

Poly-L-Leucine 膜의 合成과 透過性

金 啓 用, 李 永 茂

漢陽大學校 工科大學 工業化學科

(1979년 4월 19일 접수)

Synthesis and Permeability of Poly-L-leucine Membrane

Kea Yong Kim and Lee Young-moo

*Dept. of Industrial Chemistry, College of Engineering,
Hanyang University, Seoul 133, Korea*

(Received April 19, 1979)

要約 : Poly-L-leucine 膜의 透水性 및 分離性能을 檢討하였다. L-leucine NCA를 三次 아민인 triethylamine 을 開始劑로 벤젠 溶媒 中에서 30°C로 均一系 重合하여 Poly-L-leucine (PLL)을 얻었다. PLL의 벤젠溶液을 水銀面上에 流延하여 PLL 膜을 얻었다. 透水性測定結果 Water flux 는 溫度와 壓力이 增加함에 따라 增加하였다. hydraulic permeability k_w 를 Arrhenius plot 하여 그 기울기로부터 活性化에너지 값이 6.64Kcal/mole 임을 알았다. 溶質排除率은 溶質分子 크기가 增加할수록 增加하였다. 또한 PLL 膜을 水銀面上에서 製膜할 때 溶媒蒸發溫度는 50~60°C 가 좋았으며 膜두께는 10 μ m, 熱處理溫度는 60~90°C 로 製膜하는 것이 溶質分離膜으로 有利함을 알았다.

Abstract : Water permeation and solute separation through poly-L-leucine (PLL) membrane were investigated. L-leucine N-carboxy anhydride was polymerized homogeneously at 30°C in benzene using triethylamine as an initiator. PLL membranes were prepared by dissolving polymer in benzene, and drying of a thin layer of the above solution on a mercury surface. From the measurement of the water permeability, water flux increased with increasing temperature and applied pressure. The activation energy calculated from the slope of Arrhenius plot of hydraulic permeability K_w was 6.64 kcal/mole. The solute rejection increases with increase of the molecular size of the solute. When PLL membranes were prepared a mercury surface, it was found that the membrane performance was improved in following conditions: solvent evaporation temperature 50-60°C, membrane thickness, 10 μ m: annealing temperature 60-90°C.

I. 緒 論

1960年代初 Loeb 와 Sourirajan¹에 의해 reverse osmosis 用의 cellulose acetate 膜이 開發된 以來 分離膜에 관한 研究가 活發히 進行되고 있다. Reverse osmosis process 에서는 20~100kg/cm²의 高壓下에서 膜을 通하여 低分子溶質을 分離하지만, ultrafiltration 과 hemodialysis process 에서는 10kg/cm² 以下の 低壓에서 比較的 分子量이 큰 溶質을 分離하는 것이 이들의 差異點이다.

Reverse osmosis 에서는 cellulose acetate^{2~4}, 기타 cellulose 誘導體^{5~6}, 芳香族 polyamide^{7~8}, 等이 실제 工業的으로 많이 使用되며 또한 이에 관한 研究가 많이 있다. 한편 ultrafiltration 과 hemodialysis 用의 膜으로는 cuprophane 膜⁹이 우수한 것으로 알려져 있다. 그 밖에도 poly(vinyl alcohol)에 特定한 化合物을 架橋시킨 膜¹⁰, 親水性인 PHEMA 膜¹¹, PEG 膜¹², Nylon 4 膜¹¹ 및 高分子電解質膜¹³ 등이 合成膜으로 檢討되고 있다. 그러나 polypeptide 를 膜材質로 使用한 研究는 그다지 많이 報告되어 있지 않다.

Klein 等¹⁴의 hydrogel 狀의 poly- γ -methyl-L-glutamate 膜에 對한 물, 알코올, CO₂ 기타 氣體 透過性的 檢討, poly- γ -benzyl-L-glutamate 膜^{15~17}에 對한 CO₂, O₂, N₂ 等の 氣體 透過性과 側鎖 構造의 影響에 관한 研究, poly-L-methionine 膜¹⁸과 그 산화膜에 對한 수증기 투과성을 檢討한 報告 等이 있다.

또한 膜의 應用面도 다양하다. 工業的으로는 海水로 부터 工業用水나 食水를 얻을 수 있는 海水 淡水化에서부터, 廢水處理, 食品工業, 도금工業 等에도 利用되고 있으며 生體膜으로 利用하기 위한 研究도 進行中에 있다.

한편, 醫料用膜材料로도 高分子物質이 최근 많이 利用되고 있다. 醫料用 合成 高分子膜으로 펩티드를 使用하던 人體와 유사한 材質이기 때문에 다른 의료用 合成 高分子들에서 發生할 수 있는 독성이나 거부반응들을 감소시킬 것으로 기대되는데 그중에서도 人工신장이나 hemodialysis

에 有用性이 있을 것으로 생각된다.

本 研究에서는 polypeptide 中에서도 側鎖길이는 그다지 길지 않으나 疎水性인 알킬기를 갖는 L-leucine 을 Phosgene 法으로 L-leucine NCA 를 合成하고 이것을 重合시켜 얻은 poly-L-leucine 의 benzene 溶液을 水銀面上에서 製膜하여 그 膜에 對한 물의 透過性, 分子量이 다른 各種 水溶性溶質에 對한 分離實驗 및 透過機構를 檢討하고, 아울러 製膜條件도 考察하였다.

II. 實驗方法

2-1. 試 藥

L-leucine : 日本 理化學藥品株式會社 製品(特級試藥)을 微粉碎하여 赤外線燈 照射下에서 6 時間가량 減壓乾燥後 使用하였다.

벤젠 : 日本和光純藥工業株式會社 製品(一級試藥)을 濃黃酸과 물로 씻고 NaOH 水溶液으로 中和한 다음 다시 물로 세척하고 CaCl₂에 의한 건조과정을 거쳐 금속나트륨으로 수일간 환류시키고 常壓蒸溜하여 80~81°C의 溜分을 取하여 重合溶媒로 하였다.

테트라히드로푸란 : 日本關東化學株式會社製品(一級試藥)을 常法에 의해 금속나트륨으로 數日間 환류시켜 脫水한 後 常壓蒸溜하여 使用하였다.

n-헥산 : 工業用 시약을 금속나트륨으로 수일간 환류한 다음 蒸溜하여 使用하였다.

아세트산에틸 : 工業用 시약을 K₂CO₃ 로 두번 精製하고 CaH₂로 再精製하여 使用하였다.

Lysozyme : 日本 Ezai 製藥會社製品를 그대로 使用하였다.

폴리에틸렌 글리콜 400, 1540 : 日本和光純藥工業株式會社製品(平均分子量 各各 400, 1540)을 그대로 使用하였다.

2-2 NCA 의 合成

本 實驗에 使用한 L-leucine NCA 는 phosgene 法^{19~20}으로 合成하였다. 反應式은 다음과 같다.

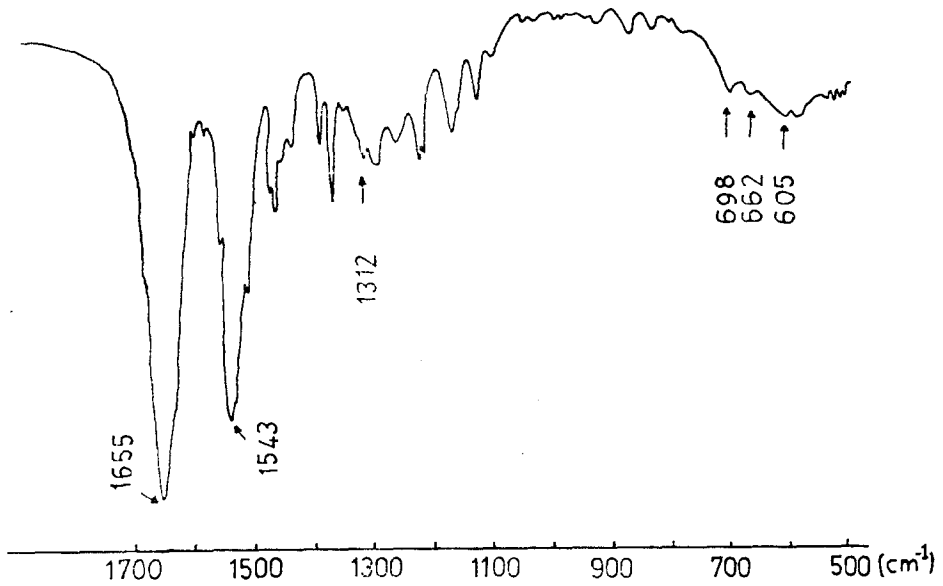


Figure 1. Infrared spectrum of poly-L-leucine film.

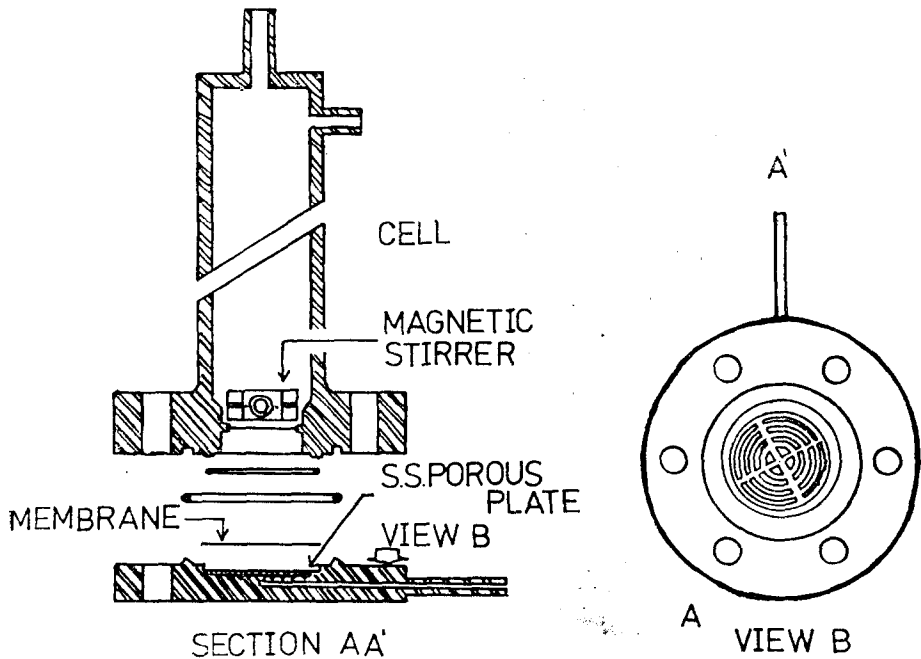


Figure 2. Permeation cell.

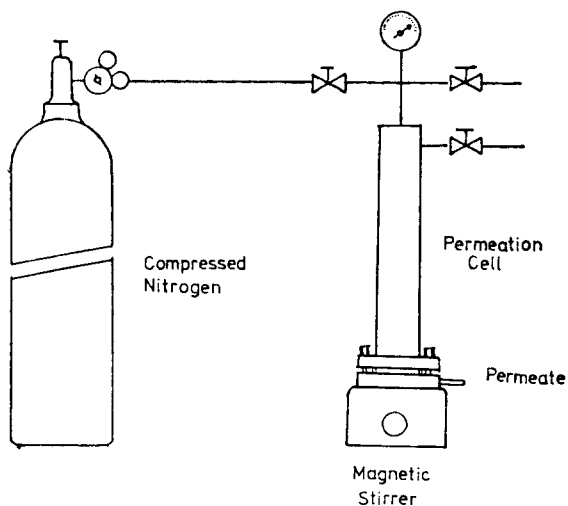


Figure 3. Diagram of batch-type permeation cell. Total volume; 350cm³ Effective membrane area; 12.6cm²

탕에 침지시켜 온도 변화를 시켰다. 加壓은 窒素 가스를 使用하였다. Water flux J_w 는 다음식과 같이 膜을 透過한 透過水を 平량하여 測定하였다. 測定溫度는 24°C에서 48°C, 壓力은 1에서 4 atm의 범위에서 實驗하였다.

$$J_w = \frac{\text{透過量 (mole)}}{\text{(有効膜面積) (cm}^2\text{)} \times \text{(透過時間) (sec)}}$$

2-7 水溶性溶質의 分離實驗

水溶性溶質로서는 分子量이 增加하는 順序로 NaCl, Urea, Dextrose, PEG 400, PEG 1,540, Lysozyme 을 使用하였다. 供給原液의 濃度を lysozyme 은 0.5%, 그외는 1%로 하였다. 透水性測定과 同型의 裝置를 利用하여 flux가 定常狀態에 도달하였을 때의 透過液을 採取하여 濃度を 測定하였다. 濃度は 미리 測定한 標準濃度 曲線을 利用하여 供給原液과 透過液의 屈折率의 比로부터 求하였다. 屈折率測定은 日本 Erma 光學株式會社의 精密 abbe refractometer 를 使用하였다.

溶質排除率(R)은 다음식으로 計算하였다.

$$R = \frac{C_s - C'_s}{C_s} \times 100 (\%)$$

여기서 C_s 와 C'_s 는 各各 供給原液과 透過液의 濃度이다. 供給原液의 濃度は 分離實驗中 變化하지 않았다.

III. 結果 및 考察

3-1. 透水性

Poly-L-leucine 膜을 透過하는 물의 flux J_w (mole/cm²·sec)와 壓力, Δp (atm)와의 關係를 各溫度에 對하여 Fig. 4에 表示하였다. water flux는 壓力과 溫度에 比例하여 增加하였다.

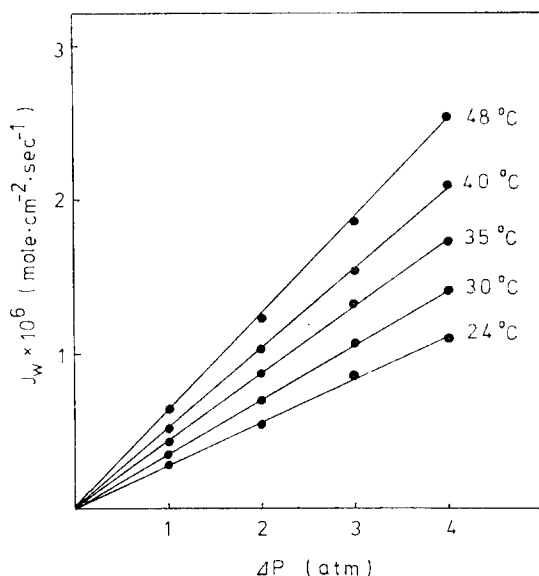


Figure 4. Water flux vs. applied pressure at different temperatures through PLL membrane. Thickness, 10μm.

Spiegler²²와 Kedem^{23,24}에 依하면 壓力구배 $\Delta p/\Delta x$ 일 때의 hydraulic water flux J_w 는 다음식으로 表示된다.

$$J_w = - \frac{S_w \cdot C_w \cdot V_w}{f_{wm}} \cdot \frac{\Delta p}{\Delta x} \quad 1$$

여기서 S_w 는 膜과 溶液사이의 물의 分配係數 (mole/mole)이나, 近似的으로는 膜의 水和度 H (膜內의 물의 溶積分率)와 같게 된다. 本實驗에서 H는 乾燥膜과 물로 膨潤된 膜의 重量差를 數回 반복하여 測定하고 그 平均值를 容積分率

로 表示하였다. 本 實驗에서 얻은 값 $H=0.072$ 는 架橋セル로판膜²⁵의 0.69, cellulose diacetate 膜의 0.17인 값보다 훨씬 작은 값이다. 이렇게 작은 값을 갖는 것은 poly-L-leucine의 側鎖에 있는 isobutyl 基의 疎水性에 起因하는 것으로 간주된다. C_w 는 인접한 溶液에서의 물의 몰랄濃度이고 V_w 는 물의 몰랄容積, f_{wm} 은 물과 膜사이의 몰랄摩擦係數를 나타낸다. 또한 Δp 는 操作壓力, Δx 는 膜두께를 表示한다.

그런데 이 경우 膜에 인접한 溶液이 순수한 물이므로 $C_w \cdot \bar{V}_w = 1$ 이 된다. 따라서

$$J_w = \frac{S_w}{f_{wm}} \cdot \frac{\Delta p}{\Delta x} = K_w \cdot \frac{\Delta p}{\Delta x} \quad 2$$

여기서 K_w 는 hydraulic permeability 이다.

한편 式 2는 water content가 작고 어떠한 bulk flow도 일어나지 않을 때만 有用하게 된다.

Hydraulic permeability, K_w 의 溫度依存性を 檢討하기 위해 2式을 使用하여 Fig. 4로부터 K_w

값을 求하고 그 중에서 24°C인 때의 값을 Table I에 表示하였다. Fig. 5와 같이 Arrhenius plot한 다음 直線의 기울기로부터 活性化에너지, 6.64Kcal/mole을 얻었다. 이 값은 물이 粘性흐름인 때의 活性化에너지값인 약 4Kcal/mole²⁶보다 커서 膜에서 물의 흐름이 純水의 viscous flow는 아니라는 것을 알 수 있다.

3-2. 水溶性溶質의 分離

各種 水溶性溶質에 對한 分離實驗 結果를 Table II에 나타냈다. 分子크기가 작은 NaCl의 分離特性은 다른 種類의 膜보다 낮은 排除率을 나타내지만 溶質이 커지면 排除率은 增加하는 경향을 보였다.

poly-L-leucine 膜이 α -helix 構造를 갖고 있는 것은 IR spectrum에 依해 確認되었다. 또한 α -helix가 hexagonal로 채워져 있고 α -helix들 사이의 側鎖가 trans-型으로 되어 있다고 가정했

Table I. Permeability Data for PLL Membrane

$K_w \times 10^{10}$ at 24°C (mole/cm·sec·atm)	2.8
H, degree of hydration	0.072
E(kcal/mole)	6.64

Table II. Separation of Water Soluble Solute through Poly-L-leucine Membrane

Solute	MW	Rejecton(%)
NaCl	58.5	2
Urea	60.06	6
L-tyrosine	180.16	26
PEG400	400	35
PEG 1540	1500	62.5
Lysozyme	14400 ± 100	93

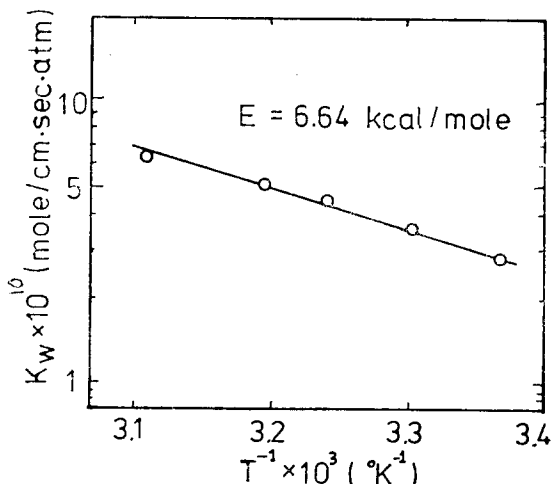


Figure 5. Temperature dependence of hydraulic permeability K_w of water through PLL membrane.

을 때 側鎖의 分子斷面積을 計算한 값에 비하여 lysozyme의 分子斷面積이 약 13배²⁷가 되고 urea는 약 1/10배가량 된다. 分子斷面積과 溶質 排除率을 比較하면 poly-L-leucine 膜을 통한 물의 透過는 α -helix들 사이의 側鎖領域에서 일어나리라고 생각된다. 이것은 poly-n-alkyl-L-glutamate 膜에 對한 水蒸氣透過性を 檢討하여 얻은 것과 같은 結果이다²⁸.

한편 水溶性溶質에 對한 分離實驗 結果는 poly-L-leucine 膜을 利用하여 一定分子크기 以上の 溶質에 對하여 完全히 排除될 可能性을 보여주고 있다.

3-3. 膜特性

3-3-1. 操作壓力

操作壓力이 膜特性에 미치는 效果를 Fig. 6에 表示하였다. 즉 壓力이 增加할수록 water flux는 增加하지만 排除率은 거의 變化가 없이 90%정도의 값을 나타내었다. Cellulose acetate 膜을 reverse osmosis process로 實驗할 경우에는 操作壓力이 高壓이므로 膜에 對한 壓密效果 때문에 操作壓力 增加에 따라 排除率이 減少하지만 本實驗에서는 操作壓力이 4atm 以下이어서 이 정도의 壓力으로는 高壓에서와 같은 壓密效果가 없으므로 거의 一定한 排除率을 나타내는 것으로 간주된다.

3-3-2. 溶媒蒸發溫度

水銀面에 폴리머溶液을 流延하여 압력 20~30 mmHg에서 製膜할 때 溶媒蒸發溫度가 膜特性에 미치는 效果를 Fig. 7에 나타내었다. 溶媒蒸發溫度가 上昇할수록 water flux는 增加하나 溶質排除率은 거의 變化가 없었다. 60°C 이상에서는 水銀面이 熱을 받아 溶媒인 벤젠의 급격한 蒸發로 인해 기포가 生成되어 均一한 膜을 얻지 못하였으므로 透過實驗을 하지 못했다. 그러나 測定溫度 범위內에서는 poly-L-leucine 膜을 製膜하기 위해 水銀面上에서 溶媒를 蒸發시킬 때 約 50~60°C에서 蒸發시키는 것이 膜 形成에 좋은 結果를 가져온다.

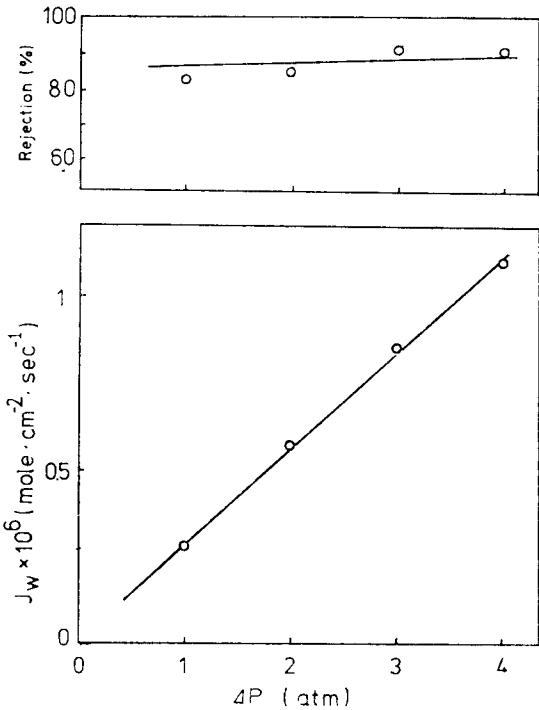


Figure 6. Effect of applied pressure on membrane characteristics. Conditions of measuring membrane performance: 24°C, 10μm. 0.5% lysozyme solution.

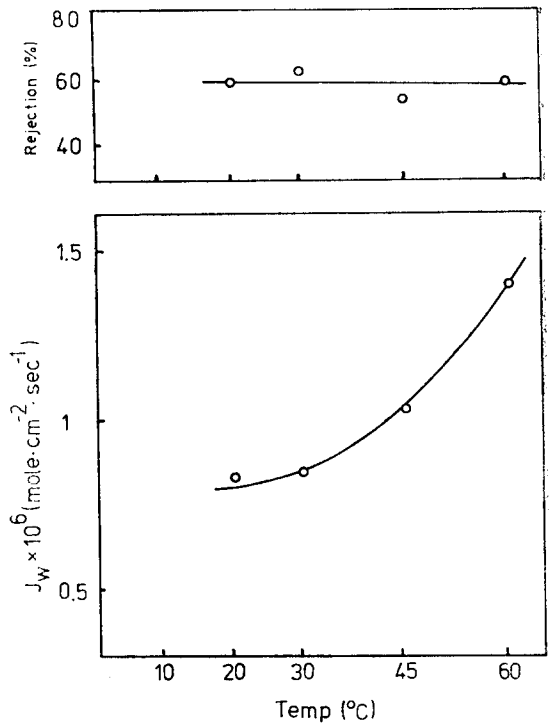


Figure 7. Effect of solvent evaporation temperature on membrane characteristics. Conditions of measurement of membrane performance: 24°C, 10μm. 1% PEG 1540.

3-3-3. 熱處理效果

Poly-L-leucine 膜을 一定 溫度의 水中에서 約 10分間 熱處理하였을 때 熱處理溫度가 膜性能에 미치는 效果를 Fig. 8에 表示하였다. 測定 結果, 熱處理溫度가 上昇할수록 water flux는 增加하나 排除率은 減少하였다. 그러나 約 50°C 부근부터는 더 이상 減少하지 않는 것으로 보아 50°C 이상에서 10分間 熱處理하는 것이 分離膜을 만드는데 적합하다고 생각된다.

一般的으로 cellulose acetate 膜^{29,30}에서는 約 80°C에서 熱處理하였을 때 NaCl 排除率은 增加하고 water flux는 減少하는 경향을 보이지만 이 poly-L-leucine 에서는 그와는 反對경향을 나타내고 있다. 이것은 cellulose acetate 膜에서는 生成된 구멍이 熱處理함에 따라 수축되어 구멍이 작아지나 poly-L-leucine 膜에서는 熱을 받을

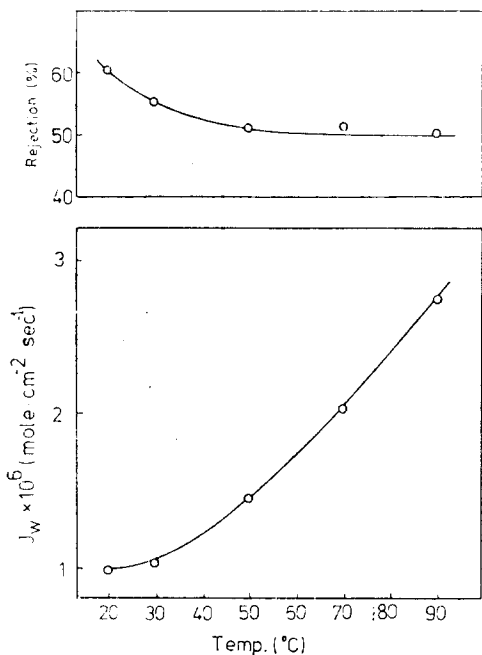


Figure 8. Effect of annealing temperature on membrane characteristics. Conditions of measuring membrane performance: 24°C, 1% PEG 1540, 3 atm.

때 α -helix 들 사이의 側鎖間隔이 벌어져 반대현상을 보인 것으로 추측된다.

3-3-4. 膜두께

膜두께가 膜性能에 미치는 效果를 Fig. 9에 表示했다. 24°C, 3 atm에서 1% PEG 1540을 原液으로 使用하여 測定한 結果 膜두께가 增加할수록 water flux는 減少하나 排除率은 점차적으로 增加하는 一般的인 경향을 보여 주고 있다.

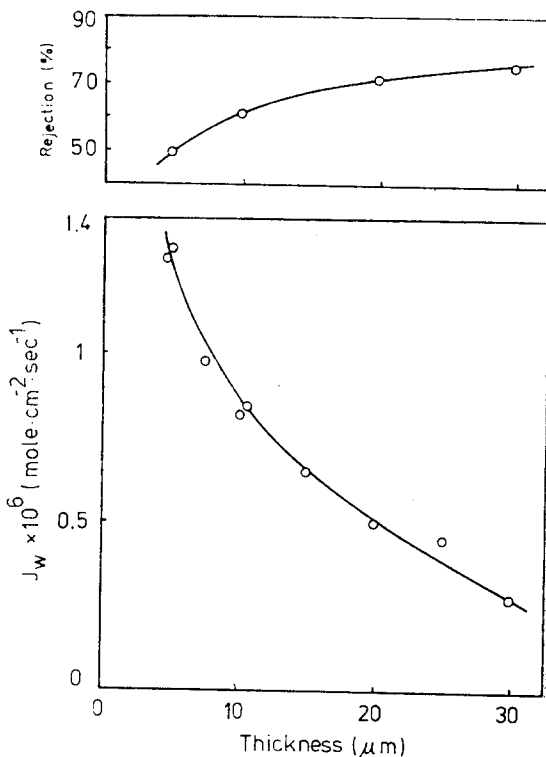


Figure 9. Effect of membrane thickness on membrane characteristics. Conditions of measuring membrane performance: 24°C, 1% PEG 1540, 3 atm.

IV 結 論

以上の 結果를 綜合해 보면

1. Poly-L-leucine 膜을 통한 물의 透過는 α -helix 들 사이의 側鎖領域에서 일어나고 있으며
2. Poly-L-leucine 膜의 hydraulic permeability, K_w 의 活性化에너지 값으로부터 膜內에서

의 물의 흐름이 순수한 물의 viscous flow 는 아니며

3. 水溶性溶質의 分離實驗 結果로부터 어떤 一定分子크기 以上の 溶質에 對하여는 完全히 排除될 가능성을 보여주고

4. Poly-L-leucine 膜을 水銀面上에서 製膜할 때 조건으로는

- 1) 溶媒蒸發溫度는 50~60°C
- 2) 膜두께 10 μ m
- 3) 熱處理溫度는 60~90°C

로서 製膜하는 것이 ultrafiltration 膜으로 使用하는데 適合하다고 본다.

인 용 문 헌

1. S. Loeb and S. Sourirajan, Sea Water Demineralization by Means of a Semipermeable Membrane, Dept. of Eng., UCLA Report No. 60-60(1961).
2. T. Matsuura and S. Sourirajan, *J. Appl. Polym. Sci.*, **16**, 2531(1972).
3. T. Matsuura and S. Sourirajan, *ibid*, **17**, 1043(1973).
4. T. Matsuura and S. Sourirajan, *ibid*, **18**, 567 (1974).
5. S. Loeb, UCLA Dept. Eng. Rept., No. 62-26(1962).
6. E. Cadotte *et. al.*, *J. Appl. Polym. Sci., Appl. Polymer Symp.*, **13**, 73 (1970).
7. L. H. Gan, P. Blais, D. J. Carlsson, T. Suprunchuk and D. M. Wiles, *ibid*, **19**, 62(1975).
8. J. M. Dickson *et. al.*, *ibid*, **19**, 801(1975).
9. 越川昭三, 高分子, **21**, No 247, 512(1972).
10. R. A. Markle, R. D. Fald, R. I. Leininger, *Trans. ASAIO.*, **10**, 22(1964).
11. A. Peterlin, C. Dreyfus, H. Yasuda, L. D. Ikenberry, *Proc. Ann. Contractor's Conf.*, **2**, 86(1969).
12. D. J. Lyman, R. W. Haskell, S. W. Kim. NIAMD Report 1970. PB 201, 637.
13. D. W. Marshall, R. A. Cross, J. Bixler, *J. Biomed. Mater. Res.*, **4**, 35(1970).
14. E. Klein, P. D. May, J. K. Smith and N. Leger, *Biopolymer*, **10**, 647(1971).
15. T. Nakagawa, 第21回 高分子學會年次大會 (東京), (1972).
16. T. Yoshida, A. Takizawa and Y. Tsujita, *J. Appl. Polym. Sci.*, **22**, 279(1978).
17. Y. Ohachi, H. Hamano, T. Yoshida, Y. Tsujita, A. Takizawa, *ibid*, **22**, 1469(1978).
18. N. Minoura, Y. Fujiwara, T. Nakagawa, *ibid*, **22**, 1593 (1978).
19. A. C. Farthing, *J. Chem. Soc.*, 1950, 3213.
20. R. B. Woodward and C. H. Schram, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1551 (1947).
21. T. Komoto, K. Y. Kim, M. Oya and T. Kawai, *Makromol. Chem.*, **175**, 283(1974).
22. K. S. Spiegler, *Trans. Faraday Soc.*, **54**, 1508(1958).
23. O. Kedem and A. Katchalsky, *J. Gen. Physiol.*, **45**, 143 (1960).
24. K. S. Spiegler and O. Kedem, *Desalination*, **1**, 311 (1966).
25. M. Kawaguchi and A. Takizawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **19**, 2515(1975).
26. R. A. Horne, "Water and Aqueous Solutions," Wiley, p. 704(1972).
27. C. Tanford, "Physical Chemistry of Macromolecules", p. 359, Wiley(1961).
28. A. Takizawa, T. Taniguchi, I. Tamamura and T. Tsujita, *J. Macromol. Sci.*, **B13**(2), 203(1977).
29. S. Sourirajan, Reverse Osmosis, Logos Press, 1970.
30. R. L. Riley, H. K. Lonsdale, C. R. Lyons and U. Merten, *J. Appl. Polym. Sci.*, **11**, 2143(1967).