

생물공정에 流動層 反應器의 利用

한국과학기술연구원 유전공학센터 생물화학공정 연구실장

朴 英 薰



1. 서 론

화학반응기에서의 流動化 現象은 오래 전부터 알려져 있으나 流動層(fluidized-bed)의 개념이 학문적으로 정립되기 시작한 것은 1920년대 이후이다. 그 후 觸媒工業 분야에서 반응기질과의 높은 접촉빈도 및 혼합효과로 그 産業的 利用技術이 확립되었으며, 石油化學工業, 에너지 공업 등으로 活用 영역이 급속히 넓어지고 있다. 또한 coating 또는 造粒의 용도로 製藥工業에서 활발히 이용되고 있음을 물론 최근에는 새로운 생물반응기로서의 용도로도 개발되고 있다. 특히 生物反應器로서의 이용은 폐수처리시스템에서 활발히 연구되어 왔으며(1), 최근에는 미생물 발효에 의한 1차 대사산물(2) 및 2차 대사산물의 생산(3, 4)에까지 그 응용범위를 확장하고 있다. 이 경우 미생물의 증식 특성상 호기성 발효일 때에는 酸素의 供給이 필수적이므로 액체 基質과 微生物, 空氣의 三相이 混在하는 液-固-氣의 三相流動層 시스템이 된다. 이같은 三相流動層 시스템을 有用物質 생산을 위한 生物反應器로 이용하는데 있어서는 다음과 같은 利點이 있을 수 있다.

- 1) 균체 增殖率 向上
- 2) 基質 利用度 向上
- 3) 反應器의 물질전달 向上
- 4) 反應液(또는 培養液)의 점도 저하에 따른 運轉容易性 向上
- 5) 菌體와 培養液의 分離性 向上
- 6) 工程 生産性 向上

이상과 같은 장점들도 불구하고 流動層 反應器는 실제적인 大規模 裝置의 運轉에 있어서 增殖調節 및 반응기 制御性能에 있어 stirred tank reactor(攪拌槽 反應器)보다 불리하여 産業的 應用에 제한을

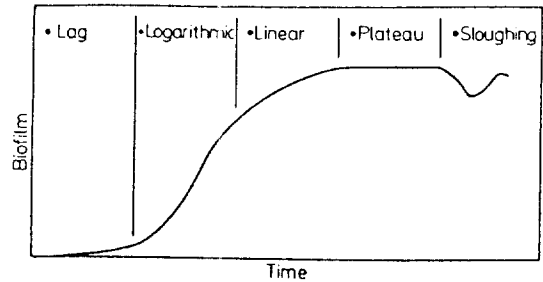


Fig. 1. Biofilm development on the surface of inert media.

받고 있다. 그러나 이 분야에 있어 기초학문적 연구는 물론 scale-up 연구가 활발히 이루어지고 있어 앞으로 유동층 반응기의 산업적 이용이 급속히 이루어지게 될 것으로 기대된다.

본 고에서는 抗生物質 생산을 위한 실험실 규모의 流動層 反應器 이용 예를 중심으로 이 반응기 시스템의 生物工程에의 活用 可能性을 살펴보고자 한다.

2. 固定化 增殖微生物의 개발

유동층 생물반응기의 운전을 위해서 미생물의 固定化는 필수적이며, 사용하는 미생물의 특성에 따른 효율적인 고정화 방법의 개발은 매우 중요하다.

固體表面의 存在에 따른 미생물 力價의 向上 現象은 1930년대 Zobell 등(5)에 의해 보고된 바 있으며 이들은 낮은 基質濃度하에서 고체표면에 미생물막(microbial film)의 형성은 미생물 자체의 증식 및 生存에 필수적인 현상임을 밝혔다. 고체표면에서의 미생물막의 형성 및 증식 패턴은 Fig.1과 같이 요약할 수 있다. 여기서 보는 바와 같이 일반적인 미생물 증식 패턴과 유사하나, 정체기(plateau)에서

의 상황은 미생물막의 경우 외부기질의 존재에도 불구하고 내부에 존재하는 미생물의 사멸로 인한 것이며 sloughing 단계에서는 미생물막의 고체표면으로부터의 脫離가 뚜렷해지는 것을 의미한다. 또한 미생물막의 증식 초기의 lag phase를 단축시키기 위해서는 고정 担體에 미리 微生物을 흡착, 증식시킨 “微生物 粒子(bioparticle)”를 반응기에 공급하여 주므로써 가능한데, 페니실린 등(3, 6)의 항생물질 생산을 위한 시스템에서는 이같은 bioparticle의 사용이 필수적이라 할 수 있다. Fig. 2는 celite에 흡착시킨 *Penicillium chrysogenum*의 포자를 발아시켜 형성한 bioparticle이다.

반응기의 운전기간 동안 bioparticle의 안정된 유지는 반응기 자체의 안정된 조업을 위해 반드시 필요한 요건이 되므로 발효 시스템과 사용 미생물의 특성에 따른 안정된 bioparticle의 확보 방법을 강구하여야 한다.

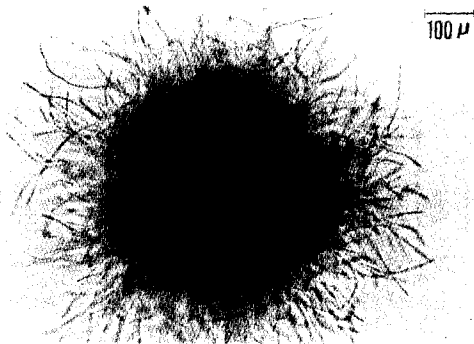


Fig. 2. A bioparticle of *P. chrysogenum* developed in the shake flask culture.

페니실린 생산을 위한 *P. chrysogenum*의 bioparticle의 경우 영양 배지의 조성을 바꿈으로써 안정된 형태를 확보하게된 예이다. 즉 rich medium 및 질소원 제한 배지에서의 bioparticle은 Fig. 3의 A에서와 같이 fluffy-loose 형태로서 유동층 반응기의 조업도중 서로 엉기는 bulking 현상을 초래하게 되어 반응기 운전 자체가 어려워지는 결과가 되나, 배지 조성을 인산염 제한(phosphate-limiting)조건으로 바꾸어 주었을 경우에는 Fig. 3(B)에서와 같이 smooth-compact 형태를 띄게 된다. 이 경우 앞서서와 같은 bulking 현상이 없이 장시간의 유동층 반응기 조업이 가능하게 된다.

그러나 cephalosporin C의 생산을 위한 유동층 반응기의 경우(4) 사용 균주인 *Cephalosporium acremonium*의 生態學的 分化(morphological differentiation)로 인하여 이같은 영양배지 조성의 변화만으로는 안정된 bioparticle을 확보할 수가 없었다.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 *C. acremonium*의 경우에는 slender hyphale →swollen hyphae →swollen fragment →arthrospore →conidia의 분화과정에서 따라 bioparticle상의 균체막이 급속히 감소, 배양액중에 떠다니는 자유균체(주로 hyphal fragment)의 양이 급속히 증가하게 된다. 필자 등(4, 7)의 연구 결과로는 실제 CPC의 생산에 있어 이같은 자유균체의 기여도가 극히 낮으며 따라서 bioparticle상의 균체량을 가능한한 많이 장기간 유지토록 하는 방법을 강구할 필요가 있었다. 이러한 시도의 일환으로 CPC 생산에 있어 조절제(regulator)로 알려진 methionine의 첨가 등을 시도하였으나 실제 biopati-

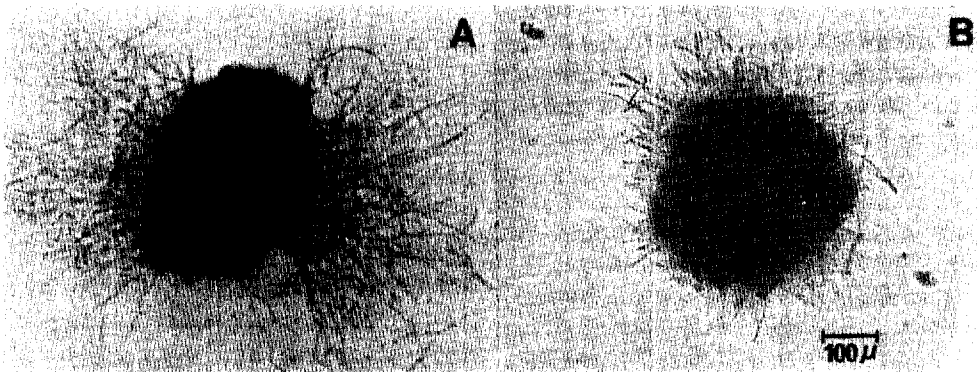


Fig. 3. Photomicrographs of bioparticles of *P. chrysogenum* developed under (A) nitrogen-limited condition and (B) phosphate-condition.

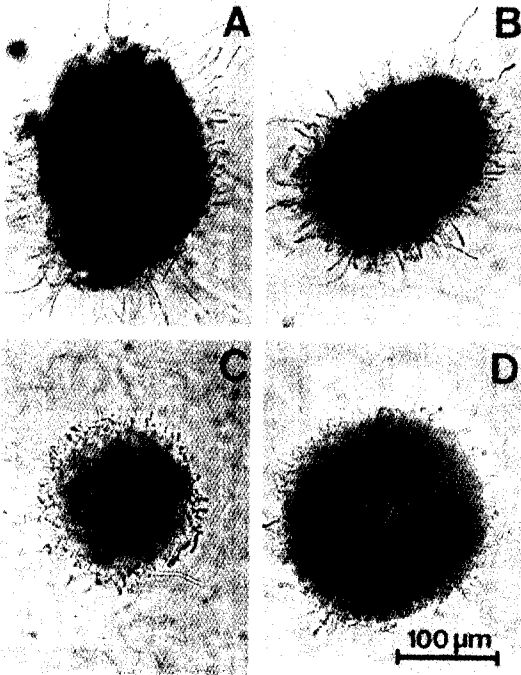


Fig. 4. Photomicrographs of bioparticles in the culture broth of the fluidized-bed bioreactor with time, (A) after 24h, (B) 48h, (C) 72h, (D) 96h.

cle의 안정도에는 큰 효과가 없었다(4).

3. 流動層 反應器의 운전

流動層 反應器의 운전 및 操作에 있어서 중요한 parameter들은 固體量, 固體중속도, 기질소모속도, 생산목적물의 농도 등이며, 경우에 따라 다르겠지만 반응기의 最適化를 위한 目的 函數은 일반적으로 體積生産性(volumetric productivity)이다. 이들 변수들 중에서도 반응기의 운전 상황을 파악하는데 가장 중요한 인자가 固體量이나 실제로 固體量의 직접적이며 정확한 측정은 쉬운 일이 아니어서 주로 간접추정에 의지하게 된다. 기질소모량으로부터 총 固體의 양은 yield coefficient, $Y_{X/S}$ 를 이용, 계산 固體量 및 미생물막 두께(biofilm thickness) 등의 추정은 Model식으로부터 컴퓨터 에 의한 계산으로부터 가능하다.

즉,

$$x = \rho(1 - \epsilon[1 - (\frac{r_m}{r_p})^3]) = \frac{\rho V_m}{A H_B} [(\frac{r_p}{r})^3 - 1]$$

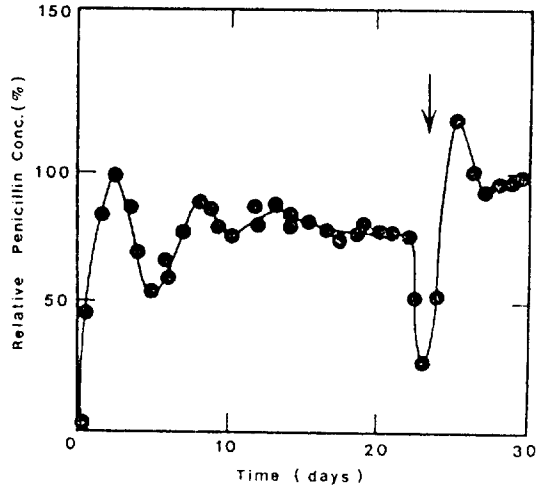


Fig. 5. A time course of penicillin production in the fluidized-bed bioreactor for a prolonged period. The arrow indicates an extra addition of phosphate source at a concentration of 50 mg KH_2PO_4/L for 3 days.

여기서 X =cell mass concentration, ML^{-3}

V_m =volume of the solid support, L^3

A =cross sectional area of the reactor, L^2

H_B =expanded bed height, L

ρ =biofilm density, ML^{-3}

r_p =bioparticle radius, L

r_m =radius of the solid support particle, L

ϵ =bed porosity

위 식을 이용하여 적절한 biofilm thickness, δ 의 가장치를 도입, iteration 방법에 의해 계산된 H_B 와 실측 H_B 가 일치될 때의 부착固體量 X 와 biofilm thickness δ 등을 추정할 수 있는 것이다. 물론 이같은 추정치는 반응기 운전 상태의 진단에 필요한 제한적 정보만을 제공할 뿐이나 보다 경험적 model의 개발에 따라서는 직접적 制御 목적으로도 활용될 수 있을 것이며 앞에서 언급한 바 있는 대규모 장치에서의 制御性能의 改善도 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

Fig. 5는 페니실린 생산용 유동층 반응기를 인산염 제한조건하에서 운전하였을 때 한달 이상 안정적으로 조업할 수 있었음을 보여주고 있다(3).

4. 결 론

유동층 반응기는 기존의 교반조 및 충전층형 반응기에 비해 보다 개선된 接觸 樣態를 제공하므로써 반응기의 生産性을 획기적으로 높일 수 있는 새로운 생물반응기로서의 潛在力을 보유하고 있다. 원래 생물학적 폐수처리를 위한 용도로서 응용되었으나 최근에는 미생물의 1차 및 2차 대사산물 생산에도 효율적으로 사용되고 있다. 현재로는 영국의 ICI에 의한 SCP 생산용 기저식 반응기를 제외하고는 산업적 규모로 운전되고 있는 예는 아직 없으나 앞으로 적절한 반응기 制御기술이 확보되면 scale-up 연구도 활발히 이루어질 수 있으리라 판단된다. 이를 위해서는 사용 미생물의 특성에 부합하는 적절한 고정화 방법이 개발되어야 하며 이를 안정적으로 사용, 운전할 수 있는 방법의 개발도 뒤따라야 할 것이다.

참고문헌

1. Shieh, W.K., Keenan J.D., in *Adv. Biochem. Eng.*

Biotechnol., Springer-Verlag, new York. Vol.33, pp.131-169(1986).

2. Dempsey, M.J., Black, G.M. and Atkinson, B., in process *Eng. Aspects of Immobilized Cell Systems*, C. Webb et al.(Eds), pp.246-252, Institution of Chemical Enginevs, Rugby, U.K.(1986).

3. Kim, J.H., Oh, D.K., Park, S.K., Rak, Y.H. and Wallis, D.A. *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 1838-1844 (1986).

4. Park, Y.H., Kim, E.Y., Seo, W.T., Jung, K.H. and Yoo, Y.J., *J. Ferment. Bioeng.*, **67**(6), 409-414 (1989).

5. Zobell, C.E. and Allen, E.C., *J. Bacteriol.*, **29**, 239 (1935).

6. Gbewonyo, K. and Wang, D.I.C., *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 967(1983).

7. Kim, E.Y., Yoo, Y.J. and Park, Y.H., *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **17**(6), 611(1989).