

# 비집속 회분저주파를 이용한 *Dunaliella salina* 세포 파쇄

최준혁\*, 김광호\*\*, 박종락\*\*\*, 정상화\*.#

\*조선대학교 기계공학과, \*\*한국폴리텍대학 광주캠퍼스 기계시스템과, \*\*\*조선대학교 광기술공학과

## Cell Disruption of *Dunaliella salina* using Batch Low Frequency Non-Focused Ultrasound

Jun-Hyuk Choi\*, Gwang-Ho Kim\*\*, Jong-Rak Park\*\*\*, Sang-Hwa Jeong\*.#

\*Dept. of Mechanical Engineering, CHOSUN Univ., \*\*Dept. of Mechanical System, Gwangju Campus of Korea Polytechnics, \*\*\*Dept. of Photonic Engineering, CHOSUN Univ.

(Received 29 June 2021; received in revised form 18 August 2021; accepted 24 August 2021)

### ABSTRACT

Using fossil fuels in existing industrial systems causes a variety of social problems. Recently, many studies have been conducted on bio-refineries, which aim to actively utilize biomass to reduce the use of fossil fuels and solve various social problems. Among them, research using microalgae as a third-generation biomass has attracted considerable attention. Microalgae use inorganic matter to produce organic matter, and cell destruction is necessary to extract useful organic materials from microalgae. The extracted organic materials are currently used in various industrial fields. Numerous cell-destruction methods exist. We have investigated cell disruption by sonication, especially its efficiency. Ultrasound is a sound wave with frequencies above 20 kHz, and destroys cells by sending high energy through a cavitation that occurs, according to the characteristics of the sound wave. The *Dunaliella salina* microalgae used in this study was cultured in a flat-type photobioreactor. Experiments were performed using a batch low-frequency processing device. Logistic model was applied to analyze the results of cell-destruction experiments using ultrasound. The proper conditions for the most efficient cell destruction were OD 1.4(microalgae concentration), 54watt(output power) and 200mL(microalgae capacity).

**Keywords :** Cell Disruption(세포파쇄), Microalgae(미세조류), Ultrasound(초음파), Cell Membrane(세포막), Logistic Model(로지스틱 모델)

## 1. 서 론

기존 산업체계에서 화석연료의 지속적인 사용은 현대문명 발전에 크게 기여하였다. 그러나 화석연료로부터 기인한 다양한 환경오염 문제로 화석연료 사용의 절감 방법이 전 세계적으로 논의되고 있다

[1]. 그중 하나인 화석연료의 역할을 바이오매스로 대체하는 바이오 리파이너리(bio-refinery)에 대한 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있으며, 그중에서도 3세대 바이오매스인 미세조류를 이용한 바이오 에너지에 대한 연구가 이뤄지고 있다[2]. 미세조류는 광합성을 통해서 성장하는 미생물로서 무기물을 이용해 수많은 유기물을 생산하고, 이렇게 생산된 미세조류 유래 천연유기물질은 농업, 동물사료, 화장품, 의약품 등 다양한 분야에서 사용되고 있다

# Corresponding Author : shjeong@chosun.ac.kr  
Tel: +82-62-230-7178

[3]. 이 유용물질들을 사용하기 위해서는 세포 파쇄 과정이 필수적이며, 파쇄과정은 크게 기계적 방법과 비 기계적 방법으로 구분된다<sup>[4]</sup>. 다양한 세포파쇄 방법 중 기계적 방법의 하나인 초음파를 활용한 세포막 파쇄는 다른 세포 파쇄 방법과 비교할 때 타 기계적 방법이 지닌 유지보수에 따른 경제적 취약점과 비 기계적 방법이 지닌 유독물질 사용에 따른 환경오염의 취약점 대비 뛰어난 장점이 있다<sup>[5]</sup>. 초음파는 20kHz 이상의 음파로서, 음파가 액체를 통과할 때 발생하는 공동현상(cavitation)으로 인하여 고에너지가 발생하게 된다<sup>[6]</sup>. 음향장에서 초음파에 의한 주기적 반복 운동에 의해 발생한 캐비테이션 버블은 생성-성장-파괴의 과정을 거치며, 파괴 과정에서 강력한 충격을 통해서 고압을 발생시킨다<sup>[7]</sup>. 이렇게 발생된 고압은 강력한 충격파를 방출하여 세포벽 및 세포 내부구조를 파열시킨다.

본 연구에서는 초음파처리장치를 이용하여 균체의 세포막 파쇄 실험에 대한 연구를 수행하였다. 평판형 광생물반응기에서 배양된 미세조류 *Dunaliella salina*를 실험에 사용하였고, 균체의 성장 정도를 측정하기 위해 각종 센서를 통해 환경을 제어하여 회분(batch) 배양하였다.

회분 배양 데이터를 토대로 연속 배양하여 균주를 확보하였고, 확보한 균체를 회분저주과 처리장치를 이용한 세포막파쇄 실험에 사용하였다. 실험을 진행하면서, 실험변수로는 초기 균체 농도, 초음파처리장치 출력파워, 균체 용량 등 3가지를 선정하였다. 실험계획법을 토대로 가장 좋은 파쇄 효율 조건을 구하기 위해 변수마다 단계를 지정하여 반복적인 연구를 수행하였다. 실험 결과로 나타난 파쇄 효율은 시간별로 나열하여 Logistic model로 근사화(curve fitting)하였다.

## 2. 미세조류 *Dunaliella salina* 배양

### 2.1 균주 및 배지역

균주는 한국 해양시료 도서관으로부터 분양받은 미세조류 *Dunaliella salina*를 사용하였고, 배양을 위해 사용된 배지는 고압멸균기(autoclave)를 통해서 121℃에서 20분 동안 멸균한 f/2 media를 사용하였다.

### 2.2 회분식 배양

분양받은 균주를 실험에 사용하기 위하여 평판형 광생물반응기에 회분배양 하였다. 회분배양은 목적 물질을 생산하는데 필요한 모든 배지를 배양 시작과 동시에 배양기에 넣는 배양법이다. 배양을 시작하면 배양시간에 따라 영양소는 점차 감소하며, 성장 단계에 따라서 접종 세포의 양은 증가하고, 세포 내부 및 배양기 내에 생산물이 점차 축적된다<sup>[8]</sup>.

*Dunaliella salina*의 회분배양을 위해 배양기 내외부에 탁도, 광도, pH 센서와 가스 조절기를 구성하여 일정한 성장환경을 제어하였다. 광주기 24:0(명기/암기) 상태의 환경에서 약 35일 동안 10mL의 샘플을 매일 채취하였고, 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 680nm 파장에서 광학밀도를 측정하였으며, 광학밀도의 측정은 식 (1)과 같이 나타낼 수 있다.

$$OD = -\log_{10} T = \log_{10} \left( \frac{I_0}{I} \right) \quad (1)$$

여기서,  $T$ 는 투과율,  $I$ 는 투과광의 강도,  $I_0$ 는 입사광의 강도이다. 측정값을 토대로 성장곡선을 작성하였다. 또한 측정된 성장곡선에서 적정 균체 광학밀도를 선정해 실험조건으로 사용하였다.

### 2.3 성장 곡선 및 수학적 회귀 모델

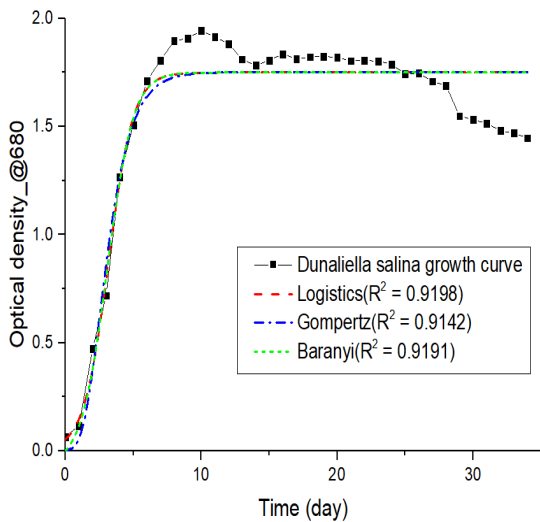
일반적으로 성장 패턴은 S자형이며, 균체가 새로운 환경에 적응하는 시기인 지연기(lag phase), 균체가 최고속도로 성장해 분열하는 대수기(exponential phase), 세포분열과 세포 사멸속도가 평형을 이루는 정체기(stationary phase), 마지막으로 분열하는 세포보다 사멸하는 세포가 더 많아 전체적인 세포가 감소하는 사멸기(death phase)로 구분된다<sup>[9]</sup>. 일반적인 성장곡선모델은 생물학적 의미가 없는 수학적 매개변수 a, b, c를 사용하기 때문에 시작 값을 추정하기 어렵다<sup>[10]</sup>. 따라서 매개변수를 생물학적 의미가 있는 A(최대 개체 수),  $\lambda$ (성장 지체 시간),  $\mu_{max}$ (비성장 속도)로 치환하여 사용하였다<sup>[11]</sup>.

본 연구에서 검토한 총 3가지 성장 수식 모델을 Table 1에 나타냈으며, 작성된 성장곡선으로부터 비성장 속도(specific growth rate)를 예측하기 위하여

수학적 근사모델을 사용하였다. 비성장 속도는 Logistic model에서 0.48, Gompertz model에서 0.50, Baranyi model에서 1.10으로 측정되었다. 측정된 성장곡선과 Table 1의 수학적 모델식에 곡선 맞춤한 결과는 Fig. 1과 같다.

**Table 2 Output variable of batch low frequency sonication device**

Unit	Amplitude %	probe output power watt			Vibration distance $\mu m$	Energy / Power watt	Power Density watt/cm <sup>2</sup>
		Air	Water	<i>Dunaliella salina</i>			
level(1)	40	4	32	30	45.6	28	21.21
level(2)	45	8	45	43	51.3	37	28.03
level(3)	50	9	50	50	57.0	40	30.30
level(4)	55	10	55	57	62.7	45	34.09
level(5)	60	12	62	61	68.4	55	37.88



**Fig. 1 Growth curve of *Dunaliella salina***

**Table 1 Biological growth curve of sigmoidal regression model<sup>[8]</sup>**

Model	Equation (Mathematical parameter)	Modified equation (Biological parameter)
Logistic	$y = \frac{a}{1 + \exp^{(b-cx)}}$	$y = \frac{A}{1 + \exp\left(\frac{4\mu_{max}}{A}(\lambda-t)+2\right)}$
Gompertz	$y = a \exp^{[-\exp^{(b-cx)}]}$	$y = A \exp^{-\exp\left(\frac{\mu_{max}t}{A}(\lambda-t)+1\right)}$
Baranyi		$y = \mu_{max}A(t) - \ln\left(1 + \frac{e^{\mu_{max}A(t)} - 1}{e^A}\right)$
		$A(t) = t + \frac{\ln[e^{-\mu_{max}t}(1 - e^{-\mu_{max}\lambda})] - e^{-\mu_{max}\lambda}}{\mu_{max}}$

modified equation  $e = \exp(1)$

### 3. Low Frequency Non-Focused Ultrasound Cell Disruption System

#### 3.1 회분저주파 처리 시스템

전 세계적으로 다양한 미세조류가 존재하며, 그 중마다 다양한 특성이 있다. 이러한 다양성은 초음파처리장치를 이용한 세포막 파쇄 과정에서 효율적으로 파쇄되는 최적 파라미터의 차이로 나타난다. 실험에 사용된 *Dunaliella salina*의 최적 효율 조건에 대해 연구를 수행하기 위하여 회분저주파 처리 시스템을 구성하여 실험을 진행하였다.

실험에 사용된 초음파 장치는 20kHz의 주파수 대역과 최대출력 500Watt의 사양을 가졌으며, 장치 내에서 실험 시간, 진폭, 펄스 간격과 같은 조건을 설정하여 실험을 진행할 수 있다. 그러나 장치의 입력 진폭이 일정 값을 초과하게 되면 발열로 인해 과부하(over load)가 발생하기 때문에 해당 조건에 유의하여 실험 조건을 제한하여 결정하였다. 또한 초음파처리 과정 중 발생하는 열이 미세조류에 미치는 영향을 최소화하기 위해서 얼음조(ice bath)를 구성하였다. Fig. 2에 회분저주파 처리 시스템을 개략적으로 나타내었으며, 초음파처리 장치의 사양을 Table 2에 나타내었다.

### 3.2 회분 저주파 파쇄실험 조건

미세조류 *Dunaliella salina*의 최적 세포막 파쇄 조건에 대한 연구를 수행하기 위하여 초기 균체 광학밀도(initial microalgae optical density), 출력파워(output power) 및 초기균체용량(initial microalgae capacity) 등 3가지 변수를 조정하며 실험을 수행하였다. 각 변수마다 실험계획법을 바탕으로 변수의 단계를 나누어 반복 실험을 진행하였다. 나누어진 각 변수의 실험 단계를 Table 3에 나타냈으며, 실험 계획법에 의한 직교 배열표를 Table 4에 나타냈다. 직교 배열법은 구하고자 하는 요인이 다른 요인에 의해 치우침을 받지 않고, 불필요한 교호작용을 구하지 않음으로써 실험 횟수를 적게 할 수 있다.

**Table 3 Level of parameters in batch LFNFU process**

Parameter	Microalgae concentration	Capacity	Output power
Unit	OD <sub>680</sub>	ml	Watt (Amp!%)
level (1)	1.2	200	33(40%)
level (2)	1.4	300	38(45%)
level (3)	1.6	500	42(50%)
level (4)	1.8	-	48(55%)
level (5)	2.0	-	54(60%)

**Table 4 Parametric orthogonal array table of the batch LFNFU process**

Experiment number	Microalgae concentration	Output power	Capacity
1	level (1)	level (5)	level (1)
2	level (2)	level (5)	level (1)
3	level (3)	level (5)	level (1)
4	level (4)	level (5)	level (1)
5	level (5)	level (5)	level (1)
6	level (2)	level (1)	level (1)
7	level (2)	level (2)	level (1)
8	level (2)	level (3)	level (1)
9	level (2)	level (4)	level (1)
10	level (2)	level (5)	level (2)
11	level (2)	level (5)	level (3)

### 3.3 세포 파쇄 효율 계산식

평판형 광생물반응기에서 회분 배양한 *Dunaliella salina*의 비집속 저주파 초음파처리 장치를 통한 세포 파쇄 효율 결과는 다음 식 (2)를 사용하여 계산하였다<sup>[12]</sup>.

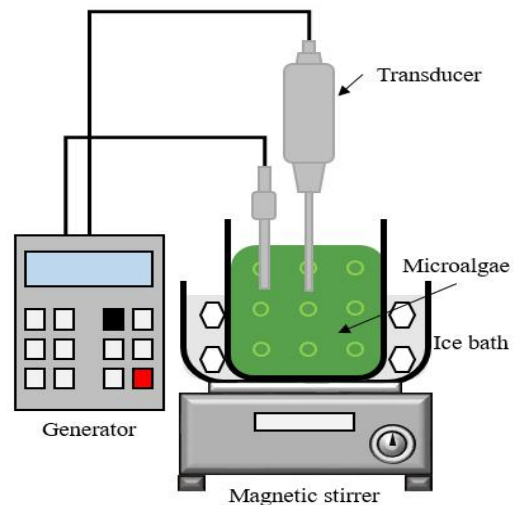
$$\eta = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} \times 100 (\%) \quad (2)$$

여기서,  $C_0$ 는 초기 균체 광학밀도이며,  $C_t$ 는  $t$ 분 동안 초음파 처리된 후의 균체의 광학밀도이다.

## 4. 회분저주파 처리실험 결과

### 4.1 초기 균체 광학밀도

미세조류 *Dunaliella salina*의 초기 균체 광학밀도에 따른 세포 파쇄 효율 변화에 대한 실험을 수행하였다. 초기 균체 광학밀도 이외의 실험조건은 출력파워 54watt, 초기균체용량 200ml이었으며, 시간에 따른 파쇄 효율 변화와 광학밀도 변화를 Fig. 3 과 Fig. 4에 각각 나타내었다.



**Fig. 2 Schematic diagram of batch low frequency non-focused ultrasound system**

첫 번째 실험 조건은 광학밀도 1.2의 조건에서 실험을 진행하였으며, 미세조류 성장 초기 단계에 해당한다. *Dunaliella salina*의 특성상 전분으로 구성된 얇은 세포벽을 가지고 있고, 해당 구간에서 덜 형성된 세포막을 가지고 있기 때문에 가장 빠른 시간 내에 90%이상의 파쇄 효율이 나타났다. 두 번째 조건인 광학밀도 1.4의 경우 세포의 분열과 성장이 본격적으로 증가하는 단계이다. 해당 구간에서 파쇄 효율은 첫 번째 조건보다 상대적으로 천천히 증가하였다. 세 번째 조건인 광학밀도 1.6은 세포의 분열과 성장이 점차 감소하는 단계로서 세포 간 인력이 증가하는 구간이다. 해당 구간에서 실험은 광학밀도 1.4의 경우와 유사하지만 좀 더 낮은 효율을 볼 수 있었다. 네 번째 조건인 광학밀도 1.8은 성장해오던 세포가 성장요소의 결핍으로 세포의 성장이 멈추고, 세포가 분열하는 만큼 사멸하는 단계이다. 해당 구간에서는 세포 간 인력이 강하고, 세포막이 상대적으로 두껍게 형성되어있기 때문에 해당 광학밀도에서 실험한 결과는 이전 실험들보다 확연히 낮은 효율을 볼 수 있었다. 마지막 조건인 광학밀도 2.0의 경우 분열하는 세포보다 사멸하는 세포가 더 많아지는 구간이다. 해당 구간에서는 세포 간 인력이 가장 강하게 작용하고, 두껍게 형성된 세포벽의 영향으로 다른 실험들과 비교하여 현저히 낮은 파쇄 효율을 볼 수 있었다.

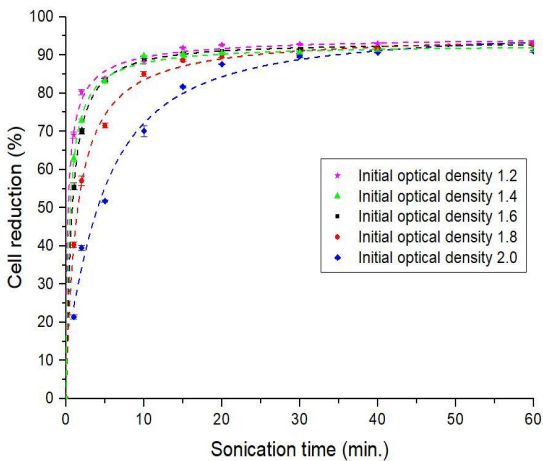


Fig. 3 Cell reduction according to microalgae initial optical density

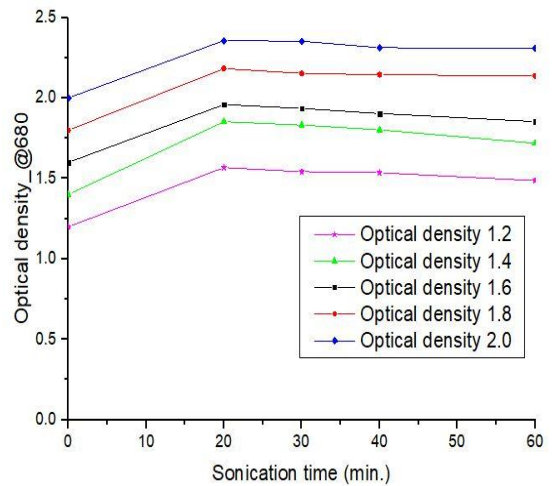


Fig. 4 Optical density according to sonication time for initial OD

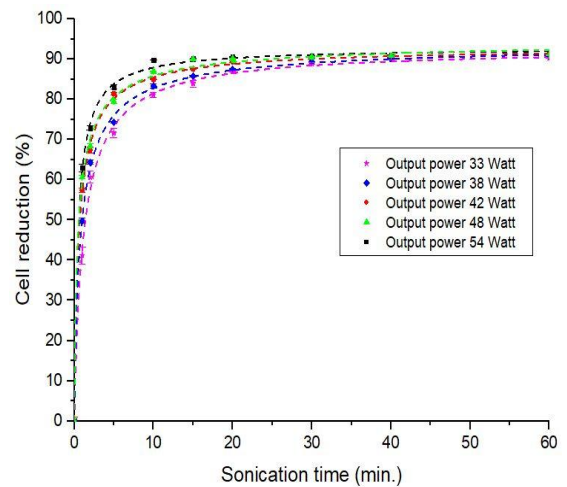


Fig. 5 Cell reduction according to output power

파쇄 시간에 따른 광학밀도 변화는 모든 실험 조건에서 처음 20분까지 증가하다가 서서히 감소하는 모습을 나타내었다. 이는 실험 초반 *Dunaliella salina*의 세포 내부에서 방출된 물질들에 기인하는 것으로 예측된다. 내부에서 방출된 물질들은 세포계수기(cell counter)에는 관찰되지 않았지만, 분광광도계에는 감지되어 나타난 결과로 보인다.

## 4.2 출력파워

회분저주파 처리장치의 출력파워값에 따른 파쇄 효율의 변화에 대한 실험을 수행하였다. 선행실험에서 효율이 가장 좋은 광학밀도 1.2는 상대적으로 성장이 부족하여 바이오 리파이너리에는 부적합하다고 판단하여, 광학밀도 1.4 근방의 샘플을 사용하였다. 출력파워는 총 5단계로 조정해가며 실험을 수행하였는데, 입력 진폭이 70%를 초과하게 되면 과부하가 발생하기 때문에 최대 입력 진폭을 60%로 제한하여 실험을 진행하였다. 시간에 따른 파쇄 효율 변화를 Fig. 5, 광학밀도 변화는 Fig. 6에 각각 나타내었다.

출력파워값에 따른 실험을 진행한 결과, 출력파워가 낮은 33, 38Watt에서는 실험 시작 후 약 15분 정도 후에 약 80%의 파쇄 효율이 나타났다. 42, 48Watt는 약 5분 정도에 80%의 파쇄 효율을 볼 수 있었다. 출력파워가 가장 높은 54Watt는 실험 시작 후 약 5분 정도에 80% 이상의 파쇄 효율이 나타났으며, 10분 전후로 90% 이상의 파쇄 효율을 볼 수 있었다.

광학밀도 변화는 모든 실험에서 유사하게 나타났다. 출력파워가 높을수록 20분에서 광학밀도가 낮게 나타났으며, 이는 *Dunaliella salina*의 세포가 빠르게 파쇄되면서 방출된 내부 물질들이 초음파에 영향을 더 빨리 받는 것으로 보인다.

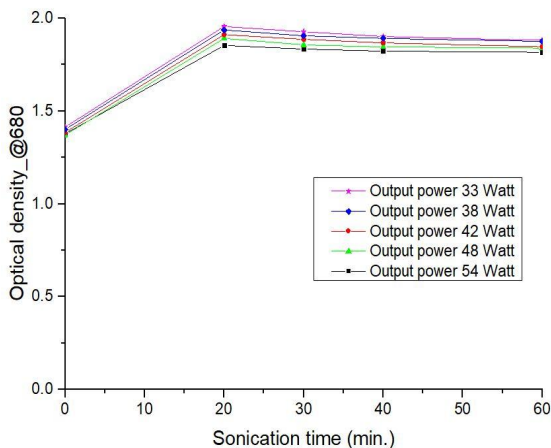


Fig. 6 Optical density according to sonication time for output power

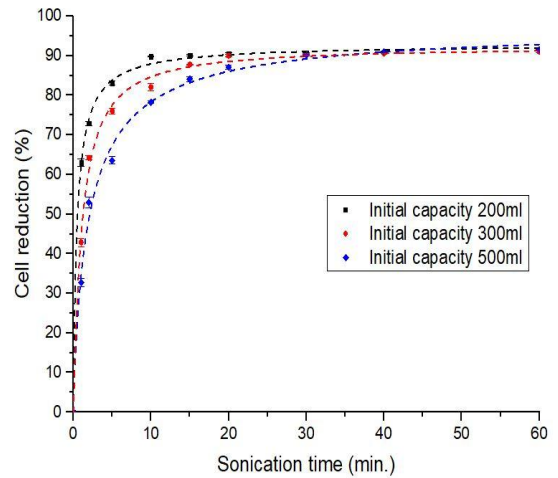


Fig. 7 Cell reduction according to initial capacity

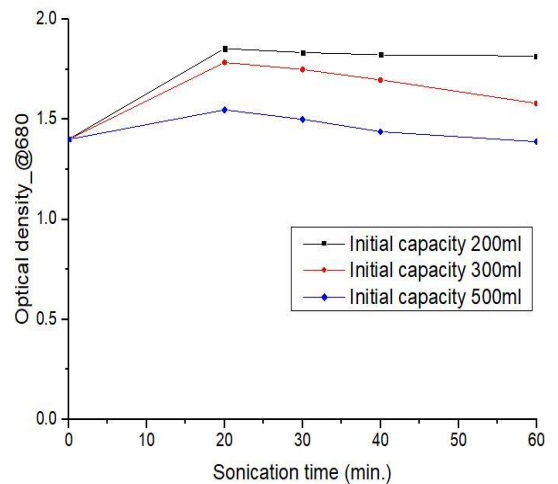
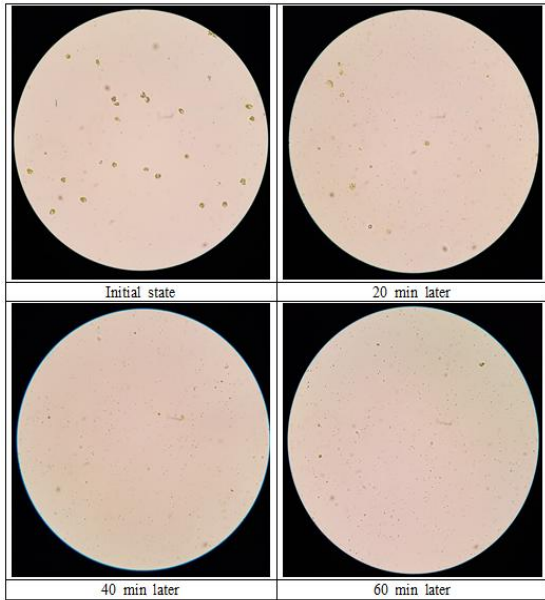


Fig. 8 Optical density according to sonication time for initial capacity

## 4.3 초기 균체 용량

지금까지 초기 균체 광학밀도와 장치의 출력파워값에 따른 세포 파쇄 효율에 대한 실험 결과를 기술하였다. 이에 대한 후속 실험으로 *Dunaliella salina*의 초기 균체 용량을 조절해가면서 세포 파쇄 효율 변화에 대해 조사하였다.



**Fig. 9 Photomicrograph of *Dunaliella salina* cell variation during batch LFNFU processing**

초음파처리장치에서 처리 할 수 있는 균체의 용량이 제한되어 있기 때문에 적절한 초기 균체 용량을 설정하였다. 선행실험의 최적 결과를 채택하여 초기 균체 광학밀도 1.4, 출력파워 54Watt를 실험 조건으로 설정하였으며, 총 3단계의 용량을 변수로 사용하여 실험을 진행하였다. 시간에 따른 파쇄 효율 변화를 Fig. 7, 광학밀도 변화는 Fig. 8에 각각 나타내었다.

Fig. 7에서 살펴볼 수 있는 것처럼, 초기 균체 용량을 조정해 가며 실험을 진행한 결과 가장 용량이 많은 500mL에서는 실험 시작 후 약 30분이 경과했을 때 90%에 근접하는 파쇄 효율을 볼 수 있었다. 두 번째로 많은 용량을 가진 300mL 조건에서는 실험 시작 후 약 20분 정도에 90%의 파쇄 효율이 나타났다. 마지막 가장 적은 용량인 200mL에서는 실험 시작 후 약 5분 정도에 80% 이상의 파쇄 효율을 볼 수 있었으며, 10분 이후에는 90% 이상의 세포 파쇄 효율이 나타났다. 200mL 조건에서 5분 만에 이미 80% 이상의 파쇄 효율이 나타났기 때문에 더 적은 용량의 실험은 진행하지 않았다. 90%의 파쇄 효율을 기준으로 했을 때, 200mL에서는

20.00mL/min, 300mL에서는 15.00mL/min, 500mL에서는 16.67mL/min의 효율이 각각 나타났으며, 초기 균체 용량이 적을수록 더 좋은 파쇄 효율이 나타나는 않았다.

처리 시간에 따른 광학밀도의 변화량은 선행실험들과 마찬가지로 증가하였다 감소하는 모습을 보이며, 용량이 클수록 더 높은 값으로 증가했다가 감소하는 모습이 나타났다.

초기 균체 광학밀도, 출력파워, 초기 균체 용량의 3가지 변수를 사용한 세포 파쇄 효율 측정실험 모두에서 실험시간 30분이 경과한 후에 약 80%이상의 파쇄 효율이 나타났으며, 실험종료 시 90%의 파쇄 효율을 볼 수 있었다.

Fig. 9는 최대 효율을 나타낸 Table 4 직교배열표의 No. 2 조건에서 실험한 결과를 시간에 따라 촬영한 현미경 사진이다.

## 5. 결론

각종 센서를 통해 환경 정밀제어가 가능한 평판형 광생물반응기에서 f/2 media를 사용하여 미세조류 *Dunaliella salina*를 회분배양하였다. 분광광도계를 이용하여 680nm파장에서의 광학밀도 측정을 통해 균체의 성장을 계속하였다. 측정된 데이터를 바탕으로 성장곡선을 작성하였고, 균체수확에 적용할 적정 균체 광학밀도를 선정하였다. 이후 균체를 연속 배양하였고, 적정 광학밀도에서 수확된 균체를 사용하여 회분저주파 처리장치를 통해 세포 파쇄 실험을 진행하였다. 본 논문에서는 초기 균체 광학밀도, 장치 출력파워, 초기 균체 용량 등 3가지 조건의 변수를 단계별로 조정하면서 최적 세포 파쇄 효율 조건을 결정하였다. 본 논문의 결론을 정리하면 다음과 같다.

1. 평판형 광생물반응기에서 배양된 균체 *Dunaliella salina*를 사용하여 초기 균체 광학밀도에 따른 회분저주파 처리실험을 수행하였다. 실험 결과 5가지 실험 조건 중에서 초기 균체 광학밀도가 낮을수록 높은 파쇄 효율이 나타났다. 최종 세포 파쇄 효율은 초기 광학밀도 1.2에서 가장 양호했으나 성장이 불안정한 구간에서의 세포막 파쇄 실험 결과는 바이오 리파이너리 관점에서 의미

가 떨어진다고 판단하여 다음으로 높은 파쇄 효율이 나타난 광학밀도 1.4를 채택하였다.

2. 회분저주파 처리장치의 출력파워를 변수로 설정하여 실험을 수행한 결과, 출력파워의 변화에 따라 뚜렷한 세포 파쇄 효율의 차이를 보였다. 출력파워가 증가할수록 세포 파쇄 효율이 향상했으며, 가장 낮은 33watt에서는 실험 시작 후 약 40분 전후로 90%의 효율이 나타났고, 가장 높은 54watt의 경우는 실험 시작 후 약 15분 전후로 90%의 파쇄 효율이 나타났다. 출력파워가 세포 파쇄 효율에 미치는 영향이 큰 것을 알 수 있었다.
3. 초기 균체 용량을 변수로 설정하여 실험을 수행한 결과 균체의 용량이 가장 적은 200mL에서 높은 효율이 나타났다.
4. 모든 실험 조건에서 균체 광학밀도 변화는 실험 시작 후 증가하는 추세를 보이다가 서서히 감소하는 모습이 나타났다. 이는 미세조류의 세포막이 파쇄되면서 세포 내부의 물질들이 방출되었고, 이 방출된 물질들은 초음파의 영향을 받아 나타난 현상으로 판단된다.

## 후 기

“이 논문은 2021년 한국연구재단의 이공학 개인기초 연구지원사업의 지원을 받아 수행되었음. (Grant No. 2018R1D1A1B07047810).”

## REFERENCES

1. Kim, G. H., Lee, D. W., Jeong, S. H., “Scale-up of Flat Panel Photobioreactor considering Hydrodynamics,” The Korea Society of Manufacturing Process Engineers, Vol. 17, No.1 pp. 48-56, 2018.
2. Kim, H. W., “Realization of microalgal growth by CO<sub>2</sub> and biofuel production plant construction by bioreactor,” Korea Institute of Plane Engineering and Construction, Vol. 13, No. 2, pp. 5-15, 2017.
3. Rahimi, M., Mohamadian, E., Dadari, S., Arbab, M. M., Karimi, N., “Application of high frequency ultrasound in different irradiation systems for photosynthesis pigment extraction from *Chlorella microalgae*,” Korean Journal of Chemical Engineering, Vol. 34, No. 4, pp. 1100-1108, 2017.
4. Bae, M. G., Choi, J. H., Park, J. R., Jeong, S. H., “Cell Disruption of Microalgae by Low-Frequency Non-Focused Ultrasound,” The Korea Society of Manufacturing Process Engineers, Vol. 19, No. 2, pp. 105-112, 2020.
5. Spengler, J. F., Coakley, W. T., and Christensen, K. T., “Microstreaming effects on particle concentration in an ultrasonic standing wave,” AIChE journal, Vol. 49, No. 11, pp. 2773-2782, 2003.
6. Gunerken, E., D’Hondt, E., Eppink, M. H. M., Garcia-Gonzalez, L., Elst, K. and Wijffels, R. H “Cell disruption for microalgae biorefineries,” Biotechnology Advances, Vol. 33, No. 2, pp. 243-260, 2015.
7. Mason, Timothy J., “Ultrasound in synthetic organic chemistry,” Chemical Society Reviews, Vol. 26, pp. 443-451, 1997.
8. Kim, J. H., Yoon, C. M. and Jeong, S. H., “On-off Control for Continuous Culture of Microalgae in Flat Panel Photobioreactor,” Journals of Korean Society of Manufacturing Technology Engineers, Vol. 25, No. 3, pp. 237-243, 2016.
9. Mytilinaios, I., Salih, M., Schofield, H. K., Lambert, R. J. W., “Growth curve prediction from optical density data,” International Journal of Food Microbiology, Vol. 154, No. 3, pp. 169-176, 2012.
10. Choi, J. H., "A Study on the Cell Membrane Disruption of Microalgae *Dunaliella salina* by Ultrasound Sonication," A Thesis for a Master's



degree, Chosun University, Republic of Korea, 2021.

11. Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., RIET, K. VAN 'T, "Modeling of the bacterial growth curve," Applied and environmental microbiology, Vol. 56, No. 6, pp. 1875-1881, 1990.
12. Jiang, Y. and Duan, Z., "Comparison of Four Quantitative Techniques for Monitoring Microalgae Disruption by Low-Frequency Ultrasound and Acoustic Energy Efficiency," Environmental Science & Technology, Vol. 52, No. 5, pp. 3295-3303, 2018.