

탑형 생물반응기에서 과산화수소 또는 유동화 입자를 이용한 Xanthan 발효의 산소공급 향상

†서 일 순

건국대학교 화학공학과

(접수 : 2002. 1. 29., 게재승인 : 2002. 4. 1.)

Enhanced Oxygen Supply of Xanthan Fermentations Using either Hydrogen Peroxide or Fluidized Particles in Tower Bioreactors

Il-Soon Suh†

Department of Chemical Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

(Received : 2002. 1. 29., Accepted : 2002. 4. 1.)

The decomposition of hydrogen peroxide was used for supplementing the oxygen during batch xanthan fermentations in a bubble column bioreactor in order to escape the oxygen transfer limitation that occurred at the high viscosity of culture broths. The xanthan production, however, was inhibited reversibly by dosing hydrogen peroxide. On the other hand, fluidized particles of glass beads with 8 mm diameter led to high gas-liquid oxygen transfer rates in three-phase fluidized beds, which resulted in higher space-time yields of the xanthan production compared to in the bubble column bioreactors.

Key Words : batch xanthan fermentation, bubble column, three-phase fluidized bed, hydrogen peroxide, oxygen transfer limitation

서 론

Xanthan은 대표적인 세포외 다당류 중 하나이다. 물에 잘 녹으며 적은 양으로 높은 점도를 얻을 수 있고 수용액은 강한 가소성, 항복응력 및 탄성 등 복잡한 유변학적 특성을 나타낸다. 이러한 유변학적 성질은 온도, pH, 염도 등의 변화에 거의 영향을 받지 않아 식품, 의약품, 화장품 및 화학산업에서 유화제, 안정제, 유탄제, 응고제 등으로 널리 사용되고 있다(1).

산업적으로 xanthan은 절대 호기성 박테리아인 *Xanthomonas campestris*를 이용하여 100 m³ 이상의 대형 교반식 반응기에서 회분식으로 생산되고 있다(2). 앞서 언급한 xanthan 수용액의 독특한 유변학적 특성은 생물반응기의 기-액 산소전달, 혼합 및 열전달 등의 성능을 저하시킨다. 따라서 일반적으로 사용되는 교반식 반응기에서는 교반기로부터 멀리 떨어진 반응기 벽 부근 등에 정체구역이 형성되어 반응기 유효부피 및 균의 생성물 비생산성은 감소한다(2,3). 이러한 문제를 피하

기 위하여 교반기와 반응기의 직경비가 비교적 큰 특수한 교반기를 채용하여 대량의 에너지를 투입한다. 이에 반해 기포탑은 높은 xanthan 농도의 고점도에서 형성되는 탑 단면을 거의 채우는 기포 슬러그 후류의 작용으로 인해서 좋은 혼합 특성을 나타낸다(4). 이러한 기포 슬러그는 낮은 단위부피 당 기-액 접촉면적을 유발할 것으로 예견되에도 불구하고 기포탑 반응기는 높은 산소흡수효율을 나타낸다(5,6). 회분식 xanthan 발효에서 비교적 높은 xanthan 농도를 나타내는 정상 상태에서 균체 단위질량 당 xanthan 생성속도와 생성되는 xanthan 분자량은 산소전달속도에 비례한다(4,7,8).

고점도 발효에서 산소전달속도를 증가시키기 위하여 여러 방법을 사용할 수 있다. 우선 (a) 가압 또는 순산소를 사용하여 기상 산소분압을 증가시켜서 기-액 산소전달의 구동력을 증가시키는 방법을 생각할 수 있다. 특히 높은 압력을 사용할 경우 기상 산소분압 증가 외에도 단위부피 당 기-액 물질전달계수 증가도 유발되는 것으로 보고되었다(9). (b) 반응기 내에 기계적 교반기를 사용하지 않는 탑형 생물반응기에서 3 mm 이상 직경의 유리 유동화입자는 낮은 점도 액체에서 기포를 분쇄하는 효과를 나타낸다(10). 이러한 기포분쇄효과는 기-액 접촉면적을 증가시켜서 단위부피 당 기-액 물질전달계수를 증가시킨다. 직경 8 mm 유리구슬을 유동화입자로 사용할 경우 고점도 xanthan 수용액에서도 기포탑 반응기에

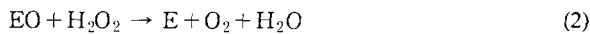
†Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea
Tel : +82-2-450-3509, Fax : +82-2-454-0428
E-mail : issuh@konkuk.ac.kr

Table 1. Fermentation conditions and results

Fermentation	Fermentor	Oxygen supply	Gas velocity [m/s]	k ^(a) [mPa · s ⁿ]	n ^(a) [-]
BC-1	bubble column	aeration (air)	0.10	29,970	0.151
BC-2	bubble column	aeration (air) + H ₂ O ₂	0.10	22,870	0.173
BC-3	bubble column	aeration (air)	0.05	22,420	0.200
TPFB-1	three phase fluidized bed	aeration (air)	0.05	34,310	0.127
TPFB-2	three phase fluidized bed	aeration (air+pure oxygen)	0.05	43,920	0.106

(a) fluid consistency factor k and flow behavior index n observed with the end culture broths out of the batch fermentations using the initial glucose concentration of 50 kg/m³.

비하여 높은 기-액 산소전달속도를 보였다(6,11). (c) Xanthan 발효에서 배양액의 복잡한 유변학적 특성에서 유발되는 문제를 water-in-oil 에멀전 배양기술을 적용하여 피할 수 있다. 즉, 고점도 등의 복잡한 유변학적 특성을 나타내는 배양 수용액상을 연속 유기상 안에 작은 크기 droplet 상태의 분산상으로 가두어 기-액 산소전달 및 혼합 등의 문제를 피하는 것이다(12-14). 그러나 에멀전 발효는 생성물 분리 정제에서 유화제 등을 제거하여야 하는 어려움이 있다. 마지막으로, (d) catalase 효소(E)를 이용한 다음과 같은 과산화수소 분해를 통한 산소공급의 적용이다(15):



대부분 호기성 균체는 세포 내 대사작용의 결과로 생성되는 독성 과산화수소를 분해하는 catalase를 함유하고 있다. Sriram 등(16)은 *X. campestris* 세포 내의 catalase 존재를 확인하고 과산화수소의 xanthan 발효에의 적용을 제안하였다. 과산화수소 분해는 액상에서 직접 진행되어 산소가 기-액 접촉면을 통해서 액상에 전달되지 않고 생성되기 때문에 고점도 배양에서 중요한 의미를 갖는다. 특히, 과산화수소 분해는 고점도 xanthan 발효에서 커다란 공기 기포슬러그로 인한 좋은 혼합 특성을 나타내는 기포탑 반응기에서 좋은 산소공급 보조수단이 될 수 있다.

본 연구에서는 고점도 xanthan 발효에서 탁월한 혼합 특성을 나타내는 기포탑에서의 산소전달속도를 향상시켜서 xanthan 생성속도를 증가시키고자 하였다. 우선, 과산화수소 분해를 이용한 산소공급방법을 사용하였고, 그리고 기포분쇄 효과를 나타내는 직경 8 mm 유리구슬을 유동화입자로 사용한 기-액 삼상유동층 반응기를 회분식 xanthan 발효에 적용하였다.

재료 및 방법

생물반응기

본 연구에서 사용한 기포탑 반응기는 내경이 0.15 m, 높이가 2.86 m, 부피는 50 ℓ 이고(4), 삼상유동층 반응기는 내경 0.072 m, 높이 1.52 m, 부피 9 ℓ 이다(17). 호기성 균주에 필요한 산소는 압축공기를 공기필터를 거쳐 주탑의 하단에 설치된 기체분산기를 통하여 공급하였고, 기체유량은 로타미터로 측정하였다. 반응기 내 기-액 산소전달을 촉진시키기 위하여 삼상유동층 생물반응기에서 직경 8.0 mm의 유리구슬을

3.63 kg 사용하였으며, 유리구슬을 유동화 시키기 위하여 배양액을 유동층 상단 기-액 분리기에서 유동층 하단으로 연동 펌프(604 S/R, Watson-Marlow)를 이용하여 외부순환 시켰다.

사용균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 *X. campestris* NRRL B1459 S-4LII이다.

균주의 보존배양에는 YMG [조성(kg/m³): yeast extract, 3; malt extract, 3; peptone, 5; 포도당, 9] 한천을 이용한 고형배지를 사용하였다. 같은 조성의 YMG 액체배지는 일차종균배양에 사용하였고, 이차종균배양에는 생물반응기에서의 생산발효에 사용한 포도당을 탄소원으로, 염화암모늄을 질소원으로 이용한 합성배지를 사용하였으며, 그 조성(kg/m³)은 포도당, 50; 구연산, 2.114; KH₂PO₄, 5; NH₄Cl, 2; Na₂CO₃, 0.5; Na₂SO₄, 0.114; MgCl₂ · 6H₂O, 0.163; CaCl₂ · 2H₂O, 0.029; FeCl₃ · 6H₂O, 0.0024; ZnCl₂, 0.0067; H₃BO₃, 0.006 이다(4). 포도당수용액은 다른 성분과 분리하여 멸균하였다.

배양방법

일차종균배양은 보존배양으로 식균하여 28℃에서 24시간 동안 삼각플라스크에서 진탕 배양하였다. 이차종균배양은 멸균한 합성배지에 일차종균배양을 접종한 후 28℃에서 48시간 동안 진탕 배양하였다. 종균배양 및 생산발효의 접종량은 10%(v/v)을 유지하였다.

생물반응기는 1 기압(계기압력) 121℃의 수증기로 30분 동안 멸균한 다음 생산발효배지를 주입하고 삼각플라스크에서의 이차종균배양을 식균하였다. 접종 후 생산발효기 내에 공기를 주입하면서 발생하는 거품은 소포제(Desmophen 3600, Bayer AG)를 사용하여 제거하였다. 발효온도는 28℃에서 유지하였고 배양액의 pH는 10% NaOH 수용액을 사용하여 pH 7 이하로 떨어지는 것을 방지하였다. 높은 공기유속을 사용함에 따른 물 손실을 보충하기 위하여 멸균 처리한 탈이온수를 배양액에 계속 주입하였다.

기포탑 및 삼상유동층 생물반응기에서의 기체유속 등 발효 조건을 Table 1에 요약 정리하였다. 기포탑 발효 BC-1에서 0.10 m/s 공압속도로 공기를 주입하였으며, BC-2에서는 0.10 m/s 유속으로 공기를 포기하는 도중 산소전달제한이 발생한 후 30% 과산화수소수(Perhydrol, Merck)를 추가로 주입함으로써 용존산소 농도가 포화농도의 30%에서 유지되도록 하였다. 삼상유동층 발효 TPFB-1에서는 0.05 m/s의 낮은 공압속도로 공기를 포기하였으며, 비교하기 위하여 기포탑 발효 BC-3에서는 같은 유속으로 공기를 주입하였다. 공기 공압

속도 0.05 m/s를 사용한 삼상유동층 발효에서 산소전달제한을 완전히 피하기 위하여 TPFB-2에서는 공기와 순산소 혼합기체를 주입하였다.

분석방법

세포 건조중량은 시료의 점도를 낮추기 위해 1 wt% KCl 수용액으로 희석시킨 후 세포를 원심분리(30 min, 38000 g, 4°C)한 다음, 물로 세척하여 다시 원심분리한 후, 40°C 진공 상태에서 48시간 동안 건조시켜서 측정하였다. Xanthan의 건조중량은 배양액에서 원심분리로 세포를 제거한 상등액에 에탄올을 첨가하여 원심분리(30 min, 38000 g, 20°C)로 xanthan을 침전시킨 다음, KCl 용액으로 용해하여 재침전 원심분리한 후, 40°C 진공상태에서 48시간 동안 건조하여 측정하였다. 배양액의 포도당농도는 시료에서 세포를 제거한 후, 포도당 분석기(Model 27, YSI) 또는 포도당 kit(영동제약)를 이용하여 측정하였다. 세포 성장의 질소원으로 사용된 염화암모늄 농도는 세포를 제거한 원심분리 상등액을 증류수로 희석한 후, 발색 Nessler 시약을 사용하여 425 nm의 파장에서 분광기(DR-2000, Hach)를 이용하여 측정하였다.

배양액의 유변학적 특성은 동축회전 원통점도계(Model 115, Contraves; RVT형, Brookfield)를 이용하여 측정하였다(18). 전단응력 τ 과 전단속도 $\dot{\gamma}$ 의 관계는 Ostwald-de Waele 상관식으로 잘 묘사되었다:

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \tag{3}$$

여기서, k와 n은 각각 유체일관성인자와 흐름거동지수를 나타낸다.

결과 및 고찰

기포탑 반응기에서의 발효

기포탑 반응기에서 0.10 m/s의 공기 공탑속도를 사용한 전형적인 회분식 xanthan 발효(BC-1) 결과를 Figure 1에 나타내었다. 세포는 질소원인 염화암모늄이 고갈될 때까지, $t=32.7$ h, 지수성장을 하였다(Figure 1a). 최대 세포 비성장속도는 0.09 h^{-1} 의 값을 최대 건조세포농도는 3.16 kg/m^3 의 값을 각각 나타내었다. 세포 성장기에는 세포농도가 증가함에 따라 산소요구율이 증가하여 용존산소농도는 감소하였다. 따라서 기액 산소전달의 구동력이 증가되어 기액 산소전달속도는 증가되었다. 세포증식이 종식된 후에는 산소요구율이 감소하여, 용존산소농도가 증가하게 된다. 정상기에서는 거의 일정한 세포농도 때문에 산소요구율은 일정하지만 배양액에 발효 생성물 xanthan이 계속 축적되어 배양액 유효점도 μ_{eff} 를 증가시킨다. 배양액 유효점도 증가는 기액 산소전달계수 $k_L a$ 를 감소시키어(19), $k_L a \propto \mu_{\text{eff}}^{-0.74}$, 용존산소가 다시 고갈될 때까지, $t=38.2$ h, 산소요구율은 용존산소농도가 감소됨으로서 충족된다. 용존산소가 고갈된 후에는 기액 산소전달의 구동력이 더 이상 증가되지 않아 산소전달속도는 균의 산소요구율을 충족시키지 못하게 되어 균은 산소공급제한 조건하에 있게 된다.

발효 중 xanthan 농도, 배양액 유변학적 성질인 유체일관성

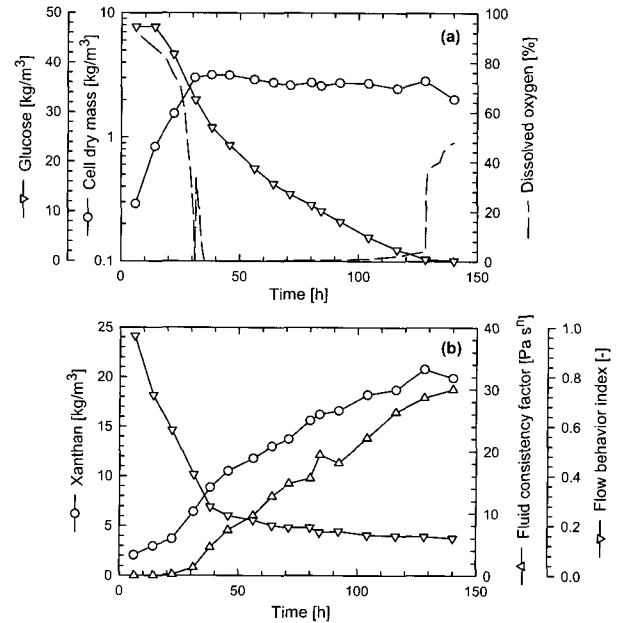


Figure 1. Batch xanthan fermentation BC-1 in a bubble column bioreactor with the air velocity of 0.10 m/s; (a) time courses of cell dry mass, glucose, and dissolved oxygen concentrations exhibit the gas-liquid oxygen transfer limitation after the oxygen depletion at 38.2 h and (b) time courses of xanthan concentration and fluid consistency factor and flow behavior index of culture broths which increase even after the oxygen transfer limitation.

인자 및 흐름거동지수의 변화를 Figure 1b에 나타내었다. Xanthan 농도가 2.1 kg/m^3 에서 20 kg/m^3 까지 증가하면서, 유체일관성인자는 5에서 $29970 \text{ mPa} \cdot \text{s}^n$ 까지 증가하였고 흐름거동지수는 0.966에서 0.151로 감소하였다. 이러한 유변학적 특성 변화는, 사용한 기포탑 반응기 운전조건을 고려하면, 배양액 유효점도는 4.13에서 $251 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 로 증가한 것이다(19). 세포의 정상기 xanthan 비생산속도 [$\text{kg xanthan/kg CDM} \cdot \text{h}$]는 산소공급제한이 일어나지 않은 경우 $0.107 \text{ kg xanthan/kg CDM} \cdot \text{h}$ 의 일정한 값을 보인다(4,6,7). 본 연구에서는 8.8 kg/m^3 이상의 높은 xanthan 농도를 나타내는 정상상태에서 산소공급제한 조건이 발생하여 xanthan 비생산속도는 xanthan 농도가 증가함에 따라 $0.125 \text{ kg xanthan/kg CDM} \cdot \text{h}$ 에서 $0.034 \text{ kg xanthan/kg CDM} \cdot \text{h}$ 까지 감소하였다. 배양액 유효점도가 증가함에 따라 기액 산소전달속도가 감소하여 단위 균체량 당 xanthan 생성속도가 감소하였다(4). 반면에, 기포탑 반응기는 탁월한 혼합특성을 보였다. 기포탑 반응기에서 회분식 발효 종료 후 배양액에 지시약 phenol red를 첨가한 후 탭 상단으로 산과 염기를 교대로 주입하여 기포탑 내 배양액의 색 변화를 관찰하였다. 색 변화가 탭 상단에서 하단까지 20 초 이내에 균일하게 도달하는 탁월한 혼합특성을 보였다.

기포탑 발효에서의 과산화수소 주입

공기유속 0.10 m/s를 사용한 기포탑 발효에서 산소공급제한을 피하기 위하여 Figure 2에 나타낸 것과 같이 발효시작 48시간이 지난 후에 과산화수소수를 용존산소농도가 포화농도의 10% 아래로 떨어지기 시작할 때부터 주입하여 용존산소농도를 포화농도의 $30 \pm 10\%$ 에서 계속 유지하였다. 용존산

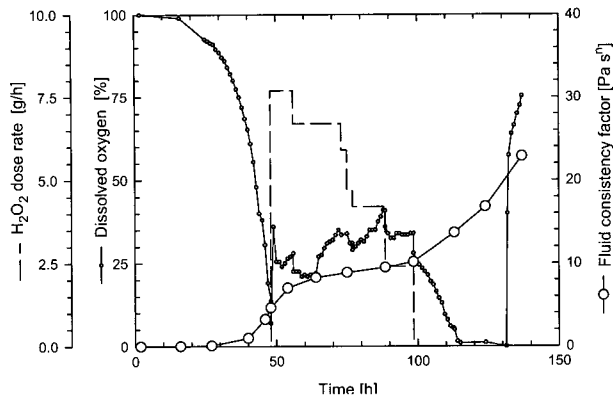


Figure 2. Use of hydrogen peroxide for the xanthan fermentation BC-2 in the bubble column with the air velocity of 0.10 m/s to escape the oxygen transfer limitation.

소농도를 설정치에서 유지하기 위하여 과산화수소수의 주입 유량을 계속 줄였다. 과산화수소수 주입은 균체 산소요구율을 감소시킨 것으로 추측된다. 그리고 과산화수소수 주입시 xanthan 농도를 나타내는 배양액 유체일관성인자는 거의 증가하지 않았다. 과산화수소수 주입은 xanthan 생성을 저해하였다. 발효시작 98.5시간 후에 과산화수소수 주입을 중단하였으며 용존산소농도는 서서히 감소하면서 유체일관성인자는 다시 급격히 증가하였다. 과산화수소는 xanthan 생성을 가역적으로 저해하였음을 알 수 있다. 발효시작 130시간 후 배양액의 포도당이 고갈된 다음 용존산소농도는 급격히 증가하였고 배양액 유체일관성인자는 22,870 mPa · sⁿ(n=0.173)의 값을 나타내었으며 과산화수소수를 주입하지 않았던 경우(k=29,970 mPa · sⁿ, n=0.151)에 비해 낮은 점도수율을 나타내었다.

Sriram 등(16)은 교반식 반응기에서의 xanthan 발효에서 과산화수소수를 배양액에 펄스형태로 주입함으로써 과산화수소 분해에 의해서만 산소를 공급하여 용존산소농도를 포화농도의 50% 이상으로 유지하였다. 균체는 공기 포기를 이용하여 산소를 공급한 전형적인 발효에 비하여 89%의 최대비성장속도로 증식하였으며 전형적인 발효의 55% 최대농도를 나타내었다. 균의 증식이 과산화수소분해에 의해 생성되는 자유라디칼에 의해 저해 받는 것으로 보고하였다. 반면에 xanthan은 전형적인 발효에 비하여 1.75배 높은 포도당에 대한 수율로 69% 높은 8.3 g/L의 최종농도에 도달하였다. 따라서 과산화수소 분해에 의한 산소공급으로 xanthan 발효에서의 산소공급제한을 효과적으로 피할 수 있다고 하였다. 그들은 과산화수소수만으로 산소를 공급한 반면에 본 연구에서는 공기포기하면서 산소전달제한 조건하에서의 부족한 산소공급을 보충하기 위하여 과산화수소수를 주입하였다. 본 연구에서 산소전달제한이 일어나는 비교적 높은 xanthan 농도를 나타내는 정상상태에서만 과산화수소수를 공급한 반면에 Sriram 등은 지수성장기부터 과산화수소수를 공급하였다. *Xanthomonas*에서 과산화수소 분해에 관여하는 catalase 효소 활성도는 정상상태에 비하여 지수성장기에 높게 나타난다는 보고도 있다(20). 그러나 일반적으로 낮은 xanthan 농도를 나타내는 균체 성장기에서는 전통적인 기-액 산소전달방법은 커다란 문제를 유발하지 않는 반면에, 높은 xanthan 농도를 나타내는 정상상태에서는 교반식 생물반응기의 정체구역을 유발하는 항복용

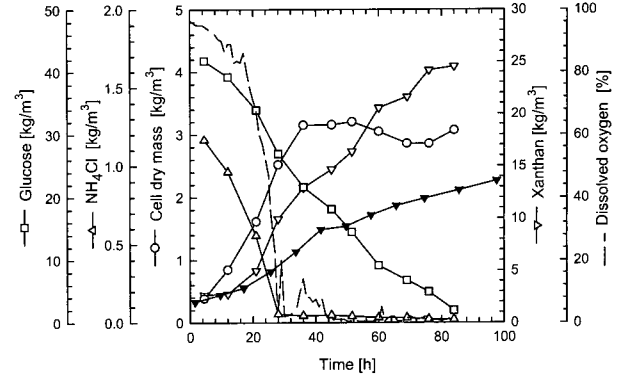


Figure 3. Batch xanthan fermentation TPFB-1 in a three-phase fluidized bed bioreactor with the air velocity of 0.05 m/s compared to the xanthan concentration course (▼) of BC-3 in the bubble column bioreactor at the same air velocity.

력 등의 복잡한 유변학적 특성을 보이는 배양액의 혼합특성 문제가 더 중요한 의미를 가진다(2-4). 마지막으로, Sriram 등은 과산화수소수를 펄스방식으로 주입한 반면에 본 연구에서는 지속적으로 주입한 것이 과산화수소수 주입이 xanthan 생성에 미치는 영향에서 보이는 차이의 원인 중 하나가 될 수 있다.

삼상유동층 반응기에서의 발효

Figure 3에 0.05 m/s의 공기유속을 사용한 삼상유동층 반응기에서의 회분식 발효(TPFB-1) 결과를 나타내었다. 비교하기 위하여 같은 공기유속, 균주 및 배양조건을 사용한 기포탑 반응기에서의 회분식 발효(BC-3) 중 xanthan 농도 변화도 함께 나타내었다. 배양액의 용존산소와 염화암모늄이 거의 동시에 약 30시간의 발효시간이 경과한 후 고갈되었다. 지수성장기에서의 균의 최대 비성장속도는 0.087 h⁻¹의 값을 정상상태 최대균체량은 3.20 kg/m³의 값을 각각 나타내었다. 생성물인 xanthan 농도는 발효말기까지 계속 증가하여 84시간이 경과한 후 25 kg/m³의 값을 나타내어 0.5 kg xanthan/kg glucose의 생성물 수율을 보였다. 그리고 발효 최종시료는 34,310 mPa · sⁿ의 유체일관성인자와 0.127의 흐름저동지수를 각각 나타내었다. 반면에, 기포탑 반응기에서의 같은 공기유속을 사용한 회분식 발효에서는 20 kg/m³의 xanthan 농도에 도달하는데 160시간이 소요되었으며 0.4 kg xanthan/kg glucose의 생성물 수율을 나타내었으며 발효 최종시료는 22,420 mPa · sⁿ의 유체일관성인자와 0.200의 흐름저동지수를 각각 나타내었다. 이러한 결과로부터 같은 공기유속을 사용할 경우 삼상유동층이 기포탑에 비해 높은 단위균체량 당 생성물 생성속도 및 기-액 산소전달속도를 나타내는 것으로 생각된다. 유동화 입자는 (a) 전단속도 증가에 의한 배양액 유효점도의 감소, (b) 반응기 단위액상부피 당 에너지 투입속도의 증가 및 (c) 기포분쇄 효과에 의한 반응기 단위부피 당 기-액 접촉면적의 증가를 유발시켜서 기-액 물질전달계수 및 산소전달속도를 증가시킨다(6).

삼상유동층의 유동화 입자는 기-액 산소전달속도는 증가시키나 발효에서 불활성이므로 반응기 내 배양액 부피를 약 20% 감소시켜서 반응기 공간-시간 수율을 감소시킨다. 그러나 삼상유동층에서의 발효는 0.273 kg xanthan/m³ culture broth · h의 배양액 단위부피 당 xanthan 생성속도를 보여 갈

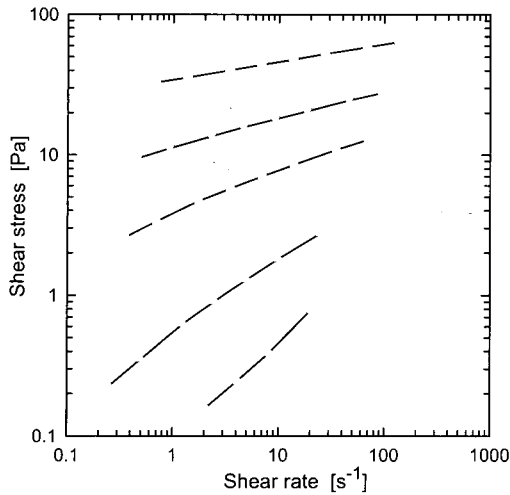


Figure 4. Rheological properties of the dilution series out of the end culture broth of the batch fermentation TPFB-1.

Symbols	Xanthan [kg/m ³]	k [Pa · s ⁿ]	n [-]
○	24.5	34.31	0.127
▽	15.0	11.47	0.196
□	9.92	3.954	0.282
△	5.02	0.5680	0.494
◇	2.51	0.0872	0.729

은 공기유속을 사용한 기포탑에서의 발효(0.116 kg xanthan/m³ culture broth · h)에 비하여 배양액 부피 감소를 고려하고도 190% 높은 반응기 공간-시간 수율을 보였다. 그리고 삼상유동층 발효(TPFB-1)의 최종시료가 기포탑 발효(BC-3)의 최종시료에 비하여 높은 유체일관성인자를 보이므로 삼상유동층에서의 발효는 기포탑에 비하여 높은 포도당 기질에 대한 점도수율을 나타내었다(Table 1). 유동층 생물반응기에서의 회분식 발효에서 산소공급제한을 완전히 피하기 위하여 전체 기체유속은 0.05 m/s에서 유지하면서 공기와 순산소의 혼합 기체를 공급하였으며, 발효(TPFB-2) 최종시료는 43,920 mPa · sⁿ의 유체일관성인자와 0.106의 흐름거동지수를 보였다. 따라서 공기만을 사용한 삼상유동층 발효에서의 산소공급제한은 생성된 xanthan의 분자량에 영향을 미치어 낮은 점도수율을 보인 것으로 생각된다.

배양액 유변학적 특성

삼상유동층 발효(TPFB-1)의 최종 및 회석 시료의 유변학적 특성을 Figure 4에 나타내었다. Xanthan 배양액의 유변학적 특성은 0.252-137 s⁻¹ 전단속도 범위에서 Ostwald-de Waele 상관식 식 (3)으로 잘 묘사되었으며 xanthan 농도가 증가함에 따라 유체일관성인자 k는 증가하였고, 흐름거동지수 n은 감소하여 강한 가소성 흐름거동특성을 나타내었다.

유체일관성인자와 xanthan 농도의 관계를 Figure 5에 나타내었다. 주어진 xanthan 농도에서 순산소와 공기 혼합기체를 이용한 삼상유동층 발효 TPFB-2의 최종시료 및 회석시료가 같은 유속의 공기를 사용한 발효 TPFB-1에 비하여 높은 유체일관성인자 값을 나타내었다. 산소공급제한이 xanthan 분자량을 감소시킨 것을 알 수 있다. 배양액의 유체일관성인자 k[Pa · sⁿ]와 흐름거동지수 n[-]은 xanthan 농도 P[kg/m³]와 xanthan 질량평균 분자량 Mw[kg/kmol]에 다음과 같이 영향을

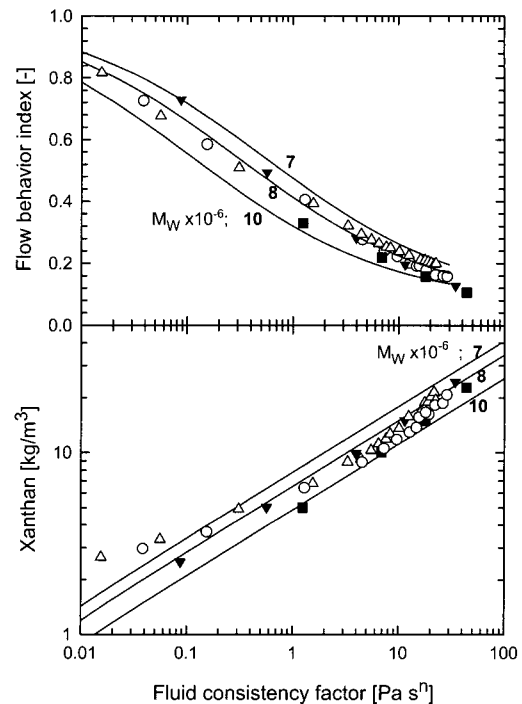


Figure 5. Dependence of the fluid consistency factor and the flow behavior index upon xanthan concentration and molecular weight (○, BC-1 in the bubble column at the air velocity of 0.10 m/s; △, BC-3 in the bubble column at the air velocity of 0.05 m/s; ▼, the dilution series of the end culture broth out of TPFB-1 in the three-phase fluidized bed with the air velocity of 0.05 m/s; ■, the dilution series of the end culture broth from the TPFB-2 without the oxygen transfer limitation; —, predictions from eqns 4 and 5).

말는다(7):

$$k = 10^{-3} + 2.58 \cdot 10^{-6} (M_w/10^6)^{3.69} P^{2.77} \quad (4)$$

$$\frac{1-n}{n-0.071} = 0.0227 (M_w/10^6)^{2.08} (k-10^{-3})^{0.47} \quad (5)$$

유체일관성인자는 xanthan 농도와 분자량이 증가함에 따라 크게 증가하고, 흐름거동지수는 유체일관성인자 및 xanthan 분자량에 영향을 받아 분자량이 증가함에 따라 감소하여 강한 가소성을 나타낸다. 기포탑 회분식 발효 중 채취한 시료의 유체일관성인자도 함께 나타내었다. 주어진 xanthan 농도에서 발효 초기 낮은 xanthan 농도에서 낮은 유체일관성인자의 값을 보이다가 발효가 진행됨에 따라 약 10 kg/m³의 xanthan 농도 부근에서 높은 값을 보인 후 발효말기에는 다시 낮은 값을 보였다. 이는 발효초기에는 진탕배양에서의 심한 산소전달제한으로 인해 낮은 xanthan 분자량을 보이나 발효가 진행됨에 따라, 즉 균이 증식함에 따라, 생성되는 xanthan의 분자량도 증가하여 배양액 중의 xanthan은 높은 평균분자량을 보인 후 발효말기의 정체상태에서의 낮은 기액 산소전달속도로 인한 산소전달제한 때문에 낮은 평균 분자량을 보였다(4).

흐름거동지수의 유체일관성인자 및 xanthan 분자량에 대한 의존성도 Figure 5에 함께 나타내었다. 흐름거동지수는 유체

일관성인자가 증가함에 따라 감소하였고, 주어진 유체일관성 인자의 값에서 산소전달제한을 보이지 않은 경우 산소공급제한을 보인 경우보다 낮은 값 즉 강한 가소성을 보였다. 이는 xanthan 분자량이 큰 값을 보임에 따라 흐름저동지수는 낮은 값을 나타내기 때문이다. 산소전달제한이 심하게 작용한 기포탑 발효의 경우 주어진 유체일관성인자에서 유통층 반응기에서의 발효의 경우 보다 높은 흐름저동지수 값을, 즉 약한 가소성을 보였다.

요 약

기포탑 회분식 xanthan 발효에서 xanthan 생성속도와 분자량에 영향을 미치는 산소전달제한을 피하기 위하여 과산화수소수를 산소공급 보조수단으로 사용하였다. 과산화수소수 주입은 xanthan 생성을 가역적으로 저해하였다. 반면에 직경 8 mm 유리구슬 유통화 입자는 기-액 산소전달속도를 증가시켜서 기-액-고 삼상유통층 생물반응기에서의 xanthan 발효는 기포탑 발효에 비하여 높은 단위권체량 당 xanthan 생성속도 및 점도수율 그리고 반응기 공간-시간 수율(space-time yield)을 보였다.

감 사

본 연구의 기포탑에서의 발효는 Deutsche Forschungsgemeinschaft의 지원으로 Gesellschaft fuer Biotechnologische Forschung mbH에서 수행되었으며 삼상유통층에서의 발효는 한국과학재단의 핵심전문연구과제(951-1104-020-2) 지원으로 수행되었다. 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Candia, J.-L. Flores and W.-D. Deckwer (1999), Xanthan Gum, In *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation Vol. 5*, M. C. Flickinger and S. W. Drew Eds., p2695, Wiley, New York.
- Herbst, H., A. Schumpe, and W.-D. Deckwer (1992), Xanthan Production in Stirred Tank Fermenters: Oxygen Transfer and Scale-up, *Chem. Eng. Technol.* **15**, 425-434.
- Amanullah, A., L. Serrano-Carreón, B. Castro, E. Galindo, and A. W. Nienow (1998), The Influence of Impeller Type in Pilot Scale Xanthan Fermentations, *Biotechnol. Bioeng.* **57**, 95-108.
- Suh, I.-S., A. Schumpe, and W.-D. Deckwer (1992), Xanthan Production in Bubble Column and Air-Lift Reactors, *Biotechnol. Bioeng.* **39**, 85-94.
- Zaidi, A., P. Ghosh, A. Schumpe, and W.-D. Deckwer (1991), Xanthan Production in a Plunging Jet Reactor, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 330-333.
- Suh, I.-S. and W.-D. Deckwer (1996), Batchwise Xanthan Production in Tower Bioreactors-Bubble Column and Three Phase Fluidized Bed, *HWAHAK KONGHAK* **34**, 127-134.
- Peters, H.-U., I.-S. Suh, A. Schumpe, and W.-D. Deckwer (1992), Modeling of Batchwise Xanthan Production, *Can. J. Chem. Eng.* **70**, 742-750.
- Suh, I.-S., H. Herbst, A. Schumpe, and W.-D. Deckwer (1990), The Molecular Weight of Xanthan Polysaccharide Produced under Oxygen Limitation, *Biotechnol. Lett.* **12**, 201-206.
- Dewes, I. and A. Schumpe (1997), Gas Density Effect on Mass Transfer in the Slurry Bubble Column, *Chem. Eng. Sci.* **52**, 4105-4109.
- Kim, S. D., C. G. J. Baker, and M. A. Bergounou (1972), Hold-up and Axial Mixing Characteristics of Two and Three Phase Fluidized Beds, *Can. J. Chem. Eng.* **50**, 695-701.
- Schumpe, A., W.-D. Deckwer, and K. D. P. Nigam (1989), Gas-Liquid Mass Transfer in Three-Phase Fluidized Beds with Viscous Pseudoplastic Liquids, *Can. J. Chem. Eng.* **67**, 873-877.
- Schumpe, A., S. Diedrichs, P. G. M. Hesselink, S. Nene, and W.-D. Deckwer (1991), Xanthan Production in Emulsions, In *Biochemical Engineering-Stuttgart*, M. Reuss, H. Chmiel, E.-D. Gilles, and H.-J. Knackmuss Eds., p196, Gustav Fischer Verlag/VCH Publishers, New York.
- Zhao, S., S. G. Kuttuva, and L.-K. Ju (1999), Oxygen Transfer Characteristics of Multiple-Phase Dispersions Simulating Water-in-Oil Fermentations, *Bioprocess Eng.* **20**, 313-333.
- Rols, J. L., J. S. Condoret, C. Fonade, and G. Goma (1990), Mechanism of Enhanced Oxygen Transfer in Fermentation Using Emulsified Oxygen-Vectors, *Biotechnol. Bioeng.* **36**, 427-435.
- Schonbaum, G. R. and B. Chance (1976), Catalase, In *The Enzymes Vol. 13*, P. D. Boyer Ed., p363, Academic Press, New York.
- Sriram, G., Y. M. Rao, A. K. Suresh, and G. K. Sureshkumar (1998), Oxygen Supply without Gas-Liquid Film Resistance to *Xanthomonas campestris* Cultivation, *Biotechnol. Bioeng.* **59**, 714-723.
- Suh, I.-S., H.-C. Roh, and C. H. Heo (2002), Continuous Xanthan Fermentations in a Three-Phase Fluidized Bed Bioreactor, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **17**, 26-32.
- Mitschka, P. (1982), Simple Conversion of Brookfield R.V.T. Readings into Viscosity Functions, *Rheol. Acta* **21**, 207-209.
- Suh, I.-S., A. Schumpe, W.-D. Deckwer, and W.-M. Kulicke (1991), Gas-Liquid Mass Transfer in the Bubble Column with Viscoelastic Liquid, *Can. J. Chem. Eng.* **69**, 506-512.
- Mongkolsuk, S., S. Loprasert, P. Vattanaviboon, C. Chanvanichayachai, S. Chamnongpol, and N. Supsamran (1996), Heterologous Growth Phase- and Temperature-Dependent Expression and H₂O₂ Toxicity Protection of a Superoxide-Inducible Monofunctional Catalase Gene from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *J. Bacteriol.* **178**, 3578-3584.