

2'-deoxyribonucleosides의 단일 및 다성분계의 비선형 흡착평형식

김룡매 · 한순구 · 최대기* · 노경호†

인하대학교 화학공학과, 초정밀생물분리기술연구센터

402-701 인천시 남구 용현동 253

*한국과학기술연구원 청정기술연구센터

136-791 서울시 성북구 하월곡동 39-1

(2004년 5월 31일 접수, 2004년 9월 30일 채택)

Nonlinear Adsorption Isotherm of Single and Multi-Components of 2'-Deoxyribonucleosides

Long Mei Jin, Soon Koo Han, Dae-Ki Choi* and Kyung Ho Row†

Center for Advanced Bioseparation Technology and Department of Chemical Engineering, Inha University,

253, Younghyun-dong, Nam-gu, Incheon 402-701, Korea

Clean Technology Research Center, Korea Institute of Science and Technology,

39-1, Hawolgok-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-791, Korea

(Received 31 May 2004; accepted 30 September 2004)

요 약

2'-deoxyribonucleosides중에서 dUrd(2'-deoxyuridine), dGuo(2'-deoxyguanosine), dAdo(2'-deoxyadenosine)의 단일 및 다성분계의 흡착평형식을 동적방법으로 구하기 위해 물과 메탄올(90/10, vol%)을 이동상으로 하는 역상 액체 크로마토그래피를 사용하였다. 시료의 주입부피가 증가함에 따라서 체류시간이 짧아지고 피크가 삼각형 모양을 보여서, Langmuir 흡착평형식으로 가정하였다. PIM (pulsed-input method)에 의해서 Langmuir 흡착평형식의 매개변수를 구하고, 경쟁적인 다성분계의 흡착평형식을 사용하였다. 체류시간이 짧은 dUrd와 dGuo의 경우에는 단일 및 다성분계에서 실험값과 계산값이 잘 일치하였지만, 가장 늦게 용출되는 dAdo에서는 비이상-비선형적인 특성으로 인해서 약간의 오차가 있었다.

Abstract – Reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) was used to determine the equilibrium isotherm of single and multi-components of dUrd(2'-deoxyuridine), dGuo(2'-deoxyguanosine), and dAdo(2'-deoxyadenosine) of 2'-deoxyribonucleosides by dynamic method. The composition of mobile phase was 90/10 vol.% (water/MeOH). With an increase in the injection volumes, the retention times were shorter and the peak shapes were triangle-shaped, so Langmuir-type isotherm was assumed. The Langmuir adsorption parameters were estimated by PIM (pulsed-input method), and the competitive Langmuir adsorption isotherm was further utilized. For the sample of the dUrd and dGuo whose retention times were relatively short, the agreement of between the calculated value and experimental data was fairly good in both single and multi-components, but for the dAdo, the last eluting component, some deviations were caused by non-linear and non-ideal properties.

Key words: Langmuir Adsorption, Nonlinear Adsorption, 2'-Deoxyribonucleosides, Single And Multi-Components

1. 서 론

지난 10년 동안 크로마토그래피 공정을 이해하는데 상당한 진전이 있었으나 제조용으로 scale-up을 하기 위한 새로운 크로마토그래피 방법의 개발은 많은 매개변수를 갖고 있고, 경제적인 이유로는 고농도로 주입되는 시료로 인해 대부분이 비선형적인 흡착형태를 보이기 때문에 디자인과 공정제어에 대한 최적화가 어렵다[1]. 비선

형적 흡착 형태로 인해 칼럼 밖으로 나오는 시료는 tailing이 심한 피크의 모양을 가지게 되고, 이로 인해 인접한 피크 간에 겹치게 되어 순도와 수율은 크게 감소한다[2]. 이러한 이유로 제조용 크로마토그래피 공정을 개발하는데 필요한 시간과 그에 따른 비용을 감소시키기 위해 수학적 모델을 적용한 전산모사의 필요성이 대두하였다. 비선형 크로마토그래피를 위한 수학적 모델을 사용하는 데 있어서 칼럼 내에서 고정상과 시료간의 흡착평형에 대한 열역학 및 동력학적인 정확한 이해가 필요하다[1]. 이러한 흡착관계는 다양한 연구자들에 의해 흡착평형식의 형태로 제안되어 왔고, 현재 단일성

† To whom correspondence should be addressed.
E-mail: rowkho@inha.ac.kr

분흡착에 대한 연구는 많이 이루어진 상태이지만 이성분계 흡착에 대한 경쟁적 흡착평형에 대한 실험적인 결정이 어렵다는 문제점이 있다[3]. 이에 대한 많은 시간과 비용이 투자되고 있고, 주로 단일 성분흡착평형모델로부터 유도된 매개변수들을 이용하여 다성분계 흡착평형모델을 예측하는 연구가 진행되어 왔다[4]. Langmuir, Fowler, Langmuir-Freundlich, Jovanovic-Freundlich 등 여러 가지 모델이 흡착이론과 가정에 의해 단일성분흡착연구에 이용되어 왔다[3].

일반적으로 크로마토그래피를 이용하여 흡착평형식을 결정하는 방법에는 정적방법과 동적방법이 있으며, 후자는 다시 FA, PIM, ECP 등 여러 가지가 있다. 정적방법의 경우 흡착이 평형에 도달한 지가 불확실하며 시료와 흡착제 또한 많이 필요하다는 단점이 있어, 주로 동적방법으로 사용하지만 복잡한 계산과정을 거쳐야 한다는 문제점이 있다[4]. 하지만, 컴퓨터 성능의 비약적인 발전과 다양한 수치해석 프로그램의 등장으로 인해 동적방법의 문제점이 점차 해소되어 가고 있는 실정이다. 하지만, 동적방법을 이용한 흡착평형식의 결정은 주로 단일 및 이성분계에 대해서만 이루어지고 있고, 아직까지 삼성분계 흡착평형에 대한 연구는 대부분 정적방법 가운데 FA로 이루어진 상태이다. 처음으로 Quiñones와 Guiochon[5]에 의해 FA방법과 Flory-Huggins activity coefficient equation을 이용하여 단일성분 흡착평형 매개변수로부터 삼성분계흡착평형을 예측하는데 시도되었다. Quiñones와 Guiochon[6]은 한 세트의 단일성분 흡착평형 데이터로부터 오직 수치매개변수를 이용하여 삼성분계 흡착평형을 연구하는데 선을 보였다.

본 연구실에서도 Choi와 Row[7]의 연구자들이 정적방법을 통한 단일 및 이성분계에 대한 흡착관계를 연구하여 발표하였으며, Choi 등[8]의 연구자들이 동적방법을 이용한 흡착관계를 규명하였다.

본 연구에서는 2'-deoxyuridine(dUrd), 2'-deoxyguanosine(dGuo) 및 2'-deoxyadenosine(dAdo)을 시료로 역상 HPLC를 사용하여, 단일 및 다성분계에서의 흡착관계를 알아보고, 이를 통해 kinetic 매개변수를 고려하지 않은 PIM과 고려한 수치해석 프로그램을 이용하여 흡착평형식의 매개변수 값을 비교하였다. 또한, 단일성분계 흡착평형식의 매개변수를 이용하여 다성분계 경쟁흡착평형식을 유도하여, 이를 통해 실험값과 비교하여 일치하는지를 알아보았다.

2. 이 론

크로마토그래피 칼럼 내 용질이 주입되어 통과하고 있을 때, 고정상과 이동상에서의 용질의 농도는 물질수지식으로부터 식 (1)과 같은 이차편미분방정식과 식 (2), (3)과 같은 초기 및 경계조건을 가지게 된다.

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \frac{\partial q_i}{\partial t} + u \frac{\partial C_i}{\partial z} = D_{L,i} \frac{\partial^2 C_i}{\partial z^2} \quad (1)$$

$$t=0, C_i(z, t)=0 \quad (2)$$

$$0 \leq z \leq L, C_i(z, 0)=C_0 \quad (3)$$

여기서 C_i , q_i 는 각각 이동상과 고정상에 있는 용질의 농도를 의미하며, $D_{L,i}$ 는 축방향확산계수, u 는 이동상의 선 속도를 의미한다. 식 (1)에서 칼럼의 내경이 작고 고정상의 입자크기가 균일하게 작은 크기라고 한다면, 축 방향 확산계수는 무시할 정도로 작은 값을 가지게 되어 고려하지 않아도 된다.

Choi 등[8]의 연구자들은 이를 이용하여 식 (1)을 축 방향의 확산을 고려하지 않은 식 (4)로 바꾸었고, 흡착평형식을 식 (5)와 같은 Langmuir 흡착평형식을 사용하였다. 이 경우 단지 흡착평형식에 의한 용출곡선을 예측할 수 있고 비교적 간단한 계산과정을 통해 구할 수 있는 장점이 있다. 여기서, 식 (4)와 (5)를 해석하기 위하여 유한차분법(FDM)을 이용하여 식 (6)과 같이 나타낼 수 있다.

$$u \frac{\partial C_i}{\partial z} + \varepsilon \frac{\partial C_i}{\partial t} + (1-\varepsilon) \frac{\partial q_i}{\partial t} = 0 \quad (4)$$

$$q_i = \frac{aC_i}{1+bC_i} \quad (5)$$

$$u \Delta t (C_{z+\Delta z, t} - C_{z, t}) + \varepsilon (C_{z+\Delta z, t+\Delta t} - C_{z+\Delta z, t}) + (1-\varepsilon) (q_{z+\Delta z, t+\Delta t} - q_{z+\Delta z, t}) = 0 \quad (6)$$

식 (6)에서 칼럼의 길이방향에 대한 변화인 Δz 는 용질의 이론 단 값을 가정하여 사용하였다. 여기서 Langmuir 흡착평형식의 매개변수 중 a 는 체류인자와 상를 구하여 적은 주입량에서의 평형상수 값으로 가정한 후 식 (6)을 통해 실험값과 동일한 체류시간을 가지는 매개변수 b 를 반복계산을 통해 얻을 수 있다. 하지만, 고정상의 입자크기와 칼럼의 직경이 커지게 되면, 축 방향으로의 확산이 증가되어 축 방향 확산계수를 고려해 주어야 한다. 이러한 경우 수치해석으로 통한 반복계산을 사용하여 매개변수 값을 정할 수 있다.

$$\frac{\partial q_i}{\partial t} = \frac{3k_f}{r_p} (q_i^* - q_i) \quad (7)$$

이동상에서 흡착제 겉 표면으로 시료의 물질전달은 막의 저항을 선형적으로 표시한 고체막 선형 구동력 모델을 적용하였고, 식 (7)과 같이 나타낼 수 있으며, k_f 는 겉보기 물질전달계수이다. 여기서, 축 방향 확산계수는 식 (8)로부터 구하였으며, 칼럼이 무한히 길다고 가정하였다[9].

$$\frac{v_f r_p}{\varepsilon_i E_z} = \frac{0.2}{\varepsilon_i} + \frac{0.011}{\varepsilon_i} \left(\frac{Re}{\varepsilon_i} \right)^{0.48} \quad (8)$$

흡착평형식과 kinetic 매개변수를 이용하여 수치적으로 풀기 위해서 gPROMS를 사용하였으며, 다음과 같은 finite element method를 이용하여 식 (1)-(3), (4)와 (7)에 맞는 수치적 해를 구하였다.

각각의 변수를 독립된 항으로 가정하였을 때, 0과 표준 편차, σ_{ijk} , 평균으로 오차를 측정할 수 있고, 다음과 같은 목적함수를 이용하여 표준편차에 만족하는 해를 구할 수 있다.

$$\Phi = \frac{1}{2} \ln(2\pi) + \frac{1}{2} \min_{\theta} \left\{ \sum_{i=1}^{NE} \sum_{j=1}^{NI_i} \sum_{k=1}^{NM} \left[\ln(\sigma_{ijk}^2) + \frac{(Z_{ijk} - \bar{Z}_{ijk})^2}{\sigma_{ijk}^2} \right] \right\} \quad (9)$$

식 (9)와 같은 목적함수는 여러 가지 특별한 순열 형태를 가지고 있으며, 일반적으로 다음과 같은 식의 형태를 가진다.

$$\sigma^2 = \sigma(\beta, z, \bar{z}) \quad (10)$$

Heteroscedastic variance 모델에서, 오차는 측정된 값에 따라 종속적으로 변하지만, $z^{-1/2}$ 나 $z^{1/2}$ 에 비례한다. Heteroscedastic variance 모델의 수학적으로 식 (11)과 같이 표현할 수 있다.

$$\sigma^2 = w^2(\bar{z} + \varepsilon)^{\gamma} \text{ or } \sigma^2 = w^2(z + \varepsilon)^{\gamma} \quad (11)$$

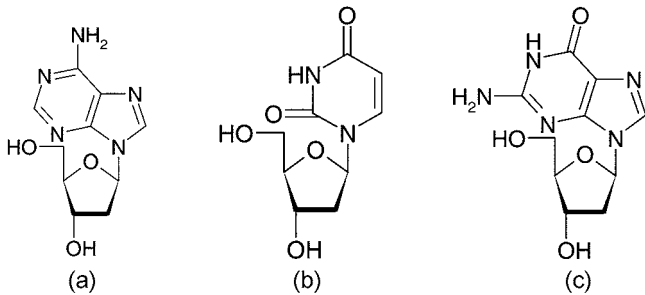


Fig. 1. Chemical structure of dUrd(a), dGuo(b) and dAdo(c).

3. 실험

3-1. 시약 및 기기

본 실험에 사용한 표준물질은 2'-deoxyuridine(dUrd), 2'-deoxyguanosine(dGuo), 2'-deoxyadenosine(dAdo)(Fig. 1)으로서 Sigma에서 구입하였고 HPLC-grade의 메탄올은 덕산에서 구입하였으며 물은 2차 증류수를 사용하였다. HPLC는 Waters사의 616E 펌프(multisolvent delivery system), 2487 detector (UV-visible turnable wavelength absorbance), Rheodyne injector (0.02 ml sample loop)로 구성하였고, data acquisition system은 Millennium 32를 사용하였다. Waters RP-18 (15 μ m, Merck) 충전물을 스테인리스 칼럼(3.9 \times 300 mm)에 충전하였다.

3-2. 실험방법

dUrd와 dGuo의 농도는 5 mg/ml, dAdo의 경우 2.5 mg/ml로 농도를 고정하여 각기 주입부피를 0.005 ml에서 0.020 ml로 변화시켜 실험하였다. 이성분계 혼합시료농도는 각각 5:5, 5:0.5, 0.5:5, 0.5:0.5 mg/ml로 하였고, 삼성분계 혼합시료농도는 5:5:5, 2.5:2.5:2.5, 0.5:0.5:0.5 mg/ml로 하였으며 모두 주입부피를 0.020 ml로 하였다. 시료는 모두 2차 증류수에 녹여 준비하였다.

모든 실험에서 이동상의 유속은 1 ml/min으로 하였고 이동상은 2차 증류수/메탄올(90/10 vol%)로 구성하였다. 이동상 저장용기 안에 헬륨가스를 30 ml/min으로 넣어줌으로 탈기처리를 진행하였다. UV 검출기의 파장은 254 nm로 고정하였고 모든 실험은 상온에서 행하였다.

4. 결과 및 고찰

4-1. 매개변수의 예측

크로마토그래피의 수학적 모델에서는 공극률 ϵ , 축 방향 확산계수 D_L 그리고 물질전달계수 k_f 등의 동력학 매개변수가 포함된다. 공극률을 구하기 위해서 칼럼의 무용 부피를 측정하였다. 동일한 이동상 조성의 조건과 유속의 실험조건에서 아세토니트릴을 주입하여 무용 시간 2.5399분을 얻었으며 이동상 유량을 곱하여 무용 부피를 구하였다. 칼럼의 공극률은 칼럼의 무용 부피를 빈 칼럼의 전체 부피로 나누어서 0.7087를 얻었다. 본 실험에서 이동상으로 물과 메탄올을 90/10 vol%의 조성비로 혼합하여 사용하였는데 이동상의 점도는 순수한 물과 메탄올의 점도에 Grunberg와 Nissan 방법을 사용하여 계산한 값이 [10], 0.91 cP이었다. 칼럼내에서 이동상의 선속도 u 는 유량과의 상관관계식 $u=Q/(\pi \times r_p^2 \times \epsilon)$ 에 의해서 구하였다. 이

Table 1. Kinetic parameters of 2'-deoxyribonucleosides

	D_m (m ² /sec)	k_f (m/sec)	D_L (m ² /sec)
dUrd	7.50×10^{-8}	1.07×10^{-4}	
dGuo	6.86×10^{-8}	7.01×10^{-5}	3.17×10^{-7}
dAdo	7.01×10^{-8}	5.54×10^{-5}	

동상내에서 시료의 확산도, D_m 를 계산하기 위하여 Wilke-Chang식 [11]을 사용하였으며, 이때 필요한 시료들의 몰랄 부피는 Schroeder 법칙[12]에 의해 각기 1.75×10^{-4} m³/mol, 2.03×10^{-4} m³/mol, 1.96×10^{-4} m³/mol를 얻었다. 이 값을 사용하여 Table 1에서 보는 것과 같이, 각 시료들이 이동상내에서의 D_m 값을 구하였다. 칼럼내에서 시료의 물질전달 계수를 실험상관식으로 얻기 위해서 Wilson과 Geankopolis이 제안한[1] 식 (12), (13)과 같은 Reynolds 수와 Schmidt 수, Sherwood 수의 관계식을 이용하였다.

$$Sh = \frac{1.09}{\epsilon_b} Re^{0.33} Sc^{0.33} \quad (0.0015 < Re < 55) \quad (12)$$

$$Sh = \frac{0.25}{\epsilon_b} Re^{0.69} Sc^{0.33} \quad (55 < Re < 1050) \quad (13)$$

Reynolds 수($=v_g \times r_p \times \epsilon \times \rho_g / \mu$)에 의한 계산을 통해 1.11×10^{-2} 을 얻었고, Schmidt 수($=\mu / D_m \times \rho_g \times M$)에 의해 각각의 시료에 대해 2.28×10^4 , 2.49×10^4 , 2.44×10^4 를 얻었다. 본 실험에서 Reynolds 수가 1.11×10^{-2} 로서 식 (9)의 범위에 해당되기에 Sherwood 수를 식 (9)에 의해서 계산한 결과가 각기 9.56, 9.85, 9.78을 얻었다.

단일성분 dUrd, dGuo 및 dAdo의 물질전달계수, k_f 는 Sherwood 수의 상관관계식 $Sh = k_f \times r_p / D_m$ 으로부터 9.57×10^{-4} , 9.01×10^{-4} , 9.14×10^{-4} m/sec를 얻었다.

4-2. 단일성분계 흡착평형식

단일성분 흡착평형식은 이론에서는 축 방향 확산을 고려하지 않은 식 (4)와 같은 PIM과 축 방향 확산을 고려한 크로마토그래피 모델을 각기 구하였다.

dUrd와 dGuo에서는 5 mg/ml의 동일한 농도로 하였고, dAdo에서

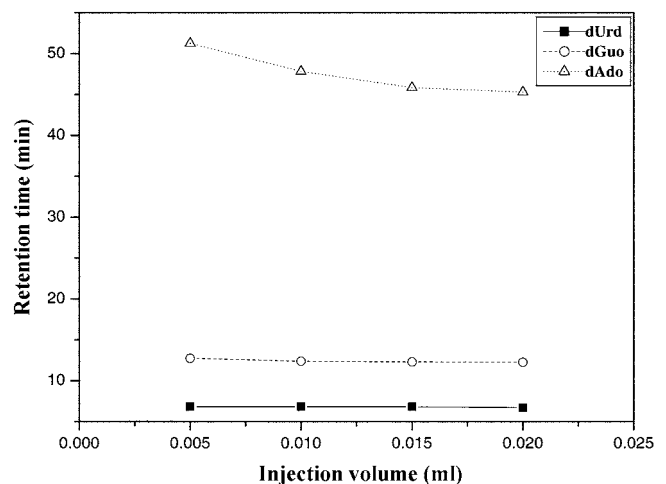


Fig. 2. Comparison of retention time with injection volumes of dUrd, dGuo and dAdo (5 mg/ml).

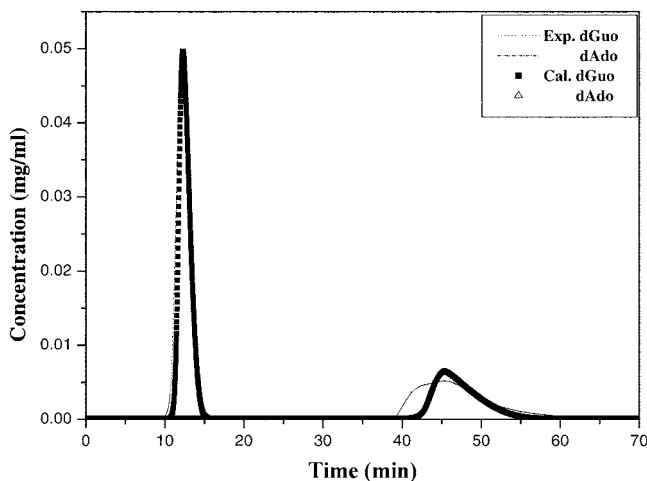


Fig. 3. Comparison of the experimental and calculated data of single component dGuo (5 mg/ml) and dUrd (5 mg/ml) by PIM.

는 5 mg/ml와 주입 부피가 0.020 ml일 때 피크 모양이 사각형으로 되는 plateau가 되어 정확한 체류시간을 얻기 힘들기 때문에 2.5 mg/ml로 농도를 낮추고 주입부피를 0.005 ml에서 0.020 ml로 증가시켜서 체류시간을 얻었다. Fig. 2에서는 단일성분들의 체류시간의 변화를 보여주고 있다. dGuo와 dAdo에서 보는 바와 같이 주입부피가 0.015 ml 일 때까지 체류시간이 급속하게 감소하였다. 이보다 큰 주입부피로 주입하면 상대적으로 체류시간의 감소폭이 작았지만, dUrd의 경우 0.015 ml까지는 완만하고 그보다 크면 급속하게 체류시간이 감소하였다. 이는 dAdo, dGuo보다 상대적으로 dUrd가 고정상과의 흡착력이 약하고 이동상에서 고정상으로 시료의 물질전달 속도가 상대적으로 빠르고 칼럼으로 주입된 후 쉽게 용출이 되기 때문에, dAdo, dGuo보다 주입부피가 크면 비선형의 모양을 가지는 피크가 용출된다. 또한, Fig. 3에서는 주입량이 증가함에 따라 체류시간이 감소하면서 각 성분의 피크는 대칭적인 가우시안의 형태에서 벗어나 피크 전반부가 가파른 경사를 가지는 반면, 피크 후반부에 tailing을 가지는 전형적으로 비선형인 Langmuir 형태의 피크를 가지는 것을 보여주고 있다. 특히 dUrd와 dGuo에 비해서, dAdo의 피크에서 tailing의 정도가 상대적으로 심한 것을 알 수 있었는데, dAdo가 고정상에 대한 포화흡착량이 다른 두 물질에 비해서 크고, 고정상과의 흡착력이 이동상보다 상대적으로 강한 것에 기인한다고 생각된다.

본 실험에서는 0.020 ml의 시료를 주입한 경우에서의 dUrd, dGuo, dAdo의 피크 모양으로부터 Langmuir 흡착평형식을 가정하여 매개변수를 구하였다. 속도 매개변수를 고려하지 않은 이상 (ideal)모델에서 PIM을 이용하여 흡착평형식의 매개변수를 구하였다. 매개변수 a 는 낮은 농도에서 시료의 평형상수값, $K(=k_e/(1-\epsilon))$ 으로 구하였고, 이 농도에서 시료의 체류인자, $k(=(t_R-t_0)/t_0)$ 를 구하였다. 낮은 농도에서 체류시간은 네 번의 주입부피로부터 얻은 시료의 체류시간을 외삽을 통하여 구하고 이를 통해 낮은 농도에서의 체류인자, k 를 구하였다. dUrd, dGuo, dAdo의 매개변수 a 값은 각각 4.11, 10.23, 46.55를 얻었다. 매개변수 b 값은 초기값을 10^{-6} 로 가정하고 식 (6)을 이용하여 계산된 체류시간과 실험으로 얻은 체류시간과 같을 때까지 반복계산을 수행하여 구하였다(Table 2). PIM을 통해 얻은 흡착평형식으로부터 얻어진 용출곡선과 실험값과 비교하였을 때 Fig. 3에서 보는 것과 같이 dUrd, dGuo는 비교적 잘 일치하였지만, dAdo의

Table 2. Parameters of Langmuir isotherm in ideal and nonideal models

	Ideal model		Nonideal model	
	a (-)	b (ml/mg)	a (-)	b (ml/mg)
dUrd	4.11	0.11	4.15	0.21
dGuo	10.22	0.98	10.21	1.08
dAdo	46.55	10.25	51.55	28.25

경우 어느 정도의 차이가 존재하였다. dUrd, dGuo에서는 칼럼내의 물질전달계수와 축 방향 확산계수가 작은 값을 가져서 무시하여도 비교적 실험값과 잘 일치하였지만, dAdo의 경우는 축 방향 확산과 물질전달에 의해 발생하는 피크의 tailing을 나타낼 수 없는 이상모델이기 때문에 실험값과 큰 차이를 보였다. 보정되지 않은 축 방향 확산계수와 물질전달계수를 적용하여 얻은 계산값과 실험값을 비교하였을 때 잘 일치하지 않았다. 따라서, 실험에서 얻은 수치로부터 계산된 k_f 값을 조절하여 계산된 용출곡선이 실험에서 얻은 용출곡선과 잘 일치할 때까지 보정하였을 때, 각각 1.07×10^{-4} , 7.01×10^{-5} , 5.54×10^{-5} m/sec을 얻었다. 축방향 확산계수 D_L 는 상관관계식 (8)에 의해 7.33×10^{-8} m²/sec를 얻었지만 k_f 와 마찬가지로 값을 조절하여 계산된 용출곡선과 실험에서 얻은 용출곡선이 잘 일치할 때의, 3.17×10^{-7} m²/sec의 보정된 값을 얻었다(Table 1). 이를 통해 PIM을 통해 얻은 흡착평형식의 매개변수를 적용하였을 때, 계산되어진 용출곡선의 체류시간이 실험값보다 다소 감소하여 흡착평형식의 매개변수 역시 보정하였으며, 보정된 값들은 Table 2에 표시하였다. dUrd, dGuo에서 보정된 속도 및 평형 매개변수를 사용하여 계산된 용출곡선과 실험값은 매우 잘 일치하였고, dAdo의 경우에서도 PIM의 경우보다 좀 더 실험값과 잘 일치하였다.

4-3. 다성분계 흡착평형식

순수한 단일성분이 아닌 혼합물의 다성분계 물질을 칼럼에 과량으로 주입하였을 때, 주입된 물질간의 상호작용으로 인해서 일정한 면적을 가진 고정상의 흡착에 경쟁적으로 관여하여 체류시간이나 피크의 모양이 변하게 된다. 다성분계의 흡착평형식은 독립된 단일성분계의 흡착평형식을 이용하지만 성분간의 상호작용을 고려해야 한다. dUrd, dGuo, dAdo의 세 물질을 혼합하여 주입하면 칼럼 내에서 서로 고정상과의 흡착에 영향을 정량적으로 확인하기 위하여 농도를 달리하여 주입한 후 체류시간을 비교하였다. Table 3에서 보

Table 3. The retention times of binary systems

Binary system (mg/ml)				Retention time (min)	
dUrd	5	dGuo	5	6.835	12.756
	5	0.5		6.857	12.801
	0.5	5		6.496	11.833
	0.5	0.5		6.929	13.14
dUrd	5	dAdo	5	6.806	41.846
	5	0.5		6.908	49.283
	0.5	5		6.84	38.883
	0.5	0.5		7.002	51.316
dGuo	5	dAdo	5	12.711	41.597
	5	0.5		11.516	42.033
	0.5	5		11.032	33.739
	0.5	0.5		13.287	51.071

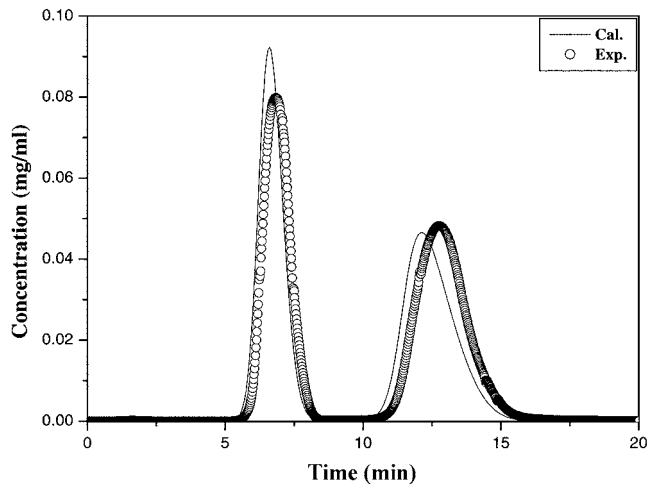


Fig. 4. Comparison of the experimental and calculated data of dUrd (5 mg/ml) and dGuo (5 mg/ml).

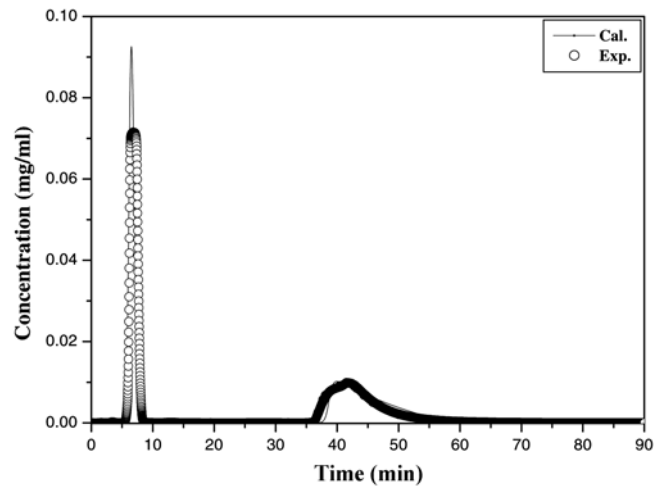


Fig. 7. Comparison of the experimental and calculated data of dUrd (5 mg/ml) and dAdo (5 mg/ml).

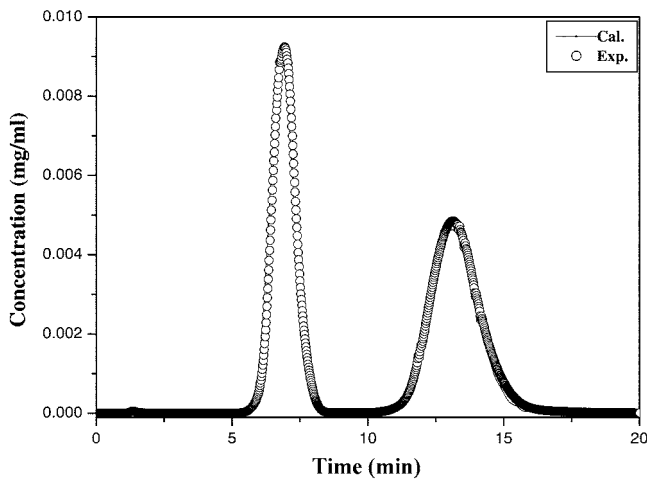


Fig. 5. Comparison of the experimental and calculated data of dUrd (0.5 mg/ml) and dGuo (0.5 mg/ml).

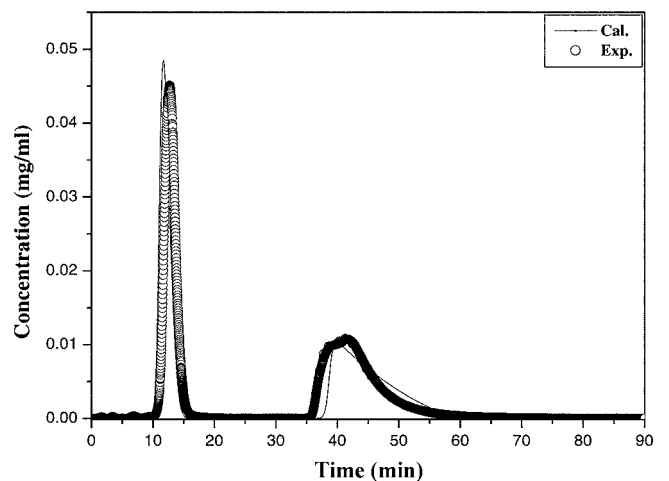


Fig. 8. Comparison of the experimental and calculated data of dGuo (5 mg/ml) and dAdo (5 mg/ml).

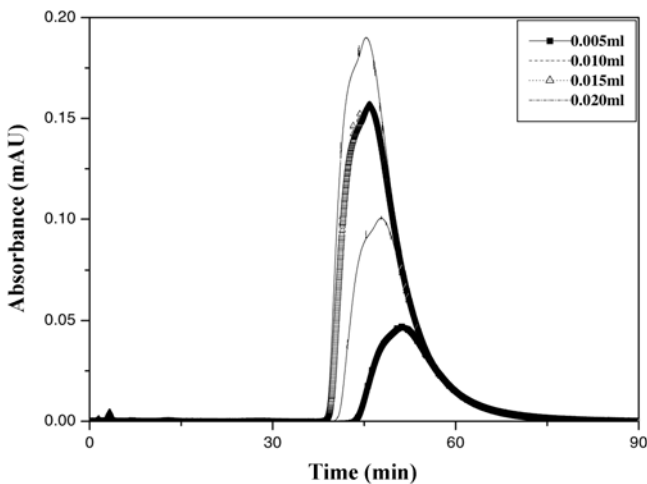


Fig. 6. Comparison of the elution profiles and retention times with injection volumes of dAdo (2.5 mg/ml).

는 것과 같이, 주입된 성분들의 농도에 따라서 체류시간이 변하였다. 예를 들어, dGuo와 dAdo의 이성분계의 경우, dGuo의 농도가

5 mg/ml일 때 dAdo의 농도가 높은 경우가 낮은 경우보다 체류시간이 감소하였다. 또한, dAdo의 농도가 5 mg/ml인 경우 dGuo의 농도가 증가함에 따라서 체류시간이 큰 쪽으로 감소하였다. 두 물질이 고정상과 경쟁적인 흡착관계를 보이기 때문에 경쟁적인 다성분계의 흡착평형식을 적용하여야만 한다.

경쟁적인 Langmuir 흡착평형식은 단일성분에서 구한 매개변수를 이용하여 식 (14)와 같은 형태로 나타낼 수 있다.

$$q_i = \frac{a_i C_i}{1 + \sum_{j=1}^N b_j C_j} \quad (i=1, 2, \dots) \quad (14)$$

Fig. 4에서는 이성분계의 dUrd와 dGuo의 높은 농도 5 mg/ml의 농도에서 경쟁적 Langmuir 흡착평형식을 적용하였다. 단일성분으로부터 구한 매개변수 a , b 값을 사용하여 계산한 용출곡선과 실험값을 비교한 것으로 비교적 잘 일치하였다. Fig. 5에서 보는 것과 같이 희석된 농도인 0.5 mg/ml에서는 dUrd와 dGuo의 실험값과 계산 값이 매우 잘 일치하였다. 낮은 농도에서는 이상모델로서도

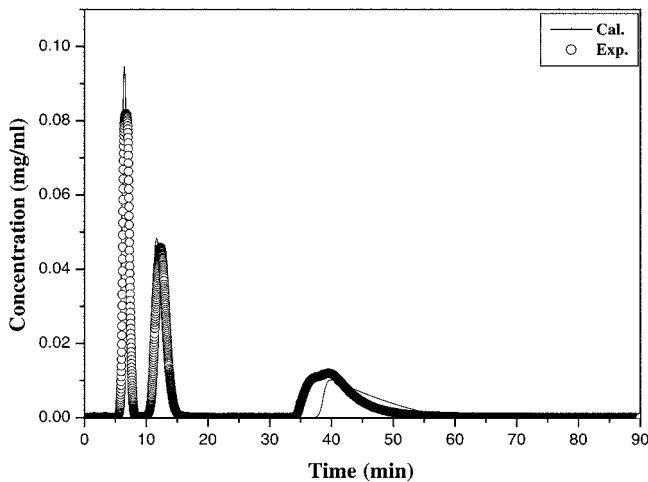


Fig. 9. Comparison of the experimental and calculated data of dUrd, dGuo and dAdo (5 mg/ml).

충분히 농도분포곡선을 예측할 수 있지만 주입농도가 증가하면 비 이상 모델에 의한 속도 매개변수를 고려하여 실험값과 일치하도록 해야 한다.

Fig. 6에서는 단일성분 dAdo (2.5 mg/ml)의 농도에서 주입부피를 0.005 ml에서 0.020 ml로 증가시키에 따라서 피크의 형태를 보여주고 있다. 주입부피가 증가할수록 시료의 체류시간이 감소하고, 피크의 모양이 선형에서 벗어나 비선형을 보였으며 피크 앞 부분의 경사가 심해졌고 피크 뒷부분에서 심한 tailing 현상을 보여주고 있었다. 피크 상단에서 뾰족한 형태를 가지는 삼각형모양의 Langmuir 흡착평형식과는 다른 형태를 보여주고 있다.

Fig. 7, 8에서는 dUrd, dGuo, dAdo의 농도를 각각 5 mg/ml로 하고 0.020 ml를 주입하였을 때, 이성분계 dUrd, dAdo 및 dGuo, dAdo의 실험에서 얻은 곡선과 축 방향 확산을 고려한 경쟁적 Langmuir 흡착평형식을 적용하여 계산해서 얻은 용출곡선을 각각 비교한 것이다. 체류시간이 짧고 가우시안 형태를 가진 dUrd와 dGuo의 경우, 실험값과 계산값이 비교적 잘 일치하였지만, dAdo의 경우 계산값과 실험값이 잘 일치하지 않았다. dAdo의 농도가 5 mg/ml일 때, 고정상에 포화흡착량 이상으로 시료가 주입되어 단분자층으로 흡착하지 못하고 다분자층으로 흡착된 것으로 생각되어 고정상의 흡착상태를 단분자층으로 가정한 Langmuir 흡착평형식을 적용하기는 어려움이 있다. 따라서 단일성분계에서는 실험값과 일치하는 Langmuir 흡착평형식을 얻었지만 고농도의 다성분계의 경쟁적인 Langmuir 흡착평형식에서는 계산값과 실험값을 잘 일치하기 위해서는 보다 정교한 물질간의 상호작용을 포함하는 흡착평형식의 사용이 요구된다. 이성분계와 마찬가지로 dUrd, dGuo, dAdo의 삼성분계에서 용출곡선의 실험값과 축 방향 확산을 고려한 경쟁적 Langmuir 흡착평형식을 적용해서 얻은 용출곡선을 비교하였을 때, Fig. 9에서 보는 것과 같이 dUrd, dGuo의 실험값은 계산값과 잘 일치하였지만, dAdo에서는 실험값의 체류시간이 계산값보다 작았으며 피크의 tailing 등 실험값과 차이가 작지 않았다.

고정상내의 세공에서 유효확산과 표면에서의 속도론을 고려하고 물질들 간의 흡착평형식에서 Langmuir-Freundlich와 같은 다른 식을 적용한 좀 더 구체적인 수학적 모델을 적용하여 특히 dAdo의 실험값과 일치하도록 할 예정이다.

5. 결 론

흡착을 이용한 분리공정에서 가장 기본적인 흡착평형식을 구하기 위해서 동적방법인 PIM을 사용하였다. 시료의 체류시간은 시료의 양과 여러 혼합성분에 의해서 영향을 받았다. 2'-deoxyribonucleosides인 dUrd, dGuo, dAdo의 흡착평형식을 구하기 위해서 축 방향 확산과 물질전달계수를 고려한 경쟁적 Langmuir 흡착평형식으로 가정하고 매개변수 a , b 를 최적화방법에 의하여 구하였다. 이성분계 dUrd와 dGuo에 대해서는 비교적 잘 일치하였지만 dAdo에 대해서는 계산값과 실험데이터의 차이가 있었고 속도 매개변수에 의해서 어느 정도 차이를 줄였다. 그러나 심한 tailing 현상과 시료간의 상호작용을 경쟁적 Langmuir 흡착평형식만으로 만족할 수 없기 때문에 좀 더 복잡한 형태의 비선형 흡착평형모델에 의한 계산이 요구된다.

감 사

본 연구는 인하대학교 고순도분리연구실에서 수행하였으며, 인하대학교와 초정밀생물분리기술연구센터의 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Guiochon, G., Golshan-Shirazi, S. and Katti, A. M., *Fundamentals of Nonlinear and Preparative Chromatography*, Academic Press, Boston(1994).
- Lee, J. W. and Row, K. H., "Optimization of Solvent Selectivity and Gradient Mode for Deoxyribonucleosides in RP-HPLC," *HWAHAK KONGHAK*, **35**(5), 769-775(1997).
- Garcia-Galdo, J. E., Cobas-Rodriguez, J., Jáuregui-Haza, U. J. and Guiochon, G., "Improved Model of Multicomponent Adsorption in Reversed-Phase Liquid Chromatography," *J. Chromatogr. A*, **1024**(1-2), 9-14(2004).
- Choi, Y. S., Lee, C. H. and Row, K. H., "Measurement of Langmuir Adsorption Equilibrium by Elution-Curve Method and Frontal Analysis," *J. Korean Ind. Chem. Eng.*, **10**(5), 672-676 (1999).
- Quiñones, I. and Guiochon, G., "Multisolute Adsorption Equilibria in a Reversed-Phase Liquid Chromatography System," *Chem. Eng. Sci.*, **55**(5), 909-929(2000).
- Quiñones, I. and Guiochon, G., "Isotherm Models for Localized Monolayers with Lateral Interactions. Application to Single-Component and Competitive Adsorption Data Obtained in RP-HPLC," *Langmuir*, **12**, 5433-5443(1996).
- Choi, Y. S. and Row, K. H., "Adsorption Isotherms of Phenol and o-Cresol by Static Method," *J. Korean Ind. Chem. Eng.*, **11**(3), 344-346(2000).
- Choi, Y. S., Lee, J. W. and Row, K. H., "Comparison of Frontal Analysis and Pulsed Input Method for Determining Adsorption Isotherm," *HWAHAK KONGHAK*, **38**(4), 474-478(2000).
- Slater, M. J., *The Principles of Ion Exchange Technology*, Butterworth Heinemann, Oxford(1991).
- Grunberg, L. and Nissan, A. H., "Mixture Law for Viscosity," *Nature*, **164**, 799-800(1949).
- Wilke, C. R. and Chang P., "Correlation of Diffusion Coefficients in Dilute Solutions," *AIChE J.*, **1**(2), 264-270(1955).
- Partington, J., *An Advanced Treatise on Physical Chemistry, Vol. I, Fundamental Principles: The Properties of Gases*, Longmans, Green, New York(1949).