

## 발효조의 냉각량 측정을 통한 유가배양제어

홍건표, 허 원

강원대학교 공과대학 환경·생물공학부

전화 (0361) 250-6276, FAX (0361) 243-6350

### Abstract

The cooling rate of a bioreactor was measured to estimate the heat generation by microbial cultivation production. The estimated heat production was calculated from the varying temperature of cooling water. It was used for monitoring growth and specific metabolic events for microbial cultivations. Metabolic heat measured was also adopted for a control parameter for fed-batch cultivations.

### 서론

미생물의 성장과정에서 항상 대사열이 발생하게된다. 이 이 대사열은 미생물이 유기물의 분해, 산소의 소비, 생산물 생산과 같은 여러 대사과정에서 발생한다(1). 또 대사열의 발생량 및 발생 속도는 대사 경로의 종류, 균체량 및 기질의 종류 및 그 소모 속도에 따라 다르며 대사열을 측정하면 미생물의 대사 상태 및 균체량, 이차 대사산물의 생산 등에 대한 정보를 얻을 수 있고 이를 이용하면 생물시스템의 공정변수로 사용할 수 있다. 하지만 대부분의 열량계는 화학반응에서 발생하는 열량을 측정하는 장치로 생물공정에 적용하기에는 부적합하다. 발효조에서 열량변화를 측정할 수 있는 열량계가 개발되고 있기는 하지만 호기성 배양, 오염, 지속적인 배양 등에 어려움이 있고 생산현장에 적용하기에는 열량측정장치의 복잡하고 비용이 많이 들기에 실험실 규모에서 주로 연구용으로 사용되고 있다(2). 생산현장에서는 미생물에 의해 발생하는 대사열이 많기 때문에 냉각장치에 많은 투자를 하고 있다. 발효조는 일정한 온도를 유지하기 위하여 미생물에 의한 발생하는 대사열에 해당하는 양만큼의 냉각을 해야한다. 이 냉각량을 측정한다면 대사열을 간접적으로 측정할 수 있다.

본 연구는 발효조에 공급되는 냉각수의 냉각량을 측정하여 항온으로 유지되는 발효조에서 미생물의 대사에 의하여 발생하는 대사열을 측정하고 이를 기반으로 유가 배양시 미생물의 성장 속도를 조절할 수 있는 장치를 개발하는데 목적이 있다. 특히 본 연구에 사용된 발효조를 실제로 산업적인 대용량 발효조와 같이 냉각수에 단속적인 공급에 의하여 온도조절이 되도록 개조하여 사용하였다. 이는 이와 같은 측정 방법 및 유가배양의 수단이 대규모의 생산용 발효조에 적용할 수 있다는 것을 의미한다.

### 재료 및 방법

발효조의 열량수지를 보면 발효조에 열을 공급해주는 부분은 히터가 발생시키는 열량( $Q_{heating}$ ), 교반에 의해 발생하는 열량( $Q_{agitation}$ ), 그리고 미생물이 성장하면서 발생하는 대사열( $Q_{met}$ )이 있다. 열을 잃어버리는 요인으로는 공기공급으로 발생하는 기화열 손실( $Q_{aeration}$ ), 외기 온도차에 의해 발생하는 열전달에 의한 열손실( $Q_{loss}$ ) 및 냉각수에 의한 열손실( $Q_{cooling}$ ) 등이 있다. 여기서 대사열의 관계식을 보면 다음과 같다.

$$Q_{met} = Q_{aeration} + Q_{loss} - Q_{agitation} - Q_{heating} - Q_{cooling}$$

반응기에 공급되는 총열량을 측정하고 냉각수의 유입과 유출사이의 온도 변화를 관찰하여 발효조의 열손실을 측정하였다. 발효조 온도 변화를 정밀하게 측정하기 위하여 발효조 내의 온도 측정외에 냉각수의 유입 부분과 유출부분에 백금 측온저항체(Pt-100)를 설치하여 R.T.C Converter를 이용하여 컴퓨터로 데이터를 전송하는 In-line 온도 센서를 제작하였다. 또 써미스터를 설치하여 발효조 외부의 온도측정을 하였다 (Figure 1). 온도센서로부터 측정되는 아날로그 신호는 컴퓨터 내부에 Data Acquisition Card (PCL-818L, Advantech USA)를 설치하여 디지털 신호로 전환하여 Data를 수집하였다. 수집된 데이터는 소프트웨어 개발 프로그램인 LabVIEW (National Instrumrnt, USA)를 이용하여 온라인 모니터링 및 데이터 분석이 가능한 프로그램을 제작하였다.

유가 배양시 발생하는 열량과의 관계를 조사하기 위하여 열량변화에 따른 기질공급방법을 달리 하며 측정하였다. 열량과의 관계를 분석하여 미생물 성장속도를 일정한 범위로 조절하는 프로그램을 제작하였다.

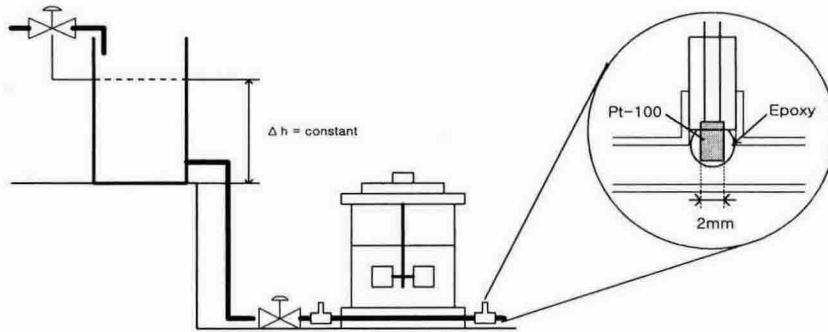


Figure 1. A schematic of cooling water supply and temperature measurement

## 결과 및 고찰

### 냉각량의 계산

발효조의 온도 조절을 위하여 냉각수가 단속적으로 공급될 때의 냉각수의 온도를 측정하여 도식화하였다 (Figure 2). 냉각수의 온도는 냉각수가 흐르고있는 동안은 온도센서의 응답속도와 주변의 판이 온도가 감소하여 지속적으로 감소하였고 이후 흐르지 않는 동안은 온도는 서서히 상승하였다. 따라서 손실된 열량을 여러 가지 방법으로 계산하고 발효조에 소형 가열체를 삽입하여 최적의 방법을 고안하였다. Table 1에는 냉각량의 측정을 위한 여러 가지 방법을 제안하였고 이중 냉각수가 흐를 때와 흐르지 않을 때의 냉각량을 분리하여 계산한 식을 이용하여 냉각량을 계산하였다. 이 방법은 냉각수의 유속이 일정하므로 냉각수가 흐르는 동안 유출입 지점의 온도차와 시간의 곱에 비례하는 항과 냉각 챔버내에 냉각수가 서서히 데워져서 냉각효율이 지속적으로 감소하는 항을 포함한다. 소형의 가열체를 발효조에 삽입하고 전압을 각각 30, 40, 50V씩 가하여 발생하는 열량을 냉각량으로 환산하였다.

Formula (Qc)	Drift	Remark
$\Sigma(u \cdot LMTD \cdot \Delta t_{on})$	$\pm 15 \%$	Heating : On/Off Cooling : constant record per second [A]
$\Sigma(u_1 \cdot LMTD_{on} \cdot \Delta t_{on} + u_2 \cdot LMTD_{off} \cdot \Delta t_{off})$		record per pulse
$\Sigma(u_1 \cdot LMTD_{on} \cdot \Delta t_{on} + u_2 \cdot \Delta t_{pulse})$		Heating : constant Cooling : On/Off
$\Sigma(u_1 \cdot \Delta T_{peak} \cdot \Delta t_{on} + u_2 \cdot \Delta t_{pulse})$	$\pm 16 \%$	$\Delta T_{peak}$ : temperature difference of cooling water [B]
$rC = \frac{\Delta t_{on}}{\Delta t_{pulse}} \cdot (T_f - T_i) + u_1 \cdot (1 - \frac{\Delta t_{on}}{\Delta t_{pulse}}) \cdot (T_f - T_i) + u_2 \cdot (T_o - T_i)$	$\pm 14 \%$	rC : relative rate of cooling [C]
$u_1 \cdot (T_o - T_i) \cdot \frac{\Delta t_{on}}{\Delta t_{pulse}} + u_2 \cdot (T_f - T_i) \cdot (1 - e^{-\Delta t_{on}/\tau})$	$\pm 11 \%$	[D]

Table 1. Various methods of cooling rate calculation

#### 유가배양

본 장치를 이용하여 냉각량을 측정하여 대장균의 회분배양시 공정 변수로 사용하여 기질의 공급을 제어할 수 있도록 장치를 구성하였다. 즉 지속적으로 대사열량을 측정하고 대사열량이  $0.2 \text{ hr}^{-1}$ 의 비성장속도로 증가하도록 배지의 공급을 제한하였다. 측정된 대사열이  $0.2 \text{ hr}^{-1}$  이상으로 증가하면 기질의 공급을 중단하고 그 이하로 감소하면 기질을 공급하였다. Figure 3.에서는 발생한 대사열과 균체량 및 배지의 공급양상을 나타내었다.

본 연구에서는 냉각량을 측정하여 유가 배양시 열량의 변화를 감지하고 기질의 일정시간 공급함으로 미생물의 성장속도를 일정하게 조절할 수 있었다. 정확한 열량의 측정에는 어려움이 있지만 유가 배양시에는 공정변수로 사용할 수 있음을 보였다.

기존에 대사열량을 측정하기 위해 사용 한 열량계에 비해 정밀도는 떨어지지만 고가의 열량계 없이 대사열을 측정할 수 있고 이를 이용한 유가 배양실험에서 보았듯이 생물 공정변수로 사용이 가능하였다. 유가배양에 있어서 기질공급에서 일정량을 공급하는 방식을 사용하였으나 실험결과에서 보이듯이 미생물의 대수성장기에서만 어느 정도 조절하기에 적합하였다. 하지만 대사열량과 공급량을 조절하게 된다면 대사열은 유가배양의

기질공급에 있어서 좋은 공정변수로 사용할 수 있을 것이다. 이를 온라인으로 공정 모니터링하여 발효공정관리에 사용된다면 공정 운용상에서 발생하는 각종 문제를 실시간으로 감지할 수 있으므로 발효공정의 운전 및 최적화에 유용할 것이다.

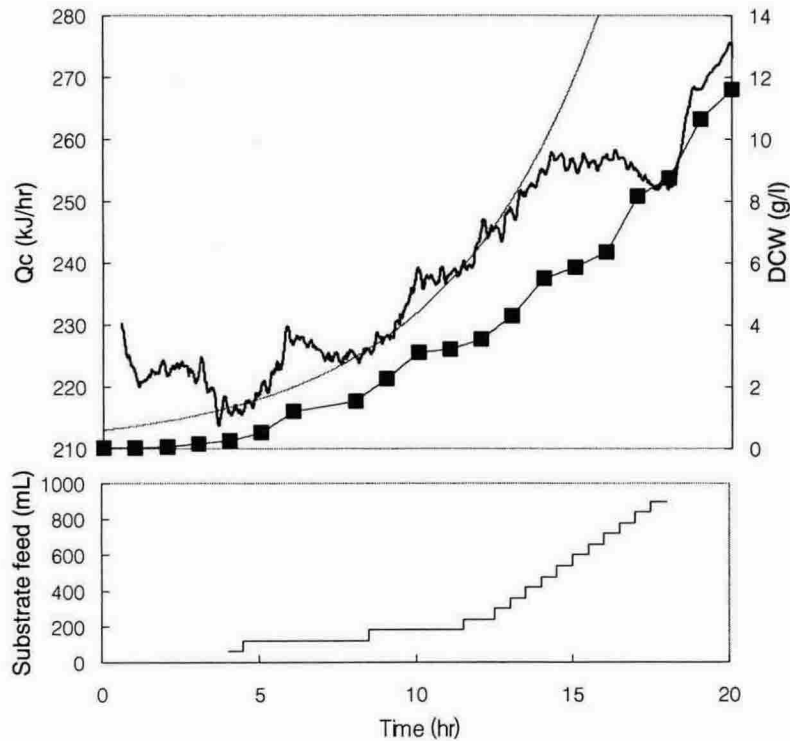


Figure 3. A programmed growth of *E.coli* based on metabolic heat measurement

### 참고문헌

1. Luong, J.H T. and B. Volesky (1983), Heat Evolution during the Microbial Process - Estimation, Measurement and Applications, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 29, 1-40
2. von Stockar, U. and I. W. Marison (1989), The Use of Calorimetry in Biotechnology, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 40. 93-136
3. Marison I. W. and U. von Stockar (1986), The Application of a Novel Heat Flux Calorimeter for Studying Growth of *Escherichia coli* W in Aerobic Batch Culture, *Biotechnol. Bioeng.* 28, 1780-1793.