

## Cyclosporin A 고정상 발효에서 효율인자의 계산을 통한 고정화 담체의 최적크기 결정

†전 계 택 · \*이 태 호 · \*장 용 근

강원대학교 미생물학과

\*한국과학기술원 화학공학과 및 생물공정연구센터

## Determination of Optimum Bead Size by Calculating Effectiveness Factors in Cyclosporin A Fermentation by Immobilized Cells

Gie-Taek Chun<sup>†</sup>, Tae Ho Lee\*, and Yong Keun Chang\*

Department of Microbiology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

\*Department of Chemical Engineering and BioProcess Engineering Research Center,  
Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejon 305-701, Korea

### ABSTRACT

Based on fermentation data for cyclosporin A production, simple Monod kinetics was proposed for both immobilized and suspended cultures. Higher value of  $\mu_{max}$  and lower value of  $K_m$  suggest better catalytic activity of the immobilized cells than the parallel suspended cells. Furthermore, lower  $K_m$  value in the immobilized cell system indicates higher affinity of the immobilized cells for carbon substrate as compared with the suspended cells. For immobilized cell cultures, these parameters were also utilized for the estimation of effectiveness factor, an indicator for intraparticle mass transfer resistance. Based on simulation studies, optimum radius of celite beads was turned out 100~500 $\mu$ m. In this simulation work, we examined the influence of biosupport size and immobilized biomass density on diffusional resistance of substrate inside the bead matrix. In order to maintain uniformly distributed cell activities in biosupport, it was essential to determine optimum size of particle, and then to estimate the most economic loaded biomass content.

### 서 론

고정화 배양은 연속배양시 세포재순환이나 회수 공정 없이 높은 회석속도에서도 washout 현상이 일어나지 않고 높은 균체농도를 유지할 수 있다는 장점 때문에 여러 공정에 응용되고 있다. 특히 군사형성 미생물을 고정화시킬 경우, 배양액의 유변학적

특성과 고정상세포의 형태학적 특성으로 인해 배양액의 점도를 상당히 낮출 수 있어 결과적으로 물질 전달 계수가 크게 증대되는 이점이 있다(1). 또한 shear sensitive cell의 경우 shear damage로부터 보호할 수 있다는 장점도 보고된 바 있다(2, 3).

이런 고정화 배양의 장점에도 불구하고 고정화 배양의 산업적 적용은 현재까지 제한적으로 이루어지고 있는 실정인데, 그 이유는 고정화 담체내의 물질 수지나 고정화된 균주의 생리학적 변화에서 기인된

† Corresponding Author

시스템의 복잡성과 비균일성(heterogeneity)때문으로 사료된다. 이들 중 고정화 담체내의 물질전달이나 확산 계수등 공정변수 등에 대해서는 화학공학의 불균일촉매 분야의 지식을 이용하여 상당한 진보를 보이고 있으나(4, 5), 고정화에 의한 균주특성변화는 현재까지도 잘 이해되지 않고 있다. 대부분의 탄소원 등 영양분의 확산계수와 이에 따른 모델들도 제시되고 있다(6~11). 고정화 공정에 있어서의 중요한 공정변수로는 균주특성과 배지조성, 그리고 담체 입자의 특성을 들 수 있는데 이들 중 미지의 균주특성을 배제시킨 순수 공정의 관점에서는 담체 내로의 물질전달에 영향을 줄 수 있는 입자크기, 배지내의 기질농도, 그리고 고정화 균주의 속도론적 매개변수( $\mu_{max}$ ,  $K_m$ ) 등을 들 수 있다.

고정화 배양에서 고려해야만 하는 가장 중요한 것이 담체 내부로의 기질(탄소원 또는 산소)의 확산이다. 균일한 담체내 균체분포와 담체내로의 기질의 공급이 효율적으로 이루어지기 위해서는 적절한 담체크기의 결정이 필수적이며, 이때 불균일 시스템(heterogeneous system)의 특성을 나타내는 효율인자(effectiveness factor)와 담체 중심에서의 기질농도 등이 그 척도로 이용될 수 있다. 즉 입자의 크기가 커질수록 또한 부하균체의 농도가 높을수록 확산저항으로 인해 입자내부와 액체배지내의 기질 및 산소농도가 크게 차이가 나게 되어 전체적인 반응속도나 효율이 떨어지게 되므로 고정화배양에 있어서 적정 입자크기를 결정하는 것은 매우 중요한 과정이라 할 수 있다.

본 연구에서는 앞의 연구에서 얻은 CyA 생산을 위한 고정화 배양의 속도론적 정보를 바탕으로 물질수지에 의거한 편미분방정식을 도입하여 효율인자, Thiele modulus, 담체내의 기질구배 등을 구하였다. 특히 확산계수, 담체의 균체부하량(cell loading) 등이 효율인자, 담체 중심의 기질농도에 미치는 영향을 예측하여 확산저항이 적은 영역내에서 최적의 담체입자의 크기를 결정하고자 하였다.

이 론

효율인자의 계산

확산저항은 외부 확산저항과 내부 확산저항으로 나뉜다. 여기서는 충분히 높은 교반속도에서의 경우에 대한 것이므로 외부 확산저항은 고려하지 않는다. 이 경우 먼저 생각해야 하는 것이 좌표계인데 본 실험에서 사용된 celite 담체가 대부분 구형이므로

구형좌표계에 의한 확산 및 기질소모에 의한 입자내부에서의 기질수지(substrate balance)로부터 출발하였다. 이전의 연구에서 보고된 바와같이 고정화세포 성장이 Monod식에 의해 표현될 수 있으므로 이를 이용하여 담체내의 제한기질(포도당)에 대한 물질수지식을 세우면 다음과 같다.

$$v_b \frac{\partial S}{\partial t} = D_e \left( \frac{\partial^2 S}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial S}{\partial r} \right) - \left( \frac{1}{Y_{x/s}} \right) \rho_p \frac{\mu_{max} S}{K_m + S} X \quad (1)$$

만일 액체배지내 기질의 농도가 기질의 확산에 비해 천천히 감소해서 입자내의 기질분포가 정상상태(pseudo-steady state)를 유지한다고 하면 식(2)가 구해진다.

$$D_e \left( \frac{d^2 S}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{dS}{dr} \right) - \left( \frac{1}{Y_{x/s}} \right) \rho_p \frac{\mu_{max} S}{K_m + S} X \quad (2)$$

B.C. :  $S = S_1$  at  $r = R$   
 $\frac{dS}{dr} = 0$  at  $r = 0$

식의 계산을 단순화하기 위해 normalization하면

$$\frac{d^2 S^*}{dy^{*2}} + \frac{2}{y^*} \frac{dS^*}{dy^*} - \phi^2 \frac{S^*}{1 + S^*(S_i/K_m)} = 0 \quad (3)$$

여기서  $S^* = \frac{S}{S_1}$ ,  $y^* = \frac{r}{R}$ ,  $\phi = R \sqrt{\frac{\nu_{max}}{D_e K_m}}$ ,  $\nu_{max} = \frac{1}{Y_{x/s}} \rho_p \mu_{max} X^{sa}$ 이며,  $\phi$ 는 Thiele modulus이다. 만일 액체배지내의 기질농도가  $K_m$  보다 매우 작으면 다음과 같은 단순화된 식을 얻을 수 있다.

$$\frac{d^2 S^*}{dy^{*2}} + \frac{2}{y^*} \frac{dS^*}{dy^*} - \phi^2 S^* = 0 \quad (4)$$

B.C. :  $S^* = 1$  at  $r^* = 1$       $\frac{dS^*}{dy^*} = 0$  at  $r^* = 0$

이 식은 상미분방정식으로 쉽게 해를 구할 수 있는데 액체배지내의 기질농도에 대한 각 입자반경에 따른 기질농도는 다음과 같이 주어진다.

$$S^* = \frac{1}{\gamma^*} \frac{\sinh(\phi \gamma^*)}{\sinh \phi} \quad (5)$$

입자크기의 결정에 있어서 결정의 지표로 삼는 공정변수가 효율인자(effectiveness factor)이다. 이는 확산저항이 없을 때의 반응속도와 있을 때의 반응속도의 비이다. 효율인자는 정의에 의해서 식 (6)으로 표시된다. 이로부터 실험에 의해 구해진 Monod식의  $\mu_{max}$ 와  $K_m$ 를 이용하여 효율인자 및 담체내의 기질농도구배와 중심에서의 기질농도를 계산하였다.

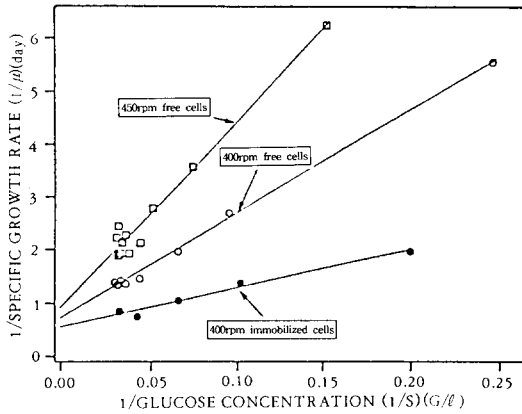


Fig. 1. Lineweaver-Burk plot for specific growth rate and glucose concentration for freely suspended cells and immobilized cells cultured in a 4liter stirred tank batch bioreactor(Immobilized system: 50% colonized beads(v/v); Free cell system: 5% mycelial inoculum).

$$\eta = \frac{\text{observed rate}}{\text{rate with no conc. gradient in bead}} = \frac{\text{transfer rate of substrate on bead surface}}{\text{rate at bulk conc.}}$$

$$= \frac{A_p D_e \left( \frac{dS}{d\gamma} \right)_{r=R}}{\left( \frac{1}{Y_{X/S}} \right) \rho_p \mu_m S_i X} = \frac{3 \left( \frac{dS^*}{d\gamma^*} \right)_{r=1} \left( 1 + \frac{S_1}{K_m} \right)}{\phi^2}$$

$$= \frac{3 \left( \frac{dS^*}{d\gamma^*} \right)_{r=1}}{\phi^2} \quad (\text{If } S_1 \ll K_1)$$

$$= \frac{3}{\phi} \left( \frac{1}{\tanh \phi} - \frac{1}{\phi} \right) \quad \text{where } \left( \frac{dS^*}{d\gamma^*} \right)_{r=1} = \frac{\phi}{\tanh \phi} - 1 \quad (6)$$

### 결과 및 고찰

#### 비성장속도식의 모델링

고정화배양 및 현탁배양에 대한 포도당에 대한 비성장속도의 모델링은 이미 발표된 논문의 결과 data를 기초로 하였다(18). 비성장속도식의 기질에 대한 수식화를 위해 Monod 식에 기인하여 Lineweaver-

Table 1. Maximum specific growth rate( $\mu_{max}$ ) and Michaelis-Menten constant( $K_m$ ).

	$\mu_{max}$ (day <sup>-1</sup> )	$K_m$ (g/ℓ)
Immobilized cells, 400rpm	1.817	13.20
Suspended cells, 400rpm	1.393	27.50
Suspended cells, 450rpm	1.102	38.63

Burk plot(L-B plot)을 이용하여(식(7)) 각 매개변수들( $\mu_{max}$ ,  $K_m$ )을 구하였다(Fig. 1). 비교적 단순한 Monod 식에 대해 실험 data를 맞춘 이유는 향후 전산모사나 비균일계 (heterogeneous system)

$$\frac{1}{\mu} = \left( \frac{K_m}{\mu_{max}} \right) \left( \frac{1}{S} \right) + \left( \frac{1}{\mu_{max}} \right) \quad (7)$$

의 상태해석을 위해 기질수지를 나타내는 편미분방정식 또는 정상상태에서의 상미분방정식의 해를 구하는데 있어서 식의 단순화가 필수적이기 때문이다. L-B plot의 직선화된 graph가 암시하듯이 각 data들은 Monod 식에 의해 훌륭히 표현될 수 있음을 알 수 있다. 특히 고정화 균체의 성장 역시 제한 탄소원에 대해 Monod 식에 의존하고 있음은 주목할 만하다. 식(7)에서와 같이 *T. inflatum*의 비성장속도에 대한 매개변수값( $\mu_{max}$ 와  $K_m$ )들은 Fig. 1에서의 절편( $1/\mu_{max}$ )과 기울기( $K_m/\mu_{max}$ )를 계산함으로써 구할 수 있다. 각각의 배양에 따른  $\mu_{max}$ ,  $K_m$  값을 Table 1에 나타내었다. 최종균체농도에서의 비교에서와 달리 최대 비성장속도( $\mu_{max}$ )는 고정화 배양의 경우가 가장 높았다. 고정화 배양의 높은  $\mu_{max}$ 와 낮은  $K_m$  값은 현탁배양(400rpm 또는 450rpm)에서의 균체에 비해 고정화 균체의 높은 활성에 기인하는 것으로 추정된다. 또한 고정화 배양의 낮은  $K_m$  값은 고정화 균체의 기질에 대한 높은 친화도를 나타낸다. 이런 결과들은 많은 논문에서 보고된 바와 같이 고정화 배양에 의한 균체의 생리학적 변화(기질 소모, 생산성 향상 등)와 morphology 변화에 기인하는 것으로 사료된다(19, 20, 21, 22). 고정화 배양의 기질에 대한 균체농도의 수율,  $Y_{X/S}$ 는 균체농도와 소모된 기질 농도의 least-square method에 의한 통계학적 linear-plotting에 의해 0.35 g-DCW/g-glucose로서 얻어졌다(data not shown). 이렇게 얻어진  $Y_{X/S}$ ,  $K_m$ ,  $\mu_m$  값은 Table 2에 제시된 바와 같이 효율인자 계산을 위한 매개변수값들로 이용되었으며  $\rho_b$  (celite bead density)는 이미 보고된 문헌치를 사용하였다(12, 13). 각각의 simulation variable에 대한 수치범위는 실제적으로 실험가능한

Table 2. Lists of parameters and simulation values.

Parameters or simulation variables	Value	Units	Notes or sources
$Y_{x/s}$	0.35	g-DCW/g-glucose	Experimental
$K_m$ of immobilized cell	13.20	g/l	Experimental
$\mu_{max}$ of immobilized cell	0.0757	hr <sup>-1</sup>	Experimental
Bead radius, R	0.01~0.5	cm	Simulation variable
Loading capacity of bead $X^{sat}$	0.2~3.0	g-DCW/g-celite	Simulation variable
	0.5		*One value from experiment
Effective diffusivity of glucose, $D_e$	$0.7 \times 10^{-6} \sim 6.9 \times 10^{-6}$	cm <sup>2</sup> /sec	Simulation variable
Celite bead density, $\rho_b$	0.52	g/ml	Experimental

\* Experimental data to be published soon

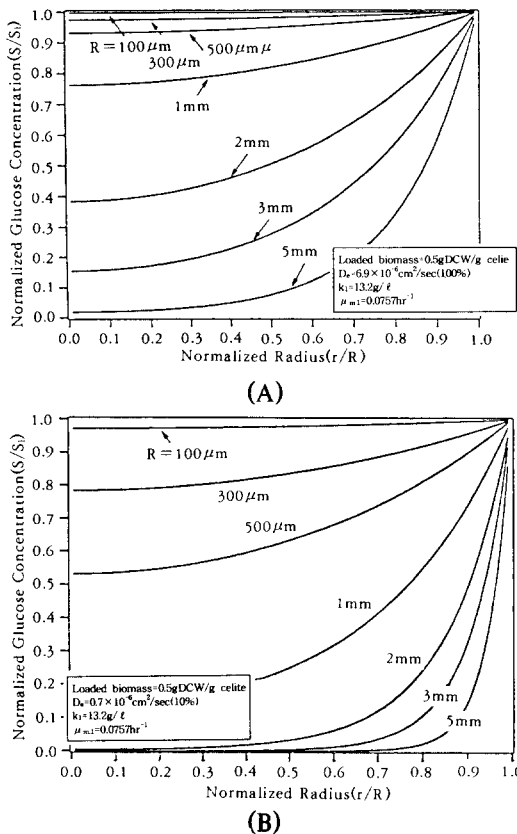


Fig. 2. Concentration profile within bead matrix with varying radius of biosupport particle for (A)  $D_e = 6.9 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{sec}$  and (B)  $D_e = 0.7 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{sec}$ . Other conditions:  $X^{sat} = 0.5 \text{g DCW/g celite}$ ,  $K_m = 13.2 \text{g/l}$ ,  $\mu_{max} = 0.0757 \text{hr}^{-1}$  and  $Y_{x/s} = 0.35 \text{g DCW/g-glucose}$ .

Table 3. Experimental effective diffusion coefficients for glucose into various carrier matrices loaded with microorganisms.

Diffusing substrate	Effective diffusivity ( $D_e$ ) ( $\times 10^6 \text{cm}^2/\text{sec}$ )	Biosupport Material	Reference
Glucose	0.1~5.0	Polyacrylamide	7
	0.5	Agar	6
	1.0	Collagen	6
	1.5~4.5	Carrageenan	8
	1.86	Carrageenan	9
	3.8	Carrageenan	10
	6.1	Alginate	11

범위를 설정하였다.

담체입자크기에 따른 담체내의 기질구배(substrate profile)

고정화배양에서 낮은 균체부하(cell loading)시에는 확산의 영향은 미미하다. 그러나 담체내의 균체량이 증가할수록 입자내 확산저항을 무시할 수 없게 된다. 본 연구는 고농도 고정상 세포를 이용한 perfusion 배양방식에서의 담체내의 확산저항을 살펴보기위해 행해진 연구로서(immobilized perfusion reactor system)에 대한 결과는 곧 발표될 예정이다, 이와 같은 배양조건에서는 1차의 기질소모속도식( $S_1 \ll K_m$ )을 가정할 수 있다. 이러한 경우 식(4)의 미분방정식에 대한 해인 식(5)에 의해 담체내의 기질농도의 구배를 구할 수 있다. 먼저 각 담체입자크기에 따른 규정화된(normalized) 기질(포도당)의 담체내 구배를 모사하여 이를 Fig. 2에 나타내었다. 두 경우 모두 담체입자크기의 증가에 따라 확산저항에 의해 입자 중심에서의 규정화 포도당농도가 감소

Table 4. Effects of bead size and diffusion coefficient on the performance on the immobilized *Tolypocladium inflatum* cells. ( $X^{st}=0.5g$  DCW/g celite,  $K_m=13.2g/l$ ,  $\mu_m=0.0757hr^{-1}$  and  $Y_{x/s}=0.35g$  DCW/g glucose).

Radius (cm)	$De=6.9 \times 10^{-6}(cm^2/s)$			$De=4.83 \times 10^{-6}(cm^2/s)$			$De=3.45 \times 10^{-6}(cm^2/s)$			$De=2.07 \times 10^{-6}(cm^2/s)$			$De=0.69 \times 10^{-6}(cm^2/s)$		
	$\phi$	$\eta$	$S_0/S_1$	$\phi$	$\eta$	$S_0/S_1$	$\phi$	$\eta$	$S_0/S_1$	$\phi$	$\eta$	$S_0/S_1$	$\phi$	$\eta$	$S_0/S_1$
0.01	0.13	1.00	0.997	0.16	1.00	0.996	0.19	1.00	0.994	0.24	1.00	0.991	0.41	0.99	0.972
0.03	0.39	0.99	0.975	0.47	0.99	0.964	0.56	0.98	0.950	0.72	0.97	0.919	1.24	0.91	0.783
0.05	0.66	0.97	0.932	0.78	0.96	0.905	0.93	0.95	0.870	1.20	0.92	0.796	2.07	0.80	0.531
0.10	1.31	0.90	0.762	1.57	0.87	0.684	1.85	0.83	0.596	2.40	0.75	0.441	4.14	0.55	0.132
0.20	2.62	0.72	0.384	3.13	0.66	0.274	3.70	0.59	0.183	4.78	0.50	0.080	8.28	0.32	0.004
0.30	3.93	0.57	0.154	4.70	0.50	0.086	5.56	0.44	0.043	7.17	0.36	0.011	12.4	0.22	0.000
0.50	6.55	0.39	0.019	7.83	0.33	0.006	9.26	0.29	0.002	12.0	0.23	0.000	20.7	0.14	0.000

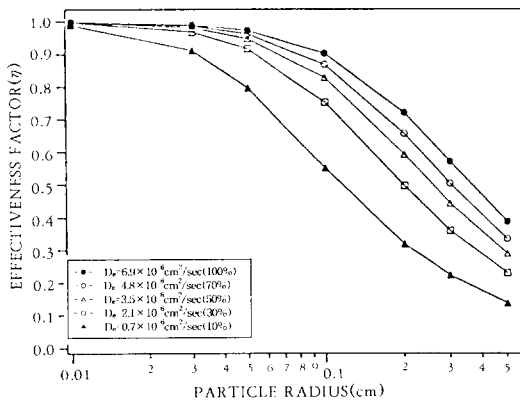


Fig. 3. Relationship between effectiveness factor and particle radius with varying effective diffusivities of glucose for  $X^{st}=0.5g$  DCW/g celite,  $K_m=13.2g/l$ ,  $\mu_m=0.0757hr^{-1}$  and  $Y_{x/s}=0.35g$  DCW/g glucose.

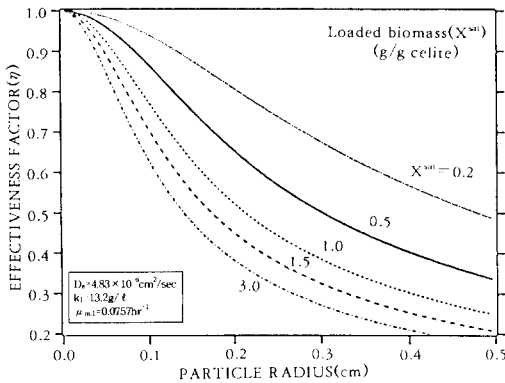
하는 경향을 보인다. 물에서의 포도당 분자확산계수 (molecular diffusivity)인  $D_0=6.9 \times 10^{-6}cm^2/sec$ 의 경우 (Fig. 2(A)), 담체 입자반경이  $500\mu m$ 까지는 입자중앙에서의 규정화 포도당농도가 90%를 유지했다. 이는 이 조건하에서는 물질전달속도가 충분히 크므로 기질소모반응이 반응제한(kinetic-control)이라는 것을 보여준다. 만일 담체에 부하 (loaded)된 균체양이 증가하여 물에서의 유효확산계수 (effective diffusivity)가 분자확산계수의 10% 수준 ( $0.7 \times 10^{-6}cm^2/sec$ )으로 감소한다면  $500\mu m$ 이상의 담체에서는 규정화 포도당농도가 심각하게 감소하는 것을 알 수 있다 (Fig. 2(B)). 이 경우는 기질소모속도가 물질전달속도보다 크므로 전체과정을 확

산제한(diffusion-control)으로 볼 수 있다.

유효확산계수와 담체입자크기가 효율인자에 미치는 영향

여러 문헌에 보고된 각 담체에서의 포도당의 유효 확산계수를 Table 3에 제시하였다. 각 담체의 종류나 균체부하의 정도에 따라 담체 내에서의 유효확산계수는 다르게 측정되었으며 대부분 물에서의 포도당 고유의 분자확산계수 ( $6.9 \times 10^{-6}cm^2/sec$ )보다 낮은 치수였다. 본 전산모사에서는 이런 다양한 경우를 포괄하여 예측하기 위해 담체내에서의 유효확산계수가 분자확산계수의 100%에서 10%까지의 범위 내에서 그 영향을 살펴 보았다. Fig. 3은 유효확산계수와 담체입자크기에 따른 효율인자를 나타낸다. 담체반경이  $300\mu m$ 보다 작은 경우 효율인자 값은 포도당의 유효확산계수와는 무관하게 0.9 이상을 유지하고 있음을 보여준다. 또한 균체부하의 정도에 의존하는 유효확산계수가 순수 물에서의 확산도의 30%만 유지해도 반경  $500\mu m$ 까지의 담체를 이용할 수 있음을 알 수 있다. 담체반경의 증가에 따라 효율인자는 크게 감소했으며, 특히 포도당의 확산도가 낮을 경우 이러한 현상은 더욱 심각한 것으로 나타났다.

이밖에 유효확산계수와 담체입자크기에 따른 고정화 *T. inflatum* 입자의 Thiele modulus와 담체중심에서의 기질농도를 계산하여 Table 4에 나타내었다. 효율인자 또는 담체중앙에서의 기질농도는 담체내부의 균체 lysis의 방비라는 측면에서도 매우 중요한데 만일 균체가 활성을 유지하기 위해 필요한 최소의 기질농도이상으로 담체 중앙의 농도가 유지된다면 전체 담체에서 거의 균일하게 균체가 자란다고 볼 수 있다. 담체크기가 커질수록 그리고 유효확산계수



**Fig. 4.** Relationship between effectiveness factor and particle radius with varying immobilized biomass density for  $D_e=4.83 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{sec}$ ,  $K_m=13.2\text{g}/\ell$ ,  $\mu_m=0.0757\text{hr}^{-1}$  and  $Y_{X/S}=0.35\text{g DCW}/\text{g glucose}$ .

가 감소할수록 담체중량의 규정화 기질농도는 작아짐을 알 수 있다. 이는 열악한 배양조건의 경우 담체 내부공간에서의 균체밀도가 표면에서보다 낮아져서 담체에서 자라는 균체의 비균일한 분포를 야기한다는 것을 의미한다. 고정화 담체내의 확산 저항에 의한 기질 농도 구배(gradient)는 담체내의 불균일한 균체분포를 초래하는데, 실제 *Saccharomyces cerevisiae*의 경우 담체표면에 가까운 쪽을 선호하여 균체가 자라는 현상이 여러 연구에서 보고되었다(14, 15). Inloes 등은 hollow fiber immobilized yeast bioreactor에서 막표면으로부터 100 $\mu\text{m}$  이상 떨어진 균체들은 포도당 부족을 겪는 것으로 보고했다(16).

균체부하(cell loading)가 효율인자에 미치는 영향 담체의 크기뿐만 아니라 부하된 균체밀도 역시 고정화 공정에서의 전체 효율인자에 영향을 미치는 요인이다. Regan 등은 그들의 전산모사연구에서 균체부하의 증가로 인한 반응기당 생산성은 증가하지만 효율인자 감소로 인해 고정화 균체의 활성의 지속적 유지가 어렵다는 점을 들어 최적 균체부하는 이런 두 가지 현상을 동시에 고려하여 결정되어야 한다고 주장하였다(17). Fig. 4에 균체부하량과 담체입자크기에 따른 효율인자를 나타내었다. 이전의 보고와 마찬가지로 균체부하량이 증가할수록 효율인자값은 급격하게 감소했다. 반경 500 $\mu\text{m}$  이하의 담체의 경우, 균체부하량이 3.0 g/g-celite인 경우에도 효율인

자값은 약 90%를 보여 여러 목적에 이용될 수 있는 가장 적절한 입자크기 범위를 알 수 있다. 균체부하가 0.5 g/g-celite인 경우 입자반경이 약 1.0mm의 큰 크기에서도 90% 이상의 효율인자값을 나타내었으며, 이로부터 적절한 담체입자크기와 균체부하의 결정이 고정상태배양에서 매우 중요하다는 것을 알 수 있다. 일단 원하는 담체크기와 효율인자를 정하면 유지해주어야 하는 균체부하의 농도를 전산모사결과 예측할 수 있으므로 본 연구의 결과는 고정상태 생물공정 운영에 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

**요 약**

Cyclosporin A 고정화배양과 현탁배양의 결과를 바탕으로 각각의 배양의 경우에 따른 비성장속도의 포도당에 대한 Monod 속도식을 제안하고 그에 필요한 매개변수들을 구하였다. 고정화 배양이 현탁배양에 비해 높은  $\mu_{max}$ 와 낮은  $K_m$  값을 갖는 것으로 나타났다는데 이는 고정화 균체의 우수한 활성과 기질에 대한 높은 친화도에 기인한 것으로 보인다. 고정상태 발효의 경우, 구한 매개변수들을 담체내에서의 물질 전달 및 반응속도의 정도를 나타내는 효율인자 값을 계산하는데 이용하였다. 중요한 고정화 공정변수인 담체크기, 균체부하의 정도가 기질의 확산저항에 미치는 영향을 고려하여 효율인자값을 계산한 결과, 적절한 담체의 크기는 반경 100~500 $\mu\text{m}$ 로 나타났다. 고정화세포배양시 담체내의 균체의 균일한 분포 및 활성도의 유지를 위해서, 적절한 담체입자크기를 결정할 후 균체부하량을 조절하여 고정화 공정을 운영하는 것이 중요한 것으로 판명되었다.

**용어설명**

- $A_p$  Surface area of bead ( $\text{cm}^2$ )
- $D_e$  Effective diffusivity ( $\text{cm}^2/\text{sec}$ )
- $K_m$  Monod constant ( $\text{g}/\ell$ )
- $r$  Radius from center of the bead (cm)
- $R$  Radius of bead (cm)
- $r^*$  Normalized radius
- $S$  Substrate concentration in the celite bead ( $\text{g}/\ell$ )
- $S^*$  Normalized substrate concentration
- $S_1$  Substrate concentration in the bulk medium ( $\text{g}/\ell$ )
- $v_p$  Fractional void volume of biosupport

X	Cell loading on or in bead (g/g-celite)
$X^{\text{sat}}$	Saturated or maximum cell loading
$Y_{X/S}$	Yield of substrate to cell mass (g/g)
$\phi$	Thiele modulus
$\eta$	Effectiveness factor
$\mu_m$	Maximum specific growth rate ( $\text{hr}^{-1}$ )
$\nu_{\text{max}}$	Maximum substrate consumption rate (g/ $\ell$ /hr)
$\rho_p$	Celite bead density (g/ml)

### 참고 문헌

- G. T. Chun(1994), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **9**, 211.
- K. Gbewonyo and D.I.C. Wang (1983), *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 967.
- K. Gbewonyo and D.I.C. Wang (1983), *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 2873.
- B. Atkinson (1974), *Biochemical Reactors*, p. 191, Pion Ltd, London.
- M. L. Shuler and F. Kargi (1992), *Bioprocess Engineering*, p.254, Prentice-Hall, Eaglewood Cliffs, NJ.
- T. Matsumura, T. Imanaka, T. Yoshida, and H. Taguchi (1980), *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 2607.
- F. Mavituna (1986), *Activity of immobilized cell particles in Process Engineering Aspects of Immobilized Cell Systems*(C. Webb, G.M. Black and B. Atkinson, eds), p.135, Pergamon Press, New York.
- H.S. Kim and D.D.Y. Ryu (1982), *Biotechnol. Bioeng.*, **24**, 2167.
- E. Brito, J.D. Juan, F. Dominguez, and L.T. Casas (1990), *J. Ferment. Technol.*, **69**, 135.
- C.D. Scott, C.A. Woodward, and J.E. Thomson (1989), *Enzyme Microb. Technol.*, **11**, 258.
- B. J. M. Hannoun and G. Stephanopoulos (1986), *Biotechnol. Bioeng.*, **28**, 829.
- D. K. Robinson and D.I.C. Wang(1988), *Biotechnol. Prog.*, **4**, 231.
- D. K. Robinson and D.I.C. Wang(1989), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **506**, 229.
- M. J. Wada, J. Kata, and I. Chibata (1980), *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **10**, 275.
- I. Chibata, T. Tosa, and M. Fujimura (1983), *Ann. Rep. Ferment. Process*, **6**, 1.
- D. Inloes, D.P. Taylor, S. N. Cohen, A. S. Michaels, and C. R. Robertson (1983), *Appl. Environ. Microbiol.*, **46**, 264.
- D. L. Regan, M. D. Lilly, and P. Dunill (1974), *Biotechnol. Bioeng.*, **16**, 1081.
- G. T. Chun (1994), *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **9**, 200.
- K. C. Chen, and C. T. Huang(1988), *Enzyme Microb. Technol.*, **10**, 284.
- K. F. Reardon and J. E. Bailey(1989), *Biotechnol. Prog.*, **5**, 144.
- D. Wohlpart, J. Gainer, and D. Kirwan (1991), *Biotechnol. Bioeng.*, **36**, 759.
- Y. Shirai, K. Hashimoto, H. Yamaji, and H. Kawahara(1988), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **29**, 113.