

## Bioproduct 분리를 위한 결정화 연구 동향

† <sup>1</sup>김 우 식 · <sup>2</sup>이 은 규

<sup>1</sup>경희대학교 화학공학과, <sup>2</sup>한양대학교 화학공학과  
(접수 : 2005. 6. 17., 게재승인 : 2005. 6. 24.)

## Technological Trend of Crystallization Research for Bioproduct Separation

Woo Sik Kim† <sup>1</sup> and Eun Kyu Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

(Received : 2005. 6. 17., Accepted : 2005. 6. 24.)

In bioengineering field, current academic trends and informations on crystallization technology for bioproduct separation were summarized. It is essential for utilizing the crystallization technology to understand the fundamental phenomena of crystallization of crystal nucleation, crystal growth, crystal agglomeration and population balance for the design of crystallizers. In general, the crystal nucleation that the crystalline solids occur from the solution is analyzed by Gibb's free energy change in the aspect of thermodynamics and in the present paper the crystal nucleation models based on the above thermodynamics are summarized by their key characteristics. The crystal growth and agglomeration, which have been studied over 50 years and are essential phenomena for separation technology, are reviewed from their basic concept to most leading edge trend of researches. In the material and population balances for the designs of crystallization separation process, the analysis of crystallizers is summarized. Thereon, the present review paper will academically contribute the understanding the crystallization phenomena and the design of the crystallization separation process.

### 서 론

결정화 현상이란 액상에 용존하는 용질을 결정질의 고형입자로 석출되는 과정에서 나타나는 물리적 변화를 가리키는 것이다. 따라서 결정화 기술이란 이러한 현상을 실생활 및 산업에 유익하게 응용하는 기술로 조미료와 같은 식품에서부터 반도체, 의약 등의 전자, 정밀화학 산업 분야에 이르기까지 매우 폭 넓게 이용되고 있다. 특히, 최근 들어 결정화 현상의 가장 핵심적 특성 가운데 하나인 분자인식 능력을 이용하며 기존의 물리 화학적 물성 차이를 이용한 분리기술로는 달성하기 어려운 물질의 분리에 이용하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다.

생명공학 분야에서는 결정화기술을 크게 나누어 두 가지 목적으로 이용하고 있다. 즉, 구조분석용 X-ray crystallography 기술과 bioproduct의 정밀분리기술이다. 첫번째 활용은 결정화 기술을 통해 액상의 용질이 고형입자로 석출되는 과정에서 용질분자들을 3차원적으로 규칙적 배열시킴으로서 용질분자의 구조와 특성을 규명할 수 있는 정보를 제공케 하는 것이다. 그

예로서, 단백질 결정구조로부터 단백질의 생물학적 기능, 활성특성 등에 대한 정보를 얻을 수 있다. 두번째 활용은 용질분자가 결정성 입자를 만들어 가는 과정에서의 분자 선택도를 이용하여 혼합용액에서 특정 용질을 선별 분리하는 것을 의미한다. 이 원리는 이미 기존의 많은 bioproducts를 혼합용액으로부터 특정 용질을 분리해 내기 위해 많이 적용되고 있다.

본 논문에서는 결정화 기술을 통한 bioproduct의 분리기술의 원리에 대해 기술하고 이 원리의 영향인자를 제시함으로써 결정화기술을 보다 효율적으로 분리기술에 응용하는데 도움이 되고자 한다. 본문의 내용구성은 먼저 결정화를 위해 필요한 과포화용액에 대해 설명하고, 다음으로 과포화 (supersaturation) 용액 내에서 일어나는 결정화 속도론(kinetics), 즉 결정핵 생성 (crystal nucleation), 결정성장 (crystal growth), 응집 (crystal agglomeration) 등에 대해 설명하고자 한다. 그리고 마지막으로 결정화 기술에 영향을 미치는 주요 변수들과 결정화 공정을 위한 기술에 대해 기술하고자 한다.

### 결정화 용액

#### 용해도 및 과포화도

결정화 현상을 유도하기 위해서 반드시 필요한 것이 용액의 과포화 상태이다. 과포화 상태란 용질이 용매의 용해능력이

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,  
Kyunghee University, Seoul 130-701, Korea  
Tel : +82-31-201-2576, Fax : +82-31-202-1946  
E-mail : wskim@khu.ac.kr

상으로 용해되어 있는 불안정한 상태의 용액상태를 말한다. 따라서 결정화 현상의 이해를 위해 가장 먼저 용액의 상태 (용해도 및 과포화도)에 대한 이해가 전제되어야 한다. 용질이 용매에 녹는 것은 용질-용매, 용매-용매, 용질-용질 분자 간 상호작용에 의한 것이므로 용해도는 용매, 용질의 물리 화학적 성질에 직접적으로 의존하게 된다. 열역학적으로 분자간 상호작용은 cohesive energy로 표현되며 이 에너지는 분산 (dispersion), 극성 (polar), 수소결합 (hydrogen bonding) 에너지로 구성되어 있다. 용질이 용매에 용해되기 위해서는 용질-용매간 분자에너지가 용매-용매간 또는 용질-용질간 분자에너지와 유사하거나 더 강하여야 한다. 이러한 관점은 특정 용질을 잘 용해될 수 있는 용매를 선택할 때 활용할 수 있다.

일반적으로 용매는 극성용매와 비극성용매로 구분할 수 있다. 비극성용매는 매우 낮은 dielectric 상수를 가지며 용매 분자간 상호작용이 주로 van der Waals 인력에 의존한다. 따라서 이 용매는 유사한 상호인력을 가지는 비극성 용질을 용해시키는데 적절하다. 한편, 극성 용매는 분자 상호작용이 수소결합에 의존하는 극성 protic 용매와 분자 상호작용이 쌍극자-쌍극자 결합에 의존하는 aprotic 용매로 세분될 수 있다. 따라서 이들 극성 용매들은 각 protic 용질과 aprotic 용질을 잘 용해시키는 특성을 가지고 있다. 위와 같은 구분에 따른 용매의 종류는 Table 1에 정리하였다.

Table 1. Classification of solvents based on the intermolecular interaction

Polar solvents		Non-polar solvents
Polar protic	Dipolar aprotic	
e.g. water	e.g. nitrobenzene	e.g. benzene
methanol	acetonitrile	n-hexane
formic acid	furfural	ethyl ether
ethanol	acetone	
acetic acid		

거시 열역학적 관점에서 용해도란 용질이 용매와 평형을 이루고 있는 농도를 의미한다. 이 평형농도는 외부조건, 온도, pH, 조성, 불순물의 종류와 양 등에 의존한다. 결정화 유도를 위해 필요한 과포화 농도란 용질의 농도가 이 평형 농도 이상으로 존재하는 상태를 말하는 것이다. 과포화를 유도하는 방법에는 여러 가지가 존재하며 이들 유도 방법에 따라 결정화 방법에 대한 명칭이 붙여지게 된다. 즉, 용해도가 온도에 민감한 경우 온도차를 이용하여 과포화를 유도하는 경우 냉각결정화 (cooling crystallization)라 한다. Bioproduct의 경우 용해도가 온도에 의존하는 경우가 많으며 이 경우 용해도를 온도의 함수로 다음과 같이 표시하기도 한다.

$$X_s = A + BT + CT^2 + \dots \quad (1)$$

or

$$X_s = A \square + B \square T^{-1} + C \square \log T + \dots \quad (2)$$

여기서,  $X_s$  는 평형상태에서의 용질의 몰분율을 의미하며, A, B, A', B' 는 상수이다. Bioproduct를 냉각 결정화를 통해 분리하는 경우 온도변화의 폭이 클수록 결정화율은 증가할 수

있지만 반면 용질의 물성변화에 많은 주의를 기울여야 한다. 예로서, 단백질의 경우 온도변위 폭이 지나치게 넓은 경우 단백질의 변성이 나타날 수 있다.

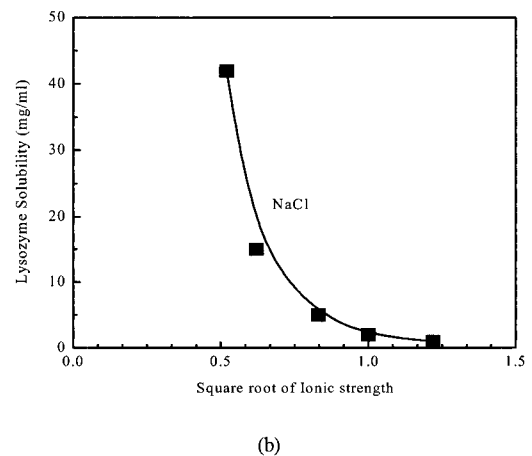
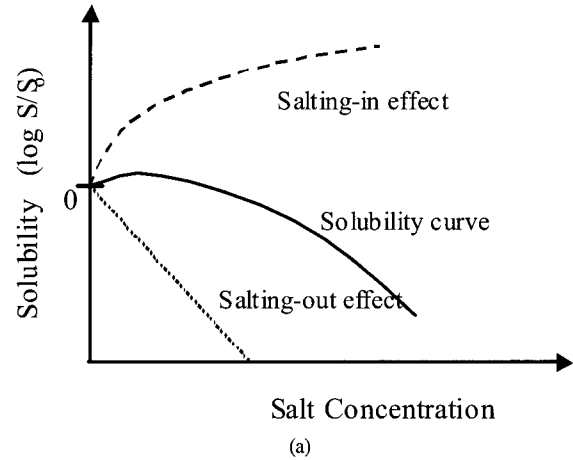


Figure 1. Dependency of protein on salt concentration ((a) Effects of salt concentration on protein solubility, b) Solubility change of lysozyme protein relative to the ionic strength of salt(24)).

Bioproduct의 결정화 분리에서 흔히 사용하는 방법이 염석결정화 (salting-out crystallization) 또는 drowning-out crystallization이다. 이 방법은 평형상태의 용액에 제3의 첨가제 (salt나 anti-solvent agent)를 첨가하여 용액의 평형농도를 저하시켜 결정화를 유도하는 방법이다. 첨가제의 투입에 따른 용액의 평형농도의 변화는 흔히 Cohn 식으로 표시된다(1).

$$\log \frac{C_s'}{C_s} = \beta + K_s I \quad (3)$$

여기서  $C_s$ 와  $C_s'$ 은 순수용매와 첨가제가 투입된 용매에서의 용질 농도를 각각 나타낸다.  $\beta$ 는 iso-ionic point에서의 용해도비,  $K_s$ 는 비례상수이다.  $I$ 는 이온강도를 의미하며 다음과 같은 식으로 나타낼 수 있다.

$$I = \frac{1}{2} \sum_i Z_i^2 m_i \quad (4)$$

여기서,  $z_i$ 는 이온의 전위수 (charge number),  $m_i$ 는 첨가제의 몰 농도를 나타낸다.

식 (3)에서, 비례상수 ( $K_s$ )가 positive인 경우 첨가제농도가 증가할수록 평형농도가 증가하게 되며 이러한 현상을 salting-in (또는 drowning-in) 효과라고 한다. 반면, 비례상수가 negative인 경우 첨가제의 투입에 따라 평형농도가 감소하는 salting-out (또는 drowning-out) 효과가 나타나게 된다. 일반적으로 첨가제의 투입에 따라 두 가지 효과가 동시에 발생된다. 첨가제 농도가 매우 낮은 경우 salting-in 효과가 salting-out 효과보다 우세하여 평형농도의 증가가 나타나나 첨가제 농도를 증가시키면 이 효과가 역전되어 평형농도의 감소가 일어나 결정화가 진행된다.

Salting-in 효과는 용질분자의 electrostatic 상호작용에 의해 일어나는 것이며 salting-out은 hydrophobic interaction에 의해 발생하는 것이다. 이 두 가지 효과를 동시에 묘사하기 위해 Melander와 Horvath(2)는 앞의 Cohn 식을 다음과 같이 수정하여 제시하였다.

$$\log \frac{C_s}{C_s^0} = K_{in} \sqrt{I} - K_{out} I \quad (5)$$

여기서  $K_{in}$ 은 salting-in 상수,  $K_{out}$ 은 salting-out 상수이다. 즉, salting-out 효과가 salting-in 효과에 비해 이온강도에 더 높은 차수로 의존하므로 첨가제 농도의 증가에 따라 평형농도의 감소가 일어나게 된다(Fig. 1).

Salt를 사용하여 결정화를 유도하는 경우 salt가 단백질과 같은 bioproduct의 결정화에 영향을 미칠 수 있으며 이는 평형농도가 염의 농도 뿐만 아니라 염의 활동도에도 직접적으로 영향을 받기 때문이다. Fig. 2에는 동일한 염 농도 하에서 염의 활동도에 따른 평형농도의 변화를 나타내었다(3).

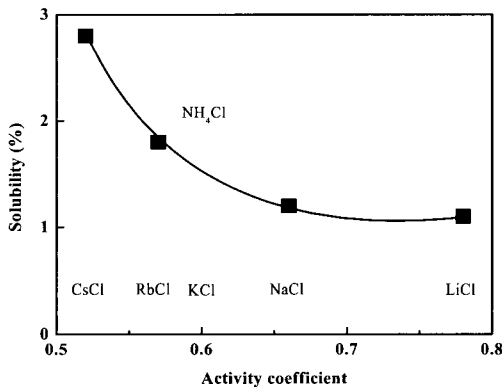


Figure 2. Effect of ionic activities of salts on the solubility of lysozyme protein (2).

**준 안정용액 (Metastable solution)**

용액의 농도가 평형농도 이상이면 과포화 용액상태로 된다. 과포화 상태는 불안정한 상태로서 고체의 석출을 유발할 수 있는 잠재력을 가진 불안정한 상태이다. 그러나 용액 상태에서부터 결정이 석출되기 위해서는 극복해야할 에너지 준위 (이것은 마치 반응에서 활성화에너지와 같은 개념의 에너지 준위임)가 있다. 이 에너지 준위는 과포화도에 따라 변한다. 즉, 낮은 과포화도

에서는 높은 에너지 준위가 형성되며 과포화도가 증가할수록 에너지 준위는 감소한다. 따라서 낮은 과포화도는 극복해야할 에너지 준위가 높아 쉽게 결정 석출이 이루어지지 못하게 되어 용액은 결정이 존재하지 않은 맑은 용액으로 그대로 유지되게 된다. 이와 같은 자발적으로 결정을 석출하지 못하는 과포화 용액을 준 안정용액 (metastable solution)이라고 한다.

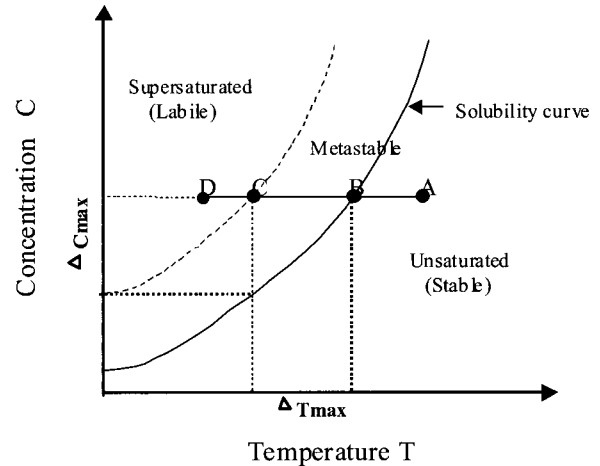


Figure 3. Change of solution condition relative to temperature.

평형농도로부터 자발적으로 결정을 석출하는 최저 과포화 까지의 범위를 준 안정영역 (metastable zone)이라하며 이 영역의 농도에서는 결정핵생성 (crystal nucleation)과 같은 결정화 현상은 일어나지 않는다. 반면, 이 영역의 농도도 과포화 농도이므로 외부로부터 결정을 넣어줄 경우 자발적으로 결정성장 (crystal growth)은 일어나 결정 크기는 증가하게 된다. Fig. 3의 냉각 결정화에서 보는 바와 같이 용액온도의 감소에 따라 평형농도 이하로 온도를 감소시켜도 결정이 발생되지 않은 준 안정영역이 나타나며, Mersmann(4)과 Mullin(5)은 준 안정영역의 폭을 다음과 같은 식으로 나타내었다.

$$\Delta C_{max} = \left( \frac{dC_s}{dT} \right) \Delta T_{max} \quad (6)$$

여기서  $\Delta C_{max}$  ( $C_{meta} - C_s$ )는 최대 준 안정과포화농도 (maximum metastable supersaturation)이고  $\Delta T_{max}$ 는 최대 과냉각온도이다.

**결정크기와 용해도 (Crystal size and solubility)**

용질의 용해도는 용질과 용매 분자간 열역학적 평형을 의미하는 것이지만 용질이 고체인 경우 평형을 유지하는데 있어서 고-액간 상관관계도 용해도에 영향을 미친다. 이러한 현상은 흔히 고-액 평형용액 내에 다양한 크기의 고체입자가 존재하는 경우 작은 입자가 사라지고 큰 입자는 오히려 성장하는 것에서도 자주 발견되며, 이것을 Thomson-Ostwald ripening이라고 한다. 즉, 입자의 평형농도가 입자의 크기에 의존하는 것이다 (4, 5).

$$\frac{C_s(L)}{C_s(\infty)} = \exp \left( \frac{2M\sigma}{RT\rho L} \right) \quad (7)$$

여기서  $C_s(L)$ 은 결정크기에 따른 평형 농도를 나타내며,  $C_s(\infty)$ 는 일반적인 평형농도,  $R$ 은 기체상수,  $\rho$ 는 결정밀도,  $M$ 은 용질의 분자량,  $\sigma$ 은 결정표면과 용매의 계면장력을 의미한다. 식 (7)에 따르면 결정입자 크기가 작아질수록 고-액 평형농도는 증가한다. 따라서 다양한 크기분포를 가진 결정입자가 일반적 용해도의 용액에 존재하는 경우 작은 입자의 경우 불포화 용액 상태가 되어 결정입자는 용해되며 이것은 큰 결정입자에 대해 과포화 용액상태를 유도하게 된다. 그러므로 큰 결정입자는 성장하게 된다.

식 (7)의 경우 ripening 효과를 충분히 묘사하기에 부족한 점이 있다. 이를 극복하기 위해 Knapp (6)가 다음과 같이 결정입자 크기에 따른 고-액 평형농도 관계식을 제시하였다.

$$\frac{C_s(L)}{C_s(\infty)} = \exp\left(\frac{A}{L} - \frac{B}{L^4}\right) \quad (8)$$

여기서 A, B는 용질의 물성에 의존하는 상수이다. 식 (8)에 의거하여 일반적인 고-액 평형농도분포는 Fig. 4에 제시되어 있다.

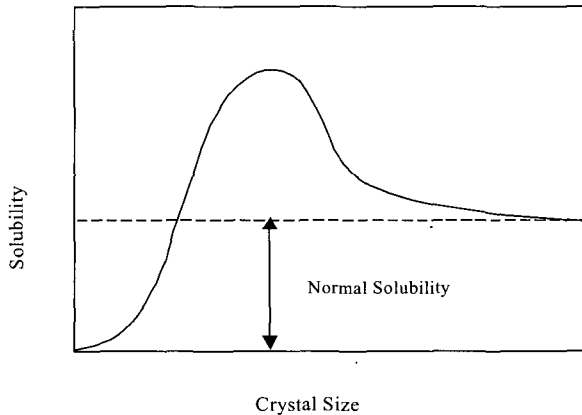


Figure 4. Description of crystal solubility relative to crystal size(25).

### 결정화 속도론

#### 결정 핵생성 (Crystal nucleation)

과포화로 불안정한 용액에서 내부 혹은 외부의 자극에 의해 액상의 용질이 고상의 용질로 상 전이하는 결정화 현상이 발생한다. 용액으로부터 최초로 형성되는 최소 단위의 결정입자를 핵이라 하며 이와 같은 핵 (nuclei)을 만들어가는 과정을 핵생성 (nucleation)이라 한다. 핵생성은 생성기구에 따라 Fig. 5와 같이 1차 핵생성 (primary nucleation)과 2차 핵생성 (secondary nucleation)으로 구분할 수 있다. 1차 핵생성이란 기존의 용질 결정입자가 존재하지 않는 상태의 용액으로부터 결정입자가 생성되는 것을 말한다. 다시 1차 핵생성은 액상에서 과포화에 의해 핵이 생성되는 균일핵생성 (homogeneous nucleation)과 외부 표면 (외부 불순물입자, 반응기 벽, 교반장치 표면 등)의 도움을 받아 핵이 생성되는 불균일 핵생성 (heterogeneous nucleation)으로 구분된다. 균일핵생성인 경우 액상 내에서 자발적으로 핵생성을 유도해야 하므로 높은 과포화를 필요로 하며 아울러 높은

과포화도에서 핵이 생성되기 때문에 핵생성속도 또한 매우 높다. 반면, 불균일 핵생성의 경우 외부 표면이 촉매와 같이 핵생성이 필요한 에너지 장벽을 낮추어 주는 효과가 있어 상대적으로 낮은 과포화도에서도 핵생성이 가능케 된다. 그러나 핵생성속도는 균일 핵생성에 비해서 낮다. 일반적으로 bioproduct와 같이 용해도가 비교적 높은 용질의 경우 과포화도를 높이는데 한계가 있으며 많은 경우 불균일 핵생성에 의해 결정입자의 형성이 지배되는 경우가 많다.

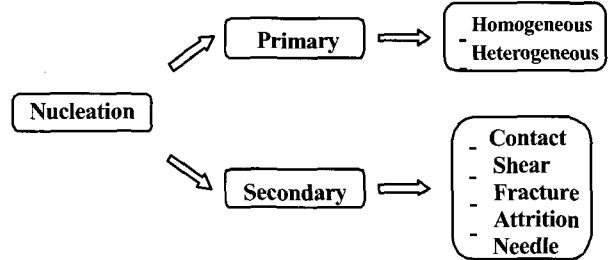


Figure 5. Classification of crystal nucleation processes based on the crystal nucleation mechanisms.

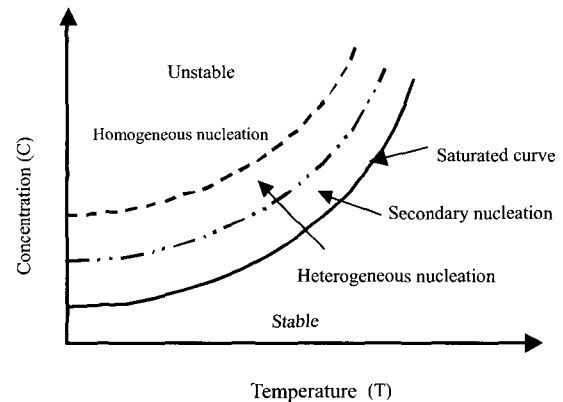


Figure 6. Classification of crystal nucleation mechanisms relative to the supersaturation level of the solution.

2차 핵생성의 경우 용액 내에 존재하는 용질결정 입자의 영향으로 새로운 결정입자가 생성된다. 이 과정에서 새로운 입자 생성에 영향을 주는 방법에 따라 접촉 (contact), 전단응력 (shear), 파쇄 (fraction), 마모 (attrition) 핵생성 등 다양한 종류가 있다. 이들 종류에서 보듯 2차 핵생성은 주로 결정화 조업과정에 의한 것이며 따라서 조업조건에 따라 결정핵생성이 매우 민감하게 의존한다. 2차 핵생성 또한 낮은 과포화도에서 가능하며 이 과포화도는 불균일 핵생성에 요구되는 과포화도 보다 낮다. Fig. 6에는 과포화도에 따른 핵생성기구 변화를 개념적으로 나타내었다.

결정 핵생성을 열역학적 관점에서 해석한 시도는 다음과 같다. 용액 내의 용질분자들이 서로 충돌에 의해 분자응집체 (molecular cluster)를 형성하며 이 경우 열역학적 에너지 변화는 다음과 같은 식으로 표시된다.

$$\Delta G = V \Delta G_v + A \Delta G_A \quad (9)$$

여기서  $\Delta G_v$ 와  $\Delta G_A$ 는 분자응집체 부피 및 표면적 변화에 따른

에너지 변화를 나타내며, V와 A는 분자응집체의 부피와 표면적을 나타내는 것이다. 부피변화에 따른 에너지 변화는 용질 분자의 affinity에 의존하고 면적변화에 따른 에너지 변화는 결정표면의 계면에너지에 의존한다.

$$\Delta G_A \approx \sigma A \tag{10}$$

$$\Delta G_V = - (kT/V_M) \ln(a/a_0) \tag{11}$$

여기서  $\sigma$ 는 표면장력, k는 Boltzmann 상수, T는 절대온도,  $V_M$ 은 용질 한분자의 부피, a와  $a_0$ 는 용질의 현 농도와 평형농도에 서의 활동도를 나타낸다. 용액의 활동도 계수가 1이라고 가정 하면 식 (9)는 다음과 같이 정리될 수 있다.

$$\Delta G = - V (kT/V_M) \ln(C/C_s) + A \sigma \tag{12}$$

한편, 분자집합체의 모양이 항상 구형을 유지한다고 가정하면, 분자집합체의 크기에 따른 자유에너지 변화는 다음과 같이 수식화될 수 있다.

$$\Delta G = - 4/3 \pi r^3 (kT/V_M) \ln(C/C_s) + 4 \pi r^2 \sigma \tag{13}$$

여기서 r은 분자집합체의 반경이다. 식 (13)에서 알 수 있듯이, 용질의 농도가 평형농도 이하라면 ( $C < C_s$ ) 분자집합체 크기 증가에 따라 자유에너지가 증가한다. 이것은 불포화용액에서 분자집합체의 크기 증가는 자발적으로 발생될 수 없음을 의미하는 것이다. 반면, 과포화용액 조건에서는 부피증가에 따라 자유에너지의 감소가 일어나게 된다. 식(13)의 미분으로부터 최대 자유에너지를 구하면 다음과 같다.

$$\Delta G^* = 16 \pi \sigma^3 / 3 ((k T/V_M) \ln(C/C_s))^2 \tag{14}$$

$$\text{at } r_c = 2\sigma / ((k T/V_M) \ln(C/C_s)) \tag{15}$$

여기서, 최대 자유에너지에서의 분자집합체 크기를 임계반경 ( $r_c$ )라고 한다. 그리고 최대 자유에너지를 핵생성을 위해 극복해야할 임계 활성화 에너지 (critical activation energy)라고 간주할 수 있다.

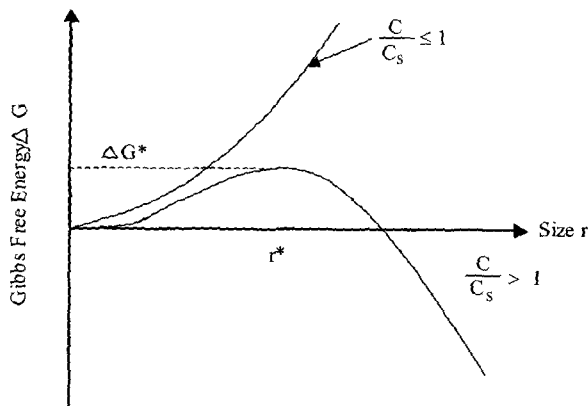


Figure 7. Gibbs free energy change for formation of crystal in solution.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 임계반경 이하에서는 분자집합체의 크기가 증가할수록 자유에너지가 증가하며 이것은 자발적으로 가역과정이 일어날 수 있음을 암시하기도 한다. 즉, 분자응집체에 모인 분자들이 자발적으로 분산되어 용액에 용존하는 분자 상태로 되돌아갈 수 있음을 의미하는 것이다. 그러나 분자집합체의 크기가 임계 크기를 지나는 경우 크기증가에 따른 자유에너지 변화는 감소 경향으로 바뀌어 자발적인 입자 성장과정으로 전환되게 된다. 이 범위에서 크기의 감소가 오히려 자유에너지의 증가를 요구하는 것이므로 결정입자의 성장은 비가역적 과정으로 진행되게 된다. 여기서 임계 크기의 분자집합체를 결정핵이라고 한다.

위 식 (14), (15)에서 임계 자유에너지와 임계 반경의 크기는 과포화 농도의 함수로 표시 되었다. 따라서 과포화 농도가 증가할수록 임계 자유에너지는 낮아지고 임계반경은 작아진다. 이것은 결정 핵생성의 barrier가 낮아져 쉽게 그리고 빨리 결정 핵생성이 이루어질 수 있음을 의미하는 것이다. 임계 크기의 분자집합체에 분자가 추가로 응집되면 안정된 결정핵으로 전환되므로 결정 핵생성 속도는 다음과 같이 수학적으로 묘사할 수 있다.

$$J = (2D/d^5) \exp(-\Delta G^*/kT) \tag{16}$$

$$= (2D/d^5) \exp(-16 \pi \sigma^3 / (3 ((k T/V_M) \ln(C/C_s))^2 kT))$$

여기서 D는 분자 확산계수이며, d는 분자직경을 나타낸다. 이와 같은 식은 Volmer와 Weber(7)에 의해 처음으로 제시되었으며 후에 Nielsen(8)에 의해 이론적 체계가 발전되었다.

Volmer's 표현에서 분자 확산계수, 용질분자 크기 및 부피 등 물리적 인자에 대한 물성치는 문헌이나 실측을 통해 얻어질 수 있는 자료이나 결정 핵의 표면에너지와 같은 자료는 문헌치로도 존재하지 않으며 실측은 더욱 불가능하다. 따라서 Nielson은 다양한 표면에너지 변화에 따라 핵생성 속도를 예측하였으며 이를 실제 핵생성 속도와 비교하여 결정핵의 표면에너지를 추측하는 방식으로 식 (10)을 활용하였다.

반면 불균일 핵생성이 우세한 경우에서는 핵생성에 관여되는 표면에너지의 크기 또한 변하게 된다. 즉, 임계 자유에너지를 낮추어 낮은 과포화 농도에서도 핵생성을 유도할 수 있게 된다.

$$\Delta G^{*'} = \phi \Delta G^* \tag{17}$$

여기서  $\phi$ 는 고-액 계면 장력에 의존하는 비례상수로서 일반적으로 1보다 작은 값을 가진다. 일반적으로 고-액 계면 장력은 계면의 접촉각으로 다음과 같이 표시된다.

$$\phi = (2 + \cos \theta)(1 - \cos \theta) / 4 \tag{18}$$

이 식에서 접촉각이 180도 인 경우 비례상수  $\phi$ 는 1이 되며 이것은 불균일 핵생성의 임계자유에너지가 균일 핵생성의 임계 자유에너지와 동일한 값을 의미한다. 즉, 외부 고체 표면으로 인해 결정 핵생성의 축진이 전혀 이루어지지 않는다는 것을 의미한다.

한편, Volmer's 표현을 실제 핵생성 현상을 묘사하는데 실측

이 불가능한 자료를 필요로 하는 등 현장에서 사용하는데 어려움이 많이 있다. 이런 문제점을 극복하기 위한 방편으로 흔히 단순한 멱급수 형태의 핵생성 속도식을 많이 이용하기도 한다.

$$J = k_n (C - C_s)^n \quad (19)$$

여기서  $k_n$ 은 속도 비례상수이며  $n$ 은 멱급수이다. 위 속도식이 비록 이론적 바탕으로 전개된 식은 아니지만 간단한 계수 및 지수 측정을 통해 실제 현장에서 손쉽게 적용될 수 있는 점, 그리고 균일 핵생성 및 불균일 핵생성 등에 모두 적용할 수 있다는 점에서 많이 사용되고 있다.

2차 핵생성은 더욱 복잡한 형태로 이루어진다. 이를 묘사하고자 하는 모델식들이 여러 가지가 있으나 실제 적용하는 데는 모두 문제점을 가지고 있다. 오히려 실험적으로 결정 표면 위에서의 결정분자의 결합을 통한 분자층의 성장 및 확장을 고찰하는 데에 주로 많이 적용되고 있다. 실제 결정화 공정 연구에서는 2차 결정핵생성이 공정 조업 변수에 크게 의존한다는 사실에 입각하여 결정 핵생성 속도를 다음과 같이 단순한 조업변수에 의존하는 멱급수로 나타내기도 한다.

$$J = k_n' (C - C_s)^i (MF)^j \quad (20)$$

여기서  $k_n'$ 은 2차 핵생성 속도 비례상수,  $MF$ 는 조업변수,  $i$ 와  $j$ 는 멱급수를 나타낸다. 식 (20)에서 교반속도가 2차 핵생성 속도에 많은 영향을 주는 경우  $MF$ 는 교반속도가 되며, 마모가 많은 영향을 주는 경우  $MF$ 는 용액 내 결정입자의 마그마 밀도가 된다. 여러 가지 조업인자가 영향을 미치는 경우 다항 멱급수 형태로 나타낼 수도 있다.

### 결정성장 (Crystal growth)

결정성장과정은 용존하는 용질분자가 고체 결정입자의 분자와 결합하는 과정을 의미한다. 일반적으로 이 성장 과정은 다음과 같은 여러 가지 단계를 거쳐 이루어지게 된다.

1. 용질분자가 결정 표면으로 물질 이동하는 단계
2. 이동된 분자가 결정 표면에 흡착하는 단계
3. 흡착된 분자의 탈수화 단계
4. 결정 격자점으로 표면 확산하는 단계
5. 격자점에 결합하는 단계

위의 5단계 묘사 이외에 보다 자세한 묘사로서 8단계 결정 성장과정을 나타내는 모델이 있으나 기본적인 개념에서는 거의 차이가 없다. 첫 단계에서 bulk 용액의 농도와 결정표면의 농도 차이에 의해 용질이 이동하는 물질전달이 일어난다. 이렇게 이동된 용질분자는 일단 결정표면위에 흡착되게 된다. 결정 표면은 테라스 (terrace), 스텝 (step), 킹크 (kink) 등 다양한 형태의 흡착 조건을 제공하고 있다. 일반적으로 물질전달된 분자는 용액 중에서 결합하고 있는 물 분자를 잃어버리고 테라스에 우선적으로 흡착하게 된다. 이 경우 용액 내에서 3차원적 자유도를 가진 분자는 표면위에서 2차원적 자유도로 제한되게 된다. 이렇게 흡착된 분자는 다시 표면확산을 통해 보다

에너지 준위가 낮은 스텝으로 이동하며 흡착되며 최종적으로 가장 에너지 준위가 낮은 결정 성장점인 킹크에 흡착되게 된다. 이 과정에서 흡착분자의 자유도는 2차원에서 1차원으로 다시 0차원의 완전 고정으로 변하게 된다. 자유도의 감소에 따라 자유에너지의 방출이 있다. 이렇게 결정격자점에 흡착된 분자는 결정의 다른 분자와 lattice formation을 하여 최종적으로 결정성장이 이루어지게 된다.

위의 여러 단계의 성장과정을 크게 두 가지 단계로 구분하여 해석하는 경우가 일반적이다. 즉, 용액으로부터 결정 표면으로 물질전달과정과 결정표면위에서 결정격자로 결합하는 surface integration 과정 두가지로 구분하는 것이다. 그래서 각 과정의 상대적 속도에 따라 어느 단계가 결정성장의 율속 단계인가를 결정하며 그것에 따라 결정속도식을 해석하는 방법이 변하게 된다.

### 물질전달 율속 결정성장 속도

용액으로부터 결정 표면으로 분자의 이동이 매우 느린 경우 결정성장속도는 물질전달 속도에 의해 결정되게 된다. 이 경우 물질전달 속도는 용액과 결정표면간의 화학적 포텐셜 차 (농도 차)에 비례하며 이것이 결정입자의 무게 변화에 직접 연 결된다.

$$dm/dt = A k_m (C - C_s) \quad (21)$$

여기서  $m$ 은 단일 결정입자의 질량,  $A$ 는 결정입자의 표면적,  $k_m$ 은 물질전달 계수를 의미한다.

결정성장에 따라 결정모양이 일정하다고 가정하면 결정입자의 질량 및 표면적은 다음과 같이 표시할 수 있다.

$$\begin{aligned} m &= k_v \rho L^3 \\ A &= k_A L^2 \end{aligned} \quad (22)$$

여기서  $k_v$ 와  $k_A$ 는 각각 부피와 면적 보정인자이며,  $L$ 은 결정입자의 특성 크기,  $\rho$ 는 결정입자의 밀도를 나타낸다. 만일 결정입자의 모양이 구형이라면 특성크기는 직경이 되며 부피 및 면적 보정인자는 각각  $\pi/6$ 과  $\pi$ 가 된다.

위 식으로부터 선형 성장속도 ( $G_L$ )는 다음과 같이 유도될 수 있다.

$$G_L = \frac{dL}{dt} = \frac{K_A}{K_V} \frac{K_m}{3\rho} (C - C_s) \quad (23)$$

이 식에서 보듯 선형 성장속도도 과포화 농도에 직접적으로 비례함을 알 수 있다. 여기서 선형성장속도에 영향을 주는 인자로서 물질전달 계수를 꼽을 있는데 이것은 결정입자 주변의 유체역학적 조건에 의존한다. 즉, 교반속도가 증가할수록 입자주위의 유체 속도가 증가하여 물질전달 경계층을 감소시켜 물질전달 속도를 증가시키게 된다. 고체 입자 주변에서의 물질전달 속도 상수는 Sherwood 수로 표시되며 이것은 유체역학 조건인 Reynolds 수와 용액의 물성인 Schmidt수의 함수로 묘사될 수 있다. 이와 같은 상관관계식은 경험적으로 얻어지며 이에 대한 내용은 주변의 단위조작 책에 자세히 기술되어 있다.

결정입자 주변에서의 물질전달 속도는 결정입자의 모양에도 의존한다. 결정입자의 모양이 완전한 구형이 아니고 주변의 흐름이 완전한 creeping flow가 아닌 이상 결정입자 주변의 유속분포는 균일하지 않으며 이것은 서로 다른 국지적 물질전달 속도의 차이를 유발하여 결정의 성장속도가 불균일하게 만든다. 이것은 결국 서로 다른 국부적 결정 성장속도의 차이로 인하여 결정모양의 변화로 나타나게 된다. 일례로, Fig. 8에서 보는 바와 같이 정육면체 모양의 결정입자 주변의 물질전달 경계층 분포가 국부적으로 다르며 이로 인하여 모서리 부분의 결정성장이 촉진됨을 알 수 있다. 그 결과 결정의 모양은 별 또는 수지상 모양으로 변하는 것을 알 수 있다 (8).

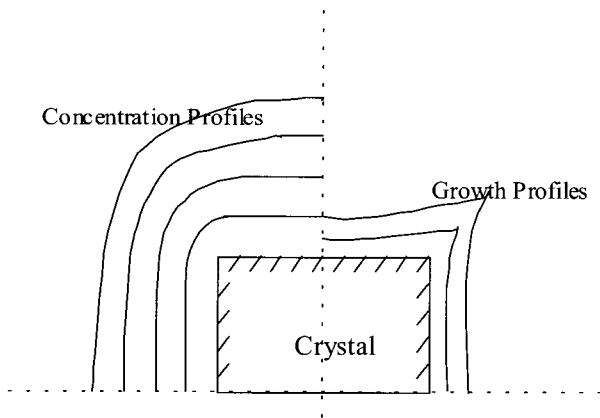


Figure 8. The concentration profiles around crystal (left-hand side) and the contour of crystal growth rate around crystal (right-hand side) growing with a diffusion-controlled growth process(26).

**표면적분 율속 결정성장 속도**

물질전달 속도가 충분히 빠른 경우 결정성장속도는 표면적분 (surface integration)과정에 의해 조절되게 된다. 앞서 언급한 바와 같이 표면적분과정은 실질적으로 여러 복잡한 단계로 구성되어 있으며 각 단계를 모델화한 수식 또한 매우 복잡하다. 그러므로 보다 편리적 해석을 위하여 표면적분 과정을 단순한 멱급수 식으로 표현하기도 한다.

$$dm/dt = A k_r (C - C_s)^r \tag{24}$$

여기서  $k_r$ 은 표면적분 계수,  $r$ 은 멱급수 지수이다. 비록 이 속도식이 복잡한 표면 결정화 과정을 지나치게 단순화한 면도 있지만 실제 결정화 공정 설계에서 유용하게 사용되기도 한다. 위 식으로부터 선형 결정성장 속도식을 유도하면 다음과 같다.

$$G_L = \frac{dL}{dt} = \frac{K_A}{K_V} \frac{K_r}{3\rho} (C - C_s)^r \tag{25}$$

표면적분 속도에 영향을 미치는 인자로는 표면에서의 과포화농도, 용액의 pH, 온도, 불순물 분자 등이 알려져 있으며 그 외 물리적 변수, 교반, 유체속도 등은 표면적분 속도에 거의 무관한 것으로 보고 되고 있다. 온도가 속도에 영향을 미치는 것은 표면적분 상수와 관련 있으며 이것은 온도증가에 따라

Arrhenius 법칙과 같이 변화한다.

$$K_r = k_{r0} \exp\left(-\frac{\Delta E_r}{RT}\right) \tag{26}$$

여기서  $k_{r0}$ 는 기존온도에서의 속도 상수,  $\Delta E_r$ 은 활성화 에너지이다. 위 식에서 온도 증가는 속도 상수의 증가를 가져오지만 만일 용질의 용해도가 온도에 따라 민감하게 증가한다면 온도 증가로 인한 표면적분 속도에 미치는 영향은 매우 복잡하게 된다.

**복합 율속 결정성장 속도**

두 단계의 속도가 서로 엇비슷하여 모두 결정성장속도에 영향을 미치는 경우 이를 묘사하기 위한 수식은 Karpinski(9)의 two-step growth model에 잘 나타나있다. 실질적으로 결정성장 속도식은 어느 한 단계에 의해 주도적으로 결정되기 보다는 두 단계 모두가 영향을 미치는 경우가 많으며 이것을 나타내기 위한 Karpinski의 모델은 현장 적용에 많이 인용되기도 한다. 이 모델은 결정성장 과정은 물질전달과 표면적분의 연속 과정으로 해석하였으며 각 단계를 위한 수식은 다음과 같이 제시 하였다.

$$dm/dt = A k_m (C - C_i) \tag{27}$$

$$dm/dt = A k_r (C_i - C_s)^r \tag{28}$$

여기서  $C_i$ 는 결정표면에서의 계면농도로서 bulk 용액의 농도  $C'$  보다는 높으며 결정격자점의 평형농도  $C_s'$  보다는 높은 농도이다. 즉, 용액으로부터 결정표면까지의 물질전달은 두 계간의 농도 차이  $C-C_i$ 에 비례하여 이루어지며 결정표면에서의 적분은 표면농도와 격자점 평형농도차이에 비례하여 이루어진다는 것이다. 위 두 식으로부터 계면농도를 소거하면 다음과 같이 정리된다.

$$C - C_s = \frac{K_V}{K_A} \frac{3\rho}{K_m} G_L + \left(\frac{K_V}{K_A} \frac{3\rho}{K_r} G_L\right)^{1/r} \tag{29}$$

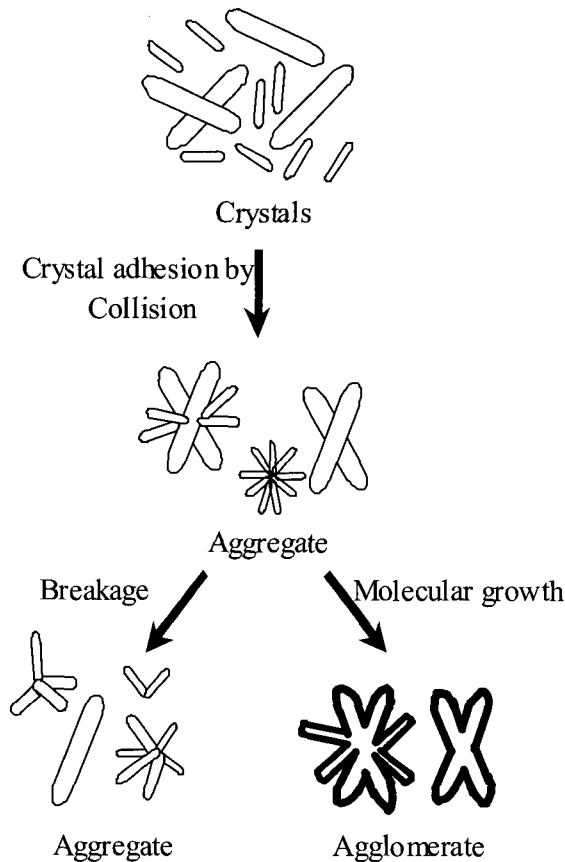
표면적분속도가 빠른 경우 ( $k_r \rightarrow \infty$ ), 위 식은 물질전달 율속 속도식이 되며 반대로 물질전달 속도가 빠른 경우 ( $k_m \rightarrow \infty$ ), 위 식은 표면적분 율속 속도식으로 정리되게 된다. 다양한 율속 단계와 표면적분 차수에 따른 선형 결정성장 속도식은 Table 2에 정리되어 있다.

Table 2. Model equations for the crystal growth mechanism

Model	Equation
Diffusion Limitation	$G_m = k_m (C - C_s)$
Surface integration Limitation	$G_m = k_r (C - C_s)^r$
Two-step crystal growth	$G_m = k_r (DC - G_m/k_m)^r$ where $DC = C - C_s$
in case of $r = 1$	$G_m = \frac{k_m k_r}{k_m + k_r} \Delta C$
in case of $r = 2$	$G_m = k_m \Delta C + \frac{k_m^2}{4k_r} - \sqrt{\frac{k_m^4}{4k_r^2} - \frac{k_m \Delta C}{k_r}}$

**결정응집 (Crystal Agglomeration)**

결정응집은 bioproduct의 분리과정에서 결정입자의 크기, 분포, 순도 등에 영향을 미치는 주요한 인자이다. 결정입자의 크기 및 분포의 경우 분리과정에서 downstream process의 하나인 고-액 분리에 직접적 영향을 미치는 인자이다. 또한, 결정응집은 응집 내부에 모액을 내포하는 경우가 자주 발생하며 이것은 결국 결정 분리의 순도 저하를 초래하는 주요 원인이기도 하다.



**Figure 9.** Conceptual diagram of the crystal aggregation, agglomeration and breakage.

결정화 과정에서 결정응집이 일어나는 과정도 몇가지 단계로 구별된다. Fig. 9에서 보는 바와 같이 결정핵생성 및 성장과정을 통해 나타난 개별 결정입자는 용액 중의 유동에 의한 빈번한 충돌을 하게 된다. 충돌된 두 입자는 상호간 입자간 인력 (London force 등)과 척력 (electric charge, 충돌 반발력 등)의 균형에 의해 응집이 될 수도 있고 분산 상태를 유지할 수도 있게 된다. 인력이 강한 경우 입자는 충돌에 의해 응집을 하게 되며 이때의 응집은 물리적 힘에 의한 입자간 결합이라고 간주할 수 있다. 따라서 외부에서 입자간 인력보다 강한 힘이 가해질 경우 이 응집은 다시 분산될 수 있다. 이와 같은 응집을 aggregation이라 한다. Aggregate도 과포화 용액 내에서 결정성장을 진행하게 되므로 앞서 언급한 결정성장 과정이 aggregate 표면에서도 진행되어 표면에 새롭게 형성된 결정성장 층이 만들어지게 된다. 이 경우 성장 층이 aggregate입자간의 접촉시켜주는 역할을 하기도 한다. 따라서 결정성장과정을 거칠 경우

응집입자들은 물리적 상태보다는 훨씬 강한 결합력으로 결합하게 된다. 이러한 상태의 응집을 agglomeration이라고 한다. Agglomerate는 외부의 상당한 힘에도 견디기에 충분하다. Agglomeration 과정을 개념적으로 묘사한 것이 Fig. 9에 나타나 있다(10).

결정입자가 응집하면 단일 분포 (mono-modal distribution)를 가진 결정입자 크기가 이중 분포 (bi-modal distribution) 형태로 변형된다. 결정입자 응집을 위해 요구되는 것이 입자의 충돌과 결정성장을 위한 과포화 농도이다. 과포화 농도는 결정성장을 통해 물리적으로 응집된 aggregate를 화학적으로 응집된 agglomerate로 전환시켜주는 역할을 하므로 결정성장 속도가 빠를수록 agglomerate 생성에 유리하다. 이와 같은 사실에 입각하여 Wojcik과 Jones(11)는 결정화 실험에서 결정화 농도증가에 따른 결정응집의 촉진을 관찰하였다. 결정입자의 충돌은 주로 용액의 교반으로부터 야기된다. 균일한 현탁 조건을 만들기 위해 결정화 용액은 흔히 교반을 하게 되며 이 과정에서 결정입자 간의 충돌이 일어난다. 결정입자 간 충돌은 난류 교반에서의 유속 구배에 의한 것으로 이것은 동시에 유체 응력 (fluid shear)을 유도하기도 한다. 즉, 교반은 충돌에 의한 입자의 물리적 응집과 유체 응력에 의한 응집입자의 분산을 동시에 일으킬 수 있는 것이다.

용액 교반 세기를 정량적으로 나타는 방법으로 용액의 단위 무게 당 난류 분산에너지 (turbulent dissipation energy per unit mass,  $\epsilon$ )를 이용한다. 이것은 유체의 흐름에 의한 기계적 에너지가 열 에너지로 전환되는 양을 통해 난류의 세기를 정량화하는 것이다. 난류 분산 에너지는 교반속도와 교반탱크의 구조, 교반기의 종류에 의존한다. 이론적인 예측은 매우 어려우며 다양한 조건 (교반속도, 탱크구조, 교반기 종류)에 경험식이 제시되어 있다. 이 가운데에서 비교적 정량적 분석이 많이 이루어진 교반탱크가 표준형 Rushton 교반기이다. 4개의 baffle 이 벽면에 서로 직각으로 부착되어 있고 6-paddle 교반기가 사용되는 경우 교반기의 속도에 따른 분산에너지의 양을 Power number를 통해 제시하였다(12).

$$\epsilon = \frac{N_p n^3 D_a^5 \rho_s}{g_c m_s} \tag{30}$$

여기서  $n$ 은 교반속도 (rps),  $D_a$ 는 교반기의 직경,  $\rho_s$ 는 현탁 용액의 밀도,  $m_s$ 는 현탁 용액의 무게,  $N_p$ 는 Power number이다. 표준 Rushton 교반기에서 교반속도에 따른 난류 분산 에너지의 양은 Table 3과 같이 계산되었다.

**Table 3.** Power number and turbulent dissipation energy corresponding to agitation speed in standard Rushton tank

rpm	$N_{Re}$	$N \square$	$\square$ ( $m^2/s^3$ )
100	1818	5	$1.3 \times 10^{-4}$
200	3636	6	$1.2 \times 10^{-3}$
300	5454	6	$4.2 \times 10^{-2}$
500	9090	6	$1.94 \times 10^{-1}$
700	12726	6	$5.33 \times 10^{-1}$
900	16362	6	1.131
1200	21816	6	2.68
1500	27270	6	5.24



난류 교반에서 난류흐름을 나타내는 주요한 특성 가운데 하나가 Kolmogorov microscale,  $\lambda$ 과 난류 응력(turbulent shear stress,  $\tau$ )이다(13).

$$\lambda = \left(\frac{\nu^3}{\epsilon}\right)^{1/4} \quad (31)$$

$$\tau = \mu \left(\frac{\epsilon}{\nu}\right)^{1/2} \quad (32)$$

여기서  $\mu$ 와  $\nu$ 는 dynamic 점도와 kinematic 점도 ( $\mu/\rho$ )를 각각 나타낸다. 만일 결정입자의 물리적 응집과 응집된 입자의 분산이 입자의 충돌과 난류 응력에 의해 주로 이루어진다고 가정하면, viscous sublayer 교반영역에서 결정입자의 응집과 분산 속도는 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$\Gamma_{agg} \propto \epsilon^{1/2} \quad (33)$$

$$\Gamma_{break} \propto \epsilon \quad (34)$$

결정응집의 크기는 두 속도간 결과에 의해 결정된다면 결정응집 크기의 크기변화 속도는 다음과 같이 표시 할 수 있다.

$$\frac{dL}{dt} = K_1 \epsilon^{1/2} - k_2 \epsilon \quad (35)$$

여기서  $k_1$ 과  $k_2$ 는 응집과 분산 속도 상수로서 현탁 용액의 조건, 결정크기, 결정입자 개수, 충돌효율 등에 의존한다. 결정화 반응기에서 일정한 시간동안 동일한 교반속도를 유지해 준다면 분산에너지는 시간에 무관하므로 위 식은 다음과 같이 적분될 수 있다.

$$L = \left(\int_0^t k_1 dt\right) \epsilon^{1/2} - \left(\int_0^t k_2 dt\right) \epsilon = K_1 \epsilon^{1/2} - K_2 \epsilon \quad (36)$$

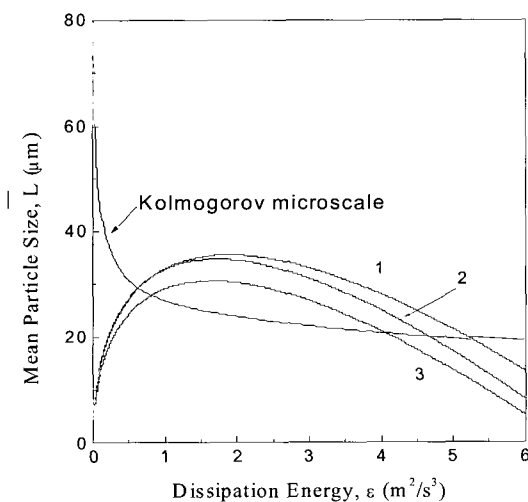


Figure 10. Description of effect of turbulent dissipation energy on the crystal size determined predominantly by aggregation, agglomeration and breakage processes. Each curves is determined by his values for  $K_1$  and  $K_2$  of eq.(36).

위 식은 결정응집 (agglomerate) 크기  $L$ 이 교반속도에 따라 변화하는 것을 예측해 준다. 즉, 충돌에 의한 응집의 증가는 분산 에너지의 1/2 지수승에 비례하며 유체 응력에 의한 응집입자의 분산은 1승에 비례하므로 결정응집의 크기는 분산에너지가 낮은 영역에서는 분산에너지의 크기에 따라 증가하다가 어느 수준 이상에서는 오히려 감소한다는 것을 예상할 수 있다 (Fig 10).

Table 4. Major influencing factors determining collision intensity for crystal breakage

Influencing Factor	Examples
Crystallizer Geometry	Volume of crystallizer, Diameter of impeller, Number of blades Breadth and thickness of blade etc
Operational Parameter	Impeller Speed Pumping Capacity of Impeller
Physical Properties of Crystal	Crystal Density Liquid Density Elastic Modulus of Crystal Shear Modulus of Crystal Dynamic Viscosity of Liquid

최대의 결정응집 조건은 위 식의 미분을 통해 다음과 같이 전개할 수 있다.

$$L_{max} = \frac{1}{4} \frac{K_1^2}{K_2} \quad (37)$$

$$\text{at } \epsilon_{max} = \frac{1}{4} \left(\frac{K_1}{K_2}\right)^2 \quad (38)$$

실제 bioproduct의 결정화 분리에서는 보다 복잡한 현상이 포함될 수 있다. 즉, 결정구조가 이온결합이나 공유결합과 같은 1차 결합으로 형성된 것이 아니라 수소결합이나 van der Waals 결합과 같은 2차 결합에 의해 형성된 분자결정의 형태가 대부분이다. 따라서 이 결정은 물리적으로 충분히 강하지 않아 충돌에 의해 결정입자 간 물리적 응집 뿐만이 아니라 파쇄 (breakage)가 발생할 수도 있다. 또한 파쇄는 결정입자와 교반기 날 (blade)과 충돌에서도 쉽게 일어날 수 있으며, 이것은 결정입자의 응집 뿐만 아니라 2차 핵생성에도 영향을 미쳐 결정화 현상을 더욱 복잡하게 만드는 결과를 초래 한다. Mersmann(4)은 교반 결정화기에서 결정파쇄에 영향을 미치는 다양한 인자에 대해 조사하였으며 그 결과는 Table 4와 같이 요약하였다.

### 결정화 영향 인자

결정화 과정은 많은 인자들에 의해 영향을 받는다. 이들 인자들은 결정입자의 구조, 크기, 분포 뿐만 아니라 순도 및 수율 등에 직접적인 영향을 미친다. Bioproduct 용액은 결정화 분리를 위한 타겟 (target) 용질 외에도 다양한 종류의 결정화 물질 및 비결정화 물질이 공존하고 있다. 이들 물질은 결정화 타겟 물질에 대한 이물질 (foreign substance)로 작용하여 타겟 결정 모양, 구조 및 순도에 직접적 영향을 미친다. 이러한 결정화 특성이 생명공학 분야에서 단백질과 같은 물질의 분자 구조를

규명하기 위한 crystallography와 crystallization separation의 차이를 나타낼 수도 있다.

이와 같은 이물질은 공정상 필연적으로 발생하는 경우 이것을 불순물 (impurity)라 하며 결정화 조절을 위하여 의도적으로 첨가하는 경우 첨가제 (additive)라 하기도 한다. 첨가제 혹은 불순물의 영향을 정량화나 일반화하기는 매우 어렵다. 그러나 일반적으로 무기염 (inorganic salt) 계통의 첨가제가 유기물 (organic substance)보다는 더 강한 영향을 보인다. 특히, 특정 염의 경우 미량의 존재만으로도 결정의 특성을 완전히 변형시키는 경우도 있다. 그러므로 결정화에서 첨가제 혹은 불순물이 결정화 현상 (핵생성, 결정성장, 결정응집)에 미치는 영향은 많은 연구자의 관심의 대상이 되고 있다(14, 15). 그러나 현재 까지 불순물 또는 첨가제의 작용기구에 대한 명확한 규명이 이루어지지 않고 있으며 대부분의 결정화 공정에서 경험적 지식에 의해 사용되고 있다.

### 불순물 영향

Bioproduct 용액에 공존하는 불순물의 경우 생물공정의 부산물이나 미반응물인 경우가 많다. 이들 불순물의 결정화 과정에 대부분 결정입자 형성에서 배제되지만 일부 미량의 불순물이 결정격자에 치환되는 경우가 많다. 특히 불순물 분자가 용질분자의 크기와 유사하거나 작은 경우 결정구조에 치환되기가 더 쉽다. 이렇게 치환된 불순물은 결정구조, 모양 순도 등에 변화를 야기시킨다(16, 17).

불순물이 결정화, 특히 결정 성장에 미치는 영향에 대한 연구는 많은 연구자들에 의해 수행된 바 있다. 이를 해석하고자 모델에는 크게 두 가지로 구별되는데 그 중한 가지는 불순물이 결정입자 표면에 흡착되어 bulk 용액으로부터 결정표면으로 용질이 이동하여 흡착되는 것을 방해 한다는 것이고 다른 하나는 불순물이 결정의 성장점을 차지하여 결정 성장을 방해하며 일부 결정구조에 치환된다는 것이다(18, 19).

불순물에 의한 결정성장의 영향은 주로 결정표면의 흡착에 기인한 것으로 해석하였다(20, 21). 특히 결정 성장점의 흡착 정도가 결정 성장에 비례적으로 영향을 미친다고 하였다. 이러한 기구에 의해 불순물에 의한 결정 성장속도 영향을 수식화하면 다음과 같다(22).

$$\frac{G_{L0} - G_L(C_{add})}{G_{L0} - G_L(C_{add}^{sat})} = \theta \quad (39)$$

여기서  $G_{L0}$ 와  $G_L$ 은 순수한 용액에서의 결정 성장속도와 불순물이 포함된 용액에서의 결정 성장속도를 각각 나타낸다. 그리고  $C_{add}$ 와  $C_{add}^{sat}$ 는 현재 bulk의 불순물 농도와 흡착 평형에서의 불순물 농도를 각각 나타낸다. 표면흡착도 (surface coverage,  $\theta$ )를 Langmuir 등온식으로 표시하면 다음과 같다.

$$\theta = \frac{KC_{add}}{1 + KC_{add}} \quad (40)$$

여기서  $K$ 는 흡착상수이다. Kubota(23)의 경우 불순물 흡착식을 불순물의 효율 인자를 도입하여 다음과 같이 해석하기도 하였다.

$$\frac{G_{L0} - G_L}{G_{L0}} = \alpha \frac{KC_{add}}{1 + KC_{add}} \quad (41)$$

$\alpha$ 는 불순물의 효율인자로서 과포화도에 의존하는 것을 제시하였다. 여기서  $\alpha$ 가 1인 경우 표면에 흡착 평형상태이며 대부분의 경우 1보다 작은 값을 갖는다.

결정성장 기구에서 표면적분 과정이 불순물의 흡착으로 인하여 방해받는 경우 표면적분 상수는 다음과 같은 흡착 상관식을 나타낸다.

$$k_r = k_{r0}(1 - \theta) \quad (42)$$

및

$$\frac{k_{r0}}{k_{r0} - k_r} = 1 + \frac{1}{KC_{add}} \quad (43)$$

여기서  $k_{r0}$ 는 순수용액에서의 표면적분 상수이다. 위 식의 경우 무기 염 계통의 불순물이나 첨가제가 존재하는 경우 결정 성장속도의 실험결과와 매우 잘 일치하는 것으로 알려져 있다.

한편 단백질이나 고분자 계통의 유기물이 불순물이나 첨가제로 존재하는 경우 결정 성장에 미치는 영향이 다소 다르게 나타날 수 있다. 고분자나 단백질 분자의 경우 분자크기가 결정분자에 비해 커서 직접 결정 격자점을 치환하거나 방해하기가 어렵다. 대신 이들 불순물은 결정입자 표면에 흡착하여 불순물 층을 형성함으로써 bulk 용액으로부터 용질이 결정 표면으로 이동하는 것을 방해하는 것으로 알려져 있다. 즉, 이들 불순물은 결정성장 과정에서 물질전달 단계를 주로 방해하는 것이다. 이 경우 물질전달 계수는 다음과 흡착된 불순물의 양에 비례하는 것으로 보고되고 있다(24).

$$k_m = K_{m0} \left( \frac{1 - \phi}{1 + \phi} \right)^2 \quad (44)$$

여기서  $k_{m0}$ 는 순수용액에서의 물질전달 계수이며  $\phi$ 는 불순물 흡착에서의 불순물이 차지하는 부피비이다. Langmuir 흡착등온식을 이용하여 부피비와 흡착과의 상관관계는 다음과 같이 제시하였다(25).

$$\phi = \phi_{\infty} \frac{KC_{add}}{1 + KC_{add}} \quad (45)$$

$\phi_{\infty}$ 는 흡착평형 상태에서의 흡착된 불순물의 부피비이다. 위 식을 이용해서 고분자 첨가제가 결정 성장에 미치는 영향의 이론적 예측이 실험결과와 잘 일치하는 것을 보여 주었다.

불순물이나 첨가제의 흡착으로 인하여 결정 모양의 변화도 많이 관찰되고 있다. 결정구조의 경우 분자가 일정방향으로 규칙적으로 배열되어 있어 결정면에 따라 표면에 노출되어 있는 원자가 서로 다를 수 있다 따라서 불순물 분자가 서로 다른 결정면에 서로 다른 경향으로 흡착하게 된다. 즉, 특정 면에서 많은 불순물이 흡착을 하나 다른 특정 면에서는 흡착이 잘 이루어지지 않은 경우가 발생한다. 이것은 결정면의 서로 다른 성장 속도로 이어져 궁극

적으로 결정모양의 변화로 나타나게 된다(26). 일 예로서, Michael과 Tausch(20)은 계면활성제를 adipic acid 결정화에 첨가할 경우 계면활성제가 결정 모양을 변경하는 것을 보여주었다. 음이온계 계면활성제의 경우 육각형 모양의 adipic acid의 측면에 선택적으로 흡착하여 결정성장을 방해하므로 최종에는 침상형의 결정을 형성하였다. 반면 양이온계 계면활성제를 사용하는 경우 기존 결정의 위와 아래에 주로 선택적으로 흡착하여 결정모양을 판상형으로 변형시켰다. 이에 대한 묘사는 Fig. 11에 나타나있다.

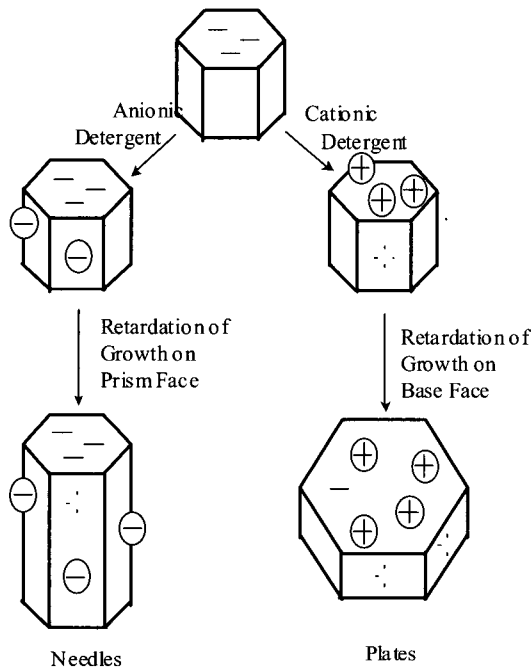


Figure 11. Modification of crystal shape by the ionic additive in adipic acid crystallization(20).

**pH와 온도 영향**

pH와 온도는 bioproduct 결정화 공정에서 중요한 변수 가운데 하나이다. pH조건에 따라 아미노산의 이온 인력이 변화하기 때문에 결정화 수율에 직접적 영향을 미친다. 일반적으로 pI 조건 부근에서 bioproduct는 정전기적 인력이 최소화 되며 용해도가 최대가 된다. 따라서 최대의 결정화 수율을 얻기 위해서는 용액의 용해도가 최소가 되는 pH조건에서 결정화를 유도하는 것이 유리하다.

대부분 bioproduct의 경우 용해도가 온도에 민감하게 변한다. 이 경우 온도 변화가 결정화 과정과 수율에 직접적 영향을 미친다. 온도를 감소시키는 경우 용해도 차가 증가하여 결정화 수율이 높아지게 된다. 그러나 결정화 속도 또한 증가하여 보다 많은 결정입자가 생성되어 평균 입자의 크기 및 분포는 다음의 고-액 분리공정의 여과에 가장 중요한 인자이므로 이것을 신중히 고려해야 한다. 일부 단백질과 같은 bioproduct는 물질의 특성이 온도에 민감한 경우도 있다 과도한 온도 상승이 물질의 변성을 유도할 수 있으므로 이에 대한 고려도 필수적이다.

**결정화 공정**

결정화 공정을 설계 조업하기 위해서는 결정화 반응기 내에서의 결정 입도 수치식과 물질수지 식에 대한 이해가 선행되어야 한다. 결정입자의 크기 및 분포는 결정화 분리 공정 후 고-액 분리공정에서 가장 핵심적 사항이며 이 정보를 바탕으로 효율적인 후처리 공정을 할 수 있다. 결정화 공정에 대한 수치식은 앞서의 많은 수학적 모델을 정리하여 Randolph와 Larson(21)에 의해 비교적 상세히 잘 요약하였다. 고정된 결정상 공간 좌표계에서 입도 수치식은 다음과 같이 최종 정리될 수 있다.

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot (v_e n) + \nabla \cdot (v_i n) + D - B = 0 \quad (46)$$

여기서 n은 입자밀도, D와 B는 파쇄나 응집으로 인한 사망과 생성을 의미한다. 외부 좌표계로 Lagrangian 공간 (x, y, z)을 채택한다면, v<sub>e</sub>는 각 방향에서의 유속 v<sub>x</sub>, v<sub>y</sub>, v<sub>z</sub>을 대표하는 것이다. 내부 좌표계로서 결정 공간을 적용한다면 v<sub>i</sub>는 dL/dt로 정의될 수 있으며 이것은 선형 결정성장 속도 (G<sub>L</sub>)와 동일한 것이다. 위 식은 micro-control volume에서의 수치식으로부터 유도된 식으로 이것을 microscopic 입도 수치식이라 한다.

외부 좌표 공간이 균일한 조건이라면 위 식은 계 전체 적분을 통해 위 식은 macroscopic 입도 수치식으로 전환될 수 있다.

$$\frac{\partial n}{\partial t} + \nabla \cdot G_L n + n \frac{d \ln V}{dt} + \sum_k \frac{Q_k n_k}{V} + D - B = 0 \quad (47)$$

여기서 V는 계의 부피, Q<sub>k</sub>는 계에 유입 유출되는 유량, n<sub>k</sub>는 유량 내의 입도밀도를 의미한다. 위 식은 계의 조건이 균일한 경우에만 적용되어야 한다.

식 (46)과 (47)은 모멘트 전환을 통해 편미분 방정식을 상미분 방정식으로 전환될 수 있다.

$$\frac{\partial m_i}{\partial t} + \nabla \cdot V_{e m_j} - O^i B^0 - j G_L m_{j+1} + \bar{D} - \bar{B} = 0 \quad (48)$$

$$\frac{d m_i}{dt} + m_j \frac{d \ln V}{dt} - O^i B^0 - j G_L m_{j+1} + \sum_k \frac{Q_k m_{i,k}}{V} + \bar{D} - \bar{B} = 0 \quad (49)$$

여기서 모멘트 전환은 다음과 같이 정의된다.

$$m_j \equiv \int_1^\infty L^j n dL \quad (50)$$

위 식에서 B<sup>0</sup>는 결정 핵 생성속도를 의미한다. 한편, 결정화 반응기에서 물질 수치식은 다음과 같이 정리된다.

$$\frac{dV(C + M_T)}{dt} = Q_{in}(C_{in} + M_{T,in}) - Q_{out}(C_{out} + M_{T,out}) + VR \quad (51)$$

여기서  $M_T$ 는 마그마 밀도로서 다음과 같이 정의된다.

$$M_T \equiv k_v \bar{\rho}_s \int_0^\infty nL^3 dL = k_v \bar{\rho}_s m_3 \quad (52)$$

식 (51)은 위 입도 수지식과 결합되어 결정화 반응기에서 형성되는 결정입자의 크기 및 크기 분포를 예측케 해준다.

### 회분식 결정화 반응기 (Batch Crystallizer)

회분식 결정화 반응기는 bioproduct의 분리를 위해 가장 흔히 사용되는 조업형태의 반응기이다. Fig. 12에서 보는 바와 같이 혼합 탱크에 담긴 용액에 과포화를 유도함으로써 결정화 현상을 통해 bioproduct를 분리하는 것으로 내부 용액의 균일성을 위해 교반을 해 준다. 이 경우 반응기 내부 용액의 조건이 균일하다고 가정하면 회분식 결정화 반응기를 해석하기 위한 수지식은 macroscopic balance를 적용할 수 있다. 비교적 온화한 교반 조건에서 결정입자들의 파쇄와 응집이 무시될 수 있다면 위 입도 수지식, 모멘트 수지식, 물질 수지식은 다음과 같이 요약될 수 있다.

$$\frac{\partial n}{\partial t} + G_L \frac{dn}{dL} = 0 \quad (53)$$

$$\frac{dm_i}{dt} - O^i B^o - j G_L m_{j-1} = 0 \quad (54)$$

$$\frac{dM_T}{dt} = - \frac{d\Delta C}{dt} + \frac{dC_s}{dt} \quad (55)$$

입도 수지식 (식 (53))과 모멘트 수지식(식 (54))에서 결정 핵생성속도와 성장속도는 과포화 농도의 함수이며 이것은 식 (55)의 물질 수지식을 이용하여 구할 수 있다. 입도 수지식의 경우 비선형 1차 편미분 방정식으로 analytical 해를 구하기가 매우 어렵다. 이에 대한 대안으로 수치해석적으로 해를 구하고자 하는 시도가 많이 진행되었다. Kim and Tarbell(29)은 기존의 수치해석법에 비해 매우 효과적인 방법을 제시한 바 있다.

### 연속식 결정화 반응기 (Continuous MSMPR Crystallizer)

Fig. 13과 같이 교반탱크에 용액이 유입되고 결정화된 입자가 용액과 같이 유출되는 연속식 반응기는 단위 시간당 생산성 측면에서 매우 우수한 장점을 가지고 있다. 그러나 연속식 조업의 경우 결정화 현상을 정밀 제어하는데 어려움이 있으며 그로 인한 생산성 저하의 위험이 있다. 연속식 조업은 정상상태라는 조건이 가능하여 학술적으로 해석하는 데에 매우 유리한 점이 있어 연구용 연속 조업 공정은 흔히 시도되고 있다.

연속식 결정화 반응기에서 교반탱크 내부가 균일한 조건이라고 가정하면 탱크내부의 입도 조건과 유출되는 유량의 입도 조건이 동일하다고 간주할 수 있다. 이러한 조건을 만족하는 결정화 반응기를 특별히 mixed suspension mixed product removal (MSMPR) crystallizer라 한다. 이와 같이 균일한 내부 조건을 만들어 주기 위해 흔히 사용되는 것이 DTB (draft tube and baffle)이 장착된 교반탱크이다. 3개의 baffle과 중앙의 draft tube를 통해 결정화 반응기의 혼합 조건이 가급적 균일성을 가

지도록 설계된 것이다. 따라서 이상적인 MSMPR의 경우 탱크 내부의 조건이 균일하므로 macroscopic 수지식의 적용이 가능하다. 정상 상태에서 입도, 모멘트, 물질 수지식을 정리하면 다음과 같다.

$$G_L \frac{dn}{dL} + \frac{n}{\tau} = 0 \quad (56)$$

$$\frac{m_i}{\tau} = O^i B^o + j G_L m_{j-1} \quad (57)$$

$$C_{in} = \Delta C + C_s + k_v \bar{\rho}_s m_3 \quad (58)$$

입도 수지식은 상미분 방정식의 형태이며, 모멘트와 물질 수지식은 대수식의 형태를 가진다. 위 식은 경계조건만 대입하면 간단히 analytical 해를 구할 수 있다. 위 식의 해로부터 입자 크기 분포(식 (59))와 평균 입자크기 (식 (60)), 마그마 밀도(식 (61))는 다음과 같이 구할 수 있다.

$$n = n_0 \exp\left(-\frac{L}{G_L \tau}\right) \quad (59)$$

$$\bar{L} \equiv \frac{\int_0^\infty nLdL}{\int_0^\infty n dL} = \frac{m_1}{m_0} = G_L \tau \quad (60)$$

$$M_T = k_v \bar{\rho}_s m_3 = 6k_v \bar{\rho}_s B^o G_L^3 \tau^4 \quad (61)$$

### 조업 모드 (Operational Mode)

결정화 공정의 여러 가지의 조업 모드가 있다. 회분식, 반회분식, 연속식 조업모드가 있고, 연속식은 다시 교반 탱크형 (mixed tank)과 연속 흐름형 (plug flow) 모드가 있다. 단단 (single stage) 조업 모드와 다단 (multiple stage) 조업 모드가 있다. 이것은 결정화 과정을 연속된 여러 단계의 반응기에서 조업하는 모드이다. Moyer와 Rousseau(30)은 단단 모드보다 다단 모드가 결정입자의 크기가 크고 분포가 균일한 입자를 얻는데 유리하다는 것을 보여 주었다. Mullin(31)은 연속된 분별결정화 (series of fractional crystallization) 혼합용액으로부터 bioproduct의 타겟 성분을 고순도 분리 정제하는 기술을 제시하였다.

일반적으로 bioproduct를 결정화하는 조업모드로는 회분식이 많이 이용된다. 냉각, 증발, 염석 결정화 방법이 적용되는데 조업 방법에 따라 다양 크기 및 분포의 결정입자가 얻어진다. 균일 핵생성에 의존하면 상대적으로 입도 밀도가 높고 입자 크기분포가 넓어지며 평균입자 크기는 작아진다. 반면 2차 핵생성에 의해 결정이 생성되면 입도 밀도가 낮고 평균 크기가 큰 입자를 얻을 수 있다. 이 경우 입자의 파쇄 마모 등에 의한 다른 2차 핵생성 기구의 제어에 따라 입자분포가 크게 의존할 수 있다. 균일하고, 큰 입자를 얻는 일반적 방법으로 종자 결정화를 많이 시도한다. 과포화된 용액에 미리 준비한 결정입자를 외부에서 첨가함으로써 1차 핵생성을 억제하고 첨가된 종자 입자의 성장을 추진함으로써 원하는 결정입자를 얻는 기법이다.

## 결론

결정화 기술은 많은 기본 현상(결정핵생성, 결정성장, 응집 및 파쇄 등)이 서로 복잡하게 연결되어 있어 한가지 현상의 제어만으로 원하는 결정입자의 특성(구조, 크기, 순도)을 달성하기가 매우 어렵다. 더욱이 이러한 기본 현상들은 다양한 외부 조업조건 (과포화 방법, 과포화 농도, 온도, pH, 교반, 불순 및 첨가제, 반응기 형태, 조업 모드 등)에 직 간접적으로 의존한다. 즉, 교반을 변화 시키면 용액의 유체역학적 특성이 변화되며 이것은 1차적으로 결정성장과 응집에 영향을 미치며 아울러 결정 핵생성에 영향을 미친다. 이것은 용액 내의 결정고체의 마그마 밀도를 변화 시켜 다시 현탁 용액 내의 유체역학적 유동의 변화를 야기시킨다.

이러한 복잡한 현상 때문에 국내에서 결정화 공정은 공학적 지식을 바탕으로 설계되고 조업되기보단 경험에 의존한 기술에 의해 주로 이루어지고 있는 것이 현실이다. 본 논문에서는 결정화 기본 현상에 대한 지금까지 규명된 기구에 대해 분석하였고 이것에 영향을 미치는 주요 인자에 대해 정리해 보았다.

최근 결정화 기술은 새로운 관심의 대상이 되고 있다. 그것은 결정이 형성되고 성장하는 원리가 분자적 관점에 볼 때 분자의 형태인식에 의한 특성이 강하기 때문이다. 또한 용질 분자가 격자점에 결합하는 과정은 자기조립과 원리에 기인한 것이다. 이러한 특성에 대한 연구는 최근 나타난 연구경향으로서 본 논문에서 깊이 있게 다루지는 않았다. 하지만, 본 내용은 향후 생물공학 분야에서 bioproduct를 정밀분리하기 위한 결정화 기술을 연구하는데 많은 도움이 되리라 본다.

## REFERENCES

- Shin, D.-M. and Kim, W.-S. (2002), Drowning-out crystallization of L-ornithine-aspartate in turbulent agitated reactor, *J. Chem. Eng. Japan*, **35**, 1083-1090.
- Melander, W. and Horvath, C. (1977), Salt Effects on hydrophobic interactions in precipitation and chromatography of proteins: an interpretation of the lyotropic series, *Arch. Biochem. Biophys.*, **183**, 200-209.
- Ataka, M. (1986), Growth of large single crystals of lysozyme, *Biopolymers*, **25**, 337-349.
- Mersmann, A. (1995), *Crystallization Technology Handbook*, Marcel Dekker, New York, U.S.A.
- Mullin, J. W. (1993), *Crystallization*, 3rd ed., Butterworth-Heinemann, Oxford, U.K.
- Knapp, L. F. (1922), The solubility of small particles and the stability of colloids, *Trans. Faraday Soc.*, **17**, 457-465.
- Volmer, M. and Webber, A. (1926), Keimbildung in übersättigten Gebilden, *Z. Physik. Chem.*, **119**, 71-73.
- Nielsen, A. E. (1964), *Kinetics of Precipitation*, Pergamon Press, New York, U.S.A.
- Karpinski, P. H. (1985), Importance of the two-step crystal growth model, *Chem. Eng. Sci.*, **40**, 641-649.
- Macy, J. C. and Cournil, M. (1991), Using a turbidimetric method to study the kinetics of agglomeration of potassium sulfate in a liquid medium, *Chem. Eng. Sci.*, **46**, 693-701.
- Wojcik, J. A. and Jones, A. G. (1998), Particle disruption of calcium carbonate crystal agglomerates in turbulently agitated suspensions, *Chem. Eng. Sci.*, **53**, 1097-1101.
- McCabe, W. L. and Smith J. C. (1976), *Unit operations of chemical engineering*, 5th ed., McGraw-Hill, Koshaido Printing Company, Tokyo, Japan.
- Ayazi Shamlou, P. and Titchner-Hooker, N. (1993), Turbulent aggregation and breakup of particles in liquid in stirred vessel, *Processing of solid-liquid suspension*, ed. by Ayazi Shamlou, pp. 1-25, Butterworth-Heinemann, Oxford, U.K.
- Nyvilt, J. and Ulrich, J. (1995), *Admixtures in crystallization*, VCH, Weinheim, Germany.
- Rauls, M., Bartosh, K., Kind, M., Kuch, St., Lacmann, R. and Mersmann, A. (2000), The influence of impurities of crystallization kinetics - a case study on ammonium sulfate, *J. Crystal Growth*, **213**, 116-128.
- Lin, S.-X., Sailofsky, B., Lapointe, J. and Zhou, M. (1992), Preparative fast purification procedure of various proteins for crystallization, *J. Cryst. Growth*, **122**, 242-245.
- Park, D. H., Lee, H. J. and Lee, E. K. (1997), Crystallization of alkaline protease as a means of purification process, *Korean J. of Chem. Eng.*, **14**(1), 64-68.
- Rousseau, R. W., Tai, C. Y. and McCabe, W. L. (1976), The influence of quinoline yellow on potassium alum growth rates, *J. Cryst. Growth*, **32**, 73.
- Rousseau, R. W. and Woo, R. (1980), Effects of operating variables on potassium alum crystal size distribution, *AIChE Symp. Ser.No. 193*, **76**, 27.
- Myerson, A. S., Weisinger, Y. and Ginde, R. (1993), Crystal shape, the role of solvents and impurities, *Industrial Crystallization'93*, ed. by Rojowski, Z., pp. 3-135, Warsaw.
- Cabrera, N. and Vermileya, D. (1958), *Growth and Perfection of Crystals*, ed. by Doremus, R. H. and Turnbull, D., p. 393, Wiley and Sons, Inc., New York, U.S.A.
- Punin, Y. O. and Franke, V. D. (1998), Effect of carbamide adsorption on the growth kinetics of the ammonium chloride crystals, *Crystal Res. Tech.*, **33**, 166-172.
- Kubota, N., Yokota, M. and Mullin, J. W. (1996), Kinetic models for the crystal growth from aqueous solution in the presence of impurities; Steady and unsteady state impurity actions, in *Proceedings of the 13th Symposium on Industrial Crystallization*, 111-116, Toulouse, France.
- Kim, W. S. and Tarbell, J. M. (1993), Effect of PVA and Gelatin additives on barium sulfate precipitation in an MSMPR reactor, *Chem. Eng. Comm.*, **120**, 119-137.
- Heller, W. (1966), Effect of macromolecular components in dispersion systems, *Pure & Appl. Chem.*, **12**, 249-250.
- Michaels, A. S. and Colville, A. R. (1967), The effect of surface active agents on crystal growth rate and crystal habit, *J. Phys. Chem.*, **64**, 13.
- Michaels, A. and Tausch Jr., F. W. (1961), Modification of growth rate and habit of adipic acid crystals with surfactants, *J. Phys. Chem.*, **65**, 1730-1737.
- Rauls, M., Bartosh, K., Kind, M., Kuch, St., Lacmann, R. and Mersmann, A. (2000), The influence of impurities of crystallization kinetics - a case study on ammonium sulfate, *J. Crystal Growth*, **213**, 116-128.
- Kim, W. S. and Tarbell, J. M. (1991), Numerical technique for solving population balance in precipitation processes, *Chem. Eng. Comm.*, **101**, 115-129.
- Moyers, C. G., Jr. and Rousseau, R. W. (1987), Crystallization operations, in "Handbook of separation process technology", edited by R. W. Rousseau, John Wiley & Sons, Inc., New York, U.S.A.
- Mullin, J. W. (1972), Crystallisation techniques, in "Crystallisation," 2nd ed., Butterworths, London, pp. 233-257.