

초음파를 이용한 미생물과 현탁입자의 회수에 관한 연구

황성호 · 구윤모[†]

인하대학교 공과대학 생물공학과
(2001년 8월 23일 접수, 2001년 9월 25일 채택)

Effects of Operation and Design Parameters on the Recovery of Microorganisms and Particles in Ultrasonic Sedimentation

Sung-Ho Hwang and Yoon-Mo Koo[†]

Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea
(Received 23 August 2001; accepted 25 September 2001)

요 약

미생물을 포함한 현탁입자의 회수나 여과, perfusion system에서의 세포의 포집 등에 초음파를 이용하는 것은 널리 알려져 있다. 이러한 초음파를 이용한 미생물과 고분자 입자의 회수에서 acoustic cell settler를 구성하고 있는 진동자와 반사막간의 거리, 초음파의 진동수, 초기 정지 시간, 현탁액의 농도 그리고 여과액(filtrate)의 회수속도가 분리효율에 미치는 영향에 대해 연구하였다. 미생물은 대장균과 빵효모를 사용하였으며 각각의 크기는 약 1.8 μm , 4.8 μm 이었고, 고분자입자는 polyaniline을 사용하였으며 1-13 μm 크기의 입자 분포를 가진 것이었다. 초음파의 진동수 1.3과 3 MHz에서 진동자와 반사막간의 거리와 초기 정지 시간을 변화시키며 회수특성을 관찰하였다. 초음파의 진동수 3 MHz에서는 대장균, 빵효모와 polyaniline 모두가 88%이상의 높은 분리효율을 보였으나, 1.3 MHz의 낮은 초음파 진동수에서는 크기가 큰 빵효모는 90%이상의 높은 분리효율을 보였으나, 입자크기가 작은 대장균과 1-2 μm 크기의 polyaniline 입자는 초음파의 정상파 내에 포집이 되지 않고 유출되어 낮은 분리효율을 보였다. 회수 속도에 대해서는 입자의 크기가 큰 빵효모의 경우에 높은 회수 속도에도 settler내에서 세포가 유지되어 높은 분리효율을 보였으나, 대장균의 경우에는 settler내에서 유지가 어려웠다.

Abstract – Recovery of suspended particles using acoustic cell settler was investigated. The acoustic cell settler has advantages over conventional filtration devices which are subject to media contamination such as fouling, resulting in needs for regular regeneration and replacement. The acoustic cell settler consists of transducer, reflector and acoustic chamber. We studied for several important factors affecting the separation efficiency, such as distance between transducer and reflector, frequency of ultrasound, initial holding time, concentration of particles and harvest rate of filtrate. We did experiment for the recovery of *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*(bakers yeast) with size of 1.8 and 4.8 μm , respectively, and a polymeric particle, polyaniline. In the 1.3 and 3 MHz ultrasound, effect of change in distance between transducer and reflector and initial holding time were experimentally studied. We measured the maximum harvest rate of filtrate with the high separation efficiency. With the ultrasound at 3 MHz, separation efficiency were 95%, 96% and 88% for bakers yeast, polyaniline and *E. coli*, respectively. At ultrasonic frequency of 1.3 MHz, bakers yeast showed separation efficiency of higher than 90% whereas particles smaller than 2 μm , such as polyaniline and *E. coli*, were not well separated.

Key words: Acoustic Cell Settler, Ultrasonic Frequency, Initial Holding Time

1. 서 론

Bioreactor나 fermenter에서의 세포나 미생물의 고농도 배양을 위해 많은 방법들이 사용되고 있으며, 하나의 방법으로 초음파에 의한 분리가 사용되고 있다[1, 2]. 초음파를 이용한 분리는 매우 적은 전력을 소모하여 간단한 장치만으로 영구적인 여과기능이 수행 가능한 기기이다.

다른 세포 유지장치(cell retention device)와 비교해 초음파 분리기(acoustic cell settler)의 가장 큰 장점은 다른 기계적 장치 없이 세포의 유지가 수 행된다는 것이다[3]. 초음파 분리를 사용함으로써 기존의 교체막을 사용할 때 야기되었던 많은 문제점을 극복할 수 있다. 예를 들어, 교체막을 장기간 사용할 때 막의 막힘 현상으로 막을 교체해야하는 번거로움을 줄일 수 있으며, 막의 오염 또한 방지할 수 있어 장기간 사용에 대해 안정성을 갖고 있다. 그리고 기존의 세포 회수방법의 하나인 원심분리가 발효기의 on-line system에 적용하기 어려운 반면에 이 초음파 분리는 적용이 가능하며, 미생물을 고정화하는 장치로 이용하여 발효기

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

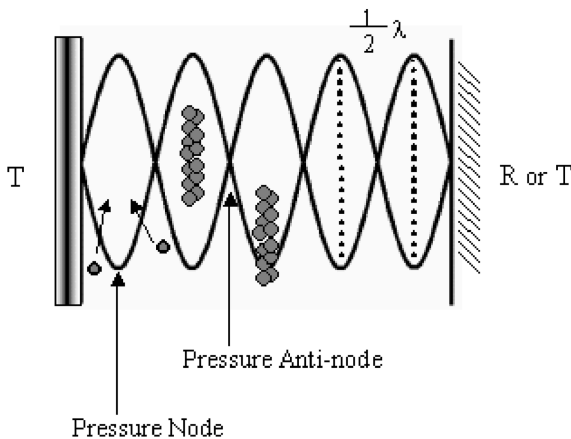


Fig. 1. Sedimentation of suspended particles in ultrasonic sound field(T: transducer, R: reflector, λ : wavelength).

의 on-line clarification과 perfusion system에 적용이 가능하다[4-6]. 따라서 세포나 세포의 산물의 회수에 적용하여 ultrafiltration과 microfiltration을 이용하는 공정의 대체가 가능할 것으로 판단된다. 그리고, 초음파를 이용한 분리는 매우 적은 전력을 사용하기 때문에 미생물이나 세포의 생사에는 거의 영향을 주지 않는다고 알려져 있다[7]. 식물 세포[8], 곤충 세포[9], 동물 세포[10-12] 등의 고농도 배양을 위한 관류배양(perfusion culture)에서 세포유지 기기로서 사용되고 있으며, monoclonal antibodies의 생산을 위한 연속적인 관류배양에도 사용되고 있다[13]. 이러한 생물입자 이외에도 polystyrene과 같은 고분자 입자에 대해서도 연구가 수행되었다[14-16].

초음파에 의한 분리는 진동자에 의해 발생한 초음파의 정상파(ultrasonic standing wave)에 의해 이루어지는데 이 초음파의 정상파는 서로 반대 방향에서 나오는 두 개의 독립적인 진행파(traveling wave)가 합쳐짐으로써 만들어진다[17]. 초음파의 정상파는 두 개의 독립적인 초음파의 진동자나 초음파 진동자와 반사막으로 구성된 곳에서 형성된다. 초음파의 정상파는 마디(node)와 골(antinode)부분을 가지게 되는데 이러한 초음파의 정상파의 pressure amplitude는 골 부분에서 가장 크며 마디에서 최소 값을 갖고 하나의 파장에 두 번씩 나타나게 된다. 이렇게 형성된 ultrasonic resonance field 내에서 particle, cell, 또는 droplet의 불연속성(discontinuity)때문에 sound field에는 position-dependent acoustic potential energy가 형성된다[18]. 이러한 현상에 의해 현탁입자들은 acoustic potential energy가 가장 낮은 곳으로 이동하여 초음파의 정상파에 포집(entrapment)된다. 그래서 현탁입자들은 파장의 절반의 위치마다 존재하는 pressure node에 포집된다. 이렇게 포집된 입자들은 정상파내부에서 응집되어 응집체(aggregates)를 형성하게 되고 형성된 응집체는 중력으로 인해 침전된다[18]. 그러므로, 초음파의 정상파에 의해 현탁액은 acoustic cell settler 내에서 빛은 비교적 맑은 액을 형성하고 아래층은 현탁입자들이 침전되는 이상계(two phase)형식을 띄며 분리가 일어난다[19].

본 연구는 bioreactor나 fermentor내의 세포나 미생물의 농도를 높이는 데 있어서 연속적이며 on-line 공정에 적용이 가능한 초음파 여과기의 개발을 위해 진동자와 반사막간 거리와 초기 정지시간 등에 대해 중점적으로 연구하였으며, 그 밖의 성질을 규명하기 위해 수행되었다.

2. 실험

2-1. 현탁입자

본 실험에서 사용한 현탁입자는 미생물인 대장균, 빵효모와 고분자 입자인 polyaniline이다. 대장균은 *Escherichia coli* TG1/pDG7 α 를 이용하

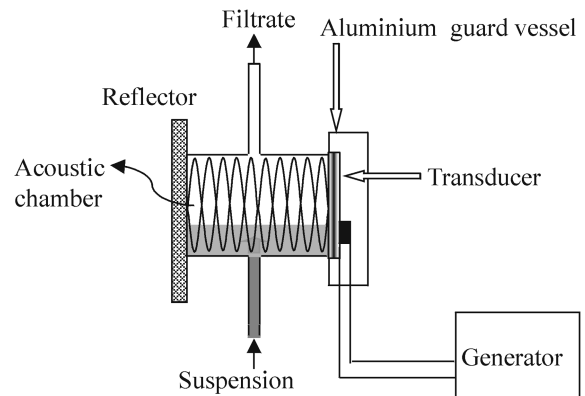


Fig. 2. Schematic diagram of the acoustic cell settler.

였으며 LB 배지에서 종균배양(seed culture)과 본배양(main culture)을 9시간씩 한 후 얻은 균체를 원심분리를 통하여 회수하였다. 이렇게 얻은 균체를 등장액에 현탁시켜 실험을 수행하였다. 배양조건은 37 °C, 200 rpm으로 rotary shaker에서 배양하였다. *E. coli* TG1/pDG7 α 의 평균크기는 1.8 μ m이다.

빵효모는 Sigma社의 건조상태의 *Saccharomyces cerevisiae*(bakers yeast) Type 1을 증류수에 현탁시켜 사용하였으며 평균크기는 4.8 μ m이다.

Polyaniline은 본교의 고분자공학과로부터 제공받았으며 입자의 크기 분포는 1-13 μ m이었다.

2-2. Acoustic Cell Settler

Acoustic cell settler는 acoustic chamber, 초음파 발전기, 진동자(Sinjin Ultra) 그리고 반사막(reflector)으로 구성되어있다. Acoustic chamber에서 초음파에 의한 현탁액의 분리가 일어나며 아크릴관을 이용하여 제작하였다. 반사막으로는 유리를 사용하였다. Peristaltic pump(MS-4 Reglo 6/100, Ismatec)를 settler의 윗부분에 설치하여 settler내부의 윗부분에 있는 맑은 액을 회수하였다.

2-3. 분리효율의 측정

Peristaltic pump를 이용하여 현탁액을 acoustic chamber로 유입시킨 후 초음파를 발생시켜 초기 정지시간을 적용하고 분리가 일어나게 하여 빛의 비교적 맑은 액을 일정 속도로 유출시켰다. 분리효율은 유입 농도와 유출농도를 비교하여 측정하였으며, 다음과 같이 정의하였다.

$$E = (1 - C_0/C_i) \times 100$$

여기서, C_i 는 acoustic chamber로 유입되는 particle의 농도이며 C_0 는 acoustic chamber를 거친 후 유출되는 particle의 농도이다. 대장균과 빵효모의 농도는 spectrophotometer(UV160-A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 각각 600 nm와 520 nm에서 흡광도로 그 농도를 측정하였다. Polyaniline particle은 acoustic chamber로의 유입 전과 분리 후 유출액의 건조중량을 정량하여 농도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 초음파 진동수의 영향

각각 다른 초음파 진동수에 대해 분리가 가능한 현탁입자를 알아보기 위해 일정 초음파에서 크기가 다른 현탁입자들의 분리효율을 측정하였으며 그 결과를 Fig. 3에 도시하였다. 입자의 크기분포가 다양한 polyaniline particle의 경우에는 초음파를 적용하지 않아도 70%의 비교적 높은 분리효율을 보였으며, 1.3 MHz의 초음파를 적용하였을 때 10% 정도의 분

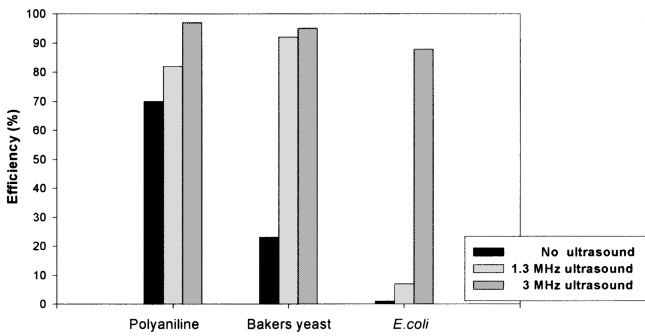


Fig. 3. Recovery efficiency of particles with different ultrasonic frequencies.

리효율 증가를 보였고, 3 MHz의 초음파에서는 99%에 가까운 분리효율을 보였다. Bakers yeast(*S. cerevisiae*)의 경우에는 1.3 MHz와 3 MHz의 초음파를 적용하였을 때 모두가 초음파를 적용하지 않았을 때보다 4배 이상의 높은 분리효율을 보였다. *E. coli*의 경우에는 초음파를 적용하지 않았을 경우에는 5%미만의 분리효율을 보였으며 1.3 MHz의 초음파에서도 분리가 잘 일어나지 않았다. 초음파 3 MHz를 적용하였을 때 80%의 분리효율을 보였다.

초음파의 진동수가 높을수록 초음파 정상파의 파장간 거리가 작아지며 그만큼 현탁입자들이 모일 수 있는 반파장의 거리가 작아지게 되어 여과가능한 입자의 크기는 작아진다. 즉 정상파의 pressure amplitude에서 파장의 절반의 위치마다 존재하는 pressure node의 간격이 좁아지게 되어 높은 진동수에서는 낮은 진동수보다 크기가 작은 현탁입자들의 포집(entrapment)이 가능하여 입자들이 응집체를 형성할 수 있어 분리가 가능한 것이다. 이러한 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 입자 크기 분포가 다양한 polyaniline의 경우에 1.3 MHz에서 3 MHz보다 낮은 분리효율을 보이는데 이는 1.0-2.0 μm 크기의 입자들이 1.3 MHz의 정상파에서는 포집되지 않고 그대로 유출되었기 때문이다. 입자크기가 4.6-5.0 μm 로 균일한 빵효모의 경우에는 1.3 MHz와 3 MHz의 초음파 모두에서 포집이 되어 높은 분리효율을 보였다. 입자크기가 1.8 μm 인 대장균의 경우에는 polyaniline의 작은 입자와 마찬가지로 1.3 MHz의 초음파에서는 대부분이 포집되지 않고 유출되었으며 3 MHz의 초음파에서는 세포의 포집으로 인해 세포들이 응집체를 형성하고 침전이 되어 비교적 높은 분리효율을 보였다.

3-2. 초기 정지시간(initial holding time)의 영향

초기 정지시간은 초음파를 발생시킨 후 acoustic chamber에 채워져 있

는 현탁액내 대부분의 현탁입자들이 침전되는데 걸리는 시간이다. 초기 정지시간을 적용하게 되면 acoustic cell settler내부의 대부분의 현탁입자들은 침전이 되어 상층부분은 맑은 액만 남게 된다. 이렇게 이상(two-phase)형식으로 분리가 일어난 후부터는 지속적으로 상층부분의 맑은 액의 제거가 가능하여 연속적인 공정이 가능하게 된다.

각각의 미생물에 대하여 초기 정지시간을 변화시켜주며 실험을 수행하였으며 3 MHz의 초음파를 적용하여 진동자와 반사막간의 거리가 2.2 cm인 acoustic chamber에서 회수 속도 0.5 ml/min로 3 ml의 시료를 채취하여 분리효율을 측정하였으며 그 결과를 Fig. 4에 도시하였다. 입자크기가 큰 bakers yeast의 경우에는 초음파를 적용하지 않았을 경우에도 침전이 잘 되었으며 초기 정지시간이 증가할수록 분리효율도 증가하였다. 또한, 초기 정지시간이 없었을 경우에도 90%이상의 높은 분리효율을 보였으며 5분 이후부터는 비슷한 분리효율을 보이며 효율의 상승은 보이지 않았다. 그러나 입자 크기가 작은 *E. coli*의 경우에는 초음파를 적용하지 않았을 경우 침전이 거의 일어나지 않았으며 초기 정지시간이 증가할수록 분리효율이 증가하는 경향을 보였으나 10%이하의 분리효율을 보였다. 초기 정지시간이 없을 경우에는 매우 낮은 분리효율을 보였으며 초기 정지시간이 5분 이후부터는 85%이상의 분리효율을 보였다. 초기 정지시간이 증가할수록 분리효율이 증가하였으나, *S. cerevisiae*보다는 낮은 분리효율을 보였다. 이렇게 초기 정지시간은 acoustic chamber내에 존재하는 대부분의 입자가 응집체를 형성하고 침전이 되기까지 필요한 시간으로 고농도의 현탁액이나 연속적인 회수공정에서 높은 분리효율을 얻기 위해서 중요한 공정이며, 입자의 크기가 작을수록 초음파에 의한 침전에 있어서 매우 중요한 인자이다.

초음파에 의한 분리에 있어서 초기 정지시간은 높은 농도의 현탁액의 연속적인 분리에 있어서 반드시 필요한 공정이다.

3-3. 진동자와 반사막간 거리의 영향

진동자와 반사막간의 거리의 변화가 분리효율에 미치는 영향을 관찰하기 위한 실험을 수행하였다. 현탁입자는 빵효모(8 g/L)와 대장균(OD_{600} 13-14)을 사용하였다. 일정농도의 현탁액을 유입시키고 3 MHz의 초음파를 적용하였으며, 초기 정지시간은 빵효모와 대장균 모두 15분으로 하였다. 현탁액의 유입 속도는 0.5 ml/min이었으며, 한 시간의 초음파 작동시간 동안 초기 정지 시간 이후 10분마다 유출액을 sampling하고 농도를 측정하여 분리효율을 측정하였으며, 진동자와 반사막간의 거리에 변화를 주어 분리 효율을 측정하였다. 그 결과를 Fig. 5에 도시하였다.

진동자와 반사막간 거리가 증가함에 따라 빵효모와 대장균 모두 효율이 감소하는 것을 알 수 있었으며, 입자크기가 큰 빵효모의 경우에는 초음파를 주지 않았을 경우에도 대장균에 비해 침전이 잘 되어 높은 효율

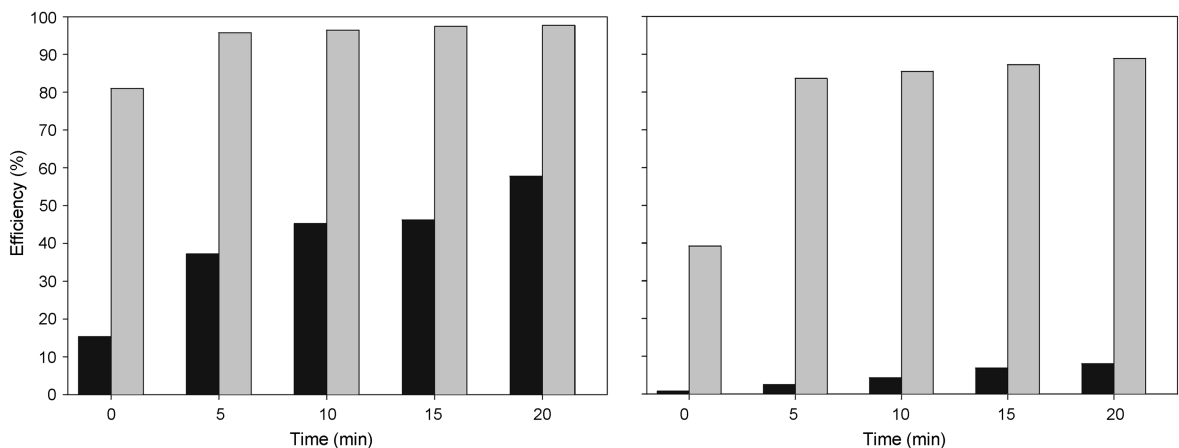


Fig. 4. Effect of initial holding time on the recovery of *S. cerevisiae*(left) and *E. coli*(right).

■: no ultrasound, ■: 3 MHz ultrasound

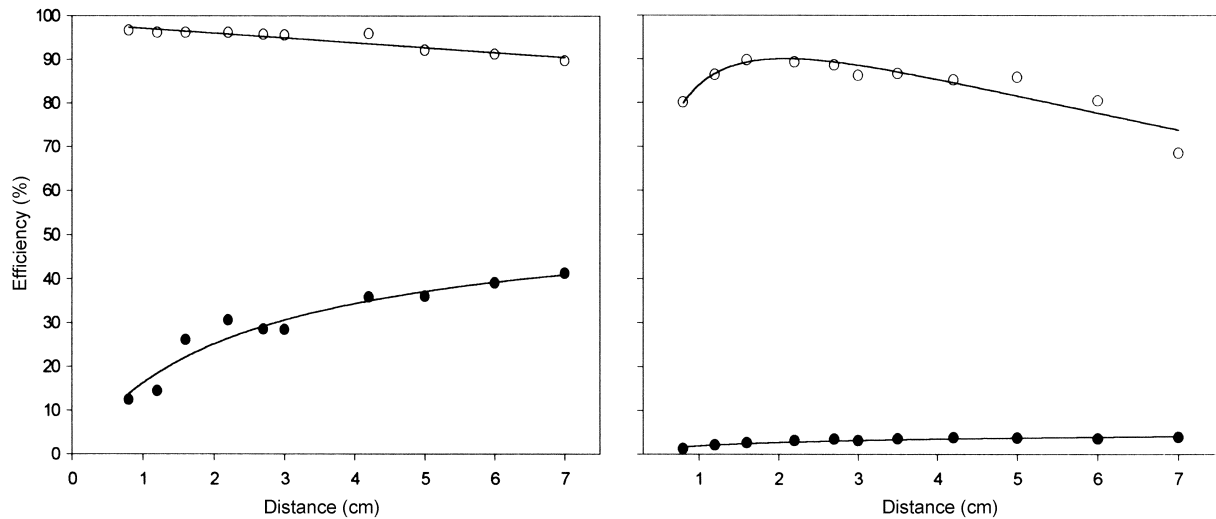


Fig. 5. Effect of distance between transducer and reflector on the recovery efficiency.

right: bakers yeast, left: *E. coli*, ●: no ultrasound, ○: 3 MHz ultrasound

을 보임을 알 수 있었다. 진동자와 반사막간 거리가 증가함에 따라 acoustic cell settler의 부피도 증가하였고 settler내에 입자들을 가두어 둘 수 있는 수용능력(capacity)도 증가하기 때문에 초음파를 주지 않았을 경우에도 뽕효모의 분리효율이 증가하였다. 그러나 대장균의 경우에는 수용능력의 증가와 상관없이 모두 낮은 효율을 보였다. 초음파를 적용하였을 경우에는 입자의 크기가 큰 뽕효모가 대장균에 비해 높은 분리효율을 보였고, 대장균의 분리효율은 대체적으로 90%이하를 보였다. 뽕효모와 대장균 모두 진동자와 반사막간 거리가 증가함에 따라 분리효율이 감소함을 알 수 있었으며, 이는 진동자와 반사막간 거리가 짧아질수록 초음파의 정상파(ultrasonic standing wave)가 잘 형성되며 sound field에 생성되는 position dependent acoustic potential energy가 커지기 때문이다.

진동자와 반사막간 거리가 짧을수록 분리효율이 증가하였으며 대장균의 경우 0.8 cm에서 낮은 효율을 보인 것은 초기 30분 동안은 높은 분리효율을 얻었으나 시간이 증가함에 따라 settler의 수용능력 이상의 대장균의 유입으로 인해 settler내에 세포들이 유지(retention)되지 못하고 유출되어 낮은 분리효율을 보였다. 입자크기가 큰 bakers yeast의 경우에는 거리가 7 cm까지도 89%이상의 높은 분리효율을 보였으나, 크기가 작은 *E. coli*의 경우에는 거리가 증가함에 따라 효율의 감소가 현격히 일어났다.

3-4. 현탁액 농도의 영향

Acoustic cell settler내부의 입자들은 position dependent acoustic potential energy가 낮은 초음파의 정상파의 내부로 이동하여 모이게 되고 이렇게 모인 입자들이 응집체(aggregates)를 형성하게 되어 응집체의 침전으로 입자의 분리가 일어나게 된다. 그래서 이러한 세포의 응집체를 형성할 수 있는 최소한의 농도를 측정하기 위한 실험을 수행하였다. 3 MHz의 초음파를 적용하였으며, 현탁입자는 대장균을 사용하였다. 초기 정지 시간은 20분으로 하였으며, 회수 속도 0.3 ml/min으로 3 ml를 sampling하여 유출농도를 측정하였고, 진동자와 반사막간 거리와 유입농도를 변화시켜주며 실험을 수행하였다. 결과를 Fig. 6에 도시하였다.

Acoustic chamber내에서 입자가 응집체를 형성할 수 없는 농도 이하가 되면 입자는 포집되지 못하고 유출되기 때문에 일정한 진동수와 회수속도에서는 유출되는 현탁입자의 농도는 일정한 경향을 보인다. 그래서, acoustic cell settler 내부로의 유입농도에 상관없이 유출되는 농도는 일정한 진동수와 반사막간 거리에서 일정함을 보였으며, 진동자와 반사막간의 거리가 감소할수록 유출되는 농도도 감소하여 분리효율이 증가

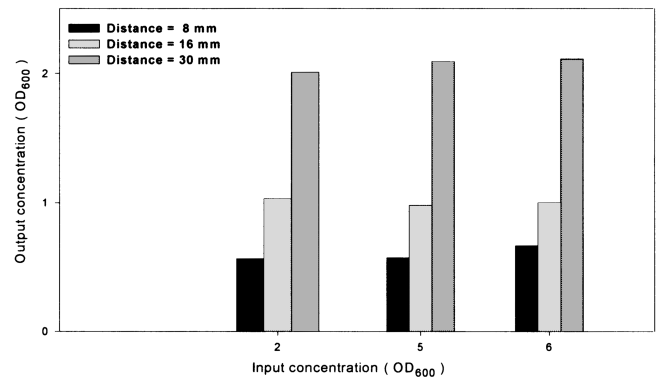


Fig. 6. Concentration of output *E. coli* in 3 MHz ultrasound with varying input concentration.

함을 보였다. 높은 분리 효율을 얻기 위해서는 높은 농도의 현탁액과 진동자와 반사막간 거리가 짧은 settler를 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

3-5. 여과액 회수속도의 영향

Acoustic chamber내에서 현탁입자들이 초음파에 침전된 후 윗상에 존재하는 여과액을 연속적으로 회수하였다. 형성된 현탁입자의 응집체를 강제로 유출시키지 않는 회수속도를 측정하기 위하여 회수속도를 증가시키며 높은 분리효율을 유지하는 회수 속도를 측정하였다.

입자의 크기가 작은 대장균을 3 MHz의 초음파를 적용하여 진동자와 반사막간의 거리가 8 mm, 부피가 8 ml인 acoustic chamber에서 초기 정지 시간을 15분으로 하여 회수속도에 대한 영향을 측정하였으며 그 결과를 Fig. 7에 도시하였다.

회수속도의 작은 증가에도 분리효율이 급격하게 감소하는 경향을 보였다. 회수속도가 0.8 ml/min 이상에서는 입자가 acoustic chamber내에 유지되지 못하고 유출되었으나, 0.3 ml/min에서는 90%이상의 분리효율을 보이며 장시간 동안의 분리가 가능하였다.

입자크기가 큰 뽕효모에 대한 분리는 3 MHz의 초음파에서 대장균에 비하여 매우 높은 분리효율을 보이며 장시간의 분리가 가능하기 때문에 회수시간을 한시간으로 일정하게 하여 회수속도의 영향을 측정하였으며 그 결과를 Fig. 8에 도시하였다. 초음파를 적용하지 않았을 경우에

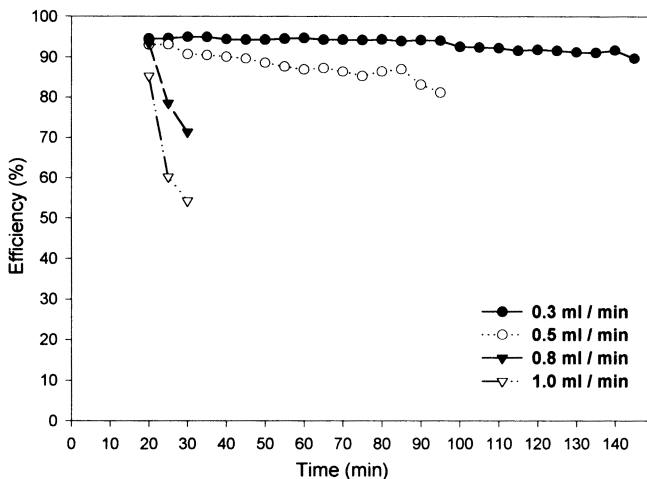


Fig. 7. Filtration efficiency of *E. coli* in 3 MHz ultrasound with varying flow rate.

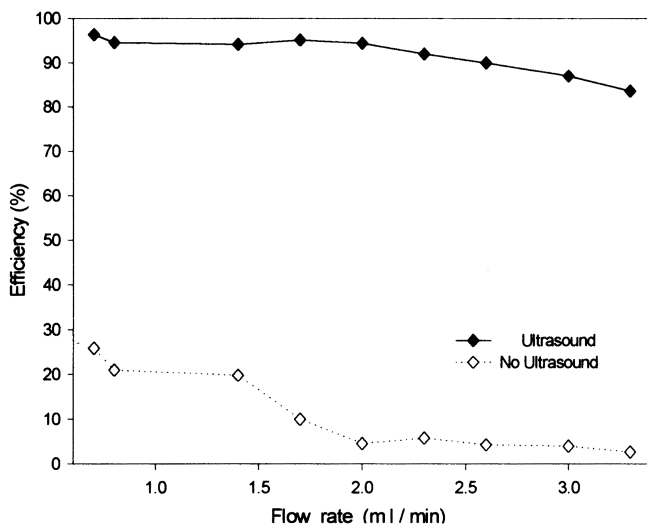


Fig. 8. Filtration efficiency of *S. cerevisiae* in 3 MHz ultrasound.

도 초기 정치 시간동안 침전이 잘되는 경향을 보이며 낮은 회수속도에서는 비교적 높은 효율을 보였다.

초음파를 적용하였을 경우 회수속도가 증가함에 따라 분리효율이 감소하는 경향을 보였으나, 대장균의 10배 이상의 회수 속도에서도 83% 이상의 분리효율을 보였다. 대장균에 비해 입자크기가 큰 빵효모의 경우에는 침전에 필요한 세포의 응집체를 형성하는데 필요한 세포의 수가 적게 필요하여 침전이 잘되는 경향을 보이므로 대장균에 비해 높은 회수속도에서도 높은 분리효율을 보였다.

4. 결 론

초음파를 이용하여 현탁입자를 분리하는데 있어서 높은 분리효율을 얻기 위해서는 원하고자 하는 입자를 포집할 수 있는 초음파의 진동수를 선택하는 것이 가장 먼저 고려되어야 한다고 판단된다. 입자크기가 2 μm 이하의 분리에서는 3 MHz 이상의 초음파가 필요하며 1 MHz 대의 초음파에서는 전혀 분리가 일어나지 않는다. 또한, 분리가 가능한 입자크기의 분포도 3 MHz의 높은 진동수에서는 1 μm 이상의 크기를 가진 현탁입자의 분리가 가능하며 1.3 MHz의 낮은 진동수에서는 4.5 μm 이상의 크기를 가진 현탁입자의 분리가 가능하다.

초기 정치시간은 입자의 크기가 커질수록 입자들의 응집체가 형성이 잘되며 침전이 잘 되기 때문에 짧은 시간에도 높은 분리효율을 보이며, 입자의 크기가 작을수록 입자들의 응집체 형성이 느리기 때문에 긴 초기 정치 시간이 필요하다. 그리고, 높은 진동수에서는 입자의 크기가 커질수록 짧은 초기 정치시간에도 높은 분리효율을 얻을 수 있다.

진동자와 반사막간의 거리가 증가하게 되면 형성되는 position-dependent acoustic potential energy가 감소하게 되어 입자들의 응집체 형성이 잘 되지 않게 되어 분리효율이 감소하게 된다. 진동자와 반사막간의 거리가 짧을 때 가장 높은 분리효율을 얻을 수 있었으나, 거리가 짧을수록 acoustic chamber의 부피가 작아지므로 높은 회수 속도의 적용이 어려워 작동 시간도 짧은 단점이 있다.

농도의 영향은 높은 분리효율을 얻기 위해서 높은 현탁입자의 농도로 대부분의 실험을 수행하였으나, 유입되는 농도에 상관없이 유출되는 현탁입자의 농도는 일정한 것을 알 수 있었다. 이것은 초음파의 정상파에 의한 입자의 포집의 한계 때문이며 초기 정치시간을 증가시켜도 유출되는 현탁입자의 농도는 일정할 것으로 판단된다.

회수속도의 영향은 입자의 크기가 작을수록 회수 속도가 증가함에 따라 분리효율이 급격히 감소하였으며, 크기가 클수록 높은 회수 속도에도 높은 분리효율을 유지하였다.

초음파를 이용한 분리에서 100%의 분리효율을 얻을 수 없었으며 현탁입자에 상관없이 어느 일정농도는 계속 유출되는 것을 알 수 있었다. 반파장마다(half wavelength) 형성되는 pressure node에 현탁입자들이 모이게 되어 응집체(aggregates)가 형성이 되고 이렇게 형성된 응집체는 어느 일정 유입속도 이하에서는 중력에 의해 침전이 일어나게 된다. 그리고 acoustic chamber내에서 대부분이 침전이 되어 남은 입자들이 응집체를 형성할 수 없는 농도 이하가 되면 그 입자들은 acoustic chamber내에서 포집되지 못하고 유출되기 때문에 100%의 분리효율을 얻을 수 없었다고 생각된다. 이러한 초음파에 의한 분리는 연속적인 on-line system인 perfusion system에 가장 잘 적용되어 fermentor나 bioreactor내의 세포의 농도를 증가시키거나 세포의 농도를 증가시키므로 산물의 농도를 증가시키기 위해 적용될 것이며, scale-up에 대한 연구와 침전된 입자의 회수방법에 대한 연구가 수행되면 대용량의 fermentor나 bioreactor에 대해서도 적용이 가능할 것이라고 판단된다.

참고문헌

1. Gröschl, M., Burger, W. and Handl, B.: *Acustica*, **84**, 815(1998).
2. Hawkes, J. J., Limaye, M. S. and Coakley, W. T.: *J. of Applied Microbiology*, **82**, 39(1997).
3. Gröschl, M.: *Acustica*, **84**, 432(1998).
4. Simon, A., Penpenic, L., Gondrexon, N., Taha, S. and Dorange, G.: *Ultrasonics Sonochemistry*, **7**, 183(2000).
5. Hawkes, J. J., Limaye, M. S. and Coakley, W. T.: *J. of Microbiological Methods*, **27**, 211(1996).
6. Hawkes, J. J. and Coakley, W. T.: *Enzyme and Microbial Technology*, **19**, 57(1996).
7. McLoughlin, A. J., Gherardini, L., Doblhoff-Dier, O., Benes, E. and Radel, S.: *Ultrasonics*, **38**, 633(2000).
8. Shin, M. K., Park, K. M. and Cho, G. H.: *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **4**, 264(1999).
9. Zhang, J., Collins, A., Chen, M., Knyazev, I. and Gentz, R.: *Biotechnol & Bioeng.*, **59**, 351(1998).
10. Doblhoff-Dier, O., Gaida, T., Katinger, H., Gröschl, M., Burger, W. and Handl, B.: *Biotechnol. Prog.*, **10**, 428(1994).
11. Kilburn, D. G., Clarke, D. J., Coakley, W. T. and Bardsley, D. W.:

- Biotechnol & Bioeng.*, **34**, 559(1989).
12. Ryll, T., Dutina, G., Reyes, A. Gunson, J., Krummen, L. and Etcheverry, T.: *Biotechnol & Bioeng.*, **69**, 440(2000).
13. Trampler, F., Sonderhoff, S. A., Pui, P. W. S., Kilburn. D. G. and Piret, J. M.: *Biotechnology*, **12**, 281(1994).
14. Thomas, N. E., Sabanski, M. A. and Coakley, W. T.: *Ultrasound in Med & Biol.*, **25**, 443(1999).
15. Gupta, S. and Feke, D. L.: *Chemical Engineering Science*, **20**, 3275 (1995).
16. Bekker, M. C., Meyer, J. P., Pretorius, L. and Van Der Merwe, D. F.: *Wat. Res.*, **10**, 2543(1997).
17. Coakley, W. T.: *Tibtech.*, **15**, 506(1997).
18. Spengler, J. and Jekel, M.: *Ultrasonics*, **38**, 624(2000).
19. Allman, R. and Coakley, W. T.: *Bioseparation*, **4**, 29(1994).