

수소생산 고정화 생물 반응기의 특성(II) — 연속 반응기에서의 총괄 효율인자 —

이명재·선용호·한정우·조영일*

연세대학교 공과대학 화학공학과

Characteristics of the Bioreactors of Hydrogen-producing Immobilized Cells (II) —Overall Effectiveness Factor in Continuous Reactors—

Lee, Myung-Jae, Yong Ho Seon, Jeong Woo Han, and Yung-il Joe*

Department of Chemical Engineering, Yonsei University, Seoul 120-140, Korea

The effects of input substrate concentration and dilution rate on mass transfer resistance in the operation of immobilized cell reactors were investigated using *Rhodospirillum rubrum* KS-301 immobilized by Ca alginate as reactor element and glucose as growth-limiting substrate. The kinetic parameters were obtained to estimate effectiveness factors.

In the packed-bed reactor, internal mass transfer resistance was predominating although external resistance could not be neglected. The overall effectiveness factor was decreased with increase of dilution rate. In the continuous stirred-tank reactor, external resistance was nearly neglected and the overall effectiveness factor was not affected by dilution rate.

In this experiment the overall effectiveness factors in PBR and CSTR were estimated to be 0.70 and 0.77 at $D_i = 0.2/h$, $R = 0.15$ cm, and $S_i = 1.0$ g/L, respectively.

대체 에너지 자원의 하나가 되는 수소는 이른바 clean energy인 동시에 물질 자원으로서도 중요한 것이다. 멀지 않은 탈화석연료(脫化石燃料) 시대에 이 수소의 유망한 생산 방법으로는 근본적으로 태양에너지를 이용한 전기화학적 방법 및 생물화학적 방법을 들 수 있다(1-5).

생물화학적으로는 광합성 박테리아의 대사기능을 활용하는 방법이 주로 연구대상이 되고 있다(6-9). 이 경우 고정화 증식 미생물을 사용함으로써 안정한 상태에서의 장기적 연속 생산을 도모할 수 있지만, 고정화로 인한 물질전달 영향이 문제가 된다(11, 12). 따라서 이 물질전달 저항을 검토할 필요가 있다.

본 연구에서는, 고정화 증식 균체의 물질전달 특성을 해석하기 위한 기초 자료를 얻기 위하여, 전보(13)에 이어서, 충전층 및 교반 반응기에서의 기질

의 물질전달 영향을 검토하였다.

물질전달 모형

고정화 미생물 반응기에서 기질이 미생물에 의하여 대사되는 과정은 다음과 같은 단계로 이루어진다고 할 수 있다.

① 벌크 용액으로부터 비드 외부 액막을 통한 확산

② 고정화 담체 세공을 통한 확산

③ 미생물에 의한 기질 대사

④ 생성물의 담체 외부로의 확산

여기에서 단계 ③은 미생물의 고유 대사 단계로서, 담체 고정화 미생물의 경우 이 과정은 일반적으로 율속단계가 아님이 확인되었다(12). 따라서 총괄 반응속도에 영향을 미치는 것은 단계 ①, ②, ④로서, 이는 충전층 반응기, 교반 반응기 등 반응조각

Key words: Bioreactor, immobilized cell, hydrogen producing, *Rhodospirillum rubrum*, kinetic parameters, effectiveness factors

*Corresponding author

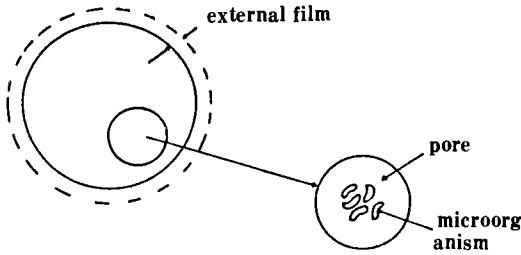


Fig. 1. Structure of a immobilized bead.

형태에 따라 다른 특성을 나타낸다.

Fig.1에 보인 비드에서, 외부 정체 액막을 통한 기질 전달속도는 다음 식으로 나타낼 수 있다.

$$N_s = k_m a_m (S_B - S_R) \quad [1]$$

고정화 균체의 경우 기질 소비속도가 Michaelis-Menten형에 따른다고 할 때 정상상태에서 다음 관계가 성립한다.

$$N_s = V_s = \frac{V'_{max} S_R}{K'_m + S_R} \quad [2]$$

여기에서 외부 효율인자를 다음과 같이 정의한다.

$$\eta_o = \frac{\text{외부 액막 저항이 있을 때의 반응속도}}{\text{외부 액막 저항이 없을 때의 반응속도}} \quad [3]$$

따라서

$$\eta_o = \frac{V'_{max} S_R / (K'_m + S_R)}{V'_{max} S_B / (K'_m + S_B)} \quad [4]$$

식 [1] 및 [2]의 관계로부터 속도변수와 물질전달계수를 알면 S_R 값을 구할 수 있으며, 이를 이용하여 식 [4]에서 η_o 를 평가할 수 있다. 충전층 반응기인 경우 물질전달계수는 McCune-Wilhelm 모델 (21)에 의하여 다음과 같이 구할 수 있다.

$$k_{ma} = AG^{0.5} \quad [5]$$

비드 외부의 액막을 통과한 기질이 미생물과 접촉하려면 비드 내부로 확산되어야 한다. 고정화 담체 비드 안에서의 글루코오스의 유효 확산계수는 비정상상태법 (14)으로 구할 수 있다. 즉, 글루코오스 용액중에서 비드가 충분히 교반될 때 시간에 따른 글루코오스의 농도 변화는 다음과 같다.

$$\frac{S(t)}{S_i} = \frac{\alpha}{1+\alpha} \left\{ 1 + \frac{6(1+\alpha)e^{-D_s q^2 t / R^2}}{9+9\alpha+q^2 a^2} \right\} \quad [6]$$

여기에서

$$\alpha = \frac{3V}{4IR^3 n}, \quad \tan q = \frac{3q}{3+\alpha q}$$

따라서 식 [6]에서, $\ln\{S(t)/S_i\}$ 와 $q^2 t / R^2$ 의 관계로부터 유효 확산계수를 평가할 수 있다.

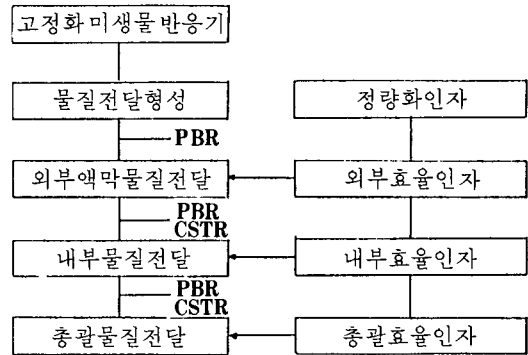


Fig. 2. Relationship between mass transfer effect and effectiveness factor.

한편 내부 확산 영향의 정도를 나타내기 위하여 내부 효율인자를 다음과 같이 정의한다.

$$\eta_i = \frac{\text{내부 물질전달 저항이 있을 때의 반응속도}}{\text{내부 물질전달 저항이 없을 때의 반응속도}} \quad [7]$$

이 내부 효율인자는 다음과 같이 나타낼 수 있다 [3].

$$\eta_i = 3/m_A \quad [8]$$

여기에서

$$m_A = R\sqrt{V'_{max}/2D_s} \cdot S_R / (K'_m + S_R) \cdot (S_R - K'_m \ln(1 + S_R/K'_m))^{-0.5}$$

고정화 미생물 연속 반응기에서는 비드 외부 액막 확산과 내부 확산이 순차적으로 일어나게 된다. 그러나 연속 교반 반응기에서는 교반속도 400 rpm 이상에서는 일반적으로 외부 확산의 영향을 무시할 수 있으나 (13), 충전층 반응기일 때에는 이 두가지 물질전달 저항을 동시에 고려하여야 한다. 총괄 효율인자 η_t 는 다음과 같이 나타낸다.

$$\eta_t = \frac{\text{물질전달 저항이 있을 때의 반응속도}}{\text{물질전달 저항이 없을 때의 반응속도}} \quad [9]$$

한편 비드 표면의 곡면을 무시하고 반응이 1차일 경우, 정상상태에서 다음 관계가 있다.

$$D_s d^2 S / dr^2 - S = 0 \quad [10]$$

이때 경계조건은 다음과 같다.

$$dS/dr = 0 \quad (r=0 \text{ 일 때})$$

정상상태에서는 비드 표면에서의 물질전달속도와 비드 내부로의 확산속도가 같으므로,

$$D_s dS/dr |_{r=R} = k_{ma} (S_B - S_R) \quad [11]$$

따라서 총괄 효율인자는 다음 식으로 나타낼 수 있다.

$$\eta_i = \tanh \Phi / \Phi \{1 + (\Phi \tanh \Phi) / Bi\} \quad [12]$$

여기에서

$$Bi = k_m a_m R / D_s, \quad \Phi = R (V'_{max} / D_s K'_m)^{0.5}$$

이상의 물질전달 현상을 총괄하여 Fig. 2와 같이 나타낼 수 있다.

반응속도

고정화 비드 충전층 반응기에서의 반응속도는 전보(2)에서 제시하였는데, 이 관계는 다음과 같다.

$$X S_i = K'_m \ln(1 - X) + V'_{m_a} / D_i \quad [13]$$

이 식을 이용하여 실험자료로부터 속도식 변수를 평가할 수 있다. 연속 교반 탱크 반응기인 경우에는 교반속도 400 rpm 이상에서 외부 물질전달 저항을 무시할 수 있으므로(13), 반응속도와 기질농도를 변수로하여 Lineweaver-Burk plot으로 속도식 변수들을 구할 수 있다(16).

재료 및 방법

균 주

이 실험에서는 *Rhodospirillum rubrum* KS-301을 사용하였는데, 균주의 보관 및 배양은 전보(2)에서와 같다.

물질전달 실험

고정화 비드의 물질전달 실험장치는 Fig. 3에 보인 것과 같이 지름 5 cm, 높이 12 cm인 원통형 유리 용

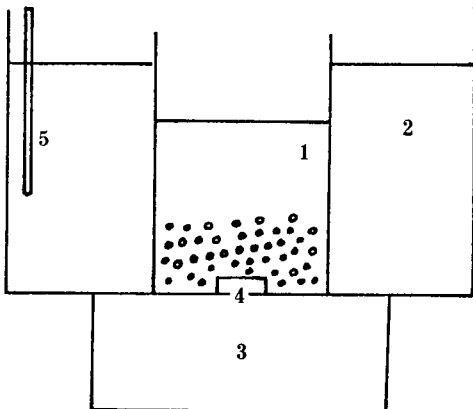


Fig. 3. Schematic diagram of apparatus for diffusion measurement.

- 1. Reactor
- 2. Water bath
- 3. Magnetic stirrer
- 4. Spin bar
- 5. Thermometer

기를 사용하였다. Ca alginate 법으로 *R. rubrum*을 고정화한 것을 사용하였는데(17), 비드의 평균 지름은 0.3 cm이었다. 클루코오스 초기 농도는 50~300 g/L로 변화시켰으며, 장치는 항온조 안에서 30°C로 유지하였다.

회분 실험장치

회분 반응기로는 부피 1.5L(단면적 12 cm×5.6 cm, 조사 넓이 12 cm×15 cm)인 유리 용기를 사용하였다. 배양액에는 아르곤 가스를 통과시켜서 혐기성이 되게 하였으며, 30°C로 유지하면서 자석 교반기로 혼합하였다. 광 조사 강도는 12000 Lux로 하였다(18).

Table 1. Operating condition of the packed bed reactor

Item	Quantity
Reactor	
Diameter (cm)	3.0
Height (cm)	11.2
Total volume (cm ³)	55.6
Working volume (cm ³)	52.3
Volume fraction of bead	0.82
Flow rate (mL/h)	11.1-56.5
Inlet glucose concentration (g/L)	0.5-5
Reaction pH	7.0
Reactor temperature (°C)	30
Illumination (Lux)	12000
Reactor pressure (atm)	1.0

Table 2. Operating condition of the continuous stirred tank reactor

Item	Quantity
Reactor	
Diameter (cm)	4.5
Height (cm)	7.0
Total volume (cm ³)	111.3
Working volume (cm ³)	96.2
Volume fraction of bead	0.43
Flow rate (mL/h)	19.2-98.1
Inlet glucose concentration (g/L)	0.5-5
Reaction pH	7.0
Reactor temperature(°C)	30
Illumination (Lux)	12000
Reactor pressure (atm)	1.0

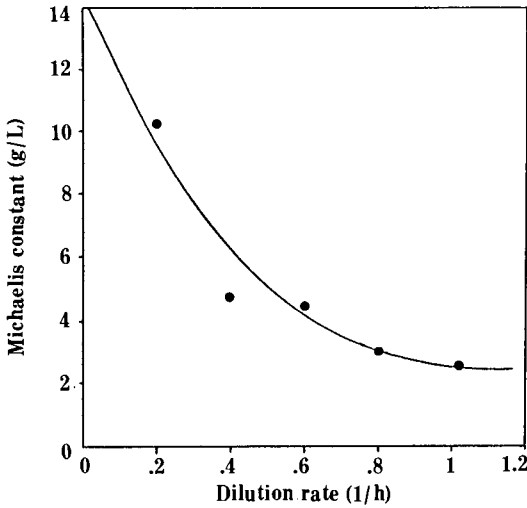


Fig. 4. Variation of Michaelis constant with dilution rate in PBR.

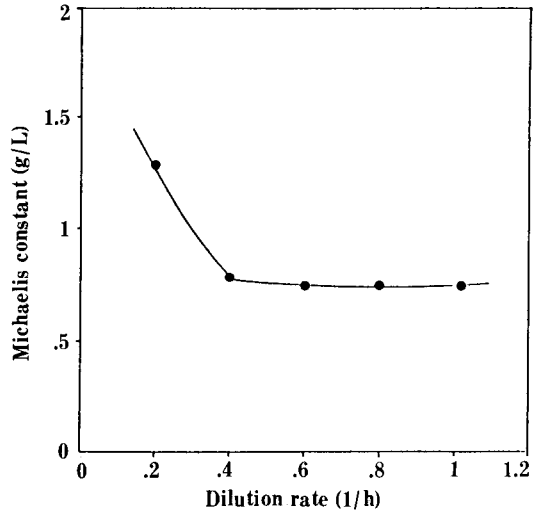


Fig. 6. Variation of Michaelis constant with dilution rate in CSTR.

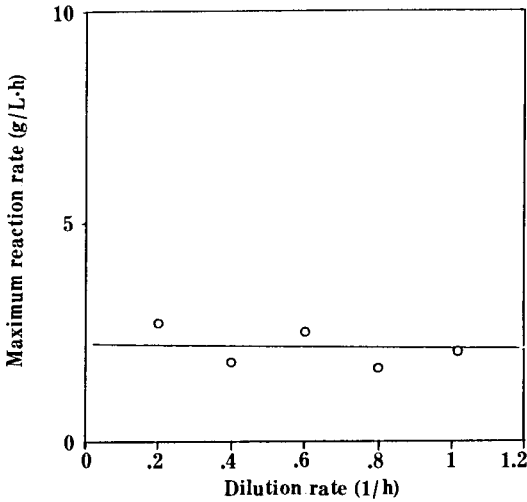


Fig. 5. Variation of maximum reaction rate with dilution rate in PBR.

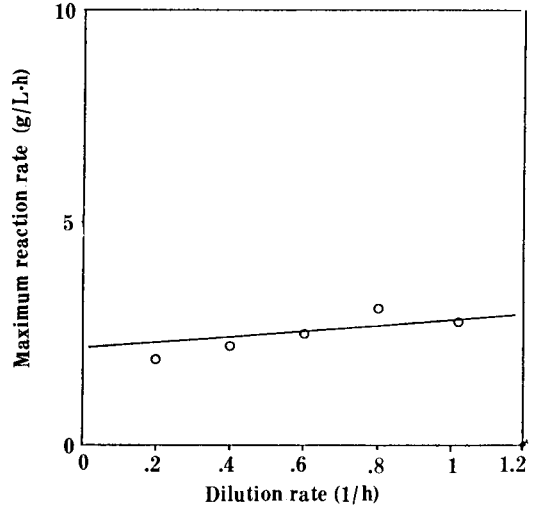


Fig. 7. Variation of maximum reaction rate with dilution rate in CSTR.

연속 실험장치

연속 실험에서는 충전층 반응기와 연속 교반 탱크 반응기를 사용하였는데, 개략도는 전보(2, 13)에서와 같으며, 조작조건은 Table 1과 Table 2에 각각 나타내었다.

분 석

글루코오스 농도는 DNS 법을 사용하여 파장 575 nm에서 OD를 측정하고 검량선을 이용하여 환산하였다(19). 유리 균체량 역시 분광 광도계에서 파장 660 nm의 OD를 측정하여 환산하였다(20).

결과 및 고찰

반응속도식 변수

고정화 미생물 연속 반응기에서의 속도식 변수를 고찰하기 위하여, 충전층 및 교반 반응기에서 실험한 결과를 Fig. 4, 5 및 6, 7에 나타내었다. 여기에서 도입 글루코오스 농도를 0.5, 1.0, 3.0, 5.0g/L로 변화시켰으며, Michaelis-Menten 식의 적분형과 Lineweaver-Burk plot으로 속도식 변수를 구한 것이다.

Fig. 4에서 보면, 충전층 반응기에서의 겉보기 K_m

은 회석속도의 증가에 따라 감소하는데, 이는 회석속도의 증가에 따른 유속의 증가에 의하여 액막 두께가 감소하여 물질전달 저항이 감소하는 경향을 나타내는 것이라 할 수 있다.

반면에 교반 반응기에서는, Fig. 6에서 보는 바와 같이, 겉보기 K_m 값이 회석속도의 변화에 관계없이 거의 일정한 값을 보였는데, 이는 임계 교반속도 이상에서는 외부 액막의 영향이 무시되어 유리 균체의 고유값에 접근함을 나타낸다고 볼 수 있다.

한편, 겉보기 V_{max} 값은 두가지 반응기에서 모두 회석속도의 변화에 관계없이 일정함을 볼 수 있는데, 이는 고정화 미생물에 의한 기질 소비 특성이 안정된 값을 가짐을 의미한다. 즉 V_{max} 값은 반응

기 조작에서 회석속도나 교반속도에는 영향을 받지 않는다.

외부 효율인자

회석속도의 영향 : 충전층 반응기의 경우 회석속도를 변화시키면서 실험한 결과로부터 외부 효율인자를 평가하여 Fig. 8에 나타내었다. 이때 외부 효율인자는 회석속도의 증가에 따라 증가하지만, 회석속도 1.02/h인 때에는 거의 1에 접근한다. 이는 회석속도의 증가에 따라 외부 액막에서의 확산 저항이 감소함을 나타낸다. 이 실험의 경우, 외부 효율인자의

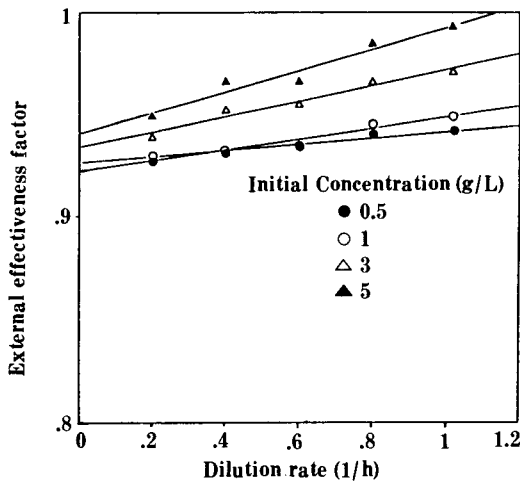


Fig. 8. Effect of dilution rate on external effectiveness factor.

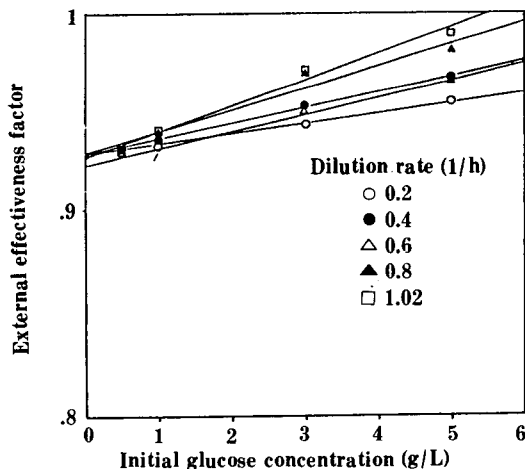


Fig. 9. Effect of initial concentration on external effectiveness factor.

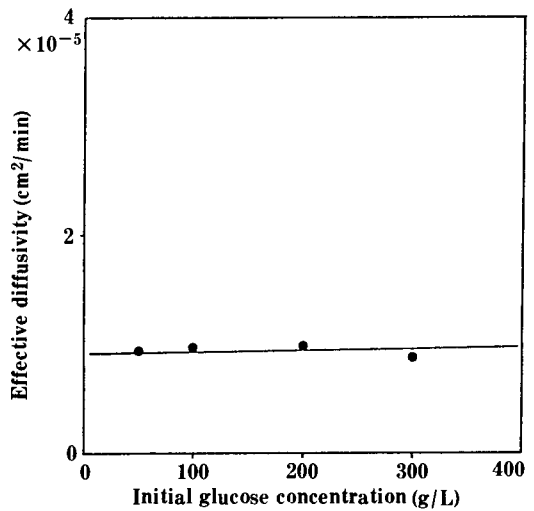


Fig. 10. Effective diffusivity variation with initial glucose concentration.

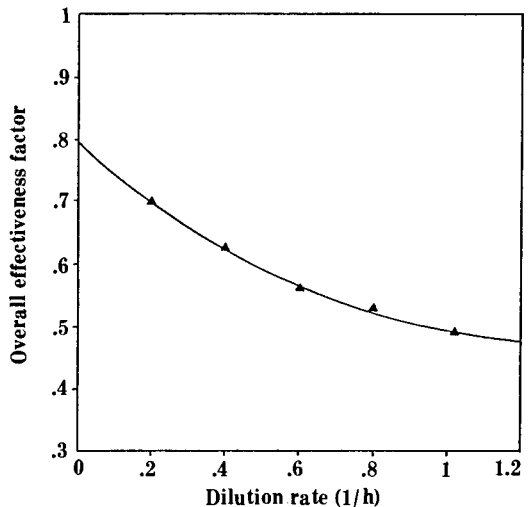


Fig. 11. Effect of dilution rate on overall effectiveness factor in PBR.

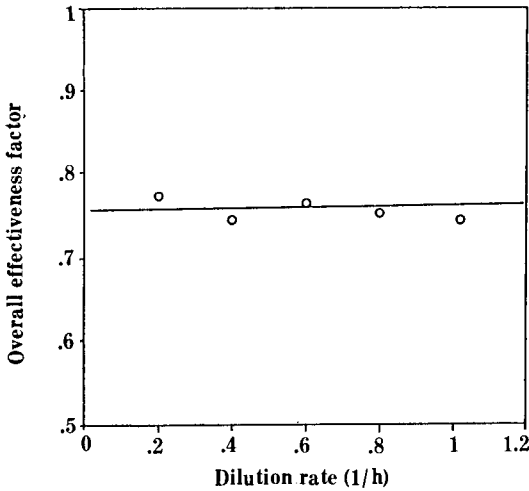


Fig. 12. Effect of dilution rate on overall effectiveness factor in CSTR.

변화 범위는 0.93~0.98 정도이었다.

Kobayashi 등(11)은 외부 효율인자가 0.95 이상 일 때에는 외부 액막 물질전달 저항은 총괄 반응속도에 영향을 미치지 않지만, 0.6 이하에서는 그 영향이 현저하다고 보고하였다. 이 실험에서는 외부 효율인자가 회석속도가 아주 작은 경우를 제외하고는 거의 0.95 이상이었다.

글루코오스 도입 농도의 영향 : 충전층 반응기에서 회석속도가 일정할 때 글루코오스 도입 농도를 변화시켜서 실험한 결과로부터 구한 외부 효율인자를 Fig. 9에 나타내었다.

그림에서 보는 바와 같이, 외부 효율인자는 도입 글루코오스 농도의 증가에 따라 증가하였는데, 이 실험에서는 0.93~0.97범위의 값을 나타내었다. 따라서 충전층 반응기에서 외부 액막 물질전달 저항은 도입 글루코오스 농도의 변화에 큰 영향을 받지 않았다.

그러나 반응 효율을 높이기 위하여서는 어느 정도까지는 회석속도와 글루코오스 도입 농도를 증가시키는 것이 좋을 것임을 알 수 있다.

Ca alginate 비드의 유효 확산계수

물질전달 실험장치에서, 글루코오스 초기 농도를 각각 50, 100, 200, 300g/L로 변화시킨 용액에 Ca alginate 비드를 넣고, 글루코오스 농도 변화를 측정 한 결과와 식 [6]의 관계에서 유효 확산계수를 구하여 나타내면 Fig. 10과 같다. 여기에서, 유효 확산계수는 글루코오스의 초기 농도에 따라 다소 달라지지만 이 실험의 해석에서는 평균값 $9.40 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/$

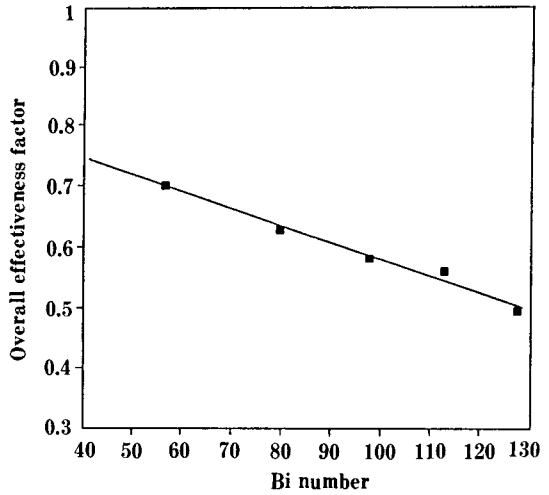


Fig. 13. Variation of overall effectiveness factor with Bi number in PBR.

min을 사용하였다.

총괄 효율인자

비드의 지름 0.30 cm, 글루코오스 초기 농도 10g/L이었을 때 회석속도를 변화시켜 실험한 결과로부터 구한 총괄 효율인자를 나타내면 Fig. 11, 12와 같다. Bi수에 따른 효율인자는 Fig. 13에 나타내었다.

연속 교반 탱크 반응기의 경우, 외부 액막 물질전달 영향을 무시할 수 있었으므로, 총괄 효율인자는 내부 효율인자에서 구하였는데, 회석속도에 따라 0.73~0.77의 범위로서, 거의 일정한 값을 나타내었다. 이는 교반이 충분한 경우에는 비드와 기질의 접촉이 충분히 이루어짐을 의미한다.

그러나 충전층 반응기의 경우에는, 회석속도가 커질수록 비드층 높이에 따른 기질의 농도 구배가 형성되며, 동시에 체류시간이 짧아져서 비드와 기질 용액이 충분히 접촉하지 못하여, 회석속도의 증가에 따라 총괄 효율인자는 감소하는 경향을 보인다.

요 약

본 연구는 균주로 *Rhodospirillum rubrum* KS-301, 증식 제한 기질로 글루코오스, 고정화 담체로 Ca alginate를 사용한 고정화 생물 반응기를 조작할 때 담체에 의해 형성되는 물질전달 저항에 대한 도입 기질의 농도, 회석속도의 영향을 고찰하였다. 또한 효율인자를 평가하기 위해 속도식 변수를 구하였다. 충전층 반응기의 경우 외부 액막 물질전달 저항보다는 내부 물질전달 저항이 우세함을 알 수 있

었고 총괄 효율인자는 회석속도의 증가에 따라 감소하였다. 연속 교반 탱크 반응기의 경우 외부 액막 물질전달 저항은 무시할 수 있으며 총괄 효율인자는 회석속도에 영향을 받지 않았다. 회석속도 0.2/h, 비드 반경 0.15 cm, 초기 글루코오스 농도 1.0g/L의 실험조건에서 총괄 효율인자는 충전층 반응기와 연속 교반 반응기에서 각각 0.70과 0.77이었다.

사 사

이 연구는 1986년도 한국과학재단의 연구비 지원에 의하여 수행된 것으로서, 당 재단에 감사드립니다. 또한 균주를 제공하여 주신 성균관대학교 이현순 교수님께 감사드립니다.

사용기호

A	: constant in eq.(5)[21]
a_m	: specific external surface area of bead [cm ² /cm ³]
Bi	: Bi number = $k_m a_m R/D_s$
CSTR	: continuous stirred tank reactor
D_i	: dilution rate [1/h]
d_p	: bead diameter [cm]
D_s	: effective diffusivity [cm ² /min]
G	: mass velocity of substrate [g/cm ² -s]
k_m	: mass transfer coefficient [cm/s]
K_m	: Michaelis constant in PBR [g/L]
K'_m	: Michaelis constant in CSTR [g/L]
m_A	: modified Thiele modulus
n	: number of beads
N_s	: flux due to diffusion
PBR	: packed bed reactor
R	: bead radius [cm]
r	: distance from center of Ca alginate bead [cm]
S_b	: substrate concentration in bulk solution [g/L]
S_R	: substrate concentration at bead surface [g/L]
S_i	: input substrate concentration [g/L]
S_o	: output substrate concentration [g/L]
S(t)	: substrate concentration at time t [g/L]
V	: volume of glucose solution [cm ³]
V_{max}	: maximum reaction rate in PBR [g/L-h]
V'_{max}	: maximum reaction rate in CSTR [g/L-h]
V_s	: reaction rate [g/L-h]
X	: overall conversion in the packed bed

Greek Letters

α	: solution volume/bead volume
----------	-------------------------------

η_i	: internal effectiveness factor
η_o	: external effectiveness factor
η_t	: overall effectiveness factor
Φ	: Thiele modulus

참고문헌

1. 박돈희, 조영일: 화학공업과 기술, **1**(2), 13 (1984).
2. 조영일, 선용호: 산업미생물학회지, **13**(3), 303 (1985).
3. 조영일, 강호철, 선용호: 산업기술연구소 논문집, **18**(2), 191 (1986).
4. Pimental, D.: *Solar Energy*, **30**(1), 1 (1983).
5. Zajic, J.E., N. Kosaric, and J.D. Brosseau: "Advances in Biochemical Engineering", vol. 9, p. 57, Springer-Verlag (1978).
6. Kim, J.S., K. Ito, and H. Takahashi: *J. Ferment. Technol.*, **59**(3), 185 (1981).
7. Mitsui, A., Y. Ohta, J. Frank, S. Kumazawa, and C. Hill: "Alternative Energy Sources II", vol. 8, p.3483 (1980).
8. Aiba, S.: *Adv. in Biochem. Eng.*, **23**, 85 (1982).
9. Weaver, P.E., S. Lien, and M. Seibert: *Solar Energy*, **24**, 3 (1980).
10. Kim, B.G., and C. Y. Choi: *Kor. J. Chem. Eng.*, **1**, 13 (1984).
11. Kobayashi, T., and K.J. Laidler: *Biotech. Bioeng.*, **16**, 77 (1974).
12. Boersma, J.G., K. Vellenga, H.G.J. De Wilt, and G.E.H. Joosten: *Biotech. Bioeng.*, **21**, 1711 (1979).
13. 선용호, 백남준, 조영일: 한국생물공학회지, **1**(2), 25 (1987).
14. Tanaka, H., M. Matsumura, and I.A. Veiky: *Biotech. Bioeng.*, **26**, 53 (1984).
15. Bischoff, K.B.: *AICHE J.*, **11**, 351 (1965).
16. Toda, K., and M. Shoda: *Biotech. Bioeng.*, **17**, 481 (1975).
17. Brosseau, J.D., and J.E. Zajic: *Adv. in Biotechnol.*, **2**, 281 (1981).
18. Ormerod, J.G., K.S. Ormerod, and A. Gest: *Arch. Biochem. Biophys.*, **94**, 449 (1961).
19. Miller, G.L.: *Anal. Chem.*, **31**(3), 426 (1959).
20. Herbert, D., P.J. Phipps, and R.E. Strange: "Method in Microbiology", p.209, Academic Press (1971).
21. McCune, L.K., and R.H. Wilhelm: *Ind. Eng. Chem.*, **41**(6), 1124 (1949).

(Received October 14, 1988)