점

(isoelectric point)에서 아미노산 수용액을 전기투석 시 아미노산의 누설량을 거의 무시할 수 있으며 수용액상의 무기염류만이 탈염된다고 할 수 있다. 그러므로 실제로 아미노산 수용액중의 무기염류의 제거시 전기투석의 방법을 이용하면 아미노산의 누설문제는 해결될 수 있다고 사료된다.

3. 3. NaCl의 배제율

회분식 실험인 경우에는 Fig. 5와 같이 진행시간에 따라 NaCl의 농도가 감소하였다. 이는 Na^+ 와 Cl^- 이 구동력인 전위차에 의해 양이온교환막과 음이온교환막을 통해 탈염실의 전극실로 이동하였음을 확인할 수 있었다. 또한 11시간 부근에서 NaCl의 농도는 아미노산 수용액별로 0.75~0.77g/l 까지 낮아짐을 알 수 있었다.

Fig. 6은 경과시간에 대한 NaCl의 제거효율을 나타내는 것으로 아미노산 수용액별로 11시간까지의 제거율은 96.1~96.3% 정도로 나타났다. 한편 NaCl이 탈염실에서 이온교환막을 통해 농축실인 전극실로 빠져나감에 따라 탈염실은 점차 Na^+ , Cl^- 의 이온의 수가 감소하므로 수용액의 전기전도도가 낮아지게 되어 일정한 전류에 대하여 전압은 전기투석 시작 3시간 정도에서 증가하여 7시간 이후부터는 급격히 상승하였다.

연속식 실험인 경우에 glycine, methionine, alanine 수용액 중에 함유된 NaCl의 시간에 대한 유속별 농도변화를 살펴 보면 Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9와 같이 120~150분에서 거의 같은 값을 갖게 되어 정상상태에 도달함을 알 수 있었으며, 유속이 클수록 각 아미노산 용액중에 잔류하는 NaCl의 농도가 높았음을 알 수 있었다. Fig. 10은 이때 NaCl의 제거효율을 나타낸 것으로, 아미노산 도입 유속이 작을수록 제거율이 높았음을 나타내고 있다. 본 실험에서 사용한 전기투석조는 막간의 간격이 크고 stack을 하나로만 하였기 때문에 높은 제거율을 얻을 수 없었으나, 여러 stack을 직렬로 연결하고 막간의 간격을 작게 하여 탈염실의 농도를 좀 더 균일하도록 제작한 전기투석조에서는 높은 제거율을 알 수 있을 것으로 생각한다.

3. 4. 전류효율

회분식 실험에서의 전류효율은 아래와 같은 식에서

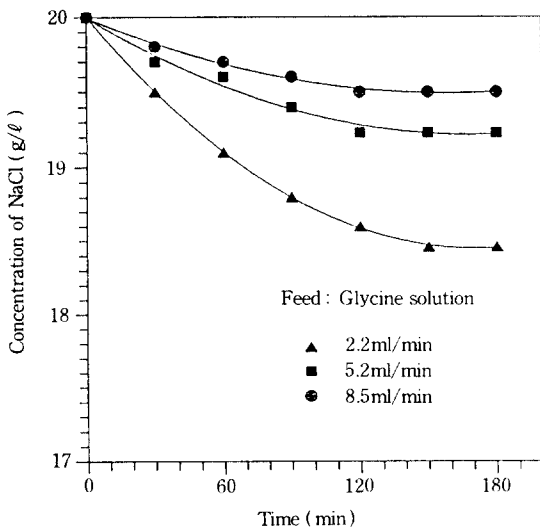


Fig. 7. Change of NaCl concentration in continuous operations(glycine solution).

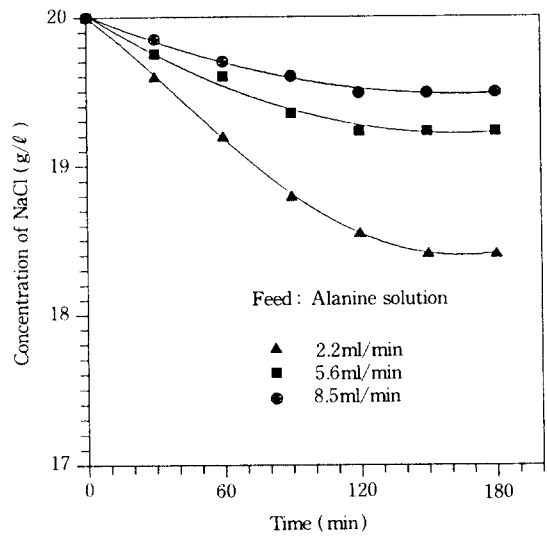


Fig. 9. Change of NaCl concentration in continuous operations(alanine solution).

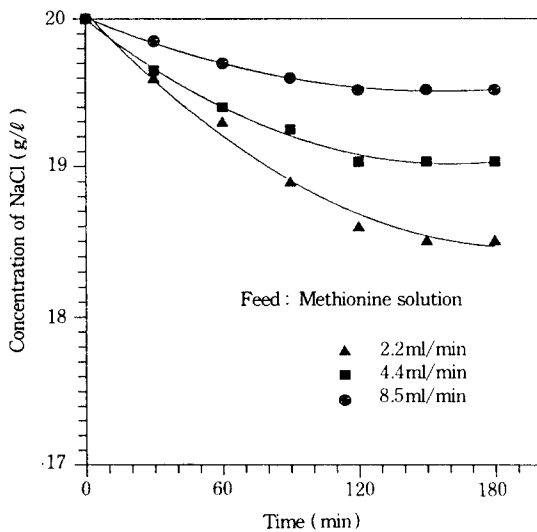


Fig. 8. Change of NaCl concentration in continuous operations(methionine solution).

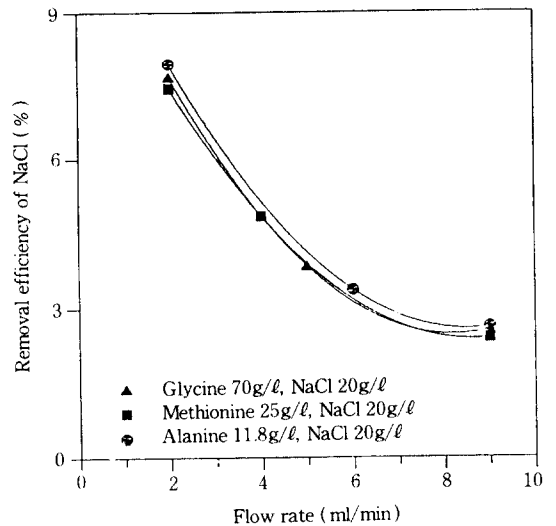


Fig. 10. Removal efficiency of NaCl with changing flow rate in continuous system.

계산하였고

$$\eta_c = \frac{F(C_{in} - C_{out})V}{Nm_i t}$$

연속식의 경우에는 아래의 식으로 전류효율을 구했다.

$$\eta_c = \frac{Q_{in} \cdot F(C_{in} - C_{out})}{Nm_i}$$

여기서

η : Current efficiency

Q : Input Velocity (ml/sec)

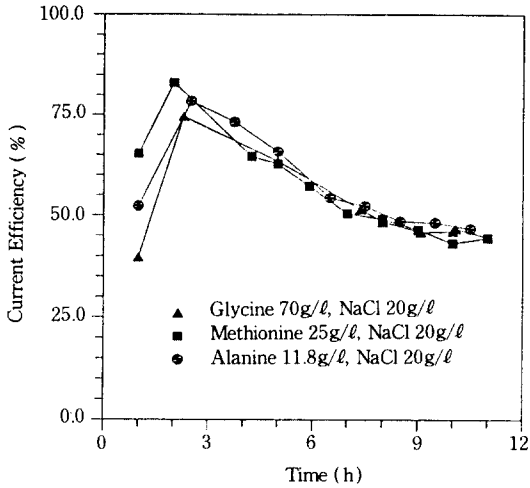


Fig. 11. Current efficiency of amino acid solution in batch system.

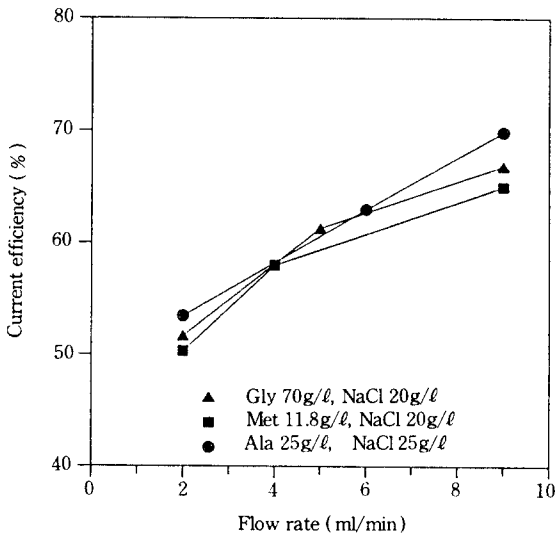


Fig. 12. Current efficiency of amino acid solution with changing flow rate in continuous system.

- F : 96500(Coulomb/equivalence)
- N_m : Number of membrane
- t : Time(h)
- i : Current(mA)
- V : Desalting solution volume(ℓ)
- C_{in} : 아미노산 수용액 중 NaCl의 input 농도 (mol/ ℓ)

C_{out} : 아미노산 수용액 중 NaCl의 output농도 (mol/ ℓ)

Fig. 11은 회분식 실험에서 시간에 따른 전류효율의 변화를 나타낸 것으로 실험초기에는 전류효율이 34~65%이었으나 2~3시간이 지난 후에는 비교적 높은 70~85%, 11시간에서는 약 44~45%의 전류효율을 나타냈다. 이는 초기에는 정상상태에 이르지 못하다가 시간이 지나감에 따라 정상상태에 이르게 되어 전류효율이 증가되다가 탈염의 정도가 심해짐에 따라 전해질이 감소되어 아미노산 수용액의 전기전도도가 낮아지게 되어 전류효율이 떨어지게 된다고 설명할 수 있다.

Fig. 12는 연속식 실험에서 아미노산 수용액의 유속과 전류효율간의 관계를 나타낸 것으로서 전류효율은 50~70% 정도이었다. 만약 양이온교환막과 음이온교환막에서 이온 거동이 이상적이라면 전류효율은 100%이지만, 실제의 전기투석조에서는 전기삼투와 삼투에 의한 물의 이동, 전해질의 확산에 따른 탈염량의 증가, 액의 누설, 누설전류에 의해서 저하되게 된다.

한편 유속의 증가에 따라 세 가지 아미노산 수용액 모두 전류효율이 증가되었다. 이는 유속이 커질수록 탈염실의 액-막간 경계의 확산경막의 두께를 감소시킬 수 있으며, 높은 유속에서는 전해질인 염의 농도가 높아 이로 인해 전기전도도가 높았기 때문으로 사료된다.

4. 결 론

전기투석법을 이용한 아미노산 수용액 중 무기염의 분리정제에 관한 회분식, 연속식 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 회분식 장치에서 아미노산 용액별로 11시간 동안 전기투석실험을 한 결과 염의 제거율은 96.1~96.2%이었고 연속식 장치에서 시간에 대해 각 아미노산 수용액의 유속을 달리한 실험에서 120~150분 사이에 정상상태에 도달하였다. 염의 제거율은 아미노산의 도입유속이 증가할수록 감소하였는 바, 2.2ml/min일 때 7.5~8.0%, 4.4ml/min일 때 4.9%, 5.2~5.6ml/min일 때 3.4~3.9%, 8.5ml/min일 때 2.4~2.6%이었다.

2) 아미노산의 손실률은 회분식일 경우에는 각각

glycine 2.5%, methionine 1.7%, alanine 2.0%로 분석된 바, 이는 아미노산이 등전위점에서는 하전이 0이 되어 투과가 최소로 되었으며 주로 탈염만이 진행되었음을 알 수 있었다. 반면에, 연속식 장치인 경우에는 아미노산의 누설은 거의 없었다.

3) 전류효율은 회분실험의 경우 각 아미노산 용액 별로 2~3시간에서 74.5~84.1%이었고, 11시간에서는 44.5~44.6%이었으며 연속식 실험인 경우에는 전류효율은 50~70%로서 유속이 증가할수록 증가하였다.

감 사

본 연구는 생물공정연구센터의 연구비 지원에 의해 수행된 결과로서, 연구비를 지원해 주신 생물공정연구센터에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. 배우, "산업 미생물학", 민음사, 서울 (1992).
2. 八幡屋 正: "이온교환막", 共立出版株式會社, 東京 (1982).
3. T. Kanoto and Y. Lzumi, "Synthetic Production and Utilization of Amino Acid", Kodansha Scientific Books (1974).
4. アミノ酸・核酸集談會 編: "アミノ酸 酸酵 總論 (上)", 公立出版株式會社, 東京 (1972).
5. 유주현, "발효공학", 開門社, 서울 (1986).
6. H. Itoch and M. P. Thien, *Biotech. and Bioeng.*, **35**, 853 (1990).
7. 최삼남, "유기화학", 光林社, 서울 (1985).
8. 野村男次 監修, "食品工業 と 膜利用", 辛書房, 東京 (1986).
9. J. A. Dean, "Lange' Hand Book of Chemistry", 13th ed., McGraw-Hill, New York (1985).
10. 이병철, "이온교환막에서의 전해질용액의 이동", 연세대학교 대학원 박사학위 논문, 연세대학교 대학원, 서울 (1987).
11. Ting-Chia Hwang and I-YouYu, *Journal of Membrane Science*, **35** (1988).
12. 小坂勇次郎, 清水博, "이온교환막", 共立出版, 東京 (1963).
13. 연세대학교 식품공학과 편저, "식품공학 실험", 탐구당, 서울 (1984).
14. R. Yamane, T. Sata, Y. Mizutani, and Y. Onoue, *Bull Chem. Soc., Japan*, **42**, 2741 (1969).
15. 中垣正幸, "膜學實驗法", 喜多見書房, 東京 (1984).
16. Friedrich Helfferich, "Ion Exchange", McGraw-Hill Book Company Inc., New York (1962).