

## 제 11 장 원심분리

### 11-1. 개요

생물분리공정에서 고체-액체상의 분리의 첫 단계로 많은 경우 원심분리를 사용한다. 원심분리는 고체와 고체를 둘러싼 액체 간의 밀도차를 이용한다. 부유물이 있는 현탁액을 가만히 두면 밀집한 고체는 중력의 영향으로 서서히 가라앉게 되는데 이러한 과정이 침전(sedimentation)이다. 서서히 침전되는 것을 원심력을 이용하여 가속하는 과정을 원심분리(centrifugation)라 한다. 따라서 침전과 원심분리는 유사하다.

침전(sedimentation)에 비해 원심분리는 다음과 같은 장단점을 가지고 있다.

원심분리는 공정을 계속적으로 반복할 수 있고, 많은 양을 짧은 시간안에 처리할 수 있으며, 멸균상태에서 조업이 용이하다. 그러나 설치자본 및 유지비용이 많이 들며, 에너지 소모가 많고 슬러리(slurry) 형태의 농축 등이 문제점이 될 수 있다.

원심분리는 산업적으로 생물적 분리의 첫번째 단계로써 사용되어진다. 예를 들면 발효된 맥주로 부터 불용성 물질을 제거하는 단계에서 사용된다. 이 방법은 0.2 ml의 적은 양에서부터 수천 리터에 이르기까지 가능하고 속도와 온도차를 5%의 오차에서 조절할 수 있다. 원심분리는 세포내 소기관의 분리 또는 세포내 물질 분리에도 이용된다. 그러나 세포내의 분자들을 구별하여 정제하는 것은 세포와 생산물을 분리하는 것 보다 더 힘들다. 그래서 원심분리는 DNA 제조합기술의 발전과 함께 더욱 더 중요한 분리공정이 되어지고 있다.

### 11-2. 원심분리 이론

고체 입자가 고정된 공간, 예를 들면 유체를 통과해 갈 때 그것의 속도는 부력과 마찰력에 영향을 받게 된다. 즉 원심분리시에 입자가 유체 내에 있으면 부력으로 인해 입자에 작용하는 원심력이 일부 감소한다. 그리고 유체 내에서 입자가 이동하면 이동에 반대하는 마찰력이 작용한다. 그러므로 원심력장에서 입자에 작용하는 모든 힘의 관계는 아래와 같다.

$$\text{원심력} = \text{부력} + \text{마찰력} \quad (11-1)$$

$$F_C = F_B + F_D \quad (11-2)$$

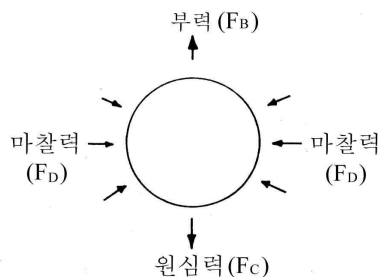


그림 11-1. 유체 내의 입자에 미치는 힘

원에서의 운동하는 입자의 힘은

$$F = \gamma\omega^2 \quad (11-3)$$

으로 나타내어진다.

여기서  $\gamma$ 은 회전축으로부터 입자까지의 거리이며  $\omega$ 는 각속도(rad/sec)이다.

원심력  $F_c$ 는 입자의 질량  $m$ 을 곱한 값으로

$$F_c = m\omega^2\gamma \quad (11-4)$$

으로 나타내어진다. 여기서 고체 입자가 구의 형상을 하고 있다고 가정할 때 입자의 질량  $m$ 은 밀도와 부피의 곱으로 나타내어진다.

$$m = \rho_p \frac{\pi D^3}{6}$$

(11-5)

따라서 원심력  $F_c$ 는

$$F_c = \rho_p \frac{\pi D^3}{6} \omega^2 \gamma \quad (11-6)$$

로 표시된다.

부력을  $F_b$ 라 하면

$$F_b = \frac{\rho \pi D^3 g}{6} \omega^2 \gamma \quad (11-7)$$

으로 표시되며,

마찰력  $F_d$ 는

$$F_d = 3\pi\mu D v \quad (11-8)$$

으로 나타내어진다.

여기서  $D$ 는 구의 지름,  $\rho_p$ 와  $\rho$ 는 구(입자)와 유체의 밀도,  $\mu$ 는 점도,  $v$ 는 구의 속도이다.

식 (11-2)를 식 (11-6), (11-7), (11-8)을 이용하여 재배열하면 다음과 같다.

$$\rho_p \frac{\pi D^3}{6} \omega^2 r = \frac{\rho \pi D^3 g}{6} \omega^2 r + 3\pi\eta D v \quad (11-9)$$

식 (11-9)에서 원심분리시 입자의 속도  $v$ 는

$$v = \frac{(\rho_p - \rho) d^2 \omega^2 r}{18\eta} \quad (11-10)$$

으로 나타내어 진다.

여기서  $\omega$ 는 각속도로서 rad/sec 이며  $r$ 은 원심분리기로부터의 반지름이다.

원심분리 영역안에서 입자의 행동은 침강계수(sedimentation coefficient)로 설명하기도 하는데 침강계수는

$$s = \frac{v}{\omega^2 r} \quad (11-11)$$

으로 표현된다.  $S$ 의 단위는 sec로 표시하며 1 s는  $10^{-13}$  sec로 정의된다.

상대원심력(relative centrifugal force, RCF)는 각속도  $\omega$ 의 측정이 불편하므로

$$\omega = \frac{\pi N}{30} \quad (11-12)$$

인 관계식을 이용하여 단위시간당 회전수  $N$  (rpm)의 형태로 표현하여 나타낸다.

$$\begin{aligned} \text{RCF} &= \frac{\omega^2 r}{g} = \frac{\omega^2 r}{980} = \frac{(\pi N)^2}{30^2} (r) \\ &= (1.119 \times 10^{-5}) N^2 r \end{aligned} \quad (11-13)$$

상대 원심력 RCF는 'g' 형태로 나타내며 'x g' 으로써 표기된다.

### 11-3. 원심분리 방법

#### 1. 편차 원심분리 (differential centrifugation)

원심분리를 할 때 가장 큰 입자가 먼저 침전되고 질량과 밀도가 같을 때는 보다 구형의 입자

가 비대칭형 입자보다 빨리 침전된다. 그리고 원심분리의 속도나 시간을 증가시키면 상대적으로 작은 입자들도 침전된다 (그림 11-2).

편차원심분리는 크기에 따라서뿐 만이 아니라 같은 질량의 밀도가 큰 입자와 작은 입자를 분리할 수 있다. 이러한 특성은 크기는 비슷하지만 밀도가 다른 입자를 분리하는데 유용하다. 이 방법의 가장 큰 문제점은 튜브의 위쪽에 있는 큰 입자가 침전되는 동안 아래쪽에 있는 작은 입자와 함께 침전된다는 점이다. 이러한 동시침전을 개선하는 방법은 침전물을 다시 녹여 원심분리를 하는 것이다. 그러나 이 방법은 회수율이 떨어지며 손상을 입기 쉬운 물질의 분리에는 적용하기가 어렵다. 편차원심분리의 장점은 분리에 소요되는 시간이 몇 분 정도로 짧게 소요되며 분리매질이 간단하고 가격이 경제적이다. 따라서 편차원심분리는 실험실이나 산업현장에서 세포의 회수에 일반적으로 많이 이용되고 있다. 예를 들면, 크기가 다른 *E. coli* (0.5  $\mu\text{m}$ )와 *D. discoideum* (10  $\mu\text{m}$ )의 분리와 같은 경우에 효율적으로 이용될 수 있다.

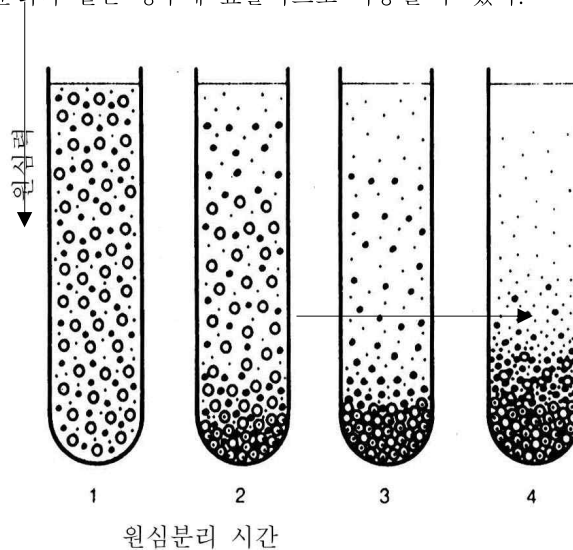


그림 11-2. 편차 원심분리에 의한 입자의 분리

## 2. 밀도 기울기 원심분리

밀도 기울기 원심분리에서는 편차원심분리 경우와 다르게 균질 용액 대신에 밀도기울기를 이용한다. 용액의 밀도는 튜브 아래로 내려갈수록 증가하기 때문에 원심분리 중의 대류 (convection)에 의한 혼합을 방지할 수 있다. 밀도기울기 원심분리에는 속도침강원심분리와 등 밀도원심분리의 두 가지 형태가 있다.

### 1) 속도침강 원심분리 (rate-zonal centrifugation)

속도침강 원심분리는 밀도기울기(density gradient)를 이용한 방법으로 크기가 다른 입자가 동시에 침전하는 문제점을 극복할 수 있으므로 크기가 확실한 단백질, RNA, 리보솜(ribosome) 등의 분리에 이상적으로 활용할 수 있다 (그림 11-3).

그러나 세포막 단편, 세포내 소기관 등은 분리하기 힘들다. 이 방법의 이용시에 주의할 점은 시료를 넣을 때 밀도기울기 매질의 가장 윗면으로 매질과 섞이지 않도록 조심하여 주입 (loading)해야 한다는 것이다. 또한 원심분리시에도 저속에서 시간을 짧게 실시하여야 하며 그렇지 않으면 모든 입자가 바닥에 가라앉게 된다. 또한 밀도기울기 원심분리는 분리하고자 하는 시료의 형태에 따른 입자의 분리에는 적합하지 않다.

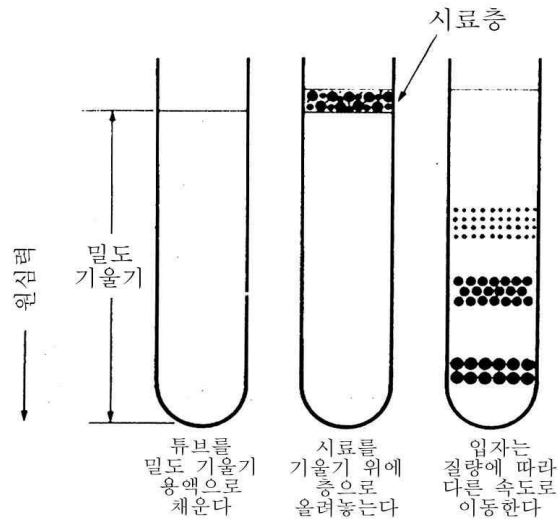
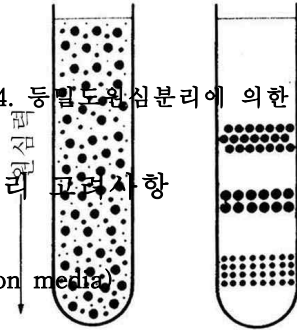


그림 11-3. 속도침강 원심분리에 의한 입자의 분리

## 2) 등밀도 원심분리 (isopycnic centrifugation)

등밀도 원심분리는 밀도에 기초하여 입자를 순수하게 분리하는 방법으로(그림 11-4) 입자의 크기는 입자의 등밀도 위치에 도달하는 속도에만 영향을 준다. 이 방법의 특징은 입자가 등밀도 위치에 존재하기 때문에 고속으로 오랜시간 동안 원심분리하여도 입자에 아무런 영향을 주지 않으며 바닥에 가라앉지도 않는다. 또한 시료를 주입 (loading)할 때 매질과 섞이어도 분리에는 아무런 영향을 주지 않는다. 밀도기울기의 형성은 매질에 따라 만들어서 넣어 주어야 하는 것과 원심분리하는 동안 자발적으로 이루어지는 것이 있다.

그림 11-4. 등밀도 원심분리에 의한 입자의 분리



### 11-4. 밀도기울기 원심분리

#### 1. 원심분리 매질(centrifugation media)

##### 1) 매질의 특성

편차 원심분리의 경우 분리과정은 균질시료를 이용하여 산원나 밀도기울기 원심분리의 경우 기울기에 밀도와 같은 시료와 혼합해도 반응이 일어나지 않음(compatible) 때 적용해야 한다. 주로 이용되는 기질로는 표 1에서 알 수 있듯이 수크로오스, Ficoll, CsCl, CS<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Percoll, Nycodenz 등이 있으며 매질의 이상적인 성질은 다음과 같다.

첫째, 불활성 물질이거나 적어도 생체 물질에 대한 독성이 없어야 한다. 둘째, 매질 용액의 물리 화학적인 성질을 확실히 알고 있어야 하고 매질 용액은 물질의 분리에 방해되지 않아야 한다. 셋째, 시료의 낭비나 활성의 저해가 없이 원하는 물질을 쉽게 분리할 수 있어야 하고 매질은 순수물질이며 값이 싸야 하고 회수하여 재사용할 수 있는 것이 좋다.

표 11-1. 기울기 매질의 형태와 응용

매질(Media)	DNA	RNA	Nucleo-proteins	세포막	세포내소기관	세포	바이러스
당 (e.g., sucrose)	-	-	+	++	++	+	++
다당류 (e.g., Ficoll)	-	-	-	+	+	+++	++
알칼리 금속염 (e.g., CsCl)	+++	++	+	-	-	-	-
콜로이드성 실리카 (e.g., Percoll)	-	-	-	+	++	++	+
비이온성 요오드 화합물 (e.g., Nycodenz)	+	+	+++	+++	+++	++	++

<sup>a</sup>분류: +++, 우수; ++, 적합; +, 제한적 응용; -, 부적합.

##### 2) 비이온성 기울기 매질 (nonionic gradient media)

수크로오스(sucrose)는 이상적인 밀도기울기 매질이며 속도침강 기울기(rate-zonal gradient) 매질 중에서 가장 좋은 것이다. 그리고 세포내 소기관(subcellular organelle)과 바이러스의 등밀도의 분리에도 폭 넓게 이용된다. 수크로오스는 생체물질에 대해 불활성이며 가격이 싸고 안정

하기 때문에 주로 이용된다.

글리세롤(glycerol)은 속도침강분리를 위한 수크로오스의 대용으로 널리 이용된다. 같은 무게의 수크로오스와 비교했을 때, 글리세롤의 점성도가 더 낮다. 글리세롤은 효소활성을 보존하면서 진공상태에서 시료의 분리가 가능하며 분석시약으로써 값이 싸고 쉽게 이용할 수 있다는 장점을 지닌다. 다당류(polysaccharide)는 삼투압에 민감한 세포나 세포내 소기관(osmotically-sensitive particles)의 분획(fractionation)에 이용할 수 있다. 널리 이용되는 물질은 분자량이 400,000인 Ficoll (Pharmacia Fine Chemicals AB)이며 수크로오스와 epichlorohydrin의 화학적 공중합(chemical copolymerization)에 의해서 생성된다. Ficoll 기올기는 수크로오스 기올기보다 안정하며 세포내 소기관의 분리시에 보호 효과를 지니고 있어 속도침강원심분리나 편차 원심분리에 널리 이용된다.

대부분 밀도기올기 기질로 많이 쓰이는 요오드화(iodinated) 물질은 벤젠 고리(benzene ring) 구조를 가지고 있다. 가장 많이 이용되는 매질은 metrizamide와 nycodenz이다. Metrizamide는 2-(3-acetamido-5-N-methylacetamido-2,4,6-tri-iodobenzamido)-2-deoxy-D-glucose인데 분자량이 789이며 benzoic acid의 tri-iodinated 유도체이다. Nycodenz는 N-N-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-5-[N-(2,3-dihydroxy-propyl)acetamido]-2,4,6-triiodo-isophthalamide이며 3 개의 친수성기를 갖고 있다. 밀도차를 이용하는 매질 중에서 요오드 화합물은 많은 잇점을 가지고 있는데 그 예로 수크로오스보다 삼투압과 점성도가 낮은 경우에서도 밀도차가 생길 수 있다는 것이다.

### 3) 이온성 기올기 매질 (ionic gradient media)

세슘 염(caesium salts)은 등밀도 원심분리에서 가장 많이 이용하는 매질이다. 등밀도 원심분리에 이용되는 매질은 이온성이며 비점성이고 높은 삼투압을 가져야 한다. 같은 등밀도원심분리라 할지라도 그 매질에 따라 밀도차의 정도가 다르기 때문에 원심분리시 생기는 시료의 밴드 형태가 달라진다.

세슘 염은 DNA의 정제 및 분리에 잘 이용되는데 이 매질에 EtBr을 첨가한 후 구조적 형태에 의해 DNA를 분리할 수 있다. 세슘 염으로는 염화세슘(CsCl)과 황산세슘(Cs<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 많이 이용하는데 이 중에서도 염화세슘을 더 많이 이용한다.

요오드화 나트륨(NaI)과 요오드화 칼륨(KI)의 잇점은 황산세슘에서 처럼 RNA가 응집되어 침전되지 않는다는데 있다. 이 염 용액은 원심분리시 적당하게 얇은 밀도층을 형성함으로써 높은 해상력을 얻을 수 있다. 그러나 요오드화(iodide) 염은 산화가 일어날 수 있기 때문에 환원제를 넣어주어야 하는 문제점을 지니고 있다.

루비듐 염은 등밀도기올기원심분리에 주로 이용된다. 또한 단백질 분리시 염화세슘 대신 사용하기도 한다.

## 2. 밀도 기올기 형성 방법

### 1) 확산(diffusion)법

확산법은 주사기를 이용하여 튜브의 아래쪽으로 갈수록 밀도가 큰 불연속적 농도기올기(discontinuous gradient)용액이 존재하도록 만든 후 확산에 의해 연속적 농도기올기(continuous

gradient)가 만들어 지도록 하는 것이다(그림 11-5). 연속적 농도기울기가 만들어지는 시간은 용질의 확산속도에 의존하며 이에 영향을 주는 인자들은 농도기울기의 폭과 점도, 층의 두께, 온도 그리고 용질의 분자량 등이다. 이 농도기울기는 시간이 길수록 완만해진다.

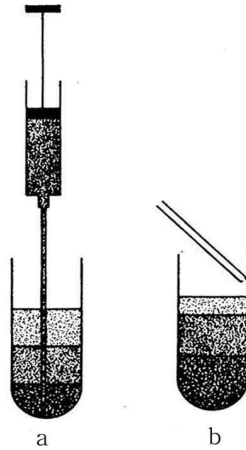


그림 11-5. 확산법

(a) Underlayering.

(b) Overlaying.

## 2) 선형 기울기 형성법 (linear gradient marker)

선형 기울기 형성법은 꼭지(stopcock)에 의해 열고 닫을 수 있는 동일한 단면적을 가진 두 개의 용기로 구성된 장치를 이용한다(그림 11-6). 선형 기울기를 만드는 방법에는 dense end first와 light end first의 두가지가 있다. Dense end first는 농도기울기를 형성하기 위해 outlet 튜브를 원심분리 튜브의 윗부분 벽에 대고 흘러내려 만드는 방법으로 셀룰로오스 니트레이트(cellulose nitrate)와 셀룰로오스 아세테이트 부티레이트(cellulose acetate butyrate) 같은 친수성 물질로 된 튜브에 적용할 수 있다. 그러나 폴리알로머(polyallomer)와 폴리카보네이트(polycarbonate) 튜브는 소수성이기 때문에 dense end first 법을 사용하기 위해서는 크롬산(chromic acid)으로 튜브를 30 분 동안 처리한 후 사용하여야 한다. Light end first 방법은 기울기 형성 outlet 튜브를 원심분리 튜브의 바닥에 대고 채우기 때문에 용질의 유속을 dense end first의 1 ml/min 보다 빠른 2 ml/min으로 할 수 있으며 시간을 절약 할 수 있고 튜브의 재질에 관계없이 사용할 수 있다. 그리고 특정 시간에 배출되는 기울기의 농도는 다음과 같이 계산되어진다.

$$C_t = C_M + (C_R - C_M) \frac{V_t}{2V_o}$$



- $C_t$  : 시간  $t$ 에서의 기울기 농도
- $C_M$  : 혼합실(mixing chamber)에서의 초기 용질 농도
- $C_R$  : 저장용기(reservoir)에서의 용질 농도
- $V_t$  : 시간  $t$ 에서 배출되는 기울기 부피
- $V_o$  : 각 혼합실에 있는 최초 부피

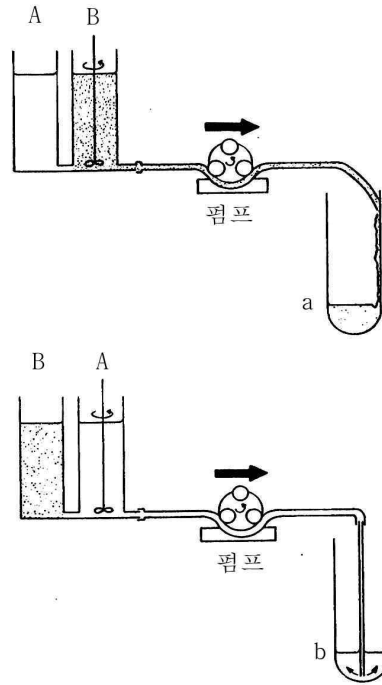


그림 11-6. 선형 기울기 형성법

- (a) Dense end first.
- (b) Light end first.

3) 지수형 기울기 형성법 (exponential gradient marker)

지수형 기울기 형성장치는 단면적이 다른 두 용기로 이루어져 있고 오목 및 볼록 지수형 농도 기울기를 만들 수 있다(그림 7). 혼합실 농도가 낮으면 볼록 지수형(convex exponential) 농도 기울기, 혼합실 농도가 높으면 오목 지수형(concave exponential) 농도기울기가 만들어 진다. 그리고 특정시간에 배출되는 기울기의 농도는 다음과 같이 계산되어진다.

$$C_t = C_R - (C_R - C_M)e^{-V_t/V_M}$$

- $C_t$  : 시간  $t$ 에서 배출되는 기울기의 농도
- $C_R$  : 저장용기에서의 용질 농도

$C_M$  : 혼합실에서의 초기 용질 농도  
 $V_t$  : 시간  $t$ 에서 배출되는 기울기 부피  
 $V_M$  : 혼합실의 부피

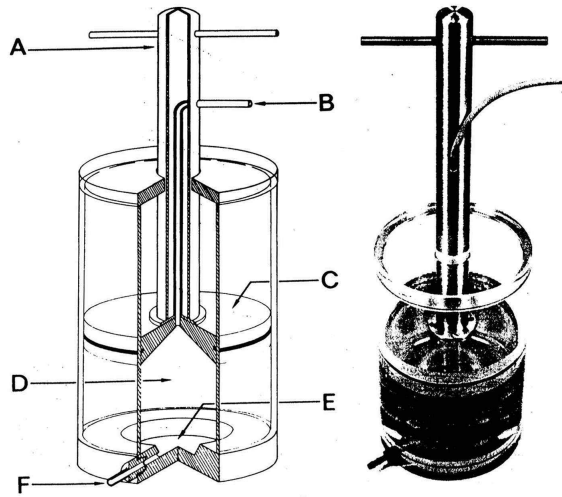


그림 11-7. 지수형 기울기 형성법

(A, 핸들; B, 주입구; C, 피스톤; D, 가변 혼합실, E, 교반 공간; F, 유출구)

#### 4) 자가형성법 (self-forming gradient)

자가형성법은 시료, 농도기울기 용질, 그리고 완충액을 섞어서 평형기울기를 스스로 형성하도록 하는 방법이다. 일반적으로 자가형성법을 사용하는 경우 원심분리 실시 전에 굴절계 (refractometry)를 이용하여 밀도를 측정하여야 한다. 용질의 밀도는 시료의 밀도보다 약간 높게 하여 농도기울기를 형성하기전에 응집이 일어나는 것을 피할 수 있게 한다.

### 11-5. 원심분리기의 종류

표 11-2. 실험실용 원심분리기의 유형 및 응용.

	원심분리기의 종류		
	저속	고속	초고속
속도범위 (rpm x 10 <sup>-3</sup> )	2-6	18-25	40-80
최대 RCF (g x 10 <sup>-3</sup> )	6	60	600
온도조절	일부 가능	가능	가능
진공 시스템	불가능	일부 가능	가능
가속/감속 조절	일부 가능	다양	다양
침전물의 생성			
세포	가능	가능	가능
핵	가능	가능	가능
막구조소기관	일부 가능	가능	가능
막	일부 가능	일부 가능	가능
리보솜/폴리솜	-	-	가능
거대분자	-	-	가능

원심분리기를 분류하는 방법에는 여러가지가 있지만 실험실용 원심분리기, 산업용 원심분리기로 분류할 수 있다. 실험실용 원심분리기는 최대속도를 기준으로 저속, 고속, 초고속 원심분리기로 나누는 방법이 가장 일반적으로 이용된다 (표 11-2). 산업용 원심분리기에는 원통형 원심분리기, 다연실 원심분리기, 디스크 원심분리기, 바스킷 원심분리기, 경사 분리기 등이 있다.

### 1. 실험실용 원심분리기

#### 1) 저속 원심분리기 (low-speed centrifuge)

탁상용 원심분리기라고도 불리우며 일반적으로 6,000 rpm (6,000 xg) 이하의 속도를 낼수 있고 속도와 온도의 정밀한 조절이 어렵고 주로 세포나 핵 등과 같이 쉽게 침전되는 시료의 원심분리에 이용된다.

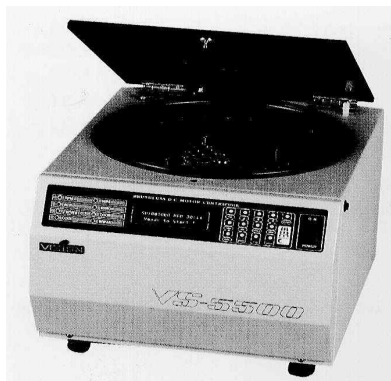


그림 11-8. 저속원심분리기

#### 2) 고속 원심분리기 (high-speed centrifuge)



그림 11-9. 고속원심분리기

최고속도가 20,000-25,000 rpm (60,000 xg)으로 냉각장치를 갖추고 있으며 진공장치가 되어있는 것도 있다. 이 기계는 주로 밀도기울기 분리에 이용할 수 있으며 주로 세포, 핵, 세포내 소기관 등의 분리에 이용된다.

### 3) 초원심 분리기 (ultracentrifuge)

초원심 분리기는 최대속도가 40,000-80,000 rpm (600,000 xg)으로 제조용 원심분리기 (preparative centrifuge)와 분석용원심분리기(analytical centrifuge)가 있다. 주로 밀도기울기 분리에 이용하며 냉각기와 진공장치를 갖추고 있고, 세포, 핵, 세포내 소기관, 세포막 구성성분, 라이보솜, 폴리솜, 거대분자 등을 분리할 수 있다.

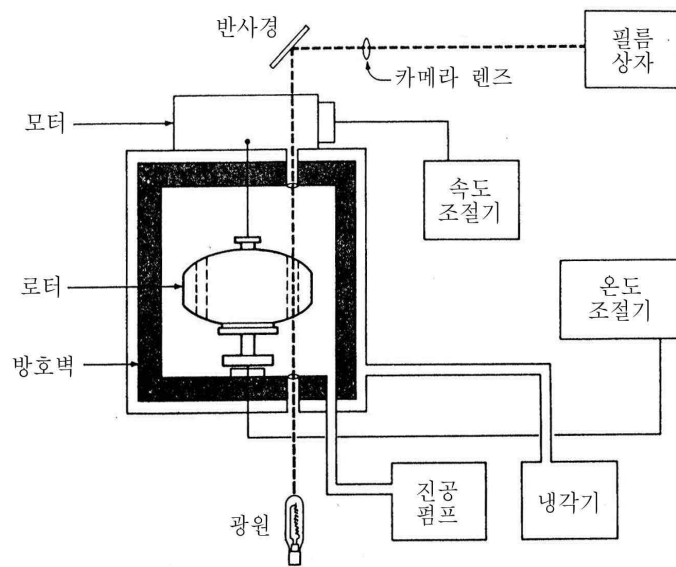


그림 11-10. 초원심분리기

제조용 원심분리기는 다량의 시료를 연속적으로 원심분리하는데 사용되며 시료의 침전, 등밀

도 분리 등에 이용된다. 이 원심분리기는 시료를 분석할 수 있는 광학장치를 가지고 있지는 않지만 다량의 시료(10-2,000 ml)를 처리할 수 있어 주로 생화학적 물질의 분리에 필수적으로 사용된다.

분석용 원심분리는 주로 적은 양의 시료(<1 ml)를 처리한다. 이러한 원심분리기에는 원심력장에서 용질의 농도분포를 측정할 수 있는 광학장치를 가지고 있고 용액내의 성분, 고분자의 종류, 이들의 농도 그리고 분자량에 따라 고분자간 및 고분자와 작은 분자 사이의 반응에 대한 분석을 할 수 있다. 분석용 원심분리기는 생물학적 거대분자의 특성과 그들 사이의 상호작용에 대한 연구에 있어 매우 중요한 실험장치이다.

전기영동 분석법에 의해 많이 대체되긴 했지만 분석용 원심분리기는 분자량의 측정에 있어 기본적인 방법이다. 예를 들면 당단백질이나 높은 전하를 가진 단백질에 있어서는 SDS-gel 전기영동으로 분자량을 측정하는 것은 다소 정확성이 떨어지기 때문에 많이 쓰여지지 않고, 분석용 원심분리기를 이용하여 분석하고 있다.

## 2. 산업용 원심분리기

### 1) 원통형 원심분리기 (tubular bowl centrifuge)

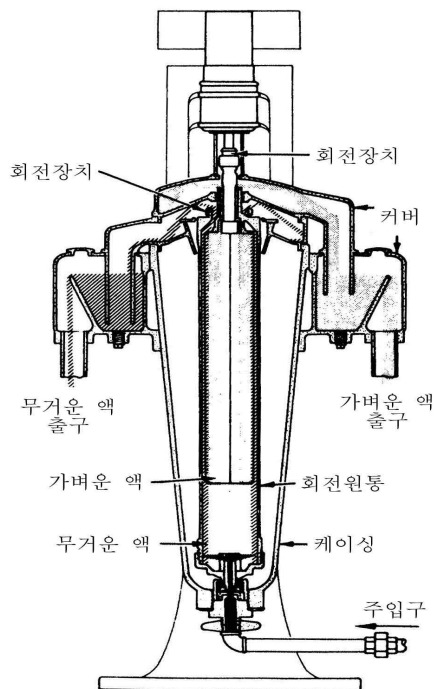


그림 11-11. 원통형 원심분리기

원통형 원심분리기에서는 시료가 하단부로 도입되면 원심력의 차에 의하여 두 층으로 분리되어 액체는 윗쪽으로 배출되고 고체는 벽에 붙게 되어 있다. 따라서 이 분리기는 비혼합성 액체 혼합물을 비중차에 의해 분리시키는 데 주로 사용된다. 원통형 원심분리기의 대표적인 형태는

샤플리스 원심분리기(Sharples centrifuge)이다.

2) 다연실 원심분리기 (multichamber centrifuge)

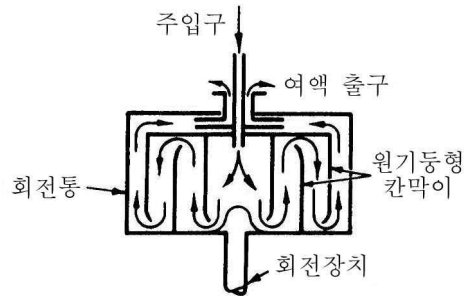


그림 11-12. 다연실 원심분리기

다연실 원심분리기는 그림 11-11과 같이 내부에 여러 개의 원기동형 칸막이가 있는 연실로 되어 있으며 슬러지가 퇴적되기 전까지는 분리 효율이 일정하며 수분 제거가 적합한 시스템이다. 그러나 고체물 방출이 되지 않고 원통형 원심분리기 보다 세척하는데 힘이 더 든다.

3) 디스크 원심분리기 (disk centrifuge)

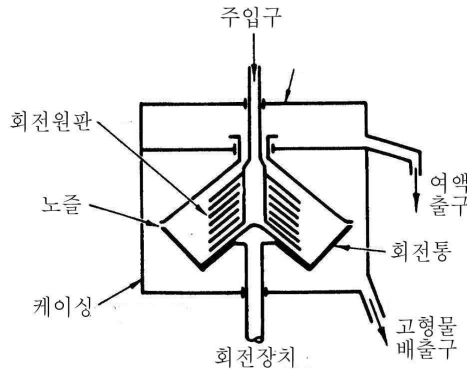


그림 11-13. 디스크 원심분리기

디스크 원심분리기에는 그림 11-12와 같이 노즐식(nozzle) 디스크 원심분리기와 주기적 분출식(intermittent discharge) 디스크 원심분리기가 있다. 노즐식 디스크 원심분리기는 이중 원뿔통의 지름이 가장 큰 위치에 구멍크기가 이 노즐을 통하여 배출된 후 슬러지 배출구로 연속 제거된다. 어떤 구조에서는 배출되는 슬러지가 원통에 재순환되어 배출슬러지의 고체농도를 높여 도록 되어 있으며 슬러지 속에 들어 있는 액체성분을 회수하기 위하여 세척용 액체를 원통 속에 주입하도록 설계되어 있는 장치도 있다. 주기적 분출식 디스크 원심분리기에서는 노즐을 마개나 밸브로 막은 채로 운전하고 적당히 농축된 슬러리를 배출하기 위하여 주기적으로 마개나 밸브를 열도록 조작된다.

4) 바스킷 원심분리기 (basket centrifuge)

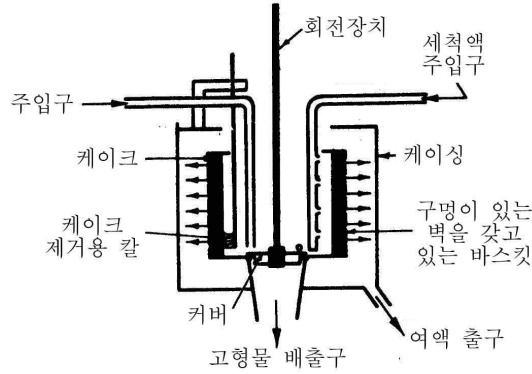
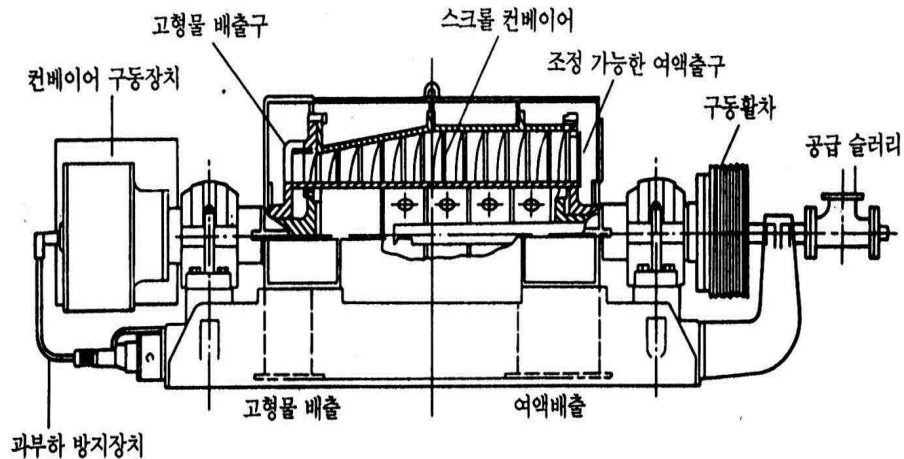


그림 11-14. 바스킷 원심분리기

5) 경사 분리기 (decanter centrifuge)

이 원심분리기에서는 한쪽 끝이 원뿔형인 원기둥형 통이 수평축으로 회전한다. 분리될 시료 슬러리는 회전축 방향에 고정설치된 파이프로 들어가서 원기둥형 통내부에서 원둘레 방향으로 분무되어 환상액층(annular layer of liquid)을 형성한다. 맑은 액체는 원통부분을 덮고 있는 판자형 여액 배출구로 흘러나간다. 이 판자형 배출구의 위치(radial position)에 따라서 원통내에서 액체의 환상액층의 두께가 달라진다. 고체는 이 액층에서 침강하여 원통 내벽에 가라앉고, 원통보다 약간 느린 속도로 회전하는 나선형 컨베이어에 의하여 액층 바닥에서 긁어 옮겨져서 원뿔쪽 끝에 있는 액체 없는 공간으로 이동되어 배출구로 나간다. 이때 고체입자 속에 들어 있는 용해성 불순물을 씻을 필요가 있을 때는 물을 뿌려서 씻을 수도 있다. 세척수는 액층으로 흘러서 분리된 슬러리 모액과 함께 배출된다. 나선형 컨베이어 원심분리기라고도 부르는 이 원심분리기는 대량의 물질을 분리할 수가 있는데, 예를 들면 지름 45 cm의 분리기는 시간당 1 - 2 톤의 고체를 처리할 수 있고, 지름 140 cm의 분리기는 고체 50 톤/시간의 처리용량을 가진다.



## 그림 11-15. 경사 분리기

### 11-6. 기타 원심분리 관련사항

#### 1. 원심분리 구동방식

##### 1) 전기모터 구동방식 (electric motor system)

원심분리에 일반적으로 이용되는 방식이지만 원심분리기의 종류에 따라 다른 방식의 모터를 사용해야 하는 어려움이 있다. 가장 일반적인 것으로 직류 브러쉬모터와 유도모터가 있다. 그리고 모터로부터 로터로 동력을 전달하는 방식에도 직접 전달하는 방식과 벨트나 변속기에 의한 간접전달방식이 있다. 직접전달방식은 정확한 회전수를 만들 수 있지만 초고속에서는 모터에 커다란 압력이 걸리는 단점이 있고, 간접전달방식은 모터에 대한 압력은 적지만 정확한 회전수를 만들기가 어렵다.

##### 2) 터빈 구동방식 (turbine motor system)

초원심분리는 고속으로 오랜시간 동안 모터를 돌려 주어야 하기 때문에 동력으로 터빈을 이용하는 경우가 많다. 그 중에서 Sorvall 사에서 개발한 오일터빈 방식은 터빈이 작고 시스템의 신뢰성이 높을 뿐 아니라 저속에서의 가속도 조절도 매우 안정되어 있다. 그러나 무거운 로터의 가속에는 터빈의 토오크가 낮기 때문에 좋지 않다. 다른 하나는 Beckman/Spinco 사에서 개발한 Air-fuge인 조그만 알루미늄 로터는 공급되는 공기에 의해 온도를 조절하며 최고 100,000 rpm (165,000 xg)까지 가속이 가능하다. 이 방식은 시간 의존 반응의 연구에 유용하지만 로터의 부피가 작기 때문에 한 번에 이용할 수 있는 시료의 양에 제한이 있다.

#### 2. 로터 (rotor)

초기의 로터는 구형의 금속을 이용하여 원하는 속도에 도달하였을 때 파괴되지 않을 만큼 충분히 강한 상태를 실험에 의해 알아내어 설계하였다. 그러나 오늘날에는 컴퓨터를 이용하여 회전시의 원심력의 작용을 예측한 후 원심분리에 충분히 견딜 수 있을 만큼 강하게 설계하고 있다.

##### 1) 로터의 재료

로터의 강도는 속도의 제곱에 비례한다. 따라서 초고속원심분리기에는 저속 원심분리기에서 사용되는 것보다 매우 큰 강도를 가져야 한다.

저속의 로터는 황동 및 플라스틱, 알루미늄 합금 등으로 만들고 고속 및 초고속의 로터는 알루미늄이나 티타늄 합금을 이용하여 만든다. 흔히 사용하는 알루미늄 로터는 산이나 염기성의 용액에 의한 부식에 매우 약하기 때문에 표면을 산화필름으로 감싸 부식을 방지하고 있다. 또한 알루미늄 로터는 빠른 속도로 원심분리할 때 로터 몸체 내부의 부식이 진행될 수 있다. 티타늄 합금은 산과 알칼리의 부식에 강하기 때문에 거의 영구적인 내구성을 가지며 외부는 검은 에폭시(epoxy) 페인트로 칠해져 있으며 값은 비싸지만 표면에 손상을 입지 않기 때문에 로터의 온도 조절에 적합하다.



2) 로터의 형태

일반적인 로터의 형태는 수평 로터, 고정각 로터, 수직 로터, 그리고 침강 로터로 구분할 수 있다.

표 11-3. 로터의 형태 및 적용.

로터의 형태	원심분리방법		
	침전	속도침강	등밀도
수평(Swing-out) 로터	불충분	양호	적합
고정각(Fixed angle) 로터	우수	부적합	양호
수직(Vertical) 로터	부적합	양호	우수
침강(Zonal) 로터	부적합	우수	적합

(1) 수평로터(swing-out rotor)

이 방식은 로터가 축에 대해 수직으로 회전한다. 고정각로터나 수직로터보다 적은 양의 시료를 처리하며 속도침강 원심분리와 등밀도 원심분리에 이용된다. 이 로터는 입자들의 침강거리가 길기 때문에 대류현상을 감소시키며 고리로 바구니를 걸도록 되어있기 때문에 저속에서 주로 이용한다. 그러나 편차 원심분리에는 적합하지 않다.

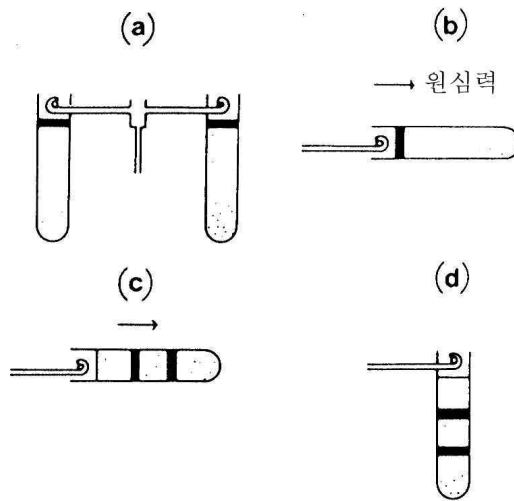


그림 11-16. 수평 로터

(2) 고정각 로터 (fixed-angle rotor)

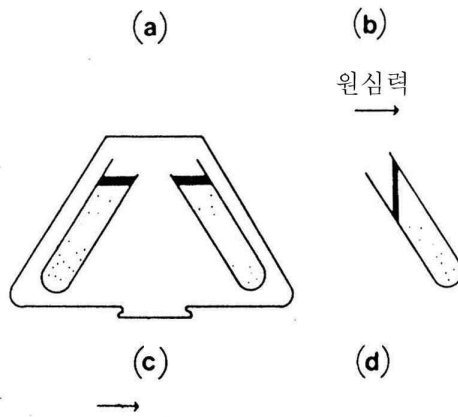


그림 11-17. 고정각 로터

이 방식은 로터 내에 일정한 각도 (보통 14°-40°)로 회전할 수 있는 공간이 마련되어 있으며 침전거리가 짧기 때문에 주로 침전물 형성에 이용된다. 그리고 튜브의 바닥으로부터 벽을 따라 비스듬하게 침전이 생기므로 편차원심분리에 적합하며 600,000 xg 이상의 높은 원심력에 견딜 수 있도록 설계되어질 수 있다.

(3) 수직 로터(vertical rotor)

이 방식은 고속 및 초고속 원심분리의 대부분에서 이용되는 것으로 튜브의 축과 로터의 축이 평행하여 침전거리가 짧다. 그리고 회전반경을 줄일 수 있어 로터에 원심력이 적게 걸리므로 고속으로 회전시키는데 큰 문제가 되지 않는다. 이 로터는 수평로터나 고정각로터보다 기울기 형성 능력이 크기 때문에 주로 등밀도 원심분리에 이용된다.

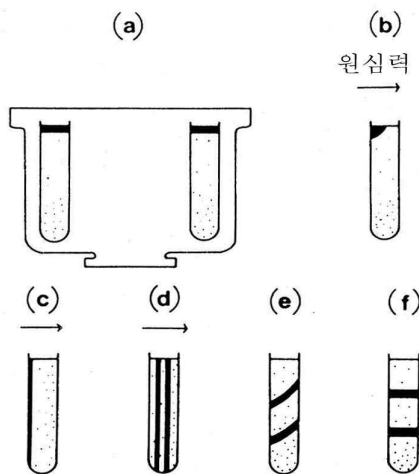


그림 11-18. 수직 로터

(4) 침강로터 (zonal rotor)

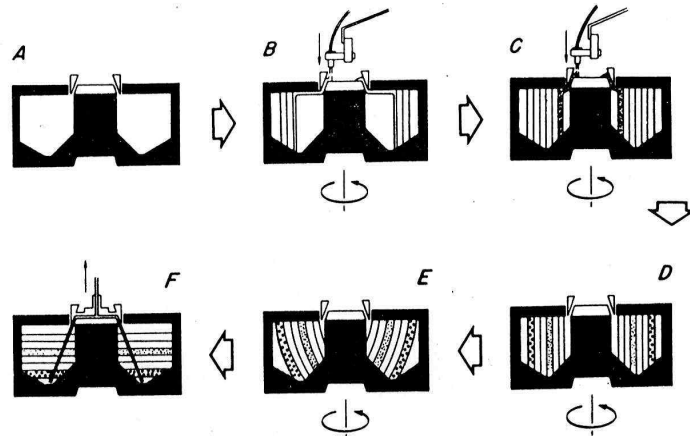


그림 11-17. 침강 로터

침강로터는 대부분 밀도기울기 원심분리를 위해 이용되는 것으로 원리는 수직로터와 비슷하나 큰 부피의 기울기매질을 사용할 수 있고 로터가 회전 중에 분리하고자 하는 시료를 주입할 수 있다는 점이 다르다. 침강로터는 회분식 형태와 연속식 형태로 구분되어진다.

### 3. 튜브 (tube)

튜브의 재질로는 불활성인 유리가 이상적이지만 3,000 xg 이상의 원심력은 견디기 힘들다. 그러나 코렉스 튜브는 예외적으로 25,000 xg 까지 견딜 수 있다. 폴리카보네이트(polycarbonate)는 투명하고 강하며 고온 멸균이 가능한 장점이 있다. 그러나 에탄올을 포함한 용매와 알칼리 용액, 디에틸피로카보네이트(diethylpyrocarbonate, DEPC)에 손상을 입는다. 그리고 폴리설포네이트(polysulfonate)는 폴리카보네이트와 같이 투명하고 강하며 멸균이 가능하다. 그리고 에탄올과 알칼리 용액에 잘 견디지만 페놀류에는 취약하다. 반면에 폴리프로필렌(polypropylene)과 폴리알로머(polyallomer)는 120℃에서 30 분 동안 고온 멸균할 수 있고 폴리카보네이트보다 부드러우며 두꺼운 튜브를 만들 수 있다. 그리고 셀룰로오스 니트레이트(cellulose nitrate) 튜브는 투명하지만 폭발성이 있으므로 오래된 튜브는 사용하지 말아야 한다. 셀룰로오스 아세테이트 부티레이트(cellulose acetate butyrate) 튜브의 경우 물리적인 성질은 셀룰로오스 니트레이트 튜브와 비슷하지만 고온 멸균을 할 수 없다. 또한 이들은 세슘 트리플루오르아세테이트(caesium trifluoroacetate), 강산, 염기, 용매에 취약하다.

### 11-7. 산업적 응용

산업용 원심분리기는 1878년 스위스 기술자인 Gustaf de Laval에 의해 발명되었으며, 우유로부터 크림을 분리하는데 사용되어졌다. 그 후 1896년에는 발효산업에 응용되어 효모의 회수에 사용되어졌고 다른 생물산업 부분으로 확산되어 이용되었다. 현재 원심분리는 에탄올과 유기산을 생산하는 발효산업에서 멸균이나 살균과 같은 공정과 연결되어 많이 이용되고 있다. 그리고 원심분리는 맥주산업에서 기질 침전을 위한 분리, 단세포 단백질(single cell protein), 항생제 생산공정에서도 많이 이용되고 있다. 원심분리가 산업적으로 응용된 예는 표 11-4와 같다.

표 11-4. 원심분리의 산업적 응용

산물	미생물		상대적인 처리속도	분리기형태
	미생물	크기 ( $\mu\text{m}$ )		
Bakers' yeast	<i>Saccharomyces</i>	7-10	100	노즐
Brewer's yeast	<i>Saccharomyces</i>	5-8	70	노즐
Alcohol yeast	<i>Saccharomyces</i>	5-8	60	고형물분출
Single cell protein	<i>Candida</i>	4-7	50	노즐, 경사분리기
Citric acid	<i>Mold</i>	-	30	고형물분출, 경사분리기
Antibiotics	<i>Mold</i>	-	20	경사분리기
Antibiotics	<i>Actinomyces</i>	10-20	7	고형물분출
Enzymes	<i>Bacillus</i>	1-3	7	노즐, 고형물분출
Vaccines	<i>Clostridia</i>	1-3	5	원통형, 고형물분출