

## 구형 Ca-alginate 겔 내부에 고정화된 효모의 거동 및 반응 특성에 관한 연구

김우식 · 유인상\*

연세대학교 공과대학 화학공학과

\*경원대학교 이공대학 화학공학과

(1990년 5월 28일 접수, 1990년 11월 26일 채택)

## The Behavior and Reaction Characteristics of Yeast Cell Immobilized in the Ca-alginate Gel Bead

Woo-Sik Kim and In-Sang Yoo\*

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Yonsei University, Seoul, Korea

\*Department of Chemical Engineering, College of Science and Engineering,

Kyungwon University, Songnam, Korea

(Received 28 May 1990 ; accepted 26 November 1990)

### 요 약

에탄올 발효 효율을 증대시키고 고농도 균체를 유지하기 위하여 Ca-alginate 겔 내에 효모를 고정화시켜 실험을 한 결과, 겔 내에서의 효모 농도 분포는 초기 포괄 효모량 증가에 따라 증가하였으며 일정 활성 거리를 유지하면서 겔 최외부에 가장 많이 분포되어 있었다. 또한 발효 반응시 효모가 고정화 겔 내부에서 반경방향에 따라 농도 구배를 갖고, 기질의 확산 계수가 효모 농도에 따라 변하는 경우 실험결과와 이론값이 비교적 잘 일치하였다.

**Abstract**—The efficiency of ethanol fermentation is increased and the high cell concentration is maintained through the immobilization of yeast cell in the Ca-alginate gel bead.

Yeast cell concentration in the gel bead is increased with the increase of the initial entrapped yeast cell concentration, and the highest concentration distribution of yeast cells is found at the outlayer of the gel bead.

The gradient of yeast cell concentration in the gel bead is changed with the particle radius.

In the case of decrease of the substrate diffusivity with linearity, the fermentation model is well fitted with the experimental data.

### 1. 서 론

균체를 이용한 에탄올의 발효 반응시 경제성을 고려한 주요 설계 인자로는 균체의 생물학적 특성과 반응

속도에 따른 반응기의 형태를 들 수 있는데, 최근에는 생물 반응기에서 전통적으로 사용해 오던 회분 발효조 및 연속 흐름 발효조(C.S.T.F.)를 보완하여 균체를 고 농도로 농축시켜 발효 효율을 증대시키고, 발효공정을

정확히 제어할 수 있는 새로운 생물반응기의 설계가 시도되고 있다[1-5].

균체를 고농도로 하여 에탄올의 생산성을 높일 수 있는 방법으로는 발효조안의 균체를 고정화하여 고농도로 유지하며, 균체의 썩음을 가능한 한 억제하여, 생성된 에탄올과 쉽게 분리하는 것으로서 1970년대 초부터 활발히 연구되고 있다[6-9].

고정화된 미생물막 내부에서의 물질전달 현상을 두 가지 방법으로 해석하고 있는데, 첫째는 고정화 균체를 일반적인 화학촉매 및 효소와 같은 형태의 효율인자를 도입 해석하는 방법으로서 1975년 Toda와 Shoda[10]는 agar 겔에 고정화시킨 *Saccharomyces pastorianus*로 자당으로부터 포도당 생성의 전환율을 C.S.T.F.에서 실험하여 예측하였다. 둘째는 효율 인자의 언급없이 단지 균체의 생물반응 속도식의 상수 값을 보정해 주는 방법으로써, 1977년 Kierstan과 Bucke[11]는 Ca-alginate 겔에 고정화시킨 *Saccharomyces cerevisiae*로 에탄올의 생성 실험을 하여 겔보기  $K_m$  값이 변하는 것을 나타낸 바 있다.

위의 두 가지 해석은 겔 내부의 균체량이 항상 일정하며, 확산 계수가 일정하다는 특정 상태의 정상상태 가정하에서 구한 결과들이다[11-14]. 그러나 실제로는 고정화 겔 내부에서 균체가 계속적으로 증식하고 있으며 이에 따라 에탄올의 비 생성 속도와 확산 계수들의 값들은 균체농도에 따른 함수값으로 나타나게 된다. 따라서 고정화 겔 내부에서의 반응 현상에 대한 근본적인 연구가 요구되고 있다.

본 연구는 고정화 효모 겔 비이드 내에서의 에탄올 생성 반응을 명확히 규명하기 위하여 수동적 고정화법으로 제조된 비이드 내부에서 진행되는 기질의 물질전달 현상과 효모의 증식으로 인한 제반 반응특성을 서로 연관시켜 해석하고자 하였다.

## 2. 이론적 고찰

### 2-1. 단일 구형 고정화 효모-겔 내부에서의 물질 수지

단일 고정화 효모-겔 내부에서의 물질 수지식을 취하면

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial r} (D_{es} r^2 \frac{\partial S}{\partial r}) &= D_{es} \frac{d^2 S}{dr^2} + D_{es} \frac{2}{r} \frac{dS}{dr} \\ &= (-r_s) = \frac{1}{Y_{p/s}} \cdot r_p \end{aligned} \quad (1)$$

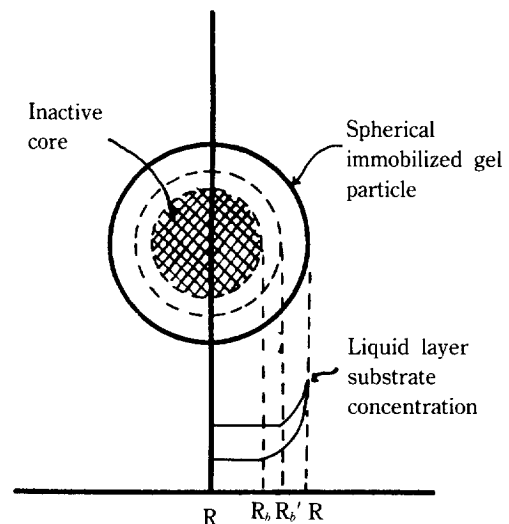


Fig. 1. Immobilized yeast-gel particle with  $R_0$  (substrate concentration distribution in a gel bead).

$$\frac{\partial}{\partial r} (D_{ep} r^2 \frac{\partial P}{\partial r}) = D_{ep} \frac{d^2 P}{dr^2} + D_{ep} \frac{2}{r} \frac{dP}{dr} = r_p \quad (2)$$

$$\begin{aligned} r_p &= \int_0^R 4\pi r^2 r_s(S) \cdot dr \cdot Y_{p/s} \\ &= 4\pi R^2 D_{es} \frac{\partial S}{\partial r} \bigg|_{r=R} \cdot Y_{p/s} \end{aligned} \quad (3)$$

이 되고, 여기서 기질소비 속도와 에탄올 생성 속도는 일반적인 발효속도식으로 부터

$$r_p = v \cdot X_b \quad (4)$$

$$-r_s = -\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{p/s}} \cdot \frac{dP}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \cdot \frac{dX}{dt} \quad (5)$$

이다. 여기서 식(1)-(5)를 결합시켜 단일 고정화 겔의 반응 속도  $r_p$ 를 구한 후 이 값을 반응기의 물질 수지식에 대입하여 반응액 중의 기질 농도와 에탄올 농도를 계산할 수 있다.

고정화 겔 내에서의 발효 반응은 일반 화학 촉매와는 달리 균체는 생촉매로서 기질을 소비하면서 균체 자체가 증식하며, 증식된 균체 농도 때문에 기질 확산도가 변화하게 되어 기질 및 용존 산소의 공급 불능으로 인한 내부의 비활성 부분이 생겨 활성 균체 분포거리가 존재하게 된다.

Fig. 1에 한 개의 겔 내에서의 기질 농도 및 활성 균체분포거리의 변화와 이에 따른 물질 수지식 (1) 및 식 (2)에 대한 경계조건을 나타내었다.

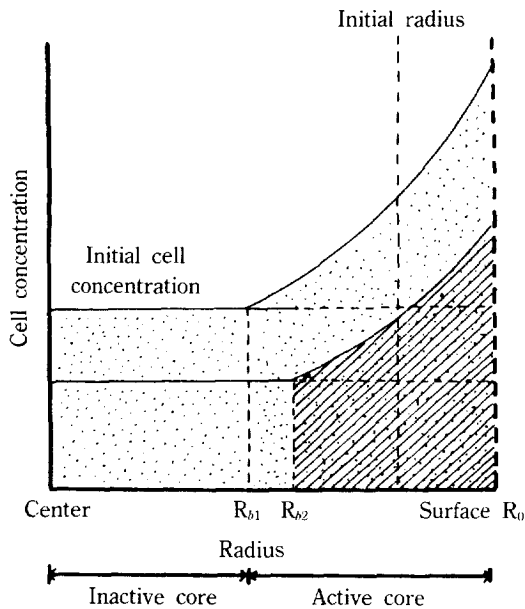


Fig. 2. Immobilized-yeast concentration according to radius in the gel particle.

$$r=R \text{에서 } S=S_0$$

$$r=R_0 \text{에서 } \frac{dS}{dr} = 0 \quad (6)$$

$$r=R \text{에서 } P=P_0$$

$$r=R_0 \text{에서 } \frac{dP}{dr} = 0 \quad (7)$$

외부 기질 농도와 용존 산소 및 초기 균체 함량에 따라 겔 내로 확산되어 들어오는 기질량과 용존 산소량이 다르게 되므로 겔 내의 활성 균체 거리도 Fig. 2와 같이 계속적으로 변화하게 될 것이다.

기질과 용존 산소가 일정한 농도일 때 발효 반응을 충분히 시키면 겔 내에서 사멸하는 균체량과 증식 균체량 및 겔 외부로 방출되는 균체량이 거의 평형을 이루게 되는 의사 정상상태(pseudo steady state)가 된다. 따라서 용존 산소량을 일정하게 해주었을 때, 활성 균체 반경 거리는 Fig. 2와 같이 초기 균체 포함량에 따라 변화한다고 생각할 수 있다.

단일 겔 비이드에서 반응속도  $r_p$ 를 구하기 위해 식 (1), 식 (4), 식 (5) 및 식 (6)을 무차원화 하면 다음과 같다.

$$\frac{d^2\bar{S}}{d\bar{R}^2} + \frac{2}{\bar{R}} \frac{d\bar{S}}{d\bar{R}} = K \cdot \bar{v} \cdot \bar{X}_s \quad (8)$$

$$\bar{R}=1 \text{에서 } \bar{S}=1$$

$$\bar{R} = \frac{Rb}{R_0} \text{에서 } \frac{d\bar{S}}{d\bar{R}} = 0 \quad (9)$$

여기서  $\bar{R} = \frac{r}{R_0}$ ,  $\bar{S} = \frac{S}{S_0}$ ,  $\bar{P} = \frac{P}{P_0}$ 이며  $K = \frac{R_0^2 \cdot v_{max}}{Y_p \cdot D_{cs} \cdot S_0}$ 이고,  $v$ 는 실험값으로부터 해석한 비생성 속도식을 이용하여 구할 수 있다. 이 때 식 (8)은 비선형 2계 미분 방정식의 형태로서 식 (6)의 경계 조건을 만족하는 초기값을 적분하여  $\frac{d\bar{S}}{d\bar{R}} \Big|_{\bar{R}=K}$ 을 BOUNDS프로그램을 이용하여 shooting method로서 구한 후, 이 값을 이용하여 단일 겔 내에서의  $S$ 의 분포 및 단일 겔 내에서의 반응속도를 구할 수 있고, 이 값들을  $P$ 에 대하여 풀어주면 겔 내부에서의  $P$ 의 분포를 구할 수 있게 된다. 본 연구에서  $v$ 는 앞서 실험한 회분 실험결과의 값[15]인

$$v = v_{max} (1 - P/P_{mp}) \left( \frac{S}{K_{sp} + S + S^2/K_p} \right)$$

를 택하여 사용하였다. 여기서  $v_{max} = 1.62 \text{ hr}^{-1}$ ,  $P_{mp} = 110 \text{ g/L}$ ,  $K_{sp} = 0.54 \text{ g/L}$ , 그리고  $K_p = 562 \text{ g/L}$ 이다.

한편 식 (1) 및 식 (3)과 같이 고정화 겔을 통하여 기질이 물질전달될 때 확산 계수의 영향을 받게 되는 바, 확산 계수는 또한 기질의 농도, 겔의 화학적 조성 및 균체량에 의하여 영향을 받는다[16-18].

Ca-alginate 겔로 균체를 고정화시켰을 때, 글루코오스와 같은 아주 작은 저분자 물질의 확산은 Ca-alginate 농도 및 기질의 농도의 영향을 거의 받지 않으나[16], 고정화 막 안에 포괄되어 있는 균체 농도에 대하여는 비교적 큰 영향을 받는다고 보고된 바 있다[18, 19]. 따라서 고정화 겔 내부에 일정 균체량으로 포괄시켰을 경우 반응이 경과함에 따라 반경방향으로 균체 농도가 변화하게 되므로, 식 (1), 식(6)을 풀 때 균체량에 따른 확산 계수의 변화를 고려하여야 한다.

### 3. 실험방법 및 재료

#### 3-1. 구형 고정화 효모-겔의 제조

회분 발효장치를 이용하여 농축 배양시킨 균체를 원심분리하여 반응액과 분리시키고 2-3차례 0.9% saline 액에서 세척한 후 Fig. 3과 같은 방법으로 겔 내에 포괄시켰는 바, 이 때 Ca-alginate 겔 비이드는 미량 펌프를 이용하여 반응기 내부에서 직접 제조하였으며, 제조 초기의 비이드의 평균 지름은 3.0 mm, 비이드의 비중은 1.08, 초기 비이드 내부의 균체량은 25 g/L, 50 g/L의 두 가지를 사용하였고, 초기 비이드의 전체 부피는 1 L로

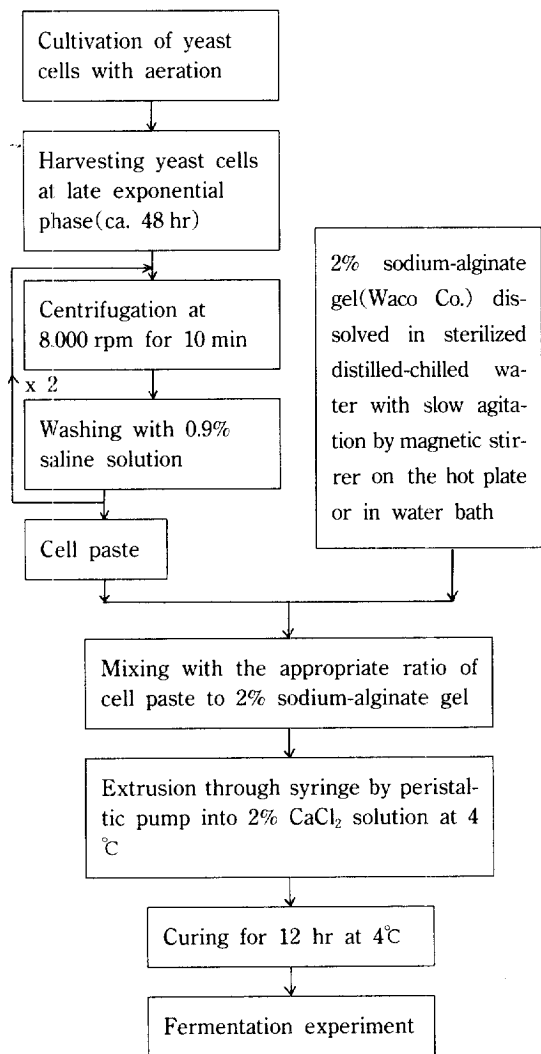


Fig. 3. Procedure for the preparation of immobilized cells.

하였다. 고정화 겔 비이드 제조시 제조직후 비이드 내부에서의  $\text{CO}_2$  발생으로 반응액 중에서 비이드가 부유하므로 탑형 발효조의 조작시 문제가 되는 바, 본 실험에서는 이와 같은 부유 현상을 제거하기 위해 적당량의 실리콘 오일을 첨가제로 사용하여 겔 비이드 내부에  $\text{CO}_2$  가스가 고여 있지 않도록 하였다. 제조가 완료된 고정화 효모-겔은 기질 농도와 기질 용액의 유속을 변화시키면서 발효 실험을 진행하였다.

### 3-2. 구형 고정화 효모-겔 내부에서의 물질전달 실험

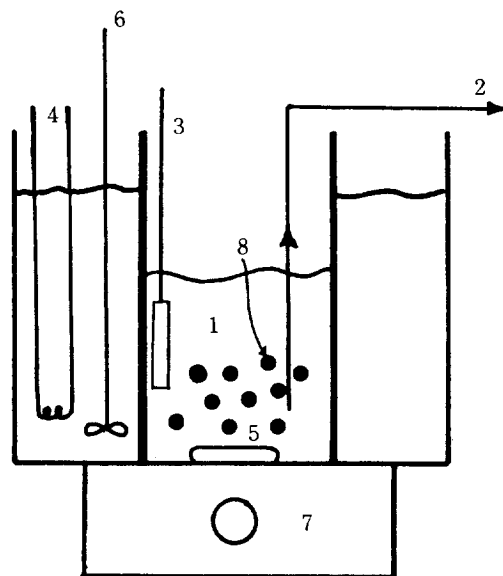


Fig. 4. Apparatus for intra-diffusivity in the immobilized yeast-gel particle.

1. Diffusion cell
2. Peristaltic pump(sampling)
3. Thermocouple
4. Heating element
5. Stirring bar
6. Agitator
7. Magnetic stirrer
8. Immobilized yeast-gel particle

Ca-alginate 겔 내에 포괄시킨 효모량에 대한 물질전달 확산 계수의 변화를 규명하기 위하여 Fig. 4와 같은 확산 실험 장치를 사용하여 실험하였다. 호기 상태에서 증식시킨 균체를 0.9% saline 수용액으로 2-3회 세척하면서 원심분리시킨 후 건조함량 기준으로 60 g/L, 90 g/L, 120 g/L, 180 g/L의 균체를 준비하였다. 각각의 균체에 2%의 Na-alginate 겔 용액과 기질(10 g/L)을 잘 혼합하여 앞 절의 방법으로 직경 3 mm의 고정화 효모-겔 비이드를 만든 후 100 mL의 수용액이 들어있는 장치 내에 비이드 갯수를 정확하게 세어 투입하여 완전 혼합시키면서 일정 시간 간격으로 반응액 중으로 확산되어 나오는 기질 농도를 측정하여 확산 계수를 계산하였다. 이 때 겔 외부의 물질전달 저항의 영향을 없애주기 위하여 자석 교반기를 사용하여 600 rpm 이상으로 회전시켜 주었으며, 확산 기질로는 글루코오스 대신 이와 물성치가 비슷하며, *Sacch. uvarum* ATCC 26602와 반응을 하지 않는 자이로스(xylose)를 사용하였다. 물질전달 확산 계수의 계산은 Crank의 구형 비이드에서의

**Table 1. Effective diffusivities with respect to yeast cell density in the immobilized gel particle(2% Ca-alginate gel, substrate : xylose)**

Initial cell concentration in the particle(g/L)	Diffusivity(33°C) (cm <sup>2</sup> /s)
0	$6.695 \times 10^{-6}$
60	$5.373 \times 10^{-6}$
90	$4.610 \times 10^{-6}$
120	$4.088 \times 10^{-6}$
180	$3.349 \times 10^{-6}$

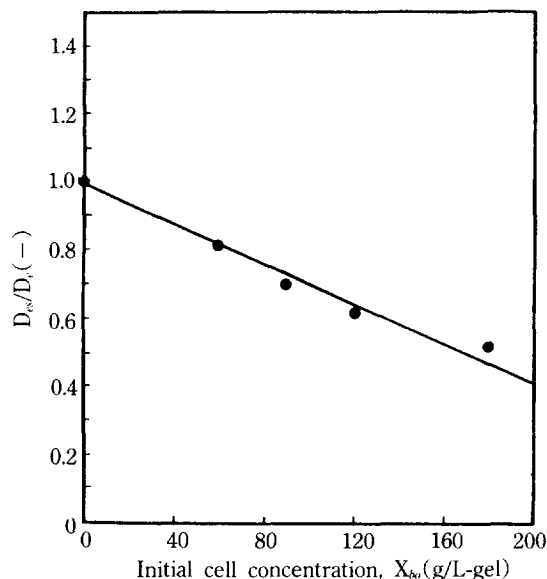
확산이론으로 계산하였다[20].

### 3-3. 구형 고정화 효모 겔 내부에서의 균체 거동 및 에탄올 생성 실험

고정화시킨 효모-겔을 연속 교반 탱크 발효조에 투입한 후, 기질 농도를 125 g/L로 하고, pH 5.0, 반응온도 33°C, DO가 0.1 ppm인 조건으로 dilution rate를  $0.1 \text{ hr}^{-1}$ 로 유지하면서 충분히 발효시켜 고정화 효모-겔의 직경이 더 이상 변화하지 않고 생성물 농도가 일정하게 될 때, 발효조로부터 고정화 효모-겔을 채취하여 건조기에서 적당히 건조시킨 후, 절단하여 SEM으로 고정화 겔의 반경 방향에 따라 분포된 효모의 균체수를 측정하였다. 단일 구형 고정화 효모-겔에서의 에탄올 생성 실험은 고정화 효모-겔의 직경이 더 이상 변화하지 않고, 생성물 농도가 일정한 고정화-겔을 적당량 채취하여 회분 발효조로 옮긴 후, pH 5.0, 반응온도 33°C의 혐기 조건으로 각각의 기질 농도(5-125 g/L)에서 발효시켜 초기 속도법으로 해석하였으며, 또한 생성물 저해 영향을 알아보기 위해 반응 초기에 미리 0-50 g/L의 에탄올을 혼합시켜 반응시켰다.

### 3-4. 분석 및 균체량 측정법

기질로 사용한 글루코오스와 자이로스의 정량은 DNS(dinitrosalicylic acid)발색법으로써 측정하였으며, 또한 확인 분석으로 HPLC(Waters, Co)를 사용하였다. 발효실험으로부터 생성되는 에탄올은 gas chromatography(G.C-7A, Shimadzu)로 측정하였다. 샘플 탭으로부터 채취한 균체량은 건조 균체량으로서, 초고속 원심분리기에서 8000 rpm으로 20분간 원심 분리시킨 후 중류수로 세척하여 다시 원심 분리시키고, 여과 셀과 함께 항온 건조기에서 90°C, 24시간 건조 평량하였다. 이와 병행하여 용액 중의 소량의 균체는 UV-spectrophotometer(Shimadzu 200S)로 620 nm에서 O.D.를 측정하여 검량 곡선으로부터 건조 중량으로 환산하였다.



**Fig. 5. Relationship between  $D_e/D_0$  and initial cell concentration.**

또한 겔 내의 균체수는 포화 sodium tri-polyphosphate 용액(100 mg/mL)으로 녹인 후 이를 원심 분리하여 건조한 후 건조 질량으로 나타내었다.

또한 연속 반응시 샘플 탭으로부터 채취한 Ca-alginate 겔을 2.5% glutar-aldehyde 용액으로 2시간 고정시키고, pH 7.2의 phosphate buffer로 세척한 후 에탄올 농도를 50-100%로 단계적으로 높여가며 탈수시켰다. 이를 CO<sub>2</sub> 감압하의 67°C critical point dryer에서 건조한 후 절단하여 SEM(Joel 35CF)으로 겔 내부의 반경 방향에 따라 고정화 효모-겔 비이드 내부의 균체 분포를 측정하였다.

## 4. 실험결과 및 고찰

### 4-1. 단일 구형 고정화 겔 내부의 물질전달 확산 계수 실험

Ca-alginate 효모로 이루어진 겔 비이드(직경 3 mm)의 초기 포화 효모 농도 변화에 대한 기질의 확산 실험결과 값을 Marquardt regression method에 대입하여 확산 계수를 구하였으며 이를 Table 1에 나타내었다. 균체를 포괄시키지 않고 Ca-alginate만으로 이루어진 겔의 확산실험결과, 기질의 확산 계수는  $0.669 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ 로서 가장 크게 나타났으며, 균체의 포괄 농도가 클수록 확산 계수가 감소하는 결과를 보였다.

본 확산실험에서 기질로 글루코오스 대신 효모와 반

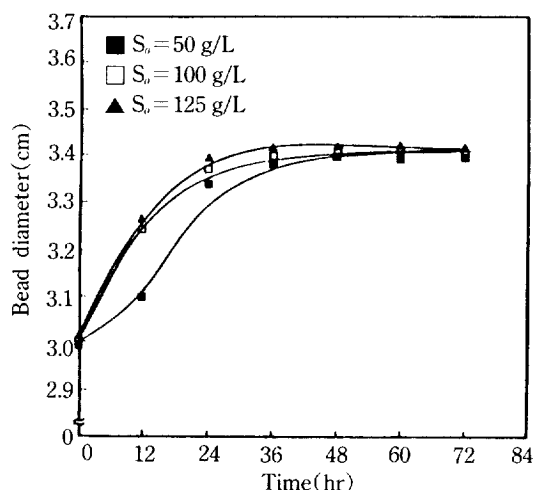


Fig. 6. Change of immobilized yeast-gel particle diameter according to fermentation time.

응하지 않는 자이로스를 사용하였는 바, 글루코오스와 자이로스의 확산 계수가 거의 비슷한 값을 나타내므로 보정없이 사용할 수 있었다. 또한 균체의 포괄농도에 대한  $D_{es}/D_r$ 의 관계를 Fig. 5에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 본 실험의 균체 포괄 농도(0-180 g/L) 범위에서 확산 계수는 균체 포괄 농도에 따라 선형적으로 감소하는 것을 알 수 있었으며, 180 g/L의 균체 포괄 농도일 때 약 54%의 감소현상이 일어났다.  $D_{es}/D_r$ 는 실험적으로  $D_{es}/D_r = 1 - 2.918 \times 10^{-3} X_b$ 로 나타낼 수 있었다.

본 실험에서 특이한 점은 다른 연구 실험결과[16-18]에 비하여 비교적 확산 계수가 크게 나타나는데, 이는 효모의 고정화시 안정제로 첨가한 실리콘의 영향으로 겔의 구조가 변형되어 기질의 확산이 수월해진 것으로 사료된다.

#### 4-2. 단일 구형 고정화 효모-겔 내부에서의 균체의 거동

앞의 균체 고정화 방법을 이용하여 제조한 겔 비이드는 초기에는 반경 방향으로 균일한 농도 분포를 유지하고 있으나, 기질 및 산소와의 반응으로 인한 균체의 증식과 사멸 및 겔 외부로의 균체의 이탈이 진행되어 일정 반응시간이 경과하면 의사 정상상태를 유지하면서 겔 비이드의 크기가 팽창하고, 일정한 균체 활성 반경 거리를 지니면서 반경 방향에 따라 균체 농도 분포가 변화하게 된다. 초기 균체를 25 g/L 및 50 g/L(건조함량 기준량)로 하여 Ca-alginate 겔에 포괄시킨 고정화 효

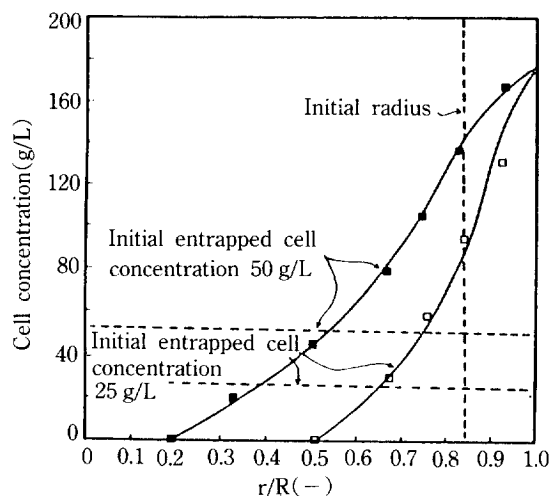


Fig. 7. Yeast cell density profile in the immobilized gel particle.

모에 기질 농도 100 g/L, dilution rate  $0.6 \text{ hr}^{-1}$ 로서 반응시켜 의사 정상상태가 유지될 때까지 반응시킨 후, 이 때의 고정화 겔을 채취하여 반응 초기의 겔 비이드 크기와 반응 후의 겔 비이드를 비교하여 Fig. 6에 나타내었으며 채취된 겔 비이드를 건조시켜 절단한 후 전자현미경으로 관찰한 결과를 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 6에서 볼 때 겔 비이드의 크기는 의사 정상상태가 될 때까지 증가한 후 일정한 크기를 유지하였는 바, 이는 균체량의 증가로 인한 겔 비이드의 팽창으로 사료된다. 이 때 초기 균체량이 25 g/L 및 50 g/L인 경우 비이드는 42 g/L 및 73 g/L로 각각 증가하였다. 따라서 본 연구에서의 실험결과와 고정화 효모 겔 비이드가 증식하여 의사 정상상태를 유지할 때 측정된 값들을 취하였다. 또한 Fig. 8에서 보는 바와 같이 균체는 겔 비이드의 최외부에 상당히 많은 양이 농축되어 있음을 알 수 있었고, 균체 활성 반경 거리는 균체의 초기 포괄 농도가 커짐에 따라 증가함을 볼 수 있으며, 균체량 역시 균체 활성 반경 거리가 증가할수록 전체적인 분포도 일정한 구배를 유지하면서 증가하는 것을 볼 수 있다. 특히 겔 비이드의 최외부분에서 거의 일정한 균체 농도를 유지하고 있는 것은 이 상태가 균체들이 겔 막을 통하여 기질 용액으로 빠져 나감과 동시에 한편으로 증식될 수 있는 최대량이기 때문으로 사료된다.

#### 4-3. 단일 구형 고정화 효모-겔 내부에서의 에탄올 생성 속도

단일 구형 고정화 효모-겔 내부에서의 에탄올 생성

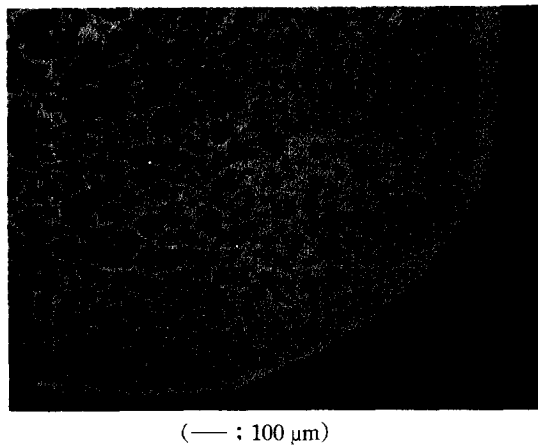
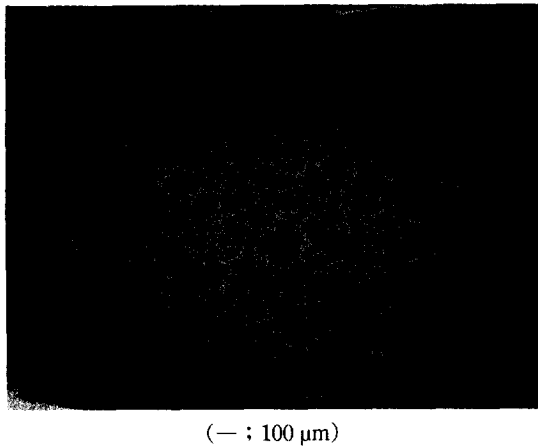


Fig. 8. Cross section of a yeast-gel particle.

속도는 단순한 균체의 반응 속도식으로는 나타낼 수 없으며, 앞 절에서 언급한 바와 같이 고정화 겔 내의 균체량 분포와 이에 따른 확산 계수의 변화 및 활성 균체 반경 거리 등을 고려한 비선형 2계 미분 방정식 형태의 물질 수지식으로 나타낼 수 있다. 이를 위하여 식 (8)과 식 (9)를 수치 해석적으로 모사하여 외부 기질 농도 및 생성물 농도에 대한 반경 방향의 기질 농도 구배를 구한 결과를 Fig. 9에 나타내었다.

Fig. 9에서 보는 바와 같이  $X_{b0}$ 가 50 g/L인 경우  $X_{b0}$ 가 25 g/L인 경우보다 반경 방향의 농도 구배가 큰 것을 알 수 있었는데, 단일 구형 겔에서의 반응 속도가 약 1.45배 정도 크게 나타났다. 이를 단일 구형 겔에서의 균체 포함량만으로 생각할 때 이론상으로 1.7배 정도 크게 나타나야 하나 1.45배 정도 증가한 것은 겔 비이드의 균체 분포와 확산 계수의 변화가 있으므로 반응 속도 차가 줄어들기 때문으로 사료된다. 또한 초기 기질

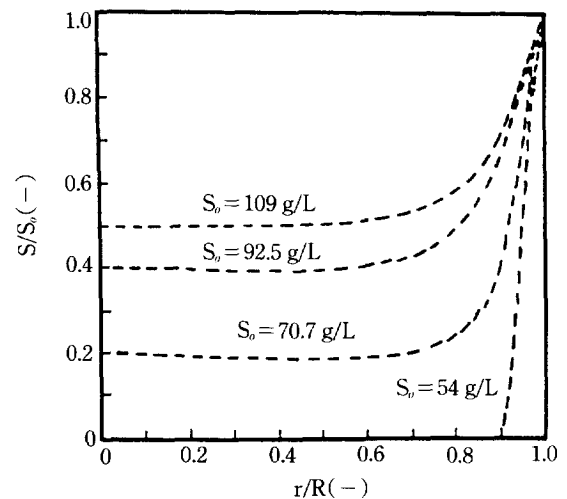
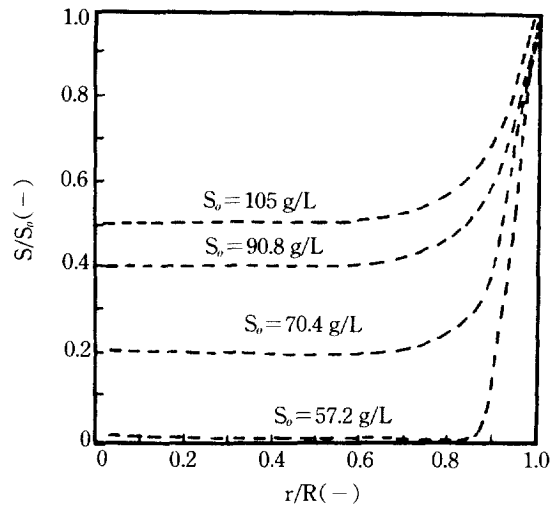


Fig. 9. Concentration profile of glucose in the immobilized yeast-gel particle(theoretical values).

농도가 53.89 g/L인 경우  $X_{b0}$ 가 50 g/L인 겔 비이드에서는 겔 비이드의 중앙에 이르기 전에 반응이 완결되는 것을 볼 수 있다.

수치 해석 모사 결과와 실험결과를 비교하기 위하여 회분발효조(0.5 L)에서 일정량의 고정화 비이드를 기질용액에 투입한 후 완전 혼합시켜 반응시키면서, 시간의 경과에 따른 생성량을 초기 속도법으로 해석하여 그 결과를 함께 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 실험결과와 수치 해석 결과가 비교적 잘 일치함을 알 수 있으며 또한 고정화시키지 않은 *Sacch. uvarum* ATCC 26602와 비교해 볼 때 고정화시킨 겔 효모의

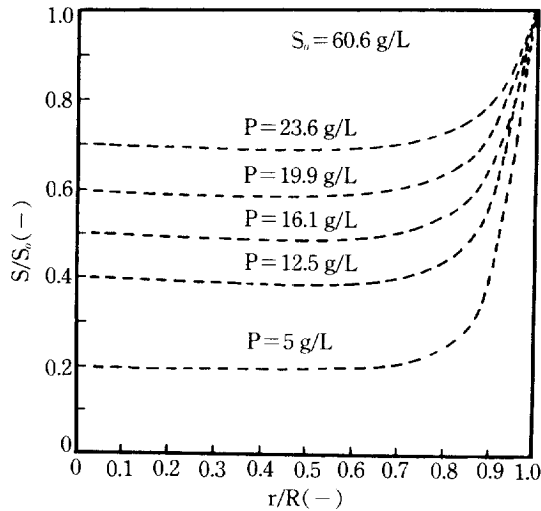


Fig. 10. Concentration profile of glucose in the immobilized yeast-gel particle with respect to initial ethanol concentration change(theoretical values).

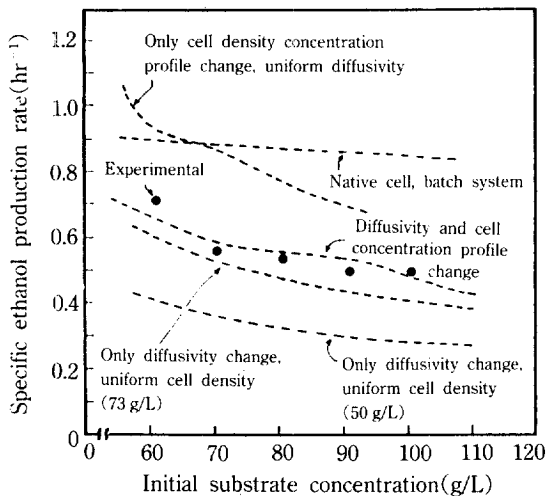


Fig. 11. Relationship between  $S_0$  vs.  $v$  in the immobilized yeast-gel particle(initial ethanol concentration=0 g/L).

반응속도가 약 35% 정도 작은 것을 알 수 있는 바 이는 물질전달 저항의 영향으로 사료되며, 특히 균체량이 많을 경우는 균체량에 따라 반응속도는 증가하나, 확산 계수는 줄어들므로, 일정 외부 기질 농도에 따라 적절한 균체량이 유지되어야 최대의 반응속도를 나타낼 수 있다. 초기 포함 균체량이 반경 방향에 따라 변화하고 확산 계수가 균체량의 영향을 받지 않는 경우 자유 균

체의 경우보다 기질 농도가 작을 때 오히려 더 큰 값을 나타낼 수 있다.

## 5. 결 론

구형 Ca-alginate 겔 내부에 고정화된 효모의 거동 및 반응특성에 관한 연구 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 단일 구형 Ca-alginate 겔에 효모를 고정화시킨 경우, 겔 내에서의 효모의 겔 농도의 분포는 초기 포괄 효모량에 따라 비이드의 반경에 따른 거리의 함수로서 변화하였으며, 일정 활성 반경 거리를 유지하면서, 겔의 최외부에 가장 많이 분포되어 있었다.

2. 겔 내에서의 기질 확산 계수는 Ca-alginate 겔 내에 포함되어 있는 균체량에 따라 다음과 같이 나타낼 수 있었다.

$$\frac{D_{es}}{D_e} = 1 - 2.918 \times 10^{-3} X_0$$

3. 단일 구형 Ca-alginate 겔에 효모를 고정화시킨 경우 발효반응은 비선형 2계 미분 방정식의 형태로 나타낼 수 있었는 바, 고정화 겔 내부에서 효모가 증식하여 반경 방향에 따라 농도 구배를 갖고, 기질의 확산 계수가 효모량의 증가에 따라 선형적으로 감소하는 경우 모델링값이 실험결과와 잘 일치하였다.

## 감 사

본 연구는 1989년도 과학재단 지원비에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

## NOMENCLATURE

- $D_e$  : effective diffusivity of glucose in the gel particle without yeast cell [cm<sup>2</sup>/sec]
- $D_{es}$  : effective diffusivity of glucose in the gel particle with yeast cell [cm<sup>2</sup>/sec]
- $K$  : constant for dimensionless form of eq.(11) [-]
- $K_{ip}$  : kinetic constant(product inhibition, anaerobic condition) [g/L]
- $K_{sp}$  : kinetic constant(product saturation, anaerobic condition) [g/L]
- $P_{mp}$  : maximum ethanol concentration above which cells do not produce ethanol(anaerobic and aerobic) [g/L]
- $R$  : gel particle radius [mm]



$\bar{R}$  : dimensionless radius [-]  
 $r$  : distant from the center of gel particle [mm]  
 $R_0$  : active microbial layer thickness [mm]  
 $r_s$  : substrate uptake rate [g/L·hr]  
 $r_p$  : ethanol production rate [g/L·hr]  
 $S$  : substrate concentration [g/L]  
 $\bar{S}$  : dimensionless substrate concentration [-]  
 $t$  : time [hr]  
 $X$  : cell concentration [g/L]  
 $Y_{p/s}$  : product yield on substrate [g/g]  
 $Y_{X/s}$  : biomass yield on substrate [g(dry wt)/g]  
 $v$  : specific ethanol production rate [hr<sup>-1</sup>]  
 $\bar{v}$  : dimensionless specific ethanol production rate [-]  
 $v_{max}$  : maximum specific ethanol production rate [hr<sup>-1</sup>]

## Subscripts

$b$  : gel bead phase (immobilized yeast-gel particle)  
 $o$  : initial value

## REFERENCES

1. Moo Young, M.: "Comprehensive Biotechnology", 2, 99, Pergamon Press Ltd(1985).
2. Brauer, H.: "Biotechnology", 2, 445, Verlag(1985).
3. Atkinson, B. and Marituna, F.: "Biotechnical Engineering and Biotechnology Handbook", 624, Macmillian Publishers(1983).
4. Atkinson, B.: "Biotechnical Reactors", 167, Pion (1974).
5. Moebus, O. and Teuber, M.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **15**, 194(1982).
6. Andrews, G. F.: *Biotech. and Bioeng.*, **24**, 2013 (1982).
7. Black, G. M., Webb, C., Matthews, T. M. and Atkinson, B.: *Biotech. and Bioeng.*, **26**, 134(1984).
8. Amin, G. and Verachtert, H.: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **14**, 59(1982).
9. Tyagi, R. D. and Ghose, T. K.: *Biotech. and Bioeng.*, **24**, 781(1982).
10. Toda, K. and Shoda, M.: *Biotech. and Bioeng.*, **17**, 481(1975).
11. Kouwel, P. C., Groot, W. J. and Kossen, N. W. F.: *Biotech. and Bioeng.*, **25**, 281(1983).
12. Furusaki, S., Seki, M. and Fukumura, K.: *Biotech. and Bioeng.*, **25**, 2921(1983).
13. Ghose, T. K. and Bandyopadhyay, K. K.: *Biotech. and Bioeng.*, **22**, 1489(1980).
14. Atkinson, B. and Rahman, F. UR.: *Biotech. and Bioeng.*, **21**, 221(1979).
15. Yoo, I. S.: Ph. D. Thesis, Yonsei Univ., Seoul (1988).
16. Tanaka, H., Matsumura, M. and Veliky, I. A.: *Biotech. and Bioeng.*, **26**, 53(1984).
17. Nakanishi, K., Adachi, S., Yamamoto, S., Matsuno, R., Tanaka, A. and Kamikubo, T.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 2455(1977).
18. Furusaki, S. and Seki, M.: *J. of Chem. Eng. of Japan*, **18**(5), 389(1985).
19. Seki, M. and Furusaki, S.: *J. of Chem. Eng. of Japan*, **18**(5), 461(1985).
20. Crank, J.: "The Mathematics of Diffusion", 89, Clarendon Press(1979).