

## 이성분계 단백질 혼합물의 미세막 분리공정에서 막오염에 관한 연구

인병훈 · 문동주<sup>†</sup> · 유계상 · Chia Chi Ho<sup>\*†</sup>

한국과학기술연구원 반응매체연구센터

136-791 서울시 성북구 하월곡동 39-1

\*신시내티대학교 화학재료공학과

미국 오하이오주 신시내티시

(2004년 8월 10일 접수, 2005년 1월 13일 채택)

### Fouling Study with Binary Protein Mixtures in Microfiltration

Byung Hun Ahn, Dong Ju Moon<sup>†</sup>, Kye Sang Yoo and Chia Chi Ho<sup>\*†</sup>

Reaction Media Research Center, Korea Institute of Science & Technology, 39-1, Hawolgok-dong, Seongbuk-gu, Seoul 136-791, Korea

\*Department of Chemical & Materials Engineering, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio 45221, U.S.A

(Received 10 August 2004; accepted 13 January 2005)

#### 요 약

대표적인 단백질 물질인 bovine serum albumin(BSA), lysozyme, pepsin, casein 그리고 ovalbumin의 이성분계 단백질 혼합물의 미세 분리 막에서 보이는 막 오염 현상에 관한 실험을 고찰하였다. 트랙 에치법에 의해 제조된 0.2  $\mu\text{m}$  폴리카보네이트 미세 막을 이용하여 단백질 혼합물 용액의 조성과 종류가 여과유량감속에 미치는 영향에 대한 실험을 일정한 압력(14 kPa)과 수소이온농도(pH=11) 하에서 수행하였다. 각각의 이성분 단백질 혼합물에 대한 막오염 현상을 확인하였으며, 유량 감속 데이터는 최근에 개발된 pore blockage-cake formation 모델을 이용하여 분석한 결과, 실험 결과와 일치하였다. 이성분계 단백질 혼합물의 조성과 단백질 종류가 막오염 및 유속변화에 미치는 영향은 공극막힘속도( $\alpha$ ), 단백질 침적층의 초기 저항( $R_{po}$ ) 및 단백질 저항의 증가속도( $\beta$ )에 의해 설명 할 수 있었다. 대체로 공극막힘속도의 변화는 유속감소현상과 일치함을 알 수 있으며, 특히 casein이 존재하는 단백질 혼합물에서의 급격한 유량감속은 casein에 의한 단백질 침적층의 초기저항에 크게 기인된 것으로 판단된다.

**Abstract** – Membrane fouling by protein mixtures during microfiltration has been investigated for binary mixtures of bovine serum albumin (BSA), casein, lysozyme, pepsin, and ovalbumin. Filtration experiments were carried out using 0.2  $\mu\text{m}$  polycarbonate track-etched (PCTE) membrane in a stirred cell under constant transmembrane pressure (14 kPa) and concentration of hydrogen ion (pH=11) to study the effect of mixture composition on filtrate flux decline. Flux decline data were analyzed using a pore blockage-cake formation model developed recently. It was found that the model is in a good agreement with the experimental data. Fouling parameters such as the rate of pore blockage( $\alpha$ ), the initial resistance of the protein deposit ( $R_{po}$ ) and the increasing rate of the protein layer resistance( $\beta$ ) were used to evaluate the rate of filtrate flow by membrane fouling in the binary mixture system. Generally, the trend of  $\alpha$  is comparable with that of filtrate flux decline. It was also found that fast flux decreasing was observed over the binary mixture containing casein. The result is due to high value of the initial resistance of the protein deposit ( $R_{po}$ ) over casein.

Key words: Microfiltration, Protein Mixtures, Blockage-cake Formation Model, Fouling Parameters

#### 1. 서 론

미세 막 분리공정(microfiltration)은 생물, 식품 및 제약 공정 등에서 생성물을 분리정제 하는데 광범위하게 사용되어지는 공정이다. 특히, 단백질과 같이 분자량이 큰 물질의 분리에 주로 사용되고 있다. 그러나 분리막 공정 중에 발생하는 막오염 현상은 유량 감속을 일으키면서 미세 막 분리 공정의 성능을 약화시키는데 주된 요인으로

작용한다[1-4]. 최근에 보고된 연구에 의하면, 단백질 분리에 발생하는 막오염 현상은 단백질의 상호인력에 의해서 형성된 다량의 단백질 집합체가 막표면에 흡착되면서 발생된다고 알려져 있다. Herrero 등[5]에 의하면 초기의 막오염은 단백질의 흡착에 따른 공극 막힘 현상에 기인하고, 이후에 발생하는 막오염 현상은 침적된 단백질 상호간의 인력에 의해 야기된다고 보고하였다. 또한, Martinez 등[6]에 의하면 흡착 현상은 단백질과 막사이의 정전기적 힘들의 함수로서 해석하였다. Huisman 등[7]은 고분자 막을 이용해 막 오염 현상에 대한 단백질과 단백질 그리고 단백질과 막 상호간 인력의 영향을 발표하였다. 연구결

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: djmoon@kist.re.kr

과에 따르면, 단백질과 막 상호간 인력은 막분리의 초기 단계에서 막 오염 현상에 영향을 미치고, 막분리의 나중 단계에서는 단백질간의 상호 인력이 막오염에 영향을 미치는 것으로 보고하였다. 그렇지만, 대부분의 막오염 현상에 관한 연구는 단일 단백질 성분에 대해서만 수행 되었으며, 대부분의 실제공정에서 발생하는 단백질 혼합물에 대한 막오염 현상은 거의 연구되어지지 않았다. 따라서 단백질 혼합물에 대한 막오염 현상에 관한 연구는 실제 공정을 해석하는데 중요하다.

Guell과 Davis[8]는 bovine serum albumin(BSA), lysozyme 그리고 ovalbumin 등으로 구성된 단백질 혼합물들을 이용하여 미세 막분리 공정 중에 발생하는 막 오염 현상을 발표하였다. Ho와 Zydney[9]는 단백질 막분리에서 발생하는 막 오염 현상을 설명하기 위해 BSA 단백질을 이용한 분리막 실험을 수행하였으며, 이를 토대로 하여 공극 막힘과 케이크형성에 관한 모델식을 개발하였다. 또한, Palacio 등 [10]은 개발된 공극 막힘과 케이크형성 이론을 BSA, lysozyme, pepsin, immunoglobulin G 그리고 myoglobin 등의 각각의 단일 성분 단백질에 대한 막오염 현상에 적용한 후, 상기 모델이 실험치와 일치함을 확인하였다. 최근에 본 연구팀은 BSA가 포함된 이성분계 단백질 혼합물의 막 오염 현상에 대한 실험을 수행하여 공극 막힘과 케이크형성에 대한 이론식의 타당성을 확인하였다[11].

본 연구에서는 이성분계 단백질 혼합물들의 막오염 현상을 보다 명확히 고찰하기 위해서 BSA 이외에도, lysozyme, pepsin, casein, 그리고 ovalbumin의 이성분계 단백질 혼합물을 이용한 막분리 실험을 수행 하였다. 이성분계 단백질 혼합물의 농도가 막오염 현상에 미치는 영향을 조사하기 위해서, 여러 가지 농도의 이성분계 단백질 혼합물을 제조한 다음 미세막을 통과하는 유량을 시간에 따라 측정하였다. 실험결과는 pore blockage-cake formation model[9]에 적용하여, 공극막힘속도( $\alpha$ ), 단백질 침적층의 초기 저항( $R_{po}$ ) 및 단백질 저항의 증가속도( $\beta$ )와 같은 오염인자들을 계산하였다. 이 결과를 이용하여 단백질 혼합물의 유량감속이 미세 막분리 공정의 막오염 상수에 미치는 영향을 고찰 하였다.

## 2. 실험

### 2-1. 시약

본 연구에서 사용한 단백질은 Sigma Chemical사(St. Louis, MO)에서 구입한 Albumin(BSA, 순도 98%), Lysozyme(순도 95%), Pepsin(순도 85%), Casein(순도 85%), Ovalbumin(순도 98%) 등을 사용하여 수행하였다. 각각의 단백질에 대한 물리적 성질들을 Table 1에 나타내었다. 수소이온 농도를 조절하는데 사용한 HCl(순도 37%)과 NaOH(순도 97%)는 Aldrich사의 제품을 사용하였다.

### 2-2. 이성분계 단백질 혼합물 제조

NaCl 0.03 M은 고유 저항 18.2 M $\Omega$ cm를 가진 Millipore Biocel

purification system으로부터 얻어진 이온화 되지 않은 정량의 물에 일정량 만큼의 소금을 용해시켜 제조하였다. NaCl용액의 수소 이온 농도는 HCl 혹은 NaOH 등을 이용하여 실험에 필요한 수소 이온 농도(pH=11)로 조절하였다. 모든 소금 용액들은 사용 전에 불순물과 미용해된 물질을 제거하기 위해 0.2  $\mu$ m Gelman Supor-200 막을 이용해 전처리 한 후 사용하였다. 순수 혹은 이성분 단백질 혼합물은 원하는 값의 수소 이온 농도로 조절되면서 NaCl 용액 안에 용해시켜서 준비하였다. 단백질 집합체 형성을 막기 위해 단백질 용해시 교반을 행하지 않았다. 모든 단백질 용액은 각각의 실험 전에 신선하게 제조하였고, 제조 후 8시간 안에 사용하였다.

### 2-3. 미세막 분리 시스템

본 실험에 사용된 미세막 분리 시스템 장치를 Fig. 1에 도시하였다. 막분리 실험은 Amicon사에서 제작한 25 mm 직경의 교반형의 분리 셀(Model 8010)을 사용하였다. 실험에 사용된 막은 Millipore사에서 제조된 0.2  $\mu$ m 폴리카보네이트 트랙 에치(PCTE)된 막을 이용하였다. 투과유속은 전자저울( $\pm 0.00001$  g, Model 1580, Sartorius, Edgewood, NY)을 이용하여 측정하였다.

### 2-4. 단백질 혼합물의 미세막 분리실험

모든 실험의 초기에는 분리 셀(stirred filtration cell)과 용액 조(solution reservoir)에 NaCl 0.03 M 용액을 채우고 정상 상태가 될 때까지 정해진 유량으로 용액을 공급하였다. 이후에 분리셀을 신속히 비운 후, 단백질 용액을 채운 후 같은 종류의 단백질이 담겨진 용액조에 연결하였다. 이 시스템을 공기 압축기(air pressurization)

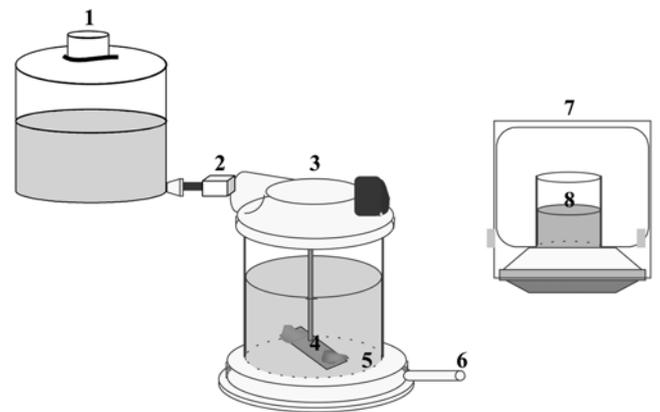


Fig. 1. The schematic diagram of experimental apparatus for micro-filtration system.

- 1. Solution reservoir
- 2. Air pressurization
- 3. Stirred filtration cell
- 4. Stirrer
- 5. Membrane
- 6. Filtrate flux
- 7. Digital balance
- 8. Filtrated sample

Table 1. Physical properties of proteins

| Protein       | Sigma catalog number | Source       | Molecular weight (kDa) | Isoelectric pH (pI) |
|---------------|----------------------|--------------|------------------------|---------------------|
| Albumin (BSA) | A7906                | Bovine serum | 67                     | 4.70                |
| Casein        | C7891                | Bovine milk  | 30                     | 4.10                |
| Lysozyme      | L6876                | Chicken egg  | 14                     | 11.00               |
| Ovalbumin     | A5503                | Chicken egg  | 43                     | 4.54                |
| Pepsin        | P6887                | Pig stomach  | 36                     | 1.00                |

로 가압하고 유량 유속은 막에서 분리된 용액(filtrated sample)의 무게를 이용하여 계산하였다. 분리된 용액의 질량은 전자저울(digital balance)을 이용하여 정해진 시간 간격 내에서 측정하였다. 모든 실험은 상온에서 수행하였으며, 물로 세척하고 정상 상태에서 NaCl 용액의 유속을 재 측정한다. 동일한 조건하에서 단백질 분리 실험을 수행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

분리 막을 이용한 단백질 투과실험에서, 초기에 형성된 단백질 집합체는 막표면에 침적되어서 여과할 수 있는 영역이 줄어든다. 이러한 초기 침적현상은 비록 막의 공극 막힘 현상을 일으키지만, 실제로 부분적인 유체의 흐름은 지속된다. 단백질 집합체들이 막 표면에 점점 더 침적되면서, 단백질 침적에 따른 수력학적 저항의 증가를 일으키고 침적층 위에 직접 침적되기 시작한다. 이것은 전형적인 케이크 형성 이론이고[2], 최근에는 이러한 케이크 성장이 공극 막힘 현상과 동시에 일어난다고 여겨지고 있다[9, 11].

공극 막힘 속도는 막 표면에 침적되는 단백질 용액의 농도( $C_b$ )와 유량 속도( $Q_{open}$ )에 비례한다고 가정할 수 있고, 비례상수는 단백질에 의한 막의 공극 막힘 인자로 여겨진다.

$$\frac{dA_{open}}{dt} = -\alpha Q_{open} C_b \quad (1)$$

기존에 알려진 pore blockage model[5]과 달리 본 연구에 사용된 모델은 단백질 집합체들을 통한 유체의 흐름이 어느 정도 존재한다고 판단된, 침적된 단백질 층에 의한 유속저항은 다음과 같다.

$$\frac{dR_p}{dt} = f'R'J_{blocked}C_b \quad (2)$$

여기서  $f'$ 는 침적층 성장에 기여하는 단백질의 분율,  $R$ 는 막에 대한 단백질의 고유저항이고,  $J_{blocked}$ 은 막 각각의 부분을 통해서 투과된 플럭스이며 다음과 같이 표현된다.

$$J_{blocked} = \frac{\Delta P}{\mu(R_m + R_p)} \quad (3)$$

식 (3)을 이용하여 식 (2)를 정리하면 다음과 같다.

$$R_p = (R_m + R_{po}) \sqrt{1 + \frac{2f'R'\Delta PC_b}{\mu(R_m + R_{po})^2}(t - t_p)} - R_m \quad (4)$$

여기서  $R_{po}$ 는 단백질 침적층의 초기 저항이고,  $R_m$ 은 오염되지 않은 막의 저항 값이다. 위와 같은 물리적인 특성을 고려하여 구해진 pore blockage-cake formation식은 단백질 집합체에 의하여 오염된 기공을 통한 총 부피유속을 다음과 같이 표현할 수 있다.

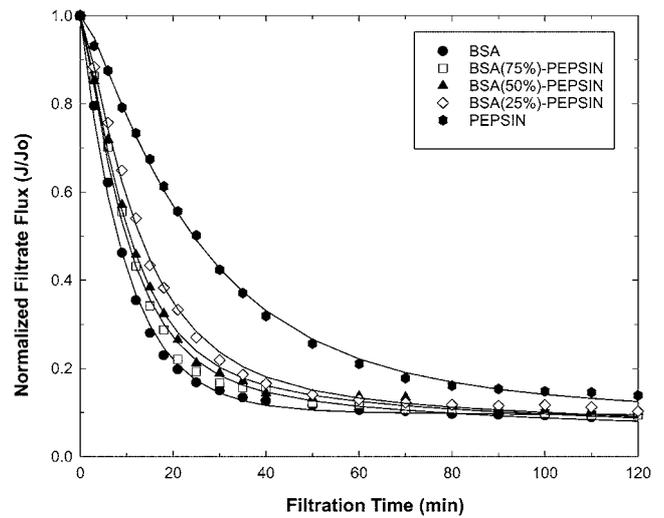


Fig. 2. Normalized filtrate flux( $J/J_0$ ) as a function of time for pure BSA and pepsin and some mixtures. The used mixtures are characterized by its BSA %(M/M).

$$Q = Q_0 \left[ \exp\left(\frac{-\alpha \Delta PC_{bt}}{\mu R_m}\right) + \frac{R_m}{R_m + R_p} \left(1 - \exp\left(\frac{-\alpha \Delta PC_{bt}}{\mu R_m}\right)\right) \right] \quad (5)$$

이와 같이 본 연구에서 사용된 모델에서 유량 감속은 공극 막힘 속도( $\alpha$ ), 단백질 침적층의 초기 저항( $R_{po}$ ) 그리고 시간에 따른 단백질 층 저항의 증가 속도( $\beta=f'R'$ ) 등에 의해 결정된다. 단백질 혼합물에 대한 최적화된 세 가지 인자들의 값은 실험 데이터와 이론식 사이의 값을 실험 데이터로 나눈 후 제곱 오차들의 합을 최소화시켜 얻었다.

다양한 분자 조성비를 가진 BSA와 pepsin 혼합물을 가지고 투과 시간에 따른 유량유속을 측정하였다. 순수한 BSA와 pepsin 그리고 BSA가 각각 25, 50 그리고 75% (M/M)인 혼합물에 대한 막오염 현상은 Fig. 2에 나타내었다. 이들 혼합물 중에서, 순수한 BSA 용액에서 가장 큰 유속감속을 보였으며, pepsin 용액을 첨가할수록 유량 감속속도가 줄어드는 현상이 관찰되었다. Fig. 2에서 실선은 이론식에 의한 추정치이며, Ho와 Zydney[9]에 의해 전개된 pore blockage-cake formation 이론식이 사용되었다. 특히, 이 모델에서 세 가지의 오염 현상 인자를 구할 수 있는데 이를 통해서 막오염에 의한 유속 변화를 해석할 수 있다. 세 가지 인자는 중에서,  $\alpha$ 는 공극 막힘 속도를 나타내고,  $\beta$ 는 시간에 따른 단백질 침적층의 저항 증가 속도를 나타내며,  $R_{po}$ 는 단백질 침적층의 초기 저항과 관련된다. 인자값들은 각각의 단백질에 대해 모델 값과 실험 데이터 사이의 최소 오차 제곱의 합을 극소화시켜 얻었다. 이 모델을 이용해서 구해진 이론값은 전체적으로 실험결과와 일치함을 관찰하였다. 각각의 단백질 혼합물에 대한 세 가지 오염 현상 인자들이 Table 2에 요약하였다.

Table 2. Fouling parameters for BSA-pepsin mixtures

| Protein mixtures | $\alpha(m^2kg^{-1})$ | $\beta(m kg^{-1} \times 10^{12})$ | $P_{po}(m^{-1} \times 10^{10})$ | $J_0(g s^{-1})$ | $(J/J_0)_{s,s}$ |
|------------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| BSA              | 12.32                | 0.49                              | 43.30                           | 0.1127          | 0.0949          |
| BSA(75%)-PEP     | 13.24                | 3.42                              | 0.00                            | 0.1206          | 0.0938          |
| BSA(50%)-PEP     | 13.14                | 3.02                              | 0.00                            | 0.1169          | 0.1010          |
| BSA(25%)-PEP     | 10.72                | 2.96                              | 0.00                            | 0.1138          | 0.1024          |
| PEP              | 6.05                 | 1.51                              | 0.00                            | 0.1135          | 0.1385          |

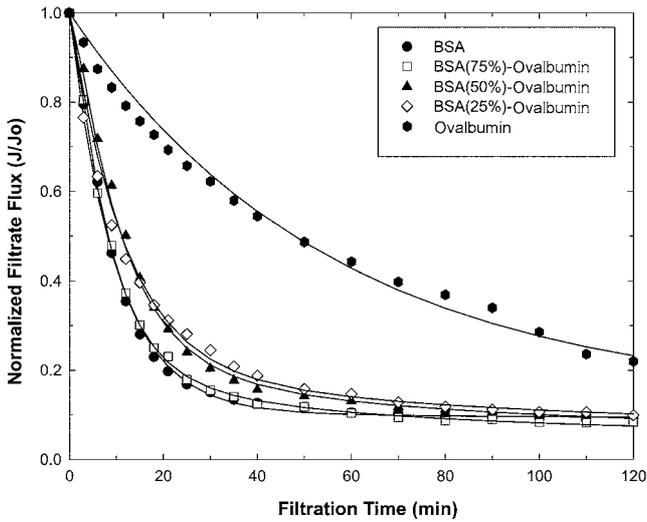


Fig. 3. Normalized filtrate flux( $J/J_0$ ) as a function of time for pure BSA and ovalbumin and some mixtures. The used mixtures are characterized by its BSA %(M/M).

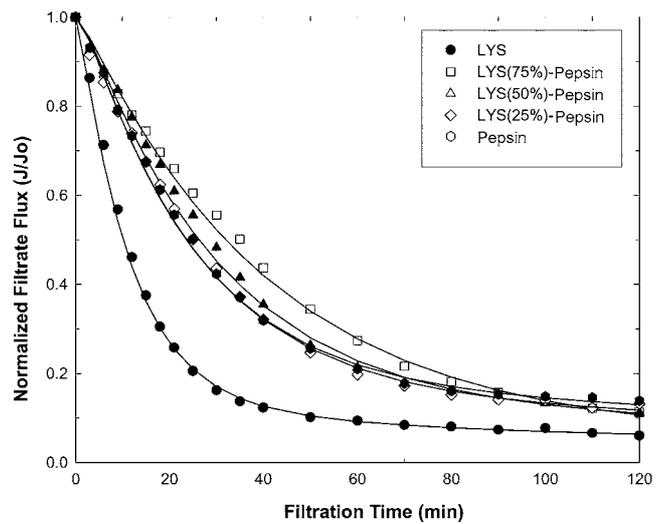


Fig. 4. Normalized filtrate flux( $J/J_0$ ) as a function of time for pure lysozyme and pepsin and some mixtures. The used mixtures are characterized by its LYS %(M/M).

이에 따르면, 사용된 혼합물에서 pepsin의 양이 증가할 수록  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 값이 줄어들었고, 이는 Fig. 2에 나타난 실험결과와 경향이 일치됨을 확인하였다. 단 순수 BSA경우에서는 두 인자의 값이 상대적으로 적었지만, 빠른 유속 감속을 보였다. 이는 Table 2에 나타난 것처럼 단백질 침적층의 초기 저항( $R_{po}$ )값이 상대적으로 크기 때문이다. 실제로 Palacio 등[10]의 실험결과에 따르면, BSA와 pepsin 혼합물의 막분리 공정에서 초기 퇴적 현상은 BSA에 의해 영향 받으며, pepsin은 케이크 성장 속도에 관련된다고 발표한 바 있다. 이는 본 연구에서 나타난 막오염 인자의 경향이 실제 막오염 현상과 동일한 경향을 나타내는 것으로 판단된다.

BSA-ovalbumin 혼합물을 이용한 막분리 공정에서의 유량유속의 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 이 경우 ovalbumin의 양이 증가할 수록 막오염에 의한 유량감속의 폭이 줄어들었고, 이와 같은 경향은 BSA-pepsin 혼합물의 경우와 유사함을 알 수 있었다. Table 3에 나타난 BSA-ovalbumin 혼합물의 오염현상 인자들의 경우도 BSA-pepsin 혼합물의 경우와 같은 경향을 나타내었다. 이는 본 연구의 실험조건하에서 BSA와 혼합한 pepsin과 ovalbumin의 물리화학적 성질이

유사함에 기인한다. Table 1에서 나타난 두 물질의 물리화학적 성질을 살펴보면 이 같은 점을 발견할 수 있다. 우선, 막분리에 영향을 미치는 요인 중에 하나인 분자량의 경우 두 단백질이 유사하고, isoelectric pH의 차이도 본 실험조건하(pH=11)에서는 큰 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있다. 그러나 pepsin의 경우와 달리 ovalbumin이 포함된 혼합물의 경우에, ovalbumin의 농도가 높은 경우 초기 저항 값은 높게 나타났다. 실제로 ovalbumin의 비율이 75%인 혼합물인 경우 50%인 혼합물보다 초기에는 빠른 유속감속을 관찰할 수 있었는데, 이는 본 연구에서 구해진 오염인자가 실제 현상을 잘 설명하고 있음을 알 수 있다.

Lysozyme-pepsin 혼합물에 대한 유속감속 현상은 Fig. 4에 제시하였고, 위의 두 경우와는 다른 경향을 나타내었다. 순수 단백질인 lysozyme에 의한 유량감속이 혼합물에 의한 감속보다 더 크게 나타났다. 실제로 순수 단백질에서 얻어진 공극막힘속도( $\alpha$ )가 혼합물의 경우보다 높게 얻어졌으며(Table 4 참조), 이는 초기 저항( $R_{po}$ )이 없는 lysozyme-pepsin 혼합물에서 유량감소의 직접적인 원인으로 작용하였다. 하지만 순수 pepsin의 경우에는 높은 공극막힘속도에도

Table 3. Fouling parameters for BSA-ovalbumin mixtures

| Protein mixtures | $\alpha(m^2 kg^{-1})$ | $\beta(m kg^{-1} \times 10^{12})$ | $R_{po}(m^{-1} \times 10^{10})$ | $J_0(g s^{-1})$ | $(J/J_0)_{s,s}$ |
|------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| BSA              | 12.32                 | 0.49                              | 43.30                           | 0.1127          | 0.0949          |
| BSA(75%)-OVA     | 18.12                 | 4.93                              | 0.00                            | 0.1077          | 0.0839          |
| BSA(50%)-OVA     | 14.25                 | 3.35                              | 0.00                            | 0.1060          | 0.0980          |
| BSA(25%)-OVA     | 12.58                 | 2.54                              | 11.30                           | 0.1047          | 0.0992          |
| OVA              | 2.27                  | 0.39                              | 23.40                           | 0.1138          | 0.2197          |

Table 4. Fouling parameters for lysozyme-pepsin mixtures

| Protein mixtures | $\alpha(m^2 kg^{-1})$ | $\beta(m kg^{-1} \times 10^{12})$ | $R_{po}(m^{-1} \times 10^{10})$ | $J_0(g s^{-1})$ | $(J/J_0)_{s,s}$ |
|------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| LYS              | 11.03                 | 6.65                              | 0.00                            | 0.1143          | 0.0604          |
| LYS(75%)-PEP     | 3.06                  | 4.51                              | 0.00                            | 0.1204          | 0.1124          |
| LYS(50%)-PEP     | 4.42                  | 2.22                              | 0.00                            | 0.1185          | 0.1118          |
| LYS(25%)-PEP     | 5.54                  | 1.85                              | 0.00                            | 0.1149          | 0.1300          |
| PEP              | 6.05                  | 1.51                              | 0.00                            | 0.1135          | 0.1385          |

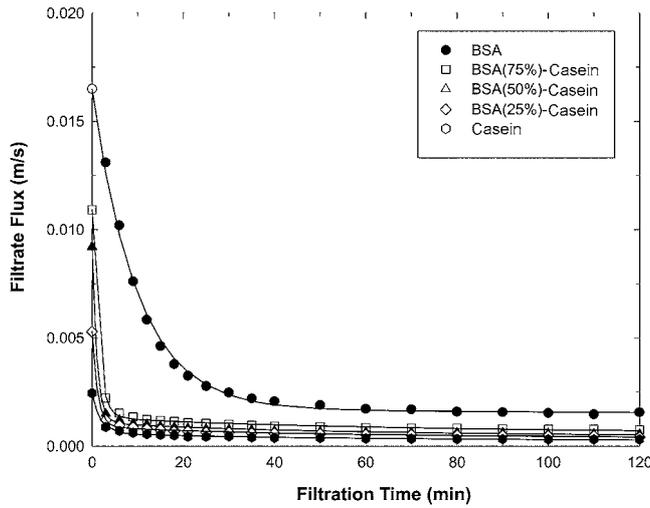


Fig. 5. Filtrate flux (J) as a function of time for pure BSA and casein and some mixtures. The used mixtures are characterized by its BSA %(M/M).

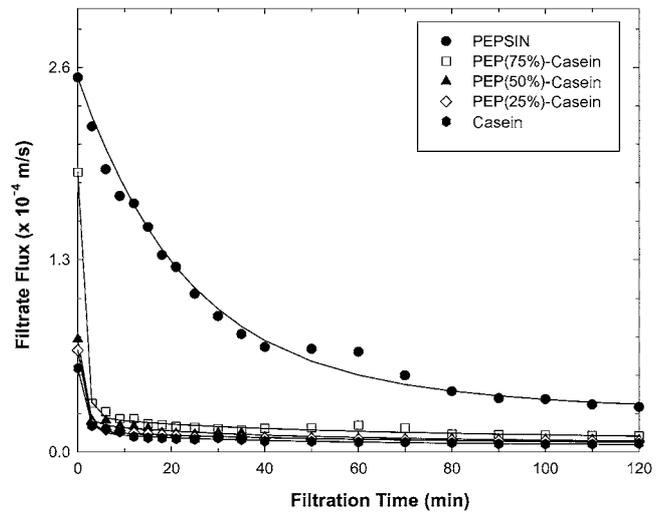


Fig. 6. Filtrate flux (J) as a function of time for pure Pepsin and Casein and some mixtures. The used mixtures are characterized by its PEP %(M/M).

불구하고 낮은 유량감속이 관찰되었다. 이는 일반적으로 다른 혼합물의 경우 공극막힘속도( $\alpha$ )와 단백질 저항의 증가속도( $\beta$ ) 값의 변화가 일정한 경향을 보인 반면, lysozyme-pepsin의 혼합물의 경우에는 예외적으로 순수한 pepsin의 단백질 저항의 증가속도( $\beta$ )가 높은 공극막힘속도( $\alpha$ )에도 불구하고 낮게 측정되었다. 따라서 이 순수한 pepsin의 경우에 상대적으로 낮은 단백질 저항의 증가속도( $\beta$ )의 영향으로 낮은 유속감속을 나타내었다. 전체적으로는 lysozyme-pepsin 혼합물의 경우 BSA가 포함된 혼합물에 비해 낮은 유량감속을 보였으며, 이는 BSA의 높은 초기 저항값 때문에 빠른 막오염이 일어난다고 볼 수 있다. 실제로 순수한 단백질의 이용한 palacio 등 [10]의 실험에서도 BSA의 초기저항값이 lysozyme보다 20배정도 크게 측정되었다.

BSA-casein 혼합물에 대한 유량변화는 여과시간의 함수로서 Fig. 5에 나타내었다. 혼합물에서 casein 분자의 조성비가 높을수록 더 빠른 유량 감속을 보였다. 초기 유량 유속은 casein 조성비가 증가할수록 감소했고, 그 감소속도는 다른 단백질에 비해서 매우 빨랐

다. Table 5에 나타낸 casein의 초기 저항값이 매우 높은 것을 확인할 수 있었고, 이것은 PCTE 막 표면 혹은 내부 벽에 casein의 흡착 현상이 초기에 빠른 시간 내에 일어난 것에 기인된다. 따라서 단백질 침적층의 초기 저항은 막투과 유속에 커다란 영향을 미치는 것을 알 수 있고, 이는 BSA가 포함된 혼합물의 경우에서도 동일하게 관찰되었다. Pepsin-casein 혼합물에 대한 유량감속은 Fig. 6에서 보인 바와 같이 casein의 농도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다. 주어진 조건에서 유량 유속은 3분 여과 시간 내에 매우 빨리 감속했고, 이는 BSA-casein 혼합물의 경우와 같이 casein이 전체 유량 감속 경향에 직접적으로 영향을 미친다는 것을 뒷받침한다. 또한, BSA-casein 혼합물이 대한 오염 상수들을 Table 6에 요약하였으며, 구해진 상수들은 BSA-casein의 경우와 유사한 경향을 나타내었다. casein이 포함된 단백질 혼합물의 경우에도 실험에서 구해진 유량 감속 거동과 이론 추정치가 일치함을 확인할 수 있었다.

또한 각 혼합물에서 혼합조성에 따른 공극막힘속도( $\alpha$ ) 상수의 변화는 실제 실험에서 나타난 유속감소의 경향과 거의 일치함을 보였

Table 5. Fouling parameters for BSA-casein mixtures

| Protein mixtures | $\alpha(m^2 kg^{-1})$ | $\beta(m kg^{-1} \times 10^{12})$ | $R_{po}(m^{-1} \times 10^{10})$ | $J_0(g s^{-1})$ | $(J/J_0)_{s,s}$ |
|------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| BSA              | 12.32                 | 0.49                              | 43.30                           | 0.1127          | 0.0949          |
| BSA(75%)-CAS     | 138.42                | 9.71                              | 53.40                           | 0.0946          | 0.0008          |
| BSA(50%)-CAS     | 307.17                | 19.40                             | 65.70                           | 0.1029          | 0.0006          |
| BSA(25%)-CAS     | 314.90                | 29.60                             | 75.10                           | 0.0961          | 0.0004          |
| CAS              | 400.81                | 66.10                             | 98.40                           | 0.1067          | 0.0003          |

Table 6. Fouling parameters for pepsin-casein mixtures

| Protein mixtures | $\alpha(m^2 kg^{-1})$ | $\beta(m kg^{-1} \times 10^{12})$ | $R_{po}(m^{-1} \times 10^{10})$ | $J_0(g s^{-1})$ | $(J/J_0)_{s,s}$ |
|------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| PEP              | 6.05                  | 1.51                              | 0.00                            | 0.1135          | 0.1385          |
| PEP(75%)-CAS     | 163.28                | 13.10                             | 48.70                           | 0.1123          | 0.0001          |
| PEP(50%)-CAS     | 248.00                | 30.30                             | 48.30                           | 0.0987          | 0.00008         |
| PEP(25%)-CAS     | 369.21                | 33.60                             | 74.60                           | 0.1013          | 0.00007         |
| CAS              | 400.81                | 66.10                             | 98.40                           | 0.0978          | 0.00006         |

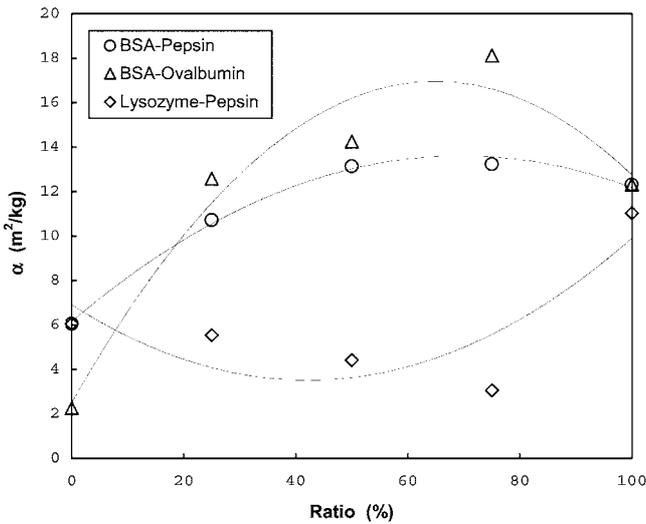


Fig. 7. Parameter of the fouling model,  $\alpha$ , for pure BSA, pepsin, lysozyme and ovalbumin and some mixtures.

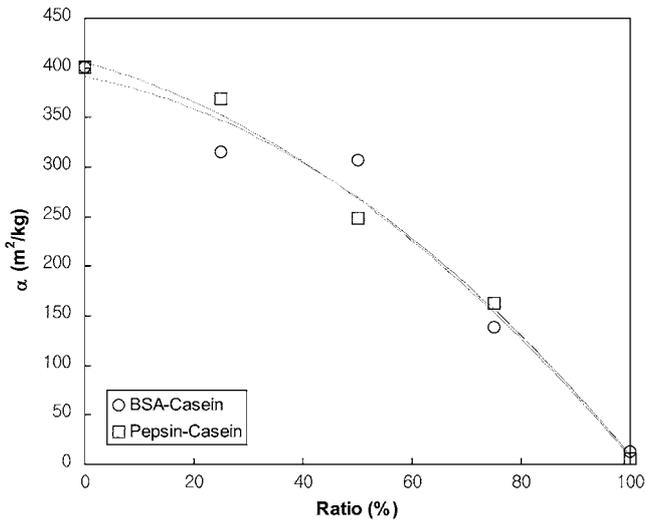


Fig. 8. Parameter of the fouling model,  $\alpha$ , for pure BSA, pepsin and casein and some mixtures.

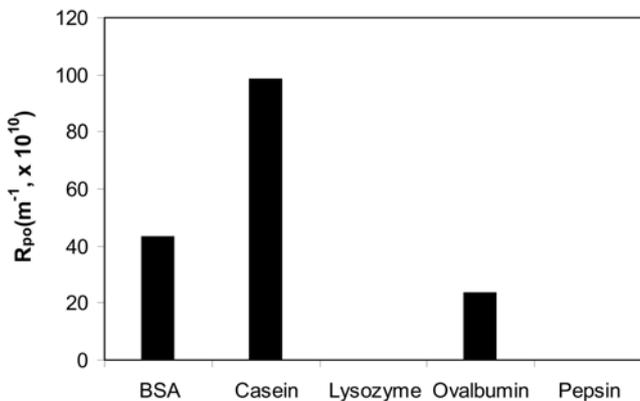


Fig. 9. Parameter of the fouling model,  $R_{po}$ , for pure proteins.

다. Fig. 7에 도시된 바와 같이, 각각의 BSA-pepsin과 BSA-ovalbumin 혼합물의 경우, 순수한 단백질의 공극막힘속도상수가 혼합물의 경

우보다 적어지는 경향을 보였다. 하지만, lysozyme-pepsin 혼합물의 경우에는 앞선 두 경우와 반대의 경향을 보임이 확인 되었다. 또한, Fig. 8에서 도시된 결과와 같이, casein이 포함된 두 가지 단백질에서 casein의 농도가 증가할수록 공극막힘속도 상수가 증가함이 관찰되었다. 단백질층 저항의 증가속도( $\beta$ ) 변화는 공극막힘속도( $\alpha$ ) 상수의 변화와 유사한 경향을 나타내었다. 하지만 다른 오염인에 비해 상대적으로 유속감소에는 커다란 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 각각의 단백질에 대한 단백질 침적층의 초기 저항( $R_{po}$ )을 Fig. 9에 도시하였다. casein인 경우 다른 단백질에 비하여 매우 높은 값을 나타내었으며 lysozyme과 pepsin의 경우에는 거의 관찰되지 않았다. 이와 같이, 여러 가지 이성분계 혼합물의 유량감소 현상은 단백질 침적층의 초기 저항( $R_{po}$ )에 따라 크게 영향을 미쳤다. 본 연구에서 구해진 결과는 실제 단백질을 분리하는 막분리 공정을 해석하고 최적의 공정을 설계하는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

#### 4. 결 론

이성분계 단백질 혼합물의 미세 막오염에 미치는 영향을 조사하기 위해서, 다양한 조성의 단백질 혼합물에 대한 미세막 분리 실험을 수행하였으며, pore blockage-cake formation 모델을 이용하여 오염현상 인자들을 고찰하였다. BSA-pepsin과 BSA-ovalbumin 혼합물의 경우 매우 유사한 유속감속 현상을 보였으며, 특히 BSA의 함량이 증가할수록 감속현상이 증가하는 것은 BSA의 높은 초기저항에 기인되는 것으로 판단된다. Lysozyme-pepsin의 경우 순수한 단백질보다 혼합물에서 낮은 유량감속 현상을 보였으며 전체적으로 가장 낮은 유량감속을 나타내었다. 특히 casein이 함유된 혼합물의 경우에는 비록 적은 양이 포함된 경우라도 매우 큰 유량감소 현상을 나타내었으며, 이는 casein의 높은 초기 저항으로 인하여 초기여과시 급격한 막오염 현상을 보이는 것으로 판단된다. 이와 같은 이성분계 단백질에 의한 막오염 현상은 단백질 침적층의 초기 저항에 의해 큰 영향을 받았으며, 실험에서 구해진 유량감속 거동은 수학적 모델은 이용하여 얻어진 이론추정치와 일치하였다.

#### 감 사

이 논문은 신시내티 대학교와 한국과학기술연구원의 연구비 지원에 의해 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

#### 사용기호

- $A_{open}$  : area of unblocked(clean) membrane [ $m^2$ ]
- $C_b$  : bulk protein concentration [ $g/L$ ]
- $f'$  : fractional amount of total protein that contributes to deposit growth [-]
- $J_{blocked}$  : filtrate flux through the blocked pore [ $m/s$ ]
- $\Delta P$  : transmembrane pressure [ $N/m^2$ ]
- $Q$  : volumetric flow rate [ $m^3/s$ ]
- $Q_o$  : initial volumetric flow rate [ $m^3/s$ ]
- $Q_{open}$  : volumetric flow rate through the open pores [ $m^3/s$ ]
- $R_m$  : resistance of the clean membrane [ $m^{-1}$ ]

- $R_p$  : resistance of the protein deposit [ $m^{-1}$ ]  
 $R_{po}$  : resistance of a single protein aggregate [ $m^{-1}$ ]  
 $R'$  : specific protein layer resistance [ $m/kg$ ]  
 $t_p$  : time at which that particular region first covered by a protein aggregate [min]  
 $\alpha$  : pore blockage parameter [ $m^2/kg$ ]  
 $\mu$  : solution viscosity [ $N\cdot s/m^2$ ]

### 참고문헌

1. Marshall, A. D., Munro, P. A. and Tragardh, G., "The Effect of Protein Fouling in Microfiltration and Ultrafiltration on Permeate Flux, Protein Retention and Selectivity," *Desalination*, **91**(1), 65-108 (1993).
2. Belfort, G., Davis, R. H. and Zydney, A. L., "The Behaviour of Suspensions and Macromolecular in Crossflow Microfiltration," *J. Membr. Sci.*, **96**(1,2), 1-58(1994).
3. Iritani, E., Tachi, S. and Murase, T., "Influence of Protein Adsorption on Flow Resistance of Microfiltration Membrane," *Colloids Surf. A.*, **89**(1), 15-22(1994).
4. Ho, C. C. and Zydney, A. L., "Effect of Membrane Morphology on the Initial Rate of Protein Fouling during Microfiltration," *J. Membr. Sci.*, **155**(2), 261-275(1999).
5. Herrero, C., Pradanos, P., Calvo, J. I., Tejerina, F. and Hernandez, A., "Flux Decline in Protein Microfiltration: Influence of Operative Parameters," *J. Colloid Interface Sci.*, **187**(2), 344-351(1997).
6. Martinez, F., Martin, A., Pradanos, P., Calvo, J. I., Palacio, L. and Hernandez, A., "Protein Adsorption and Deposition onto Microfiltration Membranes: The Role of Solute-Solid Interactions," *J. Colloid Interface Sci.*, **221**(2), 254-261(2000).
7. Huisman, I. H., Pradanos, P. and Hernandez, A., "The Effect of Protein-Protein and Protein-Membrane Interactions on Membrane Fouling in Ultrafiltration," *J. Membr. Sci.*, **179**(1,2), 79-90(2000).
8. Guell, C. and Davis, R. H., "Membrane Fouling During Microfiltration of Protein Mixtures," *J. Membr. Sci.*, **119**(2), 269-284 (1996).
9. Ho, C. C. and Zydney, A. L., "A Combined Pore Blockage and Cake Filtration Model for Protein Fouling During Microfiltration," *J. Colloid Interface Sci.*, **232**(2), 389-399(2000).
10. Palacio, L., Ho, C. C. and Zydney, A. L., "Application of a Pore-Blockage-Cake-Filtration Model to Protein Fouling During Microfiltration," *Biotechnol. Bioeng.*, **79**(3), 260-270(2002).
11. Ahn, B. H., Moon, D. J., Ahn, B. S. and Ho, C. C., in Z. Tong and S. H. Kim(ed.), *Studies on Microfiltration on Binary Protein Mixtures; Frontiers on Separation Science and Technology*, World Scientific, Singapore, 605-608(2004).