

—총설—

미생물 배양 시스템에서의 산소 전달

최 동 원

경민전문대학 식품영양과

Oxygen Transfer in Microbial System

Dong-Won Choi

Dept. of Food and Nutrition, Kyung Min Junior College, Uijunboo 480-103, Korea

Abstract

Some method was introduced to explain oxygen transfer from broth to cell during aerobic microbe cultivation. It is explained by 5 steps that how dissolved oxygen can reach to cell. Among these steps film resistance was the most important factor to describe oxygen transfer. Lumped model and distributed model was introduced to explain oxygen diffusion rate and oxygen consumption rate which occurs in the microbe pellet.

Key words : oxygen, film resistance, lumped model, distributed model

서 론

미생물의 배양방법은 매우 다양하지만 공업적으로 가장 많이 쓰이는 방법은 침지배양법이다. 침지배양에서 특히 호기적 침지배양에서의 통기와 교반은 매우 중요한 배양조건이다.

통기와 교반의 첫째 목적은 미생물이 적절한 생리활성을 유지하도록 필요한 산소를 공급해 주는 일이고, 두번째 목적은 교반조 내의 미생물과 각종 기질이 균일한 현탁액을 이루게 하는데 있다. 이 목적을 달성하기 위해 실험실 규모의 flask 배양시에는 진탕배양기를 사용하고 있으며, 실험용 발효조나 공업용 발효조에서는 압축공기와 기계적인 교반장치를 사용하고 있다. 침지배양 중인 미생물에 산소가 전달되기 위해서는 배양액 중에 산소가 녹아 용존상태로 전환된 후 미생물에 의해 흡수되는 경로를 거치는데, 용존상태에서 흡수된다는 점에서 포도당이나 아미노산과 같이 일종의 영양분으로 생각할 수 있다. Fig. 1¹⁾은 specific growth rate와 용존산소와의 관계를 나타낸 것으로 산소가 다른 영양분과 같은 영향을 나타냄을 보여준

다. 그러나 다른 영양분에 비해 산소의 용해도가 현저하게 낮으므로 (glucose:10 g/l, O₂:10 mg/l) 미생물의 증식에 따라 산소의 고갈이 쉽게 일어난다.

따라서 산소를 계속 공급해 주지 못할 경우 산소부족 때문에 미생물의 증식 및 발효가 더 이상 진행되지 않는다.

본보에서는 발효, 특히 사상균의 발효와 관련한 통기와 교반의 문제를 포괄적으로 정리하며 기본 개념을 정립하고자 한다.

1. 액체내에서의 물질전달

액체내에서의 물질전달 특히 액체내의 용존가치가 같은 액상이 존재하는 다른 고체로 이동하는 데는 다음과 같은 과정을 생각할 수 있다. (Table 1)

일반적인 화학공업에서 볼 수 있는 gas-liquid-solid system에서의 물질전달과정과 유사한 경로이지만 미생물 배양액이라는 특수성 때문에 다음과 같은 차이점을 보인다.

1. 사상균 배양액은 대개 non-Newtonian 유체의 특성을 보인다.
2. 배양액의 배지조성은 매우 복잡하여 소포제나 계면활성제와 같은 gas전달에 영향을 줄만한 물질

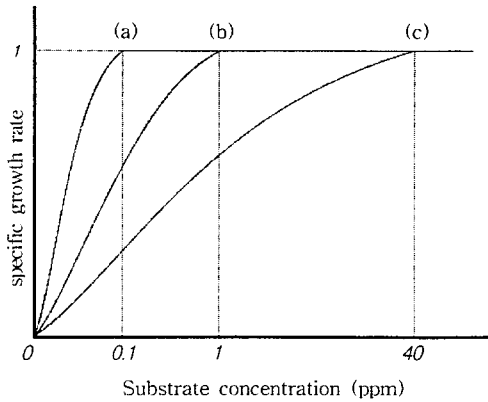


Fig. 1. Critical concentration of various substrate.

(a) Oxygen ; (b) NH⁴⁺ion ; (c) Organic substrate

Table 1. Mass transfer step of dissolved gas in liquid-solid system

Step	Transfer phenomena
1	transfer of gas to gas-liquid interface
2	transfer across the interface into the liquid phase
3	transfer of gas through liquid to solid surface
4	transfer across the interface into solid phase
5	diffusion transport in the solid

이 많이 함유되어 있다.

3. 세균, 효모의 경우, 크기가 매우 작아서 gas-liquid film의 두께에도 못미친다.

이때 배양대상 즉, 균의 종류가 무엇인가에 따라 용존기체 특히 관심의 대상이 되는 산소 전달과정중 Table 1의 일부 과정이 빠질 수도 있으나 사상균의 경우에는 모든 과정이 고려되어야 한다.

이때 각 과정은 산소가 균체에 도달하는 데까지 거쳐야 할 barrier step이라 할 수 있다. 일반적으로 가장 중요한 barrier step은 액체표면에서의 film resistance와 고체 즉, 균체내에서의 diffusion resistance라고 알려져 있다. 균의 크기가 매우 작고 bub-

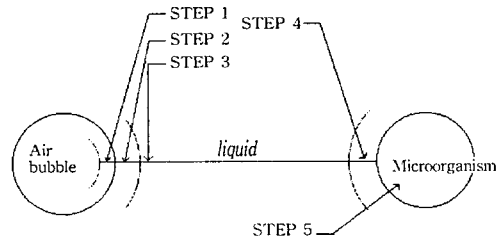


Fig. 2. Model system of Gas-Liquid-Microbe transfer path.

ble 주위에 균들이 모이는 경우 liquid film resistance가 감소하고 균의 기체 흡수속도가 증가한다고 알려져 있지만²⁻⁴⁾ 사상균의 경우는 여기에 해당되지 않는다.

사상균 배양액에서의 산소 이동현상을 설명하기 위해 Fig. 2와 같은 model system을 구상하였다. 이 system의 STEP 2에서 평형상태가 유지된다면 gas-liquid interface에서 전달되는 O₂의 양은 film을 통과하는 양과 동일하다. Gas phase와 liquid phase에서의 농도를 Fig. 3과 같이 나타내면 그에 따른 산소의 이동량 즉, oxygen flux는

$$N = R_g (P_g O_2 - P_l O_2) = R_l (C_l O_2 - C_s O_2) \quad (1)$$

과 같이 표현되어진다. 한편, 산소같이 용해도가 낮은 기체는 Henry의 법칙을 잘 따르므로

$$P_l O_2 = m \cdot C_l O_2 \quad (2)$$

로 표현할 수 있다. C_l O₂나 P_l O₂는 실험적으로 구하기가 매우 어려움으로 oxygen flux를 overall mass transfer coefficient K_l 과 overall concentration driving force (C_{O₂}* - C_l O₂) 를 사용해서 표현하는 것이 좋다.

$$Flux = K_l (C_{O_2}^* - C_l O_2) \quad (3)$$

$$P_g O_2 = m C_{O_2}^* \quad (4)$$

(1)~(4)를 이용해서 다음과 같은 식을 구할 수 있다.

$$\frac{1}{K_l} = \frac{1}{mk_g} + \frac{1}{k_l} \quad (5)$$

O₂의 경우 용해도가 매우 낮으므로 Henry상수 *m*이 매우 크다.

따라서 $\frac{1}{mk_g}$ 는 무시할 수 있고 $K_l = k_l$ 이 되므로 전체 산소이동속도는 liquid phase에서의 이동속도에 따라 결정되는 liquid-phase controlled type이 된다. 반대로 암모니아와 같이 물에 잘 녹는 기체의 경우 *m* 값이 매우 작으므로 $k_l \gg mk_g$ 가 되어 $\frac{1}{K_l}$ 을 무시할 수 있고, 따라서 K_l 은 k_g 에 의해서만 영향을 받는 gas-phase controlled type이 된다.

한편, 배양조의 단위부피당 산소 전달속도는

$$N_a = K_l (C_{O_2}^* - C_{l, O_2}) \cdot \frac{A}{V} \\ = K_l \cdot a (C_{O_2}^* - C_{l, O_2}) \quad (6)$$

으로 표현된다. K_l 과 *a*는 정의와 물리적인 의미가 전혀 틀린 값들이지만 실험적으로 K_l 과 *a*를 따로 측정할 수가 없고 두 값이 물질전달에 똑같은 중요성을 가지므로 배양조내의 물질전달을 설명할 때 $K_l \cdot a$ 를 하나의 상수(capacity coefficient)로 취급하는 경우가 많다⁵⁾.

한편, C_{O_2} 값은 배양조의 크기가 작을 때는 균일하다고 볼 수 있지만 배양조의 크기가 커지고 기포가 완전히 mixing 되지 않을 때는 전체 배양조에서 일정하다고 보기 어렵다. 이 경우 배양조내의 differential height를 중심으로 수직식을 세우면 plug flow reactor와 비슷한 이론식을 얻을 수 있으나⁶⁾ 일반적으로는 $(C_{O_2} - C_{l, O_2})$ 의 log-mean value를 driving force로 사용한다⁷⁾.

$$(C_{O_2}^* - C_{l, O_2})_{\text{mean}} = \frac{C_{\text{input}}^* - C_{\text{output}}^*}{\ln \left(\frac{C_{\text{input}}^* - C_{l, O_2}}{C_{\text{output}}^* - C_{l, O_2}} \right)} \quad (7)$$

만일 liquid와 gas bubble이 완전히 mixing된 상태라면 outlet gas bubble의 농도가 배양조내 기포농도를 대표한다고 볼 수 있다.

$$(C_{O_2}^* - C_{l, O_2})_{\text{mean}} = (C_{\text{output}}^* - C_{l, O_2}) \quad (8)$$

대부분의 실제 발효에서는 mixing상태가 (7)식과 (8)식 사이에 있으며 또한 Na 는 배양조내 위치에 따라 달라지므로 평균산소 전달속도는

$$\overline{Na} = \frac{1}{V} \int_0^V Na \cdot dv \quad (9)$$

로 표현되고 완전한 mixing 상태에서는 $\overline{Na} = Na$ 가 된다.

2. 균사체내에서의 물질전달⁸⁾

Fig. 1에 의하면 specific growth rate(μ)와 용존 산소(DO)의 관계는 촉매반응에서 볼 수 있는 Monod Model로 수식화 할 수 있음을 알 수 있다. 이 때 μ_{max} 에 도달하게 하는 DO 농도는 실험결과나 stoichiometry로 볼때 비교적 낮은 값이나 사상균의 발효시에는 DO 수준이 높을수록 μ 값이 커지는 현상을 보이는데 이는 Fig. 2의 step 5가 산소전달의 주요 저항임을 말해준다. 특히, pellet이 형성될 경우 pellet을 통한 diffusion이 반응속도의 제어단계가 된다. 이같은 반응조내에서의 물질전달에 대해서는 많은 연구가 되어 있는데 Distributed model⁹⁻¹³⁾과 Lumped model^{1, 10, 14)}이 대표적인 것이다.

1) Lumped model

Lumped model이란 pellet내에서는 substrate의

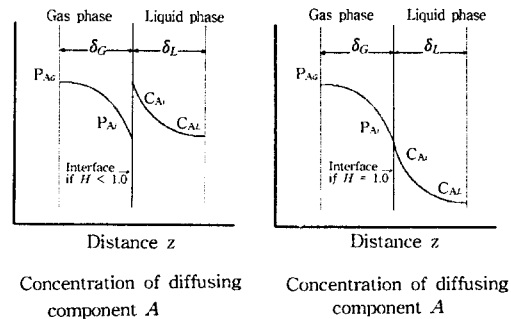


Fig. 3. Concentration gradients between two contacting phase, gas and liquid.

H : Henry's constant

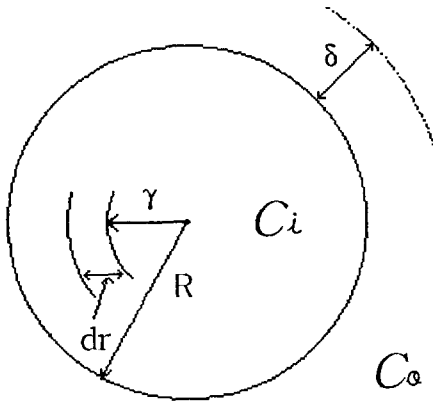


Fig. 4. Model of microorganism.

농도가 일정하며, 따라서 모든 농도구배는 pellet밖의 liquid film에 존재하며 pellet내의 diffusion은 문제가 되지 않는다.

Fig. 4와 같이 완전히 구형인 반경 R 의 미생물을 가정하면 steady state에서 cell이 소비하는 기질의 양은 cell로 전달되는 기질의 양과 동일하다.

$$\text{즉, } \frac{4}{3} \pi R^3 \cdot Q_{O_2} = \left[4\pi R^2 \cdot D \frac{dc}{dr} \right]_{r=R} \quad (10)$$

$$Q_{O_2} = Q_{O_2, \max} \cdot \frac{C_i}{K_c + C_i} \quad (11)$$

(10)식에서 산소는 확산에 의해 cell로 전달될 때 Fick's law를 따른다고 가정하였고, (11)식에서 산소의 소비속도는 Monod model을 따른다고 보았다. Liquid film에서 O_2 balance는 Fick's second law에 의해

$$D \left(\frac{\delta^2 c}{\delta r^2} + \frac{2}{r} \frac{\delta c}{\delta r} \right) = Q_{O_2} + \frac{\delta c}{\delta t} \quad (12)$$

Liquid film에서는 산소 소비가 없고, steady state라고 가정하면 (12)식은 다음과 같이 적분된다.

$$C = -\frac{C_1}{r} + C_2 \quad (R \leq r \leq R + \delta) \quad (13)$$

Boundary condition

$$C = \begin{cases} C_i \text{ at } r = R \\ C_o \text{ at } r = R + \delta \end{cases} \quad (14)$$

에 의해 C_1 과 C_2 를 결정하여 (13)식을 나타내면

$$C_1 = (C_o - C_i) (R + \delta) R / \delta \text{ 가 되고}$$

(13)식에서

$$\left[\frac{dc}{dr} \right]_{r=R} = (C_o - C_i) \cdot \frac{(R + \delta)}{R\delta} \quad (15)$$

(15)식을 (10)식에 대입하면

$$\frac{R}{3} \cdot Q_{O_2} = D(C_o - C_i) \cdot \frac{(R + \delta)}{R\delta} \quad (16)$$

(16)에 (11)식을 대입하여 pellet내에서의 산소소비 속도를 구할 수 있다. (16)식을 정리하면

$$Q_{O_2} = \frac{3}{R} D[C_o - C_i (C_o)] \frac{(R + \delta)}{R\delta} \quad (17)$$

(17)식에 (11)식을 대입하면

$$Q_{O_2} = \frac{Q_{O_2, \max}}{2\delta} \left\{ \left(1 + \delta + \frac{C_o}{K_c} \right) - \left[\left(1 + \delta - \frac{C_o}{K_c} \right)^2 + 4 \cdot \frac{C_o}{K_c} \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \quad (18)$$

$$\delta = \frac{Q_{O_2, \max} \cdot \delta \cdot R^2}{3K_c \cdot D(R + \delta)} \quad (19)$$

와 같이 구해진다. 즉, (18)식과 (19)식이 유도된 일련의 과정을 통해 정상상태(steady state)에서 pellet내로 이동하는 산소의 양을 구할 수 있다.

2) Distributed model

Lumped model과는 달리 diffusion이 일어나면서 동시에 반응(기질의 소비)도 일어나는 model이다.

이 model에서는 pellet내의 반응속도가 diffusion 속도보다 상대적으로 크기 때문에 mass transfer가 충분치 못할 경우 pellet 중심부에 기질농도가 zero인 dead zone이 발생할 가능성이 크다.

앞서 가정한 것처럼 산소의 소비속도가 Monod Model을 따르고 pellet내에서 산소의 확산이 Fick's law를 따른다면 pellet 내부의 반경 r 인 임의의 구를 중심으로 물질수지식을 세울 수 있다.

$$\frac{\delta c}{\delta t} = D \left(\frac{\delta^2 c}{\delta r^2} + \frac{2}{r} \frac{\delta c}{\delta r} \right) - Q_{O_2} \quad (12')$$

pellet 전체가 소모하는 O_2 의 양은 pellet liquid interface를 통과한 O_2 의 양과 동일하므로, pellet 한개의 interfacial area를 A_p 라고 두면,

$$Q_{O_2, all} = D \left[\frac{\delta c}{\delta r} \right]_{r=R} \cdot \frac{A_p}{V_p} \quad (20)$$

Diffusion에 의한 산소 소비속도를 수치화 하기 위해 Immobilized Enzyme System과 같이 effectiveness factor를 정의할 수 있다.

$$\eta = \frac{Q_{O_2, all}}{Q_{O_2}(C_o)} = \frac{\text{Observed rate}}{\text{Rate which would obtain with no concentration radients in pellet}} \quad (21)$$

Steady state에서 $\frac{\delta c}{\delta t} = 0$ 이지만 Q_{O_2} 가 non-linear 한 형태여서 해석적인 해를 구하기 어려우므로 무차원 항을 도입하여 (12')식을 바꾸면,

$$\frac{d^2 \bar{c}}{d\bar{r}^2} + \frac{2}{\bar{r}} \frac{d\bar{c}}{d\bar{r}} = \frac{Q_{o2} R^2}{C_o} = \phi^2 \frac{\bar{c}}{1 + \beta \bar{c}} \quad (22)$$

$$\phi = R \sqrt{\frac{Q_{o2, max} / K_c \circ}{D}} \quad \beta = \frac{C_o}{K_c} \quad (23)$$

where $\bar{c} = c/C_o, \bar{r} = r/R$

ϕ : Thiele Modulus (biochemical reaction rate / diffusivity)

boundary condition

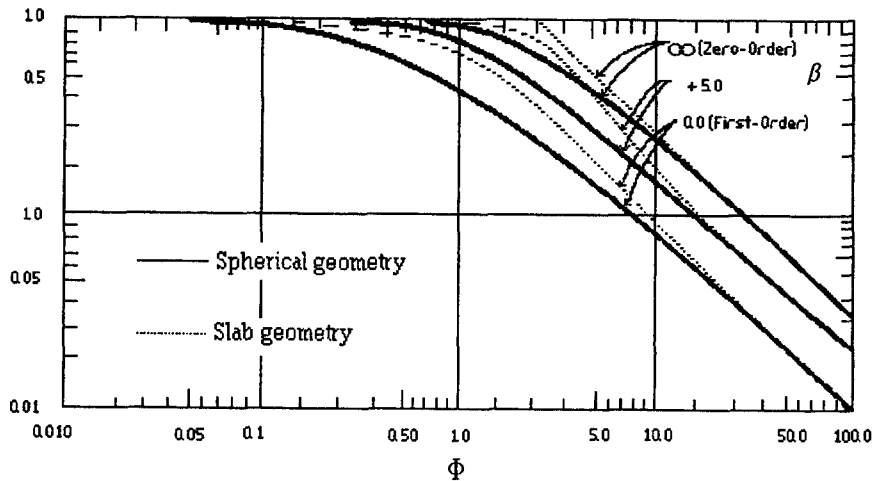


Fig. 5. Effectiveness factors for substrate utilization with Monod-form kinetics ($\beta=C_o/K_c$). Φ is the observable modulus defined in Eq. (26).

Table 2. Criteria for assessing the magnitude of mass-transfer effects on overall kinetics

Criterion	η value	Limiting rate process	Extent of mass-transfer limitation
$\Phi < 0.3$	~ 1	Chemical reaction	Negligible
$\Phi > 3$	$\propto \Phi^{-1}$	Diffusion	Large

$$\left[\frac{d\bar{c}}{dr} \right]_{r=0} = 0, \quad [\bar{c}]_{r=1} = 1 \quad (24)$$

Thiele modulus ϕ 는 1차 반응속도인 R^3 (μ_{\max}/YK_c) C_o 를 확산속도 RD_sC_o 로 나눈 값의 제곱근이다. 이때 effectiveness factor η 는

$$\eta = \frac{3(d\bar{c}/dF)_{r=1}}{\phi^2 [1/(1+\beta)]} \quad (25)$$

로 나타나서 η 는 ϕ 와 β 의 함수 즉, $\eta = f(\phi, \beta)$ 임을 알 수 있었다.

ϕ 를 구하기 위해서는 intrinsic rate parameter인 μ_{\max}/Y 과 K_s 를 구해야 하는데 실험적으로 구하기가 어려워서 새로운 인자 Φ 를 도입하고

$$\Phi = \frac{Q_{O_2, \text{atl}}}{DC_o} \left(\frac{Vp}{Ap} \right)^2 \quad (26)$$

로 정의한다. 따라서 ϕ 는 Φ 의 함수로 표현되어지고 η 는 Φ, β 의 함수이므로

$$\eta = g(\Phi, \beta) \quad (27)$$

과 같이 β 와 Φ 의 함수로 나타낼 수 있다.

Φ 에 포함된 인자들은 실험적으로 쉽게 구할 수 있으므로 $\beta \rightarrow 0$ 인 경우와 $\beta \rightarrow \infty$ 인 경우 η 와 Φ 의 관계를 실험적으로 구해서 그림으로 표시한 결과를 Fig. 5에 나타내었다¹⁰⁾.

이 그림에서 Φ 를 알면 η 를 구할 수 있고, η 를 구하면 Q_{O_2} 를 구할 수 있으므로 (12') 식을 풀어서 산소의 이동량과 성질이 규명되는데 Φ 가 3이상이면 산소의 이동 및 소비속도는 diffusion이 제한 인자가 될 것이고, Φ 가 0.3이하이면 reaction rate이 제한 인자가 될

것이다¹⁰⁾. (Table 2)

요 약

호기성 미생물의 배양중 산소전달 및 소비를 계량적으로 표현하는 방법을 고찰하였다. 용존산소가 미생물에 이르기까지의 과정을 5단계로 모델화하였으며 이들 단계중 특히 film resistance에 대해 고찰하였다. 일단 균체에 전달된 산소는 균체의 표면에 형성된 film resistance를 통해 균에 이른다. 균이 pellet을 형성하였을 때 균사체내에서의 diffusion rate와 diffusion되면서 일어나는 산소의 소비속도와의 관계를 Lumped model 및 Distributed model을 도입하여 설명하였고, 계량화 하였다.

NOMENCLATURE

- A : Interfacial surface area of gas bubble and liquid
- Ap : External surface area of pellet
- a : Interfacial surface area per unit volume of reactor
- C_i : Oxygen concentration of inner cell
- C_o : Oxygen concentration of outer cell
- C_{input}^* : Concentration of gas in equilibrium with gas phase at entrance of reactor
- C_{output}^* : Concentration of gas in equilibrium with gas phase at exit of reactor
- C_{i, O_2} : Concentration of oxygen at interfacial phase
- C_{l, O_2} : Concentration of oxygen at in liquid phase
- $C_{O_2}^*$: Concentration of oxygen in equilibrium with gas phase (P_g, O_2)

D : diffusion constant
 K_l : Overall mass transfer coefficient based on a liquid concentration driving force ($C^*_{O_2} - C_{l,O_2}$)
 $K_l \cdot a$: Mass transfer capacity coefficient
 K_r : Monod constant
 k_g : Convective mass transfer coefficient in the gas phase
 k_l : Convective mass transfer coefficient in the liquid phase
 m : Henry's constant
 N : Oxygen flux, mol O_2 / $cm^2 \cdot sec$
 N_a : Oxygen transfer rate per unit volume of reactor
 P_{g,O_2} : Partial pressure of oxygen in gas phase
 P_{i,O_2} : Partial pressure of oxygen at interfacial phase
 Q_{O_2} : Oxygen consumption rate
 R : Radius of model of microorganism
 V : Volume of reactor
 V_p : Volume of pellet
 Y : Conversion factor of substrate consumption
 δ : Thickness of liquid film
 μ : Specific growth rate
 μ_m : Maximum specific growth rate

REFERENCES

1. Atkinson, B. : *Biochemical Reactor*, Pion Limited, London, 117, 1974
2. Tsao, G. T., Mukerjee, A. : and Lee, Y. Y. : *Fermentation Technology Today Proceedings 4, International Fermentation Symposium, Kyoto*, 65, 1972
3. Lee, Y. Y. and Tsao, G. T. : Oxygen absorption into glucose solution, *Chem Eng. Sci.*, 27, 1601, 1972
4. Kobayashi, T., Dedem G. V. and Moo-Young, M. B. : Oxygen transfer into mycelial pellet, *Biotech. Bioeng.*, 15, 27, 1973
5. Welty, J. R., RWilson, E. and Wicks C. E. : *Fundamentals of Momentum Heat and Mass Transfer*, 2nd edition, John Wiley & Sons Inc., New York, 648, 1976
6. Carberry, J. I. : *Chemical and Catalytic Reaction Engineering*. Mc Graw-Hill, New York, Chapt. 9, 1976
7. Carl-Goran Heden, *Fermentation and Enzyme Technology*, John Wiley & Sons, New York, Chapt 10, 1979
8. Miura, Y. : Transfer of oxygen and scale-up in submerged aerobic fermentation. *Adv. Biochem. Eng.* 4, 3, 1976
9. Atkinson, B. : *Biochemical Reactor*, Pion Limited, London, 68, 1974
10. Bailey, J. E. and Ollis, D. F. : *Biochemical Engineering Fundamentals*, Mc Graw-Hill Kogakusha LTD., Tokyo, 289, 1977.
11. Young, M. M. : *Comprehensive Biotechnology*, Pergamon, Chapt. 2, 1985.
12. Aiba, S. and Kobayashi, K. : Comments on oxygen transfer within a mold peffet, *Biotech, Bioeng.* 13, 583, 1971.
13. Aiba, S., Humphrey, A. E. and Mills, N. F. : *Biochemical Engineering, 2nd edition, University Tokyo Press. Tokyo*, 107, 1973.
14. Phillips, D. H. : Oxygen transfer into mycelial pellet, *Biotech. Bioeng.* 8, 456, 1966.

(1994년 12월 9일 수리)