

## 발효조의 온도제어 신호를 이용한 직접열량계의 개발 및 대사열량의 온라인 측정

홍 건 표 · 허 원  
강원대학교 공과대학 환경·생물공학부  
(접수 : 1999. 8. 10., 게재승인 : 1999. 10. 18.)

### Development of an Integrated Calorimeter Using Temperature Control Signals of a Bioreactor and On-line Measurement of Metabolic Heat of a Microbial Cultivation

Keun-Pyo Hong and Won Hur

Division of Environmental and Biological Engineering, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon 200-701, Korea  
(Received : 1999. 8. 10., Accepted : 1999. 10. 8.)

For development of an integrated calorimetric bio-reactor to measure the metabolic heat dissipated during cell growth, a 5 liter jar fermenter was modified to measure the pulse length of automatic temperature control signals to set heater on and off, and to send them to computer to calculate the cumulative heat supplied. Cumulative heats for the calorimetric reactor in the absence of cell growth, were measured with varying conditions. The heat loss by the aeration was 30.9 kJ/vvm and the loss to ambient air was 10.5 kJ/L/hr/°C. Cumulative heat was measured within  $\pm 0.2\%$  when testing with a small electric heater submerged in the reactor. Metabolic heat was measured to be 0.76 and 11.4 kJ per g consumption of glucose during cultivation of *S. cerevisiae* and *E. coli*, respectively.

**Key Words** : calorimeter, metabolic heat, data acquisition, heat balance

#### 서 론

미생물의 성장은 항상 대사열의 발생을 수반한다(1). 대사열은 유기물의 소화 과정에서 자유에너지의 감소가 열에너지 형태로 전환한 것과 ATP에 저장된 에너지가 세포의 생합성 및 대사활동에 다시 사용되면서 발생하는 열에너지가 대부분이다(2). 대사열의 발생량 및 발생 속도는 대사 경로의 종류, 균체량 및 기질의 종류 및 그 소모 속도에 따라 다르며 대사열을 측정하면 미생물의 대사 상태 및 균체량, 이차 대사산물의 생산 등에 대한 정보를 얻을 수 있다(3). 그러나 대사열은 미생물의 대사 활동도를 측정하는 수단으로 흔히 사용되지 않고 있다. 그 이유는 열량측정 장치의 복잡성과 측정의 어려움에 기인하며 측정된 대사열량을 정량적으로 해석하기 어렵기 때문이다(4). 화학반응용 반응열량계는 미생물을 배양하면서 열량을 측정하기가 용이하지

않으므로 미생물에서 발생하는 대사열량을 직접 측정하기 위해서 External-flow microcalorimeter, Twin-type Heat-flux calorimeter, Dynamic calorimeter 및 Heat-flux calorimeter 등이 개발되어 사용되고 있다(5-8) 그러나 External-flow microcalorimeter는 배양액을 외부로 순환시켜야하므로 오염발생 가능성이 높고 및 호기성 배양에는 사용하기 어려운 점이 있다(5). Twin-type Heat flux calorimeter는 2 대의 발효조를 사용하여 한쪽의 발효조에만 배양을 실시하여 공급된 열량을 미생물이 없는 발효조에 공급된 열량과 비교하여 대사열량을 측정한다(6). Dynamic calorimeter는 배양중 온도조절을 멈출 경우 온도의 하강속도를 비교하여 대사열량을 측정하는 방법이나 지속적으로 배양을 하는 경우에는 사용하기 어렵다는 단점이 있다(7). 정밀하게 대사열량을 측정할 목적으로 개발된 Heat-flux calorimeter는 두 단계의 냉각장치를 사용하여 외부온도의 변화가 미치는 영향을 최소화하고 냉각수의 사용량을 측정하여 대사열량을 측정한다(8).

대사열은 미생물 배양 분석의 한 수단으로 사용되거나 혹은 공정을 모니터 할 수 있는 공정 변수로서 사용될 수 있다. 미생물의 배양이 가능한 열량계를 사용하여 이론적으로 알려져 있는 Yeast 와 *Zymomonas*의 에탄올 발효과정에서의 열에너지의 발생의 차이를 실증적으로 측정하였고(9), *Klebsiella*의 유지에너지

† Corresponding Author : Division of Environmental and Biological Engineering, Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon 200-701, Korea  
Tel : 0361-250-6276, Fax : 0361-243-6350  
E-mail: wonhur@cc.kangwon.ac.kr

(maintenance energy)를 연속배양을 통하여 측정되었다(10). 이외에도 여러 종류의 기질에 대한 열량 발생을 측정하여 유산균의 분류 및 동정을 시도하거나(11), 여러 종류의 기질에 대한 미생물의 배양특성을 확인하는데도 사용되었다(12). 공정변수로서 열량을 측정하여 균체의 농도를 추정하여 공정 모니터에 활용되었으며(13), 온라인으로 측정된 열량을 이용하여 유가배양시의 제어변수로 사용한 예가 보고되고 있다(14, 15).

본 연구에서는 기존의 발효조를 최소한으로 개조하여 위와 같은 대사열량을 측정할 수 있는 기능을 가진 생물반응기를 개발하고 이를 이용하여 대사열량을 측정하고 이 반응기의 대사 열량 측정 특성을 조사해 보고자한다. 이를 위하여 온도조절기로부터 온도제어 신호를 측정하여 발효조의 온도를 일정하게 유지할 수 있도록 공급된 열량을 계산하고 외부온도로 보정하여 소프트웨어적인 방법으로 대사열량을 측정하는 방법을 고안하였다.

**재료 및 방법**

**대사열 측정 이론**

발효조에서의 열량수지를 이용하여 대사열량을 측정하고자 한다면 발효조의 열량수지는 발효조에 열을 공급해주는 부분은 히터가 발생시키는 열량( $Q_{heating}$ ), 교반에 의한 발생하는 열량( $Q_{agitation}$ ) 그리고 미생물이 성장하면서 발생하는 대사열( $Q_{met}$ )이 있다. 열을 잃어버리는 요인으로는 공기공급으로 발생하는 기화열 손실( $Q_{aeration}$ ), 외기 온도차에 의해 발생하는 열전달에 의한 열손실( $Q_{loss}$ ) 및 냉각수에 의한 열손실( $Q_{cooling}$ )이 있다. 따라서 발효조의 열평형식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$V_r \cdot C_p \cdot \rho \frac{dT}{dt} = Q_{heating} + Q_{met} + Q_{agitation} - Q_{aeration} - Q_{cooling} - Q_{loss} \tag{1}$$

발효조의 온도를 일정하게 조절하고 있는 동안을 pseudo-steady state라고 보면 식(1)의 좌측의 항이 0이 되므로 일정한 온도에서 운전하는 생물반응기에서 대사열량을 측정하기 위하여 교반 속도 그리고 통기 속도 등의 조건이 변화할 때의 대사열을 예측하는 관계식을 구하면 다음과 같다.

$$Q_{met} = Q_{aeration}(vvm) + Q_{loss}(\Delta T) - Q_{agitation}(rpm) - Q_{heating} - Q_{cooling}(LMTD) \tag{2}$$

온도 제어장치에 의하여 ON/OFF 방식으로 온도제어가 수행될 경우 히터를 가열하는 제어신호의 길이(tp)에 가열체에 의하여 공급되는 열량의 곱의 누적 값을 이용하여 히터의 가열량을 측정할 수 있다. 여기서 R은 히터의 저항치이며 V는 히터에 공급되는 전압이다.

$$Q_{heating} = \frac{V^2}{R} \cdot \sum_{i=1}^n t_p \tag{3}$$

따라서 히터에 의하여 공급된 누적열량을 식(3)으로부터 얻을 수 있으므로 균체가 없고 냉각수를 사용하지 않는 상태에서 발

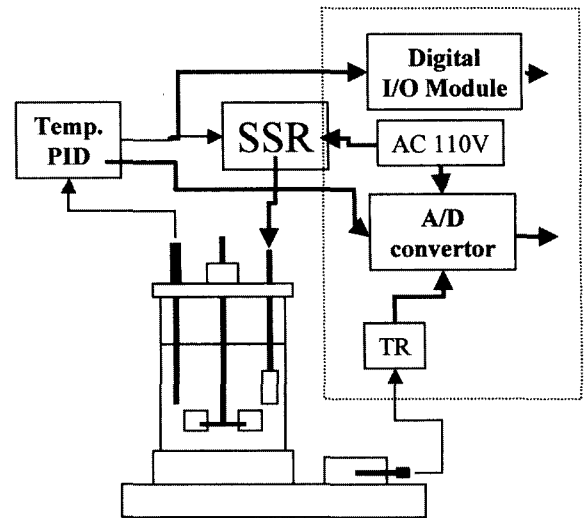


Figure 1. Hardware configuration for the integrated calorimetric bioreactor.

효조와 외부의 온도차를 변화시켜 누적 열량을 측정하면 외기와 온도차에 의한 열 손실량 온도차에 따라 계산할 수 있다. 동시에 일정한 온도차가 유지된 상태에서 교반속도와 통기량을 조절하면서 누적 총 가열량을 식(4)으로 측정하여 교반시 혹은 통기시 열의 출입량을 계산할 수 있다(Figure 1).

$$\sum Q_{met} = \sum Q_{aeration}(vvm) + \sum Q_{loss}(T_f - T_{ext}) - \sum Q_{agitation}(rpm) - \frac{V^2}{R} \cdot \sum_{i=1}^n t_p \tag{4}$$

**발효조에 열량 측정 장치의 구현**

5 L 용량의 실험용 발효조(BK5L, 복성엔지니어링)를 사용하였으며 대사열량을 측정할 수 있는 기능을 부여하기 위하여 다음과 같이 발효조의 장치를 일부 변형하였다(Figure 2). 발효조의 하부의 가열체를 제거하고 150 watt 용량의 카트리지 타입의 가열체를 제작하여 배양액에 잠긴 상태가 되도록 설치하였다. 릴레이 방식의 On/Off 제어구동장치를 제어 주기가 수초 정도로 줄일 수 있는 SSR(Solid State Relay) 방식으로 개조하였다. 온도 조절장치는 발효조의 기존의 온도조절 장치를 제거하고 SSR을 구동하고 온도의 변화에 따라 4-20 mA의 전송출력을 발생하는 온도조절기(DX3-KMURSD, 한영전자)를 본 용도에 맞게 주문하여 사용하였다. 가열체를 구동하는 SSR구동용 제어출력신호의 길이를 온라인으로 측정할 수 있도록 하기 위하여 제어신호를 Digital I/O 변환기를 이용하여 RS485 방식의 신호로 컴퓨터로 전송할 수 있도록 구성하였다. 발효조의 온도 조절 장치로부터 4~20 mA의 전류신호로 변환되어 발생하는 온도 제어 신호를 250 Ω의 정밀저항을 이용하여 1~5 V의 전압신호로 변환한 후 16bit A/D converter(Adam 4050, Advantech USA)의 입력에 연결하였다. 실험실의 전원전압이 지속적으로 108~119 Volt의 범위 내에서 변하고 있으므로 (결과보이지 않음) 보다 정밀하게 공급된 열량을 측정하기 위하여 입력전압을 A/D converter로 측정하고 배양액의 온도에 따른 가열체의 저항값을 적용하여 전압의 변동하여도 공급된 열량을 정확하게 측정할 수 있도록 하였다.

교반에 의하여 발생하는 열량을 항상 일정하게 하기 위하여

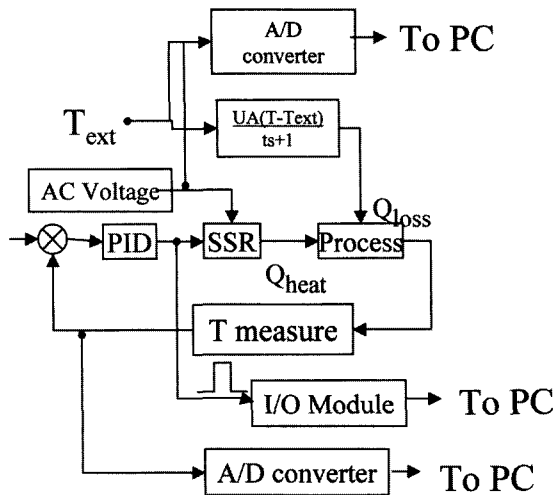


Figure 2. Diagram of measurement of temperature control signal.

슬라이더를 사용하여 일정한 전압을 구동 모터에 공급하도록 개조하였다. RPM을 일정하게 유지하도록 설정하는 방식의 경우 배양액의 점도가 변하거나 균체의 양이 증가하면 RPM을 일정하게 유지하기 위하여 교반기의 구동 모터에 공급되는 전력의 양을 조절하여 교반에 의하여 발생하는 열량의 변화를 가져온다. 따라서 본 실험에서는 RPM이 발효의 전반적 과정을 통하여 변화하더라도 교반에 의하여 발생하는 열량을 일정하게 유지시키기 위하여 교반 모터에 공급되는 전력량을 일정하게 제한하였다.

압축된 건조한 멸균공기를 발효조에 공급하면 기화열 손실이 발생한다. 따라서 기화열손실을 일정하게 유지시키기 위하여 공기의 공급 유량을 유량계로 조절하여 항상 일정하게 유지하였다.

**대사열량측정용 프로그램 작성**

A/D 변환기와 I/O변환 장치로부터 입력되는 발효조의 온도와 가열을 지시하는 SSR구동용 전압 펄스의 길이를 측정하고 이를 식(3)에 적용하여 단위 시간당 발효조에 공급된 총 열량을 계산하고 표시하는 프로그램을 작성하였다. 이 프로그램은 먼저 A/D 변환기로부터 발효조의 온도신호를 받아들이고 Digital I/O 변환기로부터 가열 펄스를 읽는다. 전술한바와 같이 ON/OFF 제어의 경우에는 펄스의 길이로부터 발효조로 공급된 열량을 측정할 수 있다. 그러나 발효조의 운전과정에는 pH 조절 및 소포제의 투입과 같이 열량의 변화에 영향을 미치는 다른 부수적인 동작이 있으므로 이를 해결하기 위하여 변화하는 온도를 동시에 측정하여 온도의 변화가 가열동작 제어신호에 상관성 있게 반응하는가를 확인한 후 외부의 잡음이 반영된 자료를 제거하여 정밀한 측정 방법을 소프트웨어적으로 구현하였다. 또한 전술한바와 같이 열량 보정을 통하여 이 값을 단위 부피당 및 단위 시간당 발생하는 대사열량으로 계산할 수 있도록 하였다(Figure 3).

**균주 및 배지**

본 연구에 사용한 균주는 *Escherichia coli* K12(ATCC10798)와 *Saccharomyces cerevisiae*(ATCC11351)이다. 각각 Coli Genetic Stock Center(CGSC, Yale USA)와 종균협회(연세대, 한국)에서 분양 받아 사용하였으며 *E. coli* K12는 한천 평판 배지에서 37°C로 24시간 배양한 후, 4°C에서 보존하였으며, 주기적으로 재배양

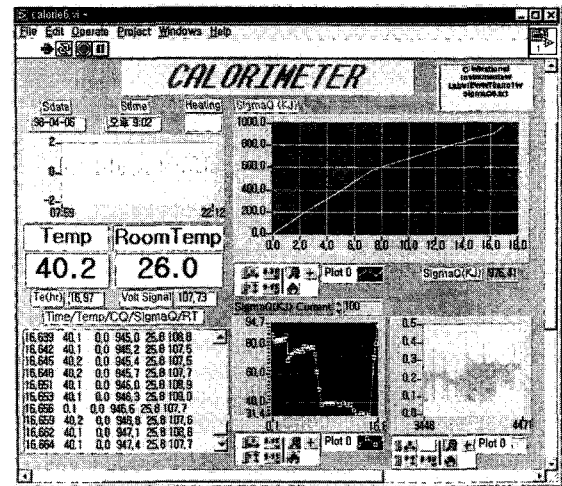


Figure 3. Software development to measure metabolic heat using LabView™ application.

하여 보관하였다. *S. cerevisiae*는 한천배지에서 30°C에서 48시간 배양한 후 4°C에서 보존하였으며, 주기적으로 재배양하여 보관하였다. 배지는 *E. coli*의 경우 40 g/L glucose를 포함한 LB 배지를 사용하였으며, *S. cerevisiae*는 100 g/L glucose, 10 g/L Yeast extract, 10 g/L peptone, 1 g/L의 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 사용하였으며, 모든 배지는 121°C에서 15분간 가압 살균하여 사용하였다.

**배양 및 시료분석**

접종균의 전배양의 경우 *E. coli*는 한천배지에서 보존하였던 균주를 배지 100 mL를 함유한 250 mL 삼각 flask에 백균이로 1회 접종하고, 37°C에서 12시간 진탕 배양하여 종균 배양액으로 사용하였다. 본 배양은 배지 3 L를 포함한 5 L 발효조에 종균배양액을 3%(v/v) 접종한 후, 37°C에서 200 rpm으로 12시간 배양하면서 시료를 채취하여 실험하였다. *S. cerevisiae*는 밀폐된 125 mL 병에 100 mL의 배양액을 첨가하여 48시간동안 정치 배양한 후 종균배양액으로 사용하였다. 본 배양은 배지 3 L를 포함한 5 L 발효조에 종균배양액을 3%(v/v) 접종한 후, 발효조의 온도를 30°C를 유지하고 시료를 채취하면서 90시간 이상 배양하였다. 배양액을 채취후 680 nm에서의 흡광도를 측정하여 건조중량으로 환산하였다. 건조중량으로 환산하는데 사용하는 Conversion factor는 균체를 원심분리한 후 세척하여 105°C에서 건조시킨 후 건조중량과 OD<sub>680</sub>과의 관계를 구한 것으로 *S. cerevisiae*는 0.23 g/L/OD<sub>680</sub>, *E. coli* K12는 0.34 g/L/OD<sub>680</sub>였다. 채취된 시료중 원심분리하여 배양여액만을 모아 냉동 보관해 두었던 시료는 DNS 법으로 당정량 측정을 하였고, 가스크로마토그래프를 이용하여 에탄올을 정량하였다.

**결과 및 고찰**

**생물반응기의 열량수지의 측정**

전술한 열량측정 소프트웨어를 이용하여 히터에 의하여 반응기에 공급된 누적 총열량을 여러 조건하에서 일정시간동안 측정하여 반응기의 열량수지를 측정하였다. 발효조의 교반에 공급된 에너지중 일부가 열에너지 형태로 변화하여 발효조의 열량을 증가시키는데 기여하므로 이를 보정하기 위하여 교반속도의 변화

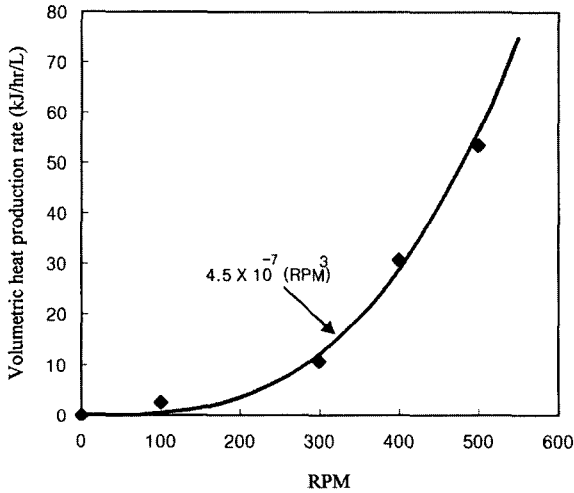


Figure 4. Heat dissipated by agitation.

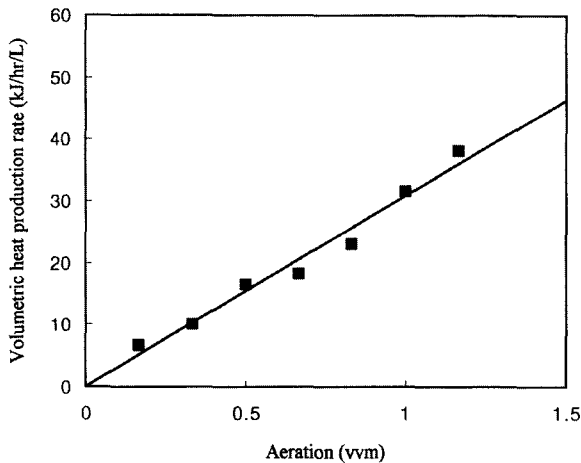


Figure 5. Heat loss by aeration.

에 따른 열량의 발생량을 측정하였다. 외기의 온도의 변화가 없는 약 1시간동안 반응기의 교반속도를 고정된 상태에서 반응기에 히터에 의하여 공급된 열량을 측정하여 교반속도의 증가에 따라 발생한 열량의 차를 표시하였다(Figure 4). 교반속도의 증가에 따라 기하 급수적으로 발생하는 열량이 증가하였으며 교반속도의 세제곱에 가장 잘 비례하여 증가하였다. 이는 Power number의 교반속도와 외부에서 공급된 에너지에서의 관계와 잘 일치하고 있다. 배양액의 통기과정에는 주로 기화열에 의한 열손실이 발생시켜 공급된 열량에 영향을 주므로 통기량의 변화에 따른 열손실을 측정하였다. 같은 방법으로 외기의 온도가 변하지 않은 조건에서 통기량을 고정시킨 후 일정시간동안 히터가 공급한 총열량을 측정하고 통기량의 변화에 따라 측정하였다(Figure 5). 본 연구가 수행된 실험실의 압축공기 공급시스템을 사용할 경우 1 vvm 당 30.9 kJ/hr의 열손실이 일어났다. 이 값은 사용하는 공기의 습도 및 온도에 따라 변하므로 계절 및 습도가 많이 변할 경우 다시 측정하여 수정해야 한다.

생물반응기를 장시간 운전하면 필연적으로 외기의 온도가 변화하므로 발효조와 주변의 공기간의 전도 및 대류에 의한 열 손실량이 변화하므로 이때의 열 손실 계수를 측정하여 보정한다.

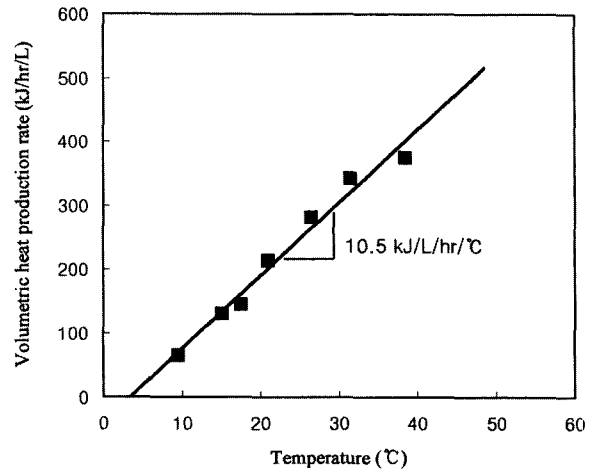


Figure 6. Heat loss to ambient air with increasing temperature difference.

따라서 일정한 외기 온도 상태에서 1시간동안 공급된 누적 열량을 측정하는 방법으로 발효조의 온도를 달리하여 여러 온도에서 온도차에 따른 단위시간당 발효조에 공급된 열량을 측정하였다. Figure 6에 발효조와 외기의 온도차에 따라 공급된 누적열량을 표시하고 추세선을 같이 나타내었다. 발효조와 외기의 온도차가 증가에 따라 공급된 열량은 선형적으로 비례하며 증가하였으며 10.5 kJ/hr/L/°C의 열손실이 발생함을 알 수 있었다. 이 그래프에서 유의할 점은 추세선을 연장하면 원점의 좌표와 만나지 않고 음의 값을 가진다는 것이다. 즉 온도차가 없을 경우 열량공급이 없어야 하지만 교반에 의하여 열에너지가 공급되므로 온도차이 없을 경우 열량 발생량이 음의 값을 가지는 것은 당연하다고 볼 수 있다.

직접열량계의 특성 및 정확도 조사

통기량, rpm 및 외기로 열손실계수가 결정되었으므로 이를 전술한 식 (4)에 적용하여 대사열량의 누적치( $\Sigma Q_{met}$ )를 측정할 수 있다. 전술된 측정된 열전달 계수를 식 (4)에 적용하여  $\Sigma Q_{met}$ 를 온라인으로 측정할 수 있도록 소프트웨어를 수정하였다. 그리고 열량측정의 정확도 및 정밀도를 측정하기 위하여 균체가 없고 물로만 채워진 반응기에서 약 23시간 동안 대사열량의 누적치를 측정하였다. 균체의 성장이 없으므로 대사열량의 누적치는 시간에 관계없이 이론적으로는 항상 0으로 측정되어야한다. Figure 7b에 실제로 측정된 누적 대사열량을 시간의 경과에 따라 나타내었다. 약 12시간 부근에서 최대로 약 19 kJ/L의 오차를 보임을 알 수 있었다.

이러한 오차는 외부의 온도의 변화를 측정하는 온도센서의 열용량과 반응기의 열용량과는 매우 다르고 강제순환이 없는 반응기 주변의 공기의 온도 구배와 반응기의 바닥부분의 철판 등이 열전달의 매개체로 작용하여 외부의 온도의 변화가 바로 열손실에 반영되지 않았기 때문이라고 판단되었다. 약 2/3 이상의 열손실이 반응용기와 접하고있는 바닥부분의 철판에서 발생함을 추가적인 실험을 통하여 알 수 있었다. 따라서 외기와 열전달에서 반응용기와 접한 발효조의 바닥의 철판이 방열판의 기능을 하고 있다. 따라서 외부의 온도의 변화가 1차적으로 철판의 온도를 변화시키고, 이 열전달 매개체를 통하여 반응용기의 열손실에 반영되는 것으로 가정하였다. 따라서 수치미분기능을 열량

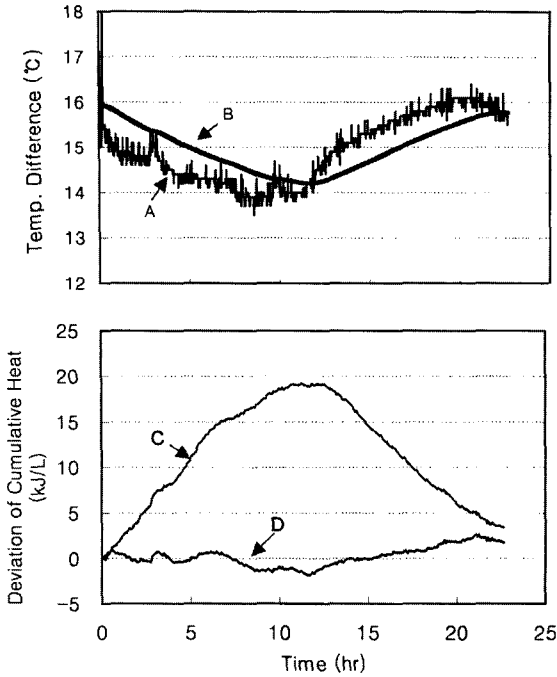


Figure 7. a: The profiles of the temperature difference(A) and effective temperature difference(B) between fermentor and ambient air. The effective temperature difference is a result of first-order transfer function of the temperature difference between fermentor and ambient air. b: Base line deviations when calibration by the temperature difference and the effective difference.

측정 소프트웨어에 추가하여 아래의 식과 같이 외부의 온도( $T_{ext}$ )의 변화를 1차계 전달 함수를 통하여 실효온도차( $T_{eff}$ )로 바꾸어 이를 식 (4)의  $T_{ext}$ 를  $T_{eff}$ 로 변환시켜 대사 열량을 측정하였다.

$$T_{ext} \rightarrow \frac{1}{\tau \cdot s + 1} \rightarrow T_{eff} \quad (5)$$

식 (5)의 시정수( $\tau$ )를 변화시키며 누적열량의 오차의 제곱의 합이 최소가 되는 시정수를 9.5시간으로 결정하였으며 이때 누적 열량은 +2.4 kJ/L와 -2.0 kJ/L의 범위 내에서 보정할 수 있었다. 외기온도와 실효온도의 차이를 Figure 7a에 전달함수를 이용하여 보정된 누적 대사열량을 Figure 7b에 각각 나타내었다. 대사열량을 측정하는 동안에 1200 kJ/L의 열량이 히터를 통하여 반응기에 공급되었고 측정된 대사열량은 약 +2.4 kJ/L와 -2.0 kJ/L의 범위 내에서 변화하였으므로 대사열은  $\pm 0.2\%$ 의 범위 내에서 측정할 수 있었다.

그리고 반응기의 내부에 50 Watt 용량의 소형 가열체를 넣고 일정한 전압을 가하여 발열시킨 후 발생하는 누적 열량을 본 시스템을 이용하여 측정하였다. 발열체에 전압을 가한 후 일정 시간 후 반응기의 온도조절이 안정된 후 측정된 반응기의 누적열량의 측정오차는 매회  $\pm 0.2\%$ 의 범위에서 측정되었다. 그러나 가열체에 전압을 가한 후 약 수십 분 동안은 PID 방식의 온도 제어장치가 외란에 대응하기 위하여 동특성이 변화하고 열량 측정의 오차가 많이 발생하였다. 일정시간동안 공급전압은 30, 40, 50 volt로 변화시키면서 측정된 열량생성속도 Figure 8에 나타내었다. 발효조 내부에 급격한 열량의 발생의 변화가 있을 경우에는 PID 방식에 의한 제어 응답에서 열량 측정의 오차가 발생하

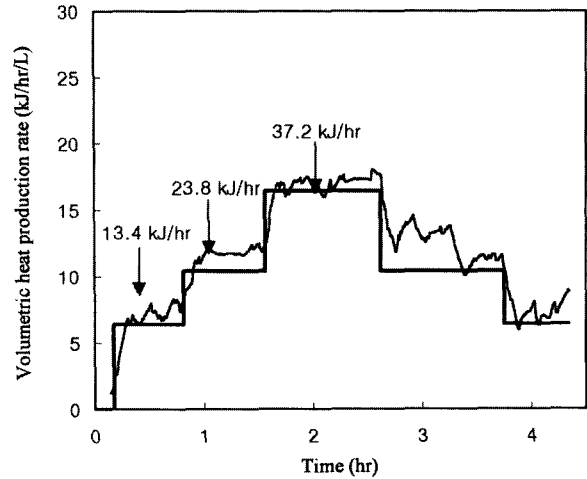


Figure 8. Measurement of metabolic heat generation using a calibration heater(50 watt) submerged in the reactor.

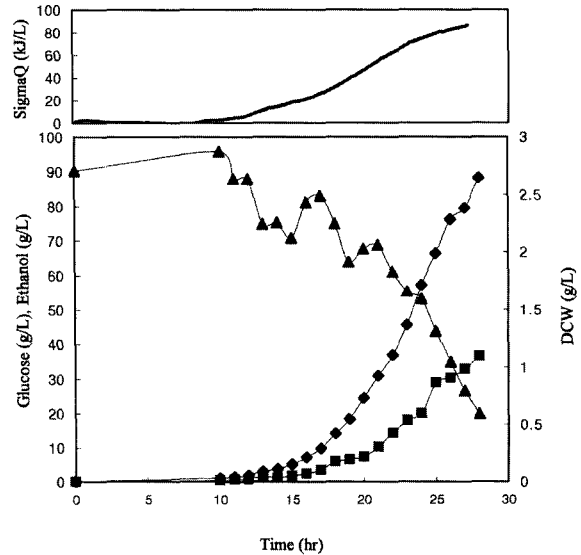


Figure 9. Measurement of cumulative metabolic heat production by *S. cerevisiae*. (-▲- glucose, -■- ethanol, -◆- dry cell weight)

는 것으로 추정된다.

**효모 배양과 대사 열량의 측정**

전술한 직접열량계의 기능을 가진 발효조에 *S. cerevisiae*를 배양하여 온라인으로 발생하는 대사열량을 측정하고 타 연구자들에 의하여 보고된 결과와 비교하였다. 반응기에 *S. cerevisiae* 접종하고 27시간 동안 호기적 조건에서 배양하면서 발생하는 대사열을 측정하였다(Figure 9). 27시간 동안 발생한 대사열은 85 kJ/L이었고 균체는 2.7 g/L 에탄올은 35 g/L 생산되었다. 당소비량과 발생한 대사열량의 관계를 보기 위하여 당소비량에 따른 대사열량을 Figure 10에 나타내었다. 그리고 최소자승법을 적용하여 포도당 1 g당 0.78 kJ의 대사열량이 발생하였음을 알 수 있었다. 균체량의 성장에 따른 대사열량의 발생을 Figure 11에 표시하였다. 단위균체 생성당 발생한 대사열량은 32.2 kJ/gDCW 부터 13.4 kJ/gDCW, 27.1 kJ/gDCW로 변화하면서 효모의 성장

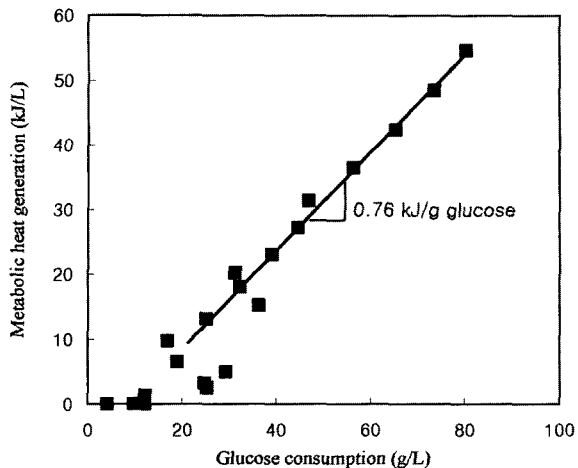


Figure 10. Metabolic heat generation with glucose consumption.

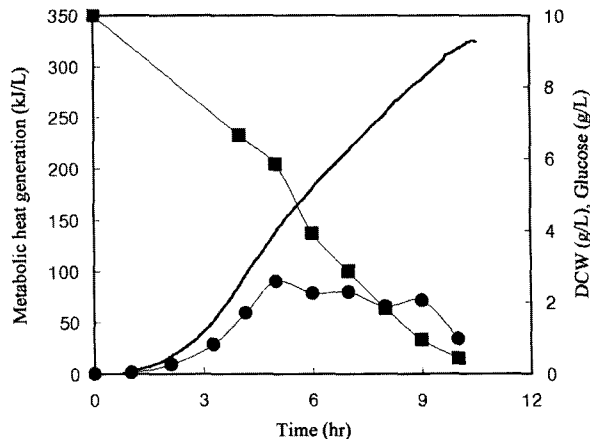


Figure 12. Metabolic heat generation by *E. coli* K12 wild type. (--- metabolic heat, ● dry cell weight, -■- glucose)

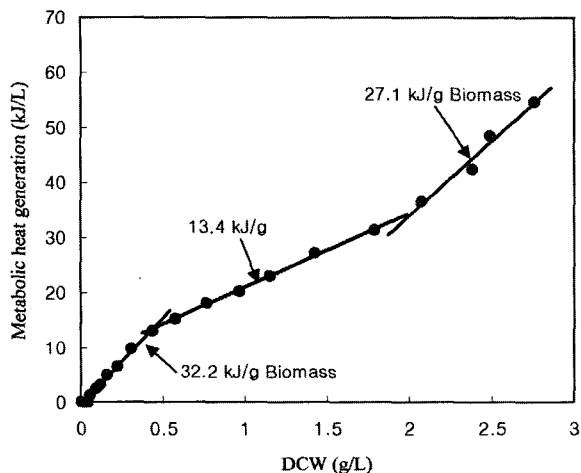


Figure 11. Metabolic heat yield for biomass showing different metabolic states.

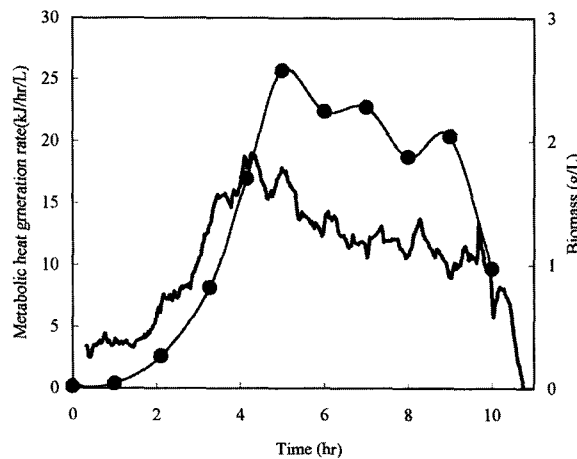


Figure 13. Rate of metabolic heat generation and cell growth. (--- rate of metabolic heat, ● dry cell weight)

에 따라 대사상태가 변함을 알 수 있다. 호기적 조건에서 효모의 성장시 이후 같이 3단계의 생성된 균체당 열량발생의 변화는 이미 보고된 바 있다(16). 당소비당 대사열량의 발생이 0.78 kJ/L로 거의 일정한 반면 균체당 발생한 열량의 변화는 기질의 소비속도가 대사상태에 따라 변화하였음을 보이고 있다. 따라서 본 연구에서 개발된 직접열량계의 기능을 가진 생물반응기를 이용하여 성공적으로 대사열을 측정할 수 있음을 실증적으로 증명하였다.

**대장균의 배양시 대사열량의 측정**

전술한 직접열량계에 *E. coli* K12 야생주를 배양하고 온라인으로 발생하는 대사 열량을 측정하고 타 연구자들에 의하여 보고된 결과와 비교하였다. 반응기에 *E. coli* 접종하고 12시간 동안 호기적 조건에서 배양하면서 발생하는 누적 대사열을 측정하였다(Figure 12). 12시간 동안 발생한 총 대사 열량은 320 kJ/L였고 초기 5시간 동안 균체는 2.3 g/L까지 성장한 후 점차 감소하였다. 그러나 포도당은 균체의 성장이 중단된 후에도 계속 소비되어 10시간 이후 소진되었다. 이 경우 단위 시간당 발생한 대사열량과 균체의 성장을 Figure 14에 나타내었다. 균체가 성장

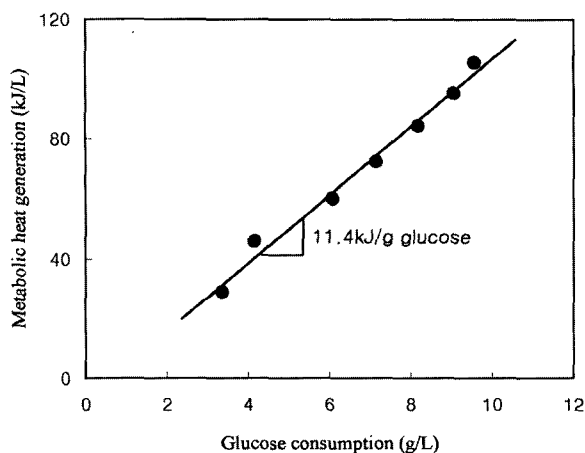


Figure 14. Metabolic heat generation and glucose consumption.

을 멈춘 5시간 이후에는 대사열의 발생속도 또한 점차적으로 감소하였다. 이는 대사열을 측정하여 균체량을 측정할 수 있는 가능성을 제시하고 있으며 공정 변수로서 대사열을 사용할 수 있

음을 의미한다. 당소비에 따른 대사열의 발생량을 보면 1 g의 포도당 소비에 약 11.4 kJ의 대사열이 발생하였음을 알 수 있다 (Figure 15). 균체의 성장이 멈춘 이후에도 당 소비당 발생한 열량이 일정한 것은 균체가 성장을 멈춘 이후에도 당분해의 대사 경로의 변화가 없음을 나타낸다.

## 요 약

본 연구에서는 미생물의 성장시 수반하는 대사열을 측정할 수 있는 직접 열량계의 기능을 가질 수 있도록 발효조를 개량하였다. 발효조의 온도제어신호의 길이를 측정하고 이 신호를 컴퓨터에서 전달하여 계산하고 발효조에 공급된 누적 열량을 측정할 수 있도록 발효조를 일부 개조하고 온라인 측정 시스템을 구성하였다. 균체 없이 발효조를 운전하면서 여러 조건에서 누적 열량을 측정하여 통기량의 따라 30.9 kJ/vvm의 열손실과 공기중으로 전도 및 대류, 복사에 의한 10.5 kJ/L/hr/°C의 열손실이 발생함을 측정할 수 있었다. 그리고 소형의 가열체를 반응액에 투입하여 열량측정의 정확도를 확인하였으며 누적열량은 ±0.2%의 오차 범위 내에서 측정되었다. 본 시스템에서 효모와 대장균을 이용하여 대사열량을 성공적으로 측정할 수 있음을 보였다.

## 감 사

본 연구는 1997년도 교육부 학술연구조성비(생물화학공학연구)의 지원으로 수행되었습니다. 연구비 지원에 진심으로 감사드립니다.

## 사 용 기 호

$C_p$	Specific heat capacity of a fermentation broth
$Q_{aeration}$	Heat loss by aeration
$Q_{agitation}$	Heat transferred to the broth by the revolution of an impeller
$Q_{cooling}$	Heat loss by cooling water
$Q_{heating}$	Heat supplied by a heater(kJ)
$Q_{loss}$	Heat loss to ambient
$Q_{met}$	Metabolic heat produced(kJ)
$R$	Reststance(electric)
$T$	Temperature
$T_{ext}$	Ambient temperature
$T_{eff}$	Effective temperature
$\Delta T$	Temperature difference between reaction vessel and ambient
$t_p$	The width of a pulse signal for heater on
$V$	Voltage
$V_r$	Volume of a fermentation broth(L)
$\rho$	Specific density of a fermentation broth

## 참 고 문 헌

- Gayford, C. G. (1986), Energy and Cells, p. 1, MacMillan Education LTD., London.
- Gottschalk, G. (1986) Bacterial Metabolism, p. 36, Springer verlag, New York.
- Luong, J. H. T. and B. Volesky (1983), Heat Evolution during the Microbial Process - Estimation, Measurement and Applications, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **28**, 1-40.
- von Stockar, U. and I. W. Marison (1989), The Use of Calorimetry in Biotechnology, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **40**, 93-136.
- Luong, J. H. T. and B. Volesky (1980), Determination of the Heat of Some Aerobic Fermentations, *Can. J. Chem. Eng.* **58**, 497-504.
- Dermoun, Z. and J. P. Belaich (1979), Microcalorimetric study of *Escherichia coli* Aerobic Growth: Kinetics and Experimental Enthalpy Associated with Growth on Succinic acid, *J. Bacteriol.* **140**(2), 377-380.
- Mou, D. G. and C. I. Cooney (1976), Application of Dynamic Calorimetry for Monitoring Fermentation Processes, *Biotechnol. Bioeng.* **18**, 1371-1392.
- Marison I. W. and U. von Stockar (1986), The Application of a Novel Heat Flux Calorimeter for Studying Growth of *Escherichia coli* W in Aerobic Batch Culture, *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 1780-1793.
- Meier-Schneiders, M. and F. Schafer (1996), Quantification of Small Enthalpic Differences in Anaerobic Microbial Metabolism - a Calorimetry Supported Approach, *Thermochimica Acta*, **275**, 1-16.
- Djanvan, A. and A. M. James (1980), Determination of the Maintenance Energy of *Klebsiella aerogenes* Growing in Continuous Culture, *Biotechnol. Lett.* **2**, 303-308.
- Fujita, T., P. R. Monk and I. Wasdai (1978), Calorimetric Identification of Several Strains of Lactic Acid Bacteria. *J. Dairy Res.* **45**, 3-8.
- Marison, I. W. and U. von Stockar (1987), A Calorimetric Investigation of the Aerobic Cultivation of *Kulyveromyces fragilis* on Various Substrates, *Enzyme Microb. Technol.* **9**, 33-43.
- Birou, B., I. W. Marison and U. von Stockar (1987), Calorimetric Investigation of Aerobic Fermentation, *Biotechnol. Bioeng.* **30**, 650-660.
- Konstantinov, K. B. (1996), Monitoring and Control of the Physiological State of Cell Culture, *Biotechnol. Bioeng.* **52**, 271-289.
- Guan, Y., P. M. Evans and R. B. Kemp (1998), Specific Heat Flow Rate: An On-Line Monitor and Potential Control Variable of Specific Metabolic Rate in Animal Cell Culture that Combines Microcalorimetry with Dielectric Spectroscopy, *Biotechnol. Bioeng.* **58**, 464-474.
- Larsson, C., A. Blomberg and L. Gustatsson (1991), Use of Microcalorimetric Monitoring in Establishing Continuous Energy Balances and in Continuous Determinations of Substrate and Product Concentrations of Batch-Grown *Saccharomyces cerevisiae*, *Biotechnol. Bioeng.* **38**, 447-458.