

L-Valine/전해질 및 L-Proline/전해질 수용액에서 아미노산의 활동도계수와 용해도의 측정 및 모델링

이봉섭 · 김기창[†]

강원대학교 화학공학과
200-701 강원도 춘천시 효자2동 192-1
(2011년 9월 5일 접수, 2011년 9월 23일 채택)

Modeling and Measurements of the Activity Coefficients and Solubilities of Amino Acids in the L-valine/electrolyte and L-proline/electrolyte Aqueous Solutions

Bong-Seop Lee and Ki-Chang Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Kangwon National University, 192-1 Hyoja-dong, Chuncheon-si, Gangwon-do 200-701, Korea
(Received 5 September 2011; accepted 23 September 2011)

요 약

본 연구에서는 무기염인 NaCl, KCl, NaNO₃ 및 KNO₃의 각 전해질과 L형 아미노산인 L-Valine 및 L-Proline이 용해된 아미노산/전해질 수용액에서 L-Valine 및 L-Proline의 활동도계수와 용해도를 298.15 K에서 측정하였다. 아미노산의 활동도계수는 양이온 및 음이온의 선택성 전극간의 기전력을 측정하는 전기화학 법으로 측정하였으며, 용해도는 아미노산의 고체상과 상평형을 이루고 있는 포화용액을 중량 분석하여 측정하였다. 실험적으로 측정된 전해질 및 아미노산의 활동도계수 값을 본 연구의 저자들이 수행한 지난번 연구[Korean Chem. Eng. Res. 48(4), 519(2010)]의 이론적 모델로 검토하였다. 실험을 수행한 8개의 아미노산/전해질 수용액에서 측정된 전해질 및 아미노산의 활동도계수 값은 지난번 연구의 이론적 모델에 잘 적용되는 경향을 보였으며, 또한 측정된 아미노산의 용해도 데이터도 지난번 연구의 이론적 관계로 잘 묘사될 수 있었다.

Abstract – Activity coefficients and solubilities of L-Valine and L-Proline in aqueous solutions containing each of four electrolytes such as NaCl, KCl, NaNO₃ and KNO₃ were measured at 298.15 K. The measurements of activity coefficients were carried out in the electrochemical cell coupled with two ion-selective electrodes (cation and anion), and the solubilities were measured by the gravimetric analysis of saturated solutions in equilibrium with the solid phase of amino acid. The measured activity coefficients of electrolytes and amino acids were correlated with the theoretical thermodynamic model presented in the previous work [Korean Chem. Eng. Res. 48(4), 519(2010)]. It was found that the activity coefficients of amino acids and electrolytes described based on the our previous model were well agreeable with experimental data. Also the experimental solubility data of L-Valine and L-Proline were successfully correlated with the thermodynamic relation mentioned in the previous work.

Key words: Electrolyte, Amino Acid, Activity Coefficient, Solubility

1. 서 론

아미노산, 펩타이드 및 단백질 등과 같은 생화학물질이 녹아 있는 수용액에 무기염과 같은 전해질이 첨가되면 전해질로부터 해리된 양이온과 음이온이 물 분자 및 생화학물질 분자와 상호작용하게 되어 생화학물질 분자의 활동도계수가 영향을 받게 되며, 이에 따라 생화학물질의 물에 대한 용해도가 변화된다. 이와 같이 전해질 첨가에 의하여 생화학물질의 용해도가 변화하는 현상은 전해질의 농도가 증가할수록 생화학물질의 용해도가 증가하는 염용(salting-in) 현상과 전

해질의 농도 증가에 따라 용해도가 감소하는 염석(salting-out) 현상으로 구분 된다. 또한 이러한 염용 및 염석현상은 전해질의 종류 즉, 전해질로부터 해리되는 양이온 및 음이온의 종류에 따라 달라진다.

이와 같이 생화학물질의 수용액에서 전해질 첨가에 의하여 생화학물질의 용해도가 변화하는 현상은 특히 아미노산의 분리 및 정제 방법에 많이 응용되어 왔다. 아미노산을 대량으로 생산하는 방법인 발효 및 효소 법, 동·식물 단백질을 가수분해한 후 추출하는 방법, 또는 화학적 방법에 의한 합성법 등에서는 생산물 중의 아미노산 농도가 매우 낮으므로 목적하는 아미노산을 분리·정제하는 과정이 매우 중요시 된다. 따라서 아미노산의 생산 공정에서 특정 아미노산을 분리하기 위한 목적으로 여러 종류의 방법 즉, 멤브레인 법, 크로마토

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: kichang@kangwon.ac.kr

그래피 법, 유기 용매에 의한 액상추출법, 고분자/전해질 수용액의 2상계(two-phase) 추출법, 유기용매 또는 전해질(무기염) 첨가에 의한 침전법 등과 같은 방법들이 연구되어 왔다.[1] 이러한 방법 중 전해질 첨가에 의한 침전 법은 아미노산 수용액에서 전해질 첨가에 따른 아미노산의 염석효과(아미노산의 용해도 감소)에 의하여 아미노산을 결정화시키는 방법으로 공정이 비교적 간단하고 비용이 저렴하여 아미노산의 분리 및 정제 방법으로 많은 응용성을 보여 왔다[1,2].

위에서 언급된 전해질 첨가에 의한 침전 법을 이용하여 아미노산을 분리정제 하는 공정을 설계하기 위해서는 아미노산의 용해도에 관한 모델링이 필요하다. 아미노산 수용액에서 전해질의 농도에 따라 아미노산의 용해도가 변화하는 현상은 아미노산의 활동도계수가 변화함에 기인되는 것으로, 아미노산 용해도의 모델링을 위해서는 아미노산의 활동도계수에 대한 열역학적 모델링이 선행되어야 한다. 아미노산/전해질 수용액에서 아미노산의 활동도계수는 전해질로부터 해리된 양이온 및 음이온과 아미노산 분자간의 상호작용은 물론 양이온 및 음이온과 물 분자간의 상호작용 등과 같은 수용액 내의 여러 종류의 화학종간의 상호작용에 영향을 받으며, 이러한 화학종간의 상호작용을 고려한 아미노산의 활동도계수의 모델링은 많은 연구자들의 관심의 대상이 되어 왔다[3-8].

본 연구의 저자들은 지난번 연구[8]에서 아미노산/전해질 수용액과 같이 이온성분(양이온 및 음이온)과 중성(neutral)의 화학성분 분자들이 혼합된 액체 혼합물의 잔류 Helmholtz 자유에너지(A^{res})를 정의 하는 이론적인 열역학적 관계를 제안하고 이로부터 물 분자, 아미노산 분자 및 이온의 활동도계수에 대한 이론적 모델을 얻었으며, L-Alanine/전해질 수용액에서 실험적으로 측정된 이온과 L-Alanine의 활동도계수를 이론적 모델로 검토하는 연구를 수행한 바 있다. 또한 이들의 논문에서는 실험적으로 측정된 L-Alanine의 용해도 데이터를 L-Alanine의 활동도계수로부터 정의되는 용해도의 이론적관계로 검토하는 연구도 병행되었다.

본 연구는 위에서 언급된 바와 같은 지난번 연구[8]에 이어서 계속되는 연구로서, L-Valine/전해질 및 L-Proline/전해질 수용액에서 이온 및 아미노산의 활동도계수와 아미노산의 용해도를 실험적으로 측정하고 측정된 활동도계수와 아미노산의 용해도 데이터를 지난번 연구에서 제안된 이론적 모델[8]로 검토하는 연구를 수행하였다.

2. 실험

본 연구의 실험에 사용된 아미노산은 L-Valine 및 L-Proline이었으며, 전해질로는 지난번 연구[8]에서와 같이 4 종류의 무기염 즉, NaCl, KCl, NaNO₃ 및 KNO₃을 택하였다. 이들의 아미노산 및 전해질 중 각각 한 종류 아미노산과 전해질로 이루어지는 아미노산/전해질 수용액에서 이온의 활동도계수와 아미노산의 용해도를 측정하는 실험을 수행하였다. 실험에 사용된 아미노산 및 무기염은 시판용 시약(Sigma-Aldrich Co.)으로 아미노산인 L-Valine 및 L-Proline의 순도는 각각 98, 99% 이상이었으며, 무기염의 순도는 모두 99%이었다.

2-1. 이온 및 아미노산의 활동도계수 측정 실험

본 연구에서는 아미노산/전해질 수용액에서의 아미노산의 활동도계수를 지난번 연구[8]에서와 같이 이온선택성 전극(ion-selective electrode, ISE) 법으로 측정하였다. 이온선택성 전극 법에 의하여 아미노산의 활동도계수를 측정하는 방법은, 전해질 수용액에서 양이온

선택성 전극과 음이온 선택성 전극간의 전위차를 측정하여 이온의 활동도 계수를 얻고, 이온의 활동도 계수와 아미노산의 활동도계수간의 열역학적 관계에 의하여 아미노산의 활동도계수를 간접적으로 얻는 방법이다.

아미노산/전해질 수용액(3성분 계)에서 양이온 및 음이온 선택성 전극간의 전위차 ΔE^{ter} 와 평균 이온 활동도계수 γ_{\pm}^{ter} 는 다음과 같은 Nernst 관계를 갖는다.

$$\Delta E^{ter} = E^o + S \ln(m_s \gamma_{\pm}^{ter}) \quad (1)$$

이때 m_s 는 전해질의 몰랄농도이며 S는 이온 선택성 전극의 Nernst 기울기로서 $S = vRT/n_e F$ 의 관계를 가진다. 또한 아미노산이 포함되지 않은 전해질 수용액(2성분 계)에서는 이온 선택성 전극간의 전위차 ΔE^{bin} 은 다음과 같이 되므로

$$\Delta E^{bin} = E^o + S \ln(m_s \gamma_{\pm}^{bin}) \quad (2)$$

위의 식 (1) 및 (2)에 의하여 아래와 같은 관계를 얻을 수 있다[4,8,9]

$$\gamma_{\pm}^{ter} / \gamma_{\pm}^{bin} = \exp[(\Delta E^{ter} - \Delta E^{bin}) / S] \quad (3)$$

위의 관계에 의하여 전해질의 몰랄농도 m_s 가 같은 값을 갖는 아미노산/전해질 수용액(3성분계)과 전해질 수용액(2성분계) 각 용액에서 양이온과 음이온 선택성 전극간의 전위차 ΔE^{ter} 및 ΔE^{bin} 을 측정하면 이온의 평균 활동도계수의 비 $\gamma_{\pm}^{ter} / \gamma_{\pm}^{bin}$ 을 얻을 수 있다.

한편 아미노산/전해질 수용액에서는 이온의 평균 활동도계수(γ_{\pm})와 아미노산의 활동도계수 γ_{AA} 는 다음과 같은 교차미분(cross-differential) 관계식이 성립하므로

$$v \left(\frac{\partial \ln \gamma_{\pm}}{\partial m_{AA}} \right)_{m_s, P, T} = \left(\frac{\partial \ln \gamma_{AA}}{\partial m_s} \right)_{m_{AA}, P, T} \quad (4)$$

아미노산의 활동도계수는 이온의 활동도계수와 다음과 같은 관계를 갖는다[8,9].

$$\ln(\gamma_{AA}^{ter} / \gamma_{AA}^{bin}) = v \int_0^{m_s} \frac{\partial \ln(\gamma_{\pm}^{ter} / \gamma_{\pm}^{bin})}{\partial m_{AA}} dm_s \quad (5)$$

위의 관계식에서 평균 이온 활동도계수(전해질의 활동도계수)의 비를 전해질의 몰랄농도($\gamma_{\pm}^{ter} / \gamma_{\pm}^{bin}$)와 아미노산의 몰랄농도(m_s)의 함수 형태로 다음과 같이 가정하면[10].

$$\ln(\gamma_{\pm}^{ter} / \gamma_{\pm}^{bin}) = m_{AA} \sum_{k=0}^4 c_k m_s^k \quad (6a)$$

$$c_k = \frac{C_{0k}}{1 + C m_{AA}} + C_{1k} \quad (6b)$$

아미노산의 활동도계수의 비 $\gamma_{AA}^{ter} / \gamma_{AA}^{bin}$ 는 다음과 같은 식으로 표현된다[10].

$$\ln(\gamma_{AA}^{ter} / \gamma_{AA}^{bin}) = \sum_{k=0}^4 B_k m_s^{k+1} \quad (7a)$$

$$B_k = \frac{v}{k+1} \left[\frac{C_{0k}}{(1 + C m_{AA})^2} + C_{1k} \right] \quad (7b)$$

위의 식 (3)의 관계에 의하여 측정된 이온의 평균 활동도계수의 비 $\gamma_{\pm}^{ter} / \gamma_{\pm}^{bin}$ 값을 식 (6)의 관계에 적용하면 상수 C, C_{0k} 및 C_{1k} ($k=0, 1, 2, 3, 4$)와 같은 11개의 상수 값을 구할 수 있으며, 따라서 식 (7)

의 관계에 의하여 아미노산의 활동도계수의 비 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값을 얻을 수 있다. 본 연구에서는 이와 같은 방법으로 전해질의 농도 및 아미노산의 농도를 달리한 조건에서 얻어진 얻은 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값을 아미노산 활동도계수의 측정값으로 하였다.

본 연구의 실험에 사용된 아미노산/전해질 수용액에서 아미노산의 농도는 L-Valine의 경우 0.05~0.4 m, L-Proline의 경우는 0.1~6.0 m 범위였으며, 전해질의 농도는 4 종류의 무기염 즉, NaCl, KCl, NaNO₃ 및 KNO₃ 각각의 경우 모두 0.1~1.0 m 범위로 하였다. 한편 실험에 사용된 이온 선택성 전극은 Thermo Orion사 제품으로 양이온 전극은 Na⁺-ISE(glass body, 84-11 model)와 K⁺-ISE(polymer body, 93-19 model) 전극이었으며, 음이온 전극은 Cl⁻-ISE(polymer body, 94-17 model)와 NO₃⁻-ISE(polymer body, 9307 model) 전극이었다. 또한 양이온과 음이온 전극간의 전기화학적 전위차(electro-chemical potential, EMF)는 분해능이 ±0.1 mV인 pH/ISE 메타(Orion, 920A 모델)를 사용하여 측정하였다. 이온선택성 전극법의 실험장치, 구체적인 실험 방법 및 실험에 사용된 이온선택성 전극의 S값 등에 대하여는 지난번 연구[8]에서 자세히 설명되었으므로 본 논문에서는 생략하기로 한다.

2-2. 아미노산 용해도의 측정 실험

전해질 수용액에 대한 아미노산의 용해도는 지난번 연구에서와 같이 중량분석법으로 측정하였다. 전해질(무기염)의 농도는 4 종류의 무기염 각각의 경우 모두 0.0~2.0 m 범위로 하였으며, 298.15 K로 유지된 전해질 수용액에 아미노산을 포화되도록 용해시킨 후 포화용액을 일정량 채취하여 중량분석을 통해서 아미노산의 용해도 값을 얻었다. 실험과 관련된 구체적인 내용은 앞서의 활동도계수의 측정 실험과 같이 지난번 연구[8]에서 자세히 언급된 바 있으므로 생략하기로 한다.

3. 실험 결과 및 고찰

3-1. 활동도계수의 측정 실험

본 연구의 실험에서 택한 4 종류의 전해질 즉, NaCl, KCl, NaNO₃ 및 KNO₃의 무기염 중 각 염으로 이루어진 L-Valine/전해질 수용액

및 L-Proline/전해질 수용액에서 양이온(Na⁺ 또는 K⁺) 및 음이온(Cl⁻ 또는 NO₃⁻)의 선택성 전극 간의 전위차 ΔE^{ter} 을 측정하였으며 또한 같은 전해질 농도(m_s)값을 갖는 전해질 수용액(아미노산이 포함되지 않은)에서의 전위차 ΔE^{bin} 도 측정하였다. 측정된 ΔE^{ter} 와 ΔE^{bin} 을 이용하여 식 (3)의 관계에 의하여 전해질의 활동도계수(평균 이온 활동도계수)의 비 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값을 얻었다. 전해질 및 아미노산의 농도를 달리한 298.15 K의 수용액에서 측정된 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값은 Fig. 1, 2와 같다. 한편 측정된 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값을 식 (6)의 관계로 회귀분석(regression)하여 식 (6)에 포함된 11개의 상수, 즉 C, C_{ok} 및 C_{1k} (k=0, 1, 2, 3, 4)의 값을 추산하였으며 그 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서 보면 각 전해질 수용액의 경우 ARD(average relative deviation) 값이 L-Valine의 경우 약 0.05% 이하, L-Proline의 경우는 약 0.13% 이하로 비교적 좋은 결과를 보이고 있으며, 또한 측정된 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값과 회귀분석한 값을 함께 나타낸 Fig. 1, 2에서도 회귀분석한 값은 측정값과의 일치성이 매우 좋음을 보여 주고 있다. L-Valine/전해질 수용액의 실험결과인 Fig. 1에서 보면 측정된 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값은 전해질의 농도가 비교적 낮은 영역에서는 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값이 1.0 보다 작은 값으로 아미노산의 농도에 따라 감소하는 경향을 보이며, 반면에 전해질의 농도가 높은 영역일수록 1.0보다 큰 값으로 아미노산의 농도에 따라 증가하는 경향을 보인다. 또한 Fig. 2에서 L-Proline/전해질 수용액의 경우를 살펴보면 Cl⁻ 이온을 포함하는 NaCl 및 KCl 수용액에서는 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값이 아미노산의 농도에 따라 감소하다가 증가하는 경향을 보이고 있다. 그러나 NO₃⁻ 이온을 포함하는 NaNO₃ 및 KNO₃ 수용액의 경우는 실험을 수행한 농도 범위에서 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값은 1.0보다 작은 값으로 아미노산의 농도에 따라 감소하는 경향을 보이고 있다. 한편 위에서와 같이 실험적으로 측정된 전해질의 활동도계수의 비 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값을 식 (6)의 관계로부터 회귀분석하여 얻어진 상수 값(Table 1)을 이용하여 식 (7)의 관계에 의하여 실험을 수행한 농도 조건에서 아미노산의 활동도계수의 비 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값을 얻었다. 이와 같은 방법으로 얻어진 아미노산의 활동도계수 비의 실험값인 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값은 Fig. 3, 4와 같다. Fig. 3은 L-Valine/전해질 수용액에서 얻어진 L-Valine의 활동도계수 비의 실험값에 관한 그림으로 이 그림에서 보면 전해질의 농도가 증가함에 따라 L-Valine의 활동도계수

Table 1. Estimated constants of eqn. (6)

| Systems | ARD (%) | C ₀₀ | C ₀₁ | C ₀₂ | C ₀₃ | C ₀₄ | C |
|--------------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|
| | | C ₁₀ | C ₁₁ | C ₁₂ | C ₁₃ | C ₁₄ | |
| L-Valine/NaCl | 0.050 | -0.19731 | 0.01986 | 0.14871 | 1.28283 | -0.99840 | 26.87171 |
| | | -0.03042 | 0.12690 | 0.41400 | -0.84605 | 0.41274 | |
| | | 0.03606 | 0.16964 | 0.29358 | -0.76839 | 0.39985 | |
| /KCl | 0.034 | -0.46488 | 2.07182 | -4.92704 | 5.88003 | -2.51825 | 11.20012 |
| | | 0.03606 | 0.16964 | 0.29358 | -0.76839 | 0.39985 | |
| | | -0.46488 | 2.07182 | -4.92704 | 5.88003 | -2.51825 | |
| /NaNO ₃ | 0.045 | -15.54358 | 302.27520 | -1160.74742 | 1623.16029 | -750.49589 | -893.11015 |
| | | -0.26123 | 1.50788 | -4.04415 | 5.11906 | -2.31363 | |
| | | 0.45096 | -3.13753 | 9.52169 | -11.55184 | 4.94204 | |
| /KNO ₃ | 0.026 | -0.20547 | 0.78285 | -0.98027 | 0.55735 | -0.12726 | 14.37945 |
| | | -0.20547 | 0.78285 | -0.98027 | 0.55735 | -0.12726 | |
| | | -0.20547 | 0.78285 | -0.98027 | 0.55735 | -0.12726 | |
| L-Proline/NaCl | 0.081 | -0.25631 | 0.29835 | -0.09935 | 0.06693 | -0.06728 | 0.17762 |
| | | 0.07168 | 0.10794 | -0.52257 | 0.64255 | -0.26344 | |
| | | -0.50198 | 1.45363 | -2.60964 | 2.17955 | -0.66527 | |
| /KCl | 0.132 | 0.08662 | -0.12323 | 0.38874 | -0.43603 | 0.16241 | 0.62239 |
| | | 0.08662 | -0.12323 | 0.38874 | -0.43603 | 0.16241 | |
| | | -0.50198 | 1.45363 | -2.60964 | 2.17955 | -0.66527 | |
| /NaNO ₃ | 0.097 | -0.22766 | 0.45734 | -0.71418 | 0.77251 | -0.34165 | 0.16021 |
| | | -0.04097 | -0.09480 | 0.38997 | -0.61449 | 0.30606 | |
| | | -0.22766 | 0.45734 | -0.71418 | 0.77251 | -0.34165 | |
| /KNO ₃ | 0.131 | -0.29282 | 0.73209 | -1.09544 | 0.97104 | -0.33439 | 0.30212 |
| | | -0.03058 | 0.11169 | -0.22945 | 0.31177 | -0.16335 | |
| | | -0.29282 | 0.73209 | -1.09544 | 0.97104 | -0.33439 | |

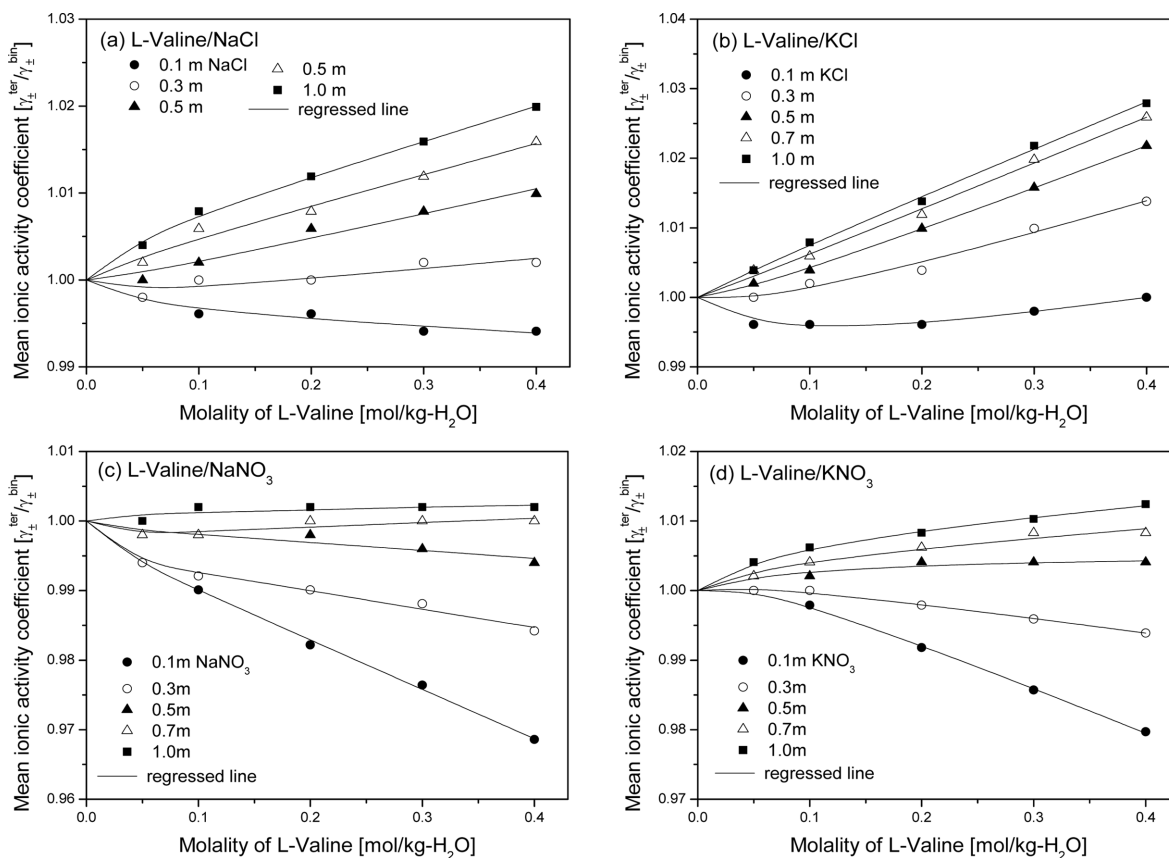


Fig. 1. Experimental mean ionic activity coefficients of electrolytes, $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ in the L-Valine/electrolyte aqueous solutions.

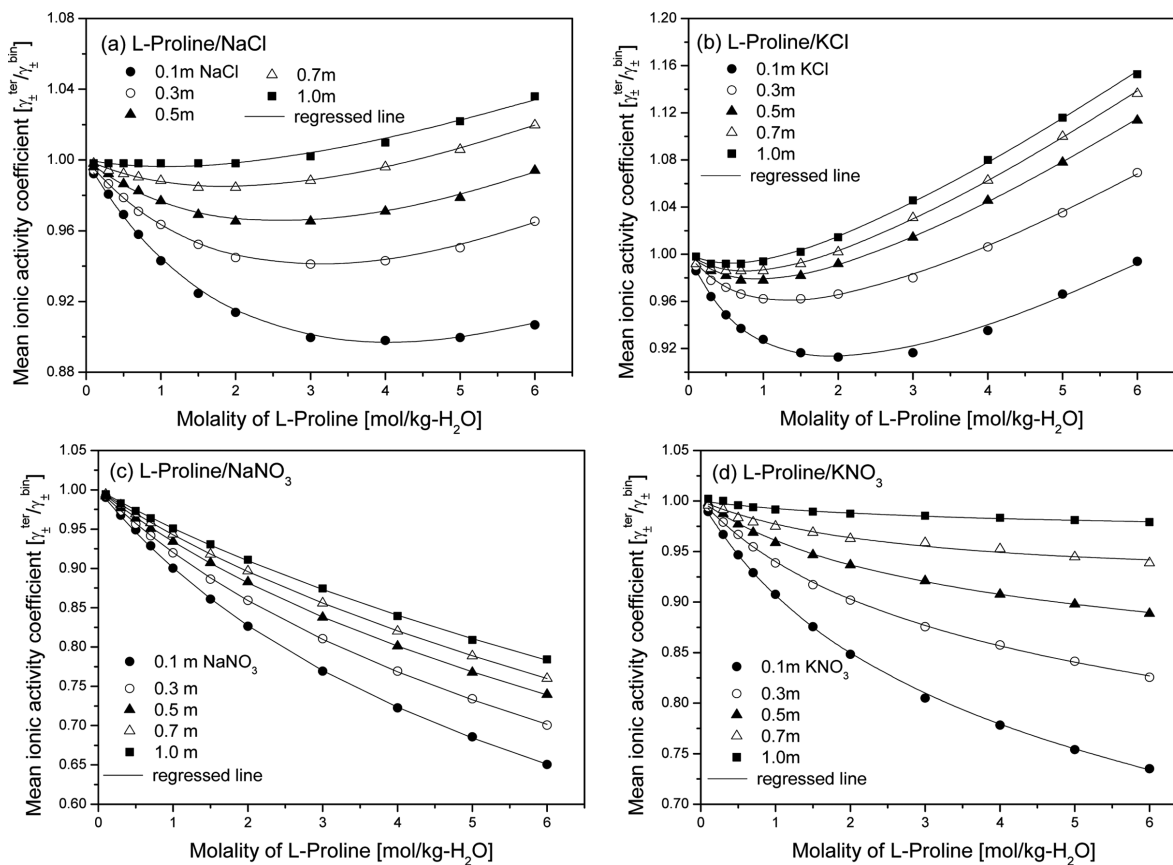


Fig. 2. Experimental mean ionic activity coefficients of electrolytes, $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ in the L-Proline/electrolyte aqueous solutions.

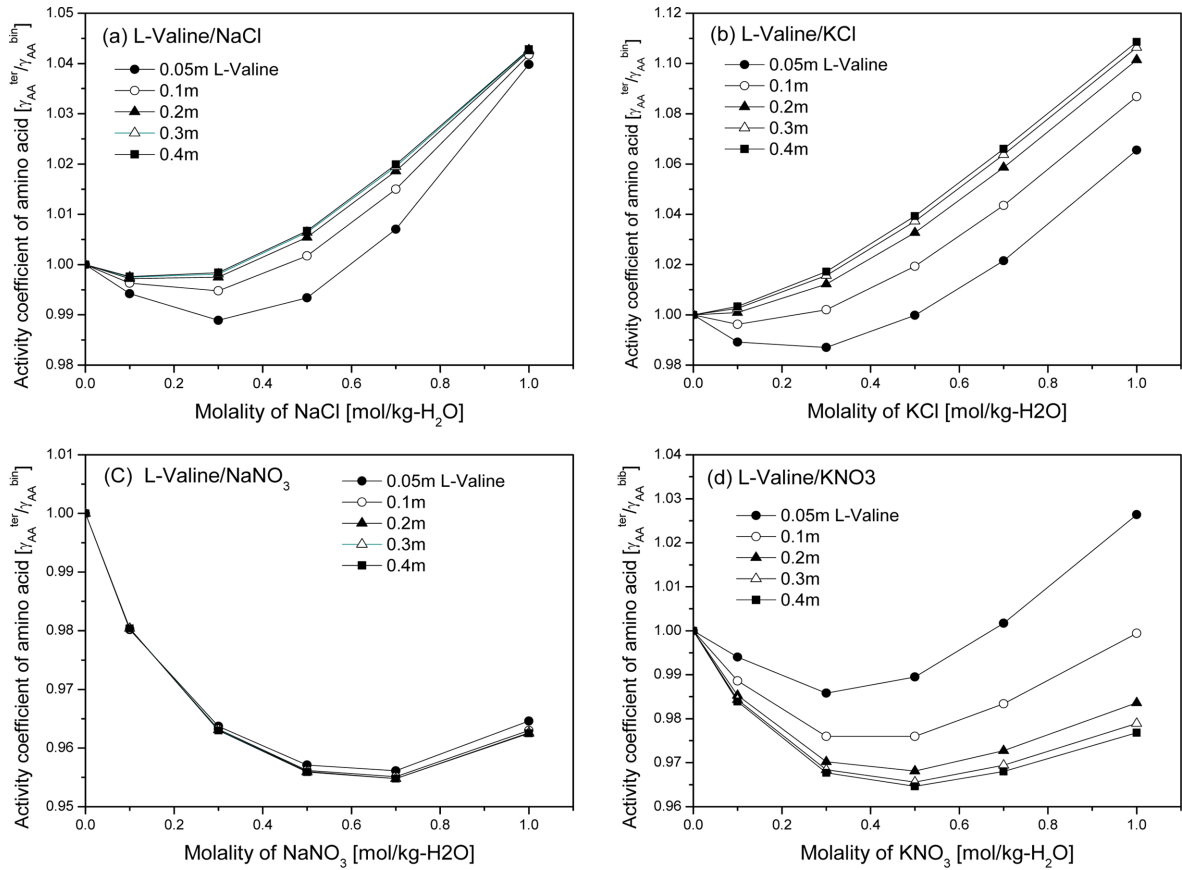


Fig. 3. Experimental activity coefficients of amino acid, $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ in the L-Valine/electrolyte aqueous solutions.

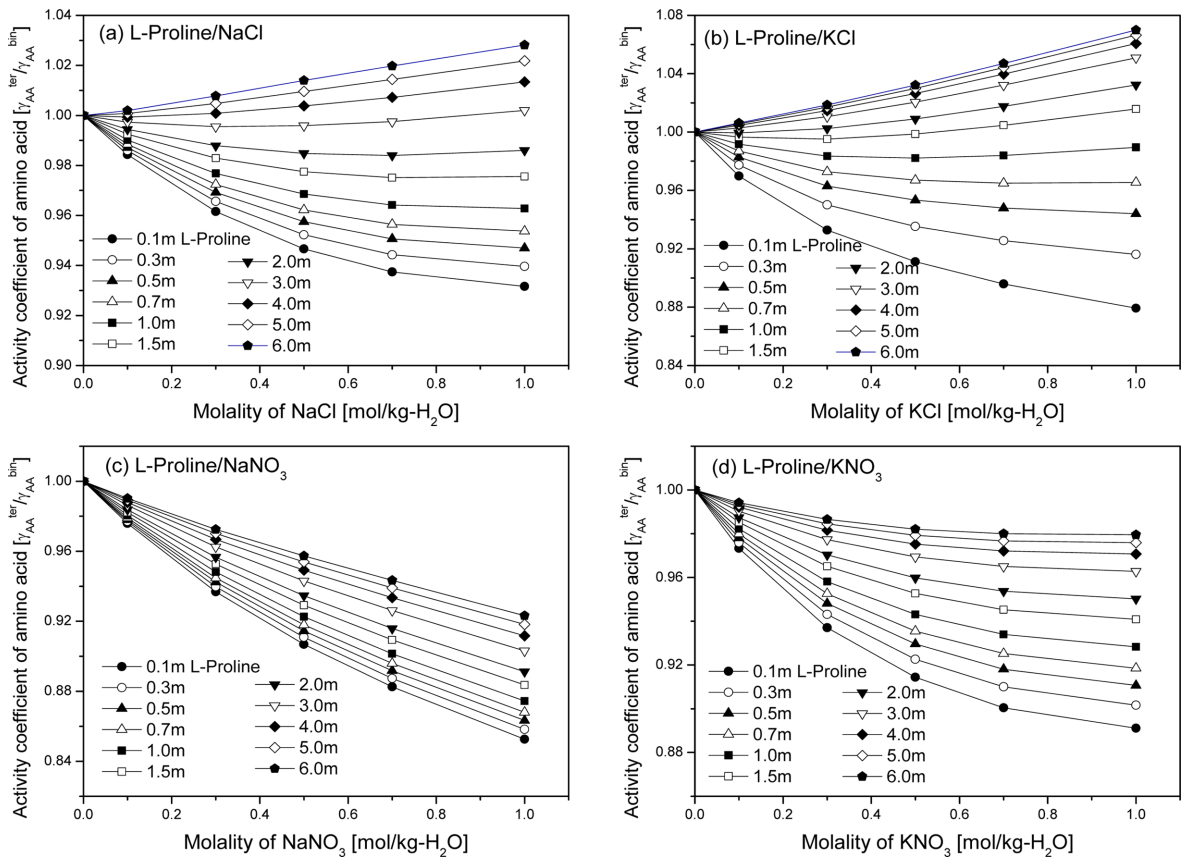


Fig. 4. Experimental activity coefficients of amino acid, $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ in the L-Proline/electrolyte solutions.

의 비 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값은 감소하며 그러나 전해질의 농도가 어느 값 이상으로 되면 증가하는 경향을 보인다. 한편 L-Proline/전해질 수용액의 경우는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값은 전반적으로 1.0보다 작은 값으로 전해질의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보이나, Cl⁻ 이온을 포함하는 NaCl 및 KCl 수용액의 경우는 L-Proline의 농도가 비교적 높은 영역에서 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값이 전해질의 농도에 따라 증가하는 경향을 보이고 있다.

L-Valine 및 L-Proline의 전해질 수용액에서 전해질의 활동도계수의 비($\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$) 값 및 아미노산의 활동도계수의 비($\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$) 값이 앞에서 설명된 바와 같은 경향을 보이는 것은, 지난번 연구[8]에서 L-Alanine/전해질 수용액에 대하여 논의된 바 있듯이, 수용액 상태에 존재하는 양이온 및 음이온과 아미노산 분자간의 상호작용에 의한 영향으로 설명될 수 있다. 아미노산 분자는 수용액 상태에는 분자 내에 암모늄기(-NH₃⁺)와 카르복실기(-COO⁻)가 존재하는 양쪽성 이온(zwitterion) 형태로 존재하게 되어 쌍극자 모멘트가 물 분자보다도 매우 큰 값을 갖는 것으로 알려져 있다[11]. 따라서 전해질의 농도가 낮은 영역에서는 아미노산 양쪽성 이온의 쌍극자와 전해질의 양이온 및 음이온과의 이온-쌍극자 상호작용에 의하여, 전해질의 활동도계수 γ_{\pm}^{ter} 은 아미노산 분자가 존재하지 않는 전해질 수용액(2성분 계)에서의 활동도계수 γ_{\pm}^{bin} 보다 작은 값을 가지며 아미노산의 농도 증가에 따라 감소한다. 또한 아미노산의 활동도계수 γ_{\pm}^{ter} 도 전해질이 존재하지 않는 아미노산 수용액(2성분 계)에서의 활동도계수 γ_{\pm}^{bin} 보다 작은 값으로 전해질의 농도에 따라 감소하게 된다. 그러나 전해질의 농도 또는 아미노산의 농도가 높아지면 이온 입자의 차폐효과(screen effect) 또는 전해질의 양이온 및 음이온이 아미노산의 양쪽성이온과 합체되어 이온-복합체(ionic complex)를 형성하는 현상 등이 지배적이 되며, 이에 따라 이온-쌍극자 상호작용의 경향이 약화되며 동시에 아미노산 분자 간의 쌍극자-쌍극자 상호작용 및 아미노산 분자와 물분자간의 쌍극자-쌍극자 상호작용도 약화된다[9,12-15]. 이러한 경우에는 수용액 내에 존재하는 화학종 간의 상호작용은 근거리(short-range) 상호작용(주로 repulsive 상호작용)이 지배적이 된다[15]. 따라서 전해질의 활동도계수 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 값은 전해질의 농도가 높은 조건일수록 아미노산 농도에 따른 감소 경향이 둔화되거나 또는

아미노산의 농도에 따라 증가하는 경향을 보이는 것으로 생각된다. 또한 아미노산의 활동도계수 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값도 아미노산의 농도가 높은 조건일수록 전해질의 농도에 따라 감소하는 경향이 둔화되거나 또는 전해질의 농도에 따라 증가하는 것으로 생각된다.

3-2. 용해도 측정 실험

NaCl, KCl, NaNO₃ 및 KNO₃의 각 염으로 이루어지는 4 종류의 전해질 수용액에서, 앞에서 설명된 실험방법에 따라 측정된 L-Valine 및 L-Proline의 용해도 값은 Table 2와 같다. 이 표에서 보면 L-Valine 및 L-Proline의 용해도 값은 상당한 차이를 보인다. 일반적으로 아미노산의 용해도 값의 크기는 아미노산에 포함된 측쇄기(side chain)의 종류에 따라 달라진다. Table 3에서와 같이 실험에 사용된 아미노산의 구조식을 살펴보면, L-Valine의 경우는 측쇄기의 소수성이 크므로 실험을 수행하는 조건에서 용해도 값이 약 50~60[g/kg-H₂O] 범위의 작은 값을 보이며 반면에 측쇄기의 형태가 고리 형으로 소수성이 작은 L-Proline의 용해도는 약 1,630~1,950 범위로 매우 큰 값을 보이고 있다. 또한 지난번 연구[8]에서 측정된 L-Alanine의 용해도 값이 160~190 범위의 값으로 L-Valine 보다 큰 값을 갖는 것은 L-Alanine의 측쇄기의 소수성이 L-Valine의 측쇄기보다 적기 때문인 것으로 생각된다. 한편 Table 2에서 전해질의 농도에 따른 용해도의 변화를 살펴보면, L-Valine의 용해도는 모든 전해질 용액에서 전반적으로 전해질의 농도가 낮은 영역에서는 전해질 농도에 따라 용해도가 증가하는 약간의 염용(salting-in) 효과를 보이나 전해질의 농도가 높아지면 용해도가 감소하는 염석(salting-out) 효과를 보이고 있다. Cl⁻ 이온을 포함하는 전해질(NaCl 및 KCl) 수용액의 경우 전해질의 농도가 약 $m_{\pm} \leq 0.3$ 범위에서, NO₃⁻ 이온을 포함하는 전해질(NaNO₃ 및 KNO₃) 수용액의 경우에서는 약 $m_{\pm} \leq 1.0$ 범위에서 염용효과를 보이고 있으며 또한 전해질의 농도가 높은 영역에서는 NO₃⁻ 이온을 포함하는 전해질 수용액의 용해도 값이 Cl⁻ 이온을 포함하는 전해질 수용액의 용해도 보다 큰 값을 보이고 있다. 이러한 점들을 미루어 보아, 음이온인 NO₃⁻ 이온은 L-Valine의 용해도가 염용효과를 갖게 하는 경향이 Cl⁻ 이온보다 큰 것으로 생각된다. 한편 L-Proline의 용해도 값을 살펴보면 L-Valine의 용해도와는 달리 4 종류의 전해질 수

Table 2. Measured solubilities of L-Valine and L-Proline in aqueous electrolyte solutions at 298.15 K

| Electrolyte (m _s) | Solubility of L-Valine [g/kg-H ₂ O] | | | |
|-------------------------------|---|---------|-------------------|------------------|
| | NaCl | KCl | NaNO ₃ | KNO ₃ |
| 0.0 | 58.57 | 58.57 | 58.57 | 58.57 |
| 0.1 | 58.92 | 58.42 | 59.37 | 59.20 |
| 0.3 | 59.10 | 58.18 | 59.77 | 59.25 |
| 0.5 | 57.93 | 57.83 | 60.00 | 58.97 |
| 0.7 | 57.50 | 56.46 | 60.32 | 58.88 |
| 1.0 | 55.06 | 54.70 | 60.28 | 57.97 |
| 1.5 | 52.82 | 52.27 | 59.61 | 56.58 |
| 2.0 | 49.28 | 49.22 | 58.88 | 54.19 |
| Electrolyte (m _s) | Solubility of L-Proline [g/kg-H ₂ O] | | | |
| | NaCl | KCl | NaNO ₃ | KNO ₃ |
| 0.0 m | 1632.81 | 1632.81 | 1632.81 | 1632.81 |
| 0.5 m | 1684.22 | 1653.64 | 1786.73 | 1687.00 |
| 1.0 m | 1709.52 | 1697.13 | 1822.01 | 1731.00 |
| 1.5 m | 1731.11 | 1715.68 | 1889.71 | 1756.16 |
| 2.0 m | 1767.95 | 1754.99 | 1964.68 | 1846.52 |

Table 3. Structural formula of the amino acids studied in this work and the previous work[8]

| Amino acid | Structural formula |
|------------|--------------------|
| L-Valine | |
| L-Alanine | |
| L-Proline | |

용액 모두 전해질의 농도에 따라 용해도가 증가하는 염용효과를 보이고 있으며, 이러한 염용효과는 NO_3^- 이온을 포함하는 전해질 수용액이 Cl^- 이온의 전해질 수용액보다 더 큰 경향을 보이고 있다. 이와 같은 L-Valine 및 L-Proline의 용해도 변화 경향은 지난번 연구[8]에서 측정된 L-Alanine의 용해도 변화와는 다른 경향으로, L-Alanine의 경우는 NO_3^- 이온을 포함하는 전해질 수용액에서는 염용효과를 보였으며, Cl^- 이온을 포함하는 수용액에서는 염석효과 경향을 보였다[8]. 이와 같은 사실을 통하여 볼 때, 전해질 농도에 따른 아미노산 용해도 변화에 음이온이 미치는 영향은 아미노산 측쇄기의 소수성 크기의 정도에 따라라도 달라짐을 알 수 있다.

지난번 연구[8]에서는 수용액 중의 이온(특히 음이온)이 용해도에 미치는 영향을 이온의 수화(hydration) 현상 및 이온-복합체 형성에 의한 영향으로 자세히 고찰한 바 있다. 아미노산 포화수용액에 전해질이 첨가되면, 전해질로부터 해리된 이온(특히 음이온)에 의한 수화작용에 의하여 아미노산 주위의 물 분자들이 탈리되고 이에 따라 아미노산 분자에 존재하는 탄화수소 측쇄기들 간의 상호작용에 의하여 아미노산의 응집현상이 일어나게 되며[8,16] 이러한 현상은 아미노산의 용해도가 염석효과를 나타내는 요인이 된다. 또한 아미노산의 포화용액은 아미노산의 농도가 높은 조건이므로 전해질의 양이온 및 음이온에 의하여 이온-복합체를 형성하게 되며 형성된 이온-복합체는 아미노산 측쇄기의 물 분자와의 소수성 작용(hydrophobic interaction)을 차폐하는 경향이 있으며[17] 이는 아미노산의 용해도가 염용효과를 갖게 되는 요인이 된다. 따라서 전해질이 아미노산의 용해도에 미치는 영향은 위와 같은 두 종류의 상반되는 영향 즉, 이온의 수화현상에 의한 영향과 이온-복합체 형성에 의한 영향의 상대적 크기에 의하여 결정된다고 볼 수 있다. 실험을 수행한 L-Valine의 용해도 값이 4 종류의 전해질 수용액 모두 염석효과 경향을 보이는 것은 L-Valine의 측쇄기의 소수성이 매우 크므로 형성된 이온-복합체가 측쇄기의 소수성 작용을 차폐하는 영향보다는 이온(특히 음이온)의 수화현상에 의한 영향이 큰 것에 기인하는 것으로 생각된다. 또한 음이온인 Cl^- 을 포함하는 전해질 수용액의 염석효과가 NO_3^- 이온의 수용액보다 큰 것은 음이온의 수화능력의 차이에 기인하는 것으로 생각된다. Cl^- 및 NO_3^- 이온은 수화수(hydration number)가 각각 약 6~7 및 약 3 정도로[18,19] 수화능력의 차이가 있으므로, 수화능력이 큰 Cl^- 이온을 포함하는 수용액의 염석효과 경향이 수화능력이 작은 NO_3^- 이온을 포함하는 수용액의 염석효과 더 큰 것으로 생각된다. 한편 L-Proline의 경우는 L-Valine의 경우에서와 같이 음이온의 수화작용에 의한 용해도의 염석효과를 고려할 수 있으나, L-Proline의 측쇄기의 소수성이 매우 작기 때문에 형성된 이온-복합체가 L-Proline 측쇄기의 소수성 작용을 차폐하는 경향이 커서 4 종류의 수용액의 용해도가 모두 염용효과 경향을 보이는 것으로 생각된다. 또한 이 경우 NO_3^- 이온을 포함하는 전해질 수용액의 염용효과가 Cl^- 이온의 수용액보다 더 큰 것은 타 연구자들의 실험결과[20,21]와 일치하는 사항이긴 하나, 그 이유에 대하여는 각각의 이온에 의하여 형성된 이온-복합체들의 물리적 특성의 차이에 기인한다는 타 연구자[21]의 지적이 있지만 본 연구에서는 그 원인을 고찰하지는 못하였다. 한편 Table 2에서 L-Valine 및 L-Proline의 용해도에 대한 양이온의 영향을 살펴보면, L-Valine 및 L-Proline 모두 Cl^- 이온을 포함하는 전해질 수용액의 경우 Na^+ 및 K^+ 이온이 용해도에 미치는 영향의 차이는 거의 없으나, NO_3^- 이온을 포함하는 전해질 수용액의 경우 L-Valine의 염석효과에 K^+ 이온이 미치는 영향이 Na^+ 보다 더 크

며 반면에 L-Proline의 염용효과에는 Na^+ 이온이 미치는 영향이 K^+ 이온보다 더 크다. 이러한 경향은 지난번 연구[8]에서 언급된 바 있는 Hofmeister 순서[22]에서 Na^+ 이온의 염용효과 크기가 K^+ 이온보다 크다는 경향과는 일치하고 있으나, 이에 대하여도 본 연구에서는 이론적 고찰을 하지 못하였다.

4. 이론적 관계의 모델링 및 고찰

4-1. 아미노산 및 전해질의 활동도계수

본 연구의 저자들은 지난번 연구[8]에서 아미노산/전해질 수용액에 PC-SAFT(Perturbed Chain-Statistical Associating Fluid Theory) 모델[23]을 적용하여 물, 아미노산 및 이온의 활동도계수에 관한 이론적 모델을 제안한 바 있다. 또한 이들은 L-Alanine 전해질 수용액에서 측정된 이온 및 아미노산의 활동도계수와 용해도 데이터를 그들의 이론적 모델로 검토한 바 있다. 지난번 연구의 이론적 모델[8]에서는 수용액 중의 양이온 및 음이온과 아미노산의 양쪽성 이온 각각은 물 분자와 수화(hydration)하며, 또한 물 분자 및 아미노산의 양쪽성 이온 각각은 자기회합(self-association)한다고 가정하였다. 또한 수용액 중의 아미노산 양쪽성 이온(AA^\pm)은 양이온(C^+) 및 음이온(A^-)과 합체되어 다음과 같이 이온-복합체를 형성한다고 가정하였다.



이론적 모델에서는 위와 같은 가정 하에 양이온, 음이온 및 아미노산 양쪽성 이온의 수화현상과 위의 식과 같이 이온-복합체를 형성하는 현상을 교차회합(cross-association)으로 간주하여 SAFT 모델[24,25]의 회합이론이 적용되었다. 또한 지난번 연구[8]의 이론적 모델의 전개과정에서는 아미노산/전해질 수용액을 4 성분 계 즉, 물(1)양이온(2)음이온(3)아미노산 양쪽성 이온(4) 계로 가정하고, 본 연구의 저자들이 전해질 수용액 및 아미노산 수용액에 PC-SAFT 모델을 적용시킨 과거의 연구 결과[26,27]를 토대로 하여 아미노산/전해질 수용액에서의 잔류 Helmholtz 자유에너지(A^{res})를 모델링하고 이로부터 각 성분의 활동도계수에 대한 이론식을 유도하였다. 이와 같은 지난번 연구[8]에서는 활동도계수의 이론식에 포함된 물 분자, 양이온, 음이온 및 아미노산의 양쪽성 이온에 대한 PC-SAFT 파라미터 값은 저자들의 과거 연구[23,24]에서 얻은 값으로 대치하고, 위의 식 (8)과 같은 이온-복합체 형성과 관련된 4 개의 파라미터는 이론적 모델의 파라미터로 간주하였다. 식 (8)과 같은 이온-복합체 형성과정을 교차회합 과정으로 가정하면 양이온(2) 및 음이온(3)과 아미노산 양쪽성 이온(4)간의 교차회합과 관련된 회합에너지 파라미터인 ϵ_{24}^{assoc}/k 및 ϵ_{34}^{assoc}/k 와 회합부피 파라미터인 k_{24}^{assoc} 및 k_{34}^{assoc} 와 같은 4 개의 파라미터가 도입된다. 지난번 연구[8]에서는 이들의 파라미터를 이론적 모델의 파라미터의 수를 줄이기 위하여 다음과 같이 가정하였다.

$$\epsilon_{24}^{assoc}/k = \epsilon_{34}^{assoc}/k = \epsilon_{ion,AA}^{assoc}/k \quad (9)$$

$$k_{24}^{assoc} = k_{34}^{assoc} = k_{ion,AA}^{assoc} \quad (10)$$

한편 PC-SAFT 모델에서는 성분 분자간의 분산 상호작용(dispersion interaction)이 A^{res} 에 영향을 미치는 기여 항인 A^{disp} 를 정의하기 위해서는 순수한 화학성분 i 분자의 시그먼트 직경(σ_{ii}) 및 i 성분 분자의 시그먼트 간의 분산 상호작용 에너지(ϵ_{ii}/k) 파라미터가 필요하며 또한 타 화학성분 i, j 분자의 시그먼트 간의 파라미터는 다음과 같

은 결합법칙에 의하여 정의된다[23-25].

$$\sigma_{ij} = \frac{1}{2}(\sigma_{ii} + \sigma_{jj}) \quad (11)$$

$$\varepsilon_{ij}/k = (1 - k_{ij})\sqrt{(\varepsilon_{ii}/k)(\varepsilon_{jj}/k)} \quad (12)$$

이때 식 (12)의 k_{ij} 는 화학성분 i, j 분자의 시그먼트 간의 상호작용 파라미터이며 지난번 연구[8]에서는 양이온 및 음이온과 아미노산 양쪽성 이온 간의 각 상호작용 파라미터인 k_{24} 및 k_{34} 는 서로 같다고 가정하였으며

$$k_{24} = k_{34} = k_{ion,AA} \quad (13)$$

또한 위의 $k_{ion,AA}$ 값은 전해질의 농도와 다음과 같은 함수관계를 갖는다고 가정하였다.

$$k_{ion,AA} = 1 + n\rho_s \quad (14)$$

이때 ρ_s 는 전해질의 number density이며 $\rho_s = N_s/V$ 와 같은 관계를 갖는다. 따라서 이상과 같이 설명된 아미노산/전해질 수용액에 대한 지난번 연구[8]의 이론적 모델에는 식 (9), (10)의 $\varepsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$ 및 $k_{ion,AA}^{assoc}$ 와 식 (14)의 1 및 n 과 같은 4 개의 파라미터가 포함된다. 지난번 연구[8]에서는 이들 4 개의 파라미터 중 회합부피와 관련한 파라미터인 $k_{ion,AA}^{assoc}$ 값을 모든 전해질(양이온 및 음이온)과 아미노산에 대하여 $k_{ion,AA}^{assoc} = 0.001$ 와 같이 일정한 값으로 가정하고 나머지 3 개의 파라미터 $\varepsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$, 1 및 n 을 아미노산의 활동도계수 실험 데이터를 이용하여 추산하였다. 이들 3 개의 파라미터는 아미노산/전해질 수용액 계에서 전해질 및 아미노산의 종류에 따라 다른 값을 갖는 특성 파라미터의 의미를 갖는다.

본 연구에서는 L-Valine 및 L-Proline의 전해질 수용액에서 ISE 법을 이용하여 실험적으로 측정된 전해질 및 아미노산의 활동도계수를 앞에서와 같이 설명된 지난번 연구[8]의 이론적 모델에 적용하여 실험을 수행한 8개 아미노산/전해질 수용액 계의 파라미터, 즉 $\varepsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$, 1 및 n 의 값을 추산하였다. 파라미터 추산을 위하여 사용된 목적함수(objective function)는 다음과 같다.

$$F_{obj} = \sum_i \{[(\gamma_{AA}^{ter})_{exp} - (\gamma_{AA}^{ter})_{cal}]_i^2 + [(\gamma_{\pm}^{ter})_{exp} - (\gamma_{\pm}^{ter})_{cal}]_i^2\} \quad (15)$$

지난번 연구[8]에서는 아미노산의 활동도 계수와 용액의 밀도 데이터를 이용하여 목적함수를 정의하였으나, 본 연구에서는 활동도계수의 정확한 모델링을 위하여 위의 식과 같이 아미노산의 활동도계수와 전해질의 활동도계수(이온의 평균 활동도계수)를 사용하였다.

실험적으로 측정된 $\gamma_{\pm}^{ter}/\gamma_{\pm}^{bin}$ 및 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값으로부터 아미노산/전해질 수용액(3성분 계)에서 활동도계수의 실험값 $(\gamma_{\pm}^{ter})_{exp}$ 및 $(\gamma_{AA}^{ter})_{exp}$ 을 얻기 위해서는 이성분 수용액에서의 전해질 및 아미노산의 활동도계수 γ_{\pm}^{bin} 및 γ_{AA}^{bin} 값이 필요하며 이들 값은 문헌의 값(Table 4 참조)을 사용하였다. 한편 이론적 모델에 의하여 $(\gamma_{AA}^{ter})_{cal}$ 및 $(\gamma_{\pm}^{ter})_{cal}$ 을 계산하는 과정에는 물 분자, L-Valine 및 L-Proline 각각에 대한 5개의 PC-SAFT 파라미터가 필요하고, 또한 본 연구에서 사용된 전해질의 양이온(Na^+ , K^+) 및 음이온(Cl^- , NO_3^-) 각각에 대한 6개의 특성 파라미터가 필요하며, 이들 파라미터의 값은 본 연구의 저자들이 과거에 수행한 연구[26,27]에서 추산된 값을 인용하였다. 이와 같은 방법에 의하여 실험을 수행한 8개 아미노산/전해질 수용액 계의 특성 파라미터인 $\varepsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$, 1 및 n 의 값을 추산한 결과는 Table 4와 같다. 또한 Table 4의 파라미터 값을 이용하여 계산된 γ_{AA}^{ter} 및 γ_{\pm}^{ter} 값과 실험값과의 비교는 각각 Fig. 5, 6과 Fig. 7, 8과 같다. Table 4에서 이론적 모델에 의하여 계산되는 활동도계수 값과 실험값과의 편차를 나타내는 ARD 값을 살펴보면, γ_{AA}^{ter} 및 γ_{\pm}^{ter} 의 ARD(%) 평균값이 각각 0.855, 1.373으로 비교적 양호한 결과이다. Fig. 5, 6에서 L-Valine 및 L-Proline의 활동도계수(γ_{AA}^{ter})을 보면 Fig. 5의 L-Valine/ KNO_3 계를 제외한 모든 계에서는 이론적 모델에 의하여 계산된 γ_{AA}^{ter} 값은 실험값과 잘 일치함을 보이고 있다. 그러나 Fig. 5의 L-Valine/ KNO_3 계에서 보면 계산된 γ_{AA}^{ter} 값은 전해질의 농도가 높은 영역에서 실험값과의 편차가 큼을 알 수 있다. 이계에 대하여는 파라미터($\varepsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$, 1 및 n) 추산과정에서 초기치를 달리한 여러 조건에서 계산하였으나 계산결과가 같았으며 추가적인 검토가 더 필요하다고 생각된다. 또한 Fig. 7, 8에서 평균 이온 활동도계수(전해질 활동도계수) γ_{\pm}^{ter} 의 계산 값과 실험값과의 비교를 보면 모든 계에서 이론적 모델에 의하여 계산된 값은 실험값과 비교적 잘 일치함을 알 수 있다.

4-2. 아미노산의 용해도

아미노산/전해질 수용액에서 전해질의 농도에 따른 아미노산의 용해도는 지난번 연구[8]에서와 같이 액체/고체 평형관계에 의하여 정의될 수 있다. 전해질의 농도가 일정한 값(m_s 또는 x_s)을 갖는 전해질수용액에 아미노산이 포화된 상태로 용해된 용액(3성분 계)에서는 아미노산에 대하여 다음과 같은 액체/고체 평형관계가 성립한다.

$$x_{AA}^{ter} \gamma_{AA}^{ter}(x_s, x_{AA}^{ter}) f_{AA}^{o,l} = f_{AA}^{s,ter} \quad (16)$$

이때 x_{AA}^{ter} 은 아미노산이 포화된 전해질 용액에서 아미노산의 몰분

Table 4. Simulated results of activity coefficients of amino acids and electrolytes in the amino acid/electrolyte aqueous solutions, based on the theoretical model of previous work [8]

| Amino acid/electrolyte | Estimated parameters | | | ARD(%) | | Data source | |
|----------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | 1 | $n/N_{av} \cdot 10^3$ | $\varepsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$ | γ_{AA}^{ter} | γ_{\pm}^{ter} | γ_{AA}^{bin} | γ_{\pm}^{bin} |
| L-Valine/NaCl | -0.1540 | 0.0035 | 2477.69 | 0.170 | 0.249 | [29] | [30] |
| L-Valine/KCl | 0.0051 | -0.0139 | 2634.98 | 0.470 | 1.098 | [29] | [30] |
| L-Valine/ NaNO_3 | -0.0895 | -0.0019 | 2537.09 | 0.330 | 0.296 | [29] | [30] |
| L-Valine/ KNO_3 | -0.0943 | 0.0054 | 2340.89 | 0.541 | 3.336 | [29] | [30] |
| L-Proline/NaCl | -0.0689 | 0.0022 | 2574.42 | 1.060 | 0.716 | [29] | [30] |
| L-Proline/KCl | 0.0092 | 0.0033 | 2661.16 | 0.946 | 1.311 | [29] | [30] |
| L-Proline/ NaNO_3 | 0.0065 | -0.0032 | 2662.33 | 1.439 | 1.262 | [29] | [30] |
| L-Proline/ KNO_3 | 0.0512 | 0.0011 | 2692.60 | 1.882 | 2.713 | [29] | [30] |
| overall average | | | | 0.855 | 1.373 | | |

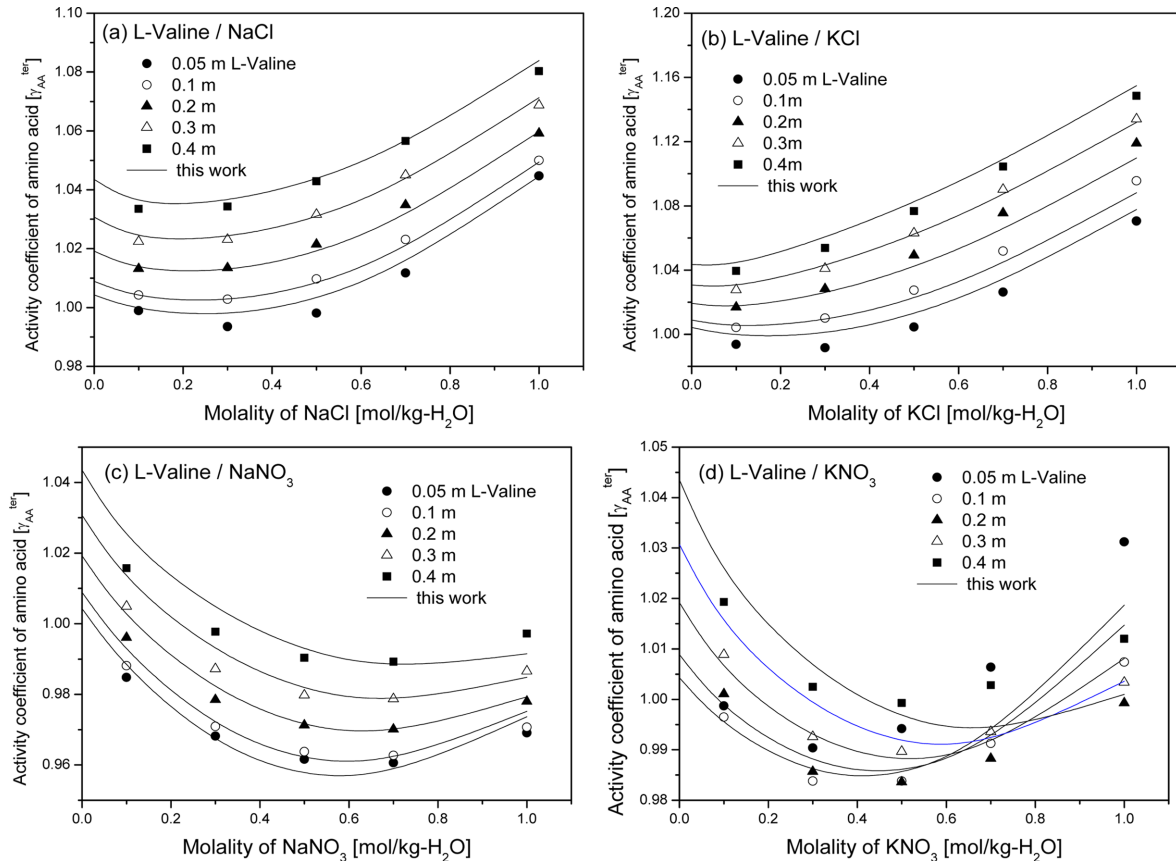


Fig. 5. Comparisons of activity coefficients of L-Valine, γ_{AA}^{ter} correlated based on the previous model [8] and experimental data of this work.

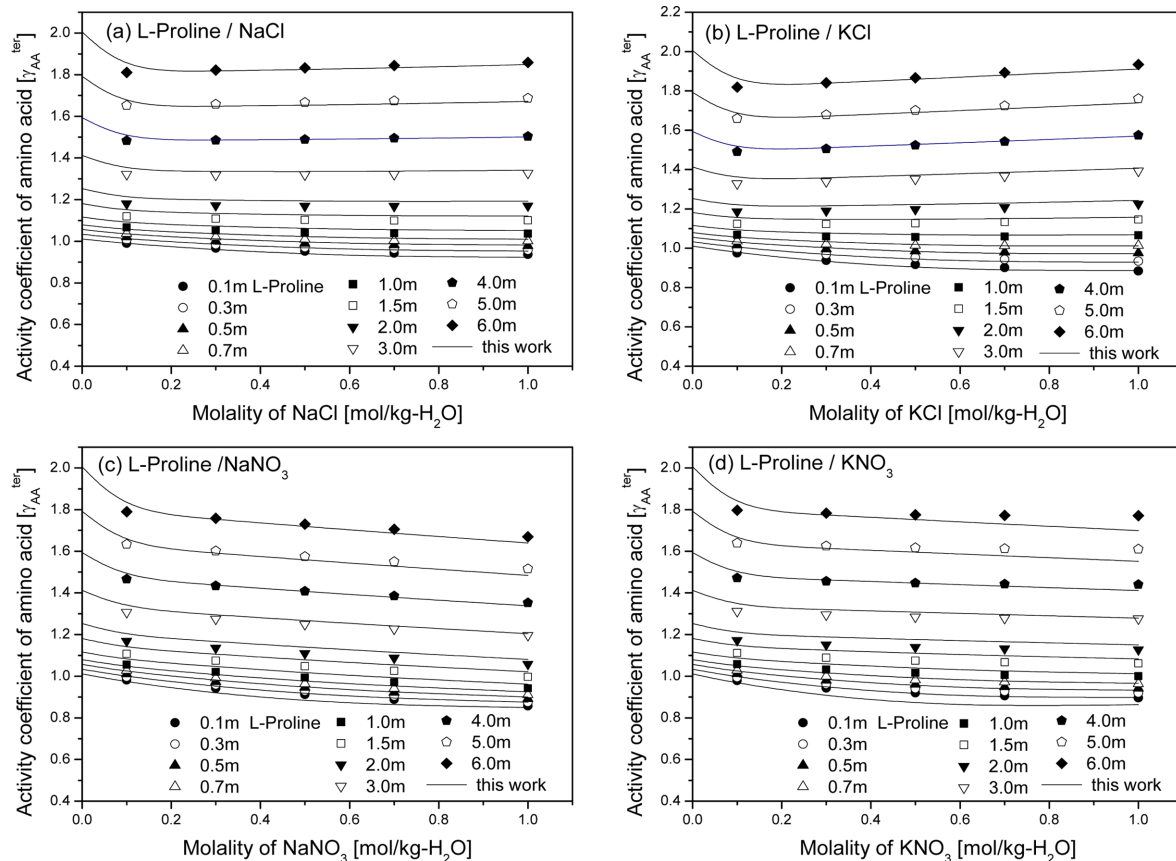


Fig. 6. Comparisons of activity coefficients of L-Proline, γ_{AA}^{ter} correlated based on the previous model [8] and experimental data of this work.

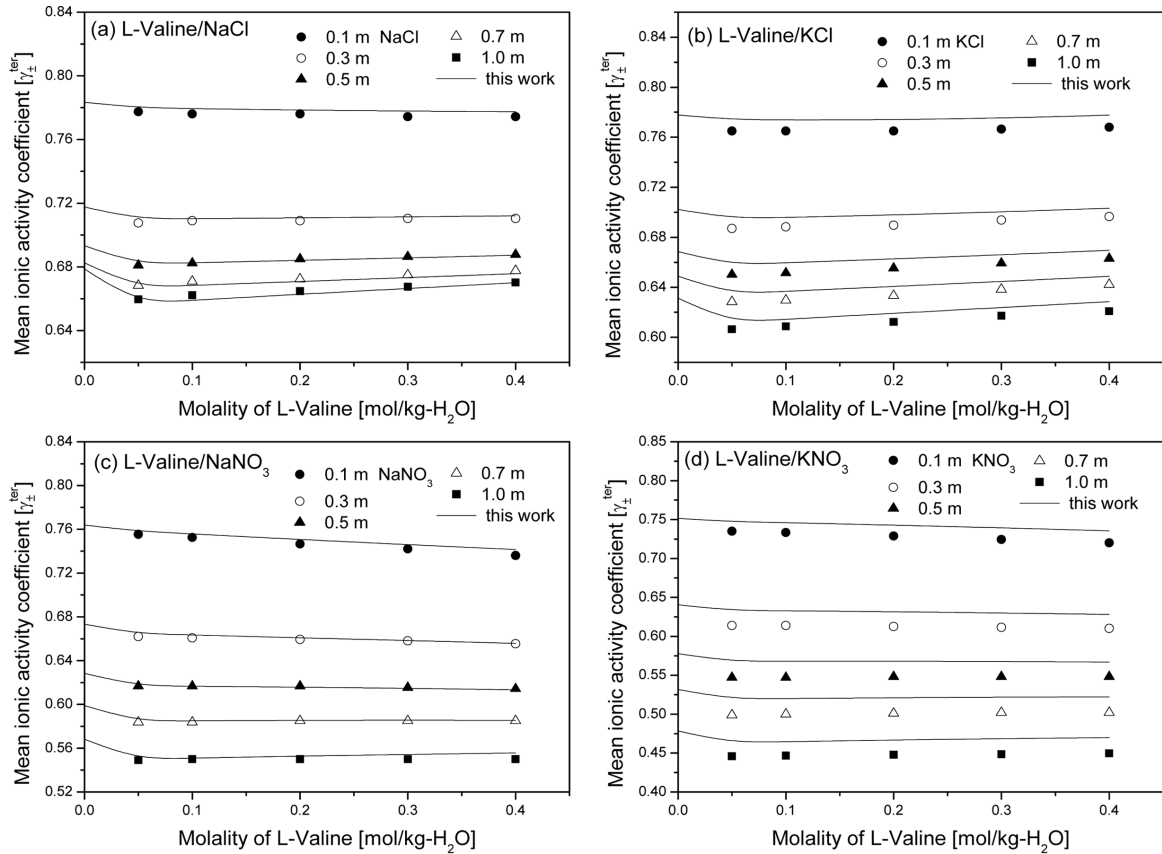


Fig. 7. Comparisons of mean ionic activity coefficients of electrolyte, γ_{\pm}^{ter} correlated based on the previous model [8] and experimental data of this work in the L-Valine/electrolyte aqueous solutions.

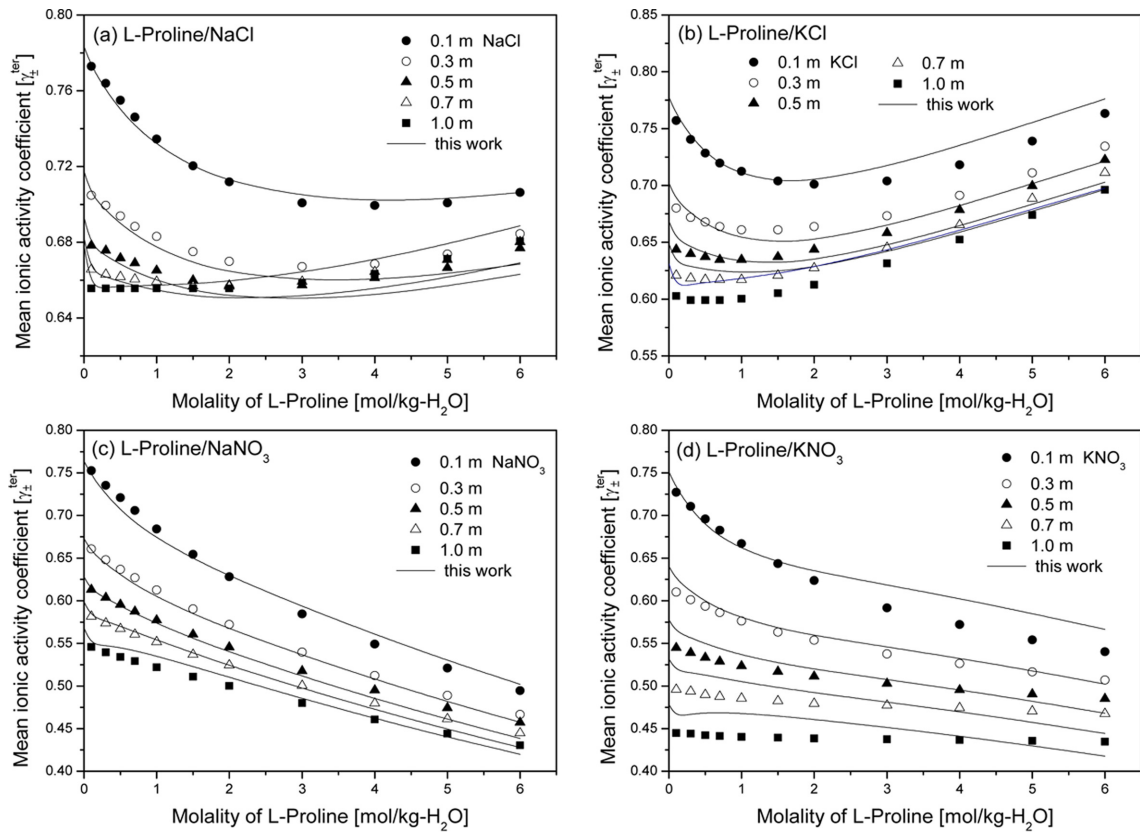


Fig. 8. Comparisons of mean ionic activity coefficients of electrolyte, γ_{\pm}^{ter} correlated based on the previous model [8] and experimental data of this work in the L-Proline/electrolyte aqueous solutions.

율로 아미노산의 용해도가 된다. 또한 $f_{AA}^{o,l}$ 는 기준상태(reference state)의 퓨가시티(fugacity)로서 순수한 아미노산의 액체상태의 퓨가시티를 의미한다. 한편 전해질이 포함되지 않은 순수한 물에 아미노산이 포화된 수용액(2성분 계)에서는 아래와 관계가 만족된다.

$$x_{AA}^{bin} \gamma_{AA}^{bin}(x_{AA}^{bin}) f_{AA}^{o,l} = f_{AA}^{s,bin} \quad (17)$$

이때 x_{AA}^{bin} 는 물에 대한 아미노산의 용해도가 되며, $f_{AA}^{o,l}$ 는 식 (16)에서의 의미와 같다. 따라서 위의 두 식의 관계로부터 전해질 수용액에서의 아미노산의 용해도(x_{AA}^{ter})는 다음과 같은 관계가 된다.

$$x_{AA}^{ter} = x_{AA}^{bin} \left[\frac{\gamma_{AA}^{bin}(x_{AA}^{bin})}{\gamma_{AA}^{ter}(x_s, x_{AA}^{ter})} \right] \left(\frac{f_{AA}^{s,ter}}{f_{AA}^{s,bin}} \right) \quad (18)$$

위의 관계식에서 $f_{AA}^{s,ter}$ 및 $f_{AA}^{s,bin}$ 은 각각 3성분 계 용액(전해질 수용액) 및 2성분 계(수용액) 용액 상태에서 침전되는 순수한 아미노산의 퓨가시티이다. 일반적으로 전해질 수용액 상태에서 침전되는 아미노산은 전해질의 농도에 따라 결정 상태가 다르며 또한 수용액 상태에서 침전 되는 아미노산의 결정 상태와도 다른 것으로 알려져 있다[17,28]. 따라서 위의 식 (18)의 $f_{AA}^{s,ter}$ 와 $f_{AA}^{s,bin}$ 는 다른 값이며 현재로서는 이에 대한 이론적 근거가 보고된 바가 없으므로, 본 연구에서는 지난번 연구[8]에서와 같이 Khoshkbarchi와 Vera[17]가 제안한 다음과 같은 관계를 사용하였다.

$$\frac{f_{AA}^{s,ter}}{f_{AA}^{s,bin}} = \frac{1}{1 + ax_s^b} \quad (19)$$

위의 관계는 경험적 관계식이므로 a 및 b 대한 이론적 근거는 없으며 단지 용해도 데이터로부터 추산되는 상수의 의미일 뿐이다.

위의 식 (18) 및 (19)의 관계에서 상수 a, b를 알고 있는 경우에는, 앞서의 활동도계수의 모델링에서 추산된 파라미터 값들(Table 4)을 사용하면 $\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$ 값이 정의될 수 있으므로 전해질 수용액의 용해도 γ_{AA}^{ter} 는 위의 식 (18)의 관계인 비선형 대수식의 해가 된다. 따라서 전해질 수용액에서 실험적으로 측정된 아미노산의 용해도 데이터를 이용하면 다음과 같은 목적함수를 최소로 만족하는 상수 a 및 b의 값을 추산할 수 있다.

$$F_{obj} = \sum_i [(x_{AA}^{ter})_{exp} - (x_{AA}^{ter})_{cal}]^2 \quad (20)$$

본 연구에서는 4 종류의 전해질 수용액에서 실험적으로 측정된 L-Valine 및 L-Proline의 용해도 데이터(Table 2)를 이용하여 상수 a 및

Table 5. Calculated results for solubilities of amino acids in different electrolyte solution at 298.15 K

| Amino acid/electrolyte | a | b | ARD (%) |
|-----------------------------|---------|--------|---------|
| L-Valine/NaCl | 0.0129 | 0.5808 | 0.711 |
| L-Valine/KCl | -0.1210 | 0.7726 | 0.369 |
| L-Valine/NaNO ₃ | 0.0069 | 1.0000 | 1.655 |
| L-Valine/KNO ₃ | 0.6791 | 0.9790 | 0.776 |
| L-Proline/NaCl | -0.1104 | 0.7910 | 0.330 |
| L-Proline/KCl | -0.0836 | 0.9697 | 0.304 |
| L-Proline/NaNO ₃ | -0.1348 | 0.4445 | 0.676 |
| L-Proline/KNO ₃ | -0.0245 | 1.5341 | 0.746 |
| overall average | | | 0.696 |

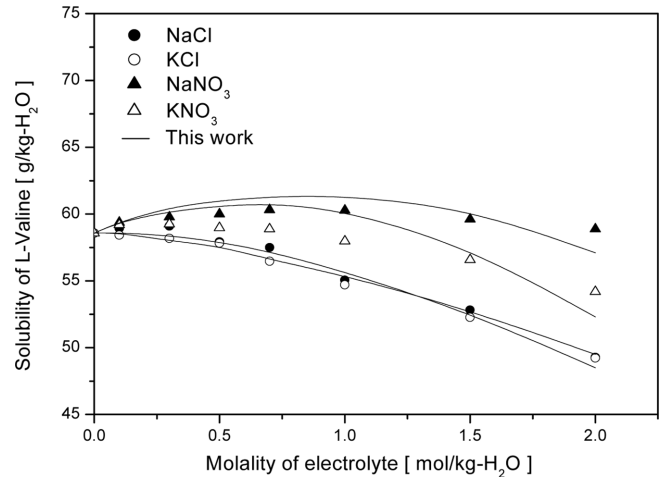


Fig. 9. Comparisons of calculated solubilities of L-Valine and experimental data of this work.

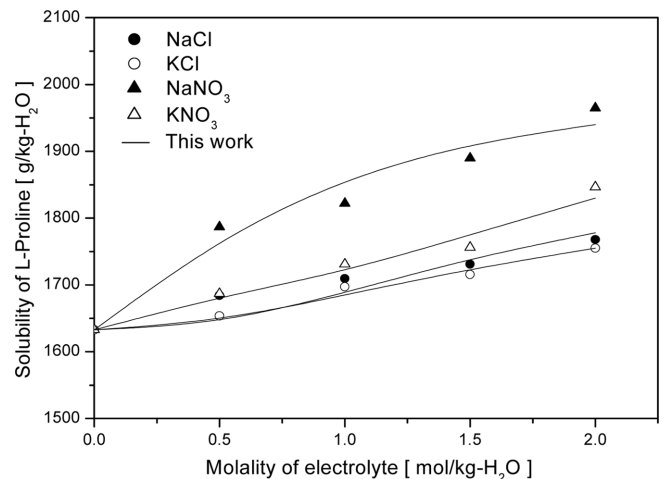


Fig. 10. Comparisons of calculated solubilities of L-Proline and experimental data of this work.

b 값을 추산하였다. 추산결과는 Table 5와 같으며 용해도의 계산 값의 실험값과의 비교는 Fig. 9, 10과 같다. Table 5에서 보면 식 (19)의 관계에 의하여 계산되는 용해도 값과 실험값과의 편차인 ARD(%) 값이 평균 0.696 정도로 매우 좋은 결과라 생각된다. 또한 계산된 용해도 값과 실험값과의 비교인 Fig. 9, 10에서 보면 본 연구에서 측정된 모든 계의 용해도 값은 식 (19)의 관계에 의하여 잘 묘사될 수 있음을 알 수 있다.

6. 결 론

본 연구에서는 L-Valine 및 L-Proline이 용해된 전해질 수용액에서 이온선택성 전극을 사용한 전기화학적 방법으로 전해질 및 아미노산의 활동도계수를 측정하였으며, 전해질로는 4 종류의 무기염 NaCl, NaNO₃, KCl 및 KNO₃을 사용하였다. 또한 일정 농도의 전해질 수용액에 대한 L-Valine 및 L-Proline의 용해도를 전형적인 중량분석법으로 측정하였다. 실험에서 측정된 전해질 및 아미노산의 활동도계수와 아미노산의 용해도에 전해질의 음이온(NO₃⁻ 및 Cl⁻) 및 양이온(Na⁺ 및 K⁺)이 미치는 영향을 검토하였다. L-Valine 및 L-Proline 각

각의 활동도계수의 비($\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$) 값 모두 음이온인 NO_3^- 을 포함하고 있는 전해질 수용액에서의 값이 Cl^- 이온을 포함하는 전해질 수용액의 값보다 적은 경향을 보였으며, 그러나 양이온의 경우에는 L-Valine 및 L-Proline의 활동도계수의 비($\gamma_{AA}^{ter}/\gamma_{AA}^{bin}$)에 영향을 미치는 규칙적인 경향을 확인할 수 없었다. 한편 L-Valine의 용해도는 실험을 수행한 모든 전해질 수용액에서 전해질의 농도가 높은 영역에서는 염석효과 경향을 보였으며 또한 염석효과 경향은 NO_3^- 이온을 공통으로 포함하고 있는 전해질 수용액에서의 염석효과 경향이 Cl^- 이온을 포함하는 수용액에서의 염석효과 경향보다 적었다. 반면에 L-Proline의 용해도는 모든 전해질 수용액에서 염용효과 경향을 보였으며 NO_3^- 이온을 공통으로 포함하고 있는 전해질 수용액에서의 염용효과가 Cl^- 이온을 포함하는 수용액에서의 염용효과보다 큰 경향을 보였다. 양이온인 Na^+ 및 K^+ 이 L-Valine 및 L-Proline의 용해도에 미치는 영향은 두 아미노산의 경우 모두 Cl^- 이온을 포함하는 전해질 수용액에서는 차이가 거의 없었으나, NO_3^- 이온을 포함하는 전해질 수용액의 경우에는 Na^+ 이온이 L-Valine의 염석효과에 미치는 영향은 K^+ 이온 보다 작으며 반면에 Na^+ 이온이 L-Proline의 염용효과에 미치는 영향은 K^+ 이온보다 더 큰 경향을 보였다.

한편 본 연구의 실험에서 8개의 아미노산/전해질 수용액에 대하여 측정된 아미노산의 활동도계수와 전해질의 활동도계수 값 및 아미노산의 용해도 데이터를 지난번 연구[8]에서 제안한 이론적 모델로 검토하여 보았으며, 측정된 활동도계수 및 용해도 값은 지난번 연구의 이론적 모델로 잘 묘사될 수 있음을 알 수 있었다.

사용기호

| | |
|------------------------|---|
| ARD(%) | : average of relative deviation[$=\frac{100}{N_{data}} \sum_i \left \frac{X_{exp} - X_{cal}}{X_{exp}} \right $] |
| a | : adjustable parameter of eqn.[19] |
| b | : adjustable parameter of eqn.[19] |
| C, C_{0k} , C_{1k} | : constants of eqn.[6] |
| ΔE^{ter} | : electro potential difference between the cation and anion electrodes in the amino acid/electrolyte aqueous solution |
| ΔE^{bin} | : electro potential difference between the cation and anion electrodes in the electrolyte aqueous solution |
| f_{AA} | : fugacity of amino acid |
| F | : Faraday constant |
| k | : Boltzmann constant |
| k_{ij} | : interaction parameter between and component |
| l | : adjustable parameter of eqn.[14] |
| n | : adjustable parameter of eqn.[14] |
| n_e | : mole number of electrons transferred between two electrodes |
| N_s | : number of salt molecule |
| N_{av} | : Avogadro's number |
| m_{AA} | : molality of amino acid |
| m_s | : molality of salt |
| R | : gas constant |
| S | : slope of electro potential between cation and anion electrodes |
| T | : temperature |
| V | : molar volume |

| | |
|----------------|--|
| x_{AA}^{ter} | : solubility of amino acid in the electrolyte aqueous solution |
| x_{AA}^{bin} | : solubility of amino acid in water |

그리스 문자

| | |
|-------------------------------|---|
| γ_{\pm}^{ter} | : mean ionic activity coefficient in the amino acid/electrolyte aqueous solution |
| γ_{\pm}^{bin} | : mean ionic activity coefficient in the electrolyte aqueous solution |
| γ_{AA}^{ter} | : activity coefficient of amino acid in the amino acid/electrolyte aqueous solution |
| γ_{AA}^{bin} | : activity coefficient of amino acid in electrolyte aqueous solution |
| ϵ_{ij}/k | : dispersion energy parameter between chemical species i and j |
| $\epsilon_{ion,AA}^{assoc}/k$ | : adjustable parameter which means the energy parameter of association between amino acid and ions of electrolyte |
| $k_{ion,AA}^{assoc}$ | : volume parameter of association between amino acid and ions of electrolyte |
| v | : total number of cation and anion per salt molecule |
| ρ_s | : number density of salt |
| σ_{ij} | : segment diameter of chemical species i |

상첨자

| | |
|-----|--------------------|
| ter | : ternary solution |
| bin | : binary solution |

아래첨자

| | |
|------------|--|
| AA | : amino acid |
| i, j | : chemical species i, j |
| 1, 2, 3, 4 | : water, cation, anion and amino acid respectively |

참고문헌

- Subramanian, Ganapathy, Bioseparations. and bioprocessing vol. 1, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim(2007).
- Ladish, M. R., Bioseparations engineering : Principles, Practice and Economics, Wiley-Interscience, New York(2001).
- Chen, C.-C., Zhu, Y. and Evans, L. B., "Phase Partitioning of Biomolecules: Solubilities of Amino Acids," *Biotechnol. Prog.*, **5**(3), 111-118(1989).
- Khoshkbarchi, M. K. and Vera, J. H., "Measurement and Modeling of Activities of Amino Acids in Aqueous Salt Systems," *AIChE J.*, **42**(8), 2354-2364(1996).
- Khoshkbarchi, M. K. and Vera, J. H., "A Perturbed Hard-sphere Model with Mean Spherical Approximation for the Activity Coefficients of Amino Acids in Aqueous Electrolyte Solutions," *Ind. Eng. Chem. Res.*, **35**(12), 4755-4766(1996).
- Pazuki, G. R., Rohani, A. A. and Dashtizadeh, A., "Correlation of the Mean Ionic Activity Coefficients of Electrolytes in Aqueous Amino Acid and Peptide Systems," *Fluid Phase Equilibria*, **231**, 171-175(2005).
- Sadeghi, R., "Modification of the NRTL and Wilson Models for

- the Representation of Phase Equilibrium Behavior of Aqueous Amino Acid-electrolyte Solutions;” *Can. J. Chem.*, **86**, 1126-1137 (2008).
8. Lee, B.-S. and Kim, K.-C., “Measurements and Modeling of the Activity Coefficients and Solubilities of L-alanine in Aqueous Electrolyte Solutions;” *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONG-HAK)*, **48**(4), 519-533 (2010).
 9. Khoshkbarchi, M. K. and Vera, J. H., “Measurement of Activity Coefficients of Amino Acids in Aqueous Electrolyte Solutions: Experimental Data of the Systems $H_2O+NaCl+Glycine$ and $H_2O+NaCl+DL-Alanine$ at 25 °C;” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **35**, 2735-2742(1996).
 10. Chung, Y.-M. and Vera, J. H., “Activity of the Electrolyte and the Amino Acid in the Systems Water+DL-a-aminobutyric acid+NaCl, +NaBr, +KCl, and +KBr at 298.2 K;” *Fluid Phase Equilibria*, **203**, 99-110(2002).
 11. Cohn, E. J. and Edsall, J. T., *Proteins, amino acids and peptides as ions and dipolar ions*, Reinhold Publishing Corp., New York (1950).
 12. Khoshkbarchi, M. K., Soto-Campos, Ana, M. and Vera, J. H., “Interactions of DL-serine and L-serine with NaCl and KCl in Aqueous Solutions;” *J. Solution Chem.*, **26**(10), 941-955(1997).
 13. Soto-Campos, Ana, M., Khoshkbarchi, M. K. and Vera, J. H., “Interactions of DL-threonine with NaCl and $NaNO_3$ in Aqueous Solutions: e.m.f. Measurements with Ion-selective Electrodes;” *J. Chem. Thermodyn.*, **29**, 609-622(1997).
 14. Soto-Campos, Ana, M., Khoshkbarchi, M. K. and Vera, J. H., “Activity Coefficients of the Electrolyte and Amino Acid in water + $NaNO_3$ +glycine and water+NaCl+DL-methionine;” *Biophysical Chem.*, **67**, 97-105(1997).
 15. Kamali-Ardakani, M., Modarress, H., Taghikhani, V. and Khoshkbarchi, M. K., “Activity Coefficients of Glycine In Aqueous Electrolyte Solutions: Experimenta Data for ($H_2O+KCl+glycine$) at T= 298.15 K and ($H_2O+NaCl+glycine$) at T=308.15 K;” *J. Chem. Thermodyn.*, **33**, 821-836(2001).
 16. Harris, E. L. V. and Angal, S., *Protein purification methods: A practical approach*, Oxford University Press, NY(1989).
 17. Khoshkbarchi, M. K. and Vera, J. H., “Effect of NaCl and KCl on the Solubility of Amino Acids in Aqueous Solutions at 298.2 K: Measurements and Modeling;” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **36**, 2445-2451(1997).
 18. Lee, S. H. and Rasaiah, J. C., “Molecular Dynamics Simulation of ion Mobility 2. Alkali Metal and Halide Ions Using the SPC/E Model for Water at 25 °C;” *J. Phys. Chem.*, **100**, 1420-1425 (1996).
 19. Lu, G.-W., Li, C.-X., Wang, W.-C. and Wang, Z.-H., “Structure of KNO_3 Eelectrolyte Solutions: a Monte Carlo study;” *Fluid Phase Equilibria*, **225**, 1-11(2004).
 20. Soto, A., Khoshkbarchi, M. K. and Ver, J. H., “Effect of the Cation and the Anion of an Electrolyte on the Solubility of DL-aminobutyric Acid in Aqueous Solutions: Measurement and Modeling;” *Biophys. Chem.*, **73**, 77-83(1998).
 21. Pradhan, A. A. and Vera, J. H., “Effect of Anions on the Solubility of Zwitterionic Amino Acids;” *J. Chem. Eng. Data*, **45**, 140-143(2000).
 22. Shuler, M. L. and Kargi, F., *Bioprocess Engineering, Basic concepts*, international series in the physical and chemical engineering sciences, Prentice-Hall, NY(2002).
 23. Gross, J. and Sadowski, G., “Perturbed-chain SAFT: An Equation of State Based on a Perturbed Theory for Chain Molecules;” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **40**(4), 1244-1260(2001).
 24. Chapman, W. G., Gubbins, K. E., Jackson, G. and Radosz, M., “New Reference Equation of State for Associating Liquids;” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **29**(8), 1709-1721(1990).
 25. Huang, S. and Radosz, M., “Equation of State for Small, Large, Polydisperse, and Associating Molecules;” *Ind. Eng. Chem. Res.*, **29**(11), 2284-2294(1990).
 26. Lee, B.-S. and Kim, K.-C., “Modeling of Aqueous Electrolyte Solutions Based on Perturbed-chain Statistical Associating Fluid Theory Incorporated with Primitive Mean Spherical Approximation;” *Korean J. Chem. Eng.*, **26**(6), 1733-1747(2009).
 27. Lee, B.-S. and Kim, K.-C., “Study on the Activity Coefficients and Solubilities of Amino Acids in Aqueous Solutions with Perturbed-chain Statistical Associating Fluid Theory;” *Korean J. Chem. Eng.*, **27**(1), 267-277(2010).
 28. Givand, J. C., Teja, A. S. and Rousseau, R. W., “Effect of Relative Solubility on Amino Acid Crystal Purity;” *AIChE J.*, **47**(2), 2705-2712(2001).
 29. Fasman, G. D., *CRC Handbook of Biochemistry and molecular biology physical and chemical data*, vol. 1, CRC press, Florida (1976).
 30. Hamer, W. J. and Wu, Y.-C., “Osmotic Coefficients and Mean Activity Coefficients of Uni-univalent Electrolytes;” *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **1**(4), 1047-1099(1972).