

막가스센서에 의한 에탄올 농도의 온라인 측정

†김형찬·박민선·이영철·박기범·유익제·유무영
오투기식품 중앙연구소

An On-Line Measurement of Ethanol Concentration by Membrane Gas Sensor

Hyung-Chan Kim[†], Min-Sun Park, Young-Chul Lee, Ki-Buem Park,
Yik-Je Yoo and Moo-Young Yoo

Ottogi Research Center, Anyang, Kyeonggi-Do 430-070, Korea

ABSTRACT

A membrane gas sensor was developed for the measurement of ethanol concentration during acetic acid fermentation. The fermentation broth including ethanol was permeated through the silicone membrane by synthetic air as a carrier gas and was detected by a semiconductor gas sensor. The optimum conditions of membrane gas sensor were 20ml/min of flow rate and 0.5mm of membrane thickness. In acetic acid fermentation, an on-line measurement of ethanol concentration was conducted by the proposed membrane gas sensor and then the on-line sensor signal was compared with the result of off-line analysis by gas chromatography. As a result, a correlated response over the range of 0~70g/l was shown between membrane gas sensor and gas chromatography and this use of membrane gas sensor was experimentally ascertained for the monitoring and control of bioprocess like acetic acid fermentation.

서 론

산업적으로 식초 생산을 위한 초산발효시 조업자가 원하는 대로 발효공정을 모니터링(monitoring)하거나 제어(control)하기 위해서는 대사산물인 초산의 농도뿐만 아니라 기질인 에탄올의 농도를 즉각적이고 또한 연속적으로 측정하는 것이 매우 중요하다(1-2). 이러한 에탄올 농도의 측정은 단지 초산발효에서뿐만 아니라 에탄올 발효에 있어서도 필수적이며(3-4), 최근들어 이러한 에탄올 농도의 측정을 위해 다양한 방법들이 제시되어 왔는데 여기에는 발

효액을 기화시켜 gas sampler와 연결한 관을 통해 gas chromatography로 측정하거나(5-8), infrared gas analyzer를 이용하여 측정하는 방법(9) 등이 있으나 대부분 비용이 많이 들어서 산업적으로 이용하기에는 어려움이 있었다. 그러나 최근들어 센서(Sensor)분야가 비약적인 발전을 보임에 따라 다양한 종류들의 센서가 개발되고 실용화되기에 이르렀는데(10), 그중에서도 특히 가스 센서(gas sensor)는 기체나 액체 중에 함유된 특정성분의 가스를 적당한 전기적 신호로 감지 또는 정량화하는 소자로서 각종 냉난방기기, 전자동세탁기, 석유천연기기 등에 광범위하게 사용되고 있으나(11), 이를 발효공정과 같은 각종 생물공정에 응용한 예는 국내에서 아

† Corresponding Author

직 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구실에서는 다양한 운용방식으로 초산발효를 조절하는데 있어서 필수적이라 할 수 있는 에탄올 농도의 연속적인 측정을 위해 비교적 저렴하고 구조가 간단한 막가스센서(Membrane gas sensor)를 제작하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

막가스센서의 제작시 사용된 막(membrane)은 실리콘(silicone) 막이었고 carrier gas로는 질소와 산소가 80:20의 부피비율로 혼합된 synthetic air를 사용하였으며 carrier gas의 유속(flow rate)은 flow controller (MFC-1, Eyela, Japan)로 조절하였다. 한편 본 실험에 사용된 센서는 에탄올에 대한 감도(sensitivity)가 높은 산화제이주석형의 반도체 가스센서(Figaro Engineering, Japan)였다.

가스센서의 신호처리 방법

가스센서의 미세한 신호변화는 차동출력앰프(differential amplifier)로 1차 증폭한 후 직접 recorder로 출력하거나 앰프의 증폭된 신호를 PLC(Programmable Logic Controller, 동양화학)로 입력시켜 컴퓨터로 모니터링(monitoring)하거나 PLC가 직접 발효조를 제어(control)하도록 설계하였다(12).

초산 발효

사용균주는 당 연구실에 보관중인 *Acetobacter aceti* OLS-001을 사용하였고 0.22% Glucose, 0.02% Yeast extract, 0.14% Ammonium phosphate, 0.002% Magnesium sulfate를 함유한 배지를 121°C에서 20분간 살균하여 사용했는데 그밖에 배지성분 중에 포함되는 초산과 에탄올은 살균된 배지를 60°C로 냉각한 후에 각각 2.0%와 4.0%씩 첨가하여 제조하였다.

접종용 균주의 배양은 300ml Baffle flask에 50ml의 배지용액을 만들어 살균 후 균을 1 백금이 접종하여 회전식 진탕 배양기(Lab-line Instruments Inc., USA)로 200rpm, 30°C에서 48시간 배양하였다.

본 배양은 당 연구실에서 자체제작한 Working volume 8l의 발효조에 살균된 배지용액을 넣고 전 배양된 균을 5% 접종하고 600rpm, 0.1vvm, 30°C

Table 1. Conditions of gas chromatography.

Packing material : FAL-M 10%
Support : Shimalite TPA
Column : Stainless steel (3.0mm × 2.0m)
Injection temp. : 150°C
Column temp. : 90°C
Detector : Flame Ionized Detector

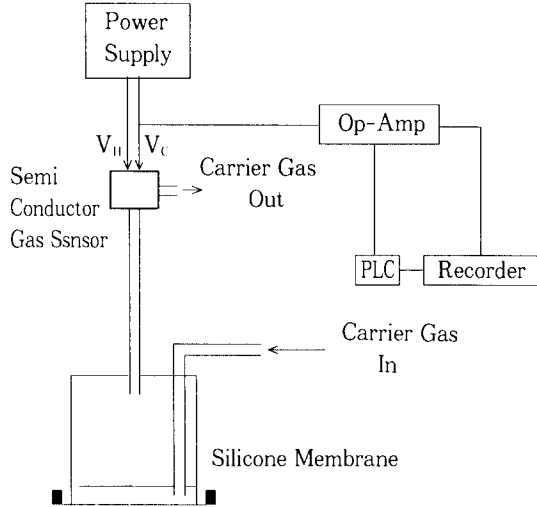


Fig. 1. Schematic diagram for on-line ethanol measurement device using membrane gas sensor OP-AMP:Operational Amplifier, V_H :Heater Voltage, V_C :Circuit Voltage, PLC: Programmable Logic Controller.

에서 반연속적(Semicontinuous)으로 48시간 배양 하되 이러한 조작을 4~5회 반복한 후 본 실험에 사용하였다.

분석 방법

발효액 중 에탄올 농도의 측정은 Gas chromatography (Shimadzu GC-8A, Japan)를 사용하였는데 내부 표준물질로는 2.0% Butanol을 사용하였고, 분석조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

막가스센서의 설계

막가스센서의 구조는 Fig. 1 및 Fig. 2와 같이 재

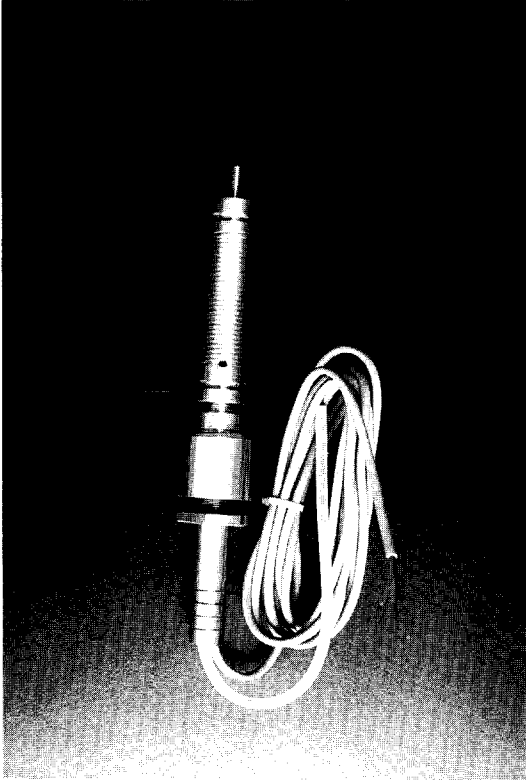


Fig. 2. Picture of membrane gas sensor.

질이 스테인레스강(Stainless steel)인 하우징(Housing)의 내부에 반도체형 가스센서를 장착하고 하우징의 외부에는 다공성(Porous)의 실리콘막을 코팅하여 투과성(Permeability)을 부여하였다. 따라서 에탄올이 포함된 발효액은 연속적으로 실리콘막을 투과하여 막 내부의 Carrier gas와 혼합되고 가스상태로 존재하는 에탄올을 반도체 가스 센서가 감지하여 이 때의 반도체의 저항 변화를 측정하도록 설계하였다. 이처럼 변화된 저항치는 전위차로 변환되어 출력되며 가스센서의 V_c (Circuit voltage)와 V_{H1} (Heater voltage)는 각각 DC 24 V, DC 5 V를 사용하였다.

막의 두께가 센서에 미치는 영향

일반적으로 막가스센서의 제작시 사용되는 막의 재질이나 투과되는 면적은 센서의 감도에 크게 영향을 미치는데(13) 특히 Dairaku(14)는 Porous teflon tubing method에 의한 에탄올 농도의 측정에 있어서 에탄올 농도와 Teflon 막의 면적 그리고 Car-

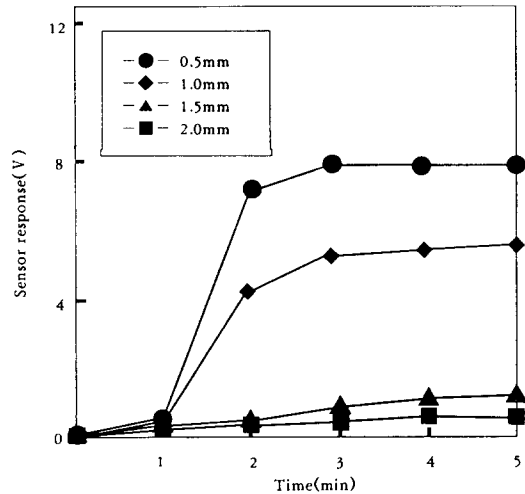


Fig. 3. Sensor response to ethanol for silicone membrane of various thickness.

rier gas의 유속사이의 관계를 수식으로 나타내었다. 따라서 막가스센서에 미치는 실리콘막 두께의 영향을 보기 위하여 에탄올 농도를 각각 0~50g/l로 증가시키고 실리콘 막의 두께를 각각 2.0, 1.5, 1.0, 0.5mm로 달리하였을 때 막 두께에 따른 센서의 감도변화를 나타낸 결과 Fig. 3과 같았다. 그림에서 보는 것처럼 실리콘 막의 두께가 얇을수록 막가스센서의 감도는 현저하게 증가되는 경향을 보였는데, 이러한 결과는 Mandenius(13)의 견해와 일치하였다. 즉 막의 두께가 얇을수록 센서의 감도가 높아지는 사실이 확인되었으나, 두께가 0.5mm 이하인 실리콘막을 자체 제작하기는 불가능하였다. 따라서 막가스센서의 제작시 하우징 외부를 코팅하는 실리콘막의 두께는 0.5mm로 정하였다.

Carrier Gas의 유속이 센서에 미치는 영향

Carrier gas의 유속은 막의 두께와 함께 센서의 감도뿐만 아니라 응답시간(Response time)에 주로 영향을 미치는데(15-16) Fig. 4는 막의 두께를 0.5mm로 하고 에탄올 농도를 각각 0~50g/l로 증가시켰을 때 Carrier gas의 유속에 따른 센서의 감도변화를 나타낸 것이다. 그림에서 보는 바와 같이 Carrier gas의 유속이 10ml/min일 때는 초기 반응속도가 느리고 이에 따라 Gas 중에 포화되어 있는 에탄올의 농도가 높아 센서의 감지범위와 차동증폭 앰프의 증폭범위를 벗어났으며, 유속이 30ml/min일 때는 초기 반응속도는 빠르지만 Gas 중에 포화되어 있는 에탄올의 농도가 낮아 센서의 감지범

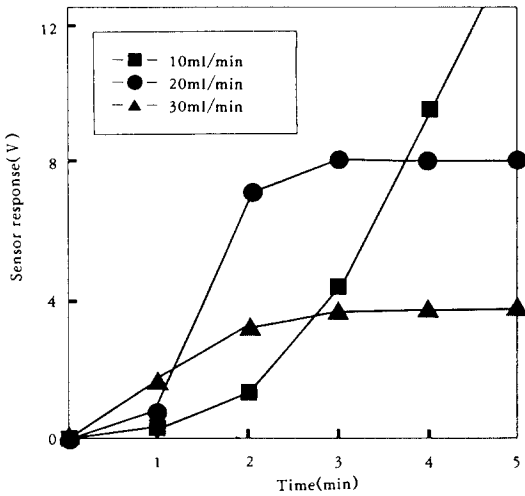


Fig. 4. Sensor response to carrier gas of various flow rate.

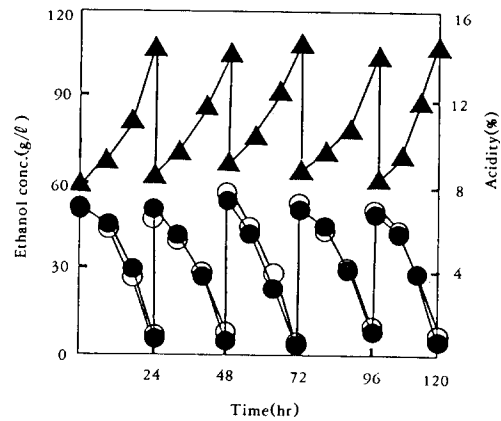


Fig. 6. Application of membrane gas sensor to acetic acid fermentation.

● on-line ethanol measurement; ○ GC measurement of ethanol; ▲ Acidity

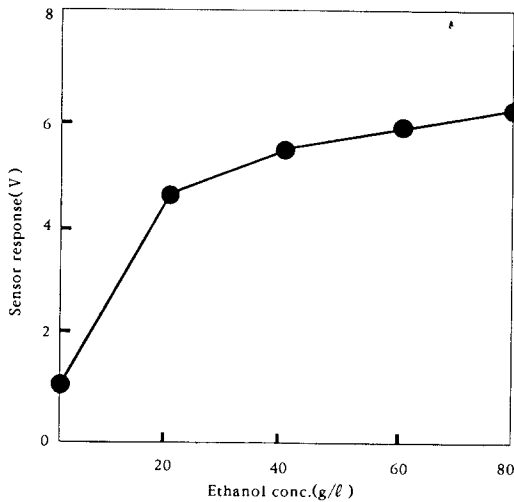


Fig. 5. Calibration curve for ethanol concentration.

위 중 극히 일부의 영역만을 사용하게 되는 결과를 보여주었다. 그러나 유속이 20ml/min일 때는 센서의 감지 범위와 차동증폭앰프의 증폭범위 내에 모두 포함되어 가장 좋은 결과를 보여 주었다. 따라서 막 가스센서로 유입되는 Carrier gas의 유속은 20ml/min으로 하였다.

에탄올 농도에 따른 센서의 응답
개발된 막가스센서의 순수 에탄올 농도와 센서 응

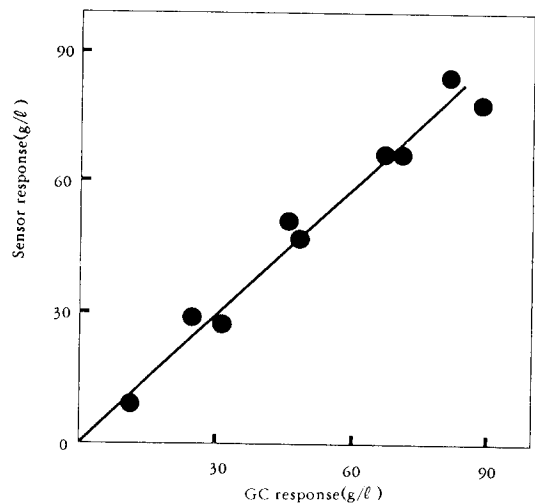


Fig. 7. Correlation between on-line membrane gas sensor and off-line GC response.

답에 대한 Calibration curve를 실제 초산 발효시의 온도인 30°C에서 작성한 결과 Fig. 5와 같았으며 에탄올 농도에 따른 센서의 응답은 에탄올 농도가 0~70g/l의 범위에서 서로 상관관계를 보였다.

막가스센서에 의한 초산발효 중 에탄올 측정
개발된 막가스센서를 실제로 발효공정에 이용하기 위해 당 연구실에서 장기간 조업중인 초산 발효조에

막가스센서를 연결하고 이 센서에 의해 기질인 에탄올 농도의 변화를 On-line으로 6개월 동안 계속 측정한 결과 Fig. 6과 같았고, 동일한 시료를 Gas chromatography를 이용하여 Table 1의 분석조건으로 Off-line 에탄올 분석치를 서로 비교한 결과 Fig. 7과 같았다(17). 그림에서 보는 바와 같이 에탄올 농도가 0~70g/l의 범위에서 막가스센서와 Gas chromatography의 분석결과가 서로 상관 관계를 보였고, 이때 센서의 응답시간은 2분이었다. 또한 6개월이 경과한 현재까지 초산발효 중 막의 표면에 초산균체나 기타 불순물에 의한 Clogging 현상은 관찰되지 않았다.

따라서 초산발효액 중의 에탄올 농도를 On-line으로 측정하기 위해 당 연구실에서 설계, 제작한 막가스센서는 실제로 에탄올과 관련된 여러 생물공정의 모니터링과 제어에 이용이 가능함을 확인할 수 있었다.

요 약

초산발효 중 에탄올 농도를 On-line으로 측정하기 위해 막가스 센서를 개발하였다. 에탄올이 함유된 발효액은 실리콘막을 통해 투과되고 Carrier gas로 사용된 Synthetic air에 의해 운반되어 반도체형 가스센서에 감지되도록 설계하였다. 이 때 실리콘막의 두께가 0.5mm이고 Carrier gas의 유속이 20ml/min이었을 때 막가스 센서의 감도가 가장 높았다. 막가스센서의 저항치는 측정하고자 하는 에탄올 농도에 따라 변화였고 이 저항치는 전위차로 변환되어 출력되었다. 제작된 막가스센서의 Calibration curve를 작성하였고 실제로 조업 중인 초산 발효조의 발효액 중 에탄올 농도의 On-line 측정이 가능하였으며 이를 Gas chromatography에 의한 분석치와 비교한 결과 에탄올 농도가 0~70g/l의 범위에서 서로 상관관계를 나타내어 이러한 막가스센서가 초산발효와 같은 여러 생물공정의 모니터링과 제어에 이용이 가능함을 확인하였다.

참고문헌

1. Y. C. Lee, G. Y. Lee, H. C. Kim, K. B. Park,

- Y. J. Yoo, C. U. Choi and S. H. Son (1992), *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.*, **20**(6), 663.
2. B. Mutze (1984), *Biotechnol., Bioeng.*, **26**, 390.
3. Y. J. Yoo, K. M. Park, Y. W. Yoo and C. U. Choi (1990), *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.*, **5**(2), 167.
4. Y. C. Lee, M. S. Park, H. C. Kim, K. B. Park, Y. J. Yoo, I. K. Ahn and S. H. Son (1993), *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.*, **21**(5), 511.
5. J. L. Ninow, I. Marc and J. M. Engasser (1990), *J. Ferment. Bioeng.*, **70**(4), 261.
6. M. N. Pons, D. Pichon and M. Authier (1989), *J. Ferment. Bioeng.*, **68**(4), 282.
7. T. Yano, J. Kobayashi and S. Shimizu (1978), *J. Ferment. Technol.*, **56**(4), 421.
8. K. Dairaku, E. Izumoto, H. Morikawa, S. Shioya and T. Takamatsu (1983), *J. Ferment. Technol.*, **61**(2), 189.
9. K. Dairaku, Y. Yamasaki and K. Kuki (1981), *Biotechnol., Bioeng.*, **23**, 2069.
10. O. S. Wolfbeis and H. Ottenbacher (1986), *Sensors and Actuators*, **9**, 85.
11. 최성문, 김의락 (1993), *화학세계*, **33**(8), 580.
12. 편집부 (1988), *OP 암프회로 마스터, 호비엘렉트로닉스시리즈 No. 10*, p. 29, 가남사, 서울.
13. C. F. Mandenius (1987), *J. Ferment. Technol.*, **65**(6), 723.
14. K. Dairaku and T. Yamane (1979), *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 1671.
15. H. C. Kim, M. S. Park, Y. C. Lee, Y. J. Yoo, M. Y. Yoo and C. U. Choi (1994), *한국식품과학회 추계학술발표대회 초록집*, p. 35.
16. K. D. Vorlop, J. W. Becke and J. Klein (1983), *Biotechnol. Lett.*, **5**(8), 509.
17. Y. C. Lee, M. S. Park, H. C. Kim, K. B. Park, Y. J. Yoo, I. K. Ahn and S. H. Son (1993), *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.*, **21**(5), 511.