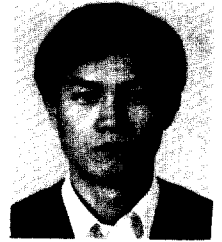


# Scale-Up의 원리와 응용



KIST 유전공학센터 선임연구원 김 익 환

## 1. 서 론

발효공업이 발달되면서 발효조의 scale-up에 대한 문제는 꾸준히 연구되어져 왔다. 이 scale-up은 미생물 뿐만 아니라 최근에는 동물이나 식물 그리고 곤충세포의 대량배양을 위해서도 계속적으로 연구되고 있는 분야이다. 수많은 생물반응기가 개발되었고 또 개발 중에 있는데, 각 반응기에 대한 scale-up의 방법은 서로 상이할 수 있기 때문에 본 고에서는 현재 산업계에서 가장 많이 사용되고 있는 전통적인 교반조 발효기에 대한 scale-up의 원리와 응용을 다루고자 한다.

실험실에서 얻어진 개량균주들을 이용하여 산업적으로 유용한 물질들을 생산하기 위하여는 그 물질의 수요량에 비례하여 발효조의 규모가 커지게 된다. 물론 작은 규모의 발효조 여러대를 사용해도 생산이 가능하겠지만, 그렇게 되면 인건비나 시설비 등이 너무 많이 소요되므로 비경제적이다. 발효조의 크기가 증가해 갈 때 고려해야 하는 문제로는

- 일정량 이상의 산소전달속도 유지
- 반응기내의 shear stress 조절
- 적당한 배양액의 교반
- 효과적인 온도조절

등이 있다. 이 중에서도 미생물발효시에는 산소전달속도의 유지가 가장 큰 문제이며 동물이나 식물 세포의 배양에 있어서는 반응기내의 shear stress가 가장 큰 문제로 대두되고 있다. 큰 규모의 발효조를 설계할 때는 배양액의 교반이나 효과적인 온도조절도 중요하다. 배양액의 교반이 잘 이루어지지 않으면 반응기내에 'dead zone'이 생겨서 영양분이나 또는 발효산물의 'localization'이 일어나기 때문에 생산성이 떨어지기 쉽다. 또한 큰 발효조에서는 발효시

발생되는 발효열을 효과적으로 제거시켜주는 것이 어려우며 특히 한여름과 같이 냉각수의 온도가 높을 경우에는 발효온도가 올라가기 때문에 생산성이 감소되는 경우를 가끔 볼 수 있다.

실험실 규모의 발효조에서 좋은 결과를 얻었을 때 그 결과를 10톤 또는 100톤 정도의 큰 규모 발효조로 scale-up시키기 위하여 발효조의 모양을 닭은꼴 형태를 유지하여 설계하게 되면 산소전달속도가 현저히 감소하며 발효열의 냉각도 어려워지므로 온도조절이 힘들게 되며 반응기내의 shear stress도 달라지게 되어 발효생산성이 떨어지게 된다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 발효조의 규모에 따라서 설계를 달리해야 한다.

## 2. 발효조에서의 산소전달

혐기적 발효를 제외하고는 미생물 성장이나 대사에 필수적인 영양원의 하나인 산소를 효과적으로 공급하기 위해서는 발효조내에 공기나 또는 산소가 섞인 기체를 불어넣고 적당한 속도로 교반시켜 주어야 한다. 이 때 용존산소의 전달속도(O.T.R.; Oxygen transfer rate)는 다음식과 같이 표현될 수 있다.

$$O.T.R = k_L a (C^* - C) \quad (1)$$

여기에서  $k_L a$ 는 총괄산소전달계수이며  $C^*$ 는 용존산소의 포화농도이고  $C$ 는 발효액내의 실제 용존산소농도이다. 대부분의 발효계에서는 미생물이 왕성하게 성장할 때의 산소소비속도가 매우 크기 때문에 배양액내의 산소농도는 거의 O(Zero)에 가깝게 되며 따라서 이때의 미생물 성장속도는 산소전달속도에 좌우 된다.

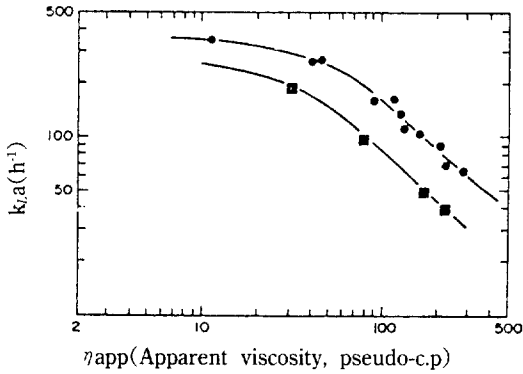


Fig. 1. Effect of apparent viscosity ( $\eta_{app}$ ) on the oxygen mass transfer coefficient ( $k_L a$ ) in penicillin fermentation.

산소전달속도를 증대시키는 방법으로는 첫째로  $k_L$  (물질전달계수)과  $a$ (기체방울들의 전표면적/발효액 부피)를 증가시켜야 한다. 이를 위해서는 교반속도를 올려 주어야 하며 기체공급시 기체방울크기를 최대한 작게 공급하도록 하며 또한 기체공급속도를 증가시켜 주어야 한다. 두번째 방법으로는  $C^*$  즉 포화용존산소 농도를 증가시켜 주는 것인데 이를 위해서 발효조내의 압력을 올리거나 또는 기체의 산소비율을 높이기도 한다.

총괄산소전달계수인  $k_L a$ 는 발효조의 설계 및 scale-up에 있어서 가장 중요한 변수인데, 특히 항생제 발효와 같은 균사체 배양이나 생체고분자물질의 발효와 같이 배양액의 점도가 현저히 증가하는 경우에는 산소전달의 문제가 더욱 중요하다(그림 1) (1). 발효조에서의  $k_L a$ 에 영향을 미치는 인자들은 다음과 같다.

$$-P_g/V, V_s, \eta_{app}, N_i,$$

여기서  $P_g/V$ 는 교반시 단위부피당 소비되는 동력,  $V_s$ 는 통기속도,  $\eta_{app}$ 는 배양액의 점도, 그리고  $N_i$ 는 발효조내의 교반기 갯수를 가리킨다. 지금까지 보고된 경험식들에 의하면 큰 규모의 발효조에서의 총괄산소전달계수는 다음과 같이 표현될 수 있다.

$$k_L a_{\infty} (P_g/V)^{\alpha} (V_s)^{\beta} (\eta_{app})^{\gamma} (a + bN_i) \quad (2)$$

여기서  $\alpha, \beta, \gamma, a$  및  $b$ 는 각각 상수로서  $k_L a$  측정방법 및 발효조의 크기에 따라 달라질 수 있다. 즉 발효조의 크기에 따라서  $\alpha$ 와  $\beta$ 는 다음과 같이

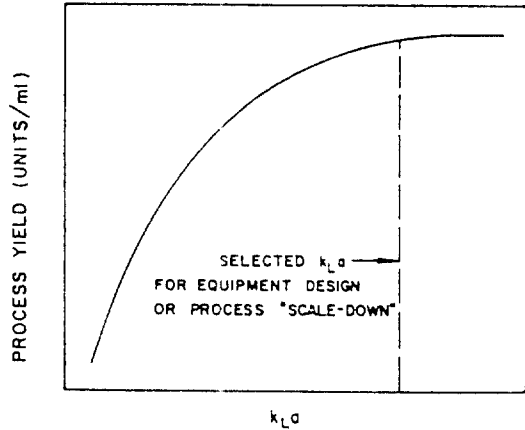


Fig. 2. Selection of  $k_L a$  for optimal process scale-up.

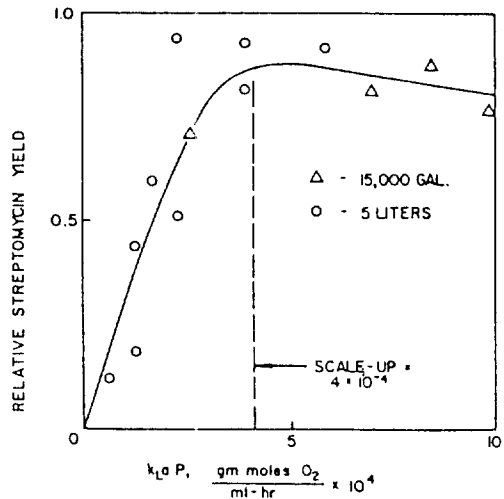


Fig. 3. Scale-up of streptomycin fermentation by  $k_L a$  method. (From E.O. Karrow et al., 1953)(4).

바뀔 수 있다(2).

발효조	50 l	500 l	50,000 l
$\alpha$	0.95	0.6-0.7	0.4-0.5
$\beta$	0.667	0.667	0.50

$\gamma$ 의 값은 실험적으로  $-0.8 \sim 1.0$  그리고  $a$ 와  $b$ 는 각각 2.0과 0.8로 보고되었다(3).

단순히  $k_L a$ 만을 기준하여 작은 규모 발효조의 결과를 scale-up하기 위해서는 다음과 같은 순서를 따르면 된다.

- 1) 그림 2~4와 같이 소규모 발효조를 운전할 때

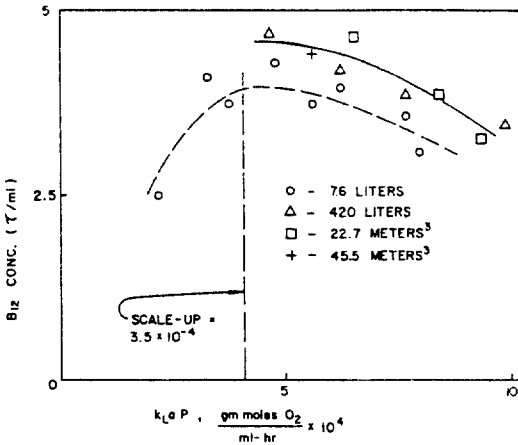


Fig. 4. Scale-up of vitamin B<sub>12</sub> fermentation by  $k_L a$  method. (From W.H.Bartholomew, 1960) (2).

최적의 생산성을 보이는  $k_L a$ 를 선택한다.

2) 식 (2)와 같은 관계식, 즉  $k_L a$ 와 통기속도, 교반속도, 발효조크기 사이의 관계식을 확립한다. 이때 가능하면 실제의 배양액이나 또는 배양액과 유사한 액으로 실험한 관계식을 얻는 것이 바람직하다.

3) 위에서 얻어진 관계식으로부터 적당한 교반기의 크기, 통기속도, 교반속도 등을 결정한다.

### 3. Shear Stress(전단응력)

발효조내의 산소공급이 원활할 경우에도 전단응력이 너무 작을 때는 불완전한 교반이나 또는 물질전달의 제한으로인하여 발효생산성이 떨어지게 된다. 한편 전단응력이 너무 클 경우에도 세포들이 손상을 입게 되어 발효수율이 떨어질 수 있다. 그림 3과 4에서  $k_L a$ 가 너무 클 때 오히려 발효수율이 줄어든 원인 중의 하나는 발효조내의 전단응력이 너무 컸기 때문이라 할 수 있다. 특히 동식물이나 또는 곤충세포의 배양시 전단응력은 매우 중요한 요소이다. 이 전단응력을 정확히 측정하는 것은 매우 어려우므로 교반기의 말단속도 (tip speed)(5), Integrated Shear Factor(I.S.F)(6), 혹은  $P_g/V$ (단위 부피당 통기동력량) 등으로 대체하여 발효조의 scale-up에 이용하여 왔다.

예를 들면 1940년대 이전에는 알콜발효, 젖산발효,

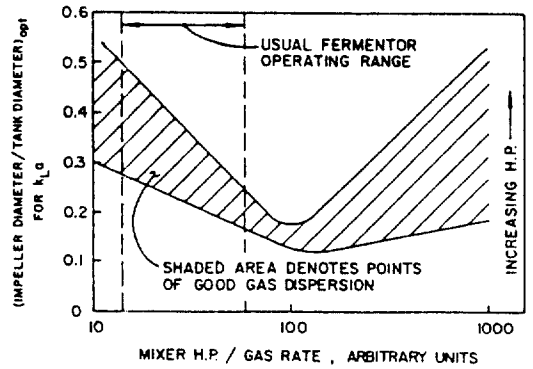


Fig. 5. Range of  $D/T$  option for nongeometric scale-up. (From J. Oldshue, 1966)(7).

또는 용매발효와 같은 혐기적 발효공정이 주를 이루고 있었으므로 산소전달속도를 기준한 scale-up을 고려할 필요가 없어서 단지 교반과 발효열 냉각을 목적으로 단위부피당 동력량을 기준하여 scale-up을 하였다. 즉 강한 교반시에는

$$P_o \propto N^3 D_i^5 \tag{3}$$

$$P_o/V \propto N^3 D_i^2 \tag{4}$$

이므로 발효조의 크기가 커지면 교반기의 회전수를 다음과 같이 조절하였다.

$$N_L = N_S (D_{is}/D_{iL})^{2/3} \tag{5}$$

여기에서  $P_o$ 는 동력소모량,  $V$ 는 배양액 부피,  $N$ 는 교반기의 회전수,  $D_i$ 는 교반기의 지름, 그리고  $S$ 와  $L$ 는 각각 작은 규모와 큰 규모의 발효조를 가리킨다.

한편 Oldshue(7)는 항생제발효나 고분자물질 생산을 위한 발효시에는 교반기의 말단속도와 산소전달 속도가 중요하므로 scale-up시에 그림 5와 같이 발효조의 기하학적 형태 즉  $D_i/D_T$ 를 변화시키면서 scale-up을 해야 한다고 제안하였다. 여기에서  $D_i$ 와  $D_T$ 는 각각 교반기와 발효조의 직경을 가리킨다. 일반적으로 단위체적당 동력의 소비량이 클수록  $D_i/D_T$ 는 감소시켜야 하며 교반기의 말단속도는 250-500 cm/sec. 그리고  $D_i/D_T$ 의 비율은 0.25-0.4 정도 범위내에서 조절하는 것이 보통이다.

최근에는 세포에 영향을 미치는 효과적인 전단응력의 index로서 Kolmogoroff eddy scale(8)이나 Reynolds shear stress 또는 average shear rate(9)

등을 사용하는 것이 바람직하다는 실험결과들이 보고되고 있다. 즉

$$l = \frac{\eta^{3/4}}{\rho^{1/2}} \left( \frac{P}{V} \right)^{1/4} \quad (6)$$

$$\tau_{Re} = 2 \rho \left( \frac{Pdc}{V\rho} \right)^{2/3} \quad (7)$$

$$\gamma_{avg} = \left( \frac{P}{V\eta} \right)^{1/2} \quad (8)$$

여기에서  $l$ 은 Kolmogoroff eddy scale,  $\eta$ 은 배양액의 점도,  $\rho$ 은 배양액의 밀도,  $P$ 는 동력소모량,  $V$ 는 배양액의 부피,  $\tau_{Re}$ 는 Reynolds shear stress dc는 세포의 평균직경,  $\rho_{avg}$ 는 average shear rate를 각각 나타낸다. 식 (6)-(8)의 세 가지 shear indexes는 전단응력에 매우 민감한 동물세포를 가지고 실험하여 전단응력의 지표로서 매우 효과가 있는 것으로 밝혀졌기 때문에 앞으로 scale-up에 관한 연구에서 중점적으로 이용될 것으로 예상된다.

식 (6)-(8)은 기존의 교반식 발효조 뿐만 아니라 기포탑 발효조(Bubble column)나 또는 Air-lift reactor의 전단응력을 계산하는 데에도 이용할 수가 있기 때문에 여러가지 다른 형태의 발효조의 scale-up에도 사용될 수 있다.

산소전달속도 및 전단응력을 기준하여 기존의 발효조 뿐만 아니라 계속적으로 개발되고 있는 liquid suspension culture를 위한 생물반응기를 설계하고 scale-up할 때의 기본방향을 요약하면 다음과 같다.

1) 작은 규모의 발효조에서 최대생산성을 얻을 수 있는  $k_La$ 와 전단응력의 범위를 실험적으로 확립한다.

2) 목표로 하는 큰 규모 발효조의 크기를 예상

판매량 및 생산수율을 고려하여 설정한다.

3) 대규모 발효조의 기본골격을 설정한다(예를 들면 발효조의 높이와 직경, 교반기 크기 등).

4) 통기속도와 교반기의 호전수를 임의로 설정한다.

5) 식 (2)를 이용하여  $k_La$ 를 계산한다.

6) 식 (6)-(8)을 이용하여 전단응력을 계산한다.

7) 계산된  $k_La$ 와 전단응력이 1)에서 실험적으로 얻어진 최적치 범위에 드는지 확인한다.

8) 실험치와 계산치가 맞으면 O.K, 맞지 않을 경우는 3)의 설계를 바꾸어 가며 4)-7)을 반복한다.

### 참고문헌

1. Ryu, D.D.Y. and Humphrey, A.E., *J. Ferment. Technol.*, **50**, 424(1972).
2. Bartholemew, W.H.(1960)., *Adv. Appl. Microbiol.*, **2**, 289(1960).
3. Fukuda, H., Sumino, Y, and Kansaki, S.A., *J. Ferment. Technol.*, **46**, 829(1968).
4. Karrow, E.O. Bartholomew, W.H. and Sfat, M.R. *Ag.Food. Chem.* **1**, 302(1953).
5. Midler, Jr.M. and Finn, R.K., *Biotechnol, Bioeng.* **8**, 71-84(1966).
6. Sinskey, A.J., Fleishaker, R.F., Tyo, M.A., Giard, D.J. and wang, D.I.C., *Annal. N.Y. Acad. Sci.*, **81**, 47(1981).
7. Oldshue, J., *Biotechnol. Bioeng.*, **89**, 3(1966).
8. Croughan, M.S and Wang, D.I.C. *Biotechnol. Bioeng.* (1989).
9. Kim, I.H., Shear Characterization and protection in the design and scale-up of hybridoma cell culture reactors, Ph.D. Thesis, Rutgers The State universty of New Jersey (1990).