

2 불용성 입자의 분리

생성물 회수의 첫 번째 단계인 불용성 입자 분리(separation of insoluble particles)는 입자의 크기, 밀도, 용해도, 그리고 확산도와 같은 물리화학적 성질의 차이를 이용한다. 세포의 분리에 사용되는 주요 방법으로는 여과, 원심분리, 응고, 응집 등이 있다.

2.1 여과

여과(filtration)는 압력차(pressure difference)가 구동력(driving force)이 되어 입자의 크기를 기준으로 하는 분리공정이다. 즉, 발효액을 여과매체(예를 들어 막)를 통해 흘려보내서 세공(micropores)보다 큰 입자는 막(membrane)을 통과하지 못하고 액체와 작은 입자들은 통과함으로써 액체로부터 고체입자가 분리되는 공정이다. 시간이 지나면서 막위에는 막을 통과하지 못한 큰 입자가 퇴적되어 케이크(cake)를 형성한다. 여과속도는 케이크와 여과매체의 저항값에 의해 결정된다. 즉,

$$\frac{1}{A} \frac{dV_f}{dt} = \frac{\Delta p}{\mu(L/k)} \quad (1)$$

여기서 A 는 여과면의 면적, V_f 는 얻어진 여과액 부피, t 는 시간, Δp 는 여과기에서의 압력손실, μ 는 여과액 점도, L 은 여과재료의 두께, k 는 투과율(permeability)이다. 여기서, L/k 은 여과매체에 의한 저항(R_m)과 케이크에 의한 저항(R_c)의 합을 나타낸다. 그런데 R_m 은 R_c 에 비해 매우 작고, R_c 는 여액의 부피에 비례한다. 즉,

$$\frac{L}{k} \simeq R_c = \frac{\alpha \rho_c V_f}{A} \quad (2)$$

여기서, α 는 케이크의 비저항(specific cake resistance)이고 ρ_c 는 여액의 단위부피당 케이크의 질량이다. 식 (2)를 식 (1)에 대입해 적분하면

다음과 같은 식을 얻는다.

$$t = \frac{\mu \alpha p_c}{2 \Delta p} \left(\frac{V_f}{A} \right)^2 \quad (3)$$

식 (3)에 따르면 용액의 점도(μ)가 높아지면 일정량의 용액을 여과하는 시간은 길어진다. 위에서 설명한 식들은 케이크가 비압축성(imcompressible)이라고 가정하였으며 따라서 케이크의 비저항이 일정하다고 가정하였으나 실제로는 발효액의 케이크가 압축성이기 때문에 케이크의 압축률이 증가할수록 케이크의 비저항은 증가하게 되고, 그 결과 운전의 어려움이 나타난다. 대부분의 발효액은 비뉴턴 유체(non-Newtonian)의 성질을 가지며 압축성이 높은 케이크를 형성하기 때문에 열처리, 용액첨가 등의 전처리를 통해 발효액의 여과성을 개선시킨다. 예를 들어 페니실린 발효 생성물 중 균사(filaments)는 열처리로 응고시켜서 여과성을 증진시킨다.

여과공정 운전에 영향을 주는 요인으로는 여과액의 성질(특히 점도와 밀도), 고형물의 성상(크기, 모양, 입도분포, 충전상태), 고체와 액체의 비, 운전 규모, 운전의 방법 등이 있다. 세포분리는 또한 미세여과(microfiltration)나 한외여과(ultrafiltration)에 의해서 이루어질 수 있다. 한외여과에 대해서는 4.4 절에 자세히 소개한다. 세포의 회수에 주로 사용되는 여과기는 가압여과기(filter press)와 회전 진공여과기(rotary vacuum filter)가 있다.

2.2 원심분리

여과로는 처리 속도가 느리거나 위생적인 연속공정을 수행해야 하는 경우에는 원심분리(centrifugation)를 이용한다. 원심분리는 원심력에 의해 0.1에서 100 μm 사이의 크기를 갖는 입자를 분리하는 데 사용된다.

원심분리기에는 관형(tubular centrifuge)과 원판형(disc or bowl centrifuge)의 두 가지가 있다. 관형 원심분리기는 원통형 회전요소만으로 구성되어 있다. 발효액은 원심분리기의 하부로 공급되며 분리된 용액은

원심분리기의 상부로 유출되고, 고형물질은 원심분리기의 내부 벽면에 축적된다. 축적된 고형물질은 수작업으로(manually) 분리한다. 원판형 원심분리기는 생물 분리공정에서 가장 많이 쓰이는 형태의 원심분리기이며, 연속조업이 가능하다는 장점이 있다. 길이는 짧고 폭이 넓은 형태로서 축을 중심으로 회전하다 부유입자(suspended particles)들은 원판 표면에 붙게 되며 분리효율이 증가하게 된다.

입자와 입자 간의 상호작용을 무시할 수 있는 묽은 세포 현탁액에서의 원심분리를 생각하자. 원심력에 의해 액체에서 고체입자를 침강시키는 데 작용하는 주요 힘은 원심력(centrifugal force, F_C), 유체에 의해 고체입자에 작용하는 항력(drag force, F_D), 그리고 부력(buoyant force, F_B)이다. 입자가 종말 침전속도(terminal settling velocity)에 도달하면, 입자에 작용하는 세 힘은 서로 평형을 이룬다. 즉,

$$F_C = F_D + F_B \quad (4)$$

이 된다. 그런데

$$F_C = \frac{\pi}{6} D^3 \rho_p \frac{r\omega^2}{g_c} \quad (5)$$

$$F_B = \frac{\pi}{6} D^3 \rho_f \frac{r\omega^2}{g_c} \quad (6)$$

$$F_D = \frac{C_D}{2g_c} \rho_f U_0^2 A \quad (7)$$

여기서, ρ_p 는 입자의 밀도, ρ_f 는 액체의 밀도, r 은 중앙회전축에서 반지름 방향으로의 거리, ω 는 회전각속도(angular velocity of rotation= $2\pi Nr$)이다. 또한 식 (7)에서, C_D 는 항력계수(drag coefficient), U_0 는 원심력장에서 유체와 입자 사이의 상대속도(the relative velocity between the fluid and the particle) 또는 입자의 종말속도(the terminal velocity of a particle), A 는 유체흐름 방향과 수직인 입자의 단면적(the

cross-sectional area of the particles perpendicular to the direction of fluid flow)이다. 구의 경우에는 $A = \left(\frac{\pi}{4}\right) D_p^2$ 이며, D_p 는 입자의 직경이다.

구형입자에 대하여 $Re_p < 0.3$ 이면 F_D 는 Stokes 방정식에 의해 주어진다. 즉,

$$F_D = 3\pi\mu D_p U_0 \frac{1}{g_c} \quad (8)$$

식 (4)에 식 (5), (6), 그리고 (8)을 대입하여 정리하면 종말 침전속도가 구해진다.

$$U_0 = \frac{r\omega^2 D_p^2 (\rho_p - \rho_f)}{18\mu} \quad (9)$$

식 (9)에 의하면 Stokes법칙에 의해 뉴턴 유체(Newtonian fluids)에 현탁되어 있는 구형입자의 침강속도는 입자 직경의 제곱에 비례한다. 입자의 종말속도에 영향을 미치는 인자는 입자와 액체와의 밀도차, 입자직경, 액체의 점도 등이다. 즉, 입자의 직경이 클수록, 입자와 액체와의 밀도차가 클수록, 액체의 점도가 낮으면 낮을수록 종말속도는 빨라지게 된다. 이상의 설명은 묽은 세포현탁액처럼 입자간의 상호작용이 무시될 수 있을 때 적용할 수 있다.

입자농도가 높을 때, 입자 간의 상호작용에 의해 입자군(a swarm of particles)을 형성하는 간섭침강(hindered settling)이 일어나며 이 때 입자에 작용하는 항력은 다음과 같이 된다.

$$F'_D = \frac{3\pi\mu D_p}{n} U(1 + \beta_0) \quad (10)$$

여기서 U 는 간섭침강의 경우 입자의 최종속도, L 은 인접한 입자간의 평

균거리, β_0 는 간섭침강계수(입자가 사각형 모양으로 배열되었을 때 1.6의 값을 가짐)로서 α (입자의 부피분율 및 모양)의 함수이다. 원심력장에서 입자의 종말속도(terminal velocity)는 다음 식 (11)에 의해 U_0 에서 U 로 감소한다.

$$\frac{U}{U_0} = \frac{1}{1 + \alpha' \alpha^{1/3}} \quad (11)$$

여기서, α' 은 α 와 경험적으로 연관되며 입자의 모양에 의존한다.

2.3 응고와 응집

응고(coagulation)와 응집(flocculation)은 보통 원심분리, 중력에 의한 침강(gravity settling), 또는 여과공정을 수행하기 전에 이들 분리공정의 효율을 증가시키기 위해 간단한 전해질(electrolytes)을 가하여 세포 덩어리를 형성하는 데 이용한다. 응고는 콜로이드로부터 작은 덩어리를 형성하는 것이고, 응집은 작은 덩어리를 보다 큰 입자로 집적(agglomeration)시키는 것이다. 응집에 사용하는 응집제의 예로는 염화칼슘(calcium chloride), 음이온성 다가 전해질(polyelectrolytes)인 polystyrene sulfate, 양이온성 다가 전해질인 polyethylene imine 등이 있다. 점토(clay), 활성탄(activated carbon), 또는 실리카같은 미세 고체입자는 응고를 위해 핵생성 자리(nucleation site)를 공급한다.