

삼상유동층 생물반응기에서의 연속식 Xanthan 발효

†서 일 순 · 노 희 찬 · 허 총 회

건국대학교 화학공학과

(접수 : 2001. 11. 27., 게재승인 : 2002. 1. 25.)

Continuous Xanthan Fermentations in a Three-Phase Fluidized Bed Bioreactor

Il-Soon Suht, Hee-Chan Roh, and Choong Hoi Heo
Department of Chemical Engineering, Konkuk University
(Received : 2001. 11. 27., Accepted : 2002. 1. 25.)

The aerobic bacterium *Xanthomonas campestris* was cultivated continuously in a three-phase fluidized bed bioreactor to produce extracellular polysaccharide xanthan. Fluidized particles of 8.0 mm glass beads were used for disintegrating the large air bubbles even at high viscosities to improve the gas-liquid oxygen transfer rate. Xanthan productivity [kg xanthan/kg cell dry mass · h] and molecular weight increased, with dilution rate in the continuous xanthan fermentations. The specific xanthan productivities were not limited by the oxygen transfer rate and were much higher in the continuous cultivations than those predicted by the results of the batch xanthan fermentations.

Key Words : continuous xanthan fermentation, three-phase fluidized bed, dilution rate, xanthan productivity, xanthan molecular weight

서 론

Xanthan은 미생물이 세포 밖으로 배출하는 대표적인 세포의 다당류 중 하나이다(1). 물에 잘 녹으며 적은 양으로 높은 점도를 얻을 수 있고 수용액은 강한 가소성을 나타낸다. 이러한 유변학적 성질은 온도, pH 및 염도 등의 변화에 거의 영향을 받지 않아 식품, 의약품, 화장품 및 화학산업에서 유화제, 안정제, 유탄제 및 응고제 등으로 널리 사용되고 있다. 산업적으로 xanthan은 절대 호기성 박테리아인 *X. campestris*에 의해 100 m³ 이상의 대형 교반식 반응기에서 회분식으로 생산되고 있다(2). Xanthan 수용액의 독특한 유변학적 특성은 생물반응기의 기-액 산소전달, 혼합 및 열전달 등의 성능을 저하시킨다. 이러한 문제를 피하기 위하여 교반기와 반응기의 직경비가 비교적 큰 특수한 교반기를 채용하여 대량의 에너지를 투입한다(2,3).

회분식 xanthan 발효 중 세포 단위질량 당 xanthan 생성속도 q_p [kg xanthan/kg CDM · h]는 Luedeking-Piret 상관식에 의해 균의 비증식속도 μ 에 부분적으로 연관된다(4):

$$q_p = A\mu + B \quad (1)$$

회분식 발효 초기의 세포 증식기 동안은 오른편 첫째 항으로 나타내지는 세포증식의 기여로 인해 발효후기의 정상기에 비해 높은 xanthan 비생성속도를 보인다. 연속식 발효에서의 xanthan 비생성속도는 세포 비증식속도 대신 반응기 희석률을 사용하여 식 (1)로 묘사될 수 있다. 세포 단위질량 당 산소요구속도 q_{O_2} 도 부분적으로 균의 증식속도에 다음과 같이 연관된다(5):

$$q_{O_2} = C\mu + D \quad (2)$$

세포농도가 증가함에 따라 산소요구량이 증대되어 용존산소 농도는 감소하게 되고, 식 (3)으로 표현되는 반응기 단위액상 부피 당 기-액 산소전달속도 OTR은 증가하게 되며 용존산소 농도는 어느 순간에 고갈된다($C_L = 0$):

$$OTR = 3600 \cdot k_L a' (C_L^* - C_L) \quad (3)$$

동시에 xanthan 농도도 증가하여 배양액 점도의 증가를 유발하며, 용존산소가 고갈된 후에는 기-액 산소전달속도는 기-액 산소전달계수 $k_L a'$ 가 감소함에 따라 계속 감소하여 세포는 산소공급제한 조건하에 있게 된다. 따라서 비교적 높은 xanthan 농도를 보이는 정상기에서의 xanthan 비생성속도를

†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

나타내는 식 (1)의 B는 기-액 산소전달속도가 정상상태에서의 산소요구를 $D(0.078 \text{ kg O}_2/\text{kg CDM} \cdot \text{h})$ 를 충족시키지 못하면 $0.107 \text{ kg xanthan}/\text{kg CDM} \cdot \text{h}$ 의 xanthan 비생성속도에 급격히 떨어진 후 다음과 같이 산소전달속도에 대하여 선형적으로 감소하는 경향을 보인다(6):

$$B = 0.91 \cdot (\text{OTR}/X - 0.006) \quad (4)$$

반면에, xanthan 비생성속도의 세포 증식관련 항인 식 (1)의 A는, 회분식 발효에서 세포는 주로 xanthan 농도가 낮은 조건에서 증식되기 때문에, 산소공급제한 즉 산소전달속도에 영향을 받지 않아서 상수 값($0.97 \text{ kg xanthan}/\text{kg CDM}$)으로 일반적으로 표현된다(7).

배양액의 유변학적 특성에 커다란 영향을 미치는 xanthan 분자량도 세포의 증식속도와 기-액 산소전달속도에 영향을 받는다. 즉 세포 비증식속도가 증가함에 따라 분자량 M_w^* 이 큰 xanthan이 생성되며, 산소전달속도가 감소함에 따라 분자량이 작은 xanthan이 생성된다(7,8):

$$M_w^* = 4.9 \cdot 10^6 + 3.8 \cdot 10^6 \text{OTR}/Q_{O_2} + 2.6 \cdot 10^7 \mu \quad (5)$$

Xanthan 발효 배양액은 강한 가소성 유변학적 특성을 나타낸다(9). 배양액 유효점도를 결정하는 유체일관성인자 k 와 흐름저동지수 n 은 xanthan 농도 P 와 질량평균 분자량 M_w 에 다음과 같이 영향을 받는다(7):

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

$$\frac{1-n}{n-0.071} = 0.0227 (M_w/10^6)^{2.08} (k - 10^{-3})^{0.47} \quad (7)$$

식 (6)에 의하면 유체일관성인자는 xanthan 농도와 분자량이 증가함에 따라 크게 증가하고, 식 (7)에 의하면 흐름저동지수 또한 xanthan 분자량에 영향을 받아 분자량이 증가함에 따라 n 값은 감소하여 강한 가소성을 나타낸다. Xanthan의 점도수율은 분자량 지수 4.5에 비례하여 증가한다(2). 이상과 같이 세포 비증식속도와 기-액 산소전달속도에 영향을 받는 xanthan의 비생성속도와 분자량은 배양액의 유효점도에 커다란 영향을 미치어 역으로 다시 기-액 산소전달속도에 영향을 준다(6,7).

Xanthan 농도가 증가함에 따라 배양액은 강한 가소성, 점탄성 및 항복응력 등의 복잡한 유변학적 특성을 나타낸다. 따라서 일반적으로 사용되는 교반식 생물반응기에서는 교반기에서 멀리 떨어진 낮은 전단속도를 나타내는 반응기 벽 부근에 정체구역이 형성되어 반응기의 유효부피 및 균의 생물물 비생산성은 감소한다(3,6). 기포탐은 높은 xanthan 농도의 고점도에서 형성되는 기포 슬러그 후류의 작용으로 인해서 좋은 혼합특성을 나타낸다(6). 이러한 기포 슬러그는 낮은 단위부피 당 기-액 접촉면적을 유발하여 기-액 산소전달속도를 감소시킨다. 반면에, 기포분쇄 효과를 보이는 직경이 큰 고체입자를 사용하는 기-액-고 삼상유동층 생물반응기는 xanthan

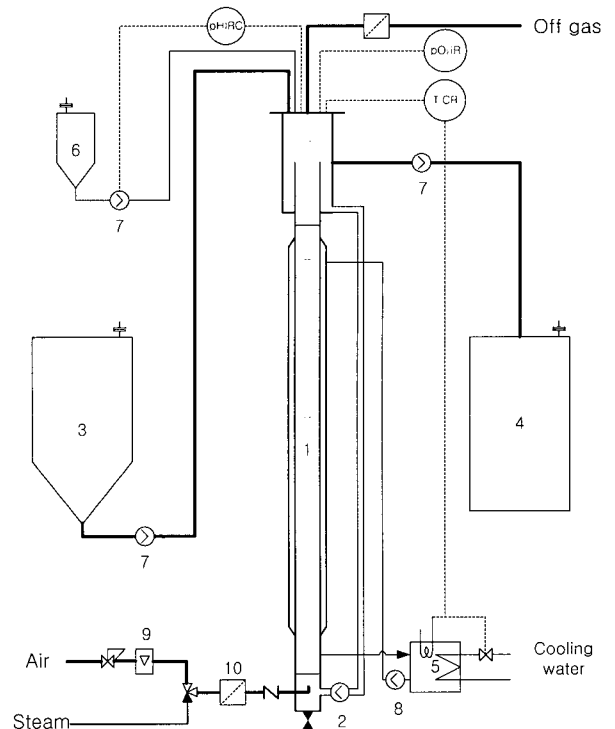


Figure 1. Three-phase fluidized bed bioreactor used for the continuous xanthan fermentation; (1) three-phase fluidized bed reactor, (2) circulation peristaltic pump, (3) substrate feed tank, (4) effluent storage tank, (5) thermostat, (6) NaOH solution bottle, (7) peristaltic pump, (8) water pump, (9) rotameter, (10) air filter.

발효에서 높은 유효전단속도, 낮은 유효점도 및 높은 산소흡수효율을 나타낸다(10, 11):

$$k_L a = 2988 \cdot D_L^{0.5} u_G^{0.44} u_L^{0.42} \mu_{eff}^{-0.34} u_T^{0.71} \quad (8)$$

여기서, μ_{eff} 는 유체 유효점도를 나타내며 유체일관성인자, 흐름저동지수 및 반응기 내 유효전단속도에 영향을 받는다. u_T 는 고체유동입자의 자유침강속도이며 배양액 점도가 증가하면 감소하고, 유동입자의 크기 및 밀도가 증가하면 증가한다.

본 연구에서는 탁월한 혼합도와 기-액 산소전달 특성을 나타내는 기-액-고 삼상유동층 생물반응기를 연속식 xanthan 발효에 적용하였다. 반응기 회석을 즉 균체 비증식속도의 변화가 xanthan의 비생성속도와 분자량에 미치는 영향을 관찰하였으며, 회분식 발효에서 얻은 식 (1)의 예측결과와 비교하였다.

재료 및 방법

생물반응기

본 연구에서는 직경 7.2 cm, 높이 152 cm, 부피 9 L의 스테인레스스틸 316 재질의 삼상유동층 생물반응기를 사용하였으며 Figure 1에 나타내었다. 반응기 내 기-액 산소전달을 촉진시키기 위하여 직경 8.0 mm의 유리구슬을 3.63 kg 사용하였으며, 유리구슬을 유동화시키기 위하여 배양액을 유동층상단 기-액 분리기에서 유동층 하단으로 연동펌프(604 S/R, Watson-Marlow)를 이용하여 외부순환 시켰다. 회분식 발효

중 xanthan이 생성됨에 따라 배양액의 점도가 상당히 증가한다. 따라서 유동층 높이를 주탑 내에 유지시키기 위하여 배양액 순환유량을 연동펌프 회전속도를 수동으로 조절하여 발효초기에는 높은 유속을, 발효말기에는 비교적 낮은 유속을 사용하였다. 필요한 산소는 반응기 하단으로 공기필터를 거쳐 압축공기를 주입하여 공급하였으며, 공기유속은 로타메타로 측정하였다. 반응기 내 온도, pH, 용존산소농도는 반응기 상단에 열전대, pH 전극(InPro 3000, Mettler Toledo), DO 전극(InFit 761-19 BT, Mettler Toledo)을 설치하여 측정하였다. 반응기 온도조절을 위하여 반응기 외벽에 재킷을 설치하였으며, pH controller (Monec 8935, Polymetron)를 사용하여 pH를 조절하였다.

균주 및 배지

균주 *X. campestris* NRRL B1459 S-4LII를 사용하였다.

균주의 보존배양에는 YMG (조성[kg/m³]: yeast extract, 3; malt extract, 3; peptone, 5; 포도당, 9) 한천을 이용한 고형배지를 사용하였다. 같은 조성의 YMG 액체배지를 일차종균배양에 사용하였고, 이차종균배양에는 생물반응기에서의 생산발효에 사용한 포도당을 탄소원으로, 염화암모늄을 질소원으로 이용한 합성배지를 사용하였으며 그 조성[kg/m³]은 포도당, 30; citric acid monohydrate, 2.3; KH₂PO₄, 5; NH₄Cl, 2 또는 1; Na₂CO₃, 0.5; Na₂SO₄, 0.114; MgCl₂ · 6H₂O, 0.163; CaCl₂ · 2H₂O, 0.029; FeCl₃ · 6H₂O, 0.0024; ZnCl₂, 0.0067; H₃BO₃, 0.006이다(6). 포도당용액은 다른 성분과 분리하여 멸균하였다.

배양방법

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

생물반응기는 1 기압(계기압력) 121°C의 수증기로 30분 동안 멸균한 다음 autoclave에서 멸균한 생산발효배지를 주입하고 삼각플라스크에서의 이차종균배양액을 식균하였다. 접종 후 발효기 내에 압축공기를 주입하면서 발생하는 거품은 소포제를 사용하여 제거하였다. 발효온도는 28°C에서 유지하였고, 배양액의 pH는 10% NaOH 수용액을 주입하여 pH 7 이하로 떨어지는 것을 방지하였다. 발효초기에는 균의 증식을 위하여 반응기를 회분식으로 운전하였으며, 최대 비증식속도를 나타내는 지수성장기 중 연속식 배양으로 전환하였다. 회분식 발효에서 사용한 영양배지와 동일한 조성의 영양배지를 연속발효에서도 사용하였다.

분석방법

세포의 건조중량은 시료의 점도를 낮추기 위해 1 wt% KCl 용액으로 희석시킨 후 세포를 원심분리(60 min, 20000 g, 4°C)한 다음, 증류수로 세척하여 재원심분리한 후 80°C에서 48시간 건조시켜서 측정하였다. Xanthan의 건조중량은 배양액에서 원심분리로 세포를 제거한 후, 에탄올을 첨가하여 원심분리(60 min, 20000 g, 20°C)로 xanthan을 침전시킨 다음, KCl 용액으로 용해하여 재침전 원심분리한 후, 80°C에서 48시간 동안 건조하여 측정하였다. 배양액의 포도당농도는 시료에서

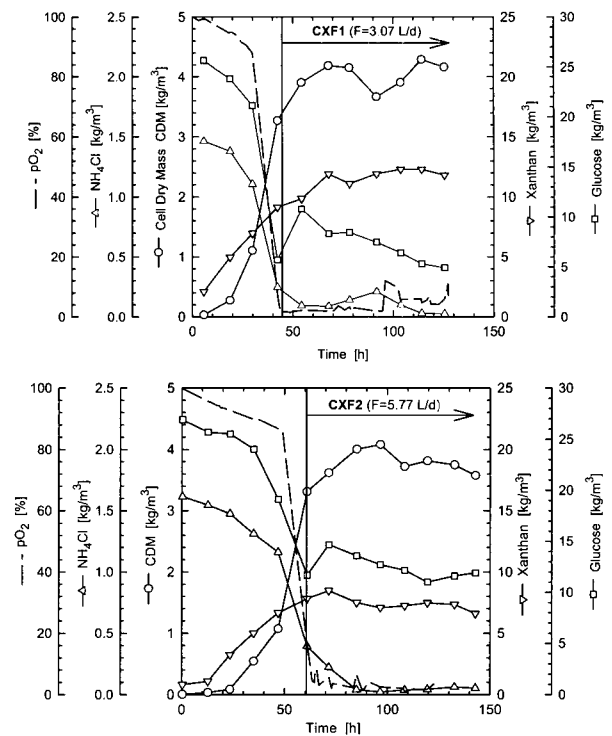


Figure 2. Time-courses of continuous xanthan fermentations in a three-phase fluidized bed bioreactor at the influent NH₄Cl concentration of 2.0 kg/m³ and the gas velocity of 0.05 m/s.

세포를 제거한 후 포도당 측정 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(RVT형, Brookfield)를 이용하여 측정하였다(12).

결과 및 고찰

삼상유동층 생물반응기에서 2.0 kg/m³의 유입수 염화암모늄 농도, 0.05 m/s의 공기유속, 그리고 0.023 h⁻¹ 및 0.043 h⁻¹의 반응기 회석률을 각각 사용한 연속식 발효 CXF1 및 CXF2의 결과를 Figure 2에 나타내었다. 발효 초기에는 30 kg/m³의 포도당 농도 및 2.0 kg/m³의 염화암모늄 농도를 사용하여 회분식으로 발효를 진행시키다가 지수성장기 말기에 연속식으로 전환하였다. 회분식 발효에서 균체의 최대 비성장속도는 0.072 h⁻¹의 값을 보였으며, 같은 영양배지 및 반응기 운전조건(28°C)을 사용한 기포탑에서의 최대 비성장속도(0.077 h⁻¹)와 비슷한 결과를 보였다(6). 용존산소 농도는 세포성장으로 인해서 산소요구량이 증가함에 따라 감소하였다. 반응기의 기-액 산소공급속도에 비해, 두 경우 모두 높은 유입수 염화암모늄 농도를 사용하여 산소공급제한 조건하에서 연속식 발효가 진행되었다. 연속식 발효에서는 성장관련 산소요구량 때문에 비교적 높은 xanthan 농도에서의 산소요구량이 회분식 정상상태에서의 요구량 보다 크므로(식 2), 삼상유동층 생물반응기의 좋은 기-액 산소전달특성에도 불구하고 산소공급

Table 1. Summary of the continuous xanthan fermentations in a TPFB bioreactor with glass beads of 8 mm diameter at the air velocity of 0.05 m/s.

Fermentation	CXF1	CXF2	CXF41	CXF31	CXF42	CXF32
Flow rate [L/d]	3.07	5.77	1.81	4.66	6.24	8.96
Cell [kg/m^3]	4.01	3.87	2.39	2.08	2.01	1.86
Substrate [kg/m^3]	7.20	12.2	8.96	13.9	16.6	20.3
Xanthan [kg/m^3]	11.9	7.34	16.8	12.6	10.7	7.36
Productivity [$\text{kg xanthan}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$]	0.275	0.319	0.277	0.444	0.503	0.498

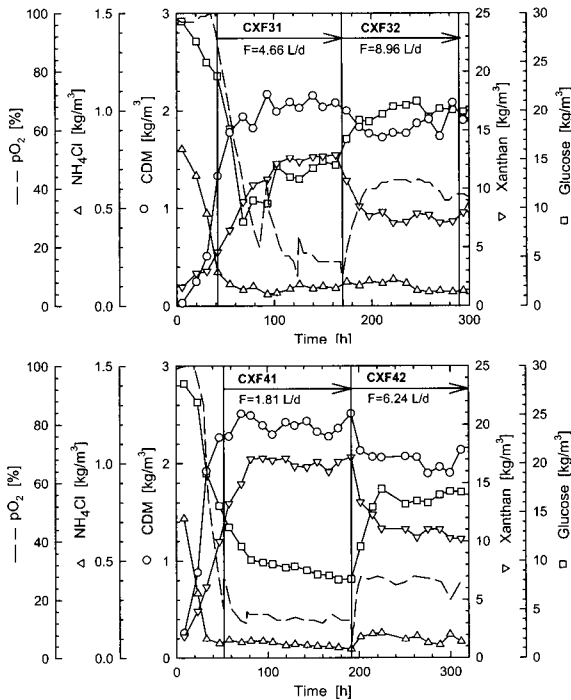


Figure 3. Time-courses of continuous xanthan fermentations in a three-phase fluidized bed bioreactor at the influent NH_4Cl concentration of $1.0 \text{ kg}/\text{m}^3$ and the gas velocity of 0.05 m/s .

제한이 발생된 것으로 생각된다. 회석률 0.023 h^{-1} 의 값을 사용한 CXF1의 경우, 유출수 균체량은 $4.01 \text{ kg}/\text{m}^3$, xanthan 농도는 $11.9 \text{ kg}/\text{m}^3$, 포도당 농도는 $7.20 \text{ kg}/\text{m}^3$ 의 값을 각각 나타내었다(Table 1). 포도당에 대한 xanthan의 걸보기 수율은 $0.522 \text{ kg xanthan}/\text{kg glucose}$ 의 값을, 단위균체량 당 xanthan 생성속도는 $0.0681 \text{ kg xanthan}/\text{kg CDM} \cdot \text{h}$ 의 값을, 반응기 단위액상부피 당 xanthan 생성속도는 $0.275 \text{ kg xanthan}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$ 의 값을 각각 나타내었다. 단위균체량 당 xanthan 생성속도는 회분식 비산소공급제한 조건하의 정체기에서의 값($0.107 \text{ kg xanthan}/\text{kg CDM} \cdot \text{h}$)보다 작은 값을 보였다. 회석률 0.043 h^{-1} 의 값을 사용한 CXF2의 유출수 균체량은 $3.87 \text{ kg}/\text{m}^3$, xanthan 농도는 $7.34 \text{ kg}/\text{m}^3$, 포도당 농도는 $12.2 \text{ kg}/\text{m}^3$ 의 값을 각각 나타내었다. 포도당에 대한 xanthan의 걸보기 수율은 $0.413 \text{ kg xanthan}/\text{kg glucose}$ 의 값을, 단위균체량 당 xanthan 생성속도는 $0.0825 \text{ kg xanthan}/\text{kg CDM} \cdot \text{h}$ 의 값을, 반응기 단위액상부피 당 xanthan 생성속도는 $0.319 \text{ kg xanthan}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$ 의 값을 각각 나타내었다. 따라서 회석률이 증가함에 따라 포도당에 대한 걸보기 xanthan 수율은 감소하였고, 단위균체량 당 xanthan 생성속도는 증가하였다. 회석률이 증가함에 따라 균체 비성장속도가 증가하고 산소요구물은 증가하나,

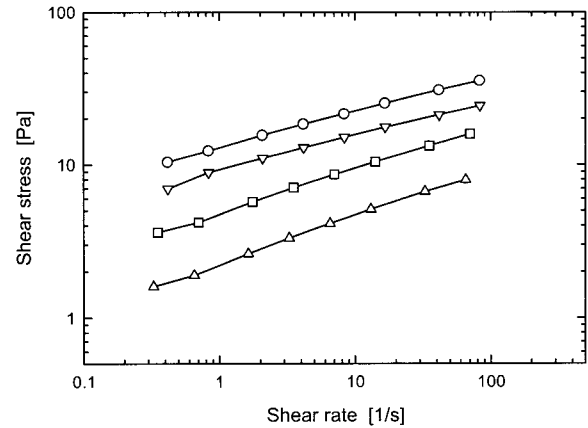


Figure 4. Rheological characteristics of the continuous fermentation broths.

Symbol	Fermentation	Flow rate [L/d]	Xanthan conc. [kg/m^3]	k [$\text{Pa} \cdot \text{s}^n$]	n [-]
○	CXF41	1.81	16.0	13.21	0.227
▽	CXF31	4.66	12.8	9.322	0.220
□	CXF42	6.24	11.0	4.933	0.278
△	CXF32	8.96	7.09	2.308	0.300

xanthan 농도가 낮게 나타나서 반응기 내 유효점도가 낮은 값을 보여 기-액 산소전달계수 및 산소전달속도가 높게 나타난다. 따라서 단위균체량 및 반응기 단위액상부피 당 xanthan 생성속도가 증가한 것으로 생각된다.

연속식 발효에서 산소공급제한을 피하기 위하여 0.05 m/s 의 공기유속을 사용하면서 유입수 염화암모늄 농도를 $1.0 \text{ kg}/\text{m}^3$ 로 낮추었으며 그 결과를 Figure 3에 나타내었다. 유입수 유량을 1.81 L/d 에서 8.96 L/d 까지 증가시키기에 따라, 용존산소 농도는 포화농도의 10%에서 40%까지 증가하였고, 균체농도는 $2.39 \text{ kg}/\text{m}^3$ 에서 $1.86 \text{ kg}/\text{m}^3$ 으로 약간 감소하였으며, 포도당 농도는 $8.96 \text{ kg}/\text{m}^3$ 에서 $20.3 \text{ kg}/\text{m}^3$ 으로 증가한 반면에 xanthan 농도는 $16.8 \text{ kg}/\text{m}^3$ 에서 $7.36 \text{ kg}/\text{m}^3$ 로 감소하였다 (Table 1). Figure 2에 나타낸 $2 \text{ kg}/\text{m}^3$ 의 유입수 염화암모늄 농도를 사용한 경우와 비교할 때 균체농도가 약 반으로 감소하였으며, 염화암모늄이 균의 성장을 제한하는 영양소이었음을 알 수 있다. 유입수 유량(반응기 회석률)이 증가함에 따라, 세포 비성장속도 증가로 인한 산소요구물의 증가보다 xanthan 농도 감소로 인한 반응기 유효점도 감소가 유발하는 반응기 최대 산소전달속도(기-액 산소전달계수)의 증가 효과가 커서 용존산소 농도가 증가한 것으로 생각된다.

Figure 3에 나타낸 각 유입수 유량에서의 연속식 발효 최종 시료의 회전점도계로 측정된 유변학적 특성을 Figure 4에 나타내었다. $0.3\text{-}100 \text{ s}^{-1}$ 범위 내의 전단속도 $\dot{\gamma}$ 에서 측정된

Table 2. Average molecular weights of xanthan, produced in the continuous fermentations in Figure 3, calculated by equations (6) and (7).

Fermentation	Dilution rate [1/h]	Mw · 10 ⁶ [g/mol]
CXF41	0.0136	7.62
CXF31	0.0351	8.60
CXF42	0.0470	8.12
CXF32	0.0675	9.12

전단응력 τ 는 가소성 유체의 유변학적 특성을 묘사하는 Oswald-de Waele 상관식으로 잘 묘사되었다:

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \tag{9}$$

배양액 유체일관성인자 k 와 흐름거동지수 n 을 식 (9)를 이용하여 산출하였으며 Figure 4에 나타내었다. Xanthan 농도가 증가함에 따라 유체일관성인자는 증가하였고 흐름거동지수는 감소하였다. 배양액 xanthan 농도, 유체일관성인자 및 흐름거동지수와 식 (6)과 (7)로부터 산출된 xanthan 평균분자량의 산술평균값을 Table 2에 정리하였다. 반응기 회석률(유입수 유량)이 0.0136 h⁻¹에서 0.0675 h⁻¹까지 증가함에 따라 생성된 xanthan의 평균분자량이 7.62 · 10⁶ g/mol에서 9.12 · 10⁶ g/mol 까지 증가하였고, 균체 비성장속도가 증가함에 따라 xanthan의 분자량이 증가한다는 식 (5)의 예측결과와 정성적으로 일치하였다. 같은 균주, 배양 배지 및 조건을 사용한 회분식 xanthan 발효에서 최대비성장속도(0.077 h⁻¹)를 나타내는 지수 성장기에서는 분자량 10.7 · 10⁶ g/mol의 xanthan이 생성된 반면에 영의 비성장속도를 나타내는 정상기에서는 산소공급이 충분한 경우 분자량 8.7 · 10⁶ g/mol의 xanthan이 생성되었다(8).

생물반응기에서의 배양액 유효점도 μ_{eff} 는 반응기에서의 유효전단속도 $\dot{\gamma}_{eff}$ 로부터 다음과 같이 계산된다:

$$\mu_{eff} = k \cdot \dot{\gamma}_{eff}^{n-1} \tag{10}$$

여기서, 유효전단속도는 반응기의 형태 및 운전조건에 영향을 받는다. 삼상유동층 생물반응기에서의 유효전단속도는 액고 유동층에 대한 모세관 흐름모델을 기포탑에서의 실험식 결과와 결합시킨 다음 식으로부터 산출할 수 있다(11):

$$\dot{\gamma}_{eff} = 2800 \cdot \left(u_G - u_L \frac{\epsilon_G}{\epsilon_L} \right) + \frac{3n+1}{4n} \frac{12u_L \epsilon_S}{d_s \epsilon_L^2} \tag{11}$$

이 식의 오른편 첫 번째 항은 기포에 의한 전단속도를, 두 번째 항은 고체유동입자에 의한 전단속도를 각각 나타낸다. 삼상유동층은 12 kg/m³의 xanthan 농도에서 기포탑에 비해 약 7배의 높은 가-액 산소전달계수 k_{La} 값을 보였다(10). 삼상유동층에서의 높은 유효전단속도와 에너지투입률 그리고 유동입자에 의한 기포분쇄효과가 가-액 산소전달계수를 증가시킨다.

연속식 발효에서 반응기 회석률 변화에 따른 세포 단위건조질량 당 xanthan 생성속도의 변화를 Figure 5에 나타내었

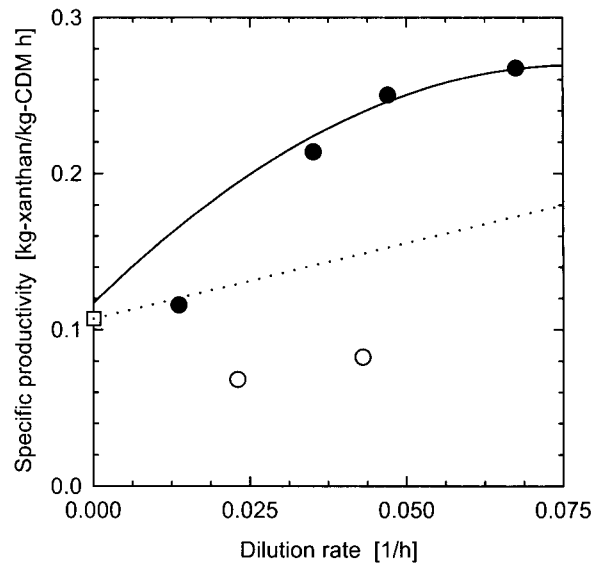


Figure 5. Xanthan productivity as a function of dilution rate in the continuous fermentations in a TPFB bioreactor at the air velocity of 0.05 m/s: (●), without the oxygen transfer limitation at the influent NH₄Cl concentration of 1 kg/m³; (○), under the oxygen transfer limitation at the influent NH₄Cl concentration of 2 kg/m³; (□), from the batch fermentation without the oxygen transfer limitation (Suh et al., 1992); (—), predicted by equation (12); (···), calculated by equation (1).

다. 산소전달이 충분한 경우 회석률이 증가함에 따라 xanthan 비성장속도는 증가하였다. 그러나 0.0351 h⁻¹ 이상의 회석률에서는 회분식 발효 결과에서 얻는 식 (1)로부터의 예측결과보다 상당히 높은 xanthan 비성장속도를 보였다. Peters(13)는 본 연구에서와 같은 균주 및 영양배지를 사용한 교반반응기 chemostat에서의 xanthan 발효에서 비슷한 결과를 관찰하였으며 연속발효에서의 xanthan 비성장속도에 대해 다음 식을 제안하였다:

$$q_P = 0.117 + 3.93\mu - 25.3\mu^2 \tag{12}$$

본 연구의 결과는 식 (12)에 의해 잘 묘사되었다. 고농도 염화암모늄과 구연산을 계속 주입한 유가식 발효 경우에서도 xanthan의 비성장속도는 식 (12)로 잘 묘사되었다. 연속발효 중 구연산을 계속 주입함으로써 균이 구연산을 계속 소모한 것이 발효초기에 구연산이 고갈되는 회분식 발효와 비교할 때 높은 xanthan 비성장속도를 유발한 것으로 사료된다(7,14). 구연산은 원래 영양배지 멸균과정에서 다른 영양분의 침전을 막기 위하여 영양배지에 첨가되며 회분식 발효에서 발효 시작 하루 안에 모두 소모된다. 회분식 발효에서 균이 구연산을 아직 소모할 수 있는 낮은 xanthan 농도의 발효 초기에 본 연구에서 관찰된 높은 xanthan 비성장속도와 비슷한 약 0.25 kg xanthan/kg CDM · h의 비성장속도를 관찰할 수 있었다(10).

반면에, 2 kg/m³의 유입수 염화암모늄 농도를 사용한 산소공급제한이 발생한 경우 상당히 낮은 xanthan 비성장속도가 나타났다. 식 (4)에 의하면 산소공급제한이 발생할 경우 비성

장관련 xanthan 생성속도는 0.107 kg xanthan/kg CDM · h에서 0.0655 kg xanthan/kg CDM · h로 급격히 감소한 후 산소 전달속도가 감소함에 따라 감소한다. 이러한 비성장관련 xanthan 생성속도의 감소는 Figure 5의 xanthan 비생성속도의 감소(회석률 0.043 h⁻¹에서 0.1567 kg xanthan/kg CDM · h의 비생성속도 감소)를 설명하기에는 불충분한 것을 알 수 있다. 산소공급제한이 성장관련 xanthan 비생성속도(식 1의 A)에도 영향을 미치는 것으로 생각된다. 일반적으로 회분식 발효에서 산소공급제한은 낮은 xanthan 농도를 나타내는 세포 증식기 동안에는 발생하지 않는다. 따라서 회분식 발효결과에서 얻은 식 (1)을 연속식 발효에서 산소공급제한이 일어나는 경우에 적용하는데는 문제가 있는 것으로 생각된다. 산소공급제한 연속발효에서의 낮은 단위균체량 당 xanthan 생성속도 때문에 높은 균체농도에도 불구하고 반응기 단위액상부피 당 xanthan 생성속도(space-time-yield)는 산소공급제한이 발생하지 않은 경우에 비하여 낮은 값을 보였다(Table 1). 산소공급제한이 발생한 경우 실제 기-액 산소전달속도는 높은 산소전달계수 ($C_L^* - C_L$)과 낮은 xanthan 농도로 인한 높은 기-액 산소전달계수 k_{La} 때문에 산소공급제한이 발생하지 않은 경우에 비하여 높은 값을 보인다. 낮은 반응기 단위액상부피 당 xanthan 생성속도와 높은 기-액 산소전달속도로 비추어 볼 때 산소공급제한이 일어난 경우 xanthan의 산소에 대한 겔보 기수율은 산소공급제한이 발생하지 않은 경우 보다 낮은 값을 보이는 것을 추측할 수 있다.

요 약

세포의 다당류 xanthan을 생산하기 위하여 호기성 박테리아 *X. campestris*를 9 L 삼상유동층 생물반응기에서 연속적으로 배양하였다. 고점도 배양액에서 공기 기포를 분쇄하기 위하여 직경 8 mm 유리 유동입자를 사용하였다. 반응기 회석률을 증가시킴에 따라 세포 단위질량 당 xanthan 생성속도 및 생성된 xanthan의 분자량은 증가하였다. 산소공급제한이 발생하지 않을 경우 연속발효에서의 xanthan 비생성속도는 회분식 발효에서 제안된 상관식의 예측결과 보다 상당히 높은 값을 보였다.

감 사

본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구과제(951-1104-020-2) 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

사용기호

- A parameter characterizing the growth-related xanthan production (eqn 1) [kg xanthan/kg CDM]
 B specific xanthan productivity in the stationary phase (eqn 1) [kg xanthan/kg CDM · h]
 C parameter characterizing the growth-related oxygen demand (eqn 2) [kg O₂/kg CDM]
 CDM cell dry mass

- C_L dissolved oxygen concentration [kg/m³]
 C_L^* saturated dissolved oxygen concentration [kg/m³]
 D specific oxygen demand in the stationary phase (eqn 2) [kg O₂/kg CDM · h]
 D_L molecular diffusivity [m²/s]
 d_s diameter of fluidized particles [m]
 k fluid consistency factor [Pa · sⁿ]
 k_{La} volumetric gas-liquid mass transfer coefficient referred to liquid volume [1/s]
 k_{La} volumetric gas-liquid mass transfer coefficient referred to reactor volume [1/s]
 M_w weight average molecular weight of xanthan [kg/kmol]
 M_w^* M_w of instantaneously produced xanthan [kg/kmol]
 n flow behavior index [-]
 OTR gas-liquid oxygen transfer rate [kg/m³ · h]
 P xanthan concentration [kg/m³]
 Q_{O_2} oxygen demand rate [kg O₂/m³ · h]
 q_{O_2} specific oxygen demand rate [kg O₂/kg CDM · h]
 q_p specific xanthan production rate [kg xanthan/kg CDM · h]
 u superficial velocity [m/s]
 u_T terminal velocity of a single particle [m/s]
 X cell concentration [kg/m³]

그리스 문자

- $\dot{\gamma}$ shear rate [1/s]
 ϵ phase holdup [-]
 μ specific growth rate [1/h]
 μ_{eff} effective viscosity [Pa · s]
 τ shear stress [Pa]

하 첨 자

- G gas
 L liquid
 S solid

REFERENCES

- Candia, J.-L. Flores and W.-D. Deckwer (1999), Xanthan Gum, In *Encyclopedia of Bioprocess Technology 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.
- Weiss, R. M. and D. F. Ollis (1980), Extracellular Microbial Polysaccharides. I. Substrate, Biomass, and Product Kinetic Equations for Batch Xanthan Gum Fermentation, *Biotechnol. Bioeng.* **22**, 859-873.

5. Pinches, A. and L. J. Pallent (1986), Rates and Yield Relationships in the Production of Xanthan Gum by Batch Fermentations Using Complex and Chemically Defined Growth Media, *Biotechnol. Bioeng.* **28**, 1484-1496.
6. Suh, I.-S., A. Schumpe, and W.-D. Deckwer (1992), Xanthan Production in Bubble Column and Air-Lift Reactors, *Biotechnol. Bioeng.* **39**, 85-94.
7. 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.
8. 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.
9. Thomson, N. and D. F. Ollis (1980), Extracellular Microbial Polysaccharides. II. Evolution of Broth Power-Law Parameters for Xanthan and Pullulan Batch Fermentation, *Biotechnol. Bioeng.* **22**, 875-883.
10. 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.
11. 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.
12. Mitschka, P. (1982), Simple Conversion of Brookfield R.V.T. Readings into Viscosity Functions, *Rheol. Acta* **21**, 207-209.
13. Peters, H.-U. (1990), Modellbildung der satzweisen und kontinuierlichen Produktion von Xanthan, Ph. D. Dissertation, Naturwissenschaftliche Fakultät, Technische Universität Braunschweig, Braunschweig.
14. Souw, P. (1981), The Effect of Citrate and Other Organic Acids in Xanthan Production, In *Advances in Biotechnology Vol. 3*, M. Moo-Young, C. Vezina, and K. Singh, Eds., p447, Pergamon Press, Toronto.