

포도당 산화효소반응을 이용한 3상 실관 생화학반응기의 해석

장호남 · 최상교 · 김경원* · 이창우**

한국과학기술원 화학공학과 및 생물공정연구센터

*유공(주)

**한국원자력연구소

(1992년 12월 24일 접수, 1993년 6월 1일 채택)

Analysis of Three-Phase Hollow Fiber Bioreactor Using Enzymatic Glucose Oxidation

Ho Nam Chang, Sang Kyo Choi, Gyeong Won Kim* and Chang Woo Lee**

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

**Yokong, Ltd., Kosa-Dong, Nam-Ku, Ulsan 680-130, Korea*

**Korea Atomic Energy Research Institute, Taejeon 305-333, Korea*

(Received 24 December 1992; accepted 1 June 1993)

요 약

실관의 다공성 부분에 포도당 산화효소를 삽입하고 그 위에 실리콘 코팅을 하여 산소를 통하게 한 모형 삼상 실관반응기의 거동에 관한 이론과 실험을 행하였다. 포도당의 농도가 75 mM 이상일 때는 산소가 율속단계가 되는 것을 이론과 실험을 통하여 확인하였다. 실험을 통한 유효인자는 예측치 보다 15-25% 낮았는데 이는 아마 고정화에 따른 효소활성의 감소로 보인다. 이론치와 실험치는 15-25%의 오차속에 잘 일치하였다.

Abstract—Experimental and theoretical studies on three-phase hollow fiber bioreactor were performed using an asymmetric hollow fiber in which glucose oxidase was entrapped in the porous sponge region and silicone coating was applied on top of that. Oxygen limitation has been confirmed by theory and experiment when the glucose concentration was above 75 mM. The measured effectiveness factor was lower by 15-25% than the predicted one, which may be attributed to the deactivation of the enzyme upon immobilization. The theoretical and experimental values were in good agreement within error limits of 15-25%.

1. 서 론

실관 생화학 반응기는 실관의 내부, 외부, 벽면 또는 다공성지지부(porous sponge region)에 고정화된 효소나 미생물, 동물, 식물세포 등의 생물촉매를 이용하여 여러 가지 생화학 반응을 수행하는 반응기로 1971년 Rony[1]가 효소 반응에 이용한 후로 꾸준히 발전해 왔다 [2-4].

실관반응기는 액체와 효소 즉 이성분계에는 적합하나 삼상반응을 수행하는데는 많은 제약을 보여 이를 극복하기 위해 이중 실관 반응기가 개발되었다[5-7]. 그러나 이중 실관반응기는 그 우수한 특성에도 불구하고 스케일업이 용이하지 않아 산업화가 이루어지지 않고 있는 실정이다. 삼상 막반응기를 만드는 방법은 평판형으로 만들 수 있으나 막의 기계적인 강도가 약해 물질전달이 용이하지 않은 것으로 나타났다[8, 9].

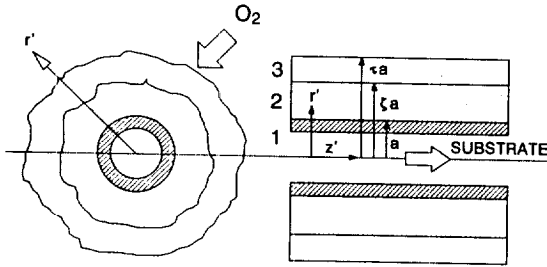


Fig. 1. Asymmetric hollow fiber schematic.

(1) Fiber lumen and dense skin region, (2) porous sponge region(biocatalysts were immobilized), (3) coated silicone layer.

실험적 연구와 더불어 실험반응기에 대한 이론적인 해석도 많은 진전을 보였는데 Rony[1], Horvath 등[10], Waterland 등[11], Lewis와 Middleman[12], Geogakakis 등[13], Kim과 Cooney[14], Webster와 Shuler[15-17] 등이 대표적이다. 그러나 이론적인 연구는 모두가 액상의 기질과 고상의 고정화 효소만이 존재하는 이상 반응에 국한되었을 뿐이다. 이중 실험반응기에서의 이론적인 해석이 Chung과 Chang[6], Chang 등[7], Chang과 Chung[18], 그리고 Robertson과 Kim[5] 등에 의해서 행하여 졌으나 내부에 있는 3개의 실관을 하나의 실관으로 해석하였고 실험결과와의 직접적인 비교는 없었다.

본 연구에서는 3상 실관 생화학반응기의 해석을 위해 모델을 설정하고 실제 경우와의 비교를 위해 포도당 산화효소(Glucose Oxidase, EC 1.1.3.4)와 카타라제(Catalase, EC 1.11.1.6)를 이용한 실험을 병행함으로써 삼상 실험반응기에서의 유효인자가 반응속도식과 반응기의 구조에 어떻게 의존하는지를 모델을 통한 예측치와 실험결과를 서로 비교하고자 하였다.

2. 모델링

Fig. 1에서는 본 연구에 사용된 실리콘 코팅된 삼상 실험반응기의 모형을 보여주고 있다. 즉 실관의 lumen 측으로 공급되는 액상의 기질과 확산에 의해 코팅된 실리콘 층을 뚫고 공급되는 기상의 산소가 생물층에 고정화되어 있는 다공성 지지부에서 서로 반응하게 되며 반응생성물은 곧바로 실관 lumen측으로 확산되어 나와 반응기 출구로 빠져나가게 된다. 실리콘 코팅은 실관의 lumen측을 흐르는 기질용액의 확산이나 hydraulic pressure에 의해 고정화된 효소나 미생물 혹은 기질 자체가 누출되는 것을 방지하기 위해 반드시 필요하며 특히 기상의 기질이 산소인 경우에는 실리콘의 투과도가 매우

높으므로 산소전달상의 잇점도 동시에 지니게 된다.

이론적인 해석을 간단히 하기 위해 액상에서의 산소 전달이 전체 반응의 율속단계(oxygen-limited condition)라고 가정하였다. 그 이유는 삼상반응의 경우 액상에서의 산소의 용해도가 다른 기체에 비해 특히 낮아 위의 가정은 많은 경우에 매우 유효하기 때문이다[19]. 이론적인 결과와 비교하기 위해 실험적인 대상반응으로 포도당 산화효소반응을 선택하였다. 이 경우 반응이 매우 빨라서 액상의 기질인 포도당의 농도를 일정농도 이상으로 높혀주게 되면 산소의 확산이 반응율속단계[19]로 작용하고 또 반응의 촉매구실을 하는 포도당 산화효소 및 카타라제의 특성, 산소의 물성이 잘 알려져 있어 계의 변수설정상의 불확실성을 최소한으로 배제할 수 있어서 대상반응으로는 매우 적합하기 때문이다.

여기서 모델로 사용하는 포도당 산화효소는 아래와 같은 속도식을 따른다[20-25].

$$v = \frac{V_m[G][O]}{[G][O] + K_m^G[O] + K_m^O[G]} \quad (1)$$

여기서 $[G]$, $[O]$ 는 포도당과 산소의 농도를 각각 나타내고 V_m 은 최대반응속도를 표시하며 K_m^G 과 K_m^O 는 Michaelis-Menten 상수로 볼 수 있다. 여기서 수용액상의 포도당의 농도는 산소의 농도에 비해 아주 크므로 (1)식은 통상의 Michaelis-Menten 식이 된다.

2-1. 코팅을 하지 않았을 때

Fig. 1에 나타난 반응기의 기하학적 구조와 앞에서 언급한 가정들을 바탕으로 코팅을 하지 않은 경우의 모형식을 세워보면 아래와 같다.

$$D_{e2} \frac{1}{r'} \frac{d}{dr'} \left(r' \frac{dC_2'}{dr'} \right) = \frac{V_m C_2'}{K_m + C_2'} \quad (2)$$

경계조건은

$$r' = \zeta a, \quad C_2' = C_2^* (= s_2 \cdot P_0) \quad (3)$$

$$r' \rightarrow 0, \quad \frac{dC_2'}{dr'} \rightarrow 0 \quad (4)$$

와 같이 된다.

여기서 s_2 는 실관의 다공성 지지부에 채워진 용액에서의 산소의 용해도, P_0 는 기상에서의 분압을 나타낸다. 식 (4)는 $r'=0$ 에서의 singularity를 해결하기 위한 것으로 L'Hospital의 정리를 적용하면

$$\lim_{r' \rightarrow 0} \frac{[dC_2'/dr']}{r'} = \frac{d^2 C_2'}{dr'^2} \quad (5)$$

이 되어 $r'=0$ 에서 식 (2)는 결국 다음과 같이 된다.

$$2 \cdot D_{e2} \cdot \frac{d^2 C_2'}{dr'^2} = \frac{V_m C_2'}{K_m + C_2'} \quad (6)$$

위의 식 (2)-(4)를 무차원 식으로 변환하면 다음과 같다.

$$\frac{1}{r} \frac{d}{dr} \left(r \frac{dC_2}{dr} \right) = \frac{\phi^2 C_2}{\beta + C_2} \quad (7)$$

경계조건은

$$r = \zeta, C_2 = 1 \quad (8)$$

$$r \rightarrow 0, \frac{dC_2}{dr} \rightarrow 0 \quad (9)$$

여기서

$$r = \frac{r'}{a}, C_2 = \frac{C_2'}{C_0^*}, \beta = \frac{K_m}{C_0^*}, \phi = \left[\frac{a^2 \cdot V_m}{D_{e2} \cdot C_0^*} \right]^{1/2}$$

를 나타낸다.

유효인자(effectiveness factor, η)는 다음과 같이 표시된다.

$$\eta = \frac{r \frac{dC_2}{dr} \Big|_{r=\zeta} - r \frac{dC_2}{dr} \Big|_{r=1}}{(\zeta^2 - 1) \left[\frac{\phi^2}{(\beta + 1)} \right]} \quad (10)$$

식 (7)-(10)에서 수치모사에 의해 $C_2(r)$ 과 η 를 구할 수 있다. $\phi/\sqrt{\beta}$ 가 100보다 클 경우에는 stiff problem이 되는데, 이 경우는 Chang[26]이 제시한 경계치 문제를 푸는 shooting method(쉬팅하지 않은 영역의 해석적 해를 통해 stiff한 영역의 초기값을 설정해 이를 이용하여 stiff한 영역의 계산을 기존의 shooting method로 푸는 방법)를 따르면 무난히 해결된다.

2-2. 코팅을 하였을 때

코팅을 하였을 경우의 모형식은 아래와 같이 표현할 수 있다. 즉, 코팅된 실리콘층에서의 산소농도의 분포는 반응이 일어나지 않으므로, 반응에 의한 산소소모가 없이 단지 확산에 의한 농도분포식인 다음식을 따른다.

$$D_{e3} \frac{1}{r'} \frac{d}{dr'} \left(r' \frac{dC_3'}{dr'} \right) = 0 \quad (11)$$

또 효소층에서는 앞의 코팅을 하지 않았을 때 산소소모 속도가 Michaelis-Menten 식을 따를 때와 동일하게 다

음과 같이 쓸 수 있다.

$$D_{e2} \frac{1}{r'} \frac{d}{dr'} \left(r' \frac{dC_2'}{dr'} \right) = \frac{V_m C_2'}{K_m + C_2'} \quad (12)$$

이때, 경계조건은 다음과 같다.

$$r' = \tau a, C_3' = C_0^* (= s_3 \cdot P_0) \quad (13)$$

$$r' = \zeta a, C_3' = \kappa C_2' \quad (14)$$

$$r' = \zeta a, D_{e2} \frac{dC_2'}{dr'} = D_{e3} \frac{dC_3'}{dr'} \quad (15)$$

$$r' \rightarrow 0, \frac{dC_2'}{dr'} \rightarrow 0 \quad (16)$$

식 (11)-(16)을 무차원 식으로 바꾸면,

$$\frac{1}{r} \frac{d}{dr} \left(r \frac{dC_3}{dr} \right) = 0 \quad (17)$$

$$\frac{1}{r} \frac{d}{dr} \left(r \frac{dC_2}{dr} \right) = \frac{\phi^2 C_2}{\beta + C_2} \quad (18)$$

경계조건은

$$r = \tau, C_3 = \kappa \left(= \frac{s_3}{s_2} \right) \quad (19)$$

$$r = \zeta, C_3 = \kappa q \quad (20)$$

$$r = \zeta, C_2 = q \quad (21)$$

$$r = \zeta, \frac{dC_2}{dr} = \gamma \frac{dC_3}{dr} \quad (22)$$

$$r \rightarrow 0, \frac{dC_2}{dr} \rightarrow 0 \quad (23)$$

여기서

$$C_3 = \frac{C_3'}{C_0^*}, \gamma = \frac{D_{e3}}{D_{e2}}$$

이며 그 외의 무차원 항은 앞에서 정의한 바와 같다. s_3 는 코팅층에서의 산소의 용해도를 나타낸다.

식 (17), (19), (20)으로부터 다음의 관계가 얻어진다.

$$C_3(r) = \kappa \cdot \left[(q-1) \frac{\ln(r/\tau)}{\ln(\zeta/\tau)} + 1 \right] \quad (24)$$

또, $C_2(r)$, η 는 마찬가지로 수치 모사에 의해 얻어지며, 수치 모사에 필요한 parameter 값은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Parameters used in numerical calculations

Parameters	Value	Reference
For oxygen and silicone rubber		
S_3	1.68×10^{-3} std $\text{cm}^3/\text{cm}^3/\text{cmHg}$	[32]
S_2	3.70×10^{-4} std $\text{cm}^3/\text{cm}^3/\text{cmHg}$	[5]
D_{23}	2.5×10^{-5} cm^2/sec	[32]
D_{12}	1.6×10^{-5} cm^2/sec	[33]
	2.54×10^{-4} M (for air)	[33]
C_0^*	1.25×10^{-3} M (for pure O_2)	
For glucose oxidase and catalase system		
k_{cat}	1433 sec^{-1}	[34]
K_m^o	5.37×10^{-4} M	[34]
K_m^g	0.0602 M	[34]

Table 2. Hollow fiber specification

Maker	Berghof (West Germany)
Type	Asymmetric
Material	Polyamide
Cut-off molecular wt.	50,000
I.D.	0.15 cm
O.D.	0.25 cm
Void fraction	0.80-0.90
Weight/Length	0.0164 g/cm

3. 재료 및 방법

3-1. 모사방법

앞의 식 (7)-(10)과 (17)-(23)의 경제치 조건 문제는 Fink 등[27]이 제시한 효소반응의 유효인자 계산법인 shooting procedure를 따랐으며, stiff한 영역에서는 Chang[26]이 제시한 개선된 방법으로 수치모사를 수행하였다.

3-2. 실험방법

본 실험에서 사용한 실관은 독일의 Berghof사에서 생산하는 것으로 그 사양은 Table 2와 같다. 효소는 *Aspergillus niger*에서 추출한 glucose oxidase, (GOD, Sigma, G-6125)와 소의 간에서 추출한 catalase (Sigma, C-10)를 사용하였다. GOD 1 mg은 16 units이고 catalase 1 mg은 2,800 units에 해당한다. 코팅에 사용한 실리콘은 일본의 Shin-Etsu사에서 생산되는 무색의 1액형 실리콘 접착제 (KE-441T)로 경화시간은 상온에서 24시간 정도였다. 실관의 다공성부분에 효소나 미생물을 넣고 그 위를 공기나 산소가 잘 통할 수 있는 폴리머로 봉한 후에 이들 여러 실관들을 묶어 반응기로 만들어 사용하였다.

효소용액은 GOD 50 mg과 catalase 5 mg을 pH 7.0인 phosphate buffer에 녹여 50 ml로 만든 다음 냉장고(5°C)

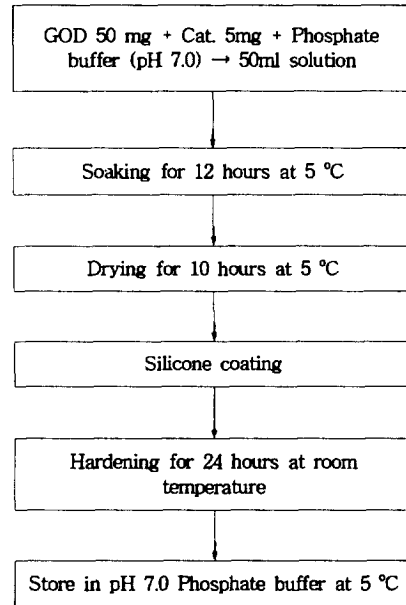


Fig. 2. Immobilizing and coating procedure.

속에 보관하여 필요할 때 사용하였다. 기질 용액은 D-glucose 1.8 g을 pH 7.0의 phosphate buffer에 녹여 1,000 ml가 되게 한 다음 약 3-4시간이 지난 후에 사용하였다. GOD의 고정화 과정을 Fig. 2에 도표로 나타내었는데, 장시간에 걸친 조업 안정성은 30°C에서 반감기가 약 135 시간, 50°C에서는 5.5시간 정도였다. 온도에 따른 비활성화가 매우 심각한 것을 알 수 있었다. 따라서 고정화 후 실험은 효소가 안정한 10시간 이내에 모두 끝내었다.

4. 결과 및 고찰

4-1. 모사결과

코팅을 하지 않았을 경우에는 실관의 다공성 지지부에서의 유효인자는 Fig. 3과 같고, 산소농도 profile은 Fig. 4, 5에 나타난 바와 같다. Fig. 3에서 유효인자는 β 가 증가할수록 그리고 ϕ 가 감소할수록 증가하였는데, 이는 Bischoff[28]이 비일차반응인 경우 유효인자 계산을 수행한 결과와 잘 일치하였다.

코팅을 하였을 경우에는 실리콘층이 external film 구실을 하게 되어 코팅을 하지 않았을 경우와는 반대로 실관의 외벽에서의 농도 C_0^* 가 일정하지 않고 경계면 농도가 떨어지게 된다. 이러한 현상은 ϕ 가 증가하고 β 가 감소할수록 더욱 심각해진다. Fig. 6은 코팅된 실리콘 두께에 따른 유효인자의 변화를 보여 주는데 코팅두께가 증가할수록 유효인자는 감소하며 이러한 감소는 Thiele modulus가 증가할수록 심해진다. Fig. 7은 실리콘 외벽

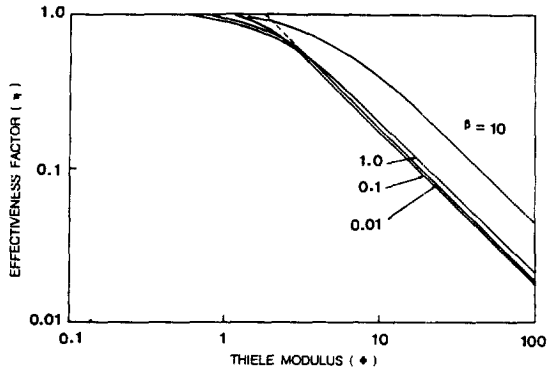


Fig. 3. Effect of β on effectiveness factor for uncoated hollow fiber bioreactor(uncoated: $\zeta=2.0$, --- zero order: $\beta \approx 0$).

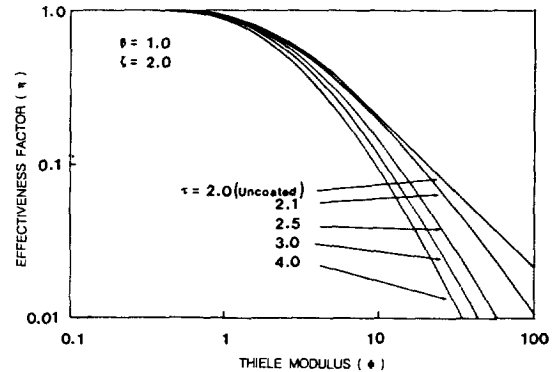


Fig. 6. Effect of coating thickness on effectiveness factor at constant β and ζ .

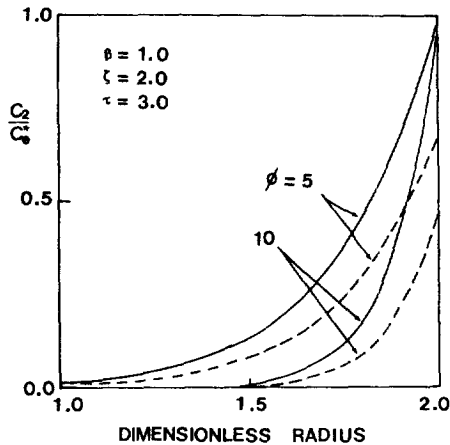


Fig. 4. Concentration profiles of oxygen in porous sponge region for $\phi=5$ and 10 (— uncoated, --- coated).

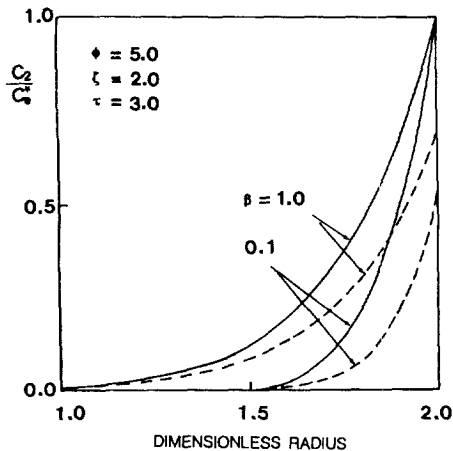


Fig. 5. Concentration profiles of oxygen in porous sponge region for $\beta=0.1$ and 1 (— uncoated, --- coated).

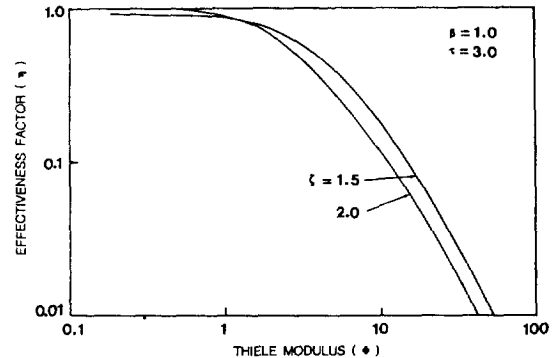


Fig. 7. Effect of fiber wall thickness on effectiveness factor at constant τ .

까지의 거리를 일정하게 하고 실관의 두께를 바꾸어 유효인자 변화를 관찰한 것인데 실관의 두께를 작게 하면 (이 때 코팅두께는 상대적으로 커진다) 유효인자가 증가하는 것으로 보아 코팅두께보다는 실관의 다공성 지지부의 두께가 유효인자에 더 큰 영향을 미치게 됨을 알 수 있다.

위의 결과로 미루어 실리콘 코팅된 3상 실관 생화학 반응기의 유효인자는 실관벽과 실리콘의 코팅 두께를 줄이거나 효소부하를 줄이는 방법으로 증가될 수 있다. Thiele modulus중의 V_m 은 효소부하에 비례하므로 효소부하를 줄이게 되면 유효인자는 증가하게 된다. 하지만 이 경우 생산성도 줄어들게 되므로 효소부하와 생산성 사이의 최적 조업조건을 찾아야만 한다고 볼 수 있다. 그 외에는 고압에서 조업을 하거나 실리콘의 산소 투과도(permeability) 등을 바꾸어서 유효인자를 증가시켜 줄 수 있다. 고압에서 조업하는 경우는 산소의 분압이 증가하여 Thiele modulus가 감소하므로 유효인자가 증가될 수 있으나, 실관의 한계압력이 낮으므로(1.5-2 atm)

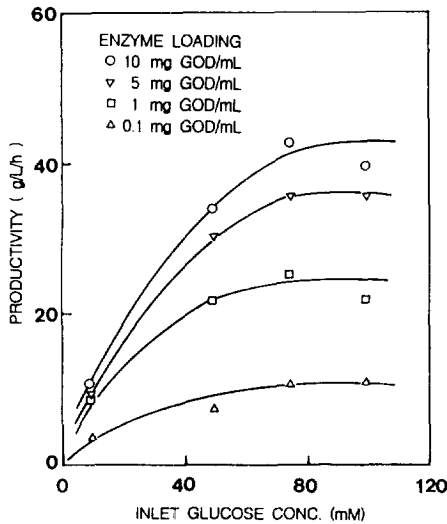


Fig. 8. Effect of glucose concentration on productivity at various enzyme loading.

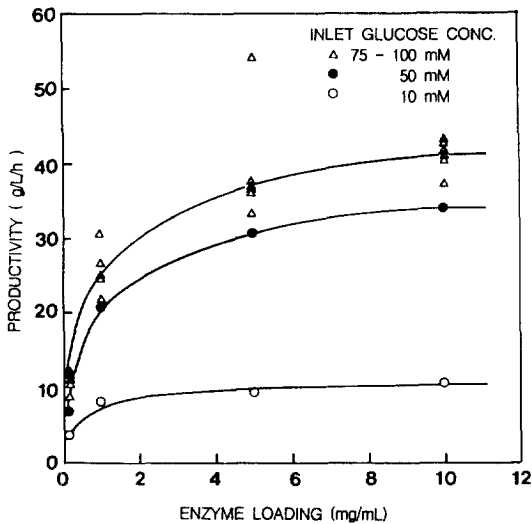


Fig. 9. Effect of enzyme loading on productivity under the condition of oxygen limitation.

큰 효과를 기대하기는 힘들 것으로 본다.

4-2. 실험결과

산소가 율속제한이 되는 범위를 찾기 위해 포도당 농도를 바꾸면서 생산성의 변화를 관찰한 결과 Fig. 8을 얻었다. 입구에서 포도당의 농도가 약 75 mM을 넘어서게 되면 생산성은 포도당 농도에 관계없이 일정하게 나타나며 바로 이러한 현상이 산소율속제한 단계에 와 있음을 뜻한다. Fig. 9에서는 산소가 율속제한이 되는 포도당의

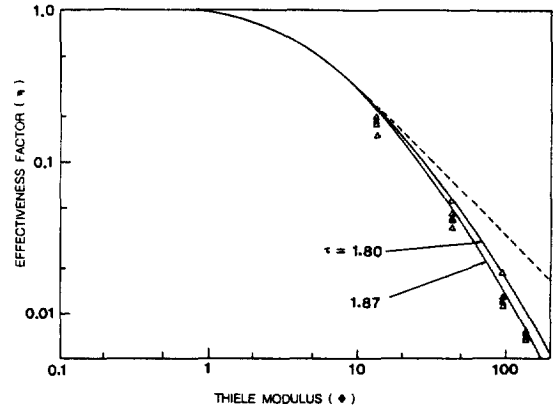


Fig. 10. Comparison of experimentally and theoretically determined effectiveness factor(— coated, --- uncoated).

농도가 75-100 mM의 농도에서 효소부하에 따른 생산성의 변화를 여러 실험을 걸쳐 구한 것인데 이를 10 mM과 50 mM의 포도당 농도에서 생산성 곡선과 비교해 보면 효소부하가 10 mgGOD/ml일 때는 10 mM의 4배, 50 mM의 1.3배 정도로 높은 생산성을 가짐을 알 수 있다. 산소 율속제한하에서는 유효인자는 다음과 같이 구해진다. 즉 반응기내의 포도당 농도는 산소농도에 비해 충분히 크므로 이 경우의 반응속도 v_{OL} 은 식 (1)에서

$$v_{OL} = \lim_{[G] \rightarrow \infty} \frac{V_m[G][O]}{[G][O] + K_m^g[O] + K_m^o[G]} = \frac{V_m[O]}{K_m^o + [O]}$$

여기서 $V_m = C_E \cdot \kappa_{cat}$ 이므로, 결국 v_{OL} 은

$$v_{OL} = \frac{C_E \cdot \kappa_{cat} \cdot [O]}{K_m^o + [O]} \quad (25)$$

로 주어지게 된다.

유효인자(effectiveness factor)는

$$\eta = \frac{\text{확산율속시의 반응속도}}{\text{확산율속 무제한시의 반응속도}} \quad (26)$$

$$= \frac{\frac{1}{2} \cdot \text{생산성(at 75-100 mM 포도당)}}{\frac{C_E \cdot \kappa_{cat} \cdot C_0^*}{[K_m^o + C_0^*]}}$$

과 같이 된다.

Spectrophotometric method로 구한 FAD농도 c_E 를 알고 있으므로 그 때의 생산성으로부터 유효인자를 실

험적으로 구할 수 있다(C_0 나 K_m , κ_{cat} 의 값은 Table 1에 주어져 있다).

식 (26)에서 1/2을 곱해준 것은 포도당 산화효소반응에서 포도당 1분자에 대해 산소는 1/2분자가 반응하기 때문이다.

실험에서 코팅된 실리콘의 두께는 $125 \pm 25 \mu\text{m}$ 였다. 따라서 실관벽의 두께($500 \mu\text{m}$)와 내경($1,500 \mu\text{m}$)으로부터 $\zeta=1.67$, $\tau=1.83 \pm 0.04$ 가 된다. 이들 값과 Table 1에서 얻은 parameter들을 이용하여 수치모사에 의해 유효인자를 구할 수 있으며, 그 결과는 Fig. 10에 나타난 바와 같다.

각각의 실험치는 효소부하만을 바꾸어서 얻은 값으로 Fig. 9의 생산성에 식 (26)을 적용하여 구하였다. Fig. 10에서 보면 실험적으로 구한 유효인자값이 이론치에 비해 약 15-25%정도 낮게 나타남을 알 수 있다. 이러한 유효인자의 감소는 다음과 같은 두 가지 요인 때문인 것으로 추측된다. 첫째, 실관내에서의 효소의 희석효과(dilution effect)로 Waterland 등[29]에 따르면 실관의 다공성 지지부에 흡인된 효소의 농도는 충전액에서의 농도의 약 84%정도로 낮아진다는 보고가 있는데 본 실험에서는 이러한 희석 효과를 고려하지 않았으므로 이것이 오차 발생의 요인으로 작용하였다고 볼 수 있겠다. 두 번째는 효소의 고유활성(intrinsic activity)의 감소를 들 수 있는데, 일반적으로 효소를 고정화시키게 되면 외형적인 반응속도도 바뀌어지지만(이러한 현상은 주로 물질전달저항의 영향이다) 고유반응속도상수(intrinsic kinetic parameter)도 바뀌게 된다[30]. Waterland 등[11, 29]은 이러한 고유활성의 감소를 막고 또 고정화 과정도 간단히 하기 위해 실관의 다공성 지지부에 효소용액을 수용성 상태로 흡인시켜 이를 실험적으로 또 이론적으로 해석하였다. 하지만 본 실험의 경우 이들의 방법에 따라 효소를 수용성 상태로 흡인시키긴 하였지만 그 이후에 실관을 다시 건조시킨 다음 실리콘 코팅을 해주었으므로 이로 인해 intrinsic kinetics가 변화했다고 추정할 수 있다. Cho와 Bailey[30]는 고정화인자와 최소 유효인자를 이용하여 고정화 효소의 intrinsic local activity의 감소를 정성적으로 추정하였으며 실제로 이들의 실험결과에 의하면 glucoamylase의 경우 고정화로 인한 고유활성의 감소가 55% 이상인 것으로 나타났다. 또 GOD의 경우에도 이를 적용, 효소부하가 매우 클 때는 마찬가지로 고유활성의 감소 경향을 보여주었다. 이러한 고유활성의 감소는 일반적으로 효소부하가 증가할수록 커지며 [30, 31], Fig. 10에서도 이와 유사한 경향을 보이는 것으로 보아 본 실험에서도 고정화로 인한 고유활성 감소가 작용함을 알 수 있다.

그러나 이러한 효과에도 불구하고 이론치와 실험치가

15-25% 범위에서 일치하는 것으로 보아 3상 반응에 대한 본 모형이 매우 타당함을 알 수 있다. Fig. 10에서 보면 Thiele modulus가 커짐에 따라 코팅에 따른 유효인자의 감소는 실험적으로 충분히 입증해 주고 있다. 즉, 본 system의 경우 Thiele modulus가 20보다 작을 때는 코팅의 영향이 거의 없지만 그 이상에서는 코팅의 영향이 심각하므로 실리콘의 산소 투과도가 매우 좋다고 해서 코팅된 실리콘층의 영향을 무시할 수는 없다는 것을 알 수 있었다.

5. 결 론

3상 실관 생화학반응기를 산소유통 제한하에서 수학적으로 해석해 본 결과 코팅두께와 실관의 다공성 지지부의 두께가 증가할수록 유효인자가 감소하였으며 이러한 감소경향은 Thiele modulus가 커질수록 더욱 심하였다. 코팅두께 보다는 다공성 지지부의 두께가 유효인자에 더 큰 영향을 미치는 요소였다.

포도당 농도가 75 mM 이상일 때 산소 제한에 걸렸으며 이 조건에서의 유효인자를 이론치와 비교해 본 결과 실험치가 이론치에 비해 15-25% 정도 낮게 나타났는데 이것은 실관의 희석효과, 고정화로 인한 효소의 고유활성 감소 등의 영향인 것으로 해석된다.

실험치와 이론치의 경향이 뚜렷이 일치하고 15-25% 범위에서 서로 근사한 것으로 미루어 산소제한 조건에서 세운 본 모형이 타당하며 여타의 3상 반응계에도 적용 가능하리라 본다.

감 사

본 연구는 한국과학재단 지정 생물공정연구센터 연구비 지원으로 수행되었습니다.

사용기호

- a : inner radius of an asymmetric hollow fiber [cm]
- C_2 : dimensionless concentration of oxygen in porous sponge region
- C_3 : dimensionless concentration of oxygen in coated silicone layer
- C_2' : concentration of oxygen in porous [M]
- C_3' : concentration of oxygen in coated silicone layer [M]
- C_0^* : saturation concentration of oxygen [M]
- c_E : active flavin concentration of glucose oxidase

- [M]
 D_{r2} : effective diffusivity of oxygen in porous sponge region [cm^2/sec]
 D_{r3} : effective diffusivity of oxygen in coated silicone layer [cm^2/sec]
 FAD : flavin adenine dinucleotide
 [G] : concentration of glucose [M]
 K_m : Michaelis-Menten constant [M]
 K_m^g : Michaelis-Menten constant for glucose [M]
 K_m^o : Michaelis-Menten constant for oxygen [M]
 k_{cat} : kinetic constant [sec^{-1}]
 [O] : concentration of oxygen [M]
 P_0 : partial pressure of oxygen in gas phase [cm-Hg]
 q : concentration of oxygen at the outer surface of hollow fiber shell side ($=C_2(\zeta)$) [M]
 r : dimensionless radial distance
 r' : radial distance [cm]
 s_2 : solubility of oxygen in porous sponge region [$\text{cm}^3/\text{cm}^3/\text{cmHg}$]
 s_3 : solubility of oxygen in coated silicone layer [$\text{cm}^3/\text{cm}^3/\text{cmHg}$]
 V_m : maximum reaction rate [M/sec]
 v : reaction rate [M/sec]
 v_{OL} : reaction rate under the condition of oxygen limitation [M/sec]
 z' : axial distance [cm]

그리스 문자

- β : dimensionless Michaelis-Menten constant
 γ : diffusivity ratio (D_{r3}/D_{r2})
 ζ : dimensionless radial distance from the fiber center to the outer surface of fiber shell
 η : effectiveness factor
 κ : distribution coefficient of oxygen at the interface of a fiber and coated silicone layer
 τ : dimensionless radial distance from the fiber center to the outer surface of silicone layer
 ϕ : Thiele modulus defined by $\phi^2 = \frac{a^2 \cdot V_m}{D_{r2} \cdot C_0}$

참고문헌

- Rony, P. R.: *Biotechnol. Bioeng.*, **13**, 431(1971).
- Knazek, R. A., Gullino, P. M., Kohler, P. O. and Dedrick, R. L.: *Science*, **178**, 65(1972).
- Kim, D. J., Chang, H. N. and Liu, J. R.: *Biotechnology Techniques*, **3**, 139(1989).
- Chang, H. N.: "Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology", **44**, Springer-Verlag Berlin, 27(1991).
- Robertson, C. R. and Kim I. H.: *Biotechnol. Bioeng.*, **27**, 1012(1985).
- Chung, B. H. and Chang, H. N.: *Biotechnol. Bioeng.*, **32**, 205(1988).
- Chang, H. N., Kyung, Y. S. and Chung, B. H.: *Biotechnol. Bioeng.*, **29**, 552(1987).
- Steinmyer, D. E. and Shuler, M. L.: *Biotechnol. Prog.*, **6**, 286(1990).
- Sim, S. J. and Chang, H. N.: *Kor. J. Biotech Bioeng.*, in press(1992).
- Horvath, C., Shendalman, L. H. and Light, R. T.: *Chem. Eng. Sci.*, **28**, 375(1973).
- Waterland, L. R., Michaels, A. S. and Robertson, C. R.: *AIChE J.*, **20**, 50(1974).
- Lewis, W. and Middleman, S.: *AIChE J.*, **20**, 1012(1974).
- Georgakis, C., Chan, P. C.-H. and Aris, R.: *Biotechnol. Bioeng.*, **17**, 99(1975).
- Kim, S. S. and Cooney, D. O.: *Chem. Eng. Sci.*, **31**, 289(1976).
- Webster, I. A. and Shuler, M. L.: *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 1725(1979).
- Webster, I. A. and Shuler, M. L.: *Chem. Eng. Sci.*, **34**, 1273(1979).
- Webster, I. A. and Shuler, M. L.: *Biotechnol. Bioeng.*, **23**, 447(1981).
- Chang, H. N. and Chung, B. H.: *Korean J. of Chem. Eng.*, **5**, 83(1987).
- Rovito, B. J. and Kittrell, J. R.: *Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 143(1973).
- Gibson, Q. H., Swoboda, B. E. P. and Massey, V.: *J. Biol. Chem.*, **239**, 3927(1964).
- Nakamura, S. and Ogura, Y.: *Biochemistry*, **63**, 308(1968).
- Bright, H. J. and Gibson, Q. H.: *J. Biol. Chem.*, **242**, 994(1967).
- Duke, F. R., Weibel, M. K., Page, D. S., Bulgrin, V. G. and Luthy, J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 3904(1969).
- Bright, H. J. and Appleby, M.: *J. Biol. Chem.*, **244**, 3625(1969).
- Weibel, M. K. and Bright, H. J.: *J. Biol. Chem.*, **246**, 2734(1971).
- Chang, H. N.: *AIChE J.*, **28**, 1031(1982).
- Fink, D. F., Na, T. Y. and Schultz, J. S.: *Biotechnol. Bioeng.*, **15**, 879(1973).
- Bischoff, K. B.: *AIChE J.*, **11**, 351(1965).

29. Waterland, L. R., Robertson, C. R. and Michaels, A. S.: *Chem. Eng. Commun.*, **2**, 37(1975).
30. Cho, Y. K. and Bailey, J. E.: *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 1923(1983).
31. Clark, D. S. and Bailey, J. E.: *Biochnol. Bioeng.*, **24**, 1027(1982).
32. Krerelen, D. W.: "Properties of Polymers: Their Estimation and Correlation with Chemical Structure", 2nd ed., Elsevier Scientific, Amsterdam, pp. 403-425(1976).
33. Reuss, M. and Buchholz, K.: *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 2061(1979).
34. Duke, F. R., Weibel, M. K., Page, D. S., Bulgrin, V. G., and Luthy, J.: *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 3904 (1969).